



松材线虫病疫木的虫菌联合转化技术研究^{*}

陈浩南^{1**} 闫振天¹ 杨世璋² 刘玉升³ 陈 斌^{1***}

(1. 重庆师范大学昆虫与分子生物学研究所, 媒介昆虫重庆市重点实验室, 重庆 401331; 2. 重庆市森林病虫害防治检疫站, 重庆 400700; 3. 山东农业大学植物保护学院, 环境生物与昆虫资源实验室, 泰安 271018)

摘 要 【目的】探究松材线虫病疫木无公害处理的新方法, 为食用菌生产中菌糠废料有效利用提供新思路, 为微生物和昆虫处理有机废弃物提供借鉴。【方法】利用秀珍菇 *Pleurotus pulmonarius* 和白星花金龟 *Protaetia (Liocola) brevitarsis* (Lewis)安全无公害处理松材线虫病疫木。将收集到的 8 株秀珍菇菌种 (X1、X2、X3、X4、X5、X6、X7、X8) 和 1 株平菇菌种 (P) 通过拮抗试验进行初步分类鉴定。将菌种接种在不同配方的松材线虫病疫木木屑制作的培养基中, 25 °C 恒温培养 30-40 d, 计算菌丝生长速度。在不同环境条件下, 将出菇后的菌糠粉碎后饲养白星花金龟幼虫, 饲养 15 d 后称量幼虫重量, 并收集虫砂和剩余菌糠, 计算取食量、饲料利用率、虫体转化率、虫粪转化率和近似消化率。采用植物种子发芽试验 (GI) 检验秀珍菇菌糠和白星花金龟幼虫取食菌糠后产生的虫砂的植物毒性。【结果】拮抗试验将 8 株秀珍菇菌种分为 4 个品种, 第 1 品种包括 X1、X3、X4、X7、X8, 第 2 品种为 X2, 第 3 品种为 X5, 第 4 品种为 X6; 适宜接种供试菌株的栽培种培养基配方有 2 个: 1) 81% 松材线虫病疫木木屑、15% 麸皮、2% 石灰和 2% 石膏; 2) 66% 松材线虫病疫木木屑、15% 麸皮、15% 棉籽壳、2% 石灰和 2% 石膏。白星花金龟幼虫取食秀珍菇菌糠的最适温度为 27 °C, 最适含水量在 55%-65% 之间。3 龄幼虫取食效果最佳, 在最适饲养条件下每取食 100 g 秀珍菇菌糠, 可转化 3 龄虫体 4.62 g, 虫砂 80.22 g。植物毒性测试发现秀珍菇菌糠 GI 值小于 50%, 仍存在一定植物毒性。菌糠饲养幼虫生产的虫砂的 GI 值大于 50%, 已基本不含有植物毒性。【结论】秀珍菇和白星花金龟幼虫可以用于联合处理松材线虫病疫木。

关键词 松材线虫病疫木; 转化处理; 秀珍菇; 白星花金龟

Using insects and bacteria to dispose of nematode-infected pine timber

CHEN Hao-Nan^{1**} YAN Zhen-Tian¹ YANG Shi-Zhang² LIU Yu-Sheng³ CHEN Bin^{1***}

(1. Chongqing Key Laboratory of Vector Insects; Institute of Entomology and Molecular Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China; 2. Chongqing Station of Forest Pests Control and Quarantine, Chongqing 400700, China; 3. Institute of Environmental Biology and Insect Resources, College of Plant Protection, Shandong Agriculture University, Taian 271018, China)

Abstract 【Objectives】To investigate a new, pollution-free method of disposing of pine wood infected with nematodes and provide new ideas for the effective utilization of spent mushroom substrates used in the production of edible fungi. 【Methods】The ability of the fungi *Pleurotus pulmonarius* and larvae of the beetle *Protaetia (Liocola) brevitarsis* (Lewis) to dispose of pine wood infected with nematodes was investigated. Eight strains of *P. pulmonarius* (X1, X2, X3, X4, X5, X6, X7, X8) and 1 strain of *Pleurotus ostreatus* (P) were classified using by antagonistic tests. Two kinds of culture medium were provided to these strains: 1) 81% saw dust, 15% bran, 2% lime and 2% gypsum; 2) 66% saw dust, 15% bran, 15% cottonseed hull, 2% lime, 2% gypsum. The strains of *P. pulmonarius* were inoculated into a culture medium made of nematode-infected pine sawdust which was cultured at 25°C for 30-40 d after which the hyphal growth rate was calculated. *P. (Liocola)*

*资助项目 Supported projects: 重庆市技术创新与应用发展专项面上项目 (鲁渝科技协作计划项目) (CSTC2019JSCX-LYJSAX0004)

**第一作者 First author, E-mail: 495161921@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: c_bin@hotmail.com

收稿日期 Received: 2021-04-12; 接受日期 Accepted: 2021-09-06

brevitarsis larvae were fed broken, spent mushroom substrate under different environmental conditions and were weighed after 15 d. Larval frass and surplus spent mushroom substrates were collected, and feed intake, feed utilization rate, insect body conversion rate and approximate digestibility calculated. The seed germination index (GI) was used to test the phytotoxicity of the larval frass and spent mushroom substrate to *P. pulmonarius*.

[Results] The optimum temperature for *P. brevitarsis* larvae to feed on spent, *P. pulmonarius* mushroom substrate was 27 °C and the optimum water content was 55%-65%. 3rd instar larva were the most efficient feeders. Under optimum feeding conditions, 4.62 g of 3rd instar larvae and 80.22 g of larvae frass could be obtained from 100 g of spent *P. pulmonarius* substrate. The GI of spent *P. pulmonarius* substrates was < 50%, and there was still some phytotoxicity. The GI of larval frass was > 50% and there was no phytotoxicity.

[Conclusion] The edible fungus *P. pulmonarius* and larvae of the beetle *P. brevitarsis* larvae can be used to decompose nematode-infected pine wood.

