

转基因棉 Bt 毒蛋白含量与抗棉大卷叶螟效果间的关系分析^{*}

肖留斌^{**} 柏立新^{***} 谭永安

(江苏省农业科学院植物保护研究所 南京 210014)

摘 要 棉大卷叶螟 *Sylepta derogata* Fabricius 为近年来长江流域棉花中后期的一种重要害虫。在其危害盛期测定了 8 种转基因棉叶片 Bt 毒蛋白的含量与受害程度,在此基础上就转基因棉对棉大卷叶螟的抗性采用不同抗性指标相结合的方法进行了综合评估,同时对转基因棉对棉大卷叶螟的抗虫效果与毒蛋白含量的相关性进行分析。结果表明:各转基因棉品种的不同部位叶片的毒蛋白含量呈现顶叶最高,功能叶次之,老叶含量最低的趋势。抗蚜 8017 和 SGK321 2 个转基因棉品种的棉叶毒蛋白表达量相对较低,平均值在 120 $\mu\text{g/g}$ 以下,对棉大卷叶螟的抗性级别均为中抗。其它供试转基因棉棉叶毒蛋白表达量均值在 150 $\mu\text{g/g}$ 以上,抗性级别也均为高抗,而非转基因棉泗棉 3 号与石远 321 对棉大卷叶螟不具抗性。转基因棉对棉大卷叶螟的抗性水平与毒蛋白含量呈正相关。

关键词 棉大卷叶螟, 转基因棉, 抗性, Bt 毒蛋白

The relationship between Bt toxin content and resistance to *Sylepta derogata* in various transgenic Bt cotton varieties

XIAO Liu-Bin^{**} BAI Li-Xin^{***} TAN Yong-An

(Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract In recent years, *Sylepta derogata* Fabricius has been an important insect pest of late growth stage cotton in the Yangtze River Region. In order to study the relationship between Bt toxin levels and resistance to *S. derogata* in transgenic cotton, the Bt toxin content of the leaves of eight Bt cotton varieties was assayed and the resistance of each variety to *S. derogata* comprehensively evaluated. The results show that the Bt toxin content of the leaves of Kangya-8017 and SGK321 were less than 120 $\mu\text{g/g}$ and the resistance of these two varieties to *S. derogata* was moderate. The other 6 varieties of Bt cotton were highly resistant to *S. derogata* and had toxic protein contents of > 150 $\mu\text{g/g}$. The parental non-transgenic cotton variety did not show any resistance to *S. derogata*. These results indicate that the resistance of Bt transgenic cotton to *S. derogata* is related to the level of Bt toxin in the plant.

Key words *Sylepta derogata*, transgenic cotton, resistance, Bt toxin protein

棉大卷叶螟 *Sylepta derogata* Fabricius, 又称棉卷叶野螟、棉卷叶虫、包叶虫、裹叶虫, 属鳞翅目, 螟蛾科。棉大卷叶螟初孵幼虫群集在叶背取食叶肉, 2 龄以后开始分散, 3 龄后吐丝将棉叶卷成喇叭状在内取食。大发生时, 一个卷叶内可多达数十头幼虫(黄东林和刘汉勤, 2005; 李俊中, 2006; 陆佩玲等, 2008)。长江流域棉大卷叶螟年发生 5 ~ 6

代, 8 月中旬至 9 月上旬是棉大卷叶螟在棉田的危害高峰期(陆佩玲等, 2008)。近年来, 随着转基因棉的大面积长期种植, 导致化学药剂的使用量下降以及部分转基因棉中后期毒蛋白表达量偏低等原因, 棉大卷叶螟在一些棉田的种群数量呈现上升趋势, 为害日渐严重, 甚至造成整株叶片卷曲或被食光, 棉株仅留下枝、茎, 严重影响棉花的现蕾

* 资助项目: 国家“十二五”重大科技支撑计划(2012BAD19B05)、现代农业产业技术体系建设专项资金。

**E-mail: xlbwll@sohu.com

***通讯作者, E-mail: jaasblx@jaas.ac.cn

收稿日期: 2012-02-16, 接受日期: 2012-03-30

开花及最后的产量,成为近几年来我国长江流域棉区棉花上较为重要的食叶性害虫(王厚震等,2002;刘芳等,2005;柏立新等,2008)。

转 Bt 基因棉对棉大卷叶螟有一定的抗虫效果,但不同的棉花品种对棉大卷叶螟的抗性有所差异,并非所有的转基因棉对棉大卷叶螟都有较好的控制效果。决定转基因棉对棉大卷叶螟抗性高低的关键因素是棉大卷叶螟主要发生期转基因棉毒蛋白表达水平的高低。Bt 毒蛋白含量在棉花不同生育期有所差异,不同转基因棉花品种的时空表达动态也不尽相同(张永军等,2001;张龙娃等,2005;Kamaraj,2008)。关于转基因棉毒蛋白表达量与抗棉大卷叶螟水平相关性研究尚未见报道,本试验以 8 种转基因棉为研究对象,将田间危

