



农业资源与环境学报

中文核心期刊
中国科技核心期刊

JOURNAL OF AGRICULTURAL RESOURCES AND ENVIRONMENT

欢迎投稿 <http://www.aed.org.cn>

畜禽养殖环境中抗生素抗性基因污染与扩散研究进展

韩秉君, 牟美睿, 杨凤霞, 田雪力, 张克强

引用本文:

韩秉君, 牟美睿, 杨凤霞, 田雪力, 张克强. 畜禽养殖环境中抗生素抗性基因污染与扩散研究进展[J]. 农业资源与环境学报, 2022, 39(3): 446–455.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0058>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于知识图谱的土壤中抗生素研究进展分析

曹梦, 李勇, 勾宇轩, 黄元仿

农业资源与环境学报. 2020, 37(5): 627–635 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2019.0396>

惠州市畜禽养殖污染耕地承载负荷估算及风险评价

宋江燕, 吴根义, 苏文幸, 余磊, 马晓蕊, 柳王荣, 袁俊杰

农业资源与环境学报. 2021, 38(2): 191–197 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0312>

我国规模化畜禽养殖粪污资源化利用分析

宣梦, 许振成, 吴根义, 欧玮祺, 李婧, 何文博

农业资源与环境学报. 2018, 35(2): 126–132 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2017.0257>

畜禽粪便堆肥过程中雌激素降解特征

韩进, 程鹏飞, 周贤, 王建, 凌婉婷

农业资源与环境学报. 2019, 36(5): 679–686 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2018.0346>

山东省畜禽粪便的环境污染现状及风险评价

于娜, 王晓茹, 李婷婷, 王倩, 翟胜, 李巧燕

农业资源与环境学报. 2021, 38(5): 820–828 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0590>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

韩秉君, 牟美睿, 杨凤霞, 等. 畜禽养殖环境中抗生素抗性基因污染与扩散研究进展[J]. 农业资源与环境学报, 2022, 39(3): 446–455.

HAN B J, MU M R, YANG F X, et al. Progress of antibiotic resistance gene contamination and diffusion in livestock and poultry farming environments[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2022, 39(3): 446–455.



开放科学 OSID

畜禽养殖环境中抗生素抗性基因污染与扩散研究进展

韩秉君, 牟美睿, 杨凤霞*, 田雪力, 张克强*

(农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要: 兽用抗生素的长期使用导致畜禽养殖环境中抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)污染日益严重, 其在环境中的风险与危害也逐渐引起人们的重视。本文针对畜禽养殖环境中 ARGs 的污染与扩散情况进行综述, 分析了不同畜种、不同国家(地区)间粪便中 ARGs 的浓度水平差异, 并阐述了 ARGs 在粪便堆肥过程中的变化, 以及在不同废水处理工艺中的消长情况。此外, 还特别讨论了 ARGs 通过粪肥施用和气流作用等途径向周围土壤和大气等环境的输入, 及其对周围环境介质中天然耐药水平的影响。最后, 结合畜禽粪污 ARGs 的污染现状对今后减少养殖场 ARGs 排放和扩散的措施进行了总结与展望。

关键词: 畜禽粪污; 抗生素抗性基因; 堆肥; 废水处理; 管控措施

中图分类号: X713

文献标志码: A

文章编号: 2095-6819(2022)03-0446-10

doi: 10.13254/j.jare.2021.0058

Progress of antibiotic resistance gene contamination and diffusion in livestock and poultry farming environments

HAN Bingjun, MU Meirui, YANG Fengxia*, TIAN Xueli, ZHANG Keqiang*

(Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China)

Abstract: The long-term use of veterinary antibiotics has led to increasing contamination of antibiotic resistance genes (ARGs) in livestock and poultry farming environments, and the risks and negative effects of ARGs in the environment have garnered research attention. In this study, we review the pollution and diffusion of ARGs in livestock and poultry farming environments. We analyzed the differences in the concentration of ARGs in manure between different livestock species and different countries and regions. We elaborate the changes in ARGs during manure composting and the growth pattern of ARGs during wastewater treatments. In addition, we discuss the effects of ARG input to the surrounding soil and atmosphere via manure application and airflow on the natural resistance levels in the surrounding environment media. Finally, based on the pollution status of ARGs in livestock and poultry manure, we summarize and propose measures to reduce the discharge and diffusion of ARGs from livestock farms in the future.

Keywords: livestock waste; antibiotic resistance gene; composting, wastewater treatment, control measure

近年来, 抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)作为一类新型环境污染物而备受关注, ARGs通过水平转移和垂直传播方式从人和动物体进入环境。目前, 我国畜禽源抗性基因污染形势十分严峻。抗生素在动物体内不能完全由吸收代谢途径降解, 60%~90%以原药形态随粪尿进入环境^[1], 诱导产

生耐药菌及抗性基因, 对受纳环境和人类健康构成潜在威胁^[2-3]。畜禽养殖业中抗生素的长期过量使用, 加速了养殖环境中 ARGs 的产生和传播, 粪便、废水回用农田土壤, 气溶胶向大气自然扩散等活动, 都增加了 ARGs 由动物源向环境的输入。世界卫生组织(WHO)已将 ARGs 作为 21 世纪威胁人类健康的重大挑

收稿日期: 2021-01-28 录用日期: 2021-03-26

作者简介: 韩秉君(1996—), 女, 河北保定人, 硕士研究生, 主要从事养殖环境中抗生素耐药基因污染研究。E-mail: hanbingjun2018@163.com

*通信作者: 杨凤霞 E-mail: yangfengxiacomeon@163.com; 张克强 E-mail: keqiangzhang68@163.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(42077355, 41807399); 中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(Y2019LM02-02); 所级基础前沿任务资助项目(2021-jcqyrw-yfx)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(42077355, 41807399); Central Public Interest Scientific Institution Basal Research Fund(Y2019LM02-02); Fundamental cutting-edge Project of Research Institute(2021-jcqyrw-yfx)

战之一,并在全球范围对控制 ARGs 进行战略部署^[4-5]。因此,阐释 ARGs 在畜禽养殖环境中的多介质迁移以及农业生态系统中的行为归趋和影响因素,对遏制日益严峻的畜禽源细菌耐药性问题具有重要意义。

虽然畜禽环境中的 ARGs 污染已被广泛提及,但相关研究成果仍缺乏系统性,故加强畜禽源 ARGs 的来源分布、传播途径和处理工艺的研究,有利于全面评估养殖环境中 ARGs 的生态环境风险,同时为畜禽养殖环境的保护和动物产品质量安全的保证提供理论和科学依据。本文针对畜禽养殖环境中 ARGs 的污染问题,结合国内外的最新文献报道,对不同畜种、不同国家(地区)养殖场内 ARGs 的分布规律及不同环境介质中 ARGs 的迁移扩散进行了综述,对比了鸡、猪和牛等主要养殖畜种间 ARGs 丰度的差异,分析了地域性污染特征,并论述粪便堆肥和废水处理等主要粪污资源化利用途径对 ARGs 的去除效果及处理过程中 ARGs 的消长规律,最后对畜禽源 ARGs 的污染防控进行了展望。

