

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, 冯小球, 李媛, 王书肖(5594)

基于 iLME + Geoi-RF 模型的四川省 PM<sub>2.5</sub> 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<sub>2.5</sub> 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, 安小拴(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<sub>3</sub> 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, 胡敏娟, 陈丁江(5777)

黄河水环境特征与氮磷负荷时空分布 ..... 韩语, 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, 张博亮, 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 ..... 张坤锋, 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, 王耀锋, 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 ..... 王耀锋, 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, 姜霓雯, 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 ..... 强瑛, 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, 郜红建, 叶新新(6006)

稻田灌溉河流 CH<sub>4</sub> 和 N<sub>2</sub>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<sub>4</sub> 和 N<sub>2</sub>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<sub>2</sub>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)

# 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\*

(北京工业大学城市建设学部, 北京 100124)

**摘要:** 抗生素和重金属复合污染已成为环境领域的研究热点, 而关于复合污染对活性污泥系统的生态效应研究聚焦于细菌群落, 忽略了仍然发挥重要作用的古菌群落. 通过选择阿奇霉素 (azithromycin, AZM) 和金属铜 (Cu) 为研究对象,  $\rho$ (铜) 维持在环境浓度水平 ( $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 探究低温下不同  $\rho$ (AZM) ( $0.05 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对古菌群落、抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 及其交互作用的短期影响及其后效应. 结果表明, 随着 AZM 浓度增加, 古菌多样性上升, 丰富度下降, 且在后效应期间有一定恢复; 基于微生物全尺度分类发现不同浓度的 AZM 导致了微生物群落结构的改变, 古菌群落结构分为 3 个组别, 而后效应影响不明显; 复合污染对丰富类群种群结构的影响大于稀有类群, 其中条件稀有菌属 (conditionally rare taxa, CRT) 与整个古菌群落结构的变化一致; 不同类型微生物中均存在抗性与恢复特性不同的特定菌属, 对 AZM 和铜复合污染的反应不同, 且丰富类群对复合污染的抗性明显高于稀有类群, 其中甲烷鬃菌属 (*Methanosaeta*)、甲烷杆菌属 (*Methanobacterium*) 和甲烷八叠球菌属 (*Methanosarcina*) 是优势的抗性菌属; 通过预测分析共得到 29 种 ARGs, 且复合污染会引起 ARGs 的增殖, 尤其是高浓度下, 但是其对各 ARGs 亚型的影响存在差异; 在胁迫效应和后效应的交互网络中, 微生物间、ARGs 间及两者之间多为共现模式, 其中, 条件丰富菌属 (conditionally abundant taxa, CAT) 是微生物交互网络中的关键菌属; 而稀有菌属 (rare taxa, RT) 在胁迫效应中处于重要生态位; ARGs 间的共现与互斥模式均存在; 多种古菌属与 ARGs 呈现正相关, 是其潜在的古菌宿主, 且甲烷短芽孢杆菌 (*Methanobrevibacter*) 和甲烷叶菌属 (*Methanolobus*) 可能携带多种 ARGs. 综上, 本研究可为污水处理系统抗生素与重金属复合污染的风险评价及 ARGs 的削减提供新的思路与理论依据.

**关键词:** 阿奇霉素; 复合污染; 古菌群落; 全尺度分类; 抗生素抗性基因; 交互作用

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)12-5921-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.202104135

## Stress and Post Effects of Azithromycin and Copper on Archaeal Community and ARGs in Activated Sludge

GAO Yu-xi, LI Xing, ZHAO Jun-ru, ZHANG Zhong-xing, FAN Xiao-yan\*

(Faculty of Architecture, Civil and Transportation Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

**Abstract:** The combined pollution of antibiotics and heavy metals has become a research hotspot in the field of environmental research. However, studies on the ecological effects of the combined pollution on activated sludge systems have mainly focused on the bacterial community, ignoring the archaeal community, which plays several important roles. In this study, azithromycin (AZM) and copper (Cu) were selected to investigate the short-term and post-effect of different concentrations of AZM ( $0.05\text{-}40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) on an archaeal community, antibiotic resistance genes (ARGs), and their interactions at low temperatures when copper was maintained at  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . The results showed that the diversity of archaea increased with the increase in AZM concentration; however, the richness decreased, and both recovered to a certain extent during the post-effect period. It was found that different concentrations of AZM led to variations in microbial community structure based on the full-scale classification method. The archaeal community structure was divided into three groups, and the post-effect influence was not obvious. The effects of combined pollution on the structure of the abundant taxa were greater than that of the rare taxa. Moreover, the variation in the conditionally rare taxa (CRT) was consistent with that of the whole archaeal community. There were specific genera with different resistance and recovery characteristics in different taxa, which had different responses to the combined pollution of AZM and copper. The resistance of abundant taxa to combined pollution was significantly stronger than that of the rare taxa, of which *Methanosaeta*, *Methanobacterium*, and *Methanosarcina* were the dominant resistant archaeal genera. A total of 29 ARGs were obtained using prediction analysis, and AZM caused the proliferation of ARGs, especially at high concentrations; however, the effects on each subtype of ARGs were different. The co-occurrence patterns were mainly observed among the archaeal community and ARGs during the stress-effect and post-effect periods. Among them, CAT was the core taxa in the microbial interaction network. However, rare taxa (RT) represented an important ecological niche during the stress-effect period. Meanwhile, both co-occurrence and co-exclusion patterns existed among ARGs. A variety of archaeal genera were positively correlated with ARGs, and they were the potential hosts of ARGs. In particular, *Methanobrevibacter* and *Methanolobus* may carry a variety of ARGs. Overall, this study could provide new insight and theoretical basis for the risk assessment of the combined pollution of antibiotics and heavy metals in wastewater treatment systems and the removal of ARGs.

**Key words:** azithromycin; combined pollution; archaeal community; full-scale classification; antibiotic resistance gene; interaction

自抗生素具有杀菌抑菌的功效被发现以来, 其生产与使用急剧增加, 从而导致抗生素在废水、河流及土壤等不同环境中被频繁检出<sup>[1]</sup>. 其中, 大环内酯类、磺胺类、甲氧苄啶类和喹诺酮类在污水处理厂的进出水中含量最高, 尤其是大环内酯类中的阿奇

霉素 (azithromycin, AZM) 已被列入欧盟 2015/495/

收稿日期: 2021-04-14; 修订日期: 2021-05-14

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (51808013); 国家重点研发计划项目 (2018YFC0406203)

作者简介: 高玉玺 (1993~), 男, 博士研究生, 研究方向为水污染控制与环境微生物, E-mail: gaoyuxi1993@163.com

\* 通信作者, E-mail: fanxy@bjut.edu.cn

EU 标准的第一观察名单. 抗生素广泛使用所诱导产生的抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 已经成为一个新兴的公共卫生问题<sup>[2]</sup>. 污水处理系统通常被认为是抗生素和 ARGs 的储存地. 此外, 重金属也是污水处理厂中常见的污染物, 例如铜、锌和镍等<sup>[3]</sup> 会提高 ARGs 的丰度, 并影响 ARGs 的传播<sup>[3,4]</sup>. 多种污染物并存引发的复合污染问题成为环境污染领域研究的热点. 活性污泥法是最广泛的污水处理技术之一, 因此, 探究抗生素和重金属复合污染对污水处理系统微生物群落及 ARGs 传播的影响具有重要意义.

