

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第9期

Vol.39 No.9

**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

|                                                        |                                                       |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 长三角区域非道路移动机械排放清单及预测 .....                              | 黄成, 安静宇, 鲁君 (3965)                                    |
| 基于 COPERT 模型的江苏省机动车时空排放特征与分担率 .....                    | 李荔, 张洁, 赵秋月, 李慧鹏, 韩军赞 (3976)                          |
| 上海典型燃烧源铅和汞大气排放趋势分析 .....                               | 杨静, 陈龙, 刘敏, 孟祥周, 张希 (3987)                            |
| 广东省秸秆燃烧大气污染物及 VOCs 物种排放清单 .....                        | 孙西勃, 廖程浩, 曾武涛, 张永波, 梁小明, 叶代启 (3995)                   |
| 重庆市北碚城区气溶胶中水溶性无机离子的质量浓度及其粒径分布 .....                    | 李彦沛, 郝庆菊, 温天雪, 吉东生, 刘子锐, 王跃思, 江长胜 (4002)              |
| 济南市夏、冬季 PM <sub>2.5</sub> 中化学组分的季节变化特征及来源解析 .....      | 刘晓迪, 孟静静, 侯战方, 李静, 邢继钊, 魏本杰, 张二勋, 刘加珍, 董杰 (4014)      |
| 聊城冬季一重污染过程 PM <sub>2.5</sub> 污染特征及成因分析 .....           | 张敬巧, 吴亚君, 张萌, 王涵, 陈振兴, 胡君, 李慧, 范晓龙, 柴发合, 王淑兰 (4026)   |
| 夏季青岛大气气溶胶中不同形态磷的浓度、来源及沉降通量 .....                       | 王楠, 马森, 石金辉, 高会旺, 姚小红 (4034)                          |
| 晋城市冬季环境空气中挥发性有机物的污染特征及来源解析 .....                       | 杨帆, 闫雨龙, 戈云飞, 李如梅, 李颖慧, 余化龙, 彭林 (4042)                |
| 北京冬季降尘重金属富集程度及综合污染评价 .....                             | 熊秋林, 赵文吉, 李大军, 周涛 (4051)                              |
| 合肥市典型交通干道大气苯系物的特征分析 .....                              | 孟凡昊, 秦敏, 梁帅西, 谢品华, 夏晖晖, 段俊, 方武, 唐科, 李昂, 魏桢, 王凤 (4060) |
| 填埋场作业面 NMOCs 臭氧生成潜势及高贡献物质 .....                        | 李昊, 刘彦君, 陈坦, 闫秋鹤, 代辉祥, 王洪涛, 陆文静 (4070)                |
| 北京市混凝土搅拌站风蚀扬尘排放特征 .....                                | 李贝贝, 韩凯丽, 秦建平, 王鑫, 宋博, 黄玉虎, 张春来 (4078)                |
| 基于源解析的傍河水源地污染风险季节性变化特征分析 .....                         | 高翔, 左锐, 郭学茹, 孟利, 刘鑫, 王膜, 滕彦国, 王金生 (4086)              |
| 透水路面-生物滞留池组合道路的城市面源污染控制效果评估 .....                      | 官曼莉, 左俊杰, 任心欣, 赵洪涛, 罗茜, 廖云杰, 李叙勇 (4096)               |
| 黄河兰州段水体中有色溶解性有机质组成、空间分布特征及来源分析 .....                   | 赵夏婷, 李珊, 王兆炜, 谢晓芸 (4105)                              |
| 黄河干流宁蒙段溶解性有机物组分特征及其与金属离子的相关性 .....                     | 席玥, 王婷, 倪晋仁, 韩鹏, 仪马兰, 郑彤, 蒋咏, 马若绮, 崔锋 (4114)          |
| 伊洛河和浑太河春季水体光学吸收特征的对比 .....                             | 李柳阳, 邵田田, 张鑫, 宋炎炎, 苏东辉, 王涛 (4122)                     |
| 马莲河流域化学风化的季节变化和影响因素 .....                              | 王雨山, 韩双宝, 邓启军, 祁晓凡 (4132)                             |
| 柳江盆地浅层地下水硝化型水特征和成因分析 .....                             | 徐进, 何江涛, 彭毅, 曾颖 (4142)                                |
| 地下水氮污染原位修复缓释碳源材料的研发与物化-生境协同特性 .....                    | 张雯, 尹琳, 周念清 (4150)                                    |
| 三峡水库干流沉积物及消落带土壤磷形态及其分布特征 .....                         | 张志永, 万成炎, 胡红青, 彭建华, 侯娟, 丁庆秋, 袁玉洁 (4161)               |
| 蓄水前后三峡库区香溪河沉积物磷形态分布特征及释放通量估算 .....                     | 刘心愿, 宋林旭, 纪道斌, 刘德富, 李欣, 黄佳维, 赵冲, 唐咏春, 平明明 (4169)      |
| 锆改性沸石添加对重污染河道底泥磷释放和钝化的影响 .....                         | 何思琪, 张薇, 林建伟, 詹艳慧, 李娟英, 邢云青, 高春梅, 黄宏, 梁舒静 (4179)      |
| 洱海流域乡镇尺度上人类活动对净氮输入量的影响 .....                           | 李影, 刘宏斌, 雷秋良, 胡万里, 王洪媛, 翟丽梅, 任天志, 连慧妹 (4189)          |
| 我国典型潮间带沉积物-水界面无机氮源汇效应 .....                            | 聂家琴, 王东启, 陈杰, 李杨杰, 陈姝, 陈振楼 (4199)                     |
| 东太湖水产养殖对沉积物中氨氧化原核生物的影响 .....                           | 储瑜, 何肖微, 曾巾, 赵大勇, 孙强, 曹萍, 吴庆龙 (4206)                  |
| 处理采矿废水湿地沉积物中厌氧氨氧化过程 .....                              | 汪海波, 马丁, 岳正波, 陶巍, 陈天虎, 王进 (4215)                      |
| 华东地区某饮用水源地中磺胺类抗性基因的分布特征 .....                          | 胡亚茹, 姜蕾, 张天阳, 雷丹丹, 姜巍巍, 张东, 林匡飞, 崔长征 (4222)           |
| 制革废水处理过程中磺胺类抗生素和抗性细菌的分布特征 .....                        | 花莉, 李璐, 杨春燕 (4229)                                    |
| 人工湿地不同基质和粒径对污水净化效果的比较 .....                            | 赵林丽, 邵学新, 吴明, 姜小三, 陆琳莹 (4236)                         |
| 城市污水管网中不同生化作用的基质流向 .....                               | 姚翔译, 石烜, 桑浪涛, 金鹏康, 王晓昌 (4242)                         |
| 微絮凝对腐殖酸超滤过程膜污染的减缓特性 .....                              | 王旭东, 石彩霞, 廖正伟, 贺毓淑, 王磊 (4249)                         |
| UV 强化草酸络合 Fe <sup>3+</sup> 活化过硫酸盐氧化降解苯胺 .....          | 韩东晖, 李瑛, 李开明, 应光国 (4257)                              |
| 焦化废水 A/O <sup>2</sup> 和 A/O/H/O 处理工艺中多环芳烃的削减行为分析 ..... | 吴海珍, 孙胜利, 刘国新, 韦景悦, 吴超飞, 韦朝海, 钟练文, 彭亚环 (4265)         |
| 长期侧流提取对 EBPR 系统除磷及其磷回收性能的影响 .....                      | 俞小军, 李杰, 周猛, 宋璐, 李维维, 王亚娥, 马娟, 吕慧 (4274)              |
| NaCl 盐度对 A <sup>2</sup> /O 工艺缺氧区胞外聚合物及生物絮凝性的影响 .....   | 张兰河, 田蕊, 郭静波, 贾艳萍, 张海丰, 李正, 陈子成 (4281)                |
| 温度和 pH 值对铁盐型氨氧化过程氮素转化的影响 .....                         | 陈方敏, 金润, 袁琨, 李祥, 黄勇, 顾澄伟 (4289)                       |
| 游离氨 (FA) 对氨氧化菌 (AOB) 活性抑制动力学试验 .....                   | 孙洪伟, 于雪, 高宇学, 李维维, 祁国平, 许涓 (4294)                     |
| HRT 对厌氧氨氧化协同异养反硝化脱氮的影响 .....                           | 安芳娇, 赵智超, 黄利, 黄剑明, 邵兆伟, 陈永志 (4302)                    |
| 长期储存亚硝化絮状污泥活性的恢复 .....                                 | 李田, 魏凡凯, 汪裕昌, 沈耀良, 吴鹏, 宋吟玲 (4310)                     |
| 广西西江流域农田土壤重金属含量特征及来源解析 .....                           | 宋波, 张云霞, 庞瑞, 杨子杰, 宾娟, 周子阳, 陈同斌 (4317)                 |
| 紫色土壤有机碳活性组分对生物炭施用量的响应 .....                            | 罗梅, 田冬, 高明, 黄容 (4327)                                 |
| 秸秆及生物炭还田对油菜/玉米轮作系统碳平衡和生态效益的影响 .....                    | 李娇, 田冬, 黄容, 徐国鑫, 黎嘉成, 高明, 王子芳 (4338)                  |
| 低积累水稻品种联合腐殖酸、海泡石保障重镉污染稻田安全生产的潜力 .....                  | 谢晓梅, 方至萍, 廖敏, 黄宇, 黄小辉 (4348)                          |
| 臭氧和干旱交互作用对杨树叶片抗氧化酶活性的影响 .....                          | 周慧敏, 李品, 高峰, 冯兆忠, 张殷波 (4359)                          |
| 再生水不同灌水水平对土壤酶活性及耐热大肠菌群分布的影响 .....                      | 韩洋, 李平, 齐学斌, 崔丙健, 常迪, 马欢欢 (4366)                      |
| 黄淮海地区鸡粪有机肥重金属含量特征及环境风险 .....                           | 李发, 徐应明, 王林, 梁学峰, 孙约兵, 纪艺凝, 栾润宇 (4375)                |
| 村镇生活垃圾重金属含量及其来源分析 .....                                | 靳琪, 高红, 岳波, 黄启飞, 王瑜堂, 吴小丹, 於俊颖, 杨惠媛 (4385)            |
| 《环境科学》征订启事 (3986) .....                                | 《环境科学》征订简则 (4050) 信息 (4085, 4104, 4337)               |

