



农业资源与环境学报

CSCD 核心期刊
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>

蚯蚓堆肥对畜禽粪污耐药基因的影响研究进展

牟美睿, 杨凤霞, 田雪力, 韩秉君, 李仲瀚, 张克强

引用本文:

牟美睿, 杨凤霞, 田雪力, 韩秉君, 李仲瀚, 张克强. 蚯蚓堆肥对畜禽粪污耐药基因的影响研究进展[J]. 农业资源与环境学报, 2022, 39(6): 1089–1098.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0669>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

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

农业资源与环境学报. 2022, 39(3): 446–455 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0058>

规模化畜禽养殖粪便主要污染物产生量预测方法研究进展

渠清博, 杨鹏, 翟中葳, 张克强

农业资源与环境学报. 2016, 33(5): 397–406 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2016.0046>

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>

我国畜禽养殖业抗生素的使用特征及其环境与健康风险

程兆康, 杨金山, 吕敏, 罗小三

农业资源与环境学报. 2022, 39(6): 1253–1262 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0567>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

牟美睿, 杨凤霞, 田雪力, 等. 蚯蚓堆肥对畜禽粪污耐药基因的影响研究进展[J]. 农业资源与环境学报, 2022, 39(6): 1089–1098.

MU M R, YANG F X, TIAN X L, et al. Research progress on the effects of vermicomposting on antibiotic resistance genes of livestock and poultry manure[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2022, 39(6): 1089–1098.



开放科学 OSID

蚯蚓堆肥对畜禽粪污耐药基因的影响研究进展

牟美睿, 杨凤霞*, 田雪力, 韩秉君, 李仲瀚, 张克强*

(农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要: 抗生素耐药基因作为一种新型环境污染物, 严重威胁着人体健康与动物安全, 与其直接相关的细菌耐药性问题也已成为目前世界环境与医学领域关注的焦点。畜禽养殖业是我国经济发展和农业现代化的中轴产业, 同时也是耐药基因污染的重要源头, 蚯蚓堆肥对合理利用畜禽粪便、促进我国农业绿色发展具有重要意义, 而摸清蚯蚓堆肥畜禽粪便及后续产物利用过程中耐药基因的行为规律和环境归趋则是其合理利用的关键。本文在简要论述蚯蚓堆肥畜禽粪便现状的基础上, 聚焦蚯蚓堆肥及产物利用过程中耐药基因污染问题, 梳理总结了转化及产物利用过程中耐药基因的污染赋存特征、环境行为规律及迁移主控因子, 并提出基于“畜禽粪便–蚯蚓堆肥–蚓粪还田”资源化利用全过程的耐药基因污染防控建议及展望, 以期为我国畜禽粪便资源化、无害化利用及农业绿色发展提供参考。

关键词: 蚯蚓堆肥; 畜禽粪便; 耐药基因; 迁移规律; 驱动因素

中图分类号: S141.4; X713 文献标志码: A 文章编号: 2095-6819(2022)06-1089-10 doi: 10.13254/j.jare.2021.0669

Research progress on the effects of vermicomposting on antibiotic resistance genes of livestock and poultry manure

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

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

Abstract: As an emerging environmental pollutant, antibiotic resistance genes seriously threaten human health and animal safety. The problem of antibiotic resistant bacteria directly related to antibiotic resistance genes has become the focus of environmental and medical fields globally. Livestock and poultry breeding is central to economic development and agricultural modernization in China; however, it is also a significant source of antibiotic resistance genes. Thus, the rational utilization of livestock and poultry manure is crucial for agricultural green development in China. The key to rational manure utilization is to clearly understand the behavior and environmental fate of antibiotic resistance genes in the process of utilizing livestock manure. This study is based on a brief discussion on the resource utilization of livestock and poultry manure. We focused on vermicomposting and summarized the emission characteristics, environmental behavior, and driving factors of antibiotic resistance gene pollution during the vermicomposting process. Further, we put forward suggestions and opportunities for the prevention and control of antibiotic resistance gene pollution in the whole manure utilization process of “Animal feces–Vermicomposting–Returning”. Our study may provide a reference for the safe utilization of livestock and poultry manure and promote the green development of agriculture in China.

Keywords: vermicomposting; livestock and poultry manure; antibiotic resistance genes; migration regularity; driving factor

收稿日期: 2021-09-29 录用日期: 2021-11-12

作者简介: 牟美睿 (1996—), 女, 内蒙古通辽人, 博士研究生, 主要从事畜禽粪污资源化利用研究。E-mail: mumeirui1996@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); 所级基础前沿任务资助项目 (2021-jcqrw-yfx); 天津市奶牛 (肉羊) 产业技术体系创新团队建设项目 (ITTCRS2021000); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (Y2021CG08)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (42077355; 41807399); Fundamental Cutting-edge Projects of Research Institute (2021-jcqrw-yfx); Innovation Team of Tianjin Dairy (Sheep) Research System (ITTCRS2021000); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund (Y2021CG08)

我国畜牧业规模化的飞速发展使得种养脱节问题日益突出^[1],畜禽养殖废弃物的资源化处理和利用引起了国家和社会的广泛关注。据统计,2019年我国养殖废弃物产生量高达40亿t^[2],农业农村部在《畜禽粪污资源化利用行动方案(2017—2020年)》中明确要求,到2020年,全面提升我国畜禽粪污资源化利用能力,全国畜禽粪污综合利用率达到75%以上^[3],畜禽养殖废弃物资源化利用已成为我国环境保护和养殖业绿色健康发展的重大需求。近年来,蚯蚓堆肥作为一种生态友好型畜禽粪便处理方式逐渐受到人们的关注,该技术方式不仅能有效地将畜禽粪便转化为具有更高价值的新型有机肥料,还能有效降低畜禽粪便带来的环境污染问题,满足养殖业绿色健康发展需求^[4]。因此,在大力倡导“减肥减药”、加强畜禽粪便资源化利用的背景下,“畜禽养殖-蚯蚓堆肥-蚓粪还田”的高值资源化生态循环模式逐渐成为我国绿色农业发展的重要趋势。

畜禽养殖业规模化与集约化的发展也加速了抗生素的使用,导致抗生素抗性细菌(Antibiotic resistant bacteria, ARB)以及抗生素耐药基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)在畜禽粪便中大量积累^[5-6]。畜禽粪便作为ARGs的重要储存库之一,其不合理利用会造成ARGs在环境中的积累和二次传播,加剧ARGs污染带来的风险^[7]。目前,在河流沉积物^[8]、土壤^[9]、水体^[10]甚至农作物^[11]中均检测出大量ARGs;而具有多重耐药性甚至泛耐药性的“超级细菌”的频繁出现,也增加了人类面临死亡的风险^[12]。预计到2050年,全球死于抗生素相关疾病的人数将从2014年的70万·a⁻¹增加至1 000万·a⁻¹,细菌耐药性的危害或将超过癌症^[13]。因此,ARGs的污染问题引发了世界各国的高度关注^[14]。与传统畜禽粪便处理方式相比,蚯蚓转化技术作为一种畜禽粪污高值资源化利用的方式,除了能够增加有机废弃物中生物可利用成分、提

