

鸡粪堆肥过程中四环素类抗生素及抗性细菌的消减研究

仇天雷, 高敏, 韩梅琳, 王旭明*

(北京市农林科学院生物技术研究中心, 北京 100097)

摘要:通过实验研究了堆肥生产过程中, 菌剂添加对鸡粪高温堆肥中四环素类抗生素(四环素和土霉素)降解、四环素抗性细菌和致病菌(大肠菌群和沙门氏菌)的影响。结果表明, 菌剂添加可以提高鸡粪堆肥的高温期温度, 促进肥料腐熟, 并且能够提高土霉素的降解速率。实验组原料中 $76 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土霉素经过高温堆肥得到有效去除, 而不接种菌剂的对照组中土霉素没有明显去除; 原料中沙门氏菌在堆肥起始阶段(8 d)就能够杀灭, 而大肠菌群一直持续检出, 直到堆肥末期(47 d)才小于 $2 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 。抗四环素细菌在堆肥过程中的数量总体呈下降趋势, 堆肥成品分别比原料减少 $1.41 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ (实验组)和 $1.60 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ (对照组), 抗性细菌占总菌数的比例呈现先上升再下降的趋势, 最终比例分别为 4.00% (实验组)和 1.17% (对照组), 均高于原料的抗性菌比例(0.40% 和 0.39%)。

关键词:四环素类抗生素; 堆肥; 四环素抗性细菌; 堆肥菌剂

中图分类号: X713 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2015)04-0795-06 doi:10.11654/jaes.2015.04.027

Decreases of Tetracyclines and Antibiotics-Resistant Bacteria During Composting of Chicken Manure

QIU Tian-lei, GAO Min, HAN Mei-lin, WANG Xu-ming*

(Beijing Agro-Biotechnology Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry, Beijing 100097, China)

Abstract: Veterinary antibiotics are widely used as feed additives in livestock breeding for growth promotion and disease prevention. Composting may provide a practical and economical solution for reducing the risks of antibiotic pollution to the environment. A pilot field study was conducted to investigate the changes of antibiotics[tetracycline (TC) and oxytetracycline (OTC)] and tetracycline-resistant bacteria (TRB) during composting of chicken manure mixed with goat manure. Results showed that both temperature and degradation rates of OTC were higher in the manure inoculated with microbial composting agents (CA) than that without microbial agents (CK). The content of residual OTC in the manure decreased from $76 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ to below the detectable limit after 47 day of composting. However, OTC content in CK did not change during composting. Tetracycline (TC) disappeared rapidly in both CA and CK 17-days after composting. *Salmonella* in the manure were killed in both CA and CK treatments within 8 days, whereas coliforms were continuously detected until the 47th day. Over the 47-day composting, TRB decreased by $1.41 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ in CA and $1.60 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ in CK, compared to the initial. However, the proportion of TRB to total bacteria increased at beginning and then declined, but the TRB proportion was still 4.00% (CA) and 1.17% (CK) higher at the end than at the beginning.

Keywords: tetracycline; composting; tetracycline-resistant bacteria; composting agent

近年来, 兽药抗生素作为抗细菌性疾病和促生长制剂, 在集约化养殖中应用范围不断扩大, 使用量逐

年增加。据估计, 我国每年抗生素原料生产量约 21 万 t, 其中有 9.7 万 t (46.1%) 的抗生素用于畜牧养殖业, 而四环素类抗生素在我国兽药抗生素中生产和使用比例均为最大^[1-2]。而当四环素类抗生素药物随饲料进入动物消化道后, 只有少部分代谢反应生成无活性的产物, 有 30%~90% 以原形通过粪便和尿液排出体外, 对周围环境和人体健康造成潜在的危害^[3-4]。四环素类抗生素是我国畜禽粪便中经常检出的抗生素类群, 不同研究人员在北京、山东、上海、浙江、江苏、吉林、陕

