

捕食量和温度对麦长管蚜在多异瓢虫体内可测定时间的影响

高书晶^{1,2}, 庞保平^{1,*}, 周晓榕¹, 陈正贤³

(1. 内蒙古农业大学农学院 呼和浩特 010019; 2. 中国农业科学院草原研究所 呼和浩特 010010;
3. 浙江大学生物技术研究所 杭州 310029)

摘要: 为了方便准确评价麦田捕食性天敌对麦长管蚜 *Sitobion avenae* (Fabricius) 的控制作用, 应用单克隆抗体及间接 ELISA 方法研究了捕食量和温度对麦长管蚜在多异瓢虫 *Adonia variegata* (Goeze) 体内可测定时间的影响。结果表明: 在不同的温度和捕食量下, 麦长管蚜在多异瓢虫体内的降解中间产物曲线均为单峰型。温度对猎物的可测定时间有显著的影响, 随着温度的上升, 猎物的可测定时间不断缩短。特别是当温度达到 30℃ 时, 猎物的降解速率迅速上升, 其可测定时间只有 1.18 天。捕食量对猎物的可测定时间也有显著影响, 随着捕食量的增加, 猎物的可测定时间延长。在 25℃ 的条件下, 当捕食量从 1 头蚜虫增加到 3 头蚜虫, 可测定时间从 2.81 天延长到 4.25 天。

关键词: 麦长管蚜; 多异瓢虫; 酶联免疫吸附测定 (ELISA); 可测定时间; 捕食量; 温度

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2008)05-0516-05

Effects of meal size and temperature on the detectable period of *Sitobion avenae* (Fabricius) (Hemiptera: Aphididae) in *Adonia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae)

GAO Shu-Jing^{1,2}, PANG Bao-Ping^{1,*}, ZHOU Xiao-Rong¹, CHEN Zheng-Xian³ (1. College of Agriculture, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China; 2. Institute of Grassland, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Huhhot 010010, China; 3. Institute of Bio-technology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: The effects of meal size and temperature on the detectable period of *Sitobion avenae* (Fabricius) in *Adonia variegata* (Goeze) were studied using a monoclonal antibody-based indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), which can be used to evaluate the control effects of predatory natural enemies on *S. avenae* in wheat fields. The results showed that the curves of the middle-decayed product of *S. avenae* in the gut of the predator, *A. variegata*, exhibited single-peak modes at different temperatures and meal sizes. Temperature had a significant effect on the prey detectable period. With temperature increasing, the prey detectable period decreased. Especially when temperature was up to 30℃, the decay rate of prey increased sharply and the detectable period was very short, only 1.18 day. Meal size also affected the prey detectable period remarkably. While the number of preys consumed by the predators increased from one aphid to three aphids, the prey detectable period increased from 2.80 to 4.25 days at 25℃.

Key words: *Sitobion avenae*; *Adonia variegata*; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); detectable period; meal size; temperature

捕食性天敌对害虫控制作用的定量评价一直是生态学和生物防治研究的难点之一。酶联免疫吸附

测定 (ELISA) 是目前研究节肢动物捕食作用较为理想的方法 (Greenstone, 1996), 已被国内外许多研究者

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30160051)

作者简介: 高书晶, 女, 1978 年生, 博士, 助理研究员, 研究方向为昆虫生态及害虫治理, E-mail: gaoshujing789170@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 0471-4318472; E-mail: pangbp@imau.edu.cn

