

养殖废弃物堆肥中抗生素和抗性基因的降解研究

宋婷婷, 朱昌雄, 薛蕙, 李斌绪, 张治国, 李红娜

引用本文:

宋婷婷, 朱昌雄, 薛蕙, 等. 养殖废弃物堆肥中抗生素和抗性基因的降解研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(5): 933–943.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1332>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

重金属协同选择环境细菌抗生素抗性及其机制研究进展

张佳奇, 徐艳, 罗义, 毛大庆

农业环境科学学报. 2016, 35(3): 409–418 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016.03.001>

兽用抗生素研究的文献计量学分析

李红娜, 阿旺次仁, 李斌绪, 叶婧, 朱昌雄

农业环境科学学报. 2017, 36(11): 2297–2306 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0659>

典型养鸡场及其周边土壤中抗生素的污染特征和风险评估

涂棋, 徐艳, 李二虎, 师荣光, 郑向群, 耿以工

农业环境科学学报. 2020, 39(1): 97–107 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0823>

畜禽粪便中氟喹诺酮类抗生素的生物转化与机制研究进展

夏湘勤, 黄彩红, 席北斗, 檀文炳, 唐朱睿

农业环境科学学报. 2019, 38(2): 257–267 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0268>

小清河流域抗生素污染分布特征与生态风险评估

李嘉, 张瑞杰, 王润梅, 张华, 姜德娟, 邹涛, 唐建辉, 吕剑

农业环境科学学报. 2016, 35(7): 1384–1391 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016.07.022>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

宋婷婷, 朱昌雄, 薛 蕙, 等. 养殖废弃物堆肥中抗生素和抗性基因的降解研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(5): 933–943.
SONG Ting-ting, ZHU Chang-xiong, XUE Sha, et al. Degradation of antibiotics and antibiotic resistance genes during composting of live-stock waste: A review[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(5): 933–943.



开放科学 OSID

养殖废弃物堆肥中抗生素和抗性基因的降解研究

宋婷婷^{1,2}, 朱昌雄¹, 薛 蕙², 李斌绪¹, 张治国¹, 李红娜^{1*}

(1. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081; 2. 西北农林科技大学林学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 抗生素的滥用及排放会造成细菌产生耐药性以及抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)的传播和扩散。畜禽粪便是导致环境中抗生素污染的主要来源之一。本文综述了四环素类、大环内酯类、喹诺酮类、 β -内酰胺类、磺胺类和氨基糖苷类等在水土环境中广泛存在的抗生素及其环境残留水平和对动植物、微生物的影响, 分析了当前利用堆肥技术降解畜禽粪便中抗生素和 ARGs 效果及机制的研究情况。总结得出, 猪粪中抗生素残留量最高, 其中四环素类残留量为 $1390\sim 354\,000\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 磺胺类 $170.6\sim 89\,000\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 氟喹诺酮类 $411.3\sim 1\,516.2\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 硝基呋喃类 $85.1\sim 158.1\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 大环内酯类 $1.4\sim 4.8\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。堆肥对大部分抗生素具有好的降解效果, 其中四环素类抗生素降解率为 $62.7\%\sim 99\%$, 磺胺类为 $0\sim 99.99\%$, 对大环内酯类几乎可以完全降解, 但是, 堆肥无法降解喹诺酮类抗生素。养殖废弃物堆肥过程中, ARGs 的降解情况同样因抗生素种类和堆肥方式而不同。已有的研究表明, 除大环内酯类 ARGs 外, 堆肥对其他 ARGs 均具有有效的降解效果, 降解率为 $50.03\%\sim 100\%$ 。堆肥初期的优势菌门是厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门; 堆肥结束后放线菌门成为最优势菌门。初始抗生素的浓度不影响堆肥结束时微生物的群落组成。温度和 pH 是影响抗生素降解的最主要因素, 而 ARGs 的降解效果主要受温度影响。

关键词: 畜禽粪便; 堆肥; 抗生素; 抗生素抗性基因; 微生物

中图分类号: X713 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2020)05-0933-11 doi:10.11654/jaes.2019-1332

Degradation of antibiotics and antibiotic resistance genes during composting of livestock waste: A review

SONG Ting-ting^{1,2}, ZHU Chang-xiong¹, XUE Sha², LI Bin-xu¹, ZHANG Zhi-guo¹, LI Hong-na^{1*}

(1. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, CAAS, Beijing 100081, China; 2. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: The abuse and discharge of antibiotics can cause the spread and distribution of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes (ARGs). Livestock manure is one of the main sources of antibiotic contamination in the environment. Antibiotics such as tetracyclines, macrolides, quinolones, beta lactams, sulfonamides, and aminoglycosides, which are widespread in the soil and water environment, were studied. The levels of environmental residues and their effects on plants, animals, and microorganisms were assessed. The influence and mechanism of removing antibiotics and ARGs through livestock manure composting was analyzed. The aim was to provide technical support for the control of pollution by antibiotics and ARGs. It was concluded that the residues of antibiotics in pig manure were the highest, among which the residues of tetracyclines, sulfonamides, fluoroquinolones, nitrofurans, and macrolides ranged from $1390\sim 354\,000$

收稿日期: 2019-12-03 录用日期: 2020-02-11

作者简介: 宋婷婷(1993—), 女, 内蒙古海拉尔人, 博士研究生, 从事抗生素和抗性基因归趋机理研究。E-mail: songtingting0505@163.com

*通信作者: 李红娜 E-mail: lihongna828@163.com

基金项目: 中国科协青年人才托举工程(2018QNRC001); 北京市自然科学基金项目(6192029); 国家水体污染控制治理科技重大专项(2017ZX07401002)

Project supported: The Young Elite Scientist Sponsorship Program by CAST (YESS) (2018QNRC001); The Natural Science Foundation of Beijing, China (6192029); The National Water Pollution Control and Treatment Science and Technology Major Project in China (2017ZX07401002)

$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $170.6\sim 89\,000\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $411.3\sim 1\,516.2\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, $85.1\sim 158.1\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, and $1.4\sim 4.8\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. Composting had a good degradation effect on most antibiotics, among which the removal rate of tetracycline antibiotics was 62.7%~99% and that of the sulfonamides was 0~99.99%. Composting could almost completely remove macrolides, but could not remove quinolone antibiotics. During composting, the removal of ARGs also varied with the types of antibiotics and composting methods. Studies have shown that composting is effective in the removal of ARGs, except for macrolides ARGs, with a removal rate of 50.03%~100%. Moreover, Firmicutes, Actinomycetes, Proteobacteria, and Bacteroidetes dominated in the early stage of composting. Actinomycetes became the most dominant at the end stage. The initial antibiotic concentration did not affect the microbial community at the end of the composting. Temperature and pH were the most important factors affecting the degradation of antibiotics, and the removal of ARGs was mainly affected by temperature.

