

# 一株高效几丁质降解菌蜡样芽孢杆菌 BSF-CH1 的分离鉴定及其在黑水虻蛹壳生物转化中的应用

姚祥<sup>1</sup>, 刘倩<sup>1</sup>, 王胜辉<sup>1</sup>, 杨健<sup>1</sup>, 彭才望<sup>2</sup>, 陈武<sup>1</sup>, 尹丽娟<sup>1</sup>, 戴良英<sup>1</sup>, 王运生<sup>1\*</sup>

1 湖南农业大学 植物保护学院, 湖南 长沙

2 湖南农业大学 机电工程学院, 湖南 长沙

姚祥, 刘倩, 王胜辉, 杨健, 彭才望, 陈武, 尹丽娟, 戴良英, 王运生. 一株高效几丁质降解菌蜡样芽孢杆菌 BSF-CH1 的分离鉴定及其在黑水虻蛹壳生物转化中的应用[J]. 微生物学报, 2025, 65(8): 3721-3730.

YAO Xiang, LIU Qian, WANG Shenghui, YANG Jian, PENG Caiwang, CHEN Wu, YIN Lijuan, DAI Liangying, WANG Yunsheng. An efficient chitinolytic bacterium *Bacillus cereus* BSF-CH1: isolation, identification, and application in puparium biotransformation of *Hermetia illucens*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(8): 3721-3730.

**摘要:** 黑水虻(*Hermetia illucens*)养殖产生的蛹壳富含几丁质和蛋白质,但目前缺乏高效环保的利用方法。**【目的】**从黑水虻蛹壳堆中分离筛选几丁质降解菌,探索其在蛹壳生物转化中的应用潜力。**【方法】**使用平板筛选和 16S rRNA 基因测序进行分离和鉴定,采用 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)法检测其酶活力。使用 PacBio HiFi 技术进行全基因组测序,以阐明其降解机制。通过蛹壳发酵实验探索其应用潜力。**【结果】**共鉴定得到 7 株分离菌,其中活性最强的菌株为蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) BSF-CH1,该菌株在发酵第 2 天时几丁质酶活力达到最高值 0.48 U/mL。全基因组测序结果显示 BSF-CH1 含有 3 个几丁质酶(chitinase)基因、7 个几丁质脱乙酰酶(chitin deacetylase)基因及 4 个壳糊精酶基因(chitodextrinase)。蛹壳生物转化实验表明,BSF-CH1 能在 7 d 内将蛹壳质量降解 47.2%,几丁质和蛋白质的降解率分别达到 64.6% 和 59.1%。**【结论】**本研究报道了从黑水虻蛹壳中分离的高效几丁质降解菌,为蛹壳的生物转化利用提供了新思路,对促进黑水虻产业的可持续发展具有重要意义。

**关键词:** 几丁质降解菌; 黑水虻蛹壳; 蜡样芽孢杆菌; 生物转化; 基因组分析

资助项目: 湖南省自然科学基金面上项目(2023JJ30310); 湖南省教育厅资助科研项目(22A0169)

This work was supported by the General Program of the Natural Science Foundation of Hunan Province (2023JJ30310) and the Scientific Research Project Funded by the Education Department of Hunan Province (22A0169).

\*Corresponding author. E-mail: wangys@hunau.edu.cn

Received: 2025-02-13; Accepted: 2025-03-14; Published online: 2025-05-28

# An efficient chitinolytic bacterium *Bacillus cereus* BSF-CH1: isolation, identification, and application in puparium biotransformation of *Hermetia illucens*

YAO Xiang<sup>1</sup>, LIU Qian<sup>1</sup>, WANG Shenghui<sup>1</sup>, YANG Jian<sup>1</sup>, PENG Caiwang<sup>2</sup>, CHEN Wu<sup>1</sup>, YIN Lijuan<sup>1</sup>, DAI Liangying<sup>1</sup>, WANG Yunsheng<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan, China

<sup>2</sup> College of Mechanical and Electrical Engineering, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan, China

**Abstract:** The puparium of *Hermetia illucens* is rich in chitin and protein, while efficient and environmentally friendly utilization methods remain to be developed. **[Objective]** To isolate chitinolytic bacteria from the puparium pile of *H. illucens* and explore their potential in puparium biotransformation. **[Methods]** Strains were isolated by the plate screening method and identified by 16S rRNA gene sequencing. The 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method was employed to determine the chitinase activity. Whole genome sequencing by PacBio HiFi was conducted to elucidate the degradation mechanism. The application potential of the strain was explored by puparium fermentation experiments. **[Results]** Among the seven isolated strains, *Bacillus cereus* BSF-CH1 showed the highest chitinase activity, reaching a maximum chitinase activity of 0.48 U/mL on the second day of fermentation. The genome of BSF-CH1 contained three chitinase genes, seven chitin deacetylase genes, and four chitodextrinase genes. Puparium biotransformation experiments showed that BSF-CH1 could degrade 47.2% of puparium mass within 7 days, with degradation rates of 64.6% and 59.1% for chitin and protein, respectively. **[Conclusion]** This study reports an efficient chitinolytic bacterium isolated from the puparium of *H. illucens*, providing new insights into the puparium biotransformation and having important implications for promoting the sustainable development of the *H. illucens* industry.

