

家蝇幼虫分泌物抗菌肽的生化特性初步研究

国果, 吴建伟*, 付萍, 张勇, 宋玉竹, 宋智魁

(贵阳医学院寄生虫学教研室, 贵阳 550004)

摘要: 研究了不同温度、蛋白酶及反复冻溶对家蝇 *Musca domestica* 幼虫活体浸泡法获得的分泌物抗菌肽抗菌活性的影响, 并检测其凝血效应。试管稀释法测定其最低抑菌浓度(MIC)、最低杀菌浓度(MBC), SDS-PAGE 分析其分子量范围。结果表明, 该抗菌肽具有较强的热稳定性、酶稳定性及较强抗菌活性的特性, 无凝血作用。对大肠埃希菌的最低抑菌浓度为 37 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 最低杀菌浓度为 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 分子量约 10 kD。

关键词: 家蝇; 分泌物; 抗菌肽; 抗菌活性; 生物学特性

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)06-0918-06

Biochemical characteristics of the antibacterial peptides in secretion of *Musca domestica* larvae

GUO Guo, WU Jian-Wei*, FU Ping, ZHANG Yong, SONG Yu-Zhu, SONG Zhi-Kui (Department of Parasitology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

Abstract: The influences of temperature, proteinases on antibacterial activity of the antibacterial peptides soaked out from living housefly (*Musca domestica*) larvae were investigated. Mean while, the blood clotting activity, minimal inhibitory concentration (MIC), minimal bactericidal concentration (MBC) and the molecular weight of these peptides were examined. The results showed that the antibacterial peptides had high heat stability, proteolytic stability and antibacterial activity but without blood clotting activity. The MIC and MBC of these peptides were 37 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. Their molecular weight was about 10 kD.

Key words: *Musca domestica*; secretion; antibacterial peptides; antibacterial activity; biological characteristics

昆虫抗菌肽(antibacterial peptide)是一类广谱抗细菌、抗病毒活性的多肽(Casteels *et al.*, 1990; Ourth and Renis, 1993), 有抗多重耐药菌和杀伤肿瘤细胞, 而不破坏人体正常细胞的作用(Prates *et al.*, 2004), 具有极广阔的应用前景。蝇类是重要的医学昆虫, 在自然条件下, 蝇类幼虫在富含微生物的有机物中生长, 表现出极强的生存能力, 显示了蝇类的特殊免疫防御机制。目前, 国外学者从双翅目麻蝇 *Sarcophaga peregrina* (Cociancich *et al.*, 1994)、地中海果蝇 *Ceratitis capitata* (Marchini *et al.*, 1993)、厩螫蝇 *Stomoxys calcitrans* (Michael *et al.*, 1997)等血淋巴中分离到了具有不同生物活性的抗菌肽。国内研究主要集中在蝇幼虫血淋巴抗菌物质的诱导(饶军华等,

1999; 安春菊等, 2003)和免疫血淋巴的生物学特性阶段(王远程等, 1997; 柏鸣和周立, 2002)。此外, 在家蝇幼虫的体外分泌物中发现了具有抑制多种植物病原菌(张文吉等, 1994)、植物线虫(张财兴等, 2001)和寄生虫卵(国果和吴建伟, 2002)的生物活性物质, 但这些研究均未对分泌物进行纯化, 故对分泌物中起作用的成分是否相同及该活性物质的理化特性还所知甚少。

国果和吴建伟(2006)从家蝇 *Musca domestica* 幼虫体外分泌物中提取了具有抑制多种细菌作用的肽类物质, 命名为家蝇幼虫分泌物抗菌肽。本实验对该类抗菌肽的部分理化特性进行了研究, 以进一步阐明家蝇幼虫生存于杂菌丛生的环境中其发挥的生

基金项目: 国家自然科学基金项目(39970087); 贵州省教育厅项目(黔教科 2003108); 贵州省省长专项基金[黔科教办(2003)04]; 贵州省科学技术基金项目[黔科通(2005)85]

作者简介: 国果, 女, 1975年生, 讲师, 博士研究生, 研究方向为昆虫免疫, E-mail: guoguojs@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: wujianwei@gmc.edu.cn