活性污泥由复杂的微生物群体构成, 包括真核生物、细菌、古菌和病毒, 其中细菌群落占比最高. 目前, 大部分关于抗生素或重金属对活性污泥系统的生态效应聚焦于细菌, 且证实部分细菌是 ARGs 的潜在宿主, 对其传播具有重要影响<sup>[5-8]</sup>. 相比于细菌, 古菌在活性污泥系统中也发挥着重要作用, 例如, 氨氧化古菌是污水处理中氨氧化过程的重要参与者, 亦是冬季低温下的优势活性氨氧化微生物, 对于污水硝化作用的贡献要明显高于其他细菌类别<sup>[9]</sup>. 此外, 已有研究发现古菌中的甲烷短芽孢杆菌 (*Methanobrevibacter*) 携带了四环素类抗性基因<sup>[10]</sup>, 且古菌与嗜热细菌之间存在水平基因转移 (horizontal gene transfer, HGT)<sup>[11]</sup>. 这些结果表明, 古菌在维持活性污泥系统功能及 ARGs 传播方面的重要作用. 此外, 需要注意的是, 古菌群落是由占比不同的丰富微生物和稀有微生物组成. 有研究人员提出微生物全尺度分类法<sup>[12]</sup>, 可将微生物分为 6 类: 丰富菌属 (abundant taxa, AT)、中丰度菌属 (moderate taxa, MT)、稀有菌属 (rare taxa, RT)、条件丰富菌属 (conditionally abundant taxa, CAT)、条件丰富或稀有菌属 (conditionally rare or abundant taxa, CRAT) 和条件稀有菌属 (conditionally rare taxa, CRT). 但是, 不同类型古菌对抗生素和重金属复合污染的反应及其对 ARGs 传播的影响尚不清楚.

本文选择阿奇霉素 (AZM) 和金属铜 (Cu) 为研究对象, 使铜维持在环境浓度水平保持不变, 探究低温下不同浓度 AZM 对活性污泥中古菌群落 (6 类菌) 多样性、结构和组成的影响, 解析 ARGs 的赋存特征和共现模式, 并确定其潜在古菌宿主, 以期为推动抗生素与重金属复合污染的环境风险评价和开展 ARGs 污染防治提供新的思路和理论基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 活性污泥微宇宙的构建与试验设计

投加浓度为  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的铜和不同浓度的 AZM

( $0.05 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 到活性污泥反应器中, 以探究复合污染对微宇宙反应器的短期冲击影响. 硫酸铜和阿奇霉素 (AZM) 分别购自上海麦克林生化有限公司和阿拉丁试剂 (中国上海) 有限公司. 投加的 AZM 分 4 类浓度: 环境浓度 (E:  $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、低浓度 (L:  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、中浓度 (M:  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和高浓度 (H, H1:  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和 H2:  $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[6, 13-15]</sup>. 不含任何污染物和只含铜 ( $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的反应器分别命名为 Blank 和 Cu\_E. 同时含有铜和 AZM 的反应器, 依据 AZM 浓度的不同, 依次被命名为 AZM\_E、AZM\_L、AZM\_M、AZM\_H1 和 AZM\_H2.

每个反应器设置一个平行对照. 所有的反应器使用的是 500 mL 玻璃锥形瓶, 包含 125 mL 活性污泥和 125 mL 合成废水. 活性污泥采集于北京市某城市污水处理厂曝气池中, 活性污泥 [ $\rho$  (MLSS)] 控制在  $4000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . 人工配水的组成为:  $\rho$  (葡萄糖)  $0.281 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\rho$  (氯化铵)  $0.134 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\rho$  (碳酸氢钠)  $0.420 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\rho$  (磷酸二氢钾)  $0.050 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\rho$  (氯化钾)  $0.080 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\rho$  (氯化钠)  $0.590 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  和微量溶液  $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[16]</sup>. 污染物胁迫试验进行 6 个周期 (每周 8 ~ 42 h). 从 7 周期开始不再向反应器投加铜或 AZM, 研究污染物后效应 (3 个周期, 每周 8 ~ 25 h), 对应的反应器命名为: Blank\_P、Cu\_E\_P、AZM\_E\_P、AZM\_L\_P、AZM\_M\_P、AZM\_H1\_P 和 AZM\_H2\_P. 氨氮完全去除代表一个周期结束, 溶解氧和 pH 分别控制在  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和 7.0 ~ 7.5, 反应器的水温维持在  $12 \sim 15^\circ\text{C}$ .

### 1.2 基因组 DNA 提取与测序

在第六和第九周期结束时从对应的反应器收集活性污泥样品, 共 15 个: 1 个种泥 (Seed)、7 个胁迫样品和 7 个后效应样品. 活性污泥样品经冻干处理后, 称取  $0.05 \sim 0.10 \text{ g}$  干污泥, 利用 E. Z. N. A.® Soil DNA 试剂盒 (Omega Bio-tek, USA) 提取基因组 DNA, 并用 NanoDrop-2000 (Thermo Fisher Scientific, USA) 测定 DNA 浓度. 使用 Illumina MiSeq PE300 测序仪 (Illumina, USA) 进行古菌 16S rRNA 基因 (V3 ~ V4 区) 测序 (北京奥维森科技有限公司). 原始测序数据上传至 Sequence Read Archive (SRA) 数据库, 登录号为 PRJNA698404.

### 1.3 序列分析与微生物全尺度分类

测序得到的原始序列经过滤和去除嵌合体后得到有效序列, 进行后续分析. 相似度大于 97% 的序列被划分到相同的操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs). 通过 RDP 数据库将 OTUs 进行物种注释. 采用 Mothur (version 1.39.3) 软件计

算群落多样性指数(Shannon 指数; Simpson 指数)、丰富度指数(Chao 1 指数; ACE 指数)和覆盖率指数(Coverage 指数)来评价古菌群落多样性和丰富度. 采取全尺度的分类方法<sup>[12]</sup>对古菌进行分类. 其中 AT 的相对丰度在所有样品中都在 1% 以上; CAT 的部分样品相对丰度在 1% 以上, 其余样品大于 0.1% 而小于 1%; CRAT 的样品相对丰度从低于 0.1% 到高于 1% 都存在; MT 的所有样品相对丰度在 0.1%~1% 之间; CRT 的部分样品的相对丰度低于 1% 大于 0.1%, 其余样品低于 0.1%; RT 的所有样品相对丰度均低于 0.1%. 同时, 采用主成分分析(principal component analysis, PCA)探究不同类型微生物的群落结构相似度.

#### 1.4 抗性基因分析

使用 PICRUSt (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States) 预测分析不同样品的 ARGs. 根据笔者之前研究<sup>[17]</sup>确定的 KOs (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Orthologs) 将样品中不同类型抗生素对应的 ARGs 挑选出来. 主要涉及的抗生素有氟喹诺酮-喹诺酮-氟苯尼考-氯霉素-胺酰醇类(fluoroquinolone-quinolone- florfenicol- chloramphenicol- amphenicol, FCA)、 $\beta$ -内酰胺类、大环内酯-林考胺-链霉素杀阳菌类(macrolide-lincosamide-streptogramin B, MLSB)、万古霉素、氨基糖苷类、四环素类或其他类别抗生素. 使用 Heml 软件绘制 ARGs 分布的热图(Heatmap).

