



王雪芹, 王光华, 蒋月丽, 武予清, 祝增荣, 程家安. 利用分子探针法研究稻田蜘蛛集团对褐飞虱的捕食作用 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (2): 381–390.

利用分子探针法研究稻田蜘蛛集团 对褐飞虱的捕食作用

王雪芹^{1,2}, 王光华^{1,2}, 蒋月丽¹, 武予清^{1*}, 祝增荣², 程家安^{2*}

(1. 河南省农业科学院植物保护研究所, 农业部华北南部有害生物治理重点实验室, 河南省农作物病虫害防治重点实验室, 郑州 450002;

2. 浙江大学昆虫科学研究所, 水稻生物学国家重点实验室, 农业部作物病虫害分子生物学重点开放实验室, 杭州 310058)

摘要: 为褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 的绿色防控提供理论参考依据, 于 2011 年和 2012 年在调查了浙江富阳不同品种稻田褐飞虱和蜘蛛的发生密度后, 利用荧光定量 PCR 分子探针技术分析了 9 科 27 种 3 807 头蜘蛛对褐飞虱的捕食作用。研究结果表明, 在水稻 *Oryza sativa* L. 不同生育期, 稻田总的褐飞虱和蜘蛛密度等参数值均随调查时间呈规律性变化, 且在调查时间点间出现了显著性差异 ($P < 0.05$); 各科蜘蛛对褐飞虱的捕食阳性率均随水稻生育期的发展呈增加趋势, 整体上, 狼蛛科 Lycosidae、皿蛛科 Linyphiidae、球腹蛛科 Theridiidae、肖蛸科 Tetragnathidae、跳蛛科 Salticidae 和园蛛科 Araneidae 捕食率在 DAT21, DAT35 和 DAT77, DAT91 之间有显著性差异 ($P < 0.05$); 2012 年两品种稻田的褐飞虱和蜘蛛密度等参数值均显著高于 2011 年的值, 两年间汕优 63 (SY63) 稻田的褐飞虱和蜘蛛密度均显著高于 IR64 的密度; 2012 年各科蜘蛛对褐飞虱的捕食阳性率显著高于 2011 年的值 ($P < 0.05$), 且狼蛛科和球腹蛛科对褐飞虱的捕食阳性率在两品种间存在显著性差异 ($P < 0.05$); 稻田 4 种蜘蛛优势种拟环纹豹蛛 *Pardosa pseudoannulata* (Bösenberg & Strand)、八斑球腹蛛 *Theridion octomaculatum* (Boes. et Str.)、食虫瘤胸蛛 *Oedothorax insecticeps* (Boes. et str.) 和锥腹肖蛸 *Tetragnatha maxillosa* (Thoren) 的捕食阳性率均随褐飞虱种群密度的增加而增加, 该捕食功能反应曲线可用非线性模型 $P = aN/(1 + bN)$ 拟合; 除锥腹肖蛸外, 其它 3 种的捕食功能反应曲线均呈饱和状态; 拟环纹豹蛛捕食褐飞虱的 DNA 残留量显著高于八斑球腹蛛、锥腹肖蛸和食虫瘤胸蛛的残留量 ($P < 0.05$)。本研究结果充分说明稻田各蜘蛛类群对不同生育期、不同品种水稻的褐飞虱均具有较强的捕食作用, 是生物防治策略中的重要因素, 应加强田间蜘蛛的保护工作和增强自然天敌的控害功能。

关键词: 蜘蛛; 褐飞虱; 捕食作用; 荧光定量 PCR; 生物防治

中图分类号: Q968.1; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 02-0381-10

Study on predation of spiders on brown rice planthopper *Nilaparvata lugens* in rice ecosystem through molecular probe method

WANG Xue-Qin^{1,2}, WANG Guang-Hua^{1,2}, JIANG Yue-Li¹, WU Yu-Qing^{1*}, ZHU Zeng-Rong², CHENG Jia-An^{2*} (1. Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Southern Region of North China, Ministry of Agriculture, Henan Key Laboratory of Crop Pests Control, Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2. State Key Laboratory of Rice Biology, Key Laboratory of Crop Diseases and Insect Pests, Ministry of Agriculture, Institute of Insect Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

基金项目: 河南省博士后科研资助项目 (201903051); 科技部国家“973”基础重点研究发展规划项目 (2010CB126200)

作者简介: 王雪芹, 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为昆虫分子生态学, E-mail: totwxq@126.com

* 共同通讯作者 Author for correspondence: 程家安, 男, 教授, 从事植物保护研究工作, E-mail: jacheng@zju.edu.cn; 武予清, 男, 研究员, 从事植物保护研究工作, E-mail: yuqingwu36@hotmail.com

收稿日期 Received: 2021-10-27; 接受日期 Accepted: 2021-12-22

Abstract: *Nilaparvata lugens* (Stål) (brown rice planthopper , BPH) has been the most serious pest threatening rice production in China. Generalist predators are effective biological control agents in agroecosystems , but the comparative study of predations among main spider species under field conditions has not been fully explored owing to a lack of practical methodology. In order to understand the capability of the spiders to prey on the BPH and provide a theoretical reference for its control , in this study , the densities of BPH and spiders , among crop stages and fields planted with resistant and susceptible varieties were investigated in 2011 and 2012 , and 3 807 spiders of dominant species were collected to compare their predations on BPH using DNA-based gut content analysis. The results showed the positive rates for all spider taxa were closely related to prey densities , as well as population dynamics of BPH at different DAT (Days after transplanting) , and there were significant differences between the DAT21 , DAT35 and DAT77 , DAT91. The analysis of density of BPH and spiders between years and varieties showed that the two values were significantly higher in 2012 than 2011 , and these were significantly higher in Shan-You 63 (SY63) variety than in IR64 variety , respectively. The positive rates for all spider taxa were significantly higher in 2012 than 2011 , and there were significant differences for Lycosidae and Theridiidae between SY63 variety and IR64 variety , respectively. The relationships of positive rates to prey planthopper densities for *Pardosa pseudoannulata* , *Coleosoma octomaculata* , *Tetragnatha maxillosa* Thorell and *Ummeliata insecticeps* under field conditions could be described using saturated response curves. Quantitative comparisons of predations among the four spider species confirmed that *P. pseudoannulata* and *C. octomaculata* were more rapacious than *U. insecticeps* and *T. maxillosa* under field conditions. Generalist spiders could follow up BPH population timely , and assemblages of spiders coupled with variety resistance could effectively suppress BPH population. This study highlighted spider importance as the predators of BPH and illustrates the utility of our approach to quantify their trophic linkages between different spider species and BPH in rice ecosystem , and assemblages of spiders coupled with variety resistance could effectively suppress BPH population.