收稿日期 Received: 2006-06-05; 接受日期 Accepted: 2006-09-21

理效能。

1 材料

1.1 家蝇幼虫与菌株

家蝇由本实验室饲养传代,幼虫按常规饲养至 3 龄(孵化后第 5 天)备用。大肠埃希菌 *Escherichia coli* ATCC10503 购自军事医学科学院。

1.2 试剂

凝胶层析介质购自安马西亚公司;蛋白酶 K、胰蛋白酶(Pharmacia)、胃蛋白酶均由北京华美公司进口分装;营养琼脂(日本)由上海生物工程有限公司进口分装;其他试剂均为国产分析纯;层析用水为 Milli-Q 超纯水。

2 方法

2.1 抗菌肽的制备

2.1.1 体外分泌物粗提液的提取:取 3 龄家蝇幼虫 100 g 用蒸馏水清洁体表后,浸泡于适量无菌水中,25~26℃环境下放置 4 h,不时振荡。吸取浸液用 0.22 μm 的无菌滤器过滤除菌、冷冻干燥浓缩,获得抗菌物质粗提液 4℃下保存备用。

2.1.2 抗菌肽的分离纯化:(1)硫酸铵盐析:参照 Naraoka 等(2003)的方法于 4℃条件下逐步制备粗提液 0~30%、30%~50%、50%~80% 盐析沉淀,脱盐后分别检测各盐析段沉淀抑菌活性。(2)凝胶过滤层析:Sephadex G-100 凝胶柱经 0.05 mol/L 乙酸铵缓冲液(pH 5.1)充分平衡,盐析活性组分上柱。用相同缓冲液洗脱。洗脱液经 280 nm 比色和抑菌活性检测,收集有活性的蛋白峰,冷冻浓缩。合并几次的活性样品进一步上 Sephadex G-50 柱。同上方法收集活性蛋白峰。

2.2 抑菌活力测定

参照 WHO(1997)的方法,采用营养琼脂培养基,通过测定抑菌圈直径,定性检测抑菌活力。将抗菌肽经不同条件处理后的抑菌圈直径除以对照组抑菌圈直径计数抑菌率。

2.3 抗菌肽的部分性质

2.3.1 热稳定性:将抗菌肽分别于 50℃、60℃、70℃、80℃、90℃和 100℃水浴中加热 10 min,10 000 × g 离心 10 min,收集上清液测定对大肠埃希菌的抑

菌活性。以不经热处理的样品作为对照,将对照的抑菌活性定为 100%。

2.3.2 蛋白酶稳定性:37℃水浴条件下,用反应浓度均为 1 mg/mL 的蛋白酶 K、胃蛋白酶、胰蛋白酶分别处理抗菌肽 30 min,测定各种酶处理液的抑菌活性。以不加酶处理的抗菌肽作对照,其抑菌活力定为 100%。

2.3.3 反复冻溶的稳定性:将抗菌肽置于 -20℃冰箱分别反复冻溶 1、2、4、6、8 和 10 次,同上方法检测其抑菌活性的变化。

2.3.4 凝血试验:取新鲜小鼠血液制备的血细胞 200 μL 滴加到 24 孔 U 形板中,再加入抗菌肽 50 μL,观察血细胞凝集现象。以麦胚凝集素为阳性对照。

2.3.5 最低抑菌浓度(MIC)、最低杀菌浓度(MBC)的测定:用试管稀释法(管远志,2005)检测,营养肉汤培养基,大肠埃希菌为指示菌种。抗菌肽水溶液 2 倍稀释,以未加细菌的培养液为阴性对照。以试管中肉眼可见无菌生长的浓度为最低抑菌浓度(MIC);继续从无菌生长的各管培养液中吸取 100 μL 均匀涂抹于无菌琼脂培养皿上,37℃再培养 24 h 后以仍无菌生长的浓度为最低杀菌浓度(MBC)。

2.3.6 SDS-PAGE:采用不连续体系(Sambrook *et al.*, 1996),浓缩胶浓度 5%,分离胶浓度 12%,20 mA 恒流电泳至指示剂至胶底时结束,考马斯亮蓝 R250 染色。

3 结果与分析

3.1 分离纯化结果

家蝇幼虫分泌物粗提液经 50%~80% 硫酸铵盐析后,沉淀显示较强的抑菌活性,故取该组分进行层析分离。Sephadex G-100 层析后活性组分被分为 5 个峰(图 1:A),经检测 340~380 min 处的峰为活性峰(图 2:A),继续将该峰合并后经 Sephadex G-50 层析又分为 3 个组分(图 1:B),活性检测显示 360~410 min 处峰有较强的抑菌活性(图 2:B)。

