

猪粪、鸡粪经黑水虻转化后碳、氮及微生物变化

马叶, 吴楠, 王小波, 梁嘉琪, 徐晓燕

引用本文:

马叶, 吴楠, 王小波, 梁嘉琪, 徐晓燕. 猪粪、鸡粪经黑水虻转化后碳、氮及微生物变化[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(6): 1388–1396.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1277>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

畜禽粪便堆肥前期理化及微生物性状研究

曹云, 常志州, 黄红英, 徐跃定, 吴华山

农业环境科学学报. 2015, 34(11): 2198–2207 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.11.023>

黑水虻幼虫处理鸡粪后虫体营养及虫沙评价

蔡影峰, 牛世华, 刘朔, 程增文, 廖新梯, 邢斯程

农业环境科学学报. 2021, 40(9): 2006–2013 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0320>

鸡粪-堆肥中重金属残留、抗生素耐药基因及细菌群落变化研究

邓雯文, 陈姝娟, 何雪萍, 晋蕾, 杨盛智, 余秀梅, 刘书亮, 邹立扣

农业环境科学学报. 2019, 38(2): 439–450 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0716>

宁夏养鸡场粪污及周边土壤重金属和细菌群落特征研究

张俊华, 贾萍萍, 刘吉利, 孙媛, 尚天浩

农业环境科学学报. 2020, 39(8): 1692–1705 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0303>

水旱轮作条件下畜禽有机肥氮素矿化特征

沈仕洲, 万辰, 马瑛骏, 胡玉康, 王风, 张克强

农业环境科学学报. 2021, 40(11): 2513–2520 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1032>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

马叶, 吴楠, 王小波, 等. 猪粪、鸡粪经黑水虻转化后碳、氮及微生物变化[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(6): 1388–1396.

MA Y, WU N, WANG X B, et al. Changes in carbon, nitrogen, and microorganisms in pig manure and chicken manure after conversion by black soldier fly larvae[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(6): 1388–1396.

猪粪、鸡粪经黑水虻转化后碳、氮及微生物变化

马叶^{1,2}, 吴楠¹, 王小波^{1,2}, 梁嘉琪¹, 徐晓燕^{1,2*}

(1. 天津农学院农学与资源环境学院, 天津 300384; 2. 天津农垦渤海农业集团有限公司, 天津 301800)

摘要:为研究畜禽粪便经黑水虻转化前后碳、氮和微生物群落结构的变化,利用7日龄黑水虻幼虫转化猪粪和鸡粪,进行转化前后碳、氮相关指标测定和Illumina高通量测序。结果表明:黑水虻对猪粪和鸡粪的转化率分别为8.36%和10.42%,猪粪转化后有机碳和C/N分别升高了5.86%和47.64%,鸡粪转化后有机碳和C/N分别下降了11.67%和4.68%,两者的溶解性有机碳、全氮、硝态氮和铵态氮含量显著降低。黑水虻转化后,猪粪和鸡粪中分别有18.93%和10.49%的碳及31.42%和32.58%的氮被幼虫吸收利用,74.83%和57.43%的碳及43.71%和60.25%的氮保留在虫粪中。相比转化前的畜禽粪便,虫粪的微生物群落结构发生了显著变化,细菌丰富度和多样性均明显增加,其中厚壁菌门、变形菌门和放线菌门是猪粪、鸡粪和两组虫粪的优势菌门。黑水虻转化后,粪便中的细菌群落结构向着降解蛋白质和脂肪方向演变,鸡粪源虫粪中分解纤维素的菌群丰度高于新鲜鸡粪,且主要来自于厚壁菌门,猪粪源虫粪中分解纤维素的厚壁菌门丰度下降,但放线菌门中木质素降解菌丰度上升。PICRUSt功能预测分析显示两组虫粪中ABC转运蛋白、氨基酸生物合成和碳代谢功能基因丰度最高,且鸡粪源虫粪中的代谢基因丰度要高于猪粪源虫粪。研究表明,黑水虻幼虫对鸡粪的转化效率高于猪粪,转化后猪粪、鸡粪中碳、氮大部分转入虫粪,部分转入虫体,部分损失,其中鸡粪中的碳损失高于猪粪,而猪粪氮损失高于鸡粪。猪粪转化后有机碳和C/N提高,鸡粪转化后有机碳和C/N降低,而两者的溶解性有机碳、全氮、硝态氮和铵态氮含量都降低。黑水虻转化显著改变了猪粪和鸡粪的微生物群落结构,增加了有机物降解菌的丰度,增强了粪便中微生物的碳、氮代谢。

关键词:黑水虻;猪粪;鸡粪;细菌群落;碳氮代谢

中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)06-1388-09 doi:10.11654/jaes.2022-1277

Changes in carbon, nitrogen, and microorganisms in pig manure and chicken manure after conversion by black soldier fly larvae

MA Ye^{1,2}, WU Nan¹, WANG Xiaobo^{1,2}, LIANG Jiaqi¹, XU Xiaoyan^{1,2*}

(1. College of Agronomy and Resource and Environment, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 2. Tianjin Nongken Bohai Agricultural Group Co. Ltd, Tianjin 301800, China)

Abstract: To explore the changes in carbon, nitrogen, and microbial community structure in livestock and poultry manure before and after black soldier fly larvae (BSFL) transformation, 7-day-old BSFL were used to transform pig manure and chicken manure. The related indices of carbon and nitrogen and Illumina high-throughput sequencing data were determined before and after transformation. Results showed that the conversion rates of pig manure and chicken manure by the BSFL were 8.36% and 10.42%, respectively. Organic carbon and the carbon-nitrogen ratio (C/N) increased by 5.86% and 47.64%, respectively, after the conversion of pig manure, whereas organic carbon and C/N decreased by 11.67% and 4.68%, after the conversion of chicken manure. Dissolved organic carbon, total nitrogen, nitrate

收稿日期:2022-12-16 录用日期:2023-03-06

作者简介:马叶(1998—),女,江西宜春人,硕士研究生,从事农业废弃物资源化研究。E-mail:maye3342@163.com

*通信作者:徐晓燕 E-mail:xuxy6699@163.com

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0500205);天津市科技计划项目(22ZYCGSN00690)

