

不同牛舍室内外土壤、污水、空气 细菌分布及相关性研究

龙珣睿, 刘 玥, 雷世玉, 王梦芝*

(扬州大学 动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

[摘 要] 试验采集奶牛场不同牛舍内外空气、污水和土壤的样品并测定样品的细菌含量, 分析牛舍室内外空气、污水、土壤中细菌分布情况, 为改善奶牛养殖环境提供参考。结果表明, 畜牧场舍内空气、污水、土壤细菌平均含量分别为 2.97×10^4 个/ m^3 、 2.72×10^7 个/L、 3.30×10^4 个/g; 舍外为 0.84×10^4 个/ m^3 、 1.39×10^7 个/L、 3.19×10^4 个/g。其中, 舍内的细菌密度基本高于舍外的; 另外, 犊牛舍和兽医室的细菌含量较泌乳牛舍低。相关分析表明, 空气与污水中细菌数的相关系数为 0.631 ($P < 0.05$), 相关显著。综上可见, 牛舍室内外的细菌含量有所不同, 以室内较高; 不同牛舍以犊牛舍相对较低; 同时, 空气中的细菌含量与污水中有一定的相关性。

[关键词] 不同牛舍; 舍内外; 细菌分布

[中图分类号] S811.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1005-5228(2018)02-0071-04

近年来, 中国奶牛养殖业呈现高速增长的趋势, 奶牛存栏量由 1978 年的 48 万头增加到 2000 年的 456.1 万头, 2007 年达到了 1470 万头^[1], 截至 2016 年底, 据资料统计显示我国现有奶牛存栏头数约为 1469×10^4 头^[2]。因此, 监测奶牛养殖环境中微生物含量, 评定其卫生状况, 对牛场的管理具有重要指导意义。研究表明, 规模化周围环境指标基本符合国家标准, 对外围居民生活环境的影响较小; 但粪便堆放区、玉米地等个别采样点在部分时间点超出国家国家标准^[3]。为进一步研究奶牛场环境的卫生状况, 本研究采用菌落总数测定法分别收集空气、污水、土壤中的样品并测定其细菌含量, 对规模化奶牛场不同奶牛舍内细菌含量进行监测和比较, 为进一步改善养殖环境和保护生态提供一些试验参考。

1 材料与方法

1.1 试验地点与采样分布

本次试验场地为长江中下游平原的某规模化奶牛场, 场区农牧结合, 北区为种植区和污染区, 南区为生产区和场前区。该地常年主导风向东南风, 污染区位于生产区及场前区的下风向。本次试验在牛

场选择了六个不同牛舍的舍内和舍外进行采样, 共 12 个点, 分别为散养式牛舍、拴系式牛舍、兽医室、产房、挤奶舍、犊牛舍。

1.2 采样及细菌培养

1.2.1 空气中细菌的采样及培养 采用自然沉降法^[3], 在当天 16:00, 在各个采样点打开盛有营养琼脂的培养皿盖, 将培养皿有营养琼脂的一面水平向上, 置于高度约 1.2 m 处采样 6 min (室外 10 min), 之后迅速送往实验室, 置于 37 °C 的温箱培养 24 h 后取出, 对菌落进行计数和计算。

1.2.2 土壤中细菌的采样及培养 在当天 16:30, 在各个采样点的土壤下 5 cm 处取 10 g 左右土壤置于密封保鲜袋, 采样结束后带回实验室称重 0.5 g 置于 5 mL 离心管, 加入蒸馏水至 5 mL, 摇匀静置 3 分钟后取上清液 0.2 mL 涂板。涂板后所有培养皿同时置于 37 °C 的温箱培养 24 h 后取出, 对菌落进行计数和计算。

1.2.3 水中细菌的采样及培养 采样参照国家标准平板菌落计数法 (GB/T5750.12-2006)^[4]。同在当天 17:00, 用一次性滴管在采样点水下 5 cm 处取水样 10 mL 左右置于离心管, 采样结束后带回实

* [收稿日期] 2017-04-16 修回日期: 2017-05-16

[基金项目] 长三角地区生态优质高效乳业创新体系 (CX17-1005); 扬州大学大学生创新基金项目 (675)

