

基于 DNA 宏条形码技术对洛阳市区 菜粉蝶肠道食物的多样性分析*

方全博^{1,2**} 李艺杰³ 胡俊杰¹ 王翔¹ 刘潇宇¹ 贺春玲^{1***}

(1. 河南科技大学园艺与植物保护学院, 洛阳 471023; 2. 麻城市林业局, 黄冈 438399;
3. 洛宁农发国储林建设有限公司, 洛阳 471700)

摘要 【目的】菜粉蝶 *Pieris rapae* 隶属于粉蝶科 Pieridae 粉蝶属 *Pieris*, 广泛分布于我国各地。该蝶幼虫主要为害十字花科 Brassicaceae、菊科 Asteraceae 和木樨科 Oleaceae 等植物, 成虫对部分植物具有一定的授粉功能, 是研究“传粉昆虫-植物-植食性昆虫”互作关系的代表物种。【方法】基于 DNA 宏条形码技术, 研究洛阳市河南科技大学 (HKD)、洛浦秋风园 (QFY) 和隋唐植物园 (STY) 3 个城市绿地菜粉蝶的肠道食物种类和多样性。【结果】菜粉蝶寄主植物共涉及 31 科 65 属 78 种, 其中十字花科、芸薹属和甘蓝的相对丰度占比最高, 分别为 48.49%、31.62% 和 30.35%。基于 Alpha 多样性分析, 发现 HKD 的群落丰富度最大, 并且显著大于 QFY 和 STY ($P<0.05$), QFY 的群落多样性和优势种的集中程度最高, 并且显著大于 HKD 和 STY ($P<0.05$)。基于 Beta 多样性分析, 发现 3 个样地菜粉蝶肠道植物种类在同一地点差异性较小, 不同地点差异性较大。【结论】菜粉蝶能够根据不同的微生境作出不同的取食策略, 且其肠道植物种类能够反映栖息地植物的多样性程度。植物 DNA 宏条形码技术为探究蝴蝶与栖息地植物间的协同共存机制提供了新的方法。

关键词 菜粉蝶; DNA 宏条形码; 食性分析; ITS2 序列; 多样性

Dietary analysis of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) in Luoyang City using DNA metabarcoding technology

FANG Quan-Bo^{1,2**} LI Yi-Jie³ HU Jun-Jie¹ WANG Xiang¹
LIU Xiao-Yu¹ HE Chun-Ling^{1***}

(1. College of Horticulture and Plant Protection, Henan University of Science & Technology, Luoyang 471023, China;
2. Macheng Forestry Bureau, Huanggang 438399, China;
3. Luoning Agricultural Development National Reserve Forest Construction Co., Ltd., Luoyang 471700, China)

Abstract [Aim] *Pieris rapae*, the cabbage white butterfly, is widespread across China. The larvae cause significant damage to plants from the Brassicaceae, Oleaceae, and Asteraceae families. Adults serve as pollinators for some plant species and are a model species used in pollinator-plant-phytophagous insect interaction studies. [Methods] DNA metabarcoding technology was used to analyze the diet and gut diversity of *P. rapae* in 3 urban green spaces which included the Henan University of Science and Technology (HKD), Luopu Autumn Garden (QFY), and Sui and Tang Botanical Garden (STY). [Results] A total of 78 species belonging to 65 genera in 31 families were found to be host plants of *P. rapae*. Of the 3 plant classification levels including family, genus, and species, the relative abundance of Cruciferae (48.49 %), Brassica (31.62%), and *Brassica oleracea* (30.35%) were the highest. Alpha diversity analysis revealed that the community richness of HKD was significantly higher compared to QFY and STY ($P<0.05$). The QFY community diversity and dominant species concentration was

*资助项目 Supported projects: 国家科技部基础调查专项 (2018FY100404); 河南南太行山水林田湖草生态保护修复试点工程 (济源项目) (JGZJCAI-2019125)

**第一作者 First author, E-mail: hnkjufqb@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: hechunling68@126.com

收稿日期 Received: 2023-02-28; 接受日期 Accepted: 2023-04-22

significantly higher compared to HKF and STY ($P < 0.05$). The beta diversity analysis showed there was no significant difference in the variety of plant species in the gut of *P. rapae* within each site. However, there was a significant difference between the sites. **[Conclusion]** The findings of this study show that *P. rapae* uses different feeding strategies depending on the microhabitat. Moreover, the diversity of plants in the habitat is reflected in the gut contents of *P. rapae*. DNA metabarcoding technology provides a new method to explore the cooperative coexistence mechanism between butterflies and habitat plants.

Key words *Pieris rapae*; DNA metabarcoding; diet analysis; ITS2 sequence; diversity

蝶类隶属于昆虫纲 Insecta 鳞翅目 Lepidoptera, 全世界约 20 000 余种, 是常见的访花昆虫 (Nowicki *et al.*, 2008)。中国蝴蝶资源丰富, 已记载 2 100 余种 (武春生和徐增峰, 2017)。蝴蝶对周围细微的环境变化十分敏锐并能快速做出响应 (Hamblen and Speight, 2004; Thomas, 2005), 常被用于监测环境变化趋势、生态系统健康状况以及人为活动对生态系统的干扰程度等方面, 是生物多样性监测的重要指示物种之一 (陈麟等, 2014)。作为一种重要的传粉昆虫, 蝴蝶在生态系统中有极其重要的作用和不可替代的地位 (郭丽等, 2011)。以蝴蝶为指示物种, 物种多样性指数为主要参数的蝶类群落结构研究是当今生态学及环境科学研究的热门课题之一 (Gupta *et al.*, 2019; 王伟和李俊生, 2021)。孙颖和卓丽环 (2009) 在百子莲 *Agapanthus africanus* 群落中定点观察访花昆虫, 共发现访花昆虫 23 种, 其中蝶类有 10 种, 占访花昆虫个体数的 40% 以上。da Silva Santos 等 (2020) 对巴西东北部澳洲坚果 *Macadamia integrifolia* 的传粉者进行调查, 发现蝶类的访花次数超过了 50%。徐安乐等 (2020) 对珠三角 9 个生态区的蝴蝶携粉特征进行了调查研究, 发现携粉的蝶类种类占比为 74.19%, 携粉蝴蝶个体数量占比为 49.63%, 证实了蝴蝶是生态系统中重要的传粉昆虫。