3.2 抗菌肽稳定性测定

3.2.1 热稳定性:凝胶层析纯化所得抗菌肽经 50~80℃处理 10 min,抑菌圈直径变化不大(表 1),抑菌率保持在 95%左右,90~100℃处理 10 min 抑菌圈直径有所减小,但抑菌活性可维持在 80%以上。

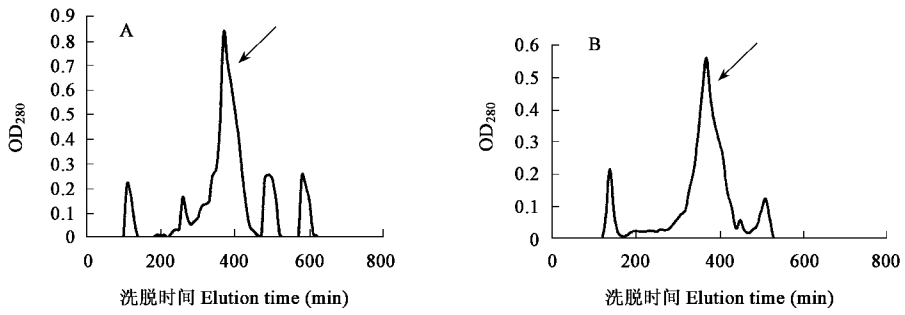


图 1 Sephadex G-100 (A) 和 G-50 (B) 层析洗脱曲线

Fig. 1 Elution profile by Sephadex G-100 (A) and G-50 (B) chromatography

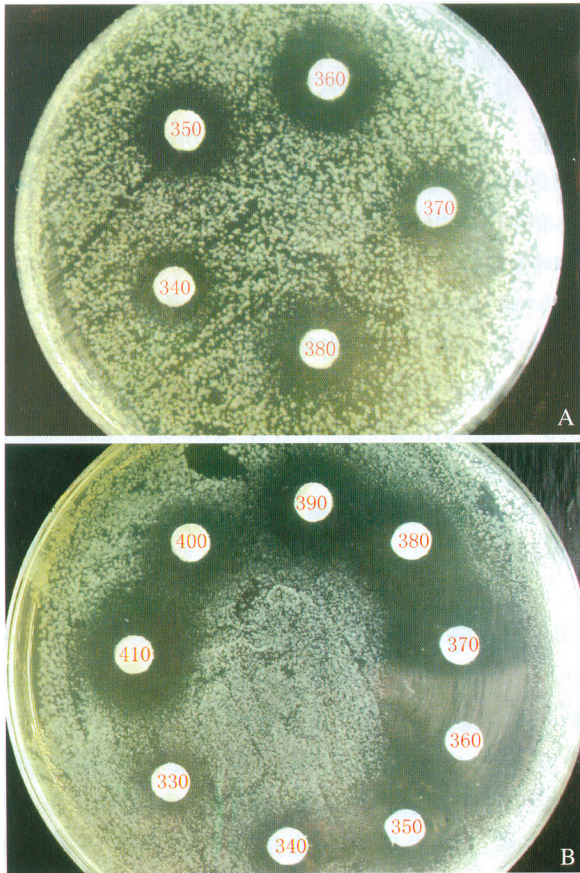


图 2 家蝇幼虫分泌物粗提液 Sephadex G-100 (A) 和 G-50 (B) 洗脱峰的抗菌活性

Fig. 2 Antibacterial activity of elution peak of crude extracts from housefly larvae by Sephadex G-100 (A) and G-50 (B) chromatography

图中数字为洗脱时间 (min) The numeral in the diagram means elution time (min).

3.2.2 蛋白酶敏感性: 经胰蛋白酶及胃蛋白酶作用后抗菌肽的抑菌率分别下降 33.16% 和 39.57% , 而蛋白酶 K 对抗菌肽活力影响不大 , 抑菌率仅下降 4.81% (表 2) .

