蔗根土天牛高致病力绿僵菌菌株的生物学特性研究*

于永浩** 龙秀珍 曾宪儒 韦德卫 曾 涛***

（广西农业科学院植物保护研究所/广西作物病虫害生物学重点实验室 南宁 530007）

摘 要 **【目的】** 明确对蔗根土天牛 *Dorysthenes granulosus* 具有良好杀虫活性的金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* JC002 菌株生长和产孢所需要的最适营养条件和环境条件。**【方法】** 通过单因素试验，测试了不同培养基、碳源、氮源、温度、pH 及紫外线照射不同时间对 JC002 菌株生长和产孢的影响。**【结果】**JC002 菌株培养基的最佳配方是葡萄糖 30 g、蛋白胨 15 g、马铃薯 200 g、琼脂 20 g、水 1 000 mL；蔗糖、$NaNO_3$ 是菌落生长及产孢的最适碳源和氮源；菌株培养的最适温度为 25℃，培养基的最适 pH 值为 7.0；紫外光对菌株的生长速率无显著影响，但对产孢量有较大的抑制作用，紫外光照射时间越长，产孢越少。**【结论】** 本研究为 JC002 菌株的大量培养及其孢子制剂的大量生产和有效利用奠定基础。

关键词 金龟子绿僵菌，培养条件，菌落生长，产孢量

Biological characteristics of a strain of *Metarhizium* that is highly pathogenic to *Dorysthenes granulosus*

YU Yong-Hao** LONG Xiu-Zhen ZENG Xian-Ru WEI De-Wei ZENG Tao***

(Guangxi Key Laboratory of Biology for Crop Diseases and Insect Pests / Institute of Plant Protection, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract **[Objectives]** The purpose of this paper was to explore the nutritional and environmental conditions for required for the hyphal growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* JC002, a newly isolated fungal strain with high insecticidal activity to the larvae of *Dorysthenes granulosus*. **[Methods]** Effects of different factors, such as culture medium, carbon sources, nitrogen sources, temperature, pH and UV on hyphal growth and sporulation were tested by single factor tests. **[Results]** The results indicate that the optimum formula for growing the JC002 strain was 30 g glucose, 15 g peptone, 200 g potatoes, 20 g agar and 1 000 mL water. Sucrose and $NaNO_3$ were the best carbon and nitrogen source. The most suitable culture temperature was 25℃ and the optimum pH-value was 7.0. UV had no significant impact on the growth rate of the fungus but seriously inhibited its sporulation. **[Conclusion]** This study provides scientific basis for both the large-scale culture of the JC002 strain, and also the mass production and effective utilization of conidia of this strain.

Key words *Metarhizium anisopliae*, culture condition, colony growth, spores yields

蔗根土天牛 *Dorysthenes granulosus*（Thomson）属鞘翅目 Coleoptera，天牛科 Cerambycidae，锯天牛亚科 Prioninae，土天牛属 *Dorysthenes*，又名蔗根锯天牛、蔗根天牛，是我

* 资助项目：国家国际科技合作项目（2011DFB30040）；广西自然科学基金项目（2012GXNSFBA053050）；广西农科院项目（桂农科 2011YT05、桂农科 2013YZ05）；广西作物病虫害生物学重点实验室基金（13-051-47-ST-6）

**E-mail: yxp1127@163.com

***通讯作者，E-mail: zengtao63@126.com

收稿日期：2013-10-08，接受日期：2013-11-16

国蔗区的重要地下害虫，近年来在广西蔗区暴发成灾，且有扩展蔓延的趋势（于永浩等，2012）。过去对该虫的防治，主要依赖化学农药，尤其是剧毒农药，如呋喃丹、特丁硫磷等，但长期大量使用单一化学农药其防治效果并不理想，而且带来土壤污染、农药残留、害虫抗药性增强、害虫再猖獗等问题。绿僵菌 *Metarhizium* 是防治农林害虫的重要昆虫病原真菌之一，尤其对地下害虫具有明显优势（农向群等，2007），目前已有多个绿僵菌制剂应用于防治蛴螬等地下害虫（Milner *et al.*, 2002; Faria and Wraight, 2007；Chelvi *et al.*, 2011；Manisegaran *et al.*, 2011；于永浩等，2013），但对蔗根土天牛的相关研究甚少。

