

不同含水量球孢白僵菌孢子抗逆性研究*

汤 坚¹⁾ 王成树²⁾ 黄长春¹⁾

(1) 安徽省森林病虫害防治总站, 230031, 合肥; 2) 安徽农业大学森林利用学院, 230036, 合肥;
第一作者 45 岁, 男, 高级工程师)

关键词 球孢白僵菌; 含水量; 抗逆性

分类号 S718.81

影响球孢白僵菌(*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.) 的贮藏的环境稳定因素主要为环境温度及紫外光。孢子含水量高低影响虫生真菌菌株的耐热性, 金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisoplae* (Soro.)) 在 30 min 内的半致死温度随含水率变化而不同, 100% RH(相对湿度) 下为 50.5, 76% RH 下为 57.5, 而 33% RH 下为 68.8^[1]。殷凤鸣^[2] 研究报道, 4 下白僵菌孢子含水量在 15% 时, 仅能储藏 6 个月, 而含水量降至 8% 时, 储藏 1 a, 活孢率为 81.3%。关于紫外光的影响, Roberts 等^[3] 报道金龟子绿僵菌在阳光直接照射下半衰期为 4 h。Smits 等^[4] 在同样照射时间下, 玫烟色拟青霉(*Paecilomyces fumososeus* (Bain.)) 孢子在 35 的失活速率是 25 的 2 倍。Wallhausser^[5] 曾定性描述微生物的抗紫外光能力与含水量有关, 含水量越高菌体抗紫外光能力越弱。本文通过 10 个湿度递度来定量分析白僵菌孢子含水量与抗紫外光及耐热性的关系。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌株 实验用球孢白僵菌菌株 Bb71、Bb59、Bb13 及 Bb14 由安徽农业大学虫生研究室分离保藏。

1.1.2 SDAY 培养基 葡萄糖 40 g、蛋白胨 10 g、琼脂 20 g、酵母浸膏 10 g、蒸馏水 1 000 mL。

1.1.3 不同相对湿度(RH) 的饱和盐溶液^[6] RH 93%, KNO₃ 0.40 g·mL⁻¹ (22, 下同); RH 85%, KCl 0.40 g·mL⁻¹; RH 76%, NaCl 0.40 g·mL⁻¹; RH 67%, NH₄NO₃ 3.00 g·mL⁻¹; RH 55%, Ca(NO₃)₂ 2.00 g·mL⁻¹; RH 44%, K₂CO₃ 1.25 g·mL⁻¹; RH 33%, CaCl₂ 3.00 g·mL⁻¹; RH 22%, CH₃COOK 2.60 g·mL⁻¹; RH 10%, ZnCl₂ 0.95 g·mL⁻¹; RH 5%, NaOH 1.20 g·mL⁻¹。

1.2 方 法

1.2.1 干孢子粉的收获 将各供试菌种接种于铺有玻璃纸的 SDAY 平板上, 25 ±1 下

* 本文系国家“九五”攻关课题“应用白僵菌持续控制松毛虫的研究”部分内容。
1998-09-03 收稿。

培养 15 d 后, 揭下产有孢子的玻璃纸, 置于 ZK-82A 型真空干燥机(上海实验仪器总厂)中, 33 ± 1 下干燥 24 h, 使孢子含水量降到 5% 左右, 连同玻璃纸剪成小片, 用磨口瓶装好备用。

1.2.2 不同含水量孢子紫外光照射后的萌发率 取 10 mL 1.1.3 节所述不同饱和盐溶液于培养皿中($\varnothing 90 \text{ mm} \times 18 \text{ mm}$), 然后在每个培养皿中放 3 个规格为 $\varnothing 33 \text{ mm} \times 11 \text{ mm}$ 一次性无菌平皿(Nunc Denmark, USA), 每个平皿中放入一片带有不同菌株干孢子的玻璃纸。用封口膜将大培养皿封口后, 22 ± 1 下平衡一周时间, 得到不同含水量的孢子^[7]。将不同含水量的孢子在紫外灯下照射 6 h(主波长 290~310 nm), 测定孢子在 SDA Y 平板上培养 24 h 后的萌发率。