1 畜禽养殖环境中抗生素抗性基因的产生及来源

ARGs 在畜禽粪污(粪便和废水)、周边环境(土壤、水体和空气)等不同环境介质中普遍存在^[6-7],其借助质粒、整合子和转座子等可移动性遗传元件(Mobile genetic elements, MGEs)通过接合、转座、转化等方式在微生物中持续传播并广泛扩散^[8]。畜禽源细菌中 ARGs 的不断检出,引起人们对抗生素使用与 ARGs 产生之间关联性的重视^[9]。我国于 2020 年 7 月 1 日起,禁止企业在商品饲料中添加用于促动物生长的抗生素,但此前抗生素长期使用造成的细菌耐药性产生与传播仍是全球疾病防控面临的重大问题^[10-11]。迄今为止,在畜禽粪便、养殖废水等不同介质中发现并报道的 ARGs 已包含近 40 种四环素类抗性基因、10 余种高风险 β -内酰胺类抗性基因、3 种磺胺类抗性基因以及多种喹诺酮类抗性基因^[12],且四环素抗性基因和磺胺类抗性基因的检出率和含量水平较高,其在养殖环境中的污染较为严重^[6],这与广谱兽用四环素和磺胺类抗生素药物的普遍使用密切相关^[13]。养殖环境中 ARGs 主要来源于抗生素亚致死剂量诱导微生物发生基因新突变(细菌内在抗性)或者在抗生素等因素胁迫下经 ARGs 水平转移(获得性抗性)。其中,动物肠道微生物通过随机突变或者表达其体内潜在抗性基因等途径而获得抗生素抗性,即肠道细菌固有

的抗性是养殖环境中 ARGs 普遍存在的原因之一。然而,一般细菌的自发突变率仅为 10^{-6} ~ 10^{-8} 且非常不稳定,通过突变来获得多种抗生素的多重耐药性几率更低^[14]。相比之下,通过微生物体内 MGEs(如质粒、转座子、基因盒等)介导而发生的 ARGs 在细菌种内和种间的转移,对畜禽源 ARGs 和耐药菌广泛迁移及严重污染的影响更为显著^[15-16]。此外,抗性基因的外源输入亦是养殖环境中 ARGs 的重要来源,如通过进食将水源和饲料中存在的某些 ARGs 直接带入动物体内后,又随粪便及尿液排泄进入环境。外源输入的 ARGs 也会通过垂直传递和水平转移的方式在养殖环境中进一步传播扩散。ARGs 污染比较特殊,其不同于其他化学污染,一旦产生就很难控制和消除。因此,ARGs 在养殖环境中的持久性残留和在菌群间的迁移、转化和传播,比抗生素本身对生态环境的危害更大。

2 畜禽养殖环境中抗生素抗性基因的研究方法

畜禽养殖环境中抗生素抗性基因的主要研究方法有微生物培养法、PCR(Polymerase chain reaction)技术和宏基因组测序技术等。

2.1 微生物培养法

微生物培养法是指通过药敏试验检测微生物的抗生素抗性表型来评价其耐药性,是研究畜禽源细菌耐药性的传统方法,其主要包括 3 种检测方式:①基于测量最小抑制浓度(MIC)的肉汤稀释法和平板稀释法;②基于药敏纸片测量抑菌圈直径的 K-B 琼脂扩散法;③将稀释法和扩散法相结合的 E-test 试验法。现在使用最为广泛的是药敏检测 K-B 琼脂扩散法(纸片法)^[17],即在已接种待检菌的琼脂平板上贴上含有定量抗生素的小纸片,药物在纸片上向周围区域溶解扩散而形成递减浓度梯度,在其范围内抑制待检细菌的生长并产生透明的抑菌圈,根据抑菌圈的大小来判断微生物对抗生素的耐受水平^[18]。传统的微生物培养法在研究可培养细菌的抗生素抗性方面发挥了重要作用,但是该方法的缺点是漏失了不可培养菌携带的抗性基因。近些年,新兴的培养组学结合了 MALDI-TOF 质谱和 16S rRNA 测序技术,利用不同条件培养难培养菌生长并可实现细菌等微生物的鉴定。随着新兴培养组学的发展,新型培养技术逐渐涌现,如膜扩散培养技术、微流控培养系统和基于细胞分选的方法等,并且其中一些已有成功的细菌培养案例^[19]。新兴培养组学相较于 PCR 技术与宏基因组学,

细菌检测灵敏度极大提高,检测阈值可低至每克粪便 10^2 个。同时,微生物培养的自动化仪器也在不断发展,使得微生物培养技术更为省力便捷。新兴技术能够一定程度提高微生物分离培养的潜力,理论上可以应用于多种分类单元,但其仍有局限性。故对于微生物培养技术的研究仍要继续深入,促进技术方法不断成熟和进步。

2.2 PCR 技术

随着科技进步和分子生物学技术的发展,研究畜禽养殖环境中抗性基因和耐药菌的方法越来越多,定性PCR技术是一种扩增特定DNA片段的分子生物学技术,不需要对微生物分离培养,可快速、灵敏、准确地进行直接检测。针对普通PCR方法只能检测环境中是否存在ARGs而无法精准量化的问题,实时荧光定量PCR(Real-time quantitative PCR, qPCR)和高通量荧光定量PCR技术逐渐发展起来。qPCR是PCR从定性到定量的飞跃,因其重复性好、稳定性强,且具有实时性,已被广泛用于环境样品中ARGs的定量分析,该方法还可以直观分析抗性基因在环境中的变化,为探究ARGs在环境中分布特征及迁移规律提供了方法学上的更多可能^[20]。而高通量荧光定量PCR技术进一步突破了普通qPCR同步测试数量少和种类有限的局限性,可同时对多个样品及上百种抗性基因进行定量分析,大大提高了检测效率,在养殖环境中应用也越来越多。ZHU等^[21]应用高通量荧光定量PCR技术在养猪场粪便、堆肥及周围施用粪肥农田土壤中检测到149种ARGs,基本涵盖目前的主要ARGs类型。

2.3 宏基因组测序技术

宏基因组学也称为微生物环境基因组学,是对环境样品中直接获得的总DNA(包括全部微小生物遗传物质的总和)进行分析的所有研究集合^[22],它不仅是一套研究方法,更是一个研究领域^[23]。利用宏基因组测序技术检测畜禽养殖环境中ARGs主要分为三步:①宏基因组DNA的提取;②构建宏基因组文库;③宏基因组文库的分析与筛选。随着测序技术和组学分析技术的不断发展,宏基因组测序在畜禽源ARGs检测以及ARGs生态健康风险评估方面的应用也越来越多。FANG等^[24]利用该方法在鸡粪及鸡粪肥施用土壤中检测出22类ARGs以及46种由致病菌携带和32种人类致病菌所携带的抗性基因。宏基因组测序技术还可以发掘畜禽养殖环境中存在的新型抗性基因,客观全面地反映ARGs的多样性,确定新的

