

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第6期

Vol.39 No.6

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目 次

北京市二次有机气溶胶生成潜势的日变化规律	刘俊, 楚碧武, 贺泓 (2505)
太原冬季 PM _{2.5} 影响霾污染的关键尺度谱特征	杨素英, 余欣洋, 赵秀勇, 李义宇, 孙洪娉, 田芷洁, 李岩, 吴尚, 王梓航 (2512)
盘锦市冬季 PM _{2.5} 水溶性离子特征及来源分析	张蕾, 姬亚芹, 王士宝, 赵静琦, 张军, 李越洋, 张伟 (2521)
广州市天河区 2016 年雨季挥发性有机物污染特征及来源解析	古颖纲, 虞小芳, 杨闻达, 田智林, 李梅, 程鹏 (2528)
热带树木燃烧颗粒物中脱水糖和醋基烯的排放特征	金诚妙, 崔敏, 韩勇, 陈颖军, 唐娇, 李军, 张干 (2538)
天津地区污染天气分析中垂直扩散指标构建及运用	蔡子颖, 韩素芹, 张敏, 姚青, 刘敬乐 (2548)
亚热带农田和林地大气氨湿沉降与混合沉降比较	朱潇, 王杰飞, 沈健林, 肖润林, 王娟, 吴金水, 李勇 (2557)
京津冀地区黄标车政策的总量减排效益评估	卢亚灵, 周佳, 程曦, 张伟, 蒋洪强 (2566)
北京北运河河流生态系统健康评价	顾晓昀, 徐宗学, 刘麟菲, 殷旭旺, 王汨 (2576)
长江武汉段丰水期水体和沉积物中多环芳烃及邻苯二甲酸酯类有机污染物污染特征及来源分析	董磊, 汤显强, 林莉, 郇超, 黎睿, 吴敏 (2588)
福建省敖江下游抗生素抗性基因分布特征	张丹丹, 郭亚平, 任红云, 周昕原, 黄福义, 张炯 (2600)
三峡库区支流河口沉积物重金属分布特征及风险评价	方志青, 陈秋禹, 尹德良, 王志康, 孙涛, 王永敏, 谢德体, 王定勇 (2607)
三峡水库蓄水至 175 m 后干流沉积物理化性质与磷形态分布特征	潘婊娟, 黎睿, 汤显强, 夏振尧, 李青云, 杨文俊, 许文年 (2615)
基于水化学和稳定同位素的白洋淀流域地表水和地下水硝酸盐来源	孔晓乐, 王仕琴, 丁飞, 梁慧雅 (2624)
天目湖沙河水库热分层变化及其对水质的影响	孙祥, 朱广伟, 笪文怡, 余茂蕾, 杨文斌, 朱梦圆, 许海, 国超旋, 余丽, 李恒鹏, 李慧赞 (2632)
重庆雪玉洞滴水水文地球化学时空变化特征及其环境意义	曾泽, 蒋勇军, 吕现福, 曾思博, 胡刘焯, 雷佳琪 (2641)
岩溶地表河旱季有色溶解有机质组成及来源: 以金佛山碧潭河为例	刘跃, 贺秋芳, 刘宁坤, 刘九雄, 王正雄, 段世辉 (2651)
托来河流域不同海拔降水稳定同位素的环境意义	李永格, 李宗省, 冯起, 肖莲桂, 吕越敏, 桂娟, 袁瑞丰, 张百娟 (2661)
五里峡水库初级生产力对水气界面二氧化碳和甲烷排放速率时空变化的影响	彭文杰, 李强, 宋昂, 靳振江 (2673)
西南山区典型河道型水库藻类功能群时空演替特征及其影响因素: 以紫坪铺水库为例	张耀文, 李洪, 李嘉, 宋洋, 张陵蕾, 李永, 蒲迅赤, 黄文典 (2680)
四明湖水库浮游植物功能类群的季节演替及其影响因子	郑诚, 陆开宏, 徐镇, 郑志明, 朱津永 (2688)
营养盐添加对水华蓝藻——卵孢金胞藻生长和竞争影响的原位实验	王梦梦, 张伟, 张军毅, 尚光霞, 杜彩丽, 王丽卿 (2698)
植物配置与进水碳氮比对沉水植物塘水质净化效果的影响	刘森, 陈开宁 (2706)
江汉平原水稻季灌排单元沟渠中氮磷变化特征及其环境风险	华玲玲, 张富林, 翟丽梅, 刘宏斌, 范先鹏, 王洪媛 (2715)
冀西北典型北方小城镇污水处理厂中抗生素的分布和去除	柴玉峰, 张玉秀, 陈梅雪, 王瑞, 柳蒙蒙, 郑嘉熹, 魏源送 (2724)
臭氧-粉末炭联用作为预处理缓解膜污染的效果与机制	董秉直, 高昊旸, 胡孟柳 (2732)
中试 SAD-ASBR 系统处理含盐废水的启动与工艺特性	于德爽, 唐佳佳, 张军, 王晓霞, 赵红, 韩长民, 孙捷 (2740)
海藻酸钙/聚 N-异丙基丙烯酰胺半互穿网络凝胶球的除磷性能	曾学阳, 骆华勇, 张耀坤, 荣宏伟, 曾子君, 钟广汇 (2748)
玉米淀粉废水短程硝化快速启动及其稳定性	龙北生, 刘迅雷, 刘红波, 杨靖新, 袁树森 (2756)
硝化细菌的培养及包埋固定化中试	杨宏, 胡银龙 (2763)
不同运行策略下厌氧氨氧化的脱氮性能	安芳娇, 彭永臻, 董志龙, 邵兆伟, 赵智超, 黄剑明, 陈永志 (2770)
高含固污泥厌氧消化中蛋白质转化规律	詹瑜, 施万胜, 赵明星, 许之扬, 阮文权, 宋联, 朱葛 (2778)
污泥富磷堆肥前后重金属赋存形态及释放能力变化	李玉, 方文, 祁光霞, 魏勇红, 刘建国, 李润东 (2786)
丝状菌污泥膨胀对脱氮除磷功能菌群的影响	高晨晨, 游佳, 陈轶, 郑兴灿, 尚巍, 张文安 (2794)
同步去除并富集磷酸盐生物膜驯化过程中微生物种群分析	孟璇, 潘杨, 章豪, 廖恒弘, 徐林建, 冯鑫, 单捷 (2802)
四环素对人工粪堆好氧堆肥过程及微生物群落演替的影响	时红蕾, 王晓昌, 李倩, 刘源 (2810)
长期定位有机物还田对关中平原夏玉米-冬小麦轮作土壤 NO 排放的影响	袁梦轩, 王晋峰, 谭跃慧, 魏静, 杨学云, 顾江新 (2819)
菌渣还田量对紫色水稻土净温室气体排放的影响	祁乐, 高明, 周鹏, 王富华, 高泳钦, 陈仕奇, 吴思琪, 邓静霖, 文婷 (2827)
¹³ C 脉冲标记法定量冬小麦光合碳分配及其向地下的输入	孙昭安, 陈清, 韩笑, 吴文良, 孟凡乔 (2837)
西南喀斯特区植被恢复对土壤氮素转化通路的影响	杨怡, 欧阳运东, 陈浩, 肖孔操, 李德军 (2845)
江苏海岸带土壤重金属来源解析及空间分布	吕建树, 何华春 (2853)
黄河下游典型区域土壤重金属来源解析及空间分布	于元赫, 吕建树, 王亚梦 (2865)
典型小城市土壤重金属空间异质性及其风险评价: 以临安市为例	郑晴之, 王楚栋, 王诗涵, 林于也, 赵科理, 吴东涛, 傅伟军 (2875)
西南某铅锌矿区农田土壤重金属空间主成分分析及生态风险评价	周艳, 陈楠, 邓绍坡, 王金忠, 张胜田, 龙涛, 李群, 林玉锁, 吴运金 (2884)
典型山核桃产区土壤重金属空间异质性及其风险评价	张红桔, 赵科理, 叶正钱, 许斌, 赵伟明, 顾晓波, 张华锋 (2893)
生物炭添加对湿地植物生长及氧化应激响应的影响	黄磊, 陈玉成, 赵亚琦, 肖广全, 杨志敏 (2904)
厌氧条件水稻土铁对砷释放的影响	王欣, 钟松雄, 陈志良, 何宏飞, 董家华, 陈晓丽 (2911)
矿业活动影响稻田土壤和稻米中重金属含量及健康风险	田美玲, 钟雪梅, 张云霞, 余元元, 庞瑞, 周浪, 宋波 (2919)
硅酸钙和生物腐殖肥复配对葱生长和镉吸收的影响	刘德玲, 尹光彩, 陈志良, 林亲铁, 刘千钧, 钟松雄, 黄玲, 张建强 (2927)
吉林四平设施土壤和蔬菜中重金属的累积特征	李莲芳, 朱昌雄, 曾希柏, 李红娜, 叶婧, 李峰, 吴翠霞 (2936)
喷施锌肥对油菜镉锌生物可给性的影响	王林, 谷朋磊, 李然, 徐应明, 孙约兵, 梁学峰, 代晶晶 (2944)
贵州草海底栖动物汞分布及其对沉积物汞的响应特征	许议元, 曾玲霞, 何天容, 陈梦瑜, 钱晓莉, 李振吉 (2953)
废旧轮胎翻新过程中多环芳烃排放及健康风险	付建平, 赵波, 黎玉清, 刘沙沙, 尹文华, 黄锦琼, 周长风, 张素坤, 贺德春, 韩静磊 (2963)
县级尺度的重庆市碳排放时空格局动态	孙秀峰, 施开放, 吴健平 (2971)
颗粒尺寸对纳米氧化物环境行为的影响	严玉鹏, 唐亚东, 万彪, 王小明, 刘凡, 冯雄汉 (2982)
防晒剂的海洋环境行为与生物毒性	朱小山, 黄静颖, 吕小慧, 杜永芬, 蔡中华 (2991)
《环境科学》征订启事 (2527) 《环境科学》征稿简则 (2723) 信息 (2826, 2852, 2910)	

