生物技术通报
· 研究报告 · BIOTECHNOLOGY BULLETIN 2026, 42(10):293-304

功能膜覆盖下羊粪堆肥促腐效果及碳氮素转化的微生物机制

李荣荣[1] 蔡瑞[2*]
（1.渭南师范学院环境与生命科学学院，渭南 714000；2.华中科技大学环境科学与工程学院，武汉 430074）

摘 要： 【目的】探讨功能膜覆盖好氧堆肥技术对青藏高原羊粪堆肥碳素和氮素的生物转化影响。【方法】设置功能膜覆盖处理组（FM）和空白对照组（CK），在青藏高原进行为期30 d的堆肥发酵，测定堆肥过程木质纤维素、腐殖酸、铵态氮、硝态氮和亚硝态氮等碳和氮素组分的变化，利用宏基因组学技术分析碳和氮素转化的功能基因和微生物，揭示功能膜覆盖对羊粪堆肥碳和氮素生物转化的影响机制。【结果】FM可促进堆肥升温和延长高温期，并显著提升堆肥产品种子发芽指数达14.9%（P<0.05）；FM可显著降低堆肥产品中纤维素和半纤维素含量，降幅分别达8.77%和7.88%（P<0.05），并提升胡敏酸含量达20.0%（P<0.001）；FM有利于氮素保留，显著提升铵态氮、硝态氮和亚硝态氮含量，增幅分别为10.6%、20.0%和16.4%（P<0.05）。有机碳氧化是碳素生物转化的最主要途径，FM的有机碳氧化过程中与木质纤维素降解相关的功能基因丰度高于CK，促进了FM中木质纤维素的降解；而CK组的发酵和甲烷生成过程相关基因丰度高于FM。在氮素转化途径中，硝酸盐还原是堆肥初期最主要的氮素转化步骤，而亚硝酸盐氨化在后期占主导地位。FM的硝酸盐还原和亚硝酸盐氨化功能基因丰度在堆肥过程中高于CK，而亚硝酸盐还原、一氧化氮还原和氧化亚氮还原过程中则低于CK。【结论】覆盖功能膜可促进青藏高原羊粪堆肥腐熟，可通过强化微生物有机碳氧化作用促进木质纤维素降解和腐殖酸合成，还可通过抑制反硝化作用和促进亚硝酸盐氨化作用减少氮损失。

关键词： 膜覆盖好氧堆肥技术；羊粪；青藏高原；碳素转化；氮素转化；微生物作用机制
DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2025-0969

Microbial Mechanisms of Promoting Humification and Carbon-Nitrogen Transformation of Sheep Manure Composting under Functional Membrane Covering

LI Rong-rong[1] CAI Rui[2*]
（1. *School of Environment and Life Sciences, Weinan Normal University, Weinan* 714000; 2. *School of Environmental Science and Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan* 430074）

Abstract: 【Objective】 This study aims to investigate the effects of membrane-covered aerobic composting technology on the biotransformation of carbon and nitrogen during sheep manure composting on the Qinghai-Tibet Plateau.【Method】 Two treatment groups were established: the functional membrane covering group (FM) and the blank control group (CK). Composting fermentation was conducted on the Qinghai-Tibet Plateau over a 30-day period. Changes in carbon and nitrogen components—including lignocellulose, humic acid, ammonium nitrogen, nitrate nitrogen, and nitrite nitrogen—were monitored throughout the process. Additionally, metagenomic analysis was employed to identify the functional genes and microbial communities involved in carbon and nitrogen transformation, thereby elucidating the mechanisms through which functional membrane covering influences biotransformation processes.【Result】 FM accelerated the composting heating phase, extended the duration of the thermophilic stage, and significantly improved the germination index of the final compost product by 14.9% (P< 0.05). FM significantly reduced the cellulose and hemicellulose contents in the compost by 8.77% and 7.88%, respectively (P<0.05), while

收稿日期：2025-09-10
基金项目：湖北省自然科学基金项目（2025AFB134），渭南师范学院青年人才项目（2024XJ-QNRC-05）
*通信作者：蔡瑞 cairui0104@163.com

increasing humic acid content by 20.0% (P<0.001). Furthermore, FM enhanced nitrogen retention, significantly increasing the contents of ammonium nitrogen, nitrate nitrogen, and nitrite nitrogen by 10.6%, 20.0%, and 16.4%, respectively (P<0.05). Organic carbon oxidation was identified as the dominant pathway for carbon transformation. Functional genes associated with lignocellulose degradation were more abundant in the FM group than in the CK group, which can enhance lignocellulose degradation under membrane covering. Conversely, genes involved in fermentation and methane production were more prevalent in CK. Regarding nitrogen transformation, nitrate reduction was the primary pathway during the early composting stage, while nitrite ammonification dominated in the later stage. The FM group exhibited higher abundances of genes involved in nitrate reduction and nitrite ammonification throughout the composting process compared to CK, whereas it showed lower abundances in the pathways of nitrite reduction, nitric oxide reduction, and nitrous oxide reduction. 【Conclusion】 The use of functional membrane can effectively promote the maturation of sheep manure compost on the Qinghai-Tibet Plateau, can enhance organic carbon oxidation, facilitate lignocellulose degradation and humic acid synthesis, and can reduce nitrogen loss by suppressing denitrification and promoting nitrite ammonification.

Keywords: membrane-covered aerobic composting technology; sheep manure; Qinghai-Tibet Plateau; carbon conversion; nitrogen conversion; microbial action mechanism

青藏高原作为我国主要的牧区之一，年羊存栏数超过2 000万头[1]。这些羊在集中圈养情况下，每年产生大量羊粪已成为病原体和药物残留的重要来源，对牧场周边空气、土壤和地下水造成污染[2]。合理处置和利用这些废弃物对青藏高原的生态建设和可持续发展具有现实意义。堆肥是实现羊粪资源化的有效途径。然而，青藏高原具有高海拔、寒冷和氧气稀薄等气候特色[3]，严重影响该地区的堆肥发酵。其中氧气稀薄的气候抑制了堆体中好氧微生物活性，造成升温慢和腐熟效率低[4]。因此，优化青藏高原羊粪堆肥发酵工艺，提高堆肥中氧气浓度和好氧微生物代谢活性具有重要意义。

近年来，功能膜覆盖好氧堆肥技术日益受到关注[5]。由于功能膜的屏障作用，堆肥反应器中的气体在相对密闭的空间内形成“微正压”环境[6]。这种“微正压”环境增加了氧气与物料的接触面积和时间，从而强化好氧微生物代谢产热[7]。功能膜覆盖好氧堆肥技术已被广泛证明在促进畜禽粪便、污泥和厨余垃圾等废弃物堆肥升温和腐熟上具有良好效果[8-10]，还具有减少氮素损失[6-7]和促进病原体及抗生素抗性去除[11-12]等优势。功能膜的优异性能，特别是其“微正压”特性带来的氧气环境可能在青藏高原等氧气稀薄地区畜禽粪便堆肥生产上具有潜在的应用前景。因此，可合理地推测功能膜覆盖好氧堆肥技术能有效促进青藏高原羊粪堆肥腐殖化进程，显著提升堆肥产品品质。然而，该技术在青藏高原畜禽粪便堆肥上的应用研究仍然十分缺乏。

