

多叶斑叶兰花蜜特征和分泌规律及其对昆虫访花的影响

刘南南, 肖汉文, 陈兴惠, 迟韵阳, 罗火林, 熊冬金, 杨柏云*

(南昌大学生命科学学院, 江西省植物资源重点实验室, 南昌 330031)

摘要: 为探讨多叶斑叶兰(*Goodyera foliosa*)花蜜体积和成分的变异性, 及其对传粉昆虫的影响, 采用毛细管法、折光仪和高效液相-蒸发光法对一天内不同时间段单花花蜜体积、总糖浓度和可溶性糖成分及含量进行检测, 用摄像机对其传粉昆虫访花行为进行观察。结果表明, 单花花蜜体积在 10:00 达到最大 $[(7.19 \pm 2.29) \mu\text{L}, n=10]$, 糖浓度在 16:00 达到最大 $[(25.85 \pm 1.83)\%, n=10]$ 。花蜜中的主要可溶性糖为果糖和蔗糖, 果糖在上午 10:00 含量达到最高(78.310 mg/g); 蔗糖在下午 16:00 含量达到最高(247.600 mg/g)。中华蜜蜂(*Apis cerana*)访花时间为每天 9:00–15:00, 访花高峰期在 10:00–14:00; 橘尾熊蜂(*Bombus friseanus*)访花时间为每天 8:00–16:00, 访花高峰期在 10:00–12:00 和 16:00–18:00。因此, 这两种传粉昆虫访花频率与多叶斑叶兰单花花蜜体积及糖浓度的变化有一定的相关性, 它们更倾向于访问较高花蜜体积及糖浓度的花朵。多叶斑叶兰花蜜成分中蔗糖占优势, 能有效吸引各种蜂类、蝶类和蚁类访花, 且访问频率较高, 中华蜜蜂和橘尾熊蜂能携带其花粉块, 是主要的有效传粉昆虫。花形态和访花昆虫的体型大小的匹配, 决定了是否成为有效传粉昆虫。

关键词: 多叶斑叶兰; 花蜜; 分泌; 访花昆虫

doi: 10.11926/jtsb.4125

Nectar Secretion Characteristics and Their Effects on Insect Pollination of *Goodyera foliosa*, A Nectar Rewarding Orchid

LIU Nan-nan, XIAO Han-wen, CHEN Xing-hui, CHI Yun-yang, LUO Huo-lin, XIONG Dong-jin, YANG Bo-yun*

(School of Life Science, Nanchang University, Jiangxi Key Laboratory of Plant Resources, Nanchang 330031, China)

Abstract: In order to explore nectar variation and its effect on pollinators of *Goodyera foliosa*, a nectar rewarding orchid, the nectar volume, total sugar concentration and the composition and content of soluble sugar in single flower in different time within a day were detected by using capillary method, refractometer and high performance liquid-evaporation method. The foraging behavior of pollinators was observed by video camera. The results showed that the volume of single flower nectar reached up to maximum $[(7.19 \pm 2.29) \mu\text{L}, n=10]$ at 10:00, and the sugar concentration to maximum $[(25.85 \pm 1.83)\%; n=10]$ at 16:00. The main soluble sugar in nectar was fructose and sucrose, and the highest content of fructose was 78.310 mg/g at 10:00 am and that of sucrose was 247.600 mg/g at 16:00 pm. The visiting time of *Apis cerana* was from 9:00 to 15:00 every day, and the peak period was between 10:00 am and 14:00 pm. And the visiting time of *Bombus friseanus* was from 8:00 to 16:00 every day, and the peak period was from 10:00 to 12:00 and from 16:00 to 18:00. The visiting frequency of the two pollinators was

收稿日期: 2019-07-23 接受日期: 2019-11-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360491)资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31360491).