Key words pine wood nematode disease; conversion treatment; *Pleurotus pulmonarius*; *Protaetia* (*Liocola*) *brevitarsis* (Lewis)

松材线虫病俗称松树的癌症,是由松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* 引起的一种松树的大规模毁灭性病害,松材线虫病起源于北美,后逐渐传入欧洲和亚洲,自我国在 1982 年南京中山陵黑松上首次发现该病以来,至 2019 年全国共有 18 个省市区的 666 个区县发生松材线虫病,发生面积达到 111.46 万 hm^2 (潘佳亮等, 2020)。松墨天牛 *Monochamus alternatus* 是松材线虫的主要传播媒介,每年 4-10 月是松墨天牛取食和产卵的高峰期,单颗松科植物感染后会在 2-3 月后死亡,可造成周围松林感染,并在感染 3-5 年后死亡 (田艳等, 2017)。重庆市地貌以丘陵和山地为主,森林覆盖率高达 43.1%,松林面积约占 70% (张文强等, 2007)。自 2001 年在重庆长寿区首次发现松材线虫病以来,截至 2018 年底,重庆市共有 36 个区县和万盛经开区发生疫情,有 35 个区县和万盛经开区被确认为疫区,发生面积达到约 1 354 hm^2 (重庆市林业局, 2019)。松材线虫病的大面积发生,严重威胁着重庆市的松林安全,对林业生态建设和林业产业的发展都构成了严重威胁,已成为全市生态文明建设、长江上游生态屏障建设的最大障碍和隐患。目前,松材线虫病疫木处理方法主要包括就地套袋熏蒸覆盖、异地熏蒸、热处理、微波处理、坑埋、定点定向切片、就地现砍现烧等 (闫闯等, 2017),尚没有针对松材线虫病疫木利用的专门研究,然而上述处理方法存在山火、大气污染、疫木流失和松墨天牛迁飞等风险,并且重庆市常年集中除

治采伐清理近 100 万株松树疫木,产生出大量疫木粉碎物 (或称木屑),其存放与利用问题突出。目前,尚没有针对松材线虫病疫木利用的专门研究。因此,松材线虫病疫木木屑就近安全有效处置或资源化利用是当前疫木除治处置迫切需要解决的问题。

松材线虫病疫木木屑本身是优良的自然资源,怎样就地转化和开发该资源是目前的一个学术和应用挑战。秀珍菇 *Pleurotus pulmonarius* 是一种食用菌中的新品种,它在分类学上属于真菌门、担子菌纲、伞菌目、侧耳科、侧耳属,外形与凤尾菇相似,口感鲜嫩清脆,蛋白质含量丰富 (王海霞和兰清秀, 2014)。同时秀珍菇具有产生纤维素酶和木质素酶的能力,对纤维素、木质素和半纤维素的降解率分别能达到 33.32%、40.74%、42.36% (孙江慧, 2012),因此利用松材线虫病疫木木屑种植秀珍菇是处理松材线虫病疫木的可行途径之一。但食用菌的种植同时又会产生大量废弃菌糠,陆娜等 (2015) 研究表明出菇后的秀珍菇木屑菌糠中纤维素含量仍然较高,达到 42.50%。目前,废弃菌糠主要用途有制作肥料或作物栽培基质、动物饲料、其他食用菌栽培基质、生物质燃料,或用于生产工业和生物化工行业所需的酶。但由于土壤本身的性质,废弃菌糠中具有大量杂菌,国内食用菌栽培资源丰富,以及生产工业所需酶或生物质燃料的技术和成本高等各种原因,废弃菌糠在实际中的利用量很少 (刘宁等, 2019)。因此如何无害化处理废弃菌糠,更

好地对菌糠进行资源化利用的意义十分重要。

白星花金龟 *Protaetia (Liocola) brevitarsis* (Lewis)是一种常见的鞘翅目昆虫,在分类学上属于鞘翅目、多食亚目、金龟科、花金龟亚科、星花金龟属。该虫于 2001 年在新疆首次发现(郭文超等, 2004),在国内主要分布在东北、西北、华北等地区(何笙等, 2006)。白星花金龟成虫具有“趋糖性”,对含糖量高的作物危害较大(郑洪源等, 2005)。因此,对白星花金龟的研究主要集中在果园中的发生与防治方面(曲杰, 2008; 刘启侠, 2009; 张士伟等, 2011)。白星花金龟幼虫具有腐食性,可将土壤中的有机质转化为小分子有机物(郑洪源等, 2005),肠道中含有大量微生物,具有纤维素酶活性的菌株接近 70%(黄婉秋, 2020)。研究表明,白星花金龟幼虫可以取食转化平菇菌糠、大球盖菇菌糠和腐熟玉米秸秆,取食平菇菌糠、大球盖菇菌糠和腐熟玉米秸秆的饲料利用率为分别为 8.74%、9.80%和 17.51%;虫体转化率为 44.28%、49.32%和 63.82%;近似消化率为 19.88%、20.08%和 22.75%(杨晨等, 2015; 张倩, 2015; 孙晨可, 2018)。此外,白星花金龟幼虫虫体蛋白质含量高达 49.90%,脂肪含量仅占 15.42%,是一类新型蛋白资源,且幼虫虫粪有机质含量高达 34.1%,是一种值得开发的有机肥料(杨晨等, 2014)。因此,白星花金龟是一种值得深入研究的资源昆虫。利用白星花金龟转化松材线虫病疫木粉碎物的秀珍菇菌糠生产昆虫蛋白及虫砂,对于松材线虫病疫木资源利用、可持续的松材线虫病防控、保护环境、养殖业和种植业发展、乡村振兴、科技扶贫等具有重要的社会和经济意义。

本研究通过拮抗试验对松材线虫病疫木转化处理的秀珍菇菌株进行筛选和分类,并通过培养料优配研究利用松材线虫病疫木木屑栽培秀珍菇的技术,以期获得秀珍菇废弃菌糠用于白星花金龟幼虫饲养的技术。通过植物毒性测试讨论白星花金龟虫砂作为优质肥料的可能性,最终提出一套松材线虫病疫木虫菌联合转化处理的技术,对于松材线虫病疫木处理、食用菌和昆虫蛋白开发、松材线虫病控制具有重要价值。

