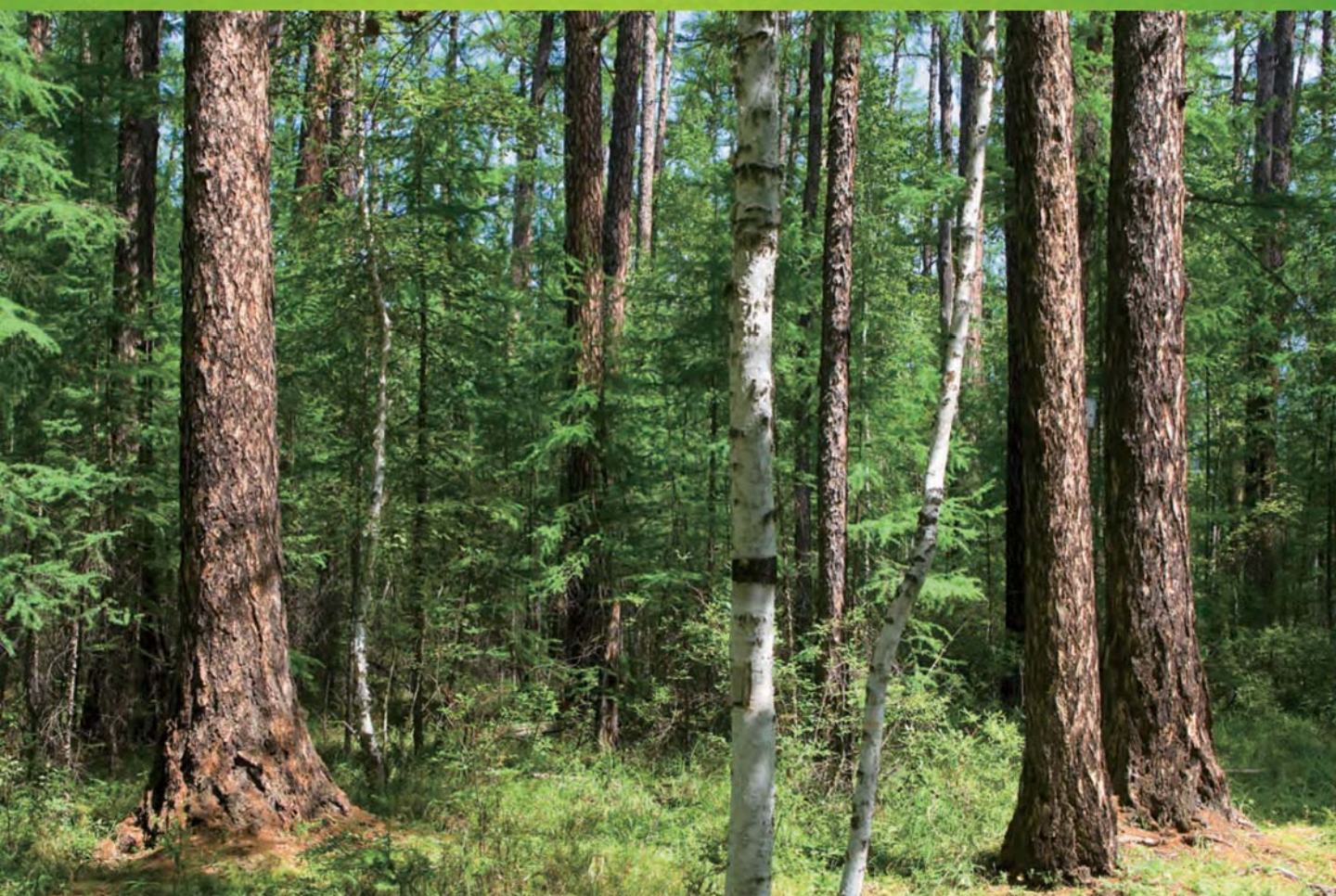


ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第33卷 第23期 Vol.33 No.23 **2013**

中国生态学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 23 期 2013 年 12 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 基于树干液流技术的北京市刺槐冠层吸收臭氧特征研究..... 王 华, 欧阳志云, 任玉芬, 等 (7323)
- 三疣梭子蟹增殖过程对野生种群的遗传影响——以海州湾为例..... 董志国, 李晓英, 张庆起, 等 (7332)
- 土壤盐分对三角叶滨藜抗旱性能的影响..... 谭永芹, 柏新富, 侯玉平, 等 (7340)
- 南美斑潜蝇为害对黄瓜体内 4 种防御酶活性的影响..... 孙兴华, 周晓榕, 庞保平, 等 (7348)

个体与基础生态

- 模拟氮沉降对华西雨屏区苦竹林凋落物养分输入量的早期影响..... 肖银龙, 涂利华, 胡庭兴, 等 (7355)
- 茎瘤芥不同生长期植株营养特性及其与产量的关系..... 赵 欢, 李会合, 吕慧峰, 等 (7364)
- 雷竹覆盖物分解速率及其硅含量的变化..... 黄张婷, 张 艳, 宋照亮, 等 (7373)
- 渍水对油菜苗期生长及生理特性的影响..... 张树杰, 廖 星, 胡小加, 等 (7382)
- 广西扶绥黑叶猴的主要食源植物及其粗蛋白含量..... 李友邦, 丁 平, 黄乘明, 等 (7390)
- 氮素营养水平对膜下滴灌玉米穗位叶光合及氮代谢酶活性的影响..... 谷 岩, 胡文河, 徐百军, 等 (7399)
- PFOS 对斑马鱼胚胎及仔鱼的生态毒理效应 夏继刚, 牛翠娟, 孙麓垠 (7408)
- 浒苔干粉末提取物对东海原甲藻和中肋骨条藻的克生作用..... 韩秀荣, 高 嵩, 侯俊妮, 等 (7417)
- 基于柑橘木虱 CO I 基因的捕食性天敌捕食作用评估 孟 翔, 欧阳革成, Xia Yulu, 等 (7430)
- 健康和虫害的红松挥发物对赤松梢斑螟及其寄生蜂寄主选择行为的影响.....
..... 王 琪, 严善春, 严俊鑫, 等 (7437)

