

DNA分子检测技术在节肢动物食物网结构解析中的应用



杨帆¹ 刘冰² 陆宴辉^{2*}

(1. 北京市农林科学院植物保护研究所, 北京 100097; 2. 中国农业科学院植物保护研究所,
植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 生态系统中节肢动物食物网结构错综复杂, 通过观察和解剖等传统手段往往很难精准地获得物种种类及彼此之间食物关系的全面信息。近年来, DNA分子检测技术快速发展, 显著促进了节肢动物食物网复杂结构的系统解析, 有效实现了食物网结构分析由定性向定量的重要转变。该文介绍DNA分子检测的主要技术及其优缺点, 列举其在节肢动物食物网结构分析中的应用实例, 讨论DNA分子检测技术在应用中遇到的问题及挑战, 旨在为节肢动物食物网结构分析提供科学依据和技术指导, 有力推进农田等不同生态系统中节肢动物食物网结构及其生态功能的深入研究和挖掘利用。

关键词: 诊断PCR; DNA条形码; 高通量测序; 捕食关系; 寄生关系; 食物网结构; 生态服务功能

Application of DNA-based molecular detection techniques in arthropod food web structure analyses

Yang Fan¹ Liu Bing² Lu Yanhui^{2*}

(1. Institute of Plant Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China;
2. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection,
Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: Arthropod food web structures in ecosystems are intricate and complex. Observation, dissection and other traditional research methods have difficulties in obtaining comprehensive information of species and their food relationships. In recent years, the rapid development of DNA-based molecular detection techniques have dramatically promoted the analyses of complicated arthropod food web structures and realized the important progress from qualitative to quantitative food web analyses. This review introduced the major DNA-based molecular detection techniques and their strengths and weaknesses, listed application cases of these techniques in arthropod food web structure analyses, discussed the problems and challenges they will meet in application. The summary aims at providing scientific basis and technical guidance for arthropod food web structure analyses, giving vigorous impetus to in-depth study and exploitation of arthropod food web structure and its ecosystem function in farmland and other ecosystems.

Key words: diagnostic PCR; DNA barcoding; high-throughput sequencing; predator-prey relationship; host-parasitoid relationship; food web structure; ecosystem function

基金项目: 国家自然科学基金(31901892), 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(CARS-15-21)

*通信作者 (Author for correspondence), E-mail: luyanhui@caas.cn

收稿日期: 2022-02-09

长期以来,人们主要通过形态学鉴定与行为观察获取节肢动物的物种信息和种间食物网关系。节肢动物个体微小,由它们组成的捕食和寄生等营养关系观察难度通常比较大,因此多在室内、田间罩笼等可控条件下进行研究和判断。然而,在农田等开放的生态系统中,节肢动物种类及其习性多样,彼此间食物关系及食物网结构错综复杂,常难于精准鉴定和全面解析。自20世纪末,DNA分子检测技术快速发展并开始用于节肢动物食物关系的解析(李凯等,2010;杨帆和陆宴辉,2015;王雪芹等,2017),不仅有效解决了上述传统研究方法存在的瓶颈问题和技术难点,也使得节肢动物食物关系从传统的定性分析发展为精确的定量分析(Hrček & Godfray, 2015)。本文将系统介绍常用的DNA分子检测技术以及各自优缺点和需要克服的问题,并结合近年来国内外的应用实例进行分析,以期为节肢动物食物网结构解析研究提供参考和建议。

1 DNA分子检测技术的发展

1.1 诊断PCR技术

诊断PCR技术以PCR产物通过凝胶电泳后是否在目标位置出现条带来判断目标物种DNA存在与否。因方便、快捷、易操作,该技术被广泛用于节肢动物食物关系的研究(Traugott et al., 2013; Schmidt et al., 2021),适用于目标物种信息已知的情况。可分为单一PCR技术和多重PCR技术,前者应用1对引物对单一目标物种进行检测,而后者可包含多对引物,根据扩增出的不同长度片段区分不同物种,从而在同一反应中实现对多个物种的检测和鉴定。

利用诊断PCR技术对节肢动物捕食者中肠内含物DNA进行检测,可快速获得目标猎物被取食的情况。如鞍单癭蚊 *Haplodiplosis marginata* 是一种偶发性的谷类作物害虫,Rowley et al.(2017)以COI为目标基因设计了鞍单癭蚊物种特异性引物,利用单一PCR技术对田间采集的步甲类天敌进行检测,检测发现4种步甲可以捕食鞍单癭蚊,丰富了该害虫的天敌资源。诊断PCR技术还可用于评价捕食者对猎物的捕食作用。如Staudacher et al.(2016)设计了45对特异性引物,通过4组多重PCR评价了步甲等捕食性天敌对麦蚜及其他猎物的捕食作用,结果发现步甲体内蚜虫DNA的检出率高达51%,而其他猎物的检出率均低于12%。需要注意的是,应用诊断PCR技术检测物种,需提前获知待检测的所有猎

物种类信息,但实际上许多捕食者的猎物信息可能没有详细记录,特别是对于广谱性捕食者,需设计众多猎物的物种特异性引物,工作量也较大(Raso et al., 2014);此外,自田间采集的捕食者,其中肠内含物样品中DNA通常已高度降解,因此对于物种特异性引物的灵敏度要求较高,还需要通过计算引物检测的半衰期对检测数据进行校正(Greenstone et al., 2014; Schmidt et al., 2014; Yang et al., 2017)。

