

# 一株金龟子绿僵菌对茶尺蠖的致病力和胞外酶活性

陈峰<sup>1</sup>, 王长方<sup>1</sup>, 王俊<sup>1</sup>, 陈文乐<sup>2</sup>, 胡进锋<sup>1</sup>, 吴玮<sup>1</sup>, 姚锦爱<sup>1\*</sup>

(1. 福建省作物有害生物监测与治理重点实验室/福建省农业科学院植物保护研究所, 福州 350013; 2. 三明市农业农村局, 三明 365000)

**摘要:** 为明确从茶园腐殖层昆虫尸体上分离的虫生真菌的分类地位及其对茶尺蠖的生防潜力, 采用形态学特征观察和 rDNA-ITS 序列分析方法对该菌株进行鉴定, 并测定该菌株对茶尺蠖 4 龄幼虫的毒力及其胞外酶活性。结果表明, 从茶园腐殖层虫尸上分离获得一株金龟子绿僵菌 CHMA-005; 该菌株感染茶尺蠖 4 龄幼虫 10 d 后, 致死率、LC<sub>50</sub> 和 LT<sub>50</sub> 分别可达 100%、 $1.84 \times 10^4$  cfu/mL 和 3.57 d; 蛋白酶活性和几丁质酶活性均在第 6 d 达到最大值, 分别为 31.43 和 27.73 U/mL。可见, 金龟子绿僵菌 CHMA-005 对茶尺蠖的致病力强, 胞外酶活性高, 具有良好的生防潜力和应用前景。

**关键词:** 金龟子绿僵菌; 毒力; 胞外酶活性; 茶尺蠖

中图分类号: S476.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2021)01-0124-06

## Pathogenicity and Extracellular Enzyme Activities of *Metarhizium anisopliae* to *Ectropis obliqua hypulina* Wehrli

CHEN Feng<sup>1</sup>, WANG Changfang<sup>1</sup>, WANG Jun<sup>1</sup>, CHEN Wenle<sup>2</sup>, HU Jinfeng<sup>1</sup>, WU Wei<sup>1</sup>, YAO Jinai<sup>1\*</sup>

(1. Fujian Key Laboratory for Monitoring and Integrated Management of Crop Pests/Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350013, China; 2. Sanming Agricultural and Rural Bureau, Sanming 365000, China)

**Abstract:** Fungal strains were identified using morphological characteristics and rDNA-ITS sequence from entomogenous fungi isolated from insect cadaver in the humic layer of tea garden and evaluated for their biocontrol potential and extracellular enzyme activities against the 4th instar larvae of *Ectropis obliquus*. The isolated fungus was identified as *Metarhizium anisopliae* CHMA-005. After infection of the 4<sup>th</sup> instar larvae of *E. obliquus* for 10 days, the strain CHMA-005 resulted in mortality, LC<sub>50</sub> and LT<sub>50</sub> of 100%,  $1.84 \times 10^4$  cfu/mL and 3.57 d, respectively. Protease activity and chitinase activity peaked on the 6<sup>th</sup> day after infection, which were 31.43 U/mL and 27.73 U/mL, respectively. Therefore, with high pathogenicity and extracellular enzyme activities to *E. obliqua*, *M. anisopliae* strain CHMA-005 has good biocontrol potential and application prospect.

**Key words:** *Metarhizium anisopliae*; toxicity; extracellular enzyme activity; *Ectropis oblique*

茶尺蠖 *Ectropis oblique* 又名茶尺蛾、俗称拱拱虫, 属鳞翅目 Lepidoptera 尺(蛾)蠖科 Geometridae, 在我国浙、苏、皖等地茶区发生严重, 是引起我国茶树生产问题的重要害虫之一<sup>[1]</sup>。茶尺蠖以幼虫取食茶叶造成主要危害, 严重发生时可将茶树叶片及嫩芽全部吃光, 对茶叶的品质及产量造成严重影响。对其防治需要寻找一种较为安全、有效和经济的防控措施。现阶段国内该虫的防控偏重于使用化学农药, 易造成“3R”和药害问题<sup>[2-4]</sup>。生物防治是一种安全、有效、持久的控害方法, 且虫生真菌挖掘利用已成为害虫生防的重要发展方向之一<sup>[5-7]</sup>。目前, 虽然已有球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 的一些菌株用于防控杨尺蠖 *Apocheima cinerarius* 等害虫<sup>[8]</sup>, 但由于不同地理和寄主来源的菌株具有一定的寄主专化性, 对目标害虫