Project supported: The National Key Research and Development Project of China (2018YFD0500205); Tianjin Science and Technology Planning Project of China (22ZYCGSN00690)

nitrogen, and ammonium nitrogen contents were significantly reduced in both types of manure. After transformation, 18.93% and 10.49% of carbon and 31.42% and 32.58% of nitrogen in pig manure and chicken manure, respectively, were absorbed and utilized by the BSFL, while 74.83% and 57.43% of carbon and 43.71% and 60.25% of nitrogen were retained in the BSFL frass. Compared with fresh pig and chicken manure, the microbial community structure of the BSFL frass was changed substantially, with a significant increase in bacterial richness and diversity. Firmicutes, Proteobacteria, and Actinobacteria were the dominant phyla in the pig manure, chicken manure, and the BSFL frass. After BSFL transformation, the bacterial community structure in the frass evolved to favor those that were better at protein and fat degradation. The abundance of cellulose-degrading bacteria in the BSFL frass sourced from transformed chicken manure was higher than that in fresh chicken manure, predominantly comprising Firmicutes. The abundance of cellulose-decomposing bacteria belonging to Firmicutes in the BSFL frass sourced from pig manure decreased, whereas the abundance of lignin-degrading bacteria belonging to Actinobacteria increased. PICRUSt prediction analysis showed that the abundance of functional genes for ABC transport, amino acid biosynthesis, and carbon metabolism was highest in the two groups of the BSFL frass, and the abundance of metabolic genes in frass from chicken manure was higher than that from pig manure. These results suggested that the transformation efficiency of chicken manure by the BSFL was higher than that of pig manure. After transformation, most of the carbon and nitrogen in the pig manure and chicken manure were transferred to the BSFL frass, some transferred to insect bodies, and some was lost. Carbon loss was greater in chicken manure than in pig manure, whereas nitrogen loss was greater in pig manure than in chicken manure. Organic carbon and C/N ratios increased after the transformation of pig manure, whereas they decreased after the transformation of chicken manure. Dissolved organic carbon, total nitrogen, nitrate nitrogen, and ammonium nitrogen content decreased in both types of manure. BSFL transformation significantly changed the microbial community structures of pig and chicken manures, increased the abundance of organic-degrading bacteria, and enhanced the carbon and nitrogen metabolism of microorganisms in the manure.

Keywords: black soldier fly; pig manure; chicken manure; bacterial community; carbon and nitrogen metabolism

随着我国集约化养殖业的发展,随之产生了大量的养殖废弃物^[1],据统计我国每年产生约38亿t畜禽粪污,但其综合利用率不足60%^[2]。未经处理的畜禽粪便不仅含有对人体和环境有害的重金属、抗生素和病原菌等物质,还会排放大量恶臭气体,严重威胁周围的空气、土壤和水体安全^[3-4]。因此畜禽粪便的高效资源化利用对我国畜禽养殖业的可持续发展具有重要意义。

黑水虻是一种腐生性昆虫,具有繁殖速度快、转化效率高、抗逆性强、食性广等特点,可取食畜禽粪便、餐厨垃圾等有机废弃物^[5-6],并将其转化为虫体和虫粪。黑水虻虫体含有蛋白质、脂肪和多种微量元素,是一种良好的动物蛋白饲料^[7],虫粪施用后能提高土壤养分含量,促进作物生长^[8]。此外黑水虻转化后还能降低畜禽粪便中重金属活性、潜在病原菌丰度和抗生素数量,并有效减少粪便臭味^[9-10]。因此利用黑水虻转化畜禽粪便具有较高的经济和环境价值。

微生物在黑水虻转化有机废弃物中起着至关重要的作用,研究表明黑水虻肠道中的多功能核心菌群有助于其对废弃物的消化吸收^[11]。Ao等^[12]利用黑水虻转化猪粪和鸡粪,在水虻肠道中发现的*Rhizobiales*、*Bacteroidales*等菌群,可能与氮的固定、循环等相关,而*Providencia*则可能与蛋白质、脂类的分解代谢紧密

相关。Wu等^[10]在转化猪粪的水虻肠道中发现一些核心菌群,如*Dysgonomonas*、*Enterococcus*、*Morganella*等,在有机物降解和肠道健康维护等方面起着重要作用。此外,肠道和基质菌群之间的相互作用也使得黑水虻肠道微生物群落结构向着更利于基质降解的新生态位演化^[13]。碳、氮是畜禽粪便中重要的营养元素,也是黑水虻生长代谢所必需的物质。前人的研究已经证实相较于传统堆肥,黑水虻在实现碳、氮回收利用,减少温室气体排放方面具有较大的潜力^[14-15],但对于黑水虻转化畜禽粪便后碳氮及微生物群落变化还鲜有报道。因此,本文研究了黑水虻转化猪粪和鸡粪前后碳、氮变化规律、菌群结构及相关代谢功能基因变化特征,以期为畜禽粪便的黑水虻高效转化提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验使用的黑水虻来自天津农学院有机废弃物资源化研究中心;猪粪取自天津市静海区某生猪养殖场,鸡粪取自天津市宝坻区某蛋鸡养殖场。清粪工艺均为干清粪,试验前将猪粪和鸡粪用小塑料袋分装并放入-20℃冰箱冷冻,使用前解冻并将猪粪和鸡粪的含水率调至70%。

1.2 试验设计

本试验共设计黑水虻转化猪粪(PBV)和黑水虻转化鸡粪(CBV)两个处理组,以转化前的猪粪(PM)和鸡粪(CM)作为对照。分别将800 g猪粪和800 g鸡粪平铺在塑料盒(长×宽×高:70 cm×45 cm×15 cm)中,再分别接种200 g黑水虻,每组3个重复,每日喂食一次(第2天:1.2 kg;第3天:1.6 kg;第4天:2.0 kg;第5天:3.0 kg;第6天:3.6 kg;第7天:3.6 kg;第8天:2.0 kg),喂养8 d后,停止喂食,放置24 h,待虫体肠道内的粪便完全排出体外后再分离虫体和虫粪。分别采集黑水虻转化前的猪粪、鸡粪样品和转化后的虫粪样品。一部分鲜样放入-80℃冰箱保存,用作细菌群落检测,一部分鲜样自然风干,虫体微波烘干,用作理化性质测定。

1.3 理化指标测定

虫体和虫粪的全氮、虫体粗蛋白采用凯氏定氮法测定^[16];有机质采用重铬酸钾容量法测定,总有机碳含量根据公式 $TOC = \text{有机质} / 1.724$ 计算,根据 TOC/TN 计算 $C/N^{[17]}$;用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl提取,采用连续流动分析仪测定 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量^[18];样品与去离子水按照1:10混匀,提取可溶性有机质(DOM)^[19],之后采用重铬酸钾氧化-比色法测定提取液中可溶性有机质含量,按照可溶性有机质/1.724计算溶解性有机碳含量^[20];粪便转化率=增加的虫体干质量/转化的粪便干质量×100%,粪便减量率=(粪便干质量-虫粪干质量)/粪便干质量×100%^[21]。

