

黄地老虎幼虫为害棉花植株根茎部的 模拟研究体系*

张倩^{1**} 耿亭² 陆宴辉^{1***}

(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. 农业农村部廊坊作物有害生物科学观测实验站, 廊坊 065000)

摘要 【目的】黄地老虎 *Agrotis segetum* Schiff 是新疆棉田的一种重要地下害虫, 主要取食为害棉花植株的根茎部。本研究拟在室内条件下, 构建黄地老虎幼虫对棉花植株根茎部的为害模拟研究体系, 为黄地老虎为害对地上害虫及天敌种群发生影响研究奠定基础。【方法】将黄地老虎各龄幼虫 1、2、3 和 4 头分别接种到 3 叶期和 5 叶期棉花植株上, 限制幼虫在植株根茎部取食 3 d。根据棉花植株的受害程度, 提出幼虫为害分级标准, 并筛选出适合接种的幼虫龄期和数量。【结果】依据黄地老虎幼虫取食棉花根茎的受害状及被取食高度将为害级别划分 6 级, 根茎部无明显受害状为 0 级, 根茎韧皮部被取食高度 ≤ 3 cm 为 1 级, 3 cm < 根茎韧皮部被取食高度 ≤ 5 cm 为 2 级, 5 cm < 根茎韧皮部被取食高度 ≤ 7 cm 为 3 级, 根茎韧皮部被取食高度 > 7 cm 为 4 级, 根茎部折断为 5 级。将 4 头 2 龄黄地老虎幼虫接种到 1 株 3 叶期和 5 叶期棉花上取食 3 d 后形成的为害级别小 (0-2 级), 2 头 5 龄和 2 头 6 龄幼虫取食后棉花茎秆易折断 (5 级), 2 头 3 龄幼虫对 3 叶期棉花植株和 2 头 4 龄幼虫对 5 叶期植株的为害程度中等 (3-4 级)。【结论】黄地老虎幼虫对棉花植株根茎部为害模拟研究体系的构建, 主要在 3 叶期棉花植株接种 2 头 3 龄幼虫、5 叶期棉花植株接种 2 头 4 龄幼虫, 连续取食 3 d。这样既能形成较为严重的取食为害, 又可保证棉花植株的继续生长。该研究体系的构建为棉花植株地下部和地上部昆虫的相互作用研究奠定了基础。

关键词 黄地老虎; 幼虫; 棉花植株; 根茎部; 为害级别

A system for simulating the infestation of cotton plants by *Agrotis segetum* larvae in the laboratory

ZHANG Qian^{1**} GENG Ting² LU Yan-Hui^{1***}

(1. State Key Laboratory of Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Langfang Experimental Station of Crop Pests Science, MOA, Langfang 065000, China)

Abstract 【Objectives】*Agrotis segetum* Schiff is an important underground pest of cotton in Xinjiang, mainly feeding on the roots and stem. To facilitate research on the effects of *A. segetum* infestation on aboveground pests and natural enemies, we set up a system to simulate the infestation of cotton plants by *A. segetum* larvae in a laboratory. 【Methods】Different numbers of different instars of *A. segetum* larvae were introduced to cotton plants with either 3 or 5 true leaves, and confined to the root and stem of each plant. The optimal larval instar and density per plant was then determined based on the degree of plant damage. 【Results】*Agrotis segetum* larvae feed mainly on the phloem tissue of the roots and stems of cotton plant in spiral paths. The amount of damage to cotton plants was categorized into six levels; level 0, no evident damage; levels 1-4, in which the height of phloem damaged by larvae was classified as either ≤ 3 cm, between 3 cm and 5 cm, between 5 cm and 7 cm or > 7 cm, respectively, and level 5 in which the plant was broken. The degree of damage to cotton plants infested with

*资助项目 Supported projects: 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)

**第一作者 First author, E-mail: zhangqian9405@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: luyanhui@caas.cn

收稿日期 Received: 2022-01-13; 接受日期 Accepted: 2022-04-30

four, 2nd instar larvae was minor 3 days after infestation, (level 0-2). Plants infested with two, 5th instar larvae, or two, 6th instar larvae, sustained level 5 damage. Cotton plants with 3 true leaves infested with two, 3rd instar larvae, or plants with 5 true leaves infested with two 4th instar larvae sustained moderate damage (level 3-4). **[Conclusion]** A system for simulating the infestation of cotton plants by *A. segetum* larvae was developed in a laboratory by infesting plants with 3 true leaves with two, 3rd instar larvae and plants with 5 true leaves with two, 4th instar larvae and allowing larvae to feed on the root and stem of each plant for 3 days. Although severely infested with *A. segetum* larvae, all plants in our study survived long enough to complete the experiment.