表 1 家蝇幼虫抗菌肽经不同温度处理后的抗菌活性
Table 1 Antibacterial activity of antibacterial peptides from housefly larvae heated at different temperatures

温度 (°C) Temperature	抑菌圈直径 (mm) Diameter of antibacterial cycle ($\bar{x} \pm SD$)	抑菌率 (%) Rate of bacteriostasis
50	20.9 ± 0.7416	99.05
60	21.2 ± 0.8367	100
70	20.0 ± 0.6124	94.33
80	20.2 ± 0.8367	95.28
90	18.1 ± 0.8944	85.78
100	17.6 ± 0.8944	83.02
对照 CK	21.1 ± 0.7730	100.00

表 2 蛋白酶对家蝇幼虫抗菌肽活性的影响
Table 2 Effect of proteinases on antibacterial activity of antibacterial peptides from housefly larvae

蛋白酶 Proteinase	抑菌圈直径 (mm) Diameter of antibacterial cycle	抑菌率 (%) Rate of bacteriostasis
胰蛋白酶 Trypsin	12.5 ± 0.6519	66.84
胃蛋白酶 Pepsin	11.3 ± 0.8367	60.43
蛋白酶 K Proteinase K	17.8 ± 0.5701	95.19
对照 CK	18.7 ± 0.5701	100.00

3.2.3 反复冻溶稳定性: 抗菌肽经反复冻溶 , 出现一些沉淀 , 离心后上清液抑菌圈直径有一定程度的减小 (表 3) , 经统计学检验 (T 检验) , 冻溶 4 次以下差异无显著性 ($P > 0.05$) . 冻溶 6 ~ 10 次 , 抑菌活性与对照相比差异达显著性水平 ($P < 0.05$) , 但抑菌率仍可维持在 85% 以上 .

3.3 凝血活性检测

抗菌肽对小鼠的红细胞没有凝集作用 , 血球沉于孔底部成一小圆点 , 上层液透明 , 未见溶血现象 , 而作为凝集阳性对照的麦胚凝集素使小鼠红细胞相互聚集形成一片网络状 (图 3) .

表 3 不同冻溶次数对家蝇幼虫抗菌肽抑菌活性的影响

Table 3 Effect of the times of freezing and dissolving on antibacterial activity of antibacterial peptides from housefly larvae

冻溶次数 Times of freezing and dissolving	抑菌圈直径 (mm) Diameter of antibacterial cycle ($\bar{x} \pm SD$)	抑菌率 (%) Rate of bacteriostasis
1	14.6 ± 0.6519	94.81
2	15.1 ± 0.7416	98.05
4	14.6 ± 0.6519	94.81
6	14.1 ± 0.4183	91.56
8	13.2 ± 0.5701	85.71
10	13.2 ± 0.5701	85.71
对照 CK	15.4 ± 0.6519	100.00

3.4 抗菌肽最低抑菌浓度 (MIC) 和最低杀菌浓度 (MBC) 的测定

试管稀释法结果显示, 抗菌肽最低抑菌浓度 (MIC) 为 37.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 最低杀菌浓度 (MBC) 为 75.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.5 SDS-PAGE

抗菌肽经两步凝胶柱层析分离后, 活性峰峰尖部分电泳结果显示为单一条带 (图 4), 其位置低于标准蛋白分子量的最小条带 (分子量 14.4 kD), 推测其分子量在 10 kD 左右。