笔者自广西北海蔗田采集的蔗根土天牛幼虫僵虫上分离获得一高致病力的虫生真菌，初步鉴定为金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*，编号为 JC002。用 1.0×10^7 孢子/mL 的孢悬液处理蔗根土天牛幼虫，15 d 的累计死亡率达 94.74%，1.0×10^4 孢子/mL 处理 15 d 的累计死亡率为 64.29%，LT_{50} 为 11.06 d，在蔗根土天牛的防治上具有良好的开发利用价值（于永浩等，2010）。系统掌握菌株的生物学特性，对该生防菌的生产和应用具有重要意义。因此，本试验系统地研究不同培养基、碳源、氮源、温度、pH 及紫外光照射不同时间对 JC002 菌株生长和产孢的影响，明确其生长发育和产孢所需要的营养条件和环境条件，为今后孢子制剂的大量生产和有效利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

金龟子绿僵菌 JC002 由采自广西北海感病的蔗根土天牛幼虫僵虫上分离获得，在马铃薯葡萄糖琼胶培养基（PDA）上培养，菌种保存于 4℃冰箱中。

1.2 不同培养基对 JC002 菌株生长发育和产孢的影响

5 种供试培养基配方如下：

A：蔗糖 30 g，$NaNO_3$ 3 g，KCl 0.5 g，$MgSO_4$ 0.5 g，KH_2PO_4 1 g，$FeSO_4$ 0.01 g，琼脂 20 g，酵母 5 g，水 1 000 mL，$Cu(OH)_2$ 0.01 g，$MnSO_4$ 0.01 g；

B：蔗糖 30 g，$NaNO_3$ 3 g，KCl 0.5 g，$MgSO_4$ 0.5 g，KH_2PO_4 1 g，$FeSO_4$ 0.01 g，琼脂 20 g，酵母 5 g，水 1 000 mL，$Cu(OH)_2$ 0.01 g；

C：蔗糖 30 g，$NaNO_3$ 3 g，KCl 0.5 g，$MgSO_4$ 0.5 g，KH_2PO_4 1 g，$FeSO_4$ 0.01 g，琼脂 20 g，酵母 5 g，水 1 000 mL，$MnSO_4$ 0.01 g；

D：葡萄糖 30 g，蛋白胨 15 g，马铃薯 200 g（煮熟过滤用滤液定溶至 1 000 mL），琼脂 20 g；

E：葡萄糖 30 g，蛋白胨 15 g，大米 200 g（煮熟过滤用滤液定容至 1 000 mL），琼脂 20 g。

取适量 JC002 孢子粉，用 0.1%吐温-80 无菌水配成 10^7 孢子/mL 的孢悬液，用微量移液枪滴在上述培养平板表面，共三点，呈三角形排列，每点呈一个圆形接种面，每点接种菌液 10 μL，每处理设置 5 次重复，置于（26±1）℃恒温培养箱中培养。接种后每天观察菌落的生长、形态、颜色及质地等情况，接种后第 3 天开始采用采用十字交叉法每日测量菌落的直径，计算其平均日增长量。菌落培养至第 8 天时测其产孢量。数据采用 DPS v 6.55 进行方差分析。

每平方米菌落产孢量的测定方法：在菌落核心至 1/2 处用直径 8 mm 的打孔器取出 3 个面积相同的菌块，放入相对应编号的小烧杯中，加入 10 mL 含 0.05%吐温-80 的无菌水中，在高速涡旋振荡器上充分振荡，配成孢子悬液，稀释到显微镜中每个视野 5~10 个孢子时，用血球计数板计数，每个样品重复计数 3 次，取其平均值，计算培养基单位面积上的产孢量。

