

DOI: 10.20103/j.stxb.202209092584

郭新军, 孟长军, 封婧. 基于山地蜂蜜花粉组成的中华蜜蜂传粉多样性研究. 生态学报, 2023, 43(23): 9721-9732.

Guo X J, Meng C J, Feng J. Diversity of plants foraged by *Apis cerana* based on pollen composition in honey samples in several mountainous areas. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(23): 9721-9732.

基于山地蜂蜜花粉组成的中华蜜蜂传粉多样性研究

郭新军*, 孟长军, 封 婧

西安文理学院生物与环境工程学院, 西安市秦岭天然产物开发与抗癌类创新药物研究重点实验室, 西安 710065

摘要: 中华蜜蜂为多种植物传粉, 具有重要的生态服务价值。为进一步了解中华蜜蜂选择蜜粉源植物的多样性与特征, 采用聚合酶链式反应(PCR)、DNA 条形码、高通量测序等技术, 研究了源自陕西宝鸡、贵州望谟和广西凤山蜂巢蜜中的花粉来源。通过对样品花粉 *rbcL* 基因片段扩增及测序、分析, 发现各样本间可操作分类单元(OTU)水平上蜜粉源植物 Alpha 多样性指数无显著差异, 同一地点样品不同重复间存在较高的相关性, 而不同地区样本相关性较低。三地共鉴定出 27 目 46 科 71 属 82 种蜜粉源植物, 其中宝鸡市、望谟县、凤山县样本中分别鉴定出 57 种、30 种和 40 种, 各地蜜粉源植物的物种组成存在较大差异。这些蜜粉源植物中, 菊目植物种类最多, 其次为毛茛目, 分别有 12 种和 7 种。其中草本植物和木本植物(含乔木、灌木和木质藤本等)分别有 44 种和 38 种。研究对蜜粉源植物花序特点进行了分析, 但并未发现相关性状对中华蜜蜂选择具有的影响。从属的区系成分分析, 总体上温带分布区类型的植物属多于热带分布区类型的属, 所占比例分别为 46.5% 和 36.6%, 但在凤山县样本中出现热带分布区类型多于温带分布区类型的情况。在不同样品中, 红足蒿(*Artemisia rubripes*)、向日葵(*Helianthus annuus*)、茼蒿(*Brassica rapa*)、粗糠柴(*Mallotus philippensis*)、枇杷(*Eriobotrya japonica*)等分别占有一定优势, 其与中华蜜蜂的关系值得进一步研究。根据蜜粉源植物的系统进化关系, 中华蜜蜂访问的蜜粉源植物处于不同进化地位的分支, 其中在菊类分支和蔷薇类分支比较集中。研究揭示了中华蜜蜂传粉植物组成特点, 为进一步认知中华蜜蜂传粉服务功能的重要性提供依据。

关键词: 中华蜜蜂; 传粉; 蜜粉源植物; 高通量测序

Diversity of plants foraged by *Apis cerana* based on pollen composition in honey samples in several mountainous areas

GUO Xinjun*, MENG Changjun, FENG Jing

Key Laboratory of Natural Product Development and Anticancer Innovative Drug Research in Qinling, School of Biological and Environmental Engineering, Xi'an University, Xi'an 710065, China

Abstract: The honeybee *Apis cerana*, which can pollinate different plants, has an important ecological service value. To further understand the diversity and characteristics of *Apis cerana* selecting nectar and pollen plants, pollen composition of honey samples from Baoji (in Shaanxi Province), Wangmo (in Guizhou Province), and Fengshan (in Guangxi Zhuang Autonomous Region) were studied using PCR, DNA barcoding, and high-throughput sequencing technologies to assess the diversity of plants foraged by *Apis cerana*. Based on analysis of the obtained sequences of *rbcL* gene fragments, it was found that there was no significant difference in Alpha diversity index of nectar and pollen plants at the OTU level among all samples and that there was a high correlation among different replicates of samples from the same site, but a low correlation among samples from different regions. A total of 82 species of nectar and pollen plants belonging to 71 genera, 46 families, and 27 orders were identified, among which 57 species were identified from BJ samples, 30 species were identified from WM samples, and 40 species were identified from FS samples, with great differences in the species composition of the

基金项目: 陕西省自然科学基金研究计划项目(2020JM-619); 西安市科技局农业技术研发项目(20NYF0061)

收稿日期: 2022-09-09; 网络出版日期: 2023-08-15

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: guoxj@xawl.edu.cn

nectar and pollen plants in different regions. According to the plants identified from the selected samples, the order Asterales has the most abundant species, followed by Ranunculales, with 12 species and 7 species respectively. Among them, there are 44 species of herbs and 38 species of woody plants (including trees, shrubs and woody vines, etc.). The characteristics of inflorescence of the nectar and pollen plants were analyzed, but no obvious preference for inflorescence selection was found in this study. In terms of the floral composition of the different genera, there are generally more plants belonging to temperate distribution types than tropical distribution types, with 46.5% and 36.6%, respectively, while in the FS samples, there are more tropical distribution types than temperate distribution types. The dominant species in different samples, including *Artemisia rubripes*, *Helianthus annuus*, *Brassica rapa*, *Mallotus philipensis*, and *Eriobotrya japonica*, etc. deserve further study to understand their relationship to *Apis cerana*. According to the phylogenetic relationships of nectar and pollen plants, the plants visited by *Apis cerana* lie in different evolutionary clades, with the main concentration in the Rosids and Asterids clades. This study reveals the composition characteristics of *Apis cerana* selecting nectar and pollen plants which will provide a basis to understand the importance of pollination service function of *Apis cerana*.

