

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2017.05.007

莱氏野村菌 (*Nomuraea rileyi*) 固液双相发酵配方研究

李姝江¹, 彭娇洋¹, 朱涵明月¹, 刘倩¹, 王诗玮¹, 朱天辉^{1*}, 黄祖惠², 吴继云², 张霞²

(1. 四川农业大学林学院, 四川成都 611130; 2. 大邑县农林局, 四川成都 611330)

摘要: 莱氏野村菌 (*Nomuraea rileyi*) 通过基础培养基基质、碳、氮、维生素筛选, 玉米 (50 g)、葡萄糖 (1.5 g)、水解酪蛋白 (1.5 g)、抗坏血酸 (0.5 mg)、水 50 mL 为最佳固体培养基 (培养 10 d), 产孢量达 4.78×10^{10} cfu · mL⁻¹。以 SMY 为液体培养基, 莱氏野村菌最适发酵条件: 1.0×10^8 cfu · mL⁻¹ 接种浓度, 25℃、pH=6、全天光照、180 r · min⁻¹ 振荡培养 7 d, 菌丝干重为 690.2 mg。固体发酵为复合粉炮生产提供基础配方, 液体发酵缩短时间后可作为固体培养生产莱氏野村菌菌粉的二级种子, 发酵产品为杜仲梦尼夜蛾粉炮防治重要生物制剂。

关键词: 莱氏野村菌; 发酵; 培养基; 杜仲梦尼夜蛾

中图分类号: S763.3 文献标识码: A 文章编号: 1003-5508(2017)05-0033-05

Optimization of Solid-liquid Biphasic Ferment Constitution of *Nomuraea rileyi*

LI Shu-jiang¹ PENG Jiao-yang¹ ZHU Hanmingyue¹ LIU Qian¹ WANG Shi-wei¹
ZHU Tian-hui^{1*} HUANG Zu-hui² WU Ji-yun² ZHANG Xia²

(1. College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. Dayi County Bureau of Agriculture and Forestry, Chengdu 611330, China)

Abstract: Screening by substrates of basic medium, C, N, and vitamin, the formula of corn (50 g), glucose (1.5 g), casamino acids (1.5 g), ascorbic acid (0.5 mg), H₂O (50 mL) was optimal medium substrates (cultivation for 10 d) for *Nomuraea rileyi*, the sporulation quantity was 4.78×10^{10} cfu · mL⁻¹. Taking SMY as the liquid medium, the optimal fermentation conditions of *N. rileyi* were as below: 1.0×10^8 cfu · mL⁻¹ of inoculated concentration, 25 °C, pH6, full light, 180 r · min⁻¹ of shaking culturing for 7 days, and 690.2 mg of mycelia. The solid fermentation provided the basic formula for producing compound powder, and shortened time of liquid fermentation could be used as secondary generation for producing *N. rileyi* powder of solid fermentation. The fermented product is the important biological preparation of control *Orthosia songi*.

Key words: *Nomuraea rileyi*, Fermentation, Medium, *Orthosia songi*

莱氏野村菌 *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samsonn 于 1883 年被首次报道, Farlow 研究了该菌并依照其孢子梗形态命名, 称其为莱氏葡萄孢 (*Botrytis rileyi* Farlow) [1,2]。1974 年 Kish 等 [3] 人正式对其命名为莱氏野村菌 (*Nomuraea rileyi*), 并将其作为野村菌属的模式种, 得到人们的普遍认可而沿用至今。莱氏

野村菌侵入寄主昆虫的病理过程包括: 寄主识别、机械破坏、营养竞争、代谢干扰、毒素分泌及寄主组织结构破坏等几个部分, 是一个非常复杂的双向生理生化过程 [4]。该菌曾在人工条件下成功引起大豆田夜蛾流行病, 在国外已经广泛应用于田间夜蛾科害虫的防治 [5,6]。陆续又有将莱氏野村菌用于高粱

收稿日期: 2017-07-03

作者简介: 李姝江 (1983-), 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事林木病虫害及其防治方面的研究。