1.4 DNA的提取和16S rRNA基因测序分析

虫粪的DNA提取和测序:将样品CM、CBV、PM和PBV送至北京百迈克云科技有限公司。采用基因组DNA提取试剂盒(天根)完成总核酸的提取,再使用酶标仪对提取的核酸进行浓度检测,合格后对其进行扩增,扩增后的PCR产物使用1.8%的琼脂糖凝胶电泳检测完整性。对质检合格的样本构建目标区域PCR体系并进行纯化,再采用引物338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和引物806R(5'-

GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对细菌16S rRNA基因的V3和V4区进行PCR扩增,PCR产物用1.8%的琼脂糖凝胶电泳检测后再进行混样,将混好的样品进行切胶前纯化,之后用Monarch DNA胶回收试剂盒回收PCR产物并建立文库,文库通过Qsep-400方法进行质检,质检合格后使用Illumina novaseq6000进行上机测序。

1.5 数据分析

统计分析采用SPSS 20.0。在分析之前,使用单样本Kolmogorov-Smirnov检验检查数据的正态分布,并使用Levene检验检查方差的同质性。单因素方差分析(ANOVA)和 t 检验用于确定样本之间的差异,显著性水平为 $P < 0.05$ 。使用Usearch软件对序列在97.0%的相似度水平下进行聚类、获得OTU。利用QIIME2软件对样品 α 多样性和 β 多样性进行分析,再使用Origin 2019绘制箱型图,根据bray curtis算法计算样品间的距离从而绘制PCoA图,使用PICRUST2软件进行菌群代谢功能的分析与预测,使用IMG微生物基因组数据进行功能信息的输出进而推测样本中的功能基因组成,从而分析不同样本或组分之间在功能上的差异。

2 结果与分析

2.1 黑水虻转化处理猪粪和鸡粪的生产性能

由表1可知,黑水虻转化猪粪和鸡粪后分别产生了421.18 g和522.13 g干虫,猪粪和鸡粪的转化率分别为8.36%和10.42%,减量率分别为29.31%和34.98%,虫体粗蛋白含量分别为42.73%和47.10%,上述结果表明黑水虻对鸡粪的转化效率高于猪粪。

2.2 猪粪和鸡粪转化前后碳氮变化

猪粪和鸡粪经黑水虻转化后的理化性质变化如表2所示。与新鲜猪粪(PM)相比,黑水虻转化后虫粪中溶解性有机碳、全氮、硝态氮和铵态氮含量均显著下降,其降幅分别为17.75%、28.22%、86.73%和93.94%,而总有机碳含量和C/N较PM均显著增加,增

表1 黑水虻处理猪粪和鸡粪的生产性能(干质量)

Table 1 Production performance of black soldier fly in the treatment of pig manure and chicken manure (dry weight)

处理 Treatment	虫体干质量 Dry weight of insect body/g	粪便转化率 Conversion rate of manure/%	粪便减量率 Reduction rate of manure/%	虫体粗蛋白 Crude protein of insect body/%
PBV	421.18±9.90b	8.36±0.22b	29.31±0.73b	42.73±0.08b
CBV	522.13±5.38a	10.42±0.12a	34.98±0.52a	47.10±0.44a

注:同列不同小写字母之间表示差异性显著($P < 0.05$)。下同。

Notes: Different lowercase letters in a column indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$. The same below.

表2 猪粪和鸡粪转化前后(干质量)碳氮变化

Table 2 Changes of carbon and nitrogen in pig manure and chicken manure(dry weight) before and after transformation						
处理 Treatment	总有机碳 Total organic carbon/%	溶解性有机碳 Dissolved organic carbon/(g·kg ⁻¹)	全氮 Total nitrogen/%	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/(mg·kg ⁻¹)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/(g·kg ⁻¹)	C/N
PM	43.47±0.30b	42.41±1.13a	3.15±0.01a	196.57±6.48a	7.67±0.05a	13.78±0.12b
PBV	46.02±0.38a	34.88±0.51b	2.26±0.05b	26.07±2.75b	0.46±0.01b	20.35±0.44a
CM	37.89±0.28a	28.95±0.61a	1.89±0.01a	43.80±2.10a	1.31±0.07a	20.02±0.11a
CBV	33.47±0.10b	16.61±0.76b	1.75±0.02b	21.22±1.42b	0.63±0.01b	19.09±0.03b

幅分别为5.86%和47.64%;黑水虻转化鸡粪后,虫粪中总有机碳、可溶性碳、全氮、硝态氮、铵态氮含量和C/N均显著下降,相较于新鲜鸡粪(CM)其降幅分别为11.67%、42.64%、7.31%、51.54%、51.77%和4.68%。

2.3 碳、氮在虫体和虫粪中的分布

猪粪和鸡粪经黑水虻转化后,其中的碳和氮流动方向可分为三部分:一部分被虫体转化吸收,用于自身的生长,一部分保留在虫粪中,剩余部分则以气体等形式损失。如图1所示,经黑水虻转化后,猪粪中18.93%的碳和31.42%的氮转入虫体,74.83%的碳和43.71%的氮保留在虫粪中,而6.24%的碳和24.87%的氮则以气体等形式损失。黑水虻吸收了鸡粪中10.49%的碳和32.58%的氮用于自身生长,57.43%和60.25%的碳和氮保留在虫粪中,最终损耗了32.08%的碳和7.17%的氮。

2.4 黑水虻转化猪粪和鸡粪前后细菌群落α和β多样性分析

黑水虻转化猪粪和鸡粪前后细菌的丰富度和多样性如图2a和图2b所示。由Chao1指数和Shannon指数变化可知,黑水虻转化后,两组虫粪的细菌丰富度和多样性均高于猪粪和鸡粪,其中PM和PBV的细