#### 1.5 统计分析

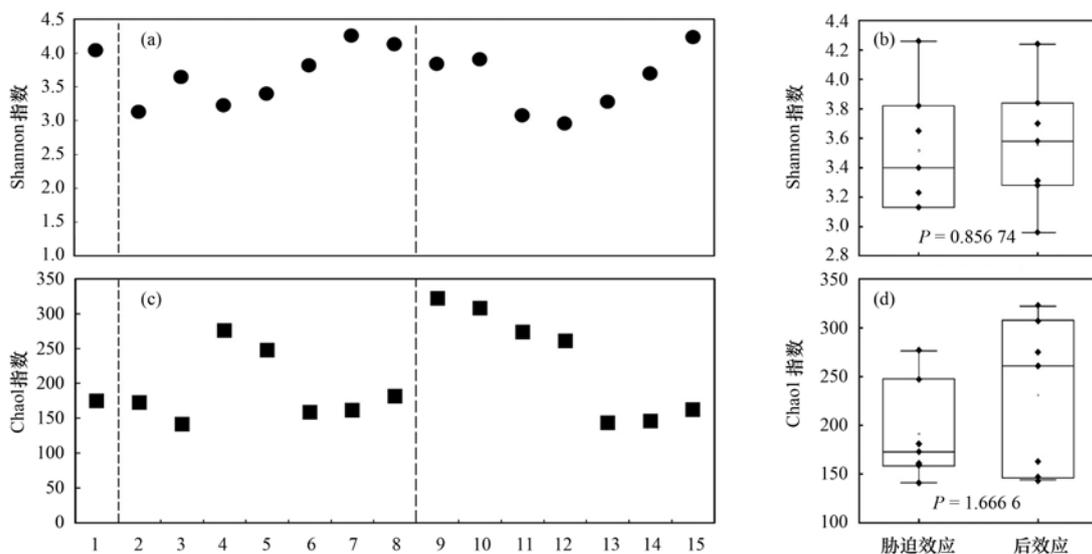
采用 Microsoft Excel 2019 对数据进行处理与方差分析. 使用 SPSS 统计软件(version 26) 计算 Spearman 秩相关系数(SRCCs) 构建相关矩阵, 稳定的相关性定义为  $SRCC \geq 0.6$  或  $\leq -0.6$  且  $P$  值  $\leq 0.05$ <sup>[18]</sup>. 使用 Cytoscape(version 3.7.1) 来展示微生物菌属(六大类)之间、ARGs 之间和微生物菌属与 ARGs 之间的网络关系, 以探究其交互作用.

## 2 结果与讨论

### 2.1 微生物群落的多样性与结构变化

#### 2.1.1 微生物群落多样性和丰富度

所有样品的 Coverage 指数均高于 95%, 说明测序深度足够. 不同样品的多样性指数变化如图 1(a) 和 1(b) 所示. Cu\_E 的 Shannon 指数略高于 Blank, 表明微生物的多样性高于 Blank, 这可能是重金属铜是一些微生物生长必要的元素, 促进它们的生长<sup>[6]</sup>. 此外, AZM\_E 的 Shannon 指数低于 Cu\_E, 这可能是低浓度的 AZM 与铜的胁迫作用使微生物的多样性有所减少. 而随着 AZM 浓度上升, 微生物多样性增加, 这可能是对污染物敏感的优势菌属减少, 种类较多的稀有菌属有所增加. 后效应期间, AZM 与铜复合污染样品的 Shannon 指数上升趋势与胁迫效应的基本一致, 并无明显变化, 表明微生物多样性在短期内恢复缓慢. 此外, Cu\_E 的 Chao1 指数略低于空白样品, AZM\_E 的 Chao1 指数明显高于 Cu\_E, 推测可能是低浓度 AZM 与铜的复合污染对微生物



(a) Shannon 指数; (b) Chao1 指数; (c) 胁迫效应和后效应样品的 Shannon 指数比较; (d) 胁迫效应和后效应样品的 Chao1 指数比较; 1. Seed, 2. Blank, 3. Cu\_E, 4. AZM\_E, 5. AZM\_L, 6. AZM\_M, 7. AZM\_H1, 8. AZM\_H2, 9. Blank\_P, 10. Cu\_E\_P, 11. AZM\_E\_P, 12. AZM\_L\_P, 13. AZM\_M\_P, 14. AZM\_H1\_P, 15. AZM\_H2\_P

图 1 不同胁迫和后效应样品中古菌多样性与丰富度变化

Fig. 1 Variations in archaeal diversity and richness in different stress-effect and post-effect samples

具有拮抗作用. 而随着 AZM 浓度的升高, 尤其是从 AZM\_M 开始, Chao1 指数明显逐渐下降, 微生物的丰富度逐渐降低. Zhao 等<sup>[7]</sup>的研究也出现了微生物丰富度随着抗生素浓度增高而下降的现象, 与本研究的结论一致. 但后效应期间微生物的 Chao1 指数略有增加, 丰富度有所恢复, 尤其是在 Cu\_E\_P 中, 表明微生物的丰富度可以较快地从单一铜污染中恢复. 从整体上看, 后效应期间所有样品的微生物的多样性与丰富度都高于胁迫效应期间[图 1(c) 和 1(d)], 表明在撤去污染物后, 微生物多样性与丰富度是有一定程度的恢复. 总之, 随着 AZM 浓度增加, 微生物多样性上升, 丰富度逐渐下降, 后效应期间多样性与丰富度恢复缓慢.

### 2.1.2 微生物群落结构变化

基于微生物全尺度分类方法, 共得到 4 类古菌类群(AT、CAT、CRT 和 RT), 通过 PCA 对复合污染下不同类群微生物的群落结构进行分析. 如图 2 所示, 整个微生物群落可分为 3 个组别: I (Blank、Cu\_E 和 AZM\_E 及其后效应样品)、II (AZM\_L\_P 和 AZM\_M\_P) 和 III (Seed、AZM\_M 和 AZM\_H 及其后效应样品). 不同浓度 AZM 的样品分布在不同组别, 但是大部分胁迫与后效应期间的样品聚在一起,

说明不同浓度 AZM 导致了微生物群落结构的改变, 而后效应影响不明显. 此外, 在组 I 中, Blank 与 Cu\_E 距离相近, 说明环境浓度的铜对微生物群落结构的影响较小, 这与前人关于低浓度铜对微生物群落结构影响的研究结果一致<sup>[6]</sup>. 在组 II 中, 后效应的低浓度和中浓度 AZM 样品微生物距离相近, 结构相似, 这可能是它们对于污染物胁迫后的恢复能力是相似的. 从 AT 分类来看, Blank、Blank\_P 和 Cu\_E\_P 聚在一起、AZM\_E 和 AZM\_L\_P 聚在一起、高浓度样品聚在一起, 说明 AT 类群的群落结构也受 AZM 浓度的影响较大, 且它们之间较为分散, 进一步表明丰富菌属受 AZM 浓度影响较显著. CAT 与 AT 的群落结构类似, 这可能是它们两种分类的微生物都是丰富菌属, 对污染胁迫的响应也相似. 复合污染及后效应下, CRT 的群落结构分布与整个微生物类群结构的变化类似, 说明 CRT 在古菌群落结构稳定性维持方面具有重要作用. 从 RT 分类看, 虽然不同样品也分类为 3 个组别, 但是彼此相距较近, 表明复合污染对稀有菌属的微生物群落结构影响相对较小. 因此, 各类群微生物对复合污染的响应存在差异, 且丰富菌属要明显于稀有菌属.

