



请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

漏缝地板发酵床对育肥羊养殖气体排放的影响及微生物学机理

耿仕呈,张伟涛,顾文源,姚惠娇,高志岭,何旭,刘春敬,范玉婧,代宇菲

引用本文:

耿仕呈,张伟涛,顾文源,姚惠娇,高志岭,何旭,刘春敬,范玉婧,代宇菲.漏缝地板发酵床对育肥羊养殖气体排放的影响及 微生物学机理[J].农业环境科学学报,2024,43(4):926-936.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2023-1036

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

巢湖圩区再生稻田甲烷及氧化亚氮的排放规律研究

王天宇, 樊迪, 宋开付, 张广斌, 徐华, 马静 农业环境科学学报. 2021, 40(8): 1829-1838 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0181

生物基包膜抑制型尿素对土壤温室气体排放及小青菜产量的影响

刘楚桐,陈松岭,邹洪涛,叶旭红,陈春羽,雷洋,张玉龙 农业环境科学学报.2021,40(3):677-684 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0658

有机无机肥配施对苹果园温室气体排放的影响

马艳婷,赵志远,冯天宇,SOMPOUVISETThongsouk,孔旭,翟丙年,赵政阳 农业环境科学学报. 2021, 40(9): 2039-2048 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1477

不同改良剂对旱地苹果园温室气体排放的影响

李钊, 刘帅, 丁艳宏, 孙文浩, 高晓东, 赵西宁 农业环境科学学报. 2021, 40(1): 227-236 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0846

稻田土壤CHa排放及其关联微生物功能基因丰度对磺胺二甲嘧啶和铜污染的响应

程粟裕,朱长俊,李昕钰,董宁,周金蓉,蒋静艳 农业环境科学学报.2021,40(10):2246-2256 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0212



关注微信公众号,获得更多资讯信息

耿仕呈,张伟涛,顾文源,等.漏缝地板发酵床对育肥羊养殖气体排放的影响及微生物学机理[J].农业环境科学学报,2024,43 (4):926-936.

GENG S C, ZHANG W T, GU W Y, et al. Effects of slatted floor fermentation bed on gas emissions and microbiological mechanism during fattening lamb breeding[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2024, 43(4): 926–936.



漏缝地板发酵床对育肥羊养殖气体排放的 影响及微生物学机理

耿仕呈1,张伟涛2,顾文源3,姚惠娇2,高志岭1,何旭4,刘春敬1*,范玉婧1,代宇菲1

(1.河北农业大学资源与环境科学学院/河北省农田生态环境重点实验室,河北 保定 071000; 2.河北省畜牧总站,石家庄 050000; 3.河北省动物疫病预防控制中心,石家庄 050000; 4.河北省畜牧良种工作总站,石家庄 050000)

摘 要:为明确漏缝地板发酵床对育肥羊养殖过程氨(NH₃)和温室气体排放特征的影响机制,本研究设置地面和漏缝地板发酵床 两个试验处理,测定分析了育肥羊养殖过程NH₃、氧化亚氮(N₂O)、二氧化碳(CO₂)和甲烷(CH₄)的排放特征,并采用宏基因组学解 析了影响上述气体排放的微生物学机理。试验结果表明,与地面相比,漏缝地板发酵床能够显著降低育肥羊养殖过程的NH₃排放 (P<0.05),其NH₃排放速率为21.64~58.92 mg·m⁻²·h⁻¹,NH₃累积排放量为86.36±1.06 g·m⁻²,减排率可达64.42%。漏缝地板发酵床同 样也能显著降低育肥羊养殖过程的CH₄排放速率(P<0.05),其CH₄累积排放量为26.66 g·m⁻²,减排率可达64.42%。然而,漏缝地 板发酵床会使得育肥羊养殖过程的N₂O和CO₂排放显著升高(P<0.05),尤其是发酵床组的N₂O累积排放量高达994.30 mg·m⁻²,为 地面的190.84倍。宏基因组学分析结果表明,发酵床粪便中Salinicoccus、Corynebacterium、Brachybacterium和Nocardiopsis等具有耐 盐特性并参与硝化、反硝化的有益微生物相对丰度显著升高(P<0.05),hcp、narG、nirK、norB、nosZ等氮转化关键基因相对丰度显著 升高(P<0.05),这使得发酵床的NH₃排放降低,但会造成较高的N₂O 排放。发酵床中的Atopostipes和Anaerococcus等厌氧微生物相 对丰度显著降低(P<0.05),导致了其较低的CH₄排放。此外,发酵床较高的CO₂排放主要与微生物的丙酮酸代谢、三羧酸循环等密 切相关。

关键词:漏缝地板发酵床;育肥羊;氨;温室气体;排放 中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2024)04-0926-11 doi:10.11654/jaes.2023-1036

Effects of slatted floor fermentation bed on gas emissions and microbiological mechanism during fattening lamb breeding

GENG Shicheng¹, ZHANG Weitao², GU Wenyuan³, YAO Huijiao², GAO Zhiling¹, HE Xu⁴, LIU Chunjing^{1*}, FAN Yujing¹, DAI Yufei¹

(1. College of Resources and Environmental Sciences/Key Laboratory of Farmland Ecological Environment of Hebei Province, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China; 2. Hebei Animal Husbandry Station, Shijiazhuang 050000, China; 3. Hebei Animal Disease Prevention and Control Center, Shijiazhuang 050000, China; 4. Hebei Provincial Livestock Breeding Work Station, Shijiazhuang 050000, China)

Abstract: In this study, we aimed at investigating how the slatted fermentation bed impacts ammonia (NH₃) and greenhouse gas emissions, we thus constructed two animal pen types: ground floor and slatted floor and fermentation bed, then investigated the NH₃, N₂O, CO₂, and CH₄ emission characteristics as well as the microbiological mechanisms during fattening sheep breeding using metagenomics. Compared to

