

磺胺对黑水虻幼虫生长及肠道微生物群落的影响

郭治雪¹, 刘爽^{1*}, 郝建伟²

(1. 山西大学 黄土高原研究所 黄土高原生态恢复山西省重点实验室, 山西 太原 030006;

2. 晋中学院 生物科学与技术系, 山西 晋中 030600)

摘要:磺胺类(Sulfonamides, SAs)抗生素是畜禽养殖中广泛使用的抗生素之一,在畜禽粪便中残留量高,可经过粪污进入环境,加速耐药微生物的形成和耐药性的传播,威胁人类健康。黑水虻幼虫(BSFL)为重要的腐食性昆虫,可高效降解禽畜粪便,研究禽畜粪便中磺胺对黑水虻幼虫生长及肠道微生物群落组成产生的影响,对黑水虻转化含有抗生素的禽畜粪便及降低抗生素污染具有重要意义。因此,本研究将黑水虻幼虫暴露于浓度为1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 磺胺的猪粪中,基于16SrRNA高通量测序技术分析了幼虫肠道微生物群落组成,探讨了磺胺抗生素对幼虫生长、基质转化率和肠道菌群结构的影响。结果表明,添加磺胺后幼虫重量和基质转化率显著高于对照组。稀释曲线、Venn图以及多样性指数分析结果表明,磺胺添加处理后黑水虻幼虫肠道微生物的多样性显著降低。厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteriota)是黑水虻幼虫肠道中主要的细菌类群,经磺胺处理后,对肠道微生物组成有一定的影响,其中梭状芽孢杆菌1属(*Clostridium sensu stricto* 1)的相对丰度显著提高,而其他优势属,如土生孢杆菌属(*Terrisporobacter*)、营发酵单胞菌属(*Dysgonomonas*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、苏黎世杆菌属(*Turicibacter*)的相对丰度有所降低,而栖河菌属(*Fluviicola*)、沉积物杆菌属(*Sedimentibacter*)、八叠球菌属(*Sarcina*)、丛毛单胞菌属(*Comamonas*)仅在对照组中出现。此外,微生物共生网络图结果表明,1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度磺胺会降低黑水虻幼虫肠道微生物群的复杂性和稳定性。

关键词:腐食性昆虫;抗生素;微生物多样性;猪粪;基质转化率

中图分类号:Q939;S899.9

文献标志码:A

文章编号:0253-2395(2026)01-0179-10

Effects of Sulfonamide on the Growth and Gut Microbial Communities of Black Soldier Fly Larvae

GUO Zhixue¹, LIU Shuang^{1*}, HAO Jianwei²

(1. Institute of Loess Plateau, Shanxi Key Laboratory for Ecological Restoration of Loess Plateau, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2. Department of Biological Science and Technology, Jinzhong University, Jinzhong 030600, China)

Abstract: Sulfonamides (SAs) antibiotics are one of the widely used antibiotics in livestock and poultry farming. They have high residual levels in livestock manure and can enter the environment through feces, accelerating the formation of drug-resistant microorganisms and the spread of drug resistance, and posing a threat to human health. Black soldier fly larvae (BSFL) are important corrosive insects, which can efficiently degrade livestock manure. It is of great significance to study the effects of sulfonamide in livestock manure on the growth of black soldier fly larvae and composition of intestinal microbial community for black soldier fly larvae

收稿日期:2023-10-22;修回日期:2024-05-06

基金项目:山西省科技合作交流专项(202404041101050;202104041101044);2023年小店区山西大学产学研合作项目(202301S04)

作者简介:郭治雪(1999-),女,山西晋中人,硕士研究生,研究方向为微生物生态学。E-mail:guozx063527@163.com

*通信作者:刘爽(LIU Shuang),E-mail:liushuang@sxu.edu.cn

引文格式:郭治雪,刘爽,郝建伟.磺胺对黑水虻幼虫生长及肠道微生物群落的影响[J].山西大学学报(自然科学版),2026,49(1):179-188. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2024078.

transforming into livestock manure containing antibiotic and reducing antibiotic pollution. Thus, This study exposed the black soldier fly larvae to pig manure containing 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sulfonamide. The composition of gut microbiota in larvae was analyzed using 16SrRNA high-throughput sequencing technology, and the effects of sulfonamide antibiotics on larval growth, waste reduction rate, and gut microbiota structure were explored. The results showed that the weight of larvae and waste reduction rate were significantly higher than those of the control group after the addition of sulfonamide. The results of dilution curve, Venn plot, and diversity index analysis showed that the diversity of gut microbiota in black soldier fly larvae were significantly reduced after sulfonamide addition treatment. Firmicutes, Bacteroidota, Proteobacteria, and Actinobacteriota were the main bacterial groups in the gut of black soldier fly larvae. The sulfonamide addition affected the composition of gut microbiota. The relative abundance of *Clostridium sensu stricto* 1 genus was significantly increased, while other dominant genera, for example, the relative abundance of the genera *Terrisporobacter*, *Dysgonomonas*, *Enterococcus*, and *Turicibacter* were decreased, while *Fluviicola*, *Sedimentibacter*, *Sarcina*, and *Comamonas* were only found in the control group. In addition, the results of the microbial co-currence network indicated that 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sulfonamide reduces the complexity and stability of the gut microbiota of black soldier fly larvae.

