

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

冠状病毒气溶胶传播及环境影响因素

李雪, 蒋靖坤, 王东滨, 邓建国, 贺克斌, 郝吉明



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2021年7月

第42卷 第7期

Vol.42 No.7

目次

冠状病毒气溶胶传播及环境影响因素 李雪, 蒋靖坤, 王东滨, 邓建国, 贺克斌, 郝吉明 (3091)

新冠肺炎疫情期间气象条件和排放变化对 PM_{2.5} 的影响 逯世泽, 史旭荣, 薛文博, 雷宇, 严刚 (3099)

基于网格的长三角 PM_{2.5} 分布影响因素及交互效应 黄小刚, 赵景波, 辛未冬 (3107)

ARIMA 时间序列分析模型在臭氧浓度中长期预报中的应用 李颖若, 韩婷婷, 汪君霞, 权维俊, 何迪, 焦热光, 吴进, 郭恒, 马志强 (3118)

中国长三角背景点冬季大气棕碳污染特征及来源解析 赵宇, 吴灿, 王益倩, 陈玉宝, 吕少君, 汪芳琳, 杜伟, 刘仕杰, 丁志健, 王格慧 (3127)

四川盆地 PM_{2.5} 浓度时空变化特征遥感监测与影响因子分析 李梦真, 张廷斌, 易桂花, 秦岩宾, 李景吉, 刘贤, 蒋杰 (3136)

河网连续动态模型构建及其在典型杀虫剂时空迁移模拟中的应用 邢成, 张芊芊, 蔡雅雅, 烟晓婷, 应光国 (3147)

九龙江流域河流氮输出对土地利用模式和水文状况的响应 黄亚玲, 黄金良 (3156)

滇池近岸水体微塑料污染与富营养化的相关性 袁海英, 侯磊, 梁启斌, 李佳琛, 任甲 (3166)

白洋淀夏季入淀区沉积物间隙水-上覆水水质特征及交换通量分析 张甜娜, 周石磊, 陈召莹, 张紫薇, 孙悦, 姚波, 崔建升, 李再兴, 罗晓 (3176)

镇江市古运河和金山湖河湖上覆水体和沉积物氮及有机质分布特征及污染评价 原璐彬, 邢书语, 刘鑫, 周晓红, Adelaide Angela Dadzie (3186)

洪湖国际重要湿地沉积物磷空间分布特征及释放风险 刘永九, 黄素珍, 张璐, 彭雪, 张心怡, 葛芳杰, 刘碧云, 吴振斌 (3198)

苏州古城区域河道底泥的重金属污染分布及生态风险评价 白冬锐, 张涛, 包峻松, 陈坦, 王洪涛, 金曦, 金军, 杨婷 (3206)

武汉集中式饮用水源地土壤重金属的时空分布特征及生态风险评价 朱静, 侯耀宗, 邹书成, 曹梦华, 涂书新 (3215)

升金湖河湖交汇区地表-地下水水化学特征及成因分析 崔玉环, 王杰, 刘友存, 郝洸, 高祥 (3223)

青岛市农区地下水硝态氮污染来源解析 寇馨月, 丁军军, 李玉中, 毛丽丽, 李巧珍, 徐春英, 郑欠, 庄姗 (3232)

三峡库区支流浮游植物群落稳定性及其驱动因子分析 何书晗, 欧阳添, 赵璐, 纪璐璐, 杨安琪, 施军琼, 吴忠兴 (3242)

哈尔滨城市河网丰水期浮游植物群落分布特征及驱动因子 路枫, 李磊, 齐青松, 陆欣鑫, 刘妍, 范亚文 (3253)

湖泊沉积物中微生物群落对天然有机质输入的响应 居琪, 章奇, 曹驰程, 白雷雷, 张晖 (3263)

补给水质与社会活动对白洋淀湿地微生物的影响特征 赵志瑞, 吴会清, 毕玉方, 展庆周, 吴海淼, 袁凯悦, 孟祥源, 李方红 (3272)

蓝藻衰亡过程中上覆水溶解性有机物变化特征 李翔, 李致春, 汪旋, 张思远, 王慧敏, 厉荣强, 王国祥, 李启蒙 (3281)

长江下游快速城市化地区水污染特征及源解析:以秦淮河流域为例 马小雪, 龚畅, 郭加汛, 王腊春, 徐蕴韵, 赵春发 (3291)

长江下游居民区降水地表径流的污染特征 郭文景, 张志勇, 闻学政, 张瀚文, 王岩 (3304)

潮河流域降雨径流事件污染物输出特征 包鑫, 江燕, 胡羽聪 (3316)

不透水地表粗糙度对城市面源颗粒物的累积和冲刷影响 单溪环, 谢文霞, 廖云杰, 房志达, 杨晓晶, 苏静君, 赵洪涛, 李叙勇 (3328)

基于概率方法的中国居民饮水途径暴露健康风险评估 秦宁, 刘运炜, 侯荣, 王彩云, 王贝贝, 段小丽 (3338)

蛋白类有机质在水厂各处理单元中的去除特性 李梦雅, 宋钰莹, 张晓岚, 黄海鸥 (3348)

污水处理厂不同单元工艺水中重金属及其纳米颗粒的分布 王杜珈, 何帅, 周小霞 (3358)

基于宏基因组技术分析 MBR 膜清洗后污泥中抗性基因 杜彩丽, 李中涵, 李晓光, 张列宇, 陈素华, 黎佳茜, 李曹乐 (3366)

石化废水处理厂中耐药菌和耐药基因的分布特征与去除效能解析 唐振平, 肖莎莎, 段毅, 刘迎九, 高媛媛, 吴月月, 陈怡雯, 周帅 (3375)

一段式亚硝化厌氧氨氧化 SMBBR 处理中低浓度氨氮废水 吕恺, 邵贤明, 王康舟, 姚雪薇, 彭党聪, 韩芸 (3385)

外加固体缓释碳源的两段反硝化工艺脱氮性能 唐义, 马邕文, 王金泉, 王艳, 叶刚 (3392)

臭氧投量对 SBR 系统污泥沉降性能及脱氮除磷的影响 吕永涛, 朱传首, 张旭阳, 徐超, 潘永宝, 刘爽, 崔双科, 王磊 (3400)

间歇梯度曝气下首段延时厌氧强化好氧颗粒污泥脱氮除磷 张玉君, 李冬, 王敬鑫, 张富国, 张杰 (3405)

提盐速率对序批式生物反应器性能和微生物群落结构的影响 古柏铭, 金春姬, 温淳, 侯金源, 赵阳国, 高孟春 (3413)

低温驯化对自养脱氮颗粒污泥功能活性与菌群结构的影响分析 钱飞跃, 刘雨馨, 王建芳, 刘文如 (3422)

矿渣基改性剂对城市污泥重金属稳定化 张发文, 董明坤, 陈辰慧, 赵长民 (3430)

2000~2018 年长三角土地利用变化对农田生态系统氨排放的影响 王文锦, 王卿, 朱安生, 黄凌, 顾莹, 王杨君, 王敏, 李莉 (3442)

麦秸水热炭及其改良产物对水稻产量和稻田氨挥发排放的影响 韩晨, 侯朋福, 薛利红, 冯彦房, 余姗, 杨林章 (3451)

水肥管理对热带地区双季稻田 CH₄ 和 N₂O 排放的影响 李金秋, 邵晓辉, 缙广林, 邓艺欣, 谭诗敏, 徐文娟, 杨秋, 刘文杰, 伍延正, 孟磊, 汤水荣 (3458)

耐盐碱水稻土壤产甲烷菌群落特征及产甲烷途径 杨雨虹, 贺惠, 米铁柱, 刘玥腾, 刘佳音, 张国栋, 李明月, 甄毓 (3472)

铁碳微电解填料对人工湿地温室气体排放的影响 赵仲婧, 郝庆菊, 涂婷婷, 胡曼利, 张尧钰, 江长胜 (3482)

农地土壤重金属 Pb 和 Cd 有效性测定方法的筛选与评价 陈莹, 刘汉焱, 刘娜, 蒋珍茂, 魏世强 (3494)

亚热带高山森林土壤典型重金属的空间分布格局及其影响因素:以云南哀牢山为例 刘旭, 王训, 王定勇 (3507)

深圳市不同土类的重金属环境背景值与理化性质特征 林挺, 赵述华, 郝秀平, 杨坤, 吴静雅, 朱艳, 罗飞 (3518)

同步钝化土壤 Cd 和 As 材料的筛选 周嗣江, 刘针延, 熊双莲, 马烁, 黄倚豪, 雷寅, 曹梦华, 涂书新 (3527)

两种铁基材料对污染农田土壤砷、铅、镉的钝化修复 袁峰, 唐先进, 吴骥子, 赵科理, 叶正钱 (3535)

青藏高原东缘冻土中有机磷酸酯的污染特征 刘丽娅, 印红玲, 蹇林洁, 徐子文, 熊远明, 罗怡, 刘小雯, 徐维新 (3549)

成都平原氮磷化肥施用强度空间分布及影响因素分析 刘奇鑫, 王昌全, 李冰, 赵海岚, 方红艳, 邓茜, 李启权 (3555)

土壤中溶解性有机质对不同类型堆肥的响应差异 席北斗, 王燕, 檀文炳, 余红, 崔东宇, 程东会, 党秋玲 (3565)

《环境科学》征订启事(3315) 《环境科学》征稿简则(3357) 信息(3391, 3441, 3564)