害情况调查与室内毒蛋白检测相结合,以期探明不同棉花品种的抗性差异以及与毒蛋白含量的相关性,为转基因棉田卷叶螟的防控与转基因棉的科学利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试棉花品种及种植 供试棉花品种见表 1。试验田设在江苏省农业科学院植物保护研究所试验场,供试棉花于 5 月 2 日播种,地膜覆盖。小区随机区组排列,3 次重复。区组内每材料种植 1 行,每行 20 株左右。仅苗期使用 4.5% 高效氯氰菊酯 EC 防治棉蚜,其它未使用杀虫剂。试验田肥水管理及打顶按常规进行。

表 1 供试棉花品种

Table 1 List of tested cotton varieties

编号 Number	品种 Varieties	转入基因 Insecticidal genes	育成单位 Breeding unit	材料来源 Material source
1	抗蚜 8017	<i>CryIAc</i> + <i>WSA</i>	江苏省农科院经作所	江苏省农科院经作所提供
2	国抗 22	<i>CryIAc</i>	中国农科院生物技术研究所	市购
3	鄂杂棉 10 号	<i>CryIAc</i>	湖北省惠民种业有限公司	江苏省农科院经作所提供
4	SGK321	<i>CryIAc</i> + <i>CPTI</i>	石家庄市农业科学院	市购
5	南抗 3 号	<i>CryIAc</i>	南京农业大学	南京农业大学提供
6	科棉 1 号	<i>CryIAc</i>	江苏科腾种业	市购
7	苏研 40	<i>CryIAc</i>	江苏省农科院经作所	江苏省农科院经作所提供
8	中棉研 29	<i>CryIAc</i>	中国农业科学院棉花研究所	市购
9	石远 321	非转基因棉	石家庄市农业科学院	市购
10	泗棉 3 号	非转基因棉	江苏省泗阳棉花原种场	江苏省农科院经作所提供

1.2 试验方法

1.2.1 田间危害情况调查方法 参考柏立新等(2008)的方法,在田间卷叶螟发生盛期 8 月 17 日与 8 月 29 日 2 次进行。每重复随机调查 10 株供试各品种棉花每株受害情况、全株叶片数、卷叶数、活虫量,计算棉株受害率、卷叶率、百株虫量。

1.2.2 Bt 毒蛋白检测方法 2 次田间危害情况调查的当天采集各重复不同品种棉花顶叶、功能叶、老叶各 10 片(每株采集 1 片), -20°C 冷藏供 Bt 毒蛋白检测。PBS/0.05% Tween-20 缓冲液(pH 7.4)、PBS/0.55% Tween-20 萃取液均由试验室现配,Bt (*CryIAc/b*) 检测试剂盒及标样均购自 Envirologix 公司。将采集的棉叶剪碎混合,称取 0.05 g 的棉花叶片加入 250 μL 的萃取缓冲液,充

分分裂混合 25 min 后待测。Bt 毒蛋白检测按照试剂盒说明书进行。在酶标板各试管中加入 50 μL 的 Enzyme Conjugate,然后立即加入 50 μL 的待测样品萃取缓冲液至相应试管。充分混合后,200 r/min 振荡 1.5 h。将试管中的液体倒入水槽,并甩干。缓冲液冲洗 3 次并甩干,将酶标板倒置在吸水纸上控干水分。在每个试管中加入 100 μL 的酶基质,使用胶条封盖酶标板,培养 25 min,每试管中加入 100 μL 终止液(1 mol/L 盐酸),并混合。在波长 450 nm 下读取 OD 值,根据标准品所测标准曲线计算 Bt 蛋白的含量。

1.3 数据处理与分析

试验统计与方差分析采用 Excel 2003、DPS v8.01 版数据处理系统等软件对数据进行分析处

理, Duncan's 检验比较各处理间差异的显著性。对棉大卷叶螟不同抗性指标的分级评判标准参照柏立新等(2008)方法。毒蛋白标准曲线及样品含量的计算使用 Elisamate 1.1 分析软件进行。

