

应用肠道内含物定量评价天敌捕食作用的方法*

鞠 倩^{1,3**} 欧阳芳¹ 乔 飞¹ 戈 峰^{1,2***}

(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. 中国科学院大学生物互作卓越中心, 北京 100049; 3. 山东省花生研究所, 青岛 266100)

摘 要 【目的】自然天敌在农田生态系统中发挥着重要的生物功能, 明确捕食性天敌对害虫猎物的控制能力是充分发挥天敌控制作用的前提。【方法】本文基于肠道内含物分子检测方法, 以华北花生与玉米组成的微景观系统中的花生/玉米-花生蚜-龟纹瓢虫为研究主线, 对龟纹瓢虫 *Propylaea japonica* 肠道内含物进行了分子检测。【结果】结合室内和大田取样两种途径, 通过测定龟纹瓢虫肠道内含物中花生蚜的阳性检出率, 显示龟纹瓢虫体内检测到花生蚜的扩增, 阳性检出率最高时达到 26.25%。【结论】基于天敌肠道内含物的分子标记技术可作为定量评价田间实际天敌控害作用的有效方法之一, 玉米作为功能植物(作物)可通过涵养天敌瓢虫实现对花生蚜的控制作用。

关键词 肠道内含物; 龟纹瓢虫; 花生蚜; 控害功能

Quantitative evaluation of predation based on molecular analysis of gut-content

JU Qian^{1,2**} OUYANG Fang^{1,2} QIAO Fei^{1,2} GE Feng^{1,2***}

(1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2. CAS Center for Excellence in Biotic Interactions, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Shandong Peanut Research Institute, Qingdao 266100, China)

Abstract [Objectives] Protecting and enhancing natural predator communities is an effective strategy for pest suppression in farmland and understanding the trophic structures of predators and food webs in agroecosystems has become a key issue in biological control. [Methods] The peanut aphid CO I gene was used as a marker of peanut aphid predation by the coccinellid *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) and PCR-based gut content analysis was used to measure predation by *P. japonica* on the peanut aphid. [Results] Incorporating molecular tools and field studies provided direct evidence of peanut aphid predation by *P. japonica* and allowed the consumption of this pest by *P. japonica* to be evaluated under realistic field conditions. [Conclusion] Molecular gut content analysis can help evaluate the trophic structure of natural predator food webs and thereby inform, and improve, pest control.

Key words gut content; *Propylaea japonica*; peanut aphid; biological control

自然天敌在农田生态系统中发挥着重要的生物控害功能。据报道, 在农田生态系统中, 就害虫控制而言, 天敌的控害作用占 50%以上(戈峰等, 2014)。显然, 保护和利用天敌是有效开展害虫生态调控的基础, 而明确捕食性天敌对害虫猎物的控制作用的大小是充分发挥天敌控制

作用的前提。

目前已发展了多种评价天敌捕食作用的方法(王光华等, 2008), 如室内功能反应法、田间直接观测法、生态能量学法、消化道解剖法、稳定同位素法、色谱法、蛋白质电泳法、免疫学方法、多克隆抗体免疫法、单克隆抗体免疫法、

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发计划重点专项(2017YFD0200400); 国家自然科学基金面上项目(31572059)

**第一作者 First author, E-mail: juq@ioz.ac.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: gef@ioz.ac.cn

收稿日期 Received: 2019-12-23; 接受日期 Accepted: 2020-01-10

分子生物学方法、铷元素标记法等 (Sopp *et al.*, 1992; Ouyang *et al.*, 2014; 蔡志平等, 2019)。但这些方法各有特点, 也各有一定的局限性 (宋新元等, 2008)。近年来, 随着分子生物学方法的发展, PCR 技术因其检测灵敏度高, 操作简便、迅速, 分析过程简单易行, 已逐步发展成为评价捕食性天敌捕食作用的有效方法 (庞帅等, 2017)。其中, 利用天敌肠道内含物 PCR 检测技术以定量评估捕食者和猎物之间的营养关系已成为现今捕食作用研究的热点 (Schmidt *et al.*, 2014)。

