

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

基于碳减排目标与排放标准约束情景的火电大气污染物减排潜力

李辉, 孙雪丽, 庞博, 朱法华, 王圣, 晏培



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2021年12月

第42卷 第12期
Vol.42 No.12

目次(卷终)

基于碳减排目标与排放标准约束情景的火电大气污染物减排潜力	李辉, 孙雪丽, 庞博, 朱法华, 王圣, 晏培 (5563)
汽修行业挥发性有机物排放与控制现状及对策	王海林, 杨涛, 聂磊, 方莉, 张中申, 郝郑平 (5574)
西宁市生物质燃烧源大气污染物排放清单	高玉宗, 姬亚芹, 林孜, 林宇, 杨益 (5585)
新冠疫情期间四川盆地空气质量及影响因素分析	陈军辉, 冯小琼, 李媛, 王书肖 (5594)
基于 iLME + Geoi-RF 模型的四川省 PM _{2.5} 浓度估算	吴宇宏, 杜宁, 王莉, 蔡宏, 周彬, 吴磊, 敖迪 (5602)
《大气污染防治行动计划》后期成都大气 PM _{2.5} 中水溶性无机离子特征	李佳琪, 张军科, 董贵明, 邓嘉琳, 刘子锐, 王跃思 (5616)
洛阳市大气细颗粒物化学组分特征及溯源分析	孙佳侯, 董喆, 李利萍, 刘洋, 陈红阳, 张瑞芹 (5624)
北京市黑碳气溶胶浓度特征及其主要影响因素	曹阳, 安欣欣, 刘保献, 景宽, 王琴, 罗霄旭 (5633)
天津市郊夏季 VOCs 化学特征及其时间精细化的来源解析	王艺璇, 刘保双, 吴建会, 张裕芬, 冯银厂 (5644)
沈阳市挥发性有机物污染特征及反应活性	杜寒冰, 王男, 任万辉, 苏枞枞, 胡建林, 于兴娜 (5656)
典型化工集中区环境空气 SVOCs 污染特征及来源解析	葛祥, 吴健, 高松, 冯加良, 陈俊伟, 张舒惟, 焦正 (5663)
南京毒性挥发性有机化合物夏冬季源解析及健康风险评估	张子金, 林煜棋, 张煜烟, 曹梦瑶, 章炎麟 (5673)
基于排放清单和实地测试的工业 VOCs 排放特征: 以郑州市高新区为例	任何, 卢轩, 刘洋, 尹沙沙, 胡鹤霄 (5687)
我国水性建筑涂料 VOCs 排放特征及其环境影响	高美平, 王海林, 刘文文, 聂磊, 李国昊, 安小栓 (5698)
VOCs 源强不确定性对臭氧生成及污染防治影响的模拟分析	王峰, 汪健伟, 杨宁, 翟菁, 侯灿 (5713)
山东省 O ₃ 时空分布及影响因素分析	张森, 丁椿, 李彦, 王桂霞, 林晶晶, 孟赫, 许杨 (5723)
2020 年成都市典型臭氧污染过程特征及敏感性	钱骏, 徐晨曦, 陈军辉, 姜涛, 韩丽, 王成辉, 李英杰, 王波, 刘政 (5736)
基于高分辨率在线测量的轻型汽油车含氧挥发性有机物排放模型构建	郝钰琦, 袁自冰, 王梦雷, 沙青娥, 杜新悦, 刘元向, 刘学辉, 段乐君, 袁斌, 郑君瑜, 邵敏, 闫宇 (5747)
三重属性的承载力约束下中国水资源利用效率动态演进特征分析	张凯, 吴凤平, 成长春 (5757)
长江流域总氮排放量预测	丁肇慰, 郑华 (5768)
1980~2015 年长江流域净人为氮输入与河流氮输出动态特征	姚梦雅, 胡敏鹏, 陈丁江 (5777)
黄河水环境特征与氮磷负荷时空分布	韩谔, 潘保柱, 陈越, 刘亚平, 侯易明 (5786)
基于氮氧同位素解析不同降雨条件下硝酸盐污染源	邢子康, 余钟波, 衣鹏, 钱睿智, 王嘉毅 (5796)
水源水库真核微生物种群结构季相演替特征	张海涵, 黄鑫, 黄廷林, 刘凯文, 马曼丽, 刘祥, 苗雨甜, 宗容容 (5804)
达里湖表层水体浮游细菌群落结构的夏-冬季节差异	李文宝, 郭鑫, 张博尧, 杜蕾, 田雅楠 (5814)
尾水排放对受纳水体底栖生物膜细菌群落和水溶性有机质的影响机制	王钰涛, 范晨阳, 朱金鑫, 李轶, 王龙飞 (5826)
武汉典型饮用水水源中典型 POPs 污染特征与健康风险评估	张坤峰, 付青, 涂响, 昌盛, 樊月婷, 孙兴滨, 王山军 (5836)
上海沙田湖养殖区及周边水体中氟喹诺酮类抗性基因的分布特征及其与环境因子关系	徐慕, 李世豪, 马巾, 王丽卿, 张玮 (5848)
曝气人工湿地脱除低污染水中氮的影响因素	李琳琳, 李荣涛, 孔维静, 杨苹果, 杜志超, 毕斌, 卢少勇 (5857)
水平潜流人工湿地对畜禽养殖废水中特征污染物的去除	赵伟, 范增增, 杨新萍 (5865)
木屑生物炭对填料土的氮磷吸附及雨水滞留改良影响	孟依柯, 王媛, 汪传跃, 王报 (5876)
黑臭河道中聚乙烯醇/海藻酸钠固定微米沸石粉去除氨氮	魏超, 陈涛, 江桥, 王姝, 邱伟建, 成小英 (5884)
玉米秸秆生物炭对灰钙土吸附金霉素的影响	南志江, 蒋煜峰, 毛欢欢, 梁新茹, 邓雪儒 (5896)
饮用水砂滤池中微生物对微量污染物的降解潜力与途径	周洁, 王东麟, 林慧, 柏耀辉 (5905)
污水分析方法监测城市毒品滥用长期趋势	曹禹, 董小棠, 邵雪婷, 刘琳, 王德高 (5912)
阿奇霉素和铜对活性污泥古菌群落和 ARGs 的胁迫影响及后效应	高玉玺, 李星, 赵君如, 张忠兴, 樊晓燕 (5921)
典型冶炼行业场地土壤重金属空间分布特征及来源解析	李强, 曹莹, 何连生, 王耀峰, 龚成, 何书涵 (5930)
我国焦化场地多环芳烃和重金属分布情况及生态风险评价	王耀峰, 何连生, 姜登岭, 曹莹, 李强, 官健 (5938)
浙江省香榧主产区土壤重金属空间异质性及其生态风险	王敏, 董佳琦, 白龙龙, 张勇, 蒋仲龙, 姜雯雯, 吴家森, 张璐瑶, 方嘉, 傅伟军 (5949)
北方农田镉污染土壤玉米生产阈值及产区划分初探	管伟豆, 郭堤, 王萍, 张增强, 李荣华 (5958)
典型铅锌矿区耕地土壤团聚体重金属含量与农作物含量相关性及其风险评价	强瑞, 李英菊, 罗谦, 陈美凤, 李海燕, 黄先飞, 秦樊鑫 (5967)
雄安新区企业周边农田土壤-作物系统重金属污染风险及累积效应	周亚龙, 王乔林, 王成文, 刘飞, 宋云涛, 郭志娟, 杨志斌 (5977)
铜仁土壤-水稻重金属累积效应与安全种植区划	朱亮亮, 吴勇, 周浪, 唐乐斌, 宋波 (5988)
干湿交替对铈锰改性生物炭固定红壤 As 的影响	黄晓雅, 李莲芳, 朱昌雄, 黄金丽, 吴翠霞, 叶婧 (5997)
铵态氮肥和腐殖酸协同促进孔雀草对土壤中 Cd 的去除	王冰清, 阳琴, 李虹颖, 熊启中, 徐刚, 孙瑞波, 田达, 李军利, 郇建建, 叶新新 (6006)
稻田灌溉河流 CH ₄ 和 N ₂ O 排放特征及影响因素	吴双, 杨蔚桐, 盛扬悦, 方贤滔, 张天睿, 胡靖, 刘树伟, 邹建文 (6014)
节水灌溉和控释肥施用耦合措施对单季稻田 CH ₄ 和 N ₂ O 排放的影响	王永明, 徐永记, 纪洋, 冯彦房 (6025)
有机无机配施下西北旱区麦田土壤 N ₂ O 的排放特征及微生物特性	王楷, 史雷, 马龙, 王书婷, 张然, 郑伟, 李紫燕, 翟丙年 (6038)
不同秸秆还田方式对旱地红壤细菌群落、有机碳矿化及玉米产量的影响	孔培君, 郑洁, 栾璐, 陈紫云, 薛敬荣, 孙波, 蒋瑞霖 (6047)
氮磷添加对盐渍化草地土壤微生物特征的影响	杨建强, 刁华杰, 胡姝姝, 陈晓鹏, 王常慧 (6058)
化肥和有机肥配施生物炭对紫色土壤养分及磷赋存形态的影响	向书江, 余砾, 熊子怡, 罗东海, 王莹燕, 邓正昕, 王子芳, 高明 (6067)
浒苔生物炭与木醋液复配改良碱化土壤效果及提高油菜产量	王正, 孙兆军, Sameh El-Sawy, 王珍, 何俊, 韩磊, 邹本涛 (6078)
《环境科学》第42卷(2021年)总目录	(6091)
《环境科学》征订启事(5593) 《环境科学》征稿简则(5623) 信息(5643, 5835, 5883)	