1 材料与方法

1.1 供试材料及试验仪器

供试疫木:由重庆市森林病虫害防治检疫站提供。

供试菌株和供试虫源:供试虫源白星花金龟幼虫由山东农业大学植物保护学院环境生物与昆虫资源实验室提供,供试菌株包括 8 株秀珍菇 *Pleurotus pulmonarius* 菌株和 1 株平菇 *Pleurotus ostreatus* 菌株,由山东农业大学植物保护学院环境生物与昆虫资源实验室提供。

试验仪器和材料:PRX-150B 智能人工气候箱(上海谷宁仪器有限公司),GI80TW 立式高压灭菌锅(致微厦门仪器有限公司),强冬 120 无筋开胃菜(山东华良种业有限公司)。

1.2 培养基配方

母种培养基(PDA 培养基):马铃薯汁液 200 mL,蛋白胨 1.5 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g, pH 自然。

原种和栽培种培养基:松材线虫病疫木木屑,麦麸,棉籽壳,石膏,石灰,水(表 1)。

表 1 原种和栽培种培养基配方
Table 1 The medium formula of secondary spawn and culture spawn

培养基 Medium	木屑 (%) Saw dust	麸皮 (%) Bran	棉籽壳 (%) Cottonseed hull	石灰 (%) Lime	石膏 (%) Gypsum	料:水 Material: Water
1	81	15	0	2	2	1:1.3
2	76	20	0	2	2	1:1.3
3	71	25	0	2	2	1:1.3
4	66	15	15	2	2	1:1.3
5	41	15	40	2	2	1:1.3

1.3 试验方法

1.3.1 拮抗试验 将供试菌株活化后,将 8 株秀珍菇菌株编号为 X1、X2、X3、X4、X5、X6、X7、X8,平菇菌株编号为 P。在无菌条件下,将 9 个菌株中的任意 2 个菌株配对组合后,接种于同一母种平板培养基上,置于 25 ℃ 人工气候箱中无光培养 10-15 d,观察各菌株间是否存在拮抗线(吴汉琼等,2019)。

1.3.2 栽培试验 按照原种和栽培种培养基配方并调整配方比例,使用 15 cm×30 cm×0.05 cm 的聚乙烯塑料袋制作出菇菌包,每袋装干料重约 400 g,高约 20 cm。在 121 ℃,1×10⁵ Pa 条件下灭菌 2 h,待菌包冷却至 30 ℃ 以下后开始接种,每株菌株接种 5 袋。将接种后的菌包置于 25 ℃ 人工气候箱中培养 25-40 d,日常观察记录菌丝生长状况,待秀珍菇菌丝长满菌袋,且生理成熟后移入培养箱进行出菇管理。记录菌丝满袋天数,计算菌丝生长速度。

1.3.3 3 龄幼虫取食不同含水量菌糠 将粉碎后秀珍菇菌糠含水量分别调整为 35%、45%、55%、65%、75%,在 28 ℃ 人工气候箱中,用高 8 cm、直径 6.5 cm 的圆柱形饲养瓶饲养幼虫,在饲养瓶中加入约 100 g 粉碎菌糠,每瓶中放入 3 龄幼虫 10 头,每个处理重复 3 次,饲养 15 d 后收集并记录虫体、虫砂和剩余粉碎菌糠重量,计算饲料利用率、虫体转化率、虫砂转化率和近似消化率等指标。

1.3.4 3 龄幼虫在不同温度下取食菌糠 在每个饲养瓶中加入 100 g 含水量 55% 的粉碎菌糠,设置人工气候箱温度为 17、23、27、33、37 ℃,每瓶中放入 3 龄幼虫 10 头,每个处理重复 3 次,饲养 15 d 后收集并记录虫体、虫砂和剩余粉碎菌糠重量,计算饲料利用率、虫体转化率、虫砂转化率和近似消化率等指标。

1.3.5 不同龄期幼虫取食菌糠 在每个饲养瓶中加入 100 g 含水量 55% 的粉碎菌糠,每瓶中放入 2 龄幼虫 10 头或 3 龄幼虫 10 头,每个处理重复 3 次,28℃ 下饲养 15 d 后收集并记录虫体、虫砂和剩余粉碎菌糠重量,参考刘玉升(2012)的方法计算饲料利用率、虫体转化率、虫砂转化

率和近似消化率等指标。计算公式为(单位:g):

饲料利用率(%)=(总饲料量-剩余饲料量)/总饲料量×100,

虫体转化率(%)=虫体增重量/(取食量-虫砂量)×100,

虫砂转化率(%)=虫砂量/(取食量-虫体增重量)×100,

近似消化率(%)=(取食量-虫砂量)/取食量×100。

1.3.6 植物毒性测试 测试采用植物种子发芽试验(GI)检验秀珍菇菌糠和白星花金龟取食菌糠后产生的虫砂中的植物毒性。在菌糠饲养试验后,将新鲜菌糠和虫砂干燥研磨后与蒸馏水按 1:10 混合后在 35 ℃ 下振荡 24 h,将震荡后的混合样品用滤纸过滤得到提取物。在直径 9 cm 无菌培养皿上放一层滤纸,处理组中每个培养皿中滴加 5 mL 提取物,对照组中每个培养皿中滴加 5 mL 蒸馏水,并在每个培养皿中放入 20 颗白菜种子,3 次独立重复处理。将培养皿置于黑暗中于 26 ℃ 培养 2 d 后,计算种子发芽率和测量发芽种子根长。

GI(%)=(处理组发芽种子数量×处理组发芽种子根长)/(对照组发芽种子数量×对照组发芽种子根长)×100。

1.4 数据处理

实验数据采用 Excel 2010 和 SPSS 17.0 对数据进行常规计算及统计处理。不同配方菌丝生长速度的数据以及不同含水量和不同温度处理的幼虫取食量、虫砂量、增重量、饲料利用率、虫体转化率、虫砂转化率、近似消化率和发芽种子根长采用 Tukey's 单因素方差分析($P<0.05$)。不同龄期幼虫的相应数据采用独立样本 T -检验($P<0.05$)。菌糠和虫粪的植物种子发芽指数采用独立样本 T -检验($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 供试菌株拮抗试验

