

网络出版时间:2024-07-08 11:56 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2025.01.014  
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1390.S.20240704.1807.026

# 抗生素对基质发酵及双孢菇栽培过程中 氮素转化的影响

王菲<sup>1,2</sup>, 韩宇杰<sup>1,3</sup>, 房义<sup>1</sup>, 向海<sup>1,3</sup>, 谷月<sup>4</sup>, 常潇<sup>1,3</sup>, 钟荣珍<sup>1</sup>

(1 中国科学院东北地理与农业生态研究所 吉林省草地畜牧重点实验室, 吉林 长春 130102; 2 黑龙江省农业科学院牡丹江分院, 黑龙江 牡丹江 157041; 3 中国科学院大学 现代农业科学学院, 北京 100049; 4 镇赉县和合牧业发展有限公司, 吉林 白城 137300)

**【摘要】**【目的】探究在“农作物秸秆饲养-基质发酵-食用菌栽培”过程中抗生素(莫能菌素)对氮转化及农业废弃物综合利用效率的影响,为种养结合综合利用体系及农业废弃物综合利用提供理论基础。【方法】选取吉林省辽源县一处肉牛养殖场的 30 头肉牛,随机均分为 2 组,饲喂 60 d,其中一组饲料中加入抗生素莫能菌素(RA),一组不添加(RN),收集 2 组肉牛粪便,分别与水稻秸秆混合后发酵 35 d,发酵产物作为基质栽培双孢菇。发酵过程中测定 NH<sub>3</sub> 和 N<sub>2</sub>O 的排放情况;在发酵和栽培过程中,测定基质总氮量,同时测定基质含水量、温度、C/N、pH 以及脲酶、硝酸盐还原酶、亚硝酸盐还原酶活性,利用 16S rRNA 和 ITS 测序来表征发酵基质中的细菌和真菌种群组成;测定双孢菇子实体产量和总氮含量,探究基质发酵和双孢菇栽培过程中抗生素对氮素转移及氮回收的影响。【结果】在发酵阶段,基质中残留的抗生素未改变基质温度、含水量、C/N 的变化趋势,但高温期平均温度下降了 1.1 °C, NH<sub>3</sub> 和 N<sub>2</sub>O 排放量降低,更多的氮留在了基质中(RN 处理的氮保留率为 39.58%, RA 处理为 43.23%),抗生素抑制了氮素的转移。相比 RN 处理,RA 处理发酵后基质理化性质不利于双孢菇菌丝生长。残留的抗生素使 RA 处理初始脲酶、硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶活性高于 RN 处理( $P < 0.05$ ),发酵开始后 RA 处理基质中的脲酶和硝酸盐还原酶活性低于 RN 处理,亚硝酸盐还原酶活性仍高于 RN 处理;栽培结束后,RA 处理的脲酶活性高于 RN 处理,硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶活性仍低于 RN 处理。在双孢菇栽培阶段,基质中残留的抗生素影响了双孢菇菌丝的生长,提高了基质的含水量和 pH,在开始出菇前基质的 C/N 降低,最终双孢菇产量降低,氮回收率从 0.17%(RN 处理)下降至 0.11%(RA 处理)。发酵结束后,残留的抗生素使变形菌门和拟杆菌门细菌及海杆菌属细菌、*Mycothermus* 属真菌的相对丰度降低,厚壁菌门和放线菌门细菌及假小蜜环菌属真菌的相对丰度升高。【结论】基质中残留的抗生素抑制了氮素的转化,更多的氮保留在基质中,影响了双孢菇生长,降低了氮转化率。

**【关键词】** 抗生素;废弃物利用;基质发酵;微生物群落;氮素转移;双孢菇栽培

**【中图分类号】** X705;S579.81

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** 1671-9387(2025)01-0144-13

## Effects of antibiotic on nitrogen transformation during substrate fermentation and edible fungi cultivation

WANG Fei<sup>1,2</sup>, HAN Yujie<sup>1,3</sup>, FANG Yi<sup>1</sup>, XIANG Hai<sup>1,3</sup>, GU Yue<sup>4</sup>,  
CHANG Xiao<sup>1,3</sup>, ZHONG Rongzhen<sup>1</sup>

(1 Jilin Provincial Key Laboratory of Grassland Farming, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun, Jilin 130102, China; 2 Mudanjiang Branch of Academy of Agricultural Sciences, Mudanjiang, Heilongjiang 157041, China; 3 College of Advanced Agricultural Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4 Zhenlai County Hehe Animal Husbandry Development Co., Ltd, Baicheng, Jilin 137300, China)

**【收稿日期】** 2023-10-20

**【基金项目】** 国家重点研发计划项目(2022YFD1500505-01);吉林省与中国科学院科技合作高技术产业化专项(2022SYHZ0020);吉林省重大科技专项(YDZJ202203CGZH045);吉林省创新创业人才项目(2023QN20)

**【作者简介】** 王菲(1990-),女,吉林长春人,研究实习员,硕士,主要从事食用菌基质及秸秆饲料化、基质化研究。  
E-mail:wangfei90wf@163.com

**【通信作者】** 钟荣珍(1981-),女(满族),河北承德人,研究员,博士,主要从事反刍动物营养研究。E-mail:zhongrongzhen@iga.ac.cn

**Abstract:** **【Objective】** This study explored the effects of antibiotics (monensin) on nitrogen conversion and comprehensive utilization efficiency of agricultural waste in the process of crop straw feeding-substrate fermentation-edible fungus cultivation to provide basis for comprehensive utilization system of planting and breeding and utilization of agricultural waste. **【Method】** Thirty beef cattle from a farm in Liaoyuan, Jilin were randomly divided into two groups and fed for 60 days. Feed of one group was added with antibiotic monensin (RA), while the other group was not added (RN). Beef cattle manure was collected and mixed with rice straw for fermentation for 35 days. Emissions of  $\text{NH}_3$  and  $\text{N}_2\text{O}$  were measured during the fermentation process. During fermentation and cultivation, total nitrogen content of the substrate was also determined. The effects of antibiotics on nitrogen transfer and nitrogen recovery during substrate fermentation and *Agaricus bisporus* cultivation were investigated by measuring yield and total nitrogen content of *A. bisporus* fruiting body. Water content, temperature, C/N, pH, urease, nitrate reductase and nitrite reductase activities of the substrate during fermentation and *A. bisporus* cultivation were measured. The 16S rRNA and ITS sequencing were used to characterize bacterial and fungal population composition in the fermentation substrate. **【Result】** In the fermentation stage, residual antibiotics in the substrate did not change the trends of substrate temperature, water content and C/N, but average temperature in the high temperature period decreased by 1.1 °C and emissions of  $\text{NH}_3$  and  $\text{N}_2\text{O}$  decreased. More nitrogen remained in the substrate (nitrogen retention rate of RN and RA treatments were 39.58% and 43.23%, respectively) and antibiotics inhibited nitrogen transfer. Compared with RN treatment, physical and chemical properties of the substrate after RA treatment were not conducive to the growth of *A. bisporus* mycelium. The initial activities of urease, nitrate reductase and nitrite reductase in RA treatment were higher than those in RN treatment ( $P < 0.05$ ). After the start of fermentation, the activities of urease and nitrate reductase in RA treatment were lower than those in RN treatment, and the activity of nitrite reductase was still higher than that in RN treatment. After the end of cultivation, the urease activity of RA treatment exceeded that of RN treatment, and the activities of nitrate reductase and nitrite reductase were still lower than those of RN treatment. In the cultivation stage of *A. bisporus*, residual antibiotics in the substrate affected the growth of *A. bisporus* mycelium, increased water content and pH of the substrate, decreased the C/N of the substrate before the beginning of fruiting, and finally decreased the yield of *A. bisporus*. The nitrogen recovery rate decreased from 0.17% (RN) to 0.11% (RA). After the fermentation process, the relative abundance of phyla Proteobacteria and Bacteroidota and that of genus *Marinobacter* and *Mycothermus* was decreased, while that of phyla Firmicutes and Actinobacteriota and genus *Pseudoarmillariella* was increased. **【Conclusion】** Residual antibiotics in the substrate inhibited the transformation of nitrogen and more nitrogen remained in the substrate, which affected the growth of *A. bisporus* and reduced nitrogen conversion.