上海沙田湖养殖区及周边水体中氟喹诺酮类抗性基因的分布特征及其与环境因子关系

徐慕¹, 李世豪¹, 马巾¹, 王丽卿^{1,2}, 张玮^{1,2,3*}

(1. 上海海洋大学农业农村部鱼类营养与环境生态研究中心, 上海 201306; 2. 上海海洋大学水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 3. 上海海洋大学水产与生命学院水生生物系, 上海 201306)

摘要: 集约化水产养殖区常被认为是水体抗生素和抗性基因的主要潜在来源, 然而对该类水体中抗生素和抗性基因污染情况的研究仍相对匮乏. 本文以上海市沙田湖养殖区及周边水体为调查对象, 利用宏基因组学高通量测序技术, 于2020年9月对水体中的氟喹诺酮类抗生素 (fluoroquinolones, FQs) 和氟喹诺酮类抗性基因 (fluoroquinolones antibiotic resistance genes, FQs-ARGs) 的种类和丰度进行了调查, 并利用多元统计分析方法研究了水体理化因子和 FQs 对 FQs-ARGs 的影响. 结果表明, 沙田湖养殖区及周边水体共检测出 5 类耐药机制、共 46 种 FQs-ARGs, 其中各水体共有基因为 44 种. 抗性基因 *mfd* 和 *patA* 在养殖水体和周边水体中均为优势抗性基因, 抗生素抗性基因变异或突变为优势耐药机制. 养殖水体和周边河湖水体、不同养殖品种水体之间 FQs-ARGs 的平均丰度无显著差异 ($P > 0.05$). 偏冗余分析 (pRDA) 表明, 除了诺氟沙星和环丙沙星 2 种抗生素外, 水体电导率 (Spc)、总磷 (TP)、总氮 (TN)、氨氮 (NH_4^+-N)、溶解氧 (DO)、pH 和叶绿素 a (Chl-a) 等环境因子是影响水体中 FQs-ARGs 组成与分布的关键性因子, 且非抗生素因子的总贡献率远高于抗生素.

关键词: 养殖水体; 氟喹诺酮类抗性基因; 环境因子; 宏基因组; 沙田湖养殖区

中图分类号: X524 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)12-5848-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.202104225

Investigation on Fluoroquinolone Resistance Genes in the Intensive Aquaculture Area of Shatianhu Intensive Aquaculture Farm and Surrounding Waterbodies in Shanghai, China

XU Mu¹, LI Shi-hao¹, MA Jin¹, WANG Li-qing^{1,2}, ZHANG Wei^{1,2,3*}

(1. Center for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrient (CREEFN) of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Department of Aquatic Biology, College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Intensive aquaculture areas are often considered to be an important potential source of antibiotics and resistance genes in water bodies. However, the contamination of antibiotics and resistance genes in this type of water remains largely uninvestigated. In this study, the type and abundance of fluoroquinolones (FQs) and fluoroquinolones antibiotic resistance genes (FQs-ARGs) were investigated in Shatianhu intensive aquaculture farm and the surrounding water bodies in September 2020 by using metagenomics high-throughput sequencing technology. Furthermore, the influence of water physical and chemical factors and FQs on FQs-ARGs was studied by using multivariate statistical analysis methods. The results showed that there were five types of resistance mechanisms and 46 kinds of FQs-ARGs in the culture area of Shatianhu intensive aquaculture farm and the surrounding water bodies, and there were 44 genes in each water body. Both *mfd* and *patA* were dominant resistance genes in the aquaculture water and surrounding water bodies, and variation or mutation of antibiotic resistance genes was the dominant resistance mechanism. Moreover, there was no significant difference in the average abundance of FQs-ARGs among the aquaculture water bodies, the surrounding rivers and lakes, and water bodies of different culture species. The result of partial canonical ordination analysis (pRDA) showed that in addition to norfloxacin and ciprofloxacin, specific conductance (Spc), total phosphorus (TP), total nitrogen (TN), ammonia nitrogen (NH_4^+-N), dissolved oxygen (DO), pH, and Chlorophyll a (Chl-a) were key factors that affected the composition and distribution of FQs and ARGs in water bodies, and the total contribution rate of the latter was far higher than that of antibiotics themselves.

Key words: aquaculture water; fluoroquinolone resistance genes; environmental factors; metagenomics; Shatianhu intensive aquaculture farm

由于抗生素在人类医疗、畜牧业和水产养殖业的广泛使用^[1,2], 导致其在地表水、水源和养殖环境中残留较多^[3]. 药理学研究表明, 抗生素进入生物体内只有少部分被代谢吸收, 超过 80% 的抗生素将会以原药的形式, 通过尿液和粪便进入水环境; 这些抗生素不仅对水质造成污染、对水生生物造成威胁外, 还诱导和加速了水环境中抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 的产生和传播^[4]. ARGs 因具有“假持久性”、“可复制性”, 而被

归为一类新兴的环境污染物, 近年来在国内外科学研究领域引起了广泛的关注^[5]. 虽然, 国内外许多研究学者对 ARGs 在不同地理区域 (欧洲、北美和亚洲)^[6~8]、不同环境介质中^[3,9~11] (地表水、土壤、污

收稿日期: 2021-04-21; 修订日期: 2021-06-02

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2017ZX07207002); 上海市科委项目 (19DZ1204504)

作者简介: 徐慕 (1995 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水域生态学, E-mail: aquaxum@163.com

* 通信作者, E-mail: weizhang@shou.edu.cn

水处理厂、养殖水体和沉积物)的污染状况、迁移转化及危害开展一些调查分析,但相对其他传统污染物而言,对 ARGs 的研究仍处于起步阶段。

水产养殖水体常被认为是地表水抗生素重要的“源头”之一;中国水产养殖环境中就有超过 20 种的抗生素被检出^[9~11]。同时,一些调查也显示,水产养殖环境及其下游受纳水体中已经检测出了多种 ARGs,该类水体被认为是 ARGs 进入自然水体最直接途径之一^[12~17],例如: Hoa 等^[8]的研究发现在越南北部虾塘中磺胺类抗性基因普遍存在; Schmidt 等^[18]的研究发现在丹麦淡水鱼养殖环境中四环素类和磺胺类抗性基因较多;而中国地区已有的调查显示,四环类、磺胺类、氟喹诺酮类和大环内酯类等 ARGs 是主要的污染种类^[11,13,14]。其中,氟喹诺酮类抗性基因 (fluoroquinolones antibiotic resistance genes, FQs-ARGs) 是检出种类和丰度较多的污染种类之一。近年来,珠江三角洲的养虾塘^[13]和江苏的对虾养殖塘^[12]都普遍检出几种氟喹诺酮类抗性基因。另外,有研究发现,ARGs 的存在、分布和传播不仅受抗生素污染的筛选,水体中重金属和营养盐也对 ARGs 的存在和散布具有潜在的协同筛选作用^[14,19]。我国地域辽阔,水域类型众多,水产养殖水体类型和养殖品种亦千差万别,不同区域 ARGs 污染水平及其环境因素的影响如何?是否会对周边水体产生影响?这些基础数据仍相对薄弱。

FQs-ARGs 是水产养殖环境中检出丰度和种类数都较高的抗性基因类别,但现有的报道仅对其中的几种基因进行了报道^[11~14],对 FQs-ARGs 总体的认知还不够深入。因此,本研究选取了上海市青浦区沙田湖集约化养殖区及下游河流和淀山湖湖滨带作为调查对象,对该区域水体中 FQs-ARGs 的种类和丰度以及相关环境因子进行了调查,利用高通量测序技术,对水体中的氟喹诺酮类抗性基因 (FQs-ARGs) 的宏基因组特征进行了分析,并运用冗余分析 (RDA) 和偏冗余分析 (pRDA) 等多元统计方法,分析了水体中抗生素、重金属和理化指标对 FQs-ARGs 的组成和分布影响,以期丰富我国地表水 FQs-ARGs 的背景数据,并为水环境中 FQs-ARGs 的风险评估和生态去除提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 调查区域介绍

本研究选取了上海市青浦区沙田湖水产养殖区养殖塘及其下游河流和淀山湖湖滨带作为研究区域 (120.871 423° ~ 120.913 345°E、31.083 174° ~ 31.111 933°N)。沙田湖集约化水产养殖区地处上海

市黄浦江上游一级水源保护区——金泽水库上游,上接太湖来水,下邻上海最大的天然湖泊淀山湖。因此,沙田湖养殖区水质的好坏对下游河流、湖泊以及饮用水源保护区都有直接或间接影响。研究区域内设置了 17 个采样点如图 1 所示,因其养殖品种种类多,养殖塘数量多,选取了其中几种代表性养殖品种的池塘开展调查。其中 11 个养殖池塘点位包括:3 个螃蟹塘 (X1、X2、X3)、3 个鲤鱼塘 (Li1、Li2、Li3)、3 个鲢鱼 (H1、H2、H3) 和 2 个甲鱼-对虾混养塘 (M1、M2); 3 个河流点位 (R1、R2 和 R3), 3 个淀山湖湖滨带点位 (L1、L2 和 L3)。