福建省敖江下游抗生素抗性基因分布特征

张丹丹, 郭亚平, 任红云, 周昕原, 黄福义, 张娴*

(中国科学院城市环境研究所, 中国科学院城市环境与健康重点实验室, 厦门 361021)

摘要: 河流流域的下游往往是各种大小城镇聚集之处, 快速城市化等人类活动导致了城市河流环境剧烈改变. 抗生素抗性基因是一种新型污染物, 城市河流中抗生素抗性基因的传播和富集可能对城市人口健康和城市生态安全造成潜在的危害. 本研究采用高通量定量 PCR 技术, 研究福建省连江县城区上游、城区下游和河流入海口这 3 个采样点的抗生素抗性基因污染情况和分布特征. 结果表明: ①敖江流域连江县城区下游河流抗生素抗性基因丰度达到了 3.9×10^{10} copies·L⁻¹, 显著高于城区上游和河流入海口的丰度 ($P < 0.05$); ②城区下游检测出了 129 种抗生素抗性基因, 显著高于城区上游检测出的 79 种, 而河流入海口的抗性基因种类仍然高达 118 种, 表明河流水体环境中抗生素抗性基因一旦出现, 就很难自然消减; ③城市河流环境是抗生素抗性基因的一个重要存储库.

关键词: 城市河流; 抗生素; 抗性基因; 快速城市化; 入海口

中图分类号: X522 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)06-2600-07 DOI: 10.13227/j.hjxx.201710121

Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Downstream Areas of the Aojiang River, Fujian Province

ZHANG Dan-dan, GUO Ya-ping, REN Hong-yun, ZHOU Xin-yuan, HUANG Fu-yi, ZHANG Xian*

(Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China)

Abstract: Many cities are located in the downstream areas of rivers. Rapid urbanization may result in drastic changes in the urban river ecosystem. Antibiotic resistant genes (ARGs) are considered to be emerging environmental pollutants, which may do harm to the health of humans and may pose a potential risk for urban ecological safety by the dissemination and enrichment of ARGs in urban rivers. In this study, a high-throughput quantitative PCR technique was used to investigate the diversity and abundance of ARGs at three sites in Lianjiang County and the estuary of the Aojiang River, Fujian Province. The results show the abundance of ARGs in the downstream urban area of Lianjiang County (3.9×10^{10} copies·L⁻¹) is significantly higher than upstream of the urban area and the estuary of the Aojiang River. A total of 129 ARGs are detected in the downstream urban area, which is higher than in the upstream and the estuary. The results also suggest that ARGs are persistent and not easy to reduce in the natural river following the occurrence of ARGs and indicated that the urban river is an important reservoir of ARGs.

Key words: urban river; antibiotic; antibiotic resistant genes; rapid urbanization; estuary

抗生素自 20 世纪被人类发现以来, 拯救了无数的生命, 为传染病的防治和人类社会的可持续发展做出了重要贡献. 抗生素不仅在医疗卫生领域被广泛使用, 而且由于具有预防疾病和促进禽畜生长的作用, 可当作亚治疗剂和促生长剂添加在饲料中而被广泛应用于畜牧水产养殖行业^[1~3]. 2000 ~ 2010 年, 全球的抗生素使用量增加了 36%, 其中巴西、俄罗斯、印度、中国和南非这个 5 个新兴经济体贡献了增长量的 76%^[4], 表明发展中国家的抗生素使用增长率大大超过了发达国家. 我国抗生素管制相比发达国家而言相对松散, 特别是在医疗系统和养殖行业存在长期滥用和不当使用的情况, 在生活污水^[5]、城市污泥^[6]、垃圾渗滤液^[7]以及城市郊区的施用猪粪水稻土^[8]、施用污泥的土壤^[9]等都检测出抗生素抗性基因. 抗生素已经被公认为环境

污染物^[10], 随着近年来相关研究不断深入, 抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 也被当作一种新型的环境污染物^[11]. 抗生素抗性基因可能对生态环境和人类健康造成不利的影响, 特别是一旦进入致病微生物, 将直接影响抗生素对疾病的治疗效果, 可能使得人类面临无药可用的境地^[3,12]. 世界卫生组织 (WHO) 于 2016 年 11 月 14 ~ 20 日第二次举办了“世界提高抗生素认识周”活动, 活动主题是“慎重对待抗生素”, 活动是为了提

收稿日期: 2017-10-17; 修订日期: 2017-12-18

基金项目: 国际科技合作项目 (2011DFB91710); 国家自然科学基金国际 (地区) 合作交流项目 (21210008); 国家重点研发计划重点专项 (2016YFD0800205)

作者简介: 张丹丹 (1986 ~), 女, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为环境微生物及环境监测, E-mail: dddzhang@iue.ac.cn

