

多菌种混合发酵玉米秸秆生产黄粉虫饲料的应用与研究

熊晓莉,熊屿吾

重庆工商大学 环境与资源学院,重庆 400067

摘要:在饲养黄粉虫时,饲料的成本占据了总饲养成本的 80% 左右。为了有效降低大规模饲养黄粉虫的成本,拟将玉米秸秆(CS)经过发酵处理后充当黄粉虫的常规饲料。研究了不同菌种组合发酵的玉米秸秆对黄粉虫生长的影响,先采用发酵处理的玉米秸秆养殖黄粉虫,再以黄粉虫的生长率为指标,筛选出最有利于黄粉虫生长的秸秆处理条件。最终结果表明,采用绿色木霉(*Trichoderma viride*,TV)、黑曲霉(*Aspergillus niger*,AN)、嗜热侧孢霉(*Sporotrichum thermophile*,ST)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*,BS)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*,AO)和产朊假丝酵母(*Candida utilis*,CU)多种菌种组合的发酵处理的玉米秸秆饲料利用率显著增高($P<0.05$),使用此饲料饲喂黄粉虫后生长效果好,生长率还高于使用纯麦麸喂养的黄粉虫的生长率,同时死亡率与纯麦麸喂养的黄粉虫持平。因此使用此种方法发酵处理后的玉米秸秆可作为黄粉虫的部分或完全替代饲料,为日后能生产新型黄粉虫的饲料从而有效降低黄粉虫相关养殖成本提供了实质性的依据。

关键词:黄粉虫;玉米秸秆;组合菌;饲料;餐厨垃圾

中图分类号:S899.9 **文献标识码:**A **doi:**10.16055/j.issn.1672-058X.2023.0004.002

Producing *Tenebrio Molitor* L. Feed by Multi-strains Fermentation of Corn Straw

XIONG Xiaoli, XIONG Yuwu

School of Environment and Resources, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China

Abstract: When feeding *Tenebrio molitor*, the cost of feed accounts for about 80% of the total feeding cost. In order to effectively reduce the cost of large-scale feeding *Tenebrio molitor*, it is planned to use the corn straw (CS) after fermentation as the conventional feed for *Tenebrio molitor*. The effects of corn straw fermented by different bacterial combinations on the growth of *Tenebrio molitor* were studied. Firstly, fermented corn straw was used to breed *Tenebrio molitor*, and then the straw treatment conditions that were most conducive to the growth of *Tenebrio molitor* were screened out with the growth rate of *Tenebrio molitor* as the index. The final results showed that the utilization rate of corn straw feed fermented with a combination of *Trichoderma viride* (TV), *Aspergillus niger* (AN), *Sporotrichum thermophile* (ST), *Bacillus subtilis* (BS), *Aspergillus oryzae* (AO) and *Candida utilis* (CU) was significantly increased ($p<0.05$). The feed had a good growth effect after feeding *Tenebrio molitor*. The growth rate was also higher than that of *Tenebrio molitor* fed with pure wheat bran, and the mortality was the same as that of *Tenebrio molitor* fed with pure wheat bran. Therefore, the corn straw fermented by this method can be used as a partial or complete substitute for the feed of *Tenebrio molitor*, which provides a substantial basis for the production of a new feed of *Tenebrio molitor* in the future so as to effectively reduce the related breeding costs of *Tenebrio molitor*.

Keywords: *Tenebrio molitor* L.; corn straw (CS); combination bacteria; feed; kitchen waste

收稿日期:2022-03-05 修回日期:2022-05-18 文章编号:1672-058X(2023)04-0011-08

基金项目:重庆市技术创新与应用发展专项面上项目(CSTC2020JSCX-MSXMX0076);重庆英才计划“包干制项目”技术创新与应用发展类项目(CSTC2021YCJH-BGZXM0242);重庆英才创新创业示范团队(CQYC201903189)。

作者简介:熊晓莉(1974—),女,四川广安人,硕士,高级实验师,从事农业废弃物资源化研究。Email: 853184045@qq.com。

引用格式:熊晓莉,熊屿吾.多菌种混合发酵玉米秸秆生产黄粉虫饲料的应用与研究[J].重庆工商大学学报(自然科学版),2023,40(4):11—18.

XIONG Xiaoli, XIONG Yuwu. Producing *tenebrio molitor* L. feed by multi-strains fermentation of corn straw [J]. Journal of Chongqing Technology and Business University (Natural Science Edition), 2023, 40(4): 11—18.

1 引言

我国每年可产生约 2.4 亿 t 玉米秸秆,仅少部分用于资源化开发利用^[1],利用率不足 1/3。因此,加大对玉米秸秆的综合利用,对促进农业可持续发展和保护环境具有重要意义^[2]。秸秆的饲料化是其资源化利用途径之一。秸秆细胞壁是由纤维素、半纤维素和木质素相互交联形成^[3],其主要成分为木质素,一般微生物很难将其分解^[4],只能在体外被强酸强碱或特定的微生物所分解,动物难以将其直接消化利用^[5]。自然界中许多微生物具有较强的生物催化酶系统,可将动物难以消化吸收的粗纤维等大分子物质分解成易消化吸收的小分子物质,提高秸秆的利用率及其营养价值。

