

天津市畜禽粪污处理工艺对抗生素抗性基因的去除效果

闫雷, 丁工尧, 杨凤霞, 阮蓉, 韩秉君, 支苏丽, 张克强

引用本文:

闫雷, 丁工尧, 杨凤霞, 等. 天津市畜禽粪污处理工艺对抗生素抗性基因的去除效果[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(9): 2021-2030.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1280>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

华北地区不同规模畜禽养殖场粪便中抗生素抗性基因污染特征

邹威, 金彩霞, 魏闪, RamasamyRajeshKumar, 周启星

农业环境科学学报. 2020, 39(11): 2640-2652 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0403>

三类抗生素在两种典型猪场废水处理工艺中的去除效果

周婧, 支苏丽, 宫祥静, 杨凤霞, 谷艳茹, 丁飞飞, 张克强

农业环境科学学报. 2019, 38(2): 430-438 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1092>

污水深度处理工艺对抗生素抗性菌和抗性基因去除研究进展

张治国, 李斌绪, 李娜, 许坤, 朱昌雄, 李红娜, 吕锡武

农业环境科学学报. 2018, 37(10): 2091-2100 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0098>

天津市家庭养殖环境中抗生素污染特征与风险评估

阮蓉, 张克强, 杜连柱, 丁工尧, 王素英, 支苏丽

农业环境科学学报. 2021, 40(1): 202-210 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0694>

粪源环丙沙星对潮土中抗生素抗性基因的影响

常旭卉, 贾书刚, 王淑平, 周志强

农业环境科学学报. 2018, 37(12): 2727-2737 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0401>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

闫雷, 丁工尧, 杨凤霞, 等. 天津市畜禽粪污处理工艺对抗生素抗性基因的去除效果[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(9): 2021–2030.

YAN L, DING G Y, YANG F X, et al. Efficiency of the removal of antibiotic resistance genes in livestock and poultry manure by treatment processes in the Tianjin City, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(9): 2021–2030.



开放科学 OSID

天津市畜禽粪污处理工艺对抗生素抗性基因的去除效果

闫雷¹, 丁工尧¹, 杨凤霞², 阮蓉³, 韩秉君², 支苏丽^{2*}, 张克强^{2*}

(1. 东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150030; 2. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191; 3. 天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134)

摘要:为了探明养殖场粪污处理工艺对抗生素抗性基因(ARGs)的去除效果,选取天津市不同畜种且具有典型处理工艺的养殖场为研究对象,运用实时荧光定量PCR技术,对养殖场粪便和污水样品中5类13种ARGs和*int11*进行检测。结果表明:目标ARGs和*int11*在畜禽粪便和污水中普遍存在(10^{-7} ~ 10^{-1}),猪、鸡和牛3种养殖场粪便中喹诺酮类ARGs的相对丰度最低(10^{-7} ~ 10^{-5}),四环素类和磺胺类ARGs的相对丰度较高,分别为 10^{-4} ~ 10^{-1} 和 10^{-4} ~ 10^{-2} ,猪场污水中13种ARGs和*int11*的相对丰度(10^{-3} ~ 10^{-2})普遍高于牛场(10^{-6} ~ 10^{-4})。对于畜禽污水,猪场和牛场的处理工艺可以去除大部分ARGs,尤其是四环素类ARGs,相对丰度(Ig值)下降了0~2.09,此外,猪场污水处理工艺中厌氧发酵单元和贮存池单元对ARGs的去除效果较好,牛场污水处理工艺中调节池单元对ARGs的去除效果较好;对于畜禽粪便,异位发酵床、堆肥和无菌晾晒处理均能去除大部分目标ARGs。猪粪在异位发酵床处理后,10种ARGs的相对丰度下降,其Ig值平均降低了1.11;牛粪和鸡粪在堆肥后,分别有8种和9种ARGs的相对丰度下降,其Ig值平均降低了0.83和1.32;牛粪在灭菌晾晒处理后,5种ARGs的相对丰度下降,其Ig值平均降低了1.12。磺胺类ARGs在以上处理工艺中呈现升高趋势,因此,应该对磺胺类ARGs引起的污染予以重视。

关键词:抗生素抗性基因;相对丰度;畜禽粪污;处理工艺;去除效果

中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2021)09-2021-10 doi:10.11654/jaes.2020-1280

Efficiency of the removal of antibiotic resistance genes in livestock and poultry manure by treatment processes in the Tianjin City, China

YAN Lei¹, DING Gongyao¹, YANG Fengxia², RUAN Rong³, HAN Bingjun², ZHI Suli^{2*}, ZHANG Keqiang^{2*}

(1. College of Resources and Environment Northeast Agricultural University, Harbin 150036, China; 2. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China; 3. College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

Abstract: In order to investigate the removal efficiency of antibiotic resistance gene (ARGs) from livestock and poultry manure by treatment processes, different livestock farms in Tianjin City that have typical treatment processes were selected to detect of 13 ARGs (comprising 5 types) and *int11* in feces and sewage using real-time fluorescence based quantitative PCR. The results revealed that the

收稿日期:2020-11-06 录用日期:2021-03-18

作者简介:闫雷(1974—),女,教授,主要从事农业环境保护研究。E-mail:yanlei_74@163.com

*通信作者:张克强 E-mail:keqiangzhang68@163.com; 支苏丽 E-mail:zhisuli87@163.com

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2020-jbkyywf-zsl); 国家自然科学基金项目(41807399,41807474); 农业部产地环境污染防控重点实验室/天津市农业环境与农产品安全重点实验室开放基金课题“四环素类抗生素的土壤环境行为及生态毒性研究”

Project supported: Fundamental Research Funds for the Central Public Welfare Research Institute (2020-jbkyywf-zsl); The National Natural Science Foundation of China (41807399, 41807474); Key Laboratory of Environmental Pollution Prevention and Control in Producing Area of Ministry of Agriculture / Tianjin Key Laboratory of Agricultural Environment and Agricultural Product Safety Open Fund Project "Study on Soil Environmental Behavior and Ecological Toxicity of Tetracycline Antibiotics"

target ARGs and *int11* were highly prevalent in feces and sewage (10^{-7} ~ 10^{-1}). Among these, the relative abundance of quinolone ARGs was lowest (10^{-7} ~ 10^{-5}) in feces on the pig, chicken and cattle farms, and the levels of tetracycline and sulfonamide ARGs contamination were relatively higher, with relative abundances of 10^{-4} ~ 10^{-1} and 10^{-4} ~ 10^{-2} , respectively. The relative abundances of the 13 ARGs and *int11* in pig farm sewage (10^{-3} ~ 10^{-2}) were generally higher than those in cattle farm sewage (10^{-6} ~ 10^{-4}). For ARGs in sewage, the treatment processes on pig and cattle farms could remove most ARGs, particularly tetracycline ARGs, with relative abundance (lgs) reduced by 0~2.09. In addition, the anaerobic fermentation and storage units used for pig farm wastewater treatment processes showed better efficiency for the removal of ARGs, whereas adjustment units were more efficient in the removal of ARGs on cattle farms. With respect to livestock and poultry feces, the ectopic fermentation bed, composting, and aseptic drying treatments could remove most of the target ARGs. Treatment of pig manure by ectopic fermentation beds could reduce the relative abundance (lgs) of 10 ARGs, with an average reduction of 1.11, whereas after the composting of cattle and chicken manure, the relative abundance (lgs) of 8 and 9 ARGs was reduced by 0.83 and 1.32, respectively. Furthermore, after sterilization and drying, the relative abundances (lgs) of 5 ARGs in cattle manure was reduced by 1.12 on average. However, it is worth noting that the levels of sulfonamide ARGs showed an increasing trend after these treatment processes, and therefore future studies should focus on the contamination caused by sulfonamide resistance genes.