除捕食关系外,诊断PCR技术还可通过检测被寄生的寄主昆虫DNA来获取物种间的寄生关系,进而用于寄主种类溯源和寄生物种类鉴定。例如在蚜虫-寄生蜂食物关系研究中,常用完整的僵蚜进行PCR检测,但最新发现寄生蜂羽化后僵蚜空壳内蚜虫、初级寄生蜂和重寄生蜂的残留DNA也可被检测出来(Varennes et al., 2014; 姚志文等,2017)。因寄生蜂幼虫会取食寄主昆虫组织,寄生蜂羽化出蜂后也可通过检测其中肠中寄主DNA残留物对寄主种类进行溯源,这为明确寄主-寄生蜂关系提供了另一种思路(Rougerie et al., 2011)。Li et al.(2019)设计了绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 两种寄生蜂的特异性引物,并利用2个单一PCR体系分别检测和定量评价红颈常室茧蜂 *Peristenus spretus* 和遗常室茧蜂 *P. relictus* 对绿盲蝽的寄生作用,发现在荞麦上红颈常室茧蜂的寄生作用显著高于在棉花上。

1.2 DNA条形码技术

DNA条形码技术基于桑格测序法利用通用引物扩增标准保守基因获得标准序列,根据序列中不同碱基信息对物种进行鉴定(Hebert & Gregory, 2005),通过与已有数据库中序列比对即可获取物种信息,该方法适用于对物种信息未知的研究。因此,DNA条形码技术准确鉴定物种需要有信息全面的数据库支撑,目前比较完善的条形码数据库有BOLD(barcode of life data systems)(Ratnasingham & Hebert, 2007)、NCBI GenBank(Sayers et al., 2019),并且不断有新的数据库补充更新(Hendrich et al., 2015; Weigand et al., 2019; Lue et al., 2021)。但该方法也有一定局限性,无法对片段大小一致的混合序列样品进行测序。在复杂食物关系检测中,如果无法区分扩增的同一片段长度的捕食者-猎物混合DNA样品,会导致测序失败,因此该技术多运用于食物关系相对简单的寄主-寄生物食物网结构分析。

相较于形态学鉴定,DNA条形码技术可以从寄主体内鉴定出更多的寄生蜂种类,并校正寄生蜂的

寄主范围。Smith et al.(2006)利用该技术从20个贝尔寄蝇 *Belvosia* 形态种中鉴定出了32个物种,不仅成功区分17个对寄主高度专一的形态种,并发现15种兼性寄蝇可寄生多种鳞翅目幼虫;另一项研究发现,通常被认定为兼性寄蝇的16个形态种实际上由73个种组成,其中只有9~10个种是兼性寄蝇,其他均为专性寄蝇(Smith et al., 2007)。另外,DNA条形码技术有助于深入解析寄主与寄生蜂互作关系。Kaartinen et al.(2010)根据物种形态学特征鉴定出潜叶蛾、叶蜂和瘿蚊的51种寄生蜂和5种其他寄生物,而利用DNA条形码技术又成功鉴定出4个新的寄生蜂未知种,并将5个形态种寄生物细分为完全不同的6个分子鉴定分类单元;尽管DNA条形码技术鉴定出的新物种所占比例较少,但食物网参数分析显示寄生蜂专化性比形态学鉴定研究中的更强。

1.3 高通量测序技术

高通量测序技术一般是指二代测序技术(next generation sequencing, NGS)和包括PacBio单分子实时测序(single molecule real time sequencing, SMRT)及Nanopore纳米孔测序等的三代测序技术。高通量测序技术结合DNA宏条形码技术,可以在不需要提前了解研究背景的情况下实现从单个混合样品中获取多个物种信息(Taberlet et al., 2012),不仅可从虫体样品中获得寄主和寄生物信息(Lefort et al., 2017),还可通过对中肠内含物(Mollot et al., 2014)和反刍物(Tiede et al., 2016)等已经开始降解的样品进行测序获得捕食者和猎物的物种信息。相较于诊断PCR和DNA条形码技术,二代测序技术扩增片段较短,适用于食物组成复杂且DNA已高度降解的样品分析,但片段过短会减少序列提供的有效信息,同时样品测序单价较高且处理测序信息需要一定的生物学基础(Vacher et al., 2016)。

二代测序技术结合DNA宏条形码技术不仅可以检测未知物种,也可分辨混合DNA样品中的不同物种。对于捕食性食物关系,二代测序技术结合DNA宏条形码技术可用于挖掘潜在捕食性天敌,探究捕食者与猎物之间的营养关系。如Mollot et al.(2014)通过对香蕉园采集的加勒比小肥螋 *Euborellia caraiabea*、六斑弓背蚁 *Camponotus sexguttatus* 和火蚁 *Solenopsis geminata* 中肠内含物进行检测,发现香蕉根颈象甲 *Cosmopolites sordidus* 的检出率为1%~7%,证实这3种捕食者都是香蕉球根颈象甲的潜在生物防治资源。对于寄生性食物关系,二代测序技术节省了引物设计和体系测试环节,通过测序

可以直接获得寄主、寄生物物种信息和对应的寄生关系。如Kitson et al.(2019)利用二代测序技术对欧洲栎异舟蛾 *Thaumetopoea processionea*-寄生物的寄生关系进行了检测,从橡树带蛾高龄幼虫体内分别检测到一种初级寄生蝇——舟蛾狭颜寄蝇 *Carcelia iliaca* 和一种次级寄生蝇——康刺腹寄蝇 *Compilura concinnata*,检出率分别为45.7%和0.4%。