[作者简介] 龙珣睿 (1996-), 男, 湖南省长沙人, 本科生, 研究方向: 动物营养与饲料科学。E-mail: 510558028@qq.com

* [通讯作者] 王梦芝 (1973-), 女, 江苏徐州人, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 反刍动物营养代谢调控。

E-mail: mengzhiwangyz@126.com

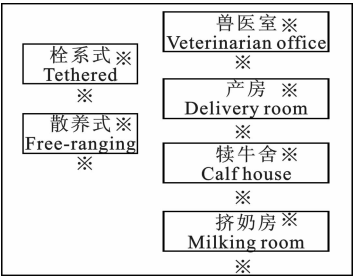


图 1 采样点分布

※为采样点

Fig. 1 Sampling point distribution

※ is sampling point

验室,吸取 0.5 mL 加入新的离心管,再加入 4.5 mL 蒸馏水,摇匀静置 3 min 后取上清液 0.2 mL 涂板。涂板后所有培养皿同时置于 37 ℃ 的温箱培养 24 h 后取出,对菌落进行计数和计算。

1.3 细菌数计算公式

1.3.1 空气中细菌数 $C=50000\times N/(A\times T)^{[5]}$

式中:C 为每立方米菌落总数(cfu/m³);N 为每皿菌落数(个);A 为培养皿面积(cm²);T 为采样时间(min)。

1.3.2 土壤中的细菌数 细菌数/g=50×平板上的菌落总数

1.3.3 水中的细菌数 细菌数/L=50 000×平板上的菌落总数

1.4 数据统计

试验数据用 Excel 软件和 SPSS17.0 软件进行

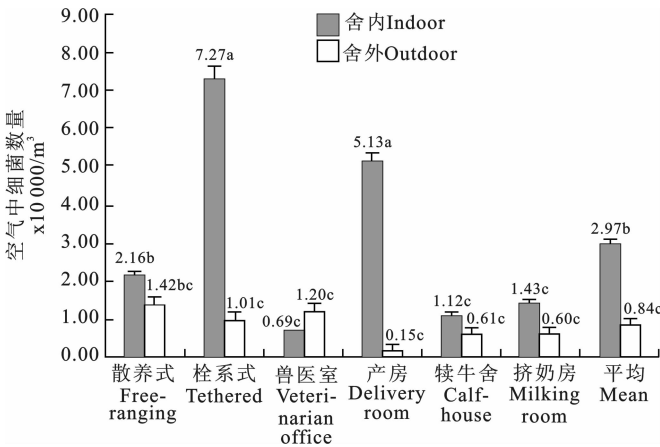


图 2 不同牛舍室内外空气细菌密度对比

Fig. 2 Comparison of the bacterial densities in indoor and outdoor air between cowsheds

0.05),而犊牛舍则相反,畜舍外污水细菌密度大于畜舍内。这与犊牛舍和挤奶厅接近,其畜舍外受挤奶厅影响更有关。

2.3 室内外土壤细菌菌落总数结果比较

由图 4 可知,大部分牛舍室内外土壤细菌数基

方差分析和 Duncan 分析,以 $P<0.05$ 作为差异显著。并进行 Person Correlation 相关性分析,以 Sig. (2-tailed) <0.05 为显著相关。

2 结果与分析

2.1 室内外空气细菌密度比较

由图 2 可知,牛场不同牛舍采样点的空气细菌密度大致都在 10⁴ 个/m³ 数量级水平。其中,拴系式牛舍舍内的细菌密度最高为 7.27×10^4 个/m³,挤奶厅舍外最低为 0.60×10^4 个/m³,差异显著($P<0.05$)。进一步研究发现,室内空气细菌含量均值为 2.97×10^4 个/m³;室外为 0.84×10^4 个/m³,差异显著($P<0.05$)。除兽医室外,其余畜舍内空气细菌密度基本大于畜舍外,这可能是由于兽医室更多地人工进行和疾病相关的操作所致。进一步比较发现,拴系舍和产房的室内细菌含量均显著高于室外($P<0.05$)。