Keywords: antibiotic resistance gene; relative abundance; livestock and poultry manure; treatment process; removal efficiency

由于抗生素具有提高畜禽生长速度、预防和治疗畜禽疾病的作用,因此其在畜禽养殖场中的使用较为广泛,据专家统计,我国用于畜禽养殖业方面的抗生素占全国抗生素总使用量的52%^[1]。但大量与长期使用抗生素会增加畜禽肠道中耐药菌的产生与累积,耐药菌与粪便共同进入环境,使畜禽粪便成为环境中抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)的重要来源^[2]。此外,由于ARGs不仅在垂直转移方式上可亲代传递,还具有水平转移的能力,可在养殖场周边的环境介质微生物中传播和扩散^[3],甚至会扩散到致使人类患病的细菌中,从而威胁到人类健康^[4]。已有很多学者对不同畜禽养殖场及周边环境中的ARGs污染状况进行了研究,研究主要集中在畜禽养殖场粪便、污水以及粪肥还田后土壤中ARGs的污染丰度和种类方面。例如,闫书海^[5]对浙江和杭州不同规模养殖场(猪、鸡和鸭)的粪便和污水中2类典型ARGs进行检测,发现四环素类的*tetA*、*tetG*、*tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetW*与磺胺类的*sul1*、*sul2*在所有样品中均有检出,且磺胺类ARGs的相对丰度普遍高于四环素类;彭晶等^[6]在施粪肥后的土壤中检出了大环内酯类中的*erm35*、*ermB*、*ermT*、*ermX*、*ermF*和*erm36*,其中丰度最高和最低的分别为*ermB*和*erm36*;MCKINNEY等^[7]在猪场和鸡场氧化塘沉积物中检测出磺胺类ARGs(*sul1*和*sul2*)和四环素类ARGs(*tetO*和*tetW*),且含量为猪场高于鸡场;YUAN等^[8]在武汉畜禽养殖场的废水中检测到了四环素类*tetA*、磺胺类*sul1*以及喹诺酮类*oqxB*等常见的ARGs。

综上所述,目前国内外研究主要聚焦于ARGs的污染水平和种类等污染特征分析。然而,随着集约化

养殖场的发展和在环保要求下,畜禽养殖场采用的不同粪污处理工艺,粪污中污染物的转归和降解日益受到重视,但是这些粪污处理工艺对ARGs的去除效果仍不太清楚,尤其是完全针对畜禽养殖场粪便和污水不同处理工艺中ARGs的赋存规律与去除效果的研究十分有限。因此,本文以天津市猪场、牛场、鸡场中典型粪污处理工艺为研究对象,研究目的:(1)分析不同畜禽养殖场新鲜粪污中ARGs的总体污染特征;(2)探讨不同养殖场污水处理工艺对ARGs的总体去除效果,以及不同处理单元中ARGs的赋存规律;(3)比较不同粪便处理工艺对ARGs的去除效果,以及关键环节中ARGs的赋存规律。从而为控制我国畜禽养殖场中ARGs污染与减少周边环境耐药性传播提供科学依据,为养殖场粪污中ARGs的消减提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 养殖场的基本信息

本次试验选取天津市具有较为常见、通用和完整的粪污处理工艺的3类畜禽养殖场为研究对象,其中牛场粪便的处理方式主要是堆肥和灭菌晾晒作垫料,两者基本原理均为好氧发酵,区别主要是灭菌作垫料处理是为了保护牛的健康增加灭菌流程;鸡场粪便的处理方式为堆肥;猪场使用异位发酵床对畜禽粪便进行处理,异位发酵床与堆肥基本原理均为好氧发酵,但异位发酵床中有芽孢杆菌、酵母菌和乳酸菌等多种菌株参与。牛场和猪场对污水的处理方式都主要以厌氧发酵为主。三家养殖场粪污处理工艺流程如图1所示。

牛场,猪场和鸡场的地理位置分别为39°14'29"N、117°34'12"E,39°21'31"N、117°46'01"E和39°44'33"N、117°14'18"E;存栏量分别为2 000、1 500头和600 000只;粪便日排放量分别为4 000、30 000 kg·d⁻¹和60 000 kg·d⁻¹,牛场和猪场污水日排放量分别为20 000 L·d⁻¹和72 000 L·d⁻¹。

1.2 样品的采集、运输和保存

试验样品采集于2019年7月上旬,采集的样品为畜禽新鲜粪污,以及各处理单元中粪污,具体采样点如图1所示。采集液体样品时,均设置多点采集,然后混合均匀为1份样品,连续采样3 d,作为每个采样点的3个平行样品,共计27个样品(猪场12个和牛场15个);固体样品为多点采集并混合为均一样品,不同采样点采集3个平行样品,共计45个样品(猪场9个、牛场15个和鸡场21个)。采集后的样品放到含有冰袋的白色泡沫箱中,低温储存,5 h内送到实验室-20℃的冰箱保存,等待处理。

1.3 样品的预处理

固体样品放入冷冻干燥机中去除水分,并将得到的干样磨碎,混合,过2 mm的网筛,液体样品过5 μm滤膜以去除漂浮的杂质。在提取DNA前,将样品

于-20℃冷冻储存。

1.4 基因组DNA的提取与PCR反应

试验使用的Fast DNA SPIN Kit for soil试剂盒购买于美国MP Biomedicals生物医药公司,对样品DNA的提取严格遵守试剂盒的操作指南,提取出DNA的纯度采用超微量紫外可见分光光度计检测。以目标DNA模板进行PCR检测,PCR反应体系为25 μL,包括12.5 μL 2×EasyTaq PCR SuperMix(0.1 U·μL⁻¹ Taq DNA Polymerase、2×PCR buffer、3 mmol·L⁻¹ MgCl₂和0.4 mmol·L⁻¹ dNTPs),前后端引物各0.5 μL(10 μmol·L⁻¹),0.5 μL DNA模板和11 μL ddH₂O。反应条件:95℃预变性5 min,95℃变性30 s,退火30 s后,72℃延伸30 s,共35个循环。基因引物的详细信息如表1所示。反应结束后,采用DNA凝胶电泳检测,观察条带是否有目的基因存在。

1.5 实时荧光定量(qPCR)检测

试验检测目标包含四环素类(*tetX*、*tetW*、*tetQ*、*tetO*和*tetL*)、磺胺类(*sul1*和*sul2*)、大环内酯类(*ermB*和*ermC*)、喹诺酮类(*oqxB*、*qnrB*和*qnrS*)、链霉素类(*strA*)抗性基因以及基因元件*int1*,PCR引物的详细信息如表1所示。qPCR的反应体系为20 μL:TB

