



蚯蚓二次堆肥生化特性的动态变化趋势及其微生物演替规律

张志剑^{1*}, 王先哲^{1,2}, 许绍伟³, 黄恩², 沈建林²

¹浙江大学环境与资源学院, 环境健康研究所, 浙江 杭州 310058

²杭州谷胜农业科技有限公司, 浙江 杭州 311105

³浙江丽庭环境科技有限公司, 浙江 杭州 310052

摘要:【目的】通过培养试验动态观察了蚯蚓在后续二次堆肥过程中生化特性的动态变化趋势, 研究了堆体微生物生态的动态演替规律, 讨论了蚯蚓二次堆肥的稳定化机理。【方法】采取盛有蚯蚓的圆桶埋入大条垛发酵堆体的动态培养试验, 在为期 49 d 的测试期内间隔 7 d 动态采样, 采用 16S rRNA 高通量测序开展蚯蚓堆体样品的微生物多样性与群落结构分析以及代谢功能预测。【结果】蚯蚓堆体经历 2 周快速升温至 68.7 °C 后, 逐步降温至第 49 天的 37.7 °C, 总有机碳、溶解性有机质(DOM)、pH 分别达到 67.3%、18.4 g/kg、8.0。在堆体熟腐过程中, Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数等微生物多样性水平均随堆肥进程而快速增加, 而后缓慢下降至结束时的 7.45、0.98 和 985。16S rRNA 测序发现, *Bacteroidetes* (拟杆菌门)、*Firmicutes* (厚壁菌门)、*Proteobacteria* (变形菌门)与 *Actinobacteria* (放线菌门) 等是堆体微生物群落的主要菌群。与此同时, *Corynebacteriaceae* (棒状杆菌科)从初始的 35.7%下降至结束时的 6.5%, *Flavobacteriaceae* (黄杆菌科)则从 3.22%逐步增长至 12.6%, *Porphyromonadaceae* (单胞菌科)快速增加至 11.5%之后缓慢下降至与初始水平相当的 5.1%。PICRUSt 预测发现, 在整个蚯蚓堆肥过程中, 氨基糖和核苷酸糖代谢、碳固定通路、甲烷代谢等功能平均相对丰度保持较强水平, 且均在堆肥中期(第 15–35 天)出现峰值, 后续均呈现下降态势。脂肪代谢、不饱和脂肪酸生物合成代谢、多环芳烃降解以及硫代谢等平均相对丰度较弱的代谢功能呈现先降后升的特征。【结论】蚯蚓二次堆肥过程中, 物料含水量与 DOM 快速下降、有机质降解逐步完成以及物料微生物结构与功能趋于稳定等, 堆制腐熟后的蚯蚓生化性质稳定, 有利于蚯蚓有机肥农田再利用。

关键词: 黑水蚯蚓, 餐厨垃圾, 有机肥, 发酵, 资源再生

基金项目: 国家自然科学基金(41373073); 浙江省重点研发计划(2015C03SA420001)

*通信作者。Tel: +86-571-88982057; E-mail: zhangzhijian@zju.edu.cn

收稿日期: 2019-12-13; 修回日期: 2020-03-11; 网络出版日期: 2020-09-27

随着人民生活水平的提高,我国餐厨垃圾产生量已突破 6000 万 t,且每年增速在 10%以上^[1]。若不及时处理与处置,上述有机废弃物极易引发土壤、大气以及水体污染。利用自然生态系统中的一种腐食性昆虫——黑水虻(*Hermetia illucens L.*)作为生物反应器(图 1-A),在 10–15 d 内,通过黑水虻幼虫的取食、生长和代谢,并协同环境微生物^[2–3],将有机废弃物(如餐厨垃圾)快速且“定向地”转化为黑水虻蛋白和虻粪,并实现废弃物减量化,即为废弃物黑水虻生物转化技术^[4–5]。黑水虻虫体是各类动物(特别是水产与禽类)饲料的理想蛋白源。由于高效地解决了餐厨垃圾环境污染的

同时收获价值可观的生物制品(黑水虻蛋白和虻粪),此技术具有鲜明的技术特色与优势!

黑水虻转化技术可实现废弃物 32%–72%的减量率,黑水虻蛋白获得率为 3.7%–11.8%^[6]。项目组前期黑水虻餐厨垃圾转化效能研究发现,上述两项指标分别为 37.8%和 9.5%^[5]。理论上讲,经“虫-渣分离”工艺后获得的虻粪是农田施肥的理想有机肥。但是,项目组实地调查发现,虻粪生化性质仍然不稳定,即“半生不熟”,表现为恶臭与氨气排放大、堆体易升温、含水量过高、且极易滋生蚊蝇等,这与前人研究发现相类似^[7–8]。如果直接将这种不稳定的虻粪施用于农田,此类未曾腐

