



王慧, 赵一铮, 黄慧敏, 周志军. 基于植物 DNA 条形码 *rbcLa* 序列的日本条蝥食谱分析. 环境昆虫学报, 2023, 45 (2): 486–495.

基于植物 DNA 条形码 *rbcLa* 序列的 日本条蝥食谱分析

王 慧, 赵一铮, 黄慧敏, 周志军*

(河北大学生命科学学院, 河北省动物系统学与应用重点实验室, 河北保定 071002)

摘要: 日本条蝥 *Ducetia japonica* 广泛分布于我国绝大部分区域, 并在城区绿地大量发生。据此假设其食物谱可能具有较高的物种多样性, 但目前对其在自然环境下取食的植物种类仍缺乏了解。本研究对来自河北保定城区绿地和城郊荒地两种生境共计 75 头日本条蝥肠道内容物进行 DNA 提取、*rbcLa* 基因片段扩增及测序, 并利用 BOLD 和 NCBI 数据库进行分类鉴定。结果显示: 日本条蝥在野外至少取食 10 科、13 种植物。在城区绿地和城郊荒地两种生境中, 取食频率最高的植物分别是卫矛科冬青卫矛 *Euonymus japonicus* (47.37%) 和大麻科葎草 *Humulus scandens* (81.08%)。只有 1 条 *rbcLa* 基因序列未鉴定至种级水平, 表明利用植物 DNA 条形码 *rbcLa* 基因序列可对植食性昆虫取食的植物种类进行快速鉴定。同时, 研究结果也初步证实日本条蝥的食物谱包含较高的物种多样性, 为城市绿地昆虫类鸣虫保护和繁育提供依据。

关键词: 日本条蝥; 食谱分析; 植物 DNA 条形码; *rbcLa* 序列

中图分类号: Q963; S89

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2023) 02-0486-10

Dietary analysis of *Ducetia japonica* based on plant DNA barcoding *rbcLa* sequences

WANG Hui, ZHAO Yi-Zheng, HUANG Hui-Min, ZHOU Zhi-Jun* (Key Laboratory of Zoological Systematics and Application of Hebei Province, College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, Hebei Province, China)

Abstract: *Ducetia japonica* is widely distributed in the vast majority areas of China, and abundant in urban parks. We hypothesized that it might be related to its broad host range. The natural diets of *D. japonica* was still unclear. Plant DNA barcoding, using chloroplast ribulose-bisphosphate carboxylase (*rbcLa*) gene fragment, could be used for dietary analysis of herbivores. In this study, we amplified and sequenced *rbcLa* sequences from the gut contents of 75 *D. japonica* specimens from two habitats, urban green space and suburban wasteland. Taxonomic classification and identity assignment was performed using a reference-based approach with the BOLD and NCBI database of *rbcLa* sequences. The dietary profile of *D. japonica* consists of at least 13 plant species from 10 families. It apparently preferred *Euonymus japonicus* (18 out of 38 specimens) belong in Celastraceae in urban green space and *Humulus scandens* (30 out of 37 specimens) belong in Cannabaceae in suburban wasteland. Only one unidentified species demonstrates that plant DNA barcoding *rbcLa* sequences could be used to rapidly obtain dietary profile data. Our results also support previous hypothesized that the broad host range of *D. japonica* was significantly associated with its geographical distribution.

Key words: *Ducetia japonica*; dietary analysis; plant DNA barcode; *rbcLa*

基金项目: 河北省自然科学基金 (C2018201128, C2021201002)

作者简介: 王慧, 女, 1997 年生, 硕士研究生, 研究方向为昆虫分子系统进化, E-mail: 879558970@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 周志军, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为昆虫分子系统进化, E-mail: zhijunzhou@hbu.edu.cn

收稿日期 Received: 2021-12-05; 接受日期 Accepted: 2022-03-05

植物与植食性昆虫占据地球半数以上物种种类 (Futuyma and Agrawal, 2009), 是陆生生态系统中最重要的组成部分。绿色植物是生态系统中最重要的生产者 (McClenaghan *et al.*, 2015), 为昆虫提供食物、躲避天敌和繁衍生息的场所 (Loaiza *et al.*, 2008)。植物的防御行为与昆虫的取食密切相关, 植物进化出种类繁多的次生代谢产物, 对昆虫的食物选择产生重要影响。同时, 昆虫也为植物运输种子和传递花粉, 被子植物的多样性被认为与昆虫的取食密切联系。昆虫形态及生活史变化可能是促使植物分化的重要动力 (Marquis, 2004)。正如 Ehrlich 和 Raven 提出的植食性昆虫与植物的相互作用, 造就了现今陆地生物多样性的产生。植物含有植食性昆虫生长发育所需的全部营养物质, 包括碳水化合物、氨基酸、甾醇、磷脂、脂肪酸、维生素、矿物质、微量元素和水等 (Chapman, 1998; Schoonhoven *et al.*, 2005)。

