

# 新疆棉花蚜虫-寄生蜂食物网结构的分子检测体系

李金花<sup>1,2</sup> 李海强<sup>3</sup> 杨帆<sup>1,4</sup> 吴月坤<sup>1</sup> 张建萍<sup>5</sup> 陆宴辉<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193; 2. 海南大学植物保护学院, 热带农林生物灾害绿色防控教育部重点实验室, 海口 570228; 3. 新疆农业科学院植物保护研究所, 乌鲁木齐 830091; 4. 北京市农业科学院植物保护环境保护研究所, 北方果树病虫害绿色防控北京市重点实验室, 北京 100097; 5. 石河子大学农学院, 新疆绿洲农业病虫害治理与植保资源利用重点实验室, 石河子 832003)

**摘要:** 为明确新疆棉花蚜虫-寄生蜂的食物网结构, 通过设计新疆棉花蚜虫和寄生蜂的特异性引物, 建立并优化可以在物种水平上开展棉花蚜虫-寄生蜂食物网结构分析的分子检测方法, 该方法包括3个多重PCR检测体系(cMP1、cPriMP2和cHypMP3)和1个单一PCR(cSP1)检测体系, 并应用建立的方法对采自库尔勒、阿克苏、昌吉的2383头僵蚜样品进行分子检测。结果表明, 4个体系的灵敏度均较高, 其中蚜虫cMP1体系的检出限为500 DNA拷贝数, 初级寄生蜂cPriMP2体系的检出限为5000 DNA拷贝数, 重寄生蜂cHypMP3和cSP1体系的DNA检出限分别为500拷贝数和100拷贝数。该方法能够快速且准确地鉴定4种棉花蚜虫、4种初级寄生蜂和7种重寄生蜂, 特异性良好。使用该方法对供试僵蚜样品进行检测并成功绘制出新疆棉花蚜虫-初级寄生蜂-重寄生蜂食物网, 定量分析了不同初级寄生蜂对蚜虫的寄生作用及重寄生蜂与初级寄生蜂之间形成的食物网关系。表明所建立的分子检测方法可以用于评估不同种类寄生蜂在新疆棉花蚜虫种群控制中的生态功能, 解析物种间的食物网关系。

**关键词:** 蚜虫-初级寄生蜂-重寄生蜂; 食物网; 物种特异性引物; 分子检测; 多重PCR

## A molecular detection approach for assessing cotton aphid-primary parasitoid-hyperparasitoid food webs in Xinjiang, China

Li Jinhua<sup>1,2</sup> Li Haiqiang<sup>3</sup> Yang Fan<sup>1,4</sup> Wu Yuekun<sup>1</sup> Zhang Jianping<sup>5</sup> Lu Yanhui<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Key Laboratory of Green Prevention and Control of Tropical Plant Diseases and Pests, Ministry of Education; College of Plant Protection, Hainan University, Haikou 570228, Hainan Province, China; 3. Institute of Plant Protection, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; 4. Beijing Key Laboratory of Environmentally Friendly Management on Pests of North China Fruits, Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China; 5. Key Laboratory of Oasis Agricultural Pest Management and Plant Protection Resources Utilization, College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi 832003, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China)

**Abstract:** In order to clarify the aphid-parasitoid food web structure in Xinjiang cotton fields, a molecular approach was developed and optimized based on the species-specific primers designed for cotton aphids and their parasitoids, which can be used for the aphid-parasitoid food web structure analysis at species-specific level. This molecular approach included three multiplex PCRs (cMP1, cPriMP2 and

基金项目: NSFC-新疆联合基金重点支持项目(U2003212), 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(CARS-15-19)

\* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: luyanhui@caas.cn

收稿日期: 2021-07-24

cHypMP3) and one singleplex PCR (cSP1). A total of 2 383 mummy samples, collected from different areas of Xinjiang, including Korla, Changji and Aksu, were detected by this approach. The results showed that, in the sensitivity detections, the detection limits were 500, 5 000, 500 and 100 DNA copies for aphid system cMP1, primary parasitoid system cPriMP2, hyperparasitoid systems cHypMP3 and cSP1, respectively. This molecular approach could be used for rapid and accurate identification of four aphid, four parasitoid and seven hyperparasitoid species in Xinjiang cotton fields. Based on the results of mummy samples, a tri-trophic aphid-primary parasitoid-hyperparasitoid food web was sketched, and the parasitism effect of each primary parasitoid and the interactions between different primary parasitoids and hyperparasitoids were analyzed quantitatively. The results indicated that the approach provided in the present study could be used for evaluating the ecological functions of various parasitoids in aphid population suppression and analyzing the food web interactions in Xinjiang.

**Key words:** aphid-primary parasitoid-hyperparasitoid; food web; species specific primer; molecular detection; multiplex PCR

新疆维吾尔自治区(简称新疆)是我国重要的棉花种植区,当前每年产量占我国棉花总产量的4/5以上,在全国棉花产业发展中具有重要地位。蚜虫是新疆棉花生产中的一类重大害虫,主要包括棉蚜 *Aphis gossypii*、棉长管蚜 *Acyrtosiphon gossypii* 和棉黑蚜 *Aphis craccivora*,偶尔会有桃蚜 *Myzus persicae* 发生(李号宾等,2008)。天敌昆虫在棉田蚜虫种群控制中具有重要作用(潘洪生等,2018;陆宴辉等,2020)。Li et al.(2018)通过形态学鉴定对新疆南疆和北疆棉田蚜虫的寄生蜂种类组成进行了系统调查,共发现4种初级寄生蜂和12种重寄生蜂。然而,新疆棉田不同种类的蚜虫、初级寄生蜂、重寄生蜂之间的食物关系尚不清楚。

一直以来,形态学鉴定被应用于不同寄生蜂的寄主特异性或蚜虫与寄生蜂的相互作用研究中(Müller et al., 1999; Hrčák & Godfray, 2015)。然而,蚜虫-寄生蜂食物网物种组成和食物关系复杂,涉及蚜虫与初级寄生蜂之间的寄生作用(MacFadyen et al., 2009)、初级寄生蜂与重寄生蜂形成的重寄生作用(Morris et al., 2001),以及多种初级寄生蜂同时寄生蚜虫的多寄生现象等(Boivin & Brodeur, 2006; Kos et al., 2012),这些很难通过形态学鉴定等传统方法予以全面解析。近年来,基于PCR扩增技术的分子标记方法逐渐成为研究蚜虫-寄生蜂营养关系的重要手段,如诊断PCR利用特异性引物,根据PCR扩增产物的大小判断昆虫种类(Traugott et al., 2013),被广泛应用于不同生境寄主特异性和寄生率评估等研究中。与传统方法相比,这种方法能够检测到寄主蚜虫体内未发育成熟的寄生蜂种类,成功解决了寄生蜂个体小、鉴定难的问题,而且良好的特

异性引物也能很好地区分形态特征相近的物种(Persad et al., 2004)。豆柄瘤蚜茧蜂 *Lysiphlebus fabarum* 是多种蚜虫的重要天敌,已报道的柄瘤蚜茧蜂属 *Lysiphlebus* 寄生蜂达30余种(Kambhampati et al., 2000),不同种类之间形态特征差异小,鉴定难度较大(Kaldehy et al., 2012)。Kaldehy et al.(2012)针对豆柄瘤蚜茧蜂设计了1对特异性引物,可扩增148 bp大小的线粒体ATPase 6基因片段,能够很好地完成该种寄生蜂的鉴定。Cocco et al.(2009)以ITS为靶标基因设计了茶足柄瘤蚜茧蜂 *Lysiphlebus testaceipes* 和伸长径蚜茧蜂 *Lipolexis oregmae* 的特异性引物,评估了2种寄生蜂对橘蚜 *Toxoptera citricidus* 的寄生效率。

