

# 快速生产白僵菌的研究\*

费成煜 唐培瑜

**关键词** 白僵菌、分生孢子、惰性载体

白僵菌在深层发酵的中后期能产生大量的节孢子,虽然节孢子对多种害虫有寄生能力,但节孢子耐热性差,不仅发酵后处理困难,而且所得的产品在0℃左右也只有0.5a保存期,所以难以作为商品。而用一般固体法培养白僵菌,虽然能得到大量耐热性强,保存期较长的分生孢子,但整个培养周期长达12d,且培养前期容易污染,所以大规模生产尚有一定困难。

为了缩短白僵菌培养周期,降低生产成本,更顺利地进行白僵菌大规模生产,试验采用了深层发酵培养菌丝,然后在惰性载体糠壳或珍珠岩上快速产生分生孢子的方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌种

*Beauveria bassiana* (Bals) Vuill

### 1.2 斜面培养基

10%麦麸汁,2%蔗糖,0.5%蛋白胨,0.1%硝酸钠,2%琼脂。

### 1.3 液体种子培养基

2%豆饼粉,1%蔗糖,0.5%酵母粉,0.1%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

### 1.4 液固两相培养法

研究过程采用3000mL容积的小框,定量装入载体材料,然后以高比例吸附白僵菌发酵液,27~30℃培养到载体表面产生大量分生孢子,最后烘干待测。生产采用竹框装入载体材料,吸满白僵菌发酵液后,27~30℃培养5d产生大量分生孢子后,便可烘干和制成粉剂。

### 1.5 固体培养法

本研究采用过去常用的固体培养法作为液固培养法的对照。按10%的接种量将白僵菌液体种子接入灭菌的麦麸糠壳培养基,麦麸和糠壳用量比例为7:3。研究过程采用3000mL容积的小框,培养温度为27℃,培养7~10d产生分生孢子,12d便可烘干和制成粉剂。

## 2 试验结果

### 2.1 液体培养基碳氮比的选择

将蚕蛹粉为氮源材料,玉米淀粉为碳源材料,以不同碳氮比例配制液体培养基,培养基总

1994-05-05 收稿。

费成煜工程师,唐培瑜(深圳农业科学研究中心 广东深圳 518040)。

\* 本文系作者1986~1989年在湖南省微生物所主持“七五”科技攻关项目“白僵菌工厂化中试”课题的部分内容。

表1 不同碳氮比例的培养基产生分生孢子的数量

C : N (%)	100 : 0	80 : 20	60 : 40	40 : 60	20 : 80	0 : 100
产孢量 (亿/g)	8	116	144	220	248	212

注:氮源材料采用蚕蛹粉,碳源材料采用玉米淀粉。

浓度控制在5%,然后以液固培养法培养白僵菌分生孢子,试验结果见表1。在单纯玉米淀粉的培养基中,白僵菌在固相载体上产生分生孢子的能力很差,但随着氮源材料比例的增加,产生分生孢子的数量随着增加,甚至在纯

蚕蛹粉的培养基上,仍有较高的产生分生孢子的能力。

2.2 固相培养周期的研究

采用液固两相法生产白僵菌,一般液相发酵培养15~20h,白僵菌菌丝多而粗壮,交织成网,并已形成大量菌丝团,菌液中已可见到少量节孢子。此时终止液体培养,再用糠壳或珍珠岩作固相载体,以1:4或1:6吸附液相菌液,27℃培养,20h载体泛白,40h载体已全部被菌丝覆盖。第3天后菌丝产生分生孢子,一般第6天即可达产孢最高峰。此方法已比传统的固体大床培养白僵菌周期缩短5d。

为了尽可能缩短白僵菌在固体载体上的生长周期,减少因敞开培养而污染杂菌的机会,进一步提高生产效率,我们试用了改变后期培养温度,加大通气量,添加各种植物生长素等方法,最后发现在液相培养后期,加入灭了菌的磷酸盐类,能使白僵菌在载体上产生分生孢子的过程明显加速,达产生分生孢子高峰期只需4d,如图1所示:加磷酸盐类作产孢促进剂以后,白僵菌的培养周期能提前2d,这对大规模生产白僵菌有很重要的意义。