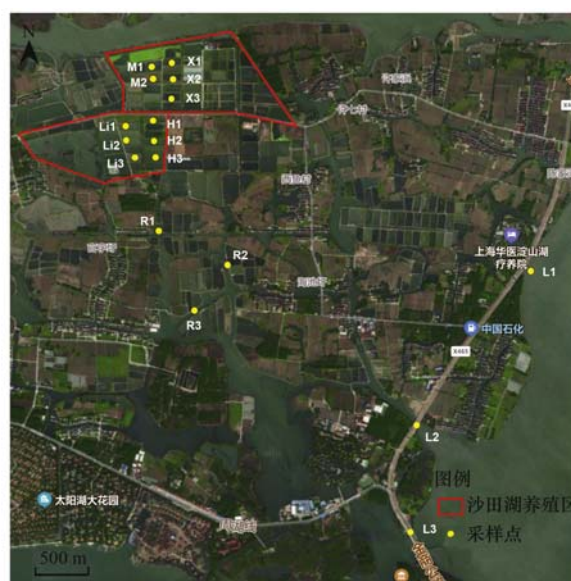


图 1 采样区域及点位分布示意

Fig. 1 Sampling area and location

1.2 样品采集

于 2020 年 9 月开展室外调查。在每个点位用 5 L 采水器在 0.5 ~ 1.0 m 水深,随机取样 3 次,将 3 次水样在桶中进行充分混合,取混合水样 1 L,现场采用车载抽滤装置进行过滤;先将水样用 5 μm 的混合纤维素滤膜进行过滤,除去大颗粒杂质,然后将过滤后的水样再用 0.22 μm 孔径混合纤维素酯膜 (GSWP04700, MF-Millipore) 进行过滤。将富集了样本的 0.22 μm 滤膜做好标记,放置于无菌冻存管中,并立即放入液氮罐中进行保存。整个抽滤过程,操作人员需佩戴无菌口罩和无菌手套,避免对样品造成污染。每个点位重复提取 3 次。返回实验后,将滤膜用干冰存贮,送往上海美吉生物医药技术有限公司进行宏基因组测序。另外,取混合水样 4 L, 4℃ 冷藏运回实验室,用于后续抗生素的萃取及水质指标的测定。采样过程中严格记录采样点环境、时间、地点,并在现场用 YSI Pro-Plus 便携式水质检测仪测定水体的 pH、溶解氧 (DO)、电导率 (Spc) 和水温 (WT)。

1.3 宏基因组学测序

采用 Illumina HiSeq Xten 平台进行 PE150 双端测序. 本研究分析方法参照陈红玲等^[20]的方法, 并略作改进. 首先对原始序列进行质量控制, 去除碱基数目大于 40 bp 但其质量分数低于 38% 的序列, 去掉歧异核苷酸超过 10 个的序列, 去掉与 adapter 序列有 15 bp 重叠的序列. 采用 SOAPdenovo 软件组装 clean reads. 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 映射片段基因类别来获得 unigene. 用 DIAMOND 软件将 unigene 与 NCBI-NR 数据库进行比对, 设置 blastp 参数 $e\text{-value} \leq 1E-5$, 并且采用 MEGEN 软件 LCA 算法进行注释. 利用 BLAST 软件 (blastp, $e\text{-value} \leq 1E-5$) 将 unigene 在 CARD 数据库进行比对, 进行 ARGs 注释^[20].

1.4 抗生素检测

采用 RRLC-MS/MS 液相色谱-串联质谱法 (Agilent 6460, Palo Alto, CA, USA) 对选取的 6 种氟喹诺酮类抗生素 (fluoroquinolones, FQs) 进行分析, 包括诺氟沙星 (norfloxacin, NOR)、环丙沙星 (ciprofloxacin, CIP)、氧氟沙星 (ofloxacin, OFL)、恩诺沙星 (enrofloxacin, ENR)、氟罗沙星 (fleroxacin, FLE) 和盐酸沙拉沙星 (sarafloxacin hydrochloride, SAR). 将上述待测抗生素的标准品用甲醇制成质量浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准储备液, 保存于 -20°C 冰箱中. 样品前处理方法参照 Li 等^[21]的研究方法. 将提取的样品在配备有电喷雾电离源的快速分辨率液相色谱-串联质谱 (RRLC-MS/MS) 上, 以多反应检测 (MRM) 模式分析. 所有目标化合物均以阳性模式进行分析. 氮气用作干燥体和碰撞体. 有关分析目标化合物的仪器条件和方法参考文献^[21].

1.5 重金属检测

本研究共检测了 Cu、Mn、Cr、Cd 和 Pb 这 5 种重金属. 取采集的混合水样 10 mL 直接用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 的水系过滤头进行过滤, 将过滤后的水样倍比稀释

至适宜浓度后, 用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS, PerkinElmer NexION 350D, USA) 检测水样中重金属的含量. 每个位点测试 3 次, 取平均值.

1.6 理化指标检测

水体叶绿素 a (Chl-a) 采用丙酮法测定, 总氮 (TN)、总磷 (TP) 和氨氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) 等指标均参照国标测定^[22].

1.7 数据分析

利用 MSOffice Excle 2020 对实验数据进行预处理. 为了探究沙田湖养殖区养殖水体和周边水体中 FQs-ARGs 是否存在显著差异, 采用 SPSS Statistics 20.0 进行独立样本 T 检验和单因素方差分析, $P < 0.05$ 认为存在显著性差异. 采用 Sperman 相关性分析, 探究环境因子与 FQs-ARGs 丰度之间的相关性. 利用 Canoco 5 对 ARGs 与环境因子之间关系作冗余分析 (RDA) 和偏冗余分析 (pRDA), 找出影响 ARGs 分布的关键性环境因子和不同因子的贡献率. 相关图表采用 Origin 2019 软件和美吉生物网络云平台进行制作和优化.

2 结果与分析

2.1 理化因子及重金属含量

本次调查区域中, 养殖区及其周边水体普遍呈现弱碱性 (表 1). 养殖区和外围水体的 Spc 和 DO 存在显著差异 ($P < 0.05$); 养殖区中的螃蟹塘 DO 含量最高, Spc 最低, 与其他品种养殖塘存在差异 ($P < 0.05$). 下游河流 TP 的含量显著低于养殖区及淀山湖湖滨带 ($P < 0.05$), 但不同养殖塘之间无显著差异 ($P > 0.05$). 甲鱼-对虾混合养殖塘与下游河流的 TP 含量要低于其他养殖塘和淀山湖湖滨带, 但无显著差异 ($P > 0.05$). 鲢鱼塘的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著高于其他养殖塘和周边水体 ($P < 0.05$). 淀山湖湖滨带 Chl-a 含量显著高于下游河流和养殖区, 养殖区中鲢鱼塘的含量最低, 但无显著 ($P > 0.05$) 差异 (表 1).

表 1 养殖水体和周边水体水环境中理化因子¹⁾

Table 1 Physical and chemical factors in aquaculture water and surrounding water

项目	养殖水体				周边水体	
	X	Li	H	M	R	L
pH	$9.75 \pm 0.12\text{a}$	$9.63 \pm 0.33\text{a}$	$8.05 \pm 0.02\text{c}$	$8.44 \pm 0.17\text{c}$	$8.30 \pm 0.08\text{c}$	$9.24 \pm 3.42\text{b}$
Spc/ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	$34 \pm 2\text{c}$	$48 \pm 4\text{a}$	$48 \pm 0\text{a}$	$48 \pm 0\text{a}$	$36 \pm 0\text{b}$	$38 \pm 16\text{b}$
$\rho(\text{DO})/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$13.38 \pm 0.67\text{a}$	$8.22 \pm 0.25\text{b}$	$3.85 \pm 0.37\text{c}$	$5.48 \pm 1.36\text{c}$	$6.87 \pm 0.71\text{bc}$	$8.72 \pm 3.95\text{b}$
$\rho(\text{TP})/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.14 \pm 0.00\text{a}$	$0.13 \pm 0.04\text{a}$	$0.10 \pm 0.02\text{a}$	$0.10 \pm 0.02\text{a}$	$0.04 \pm 0.01\text{b}$	$0.13 \pm 0.13\text{a}$
$\rho(\text{TN})/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$9.27 \pm 1.97\text{a}$	$6.71 \pm 1.07\text{a}$	$8.61 \pm 0.70\text{a}$	$2.14 \pm 0.19\text{a}$	$2.69 \pm 0.38\text{a}$	$8.21 \pm 7.32\text{a}$
$\rho(\text{NH}_4^+\text{-N})/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$1.78 \pm 0.24\text{b}$	$1.43 \pm 0.81\text{b}$	$8.19 \pm 1.89\text{a}$	$0.50 \pm 0.03\text{b}$	$0.79 \pm 0.14\text{b}$	$1.65 \pm 2.63\text{b}$
$\rho(\text{Chl-a})/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.09 \pm 0.04\text{a}$	$0.12 \pm 0.03\text{a}$	$0.03 \pm 0.01\text{a}$	$0.14 \pm 0.00\text{a}$	$0.02 \pm 0.01\text{a}$	$0.24 \pm 0.12\text{a}$

1) 相同小写字母表示无显著差异, 不同小写字母表示存在显著差异

Cu 和 Cd 在养殖水体和周边水体中均有检出(表 2); 鲤鱼塘的 Cu 含量高于其他水体, 但无显著差异($P > 0.05$); 养殖区下游河流中的 Cd 高于养殖区及湖滨带水体, 但无显著差异($P > 0.05$); Cr 在养殖区水环境中未检出, 而在周边水体中有检出。

表 2 养殖水体和周边水体水环境重金属浓度¹⁾/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
Table 2 Heavy metal content in aquaculture water and surrounding water environment/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