作者简介: 刘南南, 男, 硕士研究生, 主要从事兰科植物传粉生物学研究。E-mail: 15797898357@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: yangboyun@163.com

correlated with the changes in nectar volume and sugar concentration of single flower of *G. foliosa*. They tended to visit flowers with high nectar volume and sugar concentration. Sucrose was the predominant component of nectar in *G. foliosa*, which can effectively attract all kinds of bees, butterflies and ants to visit flowers with high enthusiasm and access frequency. However, the *Apis cerana* and *Bombus friseanus* which could carry the pollen of orchid were major effective pollinators. Therefore, the matching of flower shape and size of visiting insects determined whether they were effective pollinators.

Key words: *Goodyera foliosa*; Nectar; Secretion; Pollinator

花蜜作为传粉昆虫的营养成分,在植物-传粉昆虫的互作关系中扮演着重要角色,与被子植物及其传粉者的多样化具有密切关系^[1]。花蜜一般都含有糖类、氨基酸、无机离子、蛋白质和脂类等,有些花蜜还含有生物碱、萜类以及一些挥发性物质^[2]。许多研究者认为,花蜜特征可能决定着传粉者种类,这与访花动物觅食花蜜的行为有关^[3]。

兰科植物具有高度多样化和复杂的传粉机制。Jersakova 等^[4]和任宗昕等^[5]综述了兰科植物的传粉机制,并将其分为有回报的昆虫传粉、泛化的食源性欺骗、拟态、性欺骗、产卵地欺骗、庇护所模拟和自花传粉等。有回报传粉会为传粉昆虫提供相应的报酬,由于兰科植物形成花粉块,因此许多兰科植物仅能分泌花蜜作为传粉回报^[6]。花蜜的产生是兰科植物的祖传特征(plesiomorphic trait),随着不断的进化与环境的改变,所有兰科植物中有 30%~50% 失去了这种产生花蜜的能力,不再利用花蜜作为回报,而它们的授粉是通过欺骗实现的^[7]。一般来说,有报酬和无报酬兰科植物之间存在着很大的差异,后者的繁殖成功率通常比前者低得多^[8]。花蜜的有无深刻影响了兰科植物与传粉昆虫的互作与协同进化,而欺骗性传粉的种类为花蜜特征变异的极端情况。因此,开展花蜜报酬兰科植物花蜜特征(包括花蜜体积和糖成分)的变异性研究,是研究兰科植物传粉机制的重要环节。

多叶斑叶兰(*Goodyera foliosa*)分泌花蜜作为传粉昆虫的报酬,目前已经发现有中华蜜蜂(*Apis cerana*)、橘尾熊蜂(*Bombus friseanus*)、东亚无垫蜂(*Amegilla parhyphate*)和日本芦蜂(*Ceratinidia japonica*)等 4 种昆虫帮助其传粉,传粉的吸引机制可能有花色、花气味和花蜜(刘南南等,未发表数据)。目前国内外对于斑叶兰属植物的研究主要集中在野生资源调查^[9-10]、生殖分配^[11]、化学成分^[12]、无菌萌发和快速繁殖等方面^[13-14],未见有关多叶斑叶兰花蜜可溶性糖成分、含量及其糖浓度与访花昆虫

关系的研究报道。对多叶斑叶兰花蜜成分进行检测,为兰科植物花蜜成分及含量提供了基础实验资料,能够有效预测访花昆虫和有效传粉昆虫的种类以及昆虫访花的行为与觅食偏好,对探讨昆虫传粉机制具有十分重要的意义。

1 材料和方法

1.1 花蜜成分的测定

1.1.1 仪器和设备

沃特世安捷伦 e2695 高效液相色谱仪(配备有 2424 蒸发光散射检测器, Waters 公司, USA); BSA 224S 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司); EQ 3200 DE 型数控超声波清洗器(昆山超声仪器科技公司); Master-S Plus UF 超纯水机(上海和泰仪器有限公司)。

1.1.2 材料和试剂

多叶斑叶兰(*Goodyera foliosa*)的花采自江西省赣州市龙南县九连山自然保护区。

D-果糖(纯度为 99.0%, Amresco)、D-无水葡萄糖(纯度为 99.8%, Amresco)、蔗糖(纯度为 99.9%, Amresco)、D-麦芽糖(纯度为 99.0%, Sigma)、乙腈(色谱纯,阿拉丁),实验用水为超纯水。