Key words: corrosive insect; antibiotic; microbial diversity; pig manure; waste reduction

0 引言

随着我国经济的快速发展和人口的增长,人民的生活水平不断提高,对蛋白(肉、蛋、奶)的需求增加,畜禽数量的增长成为必然趋势^[1]。在畜禽养殖中,抗生素常用于动物疾病的预防感染以及治疗,同时抗生素添加到饲料中有利于禽畜的生长发育^[1]。因而在我国的养殖业中为了提高畜牧的产量,不同类型的抗生素常用于禽畜生产中^[1],然而当抗生素进入动物体内之后,只有少部分被动物吸收,质量分数约30%~90%的抗生素在禽畜体内未被完全代谢^[2],以原形或活性代谢物形式通过禽畜的粪便和尿液形式排出体外^[3]。有研究发现利用含有抗生素的饲料喂养鸡,收集分析其粪便,发现阿莫西林的排泄率质量分数为55.82%~67.88%^[1],环丙沙星的排泄率质量分数为47.87%~51.85%^[1],这些排泄的抗生素会导致畜禽粪污中的抗生素残留超过正常值,含量超标的抗生素会通过食物链的方式进入生物体内,从而损害生物体的健康。李晓平等^[4]研究发现抗生素含量过高会对人体产生不良反应,如耳失聪和过敏反应等。刘勇钢等^[5]研究发现,质量分数3%青霉素钠添加到蛋白粗粉中对小鼠的生长发育产生不利影响,同时也有损于小鼠的肝、肾细胞。目前抗生素在养殖环境中的残留问题日益受到重视,抗生素主要残留在禽畜粪便废弃物中,而养殖业产生的禽畜粪便主要以猪粪为主^[1]。据报道,从养猪场的粪便、尿液废水中共检测出28种抗生素,其中磺

胺类(Sulfonamides, SAs)的抗生素含量最高^[6]。近十年来,单种磺胺类抗生素在畜禽粪便中的残留平均浓度在0~10 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$,而残留众数集中在1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[7]。

养殖业的发展产生了大量含有抗生素残留的禽畜粪便,处理不当会对环境造成严重污染,黑水虻幼虫不仅能够降解粪便中抗生素,同时还能够将禽畜粪便转化为优质的肥料,使粪便污染减少,推进资源化利用^[1]。同时还可形成虫体自身的蛋白质、油脂、微量元素等高附加物质,这些物质可用于医学医药、化学药品等的制造^[1]。此外,黑水虻幼虫在降解粪便中抗生素时具有降解率高、降解快等优势。Cai等^[8]的研究中发现黑水虻幼虫在转化猪粪的过程中,幼虫在12 d内可降解质量分数高达97%的四环素,相比正常的堆肥降解速率提高了1.6倍。黑水虻幼虫既能降解禽畜粪便,同时也可快速降解抗生素,因此利用黑水虻幼虫来处理规模化禽畜养殖粪便是一种可以同时解决抗生素残留和养殖废弃物的方法^[7]。然而,在处理时禽畜粪便中的抗生素对黑水虻幼虫生长及肠道微生物组成产生的影响并不明确。因此,研究揭示抗生素对幼虫的影响,对实现黑水虻转化含有抗生素的禽畜粪便具有重要的理论和实际意义。

结合文献报道,磺胺类药物在禽畜养殖环境中被频繁检测出^[7],单种磺胺类抗生素在禽畜粪便中的残留平均浓度的众数集中在1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[7]。基于此,本研究将黑水虻幼虫暴

露于浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 磺胺的猪粪中,探究磺胺对黑水虻幼虫生长、基质转化率和肠道微生物的影响,以期为利用黑水虻幼虫转化禽畜粪便并降低抗生素污染提供理论基础,同时也为磺胺对黑水虻生长及肠道微生物影响提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 猪粪来源

实验所用猪粪采集于山西省忻州市的养殖场。在采集猪粪时,生长期的猪为 6 周大,猪粪样本新鲜排出时,确保不添加磺胺。猪粪被放入 10 L 塑料袋中,每个塑料袋重量约有 10 kg,之后被送到山西大学的实验室中。在实验开始时,用 10 g 的猪粪来评估其水分含量,并将猪粪基质放入恒温干燥箱 SEB-3Y(中国珠海三迈机械有限公司)中,在 65 $^{\circ}\text{C}$ 下烘干至恒重。使用便携式 pH 电极 UB-7(丹佛仪器有限公司,美国科罗拉多州阿瓦达)分析 pH 值,测得生长猪粪的水分质量分数为 70%,pH 值为 5.6。将装有猪粪的塑料袋置于 -21 $^{\circ}\text{C}$ 下储存,在实验开始前,将猪粪在室温下解冻 24 h。

1.2 实验设计

黑水虻虫卵购于中国广州无两生物技术有限公司,使用麦麸在塑料盒中置于温湿度培养箱(中国上海恒宇)孵化。孵化条件设定为 28 $^{\circ}\text{C}$ 和 75% (体积分数)湿度。在卵孵化时设置了实验,如下所示:处理组为 100 只 4 日龄的幼虫在 100 g 猪粪中培养,在猪粪基质中加入浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 磺胺;对照组为在 100 g 猪粪中培养 100 只 4 日龄幼虫,不添加磺胺抗生素。每组三个重复,每个重复在圆形塑料盒(直径 9.8 cm,高度 10 cm)中进行。对每个重复的 100 只 4 日龄幼虫进行称重,以记录初始幼虫平均重量,并确保组内和组间没有显著差异。幼虫培养至 12 日龄时取出,将不同重复所有幼虫的总干重除以幼虫的总数,计算最终的幼虫平均重量。通过称量总干重的最初基质质量(饲料基质)和干重剩余底物(残渣)来评估幼虫消耗和代谢生长基质的功效。幼虫降解饲料基质的能力通过转化率来表示,值越高表示降解有机物的能力越强。计算公式如下^[9]:

$$\text{基质转化率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{残渣}}{\text{饲料基质}} \right) \times 100\%。(1)$$

1.3 肠道细菌群落测定

用 12 日龄幼虫进行肠道提取,方法为:(1)将昆虫放在冰上 3 min~5 min,然后将其取出。(2)去除外部污染物,用体积分数 70% 酒精擦拭昆虫表面 30 s,用质量分数 0.25% 次氯酸钠(中国汕头西龙科技有限公司)浸泡 1 min,然后用无菌水冲洗 3 次。(3)在无菌环境中,用无菌的细尖镊子切开昆虫腹部,去除整个肠道,立即用质量分数 0.9% 无菌 NaCl 溶液冲洗两次。然后将整个肠取出并放入微量离心管(1.5 mL)中。每个实验处理重复 3 次,每个重复选择约 10 个黑水虻幼虫解剖其肠道,在 DNA 提取前储存在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 。(4)FastDNASpin 试剂盒(MP 生物医学公司,加利福尼亚州,美国)可用于提取 DNA。使用 Illumina MiSeq PE300 平台(Majorbio 生物有限公司,中国北京),对来自肠道 DNA 样本的 16SrRNA 基因的 V3-V4 区域进行了测序和分析(Majorbio 有限公司,中国北京)。338F (GTACTCCTACGGGAGGCAGCA) 和 806R 引物组用于扩增反应(GTGGACTACHVGGGT-WTCTAAT)。QIIME 软件用于提取高质量的序列。使用个数占比百分数 97% 的相似度将序列分组到 OTU 中,用于生成稀疏曲线,将序列分类为操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTU),并计算多样性指数(Shannon 和 Simpson)。

