

定量评价天敌昆虫控害功能的稳定同位素方法*

欧阳芳¹ 曹婧^{1,2} 戈峰^{1**}

(1. 中国科学院动物研究所 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100101; 2. 湖南农业大学 植物保护学院 长沙 410128)

摘要 天敌在区域性多作物农田景观系统中辗转捕食害虫,对调节和控制害虫种群数量发挥着非常重要的作用。明确天敌昆虫的食物来源和扩散规律是定量评价其控害功能的重要环节。其中,稳定同位素标记方法是追溯生物个体的食物来源和探究其运动规律的重要手段。本文首先介绍该标记方法的基本原理,接着以天敌昆虫龟纹瓢虫 *Propylea japonica* (Thunberg)为例,应用稳定同位素碳标记方法追溯其在棉花和玉米农田景观系统中取食来源与食物比例;最后叙述了稳定同位素方法的应用前景和存在的问题。

关键词 天敌昆虫, 控害功能, 稳定同位素碳, 食物来源

Quantitative evaluation of the biological control efficiency of predatory insects based on stable isotope analyses

OUYANG Fang¹ CAO Jing^{1,2} GE Feng^{1**}

(1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract Predatory insects play important roles in regulating and controlling pest insect populations in the agricultural landscape system. Tracing the diet and movements of natural enemies are basic steps for quantitatively evaluating the effectiveness of these species as biological control agents. Stable isotope analyses can be used to determine insects' dietary sources and movements. In this study, we first introduce the fundamental principles of stable isotope analyses. We then use this technique to determine the prey origins and proportions of the predatory beetle, *Propylea japonica* (Thunberg), in an agricultural landscape system comprised of cotton and maize crops. Finally, we discuss the potential and caveats of this method.

Key words natural enemy insect, biological control, stable carbon isotope, dietary origins

1 基本原理

在区域性多作物农田景观系统中,作物-害虫-天敌相互作用、相互制约而形成一个有机整体。自然天敌种群在该系统中对调节和控制害虫数量或密度发挥着非常重要的作用。然而在食物网复杂和景观格局多样的区域性农田生态系统中,了解和掌握广食性天敌昆虫的取食变化和运动规律具体挑战性和重要性。这些对天敌昆虫的

取食变化和运动规律的基本认知,有助于它们的生境管理和有效地构建植物支持系统以维持和增强自然天敌的生物控害服务功能。

明确天敌昆虫的食物来源和运动规律是定量评价其控害功能的重要环节。其中,稳定同位素标记方法是追溯生物个体的食物来源和探究其运动规律的重要手段 (Gannes *et al.*, 1997; Hobson, 1999)。由于原子核所含有的中子数不同,具有相同质子数的原子具有不同的质量,这

* 资助项目: 国家自然科学基金委项目 (31200321) 和国家科技支撑计划项目 (2012BAD19B05)

**通讯作者, E-mail: gef@ioz.ac.cn

收稿日期: 2013-12-03, 接受日期: 2013-12-12

些原子被称为同位素。例如, 碳的 3 个主要同位素分别为 ^{12}C 、 ^{13}C 和 ^{14}C , 它们都有 6 个质子和 6 个电子, 但中子数则分别为 6、7 和 8。与质子相比, 含有太多或太少中子均会导致同位素的不稳定性, 如 ^{14}C 。这些不稳定的“放射性同位素”将会衰变成稳定同位素。而 ^{12}C 和 ^{13}C 则因为质子和中子所特有的稳定结合, 不发生衰变, 即为稳定同位素。

稳定同位素是一种无辐射天然示踪物, 具有非破坏性整合的特征, 可以用来研究生物体现在和过去如何与生物和非生物环境相互作用。1980 年以来, 稳定同位素分析 (Stable isotope analysis) 已成为一项重要的生态学研究手段, 并逐渐形成了“同位素生态学”这一新兴领域。生物体取食来源不同的食物, 经过积累而造成了体内同位素组成差异, 以此为基础的稳定同位素分析在动物食物资源、栖息地选择、迁徙、生理状态评估、营养物质体内分布、食物网及生态系统的结构与能量流动 (Hobson, 1999)。

稳定同位素丰度表示为样品中两种含量最多同位素比率与国际标准中响应比率之间的比值, 用符号 (δ) 表示。由于样品与标准参照物之间比率差异较小, 所以稳定同位素丰度表示为样品与标准之间偏差的千分数。以碳为例:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{样品}} = \left\{ \left(\frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{样品}}}{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{标准}}} \right) - 1 \right\} \times 1000$$