2.2 室内外污水细菌密度比较

由图 3 可知,不同牛舍各采样点污水细菌密度基本都在 10⁷ 个/L 数量级水平。其中产房室内最高达到 3.50×10^7 个/L,而产房舍外最低为 0.19×10^7 个/L,差异显著($P<0.05$)。进一步研究发现,室内污水细菌含量均值为 2.72×10^7 个/L;室外为 1.39×10^7 个/L,差异显著($P<0.05$)。除犊牛舍外,其余畜舍内中污水细菌密度大于畜舍外($P<$

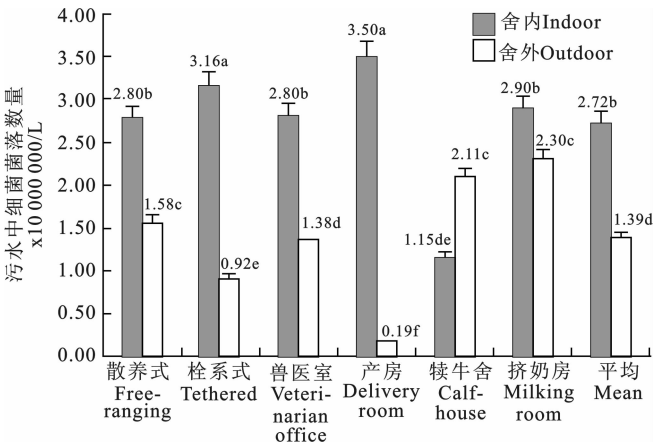


图 3 不同牛舍室内外污水细菌菌落总数对比

Fig. 3 Comparison of total bacterial densities in indoor and outdoor sewage between the cowsheds

本在 10⁴ 个/g 数量级,其中,拴系式牛舍舍内最高达到 6.00×10^4 个/g,而产房舍外最低为 1.48×10^4 个/g,差异显著($P<0.05$)。总体看来,各牛舍室内外土壤中细菌密度基本一致,室内均值为 3.30×10^4 个/g;室外为 3.19×10^4 个/g,无差异显著($P>$

0.05)。但栓系式泌乳牛舍室内土壤中的细菌密度高于室外,也高于其他牛舍室内外土壤细菌数($P<0.05$),这可能由于其泌乳牛舍其奶牛在室内的活动量和作业量大有关。

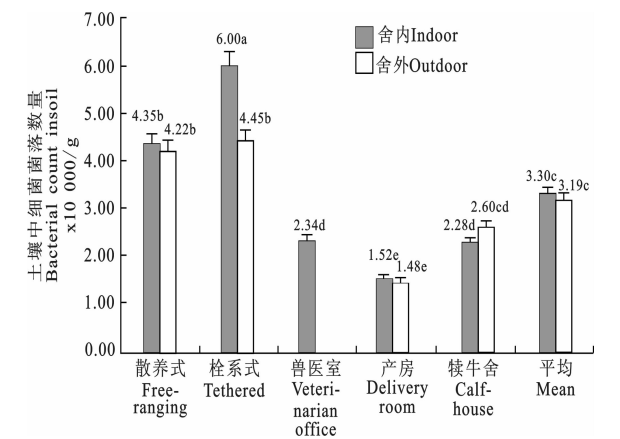


图 4 不同牛舍室内外土壤细菌密度总数
Fig. 4 Comparison of total bacterial contents in indoor and outdoor soil between the cowsheds

2.4 空气、污水、土壤中细菌的相关性分析

进一步数据相关性分析,得出结果如表 1。从表 1 可知,空气和污水相关系数 $r=0.631$, $P=0.028$,表明空气、污水的细菌数间相关显著。

表 1 空气、污水、土壤细菌数相关性分析结果
Table 1 The correlation analysis on bacteria densities among air, sewage and soil

项目 Items		污水 Sewage	土壤 Soil
空气 Air	皮尔逊相关系数	0.631*	-0.404
	显著性	0.028	0.246
	N	35	26
	皮尔逊相关系数		-0.302
污水 Sewage	显著性		0.397
	N		26

注: * 为显著性水平为 <0.05 (两尾)。
Note: * Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