**Keywords:** chitinolytic bacteria; puparium of *Hermetia illucens*; *Bacillus cereus*; biotransformation; genome analysis

随着全球人口增长和环境问题日益突出, 如何实现有机废弃物的资源化利用已成为当前亟待解决的问题。黑水虻(*Hermetia illucens*)因其高效转化有机废物的能力而受到广泛关注<sup>[1]</sup>。研究表明, 黑水虻幼虫可将餐厨垃圾等有机废弃物转化为富含蛋白质和脂肪的生物质<sup>[2-3]</sup>, 是理想的饲用蛋白源。然而, 黑水虻产业发展面临的一个重要问题是蛹壳副产物的处理与利用。

黑水虻蛹壳含有丰富的几丁质和蛋白质<sup>[4]</sup>。其中几丁质是由 N-乙酰氨基葡萄糖通过  $\beta$ -1,4 糖

苷键连接而成的线性多糖, 是自然界中含量仅次于纤维素的第二丰富的生物大分子<sup>[5]</sup>。几丁质及其衍生物壳聚糖因具有生物相容性、可降解性和抗菌活性等特点, 在农业、食品、医药和环境保护等领域具有广泛应用前景<sup>[6]</sup>。

目前, 蛹壳中几丁质的提取主要采用化学法, 即通过强酸去除矿物质、强碱脱蛋白以获得粗几丁质<sup>[7]</sup>。该方法不仅污染环境、能耗高, 而且产物应用受限。微生物发酵法作为一种绿色环保的替代方案近年来备受瞩目<sup>[8]</sup>。已有研究

表明, 某些微生物可通过分泌几丁质酶、蛋白酶等水解酶来降解甲壳类废弃物<sup>[9-11]</sup>。然而, 目前关于专门针对黑水虻蛹壳的降解菌研究较少, 其生物转化过程中的分子机制也尚未阐明。

几丁质降解菌通常具有复杂的几丁质代谢系统, 包括几丁质酶、几丁质脱乙酰酶和多糖单加氧酶等<sup>[12]</sup>。这些酶的协同作用可将几丁质逐步降解为 N-乙酰氨基葡萄糖单体或寡聚物。近年来, 随着基因组测序技术的发展, 对几丁质降解菌的分子机制研究取得了重要进展<sup>[13-14]</sup>。然而, 从黑水虻蛹壳中分离的几丁质降解菌的基因组特征及其降解机制仍有待深入研究。基于此, 本研究旨在: (1) 从黑水虻蛹壳堆中分离筛选高效几丁质降解菌; (2) 通过全基因组测序解析其分子特征和代谢潜力; (3) 评估其在蛹壳生物转化中的应用效果。本研究将为黑水虻蛹壳的绿色高值化利用提供新思路, 对推动昆虫养殖产业的可持续发展具有重要意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 样品来源

黑水虻蛹壳样品采集自湖南农业大学植保基地黑水虻养殖室(28°11'N, 113°04'E)。采样时选取堆放时间为 1-2 周的化蛹之后的蛹壳, 用无菌水洗净、晾干后于 -20 °C 保存备用。

#### 1.1.2 主要试剂和仪器

3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)、革兰氏染色试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司; 刚果红购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司。

高压灭菌锅购自上海申安医疗器械厂; 生化培养箱购自上海一恒科学仪器有限公司; 超净工作台购自苏州安泰空气技术有限公司; 高速离心机购自 Eppendorf 公司; PCR 仪购自 Bio-Rad 公司。

### 1.1.3 培养基

富集培养基(g/L): 胶体几丁质 20.0, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.7, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.3, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.02, NaCl 1.5, pH 7.0。

筛选培养基(g/L): 在富集培养基基础上添加琼脂 20.0 和刚果红 0.2。

几丁质培养基: 在富集培养基基础上添加琼脂 20.0 g/L 和胰蛋白胨 5.0 g/L。

种子培养基(g/L): 胶体几丁质 20.0, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.7, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.3, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.02, NaCl 5.0, pH 7.0。

发酵培养基: 在种子培养基基础上添加胰蛋白胨 10.0 g/L。

所有培养基 121 °C 灭菌 20 min。

## 1.2 几丁质降解菌的分离与筛选

称取 2 g 蛹壳样品于无菌研钵中研磨, 加入 10 mL 无菌水制成悬浮液。取 1 mL 接种于富集培养基中, 30 °C、180 r/min 振荡培养 6 h。将培养液进行 10<sup>-3</sup>-10<sup>-6</sup> 梯度稀释, 每个稀释度取 100 μL 涂布于筛选培养基平板, 37 °C 培养 5 d。挑选具有明显透明圈的菌落进行纯化, 获得单菌落后保存于 -80 °C 甘油管中。

## 1.3 菌株鉴定

### 1.3.1 形态学观察

将纯化菌株接种于几丁质培养基平板, 37 °C 培养 7 d 后观察菌落形态。挑取单菌落进行革兰氏染色, 光学显微镜下观察细胞形态。

### 1.3.2 16S rRNA 基因测序

使用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取菌株 DNA。采用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCC TGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTT ACGACTT-3')<sup>[15]</sup> 扩增 16S rRNA 基因。PCR 反应体系(50 μL): 模板 DNA 2 μL, 正、反向引物 (10 μmol/L) 各 1 μL, 2×Taq PCR Mix 25 μL, ddH<sub>2</sub>O 21 μL。PCR 反应程序: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 35 个循环; 72 °C 终延伸 10 min。PCR

产物送至北京擎科生物科技股份有限公司测序，结果通过 NCBI BLAST 进行比对分析。

## 1.4 几丁质酶活力测定

### 1.4.1 DNS 标准曲线的制作

配制 10 mg/mL N-乙酰氨基葡萄糖溶液，取 0–80  $\mu\text{L}$  于 2 mL 离心管中，加入蒸馏水至 500  $\mu\text{L}$ 。加入 500  $\mu\text{L}$  DNS 试剂，100  $^{\circ}\text{C}$  水浴 10 min 后冷却，12 000 r/min 离心 10 min。取 200  $\mu\text{L}$  上清于 96 孔板中，测定  $OD_{540}$  值。以 N-乙酰氨基葡萄糖浓度为横坐标， $OD_{540}$  为纵坐标绘制标准曲线。