收稿日期: 2020-05-07

基金项目: 福建省科技计划公益类专项(2018R1025-6, 2017R1025-8); 福建省农业科学院科技服务团队项目(kjfw04)

作者简介: 陈峰, 副研究员, E-mail: 178143565@qq.com; \*通信作者, 副研究员, E-mail: yaoja@163.com。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.01.023

的致病力也存在差异，因此有必要再探寻一些相对广谱的虫生真菌菌株用于防控茶尺蠖。为此，本研究尝试从茶园腐殖层昆虫尸体上分离虫生真菌，通过形态学特征观察和 rDNA-ITS 序列分析方法确定其分类地位，测定菌株对茶尺蠖的胞外酶活性和毒力，探讨它的生防潜力和应用前景，为利用虫生真菌防控茶树害虫提供支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试菌株分离自福建省茶园腐殖层昆虫尸体；供试茶尺蠖幼虫采集于福建省茶园，在温度 25~26 °C、相对湿度 55%~60%、光周期 14L:10D 条件下饲养至次代，取食量最大、为害最重的 4 龄幼虫备用；供试试剂均为分析纯。DNA 提取试剂盒、2×Taq Master Mix 购自上海生物工程股份有限公司；所用引物 ITS1/ITS4 由上海生物工程股份有限公司合成。

### 1.2 菌株鉴定

1.2.1 菌株形态学观察 参照形态描述进行菌株的初步鉴定<sup>[9,10]</sup>。将供试菌株接种于 PDA 培养基，28 °C 培养 7 d 后在显微镜下观察菌株菌落形态、产孢结构、孢子形态大小等分类特征并照相。

1.2.2 菌株分子鉴定 用 DNA 提取试剂盒提取 DNA 后，采用 ITS 序列进行菌株的分子生物学鉴定。所用引物为 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') /ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')；PCR 反应体系 (25 μL)：2×Taq Master Mix 12.5 μL，DNA 模板 2 μL，引物各 1.0 μL，ddH<sub>2</sub>O 8.5 μL；PCR 反应程序：94 °C 预变性 5 min；94 °C 变性 45 s，54 °C 退火 50 s，50 °C~55 °C 延伸 2 min，30 个循环，72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测确定后，送生工生物工程（上海）股份有限公司进行序列测定。将测序结果与 GenBank 基因数据库中进行 BLAST 比对，为明确菌株与同属其他种的亲缘关系，选择已公布的具有代表性的菌株序列，构建分子系统发育树。

### 1.3 供试菌株对茶尺蠖幼虫的致病力测定

将保存的供试菌株接种到 PDA 培养基平板上，置于温度 28 °C 的 HGZ-150 型光照培养箱内活化培养 8 d；然后加入 5 mL 含 0.05% 吐温-80 的无菌水脱溶孢子，经 3 层脱脂纱布过滤得孢子原液；用纽鲍尔血细胞计数板在 NIKON E200 型生物显微镜下统计孢子原液的孢子数并计算孢子浓度，制成  $1.00 \times 10^8$  cfu/mL 的孢子原液备用。