3 讨 论

3.1 奶牛场的污染状况

史建民等^[2]研究表明,离牛舍不远的区域空气落菌所测定的各采样点的细菌密度在 $314.4-244.4/\text{m}^3$ 范围内变化除个别采样点位其他基本在国标 GB/T 18204.3-2013 建议的 $2\,500/\text{m}^3$ 以下的密度范围内^[3]。而本试验大部分牛舍空气细菌含量均在 10^4 水平,均超出了清洁所规定的细菌密度范围,尤其是栓系式牛舍舍内的细菌密度最高为 7.27×10^4 个/ m^3 ,完全超过畜禽场环境质量及卫生控制规范中规定的标准(T1167-2006 畜禽场环境质

量及卫生控制规范)。原因可能是冬季奶牛在室内活动较多,加之冬季的畜室内又相对封闭,而造成了空气细菌密度的增加。金兰梅等^[6]比较了冬季不同乳牛舍内空气中的细菌数量,舍内细菌数量最高可达 33.8×10^3 个/ m^3 ,高玉红等^[7]在河北某奶牛舍内测得夏季不同建筑类型的牛舍内细菌数量平均达到 27.5×10^3 个/ m^3 ,均与本研究的结果相近。

本试验所测定的土壤中细菌在 10^4 数量级,相对于一般研究的 1 g 土壤内含有 $10^6\sim 10^9$ 个细菌^[8]来说,其洁净程度相对较高。这可能是由于所采集土壤样品为地表下 5 cm 左右,受地面的消毒影响较大所致。该奶牛场对于地面和走道有定期消毒的生产制度。而本试验所测定的污水中细菌总数在 10^7 数量级,可能是因为所采集的样品本身为污水,所以细菌含量相对较高。本研究同时发现该奶牛场空气和污水的细菌含量间相关显著,进一步说明了奶牛养殖环境中,污水的处理状况对空气洁净状况有着直接的影响。这也是值得大部分养殖场重视的问题之一。

3.2 奶牛舍内外的污染状况分析

奶牛舍内外环境空气中的细菌来源于牛群排出的粪便、体表呼吸和运动所散发的微生物^[9]。本研究中,空气中细菌密度总体上舍内大于舍外的结果,其原因可能是:奶牛在舍内采食,排泄,休息,且舍内空间有限,空气流通速度慢;而舍外与大气相连,空间宽阔,空气流动速度快,所以舍内空气细菌大于舍外。Tong 等^[10]研究发现,光照对室外细菌有明显的致死作用,且太阳光中的紫外线对大部分细菌均有杀灭作用,一定时间内可杀死大部分细菌^[11]。舍外空气中的细菌长期暴露在阳光下,经照射后细菌部分会被杀死,从而也使得舍内细菌密度高于舍外。张鹤平^[12]研究表明,在畜牧场的空气中,由于微粒多,紫外线少,空气流速慢以及微生物来源多等原因,使畜舍空气中微生物往往较舍外多。

3.3 不同奶牛舍的污染状况分析

空气是人类和畜禽赖以生存的重要因素之一,与动物生活最密切相关,微生物对人类和畜禽健康及生产性能的影响在很多情况下是通过空气污染造成的,而空气则能够直接反应其生存环境的污染状况^[13]。现代集约化畜禽生产过程中,由于动物养殖密度高、空间相对狭窄,又容易使动物舍内外微生物气溶胶浓度升高^[14];而且不同类型的牛舍,因为奶牛的饲养管理方式和因之的生活习性不同,其环境中的细菌含量也有一定的差异。本研究不同类型畜舍空气中细菌含量由大到小的顺序为:栓系式牛舍

＞产房＞散养式牛舍＞挤奶厅＞兽医室＞犊牛舍。其中,拴系式牛舍较密闭,奶牛活动量大,空气中细菌较多,而在冬季舍内通风相对不良,所以拴系式牛舍和产房的细菌总数也较高。散栏牛舍奶牛活动相对自由,常常出入运动场,舍内细菌也相对拴系式的为少。Dungan 等^[15]研究表明,散栏奶牛舍空气中细菌数量约为 $10^2\sim10^4$ 个/ m^3 ,本研究散栏奶牛的结果也接近其上限值。本研究中的挤奶厅、兽医室舍和犊牛舍内牛群密度相对小,其细菌数量也相对较少。研究表明,牛舍的空气细菌与各牧场卫生管理有很大的相关性^[7]。因此,规范好奶牛场的卫生管理,对保证奶牛的健康养殖至关重要。依据该奶牛场的具体情况,应加强污水的处理和环境的消毒工作。另外,加强环境监测与监控力度,确保养殖环境的卫生状况。