* 通信作者, E-mail: xzhang@iue.ac.cn

高全球对抗生素耐药性问题的认识，避免抗生素耐药性现象的继续发生和扩大。

受人类活动的影响，特别是快速城市化过程，高密度的物质流和人口，大大加快了抗生素及其抗性基因在环境中的迁移、传播和扩散，抗生素抗性基因甚至在一些环境中显著富集^[13,14]。水环境极易受到人类活动的干扰，同时微生物种类多而且含量丰富，成为内在抗生素抗性基因和外来抗性基因的基因反应器 (genetic reactor)^[15]，因此水环境被认为是抗生素抗性基因的一个重要的库 (reservior)^[16]。本研究针对快速城市化地区，结合独立小流域的地理环境特征，采用高通量定量 PCR (high-throughput qPCR, HT-qPCR) 技术，选取福建省连江县县城所在的敖江 (岱江) 下游及入海口区域，研究河流抗生素抗性基因的抗性机制类型、多样性和丰度，并进一步综合分析敖江下游抗生素抗性基因的污染特征，以期为城市河流生态健康评估和抗生素抗性基因削减提供基础科学研究支撑。

1 材料与方法

1.1 河流水样品采集

敖江是福建省“八大水系之一”，也是福建省东部地区三条独流入海的主要河流之一^[17]。福建省敖江下游的河流段穿过连江县的城区并随后入海。本研究的样品采样区域位于敖江下游区域 (图 1)，3 个采样点分别是位于连江县城区上游的对照点 AJ0，城区下游的 AJ1 以及入海口 AJ2，采样点的经纬度信息见表 1。采样时间为 2016 年 7 月 27 号上午 07:00 的退潮时刻 (确保所采集的样品都是入海方向的河水，没有受到海水涨潮的影响)。前期的实地调研表明 3 个采样点周围没有排污口分布。AJ0 和 AJ1 两个点位的样品是在跨河桥梁的中间段，用采水器对表层河流水样品进行随机采集，AJ2 的样品则是租用渔船在入海口的河流中间进行表层河水的采样。每个采样点采集 3 个随机的平行样品，每个样品采集水样 3 L，采集的样品放在含有冰袋的采样箱。采集到的河流水样迅速送回实验室 -20℃ 冰箱存放。

表 1 采样点经纬度

Table 1 Longitude and latitude of sampling sites		
采样位点	纬度	经度
AJ0	26°11'53.18" N	119°30'12.74" E
AJ1	26°13'52.88" N	119°34'33.15" E
AJ2	26°15'44.71" N	119°39'52.77" E

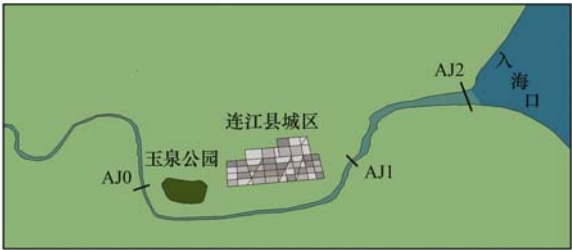


图 1 敖江下游采样点空间位置示意
Fig. 1 Sketch of sampling sites in the downstream area of the Aojiang River

1.2 河流水样品的抽滤及 DNA 提取

所采集的河水样品用六联抽滤设备 JTFA0215 (天津津腾实验设备有限公司，中国) 进行抽滤，滤膜为 0.22 μm 已灭菌的过滤膜 (ADVANTEC，日本)。AJ0、AJ1 和 AJ2 的样品在过滤膜上抽滤的水样体积分别为 0.5、0.3 和 0.3 L，每个样品独立抽滤 2 次，得到 2 份相同的样品。抽滤结束后，稍微晾干滤膜样品并将其对折，并用铝箔纸包好 (避光)，于 -20℃ 冰箱中保存。提取 DNA 时，滤膜用干净并且消毒过的手术剪剪成约 2 mm × 2 mm 的小纸块，将这些含有河水微生物的小纸块放入 FastDNA® Spin Kit for Soil 试剂盒 (MP Biomedicals，美国) 中配套的 Lysing Matrix E tube 离心管，然后加入 978 μL 配套的 PBS 缓冲液。根据 FastDNA® Spin Kit for Soil 试剂盒中说明书的方法，提取河水总 DNA，最终得到的 DNA 样品体积为 100 μL，-20℃ 冰箱中保存。提取得到的样品用 NanoDrop 1000 超微量分光光度计 (Thermo Fisher Scientific Inc.，美国) 测定 DNA 浓度。最后，将每个样品的部分 DNA 样品配置成体积为 40 μL，浓度为 50 ng·μL⁻¹ 的样品，用于后续的高通量荧光定量 PCR 实验。

1.3 核糖体 16S rDNA 荧光定量 PCR

采用 Roche 480 II 荧光定量 PCR 仪 (Roche Diagnostics，德国) 测定河流水样品的 16S rRNA 基因，采用标准质粒外标法对所采集的样品 16S rDNA 基因丰度进行定量^[18]。所制备的标准质粒浓度为 1.68 × 10¹⁰ copies·L⁻¹，标准曲线 (10 倍梯度稀释) 的浓度变化范围为 1.68 × 10³ ~ 1.68 × 10⁹ copies·L⁻¹。

PCR 扩增的总反应体系为 20 μL，其中包括 10 μL 的 2 × LightCycler 480 SYBR® Green I Master Mix，上下游引物各 1 μL (10 μmol·L⁻¹)，1 μL DNA 模板，7 μL 灭菌超纯水。PCR 反应的程序设置为：

95℃下预变性 5 min; 95℃变性时间 15 s, 60℃退火时间 1 min, 72℃延伸时间 15 s, 总计 40 个循环; 仪器附带的程序会自动添加熔解曲线程序进行分析. 阴性对照有利于 PCR 质量监控, 因此实验中采用灭菌的超纯水进行阴性 PCR. 此外, 所有 DNA 样品均做 3 次技术重复.

1.4 抗生素抗性基因高通量荧光定量 PCR

高通量荧光定量 PCR 采用 SmartChip Real-Time PCR Systems (WaferGen Bio-systems, Inc., 美国) 反应平台. 本研究中所采用的 296 种目标基因引物在文献[7,14,19]被有效验证过, 其中包含 285 种抗生素抗性基因, 10 种可移动元件 (mobile genetic elements, MGEs), 1 对 16S rDNA 引物.

高通量荧光定量 PCR 扩增反应的体积为 100 nL. 反应体系中各试剂的最终浓度为: 1 × 的 LightCycler 480 SYBR® Green I Master Mix 试剂, 1 ng·μL⁻¹ 的 BSA 溶液, 1 μmol·L⁻¹ 的上下游引物, 5 ng·μL⁻¹ 的 DNA 模板. PCR 反应条件为: 95℃预变性时间 10 min; 95℃变性时间 30 s, 60℃退火延伸 30 s, 总共 40 个循环; 热循环仪 Cyclar 的程序自动升温进行熔解曲线分析. 每个 qPCR 芯片都有不添加样品 DNA (灭菌的超纯水替代) 的阴性实验对照. qPCR 反应得到的数据通过 Cyclar 预设定的筛选条件 (扩增效率介于 1.8 ~ 2.2) 进行筛选和读取. 根据 SmartChip Real-Time PCR Systems 的仪器性能, 确定热循环次数 C_T 值为 31 时作为仪器的检测限. 同时, 每个样品进行 3 次技术重复实验, 当 3 次技术重复 PCR 的 C_T 值都被有效检出, 进而认定样品是阳性的有效扩增, 同一个采样点的 3 个采样平行样品都是阳性扩增时, 认为该采样点的目的基因被有效检出.