值得注意的是，羊粪中富含木质纤维素等碳素组分和一定含量的氮组分[13]，这些组分的转化对堆肥进程和产品品质具有重要影响。微生物参与了堆肥过程中有机碳氧化、甲烷代谢、氨化、硝化、反硝化和厌氧氨氧化等重要的碳氮转化步骤[13-14]。在这些过程中，木质纤维素的降解和腐殖质的形成与堆肥质量密切相关[15]。此外，一些碳氮转化过程也会造成碳氮的损失和空气污染，例如甲烷代谢会导致碳损失，氨化和反硝化会导致氮损失[13]。功能膜覆盖好氧堆肥技术能显著调节堆肥系统氧气分布和利用情况，进而影响与氧气密切相关的碳素（甲烷代谢等）和氮素转化（反硝化和厌氧氨氧化等）过程。因此，探究功能膜覆盖好氧堆肥过程中碳氮转化规律及微生物作用机制，对调控堆肥进程和提高堆肥产品品质具有指导作用和重要意义。然而，目前有关功能膜覆盖好氧堆肥过程中，碳素和氮素转化的生物化学过程及微生物作用机制的研究鲜有报道。

基于此，本研究为探究功能膜覆盖好氧堆肥技术对青藏高原羊粪堆肥发酵的影响，通过测定堆肥过程碳素（有机碳、木质纤维素和腐殖酸）和氮素组分（铵态氮、硝态氮和亚硝态氮）的变化，研究功能膜覆盖对羊粪堆肥碳氮转化的影响。进一步通过宏基因组学技术分析碳和氮素转化的功能基因和微生物，探究堆肥过程碳和氮素转化的微生物机制，以期为青藏高原畜禽粪便高效利用提供理论和技术支撑。

1　材料与方法

1.1　材料

本研究以羊粪为主要堆肥原料，油菜秸秆为碳氮比和孔隙度调理剂。羊粪和油菜秸秆均取自于青海省巴卡台农牧场，其基本理化性质如附表1所示。

1.2　方法

1.2.1　堆肥及取样方法　将自然风干的羊粪和粉碎的油菜秸秆以干重比为3∶1的比例进行混合，混合物碳氮比为22∶1。调节混合物的含水率为60%左右。将40 kg混合物置于60 L的反应器（附图1）内进行堆肥实验，采用强制通风方式，通风速率为3 L/min，堆肥周期为30 d。堆肥地点位于青海省巴卡台农牧场（海拔约为3 300 m）。

试验共设置2个处理，一组覆盖功能膜（FM），一组不覆膜（空白对照，CK），每个处理组设置3个重复。功能膜为膨体聚四氟乙烯（expanded PTFE）材料，采购于苏州优可发新材料科技有限公司，其基本性能如附表2所示。第0、3、15和30天从堆体多处采集共500 g左右样品充分混合，然后分为两部分，一部分样品用于理化指标测定，另一部分用于宏基因组测序。

1.2.2　基本理化指标测定　温度、含水率、pH和电导率的测定参考蔡瑞等[16]的方法，具体为：每天9:00、16:00测量堆体温度，将温度计均匀插入堆体上、中、下层各5个地点，计算15个点的平均温度；使用鼓风干燥机（DHG-9123A型）在105 ℃下烘干样品至恒重，根据烘干前后质量差计算堆肥含水率；将新鲜堆肥样品用去离子水以固液比1∶10浸提3 h后过滤，分别用pH计（瑞士梅特勒-托利多S20型）和电导率仪（雷磁DDB-303A型）测定pH和电导率。将烘干样品置于550 ℃的马弗炉中燃烧5 h，根据前后重量差计算有机质含量[17]。取堆肥浸提液20 mL于9 cm的培养皿中，并垫上滤纸，向浸提液中添加20颗小白菜种子，于20 ℃的黑暗条件下培养48 h后测定种子发芽率和根长，参考Arias等[18]公式计算种子发芽指数。

1.2.3　碳和氮组分测定　总有机碳含量、胡敏酸和富里酸使用焦磷酸钠-氢氧化钠混合提取液（含0.1 mol/L焦磷酸钠和0.1 mol/L氢氧化钠）提取，并采用重铬酸钾容量法测定其含量（中华人民共和国农业行业标准，NY/T 1867-2010）。纤维素、半纤维素和木质素采用改良的范氏洗涤法测定[19]。总氮采用凯氏定氮法测定（KDY-9830型凯氏定氮仪）；样品铵态氮、硝态氮和亚硝态氮含量参考Guo等[20]的方法测定。

1.2.4　宏基因组测序及分析　使用PowerSoil DNA Isolation Kit（MoBio Laboratories, Carlsbad, CA）试剂盒提取样品基因组DNA。用1%琼脂糖凝胶检测基因组DNA的纯度和质量。采用Covaris S220将基因组DNA打断成300 bp左右的小片段，并将打断产物进行纯化。取一定量纯化的DNA打断产物加入10 μL End repair & Add A进行末端修复加A尾，再加入33.5 μL Adaptor Ligation Mix连接含有Index的测序接头。使用2%琼脂糖凝胶对文库片段进行筛选，切取400–450 bp片段的胶块并进行纯化。加入Index和接头引物、酶及Mix进行PCR富集完成文库构建。构建完成的Hiseq文库使用磁珠法进行纯化。使用Nanodrop初步检测文库浓度，Agilent 2100检测文库片段，qPCR精确定量文库浓度。最后将不同文库按照有效浓度及目标数据量的需求混合后，在Illumina Hiseq平台上机测序。构建与碳氮循环相关的标记基因集，从多个权威数据库（包括KEGG、KOFAM、Pfam和TIGRfam）中收集数据，基于这些数据库中检索到的功能注释，使用Transcripts Per Million（TPM）方法分析功能组成以评估功能丰度[21]。通过整合微生物功能关联和相应的功能基因信息，对参与碳氮循环的微生物类群进行鉴定和分析。

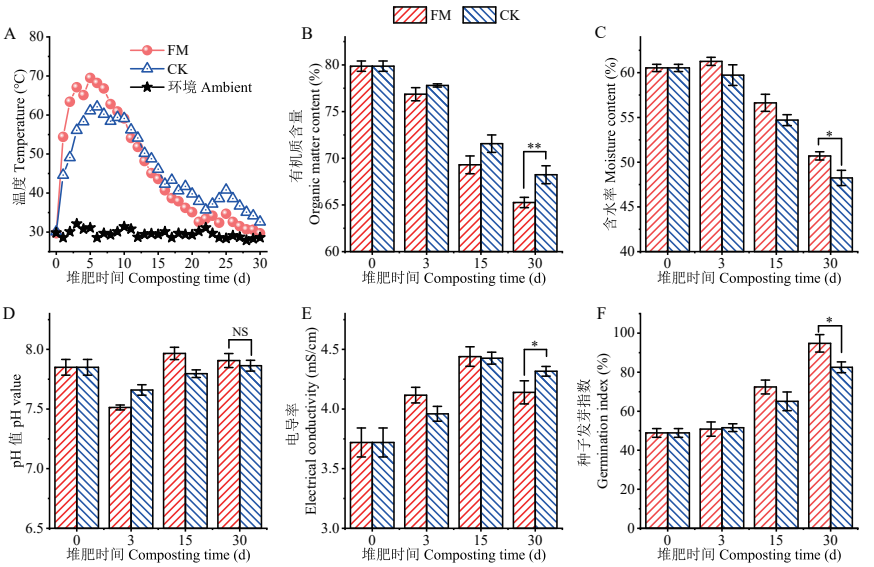
1.2.5　数据统计与分析　采用SPSS 26.0软件计算各指标平均值和标准差，并进行独立样本t检验。采用Origin 2021软件制图。