菌丰富度和多样性高于CM和CBV。由Venn图可知(图2c),PM、CM、PBV和CBV处理分别得到了647、535、789个和620个OTU。四组样品共有的OTU数为327个,在PM、CM、PBV和CBV中占比分别为50.54%、61.12%、41.44%和52.74%,这表明经黑水虻转化后猪粪和鸡粪的细菌群落发生了较大改变。PCoA反映了样品间物种多样性差异,样品间的距离越相近,表明细菌群落结构组成越相似。猪粪和鸡粪经黑水虻生物转化前后的细菌群落相似性如图2d所示,其第一主坐标(PC1)和第二主坐标(PC2)的贡献率分别为48.78%和33.35%,累积贡献率为82.13%。从图2d中可以看出,各处理重复样本之间聚类较好,4个处理间的距离相差较远,细菌群落结构差异较大,这进一步表明黑水虻转化显著改变了猪粪和鸡粪的细菌群落结构。

2.5 黑水虻转化猪粪和鸡粪前后细菌群落组成变化

细菌群落门水平(前10门)分布如图3a所示。黑水虻转化猪粪和鸡粪后,粪便中的细菌群落发生了明显变化,其中厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)是所有样品的优势菌门,其平均相对丰度之和占细菌总量的90%以上。黑水虻转化猪粪后使得粪便中厚壁菌门和拟杆菌门(Bacteroidetes)的平均相对丰度下降,变形菌门、放线菌门和酸杆菌门(Acidobacteria)的平均丰度上升。鸡粪经黑水虻转化后其厚壁菌门平均相对丰度明显升高,而变形菌门、放线菌门和酸杆菌门的平均丰度均下降。

细菌群落属水平(前10属)分布如图3b所示,猪粪转化后,粪便中芽孢杆菌纲的细菌如双芽孢杆菌属(*Amphibacillus*)、*Atopostipes*、大洋芽孢杆菌属(*Oceanobacillus*)和假纤细芽孢杆菌属(*Pseudogracilibacillus*)及棒状杆菌科棒状杆菌属(*Corynebacterium_1*)等的平均相对丰度上升;而厌氧球菌属(*Anaerococcus*)、硬毛球菌(*Fastidiosipila*)、创伤球菌属(*Helcococcus*)和梭菌属(*Clostridium_sensu_stricto_1*)等梭菌目细菌平均

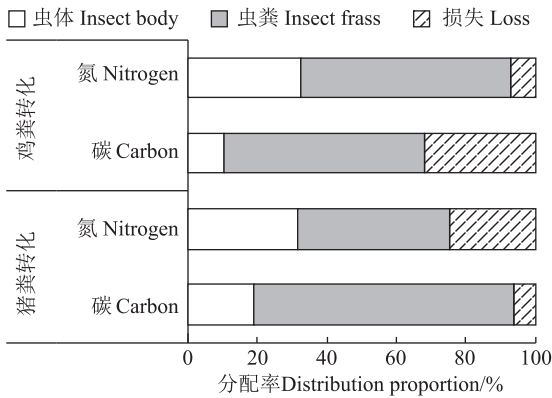


图1 转化猪粪和鸡粪后碳、氮分布比例

Figure 1 Distribution ratio of carbon and nitrogen after transformation of pig manure and chicken manure

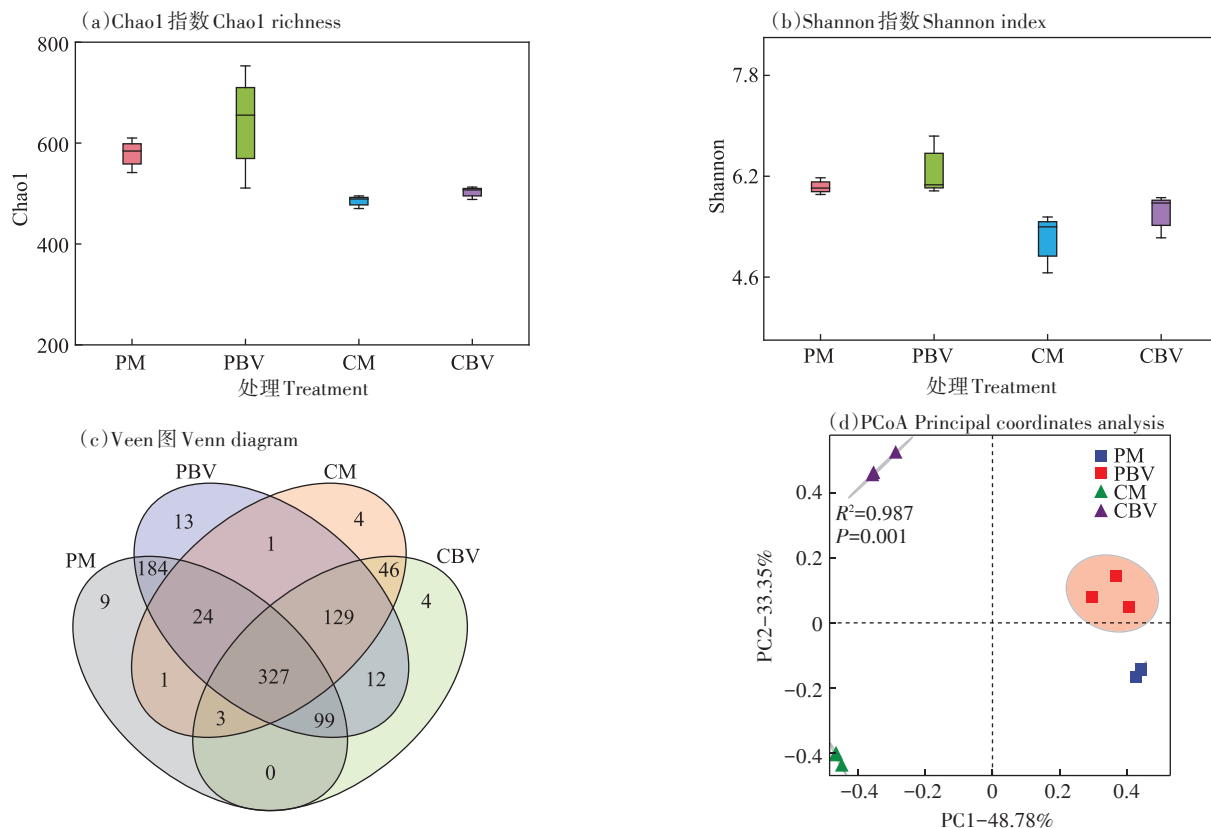


图2 黑水虻转化猪粪和鸡粪前后 α 和 β 多样性变化

Figure 2 Changes of alpha-diversity and beta-diversity in chicken manure and pig manure before and after treatment with black soldier fly

