

E方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心
■ 出版 科学出版社



2020

Vol.41 No.1
第41卷 第1期

目次

近20年来中国PM_{2.5}污染演变的时空过程 时燕, 刘瑞梅, 罗毅, 杨昆 (1)

2007~2016年上海颗粒物浓度特征与气候背景异同分析 郑庆锋, 史军, 谈建国, 段玉森, 林燕芬, 徐卫忠 (14)

夏季大气PM_{2.5}中元素特征及源解析:以华中地区平顶山-随州-武汉为例 刘威杰, 石明明, 程敏, 黎荧, 朱戈昊, 邢新丽, 孔少飞, 张家泉, 祁士华 (23)

呼包鄂地区冬季、夏季PM_{2.5}污染特征 李伊明, 刘佳媛, 史国良, 皇甫延琦, 张昕, 杨奕, 冯银厂 (31)

2019年元旦前后石家庄市重污染过程PM_{2.5}污染特征及来源解析 周静博, 段菁春, 王建国, 杨鹏, 刘煥武, 李梅, 靳伟 (39)

基于模型模拟的成都市PM_{2.5}污染来源解析 许艳玲, 易爱华, 薛文博 (50)

北京市PM_{2.5}中砷污染特征 石绍萱, 杨艳蓉, 秦娟娟, 周雪明, 段菁春, 谭吉华, 陈荣志 (57)

夏秋季宁波市气态元素汞(GEM)污染特征及潜在源区贡献分析 易辉, 林佳梅, 蔡秋亮, 王克强, 陈进生, 佟磊, 李建荣, 肖航 (65)

安阳市大气PM_{2.5}中水溶性离子季节特征及来源解析 孙有昌, 姜楠, 王申博, 段时光, 张瑞芹 (75)

新乡市夏冬季节PM_{2.5}稳定碳同位素特征分析 闫广轩, 宋鑫, 张靖雯, 张朴真, 王力鹏, 张佳羽, 杨争, 曹治国, 樊静, 王跃思, 刘子锐 (82)

基于颗粒物化学组分粒径分布特征的源解析方法构建与评估 梁永莉, 田瑛泽, 刘童, 冯银厂 (90)

超低排放改造后燃煤电厂细颗粒物排放特征 王润芳, 马大卫, 姜少毅, 朱仁斌, 何军, 张本耀 (98)

京津冀地区城市臭氧污染趋势及原因探讨 余益军, 孟晓艳, 王振, 周崑, 于红霞 (106)

安阳市近地面臭氧污染特征及气象影响因素分析 杨健, 尹沙沙, 于世杰, 王丽娟, 张瑞芹, 郝建尤, 苏方成, 齐艳杰 (115)

长江三角洲2017年机动车IVOCs排放清单构建及其对SOA的生成影响 王倩, 黄凌, 王杨君, 殷司佳, 张琪, 易鑫, 李莉 (125)

华东典型城市非道路移动机械排气烟度 鲁君, 胡馨遥, 杨强, 唐伟, 夏阳, 井宝莉, 陈昫, 黄成 (133)

国内外储油库VOCs排放现状与标准分析 胡玮, 任碧琪, 黄玉虎, 秦建平, 卞吉玮, 吴清柱 (139)

四乙基愈创木酚液相·OH氧化SOA产率及特征分析:初始浓度的影响 庄雨, 陈彦彤, 李旭东, 马帅帅, 赵竹子, 叶招莲, 盖鑫磊 (146)

乌鞘岭南、北坡降水稳定同位素特征及水汽来源对比 徐秀婷, 贾文雄, 朱国锋, 马兴刚, 张昱, 袁瑞丰, 张志远, 石阳 (155)

长江源多年冻土区地下水氢氧稳定同位素特征及其影响因素 汪少勇, 何晓波, 丁永建, 常福宣, 吴锦奎, 胡召富, 王利辉, 杨贵森, 邓明珊 (166)

巴尔喀什湖流域水化学和同位素空间分布及环境特征 沈贝贝, 吴敬禄, 吉力力·阿不都外力, A. S. Saparov, Gulnura Isanova (173)

城市湖泊水环境整治对改善水质的影响:以蠡湖近30年水质变化为例 田伟, 杨周生, 邵克强, 潘辉, 胡洋, 白承荣, 姜星宇, 高光, 汤祥明 (183)

典型药物及个人护理品在黄东海海域水体中的检测、分布规律及其风险评估 陈贤, 张彩杰, 杨桂朋, 张婧, 刘梦 (194)

长江南京段水源水中有机磷酸酯的污染特征与风险评估 李栋, 张圣虎, 张芹, 王博, 卜元卿, 赵欣, 李辉, 宋宁慧, 郭瑞昕 (205)

雄安新区-白洋淀冬季冰封期水体溶解性有机物的空间分布、光谱特征及来源解析 周石磊, 孙悦, 张艺冉, 蒋永丰, 尹璐, 黄廷林, 李再兴, 罗晓, 战江, 王函 (213)

白洋淀表层沉积物元素的空间特征、风险评价及来源分析 汪敬忠, 刘卓, 魏浩, 吴玉会, 占水娥, 朱迟, 张益森 (224)

松花江表层沉积物PAEs分布特征及生态风险评估 王欢, 杨永哲, 王海燕, 董伟羊, 闫国凯, 常洋, 李泽文, 赵远哲, 凌宇 (232)

鄱阳湖湖口-长江段沉积物中微塑料与重金属污染物的赋存关系 李文华, 简敏菲, 刘淑丽, 江玉梅, 邓艳彬, 朱琳 (242)

臭氧对生物活性炭中微生物及出水消毒副产物的影响 刘宝明, 王夕希, 张晓夏, 顾艳芳, 李雨平, 阮文权, 缪恒峰, 潘杨 (253)

兰州市西固区儿童饮用水重金属暴露及健康风险精细化评估 陈月芳, 孙善伟, 段小丽, 许锦荣, 王娟, 康艺瑾, 梁为纲, 曹素珍 (262)

镁铁层状双金属氢氧化物对磷酸盐的吸附作用及对内源磷释放的控制效果及机制 吴俊麟, 林建伟, 詹艳慧, 程永前, 柏晓云, 辛慧敏, 常明玥 (273)

一硫代磷酸盐在介质上的吸附特征及机制 廖丹雪, 单慧娟, 彭三曦, 潘敖然, 黄健, 陈辉, 赵超然 (284)

酸碱复合改性海泡石亚结构特征及其对Cd(II)吸附性能 谢厦, 徐应明, 闫翠侠, 罗文文, 孙约兵 (293)

脱氮菌剂在低溶解氧黑臭水体中氮代谢特征 赵志瑞, 刘硕, 李铎, 李海萍, 李方红, 张佳瑶, 白志辉 (304)

宏基因组方法分析医药化工废水厂中抗生素耐药菌及抗性基因 陈红玲, 张兴桃, 王晴, 姚沛琳 (313)

淀粉废水处理系统中活性污泥的微生物群落结构及多样性分析 赵婷婷, 乔凯, 王蕾, 张伟, 竺建荣, 唐一, 胡滨, 王香莲, 杨静, 景在涛 (321)

基于SBR-ABR实现PN-SAD耦合工艺的运行与优化调控 陈重军, 张敏, 姜滢, 郭萌蕾, 谢嘉玮, 谢军祥, 沈耀良 (330)

基于间歇饥饿的SNAD工艺运行 李冬, 刘志诚, 徐贵达, 王玉颖, 张杰 (337)

反硝化-高效部分亚硝化-厌氧氨氧化工艺处理老龄垃圾渗滤液 陈小珍, 汪晓军, Karasuta Chayangkun, 周松伟, 钟中, 陈振国, 陈晓坤 (345)

硝化微颗粒污泥快速培养及其亚硝化功能快速实现 刘文如, 宋家俊, 王建芳, 沈耀良 (353)

高频曝停下曝时间对亚硝化颗粒污泥性能的影响 张杰, 劳会妹, 李冬, 魏子清 (360)

中国东北沈抚地区土壤中PBDEs的残留、来源及风险评估 向鑫鑫, 鲁垠涛, 阮起扬, 赖德, 孙绍斌, 姚宏, 张战胜 (368)

某焦化场地非均质包气带中多环芳烃(PAHs)来源及垂向分布特征 孟祥帅, 吴萌萌, 陈鸿汉, 岳希, 陶抒远 (377)

北京蔬菜地土壤中抗生素抗性基因与可移动元件的分布特征 张汝凤, 宋渊, 高浩泽, 程首涛, 孙艳梅, 王旭明 (385)

长期施肥和耕作下紫色土坡耕地土壤C、N、P和K化学计量特征 杜映妮, 李天阳, 何丙辉, 贺小容, 付适 (394)

亚热带稻田土壤碳氮磷生态化学计量学特征 宋佳龄, 盛浩, 周萍, 段良霞, 周清, 张杨珠 (403)

宛山荡农田土壤氮迁移过程反硝化与厌氧氨氧化 陈志浩, 覃云斌, 丁帮璟, 胡优优, 陈湜, 李正魁 (412)

秸秆炭化还田对滴灌棉田土壤微生物代谢功能及细菌群落组成的影响 王晶, 马丽娟, 刘泽华, 闵伟, 侯振安 (420)