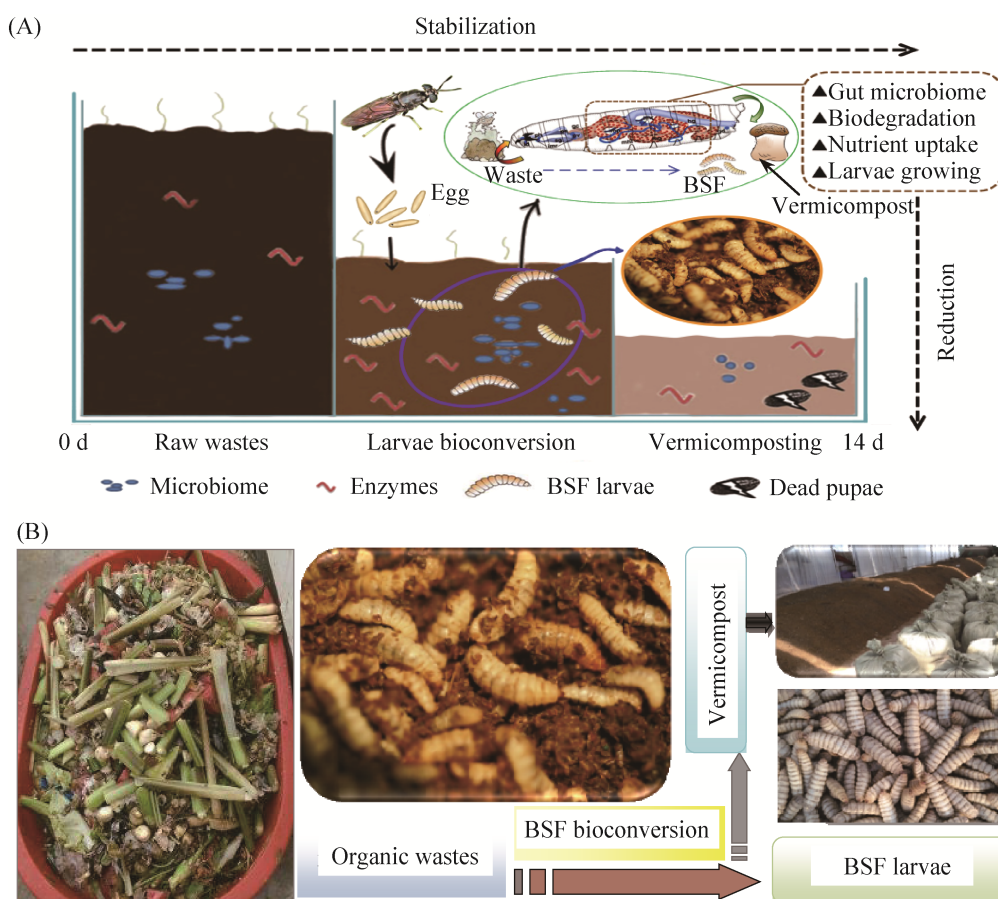


图 1 废弃物昆虫生物转化基本原理与过程

Figure 1. Basic mechanisms and process of carrion insect bioconversion for waste-to-resource. A: the model of black soldier fly (*Hermetia illucens L.*, BSF) larvae vermicompost; B: photos taken in the tested site —— Hangzhou Gusheng Agricultural Technology Company Limited.

熟的有机质将在土壤微生物的作用下,再次发生明显的降解与发酵,从而造成土壤发热(俗称“二次发酵”)而损伤植物根系^[9-10]。目前,大量的废弃物黑水虻生物转化研究主要集中在“前端”的废弃物转化与降解,而对于后续的黑水虻粪稳定化再处理鲜有报导。黑水虻转化过程中,昆虫肠道及其特定微生物对餐厨垃圾物料进行了强烈的“改造”,明显地改变黑水虻粪物料的微生物结构与功能^[5]。这种生物改造极有可能显著地影响二次发酵黑水虻粪的微生物代谢及其生化特性,而目前研究人员尚未开展过类似的研究,这制约了我们从微生物结构与功能的角度认识黑水虻粪二次发酵的熟化过程。此外,溶解性有机质(Dissolved organic matter, DOM)在堆肥过程中作为固-液界面中最为活跃的有机质,同时也是微生物生长繁殖的重要能源^[11],能反映出有机质的相对稳定性,从而表征堆肥的腐熟度^[12]。因此,在黑水虻转化餐厨垃圾完成的基础上,仍需对黑水虻粪进行后续的发酵腐熟,即二次堆肥,以期获得生化稳定的黑水虻粪有机肥,安全地应用于农田作物生产。

目前,杭州市常住人口达到1036万人,餐厨垃圾日产生量突破1000 t/d。若经过黑水虻生物转化,仍然剩余近500 t/d的黑水虻粪;以此类推全国范围内日残留黑水虻粪高达6-7万 t/d。这些数量可观“半生不熟”的黑水虻粪,若不及时处理与资源化再利用,其二次污染的风险不容忽视。鉴于此,我们利用合作单位(杭州谷胜农业科技有限公司, www.hzgzsheng.com)日处理15 t餐厨垃圾的黑水虻生物转化实体工程为供试基地(图1-B),将虫渣分离后获得的新鲜黑水虻粪,盛于圆柱形塑料桶内,

并埋入大条垛发酵堆体中,开展为期49 d的培养试验;动态观察了黑水虻粪在后续二次堆肥过程中生化特性的动态变化趋势,采用16S rRNA高通量测序研究了堆体微生物生态的动态演替规律,并讨论了黑水虻粪堆肥的稳定化机理。

1 材料和方法

1.1 试验地点及供试材料

杭州谷胜农业科技有限公司(30°24'19.69" N, 120°10'22.53" E)于2016年7月在浙江省杭州市余杭区创建了日处理餐厨垃圾15 t的黑水虻生物转化实体工程。经虫-渣分离工艺后,获得含水量65%左右的混合物料(表1),即黑水虻粪。

1.2 试验设计

实验测试时间为2017年12月19日至2018年2月6日,共49 d(以堆体腐熟温度显著下降至基本平稳为止)。将前一日分离得到的75 kg黑水虻粪充分混匀后,分装成3等份,即重复3次(每份25 kg);将试验样分别放置于直径37 cm、高度52 cm的圆柱状塑料桶;再按间距9.0 m将测试圆桶(露出上平口)埋入长25 m、宽2.6 m、高0.9 m的同期大条垛式堆体中,以确保供试圆桶与实际条垛堆肥的操作条件及其环境参数一致。以7 d为采样间隔时间,标识依次为1、7、14、21、28、35、42、49 d,共8次采样。采样时,分别采取桶内物料的表层、中心和底层200 g,混匀充分后放置便携式低温采样箱,2 h之内带回实验室并保存于-80 °C的冰箱内,供后续样品处理和检测。

表1. 供试黑水虻粪混合物料的基本理化性质

Table 1. Physicochemical properties of BSF vermicompost before secondary composting

pH	Moisture/%	DOM/(g/kg)	Ammonium/(mg/kg)	Nitrate/(mg/kg)	Total nitrogen/(g/kg)	Olsen-P/(g/kg)
7.20±0.60	65.70±0.81	58.6±3.9	191.0±12.6	11.8±3.1	24.7±4.8	2.06±0.45

1.3 基本理化分析

参考文献[13], 测试样品的 pH、含水量、总有机碳、氮与磷等基本理化指标。参照文献[14-15]进行溶解性有机质(DOM)测试: 冻干样品过 20 目过筛后, 按样品: 超纯水为 1: 10 (重量比)混匀, 25 °C 下恒温 200 r/min 振荡 2 h, 随后 10000 r/min 离心 15 min, 取上清液并经 0.45 μm 孔径膜过滤, 得 DOM 的测试液; 采用 TOC 分析仪(Multi N/C 3100, 德国)测定, 并将检测值乘系数 1.72 得 DOM 含量。