拮抗试验结果表明,X1 与 X2、X5、X6 和平菇有拮抗线,但与其他菌株没有拮抗线。X2

与其他菌株均有拮抗线。X3 与 X5、X6、平菇均有拮抗线,但与其他菌株没有拮抗线。X4 与 X7、X8 没有拮抗线,但与其他菌株有拮抗线。X5 与其他菌株均有拮抗线。X6 与其他菌株均有拮抗线。X7 与 X8 没有拮抗线,但与平菇有拮抗线。X8 与平菇有拮抗线(表 2)。

表 2 不同菌株拮抗反应试验结果
Table 2 The antagonistic reaction test results of different strains

供试菌株 Strains	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	P
X1		+	-	-	+	+	-	-	+
X2			+	+	+	+	+	+	+
X3				-	+	+	-	-	+
X4					+	+	-	-	+
X5						+	+	+	+
X6							+	+	+
X7								-	+
X8									+

+表示两者之间存在拮抗线, - 表示两者之间不存在拮抗线。X1-X8 为秀珍菇菌株, P 为平菇菌株。下表同。
+ indicates the presence of antagonistic lines, - indicates the absence of antagonistic line. X1-X8 is *P. pulmonarius* and P is *P. ostreatus*. The same below.

通过以平菇为对照,对其他 8 个秀珍菇拮抗试验,筛选出了秀珍菇菌株两两之间存在拮抗和没有拮抗的菌株,作为供试菌株,初步可以分为

第 1 种包括 X1、X3、X4、X7、X8,第 2 种为 X2,第 3 种为 X5,第 4 种为 X6。

2.2 供试菌株菌丝生长情况

不同品种秀珍菇对对菌丝生长速度影响差异不显著 ($P>0.05$),不同配方对菌丝生长速度差异显著 ($P<0.05$)(表 3)。X1 菌株菌丝在 4 号配方培养基中生长速度最快,达到(7.44 ± 0.14) mm/d,且与其他配方差异显著 ($P<0.05$); X2 菌株菌丝在 4 号配方培养基中生长速度最快,达到 (7.22 ± 0.18) mm/d,与 1 号和 2 号配方差异不显著 ($P>0.05$); X5 菌株菌丝在 1 号配方培养基中生长速度最快,达到 (7.42 ± 0.27) mm/d,与 2 号和 4 号配方差异不显著 ($P>0.05$); X6 菌株菌丝在 1 号配方培养基中生长速度最快,达到 (7.57 ± 0.22) mm/d,与 4 号配方差异不显著 ($P>0.05$); 平菇菌株菌丝在 1 号配方培养基中生长速度最快,达到 (7.37 ± 0.25) mm/d,与 4 号配方差异不显著 ($P>0.05$)。综上所述,供试菌株适宜接种在 1 号和 4 号配方培养基中。

2.3 白星花金龟幼虫取食情况

在不同含水量的秀珍菇菌糠中,白星花金龟 3 龄幼虫对秀珍菇菌糠的取食能力有所不同(表 4,表 5)。随着菌糠含水量的增加,白星花金龟幼虫取食量、虫砂量和增重量都呈现出先增后减的趋势。当菌糠含水量在 55%时,白星花金龟幼虫取食量、虫砂量和增重量分别为(45.82 ± 2.33)、

表 3 不同菌株在不同栽培种上的菌丝生长速度
Table 3 Hyphae growth rates of different strains on different culture spawn

配方 Medium	供试菌株 (mm/d) Strains (mm/d)				
	X1	X2	X5	X6	P
1	7.02±0.15b	7.16±0.10a	7.42±0.27a	7.57±0.22a	7.37±0.25a
2	6.67±0.15bc	7.03±0.14a	6.81±0.27ab	6.87±0.19b	6.67±0.16b
3	6.34±0.14c	5.95±0.27b	6.25±0.30b	6.49±0.25bc	6.60±0.16b
4	7.44±0.14a	7.22±0.18a	7.20±0.23a	7.08±0.23ab	7.17±0.36ab
5	6.47±0.14c	6.00±0.28b	5.54±0.29b	6.23±0.14c	4.24±0.10c

表中数据为 5 次重复平均数±标准误,每列数字后标有不同字母代表差异显著 ($P<0.05$, Tukey's 单因素方差分析)。Data are mean±SE, and followed by different letters within each column indicate significant difference by Tukey's one-way ANOVA ($P<0.05$).

表 4 白星花金龟 3 龄幼虫对不同含水量秀珍菇菌糠取食情况

Table 4 Feeding situation of the 3rd instar larvae of *Protaetia(Liocola) brevitarsis* to the *Pleurotus pulmonarius* mushroom bran with different water contents

含水量 (%) Water content (%)	取食量 (g) Food intake (g)	虫砂量 (g) Frass production (g)	增重量 (g) Weight gain (g)
35	28.70±1.81c	19.91±2.21c	1.757±0.125ab
45	35.02±1.83b	25.93±1.76b	1.944±0.090ab
55	45.82±2.33a	36.16±1.39a	2.119±0.181a
65	40.27±1.25ab	31.94±1.68a	1.815±0.053ab
75	33.28±2.73bc	23.87±1.50bc	1.727±0.089b

数据为平均数±标准误, 每列数字后标有不同字母代表差异显著 ($P<0.05$, Tukey's 单因素方差分析)。表 6 同。

Data are mean±SE, and followed by different letters within each column indicate significant difference by Tukey's one-way ANOVA ($P<0.05$). The same as table 6.

表 5 白星花金龟 3 龄幼虫对不同含水量秀珍菇菌糠取食能力

Table 5 Feeding capability of the 3rd instar larvae of *Protaetia(Liocola) brevitarsis* to the *Pleurotus pulmonarius* mushroom bran with different water contents

含水量 (%) Water content (%)	饲料利用率 (%) Feed utilization rate (%)	虫体转化率 (%) Insect body conversion rate (%)	虫砂转化率 (%) Frass conversion rate (%)	近似消化率 (%) Approximate digestibility (%)
35	28.70c	19.91ab	73.90b	30.63a
45	35.02b	21.37ab	78.40b	25.96b
55	45.82a	21.94a	82.74ab	21.08c
65	40.27ab	21.79ab	83.04a	20.69c
75	33.28bc	18.35b	75.65b	28.28ab

数据为表 4 数据的计算结果, 每列数字后标有不同字母代表差异显著 ($P<0.05$, Tukey's 单因素方差分析)。

Data are the calculation results of the data in the table 4, and followed by different letters within each column indicate significant difference by Tukey's one-way ANOVA ($P<0.05$).