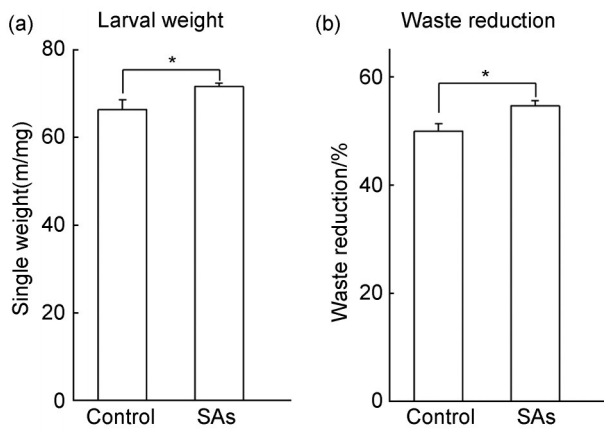
1.4 数据分析

Graphpad Prism 软件(GraphPad Software INC,美国加利福尼亚州圣地亚哥)用于进行单因素方差分析和最小显著差异(Least Significant Difference, LSD)多重比较检验($P < 0.05$),用来测量处理之间的统计学显著差异(IBM 公司,Armonk,纽约州,美国)。用 R 版本 3.6.1 进行主成分分析(Principal Component Analysis, PCA),绘制热图,并确定细菌群落的丰度。使用了 R 语言中的成对 Spearman 相关性(r)分析了属之间的相关性。Gephi v-0.9.2 使用了网络分析中的强相关性($r > 0.80$ 或 $r < -0.80$)和显著相关性($P < 0.05$)。其他图采用 Origin 2021 进行绘制。

2 结果与分析

2.1 磺胺对黑水虻幼虫重量及基质转化率的影响

图1(a)表示磺胺对黑水虻幼虫重量的影响,对照组幼虫重量为(65.6±2.1) mg, SAs组幼虫重量为(71.7±0.8) mg, SAs组幼虫重量显著高于对照组($P<0.05$)。图1(b)表示磺胺对黑水虻幼虫基质转化率的影响,对照组幼虫基质转化率为(50±1.4)%, SAs组幼虫的基质转化率为(54.7±1.0)%, SAs组幼虫转化率显著高于对照组($P<0.05$)。



注:图中Control和SAs分别代表对照和磺胺处理(下图同);
图中的*表示组间差异,*表示 $P<0.05$ 。

图1 幼虫重量(a)和基质转化率(b)

Fig. 1 Larval weight (a) and waste reduction (b)

2.2 黑水虻幼虫肠道菌群的样本稀释曲线

稀释曲线(Rarefaction curves)是指在样本中随机抽取一定测序量的数据,统计其所对应的OTU种类,并以抽取的测序数据量与对应的代表OTU来构建曲线,主要用来说明测序数据量的合理性^[10]。本研究样本的OTU的稀释曲线如图2所示,所有稀释曲线均已逐渐趋于平坦,表明所有样本的测试深度合格,测试数据合理可用。图2中位于上方的样本物种丰富度高于位于下方的样本物种丰富度,即对照组的物种丰富度高于实验组。

2.3 抗生素对黑水虻幼虫肠道菌群 α 多样性的影响和主成分分析

为了分析不同处理幼虫肠道微生物的复杂性,分析了不同处理幼虫肠道的多样性和丰富度指数。肠道微生物的Alpha多样性如图3所示,与对照组相比,磺胺(SAs)实验组Shannon

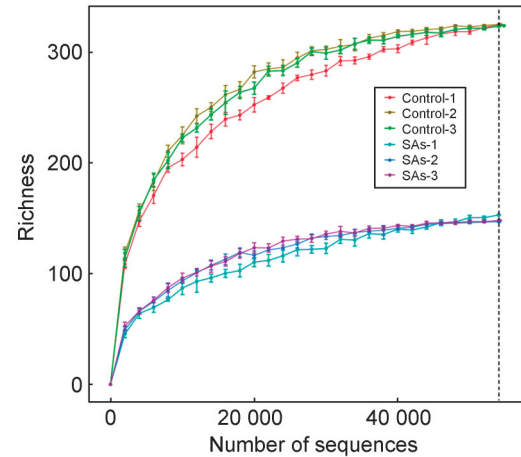
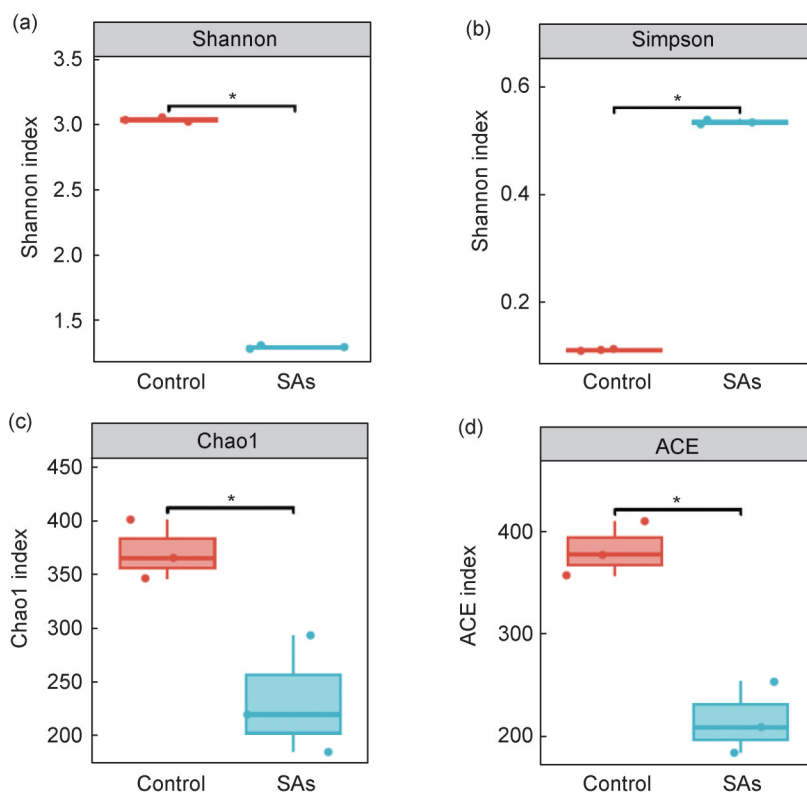


