

白僵菌菌剂的生产

天津市东郊区军粮城公社生物农药厂

白僵菌菌剂是一种重要的真菌杀虫剂。它对防治森林害虫、玉米螟等都有良好效果。由于白僵菌不像化学农药那样在自然界中残留毒性而造成对人畜的危害，以及不产生抗药性，所以深受广大贫下中农的欢迎。

在普及大寨县的运动中，我们“抓革命，促生产”，对白僵菌的生产工艺进行了改革，采用改革后的方法生产白僵菌，提高了菌剂的产量和质量，收到了良好效果。现将白僵菌菌剂生产方法介绍如下：

一、菌种

我厂生产用的菌种是球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*)。

二、工艺流程

试管斜面 → 土豆块培养 → 摆瓶种子培养 → 摆桶种子培养 → 固体培养 → 烘干 → 成品检查 → 包装。

三、各工序的操作要求

(一) 试管斜面培养

培养基配方 (%): 土豆 20, 蔗糖 2, 琼脂 2。

土豆去皮、切块，加水煮开 30 分钟，过滤，滤液中加蔗糖和琼脂，补足水量，不用调 pH，装入试管，灭菌后制成斜面。

将原始菌种接种到试管斜面培养基上，置 24—28℃，培养 7—10 天，待长满孢子时取出。

(二) 土豆块培养

先将土豆去皮，切成 1 立方厘米的小块，装入 250

毫升三角瓶，每瓶约 50 块，灭菌。然后用斜面试管接种，每支试管可接 3—4 瓶。置 24℃ 培养 4 天，长满菌丝即可。

(三) 摆瓶种子培养

培养基配方 (%): 麦麸 5, 蔗糖 2, 蛋白胨 0.2, 磷酸二氢钾 0.02, 硫酸镁 0.02。

将麦麸加水煮沸半小时，过滤、补足水分。滤液中加入其它各成份，不用调 pH，装入 500 毫升三角瓶，每瓶 150 毫升，灭菌，备用。

将培养好（保存 10 天以内）的土豆块菌种接入到摇瓶培养基中，每瓶接入一块。置 24—28℃，摇床培养 48 小时。

生长良好的摇瓶，菌液变稠，有絮状菌丝体，且可闻到一种特殊的香味，培养液颜色比原来要红。显微镜检查，则有大量的菌丝和节孢子，无杂菌。

(四) 摆桶培养

为了扩大液体菌种，我们采用白铁皮制作的摇桶进行培养。摇桶的形状与细口瓶相似，总容积为 20 升。

培养液配方 (%): 麦麸 5, 饴糖 2。麦麸作成浸汁后，加入饴糖。培养液中如果再加 2% 麻酱渣或其它饼粉浸汁，效果更好。如果没有饴糖亦可用 5—10% 的麦麸浸汁。每桶装 6—7.5 升，桶口用纱布夹棉花包扎。1 公斤/厘米² 压力，灭菌 45 分钟。用培养好的摇瓶接种，接种量为 10—12%，置 24—28℃ 振荡培养 24 小时。

(五) 固体培养

由于液体培养白僵菌不能形成分生孢子，所以最

后必须在固体培养料上培养。

培养料配方(%):

1. 麦麸 60, 棉子饼 20, 锯末 20。

2. 麦麸 60, 锯末 40。

3. 麦麸 60, 棉子饼 20, 稻壳 20。

以上三种培养料都可应用。料配好后, 加水 40—50%, 混匀, 过粗筛, 装入布口袋, 每袋装料 17.5—19 斤, 1 公斤/厘米² 压力, 灭菌 1 小时。冷凉至 40℃ 时接种。加水量冬季可适当少些, 春秋季节可适当多些。

接种可在无菌室内消毒过的大盆中进行, 操作人员的双手, 也要用酒精擦洗消毒。接种方法: 在大盆中倒入一袋培养料, 加入菌液 3—3.75 升, 用手拌匀, 然后装到消毒过的瓦罐、搪瓷缸、曲盘等里面, 表面覆盖灭菌的干锯末或干稻壳。