Key words: Spider; *Nilaparvata lugens*; predators; real-time PCR; biological control

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 属半翅目 Hemiptera 飞虱科 Delphacidae , 是亚洲稻区主要害虫 , 以吸取水稻植株茎秆汁液进行危害; 其危害轻则可使水稻黄叶或枯死 , 重则能使水稻植株大面积瘫痪倒伏 , 造成水稻严重减产甚至绝收 (程家安, 1996; 程遵年等, 2003) , 给我国农业生产带来严重经济损失也威胁到了国家粮食安全 (林拥军等, 2011) 。另外, 褐飞虱还能传播水稻齿叶矮缩病 (Rice ragged stunt disease) 和草状矮化病 (Rice grassy stunt disease) 等, 这些病害曾在福建省的发生面积达到了 $7 \times 10^4 \text{ hm}^2$ (娄永根和程家安, 2011) 。因此, 为有效控制褐飞虱的为害, 大量研究报道了该虫的成灾原因。这些研究指出, 飞虱类 (包括褐飞虱) 的猖獗暴发与稻田系统自然调控功能的破坏有很大关系, 而稻田天敌是有效抑制该类害虫发生的重要力量, 特别是捕食性天敌 (Kenmore *et al.* , 1984; Cook and Perfect , 1989; Cheng , 2009; Heong and Hardy , 2009;

Bottrell and Schoenly , 2012; Cheng , 2014) 。在这些捕食性天敌中, 我国稻区的种类多达 820 种以上, 以蛛形纲 Arachnida、鞘翅目 Coleoptera 和半翅目为主, 尤其蜘蛛类天敌是捕食稻飞虱的中坚力量 (吕进等, 2013; Yang *et al.* , 2018) 。

传统上天敌的捕食作用研究方法往往是建立在试验观察和统计分析为主的基础上的, 如田间直接人工观察法 (Carter *et al.* , 1984; Legaspi *et al.* , 1996; Heimpel *et al.* , 1997) 、功能反应法 (Holling , 1959; Harssell and Varley , 1969) 和昆虫生命表分析法 (Morris and Miller , 1954) 等, 这显然不利于天敌捕食作用的研究发展。为此, 一些基于生化和现代分子生物学原理的捕食作用分析方法和技术得到了长足发展和广泛应用, 如蛋白质电泳分析法 (Corey *et al.* , 1998; Traugott , 2001) 、单克隆抗体技术和 DNA 分子技术 (Sheppard and Harwood , 2005; Schmidt *et al.* , 2021) 等。其中, DNA 分子追踪食物链的荧光定

量 PCR (Quantitative Real-time PCR, qPCR) 检测方法, 因其更快速的检测过程、更高的检测灵敏度得以广泛应用 (Symondson, 2002; 王光华等, 2008; Gomez-Polo *et al.*, 2016)。qPCR 根据荧光染料类型分为嵌合染料法和荧光探针法。研究指出, qPCR 能用来分析植食性害虫与捕食天敌广泛的营养关系 (Lundgren *et al.*, 2009)。

尽管稻田系统中蜘蛛集团的物种较多, 数量较大, 对控制稻飞虱的发生起着重要的作用。但在研究捕食性天敌对稻飞虱的控制作用时多采用天敌数量、天敌和害虫的时间及空间生态位重叠、实验室控制条件下的单/多种天敌与单/多种害虫的捕食功能反应及作用来评价 (刘向东等, 2002; 李剑泉等, 2002)。探针法 qPCR 可分析稻田捕食性天敌 (如蜘蛛集团) 对白背飞虱 *Sogatella furcifera* (Horvath) 的捕食作用 (Wang *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2017), 然而, 这种分子方法如何用来分析稻田蜘蛛集团对褐飞虱的捕食作用, 尚需进一步的研究。因此, 本研究通过在浙江省富阳地区连续两年调查稻田褐飞虱和蜘蛛种群密度和动态并采集蜘蛛样本, 利用 qPCR 探针法检测稻田蜘蛛集团对褐飞虱的捕食作用, 分析水稻不同生育期、不同年份及品种稻田蜘蛛集团对褐飞虱捕食率及蜘蛛优势种对褐飞虱的功能反应和捕食量, 以期为更科学的评价稻田蜘蛛对褐飞虱的控害效能, 增强保护和充分发挥自然天敌在褐飞虱绿色防控中的作用提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况及水稻种植

试验区位于浙江省富阳市 (119°34'E, 30°18'N), 属于长江中下游亚热带湿润气候, 主要种植常规稻和杂交稻单季晚稻; 水稻一般 6 月中下旬移栽, 10 月中下旬收获; 褐飞虱等飞虱类害虫是该稻区的最主要害虫 (林拥军等, 2011)。

试验田设置在富阳市中国水稻所试验田中, 种植的水稻品种为抗褐飞虱常规稻 IR64 和感褐飞虱杂交稻 SY63 (寒川一成等, 2003)。每个品种小区为完全随机区组种植, 重复 4 次。每个小区面积为 $20\text{ m}^2 \times 22\text{ m}^2$ 。在整个试验期内, 试验田进行相同的常规农事操作和管理, 且未使用任何农药。

1.2 稻田节肢动物调查和蜘蛛集团捕食作用分析

1.2.1 节肢动物发生量调查

于 2011 年和 2012 年在水稻的整个生育期对节肢动物群落共取样 7 次。第 1 次取样在水稻移栽后 1 周进行, 随后每 2 周取样一次。取样时, 先用大小 $25\text{ cm} \times 25\text{ cm} \times 90\text{ cm}$ 的塑料罩罩住 1 丛水稻, 再用真空吸虫器把里面的节肢动物吸取干净 (Arida and Heong, 1992), 每个品种小区重复了 3 丛。样本带回实验室后, 在双筒体视镜下进行鉴定。统计分析水稻不同生育期和不同年份及品种褐飞虱密度、蜘蛛密度、蜘蛛与褐飞虱密度比等参数。

1.2.2 蜘蛛样品采集和捕食作用分析

为测定分析蜘蛛集团对褐飞虱的捕食作用, 于 2011 年、2012 年在稻田采集并鉴定各类蜘蛛。采用盆拍法单头采集蜘蛛, 放入 Eppendorf 管后立即装入冰盒, 保存于 -80°C 超低温冰箱供用。采样时间从水稻移栽后 3 周开始, 随后每 2 周采样一次, 共采样 6 次。在对蜘蛛体内褐飞虱残留检测时, 先用试剂盒单头提取蜘蛛基因组 DNA, 然后利用褐飞虱特异性探针进行 qPCR 检测, 最后分析蜘蛛集团对褐飞虱的捕食作用。

蜘蛛集团对褐飞虱的捕食作用分析内容主要包括 3 个方面。(1) 比较分析水稻不同生育期蜘蛛集团 (科级) 对褐飞虱的捕食阳性率; (2) 比较分析不同年份及品种间稻田蜘蛛集团 (科级) 对褐飞虱的捕食作用; (3) 整体比较分析两年 2 品种稻田 4 种蜘蛛优势种对褐飞虱阳性率与褐飞虱种群密度之间的关系, 采用非线性模型 $P = aN / (1 + bN)$ 拟合褐飞虱阳性率与褐飞虱种群密度之间的功能反应曲线, 其中 P 是蜘蛛对褐飞虱的阳性率, N 是褐飞虱的种群密度; 同时比较了此 4 种蜘蛛对褐飞虱的捕食量及在低阳性率 ($< 50\%$) 和高阳性率 ($\geq 50\%$) 两个阶段的褐飞虱 DNA 残留量。