标准物质的稳定同位素丰度被定义为 0‰。以碳为例, 国际标准物质为 Pee Dee Belemnite, 一种碳酸盐物质, 其普遍公认的同位素绝对比率 ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) 为 0.0112372。

稳定同位素分析用于天敌昆虫的食物来源的前提: 1) 不同寄主食源间存在稳定同位素组成差异并在食物链中传递; 2) 天敌在不同食源间转移运动并取食; 3) 可根据同位素转化率选取天敌不同组织以在时间上适当反映其食物记录。

定量评价天敌昆虫控害功能的稳定同位素方法主要包括: 1) 首先在室内分别用不同的食物喂天敌, 再测定取食不同食物后天敌的稳定同

位素特征值; 2) 在田间不同作物上取样, 带回室内, 测定不同作物上天敌的稳定同位素特征值; 3) 样本准备与稳定同位素测定; 4) 稳定同位素特征值分析。

2 研究方法

本文以天敌昆虫龟纹瓢虫 *Propylea japonica* (Thunberg) 为例, 简单介绍稳定同位素碳标记方法追溯其在棉花和玉米农田景观系统中取食来源与食物比例 (Ouyang *et al.*, 2012)。

棉花和玉米是华北农田景观中主要作物。蚜虫是它们的重要害虫, 而其捕食性天敌龟纹瓢虫在该农田景观系统中辗转捕食蚜虫。本研究以棉花和玉米农田景观系统为研究对象, 以棉花 (C_3 植物)/玉米 (C_4 植物)-蚜虫-龟纹瓢虫为研究主线, 利用稳定同位素碳标记手段, 结合室内控制实验和野外田间试验 (调查与取样) 两种途径, 来识别在由棉花和玉米组成的农田景观系统中龟纹瓢虫的食物是来源于棉花害虫还是玉米害虫, 并估算其捕获两类作物害虫的比例。具体目标包括分析: 1) 棉花-棉蚜-龟纹瓢虫和玉米-玉米蚜-龟纹瓢虫两条食物链稳定同位素碳值 $\delta^{13}\text{C}$ 和分馏值 $\Delta\delta^{13}\text{C}$ 的变化; 2) 龟纹瓢虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值与取食不同蚜虫组合比例的定量关系; 3) 棉花和玉米农田景观系统中的龟纹瓢虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值与取食比例。

2.1 室内控制实验

2.1.1 食物配比实验 (Diet proportioning experiment)
通过室内食物配比实验确定龟纹瓢虫同期取食两种蚜虫不同比例后龟纹瓢虫稳定同位素碳值 ($\delta^{13}\text{C}$) 变化。即利用两种蚜虫 (棉蚜/玉米蚜) 不同重量比例的组合作为食物, 分别饲养龟纹瓢虫, 分析龟纹瓢虫同期取食不同比例食物后龟纹瓢虫体内稳定同位素碳值 ($\delta^{13}\text{C}$) 及两者之间的差异。按棉蚜/玉米蚜不同比重设置 5 个梯度不同重量比例的组合作为食物: 100/0, 75%/25%, 50%/50%, 25%/75%, 0/100% (棉蚜/玉米蚜)。每个梯度饲养 10 头龟纹瓢虫。龟纹瓢虫卵孵化后分别放置培养皿, 用不

同比例的食物组合饲养,至成虫 10 d 后,取样,标记,放入冰箱保存。

2.1.2 C₃/C₄ 植物和蚜虫取样 在试验基地对棉花和玉米种植区取样。其中,植物为棉花、玉米上层叶片,注意去除主叶脉部分。不同作物品种 5 组(5 个重复)。蚜虫为在叶片定殖的蚜虫,50 头为一组。

2.2 野外田间试验(调查与取样)

2.2.1 蚜虫和龟纹瓢虫的田间调查 2010 年从 6 月上旬开始到 9 月底结束,每两周调查 1 次,共 8 次。采用网格格式调查方式,对每个棉花-玉米构成的景观小区内以行距方向为间隔一行调查一行,株距方向间隔两株调查一株方法调查。系统地记录每次调查日期、景观小区编号、行号和株号,以及计数棉花或玉米植株上蚜虫和龟纹瓢虫的数量。

2.2.2 龟纹瓢虫成虫的取样 基于前期的调查结果,在棉花和玉米农田景观系统中,龟纹瓢虫主要栖息在玉米斑块上。因此,2010 在农田景观区域的玉米上对龟纹瓢虫成虫进行取样。每个景观小区取样至少 3 头成虫。