收稿日期:2023-12-05 录用日期:2024-01-12

作者简介:耿仕呈(1998—),女,河北石家庄人,硕士研究生,研究方向为农业环境保护。E-mail:1923905403@qq.com

^{*}通信作者:刘春敬 E-mail:chunjingliu2008@163.com

基金项目:河北省现代农业产业技术体系羊产业创新团队建设专项资金项目(278);河北省自然科学基金项目(2022204029)

Project supported: Sheep Industry Innovation Team Fund of Hebei Modern Agricultural Technology System (278); Natural Science Foundation of Hebei Province, China(2022204029)

the ground control, the fermentation bed could significantly reduce the NH₃ emissions (P<0.05), exhibiting NH₃ emission rates ranging between 21.64–58.92 mg·m⁻²·h⁻¹, cumulative NH₃ emission of 86.36 g·m⁻², and a reduction rate of 58.60%. The slatted floor fermentation bed could also significantly reduce the CH₄ emission rates (P<0.05), with a cumulative CH₄ emission of 26.66 g·m⁻² and a reduction rate of 64.42%. However, the slatted floor fermentation bed could significantly increase the N₂O and CO₂ emissions (P<0.05), especially those of N₂O, yielding 190.84 times higher values than those of the ground control. The metagenomic analysis results revealed that the relative abundance of beneficial microorganisms, such as that of *Salinicoccus, Corynebacterium, Brachybacterium*, and *Nocardiopsis*, displaying salt tolerance and being involved in nitrification and denitrification, significantly increased in the fermentation bed (P<0.05). Moreover, the relative abundance of key nitrogen conversion genes, such as that of *narG*, *napA*, *nirS*, *nirK*, *norB* and *nosZ*, significantly increased (P< 0.05), reducing the NH₃ but increasing the N₂O emissions of the fermentation bed. Compared with the ground control, certain anaerobic microorganism populations, such as those of *Anaerococus* and *Anaerococus*, were significantly reduced (P<0.05) in the fermentation bed, yielding lower CH₄ emissions. In addition, the higher CO₂ emissions of the fermentation bed were closely related to microbial pyruvate metabolism and tricarboxylic acid cycling.

Keywords: slatted floor fermentation bed; fattening sheep; ammonia; greenhouse gas; emission

近些年,我国育肥羊养殖规模不断扩大,给人们 带来经济效益的同时,也带来一系列的负面环境问 题,尤其是大气污染^[1]。育肥羊养殖粪便长期堆存会 释放氨(NH₃)、氧化亚氮(N₂O)、甲烷(CH₄)和二氧化 碳(CO₂)等到大气中。据统计,2020年畜禽养殖业 NH₃排放占总排放量的68.67%,而育肥羊养殖排放的 NH₃占排放总量的12.14%^[2]。粪便中NH₃挥发不仅会 降低粪肥中的养分含量,其扩散到大气中还会成为细 颗粒物(PM_{2.5})的前体物,导致雾霾频发^[3]。此外, CH₄、N₂O和CO₂等都是大气中重要的温室气体,而全 球约18%的温室气体排放源于畜禽养殖业^[4]。因此, 减少包括育肥羊在内的养殖业的NH₃和温室气体排 放对于实现畜禽养殖业的绿色可持续发展至关重要。

为了降低畜禽养殖过程的NH₃排放,研究者采用 控制舍内温湿度5、舍内喷雾除臭6等措施,取得了一 定的效果,但由于投入成本高、管理方式复杂的问题, 难以推广应用。微生物发酵床主要通过有益微生物 组成的复合菌群分解、消纳粪便中的有机物,从而促 进粪便腐熟并减少NH₃等气体排放¹⁷。微生物发酵床 分为原位微生物发酵床和异位微生物发酵床两种类 型。与异位发酵床相比,原位发酵床具备建设运行成 本低和铺设简单等优点,非常适合应用于牛、羊和家 禽等畜禽养殖,石志芳等¹⁸发现生物发酵床猪舍内的 NH₃浓度均值为(6.85±0.12)mg·m⁻³,显著低于水泥地 面干清粪和缝隙地面水泡粪的猪舍(P<0.05)。为了 使微生物发酵床能够应用于不同的畜禽种类和养殖 规模,在此基础上进行改良的漏缝地板发酵床具有适 应性强和易于管理的优点"。高旭19采用"漏粪板+发 酵垫料"羊床开展试验,与地面羊床相比,发酵床组 冬、夏季的NH₃浓度分别降低 32.94% 和 18.40%。然 而,漏缝地板发酵床实现NH₃减排的同时,CH₄、N₂O 和CO₂等温室气体排放特征如何?这其中的微生物 学机理也有待进一步探究。因此,本研究采用漏缝地 板发酵床(以下简称发酵床)养殖育肥羊,通过对比其 与地面养殖育肥羊过程NH₃和温室气体(CH₄、N₂O和 CO₂)的排放特征,同时利用宏基因组测序技术进一 步解析影响上述气体排放的微生物学机制,研究结果 可为漏缝地板发酵床在畜禽养殖业的应用和推广提 供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 漏缝地板发酵床

本试验采用的发酵床由木质竹板铺设而成,漏缝间隙为2~3 cm,羊粪便可以透过缝隙落入下层的发酵床中。发酵床由垫料和菌种混合而成,垫料主要由稻壳、锯末和秸秆组成,质量比例为5:3:2,垫料的铺设高度为20 cm,发酵床垫料基本理化性质为:pH7.44,有机质含量61.13%,总氮含量0.71%,总磷含量0.37%,总钾含量1.62%。发酵床接种菌剂为微生物菌剂M,由保定三商生物科技有限公司提供,该微生物菌剂为混合菌剂,主要由乳酸菌、黑曲霉、枯草芽孢杆菌、粪肠球菌等组成(有效活菌数 CFU≥5×10⁸个·mL⁻¹)。