**Key words:** antibiotic; waste reuse; substrate fermentation; microbial community; nitrogen transformation; *Agaricus bisporus* cultivation

随着全球畜禽养殖量的增加,动物粪便的产量也逐渐增加,其中约 25% 的粪便直接被弃置<sup>[1]</sup>;此外,还有大量的农作物秸秆未得到充分利用。未经处理的畜禽粪便和农作物秸秆在分解过程中会释放有害气体,所含的氮也会转化成气体排出(主要是  $\text{NH}_3$  和  $\text{N}_2\text{O}$ ),不仅污染环境,还会造成氮素损失。利用动物粪便和农作物秸秆好氧发酵生产肥料或者用作食用菌基质是实现废物资源化利用、促进氮回收、维持循环生物经济的有效途径<sup>[2-3]</sup>。

在肉牛饲养过程中常会使用抗生素(如莫能菌素)以提高饲料转化效率<sup>[4]</sup>。在全球范围内,73% 的抗生素药物用于食用动物,由于代谢率较低<sup>[5]</sup>,其中有 30%~90% 通过尿液以及粪便排出<sup>[6]</sup>。残留抗生素、代谢产物和抗生素抗性基因对植物<sup>[7]</sup>、动物<sup>[8]</sup>和人类<sup>[9]</sup>造成了严重影响,发展作物栽培与畜禽养殖结合的种养一体化循环利用系统,可以实现资源循环利用,减少污染<sup>[9]</sup>。与堆肥类似,基质发酵可以稳定有机质并从畜禽粪便中去除有害物质,如抗生

素<sup>[10]</sup>。发酵过程中的氨化作用和脱氮作用可以分别产生  $\text{NH}_3$  和  $\text{N}_2\text{O}$ , 导致大量氮以气体形式排放到大气中<sup>[11]</sup>。在发酵过程中, 许多细菌负责氮的转化及磷和钾的溶解, 可以使营养物质更容易被利用<sup>[12]</sup>。氮素转化效果直接决定了最终发酵和食用菌栽培的效果。畜禽粪便中残留的抗生素可能通过选择性抑制或毒害微生物群落的方式, 直接或间接改变微生物群落结构和物质转化过程<sup>[13]</sup>。目前关于残留抗生素对氮转化、蘑菇产量和微生物群落影响的研究较少, 且现有研究只关注种养一体化系统的单个阶段或某些关键环节, 缺乏基于整个系统的抗生素对氮转化影响的研究。为此, 本研究基于“农作物秸秆养殖-基质发酵-食用菌栽培”体系, 将水稻秸秆和牛粪混合后作为双孢菇栽培基质, 通过研究基质理化性质及发酵阶段微生物组成的变化, 探究抗生素对氮转化及农业废弃物综合利用效率的影响, 以期对种养结合综合利用体系中氮素转移规律的研究及农业废弃物综合利用提供参考。

表 1 本试验中不同来源发酵原料的理化性质 ( $n=6$ )

Table 1 Physical and chemical properties of raw substrate materials for fermentation ( $n=6$ )

指标 Index	水稻秸秆 Rice straw	有抗生素牛粪 Antibiotic manure	无抗生素牛粪 No antibiotic manure
含水量/% Moisture	9.76	81.68	82.64
pH		8.61	8.80
总氮/% Total nitrogen	0.35	1.94	1.99
总碳/% Total carbon	49.10	47.41	48.66
纤维素/% Cellulose	36.65	30.81	29.54
半纤维素/% Hemicellulose	26.48	27.64	26.46
木质素/% Lignin	14.30	8.85	8.33
莫能菌素/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Monensin		30.65	

## 1.2 基质发酵及食用菌栽培试验

将无抗生素牛粪与水稻秸秆混合作为对照处理 (RN), 含抗生素牛粪与水稻秸秆混合作为试验处理 (RA), 每个处理重复 3 次 (3 桶)。各处理原料组成 (均为质量分数): 秸秆 (49%)、牛粪 (49%, 干质量)、尿素 (1%)、氧化钙 (0.5%) 和硫酸钙 (0.5%), 将原料充分拌匀后放入不带盖的高密度聚乙烯桶 (直径 40 cm, 高度 80 cm, 容积 100.48 L) 中进行发酵。发酵棚内自然采光, 自然通风, 发酵时间为 35 d, 环境温度为 15.0~23.0 °C, 相对湿度为 60%~70%。发酵产物用于栽培双孢菇。

使用带网眼的塑料筐 (40 cm×60 cm×50 cm) 栽培双孢菇, 每处理 4 筐, 即 4 个重复, 将发酵基质均匀铺入塑料筐中, 按照每千克基质接种 125 g 菌种的比例进行接种。在菌丝生长阶段, 培养室温度保持在 24~26 °C, 该阶段对湿度无要求, 保持自然通风, 为了防止水分流失过快, 用塑料薄膜覆盖在栽

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与菌株来源

在吉林省辽源县一个肉牛养殖场, 选取体质量约 400 kg 的健康西门塔尔肉牛 30 头, 随机均分为 2 组。一组正常饲喂; 另一组喂食相同饲料, 但每吨饲料添加 150 g 莫能菌素。连续饲喂 60 d 后, 分别连续 7 d 收集牛粪便, 各自混合均匀后备用。水稻秸秆取自吉林省辽源县, 自然风干后粉碎成 2~5 cm 的颗粒。辅料为尿素 ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ , 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)、氧化钙 ( $\text{CaO}$ , 化学纯, 国药集团化学试剂有限公司)、硫酸钙 ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。牛粪和水稻秸秆理化性质见表 1, 其中总氮、总碳、纤维素、半纤维素和木质素含量均为质量分数。

供试双孢菇菌株 (W192) 购自山东省寿光市食用菌研究所。

培筐顶部, 直至菌丝在基质中长满后撤去塑料薄膜。菌丝长满后, 对基质进行覆土 (天然腐殖土, 使用前于 121 °C 高压灭菌 60 min), 覆土厚度为 5 cm, 将温度调节至 16~18 °C, 空气湿度调节至 90%, 湿度不足时以喷雾方式对菇房进行加湿。由于双孢菇属于喜暗性菇类, 因此除原基分化期需要给予微弱散射光外, 其余时期均采用暗培养。

### 1.3 发酵和栽培阶段的样品采集

1.3.1 发酵阶段气体收集 在基质发酵的 0, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 21, 23, 25, 28, 31 和 35 d 进行翻堆。每天在 09:00 和 17:00 使用电子温度计在基质的上、中、下部测温, 取平均值。在发酵的 2, 4, 7, 10, 14, 21, 28 和 35 d 收集气体, 测定  $\text{NH}_3$  和  $\text{N}_2\text{O}$  排放量。气体收集装置包括带气体收集口、配备硅胶塞的 PVC 抽气罩 (直径 56 cm, 高 90 cm, 容积 221.56 L) 和带水槽的底座。每次收集气体前, 将抽气罩扣置在底座槽中, 并将底座的水槽注满水以确

保其密封性,使发酵桶处于密闭空间内。用容积 30 mL 带气阀的注射器每 20 min 收集一次气体,共 4 次(0,20,40,60 min),并在 24 h 内用气相色谱仪完成样品测试。

**1.3.2 发酵阶段和栽培阶段基质样品收集** 在发酵开始(0 d)及发酵期的 7,14,21,28 和 35 d 翻堆后收集基质。将收集的基质分为 4 份:一份用于测定含水量;一份用于测定 pH;一份在 65 °C 下干燥 48 h,粉碎后用于测定其他理化指标;一份于 -80 °C 保存,用于微生物分析。

在菌丝长满(栽培 40 d)、原基生成(栽培 55 d)、开始出菇(栽培 62 d)和子实体采收完成(栽培 80 d) 4 个阶段,对双孢菇栽培基质进行采样。取样时,除去基质表面的覆土,分别从栽培筐的 5 个不同位置采集样品(约 30 g),将从每处理 4 筐中采集的 20 份样品混合均匀后分成 3 份(每份样品约 100 g),作为 3 次重复。

选取发酵 0,10(高温期中期),14(基质温度最高),35 d(基质发酵结束)和栽培 80 d(子实体采收完成)的基质,用于酶活测定。

#### 1.4 测定指标及方法

在基质发酵过程中,氨气(NH<sub>3</sub>)排放量用硼酸吸收和滴定法确认<sup>[14]</sup>,N<sub>2</sub>O 排放量用气相色谱仪(7890B GC system,Agilent Technology,美国)进行分析<sup>[15]</sup>。每次收集完鲜样立刻测定基质含水量和 pH。将收集的基质样品置于 105 °C 下干燥至恒质量后,计算含水量<sup>[16]</sup>;称取基质样品 15 g,放入 50 mL 的烧杯中,按质量体积比 1:2 将无离子水加到烧杯中,搅拌均匀,静置 30 min,用 pH 计(Testo 205,Testo AG,Lenzkirch,德国)测定基质悬液 pH。基质中脲酶、硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶活性测定采用分光光度法,使用酶标仪(RT-6100,RAYTO Ltd.,美国)和试剂盒(BC0120,BC3105,BC2990,索莱宝,北京)测定。总氮量使用流动分析仪(Futura,AMS Alliance,法国)测定,总碳量使用元素分析仪(RapidCS cube C Version,Elementar Analysensysteme GmbH,德国)测定,计算碳氮比(C/N)、氮保留率和子实体氮回收率。

为了保证测定条件一致,用于总氮量、总碳量及酶活性测定的样品均烘干粉碎或冻干后保存,栽培完成后统一测定;微生物待测样品超低温保存,栽培完成后统一送测。

发酵阶段氮保留率 = 发酵基质中总氮量/最初基质中总氮量 × 100%;

