

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

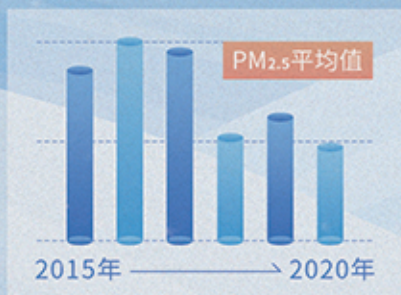
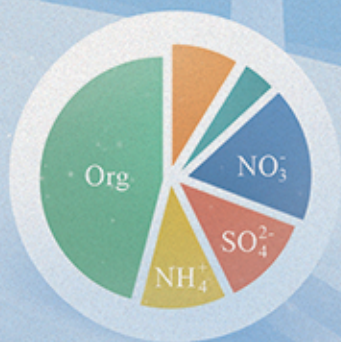
环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

北京冬季奥运会历史同期大气PM_{2.5}污染特征分析

刘玥晨, 满睿琪, 裴彦挺, 杨佳炜, 王均睿, 谭瑞, 汤丽姿, 俞颖, 宋锴, 郭松, 陈仕意,
曾立民, 吴志军, 胡敏



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心
■ 出版 科学出版社



2022年8月

第43卷 第8期
Vol.43 No.8

目次

北京冬季奥运会历史同期大气 PM _{2.5} 污染特征分析·····	刘玥晨, 满睿琪, 袁彦挺, 杨佳炜, 王均睿, 谭瑞, 汤丽姿, 俞颖, 宋锴, 郭松, 陈仕意, 曾立民, 吴志军, 胡敏 (3895)
天津城区 2019 年 2~3 月气溶胶粒径分布特征观测分析·····	郝团, 蔡子颖, 刘敬乐, 王晓佳, 姚青 (3903)
长江中游地区 PM _{2.5} 重污染过程的典型天气环流分型及区域传输影响·····	王莹, 智协飞, 白永清, 董甫, 张玲 (3913)
滇中典型工矿城市大气干湿沉降重金属等元素特征及健康风险评价·····	范晨子, 刘永兵, 袁继海, 郭威, 孙冬阳, 刘成海 (3923)
典型工业城市夏季 VOCs 污染特征及反应活性·····	秦涛, 李丽明, 王信梧, 杨文, 王晓丽, 徐勃, 耿春梅 (3934)
大连市夏季 VOCs 化学反应活性及来源·····	朱轲欣, 刘立忠, 刘焕武, 罗静期, 高冉冉 (3944)
河南省 18 个城市大气污染物分布特征、区域来源和传输路径·····	刘光瑾, 苏方成, 徐起翔, 张瑞芹, 王克 (3953)
京津冀臭氧污染特征、气象影响及基于神经网络的预报效果评估·····	朱媛媛, 刘冰, 桂海林, 李健军, 汪巍 (3966)
2006~2020 年中国大气本底站 BC 气溶胶的时空分布特征·····	王红磊, 颜雪, 沈利娟, 柳竞先, 赵天良, 管小彬, 赵德龙 (3977)
钢铁生产行业二噁英污染特征变化及其排放因子·····	杨艳艳, 谢丹平, 付建平, 陈晓燕, 尹文华, 韩静磊, 张素坤, 张璐, 肖滔 (3990)
长江流域着生藻类群落结构的格局及其生态评价·····	胡愈忻, 曹亮, 屈仁超, 黄杰, 胡圣, 周正, 王英才, 张静 (3998)
基于蒙特卡罗模拟与 PMF 模型的黄河流域沉积物重金属污染评价及源解析·····	庞阔, 李敏, 刘璐, 杨璐, 赵洪军 (4008)
梯级拦河堰对典型山地城市河流重金属元素的滞留效应: 以重庆市梁滩河为例·····	王超, 贾伯阳, 潘成勇, 何文战, 叶秋, 罗杉山, 张夏武 (4018)
基于土壤流失的农业面源 TN 和 TP 排海系数估算·····	王有霄, 黄翀, 刘高焕, 赵忠贺, 李贺, 刘庆生 (4032)
河湟谷地不同时空尺度下土地利用及空间格局对水质的影响·····	李好好, 黄懿梅, 郭威, 侯宏洋, 范梦苑, 齐照平, 贾鹏辉, 郭庆波 (4042)
联合 PMF 模型与稳定同位素的地下水污染溯源·····	张涵, 杜昕宇, 高菲, 曾卓, 程思茜, 许懿 (4054)
江西锦江流域抗生素污染特征与生态风险评价·····	李佳乐, 王萌, 胡发旺, 董一慧, 孙占学, 王瑶, 卫承芳, 燕雯 (4064)
天津市地表水中新型优先污染物筛选与管控对策·····	吴颜岐, 宋帅, 史雅娟, 刘莹, 杨胜杰 (4074)
宁夏第三排水沟中药物和个人护理品 (PPCPs) 的污染特征与生态风险评估·····	李富娟, 高礼, 李凌云, 郑兰香, 马兰, 杨桂钦 (4087)
再生水河道浮游微生物多样性季节变化分析: 以北运河为例·····	袁训超, 王敏, 郭道宇, 吴东丽 (4097)
太湖草、藻湖区沉积物 WSOM 组成和分子结构分析·····	杜瑛珣, 戴家如, 张巧颖, 刘静静, 黄秀琳, 安世林, 文帅龙 (4108)
太湖氧化亚氮 (N ₂ O) 排放特征及潜在驱动因素·····	刘朝荣, 朱俊羽, 李宇阳, 俞晓琴, 陈慧敏, 杨艳, 周永强 (4118)
海绵城市生物滞留带重金属污染特征及风险评价·····	雷晓玲, 邱丽娜, 魏泽军, 杨程, 何博 (4127)
玉米芯和稻草秸秆强化潜流人工湿地对低 C/N 污水的处理效果·····	胡曼利, 郝庆菊, 马容真, 陈柯沁, 罗师旭, 江长胜 (4136)
环境 pH 条件下 Fe ²⁺ 活化过二硫酸盐降解有机污染物的效能与影响因素·····	刘颖, 郭依玮, 乔俊莲, 孙远奎 (4146)
新疆沙雅县不同植物类型农田环境中典型农药残留及其风险评价·····	谢宣宣, 艾力江·努尔拉, 买合木提·巴拉提, 仲乃福, 李南鑫 (4154)
宁夏养鸡场粪污和周边土壤中抗生素及抗生素抗性基因分布特征·····	沈聪, 张俊华, 刘吉利, 韩新宁, 尚天浩, 代金霞 (4166)
宁夏石嘴山市农用地土壤硒的富集因素·····	王莹, 刘海燕, 王泽晶, 张晓东, 王登红 (4179)
地块尺度重金属污染风险耕地安全利用区划方法·····	王锐, 余京, 李瑜, 周蛟, 贾中民, 余飞, 张云逸, 蒋玉莲 (4190)
姜湖贡米产地土壤重金属空间分布、源解析及生态风险评价·····	于林松, 万方, 范海印, 康桂玲, 刘辉, 王东平, 徐佳 (4199)
基于特定源风险评估模型的小麦籽粒铅超标风险预测·····	杨阳, 李艳玲, 牛硕, 陈卫平, 王天齐, 王美娥 (4212)
柳州地源性镉异常区稻米重金属累积效应与健康风险·····	朱亮亮, 王佛鹏, 唐乐斌, 肖乃川, 董心月, 韦美溜, 宋波 (4219)
不同玉米品种 Cd、Pb、Zn 和 As 积累与转运特性·····	任超, 肖建辉, 李竞天, 杜倩倩, 朱利文, 王浩, 朱瑞颖, 赵海洋 (4232)
橡胶草 (TKS) 对铅镉污染农田土壤的修复潜力·····	张恒, 熊明彪, 王乾鑫, 孙博文, 饶逸驰, 程章, 徐小逊, 杨占彪, 鲜骏仁, 朱雪梅, 杨绍平, 杨远祥 (4253)
3 种地被竹对重金属复合污染农田土壤的修复潜力·····	张颖, 赵欣, 张圣虎, 漆丹, 王博, 陈引, 陆建刚 (4262)
连续施肥对双季稻镉硅累积效应的影响·····	彭华, 邓凯, 石宇, 魏维, 柳赛花, 纪雄辉 (4271)
改性壳聚糖负载氧化硅调控水稻对砷吸收与转运的影响·····	杨嘉仪, 孙梦强, 肖羽堂, 韦行, 张建强, 陈志良 (4282)
不同螯合剂和有机酸对苍耳修复镉复合污染土壤的影响·····	张雅睿, 黄益宗, 保琼莉, 魏祥东, 铁柏清, 张盛楠, 韩甘, 黄永春 (4292)
水分管理对稻田土壤铁氧化物形态转化的影响及其与酶活性变化的耦合关系·····	李明远, 张小婷, 刘汉斌, 魏世强 (4301)
外源 Fe 调控根系微生物群落结构和功能对水稻 Cd 积累的影响·····	郑沈, 黄道友, 李波, 马天池, 许超, 朱奇宏, 朱捍华, 张泉 (4313)
不同降水下覆盖与缓释肥减量对油菜土壤微生物群落结构的影响·····	冯军, 石超, Hafiz Athar Hussain, 刘永波, 刘天朋, 李永洪, 刘俊峰, 王龙昌 (4322)
基于高通量测序和代谢组学解析重金属污染对农田微生物群落组成和功能的影响·····	庞发虎, 李晓琦, 段莉阳, 陈彦, 姬明飞, 张浩, 韩辉, 陈兆进 (4333)
汞矿区周边农田土壤微生物群落结构特征及其环境驱动因子·····	陈芬, 余高, 孙约兵, 张红丽, 田霞, 夏蓓 (4342)
岩溶湿地与稻田土壤团聚体细菌群落结构的比较·····	冷蒙, 靳振江, 肖筱怡, 熊丽媛, 李雪松 (4353)
戴云山土壤微生物碳源利用效率的海拔变异规律及影响因素·····	吕坤, 王晶晶, 吴国朋, 林思诺, 苏延桂, 黄刚 (4364)
长期秸秆还田对水稻根系碳矿化与激发效应的影响·····	刘峰, 王云秋, 张昀, 祝贞科, 吴金水, 葛体达, 李宇虹 (4372)
秸秆还田配施生物炭对关中平原夏玉米产量和土壤 N ₂ O 排放的影响·····	白金泽, 刘镇远, 宋佳杰, 李娜, 于琦, 郝嘉琪, 许宏伟, 程博豪, 王兴, 冯永忠 (4379)
聚苯乙烯纳米塑料对大蒜生长生理的影响·····	邱陈陈, 李国新, 李青松, 颜昌宙 (4387)
微塑料对土壤水分入渗和蒸发的影响·····	王志超, 张博文, 倪嘉轩, 杨文焕, 李卫平 (4394)
氢燃料电池汽车动力系统生命周期评价及关键参数对比·····	陈轶嵩, 兰利波, 郝卓, 付佩 (4402)
《环境科学》征订启事 (4211) 《环境科学》征稿简则 (4312) 信息 (3922, 4031, 4107)	