1.1.3 色谱条件和 ELSD 参数

色谱柱: XBridge Amide (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 安捷伦科技有限公司),流动相为乙腈(A 相)和水 + 0.02% 三乙胺(B 相),流动相梯度洗脱程序: 0~12 min, 80% A; 12~14 min, 79% A; 14~24 min, 70% A; 24~25 min, 69% A; 25~30 min, 80% A。流速: 1.0 mL/min, 柱温: 40℃, 进样量 10 μL, ELSD 参数: 雾化管温度为 36℃, 增益值为 100, 漂移管温度为 80℃, 氮气压力为 50 psi。

1.1.4 标准溶液的配制

糖标准储备液 精密称取 D-果糖、D-无水葡萄糖、蔗糖、麦芽糖标准品各 0.050 g (精确至 0.001 g),

用水溶解, 定容至 25 mL, 过 0.45 μm 滤膜, 于 4℃ 冰箱中保存。

糖混合标准工作液 分别吸取 4 种糖的标准储备液 2.5 mL 于同一容量瓶中, 加水定容至 10 mL, 得 2 000 $\mu\text{g/mL}$ 的糖混合标准溶液, 然后分别用水稀释成 200、600、1 000、1 500、2 000 $\mu\text{g/mL}$ 标准工作液, 0.45 μm 滤膜过滤, 于 -80℃ 冰箱中保存, 待测。

1.1.5 样品溶液的制备

花蜜的采集 随机选择多叶斑叶兰盛花期植株 30 株, 8:00–16:00 每隔 2 h, 从每株上各采摘盛花期花朵 1 朵, 共 30 朵。参照李左栋等^[15]的方法, 将花解剖开, 用 5 μL 的毛细管在解剖镜下反复采集多次, 直到采集完全。

花蜜的前处理 精密称取 0.10 g 花蜜溶于 5 mL 纯水中, 定容至 10 mL, 用 0.45 μm 的过滤膜将样品溶液过滤入样品瓶中待测。

1.1.6 液相色谱测定

用配制的果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖标准工作溶液绘制以峰高为纵坐标, 工作溶液浓度为横坐标的标准工作曲线, 保证样品溶液中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖的响应值均应在标准工作曲线的线性范围内。样品溶液及平行试样和空白试样与标准工作溶液按上述步骤处理, 等体积进样, 在同样的色谱条件下测定。

1.2 花蜜产量

随机选择多叶斑叶兰盛花期植株 30 株, 进行套袋, 同时称量配套的带盖离心管和毛细吸管(华

西医科大学仪器厂, 0.3 mm)的初始质量并用自封袋密封备用。第 2 天 8:00–16:00 每隔 2 h (与套袋时间相隔 24 h 左右), 从每株上选取盛花期花朵 1 朵, 共 30 朵, 用 5 μL 毛细吸管将花蜜吸入到离心管中, 密封并带回实验室再次称离心管和毛细吸管质量, 并用手持折光仪(陆恒 LH-T10, 0~50%, 杭州, 中国)直接测定糖浓度, 同时根据质量差计算单花花蜜体积, 最后对单花花蜜体积及糖浓度进行数据分析^[16]。

1.3 访花昆虫及传粉昆虫观察

连续 2 年在花期内, 每日的 8:00–18:00, 累计约 400 h, 选择天气晴朗的时候用摄像机(LUMIX D100, 日本)对访花昆虫定点拍照、摄像, 记录访花行为、访花时间、访花频率等。用捕虫网捕捉昆虫, 固定标本送往中国科学院动物研究所和昆明植物研究所进行鉴定, 标本存放在南昌大学江西省植物资源重点实验室。

2 结果和分析

2.1 花蜜成分的测定

2.1.1 线性回归方程及相关系数

吸取 4、8、12、16、20 μL 标准混合液进样分析, 以峰面积对数 y 为横坐标, 标准样质量对数 x 为纵坐标进行线性回归分析, 得到线性回归方程和相关系数(表 1)。可见, 回归方程呈线性, 相关系数为 0.994 7~0.996 2, 说明数据是有效的。