菜粉蝶 *Pieris rapae* 隶属于粉蝶科 Pieridae 粉蝶属 *Pieris*, 在我国分布极为广泛, 幼虫是为害十字花科作物的重要害虫 (丁朝阳等, 2021)。已报道菜粉蝶幼虫取食的植物有 9 科 35 种, 喜食十字花科植物, 特别偏食厚叶片的甘蓝 *Brassica oleracea*、白菜 *B. rapa* 和萝卜 *Raphanus sativus* 等 (张娴等, 2019)。关于菜粉蝶的形态特征、生活史、生活习性、发生规律、天敌种类和

系统发育均有详细报道 (陆裕华, 2014; 赵磊, 2017; 史红安等, 2019; 瓮青芬, 2021)。菜粉蝶成虫访花植物种类主要有: 血叶兰 *Ludisia discolor*、银带虾脊兰 *Calanthe argenteostriata*、百子莲 *Agapanthus africanus*、无梗五加 *Eleutherococcus sessiliflorus*、蒙古扁桃 *Prunus mongolica*、小菊 *Matricaria recutita*、红花酢浆草 *Oxalis corymbosa*、朴树 *Celtis sinensis* 和紫叶李 *Prunus cerasifera* ‘Atropurpurea’ 等植物 (刘林德等, 2002; 方海涛和斯琴巴特, 2007; 王伟等, 2008; 孙颖和卓丽环, 2009; 张洪芳等, 2010; 郝德君等, 2015)。

DNA 宏条形码技术依托高通量技术而成为一种食性分析的新兴技术方法, 通过对粪便、胃内容物和肠内容物等进行取样并提取 DNA, 获取特异性 DNA 条形码序列结合相关数据库进行生物物种识别和鉴定, 能够鉴定物种和获取物种食物的范围, 并评估总体生物多样性 (Javier *et al.*, 2020)。随着高通量测序技术的不断发展, 利用 DNA 宏条形码可以对传粉昆虫体表花粉的种类进行鉴定, 相对丰度较低的植物种群也可被鉴定出来, 序列数在指示定量和半定量植物与传粉昆虫间相互作用关系方面具有巨大潜力, 花粉样本的 DNA 宏条形码可以提供有关传粉昆虫与植物间互作关系网络的信息 (Pornon *et al.*, 2016; Galliot *et al.*, 2017)。基于 DNA 宏条形码技术, 使用 *rbcL*、*trnH-psbA* 和 *ITS2* 引物, 鉴定白斑切叶蜂 *Megachile strupigera* 和蓝彩带蜂 *Nomia chalybeata* 蜂粮中的粉源植物组成和多样性, 分析不同样地间粉源植物物种丰富度、多样性及结构的差异性, 引物的鉴定准确率为 *ITS2* > *trnH-psbA* > *rbcL* (何波等, 2020; 张可等, 2022)。*ITS2* 引物序列也可应用于鉴定黑带食蚜蝇

Episyrphus balteatus 肠道内容物的植物种类, 通过用特定寄主植物饲养的对照试验验证了利用 DNA 宏条形码技术对昆虫肠道内容物鉴定的科学性和准确性 (Jia *et al.*, 2022)。

本研究基于 DNA 宏条形码技术对洛阳市城区 3 个城市绿地中菜粉蝶肠道食物的植物种类进行多样性分析, 为菜粉蝶与植物互作关系的研究提供理论基础, 为城市绿地中传粉昆虫资源的保护与利用提供科学建议。

1 材料与方法

1.1 研究地点

根据菜粉蝶成虫在洛阳地区的活动规律, 于 2022 年 6 月活动盛期分别在洛阳市河南科技大学 (HKD)、隋唐植物园 (STY) 和洛浦秋风园 (QFY) 样地各设 2 个样点, 每个样点采集访花的菜粉蝶 12 头, 共采集菜粉蝶成虫 72 头。具体采集信息见表 1。

表 1 菜粉蝶样本采集信息
Table 1 Sample collection information of *Pieris rapae*

样本 Sample	采集地点 Collecting sites	经纬度 Longitude and Latitude	海拔 (m) Altitude (m)	采集日期 (年.月.日) Date of collection (year.month.day)
HKD	河南科技大学 Henan University of Science and Technology	34.60° N, 112.42° E	150	2022.06.10
STY	隋唐植物园 Sui and Tang Botanical Garden	34.64° N, 112.45° E	142	2022.06.15
QFY	洛浦秋风园 Luopu Autumn Wind Garden	34.63° N, 112.41° E	147	2022.06.28

1.2 菜粉蝶肠道及 DNA 提取

将采集的菜粉蝶样本置于超净工作台下拉取肠道。方法: 将每头菜粉蝶个体用 1.5% NaOCl 洗涤 10 s, 然后用双蒸水漂洗 2 次。处理完毕后, 用尖头镊子从蝴蝶腹部拉取出肠道。每 6 头蝴蝶的肠道为 1 个监测样本, 每样地 2 个样点, 3 个样地共监测 6 个样本。在每个肠道样本中加入液氮充分研磨后, 使用 E.Z.N.A.® Soil DNA Kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA) 按照试剂盒说明书抽提基因组 DNA, 抽取后利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3 PCR 扩增和测序

本研究使用的 PCR 仪为 ABI GeneAmp® 9700 型, 扩增对象为植物核基因组的 ITS2 区基因序列, 上游扩增引物为 ITSS2F: 5'-ATGCGAT ACTTGGTGTGAAT-3'; 下游扩增引物为 ITS4R: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (张可等, 2022)。PCR 采用 TransStart Fastpfu DNA Polymerase, 20 μL 反应体系: 4 μL 5×FastPfu Buffer, 2.5 μL 2.5 mmol/L dNTPs, 上下游引物各 0.8 μL, 0.4 μL FastPfu Poiymerase, 2 μL 样本