2.3 样本准备与稳定同位素测定

室内控制试验和野外田间取样的龟纹瓢虫每头分别放置在离心管内。蚜虫每组 50 头放入一个离心管内,植物叶片经双蒸水洗涤之后,放入自封袋。按以下步骤测定它们的稳定同位素比率。具体操作:干燥,将植物、蚜虫、龟纹瓢虫样本放入超冷冻干燥机中干燥 48 h。粉碎,经过烘干的样品需要粉碎。植物叶片样本用研钵粉碎,并用 60 目筛过筛。整理,磨好的样品放在离心管内,以数字和英文字母做标记区别样品。送样,将整理好的样品送到稳定同位素比率质谱(Combustion-gas chromatography-mass spectrometry)测定。分析,为便于相互对比和测量,对物质的碳同位素组成多由 $\delta^{13}\text{C}$ 值表示。

2.4 数据分析

2.4.1 龟纹瓢虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值与取食不同蚜虫组合比例的定量关系 龟纹瓢虫孵化后,从幼虫到羽化第 10 天期间,分别以棉蚜/玉米蚜不同重量比

例(100/0, 75%/25%, 50%/50%, 25%/75%, 0/100%)取食的成虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值见图 1,即龟纹瓢虫 $\delta^{13}\text{C}$ 与取食不同 C₃/C₄ 食源比例的定量关系曲线。

基于图 1 稳定同位素碳线性方程(Carbon isotope ratio linear equation),估算出龟纹瓢虫短时期内同时取食等比重的两种蚜虫后 $\delta^{13}\text{C}$ 值,为 -16.71‰,即龟纹瓢虫等比取食的 $\delta^{13}\text{C}$ 中值(Middle value)。图 2 中当农田景观系统中的龟纹瓢虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值小于中值,可认为其近期主要取食来源于棉花害虫,而当 $\delta^{13}\text{C}$ 值大于中值,可认为其近期主要取食来源于玉米害虫。

基于线性方程稳定同位素碳线性方程和野外田间龟纹瓢虫成虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值,可以计算出龟纹瓢虫取食棉花或玉米上害虫的比例。

2.4.2 棉花和玉米农田景观系统中龟纹瓢虫的取食来源与取食比例

(1) 基于龟纹瓢虫 $\delta^{13}\text{C}$ 中值判断食物主要来源

基于龟纹瓢虫等比取食的 $\delta^{13}\text{C}$ 中值(MV=-16.71‰),图 3 结果表明:2010 年 6 月 9 日、6 月 23 日、7 月 8 日、7 月 21 日、8 月 3 日和 8 月 29 日玉米斑块上取样的龟纹瓢虫成虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值均低于 $\delta^{13}\text{C}$ 中值,说明龟纹瓢虫在这个时间段食物主要来源于棉花害虫;而 9 月 10 日和 9 月 27 日玉米斑块取样的龟纹瓢虫成虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值分别高于 $\delta^{13}\text{C}$ 中值;说明龟纹瓢虫在这个时间段食物主要来源于玉米害虫。

(2) 基于稳定同位素碳线性方程估算龟纹瓢虫的取食比例

结合本研究中的等比取食的 $\delta^{13}\text{C}$ 中值和稳定同位素碳线性方程,可以定性判断和定量估计在野外田间 C₃/C₄ 作物农田景观系统中龟纹瓢虫成虫的 C₃/C₄ 食源和各占比例。2010 年 6 月 9 日、6 月 23 日、7 月 8 日、7 月 21 日和 8 月 3 日玉米斑块上取样的龟纹瓢虫成虫均有将近 100% 的食物来自 C₃ 食源,8 月 29 日取样的龟纹瓢虫成虫 84.20% 的食物来自 C₃ 食源;而 9 月 10 日和 9 月 27 日取样的龟纹瓢虫成虫分别有 65.16% 和 80.11% 的食物来自 C₄ 食源。