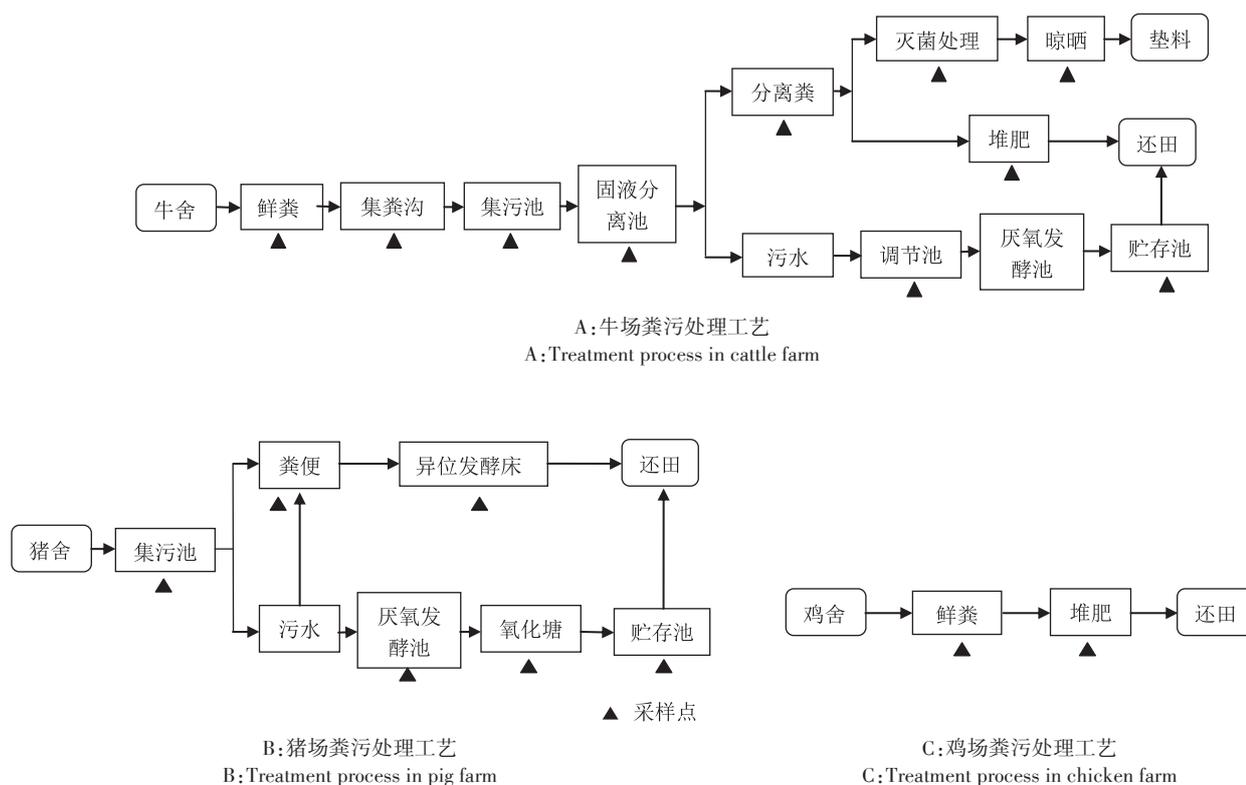


图1 三家养殖场粪污处理工艺流程

Figure 1 Manure treatment process flow of three farms

表1 PCR引物的详细信息
Table 1 The detail information of PCR primer

基因 Genes	引物序列(5'~3')Primer sequence(5'~3')	退火温度 Annealing temperature/°C	来源 Sources
<i>tetX</i>	F-CAATAATTGGTGGTGGACCC R-TTCTTACCTTGGACATCCCG	55	[9]
<i>tetW</i>	F-GAGAGCCTGCTATATGCCAGC R-GGGCGTATCCACAATGTTAAC	56	[10]
<i>tetQ</i>	F-AGAATCTGCTGTTTGCCAGTG R-CGGAGTGTCAATGATATTGCA	60	[11]
<i>tetO</i>	F-ACGGARAGTTTATTGTATAACC R-TGGCGTATCTATAATGTTGAC	46.8	[10]
<i>tetL</i>	F-TCGTTAGCGTGTGTCATTTC R-GTATCCCACCAATGTAGCCG	55	[12]
<i>sul1</i>	F-CGCACCGGAAACATCGCTGCAC R-TGAAAGTTCCGCCGCAAGGCTCG	60	[13]
<i>sul2</i>	F-TCCGGTGGAGGCCGGTATCTGG R-CGGGAATGCCATCTGCCTTGAG	60	[13]
<i>qnrS</i>	F-GCAAGTTCATTGAACAGGGT R-TCTAAACCGTCGAGTTCCGGCG	54	[14]
<i>qnrB</i>	F-GGMATHGAAATTCGCCACTG R-TTYGCBGYCGCCAGTCGAA	62	[11]
<i>oqxB</i>	F-TCCTGATCTCCATTAACGCCCA R-ACCGGAACCCATCTCGATGC	64	[15]
<i>ermC</i>	F-GAAATCGGCTCAGGAAAAGG R-TAGCAAACCCGATTTCCACG	57	[11]
<i>ermB</i>	F-CCGATACCGTTTACGAAAATTGG R-TACTTTGGCGTGTTCATTGC	57	[11]
<i>strA</i>	F-TCAATCCCGACTTCTTACCG R-CACCATGGCAAACAACCATA	60	[16]
<i>intI1</i>	F-CTGGATTTGATCAGGGCAGC R-ACATGCGGTGAAATCATCGTCCG	60	[17]
16S rRNA	F-CGGTGAATACGTTTCYCGG R-GGWTACCTTGTACGACTT	55	[9]

Green Premix Ex Taq 10.0 μL、前后端引物各 0.4 μL、ROX Reference Dye II 0.4 μL、ddH₂O 6.8 μL 和 DNA 模板(已稀释 10 倍)2 μL(对照以 ddH₂O 为模板), 3 个平行, 用 7500 实时荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems 美国)进行实时 qPCR 检测。qPCR 扩增过程: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 34 s, 40 个循环。在 60~95 °C 之间进行熔点曲线分析, 根据标准曲线^[9]计算出目标基因的拷贝数, 随后计算出目的基因的相对丰度(ARGs 拷贝数/16S rRNA 基因拷贝数)。抗性基因去除率计算公式:

$$\text{基因 } j \text{ 的去除率} = \lg(C_0^j/C_i^j)$$

式中: *j* 表示特定的基因; C_0^j 为基因 *j* 处理前的相对丰度; C_i^j 为基因 *j* 处理后的相对丰度。

1.6 数据分析

相对丰度、平均值、标准差和 lg 值在 Excel 2007 中计算; 使用 R 软件的 Pheatmap 制作热图; 堆积柱状图使用 Origin2017 绘制; 采样流程图使用 Word 绘制。

2 结果与讨论

2.1 不同畜禽养殖场原始粪污中 ARGs 的污染特征

新鲜粪污中 ARGs 的丰度和种类如图 2 所示, 13 种 ARGs 与 *intI1* 在被检测样品中全部检出, 这表明目标 ARGs 在畜禽养殖场粪污中普遍存在。值得注意的是, 在养殖场粪污的 5 类 ARGs 中, 喹诺酮类 ARGs 的相对丰度最低, 为 $10^{-7} \sim 10^{-5}$, 四环素类和磺胺类 ARGs 的相对丰度普遍较高, 分别为 $10^{-4} \sim 10^{-1}$ 和 $10^{-4} \sim$

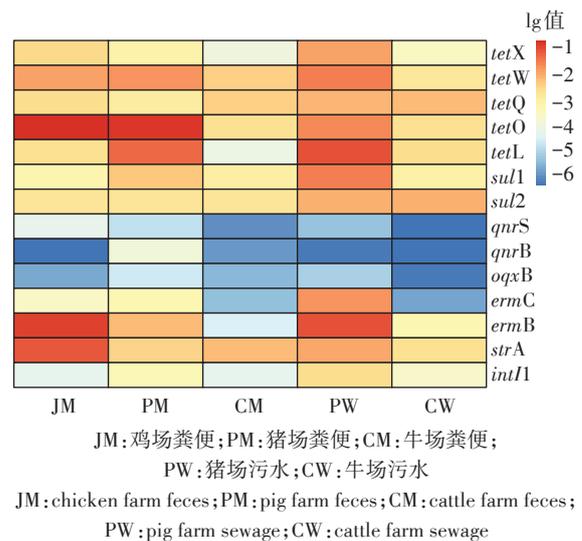


图2 鸡场、猪场和牛场原始粪污中 ARGs 的相对丰度
Figure 2 Relative abundance of ARGs in raw manure from chicken, pig and cattle farm

