

## 蚂蚁在高山鸟巢兰中的传粉作用

<sup>1,4</sup>王淳秋 <sup>1,3</sup>罗毅波\* <sup>2</sup>台永东 <sup>2</sup>安德军 <sup>2</sup>寇勇

<sup>1</sup>(系统与进化植物学国家重点实验室, 中国科学院植物研究所 北京 100093)

<sup>2</sup>(四川省黄龙国家级风景名胜区管理局 黄龙 624000)

<sup>3</sup>(全国兰科植物种质资源保护中心 深圳 518114)

<sup>4</sup>(中国科学院研究生院 北京 100049)

## Ants pollinate *Neottia listeroides* (Orchidaceae) in Sichuan, China

<sup>1,4</sup>Chun-Qiu WANG <sup>1,3</sup>Yi-Bo LUO\* <sup>2</sup>Yong-Dong TAI <sup>2</sup>De-Jun AN <sup>2</sup>Yong KOU

<sup>1</sup>(State Key Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

<sup>2</sup>(Huanglong Administration of National Scenic Spot, Huanglong, Sichuan 624000, China)

<sup>3</sup>(The National Orchid Conservation Center, Shenzhen 518114, China)

<sup>4</sup>(Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract** Ant-plant interaction is widespread, common and diverse in terrestrial ecosystems, but ants acting as pollinators are uncommon. Here we present a study conducted in Huanglong Nature Reserve, Sichuan, China, showing that ants of Formicidae, *Leptothoras* sp. and *Paratrechina* sp., are principle pollinators of *Neottia listeroides* (Orchidaceae). The two ant species accounted for dominant floral visitors and transferred most pollinia in the orchid, compared to the role of other insect visitors. The flowering period of *N. listeroides* in the studied population lasted about 40 days, and most flowers were open from 15th to 26th July. The flower has an open nectariferous furrow on the surface of the labellum which ran down the centre to the bifurcation of the labellum, and produced the minute amount of nectar. While an ant arrived at the base of the labellum following the nectariferous furrow, it could not touch the crest of the rostellum and withdraw the pollinia until it raised its head upwards. Pollinia were often attached to the top of the ant head by the viscid fluid exuded from the touched crest of the rostellum. After being touched the rostellum bent down instantly and blocked the stigma, and then slowly recovered to its original position. The backward movement of the rostellum lasted 17–24 h ( $21.4 \pm 2.1$  h,  $n=42$ ). The temporary inaccessibility of the stigma decreased self-pollination resulting from revisiting of ants. Breeding system experiments showed that this orchid is self-compatible but not autogamous, and that pollination success was dependent on pollinators. The fruit set was 19.77% under natural conditions, indicating that the efficiency of this ant-pollination system is low relative to the high frequency of visitation of ants. The low pollination success of *N. listeroides* was considered as a result of poor match in morphology between flowers and ants. Moreover, the interaction between *N. listeroides* and these two ants in Huanglong Valley was suggested as a casual case in a specific period.

**Key words** ant pollination, nectar, *Neottia listeroides*, movement of the rostellum, pollination efficiency.

**摘要** 蚂蚁和被子植物之间存在广泛、普遍和多样的关系,但蚂蚁为被子植物传粉的现象却比较少见。在中国四川省黄龙寺自然保护区黄龙沟内发现了一个蚂蚁传粉现象。蚂蚁(包括细胸蚁*Leptothoras* sp.和立毛蚁*Paratrechina* sp.)是黄龙沟内高山鸟巢兰*Neottia listeroides*最主要的传粉者,其单花访问次数、携粉次数以及授粉次数在所有的访问昆虫中是最高的。黄龙沟内高山鸟巢兰居群水平的花期可持续40天,大量开花期(~60%)在7月中下旬。该植物具暴露的花蜜,花蜜位于唇瓣中央不明显的蜜槽内,但花蜜量很小。蚂蚁沿唇瓣蜜槽取食花蜜,到达唇瓣基部后,一般情况下蚂蚁头部不能接触到蕊喙先端,只有当蚂蚁头部向上抬起,才能触碰到蕊喙,花粉团通过蕊喙先端释放的黏滴粘在蚂蚁头部最顶端。蕊喙先端被触碰后,立即向下运动盖住柱头,17–24 h后重新抬起至药帽位置。蕊喙的这种运动可以避免蚂蚁重复访问引起自花授粉。繁育系统实验表明,高山鸟巢兰是自交亲和的,但必须依靠昆虫进行传粉。自然条件下,高山鸟巢兰的自然结实率为19.77%。由细胸蚁和立毛蚁作为主要传粉者形成的高山鸟巢兰传粉系统传粉效率不高,可能是由于高山鸟巢兰与细胸蚁和立毛蚁之间形态上的不完全适应造成的。虽然2007年两种蚂蚁是高山鸟巢兰最有效的传粉者,但与这两种蚂蚁之间的相互关系也可能只是在特定时间,在黄龙这样一个独特生态环境中形成发展的,在其他时间、其他地区高山鸟巢兰是否同样主要由蚂蚁传粉还需要进一步研究。

**关键词** 蚂蚁传粉; 花蜜; 高山鸟巢兰; 蕊喙运动; 传粉效率

2008-04-03 收稿, 2008-05-18 收修改稿。

\* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: luoyb@ibcas.ac.cn).

蚂蚁(Hymenoptera: Formicidae)和被子植物(angiosperm)分别是昆虫界和植物界中最重要、占支配地位的两大类群(Schneider et al., 2004; Moreau et al., 2006; Rico-Gray & Oliveira, 2007)。它们之间具有广泛和普遍的相互关系(Rico-Gray & Oliveira, 2007),且两者的相互关系多种多样。如蚂蚁收获种子,切割叶片以培养真菌,散播种子,传粉,通过居住在植物体内为植物提供营养,当蚂蚁取食花蜜时阻止食草动物对植物的破坏等。除蚂蚁收获植物种子和切割叶片外,蚂蚁和植物间表现为明显的互利关系(Buckley, 1982; Peakall, 1994; Rico-Gray & Oliveira, 2007)。毫无疑问,对蚂蚁和植物间相互关系的研究,有助于更好地理解这两个群体的进化和物种间的相互作用(Rico-Gray & Oliveira, 2007)。

多数被子植物依靠各种传粉动物来完成传粉过程,这些传粉动物主要包括膜翅目Hymenoptera、双翅目Diptera、鳞翅目Lepidoptera、鞘翅目Coleoptera昆虫,以及蝙蝠和鸟类等(Waser, 2006)。膜翅目中又以蜂类作为传粉昆虫最为常见,有关蚂蚁传粉的例子比较少见。花蜜对蚂蚁极具吸引力(Proctor & Yeo, 1973),特别是在沙漠和干旱热带环境中,花蜜是蚂蚁的一种重要液体食物来源(Ruffner & Clark, 1986; Rico-Gray, 1989)。蚂蚁常常在花上搜集花蜜(Proctor & Yeo, 1973; Beattie, 1985; Peakall et al., 1991),但迄今为止,被证实有蚂蚁参与传粉的被子植物仅有19种(表1)。在这19种植物中,仅一种*Leporella fimbriata* (Lindl.) George (兰科Orchidaceae)是完全由蚂蚁完成传粉的,这种兰科植物通过性欺骗来吸引雄性具翅蚂蚁(Peakall, 1989)。其余18种植物中,蚂蚁仅仅是部分或在特定的空间和时间起到传粉作用,这些植物一般可以产生花蜜作为报酬来吸引蚂蚁,并且这些花蜜一般处于比较暴露的位置,蚂蚁容易接近取食。此外,这些植物主要生长在林地、草地、干旱地区以及高山地区。