基于宏基因组技术分析 MBR 膜清洗后污泥中抗性基因

杜彩丽^{1,2}, 李中宏^{1,3}, 李晓光^{1*}, 张列宇^{1*}, 陈素华³, 黎佳茜¹, 李曹乐¹

(1. 中国环境科学研究院国家环境保护地下水污染模拟与控制重点实验室, 北京 100012; 2. 同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092; 3. 南昌航空大学江西省持久性污染物控制与资源循环利用重点实验室, 南昌 330063)

摘要: 污水处理厂作为抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)的重要储存库,是自然界 ARGs 的主要来源之一。膜生物反应器(membrane bioreactor, MBR)被认为是一种能够有效去除污水处理厂中 ARGs 的技术工艺。MBR 膜截留的废水中胶体、颗粒物、悬浮物及微生物代谢物中存在着大量的病原菌与抗性基因,而目前关于膜清洗后污泥中抗性基因的分布特征和规律尚不明确。本文采用宏基因组技术对 MBR 膜清洗后污泥中抗性基因进行了分析。结果显示,膜清洗后污泥中共检测出 39 门,其中优势菌门为 Proteobacteria、Nitrospirae 和 Actinobacteria,优势菌属为 *Nitrospira*、*Pseudomonas* 和 *Bradyrhizobium*。污泥样品含有的病原菌属占所有菌属的 10.54%,其中 *Pseudomonas* 属相对丰度最高,占到所有菌属的 3.94%。样品中共注释出 17 类 ARGs 和 16 类金属抗性基因(metal resistance genes, MRGs, 15 类单金属抗性基因和 1 类多重金属抗性基因)。其中,多药类抗生素抗性基因相对丰度最高,占 49.08%。金属抗性基因中多重金属类抗性基因相对丰度最高,占该污泥样品的 34.58%,单金属抗性基因中对铜的抗性基因数量最多,占 19.99%。该膜清洗后污泥中微生物群落最主要的功能通路为代谢相关,并存在大量与人类疾病相关的代谢通路相关基因,其中涉及细菌耐药和细菌传染疾病的基因数量最多,分别为占人类疾病相关的代谢通路已注释序列的 34.50% 和 16.62%。由此可见,膜清洗后污泥中蕴藏着丰富的 ARGs、MRGs 以及病原菌属,具有潜在的环境健康风险,需要加强对膜清洗后污泥中 ARGs、MRGs 以及病原菌的管控。本文为选择合适的技术工艺有效去除膜清洗后污泥中 ARGs、MRGs 以及病原菌提供指导。

关键词: 膜生物反应器(MBR); 污泥; 抗生素抗性基因(ARGs); 金属抗性基因(MRGs); 宏基因组学
中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)07-3366-09 DOI: 10.13227/j.hjkk.202010106

Metagenomic Analysis of Resistance Genes in Membrane Cleaning Sludge

DU Cai-li^{1,2}, LI Zhong-hong^{1,3}, LI Xiao-guang^{1*}, ZHANG Lie-yu^{1*}, CHEN Su-hua³, LI Jia-xi¹, LI Cao-le¹

(1. State Environmental Protection Key Laboratory of Simulation and Control of Groundwater Pollution, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China; 3. Key Laboratory of Jiangxi Province for Persistent Pollutants Control and Resources Recycle, Nanchang Hangkong University, Nanchang 330063, China)

Abstract: Wastewater treatment plants (WWTPs) are considered important reservoirs of antibiotic resistance genes (ARGs) and function as the main sources of ARGs in the environment. Membrane bioreactors (MBRs) have been recognized as effective tools for removing ARGs in WWTPs. There are a large number of pathogens and resistance genes in colloids, particulate matter, suspended matter, and microbial metabolites in intercepted wastewater by MBR. However, the distribution characteristics of resistance genes in membrane cleaning sludge remains unclear. In this study, resistance genes of membrane cleaning sludge were analyzed using a metagenomic technique. The results showed that there were 39 phyla in the membrane cleaning sludge. Proteobacteria, Nitrospirae, and Actinobacteria were the dominant phyla. The dominant genera were *Nitrospira*, *Pseudomonas*, and *Bradyrhizobium*. The pathogens accounted for 10.54% of all bacteria in the sample, among which *Pseudomonas* had the highest abundance, accounting for 3.94%. A total of 17 types of antibiotic resistance genes and 16 types of metal resistance genes (MRGs) (15 types of single metal resistance genes and 1 types of multi-heavy metal resistance gene) were identified. Multidrug resistance genes had the highest abundance, accounting for 49.08%. Multi-heavy metal resistance genes were the most abundant, accounting for 34.58%. The copper resistance genes were the most abundant of the single metal resistance genes, accounting for 19.99%. The most important functional pathway of microbial community in the membrane cleaning sludge was metabolic related, and many genes identified were related to human diseases. The numbers of genes related to bacterial resistance and bacterial infectious diseases were the largest, accounting for 34.50% and 16.62%, respectively. These results indicate that there were abundant ARGs, MRGs, and pathogens in the membrane cleaning sludge, which has potential environmental health risks. It is necessary to strengthen the control of ARGs, MRGs, and pathogens in membrane cleaning sludge to provide guidance for selecting appropriate technologies for effectively removing ARGs, MRGs, and pathogens.

Key words: membrane bioreactor (MBR); sludge; antibiotic resistance genes (ARGs); metal resistance genes (MRGs); metagenomic technique

收稿日期: 2020-10-18; 修订日期: 2020-12-10

基金项目: 国家重点研发计划项目(2020YFD1100101)

作者简介: 杜彩丽(1994~),女,博士研究生,主要研究方向为环境微生物学, E-mail: aquaducl@163.com

* 通信作者, E-mail: xgli1982@163.com; zhangly@craes.org.cn

近年来, 抗生素在人类生活、畜牧业养殖和农业种植等领域广泛使用, 导致抗生素在废水、河流、湖泊及土壤等不同环境介质中出现不同程度的残留, 致使抗生素耐药细菌 (antibiotic resistance bacteria, ARB) 和抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 迅速繁殖和增加^[1]. 有研究表明, ARGs 不会随着宿主细胞的死亡而消失, 其能够在脱氧核糖核酸酶的保护下继续生存, 可以整合到可移动遗传元件 (mobile genetic elements) 中, 通过基因水平转移 (horizontal gene transfer) 在物种间传播耐药性^[2,3]. ARGs 丰度的增加会降低用于疾病治疗的抗生素效力, 对人类和动物健康造成了极大威胁^[4]. 抗生素耐药性的广泛传播和不断进化已成为一个全球关注的健康问题.

污水处理厂是 ARGs 的重要储存库, 也是环境中 ARGs 的重要传播源. 目前, 已在污水处理厂中检测到氨基糖甙类、 β -内酰胺酶和喹诺酮类等多种 ARGs^[5]. 而且污水处理厂也存在着高浓度土著微生物和抗生素, 持续性对 ARGs 和 ARB 造成选择性压力^[6], 导致 ARGs 在细菌间不断交换和重组. 同时, 污水处理厂中的微生物群落亦携带着对宿主具有重要功能的多种基因质粒^[7], 如抗生素抗性、重金属抗性^[8]、生物降解^[9]和毒力因子^[10]. 除此之外, ARGs 与污水处理厂中重金属的含量显著相关, 较低浓度的重金属有助于 ARGs 的扩散^[11], 重金属亦会对重金属抗性基因 (metal resistance genes, MRGs) 造成选择性压力, 增加其扩散和传播的风险^[12]. 由此可见, 污水处理厂是向自然环境排放 ARGs 的重要途径^[13], 亦是阻止 ARGs 传播的一个关键因素^[14].

污水处理厂可以通过多种污水处理工艺过程去除 ARGs^[15]. 膜生物反应器 (membrane bioreactor, MBR) 是一种由膜分离单元与生物处理单元相结合的新型处理技术, 具有占地面积小, 污泥产量低等特点, 被广泛应用于城市污水和工业废水处理中^[16]. 与传统污水处理工艺相比, MBR 可更有效地降低污水处理厂中的 ARGs^[17,18]. Li 等^[17]的研究发现 MBR 能够有效地去除 *ermB*、*sulI* 和 *intI* ($10^{6.39} \sim 10^{7.79}$ copies·mL⁻¹) 等 ARGs, 其去除值在 1.5 ~ 7.3 个数量级, 比传统工艺高出 0.8 ~ 3.4 个数量级. 但随着 MBR 的长期运行, 膜过滤过程中会截留污水中的胶体、颗粒物、悬浮物及微生物代谢物等污染物, 导致膜分离过滤效率下降^[19], 造成 MBR 膜中大量病原菌和抗性基因的积累, 必须对 MBR 膜进行定期清理. 目前, 关于 MBR 膜清洗后污泥上富集的微生物、病原菌以及抗性基因的分布特征鲜见报道. 本研究采用宏基因组技术, 系统开展膜清洗后污泥中微生

物群落结构组成和抗性基因分析, 以期为膜处理工艺后污泥中抗性基因的管控和去除提供理论和数据支持.

1 材料与方法

1.1 样品采集

本实验污泥样品取自北京市某生活污水处理厂, 该厂污水处理量为 10 万 t·d⁻¹, 主体工艺为 A²O-MBR, 废水经过处理后用于中水回用. 取膜组件高压水枪清洗过程中脱离污泥, 用 50 mL 无菌离心管分装后于 -4℃ 低温冷藏, 当日即进行基因组 DNA 提取.

1.2 基因组提取

采用 FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, CA, USA) 试剂盒完成污泥基因组 DNA 抽提, 而后利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提基因组 DNA 的质量与完整性. 采用 Qubit 2.0 荧光光谱仪 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) 检测 PCR 扩增后 DNA 的产量和纯度. 基因组 DNA 样品用于冰保藏并立即送往上海美吉生物医药科技有限公司进行测序.