取制备的孢子原液，以 10 的梯度稀释 4 次，分别获得浓度为  $1.00 \times 10^4$ 、 $1.00 \times 10^5$ 、 $1.00 \times 10^6$ 、 $1.00 \times 10^7$ 、 $1.00 \times 10^8$  cfu/mL 的 5 个溶液，以 0.05% 吐温-80 无菌水作空白对照，共 6 个处理，每个处理重复 3 次；取直径为 12 cm 的塑料盘，在底部铺上直径为 10 cm 的吸水棉，再盖上一层相同直径的滤纸片，加入 10 mL 无菌水，放 3 片的茶嫩叶，用软毛笔向每个处理挑取供试茶尺蠖 4 龄幼虫 15 只，浸泡 10 s 后挑到滤纸上，晾干 2 min 后再挑到叶片上，保鲜膜封口；扎孔通气，后置于与 1.1 相同条件的光照培养箱内，每 24 h 观察、记录死虫数（死亡虫体长出菌丝计为有效感染，每次记录后挑除死亡虫体），并及时更换茶嫩叶，10 d 后统计试虫的累计校正死亡率，并计算供试菌株对茶尺蠖幼虫的 LC<sub>50</sub> 和 LT<sub>50</sub>。

### 1.4 供试菌株胞外酶活性测定

将茶尺蠖 4 龄幼虫置于 -80 °C 冰箱中速冻 2 h，再置于 80 °C 的 DHG-9030 型电热鼓风干燥箱中烘干，将烘干的虫体研磨成细粉末；参考董晶<sup>[11]</sup>的方法称取 (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g、KCl 0.5 g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g 和 FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g 溶于 1000 mL 蒸馏水中，制成察氏液体培养基)；称取茶尺蠖虫尸粉 0.2 g 作为唯一的碳、氮源，加入含有 250 mL 察氏液体培养基的 500 mL 三角瓶中，置于 121 °C 的 LDZX-50FFBS 型不锈钢立式压力蒸汽灭菌器中灭菌 20 min，冷却后制成含酶活诱导基质的察氏液体培养基备用。

参考董晶<sup>[11]</sup>的方法，将上述制备的含酶活诱导基质的察氏液体培养基接种 10 mL 制备的孢子悬浮液 ( $1 \times 10^8$  cfu/mL)，置于 ZWY-240 型旋转式摇床上，于温度 25 °C、125 r/min 条件下，连续培养 10 d，每天取 3 份 2 mL 的培养液，将培养液在冷冻离心机 4 °C 下 12000 g 离心 20 min。取上清液即为粗酶液，将粗酶液保存在 -80 °C 超低温冰箱中备用。蛋白酶活性测定：取待测粗酶液 1.0 mL 加入 1.0 mL 酪蛋白溶液（以酪蛋白为底物，加入 0.05 mol/L、pH 8.5 的 Tris HCl 缓冲液配成的 1% W/V 酪蛋白溶液）；参考黄鹏

等<sup>[12]</sup>的方法, 检测供试粗酶液活性, 以每分钟催化分解酪蛋白生成  $1 \mu\text{g}$  酪氨酸的酶量为 1 个酶活单位。几丁质酶活性测定: 取待测粗酶液  $0.5 \text{ mL}$  加入  $0.5 \text{ mL}$  胶状几丁质, 参考黄鹏等<sup>[12]</sup>的方法, 检测供试粗酶液活性, 以每分钟催化分解几丁质生成  $1 \mu\text{g}$  N-乙酰酰氨基葡萄糖的酶量为 1 个酶活单位。