1.2 试验设计

本试验共包括两个试验处理,分别是发酵床和地 面对照处理,试验于2022年9—12月在河北保定唐县 一育肥羊养殖场进行,预试验期为7d,正式试验期为 100d。试验选用体况、大小基本一致的育肥羊共100 只,随机分配到地面组和发酵床组。在试验期间,两 组羊舍均自然通风、不清理粪便,发酵床不补喷菌剂、 也不进行翻抛,其余统一按照育肥羊养殖场常规管理 规程进行。

1.3 样品采集与测定

1.3.1 NH3样品采集与测定

本试验NH₃气体样品的采集参照海绵吸收法^[10], 共分为4个阶段,每隔25d采集一次,每次连续采集 5d。海绵吸收法浸提液中铵态氮浓度的测定采用流 动分析仪,按实测浓度计算NH₃的排放速率及试验期 间累积排放量^[11]。

1.3.2 温室气体(N₂O、CH₄、CO₂)样品采集与测定

本试验温室气体样品的采集参照静态箱法^[12],在 整个试验周期内每隔5d采集一次,于上午9:00—11:00 进行,将采集好的气体样品带回实验室,通过气相色 谱仪测定N₂O、CH₄、CO₂浓度,并计算相应的气体的排 放速率及试验期间累积排放量^[13]。

1.3.3 粪便样品的采集与测定

为了分析粪便样品理化性质的变化规律,分别于前期(1 d)、中期(51 d)和后期(101 d)采集发酵床和地面0~20 cm的粪便样品,样品采集时间为上午饲喂结束后,采用5点取样法采集粪便样品,混合均匀后保存样品。其中,pH和含水率的测定采用新鲜粪便样品,pH值使用pH计(FE28,LE501)进行测定(水土比10:1),含水率的测定采用恒质量法^{114]}。粪便样品风干后测定其中的总氮(TN)、总磷(TP)、总钾(TK)和有机质等含量,测定方法参照国家标准《NY/T 525—2021》进行。其中TN测定采用凯氏定氮仪法,TP测定采用钒钼黄分光光度法,TK测定采用原子吸收分光光度计法,有机质测定采用重铬酸钾容量法。

1.3.4 微生物样品的采集与测定

本试验于试验中期(51 d)分别从发酵床和地面

农业环境科学学报 第43卷第4期

组采集100g新鲜粪便样品进行微生物学分析。粪便 样品采集后置于-80℃冰箱中保存。宏基因组学分 析委托上海美吉生物医药科技有限公司完成,样品提 取 DNA 后,使用 Illumina NovaSeq/Hiseq Xten(Illumina,美国)测序平台进行宏基因组测序。通过 Fastp^[15] 对样品原始数据进行质控,使用 MEGAHIT^[16]对 Clean data 进行拼接组装,然后使用 Prodigal v2.6.3^[17]对拼接 结果中的 contig进行 ORF 预测。选择核酸长度≥100 bp 的基因,并将其翻译为氨基酸序列。然后采用 CD-HIT^[18]软件进行聚类构建非冗余基因集。同时, 使用 SOAPaligner^[19]软件统计基因丰度信息。最后, 使用 DIAMOND^[20]软件将非冗余基因集与 NR、KEGG 数据库进行比对,以此获得物种在各个分类水平上的 物种注释信息及基因对应的 KEGG 功能信息。

1.4 数据统计与分析

采用 Excel 2010 软件对数据进行整理与统计,采用 Origin 2021 软件制图,并用 SPSS 26.0 软件进行 t检验分析(α=0.05)。

2 结果与分析

2.1 漏缝地板发酵床对育肥羊养殖过程气体排放特 征的影响

2.1.1 气体排放速率

本试验比较分析了发酵床和地面两个处理在整 个育肥羊养殖过程的NH₃排放速率,由图1可以看出 漏缝地板发酵床能够显著降低育肥羊养殖过程的 NH₃排放速率(P<0.05)。试验期间,地面组的NH₃排 放速率为40.56~136.11 mg·m⁻²·h⁻¹,而发酵床组的 NH₃排放速率为21.64~58.92 mg·m⁻²·h⁻¹,发酵床的 NH₃排放速率峰值约为地面组的43.29%。环境温度





Figure 1 Impacts of slatted floor fermentation bed on NH3 emission rates during fattening lamb breeding process

对地面组 NH₃排放速率的影响较大^[21]。育肥羊养殖 的第一、二阶段(2022.09.18-2022.10.25)的环境温度 为15.1~23.9 ℃,这一时期的NH₃排放速率为86.19~ 136.11 mg·m⁻²·h⁻¹。然而,在第三、四阶段(2022.11.18— 2022.12.25),由于环境温度降低为-2.1~11.2℃,地面 组的 NH₃ 排放速率下降至 40.56~86.08 mg·m⁻²·h⁻¹。 相比而言,发酵床组的NH₃排放速率一直处于较低水 平,在各个阶段NH₃排放速率相差较小,受环境温度 的影响较小。

试验期间测定分析了地面和发酵床两个试验处 理在整个育肥羊养殖期间的温室气体(N₂O、CH₄和 CO₂) 排放速率。首先, 漏缝地板发酵床使得育肥羊 养殖过程的N₂O排放速率显著升高(P<0.05),试验期 间发酵床组的 N₂O 排放速率为 1.18~21.95 mg·m⁻²· h⁻¹, 而地面组几乎无 N₂O 的排放(0~0.20 mg·m⁻²·h⁻¹), 发酵床组 N₂O 排放速率峰值约为地面组 109 倍。相 反,微生物发酵床的CH4排放速率显著降低(P<0.05), 地面组的CH4排放速率为0.35~2.31 mg·m⁻²·h⁻¹,而发 酵床组的CH₄排放速率仅为0.02~1.02 mg·m⁻²·h⁻¹。地 面组和发酵床组CH4排放速率峰值均出现在10月8 日,分别为2.31 mg·m⁻²·h⁻¹和1.02 mg·m⁻²·h⁻¹,发酵床 组的CH4排放峰值约为地面组的44.16%。