收稿日期 Received: 2007-11-24; 接受日期 Accepted: 2008-02-26

采用(Miller, 1981; Crook and Sunderland, 1984; Greenstone and Morgan, 1989; 黄葵等, 1992; 张古忍等, 1997; 刘红玉等, 1997; 刘雨芳等, 2002)。应用 ELISA 等血清学方法评价捕食作用的原理是捕食者肠道内留有抗体可测定的猎物蛋白。因此, 猎物在捕食者肠道内可测定时间对应应用 ELISA 评价节肢动物的捕食作用具有非常重要的意义。猎物可测定时间(detectable period)是指猎物在捕食者体内可测出的最长时间(Sunderland *et al.*, 1987), 可受猎物抗原和抗体特性、检测方法的灵敏度以及捕食者和猎物的种类等多种因素的影响(Sunderland *et al.*, 1987; Symondson and Liddell, 1993a)。此外, 当研究对象和检测方法确定后, 猎物蛋白在捕食者肠道中的可测定时间与抗原的降解速率有关, 抗原的降解速率又受到温度、捕食量和捕食者的消化能力等许多因素的影响, 其中温度和捕食量对猎物的可测定时间的影响最大(Hagler and Narajo, 1997; 庞保平等, 2000)。明确这些因子对猎物可测定时间的影响, 对田间捕食作用的估计具有非常重要的意义(Sopp *et al.*, 1992)。麦长管蚜 *Sitobion avenae* (Fabricius) 是世界性麦类害虫, 麦田生态系统中麦蚜的天敌种类和数量非常丰富, 其中多异瓢虫 *Adonia variegata* (Goeze) 是主要的优势种之一(高书晶等, 2004)。本文以多异瓢虫-麦长管蚜系统为研究对象, 应用麦长管蚜单克隆抗体研究了温度和捕食量对麦长管蚜在瓢虫体内的可测定时间的影响, 以期应用 ELISA 准确地评价麦田捕食性天敌对麦长管蚜的控制作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

从内蒙古农业大学农场采回多异瓢虫成虫于实验室内饲养, 饲喂麦长管蚜, 备用。

1.2 检测抗体

所用单克隆抗体为作者在浙江大学生物技术研究所以麦长管蚜降解中间产物为抗原制备的麦长管蚜单克隆抗体 EGA-4A9。具体制备方法参见文献(庞保平等, 2001)。

1.3 实验设计

挑选大小相同的多异瓢虫成虫, 单头放于培养皿中, 放滤纸、小麦叶片和少许水保湿。饥饿 1 周后(以使猎物被彻底消化) 进行如下实验。

1.3.1 捕食量处理实验: 分 3 组, 分别饲以麦长管

蚜 1 2 及 3 头, 置于 25℃ 的光照培养箱中, 消化一定时间(0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3 及 5 天) 后, 放于 -20℃ 冰箱中冻死。各处理重复 10 次。

1.3.2 温度处理实验: 分 4 组饲以麦长管蚜 1 头, 分别置于 15℃, 20℃, 25℃ 及 30℃ 的光照培养箱中, 其余处理同 1.3.1。

1.4 样品处理和 ELISA 实验

将样品从冰箱中取出, 称重后加入适量的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS, pH7.2) 研磨, 离心(8 000 g, 10 min) 后取上清液, 用碳酸盐缓冲液稀释 500 倍(即 2 mg/mL), 用间接 ELISA 方法检测。同时饥饿 1 周以上的多异瓢虫抽提液作为阴性对照, 以 PBST 作空白对照。抗原作倍比稀释(50 ~ 102 400 倍), 制作抗原含量与检测 OD 值关系的标准曲线。阴性对照 OD 值的 2 倍所对应的抗原含量为可检测出的最低抗原含量, 即 ELISA 的灵敏度(庞保平等, 1999)。将可检测出的最低抗原含量值代入猎物降解模型即可获得猎物可测定时间(庞保平等, 2000)。

1.5 数据处理

根据抗原含量与 OD 值关系的标准曲线, 将测定的 OD 值转换为抗原含量(降解中间产物含量), 应用 DPS 数据处理系统拟合麦长管蚜在多异瓢虫体内降解中间产物含量与时间关系的模型。

2 结果与分析

2.1 抗原标准曲线

用指数方程 $y = a + \exp(b + c * x)$ 拟合抗原蛋白与检测的 OD 值之间的关系, 拟合方程为: $y = 0.2408 + \exp(-4.0012 + 3.0857x)$ (图 1), 拟合效果很好, 相关系数 $R = 0.9993$ ($P = 0.001$)。以拟合方程估计检测的样品的抗原蛋白含量, 可检测出的最低抗原蛋白含量, 即灵敏度为 0.166 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2 温度对猎物可测定时间的影响

不同温度下麦长管蚜在多异瓢虫体内降解中间产物含量与时间的关系见图 2。在不同温度下猎物降解中间产物含量曲线均为单峰型, 即随着猎物的不断被消化, 猎物降解中间产物的含量不断增加, 但达到高峰后, 随着中间产物的进一步降解, 其含量逐渐降低。随着温度的升高, 猎物被消化的速率加快。在 15℃ 和 20℃ 时, 猎物降解中间产物含量在消化 1 天后达到最大值, 在 25℃ 时, 0.5 天后达到最大值, 而在 30℃ 时, 仅 6 h 其含量就达到最大值。