黄粉虫(*Tenebrio molitor*, TM)是一种人工养殖技术较为成熟的资源昆虫,在食品、保健品、化妆品等行业中日益受到重视^[6-8]。传统养殖黄粉虫主要以麦麸、玉米粉和豆粉为原料,其饲料费用占到整个养殖成本的 70%~90%,因此,降低其养殖成本,能有力推动黄粉虫养殖产业的发展。废弃果皮、餐厨垃圾、蔬菜尾菜等可饲用有机垃圾,经适当处理后,可作为黄粉虫的饲料^[6,9]。黄粉虫产生的虫粪,经发酵后,可用于制备动物饲料、有机肥料、食用菌培养基等^[6,9-10]。有文献表明,黄粉虫能够以玉米秸秆作为饲料^[9]。利用玉米秸秆饲养黄粉虫,可减少粮食消耗,降低黄粉虫的饲料成本,拓宽秸秆资源化利用途径^[11-14]。

玉米秸秆虽然可以饲喂黄粉虫,但因其纤维素含量高,饲用效果还有待进一步提升^[14]。课题组前期筛选出绿色木霉(*Trichoderma viride*, TV)、里氏木霉(*Trichoderma reesei*, TR)、黑曲霉(*Aspergillus niger*, AN)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, BS)、嗜热侧孢霉(*Sporotrichum thermophile*, ST)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*, AO)、产朊假丝酵母(*Candida utilis*, CU)等 7 种有利于玉米秸秆发酵的微生物并进行单一菌种发酵。实验后发现,食用发酵玉米秸秆饲料的黄粉虫生长效果更优,其中食用发酵 9 d~12 d 的玉米秸秆后的生长效果最优,但由于单一微生物对纤维素类物质的降解率较低^[15],单菌发酵效果总体不佳,故需将各种菌的进一步组合,以发挥各菌的协同作用,达到更好的处理效果^[14]。不同微生物生长代谢存在差异,采用多种微生物混合发酵,可有效利用他们之间的协同、互补作用,提高纤维素酶的活性,以加速玉米秸秆中纤维素、半纤维素的降解,从而发酵成为黄粉虫的易食用消化的玉米秸秆饲料^[16]。但不同菌种之间既有协同作用亦有拮抗作用^[17],若菌种之间组合不合理,则会出现相互竞争而减缓或抑制秸秆的降解,若组合适当,多菌混合获得

的效果比单菌发酵显著提高^[18],故在实际实验中需对菌种使用效果进行系统的研究。

本研究将 TV、TR、AN、BS、ST、AO 和 CU 菌进行不同组合后发酵玉米秸秆,并取不同发酵时间的玉米秸秆饲养黄粉虫,观察黄粉虫的生长发育和对秸秆的利用情况,旨在探索出有利于黄粉虫饲用的玉米秸秆饲料。

2 菌种组合发酵研究

2.1 材料及来源

玉米秸秆(中单 808,采收玉米后的新鲜秸秆,经风干、粉碎,过 10 目筛,重庆博乐农业科技发展有限公司);黄粉虫(5~6 龄幼虫,重庆博乐农业科技发展有限公司);麦麸(NY/T 119-1989 三级,重庆吉之汇农贸市场);供试菌种为绿色木霉(山东绿陇生物技术有限公司)、里氏木霉(R3,浙江大学)、黑曲霉(AS3.758,济宁玉园生物科技有限公司)、米曲霉(沪酿 3.042,济宁玉园生物科技有限公司)、产朊酵母(Y0037,上海生物网)、嗜热侧孢霉(ACCC30346,上海名劲生物科技有限公司)和枯草芽孢杆菌(CMCC63501,上海鲁微科技有限公司)。MnSO₄、ZnCl₂、CoCl₂、FeSO₄·7H₂O、MgSO₄、CaCl₂、NaCl、(NH₄)₂SO₄ 和 KH₂PO₄,均为分析纯,成都市科龙化工试剂厂。

2.2 方法

2.2.1 发酵饲料的制备

经测定,玉米秸秆的 C/N 为 51.2。按 100 份风干玉米秸秆:300 份无机盐补充液(0.001 g/L MnSO₄、0.001 g/L ZnCl₂、0.002 g/L CoCl₂、0.05 g/L FeSO₄·7H₂O、0.3 g/L MgSO₄、0.3 g/L CaCl₂、0.5 g/L NaCl、1.4 g/L (NH₄)₂SO₄、2.0 g/L KH₂PO₄)的比例混匀后,取 5 份混合菌(按说明书扩繁,菌数占比相同,1 亿 cfu/g),接入玉米秸秆中,混匀,在 30 ℃ 的恒温室中发酵 6 d~12 d,待温度升高到 50 ℃ 后,翻堆一次。

2.2.2 混合菌种方案设计

前期单一菌种发酵过程中,黄粉虫生长优势不明显,而在多菌种发酵中,各种发酵菌之间既可能有协同作用,从而提高发酵的效率,也可能有拮抗作用,使发酵效果变差。在前期初步试验筛选的基础上,以不同组合方式、发酵不同时间(6 d、9 d 和 12 d),观察发酵玉米秸秆饲喂黄粉虫的效果。

将 7 种菌分为 2 类:分解纤维素类菌种 TV、TR、AN、BS、ST 5 种菌按表 1 方式进行组合;功能化菌:AO 和 CU,这 2 种菌分别再与前面 27 组相互组合(这一组后续以 A 组表示),形成只添加 CU 的 B 组,只添加 AO 的 C 组,以及添加了 CU 和 AO 两种功能菌的 D 组,共有 108 组发酵方案,见表 1。

