

变温干燥固体发酵产物对球孢白僵菌分生孢子性能的影响

李尊华^{1,2}, 林健文¹, 马金成¹, 吴迪¹, 张永军^{1*}

(¹重庆市农业生物技术重点实验室, 西南大学生物技术中心, 重庆 400716)

(²湖南科技学院生命科学与化学工程系, 永州 425100)

摘要:【目的】评价球孢白僵菌固体发酵产物的干燥温度对产后分生孢子性能的影响。【方法】采用 28 和 35 组合的 7 种恒温或变温处理干燥发酵产物, 分析收获的分生孢子质量。【结果】变温干燥可显著降低产后孢子粉的杂菌污染。干燥温度对活孢率和孢子萌发速度影响不一致。35 恒温干燥 5 h 后活孢率与新鲜孢子无明显差异, 但萌发中时缩短了 9.3%。干燥处理提高了孢子对高温和紫外辐射的耐受性。适当的变温干燥比恒温干燥有利于增强孢子抗逆性。干燥温度影响分生孢子胞内海藻糖积累, 但其含量与抗逆性无直接相关性。优化干燥温度可提高产后分生孢子毒力。在 370~450 孢子/mm² 剂量下, 经 28 24 h 后升至 35 干燥 2 h 或 35 恒温干燥 5 h 的分生孢子对桃蚜的致死中时分别比新鲜孢子缩短了 10.6 h 和 7.5 h。【结论】球孢白僵菌固体发酵产物的干燥温度是影响产后孢子粉杂菌污染、孢子活力、抗逆性和毒力的重要因素。

关键词: 球孢白僵菌; 固体发酵; 干燥温度; 抗逆性; 毒力

中图分类号: Q935 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 07-0887-06

球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 是国内外广泛用于农林以及卫生害虫生物防治的昆虫病原真菌, 以该菌为活性成分注册登记的产品已达 10 多种, 且呈现逐年增加的趋势^[1-2]。生产高活力的分生孢子是研制真菌杀虫剂的前提。目前, 球孢白僵菌等昆虫病原真菌的生产主要采用液固两相法, 即通过液体发酵生产菌丝和芽生孢子, 然后转接固体培养基产生分生孢子^[1,3]。近年来, 随着适用于昆虫病原真菌固体发酵反应器的不断创制, 球孢白僵菌固体发酵工艺已日渐规范和成熟^[1,4]。在此基础上, 进一步改良和规范发酵后处理过程, 对保持或提升分生孢子质量, 十分必要。

固体发酵产物或孢子粉的干燥处理, 是影响分生孢子含水量、活力和贮藏性能的重要环节^[5,6]。固体发酵产物通常经过干燥处理至含水量达一定程度后, 不仅有利于孢子粉的分离提纯, 而且也是改善成熟分生孢子生理状态和活力以及降低杂菌污染的重要措

施。目前, 生产上大多采用自然干燥或恒温干燥法^[7,8], 前者尽管能最大限度的维持活孢率^[7,9], 但存在干燥周期长、受环境条件影响大和易污染杂菌等弊端, 生产的孢子质量层次不齐, 商品化性能低; 而后者虽然规范了干燥工艺, 提高了产后孢子质量的稳定性^[9], 但忽略了干燥处理对孢子生理学特性以及抗逆性等性状的影响。基于此, 本文通过变温干燥处理球孢白僵菌固体发酵产物, 分析产后孢子粉的杂菌污染、分生孢子活力、抗逆性及海藻糖积累和毒力等性状, 以企为改良球孢白僵菌等固体发酵工艺和提高分生孢子质量提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种和昆虫: 球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) Bb0062, 分离自自然感染的菜青虫 (*Pieris rapae*) 并

基金项目: 国家“863 计划”(2006AA10A212)

*通讯作者: Tel: +86-23-68251883; E-mail: yjzhang@swu.edu.cn

作者简介: 李尊华(1980-), 男, 江西宁都人, 讲师, 硕士, 主要从事微生物发酵工程研究。E-mail: mtdzcool@163.com

收稿日期: 2008-01-04; 修回日期: 2008-03-17

经单孢分离,保存于西南大学生物技术中心。桃蚜 (*Myzus persicae*),温室盆栽的甘蓝饲养,参照 Vandenberg 等^[10]的方法获得 0~2 d 的无翅成蚜进行生物测定。