1.5 数据分析处理

高通量定量 PCR 基因的相对拷贝数 (relative copy number) 计算方法参照已有的抗生素抗性相关的研究^[20,21], 采用公式 (1) 进行计算并得到结果 (其中 C_T 代表首次检测出有效信号的循环数). 高通量定量 PCR 得到的核糖体 16S rRNA 基因的相对拷贝数和荧光定量 PCR 得到的 16S rRNA 基因绝对拷贝数 (absolute copy number) 的 Pearson 线性拟合结果表明, 两者呈极显著相关关系 ($P < 0.01$), 线性关系明显. 采用公式 (2) 计算, 进而可以得到各种抗生素抗性基因的绝对拷贝数.

$$\text{抗性基因的相对拷贝数} = 10^{[(31 - C_T)/(10/3)]} \quad (1)$$

$$\text{抗性基因的绝对拷贝数} =$$

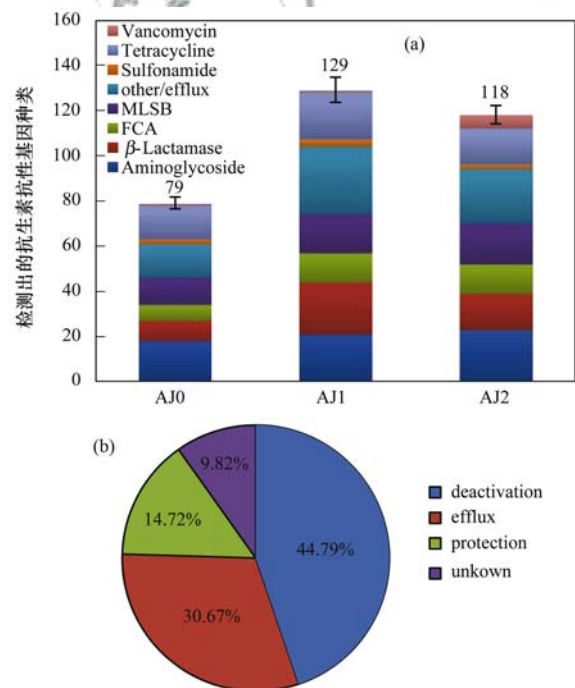
$$\frac{\text{抗性基因的相对拷贝数}}{\text{16S rRNA 基因的相对拷贝数}} \times \text{16S rRNA 基因的绝对拷贝数} \quad (2)$$

高通量定量 PCR 的数据采用 Excel 2010 进行计算, OriginPro 9.0 进行相关作图, 采用 R 3.3.3 (The R Project for Statistical Computing, Vienna, Austria) 的 vegan 数据包进行 PCA 分析以及 pheatmap 数据包进行热图综合分析.

2 结果与讨论

2.1 河水中抗生素抗性基因的种类

检测出的抗生素抗性基因根据相对应的抗生素类型可以分为八大类: 氨基糖苷类抗生素 (Aminoglycoside)、β-内酰胺类抗生素 (β-Lactamase)、氟喹诺酮类/氯霉素类/胺酰醇抗生素类 (FCA)、大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类抗生素 (MLSB)、磺胺类抗生素 (Sulfonamide)、四环素类抗生素 (Tetracycline)、其它类型或者发挥外排泵作用 (other/efflux) 抗生素和万古霉素类抗生素 (Vancomycin). 图 2 显示了敖江下游 3 个采样点抗生素抗性基因的种类数目及类型. 3 个采样点的河流水中总共检测出了 151 种抗生素抗性基因, 其中城区上游 AJ0、城区下游 AJ1 和入海口 AJ2 分别检测出 79、129 和 118 种抗生素抗性基因 [图 2 (a)], 结果显示河流环境的抗生素抗性基因种类



(a) 抗生素抗性基因的检出数量; (b) 抗生素抗性机制

图 2 检测到的抗生素抗性基因种类及类型

Fig. 2 Detected antibiotic resistant genes

分布比较多样. 尤其是城区下游 AJ1 的抗生素抗性基因种类数显著高于城区上游 AJ0 ($P < 0.05$). 河流中每个采样点的抗性基因类型均涵盖了以上八大类抗生素抗性基因, 表明 3 个采样点在大的抗性基因类型分类水平上有一定相似度.

检测出的抗性基因按照抗性机制还可以分为抗生素效力失活 (deactivation)、外排泵作用机制 (efflux)、核糖体保护机制 (protection) 这 3 类. 分类结果显示, 抗生素失活 (deactivation) 和外排泵作用机制 (efflux) 是敖江河水环境中抗生素抗性两种最主要机制, 比例分别是 44.79% 和 30.67% [图 2(b)].

图 3 显示了 3 个采样点抗性基因种类之间存在的关系. 韦恩图结果表明, 城区下游 AJ1 检测出的抗性基因种类最多, 为 129 种. 城区上游 AJ0 检测

出的抗性基因类型在下游 AJ1 采样点也可以全部检测出来, 表明城区下游 AJ1 受河流流水的影响“接收”了上游 AJ0 的全部抗性基因类型. 有研究表明, 城市生活污水处理厂达标排放的出水仍然会增加城市河流中的抗生素浓度和抗生素耐药菌种类^[22,23]. 敖江流经连江县城, 沿途接纳了各种不合规排放的生产生活污水和城区雨水, 抗性基因种类增加了 50 种, 表明城区人类活动可能显著增加了敖江河水中的抗性基因种类. 在敖江入海口 AJ2 检测到了 118 种抗性基因, 其中 22 种抗性基因不同于城区下游 AJ1, 77 种与城区上游 AJ0 相同, 表明 AJ0 中的抗性基因种类在本研究中 3 个采样点相对稳定, 并且入海口 AJ2 河水中有自己独特的抗生素抗性基因种类 (图 3), 比如检测出了 *tetPA*、*aadA1*、*acrA* 等.

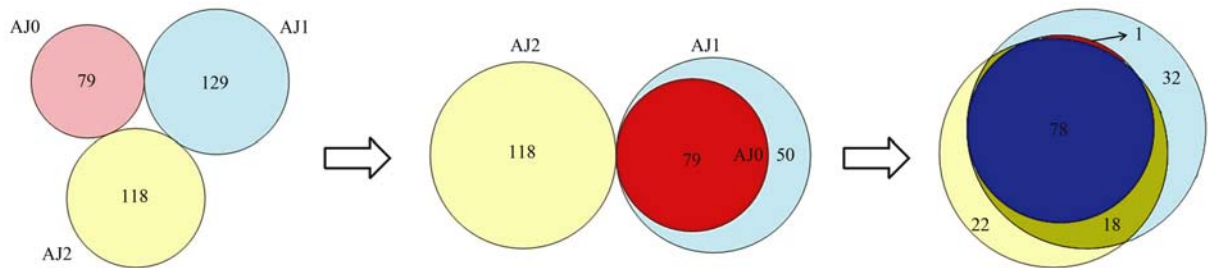


图 3 抗生素抗性基因相互关系韦恩图
Fig. 3 Venn diagram of ARGs at the sampling sites

2.2 抗生素抗性基因的丰度

敖江下游 3 个采样点的各类抗生素抗性基因丰度见图 4, 其中分类除了上文提到的八大类抗性基因外, 还包含了可移动元件 (mobile genetic elements, MGEs) 和总抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs). 各类抗生素抗性基因的绝对丰度介于 $7.7 \times 10^7 \sim 1.5 \times 10^{10}$ copies·L⁻¹ 之间. 氨基糖苷类抗生素和四环素类抗生素均为广谱抗菌药, 广泛用于防治动物和水产品的疾病感染和促进生长^[24], 是使用量比较大的两类抗生素. 本研究中文氨基糖苷类抗性基因和四环素类抗性基因丰度比较大, 可能与水环境中的抗生素残留有关, 需要进一步开展相关溯源研究.

