



非水虻源微生物与武汉亮斑水虻幼虫联合转化鸡粪的研究

肖小鹏, 靳鹏, 蔡珉敏, 郑龙玉, 李武, 喻子牛, 张吉斌*

华中农业大学, 农业微生物学国家重点实验室, 生命科学技术学院, 微生物农药国家工程研究中心,
湖北 武汉 430070

摘要:【目的】益生微生物在协助亮斑扁角水虻幼虫转化有机废弃物、提高其转化效率方面具有重要的作用, 本研究针对非水虻源微生物, 开展与水虻联合转化鸡粪的研究, 以阐明外源微生物在水虻转化畜禽粪便中的作用, 对其转化机制的研究及产业化生产具有重要意义。【方法】采用稀释涂平板的方法进行鸡粪堆肥和猪粪堆肥中细菌的分析, 并将筛选到的细菌分别接种到无菌的鸡粪基质中与武汉亮斑水虻幼虫联合转化, 通过称重法测定转化后武汉亮斑水虻及鸡粪的重量, 评价转化效果及对幼虫的影响, 然后将促进转化效果明显的菌株按不同比例进行复配, 与武汉亮斑水虻幼虫联合转化新鲜鸡粪, 分析复配菌剂对武汉亮斑水虻幼虫转化鸡粪的影响。【结果】结果显示 R-07、R-09、F-03 和 F-06 在促进武汉亮斑水虻幼虫生长和鸡粪转化的效果上最为显著。与对照组相比, 水虻幼虫转化率分别提高了 27.21%、15.00%、9.93%和 16.29%; 基质减少率分别提高了 17.94%、10.42%、7.84%和 9.27%。将这 4 株细菌配制复配菌剂与武汉亮斑水虻幼虫联合转化鸡粪, 结果显示复配比例为 R-07:R-09:F-03:F-06=4:1:1:1 时效果最好, 与空白对照相比, 武汉亮斑水虻幼虫存活率提高了 10.25%, 幼虫虫重增加了 28.41%, 幼虫转化率增加了 30.46%, 鸡粪减少率增加了 7.69%。【结论】添加通过筛选优化的非水虻来源的微生物复合菌剂能够促进水虻高效转化鸡粪, 研究结果有助于改善现有的武汉亮斑水虻幼虫转化体系, 为开发新型的联合转化工艺、更加有效地处理畜禽粪便奠定基础。

关键词: 武汉亮斑水虻, 非水虻源微生物, 联合转化, 鸡粪

亮斑扁角水虻(*Hermetia illucens* L.), 英文名
为 Black soldier fly, 属双翅目水虻科扁角水虻属
的昆虫^[1]。亮斑扁角水虻幼虫在自然界以腐烂的有

机物和动物粪便为食。研究发现, 亮斑扁角水虻
幼虫可以集中取食动物粪便, 如鸡粪、牛粪、猪
粪等, 可以减少粪便堆积造成的污染, 且具有较

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项基金(2662016PY110); 武汉市“黄鹤英才计划”项目; 农业部公益性行业(农业)科研专项(201303094)

*通信作者。Tel: +86-27-87287701; Fax: +86-27-87287254; E-mail: zhangjb@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2017-09-29; 修回日期: 2017-12-13; 网络出版日期: 2018-01-03

高的转化效率。亮斑扁角水虻幼虫含有大量蛋白质和脂肪,可作为生产动物饲料的原料,转化后的残渣和虫粪可以作为有机肥,实现有机废弃物的高效资源化利用^[2]。如何利用水虻幼虫更高效率地转化畜禽粪便并获得高附加值产品,是亟待解决的问题。

美国佐治亚大学于1994年成功地建立了世界上第一个水虻-粪便处理系统,用于处理鸡场产生的大量粪便。水虻幼虫对粪便的转化效率高,在14 d内,通过幼虫的生物转化,一部分畜禽粪便转化为水虻虫体,50%以上的新鲜粪便干物质被消耗掉,不仅消除了粪便的臭味,而且极大地减少了粪便对环境的影响,同时还能降低猪粪55.1%的N,44.1%的P,52.8%的K^[2-4]。有研究发现,接种美国德州品系水虻幼虫到鸡粪中,可以降低鸡粪中的氮素达47.58%^[5]。华中农业大学驯化培育的亮斑扁角水虻武汉品系与广州品系和美国德州品系相比生长更具优势,周期短且个体增重快,废弃物利用率高^[6]。以水虻武汉品系为基础的畜禽粪便转化工艺通过多年的摸索,已经基本完善。使用亮斑扁角水虻幼虫生物转化猪粪的技术,将不同数量的4日龄幼虫接种到相同质量的猪粪中,根据不同的接种密度,幼虫可以消耗猪粪中41%~51%的干物质,收获昆虫体干重占处理前猪粪干重的10.6%~15.1%,转化后剩余残渣作为有机肥与商品有机肥相比,能够显著促进小白菜的株高、叶宽和株重^[7-8]。