兰科植物中,有些植物的花蜜容易接近,如鸟巢兰族Neottieae的对叶兰属*Listera* R. Br.,就是一类典型的花蜜暴露植物,其唇瓣上具蜜槽(Darwin, 1890; Delforge, 1995; van der Cingel, 1995; 陈心启, 罗毅波, 1999)。鸟巢兰属*Neottia* Guett.与对叶兰属同属于对叶兰亚族Listerinae,这两者亲缘关系较近(Darwin, 1890),并且花结构十分相似(Delforge, 1995), Darwin (1890)多次观察*N. nidus-avis* (L.) L.

C. Rich.后认为“*N. nidus-avis*花的结构以及蕊喙运动方式与*L. ovata* (L.) R. Br.和*L. cordata* (L.) R. Br.完全一致,没必要再进行研究”。受Darwin观点的影响,*N. nidus-avis*的传粉生物学研究在相当一段时间内一直是根据推测得出一些结论。近年来才有些简单的实地观察报道,如Burns-Balogh等(1987)提到*N. nidus-avis*可以分泌花蜜来吸引蝇类为其提供传粉服务; Reinhard等(1991)提到蝇类可能是该种常见的传粉者,但蚂蚁有时也参与传粉过程。鸟巢兰属共有9种,主要分布于亚洲温带地区和亚热带高山地区,我国有8种(陈心启, 1999; 杨平厚, 郎楷永, 2006)。考虑到鸟巢兰属具有与对叶兰属相似的暴露花蜜,基于蚂蚁传粉植物的花部特征以及前人的初步观察,我们推测蚂蚁有可能参与鸟巢兰属植物的传粉过程。

在本研究中,我们选择高山环境的高山鸟巢兰*Neottia listeroides* Lindl.作为研究对象进行传粉生物学研究,以调查:(1)高山鸟巢兰唇瓣上是否具有蜜槽?若有蜜槽,分泌花蜜的能力如何?(2)蚂蚁是否参与该种的传粉?高山鸟巢兰是完全由蚂蚁传粉,还是部分由蚂蚁传粉?(3)若蚂蚁参与传粉,其传粉效率如何(包括拜访数量、停留时间、携粉数量)?(4)该种植物的花部形态特征是否和蚂蚁相适应?

## 1 材料和方法

高山鸟巢兰为腐生草本植物,植株高15–35 cm,具多数花;花小,淡绿色;唇瓣明显大于萼片或花瓣,狭倒卵状长圆形,先端2深裂,裂片近卵形或卵状披针形,向前伸展,彼此近平行;蕊柱稍向前倾斜;花药俯倾,紧靠蕊喙;花粉团2个,每个又多少纵裂为2,粒粉质,无花粉团柄;蕊喙舌形,较大,水平伸展,几乎与花药等长。高山鸟巢兰产于陕西北部、甘肃中部、四川西部、云南西北部和西藏东南部至南部,一般生长在海拔2500–3900 m的林下或荫蔽草坡上(陈心启, 1999)。

本研究的地点位于四川省黄龙寺自然保护区黄龙沟内的疏林及灌木丛中,103°47' E, 32°53' N,海拔3200–3350 m,平均年降雨量758.9 mm,5–9月的降雨量占全年的70%–73% (冉江洪, 刘少英, 2002)。高山鸟巢兰主要分布在林缘和相对开阔的草

表1 已确认有蚂蚁参与传粉的植物类群

Table 1 Plant species in which ant pollination has been demonstrated previously

植物 Plant	地点 Location	生境 Habitat	相关的蚂蚁种 Associated ant species	参考文献 Source
Caryophyllaceae				
<i>Arenaria tetraquetra</i> L.	西班牙 Spain	地中海高地 Mediterranean highland	<i>Proformica longiseta</i> , <i>Tapinoma nigerrimum</i>	Gómez et al., 1996
<i>Gypsophyla struthium</i> L.	西班牙 Spain	干旱地区 arid land	<i>Camponotus foreli</i> , <i>Crematogaster auberti</i> , <i>Plagiolepis schmitzii</i>	Gómez et al., 1996
<i>Paronychia pulvinata</i> Gray	美国 USA	高山 alpine	<i>Formica neorufibarbis</i>	Puterbaugh, 1998
Crassulaceae				
<i>Diamorpha smallii</i> Britton	美国 USA	花岗岩表层 granit outcrop	<i>Formica schaufussi</i> , <i>F. subsericea</i>	Wyatt, 1981; Wyatt & Stoneburner, 1981
<i>Sedum anglicum</i> Huds.	西班牙 Spain	地中海高地 Mediterranean highland	<i>Proformica longiseta</i> , <i>Tapinoma nigerrimum</i>	Gómez et al., 1996
Cruciferae				
<i>Alyssum purpureum</i> (A. Gray) Kuntze	西班牙 Spain	地中海高地 Mediterranean highland	<i>Proformica longiseta</i> , <i>Tapinoma nigerrimum</i>	Gómez et al., 1996
<i>Hormathophylla spinosa</i> (L.) Kupfer	西班牙 Spain	高山 alpine	<i>Proformica longiseta</i>	Gómez & Zamora, 1992
<i>Lepidium subulatum</i> L.	西班牙 Spain	干旱地区 arid land	<i>Camponotus foreli</i> , <i>Crematogaster auberti</i> , <i>Plagiolepis schmitzii</i>	Gómez et al., 1996
<i>Lobularia maritime</i> (L.) Desv.	西班牙 Spain	地中海沿岸地区 Mediterranean coastal land	<i>Camponotus micans</i>	Gómez, 2000
Dioscoreaceae				
<i>Borderea pyrenaica</i> Miégev.	西班牙 Spain	高山 alpine	<i>Leptothorax tuberum</i>	García et al., 1995
Euphorbiaceae				
<i>Euphorbia cyparissias</i> L.	瑞士 Switzerland	干旱的石灰石草地 dry calcareous grassland	<i>Formica cunicularia</i> , <i>F. pratensis</i> , <i>Lasius alienus</i>	Schürch et al., 2000
Fabaceae				
<i>Retama sphaerocarpa</i> Boiss.	西班牙 Spain	干旱地区 arid land	<i>Camponotus</i> sp., <i>Leptothorax fueitei</i>	Gómez et al., 1996
Frankeniaceae				
<i>Frankenia thymifolia</i> Desf.	西班牙 Spain	干旱地区 arid land	<i>Camponotus</i> sp., <i>Leptothorax fueitei</i>	Gómez et al., 1996
Liliaceae				
<i>Blandfordia grandiflora</i> R. Br.	澳大利亚 Australia	高原 tableland	<i>Iridomyrmex</i> sp.	Ramsey, 1995
Orchidaceae				
<i>Leporella fimbriata</i> (Lindl.) George *	澳大利亚 Australia	硬叶林地 sclerophyll woodland	<i>Myrmecia urens</i>	Peakall et al., 1987; Peakall, 1989; Peakall & James, 1989
<i>Epipactis palustris</i> (L.) Crantz	荷兰 Netherlands	植物园的草地 Meadow in Hortus Haren	<i>Lasius niger</i> , <i>Formica polyctena</i>	Brantjes, 1981
<i>Epipactis thunbergii</i> A. Gary	日本 Japan	半自然状的草地 semi-natural grassland	<i>Camponotus japonicus</i>	Sugiura et al., 2006
<i>Microtis parviflora</i> R. Br.	澳大利亚 Australia	湿润开阔的林地和草地 moist open forest and grass- land	<i>Iridomyrmex gracilis</i>	Peakall & Beattie, 1989, 1991
Polygonaceae				
<i>Polygonum cascadenense</i> W. H. Baker	美国 USA	高山 alpine	<i>Formica argentea</i>	Hickman, 1974