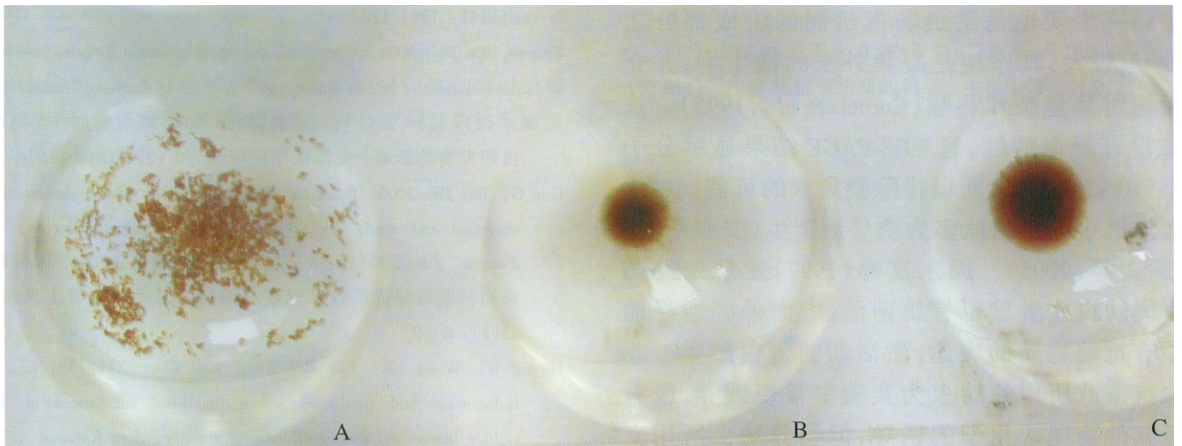


图 3 家蝇幼虫抗菌肽的凝血活性检测

Fig. 3 Agglutination activity of antibacterial peptides from housefly larvae

A: 阳性对照 Positive control; B, C: 抗菌肽 Antibacterial peptides.

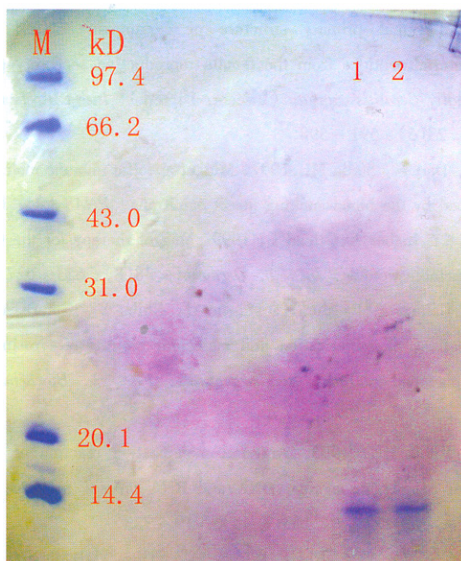


图 4 家蝇幼虫抗菌肽组分 SDS-PAGE 图谱

Fig. 4 SDS-PAGE electrophoresis of antibacterial peptides from housefly larvae

M: 蛋白质分子量标准 Standard molecular weight of protein; 1, 2: 抗菌肽组分 (箭头所示) Antibacterial peptides (shown by arrow).

4 讨论

用绿蝇幼虫治疗难治性外伤感染、压迫性坏死的方法曾一度在欧美国家的医院中被普遍应用, 实验证明幼虫是通过分泌抗菌活性物质发挥作用的 (Mumcuoglu *et al.*, 1999; Sherman *et al.*, 2000)。蝇幼虫的抗菌物质主要有 2 个来源: 一是体液 (血淋巴) 中的抗菌物质如抗菌肽、凝集素、溶菌酶等, 二是体外分泌物中包含的抗菌物质, 两者共同组成了家蝇的免疫防御防线。在上述活蛆治疗外伤感染中, 后者起到了重要作用。但目前对抗菌肽的研究主要集中在血淋巴上, 而对体外分泌物抗菌肽的报道较少, 本文首次报道了分离纯化后家蝇幼虫体外分泌物抗菌肽的一些理化特性。

50 ~ 80 $^{\circ}\text{C}$ 处理抗菌肽 10 min 对其活性无明显影响, 其抑菌活性能保持在 95% 左右; 继续升温其活性有所下降, 但也维持在 80% 以上, 表明该物质对热不敏感, 这与大多数抗菌肽耐热 (Urich *et al.*,

1997)的特征相符,提示该抗菌活性可能与抗菌肽的高级结构无关,而只与其一级结构有关。-20℃反复冻溶10次,抑菌活性仍能保留在80%以上,提示其具有耐冻溶性和耐低温保存性。蛋白酶K、胃蛋白酶和胰蛋白酶酶解不能使其活性完全丧失,说明在外界环境中具有较强的稳定性,这点优于我们从幼虫血淋巴中提取的抗真菌肽(Gu *et al.*, 2006),而且该特点也利于抗菌肽分离纯化的操作。由此可进一步推断,理化性质稳定的体外分泌物抗菌肽对于暴露在病原菌丛生环境中的蝇蛆,可发挥一定的保护作用,是家蝇特殊的免疫防御机制中不可缺少的一部分。凝集素也是昆虫防御机制的组成部分之一,分子量较大,其作用是凝集外来的微生物,并介导血细胞对其包被和吞噬(Cornet *et al.*, 1995)。该抗菌肽没有凝血活性,且SDS-PAGE结果显示分子量较小(10 kD左右),所以排除凝集素的可能。