相对丰度均下降。黑水虻转化鸡粪后,虫粪中芽孢杆菌纲细菌如双芽孢杆菌属、*Atopostipes* 和假纤细芽孢杆菌属的相对平均丰度均明显高于鸡粪, *uncultured_bacterium_f_Ruminococcaceae* 和梭菌属等梭菌目细菌平均相对丰度分别降低了 89.28% 和 80.58%, 但是梭菌目细菌 *uncultured_bacterium_f_Family_XI* 的相对丰度升高了 10.89 倍。各处理组前 20 个属中芽孢杆菌纲细菌平均相对丰度之和表现为 $CBV > CM > PBV > PM$, 梭菌目细菌平均相对丰度之和表现为 $PM > PBV > CBV > CM$ 。此外,猪粪和鸡粪转化后, PBV 和 CBV 中丹毒丝菌属 (*Erysipelothrix*, 丹毒丝菌纲) 的平均相对丰度分别上升了 6.63 倍和 13.47 倍, 志贺菌属 (*Escherichia-Shigella*) 的平均相对丰度分别下降了 91.67% 和 97.87%。慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*) 是 CM 和 CBV 的优势菌属, 但黑水虻转化鸡粪后 CBV 中慢生根瘤菌属丰度从 3.22% 下降到了 2.71%, 而 PM 和 PBV 中几乎没有检测到慢生根瘤菌属。

2.6 微生物代谢功能预测

通过 KEGG 代谢途径的组成及差异分析, 可以观

测到不同样本之间微生物群落的功能基因在代谢途径上的差异和变化。与碳氮代谢相关的前 20 种功能基因 (KEGG 三级代谢) 丰度信息如图 4 所示, 黑水虻转化猪粪和鸡粪后, PBV 和 CBV 中各种代谢基因的平均丰度均明显高于 PM 和 CM, 且 CBV 的平均基因丰度要高于 PBV, 可见黑水虻转化增强了猪粪和鸡粪的碳氮代谢, 且鸡粪转化组的碳氮代谢比猪粪转化组更为强烈。20 种功能基因中平均基因丰度最高的前三位分别是 ABC 转运蛋白、氨基酸的生物合成和碳代谢, 其中 ABC 转运蛋白的平均基因丰度最高。

3 讨论

黑水虻转化鸡粪后虫体产量、虫体粗蛋白含量、粪便转化率和减量率均高于猪粪转化, 这与刘涛^[22]的研究结果类似。庞万程^[23]发现使用玉米芯将猪粪 C/N 调至 25 时黑水虻产量最高, 本试验中鸡粪和猪粪的 C/N 分别为 20.02 和 13.78, 鸡粪的 C/N 更接近于最优物料组成, 这可能是黑水虻对鸡粪的转化率和减量率更高的原因。黑水虻转化鸡粪后虫体粗蛋白含量显

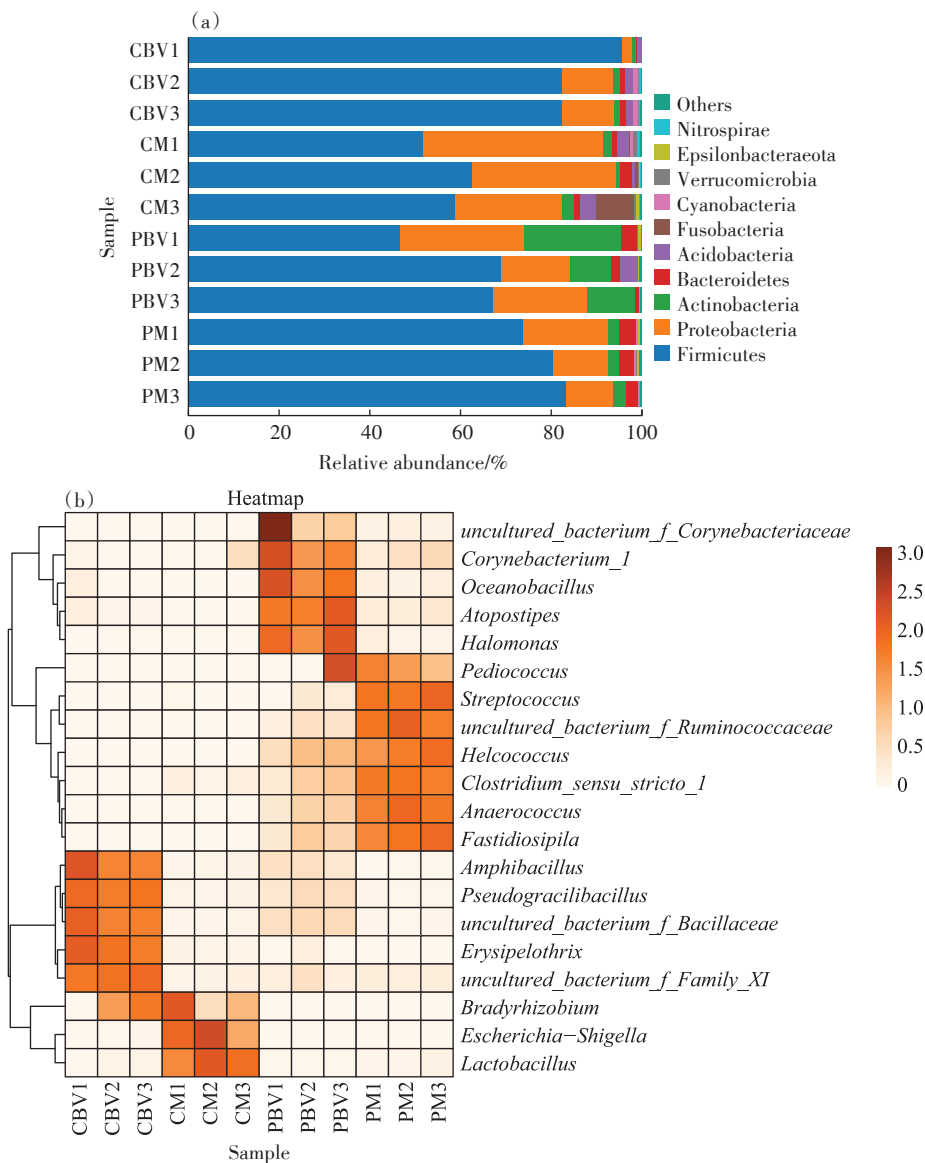


图3 黑水虻转化猪粪和鸡粪前后的门(a)和属(b)水平的细菌群落相对丰度

Figure 3 Relative abundance of bacteria community at the phylum level(a) and genus level(b) in chicken manure and pig manure before and after treatment with black soldier fly