1.3 生物信息学分析

采用 Illumina HiSeq 4000 平台进行 PE150 双端测序, 使用 Trimmomatic^[20] 对原始测序数据进行质量控制, 采用 Kraken2^[21] 法对污泥样品在门 (phylum)、纲 (class) 和属 (genus) 这 3 个层级开展微生物群落组成分析. 应用 USEARCH (accel ≤ 0.5 , e-value $\leq 10^{-5}$) 和 BlastX (alignment length 25 aa, amino acids $\geq 80\%$ 和 evalue $1e^{-5}$) 与 SARG 抗生素抗性基因数据库进行对比注释^[22], 对注释后的数据按照 SARG 抗生素抗性基因数据库分类成不同的 ARGs 类型以及亚型. 采用 BacMet 对宏基因组测序中 MRGs 进行注释^[23]. ARGs 和 MRGs 的相对丰度采用每百万条 reads 中 ARGs 和 MRGs reads 数量进行标准化.

采用基于 De Bruijn graph 的 SOAPdenovo (version 1.06)^[24] 软件, 组装质控后的 reads, 仅将大于 500 bp 的 scaffold 片段用于下一步分析; 采用 MetaGene^[25] 对组装后的序列预测开放阅读框 (ORFs); 采用 CD-HIT^[26] 来获得非冗余基因; 采用 SOAPaligner 软件将保留的 clean read 与基因库进行比对, 以计算匹配的数目. 通过去除含有少于 3 个 mapped reads 映射片段的基因类别来获得 unigene, 采用 DIAMOND 软件 (blastp, evalue $\leq 10^{-5}$) 将 unigene 对应的蛋白序列在 KEGG^[27] 数据库中进行比对, 分析该样本宏基因组序列的基因功能. 采用 Origin 2018 进行数据绘图.

2 结果与讨论

2.1 膜清洗后污泥中微生物群落结构

污泥样品测序数据经过质量控制后,得到 5.01 GB 数据,获得 82 276 572 条 reads. 用 Kraken2 软件进行注释,统计样本在门水平、纲水平及属水平上的微生物群落组成(图 1). 研究表明,细菌域是膜清洗后污泥中主要微生物类群,占比 99.27%,古细菌域占比 0.73%. 污泥样品中共检测到 39 个门,丰度前十的优势菌门分别为 Proteobacteria(69.48%)、Nitrospirae(13.73%)、Actinobacteria(10.94%)、Firmicutes(1.31%)、Bacteroidetes(1.15%)、

Planctomycetes(0.77%)、Euryarchaeota(0.70%)、Chloroflexi(0.39%)、Cyanobacteria(0.27%)和 Acidobacteria(0.26%). 其中,变形菌门(Proteobacteria)是最优势菌门,在污水处理厂有机物和营养物去除中发挥着重要作用,这与其他学者研究结果一致^[28]. 硝化螺旋菌门(Nitrospirae)为活性污泥中的主要细菌类群,能够有效氧化亚硝酸盐^[29];放线菌门(Actinobacteria)是一类与污泥膨胀有关的细菌^[30],丰度达到 10.94%;上述细菌菌门在污水处理厂中均发挥着重要作用,其中变形菌门和放线菌门是多种 ARGs 的主要宿主^[1,31,32],其他 7 个优势菌群丰度在 0.2%~1.5%之间.

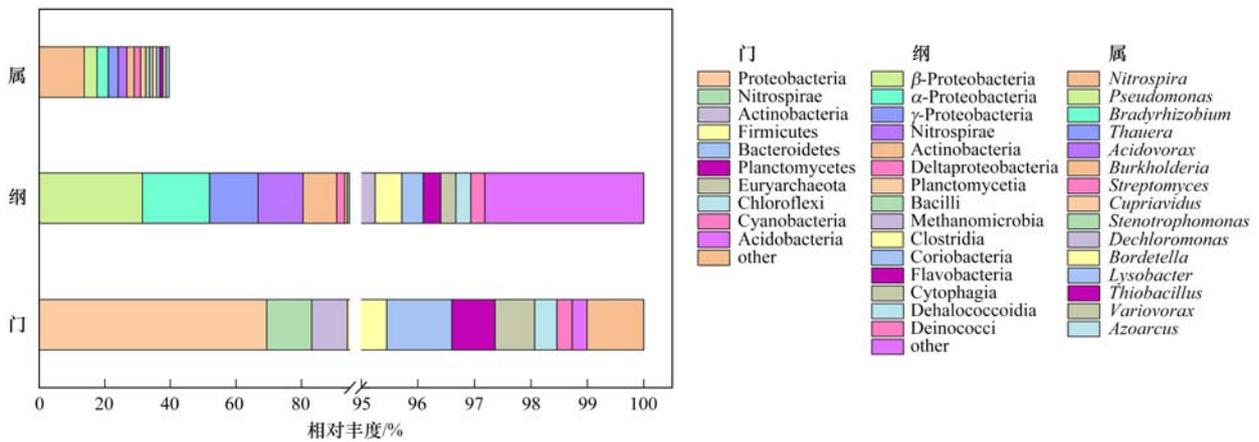


图 1 膜清洗后污泥在门、纲和属水平上微生物群落结构

Fig. 1 Microbial community structure in the membrane cleaning sludge at the phylum, class, and genus level

污泥样品中共检测到 79 个纲,丰度前十的优势纲分别为 β -Proteobacteria(31.51%)、 α -Proteobacteria(20.51%)、 γ -Proteobacteria(14.82%)、Nitrospirae(13.73%)、Actinobacteria(10.27%)、Deltaproteobacteria(2.46%)、Planctomycetia(0.72%)、Bacilli(0.69%)、Methanomicrobia(0.53%)和 Clostridia(0.47%). 其中 β -Proteobacteria、 α -Proteobacteria 和 γ -Proteobacteria 均属于变形菌门,是主要的耐药菌,能够降解硝酸盐和亚硝酸盐^[33], β -Proteobacteria 是一类与氮循环显著相关的细菌,在医药废水处理厂中数量最多^[34], γ -Proteobacteria 在反硝化和除磷中起着重要作用^[35].

污泥样品中共检测到 1 143 种属,丰度前十的优势属分别为 Nitrospira(13.73%)、Pseudomonas(3.93%)、Bradyrhizobium(3.42%)、Thauera(3.05%)、Acidovorax(2.64%)、Burkholderia(2.22%)、Streptomyces(1.97%)、Cupriavidus(1.60%)、Stenotrophomonas(1.12%)和 Dechloromonas(1.08%). Nitrospira 是废水处理过程中常见的亚硝酸盐氧化菌(nitrite oxidizing

bacteria)^[36]. Lückner 等^[37]的研究发现从活性污泥中富集的 Nitrospira 携带着包含四环素在内的多种 ARGs. Liu 等^[38]的研究结果也表明 Nitrospira 与四环素耐药基因呈正相关,因此 Nitrospira 可能会促进废水处理过程中四环素类抗性基因的增加.

32 种膜清洗后污泥中病原菌属(VFDB 数据库收录)相对丰度取对数后如图 2 所示.除 Shigella 属外,其他病原菌属均在该样本中被检测出,病原菌属占检测到的所有菌属的 10.54%,其中 Pseudomonas 属、Burkholderia 属和 Bordetella 属是该污泥样品中的主要病原菌属,占比分别达到 3.94%、2.22%和 1.04%. Pseudomonas 属广泛分布在水和土壤等环境介质中^[39],且含有临床上重要的病原菌 Pseudomonas aeruginosa. 该菌是一种典型的革兰氏阴性条件致病菌,Ringen 和 Drake 调查结果发现在土壤样本中 Pseudomonas aeruginosa 含量仅有 3%,而在污水中含量达到 90%,表明人的粪便和污水是 Pseudomonas aeruginosa 的主要栖息地^[40]. 该病原菌可以通过人类接触引起血液、肺部(肺炎)或身体其他部位的感染,是医院感染的重要源头之一.

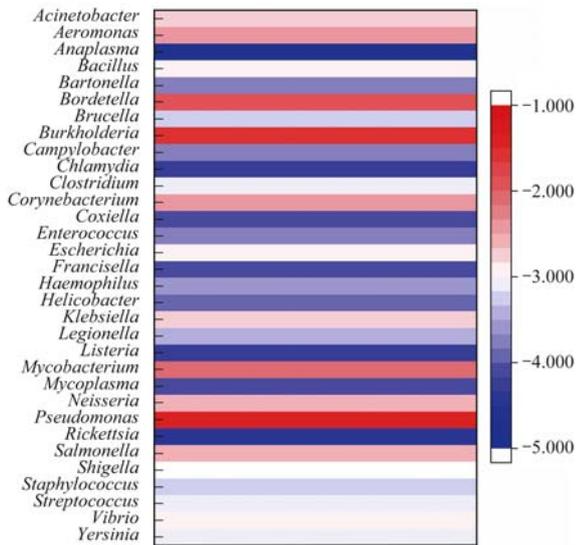


图2 基于样本中病原菌属相对丰度取 \log_{10} 的热图

Fig. 2 Heat map based on the \log_{10} of the relative abundance of pathogenic genera in samples

