蟲生真菌之大量培養技術

文、圖 / 張方宜

前言

蟲生真菌（Entomopathogenic fungi）為昆蟲寄生性真菌，其分生孢子可藉由空氣氣流，以水平傳播感染寄主昆蟲後在體內寄生，利用寄主體內的營養進行生長繁殖，再由菌絲穿出體表，發育成分生孢子水平傳播重複感染其他蟲體，使昆蟲大量生病死亡，造成流行性發病，從而抑制昆蟲族群。由於許多實驗室與田間試驗均顯示，某些蟲生真菌菌株接種量和昆蟲死亡率間具有一定程度關係，應於害蟲族群密度尚未達到經濟危害水平時，先以人為施用大量孢子作為接種源，進行害蟲防治。因此，蟲生真菌大量培養技術的目標係在較低廉的成本下，生產出高產量、高致病力、高品質、高穩定性的分生孢子接種源，才能成功的達到防治效果。

蟲生真菌大量培養技術介紹

固態培養（solid cultivation）

飼養大量的寄主昆蟲為早期量產孢子的方式，再將菌株接種於蟲體上產孢後，回收孢子並製成產品，但其過程所耗費的時間長，且許多昆蟲有不易人工飼育等問題，不具經濟效益。另一種為固態培養法，採用農業剩餘物質、穀物、酒粕、種子等各種天然基質，經滅菌處理後再行接種，並於生長箱中控溫培養，作為絲狀真菌類之蟲生真菌生長時所需的養分，使其於基質表面產生各種胞外分解酵素及生成氣生的分生孢子，該分生孢子為較厚壁的繁殖體，可抵抗環境逆境、儲存穩定性高且不易喪失活性，主要為傳播感染之初次感染源。此外，於基質上大量培養時，需顧及菌株種類、接種源密度、基質營養成分種類、基質含水量與通氣性、產孢空間密度和熱梯度、培養時間、光照週期等影響蟲生真菌生長產孢之因子。固態培養具有接種操作簡便、生產流程容易、基質來源易取得且成本低廉等優點；然而缺點為耗時間及人力，相比於液態培養下，無法於短時間內產生大量之分生孢子，在經濟生產規模上亦受限。另外，採用固態培養之方法需要大量的空間及容積用來進行生產工作，且採收分生孢子時容易形成粉塵飛揚，造成工作人員之不適，也可能引發過敏反應。

液態培養（liquid cultivation）

液態培養為於液態培養基中加入接種源後，於適當光週期及轉速之環境下進行震盪培養，能在短時間內大量產生芽生孢子（blastospore）及菌絲體，具有生產成本低廉、培養基環境因子（通氣性、酸鹼值、營養等）及菌株生長因子易調控等優點，較易進行大規模商業化量產。然而芽生孢子為薄壁的繁殖體，自然界中僅存在於感病蟲體之血體腔

中，於蟲體體表外則無法抵抗環境逆境、儲存穩定性低且易喪失活性則為其主要缺點。此外，大部分的蟲生真菌無法於液態培養下直接生成分生孢子，僅有少部分真菌可透過調控液態培養基質之營養、溫度、酸鹼值等環境因子的方式，而成功量產出分生孢子，如寄生於銹蟎或葉蟎上之湯氏菌（*Hirsutella thompsonii Fisher*），以及少部分可培養於 TKI broth 液態培養基中之白殭菌（*Beauveria bassiana*）。

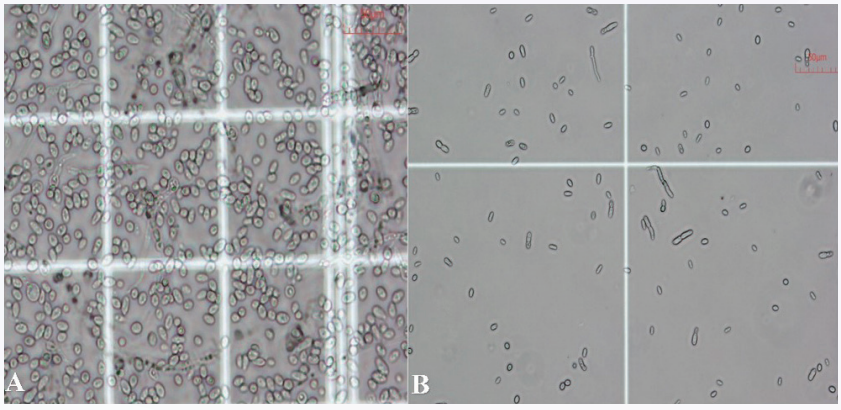

圖 2. *Beauveria bassiana* BB1031（A）及 *Metarhizium anisopliae* MA1012（B）於液態培養基中產生薄壁、單細胞出芽酵母型之芽生孢子。