2 分子检测技术在食物网结构解析中的应用

节肢动物食物网的构建主要是基于对大量野外采集样品的系统分析,从而获取捕食者与猎物、寄生物与寄主之间的营养关系,而分子检测技术相较于传统的形态学鉴定,能有效提高物种检出效率和准确性,有助于复杂食物网结构的全面解析和定量评价。诊断PCR技术和DNA条形码技术通过对数量众多的样品进行单独检测,获取构建定量食物网的数据(李金花等,2021);二代测序技术通过给每个样品添加特有的标签,测序后可在精确获得每个样品数据(Taberlet et al., 2012; Clarke et al., 2014)的基础上实现对大批量样品物种信息的整体分析(Mollot et al., 2014),已被广泛用于节肢动物食物关系的定量评价。

2.1 捕食者-猎物食物网

蜘蛛是农田生态系统中最常见的捕食性节肢动物之一。目前,国内外应用分子检测技术特别是二代测序技术对农田生态系统中捕食者-猎物食物关系的研究多以蜘蛛为主。如Cuff et al.(2021)通过对小麦田内皿蛛科蜘蛛中肠内含物的分析发现,其猎物范围广泛,且在小麦收割前后差异明显,其中蚜虫、瘿蚊和叶蝉仅在收割前采集的蜘蛛体内检测到,而摇蚊和水蝇仅能在收割后采集的蜘蛛体内检测到,表明小麦收割前后节肢动物群落组成存在差异。Toju & Baba(2018)通过二代测序技术解析了15种蜘蛛和多种六足类猎物共同组成的食物网结构,结果发现这些蜘蛛类群既可取食地上多种节肢动物,也可取食地下弹尾目昆虫,从而成功将地上和地下节肢动物的能量流动、群落动态和食物网结合起来;以上研究还发现蜘蛛对其他捕食者的集团内捕食作用比想象中更强,比如皿蛛间的相互取食(Cuff et al., 2021)、蜘蛛对寄生蜂的取食(Toju & Baba, 2018)等。Wulff et al.(2021)通过二代测序技术发现棉田中红火蚁 *Solenopsis invicta* 和其他蜘蛛

之间也有很强的集团内捕食作用,从在红火蚁幼虫体内检测到黄囊蜘蛛 *Hibana gracilis*、地面蜘蛛、狼蛛、蟹蛛和跳珠 *Pelegrina galathea* 等蜘蛛的DNA。

应用分子检测技术解析节肢动物食物关系可以有效揭示农田生态系统中复杂食物网结构及其功能,尤其是捕食性天敌的生物控害作用,同时通过评价生境变化、种植管理等相关环境因子对食物关系及生态功能的影响,有助于阐明害虫生态调控的机理。如 Schmidt et al.(2014)利用诊断PCR技术评价了有机农田中瓢虫科、长蝽科、姬蝽科、结网蜘蛛和掠食蛛等640头捕食者对南瓜缘蝽 *Anasa tristis* 的捕食作用,检测发现11%捕食者中肠内含物中含有南瓜缘蝽DNA,证实了多种广谱性天敌对这种害虫具有捕食作用,且其捕食作用呈明显的季节性波动,节肢动物捕食者与靶标害虫南瓜缘蝽之间具有复杂的互作关系。Ingrao et al.(2017)利用诊断PCR技术揭示了芦笋田29科节肢动物捕食者与2种重要芦笋害虫——石刁柏蛇潜蝇 *Ophiomyia simplex* 和芦笋负泥虫 *Crioceris asparagi* 的相互作用关系,检测发现靠近芦笋田边界的捕食性天敌数量高于田块内部,尤其是靠近森林的农田边界,捕食性天敌数量最高;在田块边缘的捕食者体内这2种害虫DNA检出率也显著高于田块内部,说明农田边界如森林等非作物生境有利于天敌保育及其生物控害。Staudacher et al.(2018)利用多个多重PCR对蜘蛛、甲虫和隐翅虫及其猎物的食物网结构进行了检测,发现生境异质性越高(田间植物多样性高),捕食者的猎物种类差异越大,这可能是因为较高的植物多样性增加了猎物资源,从而降低了捕食者之间的种间竞争,有利于生态系统的稳定。

除农田生态系统外,分子检测技术也被广泛用于评价其他自然生态系统中的捕食者-猎物食物网关系。Raso et al.(2014)利用多重PCR技术和同位素分析方法分析了奥地利阿尔卑斯山冰川前陆贫瘠土地上步甲和狼蛛等节肢动物及其猎物的营养关系,发现这些捕食者中肠内含物DNA检出率最高的是本地种弹尾虫,这些捕食者之间还存在集团内捕食作用。Sint et al.(2019)进一步利用多重PCR技术对这些冰川陆地节肢动物食物网进行解析,发现食物网结构主要受捕食者种类影响,捕食者采集地点和冰川早期演替作用对食物网影响较小;但冰川演替后期捕食者的猎物范围显著扩大,捕食者主要依靠本地猎物种类存活,对外来猎物捕食较少。Eitzinger et al.(2019)通过二代测序技术对北极地区狼