收稿日期: 2014-12-28

基金项目: 家禽产业技术体系北京市创新团队专项资金 (CARS-PSTP); 北京市农林科学院科技创新能力建设专项 (KJCX2014302)

作者简介: 仇天雷 (1982—), 男, 新疆人, 硕士, 助理研究员, 主要从事废弃物生物处理技术方面的研究。

E-mail: qiutianlei@baafs.net.cn

* 通信作者: 王旭明 E-mail: wangxuming@baafs.net.cn

西、宁夏等全国不同地域的畜禽养殖场粪便中检出四环素类[四环素(Tetracycline, TC)、土霉素(Oxytetracycline, OTC)和金霉素(Chlortetracycline, CTC)]残留^[5-7]。目前研究表明,施用未处理粪便的土壤,土壤中抗性大肠菌群、抗性细菌和部分抗性基因的数量均有所升高,而对人和动物致病菌的抗性有可能通过细菌间基因横向转移而获得^[8-11]。

好氧堆肥对粪便中四环素类抗生素残留有较好的去除作用,而且不同的堆肥工艺对四环素去除也有影响。温度、初始含水率、时间对猪粪中 TC、OTC 和 CTC 生物降解均有影响^[12]。翻堆+机械通风能够快速提高猪粪堆肥的堆体温度,同时也能够提高 OTC、CTC 等去除效果^[13]。添加微生物菌剂也能促进四环素类抗生素的降解, BM 菌剂(一种芽孢杆菌生物复合制剂)的添加能够促进四环素类抗生素(TC、OTC、CTC)降解^[14];添加纤维素降解菌能够提高鸡粪堆肥中 CTC 和 OTC 的降解效果^[15-17]。目前研究多考察实验室水平堆肥过程中粪便的四环素类抗生素残留降解,对抗性细菌的研究较少。本研究通过四环素抗性细菌选择性计数方法,综合考察了实际堆肥生产情况下,添加菌剂对鸡粪堆肥过程中四环素类抗生素、致病菌及抗性细菌的影响。

1 材料与方法

1.1 堆肥原料及实验方法

堆肥实验于 2013 年 10 月至 2014 年 12 月在北京市怀柔区宝山有机肥厂进行。该厂以怀柔地区养鸡场的鸡粪为主要原料,并加入一定比例的羊粪或牛粪生产有机肥。本实验完全按照该厂的生产方式进行。将 12 m³ 鸡粪和 6 m³ 羊粪混匀后,平均分成两堆,体积为 3 m×2 m×1.5 m。实验组(CA)接种自制菌剂(接种量为 0.3%),对照组(CK)不接种菌剂。待堆温升至 50 ℃后每隔 1 d 翻堆一次,进入二次腐熟期后停止翻堆。前 25 d 为一次堆肥期,第 25~50 d 为二次堆肥期,第 50~110 d 是储藏期。自制菌剂主要菌种为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*),两种发酵液按 1:1(V:V)混合后,用草

炭土进行吸附。原料混合后的基本性质见表 1。

1.2 样品采集及检测方法

在堆肥的第 1、8、17、47(二次堆肥)、110 d(储藏期),分 3 点取样各 500 g 后在匀质袋中混合均匀,在 24 h 内检测其总菌数及抗性细菌数,按四分法取样 100 g 于-80 ℃保藏用于抗生素检测,剩余样品风干后检测其他各项指标。

采用便携式温度计测定堆体温度,每次选取堆体的不同位置和深度共 5 个点测定并取平均值。采用烘干法测定物料含水率。用蒸馏水按 1:10(W:V)稀释堆肥样品,200 r·min⁻¹ 条件下,摇床振荡混匀 1 h,然后 8000 r·min⁻¹ 离心,取上清测定 pH 及电导率。有机质、总氮、磷、钾和总养分的检测方法参照有机肥料标准 NY 525—2002。