DNA (5 ng/μL), 双蒸水补足至 20 μL。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 共 29 个循环; 72 °C 再延伸 10 min; 10 °C 保存。每个样本 3 个重复, 将同一样本的 PCR 产物混合后用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测纯化, 送至上海凌恩生物科技有限公司基于 Illumina MiSeq 平台进行 Illumina PE250 测序。

1.4 序列质控和过滤

使用 Trimmomatic 过滤 read 尾部质量值 20 以下的碱基 (Bolger *et al.*, 2014); 利用 FLASH v1.2.11 对短片段进行拼接, 最小重叠长度为 10 bp, 重叠区最大错配比率为 0.2 (Magoč and Salzberg, 2011), 根据序列首尾两端的条形码和引物区分样品, 并调整序列方向, 允许的错配数为 0, 最大引物错配数为 2; 用 Usearch v10.0 (<http://drive5.com/uparse/>) 和 gold 数据库, 采用 denovo 和 reference 结合的方式去除嵌合体 (Edgar, 2013)。

1.5 OTU 聚类及注释

使用 Usearch v10.0 (<http://drive5.com/uparse/>)

软件按照 97%相似性对非重复序列（不含单序列）进行操作分类单元（Operational taxonomic unit, 简称 OTU）聚类，得到 OTU 的代表序列（Edgar, 2013）。通过 RDP 数据库（<http://rdp.cme.msu.edu/>）对 OTU 代表序列进行物种鉴定和分类注释（Kõljalg *et al.*, 2013）。由于本研究使用的引物具有通用性，根据样地的植被生态背景，移除非植物和非样地内植物种类的 OTU 序列。

1.6 数据分析

所有的样本信息以及分子测序的数据统计均使用 Excel 2019 软件。使用 mothur v.1.30.1 软件（http://www.mothur.org/wiki/Schloss_SOP#Alpha_diversity）进行指数分析，绘制 Shannon-Wiener 曲线，用于指数评估的 OTU 相似水平为 97%（Schloss *et al.*, 2011）。Qiime v.1.9.0 计算 beta 多样性距离矩阵，绘制 Rank-Abundance 曲线，R 3.6.3 中“ggplot”软件包绘制样本间距离 heatmap 图。

2 结果与分析

2.1 菜粉蝶肠道食物测序数据及物种注释

本研究 6 个样本共获得 222 363 条有效序列，碱基数 73 275 209 bp，平均长度 329.53 bp，序列按照 97%的相似水平进行聚类获得 240 个 OUTs。采用 uclust 算法对 97%相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析，注释结果为 31 科 65 属 78 种植物（表 2）。

2.2 菜粉蝶肠道内容物植物种类及相对丰度

通过对 3 个样地 6 个样本的菜粉蝶肠道内容物进行 DNA 测序鉴定，得到 31 科 65 属 78 种植物的物种组成和相对丰度（图 1）。在科分类阶元上，相对丰度较高的有十字花科 Brassicaceae、菊科 Asteraceae、木樨科 Oleaceae、壳斗科 Fagaceae、马鞭草科 Verbenaceae、无患子科 Sapindaceae、唇形科 Lamiaceae、胡桃科 Juglandaceae 和酢浆草科 Oxalidaceae 等。其中以十字花科和菊科为优势类群，相对丰度分别为 48.49%和 18.40%。在属分类阶元上，相对丰度较高的有芸薹属 *Brassica*、豆瓣菜属 *Nasturtium*、

表 2 菜粉蝶肠道内容物测序基本信息
Table 2 Basic information of intestinal contents sequencing of *Pieris rapae*

样本 Sample	科 Family	属 Genus	种 Species	OTU
HKD-1	23	38	46	138
HKD-2	18	34	41	147
QFY-1	22	35	46	76
QFY-2	21	34	45	75
STY-1	18	32	35	63
STY-2	18	33	38	69
总计 Total	31	65	78	240

HKD: 河南科技大学; QFY: 洛浦秋风园; STY: 隋唐植物园; OUT: 操作分类单元。下表及下图同。

HKD: Henan University of Science and Technology; QFY: Luopu Autumn Wind Garden; STY: Sui and Tang Dynasties City Ruins Botanical Garden; OUT: Operational taxonomic unit. The same for the following tables and figures.

女贞属 *Ligustrum*、矢车菊属 *Centaurea*、绿线菊属 *Thelesperma*、马鞭草属 *Verbena*、假还阳参属 *Crepidiastrum* 和向日葵属 *Helianthus* 等。其中以芸薹属和豆瓣菜属为优势类群，相对丰度分别为 31.62%和 15.63%。在种分类阶元上，相对丰度较高的有甘蓝、豆瓣菜 *Nasturtium officinale*、日本女贞 *Ligustrum japonicum*、矢车菊 *Centaurea cyanus*、绿线菊属的 *Thelesperma filifolium*、马鞭草属的 *Verbena litoralis*、尖裂假还阳参 *Crepidiastrum sonchifolium*、向日葵 *Helianthus annuus* 和栌 *Koeleria paniculata* 等。其中以甘蓝和豆瓣菜为优势类群，相对丰度分别为 30.35%和 15.63%。3 个样地的植物优势类群有所不同，HKD 的优势类群为十字花科、芸薹属和甘蓝，QFY 的优势类群为菊科、矢车菊属和矢车菊，STY 的优势类群为十字花科、豆瓣菜属和豆瓣菜。

2.3 菜粉蝶肠道植物多样性分析

利用 ACE 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数对各样地菜粉蝶肠道食性的多样性进行分析（表 3）。结果表明，HKD 的 ACE 指数最大（ 149.54 ± 5.95 ），并且显著大于 QFY