### 1.4.2 酶活力测定

DNS 法测酶活<sup>[16]</sup>，将菌株接种于种子培养基中，30  $^{\circ}\text{C}$  预培养 24 h 后，按 1% 接种量转接至发酵培养基中培养。每隔 24 h 取样，12 000 r/min 离心 10 min 收集上清作为粗酶液。取 250  $\mu\text{L}$  粗酶液与等体积 2% 胶体几丁质混合，50  $^{\circ}\text{C}$  反应 30 min。加入 500  $\mu\text{L}$  DNS 试剂终止反应，100  $^{\circ}\text{C}$  水浴 10 min 后测定  $OD_{540}$ 。以灭活的粗酶液为对照。酶活力单位(U)定义为每分钟产生 1  $\mu\text{mol}$  还原糖所需的酶量。

## 1.5 全基因组测序与分析

选取酶活最高的菌株 BSF-CH1 进行全基因组测序。使用 PacBio HiFi 技术进行测序(西安浩瑞基因技术有限公司)。采用 PGAP 流程<sup>[17]</sup>进行基因组注释，使用 antiSMASH<sup>[18]</sup>预测次级代谢产物基因簇，使用 KEGG<sup>[19]</sup>分析代谢通路。

## 1.6 蛹壳生物转化实验

将蛹壳洗净烘干后研磨成粉末(粒径 $\leq 0.5$  mm)。在 500 mL 三角瓶中加入 5 g 蛹壳粉末和 100 mL 无菌水。将 BSF-CH1 种子液按 1% 接种量接种，30  $^{\circ}\text{C}$ 、160 r/min 振荡培养 7 d。每隔 24 h 取样测定还原糖含量(DNS 法)、游离氨基酸含量(茚三酮比色法<sup>[20]</sup>)、pH 值、蛹壳降解率、几丁质含量(改良酸碱法<sup>[21]</sup>)、蛋白质含量(凯氏定氮法<sup>[22]</sup>)。

## 1.7 数据分析

所有实验设 3 个重复。使用 SPSS 25.0 进行统计分析，数据以平均值 $\pm$ 标准差表示。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 多重比较检验显著性差异( $P < 0.05$ )。使用 Origin 2021 绘制图表。

## 2 结果与分析

### 2.1 几丁质降解菌的分离与鉴定

从黑水虻蛹壳堆中共分离获得 7 株能在几丁质筛选培养基上形成透明圈的细菌。通过测定各菌株的几丁质酶活力，发现它们具有不同程度的几丁质降解能力(表 1)。其中 3 株属于芽孢杆菌属，活性最高的 BSF-CH1 菌株在发酵第 2 天时达到 0.48 U/mL，显著高于其他菌株( $P < 0.05$ )。链霉菌属菌株表现出较弱的降解活性，而克雷伯氏菌属和短杆菌属菌株未检测到明显的酶活力。选择酶活力最高的 BSF-CH1 进行后续研究。

### 2.2 菌株 BSF-CH1 的生物学特征

#### 2.2.1 BSF-CH1 的形态特征与 16S rRNA 基因鉴定

如图 1A 所示，BSF-CH1 在几丁质平板上形成较大菌落，菌落整体呈圆形，灰白色，边

表1 分离菌株的菌种及酶活力

Table 1 Strains of isolated bacteria and enzyme activity

Serial numbers	Strains	Enzyme activity (U/mL)
BSF-CH1	<i>Bacillus cereus</i>	0.48
BSF-2	<i>Virgibacillus salarius</i>	0.31
BSF-3	<i>Bacillus thuringiensis</i>	0.31
BSF-4	<i>Bacillus licheniformis</i>	0.37
BSF-5	<i>Streptomyces diastaticus</i>	0.23
BSF-6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ND
BSF-7	<i>Brevibacterium avium</i>	ND

ND表示未检测到酶活力。

ND indicates that no enzyme activity was detected.

缘不规则, 表面粗糙, 似融蜡状, 菌落周围存在较大几丁质降解圈, 显示出优异了几丁质降解能力。革兰氏染色呈阳性, 细胞杆状, 长 2.0–3.5  $\mu\text{m}$ , 宽 0.5–0.8  $\mu\text{m}$ , 单个或成链排列(图 1B)。16S rRNA 基因序列分析表明, BSF-CH1 与 *B. cereus* ATCC 14579 相似度最高。用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树(图 1C), BSF-CH1 与蜡样芽孢杆菌亲缘关系最近。结合菌落形态和革兰氏染色结果, 将其鉴定为蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)。