基于PMF模型的九龙江流域农田土壤重金属来源解析 黄华斌, 林承奇, 胡恭任, 于瑞莲, 郝春莉, 陈枫桦 (430)

塔里木盆地东南缘绿洲区土壤砷空间分布及农作物砷富集特征 陈云飞, 周金龙, 曾妍妍, 王松涛, 杜江岩, 孙英, 顾思博 (438)

广西典型碳酸盐岩区农田土壤-作物系统重金属生物有效性及迁移富集特征 马宏宏, 彭敏, 刘飞, 郭飞, 唐世琪, 刘秀金, 周亚龙, 杨柯, 李括, 杨峥, 成杭新 (449)

不同钝化剂对微碱性土壤镉、镍形态及小麦吸收的影响 张静静, 朱爽阁, 朱利楠, 柳海涛, 杨金康, 化党领 (460)

不同钝化剂对鸡粪堆肥重金属钝化效果及其腐熟度指标的影响 栾润宇, 高珊, 徐应明, 纪文凝, 闫翠侠, 孙约兵 (469)

黄土丘陵退耕草地土壤呼吸及其组分对氮磷添加的响应 周俊杰, 陈志飞, 杨全, 赖帅彬, 王智, 徐炳成 (479)

炉渣与生物炭施加对福州平原水稻田温室气体排放的后续影响 蓝兴福, 王晓彤, 周雅心, 金强, 许旭萍, 王维奇 (489)

《环境科学》征订启事(89) 《环境科学》征稿简则(97) 信息(303, 329, 344)

北京蔬菜地土壤中抗生素抗性基因与可移动元件的分布特征

张汝凤^{1,2}, 宋渊¹, 高浩泽², 程首涛², 孙艳梅^{2*}, 王旭明²

(1. 中国农业大学生物学院, 北京 100193; 2. 北京市农林科学院北京农业生物技术研究中心, 北京 100097)

摘要: 为揭示北京地区蔬菜土壤中抗生素抗性基因与可移动元件的分布特征, 应用高通量荧光定量 PCR 方法 (HT-qPCR), 选取北京 3 个区 5 个蔬菜基地进行调查。在蔬菜基地土壤中共检测到 92 ~ 121 种抗生素抗性基因, 4 ~ 6 种可移动元件, 抗生素抗性基因及可移动元件按区分开。各蔬菜基地中共有且丰度较高的抗生素抗性基因型为: 多重耐药类 *oprD*、*acrA-04* 和 *acrA-05*, 大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类抗生素抗性基因 (MLSB) *mphA-01*, β -内酰胺酶类 *fox5*, 万古霉素类 *vanC-03*; 共有可移动元件为 *int11*。蔬菜基地土壤中共检测到 7 种抗生素, 含量较高的抗生素种类为恩诺沙星 (ENR)、诺氟沙星 (NOR)、土霉素 (OTC)、磺胺甲噁唑 (SMX)。顺义区 S1 与 S2 蔬菜基地土壤中抗生素的种类与丰度均最高, 依次是通州区 T 蔬菜基地、昌平区 C2 与 C1 蔬菜基地。相关性分析表明, 蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因丰度与抗生素丰度存在显著正相关 ($P < 0.05$)。研究结果可为后续控制抗生素抗性基因的传播提供基础理论数据。

关键词: 蔬菜土壤; 抗生素; 抗生素抗性基因 (ARGs); 可移动元件 (MGEs); 高通量定量 PCR

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2020)01-0385-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.201907086

Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes and Mobile Genetic Elements in Beijing Vegetable Base Soils

ZHANG Ru-feng^{1,2}, SONG Yuan¹, GAO Hao-ze², CHENG Shou-tao², SUN Yan-mei^{2*}, WANG Xu-ming²

(1. College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Beijing Agricultural Biotechnology Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: The distribution characteristics of antibiotic resistance genes (ARGs) and mobile genetic elements (MGEs) in five vegetable base soils from Beijing, China, were assessed. The composition of ARGs and MGEs in soil samples were analyzed by HT-qPCR. We detected 92-121 ARGs and 4-6 MGEs. The ARGs and MGEs in vegetable base soils from different districts were separated from each other. The dominant ARGs shared by vegetable bases were *oprD*, *acrA-04*, and *acrA-05* of a multidrug, *mphA-01* of MLSB, and β -Lactamase *fox5*, *vanC-03* of vancomycin. The shared MGE among the five vegetable base soils was *int11*. A total of seven antibiotics were detected in the soil of several vegetable bases. The dominant antibiotics included enoxacin (ENR), norfloxacin (NOR), oxytetracycline (OTC), and sulfamethoxazole (SMX). The numbers and abundance of antibiotics in the soil of vegetable bases from the Shunyi district were the highest, followed by those from Tongzhou and Changping. Correlation analysis showed that there was a significant positive correlation between the abundance of ARGs and the abundance of antibiotics in the soil of vegetable bases ($P < 0.05$). These results provide basic theoretical data for controlling the transmission of ARGs.

Key words: vegetable soil; antibiotics; antibiotic resistance genes (ARGs); mobile genetic elements (MGEs); high-throughput quantitative PCR

抗生素作为 20 世纪最重要的发现之一, 在保障人类及动物健康以及促进畜禽养殖业发展方面起着不可替代的作用^[1]。1950 年美国食品与药品监督管理局 (FDA) 首次批准抗生素可作为饲料添加剂, 抗生素因此被全面推广应用于动物养殖业^[2]。然而近年研究发现, 摄入动物体内的抗生素大约有 30% ~ 90% 以原药和代谢产物的形式通过粪尿排出体外进入环境中^[3], 导致土壤和水环境中大量抗生素的残留, 从而引起耐药菌的富集。抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 通常位于质粒、转座子、整合子等可移动遗传元件 (mobile genetic elements, MGEs) 上, 可通过基因水平转移在菌群间迁移, 引起抗生素耐药菌的扩散; 甚至可能转移到人

类共生微生物和病原体中^[4]。2006 年, Pruden 等^[5]首次提出 ARGs 是一种新型的环境污染物, 有关 ARGs 在环境中传播和污染等的报道日益增多^[6]。

土壤被认为是抗生素残留的最重要的受体之一, 抗生素和 ARGs 主要是通过粪肥与污泥的施用^[7]以及废水或再生水灌溉^[8]等方式释放到土壤中。中国是畜禽养殖大国, 全国各种规模畜禽粪便鲜

收稿日期: 2019-07-09; 修订日期: 2019-08-19

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31800098); 北京市农林科学院青年基金项目 (QNJJ201829); 北京市农林科学院科技创新能力建设专项 (KJXC20170302); 北京市自然科学基金项目 (5192005); 家禽产业技术体系北京市创新团队专项 (BAIC04-2019)

作者简介: 张汝凤 (1995 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: 1727602623@qq.com

* 通信作者, E-mail: sunyanmei2001@126.com

重产量为 22.28 亿 t^[9]. 畜禽粪便作为有机肥料广泛应用于农业生产中,尤其是蔬菜种植业,然而畜禽粪便中普遍富含抗生素,不可避免地会造成土壤中抗生素的残留污染^[10~16]. 土壤中残留的抗生素可能被蔬菜等作物吸收积累,抗性菌与抗性基因亦可能通过食用生食蔬菜过程进入人体,引起人类的健康风险. 因此,研究蔬菜基地土壤中抗生素含量、抗性基因的丰度及其水平转移能力是十分有必要的.

目前关于蔬菜基地土壤中的抗生素的研究较多,主要集中在蔬菜基地土壤中抗生素的检出率、种类、丰度以及不同蔬菜与土壤类型中抗生素的组成差异. 综合分析蔬菜基地土壤中检测率较高的抗生素为四环素、土霉素、金霉素与强力霉素^[17]. 我国北方地区蔬菜基地土壤中残留的抗生素浓度在 0.1~2 683 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,其中土霉素含量较高^[18]. 不同蔬菜土壤中抗生素的种类和含量有较大差异,蔬菜基地土壤抗生素残留水平普遍高于陆地土壤,部分蔬菜基地土壤中的抗生素残留如四环素、诺氟沙星和氧氟沙星的含量超过了欧盟规定的生态安全触发线(100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)^[12].

目前对于土壤中抗生素抗性基因的分布特征亦有较多报道,主要针对的是畜禽养殖场及周边土壤中抗生素抗性基因的研究, Ji 等^[19] 在上海地区养猪场、养鸡场和养牛场畜禽粪便及周围土壤中均检测到八类抗性基因,丰度较高的抗生素抗性基因是 *sulA* 和 *sulII*. Wu 等^[20] 分析北京、天津及浙江嘉兴三地的猪饲养场周边土壤发现了 15 种四环素类抗性基因,其中丰度较高的抗生素抗性基因型为 *tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetW* 和 *tetT*; 在我国南方地区,邹世春

等^[21] 在珠海某养殖场周边土壤检测到多种四环素类抗性基因,其中含量较高的抗性基因亚型是 *tetG*、*tetC* 和 *tetO*. 研究者应用定量 PCR 对哈尔滨粪肥施用土壤中的四环素类和大环内酯类抗生素抗性基因进行检测,发现 *tetM*、*tetW*、*emrB* 和 *emrF* 的丰度较高^[22]. 新近研究发现,与不施肥相比,长期施用粪肥的蔬菜基地土壤中有十五类抗生素抗性基因亚型得到富集,如 *sulI*、*sul2*、*tetX*、*tetL*、*vanR*、*tcmA*、*rosB* 和 *mexF* 等^[23]. 综上所述研究表明养殖场周边或施用粪肥土壤中抗生素抗性基因的多样性增加、丰度升高,但是关于不同的蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因与可移动元件的分布特征缺乏系统地横向比较研究,哪些抗生素、抗生素抗性基因及可移动元件在蔬菜基地土壤中的丰度较高? 不同蔬菜基地土壤中是否存在一些共性特征? 仍然未知.