Keywords: livestock manure; composting; antibiotics; antibiotic resistance genes; microbial

我国作为世界上最大的畜禽养殖国,规模化和集约化养殖迅速发展,导致畜禽粪便大量且集中产生。如何有效处理畜禽粪便成为当今研究焦点。大规模畜牧业的快速发展给我国环境带来了巨大的压力:一方面,畜禽养殖业提高了农业生产效率和农民收入,但另一方面,畜禽粪便中尽管含有丰富的N、C、P、K等大量元素,然而大多数畜禽粪便没有得到合理的处理就在农田中进行施用,这势必会造成土壤质量下降和生态环境风险,也会对水体(地表水、农田甚至地下水)造成严重污染。除此之外,畜禽粪便的处理不当很容易引起病原菌的传播,对畜禽本身和人类的健康造成严重的威胁^[1-3]。其中畜禽养殖业中抗生素的滥用导致的环境污染问题尤为突出,越来越受到各国研究学者的关注^[4]。抗生素是高等动植物以及真菌、细菌、放线菌等微生物在生命活动中产生的能够抗病原体的一种次级代谢产物,其通常是半合成、合成或纯天然的化合物,用于抑制或者杀死人和动物宿主中的细菌^[5-6]。我国既是抗生素生产大国,也是抗生素使用大国,养殖业是抗生素使用的重要领域之一,每年用于促进动物生长以及疾病预防和治疗的抗生素就有超过8000 t^[7-8]。Zhang等^[9]对我国经常使用的36种抗生素进行调查得出,2013年,36种抗生素的总使用量达到92 700 t,其中大约有54 000 t通过人类和动物排出,最终有53 800 t进入受体环境。研究认为,用于动物的抗生素只有少量参与代谢而被利用,绝大部分抗生素以及在动物体内代谢产生的抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)会随着粪便和尿液排出动物体外,从而对土壤以及水体中原本的微生物耐药性产生越来越大的压力,更严重的是会再次诱导产生ARGs,进而导致严重的生态毒性和环境污染^[10-11]。

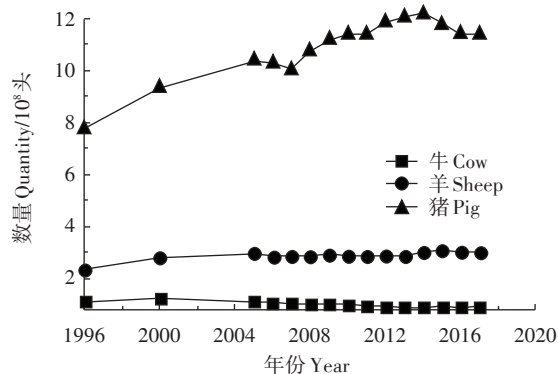
1 畜禽养殖废弃物中抗生素研究进展

截至目前,已发现的抗生素达几千种,常用的是

大环内酯类、喹诺酮类、 β -内酰胺类、磺胺类、氨基糖苷类以及四环素类共六类。抗生素作为一种有效治疗人和动物疾病以及作为激素促进畜禽生长的药物,其在全球的医药行业、水产养殖业以及畜牧养殖业中得到了广泛的应用^[12]。由于不同生物对药物的代谢程度不同,人类和动物所摄入的抗生素有30%~90%都不能被完全吸收,而是随着尿液和粪便一起排入到环境中^[13-14]。此外,畜牧业和养殖业的迅速发展大幅增加了兽用抗生素的使用量,而普遍过度使用抗生素的现象也进一步提高了抗生素的排泄量和释放量。

1.1 畜禽养殖废弃物污染现状以及抗生素残留

大规模养殖的迅速发展,使畜禽养殖中污染物急剧增加,最终导致各种农业面源污染问题。目前,我国畜牧业经营的总体情况是:养殖数量迅速增加,集约化程度高,粪便排放量大。牛、羊、猪是主要的养殖对象。根据中国国家统计局的数据(图1),2017年全国牛、羊、猪分别为9 038.7万、30 231.7万、114 361.0万头。在过去的20 a里,牛的养殖数量没有显著波动,羊的



数据来自中国国家统计局

Data from National Bureau of Statistics, China

图1 1996—2017年中国猪、牛、羊养殖情况

Figure 1 Pig, cattle and sheep breeding in China from 1996 to 2017

数量缓慢增加,而猪的养殖数量波动幅度最大。根据相关部门测算,1头约60 kg的商品猪,日排尿量约为2.4 kg,排粪量约为3.8 kg,排放污水量约为18~24 kg,按照此方法计算,一个1万头猪的养殖场每年至少会产生粪便1.38万t^[15-16]。统计数据表明,2017年我国养殖粪尿产量约为38亿t,但综合利用率却不足50%,这些养殖粪尿如果不能得到合理的处理,将会对环境产生极大威胁^[17]。

我国既是世界上抗生素消耗量最大的国家,同时也是生产量最大的国家。抗生素在提高生长速度、饲料利用率和减少疾病发生率方面的作用已被充分证明,但另一方面,饲料中抗生素的使用和误用已导致动物产品中药物残留和细菌耐药性增加^[18]。通常具有高残留抗生素的畜禽粪便主要来自大型集约化养

殖场,家庭散养含量较低。在饲养的畜禽中,猪粪中四环素类抗生素残留量较高,牛粪中磺酰胺类的残留量较高,鸡粪排泄物中的抗生素类残留量因地区而异^[19]。畜禽养殖废弃物中抗生素残留量变化很大,可在 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 到 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间(表1)。通过对不同学者研究结果进行总结得出,主要的抗生素残留是在猪粪、鸡粪和牛粪中,其中猪粪是主要的残留对象以及研究对象。猪粪中四环素类抗生素残留量的变化范围是1390~354 000 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,其他类抗生素的残留量分别为:磺胺类170.6~89 000 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;氟喹诺酮类411.3~1 516.2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;硝基呋喃类85.1~158.1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;大环内酯类1.4~4.8 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表1)。由表得出,四环素类抗生素整体趋势为南方残留量大于北方,且残留量最高的省份是浙江,其残留浓度明显高于其他省份,最

表1 不同畜禽废弃物中抗生素残留情况

Table 1 Antibiotic residues in different livestock wastes

研究区域 Study area	研究对象 Research objects	抗生素种类 Antibiotic species	抗生素残留量 Antibiotic residue	参考文献 Reference
广东省	猪粪	喹诺酮类	24.5~1 516.2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	邵义萍等 ^[20]
		磺胺类	1 039.4~15 930.3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
美国	牛粪	金霉素和磺胺甲基嘧啶	3.973 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Garham 等 ^[21]
		红霉素	0.73 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
	猪粪	金霉素	37 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
天津(宁河、东丽和津南)、辽宁(沈阳、抚顺和铁岭)	猪粪	磺胺甲噁唑和磺胺甲恶唑	89 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Hou 等 ^[22]
		四环素类抗生素	3 326.6~12 302.6 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		氟喹诺酮类	411.3~1 516.2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		磺胺类	170.6~1 060.2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		硝基呋喃类	85.1~158.1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		大环内酯类	1.4~4.8 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	
漳溪,中国华东地区	猪粪	土霉素	9.09 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Zhao 等 ^[23]
		四环素	5.22 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		金霉素	3.57 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
	鸡粪	土霉素	5.97 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		四环素	2.63 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		金霉素	1.39 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
北京、萧山、南京、济南、四平、杨凌、吴忠等7个市	猪粪	土霉素	134.75 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	张树清等 ^[24]
		金霉素	121.78 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		四环素	78.578 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
浙江杭州	猪粪	四环素	98.2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Chen 等 ^[25]
		土霉素	354 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		氯四环素	139.4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		多西环素	37.2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		磺胺嘧啶	7.1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
黑龙江、吉林和辽宁	动物粪便	14种抗生素	0.08~56.81 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Li 等 ^[26]
	猪粪	四环素	56.81 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	
		磺胺类抗生素	7.11 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	