# 华东地区某饮用水源地中磺胺类抗性基因的分布特征

胡亚茹<sup>1</sup>, 姜蕾<sup>2</sup>, 张天阳<sup>1</sup>, 雷丹丹<sup>1</sup>, 姜巍巍<sup>2</sup>, 张东<sup>2</sup>, 林匡飞<sup>1</sup>, 崔长征<sup>1\*</sup>

(1. 华东理工大学资源与环境工程学院, 国家环境保护化工过程环境风险评价与控制重点实验室, 上海 200237; 2. 上海市水资源开发利用国家工程中心有限公司, 上海 200082)

**摘要:** 饮用水源中检测到的抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 对饮用水水质安全 and 人体健康产生的潜在威胁受到广泛关注. 在掌握了华东地区某饮用水源地 13 种磺胺类抗生素的污染特征基础上, 进一步采用定性 PCR 和荧光定量 PCR 解析该饮用水源水和底泥中磺胺类 ARGs (*sul1*、*sul2*) 以及抗性基因可转移元件 I 型整合酶基因 (*intI1*) 的分布特征. 结果表明, 3 种基因在该饮用水源水和底泥中均 100% 检出, *sul1* 基因是该饮用水源地中检出含量最高的磺胺类 ARGs, 在水源水中含量范围为  $1.5 \times 10^4 \sim 6.4 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 底泥中则高达  $1.6 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ , 较 *sul2*、*intI1* 基因分别高 0.6 ~ 2.2、0.5 ~ 1.9 个数量级. *sul1*、*sul2* 和 *intI1* 基因在该水源地入水口和出水口处的绝对含量无显著差别, 而在底泥中 *sul1*、*sul2* 和 *intI1* 基因的绝对含量则是出水口高于入水口. *sul1* 在夏季水源地出水口的检出含量最高, 为  $6.4 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; *intI1* 基因在冬季的检出含量高于其他季节. *sul1* 基因与 13 种磺胺类抗生素具有相关性 ( $r = 0.69$ ,  $P < 0.05$ ), 其中与磺胺甲噁唑的含量显著相关 ( $r = 0.79$ ,  $P < 0.01$ ); *intI1* 与 *sul1*、*sul2* 的相对含量之间也存在正相关关系 ( $r$  为 0.80 和 0.73,  $P < 0.05$ ), 这表明 *intI1* 在磺胺类 ARGs 的水平转移过程中起到了重要作用. 本研究为典型饮用水源地中 ARGs 的污染现状提供基础数据, 也为管控饮用水环境的抗性基因污染和制定管理决策提供依据.

**关键词:** 磺胺类抗性基因; I 型整合酶基因 *intI1*; 饮用水源水; 分布特征; 水平基因转移

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)09-4222-07 DOI: 10.13227/j.hjxx.201712106

## Distribution Characteristics of Sulfonamide Antibiotic Resistance Genes in a Drinking Water Source in East China

HU Ya-ru<sup>1</sup>, JIANG Lei<sup>2</sup>, ZHANG Tian-yang<sup>1</sup>, LEI Dan-dan<sup>1</sup>, JIANG Wei-wei<sup>2</sup>, ZHANG Dong<sup>2</sup>, LIN Kuang-fei<sup>1</sup>, CUI Chang-zheng<sup>1\*</sup>

(1. State Environmental Protection Key Laboratory of Environmental Risk Assessment and Control on Chemical Process, School of Resources and Environmental Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. National Engineering Research Center of Urban Water Resources, Shanghai 200082, China)

**Abstract:** Antibiotic resistance genes (ARGs) in drinking water sources have attracted widespread attention due to the threat they pose to water security and human health. This study mainly focused on the distribution of sulfonamide ARGs (*sul1*, *sul2*) and one integrase gene (*intI1*) in water and sediment using qualitative and fluorescent quantitative PCR, based on previous work on the characteristics of 13 kinds of sulfonamides in a drinking water source in East China. Results showed that the three target genes were all detected in water and sediment. The *sul1* gene was the sulfonamide ARG with highest concentration, with  $1.5 \times 10^4 \sim 6.4 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$  in source water and maximum concentration of  $1.6 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$  in sediment. Concentration of *sul1* was 0.6 ~ 2.2, 0.5 ~ 1.9 order of magnitudes higher than *sul2* and *intI1* genes, respectively. There was no significant difference between the absolute concentrations of *sul1*, *sul2*, and *intI1* in inflow and outflow. However, in the case of sediment, absolute abundances of *sul1*, *sul2*, and *intI1* in outflow were higher than those in inflow. The maximum concentration of *sul1* was detected in outflow in summer ( $6.4 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ ). The concentration of *intI1* was higher in winter compared to other seasons. There was a positive correlation between *sul1* and 13 sulfonamides ( $r = 0.69$ ,  $P < 0.05$ ), and the relative concentration of *sul1* and amount of sulfamethoxazole were significantly positively related ( $r = 0.79$ ,  $P < 0.01$ ). There were also positive correlations between the relative concentrations of *intI1* and *sul1*, *sul2* ( $r$ : 0.80 and 0.73,  $P < 0.05$ ), respectively, suggesting that *intI1* played an important role in horizontal gene transfer of sulfonamide ARGs in this drinking water source. This study provides basic data for monitoring pollution of ARGs, as well as a basis for controlling ARG pollution in the drinking water environment and making management decisions.

**Key words:** sulfonamides antibiotics resistance genes; integrase gene *intI1*; drinking water source; distribution characteristics; horizontal gene transfer

收稿日期: 2017-12-14; 修订日期: 2018-03-12

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2017ZX07402003); 中国博士后科学基金项目 (2017M621391); 上海市科委科技攻关项目 (16DZ1204703); 上海市青年科技启明星计划项目 (15QB1400700)

作者简介: 胡亚茹 (1990 ~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为饮用水安全保障技术, E-mail: hu746459@163.com

\* 通信作者, E-mail: cuichangzheng@ecust.edu.cn

近年来, 由于抗生素滥用而产生的细菌耐药性问题在全球范围内引起广泛关注<sup>[1,2]</sup>. 环境中残留的抗生素不仅会加剧微生物对抗生素的抗性, 同时也促使抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)在环境中增殖以及在微生物之间的水平转移, 造成抗生素的治疗效果日益下降<sup>[3]</sup>. ARGs 具有“可复制或可传播”的生物学特性和“不易消亡或环境持久”的物理化学特性, 通常位于质粒、转座子、整合子等可移动遗传元件上, 能够在细菌间进行传播扩散<sup>[4]</sup>. Martínez 等<sup>[5]</sup>认为在某种程度上抗性细菌和 ARGs 的产生、传播比残留微量抗生素对环境的危害更大. 因而细菌耐药性严重威胁了生态环境及人体健康, 是人类将要解决的重要问题之一.