(36.16 ± 1.39) 和 (2.119 ± 0.181) g, 并且虫体转化率也达到最大值 21.94%。当菌糠含水量在 65% 时, 虫砂转化率最大、近似消化率最小, 分别为 83.04% 和 20.69%。综合比较, 当菌糠含水量在 55% 和 65% 时, 各项数据与其他处理组的数据差异显著 ($P<0.05$)。因此, 白星花金龟 3 龄幼虫取食秀珍菇菌糠的最适含水量在 55%-65% 之间。

在不同温度条件下, 白星花金龟 3 龄幼虫对秀珍菇菌糠的取食能力有所不同 (表 6, 表 7)。随着环境温度的上升, 白星花金龟幼虫取食量、虫砂量和增重量差异显著且都呈现出先增后减的趋势, 17 °C 时幼虫增重量和虫体转化率出现负值, 当环境温度在 33 °C 时取食量和虫砂量达到最大值, 分别为 (48.07 ± 0.51) g 和 (38.17 ± 0.38) g, 当环境温度 27 °C 时取食量与虫砂量与 33 °C

时没有显著差异 ($P>0.05$), 且增重量达到最大值 (2.145 ± 0.005) g, 同时虫体转化率和虫砂转化率也达到最大值 23.49% 和 84.13%。综合比较, 当环境温度在 27 °C 和 33 °C 时, 各项数据之间没有显著差异 ($P>0.05$), 与其他处理的数据差异显著 ($P<0.05$), 但 27 °C 时增重量在大于 33 °C 时增重量。因此, 白星花金龟 3 龄幼虫取食秀珍菇菌糠的最适温度为 27 °C。

在白星花金龟不同龄期对秀珍菇菌糠取食能力上, 白星花金龟 2 龄和 3 龄幼虫在各项数据上差异均显著, 且 3 龄幼虫在饲料利用率、虫体转化率和虫砂转化率都具有优势, 2 龄幼虫的近似消化率比 3 龄幼虫高, 且差异显著 ($P<0.05$) (表 8, 表 9)。因此, 白星花金龟 3 龄幼虫在最适条件下每取食 100 g 菌糠, 可转化 3 龄虫体 4.62 g, 产生虫砂 80.22 g。

表 6 白星花金龟 3 龄幼虫在不同温度下对秀珍菇菌糠取食情况
Table 6 Feeding situation of the 3rd instar larvae of *Protaetia(Liocola) brevitarsis* to the *Pleurotus pulmonarius* mushroom bran under different temperatures

温度 (°C) Temperature (°C)	取食量 (g) Food intake (g)	虫砂量 (g) Frass production (g)	增重量 (g) Weight gain rate (g)
17	37.09±0.90c	28.72±1.12c	- 0.292±0.047d
23	40.26±0.49c	31.38±0.40bc	1.254±0.166b
27	46.15±1.14a	37.02±1.20a	2.145±0.055a
33	48.07±0.51a	38.17±0.38a	2.097±0.062a
37	43.17±1.46b	33.13±0.56b	0.465±0.032c

表 7 白星花金龟 3 龄幼虫在不同温度下对秀珍菇菌糠取食能力
Table 7 Feeding capability of the 3rd instar larvae of *Protaetia(Liocola) brevitarsis* to the *Pleurotus pulmonarius* mushroom bran under different temperatures

温度 (°C) Temperature (°C)	饲料利用率 (%) Feed utilization rate (%)	虫体转化率 (%) Insect body conversion rate (%)	虫砂转化率 (%) Frass conversion rate (%)	近似消化率 (%) Approximate digestibility (%)
17	37.09c	- 3.49d	76.83b	22.57a
23	40.26c	14.12b	80.45ab	22.06a
27	46.15a	23.49a	84.13a	19.78a
33	48.07a	21.18a	83.03a	20.59a
37	43.17b	4.63c	77.56b	23.26a

数据为表 6 数据的计算结果, 每列数字后标有不同字母代表差异显著 ($P<0.05$, Tukey's 单因素方差分析)。

Data are the calculation results of the data in the table 6, and followed by different letters within each column indicate significant difference by Tukey's one-way ANOVA ($P<0.05$).

表 8 白星花金龟不同龄期幼虫对秀珍菇菌糠取食情况
Table 8 Feeding situation of different instar larvae of *Protaetia(Liocola) brevitarsis* to the *Pleurotus pulmonarius* mushroom bran

虫龄 Instar	取食量 (g) Food intake (g)	虫砂量 (g) Frass production (g)	增重量 (g) Weight gain rate (g)
2 龄幼虫 2nd instar larvae	18.47±0.94	10.51±0.93	1.282±0.225
3 龄幼虫 3rd instar larvae	45.82±2.33*	36.16±1.39*	2.119±0.181*

数据为平均数±标准误, *代表差异显著 ($P<0.05$, 独立样本 T -检验)。

Data are mean±SE, * indicate significant difference by independent-samples T -test ($P<0.05$).

表 9 白星花金龟不同龄期幼虫对秀珍菇菌糠取食能力
Table 9 Feeding capability of different instar larvae of *Protaetia(Liocola) brevitarsis* to the *Pleurotus pulmonarius* mushroom bran

虫龄 Instar	饲料利用率 (%) Feed utilization rate (%)	虫体转化率 (%) Insect body conversion rate (%)	虫砂转化率 (%) Frass conversion rate (%)	近似消化率 (%) Approximate digestibility (%)
2 龄 2nd instar	18.47	16.11	61.15	43.10*
3 龄 3rd instar	45.82*	21.94*	82.74*	21.08

数据为表 8 数据的计算结果, *代表差异显著 ($P<0.05$, 独立样本 T -检验)。

Data are the calculation results of the data in the table 8, and * indicates significant difference by independent-samples T -test ($P<0.05$).