常用的植食性昆虫食性分析方法包括: 取食行为直接观察法和肠道内容物及粪便显微鉴定法。取食行为直接观察法耗时费力, 只能对少量个体的取食情况进行定性研究 (Gordon *et al.*, 1995); 不适用于活动范围较广、夜行性或警觉性较高的昆虫 (Barnett *et al.*, 2010; Baker *et al.*, 2014); 对那些复杂环境中存在多种空间上不分离的潜在被取食对象, 很难准确识别昆虫取食的植物种类 (Valentini *et al.*, 2009)。鉴于上述缺陷, 逐渐形成多种基于粪便或肠道内容物的食性分析方法 (Moreno-Black, 1978; Van, 2000; 刘刚等, 2018): (1) 显微鉴定法 (Microhistological method), 对粪便或肠道内容物中的植物表皮碎片进行形态学显微鉴定, 对研究者形态学专业要求较高 (Holechek *et al.*, 1982; McInnis *et al.*, 1983), 对形态相似的近缘种鉴定效率较低; (2) 饱和烷烃指纹法 (Alkane fingerprint method), 根据每种植物独特的饱和烷烃浓度模式, 能较好地分析和预测动物摄食量, 但难以确定食物组成 (Dove and Mayes, 1996); (3) 近红外反射光谱法 (Near infrared spectroscopy, NIRS), 通过扫描食性样品的近红外光谱得到食物的有机分子光谱特征, 容易受颗粒大小和均匀性影响使分析结果产生偏差 (Foley *et al.*, 1998; Kaneko *et al.*, 2006)。上述几种食性分析方法在进行定量分析时均存在一定偏差。

近年来, 随着植物 DNA 条形码研究的深入, 为有效鉴别植食性昆虫取食的寄主植物种类、解析二者间的营养关系提供了新方法。目前, 叶绿体 *matK*、*trnH-psbA* 以及 *rbcL* 组合被认为是理想的植物 DNA 条形码选择。Symes 等 (2019) 以 *matK*、*trnH-psbA* 和 *rbcLa* 3 个基因片段对螽斯食性进行了研究。DNA 条形码在植食性灶蟋 *Gryllodes hebraeus* 研究结果表明取食后 12 h 内消化道中的食物均可被检测到 (Matheson *et al.*, 2008)。Höss 等 (1992) 首次将叶绿体 *rbcL* 基因片段用于植食性动物食性分析。McClenaghan 等 (2015) 利用叶绿体 *rbcLa* 基因片段比较了蝗科 4 种蝗虫取食的植物种类。目前, 叶绿体 *rbcL* 基因片段认可度最高, GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 数据库收录叶绿体 *rbcL* 基因序列 287 752 条 (截止 2021 年 11 月 1 日); 而 BOLD (Barcode of Life Data System, <http://www.boldsystems.org>) 数据库则以叶绿体 *rbcL* & *matK* 序列作为植物分子鉴定的标准组合。

螽斯科是直翅目物种多样性最高的科, 作为鸣虫具有重要的生态和经济价值。对植食性螽斯取食的植物种类进行鉴定, 不仅有助于了解其在生物群落中的功能 (Duffy *et al.*, 2007), 而且对于丰富植食性昆虫-植物间的协同进化理论具有重要意义。日本条螽 *Ducetia japonica* 隶属于直翅目 Orthoptera 螽斯科 Tettigoniidae, 广泛分布于东洋界、澳洲界部分区域, 在我国除西北部分地区外的多数地区均有分布 (Cigliano *et al.*, 2021)。日本条螽存在棕色和绿色两种色型, 在野外常见于低矮乔木、灌木、草丛, 在城区绿地大量发生。白天多隐藏在植物叶片背面或草丛中, 傍晚爬至灌木上取食。Suetsugu 和 Tanaka (2014) 发现日本条螽若虫频繁访问并取食兰科 *Habenaria sagittifera* 花粉和花药帽, 认为可能存在直翅目-兰花授粉互惠共生的进化途径。目前, 国内外学者已对日本条螽的鸣声特征 (杨培林等, 2000; 石福明等, 2003; Heller *et al.*, 2017)、线粒体基因组序列 (刘菲, 2017)、种群遗传结构及谱系地理学 (Zhou *et al.*, 2021) 进行了研究。为探明造就日本条螽地理分布格局及其能够在城区绿地大量存在的原因, 本研究利用叶绿体 *rbcLa* 基因片段对城区绿地和城郊荒地两种生境中取食的植物种类进行了分子鉴定。