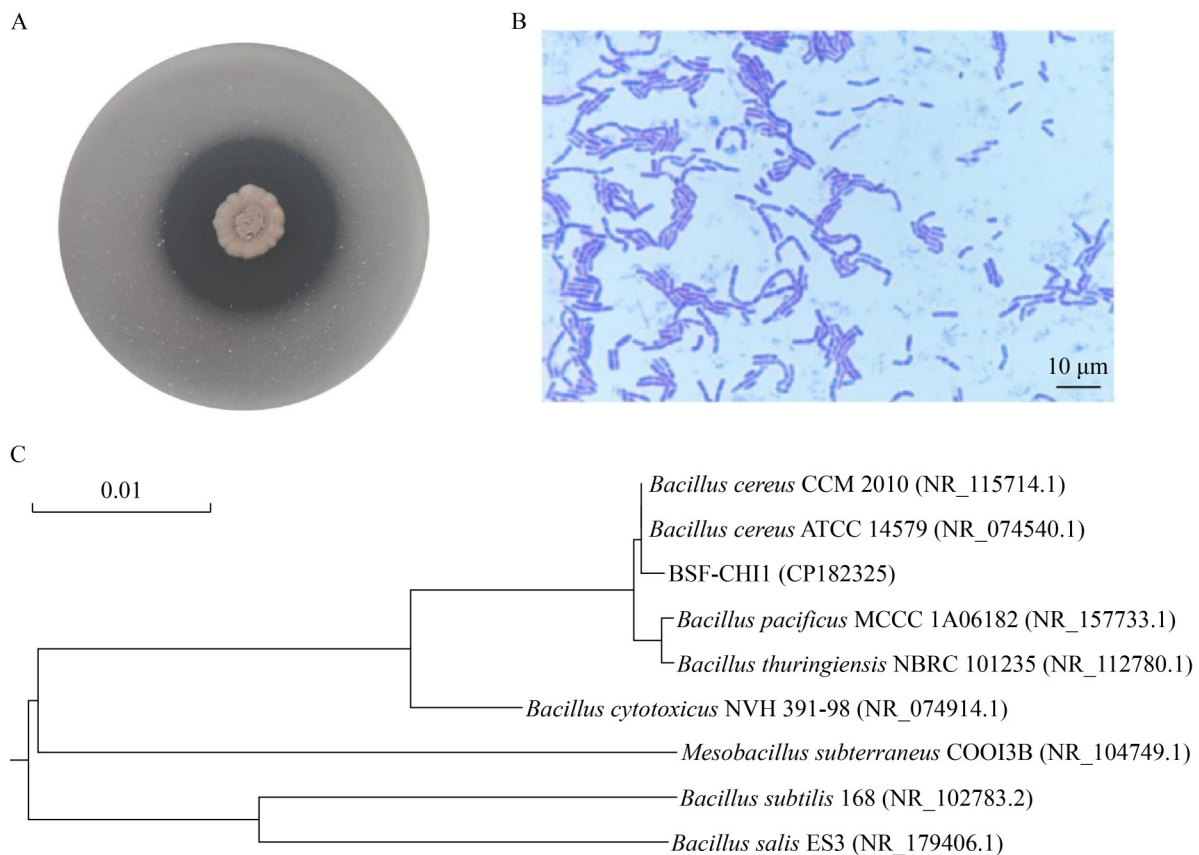
## 2.2.2 BSF-CH1 发酵液几丁质酶活及 pH 值变化

BSF-CH1 的几丁质酶活力在发酵初期快速上升, 第 2 天达到最高值 0.48 U/mL, 随后缓慢下降(图 2A)。pH 值从初始的 7.0 逐渐升高到 8.5 左右(图 2B), 这可能与蛋白质降解产生氨基化合物有关。

## 2.3 基因组特征分析

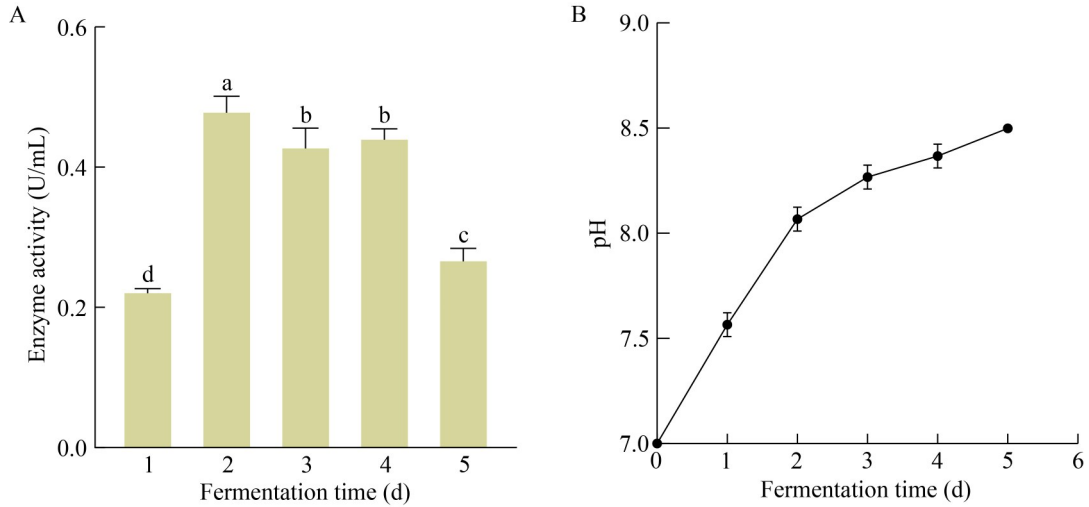
### 2.3.1 基因组总体特征

BSF-CH1 基因组测序获得 5 596 kb 完整序



**图1** 几丁质降解菌BSF-CH1的分离与鉴定。A: BSF-CH1在几丁质平板的菌落形态; B: BSF-CH1的革兰氏染色结果(100 $\times$ ); C: 基于BSF-CH1 16S rRNA基因序列构建的系统发育树。标尺为每个位点有0.01个核苷酸取代, 括号中的数字是这些菌株的16S rRNA基因序列在GenBank中的登录号。

**Figure 1** Isolation and identification of chitin-degrading bacterium BSF-CH1. A: Colony morphology of BSF-CH1 on chitin plates; B: Gram staining results of BSF-CH1 (100 $\times$ ); C: Phylogenetic tree constructed based on the 16S rRNA gene sequence of BSF-CH1. Scale bar represents 0.01 nucleotide substitutions per site, the numbers in parentheses are the accession numbers of these strains' 16S rRNA gene sequences in GenBank.