2.4 植物毒性测试

食用菌菌糠通常具有植物毒性,植物毒性对种子萌发和植物生长等具有不利影响,种子发芽指数(GI)被认为是评价植物毒性最敏感的参数。为测试松材线虫病疫木制作的秀珍菇菌糠在白星花金龟幼虫转化前后植物毒性的变化,选择秀

珍菇菌糠以及菌糠饲养白星花金龟 3 龄幼虫产生的虫砂作为研究对象,测试两者的种子发芽指数。植物毒性测试结果表明,虫砂中发芽种子根长与菌糠中发芽种子根长差异显著($P<0.05$) (表 10),菌糠的 GI 值小于 50%,而虫砂 GI 值大于 50%,且接近于 80%,最大可以达到 82.86%,且两者 GI 值差异显著(图 1)。

表 10 菌糠和虫砂的植物种子发芽情况
Table 10 The germinating situation of the spent mushroom substrates and frass

试验结果 Test result	菌糠 1 Mushroom substrates 1	菌糠 2 Mushroom substrates 2	菌糠 3 Mushroom substrates 3	虫砂 1 Frass 1	虫砂 2 Frass 2	虫砂 3 Frass 3	对照 Contrast
种子发芽率 (%) Seed germination rate (%)	85	90	85	95	100	100	100
发芽种子根长 (mm) Root length of germinated seeds (mm)	11.54±5.68b	11.42±6.71b	12.76±5.84b	21.36±8.27a	22.10±7.44a	23.66±8.52a	26.87±6.36a

发芽种子根长数据为平均数±标准误,数字后标有不同字母代表差异显著 ($P<0.05$, Tukey's 单因素方差分析)。
Data of the root length of germinated seeds are mean±SE, and followed by different letters within each number indicate significant difference by Tukey's one-way ANOVA ($P<0.05$).

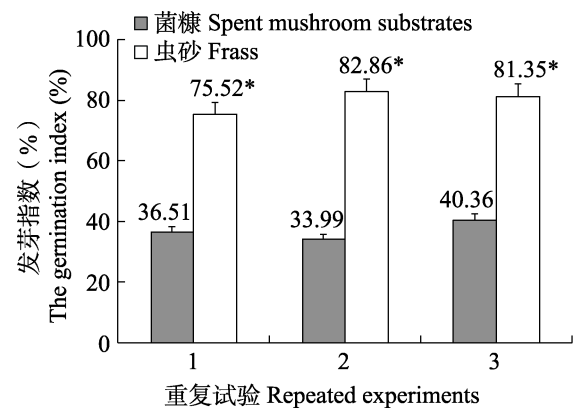


图 1 菌糠和虫砂的植物种子发芽指数
Fig. 1 The germination index of the spent mushroom substrates and frass

图中数据为平均数的计算值,*代表差异显著 ($P<0.05$, 独立样本 T-检验)。
Data in the picture are the calculated value of the mean, and * indicates significant difference by independent-samples T- test ($P<0.05$).

3 讨论

本研究通过对 9 株供试菌株进行拮抗试验,筛选出了 4 个不同品种的秀珍菇,将 4 种秀珍菇和平菇接种于由松材线虫病疫木木屑制作的栽

培种培养基中发现均能正常生长并出菇。通过利用秀珍菇对松材线虫病疫木木屑制作的不同配方的栽培种培养基筛选,筛选出菌丝生长速度最快的栽培种培养基配方:81%松材线虫病疫木木屑、15%麸皮、2%石灰、2%石膏和 66%松材线虫疫木木屑、15%麸皮、15%棉籽壳、2%石灰、2%石膏。葛乐(2015)的研究发现秀珍菇菌丝在以木屑为主要成分的培养基中,当配方为 82%木屑、15%麸皮、2%石灰,1%石膏时菌丝的生长速度最快。陈胜昌(2013)利用木屑培养秀珍菇发现菌丝在锯木屑含量较多的培养基中生长速度最慢,但秀珍菇产量相比其他配方高,同时指出木屑培养基中加入适量棉籽壳,具有促进菌丝生长,提高产量等优点。本研究表明,松材线虫病疫木木屑按照适用配方可用于栽培秀珍菇,且结果与产业化栽培无较大差异,下一步可找出菌丝生长速度最快与秀珍菇产量最高的最佳培养基配比方案。

在白星花金龟幼虫取食菌糠的研究中发现,白星花金龟幼虫取食松材线虫病疫木为基本原料制作的秀珍菇菌糠的最适温度为 27℃,最适

含水量在 55%-65%之间, 且 3 龄幼虫取食效果最佳, 在最适条件下每取食 100 g 秀珍菇菌糠, 可转化 3 龄虫体 4.62 g, 虫砂 80.22 g, 饲料利用率、虫体转化率、虫砂转化率和近似消化率能分别达到 46.15%、23.49%、84.13%和 19.78%。张倩(2015)利用平菇菌糠饲养白星花金龟幼虫的最佳温度为 28℃, 最佳含水量为 60%, 3 龄幼虫的取食效果最好。孙晨可(2018)利用大球盖菇菌糠饲养白星花金龟幼虫, 在最佳温度为 28℃、饲料的最佳含水量为 55%时, 3 龄幼虫的取食效果最好。本研究中最适饲养条件与上述两者的研究结果无较大差异, 但在饲料利用率、虫体转化率和近似消化率方面存在一定差异。研究表明以木质素含量较高的花生壳和卫生纸饲养白星花金龟幼虫的饲料利用率达到 66.22%和 49.29%, 虫体转化率达到 14.85%和 4.31%, 虫粪转化率达到 85.95%和 78.18%, 近似消化率达到 16.11%和 21.11%(张广杰等, 2019)。因此, 白星花金龟对不同饲料的利用率、虫体转化率和近似消化率存在差异可能是由于以木屑为主要原料的秀珍菇菌糠中木质素和纤维素含量较高, 幼虫转化较为困难。虽然秀珍菇饲料利用率低于花生壳和卫生纸, 但是虫体转化率高于两者。因此, 下一步可以尝试将秀珍菇菌糠进一步发酵腐解, 与含氮量高的物料进行配伍, 制作不同比例配方的饲料以寻求白星花金龟幼虫对秀珍菇菌糠的最佳转换条件。