1 材料与方法

1.1 样品采集与肠道内容物 DNA 提取

本研究所用日本条螽标本于 2021 年 8–9 月夜晚 (20:00–22:00) 采集自河北保定城区军校广场、河北大学五四路校区、马庄荒地 (图 1)。采

集到的日本条螽标本立即置于盛有足量无水酒精的冻存管中带回实验室。次日上午纵向剪开日本条螽腹壁, 轻拉头部取出完整消化道。纵向剪开消化道壁, 收集内容物并在液氮中充分研磨。使用 TIANGEN 新型植物基因组提取试剂盒 (DP320), 依据操作说明进行 DNA 提取, 并置于 -20°C 冰箱中保存备用。



图 1 日本条螽生境图

Fig. 1 Habitus of *Ducetia japonica*

注: A, 城区绿地; B, 城郊荒地; C, 夜晚采集标本照; D, 标本生态照。Note: A, Urban green space; B, Suburban wasteland; C, Collecting specimen photos at night; D, Specimen ecological photos.

1.2 叶绿体 *rbcLa* 基因片段 PCR 扩增及测序

叶绿体 *rbcLa* 基因片段的扩增引物为: *rbcLa*-F (ATG TCA CCA CAA ACA GAG ACT AAA GC) 和 *rbcLa*-R (GTA AAA TCA AGT CCA CCR CG) (Symes *et al.*, 2019)。PCR 反应体系包括: $2 \times$ Premix TaqTM 25 μL 、上下游引物各 5 μL 、DNA 模板 3 μL 、超纯水补足 50 μL 。反应条件为: 94°C 预变性 3 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 共 35 个循环; 72°C 再延伸 10 min。PCR 扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 送金唯智公司进行双向测序。

1.3 测序结果拼接与数据库搜索鉴定

双向测序结果使用 DNASTar 软件包中的 SeqMan 拼接。通过 BOLD、Genbank 数据库进行同源搜索, 以确定每个日本条螽样本取食的植物种类。本研究最佳匹配序列与目标序列覆盖度 (Coverage) 和一致度 (Identity) 均大于 95% 时认为检索结果有效。鉴定原则参考邵昕宁等 (2019) 修改如下: (1) 当 BOLD 和 GenBank 数据库最佳匹配结果一致, 且与单一物种比对一致度 $\geq 99\%$ 时, 记为该物种; 与多个物种比对一致度均 $\geq 99\%$ 时, 记为涵盖这些物种的最低分类单元。(2)

比对一致度介于 95% 与 99% 之间, 且符合物种分布记录时, 同样记为该物种。(3) 比对一致度介于 95% 与 99% 之间, 但仅对应单一无分布记录的物种; 或比对一致度 < 95% 时, 认为无法确定具体种类, 记为属级未定种。(4) 当两个数据库最佳匹配结果不一致时, 首先根据采集点本底信息及物种分布记录排除不符合物种; 如果仍无法排除则记为涵盖这些物种的最低分类单元。将军校广场和河北大学校园归为城区绿地, 马庄归为城郊荒地两种生境进行比较。

2 结果与分析

2.1 日本条蠹在城区绿地中取食的植物种类

从 38 头采自城区绿地的日本条蠹肠道内容物中成功扩增并测得叶绿体 *rbcLa* 基因序列, 经鉴定发现日本条蠹在城区绿地中取食的植物种类涵盖 6 科 7 种, 以 18 头取食卫矛科 *Celastraceae* 的冬青卫矛 *Euonymus japonicus* 占据优势 (47.37%)。其余 20 个个体由多至少依次为: 茜草科 *Rubiaceae*

的茜草 *Rubia cordifolia* (7 头), 夹竹桃科 *Apocynaceae* 的鹅绒藤 *Cynanchum chinense* (5 头), 茜草科 *Rubiaceae* 的鸡矢藤 *Paederia scandens* (3 头), 木樨科 *Oleaceae* 的迎春花 *Jasminum nudiflorum* (2 头), 大麻科 *Cannabaceae* 的葎草 *Humulus scandens* (2 头), 蔷薇科 *Rosaceae* 蔷薇属 *Rosa* 植物 (1 头) (表 1, 图 2)。