水虻和微生物联合转化有机废弃物的研究是近几年发展起来的转化有机废弃物新方法,它利用了昆虫和微生物各自不同的特点和优势,昆虫在降解有机废弃物的同时可以将其转化为自身蛋白质和脂肪,微生物可以帮助昆虫转化难以降解

的有机废弃物使其对有机废弃物的转化效率大大提高。Jeon等^[9]利用16S rRNA测序分析了取食三种不同食物(餐厨剩余物、煮熟的米饭和牛饲料)的水虻幼虫肠道微生物种群,微生物种类因食物不同而有所不同。Jeon等从水虻幼虫肠道中分离培养到了产淀粉酶、蛋白酶、纤维素酶菌株,推测水虻对有机物的降解可能与微生物相关^[9]。

有研究显示在鸡粪中接入微生物后与水虻幼虫共转化鸡粪,微生物对其生长发育特性如生活周期、虫体重量等多个指标均有显著影响^[10],但目前微生物对水虻转化鸡粪的效率是否有影响还没有系统研究。本研究拟从鸡粪堆肥和猪粪堆肥中分离微生物,利用分离得到的单一菌株与水虻联合转化鸡粪,筛选出能够促进水虻生长、提高水虻转化率和鸡粪减少率的水虻益生微生物;其次,根据单一细菌与水虻联合转化鸡粪的实验结果,筛选出效果最好的关键菌株,将其按照不同比例制备复配菌剂,利用复配菌剂与水虻联合转化鸡粪,根据复配菌剂对水虻幼虫的生长、存活率和鸡粪转化率的促进作用确定最优的复配比例,获得可实际应用的协同水虻高效转化鸡粪的微生物,为建立更为高效的畜禽粪便水虻转化系统奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 亮斑扁角水虻武汉品系(*Hermetia illucens* L. Wuhan strain):由华中农业大学农业微生物学国家重点实验室张吉斌教授课题组驯化,以下简称武汉亮斑水虻^[6]。

1.1.2 菌株:利用Luria-Bertani(LB)培养基(胰蛋白胨10 g/L,酵母浸粉5 g/L,氯化钠10 g/L,蒸

馏水补充至 1 L, pH 值 7.0, 固体培养基添加 1.5 % 的琼脂粉) 分别从鸡粪堆肥分离出 15 株细菌, 从猪粪堆肥中分离出 13 株细菌。各菌株在使用时用 LB 液体培养基振荡培养(28 °C, 180 r/min)至对数期, 然后用无菌蒸馏水离心重悬 3 次(15 s, 8000 r/min), 最后用无菌蒸馏水调节各菌株的菌数在 1×10^8 CFU/mL, 备用。实验用各菌株及其来源如表 1 所示。

1.1.3 新鲜鸡粪: 由武汉超拓生态农业有限公司山坡蛋鸡基地提供, 含水量 80%。

1.1.4 主要试剂: 酵母膏提取物、胰蛋白胨 Oxoid 原装进口; 其余分析级生化试剂均购自国药集团。

1.2 单株细菌与武汉亮斑水虻联合转化鸡粪

将新鲜鸡粪和锯末按质量比 9:1 的比例混匀后制成转化基质, 分装到罐头瓶中, 每瓶 100 g, 121 °C 高压蒸汽灭菌 30 min, 冷却后分别添加 1 mL (含菌量 1×10^8 CFU/mL) 各菌株的备用菌液, 对照组添加 1 mL 无菌蒸馏水, 将基质搅拌均匀后, 同时在不同处理组中接入 100 头大小一致、

生长健康的 6 日龄武汉亮斑水虻幼虫, 每个处理组 3 个重复。当武汉亮斑水虻幼虫 50% 预蛹后, 将幼虫与基质残渣分离, 统计并记录不同处理的幼虫总重、转化时间和存活率, 50 °C 烘干后统计虫体总干重以及基质残渣总干重。

1.3 益生微生物复配菌剂与武汉亮斑水虻联合转化鸡粪

根据单株细菌与武汉亮斑水虻联合转化鸡粪后的基质减少率, 并辅以武汉亮斑水虻转化率, 确定几株菌并按不同比例进行配比, 作为与武汉亮斑水虻联合转化鸡粪的复配菌剂。将各菌株备用菌液按设定的比例混匀后, 按 1%(V/m) 的接种比例分别接种到 500 g 新鲜鸡粪中, 对照组接种等量的无菌蒸馏水, 将基质搅拌均匀后, 同时在不同处理组中接入 500 头大小相近、健康的 6 日龄武汉亮斑水虻幼虫, 每个处理设置 3 个重复。当武汉亮斑水虻 50% 预蛹后, 将其与鸡粪残渣分离, 统计并记录不同处理的武汉亮斑水虻总重、存活率, 50 °C 烘干后统计总虫体干重以及鸡粪残渣干重。