1.3 不同碳源对 JC002 菌株生长发育及产孢的影响

采用 Czapek 培养基为基础培养基，固定以 $NaNO_3$ 为氮源，变换不同的碳源：玉米粉、麦芽糖、葡萄糖、淀粉和蔗糖，即共设置 5 个处理，

每处理重复 5 次。培养温度（26±1）℃，菌落直径和产孢量测量和统计分析方法同 1.2。

1.4　不同氮源对 JC002 菌株生长发育及产孢的影响

采用 Czapek 培养基为基础培养基，固定以蔗糖为碳源，变换不同的氮源：蛋白胨、酵母膏、$NaNO_3$ 和 NH_4NO_3，即共设置 4 个处理，每处理重复 5 次。试验方法和统计分析方法同 1.2。

1.5　环境条件对 JC002 菌株生长发育和产孢的影响

温度对 JC002 菌株生长发育和产孢的影响：设置 19、22、25、28 和 31℃共 5 个温度处理，每处理重复 5 次。试验方法和统计分析方法同 1.2。

pH 值对 JC002 菌株生长发育和产孢的影响：用 1 mol·L^{-1} HCl 和 1 mol·L^{-1} NaOH 调节 PDA 培养基的 pH 值，设置 pH 4、5、6、7、8、9、10 共 7 个处理，每处理重复 5 次。试验方法和统计分析方法同 1.2。

紫外照射不同时间对 JC002 菌株生长发育和产孢的影响：将已点接菌悬液的平板置于 30 W 的紫外灯下 20 cm 处，分别照射 5、10、20、30、60 min，以不经紫外光照射作对照，每处理重复 5 次。试验方法和统计分析方法同 1.2。

2　结果与分析

2.1　不同培养基对 JC002 菌株生长发育和产孢的影响

从试验结果可以看出（表 1），JC002 菌株在 A 和 D 培养基上生长速率最快，且无显著差异（P=0.065，F=40.83），分别为 5.24 mm/d 和 5.13 mm/d；在 B 培养基上最慢，仅为 2.40 mm/d。产孢量则是在 D 培养基上最高，达 15.10×10^5 个孢子/mm^2，显著高于其他培养基上的产孢量（P=0.0001，F=40.83），B 培养基次之，而 E 培养基的产孢量最低，仅为 2.05×10^5 个孢子/mm^2。

综合来看，含有马铃薯的 D 培养基，无论在生长速率还是产孢量上均优于含有大米的 E 培养基；而只含有 $Cu(OH)_2$ 的 B 培养基上虽然生长速率较慢，但其产孢量比 A、C 两培养基都高，可能是由于单独 Cu^{2+} 的存在对菌株产孢起到了促进作用。

表 1　JC002 菌株在不同培养基上的生长速率和产孢量
Table 1　The growth rates and spore production of JC002 on different medium

培养基 Medium	生长速率（mm/d） Growth rate（mm/d）	产孢量（10^5 个孢子/mm^2） Spore production（10^5 spores/mm^2）
A	5.24±0.19 a	3.27±0.01 d
B	2.40±0.09 c	8.66±0.01 b
C	4.04±0.24 b	6.24±0.01 c
D	5.13±0.16 a	15.10±0.06 a
E	4.10±0.13 b	2.05±0.01 e

注：数值为平均值±标准误。同列数值后相同小写英文字母者表示在 0.05 水平差异不显著（Duncan's 多重比较法）。下表同。

Data are means±SE, and followed by same letters in the same column mean no significant difference at 0.05 levels by Duncan's multiple range test. The same below.

2.2 不同碳源对 JC002 菌株生长速率及产孢量的影响

从表 2 可知，JC002 菌株在以麦芽糖、淀粉、葡萄糖、蔗糖、玉米粉为碳源的 5 种培养基上均能正常生长。在以蔗糖为碳源的培养基上菌株的生长速率最高，为 4.14 mm/d，与其他碳源差异显著（P=0.08，F=8.97）；麦芽糖、葡萄糖和玉米粉其次，且三者之间差异不显著；而淀粉最差。产孢量也是以蔗糖为碳源的培养基显著高于其他处理，为 2.42×10^5 个孢子/mm^2；葡萄糖其次，麦芽糖和淀粉再次，且二者之间差异不显著（P=0.0002，F=18.65），最差是玉米粉。因此，蔗糖是 JC002 菌株较好的碳源。