通讯作者: 朱天辉 (1963-), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事林木病虫害及其防治方面的研究。

棉铃虫^[7,8]、苜蓿绿夜蛾^[9]等的防治。我国在1996年首次报道使用莱氏野村菌孢子悬浮液在田间控制棉铃虫,虫口密度显著下降^[10]。

国外的发酵工艺多采用液体深层发酵,我国除液体发酵之外,还探索出一套通过固体浅层发酵方式进行大规模开放式生产的工艺^[11]。通过发酵技术研究各类微生物产物的发酵规律并加以利用,改进工艺水平并提高生产效率,大幅提升生物农药的产量、质量将不再是难题。发酵参数对微生物菌丝生长量和产孢量都有极大影响,大多数虫生真菌在25℃^[12]下生长最好,菌丝生长量和分生孢子产量最高的pH与自然pH相近^[13],培养基中碳氮源种类的选择可以显著促进虫生真菌微循环产孢^[14],孔琼等^[15]研究维生素在莱氏野村菌生长中的作用,发现对其菌落产孢有明显的促进作用的维生素有生物素、烟酸和抗坏血酸3种。国内关于杜仲梦尼夜蛾取食杜仲叶片导致经济林损失惨重的报道屡见不鲜,但有效的无公害防治方法尚少。前期试验证明,莱氏野村菌对杜仲梦尼夜蛾有明显控制作用,因此,相关发酵条件优化为该菌投入生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:莱氏野村菌(*Nomuraea rileyi*)由四川农业大学林学院森林保护实验室提供,分离于大邑县杜仲种植基地罹病的梦尼夜蛾虫尸。

培养基质:高粱、大米、大豆、玉米、小麦、各种碳、氮源、SMY培养基(麦芽糖4%,蛋白胨1%,酵母粉1%)。

仪器与设备:高压灭菌锅、超净工作台、振荡培养箱、恒温培养箱、电子天平、血球计数板。

菌种活化:采用PPDA培养基(1L PDA中添加蛋白胨10g)进行扩繁。25℃下培养10d,备用。

菌悬液的制备:用灭菌的0.05% Tween-80洗脱PPDA斜面上生长的分生孢子,将洗脱液置于漩涡振荡器内充分振荡均匀,经血球计数板测定孢子浓度。

1.2 莱氏野村菌的固体发酵培养

1.2.1 基础培养基质筛选

为探索适宜生产莱氏野村菌分生孢子的培养基及培养条件,在前人的研究基础上,利用单因素试验对大豆、小麦、高粱、大米等材料进行筛选,并优化发酵条件。

高粱、大米、大豆、玉米、小麦各取50g,加50mL水分别煮沸,湿度为手握基质时掌心有水印而无水滴出,用三角瓶分装。高压灭菌后接种上述液体发酵孢子悬浮液,接种 3.63×10^8 cfu · mL⁻¹的孢子悬浮液20mL,置于25℃下光照培养10d后取出,计算其孢子含量。每个基质设置5个重复。

1.2.2 不同碳源对莱氏野村菌生长的影响

在上述试验筛选出的最佳培养基质(50g)中分别添加1.5g(50mL溶解)的葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、果糖、木糖、甘露醇和可溶性淀粉,配制成含不同碳源的培养基,以无碳源的基础培养基为对照,配制成含不同碳源的培养基,研究不同碳源对莱氏野村菌生长的影响,接种 3.63×10^8 cfu · mL⁻¹的孢子悬浮液20mL,之后置于25℃下光照培养10d后取出,计算其孢子含量。每组试验重复5次,试验结果为5次重复的平均值。

1.2.3 不同氮源对莱氏野村菌生长的影响

在上述试验筛选出的最佳培养基质(50g)中分别添加1.5g(50mL溶解)的酵母浸粉、尿素、牛肉蛋白胨、硝酸钠、硝酸钾、水解酪蛋白、胰蛋白胨和硝酸铵,将他们作为生长所需的氮源,以无氮源的基础培养基为对照,配制成含不同氮源的培养基,研究不同氮源对莱氏野村菌生长的影响,接种 3.63×10^8 cfu · mL⁻¹的孢子悬浮液20mL,之后置于25℃下光照培养10d后取出,计算其孢子含量。每组试验重复5次,试验结果为5次重复的平均值。