已有研究表明, 玉米种植有利于多种主要农作物田的天敌多样性的增加 (Lundgren and Fergen, 2014; Liu *et al.*, 2015, 2018)。通过在花生田种植玉米, 可以利用玉米吸引龟纹瓢虫对花生蚜进行控制。但国内外多项研究并没有直接证据来定量评价玉米作为功能作物对靶标害虫的控制能力的大小。为明确田间龟纹瓢虫对花生蚜的捕食作用, 本研究以常见捕食性天敌龟纹瓢虫 *Propylaea japonica* 为例, 以花生田主要地上害虫花生蚜 *Aphis craccivora* Koch 为研究对象, 首先采用基于线粒体 DNA 细胞色素 C 氧化酶亚基 I (mitochondrial DNA cytochrome oxidase subunit I, mtDNA CO I) 基因的种特异 (Species-specific CO I) PCR 技术建立捕食性天敌对花生蚜捕食作用的定性检测技术 (Ju *et al.*, 2019), 确定了引物 AC_F2/R2 只对花生蚜及取食了花生蚜的捕食性天敌有扩增作用, 对同域发生的其它种类的节肢动物线虫、软体动物没有扩增效果。由此进一步以 AC_F2/R2 为试验引物, 利用 PCR 技术检测天敌肠道内含物, 通过分析花生蚜在龟纹瓢虫体内的阳性检出率, 明确龟纹瓢虫对花生蚜的直接捕食关系及其在不同寄主植物间的转移扩散规律。从而为定量评价捕食性天敌昆虫控害功能提供一种新的方法。

1 材料与方法

1.1 试验田设计

采用花生/玉米 3 : 2 种植模式 (3 垄花生 2 垄玉米) 间作种植。5 月 1 日前后同时播种玉米

和花生, 按照常规管理措施管理试验田, 整个试验期间不喷施任何杀虫剂。其它时间试验田空地, 无轮作作物。

1.2 试虫饲养

本研究中所使用的花生蚜、龟纹瓢虫均采自山东省花生研究所试验站。花生蚜、龟纹瓢虫饲喂方法参考 Fan 等 (2018)。

花生蚜: 以蚕豆 *Vicia faba* L. 作为寄主植物, 混合龄级约 30 头/株, 于人工气候箱 (Safe PRX-450C, 宁波, 中国) 饲养。人工气候箱温度为 22 °C/20 °C, 光周期为 L : D=16 : 8, 空气相对湿度为 70%±10%。

龟纹瓢虫: 将田间采回的龟纹瓢虫饲养于人工气候箱 (Safe PRX-450C, Ningbo, China) 内, 5 对/笼。以豌豆修尾蚜 (中国科学院动物研究所种群生态组提供) 饲喂瓢虫, 每个养虫笼每日投放 3 龄若蚜各 50 头对龟纹瓢虫进行喂养。人工气候箱温度为 22 °C/20 °C, 光周期为 L : D=16 : 8, 空气相对湿度为 70%±10%。

1.3 样品基因组提取方法及模板验证

样品基因组提取: 使用改进的试剂盒法提取基因组。首先用无水乙醇洗净样本, 擦干乙醇后将样本与适量小钢珠放入 2 mL 研磨管中, 用球磨机将样本打碎, 将样品转移至 1.5 mL 离心管中。向离心管中加入 250 μ L Buffer IL 和 20 μ L Proteinase K, 振荡或颠倒使样品混匀。将混匀后的离心管放入恒温水浴锅中 55 °C 水浴 6 h 或过夜消化样品, 水浴消化期间需偶尔将样品颠倒混匀。样品被消化完全后, 13 000 \times g 离心 3 min, 转移上清液至新的 1.5 mL 离心管中。向离心管中的消化液加入 500 μ L Buffer IL (加一倍乙醇稀释), 涡旋混匀 30 s。把 HiPure gDNA Micro Column 装在 2 mL 收集管中, 将混合液和沉淀一起转移至柱子中, 10 000 \times g 离心 30-60 s。加入 600 μ L Buffer GW1 至柱子中, 10 000 \times g 离心 30-60 s。加入 600 μ L Buffer GW2 至柱子中。10 000 \times g 离心 30-60 s。重复上述操作 1 次, 13 000 \times g 离心 3 min。将柱子装在新的 1.5 mL 离

心管中。加入 15-30 μL 预热至 55 $^{\circ}\text{C}$ 的 Elution Buffer 或 Buffer TE 至柱子的膜中央。放置 2 min, 13 000 $\times\text{g}$ 离心 1min。于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