栽培阶段氮保留率 = 栽培基质中总氮量/最初基质中总氮量 × 100%;

子实体氮回收率 = 子实体中总氮量/栽培开始时基质中总氮量 × 100%。

由于样品收集消耗了部分基质,影响对相关指标的分析,因此初始基质和发酵结束基质质量均减去取样消耗的基质质量;而栽培结束时的基质质量实测质量。

#### 1.5 微生物 DNA 提取、测序和分析

由于双孢菇是大型真菌,栽培期间基质中遍布双孢菇菌丝,因此只对基质发酵阶段的微生物组成进行测定和分析。从每个发酵样品中提取微生物总基因组 DNA,每个处理各阶段分别设置 4 次重复。利用 16S rRNA 和 ITS 测序来表征发酵基质中的细菌和真菌种群,利用 Ion S5TM XL 细菌平台和 Illumina 真菌平台(Illumina, San Diego,加利福尼亚,美国)进行分析,测序工作委托北京诺禾致源科技股份有限公司完成,相关分析在该公司的诺和云平台上进行。为研究各样本的物种组成,对所有样本的有效数据,以 97% 的一致性进行 OTUs(Operation Taxonomic Units)聚类,然后对 OTUs 的序列进行物种注释。根据物种注释结果,可看到每个处理在门水平和属水平上相对丰度较高的物种及其比例。采用典型相关分析(CCA 分析)探讨环境因素(温度、含水量、pH 和总氮量)与微生物组成的关联,采用 envfit 函数检验每个环境因素的显著性。

#### 1.6 数据统计与分析

用 Microsoft office 2016 对试验数据进行统计,采用 SAS 9.4 软件对发酵阶段和栽培阶段基质的理化性质数据进行分析,使用 GraphPad Prism 8 绘制图表。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵和栽培过程中基质理化性质的变化

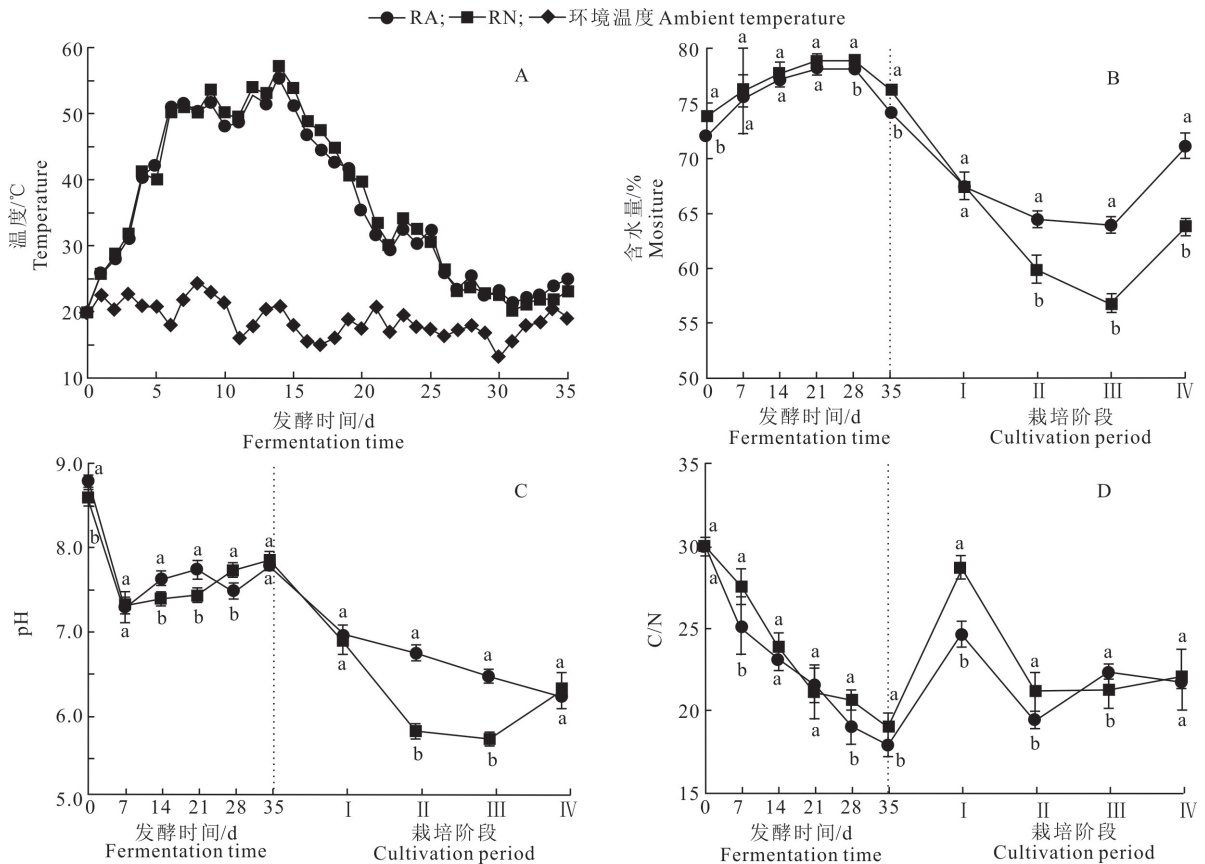
如图 1 所示,添加抗生素的 RA 处理和未添加抗生素的 RN 处理基质在发酵阶段温度变化趋势一致;发酵 3 d 后温度快速升高,6 d 时达到高温期(>50 °C)(图 1-A),高温期持续 10 d,随后温度逐渐下降,在发酵 20 和 21 d 时达到成熟期(<35 °C)。高温期 RA 处理平均温度为 51.2 °C、RN 处理为 52.3 °C,说明抗生素降低了平均温度,但未改变高温期的历时。2 个处理的含水量(图 1-B)变化趋势一致,发酵阶段都保持在 70%~80%,发酵开始后基质含水量逐渐上升,28 d 后下降。在栽培阶段,从

栽培开始到出菇前基质含水量持续下降,RN 处理下降速度更快,从 76.21%下降至 56.79%,RA 处理则从 74.14%( $P < 0.05$ )下降至 63.83%( $P < 0.05$ );出菇后为了保证环境湿度,需每天进行喷淋,使基质含水量快速上升,采收时 RN 处理基质含水量上升至 63.83%,RA 处理上升至 71.18%( $P < 0.05$ )。发酵阶段基质温度升高是由于有机物分解和氮转化过程中产生了大量热量;同时,有机物分解过程会产生水,因此基质含水量也升高。

在基质发酵过程中,RA 处理(pH 8.79)和 RN 处理(pH 8.60)的 pH 值 7 d 时迅速下降至 7.30 和 7.32( $P > 0.05$ );此后至发酵结束,pH 相对稳定(图 1-C)。RA 处理 pH 更高是由于抗生素抑制了氨化细菌的生长,从而减少了  $\text{NH}_3$  的排放。在蘑菇栽培

之初,RA 处理 pH 为 7.79,RN 处理 pH 为 7.86( $P > 0.05$ ),随着栽培进程推进,pH 逐渐下降;至开始出菇时,RA 处理 pH 下降至 6.48,RN 处理下降至 5.74( $P < 0.05$ );至采收完成后,RA 处理 pH 下降至 6.24,RN 处理 pH 回升至 6.31( $P > 0.05$ )。开始出菇后 RN 处理 pH 回升可能是由于基质含水量升高,酸性物质被稀释所致。

如图 1-D 所示,RA 处理和 RN 处理 C/N 的变化趋势在原基形成前一致,发酵阶段均表现为持续下降;随着菌丝的生长,基质 C/N 快速回升;在菌丝长满后又开始下降;原基形成到开始出菇,基质 C/N 回升;随着子实体的采摘,RN 处理基质 C/N 继续上升,RA 处理小幅下降。



I、II、III、IV 分别代表菌丝长满、原基形成、开始出菇和采收完成阶段。

图上标不同小写字母表示同时期不同处理间差异显著( $P < 0.05$ ),下同。

I, II, III, IV indicates the period of mycelium grows to surface, primordium begins to generate, fructific, fruit body harvest period, respectively.

Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments at the same time ( $P < 0.05$ ), the same below.

