

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

PM_{2.5}污染对我国健康负担和经济损失的影响

李勇, 廖琴, 赵秀阁, 白云, 陶燕

PM_{2.5}

• 中风

PM_{2.5}控制目标
健康经济效益

• 冠心病

• 呼吸系统疾病

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2021年4月

第42卷 第4期
Vol.42 No.4

目次

京津冀及周边地区秋冬季大气污染物排放变化因素解析	唐倩, 郑博, 薛文博, 张强, 雷宇, 贺克斌 (1591)
珠江三角洲大气光化学氧化剂(O_3)与 $PM_{2.5}$ 复合超标污染特征及气象影响因素	颜丰华, 陈伟华, 常鸣, 王伟文, 刘永林, 钟部卿, 毛敬英, 杨士士, 王雪梅, 刘焯芳 (1600)
广州市臭氧污染溯源:基于拉格朗日光化学轨迹模型的案例分析	裴成磊, 牟江山, 张英南, 申恒青, 陈玉茹, 黄杰生, 丁浩然, 李成柳 (1615)
运城秋冬季大气细粒子化学组成特征及来源解析	赵清, 李杏茹, 王国选, 张兰, 杨阳, 刘永桥, 孙宁宁, 黄禹, 雷文凯, 刘新罡 (1626)
降雪后24 h内大气中多环芳烃的变化规律	范慧泽, 祝富杰, 胡鹏持, 马万里 (1636)
道路扬尘中 $PM_{2.5}$ 粒度乘数的测定方法及特征	李冬, 陈建华, 张月帆, 高忠阳, 高健, 张凯, 竹双 (1642)
铸造行业挥发性有机物排放成分谱及影响	高爽, 李时蓓, 伯鑫, 李厚宇, 舒木水, 谈默, 屈加豹, 雷团团 (1649)
燃煤电厂和垃圾焚烧电厂燃烧产物中卤代多环芳烃的赋存特征和毒性风险	倪秀峰, 王儒威, 蔡飞旋, 蔡家伟 (1660)
兰州市春季微生物气溶胶浓度、粒径及细菌群落结构分布特性	赵炜, 李杰, 谢慧娜, 张莉红, 王亚娥 (1668)
大气污染排放格局优化方法及案例	李敏辉, 廖程浩, 常树诚, 张永波, 杨柳林, 曾武涛 (1679)
$PM_{2.5}$ 污染对我国健康负担和经济损失的影响	李勇, 廖琴, 赵秀阁, 白云, 陶燕 (1688)
基于多同位素的不同土地利用区域水体硝酸盐源解析	金赞芳, 胡晶, 吴爱静, 李光耀, 张文辽, 李非里 (1696)
新疆叶尔羌河流域地表水水化学特征及控制因素	张杰, 周金龙, 曾妍妍, 涂治, 纪媛媛, 孙英, 雷米 (1706)
漓江流域水体中重金属污染特征及健康风险评价	黄宏伟, 肖河, 王敦球, 席北斗, 孙晓杰, 李洁月, 李向奎 (1714)
近20年来鄱阳湖流域泛滥平原沉积物微量元素含量与污染变化	李括, 杨柯, 彭敏, 刘飞, 杨峥, 赵传冬, 成杭新 (1724)
汾河流域浅层地下水水化学和氢氧稳定同位素特征及其指示意义	刘鑫, 向伟, 司炳成 (1739)
会仙岩溶湿地地下水主要离子特征及成因分析	李军, 邹胜章, 赵一, 赵瑞科, 党志文, 潘民强, 朱丹尼, 周长松 (1750)
贵州威宁草海流域地下水水化学特征及无机碳通量估算	曹星星, 吴攀, 杨诗笛, 刘闪, 廖家豪 (1761)
辽宁典型海域表层海水中在用化学农药浓度水平与潜在生态风险	杜静, 胡超魁, 解怀君, 田甲申, 李爱, 谢晴, 吴金浩, 宋伦 (1772)
辽河流域土壤中微(中)塑料的丰度、特征及潜在来源	韩丽花, 徐笠, 李巧玲, 陆安祥, 殷敬伟, 田佳宇 (1781)
津冀辽地区典型湖库沉积物PAHs污染特征及来源解析	吴鹏, 鲁逸人, 李慧, 郑天娇子, 程云轩, 焦立新 (1791)
环太湖河流及湖体中有机磷酸酯的污染特征和风险评价	张文萍, 张振飞, 郭昌胜, 吕佳佩, 邓洋慧, 张恒, 徐建 (1801)
太湖表层水体典型抗生素时空分布和生态风险评价	丁剑楠, 刘舒娇, 邹杰明, 石溪哲, 邹华, 史红星 (1811)
淮河流域南四湖可挥发性有机物污染特征及风险评价	程云轩, 高秋生, 李捷, 李慧, 吴鹏, 焦立新 (1820)
三亚河沉积物PAHs和PCBs的分布、来源及风险评价	詹咏, 韦婷婷, 叶汇彬, 董滨, 张领军, 黄远东 (1830)
三峡库区非点源污染氮磷负荷时空变化及其来源解析	李明龙, 贾梦丹, 孙天成, 褚琳, 李朝霞 (1839)
反硝化细菌、硝酸钙和锆改性沸石联用对底泥中氮磷迁移转化的影响及硝态氮释放风险评估	辛慧敏, 李建伟, 詹艳慧 (1847)
锁磷剂联合好氧反硝化菌修复富营养化水体	李炳堂, 周志勤, Ravi Naidu, 胡智泉, 郭大滨, 陈嘉鑫 (1861)
太湖蓝藻胞内有机质的微生物降解	张巧颖, 孙伟, 杜瑛珣, 巩小丽 (1870)
青藏高原拉萨河流域附石藻类群落结构特征及其驱动因子分析	魏俊伟, 李鸿然, 汪兴中, 齐文华, 汪洋, 赵彬洁, 谭香, 张全发 (1879)
基于EEMs与UV-vis分析苏州汛期景观河道中DOM光谱特性与来源	何杰, 朱学惠, 魏彬, 李学艳, 汤如涛, 林欣, 周飞, 司壮壮 (1889)
老化前后轮胎磨损微粒与聚氯乙烯微粒对抗生素的吸附-解吸行为	范秀磊, 邹峰峰, 刘加强, 李莹, 刘强, 侯俊 (1901)
磁性铁基改性生物炭去除水中氨氮	王芳君, 桑倩倩, 邓颖, 赵元添, 杨娅, 陈永志, 马娟 (1913)
城市污水处理厂进水氨氧化菌对活性污泥系统的季节性影响	于莉芳, 汪宇, 滑思思, 李韧, 张兴秀, 惠晓飞 (1923)
基于粒径分化的厌氧氨氧化污泥性能与微生物多样性分析	王晓瞳, 杨宏 (1930)
ClO_2 消毒工艺对污水处理厂出水超级耐药基因的影响	程春燕, 李海北, 梁永兵, 师丹阳, 陈郑珊, 杨栋, 焦巧瑞, 邵一帆, 李君文, 金敏 (1939)
微塑料PES与2,4-DCP复合污染对厌氧污泥胞外聚合物与微生物群落的影响	林旭萌, 宿程远, 吴淑敏, 黄嫒, 邓雪, 林香凤, 黄尊, 魏佳林 (1946)
城镇污水处理厂污泥泥质监测及资源化风险评价	李娟, 李金香, 杨妍妍 (1956)
气候变暖对冻结期黑土碳氮循环关键过程及指标的影响	王子龙, 刘传兴, 姜秋香, 李世强, 柴迅 (1967)
沼液秸秆联用对滨海围垦田土壤重金属迁移及形态变化的影响	王伟, 周珺楠, 汤逸帆, 申建华, 韩建刚 (1979)
地块尺度城市土地质量地球化学调查方法:以雄安新区起步区为例	周亚龙, 郭志娟, 刘飞, 韩伟, 孔牧, 赵传冬, 刘爱涛, 彭敏, 王乔林, 王成文 (1989)
雄安新区农田土壤-农作物系统重金属潜在生态风险评估及其源解析	周亚龙, 杨志斌, 王乔林, 王成文, 刘飞, 宋云涛, 郭志娟 (2003)
地质背景农田土壤下不同水稻品种对Cd的累积特征及影响因素	代子雯, 方成, 孙斌, 魏志敏, 胡锋, 李辉信, 徐莉 (2016)
不同外源硒对镉污染土壤中小白菜生长及镉吸收的影响	刘杨, 齐明星, 王敏, 刘娜娜, Pornpimol Kleawsampanjai, 周菲, 翟辉, 王梦柯, 任蕊, 梁东丽 (2024)
影响不同农作物镉富集系数的土壤因素	陈洁, 王娟, 王怡雯, 姚启星, 苏德纯 (2031)
Cd胁迫下不同外源植物激素对水稻幼苗抗氧化系统及Cd吸收积累的影响	张盛楠, 黄益宗, 李颜, 保琼莉, 黄永春 (2040)
不同有机物料对水稻根表铁膜及砷镉吸收转运的影响	李开叶, 赵婷婷, 陈佳, 赵秀兰 (2047)
铜尾矿坝及其周边土壤真菌群落结构与功能多样性	陈建文, 张红, 李君剑, 刘勇 (2056)
微生物群落驱动AM真菌、生物炭及联合改良沙化土壤作用潜力	张哲超, 杨久扬, 郝百惠, 郝利君, 罗俊清, 李雪, 刁风伟, 张璟霞, 郭伟 (2066)
动物粪便施肥措施促进耐药基因在粪便-土壤-蔬菜之间的散播	张红娜, 董梦洁, 周玉法, 孙佳欣, 常美洁, 翟真真 (2080)
区域水生态文明建设绩效评价及障碍诊断模型的建立与应用	万炳彤, 鲍学英, 赵建昌, 李爱春 (2089)
《环境科学》征订启事(1738) 《环境科学》征稿简则(1790) 信息(1860, 1878, 1900)	