2.2 日本条蠹在城郊荒地中取食的植物种类

从 37 头采自城郊荒地的日本条蠹肠道内容物中成功扩增并测得叶绿体 *rbcLa* 基因序列, 经鉴定发现日本条蠹在城郊荒地中取食的植物种类涵盖 5 科 6 种, 以 30 头取食大麻科 *Cannabaceae* 的葎草 *Humulus scandens* 占据绝对优势 (81.08%)。其余 7 个个体由多至少依次为: 唇形科 *Labiatae* 的紫苏 *Perilla frutescens* (3 头), 葫芦科 *Cucurbitaceae* 的南瓜 *Cucurbita moschata* (1 头) 和丝瓜 *Luffa aegyptiaca* (1 头), 菊科 *Compositae* 的向日葵 *Helianthus annuus* (1 头), 藜科 *Chenopodiaceae* 的藜 *Chenopodium album* (1 头) (表 2, 图 2)。

表 1 城区绿地中日本条蠹取食的植物种类
Table 1 Possible dietary taxa identified for *Ducetia japonica* of the urban green space

编号 Specimen ID	GenBank		BOLD		可能取食的物种 Possible feeding species
	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Acc. no (Best identity)	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Sequence ID (Best identity)	
LC001	冬青卫矛 <i>Euonymus japonicus</i>	KP189362 (99.32)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99.65)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC002	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99.17)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99.65)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC011	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (98.33)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (98.43)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC013	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99.33)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99.83)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC016	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99.17)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99.48)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC017	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99.00)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99.47)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC021	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99.16)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99.13)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>

续表 1 Continued table 1

编号 Specimen ID	GenBank		BOLD		可能取食的物种 Possible feeding species
	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Acc. no (Best identity)	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Sequence ID (Best identity)	
LC022	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99. 34)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99. 83)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC023	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99. 17)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99. 48)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC027	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (98. 84)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99. 31)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC032	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99. 00)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99. 48)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC070	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99. 50)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99. 83)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC071	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99. 00)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99. 48)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC072	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99. 66)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (100. 00)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC073	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (98. 84)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99. 47)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC074	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99. 16)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99. 30)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC075	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (99. 00)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	Private (99. 30)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC029	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>	KP189362 (96. 62)	<i>Euonymus europaeus</i>	Private (96. 45)	冬青卫矛 <i>E. japonicus</i>
LC003	茜草 <i>R. cordifolia</i>	MH714021 (100. 00)	茜草 <i>R. cordifolia</i>	GBVJ4468-11 (99. 47)	茜草 <i>R. cordifolia</i>
LC006	茜草 <i>R. cordifolia</i>	MH658582 (99. 82)	茜草 <i>R. cordifolia</i>	Private (99. 82)	茜草 <i>R. cordifolia</i>
LC009	茜草 <i>R. cordifolia</i>	MH714021 (100. 00)	茜草 <i>R. cordifolia</i>	GBVJ4468-11 (99. 47)	茜草 <i>R. cordifolia</i>
LC010	茜草 <i>R. cordifolia</i>	GQ436562 (99. 31)	茜草 <i>R. cordifolia</i>	Private (99. 46)	茜草 <i>R. cordifolia</i>
LC012	茜草 <i>R. cordifolia</i>	KM453752 (99. 50)	茜草 <i>R. cordifolia</i>	Private (99. 46)	茜草 <i>R. cordifolia</i>