种群、群落和生态系统

- 小麦蚕豆间作对蚕豆根际微生物群落功能多样性的影响及其与蚕豆枯萎病发生的关系.....
..... 董 艳, 董 坤, 汤 利, 等 (7445)
- 喀斯特峰丛洼地不同生态系统的土壤肥力变化特征..... 于 扬, 杜 虎, 宋同清, 等 (7455)
- 黄土高原人工苜蓿草地固碳效应评估..... 李文静, 王 振, 韩清芳, 等 (7467)

景观、区域和全球生态

- 粉垄耕作对黄淮海北部土壤水分及其利用效率的影响..... 李轶冰, 逢焕成, 杨 雪, 等 (7478)
- 三峡库区典型农林流域景观格局对径流和泥沙输出的影响..... 黄志霖, 田耀武, 肖文发, 等 (7487)
- 基于 BP 神经网络与 ETM+ 遥感数据的盐城滨海自然湿地覆被分类..... 肖锦成, 欧维新, 符海月 (7496)
- 寒温带针叶林土壤 CH₄ 吸收对模拟大气氮沉降增加的初期响应..... 高文龙, 程淑兰, 方华军, 等 (7505)
- 寒温带针叶林土壤呼吸作用的时空特征..... 贾丙瑞, 周广胜, 蒋延玲, 等 (7516)

黄土高原小麦田土壤呼吸季节和年际变化..... 周小平,王效科,张红星,等 (7525)

不同排放源周边大气环境中 NH₃ 浓度动态..... 刘杰云,况福虹,唐傲寒,等 (7537)

施加秸秆和蚯蚓活动对麦田 N₂O 排放的影响 罗天相,胡 锋,李辉信 (7545)

资源与产业生态

基于水声学方法的天目湖鱼类资源捕捞与放流的生态监测..... 孙明波,谷孝鸿,曾庆飞,等 (7553)

应用支持向量机评价太湖富营养化状态..... 张成成,沈爱春,张晓晴,等 (7563)

研究简报

亚热带 4 种森林凋落物量及其动态特征 徐旺明,闫文德,李洁冰,等 (7570)

青蒿素对蔬菜种子发芽和幼苗生长的化感效应 白 祯,黄 玥,黄建国 (7576)

NO 参与 AM 真菌与烟草共生过程 王 玮,赵方贵,侯丽霞,等 (7583)

基于核密度估计的动物生境适宜度制图方法..... 张桂铭,朱阿兴,杨胜天,等 (7590)

施氮方式对转基因棉花 Bt 蛋白含量及产量的影响 马宗斌,刘桂珍,严根土,等 (7601)

学术信息与动态

未来地球——全球可持续性研究计划..... 刘源鑫,赵文武 (7610)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 292 * zh * P * ¥ 90.00 * 1510 * 33 * 2013-12



封面图说：兴安落叶松林景观——中国的寒温带针叶林属于东西伯利亚森林向南的延伸部分,它是大兴安岭北部一带的地带性植被类型,一般可分为落叶针叶林和常绿针叶林两类。兴安落叶松林景观地下部分为棕色森林土,中上部为灰化棕色针叶林土,均呈酸性反应。随着全球气候持续变暖,寒温带针叶林生态系统潜在的巨大碳库将可能成为大气 CO₂ 的重要来源,研究表明,温度是寒温带针叶林生态系统土壤呼吸作用的主要调控因子,对温度的敏感性随纬度升高而增加,根系和凋落物与土壤呼吸作用表现出相似的空间变异性。

彩图及图说提供：陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201209101271

孟翔, 欧阳革成, Xia Yulu, 郭明昉. 基于柑橘木虱 CO I 基因的捕食性天敌捕食作用评估. 生态学报, 2013, 33(23): 7430-7436.

Meng X, Ouyang G C, Xia Y L, Guo M F. Predation evaluation of *Diaphorina citri*'s (Homoptera: Chermidae) natural enemies using the CO I marker gene. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(23): 7430-7436.

基于柑橘木虱 CO I 基因的捕食性天敌 捕食作用评估

孟 翔^{1,2}, 欧阳革成¹, Xia Yulu³, 郭明昉^{1,*}

(1. 广东省昆虫研究所, 广州 510260; 2. 广东省科学院, 广州 510070;

3. National Science Foundation Center for Integrated Pest Management, North Carolina State University,
1730 Varsity Dr. Suite 110, Raleigh, NC 27606, USA)

摘要: 捕食性天敌是害虫生物防治中的重要角色, 如何精确评估捕食性天敌的捕食作用是生态学中尚待研究的问题之一。为探索柑橘园捕食性天敌对柑橘木虱 *Diaphorina citri* 的捕食作用, 根据柑橘木虱细胞色素氧化酶 I (CO I) 的基因序列设计了 PCR 特异性引物, 并应用 DNA 标记方法检测捕食性天敌对柑橘木虱的捕食作用。物种特异性检验结果发现: 引物对 A 对柑橘木虱 DNA 扩增效果明显, 对其他种类的害虫及其天敌不具有扩增作用。田间检测结果表明: 在所检测的 8 类群 20 种捕食性天敌中, 龟纹瓢虫 *Propylea japonica*、斜纹猫蛛 *Oxyopes sertatus*、丽草蛉 *Chrysopa formosa* 对柑橘木虱具有明显的捕食作用, 其阳性反应检出率分别达到 58.06%, 57.89%, 48.00%。室内龟纹瓢虫对柑橘木虱的消化检测表明: 龟纹瓢虫成虫取食 1 头柑橘木虱 4 龄若虫或成虫时, 检测阳性率均随消化时间的延长而下降, 其消化半衰期分别为 4.93 h 和 12.98 h。采用 DNA 标记技术探索捕食作用, 为筛选柑橘木虱的优势天敌拓展了新的思路, 也为进一步田间生物防治柑橘木虱奠定了基础。

关键词: 柑橘木虱; 细胞色素氧化酶 I 基因; 捕食性天敌; DNA 标记

Predation evaluation of *Diaphorina citri*'s (Homoptera: Chermidae) natural enemies using the CO I marker gene

MENG Xiang^{1,2}, OUYANG Gecheng¹, XIA Yulu³, GUO Mingfang^{1,*}

1 Guangdong Entomological Institute, Guangzhou 510260, China

2 Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510070, China

3 National Science Foundation Center for Integrated Pest Management, North Carolina State University, 1730 Varsity Dr. Suite 110, Raleigh, NC 27606, USA