动物粪便施肥措施促进耐药基因在粪便-土壤-蔬菜之间的散播

张红娜¹, 董梦洁¹, 周玉法², 孙佳欣¹, 常美洁¹, 翟真真^{3*}

(1. 河北经贸大学生物科学与工程学院, 石家庄 050061; 2. 泰安市岱岳区畜牧局, 泰安 271000; 3. 泰安市中心医院, 泰安 271000)

摘要: 耐药基因 (antibiotic resistant gene, ARG) 在动物粪肥施用的土壤中被越来越多地检出, 已经引起了人们对公共安全的担忧, 但目前关于动物粪肥对蔬菜内生菌中耐药基因的影响尚不清楚. 因此, 本研究利用高通量定量 PCR 技术, 探讨鸡粪肥施用对土壤、苦菊根和叶片中内生细菌菌群和耐药基因谱的影响. 研究结果发现, 鸡粪肥的施用不仅增加了土壤和苦菊根内生菌中 ARG 的数量, 而且增加了土壤、苦菊根和叶片中内生菌的 ARG 丰度. 相关性分析显示, 土壤菌群和苦菊内生菌中 ARG 谱与细菌菌群组成密切相关, 主要涉及变形杆菌纲、酸杆菌纲、放线菌纲和蓝藻细菌纲等细菌菌群. 此外, 苦菊内生菌与土壤菌群之间存在共有的 ARG, 表明土壤-苦菊之间存在耐药基因的内部传播. 综上所述, 鸡粪肥施用会通过粪便-土壤-植物路径增加蔬菜内生菌中 ARG 的多样性和丰度.

关键词: 鸡粪肥施用; 苦菊; 内生菌; 菌群结构; 耐药基因 (ARG); 高通量定量 PCR (HT-qPCR)

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)04-2080-09 DOI: 10.13227/j.hjks.202009038

Animal Manure Fertilization Promotes Antibiotic Resistance Gene Dissemination Among Manure, Soil, and Vegetables

ZHANG Hong-na¹, DONG Meng-jie¹, ZHOU Yu-fa², SUN Jia-xin¹, CHANG Mei-jie¹, ZHAI Zhen-zhen^{3*}

(1. College of Biological Science and Engineering, Hebei University of Economics and Business, Shijiazhuang 050061, China; 2. Animal Husbandry Bureau of Daiyue Region, Tai'an 271000, China; 3. Center Hospital of Tai'an City, Tai'an 271000, China)

Abstract: Increasing antibiotic resistant genes (ARG) are being detected in animal manure-amended soil, causing public concerns. However, the effects of animal manure fertilization on the ARG of vegetable endophytes remain unknown. In this study, high-throughput quantitative PCR (HT-qPCR) was used to explore the effects of poultry manure fertilization on the bacterial community and resistome in the soil, root endophytes, and leaf endophytes from *Cichorium endivia* L. The results indicated that poultry manure fertilization not only enhanced the number of ARG in soil and root endophytes, but also increased the abundance of ARG in the soil, root endophytes, and leaf endophytes. The relationship analysis demonstrated that the ARG profile in the soil and vegetable endophytes was significantly correlated with the bacterial community, and the ARG abundance was highly correlated with Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria, and Cyanobacteria. In addition, the overlapping ARG between the *Cichorium endivia* L. endophyte and soil indicated the internal spread route of the ARG from the manure to *Cichorium endivia* L through the soil. In conclusion, poultry manure fertilization increased the diversity and abundance of the ARG in vegetables via the manure-soil-vegetable pathway.

Key words: poultry manure fertilization; *Cichorium endivia* L.; endophyte; bacterial community; antibiotic resistant genes (ARG); high-throughput quantitative PCR (HT-qPCR)

动物粪便在堆肥发酵处理后, 由于其含有多种营养物质和有机物质, 常作为“农家肥/有机肥”来改良农业土壤^[1]. 然而, 动物粪便中也含有大量耐药菌和耐药基因 (antibiotic resistant genes, ARG), 虽然堆肥过程可以显著降低其耐药水平但并不能完全消除^[2]. 因此, 动物粪肥的施用是大量耐药性进入土壤生态系统的主要途径之一, 其中的 ARG 会通过水平转移至土壤的固有微生物, 甚至人类致病菌中^[3,4], 同时粪肥中还存在的可移动遗传元件 (mobile genetic elements, MGE), 如质粒、整合子和转座子等, 会进一步促进耐药性的转移和扩散^[5,6]. 耐药基因已然成为土壤环境的一种新型污染物.

土壤不仅是植物赖以生存的物质基础, 也是植

物内生菌的主要来源, 植物内生菌是指定殖于植物组织或细胞内部的微生物群落, 其多样性一定程度上取决于根部土壤微生物菌群的多样性^[7,8]. 在动物粪肥改良过的土壤中, 植物根系会从中获取耐药菌, 进而可以定植于植物组织内成为内生细菌; 植物内生菌也可以作为 ARG 的载体, 通过水平基因转

收稿日期: 2020-09-04; 修订日期: 2020-09-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81903282); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202011832012); 河北省自然科学基金项目 (C2020207012); 河北省高等学校科学技术研究项目 (QN2020242); 泰安市科技发展计划项目 (2019NS188); 河北经贸大学科学研究与发展计划项目 (2020YB14)

作者简介: 张红娜 (1986 ~), 女, 博士研究生, 助理研究员, 主要研究方向为环境耐药性, E-mail: zhanghongna186982@126.com

* 通信作者, E-mail: sdzzzhai@sina.com

移将 ARG 从土壤转移到植物中^[9]. 因此, 日常生活中直接用于生食的蔬菜, 如苦菊、生菜和甘蓝等, 在生长过程中会从粪肥改良土壤中获得耐药性的内生菌, 并且用水清洗蔬菜表面并不能去除蔬菜内部的耐药菌和耐药基因, 食用后很可能通过水平转移向人体内微生物扩散, 具有潜在的健康威胁^[10~12]. 但是, 目前关于田间动物粪肥施用对生食蔬菜内生菌中 ARG 的影响以及 ARG 在粪便-土壤-蔬菜系统的转移路径却很少被关注.

因此, 本文以常出现于人们餐桌上凉拌菜或蔬菜沙拉的苦菊为研究对象, 采用高通量定量 PCR 平台, 在蔬菜基地的大田土壤中施用鸡粪肥, 分析其对土壤、苦菊根和叶片内生菌中 ARG 的影响, 并深入探讨 ARG 在粪便-土壤-蔬菜系统的潜在传播路径, 以期在农业生态系统中动物粪肥的无害化施用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 样品采集

2020 年 6 月在山东省泰安市良庄蔬菜种植基地选择两个苦菊大棚. 在种植苦菊前, 将备好的沙土壤(无有机肥料施用历史)分为两部分: 一部分土壤与已堆肥发酵处理的鸡粪肥均匀混合(poultry manure, PM 组); 另一部分土壤不施加任何粪肥(对照组). 将两种土壤分别铺于两个大棚内提前挖好的畦沟中, 然后在沟内均匀撒播苦菊种子, 再覆盖一层细土. 之后两个大棚内苦菊的管理方式和生长条件完全相同, 包括温度、湿度、浇灌和光照等. 土壤和鸡粪肥理化性质见表 1.

表 1 土壤和鸡粪肥的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of soil and chicken manure		
理化性质	土壤	鸡粪肥
pH (H ₂ O)	6.3	6.9
总碳/%	2.7	33.2
总氮/%	0.4	4.6
铵/mg·kg ⁻¹	17.6	4 100
硝酸/mg·kg ⁻¹	233.6	67.5
电导率/dS·m ⁻¹	0.6	11.9

苦菊在 4~5 d 出苗, 大约长到 150 g (约 15 d) 采收. 每个大棚内随机选择 3 颗苦菊植株. 用乙醇消毒剪刀将苦菊地上叶片部分和地下根分离, 并分别放入取样袋中; 以苦菊根上附着的土壤为土壤样品. 共收集 18 份样品 (PM 组: 3 个地上叶片部分、3 个地下根和 3 份土壤; 对照组: 3 个地上叶片部分、3 个地下根和 3 份土壤).

1.2 DNA 提取

首先去除驻留在根和叶表面的细菌和污染物,

将叶片和地下根样品浸泡在 30% 双氧水 (H₂O₂) 中 30 min, 用无菌水清洗 3 次; 再经 70% 乙醇处理 1 min, 无菌水清洗 3 次. 然后, 每个土壤、叶片、地下根样品分别取 0.5 g, 根据 FastDNA Spin Kit for Soil DNA (MP Biomedicals, USA) 试剂盒说明书提取土壤细菌 DNA、苦菊组织内生细菌 DNA. 由 NanoDrop One 仪器 (Thermo Fisher Scientific, USA) 测定 DNA 浓度和纯度.