表 1 4 种糖标准曲线参数

Table 1 Parameters of standard curve of 4 kinds of sugar

标准品 Standard	回归方程 Regression equation	线性范围 Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 Correlation coefficient (R^2)
果糖 Fructose	$y=1.7373x+4.0085$	200~200 0	0.996 2
葡萄糖 Glucose	$y=1.7932x+3.9897$	200~200 0	0.994 7
蔗糖 Sucrose	$y=1.683x+4.2242$	200~200 0	0.995 0
麦芽糖 Maltose	$y=1.6002x+4.205$	200~200 0	0.995 8

2.1.2 花蜜可溶性糖成分及含量变化

对果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖标准品进行检测, 出峰时间分别为 8.673、10.912、17.138 和 18.715 min, 且能较好地地区分(图 1: A), 制作标准曲线用于定量分析。从多叶斑叶兰花蜜的可溶性

糖提取液中, 检测到蔗糖和果糖, 检测不到葡萄糖和麦芽糖(图 1: B~F)。从图 2 可见, 花蜜的 2 种可溶性糖中, 果糖在上午 10:00 的含量达到最高, 为 78.310 mg/g; 蔗糖在下午 16:00 的含量达到最高, 为 247.600 mg/g。

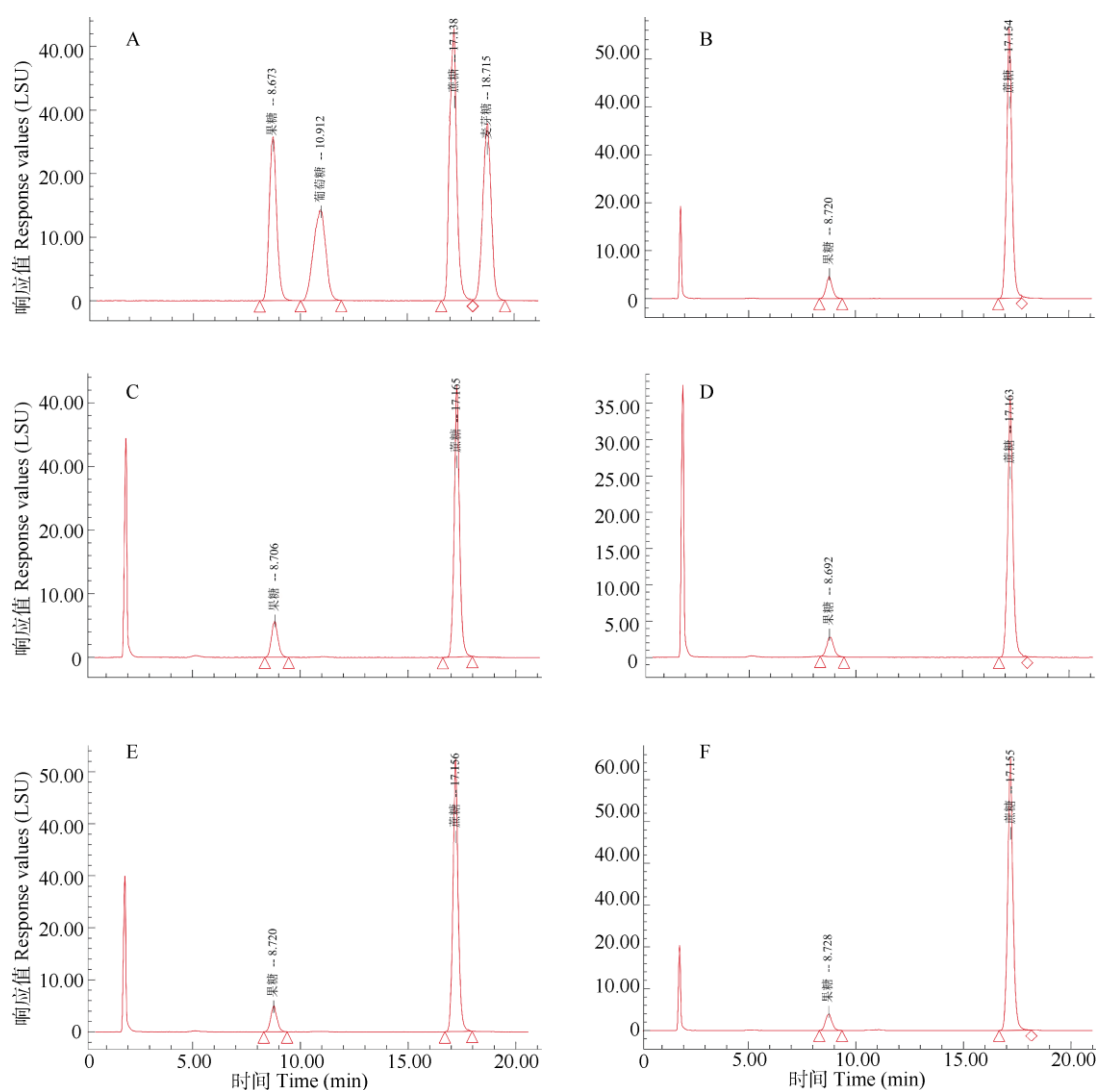


图 1 不同时段花蜜的糖成分。A: 标准品; B: 8:00; C: 10:00; D: 12:00; E: 14:00; F: 16:00。

Fig. 1 Composition of sugar in nectar at different periods. A: Standards; B: 8:00; C: 10:00; D: 12:00; E: 14:00; F: 16:00.