1.4 样本 DNA 提取与测序

将-80 °C 超低温冰存样品冷冻干燥后, 采用美国 MoBio 公司的 DNA 提取试剂盒, 获得蚯蚓堆肥样品的 DNA。经超微量核酸检测仪(NanoDrop2000, ABI, America)检测浓度和质量把控后, 将 DNA 样品送至北京诺禾致源生物信息科技有限公司, 进行 16S rRNA 高通量测序分析。采用 Hiseq 2500 基因测序系统进行双端测序分析, 选用 515F/907R 正反向扩增引物对样品中 16S rRNA 基因片段中的可变区 V4-V5 进行 PCR 扩增^[5,16]。

1.5 数据统计分析

采用 QIIME v1.9.1 软件包对原始数据进行在线处理。以相似性阈值 97%为界, 采用 Ucust v1.2.22q 软件进行 OTUs (Operational taxonomic units)聚类分析。以 GreenGenes 数据库, 开展基于 OTUs 样品微生物群落结构组成进行谱图信息分析^[17]。以 Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数等参数, 采用 QIIME v1.9.1 软件包计算堆体样品的微生物群落 α 多样性分析。使用 SPSS 19.0 对样品进行单变量方差分析(one-way ANOVA)。采用 R v3.5.3 的“ggplot2”和“reshape2”包实现数据的可视化。采用 LefSE (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/>)来估算蚯蚓堆肥过程中的样品微生物物种相对平均丰度差异, 并识别具有显著性差异的菌种。最后采用线性判别分析(LDA)对数据进行降维和评估差异显著的菌种的影响力(即 LDA 分值), 并使用分类直方图进行表示。采用 PICRUST (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States)工具对上述样品测试所得 OTUs 进行菌群的代谢功能预测, 以箱型图的形式进行数据可视化展示。

edu/galaxy/)来估算蚯蚓堆肥过程中的样品微生物物种相对平均丰度差异, 并识别具有显著性差异的菌种。最后采用线性判别分析(LDA)对数据进行降维和评估差异显著的菌种的影响力(即 LDA 分值), 并使用分类直方图进行表示。采用 PICRUST (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States)工具对上述样品测试所得 OTUs 进行菌群的代谢功能预测, 以箱型图的形式进行数据可视化展示。

2 结果和分析

2.1 蚯蚓二次堆肥过程中理化性质的变化特征

如图 2 所示, 在蚯蚓堆肥过程中, 温度从起

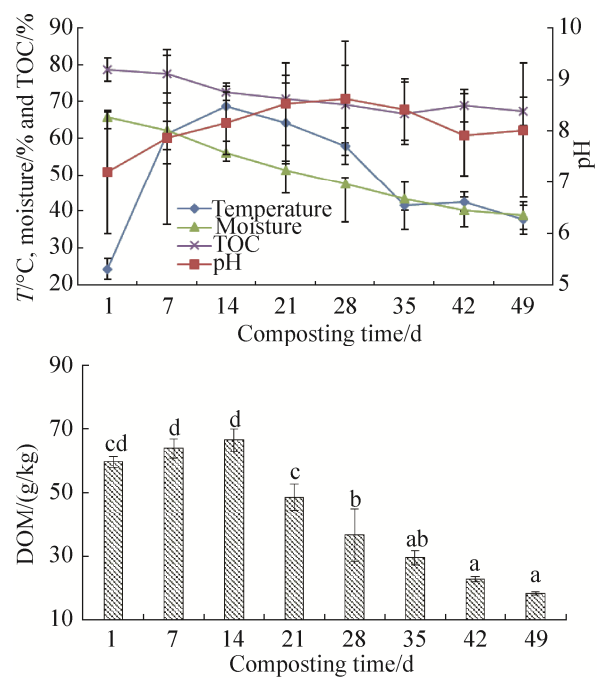


图 2. 蚯蚓二次堆肥过程中温度、pH 值、含水量、总有机碳(TOC)及溶解性有机质(DOM)的动态变化
Figure 2. Changes of temperature, pH, moisture, total organic carbon (TOC) and dissolved organic matter (DOM) in BSF vermicompost during secondary composting.

始时的 24.3 °C 快速上升至第 14 天的 68.7 °C, 然后呈现较缓慢下降, 直至第 49 天的 37.7 °C。这种体现中温、高温和回温的温度变化特征与畜禽粪便堆肥温度曲线^[10,18]相一致, 可以认为腐熟的蚯蚓粪其作物的发芽指数达到正常水平。pH 值从开始时的微碱性(7.2)逐步上升至第 28 天的最高峰值 8.63, 后基本稳定在 8.0 左右, 呈现弱碱性。由于温度的快速上升和稳定下降, 堆体含水量从起始时的 65.7%快速下降至第 21 天的 51.3%, 此后较缓慢下降至第 49 天的 38.9%。与此同时, 堆体(干物质)总有机碳从 78.6%持续下降至结束时(第 49 天)的 67.3%。显然, 理化特性的变化, 与堆体胞外酶(如纤维素酶、蛋白酶、脱氢酶等)和微生物(如梭菌、纤维素降解菌等)联合作用快速降解有机质^[5,10,19], 导致堆体温度和 pH 规律性变化以及物料和水份显著下降。上述理化指标随时间的动态演变趋势可以推测: 经过 49 d 的二次堆肥发酵后的蚯蚓粪有机肥

其温度、酸碱度、含水量及总有机质趋于稳定。

在蚯蚓堆肥过程中, 堆体物料 DOM 含量从初始的 59.7 g/kg 缓慢增加至第 14 天的 66.5 g/kg (图 2)。此后在第 14–28 天, DOM 含量呈现随时间快速下降趋势($P<0.05$), 但进入腐熟后期, 下降趋势明显放缓直至结束时(第 49 天)的 18.4 g/kg。DOM 的这种下降特征主要与堆体物料易降解有机分子快速降解和剩余有机质呈现腐殖化有关^[15,18]。DOM 这种前期升高、中期快速下降、后期缓慢下降的动态变化规律间接地反映了堆体内微生物生长及其对物料的代谢强度, 而后期的缓慢下降特征说明堆肥生化性质趋于稳定化, 农田施肥的负效应显著下降。