磺胺类抗生素(sulfonamide antibiotics, SAs)是最早被应用于临床的抗生素. 目前在我国的生产和使用量仍较大, 且在地表水等环境中的检出率和含量较高<sup>[6,7]</sup>. SAs 具有类似于 *p*-氨基苯甲酸的结构, 在细菌生长中通过竞争性抑制 *p*-氨基苯甲酸与二氢叶酸合成酶的结合, 扰乱细菌的叶酸代谢循环, 从而抑制细菌生长和繁殖而起到抑菌作用<sup>[8]</sup>. 细菌中 *dhps*(*folP*) 突变基因编码的二氢叶酸合成酶能够分辨 *p*-氨基苯甲酸和 SAs, 进而与 *p*-氨基苯甲酸结合, 使得细菌中二氢叶酸正常合成, 即表现为对 SAs 的耐药性<sup>[9]</sup>. *sul1* 和 *sul2* 是位于质粒上常见的两种均编码二氢叶酸合成酶的基因<sup>[10]</sup>. 其中 *sul1* 基因通常与  $Tn_{21}$  型整合子中的其它抗性基因相连, *sul2* 则通常位于 IncQ 家族的小质粒(RSF1010)以及由 pBP1 代表的质粒上<sup>[11]</sup>. 整合子作为基因捕获系统, 在抗性基因的水平转移中发挥着重要作用, 编码整合酶(位点特异性重组酶) *intI* 基因较为常见. 根据 *intI* 基因 DNA 序列的不同, 可把整合子分为 4 类<sup>[12]</sup>, 其中 *intI1* 被认为位于  $Tn_{21}$  及相关转座子上<sup>[11]</sup>, 是一种频繁检出的 ARGs 可转移元件<sup>[13]</sup>. 目前我国地表水( $10^5 \sim 10^7$  copies·mL<sup>-1</sup>)<sup>[13]</sup>、生活污水处理厂( $10^5$  copies·mL<sup>-1</sup>)<sup>[14]</sup>、以及西班牙医院废水<sup>[15]</sup>( $10^6$  copies·mL<sup>-1</sup>) 和美国科罗拉多州( $10^{-6} \sim 10^{-2}$ , 相对含量)<sup>[16]</sup>等水环境中, 均检测出 *sul1*、*sul2* 和 *intI1*, 这表明磺胺类 ARGs 污染在水环境已经普遍存在. 但是, 目前针对磺胺类 ARGs 的污染现状及分布特征的研究主要集中在地表水及污水等水环境, 而对于饮用水源水的研究报道较少. 近年来, 饮用水源地或饮用水中抗生素抗性基因的残留及其潜在风险日益受到关注<sup>[17,18]</sup>.

在前期对华东地区某饮用水源地 13 种磺胺类抗生素的污染特征研究基础上, 本研究采用普通定性 PCR 和荧光定量 PCR 技术, 对该饮用水源地水源水和底泥中磺胺类抗性基因(*sul1*、*sul2*)和抗性基因的可转移元件 I 型整合酶基因(*intI1*)的空间和季节分布特征进行了进一步解析, 以期为正确评价磺胺类 ARGs 在饮用水源中的潜在风险, 以及饮用水中抗生素和 ARGs 的风险防控提供基础数据.

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

定性 PCR 仪(Eppendorf 5333, Germany), 荧光定量 PCR 仪(LightCycle 480 II, Roche), 超微量分光光度计(NanoDrop2000, USA), FastPrep®-24 快速核酸提取仪(MP, USA), 电泳仪(DYY-12C, 北京).

Fast DNA® SPIN Kit for Soil 试剂盒(MP Biomedicals, USA), pGEM-T Easy 平末端 DNA 段克隆试剂盒(Promega, USA), SYBR Premix Ex Taq<sup>II</sup> (TaKaRa, Japan), TIAN pure Midi Kit 质粒小提试剂盒、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒、DH5 $\alpha$  感受态细胞、2 × TaqPCR MasterMix 均购自天根生化科技有限公司.

### 1.2 样品采集

样品采集地点位于我国华东地区长江下游, 水样采集时间、饮用水源地采样地点与金磊等<sup>[19]</sup>的报道一致, 2014 年 12 月~2015 年 2 月、2015 年的 3~5 月、6~8 月、9~11 月, 依次代表冬季、春季、夏季和秋季样品, 且每季度分别在入水口、库中和出水口取两份水样, 置于灭菌棕色玻璃瓶中. 底泥采集时间为 2014 年 12 月, 分别在入水口、库中及出水口取 3 份, 置于密封袋中. 对所用样品进行标记并储存于冰块中, 在 24 h 内完成水样过滤及样品 DNA 提, DNA 于 -20℃ 保存, 并尽快进行 ARGs 分析.

### 1.3 磺胺类 ARGs 的分析

#### 1.3.1 样品预处理

取 1 000 mL 水样经 0.22  $\mu$ m 的醋酸纤维素滤膜过滤, 截留水样中的微生物, 采用 Fast DNA® SPIN Kit for Soil 试剂盒进行水样 DNA 提取. 取底泥样品 500 mg 于上述试剂盒中, Lysing Matrix E Tube 中提取样品 DNA.

#### 1.3.2 ARGs 定性 PCR

以上述提取的 DNA 为模板, 进行磺胺类 ARGs

(*sul1*、*sul2*)，*int11* 及 16S rRNA 的定性 PCR 检测。引物参照 Luo 等<sup>[13]</sup> 报道的序列，由生工生物工程(上海)有限公司进行引物合成。PCR 反应体系为：2 × *Taq* PCR MasterMix(12.5 μL)；上下游引物(各 1 μL)，ddH<sub>2</sub>O(10 μL)，模板(0.5 μL)，采用 ddH<sub>2</sub>O 替代模板作为阴性对照。定性 PCR 条件为：预变性:95℃，5 min；扩增(30 个循环):95℃，30 s；退火温度 *T*(表示不同的退火温度)，30 s；72℃，1 min；延伸:72℃，7 min。取 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测，电泳条件为1 400 mV，30 min。利用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收目的片段，并送至生工生物工程(上海)有限公司测序，测序结果在 NCBI 的 GenBank 数据库进行 BLAST 序列分析，并证实为目的基因序列。

1.3.3 ARGs 定量

(1) ARGs 定量标准曲线建立

PCR 产物的连接，连接产物转化等标准质粒的构建及提取参照 Xu 等<sup>[1]</sup> 的方法。构建的标准质粒含量及纯度经超微量分光光度计测定后，进行系列 10 倍梯度稀释，在实时荧光定量 PCR 仪上按照下列反应程序进行 ARGs 定量标准曲线的建立。定量 PCR 反应体系:SYBR Premix Ex *Taq*<sup>II</sup> (TaKaRa) (2 ×)，10 μL；上下游引物(10 μmol·L<sup>-1</sup>):各 0.4 μL；无菌 ddH<sub>2</sub>O:8.2 μL；模板:1 μL。定量 PCR 条件为:预变性 95℃，5 min；扩增(35 个循环):95℃，15 s；*T*(℃)，1 min(*T* 代表不同的退火温度)；72℃，30 s；延伸:72℃，6 min。16S rRNA、*sul1*、*sul2* 及 *int11* 基因的定量标准曲线 *R*<sup>2</sup> 大于 0.994(*P* < 0.05)，扩增效率 = (10<sup>1/斜率</sup> - 1) × 100%，在 100% ~ 120% 之间。

(2) 样品 ARGs 定量

样品进行定量 PCR 时，先采用超微量分光光度计测定样品基因组含量，并将样品基因组稀释至合适的梯度。每个样品至少设置两个含量梯度，每个含量设置 3 个平行样，上机进行测定，获得相应的 Ct 值。理论上 Ct 值在 15 ~ 35 之间表明结果可信，将所得样品 Ct 值代入构建好的定量标准曲线