龟纹瓢虫基因组模板验证: 根据 GenBank 中已知的龟纹瓢虫 18s 序列, 设计了一对龟纹瓢虫特异引物 18s-F: GTAATGATTAACAGGAA-CGGATGG, 18s-R: GTGCCCTTCCGTCAAT-TCCTT, 其扩增片段大小为 306 bp。以龟纹瓢虫基因组为模板, 18s-F/R 为引物, 验证基因组模板质量。利用提取质量较好的基因组模板进行肠道内含物花生蚜的分子检测。

1.4 捕食性天敌肠道内含物花生蚜的分子检测

花生蚜的 CO I 分子标记技术参考 Ju 等 (2019) 并改进。以花生蚜基因组为模板, 采用 mtDNA COI 基因通用型引物 (Schmidt *et al.*, 2014) 进行 PCR 扩增。根据扩增产物的测序结果, 设计多对花生蚜虫特异性引物。以花生蚜虫为阳性对照, 以在同一花生田采集的、与花生蚜同生境的节肢动物、线虫、软体动物样本 DNA 为模板检验引物的种特异性。确定 1 对专业化引物 AC_F2: TTGTTACAATTCATGCTTTCATTAT 和 AC_R2: TGAAATACCTGCTAAATGAAGAG (扩增片段 299 bp)。PCR 反应体系为 25 μL , 其中模板 DNA 0.5 μL , 5 \times Buffer (含 Mg^{2+}) 5 μL , dNTPs (2.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 2 μL , 上游引物和下游引物 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 各 0.5 μL , Taq DNA 聚合酶 (2.5 $\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 0.2 μL , ddH₂O 补加至 25 μL 。PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 98 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

1.5 花生蚜在龟纹瓢虫体内的消化、降解情况及田间捕食作用分析

在花生蚜 CO I 分子标记技术的基础上, 在室内可控条件下, 利用 PCR 技术测定花生蚜在龟纹瓢虫捕食后不同时间段的消化和降解情况。进一步在田间条件下, 根据阳性检出率分析龟纹瓢虫在不同寄主植物间的转移扩散及对花生蚜的捕食作用。

室内龟纹瓢虫样品收集: 取羽化时间一致的

未接触花生蚜的龟纹瓢虫 (每组 240 头成虫, 即每个时间处理 20 头成虫重复), 单头放入 35 mm 培养皿, 饥饿处理 24 h, 喂食单头 2 龄花生蚜虫。将瓢虫取食完毕的时刻计为 $t=0$ (舍弃 2 h 内未取食完毕的瓢虫), 分别于 0、1、2、4、6、8、16、20、24 和 48 h 取样瓢虫, 将样品浸泡在无水乙醇中, 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 以备用于通过肠道内含物的分子检测。

田间龟纹瓢虫样品收集: 在间作田的玉米植株上对花生蚜的捕食性天敌龟纹瓢虫进行取样。所有田间采集的昆虫样本, 浸泡在无水乙醇中, 于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 以备用于通过肠道内含物的分子检测确定龟纹瓢虫对花生蚜的捕食作用。

1.6 统计分析方法

所有描述性统计 (平均值和标准误差) 和差异分析均由 SPSS 22.0 完成。利用 probit 模型得出捕食性天敌肠道内含物猎物 DNA 的消化半衰期曲线。

2 结果与分析

2.1 龟纹瓢虫基因组提取及模板验证

为确定提取龟纹瓢虫基因组的质量, 以龟纹瓢虫基因组为模板, 18s-F/R 为内参引物, 验证基因组模板质量。图 1 中龟纹瓢虫基因组提取质量验证显示, 以田间收集的随机 20 个龟纹瓢虫样本为例, 其基因组均可扩增出 306 bp 的特异条带, 表明基因组提取质量良好。用上述方法验证其它样品, 均可扩增出同等大小的 18s 特异条带, 说明提取样品基因组均可用于后续天敌体内猎物基因的分子检测试验。

2.2 龟纹瓢虫肠道内含物中花生蚜基因的分子检测

进一步从室内和田间收集的龟纹瓢虫基因组样本中随机抽取 16 个样本, 以其基因组为模板, AC_F2/R2 为引物, 利用 PCR 技术检测龟纹瓢虫对花生蚜虫的捕食作用。结果显示 16 个样本中有 8 个样本可检测到花生蚜 DNA 残留, 表明此 8 个样本的龟纹瓢虫对花生蚜均有捕食作