10^{-2} , 其原因可能是养殖场粪污中四环素和磺胺类抗生素残留水平较高。例如, 阮蓉等^[18]在检测天津市 20 家牛场、猪场和鸡场粪污中的抗生素残留情况后, 发现 3 种畜禽养殖场中四环素类抗生素污染水平较高, 这可能是导致四环素类 ARGs 污染水平较高的原因。对于不同畜禽粪便, 3 个畜种养殖场粪便中 ARGs 的污染特征有较大差异, 鸡场和猪场粪便中大环内酯类 ARGs 的相对丰度 ($10^{-4} \sim 10^{-2}$) 明显高于牛场 ($10^{-6} \sim 10^{-5}$); 鸡场和牛场中磺胺类 ARGs 的相对丰度 ($4.85 \times 10^{-4} \sim 1.36 \times 10^{-3}$) 低于猪场 ($1.36 \times 10^{-3} \sim 3.63 \times 10^{-3}$)。此外, 鸡场和猪场粪便中目标四环素类 ARGs 的相对丰

度普遍较高(10^{-4} ~ 10^{-1}),这与邹威等^[19]对华北地区鸡场和猪场粪便中 ARGs 的相对丰度比较后的结果相似,这可能与四环素类抗生素使用量大以及该类 ARGs 较高的水平扩散能力有关。猪场和牛场污水中 ARGs 的污染特征如图 2 中 PW 和 CW 所示,除喹诺酮类外,其他类 ARGs 污染水平普遍较高,这说明养殖污水同样是 ARGs 的储存库。值得注意的是,猪场污水中四环素类、磺胺类和大环内酯类 ARGs 的相对丰度(10^{-3} ~ 10^{-2})明显高于牛场的(10^{-6} ~ 10^{-4}),这与 ZHANG 等^[20]对猪场和牛场污水中 ARGs 丰度的对比结果一致。

2.2 猪场和牛场污水处理工艺对 ARGs 的去除效果

2.2.1 猪场污水中 ARGs 的去除效果

猪场污水各处理单元中 13 种 ARGs 和基因元件

int11 的相对丰度如图 3(A)所示,除在氧化塘中未检出 *qnrB* 外,其余 ARGs 均在所有处理单元中检出。5 类目标 ARGs 中,喹诺酮类 ARGs 的相对丰度最低,为 4.31×10^{-7} ~ 9.61×10^{-5} ,其余 ARGs 的相对丰度普遍较高,其中四环素类 ARGs 中 *tetO* 和 *tetL* (10^{-3} ~ 10^{-2})普遍高于 *tetX* 和 *tetQ* (10^{-4} ~ 10^{-3}),大环内酯类 *ermB* 的相对丰度(10^{-3} ~ 10^{-2})普遍高于 *ermC* (10^{-4} ~ 10^{-2})。

表 2 为猪场污水中 13 种 ARGs 及基因元件 *int11* 在各处理单元中的去除效果和总去除效果。首先分析猪场污水处理系统对 ARGs 的总体去除情况,其中 *tetX*、*tetW*、*tetQ*、*tetO*、*tetL*、*ermC*、*ermB* 和 *sul1* 总体呈现正去除效果,相对丰度(lg 值)下降了 0.06(*tetO*)~1.53(*tetW*),而 *sul2*、*qnrS*、*qnrB*、*oqxB* 和 *strA* 的相对丰度(lg 值)上升了 0.03(*strA*)~1.19(*qnrB*)。CHEN 等^[21]发现

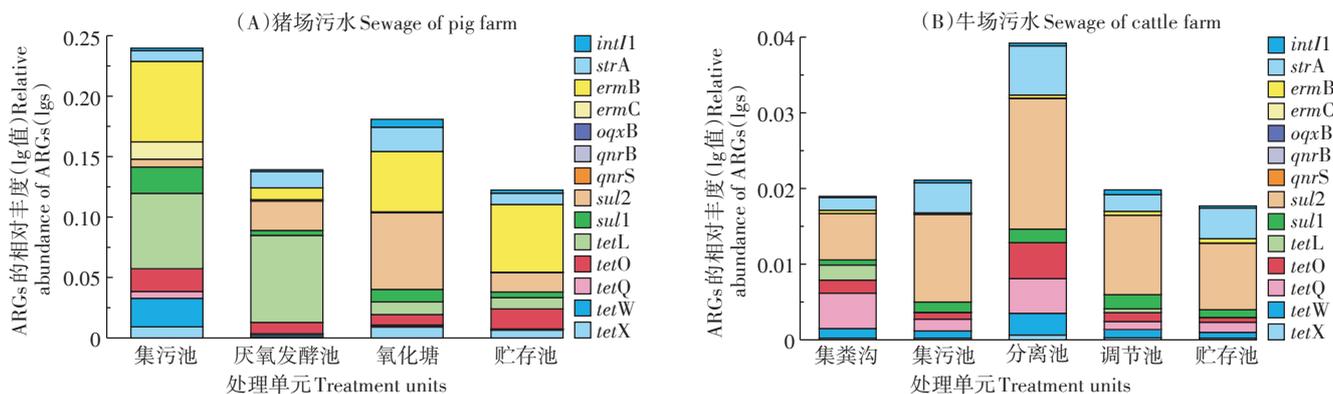


图 3 不同污水处理单元中 ARGs 的相对丰度

Figure 3 The relative abundance of ARGs in sewage from different treatment units

表 2 猪场污水中 ARGs 在不同处理单元中的去除效果(lg 值)

Table 2 Removal effect of ARGs in pig farm sewage in different treatment units (lgs)

抗性基因 ARGs	厌氧发酵池 Anaerobic fermentation pool	氧化塘 Oxidation pond	贮存池 Storage tank	总去除效果 Total removal effect
<i>tetX</i>	0.98±0.05	-0.97±0.15	0.14±0.07	0.15±0.07
<i>tetW</i>	1.12±0.10	0.20±0.15	0.21±0.17	1.53±0.13
<i>tetQ</i>	0.88±0.34	0.06±0.04	0.50±0.16	1.44±0.36
<i>tetO</i>	0.30±0.01	0.04±0.01	-0.29±0.16	0.06±0.03
<i>tetL</i>	-0.06±0.03	0.84±0.10	0.05±0.02	0.83±0.12
<i>sul1</i>	0.73±0.02	-0.41±0.14	0.34±0.18	0.67±0.06
<i>sul2</i>	-0.57±0.03	-0.42±0.13	0.59±0.18	-0.40±0.02
<i>qnrS</i>	-0.15±0.000 2	-0.85±0.29	0.53±0.32	-0.47±0.03
<i>qnrB</i>	-0.48±0.01	—	—	-1.19±0.08
<i>oxqB</i>	-0.13±0.06	-1.05±0.04	0.59±0.11	-0.58±0.01
<i>ermC</i>	1.08±0.02	0.25±0.14	0.39±0.17	1.73±0.05
<i>ermB</i>	0.83±0.07	-0.71±0.16	-0.05±0.003	0.08±0.06
<i>strA</i>	-0.19±0.02	-0.17±0.14	0.34±0.17	-0.03±0.01
<i>int11</i>	0.15±0.04	-0.65±0.15	0.41±0.20	-0.09±0.02

注:“—”表示 ARGs 未检出。下同。

Note:“—”, ARGs not detected. The same below.