1.3 蜘蛛对褐飞虱捕食作用的分子检测方法

1.3.1 褐飞虱特异性引物和探针的合成

利用褐飞虱核糖体 DNA 内转录间隔区 (ITS) 基因设计合成 qPCR 引物及特异性探针。qPCR 引物和 ALLGlo 探针由上海超世生物技术公司合成, qPCR 引物为 BPH-F: TTGATTTTCGAGGTTTCGTCTGT ATG 和 BPH-R: ACATGCACAAATCACCACAGAGT, 探针为 MAR-TGCAGCATTCAATCTGACTGGA-MAR。

1.3.2 蜘蛛体内褐飞虱残留检测体系的构建及测定

qPCR 检测反应体系为体积 20 μ L 反应体系。该体系各组成为: 1 μ L 蜘蛛基因组 DNA、2 μ L 10 \times PCR buffer (100 mM Tris-HCl, pH7.4; 500 mM KCl)、3.5 mM MgCl₂、400 μ M dNTP、2U r-Taq、80 nM BPH-F、80 nM BPH-R、200 nM BPH ALLGlo 探针。优化后的该体系使用 Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA) qPCR 检测系统进行检测。该体系的 PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 变性 3 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 40 s; 循环 40 次; 每次延伸时采集荧光 (Wang *et al.*, 2017)。

利用该体系对提取的稻田蜘蛛样品总 DNA 进行检测, 以 ddH₂O 和饥饿 1 周的蜘蛛基因组 DNA 作为 2 种模板的阴性对照, 同时以褐飞虱基因组 DNA 为阳性对照。在样品检测时每个样品设置 2 个重复, 如果出现 2 个重复的扩增曲线和 Ct 值之差大于或等于 1, 则重新检测。捕食作用分析内容同上述 1.2.2。

1.4 数据处理

根据试验的设计方法和统计分析原理, 数据如符合正态分布且方差齐性则利用 SPSS 中的单因素方差分析进行多重比较 (LSD 法); 否则利用非参数 Mann-Whitney U 和 Kruskal-Wallis 单因素 ANOVA 检验法进行统计分析; 其中蜘蛛捕食率在年份间和品种间的分析采用 SPSS 的卡方适合性检验分析; 采用 F 检验蜘蛛阳性率和褐飞虱种群密度间的功能反应曲线拟合程度, 使用 SigmaPlot 软件作图 (Wang *et al.*, 2017)。

2 结果与分析

2.1 不同水稻生育期蜘蛛集团和褐飞虱的发生量及捕食作用

2.1.1 蜘蛛集团和褐飞虱的发生量

两年两水稻品种稻田共采集到蜘蛛 3 807 头, 分属 9 科 27 种。园蛛科 Araneidae 和肖蛸科 Tetragnathidae 种类数最多, 均为 6 个种, 分别为卵形园蛛 *Araneus inustus*、黄斑园蛛 *A. ejusmodi*、霍氏新园蛛 *Neoscona doenitzi*、嗜水新园蛛 *N. nautica*、四点高亮腹蛛 *Hypsosinga pygmaea*、四突艾蛛 *Cyclosa sedeculata* 和栉齿锯螯蛛 *Dyschiriognatha dentata*、四斑锯螯蛛 *D.*

quadrimaculata、锥腹肖蛸 *Tetragnatha maxillosa*、华丽肖蛸 *T. nitens*、前齿肖蛸 *T. praedonia*、圆尾肖蛸 *T. vermiformis*; 跳蛛科 Salticidae 为 4 个种, 即贺氏菱头蛛 *Bianor hotingchiechi*、长腹蝇狮 *Marpissa elongata*、纵条蝇狮 *M. magister* 和黑色蝇虎 *Plexippus paykulli*; 狼蛛科 Lycosidae 和皿蛛科 Linyphiidae 各为 3 个种, 分别是沟渠豹蛛 *Pardosa laura*、拟环纹豹蛛 *P. pseudoannulata*、拟水狼蛛 *Pirata subpiraticus*、草间小黑蛛 *Erigonidium graminicolum*、驼背额角蛛 *Gnathonarium gibberum* 和食虫瘤胸蛛 *Ummeliata insecticeps*; 蟹蛛科 Thomisidae 为鞍形花蟹蛛 *Xysticus ephippiatus* 和三突花蛛 *Misumenops tricuspidatus* 2 个种; 球腹蛛科 Theridiidae、管巢蛛科 Clubionidae 和盗蛛科 Pisauridae 均为 1 个种, 分别为八斑球腹蛛 *Coleosoma octomaculatum*、日本管巢蛛 *Clubiona japonicola* 和白附狡蛛 *Dolomedes pallitarsis*。其中, 锥腹肖蛸、拟环纹豹蛛、食虫瘤胸蛛、八斑球腹蛛为稻田蜘蛛优势种。

褐飞虱密度随调查时间呈规律性增加, 且在调查的最后时间点 DAT (Days after transplanting, DAT) 91 达最大值 76.29 \pm 6.21 头/丛, 显著高于 DAT7、DAT21、DAT35 和 DAT49 的值 ($P < 0.05$); 蜘蛛密度及蜘蛛与褐飞虱的密度比值随调查时间呈先增加后下降的规律性变化, 其中, 蜘蛛密度在水稻移栽后 DAT63 达到最大值 6.89 \pm 0.54 头/丛, 该密度显著高于水稻其它生育期的蜘蛛密度 ($P < 0.05$); 蜘蛛与褐飞虱的密度比值在水稻移栽后 DAT35 达到最大值 39.74 \pm 5.80, 显著高于 DAT7、DAT63、DAT77 和 DAT91 的值 ($P < 0.05$) (图 1)。

2.1.2 蜘蛛集团对褐飞虱的捕食阳性率

稻田采集和分析的蜘蛛样品除其它科 (包括蟹蛛科、管巢蛛科和盗蛛科) 外, 剩余各科蜘蛛对褐飞虱的捕食阳性率在 DAT21 和 DAT91 之间都存在显著性差异 ($P < 0.05$) (图 2); 整体上, 狼蛛科、皿蛛科、球腹蛛科、肖蛸科、跳蛛科和园蛛科捕食率在 DAT21、DAT35 和 DAT77、DAT91 之间有显著性差异 ($P < 0.05$); 另外, 各科蜘蛛对褐飞虱的捕食阳性率均随水稻生育期的发展而逐渐增加, 特别在水稻移栽后的 DAT77 和 DAT91, 狼蛛科、球腹蛛科、肖蛸科和跳蛛科蜘蛛对褐飞虱的阳性率均达到了最大值 (图 2)。