2　结果

2.1　堆肥基本理化指标的变化

如图1-A所示，2组堆肥温度在初期快速上升，其中FM在堆肥第1–12天的温度均超过50 ℃，并于第5天达到最高温度69.5 ℃。CK在堆肥第3–13天的温度均超过50 ℃，于第6天达到最高温度62.1 ℃。在堆肥中后期，堆肥温度开始快速下降，并逐渐接近环境温度。CK组在堆肥第11天后的温度高于FM组。如图1-B所示，2组堆肥的有机质含量在堆肥过程中持续下降，堆肥结束时，FM和CK的有机质含

量分别为65.3%和68.2%，呈现显著性差异（$P<0.01$）。2组堆肥含水率在堆肥前3 d保持在60%左右（图1-C），随后，2组堆肥的含水率呈现下降趋势。堆肥结束时，FM和CK的含水率分别为50.7%和48.2%，呈现显著性差异（$P<0.05$）。如图1-D–E所示，2组堆肥的pH值在堆肥前3 d呈现下降趋势，随后上升后保持稳定，而电导率则在堆肥前半段持续上升后逐渐下降。堆肥结束时，FM和CK的pH值分别为7.91和7.86，无显著性差异（$P>0.05$）；而电导率分别为4.14和4.32 mS/cm，具有显著性差异（$P<0.05$）。如图1-F所示，2组堆肥的种子发芽指数在堆肥初期保持在50%左右，随后快速上升。堆肥结束时，FM和CK的种子发芽指数分别为94.8%和82.5%，具有显著性差异（$P<0.05$）。



*$P<0.05$, **$P<0.01$, ***$P<0.001$, NS: $P>0.05$, the same below

图1 堆肥过程基本理化指标的变化

Fig. 1 Changes in basic physical and chemical indicators during the composting process

2.2 堆肥碳组分的变化

如图2-A–C所示，2组堆肥总有机碳、纤维素和半纤维素含量在整个堆肥过程均呈现下降趋势，其中FM的下降速度快于CK。堆肥结束时，FM和CK的总有机碳含量分别为375.1和394.3 mg/g，纤维素含量分别为224.7和246.3 mg/g，半纤维素含量分别为135.7和147.3 mg/g。FM组在堆肥结束时总有机碳、纤维素和半纤维素含量均显著低于CK组（$P<0.05$）。与纤维素和半纤维素含量变化趋势相反，2组堆肥的木质素含量在堆肥过程呈现缓慢上升趋势（图2-D）。堆肥结束时，FM和CK的木质素含量分别为146.3和147.3 mg/g，无显著性差异（$P>0.05$）。如图2-E所示，2组堆肥的胡敏酸含量在堆肥过程呈现上升趋势。FM组的胡敏酸含量上升速率在堆肥过程快于CK组，其含量在堆肥结束时显著高于CK组（$P<0.001$）。如图2-F所示，2组堆肥的富里酸含量在堆肥过程先呈现上升趋势后逐渐下降。堆肥结束时，FM和CK的富里酸含量分别为50.5和55.1 mg/g，呈现显著性差异（$P<0.05$）。

2.3 堆肥氮组分的变化

如图3-A所示，2组堆肥总氮含量在堆肥前3 d维持在21.5 mg/g左右。随后，2组的堆肥总氮含量呈现上升趋势，其中FM组的总氮含量上升速度快于CK组。堆肥结束时，FM的总氮含量显著高于CK组（$P<0.05$）。如图3-B和3-C所示，2组堆肥的NH_4^+-N和NO_3^--N含量在堆肥前半段均呈现上升趋势。随后，2组堆肥的NH_4^+-N含量呈现下降趋势，而NO_3^--N含量则持续上升。堆肥结束时，FM和CK的NH_4^+-N含量分别为1 549和1 401 mg/kg，NO_3^--N含量分别为1 332和1 110 mg/kg，均呈现显著差异（$P<0.05$）。如图3-D

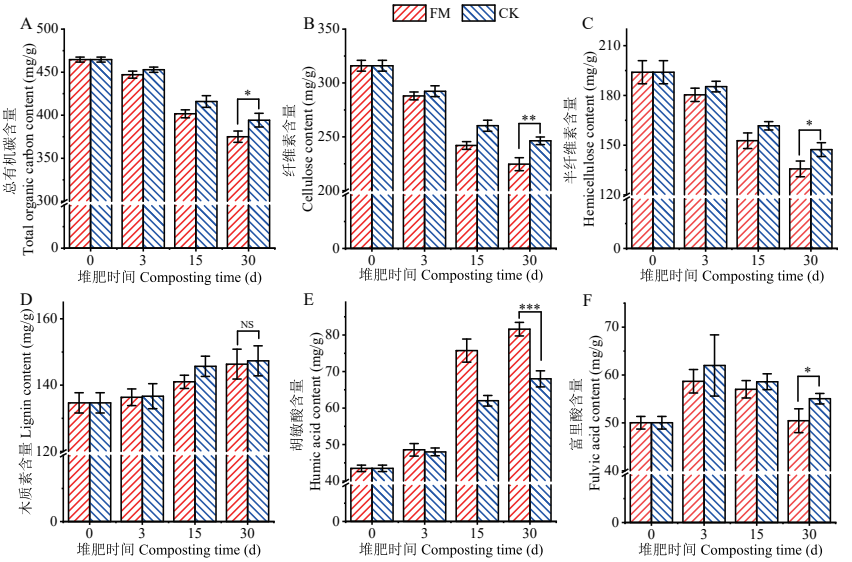


图2　堆肥过程碳组分的变化

Fig. 2　Changes in carbon composition during the composting process

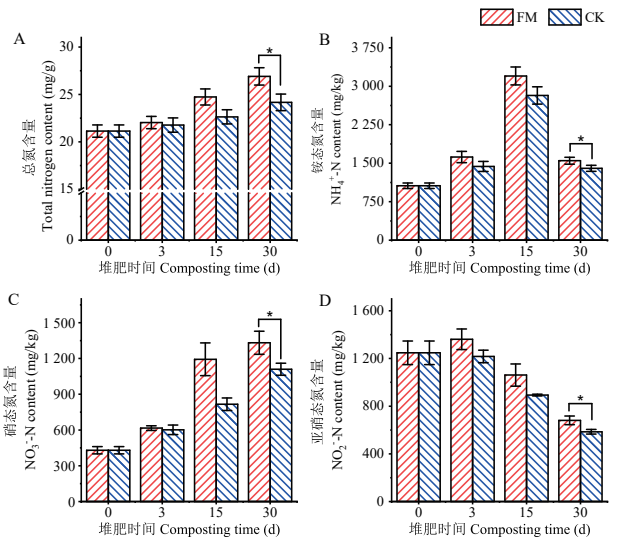


图3　堆肥过程氮组分的变化

Fig. 3　Changes in nitrogen components during the composting process

所示，2组堆肥的NO_2^--N含量在堆肥前3 d保持在1 200 mg/kg以上。随后，2组堆肥的NO_2^--N含量呈现下降趋势，其中FM组下降至681 mg/kg，CK组下降至585.3 mg/kg，2组NO_2^--N含量差异显著（P<0.05）。