因此,本文应用高通量荧光定量 PCR 方法(同时检测 285 种 ARGs、10 种 MGEs 及 16S rRNA),对北京顺义、昌平和通州这 3 个区,5 个蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因与可移动元件进行全面系统研究. 以掌握北京主要蔬菜基地土壤中 ARGs 与 MGEs 的分布特征,以期控制 ARGs 的传播提供基础数据.

1 材料与方法

1.1 样品采集

选取北京顺义、昌平和通州区的 5 个典型蔬菜种植基地作为采样点,每个采样点采集 3 份重复样品,共 15 份土壤样品. 土壤过 2 mm 筛,保存于 -80°C 冰箱中,用于后续抗生素含量测定和 DNA 提取.

样本的基本信息如表 1 所示.

表 1 样本的基本信息

Table 1 Basic information of the samples

采样点	样品编号	经纬度	种植蔬菜种类	土壤含水率/%
昌平	C1	N40°12', E116°21'	西红柿	7.74
昌平	C2	N40°11', E116°15'	西红柿	7.56
通州	T	N39°42', E116°42'	尖椒	17.87
顺义	S1	N40°07', E116°38'	白菜	12.38
顺义	S2	N40°17', E116°41'	生菜	15.21

1.2 抗生素的检测方法

依据本实验室已建立的固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 的方法^[24],同时对蔬菜基地土壤中的四环素类[金霉素(CTC)、四环素(TC)、土霉素(OTC)、强力霉素(DOX)]、磺胺类[磺胺二甲氧嘧啶(SDM)、磺胺喹噁啉(SQ)、磺胺氯哒嗪(SCP)、磺胺甲噁唑(SMX)、磺胺二甲嘧啶(SM2)]、氟喹诺酮类[诺氟沙星(NOR)、恩诺沙

星(ENR)、环丙沙星(CIP)]和大环内酯类[红霉素(ERY)、罗红霉素(ROX)、泰乐菌素(TS)]15 种抗生素进行检测. 以 50% 乙腈(体积分数)的磷酸盐缓冲溶液(pH=4)提取 3 次,经过超声、离心、旋蒸和稀释后, SAX-HLB 串联小柱净化富集,用 10 mL 甲醇洗脱, 35°C 氮吹近干后,用含 0.1% 甲酸-甲醇(1:1, 体积比)定容,在 UPLC-MS/MS 反应检测模式下进行定量分析,其中四环素类、磺胺类、氟喹诺酮

类和大环内酯类抗生素的平均加标回收率为 56.4%~94.6%, 相对标准偏差 (RSD) 在 2.6%~19.8% 之间, 方法检出限 (LOD, $S/N = 3$) 和定量限 (LOQ, $S/N = 10$) 分别为 0.01~2.50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 0.05~7.90 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [24].

1.3 DNA 提取

样品的基因组提取使用 MoBio PowerSoil DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA, USA), 按照说明书要求进行提取. DNA 提取完毕后, 用微量核酸蛋白质分析仪 (Nanodrop) 检测含量以及纯度, A_{260}/A_{280} 在 1.8~2.0 之间, 表明 DNA 纯度可进行后续分析.

1.4 抗生素抗性基因与可移动元件的 HT-qPCR 定量检测

为了测量样品中抗生素抗性基因的丰富度和多样性, 采用 Wafergen 智能芯片实时 PCR 系统进行抗生素抗性基因的高通量定量 PCR 分析. PCR 设置过程中设置了 296 对引物, 包括 284 种靶向抗生素抗性基因、8 个转座酶、1 个 16S rRNA 基因、1 个 *bla*NDM-1 基因, 2 个 *I* 类整合子基因 (*intI1* 和 *cinT*). 这 284 个抗生素抗性基因的引物几乎覆盖了所有已知的抗生素抗性基因亚型. HT-qPCR 的 384 板每个孔样品预混液体系包括: 12.8 μL 样品预混液 [SYBR Green I Mix (2X) 8 μL , 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 牛血清蛋白 0.8 μL , 无菌水 4 μL] 与 3.2 μL 稀释好的 DNA (20~40 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$); 384 板每个孔引物预混液体系包括: 9.6 μL 引物预混液 [SYBR Green I Mix (2X) 6 μL , 无菌水 3.6 μL] 与 2.4 μL 引物. 将引物预混液与样品预混液喷于同一芯片上, 进行后续扩增分析. 热循环过程是: 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min, 然后在 95 $^{\circ}\text{C}$ 下 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 下 30 s, 进行 40 次循环. ARGs 和 MGE 的相对拷贝数可通过公式计算得出 (1), 然后将 16S rRNA 进行绝对定量, 计算其绝对拷贝数, 依据 16S rRNA 的绝对拷贝数计算抗生素抗性基因和 MGE 的绝对拷贝数 [25].

$$\text{基因的相对拷贝数} = 10^{[(31-CT)/(10/3)]}$$

式中, CT 值为检测基因的荧光信号达到设定的并阈值时所需的循环数.

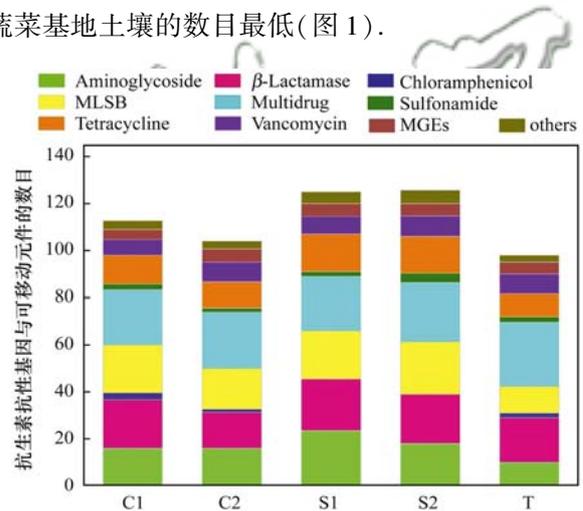
1.5 数据分析

采用 R 语言 PCoA 软件包绘制主坐标分析 (PCoA) 图, 分析不同处理中总的抗生素抗性基因的组成特征. 利用 R 语言 pheatmap 软件包绘制热图, 对比分析不同处理中抗生素抗性基因丰度差异. 采用 R 语言 TukeyHSD 方法对不同处理中抗生素抗性基因丰度是否存在差异进行统计分析. 应用 Origin 绘图软件进行柱形图与气泡图的绘制.

2 结果与讨论

2.1 抗生素抗性基因组成与多样性分析

蔬菜基地土壤中检测到 92~121 种抗生素抗性基因亚型, 分别隶属于氨基糖苷类抗生素抗性基因 (Aminoglycoside)、 β -内酰胺酶抗生素抗性基因 (β -Lactamase)、氯霉素抗生素抗性基因 (Chloramphenicol)、大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类抗生素抗性基因 (MLSb)、多重耐药抗生素抗性基因 (Multidrug)、磺胺类抗生素抗性基因 (Sulfonamide)、四环素抗生素抗性基因 (Tetracycline) 和万古霉素抗生素抗性基因 (Vancomycin) 等; 检测到 4~6 种可移动元件. 顺义 S2 基地土壤的 ARGs 和 MGEs 的数目最高, 通州 T 蔬菜基地土壤的数目最低 (图 1).



C1、C2 分别表示昌平的 2 个蔬菜基地; S1、S2 表示顺义的 2 个蔬菜基地; T 表示通州蔬菜基地, 下同

图 1 不同蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因与可移动元件的数目分析

Fig. 1 Number analysis of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in soil of different vegetable base soils

为研究不同蔬菜基地中抗生素抗性基因组成的特点, 通过 PCoA 分析对抗性基因数据进行分析 (图 2), 不同地区的抗生素抗性基因存在差异, 昌平两个蔬菜基地 (C1 和 C2) 土壤中的抗生素抗性基因聚集在一起、顺义区两个蔬菜基地 (S1 和 S2) 土壤中的抗生素抗性基因聚集在一起, 与通州区基地 (T) 土壤中的抗生素抗性基因分开. 表明同一区域内的抗生素抗性基因组成相似, 不同区内的抗生素抗性基因差异较大. 前人研究发现大田土壤和蔬菜基地土壤中的抗生素抗性基因种类存在一定差异, 但均检测到较高含量的磺胺类、四环素类、喹诺酮类抗生素抗性基因以及可移动元件 *intI1* [26], 然而在本研究中没有检测到高丰度的喹诺酮类抗生素抗性基因. 而 Chen 等 [27] 也用 HT-qPCR 的方法对土壤进行

了抗生素抗性基因的检测,检测结果和本研究的结果类似.多重耐药类抗生素抗性基因都是检测含量最高的,大约占到 20%,其次是大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类抗生素抗性基因、万古霉素、氨基糖苷类和四环素类抗性基因.由此说明,不同地区土壤中抗生素抗性基因、整合子的种类与丰度存在差异,推测不同地区抗生素抗性基因存在差异的原因可能与土壤类型、施肥方式、重金属含量、抗生素含量等相关.