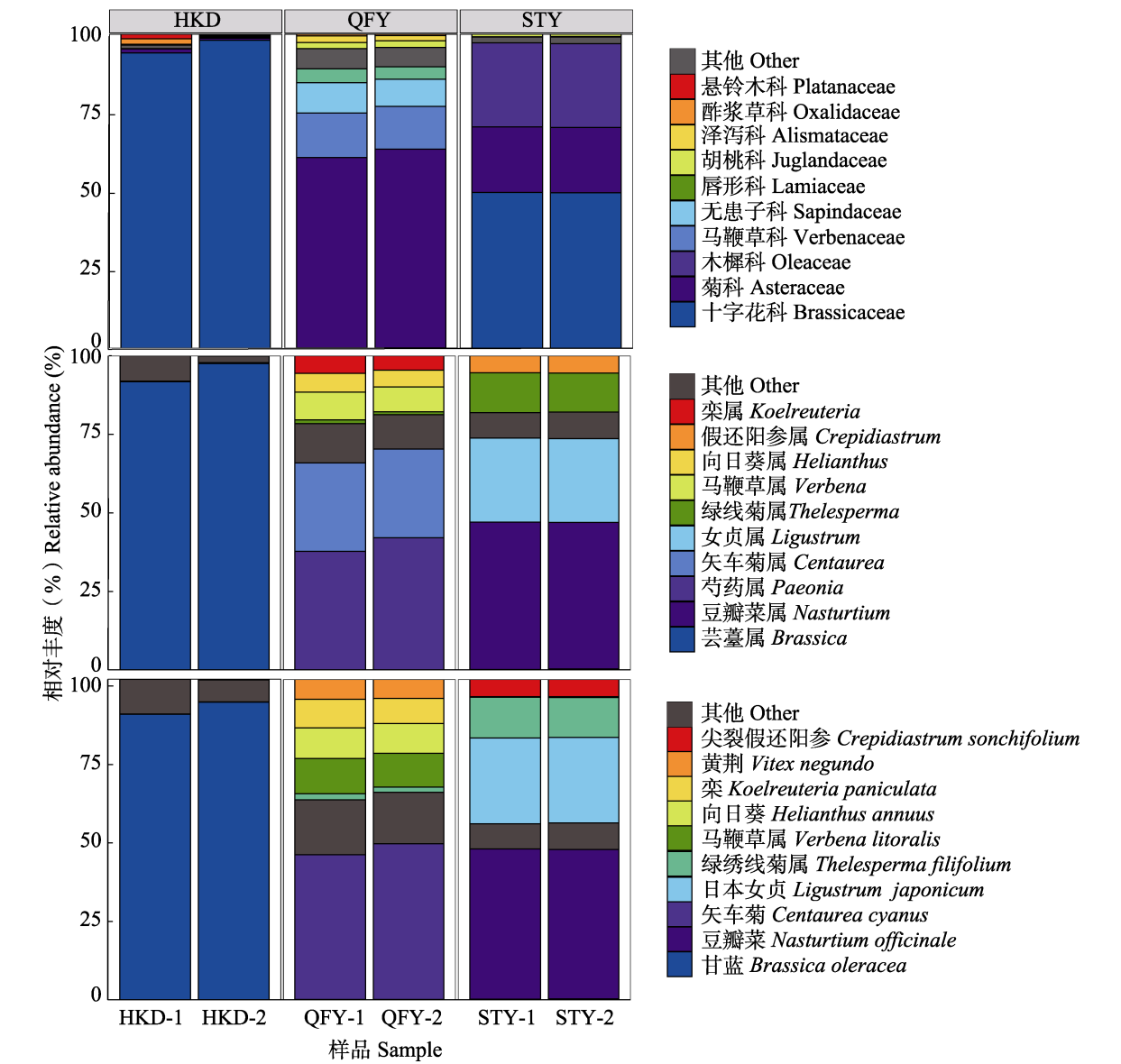


图 1 菜粉蝶肠道植物在科、属、种分类阶元的组成和相对丰度

Fig. 1 Composition and relative abundance of intestinal contents of *Pieris rapae* in families, genus and species level

表 3 不同地点菜粉蝶肠道植物多样性指数				
Table 3 Intestinal plant diversity index of <i>Pieris rapae</i> in different places				
地点 Site	ACE 指数 ACE index	香浓指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	覆盖度 Coverage
QFY	77.16 ± 1.16 b	4.18 ± 0.09 a	0.09 ± 0.01 b	99.99 ± 0.01 a
HKD	149.54 ± 5.95 a	2.88 ± 0.07 b	0.31 ± 0.04 a	99.96 ± 0.01 a
STY	76.36 ± 9.93 b	2.94 ± 0.01 b	0.23 ± 0.00 a	99.98 ± 0.01 a

表中同列数据后标有不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$, 单因素方差分析)。Data followed by the different lowercase letters in the same column indicate significantly different ($P<0.05$, one way-ANOVA).

(77.16 ± 1.16)和 STY(76.36 ± 9.93)($P<0.05$), 指数最大(4.18 ± 0.09),并且显著大于 HKD(2.88 ± 0.07)和 STY(2.94 ± 0.01)($P<0.05$); QFY 可得 HKD 的物种丰富度最大。QFY 的 Shannon

的 Simpson 指数最小 (0.09 ± 0.01), 并且显著小于 HKD (0.31 ± 0.04) 和 STY (0.23 ± 0.00) ($P < 0.05$)。QFY 的优势种的集中程度要高于 HKD 和 STY。3 个样地的 coverage 指数在 99.96%-99.99% 之间, 表明样本中的所有物种已基本覆盖, 测序深度科学合理。

2.4 Shannon-Wiener 曲线和 Rank-Abundance 曲线

利用各样本的测序量在不同测序深度时的

多样性指数构建 Shannon-Wiener 曲线 (图 2: A) 和 Rank-Abundance 曲线 (图 2: B)。通过 Shannon-Wiener 曲线, 可以看出 6 个样本的曲线趋势均趋向平坦平稳, 说明所有样本测序数据量足够大, 能够反应样本中的绝大多数生物信息。由 Rank-Abundance 曲线可以得出: HKD 物种丰富度最大, 其次是 QFY, STY 最小。HKD 的物种均匀度最高, 其次是 STY, QFY 最低。结果与 ACE 指数反映的物种丰富度相一致。

