

含水量与温度对球孢白僵菌孢子粉贮存寿命的影响及模拟分析

黄芳芳¹ 张丽靖² 冯明光^{1*}

(¹ 浙江大学微生物研究所 杭州 310029) (² 浙江大学宁波理工学院 宁波 315100)

摘 要 将含水量 1.12%、4.73%、7.23%、9.84% 及 14.11% 的球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* SG8702 分生孢子粉在 4℃ 和 25℃ 下黑暗贮存 18 个月, 定期检测活孢率, 以确定孢子粉的贮存寿命。结果显示, 各温度处理中含水量显著 ($P < 0.05$) 影响孢子贮存期间的活孢率。在 4℃ 下, 含水量为 1.12% ~ 9.84% 处理的活孢率在头 16 个月均稳定在 91% 以上, 且相互间差异不显著; 次高含水量处理的活孢率在第 18 个月才显著低于其它较低含水量处理; 高含水量处理的活孢率则从第 6 个月起显著低于其余较低含水量处理, 第 12 个月时降至 24.2%。而在 25℃ 下, 第 3 和第 6 个月的活孢率在不同含水量处理间均呈极显著差异 ($P < 0.01$), 即随含水量升高而显著下降, 次高含水量处理在第 6 个月的活孢率仅剩 17.6%。贮存期间活孢率对贮存时间和孢子粉含水量的依赖关系很符合改进的存活衰变模型 ($r^2 > 0.85$)。根据拟合的模型预测, 在 4℃ 下贮存, 若保证活孢率 90%, 12% 含水量的孢子粉可贮存 7.3 个月, 10% 为 11.2 个月, 9% 为 14.9 个月, 8% 为 21.0 个月, 7% 为 33.0 个月, 6% 达 65.5 个月, 故孢子粉冷贮的含水量应控制在 8% 以下。若在 25℃ 下贮存并保证活孢率 80%, 含水量 10% 的孢子粉仅可贮存 1.7 个月, 8% 为 2.3 个月, 6% 为 3.0 个月, 4% 为 3.8 个月。显然, 孢子粉常温贮存必须将含水量控制在 5% 以下, 才能贮存 3 个月以上并使活孢率预期达到 80%。

关键词 球孢白僵菌 孢子粉贮存 含水量 温度 货架寿命 存活衰变模型

中图分类号 S476 文献标识码 A 文章编号 1001-6209 (2005) 01-0106-05

害虫生防真菌侵染体(孢子、菌丝等)的有效贮存很大程度上决定着生防菌剂研发的成功与否, 因为侵染体是生防真菌制剂的杀虫活性成份。孢子粉含水量和贮存温度一般认为是影响球孢白僵菌 [*Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin] 孢子粉贮存寿命的重要因素^[1~3], 主要交互影响孢子内贮总糖和蛋白质的代谢水平^[4,5]。如在 4℃ 下含水量 15% 的白僵菌孢子粉仅能贮存 6 个月, 而含水量降至 8% 贮存 1 年, 活孢率仍达 81.3%^[6]。国外学者在黄绿僵菌 [*Metarhizium flavoviride* (Gams & Rozsypal)] 贮存研究中发现, 未经干燥的新鲜孢子粉在 17℃ 和 8℃ 下贮存, 分别经历 9 周和 32 周后活孢率均下降至 40% 以下; 而硅胶干燥保存的孢子粉在相同条件下贮存 127 周后, 活孢率仍分别达 60% 和 80%, 160 周后还分别有 47% 和 68%^[7]。将干燥的孢子粉及其油剂分别在 10 ~ 14℃ 和 28 ~ 32℃ 的变温下贮存, 80d 后油剂中的活孢率分别为 96% 和 85%, 同期孢子粉的活孢率分别为 95% 和 27%^[8]。通过对 7 株球孢白僵菌不同含水量(2.3% ~ 32%) 的孢子粉在 10、20、30、40 及 50℃ 的梯度恒温下贮存的活孢率观