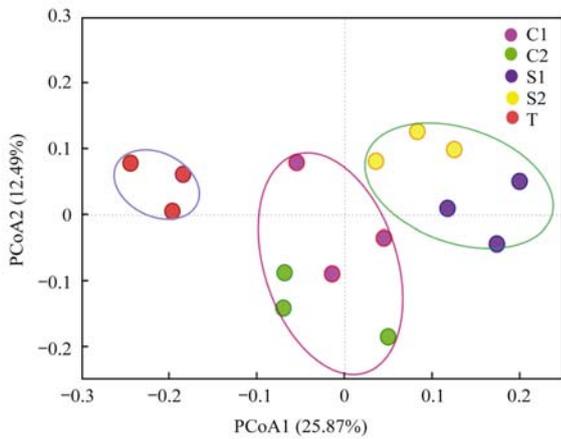


图 2 不同蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因与可移动元件组成的差异

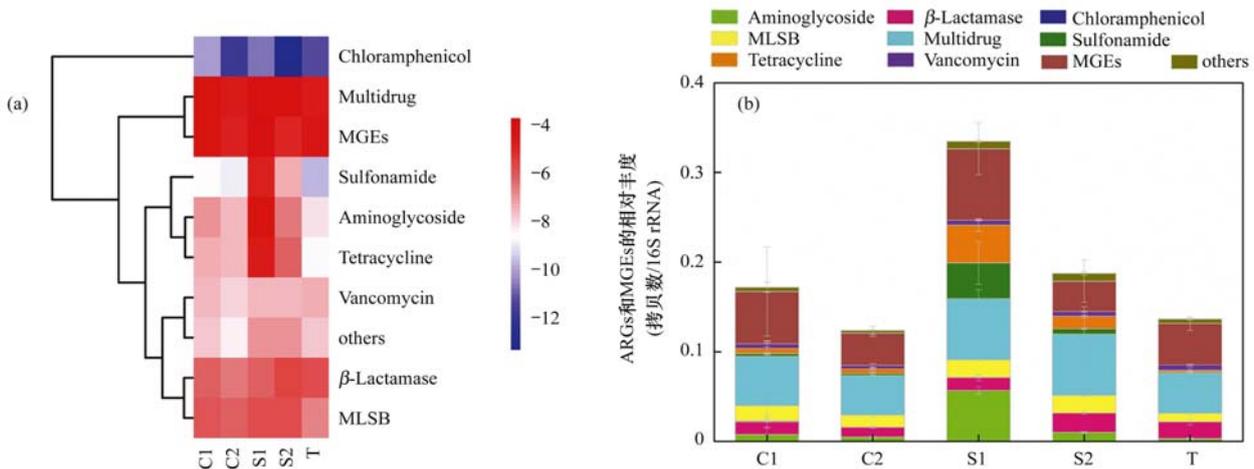
Fig. 2 Differences of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in soil of different vegetable base soils

2.2 抗生素抗性基因类型、抗性机制及其与可移动元件相关性分析

不同地区蔬菜基地土壤的抗生素抗性基因组成存在明显差异,不同地区的主要抗生素抗性基因型、抗性机制存在哪些共性或差异,其是否与可移动元件存在相关性?为阐明此问题,应用 Heatmap 及 Mantel test 对抗性基因及其与可移动元件的相关性进行比较分析.结果显示 5 个蔬菜基地中均丰度较

高的抗生素抗性基因型为多重耐药、大环内酯类-林可霉素类-链阳霉素和 β -内酰胺类抗性基因型[图 3(a)].不同区丰度较高的抗性基因型亦存在一定差异,顺义区(S1)的磺胺类、氨基糖苷类、四环素类抗性基因的相对丰度显著高于昌平区(C1 和 C2)与通州区(T)($P < 0.05$).通州区(T)土壤万古霉素抗性基因的相对丰度较高,C1、S1 与 T 区 MGEs 的相对丰度较高,但与其它区相比差异未达到显著水平($P > 0.05$).抗生素抗性基因与可移动元件丰度分析结果也表明丰度较高的抗性基因与热图结果一致.总抗生素抗性基因丰度比较为 $S1 > S2 > C1 > T > C2$,其中顺义 S1 基地土壤中总抗生素抗性基因丰度显著高于其它基地($P < 0.05$);总的可移动元件丰度为 $S1 > C1 > T > S2 > C2$ [图 3(b)].可见,顺义 S1 基地土壤中抗性基因与可移动元件的丰度均较高.

之前对河南菜田土壤中的 ARGs 及 MGEs 进行检测研究,结果表明丰度较高的抗生素抗性基因和可移动元件分别为四环素类抗生素抗性基因,磺胺类抗生素抗性基因, β -内酰胺酶抗生素抗性基因和 *intI1*、*intI2* 和 *ISCR2* 这 3 种可移动元件^[28].四环素是当前世界上使用最广泛的抗生素之一^[20],因此在环境中特别是农田土壤环境中,四环素类抗生素抗性基因丰度较高.与四环素类抗生素一样,磺胺类抗生素抗性基因的检出率也非常高,二者均被证实广泛存在于土壤和污水处理厂等环境中^[29,30].本研究中北京地区 5 个蔬菜基地中四环素类和磺胺类抗生素抗性基因并不是丰度较高抗生素抗性基因;而 β -内酰胺类抗性基因和可移动元件 *intI1* 的丰度较高,与前人的研究结果一致.由此表明 ARGs 和可移动元件的分布可能是多种环境因素共同选择的结果.



(a) 抗生素抗性基因热图; (b) 相对丰度

图 3 不同蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因型比较分析

Fig. 3 Comparative analysis of antibiotic resistance genotypes in different vegetable base soils

深入比较分析不同蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因的机制,结果显示细胞外排泵与抗生素失活均为5个基地土壤中主要的抗性机制(图4)。但不同区抗性机制的相对丰度存在差异,与其它地区相比,顺义S1蔬菜基地土壤抗生素失活和细胞保护的相对丰度较高,而细胞外排泵抗性机制的相对丰度较低。通州区T蔬菜基地则细胞外排泵抗性机制占比较大,抗生素失活和细胞保护占比较小。不同区抗生素抗性机制的差异亦反映了不同蔬菜基地土壤中抗生素抗性微生物与抗性基因的差异。

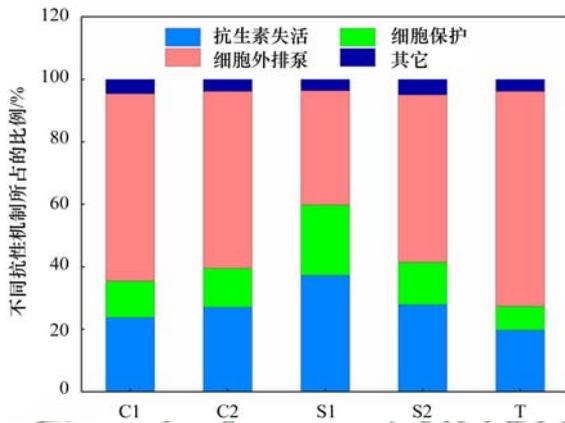


图4 抗生素抗性机制分析

Fig. 4 Mechanism analysis of antibiotic resistance

为评估蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因水平转移风险,研究不同类型抗生素抗性基因与可移动元件的相关性(表2)。发现氨基糖苷类与磺胺类抗生素抗性基因与MGEs呈显著正相关($P < 0.05$)。表明这两类抗性基因存在水平转移的风险。

表2 抗生素抗性基因与MGEs的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between antibiotic resistance genes and MGEs

抗生素抗性基因	可移动元件丰度 (r 值)	P 值 ¹⁾
氨基糖苷类	0.57	0.03*
万古霉素类	0.39	0.15
四环素类	0.29	0.29
磺胺类	0.55	0.03*
多重耐药类	0.36	0.19
MLSB类	0.24	0.38
氯霉素类	0.16	0.58
β -内酰胺酶类	0.06	0.82
其它	0.47	0.2
总抗生素抗性基因	0.61	0.02*

1) * 表示差异显著($P < 0.05$)