厌氧发酵处理对江苏省猪场污水中四环素类 *tetW*、*tetQ*、*tetO* 与大环内酯类 *ermC*、*ermB* 有良好的去除效果,同时未能有效去除喹诺酮类 *qnrS*、*oqxB* 与磺胺类 *sul1*、*sul2*,与本试验的结果一致。*int1* 相对丰度(lg值)增加了0.09。此外,不同处理单元对 ARGs 的去除效果不同,ARGs 去除效果最好的主要集中在厌氧发酵池和贮存池,其中贮存池为该处理工艺的最后一环,污水储存的时间较长,可继续进行厌氧或兼性厌氧等发酵反应,此外,污水中微生物群落的变化,同样可能对 ARGs 产生一定的降解作用。*tetX*、*tetW*、*tetQ*、*tetO*、*sul1*、*ermC* 和 *ermB* 在厌氧发酵单元中降低较多,其中 *tetW* 的去除效果最好,相对丰度(lg值)下降了1.12;*tetQ*、*sul2*、*qnrS*、*oqxB* 和 *ermC* 的相对丰度在贮存池单元中下降较多,其中 *sul2* 和 *oqxB* 的去除效果最好,相对丰度(lg值)均下降了0.59。

2.2.2 猪场污水中 ARGs 的去除效果

如图3(B)所示,在对猪场污水中13种 ARGs 及基因元件 *int1* 检测后发现,除了 *oqxB* 和 *ermB* 外,其余目标 ARGs 在所有处理单元中均有检出,其中磺胺类 ARGs 相对丰度最高,为 $6.83 \times 10^{-4} \sim 1.73 \times 10^{-2}$;喹诺酮类 ARGs 相对丰度最低,为 $3.92 \times 10^{-7} \sim 2.45 \times 10^{-6}$,此外,四环素类 ARGs 中 *tetX*、*tetW*、*tetQ* 和 *tetO* ($10^{-4} \sim 10^{-3}$) 的相对丰度高于 *tetL* ($10^{-5} \sim 10^{-3}$),大环内酯类 *ermB* (10^{-4}) 的相对丰度高于 *ermC* (10^{-6})。

表3为猪场废水中13种 ARGs 及基因元件 *int1* 在各处理单元中的去除效果和总去除效果,其中

tetX、*tetW*、*tetQ*、*tetO*、*tetL* 和 *ermC* 总体呈现正去除效果,相对丰度(lg值)降低了0.002(*tetX*)~2.09(*tetL*);其余 ARGs 均表现出富集现象,其中相对丰度升高最多的为 *qnrS* 和 *qnrB*,lg值均升高了0.76,这可能与这几种 ARGs 的宿主微生物在不同环境条件下具有较强的生存能力有关。此外,ARGs 在调节池单元中的去除效果优于其他处理单元,*tetX*、*tetW*、*tetQ*、*tetO*、*sul2*、*qnrB* 和 *strA* 在该处理单元中相对丰度均呈现下降趋势,其lg值下降了0.22(*sul2*)~0.63(*tetQ*)。分离池中 ARGs 去除效果最差,13种 ARGs 中有9种(除 *qnrB* 和 *qnrS* 外)出现富集现象,其中 *tetO* 的相对丰度增加最多(0.72),另外在该单元中,基因元件 *int1* 虽有所去除,但相对丰度(lg值)仅下降了0.01。

综上所述,畜禽养殖污水处理各单元中 ARGs 普遍存在,猪场污水中 ARGs 的检出率为97%,猪场污水中的检出率为95%。猪场和猪场污水处理工艺对 ARGs 的去除效果有较大差异,猪场污水在厌氧发酵后,8种 ARGs 的相对丰度下降,lg值平均下降了0.81;猪场污水中6种 ARGs 的相对丰度下降,lg值平均下降了0.57,值得注意的是,猪场和猪场的污水处理工艺对5种四环素类 ARGs 均呈现正去除效果,下降最多的为 *tetL*(2.09);此外,猪场污水工艺对 *tetX*、*tetW*、*tetQ*、*sul1*、*ermC* 和 *ermB* 的去除效果优于猪场处理工艺,而对 *tetO* 和 *tetL* 去除能力,则是猪场优于猪场。

2.3 猪场、猪场和鸡场粪便处理工艺对 ARGs 的去除效果

表3 猪场污水中 ARGs 在不同处理单元中的去除效果(lg值)
Table 3 Removal effect of ARGs in cattle farm sewage in different treatment units(lgs)

抗性基因 ARGs	集污池 Sewage collection pool	分离池 Separation pool	调节池 Regulation pool	贮存池 Storage tank	总去除效果 Total removal effect
<i>tetX</i>	0.03±0.04	-0.46±0.14	0.35±0.01	0.07±0.02	0.002±0.001
<i>tetW</i>	0.11±0.04	-0.48±0.16	0.43±0.07	0.15±0.13	0.22±0.006
<i>tetQ</i>	0.48±0.18	-0.47±0.15	0.63±0.07	-0.10±0.04	0.54±0.24
<i>tetO</i>	0.29±0.02	-0.72±0.17	0.61±0.06	0.28±0.13	0.45±0.003
<i>tetL</i>	2.04±0.03	-0.25±0.18	-1.19±0.07	1.49±0.13	2.09±0.01
<i>sul1</i>	-0.30±0.03	-0.11±0.17	-0.03±0.007	0.26±0.13	-0.18±0.002
<i>sul2</i>	-0.28±0.02	-0.17±0.17	0.22±0.06	0.08±0.03	-0.16±0.004
<i>qnrS</i>	-1.15±0.37	0.75±0.26	-0.40±0.23	0.03±0.01	-0.76±0.04
<i>qnrB</i>	-0.68±0.02	0.28±0.09	0.35±0.07	-0.72±0.08	-0.76±0.04
<i>oqxB</i>	—	—	—	—	—
<i>ermC</i>	—	—	—	—	0.14±0.02
<i>ermB</i>	0.39±0.12	-0.36±0.13	-0.10±0.03	-0.06±0.05	-0.13±0.08
<i>strA</i>	-0.37±0.06	-0.22±0.12	0.47±0.06	-0.26±0.12	-0.38±0.006
<i>int1</i>	-0.35±0.02	0.01±0.002	-0.24±0.04	0.38±0.14	-0.21±0.004

2.3.1 猪场粪便处理工艺对 ARGs 的去除效果

图4(A)为猪场粪便处理工艺各单元中 ARGs 的污染情况及赋存规律。13种 ARGs 及基因元件 *intI1* 中,除了部分样品中喹诺酮类 *qnrS*、*qnrB* 和 *oqxB* 未检出外,其他目标 ARGs 均有检出,其中 *tetO* 相对丰度最高,为 $2.42 \times 10^{-3} \sim 1.17 \times 10^{-1}$, *qnrB* 的相对丰度最低,为 $6.02 \times 10^{-6} \sim 1.68 \times 10^{-3}$,此外, *sul1*、*sul2*、*strA* 和 *intI1* 在不同处理单元中的相对丰度的数量级没有变化。

经过粪便处理工艺后,13种目标 ARGs 以及基因元件 *intI1* 的去除效果见表4。结果表明,处理后的粪便与原始粪便相比,13种目标 ARGs 以及 *intI1* 的相对丰度普遍降低,只有 *tetX*、*sul1* 和 *sul2* 出现富集现象,