此外,试验过程中两个试验处理的CO,排放速率 也显著不同(P<0.05),见图2c,地面组的CO2排放速 率为14.39~610.57 mg·m⁻²·h⁻¹, 而发酵床组的CO₂排 放速率为163.00~1 369.26 mg·m⁻²·h⁻¹,发酵床组的 CO2排放峰值是地面组的2.2倍,尤其是在10月3日-10月23日期间,发酵床的CO2排放速率一直维持在 1 200 mg·m⁻²·h⁻¹左右,约为地面对照组的3.5倍,这 段时间的环境温度为14.7~21.3℃,有利于发酵床内 微生物的新陈代谢。

2.1.2 气体累积排放量

本研究计算了两个试验处理在整个育肥羊养殖 周期的NH₃、N₂O、CH₄和CO₂的累积排放量,如表1所 示。发酵床组的NH₃、CO₂、N₂O和CH₄的气体累积排 放量与地面组之间存在极显著差异(P<0.01)。与地 面组相比,发酵床组的NH₃和CH₄累积排放量均极显 著降低(P<0.01)。地面组在整个试验期间的NH₃和 CH4累积排放量分别为208.58 g·m⁻²和74.94 mg·m⁻², 而发酵床组 NH3和 CH4累积排放量仅为 86.36 g·m⁻² 和 26.66 mg·m⁻²,减排率分别为 58.60% 和 64.42%。 其次,漏缝地板发酵床育肥羊养殖过程的N₂O和CO₂ 累积排放量显著增加,其N₂O和CO₂累积排放量分别



气体 $(N_2O_CH_4,CO_2)$ 排放速率的影响

Figure 2 Impacts of slatted floor fermentation bed on greenhouse gases(N₂O, CO₂, CH₄) emission rates during fattening lamb breeding process

为994.30 mg·m⁻²和52.13 g·m⁻²,分别是地面组的 190.84倍和3.67倍。

2.2 漏缝地板发酵床对粪便样品理化性质的影响

本研究分别于试验的前、中、后期采集两个试验 处理的粪便样品,并分析其理化性质,见表2。在试 验开始的第1天,除TP外,发酵床和地面处理的粪便 理化性质具有显著差异(P<0.01),造成这一差异的原 因有二,一是发酵床垫料中有稻壳、锯末和秸秆等,这 些物质会影响发酵床粪便的初始理化性质;二是在监

929

www.aes.org.cn

表1 漏缝地板发酵床对育肥羊养殖过程气体累积排放量的影响

Table 1 Impacts of slatted floor fermentation bed on cumulative

gas emissions during fattening famb breeding process					
指标	发酵床	地面	显著性		
$NH_3/(g \cdot m^{-2})$	86.36±1.06	208.58±0.93	**		
$N_2 O / (mg \! \cdot \! m^{-2})$	994.30±11.81	5.21±1.53	**		
$CH_4/(mg\!\boldsymbol{\cdot} m^{-2})$	26.66±2.90	74.94±1.45	**		
$CO_2/(g \cdot m^{-2})$	52.13±0.84	14.22±0.13	**		

注:**表示差异显著(P<0.01)。

Note: ** indicates significant difference (P < 0.01).

测试验开始前,进行了7d的预喂养试验,这也会导致 地面和发酵床两个试验处理粪便初始理化性质的不 同。不过,从整体来看,试验前、中和后期,两个试验 处理的各理化指标呈现相同的变化规律,以含水率为 例,两个试验处理的含水率逐渐升高,发酵床初始的 含水率为24.9%,到试验结束时为40.7%,分析含水率 变化的原因主要与环境温度相关。需要指出的是,虽 然两个试验处理的TN含量在试验期间逐渐降低,但 发酵床的TN含量降低幅度更高,由初始的3.9%降低 为2.7%,而地面对照的只降低了0.7%,推测这主要与 微生物氮转化生成 N₂O₂N₂密切相关。

2.3 漏缝地板发酵床育肥羊养殖过程的微生物学群 落结构分析

2.3.1 微生物群落结构对比分析

基于宏基因组学测序数据对发酵床组及地面组 样品的细菌微生物群落组成进行分析,在门水平上, 如图 3a,两个试验处理主要的微生物菌门有厚壁菌 门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidota)和变形菌门(Proteobacteria),约占细菌 总丰度的96.70%~98.89%。其中Firmicutes为地面组 的第一优势菌门,占比为77.91%;而Actinobacteria为

发酵床组的第一优势菌门,占比为46.45%,属于该菌 门的微生物大多有基内菌丝,能够促进粪便的分解。 此外,发酵床组的Bacteroidota和Proteobacteria占比 分别为12.88%和5.57%,高于地面组(5.83%和 0.85%)。由图3b可知,在属水平上,地面组的第一优 势菌属为陌生柱状杆菌属(Atopostipes),占比为 19.72%,其次为厌氧球菌属(Anaerococcus)和气球菌 属(Aerococcus)相对丰度分别是11.25%和5.11%。上 述微生物均是典型的动物肠道微生物,因此在粪便中 被普遍检出,与地面不同的是,发酵床组的第一优势 菌属是盐水球菌属(Salinicoccus),占比16.67%。盐水 球菌具有优异的耐盐性能,其成为粪便中优势菌属主 要与育肥羊养殖时添加大量的盐导致粪便中盐含量 较高有关。此外,鞘氨醇杆菌属(Sphingobacterium)、 棒状杆菌属(Corynebacterium)、短状杆菌属(Brachybacterium)和拟诺卡氏菌属(Nocardiopsis)等也是发酵 床组的优势菌属,相对丰度分别为9.90%、9.00%、 6.00% 和 5.38%。上述微生物中, Sphingobacterium^[22] 能够降解环境中的微生物,并且具有根际促生作用, 是土壤中的有益微生物。Nocardiopsis^[23]属于经典的 丝状放线菌类群,广泛存在于高盐碱土壤生境中,其 基丝异常发达,会断裂成杆状或球状,多为长或短的 分枝,在试验开展过程中,发酵床粪便能够形成大量 的白色菌丝体,由此可以看出微生物发酵床的应用能 够促进粪便中有益菌群的大量繁殖。