抗性机制并揭示生态作用。另外,通过转移基因组的检测分析,宏基因组测序还可以为研究环境中畜禽源ARGs的水平转移提供方法支持^[25]。近年来宏基因组学的发展,使得养殖环境中ARGs的深入研究更加简便、高效且具有较高特异性,成本也不断下降,同时也增加了人类对养殖环境中抗性基因污染的了解和认知。鉴于环境中ARGs具有潜在的生态风险与健康危害,故运用先进的ARGs检测技术手段研究其传播机制与功能十分必要。

3 畜禽养殖环境中抗生素抗性基因的污染现状

3.1 畜种间差异

畜禽养殖业中各畜种(主要包括鸡、牛、猪等)由于具有不同的生理特性、生活习性以及养殖环境,其粪污中的ARGs多样性和丰度存在显著差异。研究显示,鸡粪和猪粪中ARGs浓度平均值显著高于牛粪^[26-27]。邹威等^[28]针对不同畜禽ARGs的研究发现,养鸡场粪便中磺胺类和大环内酯类ARGs的相对丰度(ARGs copies/16S rRNA copies)高于养猪场粪便,如鸡粪中*sul2*基因的相对丰度为 $2.16 \times 10^{-2} \sim 2.26 \times 10^{-1}$,高于猪粪中的 $1.2 \times 10^{-4} \sim 5.56 \times 10^{-2}$,该结果与CHENG等^[29]对我国华东地区畜禽粪便的调研结果一致。MU等^[30]通过定量检测磺胺类、四环素类以及大环内酯类ARGs也印证了这一结论,各畜种养殖场中ARGs总浓度表现为鸡>猪>肉牛。谷艳茹等^[31]对天津地区不同发育阶段猪群的研究发现,母猪粪污中多数ARGs的相对丰度显著高于仔猪和育肥猪。由此可见,不同种类畜禽粪污中ARGs的浓度水平存在差异,且处于不同生长发育阶段的畜禽产生的粪污中ARGs浓度也不同。

造成不同畜种间ARGs水平差异的原因是复杂的,鸡粪中ARGs的丰度较高,可能是由于鸡饲养过程中允许的饲喂抗生素用量高于猪和牛的允许用量^[32]。有研究报道,鸡和猪的粪便中发现的抗生素残留量通常比肉牛高,我国畜禽养殖业鸡粪中抗生素残留量($1\,420.8\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)明显高于猪粪^[33-34]。此外,养鸡场较高的养殖密度也导致其更容易感染传染病,养殖户为了预防和治疗疾病,可能会使用超出许可范围的抗生素。除了抗生素使用量高以外,鸡微生物组中ARGs的高度可转移性也可能有助于ARGs在鸡粪中的传播。QU等^[35]使用宏基因组学方法发现,MGEs是鸡盲肠微生物组的主要功能成分,有助于基因水平转移。一般而言,由于较高的繁殖密度和较短的生长周

期,养鸡和养猪使用的抗生素量远高于养牛^[33]。同时,不同农场同种动物样品中 ARGs 的多样性和丰度也存在差异,这可能与饲料条件(饮食结构和抗生素使用剂量)、动物亚型和年龄有关,如在低剂量水平上应用不同抗生素可能导致牛粪中 ARGs 类型的显著变化^[36]。进一步地,还可以用动物饲料中添加的不同抗生素以及畜种之间的肠道菌群差异来解释^[37-39]。而不同育龄阶段 ARGs 变化的原因,可能是动物各生长阶段的抗生素给药方式不同。猪的养殖早期阶段会使用较高剂量的抗生素,在其生长过程中逐渐降低抗生素使用浓度,故肥育猪粪污 ARGs 的丰度和多样性低于母猪和仔猪^[40-41]。

3.2 地域性差异

畜禽养殖业中 ARGs 污染情况在各国间存在差异,这很大程度上受到当地抗生素使用法律法规和实施情况的影响。近年,欧盟以及一些国家为应对抗生素抗性的蔓延,限制了养殖业中用于预防疾病的抗生素的用量,同时对饲料级抗生素也进行了限制,尤其是四环素和多黏菌素的使用^[42]。尽管各国均有相关监控和管理部门,但抗生素仍在养殖业广泛应用,导致动物和农业生态系统中 ARGs 的增加^[43]。尤其是许多低收入和中等收入国家和地区对抗生素使用监管不到位,使得抗生素和 ARGs 进入到土壤和水体中,给环境健康和社会安全带来重大风险^[7]。在已报告 ARGs 丰度数据的 96 个国家中,我国是最大的抗生素生产者和消费国,养殖业产生的粪便中通常有较高的 ARGs 丰度^[44]。我国自 20 世纪 70 年代使用抗生素以来,消费量呈持续增长趋势,近一半抗生素进入了养殖业,总量达 105 000 t^[45]。畜禽养殖环境中 ARGs 污染在全球各国间存在地域性差异,HEUER 等^[46-47]的研究发现德国养猪场粪便中磺胺类 ARGs 相对丰度为 $10^{-5} \sim 10^{-2}$;而美国 24 个畜禽养殖场粪便中, *sul1* 的相对丰度范围为 $10^{-6} \sim 10^{-5}$, 低于德国。ARGs 的丰度变化还取决于各国不同地区的具体情况,不同地区畜禽养殖业 ARGs 的污染水平存在较大差异。在美国奶牛场中,中西部和东北部养殖场粪污中 ARGs 丰度具有明显差异。在我国,山东养殖场牛粪中 ARGs 的绝对丰度(浓度高达 10^{11} copies·g⁻¹)比陕西高出约 100 倍^[48-49];河北地区养猪场和养鸡场 ARGs 的平均相对丰度分别为 4.99×10^{-2} 和 1.36×10^{-1} , 均高于天津市^[29]。对某些国家来说,ARGs 丰度主要与抗生素使用量和残留浓度有关,但由于影响耐药菌生长以及 ARGs 传播和削减的区域物理和化学条件不同,各地区 ARGs

丰度可能出现较大的差异^[6]。全球抗生素使用量与 ARGs 浓度之间尚无法建立明确的联系,如我国山东和美国科罗拉多各自在本国范围内抗生素的使用情况较为相似(分别占全球消费量的 23% 和 19%)^[48-49],但对两地猪场废水中的四环素类 ARGs 丰度进行比较发现,山东地区较科罗拉多高出 104 倍,因此,比较国家间 ARGs 污染情况是十分必要的。

4 典型粪污处理工艺中抗生素抗性基因的影响

4.1 固体粪便堆肥

堆肥作为一种可以有效减少甚至消除畜禽粪便中 ARGs 的常见方法(主要有好氧堆肥和厌氧堆肥两种方式),可以有效杀灭动物粪便中的病原菌,将粪便制成有机肥^[50-51]。而堆肥过程中产生的高温可以消除耐药微生物,降低粪便中的抗生素残留,削减 ARGs 的浓度水平,实现粪便无害化处理。QIAN 等^[26]的研究显示,堆肥分别使鸡粪和猪粪中 ARGs 减少了 57 种和 28 种,平均从鸡粪中去除了 53% 的 ARGs,堆肥后 65% 的 ARGs 丰度不足原来的 1/10。吴丹^[52]对北京地区畜禽养殖场粪便好氧堆肥的研究也发现,ARGs 去除率高达 90.0%~99.9%。另外,厌氧发酵作为畜禽粪便资源化和肥料化利用的一种重要方式,也能够有效地削减 ARGs 的丰度。钱燕云等^[53]的研究显示,厌氧发酵过程中 *tetG*、*tetL*、*tetO*、*tetW*、*sul1* 和 *sul2* 的丰度均有所下降。除了有关好氧或厌氧堆肥过程中 ARGs 变化的研究,现阶段也有针对好氧-厌氧结合堆肥中 ARGs 去除效果的研究,好氧-厌氧两相堆肥能够有效地降低部分 ARGs 和潜在致病菌丰度,其中 *ermB*、*tetK* 的相对丰度分别降低了 39.7%、72.2%^[54]。

