

文章编号: 0529-6579 (2000) 02-0083-04

用 ELISA 评价狼蛛对稻纵卷叶螟的捕食效应*

汤鉴球, 温瑞贞

(中山大学生物防治国家重点实验室/昆虫学研究所, 广州 510275)

摘要: 用 ELISA 方法检验了稻田狼蛛(稻田水狼蛛 *Pirata japonicus*、拟环纹豹蛛 *Pardosa pseudoannulata* 和拟水狼蛛 *pirata subpiraticus*) 对稻纵卷叶螟(*Cnaphalocrois medinalis* Guenee) 幼虫的捕食效应。3 龄幼虫抗原最小检出量为 0.10 mg/mL, 被狼蛛取食 1 头 3 龄幼虫 (1 mg/mL) 的抗原的光密度值为 0.149 ± 0.001 。狼蛛取食 3 龄稻纵卷叶螟幼虫的抗原降解方程为: $y = 0.5888 \exp(-0.1123x)$ (取食 1 头) 和 $y = 1.4160 \exp(-0.1123x)$ (取食 3 头)。在第 3 代稻卷叶螟幼虫盛发期, 被狼蛛的捕食率可高达 33.19%。

关键词: ELISA; 稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrois medinalis* Guenee); 狼蛛

中图分类号: S435.112+.1 **文献标识码:** A

用血清学双扩散方法并结合生态学模拟试验, 研究稻田狼蛛(主要为稻田水狼蛛 *Pirata japonicus*、拟环纹豹蛛 *Pardosa pseudoannulata* 和拟水狼蛛 *pirata subpiraticus*), 对稻纵卷叶螟(*Cnaphalocrois medinalis* Guenee) 的控制作用已有报导^[1], 然而在试验中需进行大量的模拟试验, 不但工作量大, 繁琐, 而且试验条件与实际生态环境存在较大的差异, 影响定量评价的准确性。近来, 用 ELISA 方法研究捕食者与猎物关系在国内外已有不少报导^[2,3], 它将抗原、抗体的免疫反应和酶的高效催化作用有机结合, 不仅大大提高了测试的敏感性, 而且操作简单, 检验迅速, 同时可研究天敌对害虫捕食作用的定量研究^[4,5]。

本试验用 ELISA 方法研究了稻田狼蛛(稻田水狼蛛、拟水环豹纹蛛和拟水狼蛛) 对稻纵卷叶螟的捕食关系, 并对其捕食作用作了数量估计研究。

1 材料与方法

1.1 抗原提取与抗血清制备

首先从田间采集稻纵卷叶螟 3 龄幼虫, 匀浆、离心、透析、纯化抗原, 然后免疫兔子, 取得效价大于 $1:2^{10}$ 的兔免疫血清, 并以硫酸铵法纯化抗体血清^[6,7]。

1.2 戊二醛二步交联酶联抗体制备

戊二醛二步交联酶联抗体制备如图 1 所示。

* 基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (940120)

收稿日期: 1999-07-26 作者简介: 汤鉴球 (1940~), 男, 副教授。

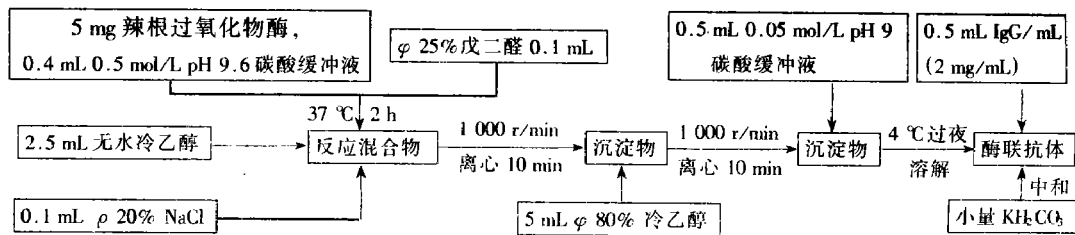


图 1 戊二醛二步交联酶联抗体制备

Fig. 1 The preparation of enzyme-labelled antibody

1.3 底物配制

本试验所交联的酶是辣根过氧化物酶, 考虑到要进行比色测定, 希望酶底物生成可溶性的有色物, 并且选择配备方便、贮存稳定、价格低廉、显色鲜明的底物, 所以 ELISA 检测所用的底物是 H_2O_2 和邻苯二胺 (OPD), 见图 2.