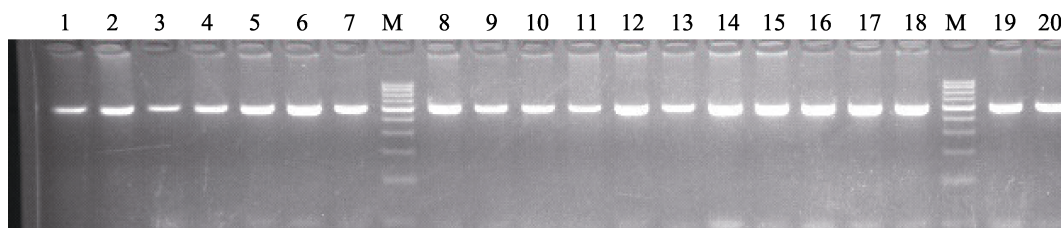


图 1 龟纹瓢虫基因组提取质量验证

Fig. 1 Quality verification of ladybug genome

M: DNA 分子量标准 DNA marker (DL500); 1-20: 龟纹瓢虫基因组。

M: DNA marker (DL500); 1-20: Ladybug genome.

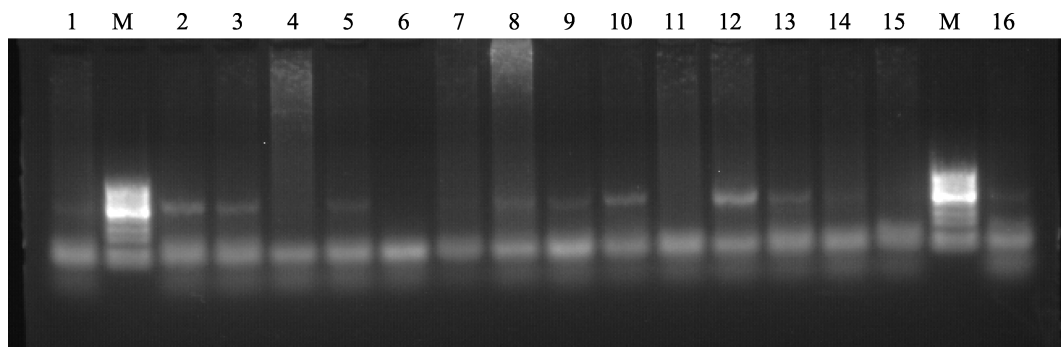


图 2 龟纹瓢虫肠道内含物中花生蚜基因的分子检测

Fig. 2 Detection of predation of ladybug on peanut aphids

M: DNA 分子量标准 DNA marker (DL500); 1-20: 龟纹瓢虫基因组。

M: DNA marker (DL500); 1-20: Ladybug genome.

用。引物 AC_F2/R2 验证可用于龟纹瓢虫对花生蚜的捕食作用检测。

2.3 花生蚜在龟纹瓢虫体内的消化半衰期测定

对龟纹瓢虫体内花生蚜随消化时间的阳性检出率可知, 在取食 0 h 时, 所有供试龟纹瓢虫体内均能检测到花生蚜的 DNA, 阳性检出率为 100.0%; 但随着消化时间的延长, 阳性检出率逐渐下降, 在 20 h 时为 0; 检出的最长时间为 16 h, 该时间下, 阳性检出率为 10.0%。由龟纹瓢虫对花生蚜捕食作用的阳性检出率和消化时间的拟合曲线得知, 花生蚜在龟纹瓢虫体内的消化半衰期 DS_{50} 为 4.355 h ($R^2=0.9337$) (图 3)。

2.4 龟纹瓢虫对花生蚜的捕食作用评价

通过从花生-玉米间作田中玉米植株上收集龟纹瓢虫, 提取其基因组后, 利用花生蚜虫 CO I 基因引物 PCR 扩增, 测定不同时间段收集样品的阳性检出率。田间样品捕食作用检测结果表 1

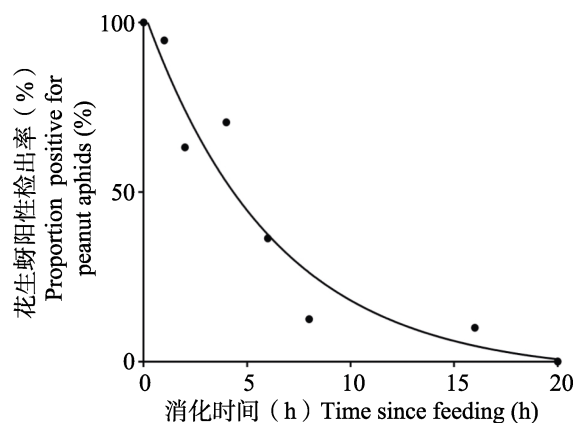


图 3 龟纹瓢虫对花生蚜捕食作用的阳性检出率和消化时间的拟合曲线 (Ju et al., 2019)