可获得样品中相应 ARGs 的含量，同时分别采用无菌 ddH<sub>2</sub>O 和构建的标准质粒作为阴性和阳性对照。

1.4 数据分析与处理

由相应 ARGs 的定量标准曲线(*Ct* = -*k* lg *c'* + *b*)可得相应 ARGs 的绝对含量 [*c* = *c'* × 稀释倍数 × DES 洗脱体积(提取 DNA 最后加入的洗脱液体积，μL)/样品体积(采集水样体积，一般为1 000 mL)，copies·mL<sup>-1</sup>]；以 ARGs 的绝对含量/16S rRNA 绝对含量 = ARGs 相对含量。数据处理采用 SPSS 22.0 分析，制图采用 Origin 8.0 软件，其中误差线为 3 个平行样含量的标准偏差。

2 结果与讨论

2.1 磺胺类 ARGs 在饮用水源水中的总体检出水平

该饮用水源水中磺胺类 ARGs(*sul1* 和 *sul2*) 及 *int11* 的总体检出水平如表 1 所示，*sul1*、*sul2* 和 *int11* 基因在该饮用水源水的所有样品中均被检出。*sul1* 基因的检出含量最高，绝对含量在 1.5 × 10<sup>4</sup> ~ 6.4 × 10<sup>5</sup> copies·mL<sup>-1</sup> 之间，相对含量( ARGs/16S rRNA)在 2.3 × 10<sup>-3</sup> ~ 4.7 × 10<sup>-1</sup>之间；*sul2* 检出含量范围为 3.4 × 10<sup>3</sup> ~ 2.2 × 10<sup>4</sup> copies·mL<sup>-1</sup>，相对含量范围为 3.5 × 10<sup>-4</sup> ~ 2.9 × 10<sup>-2</sup>；*int11* 检出含量在 3.0 × 10<sup>3</sup> ~ 6.8 × 10<sup>5</sup> copies·mL<sup>-1</sup>之间，相对含量为 4.3 × 10<sup>-4</sup> ~ 2.9 × 10<sup>-2</sup>之间。对比 3 种基因的绝对含量，*sul1* 基因较 *sul2* 和 *int11* 基因分别高 0.6 ~ 2.2、0.5 ~ 1.9 个数量级，这与在科罗拉多河的研究中 *sul1* 基因丰度较 *sul2* 高一一致<sup>[16]</sup>。同时 Pei 等<sup>[20]</sup> 的研究发现，*sul2* 基因是受人类/农业影响最敏感的基因型，该饮用水源地位于江心，周围受人类活动的影响相对较小，推测是 *sul2* 低的原因之一。

该水源地底泥中 *sul1*、*sul2* 和 *int11* 的检出含量依次为 1.7 × 10<sup>7</sup> ~ 1.6 × 10<sup>8</sup>、8.7 × 10<sup>5</sup> ~ 1.2 × 10<sup>7</sup> 和 2.6 × 10<sup>8</sup> ~ 4.3 × 10<sup>8</sup> copies·g<sup>-1</sup>，比该水源水中分别高 1.4 ~ 4.0、1.6 ~ 3.5 和 2.6 ~ 5.2 个数量级，这表明该水源地底泥是 ARGs 的一个重要储存库<sup>[1]</sup>。

表 1 饮用水源水中磺胺类 ARGs 及 *int11* 的总体检出水平<sup>1)</sup>

Table 1 Summary of *sul* ARGs and *int11* concentrations in drinking water source

| 基因型          | 绝对含量/copies·mL <sup>-1</sup> |                       |                       |                       | 相对含量( ARGs/16S rRNA)   |                        |                        |                        |
|--------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|              | 最高值                          | 最低值                   | 中位值                   | 平均值                   | 最高值                    | 最低值                    | 中位值                    | 平均值                    |
| <i>sul1</i>  | 6.4 × 10 <sup>5</sup>        | 1.5 × 10 <sup>4</sup> | 1.3 × 10 <sup>5</sup> | 2.1 × 10 <sup>5</sup> | 4.7 × 10 <sup>-1</sup> | 2.3 × 10 <sup>-3</sup> | 2.0 × 10 <sup>-2</sup> | 8.5 × 10 <sup>-2</sup> |
| <i>sul2</i>  | 2.2 × 10 <sup>4</sup>        | 3.4 × 10 <sup>3</sup> | 1.4 × 10 <sup>4</sup> | 1.7 × 10 <sup>4</sup> | 2.9 × 10 <sup>-2</sup> | 3.5 × 10 <sup>-4</sup> | 3.4 × 10 <sup>-3</sup> | 5.6 × 10 <sup>-3</sup> |
| <i>int11</i> | 6.8 × 10 <sup>5</sup>        | 3.0 × 10 <sup>3</sup> | 1.5 × 10 <sup>4</sup> | 1.3 × 10 <sup>5</sup> | 2.9 × 10 <sup>-2</sup> | 4.3 × 10 <sup>-4</sup> | 7.4 × 10 <sup>-3</sup> | 9.9 × 10 <sup>-3</sup> |
| 16S rRNA     | 5.7 × 10 <sup>7</sup>        | 6.5 × 10 <sup>5</sup> | 6.7 × 10 <sup>6</sup> | 1.2 × 10 <sup>7</sup> | /                      | /                      | /                      | /                      |

1) “/”表示文章中没有相关数据

与国内外水环境的其他研究相比, 本研究水源水中的 *sul1* 和 *sul2* 检出含量 ( $10^3 \sim 10^5$  copies·mL<sup>-1</sup>) 略低于天津海河<sup>[13]</sup> ( $10^5 \sim 10^7$  copies·mL<sup>-1</sup>) 和黄浦江水源水<sup>[21]</sup> (均在  $10^5$  copies·mL<sup>-1</sup> 之间). *int11* 基因的检出含量 ( $10^3 \sim 10^5$  copies·mL<sup>-1</sup>) 低于珠江流域<sup>[22]</sup> ( $10^5 \sim 10^6$  copies·mL<sup>-1</sup>) 及清河<sup>[1]</sup> ( $1.2 \times 10^6$  copies·mL<sup>-1</sup>). 底泥中 *sul1* 和 *sul2* 含量 ( $10^5 \sim 10^8$  copies·g<sup>-1</sup>) 则低于海河底泥<sup>[13]</sup> ( $10^8 \sim 10^{10}$  copies·g<sup>-1</sup>), 高于温榆河底泥<sup>[1]</sup> ( $4.2 \times 10^2 \sim 2.0 \times 10^8$  copies·g<sup>-1</sup>). 不同水环境中残留的 SAs 含量不同, 对环境微生物产生的选择压力不同<sup>[23]</sup>. 例如天津海河流域 SAs 的检出含量为 24 ~ 385 ng·L<sup>-1</sup><sup>[23]</sup>, 略高于该饮用水源水中 SAs 的总检出含量 ( $10.5 \sim 238.5$  ng·L<sup>-1</sup>)<sup>[19]</sup>.

## 2.2 磺胺类 ARGs 在饮用水源水中的空间分布特征

磺胺类 ARGs 及 *int11* 在该饮用水源水中的空间分布特征如图 1 和图 2 所示. 从绝对含量来看, *sul1*、*sul2* 和 *int11* 基因在饮用水源地入水口处的绝对含量与出水口处相差不大; 相对含量则无明显分布规律. 然而在该饮用水源地底泥中, 出水口中 *sul1*、*sul2* 和 *int11* 基因的绝对含量  $1.6 \times 10^8$ 、 $1.1 \times 10^7$  和  $4.3 \times 10^8$  copies·g<sup>-1</sup> 均高于入水口  $1.7 \times 10^7$ 、 $8.1 \times 10^5$  和  $2.6 \times 10^8$  copies·g<sup>-1</sup>. Xu 等<sup>[1]</sup> 发现温榆河底泥样品中的磺胺类 ARGs 和 *int11* 基因在没有人类活动干扰的情况下, 也随着水流而逐渐升高. 该饮用水源地底泥中磺胺类 ARGs 在出水口中的绝对含量高于入水口 (高 0.2 ~ 1.1 个数量级), 且在出水口底泥中的微生物丰度 [图 1(a)] 也高于入水口, 推测水源水入水口 ARGs 高于出水口可能是由于含 ARGs 微生物被水中悬浮物吸附而沉降导致的. 若该水源地出水口底泥受到扰动, 会增加水源水中 ARGs 的含量或含抗性基因微生物数量. 因此, 建议定期清除取水口底泥, 有助于减小对饮用水厂去除该类污染物压力和降低对饮用水安全的潜在威胁.