表 1 菌种组合方案
Table1 Combination of bacteria

实验组号	接种微生物	实验组号	接种微生物	实验组号	接种微生物
A:第 1 组	无	第 11 组	ST-BS	第 21 组	AN-ST-BS
第 2 组	TV-TR	第 12 组	TV-TR-AN	第 22 组	TV-TR-AN-ST
第 3 组	TV-AN	第 13 组	TV-TR-ST	第 23 组	TV-TR-AN-BS
第 4 组	TV-ST	第 14 组	TV-TR-BS	第 24 组	TV-TR-ST-BS
第 5 组	TV-BS	第 15 组	TV-AN-ST	第 25 组	TV-AN-ST-BS
第 6 组	TR-AN	第 16 组	TV-AN-BS	第 26 组	TR-AN-ST-BS
第 7 组	TR-ST	第 17 组	TV-ST-BS	第 27 组	TV-TR-AN-ST-BS
第 8 组	TR-BS	第 18 组	TR-AN-ST	B1-B27	A 第 1-27 组+CU
第 9 组	AN-ST	第 19 组	TR-AN-BS	C1-C27	A 第 1-27 组+AO
第 10 组	AN-BS	第 20 组	TR-ST-BS	D1-D27	A 第 1-27 组+CU+AO

2.2.3 饲养方法

每组选择 1 500 g 虫龄一致,大小相近的黄粉虫,放入养殖盒中饲养,每 3 d 投放一次饲料,每次投料 300 g。因为黄粉虫幼虫时期是最具商业价值的时期,平均 10 d 左右为一个龄期,当黄粉虫幼虫达到 5 龄期或 6 龄期就可以开始出售,因此本实验拟定饲养时间为 24 d,在这期间观察黄粉虫的生长情况。以纯麦麸(饲养黄粉虫的常规饲料)为对照组(CK)。所有组实验均重复 3 次,取平均值。

2.3 评价指标

在筛选条件时,为减少工作量,以幼虫的生长率(ΔX_1 ,%,养殖中最关心的指标之一)来衡量 1.2 的实验效果,计算方法见式(1):

$$\Delta X_1 = \frac{X_2 - X_1}{X_1} \times 100\%$$
 (1)

式(1)中, X_1 为虫初始质量(g); X_2 为饲喂一定时间后虫的质量(g)。

2.4 优化验证

选择 2.3 中最有利于黄粉虫生长的组别进行优化验证。为全面评价发酵秸秆饲料的效果,除考察生长率(ΔX_1 ,%)外,还将幼虫的死亡率(D ,%)、饲料利用率(ΔX_2 ,%)和粗纤维降解率(ΔX_3 ,%)作为考察指标,粗纤维含量测定按文献^[19],各指标分别按式(2)一式(4)计算:

$$D = \frac{X_d}{X_1} \times 100\%$$
 (2)

$$\Delta X_2 = \frac{X_2 - X_1}{X_3 - X_4} \times 100\%$$
 (3)

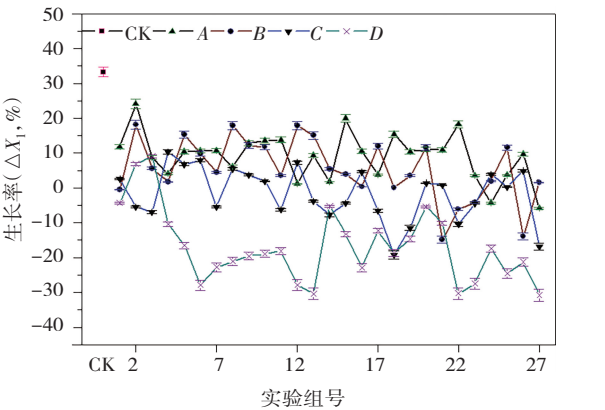
$$\Delta X_3 = \frac{X_5 - X_6}{X_5} \times 100\%$$
 (4)

其中, X_d 为死虫的质量(g); X_3 、 X_4 为饲用前后秸秆饲料的质量(g); X_5 、 X_6 为秸秆发酵前后的粗纤维含量(%)。

2.5 不同发酵时间对黄粉虫生长影响

2.5.1 发酵 6 d 的效果

从图 1 可看出,以发酵 6 d 的玉米秸秆饲喂的黄粉虫,其生长率普遍不高,有些甚至呈负增长,效果不理想,造成这种现象的原因很大程度上是因为 6 d 的发酵时间过短,玉米秸秆没有被大量分解成黄粉虫易吸收消化的物质。



CK:对照组; A:1-27 组; B:B1-B27 组; C:C1-C27 组; D:D1-D27 组

图 1 组合菌发酵 6 d 的玉米秸秆对黄粉虫生长的影响

Fig.1 Effect of CS by multiple bacteria fermentation (6 d) on the growth of TM

对所有实验组进行方差分析,其中组内分析:只接种分解纤维素类菌种组内的 2 种(A_{II})、3 种(A_{III})和 4 种(A_{IV})发酵菌之间的相互比较分析;组间分析:A、B、C 和 D 组之间的相互比较。

从表 2 的分析结果可看出,发酵 6 d 的玉米秸秆,组内比较,菌种类对发酵的影响不显著。而组间比较发现,增加功能菌后对发酵效果有显著影响。

表 2 发酵效果的方差分析($\alpha=0.05,6\text{ d}$)

Table 2 Variance analysis of fermentation effect ($\alpha=0.05,6\text{ d}$)

对比组	组 内			组 间					
	$A_{II}-A_{III}$	$A_{II}-A_{IV}$	$A_{III}-A_{IV}$	$A-B$	$A-C$	$A-D$	$B-C$	$B-D$	$C-D$
F 值	0.66	2.27	0.36	3.01	30.78	116.80	10.11	70.95	36.82
P 值	0.43	0.16	0.70	0.09	9.9e-7	6.7e-15	0.002	2.8e-11	1.5e-7
显著性	*	*	*	*	***	***	***	***	***