Fig. 3 The fitted curve of peanut aphid DNA half-life experiments (Ju et al., 2019)

表明, 龟纹瓢虫种群密度与花生蚜种群密度没有直接关系, 花生蚜在龟纹瓢虫体内的阳性检出率随着花生蚜种群密度的增加而增加。其中, 7月10日, 在百株花生蚜种群密度 log 值达到最高值 3.04 时, 花生蚜在龟纹瓢虫体内的阳性检出率达到最大, 为 26.25% (表 1)。

表 1 不同时期花生蚜、龟纹瓢虫种群密度及花生蚜在龟纹瓢虫体内阳性检出率
Table 1 Density of peanut aphid and predator in peanut/maize intercropping field and positive responses of peanut aphid DNA

调查日期 (月-日) Date (month-day)	花生蚜数量 (log/百株) Number of peanut aphid (log/100 plants)	龟纹瓢虫数量/m ² Number of <i>P. japonica</i> /m ²	阳性检出率 (%) Proportion of positive (%)
6-20 20-June	0.34±0.19c	5.95±2.15a	10.94±6.44a
6-30 30-June	1.56±0.37b	4.20±1.41a	11.25±3.75a
7-10 10-July	3.04±0.50a	3.48±1.02a	26.25±7.72b

表中数据为平均值±标准误；同列数据后标有不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平的差异显著（单因素方差分析法）。Dates in the table are mean±SE, and followed by different letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level by one-way analysis of variance (ANOVA).

3 讨论

3.1 DNA 分子标记技术可作为分析田间捕食行为与作用的有效方法

自然天敌在农田生态系统中发挥着重要的生物控害功能。通过增加农田景观系统多样性，如在农田周边种植蛇床草、二月兰、香根草等，可为天敌提供庇护、花蜜、替代猎物/宿主和花粉，增加对天敌的涵养，从而充分发挥天敌对害虫的生态调控作用 (Letourneau *et al.*, 2011; Gurr *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2018; Skidmore *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2019)。而这些有关天敌生

态调控作用的评价大都只局限于定性范畴，即只明确了某种天敌是否具有捕食靶标害虫的能力，而真正用于追溯还原并定量评价农田景观-捕食性天敌-害虫控害作用的研究鲜有报道。近年来随着分子标记技术的发展，基于天敌肠道内含物的 PCR 分析已成为评估农田系统中作物-捕食性天敌-害虫三营养级和生物控制潜力的常用方法。本文结合前期研究报道，以华北花生与玉米组成的微景观系统中的花生/玉米-花生蚜-龟纹瓢虫为研究主线，开发了一种分子标记方法用于定量评价农田生态系统中的实际天敌捕食作用。其具体操作流程如下图 4。