项目	养殖水体				周边水体	
	X	Li	H	M	R	L
$\rho(\text{Cu}^{2+})$	0.11 ± 0.16	8.98 ± 12.59	0.82 ± 1.15	0.44 ± 0.44	0.39 ± 0.31	0.95 ± 0.75
$\rho(\text{Mn}^{2+})$	ND	0.60 ± 0.85	0.69 ± 0.97	ND	4.03 ± 5.70	2.07 ± 2.93
$\rho(\text{Cd}^{2+})$	0.23 ± 0.05	0.21 ± 0.04	0.23 ± 0.02	0.19 ± 0.04	4.24 ± 2.59	0.26 ± 0.09
$\rho(\text{Cr}^{2+})$	ND	ND	ND	ND	0.54 ± 0.76	0.09 ± 0.13
$\rho(\text{Pb}^{2+})$	ND	0.25 ± 0.31	ND	ND	0.12 ± 0.17	ND

1) ND 表示平均浓度低于检出限

2.2 FQs 的残留和分布特征

调查表明, 6 种氟喹诺酮类抗生素在养殖水体和周边水体中普遍存在(图 2), 且养殖水体中浓度($30.15 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$)显著高于周边水体($15.58 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) ($P < 0.05$); SAR 检出率最低, 但浓度最高, 且养殖水体的浓度要显著高于周边水体($P < 0.05$), 养殖水体螃蟹塘也显著低于其他养殖塘($P < 0.05$); OFL 浓度最低, 且在养殖水体和周边水体无差异($P > 0.05$); ENR 在周边水体淀山湖 L1 和 L3 这两个位点的浓度显著高于其他周边水体($P < 0.05$)。

无论是养殖区还是周边水体, 抗生素占比由高到低均表现为: SAR > ENR > NOR > CIP > FLE > OFL. 占比组成最高的都为 SAR, 但养殖水体的 SAR 的占比组成(质量分数)达到了 54.8%, 超过总含量的一半; 而周边水体为 39.4%. 对于 ENR 而言, 在周边水体的占比组成要高于养殖水体, 达到了 30.4%, 而养殖水体仅为 22.4%. OFL 占比最低, 养殖水体占 0.8%, 周边水体占 1.7%

(图 3)。

2.3 FQs-ARGs 的分布特征

本次调查共检出 FQs-ARGs 46 种(养殖和周边水体共有种类为 44 种), 水体平均丰度为 $60\,553 \text{ read}\cdot\text{L}^{-1}$, 其中养殖水体平均丰度为 $54\,556 \text{ read}\cdot\text{L}^{-1}$, 下游河流平均丰度为 $65\,214 \text{ read}\cdot\text{L}^{-1}$, 淀山湖湖滨带平均丰度为 $77\,880 \text{ read}\cdot\text{L}^{-1}$; 养殖水体中特有种类为 *qacA* (ARO:3003046), 周边水体特有种类为 *blt* (ARO:3003006) (图 4). 养殖水体的 FQs-ARGs 平均丰度要略低于周边水体($P > 0.05$). 在养殖水体中, 有 38 种氟喹诺酮类抗生素抗性基因的检出率为 100%; ARO:3003309 和 *qacB* (ARO:3003047) 基因的检出率为 90.91%; ARO:3003308 和 ARO:3003310 检出率为 72.73%; *qacA* 和 ARO:3003294 基因检出率为 63.64%; *mdtK* (ARO:3001327) 的检出率最低为 54.55%; 虽然养殖品种池塘中 FQs-ARGs 的平均丰度不同, 但无显著差异($P > 0.05$). 在周边水体中, 有 43 种抗性基因的检出率为 100%; *mdtK* 基因检出率为 50%; *blt* 检出率最低为 16.67%. 在检测出的 FQs-ARGs 中, *mfd* (ARO:3003844) 和 *patA* (ARO:3000024) 为水环境中的优势 FQs-ARGs (图 5), 分别占总量的 31.39% 和 20.53%. *mfd* 在养殖和周边水体的质量分数分别为 29.90% 和 33.47%; *patA* 在养殖和周边水体的质量分数分别为 20.14% 和 21.07%. 另外, ARO:3003295、ARO:3003296 和 ARO:3003297 在周边水体的平均丰度都显著高于养殖池塘($P < 0.05$, 图 4)。

对 FQs-ARGs 的耐药机制进行了统计注释发现(图 6), 氟喹诺酮类抗性基因的抗性机制共分 5 大类, 分别是抗生素抗性基因变异或突变 (ARGV, 26 种, 38.95%)、抗生素自身抗性基因 (GISR, 5 种, 1.2%)、抗生素靶标保护蛋白 (ATPP, 1 种, 31.39%)、赋予外排泵抗生素抗性 (EPCA, 2 种,

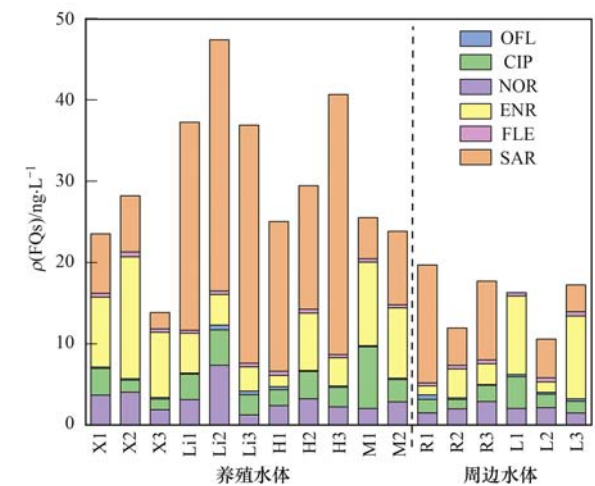


图 2 沙田湖养殖区及周边水环境中 $\rho(\text{FQs})$
Fig. 2 The $\rho(\text{FQs})$ in the aquaculture area and surrounding water environment of Shatianhu intensive aquiculture farm

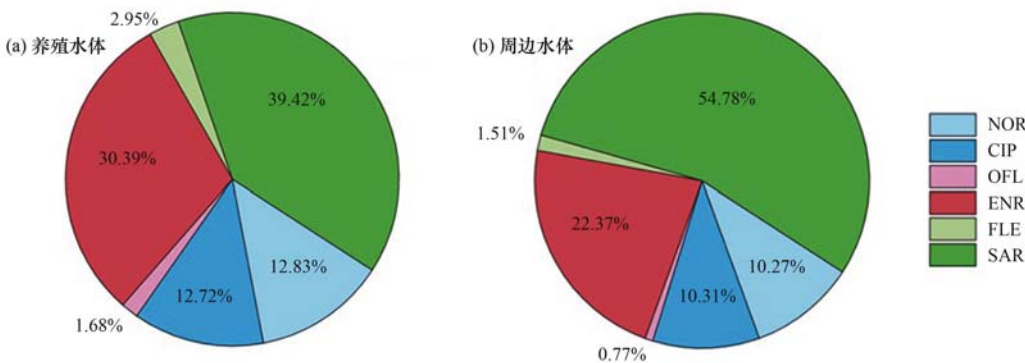
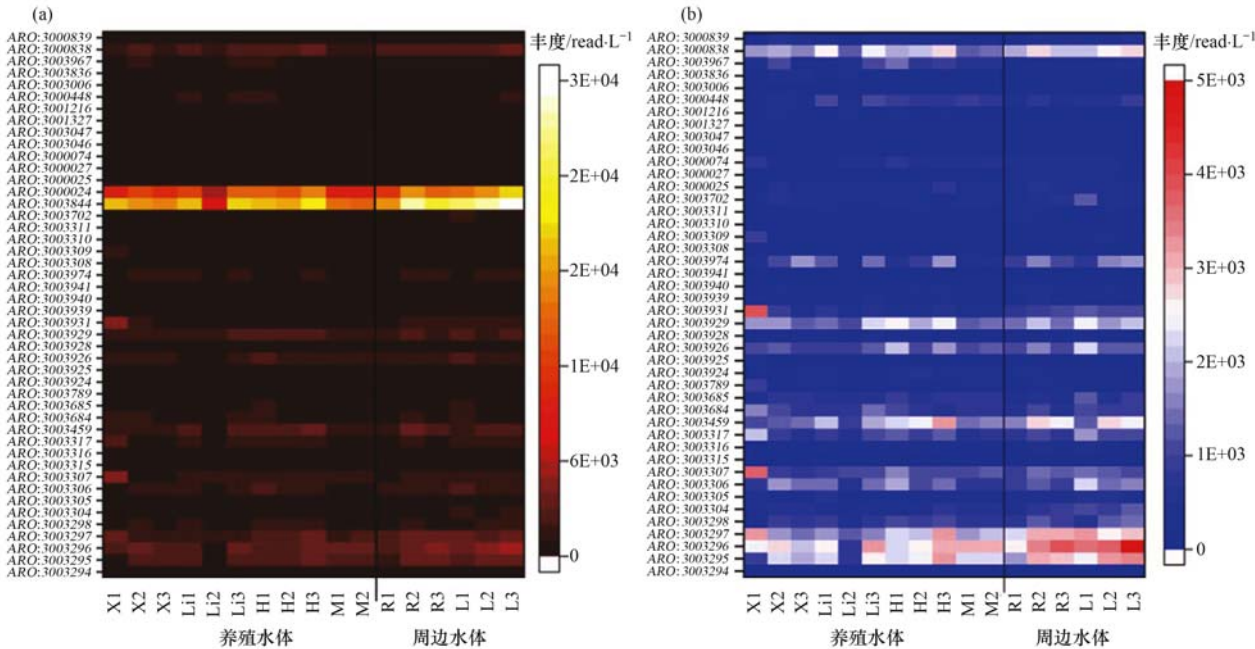


图 3 沙田湖养殖区和周边水体中 FQs 组成情况

Fig. 3 Composition of FQs in the Shatianhu intensive aquaculture farm and surrounding water environment



(a) 总 FQs-ARGs, (b) 去除 2 个极高含量基因的 FQs-ARGs

图 4 水环境中 FQs-ARGs 丰度热图

Fig. 4 Heatmap of FQs-ARGs abundance in the aquaculture water

24.42%) 和产生抗生素抗性外排泵 (GMAE, 2 种, 4.04%). 5 种抗性机制在周边和养殖水体的丰度均表现为: 抗生素抗性基因变异或突变 > 抗生素靶标保护蛋白 > 外排泵赋予抗生素抗性 > 产生抗生素抗性外排泵 > 抗生素自身抗性基因.