## 2.3 磺胺类 ARGs 在饮用水源水中的季节变化特征

磺胺类 ARGs 的绝对含量在该饮用水源水中的季节分布特征如图 1 所示, *sul1* 在夏季的检出含量范围为  $5.4 \times 10^5 \sim 6.4 \times 10^5$  copies·mL<sup>-1</sup>, 比其余季节高 0.1 ~ 0.8 个数量级. 这与 Luo 等<sup>[13]</sup> 在天津海河流域中 *sul1* 在夏季的检出含量最高一致. *sul2* 随季节变化无明显趋势; *int11* 基因则在冬季的检出含量范围为  $3.4 \times 10^5 \sim 6.8 \times 10^5$  copies·mL<sup>-1</sup>, 高于其余季节 0.8 ~ 1.7 个数量级, 这与前期在珠江

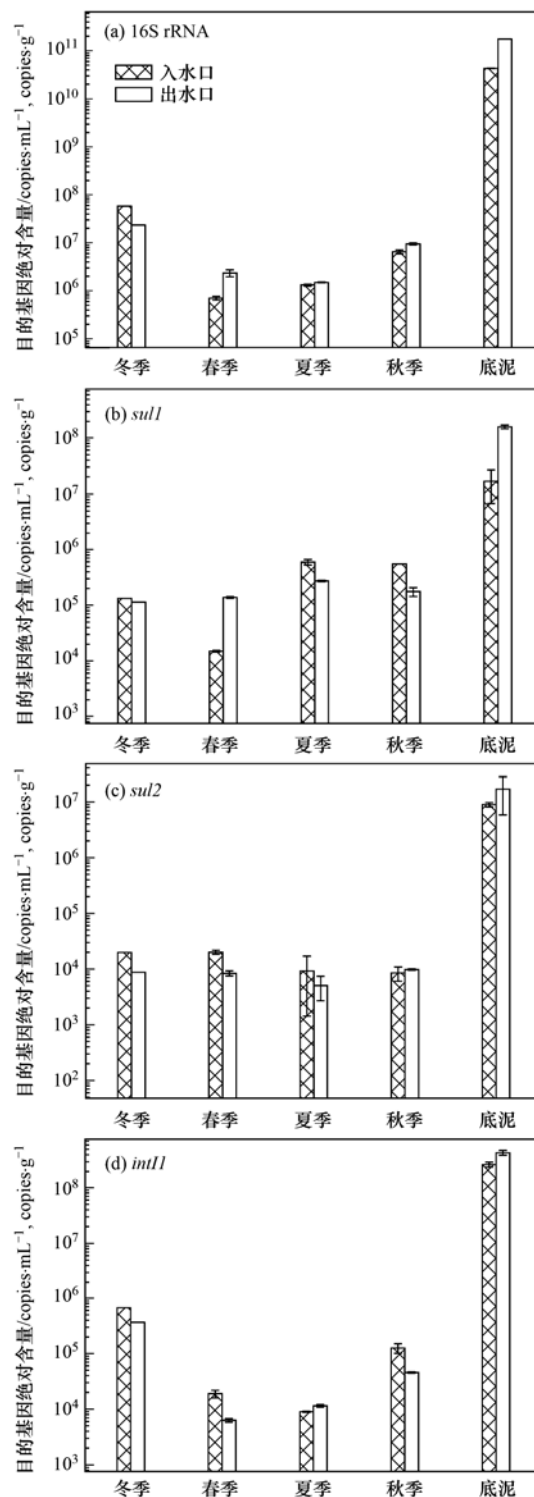


图 1 饮用水源中磺胺类 ARGs 及 *int11* 基因的绝对含量

Fig. 1 Absolute abundance of *sul* ARGs and *int11* in drinking water source

流域<sup>[22]</sup> 的研究均一致. 该饮用水源水中磺胺类 ARGs 相对含量的季节分布特征如图 2 所示, *sul1* 在夏季的相对含量要高于其他季节, *sul2* 则是在春季的相对含量高于其他季节, 这与 Pruden 等<sup>[16]</sup> 在北科罗拉多的研究中发现 *sul2* 在 2 月的相对含量高

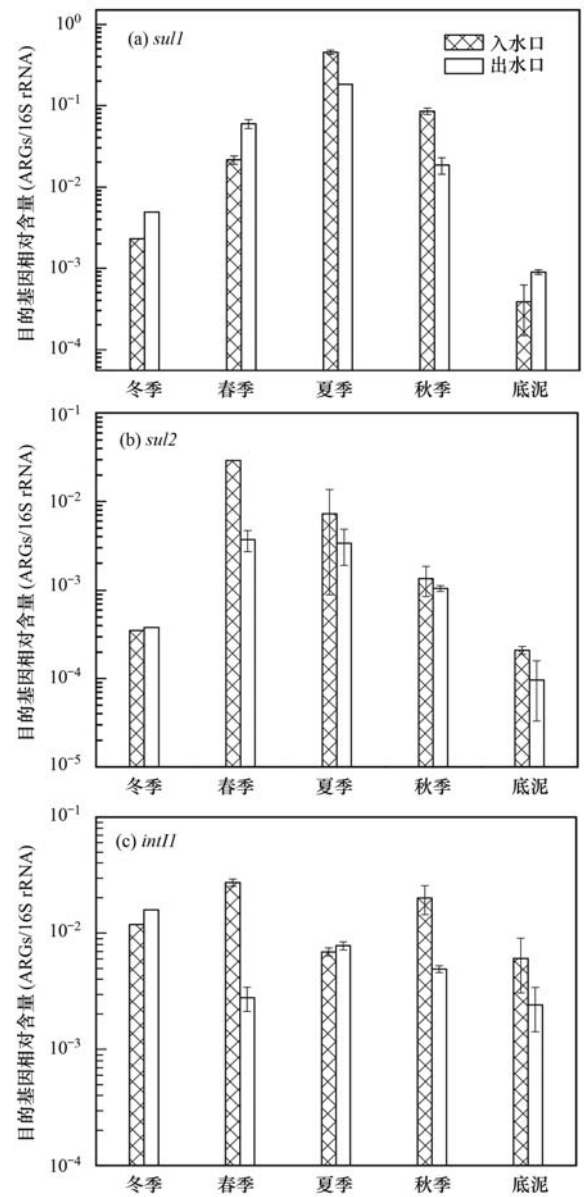


图2 饮用水源水中 *sul* 及 *int11* 基因的相对含量  
Fig. 2 Relative abundance of *sul* ARGs and *int11* in drinking water source

于其他月份相一致, *int11* 则呈现无明显规律. 水源水中 ARGs 的季节分布特征主要受到季节温度变化, 微生物活性及降雨量的稀释作用等因素的影响<sup>[13]</sup>. 天津海河流域发现夏季水体中的 *sul1* 含量明显高于冬季, 推测可能是由于夏季气温高, 水体中微生物快速增殖, 从而导致 ARGs 的检出含量增加<sup>[13]</sup>. 在美国北部科罗拉多州河流中, *sul2* 在 2 月 (冬季) 的检出含量高于其他时期<sup>[16]</sup>, 导致这种现象的原因可能有两方面: 一是温度的影响. 有研究发现 *sul2* 基因在经过嗜热厌氧消化处理后, 含量下降, 但 *sul1* 则没有变化<sup>[24]</sup>, 推测 *sul2* 基因的削减作用在嗜热条件下较强, 冬季气温较低时则较弱, 导致 *sul2* 在冬季的检出含量高于其他季节; 另外一方面是由于冬季气温较低对含 ARGs 的转移有一定的影响, 有研究表明 *E. coli* 425 与 *E. coli* NK5449 之间发生结合转移频率随着温度的降低有所升高, 在 35℃ 降至 15℃ 的过程中, 结合频率升高了 6.4 (pH 8.1) 和 33.8 倍 (pH 7.1)<sup>[25]</sup>, 冬季较低的温度加速 *sul2* 基因的转移, 推测是导致 *sul2* 基因在冬季的检出含量高于其他季节的原因之一.