1.1.2 培养基:液体种子培养基 (W/V):米粉 3%,蔗糖 2%,麦麸 1%,蛋白胨 0.5%。固体发酵培养基 (W/W):大米 50%、谷壳 30%。

1.1.3 主要试剂和仪器:GUJS-30 机械搅拌发酵罐 (AUTOBIO2000 型,镇江东方生物工程设备技术有限公司);气相脉动式固体发酵反应器(实验室自制);SH10A 快速水分测定仪(上海恒平科学仪器有限公司);CT-C 热风循环烘箱 (RXH-14-B,常州范群干燥设备有限公司);收孢仪 (Mycoharvester, CABI);冷冻干燥仪 (CHRIST 100200);Potter 喷雾塔 (Burkard Manufacturing Co., Ltd., UK);

1.2 固体发酵及产物干燥处理

将新鲜固体平板上产生的分生孢子接种到含有 150 mL 液体种子培养基的 500 mL 三角瓶中,于 26 °C、180 r/min 培养 60 h 后,转接到装有 25 L 液体种子培养基的 30 L 发酵罐中发酵 48 h。发酵条件:26 °C, pH6.5,罐压 0.03~0.05 mPa,12 h 前通气量为 5 nL/min,12 h 后为 20 nL/min,搅拌速度 250 r/min。发酵结束后,将液体种子接种于固体发酵培养基,接种量 0.4 L/kg,接种后调整发酵基质含水量为 55%~60%、厚度 8 cm 左右,然后于气相脉动式固体发酵反应器进行发酵。通过调整进风以及加湿时间控制温度和湿度,发酵 120 h。发酵温度:延滞期 24 ~26 °C,对数生长期 27 ~28 °C 和稳定期 28 ~29 °C。固态发酵结束后,于连续日光灯光照、温度为 25 °C 和 RH 63% 的条件下培养 7 d 产孢,然后进行干燥处理。称取 0.5 g 左右的发酵产物,测定含水量,每次处理重复 3 次。

设定以下 7 种干燥温度进行处理,使发酵产物含水量由 23.1%降至 7%~8%:(1)28 °C 干燥 108 h;(2)28 °C 24 h 后升至 35 °C 干燥 2 h;(3)28 °C 48 h 后升至 35 °C 干燥 2 h;(4)28 °C 72 h 后升至 35 °C 干燥 2 h;(5)35 °C 干燥 5 h;(6)35 °C 1 h 后降至 28 °C 干燥 48 h;(7)35 °C 2 h 后降至 28 °C 干燥 48 h。以未经干燥处理的新鲜分生孢子为对照。从固体发酵产物分离提纯分生孢子,干燥后的孢子粉含量约为 140×10^9 孢子/g。

1.3 杂菌率测定

用灭菌的 0.05% (V/V) Tween-80 配制孢子悬浮

液并稀释至浓度为 1×10^3 孢子/mL,取 100 μ L 涂布接种于 SDA 平板,26 °C 培养 24 h 后统计细菌菌落数;继续培养 48~72 h,统计真菌菌落数,结合菌落形态和显微镜镜检,计数污染真菌菌落数。

1.4 孢子活力测定

用灭菌 0.05% (V/V) Tween-80 配制分生孢子悬浮液至浓度为 1×10^6 孢子/mL,取 100 μ L 涂布接种于含有 250 μ g/mL 头孢霉素的 SDA 平板,于 26 °C 培养 8 h 后,间隔 1 h 取样镜检统计孢子萌发率。每个视野计数 100 个孢子,每次计数 3 个视野。分生孢子芽管长度大于孢子直径的一半视为萌发。用 SPSS 软件计算萌发中时。