2.3.2 物种差异比较分析

发酵床组和地面组粪便样品的微生物组成差异 如图4所示,在门水平上(图4a),发酵床组粪便样品 的Actinobacteria、Bacteroidota和Proteobacteria的相对 丰度分别为46.45%、12.88%和5.57%,极显著高于地 面组(6.65%、5.83%和 0.85%)(P<0.001),而Fir-

表2 发酵	誟床和地	面组	変使 権	手品は	浬化怕	E质对	比分	♪秒
-------	------	----	-------------	-----	-----	-----	----	----

Table 2 Physical and chemical properties of fecal samples between fermentation bed and ground treatment							
时间/d	处理	рН	含水率/%	有机质/%	TN/%	TP/%	TK/%
1	地面	6.9±0.1	35.1±4.1	48.8±0.2	2.9±0.1	0.8±0.1	2.3±0.3
	发酵床	8.3±0.1**	24.9±2.3**	51.2±0.7**	3.9±0.1**	1.1±0.2	1.2±0.3**
51	地面	6.8±0.3	47.6±2.3	49.3±0.4	2.4±0.2	0.9±0.1	4.3±0.3
	发酵床	8.8±0.1**	30.0±1.7**	56.0±0.9**	3.3±0.2**	1.6±0.1**	2.3±0.3**
101	地面	6.8±0.3	51.9±1.3	48.5±0.9	2.2±0.1	1.1±0.1	4.4±0.3
	发酵床	8.1±0.1**	40.7±0.5**	52.2±0**	2.7±0.3	1.3±0.1*	1.5±0.3**

注:*和**分别表示在P<0.05和P<0.01级别下相同时期发酵床组与地面组粪便样品间差异性显著。

Note: * and * * indicate significant differences between the fecal samples of the fermentation bed group and the ground group at the same time under the level of P<0.05 and P<0.01, respectively.





Figure 3 Microbial composition analysis of fermentation bed and ground feces samples at phylum(a) and genus(b) level

micutes 则主要分布在地面组,相对丰度为77.91%。 上述结果与两个试验处理的微生物群落结构对比分 析结果一致。在属水平上(图4b),发酵床组中Salinicoccus、Sphingobacterium、Corynebacterium、Brachybacterium 和 Nocardiopsis 的相对丰度分别为 16.67%、 9.90%、8.95%、5.8% 和 5.38%,极显著高于地面组 (0.43%、0.000 8%、0.69%、0.48% 和 0.04%)(P< 0.001),而Atopostipes、Anaerococcus、Aerococcus则主要 分布在地面组,相对丰度分别是 19.72%、11.25% 和 5.11%。

2.4 漏缝地板发酵床育肥羊养殖过程的碳氮转化关 键功能基因分析

2.4.1 氮转化功能基因分析

在微生物发酵床育肥羊养殖过程中,粪便堆存会 排放大量的NH₃和N₂O,这些气体的排放均涉及氮转 化且与微生物代谢活动密切相关。本研究绘制了微 生物发酵床的氮代谢通路(图5a),并对比分析了两 个试验处理中与NH₃和N₂O排放相关的差异基因,见 图5b。结果表明,发酵床组编码甲酰胺酶基因,fmdA 相对丰度高于地面组,表明发酵床组的氨化作用较活 跃。此外,在发酵床组中,编码羟胺还原酶基因hcp、 编码硝酸盐还原酶基因narG、编码亚硝酸盐还原酶 基因nirK、编码一氧化氮还原酶基因norB、编码一氧 化二氮还原酶基因nosZ等与硝化、反硝化相关基因 均显著高于地面组(P<0.001),这说明发酵床组硝化、 反硝化作用较为活跃。此外,在谷氨酰胺合成过程 中,谷氨酸脱氢酶 GDH2、谷氨酸合酶 gltB 等在发酵床 组的相对丰度均显著高于地面组(P<0.001)。由此可 以看出,发酵床组的硝化、反硝化、谷氨酸合成等氮转 化过程较为活跃,使得向大气中排放的 NH₃减少,但 同时导致了大量 N₂O 的生成。

2.4.2 碳转化关键功能基因分析

微生物发酵床在育肥羊养殖粪便堆存也会排放 一定浓度的CH4和CO2,这些气体的排放与碳转化过 程密切相关。首先,粪便中的有机物在厌氧环境中会 被厌氧微生物分解生成一定浓度的CH4,厌氧产CH4 过程如图 6a 所示,根据底物类型的不同,CH4的厌氧 生物合成主要有3种途径:CO2还原(Hydrogenotrophic)、乙酸裂解(Acetoclastic)和甲基营养(Methylotrophic)^[24]。基于宏基因组学数据对参与CH4代谢途 径的关键酶的基因进行分析,如图6b所示,在发酵床 粪便样品中,涉及上述3种CH4生成途径关键酶的基 因的相对丰度均显著低于地面组(P<0.001)。例如, 乙酸裂解途径中的编码乙酰激酶的基因ackA、编码磷 酸乙酰转移酶的基因pta、编码乙酰辅酶A脱羰基酶 的基因 cdhE、编码四氢甲蝶呤 S-甲基转移酶的基因 mtrH、编码甲基辅酶 M 还原酶的基因 mcrA 在发酵床 组相对丰度分别为1.03%、0.47%、0.01%、0.02%和 0.01%,显著低于地面组(1.58%、1.22%、0.02%、0.07% 和0.10%)(P<0.001)。此外,发酵床组及地面组有关 甲烷氧化关键酶的基因(pmoA、mmoX)均未表达。这 说明传统地面养殖由于育肥羊的不断踩实,容易形成