2.4 磺胺类 ARGs 与 SAs、可转移元件 *int11* 的相关性

在前期研究的 13 种 SAs 在该饮用水源地中的分布特征<sup>[19]</sup> 的基础上, 对磺胺类 ARGs 的相对丰度与 13 种 SAs 进行相关性分析 (表 2). 结果显示 *sul1* 基因与 13 种 SAs 总含量具有相关性, 相关系数为 0.69 ( $P < 0.05$ ), 而 *sul2* 则与 13 种 SAs 含量无相关性 ( $P > 0.05$ ). 然而在温榆河流域内的研究中<sup>[1]</sup>, 磺胺类 ARGs 与 SAs 具有较好的相关性 (*sul1*:  $r = 0.630$ , *sul2*:  $r = 0.559$ ,  $P < 0.05$ ). 考察磺胺类 ARGs 与单一 SAs 的相关性, 结果发现 *sul1* 基因与该饮用水源地中含量最高的磺胺甲噁唑 (SMX) 含量

表 2 磺胺类 ARGs 与 SAs 的相关性<sup>1)</sup>

Table 2 Correlation between sulfonamide ARGs and SAs

| 项目          | TMP   | SAM   | SG    | SDZ  | SMR   | SMZ    | STZ   | SMT   | SMX     | SFX | SCP   | SMD   | SAT   | TSAs   |
|-------------|-------|-------|-------|------|-------|--------|-------|-------|---------|-----|-------|-------|-------|--------|
| <i>sul1</i> | -0.34 | -0.29 | -0.18 | 0.17 | -0.17 | 0.58   | -0.15 | -0.18 | 0.79 ** | /   | -0.05 | -0.14 | -0.31 | 0.69 * |
| <i>sul2</i> | -0.26 | -0.09 | -0.10 | 0.32 | -0.03 | 0.75 * | -0.04 | 0.00  | 0.54    | /   | 0.05  | -0.05 | 0.19  | 0.50   |

1) \* 为  $P < 0.05$ , 相关, \*\* 为  $P < 0.01$ , 显著相关; TMP (Trimethoprim, 甲氧苄啶)、SAM (Sulfanilamide, 磺胺)、SG (Sulfaguanidine, 磺胺脒)、SDZ (Sulfadiazine, 磺胺嘧啶)、SMR (Sulfamerazine, 磺胺甲基嘧啶)、SMZ (Sulfamethazine, 磺胺二甲嘧啶)、STZ (Sulfathiazole, 磺胺噻唑)、SMT (Sulfamethizole, 磺胺甲噻二唑)、SMX (Sulfamethoxazole, 磺胺甲噁唑)、SFX (Sulfisoxazole, 磺胺二甲异噁唑)、SCP (Sulfachloropyridazine, 磺胺氯吡啶)、SMD (Sulfamer, 磺胺对甲氧嘧啶)、SAT (Sulfadimethoxine, 磺胺二甲氧嘧啶), TSAs: 13 种 SAs 总含量; “/” 表示文章中没有相关数据

存在显著的正相关关系 (相关系数为 0.79,  $P < 0.01$ ), 而 *sul2* 则与磺胺二甲嘧啶 (SMZ) 的含量正相关 (相关系数为 0.75,  $P < 0.05$ ). Hoa 等<sup>[26]</sup> 采用

60  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  SMX 筛选磺胺类耐药菌时, 发现分离的耐磺胺类药物单菌携带 *sul1* 基因的频率 (34% ~ 60%) 高于携带 *sul2* 基因 (19% ~ 51%). McKinney

等<sup>[27]</sup>在养殖泻湖区中磺胺抗性与抗生素的关系时,发现 *sul1* 和 *sul2* 基因均与 SMZ 含量显著相关, 相关系数分别为 0.88 和 0.80,  $P < 0.01$ .

磺胺类 ARGs 与基因可转移元件 *int11* 的相关性如图 3 所示. *sul1*、*sul2* 基因与 *int11* 基因均呈正相关, 相关系数分别为 0.80 和 0.73 ( $P < 0.05$ ), 这与 Chen 等<sup>[22]</sup>在珠江流域的研究中, *int11* 与磺胺类 ARGs 的相关性结果 (*sul1*:  $r$  为 0.89 ~ 0.94; *sul2*:  $r$  为 0.84 ~ 0.99) 一致. 整合酶基因 3' 端有编码磺胺类的 ARGs, 整合子可介导该基因从一个整合子转移到另一个整合子, 或者在另一个整合子的基因盒中重组, 促使 ARGs 整合至细菌染色体中, 从而加速磺胺类 ARGs 的转移和增殖<sup>[10]</sup>. 磺胺类 ARGs 与 *int11* 基因的相对含量的相关性, 也表明了可转移元件整合子在 ARGs 的水平基因转移中起到了重要的作用. 同时, 磺胺类 ARGs 在环境中的高检出也可能是由于 I 型整合子携带含有磺胺类 ARGs 的基因在细菌间传播扩散, 提高了 ARGs 的传播风险. 然而 *sul1* 和 *sul2* 基因随 *int11* 基因的变化不同, 这是由于 *int11* 基因由 5' 保守端和 3' 保守端组成, 3' 保守端由季铵盐化合物的耐药基因 (*qacEΔ1*)、磺胺类耐药基因 *sul1*, 以及功能不详的 ORF 框组成<sup>[28]</sup>, 推测 *int11* 基因与 *sul1* 基因的相关性更强.

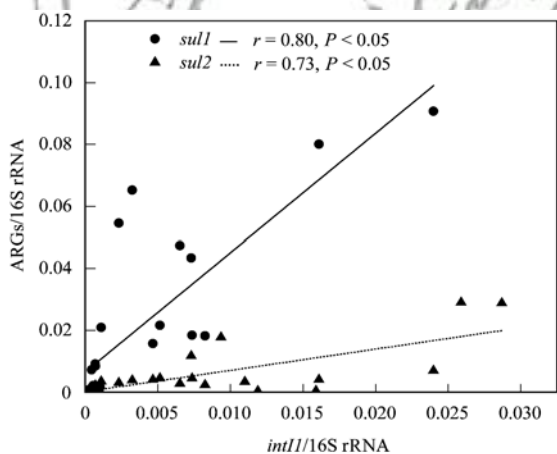


图 3 *sul1*、*sul2* 与 *int11* 相对含量之间的相关性

Fig. 3 Correlation between relative abundance of *sul1*, *sul2*, and *int11*

根据 Martínez 等<sup>[5]</sup>阐述的 ARGs 的风险等级中, 该饮用水源地中磺胺类 ARGs 能够编码对 SAs 抗性, 含量可达  $10^5$  copies·mL<sup>-1</sup>, 与基因可转移元件 *int11* 具有较高的相关性, 可将其列为该风险等级 5 级. 在掌握了饮用水源地中 SAs 和磺胺类 ARGs 及 I 型整合酶基因 *int11* 的检出及分布特征基础上, 针对该饮用水源水中的磺胺类 ARGs 是否位

于人类致病菌中以及水源水中抗生素抗性基因的水平转移机制值得进一步关注, 为更有效地遏制 ARGs 在水源水环境中的扩散, 保障饮用水源水质安全提供保障.

### 3 结论

(1) 华东地区某饮用水源地水源水和底泥中磺胺类 ARGs (*sul1* 和 *sul2*) 及 I 型整合酶基因 *int11* 均 100% 检出, 其中 *sul1* 基因检出含量最高.

(2) 磺胺类 ARGs (*sul1* 和 *sul2*) 及 I 型整合酶基因 *int11* 在该饮用水源地中呈现出一定的空间和季节分布特征, *sul1*、*sul2* 及 *int11* 的绝对含量在该水源水的入水口和出水口处无显著差异, 但在底泥中 *sul1*、*sul2* 及 *int11* 在出水口中的绝对含量高于入水口, *sul1* 在夏季含量高于其他季节.

(3) 该饮用水源水中 *sul1* 基因与 13 种 SAs 相关 ( $r = 0.69$ ,  $P < 0.05$ ), 且与 SMX 含量显著正相关 ( $r = 0.79$ ,  $P < 0.01$ ).

### 参考文献:

- [1] Xu Y, Guo C S, Luo Y, et al. Occurrence and distribution of antibiotics, antibiotic resistance genes in the urban rivers in Beijing, China[J]. Environmental Pollution, 2016, **213**: 833-840.
- [2] Calero-Cáceres W, Méndez J, Martín-Díaz J, et al. The occurrence of antibiotic resistance genes in a Mediterranean river and their persistence in the riverbed sediment[J]. Environmental Pollution, 2017, **223**: 384-394.
- [3] 张俊, 杨晓洪, 葛峰, 等. 长期施用四环素残留猪粪对土壤中耐药菌及抗性基因形成的影响[J]. 环境科学, 2014, **35** (6): 2374-2380.  
Zhang J, Yang X H, Ge F, et al. Effects of long-term application of pig manure containing residual tetracycline on the formation of drug-resistant bacteria and resistance genes [J]. Environmental Science, 2014, **35** (6): 2374-2380.
- [4] Makowska N, Koczura R, Mokracka J. Class 1 integrase, sulfonamide and tetracycline resistance genes in wastewater treatment plant and surface water [J]. Chemosphere, 2016, **144**: 1665-1673.
- [5] Martínez J L, Coque T M, Baquero F. What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes [J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, **13** (2): 116-123.
- [6] 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.
- [7] Cheng W, Jiang L, Lu N, et al. Development of a method for trace level determination of antibiotics in drinking water sources by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytical Methods, 2015, **7** (5): 1777-1787.