近十几年,多重PCR逐渐成为物种鉴定和害虫-天敌相互作用研究的重要手段。Traugott et al.(2008)结合多重PCR和单一PCR完成了冬小麦上主要蚜虫麦长管蚜 *Sitobion avenae* 及其初级寄生蜂和重寄生蜂的快速鉴定,揭示了麦长管蚜初级寄生蜂存在多寄生现象。Garipey & Messing(2012)通过2个多重PCR体系鉴定了瓜蚜的5种初级寄生蜂及2种重寄生蜂,对比分析了传统方法中忽略的初级寄生蜂-重寄生蜂的相互作用。Zhu et al.(2019)结合多重PCR和单一PCR揭开了我国华北地区棉田棉蚜与寄生蜂资源之间的相互作用,绘制了棉蚜-初级寄生蜂-重寄生蜂食物网。单一PCR有较好的特异性和灵敏度,多重PCR可同时鉴定多个物种,两者的结合不仅提高了物种鉴定的准确性,而且极大地节约了时间,为更加快速、准确地揭示蚜虫-寄生蜂之间的相互作用提供了有效方法。本研究拟利用诊断PCR(多重PCR和单一PCR)建立一种能够

快速、准确鉴定新疆棉花蚜虫及其寄生蜂的分子检测方法,并定量描述新疆棉田蚜虫-初级寄生蜂-重寄生蜂之间的三级营养关系,以期阐明不同寄生蜂在新疆棉花蚜虫种群控制中的生态功能和制订天敌保育利用措施提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试僵蚜:于2015—2017年在新疆库尔勒、阿克苏和昌吉市棉田采集僵蚜,将其分为2部分,一部分僵蚜带回室内,在常温下放置观察,并对羽化出来的寄生蜂进行形态学鉴定(Li et al., 2018)。鉴定获得4种蚜虫初级寄生蜂——棉蚜刺茧蜂 *Binodoxys communis*、豆柄瘤蚜茧蜂、亚洲三叉蚜茧蜂 *Trioxys asiaticus* 和有须蚜外茧蜂 *Praon barbatum*; 获得12种蚜虫重寄生蜂,本研究对其中7种(占重寄生蜂总数的97.74%)进行特异性引物设计并开发检测方法,包括蚜蝇跳小蜂属 *Syrphophagus* 的蚜虫蚜蝇跳小蜂 *S. aphidivorus*、*S. taeniatus* 和 *Syrphophagus* sp. 以及蚜虫宽缘金小蜂 *Pachyneuron aphidis*、黄足分盾细蜂 *Dendrocerus laticeps*、宽肩阿莎金小蜂 *Asaphes suspensus* 和栗大蚜瘿蜂 *Alloxysta* sp.。将这些已鉴定的寄生蜂单头保存于装有75%乙醇的1.5 mL离心管内,用于检测体系构建。另一部分僵蚜带回室内后直接放在95%乙醇中保存,3年共保存2 383头,这些僵蚜在DNA提取后采用构建的检测方法进行检测,用于食物网分析。在田间采集僵蚜的同时,也采集棉蚜、棉长管蚜、棉黑蚜和桃蚜活体,同样置于95%乙醇中单头保存,待DNA提取后用于检测体系构建。

试剂和仪器:基因组DNA提取试剂盒 DNeasy Blood & Tissue Kit、2×Multiplex PCR Master Mix,德国 Qiagen 公司; Chelex 100 Resin, 美国 Bio-Rad 公司; 蛋白酶 K 和牛血清蛋白, 美国 VWR 公司; 其余试剂均为国产分析纯。D801046 高速离心机, 美国 Labnet 公司; Veriti™ 96-Well Thermal Cycler PCR 扩增仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; DNA 胶回收试剂盒, 美国 Axygen 公司; HE-120 多功能水平电泳槽, 上海天能科技有限公司; PowerPac™ Universal Power Supply 电泳仪, 美国 Bio-Rad 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 供试样品 DNA 的提取

鉴定获得的寄生蜂和田间采集的蚜虫的基因组 DNA 使用非破坏性 DNA 提取法进行提取(Ye et al.,

2017a; Zhu et al., 2019)。分别将寄生蜂或蚜虫单头放于1.5 mL离心管中,加入180  $\mu$ L ATL Buffer 和20  $\mu$ L 蛋白酶 K 溶液,混匀后于56℃进行金属浴并保持3 h。然后根据 DNeasy Blood & Tissue Kit 说明书提取所有供试寄生蜂和蚜虫的 DNA, 获得的 DNA 于-20℃保存备用。

参考 Ye et al. (2017a) 方法, 使用 Chelex 100 Resin 溶液分别提取田间采集的2 383头僵蚜的基因组 DNA。在提取前先使用75%乙醇反复冲洗僵蚜以去除表面可能携带的其他污染物。单头僵蚜磨碎后加入10% Chelex 100 Resin 溶液150  $\mu$ L、蛋白酶 K 溶液30  $\mu$ L 和 pH 7.2 的 PBS 缓冲液20  $\mu$ L, 然后振荡混匀, 以13 000 r/min 离心30 s, 于56℃金属浴中保持10~12 h 后取出样品轻微振荡后以7 000 r/min 离心10 s, 再次放入96℃金属浴中保持20 min, 取上清液即为提取后的 DNA, 于-20℃保存备用。

上述试验中每次DNA提取时均设置阴性对照, 即除了不放入样本外, 其他试剂和操作过程均一样, 以验证在提取过程中有无DNA污染。

#### 1.2.2 特异性引物设计和检测体系建立

为筛选蚜虫和寄生蜂的特异性引物, 采用通用引物 LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGAT-ATTGG-3') 和 HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTG-ACCAAAAAATCA-3') 分别扩增其线粒体 COI 序列 (Folmer et al., 1994), 本研究所用引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。10  $\mu$ L PCR 反应体系: DNA 模板1.5  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 1.5  $\mu$ L、2×Multiplex PCR Master Mix 5.0  $\mu$ L、正反向引物各1.0  $\mu$ L。PCR 扩增条件: 95℃预变性15 min; 94℃变性30 s, 58℃退火90 s, 72℃延伸1 min, 共35个循环; 72℃终延伸10 min。将扩增成功的PCR产物送深圳华大基因科技有限公司进行序列测定。对测序获得的蚜虫和寄生蜂序列进行核对编辑后, 通过 BioEdit 7.0 软件分别进行比对, 根据目标昆虫和其他非靶标昆虫的碱基差异位点设计物种特异性引物。使用 Primer Premier 5.0 软件对引物质量进行评估, 合成理论上较为优质的引物, 对其进行特异性和灵敏度检测。

10  $\mu$ L 蚜虫多重 PCR 反应体系(cMP1)和10  $\mu$ L 初级寄生蜂多重 PCR 反应体系(cPriMP2)相同, 均为2×Multiplex PCR Master Mix 5.0  $\mu$ L、10  $\mu$ g/ $\mu$ L 牛血清白蛋白0.5  $\mu$ L、各物种引物对混合液 Primer Mix 1  $\mu$ L、相应物种 DNA 模板1.5  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 2  $\mu$ L。10  $\mu$ L 重寄生蜂多重 PCR 体系(cHypMP3): 2×Multiplex PCR Master Mix 5.0  $\mu$ L、10  $\mu$ g/ $\mu$ L 牛血清白蛋白