图2 样本丰富度稀释曲线

Fig. 2 Rarefaction curve of samples' abundance

指数、Chao1指数、ACE(Abundance-based Coverage Estimator)指数显著降低,Simpson指数显著升高,以上结果表明,实验组中加入1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 磺胺显著降低了黑水虻幼虫肠道微生物的丰富度和多样性。类似的结果也在Venn图中显示(图4),对照组和实验组共检测到478个OTU,其中对照组和实验组的OTU分别为325和153个,说明1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 磺胺胁迫处理明显降低了黑水虻幼虫肠道微生物的多样性。黑水虻幼虫肠道中有105个OTU在所有组间均检测到,即共有的物种有105种,分别占对照和1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 磺胺胁迫处理的黑水虻幼虫肠道样本细菌总OTU数目的32.31%和68.62%,说明实验组细菌群落组成有一定的相似性。实验组所特有的OTU为48个,远低于对照组特有的OTU个数(220),这与多样性的结果一致。

为了评估黑水虻幼虫肠道微生物群落间的差异,进行了PCA分析(Principal Components Analysis),即主成分分析,它是一种将多维数据转化为低维空间的统计分析方法,可用于分析样本组成的相似性或差异性^[10],能够得到反映样本间差异的两个坐标轴,其在PCA分析图中样本之间的距离越相近,样本群落组成越相似。图5为样本PCA分析图,可以看出,PC1和PC2的贡献率分别为83.50%和6.60%,合计达90.10%。磺胺处理组的所有样本远离对照组,表明磺胺处理黑水虻幼虫后肠道细菌群落组成发生了显著变化。以上结果表明磺胺的处理显著改变了黑水虻幼虫肠道微生物群落的组成。



注:图中的*表示组间差异,*表示 $P < 0.05$ 。

图3 黑水虻幼虫肠道细菌 α 多样性指数

(a)Shannon 指数;(b)Simpson 指数;(c)Chao1 指数;(d)ACE 指数

Fig. 3 α diversity index of gut bacteria of black soldier fly larvae
(a) Shannon index; (b) Simpson index; (c) Chao1 index; (d) ACE index

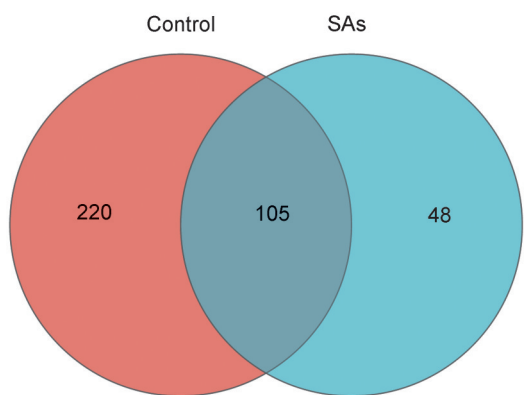


图4 不同样本黑水虻幼虫肠道菌群OTU的Venn图

Fig. 4 Venn plots of gut microbiota OTU in different samples of black soldier fly larvae

2.4 黑水虻幼虫肠道菌群的群落结构和组成分析

为了探究不同试验组中的微生物群落结构组成,采用 RDP (Ribosomal Database Project) Classifier 贝叶斯算法在门和属的水平上对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行了分类学分析^[10]。图 6 为各门细菌相对丰度图,由图可

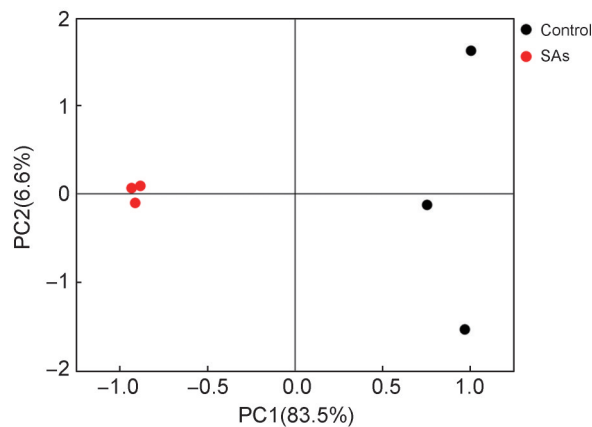


图5 不同组间基于OTU丰度的主成分分析

Fig. 5 Principal component analysis based on OTU abundance between SAs and control groups

知,2个处理6个样本黑水虻幼虫肠道微生物中共检测到10个门,对照组和实验组分别检测到9和5个门。其中厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteriota)是肠道微生物主要的优势菌门,这四个菌门总的相对丰度在每个

处理中占99%以上,其中厚壁菌门是绝对优势菌门,不同处理中各门类的比例存在一定的差异。其中,厚壁菌门在对照和实验组中的相对丰度分别为72.09%和93.14%,说明磺胺处理组的厚壁菌门相对丰度明显升高;拟杆菌门在对照和实验组中的相对丰度分别为17.73%和4.50%,说明磺胺处理组的拟杆菌门相对丰度明显降低;变形菌门在对照和实验组中的相对丰度分别为8.40%和1.41%,放线菌门在对照和实验组中的相对丰度分别为1.69%和0.96%,说明经过磺胺处理后变形菌门和放线菌门的相对丰度略有降低。