1.5 孢子耐热性和耐紫外照射测定

取 0.5 mL 浓度为 1×10^6 孢子/mL 孢子悬浮液到 1.5 mL 灭菌离心管中,于 50 °C 水浴 7 min 后,取 100 μ L 涂布接种于含有 250 μ g/mL 头孢霉素的 SDA 平板,26 °C 培养 16 h 后统计孢子萌发率。取适量孢子粉均匀铺于一洁净载玻片上,于 30 W 紫外灯下距离 55 cm 照射 4 min 后,将载玻片于黑暗条件下放置 30 min,然后用灭菌的 0.05% (V/V) Tween-80 充分洗涤孢子,调整浓度至 1×10^6 孢子/mL,取 100 μ L 涂布接种于含有 250 μ g/mL 头孢霉素的 SDA 平板,26 °C 培养 16 h 后统计孢子萌发率。

1.6 胞内海藻糖的测定

称取 0.5 g 冻干的孢子粉,加少量石英砂,液氮冷冻研磨破胞后,参照 Dixon 等^[11]方法提取胞内碳水化合物。将提取的糖类物质冷冻干燥后,溶于适量去离子水中,采用酶解法测定海藻糖含量^[12],即用过量的酸性海藻糖酶降解海藻糖,然后用葡萄糖氧化酶法测定水解产物葡萄糖含量。葡萄糖测定参照说明书 (Glucose (GO) Assay Kit, Sigma) 进行。

1.7 生物测定

用 0.05% (V/V) Tween-80 配制浓度为 1×10^7 孢子/mL 的分生孢子悬浮液,参照 Feng 等^[13]的方法,接种 0~2 d 的无翅桃蚜成蚜,接种剂量为 1 mL。将接种后的蚜虫转移到新鲜甘蓝叶片上,置于人工气候箱在 22 ~24 °C、光照 15 h/d 条件下饲养。每处理设 3 个重复,每重复 30~40 头蚜虫。以喷雾 0.05% (V/V) Tween-80 为对照。用盖玻片计数法^[16]测定叶片和蚜虫体壁单位面积接种的孢子数。每 12 h 统计死亡率,用 irm 软件和 SPSS 软件进行数据分析。以上所有测定均设 3 次重复。

2 结果

2.1 干燥固体发酵产物影响收获后孢子粉的杂菌污染
杂菌率检测表明,在分离提纯的球孢白僵菌高孢粉中,污染的杂菌以细菌为主,真菌污染较少。污染细菌主要是杆菌,真菌以曲霉为主。不同干燥处理对杂菌污染具有明显影响,变温干燥可显著降低细菌污染。如由 28 °C 升温至 35 °C 干燥后,细菌污染率显著低于 28 °C 恒温干燥后的孢子粉;经 35 °C 降温至 28 °C 干燥后,细菌污染率显著低于 35 °C 恒温处理后的孢子粉(图 1)。与未干燥处理的孢子粉相比,经 28 °C 恒温干燥 108 h 后细菌污染率没有明显变化,但 35 °C 恒温干燥后细菌污染率显著升高。不同干燥处理均明显降低了球孢白僵菌高孢粉的真菌污染率。

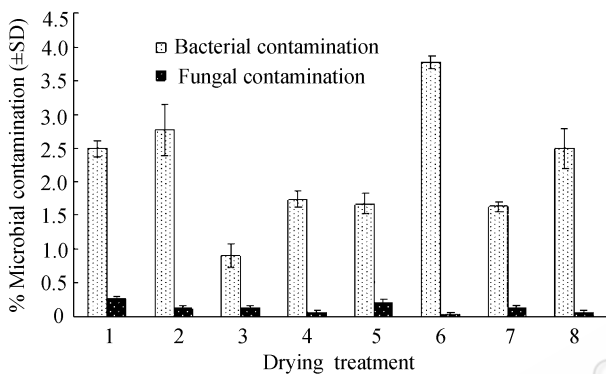


图 1 不同干燥处理对球孢白僵菌分生孢子粉杂菌率的影响
Fig. 1 Effect of drying treatment on the microbial contamination in *B. bassiana* conidia powder. 1. Fresh conidia; 2. 28 °C 108 h; 3. 28 °C 24 h and 35 °C 2 h; 4. 28 °C 48 h and 35 °C 2 h; 5. 28 °C 72 h and 35 °C 2 h; 6. 35 °C 5 h; 7. 35 °C 1 h and 28 °C 48 h; 8. 35 °C 2 h and 28 °C 48 h.