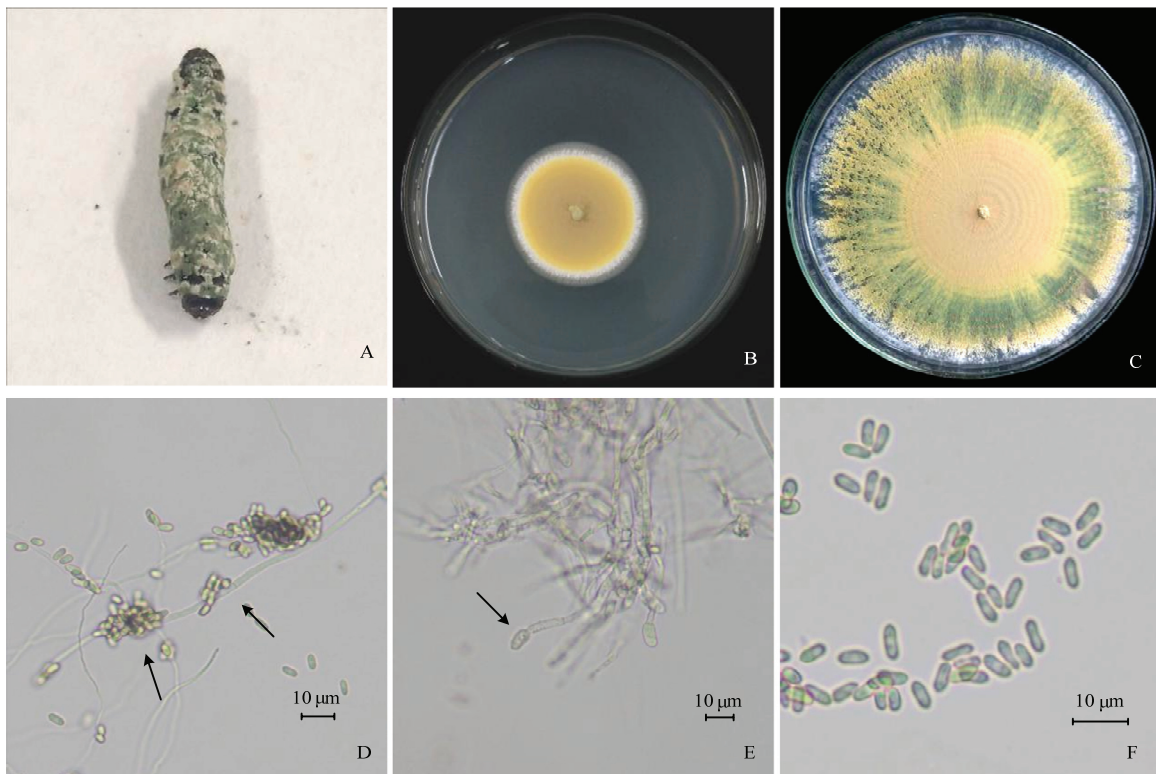
### 1.5 数据统计与分析

利用 Mega 5.2 软件对供试菌株进行多序列比对, 以 NJ 法构建分子系统发育树, 进行聚类分析。在 DPS 7.05 数据处理软件上, 利用机率值分析法计算供菌株对茶尺蠖幼虫的  $\text{LC}_{50}$  和  $\text{LT}_{50}$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株形态学观察及分子鉴定

2.1.1 形态学观察 供试菌株经侵染试验验证、对茶尺蠖 4 龄幼虫具有毒力 (图 1A)。菌株在 PDA 培养基上培养 5 d 时, 菌落为淡黄色、圆形放射状生长、边缘为短绒状白色菌丝 (图 1B); 培养 10 d 时, 菌落外半部产生墨绿色分生孢子层, 呈环形堆积状向四周扩散, 并形成皱褶 (图 1C)。显微镜下进行观察, 菌丝透明、宽  $1.6\sim 2.1 \mu\text{m}$ , 具分支和分隔 (图 1D)。分生孢子梗为圆柱状瓶梗, 宽  $1.9\sim 2.7 \mu\text{m}$  单生或聚集 (图 1E), 从小梗基部形成念珠状或长链状排列的分生孢子 (图 1D); 分生孢子单细胞, 淡绿色, 长椭圆形至短棒状, 大小为  $(6.2\sim 8.9) \mu\text{m} \times (2.1\sim 3.1) \mu\text{m}$  (图 1F)。



A: 菌株寄生茶尺蠖 Colony parasitism; B: 菌落生长初期 Initial stage of colony growth; C: 菌落生长后期 (40 倍) Late stage of colony growth; D: 菌丝 (40 倍) Mycelium; E: 分生孢子梗 (40 倍) Conidiophores; F: 孢子 (40 倍) Spore

图 1 菌株 CHMA-005 孢子和菌丝不同时期的形态观察

Fig. 1 Morphological observation for spores and hyphae of strain CHMA-005 at different stages