2.2 堆体微生物群落 α 多样性分析

在堆体熟腐过程中, Shannon 指数($P<0.05$)、Simpson 指数($P<0.001$)和 Chao1 指数($P<0.001$)等微生物群落多样性参数均随堆肥时间的递增呈现显著的统计学差异(图 3)。在堆肥初期的 14 d 内,

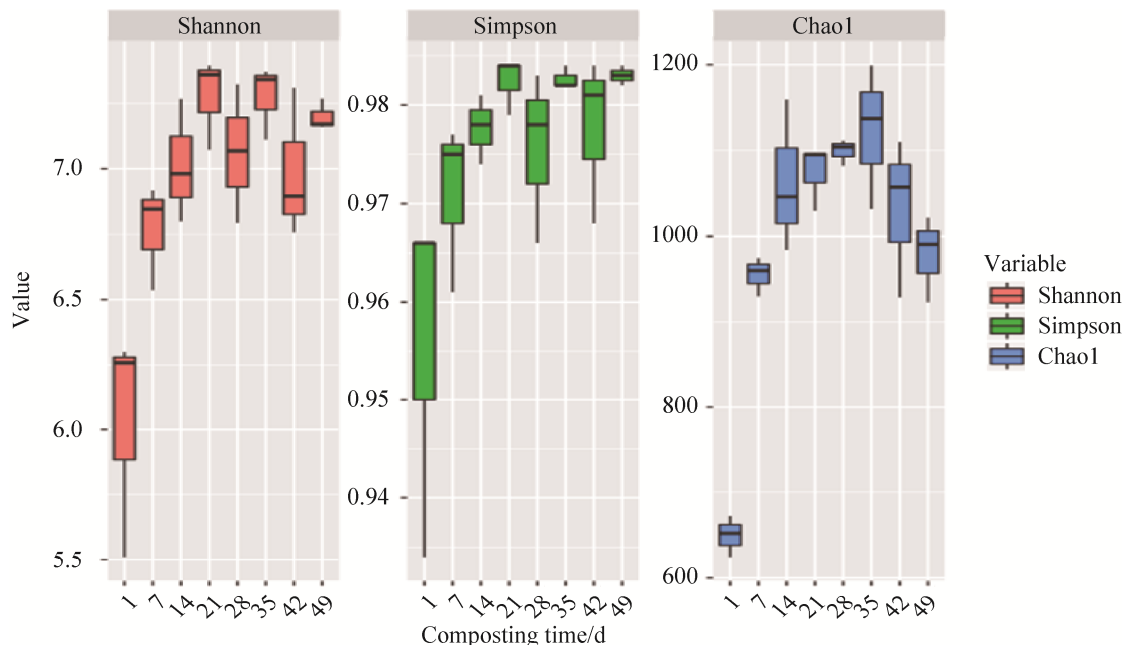


图 3. 蚯蚓粪二次堆肥过程中微生物群落多样性的变化

Figure 3. Changes of alpha diversity of microbial communities in BSF vermicompost during secondary composting.

Shannon 指数从 6.02 增长至 7.03; Simpson 指数均值从 0.95 增长至 0.97; Chao1 指数则相应地由 649 增长到 1025。此后, 以上三项微生物多样性指数随堆肥时间递增呈现一定的波动并呈现下降趋势。至堆肥结束时, Shannon 指数、Simpson 指数、和 Chao1 指数均值分别达到 7.45、0.98 和 985。显然, 堆体微生物多样性的动态变化规律与物料 DOM 的动态特征相一致。这也与我们前期有关餐厨垃圾黑水虻转化^[5]和猪粪蝇蛆转化^[16]过程中物

料的微生物多样性态势变化基本一致。

2.3 堆体微生物群落组成及差异分析

基于 16S rRNA 基因片段的高通量测序结果分析得到, 蛇粪在堆肥过程中, 堆体内微生物群落物种组成在门、科层次上的相对丰度变化呈现规律性变化。如图 4 所示。

由图 4 可知, 在堆肥过程中, 堆体微生物群落组成呈现显著变化。堆体中 *Bacteroidetes* (拟杆菌门) 的平均相对丰度由初始时的 19.8% 增长至第