蛛 *Pardosa glacialis* 中肠内含物进行检测,发现狼蛛对猎物的选择专一性较强,其猎物物种相对固定,受海拔和植被分布等环境条件的影响较小。

2.2 寄生物-寄主食物网

相较于捕食者-猎物食物网,寄生物-寄主食物网的物种组成相对简单,营养关系对应性更强,更容易通过分子检测技术进行食物关系量化,常作为生态系统中节肢动物食物网结构研究的经典模型(Thierry et al., 2019)被用于评价农田景观变化、农事操作、气候变化等环境因子对寄生物-寄主食物网结构及功能的影响和调控作用研究(Vollhardt et al., 2019; Yang F et al., 2021; Yang et al., 2022)。

由于蚜虫-寄生蜂食物网背景信息简单明确,已发表的关于蚜虫、寄生蜂物种特异性引物较多(Ye et al., 2017; Zhu et al., 2019; Yang et al., 2020),选择诊断PCR技术即可开展蚜虫-寄生蜂多重营养级关系和食物网结构相关研究。如 Traugott et al.(2008)将多重PCR和单一PCR技术相结合,从麦长管蚜 *Sitobion avenae* 体内检测到8种初级寄生蜂和2种重寄生蜂,构建了麦长管蚜-初级寄生蜂-重寄生蜂3重营养级关系,在1 061头被检测蚜虫中有18.9%的蚜虫被寄生,4.1%的蚜虫检测出了重寄生蜂;另外,被重寄生的蚜虫中有68.2%检测出了初级寄生蜂,同时也发现有2种或2种以上初级寄生蜂具有多重寄生的现象。Yang TB et al.(2021)利用诊断PCR技术对不同棉花景观试验点采集的棉蚜 *Aphis gossypii* 僵蚜样品进行了检测,构建了棉蚜-初级寄生蜂-重寄生蜂定量食物网,系统评价和解析了景观因子及寄生蜂多样性对食物网结构及相关寄生蜂生态服务功能的影响和调控机制,定量分析结果表明棉蚜初级寄生蜂有3种,重寄生蜂有10种,不同种类寄生蜂对蚜虫的控制也有差异,寄生蜂的多样性和食物网结构共同调控其对棉蚜的生物控制功能。

此外,随着寄生蜂DNA条形码引物和数据库信息的不断更新与完善(Deroches et al., 2012a, b; Lue et al., 2021),DNA条形码技术也大量被用于寄主-寄生蜂食物网结构分析。如 Deroches et al.(2014)从作物和非作物生境中采集蚜虫样品,待寄生蜂羽化出蜂后,利用针对蚜茧蜂亚科设计的特异性DNA条形码引物对寄生蜂样品进行物种鉴定和寄主-寄生蜂食物关系检测,检测发现寄生蜂对寄主的选择专一性较强,蚜虫-寄生蜂食物网结构在作物与非作物之间差异较大。同样,Deroches et al.(2015)通过利用DNA条形码技术检测植物叶片甬道中残留的昆

虫DNA获得潜叶蝇的物种信息,再对羽化出蜂的寄生蜂进行扩增测序,构建了植物-潜叶蝇-寄生蜂食物网。Gariepy et al.(2019)对加拿大自然生境中采集的蝽类昆虫的卵进行检测,共鉴定出5种缘腹细蜂科寄生蜂和11种蝽类昆虫,明确了入侵种茶翅蝽*Halyomorpha halys*、当地种蝽类昆虫与其寄生蜂之间的食物网结构。

然而,DNA条形码技术也有其局限性,如果1头蚜虫体内含有2种以上寄生蜂,即使有针对寄生蜂的特异性引物,基于桑格测序方法的DNA条形码技术也无法同时获得多个寄生蜂的物种信息。而基于高通量测序技术的DNA宏条形码方法可以清晰地分辨混合的PCR扩增产物,可适用于复杂寄主-寄生蜂食物网结构的解析。Sow et al.(2019)利用该方法检测了谷子上谷暗夜蛾*Heliocheilus albipunctella*的被寄生情况,发现分子检测获得的寄生蜂多样性和寄生率远远高于饲养出蜂后的观察数值,并且可以检测到多重寄生现象和未知的寄生蜂物种。Jeffs et al.(2021)同时运用DNA宏条形码和诊断PCR技术分析澳大利亚雨林中果蝇-寄生蜂食物网,结果发现在不同海拔梯度下6个采样点的果蝇-寄生蜂食物网共包括9种果蝇和11种寄生蜂,寄生率随海拔升高有所降低,但嵌套性和特异性等食物网参数无显著差异。

3 展望

近年来DNA分子检测技术的快速发展,从只能检测单一食物网关系的诊断PCR技术发展到可同时分析大量物种信息的高通量测序技术,为节肢动物食物网结构评价和分析提供了强有力手段和技术支撑。但DNA分子检测技术并非十全十美,也有其缺点。在应用时应根据需要解析的食物网组成和回答的科学问题来选择,同时考虑运用多种方法,不同方法检测到的物种、营养级数量和信息互相补充,从而获得较为完整的食物网结构和组成信息(González-Chang et al., 2016; Rennstam Rubbmark et al., 2019)。目前,传统的酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)方法也可用于食物网关系的研究,尽管有些ELISA抗体制备昂贵且耗时(González-Chang et al., 2016),但仍然可以作为分子检测技术的有效补充,将不同研究方法相结合,将有利于解决食物网分析中遇到的实际问题(Traugott et al., 2013)。