除了万古霉素类抗性基因 (Vancomycin) 以外, 城区下游 AJ1 采样点的各类抗性基因的检出丰度都是最高的, 同时城区下游 AJ1 总的抗生素抗性基因丰度达到了 3.9×10^{10} copies·L⁻¹, 大于城区上游 AJ0 的 6.8×10^9 copies·L⁻¹, 结果表明城市不仅仅增加了抗生素抗性的种类数 [图 2(a)], 也可能导致了河流中抗生素抗性的丰度增加 (图 4). 采样点 AJ0 与 AJ1 之间是城区段, 人类活动影响明显. AJ1

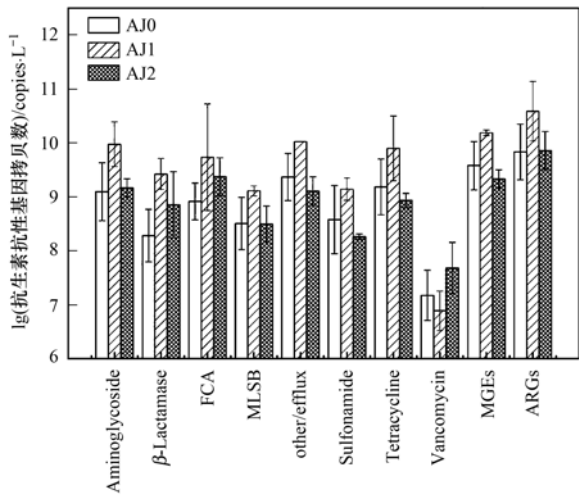


图 4 抗生素抗性基因的绝对丰度
Fig. 4 Absolute abundance of ARGs at the sampling sites

至 AJ2 是相对自然的河段, 人类活动干扰比较小, 而且河段有一定长度, 河流环境有一定的环境承载力^[25], 入海口 AJ2 的抗生素抗性丰度显著小于 AJ1 的丰度, 为 7.2×10^9 copies·L⁻¹, 与城区上游 AJ0 的抗性基因丰度接近, 但是入海口 AJ2 的抗性基因种类仍然有 118 种 [图 2(a)], 高于城区上游 AJ0,

表明抗性基因在河水环境中具有传播性,一旦获得就很难自然消减^[26]。

此外,敖江下游3个采样点的抗性基因丰度低于龙岩市河流中的丰度^[13],但是连江县的城市规模和城市功能均不如龙岩市,因此城市的人口规模和城市功能特征可能与城市河水抗生素抗性的种类和丰度有一定的相关关系,需要结合社会经济发展情况进一步开展相关研究工作。

有研究表明^[27],基于 rRNA 数据库的统计,每个细菌平均含有 4.0 个 16S rRNA 基因,因此归一化的丰度可以更好地评估单个细菌中抗生素抗性基因的存在情况(图 5)。归一化的结果表明城区下游 AJ1 的各类抗生素抗性基因丰度比较高,这个结果与抗性基因的绝对丰度一致。MGEs 的归一化丰度比较高,表明转座子、整合子等可移动元件在河流中抗生素抗性基因的传播、扩散和富集过程中可能发挥着比较重要作用。

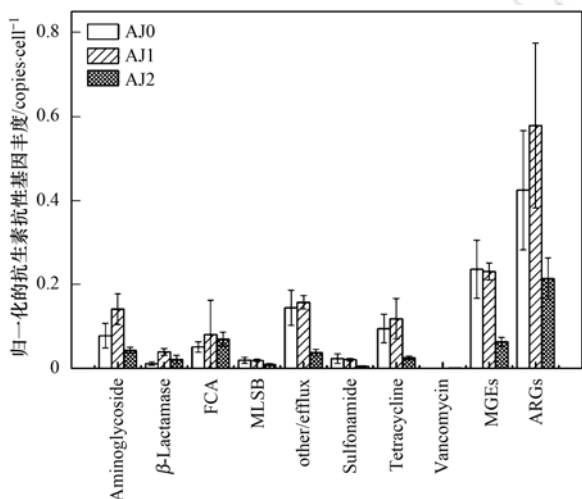


图 5 归一化的抗生素抗性基因丰度

Fig. 5 Normalized copy number of ARGs at the sampling sites

2.3 河水微生物抗生素抗性基因的分布格局特征

根据抗生素抗性基因在敖江下游3个采样点的分布情况,采用主成分分析法进行分析,结果显示,城市下游 AJ1 的样品与城区上游 AJ0 和入海口 AJ2 样品显著分开,在第一轴的解释量达到了 54.2% (图 6),表明城市对河流中的抗性基因分布格局产生了显著影响,而城区上游 AJ0 和入海口 AJ2 由于人类活动干扰小,分布格局相对比较接近。

通过聚类热图可以进一步分析城市对抗生素抗性基因分布格局的影响(图 7)。聚类热图显示,热图可以分为四大簇。A 簇是在 3 个采样点中抗性基

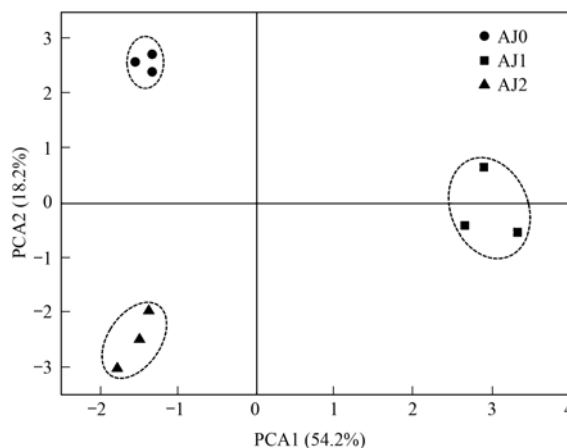


图 6 采样点抗生素抗性基因主成份分析

Fig. 6 Principle component analysis of ARGs at the sampling sites

因丰度比较高的种类,主要包括四环素类抗性基因 *tetG*、转座子 *tnpA-04*、和整合子 *intI*, 这三类基因丰度的总体趋势:城区下游 AJ1 > 城区上游 AJ0 > 入海口 AJ2, 可能与我国总体上四环素类使用量比较大有关^[28]。B 簇的分布趋势与 A 簇相似,但是整体的抗性丰度小于 A 簇,主要的抗性基因是氨基糖苷类的抗性基因,如 *aadA*、*aadA1*、*aadA2*、*aac(6')-Ib* (aka *aacA4*)、*aadA9* 和转座子基因 *tnpA-02*, 有研究表明敖江流域 COD 排放量主要来自畜禽养殖^[29],因此这些基因在河水中的普遍出现,可能与区域养殖行业结构有关。C 簇的抗性基因丰度比较接近,而且在 3 个采样点抗生素抗性基因丰度相对较低,这一类抗生素抗性基因类型可能是河流水环境中固有抗性基因类型,反映了抗性基因在环境中有一定本底值。D 簇的抗性基因类型是在城区上游 AJ0 没有检出或者抗性基因丰度很低,但是在城区下游 AJ1 和入海口 AJ2 则能够检出,并且抗性基因一旦出现就能够稳定存在,并且丰度维持在一定水平,表明抗生素抗性基因是一种相对稳定存在的环境污染物。