2.4　碳和氮素转化功能基因的变化

如图4-A所示，共49个功能基因与有机碳氧化相关，其中*acyl-CoA dehydrogenase*丰度显著高于其他有机碳氧化功能基因，其次为*beta-glucosidase*、*hexosaminidase*、*beta-galactosidase*、*branched-chain amino acid aminotransferase/4-amino-4-deoxychorismate lyase*、*histidinol-phosphate/aromatic aminotransferase*、*phosphoserine aminotransferase*和*ornithine/acetylornithine aminotransferase*等。随着堆肥进行，大部分有机碳氧化功能基因丰度呈现快速上升趋势，而在堆肥中后期，这些功能基因丰度逐渐下降后保持稳定。另外，少数有机碳氧化功能基因丰度在堆肥过程先呈现下降趋势后逐渐上升，例如*beta-xylosidase*、*aspartate/tyrosine/aromatic aminotransferase*和*arabinosidase*等。本研究共7个功能基因涉及到发酵过程（图4-B），其中*ack*、*acs*和*pta*丰度相对较高，并且呈现出不同的变化趋势。如图4-C所示，共3个功能基因与甲烷营养过程相关，其中*mmoB*丰度显著高于其他2个基因，并且该基因丰度在堆肥过程先上升后逐渐下降。如图4-D所示，共3个基因涉及甲烷生成过程，但这3个功能基因均表现出较低丰度。图4-E显示了4个碳转化过程功能基因总丰度的变化。在这4个碳转化过程中，有机碳氧化过程丰度显著高于其他3个过程，该过程总丰度在堆肥初期呈现快速上升趋势，随后逐渐下降。甲烷营养和甲

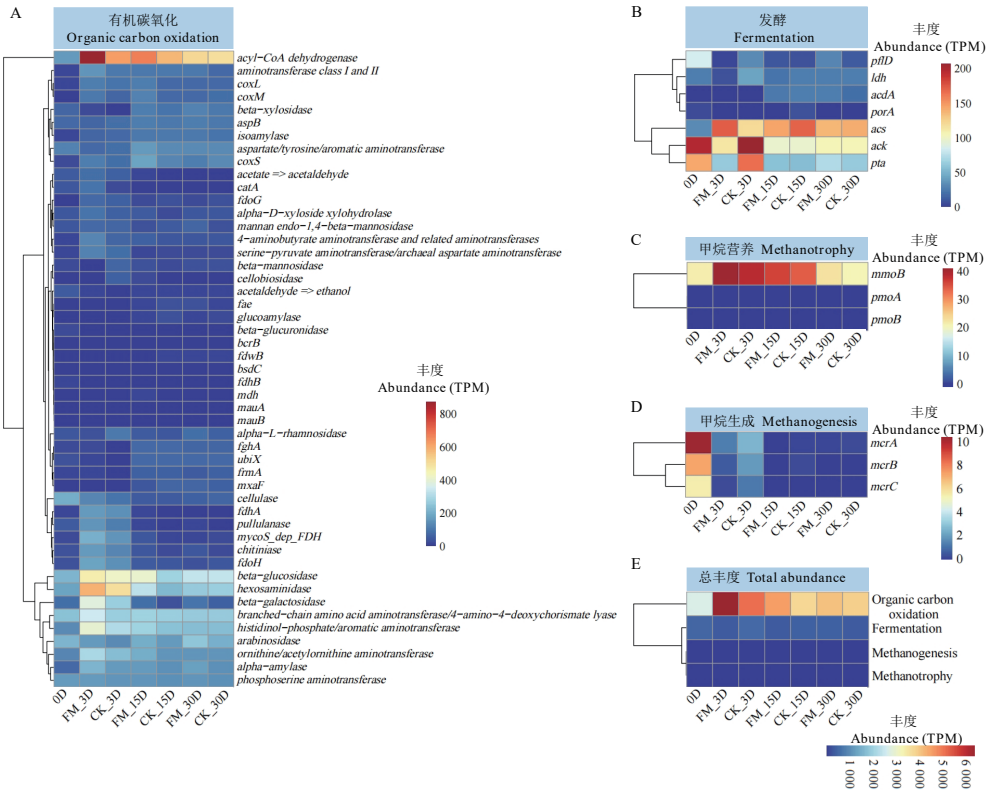


图4 碳素转化功能基因丰度的变化

Fig. 4 Changes in the abundance of function genes of carbon conversion

烷生成功能基因丰度显著低于其他过程，其中甲烷营养丰度先上升后下降，而甲烷生成则持续下降。在2个处理组中，FM组的有机碳氧化功能基因丰度在整个堆肥过程均高于CK组，而FM组的发酵和甲烷生成过程功能基因丰度在堆肥前15 d低于CK组。

如图5-A所示，共4个基因涉及到硝酸盐还原过程，其中*narG*和*narH*的丰度高于*napA*和*napB*，并且*narG*和*narH*的丰度在堆肥初期快速上升，随后快速下降。FM组的narG和*narH*的丰度高于CK组。*nirS*和*nirK*参与亚硝酸盐还原过程（图5-B），其中*nirK*的丰度显著高于*nirS*，且其丰度在堆肥前15 d快速上升，随后保持在较高丰度。如图5-C所示，共2个基因涉及到一氧化氮还原过程，其中*norB*的丰度高于*norC*，并且*norB*的丰度在堆肥过程呈现快速上升后保持稳定。*nosZ*参与了氧化亚氮还原过程（图5-D），该基因丰度在堆肥初期保持较低水平，随后快速上升，但仍显著低于其他氮素转化步骤的功能基因丰度。如图5-E所示，共4个基因涉及到亚硝酸盐氨化过程，其中*nirD*丰度最高。4个亚硝酸盐氨化功能基因在堆肥过程均呈现上升趋势。图5-F显示了5个氮转化过程功能基因总丰度的变化。在堆肥初期，硝酸盐还原功能基因总丰度显著高于其他4个氮转化步骤。随后，硝酸盐还原功能基因总丰度逐渐下降，而其他4个步骤丰度则逐渐上升，其中亚硝酸盐氨化功能基因丰度高于其他步骤。在5个氮素转化过程中，FM组的硝酸盐还原和亚硝酸盐氨化功能基因丰度在堆肥过程中高于CK组，而亚硝酸盐还原、一氧化氮还原和氧化亚氮还原过程中则低于CK组。

2.5 碳和氮素转化功能微生物的变化

图6显示了碳素转化4个关键步骤功能微生物（属水平）的贡献度变化。如图6-A所示，棒杆菌属（*Corynebacterium*）是堆肥原料中有机碳氧化步骤最主要功能微生物，其贡献度为69.2%，其次为短杆菌属（*Brevibacterium*）（14.8%）和小短杆菌属（*Brachybacterium*）（11.9%）。随后3 d，棒杆菌属