表 1 干燥处理对球孢白僵菌分生孢子活力和抗逆性的影响

Table 1 Effect of drying treatment on the viability and stress tolerance of *B. bassiana* conidia

Drying treatment	Germination rate /%	Median germination time /h	Survival after heating at 50 °C for 7 min/%	Survival after ultraviolet radiation for 4 min/%
Fresh conidia	99.00±0.58 c	10.58±0.09 d	16.00±3.46 a	19.67±2.08 a
28 °C 108 h	99.00±0.58 c	10.35±0.08 bcd	23.67±4.51 b	31.67±1.53 b
28 °C 24h and 35 °C 2h	96.33±1.33 ab	10.44±0.11 cd	26.33±1.15 b	43.67±2.08 c
28 °C 48h and 35 °C 2h	96.33±0.33 ab	10.25±0.09 bc	38.33±6.51 d	46.67±1.53 d
28 °C 72h and 35 °C 2h	98.00±0.58 bc	10.07±0.08 b	29.67±5.69 bc	41.00±1.00 c
35 °C 5h	98.33±0.33 bc	9.60±0.08 a	35.33±1.53 cd	43.33±1.53 c
35 °C 1h and 28 °C 48h	98.67±0.33 c	10.47±0.09 d	26.67±2.52 b	49.00±2.00 de
35 °C 2h and 28 °C 48h	95.67±0.33 a	11.15±0.09 e	35.67±2.08 cd	51.33±1.15 e

Values (mean ± SD) with different letters in the same row are of significant difference (LSD, $P < 0.05$).

2.3 干燥温度影响球孢白僵菌分生孢子胞内海藻糖积累
为分析干燥处理影响球孢白僵菌活力和抗逆性的生理学反应,分别测定了不同处理后分生孢子的海藻糖含量。结果表明,干燥温度对分生孢子胞内海藻糖的积累有明显影响。其中经 28 °C 72 h 后升至 35 °C 干

2.2 干燥固体发酵产物影响球孢白僵菌分生孢子活力和抗逆性

干燥温度变化影响活孢率和孢子萌发速度。28 °C 或 35 °C 恒温干燥对活孢率均没明显影响,但后者明显加快了孢子萌发速度,萌发中时比未干燥处理的孢子缩短了 9.3%。变温干燥对活孢率和孢子萌发速度的影响不一致。如由 28 °C 24 h 或 48 h 后升至 35 °C 干燥 2 h,活孢率明显低于 28 °C 恒温干燥,但孢子萌发速度与 28 °C 恒温干燥没有明显差异。35 °C 干燥 1 h 后降至 28 °C 干燥 48 h,活孢率与 35 °C 恒温干燥没有明显差异,但萌发中时却显著延长。35 °C 干燥 2 h 后降至 28 °C 干燥 48 h,活孢率和萌发速度均显著降低(表 1)。

分生孢子抗逆性是影响贮藏、制剂加工以及应用效果的重要因素。研究结果表明,28 °C 或 35 °C 恒温或变温干燥均提高了分生孢子的高温和紫外辐射耐受性。50 °C 处理 7 min 后,经干燥处理的分生孢子存活率比新鲜分生孢子提高了 0.4~1.4 倍(表 1);在 30 W 紫外灯下距离 55 cm 照射 4 min 后,经干燥处理的分生孢子存活率比新鲜孢子提高了 0.5~1.6 倍。35 °C 恒温干燥 5 h 后,分生孢子的抗逆性明显优于 28 °C 恒温干燥 108 h(表 1)。适当的变温干燥比恒温干燥更有利于提高分生孢子的逆境耐受性。如 28 °C 48 h 后升温至 35 °C 干燥 2 h,分生孢子的高温和紫外辐射耐受性明显高于 28 °C 恒温干燥;而 35 °C 2 h 后降温至 28 °C 干燥 48 h,分生孢子的紫外辐射耐受性显著优于 35 °C 恒温干燥(表 1)。