2.2 膜清洗后污泥中抗生素抗性基因种类及丰度

污水处理厂接收来自城市居民、屠宰场和医院等各种废水,这些废水均可能含有各种抗生素。如 Li 等^[41]在污水处理厂水样中检测出高浓度的磺胺类和四环素类抗生素。环境中高浓度的抗生素可促进抗生素耐药性^[42]。并且长期暴露于低浓度抗生素及中间产物也会促进 ARB 和 ARGs 的产生和传播^[43]。在此过程中,由于抗生素选择性压力持续存在,进而刺激了细菌代谢和 ARB 的扩散^[44,45]。本样品经生物信息学分析共注释出 17 类 ARGs [包括 unclassified, 图 3(a)] 和 174 种 ARGs, 包括多药类 (multidrug, 49.08%, 46 种亚型)、杆菌肽类 (bacitracin, 11.72%, 1 种亚型)、大环内酯类 (macrolide-lincosamide-streptogramin, 10.89%, 18 种亚型)、磺胺类 (sulfonamide, 10.29%, 4 种亚型)、磷霉素类 (Fosmidomycin, 4.26%, 2 种亚型)、氨基糖苷类 (aminoglycoside, 3.45%, 19 种亚型)、四环素类 (tetracycline, 2.98%, 16 种亚型)、unclassified (2.45%, 3 种亚型)、 β -内酰胺类 (β -lactam, 2.14%, 41 种亚型)、万古霉素类 (vancomycin, 0.85%, 5 种亚型)、利福霉素 (rifamycin, 0.70%, 1 种亚型)、氯霉素类 (chloramphenicol, 0.49%, 7 种亚型)、多粘菌素类 (polymyxin, 0.25%, 2 种亚型)、喹诺酮类 (quinolone, 0.22%, 2 种亚型)、甲氧苄啶类 (trimethoprim, 0.20%, 5 种亚型)、嘌呤霉素类 (puromycin, 0.02%, 1 种亚型) 和 春雷霉素类 (kasugamycin, 0.01%, 1 种亚型)。多药类抗生素抗性基因相对丰度最高, 达到 $44.78 \times 10^{-3}\%$, 其中杆菌肽类抗生素抗性基因 *bacA* 相对丰度最高, 达到了

$11.41 \times 10^{-3}\%$ 。

污水处理厂常见的 ARGs 包括磺胺类、四环素类、万古霉素类、喹诺酮类、甲氧苄啶类、和大环内酯类^[46,47], 在膜清洗后污泥中均检测到上述 ARGs [图 3(b)、3(c) 和 3(d)]。其中磺胺类中 60% 的抗性基因是 *sulI*, 相对丰度达到 $6.00 \times 10^{-3}\%$ 。四环素类抗性基因共检测出 16 类, *tetC* 相对丰度最高, 达到 $8.4 \times 10^{-4}\%$, 占比 31%。万古霉素类抗性基因中 *vanR* 相对丰度最高, 为 $5.8 \times 10^{-4}\%$ 。喹诺酮类共检测出 2 种抗性基因, 分别是 *qepA* 和 *abaQ*, 相对丰度分别是 $2.1 \times 10^{-4}\%$ 和 $1 \times 10^{-5}\%$ 。甲氧苄啶类相对丰度均较低, 其中 *dfrB2* 最高, 为 $7 \times 10^{-5}\%$ 。大环内酯类共检测出 18 种亚型, 其中 *macB* 相对丰度最高, 占比 69%。Wang 等^[48]的研究表明 MBR 可有效降解废水中 61.8% ~ 77.5% 的抗生素, 其中 22.5% ~ 38.2% 的抗生素被 MBR 中污泥吸附。因此, 膜清洗后污泥中含有较高浓度的抗生素, 促进 ARGs 的产生与传播。此外, 病原体中普遍存在和传播的 ARGs, 特别是多药类抗生素抗性基因, 可能对人类生命健康及环境微生物群落进化造成严重后果^[49]。而且在当前的医疗手段中由于病原体引起的感染, 如 multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* 和 *Acinetobacter baumannii*, 是无法使用抗生素进行治疗的^[50]。虽然经过 MBR 工艺处理废水后, ARGs 相对丰度有所下降, 但只是从水体转移到污泥中, 导致膜清洗后脱落污泥中的 ARGs 在不断富积和繁殖^[18]。因此 MBR 膜清洗后污泥中蕴藏着丰富的 ARGs, 存在潜在的环境健康风险, 需要对膜清洗后污泥加强管控。

2.3 膜清洗后污泥中金属抗性基因

该污泥样品质控后的宏基因组数据经过 BacMet 软件与金属抗性数据库进行比对, BacMet 数据库包含 23 种金属类型, 470 个经实验证实的抗性基因, 此外还包含从公共序列库收集的 25 477 个潜在抗性基因。膜清洗污泥中 MRGs 类别及相对丰度如图 4 所示。该污泥样品中共检测出 16 类 MRGs 和 156 种 MRGs, 其中包括 1 类多重金属抗性基因 (As-Sb、Cd-Zn、Cd-Zn-Co、Cd-Zn-Hg、Cd-Zn-Ni、Cr-Te-Se、Co-Cd-Ni、Co-Mg、Co-Ni、Co-Ni-Fe、Cu-Co、Cu-Au、Cu-Ni-Zn、Cu-Ag、Cu-Zn、Fe-Ga、Fe-Mn、Fe-Ni、Pb-Cd-Zn、Mg-Co-Ni-Mn、Mn-Cd、Mn-Fe-Cd-Co-Zn、Mn-Fe-Co-Zn-Ni-Cu-Cd-Ga、Mn-Mg、Mn-Zn、Mo-W-V、Ni-Cd-Pb、Ni-Cd-Zn-Co、Ni-Co、Ni-Co-Cd、Ni-Co-Zn、Ni-Zn、Te-Cu、W-Mo、Zn-Cd、Zn-Fe-Co-Ni-Cu-Cd、Zn-Pb、Zn-Mn-Fe、Zn-Hg 和 Zn-Te) 和 15 类单金属抗性基因 (Al、As、Cd、Cr、Co、Cu、Au、Fe、Pb、Hg、Ni、Ag、Te、W 和 Zn)。

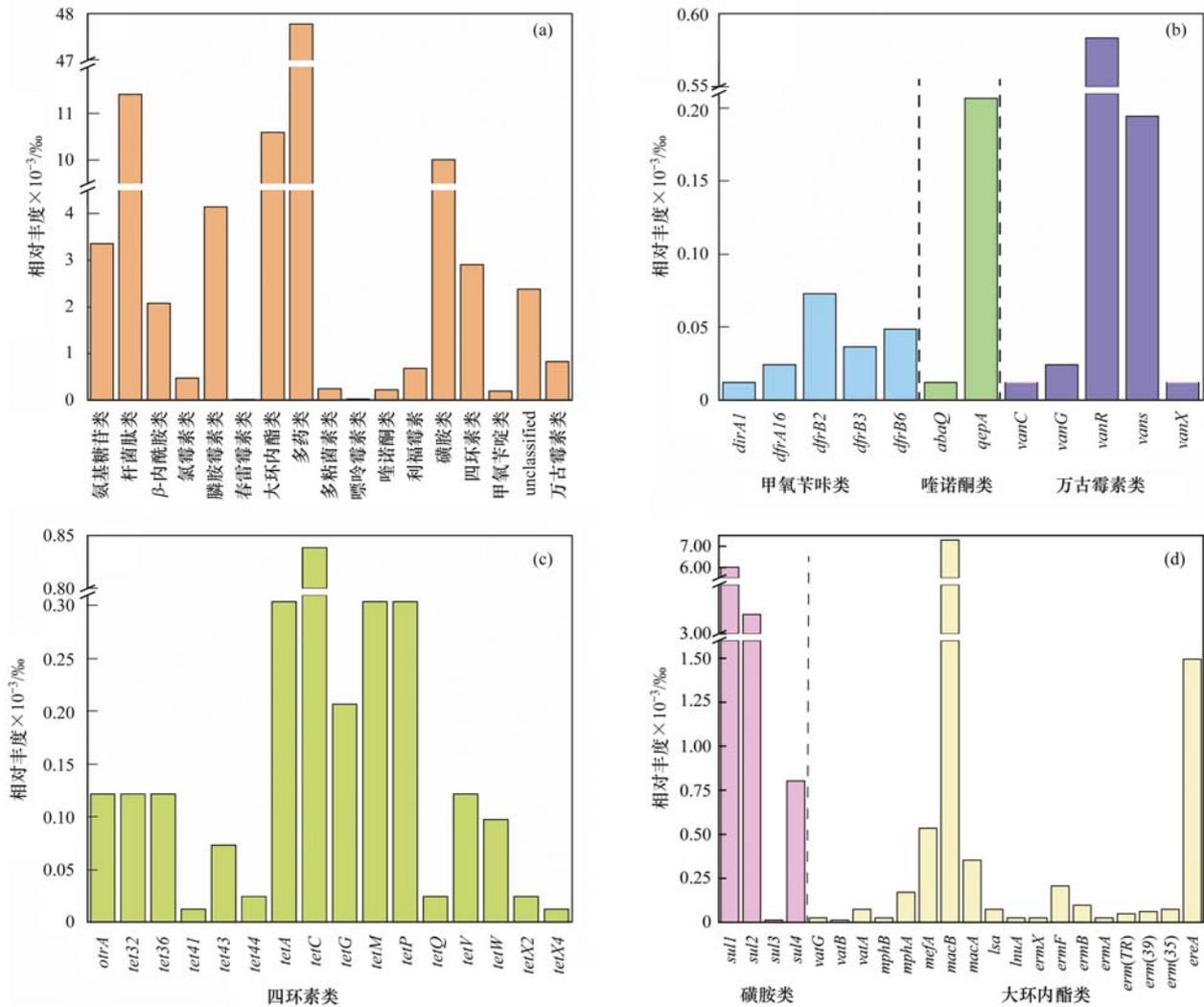


图3 膜清洗后污泥中抗生素抗性基因相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of different ARGs in membrane cleaning sludge

多重金属类抗性基因在 16 类金属抗性基因中相对丰度最高,相对丰度达到了 $171.55 \times 10^{-3}\%$,占该样本总金属抗性基因的 34.58%. 在 156 种 MRGs 中,多重金属类抗性基因 *ruvB* (Cr-Te-Se) 相对丰度最高,达到 $43.07 \times 10^{-3}\%$. 其次为 Cu 金属抗性基因 *copF* 和 Fe 金属抗性基因 *acn*,相对丰度分别达到了 $39.72 \times 10^{-3}\%$ 和 $34.88 \times 10^{-3}\%$,分别占样本金属抗性基因的 8.68% 和 8.01%.