高的土霉素残留量为 $354 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[25]。另外,美国集约化养殖场猪粪中金霉素残留量是 $37 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,磺胺甲噁唑和磺胺甲恶唑为 $89 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[21],而我国金霉素残留量最高为 $121.78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[24],磺胺类抗生素残留量最高为 $15.93 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[20]。总体来看,我国畜禽粪便中金霉素和磺胺类抗生素残留量低于美国。尽管四环素类抗生素是残留的主要来源,但其他抗生素所带来的污染也是不可忽视的。加之目前抗生素污染已极其普遍,如何监测其残留量变化以及寻找有效的降解方法尤为重要。

1.2 抗生素对作物以及土壤微生物的影响

畜禽养殖废弃物作为农业生产肥料的关键来源之一,尤其在蔬菜种植中,其施用量较大,在一些设施蔬菜种植中,粪肥的施用量可以占到总量的61%~88%^[27]。Zhao等^[28]研究了长期施用(15 a)有机肥后14种目标抗生素对花生的影响得出,抗生素大部分存在于花生组织(根、壳、粒、茎、叶)中,四环素是花生组织中主要的抗生素化合物,在根际土壤中含量较高,约占总抗生素的61%~80%。Dolliver等^[29]研究发现,添加有机肥料的处理,所有被研究的作物(玉米、生菜、土豆)均可吸收磺胺甲噁唑,其在植物组织中的浓度为 $0.1 \sim 1.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (干质量)。Ahmed等^[30]研究发现,添加3个浓度(5、10、20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的四环素类抗生素均会明显抑制番茄、黄瓜以及生菜的生长。Migliore等^[31]得出恩诺沙星浓度在 $50 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间时,可显著改变植物的根长、下胚轴、子叶和叶片的数量及长度,高浓度($5000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)会产生毒性作用,抑制效果最显著的是对根的影响,而使用抗生素的时间长短对作物的影响不显著。

进入土壤的抗生素,一方面能够抑制甚至杀死土壤中的微生物,另一方面也能够使某些微生物迅速繁殖,从而显著影响土壤微生物群落结构以及活性,破坏群落结构平衡,导致土壤活性下降^[32]。Hammesfahr等^[33]将不同浓度的磺胺嘧啶加入土壤进行试验,结果显示,各浓度下的磺胺嘧啶都会使土壤中磷脂脂肪酸减少,且细菌和真菌的比例降低,甚至2个月后的微生物群落结构依旧在变化。Yang等^[34]研究土霉素对小麦根际土壤微生物活性影响试验的结果显示,土霉素为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,碱性磷酸酶活性的抑制率达41.3%,放线菌、细菌分别减少了31.7%和22.2%,当土霉素浓度大于 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,碱性磷酸酶活性的抑制率则升高到64.3%~80.8%。Zhao等^[23]研究表明,四环素主要与厚壁菌门和绿弯菌门呈负相关,喹诺酮类

与酸杆菌门、芽单胞菌门和消化螺旋菌门呈明显的负相关,抗生素对生物活性或生物降解过程具有潜在的抑制作用。

综上可知,抗生素在植物体内的积累程度会因抗生素种类和浓度、土壤特性以及作物种类的不同而不同。抗生素对植物的影响与其他多数污染物相似,即低剂量能够促进植物的生长发育,高剂量则抑制其生长。研究发现,抗生素可以在番茄、黄瓜、小白菜、生菜、萝卜、菜豆等多种蔬菜中积累,金霉素、土霉素以及四环素等四环素类是主要的积累对象,但在莴苣和菠菜中没有发现磺胺类抗生素的积累,且在水果中抗生素的积累量小于蔬菜,同时酸碱度偏小的土壤含有低浓度抗生素能够促进小白菜的生长,而在碱性土壤(黑土)则没有显著的影响。微生物对抗生素更加敏感,仅少量的抗生素就能够抑制微生物的活性,且不同抗生素种类对微生物的菌群影响不同。除此之外,多种抗生素共存的风险明显高于单个化合物。植物中积累的抗生素可沿着食物链传给人类,并可能对公众健康构成潜在威胁。此外,抗生素的存在能够增加抗生素耐药基因(ARGs)丰度,导致抗生素对人和动物病原体的治疗潜力降低^[35-36]。因此,明确抗生素对生物健康的影响显得越来越重要。

2 畜禽养殖废弃物堆肥中抗生素的降解

2.1 抗生素的降解情况

堆肥是一种在初始阶段控制湿度、pH和C/N,且在微生物的作用下进行分解的过程。理化因子对微生物的发育和有机物的稳定起着关键作用。堆肥过程中微生物的生长反映了整个过程的好坏^[37]。堆肥由两个主要阶段组成,分别是嗜热阶段和成熟阶段。嗜热阶段,有机物经历微生物分解、释放二氧化碳和氨,有机物的降解伴随着高温释放消灭病原体,最后易降解部分(糖类、氨基酸)完全矿化;成熟阶段,木质素等生物可降解性较差的有机物质被降解,形成可用于农业生产的肥料^[38-39]。

抗生素的降解效果受多种因素的影响,如堆肥条件(温度、湿度、pH、通风等)的差异、抗生素类型、堆肥材料的性质、粪便类型等都会影响畜禽粪便中抗生素的降解效率^[41-42]。由表2可知,堆肥对于四环素类抗生素的降解率为62.7%~99.0%,对磺胺类抗生素为0~99.99%,对大环内酯类抗生素的降解接近100%,然而堆肥不能有效降解喹诺酮类抗生素。不同种抗生素在不同粪便中的降解效率显著不同,Winckler

等^[43]研究发现鸡粪中的磺胺二甲基嘧啶在堆肥过程中没有降解,并且认为高温是影响抗生素降解的主要因素。但Selvam等^[44]得出猪粪中的磺胺二甲基嘧啶在堆肥42 d后降解率可以达到92%,且认为pH和温度是降解抗生素的主要因素。沈东升等^[45]通过对比添加和不添加土霉素降解菌剂TJ-1得出,添加菌剂可以使抗生素的降解率提高20%,并认为土霉素降解菌TJ-1能够缓解堆肥过程中有害物质对微生物的损伤,从而保证了微生物群落的多样性和活性。堆肥是一种通过有机物的生物降解来稳定粪肥的有效方法。总结得出,堆肥可以有效降解四环素类、磺胺类、大环内酯类等多种抗生素。抗生素的降解受多种因素的影响,其中温度和pH是最重要的影响因素。

2.2 堆肥中抗生素的降解机理

堆肥过程中,抗生素的理化性质决定了它们的降解方式。此外,堆肥过程中物理化学条件、有机物的降解以及微生物的作用等均可改变抗生素的结构,从而导致其降解^[49]。抗生素在堆肥中的降解主要包括