著高于猪粪转化,由此推测使用黑水虻转化鸡粪所获得的经济效益高于猪粪转化。

碳、氮是黑水虻生长和发育过程中必需的营养元素,黑水虻可以将猪粪和鸡粪中的碳、氮一部分转化为生物质体,一部分转入虫粪中,而转化后虫粪中的溶解性有机碳、全氮、硝态氮和铵态氮含量均显著低于猪粪和鸡粪,这与 Pang 等^[15]的研究结果类似。溶解性有机碳是基质中最容易利用的碳源^[15],两组虫粪中的溶解性有机碳含量显著低于猪粪和鸡粪,这可能是由于黑水虻吸收利用了粪便中的碳所致^[24]。此外,黑水虻肠道中含有能够合成氨基酸的细菌类群,高水平

的氨基酸代谢有利于黑水虻体内的蛋白质迅速积累^[12],从而使得铵态氮和硝态氮可能在这一过程中被大量消耗。黑水虻转化猪粪后,虫粪中有机碳含量升高,而转化鸡粪后,虫粪中有机碳含量降低,这可能是因为猪粪和鸡粪的特性不同。

黑水虻转化猪粪和鸡粪后,显著改变了其微生物群落结构,提高了虫粪的细菌多样性和丰富度,这可能是由于黑水虻肠道中的微生物进入虫粪中所致。厚壁菌门、变形菌门和放线菌门是猪粪、鸡粪和两组虫粪的优势菌门,这与前人的研究结果类似^[19,25]。随着黑水虻的转化,CBV 中厚壁菌门丰度明显高于 CM,

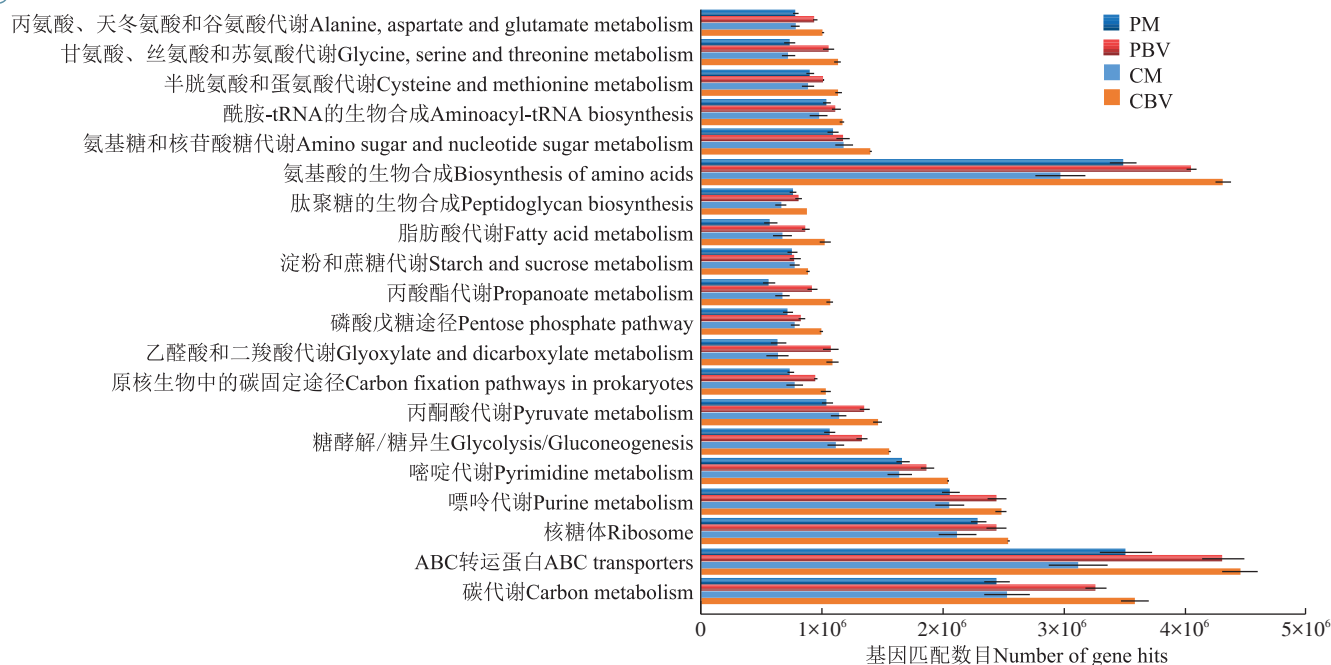


图4 与碳氮代谢相关的KEGG三级代谢图(前20种)

Figure 4 Level 3 KEGG metabolism diagram of variation in bacterial function profile related to carbon and nitrogen metabolism (Top20)

而猪粪转化过程则与之相反,且对属水平分析发现,厚壁菌门中基因丰度较高的属分别属于芽孢杆菌纲、丹毒丝菌纲和梭菌纲。有研究表明芽孢杆菌纲中的某些细菌具有分泌蛋白酶,降解蛋白质的能力^[17,26],丹毒丝菌纲细菌具有分解脂肪的能力^[27],两组虫粪中的芽孢杆菌纲和丹毒丝菌纲丰度要明显高于猪粪和鸡粪,这表明黑水虻转化过程中可以通过增加蛋白质降解菌和脂肪降解菌的丰度加速猪粪和鸡粪的降解。据报道梭菌目具有分解纤维素、半纤维素和产酸的能力^[28],棒状杆菌科细菌可以降解木质素、单宁和激素等有机物^[29],本研究中黑水虻转化后明显提高了CBV的梭菌目丰度,但降低了PBV的梭菌目丰度,提高了两组虫粪的棒状杆菌科丰度,这表明黑水虻能够通过调节不同基质中的细菌群落结构来增加降解纤维素和木质素的细菌丰度,从而达到快速降解猪粪和鸡粪的目的。此外,CBV中的慢生根瘤菌属是一种能与大豆共生固氮的细菌^[30],PBV中的棒状杆菌属能促进亚硝酸盐的产生^[31],它们在CBV和PBV中的分布可能使得黑水虻在转化猪粪过程中比在转化鸡粪过程中损失更多的氮。

志贺菌属(*Escherichia-Shigella*)可能会引发腹泻、溃疡性结肠炎等多种肠道疾病,是一种典型的肠道致病菌^[32]。本研究结果表明黑水虻转化猪粪和鸡粪后该菌丰度下降了90%以上,这表明黑水虻对粪