在实际检测过程中,节肢动物捕食性定量食物

网是基于对大量捕食者样品检测获得的不同捕食者-猎物的食物链出现频率构建而成,其中“定量”不是指对捕食者取食猎物数量的精确计数,这一点通过分子检测技术也尚不能实现(Evans & Kitson, 2020),而是针对单个捕食者个体获得其猎物种类信息。诊断PCR和DNA条形码技术仅能从食物样品中检测到猎物存在与否,不能确定具体的猎物数量。高通量测序技术也仅能获得标准DNA序列片段数量,而序列数量如何转换为猎物个体数,以及不同测序深度、DNA模板数和引物扩增偏好影响测序猎物序列数量均使得高通量技术无法准确测量猎物数量(Rennstam Rubbmark et al., 2019)。另外,分子检测技术目前仍无法克服捕食者间接取食、自残等对食物网关系的影响。杂食性捕食者取食范围广,不仅会捕食较低营养级的猎物,也会捕食同营养级同种或不同种的捕食者。因此,从目标捕食者中肠内含物中检测到食物DNA有可能来自被捕食的捕食者,并非由目标捕食者直接捕食,从而对目标捕食者猎物范围认识造成偏差。对于有自残行为的捕食者,仅根据DNA无法判断食物样品中捕食者对同一物种的取食。捕食者也会随机取食节肢动物尸体,从食物中检测到的尸体物种DNA会影响捕食者对害虫生物防治、集团内捕食等作用的准确评价。特别是在野外条件下,捕食者与其他物种互作,无法观察和人为控制,这也会在一定程度上影响分子检测的准确性(Tercel et al., 2021)。

目前,应用高通量测序技术评价节肢动物食物网关系已成为生态学研究中的主要趋势,但高通量测序技术是否能够反映真实的食物网关系也引起很大关注。首先是测序样品数量,由于二代测序的价格相对较高,一般会选择将很多样品混合测序,Yang TB et al.(2021)研究发现对单独样品测序所获得的物种数量大概是混合样品测序的2倍,高通量测序价格降低将有助于该技术获取更加完整的食物网信息。目前,二代测序技术通过嵌套标签方法给每个样品多添加一组独特的标签,可获取单独样品的测序信息,从而实现大量样品的检测,也许这个方法可以促进二代测序技术在定量食物网研究中的应用(Kitson et al., 2019)。测序模板DNA中捕食者/寄主DNA含量远远高于猎物/寄生蜂DNA,在DNA宏条形码引物扩增效率相同的情况下,将大量扩增捕食者/寄主模板,从而影响对猎物/寄生蜂DNA的检测。因此,在扩增时加入捕食者DNA的封闭引物将显著降低对捕食者/寄主模板的扩增(Piñol et al.,

2014; Toju & Baba, 2018),但封闭引物也有可能屏蔽对某些猎物的扩增,尤其是当捕食者与猎物十分近缘时,封闭引物对捕食者的选择性就不会很强。反之,设计的引物仅可以扩增猎物,无法扩增捕食者,但猎物的通用引物也有一定的扩增范围(Lafage et al., 2020)。为提高猎物的扩增效率,Krehenwinkel et al.(2017)推荐在提取虫体DNA时,仅提取猎物DNA含量高的中后肠部位即可。

随着DNA分子检测技术在节肢动物食物网结构解析中的广泛应用(Montoya et al., 2003; Dobson, 2009; Hines et al., 2015),景观格局、物种多样性及互作关系(Yang et al., 2021a)、耕作管理方式(Vollhardt et al., 2019; Yang et al., 2022)、气候变化等因素对节肢动物群落食物网的影响作用及其机理研究也得到了快速发展(Schmidt et al., 2021),这有助于深化对节肢动物食物网结构的科学认识及其功能的挖掘利用(刘冰和陆宴辉,2021)。

参考文献 (References)