2.3 不同氮源对 JC002 菌株生长发育及产孢的影响

从表 3 可以看出，JC002 菌株在以 $NaNO_3$、蛋白胨、NH_4NO_3、酵母膏为氮源的培养基上均能生长，但以 $NaNO_3$ 为氮源的培养基生长速率最快，产孢量最高，分别为 4.94 mm/d 和 5.72×10^5 个孢子/mm^2，且与其他处理差异显著；以蛋白胨为氮源的产孢量其次，为 3.3×10^5 个孢子/mm^2，酵母膏最差，仅为 0.69×10^5 个孢子/mm^2（P=0.0001，F=58.60；P=0.0001，F=43.07）。因此，以 $NaNO_3$ 为氮源相对利于产孢。

2.4 温度对 JC002 菌株生长发育和产孢的影响

不同温度条件下 JC002 菌株菌落生长情况和产孢量见表 4。从表 4 中可以看出，在 19～31℃范围内，JC002 菌株均可生长，在 25℃和 28℃条件下菌丝生长速率最快，且二者之间差异不显著，分别为 4.82 mm/d 和 4.91 mm/d；其次是 22℃和 31℃，二者之间也差异不显著（P=0.0001，

表 2 不同碳源对 JC002 菌株生长和产孢的影响

Table 2 Effects of carbon sources on growth rates and the spore production of JC002

碳源 Carbon source	生长速率（mm/d） Growth rate（mm/d）	产孢量（10^5 个孢子/mm^2） Spore production（10^5 spores/mm^2）
麦芽糖 Maltose	3.38±0.13 b	1.20±0.06 c
淀粉 Amylum	2.76±0.19 c	1.22±0.01 c
葡萄糖 Glucose	3.61±0.14 b	1.74±0.01 b
蔗糖 Sucrose	4.14±0.04 a	2.42±0.01 a
玉米粉 Corn flour	3.45±0.17 b	1.24±0.01 c

表 3 不同氮源对 JC002 菌株生长和产孢的影响

Table 3 Effects of nitrogen sources on growth rates and spore production of JC002

氮源 Nitrogen source	生长速率（mm/d） Growth rate（mm/d）	产孢量（10^5 个孢子/mm^2） Spore production（10^5 spores/mm^2）

* 资助项目：国家国际科技合作项目（2011DFB30040）；广西自然科学基金项目（2012GXNSFBA053050）；广西农科院项目（桂农科 2011YT05、桂农科 2013YZ05）；广西作物病虫害生物学重点实验室基金（13-051-47-ST-6）

**E-mail: yxp1127@163.com

***通讯作者，E-mail: zengtao63@126.com

收稿日期：2013-10-08，接受日期：2013-11-16

$NaNO_3$	4.94±0.09 a	5.72±0.01 a
蛋白胨 Peptone	3.73±0.12 b	3.30±0.06 b
NH_4NO_3	3.53±0.06 b	1.56±0.01 c
酵母膏 Yeast extract	3.06±0.01 c	0.69±0.00 d

表 4　温度对 JC002 菌丝生长和产孢的影响
Table 4　Effects of temperature on growth rates and spore production of JC002

温度(℃) Temperature (℃)	生长速率（mm/d） Growth rate（mm/d）	产孢量（10^5 个孢子/mm^2） Spore production（10^5 spore/mm^2）
19	3.07±0.07 c	0.26±0.01 e
22	4.47±0.09 b	0.78±0.01 d
25	4.82±0.04 a	3.12±0.01 a
28	4.91±0.10 a	1.30±0.06 b
31	4.44±0.11 b	1.05±0.01 c

F=79.70）；而在 19℃条件下生长速率最慢。所以，较适宜 JC002 菌株生长的温度范围是 22～31℃，最适温度为 25～28℃。从产孢结果来看，25℃条件下产孢量最高，为 3.12×10^5 个孢子/mm^2，28℃下产孢量其次，接来下是 31℃>22℃>19℃。综合来看，25℃是 JC002 菌株的最适生长温度，也是最适产孢温度。温度过高、过低均不利于生长和产孢。