白星花金龟在消化松材线虫病疫木制作的菌糠过程中, 可以有效地去除菌糠中的部分植物毒性物质。一般认为当 GI 值在 50%-80%时堆肥基本不具有植物毒性, 当 GI 值>80%时堆肥完全腐熟且不具有植物毒性(Wei et al., 2020)。本研究通过比较秀珍菇菌糠和白星花金龟幼虫虫砂的植物毒性发现, 秀珍菇菌糠 GI 值小于 50%, 仍然具有植物毒性, 不适合直接作为肥料还田, 而白星花金龟幼虫虫砂 GI 值大于 50%并接近 80%, 基本不含有植物毒性, 具有一定的肥料开发价值。赖德强等(2019)及刘福顺等(2018)的研究发现白星花金龟幼虫虫粪对辣椒幼苗和樱桃萝卜有一定影响, 添加虫粪后辣椒幼苗的地

上地下部干鲜质量和樱桃萝卜的地下鲜质量都呈现出增加趋势。因此, 白星花金龟幼虫虫粪作为一种良好的有机肥料, 具有很大的研究意义和利用价值。

本研究通过筛选木腐类真菌腐解松材线虫病疫木粉碎物, 然后利用白星花金龟转化疫木粉碎物得到高值幼虫虫体及虫砂, 为建立“松材线虫病疫木-环境昆虫-昆虫蛋白及粪沙-新型蛋白或有机肥料”的新型循环农业模式提供了技术方案和理论基础。这对于松材线虫病疫木资源利用、可持续的松材线虫病防控、保护环境、养殖业和种植业发展、乡村振兴、科技扶贫具有重要的社会和经济意义。

参考文献 (References)

- Chen SC, Li FY, Chen JH, 2013. Screening experiment on the formula of *Pleurotus pulmonarius* cultivated with sawdust. *Edible Fungi*, 35(4): 39. [陈胜昌, 李发勇, 陈敬虎, 2013. 木屑栽培秀珍菇培养料配方筛选试验. 食用菌, 35(4): 39.]
- Chongqing Forestry Bureau, 2019. Strengthen the law enforcement of epidemic wood quarantine and control the spread of *Bursaphelenchus xylophilus*. *Land Greening*, (9): 50-51. [重庆市林业局, 2019. 加大疫木检疫执法力度全力控制松材线虫传播蔓延. 国土绿化, (9): 50-51.]
- Ge L, 2015. Study on varieties optimizing and high efficient key cultivation techniques of *Pleurotus geesteranus*. Master dissertation. Hebei: Hebei Agricultural University. [葛乐, 2015. 秀珍菇品种优选及高效栽培关键技术研究. 硕士学位论文. 河北: 河北农业大学.]
- Guo WC, Xu JJ, He J, Arkedan, Zhai GR, Xu JS, 2004. A new pest of crops and fruit trees in Xinjiang-*Protaetia brevitarsis*. *Xinjiang Agricultural Science*, 41(5): 322-323. [郭文超, 许建军, 何江, 阿克旦, 翟国荣, 徐介寿, 2004. 新疆农作物和果树新害虫-白星花金龟. 新疆农业科学, 41(5): 322-323.]
- He S, Zhou ZR, Wu ZP, Wang CY, Han XX, Ye XY, Zhao ZL, Wang Y, 2006. A study on the occurrence of *Protaetia Brevitarsis* Lewis and its prevention & control technology. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 22(6): 314-316. [何笙, 周泽荣, 吴赵平, 王朝阳, 韩先旭, 叶新宇, 赵珠莲, 王烨, 2006. 白星花金龟发生与防治研究初报. 中国农学通报, 22(6): 314-316.]
- Huang WQ, 2020. Screening and analysis of cellulose degrading microbial strains from intestinal tract of *Protaetia brevitarsis* larva. Master dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [黄婉秋, 2020. 白星花金龟幼虫肠道中纤维素降解菌的筛选及其作用. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Lai DQ, Wang QL, Wu Y, Shu CL, Zhang Y, Liu CQ, 2019. Effect of *Postosia brevitarsis* Lewis larvae dung on development of pepper seedling stage under low temperature. *Northern*