光降解、水解以及生物降解3种方式。生物降解被认为是目前最为有效的降解方法,主要包括外源添加降解菌剂和普通高温堆肥,这两种方式能够很好地阻止抗生素在食物链中的传播^[50-51]。Ezzariai等^[49]研究表明,抗生素的降解包括挥发、非生物和生物转化、螯合以及矿化等几个过程。Loke等^[52]对四环素类抗生素进行研究得出,四环素类抗生素是多环并四苯羧基酰胺结构,可通过脱水、异构化等途径发生分解,且认为带有四环结构的四环素在堆肥中消减的主要因素是水解作用,且随着堆肥温度的升高而增强。Wu等^[53]得出相似的结果,认为四环素类抗生素的降解可能与外膜化或脱水等非生物转化有关。泰乐菌素降解主要进行的是水解过程,在酸性条件下从A-泰乐菌素到B-泰乐菌素,在中性和在碱性条件下,该化合物与其他极性分解产物同时产生泰乐菌素-A-丁间醇醛,据报道,在整个pH(2~13)范围内,泰乐菌素的水解度都很高^[54]。对于磺胺类化合物,这些分子浓度的下降可能与有机物的存在有关,有机物在堆肥过程中会在

表2 堆肥化处理对畜禽粪便中抗生素的降解效果

Table 2 Effect of the composting treatment on the removal of antibiotics from livestock and poultry feces

研究区域 Study area	堆肥材料 Compost material	堆肥工艺 Composting process	抗生素种类 Antibiotic species	抗生素降解率 Antibiotic removal rate	影响因素 Influencing factor	参考文献 Reference
清源 (广东省)	猪粪、鸡粪、锯末湿质量比为4:2:2	静态好氧堆肥171 d	磺胺类(磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉)	45.1%	堆肥理化性质(C/N、TOC、水分、温度和氧气)、环境湿度、翻桩频率	Zhang等 ^[46]
			四环素类(金霉素、多西环素、土霉素、四环素)	73.4%		
			喹诺酮类(环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、培氟沙星)	0		
			大环内酯类(红霉素、泰乐菌素)	100%		
			其他类(甲氧苄氨嘧啶、林肯霉素)	96.4%		
卡尔斯鲁厄 (德国)	鸡粪、木屑	容器堆肥35 d,含水量40%,C/N=12~12.9	金霉素	>99%	高温	Winckler等 ^[43]
			莫能菌素	54%		
			磺胺二甲基嘧啶	0		
			泰乐菌素	76%		
森美兰州 (马来西亚)	厨房垃圾	在塑料箱中堆肥40 d,含水量50%~60%,C/N=8	多西霉素	99.80%	pH、温度、C/N、磷、钠、铬、铜、锌、铁、镉	Yu等 ^[47]
			磺胺嘧啶	>99.99%		
			泰乐菌素	>99.92%		
圣索菲娅 (魁北克)	鸡粪	在120 L圆柱形塑料容器堆肥38 d,含水量50%~60%,C/N=25	盐霉素	99%	pH、温度、微生物酶	Ramaswamy等 ^[40]
杭州(浙江)	猪粪、木屑	在塑料桶中好氧堆肥21 d,含水量为70%,C/N=30	土霉素	62.70%	土霉素降解菌TJ-1	沈东升等 ^[45]
			土霉素+土霉素降解菌TJ-1	82.00%		
新区(中国香港)	猪粪、木屑	好氧堆肥42 d,含水量57.13%	四环素、磺胺二甲基嘧啶	92%	pH和温度	Selvam等 ^[44]
加州大学南海岸分校	猪粪、蘑菇残渣1:2	露天堆肥52 d,含水量56.9%,C/N=11.02	金霉素	74%	温度	Wu等 ^[48]
			土霉素	92%		
			四环素	70%		

高温下产生吸附位点,使其不易提取^[55]。Loftin等^[56]对四环素类、磺胺类和大环内酯类的多种抗生素进行降解机理研究,得出环丙沙星和磺胺嘧啶在分子结构上与金霉素和四环素明显不同,磺胺嘧啶属于磺酰胺类抗生素,其分子结构中氨基连接的磺酰基比多环结构更容易分解。Kim等^[57]在堆肥中添加木屑用于降解四环素,发现木屑对四环素的降解有显著的正向作用;推测由于这些有机基质中存在大量的二价阳离子,并可能与有机物形成螯合物,因此吸附在降解过程中起主要作用。酪氨酸不与金属离子形成复合物,但可以与粪肥中带负电荷的化合物形成强化学键,加速可提取的抗生素水平的下降。综上所述,不同种抗生素的降解过程存在差异,结合2.1的阐述,生物降解可能是导致抗生素减少的主要原因,但也有研究显示,非生物过程如化学转化、隔离等也是抗生素降解的原因。因此,将生物和非生物两个过程结合起来阐述抗生素在堆肥中的降解机制应当是最优策略。

2.3 堆肥中微生物群落的演变

微生物在堆肥中发挥着不可替代的作用,同时堆肥也使微生物的群落发生改变。Xia等^[58]利用蚯蚓进行堆肥,研究污泥中不同浓度的四环素(0、100、500、1000 mg·kg⁻¹)对堆肥过程中微生物群落的影响发现,高浓度的四环素可以改善蚯蚓和微生物的活动,从而延迟有机质的腐殖化,微生物的丰度和多样性随四环素浓度的增加而减少,初始底物中的优势门由变形杆菌门、放线菌门、拟杆菌门和厚壁菌门组成,分别占总相对丰度的35%、19%、16%和10%,堆肥结束时,拟杆菌门数量明显增加,且随着抗生素浓度的增加而增加,表明拟杆菌对高浓度的四环素有很强的耐受性,且有研究证明蚯蚓在堆肥前期对微生物群落的影响更为强烈^[59],也有学者研究证明堆肥过程中抗生素浓度的变化,以及温度、pH、水分均会影响微生物的群落结构变化^[60]。探讨糠醛渣与林可霉素菌丝渣共堆肥对细菌群落的影响,得出厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、异常球菌门(Deinococcus-Thermus)是6个最主要的优势门,占有所有样本细菌16S rRNA总基因序列的99%以上,但随着堆肥的进行,放线菌逐渐增多^[61]。Meng等^[62]研究发现,堆肥过程中嗜油极小单胞菌属、假单胞菌属、丛毛单胞菌属、黄杆菌属、反刍杆菌属、密螺旋体杆菌属、不动杆菌属与GI(发芽指数)、TN和NO₃-N呈负相关,与TOC和TOC:TN呈正相关,然而

高温单孢菌属和热多孢菌属与NO₃-N、GI和TN呈正相关,与TOC、TOC:TN以及含水量呈负相关。Ren等^[61]研究表明,堆肥后期处理组和对照组的微生物群落变得相似,认为抗生素不影响堆肥结束时的群落结构。其他学者也进行了类似的研究,他们认为堆肥的不同阶段会影响细菌群落的进化,而非残留抗生素,残留的抗生素可能只在开始和中温阶段影响细菌群落,一旦抗生素被降解到合适的水平,细菌就会迅速生长,微生物群落变得越来越相似^[63-64]。