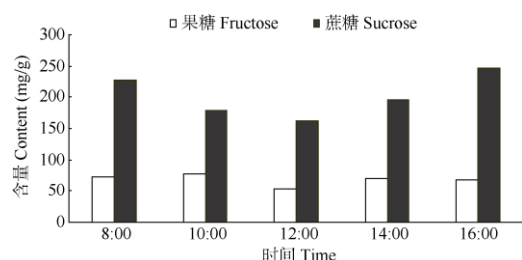


图 2 不同时段花蜜中糖含量的变化

Fig. 2 Changes in contents of sugars in nectar at different periods

2.2 花蜜的体积和糖浓度

根据不同时段单花花蜜体积与糖浓度分析可知(图 3), 单花花蜜体积在早上 10:00 达到最大, 为 $(7.19 \pm 2.29) \mu\text{L}$ ($n=10$), 不同时段单花花蜜体积有显著差异(Kruskal Wallis, $P=0.029$), 变化趋势为

10:00>8:00>16:00>14:00>12:00。糖浓度在下午 16:00 达到最大, 为 $(25.85 \pm 1.83)\%$ ($n=10$), 不同时间段糖浓度也有显著差异(Kruskal Wallis, $P=0.001$), 变化趋势为 16:00>10:00>12:00>14:00>8:00。不同时间段单花花蜜体积与糖浓度间无相关性(Pearson, $P=0.73$)。

2.3 访花昆虫和有效传粉昆虫

通过录像观察, 夜间未见有昆虫来访, 白天共有 10 种昆虫访问多叶斑叶兰。小黑斑凤蝶(*Chilasa epicydes*)和胡蜂科(Vespidae)昆虫在进行访花时只会在花的表面游走, 未见有接触花粉及柱头的行为。青背长喙天蛾(*Macroglossum bombylans*)与曲纹袖弄蝶(*Notocrypta curvifascia*)在访问过程中, 只有

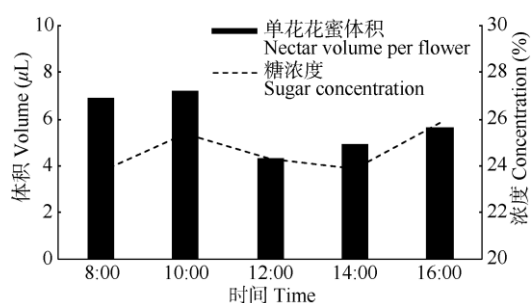


图3 不同时段单花花蜜体积与糖浓度的变化

Fig. 3 Changes in nectar volume and sugar concentration in single flower at different periods