2 结果与分析

2.1 不同棉花品种叶片 Bt 毒蛋白含量

由表 2 可知, 供试的 8 个转基因棉花中, 抗蚜 8017 Bt 毒蛋白含量最低, 2 次采样的不同部位叶片毒蛋白含量均低于 100 ng/g, 南抗 3 号和中棉研 29 毒蛋白含量较高, 叶片毒蛋白含量平均值超过 190 ng/g。不同采样部位叶片毒蛋白含量比较发现, 除第 2 次检测的抗蚜 8017 品种外, 其它 15 次检测均表现出顶叶含量最高, 功能叶次之, 老叶含量最低。

棉花品种及采样部位可能对转基因棉花叶片中 Bt 毒蛋白含量产生影响。对不同棉花品种及不同采样部位叶片毒蛋白含量进行二因素方差分析, 结果表明(表 3): 不同品种间及不同采样部位间毒蛋白含量差异均达极显著水平, 说明棉花品种和采样部位均是 Bt 毒蛋白含量的主要影响因素。

2.2 供试棉花品种对棉大卷叶螟的抗虫性指标

2.2.1 对棉株受害率的影响 由表 4 可知, 外源 Bt 基因的导入, 显著降低了棉株受棉大卷叶螟危害的机率, 石远 321 和泗棉 3 号 2 个非转基因棉的

棉株受害率均在 80% 以上, 而其它 8 个转基因棉的受害率在 60% 以下, 方差分析结果显示, 不同棉花品种 2 次调查的棉株受害率差异均达极显著水平。

2.2.2 对棉叶卷叶率的影响 由表 4 可知, 石远 321 和泗棉 3 号 2 个非转基因棉的棉叶受害率在 70% 以上, 而其它转基因棉的棉叶受害率均在 25% 以下。其中国抗 22、南抗 3 号未发现棉叶卷曲, 表现出很好的抗性。方差分析结果显示, 不同棉花品种 2 次调查的棉株受害率差异均达极显著水平。

2.2.3 对百株虫量的影响 2 次调查的非转基因棉石远 321 及泗棉 3 号上的百株虫量均在 1 000 头以上, 转基因棉的百株虫量均在 1 000 头以下, 抗蚜 8017 上的百株活虫数达 987 头, 与非转基因棉未形成极显著差异, 国抗 22 和南抗 3 号未发现棉大卷叶螟活虫, 表现出很好的抗虫效果(表 4)。

2.3 供试棉花品种对棉大卷叶螟的抗虫性综合评价

各品种综合抗性值与平均抗性值结果详见表 5。由表 5 可知, 8 个转基因棉对棉大卷叶螟的抗虫性有所差异, 其中抗蚜 8017、SGK321 这 2 个转基因棉对棉大卷叶螟为中抗水平, 其它 6 个转基因棉均处于高抗水平。石远 321 和泗棉 3 号 2 个非转基因棉对棉大卷叶螟表现为不抗。

表 3 不同转基因品种棉花叶片 Bt 毒蛋白含量二因素方差分析表

Table 3 The result of two-way ANOVA (fixed model) of Bt toxin content among different transgenic cotton

变异来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value
品种间 Varieties	135 988. 89	7	19 426. 98	1 482. 91	0. 0001
取样部位 Sampling	17 696. 68	2	8 848. 34	675. 42	0. 0001
品种 × 取样部位 Varieties × sampling	2 168. 87	14	154. 92	11. 825	0. 0001
区组间 Block	7. 99	1	7. 99	0. 61	0. 4426
误差 Error	301. 31	23	13. 10		
总变异 Total variation	156 163. 76	47			

2.4 转基因棉对棉大卷叶螟的抗虫性与 Bt 毒蛋白含量的相关性

结合表 2 与表 4 中的数据分析, 结果表明: 转基因棉不同品种间, 抗蚜 8017 活虫减退率最低, 毒蛋白含量也最低; 南抗 3 号活虫减退率最

高, 毒蛋白含量也最高。活虫减退率与毒蛋白含量间的整体趋势一致。将不同转基因棉花品种 2 次田间调查所得虫口减退率与相应的叶片平均毒蛋白含量进行相关性分析, 两者表现出典型的线性相关(图 1)。

表 2 不同转基因棉花品种叶片 Bt 毒蛋白含量 ($\mu\text{g/g}$)