表 1. 实验菌株及来源

Table 1. Experimental strains and their sources

Strains	Source	Strains	Source
R-01	Chicken manure composting	F-01	Pig manure composting
R-01'	Chicken manure composting	F-01'	Pig manure composting
R-02	Chicken manure composting	F-02	Pig manure composting
R-03	Chicken manure composting	F-03	Pig manure composting
R-04	Chicken manure composting	F-04	Pig manure composting
R-06	Chicken manure composting	F-05	Pig manure composting
R-07	Chicken manure composting	F-06	Pig manure composting
R-08	Chicken manure composting	F-07	Pig manure composting
R-09	Chicken manure composting	F-07'	Pig manure composting
R-10	Chicken manure composting	F-09	Pig manure composting
R-11	Chicken manure composting	F-10	Pig manure composting
R-12	Chicken manure composting	F-11	Pig manure composting
R-13	Chicken manure composting	F-12	Pig manure composting
R-14	Chicken manure composting		
R-14'	Chicken manure composting		

1.4 相关公式

1.4.1 公式(1): 水虻存活率(Survival rate of BSFL, %)=转化后水虻数量/转化前加入的水虻数量×100%

1.4.2 公式(2): 虫体增重(Weight increment of BSFL, g)=转化后水虻总重 - 转化前水虻总重

1.4.3 公式(3): 水虻转化率(Conversion rate of BSFL, %)=(转化后水虻干重 - 转化前水虻干重)/转化前鸡粪干重×100%

1.4.4 公式(4): 鸡粪减少率(Material reduction rate, %)=(转化前鸡粪干重 - 转化后鸡粪干重)/转化前鸡粪干重×100%

1.5 数据处理

实验结果采用“平均值±标准差”表示, 利用 SPSS 18.0 进行 Tukey HSD 多重比较分析实验数据的差异显著性, 显著水平为 0.05。

2 结果和分析

2.1 单株细菌与武汉亮斑水虻联合转化鸡粪

在武汉亮斑水虻转化鸡粪体系中添加单株细菌对武汉亮斑水虻转化率和基质减少率的影响如表 2 和表 3 所示。

从表 2 可以看出, 在武汉亮斑水虻转化鸡粪体系中, 与不添加微生物的空白对照组相比, 添加鸡粪堆肥样品中的单株细菌均能够促进武汉亮斑水虻的转化。其中, 添加 R-04、R-06、R-07、R-07'、R-08、R-09、R-10、R-12、R-14' 细菌能够显著地促进武汉亮斑水虻的转化。达到 50% 预蛹后, 与空白对照组相比, 对武汉亮斑水虻转化率的增加比率均在 9.23% 以上。在武汉亮斑水虻转化鸡粪体系中, 与不添加微生物的空白对照组相比, 添加鸡粪堆肥样品中的单株细菌如 R-07、

表 2. 添加鸡粪堆肥样品中的单株细菌对武汉亮斑水虻幼虫转化的影响

Table 2. Effects of inoculating individual bacterium from chicken manure compost samples on BSFL conversion

Strains	Conversion rate of BSFL/%	Incremental rate/% ^a	Material reduction rate/%	Incremental rate/% ^b
R-07	15.43±0.16g	27.21	21.50±0.72a	17.94
R-14'	14.40±0.54ef	18.71	19.68±1.16a	7.95
R-04	14.09±0.36de	16.16	19.48±2.42a	6.86
R-08	13.99±0.45de	15.33	19.78±0.80a	8.85
R-09	13.95±0.24de	15.00	20.13±0.72a	10.42
R-06	13.61±0.36cde	12.21	19.16±2.68a	5.10
R-12	13.27±0.09bcd	9.39	19.42±2.82a	6.53
R-10	13.25±0.15bcd	9.23	19.50±1.10a	6.97
R-01'	12.84±0.33abc	5.85	18.10±2.83a	-0.71
R-01	12.82±0.27abc	5.69	18.45±2.77a	1.21
R-13	12.80±0.17abc	5.52	18.21±1.23a	-0.11
R-11	12.50±0.50ab	3.05	18.27±1.77a	0.22
R-03	12.46±0.26ab	2.72	18.43±2.20a	1.09
R-02	12.30±0.33a	1.40	18.00±0.43a	-1.26
R-14	12.21±0.12a	0.66	18.14±1.00a	-0.49
Control	12.13±0.17a	0	18.23±1.36a	0

Results are all indicated as means±SD. Means in the same row with different letters are significantly different ($P=0.05$). ^a Conversion rate of BSFL compared with the control group. ^b Material reduction rate compared with the control group.