抗生素测定方法:取经冷冻干燥后的堆肥样品 0.5 g,经超声萃取提取抗生素,通过固相萃取进一步纯化样品,后经超高压液相色谱-质谱联用仪(UPLC-MS/MS)检测^[7]。色谱柱 ACQUITY UPLC BEH C18 柱(50×2.1 mm, 1.7 μm),柱温 40 ℃;样品室温度 10 ℃;样品进样体积 5 μL;流动相 A 为 0.1%甲酸水,流动相 B 为甲醇(A:B=90:10),流速为 0.35 mL·min⁻¹。质谱条件(表 2):电喷雾电离离子源(ESI);毛细管电压 ESI+ 3.5 kV, ESI-3.0 kV;氮气流量 700 L·h⁻¹;雾化气温度 400 ℃;离子源温度 150 ℃;锥孔气流速 30 L·h⁻¹;碰撞气流速 0.15 mL·min⁻¹;扫描模式为多反应监测扫描模式(Multi reaction monitor, MRM)。在 1 g 粪便样品中添加 100 μg·kg⁻¹ 的混合标准溶液,每个添加样取 4

表 2 四环素类抗生素的质谱检测条件

Table 2 MRM parameters for antibiotics

抗生素 Antibiotic	离子对 Quantitative and quantitative ion pairs/m·z ⁻¹	锥孔电压 Cone voltage/ V	碰撞能量 Collision voltage/eV	检测下限 Detection limit/μg·kg ⁻¹
TC	445.12>410.04 445.12>427.25	22	28、18	12.5
OTC	461.18>426.16 461.18>443.31	24	24、16	13.3
CTC	479.18>443.99 479.18>461.99	28	32、26	13.6

表 1 堆肥原料基本性质

Table 1 Physical and chemical properties of manures for composting

项目	四环素 TC/μg·kg ⁻¹	土霉素 OTC/μg·kg ⁻¹	有机碳 Org. C/%	全氮 TN/%	全磷 TP/%	全钾 TK/%	总养分 Total nutrient/%	C/N
对照组 CK	21	76	20.2	1.3	2.7	1.47	5.5	15.5
实验组 CA	21	82	23.1	1.47	2.43	1.62	5.5	15.7

个平行,按上述方法,TC、OTC 和 CTC 的加标回收率分别为 (110.8 ± 9.97) 、 (81.9 ± 8.63) 、 $(97.5\pm 6.75)\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

微生物计数方法:参照 GB 20287—2006,取新鲜堆肥样品 10 g 加入 100 mL 无菌水中,在旋转式摇床上 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 充分振荡 30 min,静置 20 min,用无菌移液器分别吸取 5 mL 上述母液,加入 45 mL 无菌水中,按 1:10 进行系列稀释,每个样品取 3 个连续的适宜稀释度,吸取不同稀释度的悬液 0.1 mL,加入对应选择培养基,并涂匀培养,每个梯度设两个重复。总菌数(Total Bacteria Counts, TBC)使用营养琼脂培养基 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h,大肠菌群采用伊红美兰琼脂(EMB) $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,沙门氏菌采用硫酸铋琼脂 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h,四环素抗性菌计数分别在对应培养基中添加终浓度为 $16\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TC^[18]。

2 结果与讨论

2.1 菌剂添加对堆体温度变化影响

由于堆肥时间在秋冬季节,除起始 5 d 外,环境温度在 $10\sim 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 间小幅变动,堆肥前期由于降雨影响,使堆肥升温过程有反复,实验组在 10 d 内温度上升到 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上,并维持到第 23 d,第 25 d 后进入二次堆肥期,第 47 d 后温度降低到 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下(图 1 未显示)。在同样的基质及实验条件下,添加菌剂的实验组温度整体高于对照组($P<0.05$),且其高温期温度也明显高于对照,说明 0.3% 的该型菌剂添加量能够促进堆肥升温及提高实际堆肥温度。