Key words *Agrotis segetum*; larvae; cotton plant; root and stem; damage degree

植物具有系统性防御反应, 地下害虫的取食为害能够诱导植物地上部生理代谢的改变, 进而影响地上部植物-害虫-天敌的互作关系 (Van Dam, 2009)。如红胸律点跳甲 *Bikasha collaris* 地下幼虫取食乌桕后, 植株叶部挥发物乙基己醇和壬醛的含量显著升高, 从而趋避异种的乌桕卷象 *Heterapoderopsis bicallosicollis*, 吸引同种的跳甲成虫 (Sun *et al.*, 2019)。马铃薯块茎蛾 *Tecia solanivora* 幼虫取食马铃薯块茎后, 能显著增加马铃薯叶片中绿原酸、 α -茄碱、 α -胆碱等防御化合物的含量, 导致植株上食叶害虫甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 和草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 的幼虫体重明显降低 (Kumar *et al.*, 2016)。黄花茅根部被线虫侵染后, 植株韧皮部的总氨基酸浓度下降, 禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* 的种群数量明显减少, 但蚜虫寄生蜂科列马-阿布拉小蜂 *Aphidius colemani* 的存活率和雌性比显著增加 (Bezemer *et al.*, 2005)。

黄地老虎 *Agrotis segetum* Schiff, 幼虫俗称切根虫、夜盗虫, 属鳞翅目 *Lepidoptera*, 夜蛾科 *Noctuidae*, 具有杂食性, 主要为害棉花、玉米、小麦、高粱、马铃薯、苜蓿及多种瓜类和蔬菜等作物, 是在我国广泛分布的重要农业害虫 (李国英, 2017)。黄地老虎幼虫昼伏夜出, 主要取食植物近地面的根茎部, 为害幼苗严重时, 可将幼苗根茎咬断, 造成作物整株死亡, 形成缺苗断垄。植株稍大后, 黄地老虎幼虫的取食主要对植株根茎韧皮组织造成损伤, 这虽然没有像咬断幼苗根茎那样导致直接明显危害, 但可能会因取食的诱导对地上害虫及其天敌产生影响效应。

20 世纪 80 年代起, 新疆开始推广覆膜植棉技术, 地面覆膜后不利于黄地老虎成虫在地表及根茎处产卵, 同时膜下高温环境也不利于幼虫在

表土内栖息, 导致其发生数量大幅减少, 黄地老虎由棉田重要害虫变为了次要害虫 (李国英, 2017; 潘洪生等, 2018)。通过室内控制试验, 探究黄地老虎为害对棉花地上害虫及天敌种群的影响作用及其机制, 有助于深入解析新疆棉花害虫种群地位演替规律。本研究拟在室内条件下, 将黄地老虎各龄幼虫分别接种到 3 叶期和 5 叶期棉花植株上, 根据棉花植株的受害程度, 筛选出适合接种到棉花上的幼虫龄期和数量, 从而建立黄地老虎幼虫对棉花植株根茎部的为害模拟体系, 为棉花植株地下部和地上部昆虫的相互作用研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

供试黄地老虎为室内种群, 幼虫使用自行研制的人工饲料进行继代饲养, 饲料主要成分为小麦胚、酪蛋白、韦氏盐、维生素和蔗糖。黄地老虎饲养条件: 温度 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $40\% \pm 10\%$, 光周期 14 L : 10 D。

1.2 供试植物

试验所用棉花品种为中棉 49, 日光温室内栽培。将棉花种子播种于装有育苗基质 (蛭石: 泥炭: 灭菌大田土按体积比 1 : 3 : 4 混合) 的花盆 (直径 18 cm, 高 15 cm) 中, 待棉苗 2 片子叶完全展开后间苗, 每个花盆中保留 1 株生长健壮的棉苗, 定期浇水。棉花生长条件: 温度 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $40\% \pm 10\%$, 光周期 14 L : 10 D。