续表 1 Continued table 1

编号 Specimen ID	GenBank		BOLD		可能取食的物种 Possible feeding species
	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Acc. no (Best identity)	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Sequence ID (Best identity)	
LC024	茜草 <i>R. cordifolia</i>	MH714021 (99. 82)	茜草 <i>R. cordifolia</i>	Private (99. 82)	茜草 <i>R. cordifolia</i>
LC025	茜草 <i>R. cordifolia</i>	MH714021 (100. 00)	茜草 <i>R. cordifolia</i>	Private (100. 00)	茜草 <i>R. cordifolia</i>
LC014	鹅绒藤 <i>Cynanchum chinense</i>	MW415427 (98. 99)	沙生鹅绒藤 <i>Cynanchum arenarium</i>	Private (98. 82)	鹅绒藤 <i>C. chinense</i>
LC015	鹅绒藤 <i>C. chinense</i>	MW415427 (99. 50)	戟叶鹅绒藤 <i>Cynanchum acutum</i>	Private (98. 94)	鹅绒藤 <i>C. chinense</i>
LC026	鹅绒藤 <i>C. chinense</i>	MW415427 (99. 17)	戟叶鹅绒藤 <i>C. acutum</i>	Private (98. 94)	鹅绒藤 <i>C. chinense</i>
LC030	鹅绒藤 <i>C. chinense</i>	MW415427 (99. 67)	<i>Matelea reticulata</i>	RBJ006-15 (99. 14)	鹅绒藤 <i>C. chinense</i>
LC031	鹅绒藤 <i>C. chinense</i>	MW415427 (99. 17)	戟叶鹅绒藤 <i>C. acutum</i>	Private (98. 77)	鹅绒藤 <i>C. chinense</i>
LC018	鸡矢藤 <i>Paederia foetida</i>	MH657648 (99. 82)	鸡矢藤 <i>P. foetida</i>	Private (99. 14)	鸡矢藤 <i>P. foetida</i>
LC019	鸡矢藤 <i>P. foetida</i>	MH657648 (99. 65)	鸡矢藤 <i>P. foetida</i>	Private (99. 30)	鸡矢藤 <i>P. foetida</i>
LC028	鸡矢藤 <i>P. foetida</i>	MH657648 (100. 00)	鸡矢藤 <i>P. foetida</i>	Private (99. 13)	鸡矢藤 <i>P. foetida</i>
LC005	迎春花 <i>Jasminum nudiflorum</i>	MH658802 (100. 00)	迎春花 <i>J. nudiflorum</i>	Private (99. 31)	迎春花 <i>J. nudiflorum</i>
LC007	迎春花 <i>J. nudiflorum</i>	MH658802 (99. 62)	迎春花 <i>J. nudiflorum</i>	Private (99. 43)	迎春花 <i>J. nudiflorum</i>
LC004	葎草 <i>Humulus scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	HIMS1569-12 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC008	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 47)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC020	金樱子 <i>Rosa laevigata</i>	NC047418 (94. 68)	异味蔷薇 <i>Rosa foetida</i>	PNOR088-16 (94. 68)	蔷薇属 <i>Rosa</i> sp.

表 2 城郊荒地中日本条蝥取食的植物种类
Table 2 Possible dietary taxa identified for *Ducetia japonica* of the suburban wasteland

编号 Voucher ID	GenBank		BOLD		可能取食的物种 Possible feeding species
	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Acc. no (Best identity)	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Sequence ID (Best identity)	
LC033	菵草 <i>H. scandens</i>	KF138183 (95. 48)	菵草 <i>H. scandens</i>	PNOR047-16 (95. 48)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC041	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (98. 25)	菵草 <i>H. scandens</i>	VPSBC738-13 (98. 55)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC034	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 13)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC035	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (99. 83)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 82)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC036	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 48)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC037	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 82)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC038	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 65)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC039	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (99. 83)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 12)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC040	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (99. 83)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 29)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC042	菵草 <i>H. scandens</i>	MF973021 (99. 66)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 65)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC043	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 29)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC044	菵草 <i>H. scandens</i>	MF973021 (99. 66)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 65)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC045	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC048	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC049	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC050	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>
LC051	菵草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	菵草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-13 (99. 47)	菵草 <i>H. scandens</i>

续表 2 Continued table 2

编号 Voucher ID	GenBank		BOLD		可能取食的物种 Possible feeding species
	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Acc. no (Best identity)	最佳匹配物种 Best match species	序列号 (%) (最高一致度) Sequence ID (Best identity)	
LC052	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (99. 47)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC053	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (99. 29)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC054	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (99. 82)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC055	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC056	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC057	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC058	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (99. 29)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC059	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC060	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC061	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC062	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (99. 13)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (98. 59)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC063	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (100. 00)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC068	葎草 <i>H. scandens</i>	KU508976 (99. 65)	葎草 <i>H. scandens</i>	GBVU3587-43 (99. 30)	葎草 <i>H. scandens</i>
LC046	紫苏 <i>Perilla frutescens</i>	MH657430 (100. 00)	二蕊紫苏 <i>Collinsonia canadensis</i>	GBVG2930-41 (99. 47)	紫苏 <i>P. frutescens</i>
LC047	紫苏 <i>P. frutescens</i>	MH657430 (99. 82)	<i>Plectranthus grandidentatus</i>	Private (98. 97)	紫苏 <i>P. frutescens</i>
LC064	紫苏 <i>P. frutescens</i>	KT220691 (99. 83)	<i>Plectranthus petiolaris</i>	Private (99. 14)	紫苏 <i>P. frutescens</i>
LC065	藜 <i>Chenopodium album</i>	MF158790 (99. 47)	藜 <i>C. album</i>	TRM185-45 (99. 13)	藜 <i>C. album</i>
LC066	丝瓜 <i>Luffa aegyptiaca</i>	MK279350 (100. 00)	广东丝瓜 <i>Luffa acutangula</i>	TRM310-45 (99. 30)	丝瓜 <i>L. aegyptiaca</i>
LC067	向日葵 <i>Helianthus annuus</i>	MN602834 (99. 16)	向日葵 <i>H. annuus</i>	Private (99. 83)	向日葵 <i>H. annuus</i>
LC069	南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	MF991116 (99. 66)	南瓜 <i>C. moschata</i>	Private (99. 82)	南瓜 <i>C. moschata</i>