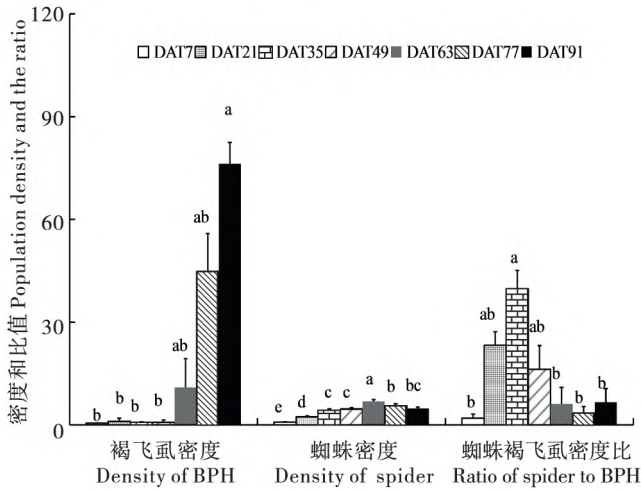


图1 水稻不同生育期稻田每丛水稻蜘蛛和褐飞虱密度及密度比值的比较

Fig. 1 Comparison of density of BPH , spider , the ratio of spiders to BPH among crop stages

注: 图上小写字母分别代表不同处理间的差异显著性 ($P < 0.05$)。下同。Note: Different lowercase letters in the columns indicated significant differences. Asterisk meant significant difference between years and fields planted with resistant and susceptible varieties ($P < 0.05$). The same below.

2.2 不同年份及品种稻田蜘蛛集团褐飞虱的发生量及捕食作用

2.2.1 蜘蛛集团和褐飞虱田间发生量

2012 年褐飞虱密度、蜘蛛密度均显著高于 2011 年 ($P < 0.05$) (图 3); 另外, 2011 年褐飞虱密度很低 (0.46 ± 0.23), 使得 2011 年蜘蛛密度与褐飞虱密度的比值 (46.39 ± 20.76) 显著高于 2012 年的比值 (2.65 ± 1.36) ($P < 0.05$) (图 3)。

两年间感性品种 SY63 稻田的褐飞虱密度、蜘蛛密度均显著高于抗性品种 IR64 的两者密度 ($P < 0.05$), 抗性品系稻田蜘蛛与褐飞虱密度比值 (28.46 ± 14.29) 显著高于感性品种比值 (2.81 ± 1.70) ($P < 0.05$) (图 3)。

2.2.2 蜘蛛集团对褐飞虱的田间捕食阳性率

各科蜘蛛对褐飞虱捕食阳性率年份间均有显著性差异 ($P < 0.05$), 且 2012 年褐飞虱捕食阳性率显著高于 2011 年; 感性品种与抗性品种的褐飞虱捕食阳性率只有狼蛛科和球腹蛛科之间存在显著性差异, 狼蛛科在感性品种稻田的捕食阳性率显著高于抗性品种, 而球腹蛛科在感性品种稻田的捕食阳性率显著低于抗性品种 ($P < 0.05$) (表 1)。

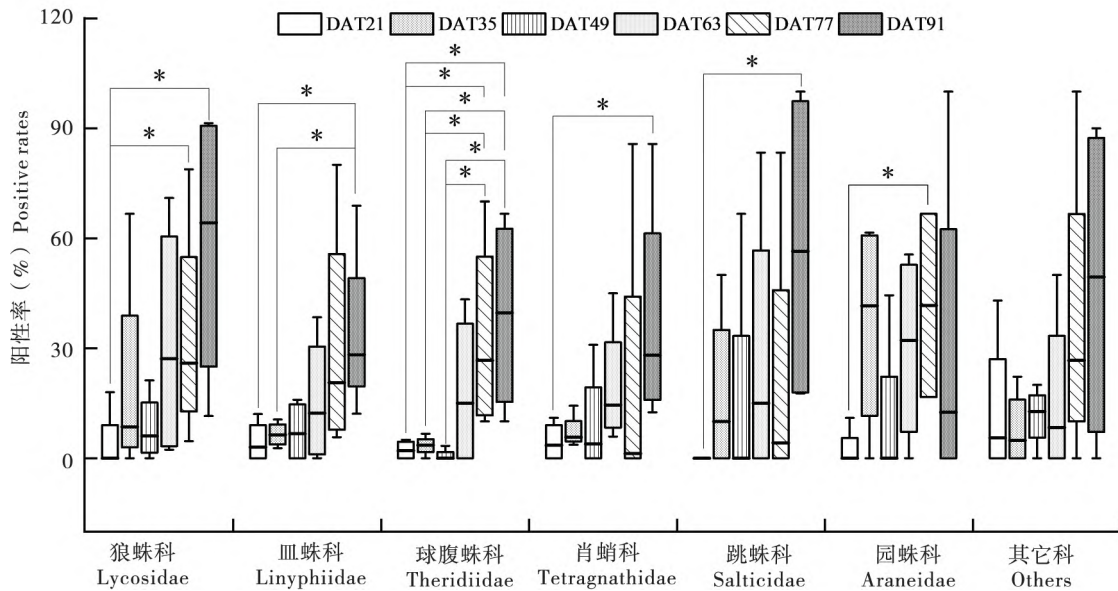


图2 水稻不同时期同类蜘蛛捕食褐飞虱阳性率的动态比较

Fig. 2 Comparison of the positive rates to BPH for each taxon of spiders among crop stages

注: 图上* 代表水稻移栽后不同天数的差异显著性 ($P < 0.05$), 箱体中间线为阳性率的中位数, 箱体的上下线分别是上四分位数和下四分位数。下同。Note: Asterisk meant significant difference among different DAT ($P < 0.05$). The same below.

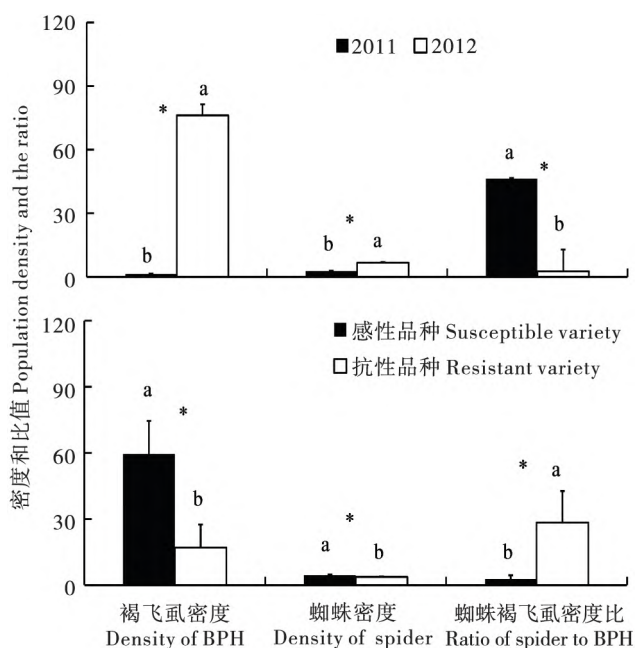


图3 褐飞虱和蜘蛛密度及密度比值在不同年份、不同抗性水稻品种间的比较

Fig. 3 Comparison of the population density and the ratio between years and varieties