\* 除这个种外, 本表中其他种类也被蚂蚁以外的其他访问者传粉。

\* Except for this species, all the plants in this table also have other pollinators in addition to ants.

丛, 多为斑块状聚集分布(图2)。本研究地点中, 乔木树种较少, 为紫果云杉 *Picea purpurea* Mast.; 灌木主要有四子柳 *Salix tetrasperma* Roxb.、忍冬 *Lonicera* sp. 和多色杜鹃 *Rhododendron rupicola* W. W. Smith; 草本主要有禾草类、红北极果 *Arctous ruber* (Rehd. & Wils.) Nakai、圆穗蓼 *Polygonum sphaerostachyum* Meisn. 和二叶红门兰 *Orchis diantha* Schltr.。

2007年, 我们在高山鸟巢兰整个分布区内随机选取42株植株(总计872朵花), 进行开花物候观察, 在居群水平(从居群内第一朵花开放到最后一朵花枯萎)、个体水平(植株的第一朵花开放到最后一朵花枯萎)和单花水平(一朵花从开放到枯萎)进行详细记载。花开放的判断标准是唇瓣向下打开, 访问者可以进入; 而花枯萎的标准则是唇瓣大部分变为褐色或被食草动物破坏, 或者柱头大部分变为褐色。同时, 对这些植株有花粉输出和输入的花朵进行每日观察和统计。

为了解高山鸟巢兰唇瓣中央的结构、是否具花蜜以及花蜜的特征(花蜜量和浓度), 在高山鸟巢兰花期内随机选取100朵刚开放的、没有花粉输出和输入的花, 随机抽取50朵花进行唇瓣中央结构的观察和记录, 并用尿糖试纸(桂林中星生物技术发展有限公司)经蒸馏水湿润后, 轻轻接触唇瓣中央部分, 30–60 s内观察和记录试纸颜色变化。若试纸颜色保持蓝色, 无变化, 说明高山鸟巢兰唇瓣中央无花蜜; 若试纸颜色变棕色, 说明高山鸟巢兰唇瓣中央具有花蜜。对其余50朵花则采用毛细管法(李左栋等, 2006), 使用内径为0.5 mm的玻璃点样毛细管(华西医科大学仪器厂)对花蜜量进行测定; 若毛细管无法抽取出花蜜, 采用滤纸条法(李左栋等, 2006), 使用1 mm宽的Whatman 1号定性滤纸吸取花蜜, 以测量花蜜量。用WS108型号的糖度计(上海测维光电技术有限责任公司)进行糖含量的测定(李左栋等, 2006)。

高山鸟巢兰的传粉观察于7月7日到26日进行。黄龙沟海拔高, 空气湿度大, 上午9:00以前植物体上的露水未全干, 下午18:00以后温度较低, 都不利于昆虫活动。因此我们的观察时间选择在9:00–18:00, 累计观察时间达90 h。记录和拍照访问昆虫的行为, 统计访问昆虫在花序和单花上的活动次数和停留时间、每种访问昆虫携粉和授粉的次数,

计算昆虫单花访问频率(所有花被昆虫访问的总次数/90 h)(Sugiura et al., 2006)。同时, 对一些访问昆虫进行捕捉, 以进行鉴定和测量。昆虫标本由中国农业大学的徐环李博士鉴定, 保存在中国科学院植物研究所系统与进化植物学国家重点实验室。

为比较花形态和昆虫大小的适应程度, 在高山鸟巢兰花期内随机抽取50朵刚开放、没有花粉输出和输入的花朵, 用电子数显卡尺(桂林广陆数字测控股份有限公司, 精度为0.005 mm)测量蕊喙先端到唇瓣以及柱头到唇瓣的距离(图3); 同时, 测量捕捉的主要携粉昆虫的头高或胸高。

鸟巢兰属和对叶兰属的蕊喙结构非常特殊(Darwin, 1890; Ackerman & Mesler, 1979), Dressler和Dodson (1960)推测鸟巢兰属和对叶兰属所有种的蕊喙被触碰后, 黏滴都能从蕊喙先端喷射出, 并将粘着的花粉团带出, 同时蕊喙立刻向下运动遮盖住柱头, 经过一段时间, 蕊喙重新抬起至药帽位置。为检测高山鸟巢兰是否存在上述现象, 我们随机选取来自不同植株的42朵花, 用解剖针对蕊喙先端直接轻轻触碰; 同时, 对这42朵花的蕊喙运动(蕊喙先端从向下运动遮盖住柱头开始到重新抬起至药帽位置)所需要的时间进行统计。

我们随机选取25株植株在开花前用尼龙袋套袋, 在盛花期内, 随机选取174朵正在开放的花进行如下几种人工授粉实验处理后重新套袋: (1)无任何处理(bagged only,  $n=33$ ): 以检测是否存在自动自花授粉(spontaneous autogamy); (2)去雄(emasculated,  $n=33$ ): 以检测是否存在无融合生殖(agamospermy); (3)自花授粉(autogamy,  $n=33$ ): 花粉来源于自身, 以检测自交是否亲和; (4)同株异花授粉(geitonogamy,  $n=34$ ): 花粉来源于同一花序上的其他花, 以检测自交是否亲和; (5)异株异花授粉(xenogamy,  $n=41$ ): 花粉来源于10 m外的其他植株。在所有人工授粉实验中, 一个花粉团授粉1–2朵花。9月初检测各处理的结实情况, 并统计黄龙沟内高山鸟巢兰整个群体(55株)的自然结实率。

## 2 观察结果

### 2.1 开花物候

四川省黄龙寺自然保护区黄龙沟内的高山鸟巢兰从2007年7月2日开始开花, 整个花期可持续40

d. 植株个体的花期持续12–32 d, 平均为 $23.0 \pm 5.3$  d ( $n=42$ ); 每株平均开花 $20.8 \pm 8.2$ 朵( $n=42$ ), 平均每个植株每天开花 $1.5 \pm 0.6$ 朵( $n=42$ )。单花水平的花期为3–18 d, 平均 $9.9 \pm 3.0$  d ( $n=872$ )。整个高山鸟巢兰群体花期的开花分布式样见图1, 大量开花期(~60%) 在7月15–26日, 开花高峰期在17–21日。在7月14日单日花粉输出数量达到最高值(50朵花), 而花粉输入数量在7月13日达到最高值(13朵花), 基本与单日花粉输出最高值同步。