应用方程 $y = 1 / (a * x^2 + b * x + c)$ 进行拟合,

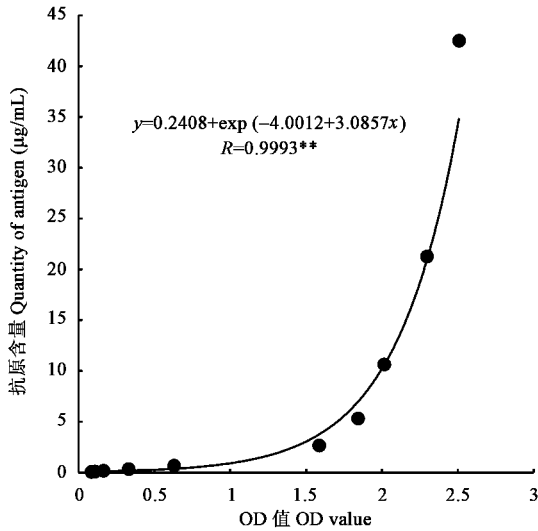


图1 麦长管蚜抗原量与 OD 值关系的标准曲线

Fig. 1 Standard curve showing the relationship between antigen quantity of *Sitobion avenae* and optical density

获得了满意的结果(表1),相关系数均达到极显著水平。从表1可知,随着温度的上升,猎物的可测定时间呈下降趋势。在15℃和20℃时猎物的可测定时间分别为3.52天和3.10天,25℃时为2.81天,但在30℃时猎物的可测定时间迅速缩短为1.18天。说明在30℃时多异瓢虫的新陈代谢速率最快。

2.3 捕食量对猎物可测定时间的影响

从图3可知,多异瓢虫在取食不同数量的猎物后,其体内的猎物降解中间产物含量曲线仍为单峰型。当取食1或2头麦长管蚜时,检测的猎物降解中间产物均在消化0.5天时达到最大值,当取食3头麦长管蚜时,其最大值出现在取食1天后。

应用方程 $y = 1/(a * x^2 + b * x + c)$ 进行拟合,获得了满意的结果(表2),相关系数均达到极显著水平。从表2可以看出,随着捕食量的上升,猎物的可测定时间呈上升趋势。在捕食量为1头时,猎物的可测定时间为2.81天,但在捕食量增加到3头时,猎物的可测定时间延长到4.25天。

3 讨论

温度和捕食量对猎物的可测定时间有显著的影响。随着温度的上升,猎物的可测定时间不断缩短,特别是当温度达到30℃时,猎物的降解速率迅速上升,其可测定时间非常短。随着捕食量的增加,猎物的可测定时间延长。这与其他研究结果相同(Melver, 1981; Fichter and Stephen, 1984; Chiverton, 1987; Sopp and Sunderland, 1989; Hagler and Cohen, 1990; Hagler and Naranjo, 1997; 庞保平等, 2000)。

除 Fichter 和 Stephen(1981)研究结果为直线下

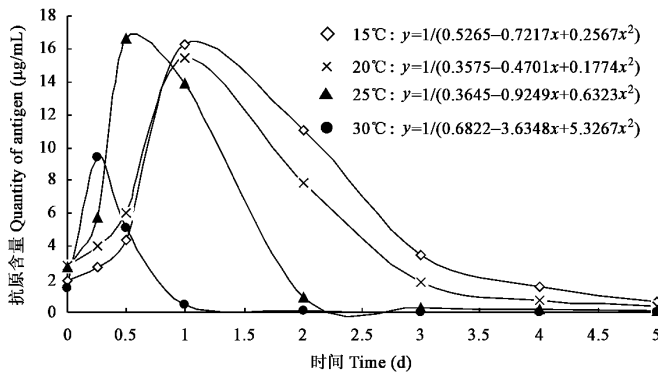


图2 不同温度下麦长管蚜在多异瓢虫体内降解中间产物曲线

Fig. 2 The decay curve of middle-decayed product of *Sitobion avenae* in *Adonia variegata* at different temperatures