2.2 堆体理化性质变化

堆肥过程中,物理想化性质的变化如表 3 所示。肥料的含水率是考察堆肥腐熟程度的指标之一,本实验中堆肥含水率随着堆肥过程的延长而逐渐下降。由

于实验组堆体的温度一直高于对照组,更有利于水分的蒸发,在整个高温期含水率都略低于对照组。另一方面,由于家禽的消化道短,饲料中大量的蛋白质会未经充分的消化而排出体外,鸡粪中蛋白质较牛粪和猪粪要高,以鸡粪为原料的堆肥过程会在蛋白质降解过程中释放氨,使堆体的 pH 升高。本实验中由于菌剂中含有蛋白降解功能的芽孢杆菌,使实验组的 pH 较对照组变化大($5.86\sim 8.66$)。细菌总数整体的变化趋势是随着温度的持续升高逐渐减小,至储藏期后有缓慢的回升。

表 3 堆肥物料性质

Table 3 Characteristics of composting materials

堆肥时间 Time/d	样品 Sample	含水率 Water content/%	pH	电导率 EC/ $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$	细菌总数 TBC/ $\lg\text{ CFU}\cdot\text{g}^{-1}$
0	实验组 CA	37.3	8.36	10.44	8.72
	对照组 CK	40.5	8.26	9.64	8.71
8	实验组 CA	36.1	8.02	16.53	7.99
	对照组 CK	38.4	8.26	17.58	8.28
17	实验组 CA	30.1	8.66	17.86	7.42
	对照组 CK	32.7	8.51	17.23	8.03
47	实验组 CA	24.7	8.66	15.65	7.27
	对照组 CK	23.3	8.33	15.63	9.26

2.3 四环素类抗生素降解规律

堆肥起始阶段,原料中含有四环素和土霉素两种抗生素,均未检测到金霉素。随着堆肥温度的升高和时间的延长,两种抗生素均呈现不同程度的降解(图 2)。四环素的降解在实验组与对照组的区别不大,都在 17 d 后降解至检测限以下。土霉素在实验组的堆肥中降解效果明显,从起始的 $76\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,经过 47 d 浓度降解至检测限以下($13.3\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。这与 Osman Arikan 等^[19]在牛粪中添加稻草等辅料堆肥效果相类似,表明提高堆体温度有利于土霉素的降解。而土霉素在对照组堆肥中降解效果并不明显,至 110 d 仍保持在 $70\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 左右,与原料中的初始浓度无显著性差异($P>0.05$)。这与张树清等^[14]在鸡粪堆肥中添加 BM 菌剂(一种芽孢杆菌复合菌剂)的效果相似,该研究也证实四环素的降解率大于土霉素,且添加菌剂堆体的降解率也高于对照组,说明堆肥菌剂的添加有利于四环素和土霉素的降解。