- Clarke LJ, Czechowski P, Soubrier J, Stevens MI, Cooper A. 2014. Modular tagging of amplicons using a single PCR for high-throughput sequencing. *Molecular Ecology Resources*, 14(1): 117–121
- Cuff JP, Drake LE, Tercel MPTG, Stockdale JE, Orozco-Terwengel P, Bell JR, Vaughan IP, Müller CT, Symondson WOC. 2021. Money spider dietary choice in pre- and post-harvest cereal crops using metabarcoding. *Ecological Entomology*, 46(2): 249–261
- Deroches SAP, Evans DM, Nichols PC, Evans SA, Lunt DH. 2015. Determining plant-leaf miner-parasitoid interactions: a DNA barcoding approach. *PLoS ONE*, 10(2): e0117872
- Deroches SAP, Le Ralec A, Besson MM, Maret M, Walton A, Evans DM, Plantegenest M. 2014. Molecular analysis reveals high compartmentalization in aphid-primary parasitoid networks and low parasitoid sharing between crop and noncrop habitats. *Molecular Ecology*, 23(15): 3900–3911
- Deroches SAP, LE Ralec A, Plantegenest M, Chaubet B, Cruaud C, Cruaud A, Rasplus JY. 2012a. Identification of molecular markers for DNA barcoding in the Aphidiinae (Hym. Braconidae). *Molecular Ecology Resources*, 12(2): 197–208
- Deroches SAP, Plantegenest M, Simon JC, Taberlet P, le Ralec A. 2012b. A universal method for the detection and identification of Aphidiinae parasitoids within their aphid hosts. *Molecular Ecology Resources*, 12(4): 634–645
- Dobson A. 2009. Food-web structure and ecosystem services: insights from the Serengeti. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*, 364(1524): 1665–1682
- Einzinger B, Abrego N, Gravel D, Huotari T, Vesterinen EJ, Roslin T. 2019. Assessing changes in arthropod predator-prey interactions through DNA-based gut content analysis-variable environment, stable diet. *Molecular Ecology*, 28(2): 266–280
- Evans DM, Kitson JJ. 2020. Molecular ecology as a tool for understanding pollination and other plant-insect interactions. *Current Opinion in Insect Science*, 38: 26–33
- Gariepy TD, Bruun A, Konopka J, Scott-Dupree C, Fraser H, Bon MC, Talamas E. 2019. A modified DNA barcode approach to define trophic interactions between native and exotic pentatomids and their parasitoids. *Molecular Ecology*, 28(2): 456–470
- González-Chang M, Wratten SD, Lefort MC, Boyer S. 2016. Food webs and biological control: a review of molecular tools used to reveal trophic interactions in agricultural systems. *Food Webs*, 9: 4–11
- Greenstone MH, Payton ME, Weber DC, Simmons AM. 2014. The detectability half-life in arthropod predator-prey research: what it is, why we need it, how to measure it, and how to use it. *Molecular Ecology*, 23(15): 3799–3813
- Hebert PDN, Gregory TR. 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Systematic Biology*, 54(5): 852–859
- Hendrich L, Morinière J, Haszprunar G, Hebert PDN, Hausmann A, Köhler F, Blake M. 2015. A comprehensive DNA barcode database for Central European beetles with a focus on Germany: adding more than 3500 identified species to BOLD. *Molecular Ecology Resources*, 15(4): 795–818
- Hines J, van der Putten WH, de Deyn GB, Wagg C, Voigt W, Mulder C, Weisser WW, Engel J, Melian C, Scheu S, et al. 2015. Towards an integration of biodiversity-ecosystem functioning and food web theory to evaluate relationships between multiple ecosystem services. *Advances in Ecological Research*, 53: 161–199
- Hrček J, Godfray HCJ. 2015. What do molecular methods bring to host-parasitoid food webs? *Trends in Parasitology*, 31(1): 30–35
- Ingrao AJ, Schmidt J, Jubenville J, Grode A, Komondy L, VanderZee D, Szendrei Z. 2017. Biocontrol on the edge: field margin habitats in asparagus fields influence natural enemy-pest interactions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 243: 47–54
- Jeffs CT, Terry JCD, Higgle M, Jandová A, Konvičková H, Brown JJ, Lue CH, Schiffer M, O'Brien EK, Bridle J, Hrček J, et al. 2021. Molecular analyses reveal consistent food web structure with elevation in rainforest *Drosophila*-parasitoid communities. *Ecography*, 44(3): 403–413
- Kaartinen R, Stone GN, Hearn J, Lohse K, Roslin T. 2010. Revealing secret liaisons: DNA barcoding changes our understanding of food webs. *Ecological Entomology*, 35(5): 623–638
- Kitson JHN, Hahn C, Sands RJ, Straw NA, Evans DM, Lunt DH. 2019. Detecting host-parasitoid interactions in an invasive lepidopteran using nested tagging DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 28(2): 471–483
- Krehenwinkel H, Wolf M, Lim JY, Rominger AJ, Simison WB, Gillespie RG. 2017. Estimating and mitigating amplification bias in qualitative and quantitative arthropod metabarcoding. *Scientific*