注: * 为差异性不显著; ** 为差异性显著; *** 为差异性极显著。

2.5.2 发酵 9 d 的效果

从图 2 可看出, B 组和 C 组分别只有 15 组、9 组的生长率高于对应 A 组的生长率; 而 D 组的生长率有 22 组高于对应 A 组, 说明单独添加 CU 和 AO 发酵玉米秸秆的效果有效, 但是同时添加 CU 和 AO 共发酵的玉米秸秆, 可明显地促进黄粉虫的生长。

对发酵 9 d 的所有实验组进行方差分析(表 3), 分析方法及组内分析组间分析的选取对象与表 2 中保持一致。

从表 3 的分析结果可看出, $B-D$ 组、 $C-D$ 组间的 F 值大于临界的 $F_{0.05}(1,52)=4.03$, P 值远小于 0.05, 说明发酵 9 d 时, D 组与 B 组、 C 组相比, 差异性极显著, 协同作用明显, 与直观分析结果一致。

表 3 发酵效果的方差分析($\alpha=0.05,9\text{ d}$)

Table 3 Variance analysis of fermentation effect ($\alpha=0.05,9\text{ d}$)

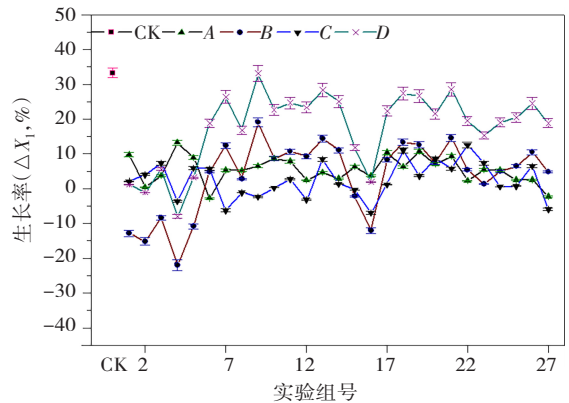
对比组	组 内			组 间					
	$A_{II}-A_{III}$	$A_{II}-A_{IV}$	$A_{III}-A_{IV}$	$A-B$	$A-C$	$A-D$	$B-C$	$B-D$	$C-D$
F 值	0.14	0.96	3.47	0.64	5.66	32.09	0.29	44.99	63.06
P 值	0.71	0.34	0.08	0.42	0.02	6.5e-7	0.59	1.4e-8	1.6e-10
显著性	*	*	*	*	**	***	*	***	***

注: * 为差异性不显著; ** 为差异性显著; *** 为差异性极显著。

2.5.3 发酵 12 d 的效果

从图 3 可看出, 发酵 12 d 的玉米秸秆饲料, B 组和 C 组分别有 19 组、18 组的生长率高于对应 A 组的生长率, 这与 6 d、9 d 组明显不同, 说明在 B 组基础上加 CU 或者 AO , 均会提升发酵效果, 促进黄粉虫生长。除 A 组中的第 27 组外, D 组发酵的玉米秸秆, 黄粉虫食用后的生长情况均优于 A 组, 尤其以 $D7$ 、 $D19$ 、 $D25$ 、 $D26$ 组更明显, 其效果已经接近或超过 CK 组, 说明在 A 组基础上同时添加 CU 和 AO 菌后发酵, 菌群间的协同作用明显, 与发酵 9 d 的趋势一致。

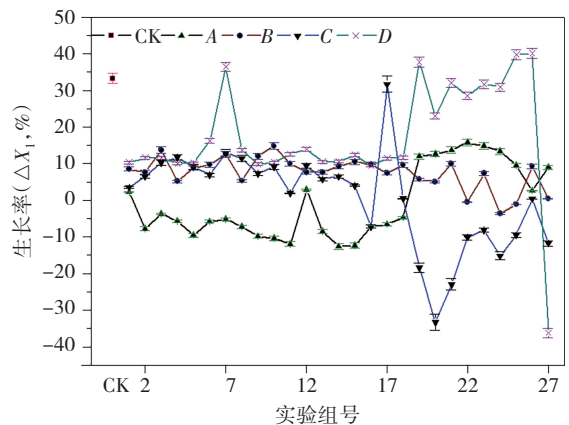
对发酵 12 d 的所有实验组进行方差分析, 分析方法及组内分析组间分析的选取对象与表 2 保持一致。



CK: 对照组; A: 1-27 组; B: B1-B27 组; C: C1-C27 组; D: D1-D27 组

图 2 组合菌发酵 9 d 的玉米秸秆对黄粉虫生长的影响

Fig. 2 Effect of CS by multiple bacteria fermentation (9 d) on the growth of TM



CK: 对照组; A: 1-27 组; B: B1-B27 组; C: C1-C27 组; D: D1-D27 组

图 3 组合菌发酵 12 d 的玉米秸秆对黄粉虫生长率的影响

Fig. 3 Effect of CS by multiple bacteria fermentation (12 d) on the growth of TM

表 4 发酵效果的方差分析($\alpha=0.05,12\text{ d}$)
Table 4 Variance analysis of fermentation effect ($\alpha=0.05,12\text{ d}$)