0.5  $\mu\text{L}$ 、4种重寄生蜂引物对混合液 Primer Mix 1  $\mu\text{L}$ 、5  $\mu\text{mol/L}$  四甲基氯化铵溶液 0.02  $\mu\text{L}$ 、重寄生蜂 DNA 模板 1.5  $\mu\text{L}$ 、并以  $\text{ddH}_2\text{O}$  补足 10  $\mu\text{L}$ 。10  $\mu\text{L}$  单一 PCR 体系(cSP1)与 *COI* 序列扩增体系相同。PCR 扩增条件:95 $^{\circ}\text{C}$  预变性 15 min;94 $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,相应退火温度(cMP1、cPriMP2、cHypMP3 和 cSP1 体系退火温度分别为 62 $^{\circ}\text{C}$ 、58 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$  和 58 $^{\circ}\text{C}$ )退火 90 s,72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min,共 35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$  终延伸 10 min。

### 1.2.3 所建 PCR 体系的灵敏度检测

为提升 PCR 体系的可信度和有效性,参考 Sint et al. (2012) 方法对多重 PCR 体系灵敏度进行优化。首先,利用通用引物 LCO1490 和 HCO2198 扩增各昆虫的 *COI* 基因,扩增产物按照 DNA 胶回收试剂盒说明书进行纯化以去除未与模板结合的引物或核苷酸。测定纯化后的 DNA 模板浓度,并使用 DNA calculator 软件计算 DNA 模板中的拷贝数(Sint et al., 2012)。然后,将各物种模板中 DNA 拷贝数进行调节,梯度稀释为  $1 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^2$ 、10 copies/ $\mu\text{L}$  使其标准化,标准化后的模板用于调节引物灵敏度。多重 PCR 体系灵敏度调节时,混合引物中各对引物起始浓度均为 0.2  $\mu\text{mol/L}$ ,不断调整混合引物中各引物浓度,尽量使体系中各靶标昆虫的 DNA 检出限一致。蚜虫、初级寄生蜂和重寄生蜂各体系混合引物的灵敏度检测后,同时对各寄生蜂特异性引物单独扩增时的灵敏度进行测定,反应体系和程序与混合引物各检测体系相同。

### 1.2.4 所建 PCR 体系的特异性检测

基于 1.2.3 优化的 PCR 反应体系,对多重 PCR 体系中混合引物组和单一 PCR 体系中的引物对进行特异性检测。检测时以 1.2.1 中制备的新疆棉田各种蚜虫和寄生蜂为模板,以同时期采集的蚜虫和羽化的各靶标寄生蜂为阳性对照,以  $\text{ddH}_2\text{O}$  代替模板 DNA 为阴性对照。良好的引物对或混合引物组应达到仅可扩增目标物种,对其他非靶标昆虫无扩增效果。之后,再次核对确认各体系灵敏度及退火温度,进一步完成体系优化。

### 1.2.5 所建 PCR 体系的田间应用效果测定

应用 1.2.4 优化后的各 PCR 分子检测体系对自新疆棉田采集的 2 383 头僵蚜样本进行 PCR 检测。检测时设置阴性对照和阳性对照。阴性对照以  $\text{ddH}_2\text{O}$  代替 DNA 模板,阳性对照是添加目标昆虫 DNA 进行扩增,其他各组分及操作过程不变。经 2%

凝胶电泳检测后,将获得扩增目标条带的样品用于食物网分析。采用 R 语言的 bipartite package 构建蚜虫-寄生蜂定量食物网并输出可视化图,图中同一营养级的不同昆虫条带宽度代表其相对数量比例,不同营养级之间形成的连接代表其物种形成的营养关系。

## 2 结果与分析

### 2.1 PCR 检测体系建立

cMP1 体系用于检测新疆棉田中的 4 种蚜虫,即棉长管蚜、棉蚜、棉黑蚜和桃蚜,对应的特异性引物对分别可扩增 149、191、291 和 469 bp 的目的条带。cPriMP2 体系包含 4 对初级寄生蜂特异性引物,可以完成棉蚜刺茧蜂(233 bp)、豆柄瘤蚜茧蜂(322 bp)、亚洲三叉蚜茧蜂(453 bp)和有须蚜外茧蜂(164 bp)的鉴定。重寄生蜂检测体系由 1 个多重 PCR (cHypMP3) 和 1 个单一 PCR (cSP1) 构成,cHypMP3 可用于鉴定黄足分盾细蜂、一种栗大蚜瘿蜂、蚜虫宽缘金小蜂和 3 种蚜蝇跳小蜂。这 3 种蚜蝇跳小蜂为蚜虫蚜蝇跳小蜂、*S. taeniatus* 和 *Syrphophagus* sp., 单一 PCR (cSP1) 用于鉴定重寄生蜂宽肩阿莎金小蜂,可扩增获得大小为 163 bp 的目的条带(表 1)。

### 2.2 所建 PCR 体系的灵敏度

蚜虫鉴定体系 cMP1 中,4 种蚜虫的 DNA 检出限保持一致,当僵蚜中蚜虫 DNA 达到 500 拷贝数时即可被检测到。初级寄生蜂检测体系 cPriMP2 中,各寄生蜂特异性引物单独使用时 DNA 检出限均为 1 000 拷贝数,4 种寄生蜂混合引物的 DNA 检出限为 5 000 拷贝数。重寄生蜂多重 PCR 体系 cHypMP3 中,各寄生蜂单一引物能够在样本 DNA 为 100 拷贝数时即完成鉴定,混合引物的 DNA 检出限为 500 拷贝数。宽肩阿莎金小蜂的特异性引物(cSP1)的 DNA 检出限达到 100 拷贝数(表 2)。

### 2.3 所建 PCR 体系的特异性

蚜虫 cMP1 多重 PCR 体系可以通过 1 个反应鉴定 4 种蚜虫,PCR 结果可清晰显示 4 条蚜虫特异性条带,表明其特异性良好(图 1)。初级寄生蜂 cPriMP2 多重 PCR 体系可以通过 1 个反应完成 4 种初级寄生蜂的鉴定,该体系对非靶标昆虫(蚜虫及重寄生蜂)均未能扩增出条带(图 2)。重寄生蜂 cHypMP3 多重 PCR 体系在 1 个反应中可以完成黄足分盾细蜂、一种栗大蚜瘿蜂、3 种蚜蝇跳小蜂和蚜虫宽缘金小蜂的鉴定,该体系也有着良好的特异性,仅目标物种扩

增多特异性条带(图 3-A)。重寄生蜂 cSP1 单一昆虫无扩增效果(图 3-B)。PCR 体系可扩增目标寄生蜂宽肩阿莎金小蜂,对其

表 1 新疆棉花蚜虫-寄生蜂 PCR 检测体系中所用引物信息  
Table 1 The primers used in the PCR detection systems for cotton aphid-parasitoid in Xinjiang