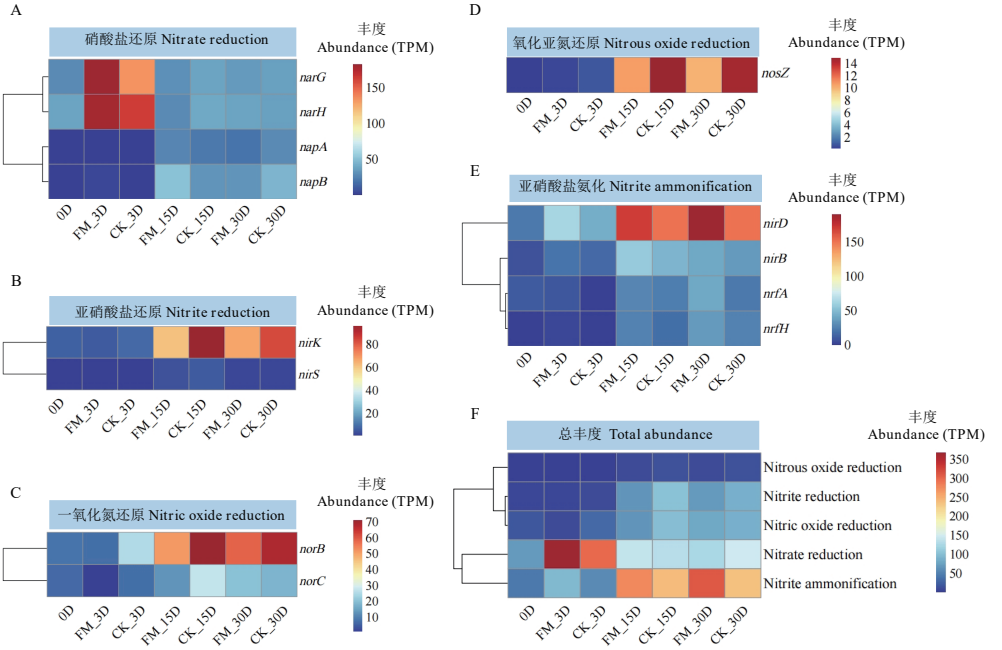


图5　氮素转化功能基因丰度的变化

Fig. 5　Changes in the abundance of function genes of nitrogen conversion

（*Corynebacterium*）、短杆菌属（*Brevibacterium*）和小短杆菌属（*Brachybacterium*）仍为有机碳氧化的主要参与者，其中棒杆菌属（*Corynebacterium*）和短杆菌属（*Brevibacterium*）贡献度呈现下降趋势，而小短杆菌属（*Brachybacterium*）则逐渐上升。另外，拟诺卡氏菌属（*Nocardiopsis*）也是堆肥第3天有机碳氧化的主要功能微生物。堆肥第15天和第30天，藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）、链霉菌属（*Streptomyces*）、假黄单胞菌属（*Pseudoxanthomonas*）、裂孢菌属（*Thermobifida*）和纤维单胞菌属（*Cellulomonas*）成为有机碳氧化的主要功能微生物。如图6-B所示，咸海鲜球菌属（*Jeotgalicoccus*）、棒杆菌属（*Corynebacterium*）和阎氏菌属（*Yaniella*）是堆肥原料中发酵过程最主要功能微生物，其总贡献度大于93%。经过3 d堆肥发酵，咸海鲜球菌属（*Jeotgalicoccus*）和棒杆菌属（*Corynebacterium*）的贡献度快速下降，而小短杆菌属（*Brachybacterium*）和拟诺卡氏菌属（*Nocardiopsis*）成为主要贡献者。堆肥第15天和第30天，藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）、假黄单胞菌属（*Pseudoxanthomonas*）、圣格奥尔根菌属（*Georgenia*）和细小微杆菌属（*Microbacterium*）成为发酵步骤的最主要功能微生物。如图6-C所示，甲烷短杆菌属（*Methanobrevibacter*）和甲烷粒菌属（*Methanocorpusculum*）为原料中甲烷生成步骤的唯二功能微生物。在堆肥第3天开始，甲烷短杆菌属（*Methanobrevibacter*）则成为该步骤的唯一功能微生物。假面神菌属（*Janibacter*）是堆肥原料中甲烷营养过程最主要功能微生物（图6-D），其次为游动球菌属（*Planococcus*）和短杆菌属（*Brevibacterium*），其贡献度分别为67.5%、21.6%和10.9%。随后3 d，这3种细菌属仍是甲烷营养过程最主要功能微生物。另外，硫胺素芽胞杆菌属（*Aneurinibacillus*）的贡献度快速上升。堆肥第15天和第30天，高温单孢菌属（*Thermomonospora*）、假诺卡菌属（*Pseudonocardia*）、散生杆菌属（*Patulibacter*）和假单胞菌属（*Pseudomonas*）等微生物成为甲烷营养过程的主要参与者。

图7显示了氮素转化4个关键步骤（硝酸盐还原、亚硝酸盐还原、一氧化氮还原和亚硝酸盐氨化）功能微生物的贡献度变化。如图7-A所示，棒杆菌属（*Corynebacterium*）是堆肥原料中硝酸盐还原过程最主要的功能微生物，其贡献度高达68.1%。另外，迪茨氏菌属（*Dietzia*）、短杆菌属（*Brevibacterium*）

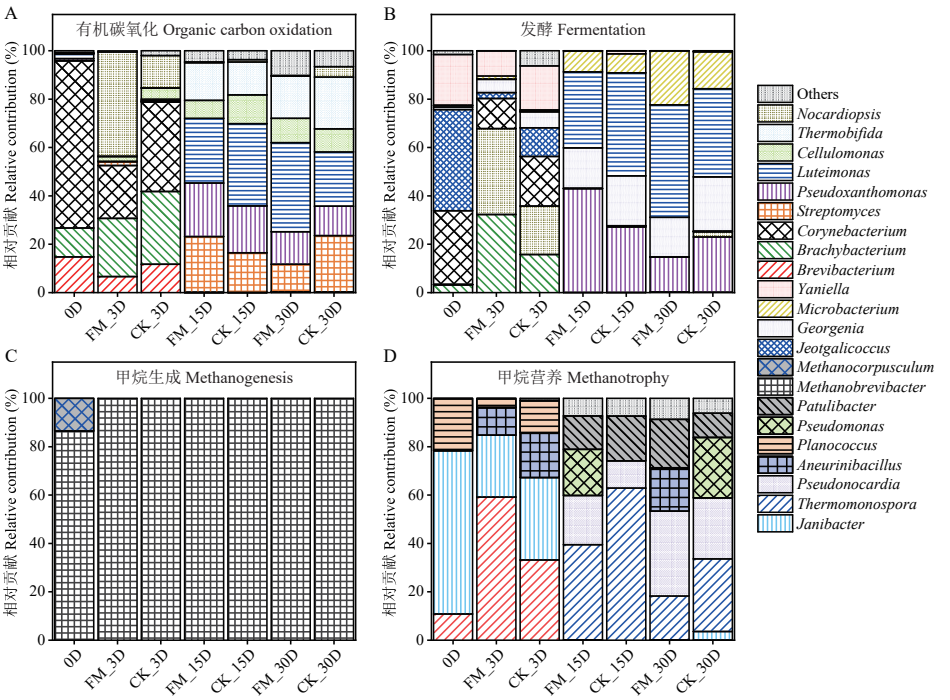


图6 碳转化功能微生物贡献度的变化

Fig. 6 Changes in the contribution of functional microorganisms of carbon conversion