## 2.2 花蜜测定

高山鸟巢兰唇瓣中央向下微凹陷, 基部成浅杯状(图4)。用尿糖试纸测定唇瓣中央微凹处显示有变色反应, 说明其内分泌有花蜜。但花蜜量很少, 用毛细管和滤纸均未能提取到花蜜, 也无法用糖度计测量花蜜的糖含量。

## 2.3 蕊喙运动

用解剖针轻轻触碰高山鸟巢兰蕊喙先端, 每一次( $n=42$ )黏滴都从蕊喙先端喷射出, 并将花粉团一起带出。有时可直接观察到蚂蚁头部有黏滴(图5)。蕊喙先端被触碰后, 立刻向下运动盖住柱头, 17–24 h ( $21.4 \pm 2.1$  h,  $n=42$ )后重新抬起至药帽位置。

## 2.4 传粉者种类和行为

在2007年90 h的观察中, 共有13种昆虫访问高山鸟巢兰。具体访问者以及单花访问次数、携粉次数和授粉次数见表2。蚂蚁(包括细胸蚁*Leptothoras* sp.和立毛蚁*Paratrechina* sp.)的单花访问次数最高, 占有昆虫访问总次数的83.3% (1057/1269), 是高山鸟巢兰主要的访问者, 单花访问频率达11.74次/h

(1057次/90 h)。蚂蚁携粉和授粉次数也最高, 分别占有访问昆虫携粉总次数和授粉总次数的75.6% (31/41)和97.3% (36/37), 是高山鸟巢兰主要的携粉者和授粉者。

所有访问者都在唇瓣上活动, 一般沿着唇瓣中央蜜槽到达唇瓣基部, 在基部或向后退到基部后转过身来, 再沿着中央蜜槽到达唇瓣末端。有时, 访问者在唇瓣上来回活动可达数次。少数访问者在到达唇瓣基部时, 身体会触碰蕊喙先端, 带走花粉。姬蜂科 Ichneumonidae 的一种姬蜂和花蝇科 Anthomyiidae 的一种蝇个体都较大, 花粉分别被携带在口器(观察到1次)和复眼部位(观察到5次), 但携粉后, 花粉团都会立即被前足梳理掉。除尖眼蕈蚊科 Sciaridae 的一种蕈蚊和花蝇科的另一种蝇外, 双翅目的其他访问昆虫、弹尾目 Collembola 的访问昆虫以及鞘翅目露尾甲科 Nitidulidae 的一种访问昆虫体型都比较小, 虽然在唇瓣上活动时间长但身体接触不到蕊喙先端, 也没有力量带走花粉团。尖眼蕈蚊科的一种蕈蚊、花蝇科的另一种蝇以及露尾甲科的另一种昆虫虽体型适中, 但访问次数很低, 也几乎未观察到它们授粉。蚂蚁体型比较适中, 访花次数高, 可以频繁地携带花粉, 并完成授粉。

研究期间, 我们共观察到蚂蚁访问高山鸟巢兰植株234次, 访问花朵1057次。蚂蚁可直接通过高山鸟巢兰的茎或通过邻近植株爬到高山鸟巢兰植株上访问花朵。蚂蚁在高山鸟巢兰植株上的停留时间比较长( $7.14 \pm 9.17$  min,  $n=234$ ), 最高可达1 h。蚂蚁访问第一朵花后多数会沿着花序轴向上爬继续访

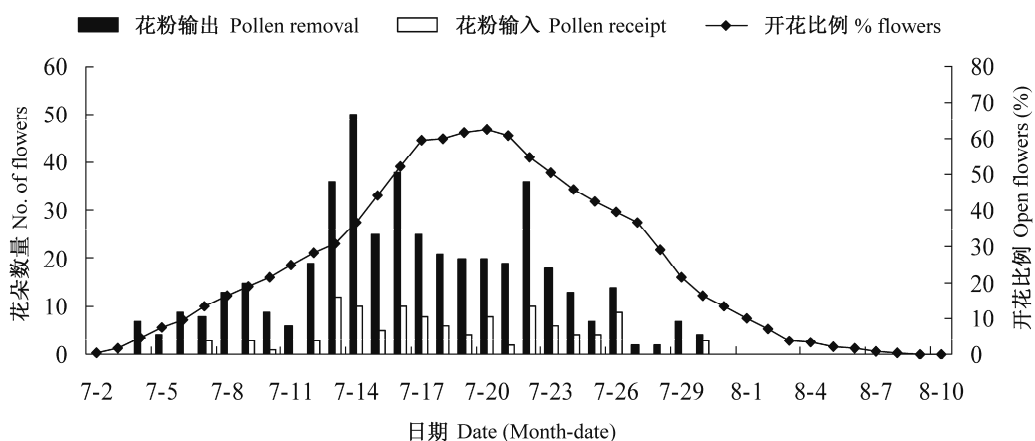


图1 高山鸟巢兰的开花物候, 以及花期内花粉团输出和输入的变化情况( $n=872$ )

Fig. 1. Flowering phenology of *Neottia listeroides* and the number of flowers with pollinium removal and receipt during the anthesis ( $n=872$ ).

表2 高山鸟巢兰访问昆虫的活动情况

Table 2 Activities of different visitors on the flowers of *Neottia listeroides*

目 Order	科 Family	种 Species	访问花朵的总次数 No. of visitation	带走花粉的次数 No. of pollinia carried	授粉的次数 No. of pollinia deposited
膜翅目 Hymenoptera	蚁科 Formicidae	细胸蚁属一种 <i>Leptothoras</i> sp. 立毛蚁属一种 <i>Paratrechina</i> sp.	1057	31	36
	姬蜂科 Ichneumonidae	一种 sp.	8	1	0
双翅目 Diptera	花蝇科 Anthomyiidae	第一种 sp. 1 第二种 sp. 2	145 22	5 2	0 1
	舞虻科 Empididae	一种 sp.	8	0	0
	虻蚊科 Mycetophilidae	一种 sp.	4	0	0
	蚤蝇科 Phoridae	一种 sp.	6	0	0
	鼓翅蝇科 Sepsidae	一种 sp.	6	0	0
	尖眼虻蚊科 Sciaridae	一种 sp.	2	1	0
鞘翅目 Coleoptera	露尾甲科 Nitidulidae	第一种 sp. 1 第二种 sp. 2	3 1	0 1	0 0
弹尾目 Collembola	—	一种 sp.	7	0	0
总次数 Total	—	—	1269	41	37