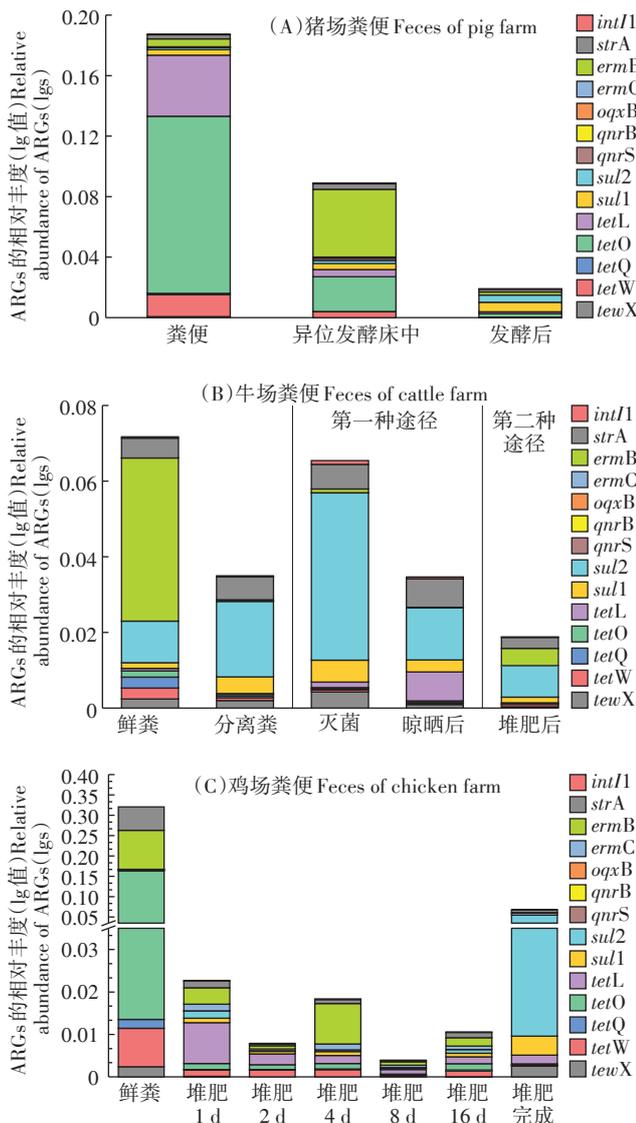


图4 不同粪便处理单元中 ARGs 的相对丰度

Figure 4 The relative abundance of ARGs in different feces treatment units

其中 *tetX* 的富集现象最为明显,相对丰度的 lg 值升高了 1.08,该工艺对其余 4 种四环素类 ARGs 有良好的去除效果,相对丰度 (lg 值) 下降了 1.57 (*tetL*)~1.93 (*tetQ*),此外该工艺对粪便中大环内酯类 *ermC* 和 *ermB* 的去除效果有较大差异,对 *ermC* 的去除效果优于 *ermB*,基因元件 *intI1* 虽为正去除,但相对丰度 (lg 值) 仅下降了 0.04。GUO 等^[22]发现在猪粪堆肥后,其中四环素类 ARGs 和大环内酯类 ARGs 的丰度会降低,其中 *tetW* 和 *ermC* 的丰度减少 90% 以上;TAO 等^[23]对猪场常温堆肥的研究发现,在完成堆肥后磺胺类 *sul1* 和 *sul2* 的丰度 (lg 值) 上升 1.11~2.49,ZHANG 等^[24]在研究猪粪堆肥样品时也得出了类似结果。

2.3.2 牛场粪便处理工艺对 ARGs 的去除效果

经过处理工艺后,牛场粪便中 ARGs 相对丰度的变化如图4(B)所示。在不同处理单元中,磺胺类 *sul1* 和 *sul2* 的相对丰度最高,为 $1.51 \times 10^{-3} \sim 4.42 \times 10^{-2}$,喹诺酮类 *qnrS*、*qnrB* 和 *oqxB* 的相对丰度最低,为 $1.68 \times 10^{-6} \sim 3.21 \times 10^{-5}$ 。同类型 ARGs 的相对丰度存在较大差异,四环素类 *tetX*、*tetW* 和 *tetL* ($10^{-4} \sim 10^{-3}$) 的相对丰度高于 *tetO* 和 *tetQ* ($10^{-6} \sim 10^{-3}$),大环内酯类 *ermB* ($10^{-4} \sim 10^{-2}$) 高于 *ermC* ($10^{-5} \sim 10^{-6}$),此外,链霉素类 *strA* 和基因元件 *intI1* 在整个粪便处理过程中相对丰度的数量级没有变化,分别为 10^{-3} 和 10^{-4} 。

牛场粪便中 13 种目标 ARGs 以及基因元件 *intI1* 的去除效果如表 5 所示。通过比较两种处理手段下

表4 猪场粪便中 ARGs 在各处理单元中的去除效果 (lg 值)
Table 4 Removal effect of ARGs in pig feces in each treatment units (lg)

抗性基因 ARGs	异位发酵床中 In ectopic fermentation bed	发酵后 After fermentation	总去除效果 Total removal effect
<i>tetX</i>	-0.12±0.05	-0.96±0.02	-1.08±0.03
<i>tetW</i>	0.58±0.05	1.27±0.06	1.84±0.01
<i>tetQ</i>	0.85±0.003	1.08±0.06	1.93±0.07
<i>tetO</i>	0.70±0.05	0.98±0.01	1.68±0.03
<i>tetL</i>	0.93±0.06	0.63±0.02	1.57±0.04
<i>sul1</i>	-0.04±0.01	-0.20±0.03	-0.25±0.03
<i>sul2</i>	-0.15±0.02	-0.37±0.005	-0.53±0.03
<i>qnrS</i>	1.19±0.05	—	—
<i>qnrB</i>	-0.23±0.12	—	—
<i>oqxB</i>	0.25±0.01	—	—
<i>ermC</i>	-0.18±0.06	1.42±0.06	1.24±0.11
<i>ermB</i>	-0.94±0.03	1.34±0.002	0.41±0.03
<i>strA</i>	-0.12±0.02	0.31±0.01	0.19±0.01
<i>intI1</i>	-0.17±0.06	0.21±0.05	0.04±0.01

ARGs 的去除效果发现,牛场粪便在经过堆肥处理后,13种 ARGs 中有9种的相对丰度(lg 值)下降了0.02(*oqx*B)~3.05(*tet*Q);4种的相对丰度(lg 值)上升了0.01(*sul*1)~0.63(*erm*C);*int*11的相对丰度(lg 值)下降了0.42。而粪便在经过无菌晾晒处理后,有5种 ARGs 的含量降低,相对丰度(lg 值)下降了0.39(*tet*X)~2.52(*erm*B);7种相对丰度(lg 值)上升了0.06(*erm*C)~1.04(*tet*L);*int*11的相对丰度(lg 值)升高了0.09,值得注意的是,牛粪在经过灭菌处理后,部分 ARGs 出现富集现象,其原因可能是高温灭菌处理(50~60 ℃)虽然可以消除部分致病菌,但是也可能会促进部分细菌增殖,从而造成耐药基因丰度升高。总体而言,相对于晾晒处理,堆肥处理可能对牛粪中 ARGs 有更好的去除效果。此外,在堆肥处理后,5种目标四环素类 ARGs 丰度降低趋势明显,lg 值下降了0.35~3.05,这与 DIEHL 等^[25]对牛场堆肥发酵的结果一致,表明堆肥发酵处理可能对大部分四环素类 ARGs 有较好的去除效果;磺胺类 ARGs 和喹诺酮类 ARGs 的去除效果不理想;大环内酯类 *erm*B 表现出正去除效果,相对丰度(lg 值)下降了0.97,这与彭晶等^[26]对牛粪堆肥后大环内酯类 ARGs 丰度变化的研究结果不一致,这可能与牛粪堆肥原料、堆肥环境以及微生物群落组成的差异有关。

2.3.3 堆肥处理对鸡粪中 ARGs 的去除效果

随时间变化,好氧堆肥后鸡粪中 ARGs 相对丰度

的变化规律及污染特征如图 4(C)所示。在13种 ARGs 中,喹诺酮类 ARGs 的含量最低,相对丰度为 $3.72 \times 10^{-7} \sim 5.04 \times 10^{-5}$,其余目标 ARGs 的相对丰度均在 10^{-5} 以上,其中同类 ARGs 的含量也有差异,磺胺类的相对丰度 *sul*2($10^{-4} \sim 10^{-2}$)高于 *sul*1($10^{-4} \sim 10^{-3}$),大环内酯类的相对丰度 *erm*B($10^{-4} \sim 10^{-2}$)高于 *erm*C($10^{-4} \sim 10^{-3}$),此外基因元件 *int*11 的相对丰度为 $4.14 \times 10^{-5} \sim 7.21 \times 10^{-4}$ 。