Key Words: *Apis cerana*; pollination; nectar and pollen plants; high-throughput sequencing

中华蜜蜂(*Apis cerana*)善于应用零星蜜源,能较好地适应山区环境^[1-2],是我国分布最广的本土蜂种之一。近年来,随着栖息地丧失、气候变化等^[3-5],多地野生中华蜜蜂资源已明显下降,在一些地区甚至已经完全消失^[6-8]。作为重要的传粉昆虫之一,中华蜜蜂独特的形态结构和生物学特性在植物传粉方面具有很大的优势^[9-10],对维持生物多样性和维护生态系统的稳定等起到重要的作用^[11-13]。中华蜜蜂种群数量减少意味着植物的授粉率下降、繁殖效率降低、遗传多样性降低等,进而影响生态系统稳定。因此,有必要进一步提升对中华蜜蜂传粉多样性的认知水平,增强对其传粉功能与生态服务价值重要性的认识。

利用孢粉学方法可通过对花粉形态的鉴定、分类来确定蜜蜂传粉植物的组成特点^[14],但需要专业的花粉分类知识与技巧。新兴的 DNA 条形码和高通量测序等技术可用来快速而准确地鉴定花粉混合物的物种组成^[15-18],在一定程度上能克服以往研究中植物分类知识及花粉鉴定基础的欠缺对研究者造成的瓶颈。利用该类技术,研究者对不同地区蓝彩带蜂、意大利蜜蜂、白斑切叶蜂等传粉蜜蜂访问的蜜粉源植物进行了分析^[18-20],为传粉昆虫访花植物种类的鉴定提供了新的思路。

为进一步了解中华蜜蜂访问蜜粉源植物的组成及特点,增强人们对中华蜜蜂的传粉服务功能重要性的认识,本研究利用聚合酶链式反应(PCR)、DNA 条形码和高通量测序等技术,通过分析蜂巢蜜花粉的来源,明确研究区域蜜粉源植物的组成及其特点,为了解中华蜜蜂对蜜粉源植物选择的偏好性及中华蜜蜂与蜜粉源植物间的进化关系提供理论基础,为中华蜜蜂资源的保护提供一定依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

样地分别选择在陕西省宝鸡市(BJ)、贵州省望谟县(WM)、广西壮族自治区凤山县(FS),于2021年9月—11月在每地随机选择3个蜂箱(相距50 m以内,各箱内蜂蜜积累时间均达1年以上)各收集1份蜂巢蜜样品作为1个重复,每地共3个重复。蜂蜜样本来源地点信息如表1所示。

1.2 实验方法

1.2.1 样品花粉分离、DNA 提取、PCR 及高通量测序

称取蜂巢蜜样品各50 g,分别置于烧杯中,各加入100 mL蒸馏水,充分搅拌得到样液。分别取10 mL样液置于离心管中,3000 r/min离心10 min,去除上清液后分别加入蒸馏水至10 mL,再进行第二次离心。去除上清液后保留底部残留物,镜检后作为花粉样本。

利用E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA Kit试剂盒提取花粉样本DNA,采用Qubit试剂盒定量检测DNA浓度

以确定 PCR 反应中其用量。PCR 扩增 *rbcl* 基因目的片段的引物为 *rbcl*-F (CTTACCAGYCTTGATCG TTACAAAGG) 和 *rbcl*-R (GTAAAATCAAGTCCACCRCG)^[21–22]。采用 2×Hieff® Robust PCR Master Mix PCR 预混液进行两轮 PCR 反应,并在第二轮扩增中引入 Illumina 桥式 PCR 兼容引物,构建文库。

表 1 蜂巢蜜来源地信息
Table 1 Information on the source of honey

样品地编号 Samples	地点 Regions	位置信息 Longitude and Latitude	海拔 Altitude/m
BJ	陕西省宝鸡市	东经 106°29', 北纬 34°37'	1005
WM	贵州省望谟县	东经 106°06', 北纬 25°10'	815
FS	广西壮族自治区凤山县	东经 106°52', 北纬 24°37'	706

文库大小通过琼脂糖凝胶电泳检测,扩增产物委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行高通量测序。

1.2.2 数据处理

利用 Usearch 软件将获得的序列进行聚类^[23],得到具有代表性的可操作分类单元(OTU)序列。计算各样本 OTU 水平上蜜粉源植物 Alpha 多样性数,并利用 SparCC 计算样本间的相关系数和 *P* 值,使用 R 语言的 gplots 包绘制样本相关性热图。通过核酸序列比对工具(BLASTN)与基因库(GenBank)中的数据进行比较(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),筛选最佳比对结果并获得相应的植物名称,植物分类系统参考中国植物物种信息(<http://db.kib.ac.cn/>)和中国科学院植物科学数据中心(<https://www.plantplus.cn/cn>)等。对蜜粉源植物的分布及生物地理特点、花序类型信息进行统计、分析。各蜜粉源植物属的区系特征参考吴征镒等^[24–25]。

1.2.3 各地样本蜜粉源植物优势种分析

根据样本中各 OTU 的序列数,计算各种蜜粉源植物在样本中的相对丰度,统计样本中的优势物种,比较样本间物种丰度的差异。

1.2.4 蜜粉源植物系统进化关系分析

使用 MEGA11 对获得的各种蜜粉源植物 *rbcl* 基因部分序列进行比对,并采用邻接法(NJ)构建系统树^[26–27],对蜜粉源植物的系统发育关系进行分析,并与被子植物系统发育研究组(APG)建立的被子植物分类系统第四版(APG IV)进行比较^[28]。

2 结果与分析

2.1 蜜粉源植物 Alpha 多样性与地理相关性

各样本文库的覆盖率为 1.00±0.00,说明样品中序列未被检测出的概率很低,反映了本次测序结果可代表样品的真实情况。各样本序列数均在 40000 条以上,包含的蜜粉源植物物种丰富度较高。Chao 和 Ace 指数反映了各样本中的物种丰富度,Shannon 和 Simpson 指数反映了各样本物种多样性,Shannoneven 指数反映了各样本物种均匀度。各样本间 OTU 水平上蜜粉源植物 Alpha 多样性指数无显著差异(表 2)。

表 2 样本蜜粉源植物组成 Alpha 多样性指数
Table 2 Alpha diversity indexes of nectar and pollen plants in different samples

多样性指数 Diversity indexes	样本 Samples		
	BJ	WM	FS
覆盖率 Coverage	1.00±0.00a	1.00±0.00a	1.00±0.00a
样本序列数 Number of valid sequences	48617.67±2639.10a	84304.33±63103.81a	43103.67±746.33a
Chao 指数 Chao index	73.17±29.01a	43.44±35.13a	59.12±7.26a
Ace 指数 Ace index	76.28±25.45a	44.1±34.58a	64.01±2.79a
Shannon 指数 Shannon index	1.57±0.94a	1.19±0.62a	1.69±0.32a
Simpson 指数 Simpson index	0.39±0.34a	0.42±0.17a	0.27±0.10a
Shannoneven 指数 Shannoneven index	0.36±0.19a	0.32±0.09a	0.42±0.06a