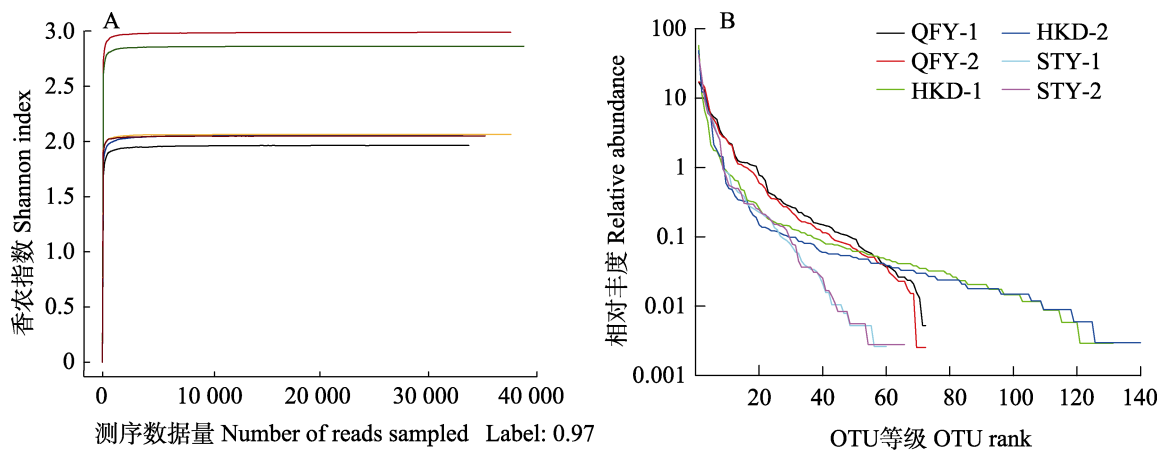


图 2 菜粉蝶肠道植物种类 Alpha 多样性指数构建 Shannon-Wiener 曲线 (A) 和 Rank-Abundance 曲线 (B)

Fig. 2 Construction of Shannon-Wiener curve (A) and Rank-Abundance curve (B) based on Alpha diversity index of intestinal plant species of *Pieris rapae*

2.5 组间距离分析

基于 Beta 多样性对样本间两两之间的差异系数作 heatmap 图, 对 3 个样地 6 个样本的组间距离进行多样性差异分析 (图 3)。由 heatmap 图可得, QFY-1 与 QFY-2 之间差异性较小, QFY-1 和 QFY-2 均与 HKD-1、HKD-2、STY-1 和 STY-2 之间的差异性较大; HKD-1 与 HKD-2 之间差异性较小, HKD-1 和 HKD-2 均与 QFY-1、QFY-2、STY-1 和 STY-2 之间的差异性较大; STY-1 与 STY-2 之间差异性较小, STY-1 和 STY-2 均与 QFY-1、QFY-2、HKD-1 和 HKD-2 之间的差异性较大。菜粉蝶肠道植物种类在同一地点内差异性较小, 不同地点差异性较大。

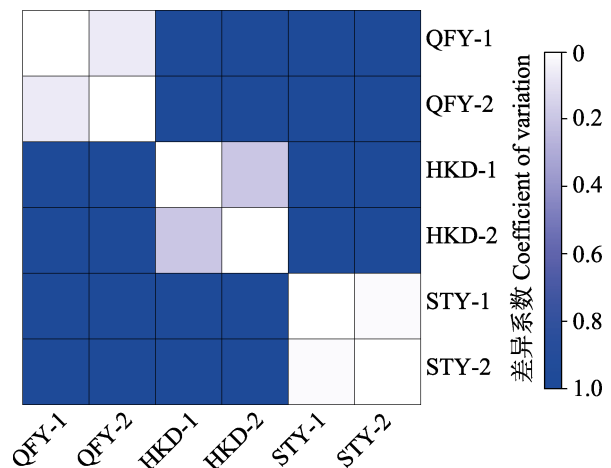


图 3 菜粉蝶肠道植物种类 Beta 多样性分析 heatmap 图
Fig. 3 Beta diversity analysis of intestinal plant species heatmap of *Pieris rapae*

3 讨论

利用 DNA 宏条形码技术对肠道内容物高通量测序可以鉴定植物种类和多样性分析,常用的识别物种序列有叶绿体基因编码区(例: *rbcL* 片段)、间隔区片段(例: *trnH-psbA* 片段)和核基因(例: *ITS* 片段)(Kress and Erickson, 2007; Lahaye *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2010)。植物核基因中 *ITS2* 序列在昆虫食性分析中有高通用性、高灵敏度和高准确率的优点,适用于传粉昆虫与植物相互作用关系网络的研究(Richarlson *et al.*, 2015; 何波等, 2020)。

本研究利用 *ITS2* 序列成功注释出菜粉蝶肠道植物的物种组成和相对丰度。基于测序后的 OUT 水平进行 Alpha 多样性分析,得到不同地点菜粉蝶肠道中植物的群落丰富度、丰度和优势度均匀程度不同。通过菜粉蝶肠道植物种类能够反映出采集样点的开花植物丰富度和种类不同。QFY 开花植物较丰富,可供菜粉蝶选择性访问; HKD 开花植物种类较为单一,但开花植物分布集中且数量多; STY 开花植物较少且单一。基于 Beta 多样性分析,发现 3 个城市绿地菜粉蝶肠道植物种类,在同一地点差异较小,在不同地点差异性较大。表明菜粉蝶能够根据不同的微生境作出不同的取食策略,且其肠道植物种类能够反映栖息地植物的多样性程度。植物 DNA 宏条形码技术为研究蝴蝶与生境内植物间的协同共存机制提供了新方法。

早期学者研究菜粉蝶相互作用关系(传粉和寄生)的植物有十字花科、白花菜科、菊科、旋花科、百合科、茄科、藜科、苋科和木樨草科植物(伍有声等, 2000; 吴海盼等, 2019)。本研究检测出了十字花科、菊科、旋花科、茄科、藜科和苋科等 31 科的植物,没有检测到白花菜科、百合科和木樨草科,可能是在样地中没有人工引入该科植物。利用分子技术与传统方法相结合,能够更加完善的探明菜粉蝶和植物间的相互作用关系。Egeter 等(2015)利用高通量测序技术研究褐家鼠 *Rattus norvegicus*、小鼠 *Mus musculus* 和普通刺猬 *Erinaceus europaeus* 摄食蛙的种类,