Abstract: Citrus Huanglongbing (HLB) is the most destructive disease in citrus production worldwide. The Asiatic citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama) is currently the only insect vector identified to transmit the citrus HLB pathogen and is one of the most significant pests in citrus production. Although *D. citri* is being controlled chemically, alternative biorational strategies should be developed. Predators play an important role in the biological control of agricultural pests, and arthropod predators have been identified as an important factor in pest population growth control. Traditionally, approaches to measure insect predation include direct observation, predator enhancement or exclusion, and direct or biochemical estimation of gut contents. However, predators and prey are often small, mobile or live under dense vegetation. Thus, arthropod predation is generally difficult to observe and estimate directly. These evaluations require a heavy workload in complicated ecological

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31171853); 广东省自然科学基金资助项目 (S2013040015901); 广东省国际合作资助项目 (2011B050400006); 中国博士后基金资助项目 (2013M531829)

收稿日期: 2012-09-10; **修订日期:** 2013-02-05

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: guomf@gdei.gd.cn

environments, which can influence their accuracy. How to evaluate predation accurately is one of the problems yet to be solved in ecology.

The cytochrome oxidase subunit I gene (CO I) is known as a conservative protein-coding gene that has been widely used in systematic studies of invertebrates. To understand the predation of key predators on *D. citri* in citrus orchards, a DNA marker, CO I of *D. citri*, was developed in this study. Specific primers can be used in polymerase chain reactions to amplify prey DNA from the gut content of generalist predators with high specificity and sensitivity. A prerequisite for applying this approach to field studies is to confirm that primers are actually targeting specific prey species or prey groups and do not produce false positive results by amplifying DNA either from the predator species or from the wide range of potential alternative prey found under natural conditions. Our study was not confined to a species-specific molecular systematics study, but used the population of pests and their enemies in their citrus orchard environment. The sequence-characterized primers were designed according to the CO I gene sequence of *D. citri*. The specificity test results performed with the primers showed that the primers were specific and efficient to detect the species-specific DNA of *D. citri*. The positive detection of *D. citri* DNA in the predators collected in field samples showed that *Propylea japonica*, *Oxyopes sertatus* and *Chrysopa formosa* had a significant predation on *D. citri*; the detection rates of these predators were 58.06%, 57.89%, and 48.00%, respectively. The time that residual prey DNA can be detected by molecular analysis of a predator's gut-content is very important, and it decides the practical feasibility of this DNA analysis technique. The lab digestion analysis of *P. japonica* adults on *D. citri* indicated that detection decreased with the extension of digestion time. The half-lives of DNA detectability for a single *D. citri* 4th instar nymph and adult consumed by a *P. japonica* adult were 4.93 h and 12.98 h, respectively. DNA marker technology has the advantages of a simple protocol and a quick inspection over the previously described detection procedures for predators of *D. citri*. It provides an important theoretical basis to investigate the spectrum of predatory natural enemies and the sustainable control of *D. citri*.

Key Words: *Diaphorina citri* Kuwayama; cytochrome oxidase subunit I gene; predatory natural enemy; DNA marker

柑橘木虱 *Diaphorina citri* Kuwayama 属同翅目木虱科,是柑橘黄龙病亚洲种和美洲种唯一的传播媒介。它取食黄龙病株后可终生带毒,且传毒率高^[1-5]。目前我国防治柑橘木虱主要采取化学防治措施,虽然有一定的效果,但频繁的使用农药对生态环境破坏和产生严重的抗药性问题不容忽视^[6-7],因此寻找新的防控方法与途径是一项迫切的任务。

目前,天敌群落在农田生态系统中的地位越来越突出,利用天敌防治害虫已成为热点。其中节肢动物捕食者被认为是一种控制害虫种群增长的重要因子^[8]。捕食性天敌的利用是有害生物可持续控制的重要方法之一。在诸多研究捕食性天敌对害虫捕食效应的方法中,常规的室内捕食功能测定和田间捕食效果观察法^[9]不但工作量大,操作过程繁琐,且试验条件与实际生态环境存在较大差异;而以生化手段的研究方法,如:免疫标记(ELISA)、单克隆抗体、同位素与放射性同位素标记、蛋白质电泳分析^[10-12]等,虽然在一定程度提高了检测的特异性和灵敏度,但其技术上多具有一定的局限性^[13-14],如:必要的设备分析、复杂的抗体制备、环境和安全的考虑等都限制了捕食作用评价的准确性。

然而,借助分子生物学技术(如:ITS、mtDNA、SCAR 和细胞色素氧化酶(CO I、II)基因标记等)检测天敌消化道内是否含有害虫残体^[15-16]已经成为探明不同生境捕食者-猎物的捕食动态和频率,揭示环境变化对捕食控害能力的影响及其内在机制的主流技术,这些检测技术不仅大大提高了测试的敏感性,且操作简单,检验迅速。因此,其已逐步发展成为昆虫捕食效应研究的有效方法,并被广泛应用于相关研究^[16-17]。

本研究通过 CO I 标记法设计柑橘木虱特异性片段扩增引物,并针对与柑橘木虱同域发生的其它害虫:红蜘蛛、柑橘黑刺粉虱、蚜虫、卷叶蛾、潜叶蛾等以及捕食性天敌进行种特异性检验和田间主要捕食性天敌的筛选,拟为柑橘木虱捕食性天敌谱的研究提供分子生物学依据。同时在室内条件下研究龟纹瓢虫成虫取食单

头柑橘木虱 4 龄若虫或成虫的消化反应,为特定捕食性天敌昆虫捕食作用的定性与定量检测提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

柑橘木虱及田间节肢动物均用网捕、手捕法采自广东省四会市罗源镇实验田,田间常规管理,期间不施用任何杀虫剂。

供取食消化实验的龟纹瓢虫于实验田采集后,带回广东省昆虫研究所虫鼠害生态控制研究中心养虫室饲养(温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$;光周期 L14:D10;相对湿度:60%—80%)备用。