2.1.2 分子鉴定 通过引物 ITS1/ITS4 对菌株 DNA 进行扩增, PCR 后获得长度为 527 bp 的 rDNA-ITS 基因序列, 经 BLAST 比对, 与 *M. anisopliae* 菌株 (登录号: MN727141; EF051728) 相似度均达到 99% 以上。使用 MEGA 5.2 构建 NJ (Neighbor-joining method) 系统发育树, 可观察到菌株 CHMA-005 与 MN727141 和 EF051728 聚为一支 (图 2), 因此, 结合形态学鉴定及分子学分析, 将本次分离的菌株鉴定为金龟子绿僵菌。并将本株金龟子绿僵菌登陆至 GenBank, 登录号为 MN883882。

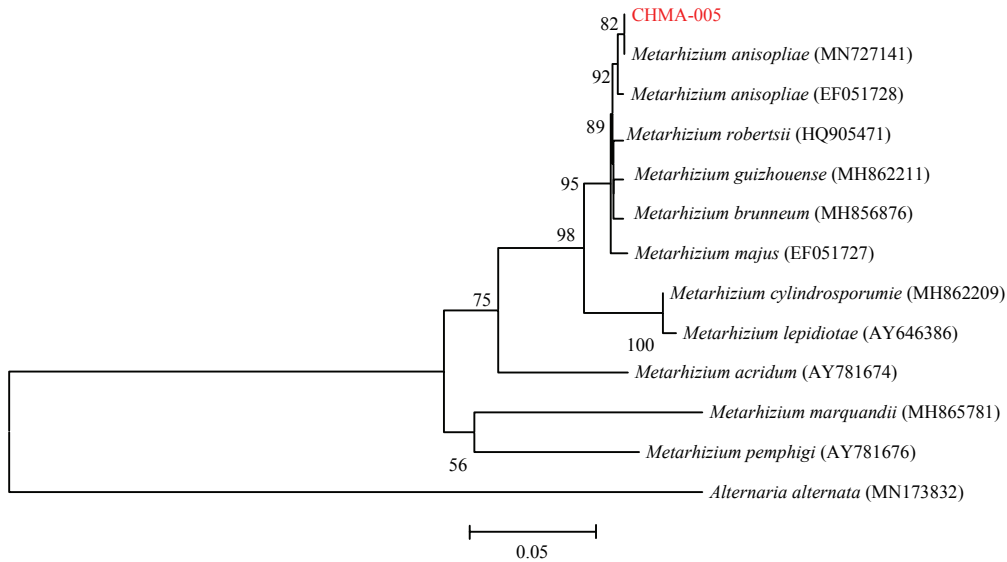


图 2 基于 rDNA-ITS 序列的菌株 CHMA-005 及其相关菌株的系统发育树

Fig. 2 The phylogenetic tree of the strain CHMA-005 and others related species based on rDNA-ITS sequences by ML method

### 2.2 供试菌株对茶尺蠖的致病力

供试菌株 5 个处理浓度对茶尺蠖的毒力各不相同。随着浓度的提高，致死能力越强，其中  $1.00 \times 10^8$  浓度处理的茶尺蠖幼虫的死亡率在第 8 d 时达到 100%； $1.00 \times 10^7$  和  $1.00 \times 10^6$  cfu/mL 浓度处理的茶尺蠖幼虫的死亡率在第 10 d 时达到 100%；而  $1.00 \times 10^5$  和  $1.00 \times 10^4$  cfu/mL 浓度处理的茶尺蠖幼虫的死亡率在第 10 d 时仅为 83.33 %和 75%（图 3）。