2.4 致病菌消减

经检测可知,堆肥原料鸡粪中含有沙门氏菌(*Salmonella*)和大肠菌群(coliform),而且两种病原菌中都含有一定比例的四环素抗性菌,原料鸡粪中沙门

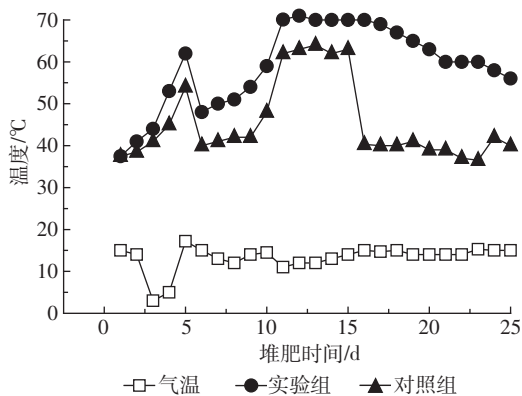


图 1 堆肥温度变化

Figure 1 Dynamics of manure temperature during composting

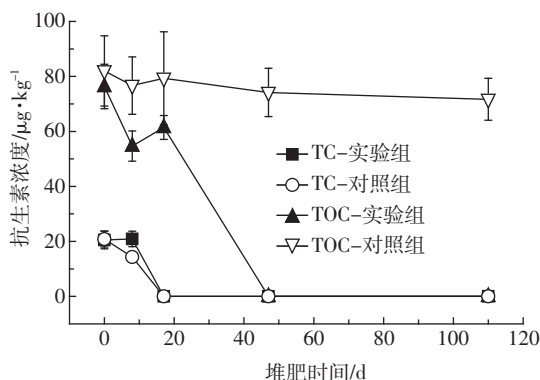


图2 堆肥中抗生素浓度变化

Figure 2 Extractable concentrations of TC and OTC during 110-day experiment

氏菌为 $5.4 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$, 抗四环素沙门氏菌为 $4.52 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$, 占总沙门氏菌的 16.7%(图 3)。大肠菌群数量为 $6.5 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$, 抗四环素的大肠菌群数量为 $6.16 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$, 占大肠菌群的 45.46%(图 4), 与 Cortney Mille 等^[20]检测美国有机肥中大肠菌群结果近似($1 \sim 6 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$)。沙门氏菌无论在对照组还是实验

组,在堆肥第 8 d 就检测不出,而大肠菌群能持续检出,直到二次堆肥末期(第 47 d)。随着堆肥进程,两个堆体中四环素抗性的大肠菌群数量和相对比例均出现下降,说明堆肥高温既能杀灭大肠菌群,也能消除四环素抗性的大肠菌群。

2.5 总菌数及四环素抗性细菌变化

总菌数的变化如图 5 所示。堆肥初期,菌数随着堆肥温度升高而迅速减少,此时由于实验组添加菌剂使堆温高于对照组,微生物减少速度也高于对照组,与荧光定量 PCR 计算的堆肥未培养细菌的绝对数量变化结果相类似^[21]。经过二次堆肥后(第 47 d),实验组菌数减少,而对照组菌数明显增加,说明对照组中温微生物利用高温阶段未降解的有机物迅速繁殖。在四环素抗性细菌方面,实验组中四环素抗性细菌出现先下降再缓慢上升的趋势(图 6),而对照组四环素抗性细菌一直处于下降趋势,两者原料和成品肥料间的抗性细菌数量总体呈现下降趋势(图 7),分别相差 $1.41 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ (实验组)和 $1.608 \lg \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ (对照