表1 不同温度下麦长管蚜在多异瓢虫体内降解模型的参数估计

Table 1 Parameter estimation of the decay curve model of *S. avenae* in *A. variegata* at different temperatures

温度(℃) Temperature	a	b	c	R ²	F	p	可测定时间(d) Detectable period
15	0.2567	-0.7217	0.5265	0.9804	100.12	0.0004	3.52
20	0.1774	-0.4701	0.3575	0.9527	40.27	0.0022	3.10
25	0.6323	-0.9249	0.3646	0.9382	30.37	0.0038	2.81
30	5.3267	-3.6348	0.6823	0.9904	207.18	0.0001	1.18

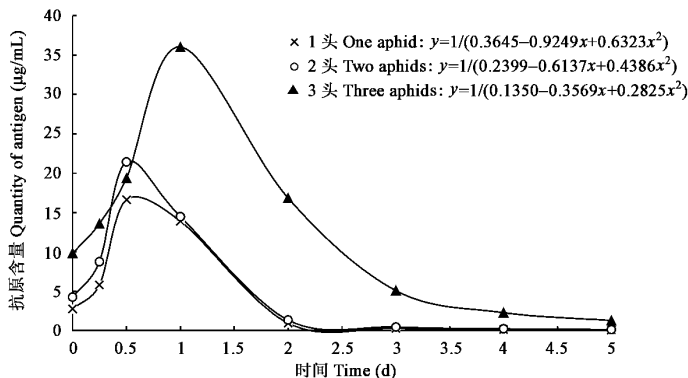


图3 不同捕食量下麦长管蚜在多异瓢虫体内降解中间产物曲线

Fig. 3 The decay curve of middle-decayed product of *S. avenae* in *A. variegata* when different quantities of prey were consumed

表2 不同捕食量下麦长管蚜在多异瓢虫体内降解模型的参数估计

Table 2 Parameter estimation of the decay curve models of *S. avenae* in *A. variegata* when different quantities of prey were consumed

捕食量(头) Number of individuals of prey consumed	a	b	c	R^2	F	p	可测定时间(d) Detectable period
1	0.6323	-0.9249	0.3646	0.9382	30.37	0.0038	2.81
2	0.4211	-0.5669	0.2349	0.9240	24.33	0.0041	3.40
3	0.0529	-0.1272	0.1020	0.9468	35.63	0.0030	4.25

降外,绝大多数研究(Sopp and Sunderland, 1989; Hagler and Cohen, 1990; Hagler and Narajo, 1997; 庞保平等, 2000)表明,猎物在捕食者体内的随时间的降解曲线都为指数下降型。本研究表明,麦长管蚜在瓢虫体内的降解曲线是先升高随后又下降的单峰型曲线。这是由于上述研究者均是以猎物本身为抗原制备的抗体,随着捕食者对猎物的消化,在捕食者体内可测出的猎物抗原逐渐减少;而本文所用的抗体是用麦长管蚜在瓢虫体内降解的中间产物为抗原制备的(另文发表)。因此,猎物降解的中间产物会随着消化时间的延长而越来越多,达到最大值后,随着中间产物的进一步降解,其可测定的含量逐渐减少,直至消失。本文用猎物降解的中间产物作为抗原,是因为麦长管蚜在瓢虫体内的降解速度非常快。作者曾用麦长管蚜为抗原制备了几株单克隆抗体,但在瓢虫取食麦长管蚜后不到1小时,就测不到阳性反应,失去了利用价值。Symondson和Liddell(1996)在制备蛴螬的单克隆抗体时,也发现了这一现象,并建议用取食猎物后捕食者的消化道作为抗原制备单克隆抗体,这样可延长猎物的可测定时间。

目前对猎物可测定时间的估计方法有2种,一种是将阳性反应率与时间建立回归方程,从而估计不同阳性反应率的可测定时间(Greenstone and Hunt, 1993)。实际上这种方法估计的是猎物可测定性(阳