单金属抗性基因中 Cu 和 As 的相对丰度最高,分别达到了 $99.18 \times 10^{-3}\%$ 和 $79.15 \times 10^{-3}\%$,分别占样本金属抗性基因的 19.99% 和 15.95%. 其中 Cu 的抗性基因共有 25 种,包括 *copF*、*cop-unnamed*、*copB*、*copR*、*cutO*、*ctpV*、*copS*、*copG*、*ctpG*、*corR*、*copC*、*copP*、*mmcO*、*copZ*、*mctB*、*ricR*、*csoR*、*copY*/*trY*、*trB*、*pcoA*、*copD*、*trA*、*copJ*、*copM* 和 *corS*; As 的抗性基因共有 16 种,包括 *arrA*、*acr3*、*arsM*、*pstB*、*arsT*、*aioA/aoxB*、*arsC*、*pstC*、*arsH*、*aioB/aoxA*、*pstA*、*arrB*、*aioE*、*aioR/aoxR*、*pstS* 和 *arsD*; Au

(*golS*) 的单金属抗性基因相对丰度最低,仅为 $2.4 \times 10^{-5}\%$.

在所有检测到的 MRGs 中,由于 Zn、Cu 和 Co 等金属离子是微生物所必需的营养物质,因此这些离子的抗性基因在环境中广泛传播. 但当其浓度高时具有毒性^[51],会对环境以及人类造成严重危害. 同时 Cu、As、Zn 和 Cr 等重金属也具有抗菌和促生长作用^[52,53],常常会被添加到动物的饲料中,以提高养殖动物的抵抗力^[54],但动物对这些金属添加剂吸收率极低,其中 95% 通过动物粪便和尿液排泄,造成养殖废水中重金属含量较高^[55]. 而重金属的广泛使用会导致废水中 MRGs 丰度的增加,特别是在处理养殖废水的污水处理厂^[56]. 除此之外,化工、冶金和钢铁等工业废水中也残留着高浓度的重金属. 有研究表明,重金属会对 ARGs 的丰度有显著影响,并且 ARGs 和 MRGs 会编码在细菌类群上相同的转座子和/或质粒上^[57]. ARGs 和 MRGs 的共生也表明当有重金属存在时会促进 ARGs 的传播和繁殖,而

且在废水中金属浓度通常要比抗生素高出 2~3 个数量级,可能极大地促进了抗生素耐药性的传播^[58].有细菌门类如 Firmicutes、Proteobacteria 和 Actinobacteria 也与不同种类 ARGs 和 MRGs 呈正相关,而这些细菌极可能是 ARGs 和 MRGs 的潜在宿主^[59].

2.4 膜清洗后污泥中微生物群落功能注释

采用 DIAMOND 软件与获得的 unigene 与 KEGG 数据库进行比对,基于 KEGG 数据库注释的膜清洗后污泥微生物群落功能基因分布如图 5 所示.结果显示,膜清洗后污泥中微生物群落功能基因共分为 6 个大类和 46 个小类.在 6 个大类中,与微生物菌群的功能通路相关基因数量依次为代谢>环境信息系统>细胞过程>遗传信息处理>人类疾病>生物系统.其中,代谢相关是最重要的功能通路,占到注释序列的 67.87%,其次为环境信息系统和细

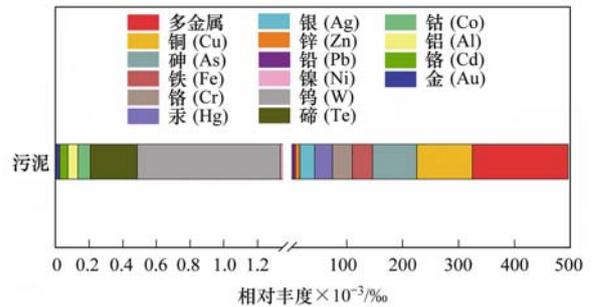


图 4 膜清洗污泥中金属抗性基因类别及相对丰度
Fig. 4 Types and relative abundance of metal resistance gene in membrane cleaning sludge

胞过程,分别占已注释序列的 9.84% 和 7.68%.在代谢类别的功能分类中,丰度高低顺序依次为氨基酸代谢>其他次生代谢物生物合成>碳水化合物代谢>能量代谢>多糖生物合成与代谢>脂质代谢>辅助因子和维生素代谢>其他氨基酸代谢>核苷和

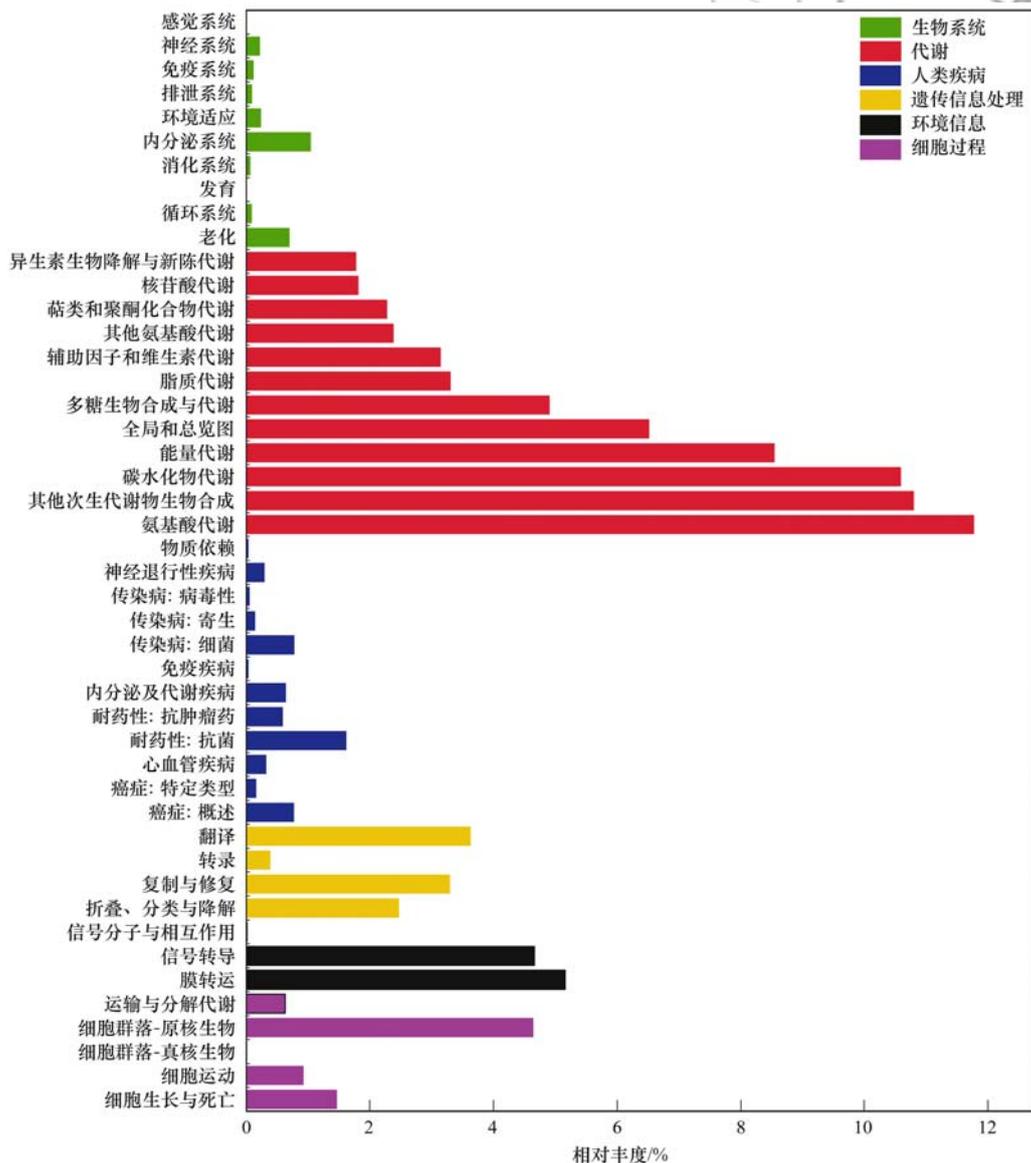


图 5 基于 KEGG 数据库注释的膜清洗后污泥微生物群落功能基因分布

Fig. 5 Distribution of genes according to functional classes annotated with KEGG database in membrane cleaning sludge

聚酮化合物代谢 > 核苷酸代谢 > 异生素生物降解与新陈代谢。其中,氨基酸代谢是代谢通路中的主要途径,占注释序列比重最大,为 11.77%。其次是其他次生代谢物生物合成和碳水化合物代谢,分别占注释序列比重的 10.80% 和 10.59%。环境信息系统类别的功能分类中微生物群落丰度依次为:膜转运 > 信号转导 > 信号分子与相互作用,其中膜转运是最主要的部分,占已注释序列的 5.16%,信号分子与相互作用相对较少,仅占已注释序列的 0.01%。