高粪便附加值外,还可以利用蚯蚓肠道内的生物酶和微生物对畜禽粪污中的ARGs进行分解与转化。另外,蚯蚓肠道也可减少ARGs主要传播载体——可移动遗传元件(MGEs),通过控制ARGs的传播来降低ARGs的含量^[15]。然而,转化底物畜禽粪便中ARGs含量较高且种类丰富,使得蚯蚓体内和蚓粪中仍会检出一定量的ARGs,而残留的ARGs会伴随蚓粪的后续利用在土壤中不断积累^[16],甚至可能进入农作物可食用部分污染食物链,最终威胁人类健康和生命安全^[17]。ARGs残留也成为了目前绿色农业发展中限制粪肥还田、制约种养结合、影响生态循环的关键问题。

为探究我国种养循环绿色技术发展的前景,促进畜禽粪便的合理资源化利用,本文在简要论述蚯蚓堆肥畜禽粪便现状的基础上,聚焦蚯蚓堆肥及产物利用过程中耐药基因的污染问题,梳理总结了转化过程中耐药基因的污染排放特征、环境行为规律及迁移主控因子,并提出基于“畜禽养殖-蚯蚓堆肥-蚓粪还田”全过程耐药基因污染防控的建议及展望,以期为我国畜禽粪便的资源化及无害化利用提供理论支撑。

1 蚯蚓堆肥畜禽粪便技术及产物应用

1.1 蚯蚓堆肥——畜禽粪便高值资源化的新兴技术

由于传统粪污处理方式具有一定的局限性且存在环境污染问题(表1),近年来,我国不断推进畜禽粪便资源化利用,促进农业绿色发展,逐渐出现了一些新型的畜禽废弃物处理利用方式,特别是利用能以畜禽粪便为食的食腐性动物进行的环境友好型生物处理方式,如黑水虻处理猪粪、蚯蚓转化牛粪等,一定程度上拓展了畜禽粪便的资源化利用途径,提高了畜禽废弃物的资源化、无害化利用比例。其中,蚯蚓转化作为一种畜禽粪便高值资源化的新型处理技术,越来越受到人们的重视。1981年美国学者HAIMI^[23]首次尝试利用蚯蚓处理畜禽粪便,随后我国学者孙振军

表1 畜禽粪便不同处理方式优缺点

Table 1 Advantages and disadvantages of different treatment methods of livestock and poultry manure

项目 Item	好氧堆肥 Aerobic composting	厌氧堆肥 Anaerobic composting	蚯蚓堆肥 Vermicomposting	文献来源 Reference
优点	操作工艺简单成熟,高温杀菌作用降低病原微生物数量	便于处理含水量较高的粪便	对重金属、病原菌及耐药基因具有显著的去除作用,运行成本低、营养元素流失少,提升发酵速率,实用性强,产物利用方式多样	[18-19]
缺点	占地面积大、耗时长且需要人工翻堆,容易造成氨挥发,形成大气污染	对设备要求高,形成大量沼液需要进一步处理,因此整体经济效益较差	转化流程缺乏规范及标准,未经高温处理存在腐熟不完全、残留草籽问题	[20-21]
产物利用	有机肥	沼气,沼渣	蚯蚓粪肥、土壤改良剂、蚯蚓制品、蚯蚓活体	[22]

等^[24]对畜禽粪便-蚯蚓养殖技术进行了系统研究,为目前蚯蚓转化技术的发展奠定了良好的基石。蚯蚓转化通常被称为“蚯蚓堆肥”,是将传统堆肥工艺与生物处理工艺相结合,充分发挥两者的优点并规避缺点的处理方法,即畜禽废弃物经快速发酵及杀菌等预堆制处理后,利用蚯蚓体内的消化系统及微生物,进一步分解转化为高效农用有机肥料^[25],进而实现无害化、减量化、资源化处理^[22]。蚯蚓堆肥技术因投资小、附加值高且有助于实现畜禽粪便绿色资源化利用等优势,在畜禽粪污的高效资源化利用技术中逐渐崭露头角。

1.2 蚯蚓堆肥产物的应用现状

蚯蚓堆肥技术也是种养结合产业中的一个关键环节,其转化产物(蚓粪)作为畜禽粪便高效资源化利用的一种重要产物,不仅具有良好的通气性和保水性,还能改善土壤结构、提高农产品的品质与产量。有研究表明,蚓粪的投加明显增强了土壤的蓄水能力,且小颗粒蚓粪的效果大于大颗粒^[24]。此外,蚓粪也是一种提高作物产量与品质的高效肥料^[25],IEVINSH等^[26]利用蚯蚓堆肥产物生产有机药草,效果明显优于用传统容器堆肥生产的有机药草。YATOO等^[27]的研究也发现利用蚓粪代替农业传统肥料,不仅能可持续地促进作物生长、增加产量,还能有效抑制病虫害的发生。蚓粪还田也可以有效缓解土壤中的污染物质,降低土壤中壬基酚(NP)的生物有效性,通过增强作物的抗逆性来帮助作物应对NP胁迫,促进作物健康生长^[21]。因此,蚯蚓堆肥产物的还田利用也在一定程度上加快了畜禽养殖粪污从达标排放向全量利用转变的步伐,同时助推种养结合农业绿色发展。

以“蚓粪”“蚯蚓肥”“蚯蚓堆肥”“Wormcast”“Vermicompost”和“Vermicomposting”为关键词,选择时间跨度为1948—2020年,在中国知网(CNKI)和Web of Science检索到文献1 474篇(包括硕博学位论文219篇),其中近五年占比达44.84%(图1),可见蚯蚓粪已逐渐成为国内外的研究热点之一。本研究在前期调研过程中也发现,我国大部分蚯蚓养殖产业主要集中在北方地区,以山东、山西为主,而利用蚯蚓粪种植则主要集中在中东部地区,以上海、江苏为主。此外,随着国家政策的牵引,我国部分地区已逐步形成“畜粪养殖蚯蚓-蚓粪还田施肥”的典型绿色循环试验区。李建勇等^[28]研究发现,利用叶类蔬菜-蚯蚓种养模式可有效降低蔬菜复种指数,使设施土壤得到休耕,改善了土壤理化性质,同时保障了蔬菜生产安全和农业

生态环境安全,促进了农业增产增效、农民增收。蚯蚓堆肥畜禽粪便技术不仅处理效率高,且可以变废为宝,已成为一条重要的、新型的生态循环产业链,对于促进农业可持续发展具有重要意义,逐步在畜禽粪便处理及资源化利用领域受到重视^[29]。