性反应率)与时间的关系,而不是猎物可测量与时间的关系,其可测定时间是由降解最慢的个体决定的,不同时间阳性反应率的估计没有重复,受个体差异的影响很大。另一种方法是将样本的检测OD值根据标准曲线转化成抗原含量,建立可测定的抗原(猎物)量与时间关系的回归方程,也就是抗原(猎物)降解曲线,从而估计猎物的可测定时间(Lövei et al., 1985, 1990; Symondson and Liddell, 1993b, 1995; 庞保平等, 2000)。本法不同时间测定的猎物含量是多个个体的平均值,样本中个体的数量越多,估计得越准确,且受个体的影响较小。因此,该法估计的可测定时间更准确地反映了猎物在捕食者体内的降解情况。本文采用的是第2种方法。

此外,影响猎物可测定时间的因素还很多,如:捕食者的个体大小、生理状态及猎物的大小等,而且取食目标猎物前的饥饿时间对目标猎物的消化速率也存在影响。随着饥饿时间的延长,猎物的降解速率增快(Lövei et al., 1985)。这一结果表明捕食者肠道中的食物越少,猎物降解得越快,从而也证实了取食量与猎物降解速率间的关系。捕食者捕食了目标猎物后,在猎物的消化时间内是否取食了其它猎物对目标猎物的消化速率存在影响(Fitcher and Stephen, 1981, 1984; Lövei et al., 1990; Symondson and Liddell, 1995)。取食了其它猎物后,目标猎物在捕

食者肠道中的可测定时间可延长 54% (Symondson and Liddell, 1995)。本文只研究了温度和捕食量对猎物可测定时间的影响,其它因素如个体大小、饥饿状态以及取食频率等因素的影响还有待于今后进一步研究。

参考文献 (References)