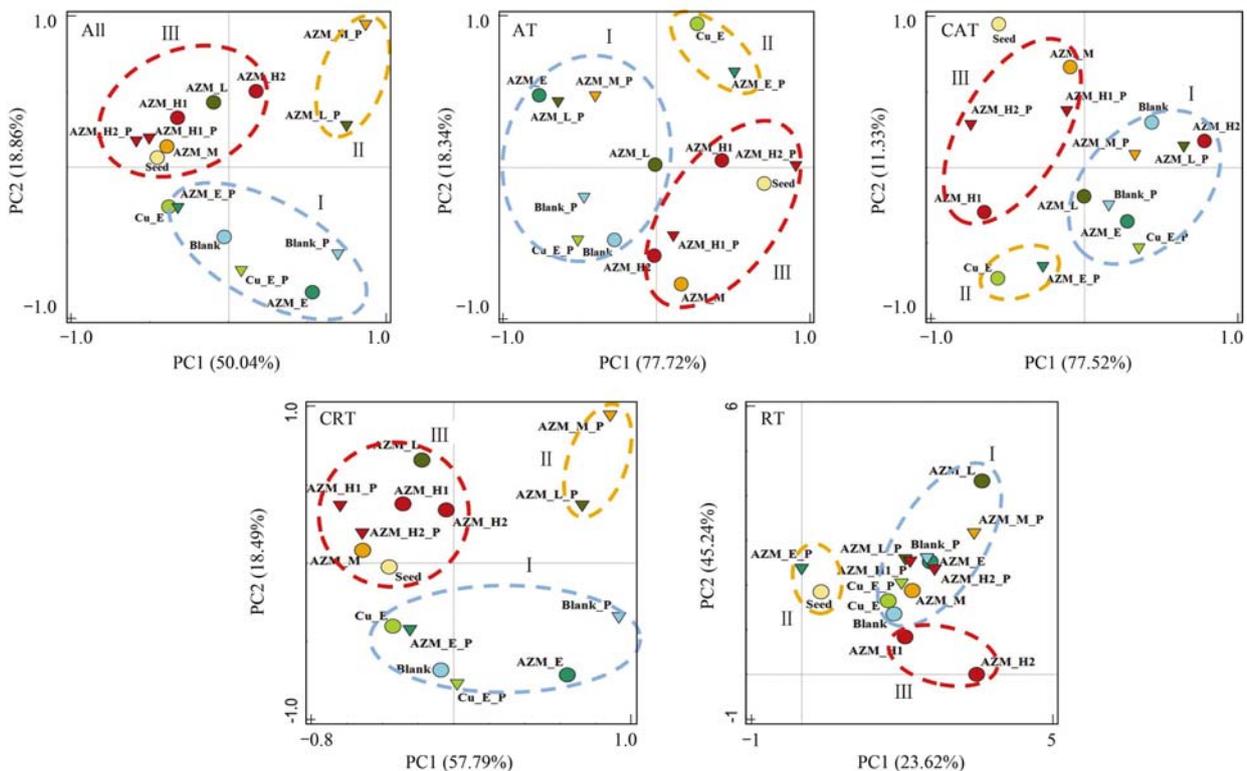


图 2 基于微生物全尺度分类的微生物群落结构 PCA 分析

Fig. 2 PCA analysis of microbial community structure based on full-scale microbial classification

### 2.2 微生物群落组成的变化

如图 3(a) 所示, AT 是整个微生物群落中占主导地位微生物类群, 占总体的 71.81% ~ 96.83%,

其次是 CAT, 占 3.47% ~ 27.07%, 而 CRT 与 RT 占比极小. 其中, Cu\_E 中的 AT 低于 Blank 的相对丰度, 这可能是铜抑制了 AT 类群的活性. 而投加 AZM

后, AZM\_E、AZM\_L 和 AZM\_M 的相对丰度与 Blank 相差不大,表明 AT 对中低浓度 AZM 并不敏感. 而 AZM\_H1 的相对丰度有所下降,可能是高浓度的 AZM 抑制 AT 的生长. 后效应期间, AT 相对丰度略有恢复. 而 Cu\_E 中的 CAT 相对丰度明显高于 Blank,这可能是低浓度的铜元素促进 CAT 的生长,而环境浓度的 AZM 使其相对丰度下降. 而随着 AZM 浓度的增高,其相对丰度呈现不断增加的趋势,在后效应期间其趋势基本一致,表明 CAT 对不同浓度的 AZM 具有明显抗性.

### 2.2.1 丰富菌属

如图 3(b)所示, AT 中占比最高的古菌菌属是甲烷鬃菌属 (*Methanosaeta*, 33.66% ~ 85.95%),它具有将乙醇转化为甲烷的功能<sup>[19]</sup>. *Methanosaeta* 在 Cu\_E 中的相对丰度与 Blank 相差不大,但在 AZM\_E 中的相对丰度高于 Cu\_E,这可能与低浓度 AZM 与铜复合污染的拮抗作用有关. 随着 AZM 浓度增高, *Methanosaeta* 相对丰度逐渐下降,复合污染拮抗效果逐渐减弱,对该菌生长的抑制作用逐渐增强. 后效应期间, *Methanosaeta* 的相对丰度较胁迫样品略有增加,表明复合污染后效应的影响较小,使其得到一定程度恢复. 甲烷杆菌属 (*Methanobacterium*, 4.91% ~ 13.11%) 是通过甲酸盐和 H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> 产生甲烷的古菌<sup>[20]</sup>,随着 AZM 浓度升高,相对丰度逐渐增加,抑制作用逐渐降低,表明 *Methanobacterium* 对 AZM 具有高抗性. 甲烷八叠球菌属 (*Methanosarcina*, 1.29% ~ 24.40%) 是产生甲烷效率最高的古菌之一<sup>[21]</sup>,它在 Cu\_E 中的相对丰度高于 Blank,这可能是因为铜是 *Methanosarcina* 生长所需的元素之一<sup>[6]</sup>. 而在高于环境浓度的 AZM 样品中,相对丰度逐渐增加,表明 *Methanosarcina* 对 AZM 的胁迫具有明显抗性,且在最高浓度的后效应样品 (AZM\_H2\_P) 中相对丰度最高.

在 CAT 中 [图 3(c)], 甲烷螺菌属 (*Methanospirillum*, 1.02% ~ 10.78%) 是 CAT 中占比最高的古菌属,被认为能够利用氢气产甲烷的古菌<sup>[22]</sup>. 它在 Cu\_E 中的相对丰度高于 Blank. 在投加 AZM 后, AZM\_E 中的 *Methanospirillum* 相对丰度有所下降,生长受到了抑制,这可能与低浓度 AZM 与 Cu 复合污染的协同作用有关,而随着 AZM 浓度的增加,其相对丰度逐渐增加,表现出对 AZM 的高抗性. 后效应中 CAT 各菌属的变化趋势与胁迫样品基本一致,在短期内未得到恢复,表明了复合污染对 CAT 各菌属存在短期后效应. 除此之外, *Methanoregula* (0.91% ~ 7.01%) 和甲烷食甲基菌属 (*Methanomethylivorans*, 0.59% ~ 7.04%) 与

*Methanospirillum* 的变化趋势类似.