1.3 高通量定量 PCR 分析

采用 Wafergen SmartChip Real-time PCR 系统 (Fremont, USA) 进行高通量定量 PCR (High-throughput quantitative PCR, HT-qPCR) 分析, 以检测土壤和苦菊样品中 ARG 和 MGE 的多样性和丰度. Wafergen 系统具有 5 184 个反应孔, 每个反应为 100 nL 体系. 本研究采用了 384 对引物组中的 296 对, 主要涉及到 8 个主要 ARG 型 (285 对引物组)、8 个转座酶、1 个 I 类整合子、1 个临床 I 类整合子和 16S rRNA 基因^[12,13].

将 SmartChip 放至 Wafergen SmartChip Real-time PCR Cyclor 中, PCR 程序设定为 95℃ 10 min, 随后 40 个循环包括 95℃ 30 s 和 60℃ 30 s. 每个反应孔仅保留单一有效融解峰且扩增效率在 1.7~2.3 范围内的数据. 设置循环阈值 (threshold cycle, Ct) 为 31^[14]. 每个样品设置 3 次重复, 取 3 次重复的平均值进行后续分析.

1.4 细菌 16S rRNA 基因的定量 PCR 分析

构建 qPCR 分析的标准曲线, 首先对细菌 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增并将其连接到 pGEM-T Easy 载体上, 随后将连接产物转化到 JM109 感受态细胞中, 再选择含有 16S rRNA 基因片段的克隆, 提取质粒 DNA, 进行 10 倍连续稀释制备标准品. 采用 Bio-Rad CFX384 Real-Time PCR 检测系统 (Bio-Rad, USA) 检测 16S rRNA 基因的丰度, 引物和反应程序与 HT-qPCR 相同.

1.5 MiSeq 测序和数据处理

PCR 扩增 16S rRNA 基因的 V5-V7 区域, 使用排除叶绿体的引物 799F/1193R, 799F (5'-AACMG GATTAGATACCCKG-3') 和 1193R (5'-ACGTCATC CCCACCTTCC-3'), PCR 程序参考文献 [15]. PCR 产物经纯化回收后构建 DNA 文库, 随后在 Illumina MiSeq 平台 (上海美优生物公司) 上进行双末端测序.

使用 QIIME 管道处理原始序列数据, 将末端可配对的序列合并为约 350 bp 的单个序列, 去掉具有 3 个或多个模糊核苷酸的序列、片段平均质量分数 <20 且 <100 nt 的低质量序列. 剩余序列根据 97%

的相似性归为操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU), 使用 BLAST 算法和 Greengenes 数据库对每个 OTU 的分类进行确认, 在最终的 OTU 数据集中剔除嵌合体、线粒体 OTU、细胞质 OTU 和单序列 (singletons)^[16]. 所有的序列上传至 NCBI 的 SRA (Sequence Read Archive) 数据库, 登录号为 PRJNA663721.

1.6 统计分析

使用 SPSS v19.0 (IBM, Armonk, NY, USA) 中的单因素方差分析 (ANOVA) 检验两组之间 ARG 多样性和丰度的差异, 细菌菌群相对丰度的差异. 使用在线软件生成 Circos 图 (<http://circos.ca/>), 显示两个处理组中 ARG 的分类. 基于 Bray-Curtis 距离的非度量多维标尺 (Non-metric multidimensional scaling, NMDS) 分析 ARGs 和细菌菌群的总体分布模式. 去趋势对应分析 (detrended correspondence analysis, DCA) 的梯度长度 < 3, 线性模型-冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 作为多变量回归分析用于检测 ARG 与细菌菌群结构之间的相关性. Mantel 检验分析 ARG 和 MGE 之间的相关性. 利用 Gephi (<https://gephi.org/>) 中 Yifan-Hu layout, 示出 PM 组的鸡粪肥施用土壤、地下根内生菌和叶片内生菌之间共有和独有 ARG 和 MGE.

在 R 语言中用 vegan 计算细菌菌群与 ARG 亚型之间 (在所有样本中 $\geq 50\%$) 所有可能的配对 Spearman 相关系数 (ρ) 来构建相关性矩阵, 将细菌菌群与 ARG 之间的潜在关系可视化, 仅正向 ($\rho \geq 0.8$) 且显著 ($P \leq 0.01$) 相关的两个节点被用于网络分析.

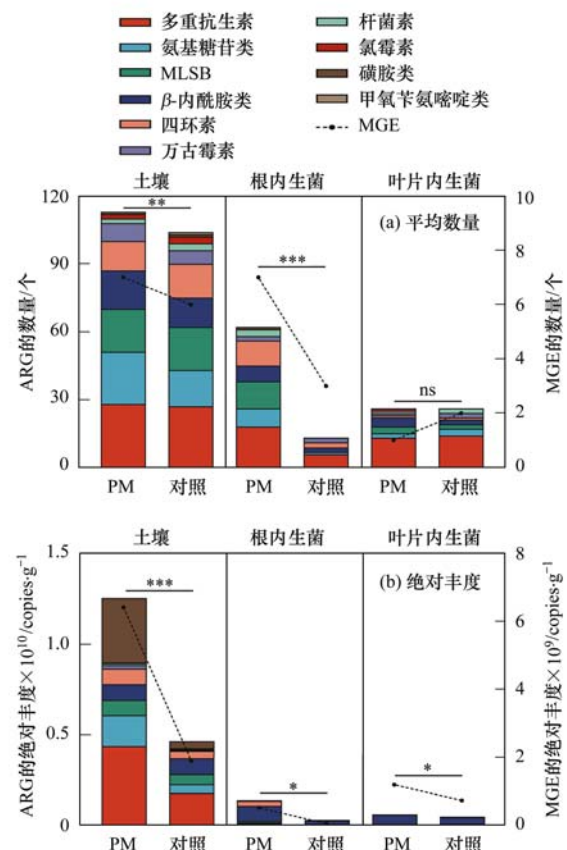
2 结果与讨论

2.1 土壤和苦菊内生菌中 ARG 的组成分布

分析了土壤和苦菊内生菌中 ARG 多样性 [图 1(a)]. 总体上, 土壤和苦菊内生菌中共检测到 149 个 ARG 亚型. 每个样品中检测到的 ARG 数量在 16 ~ 120 之间, 其中土壤中 ARG (110 ~ 120) 的多样性最大, 其次是苦菊的根 (16 ~ 69) 和叶片 (27 ~ 28). 同时, 所有样品中 ARG 均可归为 3 种主要的耐药机制 [图 2(a)]: 抗生素失活、外排泵和细胞保护, 其中抗生素失活和外排泵是最主要的两种, 所有样品中多重抗生素耐药基因检测频率最高, 其次是 β -内酰胺类、氨基糖苷类、大环内酯类-林可酰胺-链霉素 B 类 (macrolides-lincosamide-streptogramins B, MLSB) 和四环素类耐药基因 [图 2(b)].

分析了土壤和苦菊内生菌中 ARG 的绝对丰度 [图 1(b)]. 土壤中 ARG 的总丰度最高, 为 $3.36 \times$

$10^6 \sim 4.37 \times 10^9$ copies $\cdot g^{-1}$; 蔬菜内生菌中 ARG 的总丰度为 $1.89 \times 10^6 \sim 8.36 \times 10^8$ copies $\cdot g^{-1}$. 土壤样品中以多重抗生素耐药基因的丰度最高, 而苦菊的根和叶片内生菌中以 β -内酰胺类耐药基因丰度最高. 本结果与之前报道一致, 土壤一直是耐药菌增殖和 ARG 水平转移的研究热点, 并且由于蔬菜扎根于土壤, 从中摄取营养或者污染物, 也已经成为潜在的 ARG 转移途径^[17-19].



* 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$; ns 表示无统计学意义 (no significance), 下同

图 1 土壤、苦菊根内生菌和叶片内生菌中的 ARG 和 MGE

Fig. 1 ARG and MGE detected in soil, root endophytes, and leaf endophytes of *Cichorium endivia* L.