表中数据为平均值±标准偏差,a 表示 *t* 检验差异不显著

各地样本的不同组样品间存在较高的相关性,而不同地区样本间相关性较低,但 WM 和 FS 个别样品具有相对较高的相关性(图 1),可能与两地距离相对较近有关。样本间的相关性反映出结果具有一定重复性,且不同地域样本具有明显区别。

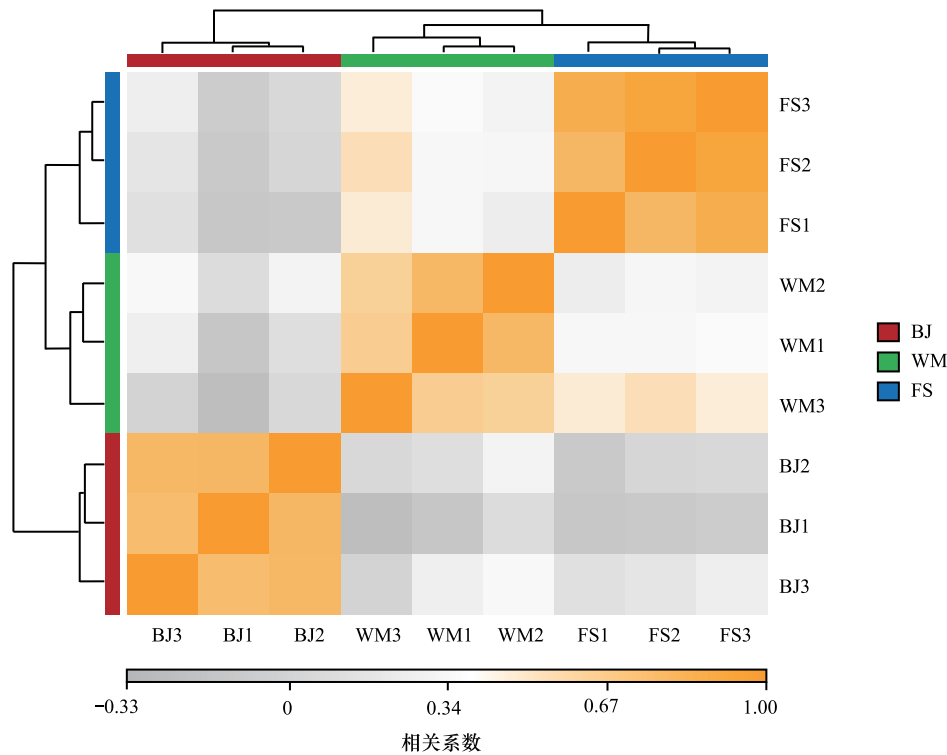


图 1 样本相关性热图

Fig.1 Heatmap of correlation between different samples

BJ:陕西省宝鸡市样本;WM:贵州省望谟县样本;FS:广西壮族自治区凤山县样本

2.2 各地样品中蜜粉源植物物种组成

通过对 3 地 9 个样品测序获得的序列进行聚类,共获得 241 个 OTU,基于各 OTU 序列比对分析,共获得蜜粉源植物 82 种(其中 19 种只鉴定到属)(表 3),隶属于 27 目 46 科 71 属。各样本中,鉴定出最多蜜粉源植物的是陕西省宝鸡市样本(BJ),有 57 种;贵州省望谟县样本(WM)中有 30 种,广西壮族自治区凤山县样本(FS)中有 40 种。BJ 和 WM 共有种 20 个,BJ 和 FS 共有种 24 个,WM 和 FS 共有种 19 个,其中三地共有种 18 个,占 22.0%,主要有红足蒿(*Artemisia rubripes*)、芜青(*Brassica rapa*)、翅铃(*Eurya alata*)等。仅在一个地区的样本中出现的共有 55 种,占 67.1%,其中有 31 种出现在 BJ 样本中,有 9 种出现在 WM 样本中,有 15 种出现在 FS 样本中。由此可见,三地样品中蜜粉源植物的物种组成存在较大差异。

鉴定出的蜜粉源植物中,菊目最多,有 12 种,毛茛目有 7 种,蔷薇目、禾本目、唇形目各有 6 种。草本植物和木本植物(含乔木、灌木和木质藤本等)分别为 44 种和 38 种。这些植物有少数是花单生(如蛇莓 *Duchesnea indica*),多数形成花序,花序类型包括伞形花序(如蒜 *Allium sativum*)、头状花序(如鬼针草 *Bidens pilosa*)、总状花序(如芜青 *Brassica rapa*)、穗状花序(如野草香 *Elsholtzia cyprianii*)、圆锥花序(如漆树 *Toxicodendron vernicifluum*)等多种类型,但研究结果不能反映中华蜜蜂对花序选择的偏好性。

结果显示,中华蜜蜂采集的蜜粉源植物属的区系复杂(表 3,表 4),其中包含世界分布区类型(类型 1)属共 12 个,如铁线莲属(*Clematis*)、鬼针草属(*Bidens*)等;热带分布区类型(包括类型 2—7)属共 26 个,其中最多的是泛热带分布区类型(类型 2)属,共 9 个;温带分布区类型(包括类型 8—14)属共 33 个,其中最多的是北

表 3 鉴定出的中华蜜蜂访问蜜粉源植物及其分布
Table 3 The identified species and their distribution of nectar and pollen plants foraged by *Apis cerana*