Table 2 The content of Bt toxin protein in different transgenic cotton (μg/g)									
品种 Varieties	第 1 次采样 First sampling				第 2 次采样 Second sampling				增加率 Rate of increase (%)
	顶叶 Top leaf	功能叶 Function leaf	老叶 Adult leaf	平均 Average	顶叶 Top leaf	功能叶 Function leaf	老叶 Adult leaf	平均 Average	
抗蚜 8017 Kangya 8017	71.35 ± 37.05	32.40 ± 31.65	25.96 ± 27.21	43.24	49.56 ± 1.58	54.39 ± 2.37	46.49 ± 21.14	50.15	15.98
国抗 22 GK22	221.33 ± 34.54	205.28 ± 0.39	170.26 ± 6.95	198.96	150.79 ± 3.68	169.47 ± 3.95	164.04 ± 19.04	161.43	- 18.86
鄂杂棉 10 号 Ezamian 10	156.86 ± 28.18	130.14 ± 13.32	125.35 ± 19.65	137.45	156.67 ± 9.21	141.49 ± 4.39	153.25 ± 5.79	150.47	9.47
SGK321	136.88 ± 22.05	93.96 ± 7.91	66.82 ± 19.68	99.22	157.89 ± 8.51	119.12 ± 11.67	78.60 ± 25.00	118.54	19.47
南抗 3 号 Nankang 3	216.81 ± 21.91	189.72 ± 3.28	163.19 ± 26.68	189.91	236.84 ± 3.60	180.88 ± 13.60	164.74 ± 2.02	194.15	2.23
科棉 1 号 Kemian 1	141.51 ± 17.74	126.65 ± 45.93	93.84 ± 9.65	120.67	153.07 ± 5.09	111.40 ± 10.44	115.61 ± 5.70	126.70	5.00
苏研 40 Suyan 40	198.54 ± 46.32	163.23 ± 0.58	159.51 ± 41.49	173.76	217.11 ± 7.37	187.46 ± 16.49	174.39 ± 33.60	192.98	11.06
中棉研 29 Zhongmian 29	194.32 ± 38.21	153.43 ± 2.70	145.28 ± 36.84	164.34	192.02 ± 8.60	176.67 ± 6.05	154.04 ± 23.25	174.24	6.02

表 4 不同品种转基因棉对棉大卷叶螟抗性

品种 Varieties	第 1 次采样 First sampling						第 2 次采样 Second sampling					
	棉株 Cotton plant			棉叶 Cotton leaf			棉株 Cotton plant			棉叶 Cotton leaf		
	株害率 (%) Damage rate(%)	株害减少 率(%) Reducing suffer rate (%)	卷叶率 (%) Leaf rolled rate(%)	卷叶退 率(%) Reducing leaf rolled rate(%)	百株虫量 (头) Number for every 100 plants	活虫减退 率(%) Reducing survival rate (%)	株害率 (%) Damage rate(%)	株害减少 率(%) Reducing suffer rate (%)	卷叶率 (%) Leaf rolled rate(%)	卷叶退 率(%) Reducing leaf rolled rate(%)	百株虫量 (头) Number for every 100 plants	活虫减退 率(%) Reducing survival rate(%)
抗蚜 8017 Kangya 8017	46.67 ABCD	75.01	23.62 B	76.46	1 513 A	4.22	46.67 ABCD	75.01	20.88 B	75.01	987 AB	19.98
国抗 22 GK22	0 E	86.67	0 C	82.02	0 B	100.00	0 E	86.67	0 C	86.67	0 C	100.00
鄂杂棉 10 号 Ezamian 10	13.33 CDE	84.62	6.77 B	80.72	193 AB	87.76	13.33 CDE	84.62	4.26 B	84.62	180 BC	85.40
SGK321	53.33 ABC	71.44	16.69 B	78.42	1 020 AB	35.44	53.33 ABC	71.44	17.18 B	71.44	680 ABC	44.85
南抗 3 号 Nankang 3	0 E	86.67	0 C	82.02	0 B	100.00	0 E	86.67	0 C	86.67	0 C	100.00
科棉 1 号 Kemian 1	33.33 BCDE	80.01	10.88 B	79.82	313 AB	80.17	33.33 BCDE	80.01	14.20 B	80.01	380 ABC	69.18
苏研 40 Suyan 40	0 E	86.67	0 C	82.02	0 AB	100.00	6.67 E	85.72	0.05 BC	85.72	7 C	99.46
中棉研 29 Zhongmian 29	6.67 DE	85.72	1.75 B	81.70	227 AB	85.65	6.67 DE	85.72	2.04 B	85.72	113 BC	90.81
石远 321 Shiyuan 321	80.00 AB	33.35	80.12 A	9.57	1 373 AB	13.08	80.00 AB	33.35	82.90 A	17.20	993 AB	19.44

注:同列数字后标有不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)。
Data followed by different letters in the same column indicate extremely significantly different at 0.01 level by Duncan's multiple range tests.