宁夏养鸡场粪污和周边土壤中抗生素及抗生素抗性基因分布特征

沈聪¹, 张俊华^{2*}, 刘吉利^{2*}, 韩新宁³, 尚天浩⁴, 代金霞¹

(1. 宁夏大学生命科学学院, 银川 750021; 2. 宁夏大学生态环境学院, 西北土地退化与生态恢复国家重点实验室培育基地, 银川 750021; 3. 宁夏师范学院化学化工学院, 固原 756000; 4. 宁夏大学地理科学与规划学院, 银川 750021)

摘要: 畜禽粪便中的抗生素及其抗性基因 (ARGs) 具有潜在的生态风险。为揭示宁夏养鸡场鸡粪和养殖场周边土壤中抗生素和 ARGs 的分布特征, 以宁夏 12 家不同规模蛋鸡养殖场中鸡粪、周边及施用鸡粪的土壤为研究对象, 采用超高效液相色谱-串联质谱法和高通量荧光定量法进行调查研究。结果表明: ①鸡粪中四环素类、氨基糖苷类和磺胺类是优势抗生素。不同养殖期鸡粪中抗生素种类和含量不同, 育雏期抗生素种类较多和平均含量较高, 初产期相反。②周边土壤中仅距离养鸡场 20 m 处检测到少量抗生素, 养殖场对周边土壤中抗生素的分布影响较小; 施用鸡粪的土壤中喹诺酮类抗生素含量明显增加。③鸡粪中共检测到 ARGs 亚型 132 ~ 168 种, 主要是氨基糖苷类和四环素类 ARGs。育成期 ARGs 数目最多, 初产期最少; 育雏期各类 ARGs 总丰度最高, 终产期相反。所有养殖期鸡粪中共存 ARGs 有 110 种。④养鸡场周边及施用鸡粪的土壤中共检测到 ARGs 亚型 23 ~ 105 种, 其中氨基糖苷类 ARGs 数目最多, 其次是多药类。养殖场周边土壤中 ARGs 数目和相对丰度随距养殖场距离的增加而逐渐减少; 施用鸡粪的土壤中 ARGs 数目和相对丰度都明显增高, 但低于距离养殖场 20 m 的土壤。⑤鸡粪中 β -内酰胺酶类、氨基糖苷类和大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类 (MLSB) ARGs 都存在水平移动风险; 土壤中氯霉素类 ARGs 存在水平移动风险。鸡粪中 ARGs 与其对应抗生素含量间相关性不显著。⑥不同类型 ARGs 之间具有相关的共现性: 鸡粪中氨基糖苷类 ARGs 相对丰度与 β -内酰胺酶类和可移动元件 (MGEs)、多药类与万古霉素类等均呈显著正相关; 土壤中氨基糖苷类 ARGs 相对丰度与四环素类、万古霉素类、磺胺类和 MLSB 类、四环素类与 MLSB 类等呈极显著正相关。土壤中各类 ARGs 相对丰度间的共现性明显强于鸡粪。本研究可为养鸡场选址、蛋鸡规模化养殖抗生素种类及剂量的选择和鸡粪施用提供理论依据。

关键词: 鸡粪; 土壤; 抗生素; 抗生素抗性基因 (ARGs); 养殖期; 距离

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2022)08-4166-13 DOI: 10.13227/j.hjxx.202111088

Distribution Characteristics of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Manure and Surrounding Soil of Poultry Farm in Ningxia

SHEN Cong¹, ZHANG Jun-hua^{2*}, LIU Ji-li^{2*}, HAN Xin-ning³, SHANG Tian-hao⁴, DAI Jin-xia¹

(1. School of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2. Breeding Base for State Key Laboratory of Land Degradation and Ecological Restoration in Northwestern China, School of Ecology and Environment, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ningxia Normal University, Guyuan 756000, China; 4. College of Geographical Sciences and Planning, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: Antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) in livestock and poultry manure pose potential ecological risks. In order to understand the distribution characteristic of antibiotics and ARGs in manure and surrounding soils of poultry farms in Ningxia, the poultry manure and relative soil samples were collected from 12 layers of different poultry breeding farms. The compositions of antibiotics and ARGs in the samples were analyzed using UPLC-MS/MS and HT-qPCR. The results showed that: ① tetracycline, aminoglycoside, and sulfonamide were the dominant antibiotics in poultry manure. The types and contents of antibiotics in poultry manure were different in different breeding periods. There were more types of antibiotics in the brooding period, the average content was high, and the initial stage showed the opposite trend. ② A small amount of antibiotics was detected in the surrounding soil only 20 m away from the poultry farm, and the poultry farm had little effect on the distribution of antibiotics in the surrounding soil. The content of quinolone in the soils with poultry manure application was significantly higher than that in the control and surrounding soil. ③ We detected 132-168 ARGs in poultry manure, and the number of aminoglycosides and tetracycline was higher. The relative abundance of ARGs in the rearing period was highest, and the initial stage showed the opposite trend. The total relative abundance of ARGs in the brooding period was highest, but the terminal period showed the opposite. There were 110 ARGs in poultry manure during all breeding periods. ④ There were 23-105 ARGs in the soils, and the number of aminoglycoside was highest, followed by multidrug ARGs. The poultry farm had a great effect on the number and relative abundance of ARGs in the surrounding soil. For example, the number and relative abundance of ARGs in the surrounding soil of poultry farms gradually decreased with the increase in the distance from the poultry farms. The number and relative abundance of ARGs in the soil with applied poultry manure were significantly increased; however, these values were lower than those in the soil 20 m away from the poultry farm. ⑤ β -lactamases, aminoglycosides, and macrolide lincosamide-streptogramin B (MLSB) ARGs were all at risk of horizontal movement in manure, and chloramphenicol ARGs were at risk of horizontal movement in soil. Correlation analysis showed that the relative abundance of aminoglycoside, tetracycline, sulfonamide, β -lactamase, and MLSB were not significantly correlated with their contents. ⑥ Different types of ARGs had related co-occurrence phenomena, such as the positive correlation between the relative abundance

收稿日期: 2021-11-09; 修订日期: 2021-12-16

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2019BFG02015); 宁夏自然科学基金项目(2020AAC03268)

作者简介: 沈聪(1995~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为微生物资源开发与利用, E-mail: 192332292@qq.com

* 通信作者, E-mail: zhangjunhua728@163.com; 18295172155@163.com

of ARGs in poultry manure, and aminoglycoside and β -lactamases, MGEs, multidrugs and vancomycins. The relative abundances of ARGs in soil, aminoglycoside and tetracyclines, vancomycins, sulfonamides, and MLSBs; tetracyclines and MLSBs; etc., all showed a significant positive correlation. In short, the co-occurrence among the relative abundance of ARGs in soil was significantly stronger than that in poultry manure. These results could provide the theoretical basis for the site selection of poultry farms, the selection of antibiotic types and dosages for large-scale breeding of laying hens, and the application of poultry manure.

Key words: poultry manure; soils; antibiotic; antibiotic resistance genes (ARGs); breeding periods; distance

抗生素作为一种抗菌药物,因能防治动物疾病、保障畜禽健康或显著促进动物生长和缩短饲养周期等作用而被广泛应用于畜禽养殖^[1]. 据报道,中国畜禽养殖业每年使用约 8.4×10^4 t 抗生素,占抗生素总使用量的 52%^[2],这些抗生素使用后大多以原型或代谢物的形式随粪尿排出体外^[3],致使残留在禽畜粪便中的抗生素浓度普遍较高. 当其进入土壤后造成细菌耐药性增强和 ARGs 加速传播,对人类和生态造成不同程度的危害^[4]. 世界卫生组织已将抗生素滥用产生的 ARGs 问题列为本世纪人类健康面临的重大挑战之一^[5]. 2016 年,我国卫生计生委等部门联合印发《遏制细菌耐药性国家行动计划》,以期有效管控抗生素耐药菌和 ARGs 的产生与传播,遏制耐药菌的蔓延^[6].