1.3 接虫处理

黄地老虎幼虫喜食作物幼苗 (陈婧等, 2021),

为保证幼虫对棉花植株的取食为害及受害棉株的正常生长, 在本试验中, 选取长势均一的 3 叶期和 5 叶期棉花用于接虫, 每株棉花分别接种黄地老虎 1-6 龄幼虫 1、2、3 和 4 头, 每处理共接种 5 株棉花, 1 株棉花为一个重复。预试验结果发现, 黄地老虎 1-2 龄幼虫接入 3 叶期和 5 叶期棉花后, 幼虫存活天数较短, 而 5-6 龄幼虫随着接入天数的增加, 棉花植株茎秆易被取食断。因此, 本研究限制黄地老虎幼虫取食 3 d。

环棉花主茎四周插入 4 根塑料棒, 塑料棒高度至棉花子叶茎秆处; 剪取圆形吹塑纸 (直径 8 cm) 环套住子叶处茎秆, 并固定在塑料棒上面, 以此限制幼虫对棉花植株的取食范围; 试验幼虫置于与棉花种植相同的育苗基质中饥饿 24 h 后, 接在盆栽棉花土面茎秆处 (图 1)。以棉花不接虫为对照组。每 24 h 观察并记录棉花植株的受害状, 连续观察 3 d, 提出黄地老虎幼虫对棉花植株的为害分级标准, 并对各为害级别的典型特征进行拍摄。试验条件: 温度 (25 ± 1) °C, 相对湿度 $40\% \pm 10\%$, 光周期 14 L : 10 D。

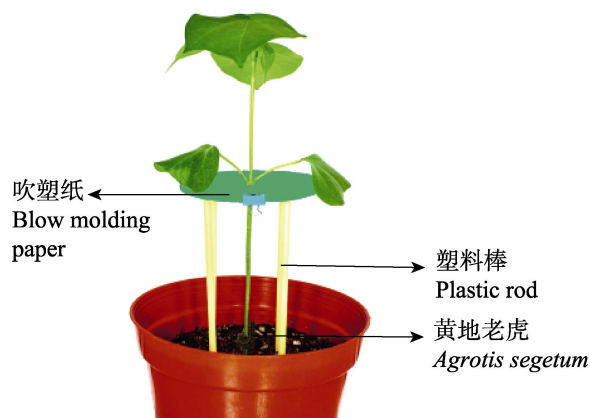


图 1 黄地老虎幼虫对棉花植株根茎部的为害模拟装置
Fig. 1 Device for simulating the infestation of cotton plants by *Agrotis segetum* larvae in a laboratory

1.4 数据分析

采用 GraphPad Prism 7.0 和 R 4.1.0 软件进行数据统计和分析。运用广义线性模型分析幼虫龄期、接虫数量和棉花生育期及其交互作用对棉花植株受害程度的影响。

2 结果与分析

2.1 幼虫为害级别划分

黄地老虎幼虫主要环绕取食棉花植株根茎韧皮组织, 为害严重时, 棉花根茎被咬断。在接虫 1 d 后, 棉花植株根茎韧皮组织被单侧和环绕取食的比例均为 50.00%; 第 2 天, 根茎韧皮组织被环绕取食的比例增长为 86.67%; 第 3 天, 90.00% 棉花植株的根茎韧皮组织被环绕取食为害 (图 2)。