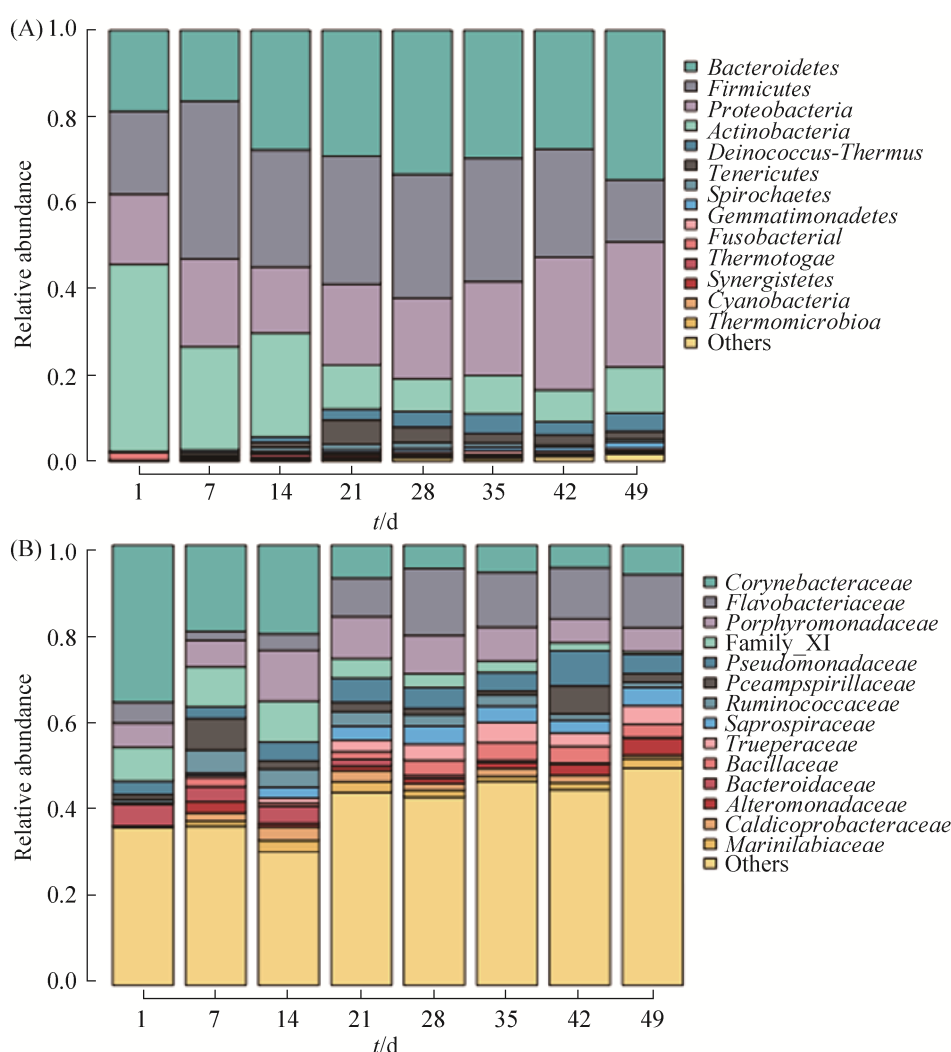


图 4. 蛇粪二次堆肥过程中微生物群落门(A)与科(B)水平组成的相对丰度

Figure 4. Relative abundance of microbial phylum (A) and family (B) composition in BSF vermicompost during secondary composting.

49 天时的 36.4%。相应地, *Firmicutes* (厚壁菌门) 在堆肥开始时的 19.3% 增长至第 28 天时的 26.5%, 此后较快速地下降至第 49 天时的 14.4%。而 *Proteobacteria* (变形菌门) 则从初始的 18.3% 呈现缓慢增长至第 35 天时 22.5%, 此后快速增长并稳定在 31.6% (第 49 天)。与此同时, *Actinobacteria* (放线菌门) 的相对丰度从初始的 43.4% 大幅下降至第 21 天时的 10.8%, 之后小幅波动后达到结束时的 11.4%。本研究物料核心微生物菌群组成与以牛粪^[20]和易腐生活垃圾^[21]为原料的堆肥过程相一致, 这也说明了堆体物料逐步地腐熟与稳定。除了上述 4 个优势微生物菌群之外, 随着堆体逐步腐熟, 出现了更多特征性微生物群落。其中, *Deinococcus-Thermus* (异常球菌-栖热菌门) 增加显著, 由堆肥初始时的 0.03% 增长到结束时的 4.57% (第 49 天); *Tenericutes* (柔膜菌门) 从初始的 0.09% 增长到 5.59% (第 21 天), 后下降至结束时的 1.9%; *Spirochaetes* (螺旋体门) 从初始时几乎无增长至第 28 天的 0.97%, 之后稳定在 0.97%–1.37% 并下降至结束时的 0.52%。

如图 4 所示, 从科水平来看, 堆肥过程中微生物群落组成发生了显著变化。其中, *Corynebacteriaceae* (棒状杆菌科) 从初始的 35.7% 快速下降到第 21 天的 7.50%, 此后维持在 5%–7% 范围。*Flavobacteriaceae* (黄杆菌科) 在堆肥初期的 3.22% 激增到第 28 天的 15.2%, 此后稳定在 12.6% 左右。*Porphyromonadaceae* (紫单胞菌科) 快速增加至 11.5%, 之后缓慢下降至与初始水平相当的 5.1%。除在第 42 天出现异常激增外, *Pseudomonadaceae* (假单胞菌科) 均稳定在 2.7%–5.5% 范围内。研究发现^[22–23], 当物料易降解有机质含量高时, 堆体物料中 *Corynebacteriaceae* 丰度较高, 而当物料腐殖化显著时相应地 *Pseudomonadaceae* 丰度增加。而在餐厨垃圾黑水虻转化过程中, 主要是

Corynebacteriaceae (40.4%) 而不是 *Porphyromonadaceae* 的丰度占居优势^[5]。在本研究中, 二次堆肥结束时物料 *Corynebacteriaceae* 丰度较低和中后期 *Pseudomonadaceae* 丰度稳定的特征, 再结合温度与 DOM (图 2) 显著下降的现象, 可以认为这种二次堆肥的过程实现了蛇粪的稳定化与腐熟。除此之外, *Ruminococcaceae* (瘤胃菌科) 在堆肥初始时占 0.75%, 在第 28 天至 35 天内增加至 5.21%, 之后逐渐下降至堆肥结束时的 1.15%。*Saprospiraceae* (腐螺旋菌科)、*Trueperaceae* (特吕珀菌科) 及 *Bacillaceae* (芽孢杆菌科) 等均呈现随堆肥时间的增加而逐渐增长的共同特征, 至测试结束时达到 3%–4% 的水平; 而 *Alteromonadaceae* (交替单胞菌科) 从 0.06% 逐渐增加到 3.96%。其他不明菌群 (Others) 也呈增长趋势。

2.4 堆体微生物代谢功能分析

经 PICRUSt 工具预测分析发现 (图 5), 在整个蛇粪堆肥过程中, 氨基糖和核苷酸糖代谢、碳固定通路、甲烷代谢、嘌呤代谢的平均相对丰度保持较强水平。除了嘌呤代谢随堆肥过程呈现一致的下降趋势之外, 前述三大代谢均在堆肥中期 (第 15–35 天) 出现峰值, 后续均呈现下降态势。如甲烷代谢, 从始终的相对丰度 1.78%, 快速上升至第 21 天时的 2.38%, 随后显著下降至第 49 天的 2.04%。部分代谢功能呈现先降后升的特征, 如脂肪代谢、不饱和脂肪酸生物合成代谢、多环芳烃降解以及硫代谢等。如不饱和脂肪酸生物合成代谢, 从初始的 0.5% 下降至第 21 天的 0.44%, 再度随堆体腐熟而上升至第 49 天的 0.53%。其余代谢功能基本呈现相对稳定水平, 如氮代谢、生物素代谢、硫辛酸代谢等。我们前期黑水虻转化餐厨垃圾的研究中发现^[5]: 黑水虻堆体物料中主要的功能代谢是三羧酸循环、糖酵解、硫化物代谢和胞