表 3. 添加猪粪堆肥样品中的单株细菌对武汉亮斑水虻幼虫转化的影响

Table 3. Effects of inoculating individual bacterium from pig manure compost samples on BSFL conversion

Strains	Conversion rate of BSFL/%	Incremental rate/% ^a	Material reduction rate/%	Incremental rate/% ^b
F-01	14.26±0.15fg	17.62	19.44±2.38a	6.64
F-06	14.10±0.71fg	16.29	19.92±0.87a	9.27
F-07	13.95±0.18efg	15.05	19.52±1.28a	7.08
F-07'	13.85±0.15defg	14.22	19.50±1.53a	6.97
F-01'	13.63±0.46cdefg	12.41	18.81±1.72a	3.18
F-03	13.33±0.25cdef	9.93	19.66±1.91a	7.84
F-05	13.12±0.42bcde	8.19	18.71±3.29a	2.63
F-12	12.90±0.56abcd	6.37	18.25±1.91a	0.11
F-04	12.88±0.10abc	6.20	18.02±1.78a	-1.15
F-02	12.70±0.12abc	4.71	17.84±2.40a	-2.14
F-11	12.28±0.30ab	1.24	18.31±2.30a	0.44
F-09	12.21±0.09ab	0.66	17.78±2.77a	-2.47
F-10	12.09±0.15a	-0.33	17.94±2.18a	-1.59
Control	12.13±0.17a	0	18.23±1.36a	0

Results are all indicated as means ± SD. Means in the same row with different letters are significantly different ($P=0.05$). ^a Conversion rate of BSFL compared with the control group. ^b Material reduction rate compared with the control group.

R-07'、R-09、R-08、R-14'、R-10、R-04、R-12、R-06、R-01、R-03 和 R-11 能够提高基质的减少率, 只有少数添加的菌株(如 R-13、R-14、R-01'、R-02) 鸡粪减少率比对照低。说明大部分单株细菌促进武汉亮斑水虻生长和转化的同时, 对鸡粪也有一定的转化作用。各处理组的数据之间没有显著性差异, 说明鸡粪堆肥样品中的单株细菌对基质减少率没有显著的促进作用, 但其中接种 R-07 菌株的处理鸡粪减少率最高。

从表 3 可以看出, 在武汉亮斑水虻转化鸡粪体系中, 与不添加微生物的空白对照组相比, 添加猪粪堆肥样品中的单株细菌(如 F-01、F-06、F-07、F-07'、F-01'、F-03、F-05、F-12、F-04、F-02、F-11 和 F-09)均能够促进武汉亮斑水虻的转化。只有 F-10 组的转化率比对照低。其中, 添加 F-01、F-01'、F-03、F-05、F-06、F-07、F-07' 细菌能够显著地促进武汉亮斑水虻的转化。达到 50% 预蛹后, 与空白对照组相比, 对武汉亮斑水

虻转化率的增加比率均在 8.19% 以上。在武汉亮斑水虻转化鸡粪体系中, 与不添加微生物的空白对照组相比, 添加大部分猪粪堆肥样品中的单株细菌(如 F-06、F-03、F-07、F-07'、F-01、F-01'、F-05、F-11 和 F-12)能够提高基质的减少率, 只有 F-04、F-10、F-02 和 F-09 基质的减少率比对照低, 说明大多数细菌能促进武汉亮斑水虻对鸡粪的转化利用, 其中 F-06 菌株处理鸡粪减少率最高。

鸡粪堆肥样品分离的细菌中, R-04、R-06、R-07、R-08、R-09、R-10、R-12、R-14' 对武汉亮斑水虻的生长和转化具有显著的促进作用, 对鸡粪的降解具有明显的促进作用。猪粪堆肥样品分离的细菌中, F-01、F-01'、F-03、F-05、F-06、F-07、F-07' 对武汉亮斑水虻的生长和转化具有显著的促进作用, 对鸡粪的降解具有明显的促进作用。以单株细菌与武汉亮斑水虻联合转化鸡粪后的基质减少率为主要参考因素, 并辅以武汉亮斑水虻转化率, 确定 R-07、R-09、F-03 和 F-06 作为