与传统观察法相比,检测率从 2%提升到 70%。本研究结果中,存在牡丹、栓皮栎和麻栎等物种分布和花期范围与菜粉蝶样品采集时间和地点有偏差的植物种类被检出,原因可能是:(1)样品本身及其食性的异质性,在进行 PCR 试验的过程中无法避免引入未知的偏向性;(2)食物在肠道中被消化程度的差异以及肠道内容物中未知化学成分对 PCR 反应的抑制作用差异,导致分析中出现假阴性结果;(3)同一条序列可能与多个物种高度匹配,区域物种生物信息不足时,只能将其归类为包含该序列的上一级分类单元。可通过对本底植物的调查以及补充完善潜在植物种类的序列数据库来提高食性分析的分类精确度。DNA 宏条形码技术不受动物摄食种类的限制,具有高敏感性和稳健性,适用于蝴蝶肠道植物种类检测,对蝴蝶与栖息地植物的生物多样监测有重要的应用价值,能够快速探究蝴蝶与植物间的关系网络信息。

昆虫是城市生物多样性的重要组成部分。城市环境中,局部生境资源是维持蝴蝶种群的决定性因素之一,城市绿地为城市中的蝴蝶群落提供了绝大多数的栖息地。城市生物多样性的保护,不仅要关注物种本身,更要注重物种与物种间的相互作用关系(韩丹等, 2021)。菜粉蝶幼虫取食农作物,给农业造成了巨大危害,但在羽化后,成虫为植物传粉,促进植物的授粉(旦智措等, 2018)。20 世纪 80 年代, Lazari 和 Barrows(1984)研究了华盛顿地区的一个大型城市蔬菜上和花卉花园中菜粉蝶的访花和身体携粉情况,菜粉蝶访问了 38 种开花植物,并且在喙和腿部携带花粉,证实了菜粉蝶在城市生境中有着重要的传粉价值。蝴蝶成虫肠道植物种类有助于了解蝴蝶与植物交互关系,但能否揭示蝴蝶的传粉服务功能需要进一步探究。通过研究蝶类群落与绿地植物间的交互,可以构建蝴蝶-植物互作关系网络,调节生态系统的平衡稳定。因此,基于植物 DNA 条形码的食性研究,为协调菜粉蝶在幼虫时期危害植物和成虫传粉的平衡提供了新的技术方法,为探明传粉昆虫-植物-植食性昆虫间的互作网络关系开辟了新的思

路,有效促进城市生态系统的生物多样性和功能的稳定。

参考文献 (References)

- Bolger AM, Lohse M, Usadel B, 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15): 2114–2120.
- Chen L, Xiong HL, Xu YC, Li YH, 2014. Developmental value and usage of the butterflies of maolan nature reserve. *Journal of Qiannan Normal College of Nationalities*, 34(2): 112–115. [陈麟, 熊洪林, 徐业成, 李玉红, 2014. 茂兰自然保护区蝴蝶的开发价值及利用. 黔南民族师范学院学报, 34(2): 112–115.]
- Chen SL, Yao H, Han JP, Liu C, Song JY, Shi LC, Zhu YJ, Ma XY, Gao T, Pang XH, Luo K, Li Y, Li XW, Jia XC, Lin YL, Leon C, 2010. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PLoS ONE*, 5(1): e8613.
- da Silva Santos R, de Oliveira Milfont M, Silva MM, Carneiro LT, Castro CC, 2020. Butterflies provide pollination services to macadamia in northeastern Brazil. *Scientia Horticulturae*, 259: 108818.
- Dan ZC, Bao M, Ma CX, Li LL, Hao HW, Cheng F, Cai XZM, Chen ZN, 2018. Community structure and butterfly diversity in different habitat types in the Qinghai Yushu plateau. *Acta Ecologica Sinica*, 38(21): 7557–7564. [旦智措, 鲍敏, 马存新, 李雷雷, 郝会文, 成帆, 才项卓玛, 陈振宁, 2018. 青海玉树高原不同生境类型蝶类群落结构与多样性. 生态学报, 38(21): 7557–7564.]
- Ding CY, Zhao L, Liu S, Li MY, 2021. Molecular characterization of heat shock protein 70 (HSP70) genes from *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) and their responses to insecticide stress. *Acta Entomologica Sinica*, 64(12): 1407–1416. [丁朝阳, 赵乐, 刘苏, 李茂业, 2021. 菜粉蝶热激蛋白 70 (HSP70) 基因的分子特性及其对杀虫剂胁迫的响应. 昆虫学报, 64(12): 1407–1416.]
- Edgar RC, 2013. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 10(10): 996–998.
- Egater B, Bishop PJ, Robertson BC, 2015. Detecting frogs as prey in the diets of introduced mammals: A comparison between morphological and DNA-based diet analyses. *Molecular Ecology Resources*, 15(2): 306–316.
- Fang HT, Si QBT, 2007. Blossom character and insect pollination of *Prunus mongolica* Maxin. *Chinese Journal of Ecology*, 26(2): 177–181. [方海涛, 斯琴巴特, 2007. 蒙古扁桃的花部综合特征与虫媒传粉. 生态学杂志, 26(2): 177–181.]
- Galliot JN, Brunel D, Bérard A, Chauveau A, Blanchetête A, Lanore L, Farruggia A, 2017. Investigating a flower-insect forager network in a mountain grassland community using pollen DNA barcoding. *Journal of Insect Conservation*, 21(5): 827–837.
- Guo L, Qin F, Yang XH, Zhou SY, 2011. Analysis on bibliometrics of researches of butterflies in China. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 27(4): 376–380. [郭丽, 秦峰, 杨小华, 周善义, 2011. 国内鳞翅目蝶类昆虫研究的文献计量学分析. 中国农学通报, 27(4): 376–380.]
- Gupta H, Tiwari C, Diwakar S, 2019. Butterfly diversity and effect of temperature and humidity gradients on butterfly assemblages in a sub-tropical urban landscape. *Tropical Ecology*, 60: 150–158.
- Hambler C, Speight MR, 2004. Extinction rates and butterflies. *Science*, 305(5690): 1563–1565.
- Han D, Wang C, Yin LQ, 2021. Characteristics of butterfly-nectar plant network in Beijing's urban parks and identifying important nectariferous plant species. *Acta Ecologica Sinica*, 41(22): 8892–8905. [韩丹, 王成, 殷鲁秦, 2021. 北京城市蝴蝶蜜源植物网络特征及重要蜜源植物识别. 生态学报, 41(22): 8892–8905.]
- Hao DJ, Hu HT, Chen J, Chen RX, Ling MQ, Chen MY, 2015. Visiting insects species and their behavior characteristics of flowering plants in early spring in Nanjing city. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 39(1): 33–38. [郝德君, 胡海桃, 陈娟, 陈瑞旭, 凌梦沁, 陈梦义, 2015. 南京市早春访花昆虫种类及其行为研究. 南京林业大学学报(自然科学版), 39(1): 33–38.]
- He B, Gu ZY, Li HY, Huang DY, 2020. Analysis of species and diversities in the pollen plants of *Megachile strupigera* (Hymenoptera: Megachilidae) by DNA barcoding. *Acta Ecologica Sinica*, 40(6): 2122–2129. [何波, 谷战英, 李红英, 黄敦元, 2020. 基于DNA条形码的白斑切叶蜂粉源植物种类及多样性分析. 生态学报, 40(6): 2122–2129.]
- Javier PB, Trobajo R, Vasselon V, Rimet F, Bouchez A, Mann DG, 2020. Evaluation and sensitivity analysis of diatom DNA metabarcoding for WFD bioassessment of mediterranean rivers. *Science of the Total Environment*, 727: 138445.
- Jia HR, Liu YQ, Li XK, Li H, Pan YF, Hu CX, Zhou XY, Wyckhuys KAG, Wu KM, 2022. Windborne migration amplifies insect-mediated pollination services. *eLife*, 11: e76230.
- Köljal U, Nilsson RH, Abarenkov K, Tedersoo L, Taylor AFS, Bahram M, Bates ST, Bruns TD, Bengtsson-Palme J, Callaghan TM, Douglas B, Drenkhan T, Eberhardt U, Dueñas M, Grebenc T, Griffith GW, Hartmann M, Kirk PM, Kohout P, Larsson E, Lindahl BD, Lücking R, Martín MP, Matheny PB, Nguyen NH,