2.4 河水中抗生素抗性基因与可移动元件的相关性

有研究表明,抗生素抗性基因与可移动元件存在着密切关系^[30-32]。本研究统计了 3 个采样点各类抗生素抗性基因丰度和可移动元件丰度之间的关系,结果表明, β -内酰胺类抗生素抗性基因、大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类抗生素抗性基因、万古霉素类抗生素抗性基因与可移动元件存在极显著的相关关系(表 2),可移动元件可能促进了河水这三类抗性基因的迁移、传播和扩散。

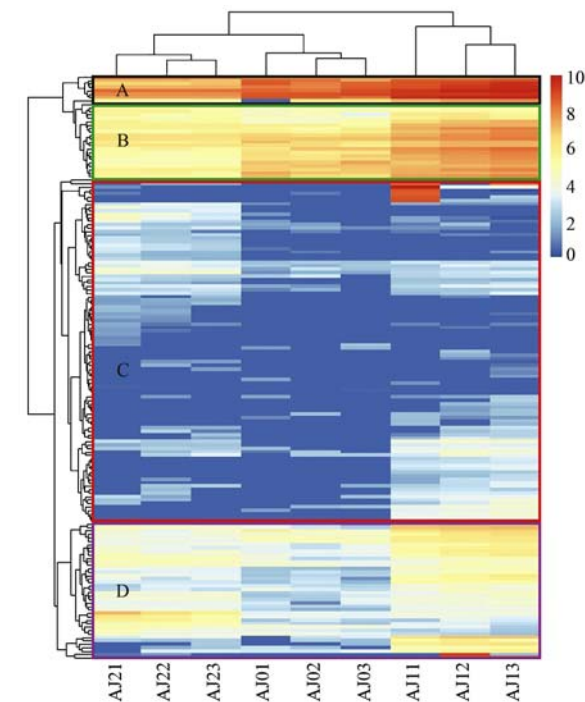


图7 抗生素抗性基因分布格局热图

Fig. 7 Distribution pheatmap of ARGs at the sampling sites

表2 抗性基因丰度与可移动元件的相关系数

Table 2 Pearson correlation of abundance between ARGs and MGEs	
抗生素抗性基因类型	MGEs
Aminoglycoside	0.625
β -Lactamase	0.968 **
FCA	0.941 *
MLSB	0.837 **
other/efflux	0.496
Sulfonamide	0.774 *
Tetracycline	0.760 *
Vancomycin	0.977 **
ARGs	0.769 *

3 结论

(1)敖江下游城市河流抗生素抗性基因丰度达到了 3.9×10^{10} copies $\cdot$ L $^{-1}$,显著高于城区上游(6.8×10^9 copies $\cdot$ L $^{-1}$)和河流入海口(7.2×10^9 copies $\cdot$ L $^{-1}$)的丰度.

(2)城区下游AJ1检测出了129种抗生素抗性基因,河流入海口AJ2的抗性基因种类仍然高达118种,均显著高于城区上游的79种,表明河流抗生素抗性基因一旦出现,可以在河水环境中相对稳定存在,种类上很难自然消减.

(3)城市河流环境是抗生素抗性基因的一个重要存储库.

(4)由于不同的城市河流环境差异较大,需要结合城市规模与功能、水质指标、微生物多样性等

因素,进一步评估抗生素抗性基因在城市河水中的传播机制及其影响因子.

参考文献:

[1] Dibner J J, Richards J D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action [J]. Poultry Science, 2005, **84**(4): 634-643.

[2] 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.

[3] 苏建强,黄福义,朱永官. 环境抗生素抗性基因研究进展 [J]. 生物多样性, 2013, **21**(4): 481-487.

Su J Q, Huang F Y, Zhu Y G. Antibiotic resistance genes in the environment [J]. Biodiversity Science, 2013, **21**(4): 481-487.

[4] Van Boeckel T P, Gandra S, Ashok A, *et al.* Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data [J]. The Lancet Infectious Diseases, 2014, **14**(8): 742-750.

[5] Rizzo L, Manaia C, Merlin C, *et al.* Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review [J]. Science of the Total Environment, 2013, **447**: 345-360.

[6] Reinharter F F, Posch J, Feierl G, *et al.* Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge [J]. Water Research, 2003, **37**(8): 1685-1690.

[7] 黄福义,李虎,安新丽,等. 城市生活污水和生活垃圾渗滤液抗生素抗性基因污染的比较研究 [J]. 环境科学, 2016, **37**(10): 3949-3954.

Huang F Y, Li H, An X L, *et al.* Comparative investigation of antibiotic resistance genes between wastewater and landfill leachate [J]. Environmental Science, 2016, **37**(10): 3949-3954.

[8] 黄福义,李虎,韦蓓,等. 长期施用猪粪水稻土抗生素抗性基因污染研究 [J]. 环境科学, 2014, **35**(10): 3869-3873.

Huang F Y, Li H, Wei B, *et al.* Long-term manure application induced shift of diversity and abundance of antibiotic resistance genes in paddy soil [J]. Environmental Science, 2014, **35**(10): 3869-3873.

[9] 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, **92-93**: 1-10.

[10] Giger W, Alder A C, Golet E M, *et al.* Occurrence and fate of antibiotics as trace contaminants in wastewaters, sewage sludges, and surface waters [J]. CHIMIA International Journal for Chemistry, 2003, **57**(9): 485-491.

[11] Pruden A, Pei R T, Storteboom H, *et al.* Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado [J]. Environmental Science & Technology, 2006, **40**(23): 7445-7450.

[12] Neu H C. The crisis in antibiotic resistance [J]. Science, 1992, **257**(5073): 1064-1073.

[13] Ouyang W Y, Huang F Y, Zhao Y, *et al.* Increased levels of antibiotic resistance in urban stream of Jiulongjiang River, China [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, **99**(13): 5697-5707.