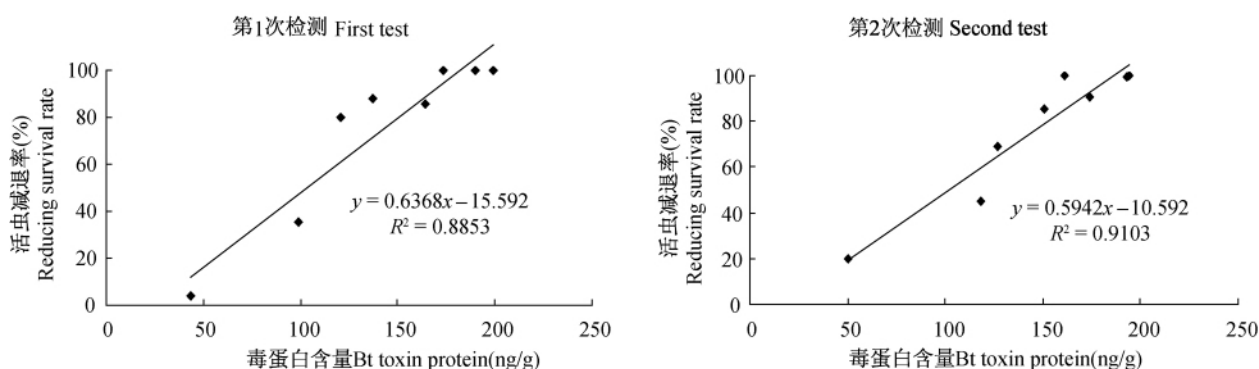


图1 活虫减退率与棉花叶片 Bt 毒蛋白含量的相关性

Fig.1 The relationship between Bt toxin content of different cotton leaves and reducing survival rate of *Sylepta derogata*

3 讨论

目前多数研究表明:转基因棉 Bt 毒蛋白的表达呈现一定的时空动态规律,即随着转基因棉的生育期延长,毒蛋白表达量下降,棉花不同部位比较,幼嫩组织毒蛋白含量高于衰老组织(张永军等,2001;张龙娃等,2005;沈平等,2010)。本研究涉及的 8 个转基因棉品种除 2 号品种外,第 2 次检测的棉叶毒蛋白含量均较第 1 次检测有所下降,转基因棉株不同部位叶片毒蛋白含量比较发现,大部分检测结果均为顶叶毒蛋白含量最高,功能叶次之,老叶最低。

本试验结果表明,选试的 8 个转基因棉品种对卷叶螟均具有一定的抗虫效果,其中 GK22 等 6 个品种处于高抗水平,这与束春娥等(2002)报道的国抗 22 上棉大卷叶螟田间种群数量较泗棉 3 号下降 93% 的结果较为吻合。但也有报道转基因抗虫棉中抗 310 与亲本常规棉苏棉 12 相比,前者棉大卷叶螟种群数量反而较多(陈健,2007),其机理有待进一步揭示。本研究结果显示,抗蚜 8017 及 SGK321 这 2 个转双价基因的棉花品种毒蛋白表达量略低于其它转单价基因的棉花品种,对棉大卷叶螟的抗性也仅为中抗水平,这是由于其它基因的导入干扰了其 Bt 基因表达,还是遗传背景等其它因素导致,有待进一步研究明确。

本试验以卷叶螟活虫减退率与棉花毒蛋白含量建立回归方程,分析其相关性,其相关系数 $R > 0.9$,这与张永军等(2001)研究室内生物测定棉铃虫幼虫校正死亡率与其杀虫蛋白表达量高度一致

的结果相似。棉花体内的单宁、棉酚、蛋白酶抑制剂等物质对昆虫具有一定的毒杀、抑制作用,不同转基因棉花因其遗传背景差异较大,体内的自然防御性生化物质有所差异(张永军等,2002),品种间叶片物理性状(叶片厚度、油点密度、茸毛密度等)形态差异也可影响棉花对卷叶螟的抗虫效果(狄佳春等,2008)。此外,Bt 毒蛋白表达量除品种本身的因素外,还易受到温度、降雨、土壤等诸多环境因子的影响(李云河等,2005;周桂生等,2009),在不同地区同一品种的抗虫效果也不尽相同(柏立新等,2007)。因此,在遗传背景不一致的情况下,Bt 毒蛋白含量不是评估棉花对卷叶螟抗性的唯一依据,本研究尚未涉及影响棉花抗虫效果的其他诸多因素。