2.2 鸡粪肥施用对土壤和苦菊内生菌中 ARG 的影响

鸡粪肥施用增加了土壤和苦菊内生菌中 ARG 的多样性和丰度. 与对照组相比, PM 组中鸡粪肥的施用增加了土壤 ($P < 0.01$) 和苦菊根内生菌 ($P < 0.001$) 中的 ARG 数量 [图 1(a)], 其中在 PM 组根内生菌的多重抗生素、氨基糖苷类、MLSB、 β -内酰胺类和四环素耐药基因数量均显著增加, 叶片内生菌中 ARG 数量无明显增加. 与对照组相比, PM 组中鸡粪肥的施用显著提高了土壤 ($P < 0.001$)、苦菊根内生菌 ($P < 0.05$) 和叶片内生菌中 ($P < 0.05$) 的 ARG 丰度 [图 1(b)]. PM 组土壤和苦菊根内生菌中 ARG 丰度均比对照组上升了 1 个数量级, 苦菊叶片

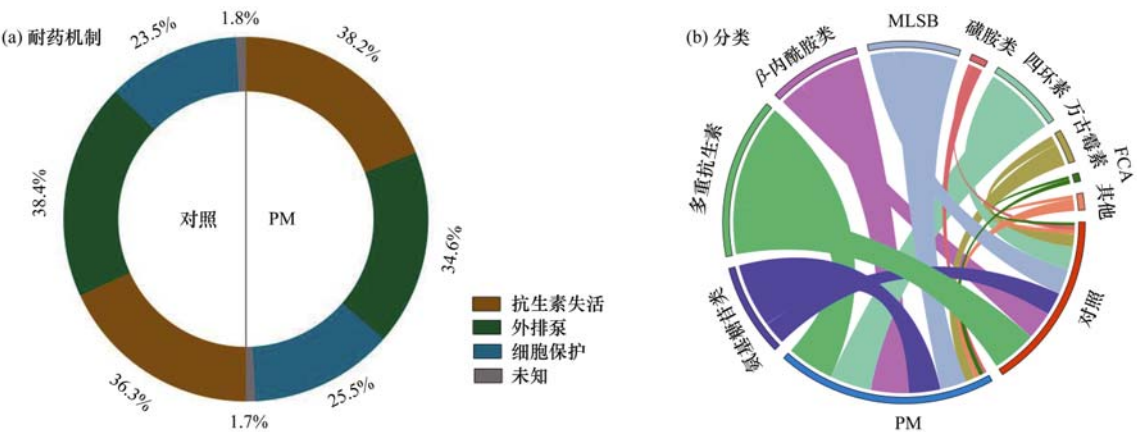


图2 两个处理组中 ARG 所属的耐药机制和基因型分类

Fig. 2 Resistance mechanisms and classification of ARG in two treatment groups

内生菌中 ARG 丰度也比对照组高出 1.3 倍. 这说明施加鸡粪肥的土壤中 ARG 的多样性和丰度显著高于原来的土壤, 导致苦菊在生长过程中有更多的 ARG 通过转移或者通过细菌的携带进入蔬菜的根和叶片^[20, 21].

基于 Bray-Curtis 距离的 NMDS 分析显示[图 3 (a)], ARG 组成的分布是按照不同处理组 (PM 组和对照组) 和不同样品类型 (土壤、根内生菌、叶片内生菌) 聚集的. 可以看出 ARG 组成结构明显受到处理方式和样品类型的影响.

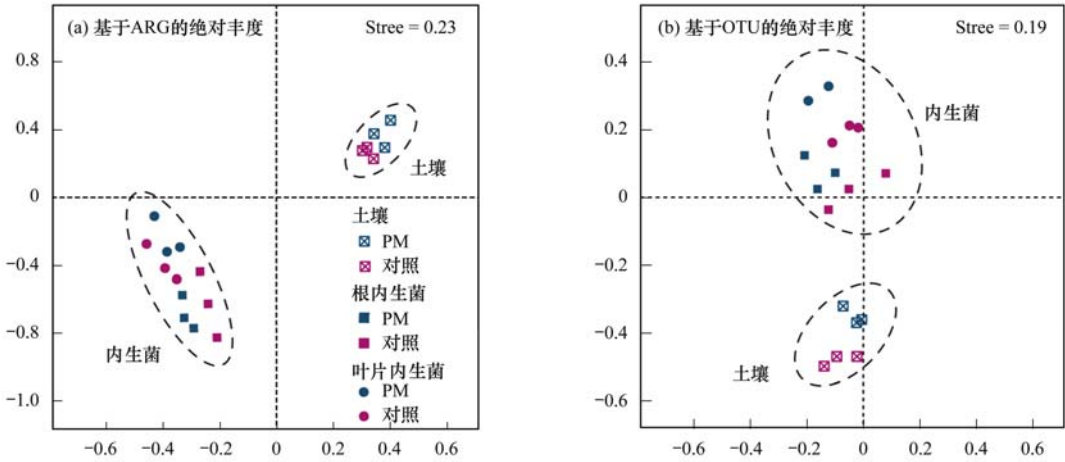


图3 不同处理组和不同样本类型之间 ARG 和 OTU 的 NMDS 分析

Fig. 3 NMDS analysis of ARG and OTU between different sample types and different treatments

总体上, 鸡粪肥施用增加了土壤和苦菊内生菌中 MGE 的多样性和丰度. 在所有样品中共检测到 10 个 MGE [图 1(a)]. 土壤中 MGE 的绝对丰度为 $2.12 \times 10^6 \sim 3.66 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 苦菊内生菌中 MGE 的绝对丰度为 $1.66 \times 10^6 \sim 1.20 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ [图 1(b)]. 与对照组相比, 施用鸡粪肥后土壤和苦菊内生菌中 MGE 的数量和丰度均增高. 经回归分析(图 4), MGE 丰度与 ARG 总丰度之间属于线性正相关关系 ($R^2 = 0.857, P < 0.001$). Mantel 检验(表 2)进一步显示 MGE 丰度(转座酶和整合子)与多个 ARG 型具有强的正相关关系, 如: 多重抗生素、氨基糖苷类、MLSB、四环素、万古霉素、杆菌素和磺胺类耐药基因. MGE 对 ARG 水平基因转移起着关键作用, 因此这些结果说明鸡粪肥的施用

可能会进一步促进 ARG 在土壤和蔬菜内生菌中的增加和散播.

表2 ARG 和 MGE 绝对丰度之间相关性的 Mantel 检验¹⁾

耐药基因	整合子		转座酶	
	R 值	P 值	R 值	P 值
多重耐药	0.894	0.0162	0.971	0.0013
氨基糖苷类	0.891	0.0172	0.993	0.0001
MLSB	0.851	0.0317	0.884	0.0195
β -内酰胺类	0.628	0.1820	0.522	0.2881
四环素类	0.819	0.0461	0.921	0.0090
万古霉素类	0.865	0.0260	0.997	0.0000
杆菌素类	0.860	0.0280	0.893	0.0164
氯霉素类	0.718	0.1079	0.653	0.1595
磺胺类	0.869	0.0245	0.999	0.0000
甲氧苄氨嘧啶类	0.136	0.7968	-0.043	0.9363

1) 黑体字表示相应的 ARG 与 MGE 在统计学上具有显著的相关性

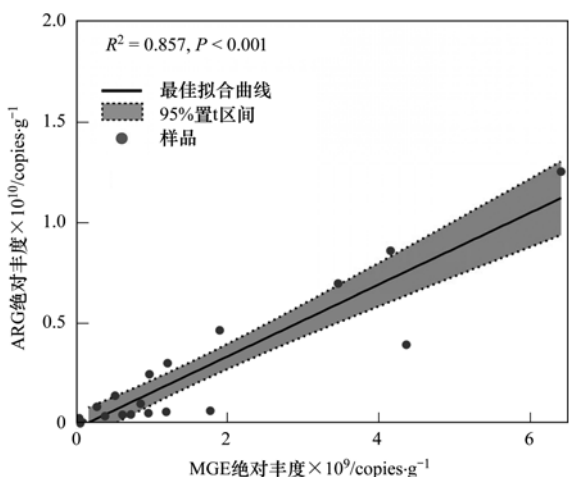


图4 ARG 和 MGE 绝对丰度之间相关性的回归分析

Fig. 4 Regression analysis of relationship between the absolute abundance of ARG and MGE

2.3 土壤和苦菊根中细菌菌群及其与 ARG 的共存模式

分析了土壤细菌菌群和苦菊根和叶片内生菌群的结构. 本研究中共检测到 47 个门和 94 个纲的 OTU. 在门水平[图 5(a)], 所有样品中变形菌门 (Proteobacteria) 的丰度最高 (51.96% ~ 70.60%); 与对照组相比, 在 PM 组的土壤、苦菊根和叶片中变形菌门丰度均有增加. 在纲水平上[图 5(b)], β -变形菌纲 (β -Proteobacteria, 15.0% ~ 41.0%)、 α -变形菌纲 (α -Proteobacteria, 17.0% ~ 37.0%)、放线菌纲 (Actinobacteria, 9.0% ~ 22.0%) 是土壤、苦菊根内生菌和叶片内生菌的优势菌群. 经 Chao1、Shannon、PD whole tree 和 Observed species 多样性分析 (图 6), 土壤中细菌菌群的多样性最高, 其次是根内生菌和叶片内生菌. 基于 Bray-Curtis 距离的 NMDS 分析[图 3(b)], 显示细菌菌群结构分布同样会受到样品类型 (土壤、苦菊根和叶片) 的影响.