2.3 稻田4种蜘蛛优势种对褐飞虱的功能反应及捕食量

2.3.1 稻田4种蜘蛛优势种对褐飞虱的功能反应

4种蜘蛛优势种捕食阳性率均随着褐飞虱种群密度的增加而增加;除锥腹肖蛸外,其他蜘蛛捕食阳性率与褐飞虱密度间均呈饱和反应曲线关系(图4)。在褐飞虱密度为10~20头/丛时,拟环纹豹蛛、八斑球腹蛛和食虫瘤胸蛛的捕食阳性率基本呈线性增长,但当褐飞虱密度达到50~100头/丛时,除锥腹肖蛸外,它们的这种捕食阳性率就会呈现相对饱和状态,而锥腹肖蛸的捕食阳性率呈线性增长趋势(图4);拟环纹豹蛛和八斑球腹蛛的 a 值分别是 9.59 ± 5.59 和 3.02 ± 1.21 ,显著大于锥腹肖蛸的 0.53 ± 0.24 和食虫瘤胸蛛的 1.38 ± 0.48 ($P < 0.05$)。拟环纹豹蛛的 b 值是 0.12 ± 0.08 ,其均大于八斑球腹蛛(0.04 ± 0.02)、食虫瘤胸蛛(0.04 ± 0.02)和锥腹肖蛸(0.01 ± 0.00)的值。

2.3.2 稻田4种蜘蛛优势种对褐飞虱的捕食量

蜘蛛消化道内褐飞虱DNA残留量(Ct值)qPCR检测结果表明,4种蜘蛛的Ct值存在显著性

表1 两年两品种稻田蜘蛛集团发生量及其对褐飞虱的捕食阳性率比较

Table 1 Comparison of the positive rates to BPH among the 7 major spider taxa collected from 4 fields in two years

科名 Family	2011				2012				差异显著性 Significant differences	
	SY63		IR64		SY63		IR64		年份 Years	品种 Varieties
	数量 Number	百分比 (%)	数量 Number	百分比 (%)	数量 Number	百分比 (%)	数量 Number	百分比 (%)		
狼蛛科 Lycosidae	253	17.4	231	5.2	171	66.3	127	26.8	a	a
球腹蛛科 Theridiidae	171	6.4	157	5.1	175	29.7	173	43.9	a	a
皿蛛科 Linyphiidae	233	7.3	173	5.2	251	36.6	235	30.9	a	-
肖蛸科 Tetragnathidae	222	9.7	191	3.5	208	35.6	223	41.3	a	-
跳蛛科 Salticidae	58	4.4	66	10.7	56	70.8	59	62.7	a	-
园蛛科 Araneidae	36	9.5	68	17.9	53	32.4	46	45.7	a	-
其它 Others	23	16.7	44	29.6	45	51.1	59	37.3	a	-

差异 ($P < 0.05$),食虫瘤胸蛛的Ct值(28.94 ± 0.32)显著高于八斑球腹蛛(26.93 ± 0.33)和拟环纹豹蛛(25.89 ± 0.51)的Ct值($P < 0.05$);锥腹肖蛸和八斑球腹蛛的Ct值(28.11 ± 0.44)均显著高于拟环纹豹蛛的Ct值($P < 0.05$)(图5)。同时,比较了这4种蜘蛛整体在低阳性率

($< 50\%$)和高阳性率($\geq 50\%$)两个阶段的褐飞虱DNA残留量,结果显示低和高阳性率两个阶段的Ct值分别是 28.97 ± 0.39 和 26.95 ± 0.23 ,存在显著性差异($P < 0.05$),这表明在高阳性率阶段这4种蜘蛛体内有更多的褐飞虱猎物DNA残留。

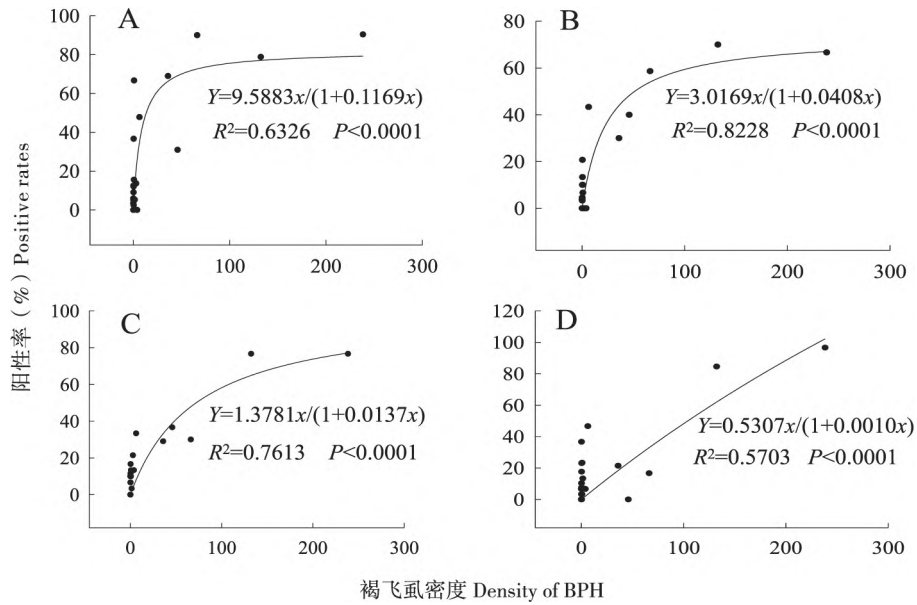


图 4 田间 4 种蜘蛛对褐飞虱阳性率随褐飞虱种群密度增加的非线性饱和和反应模型

Fig. 4 Non-linear relationships between prey (BPH) densities and positive rates for 4 spider species in field condition

注：A，拟环纹豹蛛；B，八斑球腹蛛；C，食虫瘤胸蛛；D，锥腹肖蛸。Note: A, *Pardosa pseudoannulata*; B, *Coleosoma octomaculata*; C, *Ummeliata insecticeps*; D, *Tetragnatha maxillosa*.