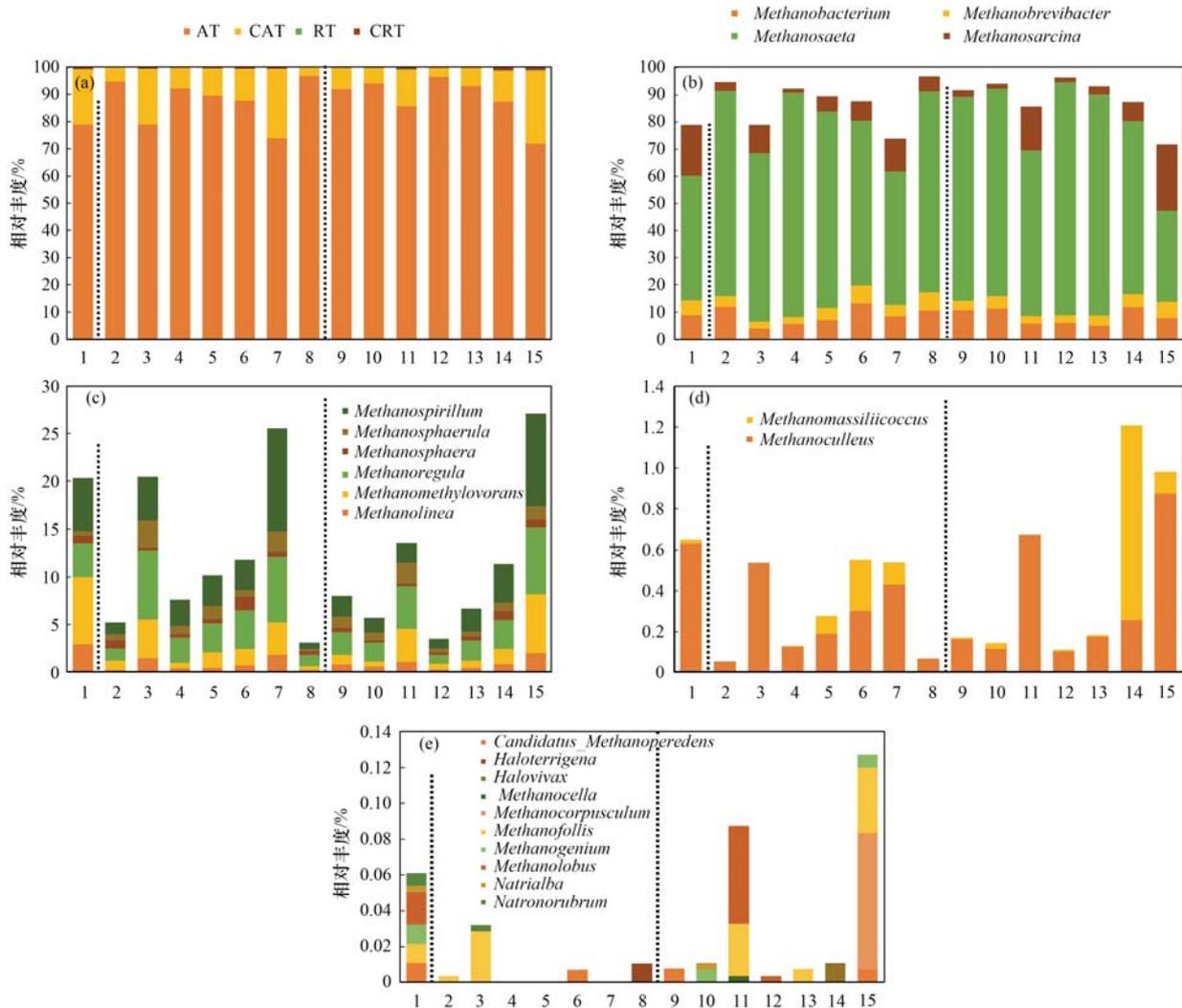
### 2.2.2 稀有菌属

在 CRT 中, 甲烷囊菌属 (*Methanoculleus*, 0.05% ~ 0.87%) 占主导地位 [图 3(d)], 其是存在于海底甲烷水合物沉积物中产生甲烷的菌属<sup>[23]</sup>. 该菌在 Cu\_E 中的相对丰度明显高于 Blank,这可能是铜对 *Methanoculleus* 的生长较为关键. 而在 AZM\_E 中该菌的相对丰度下降,表明生长受到了抑制,但随着 AZM 浓度上升 *Methanoculleus* 的相对丰度逐渐上升,表明该菌对高浓度的 AZM 与铜复合污染具有高抗性. 在后效应期间,相对丰度又进一步增加,这可能是在撤销污染物后,该菌的生长繁殖能力恢复较快. 有趣的是,另一种菌甲烷链球菌属 (*Methanomassiliicoccus*) 在 Blank、Cu\_E 和 AZM\_E 中并不存在,但从 AZM\_L 开始出现,在 AZM 中浓度和高浓度的样品中占比较大,这表明 *Methanomassiliicoccus* 对 AZM 具有显著的抗性,并且适合在 AZM 存在,尤其是高浓度的环境中生长,而后效应期间在 AZM\_H1\_P 中占比最高.

在 RT 中 [图 3(e)], 没有一种菌属一直占有主导地位,且各菌属在不同样品中的分布规律并不明显,这可能是稀有菌属对污染比较敏感,受到抑制比较明显<sup>[24]</sup>. 甲烷泡菌属 (*Methanofollis*) 在 Cu\_E 中相对丰度较高,而其他菌属在胁迫作用期间几乎并不存在. 在后效应期间,除 AZM\_E\_P 中的 *Methanofollis* 和甲烷叶菌属 (*Methanolobus*) 以及 AZM\_H2\_P 中的 *Methanofollis* 和甲烷粒菌属 (*Methanocorpusculum*) 相对丰度较高外,其余样品中的各个菌属依旧保持在很低水平,这可能是后效应期间菌属生长繁殖能力并没有在短时间内从复合污染的胁迫中恢复. 综上,不同类型生物中均存在抗性与恢复特性不同的特定菌属,对 AZM 和铜复合污染的响应不同.