2 蚯蚓堆肥对畜禽粪污耐药基因的影响及因素解析

2.1 蚯蚓堆肥底物畜禽粪污中耐药基因的赋存特征

我国是世界上最大的抗生素生产国和消费国,其中52%以上用于促进动物生长和治疗疾病^[30]。抗生素的长期使用会显著提升ARGs丰度及种类水平^[31-32],特别是在畜禽养殖环境中^[33]。迄今为止,畜禽粪便中已检出了大量的ARGs,其中四环素类ARGs(*tetO*、*tetQ*、*tetW*和*tetX*)在粪便中的含量最高,相对丰度可达 $10^{-2} \sim 10^{-1}$ copies · 16S copies⁻¹,磺胺类ARGs(*sul1*和*sul2*)、大环内酯类ARGs(*ermB*和*ermC*)和链霉素类ARGs(*aadA*、*strA*和*strB*)的污染水平次之^[34]。在集约化养猪场和养鸡场还检测到氨基糖苷类、氯霉素类和万古霉素类ARGs的存在^[35]。值得注意的是,与人类健康密切相关的 β -内酰胺类ARGs(*bla*-ARGs)曾主要出现在医院环境中,近年来也越来越频繁地出现在畜禽源性微生物中^[36]。YANG等^[37]发现部分*bla*-ARGs亚型在牲畜粪便中普遍存在,甚至包括高风险“超级细菌”*bla*_{NDM}。蚯蚓堆肥作为一种重要的畜禽粪污处理方式^[38],其转化原料大多来自长期使用抗生素的畜禽养殖场^[39],而畜禽粪便中的ARGs随着蚯蚓吞食会进入蚯蚓肠道,经蚯蚓转化后再排入环境中,进入接纳环境中的ARGs可在各介质中发生二次传播,且有可能通过食物链进入人体,其传播迁移途径如图2所示。

2.2 蚯蚓堆肥过程中耐药基因的消长规律

畜禽养殖粪污中ARGs的种类多样且具有多种耐药机制并存的污染特点。不同的粪便处理方式和利用模式对ARGs的影响不同,如传统好氧堆肥和厌氧堆肥等处理方法主要是通过处理条件的变化(如温度、湿度、酸碱度及抗生素含量等)来改变微生物群落的结构与组成,进而影响ARGs的丰度和多样性,并非直接改变或阻止基因的水平转移(Horizontal gene transfers, HGTs)和垂直转移(Vertical gene transfers, VGTs)^[39]。相比于传统处理方式,蚯蚓堆肥可更有效地降低有机废物中的ARGs含量,且对猪粪、牛粪处理效果更加明显(表2)。早在1996年,DAANE等^[43]

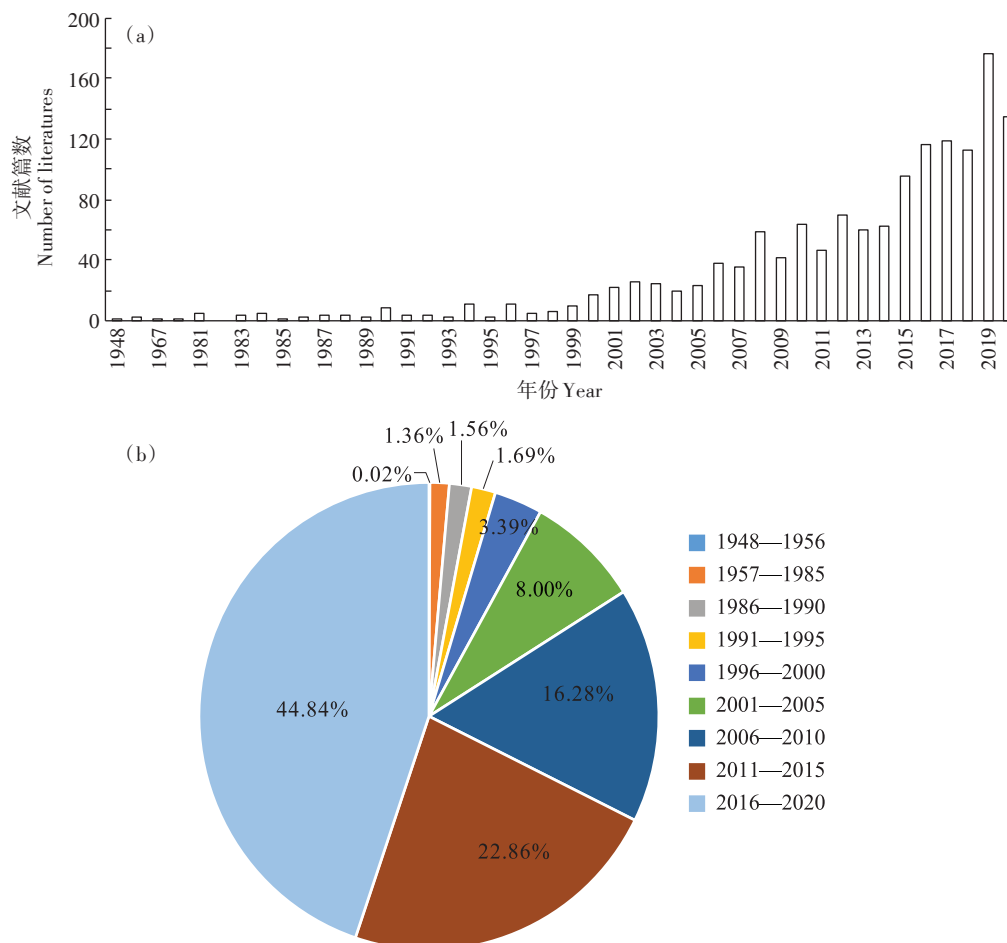


图1 国内外文献变化趋势

Figure 1 The trend of the number of literatures

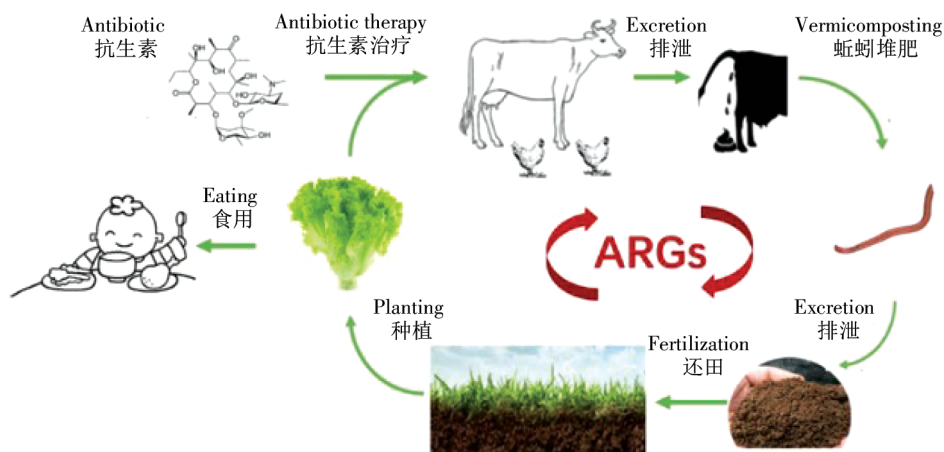


图2 蚯蚓堆肥畜禽粪便过程中耐药基因的迁移途径

Figure 2 The migration pathway of ARGs during earthworm transformation into animal feces