图 1 抗生素对发酵过程及双孢菇栽培过程中基质温度、含水量、pH、C/N 的影响

Fig. 1 Effects of antibiotics on substrate temperature, moisture, pH and C/N during fermentation and cultivation of *A. bisporus*

## 2.2 抗生素对基质发酵及双孢菇栽培阶段氮素转化的影响

$\text{NH}_3$  和  $\text{N}_2\text{O}$  的排放量如图 2 所示,  $\text{NH}_3$  的释

放集中在发酵 7~14 d, 并在 14 d 达到峰值, RN 处理达到 305.27 mg/(kg·d), RA 处理达到 238.60 mg/(kg·d)。发酵后期  $\text{NH}_3$  挥发显著减少, 这是

由于  $\text{NH}_3$  的挥发及  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  的同化作用和硝化作用使基质中的  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  浓度降低。在 2~7 d,  $\text{N}_2\text{O}$  排放量呈下降趋势,与  $\text{NH}_3$  相反,随后开始回升,并在 14 d 达到峰值,RN 处理为 1.37  $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,RA 处理为 1.01  $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 。

如表 2 所示,RN 处理和 RA 处理总氮量在基质发酵结束时差异不显著,而在栽培阶段具有极显著差异( $P < 0.01$ )。发酵开始前,RN 处理的氮含量(16.36  $\text{g}/\text{kg}$ )高于 RA 处理(16.13  $\text{g}/\text{kg}$ )( $P < 0.01$ );发酵结束后,RN 处理氮含量上升至 21.93

$\text{g}/\text{kg}$ ,氮保留率为 89.16%,RA 处理氮含量上升至 22.58  $\text{g}/\text{kg}$ ( $P > 0.05$ ),氮保留率为 93.83%( $P < 0.05$ ),RA 处理超过 RN 处理;栽培结束后,RN 处理基质氮含量为 15.47  $\text{g}/\text{kg}$ ,RA 处理为 15.96  $\text{g}/\text{kg}$ ( $P > 0.05$ );RN 处理氮保留率为 39.58%,RA 处理为 43.23%( $P < 0.01$ ),RA 处理基质氮含量和氮保留率均高于 RN 处理。说明基质中残留的抗生素抑制了氮素的转移,将更多的氮留在基质中而非转移到双孢菇子实体中,RN 处理的氮回收率为 0.19%,RA 处理仅为 0.12%( $P < 0.01$ )。

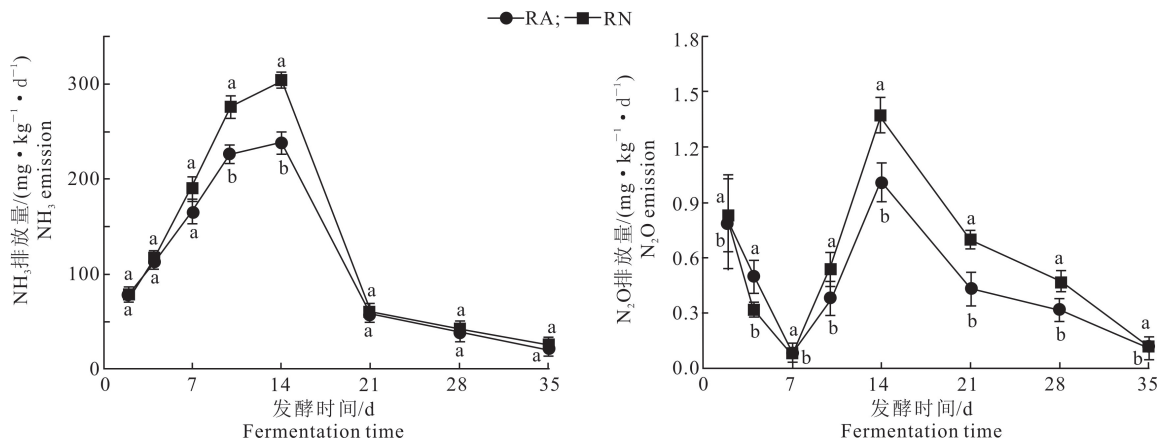


图 2 抗生素对基质发酵过程中  $\text{NH}_3$  和  $\text{N}_2\text{O}$  排放量的影响

Fig. 2 Effects of antibiotics on  $\text{NH}_3$  and  $\text{N}_2\text{O}$  emissions during substrate fermentation

表 2 抗生素对基质发酵及双孢菇栽培阶段氮素转化的影响

Table 2 Effects of antibiotics on nitrogen transformation in substrate fermentation and *A. bisporus* cultivation stage

不同阶段样品 Different stage samples	指标 Index	RA	RN	均值标准误 SEM	P
发酵初始基质 Starting substrate of fermentation	基质质量/kg Starting substrate	15.30	15.22	0.00	<0.01
	基质氮含量/( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Nitrogen concentration in starting substrate	16.13	16.36	0.03	<0.01
	基质总氮量/g Total nitrogen in starting substrate	246.84	248.97	0.42	<0.01
发酵结束基质 End substrate of fermentation	基质质量/kg Fermented substrate	10.26	10.12	0.00	<0.01
	基质氮含量/( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Nitrogen concentration in fermented substrate	22.58	21.93	0.34	0.20
	发酵物总氮量/g Total nitrogen in fermented substrate	231.62	221.99	3.43	0.08
	发酵过程中氮保留率/% Nitrogen retention rate during fermentation	93.83	89.16	1.39	0.04
栽培结束基质 End substrate of cultivation	剩余基质质量/kg Cultivated substrate	6.69	6.37	0.00	<0.01
	基质氮含量/( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Nitrogen concentration of cultivated substrate	15.96	15.47	0.23	0.17
	基质总氮量/g Total nitrogen in cultivated substrate	106.71	98.54	1.48	<0.01
	氮保留率/% Nitrogen retention rate during cultivation	43.23	39.58	0.60	<0.01
蘑菇子实体 Harvested mushroom	蘑菇采收量/kg Fruit body yield	0.71	1.01	0.00	
	子实体氮含量/( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Nitrogen concentration in fruit body	18.09	18.38	0.30	0.51
	子实体总氮量/g Total nitrogen in fruit body	0.27	0.42	0.00	<0.01
	氮回收率/% Nitrogen recycled rate	0.12	0.19	0.00	<0.01

## 2.3 抗生素对基质发酵及双孢菇栽培阶段基质酶活性的影响

发酵过程中的物质转化与多种微生物酶有关,因此通过监测发酵过程中酶活性变化可以获得有机物分解、氮转化的相关信息。由图 3 可见,0 d 时,RA 处理脲酶、硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶活性均显著高于 RN 处理( $P < 0.05$ )。在后续发酵过程中,RN 处理脲酶和亚硝酸盐还原酶活性持续下

降,发酵结束时脲酶和亚硝酸盐还原酶活性较 0 d 分别下降 25.34% 和 28.98%,硝酸盐还原酶活性在发酵前 10 d 下降,随后回升;RA 处理的脲酶、硝酸盐还原酶、亚硝酸盐还原酶活性均是前 10 d 下降,后期小幅回升,14 d 后脲酶和硝酸盐还原酶活性继续上升,亚硝酸盐还原酶活性下降。在栽培阶段结束后,基质中的脲酶和亚硝酸盐还原酶活性继续下降,硝酸盐还原酶活性上升。

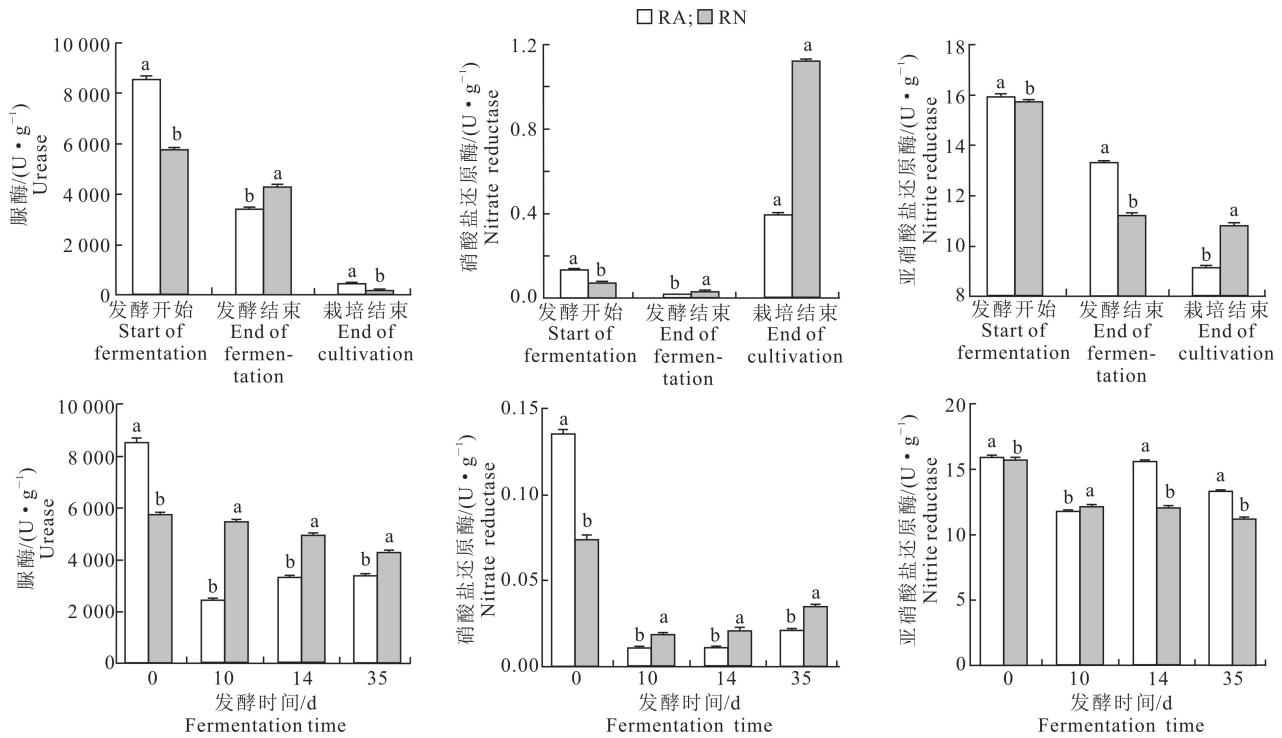


图 3 抗生素对发酵过程及双孢菇栽培过程中基质酶活性的影响

Fig. 3 Effects of antibiotics on substrate enzyme activity during fermentation and cultivation of *A. bisporus*