- [14] 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.
- [15] Baquero F, Martínez J L, Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2008, **19**(3): 260-265.
- [16] Biyela P, Lin J, Bezuidenhout C C. The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes[J]. Water Science and Technology, 2004, **50**(1): 45-50.
- [17] 张玉珍, 黄文丹, 王智苑, 等. 福建敖江流域水域生态系统健康评估[J]. 湖泊科学, 2015, **27**(6): 1079-1086.
Zhang Y Z, Huang W D, Wang Z Y, *et al.* Evaluation of aquatic ecosystem health in Aojiang Basin, Fujian Province[J]. Journal of Lake Sciences, 2015, **27**(6): 1079-1086.
- [18] 李丽, 赵成萍, 李宏, 等. 质粒制备绝对定量 PCR 标准曲线方法的建立[J]. 农业生物技术学报, 2011, **19**(6): 1157-1162.
Li L, Zhao C P, Li H, *et al.* Establishment of the plasmid standard curve generation method for absolute quantification PCR [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2011, **19**(6): 1157-1162.
- [19] Chen Q L, An X L, Zhu Y G, *et al.* Application of struvite alters the antibiotic resistome in soil, rhizosphere, and phyllosphere[J]. Environmental Science & Technology, 2017, **51**(14): 8149-8157.
- [20] Looft T, Johnson T A, Allen H K, *et al.* In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, **109**(5): 1691-1696.
- [21] 黄福义, 安新丽, 陈青林, 等. 梅花鹿养殖场抗生素抗性基因分布特征[J]. 环境科学, 2016, **37**(11): 4402-4409.
Huang F Y, An X L, Chen Q L, *et al.* Distribution characteristics of antibiotic resistance genes in sika deer farm [J]. Environmental Science, 2016, **37**(11): 4402-4409.
- [22] Yang S, Carlson K. Evolution of antibiotic occurrence in a river through pristine, urban and agricultural landscapes[J]. Water Research, 2003, **37**(19): 4645-4656.
- [23] Bessa L J, Barbosa-Vasconcelos A, Mendes Â, *et al.* High prevalence of multidrug-resistant *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. in river water, upstream and downstream of a wastewater treatment plant[J]. Journal of Water and Health, 2014, **12**(3): 426-435.
- [24] 苏晶, 汤立忠, 陈长毅, 等. 高效液相色谱串联质谱法同时测定 9 种龙虾中氨基糖苷类和四环素类抗生素残留[J]. 食品工业科技, 2016, **37**(2): 60-63, 67.
Su J, Tang L Z, Chen C Y, *et al.* Simultaneous determination of nine aminoglycosides and tetracyclines antibiotics residues in crayfish by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, **37**(2): 60-63, 67.
- [25] Meng L H, Chen Y N, Li W H, *et al.* Fuzzy comprehensive evaluation model for water resources carrying capacity in Tarim River Basin, Xinjiang, China [J]. Chinese Geographical Science, 2009, **19**(1): 89-95.
- [26] Salyers A A, Amabile-Cuevas C F. Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination? [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1997, **41**(11): 2321-2325.
- [27] Klappenbach J A, Saxman P R, Cole J R, *et al.* rrndb: the ribosomal RNA operon copy number database[J]. Nucleic Acids Research, 2001, **29**(1): 181-184.
- [28] 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.
- [29] 鲍秋萍. 敖江流域生态系统健康评价[D]. 福州: 福建师范大学, 2014.
Bao Q P. Assessment on ecosystem health of AoJiang basin[D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2014.
- [30] Stokes H W, Gillings M R. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2011, **35**(5): 790-819.
- [31] Ciric L, Mullany P, Roberts A P. Antibiotic and antiseptic resistance genes are linked on a novel mobile genetic element: Tn6087[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2011, **66**(10): 2235-2239.
- [32] 黄福义, 安新丽, 李力, 等. 生活垃圾填埋场对河流抗生素抗性基因的影响[J]. 中国环境科学, 2017, **37**(1): 203-209.
Huang F Y, An X L, Li L, *et al.* High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in river in the vicinity of a landfill[J]. China Environmental Science, 2017, **37**(1): 203-209.