序号 No.	目 Orders	科 Families	物种 Species	样本 Sample			属的分布区类型 Areal-type of genera
				BJ	WM	FS	
1	伞形目 Apiales	伞形科 Apiaceae	北柴胡 <i>Bupleurum chinense</i>	+	-	-	北温带分布
2	天门冬目 Asparagales	石蒜科 Amaryllidaceae	蒜 <i>Allium sativum</i>	+	-	-	北温带分布
			葱属 <i>Allium</i> sp.	+	-	-	
4			葱属 <i>Allium</i> sp.	+	-	-	
5	菊目 Asterales	菊科 Asteraceae	藿香蓟 <i>Ageratum conyzoides</i>	-	-	+	热带亚洲和热带美洲间断分布
6			红足蒿 <i>Artemisia rubripes</i>	+	+	+	北温带分布
7			蒿属 <i>Artemisia</i> sp.	+	-	-	
8			假苦菜属 <i>Aschellia</i> sp.	-	-	+	地中海区、西亚至中亚分布
9			紫菀属 <i>Aster</i> sp.	+	+	-	北温带分布
10			鬼针草 <i>Bidens pilosa</i>	+	+	+	世界分布
11			假东风草 <i>Blumea riparia</i>	+	+	+	旧世界热带分布
12			菊属 <i>Cirsium</i> sp.	+	+	+	北温带分布
13			野茼蒿属 <i>Crassocephalum</i> sp.	-	-	+	热带亚洲至热带非洲分布
14			大吴风草属 <i>Forfugium</i> sp.	-	+	-	东亚分布
15			向日葵 <i>Helianthus annuus</i>	+	-	-	东亚和北美洲间断分布
16			锯叶合耳菊 <i>Synotis nagenisium</i>	+	+	+	东亚分布
17	木兰藤目 Austrobaileyales	五味子科 Schisandraceae	华中五味子 <i>Schisandra sphenanthera</i>	+	-	-	东亚和北美洲间断分布
18	十字花目 Brassicales	十字花科 Brassicaceae	芜菁 <i>Brassica rapa</i>	+	+	+	北温带分布
19			芸薹属 <i>Brassica</i> sp.	-	+	-	
20	石竹目 Caryophyllales	苋科 Amaranthaceae	尖头叶藜 <i>Chenopodium acuminatum</i>	+	-	-	世界分布
21		蓼科 Polygonaceae	皱叶酸模 <i>Rumex crispus</i>	+	-	-	世界分布
22	卫矛目 Celastrales	卫矛科 Celastraceae	南蛇藤 <i>Celastrus orbiculatus</i>	+	-	-	泛热带分布
23	山茱萸目 Cornales	山茱萸科 Cornaceae	灯台树 <i>Cornus controversa</i>	+	+	-	北温带分布
24	葫芦目 Cucurbitales	葫芦科 Cucurbitaceae	黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	+	-	+	热带亚洲至热带非洲分布
25	柏目 Cupressales	柏科 Cupressaceae	侧柏 <i>Platycladus orientalis</i>	+	+	+	东亚分布
26	川续断目 Dipsacales	忍冬科 Caprifoliaceae	忍冬 <i>Lonicera japonica</i>	+	-	-	北温带分布
27	杜鹃花目 Ericales	猕猴桃科 Actinidiaceae	软枣猕猴桃 <i>Actinidia arguta</i>	+	-	-	东亚分布
28		柿科 Ebenaceae	君迁子 <i>Diospyros lotus</i>	+	-	-	泛热带分布
29		五列木科 Pentaphylacaceae	翅柃 <i>Eurya alata</i>	+	+	+	热带亚洲和热带美洲间断分布
30			柃属 <i>Eurya</i> sp.	-	+	-	
31		山茶科 Theaceae	茶 <i>Camellia sinensis</i>	-	+	+	热带亚洲分布

续表

序号 No.	目 Orders	科 Families	物种 Species	样本 Sample			属的分布区类型 Areal-type of genera
				BJ	WM	FS	
32	豆目 Fabales	豆科 Fabaceae	紫穗槐 <i>Amorpha fruticosa</i>	+	-	-	东亚和北美洲间断分布
33			毛排钱树 <i>Phyllodium elegans</i>	-	-	+	热带亚洲分布
34			刺槐 <i>Robinia pseudacacia</i>	+	-	-	东亚和北美洲间断分布
35			白刺花 <i>Sophora davidii</i>	+	-	-	世界分布
36	壳斗目 Fagales	桦木科 Betulaceae	桤木 <i>Alnus crenastogyne</i>	+	+	+	北温带分布
37		壳斗科 Fagaceae	乌冈栎 <i>Quercus phillyreoides</i>	+	-	+	北温带分布
38			栎属 <i>Quercus</i> sp.	+	-	-	
39		胡桃科 Juglandaceae	山核桃属 <i>Carya</i> sp.	-	+	-	东亚和北美洲间断分布
40	龙胆目 Gentianales	龙胆科 Gentianaceae	峨眉双蝴蝶 <i>Tripterospermum cordatum</i>	-	+	-	东亚分布
41		茜草科 Rubiaceae	牛白藤 <i>Hedyotis hedyoidea</i>	-	+	-	泛热带分布
42			薄皮木 <i>Leptodermis oblonga</i>	+	-	-	东亚分布
43		爵床科 Acanthaceae	小叶散爵床 <i>Justicia diffusa</i>	-	-	+	泛热带分布
44	唇形目 Lamiales		板蓝 <i>Strobilanthes cusia</i>	-	-	+	热带亚洲至热带非洲分布
45		唇形科 Lamiaceae	野草香 <i>Elsholtzia cyprianii</i>	+	+	+	旧世界温带分布
46			甘肃黄芩 <i>Scutellaria rehderiana</i>	+	-	-	世界分布
47		木犀科 Oleaceae	探春花 <i>Chrysojasminum floridum</i>	+	-	-	泛热带分布
48	樟目 Laurales	车前科 Plantaginaceae	金鱼草 <i>Antirrhinum majus</i>	+	-	-	北温带分布
49		樟科 Lauraceae	山鸡根 <i>Litsea cubeba</i>	-	-	+	热带亚洲和热带美洲间断分布
50		菝葜科 Smilacaceae	小叶菝葜 <i>Smilax microphylla</i>	+	-	-	泛热带分布
51			菝葜属 <i>Smilax</i> sp.	+	-	-	
52	金虎尾目 Malpighiales	大戟科 Euphorbiaceae	粗糠柴 <i>Mallotus philippensis</i>	+	+	+	旧世界热带分布
53		杨柳科 Salicaceae	山杨 <i>Populus davidiana</i>	-	+	-	北温带分布
54		锦葵科 Malvaceae	毛刺蒴麻 <i>Triumfetta cana</i>	-	-	+	泛热带分布
55		禾本科 Poaceae	薏苡 <i>Coix lacryma-jobi</i>	+	+	+	热带亚洲分布
56			大叶慈 <i>Dendrocalamus farinosus</i>	-	-	+	热带亚洲至热带非洲分布
57			黄茅属 <i>Heteropogon</i> sp.	-	-	+	泛热带分布
58			白顶早熟禾 <i>Poa acroleuca</i>	+	-	+	世界分布
59			玉蜀黍 <i>Zea mays</i>	+	+	+	热带亚洲和热带美洲间断分布
60	毛茛目 Ranunculales	香蒲科 Typhaceae	香蒲 <i>Typha orientalis</i>	+	-	-	世界分布
61		木通科 <i>Lardizabalaceae</i>	三叶木通 <i>Akebia trifoliata</i>	+	-	-	东亚分布
62		罂粟科 Papaveraceae	小果博落回 <i>Macleaya microcarpa</i>	+	-	-	东亚分布
63		毛茛科 Ranunculaceae	银莲花属 <i>Anemone</i> sp.	+	-	+	世界分布