3 畜禽养殖废弃物堆肥中抗性基因(ARGs)的降解

3.1 ARGs的研究

ARGs是由于畜禽养殖业中长期不规范使用四环素类、磺胺类、大环内酯类等各类抗生素,诱导动物体内一些细菌产生耐药性,从而产生ARGs,经排泄后将对环境造成潜在的基因污染。抗性基因通常位于质粒、转座子等可动遗传因子上(Mobile genetic element),能够在环境中传播和扩散,对人类生活产生严重的威胁。细菌的固有抗药或天然抗药(Intrinsic resistance)是抗药基因的重要起源之一,另一种起源是细菌在环境中抗生素和重金属等多种污染物的选择压力,其通过人或者畜禽粪便随着肠道细菌排出体外,这类ARGs一旦产生将难以降解,他们有很强的移动能力,是环境中ARGs的重要来源之一^[65]。ARGs与一般环境污染物不同,其能够进行自我扩增且能在不同微生物之间传播和转移,显示出特殊的环境行为特征,因此ARGs的存在是抗药性菌产生的根源,其已经被定义为环境中的新型污染物并被大量研究^[66-67]。

Zhao等^[68]利用高通量测序分别对湖南、辽宁和浙江3个大型养殖场新型粪便中ARGs种类和丰度进行测定,共检测到146个ARGs且大约为 1.3×10^{10} copies·g⁻¹,研究还发现饲料添加剂增加了猪肠道中ARGs和可移动基因元件(Mobile genetic elements, MGEs)的富集。对上海规模化养殖场废水中ARGs进行检测,发现tetB/P、tetM、tetO、tetW、sulA、sul1、sul2和sul3均有检出,其中sul1丰度最高,可达8.4~10.4 logs^[69]。黄福义等^[70]利用高通量QPCR技术,研究福建省某梅花鹿养殖场中粪便的ARGs,共检测出120种ARGs和MGEs,其中检测出种类最多的是四环素类和氨基糖苷类,其次为酰胺醇类、氟喹诺酮类,均达11 logs以上。利用QPCR技术对牛粪、猪粪和猪粪堆

肥中 *tetA*、*tetB/P*、*tetC*、*tetG*、*tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetT*、*tetS* 和 *tetW* 这 10 种 ARGs 进行研究,3 种材料中均发现了此 10 种 ARGs,且所有猪粪样品中 10 种 ARGs 的拷贝数均高于牛粪^[71]。Wang 等^[72]对江苏省 16 个养殖场粪便进行调查,结果 *tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetT*、*tetW* 这 5 种 *tet* 基因表达的核糖体保护蛋白丰度均高于 *tetA*、*tetC*、*tetE*、*tetG* 这 4 种外排泵蛋白表达丰度,且 *ermB*、*sul2* 以及 *tetM* 检出率和丰度最高,检出率可达 90% 以上,丰度可达 10^9 copies·g⁻¹ 以上。

近些年随着 ARGs 污染的加重,QPCR 技术作为一种准确表征 ARGs 的手段越来越受到人们的青睐。在畜禽养殖过程中,猪粪是环境中 ARGs 的主要来源,其中检出比较多的分别是四环素类的 *tetA*、*tetB/P*、*tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetS*、*tetT* 和 *tetW*;磺胺类的 *sul1* 和 *sul2*;氨基糖苷类的 *aadA*、*aph33ib*、*aph6id* 和 *aac6ib*;喹诺酮类的 *qnrA*、*qnrB* 和 *qnrS*;大环内酯类的 *ermB*、*ermC* 和 *ermA*;多重耐药基因的 *FloR* 和 *catA* 等,其他动物的粪便中也有多种 ARGs 被检测到。然而目前的研究只集中于大型养殖场的畜禽粪便检测,而对养殖场周围水体、土壤以及空气的研究较少,因此将所有可能存在 ARGs 的介质结合起来研究,将能准确且更好地监测 ARGs 的变化情况。

3.2 堆肥中 ARGs 的降解情况

为了减少畜禽养殖中 ARGs 向环境中扩散和传播,国内外许多学者开始重视并研究利用生物处理技术对畜禽粪便中 ARGs 的消减。Chen 等^[60]研究抗生素对猪粪堆肥过程中多重抗生素 ARGs 影响,发现四环素类 ARGs 与其他 ARGs 存在交叉抗性和共同抗性,且发现高温期和腐熟期是降解 ARGs 的关键时期。Peng 等^[73]研究显示,添加剂(过磷酸钙和沸石)能减少鸡粪好氧堆肥过程中 ARGs,降解率为 67.3%~86.5%,且能有效降低高温期致病菌的相对丰度。Jang 等^[74]利用好氧高温堆肥技术得出,堆肥结束时,四环素类 ARGs 降解率为 50.03%~100%,磺胺类为 93.93%~97.17%,喹诺酮类为 81.61%~97.28%,β-内酰胺类为 80.02%~100%,而大环内酯类 ARG 仅为 20.39%。研究表明,不同堆肥理化条件对畜禽粪便中的 ARGs 有一定降解作用,但具体效果存在差别。Zhang 等^[75]以天然沸石、零价纳米铁和 Dnase 为变量,探讨猪粪中温和高温厌氧发酵过程中 ARGs 的变化,研究得出,可以减少除了 *tetM* 和 *sul2* 的大部分 ARGs,天然沸石和零价铁的添加可以促进 ARGs 的减少,MRGs 的共同作用为 ARGs 的变化贡献了 86.5%~

89.9%,且得出高温比中温厌氧发酵达到的效果要更好。Barkovskii 等^[76]研究发现,尽管新鲜粪肥中存在大量的 *tetB*,但经过厌氧氧化塘处理后,*tetB* 完全降解。除氧含量外,温度高低同样影响 ARGs 的降解。Diehl 等^[77]发现,随着温度的增加,*tetX* 和 *tetA* 等基因的降解速率增加,得出 ARGs 的降解可能与温度变化下宿主菌的演替有关。

无论是好氧堆肥还是厌氧堆肥对 ARGs 的降解都有一定的效果,但因堆肥方法以及抗生素的种类不同而存在差异。堆肥对四环素类 ARGs、β-内酰胺类 ARGs、氨基糖苷类 ARGs、磺胺类 ARGs 以及喹诺酮类 ARGs 都有一定的降解效果,但对大环内酯类 ARGs 没有显著的降解效果。目前堆肥温度最高可达 70℃ 以上,且总结得出高温是降解 ARGs 的主要因素,因此可以延长堆肥的高温期以提高 ARGs 的降解率。已有研究证明通过添加沸石、过磷酸钙以及零价纳米铁等可以提高 ARGs 的降解率,但其对堆肥理化性质、抗生素的影响还缺少研究。因此找到既能有效降解 ARGs,又能提高抗生素降解率的方法是研究的重中之重。

3.3 ARGs 的传播和扩散机理

水平基因转移(Horizontal gene transfer, HGT)和垂直基因转移(Vertical gene transfer, VGT)是 ARGs 传播扩散的主要机制。其中,HGT 是以 MGEs 作为载体,通过接合、转导和转化等作用使 ARGs 传播,ARGs 可以在同种细菌甚至是不同细菌之间转移和传递。VGT 主要是通过微生物的自我繁殖使得 ARGs 在土壤、空气以及水体等不同环境中传播扩散^[78]。两种形式都可以使细菌的耐药性快速传播,因此会使 ARGs 导致的环境问题不断加剧,同时由于 ARGs 能够在不同介质中传播以及持久性强,使得其危害比抗生素本身对环境的危害更严重^[79]。