| 体系<br>System | 物种<br>Species                | 引物序列(5'-3')<br>Primer sequence (5'-3')  | 引物终浓度<br>Working concentration/( $\mu\text{mol/L}$ ) | 片段大小<br>Product size/bp |
|--------------|------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------|
| cMP1         | 棉长管蚜                         | F: TTATAATATAAAATTAAATCAAATCCCCTC       | 0.6                                                  | 149                     |
|              | <i>Acyrtosiphon gossypii</i> | R: CTGGATCAAAGAATGATGTATTAAAGT          |                                                      |                         |
|              | 棉蚜                           | F: CAATTTTAGGAGCAATTAATTCATC            | 1.4                                                  | 191                     |
|              | <i>Aphis gossypii</i>        | R: AAAAAATGATGTATTTAAATTTTCGATCT        |                                                      |                         |
|              | 棉黑蚜                          | F: GATTACTACCACCTTCATTAATAATAATAATCT    | 0.4                                                  | 291                     |
|              | <i>Aphis craccivora</i>      | R: GTAATGATAAAATTAATAATATAGCTGTAATTAGG  |                                                      |                         |
|              | 桃蚜                           | F: GATCATCACTTAGAATCTTAATTCGTC          | 0.8                                                  | 469                     |
| cPriMP2      | <i>Myzus persicae</i>        | R: CATGGAAATAAAGGGATTGG                 |                                                      |                         |
|              | 棉蚜刺茧蜂                        | F: CCTTCTTTAATTTTATTATTAGTTAGGGGA       | 1.2                                                  | 233                     |
|              | <i>Binodoxys communis</i>    | R: AATAATGAAATCTGATCTATAGATACTCTATAAGA  |                                                      |                         |
|              | 豆柄瘤蚜茧蜂                       | F: ATTATTCGTATAGAACTAAGAGTAGCAGG        | 0.8                                                  | 322                     |
|              | <i>Lysiphlebus fabarum</i>   | R: CAGCAACACCTCTATGTCCTAAAG             |                                                      |                         |
|              | 亚洲三叉蚜茧蜂                      | F: GGTTTATCTATGAGTTTAATTATTCGTATG       | 0.5                                                  | 453                     |
|              | <i>Trioxys asiaticus</i>     | R: TTGATCTATAGAAATATTATAAGCACGC         |                                                      |                         |
| cHypMP3      | 有须蚜外茧蜂                       | F: ATTCCTTCATTAAGTTTATTATTATTAGTAATG    | 2.0                                                  | 164                     |
|              | <i>Praon barbatum</i>        | R: CCTATAATTGAAGAAATTCCAGCC             |                                                      |                         |
|              | 黄足分盾细蜂                       | F: AAGTTATTTCACTCTAAAAATCTATTAGAGTAAA   | 0.2                                                  | 534                     |
|              | <i>Dendrocerus laticeps</i>  | R: AAGTATTTAGGTGAATAGCCACATTC           |                                                      |                         |
|              | 一种栗大蚜瘿蜂                      | F: CAACTAAATAATGAAATTTTATCTATAGATAATTTT | 0.2                                                  | 362                     |
|              | <i>Alloxysta</i> sp.         | R: TTTGGAAATTATATAATTCCTTTAATATTATC     |                                                      |                         |
|              | 几种蚜蝇跳小蜂                      | F: AATTGAATTATTTAAATTTTTTATAAATAATACAC  | 0.2                                                  | 425                     |
| cSP1         | <i>Syrphophagus</i> spp.     | R: GCGGGTTAACTGGAATCATA                 |                                                      |                         |
|              | 蚜虫宽缘金小蜂                      | F: AAAAAATTGATAATCAACAGATGG             | 0.2                                                  | 216                     |
|              | <i>Pachyneuron aphidis</i>   | R: GATTTGGAAATTATTTAATTCCTATATTTT       |                                                      |                         |
|              | 宽肩阿莎金小蜂                      | F: CAGATTCATATTTATGTTGAAACATAATT        | 1.0                                                  | 163                     |
|              | <i>Asaphes suspensus</i>     | R: TAAGAACTTAATCATTCAATTGAATTATTAA      |                                                      |                         |

表 2 多重 PCR 和单一 PCR 体系中新疆棉花蚜虫和寄生蜂 DNA 灵敏度检出限  
Table 2 Detection limits of the multiplex PCRs and singleplex PCR for cotton aphid and parasitoid DNAs in Xinjiang

| 体系<br>System | 物种<br>Species                      | DNA 最低检出限 DNA detection limit (copies) |                            |
|--------------|------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------|
|              |                                    | 单独模板<br>Single template DNA            | 混合模板<br>Mixed template DNA |
| cMP1         | 棉长管蚜 <i>Acyrtosiphon gossypii</i>  | 500                                    | 1 000                      |
|              | 棉蚜 <i>Aphis gossypii</i>           | 500                                    |                            |
|              | 棉黑蚜 <i>Aphis craccivora</i>        | 500                                    |                            |
|              | 桃蚜 <i>Myzus persicae</i>           | 500                                    |                            |
| cPriMP2      | 棉蚜刺茧蜂 <i>Binodoxys communis</i>    | 1 000                                  | 5 000                      |
|              | 豆柄瘤蚜茧蜂 <i>Lysiphlebus fabarum</i>  | 1 000                                  |                            |
|              | 亚洲三叉蚜茧蜂 <i>Trioxys asiaticus</i>   | 1 000                                  |                            |
|              | 有须蚜外茧蜂 <i>Praon barbatum</i>       | 1 000                                  |                            |
| cHypMP3      | 黄足分盾细蜂 <i>Dendrocerus laticeps</i> | 1 00                                   | 500                        |
|              | 一种栗大蚜瘿蜂 <i>Alloxysta</i> sp.       | 1 00                                   |                            |
|              | 几种蚜蝇跳小蜂 <i>Syrphophagus</i> spp.   | 1 00                                   |                            |
|              | 蚜虫宽缘金小蜂 <i>Pachyneuron aphidis</i> | 1 00                                   |                            |
| cSP1         | 宽肩阿莎金小蜂 <i>Asaphes suspensus</i>   | 100                                    |                            |

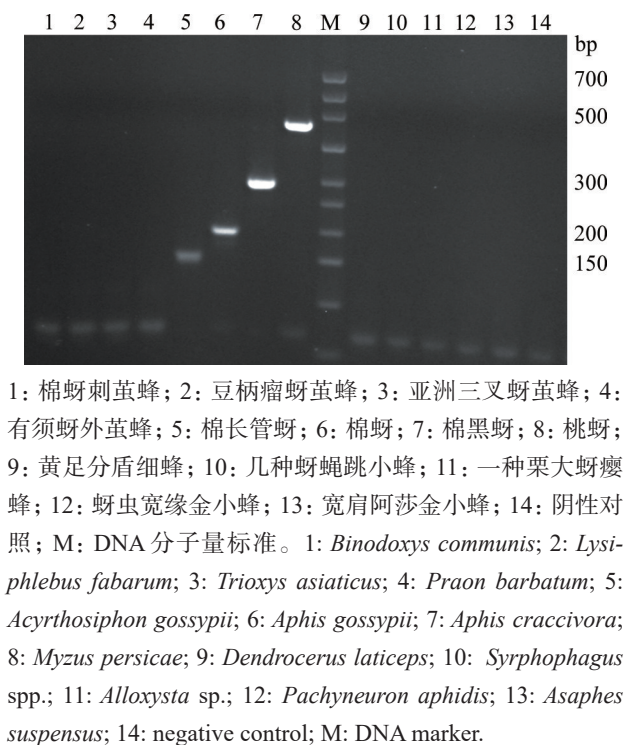
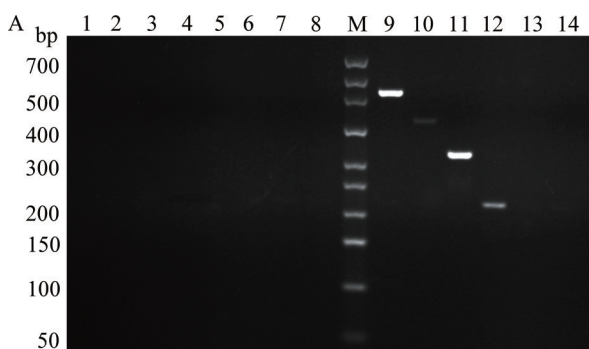