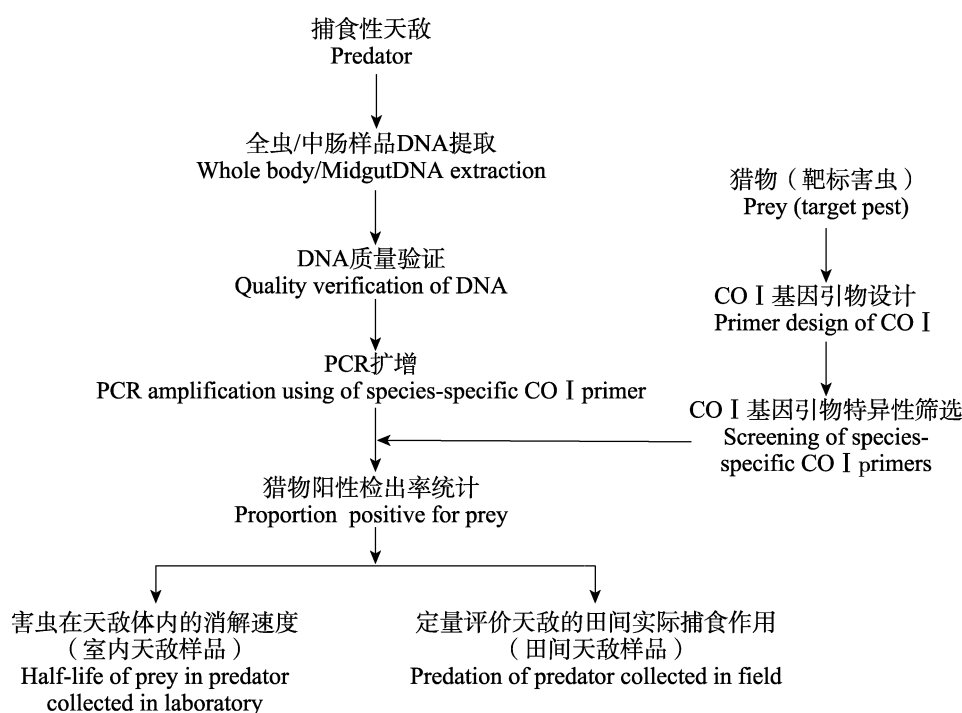


图 4 应用肠道内含物定量评价天敌捕食作用方法流程图

Fig. 4 The protocol of quantitative evaluation of the predation based on gut-content molecular analysis

利用上述方法分析了捕食性天敌龟纹瓢虫对花生蚜虫的捕食作用,发现在花生蚜虫发生初期到末期作用不同。而花生蚜种群密度升高,并未引起龟纹瓢虫种群密度的增加,但却增加了龟纹瓢虫对花生蚜的捕食作用。这可能是因为龟纹瓢虫的发生受温度影响较大;但另一方面,由于花生蚜种群密度的增大提高了害虫与天敌的相遇几率,同时高密度的害虫刺激了天敌的功能反应,使其取食量增加,从而提高了龟纹瓢虫对花生蚜的捕食作用。同时,本研究中的天敌捕食作用检测用试虫均采自花生-玉米间作田的玉米植株,而花生蚜为专食性害虫,不为害玉米。但龟纹瓢虫肠道内含物 PCR 检测显示,龟纹瓢虫体内检测到花生蚜的扩增,阳性检出率最高时达到 26.25%。由此可以证实,花生和玉米植株间存在龟纹瓢虫的转移扩散现象,表现为龟纹瓢虫在花生田植株上取食花生蚜后回到玉米植株上栖息;玉米作为功能植物(作物),可通过涵养天敌实现对花生田靶标害虫的控制作用。上述结果说明基于天敌肠内含物 PCR 分析的方法可用于定量评价农田生态系统中的实际天敌捕食作用。

3.2 基于 CO I 基因的 DNA 分子标记技术的应用

利用分子标记手段定量评估捕食性天敌对害虫的控害作用经历了多个发展阶段。Hebert 等(2003)曾利用 mtDNA CO I 基因中的一段序列对生物物种类别进行分子鉴定,并将这种技术命名为 DNA 条形码技术(DNA barcoding),此技术可通过对昆虫特定基因片段的测序及对比而准确确定其分类地位。近年来,基于 CO I 基因的 DNA 分子标记技术被证明是检测农业生态系统中天敌-害虫间捕食作用的有效手段之一(Greenstone *et al.*, 2014; Andújar *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018; Whitney *et al.*, 2018)。但国内外学者利用 DNA 分子标记技术进行捕食者-猎物间营养关系的研究大多涉及淡水、海洋系统中的水生动物种类(Verschut *et al.*, 2018),而有关农业害虫的研究相对滞后。宋新元等(2008)曾利用 DNA 标记方法检测了 14 种捕食性天敌对大豆蚜的捕食行为,证实捕食性天敌的阳性检出率与大豆蚜的种群密度呈显著正相关。Wang 等

(2018)利用基于天敌肠道内含物 PCR 分析的方法,验证了绿盲蝽在不同发育历期的取食偏好性,有力地支持了种群丰度与不同植物田间取食偏好的正相关关系。王倩等(2013)针对华北农田生态系统中五种常见蚜虫种类逐一设计 CO I 基因特异扩增引物,并以同域的 59 种昆虫为对照进行种特异性 PCR 扩增,初步筛选得到花生蚜的种特异性引物。本研究进一步扩大了种特异性引物的筛选范围,将同域昆虫扩增到节肢动物、软体动物等,从而进一步筛选出更加专一性的花生蚜 CO I 基因特异扩增引物,可用于定量分析天敌对花生蚜的捕食作用,也为定量评估捕食性天敌的控害作用提供了一种新方法。