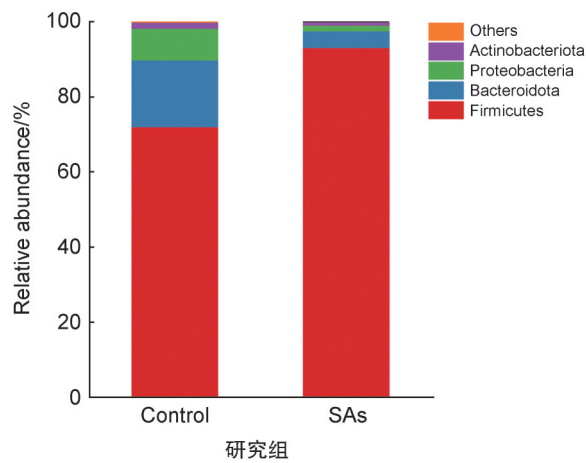


图6 不同组间门水平的相对丰度

Fig. 6 The relative abundance at phylum level between SAs and control groups

属水平上的黑水虻幼虫肠道菌群物种丰度聚类热图如图7所示,其可将数据进行物种间丰度相似性聚类,将不同丰度的物种分块聚类,通过颜色梯度来反映不同样本在属水平上群落组成的相似性和差异性^[11]。为了更直观地分析属水平上的群落组成,选择丰度排名前30的属,来绘制物种丰度聚类热图^[11]。图中丰度最高用红色表示,丰度最低用蓝色表示。所有处理样品中共检测到184个属,对照组(Control)和实验组(SAs)分别检测到166和89个属。由图7可看出,梭状芽孢杆菌1属(*Clostridium sensu stricto 1*)、土生孢杆菌属(*Terrisporobacter*)、营发酵单胞菌属(*Dysgonomonas*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、苏黎世杆菌属(*Turicibacter*)占对照和实验组的黑水虻幼虫肠道细菌群落的比例分别为76.73%和94.31%,它们为

黑水虻幼虫肠道中的优势属,其中梭状芽孢杆菌1属在实验组中的相对丰度显著高于对照组,约为对照组的两倍,而其他优势属均有一定程度的降低。此外,栖河菌属(*Fluviicola*)、沉积物杆菌属(*Sedimentibacter*)、八叠球菌属(*Sarcina*)、丛毛单胞菌属(*Comamonas*)仅在对照组中出现。

2.5 黑水虻幼虫肠道微生物群落网络分析

图8为磺胺处理对肠道微生物影响的共生网络图,节点根据属水平着色,节点大小表示连接数。有无磺胺处理的微生物网络复杂度明显不同,对照组的节点数为166,SAs组的节点数为89,对照组的节点数明显高于SAs组。如图9所示,对照组的边(1963)明显多于SAs组(645),对照组的平均度(23.651)高于SAs组的平均度(14.494)。因此对照组比磺胺处理组网络复杂度更高,群落间具有更多的相互作用。

3 讨论

已有研究表明,黑水虻可有效降解抗生素、农药等典型有机污染物^[12],Cai等^[8]研究了黑水虻幼虫对四环素的降解能力,研究发现降解四环素的主要因素为黑水虻幼虫肠道微生物,并且肠道微生物可加快降解四环素。黑水虻应用于禽畜粪便中抗生素的有效降解,但抗生素对黑水虻幼虫生长及肠道微生物组成产生影响并不明确。

本研究幼虫生长和基质转化率的结果表明,磺胺可以影响黑水虻幼虫的生长和基质的转化率。SAs组幼虫的重量和基质转化率都显著高于对照组,表明1000 μg/kg磺胺对黑水虻幼虫的生长和基质转化率有积极影响。这可能是在不影响肠道菌群基本功能的情况下,通过适量的磺胺降低肠道菌群数量和生物多样性来减少微生物对宿主体内摄入营养物质的消化吸收,增加宿主可利用的营养物质,从而利于机体生长^[13];同时磺胺可使动物肠道壁变薄,利于宿主对营养物质的吸收^[14];磺胺也可通过抑制机体免疫反应,减少用于维持免疫的营养物质,幼虫可利用更多的营养物质用于生长^[14]。此外,磺胺可减少饲喂基质中抗营养因子的不利影响,提高基质的转化率,从而促进生长^[15]。