和小短杆菌属（*Brachybacterium*）的贡献度也超过了5%。接下来的3 d，棒杆菌属（*Corynebacterium*）和迪茨氏菌属（*Dietzia*）贡献度快速下降，而拟诺卡氏菌属（*Nocardiopsis*）和小短杆菌属（*Brachybacterium*）则快速上升。堆肥中后期，藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）成为最主要参与者，其贡献度保持在37.0%–69.1%，其次为链霉菌属（*Streptomyces*）和纤维单胞菌属（*Cellulomonas*）。如图7-B所示，假单胞菌属（*Pseudomonas*）（89.5%）和藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）（10.5%）是原料中亚硝酸盐还原的参与者。堆肥第3天，假单胞菌属（*Pseudomonas*）（78.6%）仍然是CK中亚硝酸盐还原的主要参与者，该菌在FM中贡献度为20.3%。另外，假根瘤菌属（*Pseudorhizobium*）在FM和CK中的贡献度分别为75.2%和15.2%。堆肥第15天和30天，藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）也成为亚硝酸盐还原的最主要参与者，其贡献度超过42%。另外，根瘤菌属（*Rhizobium*）、水微菌属（*Aquamicrobium*）、硝酸盐还原菌属（*Nitratireductor*）和迪茨氏菌属（*Dietzia*）也是亚硝酸盐还原的主要参与者。如图7-C所示，假单胞菌属（*Pseudomonas*）（75.7%）和藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）（22.3%）是原料中一氧化氮还原过程的最主要参与者。随后，藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）的贡献度上升至36%以上，假单胞菌属（*Pseudomonas*）下降至34%以下。另外，直丝菌属（*Planifilum*）在FM和CK中的贡献度分别上升至39.4%和17.5%。堆肥第15天和30天，溶杆菌属（*Lysobacter*）、类固醇杆菌属（*Steroidobacter*）、假黄单胞菌属（*Pseudoxanthomonas*）、盐水水黏细菌（*Enhygromyxa*）、假单胞菌属（*Pseudomonas*）和直丝菌属（*Planifilum*）是该步骤的主要参与者。如图7-D所示，假黄单胞菌属（*Pseudoxanthomonas*）、交替红色杆菌属（*Altererythrobacter*）和假单胞菌属（*Pseudomonas*）是原料中亚硝酸盐氨化的最主要功能微生物，其次为纤维微菌属（*Cellulosimicrobium*）和迪茨氏菌属（*Dietzia*）。堆肥第3天，拟诺卡氏菌属（*Nocardiopsis*）和纤维单胞菌属（*Cellulomonas*）分别成为FM和CK中亚硝酸盐氨化的最主要参与者，贡献度均大于75%。堆肥第15天和30天，交替红色杆菌属（*Altererythrobacter*）、链霉菌属（*Streptomyces*）、

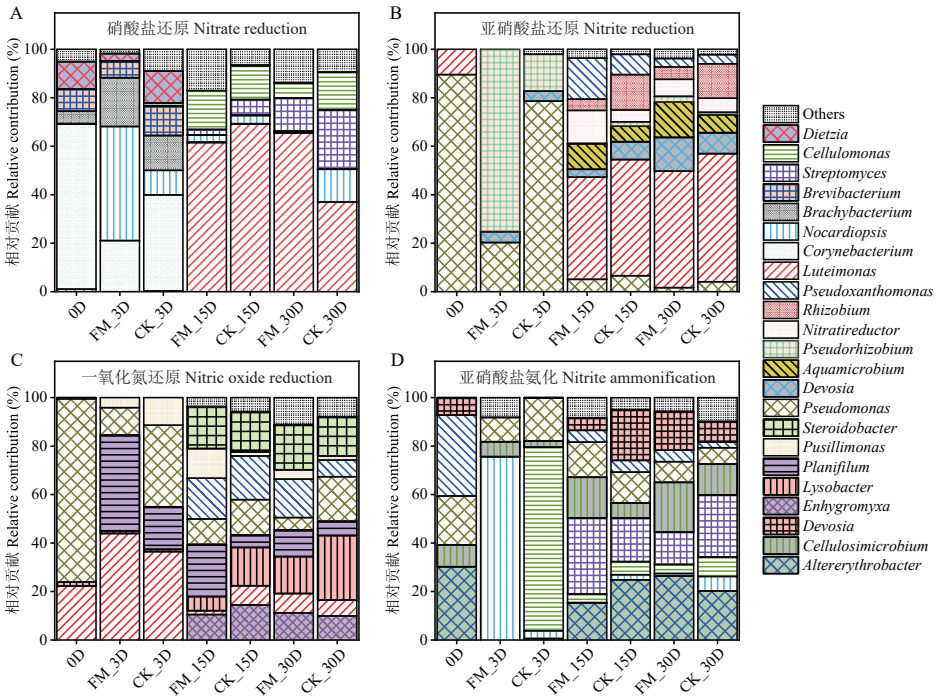


图7　氮转化功能微生物贡献度的变化

Fig. 7　Changes in the contribution of functional microorganisms of nitrogen conversion

纤维微菌属（*Cellulosimicrobium*）、迪茨氏菌属（*Dietzia*）和假单胞菌属（*Pseudomonas*）成为该步骤的主要功能微生物。

3　讨论

3.1　堆肥理化性质的变化

FM组在堆肥初期的温度明显高于CK组，表明覆盖功能膜可显著提升堆肥温度。这主要是因为功能膜覆盖带来的“微正压”环境提升了堆体内氧气浓度和分布均匀性，增强了好氧微生物的呼吸代谢活性，进而促进有机质降解而产热[22]。氧浓度的升高是好氧微生物（如纤维素降解菌）大量增殖的关键前提。由于功能膜的阻碍作用，FM组的含水率在堆肥过程均高于CK组，这与前期的研究相似[6]。堆肥初期，堆肥pH值呈现下降趋势，这主要是由于有机质分解产生大量有机酸所致[23]。另外，有机质降解也会产生大量小分子代谢物和释放盐离子，这导致电导率在堆肥前期呈上升趋势，造成种子发芽指数偏低[24]。随着小分子有毒成分降解和盐离子钝化，电导率逐渐下降，种子发芽指数则逐渐上升。堆肥结束时，FM和CK的种子发芽率均大于80%，均达到腐熟水平[25]。FM的种子发芽指数显著高于CK，表明覆盖功能膜可显著提升堆肥成熟度。

3.2　碳转化及机制

木质纤维素的降解对堆肥效率和腐殖质的形成具有重大影响[26-27]。纤维素和半纤维素的降解为木质纤维素降解菌提供能量，中间产物也为其他微生物提供代谢底物[13]。值得注意的是，木质素含量呈现上升趋势，主要是因为木质素具有强大抗降解能力，随着其他有机质大量降解，木质素含量因“浓缩效应”而呈上升趋势[16, 28]。FM的纤维素和半纤维素含量均显著低于CK，这与FM较高的氧浓度密切相关：充足的氧气促进了木质纤维素降解菌的代谢活性，加速了复杂碳源分解。胡敏酸含量在前15 d快速上升，这与堆肥有机质降解产生的中间代谢物通过一系列缩合反应密切相关[29]。堆肥结束时，FM的胡敏酸含量显著高于CK，这可能是因为FM中有机质降解比CK更强烈，且在较高氧浓度下，微生物将更多的碳中间体转化为胡敏酸前体。