察及模拟分析, 5% 左右的含水量被认为有利于贮存^[9]。该研究采用的温度和含水量虽有利于模拟分析, 但很多处理设计却偏离常规贮存条件。

综观国内外关于含水量与温度对生防真菌孢子贮存影响的研究报道, 存在几方面的问题。一是较早期研究实验设计不够严密, 尤其孢子粉含水量的确定欠规范。二是以经验叙述为主, 深入分析不够, 即使国外的一些研究报道也如此。三是孢子贮存试验看似简单, 但往往历时较长且繁琐, 需定期抽样系统检测才能发现活孢率变化的敏感阶段, 而一些研究报道中往往缺乏细致的观察, 以至相互间可比性不强, 甚至前后或相互矛盾。有鉴于此, 本研究根据生防真菌制剂研究及应用的常规要求设计并进行了球孢白僵菌孢子粉的长期贮存试验, 重点探讨孢子粉含水量和贮存温度对孢子贮存寿命的影响。

1 材料和方法

1.1 供试菌种及其孢子粉制备

球孢白僵菌 SG8702 菌株从自然感病死亡的麦二叉蚜尸 *Schizaphis graminum* (Rondani) 分离得到^[10],

基金项目: 国家 973 项目 (2003CB114203) 国家自然科学基金 (30270897)

* 通讯作者。Tel/Fax: 86-571-86971129; E-mail: mgfeng@zju.edu.cn

作者简介: 黄芳芳 (1980 -) 女, 浙江温州人, 硕士研究生, 从事应用微生物研究。

收稿日期: 2004-06-04, 修回日期: 2004-08-27

菌种长期保存于-76℃冰箱中。孢子粉的生产基于两相发酵原理^[1],以适度熟化的大米作为产孢基质,在25℃下浅盘培养一周收粉备用^[11,12]。

所获高纯度新鲜孢子粉(含孢量>1200亿/g)含水量为14.11%。为获得含水量呈梯度变化的孢子粉,将新鲜孢子粉在12LS型冷冻干燥机(VirTis Company, USA)上常温真空抽干48h至尽可能低,测其含水量为1.12%。其余干燥孢子粉分装于培养皿中(2g/皿),置于湿室(底部盛水的干燥器)中吸湿不同时间后,参照文献[3]的方法实测各培养皿中孢子粉中的含水量。由此获得含水量分别为1.12%、4.73%、7.23%、9.84%和14.11%的孢子粉。

1.2 孢子粉贮存

将不同含水量的孢子粉分装于干燥无菌的若干指形管中蜡封,分别置于4℃和25℃恒温下黑暗贮存。蜡封前先取样测定各含水量孢子粉的起始萌发率,贮存期间各含水量的孢子粉每隔15d取1管样品测定活孢率,1年后每隔2个月测定,以考查不同含水量孢子粉在低温和室温下的贮存寿命。

1.3 活孢率测定

各孢子粉样品用0.5% OP配成10⁷个孢子/mL的悬液,然后将1mL孢子悬液滴入也含0.5% OP的9mL营养液(由蔗糖2%和蛋白胨0.5%组成)中,恒温(25℃±1℃)振荡(100r/min)培养24h,用血球计数器计数样品发芽和未发芽的孢子数,重复取样测定3次,计算营养液中孢子萌发率。可见芽管长度等于或大于孢子直径的所有孢子视为萌发^[9],样品萌发率代表其活孢率。

1.4 数据分析

在低温和室温下贮存期间不同含水量孢子粉的活孢率观察值随贮存时间的变化用二维趋势图表示。特定温度下含水量对贮存寿命的影响通过对特定时间观察的活孢率进行单向方差分析和Tukey's HSD比较给予评价;含水量和温度对孢子粉贮存寿命的协同影响通过双向方差分析进行比较^[13]。在此基础上,不同温度下的活孢率(V_c)观察值与含水量(C_w)和贮存月数(T_s)之间的定量关系,采用改进的存活衰变模型 $V_c = 1/\{1 + a \exp[(b_0 + b_1 C_w^2)T_s]\}$ 进行模拟,式中 a 、 b_0 及 b_1 为待估参数。所有数据分析及模拟运算采用DPS软件完成^[13]。