如果采用通风池培养, 则将培养料灭菌后, 放到灭菌的通风池房间内, 通风池事先经熏蒸等消毒处理。接种时, 先在通风池底层铺一层灭菌的干锯末, 培养料在大盆中加菌液拌匀后, 倒入通风池, 用木板拉平, 整个厚度约 15—20 厘米, 上面覆盖一层灭菌的干锯末。

在不影响质量的前提下, 尽可能降低接种量, 以便在现有设备下, 增加产量。同样, 也可以根据菌种生长情况, 适当调整接种量。

固体培养的管理:

1. 温度: 白僵菌菌丝生长的最适温度是 24—28℃, 如何保持料温在这个范围内是很重要的。我们主要采取以下几点措施:

(1) 料温在 40℃ 左右接种(指冬季、早春季节, 天暖时降低一些)。

(2) 进料后较快的提高室温, 以室温提高料温, 尤其在进料后的 10—20 小时特别重要, 在冬季尽量使室温达到 20℃ 以上。当料温高于室温时, 料开始发酵, 菌丝进入旺盛生长阶段, 此时, 可根据情况, 逐渐降低室温, 在 24—72 小时内, 料温升高最剧烈, 这时主要是设法降温, 例如倒缸、开门窗等。通风池则每半小时至 1 小时鼓风降温一次。

有时升温比一般发酵时间提前, 而且升温很猛烈, 降温很困难, 这多数是由于严重污染杂菌引起的。

(3) 料的厚度在冬季可适当厚些, 夏季适当薄些。

固体培养 4 天后, 开始形成孢子, 固体培养孢子形成的温度以 15—20℃ 为好。

2. 湿度: 由于固体培养料表层覆盖着一层灭菌的干锯末, 不仅防止空气中杂菌的污染, 同时也保持了料中的水份。因此培养室内湿度的变化, 对料的影响较小。相对湿度一般控制在 90% 以下, 相对湿度过大, 料表层容易污染杂菌。固体培养 4 天以后, 相对湿度不断下降, 出料前, 相对湿度以 60% 左右为好, 这样既有利于孢子形成, 也可使料内水份减少, 便于烘干。在空气较干燥季节, 水份散失较大时, 可在料温高峰期适当地向料面喷洒凉水。

3. 通气: 白僵菌是好气性微生物, 充足的氧气是它生长的必要条件。料内加锯末、稻壳是加强通气的措施之一, 通气状况还与料的厚度及料本身的含水量有关, 料含水多, 通气差, 不仅影响白僵菌生长, 且易造成杂菌污染。

(六) 烘干

在正常情况下, 培养 7 天, 培养料变松软, 且有大量分生孢子生成, 即可出料, 送烘干室烘干。烘干室温度保持在 40—45℃, 经 2 天左右即可取出, 此时料含水份约 2%, 料已完全松散。培养料也可以在通风处先经初步干燥, 然后移到烘干室。

(七) 成品检查

产品在包装前, 先要测定孢子数, 一般采用血球计数器计数, 也可用稀释培养法测定。前者操作简便迅速, 但孢子死活分不清, 测定结果往往偏高。我们在包装前, 一般只用血球计数器计数, 必要时用悬滴法测孢子萌发率。这样, 便于及时包装。产品经一段时间贮藏后, 在使用前, 还必须测孢子萌发率, 或用平板稀释法进行计数, 以确定产品质量。我厂产品质量标准是: 每克含分生孢子 50—90 亿, 平均 80 亿, 孢子萌发率 90%。

(八) 包装

用塑料口袋包装, 贮存在阴凉通风处。

此外, 白僵菌在长期人工培养下, 经多次传代, 常常会出现菌苔变薄, 菌丝生长缓慢, 孢子产生少, 甚至丧失生产能力等退化现象。因此, 需要进行菌种的复壮或重新选育工作。菌种一般最好只用 2—3 代。