1.2.4 不同维生素对莱氏野村菌生长的影响

在上述试验筛选出的最佳培养基质(50g)中,分别加入0.5mg(50mL溶解)的抗坏血酸、硫酸素、吡哆醇、核黄素、生物素,以不加任何维生素的基础培养基作为对照,配制成含不同维生素的培养基,研究不同维生素对莱氏野村菌生长的影响,接种 3.63×10^8 cfu · mL⁻¹的孢子悬浮液20mL,之后置于25℃下光照培养10d后取出,计算其孢子含量。每组试验重复5次,试验结果为5次重复的平均值。

单因素试验选出的最适因子进行配比同上述试验条件测定其产孢量。

1.3 莱氏野村菌的液体发酵参数筛选

1.3.1 pH对菌丝干重的影响

将配备好的SMY培养基各150mL放在250mL的三角瓶中,高压灭菌后用NaOH和HCL将SMY液体培养基的pH分别调至4、5、6、7、8、9、10,之后分别接种1mL菌悬液,接种浓度为 1.0×10^7 cfu · mL⁻¹,放在培养温度为28℃的振荡培养箱里摇床转速为180 r · min⁻¹每个处理3个重复。7d

后,将培养好的发酵液过滤,把过滤后的菌丝放在 60℃ 的烘箱里烘干 2 h 后称取菌丝干重。

1.3.2 接种浓度对菌丝干重的影响

将配备好的 SMY 培养基各 150 mL 放在 250 mL 的三角瓶中,高压灭菌后分别接种 1 mL 的菌悬液,接种浓度分别为 1.0×10^5 、 1.0×10^6 、 1.0×10^7 、 1.0×10^8 、 1.0×10^9 cfu · mL⁻¹。放在培养温度为 28℃ 摇床转速为 180 r · min⁻¹ 的振荡培养箱里培养,培养基 pH 值为自然,每个处理 3 个重复。7 d 后测处理后的菌丝干重。

1.3.3 摇床转速对菌丝干重的影响

将配备好的 SMY 培养基各 150 mL 放在 250 mL 的三角瓶中,接种 1 mL 的菌悬液。接种浓度为 1.0×10^8 cfu · mL⁻¹,转速设置分别为 60 r · min⁻¹、100 r · min⁻¹、140 r · min⁻¹、180 r · min⁻¹、220 r · min⁻¹,放在培养温度为 28℃ 的振荡培养基里培养,培养基 pH 值为自然。每个处理 3 个重复,7 d 后测处理后的菌丝干重。

1.3.4 温度对菌丝干重的影响

将配备好的 SMY 培养基各 150 mL 放在 250 mL 的三角瓶中,高压灭菌后,分别接种 1 mL 的菌悬液,接种浓度为 1.0×10^8 cfu · mL⁻¹,振荡培养箱温度分别设置为 10℃、15℃、20℃、25℃、30℃,培养基 pH 值为自然,光照时间为 12L/12D,每个处理 3 个重复,7 d 后测发酵液的菌丝干重。

1.3.5 光照对菌丝干重的影响

将配备好的 SMY 培养基各 150 mL 放在 250 mL 的三角瓶中,高压灭菌后,分别接种 1 mL 的菌悬液,接种浓度为 1.0×10^8 cfu · mL⁻¹,振荡培养箱培养温度为 28℃,光照条件设置为 0L(光照):24D(黑暗)、6L:18D、12L:12D、18L:6D、24L:0D,每个处理 3 个重复,7 d 后测发酵液的菌丝干重。

单因素试验选出的最佳条件进行配比在 SMY 培养基上测定其菌丝干重。

1.4 数据分析

固体发酵采用血球计数板对孢子进行计数,液体发酵称取菌丝干重,将所获得数据采用 SPSS17.0 软件进行数据分析检验差异显著性,EXCEL 软件为辅助统计分析,用 Duncan 进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 固体发酵配方优化