已经认识到蚯蚓对于转移运输有益细菌的重要性,随后研究者提出蚯蚓是细菌基因转移的载体和贡献者^[44-45]。蚯蚓堆肥过程中细菌 16S rDNA 基因丰度显著降低,同时蚯蚓对携带 ARGs 的宿主菌群具有很大

的影响。转化前期 ARGs 宿主菌主要来自畜禽粪便,而后期的宿主菌主要来源于蚯蚓肠道^[46],ARGs 宿主菌的变化直接或间接地驱动了蚯蚓对 ARGs 的去除作用,有效抑制了蚯蚓堆肥产物中的致病菌^[47]。陈景

表2 不同畜禽粪便处理方式对耐药基因含量的去除效果

Table 2 The reduction effect of different animal manure treatment methods on the content of ARGs(copies·16S copies⁻¹)

项目 Item		猪 Swine	牛 Cow	鸡 Poultry	文献来源 Reference
生粪中耐药基因含量		0.54~1.49	0.08~0.28	1.71~3.07	[40~41]
传统堆肥	处理后含量	0.11~0.17	0.06~0.52	0.08~0.36	[41~42]
	去除率	28%	4%	12%~57%	
蚯蚓堆肥	处理后含量	—	0.01~0.09	—	[40~41]
	去除率	85%	73%	—	

阳等^[48]也证实了蚯蚓堆肥可以有效降低整合子的丰度,控制 ARGs 的传播。此外,蚯蚓和微生物的联合作用有助于在蚯蚓堆肥过程中降解有机物成分^[49]。

此外,蚯蚓肠道消化耐药菌或激活非抗生素耐药菌具有一定选择性,部分 ARGs(如 *sul*-ARGs)会通过水平转移的方式持续存在,同时蚯蚓肠道内特殊的厌氧和酸性环境也促进了一些重要 ARGs 宿主微生物(如细菌和肌酸)的繁殖和富集^[50],致使蚯蚓堆肥对 ARGs 的削减存在选择性^[9]。HUANG 等^[51]利用相对定量 PCR 研究了蚯蚓污泥堆肥过程中四环素和喹诺酮类 ARGs 的变化,发现蚯蚓可去除其中的 *qnrS* 基因,但对 *tet*-ARGs 的去除效果偏弱。而蚯蚓堆肥对相同机制的 ARGs 产生的影响是类似的。例如,蚯蚓处理组中外排泵类基因 *tetC* 和 *tetG* 的丰度略有升高,但增加不显著($P>0.05$),而核糖体保护基因 *tetM* 和 *tetW* 的丰度都有一定的下降,且钝化酶基因 *tetX* 丰度显著降低($P<0.05$)^[49]。此外,动物肠道微生物群通常被视为 ARGs 的蓄水池^[42],蚯蚓肠道中 53% 的 ARGs 来自土壤环境或畜禽粪便^[52]。虽然蚯蚓堆肥有助于减少畜禽粪便中的 ARGs,但转化后蚯蚓肠道中微生物量(16S rRNA)减少会导致 ARGs 相对丰度显著增加,如 *sul1*、*sul2*、*bla*_{TEM-1}^[53]。TIAN 等^[54]也在蚯蚓堆肥后的蚯蚓粪中发现 *bla*_{ampc}、*cfp* 和 *fexA* 的丰度呈现增加趋势。可见,蚯蚓堆肥技术虽然可有效降低畜禽粪便中部分 ARGs,但是蚯蚓肠道及末端产物蚓粪中依然会残留一定量的 ARGs,且在还田利用过程中存在污染农田生态系统的风险。因此,在合理利用蚯蚓堆肥技术实现农业绿色可持续发展的同时,重点研究转化过程及后续利用中的 ARGs 污染具有重要意义。

2.3 蚯蚓堆肥过程中耐药基因的驱动因素分析

2.3.1 蚯蚓肠道微生物与 MGEs

微生物作为 ARGs 的重要载体和主要携带者,其活性、丰度以及多样性的变化是驱动 ARGs 变化的重要因素^[55],同时携带 ARGs 的微生物宿主种群结构也成为决定 ARGs 种类多样性的重要因素之一^[56~57]。蚯

蚓堆肥过程的主要场所是蚯蚓肠道,利用蚯蚓肠道分泌的生物酶和微生物对畜禽粪便进行生物分解和转化^[58],而蚯蚓体内前肠器官和肠道的厌氧环境以及蚯蚓的黏液排泄和需氧掘洞可以直接改变细菌群落组成及多样性^[49]。有研究表明,蚯蚓堆肥过程中细菌谱的变化对 ARGs 丰度的变化具有直接决定作用^[59]。此外,蚯蚓堆肥也会显著改变蚯蚓粪中携带 ARGs 的微生物群落组成,如增加拟杆菌的相对丰度,降低变形菌、厚壁菌和放线菌的相对丰度^[60],进而对 ARGs 丰度产生影响。另外,MGEs 作为 HGT 过程的主要载体,在 ARGs 的传播中也发挥着重要作用^[61]。*Int1* 作为典型的 MGEs 之一,可携带一个或多个 ARGs,且与 *tetG*、*tetM*、*tetX*、*tetW*、*tetO*、*qnrS* 呈显著正相关($P<0.05$)^[62]。HUANG 等^[47]针对蚯蚓肠道内的 ARGs 变化进行研究,结果表明 MGEs 和土壤性质对 ARGs 变化的解释率可达 72%。目前蚯蚓堆肥过程中蚯蚓体内微生物和 MGEs 的变化已被证实是 ARGs 消长的主要驱动因素,但由于蚯蚓肠道内微生物群落的复杂性,关于不同转化阶段 ARGs 迁移消长的趋势有待进一步研究。

2.3.2 蚯蚓养殖条件

蚯蚓堆肥过程中养殖条件的变化不仅影响转化系统的稳定性,还会影响转化过程中 ARGs 的归趋^[63]。蚯蚓作为一种变温、湿生动物,环境的变化对其转化畜禽粪便的速率具有显著的影响。刘亚纳^[64]的研究表明,蚯蚓堆肥有机废物的最适宜温度为 24.5℃,最适湿度范围为 60%~70%。另外,蚯蚓堆肥畜禽粪便的效率在一定范围内与蚯蚓的接种密度成正比。蚯蚓堆肥中不同的养殖条件会改变蚯蚓体内微生物分布,包括微生物数量、活性和群落结构,进而对 ARGs 产生影响^[65]。LI 等^[66]在利用蚯蚓堆肥降解不同有机废物过程中发现,蚯蚓堆肥的设备、蚓床堆肥高度以及蚯蚓密度对 ARGs 的去除效果具有显著影响。同时,在活性污泥中接种密度较高的蚯蚓会导致蚯蚓粪中 *qnrA* 和 *qnrS* 的增加^[59]。目前已有研究大多集中在传统堆肥处理中不同条件对 ARGs 的影响,而针对