便中的潜在病原菌具有一定的削减作用。其他研究也证实黑水虻转化能降低粪便中的病原菌,如Awasthi等^[33]研究发现黑水虻幼虫能显著降低鸡粪、猪粪和牛粪中的病原菌丰度,Elhag等^[34]报道称黑水虻能通过调节肠道相关微生物和抗菌肽的表达等多种机制抑制猪粪中潜在的人畜共患病原体。

黑水虻转化鸡粪和猪粪后,虫粪中ABC转运蛋白的基因丰度最高,研究表明ABC转运蛋白具有促进糖类和氨基酸等物质运输的作用^[35],其在PBV和CBV中大幅增加表明黑水虻加快了猪粪和鸡粪转化体系中微生物的物质代谢。CBV中氨基酸合成基因丰度和碳代谢基因丰度均显著高于PBV,这也进一步证明了为什么黑水虻转化鸡粪过程中的氮损失要明显低于猪粪转化,而黑水虻转化猪粪过程中则保留了更多的碳。黑水虻转化猪粪和鸡粪过程中分别损失了6.24%和32.08%的碳及24.87%和7.17%的氮,袁京等^[36]研究指出,传统堆肥过程可能会造成48.7%的碳和27.7%的氮损失,这一数据明显要高于黑水虻转化过程中的碳氮损失,这说明相较于传统堆肥,黑水虻转化对减少猪粪和鸡粪的碳、氮损失具有更大的潜力。

黑水虻转化处理猪粪和鸡粪后增加了粪便中有机物降解菌丰度,加快了碳、氮代谢,实现了粪便中碳、氮物质的高效利用,但关于畜禽粪便转化过程中

碳、氮损失的调控还需进一步的研究,以减少其碳、氮损失,提高转化效率。

4 结论

(1)黑水虻可生物转化畜禽粪便,提高其资源化利用率。黑水虻对鸡粪的转化率高于猪粪,猪粪转化后有机碳含量和C/N提高,鸡粪转化后有机碳含量和C/N降低,而两者的溶解性有机碳、全氮、硝态氮和铵态氮含量都降低。猪粪、鸡粪经黑水虻转化后碳、氮大部分转入虫粪,鸡粪中的碳损失高于猪粪,而猪粪氮损失高于鸡粪。

(2)黑水虻转化猪粪和鸡粪后显著改变了其微生物群落结构,提高了细菌群落丰富度和多样性,增加了虫粪中蛋白质和脂肪降解菌丰度,增强了粪便中微生物的碳、氮代谢,其中ABC转运蛋白、氨基酸的生物合成和碳代谢基因在虫粪中更加丰富,且鸡粪源虫粪的碳氮代谢基因丰度要高于猪粪源虫粪。

参考文献:

- [1] 韩冬梅,汪刚,魏珣. 养殖业环境问题研究热点及趋势探析:基于Cite Space知识图谱分析[J]. 中国农业资源与区划, 2022, 43(9): 60-70. HAN D M, WANG G, WEI X. Research hotspots and trends of breeding industry environmental problems-based on the Cite Space knowledge map analysis[J]. *Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning*, 2022, 43(9): 60-70.
- [2] 王小波,蔡瑞婕,耿维娜,等. 黑水虻生物转化猪粪过程中重金属的迁移变化[J]. 农业工程学报, 2020, 36(20): 263-268. WANG X B, CAI R J, GENG W N, et al. Migration and changes of heavy metals during biotransformation of pig manure by black soldier fly[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2020, 36(20): 263-268.
- [3] 焦敏娜,任秀娜,何熠锋,等. 畜禽粪污清洁堆肥:机遇与挑战[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(11): 2361-2371. JIAO M N, REN X N, HE Y F, et al. Opportunities and challenges in a livestock manure cleaner composting process[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(11): 2361-2371.
- [4] 陆丽珠,邓盾,马平,等. 黑水虻堆肥促畜禽粪便分解的研究进展[J]. 广东农业科学, 2020, 47(8): 110-117. LU L Z, DENG D, MA P, et al. Research progress in composting with black soldier fly to promote the decomposition of livestock and poultry manure[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2020, 47(8): 110-117.
- [5] 张金金,王占彬. 黑水虻在畜禽养殖中的应用与研究进展[J]. 家畜生态学报, 2021, 42(4): 84-90. ZHANG J J, WANG Z B. Application and research progress of *Hermetia illucens* in livestock and poultry breeding[J]. *Journal of Domestic Animal Ecology*, 2021, 42(4): 84-90.
- [6] GOLD M, TOMBERLIN J K, DIENER S, et al. Decomposition of bio-waste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: a review[J]. *Waste Management*, 2018, 82: 302-318.
- [7] 王斌,邹仕庚,彭运智,等. 黑水虻在畜禽饲料中的应用研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2021, 57(6): 8-15. WANG B, ZOU S G, PENG Y Z, et al. Research progress on application of black soldier fly (*Hermetia illucens*) in animal feed[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2021, 57(6): 8-15.
- [8] 吴翔,胡从勇,蔡瑞婕,等. 虫粪有机肥对番茄生长及品质的影响[J]. 北方园艺, 2019, 426(3): 60-64. WU X, HU C Y, CAI R J, et al. Influence of frass organic manure on tomato growth and quality[J]. *Northern Horticulture*, 2019, 426(3): 60-64.
- [9] LUO X, YANG Q, LIN Y, et al. Black soldier fly larvae effectively degrade lincomycin from pharmaceutical industry wastes[J]. *Journal Environmental Management*, 2022, 307: 114539.
- [10] WU N, WANG X B, YAN Z C, et al. Transformation of pig manure by passage through the gut of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*): metal speciation, potential pathogens and metal-related functional profiling[J]. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 2021, 211: 111925.
- [11] KLAMMSTEINER T, WALTER A, BOGATAJ T, et al. The core gut microbiome of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae raised on low-bioburden diets[J]. *Frontier in Microbiology*, 2020, 11: 993.
- [12] AO Y, YANG C, WANG S, et al. Characteristics and nutrient function of intestinal bacterial communities in black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae in livestock manure conversion[J]. *Microbial Biotechnology*, 2021, 14(3): 886-896.
- [13] JIANG C L, JIN W Z, TAO X H, et al. Black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) strengthen the metabolic function of food waste biodegradation by gut microbiome[J]. *Microbial Biotechnology*, 2019, 12(3): 528-543.
- [14] PARODI A, GERRITS W, VAN L J, et al. Black soldier fly reared on pig manure: bioconversion efficiencies, nutrients in the residual material, greenhouse gas and ammonia emissions[J]. *Waste Management*, 2021, 126: 674-683.
- [15] PANG W C, HOU D, NOWAR E E, et al. The influence on carbon, nitrogen recycling, and greenhouse gas emissions under different C/N ratios by black soldier fly[J]. *Environment Science Pollution Research International*, 2020, 27(34): 42767-42777.
- [16] 蔡涵冰,冯雯雯,董永华,等. 畜禽粪便和桃树枝工业化堆肥过程中微生物群落演替及其与环境因子的关系[J]. 环境科学, 2020, 41(2): 997-1004. CAI H B, FENG W W, DONG Y H, et al. Microbial community succession in industrial composting with livestock manure and peach branches and relations with environmental factors[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(2): 997-1004.
- [17] 王建才,朱荣生,刘兴华,等. 微生物菌剂对猪粪堆肥中细菌群落结构的影响[J]. 应用生态学报, 2020, 31(7): 2449-2456. WANG J C, ZHU R S, LIU X H, et al. Effects of microbial agents on bacterial community composition during swine manure composting[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(7): 2449-2456.
- [18] 黄宏伟. 畜禽粪便堆肥腐殖质促进微生物还原Cr(VI)研究[D]. 桂林: 桂林理工大学, 2021: 10-11. WANG H W. Study on the promotion of microbial reduction of Cr(VI) by humic substance in livestock manure compost[D]. Guilin: Guilin University of Technology, 2021: 10-11.