进一步研究证明,在农业生态系统中,天敌捕食作用检测可确定并量化天敌对靶标害虫的季节性选择,并从多种捕食性天敌中明确重要天敌或从多种猎物中明确天敌的主要捕食对象,最终形成给定生态系统中的最优觅食理论(Verschut *et al.*, 2018; Whitney *et al.*, 2018)。这在田间实际生产中,最大化提高捕食性天敌的控害能力提供了理论依据。

3.3 DNA 分子标记技术的影响因素

利用 DNA 分子标记技术来定量评估天敌捕食作用的方法受到多种因素的影响。如分子检测样本的类型、样本量、CO I 基因片段的大小、取样天敌的环境温度、不同龄期靶标昆虫的体型大小等都在很大程度上影响了猎物 DNA 阳性检出率的准确度(Greenstone *et al.*, 2014)。Kamenova 等(2018)比较了 3 种样本类型,发现天敌昆虫的全虫样本、粪便样本和回吐物样本的猎物阳性检出率均不相同,全虫和回吐物样本中猎物的阳性检出率显著高于粪便样本。因此,本文推荐采用天敌昆虫全虫或回吐物 DNA 作为 PCR 扩增试验的模板。此外,捕食性天敌体内靶标害虫的可检测性与靶标片段大小密切相关。在给定的捕食者-猎物系统中,扩增子大小和可检测半衰期呈负相关;一般认为,当靶标片段在 200-300 bp 范围内时,可成功检测到天敌对猎物的捕食作用,并可避免对天敌食腐行为的误测(Foltan *et al.*, 2005)。

3.4 DNA 分子标记技术的局限性

与现有天敌捕食作用评价方法相比, DNA 分子技术具有检测灵敏度高, 操作简便、迅速, 分析过程简单易行等优点, 但也存在一定的局限性。譬如, 对于特定种类的捕食者肠道内含物分析, DNA 分子技术以较低的费用、较短的检测时间和较高的可检测半衰期几率优于单克隆抗体技术; 但相较于 PCR 检测, 单克隆抗体技术具有更高的特异性 (Chen *et al.*, 2000)。同时, 间接捕食对捕食作用研究的干扰, 也是 DNA 分子标记技术未来需要解决的问题之一。

参考文献 (References)

- Andújar C, Arribas P, Yu DW, Vogler AP, Emerson BC, 2018. Why the COI barcode should be the community DNA metabarcode for the metazoa. *Molecular Ecology*, 27(20): 3968–3975.
- Cai ZP, Xiao YL, Ouyang F, GE F, Zhang JP, 2019. Quantitative evaluation of the biological control efficiency of predatory insects based on rubidium marking method. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(2): 348–353. [蔡志平, 肖云丽, 欧阳芳, 戈峰, 张建萍, 2019. 定量评价天敌昆虫控害功能的铷元素标记技术. *应用昆虫学报*, 56(2): 348–353.]
- Chen Y, Giles KL, Payton ME, Greenstone MH, 2000. Identifying key cereal aphid predators by molecular gut analysis. *Molecular Ecology*, 9(11): 1887–1898.
- Fan LP, Ouyang F, Su JW, Ge F, 2018. Adaptation of defensive strategies by the pea aphid mediates predation risk from the predatory lady beetle. *Journal of Chemical Ecology*, 44(1): 40–50.
- Foltan P, Sheppard S, Konvicka M, Symondson WOC, 2005. The significance of facultative scavenging in generalist predator nutrition: detecting decayed prey in the guts of predators using PCR. *Molecular Ecology*, 14(13): 4147–4158.
- Ge F, Ouyang F, Zhao ZH, 2014. Ecological management of insects based on ecological services at a landscape scale. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(3): 597–605. [戈峰, 欧阳芳, 赵紫华, 2014. 基于基于服务功能的昆虫生态调控理论. *应用昆虫学报*, 51(3): 597–605.]
- 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.
- Gurr GM, Wratten SD, Landis DA, You M, 2017. Habitat management to suppress pest populations: Progress and prospects. *Annual Review of Entomology*, 62(1): 91–109.
- Hebert P, Cywinska A, Ball SL, Dewaard J, 2003. Biological identification through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 270(1512): 313–321.
- Ju Q, Ouyang F, Gu S, Qiao F, Yang Q, Qu M, Ge F, 2019. Strip intercropping peanut with maize for peanut aphid biological control and yield enhancement. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 286: 106682.
- Kamenova S, Mayer R, Rubbmark OR, Coissac E, Plantegenest M, Traugott M, 2018. Comparing three types of dietary samples for prey DNA decay in an insect generalist predator. *Molecular Ecology Resources*, 18 (5): 966–973.
- Letourneau DK, Armbrrecht I, Rivera BS, Lerma JM, Carmona EJ, Daza MC, Escobar S, Galindo V, Gutiérrez C, López SD, Mejía JL, Rangel AMA, Rangel JH, Rivera L, Saavedra CA, Torres AM, Trujillo AR, 2011. Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological Applications*, 21 (1): 9–21.
- Liu JL, Ren W, Zhao WZ, Li FR, 2018. Cropping systems alter the biodiversity of ground- and soil-dwelling herbivorous and predatory arthropods in a desert agroecosystem: Implications for pest biocontrol. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 266: 109–121.
- Liu Y, Duan M, Zhang X, Zhang X, Yu Z, Axmacher JC, 2015. Effects of plant diversity, habitat and agricultural landscape structure on the functional diversity of carabid assemblages in the North China Plain. *Insect Conservation and Diversity*, 8 (2): 163–176.
- Lundgren JG, Fergen JK, 2014. Predator community structure and trophic linkage strength to a focal prey. *Molecular Ecology*, 23(15): 3790–3798.
- Ouyang F, Yang B, Cao J, Feng Y, Ge F, 2014. Tracing prey origins, proportions and feeding periods for predatory beetles from agricultural systems using carbon and nitrogen stable isotope analyses. *Biological Control*, 71: 23–29.
- Pang S, Wang CH, Wang GH, Wang XQ, Zhu ZR, Bai YY, 2017. Analysis of predation of the spiders on collembolans using the gene of 18S rDNA in fallow waterlogged paddy fields in Chongqing. *Journal of Plant Protection*, 44 (6): 1011–1016. [庞帅, 王超, 王光华, 王雪芹, 祝增荣, 白耀宇, 2017. 利用 18S rDNA 分析冬水田蜘蛛对弹尾虫的捕食作用. *植物保护学报*,