蚯蚓堆肥过程不同养殖条件对 ARGs 迁移转化的影响研究较少。

2.3.3 畜禽粪便基质及添加剂

蚯蚓堆肥畜禽粪便过程中影响 ARGs 迁移与消长的基质因素有多种,如畜禽粪便物料中总氮(TN)、总磷(TP)、酸碱度(pH)、碳氮比(C/N)等理化指标,重金属、抗生素等其他污染物以及转化基质中的不同添加剂等^[67]。基质的理化参数可以通过改变微生物和 MGEs 间接决定 ARGs 的去向。HE 等^[68]发现在蚯蚓堆肥过程中无机碳、总氮和总溶解有机碳通过影响细菌的生存来调节 ARGs 通量的变化。此外,传统堆肥过程中的 pH、氨氮、硝态氮和总氮也可以影响和消除 MGEs 的潜在宿主细菌,从而有效降低 ARGs 在环境中水平转移的风险^[69]。另外,为促进蚯蚓的转化、提高蚓粪中的营养物质含量,通常会在畜禽粪便中添加不同配比的添加剂,而不同添加剂会通过改变基质的理化性质对 ARGs 的迁移产生影响,如在蚯蚓堆肥过程中添加富含稻壳和玉米芯的生物炭,可提高污泥基质中 ARGs(*ermF*、*tetM* 和 *sul1*)的去除率^[70]。然而,由于目前蚯蚓堆肥过程中的内在调节机制尚不明确,仍需对蚯蚓堆肥过程中畜禽粪便基质性质的影响进行进一步探究,以期后续选择添加剂种类及含量提供理论依据,以降低最终产物中 ARGs 传播的风险。

2.3.4 污染物协同作用

除 ARGs 外,畜禽粪便中还存在着多种有毒有害污染物质,如抗生素、重金属等,这些物质也会对 ARGs 的持久性存在和传播产生直接作用^[71]。抗生素及重金属在养殖过程中常被用来治疗畜禽细菌性疾病以及促进生长,但抗生素和重金属的滥用也造成其在畜禽粪便中的严重残留。研究表明,抗生素在 ARGs 水平转移中发挥着重要作用^[72],对 ARGs 具有一定的选择压力,会增加 ARGs 的传播风险^[73]。另外,重金属也会通过协同抗性、交叉抗性和共调节等机制诱导 ARGs 的产生和富集^[74]。BERG 等^[75]发现 Cu 对四环素和万古霉素 ARGs 具有联合选择压力,而 Cu 抗性基因(*tcrB* 和 *cueO*)的水平转移会伴随四环素、万古霉素、红霉素等 ARGs 的转移^[76]。由此可见,畜禽粪便中的污染物也会通过相互影响、协同作用等方式对 ARGs 产生联合作用,进而影响蚯蚓堆肥过程中 ARGs 的迁移消长。综上所述,在蚯蚓转化过程中 ARGs 的迁移消长伴随着复杂多变的生化过程,其中微生物群落结构和 MGEs 是 ARGs 的主要驱动因素,另外还受到转化条件、畜禽粪便基质性质和其他污染物等多种因素的影响。

3 蚯蚓堆肥产物中耐药基因的生态风险及管控措施

目前,我国蚯蚓粪年产量已达 30 万 t^[77],但由于蚯蚓转化底物中污染水平较高且 ARGs 具有生物特殊性^[49],部分 ARGs 会在蚓粪中残留甚至富集^[48],如 *tet*-ARGs 和高风险 *bla*-ARGs,增加了蚓粪后续利用的安全风险^[78]。有研究表明,ARB 和 ARGs 进入健康的生物体后,会不断地增殖进而在生物体内逐渐形成对抗生素的耐药模块^[79],从而降低抗生素的治疗能力。CHEN 等^[9]发现长期施用粪肥会促使畜禽源 ARGs 在植物中的积累和富集;GAO 等^[80]通过对粪肥种植的有机蔬菜样品中 ARGs 的研究,发现相对于未施用粪肥的蔬菜,施用粪肥的蔬菜体内 ARGs 及相关内生菌丰度均显著增加。而蔬菜内生菌中的 ARGs 是人类接触土壤抗性菌的一个潜在途径^[81],食用含有 ARGs 相关内生菌的蔬菜存在一定的健康风险。此外,在施用畜禽粪肥的大田小白菜和黄瓜中也检测出具有抗生素耐药性的作物内生细菌^[82]。可见,残留的 ARGs 会增加人类摄入 ARGs 的风险^[83]。随着蚓粪作为新型有机肥逐渐替代化肥,蚓粪中的 ARGs 进入农田土壤同样增加了 ARGs 的环境输入,也会造成受纳环境中 ARGs 的二次污染与传播。TIAN 等^[54]在对蚯蚓养殖场的研究中发现,ARGs 在施用蚓粪的菜田土壤中普遍存在。因此,蚓粪的还田利用也存在 ARGs 向食物链传播的风险。目前,关于 ARGs 的生态风险研究主要集中在畜禽粪肥施用于农田土壤中,而针对蚓粪施用的研究尚鲜见报道。因此,对畜禽粪源蚓粪还田过程中 ARGs 的环境归趋及生态风险研究是十分必要的,同时还需对蚓粪还田的途径进行有效管控,从而降低 ARGs 对农田生态系统和人体健康造成的风险。

为解决畜禽粪源蚓粪还田过程中 ARGs 污染,需要在蚓粪中 ARGs 的产生、转化、利用各个环节进行有效管控,以最大程度地减少 ARGs 向农田生态系统的排放,降低其通过食物链等向人体传播的风险。目前对 ARGs 的管控策略主要以源头控制为主,包括加强兽用抗生素的使用管理,加强养殖技术培训^[84],以及使用替代方法等^[85]。蚯蚓堆肥具有降低 ARGs 的潜力,但降低的程度受蚯蚓养殖条件、堆肥底物性质和预处理等因素的影响^[63],应进一步阐明这些因素对 ARGs 的潜在作用机制,从而通过优化条件降低蚯蚓堆肥产物中 ARGs 和致病菌的丰度和多样性。另外,有研究表明,蚯蚓粪中抗生素/重金属的生物利用度

与 ARGs 丰度呈显著正相关,且 ARGs 与重金属抗性基因(Heavy metal resistance genes, HRGs)呈显著正相关^[86];蔬菜种类也是决定 ARGs 污染的关键因素^[87]。因此,可以通过调控畜禽源蚓粪中与 ARGs 丰度变化相关的因素来降低还田利用过程中 ARGs 的生态风险。最终,应对“蚓粪土壤-作物-人类”链条进行抗性传播的风险评估^[88],降低蚯蚓堆肥中 ARGs 对农田生态系统的影响。

4 研究展望

利用蚯蚓堆肥技术进行畜禽粪便的高值资源化利用,形成“畜禽粪便-蚯蚓-蚓粪-养殖/种植”生态模式,可达到以蚯蚓养殖为纽带,双向带动畜禽养殖与作物种植等循环产业发展的目的。虽然蚯蚓堆肥技术可有效削减畜禽粪污中的 ARGs,但其具有一定选择性,致使蚓粪中仍存在较高水平的 ARGs;而蚓粪中残留的 ARGs 会随着“畜禽粪便-蚯蚓-蚓粪-养殖/种植”这一种养循环链条进入食物链,对人类和动物健康造成威胁,这也是限制蚓粪还田、制约种养结合、实现生态循环发展的关键问题。然而,目前对蚯蚓堆肥畜禽粪便中 ARGs 污染的研究主要集中在蚯蚓堆肥对 ARGs 的去除、转化过程中 ARGs 的行为归趋以及转化产物中 ARGs 的残留,而对于蚓粪后续还田过程中 ARGs 的迁移规律及耐药菌的传播问题仍缺乏系统研究。因此,未来的研究应进一步关注以下几点:

(1) 畜禽粪便中 ARGs 种类繁多,不同畜种间存在显著差异,虽已有研究对蚯蚓堆肥牛粪开展了部分工作,但若全面了解和系统评估蚯蚓堆肥对畜禽粪便中 ARGs 污染的影响,还需进一步加强不同畜种、不同来源粪污的蚯蚓堆肥研究。

(2) 蚓粪中残留的 ARGs 不容忽视,摸清粪源 ARGs 在土壤-作物系统中的积累分配特征、行为规律及其驱动因素,是控制农业环境中 ARGs 传播和降低 ARGs 生态风险的关键,故开展蚓粪源 ARGs 的环境行为及传播机制的研究非常必要。

(3) 蚓粪还田利用过程中 ARGs 与其他共生污染物(重金属、抗生素)的相互作用及其对蔬菜耐药性的影响,是评价其安全食用风险和生态环境风险的重要内容,因此共存污染物对 ARGs 迁移传播的影响规律及机制亟需进一步探究。

(4) 为真正实现蚓粪资源化、无害化利用,推动畜禽养殖产业的绿色可持续发展,在全面解析“畜禽粪便-蚯蚓-蚓粪-养殖/种植”过程中耐药基因的行为归

趋、迁移机制和驱动因素的基础上,应进一步加强蚓粪 ARGs 向农田生态系统的转移规律、传输途径及削减措施等方面的研究,减少其带来的环境风险。

参考文献:

- [1] 贾伟,臧建军,张强,等. 畜禽养殖废弃物还田利用模式发展战略[J]. 中国工程科学, 2017, 19(4): 130-137. JIA W, ZANG J J, ZHANG Q, et al. Development strategies for utilization models for returning livestock and poultry manure to the land[J]. *Strategic Study of CAE*, 2017, 19(4): 130-137.
- [2] 国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2019. National Bureau of Statistics of the People's Republic of China. China statistical yearbook[M]. Beijing: China Statistics Press, 2019.
- [3] 农业部. 农业部关于印发《畜禽粪污资源化利用行动方案(2017—2020年)》的通知[EB/OL]. [2017-08-20]. http://www.moa.gov.cn/nybg/2017/dbq/201801/t20180103_6134011.htm. Ministry of Agriculture. Notice of the Ministry of Agriculture on printing and distributing the Action Plan for the Resource Utilization of Livestock and Poultry Manure (2017—2020)[EB/OL]. [2017-08-20]. http://www.moa.gov.cn/nybg/2017/dbq/201801/t20180103_6134011.htm.
- [4] YADAV A, GARG V K. Biotransformation of bakery industry sludge into valuable product using vermicomposting[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 274: 512-517.
- [5] YING T J, LU X, ZHANG J, et al. Factors influencing the fate of antibiotic resistance genes during thermochemical pretreatment and anaerobic digestion of pharmaceutical waste sludge[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 243: 1403-1413.
- [6] 邹威, 罗义, 周启星. 畜禽粪便中抗生素抗性基因(ARGs)污染问题及环境调控[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(12): 2281-2287. ZOU W, LUO Y, ZHOU Q X. Pollution and environmental regulation of antibiotic resistance genes (ARGs) in livestock manure[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(12): 2281-2287.
- [7] RAHMAN M M, SHAN J, YANG P, et al. Effects of long-term pig manure application on antibiotics, abundance of antibiotic resistance genes (ARGs), anammox and denitrification rates in paddy soils[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 240: 368-377.
- [8] ZHOU L J, YING G G, ZHAO J L, et al. Trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in the sediments of the Yellow River, Hai River and Liao River in northern China[J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(7): 1877-1885.
- [9] CHEN Q, AN X, LI H, et al. Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil[J]. *Environment International*, 2016, 92/93: 1-10.
- [10] LI A, CHEN L, ZHANG Y, et al. Occurrence and distribution of antibiotic resistance genes in the sediments of drinking water sources, urban rivers, and coastal areas in Zhuhai, China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(26): 26209-26217.
- [11] MURRAY R, TIEN Y C, SCOTT A, et al. The impact of municipal sewage sludge stabilization processes on the abundance, field persistence, and transmission of antibiotic resistant bacteria and antibiotic