人类疾病类别功能通路相关基因的相对丰度为 4.70%,在与人类疾病相关的代谢通路中,涉及细菌耐药和细菌传染疾病的基因数量最多,分别为占人类疾病相关的代谢通路已注释序列的 34.50% 和 16.62%。膜清洗后污泥中细菌耐药的通路涉及到 3 类,相对丰度依次为 β -内酰胺类耐药 > 阳离子抗菌肽耐药 > 万古霉素耐药, β -内酰胺类耐药基因相对丰度最高,达到 45.42%; 细菌传染疾病的通路涉及到 10 类,相对丰度依次为结核病 > 军团杆菌病 > 百日咳 > 幽门螺杆菌感染中的上皮细胞信号转导 > 沙门氏菌感染 > 上皮细胞的细菌入侵 > 金黄色葡萄球菌感染 > 霍乱弧菌感染 > 志贺氏菌病 > 致病性大肠杆菌感染。其中,最主要的传染病为结核病,占细菌传染疾病通路的 36.93%,其次为军团杆菌病和百日咳,相对丰度分别为 35.73% 和 10.63%; 其余涉及细菌传染病的通路,如幽门螺杆菌感染中的上皮细胞信号转导、沙门氏菌感染、上皮细胞的细菌入侵、金黄色葡萄球菌感染、霍乱弧菌感染、志贺氏菌病和致病性大肠杆菌感染的相对丰度均在 10% 以下(图 6)。因此根据功能注释结果,膜清洗后污泥中最主要的功能通路为代谢相关,该结果与其他研究报道相符^[59-61]。如 Lin 等^[60]通过使用 PICRUSt 软件预测在不同重金属(Pb、Hg 和 As)胁迫下微生物群落功能通路,结果表明代谢是最主要的功能通路,占比约 42.61%~46.35%,并且与对照组相比,重金属胁迫下其相对丰度有所上升。Wang 等^[59]的研究结果也表明在两个不同处理工艺的污水处理厂,代谢是主要的功能通路,占 52.52%~59.37%。此外在本

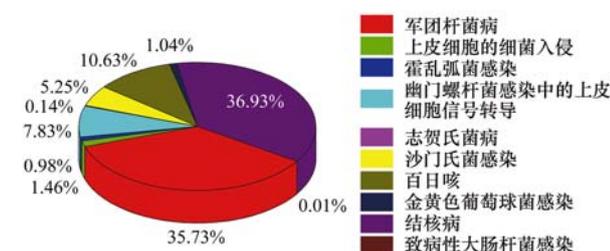


图 6 膜清洗后污泥中细菌感染疾病相关功能基因分布

Fig. 6 Distribution of genes related to bacterial infectious diseases in membrane cleaning sludge

研究中微生物还存在着细菌耐药和细菌感染性疾病等多种与人类疾病相关的基因,因此污水处理厂特别是通过膜处理清洗后污泥会富集多种病原菌属,可以通过食物链进入到人体,进而对人类健康造成威胁。

3 结论

(1)膜清洗后污泥中微生物群落结构中细菌域是最主要的微生物类群,优势菌门分别为 Proteobacteria、Nitrospirae 和 Actinobacteria,优势菌纲分别为 β -Proteobacteria、 α -Proteobacteria 和 γ -Proteobacteria,优势菌属分别为 *Nitrospira*、*Pseudomonas* 和 *Bradyrhizobium*。污泥样本含有的病原菌属占有菌属的 10.54%,其中 *Pseudomonas* 属相对丰度最高,占到所有菌属的 3.94%。

(2)膜清洗后污泥中共注释出 17 类 ARGs 和 174 种 ARGs,其中多药类抗生素抗性基因丰度最高,达到 $44.78 \times 10^{-3}\%$ 。在 174 种抗生素抗性基因中杆菌肽类抗生素抗性基因 *bacA* 相对丰度最高,为 $11.41 \times 10^{-3}\%$ 。

(3)膜清洗后污泥中共注释出 1 类多重金属抗性基因和 15 类单金属抗性基因,其中多重金属类抗性基因相对丰度最高,达到了 $171.55 \times 10^{-3}\%$ 。单金属抗性基因中对 Cu 相对丰度最高,达到了 $99.18 \times 10^{-3}\%$ 。

(4)膜清洗后污泥中微生物群落最主要的功能通路为代谢相关,且存在细菌耐药和细菌感染性疾病等多种与人类疾病相关的基因。

参考文献:

- [1] Guo J H, Li J, Chen H, et al. Metagenomic analysis reveals wastewater treatment plants as hotspots of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements[J]. Water Research, 2017, **123**: 468-478.
- [2] Zhang J, Lin H, Ma J W, et al. Compost-bulking agents reduce the reservoir of antibiotics and antibiotic resistance genes in manures by modifying bacterial microbiota[J]. Science of the Total Environment, 2019, **649**: 396-404.
- [3] Yang Y Y, Li Z, Song W J, et al. Metagenomic insights into the abundance and composition of resistance genes in aquatic environments: Influence of stratification and geography[J]. Environment International, 2019, **127**: 371-380.
- [4] Berendonk T U, Manaia C M, Merlin C, et al. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework[J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, **13**(5): 310-317.
- [5] Rizzo L, Manaia C, Merlin C, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review[J]. Science of the Total Environment, 2013, **447**: 345-360.
- [6] Di Cesare A, Eckert E M, D'Urso S, et al. Co-occurrence of integrase 1, antibiotic and heavy metal resistance genes in municipal wastewater treatment plants[J]. Water Research,

- 2016, **94**: 208-214.
- [7] Schlüter A, Szczepanowski R, Kurz N, *et al.* Erythromycin resistance-conferring plasmid pRSB105, isolated from a sewage treatment plant, harbors a new macrolide resistance determinant, an integron-containing Tn402-like element, and a large region of unknown function[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(6): 1952-1960.
- [8] Yang Y, Jiang X T, Zhang T. Evaluation of a hybrid approach using UBLAST and BLASTX for metagenomic sequences annotation of specific functional genes[J]. *PLoS One*, 2014, **9**(10), doi: 10.1371/journal.pone.0110947.
- [9] Ma J Y, Quan X C, Yang Z F, *et al.* Biodegradation of a mixture of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid and multiple chlorophenols by aerobic granules cultivated through plasmid pJP4 mediated bioaugmentation [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2012, **181-182**: 144-151.
- [10] Mnif B, Harhour H, Jdidi J, *et al.* Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Tunisia and characterization of their virulence factors and plasmid addiction systems[J]. *BMC Microbiology*, 2013, **13**(1), doi: 10.1186/1471-2180-13-147.
- [11] Knapp C W, McCluskey S M, Singh B K, *et al.* Antibiotic resistance gene abundances correlate with metal and geochemical conditions in archived Scottish soils[J]. *PLoS One*, 2011, **6**(11), doi: 10.1371/journal.pone.0027300.
- [12] Selvam A, Xu D L, Zhao Z Y, *et al.* Fate of tetracycline, sulfonamide and fluoroquinolone resistance genes and the changes in bacterial diversity during composting of swine manure [J]. *Bioresource Technology*, 2012, **126**: 383-390.
- [13] 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.
- [14] Breazeal M V R, Novak J T, Vikesland P J, *et al.* Effect of wastewater colloids on membrane removal of antibiotic resistance genes[J]. *Water Research*, 2013, **47**(1): 130-140.
- [15] Yang Y, Li B, Ju F, *et al.* Exploring variation of antibiotic resistance genes in activated sludge over a four-year period through a metagenomic approach[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **47**(18): 10197-10205.
- [16] Rehman Z U, Fortunato L, Cheng T Y, *et al.* Metagenomic analysis of sludge and early-stage biofilm communities of a submerged membrane bioreactor [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **701**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134682.
- [17] Li B, Qiu Y, Li J, *et al.* Removal of antibiotic resistance genes in four full-scale membrane bioreactors[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, **653**: 112-119.
- [18] 姚鹏城, 陈嘉瑜, 张永明, 等. 抗生素抗性基因在生活及工业混合废水处理系统中的分布和去除[J]. *生态毒理学报*, 2020, **15**(1): 201-208.
- Yao P C, Chen J Y, Zhang Y M, *et al.* Distribution and removal of antibiotic resistance genes in municipal and industrial mixed wastewater treatment systems [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2020, **15**(1): 201-208.
- [19] 付翠彦, 张光辉, 顾平. 膜生物反应器在污水处理中的研究应用进展[J]. *水处理技术*, 2009, **35**(5): 1-6.
- Fu C Y, Zhang G H, Gu P. Development of membrane bioreactors application in wastewater treatment[J]. *Technology of Water Treatment*, 2009, **35**(5): 1-6.
- [20] Bolger A M, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data [J]. *Bioinformatics*, 2014, **30**(15): 2114-2120.
- [21] Wood D E, Lu J, Langmead B. Improved metagenomic analysis with Kraken 2 [J]. *Genome Biology*, 2019, **20**(1), doi: 10.1186/s13059-019-1891-0.
- [22] Yin X L, Jiang X T, Chai B L, *et al.* ARGs-OAP v2.0 with an expanded SARG database and Hidden Markov Models for enhancement characterization and quantification of antibiotic resistance genes in environmental metagenomes [J]. *Bioinformatics*, 2018, **34**(13): 2263-2270.
- [23] Pal C, Bengtsson-Palme J, Rensing C, *et al.* BacMet: antibacterial biocide and metal resistance genes database [J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, **42**(D1): D737-D743.
- [24] Luo R B, Liu B H, Xie Y L, *et al.* SOAPdenovo2: an empirically improved memory-efficient short-read *de novo* assembler [J]. *GigaScience*, 2012, **1**(1), doi:10.1186/2047-217X-1-18.
- [25] Noguchi H, Park J, Takagi T. MetaGene: prokaryotic gene finding from environmental genome shotgun sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, **34**(19): 5623-5630.
- [26] Li W Z, Godzik A. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences [J]. *Bioinformatics*, 2006, **22**(13): 1658-1659.
- [27] Mitra S, Rupek P, Richter D C, *et al.* Functional analysis of metagenomes and metatranscriptomes using SEED and KEGG [J]. *BMC Bioinformatics*, 2011, **12**(1), doi: 10.1186/1471-2105-12-S1-S21.
- [28] Vasiliadou I A, Molina R, Martinez F, *et al.* Toxicity assessment of pharmaceutical compounds on mixed culture from activated sludge using respirometric technique: The role of microbial community structure [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **630**: 809-819.
- [29] Gilbert E M, Agrawal S, Brunner F, *et al.* Response of different *Nitrospira* species to anoxic periods depends on operational DO [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(5): 2934-2941.
- [30] Kragelund C, Remesova Z, Nielsen J L, *et al.* Ecophysiology of mycolic acid-containing *Actinobacteria* (Mycolata) in activated sludge foams [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, **61**(1): 174-184.
- [31] Ye L, Zhang T, Wang T T, *et al.* Microbial structures, functions, and metabolic pathways in wastewater treatment bioreactors revealed using high-throughput sequencing [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(24): 13244-13252.
- [32] Sun Y M, Shen Y X, Liang P, *et al.* Multiple antibiotic resistance genes distribution in ten large-scale membrane bioreactors for municipal wastewater treatment [J]. *Bioresource Technology*, 2016, **222**: 100-106.
- [33] Lin Y, Zhang T. Bacterial communities in different sections of a municipal wastewater treatment plant revealed by 16S rDNA 454 pyrosequencing [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(6): 2681-2690.
- [34] Ahn Y, Choi J. Bacterial communities and antibiotic resistance communities in a full-scale hospital wastewater treatment plant by high-throughput pyrosequencing [J]. *Water*, 2016, **8**(12), doi: 10.3390/w8120580.
- [35] Yoshie S, Makino H, Hirosawa H, *et al.* Molecular analysis of halophilic bacterial community for high-rate denitrification of saline industrial wastewater [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, **72**(1): 182-189.