**图2 BSF-CH1发酵过程中的酶活力和pH变化情况。** A: BSF-CH1发酵过程中的酶活力变化情况; B: BSF-CH1发酵过程中的pH变化情况。

Figure 2 The changes in enzyme activity and pH during the fermentation process of BSF-CH1. A: The changes in enzyme activity during the fermentation process of BSF-CH1; B: The changes in pH during the fermentation process of BSF-CH1. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at  $P < 0.05$ .

列, 包含 1 个环状染色体(5 255 kb)和 2 个质粒(274 kb 和 67 kb), 基因组圈图如图 3 所示。总 G+C 含量为 35.2%, 共预测到 5 582 个蛋白质编码基因, 其中 5 573 个(99.84%)获得功能注释。

### 2.3.2 几丁质代谢相关基因

基因组分析发现了多个与几丁质代谢相关的基因(表 2), 包括 3 个几丁质酶基因(chitinase)、7 个几丁质脱乙酰酶基因(chitin deacetylase)和 4 个壳糊精酶基因(chitodextrinase)。这些基因的存在有力地支持了 BSF-CH1 具有高效降解几丁质的能力。此外, 基因组中还存在多个编码几丁质结合蛋白和纤维连接蛋白的基因, 这些蛋白可能参与了几丁质的识别和结合过程。

## 2.4 蛹壳生物转化效果

### 2.4.1 降解产物分析

在 7 d 发酵过程中, 还原糖含量从 0.75  $\mu\text{mol/mL}$  增加至 1.48  $\mu\text{mol/mL}$ (图 4A), 游离氨基酸含量从 1.86  $\mu\text{mol/mL}$  升至 11.26  $\mu\text{mol/mL}$ (图 4B), 表明 BSF-CH1 能有效降解蛹壳中的几

丁质和蛋白质。

### 2.4.2 降解效率评估

经过 7 d 发酵处理, 蛹壳总质量降解率达(47.2 $\pm$ 2.1)%, 几丁质含量从 15.30% 降至 10.25%, 降解率为(64.6 $\pm$ 3.2)%, 蛋白质含量从 17.80% 降至 13.80%, 降解率为(59.1 $\pm$ 2.8)% (图 4C)。这些初步研究表明, BSF-CH1 具有较好的蛹壳降解能力。

## 3 讨论与结论

本研究从黑水虻蛹壳中分离到的 BSF-CH1 菌株被鉴定为蜡样芽孢杆菌, 这之前报道的几丁质降解菌种类相似。廖会君等<sup>[23]</sup>和王敏等<sup>[24]</sup>分别从雪灵芝和黄粉虫虫蜕中分离到具有较强几丁质降解能力的芽孢杆菌, 表明芽孢杆菌可能是自然界中广泛分布的几丁质降解菌。BSF-CH1 来源于蛹壳堆, 说明其已适应该生态位, 这可能是其具有较强降解能力的重要原因。