对比组	组 内			组 间					
	$A_{II}-A_{III}$	$A_{II}-A_{IV}$	$A_{III}-A_{IV}$	$A-B$	$A-C$	$A-D$	$B-C$	$B-D$	$C-D$
F 值	3.77	87.9	2.75	16.06	0.150	26.08	6.64	9.71	17.89
P 值	0.07	3.8e-7	0.10	1.9e-4	0.700	4.7e-6	0.013	0.03	9.5e-5
显著性	*	***	*	***	*	***	**	***	***

注: * 为差异性不显著; **为差异性显著;表中 ***为差异性极显著

从表 4 的分析结果可看出,发酵 12 d 时,菌的组合方式,对发酵效果有显著性影响,同时添加 AO、CU 的 D 组,与其他组具有极显著差异。

2.6 优化验证

通过对实验进行优化验证,显示黄粉虫食用 D25 组秸秆饲料的生长率达 $35.07\pm2.21\%$,高于食用对照组饲料(CK,纯麦麸)的生长率($33.26\pm1.93\%$)。黄粉虫的死亡率也是衡量发酵玉米秸秆饲料是否安全的一个重要指标。实验组的死亡率均较低($<0.3\%$),小于 CK 组($0.39\pm0.021\%$),实验组中生长率最高 D25 组的黄粉虫死亡率只有 $0.06\pm0.002\%$,均在正常死亡率范围内,说明本实验设计的发酵饲料是安全的。D7、D19、D25 的玉米秸秆降解率 ΔX_3 分别为 $46.09\pm1.89\%$ 、 $50.15\pm2.12\%$ 、 $61.94\pm2.41\%$,说明多菌种组合发酵玉米秸秆能得到较高的纤维素降解率,这是由于多菌产生的不同的酶对纤维素的降解起到了协同作用。在同一发酵条件下,不同菌种组合发酵的玉米秸秆的粗纤维降解率存在一定的差异,可能是各菌种组合所产生的纤维素酶系以及各种酶的相对量不同,导致对玉米秸秆的降解程度有差异。因 D25 粗纤维降解率高,其饲料利用率也最高,达到 $44.77\pm1.99\%$ 。故 D25 方案发酵的玉米秸秆饲料达到较好的效果,最有利于黄粉虫的生长。

对使用混合菌种发酵前后的玉米秸秆营养物质含量测定,其中各营养物质的含量均有所提高,其中粗蛋白质的含量略有提高,总糖的含量提高到 17.5%,粗脂肪含量提高 0.9%,见表 5。发酵处理的最主要作用是改变玉米秸秆的适口性和诱食程度,使用混合菌种发酵后的玉米秸秆变得更加松软,同时黄粉虫可消化的粗蛋白、总糖等均有一定程度的提升,提高了黄粉虫对其的摄食量和饲料的利用率。

表 5 混合菌种发酵玉米秸秆前后主要成分含量
Table 5 Contents of main components before and after CS fermentation by mixed strains %

成 分	粗蛋白质	总糖	粗脂肪
发酵前	8.1	12.6	4.1
发酵后	9.4	17.5	5.0

3 放大实验研究

基于上述的研究结果,为了区分实验类型,选择对黄粉虫生长有利的 D7、D19、D25 三个实验组重新编号为 Y1、Y2、Y3 进行放大试验,研究 3 个微生物菌种组合发酵玉米秸秆经放大后是否仍存在相同的趋势,进而选择对黄粉虫生长更有利的实验组进行混料实验。

3.1 实验方法

3.1.1 发酵与饲喂方法

(1) 发酵。称取经粉碎的玉米秸秆粉 100 kg,添加 4.13 kg(NH_4)₂SO₄ 调整 C/N,使发酵物的最初 C/N 维持在 25 左右,然后取相应菌种的菌粉,按质量比 1:1 的比例混合,使得菌种总量为 1 176 g,经活化后接入玉米秸秆堆中,最后加入 260 kg 营养液,使得发酵物的含水率达到 75%,在室温环境中进行培养,见图 4。在秸秆发酵初始,把便携式记录型测温仪的探头插入发酵堆体中部,测定其中心的实时温度,测温仪每隔 30 min 自动记录一次温度,直至发酵结束。期间,发酵温度降低 25 ℃左右时,翻堆一次。



图 4 玉米秸秆发酵放大试验

Fig. 4 Scale-up experiment of corn straw fermentation

(2) 饲喂。选择生长良好的黄粉虫幼虫,每份称取 1 500 g,放入养殖盒(460 mm×620 mm×95 mm)中饲养,每 3 d 投放一次饲料,每次饲料约为虫重的 20%。黄粉虫饲养 20 d 后,考察黄粉虫的体重增长、剩余饲料和虫粪情况并计算虫体生物量增率、饲料转化率、饲料利用率。实验同时以纯麦麸为对照组。实验组和对照组均重复 2 次。

3.1.2 评价方法

(1) 发酵过程监控。发酵全程用便携式记录型测温仪监测发酵堆体中部的温度变化,以便观察发酵变化。

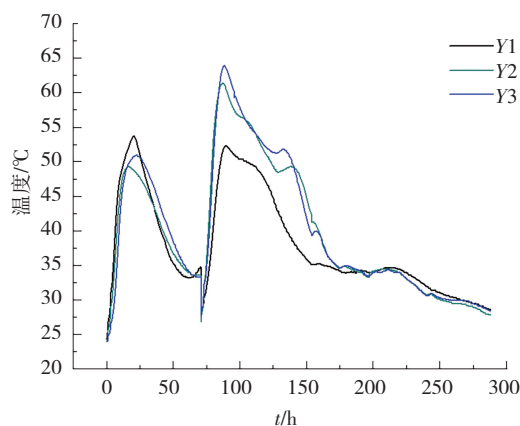
(2) 虫指标。黄粉虫的相关指标包括生物量增长率、死亡率、饲料转化率和饲料利用率,计算公式分别为式(1)一式(4)。