- Chiverton PA, 1987. Predation of *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) by polyphagous predatory arthropods during the aphids pre-peak period in spring barley. *Ann. Appl. Biol.*, 47: 257-269
- Crook NE, Sunderland KD, 1984. Detection of aphid remains in predatory insects and spiders by ELISA. *Ann. Appl. Biol.*, 105: 413-422.
- Fichter BL, Stephen WP, 1981. Time-related decay in prey antigens ingested by the predator *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae) as detected by ELISA. *Oecologia*, 51: 404-407
- Fitcher BL, Stephen WP, 1984. Time related decay of prey antigens ingested by arboreal spiders as detected by ELISA. *Environ. Entomol.*, 13: 1 583-1 587
- Gao SJ, Pang BP, Yu Y, Lu H, 2004. Seasonal dynamics and structures of insect communities in wheat fields. *Chin. J. Ecol.*, 23(6): 47-50. [高书晶, 庞保平, 于洋, 路慧. 2004. 麦田昆虫群落的结构与时序动态. *生态学杂志* 23(6): 47-50]
- Greenstone MH, 1996. Serological analysis of arthropod predation: past, present and future. In: Symondson WOC, Liddell JE eds. *The Ecology of Agricultural Pests*. Chapman & Hall, London. 265-300.
- Greenstone MH, Hunt JH, 1993. Determination of prey antigen half-life in *Polistes metricus* using a monoclonal antibody-based immunodot assay. *Entomol. Exp. Appl.*, 68: 1-7
- Greenstone MH, Morgan CE, 1989. Predation on *Helioptera zea* (Lipidoptera: Noctuidae): intra-specific ELISA assay for stomach analysis. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 82: 45-49.
- Hagler JR, Cohen AC, 1990. Effects of time and temperature on digestion of purified antigen by *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae) reared on artificial diet. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 83: 1 177-1 180
- Hagler JR, Narajo SE, 1997. Measuring the sensitivity of an indirect predator gut content ELISA: detectability of prey remains in relation to predator species, temperature, time, and meal size. *Biol. Control*, 9: 1-8
- Hagler JR, Naranjo SE, Erichson ML, Machtley SA, Wright SF, 1997. Immunological examinations of species variability in predator gut content assays: effects of predator: prey protein ratio on immunoassays sensitivity. *Biol. Control*, 9: 120-128
- Huang K, Guo YY, Xie YL, 1992. The application of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for identifying the predators of oriental armyworm. *Acta Phytophyl. Sin.*, 19(3): 207-212. [黄葵, 郭予元, 谢云陆, 1992. 利用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 鉴定粘虫的捕食性天敌. *植物保护学报*, 19(3): 207-212]
- Liu HY, Cheng CM, Jiang HH, 1997. Protein A double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (PAS-ELISA) for identifying the relationship between arthropod predator and prey. *Acta Entomol. Sin.*, 40(2): 219-224. [刘红玉, 陈常铭, 江汉华, 1997. 测定节肢动物捕食者与猎物关系 A 蛋白双抗体夹心酶联免疫吸附技术. *昆虫学报*, 40(2): 219-224]
- Liu YF, Zhang GR, Gu DX, Wen RZ, 2002. Enzyme-linked immunosorbent assay used to detect the food relationship of the arthropods in paddy fields. *Acta Entomol. Sin.*, 45(3): 352-358. [刘雨芳, 张古忍, 古德祥, 温瑞贞. 2002. 用 ELISA 方法研究稻田节肢动物的食物关系. *昆虫学报* 45(3): 352-358]
- Lövei GL, Monostori E, Ando I, 1985. Digestion rate in relation to starvation in the larva of a carabid predator *Poecilus cupreus*. *Entomol. Exp. Appl.*, 37: 123-127
- Lövei GL, Sopp PI, Sunderland KD, 1990. Digestion rate in relation to alternative feeding in three species of polyphagous predators. *Ecol. Entomol.*, 15: 293-300
- Mclver ID, 1981. An examination of the unity of the precipitin test for evaluation of arthropod predator-prey relationship. *Can. Entomol.*, 113: 213-222
- Pang BP, Cheng JA, Chen ZX, 1999. Comparison of three methods of enzyme-linked immunosorbent assay with a monoclonal antibody. *Chin. J. Biol. Control*, 15(1): 31-34. [庞保平, 程家安, 陈正贤, 1999. 酶联免疫吸附试验方法的比较. *中国生物防治*, 15(1): 31-34]
- Pang BP, Cheng JA, Mao XQ, 2000. The detection period of *Sogatella furcifera* remains in *Pardosa pseudocanalate* in relation to consumed-prey amount and temperature using a monoclonal antibody. *Acta Phytophyl. Sin.*, 27(1): 7-11. [庞保平, 程家安, 毛雪琴. 2000. 猎物可测定时间与捕食量和温度的关系. *植物保护学报* 27(1): 7-11]
- Pang BP, Cheng JA, Chen ZX, Li DB, 2001. Development and characterization of monoclonal antibodies to the white-backed planthopper *Sogatella furcifera*. *Acta Entomol. Sin.*, 44(1): 21-26. [庞保平, 程家安, 陈正贤, 李德葆. 2001. 白背飞虱单克隆抗体的制备及其特性的研究. *昆虫学报* 44(1): 21-26]
- Sopp PI, Sunderland KD, 1989. Some factors affecting the detection period of aphid remains in predators using ELISA. *Entomol. Exp. Appl.*, 51: 11-20
- Sopp PI, Sunderland KD, Fenlon JS, Wratten SD, 1992. An improved quantitative method for estimating invertebrate predation in the field using an enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Appl. Ecol.*, 29: 295-302
- Sunderland KD, Crook DL, Fuller BJ, 1987. A study of feeding by polyphagous predatory on cereals aphids using ELISA and gut dissection. *J. Appl. Ecol.*, 24: 907-933
- Symondson WOC, Liddell JE, 1993a. Differential antigen decay rates during digestion of molluscan prey by carabid predators. *Entomol. Exp. Appl.*, 11: 277-287
- Symondson WOC, Liddell JE, 1993b. A monoclonal antibody for the detection of arionid slug remains in carabid predators. *Biol. Control*, 3: 207-214
- Symondson WOC, Liddell JE, 1995. Decay rates for slug antigens within the carabid predator *Pterostichus melanarius* monitored with a monoclonal antibody. *Entomol. Exp. Appl.*, 75: 245-250
- Symondson WOC, Liddell JE, 1996. A species-specific monoclonal antibody system for detecting the remains of field slugs, *Deroceras reticulatum* (Muller) (Mollusca: Pulmonata), in carabid beetles (Coleoptera: Carabidae). *Biocontr. Sci. Tech.*, 6: 91-99
- Zhang GR, Zhang WQ, Gu DX, 1997. Application of ELISA method for determining control effects of predatory arthropods on rice planthoppers in rice field. *Acta Entomol. Sin.*, 40(2): 171-176. [张古忍, 张文庆, 古德祥, 1997. 用 ELISA 研究稻田节肢类捕食者对稻飞虱的捕食作用. *昆虫学报* 40(2): 171-176]