续表

序号 No.	目 Orders	科 Families	物种 Species	样本 Sample			属的分布区类型 Areal-type of genera
				BJ	WM	FS	
64			银莲花属 <i>Anemone</i> sp.	+	-	+	
65			银莲花属 <i>Anemone</i> sp.	-	-	+	
66			扬子铁线莲 <i>Clematis ganpiniana</i>	+	+	+	世界分布
67			禺毛茛 <i>Ranunculus cantoniensis</i>	-	+	-	世界分布
68	蔷薇目 Rosales	大麻科 Cannabaceae	葎草 <i>Humulus scandens</i>	+	+	+	北温带分布
69		鼠李科 Rhamnaceae	多花勾儿茶 <i>Berchemia floribunda</i>	+	-	-	东亚和北美洲间断分布
70			勾儿茶属 <i>Berchemia</i> sp.	+	-	-	
71		蔷薇科 Rosaceae	蛇莓 <i>Duchesnea indica</i>	+	-	+	热带亚洲分布
72			枇杷 <i>Eriobotrya japonica</i>	+	+	+	东亚分布
73			高粱蔗 <i>Rubus lamertianus</i>	+	+	+	世界分布
74	檀香目 Santalales	桑寄生科 Loranthaceae	红花寄生 <i>Scurrula parasitica</i>	-	+	-	热带亚洲分布
75	无患子目 Sapindales	漆树科 Anacardiaceae	漆树 <i>Toxicodendron vernicifluum</i>	+	+	+	东亚和北美洲间断分布
76		无患子科 Sapindaceae	龙眼 <i>Dimocarpus longan</i>	-	-	+	热带亚洲分布
77			栲树 <i>Koeleruteria paniculata</i>	+	-	-	东亚分布
78		苦木科 Simaroubaceae	臭椿 <i>Ailanthus altissima</i>	+	-	-	热带亚洲至热带大洋洲分布
79	茄目 Solanales	旋花科 Convolvulaceae	番薯 <i>Ipomoea batatas</i>	-	-	+	泛热带分布
80		茄科 Solanaceae	少花龙葵 <i>Solanum americanum</i>	-	-	+	世界分布
81			茄属 <i>Solanum</i> sp.	-	-	+	
82	葡萄目 Vitales	葡萄科 Vitaceae	变叶葡萄 <i>Vitis piasezkii</i>	+	-	-	北温带分布

表中“+”表示样本中出现,“-”表示样本中未出现

温带分布区类型(类型 8)属。样本中未见分布区类型有温带亚洲分布区类型(类型 11)、中亚分布区类型(类型 13)和中国特有分布区类型(类型 15)三种。根据属的区系成分分析,温带分布区类型的植物属最多,其次为热带分布区类型,所占比例分别为 46.5%和 36.6%,其中 BJ 和 WM 样本中属的分布区类型均是温带分布区类型多于热带分布区类型,而 FS 样本中热带分布区类型多于温带分布区类型。

表 4 鉴定出的蜜粉源植物属的分布区类型
Table 4 Areal-types of genera of nectar and pollen plants

类型 Types	属的数目/个 Number of genera	百分比 Percentage/%	各样本中属的数目/个 Number of genera of different samples		
			BJ	WM	FS
1.世界分布 Cosmopolitan	12	16.9	10	4	6
2.泛热带分布 Pantropic	9	12.7	4	1	4
3.热带亚洲和热带美洲间断分布 Tropical Asia and Tropical America disjuncted	4	5.6	2	2	4
4.旧世界热带分布 Old World Tropic	2	2.8	2	2	2
5.热带亚洲至热带大洋洲分布 Tropical Asia and Tropical Australasia	1	1.4	1	0	0
6.热带亚洲至热带非洲分布 Tropical Asia to Topical Africa	4	5.6	1	0	4
7.热带亚洲分布 Tropical Asia	6	8.5	2	3	5
8.北温带分布 North Temperate	14	19.7	13	8	6
9.东亚和北美洲间断分布 East Asia and North America disjuncted	7	9.9	6	2	1
10.旧世界温带分布 Old World Temperate	1	1.4	1	1	1
11.温带亚洲分布 Temperate Asia	0	0.0	0	0	0
12.地中海区、西亚至中亚分布 Mediterranean, West Asia to Central Asia	1	1.4	0	0	1
13.中亚分布 Central Asia	0	0.0	0	0	0
14.东亚分布 East Asia	10	14.1	8	5	3
15.中国特有分布 Endemic to China	0	0.0	0	0	0
总计 Total	71	100	50	28	37

2.3 各地样本中蜜粉源植物优势种分析

由图 2 可知,不同样本中优势物种组成情况及其所占比例不同,其中 BJ 样本中有红足蒿(*Artemisia rubripes*)、向日葵(*Helianthus annuus*)等,WM 样本中有芜青(*Brassica rapa*)、粗糠柴(*Mallotus philippensis*)等,FS 样本中有芜青(*Brassica rapa*)、枇杷(*Eriobotrya japonica*)等。