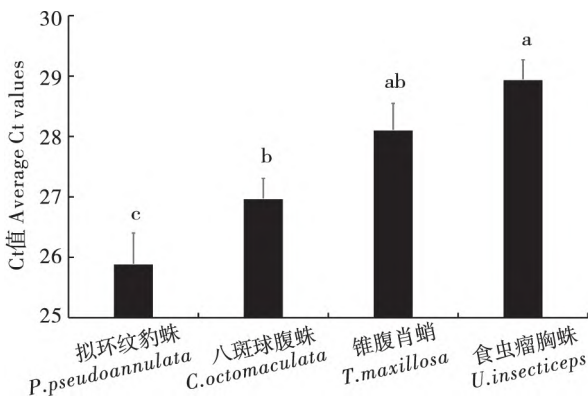


图 5 4 种主要蜘蛛消化道内褐飞虱残留量 (Ct 值) 的比较

Fig. 5 Comparison of the quantitative evaluations for predation on BPH among 4 spider species

3 结论与讨论

本文以亚热带浙江省富阳市稻田生态系统为研究对象，调查了两年不同品种稻田褐飞虱和蜘蛛的发生密度后，利用荧光定量 PCR 分子探针技术分析了蜘蛛对褐飞虱的捕食作用。结果表明，稻田生态系统包含 9 科 27 种蜘蛛，在水稻不同生育期，蜘蛛密度与褐飞虱发生量间具有跟随效应；两年不同品种稻田蜘蛛和褐飞虱密度及密度比值

在年份间和品种间存在显著性差异；同时，捕食作用的分子检测结果指出，蜘蛛对褐飞虱的捕食率在年份间存在显著性差异，狼蛛科和球腹蛛科蜘蛛捕食率在品种间也存在显著性差异。稻田 4 种蜘蛛优势种对褐飞虱的捕食阳性率与褐飞虱的种群密度均呈饱和反应曲线或线性反应模型，拟环纹豹蛛捕食褐飞虱的 DNA 残留量显著高于八斑球腹蛛、锥腹肖蛸和食虫瘤胸蛛。

3.1 水稻不同生育期蜘蛛集团和褐飞虱的发生量及捕食作用

稻田生态系统是水陆复合的具有丰富生物多样性和复杂稳定生态系统服务功能的开放的农业生态系统，包含了数千种的节肢动物种类，这些种类根据功能可以分为植食者、腐食者、寄生者和捕食者等 (程家安, 1996; Settle *et al.*, 1996)。蜘蛛是稻田捕食者种类和数量组成中最重要的部分，连续两年的调查和采集，仅仅在浙江省富阳市中国水稻所试验田就采集到 9 科 27 种蜘蛛；相关研究也指出，在全国稻田所采集到的蜘蛛标本中，已鉴定 373 种，隶属 23 科 109 属，其中东南稻区 (包括浙江) 因气候适宜、地形和景观复杂多样化，蜘蛛种类以 228 种居全国之首 (吕仲贤, 2012)。

稻田蜘蛛除其它科外，剩余各科蜘蛛对褐飞虱的捕食阳性率在 DAT21 和 DAT91 之间都存在显

著性差异 ($P < 0.05$) (图 2); 整体上, 狼蛛科、皿蛛科、球腹蛛科、肖蛸科、跳蛛科和园蛛科捕食率主要在 DAT21、DAT35 和 DAT77, DAT91 之间有显著性差异 ($P < 0.05$); 另外, 各科蜘蛛对褐飞虱的捕食阳性率均随水稻生育期的发展而逐渐增加, 特别在 DAT77 和 DAT91, 狼蛛科、球腹蛛科、肖蛸科和跳蛛科蜘蛛对褐飞虱的阳性率均达到了最大值 (图 2)。该结果表明, 首先, 蜘蛛对特定猎物褐飞虱的捕食阳性率与其密度密切相关, 稻田主要害虫褐飞虱在田间群落中占有较大优势, 因此即便是广食性捕食者蜘蛛对目标猎物仍然存在着紧密跟随现象; 其次, 水稻分蘖期、拔节期是褐飞虱迁入和定殖期, 也是自然天敌调控稻飞虱的关键时期, 对稻飞虱的种群发展起着至关重要的作用 (Sigsgaard, 2007; Qian *et al.*, 2021)。

3.2 不同年份及品种稻田蜘蛛集团和褐飞虱的发生量及捕食作用

2012 年褐飞虱、蜘蛛密度均显著高于 2011 年 ($P < 0.05$) (图 3), 说明该年是褐飞虱暴发的年份, 虫量远远高于 2011 年; 根据天敌的跟随效应, 2012 年田间天敌蜘蛛密度也显著高于 2011 年 ($P < 0.05$)。两年间感性品种 SY63 稻田的褐飞虱密度、蜘蛛密度均显著高于抗性品种 IR64 的两者密度 ($P < 0.05$) (图 3), 该结果表明, 对于感性品种稻田, 褐飞虱具有更高的繁殖力和更大的数量, 稻田蜘蛛对褐飞虱也有一定的跟随性。相关的研究表明, 在 20 世纪 80 年代末, 我国的褐飞虱从生物型 1 变为生物型 2, 而在此之前, 褐飞虱以生物型 1 为主, 不为害带有抗虫基因 *Bph1* 的杂交水稻 SY63, 后来汕优系列对褐飞虱的抗性逐步丧失, 1997 年 SY63 开始丧失对褐飞虱的抗性, 造成了褐飞虱在长江中下游稻区的暴发 (寒川一成等, 2003)。同时调查发现, 由于 2011 年褐飞虱密度很低, 使得 2011 年蜘蛛密度与褐飞虱密度的比值 (46.39 ± 20.76) 显著高于 2012 年的比值 ($P < 0.05$), 而且抗性品系稻田蜘蛛与褐飞虱密度比值显著高于感性品种比值 ($P < 0.05$) (图 3), 这说明抗性品种和自然天敌对于繁殖快、周期短、易暴发的褐飞虱等稻飞虱来说依然是最重要的防控策略 (寒川一成等, 2003), 而这也是热带稻区比亚热带稻区稻飞虱暴发少、为害轻的最主要原因 (Hu *et al.*, 2014)。

两年间所测的各科蜘蛛褐飞虱捕食阳性率均

为 2012 年的捕食率显著高于 2011 年的捕食率 ($P < 0.05$), 感性品种与抗性品种的褐飞虱阳性率只有狼蛛科和球腹蛛科之间存在显著性差异 ($P < 0.05$) (表 1); 该结果表明, 在褐飞虱暴发的 2012 年, 尽管各科蜘蛛褐飞虱捕食率都显著高于非暴发的 2011 年, 有比较高的捕食率, 但仍不足以控制褐飞虱种群的发展, 这与褐飞虱迁入动态、增长倍数高等环境因素有关 (程家安等, 2008)。