- [36] 李慧莉, 武彩云, 唐安平, 等. 不同污泥在微波预处理-厌氧消化过程中抗性基因分布及菌群结构演替[J]. 环境科学, 2021, **42**(1): 323-332.
Li H L, Wu C Y, Tang A P, *et al.* Occurrence of antibiotic resistance genes and bacterial community structure of different sludge samples during microwave pretreatment-anaerobic digestion [J]. Environmental Science, 2021, **42**(1): 323-332.
- [37] Lückner S, Wagner M, Maixner F, *et al.* A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, **107**(30): 13479-13484.
- [38] Liu H, Sun H F, Zhang M, *et al.* Dynamics of microbial community and tetracycline resistance genes in biological nutrient removal process [J]. Journal of Environmental Management, 2019, **238**: 84-91.
- [39] Crone S, Vives-Flórez M, Kvich L, *et al.* The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. APMIS, 2020, **128**(3): 220-231.
- [40] Ringen L M, Drake C H. A study of the incidence of *Pseudomonas aeruginosa* from various natural sources [J]. Journal of Bacteriology, 1952, **64**(6): 841-845.
- [41] Li J N, Cheng W X, Xu L K, *et al.* Occurrence and removal of antibiotics and the corresponding resistance genes in wastewater treatment plants: effluents' influence to downstream water environment [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, **23**(7): 6826-6835.
- [42] Kristiansson E, Fick J, Janzon A, *et al.* Pyrosequencing of antibiotic-contaminated river sediments reveals high levels of resistance and gene transfer elements [J]. PLoS One, 2011, **6**(2), doi: 10.1371/journal.pone.0017038.
- [43] Brown K D, Kullis J, Thomson B, *et al.* Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico [J]. Science of the Total Environment, 2006, **366**(2-3): 772-783.
- [44] Sabri N A, Schmitt H, Van Der Zaan B, *et al.* Prevalence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a wastewater effluent-receiving river in the Netherlands [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2020, **8**(1), doi: 10.1016/j.jece.2018.03.004.
- [45] Gullberg E, Cao S, Berg O G, *et al.* Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations [J]. PLoS Pathogens, 2011, **7**(7), doi: 10.1371/journal.ppat.1002158.
- [46] Pazda M, Kumirska J, Stepnowski P, *et al.* Antibiotic resistance genes identified in wastewater treatment plant systems—a review [J]. Science of the Total Environment, 2019, **697**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134023.
- [47] 颜亚玮, 於驰晟, 李菲菲, 等. 某市污水厂抗生素和抗生素抗性基因的分布特征 [J]. 环境科学, 2021, **42**(1): 315-322.
Xie Y W, Yu C S, Li F F, *et al.* Distribution characteristics of antibiotics and antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants [J]. Environmental Science, 2021, **42**(1): 315-322.
- [48] Wang S, Ma X X, Liu Y L, *et al.* Fate of antibiotics, antibiotic-resistant bacteria, and cell-free antibiotic-resistant genes in full-scale membrane bioreactor wastewater treatment plants [J]. Bioresource Technology, 2020, **302**, doi: 10.1016/j.biortech.2020.122825.
- [49] Levy S B, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses [J]. Nature Medicine, 2004, **10**(12): S122-S129.
- [50] McGowan Jr J E. Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: multidrug resistance to the maximum [J]. American Journal of Infection Control, 2006, **34**(5 Suppl 1): S29-S37.
- [51] Ji G Y, Silver S. Bacterial resistance mechanisms for heavy metals of environmental concern [J]. Journal of Industrial Microbiology, 1995, **14**(2): 61-75.
- [52] Hölzel C S, Müller C, Harms K S, *et al.* Heavy metals in liquid pig manure in light of bacterial antimicrobial resistance [J]. Environmental Research, 2012, **113**: 21-27.
- [53] Deka R S, Mani V, Kumar M, *et al.* Chromium supplements in the feed for lactating Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*): influence on nutrient utilization, lactation performance, and metabolic responses [J]. Biological Trace Element Research, 2015, **168**(2): 362-371.
- [54] Zhang F S, Li Y, Yang M, *et al.* Content of heavy metals in animal feeds and manures from farms of different scales in northeast China [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2012, **9**(8): 2658-2668.
- [55] Xiong W G, Zeng Z L, Zhang Y N, *et al.* Fate of metal resistance genes in arable soil after manure application in a microcosm study [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, **113**: 59-63.
- [56] Li A D, Li L G, Zhang T. Exploring antibiotic resistance genes and metal resistance genes in plasmid metagenomes from wastewater treatment plants [J]. Frontiers in Microbiology, 2015, **6**, doi: 10.3389/fmicb.2015.01025.
- [57] Summers A O. Generally overlooked fundamentals of bacterial genetics and ecology [J]. Clinical Infectious Diseases, 2002, **34**(S3): S85-S92.
- [58] Stepanauskas R, Glenn T C, Jagoe C H, *et al.* Coselection for microbial resistance to metals and antibiotics in freshwater microcosms [J]. Environmental Microbiology, 2006, **8**(9): 1510-1514.
- [59] Wang J B, Li X, Zhou Z W, *et al.* Bacterial communities, metabolic functions and resistance genes to antibiotics and metals in two saline seafood wastewater treatment systems [J]. Bioresource Technology, 2019, **287**, doi: 10.1016/j.biortech.2019.121460.
- [60] Lin H, Jiang L T, Li B, *et al.* Screening and evaluation of heavy metals facilitating antibiotic resistance gene transfer in a sludge bacterial community [J]. Science of the Total Environment, 2019, **695**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.133862.
- [61] 陈红玲, 张兴桃, 王晴, 等. 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 [J]. 环境科学, 2020, **41**(1): 313-320.
Chen H L, Zhang X T, Wang Q, *et al.* Metagenomic analysis of antibiotic resistant bacteria and resistance genes in a pharmaceutical and chemical wastewater treatment plant [J]. Environmental Science, 2020, **41**(1): 313-320.