1.2 DNA 的提取

DNA 提取采用单头匀浆法。参考安瑞生等的方法^[18],将单头虫用双蒸水清洗、吸干装入 1.5 mL 离心管,加入 50 μL 提取缓冲液 A (1% SDS, 50 mmol/L Tris · Cl, 25 mmol/L NaCl, 25 mmol/L EDTA), -20°C 放置 5 min 后以研磨棒捣碎,然后用 100 μL 提取缓冲液冲洗研磨棒; 65°C 水浴 45 min, 中间取出混匀 2 次;加入等体积的提取液 B (3 mol/L KAC (pH 值 7.2)), 冰上放置 1 h 以上; 12 000 r/min 离心 10 min, 移上清液于另一离心管中 12 000 r/min 离心 10 min, 加入 2 倍体积预冷的无水乙醇, 混匀, 放置 -20°C 1 h 以上; 12 000 r/min, 离心 10 min, 收集沉淀, 用 70% 乙醇洗涤 1—2 次; 晾干沉淀; 每管加入 50 μL 0.1 $\times$ TE, 充分溶解后 -20°C 保存备用。

1.3 柑橘木虱特异引物设计及 PCR 反应体系的建立

根据柑橘木虱细胞色素氧化酶 I (CO I) 基因序列 (GenBank: JF509109.1) 应用 primer premier 5.0 软件设计特异片段扩增引物对 A 和 B, 引物对 A: 上游引物: 5'-TGGAGCTCCCGATATAGCTTTC-3'; 下游引物: 5'-TCTCCACCTCCTGCTGGATCAA-3'。引物对 B: 上游引物: 5'-CCAAGGAGTAGGAACAGGCTGA-3'; 下游引物: 5'-TCTCCACCTCCTGCTGGATCAA-3'。PCR 扩增反应体系为 25 μL : Taq DNA 聚合酶 0.5 μL ; dNTP 2 μL ; 10 $\times$ buffer 2.5 μL ; 上游引物 1 μL ; 下游引物 1 μL ; DNA 模板 1 μL ; ddH₂O 17 μL 。PCR 扩增反应在 Eppendorf Mastercycler ep 基因扩增仪中进行, 对照反应体系中的 DNA 模板以双蒸水代替。扩增程序为: 94°C 预变性 5 min; 然后 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 扩增 35 个循环; 最后 72°C 延伸 5 min; 反应结束后, 取 5 μL PCR 产物进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳, 电泳缓冲液为: 0.5 $\times$ TBE (45 mmol/L Tris-硼酸盐, 1 mmol/L EDTA), 以标准分子量 Marker 作为参照物检测扩增结果。

1.4 引物种特异性检验

以与柑橘木虱同域发生的节肢动物(龟纹瓢虫 *Propylea japonica*; 日本刀角瓢虫 *Serangium japonicum*; 红肩瓢虫 *Leis imidiate*; 小瓢虫亚属 *Scymnus pullus* (sp); 丽草蛉幼虫 *Chrysopa sinica*; 八斑球腹蛛 *Theridion octomaculatum*; 大银腹蛛 *Leucauge magnifica*; 草间小黑蛛 *Erigonidium graminicolum*; 斜纹猫蛛 *Oxyopes sertatus*; 微蟹蛛属 *Lysiteles* (sp); 黑细长蚁 *Teraponera nigar*; 举腹蚁属 *Crematogaster* (sp); 蚜虫 *Aphidoidea* sp; 柑橘黑刺粉虱 *Aleurocanthus spiniferus*; 红蜘蛛 *Tetranychus cinnbarinus*; 卷叶蛾 *Homona magnanima*; 稻蝗属 *Oxya* (sp); 红脊长蝽 *Tropidothorax elegans*; 柑橘潜叶蛾 *Phyllocnistis citrella*; 螳螂科 *Mantidae* (sp)) 饥饿 48 h 的 DNA 作为模板, 以取食 2 头柑橘木虱若虫的龟纹瓢虫成虫作为阳性对照、清水作为阴性对照, 分别以引物对 A 和 B 进行扩增, 检验 CO I 引物的种特异性, 以避免在使用柑橘木虱特异性引物的 PCR 中出现假阳性。PCR 反应体系与程序同上。

1.5 田间柑橘木虱捕食性天敌检测

于 2011 年 10 月 1 日至 12 月 1 日柑橘木虱盛发期每周调查 1 次, 在样田内随机采集捕食性天敌, 单头分装, -20°C 冻存待测。以引物对 A 检测捕食性天敌对柑橘木虱的捕食作用。

1.6 消化时间对特异性引物检测效果研究

以田间采集的龟纹瓢虫成虫为实验材料, 龟纹瓢虫成虫饥饿处理 48 h 后, 饲喂柑橘木虱 4 龄若虫 1 头或成虫 1 头。取食柑橘木虱后的龟纹瓢虫置 25°C 恒温下培养, 期间只给水, 不饲喂任何食物。分别在取食柑橘木虱后 0, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 h, 单头提取龟纹瓢虫成虫 DNA, 用于 PCR。PCR 以引物对 A 作引物, 反应

体系与程序同上。实验每处理重复 10 次,最后统计出阳性检出率。

2 结果与分析

2.1 引物种特异性验证

通过对 21 种节肢动物的验证结果发现:引物对 A 和 B 对柑橘木虱及取食 2 头柑橘木虱的龟纹瓢虫成虫 (阳性对照) 均具有明显的扩增效果,且条带明显。所扩增片段大小分别约为 420 bp 和 322 bp。其中,引物对 A 对其它种类无扩增作用,物种特异性强。引物对 B 还分别可以从数种其他节肢动物的 DNA 模板中扩增出与目标片段相同的 PCR 产物。可见引物对 B 对柑橘木虱不具有特异性。引物对 A 在试验涉及的物种范围内具有对柑橘木虱的种的特异性,可用于进一步试验(图 1)。