燥 2 h 或 35 °C 1 h 后降至 28 °C 干燥 48 h 显著提高了胞内海藻糖的积累;经 28 °C 干燥 108 h、28 °C 24 h 后升至 35 °C 干燥 2 h、35 °C 干燥 5 h 或 35 °C 2 h 后降至 28 °C 干燥 48 h 则明显降低了胞内海藻糖的积累;经 28 °C 48 h 后升至 35 °C 干燥 2 h 后分生孢子海藻糖

含量与未干燥的分生孢子没有明显差异(图2)。比较分析发现,胞内海藻糖含量与分生孢子对高温和紫外辐射的耐受性没有直接相关性。

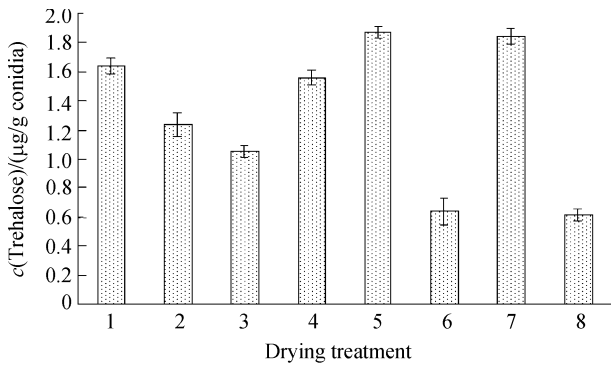


图2 不同干燥处理对分生孢子胞内海藻糖积累的影响
Fig. 2 Effect of drying treatment on the trehalose accumulation in *B. bassiana* conidia. 1. Fresh conidia; 2. 28 °C 108 h; 3. 28 °C 24 h and 35 °C 2 h; 4. 28 °C 48 h and 35 °C 2 h; 5. 28 °C 72 h and 35 °C 2 h; 6. 35 °C 5 h; 7. 35 °C 1 h and 28 °C 48 h; 8. 35 °C 2 h and 28 °C 48 h.

2.4 不同干燥处理对球孢白僵菌分生孢子毒力的影响
分生孢子毒力因不同干燥处理而发生变化。喷雾接种 1 mL 1×10^7 孢子/mL 孢子悬浮液(接种剂量为

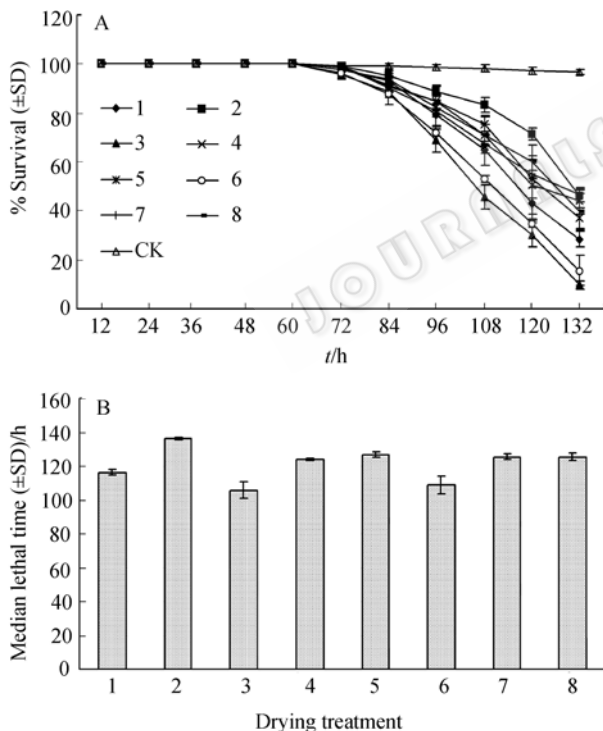


图3 喷雾接种剂量为 370~450 孢子/ mm^2 分生孢子后桃蚜的平均存活率(A)和半致死时间(B)

Fig. 3 Trends of mean survivals of *Myzus persicae* (A) and median lethal time (B) after spraying at the dose of 370 conidia/ mm^2 ~450 conidia/ mm^2 . CK in A indicates the aphid sprayed with sterilized water. 1. Fresh conidia; 2. 28 °C 108 h; 3. 28 °C 24 h and 35 °C 2 h; 4. 28 °C 48 h and 35 °C 2 h; 5. 28 °C 72 h and 35 °C 2 h; 6. 35 °C 5 h; 7. 35 °C 1 h and 28 °C 48 h; 8. 35 °C 2 h and 28 °C 48 h.