## 2.4 抗生素对基质发酵阶段菌落组成的影响

### 2.4.1 细菌群落

在门水平上(表 3),发酵之初牛粪中相对丰度排前 3 位的优势细菌为厚壁菌门、变形菌门和拟杆菌门(三者超过 90%);有抗生素牛粪中变形菌门相对丰度降低 35.14%,拟杆菌门相对丰度升高 44.96%。基质发酵过程中,厚壁菌门的相对丰度逐渐降低,14 d 时 RA 处理为 4.93%,RN 处理为 5.94%;35 d 时 RA 处理为 4.23%,RN 处理为 4.15%。变形菌门相对丰度 35 d 时增加至 44.47%(RA 处理)和 51.29%(RN 处理)。发酵 14 d 时,变形菌门和拟杆菌门成为优势菌;它们的相对丰度之和达到了 73.38%(RA 处理)和 74.53%(RN 处理),且在后续发酵过程中持续占据优势菌群地位。可见粪便中残留的抗生素使变形菌门和拟杆菌门的相对丰度降低,厚壁菌门和放线菌门的相对丰度提高。

在属水平上(表 4),发酵之初,牛粪中的优势菌种为不动杆菌属和森林土源芽孢杆菌,RA 处理相对丰度分别下降 28.07% 和 30.07%。随着发酵进行,14 d 时,RA 处理和 RN 处理基质中不动杆菌属和森林土源芽孢杆菌的相对丰度迅速下降,*Ruminofilibacter*(相对丰度 10.38% 和 11.54%)、*Proteiniophilum*(相对丰度 8.40% 和 8.88%)、*Advenella*(相对丰度 4.96% 和 6.19%)成为优势菌种。发酵结束时,RA 处理的优势菌种为 *Ruminofilibacter*(9.25%)、纤维弧菌属(7.50%)及 *Luteimonas*(5.84%),RN 处理的优势属为海杆菌属(17.20%)、*Ruminofilibacter*(9.26%)及纤维弧菌属(5.72%)。

### 2.4.2 真菌群落

在门水平上(表 5),发酵之初无抗生素牛粪中的优势真菌为新丽鞭毛菌门(36.88%)、子囊菌门(27.04%)和担子菌门

(5.05%), 抗生素使三者的相对丰度分别提高 0.70%, 23.19% 和 112.28%。发酵开始后, 新丽鞭毛菌门和子囊菌门的相对丰度下降。发酵结束时, 新丽鞭毛菌门相对丰度趋近于 0, 子囊菌门相对丰度下降至 7.72% (RA 处理), 10.83% (RN 处理), 担子菌门的相对丰度上升 RA 处理为 20.87%, RN 处理为 18.01%。可见抗生素未改变基质中优势真菌的种类, 但对真菌的相对丰度有影响。

在属水平上(表 6), 发酵之初无抗生素牛粪中相对丰度较高的真菌为根囊鞭菌属(21.48%)、枝孢

霉属(11.52%)和盲肠鞭菌属(7.19%), 添加抗生素后根囊鞭菌属的相对丰度降低(15.75%), 枝孢霉属(18.05%)和盲肠鞭菌属(13.66%)的相对丰度升高。经过 14 d 发酵后, *Mycothermus* 和假小蜜环菌属成为基质中的优势真菌并持续保持优势地位。发酵结束时, 假小蜜环菌属的相对丰度超过 *Mycothermus*。说明与不含抗生素的基质相比, 原料中残留的抗生素提高了假小蜜环菌属真菌的相对丰度, 降低了 *Mycothermus* 的相对丰度。

表 3 基于 16S rDNA 的不同发酵阶段细菌门水平的相对丰度

Table 3 Relative abundance of bacterial at the phylum level at different stages of fermentation based on 16S rDNA sequencing

处理 Treat- ment	发酵时间/d Fermenta- tion time	厚壁菌门 Firmicu- tes	变形菌门 Proteobac- teria	拟杆菌门 Bacteroi- dota	螺旋体门 Spirochae- tota	放线菌门 Actinobac- teriota	疣微菌门 Verruco- microbiota	广古菌门 Euryar- chaeota	蓝细菌门 Cyanobac- teria	梭杆菌门 Fusobac- teriota	%
RA	0	47.82	19.05	23.60	1.91	0.93	1.41	0.21	0.57	0.12	
	14	4.93	42.75	30.63	5.53	4.47					
	35	4.23	44.47	23.44		3.64					
RN	0	45.55	29.37	16.28	1.18	0.82	1.12	0.49	0.51	0.01	
	14	5.94	43.73	30.80	3.98	3.66					
	35	4.15	51.29	23.56		3.05					

处理 Treat- ment	发酵时间/d Fermenta- tion time	纤维杆菌门 Fibrobac- terota	弯曲杆菌门 Campilo- bacterota	脱硫菌门 Deinoco- ccota	Desulfo- bacterota	粘菌门 Myxococ- cota	Spiroch- aetota	绿弯菌门 Chloro- flexi	其他 Others	%
RA	0	2.14	0.15	0.46	0.56				2.53	
	14			1.86	1.02	1.34	0.19	0.64	2.99	
	35								4.37	
RN	0	2.87	1.16	0.65	0.46				2.75	
	14			1.74	0.60	1.55	0.45	0.41	2.57	
	35								3.07	

表 4 基于 16S rDNA 的不同发酵阶段细菌属水平的相对丰度

Table 4 Relative abundance of bacteria at the genus level at different stages of fermentation based on 16S rDNA sequencing

处理 Treat- ment	发酵时间/d Fermenta- tion time	不动杆 菌属 <i>Acineto- bacter</i>	森林土源 芽孢杆菌 <i>Solibacillus</i>	从毛单胞菌 <i>Coma- monas</i>	<i>Rombo- utsia</i>	<i>Paeniclo- stridium</i>	拟杆菌属 <i>Bacteroides</i>	<i>Alistipes</i>	<i>Stenotro- phomonas</i>	<i>Rumino- filibacter</i>	<i>Proteinip- hilum</i>	<i>Advenella</i>	鳞球菌属 <i>Sphaero- chaeta</i>	%
RA	0	11.84	6.93	0.92	2.67	2.50	4.34	3.78	0.47					
	14									10.38	8.40	4.96	4.33	
	35									9.25				
RN	0	16.46	9.91	4.66	2.82	2.15	2.03	2.03	1.03					
	14									11.54	8.88	6.19	3.35	
	35									9.26				

处理 Treat- ment	发酵时间/d Fermenta- tion time	假单胞 菌属 <i>Pseudo- monas</i>	海杆菌属 <i>Marino- bacter</i>	纤维弧 菌属 <i>Cellvibrio</i>	假黄单 胞菌属 <i>Pseudoxan- thomonas</i>	氢噬菌属 <i>Hydrog- enophaga</i>	<i>Lutei- monas</i>	固氮 弧菌属 <i>Azoarcus</i>	<i>Fermenti- monas</i>	<i>Areni- monas</i>	另枝菌属 <i>Alistipes</i>	其他 Others	%
RA	0											44.03	
	14	3.00	0.69	3.38	2.46	4.01						56.26	
	35		1.37	7.50		4.18	5.84	4.15	1.08	2.45	1.46	61.45	
RN	0											42.40	
	14	5.06	2.24	2.65	1.74	3.82						51.65	
	35		17.20	5.72		1.95	4.70	3.00	2.27	2.17	1.04	51.69	



表 5 基于 ITS 的不同发酵阶段真菌门水平的相对丰度

Table 5 Relative abundance of fungal at the phylum level at different stages of fermentation based on ITS %

处理 Treatment	发酵时间/d Fermentation time	子囊菌门 Ascomy- cota	新丽鞭毛菌门 Neocalli mastigomycota	担子菌门 Basidio- mycota	被孢霉门 Mortierello- mycota	壶菌门 Chytridiom- ycota	Aphelidio- mycota	球囊菌门 Glomero- mycota	其他 Others
RA	0	33.31	37.14	10.72	0.02	0.02			18.76
	14	6.35	0.05	0.57	0.01	0.02	0.04		92.95
	35	7.72		20.87		0.06	1.31	0.00	70.04
RN	0	27.04	36.88	5.05	0.06	0.02			30.93
	14	11.54	0.01	0.23	0.02	0.00	0.02		88.17
	35	10.83		18.01		0.01	2.37	0.03	68.75