### 2.3 抗生素抗性基因的分析

本文通过 PICRUSt 研究了样品中 ARGs 的赋存特征 (图 4). 如图 4(a) 所示,样品中 ARGs 基因数量为  $3.9 \times 10^5 \sim 9.9 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{ng}^{-1}$ ,其中, Seed 的 ARGs 基因数量高于其他样品. 随着 AZM 浓度增加, ARGs 基因数量呈增长趋势,胁迫效应的样品略高于后效应的样品,说明复合污染会引起 ARGs 的增殖. 本文共获得 7 类 29 种 ARGs,其中,被广泛使用的  $\beta$ -内酰胺类抗生素<sup>[25]</sup> (33.96%, 4 种亚型) 占最大比例. 除此之外,主要包括 FCA (22.52%, 7 种亚型)、MLS<sub>B</sub> (20.39%, 5 种亚型)、其他抗生素 (9.30%, 3 种亚型)、万古霉素 (6.68%, 3 种亚型)、四环素 (5.97%, 2 种亚型) 和氨基糖苷类 (1.15%, 5 种亚型). 自用抗生素药物调查显示,自用抗生素药



(a) 总类群; (b) AT; (c) CAT; (d) CRT; (e) RT; 1. Seed, 2. Blank, 3. Cu\_E, 4. AZM\_E, 5. AZM\_L, 6. AZM\_M, 7. AZM\_H1, 8. AZM\_H2, 9. Blank\_P, 10. Cu\_E\_P, 11. AZM\_E\_P, 12. AZM\_L\_P, 13. AZM\_M\_P, 14. AZM\_H1\_P, 15. AZM\_H2\_P

图3 AZM与铜复合污染下的微生物类群相对丰度变化

Fig. 3 Variations in relative abundance of microbial taxa under AZM and copper combined pollution

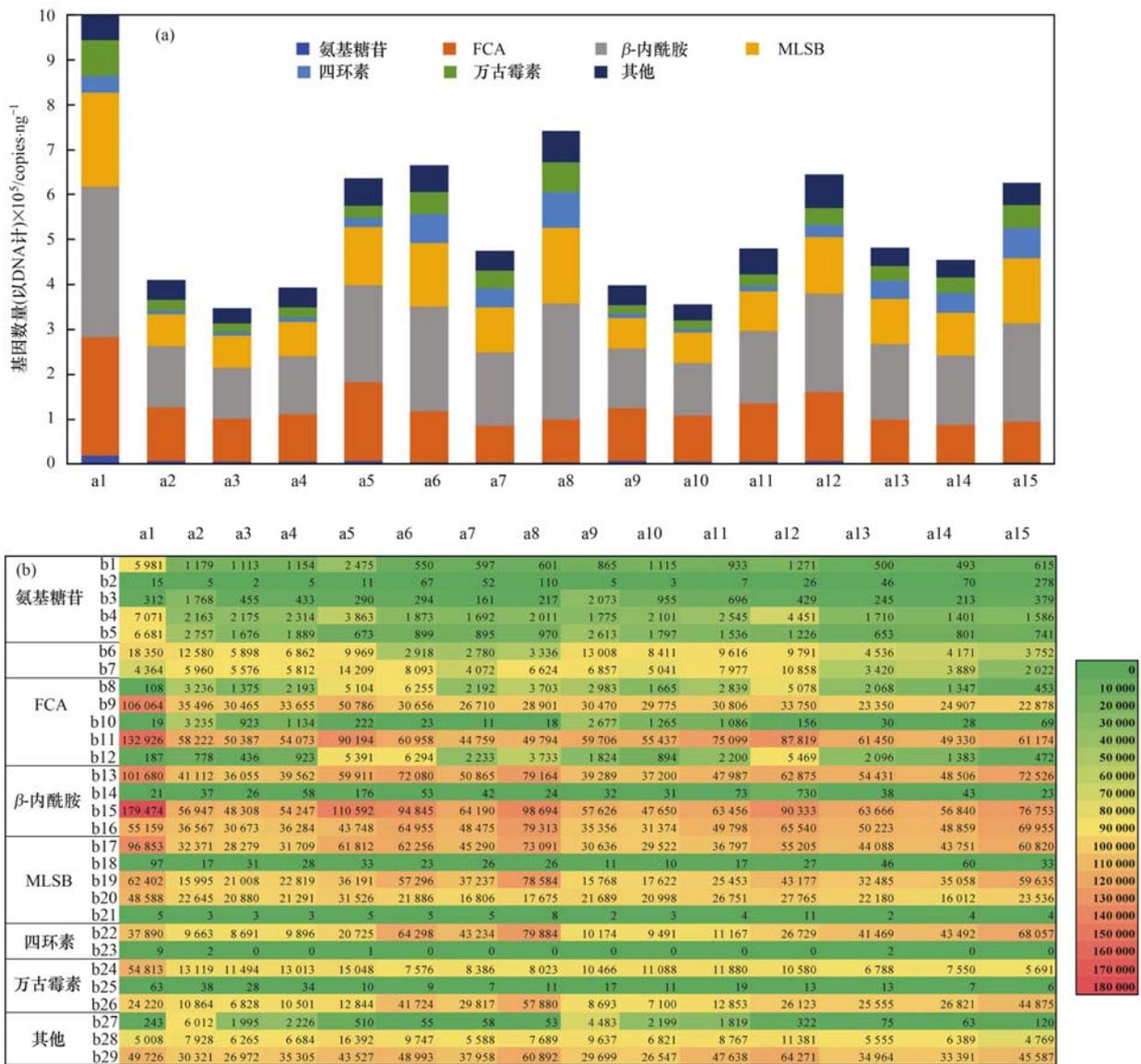
物主要类型为 MLSB、四环素类和喹诺酮类<sup>[26]</sup>。此外,β-内酰胺类和 MLSB 在 AZM\_H2 中基因数量最高,而 FCA 在 AZM\_L 和 AZM\_L\_P 中基因数量相对较高,说明在铜与 AZM 选择压下抗性基因的数量和分布也会受到较大影响,表明投加 AZM 也会对其他抗生素对应的 ARGs 产生影响。

通过 ARGs 亚型分布的热图可以看出[图 4 (b)],在 5 个氨基糖苷类的亚型 ARGs 中,其中 *aacC2/4* 基因数量最高,*aacC1* 基因数量最低,其基因总数均随着 AZM 的增加而减少,说明 AZM 抑制了氨基糖苷类抗性基因的表达。检测到的 7 个 FCA 类的亚型 ARGs,在多数样品中占比最高的基因为 *emrB/qacA* 和 *adeA/cmeA/mexA*,其次为 *catB3* 和 *qepA*。AZM\_E 和 AZM\_L 中各基因数量均低于其他样品。β-内酰胺类的所有样品中 *ampC* 和 *cfxA* 的数量均高于其他基因,而 *pbp2X* 的数量较少。除 *pbp2X*

外,其余基因均随 AZM 浓度的增加而增加。在 5 个 MLSB 类亚型 ARGs 中,*ermK* 的基因数量是 *ereA* 的 4 倍多。*ermB/C* 在大部分样品中未检出。*tetA/tetG/tetH/tetJ* 是四环素类中基因数较多的亚型,而 *tetL/tetK* 几乎未检出。万古霉素类 3 个亚型 ARGs 中,*vraR* 的基因数最低,且随着 AZM 浓度的增加而减少。综上,AZM 复合污染会引起 ARGs 的增殖,尤其是高浓度下,但是其对各 ARGs 亚型的影响存在差异。

#### 2.4 微生物与 ARGs 的网络分析

自然生态系统中的微生物并不是作为个体种群单独存在的。相反,它们相互作用,形成复杂的微生物群落<sup>[27]</sup>。本文通过网络分析探究微生物与 ARGs 的交互作用(图 5)。在胁迫效应和后效应的交互网络中,分别有 166 条和 152 条关系线,其中超过 70% 为正相关(胁迫效应 129 条,后效应 108 条),表