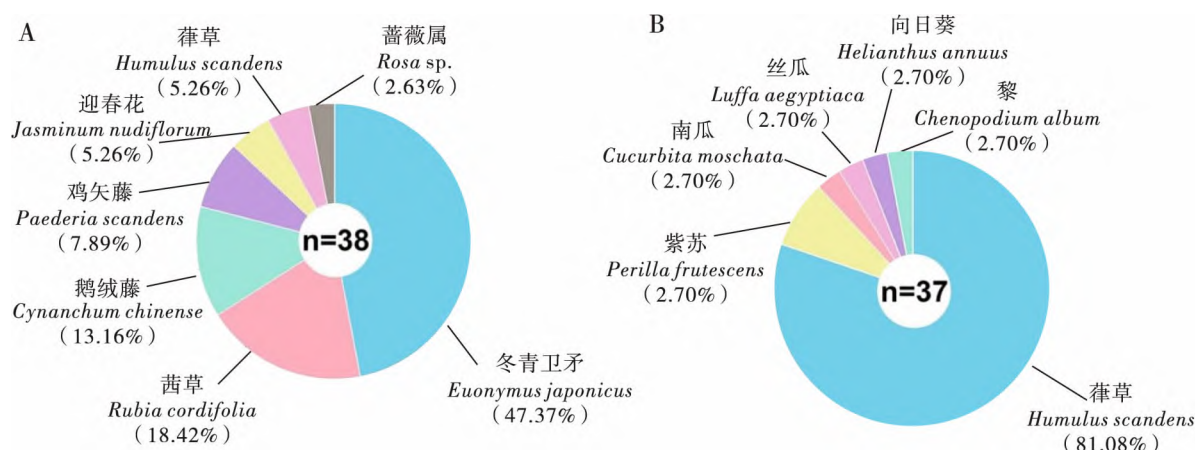


图2 城区绿地 (A) 和城郊荒地 (B) 中日本条蠹的食物构成

Fig. 2 Diet composition of *Ducetia japonica* in urban green space (A) and suburban wasteland (B)

3 结论与讨论

昆虫食性分析时由粪便和肠道内容物中提取的 DNA 均存在一定程度的降解, 并含有 PCR 抑制剂影响扩增和测序成功率 (Bradley *et al.*, 2007)。Symes 等 (2019) 研究发现 3 个植物 DNA 条形码片段 (*rbcLa*、*psbA* 和 *matK*) 在前半夜 (23:00 – 01:00) 捕获的体型较小的蠹斯中扩增成功率较高; 此外, 蠹斯肠道内容物颜色与扩增和测序成功率密切相关: 无色 + 黄色 + 绿色 + 黄褐色组的成功率 > 30%, 无色组的成功率约 60%, 棕色 + 橙色 + 红色 + 绿棕色组的成功率极低。日本条蠹为中型蠹斯, 肠道内容物为绿色。植食性动物在不同的栖息环境中, 其食物的可获得性和多样性存在明显不同 (Cristóbal-Azkarate *et al.*, 2007)。日本条蠹在两种生境中取食的植物种类有一定的选择性, 但也与食物的可获得性有关。城郊荒地的植物物种多样性远高于城区绿地, 但其对取食植物的偏好更为明显, 81.08% 的日本条蠹个体取食大麻科的葎草。城区绿地中, 除 47.37% 个体取食卫矛科的冬青卫矛外, 取食其余 6 种植物的比例从 2.63% 至 18.42% 不等, 偏好性并不明显, 可能是其适应城区绿地植物组成的结果。最佳觅食理论认为, 动物在食物资源减少时, 会逐步向泛食性转变。

本研究通过对新采集的日本条蠹肠道内容物进行 DNA 提取、*rbcLa* 基因片段 PCR 扩增及测序, 通过在 GenBank 和 BOLD 数据库中进行搜索比对发现日本条蠹至少取食 10 科、13 种植物。结果表