3.3 稻田 4 种蜘蛛优势种对褐飞虱的功能反应及捕食量

本研究中 4 种蜘蛛优势种对褐飞虱的捕食阳性率与褐飞虱的种群密度均呈饱和反应曲线或线性反应模型, 说明这 4 种优势蜘蛛虽为广食性天敌, 但均能随着褐飞虱种群密度的增长而主要捕食褐飞虱。其中拟环纹豹蛛具有最高的捕食功能, 在褐飞虱种群发展的早期阶段, 该蛛能更快地转向捕食褐飞虱, 并能在较低褐飞虱种群密度下达到较高的捕食阳性率, 其次为八斑球腹蛛; 这与 Wang 等 (2017) 用同样方法对稻田这 4 种蜘蛛优势种对白背飞虱捕食功能的研究结果相似。相关研究也指出, 稻田狼蛛和肖蛸对盲蝽科害虫 *Stenotus rubrovittatus* 捕食率同样随猎物密度增加而增加 (Kobayashi *et al.*, 2011), 研究者是在该虫种群密度高峰期在稻田选择 20 个采样点, 调查 *S. rubrovittatus* 密度与检测狼蛛和肖蛸对其捕食阳性率; 相比较而言, 本文通过水稻全生育期的 6 次褐飞虱密度调查和天敌蜘蛛系统采样, 能更准确的反映褐飞虱的迁入、定殖、繁殖和增长等田间种群动态和 4 种蜘蛛优势种捕食率对其种群密度变化的响应。

通过研究 4 种蜘蛛优势种消化道内褐飞虱 DNA 残留量 (Ct 值) 发现, 食虫瘤胸蛛的 Ct 值显著高于八斑球腹蛛和拟环纹豹蛛; 锥腹肖蛸和八斑球腹蛛的 Ct 值均显著高于拟环纹豹蛛的 Ct 值 (图 5)。这表明拟环纹豹蛛消化道猎物 DNA 残留量显著高于八斑球腹蛛、锥腹肖蛸和食虫瘤胸蛛消化道的残留量, 而八斑球腹蛛则显著高于食虫瘤胸蛛 (图 5)。就整个水稻生育期来讲, 拟环纹豹蛛消化道内有最高的褐飞虱残留量, 这与拟环纹豹蛛属于游猎型蜘蛛、食性贪婪、食量较大有关, 而相关的研究指出, 拟环纹豹蛛在水稻生态系统对稻飞虱起着最重要的控害作用 (Wang *et al.*, 2017)。在茶园生态系统, Yang 等 (2011) 利用探针法发现茶园游猎型蜘蛛优势种白斑猎蛛

Evarcha albaria 对主要害虫假眼小绿叶蝉 *Empoasca vitis* 的捕食阳性率和残留量显著高于鞍形花蟹蛛 *Xysticus ephippiatus*、漂亮美蒂蛛 *Meotipa pulcherrima* 和八斑球腹蛛, 在假眼小绿叶蝉种群调控中起着关键作用 (Yang *et al.*, 2011)。本研究中比较这 4 种蜘蛛整体在低阳性率阶段 (<50%) 和高阳性率阶段 (≥50%) 两个阶段的褐飞虱 DNA 残留量, 结果表明这两个阶段之间残留量存在显著性差异, 说明高阳性率阶段有更多的褐飞虱猎物 DNA 残留, 即随着褐飞虱种群密度的增长, 这 4 种蜘蛛个体对褐飞虱不仅有更高的捕食率, 同时有更大的捕食量。同样在稻田生态系统, Hsu 等通过同位素 (^{13}C 和 ^{15}N) 分析发现, 随着稻田植食者丰度的增加, 捕食性天敌对植食者的相对捕食量从水稻分蘖期的 34% ~ 35% 增长到成熟期的 90% ~ 93% (Hsu *et al.*, 2021)。

综上所述, 本文深入研究了种类丰富、数量众多的蜘蛛在不同年份和不同品种稻田对褐飞虱的自然调控作用。结果表明, 稻田蜘蛛集团对褐飞虱具有较强的控害功能, 而助增、前置和增强各类蜘蛛集团对褐飞虱的生态控害功能可通过种植抗性品种、稻田生态工程、减施和晚施杀虫剂等措施的有机结合来实现 (祝增荣等, 2012; Zhu *et al.*, 2018; Qian *et al.*, 2021)。

参考文献 (References)

- Arida GS, Heong KL. Blower-Vac: A new suction apparatus for sampling rice arthropods [J]. *International Rice Research Notes*, 1992, 17: 30-31.
- Bottrell DG, Schoenly KG. Resurrecting the ghost of green revolutions past: The brown planthopper as a recurring threat to high-yielding rice production in tropical Asia [J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2012, 15 (1): 122-140.
- Carter MC, Sutherland D, Dixon AFG. Plant structure and the searching efficiency of coccinellid larva [J]. *Oecologia*, 1984, 63: 394-397.
- Cheng JA, Zhu JL, Zhu ZR, *et al.* Rice planthopper outbreak and environment regulation [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2008, 30 (2): 176-182. [程家安, 朱金良, 祝增荣, 等. 稻田飞虱灾变与环境调控 [J]. *环境昆虫学报*, 2008, 30 (2): 176-182]
- Cheng JA. Pest of Rice [M]. Beijing: China Agricultural Science Press, 1996: 80-102. [程家安. 水稻害虫 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 80-102]
- Cheng JA. Rice planthopper in the past half century in China. In: Heong KL, Cheng JA, Escalada MM, eds. Rice Planthopper: Ecology, Management, Socio Economics and Policy [C]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2014: 1-32.
- Cheng JA. Rice planthopper problems and relevant causes in China. In: Heong KL, Hardy B, eds. Planthoppers: New Threats to the Sustainability of Intensive Rice Production Systems in Asia [C]. Los Baños: International Rice Research Institute Press, 2009: 157-178.
- Cheng XN, Wu JC, Ma F. Brown Planthopper: Occurrence and Control [M]. Beijing: China Agricultural Science Press, 2003: 1-25. [程遐年, 吴进才, 马飞. 褐飞虱: 研究与防治 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 1-25]
- Cook AG, Perfect TJ. The population characteristics of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, in the Philippines [J]. *Meeting of Japan Ergonomics Society*, 1989, 43 (1): 1-9.
- Corey D, Kambhampati S, Wilde G. Electrophoretic analysis of *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthoeridae) feeding habits in field corn [J]. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 1998, 71 (1): 11-17.
- Gomez-Polo P, Alomar O, Castañé C, *et al.* Understanding trophic interactions of *Orius* spp. (Hemiptera: Anthoeridae) in lettuce crops by molecular methods [J]. *Pest Management Science*, 2016, 72 (2): 272-279.
- Harsell MP, Varley GC. New inductive population model for insect parasites and its bearing on biological control [J]. *Nature*, 1969, 223: 1133-1136.
- Heimpel GE, Rosenheim JA, Mangel M. Predation on adult *Aphytis* parasitoids in the field [J]. *Oecologia*, 1997, 110 (3): 346-352.
- Heong KL, Hardy B. Planthoppers: New Threats to the Sustainability of Intensive Rice Production Systems in Asia [M]. Los Baños (Philippines): International Rice Research Institute, 2009: 221-231.
- Holling CC. The component of predation as revealed by a study of small mammal predation of European pine sawfly [J]. *The Canadian Entomologist*, 1959, 91 (5): 293-320.
- Hsu GC, Ou JA, Ho CK. Pest consumption by generalist arthropod predators increases with crop stage in both organic and conventional farms [J]. *Ecosphere*, 2021, 12 (7): e03625.
- Hu Y, Cheng JA, Zhu ZR, *et al.* A comparative study on population development patterns of *Sogatella furcifera* between tropical and subtropical areas [J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2014, 17 (2): 845-851.
- Kenmore PE, Cariño FO, Perez CA, *et al.* Population regulation of the rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) with in rice fields in the Philippines [J]. *Journal of Plant Protection in the Tropics*, 1984, 1: 19-37.
- Kobayashi T, Takadab M, Takagic S, *et al.* Spider predation on a mirid pest in Japanese rice fields [J]. *Basic and Applied Ecology*, 2011, 12 (6): 532-539.
- Legaspi JC, Legaspi BC, Meagher RL, *et al.* Evaluation of *Serangium parcesetosum* (Coleoptera: Coccinellidae) as a biological control agent of the silver leaf whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) [J]. *Environmental Entomology*, 1996, 25 (6): 1421-1427.
- Li JQ, Zhao ZM, Wu SY, *et al.* Control function of predators in