(a) 不同抗生素类别的基因数量分布; (b) ARGs 基因数量的热图分析; a1. Seed, a2. Blank, a3. Cu\_E, a4. AZM\_E, a5. AZM\_L, a6. AZM\_M, a7. AZM\_H1, a8. AZM\_H2, a9. Blank\_P, a10. Cu\_E\_P, a11. AZM\_E\_P, a12. AZM\_L\_P, a13. AZM\_M\_P, a14. AZM\_H1\_P, a15. AZM\_H2\_P; b1. *aadE*, b2. *aacCI*, b3. *aadA1*, b4. *aacC2/4*, b5. *aacC2*, b6. *catB3*, b7. *qepA*, b8. *basR*, b9. *emrB/qacA*, b10. *yidY/mdlL*, b11. *adeA/cmeA/mexA*, b12. *oprJ*, b13. *penA*, b14. *pbp2X*, b15. *ampC*, b16. *cfxA*, b17. *ermK*, b18. *ereA*, b19. *mphB*, b20. *mdtA*, b21. *ermB/C*, b22. *tetA/tetG/tetH/tetJ*, b23. *tetL/tetK*, b24. *vanXB*, b25. *vraR*, b26. *vanYB*, b27. *emrD*, b28. *acrR*, b29. *marR*

图4 不同样品中抗生素抗性基因的赋存特征及其分布

Fig. 4 Occurrence and distribution of ARGs in different samples

明微生物间、ARGs 间及两者之间多为共现模式, Zhao 等<sup>[28]</sup>发现不同 ARGs 类型间存在明显的共现模式,表明 ARGs 之间存在有共同选择的潜力. 在不同类型菌属间的交互作用中,不管是胁迫效应还是后效应下, CAT 与其他类群间的关系线都最多,表明 CAT 与其他类群关系更加紧密,在微生物交互网络中处于关键生态位. Li 等<sup>[18]</sup>的研究发现 CRAT 是生活在热水系统管壁生物膜的核心微生物类群,这与不同的生物介质或存在形态有关. 此外,从 RT 与其他类群微生物的交互中可以看出,在胁迫效应中,稀有菌属 RT 与其他类型菌的关系较后效应密切,

表明稀有菌属在胁迫效应中的重要作用.

相较于微生物间的交互作用, ARGs-ARGs 的交互网络更复杂,且胁迫效应 ARGs 与 ARGs 之间的关系线(79 条)要明显多于后效应(41 条),表明复合污染胁迫下抗性基因间的交互作用更复杂. 胁迫效应期间,其他类别抗生素的亚型 *marR* 和 *emrD* 与其他 ARGs 的关系线最多,各是 10 条,且其中 8 条为正相关. 在后效应期间,四环素类的 *tetA/tetG/tetH/tetJ* 和其他类别抗生素的 *marR* 与其他 ARGs 的关系线最多(各 8 条),联系最密切,且大部分为正相关. FCA 的亚型 *oprJ* 与其他 ARGs 大部分呈现

负相关(5条)。结果表明:四环素类和其他类抗生素与其余抗生素类别的 ARGs 呈现共现模式,而 FCA 类抗生素的 ARGs 与其余 ARGs 呈现互斥模式。在 Zhao 等<sup>[28]</sup>的研究中发现,四环素类的抗性基因更有可能和氨基糖苷类呈现共现模式,而氯霉素类与其他抗性基因呈现互斥模式。

此外,在微生物种属与 ARGs 网络关系中,胁迫效应期间,属于 AT 的 *Methanobrevibacter* 与 MLSB、 $\beta$ -内酰胺类和氨基糖苷类的亚型 ARGs 呈现正相关

(11条),它可能是携带多种 ARGs 的潜在宿主,属于多重耐药菌。在后效应期间,属于 RT 的 *Methanobolus* 与 MLSB、FCA、万古霉素和氨基糖苷类的亚型 ARGs 呈现正相关(8条),CAT 的 *Methanospirillum* 和甲烷球形菌属(*Methanospaera*)与四环素类的亚型 ARGs 呈现正相关(3条)。因此,部分丰富菌属和稀有菌属的古菌都可成为 ARGs 的潜在宿主,并且可能是多种 ARGs 的携带者,需要给予更多的关注与开展深入地研究。

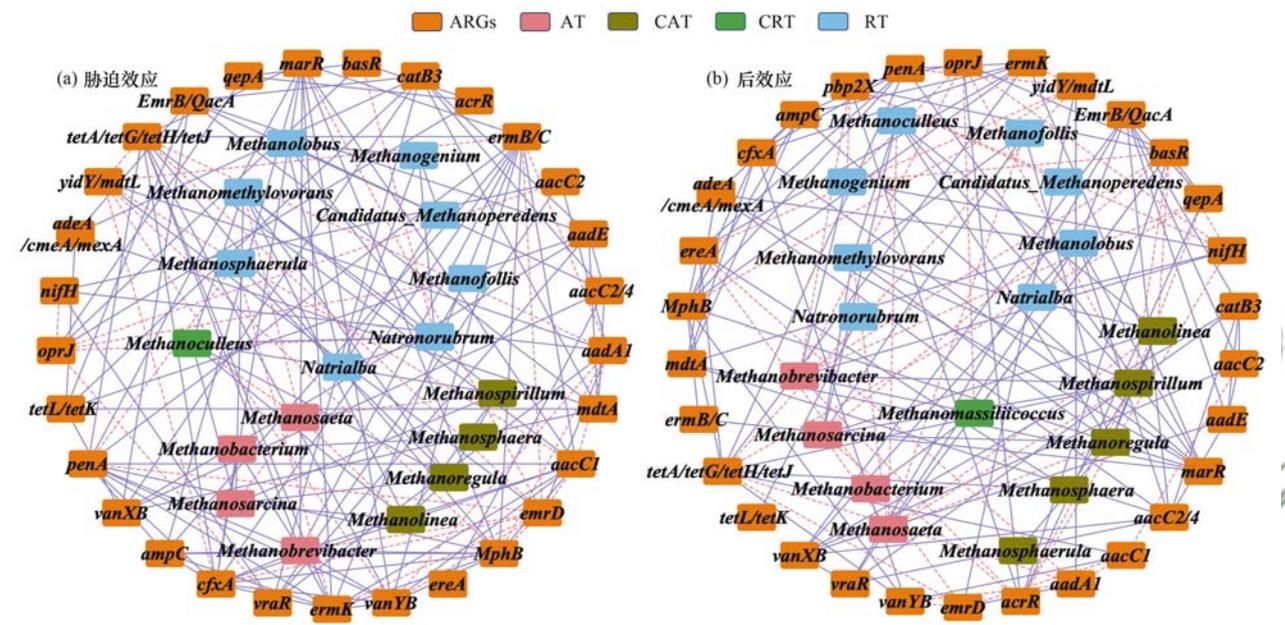


图5 微生物与 ARGs 的网络分析

Fig. 5 Network analysis of relationships among four microbial taxa and ARGs

### 3 结论

(1)在复合污染选择压下,随着 AZM 浓度增加,古菌多样性上升,丰富度下降,且在后效应期间丰富度缓慢恢复;各类群微生物群落结构对复合污染的响应不同,且丰富菌属较稀有菌属更敏感,其中 CRT 在古菌群落结构稳定性维持方面具有重要作用。