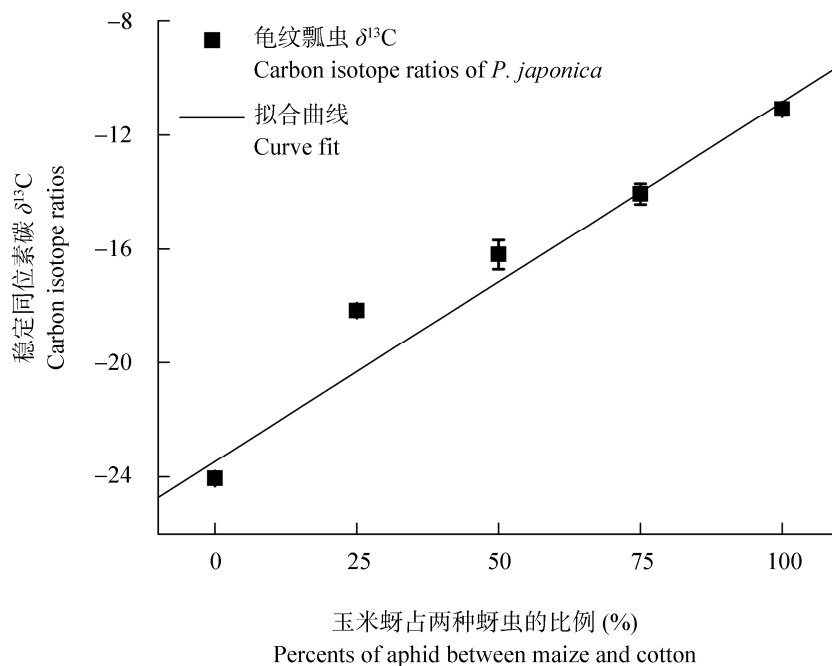


图 1 龟纹瓢虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值与取食不同蚜虫组合比例的定量关系

Fig. 1 Relationship of $\delta^{13}\text{C}$ values of *Propylea japonica* and proportions of aphids from C_3 and C_4 -based resource

图中拟合方程： $Y=0.120X-22.723$ ($F=57.08, P=0.005, R^2=0.95$)。Y 表示龟纹瓢虫成虫整体个体 $\delta^{13}\text{C}$ 值，X 表示取食不同蚜虫组合的比例，玉米蚜占两种蚜虫总和的比例值。

Linear equation: where Y is $\delta^{13}\text{C}$ values of *P. japonica*, X is proportion of aphids from a C_3 -based resource and a C_4 -based resource.

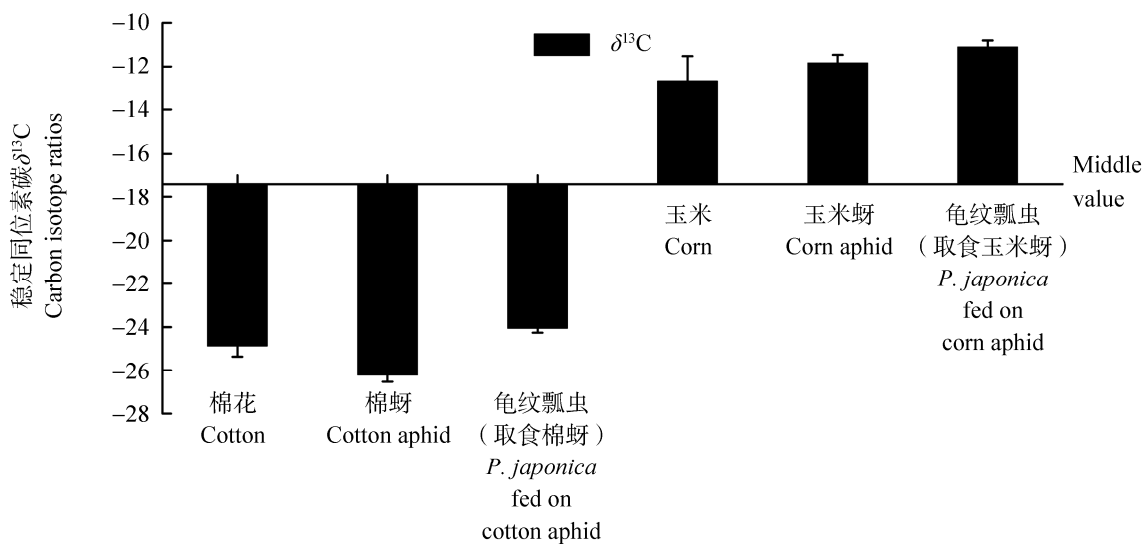


图 2 棉花-棉蚜-龟纹瓢虫和玉米-玉米蚜-龟纹瓢虫两条食物链稳定同位素碳值 $\delta^{13}\text{C}$

Fig. 2 Carbon stable isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$) in food chain 1: cotton/cotton aphids/*Propylea japonica* aphid and food chain 2: maize/maize aphids/*P. japonica* fed on maize aphid

龟纹瓢虫短时期内同时取食等比重的两种蚜虫后 $\delta^{13}\text{C}$ 值为中值 (Middle value), 为 -16.71‰。

Middle $\delta^{13}\text{C}$ values of *P. japonica* adults was -16.71‰ as the proportion of aphids from a C_3 -based resource and a C_4 -based resource was 50%.