2.1.1 不同固体基质对莱氏野村菌产孢量的影响

产孢量结果表明,以玉米作为固体基质产孢量

最大,达到 $(16.40 \pm 2.76) \times 10^9$ cfu · mL⁻¹,大米和高粱次之,大豆最低,除玉米外,其余基质产孢量差异不显著。玉米与其他基质间差异均达显著水平 ($P < 0.05$) (表 1),综合比较五种固体基质对莱氏野村菌产孢量的影响,选择玉米作为固体基质进一步研究。

表 1 不同固体基质培养莱氏野村菌的产孢量

| 固体基质 | 产孢量 ($\times 10^9$ cfu · mL ⁻¹) |
|------|--|
| 玉米 | 16.40 ± 2.76a |
| 大米 | 7.99 ± 4.11b |
| 高粱 | 6.29 ± 6.32b |
| 麦麸 | 3.94 ± 2.03b |
| 大豆 | 2.31 ± 0.50b |

注:表中数据为平均数 ± SD,同列中不同字母表示差异显著 (LSD, $P < 0.05$)。

2.1.2 不同碳源对莱氏野村菌产孢量的影响

比较供试的几种碳源对菌落产孢量的影响 (表 2),以葡萄糖为碳源的产孢量最大,达 $(17.60 \pm 1.65) \times 10^9$ cfu · mL⁻¹;与其他糖类差异显著 ($P < 0.05$);其次是麦芽糖,产孢量为 $(12.47 \pm 0.50) \times 10^9$ cfu · mL⁻¹。余下几个碳源种类,蔗糖、果糖、可溶性淀粉、甘露醇、木糖与对照组差异不显著,其中可溶性淀粉、甘露醇、木糖相较于对照组,产孢量较低。

表 2 不同碳源固体培养基培养莱氏野村菌的产孢量

| C 源 | 产孢量 ($\times 10^9$ cfu · mL ⁻¹) |
|---------|--|
| 葡萄糖 | 17.60 ± 1.65a |
| 麦芽糖 | 12.47 ± 0.50b |
| 蔗糖 | 11.73 ± 5.50bc |
| 果糖 | 11.47 ± 3.67bc |
| 无添加(对照) | 8.23 ± 0.06bc |
| 可溶性淀粉 | 8.04 ± 0.34bc |
| 甘露醇 | 7.93 ± 2.66c |
| 木糖 | 6.95 ± 0.30c |

注:表中数据为平均数 ± SD,同列中不同字母表示差异显著 (LSD, $P < 0.05$)。

2.1.3 不同氮源对莱氏野村菌产孢量的影响

氮源对于莱氏野村菌的固体发酵培养产孢影响表明 (表 3),与对照组相比,水解酪蛋白和胰蛋白胨对菌株的产孢有明显的促进作用,产孢量以水解酪蛋白最大,达 $(36.97 \pm 0.47) \times 10^9$ cfu · mL⁻¹,胰蛋白胨次之,达 $(35.17 \pm 0.95) \times 10^9$ cfu · mL⁻¹,两者差异并不显著,且均与其他氮源差异性显著 ($P < 0.05$),余下氮源中,以硝酸钠、牛肉膏蛋白胨、酵母浸粉、硝酸铵与对照组无显著差异;硝酸钾与脲产孢量较对照组较差,有一定抑制作用,其中氮源为脲的固体培养基上,始终未见菌落形成。

表3 不同氮源固体基质培养莱氏野村菌的产孢量

| N 源 | 产孢量(×10 ⁹ cfu·mL ⁻¹) |
|---------|---|
| 水解酪蛋白 | 36.97 ± 0.47a |
| 胰蛋白胨 | 35.17 ± 0.95a |
| 无添加(对照) | 14.13 ± 5.61b |
| 硝酸钠 | 13.80 ± 2.59b |
| 牛肉膏蛋白胨 | 13.77 ± 2.05b |
| 酵母浸粉 | 12.90 ± 2.75bc |
| 硝酸铵 | 11.37 ± 2.55bc |
| 硝酸钾 | 7.99 ± 5.39c |
| 脲 | 0.00 ± 0.00d |