堆肥虽然能够一定程度去除大多数 ARGs,抑制潜在致病菌的繁殖扩散,但部分 ARGs 和致病菌仍存在增多的现象。如在高温堆肥过程中,与堆肥初期相比,猪粪中 *ermF* 出现了增加的情况^[55]。ZHANG 等^[56]也发现经过堆肥处理,一些 ARGs 的丰度减少,但也有部分 ARGs 丰度增加,因此,现有的堆肥工艺仍有许多问题亟待优化。通过控制堆肥的外部因素,如 pH、温度、碳氮比等,可以提高抗生素降解和 ARGs 去除的效果。好氧和厌氧堆肥去除 ARGs 主要是通过提高温度达到目的,传统技术最高温度一般在 55 ℃^[57-58],但对部分 ARGs 的去除效果并不理想。AWASTHI 等^[59]发现在堆肥过程中添加高浓度的黏土可以使去除效果明显提升,并且其与温度、pH、二氧化碳浓度以及微生物可利用的营养元素等因素显著

相关。还有研究人员在传统好氧堆肥和厌氧消化的原材料中添加零价铁、锯末、稻壳、蘑菇残渣、中药残渣等物质,发现也有一定增效作用,这可能是由于添加物影响了堆肥过程中微生物种类、营养成分、温度及水分,但具体机制仍需要进一步研究^[60-63]。

4.2 废水处理工艺

畜禽养殖废水是 ARGs 的重要储库之一, ARGs 随废水排入河流或回用于农田都可能增加环境风险。MCKINNEY 等^[49]和 SMITH 等^[64]的研究表明养猪场废水中 *tetQ*、*tetM*、*tetW* 和 *tetO* 具有较高的丰度。冀秀玲等^[65]检测了上海地区养牛场废水中磺胺类和四环素类 ARGs,发现含量最高的分别为 *sulA* ($10^8 \sim 10^{10}$ copies·mL⁻¹) 和 *tetW* ($10^6 \sim 10^7$ copies·mL⁻¹)。HE 等^[3]指出,猪废水样品中的 ARGs 至少比井水和鱼塘水中高 31 倍。此外,在养殖场周围的土壤和水环境中也检测到高水平的 ARGs。养殖场废水处理对 ARGs 的削减具有重要意义,不同处理工艺中 ARGs 消长变化不同,且 ARGs 转归规律尚不明晰,某些 ARGs 经过处理后甚至有增多现象,研究畜禽养殖废水中 ARGs 在处理过程以及农田回用过程中的变化规律十分必要。厌氧消化是畜禽养殖场中使用广泛的废水生物处理工艺,产生的沼气可以作为生物能源,残渣通常用作有机肥料^[66-68]。ZHANG 等^[69]的研究表明厌氧发酵降低 ARGs 丰度的幅度最高可达 63.9%。SUI 等^[68]也指出厌氧发酵可以大幅降低 ARGs 丰度,并且废水在系统内停留时间越长越有利于 ARGs 的去除。厌氧消化和好氧生物处理对 *tetA*、*tetW*、*sul1*、*sul2* 等 ARGs 的平均去除率为 33.3%~97.6%^[70]。废水处理系统运行状况受季节变化的影响,CHEN 等^[71]研究发现,夏季

ermB、*ermF* 和 *ermX* 的去除效果比冬季好。然而,由于处理系统实际运行情况不同,厌氧发酵工艺也存在使一些 ARGs 水平升高的情况。ZHANG 等^[69]的研究表明猪场废水经微波+H₂O₂处理后进行厌氧消化,ARGs 浓度水平有上升趋势,其他研究中也出现了厌氧发酵工艺增加 ARGs 丰度的结果^[72]。养殖场废水处理工艺中,氧化塘和人工湿地也很常见,JOY 等^[73]的研究结果中,猪场废水经氧化塘处理 40 d 后, *ermB* 的丰度仅降低了 50%~60%。由此可见,现行的养殖废水处理工艺对抗生素抗性基因的去除效果并不理想,还需研发能够消解养猪废水中 ARGs 的新技术,以降低畜禽源抗性基因的二次污染。此外,出水中高浓度 ARGs 的存在亦说明猪场废水的外排是畜禽源抗性基因进入环境中的一个重要的潜在途径。

5 畜禽源抗生素抗性基因向各环境介质的迁移扩散规律

畜禽养殖过程中产生的 ARGs 并不仅仅存在于养殖场及其周边环境,还会通过各种农业活动污染地表水、地下水、农田土壤和作物等(图1)。其中,粪便堆肥还田是畜禽养殖场向周围环境输出 ARGs 的主要途径,ARGs 进入土壤环境后会改变天然耐药水平。许多研究表明,粪便是抗生素和 ARGs 的存储库,禽畜粪便的施用造成土壤中抗生素抗性基因和相关耐药菌群的增加。GU 等^[74]对洱海流域的研究结果表明,施用不同动物粪肥对农田土壤中的 ARGs 具有不同的影响,施用猪粪后 ARGs 丰度比对照土壤增加了 36 倍,而施用鸡粪和牛粪肥使 ARGs 的丰度分别增加了 30 倍和 11 倍。粪肥中 ARGs 对土壤环境的污染是

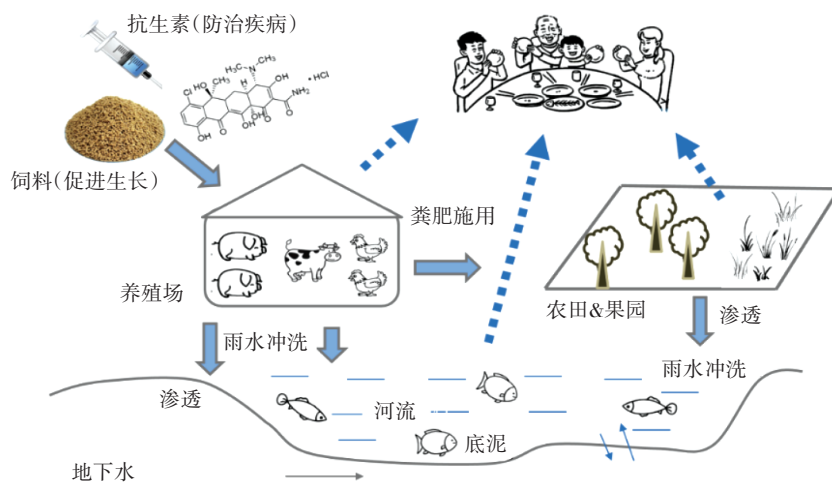


图1 畜禽源抗生素抗性基因在环境中的传播扩散

Figure 1 Transmission and diffusion of antibiotic resistance genes from livestock and poultry farming