(2)不同类型生物中均存在抗性与恢复特性不同的特定菌属,且丰富菌属对复合污染的抗性高于稀有菌属,其中 *Methanosaeta*、*Methanobacterium* 和 *Methanosarcina* 是古菌群落中的优势菌属。

(3)本文共检测出 7 类 ARGs 中的 29 种 ARGs,其中, $\beta$ -内酰胺类占比最大,达 33.96%;复合污染会引起 ARGs 的增殖,尤其是高浓度下,但其对各类 ARGs 亚型的影响存在差异。

(4)CAT 是胁迫与后效应期间微生物交互网络中的关键菌属,而 RT 在胁迫效应中处于重要生态位; ARGs 间的共现与互斥模式均存在;

*Methanobrevibacter* 和 *Methanobolus* 与多种 ARGs 呈现正相关,是多种 ARGs 的潜在古菌宿主。

#### 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] Xiong W G, Sun Y X, Ding X Y, et al. Antibiotic resistance genes occurrence and bacterial community composition in the Liu xi River[J]. Frontiers in Environmental Science, 2014, 2: 1-6.
- [3] Li L G, Dechesne A, He Z M, et al. Estimating the transfer range of plasmids encoding antimicrobial resistance in a wastewater treatment plant microbial community [J]. Environmental Science & Technology Letters, 2018, 5(5): 260-265.
- [4] 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.
- [5] Wang Z C, Xia P H, Gao M C, et al. Long-term effects of combined divalent copper and tetracycline on the performance, microbial activity and community in a sequencing batch reactor [J]. Bioresource Technology, 2018, 249: 916-923.
- [6] Li S S, Ma B R, Zhao C K, et al. Long-term effect of different Cu (II) concentrations on the performance, microbial enzymatic

- activity and microbial community of sequencing batch reactor [J]. *Environmental Pollution*, 2019, **255**, doi: 10.1016/j.envpol.2019.113216.
- [ 7 ] Zhao Y F, Gao J F, Wang Z Q, *et al.* Responses of bacterial communities and resistance genes on microplastics to antibiotics and heavy metals in sewage environment [ J ]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, **402**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123550.
- [ 8 ] Zhao R X, Yu K, Zhang J Y, *et al.* Deciphering the mobility and bacterial hosts of antibiotic resistance genes under antibiotic selection pressure by metagenomic assembly and binning approaches[J]. *Water Research*, 2020, **186**, doi: 10.1016/j.watres.2020.116318.
- [ 9 ] Pan K L, Gao J F, Fan X Y, *et al.* The more important role of archaea than bacteria in nitrification of wastewater treatment plants in cold season despite their numerical relationships[J]. *Water Research*, 2018, **145**: 552-561.
- [ 10 ] 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.
- [ 11 ] Fuchsman C A, Collins R E, Rocap G, *et al.* Effect of the environment on horizontal gene transfer between bacteria and archaea[J]. *PeerJ*, 2017, **5**, doi: 10.7717/peerj.3865.
- [ 12 ] Dai T J, Zhang Y, Tang Y S, *et al.* Identifying the key taxonomic categories that characterize microbial community diversity using full-scale classification: a case study of microbial communities in the sediments of Hangzhou Bay [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, **92** (10), doi: 10.1093/femsec/fiw150.
- [ 13 ] Zhang M Q, Yuan L, Li Z H, *et al.* Tetracycline exposure shifted microbial communities and enriched antibiotic resistance genes in the aerobic granular sludge [J]. *Environment International*, 2019, **130**, doi: 10.1016/j.envint.2019.06.012.
- [ 14 ] Liu H, Yang Y K, Sun H F, *et al.* Effect of tetracycline on microbial community structure associated with enhanced biological N&P removal in sequencing batch reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2018, **256**: 414-420.
- [ 15 ] Wang L X, Deng S, Wang S J, *et al.* Analysis of aerobic granules under the toxic effect of ampicillin in sequencing batch reactors: Performance and microbial community [J]. *Journal of Environmental Management*, 2017, **204**: 152-159.
- [ 16 ] Verhagen F J M, Laanbroek H J. Competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in dual energy-limited chemostats [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, **57**(11): 3255-3263.
- [ 17 ] Fan X Y, Gao J F, Pan K L, *et al.* Functional genera, potential pathogens and predicted antibiotic resistance genes in 16 full-scale wastewater treatment plants treating different types of wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2018, **268**: 97-106.
- [ 18 ] Li N, Li X, Zhang H J, *et al.* Microbial community and antibiotic resistance genes of biofilm on pipes and their interactions in domestic hot water system [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, **767**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144364.
- [ 19 ] Rotaru A E, Shrestha P M, Liu F H, *et al.* A new model for electron flow during anaerobic digestion: direct interspecies electron transfer to Methanosaeta for the reduction of carbon dioxide to methane[J]. *Energy & Environmental Science*, 2014, **7**(1): 408-415.
- [ 20 ] Kelly W J, Leahy S C, Li D, *et al.* The complete genome sequence of the rumen methanogen *Methanobacterium formicicum* BRM9[J]. *Standards in Genomic Sciences*, 2014, **9**(1), doi: 10.1186/1944-3277-9-15.
- [ 21 ] Yu Y, Kim J, Hwang S, *et al.* Use of real-time PCR for group-specific quantification of acetoclastic methanogens in anaerobic processes: population dynamics and community structures [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2006, **93**(3): 424-433.
- [ 22 ] Zhao Z Q, Sun C, Li Y, *et al.* Upgrading current method of anaerobic co-digestion of waste activated sludge for high-efficiency methanogenesis: Establishing direct interspecies electron transfer via ethanol-type fermentation [J]. *Renewable Energy*, 2020, **148**: 523-533.
- [ 23 ] Chen S C, Weng C Y, Lai M C, *et al.* Comparative genomic analyses reveal trehalose synthase genes as the signature in genus *Methanoculleus* [J]. *Marine Genomics*, 2019, **47**, doi: 10.1016/j.margen.2019.03.008.
- [ 24 ] Shade A, Jones S E, Caporaso J G, *et al.* Conditionally rare taxa disproportionately contribute to temporal changes in microbial diversity[J]. *mBio*, 2014, **5** (4), doi: 10.1128/mBio.01371-14.
- [ 25 ] Ana K M S, Madriaga J, Espino M P *et al.*  $\beta$ -Lactam antibiotics and antibiotic resistance in Asian lakes and rivers: An overview of contamination, sources and detection methods [ J ]. *Environmental Pollution*, 2021, **275**, doi: 10.1016/j.envpol.2021.116624.
- [ 26 ] Szekeres E, Baricz A, Chiriac C M, *et al.* Abundance of antibiotics, antibiotic resistance genes and bacterial community composition in wastewater effluents from different Romanian hospitals[J]. *Environmental Pollution*, 2017, **225**:304-315.
- [ 27 ] Barberán A, Bates S T, Casamayor E O, *et al.* Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2012, **6**(2): 343-351.
- [ 28 ] Zhao R X, Feng J, Huang J, *et al.* Responses of microbial community and antibiotic resistance genes to the selection pressures of ampicillin, cephalixin and chloramphenicol in activated sludge reactors[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, **755**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142632.

## 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 <sub>2.5</sub> 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 <sub>2.5</sub> 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 Sizozem .....	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 <sub>4</sub> and N <sub>2</sub> 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 <sub>2</sub> 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)