- [8] 郑吉, 周振超, 陈芳, 等. 3 种常规消毒方法对磺胺类抗性基因削减效果的比较[J]. 环境科学, 2017, **38**(4): 1497-1505.
- Zheng J, Zhou Z C, Chen F, *et al.* Reducing effect of three disinfection technologies for sulfonamides resistance genes[J]. Environmental Science, 2017, **38**(4): 1497-1505.
- [9] Sköld O. Sulfonamide resistance: mechanisms and trends[J]. Drug Resistance Updates, 2000, **3**(3): 155-160.
- [10] Wang M Z, Sun Y X, Liu P, *et al.* Fate of antimicrobial resistance genes in response to application of poultry and swine manure in simulated manure-soil microcosms and manure-pond microcosms[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, **24**(26): 20949-20958.
- [11] Rådström P, Swedberg C. RSF1010 and a conjugative plasmid contain *sulII*, one of two known genes for plasmid-borne sulfonamide resistance dihydropteroate synthase [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1988, **32**(11): 1684-1692.
- [12] Van Hoek A H A M, Mevius D, Guerra B, *et al.* Acquired antibiotic resistance genes: an overview [J]. Frontiers in Microbiology, 2011, **2**: 203.
- [13] Luo Y, Mao D Q, Rysz M, *et al.* Trends in antibiotic resistance genes occurrence in the Haihe River, China[J]. Environmental Science & Technology, 2010, **44**(19): 7220-7225.
- [14] Mao D Q, Yu S, Rysz M, *et al.* Prevalence and proliferation of antibiotic resistance genes in two municipal wastewater treatment plants[J]. Water Research, 2015, **85**: 458-466.
- [15] Laht M, Karkman A, Voolaid V, *et al.* Abundances of tetracycline, sulphonamide and beta-lactam antibiotic resistance genes in conventional wastewater treatment plants (WWTPs) with different waste load[J]. PLoS One, 2014, **9**(8): e103705.
- [16] 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.
- [17] Xu L K, Ouyang W Y, Qian Y Y, *et al.* High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in drinking water treatment plants and distribution systems [J]. Environmental Pollution, 2016, **213**: 119-126.
- [18] Bergeron S, Boopathy R, Nathaniel R, *et al.* Presence of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in raw source water and treated drinking water [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2015, **102**: 370-374.
- [19] 金磊, 姜蕾, 韩琪, 等. 华东地区某水源水中 13 种磺胺类抗生素的分布特征及人体健康风险评价[J]. 环境科学, 2016, **37**(7): 2515-2521.
- Jin L, Jiang L, Han Q, *et al.* Distribution characteristics and health risk assessment of thirteen sulfonamides antibiotics in a drinking water source in East China[J]. Environmental Science, 2016, **37**(7): 2515-2521.
- [20] Pei R T, Kim S C, Carlson K H, *et al.* Effect of river landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG) [J]. Water Research, 2006, **40**(12): 2427-2435.
- [21] Jiang L, Hu X L, Xu T, *et al.* Prevalence of antibiotic resistance genes and their relationship with antibiotics in the Huangpu River and the drinking water sources, Shanghai, China[J]. Science of the Total Environment, 2013, **458-460**: 267-272.
- [22] Chen B W, Liang X M, Nie X P, *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, 2015, **282**: 61-67.
- [23] Luo Y, Xu L, Rysz M, *et al.* Occurrence and transport of tetracycline, sulfonamide, quinolone, and macrolide antibiotics in the Haihe River Basin, China[J]. Environmental Science & Technology, 2011, **45**(5): 1827-1833.
- [24] Zhang T, Yang Y, Pruden A. Effect of temperature on removal of antibiotic resistance genes by anaerobic digestion of activated sludge revealed by metagenomic approach [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, **99**(18): 7771-7779.
- [25] 郭业彬, 舒为群, 常晓松, 等. 温度与 pH 值对长江水系产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶大肠埃希菌耐药基因转移影响分析[J]. 微生物学杂志, 2010, **30**(5): 29-35.
- Guo Y B, Shu W Q, Chang X S, *et al.* Analysis of the influence of temperature and pH value on conjugal transfer between extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from the Yangtze River Basin [J]. Journal of Microbiology, 2010, **30**(5): 29-35.
- [26] Hoa P T P, Nonaka L, Viet P H, *et al.* Detection of the *sulI*, *sul2*, and *sul3* genes in sulfonamide-resistant bacteria from wastewater and shrimp ponds of North Vietnam[J]. Science of the Total Environment, 2008, **405**(1-3): 377-384.
- [27] 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.
- [28] Gillings M R. Integrons: past, present, and future [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2014, **78**(2): 257-277.