粪便是抗生素和 ARGs 重要的储存库. 在畜禽饲养过程中,涉及的抗生素主要包括四环素类、磺胺类、喹诺酮类、 β -内酰胺类、大环内酯类和氨基糖苷类等^[7]. 土耳其学者 Karc1 等^[8]调查了多家不同规模养殖场畜禽粪便中的四环素类、磺胺类及喹诺酮类抗生素残留情况,发现磺胺类磺胺氯哒嗪和磺胺甲噁唑含量最高,分别是 $35.53 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $3.76 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; Martínez-Carballo 等^[9]的研究测定了澳大利亚猪粪、鸡粪和施用粪肥的农田土壤中典型抗生素的残留情况,检测到猪粪中四环素类和磺胺类抗生素残留量最高,鸡粪中喹诺酮类残留量最高. 国内张俊华等^[10]对宁夏西吉多家养牛场抗生素进行调查,发现牛粪中四环素类和喹诺酮类抗生素含量最高,而氨基糖苷类和大环内酯类含量最低; Zhang 等^[11]的研究对来自全国 9 个地区的 33 份动物粪便和 17 份堆肥样品中的四环素类、氟喹诺酮类和磺胺类等抗生素进行了分析,指出所有样品中四环素类抗生素检出率为 100%,其中猪粪的四环素类含量最高,磺胺类和喹诺酮类含量均较低;由于畜禽如鸡、牛、猪和鸭等各畜种间生理特性、饲喂状况以及养殖环境的不同,导致畜禽粪便中不同或相同类型的抗生素种类和浓度存在较大的差异^[8-11]. 同时,有研究表明,养殖场的存在可能影响着周边接纳土壤中抗生素及 ARGs 的多样化程度^[12],施用未经任何处理的畜禽粪便会向农田土壤中引入各类抗生素和 ARGs,且 ARGs 可能会通过细菌间水平转移机制在粪污外排中进一步移动^[13].

近年来,我国对于畜禽粪便中 ARGs 所带来的环境问题越来越重视. Wang 等^[14]的研究在中国东南部某大型集约化畜禽养殖场中主要检测到 5 大类如四环素类、磺酰胺类、喹诺酮类、氨基糖苷类和大环内酯类 ARGs. Zhu 等^[15]的研究对中国三省某养猪场猪粪样品中的 8 大类 149 个 ARGs 检测发现,这些粪便样品 ARGs 的检出频率比对照样高出 192 ~ 28 000 倍. 随着畜禽粪便的直接排放,耐药细菌的 ARGs 通过横向转移机制在养殖场周边土壤及各个环境介质中的微生物间迁移转化^[16]. 涂棋^[13]的研究发现天津市某养鸡场鸡粪样本中 ARGs 的平均检出率显著高于养鸡场周边土壤. Jay-Russell 等^[17]的研究发现施用马和野火鸡粪便后会造成土壤中 ARGs 和耐药菌群显著增加. 与不施用粪肥的农田土相比,天津市某 22 家典型家庭农场畜禽粪肥在施用后均使土壤环境中部分 ARGs 显著增加了 8 ~ 18 倍^[18]. 有研究指出,土壤介质中 ARGs 丰度可能与抗生素的残留量和种类直接相关^[19,20]. 我国南部地区长期施用畜禽粪便的稻田土壤中部分抗生素与相关 ARGs 丰度间存在显著相关性^[21]. 但也有研究表明,ARGs 的相对丰度对部分抗生素浓度无明显响应^[22]. 所以,不同环境介质中的相同类型或不同类型的抗生素种类和使用量差异可能较大. 养殖场周边或施用粪肥土壤中 ARGs 较对照的多样性及丰度变化如何、ARGs 与抗生素浓度是否相关没有一致结论.

宁夏蛋鸡养殖场鸡粪、周边及施用鸡粪的土壤中抗生素及 ARGs 如何分布? 不同养殖期鸡粪中抗生素及 ARGs 水平是否存在显著差异? 干旱地区养鸡场对周边土壤抗生素和 ARGs 组成有无影响? 基于以上问题,本研究在宁夏蛋鸡养殖最集中的中卫市沙坡头区宣和镇选取了 12 家不同规模的养鸡场,采集了养鸡场新鲜鸡粪、周边及施用了鸡粪的土壤 3 类样品,从抗生素残留和 ARGs 谱的角度,综合分析各类样品中抗生素和 ARGs 分布特征,探明了不同养殖期鸡粪中抗生素含量、组成和 ARGs 相对丰度,确定了养鸡场的存在对周边土壤抗生素和 ARGs 影响程度,以期同类地区养鸡场选址、蛋鸡规模化养殖中兽药抗生素种类的选择及用量和鸡粪有机肥的科学施用提供依据.

1 材料与方法

1.1 样品采集及处理

本研究选取位于宁夏宣和镇的典型规模化蛋鸡养殖场 12 家,以鸡粪、周边及施用鸡粪的土壤作为研究对象。其中,所有养殖场规模不同,大部分养殖数量在 30 000 ~ 100 000 只,养殖年限有 6 家在 7 a 以上,其中年限最长的是 22 a, 6 家在 3 a 左右。养鸡场常用药物包括四环素类(四环素和强力霉素)、氟喹诺酮类(恩诺沙星和诺氟沙星)、 β -内酰胺类(阿莫西林)、头孢菌素类和一些中药产品。本研究根据鸡的生长期对所有养殖场育雏期(1 ~ 2 月, P1)、育成期(2 ~ 4 月, P2)、初产期(4 ~ 6 月, P3)、高产期(6 ~ 12 月, P4)和终产期(12 个月以上, P5)未经任何处理的鸡舍中的粪便(鸡粪)进行采集。以同一家养殖场养殖相同时间的鸡粪作为同一处理,且每个处理取多个点迅速搅拌均匀作为一个样,同一处理做 3 个平行,每个养殖场采集的时期不等,共采集鸡粪样品 29 个。

为明确养鸡场对周边土壤抗生素和 ARGs 的影响程度,在连续养殖 22 a 和 13 a、卫生条件最差的 2 户传统小规模养鸡场(养殖规模分别为 15 000 只和 5 000 只)西侧排水沟边采集土壤样品。以养殖场为原点,分别以距其 20、50、100、200 和 300 m(对应编号: D1、D2、D3、D4 和 D5)处采集表层土壤(0 ~ 20 cm)作为周边土壤;以距离各养殖场 5 000 m 远近且多年未耕种的废弃土地采集表层土壤作为对照土壤(CK)。同期采集养殖场院内长期施用新鲜鸡粪的蔬菜地表层土壤作为施用鸡粪土壤(AP)。以五点取样法采集所有土壤样品。所有样品采集后迅速放入保温箱,带回实验室置于低温冰箱保存,待测定抗生素含量和 ARGs 相对丰度。

1.2 抗生素检测

采用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)对鸡粪和土壤中氨基糖苷类、四环素类、喹诺酮类、磺胺类、大环内酯类和 β -内酰胺酶类这 6 大类共 16 种抗生素进行检测。

检测方法如下:用天平准确称取 1.00 g 样品于离心管中,加入 EDTA-McIlvaine 缓冲溶液进行抗生素的多次提取,经超声处理、离心、收集、洗脱、过滤和离心后,用 HLB 固相萃取柱初步净化提取液,最后利用高效液相色谱仪进行测定,提取和净化步骤详细信息见文献[10]。

1.3 DNA 的提取

按照 Fast DNA[®] Spin Kit for soil (MP Biomedical, USA)试剂盒说明书操作步骤对样品中

微生物总 DNA 进行提取。提取结束后用 1% 琼脂糖凝胶进行电泳验证,用微量紫外分光光度计(Nanodrop ND1000, USA)检验所提取 DNA 浓度及相应的纯度。

1.4 抗生素抗性基因的高通量荧光检测

采用高通量荧光定量 PCR 系统(Wafergen SmartChip Real-time PCR Systems, WaferGen 公司, US)检测样品中 ARGs。在检测过程根据所用的 Real-time PCR Systems 设置选择了 296 对引物,包括各样品中 6 类 ARGs、MGEs 和 1 对 16S rRNA 内参引物。高通量定量反应具体程序见文献[23]。待程序结束后,根据反应平台仪器性能,确定并记录循环数(Ct 值)的阈值,根据标准曲线计算各样品中 ARGs 和 MGEs 的相对拷贝数,以 16S rRNA 基因作为标记基因,统计各样本中 ARGs 和 MGEs 相对丰度^[24]。

1.5 数据分析

采用 Excel 2016 对抗生素含量、数目及 ARGs 相对丰度进行处理,采用 Graphpad prism7 软件做柱形图和热图,使用 SPSS 软件中 Pearson 相关分析法来研究鸡粪及土壤中抗生素、MGEs 和 ARGs 之间的相关性。

2 结果与讨论

2.1 鸡粪和土壤中抗生素种类和含量

2.1.1 不同养殖期鸡粪中抗生素种类和含量

整个养殖期鸡粪抗生素结果检测显示(表 1),四环素类、氨基糖苷类和磺胺类是鸡粪中的优势抗生素,其中,土霉素、金霉素和恩诺沙星检出的最高含量超过 10 mg·kg⁻¹。此外,还有庆大霉素、新霉素、四环素、强力霉素、环丙沙星和磺胺甲噁唑含量也均高于 100 μ g·kg⁻¹,而大环内酯类和 β -内酰胺类抗生素在鸡粪中均未检出。强力霉素检出率最高,为 80.00%;林可霉素、氧氟沙星和培氟沙星均未检出。四环素作为畜禽养殖业使用最广泛、畜禽粪便残留量普遍较高的一类抗生素^[25],常在一种粪便样品中能够检测到土霉素或金霉素等多种四环素类抗生素,且部分粪便样品中残留的抗生素含量已高达 mg·kg⁻¹级^[26],这与本研究鸡粪中检测到的四环素整体情况一致。根据本研究实地调查,四环素类是本地区养鸡场常用的抗生素,主要用于防治微生物引起的牲畜肠胃不适、感染和败血症等疾病^[27]。

5 个养殖期鸡粪中残留的抗生素检测结果如表 2 所示。育雏期抗生素种类较多,且平均含量最高,其中,四环素类抗生素平均含量在该养殖期高达 18 916.86 μ g·kg⁻¹,其次是氨基糖苷类(平均值为