问下一朵花,有时也会直接爬到相邻花朵进行访花。蚂蚁一般从花序下部花开始向上顺次访问直到花序顶端,然后再从顶端向下顺次访花,如此可反复多次。有时,蚂蚁访问几朵花后,直接爬到相邻高山鸟巢兰植株的花上,继续访问。蚂蚁在植株上访问的花朵数平均为 $4.5 \pm 5.3$  ( $n=234$ ),有时高达32。蚂蚁爬到花上后,往往沿着唇瓣中央蜜槽缓慢到达基部。蚂蚁在1057次单花访问中,共有750次到达唇瓣基部。当蚂蚁到达唇瓣基部后,蚂蚁头部有时会向上抬起(共观察到50次抬起的动作,发生频率为6.67%),触碰到蕊喙先端,花粉团被粘在头部顶端(23次)或触角(5次)。花粉团有时也被粘到蚂蚁的腿部(3次)。多数情况下,蚂蚁在唇瓣基部活动时,身体并不能直接触碰到蕊喙先端(图6)。蚂蚁头部携带花粉团的数量一般为1,偶尔为2,平均 $1.03 \pm 0.18$  ( $n=31$ )。蚂蚁带出花粉团并调整身体后,有时会立即逃离该朵花,沿花序轴向下离开植株;有时继续在该花上进行活动;有时离开该花接着访问下一朵花。蚂蚁在一朵花上停留的时间为2–1118 s ( $58 \pm 85$  s,  $n=1057$ )。在柱头被向下运动的蕊喙盖住的花中,当携带有花粉团的蚂蚁在唇瓣基部活动时,蚂蚁头

部的花粉就不能接触到柱头,从而阻止可能发生的自花授粉(共观察到11次这种自花授粉被阻止的现象)(图7)。只有当蕊喙先端运动至药帽位置露出柱头后,蚂蚁所携带的花粉团才能接触到具有黏性的柱头,花粉可直接被粘到柱头上完成授粉(共观察到36次授粉)(图8)。据我们观察,一只头部携带完整花粉团的蚂蚁最多可连续为同一植株或不同植株的3朵花授粉。

## 2.5 花的功能性形态及主要昆虫形态指标

蚂蚁和高山鸟巢兰花部结构的功能性形态数据测量的结果见表3。结果表明,柱头到唇瓣的距离极显著地大于蕊喙到唇瓣的距离( $t$ -test,  $P=0.000$ ),而蕊喙到唇瓣的距离又分别极显著大于细胸蚁的头高( $t$ -test,  $P=0.001$ )和立毛蚁的头高( $t$ -test,  $P=0.000$ )。因此,蚂蚁在高山鸟巢兰唇瓣基部活动时,一般情况下头部不能接触到蕊喙先端。

## 2.6 繁育系统及繁殖成功

由于不明原因,在繁育系统试验中所选择的高山鸟巢兰植株大量死亡,对人工授粉实验的结果有一定的影响(表4)。根据存活植株的统计结果,高山鸟巢兰套袋后无任何处理的结实率为6.06%,该结

果可能由于套袋操作的失误所致。去雄套袋处理的结实率为0, 说明高山鸟巢兰不存在无融合生殖现象。自花授粉、同株异花授粉和异株异花授粉的结

实率分别为62.50%、92.86%和85.86%, 明显大于套袋后无任何处理的结实率, 说明高山鸟巢兰是自交亲和的, 但必须依靠昆虫进行传粉。



图2-8 高山鸟巢兰的花及传粉者——蚂蚁 2. 高山鸟巢兰的生境。3, 4. 高山鸟巢兰的花。L, 唇瓣; N, 蜜槽; R, 蕊喙; S, 柱头。5. 花粉团通过黏滴粘到蚂蚁的头部。P, 花粉团; VF, 黏滴。6. 蚂蚁访问花的唇瓣基部。7. 头部携带花粉团的蚂蚁再次回来访问唇瓣基部时, 花粉团被向下运动的蕊喙阻挡而无法授粉。8. 蚂蚁授粉。

Figs. 2-8. Flowers and ants as pollinators of *Neottia listeroides*. 2. Habitat of *N. listeroides*. 3, 4. Flowers of *N. listeroides*. L, labellum; N, nectary; R, rostellum; S, stigma. 5. Pollinia attached to the head of ant by the viscid fluid from the rostellum. P, pollinia; VF, viscid fluid. 6. An ant visited the base of the labellum and its head untouched the crest of the rostellum. 7. An ant bearing the pollinia of *N. listeroides* was blocked by the lowered rostellum when it revisited the base of the labellum. 8. An ant pollinated the pollinia on the stigma. Scale bars: 2=5 cm; 3-8=1 mm.

表3 高山鸟巢兰和携粉蚂蚁的功能性形态

Table 3 Measurement of functional morphology of *Neottia listeroides* and ants carried on the pollinia of *N. listeroides*

	个数 No. of individuals	大小 Size (mm, Mean ± SD)
柱头到唇瓣的距离 Distance between the stigma and the labellum	50	1.836±0.181
蕊喙先端到唇瓣的距离 Distance between the rostellum and the labellum	50	1.445±0.191
细胸蚁的头高 Head height of <i>Leptothoras</i> sp.	4	1.105±0.230
立毛蚁的头高 Head height of <i>Paratrechina</i> sp.	6	1.013±0.132

表4 高山鸟巢兰人工授粉实验结实率

Table 4 Fruit set of *Neottia listeroides* under different treatments

处理方法 Treatments	试验花数 No. of treated flowers	存活花数 No. of remained flowers	结实数目 No. of fruits	结实率 Fruit set (%)
无任何处理Bagged only	40	33	2	6.06
去雄Emasculated	33	25	0	0
自花授粉Autogamy	33	8	5	62.50
同株异花授粉Geitonogamy	34	14	13	92.86
异株异花授粉Xenogamy	41	7	6	85.86

自然条件下统计标记的42株高山鸟巢兰植株显示, 花粉输出率为51.26% (447/827), 花粉输入率为12.73% (111/827)。整个高山鸟巢兰居群的自然结实率为19.77% (240/1214); 平均每株结实 $4.4 \pm 5.6$ 个 ( $n=55$ ), 最高的一株结实数达13个, 未结实的植株占有统计植株的45.45% (25/55)。

### 3 讨论

#### 3.1 花蜜特点

鸟巢兰属的*Neottia nidus-avis*具有与对叶兰属相似的暴露花蜜, 花蜜位于唇瓣上, 唇瓣基部凹陷呈延长的杯状(Darwin, 1890; Delforge, 1995)。Darwin (1890)对*N. nidus-avis*唇瓣观察多次, 没有发现一滴花蜜。由于花蜜量太少, Ackerman和Mesler (1979)无法用毛细管提取*L. cordata*唇瓣上的花蜜。同样, 高山鸟巢兰具有暴露花蜜, 唇瓣中央具有不显著的蜜槽, 蜜槽中的蜜量也非常少, 无法用毛细管或滤纸提取。

#### 3.2 蚂蚁传粉的确定

虽然蚂蚁经常在植物上活动(Hickman, 1974; Rico-Gray & Oliveira, 2007), 但证实蚂蚁参与传粉或由蚂蚁传粉的例子却很少(Peakall et al., 1991; Rico-Gray & Oliveira, 2007), 其原因主要有: 植物花自身的机制(floral mechanisms), 如具有黏性分泌物、腺毛、或管状花冠等(Kerner von Marilaun, 1894; Galen & Cuba, 2001), 释放化学物质(Ghazoul, 2001; Willmer & Stone, 1997), 产生花外蜜(Peakall, 1994; Raine et al., 2002; Wagner & Kay, 2002; Rutter & Rausher, 2004), 从而避免蚂蚁访问花本身; 蚂蚁个体小, 与花药和柱头的直接接触受到限制(Peakall et al., 1991); 蚂蚁外壳光滑, 大多数无翅, 并频繁梳理自己, 降低了携带花粉的能力(Proctor & Yeo,