图1 新疆棉田蚜虫多重PCR检测体系cMP1的  
特异性检测结果

Fig. 1 Specificity of multiplex PCR system cMP1 for aphid detection in Xinjiang cotton fields



1: 棉蚜刺茧蜂; 2: 豆柄瘤蚜茧蜂; 3: 亚洲三叉蚜茧蜂; 4: 有须蚜外茧蜂; 5: 棉长管蚜; 6: 棉蚜; 7: 棉黑蚜; 8: 桃蚜; 9: 黄足分盾细蜂; 10: 几种蚜蝇跳小蜂; 11: 一种栗大蚜瘿蜂; 12: 蚜虫宽缘金小蜂; 13: 宽肩阿莎金小蜂; 14: 阴性对照; M: DNA 分子量标准。1: *Binodoxys communis*; 2: *Lysiphlebus fabarum*; 3: *Trioxys asiaticus*; 4: *Praon barbatum*; 5: *Acyrtosiphon gossypii*; 6: *Aphis gossypii*; 7: *Aphis craccivora*; 8: *Myzus persicae*; 9: *Dendrocerus laticeps*; 10: *Syrphophagus* spp.; 11: *Alloxysta* sp.; 12: *Pachyneuron aphidis*; 13: *Asaphes suspensus*; 14: negative control; M: DNA marker.

图3 新疆棉田重寄生蜂多重PCR检测体系cHypMP3(A)和单一PCR检测体系cSP1(B)的特异性检测结果

Fig. 3 Specificity of multiplex PCR system cHypMP3 (A) and singleplex PCR system cSP1 (B) for hyperparasitoid detection in Xinjiang cotton fields

## 2.4 棉花蚜虫-寄生蜂食物网构建

应用cMP1体系对2015—2017年新疆田间采集的僵蚜样品进行检测,鉴定到了棉长管蚜、棉蚜和棉黑蚜3种蚜虫,DNA检测结果呈现阴性的僵蚜样本有246头,视为无效样本,后续检测只针对2137头有效样本展开。cPriMP2体系检测结果显示,初级

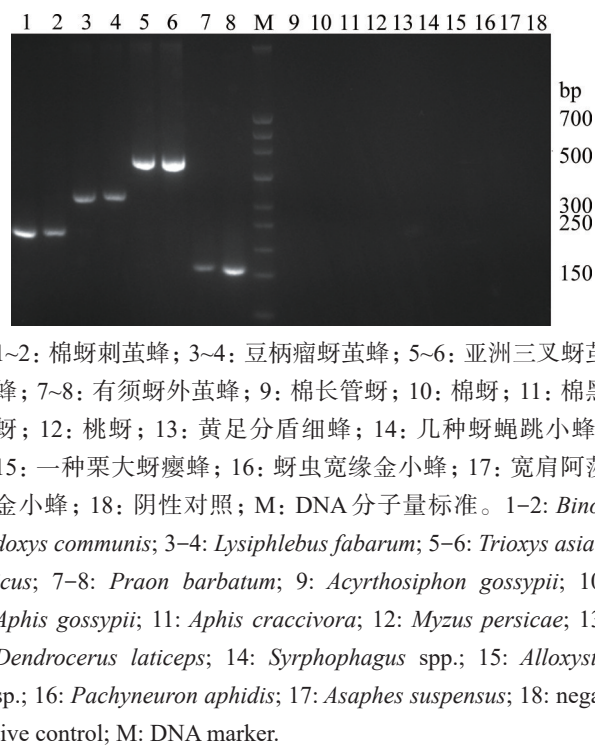
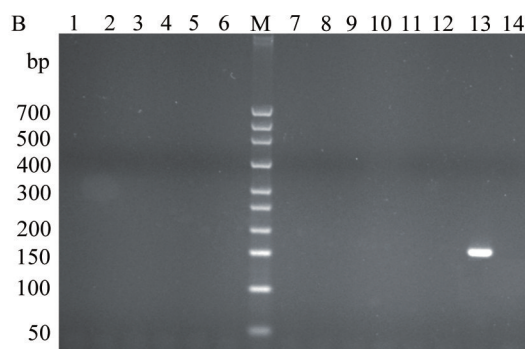


图2 新疆棉田初级寄生蜂多重PCR检测体系cPriMP2的  
特异性检测结果

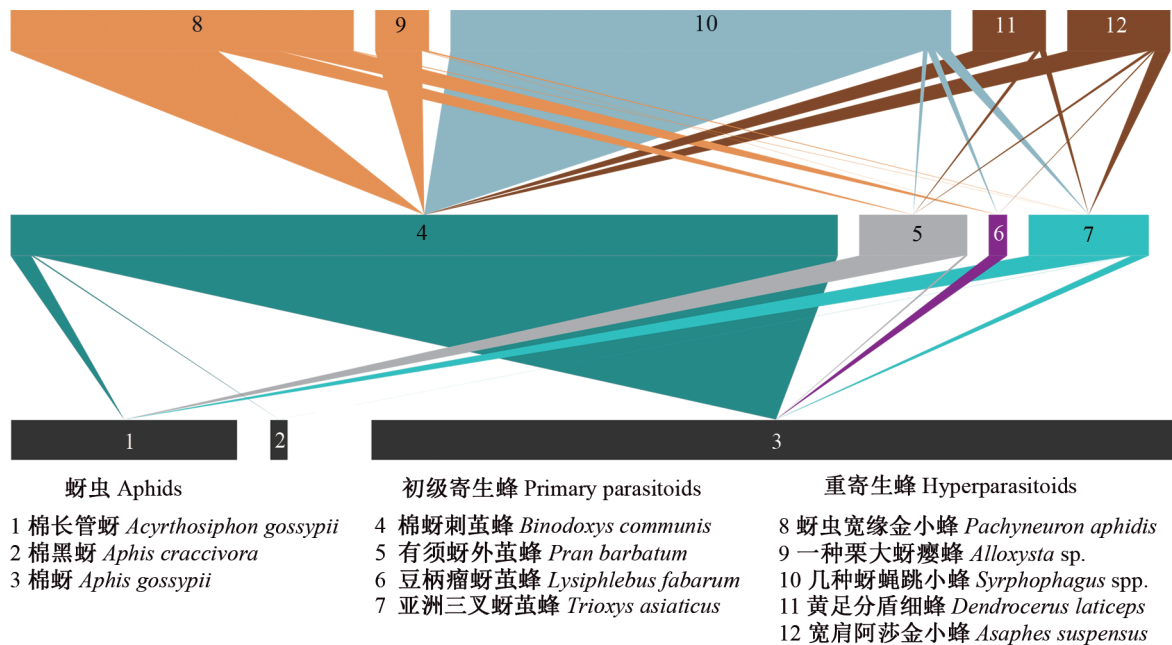
Fig. 2 Specificity of multiplex PCR system cPriMP2 for detecting aphid primary parasitoids in Xinjiang cotton fields



寄生蜂中的优势种类为棉蚜刺茧蜂,所占比例达76.27%,亚洲三叉蚜茧蜂(12.08%)和有须蚜外茧蜂(9.96%)所占比例次之,豆柄瘤蚜茧蜂(1.69%)所占比例较低。同时,有1.19%的僵蚜个体存在多寄生现象,即1头蚜虫体内检测到2种或2种以上的初级寄生蜂DNA。