2.5　pH 值对 JC002 菌株生长发育和产孢量的影响

从表 5 的结果可以看出，JC002 菌株在 pH 值为 4～10 时均能生长，在 pH 值为 5～7 范围内生长速率较快，且相互之间差异不显著（*P*=0.0001，*F*=6.16）。产孢量从高到低培养基的 pH 值依次为：7>8>6>9>5>10>4。产孢较好的 pH 范围是 6～8，在 pH 值为 7 的培养基中产孢量最大，为 8.08×10^5 个孢子/mm^2，其次是 pH 为 6 和 8 的培养基，分别为 5.64×10^5 个孢子/mm^2 和 6.01×10^5 个孢子/mm^2，各处理间的产孢量差异显著（*P*=0.0001，*F*=22.31）。综合以上指标，得出实验室培养 JC002 菌株的最佳培养基 pH 值为 7。

2.6　紫外光照射不同时间对 JC002 菌株生长发育和产孢量的影响

紫外光照射不同时间后 JC002 菌株菌落生长速率和产孢量见表 6。从表 6 中可以看出，在实验范围内紫外光照射对 JC002 菌株生长量和平均生长速率均无显著性影响（*P*=0.0008，*F*=38.60）；但对产孢量则有比较明显的影响，紫外光照射时间越长，产孢越少，照射 30 min 以上的产孢很少或不产孢。

3　结论与讨论

关于不同绿僵菌菌株的培养条件已有不少研究报道（林华峰等，2006；殷幼平等，2010；严智燕等，2011；张亚波等，2012），但不同菌株对营养及培养条件的要求不同，其菌丝生长及产孢条件也有较大差别。不少研究表明，PPDA 培养基适于绿僵菌的生长及产孢（林华峰等，2006；申剑飞等，2012；张建伟等，2012）。本

试验中 JC002 菌株培养基的最佳配方是葡萄糖 30 g、蛋白胨 15 g、马铃薯 200 g、琼脂 20 g、水 1 000 mL，在该培养基上菌株的生长速率及产孢量均显著优于其他培养基的。殷幼平等（2010）研究表明碳源和氮源对金龟子绿僵菌 CQMa117 的菌丝生长影响不大，但可显著影响产孢。本试验结果则表明碳源和氮源对 JC002 菌株的菌丝生长及产孢量均有影响，蔗糖和 $NaNO_3$ 是菌株生长及产孢的最适碳源和氮源。张建伟等（2012）和杨腊英等（2008a）的研究均表明，不同碳源、氮源和碳氮比均对菌丝生长及产孢量有较大影响，因此关于 JC002 菌株培养基的碳氮比仍需进一步研究。研究中还发现，仅添加有 Cu^{2+} 的 B 培养基可对 JC002 菌株的产孢起促进作用，这与殷幼平等（2010）及杨腊英等（2008b）的研究结果一致。

表 5　pH 值对绿僵菌 JC002 菌株生长和产孢的影响
Table 5　Effects of pH-value on the growth rate and the spore production of JC002

pH 值 pH-value	生长速率（mm/d） Growth rate（mm/d）	产孢量（10^5 个孢子/mm^2） Spore production（10^5 spore/mm^2）
4	3.56±0.19 c	0.59±0.03 g
5	3.87±0.03 ab	1.94±0.02 e
6	3.95±0.07 a	5.64±0.10 c
7	4.04±0.07 a	8.08±0.14 a
8	3.73±0.08 bc	6.01±0.14 b
9	3.57±0.05 c	2.98±0.04 d
10	3.72±0.05 bc	0.83±0.01 f

表 6　紫外光照射不同时间对绿僵菌 JC002 菌株菌落生长速率和产孢量的影响
Table 6　Effects of UV light on growth rate and spore production of JC002

处理时间（min） Time for UV shining（min）	生长速率（mm/d） Growth rate（mm/d）	产孢量（10^5 个孢子/mm^2） Spore production（10^5 spores/mm^2）
5	4.48±0.12 a	2.49±0.06 b
10	4.42±0.09 a	1.47±0.02 c
20	4.56±0.05 a	0.51±0.01 d
30	4.49±0.06 a	0.13±0.00 e
60	4.49±0.06 a	0.00 e
0	4.5±0.07 a	19.33±0.29 a