表 6 基于 ITS 的不同发酵阶段真菌属水平的相对丰度

Table 6 Relative abundance of bacteria at the genus level at different stages of fermentation based on ITS %

处理 Treatment	发酵时间/d Ferment- ation time	枝孢霉属 <i>Cladospo- rium</i>	根囊鞭 菌属 <i>Orpinom- yces</i>	盲肠鞭 菌属 <i>Caecom- yces</i>	毛孢子菌属 <i>Trichos- poron</i>	曲霉属 <i>Alternaria</i>	<i>Phaeosp- haeria</i>	肠霉属 <i>Cyllumyces</i>	链格孢属 <i>Asper- gillus</i>	<i>Walleimia</i>	<i>Mycother- mus</i>	假小蜜 环菌属 <i>Pseudoar- millariella</i>	闭小囊 菌属 <i>Kernia</i>
RA	0	18.05	15.75	13.66	5.62	3.17	1.44	3.11	1.90	0.85			
	14										5.87	0.38	0.14
	35										7.18	19.13	
RN	0	11.52	21.48	7.19	0.70	5.82	0.02	0.36	1.20	1.30			
	14										10.80	0.13	0.01
	35										9.49	17.37	

处理 Treatment	发酵时间/d Ferment- ation time	曲霉属 <i>Aspergillus</i>	链格孢属 <i>Alternaria</i>	赤霉属 <i>Gibberella</i>	镰刀菌属 <i>Fusarium</i>	<i>Apiotri- chum</i>	肠霉属 <i>Cyllumyces</i>	丝盖伞属 <i>Inocybe</i>	蜡伞属 <i>Hygroph- orus</i>	<i>Coprin- opsis</i>	<i>Humicola</i>	<i>Postia</i>	其他 Others
RA	0												33.08
	14	0.05	0.00	0.01	0.02	0.11	0.04						93.31
	35					1.45		0.06	0.14	0.03	0.04	0.00	70.30
RN	0												45.16
	14	0.18	0.07	0.05	0.05	0.01	0.00						88.67
	35					0.12		0.12	0.21	0.10	0.12	0.04	69.09

2.4.3 基质理化指标与其微生物群落的关系 采用 CCA envfit 分析 pH、C/N、含水量、总氮量、基质温度与各个阶段基质中微生物组成的相关性。理化指标对基质中微生物群落分布的决定系数表示该指标的影响大小,决定系数越大,则相关性越高;反之,决定系数越小,则相关性越小。各指标对发酵基质中微生物群落的决定系数见表 7。在 CCA 排序图内,理化指标之间的夹角为锐角时表示两个指标呈正相关关系,钝角表示呈负相关关系。由图 4 可见,基质中的总氮量与 pH 呈正相关,与基质温度、基质含水量及 C/N 呈负相关。

在细菌门水平(表 7,图 4-A)上,根据决定系数的大小,各理化指标与微生物群落组成的相关性从

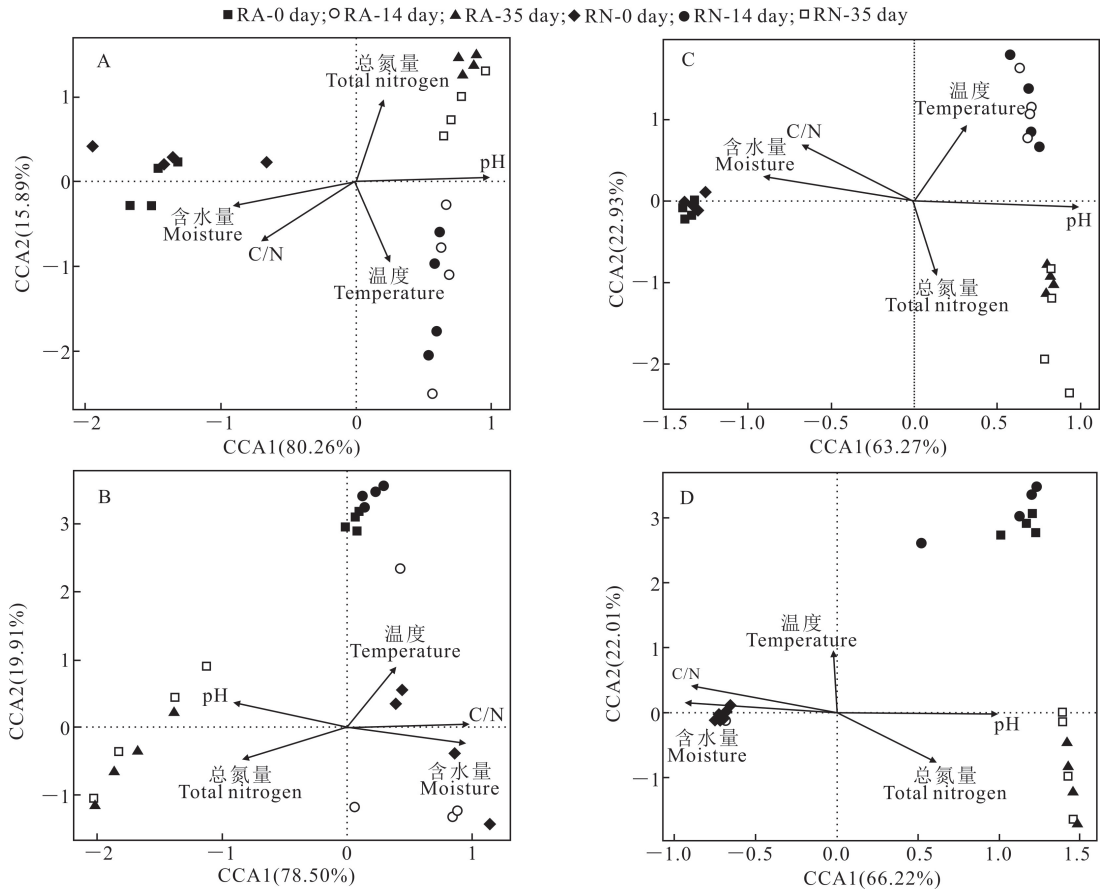
高到低为 pH、C/N、含水量、总氮量、温度;在属水平(表 7,图 4-B)的相关性从高到低为 pH、含水量、温度、C/N、总氮量。本研究中的理化参数可以在很大程度上解释细菌群落组成的模式(门水平总解释量为 96.15%,属水平为 86.20%)。相关性均达到极显著水平( $P < 0.01$ )。

对于真菌,在门水平上(表 7,图 4-C),两轴共解释 98.41% 的样本信息,相关性从高到低依次为 C/N、含水量、pH、总氮量、温度。在属水平(表 7,图 4-D)两轴共解释 88.23% 的样本信息,相关性从高到低依次为 pH、C/N、含水量、总氮量、温度。相关性均达到极显著水平( $P < 0.01$ )。

表 7 温度、pH、含水量、总氮量、C/N 对基质中微生物群落分布的决定系数

Table 7 Determination coefficient of temperature, pH, moisture, total nitrogen and C/N to species distribution

指标 Index	细菌门水平 Bacterial phylum level	细菌属水平 Bacterial genus level	真菌门水平 Fungal phylum level	真菌属水平 Fungal genus level
温度 Temperature	0.826	0.892	0.543	0.897
pH	0.953	0.991	0.813	0.995
含水量 Moisture	0.877	0.921	0.851	0.928
总氮量 Total nitrogen	0.837	0.795	0.788	0.915
C/N	0.879	0.882	0.902	0.979



A. 细菌群落门水平;B. 细菌群落属水平;C. 真菌群落门水平;D. 真菌群落属水平。CCA1 和 CCA2 表示环境因素与排序轴的相关性。

A. Bacterial community at phylum level;B. Bacterial community at genus level;C. Fungal community at phylum level;D. Fungal community at genus level. The values corresponding to CCA1 and CCA2 indicate the correlation between the environmental factor and the sorting axis.