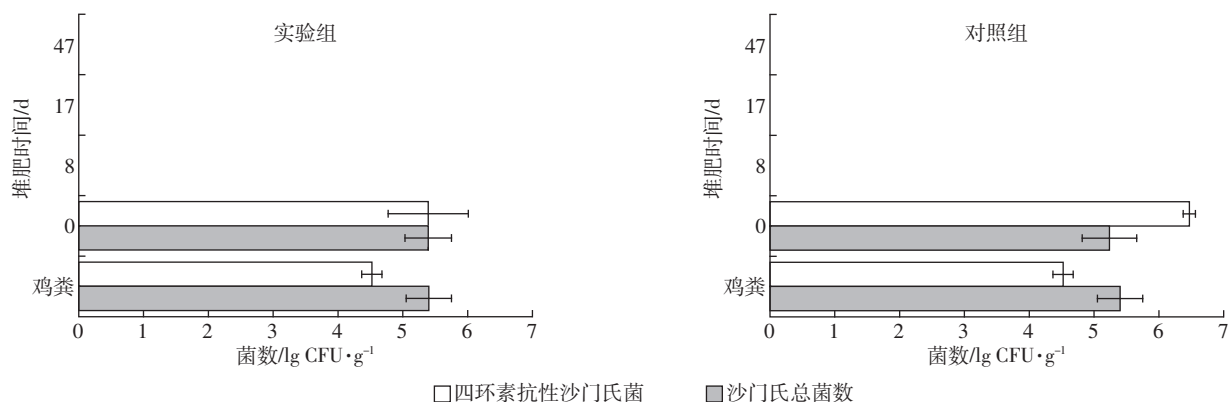


图3 堆肥中沙门氏菌变化

Figure 3 Dynamics of *Salmonella* population in two composting treatments

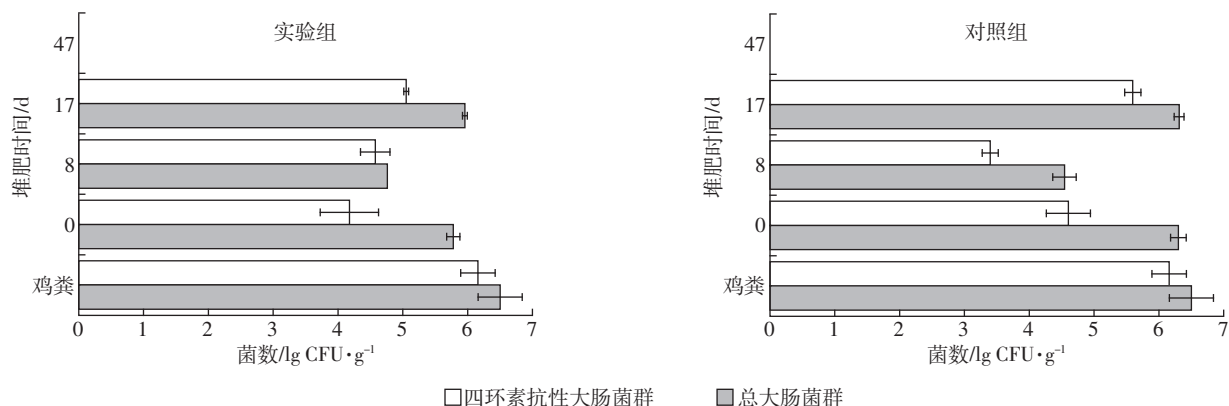


图4 堆肥中大肠菌群变化

Figure 4 Dynamics of coliform population in two composting treatments

组),而抗性菌所占比例分别为 4.00%(实验组)和 1.17%(对照组),均高于原料的 0.40%(实验组)和 0.39%(对照组)。虽然升温有利于抗生素的消减,但含有四环素抗性细菌对高温具有更好的耐受性,从而导致实验组第 19 d 时四环素抗性菌的比例得到明显提高(1.3%至 9.6%),而高温期过后,四环素抗性细菌竞争不过没有抗性质粒的细菌,所以虽然抗性细菌的数量得到回升,但所占比例大幅下降(4.0%)。四环素抗性细菌的这种先升高再降低的现象,与 Selvam 等^[21]研究堆肥中四环素抗性基因变化规律类似。以上结果说明,堆肥成品与初始原料相比,其中的四环素抗性细菌比例呈增长趋势,与废水处理中出水与进水的四环素抗性细菌比例变化情况相类似^[18]。

畜禽养殖粪便堆肥化处理有利于消减养殖业对环境的抗生素污染,而四环素抗性基因在堆肥中变化规律有待进一步研究,并且因为有机肥最终由农田、果园等土壤所消纳,所以有必要进一步研究四环素抗性细菌及其抗性基因在种植过程中的迁移规律。