在经 cPriMP2 体系检测呈阳性的 1 416 头僵蚜样本中, cHypMP3 和 cSP1 体系检测到重寄生蜂 DNA 的个体达 48.87%, 宽肩阿莎金小蜂、蚜蝇跳小蜂、栗大蚜瘿蜂、黄足分盾细蜂和蚜虫宽缘金小蜂均有检出。4 种初级寄生蜂均有重寄生现象, 与重寄生蜂形成交织的食物网(图 4)。其中, 重寄生蜂中蚜蝇跳小蜂属寄生蜂所占比例最高, 为 55.78%, 其次为蚜

虫宽缘金小蜂(24.54%), 其余 3 类重寄生蜂所占比例均小于 10.00%, 包括宽肩阿莎金小蜂(9.13%)、栗大蚜瘿蜂(5.88%) 和 黄足分盾细蜂(4.67%)。8.68% 的僵蚜个体内存在多种重寄生蜂, 8.24% 的僵蚜中可检测到 2 种重寄生蜂 DNA, 另有少量个体中可以检测到 3 种重寄生蜂 DNA。



下层为蚜虫, 中间为初级寄生蜂, 上层为重寄生蜂; 2 个物种之间的连线代表两者之间存在直接的相互作用。Lower bars represent aphids, the middle bars represent primary parasitoids, and the upper bars represent hyperparasitoids. The links indicate the direct interactions between two species.

图 4 棉花蚜虫-初级寄生蜂-重寄生蜂定量食物网

Fig. 4 Quantitative food web for cotton aphids, primary parasitoids, and hyperparasitoids in cotton fields in Xinjiang

### 3 讨论

Li et al. (2018) 通过形态学鉴定对新疆棉田蚜虫寄生蜂的种类组成进行了研究与报道。本研究进一步建立并优化了一种由多重 PCR 和单一 PCR 构成的分子检测方法, 该方法能够快速且准确地完成新疆棉区棉花蚜虫、初级寄生蜂及主要重寄生蜂的鉴定, 从物种水平开展蚜虫-寄生蜂-重寄生蜂食物网分析。

线粒体 *COI* 基因有着较高的种间变异和灵敏度水平, 被广泛应用于昆虫等节肢动物的鉴定 (Ren et al., 2018)。本研究选用 *COI* 基因设计了蚜虫、初级寄生蜂以及重寄生蜂特异性引物, 除蚜蝇跳小蜂属的 3 种重寄生蜂蚜虫蚜蝇跳小蜂、*S. taeniatatus* 和 *Syrphophagus* sp. 外, 其余引物均可以鉴定到种。线粒体基因 16S 以及核基因 18S 也被用于物种鉴定

(Srinivasan et al., 2015; Kek et al., 2017)。Ye et al. (2017a) 结合 *COI*、16S 和 18S 从种属水平设计了蚜虫、不同寄生蜂的特异性引物以及寄生蜂通用引物, 并利用设计的引物对中欧地区小麦上的蚜虫和寄生蜂进行了鉴定。本研究尝试引入 16S 基因扩增蚜蝇跳小蜂属这 3 种寄生蜂的对应序列进而设计特异性引物, 但也未能成功。最终, cHypMP3 检测体系未能对蚜蝇跳小蜂属这 3 种寄生蜂进行种的区分。虽然很多研究中采用 16S、18S 或者将其与 *COI* 结合使用 (Ye et al., 2017b), 但在多数寄生蜂种类鉴定中 *COI* 基因的准确度和灵敏度更高, 是鉴定的首选基因。

本研究以田间采集的僵蚜 DNA 为模板, 以不同多重 PCR 和单一 PCR 进行检测, 依据结果建立蚜虫-初级寄生蜂-重寄生蜂定量食物网。首先采用 cMP1 检测体系明确蚜虫种类, 对于检测呈现阳性的有效样本再进行后续初级寄生蜂和重寄生蜂检

测,进而排除无效样本,减少工作量。PCR体系中DNA最低检出限是其扩增效能的重要保障。为确保cMP1检测体系能够有效扩增僵蚜中的目标蚜虫,本研究不断调节其灵敏度,最终该多重PCR中各蚜虫的检出限为500 DNA拷贝数。应用该体系对出蜂后的僵蚜壳进行检测,发现棉蚜、棉黑蚜、棉长管蚜和桃蚜的检出率分别为93.30% ( $n=30$ )、100.00% ( $n=30$ )、96.70% ( $n=30$ )和90.00% ( $n=10$ ) (未发表数据),显示出良好的灵敏性。在2 383头僵蚜样本中,有246头经cMP1体系检测失败,原因可能是僵蚜中蚜虫DNA含量太低未达到最低检出限,或者DNA提取失败。这种僵蚜无法有效检出的现象,在其他研究中也常有报道(姚志文等, 2017; Yang et al., 2020)。田间采集的僵蚜中棉蚜所占比例最高(77.86%),棉长管蚜(21.75%)次之,但未鉴定到桃蚜,这与新疆棉田蚜虫种类组成情况高度吻合。

cPriMP2检测体系包含了本课题组之前通过形态学鉴定到的所有蚜虫初级寄生蜂(Li et al., 2018)。与形态学鉴定结果一致,该体系检测显示棉蚜刺茧蜂所占比例最高,为优势寄生蜂。另外3种初级寄生蜂亚洲三叉蚜茧蜂、有须蚜外茧蜂和豆柄瘤蚜茧蜂所占比例分别为12.08%、9.96%和1.69%,均高于形态学鉴定中各种寄生蜂的比例(亚洲三叉蚜茧蜂占1.01%、有须蚜外茧蜂占3.15%、豆柄瘤蚜茧蜂占0.65%),这种差异或许与初级寄生蜂中存在的多寄生作用等有一定关系。另外,分子检测还揭示了初级寄生蜂的寄主范围。一直以来,棉蚜刺茧蜂被认为是棉蚜和大豆蚜 *Aphis glycines* 等害虫的重要天敌(Liu et al., 2004; Wyckhuys et al., 2008; Acebes et al., 2013),本研究发现棉蚜刺茧蜂还可寄生棉长管蚜和棉黑蚜。另外,cPriMP2体系检测结果显示,亚洲三叉蚜茧蜂和有须蚜外茧蜂均可寄生棉蚜和棉长管蚜。关于这2种蚜茧蜂在新疆的蚜虫寄主种类报道较少,杨海峰等(1985)对新疆玛纳斯地区10种主要蚜茧蜂及其寄主进行调查,同样观察到了两者对棉长管蚜的寄生作用,但由于当时新疆还未有棉蚜发生,寄主种类中未提及棉蚜。豆柄瘤蚜茧蜂是棉蚜和棉黑蚜等多种蚜虫的天敌(杨海峰等, 1985)。本研究中,棉黑蚜样本数量仅8头,未能观察到豆柄瘤蚜茧蜂对其的寄生现象。

重寄生蜂是蚜虫-寄生蜂食物网的重要组成部分。但过去关注更多的是初级寄生蜂,忽视了重寄生蜂作为更高营养级产生的自上而下的生态影响(Gagic et al., 2011; Schooler et al., 2011)。传统研究