外压力反应等，且平均相对丰度均显著大于自然堆放组；但黑水虻的作用导致聚合物水解、电子转化和糖类及其衍生物的合成等主要代谢显著下降。显然，虻粪虽然是前端黑水虻转化餐厨垃圾的残留物，但在二次堆肥过程中的主要微生物功能及其代谢发生了显著的变化。而此代谢功能的变化与本次研究堆体微生物菌群结构(图4)发生变化密切相关。牛粪堆肥中相关纤维素、蛋白质以

及葡糖苷等胞外酶活性随 *Nonomuraea* (诺诺菌属)、*Desemzia* (德塞菌属)、*Virgibacillus* (梭状芽胞杆菌属)和 *Achromobacter* (无色杆菌属)等菌群的丰度上升而加强，从而促进牛粪腐熟^[10]。而堆体 DOM 的芳香度和腐殖质化与 *Luteimonas* (黄体假单胞菌)和 *Sphingobacteriaceae* (鞘脂杆菌科)密切相关^[15,18]，从而加快了虻粪二次堆肥物料中活性有机质的降解(图 2, 图 5)。

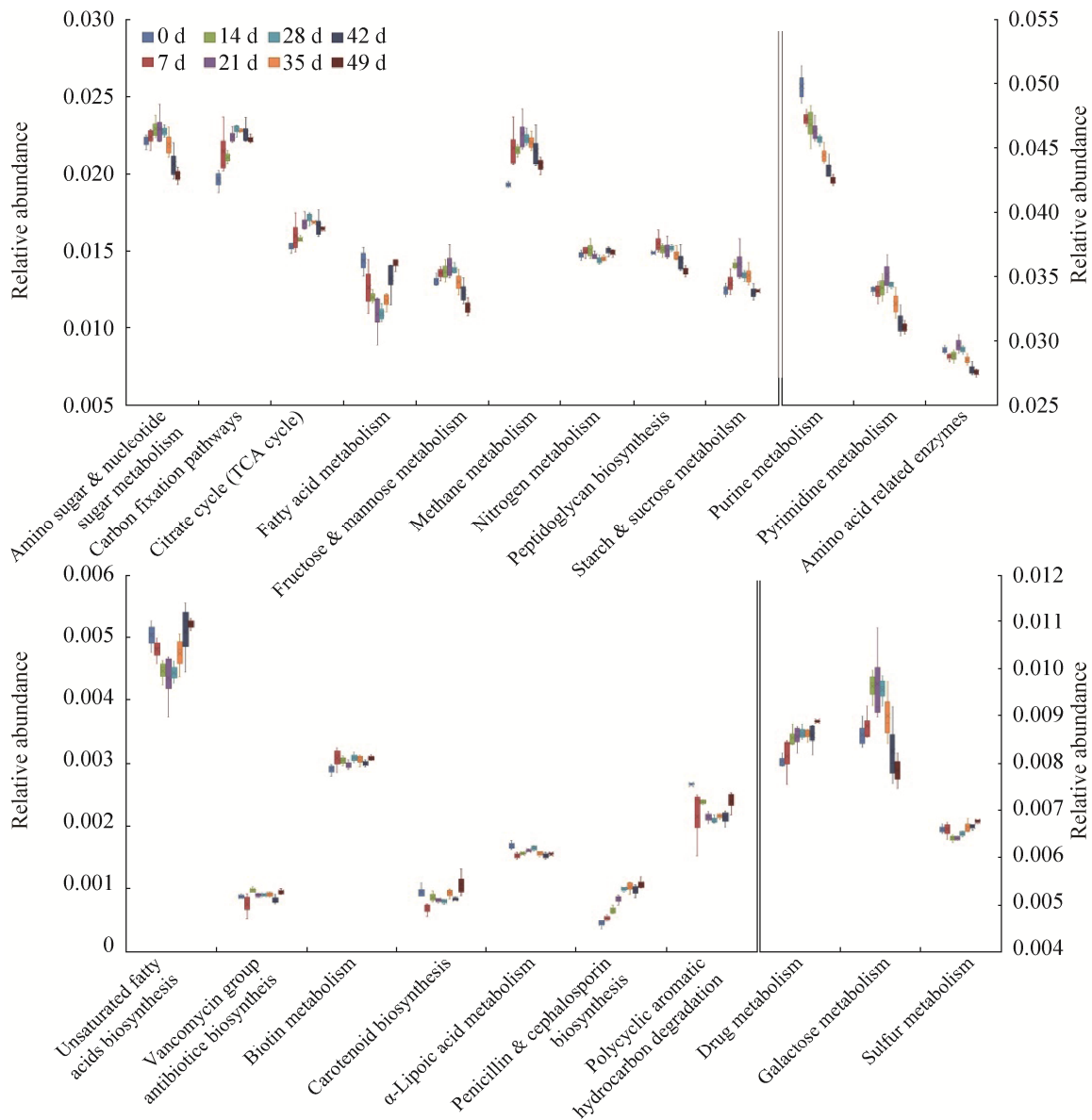


图 5. 虻粪二次堆肥过程中代谢功能平均相对丰度变化箱图

Figure 5. Box-plots of relative abundance of functional groups in BSFL vermicompost during secondary composting.