## CONTENTS

|                                                                                                                                                                             |                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Emission Inventory and Prediction of Non-road Machineries in the Yangtze River Delta Region, China .....                                                                    | HUANG Cheng, AN Jing-yu, LU Jun (3965)                                  |
| Vehicle Exhaust Emission Characteristics and Their Contributions in Jiangsu Province .....                                                                                  | LI Li, ZHANG Jie, ZHAO Qiu-yue, <i>et al.</i> (3976)                    |
| Historical Trends of Atmospheric Pb and Hg Emissions from Fossil Fuel Combustion in Shanghai .....                                                                          | YANG Jing, CHEN Long, LIU Min, <i>et al.</i> (3987)                     |
| Emission Inventory of Atmospheric Pollutants and VOC Species from Crop Residue Burning in Guangdong Province .....                                                          | SUN Xi-bo, LIAO Cheng-hao, ZENG Wu-tao, <i>et al.</i> (3995)            |
| Mass Concentrations and Size Distributions of Water-soluble Inorganic Ions in Atmospheric Aerosols in Beibei District, Chongqing .....                                      | LI Yan-pei, HAO Qing-ju, WEN Tian-xue, <i>et al.</i> (4002)             |
| Analysis of Seasonal Variations in Chemical Characteristics and Sources of PM <sub>2.5</sub> During Summer and Winter in Ji'nan City .....                                  | LIU Xiao-di, MENG Jing-jing, HOU Zhan-fang, <i>et al.</i> (4014)        |
| PM <sub>2.5</sub> Pollution Characterization and Cause Analysis of a Winter Heavy Pollution Event, Liaocheng City .....                                                     | ZHANG Jing-qiao, WU Ya-jun, ZHANG Meng, <i>et al.</i> (4026)            |
| Concentrations, Sources, and Dry Deposition Fluxes of Different Forms of Phosphorus in Qingdao Aerosols in Summer .....                                                     | WANG Nan, MA Miao, SHI Jin-hui, <i>et al.</i> (4034)                    |
| Characteristics and Source Apportionment of Ambient Volatile Organic Compounds in Winter in Jincheng .....                                                                  | YANG Fan, YAN Yu-long, GE Yun-fei, <i>et al.</i> (4042)                 |
| Enrichment Levels and Comprehensive Pollution Assessment of Dust Heavy Metals in Winter in Beijing .....                                                                    | XIONG Qiu-lin, ZHAO Wen-ji, LI Da-jun, <i>et al.</i> (4051)             |
| Characteristics of Atmospheric BTX near a Main Road in Hefei City .....                                                                                                     | MENG Fan-hao, QIN Min, LIANG Shuai-xi, <i>et al.</i> (4060)             |
| Ozone Generation Potential and Highly Contributing Substances of NMOCs from Landfill Working Face .....                                                                     | LI Hao, LIU Yan-jun, CHEN Tan, <i>et al.</i> (4070)                     |
| Emission Characteristics of Wind-Eroded Dust from Concrete Batching Plants in Beijing .....                                                                                 | LI Bei-bei, HAN Kai-li, QIN Jian-ping, <i>et al.</i> (4078)             |
| Seasonal Variation Characteristics of Pollution Risk in a Riverside Source Area Based on Source Apportionment .....                                                         | GAO Xiang, ZUO Rui, GUO Xue-ru, <i>et al.</i> (4086)                    |
| Evaluation of Effect of Urban Non-point Source Pollution Control on Porous Asphalt-Bio-retention Combined Roads .....                                                       | GONG Man-li, ZUO Jun-jie, REN Xin-xin, <i>et al.</i> (4096)             |
| Composition, Spatial Distribution Characteristics and Source Analysis of Chromophoric Dissolved Organic Matter in the Lanzhou Reach of the Yellow River .....               | ..... ZHAO Xia-ting, LI Shan, WANG Zhao-wei, <i>et al.</i> (4105)       |
| Characterization of Dissolved Organic Matter Fractions in the Ning-Meng Section of the Yellow River and Relationship with Metal Ions .....                                  | XI Yue, WANG Ting, NI Jin-ren, <i>et al.</i> (4114)                     |
| Comparative Characteristics of Optical Absorption in Waters from Yiluo River and Huntai River in Spring .....                                                               | LI Liu-yang, SHAO Tian-tian, ZHANG Xin, <i>et al.</i> (4122)            |
| Seasonal Variations in River Water Chemical Weathering and Its Influence Factors in the Malian River Basin .....                                                            | WANG Yu-shan, HAN Shuang-bao, DENG Qi-jun, <i>et al.</i> (4132)         |
| Characteristics and Genesis of NO <sub>3</sub> Type Water in Shallow Groundwater in Lujiang Basin .....                                                                     | XU Jin, HE Jiang-tao, PENG Cong, <i>et al.</i> (4142)                   |
| Development and Evaluation of a Sustainable Long-release Carbon Material Applied for In-Situ Remediation of Groundwater Nitrogen Pollution .....                            | ..... ZHANG Wen, YIN Lin, ZHOU Nian-qing (4150)                         |
| Phosphorus Forms and Distribution Characteristics in the Sediment and Soil of the Water-Level-fluctuating Zone in the Main Stream of the Three Gorges Reservoir .....       | ..... ZHANG Zhi-yong, WAN Cheng-yan, HU Hong-qing, <i>et al.</i> (4161) |
| Distribution Characteristics and Release Fluxes of Phosphorus Forms in Xiangxi Bay Sediments in the Three Gorges Reservoir Before and After Impoundment .....               | ..... LIU Xin-yuan, SONG Lin-xu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (4169)       |
| Effect of Zirconium-modified Zeolite Addition on Phosphorus Release and Immobilization in Heavily Polluted River Sediment .....                                             | HE Si-qi, ZHANG Wei, LIN Jian-wei, <i>et al.</i> (4179)                 |
| Impact of Human Activities on Net Anthropogenic Nitrogen Inputs (NANI) at Township Scale in Erhai Lake Basin .....                                                          | LI Ying, LIU Hong-bin, LEI Qiu-liang, <i>et al.</i> (4189)              |
| Simulation of Inorganic Nitrogen Fluxes at the Sediment-water Interface in a Typical Intertidal Zone, Eastern China .....                                                   | NIE Jia-qin, WANG Dong-qi, CHEN Jie, <i>et al.</i> (4199)               |
| Effects of Aquaculture on Ammonia-oxidizing Prokaryotes in Sediments of Eastern Lake Taihu .....                                                                            | CHU Yu, HE Xiao-wei, ZENG Jin, <i>et al.</i> (4206)                     |
| Transformation of Ammonia in Wetland Sediments for Treatment of Mining Wastewater .....                                                                                     | WANG Hai-bo, MA Ding, YUE Zheng-bo, <i>et al.</i> (4215)                |
| Distribution Characteristics of Sulfonamide Antibiotic Resistance Genes in a Drinking Water Source in East China .....                                                      | HU Ya-ru, JIANG Lei, ZHANG Tian-yang, <i>et al.</i> (4222)              |
| Distribution Characteristics of Sulfonamides and Sulfamethoxazole-Resistant Bacteria in Tannery Wastewater Treatment Processes .....                                        | HUA Li, LI Lu, YANG Chun-yan (4229)                                     |
| Effects of Different Substrates and Particle Sizes on Wastewater Purification .....                                                                                         | ZHAO Lin-li, SHAO Xue-xin, WU Ming, <i>et al.</i> (4236)                |
| Substrate Flow by Different Biochemical Activities in the Urban Sewage Network .....                                                                                        | YAO Xiang-yi, SHI Xuan, SANG Lang-tao, <i>et al.</i> (4242)             |
| Reducing Membrane Fouling from Micro-Flocculation in a Humic Acid Ultrafiltration Process .....                                                                             | WANG Xu-dong, SHI Cai-xia, LIAO Zheng-wei, <i>et al.</i> (4249)         |
| Enhanced Degradation of Aniline by PS Oxidation in the Presence of UV and Ferric Oxalate .....                                                                              | HAN Dong-hui, LI Ying, LI Kai-ming, <i>et al.</i> (4257)                |
| Behavior and Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Coking Wastewater of A/O <sup>2</sup> and A/O/H/O Processes .....                                    | WU Hai-zhen, SUN Sheng-li, LIU Guo-xin, <i>et al.</i> (4265)            |
| Effects of Long-term Side Stream Extracton on Phosphorus Removal and Recovery Performance of EBPR System .....                                                              | YU Xiao-jun, LI Jie, ZHOU Meng, <i>et al.</i> (4274)                    |
| Effect of NaCl Salinity on Extracellular Polymeric Substances and Bioflocculation of Anoxic Sludge in A <sup>2</sup> /O Process .....                                       | ZHANG Lan-he, TIAN Rui, GUO Jing-bo, <i>et al.</i> (4281)               |
| Effect of Temperature and pH on Nitrogen Conversion in Feammox Process .....                                                                                                | CHEN Fang-min, JIN Run, YUAN Yan, <i>et al.</i> (4289)                  |
| Inhibitory Kinetics of Free Ammonia (FA) on Ammonia-oxidizing Bacteria (AOB) .....                                                                                          | SUN Hong-wei, YU Xue, GAO Yu-xue, <i>et al.</i> (4294)                  |
| Effect of HRT on Nitrogen Removal Using ANAMMOX and Heterotrophic Denitrification .....                                                                                     | AN Fang-jiao, ZHAO Zhi-chao, HUANG Li, <i>et al.</i> (4302)             |
| Reactivation Performance of Nitrosation Flocculent Sludge After Long-term Storage .....                                                                                     | LI Tian, WEI Fan-kai, WANG Yu-chang, <i>et al.</i> (4310)               |
| Analysis of Characteristics and Sources of Heavy Metals in Farmland Soils in the Xijiang River Draining of Guangxi .....                                                    | SONG Bo, ZHANG Yun-xia, PANG Rui, <i>et al.</i> (4317)                  |
| Soil Organic Carbon of Purple Soil as Affected by Different Application of Biochar .....                                                                                    | LUO Mei, TIAN Dong, GAO Ming, <i>et al.</i> (4327)                      |
| Effects of Straw and Biochar Addition on Soil Carbon Balance and Ecological Benefits in a Rape-maize Rotation Planting System .....                                         | LI Jiao, TIAN Dong, HUANG Rong, <i>et al.</i> (4338)                    |
| Potential to Ensure Safe Production from Rice Fields Polluted with Heavy Cadmium by Combining a Rice Variety with Low Cadmium Accumulation, Humic Acid, and Sepiolite ..... | ..... XIE Xiao-mei, FANG Zhi-ping, LIAO Min, <i>et al.</i> (4348)       |
| Interactive Effects of Ozone and Drought on Antioxidant Enzyme Activities of Poplar Leaves .....                                                                            | ZHOU Hui-min, LI Pin, GAO Feng, <i>et al.</i> (4359)                    |
| Effects of Different Levels of Irrigation with Reclaimed Water on Soil Enzyme Activity and Distribution of Thermotolerant Coliforms .....                                   | HAN Yang, LI Ping, QI Xue-bin, <i>et al.</i> (4366)                     |
| Characteristics of Heavy Metals in Chicken Manure Organic Fertilizers in the Huang-Huai-Hai Region and related Environmental Risk Assessment .....                          | ..... LI Fa, XU Ying-ming, WANG Lin, <i>et al.</i> (4375)               |
| Heavy Metal Content of Rural Living Solid Waste and Related Source and Distribution Analysis .....                                                                          | JIN Qi, GAO Hong, YUE Bo, <i>et al.</i> (4385)                          |