方法如形态学鉴定无法满足重寄生蜂的营养关系研究,僵蚜饲养往往只有1种寄生蜂(初级寄生或重寄生蜂)羽化,仅可以观察到蚜虫-重寄生蜂或蚜虫-初级寄生蜂之间的联系,无法获得初级寄生蜂与重寄生蜂之间的食物连接(Godfray, 1994; Müller et al., 1999)。本研究采用的分子检测技术能够建立基于物种水平的初级寄生蜂-重寄生蜂食物网,在丰富的重寄生蜂中,蚜蝇跳小蜂属寄生蜂在新疆棉田中所占比例最高,为55.78%,且与4种初级寄生蜂均形成了食物连接,是影响初级寄生蜂对蚜虫控制效果的主要压力来源。蚜蝇跳小蜂属寄生蜂在很多生境寄主上都有着较高的丰富度(Gariepy & Messing, 2012; Yang et al., 2020)。宽缘金小蜂所占比例24.54%次之,也与4种初级寄生蜂建立了连接,其他几种重寄生蜂也与初级寄生蜂形成一定的联系,最终构成交织的初级寄生蜂-重寄生蜂食物网。与传统方法相比,这种分子检测方法不仅描绘了一个更加全面、基于物种水平的蚜虫-寄生蜂食物网,而且能够评估不同寄生蜂的寄生水平,以一个全新的视角展示了存在于寄生蜂中的多寄生现象。虽然,Sullivan (1987)也报道了苜蓿上豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 初级寄生蜂史氏蚜茧蜂 *Aphidius smithi* 的多寄生现象:史氏蚜茧蜂可被重寄生蜂加州脊柄金小蜂 *Asaphes californicus* 和黄足栗大蚜瘿蜂 *Alloxysta victrix* 寄生。但这种多寄生现象的发生比例缺少详细报道。本研究中,8.68%的僵蚜个体中可以检测到2种甚至3种重寄生蜂,包括蚜蝇跳小蜂+蚜虫宽缘金小蜂、蚜蝇跳小蜂+黄足分盾细蜂、栗大蚜瘿蜂+蚜蝇跳小蜂、栗大蚜瘿蜂+蚜蝇跳小蜂+黄足分盾细蜂等不同组合,其中蚜蝇跳小蜂参与的多寄生比例达5.78%。Yang et al. (2020)通过分子检测在小麦蚜虫的重寄生蜂中也观察到了较高比例的多寄生现象(22.02%)。不论是存在于初级寄生蜂还是重寄生蜂中的多寄生,意味着同一营养级不同寄生蜂之间存在相互竞争,处于劣势的寄生蜂有时甚至可能被完全取代,进而改变寄生蜂种类组成,这种作用最终可能会减弱寄生蜂对寄主种群的影响(Chow & Mackauer, 1985; Mackauer, 1990)。

目前,景观格局和农业集约化对蚜虫-寄生蜂食物关系的影响被广泛关注。农业集约化对生态系统中害虫和天敌多样性以及害虫-天敌之间的相互作用都有显著影响(Gagic et al., 2012; Jonsson et al., 2012; Zhao et al., 2015)。Gagic et al. (2012)以小麦蚜虫-寄生蜂为研究对象,探究了集约化对蚜虫、寄

生蜂种群丰富度及营养关系的影响,发现优势初级寄生蜂麦蚜茧蜂 *Ephedrus plagiator* 在集约化低的田块中所占比例更高,主要重寄生蜂合沟细蜂 *Den drocerus carpenteri* 在食物网中的比例也是随着集约化程度降低而升高。而且,不同重寄生蜂对集约化的响应不同(Gagic et al., 2012)。也有研究表明,食物网中较高营养级往往对生态系统变化(如土地利用方式或非作物比例变化)更为敏感(Roschewitz et al., 2005; Plečáš et al., 2014)。Rand et al. (2012)研究发现,随着小麦田周边景观复杂性增加,小麦蚜虫的重寄生蜂比例可达37%~94%,远高于初级寄生蜂比例变化。Jonsson et al. (2012)同样发现,随着一年生作物面积的增加,甘蓝上蚜虫(甘蓝蚜 *Brevicoryne brassicae* 为主,少量桃蚜)不同营养级的寄生蜂(初级寄生蜂和重寄生蜂)寄生率均显著降低,但重寄生蜂寄生率改变更明显,对这种土地使用方式变化的响应更强烈。在我国新疆地区,棉花种植主要存在集约栽培和传统分散经营2两种模式,前者棉花大规模种植、作物种植结构单一,后者棉花种植零散、棉区作物种类与布局复杂多样。不同种植模式下棉花上蚜虫及其寄生蜂多样性、蚜虫-初级寄生蜂-重寄生蜂食物网结构、寄生性天敌对蚜虫的生物控害功能等问题的解析,对新疆棉花蚜虫的科学治理具有重要意义。本研究中提供的新疆棉花蚜虫-初级寄生蜂-重寄生蜂食物网分子检测技术为研究上述问题提供了有效方法,同时也为新疆地区以蚜虫-寄生蜂为模型的诸多生态学问题研究提供了有力契机。

## 参 考 文 献 (References)

- Acebes AL, Messing RH. 2013. Host range of a newly introduced parasitoid, *Binodoxys communis* among common aphid species in Hawaii. *BioControl*, 58(5): 635–644
- Boivin G, Brodeur J. 2006. Intra- and interspecific interactions among parasitoids: mechanisms, outcomes and biological control.// Boivin G, Brodeur J. *Trophic and guild in biological interactions control*. Dordrecht: Springer, pp. 123–144
- Chow FJ, Mackauer M. 1985. Multiple parasitism of the pea aphid: stage of development of parasite determines survival of *Aphidius smithi* and *Praon pequodorum* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Canadian Entomologist*, 117(1): 133–134
- Cocco A, Jeyaprakash A, Hoy MA. 2009. Parasitism of the brown citrus aphid in Dominica by *Lysiphlebus testaceipes* and *Lipolexis oregmae* (Hymenoptera: Aphidiinae). *Florida Entomologist*, 92(3): 497–499
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5): 294–299
- Gagic V, Hänke S, Thies C, Scherber C, Tomanović Ž, Tscharnkte T. 2012. Agricultural intensification and cereal aphid-parasitoid-hyperparasitoid food webs: network complexity, temporal variability and parasitism rates. *Oecologia*, 170(4): 1099–1109
- Gagic V, Tscharnkte T, Dormann CF, Gruber B, Wilstermann A, Thies C. 2011. Food web structure and biocontrol in a four-trophic level system across a landscape complexity gradient. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1720): 2946–2953
- Gariepy TD, Messing RH. 2012. Development and use of molecular diagnostic tools to determine trophic links and interspecific interactions in aphid-parasitoid communities in Hawaii. *Biological Control*, 60(1): 26–38
- Godfray HCJ. 1994. *Parasitoids: behavioural and evolutionary ecology*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press
- Hrček J, Godfray HCJ. 2015. What do molecular methods bring to host-parasitoid food webs? *Trends in Parasitology*, 31(1): 30–35
- Jonsson M, Buckley HL, Case BS, Wratten SD, Hale RJ, Didham RK. 2012. Agricultural intensification drives landscape-context effects on host-parasitoid interactions in agroecosystems. *Journal of Applied Ecology*, 49(3): 706–714
- Kaldehy RS, Hosseini R, Hajizadeh J, Sohni MM. 2012. Molecular identification and detection of *Lysiphlebus fabarum* (Hym.: Braconidae): a key parasitoid of aphids, by using polymerase chain reaction. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(3): 1453–1463
- Kambhampati S, W Völkl, Mackauer M. 2000. Phylogenetic relationships among genera of Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae) based on DNA sequence of the mitochondrial 16S rRNA gene. *Systematic Entomology*, 25: 437–445
- Kek SP, Chin NL, Tan SW, Yusof YA, Chua LS. 2017. Molecular identification of honey entomological origin based on bee mitochondrial 16S rRNA and COI gene sequences. *Food Control*, 78: 150–159
- Kos K, Petrovic-Obradovic O, Zikic V, Petrovic A, Trdan S, Tomanovic Z. 2012. Review of interactions between host plants, aphids, primary parasitoids and hyperparasitoids in vegetable and cereal ecosystems in Slovenia. *Journal of the Entomological Research Society*, 14(3): 67–68
- Li HB, Wu KM, Xu Y, Yang XR, Yao J, Sun SL, Li XY, Jiang HY. 2008. Dynamic analysis of population of cotton aphids in the south of Xinjiang. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 45(4): 670–675 (in Chinese) [李号宾, 吴孔明, 徐遥, 杨秀荣, 姚举, 孙世龙, 李祥辉, 姜海芸. 2008. 南疆地区棉田蚜虫种群数量动态研究. *新疆农业科学*, 45(4): 670–675]
- Li JH, Wu YK, Zhang Q, Li HQ, Pan HS, Lu W, Wang DM, Zhang JP, Lu YH. 2018. Aphid parasitism and parasitoid diversity in cotton fields in Xinjiang, China. *PLoS ONE*, 13(11): e0207034
- Liu J, Wu KM, Hopper KR, Zhao KJ. 2004. Population dynamics of