结合前述堆体中 *Bacteroidetes*、*Firmicutes*、*Proteobacteria* 与 *Actinobacteria* 等是物料在二次堆肥过程中不断降解并累积稳定性物质的主要“劳动者”，而这其中诱导了 *Corynebacteriaceae* 与 *Porphyromonadaceae* 丰度的下降和 *Flavobacteriaceae* 显著增长。由此导致微生物组在氨基糖和核苷酸糖代谢、碳固定通路、甲烷代谢等功能方面加强，并随着物料可降解物质(特别是 DOM)的持续消耗，上述微生物组代谢功能显著下降并趋于稳定，物料的生长性质随之稳定，符合蚯蚓粪有机肥农田应用标准。与此同时，堆体脂肪代谢、不饱和脂肪酸生物合成代谢、多环芳烃降解以及硫代谢等呈现小幅的先降后升特征，可以推测堆体与挥发性有机酸、持久性有机物以及恶臭相关的物质也随之被降解，从而促进堆体更符合环境友好特性，减少蚯蚓粪有机肥农用造成的次生环境问题。

3 小结

通过本次的培养试验动态观察蚯蚓粪二次堆肥过程，发现其生化特性及其微生物菌群特征与我们前期黑水虻转化餐厨垃圾过程中的物料生化特性^[5]有着显著差异，也区别于动物粪便堆肥过程中的生物代谢及其主要微生物结构^[6,10,20,22]。蚯蚓粪二次堆肥过程中，温度经过前 2 周快速升高(峰值达 68.7 °C)后，逐步降温至第 49 天的 37.7 °C。此过程中，堆体微生物体系的 Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数等多样性水平均随堆肥进程而快速增加，而后缓慢下降至结束时的 7.45、0.98 和 985。*Bacteroidetes*、*Firmicutes*、*Proteobacteria* 与 *Actinobacteria* 等微生物群落成为堆体的主要菌群。与此同时，堆体中的氨基糖和核苷酸糖代谢、碳固定通路、甲烷代谢等功能平均相对丰度保持

较强水平，尤其是堆肥前期；相应的脂肪代谢、不饱和脂肪酸生物合成代谢、多环芳烃降解以及硫代谢等平均相对丰度也呈现出上升的态势。以上微生物结构与代谢功能的协同作用，使得堆体的总有机碳、DOM、pH 分别达到 67.3%、18.4 g/kg、8.0，堆体熟腐化特征显现；并伴随温度和含水量的逐步下降，二次堆肥后的蚯蚓粪稳定化趋强，可以将腐熟后的蚯蚓粪作为新型生物肥料施用于农田。

参考文献

- [1] Bi SJ, Hong XJ, Han XL, Gao YM, Yan L, Wang WD, Wang YJ. Status and development of resource processing technologies of food waste. *China Biogas*, 2016, 34(2): 58–61. (in Chinese). 毕少杰, 洪秀杰, 韩晓亮, 高亚梅, 晏磊, 王伟东, 王彦杰. 餐厨垃圾处理现状及资源化利用进展. *中国沼气*, 2016, 34(2): 58–61.
- [2] Bruno D, Bonelli M, De Filippis F, Di Lelio I, Tettamanti G, Casartelli M, Ercolini D, Caccia S. The intestinal microbiota of *Hermetia illucens* larvae is affected by diet and shows a diverse composition in the different midgut regions. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85(2): e01864–18.
- [3] 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.
- [4] Li K, Yang QZ, Lei CL, Zhu F. Status and prospects of the transformation of organic wastes by insects in China. *Journal of Environmental Entomology*, 2017, 39(2): 453–459. (in Chinese). 李逵, 杨启志, 雷朝亮, 朱芬. 我国利用昆虫转化有机废弃物的发展现状及前景. *环境昆虫学报*, 2017, 39(2): 453–459.
- [5] Jiang CH, Jin WZ, Tao XH, Zhang Q, Zhu J, Feng SY, Xu XH, Li HY, Wang ZH, Zhang ZJ. Black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) strengthen the metabolic function of food waste biodegradation by gut microbiome. *Microbial Biotechnology*, 2019, 12(3): 528–543.
- [6] Gold M, Tomberlin JK, Diener S, Zurbrugg C, Mathys A. Decomposition of biowaste macronutrients, microbes, and chemicals in black soldier fly larval treatment: A review. *Waste Management*, 2018, 82: 302–318.
- [7] Salomone R, Saija G, Mondello G, Giannetto A, Fasulo S, Savastano D. Environmental impact of food waste bioconversion by insects: Application of Life Cycle Assessment to process using *Hermetia illucens*. *Journal of Cleaner Production*, 2017, 140: 890–905.
- [8] Beskin KV, Holcomb CD, Cammack JA, Crippen TL, Knap AH, Sweet ST, Tomberlin JK. Larval digestion of different manure types by the black soldier fly (*Diptera: Stratiomyidae*) impacts associated volatile emissions. *Waste Management*, 2018, 74: 213–220.
- [9] Jia XH, Cao WD, Zhao YZ. Organic fertilizer processing and application. Beijing: Chemical Industry Press, 2010. (in