2.4 FQs-ARGs 与环境因子之间关系

FQs 与 FQs-ARGs 的 Pearson 相关性分析表明, NOR 与 FQs-ARGs 显著相关的基因数最多, 为 ARO: 3003295 等 8 种, 其中 7 种为负相关, 仅有 ARO: 3003941 呈正相关; CIP 次之, 有 ARO: 3003294 等 6 种, 且全部呈负相关; 浓度最高的 SAR 仅与 ARO: 3003702 等 3 种基因呈显著负相关; ENR 仅与 ARO: 3003941 呈显著正相关; FLE 仅和 ARO: 3000839 呈显著正相关; 而 OFL, 未发现与基因与其显著相关.

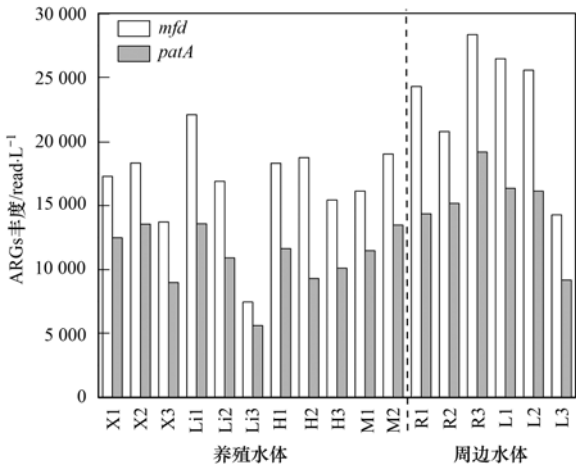


图 5 养殖水体和周边水体水环境中 FQs-ARGs 优势种丰度

Fig. 5 Abundance of dominant species of FQs-ARGs in the aquaculture water and surrounding water

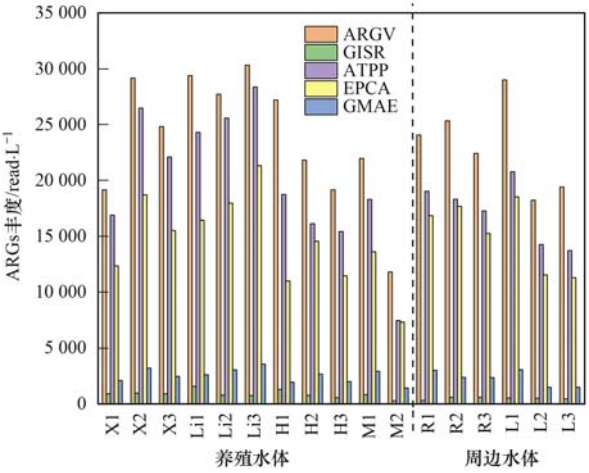
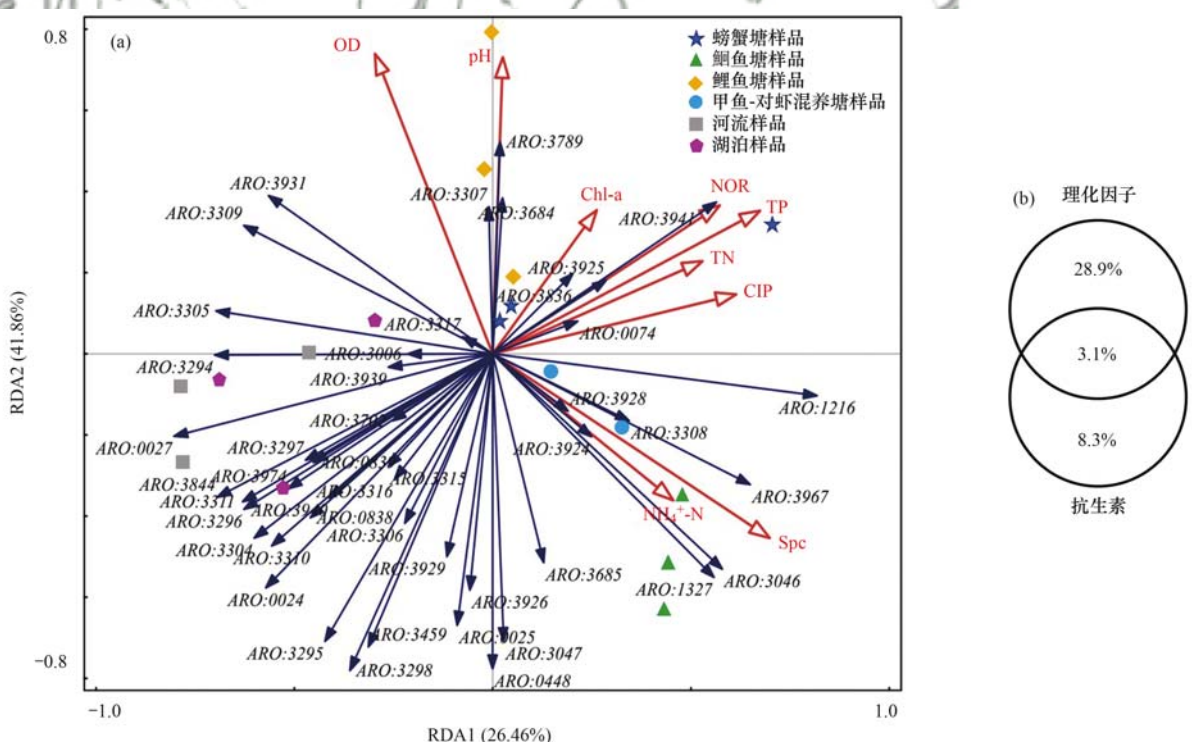


图 6 养殖水体和周边水体水环境中 FQs-ARGs 耐药机制分布
Fig. 6 Distribution of FQs-ARGs resistance mechanism in aquaculture water and surrounding water

水体抗性基因与环境因子的 RDA 分析表明 [图 7 (a)], 第 I 轴和第 II 轴的解释量分别为 26.46% 和 41.86%, 总解释率达 68.32%, 说明 RDA 模型很好地解释抗性基因分布特征与环境因子的关系. 根据蒙特卡罗检验, 理化因子中 Spc、TP、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、DO、pH 和 Chl-a 以及 NOR 和 CIP 两种抗生素是影响水体抗性基因分布的显著性因子 ($P < 0.05$). 其中, NOR 与 ARO:3003941 呈正相关 ($P <$

0.05), 与 *mfl* 和 *patA* 等基因呈负相关 ($P < 0.01$); CIP 与 *arlS* (ARO:3000839) 等基因负相关 ($P < 0.01$); $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 *mdtK* 等基因呈正相关 ($P < 0.05$), 与 *qacA* 呈负相关 ($P < 0.05$); DO 与 ARO:3003931 呈正相关 ($P < 0.05$), 与 *qacA* 呈负相关 ($P < 0.01$); Spc 则与 *qacA* 等基因呈正相关, 与 ARO:3003931 呈负相关 ($P < 0.01$); pH 与 ARO:3003684 呈正相关, 与 *qacA* 等基因呈负相关 ($P < 0.05$); TP 与 ARO:3003941 呈正相关, 与 ARO:3003459 呈负相关 ($P < 0.01$); TN 与 ARO:3003941 等基因呈正相关, 与 ARO:3003315 等基因呈负相关 ($P < 0.05$); Chl-a 与 ARO:3003941 等基因呈正相关 ($P < 0.05$), 与 ARO:3003459 呈负相关 ($P < 0.01$). ARO:3003684 等基因在鲤鱼塘的含量较高; *qacA* 以及 *mdtK* 在螃蟹塘含量较高; 而 ARO:3003308 以及 ARO:3003928 在甲鱼-对虾混养塘含量较高.

将上述 RDA 得出的显著性因子归为两类: 一类是理化因子包括: Spc、TP、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、DO、pH 和 Chl-a; 另一类是抗生素 NOR 和 CIP. 经 pRDA 分析发现 [图 7 (b)], 其中理化因子 (解释率 28.9%) 对 FQs-ARGs 组成分布的影响高于抗生素 (8.3%); 同时, 二者存在少量的正向交互作用 (3.1%).