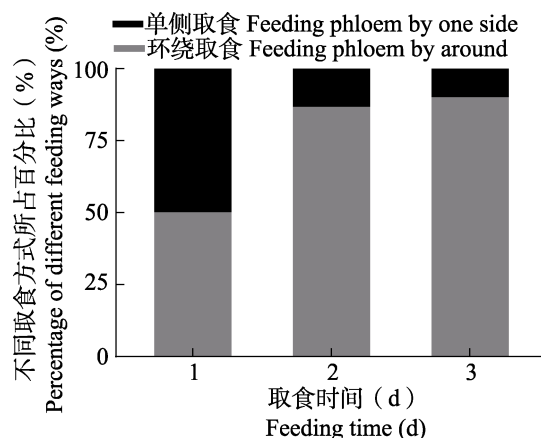


图 2 黄地老虎幼虫对棉花植株根茎部不同取食方式的占比

Fig. 2 Proportion of different feeding ways of *Agrotis segetum* larvae

根据黄地老虎幼虫对棉花植株的为害程度, 将幼虫为害级别进行划分。黄地老虎幼虫对棉花植株的为害等级分为 6 个级别, 0 级: 根茎部无明显受害状 (图 3: A); 1 级: 根茎韧皮组织被幼虫取食高度 $h \leq 3$ cm (图 3: B); 2 级: 根茎韧皮组织被幼虫取食高度 $3 \text{ cm} < h \leq 5$ cm (图 3: C); 3 级: 根茎韧皮组织被幼虫取食高度 $5 \text{ cm} < h \leq 7$ cm (图 3: D); 4 级: 根茎韧皮组织被幼虫取食高度 $h > 7$ cm (图 3: E); 5 级: 棉花植株折断 (图 3: F)。

2.2 不同龄期和数量幼虫对棉花植株的为害级别

多因素方差分析结果表明, 幼虫龄期、接虫数量和棉花生育期对棉花植株的受害程度均存在显著影响 ($P < 0.001$); 幼虫龄期与接虫数量

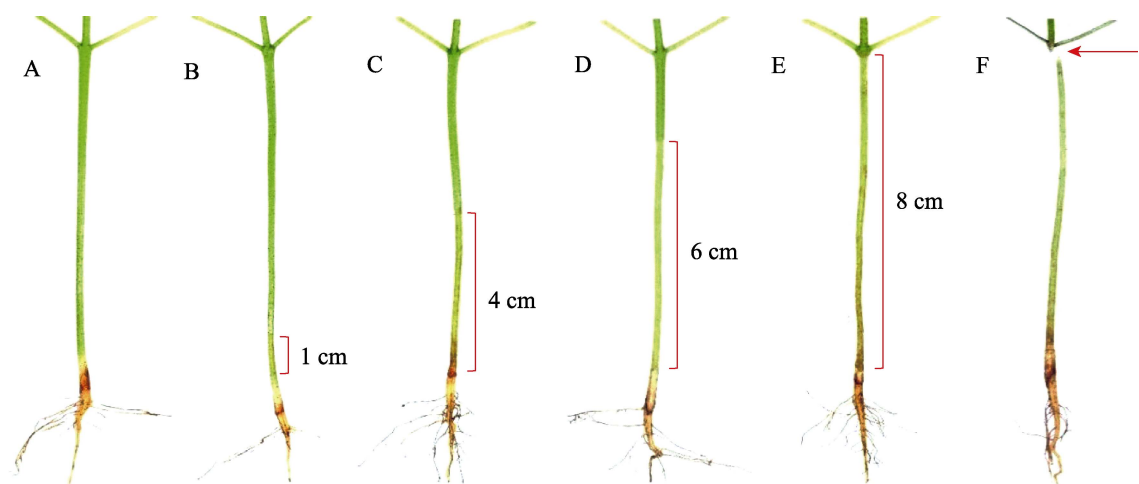


图 3 黄地老虎幼虫对棉花植株根茎部的为害状

Fig. 3 Damage characteristics of cotton plant infested by *Agrotis segetum* larvae

A. 0 级, 根茎部无明显受害状; B. 1 级, 根茎韧皮组织被幼虫取食高度 ≤ 3 cm;
C. 2 级, $3\text{ cm} <$ 根茎韧皮组织被幼虫取食高度 ≤ 5 cm; D. 3 级, $5\text{ cm} <$ 根茎韧皮组织被幼虫取食高度 ≤ 7 cm;
E. 4 级, 根茎韧皮组织被幼虫取食高度 > 7 cm; F. 5 级, 棉花植株折断。

A. Level 0, damage degree was not evident; B. Level 1, the heights of phloem fed by the larvae ≤ 3 cm;
C. Level 2, $3\text{ cm} <$ the heights of phloem fed by the larvae ≤ 5 cm; D. Level 3, $5\text{ cm} <$ the heights of phloem fed by the larvae ≤ 7 cm; E. Level 4, the heights of phloem fed by the larvae > 7 cm; F. Level 5, the cotton plant was broken.