4 结 论

本研究表明,奶牛场牛舍室内外的细菌含量有所不同,以室内较高;而不同牛舍则以拴系式牛舍较高,犊牛舍相对较低。同时,空气中的细菌数与污水中的有一定的相关性,提示要加强奶牛养殖环境中污水的处理,以保障奶牛养殖环境的健康。

参考文献:

[1] 孙玉娟,张会玲,吴慧娟.我国奶牛养殖业发展中存在的几个问题[J].河北理工大学学报(社会科学版),2009,9(5):60-62.
[2] 史建民,张娜,张利宇,等.奶牛养殖形势分析与发展对策[J].中国奶牛,2017(9):57-58.

[3] 中华人民共和国卫生部.公共场所卫生检验方法 第 3 部分:空气微生物:GB/T 18204. 3-2013[S]. 北京:中国标准出版社,2014.
[4] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会,生活饮用水卫生标准 生活饮用水标准检验方法:BG5749-2006 GB/T5750. 1~5750. 13-2006[S]. 北京:中国标准出版社,2007.
[5] WANG H,CHUNG F F,TANG C S,et al. Long-term surveillance of air quality in medical center operating rooms[J]. Am J Infect Control,2011,39(4):302-308.
[6] 金兰梅,伍清林,吕丽珍,等.不同乳牛舍环境空气中细菌含量的比较研究[J].中国畜牧兽医,2010,37(12):131-135.
[7] 高玉红,曹玉凤,于海川,等.不同类型肉牛舍内外空气中细菌含量的比较研究[J].家畜生态学报,2013,34(2):50-52.
[8] TORSVIK V, GOKSOYR J, DAAE F L. High diversity in DNA of soil bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990,56(3):782-787.
[9] 李基棕,周碧君,嵇辛勤,等.猪场环境中主要病原菌耐药性分析[J].山地农业生物学报,2011,30(6):554-557.
[10] TONG Y, LIGHTHART B. Effect of simulated solar radiation on mixed outdoor atmospheric bacterial populations[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1998, 26(4):311-316.
[11] 刘端云,紫外线的杀菌作用[J].中华护理杂志,1984,19(3):179-180.
[12] 张鹤平,养殖场及其周围环境空气中细菌播散研究[D].北京:中国农业大学,2005.
[13] 伍清林,金兰梅,葛继文,等.乳牛舍内环境空气中细菌数量与乳房炎的关系研究[J].中国奶牛,2010(1):39-42.
[14] 吴彩霞,刘朝明,邓凤如,等.规模化畜牧养殖对生态环境的破坏及防治[J].江西饲料,2008(4):10-13.
[15] DUNGAN R S, LEYTEM A B, BJORNEBERG D L. Concentrations of airborne endotoxin and microorganisms at a 10,000-cow open-freestall dairy[J]. Journal of animal science, 2011, 89(10):3 300-3 309.

Indoor and Outdoor Bacterial Distribution in Soil, Sewage and Air of Different Cowsheds and Their Correlationship

LONG Xunrui, LIU Yue, LEI Shiyu, WANG Mengzhi*

(College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu, 225009)

Abstract: This paper was to investigate the indoor and outdoor bacterial distribution in air, sewage and soil of different cowsheds. The samples of air, water and soil were collected and the bacteria content were tested. Results showed that the average microbial density in air, sewage and soil collected inside the cowshed were $2.97\times10^4/\text{m}^3$, $2.72\times10^7/\text{L}$, $3.30\times10^4/\text{g}$ respectively while outside were $0.84\times10^4/\text{m}^3$, $1.39\times10^7/\text{L}$, $3.19\times10^4/\text{g}$, which were generally higher than the former. Meanwhile, the bacteria of the calf house or veterinary medicine room were relatively lower than that of milking room. The correlation analysis showed that the correlation coefficient between air and sewage was 0.631($P=0.028$), which meant a significant correlationship between them. To sum up, indoor and outdoor bacteria content are different, of which the indoor is comparatively higher; additionally, the bacterial densities in the air and sewage have a certain relevance.

Key words: different cattle houses; indoor and outdoor; bacteria distribution