基因组分析揭示 BSF-CH1 具有完整的几丁质降解系统, 包含 3 个几丁质酶基因、7 个几丁

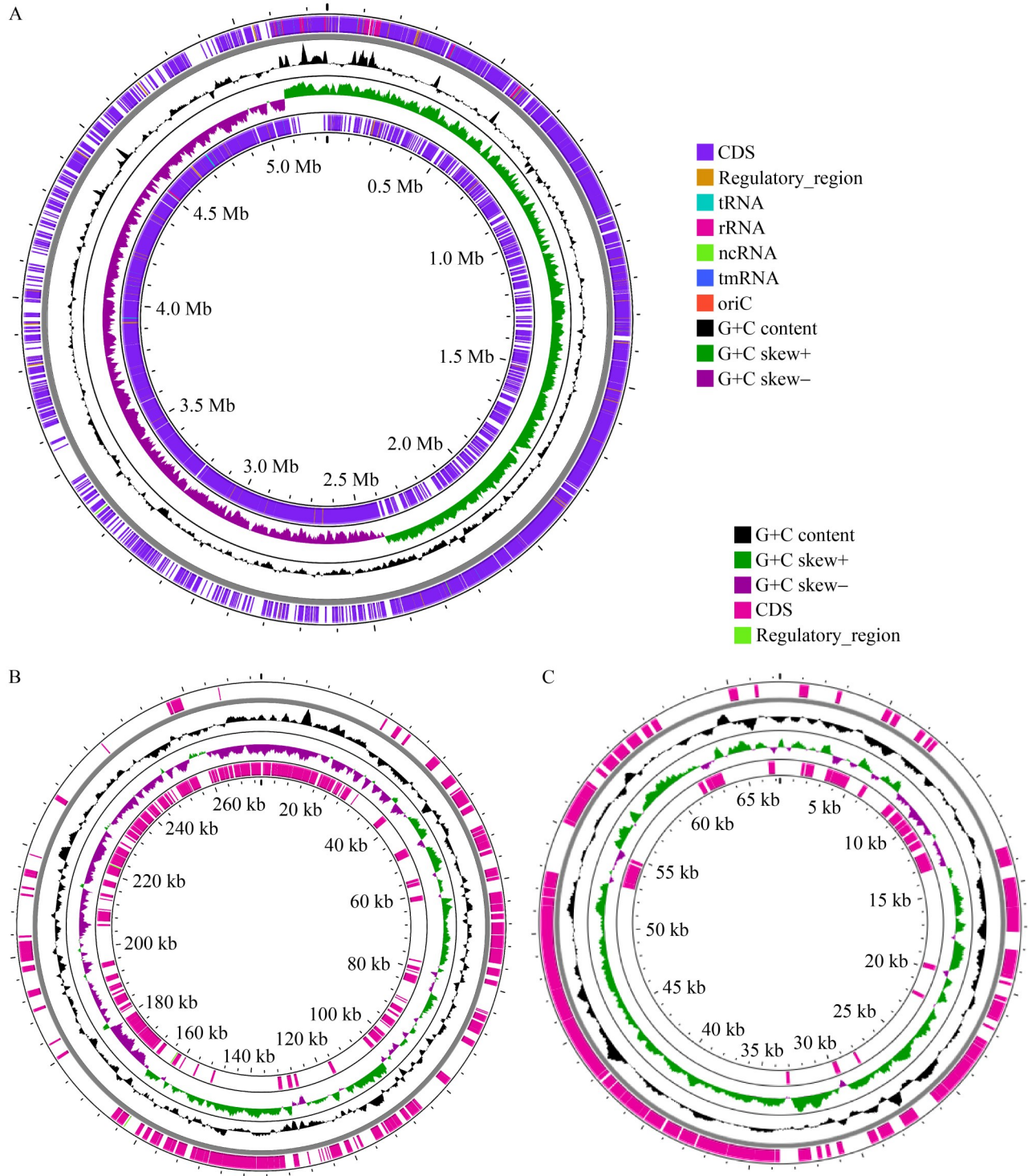


图3 BSF-CH1基因组圈图。A: 染色体(chr)基因组圈图; B: 质粒1 (plasmid 1)基因组圈图; C: 质粒2 (plasmid 2)基因组圈图。

Figure 3 Circular maps of BSF-CH1 genome. A: The circular map of the chromosome (chr) genome; B: The circular map of the plasmid 1 genome; C: The circular map of the plasmid 2 genome.

表2 BSF-CH1基因组中几丁质代谢相关基因的分布及功能注释

Table 2 Distribution and functional annotation of genes related to chitin metabolism in the genome of BSF-CH1

Gene number	Functional annotation	Sequence number	Start position	End position	Amino acid size (bp)
A1_01415	Chitin deacetylase	Chr	192 314	193 397	360
A1_01730	Chitodextrinase	Chr	267 606	269 631	675
A1_08430	Chitin deacetylase	Chr	1 539 616	1 540 321	234
A1_13285	Chitodextrinase	Chr	2 509 115	2 510 483	455
A1_14040	Chitin deacetylase	Chr	2 630 435	2 631 263	275
A1_15185	Chitin deacetylase	Chr	2 878 618	2 879 461	280
A1_17890	Chitinase	Chr	3 421 271	3 422 354	360
A1_18280	Chitin deacetylase	Chr	3 510 216	3 511 116	299
A1_25140	Chitin deacetylase	Chr	4 779 767	4 780 505	245
A1_25160	Chitin deacetylase	Chr	4 785 252	4 785 957	234
A1_27870	Chitodextrinase	Plasmid 1	67 713	69 954	746
A1_27875	Chitinase	Plasmid 1	70 086	72 453	788
A1_28005	Chitinase	Plasmid 1	100 866	102 870	667
A1_28425	Chitodextrinase	Plasmid 1	194 267	195 644	458

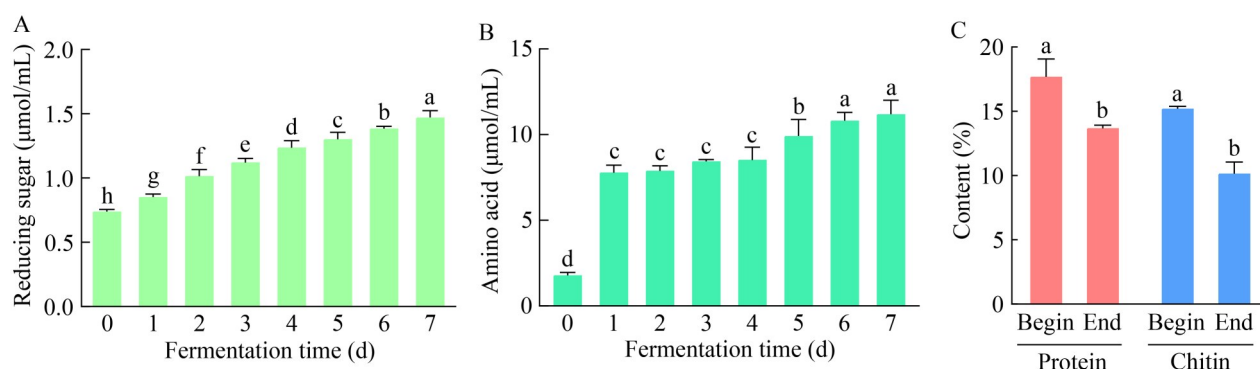


图4 蛹壳生物转化过程中各指标的变化。A: 还原糖含量变化情况; B: 游离氨基酸含量变化情况; C: 蛋白质/几丁质含量变化情况。

Figure 4 Changes in various indicators during the biotransformation process of pupal cases. A: Changes in reducing sugar content; B: Changes in free amino acid content; C: Changes in protein/chitin content. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at  $P < 0.05$ .