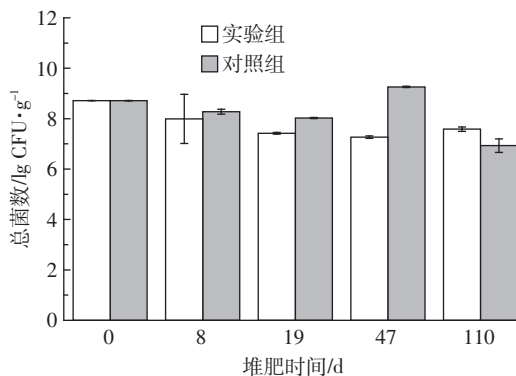


图 5 堆肥过程中细菌总数变化

Figure 5 Dynamics of total bacterial population in two composting treatments

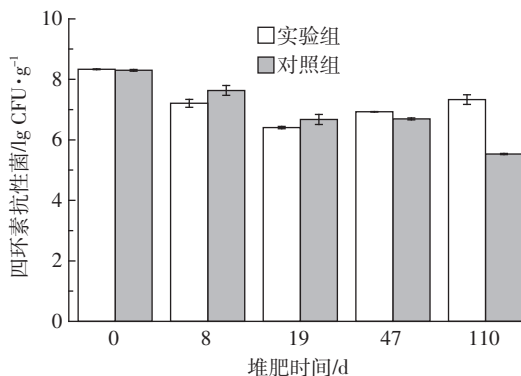


图 6 堆肥过程中四环素抗性细菌总数变化

Figure 6 Dynamics of total TC-resistant bacterial population in two composting treatments

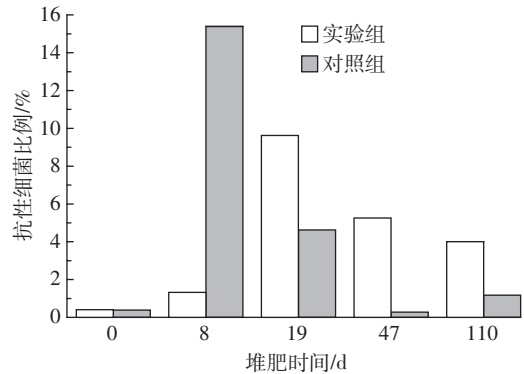


图 7 堆肥过程中四环素抗性细菌比例变化

Figure 7 Proportion of TC-resistant bacteria to total bacteria in two composting treatments

3 结论

(1)菌剂的添加有利于堆肥升温,并且能够提高土霉素在堆肥中的降解效率。

(2)经过二次堆肥能够有效杀灭致病菌(沙门氏菌和大肠菌群),并且能够消减四环素抗性的致病菌。

(3)堆肥处理能够有效消减四环素抗性菌的绝对数量,添加菌剂可能导致后期抗性细菌数量的增长。

(4)堆肥过程中,抗性细菌比例呈现先增加后下降的趋势,堆肥成品中的四环素抗性菌比例高于原料。

参考文献:

- [1] 王云鹏, 马 越. 养殖业抗生素的使用及其潜在危害[J]. 中国抗生素杂志, 2008, 33(9):519-522.
WANG Yun-peng, MA Yue. Potential public hazard of using antibiotics in livestock industry[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2008, 33(9): 519-522.
- [2] 王 瑞, 魏源送. 畜禽粪便中残留四环素类抗生素和重金属的污染特征及其控制[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(9):1705-1719.
WANG Rui, WEI Yuan-song. Pollution and control of tetracyclines and heavy metals residues in animal manure[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(9): 1705-1719.
- [3] Sarmah A, Meyer M, Boxall B. 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.
- [4] Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment[J]. *Ecological Indicators*, 2008, 8(1):1-13.
- [5] 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 live-stock and poultry feedlots[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(6):822-829.
- [6] 单英杰, 章明奎. 不同来源畜禽粪的养分和污染物组成[J]. 中国生态