棉大卷叶螟危害棉花主要在棉花中后期,建议生产中选用后期 Bt 毒蛋白表达相对较高的转基因棉品种,以利于控制棉大卷叶螟的发生危害。1~2 龄棉大卷叶螟幼虫不卷叶,聚集在叶背啃食叶肉,不易被发现,3 龄开始分散卷食叶片。因此生产上要加强预测预报,准确掌握虫情,适时适量进行化学防治,将棉大卷叶螟消灭在卷食叶片前。

参考文献(References)

- Kamaraj CA, 2008. Abdul rahuman and A. bagavan screening for antifeedant and larvicidal activity of plant extracts against *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Sylepta derogata* (F.) and *Anopheles stephensi* (Liston). *Parasitol. Res.*, 103 (6): 1361—1368.
- 柏立新,肖留斌,孙厚俊,石学娟,2008. 转基因棉花品种

- 对棉大卷叶螟抗性水平的鉴定评估. 江苏农业科学, (4):105—107.
- 柏立新, 许乃银, 邹奎, 肖留斌, 刘艳青, 孙厚俊, 2007. 不同生态区域转基因抗虫棉抗棉铃虫水平波动度研究. 江苏农业学报, 23(4):299—305.
- 陈健, 2007. 棉大卷叶螟主要生物生态学习性的再研究及主害代种群动态分析. 硕士学位论文. 扬州:扬州大学.
- 狄佳春, 许乃银, 陈旭升, 2008. 不同类型陆地棉品种对棉大卷叶螟的抗性研究. 棉花学报, 20(5):335—341.
- 黄东林, 刘汉勤, 2005. 三种转基因抗虫棉对棉大卷叶螟的抗性. 江苏农业学报, 21(2):98—101.
- 李俊中, 2006. 许昌地区棉大卷叶螟生物学特性与防治. 中国森林病虫, 25(4):30—31.
- 李云河, 张永军, 吴孔明, 原国辉, 郭予元, 2005. 转 Bt-CryI Δ Ac 基因棉花叶片中杀虫蛋白在环境中的降解动态. 中国农业科学, 38(4):714—718.
- 刘芳, 杨益众, 陆宴辉, 康晓霞, 余月书, 陈建, 吴洁云, 万年峰, 2005. 转 Bt 基因棉对棉大卷叶螟种群动态的影响. 昆虫知识, 42(3):275—277.
- 陆佩玲, 陈建, 张小丽, 封亚青, 杨益众, 2008. 棉大卷叶螟主要生物学习性研究. 安徽农学通报, 14(20):92—94.
- 沈平, 林克剑, 张永军, 吴孔明, 郭予元, 2010. 转 Bt 基因棉不同品种杀虫蛋白季节性表达及其对棉铃虫的控制作用. 棉花学报, 22(5):393—397.
- 束春娥, 柏立新, 张龙娃, 倪万潮, 张宝龙, 沈新莲, 徐文华, 2002. 江苏棉区种植转基因抗虫棉 GK22 对棉田害虫、杂草种群的影响. 华东昆虫学报, 11(2):46—52.
- 王厚振, 肖云丽, 郑成民, 王书友, 孟妍遐, 2002. 转 Bt 基因抗虫棉对棉大卷叶螟抗性的研究. 植保技术与推广, 22(3):21—22.
- 张龙娃, 柏立新, 韩召军, 束春娥, 董双林, 2005. 转 Bt 基因棉田害虫和天敌组成及优势类群时序动态. 棉花学报, 17(4):222—226.
- 张永军, 吴孔明, 郭予元, 2001. 转 Bt 基因棉花杀虫蛋白含量的时空表达及对棉铃虫的毒杀效果. 植物保护学报, 28(1):1—6.
- 张永军, 杨舰, 郭予元, 吴孔明, 2002. 外源 Bt 杀虫蛋白和棉花主要抗虫萜烯类物质互作关系研究. 中国农业科学, 35(5):514—519.
- 周桂生, 周福才, 谢义明, 封超年, 杨益众, 2009. 温度胁迫对转 Bt 基因抗虫棉毒蛋白的表达和棉铃虫死亡率的影响. 棉花学报, 21(4):302—306.