Figure 4 Analysis of species differences between fermentation bed and ground fecal samples at phylum(a) and genus(b) level

厌氧环境,导致了地面组厌氧产CH4过程的发生,相反,漏缝地板发酵床的粪便在地板以下,保持通风能够保证微生物所需的好氧环境,避免了厌氧产CH4相关微生物的增殖。

由于发酵床中微生物的代谢活动,会使得粪便堆体中的有机物转化为无机物并释放CO₂,其中,碳水化合物代谢是微生物分解粪便中有机物的主要途径^[25]。本研究基于KEGG数据库进行碳代谢模块注释分析,对编码各代谢通路关键酶的基因进行差异性分析,结果如图7所示,首先,在有机物分解方面,其中主要参与促进丙酮酸代谢、三羧酸循环的关键基因 aceE、IDH1、kgd等在发酵床组的相对丰度均显著高于地面组(P<0.001)。在CO₂生成方面,发酵床组编码甲酸脱氢酶的基因fdoG相对丰度也显著高于地面 组(P<0.001),甲酸经甲酸脱氢酶作用也会产生大量 的 CO₂。编码琥珀酰辅酶 A 合成酶基因 sucD、编码 3-羟酰辅酶 A 脱氢酶基因 fadN、编码丙二酸半醛脱氢酶 基因 mmsA 等基因在发酵床组的相对丰度显著高于地 面组,表明发酵床组丙酸代谢、丁酸代谢和磷酸肌醇代 谢较活跃,这也与发酵床较高的 CO₂排放密切相关。

3 讨论

漏缝地板发酵床能够有效降低育肥羊养殖过程的NH₃排放,可以使得育肥羊养殖过程的NH₃排放,可以使得育肥羊养殖过程的NH₃减排率 高达58%以上。微生物发酵床能够实现NH₃减排的 原因主要是由于发酵床中的微生物代谢活动促进了 氮转化,使得粪便中的有机氮转化为铵态氮后,能够 进一步的发生硝化和反硝化作用,削弱了NH₃向大气 的挥发过程。粪便样品的宏基因组学分析结果也证 实了这一推断,发酵床粪便样品中的Salinicoccus、Co-







rynebacterium和Brachybacterium相对丰度均显著高于地面组,这些微生物不仅耐盐,而且与硝化过程有关,实现了铵态氮向硝态氮的转化^[26]。此外,基因组学分析同样能够得出相同的结论,与地面组相比,发酵床组*hcp、GDH2、gluB*相对丰度显著高于地面组(*P*<0.001),说明发酵床组硝化及谷氨酸合成过程较活跃,促进NH4⁺-N/NH3的转化。

虽然微生物发酵床使得育肥羊养殖过程的 NH₃ 排放降低,但也造成育肥羊养殖过程较高的 N₂O 排 放。N₂O 生成主要与硝化和反硝化过程有关^[27]。发 酵床中的优势菌属有 *Nocardiopsis*,其主要参与反硝 化作用,会导致 N₂O 的生成^[28]。宏基因组分析结果表 明发酵床粪便中 *narG*、*nirK*、*norB*、*nosZ*等基因相对丰 度显著高于地面组(*P*<0.001),同样表明发酵床粪便 中反硝化过程较活跃。因此推断微生物发酵床育肥 羊养殖过程中的 N₂O 主要来自于反硝化过程,未来可 进一步采取措施控制微生物发酵床 N₂O 的排放。为 实现微生物发酵床养殖育肥羊过程中 N₂O 减排,可以 考虑在微生物发酵床垫料中添加如硝化、反硝化抑制 剂^[29]等进一步验证 N₂O 减排效果。

漏缝地板微生物发酵床养殖育肥羊还能够显著 降低养殖过程中的CH4排放。传统的地面养殖过程 中,育肥羊的不断踩实会导致厌氧环境的生成,从而 造成一定浓度的CH4排放,而微生物发酵床中粪便在 地板以下,具有较好的通风环境,因此不易产生厌氧 环境,进而会抑制CH4的生成。宏基因组学结果显示, 地面组Atopostipes相对丰度显著高于发酵床组(P< 0.05),有研究指出Atopostipes通过葡萄糖和纤维二糖 等碳水化合物提供能量会促进乙酸盐生成^[30]。此外 作为地面组优势菌属的Anaerococcus在厌氧环境下可 以促进CH4的生成^[31]。基于KEGG数据库对两组中涉 及产甲烷途径基因进行显著性分析,结果显示地面

www.aes.org.cn



注:(a)CH₄代谢示意图:→表示甲烷氧化途径、→表示乙酸裂解途径、…→表示CO₂还原途径、-->表示甲基营养途径、 ●表示关键酶的基因;(b)CH₄生成关键酶的基因差异。

Note: (a) Schematic diagram of CH4 metabolism: →genes representing methane oxidation pathway, →acetic acid cleavage pathway, …··>CO2 reduction pathway, -··>methyl nutrition pathway, @key enzymes;(b)Gene differences of key enzymes in CH4 metabolism.