长期且持续的,在ZHANG等^[27]的研究中,随着时间的推移,施用家禽粪便的土壤中ARGs的相对丰度虽有下降,但仍明显高于未施用粪便的土壤中ARGs水平。更令人担忧的是,ARGs随粪肥进入土壤增加了其对人类的暴露风险,土壤中ARGs可能会通过内生菌进入植物体内,危害农产品安全,最终可能随着食物链进入人体。MARTI等^[75]在施用猪粪的土壤与其上生长的蔬菜中都检测到多种ARGs。同时,土壤中ARGs还可能随雨水淋溶和径流冲刷进一步扩散到周围水体环境中,在更大范围内传播和富集。

畜禽养殖业中ARGs除了随堆肥进入土壤环境外,还可能通过气溶胶进入周围大气环境中。研究表明动物粪便及其接触土壤中的ARGs会通过气流作用留存于空气中,并且在处理处置期间,通过堆肥发酵、蒸发等方式被气溶胶化,从而进入周围大气环境^[76-78]。目前,养殖场大气环境中检出的ARGs种类繁多,这与养殖业抗生素使用密切相关,其中大环内酯类和四环素类ARGs检出率较高^[79-80]。这可能是由于四环素类抗生素作为重要的抗菌药物,广泛应用在集约化养殖场中用于促进动物生长和预防疾病^[81],大环内酯类抗生素则因其能有效抑制某些革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌,而被用于畜禽细菌感染性疾病的治疗^[82]。在养殖环境的大气中发现的四环素类ARGs已达10余种。养猪场气溶胶中检出13种四环素类ARGs,肉牛养殖场中检测出6种四环素类ARGs^[83]。*ermA*和*ermB*是最常被检出的大环内酯类ARGs,在养鸡场舍内气溶胶中普遍存在^[84]。有研究人员从养猪场大气环境金黄色葡萄球菌中检出了*ermC*,肠球菌和链球菌中检出*ermF*和*mefA*,并发现部分菌株表现出多重抗药性^[85-86]。大气环境中ARGs种类及丰度受室内外环境条件和养殖情况等多重因素的影响。刘菲等^[87]研究发现,肉鸡养殖场舍内外ARGs丰度相差1~4个数量级,鸡舍内PM_{2.5}中ARGs丰度明显高于舍外。MCEACHRAN等^[83]对肉牛养殖场周围空气颗粒物的研究发现,下风向气溶胶中ARGs丰度显著高于上风向。

养殖环境中ARGs还可能通过野鸟、飞虫(蜜蜂、果蝇)和土壤动物(蚯蚓、跳虫、线虫、螨)等媒介传播扩散。蝇类与动物粪便中微生物群和ARGs/MGEs的结果表明,苍蝇可能在抗生素抗性的流行病学中发挥重要作用,监测其生命活动可以帮助了解耐药性的传播动态^[88]。研究显示*bla*_{NDM}在养鸡场中能够通过狗、苍蝇和野生鸟类等互相传播,并可能随鸟类迁徙进行

长距离迁移^[89]。土壤动物在ARGs的传播中发挥重要作用,其肠道微生物可能是ARGs的潜在储存库,其迁移活动或者被捕食过程会造成ARGs的扩散。有研究表明,长期施用鸡粪增加了蚯蚓肠道中ARGs丰度,猪粪施用也使得线虫、跳虫和捕食性螨中抗生素抗性增强^[90-92]。对跳虫-捕食性螨土壤食物链的研究发现,猪粪来源的ARGs在土壤生态系统中会通过营养级传递,这说明食物链传递对土壤中ARGs的扩散具有重要贡献^[91]。但关于土壤动物在自然食物网和生态系统中传播的研究仍然有限,且ARGs的扩散可能受食物网中动物种类及营养关系的重大影响。因此,针对ARGs向不同环境介质迁移的复杂情况,从分子层面对ARGs的传播扩散机制进行深入分析是十分必要的,并需要对畜禽养殖场粪污进入周围环境的途径进行管控,从而有效减少ARGs对受纳环境的污染和对生态系统的危害。

6 畜禽养殖环境中抗生素抗性基因的管控策略

解决畜禽源ARGs污染需在养殖粪污产生、处置、利用等各环节进行有效管控,提高畜禽养殖业粪污处理中ARGs的去除效率,并最大程度地减少排放到周围受纳环境中ARGs的数量,从而降低ARGs对环境及人类健康的危害。在源头控制方面,需进一步落实兽用抗生素管控的法律法规,加强用药监督,同时积极开发并推广使用抗生素替代品,如抗菌肽、益生菌、益生元等。这些替代品具有大部分或全部的抗生素功能,不易引起细菌的耐药性。其中益生元还可以通过调节代谢和免疫系统建立良好的肠道菌群,抑制病原体并促进生长^[93-94]。值得注意的是,减少抗生素使用虽然减少了动物体内某些抗性细菌和多重耐药细菌的丰度,却不一定使ARGs的丰度降低^[95]。携带ARGs的质粒频繁接合会导致不使用抗生素时质粒仍在微生物群落中存在的情况,因此,除停止兽用抗生素使用外,还需要采取相关措施,如应用质粒消除等技术防止耐药质粒接合对ARGs丰度水平的影响。对于养殖场与养殖户,要向其普及抗生素污染的相关知识,使其加强对养殖业ARGs污染与扩散造成潜在危险的认识。养殖场动物疾病防控工作也十分关键,需要及时调整动物饮食以减少疾病(猪的痢疾、牛的瘤胃酸中毒等)的发生,降低人与动物的接触频率,优化养殖场废物收集方法,并为患病畜禽建立隔离区以控制疾病的传播。

在过程减量环节中,要对ARGs去除工艺条件进

一步优化,如固体粪便采用效果良好的堆肥处理工艺,以提高 ARGs 的去除效率。畜禽养殖业废水处理工艺中,在好氧、厌氧等技术基础上,还可以考虑加入消毒等方法,以实现 ARGs 最大程度的削减^[96-97]。针对养殖业废水和废物最终的处理处置,应建立合理可行的法规和政策,以指导粪肥贮存和废水处置等实践。在末端治理方面,对于养殖环境 ARGs 向各环境介质扩散的情况,则应加强对 ARGs 分布的具体调查,以及对土壤、水体和大气等多种受纳环境中 ARGs 污染的定量分析和长期监测,确认 ARGs 的污染区域和水平及其周年变化规律,建立相关的 ARGs 污染数据库。同时,加强对 ARGs 生态环境危害的研究,建立抗生素抗性生态风险评估体系,尽可能减小 ARGs 对环境和人类社会造成的危害。此外,对环境中畜禽源 ARGs 传播机制及其驱动因素的深入研究也十分必要,准确了解受纳环境不同介质间 ARGs 的迁移及消长规律,确定不同作用机制 ARGs 的关键宿主菌群及其传播主导途径,有助于阐明 ARGs 在各环境介质中的迁移转化,为我国畜禽养殖源 ARGs 的污染控制提供参考。