Roberts^[80]研究认为大环内酯类 ARGs 中的 *ermB* 基因型是 *erm* 类基因型中最多的基因,共有 33 个基因型,因为其具有丰富的基因型,所以在环境中更容易传播和扩散,从而导致其在堆肥样品中丰度更高。对四环素 ARGs 与转座子 *intI1* 的丰度改变和分布特征的研究得出,ARGs 的增值与 *intI1* 有关^[81],然而有报道称,MEGs 和微生物群落结构能够影响 ARGs 的分布和归趋^[82]。*tetG*、*tetA* 以及 *tetB* 等四环素类 ARGs 的宿主大部分都是革兰氏阴性细菌(Gram-negative bacteria, G⁻),而厌氧堆肥占主导地位的细菌正是 G⁻,因此厌氧处理对该类 ARGs 的削减有内在的优势。Dowl

等^[83]通过好氧堆肥技术得出,随着堆肥温度的升高,芽胞菌属和嗜热菌属等耐热菌成为优势菌,然而粪便中的肠道菌基本只能耐中温,因此在环境胁迫下被淘汰,因而其含有的 ARGs 也会消失。抗生素浓度的高低也是影响 ARGs 的又一因素。Zhu 等^[84]研究得出,在高浓度抗生素的畜禽粪便中,ARGs 与转座基因呈正相关关系,此说明在高抗生素的状态下,HGT 在 ARGs 的富集中起着关键作用。ARGs 的传播和扩散主要受水平转移和垂直转移的影响,且在转移的过程中会因抗生素的种类和浓度、细菌群落的变化以及环境理化性质的不同而不同。微生物的参与使问题变得更加复杂,但由于微生物的多样性和特殊性,也有可能是解决问题的突破口,因此从微生物出发,结合多方面因素探讨 ARGs 在堆肥过程中的变化具有重要的意义。

4 结论和展望

抗生素在多种畜禽粪便中被检测到,残留量最高的是猪粪,其次是鸡粪和牛粪。各类畜禽废弃物中残留量最高的是四环素类抗生素,范围约为 $354\ 000\sim 11\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。堆肥对于抗生素和 ARGs 具有很好的降解效果,其中对四环素类抗生素降解率为 $62.7\%\sim 99\%$,对磺胺类抗生素为 $0\sim 99.99\%$,对大环内酯类抗生素降解率接近 100% 。堆肥中,四环素类 ARGs 降解率为 $50.03\%\sim 100\%$,磺胺类为 $93.93\%\sim 97.17\%$,喹诺酮类为 $81.61\%\sim 97.28\%$, β -内酰胺类为 $80.02\%\sim 100\%$,而大环内酯类 ARGs 仅为 20.39% 。总结得出温度和 pH 是影响抗生素降解的最主要原因,ARGs 的降解效果主要是受温度的影响,且添加沸石、过磷酸钙等物质能显著提高 ARGs 的降解效率。

通过总结抗生素的危害、不同堆肥处理方式对抗生素和 ARGs 的降解效果,结合抗生素和 ARGs 降解机制以及不同抗生素之间的相互作用,希望能为更深入地研究和探讨抗生素和 ARGs 提供理论支撑。未来的研究方向包括:

(1)通常认为高温堆肥是降解抗生素和 ARGs 的最环保和最前景的方案。然而,大量试验都是在实验室条件下模拟堆肥,对真正环境中自然堆肥的降解机制还缺少研究,所以希望加强对自然堆肥条件下抗生素和 ARGs 的研究,并阐明内在的降解机制。

(2)总结发现,抗生素在堆肥前期降解效果好,但部分 ARGs 随着堆肥时间的延长而丰度增加,且堆肥结束后微生物群落趋于一致。基于此,今后应当从缩

短堆肥时间、增添特异性加菌剂、调节堆肥体系以及环境因素等方面开展优化研究,同时对 ARGs 降解与堆肥不同时期微生物的群落结构变化进行深入研究。

(3)考虑到堆肥产品最终用于田间,为减少抗生素、ARGs 的传播和扩散,建议尽快建立肥料产品中抗生素和 ARGs 的监控体系,以规范肥料的使用,这也是解决污染进一步传播的有效方法。

参考文献:

- [1] Zhang W J, Wei D M, Liu Y L, et al. Decomposition analysis of COD and $\text{NH}_4\text{-N}$ discharge reduction of livestock and poultry breeding industry in China[J]. *Applied Mechanics and Materials*, 2014, 651/652/653:1335-1340.
- [2] Gan L, Hu X. The pollutants from livestock and poultry farming in China: Geographic distribution and drivers[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(9):8470-8483.
- [3] 吴 信, 万 丹, 印遇龙. 畜禽养殖废弃物资源化利用与现代生态养殖模式[J]. 农学报, 2018, 8(1):169-172.
WU Xin, WAN Dan, YING Yu-long. Modern ecological breeding mode and resource utilization of livestock wastes[J]. *Journal of Agriculture*, 2018, 8(1):169-172.
- [4] Mitchell S M, Ullman J L, Bary A, et al. Antibiotic degradation during thermophilic composting[J]. *Water Air Soil Pollution*, 2015, 226(13):2-12.
- [5] 徐永刚, 宇万太, 马 强, 等. 环境中抗生素及其生态毒性效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(3):11-27.
XU Yong-gang, YU Wan-tai, MA Qiang, et al. The antibiotic in environment and its ecotoxicity: A review[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(3):11-27.
- [6] Brandt K K, Amézquita A, Backhaus T, et al. Ecotoxicological assessment of antibiotics: A call for improved consideration of microorganisms [J]. *Environment International*, 2015, 85:198-205.
- [7] Ryschawy J, Disenhaus C, Bertrand S, et al. Assessing multiple goods and services derived from livestock farming on a nation-wide gradient [J]. *Animal*, 2017, 11(10):1-12.
- [8] Ben W W, Qiang Z M, Adams C, et al. Simultaneous determination of sulfonamides, tetracyclines and tiamulin in swine wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1202(2):173-180.
- [9] Zhang Q Q, Ying G G, Pan C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(11):6772-6782.
- [10] Hu X G, Zhou Q X, Luo Y. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(9):2992-2998.
- [11] Xie W Y, Shen Q, Zhao F J. Antibiotics and antibiotic resistance from animal manures to soil: A review[J]. *European Journal of Soil Science*,