- resistance genes to vegetables at harvest[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 651: 1680–1687.
- [12] 张彤, 李炳. 水环境中抗生素耐药性的科学研究前沿、环境健康风险评估和控制阻断策略[J]. 科学通报, 2020, 65(24): 2543–2554. ZHANG T, LI B. Antibiotic resistance in water environment: Frontiers of fundamental research, risk assessment and control strategies[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2020, 65(24): 2543–2554.
- [13] O' Neill J. Antimicrobial resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of Nations[J]. *The Review on Antimicrobial Resistance*, 2014, 20: 1–16.
- [14] WRIGHT G D. Antibiotic resistance in the environment: A link to the clinic?[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2010, 13(5): 589–594.
- [15] HUANG K, XIA H, ZHANG Y Y, et al. Elimination of antibiotic resistance genes and human pathogenic bacteria by earthworms during vermicomposting of dewatered sludge by metagenomic analysis[J]. *Biore-source Technology*, 2020, 297: 122451.
- [16] LÜ J, YANG L S, ZHANG L, et al. Antibiotics in soil and water in China: A systematic review and source analysis[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 266: 115–147.
- [17] PU C J, YU Y, DIAO J X, et al. Exploring the persistence and spreading of antibiotic resistance from manure to biocompost, soils and vegetables[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 688: 262–269.
- [18] 温凌嵩, 宋立华, 臧一天, 等. 蚯蚓处理畜禽粪便研究进展[J]. 家畜生态学报, 2020, 41(7): 85–89. WEN L S, SONG L H, ZANG Y T, et al. Advances in earthworm treatment of livestock manure[J]. *Chinese Journal of Livestock Ecology*, 2020, 41(7): 85–89.
- [19] 李晓晖, 艾仙斌, 黄凯, 等. 畜禽粪便中有害成分的无害化处理研究进展[J]. 家畜生态学报, 2020, 41(4): 8–13. LI X H, AI X B, HUANG K, et al. Advances on harmless treatment of harmful components in livestock manure[J]. *Chinese Journal of Livestock Ecology*, 2020, 41(4): 8–13.
- [20] LI Y P, SHAO M G, WANG J, et al. Effects of earthworm cast application on water evaporation and storage in loess soil column experiments [J]. *Sustainability*, 2020, 12(8): 3112–3124.
- [21] WANG X X, ZHAO F Y, ZHANG G X, et al. Vermicompost improves tomato yield and quality and the biochemical properties of soils with different tomato planting history in a greenhouse study[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1–11.
- [22] 王玉洁, 朱维琴, 金俊, 等. 农业固体有机废弃物蚯蚓堆制处理及蚓粪应用研究进展[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(3): 722–726. WANG Y J, ZHU W J, JIN J, et al. Advances in vermicomposting of agricultural solid organic wastes and application of vermicompost[J]. *Hubei Agriculture Science*, 2010, 49(3): 722–726.
- [23] HAIMI J. Growth and reproduction of the compost-living earthworms *Eisenia andrei* and *E. fetida*[J]. *Revue d'Ecoigie et de Biologie du Sol*, 1990, 27(4): 415–421.
- [24] 孙振军, 刘玉庆, 李文立. 温度、湿度和酸碱度对蚯蚓生长与繁殖的影响[J]. 莱阳农学院学报, 1993(4): 297–300. SUN Z J, LIU Y Q, LI W L. Effects of temperature moisture and acidity on the growth and reproduction in *Eisemia foetida*[J]. *Journal of Laiyang Agricultural College*, 1993(4): 297–300.
- [25] 孙振钧. 蚯蚓反应器与废弃物肥料化技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 12–14. SUN Z J. Earthworm reactor and waste fertilizer technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 12–14.
- [26] IEVINSH G, ANDERSON-OZOLA U, ZEIPIA S. Comparison of the effects of compost and vermicompost soil amendments in organic production of four herb species[J]. *Biological Agriculture & Horticulture*, 2020, 36(4): 267–282.
- [27] YATOO A M, ALI M N, BABA Z A, et al. Sustainable management of diseases and pests in crops by vermicompost and vermicompost tea: A review[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2021, 41(1): 7.
- [28] 李建勇, 王齐旭, 张瑞明. 绿叶蔬菜-蚯蚓种养循环绿色生产技术[J]. 上海蔬菜, 2020(3): 45–47. LI J Y, WANG Q X, ZHANG R M. Green leafy vegetables-earthworm planting and breeding cycle green production technology[J]. *Shanghai Vegetables*, 2020(3): 45–47.
- [29] BHAT S A, SINGH S, SINGH J, et al. Bioremediation and detoxification of industrial wastes by earthworms: Vermicompost as powerful crop nutrient in sustainable agriculture[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 252: 152–179.
- [30] 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.
- [31] D' COSTA V M, KING C E, KALAN L, et al. Antibiotic resistance is ancient[J]. *Nature*, 2011, 477(7365): 457–461.
- [32] PERRY J A, WRIGHT G D. The antibiotic resistance “mobilome”: Searching for the link between environment and clinic[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 138.
- [33] MEERSCHKE T, RASSCHAERT G, NEST T V, et al. Longitudinal screening of antibiotic residues, antibiotic resistance genes and zoonotic bacteria in soils fertilized with pig manure[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(22): 28016–28029.
- [34] 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.
- [35] XUN Q, JIE G, WEI S, 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.
- [36] KYSELKOVA M, JIROUT J, CHRONAKOYA A, et al. Cow excrements enhance the occurrence of tetracycline resistance genes in soil regardless of their oxytetracycline content[J]. *Chemosphere*, 2013, 93(10): 2413–2418.
- [37] YANG F, GU Y, ZHOU J, et al. Swine waste: A reservoir of high-risk *bla_{NDM}* and *mcr-I*[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 683: 308–316.
- [38] PEREZ-GODINEZ E A, LAGUNES-ZARATE J, CORONA-HERNANDEZ J, et al. Growth and reproductive potential of *Eisenia foetida* (Sav) on various zoo animal dungs after two methods of pre-composting followed by vermicomposting[J]. *Waste Management*, 2017, 64: 67–78.
- [39] GYSAIN R, SUTHAR S. Vermicomposting of duckweed (*Spirodela*

- polyrhiza*) by employing *Eisenia fetida*: Changes in nutrient contents, microbial enzyme activities and earthworm biodynamics[J]. *Biore-source Technology*, 2020, 311:123585.
- [40] XUN Q, JIE G, WEI S, et al. Diversity, abundance, and persistence of antibiotic resistance genes in various types of animal manure following industrial composting[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 344:716–722.
- [41] AWASTHI M K, CHEN H Y, 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.
- [42] WANG H, SANGWAN H, LI H Y, et al. The antibiotic resistome of swine manure is significantly altered by association with the *Musca domestica* larvae gut microbiome[J]. *ISME Journal*, 2017, 11(1):100–111.
- [43] DAANE L L, MOLINA J A, BERRY E C, et al. Influence of earthworm activity on gene transfer from *Pseudomonas fluorescens* to indigenous soil bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(2):515–521.
- [44] BYZOV B A, CLAUS H, TRETYAKOVA E B, et al. Plasmid transfer between introduced and indigenous bacteria in leaf litter, soil and vermicompost as affected by soil invertebrates[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 28(2):169–176.
- [45] DAANE L L, MOLINA J, SADOWSKY M J. Plasmid transfer between spatially separated donor and recipient bacteria in earthworm-containing soil microcosms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(2):679–686.
- [46] SOOBHANY N, MOHEE R, GARG V K. Inactivation of bacterial pathogenic load in compost against vermicompost of organic solid waste aiming to achieve sanitation goals: A review[J]. *Waste Management*, 2017, 64:51–62.
- [47] HUANG K, XIA H, WU Y, et al. Effects of earthworms on the fate of tetracycline and fluoroquinolone resistance genes of sewage sludge during vermicomposting[J]. *Biore-source Technology*, 2018, 259:32–39.
- [48] 陈景阳, 夏慧, 黄魁, 等. 四环素对污泥蚯蚓粪中微生物种群和抗性基因的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(7):3263–3269. CHEN J Y, XIA H, HUANG K, et al. Effects of tetracycline on microbial communities and antibiotic resistance genes of vermicompost from dewatered sludge[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(7):3263–3269.
- [49] MARÍA G B, MANUEL A, MARTA L, et al. Epigeic earthworms exert a bottleneck effect on microbial communities through gut associated processes[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(9):e24786.
- [50] HU Y F, YANG X, QIN J J, et al. Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota[J]. *Nature Communications*, 2014, 4:2151.
- [51] HUANG K, XIA H, ZHANG Y, et al. Elimination of antibiotic resistance genes and human pathogenic bacteria by earthworms during vermicomposting of dewatered sludge by metagenomic analysis[J]. *Biore-source Technology*, 2019, 297:112457.
- [52] LI Z H, YUAN L, SHAO W, et al. Evaluating the interaction of soil microorganisms and gut of soil fauna on the fate and spread of antibiotic resistance genes in digested sludge-amended soil ecosystem[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 420:126672.
- [53] JU F, LI B, MA L P, et al. Antibiotic resistance genes and human bacterial pathogens: Co-occurrence, removal, and enrichment in municipal sewage sludge digesters[J]. *Water Research*, 2016, 91:1–10.
- [54] TIAN X L, HAN B J, LIANG J F, et al. Tracking antibiotic resistance genes (ARGs) during earthworm conversion of cow dung in northern China[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 222:112538.
- [55] SU J Q, WEI B, OUYANG W Y, et al. Antibiotic resistome and its association with bacterial communities during sewage sludge composting[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(12):7356–7363.
- [56] DUAN Y J, CHEN Z Y, TAN L, et al. Gut resistomes, microbiota and antibiotic residues in Chinese patients undergoing antibiotic administration and healthy individuals[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 705:135674.
- [57] 朱永官, 陈青林, 苏建强, 等. 环境中抗生素与抗性基因组的研究[J]. *科学观察*, 2018, 12(6):60–63. ZHU Y G, CHEN Q L, SU J Q, et al. Research on antibiotics and resistance genomes in the environment[J]. *Science Watch*, 2018, 12(6):60–63.
- [58] 周波, 陈旭飞, 任宗玲, 等. 基于蚯蚓消化作用的城市生活垃圾资源化利用研究进展[J]. *广东农业科学*, 2011, 38(12):156–159. ZHOU B, CHEN X F, REN Z L, et al. Research progress on resource utilization of municipal solid waste based on earthworm digestion[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2011, 38(12):156–159.
- [59] CUI G, LI F, LI S, et al. Changes of quinolone resistance genes and their relations with microbial profiles during vermicomposting of municipal excess sludge[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 644:494–502.
- [60] PU Q, WANG H, PAN T, et al. Enhanced removal of ciprofloxacin and reduction of antibiotic resistance genes by earthworm *Metaphire vulgaris* in soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 742:140409.
- [61] YANG F X, HAN B J, GU Y R, et al. Swine liquid manure: A hotspot of mobile genetic elements and antibiotic resistance genes[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10:15037.
- [62] CHEN B, LIANG X, NIE X, et al. The role of class I integrons in the dissemination of sulfonamide resistance genes in the Pearl River and Pearl River estuary, south China[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 282:61–67.
- [63] GUI G Y, FAN L, HUA Z, et al. Critical insight into the fate of antibiotic resistance genes during biological treatment of typical biowastes[J]. *Biore-source Technology*, 2020, 317:123974.
- [64] 刘亚纳. 赤子爱胜蚓处理畜禽粪便的工艺条件研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2005:9–10. LIU Y N. Experimental study on theological process for *Eisenia foetida* disposing the animal manure[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2005:9–10.
- [65] AIRA M, MONROY F, J DOMÍNGUEZ, et al. How earthworm density affects microbial biomass and activity in pig manure[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2002, 38(1):7–10.
- [66] LI W, LI J, BHAT S A, et al. Elimination of antibiotic resistance genes from excess activated sludge added for effective treatment of