3.2 结果与分析

3.2.1 温度变化

图 5 显示用便携式记录型测温仪监测的放大实验温度的变化曲线。整个发酵实验过程,3 个实验组的温度变化趋势是大体一致的。

从发酵初始至翻堆过程,此过程持续时间为 71 h, Y1、Y2 及 Y3 堆体发酵温度基本上都在 20 h 左右达到最高值,此时 Y1 最高温度为 53.7 °C、Y2 最高温度为 49.2 °C、Y3 最高温度为 51.4 °C,持续高温有利于杀灭玉米秸秆中的杂菌。



Y1: D7 实验组; Y2: D19 实验组; Y3: D25 实验组

图 5 放大实验温度变化情况

Fig. 5 The temperature behavior of scale-up experiments

在 71 h 时将三个堆体都进行翻堆后,三者发酵堆体的温度达到最低值后,又持续升温,直至温度达到最高,此时 Y1 的温度显著低于其他两个实验组, Y1、Y2、Y3 的最高温度分别为 52.1 °C、61 °C、63.6 °C。之后温度开始逐渐下降,但发酵温度始终高于起始温度。温度下降的根本原因是由于营养成分以及代谢产物的大量积累,微生物的代谢能力随之降低。在整个发酵过程, Y2 和 Y3 持续有 60 h 以上发酵温度都在 50 °C 以上。

3.2.2 饲料指标

(1) 玉米秸秆粗纤维含量分析。玉米秸秆粗纤维含量变化情况见表 6。由表 6 粗纤维素含量分析可看出, Y1、Y2、Y3 的玉米秸秆降解率分别为 46.09%、50.15%、61.94%,其中 Y3 的降解率最高。从这可以看出,多菌种组合发酵玉米秸秆能得到较高的纤维素降解率,说明了这些菌种在降解玉米秸秆的纤维素过程中,能产生良好的协同作用,这种协同作用表现在:由于纤维素的降解需要一系列的纤维素酶催化作用,而

多菌种体系可产生更多的、不同的分解纤维素的酶系;再加上酵母菌可利用其他微生物分解产生的糖类,有利于解除糖类对纤维素降解反应的抑制。在同一发酵条件下,不同菌种组合的玉米秸秆降解率存在一定的差异性,这可能是各菌种组合所产生的纤维素酶系以及各种酶的相对量不同,这才导致对玉米秸秆的降解程度的差异。所以,对天然纤维素的降解而言,只有选择恰当的菌种组合,才能使发酵的最终效果达到最佳。由表 6 可看出,菌种组合发酵实验的产物中仍存在一定的粗纤维,但实验中选择的 3 个组合中的纤维素降解率已达到了较为理想的结果。

发酵实验中, Y3 的降解效率最高,同时 Y3 的发酵温度也最高,两者有一定的相关性,除了证明发酵温度能增加微生物降解效率之外,这也说明温度可以作为发酵微生物代谢活动的最直观指标。

根据不同菌种组合降解玉米秸秆的能力来说,混料实验应选择 Y3 组合为佳。

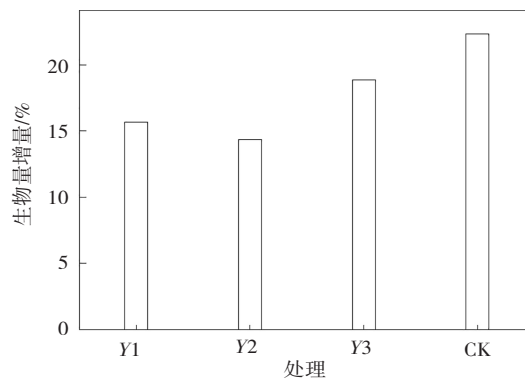
表 6 玉米秸秆粗纤维含量

Table 6 Content of the crude cellulose in CS %			
实验组	原含量	最终含量	降解率
Y1	29.53	15.92	46.09
Y2	29.53	14.72	50.15
Y3	29.53	11.24	61.94

注: Y1 为 D7 实验组; Y2 为 D19 实验组; Y3 为 D25 实验组。

3.2.3 生长指标

(1) 生物量增长率。图 6 是不同处理组对黄粉虫生物量增长率的影响。由图 6 可知, CK 组生物量增长率大于所有实验组,但生物量增长率普遍不高,并且 CK 组在生物量增长率的数值并未高出 Y3 组太多。Y3 的生物量增长率是 3 个实验组中最大的,与组合菌优化实验的结果相一致,也与玉米秸秆中粗纤维含量分析结果一致。说明微生物菌群转化玉米秸秆的效率越高,得到的能够被黄粉虫可利用的有利代谢产物越多。