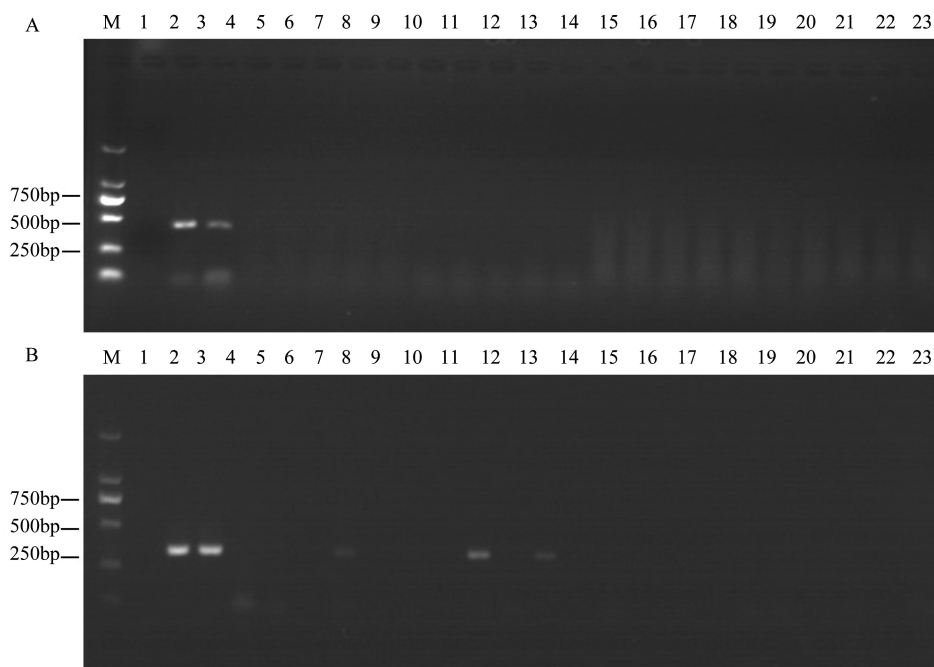


图 1 引物对 A 和引物对 B 特异性验证的 PCR 产物电泳图

Fig.1 PCR amplification of some species in citrus orchards using primers A and primers B

M: DNA Marker; 1: 阴性对照 Negative control; 2: 柑橘木虱若虫 nymph of *Diaphorina citri*; 3: 阳性对照 (喂食 2 头柑橘木虱若虫的龟纹瓢虫) Positive control *Propylea japonica*; 4: 龟纹瓢虫 *Propylea japonica*; 5: 日本刀角瓢虫 *Serangium japonicum*; 6: 红肩瓢虫 *Leis imidiate*; 7: 小瓢虫亚属 *Scymnus pullus* (sp); 8: 丽草蛉幼虫 *Chrysopa sinica*; 9: 八斑球腹蛛 *Theridion octomaculatum*; 10: 大银腹蛛 *Leucauge magnifica*; 11: 草间小黑蛛 *Erigonidium graminicolum*; 12: 斜纹猫蛛 *Oxyopes sertatus*; 13: 微蟹蛛属 *Lysiteles* (sp); 14: 黑细长蚁 *Teraponera nigar*; 15: 举腹蚁属 *Crematogaster* (sp); 16: 蚜虫 *Aphidoidea* sp; 17: 柑橘黑刺粉虱 *Aleurocanthus spiniferus*; 18: 红蜘蛛 *Tetranychus cinnbarinus*; 19: 卷叶蛾 *Homona magnanima*; 20: 稻蝗属 *Oxya* (sp); 21: 红脊长蝽 *Tropidothorax elegans*; 22: 柑橘潜叶蛾 *Phyllocnistis citrella*; 23: 螳螂科 *Mantidae* (sp)

2.2 田间柑橘木虱捕食性天敌检测结果

以柑橘木虱田间采集的各种捕食性天敌为对象,应用引物对 A 单头检测其对柑橘木虱的捕食作用。结果表明(表 1):在所检测的 8 类群 20 种捕食性天敌中,瓢虫、草蛉、食蚜蝇、猎蝽、蚂蚁等天敌均具有捕食柑橘木虱的能力,其中以龟纹瓢虫 *Propylea japonica*、斜纹猫蛛 *Oxyopes sertatus*、丽草蛉 *Chrysopa formosa* 最为明显,其阳性反应比率分别为 58.06%、57.89% 和 48.00%。

2.2 消化时间对特异性引物检测效果的影响

以引物对 A 对龟纹瓢虫成虫腹内的柑橘木虱 4 龄若虫和成虫成分分别进行阳性检测,结果表明(图 2):在取食后 0 h 处理的龟纹瓢虫中均能检测到柑橘木虱成分,但随着消化时间的延长,其 DNA 条带扩增效果降低,阳性比率下降,两者呈负相关。应用 Probit 模型模拟龟纹瓢虫成虫取食柑橘木虱 4 龄若虫和成虫的阳性比率与消化时间的关系,以引物对 A 进行检测,拟合良好 ($\chi^2 = 0.769$, $P = 0.979$; $\chi^2 = 0.833$,

$P=0.975$), 半衰期分别为 4.93 h 和 12.98 h。

表 1 柑橘园捕食性天敌对柑橘木虱捕食作用的 CO I 检测

Table 1 The predatory detection of predators based on CO I gene of <i>Diaphorina citri</i> in citrus orchards			
天敌种类 Predator species	检测数量 Number of tested	阳性反应数量 Number of positive	阳性反应比率/% Percentage of positive
瓢虫类 Coccinellidae	84	29	34.52
龟纹瓢虫 <i>Propylea japonica</i>	31	18	58.06
六斑月瓢虫 <i>Menochilus sexmaculata</i>	27	11	40.74
红肩瓢虫 <i>Leis imidiata</i>	7	0	0
刀角瓢虫 <i>Serangium japonicum</i>	17	0	0
食螨瓢虫 <i>Stethorus</i> sp.	2	0	0
草蛉类 Chrysopidae	34	15	44.12
丽草蛉 <i>Chrysopa formosa</i>	25	12	48.00
中华草蛉 <i>Chrysopa sinica</i>	9	3	33.33
螨类 mites	6	1	16.67
胡瓜钝绥螨 <i>Neoseiulus cucumeris</i>	6	2	16.67
食蚜蝇类 Syrphoidea	15	1	6.67
食蚜蝇 <i>Syrphus</i> sp.	15	1	6.67
猎蝽类 Reduviidae	29	3	10.34
红小猎蝽 <i>Vesbius purpureus</i>	21	2	9.52
轮刺猎蝽 <i>Scipinia horrida</i>	8	1	12.50
蚂蚁类 Formicidae	44	6	13.64
黑细长蚁 <i>Teraponera nigar</i>	25	1	4.00
举腹蚁属 <i>Crematogaster</i> sp	19	5	26.32
蜘蛛类 Araneae	70	20	28.57
斜纹猫蛛 <i>Oxyopes sertatus</i>	19	11	57.89
草间小黑蛛 <i>Erigonidium graminicolum</i>	12	4	33.33
大银腹蛛 <i>Leucauge magnifica</i>	17	3	17.65
八斑球腹蛛 <i>Theridion octomaculatum</i>	8	1	12.50
三突花蛛 <i>Misumenops tricuspidatus</i>	11	1	9.09
蝇虎 <i>Asemonea tanikawai</i> sp.	3	0	0
虎甲类 Cicindelidae	3	0	0
金斑虎甲 <i>Cicindela aurulenta</i>	3	0	0