- Chinese)
贾小红, 曹卫东, 赵永志. 有机肥料加工与施用. 北京: 化学工业出版社, 2010.
- [10] Qiao CC, Penton CR, Liu C, Shen ZZ, Ou YN, Liu ZY, Xu X, Li R, Shen QR. Key extracellular enzymes triggered high-efficiency composting associated with bacterial community succession. *Bioresource Technology*, 2019, 288: 121576.
- [11] Shan GC, Xu JQ, Jiang ZW, Li MQ, Li QL. The transformation of different dissolved organic matter subfractions and distribution of heavy metals during food waste and sugarcane leaves co-composting. *Waste Management*, 2019, 87: 636–644.
- [12] Tang ZR, Xi BD, He XS, Tan WB, Zhang H, Li D, Huang CH. Structural characteristics of dissolved organic compounds during swine manure composting. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2018, 38(5): 1526–1532. (in Chinese) 唐朱睿, 席北斗, 何小松, 檀文炳, 张慧, 李丹, 黄彩红. 猪粪堆肥过程中水溶性有机物结构演变特征. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(5): 1526–1532.
- [13] Bao SD. Agro-chemical analysis of soil. Beijing: China Agricultural Press, 2016. (in Chinese) 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2016.
- [14] Gigliotti G, Kaiser K, Guggenberger G, Haumaier L. Differences in the chemical composition of dissolved organic matter from waste material of different sources. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 36(5): 321–329.
- [15] Wang H, Wang SY, Li HY, Wang B, Zhou QS, Zhang XM, Li J, Zhang ZJ. Decomposition and humification of dissolved organic matter in swine manure during housefly larvae composting. *Waste Management & Research*, 2016, 34(5): 465–473.
- [16] Wang H, Sangwan N, Li H, Su JQ, Oyang WY, Zhang ZJ, Gilbert JA, Zhu YG, Ping F, Zhang HL. The antibiotic resistome of swine manure is significantly altered by association with the *Musca domestica* larvae gut microbiome. *The ISME Journal*, 2017, 11(1): 100–111.
- [17] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters WA, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335–336.
- [18] Jiang ZW, Lu YY, Xu JQ, Li MQ, Shan GC, Li QL. Exploring the characteristics of dissolved organic matter and succession of bacterial community during composting. *Bioresource Technology*, 2019, 292: 121942, doi: 10.1016/j.biortech.2019.121942.
- [19] Jiang CL, Teng CY, Li J, Zhu J, Feng DH, Lou LP, Zhang ZJ. The effectiveness of bioconversion of food waste by housefly larvae. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2017, 23(6): 1159–1165. (in Chinese) 江承亮, 腾昌运, 李敬, 朱军, 封代华, 楼莉萍, 张志剑. 蝇蛆生物转化餐厨垃圾的效能评估. 应用与环境生物学报, 2017, 23(6): 1159–1165.
- [20] Sun Y, Men MQ, Xu BS, Meng QX, Bello A, Xu XH, Huang XN. Assessing key microbial communities determining nitrogen transformation in composting of cow manure using illumina high-throughput sequencing. *Waste Management*, 2019, 92: 59–67.
- [21] Steger K, Sjögren AM, Jarvis A, Jansson JK, Sundh I. Development of compost maturity and Actinobacteria populations during full-scale composting of organic household waste. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103(2): 487–498.
- [22] Silva MEF, Lopes AR, Cunha-Queda AC, Nunes OC. Comparison of the bacterial composition of two commercial composts with different physicochemical, stability and maturity properties. *Waste Management*, 2016, 50: 20–30.
- [23] Hénault-Ethier L, Bell TH, Martin VJJ, Gélinas Y. Dynamics of physicochemical variables and cultivable bacteria in vermicompost during steady food waste addition and upon feed interruption. *Compost Science & Utilization*, 2016, 24(2): 117–135.

Dynamic features of biochemical property and microbial succession of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L) vermicompost during secondary composting

Zhijian Zhang^{1*}, Xianzhe Wang^{1,2}, Shaowei Xu³, En Huang², Jianlin Shen²

¹ College of Environment and Natural Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang Province, China

² Hangzhou Gusheng Agricultural Technology Company Limited, Hangzhou 311105, Zhejiang Province, China

³ Zhejiang Liting Environmental Technology Company Limited, Hangzhou 310052, Zhejiang Province, China

Abstract: [Objective] The dynamic trends of biochemical property of black soldier fly (*Hermetia illucens* L., BSF)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41373073) and by the Zhejiang Science and Technology Innovation Program (2015C03SA420001)

*Corresponding author. Tel: +86-571-88982057; E-mail: zhangzhijian@zju.edu.cn

Received: 13 December 2019; Revised: 11 March 2020; Published online: 27 September 2020

<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

larvae vermicompost during the subsequent secondary composting was observed through the culture experiment, and the associated succession of microbial ecology of the BSF vermicompost and the stabilization mechanisms were also discussed. **[Methods]** Dynamic incubation experiment was conducted in which drums containing BSF vermicompost were buried into a full-scale biomass composting heap, and periodic sampling was conducted at intervals of 7 days during the 49-day testing period. 16S rRNA high-throughput sequencing was used to analyze the bacterial diversity, community structure and metabolic function of BSF vermicompost. **[Results]** After two weeks of rapid rising to 68.7 °C, the temperature of BSF vermicompost gradually decreased to 37.7 °C on the 49th day. When the experiment ended, the total organic carbon, dissolved organic matter (DOM) and pH value reached 67.3%, 18.4 g/kg and 8.0, respectively. The bacterial diversity of Shannon index, Simpson index and Chao1 index increased rapidly with the process of composting, and then decreased slowly to 7.45, 0.98 and 985 at the end. 16S rRNA sequencing shows that dominant phyla included *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* and *Actinobacteria* among the microbial communities. Meanwhile, *Corynebacteriaceae* decreased from 35.7% at the beginning to 6.5% at the end, *Flavobacteriaceae* gradually increased from 3.22% to 12.6%, and *Porphyromonadaceae* increased rapidly to 11.5% and then slowly decreased to 5.1% at the same level as the initial level. PICRUSt predicted that the average relative abundances of amino acid sugar and nucleotide sugar metabolism, carbon fixation pathway, and methane metabolism remained strong throughout the whole secondary composting process of BSF vermicompost, and all of them peaked at the middle stage of composting (day 15–35) then declined. The average relative abundances of fatty acid metabolism, unsaturated fatty acid biosynthesis metabolism, polycyclic aromatic hydrocarbon degradation and sulfur metabolism were shown as decreasing first with following of rising again. **[Conclusion]** During the secondary composting of BSF vermicompost, the biochemical features of materials and their microbial ecology have significantly changed along with apparent reductions of moisture, DOM, and total organic matters, thus promoting the rapid maturation and stabilization of BSF vermicompost, which is conducive to the farmland reuse of BSF vermicompost as a novel organic fertilizer.

Keywords: black soldier fly, food wastes, organic fertilizer, fermentation, resource regeneration

(本文责编: 李磊)



张志剑, 1973年7月生, 博士、博士生导师, 副教授。现供职于浙江大学环资学院, 任健康研究所副所长。美国 University of Minnesota 博士后(2002–2004)、Columbia University in the City of New York 访问学者(2011–2012)。浙江省优秀科技工作者(省委组织部等, 2013)、浙江省级青年岗位能手(团省委, 2010)、浙江省“钱江人才计划”获得者(省人社厅等, 2006), 中国昆虫学会-昆虫产业专业委员会委员。长期致力于昆虫反应器与废弃物资源化的产学研。目前, 在 *ISME J*、*Microbiome*、*Water Research*、《微生物学报》等国内外期刊上发表论文 80 余篇, 获得专利 30 余项, 获得省部科技进步一等奖 3 项, 新华社及央视等专题报道 4 次。2016 年, 创建了浙江省首个产业化运营的日处理 15 t/d “厨余垃圾黑水虻高效转化与再利用”实体工程(杭州市余杭区)。