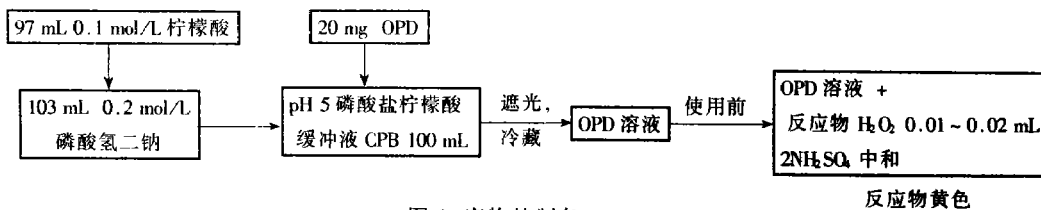


图 2 底物的制备

Fig. 2 The preparation of the substrate

1.4 检测试验

本试验是采用双重抗体法^[7].

1.4.1 消化速率测定 田间采回狼蛛 (成蛛) 分别以单管只喂水保湿饥饿 7 d 后, 分为供喂 1 头 3 龄幼虫和 3 头 3 龄幼虫 2 种处理, 每种处理各设 6 个处理组, 每处理组 33 头蛛, 分别在喂食后消化 6、12、18、24、30、36 h, 将肠道及其内容物用 CBS 抽提, 4 000 r/min 离心, 上清液检测, 其结果拟合抗原降解曲线, 计算消化速率和最长可测时间.

1.4.2 阳性反应率 选定不施药防治的稻田, 每隔 5 d 调查狼蛛与稻纵卷叶螟的田间自然种群密度, 并采集一定数量的狼蛛, 去其足部, 将虫体挤压在滤纸上, 凉干后于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存.

检测用 ELISA 双重抗体法, 待检物为采样狼蛛在滤纸上的食物印迹的 CBS 抽提液.

2 结果与分析

2.1 敏感性与特异性

以 1 mg/mL 和 0.1 mg/mL 的稻纵卷叶螟抗原包被, 用系列稀释的抗血清进行测试, 得知最佳抗血清稀释倍数为 2^9 (256) 倍. 以 2^9 倍抗血清检测抗原的最低可测质量浓度为 0.1 mg/mL, 约为 3 龄幼虫 0.1 头/mL, 阴性对照最大吸收值 (A) 为 0.12.

交叉试验表明: ①与不同龄期的稻纵卷叶螟呈阳性反应; ②与其他稻虫无交叉反应; ③与其他天敌无交叉反应.

2.2 食物残存时间

将取食 1 头 3 龄幼虫和取食 3 头 3 龄幼虫的每个处理的检测所得的 A 平均值拟合为 e

为底的指数函数。图 3 为室温 25.8℃，1 头和 3 头 3 龄稻纵卷叶螟被拟水狼蛛 (*Pirata subpiraticus*) 取食后的蛋白抗降解曲线，取食 1 头： $Y = 0.5888\exp(-0.1123\chi)$ (经 χ^2 检验, $P > 0.01$, 差异不显著); 取食 3 头： $Y = 1.460\exp(-0.1123\chi)$ (经 χ^2 检验, $P > 0.05$, 差异不显著)。由方程推算，狼蛛捕食 3 头 3 龄稻纵卷叶螟幼虫的残存时间约为 20 h; 捕食 1 头的约为 14 h，即是，其残存时间都不超过 24 h (1 d)。捕食 3 头 3 龄幼虫的比捕食 1 头 3 龄幼虫的消化速率较慢。

2.3 捕食数量的估计

通过模拟试验，以功能反应法，求得 1 头捕食天敌 1 d 捕食量，取代 Kuperstein 公

式 ($R = P \cdot r_1 \cdot d / t_{DP}$) 的在饲养室简单观察记录的每天取食量 (r_1)，因而较之合理、准确。然而大量的模拟试验，不但工作繁锁，而且与实际生态学条件存在差异，因而影响定量评价的准确性。Soop^[5] 于 1992 年提出了 $R = Q_0 d / (f t_{DP})$ 方程评估捕食量的方法。又有报导以 ELISA 方法检测天敌捕食 1 头猎物的 A 值为确定 1 头天敌的捕食头数 Q_0 ，然而在其研究报告中，猎物抗原最低可测浓度为 0.005 mg/mL 的 A 值为 0.6，相当 0.01 头猎物^[8]，而天敌捕食 1 头猎物的 A 值 0.13，这样对于 Q_0 的推算就显得矛盾，降低了对天敌对捕食量估计的准确度。

捕食 1 头 3 龄稻纵卷叶螟的 35 头拟水狼蛛，取食后 1 h 分别检测其消化道残余食物的 A 值，并得平均值为 0.149 ± 0.001 。因而我们设定，若检测的天敌样品的 A 值为 0.148，或小于 0.148 又为呈阳性反应的样品，都视为取食 1 头 3 龄幼虫；若检测的天敌样品的 A 值大于 0.148 的，都为取食 2 头 3 龄幼虫，如此类推，就可以用检测的 A 值确定 Q 。