质脱乙酰酶基因和 4 个壳糊精酶基因。BSF-CH1 拥有较多的几丁质脱乙酰酶基因, 这可能是其具有较高降解效率的分子基础。壳糊精酶基因的存在确保了降解产物的进一步水解, 避免了中间产物的积累抑制。这种多酶协同的降解机制使 BSF-CH1 能够高效降解复杂的几丁质结构。

本研究发现, BSF-CH1 的几丁质酶活力在

发酵第 2 天时达到峰值(0.48 U/mL), 这与培养基 pH 值变化趋势相吻合。pH 值的升高可能与以下因素有关: (1) 几丁质降解释放 N-乙酰氨基葡萄糖, 进一步脱乙酰产生氨基化合物; (2) 蛋白质降解产生氨基酸和氨基化合物; (3) 菌体代谢产生碱性物质。pH 值的变化可能会影响酶的活性和稳定性, 这提示在工业应用中需要考虑 pH 调控策略。

BSF-CH1 对蛹壳的降解效率(7 d 总降解率 47.2%)与 Dhole 等<sup>[25]</sup>筛选出的降解效率最高的嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)相近, 同时显著优于其筛选出的其他菌株。BSF-CH1 表现出的高效降解能力可能源于: (1) 菌株来源于蛹壳环境, 具有良好的适应性; (2) 具有完整的几丁质降解酶系; (3) 能同时降解几丁质和蛋白质, 降低了底物复杂性的影响。

蛹壳生物转化实验结果表明, BSF-CH1 能够有效降解蛹壳中的几丁质和蛋白质, 同时产生还原糖和氨基酸等小分子物质。这些小分子物质可作为生物肥料、饲料添加剂或微生物培养基的原料, 实现蛹壳的高值化利用。与传统的化学提取法相比, 微生物发酵法具有环境友好、条件温和、成本较低等优势, 更具可持续性。

然而要实现该技术的工业化应用, 仍需进一步优化发酵条件(如 pH、温度、通气量、底物浓度等)和产物分离纯化工艺。此外, 还可以通过基因工程手段改造 BSF-CH1, 进一步提高其几丁质酶和蛋白酶的产量, 或引入新的代谢途径, 生产更多高附加值产品。

本研究从黑水虻蛹壳堆肥环境中分离筛选到一株高效几丁质降解菌 BSF-CH1, 该菌株属于蜡样芽孢杆菌, 具有优异的几丁质和蛋白质降解能力。全基因组分析揭示了其几丁质降解的潜在分子机制。BSF-CH1 发酵转化蛹壳技术为黑水虻蛹壳的高值化利用提供了一种新颖、环保、可持续的途径, 有助于推动黑水虻养殖业的绿色发展。

## 作者贡献声明

姚祥: 研究构思和设计、实验操作、论文撰写与修改; 刘倩: 协助数据分析; 王胜辉: 协助几丁质降解菌筛选鉴定; 杨健: 协助蛋白质含量的检测; 彭才望: 指导蛋白质检测; 陈武: 指导几丁质降解菌筛选; 尹丽娟: 指导酶活力检测; 戴良英: 指导氨基酸含量检测; 王

运生: 研究构思和设计、论文指导与修改。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- [1] LI Q, ZHENG LY, CAI H, GARZA E, YU ZN, ZHOU SD. From organic waste to biodiesel: black soldier fly, *Hermetia illucens*, makes it feasible[J]. Fuel, 2011, 90(4): 1545-1548.
- [2] 陈吉红, 胡清泉, 杨仁灿, 张斌, 沙茜, 李新荣, 鲍晓伟, 赵智勇. 黑水虻处理餐厨垃圾工艺及养分转化研究[J]. 安徽农业科学, 2024, 52(23): 59-61, 179. CHEN JH, HU QQ, YANG RC, ZHANG B, SHA Q, LI XR, BAO XW, ZHAO ZY. Study on the treatment technology and nutrient transformation of kitchen garbage by *Hermetia illucens*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2024, 52(23): 59-61, 179 (in Chinese).
- [3] 田维平, 邢宇, 王周强, 贡卫伟, 简于玲, 颀延东. 黑水虻处理城镇污泥和餐厨垃圾的性能评价[J]. 中国环境科学, 2024, 44(8): 4425-4431. TIAN WP, XING Y, WANG ZQ, YUN WW, JIAN YL, XIE YD. Performance evaluation for the treatment of municipal sludge and kitchen waste via black soldier fly larvae[J]. China Environmental Science, 2024, 44(8): 4425-4431 (in Chinese).
- [4] ELOUALI S, AIT HAMDAN Y, BENALI S, LHOMME P, GOSELIN M, RAQUEZ JM, RHAZI M. Extraction of chitin and chitosan from *Hermetia illucens* breeding waste: a greener approach for industrial application[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 285: 138302.
- [5] HAMED I, FATIH Ö, REGENSTEIN JM. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 48: 40-50.
- [6] YOUNES I, RINAUDO M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. structure, properties and applications[J]. Marine Drugs, 2015, 13(3): 1133-1174.
- [7] HAJJI S, YOUNES I, GHORBEL-BELLAJ O, HAJJI R, RINAUDO M, NASRI M, JELLOULI K. Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65: 298-306.
- [8] LIANG S, WANG XC, SUN SW, XIE L, DANG XG. Extraction of chitin from *Flammulina velutipes* waste: a low-concentration acid pretreatment and *Aspergillus niger* fermentation approach[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 273: 133224.
- [9] ZHANG HC, JIN YF, DENG Y, WANG DF, ZHAO YY. Production of chitin from shrimp shell powders using *Serratia marcescens* B742 and *Lactobacillus plantarum*