7 结论与展望

畜禽养殖活动的加剧不仅加速了环境中畜禽源微生物的进化,还导致抗生素抗性基因在不同环境介质中的多方向传播,甚至通过食物链威胁人类健康。目前,关于畜禽养殖环境中 ARGs 的研究主要集中在粪便、废水、堆肥和农田土壤中的残留等方面,而对于 ARGs 在畜禽粪污利用、处置过程中的组成多样性演变,及其在受纳环境中的迁移、扩散过程则较少关注。同时,该领域研究尚缺乏对畜禽养殖场内和周围粪污受纳环境中 ARGs 归趋行为的系统性分析,以及对环境中 ARGs 分子扩散机制的深度剖析。针对以上问题,未来应进一步加强以下几方面研究:

(1) 探明养殖环境中 ARGs 向受纳环境的迁移与扩散机制,以及与其迁移相关的宿主微生物种类和进化问题。

(2) 发展更加灵敏有效的方法与技术手段,获得更准确的 ARGs 定量监测数据,提供更充足的证据来阐明养殖过程中 ARGs 的分子转移机制。

(3) 深入研究 ARGs 在养殖环境中的持久性,对其长期持久存在可能带来的风险进行系统性评估,科学收集数据并建立完善的评价系统。

(4) 全球 ARGs 数据库的建立和共享是急迫且必

要的,了解并借鉴各国和各地区政策及措施,探索更合理的养殖业粪污管控方式,更有利于有效控制 ARGs 在畜禽养殖场内的迁移并减少其向周围环境介质的传播。

参考文献:

- [1] CHEE-SANFORD J C, MACKIE R I, KOIKE S, et al. Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2009, 38(3): 1086-1108.
- [2] CHEN Q L, AN X L, LI H, et al. Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil[J]. *Environment International*, 2016, 92: 1-10.
- [3] HE L Y, YING G G, LIU Y S, et al. Discharge of swine wastes risks water quality and food safety: Antibiotics and antibiotic resistance genes from swine sources to the receiving environments[J]. *Environment International*, 2016, 92/93: 210-219.
- [4] TAO R, YING G G, SU H C, et al. Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in Enterobacteriaceae isolated from the Pearl rivers in south China[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(6): 2101-2109.
- [5] AKIYAMA T, SAVIN M C. Populations of antibiotic-resistant coliform bacteria change rapidly in a wastewater effluent dominated stream[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(24): 6192-6201.
- [6] HE Y, YUAN Q, MATHIEU J, et al. Antibiotic resistance genes from livestock waste: Occurrence, dissemination, and treatment[J]. *npj Clean Water*, 2020, 3(1): 1-11.
- [7] ZHAO Y, YANG Q E, ZHOU X, et al. Antibiotic resistome in the livestock and aquaculture industries: Status and solutions[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2020, 51(19): 2159-2196.
- [8] THOMAS C M, NIELSEN K M, et al. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(9): 711-721.
- [9] 黄志坚, 陈旭凌, 路晓峰, 等. 水产养殖生物和养殖环境细菌鉴定及抗生素抗性基因检测[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2012, 51(6): 92-96. HUANG Z J, CHEN X L, LU X F, et al. Identification and antibiotic resistance genes detection of bacteria in aquaculture organisms and aquatic environment[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2012, 51(6): 92-96.
- [10] DE VRIES J, WACKERNAGEL W. Microbial horizontal gene transfer and the DNA release from transgenic crop plants[J]. *Plant and Soil*, 2005, 266(1): 91-104.
- [11] PANOFF J M, CHUITON C. Horizontal gene transfer: A universal phenomenon[J]. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 2004, 10(5): 939-943.
- [12] THOMPSON S A, MAANI E V, LINDELL A H, et al. Novel tetracycline resistance determinant isolated from an environmental strain of *Serratia marcescens*[J]. *Applied and Environment Microbiology*, 2007, 73(7): 355-359.
- [13] 罗义, 周启星. 抗生素耐药基因(ARGs)——一种新型环境污染物[J]. 环境科学学报, 2008, 28(8): 1499-1505. LUO Y, ZHOU Q X.

- Antibiotic resistance genes (ARGs) as emerging pollutants[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(8): 1499–1505.
- [14] 杨凤霞, 毛大庆, 罗义, 等. 环境中抗生素抗性基因的水平传播扩散[J]. 应用生态学报, 2013, 24(10): 2993–3002. YANG F X, MAO D Q, LUO Y, et al. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the environment[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(10): 2993–3002.
- [15] LUO Y, MAO D, RYSZ M, et al. Trends in antibiotic resistance genes occurrence in the Haihe River, China[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(19): 7220–7225.
- [16] 陈永山, 章海波, 骆永明, 等. 苕溪流域典型断面底泥14种抗生素污染特征[J]. 环境科学, 2011(3): 667–672. CHEN Y S, ZHANG H B, LUO Y M, et al. Investigation of 14 selected antibiotics in sediments of the typical cross sections of Tiaoxi River[J]. *Environmental Science*, 2011(3): 667–672.
- [17] STEPANAUSKAS R, GLENN T C, JAGOE C H, et al. Coselection for microbial resistance to metals and antibiotics in freshwater microcosms[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(9): 1510–1514.
- [18] SIDRACH-CARDONA R, HIJOSA-VALSERO M, MARTI E, et al. Prevalence of antibiotic-resistant fecal bacteria in a river impacted by both an antibiotic production plant and urban treated discharges[J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 488/489: 220–227.
- [19] LEWIS W H, TAHON G, GEESINK P, et al. Innovations to culturing the uncultured microbial majority[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 19(4): 225–240.
- [20] CASTIGLIONI S, POMATI F, MILLER K, et al. Novel homologs of the multiple resistance regulator *marA* in antibiotic-contaminated environments[J]. *Water Research*, 2008, 42(16): 4271–4280.
- [21] ZHU Y G, JOHNSON T, 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.
- [22] HUGENHOLTZ P, TYSON G W. Microbiology: Metagenomics[J]. *Nature*, 2008, 455(7212): 481–483.
- [23] HANDELSMAN J. Metagenomics: Application of genomics to uncultured microorganisms[J]. *Microbiology Molecular Biology Reviews*, 2004, 68(4): 669–685.
- [24] FANG H, WANG H F, CAI L, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes and bacterial pathogens in long-term manured greenhouse soils as revealed by metagenomic survey[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(2): 1095–1104.
- [25] WRIGHT G D. The antibiotic resistome: The nexus of chemical and genetic diversity[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(3): 175–186.
- [26] QIAN X, GU J, SUN W, et al. Diversity, abundance, and persistence of antibiotic resistance genes in various types of animal manure following industrial composting[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 344: 716–722.
- [27] ZHANG Y J, HU H W, GOU M, et al. Temporal succession of soil antibiotic resistance genes following application of swine, cattle and poultry manures spiked with or without antibiotics[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 231(2): 1621–1632.
- [28] 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.
- [29] CHENG W, CHEN H, SU C, et al. Abundance and persistence of antibiotic resistance genes in livestock farms: A comprehensive investigation in eastern China[J]. *Environmental International*, 2013, 61: 1–7.
- [30] 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.
- [31] 谷艳茹, 韩秉君, 黄继元, 等. 天津市家庭农场养殖粪污耐药基因赋存特征及风险评估[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(2): 394–402. GU Y R, HAN B J, HUANG J Y, et al. Occurrence characteristics and risk assessment of resistance genes in livestock waste from family farms in Tianjin City, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(2): 394–402.
- [32] 农业部. 无公害农产品 兽药使用准则: NY 5030—2016[S]. 北京: 农业部, 2001. Ministry of Agriculture of the PRC. Pollution-free agricultural products: Application guideline of veterinary drug: NY 5030—2016[S]. Beijing: Ministry of Agriculture of the PRC, 2001.
- [33] ZHAO L, DONG Y H, WANG H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(5): 1069–1075.
- [34] CAMPAGNOLO E R, JOHNSON K R, KARPATI A, et al. Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations[J]. *Science of the Total Environment*, 2002, 299(1/2/3): 89–95.
- [35] QU A, BRUIC J M, WILSON M K, et al. Comparative metagenomics reveals host specific metaviromes and horizontal gene transfer elements in the chicken cecum microbiome[J]. *PLoS ONE*, 2008, 3: e2945.
- [36] ALEXANDER T W, YANKE J L, REUTER T, et al. Longitudinal characterization of antimicrobial resistance genes in feces shed from cattle fed different subtherapeutic antibiotics[J]. *BMC Microbiology*, 2011, 11(1): 1–12.
- [37] ZHOU L J, YING G G, LIU S, et al. Excretion masses and environmental occurrence of antibiotics in typical swine and dairy cattle farms in China[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 444(2): 183–195.
- [38] HE L Y, LIU Y S, SU H C, et al. Dissemination of antibiotic resistance genes in representative broiler feedlots environments: Identification of indicator ARGs and correlations with environmental variables[J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 48: 13120–13129.
- [39] WANG J, BEN W, YANG M, et al. Dissemination of veterinary antibiotics and corresponding resistance genes from a concentrated swine feedlot along the waste treatment paths[J]. *Environment International*, 2016, 92: 317–323.
- [40] BROOKS J P, ADELI A, MCLAUGHLIN M R. Microbial ecology, bacterial pathogens, and antibiotic resistant genes in swine manure wastewater as influenced by three swine management systems[J]. *Water Research*, 2014, 57(15): 96–103.
- [41] LU X M, LI W F, LI C B. Characterization and quantification of antibiotic resistance genes in manure of piglets and adult pigs fed on different diets[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 229: 102–110.