表 1 鸡粪中抗生素含量
Table 1 Contents of antibiotics in poultry manure

种类	名称	最大值 / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	最小值 / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	平均值 / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	检出率 /%
氨基糖苷类	林可霉素	0	0	0	0
	庆大霉素	837.99	0	57.69	20.00
	卡那霉素	68.65	0	9.63	20.00
	新霉素	1 623.43	0	113.25	20.00
四环素类	土霉素	130 000.00	0	8 711.68	73.33
	金霉素	73 600.00	0	6 330.55	60.00
	四环素	4 680.00	0	445.99	40.00
	强力霉素	1 116.00	0	189.24	80.00
喹诺酮类	恩诺沙星	42 800.00	0	2 272.50	13.33
	环丙沙星	262.40	0	17.49	6.67
	氧氟沙星	0	0	0	0
	培氟沙星	0	0	0	0
磺胺类	磺胺嘧啶	56.80	0	3.79	6.67
	磺胺甲噁唑	1 360.00	0	108.20	33.33
β -内酰胺类	—	0	0	0	0
大环内酯类	—	0	0	0	0

220.71 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和喹诺酮类(平均值为 187.54 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),其中四环素类抗生素土霉素和金霉素的含量分别高达 43 356.13 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 29 612.65 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. 育成期四环素类(平均值为 522.41 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和氨基糖苷类抗生素(5.01 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)含量均显著低于育雏期,喹诺酮类抗生素并未检测出. 初产期抗生素种类最少,仅检测到土霉素、金霉素和强力霉素等常见抗生素. 高产期和终产期抗生素种类基本一致,但终产期中的恩诺沙星含量为 10 700.00 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. 育雏期鸡粪中抗生素含量较高且种类较多,可能是处于幼龄期的畜禽免疫力较低,多种抗生素的

联合使用能够加强预防相关疾病的发生,提高畜禽免疫力^[28]. 有研究指出,四环素类和氨基糖苷类等药物常被用于畜禽杀菌消炎等方面^[29,30]. 同时,广大养殖户为了提高雏鸡成活率,在动物幼龄期使用了大量的抗生素. 随着动物的生长抵抗力逐渐增强,所需的抗生素减少,这与本研究不同养殖期鸡粪中各种抗生素含量情况基本一致. 不同的是,蛋鸡养殖终产期鸡粪中恩诺沙星含量较高,该抗生素在土壤中稳定性强,具有耐酸碱、耐水解和生物难降解等特性^[31]. 因此,建议养殖户能够寻找恩诺沙星代替品如中草药饲料和益生菌等减少其用量^[32].

表 2 不同养殖期鸡粪中抗生素含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
Table 2 Contents of antibiotics in poultry manure at different breeding periods / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$

种类	名称	P1	P2	P3	P4	P5
氨基糖苷类	林可霉素	0	0	0	0	0
	庆大霉素	284.15	4.29	0	0	0
	卡那霉素	40.33	7.84	0	0	0
	新霉素	558.37	7.90	0	0	0
四环素类	土霉素	43 356.13	57.35	67.80	47.73	29.40
	金霉素	29 612.65	1705.20	157.80	9.87	167.24
	四环素	2 124.00	92.00	5.18	0	8.78
	强力霉素	574.67	235.07	14.28	90.25	31.95
喹诺酮类	恩诺沙星	662.67	0	0	0	10 700.00
	环丙沙星	87.47	0	0	0	0
	氧氟沙星	0	0	0	0	0
	培氟沙星	0	0	0	0	0
磺胺类	磺胺嘧啶	0	0	0	18.93	0
	磺胺甲噁唑	0	0	0	459.59	81.40
β -内酰胺类	—	0	0	0	0	0
大环内酯类	—	0	0	0	0	0

2.1.2 养殖场周边及施用鸡粪的土壤中抗生素种类和含量

通过检测所有供试土壤中的抗生素,发现仅

在距离养殖场 20 m 处及施用鸡粪的土壤中检测到抗生素(表 3). 其中距离养殖场 20 m 处的土壤中仅检测到氨基糖苷类的新霉素及喹诺酮类的培

氟沙星,含量分别为 $17.60\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $6.50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,其它距离土壤和对照均未检出任何种类抗生素.有研究指出,畜禽粪便作为养殖场周边土壤抗生素污染的主要来源之一,长期积累会导致周边土壤中残留的抗生素水平升高^[33],且会随距离的远近呈现规律性分布^[34],但本结果这种规律性并不明显,这大概是因为宁夏属于干旱半干旱地区,常年干旱少雨,加上养鸡场清理普遍采用干清粪技术,没有水流的冲刷,抗生素扩散至养鸡场附近土壤的速率大大降低.此外,养殖场一般位于远离居民区、比较偏远的地方,故短时间内养殖场对周边受纳环境中的抗生素组成整体影响较小,养殖 20 a 以上且预防措施较差的小型养鸡场对距离 20 m 处的土壤抗生素含量有影响,50 m 及更远处则基本无影响.

在施用鸡粪的土壤中仅喹诺酮类和四环素类抗生素被检出,其中喹诺酮类抗生素是主要的检出类型,含量较高,平均值为 $78.88\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,恩诺沙星 ($172.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、环丙沙星 ($33.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、氧氟沙星 ($83.50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和培氟沙星 ($26.60\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 在施用鸡粪的土壤中均检出.四环素类抗生素仅土霉素被检出,含量为 $57.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.说明直接施用未处理鸡粪会明显增加蔬菜地土壤中的喹诺酮类等抗生素残留量,加重了土壤抗生素污染.且相关报道指出,生长在长期施用未经任何处理的有机肥土壤中的蔬菜样品中均不同程度检测到喹诺酮类抗生素,说明土壤中累积的喹诺酮类抗生素有通过食物链危害人类健康的风险^[35].因此,应加强控制粪肥施入蔬菜田带来的抗生素污染,降低对人类的危害风险.

表 3 养殖场周边和施用鸡粪的土壤中抗生素含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$

Table 3 Contents of antibiotics in soils around farms and with poultry manure application / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$								
样品编号	名称	CK	D1	D2	D3	D4	D5	AP
氨基糖苷类	林可霉素	0	0	0	0	0	0	0
	庆大霉素	0	0	0	0	0	0	0
	卡那霉素	0	0	0	0	0	0	0
	新霉素	0	17.60	0	0	0	0	0
四环素类	土霉素	0	0	0	0	0	0	57.20
	金霉素	0	0	0	0	0	0	0
	四环素	0	0	0	0	0	0	0
	强力霉素	0	0	0	0	0	0	0
喹诺酮类	恩诺沙星	0	0	0	0	0	0	172.20
	环丙沙星	0	0	0	0	0	0	33.20
	氧氟沙星	0	0	0	0	0	0	83.50
	培氟沙星	0	6.50	0	0	0	0	26.60
磺胺类	磺胺嘧啶	0	0	0	0	0	0	0
	磺胺甲噁唑	0	0	0	0	0	0	0
β -内酰胺类	—	0	0	0	0	0	0	0
大环内酯类	—	0	0	0	0	0	0	0

2.2 鸡粪和土壤中抗生素抗性基因多样性

2.2.1 不同养殖期鸡粪中抗生素抗性基因多样性

整个养殖期鸡粪中共检测到 ARGs 亚型 132 ~

168 种,有 74 ~ 107 种亚型相对丰度大于0.000 5,主要隶属于氨基糖苷类(23.45%) [图 1(a)]、四环素类(21.60%)、MLSB(16.51%)、多药类(10.93%)、

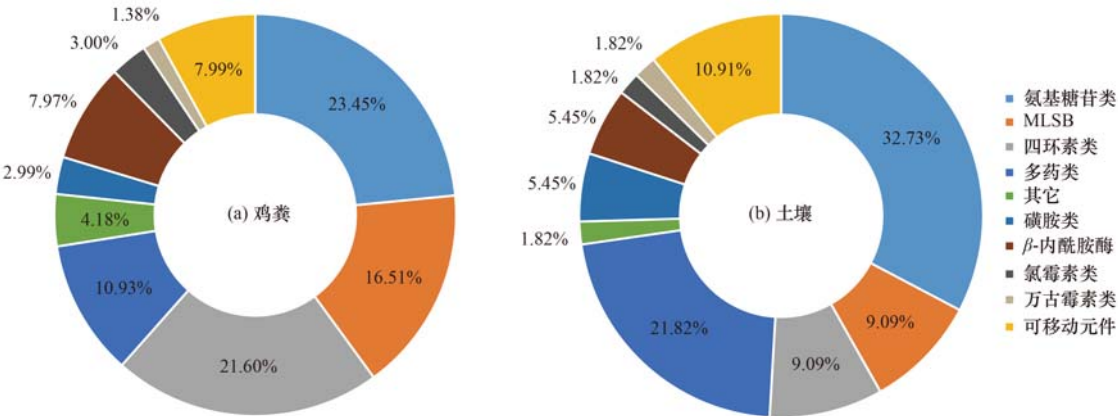


图 1 鸡粪及养殖场周边土壤中 ARGs 种类

Fig. 1 Variety of ARGs in poultry manure and soil

和 MGEs (7.99%) 等. 本研究鸡粪中氨基糖苷类、四环素类、MLSB、多药类 ARGs 和 MGEs 整体情况与大部分养殖场检测结果相似^[10,14]. 其中 MGEs 的种类明显高于 β -内酰胺酶类、磺胺类、氯霉素类和万古霉素类 ARGs. 相关研究指出, MGEs 加速了 ARGs 在细菌间横向转移的频率, 是造成目前 ARGs 日益污染严重的关键因素^[36], 因此, 严禁直接将畜禽粪污施还于农田土壤, 避免造成较大的 ARGs 生态污染风险.