- 2018, 69:181-195.
- [12] Lillehoj H, Liu Y, Calsamiglia S, et al. Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health[J]. *Veterinary Research*, 2018, 49(1):76.
- [13] Puckowski A, Mioduszevska K, Lukaszewicz P, et al. Bioaccumulation and analytics of pharmaceutical residues in the environment: A review[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016, 127:232-255.
- [14] Marx C, Günther N, Schubert S, et al. Mass flow of antibiotics in a wastewater treatment plant focusing on removal variations due to operational parameters[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 538:779-788.
- [15] 潘越博. 甘肃规模化养猪场污染物无害化循环利用研究调查报告[J]. 中国猪业, 2009(11):26-27.
- PAN Yue-bo. Investigation report on pollution-free recycling of pig farm in Gansu[J]. *Swine Industry Economics*, 2009(11):26-27.
- [16] 李彬辉, 杨小毛, 梅立永, 等. 畜禽养殖业粪污处理及资源化利用[J]. 中国资源综合利用, 2018, 36(2):64-66.
- LI Bin-hui, YANG Xiao-mao, MEI Li-yong, et al. Excrement treatment and resource utilization of livestock and poultry husbandry[J]. *China Resources Comprehensive Utilization*, 2018, 36(2):64-66.
- [17] 印遇龙. 大力发展生态养殖, 撬动大农业循环发展[J]. 饲料与畜牧, 2017(8):41-42.
- YING Yu-long. Vigorously developed ecological breeding and promote the circular development of agriculture[J]. *Fodder and Animal Husbandry*, 2017(8):41-42.
- [18] Li X Y, Wang L L, Zhen Y H, et al. Chicken egg yolk antibodies (IgY) as non-antibiotic production enhancers for use in swine production: A review[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2015, 6(1):2-10.
- [19] Alavi N, Babaei A A, Shirmardi M, et al. Assessment of oxytetracycline and tetracycline antibiotics in manure samples in different cities of Khuzestan Province, Iran[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2015, 22(22):17948-17954.
- [20] 邵义萍, 罗晓栋, 莫测辉, 等. 广东省畜牧粪便中喹诺酮类和磺胺类抗生素的含量与分布特征研究[J]. 环境科学, 2011, 32(4):278-283.
- TAI Yi-ping, LUO Xiao-dong, MO Ce-hui, et al. Occurrence of quinolone and sulfonamide antibiotics in swine and cattle manures from large-scale feeding operations of Guangdong Province[J]. *Environmental Science*, 2011, 32(4):278-283.
- [21] Graham J P, Silbergeld B E. Growth promoting antibiotics in food animal production: An economic analysis[J]. *Public Health Reports*, 2007, 122(1):79-87.
- [22] Hou J, Wan W N, Mao D Q, et al. Occurrence and distribution of sulfonamides, tetracyclines, quinolones, macrolides, and nitrofurans in livestock manure and amended soils of northern China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 22(6):4545-4554.
- [23] Zhao F K, Yang L, Chen L D, et al. Soil contamination with antibiotics in a typical peri-urban area in eastern China: Seasonal variation, risk assessment, and microbial responses[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 79(5):200-212.
- [24] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 等. 规模化养殖畜禽粪主要有害成分测定分析研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(6):822-829.
- ZHANG Shu-qing, ZHANG Fu-dao, LIU Xiu-mei, et al. Determination and analysis on main harmful composition in excrement of scale livestock and poultry feedlots[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(6):822-829.
- [25] Chen Y S, Zhang H B, Luo Y M, et al. Occurrence and assessment of veterinary antibiotics in swine manures: A case study in east China[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2012, 57(6):606-614.
- [26] Li Y X, Zhang X L, Li W, et al. The residues and environmental risks of multiple veterinary antibiotics in animal faeces[J]. *Environ Monit Assess*, 2013, 185(3):2211-2220.
- [27] 张彦才, 李巧云, 翟彩霞, 等. 河北省大棚蔬菜施肥状况分析与评价[J]. 河北农业科学, 2005, 9(3):61-67.
- ZHANG Yan-cai, LI Qiao-yun, ZHAI Cai-xia, et al. The condition and appraisal of the vegetable apply fertilizer in greenhouse in Hebei Province[J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2005, 9(3):61-67.
- [28] Zhao F K, Yang L, Chen L D, et al. Bioaccumulation of antibiotics in crops under long-term manure application: Occurrence, biomass response and human exposure[J]. *Chemosphere*, 2019, 219:882-895.
- [29] Dolliver H, Kumar K, Gupta S. Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil[J]. *Journal of Environment Quality*, 2007, 36(4):1224-1230.
- [30] Ahmed M B M, Rajapaksha A U, Lim J E, et al. Distribution and accumulative pattern of tetracyclines and sulfonamides in edible vegetables of cucumber, tomato, and lettuce[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(2):398-405.
- [31] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants[J]. *Chemosphere*, 2003, 52(7):1233-1244.
- [32] Barra Caracciolo A, Topp E, Grenni P. Pharmaceuticals in the environment: Biodegradation and effects on natural microbial communities. A review[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2015, 106:25-36.
- [33] Hammesfahr U, Heuer H, Manzke B, et al. Impact of the antibiotic sulfadiazine and pig manure on the microbial community structure in agricultural soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(7):1583-1591.
- [34] Yang Q X, Zhang J, Zhu K F, et al. Influence of oxytetracycline on the structure and activity of microbial community in wheat rhizosphere soil[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21(7):954-959.
- [35] Kümmerer K, Dionysiou D D, Olsson O, et al. Reducing aquatic micropollutants: Increasing the focus on input prevention and integrated emission management[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 652:836-850.
- [36] Bondarczuk K, Markowicz A, Piotrowska-Seget Z. The urgent need for risk assessment on the antibiotic resistance spread via sewage sludge land application[J]. *Environment International*, 2015, 87:49-55.
- [37] Hassen A, Belguith K, Jedidi N, et al. Microbial characterization dur-