2 结果和分析

2.1 活孢率变化趋势

不同含水量的孢子粉在4℃和25℃下黑暗贮存

期间活孢率随时间变化的趋势见图1所示。各含水量处理的孢子粉在贮存开始时的平均活孢率为99.21%(±0.48)相互间无显著差异($F_{4,8} = 1.51, P = 0.28$)。在4℃下贮存18个月,含水量为1.12%~9.84%各处理的活孢率仅比出发时分别下降5.54%、4.53%、7.15%和8.98%,且活孢率维持在90%以上,高含水量处理(14.11%)的孢子粉在前9个月的活孢率从98.98%缓慢下降至77.88%,此后活孢率下降加速,第285天时降至58.53%,至第420天时全部失活,显示该含量的孢子粉即使冷贮也不宜过6个月(此时活孢率为86%)。在25℃下贮存期间,含水量14.11%的孢子粉在第30天检测时已全部失活(未检测到萌发的孢子);含水量9.84%、7.23%和4.73%处理的孢子全部失活的时间分别发生于第195天、225天和420天;最低含水量处理的活孢率下降显然缓于较高含水量处理。在25℃下贮存的前3个月,1.12%~9.84%含水量处理的活孢率相对较为稳定,下降趋势平缓且下降幅度随含水量而增大。

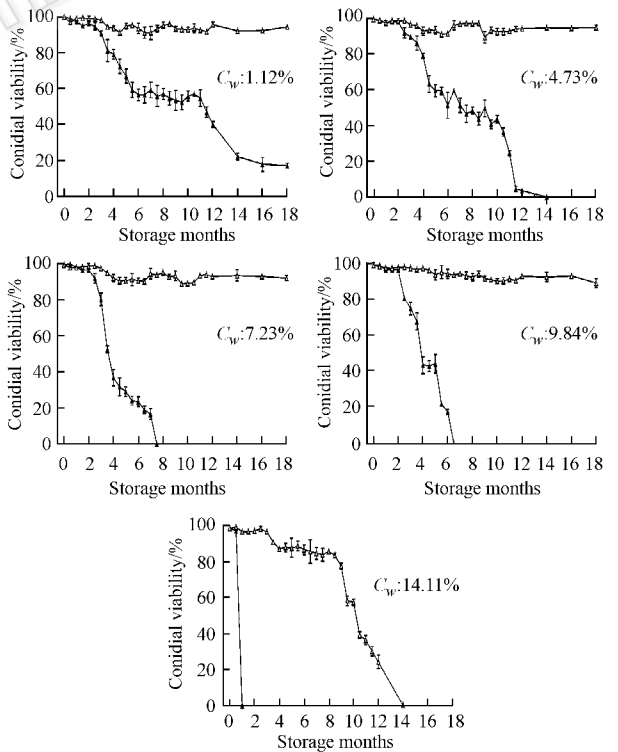


图1 球孢白僵菌含水量(C_w)1.12%~14.11%的孢子粉在4℃(Δ)和25℃(▲)下活孢率随贮存时间变化的趋势

Fig.1 Trends in the viabilities of *B. bassiana* conidia with water content(C_w)of 1.12%~14.11% over time of storage in dark at 4℃(Δ) and 25℃(▲), respectively

将两种贮存温度下所有含水量处理每隔 3 个月的活孢率进行单向方差分析(表 1)。在 4℃ 下,除最高含水量处理外,其余 4 个含水量处理(1.12% ~ 9.84%)的活孢率在贮存的头 16 个月期间均在 91% 以上的水平上波动,且相互间无显著差异($P > 0.05$);次高含水量处理在第 18 个月的活孢率才显著低于其它较低含水量处理,但也维持 90% 的水

平,最高含水量处理(14.11%)的活孢率则从第 6 个月起显著低于其余较低含水量处理,至第 12 个月时降至 24.2%(±3.8),此后活孢率检测为零。而在 25℃ 下,第 3 和第 6 个月的活孢率观察值在不同含水量处理间均呈极显著差异,即随含水量升高而显著下降。

表 1 含水量对球孢白僵菌孢子粉在 4℃ 和 25℃ 下贮存期间活孢率的影响
Table 1 The effect of water content on the viability of *B. bassiana* conidia stored at 4℃ and 25℃