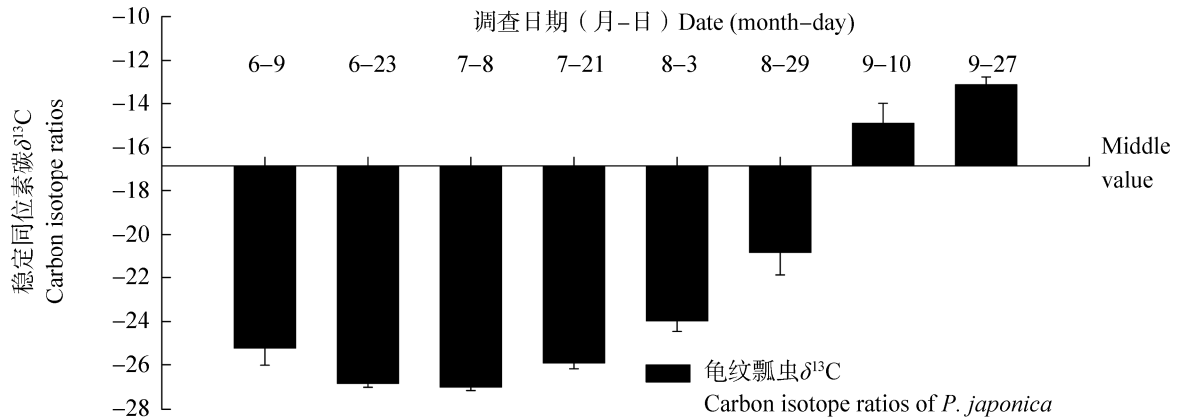


图3 2010年不同时期棉花和玉米农田景观系统中龟纹瓢虫 $\delta^{13}\text{C}$ 值变化
Fig. 3 Carbon isotope ratios of *Propylea japonica* adults collected from maize patches in 2010

综合以上结果分析,可以认为在玉米斑块栖息的龟纹瓢虫在6月上旬到8月上旬可以对棉花上的害虫有一定的控制作用。通过稳定同位素碳的定量分析可以得出天敌瓢虫的不同时期主要控害对象(棉花害虫或玉米害虫)和控害比例。在此基础上,再结合生态能学天敌控害评估方法和田间调查结果,可以进一步定量评价天敌瓢虫在不同时期对不同控害对象的调控作用大小。

3 应用前景与讨论

稳定同位素在昆虫生态学研究的应用包括: 1) 确定食物组成,了解昆虫食性及其多食性昆虫取食的变化规律,是昆虫生态研究的基础之一,更是害虫综合防治、珍稀物种保护的前提; 2) 探寻寄主间转移规律及迁移路线; 3) 能量流动与营养级研究,稳定同位素分析为营养级与生态系统中物质、能量流动的研究提供了有力的手段; 4) 定量评价天敌昆虫的在不同时期主要控害对象和控害比例。

本文利用稳定同位素碳标记仅评估了天敌昆虫在棉花和玉米两种作物系统中的控害作用。在多种(3种及以上)作物农田景观系统中,广食性天敌昆虫可捕食多种作物上的害虫,要明确

其不同时期取食来源仅用一两类稳定同位素天然标记是不够的。然而开发和寻找生物个体中特定化合物的稳定同位素标记和多指标结合的方法为研究多作物农田景观系统中作物-害虫-天敌的营养关系或食物网结构提供新的方向(Wolf *et al.*, 2009)。到目前为止,国内外利用稳定同位素标记技术研究农田生态系统中营养关系、能量流动以及天敌控害功能定量评估的试验案例不多。这可能与稳定同位素测定仪器普及程度低和测试成本较高有关。随着将来测试成本的降低,相信稳定同位素标记方法将在天敌昆虫控害服务功能研究中得到广泛应用。

参考文献 (References)

- Gannes LZ, OBrien DM, del Rio CM, 1997. Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. *Ecology*, 78(4): 1271-1276.
- Hobson KA, 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia*, 120(4): 314-326.
- Ouyang F, Men X, Yang B, Su J, Zhang Y, Zhao Z, Ge F, 2012. Maize benefits the predatory beetle, *Propylea japonica* (Thunberg), to provide potential to enhance biological control for aphids in cotton. *PloS ONE*, 7(9): e44379.
- Wolf N, Carleton SA, del Rio CM, 2009. Ten years of experimental animal isotopic ecology. *Functional Ecology*, 23(1): 17-26.