图 4 基质理化指标与其微生物群落组成关系的 CCA 分析

Fig. 4 CCA analysis of the relationship between physical and chemical indexes of substrate and its microbial community composition

## 3 讨论

### 3.1 抗生素对循环体系中氮素转移的影响

本试验中氮素最终以双孢菇子实体的形式被回收,同等质量的基质中,双孢菇产量越高,生物学转化率越高,即氮回收率越高。本研究使用水稻秸秆和牛粪作为基质原料栽培双孢菇,菌菇产量较使用玉米秸秆和小麦秸秆<sup>[17]</sup>降低,这可能是由于虽然粉碎时选择的颗粒度一致,但水稻秸秆的直径更小,导致秸秆间空隙较小,影响了菌丝的呼吸作用。除原料的种类外,环境温度、湿度、通风、光照,以及基质的含水量、酸碱度、C/N 等都是影响双孢菇生长的重要因素。

C/N 会影响微生物的生长、繁殖及发酵产物的品质。研究表明,微生物生长代谢的基本能量是由碳素提供的,而氮素主要用于微生物构建自身细胞

体<sup>[18]</sup>。C/N 过高氮素相对缺乏会导致微生物的生长受到抑制;C/N 过低氮素相对过剩,氮素会以  $\text{NH}_3$  形式挥发导致营养降低<sup>[18-19]</sup>。本研究发现,发酵过程中高温期  $\text{NH}_3$  挥发量最高,与前人的研究结果<sup>[15,20]</sup>一致。研究表明, $\text{NH}_3$  排放速率与 pH 和  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  浓度呈正相关<sup>[21]</sup>,添加抗生素会影响  $\text{NH}_3$  和  $\text{N}_2\text{O}$  的排放。例如,在堆肥初期单独添加磺胺甲噁唑或诺氟沙星可以增加  $\text{NH}_3$  的排放,单独添加磺胺甲噁唑可以显著提高  $\text{N}_2\text{O}$  的排放速率,而同时添加磺胺甲噁唑和诺氟沙星则会抑制  $\text{NH}_3$  排放和冷却期的  $\text{N}_2\text{O}$  排放<sup>[20]</sup>。食用菌菌丝生长期要求基质含氮量较低,培养料初期含氮量过高会引起菌丝徒长,延长营养生长期;在栽培后期,基质中充足的氮源是高产的重要保障<sup>[22]</sup>。本研究中,RA 处理基质中残留的抗生素通过影响氮素的转化影响了基质的 C/N,从而影响了双孢菇的生长,使更多的氮留在了

基质中,降低了氮的回收率。

### 3.2 抗生素对基质理化性质的影响

脲酶参与尿素水解成铵和二氧化碳的过程,与秸秆和畜禽粪便的分解密切相关;硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶参与反硝化作用,将硝酸盐转化为 $N_2$ 或 $N_2O$ <sup>[23]</sup>。以往研究表明,硝酸盐还原酶活性与总氮量呈正相关,可以通过促进有机氮矿化为 $NH_4^+-N$ 增加氮储量,而 $NH_4^+-N$ 转化为稳定的含氮化合物储存在最终发酵产品中<sup>[24]</sup>;硝酸盐还原酶活性与含水量呈正相关,与温度和pH呈负相关,过高的温度或pH会降低N转化相关酶的活性<sup>[25]</sup>。

前期研究表明,双孢菇菌丝生长的最适pH为6.5~7.0,在菌丝生长过程中由于碳酸和草酸的形成,生长环境会逐渐酸化,因此接种时的pH在7.5左右为宜<sup>[22]</sup>。本研究中两组处理的pH都符合这一区间,说明两组处理的发酵产物都适宜双孢菇菌丝的生长。在菌丝生长阶段(开始出菇前),RN处理的pH降速更快,说明菌丝生长更加旺盛,产生的酸性物质更多。

水是双孢菇的主要组成成分,双孢菇子实体含水量在90%左右,菌丝体含水量为70%~75%,且许多营养需要溶于水才能被菌丝吸收,水还能调节细胞温度,参与代谢和物质的转化、合成。适宜的基质含水量有利于双孢菇的生长,双孢菇菌丝生长适宜基质含水量为60%~65%。本研究两组处理在基质发酵结束时的含水量都偏高(RN处理76.21%,RA处理74.14%),这是由于作为原料的鲜牛粪含水量偏高,因此,为了栽培过程的顺利进行,在制作双孢菇栽培基质时应先将牛粪进行适度晾晒。

### 3.3 抗生素对基质微生物组成的影响

研究表明,一些来源于动物粪便或共生微生物的代谢产物抗生素化合物会抑制双孢菇和其他真菌生长<sup>[26]</sup>。厚壁菌门、变形菌门和拟杆菌门在氮转化过程中发挥主要作用,且其有分解木质纤维素等有机物的功能<sup>[27]</sup>。在本研究中,随着发酵时间延长,厚壁菌门的相对丰度降低,与前人研究结果<sup>[16]</sup>一致。在本研究中,RA处理的厚壁菌门细菌相对丰度更高,这与前人研究结果不一致,GOU等<sup>[28]</sup>研究发现,在牛粪堆肥过程中添加金霉素抑制了厚壁菌门的生长;LIU等<sup>[29]</sup>研究表明,添加阿莫西林会降低小麦秸秆和猪粪共同堆肥中厚壁菌门和拟杆菌门细菌的相对丰度。研究表明,长期施用含抗生素(苜蓿头孢匹林或盐酸吡利霉素)的粪肥提高了土

壤生态系统中变形菌门和拟杆菌门细菌的丰度<sup>[30]</sup>。由于变形菌门和拟杆菌门细菌能够降解丙酸盐、丁酸盐和单糖,利用长链脂肪酸和氨基酸<sup>[31]</sup>,参与碳循环和含氮有机底物矿化,因此,拟杆菌门的减少可能会导致氨化作用被抑制,氮转移量下降,从而导致更多的氮留在基质中。硝化细菌属于绿弯菌门(如*Nitrolanceus hollandicus*)、变形菌门(如*Paracoccus denitrificans*)和放线菌门(如*Streptomyces* spp.),对 $N_2O$ 排放有影响<sup>[32]</sup>。

不同环境的细菌群落在非生物特性、微生物丰度和活动效率方面存在差异。如不动杆菌属细菌对降解有机化合物很重要,它可以利用多种有机化合物作为碳和能量的唯一来源,不仅在秸秆的快速降解中发挥重要作用,而且还有助于发酵过程中碳和氮的代谢<sup>[27]</sup>。海杆菌属可以促进氮循环,改变氮的形态和分布,提高堆肥腐殖质化程度<sup>[33]</sup>。在本研究中,至发酵中期,RA处理海杆菌属的相对丰度一直较RN处理低。这可能是RA处理氮转化率较低的原因。

目前,关于畜禽粪便和秸秆发酵过程中真菌功能群落相互作用的报道较少,多数研究主要集中在堆肥过程中细菌群落组成的变化上,忽略了降解纤维素和木质素的真菌群落,但纤维素和木质素在发酵过程中主要被子囊菌门和担子菌门真菌以及Pseudomonas门和Olsenella门细菌产生的木质素酶降解<sup>[34]</sup>。*Mycothermus*属真菌具有相当的纤维素和半纤维素降解能力,同时能产生多种热稳定酶,包括淀粉酶、纤维素酶、脂肪酶和木聚糖酶<sup>[35]</sup>。本研究中RA处理子囊菌门和担子菌门的相对丰度增加与木质素消化率的提高有关。以往研究表明,温度、C/N和湿度等参数会影响真菌群落组成<sup>[36]</sup>,发酵后真菌群落多样性较低表明发酵过程中的环境条件限制了生态位的可用性,导致群落多样性降低,群落组成更均匀<sup>[37]</sup>。

既有研究表明,细菌群落的演替主要受温度、pH、总氮量和C/N的影响<sup>[29,38]</sup>,总氮量、温度和pH是驱动细菌群落演替的主要因素<sup>[39]</sup>。温度、 $NH_4^+-N$ 、C/N和总氮量对真菌群落组成的影响较大<sup>[40]</sup>,温度与真菌群落显著相关,影响真菌的群落组成<sup>[41]</sup>,真菌生长对温度变化敏感<sup>[42]</sup>。本研究通过分析上述指标与微生物群落组成的相关性得出了相似结论。

## 4 结 论

本研究发现,在“农作物秸秆养殖-基质发酵-食

用菌栽培”循环体系中,以蘑菇的形式可从作物秸秆和畜禽粪便中回收 0.11%~0.17% 的氮。基质中残留的抗生素通过抑制  $\text{NH}_3$  和  $\text{N}_2\text{O}$  排放,减少氮损失,提高了发酵过程中的氮保留率,最终降低了氮转化率(双孢菇中氮含量)。这是因为残留的抗生素影响了微生物群落组成和氮转化,在基质发酵阶段,更多的氮被留在基质中,然而基质中的氮以双孢菇子实体形式被回收,而抗生素对基质中微生物活动和双孢菇生长均有一定的抑制作用,同时基质中的氮素转移受到影响,C/N 也发生变化,影响了菌丝在基质中的生长状态,因此降低了双孢菇的产量。说明在肉牛饲养过程中使用的抗生素会随粪便排出,畜禽粪便中残留的抗生素在资源化利用过程中对氮素循环和食用菌基质化利用均有负面影响,因此,在农业循环体系中应减少抗生素的使用,以提高资源化效率,确保环境安全性。