复配菌剂中武汉亮斑水虻联合转化鸡粪的菌株。其中, R-07 和 R-09 对武汉亮斑水虻生长和转化的促进效果比 F-03 和 F-06 明显, 因此, 我们选取 R-07 和 R-09 作为复配菌剂中的主要优势菌株, 设置 7 个复配组合, 复配比例如表 4 所示。

2.2 益生微生物复配菌剂与武汉亮斑水虻联合转化鸡粪

在武汉亮斑水虻转化鸡粪体系中添加复配菌剂对武汉亮斑水虻转化鸡粪的影响如表 5 所示。

与空白对照组相比, 不同处理组中武汉亮斑水虻的存活率均有所提高, 说明添加复配菌剂能够提高武汉亮斑水虻的存活率, 其中, 组 2 和组 3 的复配菌剂的添加能够显著提高武汉亮斑水虻的存活率, 其他处理组对武汉亮斑水虻存活率的提高效果不显著。组 3 的复配菌剂的添加比例对武汉亮斑水虻存活率的提高效果最好, 幼虫达到 50% 预蛹后, 其存活率比空白对照组提高了 10.25%, 能够有效地保证武汉亮斑水虻自身有机质的积累和对有机废弃物的降解。

与空白对照组相比, 不同处理组中武汉亮斑水虻的虫体增重均有所提高, 说明添加复配菌剂

能够促进武汉亮斑水虻的生长。其中组 2 和组 3 复配菌剂的添加能够显著促进武汉亮斑水虻的生长; 其他处理组对武汉亮斑水虻生长的促进效果不显著。组 3 的复配菌剂的添加比例对武汉亮斑水虻生长的促进效果最好, 幼虫达到 50% 预蛹后, 与空白对照组相比虫体增重了 28.41%。

不同处理组武汉亮斑水虻达到 50% 的预蛹时间均为 13 d, 说明添加复配菌剂不影响武汉亮斑水虻的预蛹时间。

与空白对照组相比, 不同处理组中武汉亮斑水虻的转化率均有所提高, 说明添加复配菌剂能够促进武汉亮斑水虻的转化。其中组 2 和组 3 复配菌剂的添加能够显著促进武汉亮斑水虻的转

表 4. 复配菌剂的复配比例(V/V)

Table 4. The ratio of each compound microbial agent (V/V)

Groups	Ratio
Group 1	R-07:R-09:F-03:F-06=1:1:1:1
Group 2	R-07:R-09:F-03:F-06=2:1:1:1
Group 3	R-07:R-09:F-03:F-06=4:1:1:1
Group 4	R-07:R-09:F-03:F-06=8:1:1:1
Group 5	R-07:R-09:F-03:F-06=1:2:1:1
Group 6	R-07:R-09:F-03:F-06=1:4:1:1
Group 7	R-07:R-09:F-03:F-06=1:8:1:1

表 5. 接种复配菌剂对武汉亮斑水虻转化鸡粪的影响

Table 5. Effects of inoculating compound microbial agent on BSFL converting chicken manure

Groups	Survival rate of BSFL/%	Weight increment of BSFL/g	Development/d ^a	Conversion rate of BSFL/%	Material reduction rate/%
Control	83.50±6.81a	33.09±1.44a	13	8.83±0.61a	50.56±1.42a
Group 1	90.67±4.92ab	37.23±1.91abc	13	9.90±0.41abc	54.19±1.97ab
Group 2	91.66±3.79b	41.04±3.29bc	13	10.88±0.27bc	54.40±1.31b
Group 3	92.06±2.31b	42.49±3.87c	13	11.52±1.36c	54.45±2.64b
Group 4	90.06±3.60ab	36.51±1.27abc	13	9.89±0.05abc	52.08±0.36ab
Group 5	86.78±3.97ab	33.53±3.99ab	13	9.12±0.64a	51.10±2.22ab
Group 6	87.22±2.66ab	35.21±0.38abc	13	9.43±0.24ab	51.72±2.22ab
Group 7	88.78±4.09ab	35.59±2.56abc	13	9.51±0.38ab	52.07±0.80ab

Results are all indicated as means±SD. Means in the same row with different letters are significantly different ($P=0.05$). ^a 6 day old larva to 50% prepupal stage

化；其他处理组对武汉亮斑水虻转化的促进效果不显著。组 3 的复配菌剂的添加比例对武汉亮斑水虻转化的促进效果最好，武汉亮斑水虻达到 50% 预蛹后，转化率比空白对照增加了 30.46%。

与空白对照组相比，不同处理组中鸡粪的减少率均有所提高，说明复配菌剂中的细菌不仅能够促进武汉亮斑水虻的生长和转化，细菌自身也可能具有转化处理鸡粪的能力。其中组 2 和组 3 复配菌剂的添加能够显著促进鸡粪的转化处理；其他处理组对鸡粪处理的促进效果不显著。组 3 复配菌剂的添加比例对鸡粪的转化处理效果最好，幼虫达到 50% 预蛹后，鸡粪减少率比空白对照增加了 7.69%。