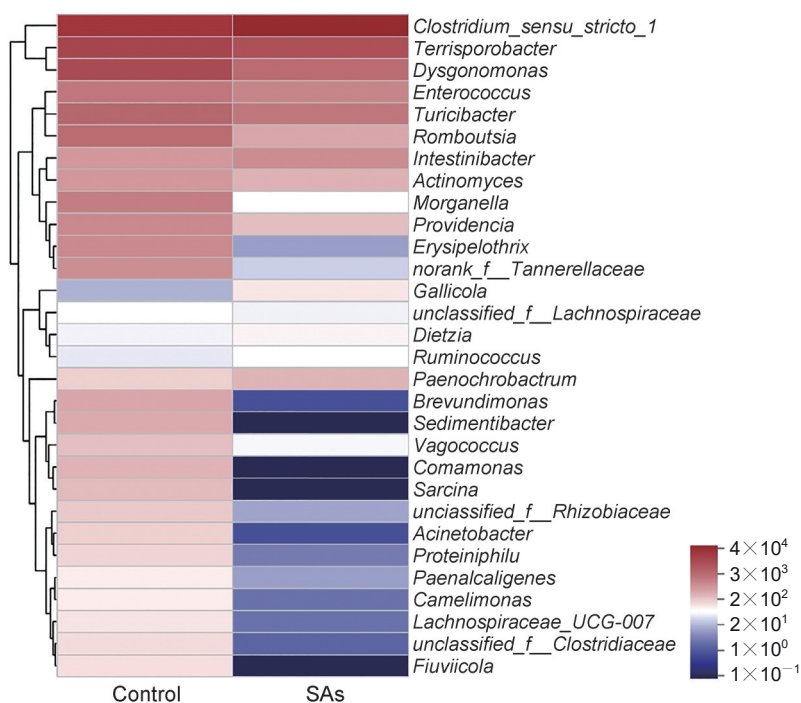


图7 不同组间基于16SrRNA属水平的热图

Fig. 7 Heatmap based on 16SrRNA genus level between SAs and control groups

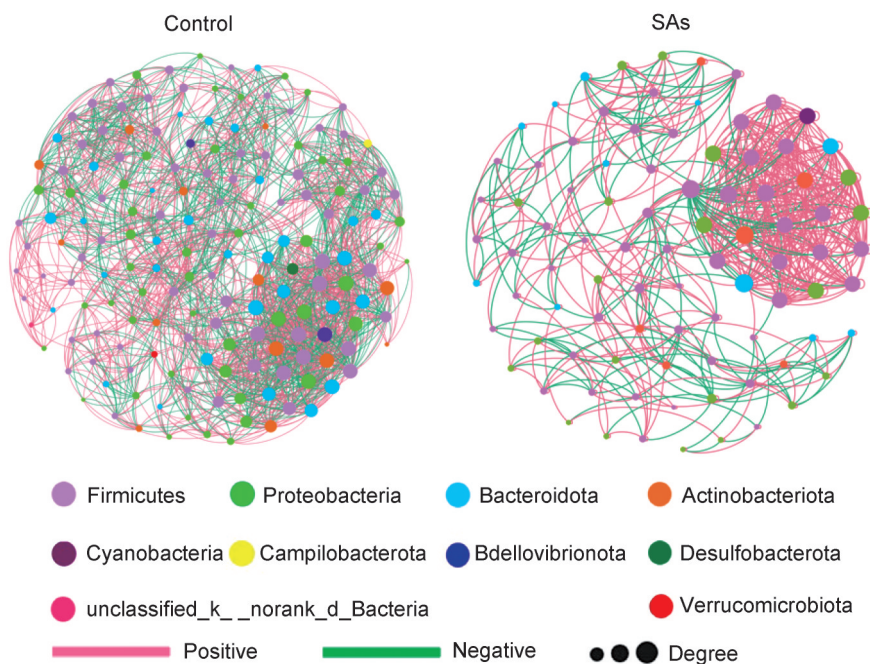


图8 不同处理对肠道微生物网络的影响

Fig. 8 Impact of different groups on gut microbial network

黑水虻幼虫肠道中的优势门是厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门和放线菌门(图6),不同研究显示上述菌门为黑水虻幼虫肠道的主要菌门^[16]。本研究中,与对照组相比,SAs组的厚壁菌门相对丰度显著增加,而拟杆菌门相对丰度有所降低。与拟杆菌门相比,厚壁菌门有利

于吸收能量物质,从而增加宿主的体重^[17-18]。Rahat-Rozenbloom等^[19]研究发现肥胖个体肠道中厚壁菌门相对丰度明显增加,而拟杆菌门的相对丰度有所降低。黑水虻幼虫饲喂磺胺后,对照组样本中厚壁菌门和拟杆菌门的比值为4.07,SAs组幼虫样本中的比值为20.69,说明磺

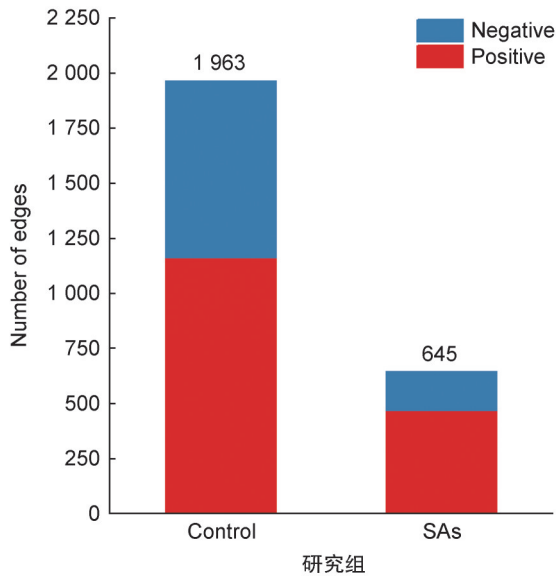


图9 不同样本对肠道微生物影响的共生网络图边数量的柱形图

Fig. 9 Column chart of the number of edges in the symbiotic network diagram for the impact of different samples on gut microbiota

胺处理对黑水虻幼虫正常的生长具有积极的影响。已有研究证实包括摩根氏菌属、肠球菌属、普罗威登斯菌属和营发酵单胞菌属等多种菌属是黑水虻幼虫肠道微生物群的核心成员^[20]。在本研究中SAs组的摩根氏菌属和普罗威登斯菌属均低于对照组,此外共生细菌服务于关键的代谢活动,例如食物消化,这对宿主的生存和繁殖至关重要。根据之前的一项研究,摩根氏菌属和普罗威登斯菌属共同具有产生脲酶的能力,导致产生大量的生物胺,这可以中和肠道的酸性消化液,防止某些细菌物种被水解^[21]。因此,SAs组中摩根氏菌属和普罗威登斯菌属的下降可能对幼虫消化和肠道微生物组成产生影响。在黑水虻幼虫的研究中,很少在肠道中检测到高丰度的梭状芽孢杆菌1属、土生孢杆菌属、苏黎世杆菌属,然而,在一些研究中发现了相反的情况,例如Wu等研究表明饲喂猪粪的黑水虻幼虫的肠道中梭状芽孢杆菌1属、土生孢杆菌属、苏黎世杆菌属的相对丰度较高,他们将此归因于幼虫的饮食^[22]。因此,本研究中高丰度的梭状芽孢杆菌1属、土生孢杆菌属、苏黎世杆菌属可能来自猪粪。与SAs组相比,在对照组中检测到某些特有的属,包括栖河菌属(*Fluviicola*)、沉积物杆菌属(*Sed-*

imentibacter)、八叠球菌属(*Sarcina*)、丛毛单胞菌属(*Comamonsa*),它们也可能来自猪粪。最后,与对照组相比,SAs组检测到更高丰度的梭状芽孢杆菌1属。而添加梭状芽孢杆菌1属可以增强黑水虻幼虫转化有机废物的能力,可以加快有机废物的营养转化和生物转化^[23]。