雙相培養生產系統（diphasic liquid–solid production system；two-stage cultivation ）

雙相培養生產系統則是先以液態培養基（圖 1） 生產菌株之菌絲或芽生孢子（圖 2），再接種至半固態或固態基質上（圖 3、4），使其大量產生氣生的分生孢子（圖 5）。而生產後的分生孢子可透過純化萃取，進一步將其製劑化製成粒劑、粉劑、油劑或乳劑等，適合噴灑於田間防治標的害蟲之劑型，增加儲存與使用上的方便性。雙相發酵技術具有接種操作簡便、降低培養過程中雜菌污染、能克服液態培養之芽生孢子儲存活性低及萃取不易等問題，且縮短固態發酵時分生孢子之培養時間及培養容器之空間，並使接種孢子源齡期相近、菌株於固態基質上生長速度一致的優點；為現今主要培養技術，可於發酵槽中培養菌株之菌絲體，通常菌絲體多呈現酵母菌形態，需調整適當營養基質配方，使菌絲體產生孢子，可大規模快速高產，尤其透過儀器全程自動化精密調控，雖然廠房設備投資較高，但較易進行商業化量產。

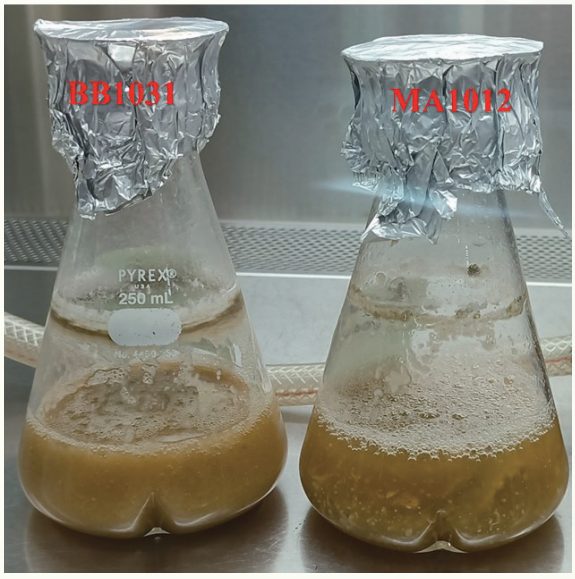

圖 1.*Beauveria bassiana* BB1031 及 *Metarhizium anisopliae* MA1012 於液態培養基中，經震盪搖瓶 7 天後之液態發酵情形。

另外，某些開發中國家則設計了一種廉價、簡易的廂型裝置來大量生產蟲生真菌，即在有限的空間中，以層疊托盤的方式增加真菌生長表面積，並通入

圖 3. *Beauveria bassiana* BB1031 以米飯固態培養 2 週後之情形，米飯上覆滿白色粉末之分生孢子。

圖 4. *Metarhizium anisopliae* MA1012 以米飯固態培養 2 週後之情形，米飯上覆滿墨綠色粉末之分生孢子。

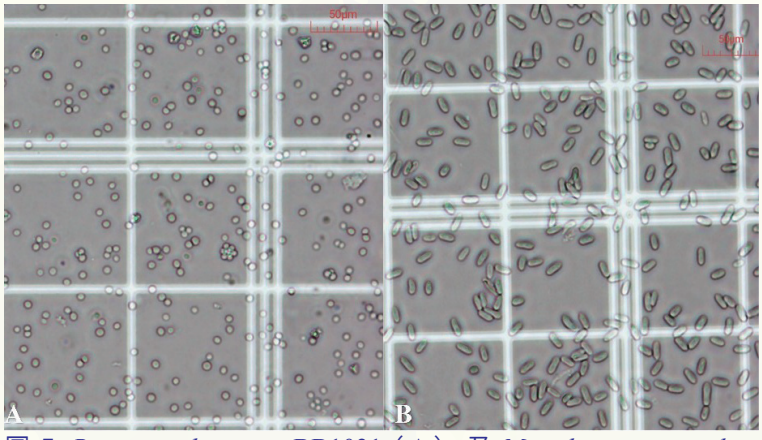

圖 5. *Beauveria bassiana* BB1031（A） 及 *Metarhizium anisopliae* MA1012（B） 於米飯上產生厚壁、單細胞之分生孢子，前者為圓球形，後者為長橢圓形。

無菌空氣保持一定的相對濕度，此裝置與一般太空包之固態培養相較，可運用少量基質生產高單位量、無雜菌污染的分生孢子。

結語

應用於防治目標害蟲的農用蟲生真菌，其優良菌種之篩選、量產技術改進及合法核准之註冊登記，乃真菌殺蟲劑商品化的三大主要關鍵。蒐集大量不同來源之蟲生真菌，以建立菌種 資料庫，並逐一完成各菌株的生理生化特性之基礎資料。然而，菌株致病性仍需耗費人力及 時間進行昆蟲活體之生物檢測，即便是同一菌種間致病力仍可多達百倍之差異，加上受到環境因子所左右，進而影響其殺蟲效果，所呈現出的成效並不如自然界發生蟲生真菌流行病一樣。如採用淹沒式（inundative control） 生物防治法，施用大量的真菌孢子來防治害蟲，以達到快速降低害物密度的效果，為常用的一種方法，故大量培養技術追求於低成本之花費下，生產出數量高、致病力高、可抵抗環境逆境且品質穩定之分生孢子接種源，以供防治之所需。