温度和 pH 是真菌培养的主要条件参数，不同菌株要求的环境条件也不同。林华峰等（2006）研究认为 2 个绿僵菌菌株的最适培养温度为 25℃；王宝辉等（2009）对绿僵菌 MS01 菌株的生物学特性进行研究，其最适生长温度为 26℃，

最适产孢温度为 25~28℃。本研究结果表明，绿僵菌 JC002 菌株在 19~31℃的培养条件下均能生长，但最适宜生长及产孢温度为 25℃，与上述研究结果相似。一般中性偏酸的环境最适于虫生真菌的生长和产孢，而本试验结果表明，培养基初始 pH 对 JC002 菌株菌丝的生长影响不大，但对产孢影响显著，菌株在 pH 为 7 时产孢最多，小于 5 或大于 9 时，产孢量大幅降低，因此，该菌株的发酵生产最佳条件为中性环境。

绿僵菌作为虫生病原体，与细菌、病毒等都存在被紫外线杀伤的问题（农向群等，2005）。本试验结果表明，紫外光对绿僵菌 JC002 菌株的生长速率无显著影响，但对产孢量有较大的抑制作用，紫外光照射时间越长，产孢越少。张亚波等（2012）的研究也表明随着照射时间的延长，紫外光对绿僵菌孢子的萌发具有明显的抑制作用，并且延长了开始萌发的时间。因此，抗紫外保护剂的筛选也是该菌今后生产应用中的重要研究内容。

参考文献 (References)

Chelvi CT, Thilagaraj WR, Nalini R, 2011. Field efficacy of formulations of microbial insecticide *Metarhizium anisopliae* (Hyphocreales: Clavicipitaceae) for the control of sugarcane white grub *Holotrichia serrata* F.(Coleoptera: Scarabidae). *Journal of Biopesticides*, 4(2): 186–189.

Faria MR, Wraight SP, 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, 43(3): 237–256.

Manisegaran S, Lakshmi SM, Srimohanapriya V, 2011. Field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin against *Holotrichia serrata* (Blanch) in sugarcane. *Journal of Biopesticides*, 4(2): 190–193.

Milner RJ, Samson PR, Bullard GK, 2002. FI-1045: a profile of a commercially useful isolate of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Biocontrol Science Technology*, 12(1): 43–58.

林华峰, 李世广, 张磊, 王萍莉, 周义文, 2006. 绿僵菌大孢变种的生物学特征及其对蛴螬的毒力研究. 应用生态学报, 17(2): 351–353. [Lin HF, Li SG, Zhang L, Wang PL, Zhou YW, 2006. Biological characteristics of metarhizium anisopliae var. major and its virulence to white grubs. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 17(2): 351-353.]

农向群, 李存焕, 张泽华, 魏海燕, 2007. 绿僵菌防治高尔夫草坪蛴螬效果. 植物保护, 33(2): 118–121.[Nong XQ, Li CH, Zhang ZH, Wei HY, 2007. Effect of Matarhizium anisopliae on chafer grub control in golf groud. *Plant Protection*, 33(2): 118-121]

农向群, 张泽华, 金正俊, 2005. 昆虫病原真菌抗紫外保护剂的筛选和评价. 植物保护学报, 32(4): 402－406. [Nong XQ, Zhang ZH, Jin ZJ, 2005. Screening and evaluation of ultraviolet protectants for entomopathogenic fungi in laboratory. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2(4): 402-406.]

申剑飞, 王中康, 张建伟, 殷幼平, 2012. 两株绿僵菌菌株的分离鉴定及其对花生蛴螬的致病力. 中国生物防治学报, 28(3): 334－340. [Shen JF, Wang ZK, Zhang JW, Yin YP, 2012. Identification of two metarhizium species and bioassay of their v irulence against the white grubs of peanut. *Chinese Journal of Biological Control*, 28(3): 334-340.]

王宝辉, 郑建伟, 黄大庄, 王达, 马向超, 韩小勇, 2009. 绿僵菌 MS01 菌株的生物学特性及在不同温湿度下对光肩星天牛幼虫的致病力. 林业科学, 45(9): 158–162. [Wang BH, Zheng JW, Huang DZ, Wang D, Ma XC, Han XY, 2009. Biological characteristics of metarhizium and effects of temperature and humidity on the pathogenicity against anoplophora glabripennis larvae. *Scientia Silvae Sinicae*, 45(9): 158-162.]