研究结果显示，利用复配菌剂与武汉亮斑水虻联合转化鸡粪，与空白对照组相比，武汉亮斑水虻的存活率、虫体增重、水虻转化率、鸡粪减少率均有不同程度的提高，组 3 复配菌剂的添加对武汉亮斑水虻生长和转化的促进效果最好，组 3 的复配比例为 R-07:R-09:F-03:F-06=4:1:1:1，其中 R-07 菌株的添加量最高。在 7 个实验组中，对武汉亮斑水虻的生长和转化的促进效果：组 3>组 2>组 1>组 4>组 7>组 6>组 5，这一结果说明在 4 株细菌中，R-07 添加量适中时促生促转化效果最好，这一结果与细菌 R-07 单独与武汉亮斑水虻联合转化鸡粪实验结果相吻合。对武汉亮斑水虻生长和转化的促进效果随着 R-07 添加量的提高而增加；组 3 中 R-07 的添加量最为合适，继续提高 R-07 的含量(组 4)将会降低其对武汉亮斑水虻生长和转化的促进效果，但仍高于其他 3 组(组 5，组 6，组 7)。R-09 对武汉亮斑水虻生长和转化的促进效果随着复配菌剂中 R-09 添加量的提高而增加，但其对武汉亮斑水虻促生促转化的效果仍未达到 R-07 的水平。

3 讨论

亮斑扁角水虻幼虫在自然界以腐烂的有机物和动物粪便为食^[11]，将其应用在实际生产中后，有望改善畜禽粪便等有机废弃物带来的环境问题。但水虻转化鸡粪的效率有待提高，尤其是在水虻转化鸡粪产业化过程中如何有效提高水虻转化鸡粪的效率，提高水虻转化率，获得更多的水虻虫体用于动物饲料原料，将对今后的水虻产业化和环境治理有重要的影响。

亮斑扁角水虻幼虫在自然界复杂的取食环境决定其与环境微生物具有较强的互作关系。本研究中接种非水虻源微生物可以显著提高武汉亮斑水虻幼虫的成活率，具有益生作用。非水虻源微生物或许经昆虫取食后进入其消化系统，与定植在肠道中的微生物共同参与昆虫营养代谢，提供营养物质，帮助寄主抵抗外源病原侵入，激起寄主免疫功能等^[12]。由于水虻成虫不再进食，故幼虫需要积累大量的营养物质供应幼虫成长和成虫存活^[13]。益生微生物能够帮助水虻消化难以吸收的营养物质，经过微生物预处理后，水虻幼虫能够直接吸收小分子营养物质^[14]。本研究中非水虻来源的微生物皆能够促进水虻幼虫将鸡粪中的营养物质转化为水虻幼虫自身物质，通过比较获得一组非水虻源微生物复合菌剂能够高效促进水虻转化鸡粪，与前期不接种微生物的研究相比，鸡粪减少率显著增加^[4-5,15]。同时，将 6 日龄水虻接种到鸡粪中，转化 13 d 后，约 50% 幼虫进入预蛹阶段，即从卵孵化到 50% 幼虫进入预蛹阶段仅需 19 d，与喻国辉的添加微生物与水虻共转化时间相比(从虫卵孵化到第一个预蛹出现至少需要 22 d)，大大提高了水虻转化鸡粪的效

率^[10], 并且我们关注了添加微生物后对鸡粪减少率的影响。在相对较短的时间内, 提高鸡粪的减少率, 可以有效缓解鸡粪累积对周边环境造成的污染。

Sheppard 和 Newton 等^[4]经过十多年的研究, 建立了一个低成本的粪便处理系统, 可实现 8% 的鸡粪干物质转化成为含有 42% 蛋白和 35% 脂肪的水虻虫体, 能够消耗 50% 的粪便累积量, 并消化其中约 62% 的氮素成分。而本研究中, 水虻与微生物联合转化新鲜鸡粪, 转化率可高达 11.52%, 与上述研究(8%)相比有了很大的提高。国内早期有研究人员报道称水虻营养价值特别有利于水产养殖, 必需氨基酸含量超过 51.07%, 超过了 WHO/FAO 所规定的 40%^[16]。喻国辉的研究指出添加微生物与水虻共转化鸡粪, 水虻增重提高了 22.0%, 本研究结果显示添加复合菌剂后, 水虻增重提高了 28.41%, 水虻增重比喻国辉报道的高 6.41%^[10]。收获的老熟幼虫含有较高的蛋白和脂肪含量, 可以作为动物饲料添加剂^[17]或提取生物柴油^[18], 减轻蛋白饲料短缺的压力, 并提供新型能源。