- ing composting of municipal solid waste[J]. *Bioresource Technology*, 2001, 80(3):217-225.
- [38] Zhang H B, Zhou Y, Huang Y J, et al. Residues and risks of veterinary antibiotics in protected vegetable soils following application of different manures[J]. *Chemosphere*, 2016, 152:229-237.
- [39] Corbala-Robles L, Sastafiana W N D, Van Linden V, et al. Life cycle assessment of biological pig manure treatment versus direct land application: A trade-off story[J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2018, 131:86-98.
- [40] Ramaswamy J, Prasher S O, Patel R M, et al. The effect of composting on the degradation of a veterinary pharmaceutical[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(7):2294-2299.
- [41] Ezzariai A, Barret M, Merlina G, et al. Evaluation of the antibiotics effects on the physical and chemical parameters during the co-composting of sewage sludge with palm wastes in a bioreactor[J]. *Waste Management*, 2017, 68:388-397.
- [42] Chen C, Ray P, Knowlton K F, et al. Effect of composting and soil type on dissipation of veterinary antibiotics in land-applied manures[J]. *Chemosphere*, 2017, 196:270-279.
- [43] Winckler C, Grafe A. Use of veterinary drugs in intensive animal production[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2001, 1(2):66-70.
- [44] Selvam A, Xu D, Zhao Z, et al. Fate of tetracycline, sulfonamide and fluoroquinolone resistance genes and the changes in bacterial diversity during composting of swine manure[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 126:383-390.
- [45] 沈东升, 何虹葵, 汪美贞, 等. 土霉素降解菌 TJ-1 在猪粪无害化处理中的作用[J]. 环境科学学报, 2013, 33(1):147-153.
SHEN Dong-sheng, HE Hong-zhen, WANG Mei-zhen, et al. The role of oxytetracycline degrading bacterium TJ-1 on the hazard-free treatment of pig manure[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, 33(1):147-153.
- [46] Zhang M, He L Y, Liu Y S, et al. Fate of veterinary antibiotics during animal manure composting[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 650(1):1363-1370.
- [47] Yu Y B, Zakaria M P, Latif P A, et al. Degradation of veterinary antibiotics and hormone during broiler manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 131(131):476-484.
- [48] Wu X Q, Conkle J L, Ernst F, et al. Treated wastewater irrigation: uptake of pharmaceutical and personal care products by common vegetables under field conditions[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(19):11286-11293.
- [49] Ezzariai A, Hafidi M, Khadra A, et al. Human and veterinary antibiotics during composting of sludge or manure: Global perspectives on persistence, degradation, and resistance genes[J]. *Journal of hazardous materials*, 2018, 359:465-481.
- [50] Jiang M X, Wang L H, Ji R. Biotic and abiotic degradation of four cephalosporin antibiotics in a lake surface water and sediment[J]. *Chemosphere*, 2010, 80(11):1399-1405.
- [51] Zhang X Y, Li R Y. Variation of antibiotics in sludge pretreatment and anaerobic digestion processes: Degradation and solid-liquid distribution[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 255:266-272.
- [52] Loke M L, Jespersen S, Vreeken R, et al. Determination of oxytetracycline and its degradation products by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in manure-containing anaerobic test systems[J]. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences*, 2003, 783(1):11-23.
- [53] Wu X F, Wei Y S, Zheng J X, et al. The behavior of tetracyclines and their degradation products during swine manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(10):5924-5931.
- [54] Paesen J, Cypers W, Pauwels K, et al. Study of the stability of tylosin in aqueous solutions[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1995, 13(9):1153-1159.
- [55] Hartlieb N, Ertunc T, Schaeffer A, et al. Mineralization, metabolism and formation of non-extractable residues of ^{14}C -labelled organic contaminants during pilot-scale composting of municipal biowaste[J]. *Environmental Pollution*, 2003, 126(1):83-91.
- [56] Loftin K A, Adams C D, Meyer M T, et al. Effects of ionic strength, temperature, and pH on degradation of selected antibiotics[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2008, 37(2):378-386.
- [57] Kim K R, Owens G, Ok Y S, et al. Decline in extractable antibiotics in manure-based composts during composting[J]. *Waste Manager*, 2012, 32(1):110-116.
- [58] Xia H, Chen J Y, Chen X M, et al. Effects of tetracycline residuals on humification, microbial profile and antibiotic resistance genes during vermicomposting of dewatered sludge[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 252:1068-1077.
- [59] Lv B Y, Xing M Y, Yang J. Exploring the effects of earthworms on bacterial profiles during vermicomposting process of sewage sludge and cattle dung with high-throughput sequencing[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(13):12528-12537.
- [60] Chen Z Q, Wang Y, Wen Q X. Effects of chlortetracycline on the fate of multi-antibiotic resistance genes and the microbial community during swine manure composting[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 237:977-987.
- [61] Ren S T, Lu A Q, Guo X Y, et al. Effects of co-composting of lincomycin mycelia dregs with furfural slag on lincomycin degradation, degradation products, antibiotic resistance genes and bacterial community[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 272:83-91.
- [62] Meng Q X, Xu X H, Zhang W H, et al. Bacterial community succession in dairy manure composting with a static composting technique[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2019, 65:436-449.
- [63] Yin Y N, Gou J, Wang X J, et al. Effects of copper addition on copper resistance, antibiotic resistance genes, and int11 during swine manure composting[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:344.
- [64] Wang H, Sangwan N, Li H Y, et al. The antibiotic resistome of swine manure is significantly altered by association with the *Musca domestica* larvae gut microbiome[J]. *The ISME Journal*, 2016, 11(1):100-111.
- [65] Rascovan N, Telke A, Raoult D, et al. Exploring divergent antibiotic resistance genes in ancient metagenomes and discovery of a novel beta-lactamase family[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2016, 8(5):886-895.

- [66] Pruden A, Pei R, Storteboom H, et al. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: Studies in northern Colorado[J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(23):7445-7450.
- [67] Anderson J C, Carlson J C, Jennifer E L. Performance of a constructed wetland in Grand Marais, Manitoba, Canada: Removal of nutrients, pharmaceuticals, and antibiotic resistance genes from municipal wastewater[J]. *Chemistry Central Journal*, 2013, 7(1):54.
- [68] Zhao Y, Su J Q, An X L, et al. Feed additives shift gut microbiota and enrich antibiotic resistance in swine gut[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 621:1224-1232.
- [69] 冀秀玲, 刘芳, 沈群辉, 等. 养殖场废水中磺胺类和四环素抗生素及其抗性基因的定量检测[J]. *生态环境学报*, 2011, 20(5):139-145.
- JI Xiu-ling, LIU Fang, SHEN Qun-hui, et al. Quantitative detection of sulfonamides and tetracycline antibiotics and resistance genes in sewage farms[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(5):139-145.
- [70] 黄福义, 安新丽, 陈青林, 等. 梅花鹿养殖场抗生素抗性基因分布特征[J]. *环境科学*, 2016, 37(11):4402-4409.
- HUANG Fu-yi, AN Xin-li, CHEN Qing-lin, et al. Distribution characteristics of antibiotic resistance genes in sika deer farm[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(11):4402-4409.
- [71] Yu Z, Michel F C, Hansen G, et al. Development and application of real-time PCR assays for quantification of genes encoding tetracycline resistance[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(11):6926-6933.
- [72] Wang N, Guo X Y, Yan Z, et al. A comprehensive analysis on spread and distribution characteristic of antibiotic resistance genes in livestock farms of southeastern China[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7):e0156889.
- [73] Peng S, Li H J, Song D, et al. Influence of zeolite and superphosphate as additives on antibiotic resistance genes and bacterial communities during factory-scale chicken manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 263:393-401.
- [74] Jang H M, Lee J, Kim Y B, et al. Fate of antibiotic resistance genes and metal resistance genes during thermophilic aerobic digestion of sewage sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 249:635-643.
- [75] Zhang J Y, Sui Q W, Zhong H, et al. Impacts of zero valent iron, natural zeolite and Dnase on the fate of antibiotic resistance genes during thermophilic and mesophilic anaerobic digestion of swine manure[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 258:135-141.
- [76] Barkovskii A L, Coleman C. Persistent and transient antibiotic resistance genes in swine feeding operations and their environmental fate as affected by farms' operational practices[C]//The Annual Meeting and International Symposium of Microbial Ecology Committee at the Ecological Society of China, 2009.
- [77] Diehl D L, La Para T M. Effect of temperature on the fate of genes encoding tetracycline resistance and the integrase of class 1 integrons within anaerobic and aerobic digesters treating municipal wastewater solids[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(23):9128-9133.
- [78] Vikesland P, Garner E, Gupta S, et al. Differential drivers of antimicrobial resistance across the world[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2019, 52(4):916-924.
- [79] Pruden A. Balancing water sustainability and public health goals in the face of growing concerns about antibiotic resistance[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(1):5-14.
- [80] Roberts M C. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, 282(2):147-159.
- [81] Liu M M, Zhang Y, Yang M, et al. Abundance and distribution of tetracycline resistance genes and mobile elements in an oxytetracycline production wastewater treatment system[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(14):7551-7557.
- [82] Zhang H H, He H Y, Chen S N, et al. Abundance of antibiotic resistance genes and their association with bacterial communities in activated sludge of wastewater treatment plants: Geographical distribution and network analysis[J]. *Journal Environmental Science*, 2019, 82:24-38.
- [83] Dowd S E, Callaway T R, Wolcott R D, et al. Evaluation of the bacterial diversity in the feces of cattle using 16S rDNA bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP) [J]. *Bmc Microbiology*, 2008, 8(1):125-130.
- [84] Zhu Y G, Johnson T A, Su J Q, et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110(9):3435-3440.