不同堆肥时间下,粪便中 ARGs 的相对丰度变化如表 6 所示。在13种目标 ARGs 中,*tet*W、*tet*Q、*tet*O、*qnr*S、*oqx*B、*erm*B 和 *str*A 的相对丰度(lg 值)下降了0.27(*oqx*B)~2.85(*tet*O),而 *tet*X、*tet*L、*sul*1、*sul*2 和 *erm*C 出现富集现象,相对丰度(lg 值)上升了0.03(*tet*X)~1.52(*sul*2),这说明堆肥可能成为了部分 ARGs 含量增加的良好反应器。就去除不同种类 ARGs 而言,好氧堆肥对四环素类 ARGs 的去除效果高于其余 ARGs,其中 *tet*W、*tet*Q 和 *tet*O 的去除效果最好,相对丰度(lg 值)下降了1.20~2.85;磺胺类 *sul*1 和 *sul*2 呈现负去除效果,相对丰度(lg 值)上升了0.96 和 1.52;大环内酯类 ARGs 的去除效果有明显差异,其中 *erm*C 出现富集现象,相对丰度(lg 值)升高了1.43,而 *erm*B 的相对丰度(lg 值)下降了1.83。LI 等^[27]在对堆肥 26 d 后的鸡粪检测中发现,*tet*W 和 *erm*B 等四环素类与大环内酯类 ARGs 的相对丰度降低,磺胺类 *sul*1 的相对丰度升高了7.5倍,与本试验 ARGs 的相对丰度的变化

表5 牛场粪便中 ARGs 在各处理单元中的去除效果(lg 值)
Table 5 Removal effect of ARGs in cattle feces in each treatment unit(lgs)

抗性基因 ARGs	无菌晾晒处理 Sterilization and dry treatment				堆肥处理 Compost treatment	
	分离 Separate	灭菌 Sterilization	晾晒 Dry	总去除效果 Total removal effect	堆肥后 After compost	总去除效果 Total removal effect
<i>tet</i> X	0.08±0.02	-0.33±0.05	0.64±0.06	0.39±0.08	0.73±0.17	0.82±0.08
<i>tet</i> W	0.58±0.03	0.13±0.07	0.30±0.06	1.01±0.01	0.08±0.04	0.66±0.12
<i>tet</i> Q	0.76±0.04	0.13±0.04	-0.02±0.008	0.87±0.04	2.29±0.17	3.05±0.21
<i>tet</i> O	0.56±0.08	0.32±0.06	-0.05±0.02	0.83±0.03	0.71±0.08	1.27±0.16
<i>tet</i> L	0.59±0.01	-0.92±0.01	-0.71±0.06	-1.04±0.04	-0.24±0.12	0.35±0.11
<i>sul</i> 1	-0.47±0.01	-0.12±0.004	0.26±0.04	-0.33±0.05	0.46±0.18	-0.01±0.009
<i>sul</i> 2	-0.26±0.04	-0.34±0.05	0.50±0.05	-0.10±0.04	0.38±0.07	0.12±0.06
<i>qnr</i> S	-0.71±0.29	0.04±0.10	0.13±0.04	-0.53±0.05	0.48±0.37	-0.24±0.08
<i>qnr</i> B	—	—	—	—	—	-0.40±0.08
<i>oqx</i> B	-0.78±0.09	-0.27±0.17	0.87±0.29	-0.19±0.03	0.80±0.04	0.02±0.013
<i>erm</i> C	-0.39±0.11	-0.22±0.09	0.56±0.23	-0.06±0.04	-0.24±0.06	-0.63±0.17
<i>erm</i> B	2.06±0.13	-0.41±0.21	0.87±0.04	2.52±0.12	-1.08±0.13	0.97±0.000 3
<i>str</i> A	-0.06±0.05	-0.04±0.02	-0.06±0.02	-0.16±0.002	0.32±0.02	0.26±0.07
<i>int</i> 11	0.11±0.03	-0.51±0.005	0.30±0.01	-0.09±0.03	0.30±0.12	0.42±0.15

表6 鸡场粪便中 ARGs 在堆肥处理中的去除效果(lg 值)

Table 6 Removal effect of ARGs in chicken feces during composting(lgs)

抗性基因 ARGs	堆肥 1 d Compost for 1 d	堆肥 2 d Compost for 2 d	堆肥 4 d Compost for 4 d	堆肥 8 d Compost for 8 d	堆肥 16 d Compost for 16 d	堆肥完成 Compost complete	总去除效果 Total removal effect
<i>tetX</i>	1.35±0.06	1.63±0.04	-0.89±0.06	0.59±0.05	-1.03±0.004	-1.68±0.01	-0.03±0.01
<i>tetW</i>	0.77±0.06	-0.02±0.002	-0.01±0.004	0.70±0.05	-0.60±0.005	0.87±0.01	1.70±0.01
<i>tetQ</i>	1.32±0.06	-0.07±0.04	-0.14±0.03	0.69±0.04	-0.87±0.02	0.28±0.01	1.20±0.01
<i>tetO</i>	2.03±0.10	0.10±0.01	-0.07±0.01	0.70±0.03	-0.75±0.01	0.84±0.02	2.85±0.04
<i>tetL</i>	-0.76±0.05	0.57±0.04	0.13±0.05	0.24±0.05	-0.18±0.01	-0.11±0.02	-0.09±0.01
<i>sul1</i>	-0.33±0.23	0.25±0.06	-0.19±0.05	0.45±0.04	-0.41±0.002	-0.73±0.01	-0.96±0.28
<i>sul2</i>	-0.09±0.04	1.07±0.03	-0.44±0.03	0.46±0.06	-0.80±0.09	-1.71±0.06	-1.52±0.01
<i>qnrS</i>	0.04±0.03	1.13±0.03	-0.60±0.01	0.74±0.004	-0.56±0.03	-0.33±0.07	0.43±0.02
<i>qnrB</i>	-0.77±0.06	0.15±0.03	0.13±0.07	—	—	—	—
<i>oqxB</i>	-0.03±0.02	-0.91±0.04	1.25±0.04	—	—	0.09±0.07	0.27±0.03
<i>ermC</i>	-0.92±0.02	0.59±0.04	-0.53±0.06	0.37±0.06	-0.14±0.004	-0.81±0.01	-1.43±0.03
<i>ermB</i>	1.40±0.01	0.71±0.01	-1.11±0.02	1.08±0.003	-0.40±0.07	0.14±0.004	1.83±0.07
<i>strA</i>	1.56±0.04	0.56±0.04	-0.34±0.04	0.48±0.05	-0.60±0.02	-0.68±0.03	0.98±0.08
<i>intI1</i>	-0.65±0.05	0.07±0.05	0.04±0.01	0.52±0.06	-0.41±0.005	-0.81±0.01	-1.24±0.01

相似。此外,基因元件 *intI1* 的相对丰度(lg 值)上升了 1.24,SELVAM 等^[28]研究了高温条件下鸡粪堆肥后 ARGs 的变化,发现 *intI1* 明显增值,与本试验的结果一致。值得注意的是,不同堆肥时间,粪便中 ARGs 的相对丰度呈现波动式变化,第 2 d,目标 ARGs 整体呈现下降趋势,第 4 d ARGs 整体出现富集现象,其中 *ermB* 的相对丰度升高最多,第 8 d 所有 ARGs 和 *intI1* 的相对丰度均下降,而第 16 d ARGs 以及 *intI1* 的相对丰度(lg 值)上升了 0.14~1.03。在堆肥过程中,ARGs 的相对丰度出现上下波动现象,这可能是由于不同堆肥时期的微生物群落变化的原因^[29]。