畜禽粪便的物理化学状态决定了其在传统腐熟处理过程中需要添加一些辅助性材料, 以增加其透气性和调整 C/N 等物理化学参数, 并且在堆肥过程中需要不时进行翻料等工作, 而这些填充材料的添加也增加了成本的投入^[19]。但是, 在本研究中经水虻和微生物联合转化处理鸡粪等畜禽粪便, 当畜禽粪便含水率不超过 85% 时, 不需要添加鸡粪传统堆肥中所需的任何辅助性材料^[20], 转化过程中水虻自身的活动省去了机械翻料工作, 并且水虻与微生物的生理代谢促进了物料水分的散失, 转化后的残渣含水率在 50%–60%。

处理后的鸡粪残渣和虫粪成蓬松状态, 臭味基本上消失。

综上所述, 本研究筛选到一组能够高效促进武汉亮斑水虻幼虫转化鸡粪的非水虻来源微生物复合菌剂, 该复合菌剂不仅能够促进水虻转化率, 获得更多的虫体用于动物饲料, 同时更加有效地减少鸡粪积累对环境造成的污染, 该复合菌剂在水虻转化畜禽粪便中具有巨大的应用潜力。但水虻与微生物相互作用、实现物质快速转化的机制需要进一步研究。

参考文献

- [1] 杨再华. 中国水虻科分类研究(双翅目). 贵州大学硕士学位论文, 2007.
- [2] Newton L, Sheppard C, Watson DW, Burtle G, Dove R. Using the black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a value-added tool for the management of swine manure. Raleigh, NC: North Carolina State University, 2005: 1–17.
- [3] Sheppard C. House fly and lesser fly control utilizing the black soldier fly in manure management systems for caged laying hens. *Environmental Entomology*, 1983, 12(5): 1439–1442.
- [4] Sheppard DC, Newton GL, Thompson SA, Savage S. A value added manure management system using the black soldier fly. *Bioresource Technology*, 1994, 50(3): 275–279.
- [5] 周元武. 黑水虻对畜禽粪便的转化作用及其对蛋鸡的饲料应用价值. 华中农业大学学位论文, 2010.
- [6] Zhou F, Tomberlin JK, Zheng LY, Yu ZN, Zhang JB. Developmental and waste reduction plasticity of three black soldier fly strains (Diptera: Stratiomyidae) raised on different livestock manures. *Journal of Medical Entomology*, 2013, 50(6): 1224–1230.
- [7] 平磊. 利用亮斑扁角水虻转化畜禽粪便工艺条件的优化及应用. 华中农业大学硕士学位论文, 2010.
- [8] 杨森. 热带地区连续培养亮斑扁角水虻(*Hermetia illucens* L.)和生物转化猪粪研究. 华中农业大学硕士学位论文, 2010.
- [9] Jeon H, Park S, Choi J, Jeong G, Lee SB, Choi Y, Lee SJ. The

- intestinal bacterial community in the food waste-reducing larvae of *Hermetia illucens*. *Current Microbiology*, 2011, 62(5): 1390–1399.
- [10] Yu GH, Cheng P, Chen YH, Li YJ, Yang ZH, Chen YF, Tomberlin JK. Inoculating poultry manure with companion bacteria influences growth and development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae. *Environmental Entomology*, 2011, 40(1): 30–35.
- [11] Rehman KU, Cai MM, Xiao XP, Zheng LY, Wang H, Soomro AA, Zhou YS, Li W, Yu ZN, Zhang JB. Cellulose decomposition and larval biomass production from the co-digestion of dairy manure and chicken manure by mini-livestock (*Hermetia illucens* L.). *Journal of Environmental Management*, 2017, 196: 458–465.
- [12] Sharon G, Segal D, Ringo JM, Hefetz A, Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E. Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(46): 20051–20056.
- [13] Nguyen TTX, Tomberlin JK, Vanlaerhoven S. Ability of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae to recycle food waste. *Environmental Entomology*, 2015, 44(2): 406–410.
- [14] Zheng LY, Crippen TL, Singh B, Tarone AM, Dowd S, Yu ZN, Wood TK, Tomberlin JK. A survey of bacterial diversity from successive life stages of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) by using 16S rDNA pyrosequencing. *Journal of Medical Entomology*, 2013, 50(3): 647–658.
- [15] Diener S, Zurbrugg C, Tockner K. Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. *Waste Management & Research*, 2009, 27(6): 603–610.
- [16] Lin QX, Lin J, Wu ZQ. Effects of black soldier fly larvae content on feeding rate of loach in feed. *Feed Industry*, 2000, 21(8): 23–24. (in Chinese)
林启训, 林静, 吴珍泉. 饲料中水虻幼虫含量对泥鳅摄食率的影响. *饲料工业*, 2000, 21(8): 23–24.
- [17] Kroeckel S, Harjes AGE, Roth I, Katz H, Wuertz S, Susenbeth A, Schulz C. When a turbot catches a fly: evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute—Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 2012, 364–365: 345–352.
- [18] Zheng LY, Hou YF, Li W, Yang S, Li Q, Yu ZN. Biodiesel production from rice straw and restaurant waste employing black soldier fly assisted by microbes. *Energy*, 2012, 47(1): 225–229.
- [19] Zhu FX, Wang WP, Hong CL, Feng MG, Xue ZY, Chen XY, Yao YL, Yu M. Rapid production of maggots as feed supplement and organic fertilizer by the two-stage composting of pig manure. *Bioresource Technology*, 2012, 116: 458–491.
- [20] Li QW, Lü BN, Wang YB. Research progress of aerobic compost of poultry manure. *Journal of Agricultural Mechanization Research*, 2008, (9): 231–233. (in Chinese)
李清伟, 吕炳南, 王玉波. 鸡粪好氧堆肥研究进展. *农机化研究*, 2008, (9): 231–233.