富里酸含量在后期持续下降，是因为富里酸结构简单，易被微生物降解[30]。此外，富里酸降解产物还可促进胡敏酸合成[31]。

在有机碳氧化的功能基因中，*acyl-CoA dehydrogenase*丰度高于其他基因，说明*acyl-CoA dehydrogenase*在有机碳氧化中发挥重要作用[13]。此外，*beta-galactosidase*、*beta-glucosidase*、*branched-chain amino acid aminotransferase/4-amino-4-deoxychorismate lyase*、*alpha-amylase*和*hexosaminidase*，*histidinol-phosphate/aromatic aminotransferase*等基因也具有较高丰度，这将有效促进木质纤维素等有机物降解。FM的这些功能基因高于CK，与FM中更高的氧浓度刺激好氧微生物分泌胞外酶有关。发酵（fermentation）过程的功能基因也具有较高丰度，说明这一步骤也是主要的碳转化途径。早期阶段，参与有机碳氧化的微生物主要是棒杆菌属（*Corynebacterium*）、拟诺卡氏菌属（*Nocardiopsis*）、短杆菌属（*Brevibacterium*）和小短杆菌属（*Brachybacterium*）。以往的研究报道，棒杆菌属（*Corynebacterium*）与有机质降解密切相关[13]，拟诺卡氏菌属（*Nocardiopsis*）对羧甲基纤维素、微晶纤维素和木聚糖具有良好的水解活性[32]，短杆菌属（*Brevibacterium*）和小短杆菌属（*Brachybacterium*）能分泌脂肪酶[33]。堆肥后期，参与有机碳氧化的微生物主要为藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）、假黄单胞菌属（*Pseudoxanthomonas*）、链霉菌属（*Streptomyces*）、小微杆菌属（*Microbacterium*）和纤维单胞菌属（*Cellulomonas*），说明这些微生物更容易在成熟堆肥促进有机质转化合成。

3.3 氮转化及机制

在堆肥过程，FM的总氮含量均高于CK，这主要是因为功能膜阻碍了部分含氮气体排放，导致部分含氮气体在膜上冷凝并回流至堆体[22]。另外，FM的“微正压”环境提高了堆体内氧气浓度，抑制了反硝化菌活性，从而减少氮素损失。堆肥前期，NH_4^+-N含量快速增加，这是因为氨化作用导致大量NH_4^+-N产生[13]。随着氨化作用减弱和NH_4^+-N转化为氨气，NH_4^+-N含量逐渐下降。FM的NH_4^+-N含量在堆肥过程中高于CK，这可能是因为FM的氨化作用强度高于CK。随着堆肥进行，NO_3^--N含量呈现上升趋势，这可能是因为中后期硝化作用更强烈[34]。

硝酸盐还原过程在早期强于其他步骤，说明该步骤是早期最重要的氮转化步骤。在这一步骤中，NO_3^--N会转化为NO_2^--N[35]，这可能是早期NO_3^--N含量较低的原因之一。在中后期，亚硝酸盐氨化、亚硝酸盐还原、一氧化氮还原和氧化亚氮还原强度上升。在这些步骤中，亚硝酸盐氨化将促进NO_2^--N向NH_4^+-N的转化[21]。亚硝酸盐还原、一氧化氮还原和氧化亚氮还原是反硝化步骤，这3个步骤会导致氮素以NO、N_2O和N_2的形式损失，硝酸盐异化成氨也会造成N_2O排放[36]。反硝化作用通常在低氧或厌氧条件下被诱导，因此氧浓度是调控这些过程的关键环境因子。上述结果与以往有关羊粪和猪粪堆肥氮损失的研究具有相似之处，这些研究发现反硝化作用功能基因丰度越高，堆肥氮素损失越严重[13, 37]。在堆肥过程，CK的反硝化作用强于FM，归因于CK中厌氧区较多，为反硝化微生物提供了适宜的微环境。另外，FM的亚硝酸盐氨化作用强于CK，可能与较高氧浓度下某些兼性微生物的代谢偏好改变有关，这在一定程度上抑制了反硝化作用，促进堆肥NH_4^+-N生成。早期参与反硝化的微生物主要为棒杆菌属（*Corynebacterium*）、拟诺卡氏菌属（*Nocardiopsis*）、假单胞菌属（*Pseudomonas*）、假根瘤菌属（*Pseudorhizobium*）、藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）、直丝菌属（*Planifilum*）和鞘氨醇杆菌属（*Sphingobacterium*），后期主要为藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）和直丝菌属（*Planifilum*）。这些功能微生物也在前期研究中得到了证实[38-40]。值得注意的是，藤黄单胞菌属（*Luteimonas*）、*Corynebacterium*、短杆菌属（*Brevibacterium*）、小短杆菌属（*Brachybacterium*）和假单胞菌属（*Pseudomonas*）同时参与了碳和氮转化过程，表明这些微生物具备多种元素循环的代谢潜力。

4 结论

覆盖功能膜可提升青藏高原羊粪堆肥腐殖化效率，促进堆肥升温，显著提高堆肥产品成熟度。覆盖功能膜可通过强化微生物群落的有机碳氧化过程来促进羊粪堆肥木质纤维素降解和胡敏酸合成，还能通过抑制反硝化作用和强化亚硝酸盐氨化作用来减少氮素损失。

文章所有附图附表请点击链接查看（https://biotech.aiijournal.com/fileup/1002-5464/NEWS/20260507102354_NewsFile_7.pdf）

参考文献

[1] Cai R, Cui XY, Cao XH, et al. Crushing combined with high-frequency turning can promote material degradation of sheep manure compost on the Qinghai-Tibet Plateau by improving the microbial metabolic function [J]. J Environ Chem Eng, 2023, 11(2): 109535.

[2] 李荣荣, 蔡瑞. 添加油菜秸秆对青藏高原羊粪堆肥病原菌及抗生素去除效果的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2024(11): 214-221.
Li RR, Cai R. Effects of rape straw addition on pathogenic bacteria and antibiotic removal efficiency of sheep manure compost on the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Soil Fertil Sci China, 2024(11): 214-221.

[3] Guo N, Wu QF, Shi FY, et al. Seasonal dynamics of diet-gut microbiota interaction in adaptation of yaks to life at high altitude [J]. npj Biofilms Microbiomes, 2021, 7: 38.

[4] Cai R, Xu Q, Luo X, et al. Influence of turning frequency on removal of pathogens and antibiotic resistance genes from full-size sheep manure composting on the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Biochem Eng J, 2025, 222: 109845.

[5] Xiong JP, Su Y, Qu HW, et al. Effects of micro-positive pressure environment on nitrogen conservation and humification enhancement during functional membrane-covered aerobic composting [J]. Sci Total Environ, 2023, 864: 161065.

[6] Fang C, Qu HW, Yang SW, et al. Micro-positive pressure significantly decreases greenhouse gas emissions by regulating archaeal community during industrial-scale dairy manure composting [J]. J Environ Manag, 2024, 360: 121163.

[7] Xiong JP, Su Y, He XQ, et al. Effects of functional membrane coverings on carbon and nitrogen evolution during aerobic composting: Insight into the succession of bacterial and fungal communities [J]. Bioresour Technol, 2023, 369: 128463.

[8] 徐文倩. 奶牛粪覆膜堆肥过程碳氮气体排放影响及调控机制研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2024.
Xu WQ. Study on the characteristics of carbon and nitrogen gas emissions and regulation mechanism of dairy manure membrane-covered composting process [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2024.

[9] Cui P, Bai YD, Li X, et al. Enhanced removal of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements during sewage sludge composting covered with a semi-permeable membrane [J]. J Hazard Mater, 2020, 396: 122738.