明, 基于肠道内容物 DNA 进行植物 DNA 条形码 *rbcLa* 基因片段扩增、测序, 并利用 GenBank、BOLD 等公共数据库资源可以对植食性昆虫取食的植物种类进行快速鉴定和食性分析。GenBank 数据库中收录的部分序列可能存在序列、对应物种信息错误。植物 DNA 条形码研究为利用 BOLD 数据库进行植食性昆虫食性分析的效率和精度得到极大提升。同一条序列可能与多个物种高度匹配, 在缺乏足够的区域物种本底信息时, 只能将其归类为包含这些物种的上一级分类单元。通过构建本地潜在食源 DNA 条形码 *rbcL* 序列数据库可显著提高食性分析时的分类精度。

昆虫是城市生物多样性的重要组成部分。探究城市化进程对城区昆虫多样性的影响, 有助于更好地保护昆虫多样性。日本条蠹能够占据广泛的分布范围, 并在城区绿地大量发生, 可能与其广谱的取食对象密切相关。为避免竞争, 同域分布的近缘种可能会进化出不同的觅食策略, 选择不同的微生境或取食不同的食物。基于植物 DNA 条形码的食性研究, 为探究行踪隐秘的植食性蠹斯与栖息地植物间的协同进化关系提供了新的手段, 有助于揭示近缘种的同域共存机制。

参考文献 (References)

- Baker R, Buckland A, Sheaves M. Fish gut content analysis: Robust measures of diet composition [J]. *Fish and Fisheries*, 2014, 15 (1): 170 – 177.
- Barnett A, Redd KS, Frusher SD, *et al.* Non-lethal method to obtain stomach samples from a large marine predator and the use of DNA analysis to improve dietary information [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2010, 393 (1 – 2): 188 – 192.