进一步分析发现 ARG 与细菌菌群具有显著相关性. 经 RDA 分析了门水平细菌菌群/MGE 与 ARG 型之间的关系[图 7(a)], ARG 中 89.93% 的变量可以由所选的前两轴变量解释. 变形菌门、酸杆菌门 (Acidobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、放线菌门 (Actinobacteria)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)

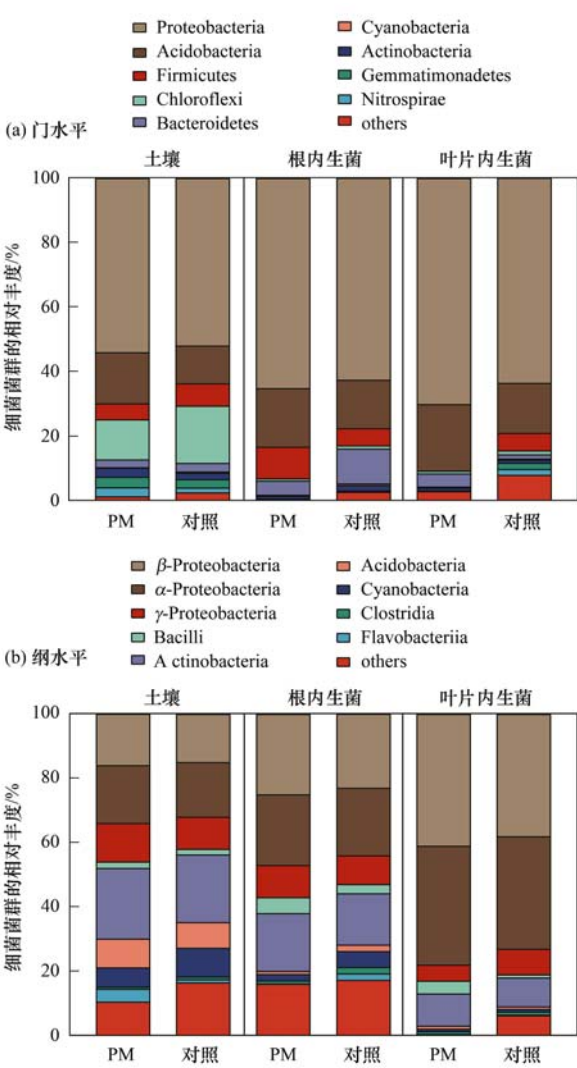


图5 两种处理组土壤、根内生菌和叶片内生菌 OTU 的分布

Fig. 5 Distributions of the OTU in the soil, root endophytes, and leaf endophytes among the two treatments

与第一轴显著相关 (解释了 79.47% 的变量), 涉及到氯霉素、杆菌素、MLSB、氨基糖苷类、 β -内酰胺类、甲氧苄氨嘧啶和多重抗生素等耐药基因; 厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 与第二轴显著相关 (解释 10.19% 的变量), 涉及到 MGE 和磺胺类耐药基因等.

网络分析显示了纲水平细菌菌群与 ARG 亚型之间的共存模式[图 7(b)], 共有 9 个细菌菌群与

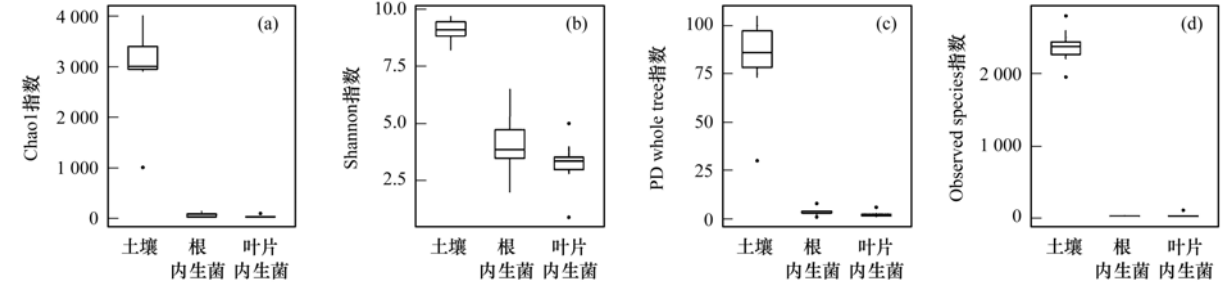
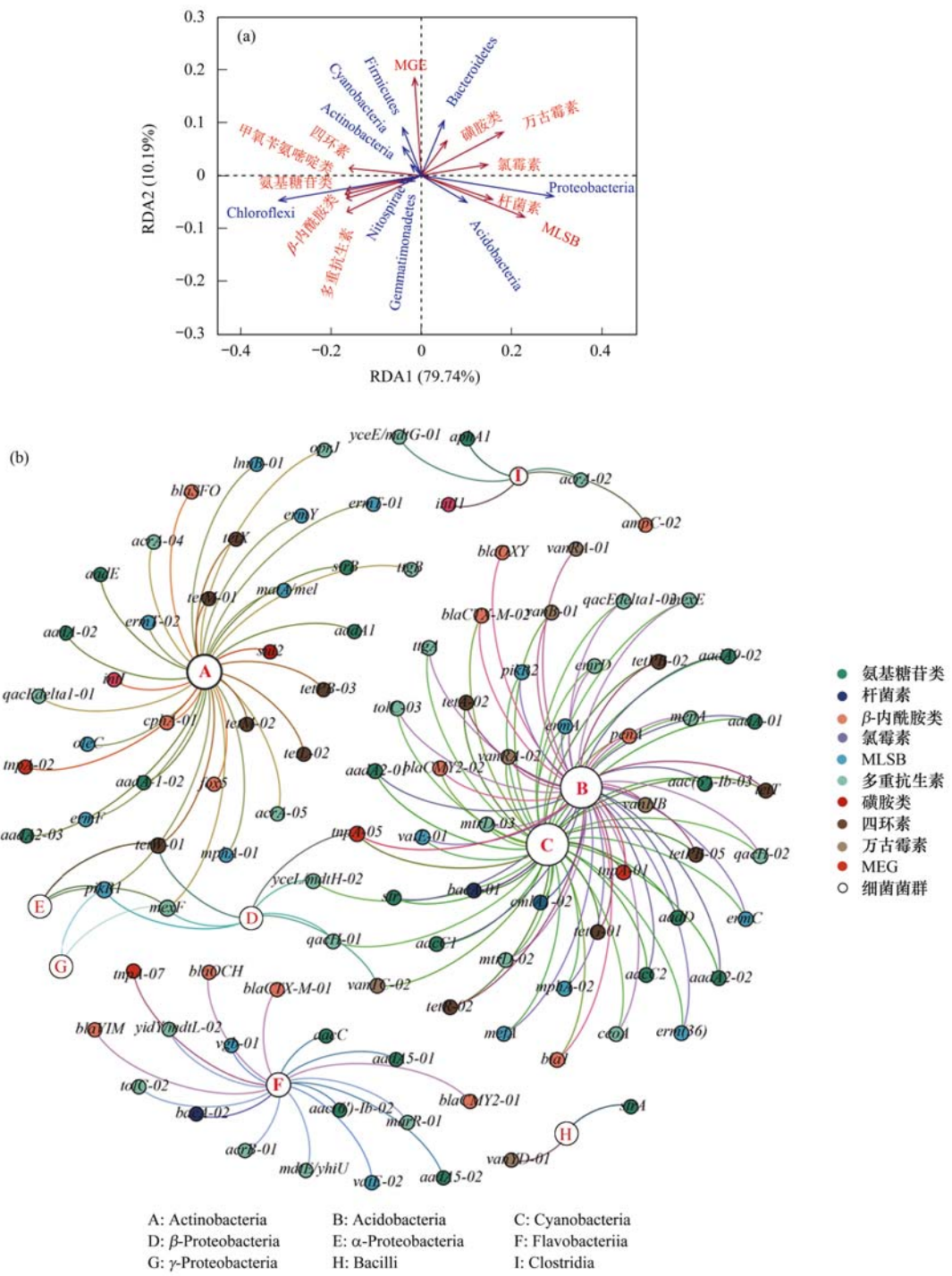


图6 不同样本类型中细菌菌群 α 多样性分析

Fig. 6 Bacterial α -diversity in different sample types



105 个 ARG 亚型(属于 9 个 ARG 型)具有显著正相关关系($\rho > 0.8, P < 0.01$). 在细菌菌群中,蓝藻细菌纲(Cyanobacteria)、酸杆菌纲、放线菌纲、黄杆菌纲(Flavobacteriia)和变形杆菌纲与多种 ARG 型高度相关. 在 ARG 型中,多重抗生素(40 个 ARG 亚型)、氨基糖苷类(30)、MLSB(28)、四环素(20)和 β -内酰胺类(17)耐药基因同样与多个细菌菌群具有

强的相关性. 此结果说明这 9 个纲水平细菌菌群可能是 ARG 的主要宿主. 有研究表明,不同的环境中,包括土壤、河流、地下水和污泥等,细菌菌群结构都是影响 ARG 谱动态变化的重要因素^[22~25]. 本研究中土壤中以多重抗生素耐药基因丰度最高,而苦菊根和叶片中 β -内酰胺类耐药基因丰度最高,这种差异可能是由于土壤中特定的细菌菌群可能携带某些

特定 ARG 型,从而转移至苦菊组织中^[26]。

2.4 施肥土壤与苦菊内生菌中共有的细菌菌群和 ARG 及其传播路径

通过分析施肥土壤与苦菊(根内生菌和叶片内生菌)之间的共有 ARG,来预测苦菊组织中 ARG 的来源。从图 8 可以看出,在鸡粪肥施用土壤与苦菊内生菌之间共有 52 个 ARG 亚型和 4 个 MGE,涉及到多重抗生素、MLS_B、氨基糖苷类、 β -内酰胺类、四环素、万古霉素、杆菌素、氯霉素和磺胺类等 9 个 ARG 型,MGE 包括 *intI*、*intI1*、*tnpA-02* 和 *tnp-04* 整合子/转座酶基因。结果表明这些耐药基因很可能从土壤和鸡粪肥中转移至苦菊的根和叶片内生菌中。本研