- [42] COGLIANI C, GOOSSENS H, GREKO C. Restricting antimicrobial use in food animals: Lessons from Europe[J]. *Microbe*, 2011, 6(6): 274–279.
- [43] VAN BOECKEL T P, PIRES J, SILVESTER R, et al. Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries[J]. *Science*, 2019, 365(6459): eaaw1944.
- [44] VAN BOECKEL T P, BROWER C, GILBERT M, et al. Global trends in antimicrobial use in food animals[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(18): 5649–5654.
- [45] CAO L, NAYLOR R, HENRIKSSON P, et al. China's aquaculture and the world's wild fisheries[J]. *Science*, 2015, 347(6218): 133–135.
- [46] HEUER H, FOCKS A, LAMSHÖFT M, et al. Fate of sulfadiazine administered to pigs and its quantitative effect on the dynamics of bacterial resistance genes in manure and manured soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(7): 1892–1900.
- [47] HEUER H, KOPMANN C, BINH C T, et al. Spreading antibiotic resistance through spread manure: Characteristics of a novel plasmid type with low% G+C content[J]. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(4): 937–949.
- [48] HAN X M, HU H W, CHEN Q L, et al. Antibiotic resistance genes and associated bacterial communities in agricultural soils amended with different sources of animal manures[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 126: 91–102.
- [49] 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.
- [50] QIAN X, SUN W, GU J, et al. Variable effects of oxytetracycline on antibiotic resistance gene abundance and the bacterial community during aerobic composting of cow manure[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 315: 61–69.
- [51] 张俊亚, 魏源送, 陈梅雪, 等. 畜禽粪便生物处理与土地利用全过程中抗生素和重金属抗性基因的赋存与转归特征研究进展[J]. *环境科学学报*, 2015, 35(4): 935–946. ZHANG J Y, WEI Y S, CHEN M X, et al. Occurrence and fate of antibiotic and heavy metal resistance genes in the total process of biological treatment and land application of animal manure: A review[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35(4): 935–946.
- [52] 吴丹. 北京地区禽场粪便中抗生素及抗性基因污染特性与好氧堆肥试验研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2018. WU D. Contamination characteristics and aerobic compost study of antibiotics and resistance genes in poultry manure of Beijing area[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2018.
- [53] 钱燕云, 徐莉柯, 苏超. 初始 pH 对厌氧环境下污泥中抗生素抗性基因行为特征的影响[J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(5): 47–55. QIAN Y Y, XU L K, SU C, et al. Effect of initial pH on antibiotic resistance genes behavior during anaerobic treatment of sludge[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(5): 47–55.
- [54] 李厚禹, 徐艳, 成卫民, 等. 好氧-厌氧两相堆肥过程中抗生素耐药基因的变化特征及影响因素研究[J]. *环境科学研究*, 2021, 34(2): 431–438. LI H Y, XU Y, CHENG W M, et al. Change characteristics and influencing factors of antibiotic resistance genes in aerobic and anaerobic two-phase composting[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2021, 34(2): 431–438.
- [55] 张凯煜. 土霉素和磺胺二甲嘧啶对堆肥过程中微生物群落多样性及抗性基因的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015. ZHANG K Y. Effects of OTC and SM₂ on the diversity of microbial community and antibiotic resistance genes during composting[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2015.
- [56] ZHANG J Y, WEI Y S, TONG J. Impacts of addition of natural zeolite or a nitrification inhibitor on antibiotic resistance genes during sludge composting[J]. *Water Research*, 2016, 91: 339–349.
- [57] TIAN Z, ZHANG Y, YU B. Changes of resistome, mobilome and potential hosts of antibiotic resistance genes during the transformation of anaerobic digestion from mesophilic to thermophilic[J]. *Water Research*, 2016, 98: 261–269.
- [58] LIAO H, LU X, RENSING C. Hyperthermophilic composting accelerates the removal of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in sewage sludge[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(1): 266–276.
- [59] AWASTHI M K, CHEN H, AWASTHI S K, et al. Application of metagenomic analysis for detection of the reduction in the antibiotic resistance genes (ARGs) by the addition of clay during poultry manure composting[J]. *Chemosphere*, 2019, 220: 137–145.
- [60] GAO P, GU C, WEI X. The role of zero valent iron on the fate of tetracycline resistance genes and class 1 integrons during thermophilic anaerobic co-digestion of waste sludge and kitchen waste[J]. *Water Research*, 2017, 111: 92–99.
- [61] ZHANG J, LIN H, MA J. Compost-bulking agents reduce the reservoir of antibiotics and antibiotic resistance genes in manures by modifying bacterial microbiota[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 649: 396–404.
- [62] 武晋萍, 陈建文, 刘勇, 等. 鸡粪与中药渣共堆肥对抗生素抗性基因的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(7): 3276–3284. WU J P, CHEN J W, LIU Y, et al. Effect of co-composting of chicken manure with Chinese medicinal herbal residues on antibiotic resistance genes[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(7): 3276–3284.
- [63] CHENG D, FENG Y, LIU Y, et al. Dynamics of oxytetracycline, sulfamerazine, and ciprofloxacin and related antibiotic resistance genes during swine manure composting[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 230(15): 102–109.
- [64] SMITH M S, YANG R K, KNAPP C W. Quantification of tetracycline resistance genes in feedlot lagoons by real-time PCR[J]. *Applied and Microbiology Biotechnology*, 2004, 70(12): 7372–7377.
- [65] 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): 927–933. JI X L, LIU F, SHEN Q H, et al. Quantitative detection of sulfonamides and tetracycline antibiotics and resistance genes in sewage farms[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(5): 927–933.
- [66] JECHALKE S, HEUER H, SIEMENS J, et al. Fate and effects of veterinary antibiotics in soil[J]. *Trends Microbiol*, 2014, 22(9): 536–545.
- [67] SKOUTERIS G, HERMOSILLA D, LÓPEZ P, et al. Anaerobic membrane bioreactors for wastewater treatment: A review[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2012, 198: 138–148.
- [68] SUI Q, ZHANG J, CHEN M, et al. Distribution of antibiotic resistance genes (ARGs) in anaerobic digestion and land application of swine wastewater[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 213: 751–759.