- fruit and vegetable waste in a novel vermireactor[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 325:124695.
- [67] LIANG C Y, WEI D, ZHANG S Y, et al. Removal of antibiotic resistance genes from swine wastewater by membrane filtration treatment[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 210:111885.
- [68] HE P J, YU Z F, SHAO L M, et al. Fate of antibiotics and antibiotic resistance genes in a full-scale restaurant food waste treatment plant: Implications of the roles beyond heavy metals and mobile genetic elements[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, 85:17-34.
- [69] ZHU L J, ZHAO Y, ANG K J, et al. Host bacterial community of MGEs determines the risk of horizontal gene transfer during composting of different animal manures[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 250:166-174.
- [70] HUANG K, CHEN J, GUAN M, et al. Effects of biochars on the fate of antibiotics and their resistance genes during vermicomposting of dewatered sludge[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 379(5):122767.
- [71] DENG W W, QUAN Y, YANG S Z, et al. Antibiotic resistance in *Salmonella* from retail foods of animal origin and its association with disinfectant and heavy metal resistance[J]. *Microbial Drug Resistance*, 2018, 24:782-791.
- [72] JUTKINA J, MARATHE N P, FLACH C F, et al. Antibiotics and common antibacterial biocides stimulate horizontal transfer of resistance at low concentrations[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 616:172-178.
- [73] ANDRADE L N, SIQUEIRA T E, MARTINEZ R, et al. Multidrug-resistant CTX-M-(15, 9, 2)- and KPC-2-producing *Enterobacter hormaechei* and *Enterobacter asburiae* isolates possessed a set of acquired heavy metal tolerance genes including a chromosomal *sil* operon (for acquired silver resistance)[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9:539.
- [74] WANG Q, LIU L, HOU Z, et al. Heavy metal copper accelerates the conjugative transfer of antibiotic resistance genes in freshwater microcosms[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 717:137055.
- [75] BERG J, THORSEN M K, HOLM P E, et al. Cu exposure under field conditions co-selects for antibiotic resistance as determined by a novel cultivation-independent bacterial community tolerance assay[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(22):8724-8728.
- [76] SILVEIRA E, FREITAS A R, ANTUNES P, et al. Co-transfer of resistance to high concentrations of copper and first-line antibiotics among *Enterococcus* from different origins (humans, animals, the environment and foods) and clonal lineages[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2014, 69(4):899-906.
- [77] SONG X, LIU M, WU D, et al. Interaction matters: Synergy between vermicompost and PGPR agents improves soil quality, crop quality and crop yield in the field[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 89:25-34.
- [78] LIU K, SUN M, YE M, et al. Coexistence and association between heavy metals, tetracycline and corresponding resistance genes in vermicomposts originating from different substrates[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 244:28-37.
- [79] SINGER A C, HELEN S, VICKI R, et al. Review of antimicrobial resistance in the environment and its relevance to environmental regulators[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7:1728.
- [80] GAO F Z, HE L Y, HE L X, et al. Untreated swine wastes changed antibiotic resistance and microbial community in the soils and impacted abundances of antibiotic resistance genes in the vegetables[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 741:140482.
- [81] MART R, SOCCT 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.
- [82] GUO Y J, QIU T L, GAO M, et al. Diversity and abundance of antibiotic resistance genes in rhizosphere soil and endophytes of leafy vegetables: Focusing on the effect of the vegetable species[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 415:125595.
- [83] WEI R C, HE T, ZHANG S X, et al. Occurrence of seventeen veterinary antibiotics and resistant bacteria in manure-fertilized vegetable farm soil in four provinces of China[J]. *Chemosphere*, 2019, 215:234-240.
- [84] DONG H, CHEN Y, WANG J, et al. Interactions of microplastics and antibiotic resistance genes and their effects on the aquaculture environments[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403:123961.
- [85] 韩秉君, 牟美蓉, 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.
- [86] LIU K, SUN M, YE M, et al. Coexistence and association between heavy metals, tetracycline and corresponding resistance genes in vermicomposts originating from different substrates[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 244:28-37.
- [87] SUN Y, GUO Y, SHI M, et al. Effect of antibiotic type and vegetable species on antibiotic accumulation in soil-vegetable system, soil microbiota, and resistance genes[J]. *Chemosphere*, 2020, 263:128099.
- [88] WANG J H, WANG L J, ZHU L S, et al. Antibiotic resistance in agricultural soils: Source, fate, mechanism and attenuation strategy[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2020, 4:1835438.