- Niskanen T, Oja J, Peay KG, Peintner U, Peterson M, Põldmaa K, Saag L, Saar I, Schübler A, Scott JA, Senés C, Smith ME, Suija A, Taylor DL, Telleria MT, Weiss M, Larsson KH, 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology*, 22(21): 5271–5277.
- Kress WJ, Erickson DL, 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: The coding *rbcL* gene complements the noncoding *trnH-psbA* spacer region. *PLoS ONE*, 2(6): e508.
- Lahaye R, van der Bank M, Bogarin D, Warner J, Pupulin F, Gigot G, Maurin O, Duthoit S, Barraclough TG, Savolainen V, 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(8): 2923–2928.
- Lazri B, Barrows EM, 1984. Flower visiting and pollen transport by the imported cabbage butterfly (Lepidoptera: Pieridae) in a highly disturbed urban habitat. *Environmental Entomology*, 13(2): 574–578.
- Liu LD, Li W, Zhu N, Shen JH, Zhao HX, 2002. The relations among the nectar secretive rhythms, nectar compositions and diversities of floral visitors for both *Eleutherococcus senticosus* and *E. sessiliflorus*. *Acta Ecologica Sinica*, 22(6): 847–853. [刘林德, 李玮, 祝宁, 申家恒, 赵惠勋, 2002. 刺五加、短梗五加的花蜜分泌节律、花蜜成分及访花者多样性的比较研究. 生态学报, 22(6): 847–853.]
- Lu YH, 2014. Occurrence, harm and prevention techniques for cabbage pests. *Fujian Agricultural Science and Technology*, 2014(7): 56–59. [陆裕华, 2014. 甘蓝主要虫害的发生为害及防治. 福建农业科技, 2014(7): 56–59.]
- Magoč T, Salzberg SL, 2011. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27(21): 2957–2963.
- Nowicki P, Settle J, Henry PY, Woyciechowski M, 2008. Butterfly monitoring methods: The ideal and the real world. *Israel Journal of Ecology and Evolution*, 54(1): 69–88.
- Pornon A, Escaravage N, Burrus M, Holota H, Khimoun A, Mariette J, Pellizzari C, Iribar A, Etienne R, Taberlet P, Vidal M, Winterton P, Zinger L, Andalo C, 2016. Using metabarcoding to reveal and quantify plant-pollinator interactions. *Scientific Reports*, 6: 27282.
- Richardson RT, Lin CH, Sponsler DB, Quijia JO, Goodell K, Johnson RM, 2015. Application of ITS2 metabarcoding to determine the provenance of pollen collected by honey bees in an agroecosystem. *Applications in Plant Sciences*, 3(1): 1400066.
- Schloss PD, Gevers D, Westcott SL, 2011. Reducing the effects of PCR amplification and sequencing artifacts on 16S rRNA-based studies. *PLoS ONE*, 6(12): e27310.
- Shi HA, Chen HL, Wang LJ, She YP, Wang LH, 2019. Research status on control of Pieridae. *Hubei Plant Protection*, 2019(6): 33–35, 61. [史红安, 陈湖莲, 王丽君, 余艳萍, 王立华, 2019. 菜粉蝶防治研究现状. 湖北植保, 2019(6): 33–35, 61.]
- Sun Y, Zhuo LH, 2009. Study on pollinating insects of *Agapanthus africanus* and their foraging behavior. *Acta Agriculturae Shanghai*, 25(1): 87–91. [孙颖, 卓丽环, 2009. 百子莲的传粉昆虫及其访花行为研究. 上海农业学报, 25(1): 87–91.]
- Thomas JA, 2005. Monitoring change in the abundance and distribution of insects using butterflies and other indicator groups. *Philosophical Transactions of The Royal Society B*, 360(1454): 339–357.
- Wang W, Li JS, 2021. In-situ conservation of biodiversity in China: Advances and prospects. *Biodiversity Science*, 29(2): 133–149. [王伟, 李俊生, 2021. 中国生物多样性就地保护成效与展望. 生物多样性, 29(2): 133–149.]
- Wang W, Liu Y, Chen FD, Dai HG, 2008. Behavior and activity rhythm of flower-visiting insects on *Chrysanthemum morifolium* in Nanjing suburb. *Chinese Journal of Ecology*, 27(7): 1167–1172. [王伟, 刘勇, 陈发棣, 戴华国, 2008. 南京郊区小菊访花昆虫的行为与活动规律. 生态学杂志, 27(7): 1167–1172.]
- Weng QF, Zhao Z, Cao ZM, Zhai Q, 2021. Sequencing and analysis of the mitochondrial genome of *Pieris rapae*. *Journal of Henan Agricultural University*, 55(5): 882–889. [瓮青芬, 赵卓, 曹振民, 翟卿, 2021. 菜粉蝶线粒体基因组序列测定与分析. 河南农业大学学报, 55(5): 882–889.]
- Wu CS, Xu YF, 2017. Butterflies of China Vol.1–4. Fuzhou: Strait Publishing and Distribution Group. 2036. [武春生, 徐培峰, 2017. 中国蝴蝶图鉴 Vol. 1–4. 福州: 海峡出版发行集团. 2036.]
- Wu HP, Li J, Lu W, Zheng XL, 2019. Species diversity and fauna analysis of butterfly in Guangxi (II). *Guangxi Plant Protection*, 32(2): 1–9. [吴海盼, 李俊, 陆温, 郑霞林, 2019. 广西蝴蝶种类多样性及其区系分析(二). 广西植保, 32(2): 1–9.]
- Wu YS, Dong ZL, Liu DM, Gao ZZ, 2000. A list of butterflies in south China botanical garden. *Forestry and Environmental Science*, 16(3): 41–47. [伍有声, 董祖林, 刘东明, 高泽正, 2000. 华南植物园蝶类名录. 林业与环境科学, 16(3): 41–47.]
- Xu AL, Dong BX, Peng XH, Xu QY, Li ZG, 2020. Study on the features of butterfly pollinator communities in crucial ecological regions of the Pearl River Delta. *Journal of Environmental Entomology*, 42(5): 1044–1050. [徐安乐, 董冰雪, 彭孝含, 徐齐云, 李志刚, 2020. 珠三角重要生态区域蝶类群落携粉特征研究. 环境昆虫学报, 42(5): 1044–1050.]