370~450 孢子/ mm^2)后,桃蚜的存活率均随接种时间延长而下降。喷雾 72 h 后,接种 28 °C 24 h 后升至 35 °C 干燥 2 h 或 35 °C 干燥 5 h 后的孢子,蚜虫存活率明显低于接种未干燥的新鲜孢子(图 3-A),二者对桃蚜的半致死时间(LT_{50})分别比新鲜孢子缩短了 10.6 h 和 7.5 h(图 3-B);而接种经其它 5 种处理干燥的孢子,蚜虫存活率则高于接种新鲜孢子(图 3-A)。由此表明,优化干燥温度可提高产后分生孢子毒力。

3 讨论

微生物杀虫剂主要以活体微生物为活性成分,产品中杂菌污染率是产品质量的重要指标。根据 2005 年通过审定的“农药真菌母药产品标准编写通用要求”国家标准,真菌杀虫剂母药杂菌污染率上限为 5%,可见,在真菌杀虫剂生产与加工过程中控制杂菌污染,是提高产品质量的重要保障。近年来,随着适用于昆虫病原真菌固体发酵反应器的不断改进、完善以及生产方法的成熟^[1, 4],造成真菌生物农药污染的主要环节存在于发酵后处理过程。另外,微生物含水量与贮藏性能密切相关,在低含水量下,微生物可以达到一种休眠状态。在这种状态下,代谢过程暂时停止,但细胞仍然有活力,可以保存更长的时间^[14]。研究表明,球孢白僵菌等昆虫病原真菌含水量在 4%~8% 之间有利于贮藏^[5, 8]。因此,固体发酵后的干燥过程是影响杂菌污染、降低含水量的重要环节。本研究结果表明,采用 7 种变温或恒温干燥处理使球孢白僵菌固体发酵产物含水量降至 7%~8%,尽管各处理杂菌污染率存在差异,但总杂菌率均小于 4%,低于真菌生物农药原药杂菌率上限(5%)。不同温度处理影响杂菌污染可能与污染细菌和霉菌生长繁殖所需条件有关。35 °C 恒温干燥明显提高了细菌污染率(图 1),推测是由于主要污染细菌杆菌的适宜生长温度偏高所致,如 30 ~37 °C 有利于枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)等杆菌的生长繁殖。而变温干燥处理限制了杆菌的快速繁殖,使细菌污染率普遍低于恒温干燥的孢子粉(图 1)。霉菌生长周期相对较长,且需要较高的水活度,干燥处理快速降低了发酵产物含水量,可能是导致霉菌生长受到抑制而降低污染率的重要原因。由此表明,变温干燥固体发酵产物有利于降低产后孢子粉的杂菌污染。

干燥方式对真菌孢子的生物学特性具有明显影

响。应盛华等^[5]利用真空冷冻干燥和真空室温干燥降低球孢白僵菌纯孢粉的含水量,发现两种方法对活孢率没有明显影响,但孢子萌发速度存在差异。陈宜涛等^[8]采用高真空冷冻干燥、高真空室温抽干、35℃下烘干和低真空低热干燥玫烟色拟青霉(*Paecilomyces fumosoroseus*)分生孢子粉,结果表明低真空(0.1 mPa)低热(30℃)抽干适合用于该菌孢子粉的干燥。本研究探讨了不同干燥温度处理球孢白僵菌固体发酵产物对分生孢子性能的影响,发现不同处理的分生孢子活孢率、萌发速度以及抗逆性存在差异(表1),这种差异可能与分生孢子在不同变化温度下的生理活动相关,如孢子内相容性糖醇、蛋白质和脂类相对含量等生理学特征与一些生防真菌的活力、干旱耐受性以及毒力相关^[15, 16]。因此,在生产实践中优化固体发酵产物的干燥方式或温度,是改良产后分生孢子质量的重要措施。