1973; Armstrong, 1979; Buckley, 1982; Peakall et al., 1991); 蚂蚁腹部的腺体能分泌用于抵抗病原微生物的抗生素物质, 这些物质能够通过蚂蚁身体表面扩散, 同时这些抗生素物质可以降低花粉活力, 导致花粉功能丧失, 且这种作用随着离蚂蚁腹腺距离的接近而增强(Beattie et al., 1984, 1985, 1986; Beattie, 1985)。因此, Peakall等(1991)提出: 要确定蚂蚁为传粉者必须证明, (1)蚂蚁能将花粉从花药转移到自己身上; (2)蚂蚁能将花粉从身上转移到柱头; (3)蚂蚁授粉后能产生可育的种子。

在前人报道的蚂蚁传粉植物中, *Microtis parviflora* R. Br. (Orchidaceae)的花粉被携带在蚂蚁的前额(Peakall & Beattie, 1989), *Blandfordia grandiflora* R. Br. (Liliaceae)的花粉在蚂蚁的腿部(Ramsey, 1995), *Paronychia pulvinata* Gray (Caryophyllaceae)的花粉在蚂蚁头部的前面部分(Puterbaugh, 1998)。花粉粘附在蚂蚁体表的位置离蚂蚁腹部区域距离越远, 花粉受蚂蚁腹腺分泌物的影响就越小(Beattie et al., 1985)。高山鸟巢兰的花粉携带在蚂蚁的部位包括头部顶端、触角和腿部, 这些部位距离腹部都比较远。因此, 我们认为蚂蚁腹腺分泌物对高山鸟巢兰花粉活力的影响不大。此外, 花粉避免与蚂蚁体表直接接触也可以避免蚂蚁有害的腹腺分泌物, 如兰科植物中, *Leporella fimbriata*的花粉团通过柱头分泌物粘附到蚂蚁表面(Peakall, 1989), *M. parviflora*的花粉团通过短的花粉块柄与粘盘连接从而避免与蚂蚁体表直接接触(Peakall & Beattie, 1989), *Epipactis thunbergii* A. Gary的花粉团通过蕊喙黏滴与蚂蚁表面接触(Sugiura et al., 2006)等。同样, 高山鸟巢兰的花粉通过蕊喙释放的黏滴粘到蚂蚁身体上, 花粉团本身没有直接与蚂蚁身体接触, 避免了花粉受到腹腺分泌物的影响。最后, 对3株高山鸟巢兰(共67朵花, 分别为33朵、21朵、13朵)定株观察也表明, 有6朵花(3朵、2朵、1朵)在柱头表面没



有任何花粉的情况下蚂蚁为其授粉, 之后子房明显膨大, 成熟时果实长 $5.432 \pm 0.298$  mm, 宽 $3.939 \pm 0.213$  mm ( $n=6$ ), 果实饱满, 打开后大量种子散出。因此, 我们认为高山鸟巢兰的花粉活力没有受到蚂蚁腹腺分泌物的影响。

高山鸟巢兰自交亲和, 但不能自动授粉, 必须依靠传粉者才能完成传粉。高山鸟巢兰唇瓣上具有暴露的花蜜, 唇瓣是开放的, 没有任何阻碍, 昆虫容易接近唇瓣并到达唇瓣基部。蚂蚁是该种最主要的访问者, 能够携带该种的花粉, 并把花粉转移到该种花的柱头上。其携粉和授粉的次数可达所有访问昆虫携粉总次数和授粉总次数的75.6%和97.3%。综上所述, 我们认为高山鸟巢兰是蚂蚁传粉植物, 并且至少在2007年蚂蚁是黄龙沟内高山鸟巢兰的有效传粉者。

### 3.3 蚂蚁访问频率和传粉效率

*Microtis parviflora*主要是由无翅雄性蚂蚁*Iridomyrmex gracilis* (Lowne)传粉的植物(Peakall & Beattie, 1989)。从单花停留时间上看, 传粉蚂蚁在*M. parviflora*和高山鸟巢兰的停留时间都为几秒到几分钟(平均58 s), 携带花粉块或花粉团的数量一般都为1个, 但在单花访问频率上, 无翅雄性蚂蚁*I. gracilis*访问*M. parviflora*的频率(90.51次/h,  $n=1.31$  h)远远大于细胸蚁和立毛蚁共同访问高山鸟巢兰的频率(11.74次/h,  $n=90$  h)。

由无翅雄性蚂蚁组成的蚂蚁传粉系统具有较高的传粉效率, 蚂蚁传粉后*M. parviflora*的自然结实率高达96% (Peakall & Beattie, 1989), 而高山鸟巢兰中由细胸蚁和立毛蚁作为主要传粉者而形成的传粉系统, 其蚂蚁传粉后的自然结实率仅有19.77%。我们认为高山鸟巢兰与细胸蚁和立毛蚁之间形态上的不完全适应是造成高山鸟巢兰传粉系统传粉效率不高的主要原因。作为高山鸟巢兰的主要传粉者, 细胸蚁和立毛蚁头部的高度均显著低于蕊喙先端到唇瓣的距离, 更低于柱头到唇瓣的距离。因而这两种蚂蚁在高山鸟巢兰唇瓣基部活动时, 只有当头部向上抬起时才能触碰到蕊喙先端, 进而将花粉团带出。但这种头部抬起动作发生的频率只有6.67%。相比之下, 无翅雄性蚂蚁访问*M. parviflora*时, 只要这种蚂蚁在唇瓣基部活动就可以带走花粉(Peakall & Beattie, 1989)。由此可以看出, 细胸蚁和立毛蚁尽管是高山鸟巢兰访问频率最高的

访问者, 但只能在一定条件下才能实现高山鸟巢兰的传粉过程。

Nilsson (1981)在对*Listera ovata*历时6年的传粉观察中发现, 虽然姬蜂类Ichneumonidae、叶蜂类Symphyta和甲虫类Coleoptera为主要传粉者, 但蚂蚁也参与其传粉, 花粉团携带在蚂蚁头部的前额、额板和触角上, 蚂蚁平均携带的花粉团数量很少(0.16个,  $n=97$ )。虽然*L. ovata*的蕊喙先端到唇瓣的距离较小(0.9 mm), 蚂蚁携粉部位为头部前端(Nilsson, 1981), 蚂蚁与*L. ovata*之间形态比较适应, 但蚂蚁在*L. ovata*上的传粉效率不高。我们推测可能是*L. ovata*具有传粉效率更高的访问者姬蜂等昆虫为其传粉, 蚂蚁的传粉受到这些更有效的传粉昆虫的抑制, 因而蚂蚁的传粉作用不明显。