口器前端部分伸入花中, 并没有带出花粉块。狡臭蚁属(*Technomyrmex*)和盘腹蚁属(*Aphaenogaster*)的蚁类会长时间停留在蜜囊内, 吸食花蜜, 但并不能带走花粉块, 为盗蜜者。

多叶斑叶兰传粉昆虫为中华蜜蜂、橘尾熊蜂、东亚无垫蜂和日本芦蜂。中华蜜蜂、橘尾熊蜂与东亚无垫蜂的头部长宽均大于花的开口长宽, 其口器长度与合蕊柱长度的比例分别为1:1、2:1和4:1, 其在访花时, 头部不能伸入花内, 只能将口器伸入唇瓣囊内, 退出时, 花粉块背面的粘盘分别粘在口器的末端、中部与前中部; 日本芦蜂的头部长宽小于花的开口长宽, 口器长略短于合蕊柱长度, 其在访花时, 口器虽较短, 但其头部能够伸入花内, 退出时, 花粉块背面的粘盘亦能粘在口器的末端。中华蜜蜂访花时间为每天9:00–15:00, 访花高峰期在10:00–14:00, 橘尾熊蜂访花时间为每天8:00–16:00, 访花高峰期在上午10:00–12:00与下午16:00–18:00, 东亚无垫蜂与日本芦蜂访花次数较少, 未有较详细的记录。

3 结论和讨论

3.1 花蜜体积及糖浓度对昆虫访花的影响

一般情况下, 在花蜜糖浓度低于8%时, 蜜蜂不去采集或采集的频率较低, 糖浓度高于8%时, 蜜蜂才开始采集。若外界的蜜源丰富, 蜜蜂一般要在糖浓度达到15%~20%以上时才去采集^[17]。对多叶斑叶兰花蜜1 d内糖浓度进行测定, 结果表明, 花蜜的糖浓度为23.73%~25.85%, 且在下午16:00达到最大, 不同时间段的糖浓度有显著差异, 观察发现中华蜜蜂访花高峰期在10:00–14:00, 橘尾熊蜂访花高峰期在10:00–12:00与16:00–18:00, 说明昆虫

访花频率与多叶斑叶兰单花花蜜体积有较高的相关性, 昆虫更倾向于访问较高浓度糖含量与花蜜体积的花朵。花蜜体积在一定范围内进行波动的原因也有可能是中午温度过高, 或者是调动昆虫访花积极性的一种策略。

3.2 花蜜可溶性糖成分及含量对昆虫访花的影响

Wykes等用纸层析法对多种花蜜中的糖类进行半定量分析, 发现其大多数都是由葡萄糖、果糖和蔗糖组成^[18]。Baker根据花蜜中3种常见糖间的比值[蔗糖/(葡萄糖+果糖)], 将其划分为4种类型: (1) 蔗糖占优势(大于1.0); (2) 富含蔗糖(0.5~1.0); (3) 富含己糖(0.1~0.5); (4) 己糖占优势(小于0.1)^[19]。花蜜中各种糖的成分在一定情况下能够反映出传粉昆虫特有的先天偏好^[20–21], 例如, 蜜蜂采集含有蔗糖、葡萄糖和果糖(1:1:1)的草木犀(*Melilotus* spp.)的花蜜比采集蔗糖占优势的苜蓿(*Medicago* spp.)、红三叶草(*Trifolium repens*)或杂三叶草(*T. hybridum*)的花蜜频率更高^[22]。长吻蜂、蝶类、蛾类、蜂鸟和旧大陆蝙蝠一般喜欢富含蔗糖的花蜜植物, 而短吻蜂、蝇类、栖鸟类和新大陆蝙蝠一般喜欢富含己糖的花蜜植物^[23]。通过对多叶斑叶兰花蜜可溶性糖成分及糖浓度的测定, 发现其花蜜中蔗糖/(葡萄糖+果糖)=2.96, 为蔗糖占优势的花蜜, 所以多叶斑叶兰能有效吸引各种蜂类、蝶类和蚁类访花, 且访花频率较高。通过观察共发现4种形态、大小各异的昆虫能够为其进行传粉, 由于昆虫头部大小与口器长度的不同, 使得花粉块粘在口器的位置也各有差异, 保证了形态各异的昆虫能够巧妙的与多叶斑叶兰的花结构相适应, 达到传粉目的。