海藻糖(trehalose)是一种在自然界广泛存在的非还原性双糖,结构稳定。海藻糖具有稳定细胞膜和蛋白质结构的功能,可以赋予生物体抵抗干旱、干燥、寒冷等恶劣环境的能力,是极好的保鲜剂和耐贮剂^[17]。在酵母和丝状真菌中,海藻糖的积累应胁迫培养条件的变化而发生改变,并且与真菌的耐旱特性密切相关^[15, 16, 18-20],但海藻糖是否影响真菌对高温或紫外辐射耐受性,尚无相关报道。本研究发现,不同温度处理虽然影响球孢白僵菌分生孢子胞内海藻糖积累的变化,但海藻糖含量与分生孢子对高温或紫外辐射的耐受性没有直接相关性。因此,继续开展球孢白僵菌分生孢子抗逆的生理学机制研究,对该类真菌杀虫剂的生产、加工具有重要的指导作用。

参 考 文 献

- [1] Wraight SP, Jackson MA, de Kock SL. Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. In: Butt T, Jackson C, Magan N. Fungal as biocontrol agents: progress, problems and potential. Wallingford, UK: CAB International, 2001, pp. 253-287.
- [2] 顿玉惠, 冯明光, 应盛华. 新型球孢白僵菌孢子悬乳剂的高效杀蚜活性及其评价方法. 微生物学报(*Acta Microbiologica Sinica*), 2003, 43 (6): 781-787.
- [3] Roberts DW, St Leger RJ. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. *Adv Appl Microbiol*, 2004, 54: 1-70.
- [4] Ye SD, Ying SH, Chen C, et al. New solid-state fermentation chamber for bulk production of aerial conidia of fungal biocontrol agents on rice. *Biotechnol Lett*, 2006, 28: 799-804.
- [5] 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 (*Microbiology*), 2002, 29 (5): 42-47.
- [6] Horaczek A, Viernstein H. Comparison of three commonly used drying technologies with respect to activity and longevity of aerial conidia of *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. *Biological Control*, 2004, 31: 65-71.
- [7] 殷凤鸣, 陈权才, 马辉腾, 等. 白僵菌生产工艺规范化研究. 安徽农业大学学报 (*Journal of Anhui Agricultural University*), 1996, 23 (3): 313-320.
- [8] 陈宜涛, 冯明光. 害虫防治用玫烟色拟青霉分生孢子粉的干燥工艺优化. 菌物系统(*Mycosystema*), 2002, 21 (4): 565-572.
- [9] 胡加付, 李农昌, 樊美珍, 等. 白僵菌固态发酵试验研究. 微生物学通报 (*Microbiology*), 2005, 32 (6): 20-25.
- [10] Vandenberg JD. Standardized bioassay and screening of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* against the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *J Econ Entomol*, 1996, 89: 1418-1423.
- [11] Dixon KP, Xu JR, Smirnov N, et al. Independent signaling pathways regulate cellular turgor during hyperosmotic stress and appressorium-mediated plant infection by *Magnaporthe grisea*. *Plant Cell*, 1999, 11: 2045-2058.
- [12] Zhao H, Wang ZK, Yin YP, et al. Trehalose and trehalose-hydrolyzing enzyme in the haemolymph of *Locusta migratoria* infected with *Metarhizium anisopliae* strain CQMa102. *Insect Science*, 2007, 14: 277-282.
- [13] Feng MG, Pu XY. Time-concentration-mortality modeling of the synergistic interaction of *Beauveria bassiana* and imidacloprid against *Nilaparvata lugens*. *Pest Manag Sci*, 2005, 61: 363-370.
- [14] Milner RJ. Prospects for biopesticides for aphid control. *Entomophaga*, 1997, 42: 227-239.
- [15] Teixido N, Vinas I, Usall J, et al. Improving ecological fitness and environmental stress tolerance of the biocontrol yeast *Candida sake* by manipulation of intracellular sugar alcohol and sugar content. *Mycol Res*, 1998, 102: 1409-1417.
- [16] Jin X, Harman GA, Taylor AG. Conidial biomass and desiccation tolerance of *Trichoderma harzianum* produced at different water potentials. *Biological Control*, 1991, 1: 237-243.
- [17] Thevelein JM. Regulation of trehalose mobilization in fungi. *Microbiol. Mo Biol Rev*, 1984, 48: 42-59.
- [18] Hottiger T, Boller T, Wiemken A. Rapid changes of heat and desiccation tolerance correlated with changes of trehalose content in *Saccharomyces cerevisiae* cells subjected to temperature shifts. *FEBS Letters*, 1987, 220 (1): 113-115.
- [19] Pedreschi F, Aguilera JM, Agosin E, et al. Induction of trehalose in spores of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Bio-process Engineering*, 1997, 17: 317-322.
- [20] 叶素丹, 冯明光. 生防真菌耐旱特性的生理生化基础及其利用. 应用生态学报 (*Chinese Journal of Applied Ecology*), 2004, 15 (12): 2383-2387.