Chicken manure co-conversion by *Hermetia illucens* larvae with non-associated microorganism

Xiaopeng Xiao, Peng Jin, Minmin Cai, Longyu Zheng, Wu Li, Ziniu Yu, Jibin Zhang*

State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, National Engineering Research Center of Microbial Pesticides, College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei Province, China

Abstract: [Objective] Aimed at studying co-conversion of chicken manure by black soldier fly larvae (BSFL) with non-associated microorganism, we evaluated the influence of larval non-associated microorganism on this conversion. [Methods] Bacteria were determined by plating serial dilutions of chicken manure and pig manure composting on LB agar plates. Each isolated strain was inoculated into sterile chicken manure and converted with BSFL. The conversion effect and the influence to BSFL were evaluated. Bacteria that efficiently promoted the conversion of chicken manure were selected and mixed in different proportions. Different bacteria mixtures were inoculated into fresh chicken manure with BSFL to analyze the efficacy of the mixed inoculation on manure conversion. [Results] Compared with the control, strain R-07, R-09, F-03 and F-06 significantly promoted the growth of BSFL and degradation of chicken manure. Conversion rate of the group inoculated with these four strains increased by 27.21%, 15.00%, 9.93% and 16.29%, respectively. Manure degradation rate increased by 17.94%, 10.42%, 7.84% and 9.27%, respectively. When the proportion of inoculated mixture was R-07:R-09:F-03:F-06=4:1:1:1, the co-conversion efficacy was the best. Compared with the control, the survival rate of BSFL increased by 10.25%, the BSFL weight increased by 28.41%, the conversion rate increased by 30.46%, and the manure degradation rate increased by 7.69%. [Conclusion] Chicken manure co-conversion by BSFL and selected non-associated microorganism could obviously enhance the efficacy of larval conversion. These results will help improve the BSFL conversion system and develop new-type co-conversion of livestock and poultry manure more efficiently.

Keywords: black soldier fly larvae, non-associated microorganism, co-conversion, chicken manure

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities, China (2662016PY110), by the “Yellow Crane Talent Plan” Project of Wuhan City and by the Special Fund for the Agro-Scientific Research in the Public Interest, China (201303094)

*Corresponding author. Tel: +86-27-87287701; Fax: +86-27-87287254; E-mail: zhangjb@mail.hzau.edu.cn

Received: 29 September 2017; Revised: 13 December 2017; Published online: 3 January 2018

张吉斌, 1965年7月出生, 教授、博士生导师、农业微生物学国家重点实验室功能微生物与食用昆虫研究团队负责人、农业部微生物产品质量监督检验测试中心(武汉)副主任, 全国食用昆虫与微生物转化废弃物及资源化利用研讨会召集人。生物农药与生物防治产业技术创新战略联盟理事, 第四批黄鹤英才人才项目获得者, 主要研究方向为功能微生物与昆虫水虻联合转化有机废弃物资源化利用研究与应用, 昆虫微生物组研究。先后主持承担国家“973”计划课题、农业部公益项目、国家自然科学基金, 湖北省重点项目等10多项。在 *Journal of Cleaner Production*、*Bioresource Technology* 等国内外学术刊物上发表论文60多篇, 申请专利22项, 授权专利11项, *Journal of Cleaner Production* 等国际期刊审稿人。