Water content /%	Mean viability ± SD/% ^a							
	At 4℃ over months						At 25℃ over months	
	3	6	9	12	16	18	3	6
1.12	98.3 ± 0.5a	93.7 ± 2.9a	93.5 ± 1.5a	95.8 ± 1.5a	92.5 ± 1.2a	94.5 ± 0.6a	90.8 ± 1.4a	56.7 ± 7.5a
4.73	96.3 ± 0.6a	91.3 ± 0.6a	92.3 ± 1.7a	94.0 ± 1.0a	94.5 ± 0.6a	94.8 ± 1.3a	89.6 ± 0.5ab	51.3 ± 4.1a
7.23	97.2 ± 0.4a	90.4 ± 1.4a	93.2 ± 2.5a	92.8 ± 0.5a	92.8 ± 0.6a	91.9 ± 1.5ab	80.0 ± 6.5bc	24.0 ± 2.5b
9.84	97.3 ± 0.6a	92.2 ± 2.1a	91.2 ± 0.9a	92.7 ± 0.6a	92.4 ± 2.5a	90.0 ± 1.4b	74.9 ± 1.2c	17.6 ± 1.5b
14.11	97.1 ± 0.9a	86.1 ± 0.4b	77.9 ± 1.7b	24.2 ± 3.8b				
<i>F</i> -test	$F_{4,8} = 3.5$ $P = 0.06$	$F_{4,8} = 14.8$ $P < 0.01$	$F_{4,8} = 60.7$ $P < 0.01$	$F_{4,8} = 961$ $P < 0.01$	$F_{3,6} = 1.8$ $P = 0.25$	$F_{3,6} = 8.9$ $P = 0.01$	$F_{3,6} = 13.0$ $P < 0.01$	$F_{3,6} = 59.3$ $P < 0.01$

^a Means followed by different lowercase letters in each column differed significantly(Tukey's HSD, $P < 0.05$).

对各含水量孢子粉在 4℃ 和 25℃ 下贮存期间历次抽样检测的活孢率进行双向分组方差分析(表 2)。显然在给定含水量下,贮存温度 T 、时间 T_s 及其互作($T \times T_s$)都对活孢率产生极显著影响;4℃ 下

冷贮历次检测的活孢率总平均值总是显著高于 25℃ 下同期贮存的活孢率。由于 25℃ 下不同含水量孢子粉的贮存结束于不同时间(图 1),故分析中 4℃ 下的数据也按前者结束时间截止,以便比较。

表 2 贮存温度(T)、贮存时间(T_s)及其互作($T \times T_s$)对球孢白僵菌不同含水量孢子粉活孢率的影响
Table 2 The effects of storage temperature(T) and time(T_s) and their interactive effect($T \times T_s$) on the viability of *B. bassiana* conidia with a given water content

Water content /%	Source of variation	Degrees of freedom	F value	P value	Comparison of overall viability/%		
					$T/^\circ\text{C}$	Months	Mean ± SD ^a
1.12	T	1 ; 110	4108.4	0.0000	4	18	94.8 ± 3.3 A
	T_s	27 ; 110	102.4	0.0000	25	18	62.7 ± 24.6B
	$T \times T_s$	27 ; 110	73.5	0.0000			
4.73	T	1 ; 98	7120.3	0.0000	4	12	95.0 ± 3.1 A
	T_s	24 ; 98	221.6	0.0000	25	12	60.0 ± 28.8 B
	$T \times T_s$	24 ; 98	173.5	0.0000			
7.23	T	1 ; 58	3584.3	0.0000	4	7	94.7 ± 3.8 A
	T_s	14 ; 58	285.8	0.0000	25	7	59.6 ± 34.3 B
	$T \times T_s$	14 ; 58	194.6	0.0000			
9.84	T	1 ; 50	1469.3	0.0000	4	6	94.1 ± 5.0 A
	T_s	12 ; 50	197.0	0.0000	25	6	67.7 ± 29.6 B
	$T \times T_s$	12 ; 50	107.1	0.0000			

^a Paired overall means followed by different uppercase letters differed significantly(Tukey's HSD, $P < 0.01$).