狼蛛捕量 $R = Q_0 d / (f t_{DP})$

式中， Q_0 为当天捕食猎物量； f 为消化系数 (设定为 1)； d 为捕食者种群密度； t_{DP} 为猎物可测出时间，已求出为 1 d 所以狼蛛的捕食量可求。

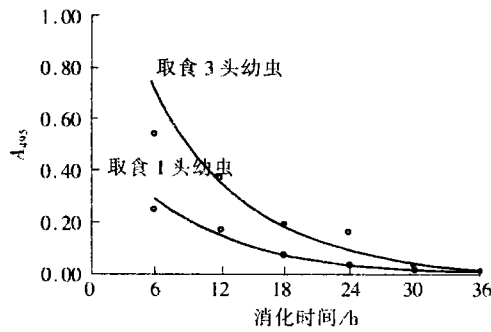


图 3 拟水狼蛛取食后的稻纵卷叶螟抗原降解曲线
Fig.3 The curve for the decay of age of 3rd instar larva preyed by wolf spiders

表 1 被狼蛛捕食第三代稻纵卷叶螟 3 龄幼虫数量的估计

Tab.1 The estimation of the control by predatory wolf spiders to 3-rd instar larva of rice leaf roller in 3-rd generation

日期	检查蜘蛛数	捕食 3 龄幼虫	Q_0	狼蛛密度 (头·hm ⁻²)	捕食虫数 (头·d ⁻¹ ·hm ⁻²)	稻纵卷叶螟密度 (头·hm ⁻²)	捕食率 %
19980513	12	3.8	0.32	348 × 15	111.36 × 15	672 × 15	16.57
19980518	18	7.0	0.39	456 × 15	177.84 × 15	780 × 15	22.80
19980523	23	10.0	0.43	480 × 15	206.40 × 15	816 × 15	25.29
19980528	32	16.3	0.51	492 × 15	250.92 × 15	756 × 15	33.19
19980603	27	7.3	0.27	540 × 15	145.80 × 15	552 × 15	26.41

3 讨 论

狼蛛是稻田生态系统里重要的天敌种群,对稻虫有重要的控制作用,应加予保护。

这种评价方法仍是对自然生态系统里天敌对猎物的捕食作用的一种估计方法,然而对不同取食不同猎物在不同条件下的不同消化速率以及重捕食作用等,都会影响评价结果的准确性,因此,用血清学方法较精确估计天敌的捕食量的方法还得进一步改进。

参考文献:

- [1] 汤鉴球,张文庆. 用血清学方法评价稻田狼蛛对稻纵卷叶螟的控制作用[J]. 植物保护学报, 1992, 19(1): 1~6.
- [2] 黄葵, 郭予元, 谢云陆. 应用酶联免疫吸附法鉴定粘虫的捕食性天敌[J]. 植物保护学报, 1992, 19(3): 207~212.
- [3] CROOK N E, SUNDERLAND K D. Detection of aphid remains in predatory insects and spiders by ELISA[J]. Ann Appl Biol, 1984, 105: 413~422.
- [4] LOVE G L, SOPP P L, SUNDERLAND K D. Digestion rate in relation to alternative feeding in three species of polyphagous predators[J]. Entomol, 1990, 15: 293~300.
- [5] SOPP P L, SUNDERLAND K D, FENLON J S, et al. An improved quantitative method for estimating invertebrate predation in the field using an ELISA[J]. J Appl Ecol, 1992, 29: 295~302.
- [6] 汤鉴球, 周汉辉. 用血清学方法研究稻田蜘蛛的捕食效应[J]. 昆虫天敌, 1983, 5(4): 207~214.
- [7] 朱培坤. 免疫酶技术[J]. 济南: 山东科技出版社, 1983. 36~40; 110~111.
- [8] 张古忍, 张文庆, 古德祥. 用 ELISA 检测稻飞虱的捕食性天敌[J]. 中山大学学报(自然科学版), 1996, 35(5): 119~122.

Application of ELISA to Appraising the Suppression Effect of Wolf Spiders on Rice Leaf Folder in Paddy Field

TANG Jian-qiu^{*}, WEN Rui-zhen

Abstract: An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the control effects of wolf spiders on rice leaf folder larva. The results indicated that minimum detectable amount of 0.1 mg/mL can be assayed in antiserum of 3rd larva. The OD value of the antigen of 3rd instar larva (1 mg/mL) preyed by wolf spiders was 0.149 ± 0.001 in an hour. Equations for decaying curve of antiserum of 3rd larva preyed by wolf spiders were $y = 0.5888 \exp(-0.1123x)$ (for 1 larva/spider) and $y = 1.4160 \exp(-0.1123x)$ (for 3 larvae/spider). The predation rate of wolf spider was 33.19% during the 3rd generation of rice leaf folder.

Keywords: ELISA; *Cnaphalocrocis medinalis*; wolf spider

^{*} Institute of Entomology & State Key Laboratory for Biocontrol, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China