究结果与之前研究的一致,即土壤和粪肥中的 ARG 是蔬菜中 ARG 的重要来源,同时由于粪肥中有大量的 MGE 存在,会进一步促进 ARG 在粪肥-土壤-蔬菜系统之间的水平传播^[12,27,28]。

进一步分析了鸡粪肥施用土壤中 ARG 向苦菊不同组织的传播,来探索 ARG 在土壤-苦菊中潜在的传播路径(图 9)。鸡粪肥施用土壤和苦菊根内生菌之间共有 49 个相同的 ARG(Group A1),这些基因可能来自鸡粪肥改良后的土壤,随后可能被苦菊根内生菌获得。此外,土壤、根内生菌和叶片内生菌之间共有 11 个 ARG(Group A2),包括多重抗生素(*acrA-01*、*acrF*、*oprD*、*rarD-02*、*yceE/mdtG-01*)、 β -内

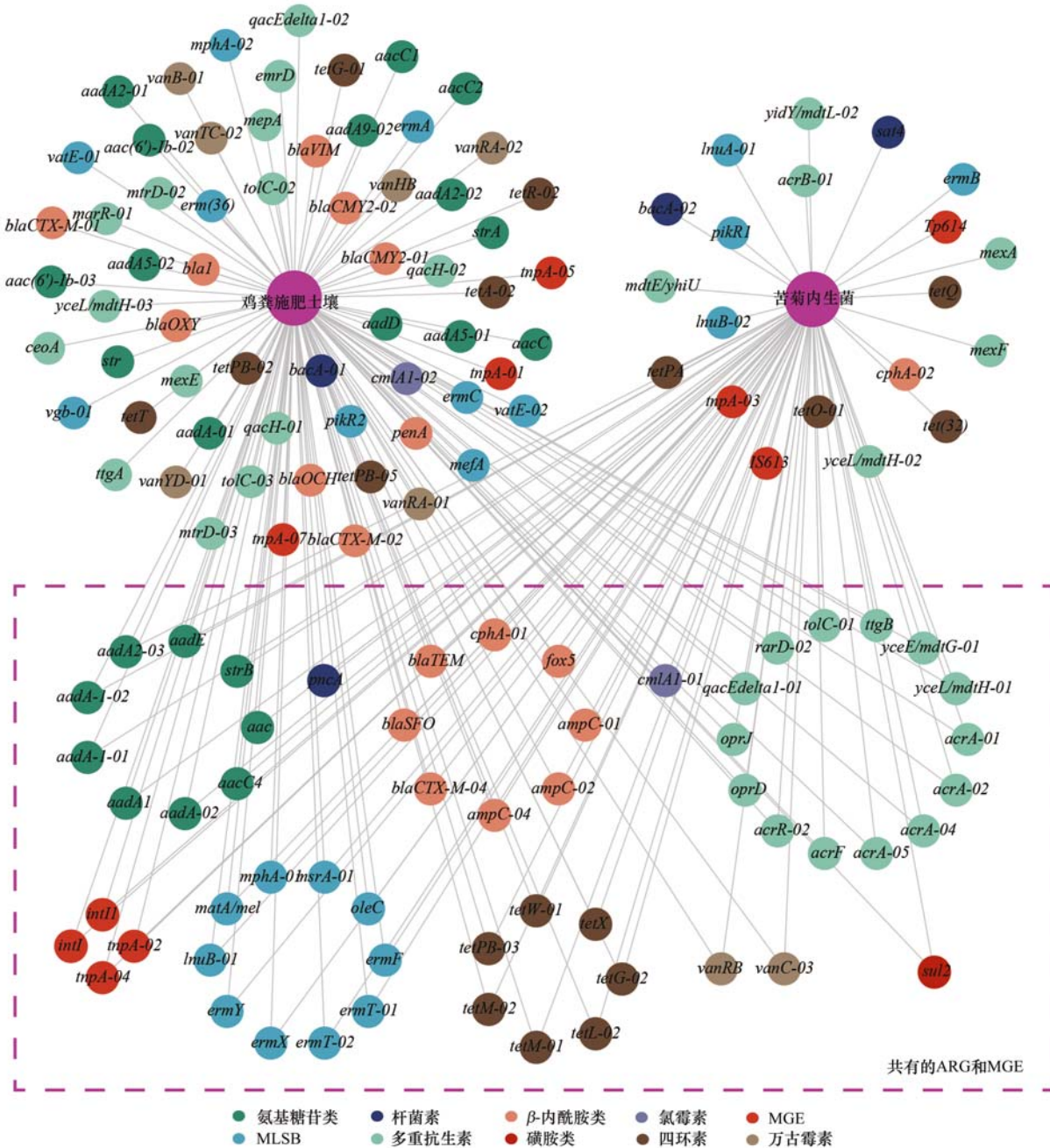


图 8 鸡粪施肥土壤和苦菊内生菌之间共有的施用 ARG 和 MGE

Fig. 8 Shared ARG and MGE between poultry manure-amended soil and endophytes of *Cichorium endivia* L.

酰胺类 (*ampC-02*、*blaTEM*)、氨基糖苷类 (*aac*)、MLS_B(*ermX*)、四环素类 (*tetG-02*) 和万古霉素类 (*vanRB*), 都是对人和动物临床中最常用抗生素表现抗性, 说明这些基因可能通过苦菊组织内部从根内生菌向上转移到叶片内生菌。ARG 从土壤通过植物组织向植物的传播途径被称为内部路径^[12]。那么, 本研究中苦菊是通过根吸收从鸡粪肥施用土壤中获取 ARG, 并通过内部路径转移到根和叶片内生菌中。

由于细菌菌群对 ARG 分布起重要作用, 本研究通过分析鸡粪肥施用土壤与苦菊组织之间共有的细菌 OTU, 来进一步说明施肥土壤中细菌菌群是否向蔬菜内生系统传播(图 9)。在鸡粪肥施用土壤和苦菊根内生菌之间共有 168 个细菌 OTU (Group B1)。这与之前研究一致, 土壤可能是根内生菌群的种子库, 即植物的大部分内生菌是从生长环境中水平获得, 而不是通过种子或花粉从亲本植株垂直传播而来^[29,30]。但是, 仅有 16 个 OTU (Group B2) 可能被进一步传递到叶片内生菌, 这表明根内生菌和叶片内生菌中的细菌菌群不同。值得注意的是, 共有的 16 个 OTU 包括 α -变形菌纲(6)、 β -变形菌纲(5)、 γ -变形菌纲(3)和放线菌纲(2), 这些是土壤样品中丰度最高的前 4 个细菌纲(图 5)。此外, 变形菌门和放线菌门与多重抗生素、 β -内酰胺类、氨基糖苷类等 ARG 的存在成正相关(图 7)。有研究表明甘蓝和有机生菜叶片中都土壤之间存在相当大的共有的细菌菌群, 而本研究中苦菊叶片和土壤之间共有的细菌菌群相对较少, 这说明土壤环境中外源细菌对蔬菜内生菌的影响程度可能与蔬菜种类有关^[27,31,32]。以上研究结果表明, 共有的细菌 OTU 可能是 ARG 的宿主, 进入苦菊的内生系统, 最终形成了苦菊的根内生菌、叶片内生菌的 ARG 组成。

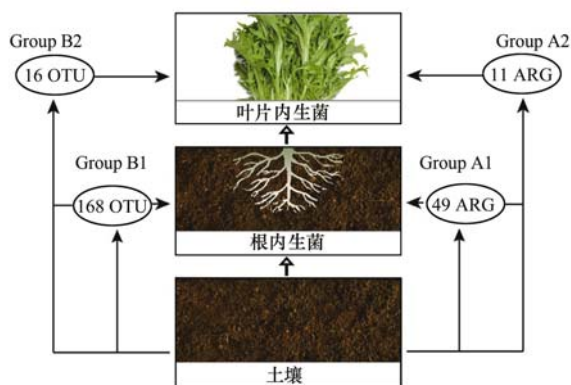


图 9 鸡粪施肥土壤中细菌(纲水平)和 ARG 向苦菊不同组织传播的潜在路径

Fig. 9 Potential transmission pathways of soil and manure-derived resistome and microbiome to different tissues

动物粪便是耐药菌的重要存储库, 而粪肥的施用很可能将大量的 ARG 带入到农业土壤-蔬菜系统中^[2,22]。本研究中苦菊内生系统 ARG 的定量检测结果证实, 在大田土壤中添加鸡粪肥会促进蔬菜内生菌中 ARG 数量和丰度的增加, 甚至蔬菜中出现了携带多种耐药基因的细菌^[7]。施用粪肥的土壤环境中, 造成这种结果的原因主要有两个: ① 蔬菜根会从土壤中吸收耐药菌, 定植于组织内成为内生细菌, 和/或在抗生素选择压下诱导蔬菜内生耐药菌比例增加, 进而导致蔬菜内生系统中 ARG 丰度增高; ② 在 MGE 作用下, 外源 ARG 通过土壤-蔬菜互作, 水平转移进入蔬菜内生系统, 促进蔬菜内生菌耐药性的增加^[9]。以往的研究已证实施肥蔬菜中存在具有耐药性的人类致病菌, 而这很可能通过食物链向周围环境和人类传播, 尤其是日常频繁食用或直接生食的蔬菜, 这对公共健康造成巨大威胁。