图6 微生物发酵床CH4代谢途径及关键酶的基因差异分析

Figure 6 CH4 metabolism pathways and key enzyme genes of the fattening lamb breeding process

组产甲烷过程较活跃。

由于微生物发酵床中活跃的微生物活动,使得 微生物发酵床中的CO₂累积排放量显著高于地面组 (P<0.01)。王国华等^[32]研究表明发酵床猪舍CO₂的 排放通量高于实心地面猪舍(约1.4倍),与本试验 得出相同的试验结论。基于KEGG数据库分析结 果表明,涉及到有机物代谢中的丙酮酸代谢、三羧 酸循环、乙醛酸和二羧酸代谢相关酶的功能基因在 发酵床组显著表达。丙酮酸经过脱羧生成乙酰辅 酶A,再进入三羧酸循环被彻底氧化成水和CO^[33], 这从微生物学角度证实了微生物发酵床中较高的 CO2排放。

综上所述,漏缝地板发酵床可以实现育肥羊养殖 过程 NH₃和 CH₄减排,但会促进 N₂O 和 CO₂的排放,未 来应探究硝化、反硝化抑制剂应用于发酵床的气体协 同减排潜力,进一步推动微生物发酵床在育肥羊养殖 行业的推广应用。

4 结论

(1)采用漏缝地板发酵床显著降低育肥羊养殖过 程中NH₃排放。微生物发酵床中与氮转化相关的微 生物 Salinicoccus、Corynebacterium、Brachybacterium为





Figure 7 Comparative analysis of differences in CO2 production function genes between ground and fermentation bed

优势菌属,活跃的氮转化过程削弱了NH₃向大气中挥发,降低了NH₃排放。

(2)漏缝地板微生物发酵床中的N₂O累积排放量显著高于地面组。宏基因组分析结果表明,发酵床中编码硝酸还原酶基因narG、亚硝酸盐还原酶基因nirK、编码一氧化氮还原酶基因norB、编码一氧化二氮还原酶基因nosZ等基因的相对丰度均显著高于地面组,活跃的硝化和反硝化过程导致了N₂O的大量排放。

(3)采用漏缝地板发酵床降低了育肥羊养殖过程 中CH4的排放,这主要是因为发酵床良好的通风环境 抑制了与CH4厌氧生成相关的CO2还原、乙酸裂解和 甲基营养相关的微生物活动。

(4)漏缝地板微生物的CO₂累积排放量要远高于 地面,KEGG数据库碳代谢模块注释结果表明,发酵 床中的丙酮酸代谢、三羧酸循环等过程,会使得发酵 床组CO₂排放量显著增加。

参考文献:

- ALEXANDRU P R, CATALINA P D, NARCISA P E, et al. Comparative evaluation of the dynamics of animal husbandry air pollutant emissions using an IOT platform for farms[J]. Agriculture, 2022, 13(1):25.
- [2] 方利江, 宋文婷, 杨一群, 等. 2008—2020年京津冀及周边地区人为源 氨排放清单研究[J]. 环境科学研究, 2023, 36(3):500-509. FANG L J, SONG W T, YANG Y Q, et al. Inventory of anthropogenic ammonia emissions in Beijing- Tianjin- Hebei and its surrounding areas from 2008 to 2020[J]. Research of Environmental Sciences, 2023, 36(3):

500-509.

- [3] ZHANG N, BAI Z, LEDGARD S, et al. Ammonia mitigation effects from the cow housing and manure storage chain on the nitrogen and carbon footprints of a typical dairy farm system on the North China Plain [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 280(5):124465.
- [4] TRUONG A H, KIM M T, NGUYEN T T, et al. Methane, nitrous oxide and ammonia emissions from livestock farming in the red river delta, vietnam: an inventory and projection for 2000—2030[J]. *Sustainability*, 2018, 10(10):3826.
- [5] 汪开英, 吴捷刚, 梅威达, 等. 畜舍颗粒物减排技术研究现状[J]. 农业工程学报, 2020, 36(18):204-212. WANG K Y, WU J G, MEI W D, et al. Research status on particulate reduction technology in live-stock houses[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2020, 36(18):204-212.
- [6] TIANTIAN C, YUNHAO Z, HONGMIN D. Control of odor emissions from livestock farms: a review[J]. *Environmental Research*, 2023, 225: 115545.
- [7] WANG J M, GAN X M, PU F J, et al. Effect of fermentation bed on bacterial growth in the fermentation mattress material and cecum of ducks [J]. Archives of Microbiology, 2021, 203(4):1–9.
- [8] 石志芳, 姬真真, 席磊. 规模化猪场 NH₃排放特征及影响因素研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(8):100-104. SHI Z F, JI Z Z, XI L. Study on the characteristics and influencing factors of NH₃ emission from industrialized pig farm[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2017, 53(8):100-104.
- [9] 高旭.两种羊床模式对肉羊舍氨气和三甲胺水平及羊群躺卧行为 的影响[D].保定:河北农业大学,2022:1-48. GAO X. Effects of two kinds of sheep bed modes on ammonia and trimethylamine levels in mutton sheep shed and lying behavior of sheep[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2022:1-48.