#### [参考文献]

- [1] WANG Y, LIU S J, XUE W T, et al. The characteristics of carbon, nitrogen and sulfur transformation during cattle manure composting: based on different aeration strategies [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16: 3930.
- [2] BERNAL M P, ALBURQUERQUE J A, MORAL R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment: a review [J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100: 5444-5453.
- [3] AWASTHI M K, SARSAIYA S, WAINAINA S, et al. A critical review of organic manure biorefinery model toward sustainable circular bioeconomy: technology challenges, advancements, innovations, and future perspectives [J]. *Renew Sust Energ Rev*, 2019, 111: 115-131.
- [4] GOODRICH R D, GARRETT J E, GAST D R, et al. Influence of monensin on the performance of cattle [J]. *J Anim Sci*, 1984, 58: 1484-1498.
- [5] MUNIR M, XAGORARAKI I. Levels of antibiotic resistance genes in manure, biosolids, and fertilized soil [J]. *J Environ Qual*, 2011, 40: 248-255.
- [6] 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.
- [7] AGATHOKLEOUS E, KITAO M, CALABRESE E J. Human and veterinary antibiotics induce hormesis in plants: scientific and regulatory issues and an environmental perspective [J]. *Environ Int*, 2018, 120: 489-495.
- [8] VAN BOECKEL T, PIRES J, SILVESTER R, et al. Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries [J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 365 (6459): eaaw1944.
- [9] RUFINO M C, GACHENE C K K, DIOGO R V C, et al. Sustainable development of crop-livestock farms in Africa [J]. *Front Agr Sci Eng*, 2021, 8: 1-8.
- [10] DOLLIVER H, GUPTA S, NOLL S. Antibiotic degradation during manure composting [J]. *J Environ Qual*, 2008, 37 (3): 1245-1253.
- [11] CAO Y B, WANG X, LIU L, et al. Acidification of manure reduces gaseous emissions and nutrient losses from subsequent composting process [J]. *J Environ Manage*, 2020, 264: 110454.
- [12] SANCHEZ-MONEDERO M A, CAYUELA M L, ROIG A, et al. Role of biochar as an additive in organic waste composting [J]. *Bioresour Technol*, 2018, 247: 1155-1164.
- [13] KATSOU E, ALVARINO T, MALAMIS S, et al. Effects of selected pharmaceuticals on nitrogen and phosphorus removal bioprocesses [J]. *Chem Eng J*, 2016, 295: 509-517.
- [14] MAO H, LÜ Z Y, SUN H D, et al. Improvement of biochar and bacterial powder addition on gaseous emission and bacterial community in pig manure compost [J]. *Bioresour Technol*, 2018, 258: 195-202.
- [15] ZHAO J C, SUN X N, AWASTHI M K, et al. Performance evaluation of gaseous emissions and Zn speciation during Zn-rich antibiotic manufacturing wastes and pig manure composting [J]. *Bioresour Technol*, 2018, 267: 688-695.
- [16] LI X X, WANG S P, SUN Z Y, et al. Performance and microbial community dynamics during rice straw composting using urea or protein hydrolysate as a nitrogen source: a comparative study [J]. *Waste Manage*, 2021, 135: 130-139.
- [17] WANG F, FANG Y, WANG L X, et al. Effects of residual monensin in livestock manure on nitrogen transformation and microbial community during “crop straw feeding-substrate fermentation-mushroom cultivation” recycling system [J]. *Waste Manage*, 2022, 149: 333-344.
- [18] 刘昊. 几种农业废弃物堆肥温室气体排放及碳氮物质变化规律研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.
- LIU H. Study on the changes of greenhouse gas emission and carbon and nitrogen substances from several agricultural wastes and straw compost [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2016.
- [19] 张鹤. 不同碳氮比对好氧堆肥进程和腐殖质及其组分含量的影响 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2018.
- ZHANG H. Effects of different C/N ratios on the process of aerobic compost and the content of humus and its components [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2018.
- [20] CHEN Z Q, WU Y Q, WEN Q X, et al. Insight into the effects of sulfamethoxazole and norfloxacin on nitrogen transformation functional genes during swine manure composting [J]. *Bioresour Technol*, 2020, 297: 122463.
- [21] AWASTHI M K, WANG Q, REN X, et al. Role of biochar amendment in mitigation of nitrogen loss and greenhouse gas emission during sewage sludge composting [J]. *Bioresour Technol*, 2016, 219: 270-280.
- [22] 张金霞, 蔡为明, 黄晨阳. 中国食用菌栽培学 [M]. 北京: 中国

- 农业出版社,2020:215-218.
- ZHANG J X,CAI W M,HUANG C Y. Cultivation of edible fungi in China [M]. Beijing:China Agriculture Press,2020:215-218.
- [23] LYCUS P,SORIANO-LAGUNA M,KJOS M,et al. A bet-hedging strategy for denitrifying bacteria curtails their release of N<sub>2</sub>O [J]. Proc Natl Acad Sci Unit States Am,2018,115(46):11820-11825.
- [24] CHEN M L,WANG C,WANG B R,et al. Enzymatic mechanism of organic nitrogen conversion and ammonia formation during vegetable waste composting using two amendments [J]. Waste Manage,2019,95:306-315.
- [25] GARCIA C,HERNÁNDEZ T,COSTA F,et al. Changes in ATP content,enzyme activity and inorganic nitrogen species [J]. Can J Soil Sci,1992,72:243-253.
- [26] KRUPKE O A,CASTLE A J,RINKER D L. The North American mushroom competitor, *Trichoderma aggressivum* f. *aggressivum*, produces antifungal compounds in mushroom compost that inhibit mycelial growth of the commercial mushroom *Agaricus bisporus* [J]. Mycol Res,2003,127:1467-1475.
- [27] AWASTHI M K,ZHANG Z,WANG Q,et al. New insight with the effects of biochar amendment on bacterial diversity as indicators of biomarkers support the thermophilic phase during sewage sludge composting [J]. Bioresour Technol,2017,238:589-601.
- [28] GOU C L,WANG Y Q,ZHANG X Q,et al. Effects of chlorotetracycline on antibiotic resistance genes and the bacterial community during cattle manure composting [J]. Bioresour Technol,2021,323:124517.
- [29] LIU N,HOU T,YIN H J,et al. Effects of amoxicillin on nitrogen transformation and bacterial community succession during aerobic composting [J]. J Hazard Mater,2019,362:258-265.
- [30] SHAWVER S,WEPKING C,ISHII S,et al. Application of manure from cattle administered antibiotics has sustained multi-year impacts on soil resistome and microbial community structure [J]. Soil Biol Biochem,2021,157:108252.
- [31] WANG J J,CAO L P,LIU Y H,et al. Effect of acclimatized paddy soil microorganisms using swine wastewater on degradation of rice straw [J]. Bioresour Technol,2021,332:125039.
- [32] SOROKIN D Y,LUCKER S,VEJMEJKOVA D,et al. Nitritification expanded:discovery,physiology and genomics of a nitrite-oxidizing bacterium from the phylum chloroflexi [J]. ISME J,2012,6(12):2245-2256.
- [33] LU J X,QIU Y Z,MUHMWOOD A,et al. Appraising co-composting efficiency of biodegradable plastic bags and food wastes:assessment microplastics morphology,greenhouse gas emissions,and changes in microbial community [J]. Sci Total Environ,2023,875:162356.
- [34] XING B S,HAN Y L,WANG X C,et al. Persistent action of cow rumen microorganisms in enhancing biodegradation of wheat straw by rumen fermentation [J]. Sci Total Environ,2020,715:136529.
- [35] BASOTRA N,KAUR B,DI FALCO M,et al. *Mycothermus thermophilus* (Syn. *Scytalidium thermophilum*): repertoire of a diverse array of efficient cellulases and hemicellulases in the secretome revealed [J]. Bioresour Technol,2016,222:413-421.
- [36] QIAO C C,PENTON C R,LIU C,et al. Patterns of fungal community succession triggered by C/N ratios during composting [J]. J Hazard Mater,2021,401:123344.
- [37] LANGARICA-FUENTES A,HANDLEY P S,HOULDEN A,et al. An investigation of the biodiversity of thermophilic and thermotolerant fungal species in composts using culture-based and molecular techniques [J]. Fungal Ecol,2014,11:132-144.
- [38] YIN Y N,GU J,WANG X J,et al. Effects of rhamnolipid and Tween-80 on cellulase activities and metabolic functions of the bacterial community during chicken manure composting [J]. Bioresour Technol,2019,288:121507.
- [39] CHANG H Q,ZHU X H,WU J,et al. Dynamics of microbial diversity during the composting of agricultural straw [J]. J Integr Agric,2021,20:1121-1136.
- [40] 王友玲,邱慧珍,李孟婵,等. 不同通风方式下牛粪堆肥过程中微生物群落演替及其对环境因子的响应 [J]. 环境科学学报,2023,43(8):189-201.
- WANG Y L,QIU H Z,LI M C,et al. Microbial community succession and response to environmental factors during composting under different ventilation conditions [J]. Acta Scientiae Circumstantiae,2023,43(8):189-201.
- [41] HUHE,JIANG C,WU Y P,et al. Bacterial and fungal communities and contribution of physicochemical factors during cattle farm waste composting [J]. Microbiologyopen,2017,6(6):e00518.
- [42] SUN L K,HAN X M,LI J S,et al. Microbial community and its association with physicochemical factors during compost bedding for dairy cows [J]. Front Microbiol,2020,11:254.

(责任编辑:霍振响)