- 44 (6): 1011–1016.]
- 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.
- Skidmore A, Wilson N, Williams M, Bessin R, 2019. The impact of tillage regime and row cover use on insect pests and yield in organic cucurbit production. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 33(4): 338–248.
- Song XY, Cong B, Qian HT, Dong H, 2008. Identification of the key predators of *Aphis glycines* Matsumura (Homoptera: Aphididae) using COI gene markers. *Scientia Agricultura Sinica*, 41(9): 2881–2888. [宋新元, 丛斌, 钱海涛, 董辉, 2008. 大豆蚜捕食性天敌捕食行为的 COI 基因标记检测. 中国农业科学, 41(9): 2881–2888.]
- 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 (ELISA). *Journal of Applied Ecology*, 29(2): 295–302.
- Verschut V, Strandmark A, Esparza-Salas R, Hambäck PA, 2018. Seasonally varying marine influences on the coastal ecosystem detected through molecular gut analysis. *Molecular Ecology*, 28(2): 307–317.
- Wang GH, Zhao WC, Cheng JA, 2008. Real-time fluorescent quantitative PCR technique and its applications in entomological studies. *Acta Entomologica Sinica*, 51(12): 1293–1303. [王光华, 赵伟春, 程家安, 2008. 实时荧光定量 PCR 技术及其在昆虫学研究中的应用. 昆虫学报, 51(12): 1293–1303.]
- Wang Q, Bao W, Yang F, Yang Y, Lu Y, 2018. A PCR-based analysis of plant DNA reveals the feeding preferences of *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae). *Arthropod-Plant Interactions*, 12(4): 567–574.
- Wang Q, Yang F, Lu YH, Yang YZ, 2013. Detection of COI gene in five aphid pests. The 11th national congress of China plant protection society and 2013 annual conference. Qingdao. 446. [王倩, 杨帆, 陆宴辉, 杨益众, 2013. 五种蚜虫类害虫的 COI 基因检测技术. 中国植物保护学会第十一次全国会员代表大会暨 2013 年学术年会. 青岛. 446.]
- Whitney TD, Sitvarin MI, Roualdes EA, Bonner SJ, Harwood JD, 2018. Selectivity underlies the dissociation between seasonal prey availability and prey consumption in a generalist predator. *Molecular Ecology*, 27(7): 1739–1748.
- Yang L, Xu L, Liu B, Zhang Q, Pan Y, Li Q, Li H, Lu Y, 2019. Non-crop habitats promote the abundance of predatory ladybeetles in maize fields in the agricultural landscape of northern China. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 277: 44–52.