- coexistent system of three spiders and two rice insect pests [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35 (2): 146–151. [李剑泉, 赵志模, 吴仕源, 等. 多物种共存系统中蜘蛛对稻虫的控制作用 [J]. 中国农业科学, 2002, 35 (2): 146–151]
- Lin YJ, Hua HX, He YQ, *et al.* Progress in research on the integrated management of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) in China [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2011, 48 (5): 1194–1201. [林拥军, 华红霞, 何予卿, 等. 水稻褐飞虱综合治理研究与示范——农业公益性行业专项“水稻褐飞虱综合防控技术研究”进展 [J]. 应用昆虫学报, 2011, 48 (5): 1194–1201]
- Liu XD, Zhang XX. Functional response of mixed rice field spiders to *Nilaparvata lugens* [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2002, 18 (1): 38–40. [刘向东, 张孝羲. 稻田蜘蛛的混合种群对褐飞虱的捕食功能作用 [J]. 中国生物防治, 2002, 18 (1): 38–40]
- Lou YG, Cheng JA. Basic research on the outbreak mechanism and sustainable management of rice planthoppers [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2011, 48 (2): 231–238. [娄永根, 程家安. 稻飞虱灾变机理及可持续治理的基础研究 [J]. 应用昆虫学报, 2011, 48 (2): 231–238]
- Lundgren J, Ellsbury M, Prischmann D. Analysis of the predator community of a subterranean herbivorous insect based on polymerase chain reaction [J]. *Ecological Applications*, 2009, 19 (8): 2157–2166.
- Lv J, Zhu ZR, Lou YG, *et al.* Review of research into outbreaks and management of rice planthoppers [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2013, 50 (3): 565–574. [吕进, 祝增荣, 娄永根, 等. 稻飞虱灾变和治理研究透析 [J]. 应用昆虫学报, 2013, 50 (3): 565–574]
- Lv ZX. Ecological engineering a strategy for pest management in rice ecosystem. In: The Entomological Society of Anhui, Anhui Society for Plant Pathology. Proceedings of 2012 Academic Annual Meeting of The Entomological Society of Anhui and Anhui Society for Plant Pathology [C]. Anhui: The Entomological Society of Anhui, Anhui Society for Plant Pathology, 2012: 1–4. [吕仲贤. 应用生态工程控制水稻害虫技术. 见: 安徽省昆虫学会、安徽省植物病理学会 2012 年学术年会论文集 [C]. 安徽: 安徽省昆虫学会、安徽省植物病理学会, 2012: 1–4]
- Morris RF, Miller CA. The development of life tables for the spruce budworm [J]. *Revue Canadienne De Zoologie*, 1954, 32 (4): 283–301.
- Qian P, Bai YL, Zhou WW, *et al.* Diversified bund vegetation coupled with flowering plants enhances predator population and early-season pest control [J]. *Environmental Entomology*, 2021, 50 (4): 842–851.
- Schmidt JM, Acebes-Doria A, Blaauw B, *et al.* Identifying molecular-based trophic interactions as a resource for advanced integrated pest management [J]. *Insects*, 2021, 12 (4): 358.
- Settle WH, Ariawan H, Astuti ET, *et al.* Managing tropical rice pests through conservation of generalist natural enemies and alternative prey [J]. *Ecology*, 1996, 77 (7): 1975–1988.
- Sheppard SK, Harwood JD. Advances in molecular ecology: Tracking links through predator-prey food-webs [J]. *Functional Ecology*, 2005, 19 (5): 751–762.
- Sigsgaard L. Early season natural control of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*: The contribution and interaction of two spider species and a predatory bug [J]. *Bulletin of Entomological Research*, 2007, 97 (5): 533–544.
- Sogawa K, Liu GJ, Shen JH. A review on the hyper-susceptibility of chinese hybrid rice to insect pests [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2003, 17: 23–30. [寒川一成, 刘光杰, 沈君辉. 中国杂交稻的“超感虫性”研究概况 [J]. 中国水稻科学, 2003, 17 (增刊): 23–30]
- Symondson WOC. Molecular identification of prey in predator diets [J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11 (4): 627–641.
- Traugott M. Ecology and Prey Spectrum of *Cantharis*-Species (Coleoptera: Cantharidae) in Arable Land [D]. Innsbruck: University of Innsbruck, 2001.
- Wang GH, Wang XQ, Qiao F, *et al.* Development and preliminary application of a triplex real-time polymerase chain reaction assay for evaluating predation on three planthoppers in a rice ecosystem [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2013, 13 (5): 811–819.
- Wang GH, Zhao WC, Cheng JA. Real-time fluorescent quantitative PCR technique and its applications in entomological studies [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 51 (12): 1293–1303. [王光华, 赵伟春, 程家安. 实时荧光定量 PCR 技术及其在昆虫学研究中的应用 [J]. 昆虫学报, 2008, 51 (12): 1293–1303]
- Wang XQ, Wang GH, Zhu ZR, *et al.* Spider (Araneae) predations on white-backed planthopper *Sogatella furcifera* in subtropical rice ecosystems, China [J]. *Pest Management Science*, 2017, 73 (6): 1277–1286.
- Yang HL, Peng YL, Tian JX, *et al.* Rice field spiders in China: A review of the literature [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2018, 111 (1): 53–64.
- Yang TB, Liu J, Chen J. Compared with conventional PCR assay, qPCR assay greatly improves the detection efficiency of predation [J]. *Ecology and Evolution*, 2020, 10 (14): 7713–7722.
- Zhu PY, Zhang FC, Xu HX, *et al.* Quantifying the respective and additive effects of nectar plant crop borders and withholding insecticides on biological control of pests in subtropical rice [J]. *Journal of Pest Science*, 2018, 91 (2): 575–584.
- Zhu ZR, Lv ZX, Yv MQ, *et al.* Ecological Engineering for Pest Management in Rice [M]. Beijing: China Agricultural Sciencetech Press. 2012. [祝增荣, 吕仲贤, 俞明全, 等. 生态工程治理水稻有害生物 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2012]