从检测出的 ARGs 个数来看, 鸡粪中主导的 ARGs 是氨基糖苷类, 其次是 MLSB 和四环素类, 万

古霉素类数目最少[图 2(a)]. 在 5 个养殖期中鸡粪中均有 9 类 ARGs, 但不同时期中的 ARGs 数目各不相同. 其中, 育成期 ARGs 数目最多(107 个), 然后依次是高产期(96 个)、育雏期(95 个)、终产期(76 个)和初产期(74 个). 从各类 ARGs 平均相对丰度看, 鸡粪中 MLSB 类最高、其次是多药类、氨基糖苷类、四环素类、MGEs、其它和磺胺类等[图 2(b)]. 育雏期鸡粪中各类 ARGs 总丰度最高, 终产期最低. 不同规模养殖场不同养殖期鸡群的健康状况和体质不同, 用药不同, 因而不同养殖期鸡粪中 ARGs 的种类和丰度差异较大^[37,38].

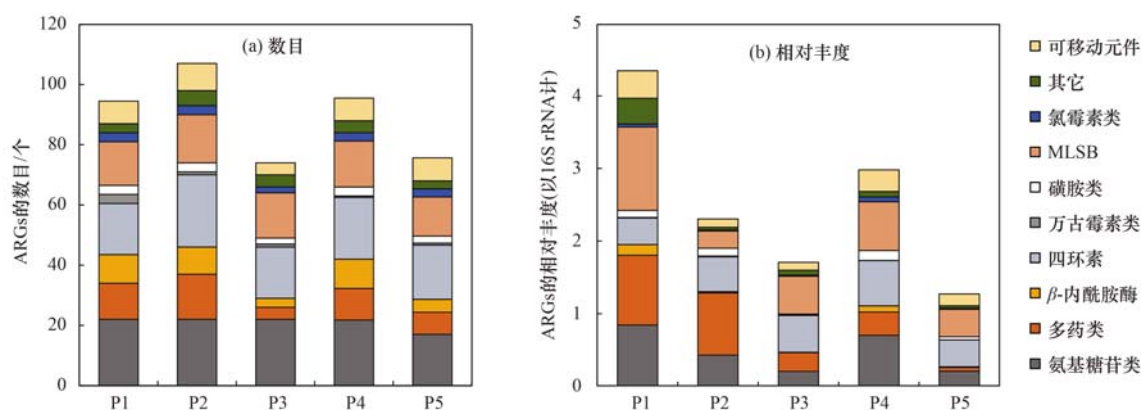


图 2 不同养殖期鸡粪中 ARGs 与 MGEs 的数目及相对丰度

Fig. 2 Number and relative abundance of ARGs and MGEs in poultry manure at different breeding periods

2.2.2 养鸡场周边及施用鸡粪的土壤中抗生素抗性基因多样性

养鸡场周边及施用鸡粪的土壤中共检测到 ARGs 亚型 23 ~ 105 种, 共有 1 ~ 23 种亚型相对丰度大于 0.000 5, 主要由氨基糖苷类 (32.73%)、多药类 (21.82%)、MGEs (10.91%)、MLSB (9.09%) 和四环素类 (9.09%) ARGs 组成[图 1(b)]. 其中, 距离养殖场 20 m 的土样中 ARGs 数目最多(23 个), 其次是 50 m 处(18 个)和施用鸡粪的土壤(6 个), 距离养鸡场 100 m 处(1 个)和 200 m 处(1 个)数目最少[图 3(a)]. 根据土壤 ARGs 的丰度情况, 发现在距离养殖场 20 m 处土壤中 ARGs 总丰度最高[图 3(b)], 其次是距离养殖场 50 m 处和施用鸡粪的土壤, 对照及距离养殖场 300、100 和 200 m 处土壤中 ARGs 总丰度普遍较低. 距离养殖场 20 m 和 50 m 土壤中的氨基糖苷类和多药类 ARGs 起主导作用, 这与本研究鸡粪中的 ARGs 情况基本一致, 这表明养殖场对周边距离 (20 m 和 50 m) 较近土壤的 ARGs 种类和相对丰度影响较大. 有研究也表明, 距离集约化养鸡场越近的土样其 ARGs 相对丰度显著高于对照及距离较远土壤^[13], 与本实验结果一致. 但张俊华等^[10]发现养牛场的存在对周边土壤中 ARGs 没有影响, 与本研究结论不同. 可能是因为畜禽养殖所

用抗生素在鸡粪中的残留情况普遍比牛粪严重^[39], 巨大的选择性压力导致鸡粪中细菌耐药性、ARGs 污染程度较牛粪中更复杂^[40]. 同时, 本研究周边土壤采集于养鸡场西侧排水沟旁, 养殖产生的粪污长期露天堆放在路边, 约 2 个月清理一次, ARGs 随雨水逐渐进入周边土壤中, 且排水沟附近地下水位较高, 经过近 20 年, 养殖场粪污 ARGs 也会随土壤水分运移由近及远逐渐在土壤中富集, 由此造成该结果. 但是, 本研究仅距离养殖场 20 m 和 50 m 处土壤中 ARGs 的种类和丰度随距离的增加而减少, 而距离养殖场 100、200 和 300 m 处土壤中 ARGs 并没有随距离远近呈现规律性分布, 这与研究区降雨量少、养殖场粪污属于干清粪有关. 施用鸡粪的土壤与距离养殖场 50 m 处土壤 ARGs 总相对丰度差异很小, 但同种 ARGs 间的丰度存在显著差异, 其中, 施用鸡粪的土壤中多药类 ARGs 占比最大, 其相对丰度比 50 m 处土壤增高了 1.51 倍, 而本研究发现施用鸡粪的土壤中喹诺酮类抗生素含量最高, 而氨基糖苷类显著低于距离养殖场近的土壤, 增强了微生物的选择性压力, 使得多重抗性细菌比例增高.

2.3 鸡粪和土壤中抗生素抗性基因组成

2.3.1 不同养殖期鸡粪中抗生素抗性基因组成

通过绘制热图分析不同养殖期鸡粪中 ARGs 的

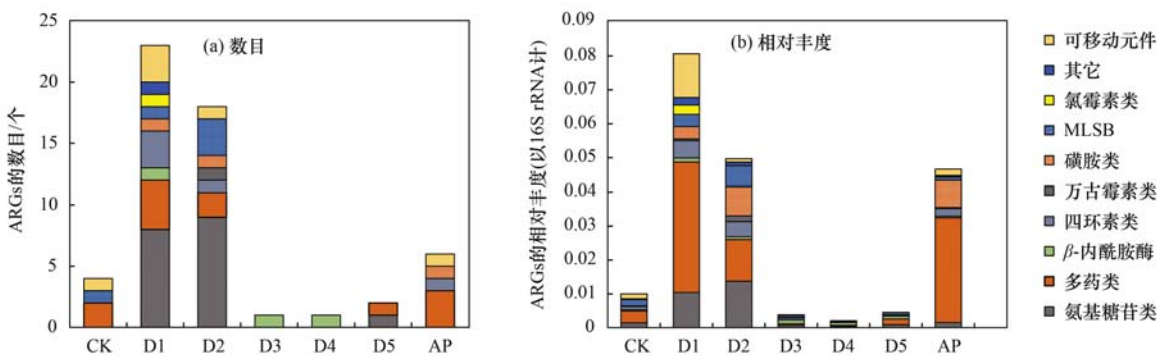


图 3 养殖场周边及施用鸡粪的土壤中 ARGs 与 MGEs 的数目及相对丰度

Fig. 3 Number and relative abundance of ARGs and MGEs in soil around poultry farms and with poultry manure application

丰度水平(图 4),结果表明,育雏期鸡粪中相对丰度较高的 ARGs 有氨基糖苷类 *aadA-1-01* 和 *aadA-1-02*、多药类 *floR*、MLSB 类 *ermF* 和 *ermB*,MGEs *tnpA-05*. 育成期丰度较高的有四环素类 *tetM-01* 和 *tetM-02* 及 MLSB 类的 *ermB*. 初产期 MLSB 类 *ermB* 及四环素类 *tetM-01* 和 *tetM-02* 相对丰度较高. 高产期主要有 MLSB 类 *ermF* 和 *ermB* 及四环素类 *tetM-01* 和 *tetM-02*. 而终产期各类 ARGs 和 MGEs 丰度均明显较低.

通过 Venn 图进一步分析整个养殖期鸡粪中共

存的 ARGs 在不同养殖期间的相互关系[图 5(a)],共有 110 种 ARGs 在所有鸡粪样品中被检出,主要是氨基糖苷类和四环素类 ARGs,表明动物粪便已成为主要的 ARGs 来源. 仅少数 ARGs 属于不同养殖期所独有,在不同养殖期粪污中各类特有 ARGs 的种类不同,如育雏期以氨基糖苷类和万古霉素类 ARGs 较多,高产期以万古霉素类和 MLSB 类较多,而终产期以 β -内酰胺类 ARGs 种类最多. 上述结果进一步说明不同养殖场粪污中 ARGs 分布情况存在差别.