2.4 蜜粉源植物系统进化关系

中华蜜蜂访问的蜜粉源植物处于 APG IV 系统的不同分支,包括基部支群、木兰类分支、单子叶植物、真双子叶植物等(图 3),说明中华蜜蜂对蜜粉源植物的选择具有一定广泛性,其中在核心双子叶植物菊类分支和蔷薇类分支中某些位置比较集中。

3 讨论

蜜蜂是重要的传粉昆虫类群之一,对其蜜粉源植物多样性的研究可为其资源的保护提供一定依据^[18]。中华蜜蜂适应于山地生态环境^[29],善于利用零星蜜源^[9-10],传统中华蜜蜂养殖取蜜时间往往间隔一年以上,其蜂蜜中包含不同花期植物来源的花粉。本研究在三地样本中,分别鉴定出蜜粉源植物 57 种(陕西省宝鸡市)、30 种(贵州省望谟县)和 40 种(广西壮族自治区凤山县)。这些蜜粉源植物中,除有刺槐、龙眼、白刺花、向日葵、枇杷、铃等主要蜜粉源植物以及漆树、葎草、紫穗槐、臭椿等重要辅助蜜粉源植物^[30]外,还有一些鲜见文献报道的物种。这些山区中蜜粉源植物非常丰富,中华蜜蜂在各地实际访问的植物种类数远大于此。若集

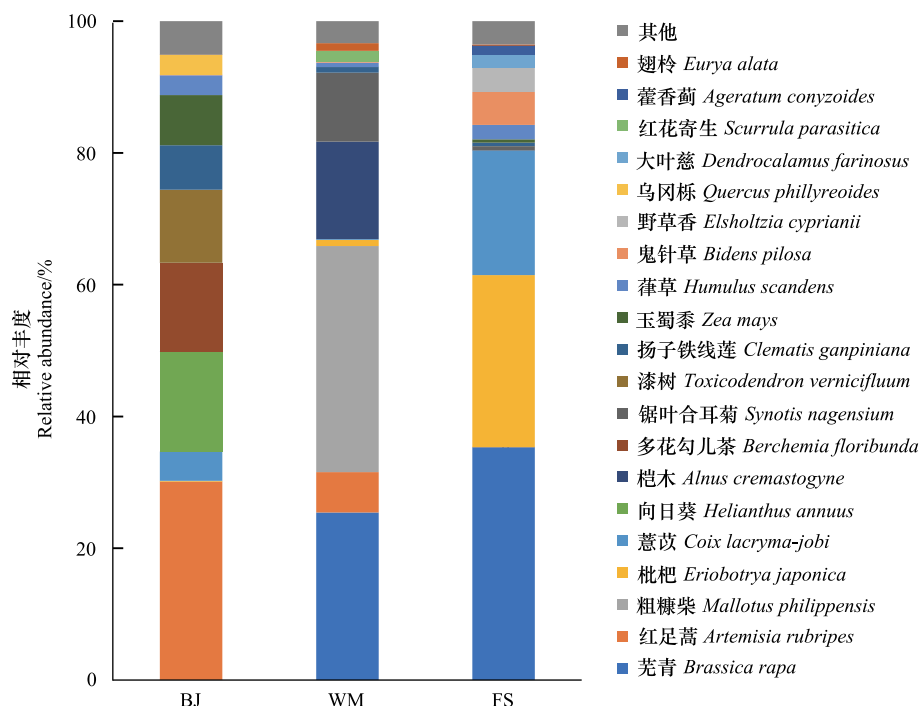


图2 各地样本中蜜粉源植物优势物种及其相对丰度

Fig.2 Dominant species and relative abundance of nectar and pollen plants in different samples

约化单一性作物的季节性种植是传粉昆虫种类及数目骤减的主要原因之一^[31],那么山区里丰富的蜜粉源植物多样性就是中华蜜蜂等传粉昆虫种群得以存续的重要保障;同样地,中华蜜蜂等传粉昆虫也为山区蜜粉源植物多样性提供了保障。栖息地的减少对中华蜜蜂种群的生存产生重大的影响,目前中华蜜蜂的分布区已经有一定缩减^[6-8],而相对来说,山区由于环境受到人类干扰较小,成为中华蜜蜂生存的重要阵地。另外,我国近些年封山育林等工作将对中华蜜蜂资源的保护起到一定积极作用。

本研究选择了不同省份的三个山区,从全球气候分布来看,位于陕西秦岭地区的宝鸡市属于温带季风气候区,位于云贵高原边缘地带的望谟县和凤山县属于亚热带季风气候区。植被特点与气候条件相关,从植物区系划分来看,三个研究区域均属于泛北极植物区,其中宝鸡市在中国-日本森林植物亚区华北植物地区和华北植物地区交界处,植被以北温带分布为主^[32-34],鉴定出的蜜粉源植物中温带分布区类型属最多;望谟县和凤山县在中国-日本森林植物亚区滇、黔、桂地区与中国-喜马拉雅森林植物亚区云南高原地区的交界处^[32],植被具有温带分布向热带分布过渡的特点,在凤山样本中鉴定出的蜜粉源植物出现了热带分布区类型属多于温带分布区类型属的特点,与文献中地理位置上比较接近的贵州茂兰蜜粉源植物区系特点基本一致^[35]。受样本量限制,相关数据不能全面反映蜜粉源植物构成的复杂性,仅为定性分析中华蜜蜂对蜜粉源植物的选择及了解局部地区中华蜜蜂传粉多样性提供一定参考。

中华蜜蜂是我国的本土蜂种,其在长期的进化过程中与蜜粉源植物形成了复杂的进化关系。中华蜜蜂传粉植物种类丰富,其对蜜源植物采集喜好性差异小^[9]。有报道称蜜粉源植物的花部性状等可能会影响蜜蜂的选择^[36-38],但根据鉴定出的蜜粉源植物花序特点,并未发现相关性状对中华蜜蜂选择的影响。研究发现中华蜜蜂选择的蜜粉源植物中一些占优势的种类主要集中在进化树的菊类分支和蔷薇类分支中,但其是否对进化地位在这些植物附近的类群有所偏好,有待于进一步研究。另外,通过对各地区样本鉴定出的20种主要优势蜜粉源植物分布区域(<https://www.gbif.org/>)分析发现,有12种与中华蜜蜂主要分布区域呈现出一定的一致性,这将对研究中华蜜蜂起源与其与蜜粉源植物协同进化提供一定依据。