2.2 活孢率与含水量及贮存时间的关系

将各贮存温度下历次抽样检测获得的活孢率(V_c)对贮存时间(T_s ;月数)和孢子粉含水量(C_w)进行模型拟合分析,发现具有 $y = 1/[1 + a \exp(-bx)]$ 形式的存活衰变模型稍加变形,即可很好地拟合上述变量之间的关系。由此,获得球孢白僵菌孢子粉在

4℃ 下冷贮的活孢率模拟模型: $V_c = 1/\{1 + 0.0155 \exp[(- 0.0520 + 0.0023 C_w^2)T_s]\}$,其自变量对因变量变异的确定率达 85.85%($r^2 = 0.8585$, $F_{4,135} = 409.5$, $P < 0.0001$),各参数模拟值的 t 检验均达到极显著水平。类似地,在 25℃ 下贮存的孢子粉活孢率的模拟模型为 $V_c = 1/\{1 + 0.0642 \exp[(0.2718 + 0.0052 C_w^2)$

T_s }],其自变量对因变量变异的确定率达 86.45% ($r^2 = 0.8645$, $F_{4,81} = 258.3$, $P < 0.0001$),各参数模拟值的 t 检验也都达到极显著水平。注意模型的改进之处在于 $b = b_0 + b_1 C_w^2$ 。因为 b 在常规存活衰变模型中表示衰变速率(a 表示截距),故不难理解含水量对贮存期间活孢率的影响实质上是改变了衰变速率,这与实际观察(图 1)完全相符。

根据以上建立的模拟模型,在 4℃和在 25℃下贮存的孢子粉活孢率随含水量和贮存时间(月数)的拟合关系见图 2 所示。通过模型可预测,在 4℃下贮存,若要保证 90%的活孢率,16%的孢子粉含水量可贮存 3.7 个月,14%可贮存 5.0 个月,12%可贮存 7.3 个月,10%可贮存 11.2 个月,9%可贮存 14.9 个月,8%可贮存 21.0 个月,7%可贮存 33.0 个月,6%可贮存 65.5 个月。由此可见,即使 4℃冷贮,孢子粉的含水量也应控制在 8%以下才有利于长期安全贮存,含水量越高安全贮存期越短。若将孢子粉含水量控制在 5%左右,则理论安全贮存期长达数年。然而,在 25℃下贮存若要保证活孢率 80%,孢子粉含水量 10%仅可贮存 1.7 个月,8%仅可贮存 2.3 个月,6%仅可贮存 3.0 个月,4%仅可贮存 3.8 个月,2%仅可贮存 4.6 个月;若将预期活孢率降至 75%和 65%,则上述各含水量孢子粉的理论贮存期分别为 2.1 和 2.7 个月、2.7 和 3.5 个月、3.6 和 4.6 个月、4.6 和 6.0 个月以及 5.6 和 7.3 个月。显然,

常温贮存孢子粉必须将含水量控制在 5% 以下,才能保证 3 个月以上的贮存期。

3 讨论

以上结果清楚地表明,含水量和贮存温度极大地影响着球孢白僵菌孢子粉的贮存期,并证明低温贮存的相对安全性。在常温下贮存,即使含水量严格控制在 5% 以下,其安全贮存期也很难逾越 6 个月,与本实验室先前在 20℃下的贮存结果^[14]完全一致。作为活体的分生孢子,其本身并不具备生物学意义上的休眠机制,但其活动可受环境调控。含水量和温度对贮存中孢子活力的交互影响,表现为含水量影响孢内代谢的液相环境,从而决定活孢率衰变的幅度,而贮存温度影响孢子的衰变速率,常温可使孢内营养物较快地被消耗而导致孢子衰竭^[4]。

通过模拟分析,在特定温度下,存活衰变模型中的衰变速率参数 b 被拟合为孢子粉含水量平方的线性关系即 $b = b_0 + b_1 C_w^2$ 。改进的存活衰变模型从理论上揭示了贮存中孢子粉的活孢率依赖于含水量和贮存时间,而通过试验数据确立的三者间关系可用于预测给定含水量的孢子粉维持预期活孢率水平的安全贮存期(图 2)。这颇具实践指导意义。由模拟得知,5%左右的含水量才有利于提高孢子粉贮存寿命,与国外黄绿僵菌的研究结果^[9]基本一致。