注:表中数据为平均数 ± SD, 同列中不同字母表示差异显著(LSD, P < 0.05)。

2.1.4 不同维生素对莱氏野村菌产孢量的影响

实验结果(表4)显示,在培养基中分别添加6种维生素,对莱氏野村菌的产孢量,除了硫胺素对该菌的产孢有一定抑制作用外,其余维生素都对其有一定的促进作用,其中,以抗坏血酸对其促进作用最大,产孢量达(11.29 ± 5.68) × 10⁹ cfu·mL⁻¹,但与对照组无显著差异。

表4 不同维生素固体基质培养莱氏野村菌的产孢量

| 维生素 | 产孢量(×10 ⁹ cfu·mL ⁻¹) |
|---------|---|
| 抗坏血酸 | 11.29 ± 5.68a |
| 核黄素 | 11.15 ± 2.64a |
| 吡哆醇 | 11.07 ± 2.98a |
| 生物素 | 10.52 ± 3.55a |
| 无添加(对照) | 8.38 ± 0.14a |
| 硫胺素 | 6.72 ± 2.13a |

注:表中数据为平均数 ± SD, 同列中不同字母表示差异显著(LSD, P < 0.05)。

由此可见,玉米(50 g)、葡萄糖(1.5 g)、水解酪蛋白(1.5 g)、抗坏血酸(0.5 mg)、水 50 mL 为最佳固体培养基(培养 10 d),产孢量达 4.78 × 10¹⁰ cfu·mL⁻¹。

2.2 液体发酵参数优化

2.2.1 接种浓度对菌丝干重的影响

从表5可以看出接种的菌株悬液浓度在 1.0 × 10⁸ cfu·mL⁻¹时能够得到最多的菌丝干重,但是与浓度 1.0 × 10⁷ 与 1.0 × 10⁹ 得到的菌丝干重没有显著性差异,故后续选择浓度为 1.0 × 10⁸ cfu·mL⁻¹ 为最佳接种浓度继续后续研究。

表5 接种浓度对菌丝干重的影响

| 接种浓度(cfu·mL ⁻¹) | 菌丝干重(mg) |
|-----------------------------|------------------|
| 1.0 × 10 ⁵ | 326.5 ± 23.5 Bb |
| 1.0 × 10 ⁶ | 341.8 ± 26.2 Bb |
| 1.0 × 10 ⁷ | 484.8 ± 20.5 ABb |
| 1.0 × 10 ⁸ | 538.4 ± 19.3 Aa |
| 1.0 × 10 ⁹ | 452.3 ± 13.8 Aa |

注:经 Duncan 多重比较,不同的大写字母代表在 P < 0.01 水平差异极显著;不同的小写字母代表在 P < 0.05 水平差异显著。

2.2.2 pH 对菌丝干重的影响

从表6可以看出,pH 对莱氏野村菌液体发酵菌丝干重影响很大,当 pH = 6 时得到菌丝干重最大。pH 5 和 pH 7 时菌丝的干重差别不大,但是与前者差异显著,pH = 4 和 9、10 差异明显,由此可以看出,适合菌种生长的 pH 在 5~7 之间,最佳的 pH 值为 6。

表6 pH 对菌丝干重的影响

| pH 值 | 菌丝干重(mg) |
|------|------------------|
| 4 | 30.2 ± 19.3 Aab |
| 5 | 474.3 ± 3.5 CDcd |
| 6 | 577.0 ± 15.4Dd |
| 7 | 454.0 ± 15.7CDd |
| 8 | 406.9 ± 30.6BCd |
| 9 | 272.5 ± 32.7ABc |
| 10 | 192.4 ± 20.3Abc |