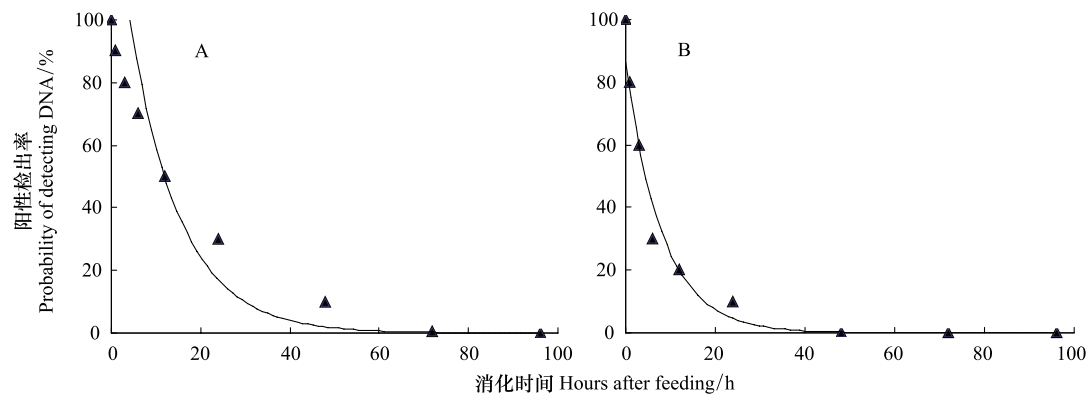


图 2 利用特异性引物对 A 检测龟纹瓢虫成虫对柑橘木虱捕食的阳性检出率与消化时间的关系

Fig.2 The relations of *Diaphorina citri* DNA detection probability and different digestion time in *Propylea japonica* samples after feeding, using primers A

A 为龟纹瓢虫成虫捕食 1 头柑橘木虱 4 龄若虫 *Propylea japonica* fed one *Diaphorina citri* 4th nymph; B 为龟纹瓢虫成虫捕食 1 头柑橘木虱成虫 *Propylea japonica* fed one *Diaphorina citri* adult

3 结论与讨论

捕食者-猎物系统是一个复杂的相互作用系统,是群落生态学中的一个重要组成部分,也是进行害虫生物防治和天敌利用的重要科学依据。DNA 分子标记技术为研究捕食者-猎物关系提供了更为有效、准确的方法。本研究根据已知柑橘木虱 CO I 基因序列,寻找柑橘木虱不同于其他种独特区域。针对单一物种设计引物通常会受到相近种序列高度相似的干扰^[19]。本研究不局限于分子分类学研究,而是从柑橘园本身的害虫和天敌种群及其生态环境出发,针对与柑橘木虱同域发生的近似种及其他害虫和天敌成功设计了柑橘木虱特异性 PCR 引物,并在田间天敌检测和室内消化检测中得到了进一步验证。实验结果进一步明确和丰富了柑橘木虱的主要捕食性天敌种类,表明捕食性天敌是柑橘木虱综合防治中值得利用的重要天敌资源。可见基于 CO I 基因的分子标记方法适合柑橘木虱捕食性天敌的筛选与捕食作用的评估。

在消化道内含物的分子分析时,捕食者消化道中猎物残留 DNA 的可检测时间非常重要,其决定了 DNA 技术的实际可行性。如:鳞翅目昆虫 *Eupithecia* sp 的卵被瓢虫 *Halmus chalybeus* 取食后,24 h 可检测率为 85%;小菜蛾 *Plutella xylostella* 在姬蜂肠道内,16 h 可检测率为 67%,在狼蛛 *Lycosa* sp 肠道内,72 h 可检测率为 80%^[20-22]。本研究通过 PCR 阳性反应检测,可以追踪到龟纹瓢虫成虫取食 1 头柑橘木虱 4 龄若虫或成虫 24 h 的可检测率分别为:10%和 30%,其最长检测时间分别为 48 h 和 72 h。根据 DNA 可检测的时限性,我们可以推测柑橘木虱在田间被龟纹瓢虫捕食的时间范围。此外,在自然生态系统中,由于一些捕食者食性广泛又具有一定的选择性,其间接捕食作用会对消化道内含物的分子分析和评估造成一定影响。本实验所研究的龟纹瓢虫属于广食性天敌,其在自然环境中对柑橘木虱的捕食作用与间接捕食作用的关系及其影响因素尚有待进一步研究。

不同捕食者对同一猎物的消化能力呈较丰富的多样性。如马铃薯甲虫卵在瓢虫肠道中的半衰期是 7.0 h,在刺肩蜂中的半衰期是 50.9 h^[23],而本研究结果同样表明同一捕食者(龟纹瓢虫成虫)对猎物(柑橘木虱)不同虫态的消化能力也呈较丰富的多样性,龟纹瓢虫成虫分别取食 1 头柑橘木虱 4 龄若虫或成虫的消化半衰期分别为 4.93 h 和 12.98 h。可见,食物链 DNA 跟踪技术可在某种程度上阐明龟纹瓢虫在空间与时间上对柑橘木虱的捕食规律。

此外,由于昆虫等是变温动物,代谢水平随温度升高而加速,猎物可被检出的时间会随温度的升高而变短,因此猎物在天敌肠道内滞留时间分析时,尚需考虑温度对变温动物消化的影响^[19]。本试验在室内特定条件下进行,捕食者和猎物均处于一个简单的封闭系统内,其生存条件和自然条件存在很大差异。对生活在自然界的节肢动物来说,其捕食作用受到各种环境因子的影响,每次的试验结果与实际情况下的捕食量、捕食后的消化速率以及捕食频率都有一定差异。可见,节肢类捕食者捕食作用的定量评价是一件十分困难的事情。因此,柑橘木虱主要捕食性天敌对柑橘园其他昆虫的捕食作用及生态关系还有待进一步探索研究。

References:

- [1] Batool A, Iftikhar Y, Mughal S M, Khan M M, Jaskani M J, Abbas M, Khan I A. Citrus greening disease — A major cause of citrus decline in the world: A review. *Horticultural Science*, 2007, 34 (4) : 159-166.
- [2] Capoor S P, Rao D G, Viswanath S M. *Diaphorina citri* Kuway, a vector of the greening disease of citrus in India. *The Indian Journal of Agricultural Science*, 1967, 37(6) : 572-576.
- [3] Wu D R. The relationship between *Diaphorina citri* habits and the happening of Citrus Huanglongbing. *South China Fruits*, 1980, 4 (2) : 33-34.
- [4] Deng M X. Key techniques for integrated management of citrus yellow shoot in controlling wood louse. *Plant Protection*, 2006, 32 (6) : 147-149.
- [5] Yuan H, Li A G. The exploration of *Diaphorina citri* population distribution characters and their prevention and control measures in Guilin. *Guangxi Plant Protection*, 2007, 20 (4) : 31-32.
- [6] Deng M X, Pan Z X, Tan Y L, Tang G F, Qin X, Chen G F, Tang M L. Cross-resistance of Asian Citrus Psylla to 4 neonicotinoid insecticides. *Agrochemicals*, 2012, 51 (2) : 153-155.
- [7] Zhang Y P, Li D S, Huang S H, Zhang B X. Research progress in biological control of *Diaphorina citri*. *Chinese Journal of Biological Control*, 2009, 25 (2) : 160-164.

- [8] Luff M L. The potential of predators for pest control. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1983, 10 (2) : 159-181.
- [9] Hengeveld R. Qualitative and quantitative aspects of the food of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) : a review. *Netherlands Journal of Zoology*, 1980, 30 (4) : 555-563.
- [10] Sunderland K D. Quantitative methods for detecting invertebrate predation occurring in the field. *Annals of Applied Biology*, 1988, 112 (1) : 201-224.
- [11] Sunderland K D. Progress in quantifying predation using antibody techniques//Symondson W O C. Liddell J E, eds. *The Ecology of Agricultural Pests; Biochemical Approaches*. London: Chapman and Hall, 1996 : 419-455.
- [12] Pierce G J, Boyle P R. A review of methods for diet analysis in piscivorous marine mammals. *Oceanography and Marine Biology*, 1991, 29 : 409-486.
- [13] Agustí N, de Vicente M C, Gabarra R. Development of sequence amplified characterized region (SCAR) markers of *Helicoverpa armigera* : a new polymerase chain reaction-based technique for predator gut analysis. *Molecular Ecology*, 1999, 8 (9) : 1467-1474.
- [14] Zaidi R H, Jaal Z, Hawkes N J, Hemingway J, Symondson W O C. Can multiple-copy sequences of prey DNA be detected amongst the gut contents of invertebrate predators? *Molecular Ecology*, 1999, 8 (12) : 2081-2087.
- [15] Hoogendoorn M, Heimpel G E. PCR-based gut content analysis of insect predators: using ITS-I fragments from prey to estimate predation frequency. *Molecular Ecology*, 2001, 10 (8) : 20591-2067.
- [16] Gao H X, Han L L, Zhao K J, Fan D, Liu J. Cloning and sequencing of cytochrome oxidase II gene of *Aphis glycines* and its application in detecting natural enemies. *Acta Entomologica Sinica*, 2006, 49(5) : 754-758.
- [17] Song X Y, Cong B, Qian H T, Dong H. Identification of the key predators of *Aphis glycines* Matsumura (Homoptera: Aphididae) using CO I gene markers. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41 (9) : 2881-2888
- [18] An R S, Tan S J, Chen X F. Improvement in grinding tissue during extracting DNA from small insects. *Entomological Knowledge*, 2002, 39 (4) : 311-312.
- [19] Li K, Zhao L Y, Tian J C, Wang H, Ye G Y, Xiao J H. Research progress in DNA-based approach tracking trophic links. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2010, 37 (1) : 83-88.
- [20] Sheppard S K, Henneman M L, Memmott J, Symondson W O C. Infiltration by alien predators into invertebrate food webs in Hawaii: a molecular approach. *Molecular Ecology*, 2004, 13 (7) : 2077-2088.
- [21] Ma J, Li D, Keller M, Schmidt O, Feng X. A DNA marker to identify predation of *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae) by *Nabis kinbergii* (Hem., Nabidae) and *Lycosa* sp. (Araneae, Lycosidae). *Journal of Applied Entomology*, 2005, 129 (6) : 330-335.
- [22] Greenstone M H, Rowley D L, Weber D C, Payton M E, Hawthorne D J. Feeding mode and prey detectability half-lives in molecular gut-content analysis: an example with two predators of the Colorado potato beetle. *Bulletin of Entomological Research*, 2007, 97 (2) : 201-209.
- [23] Kuusk A K, Cassel-Lundhagen A, Kvarnheden A, Ekbohm B. Tracking aphid predation by lycosid spiders in spring-sown cereals using PCR-based gut-content analysis. *Basic and Applied Ecology*, 2008, 9 (6) : 718-725.

参考文献:

- [3] 吴定尧. 柑桔木虱的习性与黄龙病发生的关系. *中国南方果树*, 1980, 4 (2) : 33-34.
- [4] 邓明学. 以控制木虱为重点的柑桔黄龙病综合防治技术研究. *植物保护*, 2006, 32 (6) : 147-149.
- [5] 袁辉, 李安国. 桂林柑橘木虱种群分布特点及防治对策探讨. *广西植保*, 2007, 20 (4) : 31- 32.
- [6] 邓明学, 潘振兴, 谭有龙, 唐际飞, 覃旭, 陈贵峰, 唐明丽. 柑橘木虱对4种新烟碱类杀虫剂的交互抗性. *农药*, 2012, 51 (2) : 153-155.
- [7] 章玉苹, 李敦松, 黄少华, 张宝鑫. 柑桔木虱的生物防治研究进展. *中国生物防治*, 2009, 25 (2) : 160-164.
- [16] 高红秀, 韩岚岚, 赵奎军, 樊东, 刘健. 大豆蚜细胞色素氧化酶 II 基因的克隆及其在捕食性天敌昆虫鉴定中的应用. *昆虫学报*, 2006, 49 (5) : 754-758.
- [17] 宋新元, 丛斌, 钱海涛, 董辉. 大豆蚜捕食性天敌捕食行为的 CO I 基因标记检测. *中国农业科学*, 2008, 41 (9) : 2881-2888.
- [18] 安瑞生, 谭声江, 陈晓峰. 小型昆虫 DNA 提取时匀浆方法的改进. *昆虫知识*, 2002, 39 (4) : 311-312.
- [19] 李凯, 赵丽亚, 田俊策, 王欢, 叶恭银, 肖君华. 食物链网络 DNA 跟踪技术研究进展. *植物保护学报*, 2010, 37 (1) : 83-88.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.33, No.23 Dec., 2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Ozone uptake at the canopy level in *Robinia pseudoacacia* in Beijing based on sap flow measurements WANG Hua, OUYANG Zhiyun, REN Yufen, et al (7323)
- Genetic impact of swimming crab *Portunus trituberculatus* farming on wild genetic resources in Haizhou Bay DONG Zhiguo, LI Xiaoying, ZHANG Qingqi, et al (7332)
- The effect of soil salinity to improve the drought tolerance of arrowleaf saltbush TAN Yongqin, BAI Xinfu, HOU Yuping, et al (7340)
- Effects of *Liriomyza huidobrensis* infestation on the activities of four defensive enzymes in the leaves of cucumber plants SUN Xinghua, ZHOU Xiaorong, PANG Baoping, et al (7348)