参考文献

- [1] GEHRELS N, CHINCARINI G, GIOMMI P, et al. Erratum: The swift gamma-ray burst mission [J]. *Astrophys J*, 2004, 611(2): 1005–1020. doi: 10.1086/427409/meta.
- [2] HEIL M. Nectar: Generation, regulation and ecological functions [J]. *Trends Plant Sci*, 2011, 16(4): 191–200. doi: 10.1016/j.tplants.2011.01.003.
- [3] KÖHLER A, VERBURGT L, McWHORTER T J, et al. Energy management on a nectar diet: Can sunbirds meet the challenges of low temperature and dilute food? [J]. *Funct Ecol*, 2010, 24(6): 1241–1251. doi: 10.1111/j.1365-2435.2010.01728.x.
- [4] JERSÁKOVÁ J, JOHNSON S D, KINDLMANN P. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids [J]. *Biol Rev Camb Philos*

- Soc, 2006, 81(2): 219–235. doi: 10.1017/S1464793105006986.
- [5] REN Z X, WANG H, LUO Y B. Deceptive pollination of orchids [J]. Biodiv Sci, 2012, 20(3): 270–279. doi: 10.3724/SP.J.1003.2012.10046.
任宗听, 王红, 罗毅波. 兰科植物欺骗性传粉 [J]. 生物多样性, 2012, 20(3): 270–279. doi: 10.3724/SP.J.1003.2012.10046.
- [6] SOLIVA M, WIDMER A. Genetic and floral divergence among sympatric populations of *Gymnadenia conopsea* s.l. (Orchideaceae) with different flowering phenology [J]. Int J Plant Sci, 1999, 160(5): 897–905. doi: 10.1086/314192.
- [7] NILSSON L A. Orchid pollination biology [J]. Trends Ecol Evol, 1992, 7(8): 255–259. doi: 10.1016/0169-5347(92)90170-G.
- [8] TREMBLAY R L, ACKERMAN J D, ZIMMERMAN J K, et al. Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: A spasmodic journey to diversification [J]. Biol J Linnean Soc, 2004, 84(1): 1–54. doi: 10.1111/j.1095-8312.2004.00400.x.
- [9] WANG C W, LIANG Y L, ZHANG Z, et al. New records of Orchidaceae in Jiangxi Province [J]. J For Environ, 2018, 38(3): 367–371. doi: 10.13324/j.cnki.jfcf.2018.03.017.
王程旺, 梁跃龙, 张忠, 等. 江西省兰科植物新记录 [J]. 森林与环境学报, 2018, 38(3): 367–371. doi: 10.13324/j.cnki.jfcf.2018.03.017.
- [10] WANG X L, LI J W, WANG C W, et al. New information of orchids in Tibet, China [J]. Guihaia, 2018, 38(11): 1440–1445. doi: 10.11931/guihaia.gxzw201803037.
王喜龙, 李剑武, 王程旺, 等. 中国西藏兰科植物新资料 [J]. 广西植物, 2018, 38(11): 1440–1445. doi: 10.11931/guihaia.gxzw201803037.
- [11] XIAO Y A, LI X H, HU W H, et al. Study of the reproductive allocation on the biomass of *Goodyera schlechtendaliana* in the natural populations [J]. Guihaia, 2006, 26(1): 28–31. doi: 10.3969/j.issn.1000-3142.2006.01.008.
肖宜安, 李晓红, 胡文海, 等. 斑叶兰自然种群生物量生殖分配研究 [J]. 广西植物, 2006, 26(1): 28–31. doi: 10.3969/j.issn.1000-3142.2006.01.008.
- [12] YIN Q M, WANG R K, HU C, et al. Isolation and identification of chemical constituents from *Goodyera schlechtendaliana* [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 2019, 25(2): 181–185. doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20190111.
殷启蒙, 王润坤, 胡琛, 等. 斑叶兰化学成分的分离鉴定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(2): 181–185. doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20190111.