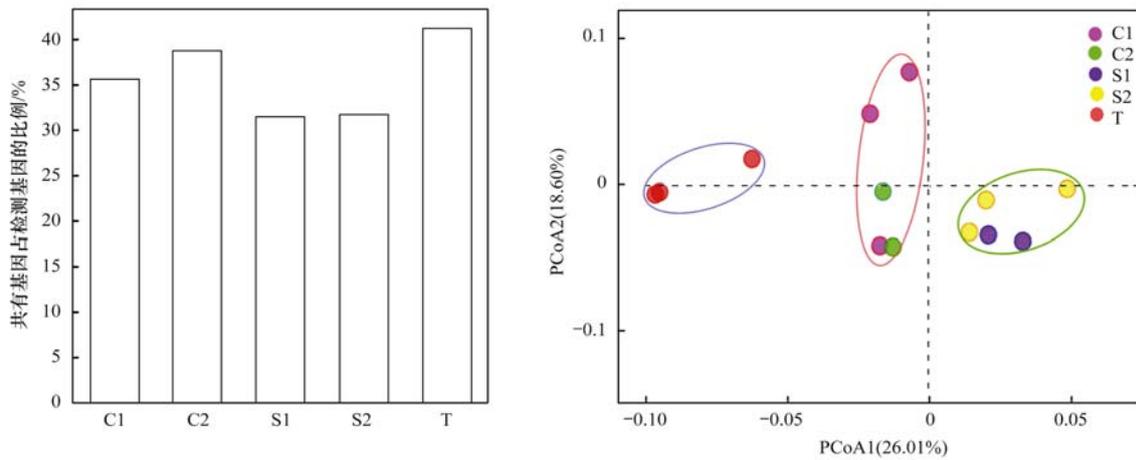
关于可移动元件与抗生素抗性基因之间的关系,之前Ma等^[31]应用高通量测序技术和宏基因组学分析证明了不同生态系统中可移动元件与ARGs丰度之间都表现了较高的联系,但是在不同的生态系统中也是存在较大差异的,其中在污水处理厂之

间的相关系数较低,而在河水,养殖场附近土壤中的相关系数较高。其它研究结果也表明,河口环境可移动元件与ARGs丰度之间也表现了很高的相关性,其中多重耐药类、氨基糖苷类、 β -内酰胺酶类抗性基因丰度与可移动元件丰度相关系数较高^[32]。以上研究均说明,可移动元件与抗生素抗性基因之间普遍存在着较高的相关性,表明环境中抗生素抗性基因存在水平转移风险。

2.3 共有抗性基因与可移动元件组成分析

蔬菜基地土壤中均存在丰富的抗生素抗性基因与可移动元件,其数目及组成在不同蔬菜基地土壤中存在一定差异,那么不同蔬菜基地中是否存在一些共有的抗生素抗性基因亚型及可移动元件?为此本研究对不同蔬菜基地土壤中共有的抗性基因亚型的数目、组成及相对丰度进行分析。各蔬菜基地中共有抗性基因数目为39,共有可移动元件为*intI1*,占各基地中总的抗性基因与可移动元件数目的31.4%~41.2%。共有的抗生素抗性基因在通州区T蔬菜基地土壤中的比例最高,占T检测到总抗性基因数目的41.2%。共有抗生素抗性基因在顺义区S1与S2基地土壤中的比例较低,约占检测到总抗性基因数目30% [图5(a)]。进一步对共有的抗生素抗性基因进行PCoA分析,结果发现,共有抗性基因与总的抗性基因的分布一致,共有抗性基因与可移动元件的组成亦是按区分开[图5(b)]。不同区共有抗生素抗性基因亚型的数目一致,但组成分布不同,表明共有抗生素抗性基因亚型的丰度存在差异。

进一步对蔬菜基地中共有抗性基因亚型的丰度进行分析(图6),各基地土壤中主要的抗生素抗性基因亚型为多重耐药类抗生素抗性基因*oprD*、*acrA-04*和*acrA-05*,MLSB类抗生素抗性基因*mphA-01*、 β -内酰胺酶类抗生素抗性基因*fox5*,万古霉素类抗性基因*vanC-03*。S1中多重耐药抗生素抗性基因*qacEdelta1-01*、 β -内酰胺酶类的*ampC-04*,氨基糖苷类*aadE*、*aadA-1-02*和*aacC*抗性基因型的丰度高于其它蔬菜基地土壤。已有研究对上海养猪场附近的农田土壤进行抗生素抗性基因的分析,得到丰度较高的抗生素抗性基因为磺胺类*sulA*和*sulI*及四环素*tetM*和*tetW*^[33],对磺胺甲恶唑污染过的土壤进行抗生素抗性基因分析,丰度较高的抗生素抗性基因为磺胺抗性基因*sulI*和*sulII*;喹诺酮抗性基因*qnrS1*、*qnrS2*、*gyrA1*、*cmlA1*和*floR*;红霉素抗性基因*ermB*;四环素抗性基因*tetA/P*、*tetM1*、*tetG1*、*tetG2*、*tet(34)*和*tetM*等^[34]。可见蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因与大田土壤中主要的抗生素抗性基因不同,



(a) 共有抗生素抗性基因数目占各区中总抗性基因数目的比例; (b) 蔬菜基地中共有抗生素抗性基因的组成差异分析

图 5 共有抗生素抗性基因比例及其组成差异

Fig. 5 Proportional and compositional differences of antibiotic resistance genes

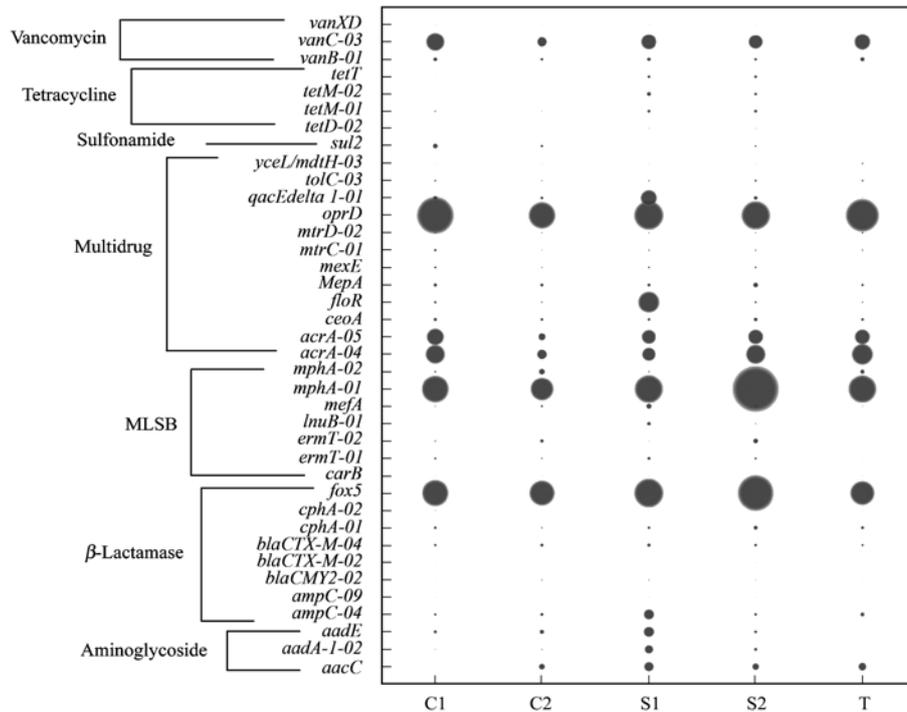


图 6 蔬菜基地土壤中共有抗性基因亚型分析

Fig. 6 Analysis of resistance gene subtypes in vegetable base soils

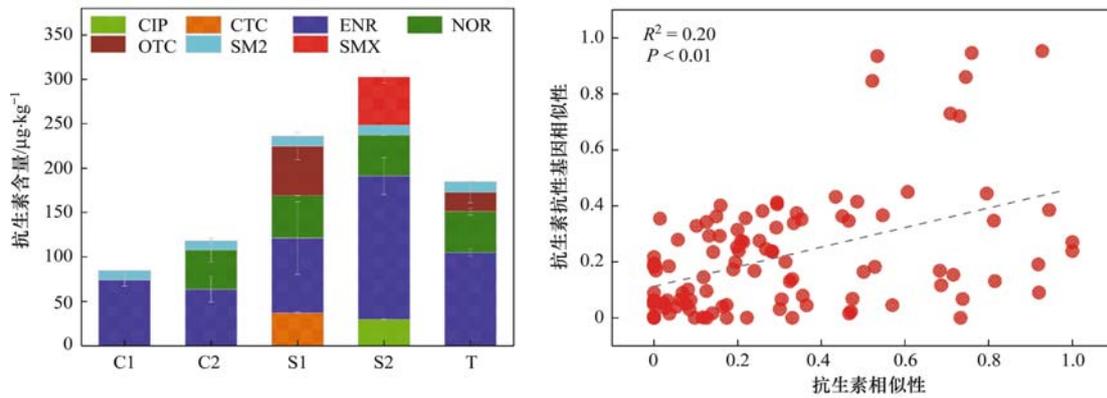
施用不同类型的粪肥或土壤受到抗生素污染的种类不同均会引起土壤中抗生素抗性基因组成的差异,亦说明土壤中的抗生素抗性菌易受到人为活动影响。

2.4 抗生素与总抗性基因的相关性

不同蔬菜基地中抗生素抗性基因亚型及丰度存在差异,蔬菜基地土壤中的抗生素种类是否存在差异,其是否与抗性基因的分布存在相关性?为此,本研究对蔬菜基地中的土壤进行了 15 种常用的抗生素检测,共检测到 7 种抗生素,其中恩诺沙星(ENR)抗生素丰度最高,顺义 S2 蔬菜基地恩诺沙星含量大约为 $154.41 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,其次是诺氟沙星