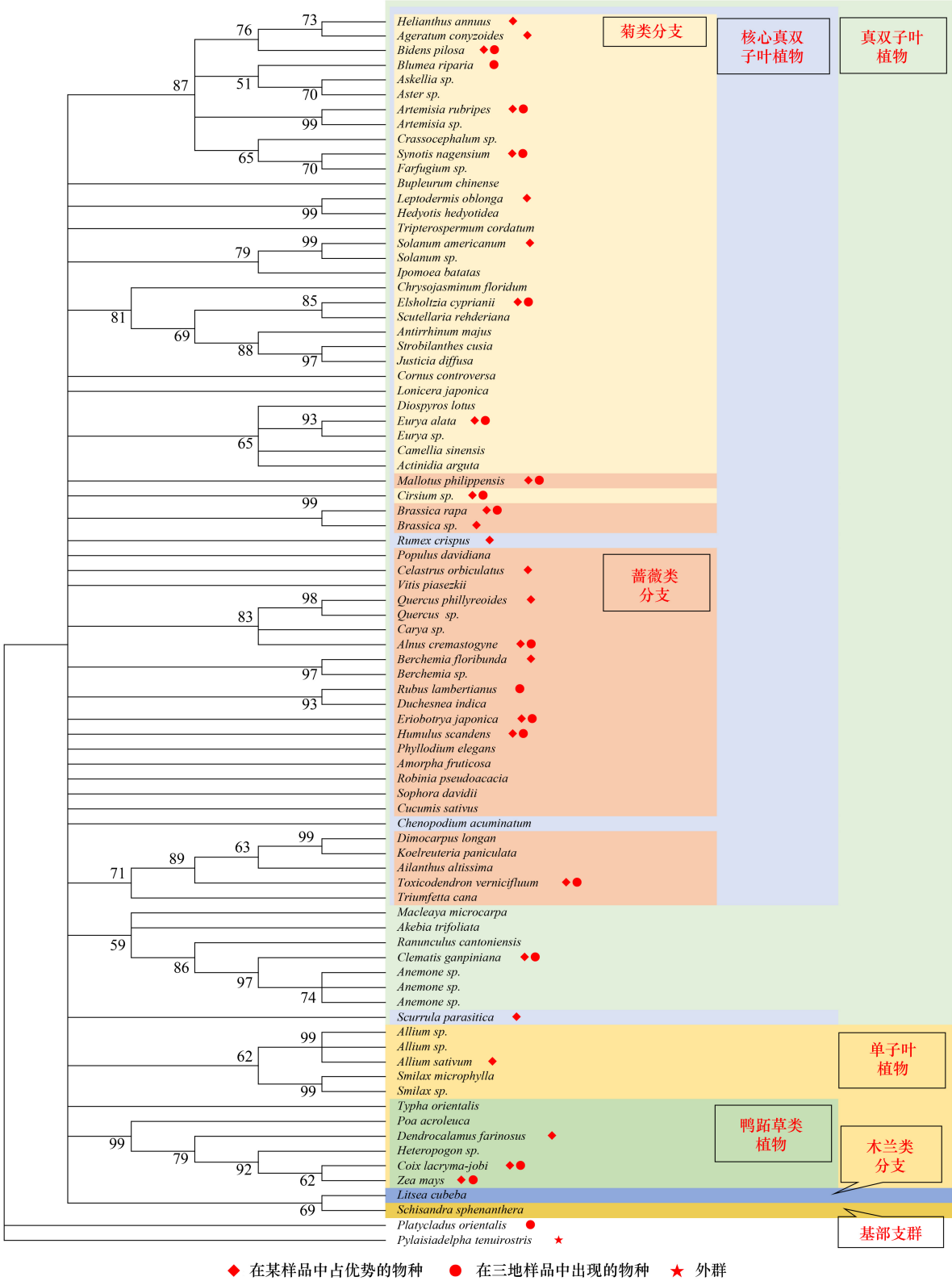


图3 蜜粉源植物系统进化图
Fig.3 Phylogenetic relationships among different nectar and pollen plants

研究中采用的 DNA 条形码、高通量测序等现代技术为研究花粉组成的多样性提供了方便^[16-18],测序结果可为相关研究提供物种多样性、系统进化关系等信息,与孢粉学方法相比,具有分析快速、不完全依靠专业

分类知识等优点^[14]。但在实际分析中仍存在一些问题,如有部分序列只能鉴定到属,不能准确判断其物种来源,其原因可能是数据库资料不全或数据库中的数据所用分类系统混乱;也可能是由于高通量测序基因片段太短,所得到的序列不足以进行近缘种的区分。随着测序技术的发展及数据库的完善,相关研究方法必将进一步为研究相关问题提供便利,但在实际应用中,种的确定、开花特点分析等还应结合传统分类学知识和实地调查等技术。

综上所述,中华蜜蜂选择蜜粉源植物多样性丰富,相关研究有助于理解中华蜜蜂与蜜粉源植物的进化关系及其在某些植物传粉过程中的重要性,为分析中华蜜蜂对蜜粉源植物的选择机制提供基础,为中华蜜蜂资源的保护提供依据。

参考文献 (References):