- Reports, 7: 17668
- Lafage D, Elbrecht V, Cuff JP, Steinke D, Hambäck PA, Erlandsson A. 2020. A new primer for metabarcoding of spider gut contents. *Environmental DNA*, 2(2): 234–243
- Lefort MC, Wratten S, Cusumano A, Varennes YD, Boyer S. 2017. Disentangling higher trophic level interactions in the cabbage aphid food web using high-throughput DNA sequencing. *Metabarcoding and Metagenomics*, 1: e13709
- Li JH, Li HQ, Yang F, Wu YK, Zhang JP, Lu YH. 2021. A molecular detection approach for assessing cotton aphid-primary parasitoid-hyperparasitoid food webs in Xinjiang, China. *Journal of Plant Protection*, 48(5): 970–979 (in Chinese) [李金花, 李海强, 杨帆, 吴月坤, 张建萍, 陆宴辉. 2021. 新疆棉花蚜虫-寄生蜂食物网结构的分子检测体系. 植物保护学报, 48(5): 970–979]
- Li JH, Liu B, Pan HS, Luo SP, Wyckhuys KAG, Yuan HB, Lu YH. 2019. Buckwheat strip crops increase parasitism of *Apolygus luteorum* in cotton. *BioControl*, 64(6): 645–654
- Li K, Zhao LY, Tian JC, Wang H, Ye GY, Xiao JH. 2010. Research progress in DNA-based approach tracking trophic links. *Journal of Plant Protection*, 37(1): 83–88 (in Chinese) [李凯, 赵丽亚, 田俊策, 王欢, 叶恭银, 肖君华. 2010. 食物链网络DNA跟踪技术研究进展. 植物保护学报, 37(1): 83–88]
- Liu B, Lu YH. 2021. Arthropod food web structure and enemy biocontrol services in agro-ecosystem. *Journal of Plant Protection*, doi: 10.13802/j.cnki.zwbhxb.2022.2022801 (in Chinese) [刘冰, 陆宴辉. 2021. 农田节肢动物食物网结构与天敌控害功能. 植物保护学报, doi: 10.13802/j.cnki.zwbhxb.2022.2022801]
- Lue CH, Buffington ML, Scheffer S, Lewis M, Elliott TA, Lindsey ARI, Driskell A, Jandova A, Kimura MT, Carton Y, et al. 2021. DROP: molecular voucher database for identification of *Drosophila* parasitoids. *Molecular Ecology Resources*, 21(7): 2437–2454
- Mollot G, Duyck PF, Lefebvre P, Lescourret F, Martin JF, Piry S, Canard E, Tixier P. 2014. Cover cropping alters the diet of arthropods in a banana plantation: a metabarcoding approach. *PLoS ONE*, 9(4): e93740
- Montoya JM, Rodríguez MA, Hawkins BA. 2003. Food web complexity and higher-level ecosystem services. *Ecology Letters*, 6(7): 587–593
- Piñol J, San Andrés V, Clare EL, Mir G, Symondson WOC. 2014. A pragmatic approach to the analysis of diets of generalist predators: the use of next-generation sequencing with no blocking probes. *Molecular Ecology Resources*, 14(1): 18–26
- Raso L, Sint D, Mayer R, Plangg S, Recheis T, Brunner S, Kaufmann R, Traugott M. 2014. Intraguild predation in pioneer predator communities of alpine glacier forelands. *Molecular Ecology*, 23(15): 3744–3754
- Ratnasingham S, Hebert PDN. 2007. BOLD: the barcode of life data system (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes*, 7(3): 355–364
- Rennstam Rubbmark O, Sint D, Cupic S, Traugott M. 2019. When to use next generation sequencing or diagnostic PCR in diet analysis. *Molecular Ecology Resources*, 19(2): 388–399
- Rougerie R, Smith MA, Fernandez-Triana J, Lopez-Vaamonde C, Ratnasingham S, Hebert PDN. 2011. Molecular analysis of parasitoid linkages (MAPL): gut contents of adult parasitoid wasps reveal larval host. *Molecular Ecology*, 20(1): 179–186
- Rowley C, Cherrill AJ, Leather SR, McCormack AW, Skarp JE, Pope TW. 2017. PCR-based gut content analysis to identify arthropod predators of *Haplodiplosis marginata*. *Biological Control*, 115: 112–118
- Sayers EW, Cavanaugh M, Clark K, Ostell J, Pruitt KD, Karsch-Mizrachi I. 2019. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 47(D1): 94–99
- Schmidt JM, Acebes-Doria A, Blaauw B, Kheiradin A, Pandey S, Lennon K, Kaldor AD, Toledo PFS, Grabarczyk EE. 2021. Identifying molecular-based trophic interactions as a resource for advanced integrated pest management. *Insects*, 12(4): 358
- Schmidt JM, Barney SK, Williams MA, Bessin RT, Coolong TW, Harwood JD. 2014. Predator-prey trophic relationships in response to organic management practices. *Molecular Ecology*, 23(15): 3777–3789
- Sint D, Kaufmann R, Mayer R, Traugott M. 2019. Resolving the predator first paradox: arthropod predator food webs in pioneer sites of glacier forelands. *Molecular Ecology*, 28(2): 336–347
- Smith MA, Wood DM, Janzen DH, Hallwachs W, Hebert PDN. 2007. DNA barcodes affirm that 16 species of apparently generalist tropical parasitoid flies (Diptera, Tachinidae) are not all generalists. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(12): 4967–4972
- Smith MA, Woodley NE, Janzen DH, Hallwachs W, Hebert PDN. 2006. DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(10): 3657–3662
- Sow A, Brévault T, Benoit L, Chapuis MP, Galan M, Coeur d'acier A, Delvare G, Sembène M, Haran J. 2019. Deciphering host-parasitoid interactions and parasitism rates of crop pests using DNA metabarcoding. *Scientific Reports*, 9: 3646
- Staudacher K, Jonsson M, Traugott M. 2016. Diagnostic PCR assays to unravel food web interactions in cereal crops with focus on biological control of aphids. *Journal of Pest Science*, 89: 281–293
- Staudacher K, Rennstam Rubbmark O, Birkhofer K, Malsher G, Sint D, Jonsson M, Traugott M. 2018. Habitat heterogeneity induces rapid changes in the feeding behaviour of generalist arthropod predators. *Functional Ecology*, 32(3): 809–819
- Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Brochmann C, Willerslev E. 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 21(8): 2045–2050
- Tercel MPTG, Symondson WOC, Cuff JP. 2021. The problem of omnivory: a synthesis on omnivory and DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 30(10): 2199–2206
- Thierry M, Hrček J, Lewis OT. 2019. Mechanisms structuring host-parasitoid networks in a global warming context: a review. *Eco-*