CONTENTS

Transmission of Coronavirus via Aerosols and Influence of Environmental Conditions on Its Transmission	LI Xue, JIANG Jing-kun, WANG Dong-bin, <i>et al.</i> (3091)
Impacts of Meteorology and Emission Variations on PM _{2.5} Concentration Throughout the Country During the 2020 Epidemic Period	LU Shi-ze, SHI Xu-rong, XUE Wen-bo, <i>et al.</i> (3099)
Factors and Their Interaction Effects on the Distribution of PM _{2.5} in the Yangtze River Delta Based on Grids	HUANG Xiao-gang, ZHAO Jing-bo, XIN Wei-dong (3107)
Application of ARIMA Model for Mid- and Long-term Forecasting of Ozone Concentration	LI Ying-ruo, HAN Ting-ting, WANG Jun-xia, <i>et al.</i> (3118)
Pollution Characteristics and Sources of Wintertime Atmospheric Brown Carbon at a Background Site of the Yangtze River Delta Region in China	ZHAO Yu, WU Can, WANG Yi-qian, <i>et al.</i> (3127)
Spatio-temporal Variation Characteristics Monitored by Remotely Sensed Technique of PM _{2.5} Concentration and Its Influencing Factor Analysis in Sichuan Basin, China	LI Meng-zhen, ZHANG Ting-bin, YI Gui-hua, <i>et al.</i> (3136)
Construction of Continuous Dynamic Model for River Networks and Its Application in Simulation of Spatiotemporal Migration of Typical Biocides	XING Cheng, ZHANG Qian-qian, CAI Ya-ya, <i>et al.</i> (3147)
Response of Riverine Nitrogen Exports to Land Use Pattern and Hydrological Regime in the Jiulong River Watershed	HUANG Ya-ling, HUANG Jin-liang (3156)
Correlation Between Microplastics Pollution and Eutrophication in the Near Shore Waters of Dianchi Lake	YUAN Hai-ying, HOU Lei, LIANG Qi-bin, <i>et al.</i> (3166)
Analysis of Water Quality and Exchange Flux of Interstitial Water-Overlying Water in Sediments of Baiyangdian Entrance Area in Summer	ZHANG Tian-na, ZHOU Shi-lei, CHEN Zhao-ying, <i>et al.</i> (3176)
Distribution Characteristics and Pollution Evaluation of Nitrogen and Organic Matter in Overlying Water and Sediment of Guyun River and Jinshan Lake in Zhenjiang City	YUAN Lu-bin, XING Shu-yu, LIU Xin, <i>et al.</i> (3186)
Spatial Distribution Characteristics of Phosphorus Fractions and Release Risk in Sediments of Honghu International Importance Wetland	LIU Yong-jiu, HUANG Su-zhen, ZHANG Lu, <i>et al.</i> (3198)
Pollution Distribution and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in River Sediments from the Ancient Town of Suzhou	BAI Dong-rui, ZHANG Tao, BAO Jun-song, <i>et al.</i> (3206)
Spatio-temporal Distribution Characteristic and Risk Assessment of Heavy Metals in Soils Around Centralized Drinking Water Sources in Wuhan	ZHU Jing, HOU Yao-zong, ZOU Shu-cheng, <i>et al.</i> (3215)
Hydro-chemical Characteristics and Ion Origin Analysis of Surface Groundwater at the Shengjin Lake and Yangtze River Interface	CUI Yu-huan, WANG Jie, LIU You-cun, <i>et al.</i> (3223)
Identifying the Sources of Groundwater NO ₃ ⁻ -N in Agricultural Region of Qingdao	KOU Xin-yue, DING Jun-jun, LI Yu-zhong, <i>et al.</i> (3232)
Analysis of Phytoplankton Community Stability and Influencing Factors in a Tributary of the Three Gorges Reservoir	HE Shu-han, OUYANG Tian, ZHAO Lu, <i>et al.</i> (3242)
Distribution Characteristics and Influencing Factors of Phytoplankton Community in Harbin Urban River Network During Wet Season	LU Feng, LI Lei, QI Qing-song, <i>et al.</i> (3253)
Response of Microbial Community to Natural Organic Matter Input in Lake Sediments	JU Qi, ZHANG Qi, CAO Chi-cheng, <i>et al.</i> (3263)
Effects of Water Supply Quality and Social Activity on the Microbial Community in Baiyangdian Wetland	ZHAO Zhi-rui, WU Hui-qing, BI Yu-fang, <i>et al.</i> (3272)
Characteristics of Dissolved Organic Matter in Overlying Water During Algal Bloom Decay	LI Xiang, LI Zhi-chun, WANG Xuan, <i>et al.</i> (3281)
Water Pollution Characteristics and Source Apportionment in Rapid Urbanization Region of the Lower Yangtze River: Considering the Qinhuai River Catchment	MA Xiao-xue, GONG Chang, GUO Jia-xun, <i>et al.</i> (3291)
Contamination Characteristics of Surface Runoff in Densely Populated Areas in Downstream Yangtze River, China	GUO Wen-jing, ZHANG Zhi-yong, WEN Xue-zheng, <i>et al.</i> (3304)
Characteristics of Pollutant Dynamics Under Rainfall-Runoff Events in the Chaohe River Watershed	BAO Xin, JIANG Yan, HU Yu-cong (3316)
Influence of Impervious Surface Roughness on Accumulation and Erosion of Urban Non-Point Source Particles	SHAN Xi-huan, XIE Wen-xia, LIAO Yun-jie, <i>et al.</i> (3328)
Probabilistic Risk Assessment of Arsenic Exposure Through Drinking Water Intake in Chinese Residents	QIN Ning, LIU Yun-wei, HOU Rong, <i>et al.</i> (3338)
Removal Behavior of Protein-like Dissolved Organic Matter During Different Water Treatment Processes in Full-Scale Drinking Water Treatment Plants	LI Meng-ya, SONG Yu-ying, ZHANG Xiao-lan, <i>et al.</i> (3348)
Distribution of Heavy Metals and Their Corresponding Nanoparticles in Different Treatment Unit Processes in the Sewage Treatment Plant	WANG Du-jia, HE Shuai, ZHOU Xiao-xia (3358)
Metagenomic Analysis of Resistance Genes in Membrane Cleaning Sludge	DU Cai-li, LI Zhong-hong, LI Xiao-guang, <i>et al.</i> (3366)
Distribution and Removal of Antibiotic-Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes in Petrochemical Wastewater Treatment Plants	TANG Zhen-ping, XIAO Sha-sha, DUAN Yi, <i>et al.</i> (3375)
Treatment of Medium Ammonium Wastewater by Single-stage Partial Nitrification-ANAMMOX SMBBR	LÜ Kai, SHAO Xian-ming, WANG Kang-zhou, <i>et al.</i> (3385)
Two-Stage Denitrification Process Performance with Solid Slow-Release Carbon Source	TANG Yi, MA Yong-wen, WAN Jin-quan, <i>et al.</i> (3392)
Effect of Ozone Dosage on Sludge Settleability and Biological Nutrient Removal in SBR System	LÜ Yong-tao, ZHU Chuan-shou, ZHANG Xu-yang, <i>et al.</i> (3400)
First Extended Anaerobic Phase Enhanced Nitrogen and Phosphorus Removal by Aerobic Granular Sludge Under Intermittent Gradient Aeration	ZHANG Yu-jun, LI Dong, WANG Xin-xin, <i>et al.</i> (3405)
Effect of Rate of Salinity Increase on the Performance and Microbial Community Structure of Sequencing Batch Reactors	GU Bai-ming, JIN Chun-ji, WEN Chun, <i>et al.</i> (3413)
Effects of Cold Acclimation on the Activity of Autotrophic Nitrogen Removal in Granular Sludge and Its Bacterial Population Structure	QIAN Fei-yue, LIU Yu-xin, WANG Jian-fang, <i>et al.</i> (3422)
Stabilization of Heavy Metals in Municipal Sludge Using a Slag-Based Modifying Agent	ZHANG Fa-wen, DONG Ming-kun, CHEN Chen-hui, <i>et al.</i> (3430)
Role of Land Use Changes on Ammonia Emissions from Agricultural Ecosystems in the Yangtze River Delta Region from 2000 to 2018	WANG Wen-jin, WANG Qing, ZHU An-sheng, <i>et al.</i> (3442)
Effects of Wheat Straw Hydrochar and Its Modified Product on Rice Yield and Ammonia Volatilization from Paddy Fields	HAN Chen, HOU Peng-fu, XUE Li-hong, <i>et al.</i> (3451)
Effects of Water and Fertilization Management on CH ₄ and N ₂ O Emissions in Double-rice Paddy Fields in Tropical Regions	LI Jin-qiu, SHAO Xiao-hui, GOU Guang-lin, <i>et al.</i> (3458)
Community Characteristics of Methanogens and Methanogenic Pathways in Salt-tolerant Rice Soil	YANG Yu-hong, HE Hui, MI Tie-zhu, <i>et al.</i> (3472)
Effect of Ferric-carbon Micro-electrolysis on Greenhouse Gas Emissions from Constructed Wetlands	ZHAO Zhong-jing, HAO Qing-ju, TU Ting-ting, <i>et al.</i> (3482)
Screening and Evaluation of Methods for Determining Available Lead (Pb) and Cadmium (Cd) in Farmland Soil	CHEN Ying, LIU Han-yi, LIU Na, <i>et al.</i> (3494)
Spatial Distribution Trends and Influencing Factors of Typical Heavy Metals in Subtropical Alpine Forest Soils: A Case Study from Ailao Mountain in Yunnan Province	LIU Xu, WANG Xun, WANG Ding-yong (3507)
Environmental Background Values of Heavy Metals and Physicochemical Properties in Different Soils in Shenzhen	LIN Ting, ZHAO Shu-hua, XI Xiu-ping, <i>et al.</i> (3518)
Screening of Amendments for Simultaneous Cd and As Immobilization in Soil	ZHOU Si-jiang, LIU Zhen-yan, XIONG Shuang-lian, <i>et al.</i> (3527)
Simultaneous Immobilization of Arsenic, Lead, and Cadmium in Paddy Soils Using Two Iron-based Materials	YUAN Feng, TANG Xian-jin, WU Ji-zi, <i>et al.</i> (3535)
Pollution Characteristics of Organophosphate Esters in Frozen Soil on the Eastern Edge of Qinghai-Tibet Plateau	LIU Li-ya, YIN Hong-ling, JIAN Lin-jie, <i>et al.</i> (3549)
Analysis of Spatial Distribution and Influencing Factors of Nitrogen and Phosphorus Fertilizer Application Intensity in Chengdu Plain	LIU Qi-xin, WANG Chang-quan, LI Bing, <i>et al.</i> (3555)
Different Responses of Soil Dissolved Organic Matter to Different Types of Compost	XI Bei-dou, WANG Yan, TAN Wen-bing, <i>et al.</i> (3565)