- [13] HE G R, HE B Z, WU S S, et al. Establishment of an efficient regeneration system in *Goodyera foliosa* and comprehensive analysis of functionally regulated genes involved in developmental regulatory pathways based on transcriptome analysis [J]. China Biotechnol, 2018, 38(12): 57–64. doi: 10.13523/j.cb.20181208.
何官榕, 何碧珠, 吴沙沙, 等. 多叶斑叶兰繁殖体系建立及基于转录组的发育调控途径功能基因研究 [J]. 中国生物工程杂志, 2018, 38(12): 57–64. doi: 10.13523/j.cb.20181208.
- [14] WANG A B, XU Y, TU M, et al. Tissue culture of *Goodyera schlechtendaliana* in Wufushan [J]. Mol Plant Breed, 2019, 17(17): 5748–5753.
王爱斌, 许悦, 涂敏, 等. 五府山斑叶兰(*Goodyera schlechtendaliana*)的组织培养 [J]. 分子植物育种, 2019, 17(17): 5748–5753.
- [15] LI Z D, LIU J X, HUANG S Q. A comparison of several methods used in the field for nectar collection and concentration analysis [J]. Acta Phytotaxon Sin, 2006, 44(3): 320–326.
李左栋, 刘静萱, 黄双全. 传粉生物学中几种花蜜采集和糖浓度测定方法的比较 [J]. 植物分类学报, 2006, 44(3): 320–326.
- [16] DONG K, LIU Y Q, LU Y, et al. Influences of different boron levels on oilseed rape (*Brassica campestris* L.) flowering and nectar secretion [J]. J Bee, 2008, 28(8): 3–6. doi: 10.3969/j.issn.1003-9139.2008.08.001.
董坤, 刘意秋, 鲁耀, 等. 不同施硼水平对油菜开花泌蜜的影响 [J]. 蜜蜂杂志, 2008, 28(8): 3–6. doi: 10.3969/j.issn.1003-9139.2008.08.001.
- [17] TAN K, LATTY T, HU Z, et al. Preferences and tradeoffs in nectar temperature and nectar concentration in the Asian hive bee *Apis cerana* [J]. Behav Ecol Sociobiol, 2014, 68(1): 13–20. doi: 10.1007/s00265-013-1617-3.
- [18] WYKES G R. An investigation of the sugars present in the nectar of flowers of various species [J]. New Phytol, 1952, 51(2): 210–215. doi: 10.1111/j.1469-8137.1952.tb06127.x.
- [19] BAKER H G, BAKER I. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type [M]// JONES C E, LITTLE R J. Handbook of Experimental Pollination Biology. New York: van Nostrand Reinhold, 1983: 117.
- [20] RIO C M D, BAKER H G, BAKER I. Ecological and evolutionary implications of digestive processes: Bird preferences and the sugar constituents of floral nectar and fruit pulp [J]. Experientia, 1992, 48(6): 544–551. doi: 10.1007/BF01920237.
- [21] SCHONDUBE J E, RIO C M D. Sugar and protein digestion in flower-piercers and hummingbirds: A comparative test of adaptive convergence [J]. J Comp Physiol B, 2004, 174(3): 263–273. doi: 10.1007/s00360-003-0411-3.
- [22] GOODWIN R M, COX H M, TAYLOR M A, et al. Number of honey bee visits required to fully pollinate white clover (*Trifolium repens*) seed crops in Canterbury, New Zealand [J]. N Z J Crop Hort Sci, 2011, 39(1): 7–19. doi: 10.1080/01140671.2010.520164.
- [23] NEPI M, von ADERKAS P, WAGNER R, et al. Nectar and pollination drops: How different are they? [J]. Ann Bot, 2009, 104(2): 205–219. doi: 10.1093/aob/mcp124.