血淋巴中的抗菌肽多为诱导后产生(安春菊等, 2003; 黄文等, 2005)。周永富等(1997)发现未经诱导的家蝇幼虫血淋巴也有抗菌活性,而外源诱导能增强原有抗菌物质的表达,激活新的蛋白产生。我们提取抗菌肽所用的幼虫为实验室常规饲养,没有再进行其他物理或化学的诱导,但饲养幼虫所用麦麸均先发酵2天,且饲养环境也不是无菌,故幼虫饲料内不可避免有一定的细菌生长。至于该体外分泌物抗菌肽是否为饲养环境中的细菌进入虫体后刺激机体免疫系统所产生,两者间有无必然的联系,还需进一步研究。同时,抗菌肽的分泌途径以及在体内是如何合成的,其抗菌谱、抗病毒作用如何等也是亟待解决的问题,这将会为进一步完善解释家蝇的免疫防御机制,同时也为开发新型的仿生抗菌药物提供一定的理论和实验基础。

参 考 文 献 (References)

- An CJ, Shi M, Hao YJ, Sheng CZ, Geng H, Li DS, Du RQ, 2003. Inducement and activity analysis of antibacterial related proteins/peptides in house fly larvae. *Acta Entomol. Sin.*, 46(5): 545-548. [安春菊, 石明, 郝友进, 盛长忠, 耿华, 李德森, 杜荣骞. 2003. 家蝇幼虫抗菌相关蛋白/多肽的诱导及抗菌活性分析. 昆虫学报, 46(5): 545-548]
- Bai M, Zhou L, 2002. Some structure information and biological activities of an antibacterial protein from *Musca domestica* (house fly). *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 18(5): 633-637. [柏鸣, 周立. 2002. 家蝇抗菌蛋白的部分结构信息及生物学活性. 中国生物化学与分子生物学学报, 18(5): 633-637]
- Casteels P, Ampe C, Riviere L, van Damme J, Elicone C, Fleming M, Jacobs F, Tempst P, 1990. Isolation and characterization of abaecin, a major antibacterial response peptide in the honeybee (*Apis mellifera*). *Eur. J. Biochem.*, 187: 381.
- Cociancich S, Bulet P, Hetru C, Hoffmann JA, 1994. The inducible antibacterial peptides of insects. *Parasitol. Today*, 10(4): 132-139.
- Cornet B, Bonmatin JM, Hertu C, 1995. Refined three-dimensional structure of insect defensin A in water from NMR data. *Structure*, 3(5): 435-448.
- Gu LJ, Wu JW, Su XQ, Chang KS, 2006. Isolation and purification of novel anti-fungal peptides from haemolymph immunized larvae of housefly, *Musca domestica*. *Journal of Life Science*, 16(2): 1-9.
- Guan YZ, Wang AL, Li J, 2005. Technology for Medical Microbiology Laboratory. Beijing: Chemical Industry Press. 108-118. [管远志, 王艾琳, 李坚. 2005. 医学微生物学实验技术. 北京: 化学工业出版社. 108-118]
- Guo G, Wu JW, 2002. A study on the effect of house fly larvae secretion on development of *Ascaris suum* egg. *Journal of Guiyang Medical College*, 27(2): 134-135. [国果, 吴建伟. 2002. 家蝇幼虫分泌物对猪蛔虫卵发育的影响. 贵阳医学院学报, 27(2): 134-135]
- Guo G, Wu JW, 2006. Isolation of peptides from *Musca domestica* larvae secretion and study on their antibacterial effect. *Int. J. Med. Parasit. Dis.*, 33(1): 6-9. [国果, 吴建伟. 2006. 家蝇幼虫分泌物抗菌组分抗菌效果观察及筛选. 国际医学寄生虫病杂志, 33(1): 6-9]
- Huang W, Wang FR, Liu B, Wang JL, Zhou XM, Lei CL, 2005. Inducement and production of antibacterial substances in *Tenebrio molitor* larvae and their antibacterial activity. *Acta Entomol. Sin.*, 48(1): 7-12. [黄文, 王芙蓉, 刘彬, 王佳璐, 周兴苗, 雷朝亮. 2005. 黄粉甲幼虫抗菌物质的诱导及其抗菌活性. 昆虫学报, 48(1): 7-12]
- Marchini D, Giordano PC, Amons R, Bernini LF, Dallai R, 1993. Purification and primary structure of ceratotoxin A and B, two antibacterial peptides from the female reproductive accessory glands of the medfly *Ceratitis capitata* (Insecta: Diptera). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 23(5): 591-598.
- Michael JL, Dan W, Stella ML, 1997. Midgut-specific immune molecules are produced by the blood-sucking insect calcitrans. *PNAS*, 94: 11 502.
- Mumcuoglu KY, Ingher A, Gilead L, 1999. Maggot therapy for the treatment of intractable wounds. *Int. J. Dermatol.*, 38(8): 623-627.
- Naraoka T, Uchisawa H, Mor H, Matsue H, Chiba S, Kimura A, 2003. Purification, characterization and molecular cloning of tyrosinase from the cephalopod mollusk, *Illex argentinus*. *Eur. J. Biochem.*, 270: 4 026.
- Ourth DD, Renis HE, 1993. Antiviral melanization reaction of *Heliothis virescens* hemolymph against DNA and RNA viruses *in vitro*. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 105(3-4): 719-723.
- Prates MV, Sforca ML, Regis WC, 2004. The NMR-derived solution structure of a new cationic antimicrobial peptide from the skin secretion of the anuran *Hyla punctata*. *J. Biol. Chem.*, 279(13): 13 018-13 026.
- Rao JH, Zhou YF, Yang JC, Wu XP, Zhen Q, Huang ZR, 1999. Studies on properties of immunized hemolymph of *Musca domestica*. *Natural Enemies of Insects*, 21(3): 121-125. [饶军华, 周永富, 阳建春, 吴