(NOR)为 $38.68 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。顺义 S2 蔬菜基地中磺胺二甲嘧啶(SM2)抗生素要高于其它 4 个区,抗生素的浓度随地区的变化而有所差异。各基地中共有的抗生素为恩诺沙星(ENR)与磺胺二甲嘧啶(SM2);顺义区 S1 与 S2 基地检测到的抗生素种类较多,如金霉素(CTC)、环丙沙星(CIP)和土霉素(OTC)等也有检出。5 个蔬菜基地中抗生素的丰度依次是 $S2 > S1 > T > C2 > C1$ 。相关性分析结果表明蔬菜基地土壤中抗生素的丰度与抗性基因的丰度存在显著的相关性 [$P < 0.01$, 图 7(b)]。

Li 等^[35]对北京温室蔬菜土壤中抗生素进行检测,发现温室土壤中的抗生素浓度高于大田土壤,且



(a) 土壤中抗生素分析; (b) 抗性基因与抗生素的相关性分析; 相似性是指不同处理中抗生素或抗生素抗性基因组成的相似性, 包括抗生素和抗生素抗性基因的种类和丰度的比较

图7 蔬菜基地土壤抗性基因与抗生素的相关性分析

Fig. Correlation analysis of soil resistance genes and antibiotics in vegetable base soils

四环素($102 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) > 喹诺酮类($86 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) > 磺胺类($1.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) > 大环内酯类($0.62 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 土霉素、氯霉素、诺氟沙星、环丙沙星和恩诺沙星对土壤微生物具有较高的风险. 环境中的抗生素残留物会影响陆生生物, 改变土壤中的微生物活动和群落组成, 并促进抗生素抗性基因的发展, 对人类和动物健康均构成威胁. 土壤中抗生素主要来源于粪肥、污泥或养殖废水的灌溉, 土壤中抗生素累积及削减受多种因素影响, 例如施肥量和施用方法, 栽培密度, 土壤性质或温室栽培年龄^[18,36,37]. 而对于抗生素与抗性基因之间关系的研究, 不同的研究者得到的结论也不尽相同, Smith 等^[38]发现养殖场污水中四环素 ARGs 与抗生素之间的相关性不明显; Ji 等^[19]对猪场粪污及周边土壤的研究也得到了相似的结果. 而 Tang 等^[39]和 McKinney 等^[40]发现农田土壤和养殖场粪污中四环素和磺胺 ARGs 与抗生素含量显著正相关. 以上不一致的研究结果暗示 ARGs 不仅仅与抗生素相关, 还可能受其他因素影响, 比如重金属、pH 值及有机质含量等^[40].

3 结论

(1) 蔬菜基地土壤中检测到 92 ~ 121 种抗生素抗性基因亚型, 4 ~ 6 种可移动元件. 各蔬菜基地中共有抗性基因数目为 39, 共有可移动元件为 *int11*. 总的抗生素抗性基因与可移动元件组成按地区分开, 共有抗性基因与可移动元件的组成亦是按地区分开.

(2) 蔬菜基地中丰度较高的抗生素抗性基因型为多重耐药类 *oprD*、*acrA-04* 和 *acrA-05*, MLSB 类 *mphA-01*, β -内酰胺酶类 *fox5*, 万古霉素类 *vanC-03*.

(3) 检测到蔬菜基地土壤中抗生素抗性基因的抗性机制主要为抗生素失活与细胞外排泵.

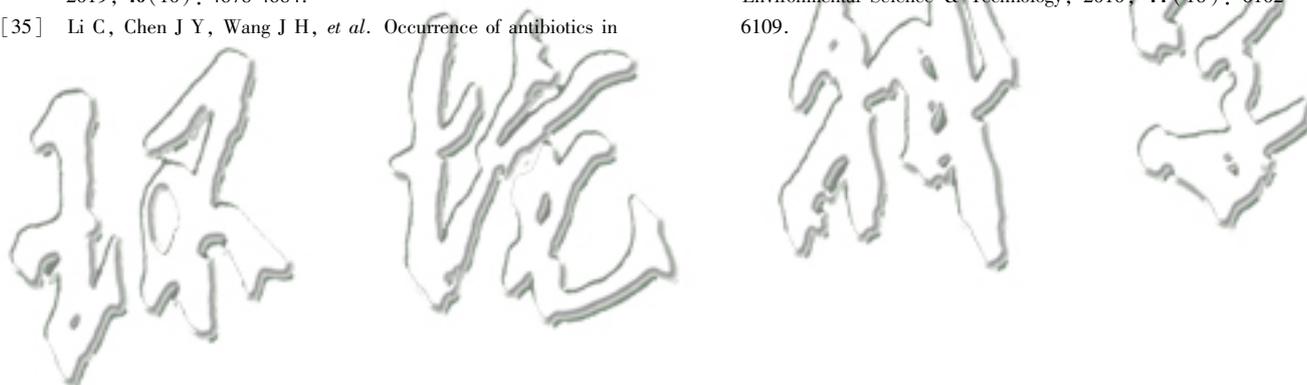
(4) 可移动元件与氨基糖苷类、万古霉素、多重耐药及 MLSB 类抗性基因均呈显著正相关性. 土壤中抗生素的丰度与抗性基因的丰度存在显著的正相关性.

参考文献:

- [1] Moore P R, Evenson A, Luckey T D, *et al.* Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1946, **165**(2): 437-441.
- [2] 马越, 李景云, 金少鸿. 美国食品药品监督管理局修订有关人用抗生素类药品说明书的新规定[J]. *中国药事*, 2003, **17**(10): 643-645.
- [3] Fang H, Han Y L, Yin Y M, *et al.* Variations in dissipation rate, microbial function and antibiotic resistance due to repeated introductions of manure containing sulfadiazine and chlortetracycline to soil[J]. *Chemosphere*, 2014, **96**: 51-56.
- [4] Forsberg K J, Reyes A, Wang B, *et al.* The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens [J]. *Science*, 2012, **337**(6098): 1107-1111.
- [5] 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.
- [6] 苏建强, 黄福义, 朱永官, 等. 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, *et al.* Antibiotic resistance genes in the environment [J]. *Biodiversity Science*, 2013, **21**(4): 481-487.
- [7] 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.
- [8] Chen C Q, Li J, Chen P P, *et al.* Occurrence of antibiotics and antibiotic resistances in soils from wastewater irrigation areas in Beijing and Tianjin, China [J]. *Environmental Pollution*, 2014, **193**: 94-101.
- [9] 谢光辉, 包维卿, 刘继军, 等. 中国畜禽粪便资源研究现状述评[J]. *中国农业大学学报*, 2018, **23**(4): 75-87.
Xie G H, Bao W Q, Liu J J, *et al.* An overview of researches on livestock and poultry excreta resource in China [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2018, **23**(4): 75-87.