综上所述,3 种养殖场处理工艺对畜禽粪便中 ARGs 的去除效果有较大差异,但总体对 ARGs 表现出良好的去除效果,均可以有效去除四环素类 ARGs 和大环内酯类 *ermB*,但无法有效去除磺胺类 ARGs 和大环内酯类 *ermC*。值得注意的是,猪场粪便在经过异位发酵床处理后,10 种 ARGs 的相对丰度(lg 值)平均下降了 1.11;牛场粪便在堆肥后,9 种 ARGs 的相对丰度(lg 值)平均下降了 0.83,在灭菌作垫料后,5 种 ARGs 的相对丰度(lg 值)平均下降了 1.12;鸡场粪便堆肥后,8 种 ARGs 的相对丰度(lg 值)平均下降了 1.32。

3 结论

(1) 畜禽养殖场粪便和污水中抗生素抗性基因普遍存在(10^{-7} ~ 10^{-1}),但不同畜禽养殖场粪便中 ARGs 的污染程度存在差异,猪场污水中 ARGs 的污染水平

普遍高于牛场。

(2) 经过不同污水处理单元后,猪场和牛场对四环素类 ARGs 的去除效果相对较好,且相对于牛场,猪场污水处理工艺对 ARGs 有更强的去除效果;厌氧发酵单元、贮存池单元和调节池单元可能对 ARGs 去除起到较大作用。

(3) 3 种养殖场的粪便处理工艺对四环素类 ARGs 的去除效果较好,对磺胺类 ARGs 的去除效果较差。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 邓雯文, 杨盛智, 何雪萍, 等. 牛粪发酵过程中抗生素耐药基因及相关菌群组成变化规律[J]. *生态毒理学报*, 2019, 14(2): 153-163.
- [3] DENG W W, YANG S Z, HE X P, et al. Change of antibiotic resistance genes and bacterial communities during dairy manure composting process[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2019, 14(2): 153-163.
- [4] 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 of the United States of America*, 2013, 110(9): 3435-3440.
- [5] FORSBERG K J, REYES A, WANG B, et al. The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens[J]. *Science*, 2012, 337(6098): 1107-1111.
- [6] 闫书海. 畜禽养殖废水/粪便中典型抗药基因的调查研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013. YAN S H. Research on representative antibiotic resistance genes in livestock lagoons and manures[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.

- ang University, 2013.
- [6] 彭晶, 高英志, 谷月, 等. 鸡粪有机肥对土壤中抗生素抗性基因和整合酶基因的影响[J]. 环境工程学报, 2019, 13(4):984-991. PENG J, GAO Y Z, GU Y, et al. Effects of chicken manure organic fertilizer on antibiotic resistance genes and integrase genes in soil[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2019, 13(4):984-991.
- [7] MCKINNEY C W, LOFTIN K A, MEYER M T, et al. *tet* and *sul* antibiotic resistance genes in livestock lagoons of various operation type, configuration, and antibiotic occurrence[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(16):6102-6109.
- [8] YUAN Q B, ZHAI Y F, MAO B Y, et al. Antibiotic resistance genes and, *IntI1* prevalence in a swine wastewater treatment plant and correlation with metal resistance, bacterial community and wastewater parameters[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 161:251-259.
- [9] ZHANG X X, ZHANG T. Occurrence, abundance, and diversity of tetracycline resistance genes in 15 sewage treatment plants across China and other global locations[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(7):2598-2604.
- [10] AMINOV R, GARRIGUES-JEANJEAN N, MACKIE R. Molecular ecology of tetracycline resistance: Development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(1):22-32.
- [11] MU Q, LI J, SUN Y, et al. Occurrence of sulfonamide-, tetracycline-, plasmid-mediated quinolone- and macrolide-resistance genes in livestock feedlots in northern, China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(9):6932-6940.
- [12] AMINOV R, CHEE-SANFORD J, GARRIGUES N, et al. Development, validation, and application of PCR primers for detection of tetracycline efflux genes of gram-negative bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(4):1786-1793.
- [13] PRUDEN A, PEI R, STORTEBOOM H, et al. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: Studies in northern Colorado[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(23):7445-7450.
- [14] CATTOIR V, POIREL L, ROTIMI V, et al. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in ESBL-producing enterobacterial isolates[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2007, 60(2):394-397.
- [15] KIM H B, WANG M, PARK C H, et al. *oqxAB* encoding a multidrug efflux pump in human clinical isolates of *Enterobacteriaceae*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53(8):3582-3584.
- [16] WALSH F, INGENFELD A, ZAMPICOLLI M, et al. Real-time PCR methods for quantitative monitoring of streptomycin and tetracycline resistance genes in agricultural ecosystems[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2011, 86(2):150-155.
- [17] FRANK T, GAUTIER V, TALARMIN A, et al. Characterization of sulfonamide resistance genes and class 1 integron gene cassettes in *Enterobacteriaceae*, Central African Republic (CAR)[J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2007, 59(4):724-725.
- [18] 阮蓉, 张克强, 杜立柱, 等. 天津市家庭养殖环境中抗生素污染特征与风险评估[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(1):202-210. RUAN R, ZHANG K Q, DU L Z, et al. Pollution characteristics and risk assessment of antibiotics in a family farm breeding environment in Tianjin[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(1):202-210.
- [19] 邹威, 金彩霞, 魏闪, 等. 华北地区不同规模畜禽养殖场粪便中抗生素抗性基因污染特征[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(11):2640-2652. ZOU W, JIN C X, WEI S, et al. Occurrence of antibiotic resistance genes in livestock farms of different scales in north China [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(11):2640-2652.
- [20] ZHANG Y, ZHANG C, PARKER D B, et al. Occurrence of antimicrobials and antimicrobial resistance genes in beef cattle storage ponds and swine treatment lagoons[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 463:631-638.
- [21] CHEN B, HAO L J, GUO X Y, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes of wastewater and surface water in livestock farms of Jiangsu Province, China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(18):13950-13959.
- [22] GUO A, GU J, WANG X J, et al. Effects of superabsorbent polymers on the abundances of antibiotic resistance genes, mobile genetic elements, and the bacterial community during swine manure composting [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 244:658-663.
- [23] TAO C W, HSU B M, JI W T, et al. Evaluation of five antibiotic resistance genes in wastewater treatment systems of swine farms by real-time PCR[J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 496:116-121.
- [24] ZHANG R, GU J, WANG X, et al. Relationships between sulfachloropyridazine sodium, zinc, and sulfonamide resistance genes during the anaerobic digestion of swine manure[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 225:343-348.
- [25] DIEHL D L, LAPARA 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.
- [26] 彭晶, 王科, 谷月, 等. 牛粪堆肥系统环境因子对抗性基因的影响[J]. 环境科学, 2019, 40(3):1439-1445. PENG J, WANG K, GU Y, et al. Effects of environmental factors on tetracycline and macrolides resistance genes in cattle manure composting systems[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(3):1439-1445.
- [27] LI H, DUAN M L, GU J, et al. Effects of bamboo charcoal on antibiotic resistance genes during chicken manure composting[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 140:1-6.
- [28] 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.
- [29] SONG C, LI M, JIA X, et al. Comparison of bacterial community structure and dynamics during the thermophilic composting of different types of solid wastes: Anaerobic digestion residue, pig manure and chicken manure[J]. *Microbial Biotechnology*, 2014, 7(5):424-433.