注:经 Duncan 多重比较,不同的大写字母代表在 P < 0.01 水平差异极显著;不同的小写字母代表在 P < 0.05 水平差异显著。

2.2.3 摇床转速对菌丝干重的影响

摇床转速可影响液体菌种在发酵过程中氧气的供给。表7可以看出转速对该菌株的产孢有明显影响,在低转速(60 r·min⁻¹)时候菌丝生长比较缓慢,摇床在 180 r·min⁻¹时菌丝的产量最高,供氧量适宜。

表7 摇床转速对菌丝干重的影响

| 转速(r·min ⁻¹) | 菌丝干重(mg) |
|--------------------------|-----------------|
| 60 | 105.4 ± 3.8 Aa |
| 100 | 243.8 ± 9.3 Bb |
| 140 | 406.0 ± 2.5 Cc |
| 180 | 540.2 ± 40.7 De |
| 220 | 403.6 ± 10.2 Cd |

注:经 Duncan 多重比较,不同的大写字母代表在 P < 0.01 水平差异极显著;不同的小写字母代表在 P < 0.05 水平差异显著。

2.2.4 温度对菌丝干重的影响

温度是研究虫生真菌生长的重要因素之一。在不同的温度条件下,菌株在液体发酵中菌丝干重情况不同。从表8可以看出,菌株在 10~30℃,温度过低或者过高,菌株的产孢有着明显的不同。25℃能得到菌丝干重最大,30℃时得到的菌丝干重最低,10℃明显没有菌丝产生,说明了温度是影响菌株液体发酵的很重要条件。

表8 温度对菌丝干重的影响

| 温度(℃) | 菌丝干重(mg) |
|-------|----------------|
| 10 | — |
| 15 | 205.0 ± 12.8Bb |
| 20 | 484.6 ± 2.3Cc |
| 25 | 585.3 ± 11.8Dd |
| 30 | 63.4 ± 10.2Aa |

注:经 Duncan 多重比较,不同的大写字母代表在 P < 0.01 水平差异极显著;不同的小写字母代表在 P < 0.05 水平差异显著。

2.2.5 光照对菌株菌丝干重的影响

表9可以看出24D时菌丝干重最少,24L有较多的干物质积累,说明连续的光照促进菌丝生长。

表9 光照对菌丝干重的影响

| 光照 | 菌丝干重(mg) |
|---------|-----------------|
| 0L:24D | 118.0 ± 2.9 Aa |
| 6L:18D | 305.6 ± 22.7 Bb |
| 12L:12D | 335.4 ± 8.7 Cc |
| 18L:6D | 495.8 ± 17.8 Cc |
| 24L:0D | 578.9 ± 17.3 Dd |

注:经 Duncan 多重比较,不同的大写字母代表在 $P < 0.01$ 水平差异极显著;不同的小写字母代表在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

综上,SMY 培养基最适发酵条件: 1.0×10^8 cfu · mL⁻¹ 接种浓度,25℃、pH = 6、全光照、180 r · min⁻¹ 振荡培养 7 d,菌丝干重为 690.2 mg。

3 结论与讨论

固体发酵配方优化试验结果表明:不同的固体培养基质以及不同营养种类对莱氏野村菌的产孢量影响明显。玉米为菌产孢的最佳固体培养基基质,与他人研究结果为大豆最好不同,可能与大豆的煮沸程度,豆子的种类等有关^[16];玉米粒来源广、价格相对便宜,是一种适于莱氏野村菌固体发酵的基质,但培养时间过长,工艺还有待提高。葡萄糖为该菌产孢的最佳碳源,其菌落产孢量最高;水解酪蛋白和胰蛋白胨为莱氏野村菌产孢的最佳氮源,所选维生素中,对莱氏野村菌产孢无显著影响,其中硫胺素较对照组产孢量偏低,有一定抑制作用。固体发酵为复合粉炮生产提供基础配方。