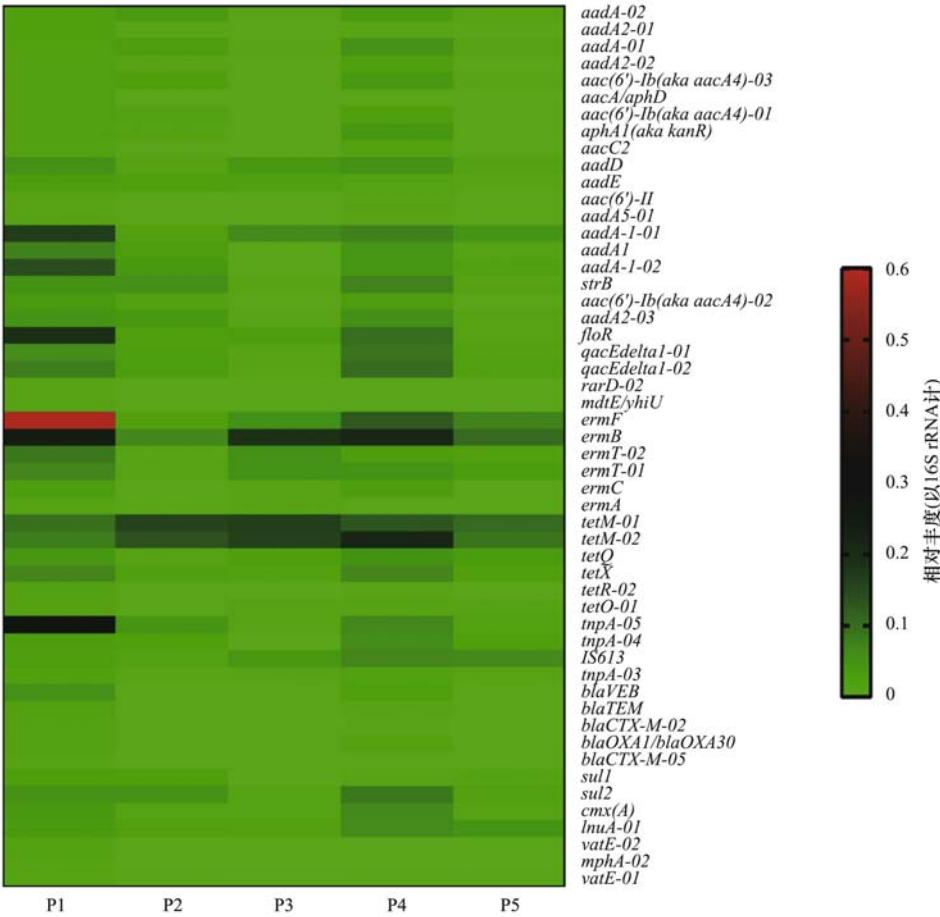


图 4 不同养殖期鸡粪中 ARGs 与 MGEs 的相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of ARGs and MGEs in poultry manure at different breeding periods

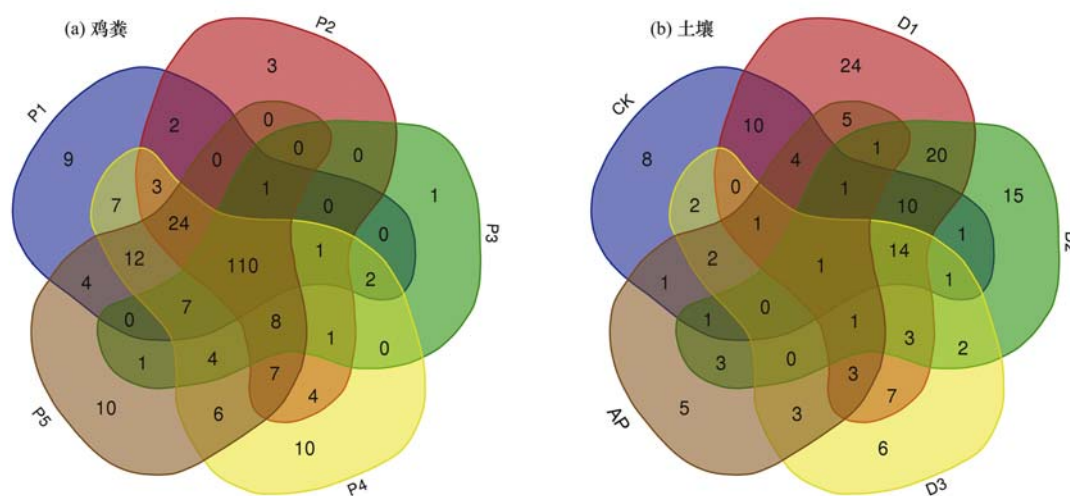


图5 鸡粪及养殖场周边土壤中 ARGs 韦恩图

Fig. 5 Venn diagram of ARGs in poultry manure and soil around poultry farm

2.3.2 养鸡场周边及施用鸡粪的土壤中抗生素抗性基因组成

动物粪便作为 ARGs 储存库可直接输入受纳环境并向周边扩散^[13]. 通过热图发现在距离养鸡场 100、200 和 300 m 处及对照土壤中各类 ARGs 亚型相对丰度均小于 0.006 (图 6), 在距离养鸡场 20 m 和 50 m 及施用鸡粪的土壤中丰度较高且常见的有: *mexF*、*intI-1 (clinic)*、*tnpA-04*、*qacEdelta1-01*、*qacEdelta1-02* 和 *sul2*. 有研究表明距离养鸡场较近土样中的 ARGs 丰度明显高于距离较远土样^[13], 与本研究的结果基本一致. 距离养鸡场 20 m 处土壤中 *mexF*、*intI-1 (clinic)* 和 *tnpA-04* 亚型相对丰度较高, 这 3 个亚型在鸡粪中也有较高丰度, 进一步说明该距离处 ARGs 很有可能是养鸡场影响的. 施用鸡粪的土壤中 *mexF* 和 *sul2* 亚型的丰度较其它基因显著增高. 目前结果统计表明, 周边土壤在直接与畜禽粪便接触或施用粪便后均能明显提高其抗生素残留水平^[41], 增强土壤中耐药菌对抗生素的抵抗能力, 加速诱导 ARGs 的产生, 而本实验距离养鸡场 20 m 处及施用鸡粪的土壤中抗生素来源相同而 ARGs 不同, 可能是施用过鸡粪的土壤中抗生素残留水平、人为管理、种植蔬菜和土壤性质的不同造成的. 其中, I 类整合子 (*intI1*) 作为捕获和整合 ARGs 的可移动遗传因子, 广泛分布于畜禽粪便、土壤和水体等自然环境中^[42]; *tnpA-04* 转座酶类可移动元件相对丰度也较高, 表明距离养鸡场 20 m 处土壤中整合子和转座子显著富集, 加剧了土壤 ARGs 横向迁移的潜在风险. 所以, 这也是距离养鸡场 20 m 的土壤中相对丰度远高于其它土壤的主要原因. 而施用鸡粪的土壤中 *mexF* 和 *sul2* 丰度较高, Byrne-Bailey 等^[43]的研究指出, 施用猪粪肥的农业土壤可普遍提

高微生物对磺胺类抗生素的抗性, 同时土壤中存在较高丰度的 *sul1* 和 *sul2*, 可能是因为磺胺类抗生素产量大、价格低、供应充足, 是全球畜禽养殖行业中经常使用的抗生素种类之一.

为了便于分析, 将受养鸡场影响较小、距离养鸡场较远的 200 m 和 300 m 处土壤样本舍去, 以对照、距离养鸡场 20、50 和 100 m 处及施用鸡粪的土壤构建 Venn 图 [图 5(b)], 发现这 5 个土壤中共有 ARGs 1 个, 是氨基糖苷类的 *aacC*. 此外, 距离养鸡场 20 m 和 50 m 处的土壤中共存 ARGs 20 个, 主要是氨基糖苷、 β -内酰胺类和 MLSB; 距离养鸡场 20、50 和 100 m 处的土壤中共存 ARGs 3 个, 分别是 *blaCMY2-02*、*aac(6')-Ib (aka aacA4)-03* 和 *ermF*. 由于距离养鸡场 100 m 处、对照和施用粪污土壤中的 ARGs 种类相对较少, 因此本实验土壤共有的 ARGs 仅 1 种.

2.4 鸡粪及土壤中抗生素抗性机制

比较分析所有鸡粪中抗生素抗性机制, 发现细胞保护和抗生素失活机制占比较大, 是鸡粪中关键的抗性机制 [图 7(a)], 但养殖期不同其抗性机制相对丰度存在较大差异. 与其它养殖期相比, 育成期抗生素失活相对丰度较高, 而细胞保护的相对丰度较低; 初产期则细胞保护抗性机制相对丰度较高, 抗生素失活相对丰度较低. 不同养殖期抗生素抗性机制的差异亦表征了携带 ARGs 的耐药微生物间的差异^[44]. 耐药菌中某些 ARGs 能够编码一种或多种功能的酶或蛋白提高自身对环境多种抗生素的抵抗能力, 如外排泵机制将进入细胞的抗生素或重金属等毒性物质迅速泵出胞外^[45], 细胞保护机制通过产生保护蛋白引起核糖体构型发生改变, 从而产生自我保护机制使耐药菌免受抗生素等物质的毒害.