- Horticulture*, (8): 63–66. [赖德强, 王庆雷, 吴娱, 束长龙, 张悦, 刘春琴, 2019. 白星花金龟幼虫粪对低温条件下辣椒苗期发育的影响. 北方园艺, (8): 63–66.]
- Liu FS, Feng XJ, Xi GC, Wu Y, Wang QL, 2018. The effects of *Potosia brevitarsis* larva manure application on the growth of cherry radish. *Hubei Agricultural Sciences*, 57(4): 44–46, 50. [刘福顺, 冯晓洁, 席国成, 吴娱, 王庆雷, 2018. 白星花金龟幼虫粪对樱桃萝卜生长情况的影响. 湖北农业科学, 57(4): 44–46, 50.]
- Liu N, Zhang GQ, Wang FQ, 2019. Progress in research and development of spent mushroom substrate. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 47(14): 7–11. [刘宁, 张桂芹, 王奉强, 2019. 菌糠的资源化研究与开发利用进展. 安徽农业科学, 47(14): 7–11.]
- Liu QX, 2009. Occurrence regularity and comprehensive control techniques of *Protaetia brevitarsis* in orchard. *Modern Agricultural Science and Technology*, (4): 117, 122. [刘启侠, 2009. 果园白星花金龟的发生规律与综合防治技术. 现代农业科技, (4): 117, 122.]
- Liu YS, 2012. *Insect Production Science*. Beijing: Higher Education Press. 178–180. [刘玉升, 2012. 昆虫生产学. 北京: 高等教育出版社. 178–180.]
- Lu N, Yuan WD, Zhou ZF, Wang WK, Yan J, Song JL, 2015. Analysis on nutrients and heavy metals of four edible fungi residue in the factory production. *Edible Fungi of China*, 34(6): 42–44, 49. [陆娜, 袁卫东, 周祖法, 王伟科, 闫静, 宋吉玲, 2015. 4 种工厂化食用菌菌糠的主要营养成分及重金属分析. 中国食用菌, 34(6): 42–44, 49.]
- Pan JL, Yao HW, Dong YQ, Li J, Qin YH, Cui YS, 2020. Analysis of the epidemic situation of pine wilt disease in China in 2019. *Porest Pest and Disease*, 40(1): 32–37. [潘佳亮, 姚翰文, 董瀛谦, 李娟, 秦一航, 崔勇三, 2020. 2019 年全国松材线虫病疫情分析. 中国森林病虫, 40(1): 32–37.]
- Qu J, 2008. Occurrence and comprehensive control of *Protaetia brevitarsis*. *Guangdong Agricultural Science*, (8): 94. [曲杰, 2008. 白星花金龟的发生及综合防治. 广东农业科学, (8): 94.]
- Sun CK, 2018. Study on the recycling mode of "Wheat straw-*Stropharia rugosoannulata*-*Protaetia brevitarsis*". Master dissertation. Shandong: Shandong Agricultural University. [孙晨可, 2018. “小麦秸秆-大球盖菇-白星花金龟”循环模式研究. 硕士学位论文. 山东: 山东农业大学.]
- Sun JH, 2012. Study on potential ability of several edible fungi biodegradation of lignocelluloses of straw. Master dissertation. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [孙江慧, 2012. 几株食用菌对秸秆木质纤维素降解能力的研究. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学.]
- Tian Y, Chen GF, Pu YL, Zhou X, 2017. Prevention and control of pine wilt disease in Chongqing. *Xiandai Horticulture*, (21): 137–139. [田艳, 陈桂芳, 蒲永兰, 周旭, 2017. 松材线虫病的发生防治及对策——以重庆市为例. 现代园艺, (21): 137–139.]
- Wang HX, Lan QX, 2014. Research status of *Pleurotus pulmonarius* in China. *Vegetables*, (9): 39–41. [王海霞, 兰清秀, 2014. 我国秀珍菇研究现状. 蔬菜, (9): 39–41.]
- Wei PP, Li YM, Lai DQ, Geng LL, Liu CQ, Zhang J, Shu CL, Liu RM, 2020. *Protaetia brevitarsis* larvae can feed on and convert spent mushroom substrate from *Auricularia auricula* and *Lentinula edodes* cultivation. *Waste Management*, (114): 234–239.
- Wu HQ, Chen GG, Zhao GH, Fang HF, 2019. Antagonism and screening of *Pleurotus pulmonarius* strains. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 47(14): 42–43. [吴汉琼, 陈躬国, 赵光辉, 方洪枫, 2019. 秀珍菇菌株的拮抗与品比筛选. 安徽农业科学, 47(14): 42–43.]
- Yan C, Song CK, Luo ZD, Chen YS, 2017. Overview of techniques of extinction treatment in diseased wood caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 45(19): 152–154. [闫闯, 宋崇康, 罗致迪, 陈元生, 2017. 松材线虫病疫木除害技术综述. 安徽农业科学, 45(19): 152–154.]
- Yang C, Liu YS, Xu XY, Zhang JW, 2014. Analysis and evaluation of resource components of *Protaetia brevitarsis* (Lewis) larvae. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition)*, 45(2): 166–170. [杨晨, 刘玉升, 徐晓燕, 张建巍, 2014. 白星花金龟幼虫资源成分分析及评价. 山东农业大学学报(自然科学版), 45(2): 166–170.]
- Yang C, Liu YS, Xu XY, Zhao L, 2015. The study on the effect of *Protaetia brevitarsis* Lewis larvae transformation the corn straw. *Journal of Environmental Entomology*, 37(1): 122–127. [杨晨, 刘玉升, 徐晓燕, 赵莉, 2015. 白星花金龟幼虫对醇化玉米秸秆取食效果的研究. 环境昆虫学报, 37(1): 122–127.]
- Zhang GJ, Wang Q, Liu YS, Li ZA, 2019. Study on the transformation capability of four materials in different fermentation cycles fed by *Potosia brevitarsis* (Coleoptera: Cetoniidae) larvae. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition)*, 50(5): 764–767, 804. [张广杰, 王倩, 刘玉升, 李增安, 2019. 白星花金龟幼虫对不同醇化周期四种物料的转化力研究. 山东农业大学学报(自然科学版), 50(5): 764–767, 804.]
- Zhang Q, 2015. Study on the biology of *Protaetia brevitarsis* (Lewis) feeding on oyster mushroom bran. Master dissertation. Shandong: Shandong Agricultural University. [张倩, 2015. 取食平菇菌糠的白星花金龟生物学研究. 硕士学位论文. 山东: 山东农业大学.]
- Zhang SW, Zhao BL, Jiang KR, Zhang Y, Zhou FF, Luo WB, Sun JL, 2011. Comprehensive control of *Protaetia brevitarsis* in Xinjiang vineyard. *Agricultural Science & Technology Newsletter*, (4): 227–228. [张士伟, 赵宝龙, 蒋可如, 张莹, 周飞飞, 罗文彬, 孙军利, 2011. 新疆葡萄园白星花金龟的综合防治. 农业科技通讯, (4): 227–228.]
- Zhang WQ, Shen FF, Yang GH, Yang MD, Zhang L, 2007. Occurrence and prevention status of forest pests in Chongqing. Chongqing Plant Protection Society. Chongqing: 5–8. [张文强, 申菲菲, 杨广海, 杨敏德, 张力, 2007. 重庆市林业有害生物发生与防控现状. 重庆市植物保护学会. 重庆: 5–8.]
- Zheng HY, Liu JP, Nan HL, Li ZL, He LF, 2005. A study on the feeding habits of the *Protaetia brevitarsis*. *Shanxi Agricultural Science*, (3): 23–24, 54. [郑洪源, 刘建平, 南怀林, 李占林, 何丽芬, 2005. 白星花金龟子食性研究. 陕西农业科学, (3): 23–24, 54.]