本研究中,猪粪中添加1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 磺胺可显著降低黑水虻幼虫肠道菌群的多样性。已有研究表明,磺胺类抗生素是一类广谱性抗生素,可以通过抑制革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的增殖来抑制大多数细菌的增长^[24]。首先,猪粪中的微生物群落受到了磺胺施加的选择性压力,一些敏感菌的生长会受到抑制甚至死亡,只有少部分的耐受菌存活并大量繁殖,从而降低猪粪中细菌的多样性^[25-26]。而黑水虻幼虫主要以猪粪为食,进入肠道的猪粪中的微生物群落组成较为单一,幼虫肠道微生物多样性的来源会受到影响^[27]。其次,在猪粪颗粒表面吸附有磺胺抗生素,经黑水虻幼虫摄食进入肠道内,幼虫肠道内自身的微生物菌群的多样性会降低。以上的两方面可能是磺胺抗生素造成黑水虻幼虫肠道微生物多样性降低的主要原因,类似的结果也在抗生素暴露后的罗非鱼^[28]和老鼠^[29]肠道内观察到。共生网络常用于分析微生物之间复杂的相互作用^[30],作为种群结构和动态的主要决定因素,这些相互作用对于微生物群落的形成至关重要^[31]。网络中连接数量越多,平均程度越高,网络越复杂,复杂程度越高的网络则通常越稳定^[32-34]。由图9可知,SAs组的边的连接数量和平均程度都低于对照组,这表明经过磺胺处理后黑水虻幼虫肠道微生物群的复杂性有所下降。

4 结论

猪粪中添加1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 磺胺可显著提高黑水虻幼虫重量和基质转化率,但显著降低了幼虫肠道微生物群落多样性,并显著改变黑水虻幼虫肠道细菌群落的组成结构。此外,添加1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 磺胺降低黑水虻幼虫肠道微生物群落的复杂性。磺胺虽然会降低幼虫肠道微生物群落的多样性和复杂性,但在黑水虻幼虫生长及基质转化率方面表现出优势,此结果为研究

磺胺对黑水虻幼虫生长和肠道微生物群落的影响提供理论基础,也为黑水虻转化含有磺胺的禽畜粪便提供技术支撑。

参考文献:

- [1] 黎放. 水虻幼虫及其肠道微生物对典型 β -内酰胺类抗生素的降解作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
LI F. Study on the Degradation of Typical β -lactam Antibiotics by Hydrangea Larvae and Their Intestinal Microorganisms[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022.
- [2] CHEE-SANFORD J C, MACKIE R I, KOIKE S, *et al.* Fate and Transport of Antibiotic Residues and Antibiotic Resistance Genes Following Land Application of Manure Waste[J]. *J Environ Qual*, 2009, **38**(3): 1086–1108. DOI: 10.2134/jeq2008.0128.
- [3] KÜMMERER K. Antibiotics in the Aquatic Environment: A Review: Part II[J]. *Chemosphere*, 2009, **75**(4): 435–441. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.12.006.
- [4] 李晓平, 邵宏. 抗生素滥用现象剖析与建议[J]. 医学与哲学, 2005, **26**(12): 20–24.
LI X P, SHAO H. Analysis and Suggestion to Antibiotics Abuse[J]. *Med Philos*, 2005, **26**(12): 20–24.
- [5] 刘勇钢, 韩继红, 高亚玲. 抗生素菌渣堆肥产气无害化处理技术现状[J]. 煤炭与化工, 2015, **38**(3): 32–33.
LIU Y G, HAN J H, GAO Y L. Current Technologies on Harmless Treatment of Antibiotic Fermentation Residue Composing Gas[J]. *Coal Chem Ind*, 2015, **38**(3): 32–33.
- [6] ZHOU L J, YING G G, ZHANG R Q, *et al.* Use Patterns, Excretion Masses and Contamination Profiles of Antibiotics in a Typical Swine Farm, South China[J]. *Environ Sci Process Impacts*, 2013, **15**(4): 802–813. DOI: 10.1039/c3em30682h.
- [7] 李梦雅. 饲料中磺胺对亮斑扁角水虻生长发育及生理的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2018.
LI M Y. The Effect of Sulfonamides-added Feedstuff on the Growth, Development and Physiology of *Hermetia illucens* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018.
- [8] CAI M M, MA S T, HU R Q, *et al.* Systematic Characterization and Proposed Pathway of Tetracycline Degradation in Solid Waste Treatment by *Hermetia illucens* with Intestinal Microbiota[J]. *Environ Pollut*, 2018, **242**(Pt A): 634–642. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.06.105.
- [9] DIENER S, ZURBRÜGG C, TOCKNER K. Conversion of Organic Material by Black Soldier Fly Larvae: Establishing Optimal Feeding Rates[J]. *Waste Manag Res*, 2009, **27**(6): 603–610. DOI: 10.1177/0734242X09103838.
- [10] 程梦倩. 四环素对金鱼肠道菌群耐受性和菌群结构影响的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
CHENG M Q. Characterization of Tetracycline Effects on Antibiotic Resistance and Microbial Community in Gut of Goldfish(*Carassius Auratus*) Linnaeus[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2019.
- [11] 李慧, 梁沪莲, 徐爱玲, 等. 4种抗生素对蚯蚓-污泥系统细菌群落结构的影响[J]. 微生物学杂志, 2020, **40**(1): 37–44. DOI: 10.3969/j.issn.1005-7021.2020.01.005.
LI H, LIANG H L, XU A L, *et al.* Effects of Four Antibiotics on Bacterial Community Structure of Earthworm-sludge System[J]. *J Microbiol*, 2020, **40**(1): 37–44. DOI: 10.3969/j.issn.1005-7021.2020.01.005.
- [12] LALANDER C, SENECALE J, GROS CALVO M, *et al.* Fate of Pharmaceuticals and Pesticides in Fly Larvae Composting[J]. *Sci Total Environ*, 2016, **565**: 279–286. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.04.147.
- [13] GASKINS H R, COLLIER C T, ANDERSON D B. Antibiotics as Growth Promotants: Mode of Action[J]. *Anim Biotechnol*, 2002, **13**(1): 29–42. DOI: 10.1081/ABIO-120005768.
- [14] 郭福有, 马杰. 饲用抗生素的研究与应用进展[J]. 饲料博览(技术版), 2007(9): 13–16.
GUO F Y, MA J. Research and Application Progress of Feed Antibiotics[J]. *Feed Rev*, 2007(9): 13–16.
- [15] 田亚东, 蔡辉益. 饲用抗生素的促生长机制[J]. 饲料工业, 2004, **25**(1): 16–18. DOI: 10.3969/j.issn.1001-991X.2004.01.006.
TIAN Y D, CAI H Y. The Growth-promoting Mechanism of Nutritional Antibiotics[J]. *Feed Ind*, 2004, **25**(1): 16–18. DOI: 10.3969/j.issn.1001-991X.2004.01.006.
- [16] AO Y, YANG C R, WANG S C, *et al.* Characteristics and Nutrient Function of Intestinal Bacterial Communities in Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Larvae in Livestock Manure Conversion[J]. *Microb Biotechnol*, 2021, **14**(3): 886–896. DOI: 10.1111/1751-7915.13595.
- [17] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, *et al.* An Obesity-associated Gut Microbiome with Increased Capacity for Energy Harvest[J]. *Nature*, 2006, **444**(7122): 1027–1031. DOI: 10.1038/nature05414.
- [18] KRAJMALNIK-BROWN R, ILHAN Z E, KANG D W, *et al.* Effects of Gut Microbes on Nutrient Absorption and Energy Regulation[J]. *Nutr Clin Pract*, 2012, **27**(2): 201–214. DOI: 10.1177/0884533611436116.
- [19] RAHAT-ROZENBLOOM S, FERNANDES J, GLOOR G B, *et al.* Evidence for Greater Production of Colonic Short-chain Fatty Acids in Overweight than Lean Humans[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2014, **38**(12): 1525–1531. DOI: 10.1038/ijo.2014.46.