- Zhang X, Li CL, Zheng QM, Yan ZC, Liao H, Zhou JY, 2019. Cloning and expression analysis of chymotrypsin gene *PrCT1* of *Pieris rapae*. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 48(9): 74–81. [张炯, 李超林, 郑乔木, 严子成, 廖海, 周嘉裕, 2019. 菜青虫胰凝乳蛋白酶基因 *PrCT1* 的克隆及表达分析. 河南农业科学, 48(9): 74–81.]
- Zhang HF, Li LQ, Liu ZJ, Luo YB, 2010. The butterfly *Pieris rapae* resulting in the reproductive success of two transplanted orchids in a botanical garden. *Biodiversity Science*, 18(1): 11–18. [张洪芳, 李利强, 刘仲健, 罗毅波, 2010. 菜粉蝶对两种迁地保护的兰科植物传粉和繁殖成功的作用. 生物多样性, 18(1): 11–18.]
- Zhang K, Wang LL, Dang XQ, Li XD, Li Y, Lu HH, Niu ZQ, Yuan F, Zhu CD, Huang DY, 2022. Analysis of species and diversities in the pollen plants of *Nomia chalybeate* (Hymenoptera: Halictidae) using DNA metabarcoding technique. *Acta Ecologica Sinica*, 42(11): 4504–4514. [张可, 王林玲, 党晓群, 李旭东, 李月, 陆欢欢, 牛泽清, 袁峰, 朱朝东, 黄敦元, 2022. 基于 DNA 宏条形码技术的蓝彩带蜂粉源植物多样性研究. 生态学报, 42(11): 4504–4514.]
- Zhao L, Xia H, Qian Q, Xu Y, Li K, 2017. Identification and developmental pattern of *Osiris* gene family in the cabbage butterfly *Pieris rapae*. *Journal of Environmental Entomology*, 39(6): 1319–1325. [赵磊, 夏昊, 钱强, 徐圆, 李凯, 2017. 菜粉蝶 *Osiris* 基因家族鉴定与发育动态. 环境昆虫学报, 39(6): 1319–1325.]

封面介绍

削疣蝽 *Cazira frivaldskyi* Horváth, 1899

体中型，深褐色。头基半黑褐色，中线和端半黄白色。触角黑褐色。喙红褐色。前胸背板表面强烈皱褶，中纵脊黄白色，前角呈短刺状突出。小盾片基半具 1 对大瘤突，其后缘平削，削面黄褐色，端半具 2 列刻点，顶端匙状卷起。前足胫节叶状扩展，金属蓝色。前翅远超腹末。

本期封面照片是在大别山区生物多样性综合科学考察中，于 2023 年 7 月 6 日拍摄于安徽省六安市霍山县诸佛庵镇西石门村。成虫正在取食鳞翅目幼虫，拍摄中没有被相机闪光灯干扰，一直在取食，大概 5 min 左右，食物被“吸干”，只留下外骨骼。

感谢刘华希博士帮忙鉴定物种，感谢大别山区生物多样性综合科学考察（2019FY101800）项目资助。

（姜春燕，中国科学院动物研究所）