Autecology & Fundamentals

- Early effects of simulated nitrogen deposition on annual nutrient input from litterfall in a *Pleioblastus amarus* plantation in Rainy Area of West China XIAO Yinlong, TU Lihua, HU Tingxing, et al (7355)
- Relationship between nutrient characteristics and yields of tumorous stem mustard at different growth stage ZHAO Huan, LI Huihe, LÜ Huifeng, et al (7364)
- Decomposition rate and silicon dynamic of mulching residue under *Phyllostachys praecox* stands HUANG Zhangting, ZHANG Yan, SONG Zhaoliang, et al (7373)
- Effects of waterlogging on the growth and physiological properties of juvenile oilseed rape ZHANG Shujie, LIAO Xing, HU Xiaojia, et al (7382)
- The crude protein content of main food plants of François' langur (*Trachypithecus francoisi*) in Fusui, Guangxi, China LI Youbang, DING Ping, HUANG Chengming, et al (7390)
- Effects of nitrogen on photosynthetic characteristics and enzyme activity of nitrogen metabolism in maize under-mulch-drip irrigation GU Yan, HU Wenhe, XU Baijun, et al (7399)
- Ecotoxicological effects of exposure to PFOS on embryo and larva of zebrafish *Danio rerio* XIA Jigang, NIU Cuijuan, SUN Luyin (7408)
- Allelopathic effects of extracts from *Ulva prolifera* powders on the growth of *Prorocentrum donghaiense* and *Skeletonema costatum* HAN Xiurong, GAO Song, HOU Junni, et al (7417)
- Predation evaluation of *Diaphorina citri*'s (Homoptera: Chermidae) natural enemies using the CO I marker gene MENG Xiang, OUYANG Gecheng, XIA Yulu, et al (7430)
- Effect of volatiles from healthy or worm bored Korean pine on host selective behavior of *Dioryctria sylvestrella* and its parasitoid *Macrocentrus* sp. WANG Qi, YAN Shanchun, YAN Junxin, et al (7437)

Population, Community and Ecosystem

- Relationship between rhizosphere microbial community functional diversity and faba bean fusarium wilt occurrence in wheat and faba bean intercropping system DONG Yan, DONG Kun, TANG Li, et al (7445)
- Characteristics of soil fertility in different ecosystems in depressions between karst hills YU Yang, DU Hu, SONG Tongqing, et al (7455)
- Evaluation on carbon sequestration effects of artificial alfalfa pastures in the Loess Plateau area LI Wenjing, WANG Zhen, HAN Qingfang, et al (7467)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Effects of deep vertically rotary tillage on soil water and water use efficiency in northern China's Huang-huai-hai Region LI Yibing, PANG Huancheng, YANG Xue, et al (7478)

- Effects of landscape patterns on runoff and sediment export from typical agroforestry watersheds in the Three Gorges Reservoir area, China HUANG Zhilin, TIAN Yaowu, XIAO Wenfa, et al (7487)
- Land cover classification of Yancheng Coastal Natural Wetlands based on BP neural network and ETM+ remote sensing data XIAO Jincheng, OU Weixin, FU Haiyue (7496)
- Early responses of soil CH₄ uptake to increased atmospheric nitrogen deposition in a cold-temperate coniferous forest GAO Wenlong, CHENG Shulan, FANG Huajun, et al (7505)
- Temporal-spatial characteristics of soil respiration in Chinese boreal forest ecosystem JIA Bingrui, ZHOU Guangsheng, JIANG Yanling, et al (7516)
- Seasonal and interannual variability in soil respiration in wheat field of the Loess Plateau, China ZHOU Xiaoping, WANG Xiaoke, ZHANG Hongxing, et al (7525)
- Dynamics of atmospheric ammonia concentrations near different emission sources LIU Jieyun, KUANG Fuhong, TANG Aohan, et al (7537)
- Influence of residues and earthworms application on N₂O emissions of winter wheat ... LUO Tianxiang, HU Feng, LI Huixin (7545)
- Resource and Industrial Ecology**
- Ecological monitoring of the fish resources catching and stocking in Lake Tianmu basing on the hydroacoustic method SUN Mingbo, GU Xiaohong, ZENG Qingfei, et al (7553)
- Application of support vector machine to evaluate the eutrophication status of Taihu Lake ZHANG Chengcheng, SHEN Aichun, ZHANG Xiaoqing, et al (7563)
- Research Notes**
- Amount and dynamic characteristics of litterfall in four forest types in subtropical China XU Wangming, YAN Wende, LI Jiebing, et al (7570)
- Allelopathic effects of artemisinin on seed germination and seedling growth of vegetables BAI Zhen, HUANG Yue, HUANG Jianguo (7576)
- Nitric oxide participates symbiosis between am fungi and tobacco plants WANG Wei, ZHAO Fanggui, HOU Lixia, et al (7583)
- Mapping wildlife habitat suitability using kernel density estimation ZHANG Guiming, ZHU A'xing, YANG Shengtian, et al (7590)
- Effects of nitrogen fertilizer methods on the content of *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein and yield of transgenic cotton MA Zongbin, LIU Guizhen, YAN Gentu, et al (7601)

《生态学报》2014 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 王德利

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 23 期 (2013 年 12 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 23 (December, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel: (010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail: journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel: (010)64034563 E-mail: journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add: P.O.Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发刊

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元