- [19] 张志剑, 王先哲, 许绍伟, 等. 虹粪二次堆肥生化特性的动态变化趋势及其微生物演替规律[J]. 微生物学报, 2020, 60(12): 2664–2674. ZHANG Z J, WANG X Z, XU S W, et al. Dynamic feature of biochemical property and microbial succession of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) vermicompost during second composting[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(12): 2664–2674.
- [20] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 106–110. LU R S. Analysis of soil and agricultural chemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 106–110.
- [21] 尹靖凯, 龚小燕, 孙丽娜, 等. 黑水虻对餐厨垃圾养分转化研究[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(6): 154–159. YIN J K, GONG X Y, SUN L N, et al. Study on the transformation of nutrients in kitchen waste by black soldier fly[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2021, 23(6): 154–159.
- [22] 刘涛. 黑水虻联合好氧堆肥对畜禽粪便无害化及资源化的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022: 20–22. LIU T. The sanitation and resource of livestock manure during black soldier fly larvae conversion combined with composting[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2022: 20–22.
- [23] 庞万程. 水虻对有机废弃物碳氮转化率及其温室气体减排研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020: 23–34. PANG W C. The research on carbon and nitrogen conversion rate and greenhouse gas emission reduction of organic waste by black soldier fly[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020: 23–34.
- [24] LIU T, AWASTHI M K, CHEN H, et al. Performance of black soldier fly larvae (Diptera: Stratiomyidae) for manure composting and production of cleaner compost[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 251: 109593.
- [25] LIU T, AWASTHI M K, WANG X, et al. Effects of further composting black soldier fly larvae manure on toxic metals and resistant bacteria communities by cornstalk amendment[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 806(2): 150699.
- [26] PARTANEN P, HULTMAN J, PAULIN L, et al. Bacterial diversity at different stages of the composting process[J]. *BMC Microbiology*, 2010, 10: 94.
- [27] 王晓华, 李蕾, 何琴, 等. 驯化对餐厨垃圾厌氧消化系统微生物群落结构的影响[J]. 环境科学学报, 2016, 36(12): 4421–4427. WANG X H, LI L, HE Q, et al. Influence of inoculum acclimation on microbial community structure in anaerobic digesters treating food waste[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, 36(12): 4421–4427.
- [28] LIM J W, CHIAM J A, WANG J Y. Microbial community structure reveals how microaeration improves fermentation during anaerobic co-digestion of brown water and food waste[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 171: 132–138.
- [29] 林辉, 马军伟, 孙万春, 等. 光照对畜禽粪便中抗生素降解和微生物的影响[J]. 中国环境科学, 2021, 41(1): 263–272. LIN H, MA J W, SUN W C, et al. Effect of light illumination on antibiotic degradation and microbial community in manure[J]. *China Environmental Science*, 2021, 41(1): 263–272.
- [30] 刘璐, 何寻阳, 谢强, 等. 桂西北喀斯特常见豆科植物根瘤菌的遗传多样性[J]. 应用生态学报, 2015, 26(12): 3663–3669. LIU L, HE X Y, XIE Q, et al. Genetic diversity of rhizobia isolated from common legumes in the Karst area, Northwest Guangxi[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(12): 3663–3669.
- [31] 王旭杰, 张文明, 常馨怡, 等. 堆肥添加剂降低碳氮损失的微生物学机制研究[J]. 环境科学学报, 2021, 41(10): 4116–4127. WANG X J, ZHANG W M, CHANG X Y, et al. Microbiological mechanism of reducing carbon and nitrogen loss by composting additives[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2021, 41(10): 4116–4127.
- [32] 凌霄, 李伟霞, 李春晓, 等. 芍药汤对湿热泄泻大鼠的炎症因子与肠道菌群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(5): 16–24. LIN X, LI W X, LI C X, et al. Effect of shaoyatong on inflammatory cytokines and intestinal flora in rats with dampness-heat diarrhea[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional*, 2022, 28(5): 16–24.
- [33] AWASTHI M K, LIU T, AWASTHI S K, et al. Manure pretreatments with black soldier fly *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae): a study to reduce pathogen content[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 737: 139842.
- [34] ELHAG O, ZHANG Y, XIAO X, et al. Inhibition of zoonotic pathogens naturally found in pig manure by black soldier fly larvae and their intestine bacteria[J]. *Insects*, 2022, 13(1): 66.
- [35] 曲俊泽, 陈天华, 姚明东, 等. ABC转运蛋白及其在合成生物学中的应用[J]. 生物工程学报, 2020, 36(9): 1754–1766. QU J Z, CHEN T H, YAO M D, et al. ABC transporter and its application in synthetic biology[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2020, 36(9): 1754–1766.
- [36] 袁京, 刘燕, 唐若兰, 等. 畜禽粪便堆肥过程中碳氮损失及温室气体排放综述[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(11): 2428–2438. YUAN J, LIU Y, TANG R L, et al. A review of carbon and nitrogen losses and greenhouse gas emissions during livestock manure composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(11): 2428–2438.

(责任编辑: 叶飞)