1.2.3 耐热性检验 取少许干孢子粉, 在 40 ± 0.5 的水浴锅中水浴 24 h, 测定孢子萌发率。

1.2.4 分析方法 对获得的不同菌株(B 因素)、不同温度下紫外光照射活率(A 因素)采用双因素方差分析法^[8], 比较不同处理的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同含水量孢子的紫外光照射活率

不同菌株不同含水量的白僵菌孢子紫外光照射 6 h 后, 各菌株间萌发率差异较大(表 1), 其中以 Bb14 萌发率最低, 抗紫外光能力最弱。不同含水量之间所表现的规律是: 55% 及 10% 含水量孢子的紫外光照射活率最低, 过高的含水量(85%, 93%)与过低的含水量(5%), 紫外光照射相同时间对孢子的影响最小, 与未经照射孢子的萌发率之间没有显著性差异。而 76%、67%、44%、33%、22% 5 个湿度紫外光照射后, 孢子的萌发率较高, 且相互间没有显著差异。

表 1 不同含水量球孢白僵菌孢子紫外光照射后的萌发率

%

RH%	Bb71	Bb13	Bb14	Bb59	差异显著性 ^①
93	90.27 ± 1.63	85.11 ± 4.17	40.51 ± 0.86	87.45 ± 3.55	a(A)
85	85.32 ± 0.80	78.94 ± 3.25	17.43 ± 3.67	85.16 ± 1.68	ab(AB)
76	81.55 ± 3.26	74.86 ± 4.15	7.36 ± 2.51	85.40 ± 3.55	b(AB)
67	76.94 ± 1.57	71.80 ± 7.65	1.34 ± 1.54	84.26 ± 1.86	b(BC)
55	67.86 ± 5.01	44.73 ± 3.94	0	70.44 ± 3.72	c(C)
44	81.79 ± 3.51	61.31 ± 5.08	21.26 ± 3.58	74.43 ± 5.65	b(BC)
33	83.11 ± 4.24	72.32 ± 3.20	9.52 ± 1.98	84.09 ± 3.38	b(AB)
22	80.34 ± 0.48	66.61 ± 2.39	3.38 ± 2.12	83.51 ± 5.85	b(BC)
10	61.25 ± 1.45	33.03 ± 3.18	0	82.64 ± 5.18	c(C)
5	84.53 ± 1.43	83.74 ± 2.39	18.03 ± 1.75	87.48 ± 2.96	ab(AB)
CK	94.09 ± 3.28	94.80 ± 2.67	77.09 ± 1.21	90.22 ± 2.65	a(A)

注: ① 栏中英文小写字母表示 $\alpha = 0.05$ 水平, 大写字母表示 $\alpha = 0.01$ 水平, 下同。

2.2 不同含水量孢子的水浴活率

不同菌株、不同含水量孢子的水浴活率随含水量升高, 表现出明显的递减趋势, 即含水量越低, 孢子的耐热性越强, 水浴活率越高(表 2)。5% 含水量孢子 40 下水浴 24 h 后的活率与未经水浴的对照间没有显著差异, 而 85%、93% 含水量的孢子水浴活率最低。水浴活率虽然表

表2 不同湿度球孢白僵菌孢子水浴后的萌发率

%

RH%	Bb71	Bb13	Bb14	Bb59	差异显著性
93	43.22 ± 4.22	27.73 ± 4.28	7.36 ± 0.42	69.53 ± 3.74	e(D)
85	53.72 ± 5.68	39.59 ± 3.22	8.58 ± 0.51	76.72 ± 2.43	de(CD)
76	57.51 ± 7.35	54.33 ± 2.65	11.79 ± 2.18	79.72 ± 0.86	cd(BCD)
67	77.32 ± 0.78	58.97 ± 2.22	13.00 ± 0.86	80.31 ± 2.89	cd(ABC)
55	82.52 ± 1.42	63.79 ± 2.65	15.83 ± 1.81	80.64 ± 3.03	bc(ABC)
44	84.55 ± 2.88	71.90 ± 3.22	23.48 ± 2.87	81.63 ± 5.20	acb(AB)
33	86.75 ± 3.52	79.25 ± 6.66	24.25 ± 0.92	83.63 ± 4.17	ab(AB)
22	88.50 ± 1.39	82.31 ± 3.29	26.79 ± 0.87	83.93 ± 1.80	ab(AB)
10	91.10 ± 1.99	84.11 ± 2.89	29.30 ± 1.81	85.32 ± 2.49	ab(A)
5	93.98 ± 0.84	86.59 ± 2.90	31.02 ± 2.10	88.37 ± 1.47	a(A)
CK	94.09 ± 3.28	94.80 ± 2.67	77.09 ± 1.21	90.22 ± 2.65	a(A)