之间及幼虫龄期与棉花生育期之间对棉花植株受害程度具有显著的交互作用 ($P < 0.001$); 接虫数量与棉花生育期之间的交互作用对棉花植株的受害程度没有显著影响 ($P = 0.218$) (表 1)。

1 龄和 2 龄黄地老虎幼虫对 3 叶期和 5 叶期棉花植株的为害程度轻, 4 头 1 龄幼虫接种到 3 叶期和 5 叶期棉花上, 幼虫为害级别均不到 1 级 (图 4: A); 4 头 2 龄幼虫对 3 叶期和 5 叶期棉

花的平均为害级别分别为 1.6 级和 1.2 级 (图 4: B)。2 头 3 龄黄地老虎幼虫对 3 叶期棉花的平均为害级别为 3.8 级, 棉花植株受害程度中等, 但当 3 龄幼虫分别以 3 头和 4 头接到 3 叶期棉花上时, 棉花植株受害严重, 幼虫平均为害级别达到 4.6 级和 4.8 级; 3 头和 4 头 3 龄黄地老虎幼虫对 5 叶期棉花的平均为害级别分别为 3.4 级和 4.4 级 (图 4: C)。4 龄黄地老虎幼虫分别以 2 头、

表 1 幼虫龄期、接虫数量和棉花生育期对棉花植株受害程度影响的多因素方差分析

Table 1 Multivariate analysis of variance for the effect of instar, number of larvae and cotton growth stage on the damage degree of cotton plant

变异来源 Source	自由度 <i>df</i>	均方 Mean Square	<i>F</i> 值 <i>F</i> -value	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
幼虫龄期 Instar	3	59.48	292.80	< 0.001
接虫数量 Number of larvae	5	114.85	565.38	< 0.001
棉花生育期 Cotton growth stage	1	8.33	40.99	< 0.001
幼虫龄期×接虫数量 Instar × Number of larvae	15	4.37	21.49	< 0.001
幼虫龄期×棉花生育期 Instar × Cotton growth stage	5	0.95	4.68	< 0.001
接虫数量×棉花生育期 Number of larvae × Cotton growth stage	3	0.30	1.49	0.218
幼虫龄期×接虫数量×棉花生育期 Instar × Number of larvae × Cotton growth stage	15	0.19	0.93	0.533
误差 Error	191	0.20		