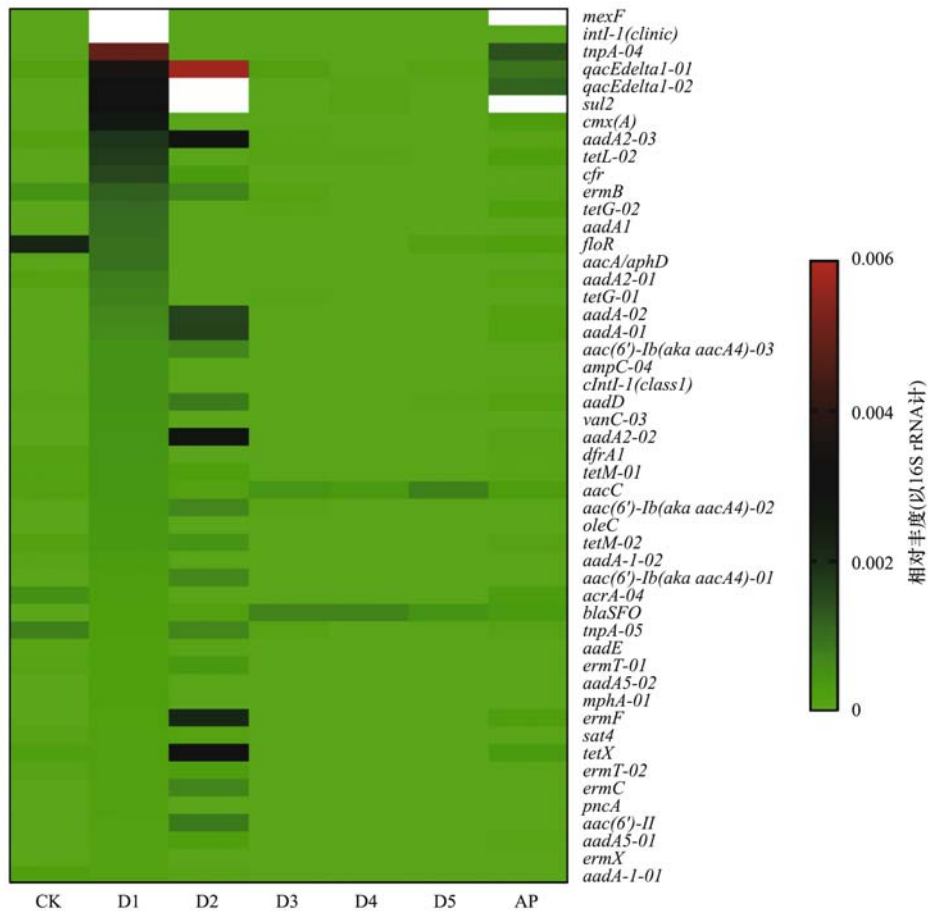
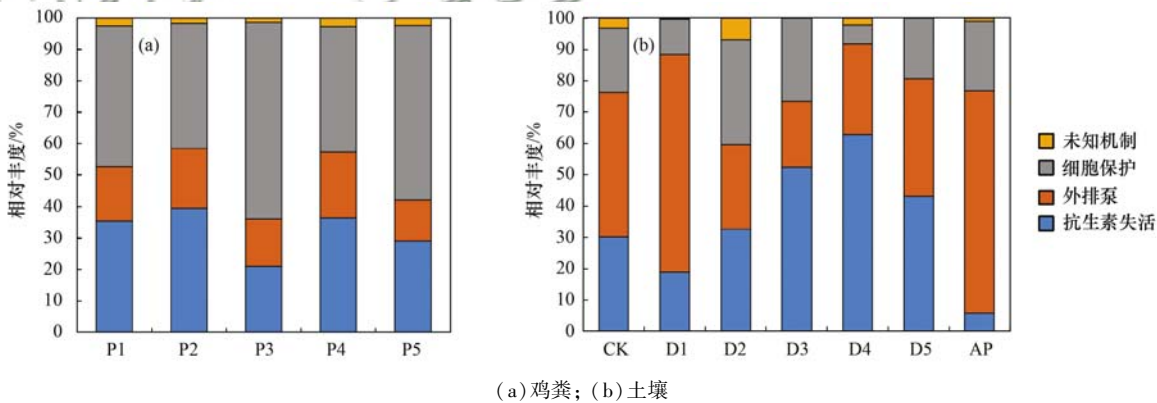


图6 土壤中 ARGs 与 MGEs 的相对丰度
Fig. 6 Relative abundance of ARGs and MGEs in different soils



(a) 鸡粪; (b) 土壤
图7 鸡粪和土壤中抗生素抗性机制分析

Fig. 7 Mechanism analysis of antibiotic resistance of poultry manure and soil

有研究表明,动物粪便中的抗生素对耐药菌具有选择性压力,可以诱导 ARGs 产生^[23]. 而 5 个养殖期鸡粪中的抗生素组成存有差异,所以,各个养殖期的抗生素抗性机制相对丰度均不相同.

周边及施用粪污土壤中的抗生素抗性机制种类及所占比例差异较大[图 7(b)]:对照、在距离养鸡场 20、50 和 200 m 及施用粪污的土壤中有 4 种抗性机制,其它 2 个距离处土壤中没有未知机制. 距离养鸡场 100、200 和 300 m 处的土壤中抗生素失

活及外排泵占比较大,是主要的抗性机制;但距离养鸡场 20 m 处和施用粪污的土壤中仅外排泵占比超过 60%,是主要的抗性机制. 其中,外排泵机制是革兰氏阳性菌和阴性菌中最主要的一类抗性机制之一,在四环素类 ARGs 中大约有 60% 的基因属于外排泵机制类. 如 *tetA*、*tetY* 和 *tetZ* 等基因能够编码相关外排泵蛋白,将四环素泵到细胞外,减少胞内四环素含量及对自身的毒害^[46],而其它类型抗生素的原理也类似. 同时有报道指出,编码外排泵蛋白基因常

位于 MGEs 如转座子、整合子和质粒等上,并常与其它 ARGs 相连,这些基因的出现大大增加了微生物的多重耐药性.一旦致病菌将多重耐药基因整合在自身的基因组上,则可能会通过食物链传递到人体内^[47],对肠道微生态、人体健康构成威胁.由此推断,本研究中距离养鸡场 20 m 处及施用鸡粪的土壤中 ARGs 的污染风险较高.

2.5 鸡粪和土壤中抗性基因与可移动元件相对丰度的相关性

采用 Pearson 相关分析法分别对鸡粪和土壤中的 ARGs 与 MGEs 进行分析(表 4).其中鸡粪中 β -内酰胺酶类与 MGEs、氨基糖苷类、MLSB 类和 ARGs 相对丰度总和与 MGEs 分别呈极显著($P < 0.01$)、显著($P < 0.05$)正相关性.在土壤样品中氯霉素类和 ARGs 相对丰度总和分别与 MGEs 呈极显著($P < 0.01$)、显著正相关性($P < 0.05$).已有研究发现养殖场粪污和周边土壤中 ARGs 均与 MGEs(整合子和转座子)存在显著或极显著的显著正相关性^[10].在本研究中氨基糖苷类、 β -内酰胺酶类、MLSB 类和氯霉素类 ARGs 与 MGEs 之间的显著或极显著正相关性以及鸡粪、土壤样品中较高丰度的 MGEs,均表明养殖场鸡粪和土壤中 ARGs 发生水平迁移的可能性较高,进一步表明了 MGEs 是加剧这些 ARGs 在养殖场环境中迁移转化的主要因素.

表 4 鸡粪和土壤中 ARGs 与 MGEs 的相关性¹⁾
Table 4 Correlation analysis between ARGs and MGEs
in poultry manure and soil

抗生素抗性基因	鸡粪	土壤
氨基糖苷类	0.900 *	0.553
多药类	0.386	0.741
β -内酰胺酶类	0.970 **	0.502
四环素类	-0.073	0.744
万古霉素类	0.065	0.176
磺胺类	0.567	0.299
MLSB 类	0.899 *	0.408
氯霉素类	0.799	0.991 **
其它	0.805	0.917 **
总和	0.879 *	0.830 *

1) * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$,下同

2.6 鸡粪中抗生素含量与抗生素抗性基因相对丰度间的相关性

养殖场抗生素的大量使用对 ARGs 的发生和扩散起重要的促进作用.采用 Pearson 相关分析法得到鸡粪中氨基糖苷类、四环素类、磺胺类、 β -内酰胺酶类和 MLSB 类抗生素含量与对应 ARGs 丰度的相关系数依次为: 0.711、-0.540、0.589、0 和 0,均未达显著水平.Tang 等^[21]对农田土壤和养殖场粪污的研究发现,氨基糖苷类和四环素类等抗生素含量均和其

对应 ARGs 丰度间存在极显著相关关系,张俊华等^[10]对西吉养殖场牛粪的研究也发现了同样的结果.而 Ji 等^[48]研究上海某大型动物养殖场粪便及周边农田土壤中 ARGs 指出:大部分 ARGs 丰度对其相应的抗生素含量间没有强烈响应.以上不同研究结果表明,抗生素可以影响 ARGs 分布,但抗生素含量并不是影响 ARGs 传播扩散的唯一因素^[22],其它环境因素可能也会影响 ARGs 的组成和传播.

土壤中仅检测到喹诺酮类和少量的四环素类抗生素,大部分抗生素未能检出,故此处没有对土壤中抗生素浓度与其对应的 ARGs 丰度间的相关性研究.

2.7 鸡粪和土壤中抗生素抗性基因相对丰度之间的相关性

鸡粪中 ARGs 相关性分析的结果如表 5 所示.氨基糖苷类 ARGs 相对丰度与 β -内酰胺酶类和 MGEs;多药类与万古霉素类; β -内酰胺酶类与 MLSB 类和 MGEs;MLSB 类与 MGEs 均呈现显著正相关($P < 0.05$);四环素类、万古霉素类和磺胺类 ARGs 相对丰度与其它种类 ARGs 均不相关.土壤中相关性分析结果表明,氨基糖苷类 ARGs 相对丰度与四环素类、万古霉素类、磺胺类和 MLSB 类;四环素类与 MLSB 类;万古霉素类与磺胺类和 MLSB 类;磺胺类与 MLSB 类和 MGEs 与氯霉素类均呈极显著正相关($P < 0.01$);而多药类和 β -内酰胺酶类 ARGs 相对丰度与其他类 ARGs 均不相关.