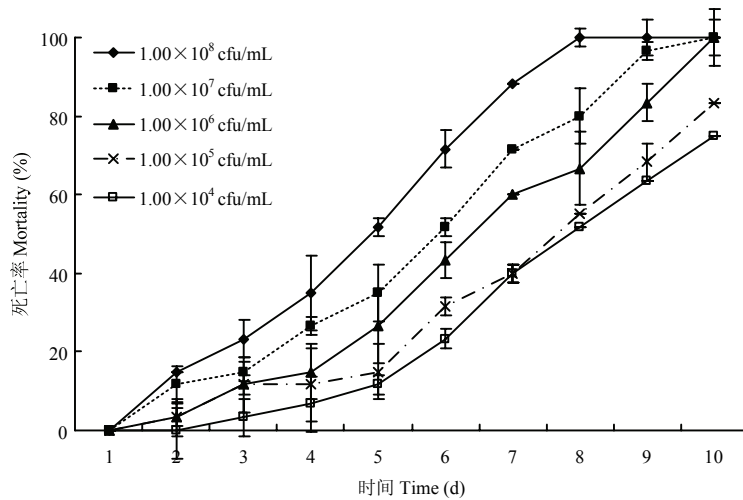


图 3 金龟子绿僵菌菌株 CHMA-005 对茶尺蠖幼虫的致病力

Fig. 3 Pathogenicity of *M. anisopliae* CHMA-005 against *E. oblique*

供试菌株在不同侵染时间下对茶尺蠖幼虫的  $LC_{50}$  各不相同； $LC_{50}$  随侵染时间的减少，呈现梯度上升趋势，侵染的时间越短， $LC_{50}$  越大，在第 4 d 时  $LC_{50}$  最大，为  $2.27 \times 10^9$  cfu/mL；侵染的时间越短， $LC_{50}$  越小，第 8 d 时  $LC_{50}$  最小，为  $1.84 \times 10^4$  cfu/mL（表 1）。

供试菌株在不同浓度下对茶尺蠖幼虫的  $LT_{50}$  各不相同；其中  $1.00 \times 10^8$ 、 $1.00 \times 10^7$  和  $1.00 \times 10^6$  cfu/mL 浓度处理的  $LT_{50}$  时间较短，分别为 3.57、4.52 和 5.03 d； $1.00 \times 10^5$  cfu/mL 浓度处理的  $LT_{50}$  时间较长，为 6.98 d； $1.00 \times 10^4$  cfu/mL 浓度处理的  $LT_{50}$  时间最长，为 7.77 d，是  $1.00 \times 10^8$  cfu/mL 浓度处理的 2.17 倍（表 2）。

表 1 金龟子绿僵菌菌株 CHMA-005 对茶尺蠖幼虫的 LC<sub>50</sub>  
Table 1 LC<sub>50</sub> of *M. anisopliae* CHMA-005 against *E. oblique*

诱导时间 Induction time (d)	毒力回归方程 Toxicity regression equation	LC <sub>50</sub> (cfu/mL)	95%置信区间 95% Confidence interval (cfu/mL)
4	$y=2.3579+0.2824x$	$2.27 \times 10^9$	$7.71 \times 10^8 \sim 7.60 \times 10^9$
5	$y=2.4586+0.3167x$	$1.06 \times 10^8$	$4.49 \times 10^7 \sim 2.79 \times 10^8$
6	$y=2.9739+0.3118x$	$3.15 \times 10^6$	$1.60 \times 10^6 \sim 5.85 \times 10^6$
7	$y=3.1314+0.3597x$	$1.56 \times 10^5$	$4.81 \times 10^5 \sim 4.91 \times 10^6$
8	$y=3.6863+0.3081x$	$1.84 \times 10^4$	$1.30 \times 10^4 \sim 6.09 \times 10^5$

表 2 金龟子绿僵菌菌株 CHMA-005 对茶尺蠖幼虫的 LT<sub>50</sub>  
Table 2 LT<sub>50</sub> of *M. anisopliae* CHMA-005 against of *E. oblique*