- [69] ZHANG J, WANG Z, WANG Y, et al. Effects of graphene oxide on the performance, microbial community dynamics and antibiotic resistance genes reduction during anaerobic digestion of swine manure[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245:850–859.
- [70] 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.
- [71] CHEN J, MICHEL F C, SREEVATSAN S, et al. Occurrence and persistence of erythromycin resistance genes (*erm*) and tetracycline resistance genes (*tet*) in waste treatment systems on swine farms[J]. *Microbial Ecology*, 2010, 60(3):479–486.
- [72] SUN W, QIAN X, GU J, et al. Mechanisms and effects of arsanilic acid on antibiotic resistance genes and microbial communities during pig manure digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 234:217–223.
- [73] JOY S R, BARTELT-HUNT S L, SNOW D D, et al. Fate and transport of antimicrobials and antimicrobial resistance genes in soil and runoff following land application of swine manure slurry[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(21):12081–12088.
- [74] GU Y, SHEN S, HAN B, et al. Family livestock waste: An ignored pollutant resource of antibiotic resistance genes[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 197:110567.
- [75] 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.
- [76] WANG N, YANG X D, JIAO S J, et al. Sulfonamide-resistant bacteria and their resistance genes in soils fertilized with manures from Jiangsu Province, southeastern China[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(11):e112626.
- [77] CHIEN Y C, CHEN C J, LIN T H, et al. Characteristics of microbial aerosols released from chicken and swine feces[J]. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 2011, 61(8):882–889.
- [78] GAO M, JIA R Z, QIU T L, et al. Size-related bacterial diversity and tetracycline resistance gene abundance in the air of concentrated poultry feeding operations[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 220:1342–1348.
- [79] 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 and Pollution Research International*, 2015, 22(22):17948–17954.
- [80] TOPP E, RENAUD J, SUMARAH M, et al. Reduced persistence of the macrolide antibiotics erythromycin, clarithromycin and azithromycin in agricultural soil following several years of exposure in the field[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 562:136–144.
- [81] BERGSTRM K, NYMAN G, WIDGREN S, et al. Infection prevention and control interventions in the first outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in an equine hospital in Sweden[J]. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 2012, 54:14.
- [82] 李向梅. 牛奶中四种大环内酯类药物残留免疫检测技术研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2016:1–3. LI X M. Immunoassay techniques for the determination of four macrolides residues in milk[D]. Beijing: China Agricultural University, 2016:1–3.
- [83] MCEACHRAN A D, BLACKWELL B R, HANSON J D, et al. Antibiotics, bacteria, and antibiotic resistance genes: Aerial transport from cattle feed yards via particulate matter[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2015, 123(4):337–344.
- [84] JUST N A, LÉTOURNEAU V, KIRYCHUK S P, et al. Potentially pathogenic bacteria and antimicrobial resistance in bioaerosols from cage-housed and floor-housed poultry operations[J]. *Annals of Occupational Hygiene*, 2012, 56(4):440–449.
- [85] LIU D J, CHAI T J, XIA X Z. Formation and transmission of *Staphylococcus aureus* (including MRSA) aerosols carrying antibiotic-resistant genes in a poultry farming environment[J]. *Science of the Total Environment*, 2012, 426(2):139–145.
- [86] SAPKOTA A R, OJO K K, ROBERTS M C. Antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Enterococcus* spp. and *Streptococcus* spp. recovered from the indoor air of a large-scale swine-feeding operation[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2006, 43(5):534–540.
- [87] 刘菲, 许霞, 屠博文, 等. 某集约化肉鸡饲养场PM_{2.5}中抗生素抗性基因的分布特征[J]. 环境科学, 2019, 40(2):567–572. LIU F, XU X, TU B W, et al. Distribution characteristics of antibiotic resistance genes in PM_{2.5} of a concentrated broiler feeding operation[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(2):567–572.
- [88] POUDEL A, KANG Y, MANDAL R K, et al. Comparison of microbiota, antimicrobial resistance genes and mobile genetic elements in flies and the feces of sympatric animals[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2020, 96(4):fiae027.
- [89] WANG Y, ZHANG R, LI J, et al. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production[J]. *Nature microbiology*, 2017, 2(4):1–7.
- [90] DING J, ZHU D, HONG B, et al. Long-term application of organic fertilization causes the accumulation of antibiotic resistome in earthworm gut microbiota[J]. *Environment International*, 2019, 124:145–152.
- [91] ZHU D, XIANG Q, YANG X R, et al. Trophic transfer of antibiotic resistance genes in a soil detritus food chain[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(13):7770–7781.
- [92] ZHENG F, ZHU D, GILES M, et al. Mineral and organic fertilization alters the microbiome of a soil nematode *Dorylaimus stagnalis* and its resistome[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 680:70–78.
- [93] MOHSEN P, XIN Z. Prebiotics and gut microbiota in chickens[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2015, 15:fmv122.
- [94] SAMANTA A K, JAYARAM C, JAYAPAL N. Assessment of fecal microflora changes in pigs supplemented with herbal residue and prebiotic[J]. *PLoS ONE*, 2015, 10:e0132961.
- [95] TANG K L, CAFFREY N P, NÓBREGA D B, et al. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: A systematic review and meta-analysis[J]. *The Lancet Planet Health*, 2017, 1(8):e316–e327.
- [96] YUAN Q B, GUO M T, YANG J. Fate of antibiotic resistant bacteria and genes during wastewater chlorination: Implication for antibiotic resistance control[J]. *PLoS ONE*, 2015, 10:e011940.
- [97] SHI P, JIA S, ZHANG X X, et al. Metagenomic insights into chlorination effects on microbial antibiotic resistance in drinking water[J]. *Water Research*, 2013, 47(1):111–120.