3 讨论

3.1 水体中 FQs-ARGs 的多样性和丰度特征

本研究发现, FQs-ARGs 在沙田湖养殖区和淀山湖湖滨区中普遍存在. 该类抗性基因主要有 2 种抗性机制^[23]: ①质粒介导的抗性包括通过不同的机制编码蛋白、与促旋酶或拓扑异构酶结合和定点突变转移酶变体; ②染色体介导的抗性主要通过药物靶蛋白的改变来实现. 沙田湖养殖水体中 FQs-ARGs 的平均丰度水平低于周边水体, 且河流中的 FQs-ARGs 丰度距离养殖区越远反而越高, 推测可能原因是: ①上海近年来推行生态清洁养殖, 养殖水体用药量逐年降低; ②养殖尾水进入河流水体后, 会流经农田, 农药化肥等也会促进 FQs-ARGs 在河流中富集^[24]. 淀山湖滨水带的 FQs-ARGs 多于养殖水体和河流水体, 推测原因是: 淀山湖汇集了上游来水和周围村庄的部分生活污水, 虽然其抗生素含量低于养殖区, 但水体中物质成分和来源更加复杂, ARGs 浓度并未因水量增加而降低, 反而会因微生物繁殖和新的污染排放而不断富集^[7, 25, 26]. Su 等^[27]研究了华南地区东江流域的 ARGs, 发现人为活动是流域中 ARGs 传播的关键因素. Yang 等^[24]研究了长江中下游地区 15 个湖泊沉积物中的抗性基因, 结果表明土地围垦和城市化等人为因素对 ARGs 的丰度和传播造成了严重的影响. 因此, 不同类型的人类干扰(水产养殖、农业生产和生活污水)可能是影响沙田湖养殖区和周边水体 FQs-ARGs 丰度差异的最主要因素. 在养殖水体中, 不同养殖品种池塘中 FQs-ARGs 的含量不同, 但无显著差异($P > 0.05$). 甲鱼-对虾混养的养殖塘 FQs-ARGs 丰度最低, 鲢鱼养殖塘 FQs-ARGs 丰度最高, 推测可能与不同品种的饲料组成、给药种类和养殖方式有关. Liang 等^[28]对珠江口典型水产养殖区的 ARGs 做了调查, 发现不同养殖模式会显著影响 ARGs 的含量与分布.

检测出的 FQs-ARGs 中, *mfd* 和 *patA* 丰度远高于其他种类, 分别占总量的 31.39% 和 20.53%, 超过总量的 50%. 有报道发现, 在江苏某医药化工园区废水中检出的 74 种 ARGs 中, *mfd* 也是优势基因^[20]. *mfd* 基因的产物 Mfd 是转录-修复偶联因子蛋白, 属于 DNA 移位酶, 也是 DNA 修复的必须因子, 其耐药机制是抗生素靶点保护. Mfd 主要功能是促进 DNA 修复^[29], 但在某些情况下, 如在复制-转录冲突区域和稳定阶段的突变中, Mfd 反而增加了突变, 如 Mfd 促使空肠弯曲杆菌产生了对氟喹诺酮类药物的抗性. 最新研究认为, Mfd 是一种促进突变的进化因子, 它可加速抗生素耐药性的发展, 是不

同类型的细菌快速获得各种抗生素耐药性所必需蛋白^[30]. 由此推测, *mfd* 基因的大量存在及积累可能会促使水体中微生物产生更多的抗生素抗性^[20]. 而 *patA* 抗性基因控制 PatA 蛋白的合成, PatA 蛋白是 ABC 转运蛋白, 可与 PatB 蛋白相互作用以赋予氟喹诺酮类抗药性^[31], 因为 ABC 蛋白即 ATP 结合盒, 控制 ATP 协同运输将抗生素泵出细胞^[31]. 在细菌中, 许多 ABC 家族转运蛋白都与抗生素耐受性有关. *patA* 丰度较高, 推测这与该区域水体中含有多种抗生素中间体废水以及含有多种农药中间体废水密切相关. *ARO:3003295*、*ARO:3003296* 和 *ARO:300327* 在周边水体的平均丰度显著($P < 0.05$) 高于养殖水体. 该 3 种抗性基是 *gyrA* 基因在 3 种不同类型的菌株中的突变基因^[32], 抗性机制是抗生素抗性基因自身突变或变异, 推测可能是因为该类 ARGs 丰度受抗生素的影响较大, 而养殖水体的 FQs 浓度显著($P < 0.05$) 高于养殖水体, 过高的 FQs 浓度反而抑制了该类基因的增殖, 因此导致了周边水体和养殖水体之间呈现差异.

3.2 FQs-ARGs 分布特征与环境因子关系

理化因子 Spc、TP、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、DO、pH 和 Chl-a 直接和间接筛选作用是沙田湖区域水体中 FQs-ARGs 差异的主要原因. Han 等^[33]的研究发现, 养殖区沉积物中营养盐的含量显著增加而引发的微生物族群变化, 是 ARGs 增殖的根本原因. 养殖过程中大量的饵料通常不能利用, 以粪便和残饵形态进入水体和沉积物, 使得养殖水体氮磷的含量显著升高, 呈现富营养化状态^[34], 从而可能大大促进抗性菌的增殖和传播. McKinney 等^[26]和 Lu 等^[35]的研究发现, 水体 TP、TN 与 ARGs 的存在和丰度显著相关, 这可能间接揭示了 TN 和 TP 对 ARGs 的分布和传播起到一定的协同筛选作用. 刘莹等^[36]对大连典型养殖滩涂和 Bergeron 等^[37]对沼泽水环境的研究中均发现 Spc 对 ARGs 的增殖具有显著作用, 并且还发现水环境中浓度为 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐度最适合 ARGs 的增殖和传播. 因此, 沙田湖养殖区环境中的理化因子对 ARGs 的存在和分布影响不容忽视, 理化因子的含量差异引发的微生物族群变化是影响沙田湖养殖区及周边水体中 FQs-ARGs 分布格局差异的根本原因. 从而可以通过调控理化因子的含量来去除.

通常认为, 抗生素对环境中的微生物的增殖具有直接筛选作用, 从而来影响环境中 ARGs 的存在和丰度^[11, 19]. 综合 Pearson 相关性分析和 RDA 分析, SAR 虽然是浓度最高的 FQs, 但与 FQs-ARGs 相关的种类数较少, 不是显著性相关因子, 推测因为其抗/杀菌活性强, 无交叉性耐药性的特点被广泛用于

水产养殖环境中,但其与 FQs-ARGs 相关性机制研究匮乏,后续需要进一步研究; ENR 和 FLE 与 FQs-ARGs 无显著相关性,这与先前余军楠^[38]对江苏 3 种典型螃蟹塘和朱春红^[23]对上海市城市河网的研究结果一致; NOR 与 CIP 既与 FQs-ARGs 相关的种类数较多,又是影响水体中 FQs-ARGs 分布的关键性因子,但这与朱春红^[23]和余军楠^[38]的研究结果不同,可能是因为质粒介导的抗性基因的出现可能更容易受到重金属等非抗生素污染物的影响^[39],与 FQs 不一定直接相关^[16],因为本研究中重金属检出的种类少、含量低,因此本研究中 FQs-ARGs 丰度受 NOR 和 CIP 影响相较于重金属较大,不过目前 FQs 与 FQs-ARGs 相关性研究还较为匮乏,主要机制还有待进一步探究. 抗生素与其他因子的协同作用,也是重要因素. 比如:刘萱等^[36]的研究也发现大连地区养殖滩涂沉积物中环境因素协同抗生素的联合筛选是沉积物中 ARGs 存在和分布的主要因素. 有报道发现,污水处理厂和沉积物中重金属与 ARGs 的丰度存在着显著的相关性^[14,40,41],与重金属刺激 ARGs 在细菌之间的水平转移有关^[42,43]. 但本文中,5 种重金属都与 FQs-ARGs 没有显著相关性,可能是与本研究检测的重金属种类较少,且检测的浓度较低有关.

4 结论

(1) 上海沙田湖水产养殖区及周边水体共检测出 5 类耐药机制、共 46 种 FQs-ARGs,其中共有基因为 44 种. *mfd* 和 *patA* 在养殖区和周边水体均为优势抗性基因,抗生素抗性基因变异或突变为优势耐药机制. 养殖区的 FQs-ARGs 平均丰度要低于周边水体,但差异不显著($P > 0.05$),不同水产品种养殖池塘中 FQs-ARGs 的丰度也无显著差异($P > 0.05$).

(2) 氟喹诺酮类抗生素、重金属和水质因子与 FQs-ARGs 的 pRDA 分析表明,影响 FQs-ARGs 分布的主要因素是: *Spc*、TP、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、DO、pH 和 Chl-a 等非抗生素水质因子,其次才是 NOR 和 CIP 这两种抗生素,且这两大类因子之间存在一定的协同作用.