孢子浓度 Spore concentration (cfu/mL)	毒力回归方程 Toxicity regression equation	LT <sub>50</sub> (d)	95%置信区间 95% Confidence interval (d)
$1.00 \times 10^4$	$y=-0.4866+6.1610x$	7.77	6.55~9.21
$1.00 \times 10^5$	$y=0.7764+5.0034x$	6.98	5.89~8.28
$1.00 \times 10^6$	$y=0.1377+6.9243x$	5.03	3.87~6.55
$1.00 \times 10^7$	$y=0.3351+7.1197x$	4.52	3.56~5.73
$1.00 \times 10^8$	$y=0.1783+9.3661x$	3.57	2.88~4.42

### 2.3 供试菌株的胞外酶活性

供试菌株在不同诱导时间下的 2 种胞外酶活性各不相同。金龟子绿僵菌的蛋白酶活性在第 1 d 时为 15.90 U/mL，并在之后呈现上升趋势；第 6 d 时达到最大值，为 27.73 U/mL；在之后的第 7~10 d，蛋白酶活性呈现下降趋势。最终在第 10 d 降为 20.47 U/mL。几丁质酶活性，在第 1 d 时为 19.10 U/mL，并在之后呈现上升趋势；第 6 d 时达到最大值，为 31.43 U/mL；在之后的第 7 d 至第 10 d，蛋白酶活性呈现下降趋势。最终在第 10 d 降为 25.20 U/mL（图 4）。

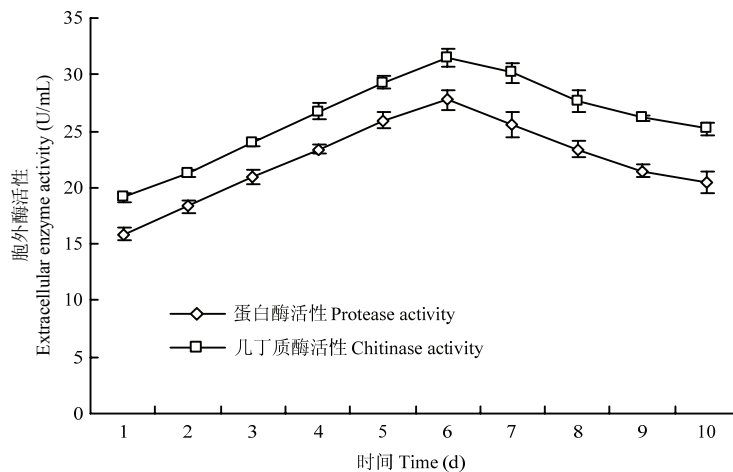


图 4 金龟子绿僵菌菌株的胞外酶活性

Fig. 4 Extracellular enzyme activity of *M. anisopliae*

## 3 讨论

利用虫生真菌对害虫进行生物防控，因其与环境友好、对人畜相对安全、易于规模生产、又不产生害虫抗性等问题，日益受到人们的重视和青睐。目前，虽然已有球孢白僵菌的一些菌株用于防控杨尺蠖等害虫<sup>[8]</sup>，但由于不同地理和寄主来源的菌株具有一定的寄主专化性，对目标害虫的致病力也存在差异，因

此有必要再探寻一些相对广谱的虫生真菌菌株用于防控茶尺蠖。本研究从茶园腐殖层虫尸上分离获得一株可侵染茶尺蠖的虫生真菌 CHMA-005, 通过菌落外观特征、菌丝和分生孢子显微观察初步确定为绿僵菌, 鉴定后又对该菌株 ITS 序列进行测定 (GenBank 登录号为 MH898794), 同时对 GenBank 近源序列进行比对和聚类分析, 结果进一步证实菌株为金龟子绿僵菌。

生物防治潜力评估是评价和利用虫生真菌进行害虫防治的基础, 评价指标主要涉及菌株致病力等<sup>[13,14]</sup>。本研究发现金龟子绿僵菌 CHMA-005 菌株侵染茶尺蠖 4 龄幼虫 10 d 后, 致死率、LC<sub>50</sub> 和 LT<sub>50</sub> 分别可达 100%、 $1.84 \times 10^4$  cfu/mL 和 3.57 d, 高于姚红青等<sup>[8]</sup>利用球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* TST05 侵染杨尺蠖的效果; 该菌株蛋白酶活性和几丁质酶活性均在第 6 d 达到最大值, 分别为 31.43 和 27.73 U/mL, 略高于李保国<sup>[15]</sup>测定的金龟子绿僵菌 M7-5-7 胞外蛋白酶活性和几丁质酶活性。可见, 金龟子绿僵菌 CHMA-005 对茶尺蠖的致病力和胞外酶活性高, 具有良好的生防潜力和应用前景。