### 3.4 蚂蚁活动行为与防止自花授粉

蚂蚁作为无翅的访问者, 具有重复地访问花或花序的行为, 这种行为促进自花授粉的发生(Peakall & Beattie, 1989, 1991)。而对叶兰属和鸟巢兰属的蕊喙结构非常特殊, 蕊喙先端被碰触后, 立即释放黏滴并向下盖住柱头, 经过一段时间, 蕊喙先端缓慢抬升至药帽位置。这种蕊喙的运动被认为是一种防止自花授粉的机制(Darwin, 1890; Ackerman & Mesler, 1979)。*Listera cordata*的蕊喙升至药帽位置的时间至少为1 d (蕊喙保持盖住柱头的平均时间为1.05 d,  $n=39$ ), 这可以有效阻止昆虫重复访问而导致自花授粉(Ackerman & Mesler, 1979)。对于高山鸟巢兰, 其蕊喙运动的时间为17–24 h ( $21.4 \pm 2.1$  h,  $n=42$ ), 在花粉被蚂蚁带出的当天可以有效地阻止自花授粉的发生。

但是蕊喙的运动似乎不能有效防止同株异花授粉现象的发生。Ackerman和Mesler (1979)也指出*L. cordata*的同株异花授粉现象仍然可能发生。在*L. ovata*中, 因为许多访问者经常保持在同一植株中访问或移动距离不远而导致同株异花授粉现象经常发生(Nilsson, 1981)。蚂蚁更是具有连续访问一个花序上多朵花的取食行为, 从而增加同株异花授粉的概率(Sugiura et al., 2006)。高山鸟巢兰的访问者蚂蚁在一株植株上访问的花数最高可达32朵, 一次在同一植株上停留的时间有时高达1 h, 因此高山鸟巢兰中同样不可避免地会发生同株异花授粉现象。但同株异花授粉的程度有多大, 需要进一步研究。

### 3.5 高山鸟巢兰的传粉系统

我们的研究表明, 蚂蚁在高山鸟巢兰的传粉系统中起主要的作用, 但蚂蚁并不是唯一的传粉者。一般认为蚂蚁参与的传粉系统是一种泛化的传粉系统(*Leporella fimbriata*除外)(Beattie, 2006)。由蚂蚁传粉的植物花部特征可能是对小型昆虫访问者的适应, 而不是对蚂蚁的适应(Rico-Gray & Oliveira, 2007)。*Microtis parviflora*花粉块具柄, 被认为不是对蚂蚁传粉的适应, 只是对蚂蚁传粉系统的前适应(preadaptation)(Peakall & Beattie, 1989; Peakall et al., 1990)。一些植物靠蚂蚁传粉可能只是地区性的(Sugiura et al., 2006), 不同地方可能由不同传粉者来实现传粉成功, 并且同一局部地区不同时间其传粉者也可能不同。这样植物在一些局部地区形成的对蚂蚁传粉系统特化的花部特征的进化, 就会在不同的时间被不同的传粉者破坏(Peakall et al., 1991)。因此一些蚂蚁参与的传粉系统更可能是适应特殊生态环境条件的结果(Gómez et al., 1996)。

在已研究过的对叶兰属的两个种中, 生长在林下比较潮湿环境中的*L. cordata*没有蚂蚁携带花粉的报道(Ackerman & Mesler, 1979), 但在比较开放的干燥环境中生长的*L. ovata*却有蚂蚁携带花粉的报道(Nilsson, 1981)。*Epipactis thunbergii*一般生长在潮湿环境中, 主要传粉者为小型的昆虫, 但该种有时也可以生长在干旱环境中, 此时蚂蚁就可成为该种的主要传粉者(Sugiura et al., 2006)。在黄龙沟内对花叶对叶兰*L. puberula* var. *maculata* (T. Tang & F. T. Wang) S. C. Chen & Y. B. Luo进行的3年研究中, 我们发现2005年花叶对叶兰的主要传粉者为姬蜂, 但2006年黄龙大旱, 包括花叶对叶兰在内的许多植物被老鼠吃掉, 转而2007年花叶对叶兰的主要传粉者变为蚂蚁(王淳秋等, 未发表)。可见, 蚂蚁作为传粉者可能只是在特定环境中或在特定的时间内发生。高山鸟巢兰和两种蚂蚁之间的相互关系也可能只是在特定时间, 在黄龙这样一个独特生态环境中形成发展的, 在其他时间、其他地区高山鸟巢兰是否同样主要由蚂蚁传粉还需要进一步研究。

总之, 高山鸟巢兰蚂蚁传粉是我国蚂蚁传粉的首次发现, 同时也为蚂蚁传粉系统又添加一例, 使兰科植物中报道的蚂蚁传粉植物的范围从3个亚族Caladeniinae、Prasophyllinae、Limodorinae (Peakall, 1994)扩大到4个亚族。但蚂蚁和植物相互关系的研

究仍然需要更多蚂蚁传粉例子的发现。

**致谢** 感谢中国农业大学徐环李教授对昆虫标本进行鉴定, 中国科学院植物研究所庾晓红、程瑾同学在论文修改中给予了帮助。本研究得到中国科学院植物研究所-黄龙国家级风景名胜区管理局合作研究博士工作站的大力支持, 特此致谢!

### 参考文献

- Ackerman JD, Mesler MR. 1979. Pollination biology of *Listera cordata* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 66: 820–824.
- Armstrong JA. 1979. Biotic pollination mechanisms in the Australian flora—a review. *New Zealand Journal of Botany* 17: 467–508.
- Beattie AJ. 1985. The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms. Cambridge: Cambridge University Press.
- Beattie AJ. 2006. The evolution of ant pollination systems. *Botanische Jahrbücher* 127 (1): 43–55.
- Beattie AJ, Turnbull CL, Hough T, Jobson S, Knox RB. 1985. The vulnerability of pollen and fungal spores to ant secretions: Evidence and some evolutionary implications. *American Journal of Botany* 72: 606–614.
- Beattie AJ, Turnbull CL, Hough T, Knox RB. 1986. Antibiotic production: a possible function for the metapleural glands of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* 79: 448–450.
- Beattie AJ, Turnbull C, Knox RB, Williams EG. 1984. Ant inhibition of pollen function: a possible reason why ant pollination is rare. *American Journal of Botany* 71: 421–426.
- Brantjes NBM. 1981. Ant, bee, and fly pollination in *Epipactis palustris* (L.) Crantz (Orchidaceae). *Acta Botanica Neerlandica* 30: 59–68.
- Buckley RC. 1982. Ant-plant interactions: a world review. In: Buckley RC ed. *Ant-plant interactions in Australia*. The Hague: Dr W. Junk Publishers. 111–142.
- Burns-Balogh P, Szlachetko DL, Dafni A. 1987. Evolution, pollination and systematics of the tribe Neottieae (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* 156: 91–115.
- Chen S-C (陈心启). 1999. *Neottia* Guett. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志). Beijing: Science Press. 17: 97–103.
- Chen S-C (陈心启), Luo Y-B (罗毅波). 1999. *Listera* R. Br. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志). Beijing: Science Press. 17: 103–120.
- Darwin C. 1890. Fertilisation of orchids. The various contrivances by which orchids are fertilised by insects. 2nd ed. London: John Murray.
- Delforge P. 1995. *Orchids of Britain and Europe*. London: Harper Collins.
- Dressler RL, Dodson CH. 1960. Classification and phylogeny in the Orchidaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 47: 25–68.
- Galen C, Cuba J. 2001. Down the tube: pollinators, predators,