- Aphis glycines* (Homoptera: Aphididae) and its natural enemies in soybean in northern China. *Annals of the Entomological Society of America*, 97(2): 235–239
- Lu YH, Liang GM, Zhang YJ, Yang XM. 2020. Advances in the management of insect pests of cotton in China since the 21st century. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(3): 477–490 (in Chinese) [陆宴辉, 梁革梅, 张永军, 杨现明. 2020. 二十一世纪以来棉花害虫治理成就与展望. *应用昆虫学报*, 57(3): 477–490]
- MacFadyen S, Gibson R, Raso L, Sint D, Traugott M, Memmott J. 2009. Parasitoid control of aphids in organic and conventional farming systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 133(1/2): 14–18
- Mackauer M. 1990. Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. //Mackauer M, Ehler LE, Roland J. Critical issues in biological control. Andover, Hants: Intercept, pp. 41–62
- Morris RJ, Müller CB, Godfray HCJ. 2001. Field experiments testing for apparent competition between primary parasitoids mediated by secondary parasitoids. *Journal of Animal Ecology*, 70(2): 301–309
- Müller CB, Adriaanse ICT, Belshaw R, Godfray HCJ. 1999. The structure of an aphid-parasitoid community. *Journal of Animal Ecology*, 68(2): 346–370
- Pan HS, Jiang YY, Wang PL, Liu J, Lu YH. 2018. Research progress in the status evolution and integrated control of cotton pests in Xinjiang. *Plant Protection*, 44(5): 42–50 (in Chinese) [潘洪生, 姜玉英, 王佩玲, 刘建, 陆宴辉. 2018. 新疆棉花害虫发生演替与综合防治研究进展. *植物保护*, 44(5): 42–50]
- Persad AB, Jeyaprakash A, Hoy MA. 2004. High-fidelity PCR assay discriminates between immature *Lipolexis oregmae* and *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphididae) within their aphid hosts. *Florida Entomologist*, 87(1): 18–24
- Plečáš M, Gagić V, Janković M, Petrović-Obradović O, Kavallieratos NG, Tomanović Ž, Thies C, Tschamtké T, Četković A. 2014. Landscape composition and configuration influence cereal aphid-parasitoid-hyperparasitoid interactions and biological control differentially across years. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 183: 1–10
- Rand TA, van Veen FJF, Tschamtké T. 2012. Landscape complexity differentially benefits generalized fourth, over specialized third, trophic level natural enemies. *Ecography*, 35(2): 97–104
- Ren LP, Chen W, Shang YJ, Meng FM, Zha L, Wang Y, Guo YD. 2018. The application of COI gene for species identification of forensically important muscid flies (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, 55(5): 1150–1159
- Roschewitz I, Hücker M, Tschamtké T, Thies C. 2005. The influence of landscape context and farming practices on parasitism of cereal aphids. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 108(3): 218–227
- Schooler SS, De Barro P, Ives AR. 2011. The potential for hyperparasitism to compromise biological control: why don't hyperparasitoids drive their primary parasitoid hosts extinct? *Biological Control*, 58(3): 167–173
- Sint D, Raso L, Traugott M. 2012. Advances in multiplex PCR: balancing primer efficiencies and improving detection success. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(5): 898–905
- Srinivasan R, Karaoz U, Volegova M, MacKichan J, Kato-Maeda M, Miller S, Nadarajan R, Brodie EL, Lynch SV. 2015. Use of 16S rRNA gene for identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens. *PLoS ONE*, 10(2): e0117617
- Sullivan DJ. 1987. Insect hyperparasitism. *Annual Review of Entomology*, 32(1): 49–70
- Traugott M, Bell JR, Broad GR, Powell W, van Veen FJF, Vollhardt IMG, Symondson WOC. 2008. Endoparasitism in cereal aphids: molecular analysis of a whole parasitoid community. *Molecular Ecology*, 17(17): 3928–3938
- Traugott M, Kamenova S, Ruess L, Seeber J, Plantegenest M. 2013. Empirically characterising trophic networks: what emerging DNA-based methods, stable isotope and fatty acid analyses can offer. *Ecological Advances in Ecological Research*, 49: 177–224
- Wyckhuys KAG, Stone L, Desneux N, Hoelmer KA, Hopper KR, Heimpel GE. 2008. Parasitism of the soybean aphid, *Aphis glycines* by *Binodoxys communis*: the role of aphid defensive behaviour and parasitoid reproductive performance. *Bulletin of Entomological Research*, 98(4): 361–370
- Yang F, Yao ZW, Zhu YL, Wu YK, Liu LT, Liu B, Desneux N, Lu YH. 2020. A molecular detection approach for assessing wheat aphid-parasitoid food webs in northern China. *Entomologia Generalis*, 40(3): 273–284
- Yang HF, Ma D, Ma Q. 1985. Descriptions of ten main species of Aphididae in Manasi, Xinjiang. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 22(1): 23–25 (in Chinese) [杨海峰, 马盾, 马祁. 1985. 新疆玛纳斯十种主要蚜虫记述. *新疆农业科学*, 22(1): 23–25]
- Yao ZW, Yang F, Wu YK, Wei HY, Lu YH. 2017. Influences of storage time and conditions on the DNA detection rates of aphids and parasitoids from empty aphid mummies. *Acta Entomologica Sinica*, 60(6): 691–698 (in Chinese) [姚志文, 杨帆, 吴月坤, 魏洪义, 陆宴辉. 2017. 放置时间和条件对空僵蚜中蚜虫和寄生蜂DNA检出率的影响. *昆虫学报*, 60(6): 691–698]
- Ye ZP, Vollhardt IMG, Girtler S, Wallinger C, Tomanovic Z, Traugott M. 2017a. An effective molecular approach for assessing cereal aphid-parasitoid-endosymbiont networks. *Scientific Reports*, 7: 3138
- Ye ZP, Vollhardt IMG, Tomanovic Z, Traugott M. 2017b. Evaluation of three molecular markers for identification of European primary parasitoids of cereal aphids and their hyperparasitoids. *PLoS ONE*, 12(5): e0177376
- Zhao ZH, Sandhu HS, Gao F, He DH. 2015. Shifts in natural enemy assemblages resulting from landscape simplification account for bio-control loss in wheat fields. *Ecological Research*, 30(3): 493–498
- Zhu YL, Yang F, Yao ZW, Wu YK, Liu B, Yuan HB, Lu YH. 2019. A molecular detection approach for a cotton aphid-parasitoid complex in northern China. *Scientific Reports*, 9: 15836

(责任编辑:李美娟)