严智燕, 薛召东, 曾粮斌, 杨瑞林, 2011. 一株绿僵菌的分离、鉴定及其生物学特性的初步研究. 中国麻业科学, 33(2): 84–88. [Yan ZY, Xue ZD, Zeng LB, Yang RL, 2011. Isolation of a metarhizium strain and its biological characteristics. *Plant Fiber Sciences in China*, 33(2): 84-88.]

杨腊英, 甘露, 刘丽, 文明富, 黄俊生, 2008b. 金龟子绿僵菌菌株生长环境变量的优化. 生态学杂志, 27(8): 1322－1326. [Yang LY, Gan L, Liu L, Wen MF, Huang JS, 2008b. Optimization of environmental factors for the growth of metarhizium anisopliae var.anisopliae strains MA4 and Malml. *Chinese Journal of Ecology*, 27(8): 1322-1326.]

杨腊英, 石晓珍, 刘丽, 甘露, 文明富, 黄俊生, 2008a. 金龟子绿僵菌菌株培养基的改良. 热带作物学报, 29(2): 210－214. [Yang LY, Shi XZ, Liu L, Gan L, Wen MF, Huang JS, 2008a. Improvement in cultural medium for metarhizium anisopliae strains MA4 and MAlm1. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 29(2): 210-214.]

殷幼平, 宋章永, 谢宁, 王中康, 2010. 金龟子绿僵菌 CQMa117 的营养要求与培养特性初探. 中国生物防治, 26(2): 206–210. [Yin YP, Song ZY, Xie N, Wang ZK, 2010. Nutrition requirement and culture characteristic of metarhizium anisopliae strain CQMa117. *Chinese Journal of Biological Control*, 26(2): 206-210.]

于永浩, 岑冠军, 韦德卫, 曾宪儒, 曾涛, 2012. 基于 Crosby 生长法则的蔗根土天牛幼虫龄期划分. 南方农业学报, 43(10): 1485−1489. [Yu YH, Cen GJ, Wei DW, Zeng XR, Zeng T, 2012. Division of larval instars of dorysthenes granulosus based on crosby growth rule. *Guangxi Agricultural Sciences*, 43(10): 1485-1489.]

于永浩, 龙秀珍, 曾宪儒, 韦德卫, 曾涛, 2013. 绿僵菌防治蛴螬的应用研究进展. 南方农业学报, 44(1): 71−76. [Yu YH, Long XZ, Zeng XR, We DW, Zeng T, 2013. Research progress in application of metarhizium against white grubs. *Journal of Southern Agriculture*, 44(1): 71-76.]

于永浩, 曾涛, 曾宪儒, 韦德卫, 王助引, 任顺祥, 2010. 绿僵菌菌株对蔗根土天牛幼虫的毒力. 中国生物防治, 26(增刊): 8−13. [Yu YH, Zeng T, Zeng XR, Wei DW, Wang ZY, Ren SX, 2010. Virulence of metarhizium strains to the larve of dorysthenes granulosus thomson. *Chinese Journal of Biological Control*, 26(suppl.): 8-13.]

张建伟, 王中康, 申剑飞, 殷幼平, 2012. 小菜蛾高致病力绿僵菌的筛选、鉴定及培养特性研究. 中国生物防治学报, 28(1): 53 − 61. [Zhang JW, Wang ZK, Shen JF, Yin YP, 2012. Screening, identification and culture characteristics of a highly p athogenic strain of metarhizium against plutella xylostella. *Chinese Journal of Biological Control*, 28(1): 53-61.]

张亚波, 吴盼盼, 王鹏, 刘剑, 徐天森, 王浩杰, 舒金平, 2012. 一株绿僵菌的鉴定及其生物学特性. 林业科学, 48(12): 134−140. [Zhang YB, Wu PP, Wang P, Liu J, Xu TS, Wang HJ, Shu JP, 2012.

Identification and biological characteristics of a metarhizium pingshaense strain isolated from melanotus cribricollis larva. *Scientia Silvae Sinicae*, 48(12): 134-140.]