Influence of different drying temperatures for solid substrate after fermentation on conidia characteristics of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*

Zunhua Li^{1,2}, Jianwen Lin¹, Jincheng Ma¹, Di Wu¹, Yongjun Zhang^{1*}

⁽¹⁾ Chongqing key Laboratory of Agricultural Biotechnology; Biotechnology Research Center of Southwest University, Chongqing 400716, China

⁽²⁾ Department of life Science and Chemical Engineering, Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou 425100, China

Abstract: [Objective] This study was to evaluate the effect of drying temperature for solid substrate after fermentation on conidia characteristics of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. [Methods] Seven constant or varied temperatures between 28°C and 35°C were designed for drying the solid substrate and the quality of harvested conidia was analyzed. [Results] The results showed that the drying treatments at varied temperatures significantly decreased bacterial contamination in the harvested conidia powder. The conidia viability and germination speed were varied with different drying treatments. After drying at 35 °C for 5 h, there was no significant difference in viability between the dried and fresh conidia, while the median germination time (9.6 h) of the dried conidia was shortened by 9.3%. The tolerance of conidia to heat and UV radiation was increased by drying treatment. Compared to the drying treatment at a constant temperature at 28 °C or 35 °C, some varied temperature treatments were in favor of enhancing the stress tolerance of conidia. Drying treatments influenced accumulation of trehalose in harvested conidia, while neither heat resistance nor UV tolerance of conidia was obvious correlation with trehalose level. Optimizing drying temperature could increase the virulence of *B. bassiana*. After drying at 28 °C for 24 h and then 35 °C for 2 h or at 35 °C for 5 h, the LT_{50s} to *Myzus persicae* at the dose of 370-450 conidia /mm² were shortened by 10.6 h and 7.5 h, respectively. [Conclusion] The results suggested that the drying temperature for post-fermentation solid substrate has an important influence on bacterial contamination in the harvested conidia powder, spore viability, stress tolerance and virulence in *B. bassiana*.

Keywords: *Beauveria bassiana*; solid-state fermentation; drying temperature; stress tolerance; virulence

Supported by the National Programs for High Technology Research and Development of China (2006AA10A212)

*Corresponding author. Tel: +86-23-68251883; email: yjzhang@swu.edu.cn

Received: 4 January 2008/ Revised: 17 March 2008

(上接第 886 页)

24 日的中午 12 点和下午 6 点, 受灾民众都在安琪服务点前排起了长长的队伍, 除了馒头供应外, 当天安琪公司的面点大师们还制作了不同口感的花卷, 并熬制了一大锅紫菜虾皮蛋汤。当一笼笼散发着热气的馒头呈现在大家眼前, 当一碗碗香喷喷的蛋汤端到灾区群众手中, 大家的眼中都噙满泪水。无数当地市民自发要求加入到义工队伍。

据了解, 安琪酵母天使行动在四川江油开展的同时, 另外一支“安琪天使”们在成都新都区也开始了同样的行动, 两只队伍共计 15 名面点师, 每天各提供一吨面粉的馒头, 他们忙碌的身影成为四川救灾队伍中一道特别的风景! 安琪酵母股份有限公司命名为

“天使行动”的救灾计划已经在宜昌总部和灾区展开, 到目前为止, 已经捐赠和救灾支出共 140 多万元。