本研究虽初步明确了金龟子绿僵菌 CHMA-005 对茶尺蠖的致病力和胞外酶活性, 但对该菌的田间防效及茶尺蠖幼虫在侵染过程中的虫体组织器官病理变化情况、保护酶和解毒酶活性的变化等防御反应情况尚不明确, 因此今后可继续开展此方面的相关研究, 以期利用虫生真菌防控茶尺蠖等茶园害虫提供更多的支持。

### 参 考 文 献

- [1] 夏英三, 万连步. 茶尺蠖生物学特性初步研究[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(29): 10175-10176.
- [2] 李喜旺, 刘丰静, 邵胜荣, 等. 茶尺蠖绿色防控技术研究现状及展望[J]. 茶叶科学, 2017, 37(4): 325-331.
- [3] 张汉鹤. 中国茶树害虫及其无公害治理[J]. 昆虫知识, 2006, 43(2): 183.
- [4] 乔利, 卢兆成, 赵海英, 等. 豫南茶区茶尺蠖的发生特点与综合防治技术[J]. 中国植保导刊, 2009, 29(7): 30-31.
- [5] 王联德, 尤民生, 黄建, 等. 虫生真菌多样性及其在害虫生物防治中的作用[J]. 江西农业大学学报, 2010, 32(5): 920-927.
- [6] Peng G X, Wang Z K, Yin Y P, et al. Field trials of *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* (Ascomycota: Hypocreales) against oriental migratory locusts, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) in Northern China[J]. Crop Protection, 2008, 27(9): 1244-1250.
- [7] Dong C J, Zhang J M, Chen W G, et al. Characterization of a newly discovered China variety of *Metarhizium anisopliae* (*M. anisopliae* var. *dcjhyium*) for virulence to termites, isoenzyme, and phylogenetic analysis[J]. Microbiological Research, 2006, 162(1): 53-61.
- [8] 姚红青, 谢映平, 王二虎. 杨尺蠖蛹形态观察及球孢白僵菌菌株对其致病力的比较[J]. 环境昆虫学报, 2015, 37(2): 348-354.
- [9] 郑亚强, 宋盛杰, 陈斌, 等. 金龟子绿僵菌 KMa0107 对马铃薯块茎蛾的侵染致病效应[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2016, 31(6): 999-1005.
- [10] 李亚, 黄贝芳, 陈月银, 等. 椰树叶甲高毒性绿僵菌菌株筛选及分子鉴定[J]. 广东农业科学, 2018, 45(7): 94-99.
- [11] 董晶, 谢映平, 刘卫敏, 等. 病原真菌降解两种蚱虫体壁过程中胞外酶作用[J]. 中国农业科学, 2015, 48(5): 889-899.
- [12] 黄鹏, 余德亿, 林勇文, 等. 基质诱导培养蜡蚧轮枝菌蚱马防控菌株的胞外酶活性及毒力变化[J]. 福建农业学报, 2016, 31(2): 157-160.
- [13] 李茂业, 陈德鑫, 李世广, 等. 绿僵菌对“Q 型”烟粉虱 2 龄若虫的致病性及与毒力关联的培养性状研究[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(1): 71-77.
- [14] 杨华, 徐金柱, 赵丹阳, 等. 绿僵菌微胶囊剂防治黄脊竹蝗的潜力评价[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(4): 553-558.
- [15] 李保国, 张丹丹, 李瑞军, 等. 金龟子绿僵菌胞外蛋白酶活性与毒力的相关性[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(1): 166-167, 219.

(责任编辑: 张莹)