CONTENTS

Diurnal Variation of SOA Formation Potential from Ambient Air at an Urban Site in Beijing	LIU Jun, CHU Bi-wu, HE Hong (2505)
Characteristics of Key Size Spectrum of PM _{2.5} Affecting Winter Haze Pollution in Taiyuan	YANG Su-ying, YU Xin-yang, ZHAO Xiu-yong, <i>et al.</i> (2512)
Characteristics and Source Apportionment of Water-soluble Ions in PM _{2.5} During Winter in Panjin	ZHANG Lei, JI Ya-qin, WANG Shi-bao, <i>et al.</i> (2521)
Characteristics and Source Apportionment of Volatile Organic Compounds in the Rainy Season of Guangzhou City	GU Ying-gang, YU Xiao-fang, YANG Wen-da, <i>et al.</i> (2528)
Emission Characteristics of Dehydrated Sugar and Acephenanthrylene in Particles from Tropical Forest Burning	JIN Cheng-miao, CUI Min, HAN Yong, <i>et al.</i> (2538)
Construction and Application of Vertical Diffusion Index for Analyzing Weather During Pollution Events in Tianjin	CAI Zi-ying, HAN Su-qin, ZHANG Min, <i>et al.</i> (2548)
Comparison Between Atmospheric Wet-only and Bulk Nitrogen Depositions at Two Sites in Subtropical China	ZHU Xiao, WANG Jie-fei, SHEN Jian-lin, <i>et al.</i> (2557)
Emission Reduction Benefits When Eliminating Yellow-label Vehicles in the Jing-jin-ji Region	LU Ya-ling, ZHOU Jia, CHENG Xi, <i>et al.</i> (2566)
Health Assessment of the Stream Ecosystem in the North Canal River Basin, Beijing, China	GU Xiao-yun, XU Zong-xue, LIU Lin-fei, <i>et al.</i> (2576)
Pollution Characteristics and Source Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Phthalic Acid Esters During High Water Level Periods in the Wuhan Section of the Yangtze River, China	DONG Lei, TANG Xian-qiang, LIN Li, <i>et al.</i> (2588)
Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Downstream Areas of the Aojiang River, Fujian Province	ZHANG Dan-dan, GUO Ya-ping, REN Hong-yun, <i>et al.</i> (2600)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals in the Sediments of the Estuary of the Tributaries in the Three Gorges Reservoir, SW China	FANG Zhi-qing, CHEN Qiu-yu, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2607)
Assessment of Physico-chemical Properties and Phosphorus Fraction Distribution Characteristics in Sediments after Impounding of the Three Gorges Reservoir to 175 m	PAN Chan-juan, LI Rui, TANG Xian-qiang, <i>et al.</i> (2615)
Source of Nitrate in Surface Water and Shallow Groundwater Around Baiyangdian Lake Area Based on Hydrochemical and Stable Isotopes	KONG Xiao-le, WANG Shi-qin, DING fei, <i>et al.</i> (2624)
Thermal Stratification and Its Impacts on Water Quality in Shahe Reservoir, Liyang, China	SUN Xiang, ZHU Guang-wei, DA Wen-yi, <i>et al.</i> (2632)
Spatial and Temporal Variation Characteristics of Drip Water Hydrogeochemistry in the Xueyu Cave of Chongqing and Its Implications for Environmental Research	ZENG Ze, JIANG Yong-jun, LÜ Xian-fu, <i>et al.</i> (2641)
Distinguishing the Compositions and Sources of the Chromophoric Dissolved Organic Matter in a Typical Karst River During the Dry Season; A Case Study in Bitan River, Jinfo Mountain	LIU Yue, HE Qiu-fang, LIU Ning-kun, <i>et al.</i> (2651)
Environmental Significance of the Stable Isotopes in Precipitation at Different Altitudes in the Tuolai River Basin	LI Yong-ge, LI Zong-xing, GAO Hao-yang, FENG Qi, <i>et al.</i> (2661)
Spatial-Temporal Variations of CO ₂ and CH ₄ Flux Through a Water-air Interface Under the Effect of Primary Productivity in Wulixia Reservoir	PENG Wen-jie, LI Qiang, SONG Ang, <i>et al.</i> (2673)
Spatiotemporal Succession Characteristics of Algal Functional Groups and Its Impact Factors for a Typical Channel-Type Reservoir in a Southwest Mountainous Area	ZHANG Yao-wen, LI Hong, LI Jia, <i>et al.</i> (2680)
Seasonal Succession of Phytoplankton Functional Groups and Their Driving Factors in the Siminghu Reservoir	ZHENG Cheng, LU Kai-hong, XU Zhen, <i>et al.</i> (2688)
Effects of Nutrient Addition on the Growth and Competition of Bloom Forming Cyanobacterium <i>Chrysosporum ovalisporum</i> ; An In-situ Experiment	WANG Meng-meng, ZHANG Wei, ZHANG Jun-yi, <i>et al.</i> (2698)
Purification Effect of Submerged Macrophyte System with Different Plants Combinations and C/N Ratios	LIU Miao, CHEN Kai-ning (2706)
Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Concentration Dynamics in Natural Ditches Under an Irrigation-Drainage Unit in the Jiangnan Plain	HUA Ling-ling, ZHANG Fu-lin, ZHAI Li-mei, <i>et al.</i> (2715)
Distribution and Treatment of Antibiotics in Typical WWTPs in Small Towns in China	CHAI Yu-feng, ZHANG Yu-xiu, CHEN Mei-xue, <i>et al.</i> (2724)
Effects and Mechanism of the Combination of Ozone-PAC as a Pretreatment for the Reduction of Membrane Fouling	DONG Bing-zhi, GAO Hao-yang, HU Meng-liu (2732)
Start-up and Process Characteristics of Simultaneous ANAMMOX and Denitrification (SAD) in a Pilot-scale Anaerobic Sequencing Batch Reactor (ASBR)	YU De-shuang, TANG Jia-jia, ZHANG Jun, <i>et al.</i> (2740)
Phosphate Removal on Zirconium Alginate/Poly(<i>N</i> -isopropyl acrylamide) Hydrogel Beads with a Semi-interpenetrating Network	ZENG Xue-yang, LUO Hua-yong, ZHANG Yao-kun, <i>et al.</i> (2748)
Shortcut Nitrification Rapid Start and Stability of Corn Starch Wastewater	LONG Bei-sheng, LIU Xun-lei, LIU Hong-bo, <i>et al.</i> (2756)
Nitrifying Bacteria Culture in Entrapment Immobilization	YANG Hong, HU Yin-long (2763)
Performance of the Removal of Nitrogen During Anaerobic Ammonia Oxidation Using Different Operational Strategies	AN Fang-jiao, PENG Yong-zhen, DONG Zhi-long, <i>et al.</i> (2770)
Transformation of Protein in Sludge During High Solids Anaerobic Digestion	ZHAN Yu, SHI Wan-sheng, ZHAO Ming-xing, <i>et al.</i> (2778)
Changes in Heavy Metal Speciation and Release Behavior Before and After Sludge Composting Under a Phosphate-rich Atmosphere	LI Yu, FANG Wen, QI Guang-xia, <i>et al.</i> (2786)
Effect of Denitrification and Phosphorus Removal Microorganisms in Activated Sludge Bulking Caused by Filamentous Bacteria	GAO Chen-chen, YOU Jia, CHEN Yi, <i>et al.</i> (2794)
Microbial Population Dynamics During Domestication and Cultivation of Biofilm to Remove and Enrich Phosphate	MENG Xuan, PAN Yang, ZHANG Hao, <i>et al.</i> (2802)
Effects of Elevated Tetracycline Concentrations on Aerobic Composting of Human Feces: Composting Behavior and Microbial Community Succession	SHI Hong-lei, WANG Xiao-chang, LI Qian, <i>et al.</i> (2810)
Effect of Long-term Organic Amendments on Nitric Oxide Emissions from the Summer Maize-Winter Wheat Cropping System in Guanzhong Plain	YUAN Meng-xuan, WANG Jin-feng, TAN Yue-hui, <i>et al.</i> (2819)
Effects of Mushroom Residue Application Rates on Net Greenhouse Gas Emissions in the Purple Paddy Soil	QI Le, GAO Ming, ZHOU Peng, <i>et al.</i> (2827)
Estimation of Winter Wheat Photosynthesized Carbon Distribution and Allocation Belowground via ¹³ C Pulse-labeling	SUN Zhao-an, CHEN Qing, HAN Xiao, <i>et al.</i> (2837)
Effects of Vegetation Restoration on Soil Nitrogen Pathways in a Karst Region of Southwest China	YANG Yi, OUYANG Yun-dong, CHEN Hao, <i>et al.</i> (2845)
Identifying the Origins and Spatial Distributions of Heavy Metals in the Soils of the Jiangsu Coast	LÜ Jian-shu, HE Hua-chun (2853)
Source Identification and Spatial Distribution of Heavy Metals in Soils in Typical Areas Around the Lower Yellow River	YU Yuan-he, LÜ Jian-shu, WANG Ya-meng (2865)
Spatial Variation of Soil Heavy Metals in Lin'an City and Its Potential Risk Evaluation	ZHENG Jing-zhi, WANG Chu-dong, WANG Shi-han, <i>et al.</i> (2875)
Principal Component Analysis and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Farmland Soils around a Pb-Zn Mine in Southwestern China	ZHOU Yan, CHEN Qiang, DENG Shao-po, <i>et al.</i> (2884)
Spatial Variation of Heavy Metals in Soils and Its Ecological Risk Evaluation in a Typical <i>Carya cathayensis</i> Production Area	ZHANG Hong-ju, ZHAO Ke-li, YE Zheng-qian, <i>et al.</i> (2893)
Influence of Biochar Application on Growth and Antioxidative Responses of Macrophytes in Subsurface Flow Constructed Wetlands	HUANG Lei, CHEN Yu-cheng, ZHAO Ya-qi, <i>et al.</i> (2904)
Effect of Iron on the Release of Arsenic in Flooded Paddy Soils	WANG Xin, ZHONG Song-xiong, CHEN Zhi-liang, <i>et al.</i> (2911)
Concentrations and Health Risk Assessments of Heavy Metal Contents in Soil and Rice of Mine Contaminated Areas	TIAN Mei-ling, ZHONG Xue-mei, ZHANG Yun-xia, <i>et al.</i> (2919)
Effect of Calcium Silicate-biological Humus Fertilizer Composite on Uptake of Cd by Shallots from Contaminated Agricultural Soil	LIU De-ling, YIN Guang-cai, CHEN Zhi-liang, <i>et al.</i> (2927)
Accumulation Characteristics of Heavy Metals in Greenhouse Soil and Vegetables in Siping City, Jilin Province	LI Lian-fang, ZHU Chang-xiong, ZENG Xi-hai, <i>et al.</i> (2936)
Effect of Foliar Zinc Application on Bioaccessibility of Cadmium and Zinc in Pakchoi	WANG Lin, GU Peng-lei, LI Ran, <i>et al.</i> (2944)
Mercury Distribution of Benthonic Animals and Response to Mercury in Sediments in Caohai Wetland, Guizhou Province	XU Yi-yuan, ZENG Ling-xia, HE Tian-rong, <i>et al.</i> (2953)
Discussion of Emissions and Health Risk of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) from the Retreading Process of Waste Tires	FU Jian-ping, ZHAO Bo, LI Yu-qing, <i>et al.</i> (2963)
Spatiotemporal Dynamics of CO ₂ Emissions in Chongqing: An Empirical Analysis at the County Level	SUN Xiu-feng, SHI Kai-fang, WU Jian-ping (2971)
Impact of Size on Environmental Behavior of Metal Oxide Nanoparticles	YAN Yu-peng, TANG Ya-dong, WAN Biao, <i>et al.</i> (2982)
Fate and Toxicity of UV Filters in Marine Environments	ZHU Xiao-shan, HUANG Jing-ying, LÜ Xiao-hui, <i>et al.</i> (2991)