- and the evolution of flower shape in the alpine skypilot, *Polemonium viscosum*. *Evolution* 55: 1963–1971.
- García MB, Antor RJ, Espadaler X. 1995. Ant pollination of the palaeoendemic dioecious *Borderea pyrenaica* (Dioscoreaceae). *Plant Systematics and Evolution* 198: 17–27.
- Ghazoul J. 2001. Can floral repellents pre-empt potential ant-plant conflicts? *Ecology Letters* 4: 295–299.
- Gómez JM. 2000. Effectiveness of ants as pollinators of *Lobularia maritima*: effects on main sequential fitness components of the host plant. *Oecologia* 122: 90–97.
- Gómez JM, Zamora R. 1992. Pollination by ants: consequences of the quantitative effects on a mutualistic system. *Oecologia* 91: 410–418.
- Gómez JM, Zamora R, Hódar JA, García D. 1996. Experimental study of pollination by ants in Mediterranean high mountain and arid habitats. *Oecologia* 105: 236–242.
- Hickman JC. 1974. Pollination by ants: a low-energy system. *Science* 184: 1290–1292.
- Kerner von Marilaun A. 1894. The natural history of plants—their forms, growth, reproduction and distribution. Translated by Oliver FW. London: Blackie & Son.
- Li Z-D (李左栋), Liu J-X (刘静萱), Huang S-Q (黄双全). 2006. A comparison of several methods used in the field for nectar collection and concentration analysis. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 44: 320–326.
- Moreau CS, Bell CD, Vila R, Archibald SB, Pierce NE. 2006. Phylogeny of the ants: diversification in the age of angiosperms. *Science* 312: 101–104.
- Nilsson LA. 1981. The pollination ecology of *Listera ovata* (Orchidaceae). *Nordic Journal of Botany* 1: 461–480.
- Peakall R. 1989. The unique pollination of *Leporella fimbriata* (Orchidaceae): pollination by pseudocopulating male ants (*Myrmecia urens*, Formicidae). *Plant Systematics and Evolution* 167: 137–148.
- Peakall R. 1994. Interactions between orchids and ants. In: Arditti J ed. *Orchid biology: reviews and perspectives VI*. New York: John Wiley & Sons. 103–134.
- Peakall R, Angus CJ, Beattie AJ. 1990. The significance of ant and plant traits for ant pollination in *Leporella fimbriata*. *Oecologia* 84: 457–460.
- Peakall R, Beattie AJ. 1989. Pollination of the orchid *Microtis parviflora* R. Br. by flightless worker ants. *Functional Ecology* 3: 515–522.
- Peakall R, Beattie AJ. 1991. The genetic consequences of worker ant pollination in a self-compatible clonal orchid. *Evolution* 45: 1837–1848.
- Peakall R, Beattie AJ, James SH. 1987. Pseudocopulation of an orchid by male ants: a test of two hypotheses accounting for the rarity of ant pollination. *Oecologia* 73: 522–524.
- Peakall R, Handel SN, Beattie AJ. 1991. The evidence for, and importance of, ant pollination. In: Huxley CR, Cutler DF eds. *Ant-plant interactions*. Oxford: Oxford University Press. 421–429.
- Peakall R, James SH. 1989. Outcrossing in an ant pollinated clonal orchid. *Heredity* 62: 161–167.
- Proctor M, Yeo P. 1973. *The pollination of flowers*. London: Collins.
- Puterbaugh MN. 1998. The roles of ants as flower visitors: experimental analysis in three alpine plant species. *Oikos* 83: 36–46.
- Raine NE, Willmer P, Stone GN. 2002. Spatial structuring and floral avoidance behavior prevent ant-pollinator conflict in a Mexican ant-acacia. *Ecology* 83: 3086–3096.
- Ramsey M. 1995. Ant pollination of the perennial herb *Blandfordia grandiflora* (Liliaceae). *Oikos* 74: 265–272.
- Ran J-H (冉江洪), Liu S-Y (刘少英). 2002. Scientific expedition of Huanglong Nature Reserve (黄龙自然保护区综合考察报告). Chengdu: Sichuan Forestry Press.
- Reinhard HR, Gözl P, Peter R, Wildermuth H. 1991. Die Orchideen der Schweiz und angrenzender Gebiete. Egg: Fotorodar AG.
- Rico-Gray V. 1989. The importance of floral and circum-floral nectar to ants inhabiting dry tropical lowlands. *Biological Journal of the Linnean Society* 38: 173–181.
- Rico-Gray V, Oliveira PS. 2007. *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. Chicago: University of Chicago Press.
- Ruffner GA, Clark WD. 1986. Extrafloral nectar of *Ferocactus acanthodes* (Cactaceae): Composition and its importance to ants. *American Journal of Botany* 73: 185–189.
- Rutter MT, Rausher MD. 2004. Natural selection on extrafloral nectar production in *Chamaecrista fasciculata*: the costs and benefits of a mutualism trait. *Evolution* 58: 2657–2668.
- Schneider H, Schuettpeiz E, Pryer KM, Cranfill R, Magallón S, Lupia R. 2004. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature* 428: 553–557.
- Schürch S, Pfunder M, Roy BA. 2000. Effects of ants on the reproductive success of *Euphorbia cyparissias* and associated pathogenic rust fungi. *Oikos* 88: 6–12.
- Sugiura N, Miyazaki S, Nagaishi S. 2006. A supplementary contribution of ants in the pollination of an orchid, *Epipactis thunbergii*, usually pollinated by hover flies. *Plant Systematics and Evolution* 258: 17–26.
- van der Cingel NA. 1995. *An atlas of orchid pollination: European orchids*. Rotterdam: A. A. Balkema.
- Wagner D, Kay A. 2002. Do extrafloral nectaries distract ants from visiting flowers? An experimental test of an overlooked hypothesis. *Evolutionary Ecology Research* 4: 293–305.
- Waser NM. 2006. Specialization and generalization in plant-pollinator interactions: a historical perspective. In: Waser NM, Ollerton J eds. *Plant-pollinator interactions: From specialization to generalization*. Chicago: University of Chicago Press. 3–17.
- Willmer PG, Stone GN. 1997. How aggressive ant-guards assist seed-set in *Acacia* flowers. *Nature* 388: 165–167.
- Wyatt R. 1981. Ant-pollination of the granite outcrop endemic *Diamorpha smallii* (Crassulaceae). *American Journal of Botany* 68: 1212–1217.
- Wyatt R, Stoneburner A. 1981. Patterns of ant-mediated pollen dispersal in *Diamorpha smallii* (Crassulaceae). *Systematic Botany* 6: 1–7.
- Yang P-H (杨平厚), Lang K-Y (郎楷永). 2006. *Neottia taibaishanensis*, a new species of Orchidaceae from Shanxi, China. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 44: 86–88.