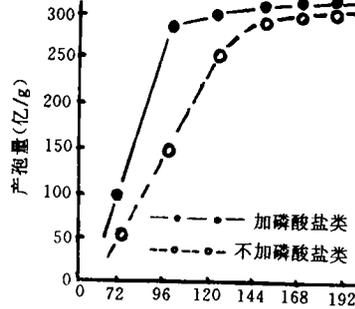


图1 磷酸盐类对产生分生孢子的影响

2.3 分生孢子耐热性试验

在麦麸或花生饼粉为氮源的培养基上,白僵菌同样可以产生每克100亿以上的分生孢子,所以从经济角度出发,一般白僵菌固体生产均采用价格低廉的麦麸和玉米粉为原材料。但在液固两相法试验中发现:如果液体发酵培养基采用蚕蛹粉为氮源材料,最后在载体上产生的分生孢子,将比麦麸或花生饼粉为氮源材料产生的分生孢子有较强的耐热性能(见表2)。采用麦麸和花生饼粉为原材料产生的白僵菌分生孢子,在50℃热风下烘16h,分生孢子萌发能力降至

50%以下,然而用蚕蛹粉培养基产生的分生孢子,在同样条件下烘干,仍有90%的萌发率。可见用同样菌种、同样方法产生的分生孢子,因培养基中氮源材料不同,分生孢子的耐热性能有很大差异。

表2 50℃热风对分生孢子萌发率的影响

项目	麦麸培养基	花生饼粉培养基	蚕蛹粉培养基
8h 萌发率(%)	58	51	92
16h 萌发率(%)	46	40	90

2.4 珍珠岩和糠壳载体的差别

珍珠岩和糠壳作为白僵菌的载体都是利用它们疏松、通气的特点,白僵菌能较快产生分生孢子。但珍珠岩比糠壳作为白僵菌载体更合适,珍珠岩比重小于糠壳,吸附发酵液的量大,可达1:6以上,而糠壳吸附量只能达1:4。因此珍珠岩载体上产白僵菌分生孢子的量明显高于糠壳载体(见表3)。而且珍珠岩作载体,后处理简单,干燥后就可作颗粒剂使用,粉碎后就可配成粉剂和可湿性粉剂,后处理收率可达80%以上。糠壳虽然价廉,但干燥后糠壳纤维难粉碎,

要制成产品,需用气流分离除去糠壳载体后,才得白僵菌高含量粉剂,再把高含量粉剂配制粉剂和可湿性粉剂。气流分离收率较低,整个后处理收率仅 60% 左右。

另外珍珠岩是矿砂高温烧制成的,杂菌极少,而糠壳带米糠等物,若保存不当,杂菌很多,而用珍珠岩作白僵菌的载体时,污染杂菌的机会要比用糠壳少。

表 3 珍珠岩和糠壳产孢量比较

项 目	麦 麸 培养基	花生饼粉 培养基	蚕蛹粉 培养基	蛋白胨 培养基
珍珠岩(亿/g)	280	230	290	150
糠 壳(亿/g)	260	180	230	130

注:蛋白胨为肉联厂生产的工业蛋白胨。

### 3 小结与讨论

采用液体发酵培养菌丝,然后在惰性载体上快速生产白僵菌分生孢子的生产方法,比一般固体发酵法可以缩短生产周期 5~7 d。这样减少了在培养前期污染杂菌的机会,提高了生产效率。烘干后的半成品还可以进一步加工成颗粒剂、可湿性粉剂等多种剂型的产品。

研究中还发现,氮源的种类对白僵菌生产极为重要,不仅影响分生孢子的产量,还影响分生孢子的质量。使用蚕蛹粉为原材料生产的分生孢子,在耐热能力方面,比过去报道的高 5~10 ℃。这样不仅使工业化后处理更为方便,而且可能有更长的保存期和杀虫活力。因此本研究对今后的虫生真菌的开发应用有一定的积极作用。

### 参 考 文 献

- 1 李运帷,吕昌仁,陶恒才. 白僵菌的生产及应用. 北京:中国林业出版社,1981.
- 2 梁宗琦. 昆虫病原真菌的综合开发研究. 中国虫生真菌研究和应用,1988,1(1):26~33.
- 3 Rombach M C. Production of *Beauveria bassiana* [Dentromycotina: Hyhomycets] sympodulconidia in liquid culture. Entomophaga, 1988,34(1):45~52.

## Studies on High-speed Production of *Beauveria bassiana*

Fei Chengyu Tang Peiyu

**Abstract** The best fermentative prescription for culturing *Beauveria bassiana* was screened. When the myceliums propagated on a large scale, solid carrier is used for promoting the production of the lively conidiospore quickly. The whole period for culturing only need five days and the product can be used for a lot of preparations after storing at 50 ℃.

**Key words** *Beauveria bassiana*, conidiospore, solid carrier