- [1] 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.
- [2] Radloff S E, Hepburn C, Hepburn H R, Fuchs S, Hadisoelilo S, Tan K, Engel M S, Kuznetsov V. Population structure and classification of *Apis cerana*. Apidologie, 2010, 41(6): 589-601.
- [3] 季荣, 谢宝瑜, 杨冠煌, 李典谟. 从有意引入到外来入侵——以意大利蜂 *Apis mellifera* L. 为例. 生态学杂志, 2003, 22(5): 70-73.
- [4] Potts S G, Biesmeijer J C, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin W E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. Trends in Ecology & Evolution, 2010, 25(6): 345-353.
- [5] 刘秀徽, Chesters D, 武春生, 周青松, 朱朝东. 环境变化对中国野生蜜蜂多样性的影响. 生物多样性, 2018, 26(7): 760-765.
- [6] 余林生, 韩胜明. 栖息环境和种间竞争对中华蜜蜂群体分布的影响. 应用生态学报, 2003, 14(4): 553-556.
- [7] 赵金玉, 龙见坤, David T C, 陈祥盛, 常志敏. 贵州省东方蜜蜂 *Apis cerana* 线粒体 DNA 遗传多样性研究. 环境昆虫学报, 2022, 44(3): 595-605.
- [8] Chen C, Liu Z, Luo Y, Xu Z, Wang S, Zhang X, Dai R, Gao J, Chen X, Guo H, Wang H, Tang J, Shi W. Managed honeybee colony losses of the Eastern honeybee (*Apis cerana*) in China (2011 - 2014). Apidologie, 2017, 48(5): 692-702.
- [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] 王华堂, 李良斌, 陈海玉, 张学锋, 陈隆达, 赵红霞. 中蜂的传粉作用研究. 环境昆虫学报, 2022, 44(1): 84-91.
- [11] 陈顺安, 张强, 万蓉, 赵世文, 刘志涛, 罗建成, 叶银龙, 张学文. 澜沧江流域北部中华蜜蜂食源和营养生态位随海拔梯度的变化特征. 生态学报, 2017, 37(9): 3201-3211.
- [12] 郭媛, 武文卿, 张旭凤, 张云毅, 宋怀磊. 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, 2020, 36(6): 127-131.
- [13] 赵恬, 王胤晨, 袁扬, 韦小平, 张定红, 姚丹, 张锦华. 中华蜜蜂对猕猴桃的访花行为及授粉效果研究. 环境昆虫学报, 2021, 43(3): 667-675.
- [14] Ponnuchamy R, Bonhomme V, Prasad S, Das L, Patel P, Gaucherel C, Pragasa A, Anupama K. Honey pollen: using melissopalynology to understand foraging preferences of bees in tropical South India. PLoS One, 2014, 9(7): e101618.
- [15] Bruni I, Galimberti A, Caridi L, Scaccabarozzi D, De Mattia F, Casiraghi M, Labra M. A DNA barcoding approach to identify plant species in multiflower honey. Food Chemistry, 2015, 170: 308-315.
- [16] 郎丹丹, 唐敏, 周欣. 传粉网络构建的定性定量分子研究: 应用与展望. 生物多样性, 2018, 26(5): 445-456.
- [17] Kennedy S R, Prost S, Overcast I, Rominger A J, Gillespie R G, Krehenwinkel H. High-throughput sequencing for community analysis: the promise of DNA barcoding to uncover diversity, relatedness, abundances and interactions in spider communities. Development Genes and Evolution, 2020, 230: 185-201.
- [18] 张可, 王林玲, 党晓群, 李旭东, 李月, 陆欢欢, 牛泽清, 袁峰, 朱朝东, 黄敦元. 基于 DNA 宏条形码技术的蓝彩带蜂粉源植物多样性研究. 生态学报, 2022, 42(11): 4504-4514.
- [19] 何波, 谷战英, 李红英, 黄敦元. 基于 DNA 条形码的白斑切叶蜂粉源植物种类及多样性分析. 生态学报, 2020, 40(6): 2122-2129.
- [20] Jones L, Brennan G L, Lowe A, Creer S, Ford C R, de Vere N. Shifts in honeybee foraging reveal historical changes in floral resources. Communications Biology, 2021, 4(1): 1-10.
- [21] Erickson D L, Reed E, Ramachandran P, Bourg N A, McShea W J, Ottesen A. Reconstructing a herbivore's diet using a novel rbcL DNA mini-barcode for plants. AoB Plants, 2017, 9(3): plx015.
- [22] 刘刚, 宁宇, 夏晓飞, 龚明昊. 高通量测序技术在野生动物食性分析中的应用. 生态学报, 2018, 38(9): 3347-3356.

- [23] Edgar R C. UPARSE; highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [24] 吴征镒. 中国种子植物属的分布区类型. *云南植物研究*, 1991, (增刊VI): 1-139.
- [25] 吴征镒, 孙航, 周浙昆. 中国种子植物区系地理. 北京: 科学出版社, 2011.
- [26] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, 4(4): 406-425.
- [27] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [28] The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2016, 181(1): 1-20.
- [29] 杨冠煌. 中华蜜蜂. 北京: 中国农业科技出版社, 2001.
- [30] 柯贤港. 蜜粉源植物学. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [31] 黄敦元, 黄思程, 李红英, 窦飞越, 寇若玫, 李月, 罗安才. 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*, 2020, 37(3): 1-8.
- [32] 中国科学院《中国自然地理》委员会. 中国自然地理, 植物地理(上册). 北京: 科学出版社, 1983.
- [33] 张秦伟. 秦岭种子植物区系科的组成、特点及其地理成分研究. *植物研究*, 2001, 21(4): 536-545.
- [34] 张秦伟. 秦岭种子植物区系分区研究. *武汉植物学研究*, 2002, 20(1): 21-32.
- [35] 蒙惠理, 兰洪波, 姚雾清, 柳华富, 王登鸿, 余成俊. 贵州茂兰国家级自然保护区野生蜜源植物调查及区系分析. *广西林业科学*, 2022, 51(4): 459-465.
- [36] 张迪, 都业勤, 王磊, 陈鑫, 闫兴富, 唐占辉. 两种生境间大花百合不同性别表型开花及传粉特征的差异. *植物生态学报*, 2022, 46(5): 580-592.
- [37] Balfour N J, Garbuzov M, Ratnieks F L W. Longer tongues and swifter handling; why do more bumble bees (*Bombus* spp.) than honey bees (*Apis mellifera*) forage on lavender (*Lavandula* spp.)? *Ecological Entomology*, 2013, 38(4): 323-329.
- [38] Courcelles D M M, Button L, Elle E. Bee visit rates vary with floral morphology among highbush blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Applied Entomology*, 2013, 137(9): 693-701.