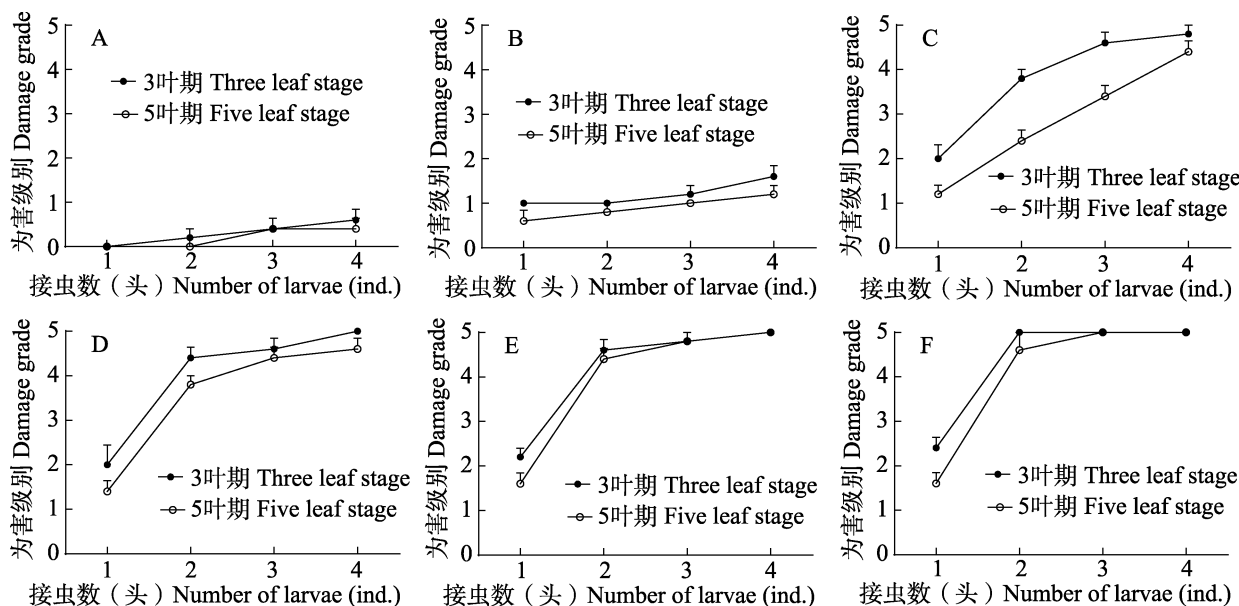


图 4 不同数量黄地老虎幼虫对 3 叶期和 5 叶期棉花植株的为害级别

Fig. 4 Damage grade of cotton plant at 3 and 5 leaf stage infested with different number of *Agrotis segetum* larvae

A. 1 龄; B. 2 龄; C. 3 龄; D. 4 龄; E. 5 龄; F. 6 龄。

A. 1st instar; B. 2nd instar; C. 3rd instar; D. 4th instar; E. 5th instar; F. 6th instar.

图中数据为平均值+标准误。Data in figure are mean+SE.

3 头和 4 头接到 3 叶期棉花上, 幼虫平均为害级别在 4.4 级以上, 棉花植株严重受害; 2 头 4 龄幼虫对 5 叶期棉花的为害程度中等, 幼虫平均为害级别为 3.8 级, 3 头和 4 头 4 龄幼虫对 5 叶期棉花的平均为害级别分别为 4.4 级和 4.6 级 (图 4: D)。5 龄和 6 龄黄地老虎幼虫以 2 头、3 头和 4 头分别接种到 3 叶期和 5 叶期棉花上, 棉花植株严重受害, 幼虫平均为害级别均在 4.4 级以上 (图 4: E, F)。

3 讨论

黄地老虎是新疆棉田重要害虫, 本研究在室内条件下将不同龄期和不同数量黄地老虎幼虫接种到棉花植株茎基部, 根据棉花植株根茎部的受害情况, 对黄地老虎为害程度等级进行了划分。该为害程度标准可为黄地老虎的田间调查为害分级提供科学参考。

本研究结果表明, 黄地老虎低龄幼虫对棉花植株根茎的为害程度小, 平均为害级别不到 2 级, 而高龄幼虫对棉花植株根茎为害严重, 棉花植株茎秆易被取食断。这主要是由于黄地老虎低

龄幼虫取食量小且多喜在幼苗顶心嫩叶处取食, 但在本试验中我们限制了棉花植株根茎部作为取食点。高龄幼虫进入暴食期后, 取食量显著增加, 易将棉花茎秆咬断, 造成棉株死亡。3 头 3 龄黄地老虎幼虫和 2 头 4 龄幼虫接入 5 叶期棉花, 取食 3 d, 棉花植株的受害程度近似。黄地老虎幼虫进入 3 龄后, 有自相残杀的习性, 为有效减少幼虫自相残杀, 在幼虫对棉花植株为害程度近似情况下, 我们选择以少量幼虫接入棉花。2 头 3 龄黄地老虎幼虫接入 3 d 对 3 叶期棉花植株的为害程度, 和 2 头 4 龄幼虫接入 3 d 对 5 叶期棉花植株的为害程度中等, 即可以保证幼虫较为严重的取食为害, 也可以保证棉花植株的生长, 适于建立黄地老虎幼虫对棉花植株根茎部的为害模拟体系。

地下害虫取食为害植物根茎室内模拟体系的构建因昆虫、植物种类的不同而不同, 受昆虫取食行为, 对植物损伤程度和植物对昆虫取食诱导响应的的影响。Kostenko 等 (2013) 把 2 头饥饿 3 d 的末龄金针虫 *Agriotes lineatus* 幼虫接到苗龄 6 周的千里光植株上, 接虫 2 周后, 分析金针虫