[10] Li YC, Liu YD, Yong XY, et al. Odor emission and microbial community succession during biogas residue composting covered with a molecular membrane [J]. Bioresour Technol, 2020, 297: 122518.

[11] González I, Robledo-Mahón T, Silva-Castro GA, et al. Evolution of the composting process with semi-permeable film technology at industrial scale [J]. J Clean Prod, 2016, 115: 245-254.

[12] Robledo-Mahón T, Silva-Castro GA, Kuhar U, et al. Effect of composting under semipermeable film on the sewage sludge virome [J]. Microb Ecol, 2019, 78(4): 895-903.

[13] Cai R, Zuo SS, Cao XH, et al. Carbon and nitrogen transformation mechanism and functional microorganisms of sheep manure composting on the Qinghai-Tibet Plateau under different moisture content [J]. J Environ Chem Eng, 2023, 11(6): 111341.

[14] Li X, Wang AC, Wan WJ, et al. High salinity inhibits soil bacterial community mediating nitrogen cycling [J]. Appl Environ Microbiol, 2021, 87(21): e01366-e01321.

[15] Li G, Zhu QH, Niu QQ, et al. The degradation of organic matter coupled with the functional characteristics of microbial community during composting with different surfactants [J]. Bioresour Technol, 2021, 321: 124446.

[16] 蔡瑞, 张帅, 崔欣雨, 等. 添加高温期堆料对青藏高原羊粪堆肥有机成分降解及酶活性的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(7): 2831-2841.
Cai R, Zhang S, Cui XY, et al. Effect of adding high temperature period compost on degradation of organic components and enzyme activity of sheep manure composting on Qinghai Tibet Plateau [J]. China Anim Husb Vet Med, 2022, 49(7): 2831-2841.

[17] 蔡瑞, 张帅, 郑猛虎, 等. 复合菌剂对青藏高原羊粪堆肥腐熟的影响 [J]. 家畜生态学报, 2023, 44(6): 71-78.
Cai R, Zhang S, Zheng MH, et al. Effects of compound microorganisms on maturity of sheep manure composting on Qinghai-Tibet plateau [J]. J Domest Anim Ecol, 2023, 44(6): 71-78.

[18] Arias O, Viña S, Uzal M, et al. Composting of pig manure and forest green waste amended with industrial sludge [J]. Sci Total Environ, 2017, 586: 1228-1236.

[19] Zeng ZT, Guo XY, Xu P, et al. Responses of microbial carbon metabolism and function diversity induced by complex fungal enzymes in lignocellulosic waste composting [J]. Sci Total Environ, 2018, 643: 539-547.

[20] Guo R, Li GX, Jiang T, et al. Effect of aeration rate, C/N ratio and moisture content on the stability and maturity of compost [J]. Bioresour Technol, 2012, 112: 171-178.

[21] Zhou ZC, Tran PQ, Breister AM, et al. METABOLIC: high-throughput profiling of microbial genomes for functional traits, metabolism, biogeochemistry, and community-scale functional networks [J]. Microbiome, 2022, 10: 33.

[22] Ma SS, Fang C, Sun XX, et al. Bacterial community succession during pig manure and wheat straw aerobic composting covered

with a semi-permeable membrane under slight positive pressure [J]. Bioresour Technol, 2018, 259: 221-227.

[23] Cai R, Zhang S, Cui XY, et al. Reasonable water replenishment strategies can improve the fermentation efficiency and bacterial community of sheep manure composting on the Qinghai-Tibet Plateau [J]. J Mater Cycles Waste Manag, 2023, 25(2): 1204-1215.

[24] Barje F, El Fels L, El Hajjouji H, et al. Biodegradation of organic compounds during co-composting of olive oil mill waste and municipal solid waste with added rock phosphate [J]. Environ Technol, 2013, 34(21): 2965-2975.

[25] Unuofin FO, Mnkeni PNS. Optimization of *Eisenia fetida* stocking density for the bioconversion of rock phosphate enriched cow dung-waste paper mixtures [J]. Waste Manag, 2014, 34(11): 2000-2006.

[26] Cai YY, He YH, He K, et al. Degradation mechanism of lignocellulose in dairy cattle manure with the addition of calcium oxide and superphosphate [J]. Environ Sci Pollut Res, 2019, 26 (32): 33683-33693.

[27] Wei YQ, Zhao Y, Xi BD, et al. Changes in phosphorus fractions during organic wastes composting from different sources [J]. Bioresour Technol, 2015, 189: 349-356.

[28] Xu JQ, Jiang ZW, Li MQ, et al. A compost-derived thermophilic microbial consortium enhances the humification process and alters the microbial diversity during composting [J]. J Environ Manag, 2019, 243: 240-249.

[29] Tang YF, Dong B, Dai XH. Hyperthermophilic pretreatment composting to produce high quality sludge compost with superior humification degree and nitrogen retention [J]. Chem Eng J, 2022, 429: 132247.

[30] Zhou Y, Selvam A, Wong JWC. Evaluation of humic substances during co-composting of food waste, sawdust and Chinese medicinal herbal residues [J]. Bioresour Technol, 2014, 168: 229-234.

[31] Gao X, Zhang J, Liu GL, et al. Enhancing the transformation of carbon and nitrogen organics to humus in composting: Biotic and abiotic synergy mediated by mineral material [J]. Bioresour Technol, 2024, 393: 130126.

[32] Saratale GD, Oh SE. Production of thermotolerant and alkalotolerant cellulolytic enzymes by isolated *Nocardiopsis* sp. KNU [J]. Biodegradation, 2011, 22(5): 905-919.

[33] Ozturkoglu-Budak S, Wiebenga A, Bron PA, et al. Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese [J]. Int J Food Microbiol, 2016, 237: 17-27.

[34] Yu HY, Xie BT, Khan R, et al. The changes in carbon, nitrogen components and humic substances during organic-inorganic aerobic co-composting [J]. Bioresour Technol, 2019, 271: 228-235.

[35] Giri NC, Wedasingha L, Manicke N, et al. Reversible interconversion of nitrate and nitrite catalyzed by periplasmic nitrate reductase from *Campylobacter jejuni* [J]. J Am Chem Soc, 2025, 147(16): 13243-13250.

[36] Lycus P, Soriano-Laguna MJ, Kjos M, et al. A bet-hedging strategy for denitrifying bacteria curtails their release of N_2O [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(46): 11820-11825.

[37] Jiang JS, Wang Y, Guo FQ, et al. Composting pig manure and sawdust with urease inhibitor: succession of nitrogen functional genes and bacterial community [J]. Environ Sci Pollut Res, 2020, 27(29): 36160-36171.

[38] Zhang X, Li SZ, Cheng WT, et al. Oxytetracycline stress reconstruct the core microbial community related to nitrogen transformation during composting [J]. Bioresour Technol, 2021, 319: 124142.

[39] Lei LS, Gu J, Wang XJ, et al. Effects of phosphogypsum and medical stone on nitrogen transformation, nitrogen functional genes, and bacterial community during aerobic composting [J]. Sci Total Environ, 2021, 753: 141746.

[40] Zhong XZ, Zeng Y, Wang SP, et al. Insight into the microbiology of nitrogen cycle in the dairy manure composting process revealed by combining high-throughput sequencing and quantitative PCR [J]. Bioresour Technol, 2020, 301: 122760.

(责任编辑 张婷婷)