参考文献:

- [1] Cromwell G L. Why and how antibiotics are used in swine production[J]. *Animal Biotechnology*, 2002, **13**(1): 7-27.
- [2] Larson E. Community factors in the development of antibiotic resistance[J]. *Annual Review of Public Health*, 2007, **28**: 435-447.
- [3] 孙王茹. 城市水环境中抗生素及抗性基因污染特征研究[D]. 邯郸: 河北工程大学, 2019.
- [4] Kim S R, Nonaka L, Suzuki S. Occurrence of tetracycline resistance genes *tet*(M) and *tet*(S) in bacteria from marine aquaculture sites[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, **237**(1): 147-156.
- [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] Stoll C, Sidhu J P S, Tiehm A, *et al.* Prevalence of clinically relevant antibiotic resistance genes in surface water samples collected from Germany and Australia[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(17): 9716-9726.
- [7] Pei R T, Kim S C, Carlson K H, *et al.* Effect of River Landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG)[J]. *Water Research*, 2006, **40**(12): 2427-2435.
- [8] Hoa P T P, Nonaka L, Viet P H, *et al.* Detection of the *sul1*, *sul2*, and *sul3* genes in sulfonamide-resistant bacteria from wastewater and shrimp ponds of north Vietnam[J]. *Science of the Total Environment*, 2008, **405**(1-3): 377-384.
- [9] Zou S C, Xu W H, Zhang R J, *et al.* Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: impacts of river discharge and aquaculture activities[J]. *Environmental Pollution*, 2011, **159**(10): 2913-2920.
- [10] Na G S, Fang X D, Cai Y Q, *et al.* Occurrence, distribution, and bioaccumulation of antibiotics in coastal environment of Dalian, China[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2013, **69**(1-2): 233-237.
- [11] Chen C Q, Zheng L, Zhou J L, *et al.* Persistence and risk of antibiotic residues and antibiotic resistance genes in major mariculture sites in Southeast China[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **580**: 1175-1184.
- [12] Wang J H, Lu J, Zhang Y X, *et al.* Metagenomic analysis of antibiotic resistance genes in coastal industrial mariculture systems[J]. *Bioresource Technology*, 2018, **253**: 235-243.
- [13] Su H C, Liu S, Hu X J, *et al.* Occurrence and temporal variation of antibiotic resistance genes (ARGs) in shrimp aquaculture: ARGs dissemination from farming source to reared organisms[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **607-608**: 357-366.
- [14] Zhao Z L, Wang J, Han Y, *et al.* Nutrients, heavy metals and microbial communities co-driven distribution of antibiotic resistance genes in adjacent environment of mariculture[J]. *Environmental Pollution*, 2017, **220**: 909-918.
- [15] Huang L, Xu Y B, Xu J X, *et al.* Antibiotic resistance genes (ARGs) in duck and fish production ponds with integrated or non-integrated mode[J]. *Chemosphere*, 2017, **168**: 1107-1114.
- [16] Tamminen M, Karkman A, Löhmus A, *et al.* Tetracycline resistance genes persist at aquaculture farms in the absence of selection pressure[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45**(2): 386-391.
- [17] Shah S Q A, Colquhoun D J, Nikuli H L, *et al.* Prevalence of antibiotic resistance genes in the bacterial flora of integrated fish farming environments of Pakistan and Tanzania[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(16): 8672-8679.
- [18] Schmidt A S, Bruun M S, Dalsgaard L, *et al.* Occurrence of antimicrobial resistance in fish-pathogenic and environmental bacteria associated with four danish rainbow trout farms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(11): 4908-4915.
- [19] He L Y, Liu Y S, Su H C, *et al.* Dissemination of antibiotic

- resistance genes in representative broiler feedlots environments: identification of indicator ARGs and correlations with environmental variables [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(22): 13120-13129.
- [20] 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.
- [21] Li J Y, Wen J, Chen Y Q, *et al.* Antibiotics in cultured freshwater products in Eastern China: occurrence, human health risks, sources, and bioaccumulation potential [J]. *Chemosphere*, 2021, **264**, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128441.
- [22] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [23] 朱春红. 上海市城市河网抗生素、抗性基因时空分布特征及其与环境因子相关性研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2018.
- [24] Yang Y Y, Liu W Z, Xu C, *et al.* Antibiotic resistance genes in lakes from middle and lower reaches of the Yangtze River, China: effect of land use and sediment characteristics [J]. *Chemosphere*, 2017, **178**: 19-25.
- [25] 沈群辉, 冀秀玲, 傅淑珺, 等. 黄浦江水域抗生素及抗性基因污染初步研究[J]. *生态环境学报*, 2012, **21**(10): 1717-1723.
- Shen Q H, Ji X L, Fu S J, *et al.* Preliminary studies on the pollution levels of antibiotic and antibiotic resistance genes in Huangpu River, China [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2012, **21**(10): 1717-1723.
- [26] McKinney C W, Loftin K A, Meyer M T, *et al.* *tet* and *sul* antibiotic resistance genes in livestock lagoons of various operation type, configuration, and antibiotic occurrence [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, **44**(16): 6102-6109.
- [27] Su H C, Pan C G, Ying G G, *et al.* Contamination profiles of antibiotic resistance genes in the sediments at a catchment scale [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, **490**: 708-714.
- [28] Liang X M, Chen B W, Nie X P, *et al.* The distribution and partitioning of common antibiotics in water and sediment of the Pearl River Estuary, South China [J]. *Chemosphere*, 2013, **92**(11): 1410-1416.
- [29] Million-Weaver S, Samadpour A N, Moreno-Habel D A, *et al.* An underlying mechanism for the increased mutagenesis of lagging-strand genes in *Bacillus subtilis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, **112**(10): E1096-E1105.
- [30] Ragheb M N, Thomason M K, Hsu C, *et al.* Inhibiting the evolution of antibiotic resistance [J]. *Molecular Cell*, 2019, **73**(1): 157-165. e5.
- [31] Fath M J, Kolter R. ABC transporters: bacterial exporters [J]. *Microbiological Reviews*, 1993, **57**(4): 995-1017.
- [32] Takiff H E, Salazar L, Guerrero C, *et al.* Cloning and nucleotide sequence of *Mycobacterium tuberculosis gyrA* and *gyrB* genes and detection of quinolone resistance mutations [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1994, **38**(4): 773-780.
- [33] Han Y, Wang J, Zhao Z L, *et al.* Fishmeal application induces antibiotic resistance gene propagation in mariculture sediment [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, **51**(18): 10850-10860.
- [34] Kawahara N, Shigematsu K, Miyadai T, *et al.* Comparison of bacterial communities in fish farm sediments along an organic enrichment gradient [J]. *Aquaculture*, 2009, **287**(1-2): 107-113.
- [35] Lu Z H, Na G S, Gao H, *et al.* Fate of sulfonamide resistance genes in estuary environment and effect of anthropogenic activities [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, **527-528**: 429-438.
- [36] 刘萱, 赵慧敏, 王华, 等. 大连典型滩涂养殖区沉积物中抗生素协同重金属和环境因素对抗性基因分布的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2020, **35**(2): 229-238.
- Liu X, Zhao H M, Wang H, *et al.* Impacts of heavy metals and environmental factors assisted antibiotics on antibiotic resistance genes in sediments in Dalian typical intertidal mudflat culture areas [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2020, **35**(2): 229-238.
- [37] Bergeron S, Brown R, Homer J, *et al.* Presence of antibiotic resistance genes in different salinity gradients of freshwater to saltwater marshes in southeast Louisiana, USA [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, **113**: 80-87.
- [38] 余军楠. 江苏三种典型甲壳类动物水产养殖环境中抗生素及抗性基因污染特征研究[D]. 南京: 南京信息工程大学, 2020.
- [39] Czekalski N, Sigdel R, Birtel J, *et al.* Does human activity impact the natural antibiotic resistance background? Abundance of antibiotic resistance genes in 21 Swiss lakes [J]. *Environment International*, 2015, **81**: 45-55.
- [40] 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.
- [41] Xu Y, Xu J, Mao D Q, *et al.* Effect of the selective pressure of sub-lethal level of heavy metals on the fate and distribution of ARGs in the catchment scale [J]. *Environmental Pollution*, 2017, **220**: 900-908.
- [42] Allen H K, Donato J, Wang H H, *et al.* Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, **8**(4): 251-259.
- [43] Klümper U, Dechesne A, Riber L, *et al.* Metal stressors consistently modulate bacterial conjugal plasmid uptake potential in a phylogenetically conserved manner [J]. *The ISME Journal*, 2017, **11**(1): 152-165.