取食为害对食叶害虫甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae* 及其寄生蜂中红侧沟茧蜂 *Microplitis mediator* 生长发育的影响。Anderson 等 (2011) 将 8 头末龄金针虫幼虫接到 5 叶期棉花植株上, 取食 3 周, 评价金针虫取食为害对棉花叶片害虫灰翅夜蛾 *Spodoptera littoralis* 成虫产卵行为和幼虫寄主选择的影响。Soler 等 (2005) 以苗龄 45 d 的甘蓝分别接种 5 头和 20 头 1 龄根蛆 *Delia radicum* 幼虫, 接虫 13 d 后, 比较了低密度和高密度根蛆为害对甘蓝地上害虫大菜粉蝶 *Cotesia glomerata* 和其寄生蜂粉蝶盘绒茧蜂 *Lysibia nana* 生长发育的影响。因此, 植物介导地下地上昆虫互作关系的研究应针对不同种类植物和昆虫进行为害模拟研究体系的构建。

基于黄地老虎幼虫对棉花植株根茎部的为害模拟体系, 可通过室内控制试验, 系统评价黄地老虎为害变化对棉花次生代谢物质积累, 对地上害虫及天敌种群发生与种间互作、食物网特征的影响作用 (梁海申等, 2021), 阐明诱导棉花产生抗虫性的分子机制, 研究结果将有助于全面认识新疆棉花害虫灾变机制, 并为创新棉花害虫绿色防控对策提供理论依据 (陆宴辉等, 2020; 陆宴辉, 2021)。

参考文献 (References)

- Andersson P, Sadek MM, Wäckers FL, 2011. Root herbivory affects oviposition and feeding behavior of a foliar herbivore. *Behavioral Ecology*, 22(6): 1272–1277.
- Bezemer TM, De Deyn GB, Bossinga TM, Van Dam NM, Harvey JA, Van Der Putten WH, 2005. Soil community composition drives aboveground plant-herbivore-parasitoid interactions. *Ecology Letters*, 8(6): 652–661.
- Chen J, Liu R, Liang HJ, Luo SK, Luo FJ, 2021. Population monitoring and occurrence characteristics of *Agrotis segetum* in Aral reclamation area of Xinjiang. *China Cotton*, 48(7): 26–28. [陈婧, 刘蓉, 梁虎军, 罗树凯, 罗凤君, 2021. 新疆阿拉尔垦区黄地老虎种群监测与发生特点分析. 中国棉花, 48(7): 26–28.]
- Kostenko O, Mulder PPJ, Bezemer TM, 2013. Effects of root herbivory

- on pyrrolizidine alkaloid content and aboveground plant-herbivore-parasitoid interactions in *Jacobaea vulgaris*. *Journal of Chemical Ecology*, 39(1): 109–119.
- Kumar P, Ortiz EV, Garrido E, Poveda K, Jander G, 2016. Potato tuber herbivory increases resistance to aboveground lepidopteran herbivores. *Oecologia*, 182(1): 1–11.
- Li GY, 2017. Control of Cotton Pests in Xinjiang. Beijing: China Agriculture Press. 1–244. [李国英, 2017. 新疆棉花病虫害及其防治. 北京: 中国农业出版社. 1–244.]
- Liang HS, Zhang Q, Wang S, Lu YH, 2021. Effects of cotton roots and stems infested by *Agrotis segetum* larvae on fitness of *Tetranychus truncatus*, *Tetranychus turkestanii* and *Tetranychus dunhuangensis* on cotton leaves. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 58(11): 2056–2061. [梁海申, 张倩, 王爽, 陆宴辉, 2021. 黄地老虎幼虫取食棉花根茎部对植株上部叶螨适合度的影响. 新疆农业科学, 58(11): 2056–2061.]
- 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. [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.]
- Lu YH, 2021. Ever-evolving advances in the researches of cotton insect pest management in China. *Journal of Plant Protection*, 48(5): 937–939. [陆宴辉, 2021. 与时俱进的中国棉花害虫治理研究. 植物保护学报, 48(5): 937–939.]
- 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. [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.]
- Soler R, Bezemer TM, Van der Putten WH, Harvey JA, 2005. Root herbivore effects on above-ground herbivore, parasitoid and hyperparasitoid performance via changes in plant quality. *Journal of Animal Ecology*, 74(6): 1121–1130.
- Sun X, Siemann E, Liu Z, Wang QY, Wang DL, Huang W, Zhang CJ, Ding JQ, 2019. Root-feeding larvae increase their performance by inducing leaf volatiles that attract above-ground conspecific adults. *Journal of Ecology*, 107(6): 2716–2723.
- Van Dam NM, 2009. Belowground herbivory and plant defenses. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40(1): 373–391.