- 农业学报, 2012, 20(1):80-87.
- SHAN Ying-jie, ZHANG Ming-kui. Contents of nutrient elements and pollutants in different sources of animal manures[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2012, 20(1):80-87.
- [7] 万位宁, 罗义, 居学海, 等. 固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法同时检测禽畜粪便中多种抗生素残留[J]. *分析化学*, 2013, 41(7):993-999.
- WAN Wei-ning, LUO Yi, JU Xue-hai, et al. Simultaneous determination of residual antibiotics in livestock manure by solid phase extraction-ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2013, 41(7):993-999.
- [8] Yang Q X, Ren S W, Pan F, et al. Distribution of antibiotic-resistant bacteria in chicken manure and manure-fertilized vegetables[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, 21(2):1231-1241.
- [9] Marti R, Scott A, Tien Y C, et al. Impact of manure fertilization on the abundance of antibiotic-resistant bacteria and frequency of detection of antibiotic resistance genes in soil and on vegetables at harvest[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(18):5701-5709.
- [10] Byrne-Bailey K G, Gaze W H, Kay P, et al. Prevalence of sulfonamide resistance genes in bacterial isolates from manured agricultural soils and pig slurry in the United Kingdom[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(2):696-702.
- [11] 汪勇, 林先贵, 王一鸣, 等. 长期施用粪肥对农田土壤中细菌四环素抗性水平的影响[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(14):5944-5945, 5947.
- WANG Yong, LIN Xian-gui, WANG Yi-ming, et al. Effects of long term application of manure on bacter resistance level to tetracycline in farmland soil[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(14):5944-5945, 5947.
- [12] 沈颖, 魏源送, 郑嘉熹, 等. 猪粪中四环素类抗生素残留物的生物降解[J]. *过程工程学报*, 2009, 9(5):962-967.
- SHEN Ying, WEI Yuan-song, ZHENG Jia-xi, et al. Biodegradation of tetracycline antibiotics residues in swine manure[J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2009, 9(5):962-967.
- [13] 潘寻, 强志民, 贲伟伟. 高温堆肥对猪粪中多类抗生素的去除效果[J]. *生态与农村环境学报*, 2013, 29(1):64-69.
- PAN Xun, QIANG Zhi-ming, BEN Wei-wei. Effects of high-temperature composting on degradation of antibiotics in swine manure[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2013, 29(1):64-69.
- [14] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 等. 高温堆肥对畜禽粪中抗生素降解和重金属钝化的作用[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(2):337-343.
- ZHANG Shu-qing, ZHANG Fu-dao, LIU Xiu-mei, et al. Degradation of antibiotics and passivation of heavy metals during thermophilic composting process[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(2):337-343.
- [15] 秦莉, 高茹英, 徐亚平, 等. 外源复合菌系对堆肥纤维素和金霉素降解效果的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(4):820-823.
- QIN Li, GAO Ru-ying, XU Ya-ping, et al. Decomposition effect of additive of composite microbial system on cellulose and chlortetracycline in composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(4):820-823.
- [16] 沈东升, 何虹蓁, 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-shen, 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.
- [17] 秦莉, 高茹英, 徐亚平, 等. 堆肥中高效降解纤维素及金霉素和土霉素的复合菌系的构建[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(3):465-470.
- QIN Li, GAO Ru-ying, XU Ya-ping, et al. Construction of a high-efficiency complex microbial system to degrade cellulose and chlortetracycline and oxytetracycline in compost[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(3):465-470.
- [18] Novo A, André S, Viana P, et al. Antibiotic resistance, antimicrobial residues and bacterial community composition in urban wastewater[J]. *Water Research*, 2013, 47(5):1875-1887.
- [19] Arikian O, Mulbry W, Ingram D, et al. Minimally managed composting of beef manure at the pilot scale: Effect of manure pile construction on pile temperature profiles and on the fate of oxytetracycline and chlortetracycline[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(19):4447-4453.
- [20] Miller C, Heringa S, Kim J, et al. Analyzing indicator microorganisms, antibiotic resistant *Escherichia coli* and regrowth potential of foodborne pathogens in various organic fertilizers[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2013, 10(6):520-527.
- [21] Selvam A, Xu D L, Zhao Z Y, 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.