液体发酵参数试验结果表明:莱氏野村菌菌株在 SMY 培养基中,pH = 6 为菌丝生长的最适宜 pH,振荡箱的转速在 180 r · min⁻¹ 时,融氧适宜,培养温度在 25℃,光照设置为全天光照能促进菌丝干物质积累;在实际生产发酵中,接种菌悬液的浓度可控制在 1.0×10^8 cfu · mL⁻¹ 左右。液体发酵主要采取先发酵生产后提取回收产物的工艺,在回收时采用离心浓缩等方式容易导致大量有效成分随滤液遗弃,提取物毒力水平有所降低,只能通过深层发酵提高质量,相应又延长了发酵时间,降低了发酵效率^[17]。此外,我国目前的干燥设备较落后,回收效率及回收质量都不理想。想要打破这种恶性循环,还有待进一步优化发酵参数,或开发新设备辅助提高液体发酵的效率。结合来看,本研究液体发酵缩短时间后可作为固体培养生产莱氏野村菌菌粉的二级种子。

参考文献:

- [1] 黄勃,李世贵,李春如,等. 柱孢绿僵菌和绿色野村菌分类地位的研究[J]. 菌物学报,2004,23(1):33~37.
- [2] Leslie P, Kish Robert A, Samson George E. et al. The genus *Nomuraea* Maublanc [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1974, 24(2):154~158.
- [3] 蒲蛰龙,李增智. 昆虫真菌学[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,1996.
- [4] 涂增. 莱氏野村菌(*Nomuraea rileyi*)菌株(Nr-cq0310)的研究[D]. 西南大学硕士学位论文,2007.
- [5] Ignoffo CM, Garcia C, Hostetter DL. Natural and induced epizootics of *Nomuraea rileyi* in soybean caterpillars[J]. Environmental Entomology, 1976, 5:935~936.
- [6] Ambethgar V, Logannathan M. Incidence of green muscardine fungus, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson on *Spodoptera litura* (Fab.) in soybean, *Glycine max* (L.) Merrill from Tamil Nadu (India) [J]. Journal of Entomological Research, 1998, 22(2):195~196.
- [7] Hugar PS, Hegde M. Occurrence of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson on *Helicoverpa armigera* infesting sorghum [J]. Insect Environment, 1996, 2(2):44~45.
- [8] Devi PSV. Soil treatment with *Nomuraea rileyi*: a promising technique for the control of *Spodoptera litura* on groundnut [J]. Biocontrol. Science and Technology, 1995, 5(3):361~364.
- [9] Ignoffo CM. The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide. In: Microbial control of pests and plant diseases [M]. In: Burges H D, ed. London & New York, Academic Press, 1981:513~538.
- [10] 陆永跃,尹楚道. 莱氏野村菌对棉铃虫致病力及田间控制作用初步研究[J]. 植物保护, 1998, 24(4):14~17.
- [11] 范瑛阁,曹远银. 微生物源农药的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(7):1266~1268.
- [12] Fargues J, Robert PH. Persistence of the conidiospores of the entomopathogenic hyphomycetes *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. . *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sor., *Nomuraea rileyi* (F.) Samson and *Paecilomyces fumoso-roseus* Wize in the soil. in controlled conditions [J]. Agronomie, 1985, 5(1):73~79.
- [13] Im DJ, Lee MH, Aguda RM. Effect of nutrients and pH on the growth and sporulation of four entomogenous hypomycetes fungi (Deuteromycotina) [J]. Korean Journal of Applied Entomology, 1988, 27(1):41~46.
- [14] 冯冬梅. 莱氏野村菌生长和产孢条件的探索[J]. 西南农业学报, 1989, 2(2):57~62.
- [15] 樊美珍,黄勃,王建树,等. 几种虫生真菌附着胞的荧光显微及扫描电镜观察[J]. 菌物系统, 1999, 18(3):249~253.
- [16] Holdom DG, Klashorst G, van de Klashorst G, et al. Inexpensive culture media and methods for *Nomuraea rileyi* [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1986, 48(2):246~248.
- [17] 朱昌雄,杨怀文. 我国生物农药产业发展的热点问题分析与建议[J]. 现代工业, 2005, 25(12):1~5.