现出随含水量升高而递减的趋势,但10%、22%、33%、44%、55%之间没有显著差异,44%、55%、67%及76%含水量的孢子之间也无显著差异。

3 讨论

研究结果表明白僵菌孢子的抗紫外光能力、水浴活力,不仅在菌株间存在差异,同一菌株不同含水量孢子的抗逆性也不相同。所以白僵菌孢子在环境中的稳定性,不仅与环境温度、光照强度有关,与孢子的自身状态和所处微环境也有很大关系,所以今后在进行抗性育种和环境监测时,必须考虑这一因素。对于生产菌株有必要建立孢子照射活率与含水量、环境温度及紫外光照射强度的关系模型,从而可以有效地用于预测孢子在环境中的宿存时间,为防治策略的制定提供参考依据。

前人研究报道,所有生物体内均存在有光复活酶,白僵菌孢子也具光复活现象^[9],10%及55%含水量孢子的紫外光照射活度最低可能与该条件下光复活酶的活性较低有关。另外,紫外光照射后培养时间不同,所得结果也不相同。Zimmermann^[1]报道25℃下培养24h,测定金龟子绿僵菌孢子的半衰期为1h40min,而培养48h为2h45min。

参 考 文 献

- Zimmermann G. Effects of high temperatures and artificial sunlight on the viability of conidia of *Metarhizium anisopliae*. J. Invertebr. Pathol., 1982, 40: 36 ~ 40.
- 殷凤鸣. 白僵菌孢子粉贮存试验. 广东林业科技通讯, 1983(3/4): 13 ~ 16.
- Roberts D W, Campbell A S. Stability of entomopathogenic fungi. In: Ignoffo C M, Hostetter D L eds. Environmental Stability of Microbial Insecticides, Symposium Vol. 10, 1974. NY: Misc. Publ. Ent. Soc. Am., 1977. 19 ~ 76.
- Smits N, Fargues J, Rougier M. Effects of temperature and solar radiation interactions on the survival of quiescent conidia of the entomopathogenic hyphomycetes *Peecilomyces fumosoroseus*. Mycopathologia, 1996, 135: 163 ~ 170.
- Wallhausser K H. Sterilisation, Desinfektion, Konservierung. Thieme, Stuttgart, 1978.
- Winton P W, Bates D H. Saturated solutions for the control humidities in biological research. Ecology, 1960, 41: 232 ~ 237.
- 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(1): 51 ~ 61.

8 南京农业大学主编. 田间试验与统计方法. 北京: 农业出版社, 1991, 110 ~ 113.

9 王成树, 李增智, 樊美珍. 球孢白僵菌孢子紫外光照射后的光复活现象. 菌物系统, 1998, 17(4): 380 ~ 383.

Stress Resistance of Different Moisture Content Conidia of *Beauveria bassiana*

Tang Jian¹⁾ Wang Chengshu²⁾ Huang Changchun¹⁾

(1) The General Station of Forestry Pest Control, Anhui Province, 230031, Hefei, China;

2) College of Forest Utilization, Anhui Agricultural University, 230036, Hefei, China)

Abstract Heat and UV resistance ability of conidia with different moisture content of *Beauveria bassiana* varied significantly within different strains. The effects of radiation occurred more greatly at higher (RH 85%, 93%) and the lowest (5%) moisture content, while 10% and 55% RH had lest effects on conidial viability. The heat tolerance ability of the conidia decreased accordingly with responce to the increase of moisture content. The conidia germinability had no markedly difference between 5% RH and untreated bathing conidia by contrast.

Key words *Beauveria bassiana*; moisture; stress resistance