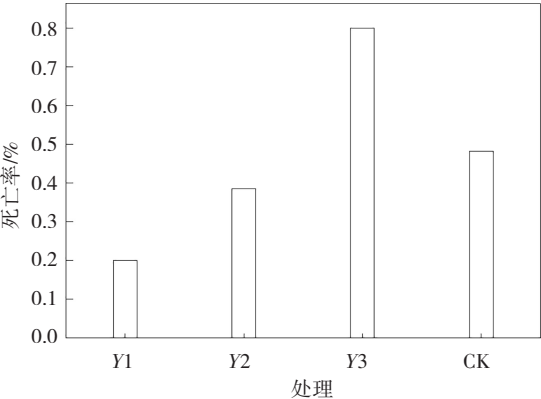


Y1: D7 实验组; Y2: D19 实验组; Y3: D25 实验组; CK 对照组

图 6 不同处理组对黄粉虫生物量增长率的影响

Fig. 6 Effects of different treatments on biomass increment rate of TM

(2) 死亡率。图 7 是放大实验中饲料种类对黄粉虫幼虫死亡率的影响。从图 7 可看出,CK 组与实验组的死亡率均较低,饲料对黄粉虫幼虫死亡率的影响顺序为:Y3>CK>Y2>Y1,其中死亡率最高的实验组 Y3 的黄粉虫死亡率仅有 0.8%,均在正常死亡率范围内,此次实验的死亡率明显高于组合菌优化实验,这可能是饲养过程未添加青饲料,使得黄粉虫无法补充到自身所必需的水分,体内含水量过低,从而使黄粉虫易患干枯病。所以在黄粉虫饲养过程中,饲料含水量要适宜,而且应该搭配一定的青饲料。

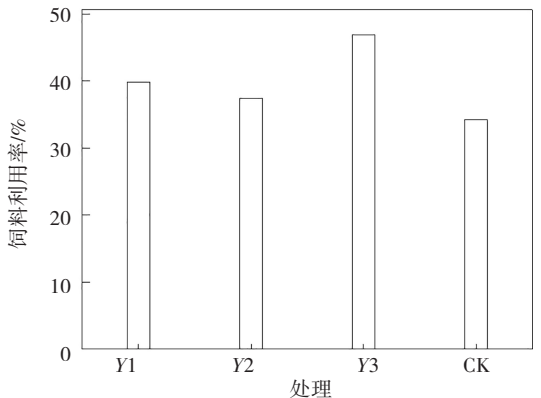


Y1:D7 实验组; Y2:D19 实验组; Y3:D25 实验组;CK 对照组

图 7 不同处理组对黄粉虫死亡率的影响

Fig. 7 Effects of different treatments on mortality of TM

(3) 饲料利用率。图 8 是不同处理组对黄粉虫饲料利用率的影响。从图 8 可知,CK 组的饲料利用率低于所有实验组,但其饲料利用率处于 30% 以上,而饲料利用率最高的为 Y3,其饲料利用率达到了 46.93%,足以证明多种菌群的协同作用能使玉米秸秆发酵效果更好,从而使得黄粉虫的饲料利用率上升。



Y1:D7 实验组; Y2:D19 实验组; Y3:D25 实验组;CK 对照组

图 8 不同处理对黄粉虫饲料利用率的影响

Fig. 8 Effects of different treatments on feed utilization rates of TM

(4) 饲料转化率。图 9 是放大实验中不同发酵饲料对黄粉虫饲料转化率的影响。由图 9 可知,CK 与实验组均有较高的饲料转化率,均大于 40%;CK 组的饲料转化率大于 Y1 与 Y2,但小于 Y3,Y3 的饲料转化率已

达到了 56.60%。

处理	饲料转化率/%
Y1	48
Y2	46
Y3	57
CK	52

Y1:D7 实验组; Y2:D19 实验组; Y3:D25 实验组;CK 对照组

图 9 不同处理对黄粉虫饲料转化率的影响

Fig. 9 Effects of different treatments on feed conversion rates of TM

3 结束语

TV、AN、BS、ST、AO 和 CU 组合菌发酵时,发酵 12 d 后玉米秸秆饲料利用率高,黄粉虫的生长效果好,且死亡率也较低,效果接近传统的麦麸饲料,在实验条件下,说明此方案最有利于黄粉虫的生长,有望成为黄粉虫的部分替代饲料。通过放大实验也验证,从发酵玉米秸秆的粗纤维含量来说,实验组 Y3 (TV+AN+BS+ST+AO+CU) 的纤维素降解率最高,说明 Y3 组合是最有利于玉米秸秆的转化。

在饲喂过程中,为减少实验的干扰因素,并未添加其他物料。无论是发酵组,还是对照组,若适当添加青饲料、餐厨垃圾等湿物料,将更有利于黄粉虫的生长。尤其是对于餐厨垃圾,其营养丰富全面,但湿度过高,需要一些干性的饲料调节饲料水分,才能作为黄粉虫的饲料。课题组前期已将发酵玉米秸秆与餐厨垃圾复配,达到既降低混合饲料的湿度,又平衡饲料营养的效果,实现秸秆和餐厨垃圾的同时资源化,课题组下一步将系统研究该复配方案。

此外,黄粉虫饲用秸秆后的其他生长生理指标(如虫体粗、虫体长、酶活性)等、营养指标(粗蛋白、粗脂肪、灰分、微量元素)和控制指标(重金属含量、有害霉菌等),限于篇幅,将在以后陆续报道。

参考文献(References):

[1] 戴宏民,戴佩华. 两类植物纤维制品主要工艺问题及工艺技术分析[J]. 重庆工商大学学报(自然科学版), 2004(4): 321—324.

DAI Hong-min, DAI Pei-hua. Main technological problems and technological analysis of two kinds of products of plant fibre[J]. Journal of Chongqing Technology and Business University (Natural Science Edition), 2004(4): 321—324.