3 结论

本研究发现鸡粪肥施用可显著提高苦菊根和叶片内生菌中 ARG 的数量和丰度, 且 ARG 的富集与变形菌门和放线菌门等细菌菌群高度相关; 分析了 ARG 和细菌菌群从鸡粪肥施用土壤向苦菊不同部位传播的潜在内部路径。动物粪肥的施用可能导致动物源病原菌和/或 ARG 在粪便-土壤-蔬菜-人类这个大环境系统之间散播。因此, 动物粪肥的处理和利用形式应该得到有效地指导和严格地控制。

参考文献:

- [1] 张宁, 李森, 刘翔. 土壤中抗生素抗性基因的分布及迁移转化[J]. 中国环境科学, 2018, **38**(7): 2609-2617.
Zhang N, Li M, Liu X. Distribution and transformation of antibiotic resistance genes in soil [J]. China Environmental Science, 2018, **38**(7): 2609-2617.
- [2] Gou M, Hu H W, Zhang Y J, et al. Aerobic composting reduces antibiotic resistance genes in cattle manure and the resistome dissemination in agricultural soils [J]. Science of the Total Environment, 2018, **612**: 1300-1310.
- [3] Fang H, Wang H F, Cai L, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes and bacterial pathogens in long-term manured greenhouse soils as revealed by metagenomic survey [J]. Environmental Science & Technology, 2015, **49**(2): 1095-1140.
- [4] 张昊. 抗生素及其耐药性在畜禽粪便-土壤-蔬菜中的传播和转移[D]. 新乡: 河南师范大学, 2018.
Zhang H. Spread and transfer of antibiotics and antibiotic resistance in the livestock manure-soil-vegetable endophytic system[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2018.
- [5] Han X M, Hu H W, Chen Q L, et al. Antibiotic resistance genes and associated bacterial communities in agricultural soils amended with different sources of animal manures [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, **126**: 91-102.
- [6] Zhang H P, Zhang Q K, Song J J, et al. Tracking resistomes,

- virulence genes, and bacterial pathogens in long-term manure-amended greenhouse soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, **396**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122618.
- [7] Yang Q X, Zhang H, Guo Y H, *et al.* Influence of chicken manure fertilization on antibiotic-resistant bacteria in soil and the endophytic bacteria of pakchoi [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2016, **13**(7), doi: 10.3390/ijerph13070662.
- [8] Berg G, Krechel A, Ditz M, *et al.* Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, **51**(2): 215-229.
- [9] Carpentieri-Pipolo V, De Almeida Lopes K B, Degrassi G. Phenotypic and genotypic characterization of endophytic bacteria associated with transgenic and non-transgenic soybean plants[J]. *Archives of Microbiology*, 2019, **201**(8): 1029-1045.
- [10] Verraes C, Van Boxtael S, Van Meervenne E, *et al.* Antimicrobial resistance in the food chain: a review [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2013, **10**(7): 2643-2669.
- [11] Chen Q L, Cui H L, Su J Q, *et al.* Antibiotic resistomes in plant microbiomes[J]. *Trends in Plant Science*, 2019, **24**(6): 530-541.
- [12] Zhang Y J, Hu H W, Chen Q L, *et al.* Transfer of antibiotic resistance from manure-amended soils to vegetable microbiomes [J]. *Environment International*, 2019, **130**, doi: 10.1016/j.envint.2019.104912.
- [13] Hu H W, Wang J T, Singh B K, *et al.* Diversity of herbaceous plants and bacterial communities regulates soil resistome across forest biomes[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, **20**(9): 3186-3220.
- [14] 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.
- [15] Beckers B, De Beeck M O, Thijs S, *et al.* Performance of 16S rDNA primer pairs in the study of rhizosphere and endosphere bacterial microbiomes in metabarcoding studies[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, **7**, doi: 10.3389/fmicb.2016.00650.
- [16] Edgar R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. *Bioinformatics*, 2010, **26**(19): 2460-2461.
- [17] Pan M, Chu L M. Phytotoxicity of veterinary antibiotics to seed germination and root elongation of crops[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, **126**: 228-237.
- [18] Heuer H, Smalla K. Plasmids foster diversification and adaptation of bacterial populations in soil [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2012, **36**(6): 1083-1104.
- [19] Wang F H, Qiao M, Chen Z, *et al.* Antibiotic resistance genes in manure-amended soil and vegetables at harvest[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, **299**: 215-221.
- [20] Zhu B K, Chen Q L, Chen S C, *et al.* Does organically produced lettuce harbor higher abundance of antibiotic resistance genes than conventionally produced? [J]. *Environment International*, 2017, **98**: 152-159.
- [21] Cerqueira F, Christou A, Fatta-Kassinos D, *et al.* Effects of prescription antibiotics on soil-and root-associated microbiomes and resistomes in an agricultural context [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, **400**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123208.
- [22] Forsberg K J, Patel S, Gibson M K, *et al.* Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats[J]. *Nature*, 2014, **509**(7502): 612-616.
- [23] 张红娜, 崔娜, 申红妙. 基于宏基因组学探讨东平湖水库的菌群结构、耐药基因谱及其公共健康风险[J]. *环境科学*, 2021, **42**(1): 211-220.
- Zhang H N, Cui N, Shen H M. Metagenomic analysis provides insights into bacterial community, antibiotic resistome and public health risk in Dongping Lake reservoir [J]. *Environmental Science*, 2020, **42**(1): 211-220.
- [24] 毛秋燕, 赵栩宁, 苏宇傲, 等. 不同预处理方式对剩余污泥中活菌菌群及 ARGs 的影响[J]. *中国环境科学*, 2020, **40**(6): 2537-2545.
- Mao Q Y, Zhao X N, Su Y A, *et al.* Impact of different pretreatments on ARGs and live microbial communities in excess sludge[J]. *China Environmental Science*, 2020, **40**(6): 2537-2545.
- [25] Jia S Y, Shi P, Hu Q, *et al.* Bacterial community shift drives antibiotic resistance promotion during drinking water chlorination [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(20): 12271-12279.
- [26] Li B, Yang Y, Ma L P, *et al.* Metagenomic and network analysis reveal wide distribution and co-occurrence of environmental antibiotic resistance genes [J]. *The ISME Journal*, 2015, **9**(11): 2490-2502.
- [27] 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.
- [28] 张汝凤, 宋渊, 高浩泽, 等. 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[J]. *环境科学*, 2020, **41**(1): 385-393.
- Zhang R F, Song Y, Gao H Z, *et al.* Distribution characteristics of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in Beijing vegetable base soils[J]. *Environmental Science*, 2020, **41**(1): 385-393.
- [29] Frank A C, Saldierna Guzmán J P, Shay J E. Transmission of bacterial endophytes[J]. *Microorganisms*, 2017, **5**(4), doi: 10.3390/microorganisms5040070.
- [30] Vandenkoornhuyse P, Quaiser A, Duhamel M, *et al.* The importance of the microbiome of the plant holobiont [J]. *New Phytologist*, 2015, **206**(4): 1196-1206.
- [31] Durán P, Thiergart T, Garrido-Oter R, *et al.* Microbial interkingdom interactions in roots promote *Arabidopsis* survival [J]. *Cell*, 2018, **175**(4): 973-983. e14.
- [32] Liao J L, Xu Q C, Xu H L, *et al.* Natural farming improves soil quality and alters microbial diversity in a cabbage field in Japan [J]. *Sustainability*, 2019, **11**(11), doi: 10.3390/su11113131.