最后,孢子粉冷贮的安全性虽无疑义,但考虑到能源消耗等生产成本,对于特定的生防真菌,冷贮的温度应通过试验合理确定,因为贮存温度每下降一度,长期贮存的生产成本会显著上升。例如,含水量 15.5%的球孢白僵菌孢子粉在 -7℃贮存 8 个月不影响活孢率和毒力^[15],但在生防菌剂的生产中很难被采用。孢子粉含水量的控制成本应当远低于降低贮存温度。因此,菌剂生产中应积极考虑尽可能降低孢子粉含水量在较低温度下(如 4~8℃)贮存,才既有利于长期贮存,又有利于控制菌剂生产成本。

参 考 文 献

[1] Feng M G, Khachatouriana G G, Poprawski T J. Production, formulation and application of the entompathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Sci Technol*, 1994, 4 3-34.

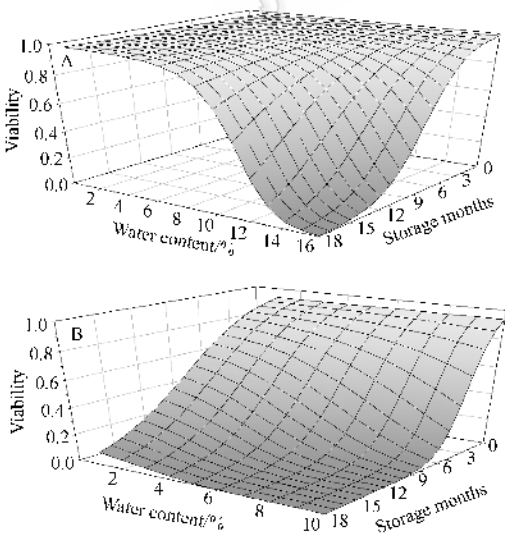
[2] 杨敏芝,徐庆丰,吕利华,等. 温度和湿度对白僵菌孢子粉贮藏期和寄生力的影响. *植物保护学报*, 1994, 21(1): 62.

[3] 殷凤鸣,潘务耀,李增智. 白僵菌生产企业标准. *安徽农业大学学报*, 1996, 23(3): 321-325.

[4] 应盛华,冯明光. 不同含水量和温度下贮存中球孢白僵菌分生孢子活力与内贮营养的衰变. *应用生态学报*, 2002, 13(4): 439-443.

图 2 球孢白僵菌孢子粉在 4℃(A)和 25℃(B)贮存期间的活孢率与孢子粉含水量及贮存时间之间的的依赖关系,基于改进的存活衰变模型模拟

Fig. 2 The dependence of the viability of *B. bassiana* conidia, stored at 4℃(A) and 25℃(B), upon the water content and the storage time in months, based on the fitting of a modified model for declining survival