- ATCC 8014 successive two-step fermentation[J]. *Carbohydrate Research*, 2012, 362: 13-20.
- [10] 陈建荣, 徐雨茶, 阳丽艳, 黄艳冰, 杨登峰, 潘丽霞. 几丁质降解菌的筛选及其降解虾壳废弃物的研究[J]. *广西科学院学报*, 2023, 39(4): 452-460.  
CHEN JR, XU YC, YANG LY, HUANG YB, YANG DF, PAN LX. Screening of chitin-degrading bacteria and the study of their efficient degradation of shrimp shell waste[J]. *Journal of Guangxi Academy of Sciences*, 2023, 39(4): 452-460 (in Chinese).
- [11] XING YF, AWEYA JJ, JIN RT, LIN R, WENG WY, ZHANG YC, DENG SG, YANG S. Low-intensity ultrasound combines synergistically with *Lactocaseibacillus paracasei* fermentation to enhance chitin extraction from crab shells[J]. *LWT*, 2023, 179: 114651.
- [12] XIE JJ, ZHANG LG, YANG KX, ZHANG HY, JIANG MG, LIAO SM, YANG DF, SHEN NK. Enhanced chitinase production by *Bacillus paralicheniformis* GXMU-J23.1: optimization, genomic insights, and chitin degradation mechanism[J]. *Bioresource Technology*, 2025, 418: 131911.
- [13] 肖宇, 刘洋, 刘建军, 卢海强, 桑亚新, 孙纪录. 1株高产几丁质脱乙酰酶红球菌的基因组测序及其应用潜力分析[J]. *食品科学*, 2021, 42(18): 157-163.  
XIAO Y, LIU Y, LIU JJ, LU HQ, SANG YX, SUN JL. Genomic analysis of a *Rhodococcus* strain with high chitin deacetylase activity and its application potential[J]. *Food Science*, 2021, 42(18): 157-163 (in Chinese).
- [14] 覃可, 桑维钧, 陈孝玉龙, 李昊熙, 杨茂发. 烟草拮抗链霉菌 FT05W 基因组测序与几丁质酶家族基因鉴定[J]. *中国生物防治学报*, 2019, 35(3): 463-473.  
QIN K, SANG WJ, CHEN XYL, LI HX, YANG MF. Genome sequencing and identification of chitinase family genes of *Streptomyces* sp. FT05W an antagonist of tobacco pathogens[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2019, 35(3): 463-473 (in Chinese).
- [15] HEUER H, KRSEK M, BAKER P, SMALLA K, WELLINGTON EM. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(8): 3233-3241.
- [16] GONFA TG, NEGESSA AK, BULTO AO. Isolation, screening, and identification of chitinase-producing bacterial strains from riverbank soils at Ambo, Western Ethiopia[J]. *Heliyon*, 2023, 9(11): e21643.
- [17] TATUSOVA T, DICUCCIO M, BADRETDIN A, CHETVERNIN V, NAWROCKI EP, ZASLAVSKY L, LOMSADZE A, PRUITT KD, BORODOVSKY M, OSTELL J. NCBI prokaryotic genome annotation pipeline[J]. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(14): 6614-6624.
- [18] BLIN K, MEDEMA MH, KAZEMPOUR D, FISCHBACH MA, BREITLING R, TAKANO E, WEBER T. antiSMASH 2.0: a versatile platform for genome mining of secondary metabolite producers[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(Web Server issue): W204-W212.
- [19] KANEHISA M, GOTO S. KEGG Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 27-30.
- [20] 徐依琳, 黄冬梅, 汤云瑜, 叶洪丽, 方长玲, 李思曼, 黄宣运, 史永富, 田良良. 食品中氨基酸的检测方法研究进展[J]. *农产品质量与安全*, 2024(3): 55-62.  
XU YL, HUANG DM, TANG YY, YE HL, FANG CL, LI SM, HUANG YY, SHI YF, TIAN LL. Research progress on the detection technology of amino acids in food[J]. *Quality and Safety of Agro-Products*, 2024(3): 55-62 (in Chinese).
- [21] 尹凯波, 郑子露, 金嘉悦, 潘小卓, 谢勇俊, 韦倩倩, 申乃坤, 王一兵, 姜明国. 虾蟹壳废弃物中几丁质的制备及应用进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(20): 407-414.  
YIN KB, ZHENG ZL, JIN JY, PAN XZ, XIE YJ, WEI QQ, SHEN NK, WANG YB, JIANG MG. Extraction method and application progress of chitin from shrimp and crab shell waste[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(20): 407-414 (in Chinese).
- [22] 袁泉, 刘洋, 侯松序, 汪琰. 食品中蛋白质含量检测方法概述及发展现状分析[J]. *食品工程*, 2024(2): 8-10, 23.  
YUAN Q, LIU Y, HOU SX, WANG Y. Overview of detection methods for protein content in food and analysis of development status[J]. *Food Engineering*, 2024(2): 8-10, 23 (in Chinese).
- [23] 廖会君, 王瑞红, 崔月, 王贵双, 宋福行, 张新军. 具几丁质降解活性雪灵芝内生菌的筛选与鉴定[J]. *蚕业科学*, 2023, 49(6): 575-580.  
LIAO HJ, WANG RH, CUI Y, WANG GS, SONG FH, ZHANG XJ. Screening and identification of endophytes from *Arenaria pulvinata* edgew. with chitin-degrading activity[J]. *Acta Sericologica Sinica*, 2023, 49(6): 575-580 (in Chinese).
- [24] 王敏, 辛二娜, 王瑶, 张天宝, 郭继虎, 杜慧玲. 几丁质降解菌的分离鉴定与产酶条件探究[J]. *山西农业科学*, 2021, 49(4): 420-424.  
WANG M, XIN EN, WANG Y, ZHANG TB, GUO JH, DU HL. Isolation and identification of chitin-degrading bacterium and exploration of the optimal culture conditions for enzyme production[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2021, 49(4): 420-424 (in Chinese).
- [25] DHOLE NP, PHUGE S, DAR MA, PANDIT RS. Screening of chitin degrading bacteria from the gut of Asian common toad *Duttaphrynus melanostictus*: implication for valorization of chitin rich seafood waste[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2022, 28: 102929.