- [10] 史奕, 赵牧秋, 王俊, 等. 设施菜地土壤-植物系统中有机肥源抗生素的影响研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2010, **29**(S1): 240-244.
Shi Y, Zhao M Q, Wang J, *et al.* Effect of antibiotics from organic manure on protected vegetable soil-plant system; a review [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, **29**(S1): 240-244.
- [11] 张慧敏, 章明奎, 顾国平. 浙北地区畜禽粪便和农田土壤中四环素类抗生素残留[J]. 生态与农村环境学报, 2008, **24**(3): 69-73.
Zhang H M, Zhang M K, Gu G P. Residues of tetracyclines in livestock and poultry manures and agricultural soils from North Zhejiang Province [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2008, **24**(3): 69-73.
- [12] 张志强, 李春花, 黄绍文, 等. 土壤及畜禽粪便中四环素类抗生素固相萃取—高效液相色谱法的优化与初步应用[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, **19**(3): 713-726.
Zhang Z Q, Li C H, Huang S W, *et al.* Optimization of residual tetracycline analysis in soils and manure using SPE-HPLC and pilot survey in Tianjin [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2013, **19**(3): 713-726.
- [13] 李云辉, 吴小莲, 莫测辉, 等. 畜禽粪便中喹诺酮类抗生素的高效液相色谱-荧光分析方法[J]. 江西农业学报, 2011, **23**(8): 147-150.
Li Y H, Wu X L, Mo C H, *et al.* High performance liquid chromatogram-fluorimetric analytical method for detection of quinolone antibiotics in livestock's manure [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2011, **23**(8): 147-150.
- [14] 王德全, 何思远, 宋伟明, 等. 加速溶剂萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定畜禽粪便堆肥过程中磺胺及其代谢产物的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2017, **53**(5): 532-537.
Wang D Q, He S Y, Song W M, *et al.* ASE-UHPLC-MS/MS determination of residual amounts of sulfonamides and their metabolites in livestock manure during its composting course [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2017, **53**(5): 532-537.
- [15] 贾伟, 李宇虹, 陈清, 等. 京郊畜禽粪肥资源现状及其替代化肥潜力分析[J]. 农业工程学报, 2014, **30**(8): 156-167.
Jia W, Li Y H, Chen Q, *et al.* Analysis of nutrient resources in livestock manure excretion and its potential of fertilizers substitution in Beijing suburbs [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2014, **30**(8): 156-167.
- [16] 王虹, 蒋卫杰, 余宏军, 等. 禽畜废弃物中的抗生素及其在蔬菜等农作物的富集[J]. 中国蔬菜, 2011, **1**(12): 10-15.
Wang H, Jiang W J, Yu H J, *et al.* Antibiotics in livestock wastes and its enrichment in vegetable crops [J]. China Vegetables, 2011, **1**(12): 10-15.
- [17] 邵义萍, 莫测辉, 李彦文, 等. 长期施用粪肥菜地土壤中四环素类抗生素的含量与分布特征[J]. 环境科学, 2011, **32**(4): 1182-1187.
Tai Y P, Mo C H, Li Y W, *et al.* Concentrations and distribution of tetracycline antibiotics in vegetable field soil chronically fertilized with manures [J]. Environmental Science, 2011, **32**(4): 1182-1187.
- [18] Hu X G, Zhou Q X, Luo Y. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China [J]. Environmental Pollution, 2010, **158**(9): 2992-2998.
- [19] Ji X L, Shen Q H, Liu F, *et al.* Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai; China [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, **235-236**: 178-185.
- [20] Wu N, Qiao M, Zhang B, *et al.* Abundance and diversity of tetracycline resistance genes in soils adjacent to representative swine feedlots in China [J]. Environmental Science & Technology, 2010, **44**(18): 6933-6939.
- [21] 邹世春, 李青, 贺竹梅, 等. 禽畜养殖场土壤抗生素抗性基因污染的初步研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2012, **51**(6): 87-91.
Zou S C, Li Q, He Z M, *et al.* A Preliminary study on the tetracycline resistance genes in the livestock soil, South China [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2012, **51**(6): 87-91.
- [22] 彭晶, 高英志, 谷月, 等. 鸡粪有机肥对土壤中抗生素抗性基因和整合酶基因的影响[J]. 环境工程学报, 2019, **13**(4): 984-991.
Peng J, Gao Y Z, Gu Y, *et al.* Effects of chicken manure organic fertilizer on antibiotic resistance genes and integrase genes in soil [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, **13**(4): 984-991.
- [23] Sun Y M, Qiu T L, Gao M, *et al.* Inorganic and organic fertilizers application enhanced antibiotic resistome in greenhouse soils growing vegetables [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, **179**: 24-30.
- [24] 吴丹, 韩梅琳, 邹德勋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测鸡粪中 16 种残留抗生素[J]. 分析化学, 2017, **45**(9): 1389-1396.
Wu D, Han M L, Zou D X, *et al.* Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of 16 kinds of residual antibiotics in chicken manure [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2017, **45**(9): 1389-1396.
- [25] 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.
- [26] 张兰河, 王佳佳, 哈雪姣, 等. 北京地区菜田土壤抗生素抗性基因的分布特征[J]. 环境科学, 2016, **37**(11): 4395-4401.
Zhang L H, Wang J J, Ha X J, *et al.* Distribution characteristics of antibiotic resistance genes in vegetable soils in Beijing [J]. Environmental Science, 2016, **37**(11): 4395-4401.
- [27] 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.
- [28] 刘佳, 赵小学, 李红萍, 等. 河南某工厂附近农田土壤中抗生素抗性基因与可移动遗传元件的分布[J]. 郑州大学学报(医学版), 2016, **51**(3): 301-305.
Liu J, Zhao X X, Li H P, *et al.* Prevalence of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in farmland soil near a factory of a certain city in Henan province [J]. Journal of Zhengzhou University (Medical Sciences), 2016, **51**(3): 301-305.
- [29] 冀秀玲, 刘芳, 沈群辉, 等. 养殖场废水中磺胺类和四环素抗生素及其抗性基因的定量检测[J]. 生态环境学报, 2011, **20**(5): 927-933.
Ji X L, Liu F, Shen Q H, *et al.* Quantitative determination of sulfonamides and tetracycline antibiotics and their resistance genes in farm wastewater [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2011, **20**(5): 927-933.
- [30] Gao P, Munir M, Xagorarakis I, *et al.* Correlation of tetracycline

- and sulfonamide antibiotics with corresponding resistance genes and resistant bacteria in a conventional municipal wastewater treatment plant [J]. *Science of the Total Environment*, 2012, **421-422**: 173-183.
- [31] Ma L P, Li A D, Yin X L, *et al.* The prevalence of integrons as the carrier of antibiotic resistance genes in natural and man-made environments [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, **51**(10): 5721-5728.
- [32] Zhu Y G, Zhao Y, Li B, *et al.* Continental-scale pollution of estuaries with antibiotic resistance genes [J]. *Nature Microbiology*, 2017, **2**(4): 16270.
- [33] 沈群辉. 养殖场及周边农田土壤抗生素抗性基因和重金属污染初步研究 [D]. 上海: 东华大学, 2013.
Shen Q H. Preliminary studies on the pollution levels of antibiotic resistance genes and heavy metals in feedlots and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai, China [D]. Shanghai: Donghua University, 2013.
- [34] 张海丰, 史明明, 孙艳梅, 等. 磺胺甲唑污染土壤中微生物群落结构与抗生素抗性基因的分布特征 [J]. *环境科学*, 2019, **40**(10): 4678-4684.
Zhang H F, Shi M M, Sun Y M, *et al.* Microbial community structures and the distribution of antibiotic resistance genes in soil contaminated by sulfamethoxazole [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(10): 4678-4684.
- [35] Li C, Chen J Y, Wang J H, *et al.* Occurrence of antibiotics in soils and manures from greenhouse vegetable production bases of Beijing, China and an associated risk assessment [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, **521-522**: 101-107.
- [36] Li Y X, Zhang X L, Li W, *et al.* The residues and environmental risks of multiple veterinary antibiotics in animal faeces [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2013, **185**(3): 2211-2220.
- [37] Wu X L, Xiang L, Yan Q Y, *et al.* Distribution and risk assessment of quinolone antibiotics in the soils from organic vegetable farms of a subtropical city, Southern China [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, **487**: 399-406.
- [38] Smith M S, Yang R K, Knapp C W, *et al.* Quantification of tetracycline resistance genes in feedlot lagoons by real-time PCR [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**(12): 7372-7377.
- [39] Tang X J, Lou C L, Wang S X, *et al.* Effects of long-term manure applications on the occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) in paddy soils: evidence from four field experiments in south of China [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **90**: 179-187.
- [40] McKinney G 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.