- [5] Bidochka M J , Low N H , Khachatourians G G . Carbohydrate storage in the entopathogenic fungus *Beauveria bassiana* . *Appl Environ Microbiol* , 1990 , **56** : 3186 – 3190 .
- [6] 殷凤鸣 . 白僵菌孢子粉贮存试验 . 广东林业科技通讯 , 1983 , **4** (3) : 13 – 16 .
- [7] Moore D , Bateman R P , Carey M , *et al.* Long-term storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in oil formulation for the control of locusts and grasshoppers . *Biocontrol Sci Technol* , 1995 , **5** : 193 – 200 .
- [8] Moore D , Douro-Kpindou O K , Jenkins N E , *et al.* Effects of moisture content and temperature on storage of *Metarhizium flavoviride* conidia . *Biocontrol Sci Technol* , 1996 , **6** : 51 – 62 .
- [9] Hong T D , Gunn J , Ellis R H , *et al.* The effect of storage environments on the longevity of conidia of *Beauveria bassiana* . *Mycol Res* , 2001 , **105** : 597 – 602 .
- [10] Feng M G , Johnson J B , Kish L P . Virulence of *Verticillium lecanii* and aphid-derived isolate of *Beauveria bassiana* (Fungi : Hyphomycetes) for six species of cereal-infesting aphids (Homoptera : Aphididae) . *Environ Entomol* , 1990 , **19** : 815 – 820 .
- [11] Feng M G , Pu X Y , Ying S H , *et al.* Field trials of an oil-based emulsifiable formulation of *Beauveria bassiana* conidia and low application rates of imidacloprid for control of false-eye leafhopper *Empoasca vitis* in southern China . *Crop Prot* , 2004 , **23** : 489 – 496 .
- [12] Feng M G , Chen B , Ying S H . Trials of *Beauveria bassiana* , *Paecilomyces fumosoroseus* and imidacloprid for management of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera : Aleyrodidae) on greenhouse grown lettuce . *Biocontrol Sci Technol* , 2004 , **14** : 531 – 544 .
- [13] 唐启义 , 冯明光 . 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统 . 北京 : 科学出版社 , 2002 , 648 .
- [14] 应盛华 , 冯明光 . 真空干燥球孢白僵菌纯孢粉的活孢率、毒力与贮存期 . 微生物学通报 , 2002 , **29** (5) : 42 – 47 .
- [15] Marques E J , Alves S B , Marques I M R . Virulence of *Beauveria bassiana* (Bals .) Vuill . to *Diatraea saccharalis* (F .) (Lepidoptera : Crambidae) after conidia storage at low temperature . *An Soc Entomol Bras* , 2000 , **29** : 303 – 307 .

Impact of water content and temperature on the shelf-life of *Beauveria bassiana* conidia stored in dark

HUANG Fang-fang¹ ZHANG Li-jing² FENG Ming-guang^{1*}

(¹ Institute of Microbiology , College of Life Sciences , Zhejiang University , Hangzhou 310029 , China)

(² Ningbo Polytechnique Institute , Zhejiang University , Ningbo 315100 , China)

Abstract : Batches of *Beauveria bassiana* SG8702 conidia as powder with water content(C_w) of 1.12 , 4.73 , 7.23 , 9.84 and 14.11% were stored in dark at 4 and 25°C during an 18-mon period and monitored at 15-day intervals for viability in order to determine their shelf-lives under controlled conditions. The C_w was found significantly affecting the viability at each temperature. Stored at 4°C , conidial viability always fluctuated above 91% during the first 16 months among the C_w treatments of 1.12% ~ 9.84% with no significant difference from one to another until at the end of 18 months , when the 9.84% C_w treatment had a significantly lower viability than other treatments with lower C_w . The viability in the high C_w treatment (14.11%) was significantly smaller than those in the C_w treatments of 1.12% ~ 9.84% from month 6 onwards and dropped to only 24.2% at the end of 12 months. Stored at 25°C , however , the viabilities differed significantly among the C_w treatments of 1.12% ~ 9.84% on months 3 and 6 , respectively , with a remaining viability of only 17.6% in the 9.84% treatment at the end of 6 months. The observed viabilities(V_c) depending on the(C_w) over the time of storage(T_s , months) at each temperature were well fitted to a modified survival model with the coefficients of determination exceeding 0.85. When a viability of 90% was expected on a basis of the fitted model , the shelf-life of *B. bassiana* conidia stored at 4°C was estimated as 7.3 months at $C_w = 12\%$, 11.2 at $C_w = 10\%$, 14.9 at $C_w = 9\%$, 21.0 at $C_w = 8\%$, 33.0 at $C_w = 7\%$, and 65.5 at $C_w = 6\%$, respectively. Thus , the C_w for long-term storage at 4°C could be controlled at $\leq 8\%$. In contrast , for an expected viability of 80% at 25°C , the shelf-life was estimated as only 1.7 months at $C_w = 10\%$, 2.3 at $C_w = 8\%$, 3.0 at $C_w = 6\%$, and 3.8 at $C_w = 4\%$. Obviously , an expected 3-month shelf-life required $C_w \leq 5\%$.

Key words : *Beauveria bassiana* , Conidial storage , Water content , Temperature , Shelf-Life , Survival model