CONTENTS

Emission Reduction Potential of Air Pollutants of Thermal Power Industry Based on Carbon Emission Reduction Target and Emission Standard Constraint Scenarios	LI Hui, SUN Xue-li, PANG Bo, <i>et al.</i> (5563)
Volatile Organic Compounds in the Vehicle Repairing Industry of China: Emission, Management, Purification, and Policy	WANG Hai-lin, YANG Tao, NIE Lei, <i>et al.</i> (5574)
Pollutant Emission Inventory of Biomass Combustion Sources in Xining City	GAO Yu-zong, JI Ya-qin, LIN Zi, <i>et al.</i> (5585)
Analysis of Air Quality and Influencing Factors in Sichuan Basin During the COVID-19 Outbreak	CHEN Jun-hui, FENG Xiao-qiong, LI Yuan, <i>et al.</i> (5594)
Estimation of PM _{2.5} Concentration in Sichuan Province Based on Improved Linear Mixed Effect Model and Geo-intelligent Random Forest	WU Yu-hong, DU Ning, WANG Li, <i>et al.</i> (5602)
Characterization of Water-soluble Inorganic Ions in Atmospheric PM _{2.5} in Chengdu During the Later Stage of the Air Pollution Prevention and Control Action Plan	LI Jia-qi, ZHANG Jun-ke, DONG Gui-ming, <i>et al.</i> (5616)
Characteristics of Chemical Composition and Source Apportionment of Atmospheric Fine Particulate Matter in Luoyang	SUN Jia-bin, DONG Zhe, LI Li-ping, <i>et al.</i> (5624)
Characteristics and Main Influencing Factors of Black Carbon Aerosol in Beijing	CAO Yang, AN Xin-xin, LIU Bao-xian, <i>et al.</i> (5633)
Chemical Characteristics and Source Apportionment with Temporal Refinement for VOCs in Tianjin Suburb in Summer	WANG Yi-xuan, LIU Bao-shuang, WU Jian-hui, <i>et al.</i> (5644)
Pollution Characteristics and Reactivity of Volatile Organic Compounds in Shenyang	DU Han-bing, WANG Nan, REN Wan-hui, <i>et al.</i> (5656)
Characteristics and Source Apportionment of Atmospheric SVOCs Around Typical Chemical Industry Zones	GE Xiang, WU Jian, GAO Song, <i>et al.</i> (5663)
Source Analysis and Health Risk Assessment of Toxic Volatile Organic Compounds in Nanjing in Summer and Winter	ZHANG Zi-jin, LIN Yu-chi, ZHANG Yu-xian, <i>et al.</i> (5673)
Emission Characteristics of Industrial VOCs Based on Emission Inventory and Field Test: A Case Zhengzhou High-tech Zone	REN He, LU Xuan, LIU Yang, <i>et al.</i> (5687)
VOCs Emission Characteristics of Water-based Architectural Coatings and the Influence on the Atmospheric Environment in China	GAO Mei-ping, WANG Hai-lin, LIU Wen-wen, <i>et al.</i> (5698)
WRF-Chem Simulations of the Impacts of Uncertainty in VOCs Emissions on Ozone Formation and Control Strategies	WANG Feng, WANG Jian-wei, YANG Ning, <i>et al.</i> (5713)
Spatial and Temporal Distribution of Ozone and Influencing Factors in Shandong Province	ZHANG Miao, DING Chun, LI Yan, <i>et al.</i> (5723)
Chemical Characteristics and Contaminant Sensitivity During the Typical Ozone Pollution Processes of Chengdu in 2020	QIAN Jun, XU Chen-xi, CHEN Jun-hui, <i>et al.</i> (5736)
Development of an Emission Model for Oxygenated Volatile Organic Compounds from Gasoline Vehicles Based on the Online Measurement	HAO Yu-qi, YUAN Zi-bing, WANG Meng-lei, <i>et al.</i> (5747)
Dynamic Evolution Characteristics of Water Resources Utilization Efficiency in China Under the Constraint of Triple Attribute Carrying Capacity	ZHANG Kai, WU Feng-ping, CHENG Chang-chun (5757)
Prediction of Total Nitrogen Load in Yangtze River Basin	DING Zhao-wei, ZHENG Hua (5768)
Dynamic of Net Anthropogenic Nitrogen Inputs and Riverine Nitrogen Export in the Yangtze River Basin in 1980-2015	YAO Meng-ya, HU Min-peng, CHEN Ding-jiang (5777)
Characteristics of Water Environment and Spatial-temporal Distribution of Nitrogen and Phosphorus Load in the Yellow River	HAN Xu, PAN Bao-zhu, CHEN Yue, <i>et al.</i> (5786)
Analysis of Nitrate Pollution Sources Under Different Rainfall Conditions Based on $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{18}\text{O}$ Values	XING Zi-kang, YU Zhong-bo, YI Peng, <i>et al.</i> (5796)
Seasonal Variation Characteristics of Eukaryotic Microbial Community Composition in the Source Water Reservoir	ZHANG Hai-han, HUANG Xin, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (5804)
Characteristics of Planktonic Bacteria Community Between Summer and Winter Surface Water in Dali Lake	LI Wen-bao, GUO Xin, ZHANG Bo-yao, <i>et al.</i> (5814)
Impacts of Wastewater Effluent Discharge on Bacteria Community and Water-soluble Organic Matter in Benthic Biofilm in Receiving River	WANG Yu-tao, FAN Chen-yang, ZHU Jin-xin, <i>et al.</i> (5826)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Typical POPs in Typical Drinking Water Sources in Wuhan	ZHANG Kun-feng, FU Qing, TU Xiang, <i>et al.</i> (5836)
Investigation on Fluoroquinolone Resistance Genes in the Intensive Aquaculture Area of Shatianhu Intensive Aquaculture Farm and Surrounding Waterbodies in Shanghai, China	XU Mu, LI Shi-hao, MA Jin, <i>et al.</i> (5848)
Influencing Factors of Nitrogen Removal from Low-Pollution Water by Aerated Constructed Wetland	LI Lin-lin, LI Rong-tao, KONG Wei-jing, <i>et al.</i> (5857)
Removal of Characteristic Pollutants in Livestock Wastewater by Horizontal Subsurface Flow Constructed Wetlands	ZHAO Wei, FAN Zeng-zeng, YANG Xin-ping (5865)
Improvement of Nitrogen and Phosphorus Adsorption and Stormwater Retention Capacity by Hardwood Biochar as an Additive Material in Filler Soil	MENG Yi-ke, WANG Yuan, WANG Chuan-yue, <i>et al.</i> (5876)
Removal of Ammonia Nitrogen from Polyvinyl Alcohol/Sodium Alginate Fixed Micron Zeolite Powder in Black and Smelly Rivers	WEI Chao, CHEN Tao, JIANG Qiao, <i>et al.</i> (5884)
Effect of Corn Stalk Biochar on the Adsorption of Aureomycin from Sierozem	NAN Zhi-jiang, JIANG Yu-feng, MAO Huan-huan, <i>et al.</i> (5896)
Microbial Degradation Potential and Transformation Pathway of Micropollutants in Sand Filters of Drinking Water Treatment Plants	ZHOU Jie, WANG Dong-lin, LIN Hui, <i>et al.</i> (5905)
Long-term Trends in Illicit Drugs Abuse in the City Assessed by Wastewater Analysis	CAO Yu, DONG Xiao-tang, SHAO Xue-ting, <i>et al.</i> (5912)
Stress and Post Effects of Azithromycin and Copper on Archaeal Community and ARGs in Activated Sludge	GAO Yu-xi, LI Xing, ZHAO Jun-ru, <i>et al.</i> (5921)
Spatial Distribution Characteristics and Source Analysis of Soil Heavy Metals at Typical Smelting Industry Sites	LI Qiang, CAO Ying, HE Lian-sheng, <i>et al.</i> (5930)
Distribution and Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Heavy Metals in Coking Sites in China	WANG Yao-feng, HE Lian-sheng, JIANG Deng-ling, <i>et al.</i> (5938)
Spatial Variation and Risk Assessment of Heavy Metals in Soils of Main <i>Torreya grandis</i> Plantation Region in Zhejiang Province	WANG Min, DONG Jia-qi, BAI Long-long, <i>et al.</i> (5949)
Investigations on the Derivation of Safe Maize-Producing Threshold of Soil Cd Content and on Classification of Cd Contaminated Maize-Producing Areas in Northern China	GUAN Wei-dou, GUO Di, WANG Ping, <i>et al.</i> (5958)
Relationship Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metal Contents in Soil Aggregates and in Crops Around a Typical Pb-Zn Mining Area	QIANG Yu, LI Ying-ju, LUO Qian, <i>et al.</i> (5967)
Heavy Metal Pollution and Cumulative Effect of Soil-crop Systems Around Typical Enterprises in Xiong'an New District	ZHOU Ya-long, WANG Qiao-lin, WANG Cheng-wen, <i>et al.</i> (5977)
Heavy Metal Accumulation Effect and Safe Planting Zoning of Soil and Rice in Tongren	ZHU Liang-liang, WU Yong, ZHOU Lang, <i>et al.</i> (5988)
Effect of Dry-Wet Alternation on the Immobilization of Arsenic in Red Soil by Cerium Manganese Modified Biochar	HUANG Xiao-ya, LI Lian-fang, ZHU Chang-xiong, <i>et al.</i> (5997)
Ammonium Nitrogen Fertilizer and Humic Acid Synergically Promote the Removal of Cd from Soil by <i>Tagetes patula</i> L.	WANG Bing-qing, YANG Qin, LI Hong-ying, <i>et al.</i> (6006)
Characteristics and Influencing Factors of the Dissolved Methane and Nitrous Oxide Concentrations and Emissions from a Rice Paddy Drainage River in China	WU Shuang, YANG Wei-tong, SHENG Yang-yue, <i>et al.</i> (6014)
Coupling Effects of Water-saving Irrigation and Controlled-release Fertilizer (CRF) Application on CH ₄ and N ₂ O Emission in Single Cropping Paddy Field	WANG Yong-ming, XU Yong-ji, JI Yang, <i>et al.</i> (6025)
Effects of Manure Combined Chemical Fertilizers on Soil N ₂ O Emission and Microbial Characteristics of Wheat Crop System in Northwest Arid	WANG Kai, SHI Lei, MA Long, <i>et al.</i> (6038)
Effects of Different Types of Straw Returning on the Bacterial Community, Organic Carbon Mineralization and Maize Yield in Upland Red Soil	KONG Pei-jun, ZHENG Jie, LUAN Lu, <i>et al.</i> (6047)
Effects of Nitrogen and Phosphorus Additions on Soil Microorganisms in Saline-alkaline Grassland	YANG Jian-qiang, DIAO Hua-jie, HU Shu-ya, <i>et al.</i> (6058)
Effects of Combined Application of Biochar with Chemical Fertilizers and Organic Fertilizers on Nutrients and Phosphorus Forms in Purple Soils	XIANG Shu-jiang, YU Luo, XIONG Zi-yi, <i>et al.</i> (6067)
Effects of <i>Enteromorpha prolifera</i> Biochar and Wood Vinegar Co-application on Takyric Solonetz Improvement and Yield of Oil Sunflower	WANG Zheng, SUN Zhao-jun, Sameh El-Sawy, <i>et al.</i> (6078)