CONTENTS

Spatiotemporal Variations of PM _{2.5} Pollution Evolution in China in Recent 20 Years	SHI Yan, LIU Rui-mei, LUO Yi, <i>et al.</i> (1)
Characteristics of Aerosol Particulate Concentrations and Their Climate Background in Shanghai During 2007-2016	ZHENG Qing-feng, SHI Jun, TAN Jian-guo, <i>et al.</i> (14)
Characteristics and Sources of Elements in PM _{2.5} During Summer for Three Typical Cities in Pingdingshan-Suizhou-Wuhan, Central China	LIU Wei-jie, SHI Ming-ming, CHENG Cheng, <i>et al.</i> (23)
PM _{2.5} Pollution Characteristics During Winter and Summer in the Hohhot-Baotou-Ordos Region, China	LI Yi-ming, LIU Jia-yuan, SHI Guo-liang, <i>et al.</i> (31)
Analysis of Pollution Characteristics and Sources of PM _{2.5} During Heavy Pollution in Shijiazhuang City Around New Year's Day 2019	ZHOU Jing-bo, DUAN Jing-chun, WANG Jian-guo, <i>et al.</i> (39)
Modeling Studies of Source Contributions to PM _{2.5} in Chengdu, China	XU Yan-ling, YI Ai-hua, XUE Wen-bo (50)
Chemical Characteristics of Arsenic in PM _{2.5} in Beijing	SHI Shao-xuan, YANG Yan-rong, QIN Juan-juan, <i>et al.</i> (57)
Pollution Characteristics and Potential Source Contributions of Gaseous Elemental Mercury (GEM) During Summer and Autumn in Ningbo City	YI Hui, LIN Jia-mei, CAI Qiu-liang, <i>et al.</i> (65)
Seasonal Characteristics and Source Analysis of Water-Soluble Ions in PM _{2.5} of Anyang City	SUN You-chang, JIANG Nan, WANG Shen-bo, <i>et al.</i> (75)
Analysis of Stable Carbon Isotope Characteristics of PM _{2.5} in Summer and Winter Season in Xixiang City	YAN Guang-xuan, SONG Xin, ZHANG Jing-wen, <i>et al.</i> (82)
Construction and Evaluation on Size Resolved Source Apportionment Methods Based on Particle Size Distribution of Chemical Species	LIANG Yong-li, TIAN Ying-ze, LIU Tong, <i>et al.</i> (90)
Fine Particulate Emission Characteristics of an Ultra-Low Emission Coal-Fired Power Plant	WANG Run-fang, MA Da-wei, JIANG Shao-yi, <i>et al.</i> (98)
Driving Factors of the Significant Increase in Surface Ozone in the Beijing-Tianjin-Hebei Region, China, During 2013-2018	YU Yi-jun, MENG Xiao-yan, WANG Zhen, <i>et al.</i> (106)
Characteristic of Surface Ozone and Meteorological Parameters Analysis in Anyang City	YANG Jian, YIN Sha-sha, YU Shi-jie, <i>et al.</i> (115)
Emission Inventory of Intermediate Volatility Organic Compounds from Vehicles in the Yangtze River Delta in 2017 and the Impact on the Formation Potential of Secondary Organic Aerosols	WANG Qian, HUANG Ling, WANG Yang-jun, <i>et al.</i> (125)
Exhaust Smoke of Non-Road Vehicles in Typical Cities of Eastern China	LU Jun, HU Qing-yao, YANG Qiang, <i>et al.</i> (133)
Emission Status and Standards of Volatile Organic Compounds from Chinese and Foreign Bulk Petroleum Terminals	HU Wei, REN Bi-qi, HUANG Yu-hu, <i>et al.</i> (139)
Secondary Organic Aerosol Mass Yield and Characteristics from 4-ethylguaiaacol Aqueous ·OH Oxidation: Effects of Initial Concentration	ZHUANG Yu, CHEN Yan-tong, LI Xu-dong, <i>et al.</i> (146)
Stable Isotope Characteristics and Vapor Source of Precipitation in the South and North Slopes of Wushaoling Mountain	XU Xiu-ting, JIA Wen-xiong, ZHU Guo-feng, <i>et al.</i> (155)
Characteristics and Influencing Factors of Stable Hydrogen and Oxygen Isotopes in Groundwater in the Permafrost Region of the Source Region of the Yangtze River	WANG Shao-yong, HE Xiao-bo, DING Yong-jian, <i>et al.</i> (166)
Hydrochemical and Isotopic Characteristics of the Lake Balkhash Catchment, Kazakhstan	SHEN Bei-bei, WU Jing-lu, Jilili Abuduwaili, <i>et al.</i> (173)
Effect of a Comprehensive Improvement Project on Water Quality in Urban Lakes: A Case Study of Water Quality Variation in Lihu Lake Over the Past 30 Years	TIAN Wei, YANG Zhou-sheng, SHAO Ke-qiang, <i>et al.</i> (183)
Detection Method, Distribution, and Risk Assessment of Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Yellow Sea and the East China Sea	CHEN Xian, ZHANG Cai-jie, YANG Gui-peng, <i>et al.</i> (194)
Occurrence and Risk Assessment of Organophosphate Esters in Source Water of the Nanjing Section of the Yangtze River	LI Dong, ZHANG Sheng-hu, ZHANG Qin, <i>et al.</i> (205)
Spatial Distribution, Spectral Characteristics, and Sources Analysis of Dissolved Organic Matter from Baiyangdian Lake in Xiong'an New District During the Winter Freezing Period	ZHOU Shi-lei, SUN Yue, ZHANG Yi-ran, <i>et al.</i> (213)
Spatial Characteristics, Risk Assessment, and Source Analysis of Elements in Surface Sediments from the Baiyangdian Lake	WANG Jing-zhong, LIU Zhou, WEI Hao, <i>et al.</i> (224)
Distribution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Phthalate Esters in Surface Sediments of the Songhua River	WANG Huan, YANG Yong-zhe, WANG Hai-yan, <i>et al.</i> (232)
Occurrence Relationship Between Microplastics and Heavy Metals Pollutants in the Estuarine Sediments of Poyang Lake and the Yangtze River	LI Wen-hua, JIAN Min-fei, LIU Shu-li, <i>et al.</i> (242)
Effect of Ozonation on Microorganism in the Biological Activated Carbon and Disinfection By-Products in the Effluent	LIU Bao-ming, WANG Xi-xi, ZHANG Xiao-xia, <i>et al.</i> (253)
Refined Assessment of Exposure and Health Risks of Heavy Metals in Water for the Children in Xigu District, Lanzhou	CHEN Yue-fang, SUN Shan-wei, DUAN Xiao-li, <i>et al.</i> (262)
Adsorption of Phosphate on Mg/Fe Layered Double Hydroxides (Mg/Fe-LDH) and Use of Mg/Fe-LDH as an Amendment for Controlling Phosphorus Release from Sediments	WU Jun-lin, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (273)
Characteristics and Mechanism of Monothioarsenate Adsorption on Sand, Sediment, and Goethite	LIAO Dan-xue, SHAN Hui-mei, PENG San-xi, <i>et al.</i> (284)
Substructure Characteristics of Combined Acid-Base Modified Sepiolite and Its Adsorption for Cd(II)	XIE Sha, XU Ying-ming, YAN Cui-xia, <i>et al.</i> (293)
Characteristics of Nitrogen Metabolism by Denitrifying Bacterial Agents in Low Dissolved Oxygen Black Odor Water	ZHAO Zhi-rui, LIU Shuo, LI Duo, <i>et al.</i> (304)
Metagenomic Analysis of Antibiotic Resistant Bacteria and Resistance Genes in a Pharmaceutical and Chemical Wastewater Treatment Plant	CHEN Hong-ling, ZHANG Xing-tao, WANG Qing, <i>et al.</i> (313)
Measurements of Bacterial Community and Biodiversity from Activated Sludge for a Wastewater Treatment Containing Starch	ZHAO Ting-ting, QIAO Kai, WANG Lei, <i>et al.</i> (321)
Process Control and Operation Optimization of PN-SAD Coupling Process Based on SBR-ABR	CHEN Chong-jun, ZHANG Min, JIANG Ying, <i>et al.</i> (330)
Effects of Intermittent Starvation on the Operation of the SNAD Process	LI Dong, LIU Zhi-cheng, XU Gui-da, <i>et al.</i> (337)
Nitrogen Removal from Mature Landfill Leachate via Denitrification-Partial Nitrification-ANAMMOX Based on a Zeolite Biological Aerated Filter	CHEN Xiao-zhen, WANG Xiao-jun, Karasuta Chayangkun, <i>et al.</i> (345)
Rapid Achievement of Nitrifying Micro-granular Sludge and Its Nitrification Function	LIU Wen-ru, SONG Jia-jun, WANG Jian-fang, <i>et al.</i> (353)
Effect of On/Off Aeration Time Ratio Under High Frequency On/Off Aeration on Performance of Nitrosated Granular Sludge	ZHANG Jie, LAO Hui-mei, LI Dong, <i>et al.</i> (360)
Occurrence, Distribution, Source, and Health Risk Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers in Surface Soil from the Shen-Fu Region, Northeast China	XIANG Xin-xin, LU Yin-tao, RUAN Qi-yang, <i>et al.</i> (368)
Vertical Pollution Characteristics and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in a Heterogeneous Unsaturated Zone Under a Coking Plant	MENG Xiang-shuai, WU Meng-meng, CHEN Hong-han, <i>et al.</i> (377)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes and Mobile Genetic Elements in Beijing Vegetable Base Soils	ZHANG Ru-feng, SONG Yuan, GAO Hao-ze, <i>et al.</i> (385)
Stoichiometric Characteristics of Purple Sloping Cropland Under Long-term Fertilization and Cultivation	DU Ying-ni, LI Tian-yang, HE Bing-hui, <i>et al.</i> (394)
Ecological Stoichiometry of Carbon, Nitrogen, and Phosphorus in Subtropical Paddy Soils	SONG Jia-ling, SHENG Hao, ZHOU Ping, <i>et al.</i> (403)
Denitrification and Anaerobic Ammonium Oxidation in Soil Nitrogen Migration Process in a Farmland of Wanshandang Lake	CHEN Zhi-hao, QIN Yun-bin, DING Bang-jing, <i>et al.</i> (412)
Effects of Straw Biochar on Soil Microbial Metabolism and Bacterial Community Composition in Drip-irrigated Cotton Field	WANG Jing, MA Li-juan, LONG Ze-hua, <i>et al.</i> (420)
Source Appointment of Heavy Metals in Agricultural Soils of the Julong River Basin Based on Positive Matrix Factorization	HUANG Hua-bin, LIN Cheng-ni, HU Gong-qi, <i>et al.</i> (430)
Spatial Distribution of Soil Arsenic and Arsenic Enrichment in Crops in the Oasis Region of the Southeastern Tarim Basin	CHEN Yun-fei, ZHOU Jin-long, ZENG Yan-yan, <i>et al.</i> (438)
Bioavailability, Translocation, and Accumulation Characteristic of Heavy Metals in a Soil-Crop System from a Typical Carbonate Rock Area in Guangxi, China	MA Hong-hong, PENG Min, LIU Fei, <i>et al.</i> (449)
Effects of Different Amendments on Fractions and Uptake by Winter Wheat in Slightly Alkaline Soil Contaminated by Cadmium and Nickel	ZHANG Jing-jing, ZHU Shuang-ge, ZHU Li-nan, <i>et al.</i> (460)
Effect of Different Passivating Agents on the Stabilization of Heavy Metals in Chicken Manure Compost and Its Maturity Evaluating Indexes	LUAN Run-yu, GAO Shan, XU Ying-ming, <i>et al.</i> (469)
Response of Soil Respiration and Its Components to Nitrogen and Phosphorus Addition in Farming-Withdrawn Grassland in the Semiarid Loess Hilly-Gully Region	ZHOU Jun-jie, CHEN Zhi-fei, YANG Quan, <i>et al.</i> (479)
Subsequent Effects of Slag and Biochar Application on Greenhouse Gas Emissions from Paddy Fields in the Fuzhou Plain	LAN Xing-fu, WANG Xiao-tong, ZHOU Ya-xin, <i>et al.</i> (489)