[2] LV J S, LIU X Y, ZHANG X P, et al. Chemical composition

- and functional characteristics of dietary fiber-rich powder obtained from core of maize straw [J]. Food Chemistry, 2017, 227: 383—389.
- [3] 张立霞, 屠焰, 李艳玲, 等. 不同微生物菌株及其组合处理对玉米秸秆瘤胃降解率的影响[J]. 动物营养学报, 2014, 26(8): 2433—2444.
- ZHANG Li-xia, TU Yan, LI Yan-ling, et al. Effects of different microbes and their combinations on rumen degradation rate of corn stalk [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(8): 2433—2444.
- [4] 陈合, 张强. 菌酶共降解玉米秸秆的工艺研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(3): 270—273.
- CHEN He, ZHANG Qiang. Technology for co-degradation of corn stalk by microorganism and enzyme [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2008, 24(3): 270—273.
- [5] 周传社, 汤少勋, 姜海林, 等. 农作物秸秆体外发酵营养特性及其组合利用研究[J]. 应用生态学报, 2005, 16(10): 1862—1867.
- ZHOU Chuan-she, TANG Shao-xun, JIANG Hai-lin, et al. In vitro fermentation characteristics of crop straws and their combined utilization [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(10): 1862—1867.
- [6] 李宁, 幸宏伟, 熊晓莉, 等. 黄粉虫资源化开发与利用[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2017.
- LI Ning, XING Hong-wei, XIONG Xiao-li, et al. Resources exploitation and utilization of *Tenebrio molitor* L. [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2017.
- [7] Alkmini-Anna G, Anthia M, Evangelos V, et al. Potentiality of *Tenebrio molitor* larva-based ingredients for the food industry: a review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 119, 495—507.
- [8] Ana C C R, Cristiano J A, Débora O. Perspective on integrated biorefinery for valorization of biomass from the edible insect *Tenebrio molitor* [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 116, 480—491.
- [9] 李涛, 熊晓莉, 李宁, 等. 有机废弃物养殖黄粉虫的研究进展[J]. 中国饲料, 2015, 535(11): 31—33, 36.
- LI Tao, XIONG Xiao-li, LI Ning, et al. The research progress of organic wastes breeding *Tenebrio molitor* L. [J]. China Feed, 2015, 535(11): 31—33, 36.
- [10] 唐宇, 曹亚军, 欧庆宇, 等. 黄粉虫粪有机肥对冷水花生长的影响[J]. 重庆工商大学学报(自然科学版), 2021(5): 17—22.
- TANG Yu, CAO Ya-jun, OU Qing-yu, et al. Effect of *tenebrio molitor* organic fertilizer on the growth of *pilea notata* C. H. Wrigth [J]. Journal of Chongqing Technology and Business University (Natural Science Edition), 2021(5): 17—22.
- [11] 沙洪林, 佟时, 张维友, 等. 我国农作物秸秆产生及综合利用现状分析[J]. 吉林农业科学, 2010, 35(4): 51—55.
- SHA Hong-lin, TONG Shi, ZHANG Wei-you, et al. Analysis on current situation of producing and comprehensive utilization of stalks of agricultural crops [J]. Journal of Northeast Agricultural Sciences, 2010, 35(4): 51—55.
- [12] JI ZX, WEN XL, WANG CQ, et al. Effects of feeding corn stalks on economic indicators of *Tenebrio molitor* [J]. Agricultural Science & Technology, 2011, 12(10): 1513—1516.
- [13] 徐世才, 刘小伟, 王强, 等. 玉米秸秆发酵制取黄粉虫饲料的研究[J]. 西北农业学报, 2013, 22(1): 194—199.
- XU Shi-cai, LIU Xiao-wei, WANG Qiang, et al. *Tenebrio molitor* L. feed production from fermentation of corn stalks [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2013, 22(1): 194—199.
- [14] 王崇均, 熊晓莉, 李涛, 等. 发酵玉米秸秆饲养黄粉虫[J]. 饲料研究, 2015(11): 66—69.
- WANG Chong-jun, XIONG Xiao-li, LI Tao, et al. Feeding *Tenebrio molitor* L. with fermented cornstraw [J]. Feed Research, 2015(11): 66—69.
- [15] 李静, 张瀚能, 赵翀, 等. 高效纤维素降解菌分离筛选、复合菌系构建及秸秆降解效果分析[J]. 应用与环境生物学报, 2016(4): 689—696.
- LI Jing, ZHANG Han-neng, ZHAO Chong, et al. Isolation and screening of cellulose decomposing microbe and the straw decomposing effect of complex microbial system [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2016(4): 689—696.
- [16] 任颢珂, 陈莉, 卢红梅, 等. 多菌种混合固态发酵秸秆的研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(7): 130—134.
- REN Xie-ke, CHEN Li, LU Hong-mei, et al. Study on the solid state fermentation of straw with multiple strains [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(7): 130—134.
- [17] 李日强, 张峰. 不同菌株固态发酵玉米秸秆生产饲料蛋白的比较研究[J]. 生态学报, 2001, 21(9): 1512—1518.
- LI Ri-qiang, ZHANG Feng. Study on the solid-state fermentation of waste straw to produce feeding-protein by using some fungal strains [J]. Acta Ecologica Sinica, 2001, 21(9): 1512—1518.
- [18] 郭如意, 谭剑, 肖嘉琦, 等. 混菌固态培养生产玉米皮发酵饲料工艺条件的研究[J]. 饲料研究, 2021, 44(20): 53—59.
- GUO Ru-yi, TAN Jian, XIAO Jia-qí, et al. Solid-state fermentation of corn bran with mixed probiotics for bio-feed production [J]. Feed Research, 2021, 44(20): 53—59.
- [19] 彭健. 饲料分析与检测技术[M]. 北京: 科学出版社, 2008, 71—73.
- PENG Jiang. Feed analysis and detection technology [M]. Beijing: Science Press, 2008, 71—73.