- [20] TANGA C M, WAWERU J W, TOLA Y H, *et al.* Organic Waste Substrates Induce Important Shifts in Gut Microbiota of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.): Coexistence of Conserved, Variable, and Potential Pathogenic Microbes[J]. *Front Microbiol*, 2021, **12**: 635881. DOI: 10.3389/fmicb.2021.635881.
- [21] SHUMO M, KHAMIS F M, OMBURA F L, *et al.* A Molecular Survey of Bacterial Species in the Guts of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) Reared on Two Urban Organic Waste Streams in Kenya[J]. *Front Microbiol*, 2021, **12**: 687103. DOI: 10.3389/fmicb.2021.687103.
- [22] 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]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, **211**: 111925. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.111925.
- [23] 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]. *Microb Biotechnol*, 2019, **12**(3): 528–543. DOI: 10.1111/1751-7915.13393.
- [24] 熊小波, 孙博琳, 秦静婷, 等. 磺胺甲恶唑对赤子爱胜蚓肠道微生物群落的影响[J]. 环境科学学报, 2020, **40**(11): 4207–4214. DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2020.0275.
XIONG X B, SUN B L, QIN J T, *et al.* Effects of Sulfamethoxazole on *Eisenia fetida* Gut Microbiota[J]. *Acta Sci Circumstantiae*, 2020, **40**(11): 4207–4214. DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2020.0275.
- [25] 李彦文, 莫测辉, 赵娜, 等. 菜地土壤中磺胺类和四环素类抗生素污染特征研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(6): 1762–1766. DOI: 10.13227/j.hjks.2009.06.050.
LI Y W, MO C H, ZHAO N, *et al.* Investigation of Sulfonamides and Tetracyclines Antibiotics in Soils from Various Vegetable Fields[J]. *Environ Sci*, 2009, **30**(6): 1762–1766. DOI: 10.13227/j.hjks.2009.06.050.
- [26] SARMAH A K, MEYER M T, BOXALL A B A. A Global Perspective on the Use, Sales, Exposure Pathways, Occurrence, Fate and Effects of Veterinary Antibiotics (VAs) in the Environment[J]. *Chemosphere*, 2006, **65**(5): 725–759. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.03.026.
- [27] RODRIGUEZ-GONZALEZ C, OSPINA-BETANCOURTH C, SANABRIA J. High Resistance of a Sludge Enriched with Nitrogen-fixing Bacteria to Ammonium Salts and Its Potential as a Biofertilizer[J]. *Bioengineering*, 2021, **8**(5): 55. DOI: 10.3390/bioengineering8050055.
- [28] HE S, ZHOU Z, MENG K, *et al.* Effects of Dietary Antibiotic Growth Promoter and *Saccharomyces cerevisiae* Fermentation Product on Production, Intestinal Bacterial Community, and Nonspecific Immunity of Hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus* Female x *Oreochromis aureus* Male)[J]. *J Anim Sci*, 2011, **89**(1): 84–92. DOI: 10.2527/jas.2010-3032.
- [29] YIN J B, ZHANG X X, WU B, *et al.* Metagenomic Insights into Tetracycline Effects on Microbial Community and Antibiotic Resistance of Mouse Gut[J]. *Ecotoxicology*, 2015, **24**(10): 2125–2132. DOI: 10.1007/s10646-015-1540-7.
- [30] ZHANG Z Y, ZHANG Q, LU T, *et al.* Residual Chlorine Disrupts the Microbial Communities and Spreads Antibiotic Resistance in Freshwater[J]. *J Hazard Mater*, 2022, **423**(Pt B): 127152. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.127152.
- [31] HANSEN S K, RAINEY P B, HAAGENSEN J A J, *et al.* Evolution of Species Interactions in a Biofilm Community[J]. *Nature*, 2007, **445**(7127): 533–536. DOI: 10.1038/nature05514.
- [32] LIU S W, YU H, YU Y H, *et al.* Ecological Stability of Microbial Communities in Lake Donghu Regulated by Keystone Taxa[J]. *Ecol Indic*, 2022, **136**: 108695. DOI: 10.1016/j.ecolind.2022.108695.
- [33] HUANG T, LI Z, TYE K D, *et al.* Probiotic Supplementation during Pregnancy Alters Gut Microbial Networks of Pregnant Women and Infants[J]. *Front Microbiol*, 2022, **13**: 1042846. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1042846.
- [34] HAO J W, LIU S, GUO Z X, *et al.* Effects of Disinfectants on Larval Growth and Gut Microbial Communities of Black Soldier Fly Larvae[J]. *Insects*, 2023, **14**(3): 250. DOI: 10.3390/insects14030250.