- logical Entomology, 44(5): 581–592
- Tiede JL, Wemheuer B, Traugott M, Daniel R, Tscharntke T, Ebeling A, Scherber C. 2016. Trophic and non-trophic interactions in a biodiversity experiment assessed by next-generation sequencing. *PLoS ONE*, 11(2): e0148781
- Toju H, Baba YG. 2018. DNA metabarcoding of spiders, insects, and springtails for exploring potential linkage between above- and below-ground food webs. *Zoological Letters*, 4: 4
- Traugott M, Bell JR, Broad GR, Powell W, van Veen FJF, Vollhardt IMG, Symondson WOC. 2008. Endoparasitism in cereal aphids: molecular analysis of a whole parasitoid community. *Molecular Ecology*, 17(17): 3928–3938
- Traugott M, Kamenova S, Ruess L, Seeber J, Plantegenest M. 2013. Empirically characterising trophic networks: what emerging DNA-based methods, stable isotope and fatty acid analyses can offer. *Advances in Ecological Research*, 49: 177–224
- Vacher C, Tamaddoni-Nezhad A, Kamenova S, Peyrard N, Moalic Y, Sabbadin R, Schwaller L, Chiquet J, Smith MA, Vallance J, et al. 2016. Learning ecological networks from next-generation sequencing data. *Advances in Ecological Research*, 54: 1–39
- Varennes YD, Boyer S, Wratten SD. 2014. Un-nesting DNA Russian dolls—the potential for constructing food webs using residual DNA in empty aphid mummies. *Molecular Ecology*, 23(15): 3925–3933
- Vollhardt IMG, Ye ZP, Parth N, Rubbmark O, Fründ J, Traugott M. 2019. Influence of plant fertilisation on cereal aphid-primary parasitoid-secondary parasitoid networks in simple and complex landscapes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 281: 47–55
- Wang XQ, Wang GH, Qiao F, Gao QK, Heong KL, Zhu ZR, Cheng JA. 2017. Progress on high-throughput sequencing and its applications in food web analysis. *Acta Ecologica Sinica*, 37(8): 2530–2539 (in Chinese) [王雪芹, 王光华, 乔飞, 高其康, Heong KL, 祝增荣, 程家安. 2017. 高通量测序及其在食物网解析中的应用进展. *生态学报*, 37(8): 2530–2539]
- Weigand H, Beermann AJ, Čiampor F, Costa FO, Csabai Z, Duarte S, Geiger MF, Grabowski M, Rimet F, Rulik B, et al. 2019. DNA barcode reference libraries for the monitoring of aquatic biota in Europe: gap-analysis and recommendations for future work. *Science of the Total Environment*, 678: 499–524
- Wulff JA, Kjeldgaard MK, Eubanks MD, Sword GA. 2021. From the bellies of babes: a larval-based approach to ant molecular gut content analysis. *Insectes Sociaux*, 68(2/3): 245–253
- Yang F, Liu B, Zhu YL, Desneux N, Liu LT, Li CH, Wyckhuys KA, Lu YH. 2022. Transgenic Cry1Ac+CpTI cotton does not compromise parasitoid-mediated biological control: an eight-year case study. *Pest Management Science*, 78(1): 240–245
- Yang F, Liu B, Zhu YL, Wyckhuys KAG, van der Werf W, Lu YH. 2021. Species diversity and food web structure jointly shape natural biological control in agricultural landscapes. *Communications Biology*, 4(1): 979
- Yang F, Lu YH. 2015. The application prospect and status of DNA-based molecular detection techniques in the analysis of arthropod food relationships. //Proceedings of 10th National Youth Symposium of Plant Protection Science and Technology Innovation. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, pp. 37–44 (in Chinese) [杨帆, 陆宴辉. 2015. DNA分子检测技术在节肢动物食物关系分析中的应用现状及前景. //第十届全国青年植保科技创新学术研讨会. 北京: 中国农业科学技术出版社, pp. 37–44]
- Yang F, Wang Q, Wang DM, Xu B, Xu JX, Lu YH, Harwood JD. 2017. Intraguild predation among three common coccinellids (Coleoptera: Coccinellidae) in China: detection using DNA-based gut-content analysis. *Environmental Entomology*, 46(1): 1–10
- Yang F, Yao ZW, Zhu YL, Wu YK, Liu LT, Liu B, Desneux N, Lu YH. 2020. A molecular detection approach for assessing wheat aphid-parasitoid food webs in northern China. *Entomologia Generalis*, 40(3): 273–284
- Yang TB, Song XH, Xu XQ, Zhou CQ, Shi AM. 2021. A comparative analysis of spider prey spectra analyzed through the next-generation sequencing of individual and mixed DNA samples. *Ecology and Evolution*, 11(21): 15444–15454
- Yao ZW, Yang F, Wu YK, Wei HY, Lu YH. 2017. Influences of storage time and conditions on the DNA detection rates of aphids and parasitoids from empty aphid mummies. *Acta Entomologica Sinica*, 60(6): 691–698 (in Chinese) [姚志文, 杨帆, 吴月坤, 魏洪义, 陆宴辉. 2017. 放置时间和条件对空僵蚜中蚜虫和寄生蜂DNA检出率的影响. *昆虫学报*, 60(6): 691–698]
- Ye Z, Vollhardt IMG, Girtler S, Wallinger C, Tomanovic Z, Traugott M. 2017. An effective molecular approach for assessing cereal aphid-parasitoid-endosymbiont networks. *Scientific Reports*, 7: 3138
- Zhu YL, Yang F, Yao ZW, Wu YK, Liu B, Yuan HB, Lu YH. 2019. A molecular detection approach for a cotton aphid-parasitoid complex in northern China. *Scientific Reports*, 9: 15836

(责任编辑:张俊芳)