- Bradley B, Stiller M, Doran – Sheehy D, *et al.* Plant DNA sequences from feces: Potential means for assessing diets of wild primates [J]. *American Journal of Primatology*, 2007, 69 (6): 699 – 705.
- Chapman RF. The Insects: Structure and Function [M]. UK: Cambridge University Press, 1998.
- Cigliano MM, Braun H, Eades DC, *et al.* Orthoptera species file. Version 5.0/5.0 [DB/OL]. [2021 – 12 – 1]. <http://Orthoptera.SpeciesFile.org>.
- Cristóbal-Azkarate J, Arroyo-Rodríguez V. Diet and activity pattern of howler monkeys (*Alouatta palliata*) in Los Tuxtlas, Mexico: Effects of habitat fragmentation and implications for conservation [J]. *American Journal of Primatology*, 2007, 69 (9): 1013 – 1029.
- Dove H, Mayes RW. Plant wax components: A new approach to estimating intake and diet composition in herbivores [J]. *Journal of Nutrition*, 1996, 126 (1): 13 – 26.
- Duffy JE, Cardinale BJ, France KE, *et al.* The functional role of biodiversity in ecosystems: Incorporating trophic complexity [J]. *Ecology Letters*, 2007, 10: 522 – 538.
- Ehrlich PR, Raven PH. Butterflies and plants: A study in coevolution [J]. *Evolution*, 1964, 18 (4): 586 – 608.
- Erickson DL, Reed E, Ramachandran P, *et al.* Reconstructing a herbivore's diet using a novel *rbcL* DNA mini – barcode for plants [J]. *AoB Plants*, 2017, 9 (3): plx015.
- Foley WJ, McIlwee A, Lawler I, *et al.* Ecological applications of near infrared reflectance spectroscopy – a tool for rapid, cost – effective prediction of the composition of plant and animal tissues and aspects of animal performance [J]. *Oecologia*, 1998, 116: 293 – 305.
- Futuyma DJ, Agrawal AA. Macroevolution and the biological diversity of plants and herbivores [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106 (43): 18054 – 18061.
- Gordon IJ. Animal – based techniques for grazing ecology research [J]. *Small Ruminant Research*, 1995, 16 (3): 203 – 214.
- Heller KG, Ingrisch S, Liu CX, *et al.* Complex songs and cryptic ethospecies: The case of the *Ducetia japonica* group (Orthoptera: Tettigoniidae: Phaneropteridae: Phaneropterinae) [J]. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 2017, 2: 1 – 22.
- Holeček JL, Vavra M, Pieper RD. Botanical composition determination of range herbivore diets: A review [J]. *Journal Range Manage*, 1982, 35 (3): 309 – 315.
- Höss M, Kohn M, Pääbo S, *et al.* Excrement analysis by PCR [J]. *Nature*, 1992, 359 (6392): 199.
- Kaneko H, Lawler IR. Can near infrared spectroscopy be used to improve assessment of marine mammal diets via fecal analysis? [J]. *Marine Mammal Science*, 2006, 22 (2): 261 – 275.
- Liu G, Ning Y, Xia XF, *et al.* The application of high – throughput sequencing technologies to wildlife diet analysis [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38 (9): 3347 – 3356. 刘刚, 宁宇, 夏晓飞, 等. 高通量测序技术在野生动物食性分析中的应用 [J]. *生态学报*, 2018, 38 (9): 3347 – 3356.
- Lundgren JG, Fergen JK. Predator community structure and trophic linkage strength to a focal prey [J]. *Molecular Ecology*, 2014, 23 (15): 3790 – 3798.
- Loaiza V, Jonas JL, Joern A. Does dietary P affect feeding and performance in the mixed – feeding grasshopper (Acrididae) *Melanoplus bivitatus*? [J]. *Environmental Entomology*, 2008, 37 (2): 333 – 339.
- Liu F. Determination and analysis of mitochondrial genome sequences of *Ducetia japonica* [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2017, 36 (7): 2821 – 2825. 刘菲. 日本条蝻线粒体基因组序列的测定与分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36 (7): 2821 – 2825.
- Marquis RJ. Herbivores rule [J]. *Science*, 2004, 305 (5684): 619 – 621.
- Matheson CD, Muller GC, Junnila A, *et al.* A PCR method for detection of plant meals from the guts of insects [J]. *Organisms Diversity Evolution*, 2008, 7 (4): 294 – 303.
- McClenaghan B, Gibson JF, Shokralla S, *et al.* Discrimination of grasshopper (Orthoptera: Acrididae) diet and niche overlap using next-generation sequencing of gut contents [J]. *Ecology and Evolution*, 2015, 5 (15): 3046 – 3055.
- McInnis ML, Varva M, Krueger WC. A comparison of four methods used to determine the diets of large herbivores [J]. *Journal of Range Manage*, 1983, 36 (3): 730 – 732.
- Moreno – Black G. The use of scat samples in primate diet analysis [J]. *Primates*, 1978, 19 (1): 215 – 221.
- Schoonhoven LM, van Loon JJA, Dicke M. Insect – Plant Biology [M]. Oxford: Oxford University Press, 2005.
- Shi FM, Yang PL, Du XC. A comparative study on the male songs of different geographical populations of *Ducetia japonica* (Thunberg) (Orthoptera, Phaneropteridae) [J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2003, 28 (3): 402 – 410. 石福明, 杨培林, 杜喜翠. 日本条蝻不同地理种群雄性鸣声的比较研究 (直翅目, 露蝻科) [J]. *动物分类学报*, 2003, 28 (3): 402 – 410.
- Suetsugu K, Tanaka K. Consumption of *Habenaria sagittifera* pollinia by juveniles of the katydid *Ducetia japonica* [J]. *Entomological Science*, 2014, 17 (1): 122 – 124.
- Symes LB, Wershoven NL, Hoeger LO, *et al.* Applying and refining DNA analysis to determine the identity of plant material extracted from the digestive tracts of katydids [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e6808.
- Van Wyk J. Seasonal variation in stomach contents and diet composition in the large girdled lizard, *Cordylus giganteus* (Reptilia: Cordylidae) in the Highveld grasslands of the northeastern free state, South Africa [J]. *African Zoology*, 2000, 35 (1): 9 – 27.
- Vesterinen EJ, Ruokolainen L, Wahlberg N, *et al.* What you need is what you eat? Prey selection by the bat *Myotis daubentonii* [J]. *Molecular Ecology*, 2016, 25 (7): 1581 – 1594.
- Yang PL, Chang YL, Lu RS. Stridulatory character of *Ducetia japonica* Thunberg [J]. *Journal of Guangxi Academy of Sciences*, 2000, 16 (3): 138 – 141. 杨培林, 常岩林, 芦荣胜. 日本条蝻鸣声特征的初步研究 [J]. *广西科学院学报*, 2000, 16 (3): 138 – 141.
- Zhou ZJ, Zhen YX, Guan B, *et al.* Phylogeography and genetic diversity of the widespread katydid *Ducetia japonica* (Thunberg, 1815) across China [J]. *Ecology and Evolution*, 2021, 11 (9): 4276 – 4294.