- 晓萍, 郑青, 黄自然, 1999. 家蝇免疫血淋巴的性质研究. 昆虫天敌 21(3): 121 - 125]
- Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T (Translated by Jin DY, Li MF, Hou YD), 1996. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd ed. Beijing: Science Press. 880 - 885. [Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T (金冬雁, 黎孟枫, 侯云德译), 1996. 分子克隆实验指南. 第 2 版. 北京: 科学出版社. 880 - 885]
- Sherman RA, Hall MJ, Thomas S, 2000. Medicinal maggots: an ancient remedy for some contemporary afflictions. *Annu. Rev. Entomol.*, 45: 55 - 81.
- Urich HE, Hansmann MM, Okamoto Y, 1997. Characteristic temperatures of folding of a small peptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 10 652 - 10 656.
- Wang YC, Zuo XF, Sun DX, Chen JX, Guan ZH, 1997. The assay of composition and physicochemical characteristics of antibacterial matters from housefly larvae. *Acta Microbiol. Sin.*, 37(2): 148 - 153. [王远程, 左晓峰, 孙东旭, 陈建新, 管致和, 1997. 家蝇幼虫抗菌物质组成及其理化性质. 微生物学报 37(2): 148 - 153]
- WHO, 1997. Foundation Testing Procedure for Clinic Bacteriology. Beijing: People's Medical Publishing House. 68 - 83. [世界卫生组织, 1997. 临床细菌学基础试验程序. 北京: 人民卫生出版社. 68 - 83]
- Zhang CX, Zhu KJ, Yang YD, 2001. Study on the activity of *Musca domestica vicina* larval secreta and haemolymph. *Journal of Xiamen University (Natural Science Edition)*, 40(6): 1 301 - 1 305. [张财兴, 朱开建, 杨亚东, 2001. 舍蝇幼虫分泌物及血淋巴活性研究. 厦门大学学报(自然科学版) 40(6): 1 301 - 1 305]
- Zhang WJ, Ming JX, Luo JT, 1994. A study on the effect of house fly larvae secretion on plants disorder. *Journal of Plant Protection*, 21(1): 90 - 96. [张文吉, 明九雪, 罗纪台, 1994. 家蝇幼虫分泌物防治植物病害研究简报. 植物保护学报, 21(1): 90 - 96]
- Zhou YF, Rao JH, Yang JC, Wu XP, Li WC, Huang ZR, 1997. Induction of antibacterial substance of *Musca domestica*. *Journal of Biology*, 14(77): 23 - 26. [周永富, 饶军华, 阳建春, 吴晓萍, 李文楚, 黄自然, 1997. 家蝇抗菌物质的诱导. 生物学杂志, 14(77): 23 - 26]

(责任编辑: 黄玲巧)