CONTENTS

Contributors to Air Pollutant Emission Changes in Autumn and Winter in Beijing-Tianjin-Hebei and Surrounding Areas	TANG Qian, ZHENG Bo, XUE Wen-bo, <i>et al.</i> (1591)
Characteristics and Meteorological Factors of Complex Nonattainment Pollution of Atmospheric Photochemical Oxidant (O_x) and $PM_{2.5}$ in the Pearl River Delta Region, China	YAN Feng-hua, CHEN Wei-hua, CHANG Ming, <i>et al.</i> (1600)
Source Apportionment of Ozone Pollution in Guangzhou; Case Study with the Application of Lagrangian Photochemical Trajectory Model	PEI Cheng-lei, MU Jiang-shan, ZHANG Ying-nan, <i>et al.</i> (1615)
Chemical Composition and Source Analysis of $PM_{2.5}$ in Yuncheng, Shanxi Province in Autumn and Winter	ZHAO Qing, LI Xing-ru, WANG Guo-xuan, <i>et al.</i> (1626)
Temporal Trend of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Atmosphere Within 24 Hours After Snowfall	FAN Hui-ze, ZHU Fu-jie, HU Peng-tuan, <i>et al.</i> (1636)
Determination Method and Characteristics of Particle Size Multiplier of $PM_{2.5}$ in Road Dust	LI Dong, CHEN Jian-hua, ZHANG Yue-fan, <i>et al.</i> (1642)
Source Profiles and Impact of VOCs Based on Production Processes in Foundry Industries	GAO Shuang, LI Shi-bei, BO Xin, <i>et al.</i> (1649)
Emission Characteristics and Toxicity Effects of Halogenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Coal-Fired and Waste Incineration Power Plants	NI Xiu-feng, WANG Ru-wei, CAI Fei-xuan, <i>et al.</i> (1660)
Concentration and Particle Size Distribution Characteristics of Microbial Aerosol and Bacterial Community Structure During Spring in Lanzhou City, China	ZHAO Wei, LI Jie, XIE Hui-na, <i>et al.</i> (1668)
Optimization Method and Case Study of Air Pollution Emission Spatial Pattern	LI Min-hui, LIAO Cheng-hao, CHANG Shu-cheng, <i>et al.</i> (1679)
Influence of $PM_{2.5}$ Pollution on Health Burden and Economic Loss in China	LI Yong, LIAO Qin, ZHAO Xiu-ge, <i>et al.</i> (1688)
Identify the Nitrate Sources in Different Land Use Areas Based on Multiple Isotopes	JIN Zan-fang, HU Jing, WU Ai-jing, <i>et al.</i> (1696)
Hydrochemical Characteristic and Their Controlling Factors in the Yarkant River Basin of Xinjiang	ZHANG Jie, ZHOU Jin-long, ZENG Yan-yan, <i>et al.</i> (1706)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in the Water of Lijiang River Basin	HUANG Hong-wei, XIAO He, WANG Dun-qiu, <i>et al.</i> (1714)
Changes in Concentrations and Pollution Levels of Trace Elements of Floodplain Sediments of Poyang Lake Basin in Recent Twenty Years	LI Kuo, YANG Ke, PENG Min, <i>et al.</i> (1724)
Hydrochemical and Isotopic Characteristics in the Shallow Groundwater of the Fenhe River Basin and Indicative Significance	LIU Xin, XIANG Wei, SI Bing-cheng (1739)
Major Ionic Characteristics and Factors of Karst Groundwater at Huixian Karst Wetland, China	LI Jun, ZOU Sheng-zhang, ZHAO Yi, <i>et al.</i> (1750)
Hydrochemistry Characteristics and Estimation of the Dissolved Inorganic Carbon Flux in the Caohai Lake Wetland Catchment of Guizhou Province	CAO Xing-xing, WU Pan, YANG Shi-di, <i>et al.</i> (1761)
Concentration Levels and Potential Ecological Risks of Current Use Pesticides in the Surface Seawater of Typical Liaoning Sea Areas	DU Jing, HU Chao-kui, XIE Hua-jun, <i>et al.</i> (1772)
Levels, Characteristics, and Potential Source of Micro(meso)plastic Pollution of Soil in Liaohe River Basin	HAN Li-hua, XU Li, LI Qiao-ling, <i>et al.</i> (1781)
PAHs Pollution Characteristics and Source Analysis of Typical Lake and Reservoir Sediments in Jin-Ji-Liao Area	WU Peng, LU Yi-ren, LI Hui, <i>et al.</i> (1791)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Organophosphate Esters in Rivers and Water Body Around Taihu Lake	ZHANG Wen-ping, ZHANG Zhen-fei, GUO Chang-sheng, <i>et al.</i> (1801)
Spatiotemporal Distributions and Ecological Risk Assessments of Typical Antibiotics in Surface Water of Taihu Lake	DING Jian-nan, LIU Shu-jiao, ZOU Jie-ming, <i>et al.</i> (1811)
Characteristics of Volatile Organic Compounds Pollution and Risk Assessment of Nansi Lake in Huaihe River Basin	CHENG Yun-xuan, GAO Qiu-sheng, LI Jie, <i>et al.</i> (1820)
Distribution, Source, and Ecological Risk Evaluation of the PAHs and PCBs in the Sediments from Sanya River	ZHAN Yong, WEI Ting-ting, YE Hui-bin, <i>et al.</i> (1830)
Spatiotemporal Change and Source Apportionment of Non-point Source Nitrogen and Phosphorus Pollution Loads in the Three Gorges Reservoir Area	LI Ming-long, JIA Meng-dan, SUN Tian-cheng, <i>et al.</i> (1839)
Effect of the Combined Use of Denitrifying Bacteria, Calcium Nitrate, and Zirconium-Modified Zeolite on the Mobilization of Nitrogen and Phosphorus in Sediments and Evaluation of Its Nitrate-Nitrogen Releasing Risk	XIN Hui-min, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui (1847)
Combined Remediation of Eutrophic Water by Phoslock® and Aerobic Denitrifying Bacteria	LI Bing-tang, ZHOU Zhi-qin, Ravi Naidu, <i>et al.</i> (1861)
Biodegradation of Algae-derived Organic Matter (I-DOM) from Lake Taihu	ZHANG Qiao-ying, SUN Wei, DU Ying-xun, <i>et al.</i> (1870)
Structure Characteristics and Driving Variables of Epilithic Algae Community in Lhasa River Basin of Qinghai-Tibet Plateau	WEI Jun-wei, LI Hong-ran, WANG Xing-zhong, <i>et al.</i> (1879)
Spectral Characteristics and Sources of Dissolved Organic Matter from Landscape River During Flood Season in Suzhou Based on EEMs and UV-vis	HE Jie, ZHU Xue-hui, WEI Bin, <i>et al.</i> (1889)
Adsorption and Desorption Behaviors of Antibiotics on TWP and PVC Particles Before and After Aging	FAN Xiu-lei, ZOU Ye-feng, LIU Jia-qiang, <i>et al.</i> (1901)
Synthesis of Magnetic Iron Modifying Biochar for Ammonia Nitrogen Removal from Water	WANG Fang-jun, SANG Qian-qian, DENG Ying, <i>et al.</i> (1913)
Seasonal Effects of Influent Ammonia Oxidizing Bacteria of Municipal Wastewater Treatment Plants on Activated Sludge System	YU Li-fang, WANG Yu, HUA Si-si, <i>et al.</i> (1923)
Analysis of Performance and Microbial Diversity of ANAMMOX Sludge Based on Particle Size Differentiation	WANG Xiao-tong, YANG Hong (1930)
Effects of Chlorine Dioxide Disinfection on the Profile of the Super Antibiotic Resistance Genes in a Wastewater Treatment Plant	CHENG Chun-yan, LI Hai-bei, LIANG Yong-bing, <i>et al.</i> (1939)
Effects of PES and 2,4-DCP on the Extracellular Polymeric Substances and Microbial Community of Anaerobic Granular Sludge	LIN Xu-meng, SU Cheng-yuan, WU Shu-min, <i>et al.</i> (1946)
Characteristics of Sludge and Associated Risk Assessment of Urban Sewage Treatment Plants	LI Juan, LI Jin-xiang, YANG Yan-yan (1956)
Effects of Climate Warming on the Key Process and Index of Black Soil Carbon and Nitrogen Cycle During Freezing Period	WANG Zi-long, LIU Chuan-xing, JIANG Qiu-xiang, <i>et al.</i> (1967)
Effects of Combined Application of Biogas Slurry and Straw on the Migration and Fractions of Soil Heavy Metals in Rice-wheat Rotation System in Coastal Reclamation Areas	WANG Wei, ZHOU Jun-nan, TANG Yi-fan, <i>et al.</i> (1979)
Geochemical Survey Method of Land Quality in Land Parcel Scale City: A Case Study of the Initial Area of the Xiong'an New District	ZHOU Ya-long, GUO Zhi-juan, LIU Fei, <i>et al.</i> (1989)
Potential Ecological Risk Assessment and Source Analysis of Heavy Metals in Soil-crop System in Xiong'an New District	ZHOU Ya-long, YANG Zhi-bin, WANG Qiao-lin, <i>et al.</i> (2003)
Cadmium Accumulation Characteristics and Impacting Factors of Different Rice Varieties Under Paddy Soils with High Geological Backgrounds	DAI Zi-wen, FANG Cheng, SUN Bin, <i>et al.</i> (2016)
Effects of Different Exogenous Selenium Species Application on Growth and Cadmium Uptake of Pak Choi in Cadmium Contaminated Soil	LIU Yang, QI Ming-xing, WANG Min, <i>et al.</i> (2024)
Influencing Factors of Cadmium Bioaccumulation Factor in Crops	CHEN Jie, WANG Juan, WANG Yi-wen, <i>et al.</i> (2031)
Effects of Different Exogenous Plant Hormones on the Antioxidant System and Cd Absorption and Accumulation of Rice Seedlings Under Cd Stress	ZHANG Sheng-nan, HUANG Yi-zong, LI Yan, <i>et al.</i> (2040)
Effects of Different Organic Materials on Absorption and Translocation of Arsenic and Cadmium in Rice	LI Kai-ye, ZHAO Ting-ting, CHEN Jia, <i>et al.</i> (2047)
Soil Fungal Community Structure and Functional Diversity in a Copper Tailing Dam and Its Surrounding Areas	CHEN Jian-wen, ZHANG Hong, LI Jun-jian, <i>et al.</i> (2056)
Potential of Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Biochar, and Combined Amendment on Sandy Soil Improvement Driven by Microbial Community	ZHANG Zhe-chao, YANG Jiu-yang, HAO Bai-hui, <i>et al.</i> (2066)
Animal Manure Fertilization Promotes Antibiotic Resistance Gene Dissemination Among Manure, Soil, and Vegetables	ZHANG Hong-na, DONG Meng-jie, ZHOU Yu-fa, <i>et al.</i> (2080)
Establishment and Application of Performance Evaluation and Obstacle Diagnosis Model for Regional Water Ecological Civilization Construction	WAN Bing-tong, BAO Xue-ying, ZHAO Jian-chang, <i>et al.</i> (2089)