www.aes.org.cn

- [10] 王远, 闵炬, 史培华, 等. 稻麦轮作体系两种氨挥发监测方法比较 研究[J]. 中国生态农业学报, 2021, 29(12):1990-2001. WANG Y, MIN J, SHI P H, et al. Comparison of two monitoring methods for ammonia volatilization based on rice-wheat rotation system[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2021, 29(12):1990-2001.
- [11] 贾树云, 高志岭, 李睿琦, 等. 养殖场粪污堆存中3种氨挥发测定 技术比较研究[J]. 河北农业大学学报, 2020, 43(3):29-36. JIA S Y, GAO Z L, LI R Q, et al. Comparison of three methods for measuring ammonia volatilization from manure storage[J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2020, 43(3):29-36.
- [12] 罗加伟,钱开国,徐博,等.稻虾共作模式下龙虾品种和养殖密度对 CH₄和 N₂O 排放的影响[J].农业环境科学学报,2023,42(8): 1852-1859. LUO J W, QIAN K G, XU B, et al. Effects of lobster species and breeding density on CH₄ and N₂O emissions under rice shrimp co-cropping[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2023, 42(8):1852-1859.
- [13] 米晓君,李睿琦,王丹,等.开放式和密闭式土柱培养系统的差异性:以NH₃和N₂O排放为例[J].河北农业大学学报,2020,43(6):108-115. MI X J, LI R Q, WANG D, et al. Comparison of open and closed soil column incubation systems: a case study of N₂O and NH₃ emissions from fertilized soil[J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2020, 43(6):108-115.
- [14] WANG W F, ZHAO Z Q, YANG J, et al. Application of oil-degrading agents consisted of thermophilic *Bacillus subtilis* and *Bacillus glycinifermentans* in food waste[J]. *Environmental Technology*, 2023, 13:1– 11.
- [15] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, et al. FASTP: an ultra-fast allin-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics (Oxford, England), 2018, 34(17):884-890.
- [16] LI D H, LIU C M, LUO R B, et al. MEGAHIT: an ultra-fast singlenode solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph[J]. *Bioinformatics* (Oxford, England), 2015, 31 (10):1674-1676.
- [17] DOUG H, PHILIP F L, LOREN J H, et al. Gene and translation initiation site prediction in metagenomic sequences[J]. *Bioinformatics* (Oxford, England), 2012, 28(17):2223–2230.
- [18] FU L M, NIU B F, ZHU Z W, et al. CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data[J]. Bioinformatics (Oxford, England), 2012, 28(23):3150-3152.
- [19] LI R Q, LI Y R, KRISTIANSEN K, et al. SOAP: short oligonucleotide alignment program[J]. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2008, 24 (5):713-714.
- [20] BUCHFINK B, XIE C, HUSON D H. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(1):59-60.
- [21] 李仲瀚,张克强,巴士迪,等.新型清粪系统猪舍热环境及有害气体监测与分析[J].农业环境科学学报,2022,41(8):1808-1815.
 LI Z H, ZHANG K Q, BA S D, et al. Monitoring and analysis of thermal environment and harmful gas concentration in a piggery with a new manure cleaning system[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2022, 41(8):1808-1815.
- [22] MARQUES A P G C, PIRES C, MOREIRA H, et al. Assessment of

the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using Zea mays as indicator plant[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42 (8):1229-1235.

- [23] 李文均, 张永光. 拟诺卡氏菌属放线菌研究进展[J]. 微生物学通报, 2016, 43(5): 1123-1135. LI W J, ZHANG Y G. Advances in studies on the genus *Nocardiopsis*[J]. *Microbiology China*, 2016, 43 (5): 1123-1135.
- [24] ZHANG S, CHEN Y F, ZHANG Z P, et al. Co-digestion of sulfurrich vegetable waste with waste activated sludge enhanced phosphorus release and hydrogenotrophic methanogenesis[J]. Water Research, 2023, 242:120250.
- [25] 韩海蓉,柳丽,李屹,等.青海农用沼气池微生物群落结构及差异 基因功能分析[J].环境科学与技术,2021,44(8):8-16. HAN H R, LIU L, LI Y, et al. Microbial community structure and differential gene function analysis of rural household biogas digesters in Qinghai Province[J]. Environmental Science & Technology, 2021, 44(8):8-16.
- [26] LI D, YIN F, MA X. Achieving valorization of fermented activated sludge using pretreated waste wood feedstock for volatile fatty acids accumulation[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 290:121791.
- [27] WŁODARCZYK T, BALAKHNINA T, MATICHENKOV V, et al. Effect of silicon on barley growth and N₂O emission under flooding[J]. Science of the Total Environment, 2019, 685: 1–9.
- [28] 邓雯文, 陈姝娟, 何雪萍, 等. 鸡粪-堆肥中重金属残留、抗生素耐药基因及细菌群落变化研究[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(2): 439-450. DENG W W, CHEN S J, HE X P, et al. Dynamics of heavy metal residues, antibiotic resistance genes, and bacterial communities during chicken manure composting[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2019, 38(2):439-450.
- [29] KUMAR A, MATSUOKA M, MATSUYAMA A, et al. Identification of fungal and bacterial denitrification inhibitors targeting copper nitrite reductase[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71 (13):5172-5184.
- [30] YUAN H R, GUAN R L, CAO C X, et al. Combined modifications of CaO and liquid fraction of digestate for augmenting volatile fatty acids production from rice straw: microbial and proteomics insights[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 364:128089.
- [31] LI A, CHU Y N, WANG X M, et al. A pyrosequencing-based metagenomic study of methane-producing microbial community in solidstate biogas reactor[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2013, 6(1):3.
- [32] 王国华, 郝荣超, 李广东, 等. 发酵床与实心地面育肥猪舍氨气、硫化氢及二氧化碳浓度对比检测研究[J]. 家畜生态学报, 2016, 37 (10):69-71, 87. WANG G H, HAO R C, LI G D, et al. Study of concentration contrast detection of NH₃, H₂S, CO₂ in fattening pigpen with fermentation bed and solid groud[J]. Acta Ecologiae Animails Domastici, 2016, 37(10):69-71, 87.
- [33] CHALIFOUX O, FAERMAN B, MAILLOUX R J. Mitochondrial hydrogen peroxide production by pyruvate dehydrogenase(PDH) and αketoglutarate dehydrogenase(KGDH) in oxidative eustress and oxidative distress[J]. Journal of Biological Chemistry, 2023, 299 (12) : 105399.

(责任编辑:叶飞)