有研究指出,不同类型 ARGs 间显著的正相关性亦反映出这些 ARGs 可能共现在相同的 MGEs 上^[49],自然界中累积的抗生素对 ARGs 的富集具有选择压力,能同时促进其对应的和其它种类的 ARGs 水平提高^[15].在本研究中无论是鸡粪还是土壤样本中并未检测到 β -内酰胺类抗生素,但其对应的 ARGs 均以不同的丰度出现在样本中,进一步表明 β -内酰胺类 ARGs 可能与抗生素的共选择作用有关.已发现类似的研究现象,如美国某实验室在高控制环境下研究了在猪饲料中外源添加金霉素($100\text{ g}\cdot\text{t}^{-1}$)、磺胺甲噁啉($100\text{ g}\cdot\text{t}^{-1}$)和青霉素($50\text{ g}\cdot\text{t}^{-1}$)这 3 种混合抗生素对猪肠道内 ARGs 的影响,发现施用抗生素组中氨基糖苷类 ARGs 丰度较对照组增加了近 100 倍^[50];Zhu 等^[15]研究中国某三省大型集约化养猪场附近长期施用堆肥的农田土壤中 ARGs 的多样性,发现未使用任何含有氨基糖苷类产品的猪粪样品中检测到较高丰度的氨基糖苷类 ARGs,其丰度是未添加组的 10 000 倍.涂棋^[13]的研究指出,土壤生境中相关环境因子可能对 ARGs 起到共选择作用.而本研究土壤中各类 ARGs 间的

表 5 鸡粪和土壤中 ARGs 间的相关性

Table 5 Correlation analysis between ARGs and ARGs in poultry manure and soil

环境	种类	氨基糖苷类	多药类	β -内酰胺酶类	四环素类	万古霉素类	磺胺类	MLSB 类	可移动元件	氯霉素类
鸡粪	氨基糖苷类	1								
	多药类	0.654	1							
	β -内酰胺酶类	0.954 *	0.585	1						
	四环素类	0.101	-0.213	-0.103	1					
	万古霉素类	0.376	0.895 *	0.25	-0.271	1				
	磺胺类	0.79	0.507	0.582	0.41	0.465	1			
	MLSB 类	0.777	0.412	0.921 *	-0.201	0.003	0.237	1		
	可移动元件	0.910 *	0.386	0.970 **	-0.073	0.065	0.567	0.899 *	1	
	氯霉素类	0.812	0.142	0.733	0.527	-0.128	0.753	0.59	0.799	1
土壤	氨基糖苷类	1								
	多药类	0.472	1							
	β -内酰胺酶类	0.391	0.121	1						
	四环素类	0.963 **	0.586	0.462	1					
	万古霉素类	0.908 **	0.288	0.196	0.768 *	1				
	磺胺类	0.960 **	0.305	0.274	0.855 *	0.982 **	1			
	MLSB 类	0.966 **	0.331	0.215	0.901 **	0.923 **	0.967 **	1		
	可移动元件	0.553	0.634	0.502	0.744	0.176	0.299	0.408	1	
	氯霉素类	0.498	0.746	0.563	0.693	0.176	0.241	0.327	0.991 **	1

正相关性明显强于鸡粪中,该结果可能是由于土壤生境比鸡粪的更复杂多样导致的.

3 结论

(1)养殖场鸡粪中四环素类、氨基糖苷类和磺胺类为主要抗生素,育雏期抗生素含量较高,初产期最低.鸡粪中氨基糖苷类 ARGs 数目最多,育成期 AGRs 数目最多、初产期最低.

(2)距离养鸡场最近的土壤中抗生素含量明显较高.施用鸡粪可以显著提高土壤中的喹诺酮类抗生素含量.随着距养殖场距离的增加,养殖场周边土壤中 ARGs 数目和种类都逐渐减少;施用鸡粪的土壤与距离养殖场 50 m 处土壤中的 ARGs 种类和总相对丰度相当.

(3)鸡粪中抗生素的作用机制主要是细胞保护和抗生素失活,育成期抗生素失活机制相对丰度较高,细胞保护机制相对丰度较低,初产期相反.距离养鸡场 20 m 及施用鸡粪的土壤中外排泵占比较大.

(4)鸡粪中 β -内酰胺酶类、氨基糖苷类和 MLSB 类 ARGs 都存在水平移动风险;土壤中氯霉素类 ARGs 存在水平移动风险.鸡粪中抗生素残留量并不是导致 ARGs 迁移转化的唯一因素.土壤中各类 ARGs 之间的共现性明显强于鸡粪.

参考文献:

[1] 周芳. 我国畜产品兽药残留产生的原因和危害以及防控措施[J]. 吉林畜牧兽医, 2021, 42(4): 104-105.
[2] 万遂如. 关于我国畜牧业生产中限制抗生素的使用问题[J]. 养猪, 2017, (1): 1-5.
[3] Hartmann A, Alder A C, Koller T, et al. Identification of

fluoroquinolone antibiotics as the main source of umuC genotoxicity in native hospital wastewater [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1998, 17(3): 377-382.
[4] Wright G D. Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic? [J]. Current Opinion in Microbiology, 2010, 13(5): 589-594.
[5] 王丽梅, 罗义, 毛大庆, 等. 抗生素抗性基因在环境中的传播扩散及抗性研究方法[J]. 应用生态学报, 2010, 21(4): 1063-1069.
Wang L M, Luo Y, Mao D Q, et al. Transport of antibiotic resistance genes in environment and detection methods of antibiotic resistance [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, 21(4): 1063-1069.
[6] 王百羽, 张珣, 王宝玉, 等. 沈阳蔬菜地土壤中典型抗生素抗性基因与可移动元件分布特征[J]. 生态学杂志, 2021, 40(7): 2113-2119.
Wang B Y, Zhang X, Wang B Y, et al. Distribution of typical antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in vegetable soils of Shenyang [J]. Chinese Journal of Ecology, 2021, 40(7): 2113-2119.
[7] 常静, 李蕴华, 凤英, 等. 畜禽粪污源抗生素污染对土壤和作物的潜在风险及对策[J]. 畜牧与饲料科学, 2020, 41(6): 50-55.
Chang J, Li Y H, Feng Y, et al. Potential risk of antibiotic contamination to soil and crops from livestock and poultry manure and Its countermeasures [J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2020, 41(6): 50-55.
[8] Karcı A, Balçetoğlu I A. Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey [J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(16): 4652-4664.
[9] Martínez-Carballo E, González-Barreiro C, Scharf S, et al. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria [J]. Environmental Pollution, 2007, 148(2): 570-579.
[10] 张俊华, 陈睿华, 刘吉利, 等. 宁夏养牛场粪污和周边土壤中抗生素及抗生素抗性基因分布特征[J]. 环境科学, 2021,

- 42(6): 2981-2991.
- Zhang J H, Chen R H, Liu J L, *et al.* Distribution characteristics of antibiotics and antibiotic resistance genes in manure and surrounding soil of cattle farms in Ningxia [J]. *Environmental Science*, 2021, **42**(6): 2981-2991.
- [11] Zhang H B, Luo Y M, Wu L H, *et al.* Residues and potential ecological risks of veterinary antibiotics in manures and composts associated with protected vegetable farming [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, **22**(8): 5908-5918.
- [12] 赵晶, 毕春娟, 陈振楼, 等. 上海市崇明岛养殖场周边环境 中氟喹诺酮类抗生素的含量特征 [J]. *生态与农村环境学 报*, 2017, **33**(2): 120-126.
- Zhao J, Bi C J, Chen Z L, *et al.* Contents of fluoroquinolone-type antibiotics in the surroundings of livestock farms in chongming island of Shanghai [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2017, **33**(2): 120-126.
- [13] 涂棋. 典型养鸡场及周边土壤中抗生素耐药基因的污染特征 及风险评估 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
- Tu Q. Occurrence and risk assessment of antibiotic resistance genes in typical chicken farms and surrounding soils [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020.
- [14] Wang J, Ben W W, Yang M, *et al.* Dissemination of veterinary antibiotics and corresponding resistance genes from a concentrated swine feedlot along the waste treatment paths [J]. *Environment International*, 2016, **92-93**: 317-323.
- [15] Zhu Y G, Johnson T A, Su J Q, *et al.* Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, **110**(9): 3435-3440.
- [16] Yang Q X, Tian T T, Niu T Q, *et al.* Molecular characterization of antibiotic resistance in cultivable multidrug-resistant bacteria from livestock manure [J]. *Environmental Pollution*, 2017, **229**: 188-198.
- [17] Jay-Russell M T, Madigan J E, Bengson Y, *et al.* *Salmonella* oranienburg isolated from horses, wild turkeys and an edible home garden fertilized with raw horse manure [J]. *Zoonoses and Public Health*, 2014, **61**(1): 64-71.
- [18] 谷艳茹, 韩秉君, 黄继元, 等. 天津市家庭农场养殖粪污耐 药基因赋存特征及风险评估 [J]. *农业环境科学学报*, 2020, **39**(2): 394-402.
- Gu Y R, Han B J, Huang J Y, *et al.* Occurrence characteristics and risk assessment of resistance genes in livestock waste from family farms in Tianjin City, China [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, **39**(2): 394-402.
- [19] 张兰河, 王佳佳, 哈雪姣, 等. 北京地区菜田土壤抗生素抗 性基因的分布特征 [J]. *环境科学*, 2016, **37**(11): 4395-4401.
- Zhang L H, Wang J J, Ha X J, *et al.* Distribution characteristics of antibiotic resistance genes in vegetable soils in Beijing [J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(11): 4395-4401.
- [20] He Y, Yuan Q B, Mathieu J, *et al.* Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment [J]. *npj Clean Water*, 2020, **3**(1): 4.
- [21] Tang X J, Lou C L, Wang S X, *et al.* Effects of long-term manure applications on the occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) in paddy soils: evidence from four field experiments in south of China [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **90**: 179-187.
- [22] 周海东, 黄丽萍, 陈晓萌, 等. 人工生态系统对城市河流中 抗生素和 ARGs 的去除 [J]. *环境科学*, 2021, **42**(2): 850-859.
- Zhou H D, Huang L P, Chen X M, *et al.* Removal of antibiotics and antibiotic resistance genes from urban rivers using artificial ecosystems [J]. *Environmental Science*, 2021, **42**(2): 850-859.
- [23] 黄福义, 李虎, 韦蓓, 等. 长期施用猪粪水稻土抗生素抗性 基因污染研究 [J]. *环境科学*, 2014, **35**(10): 3869-3873.
- Huang F Y, Li H, Wei B, *et al.* Long-term manure application induced shift of diversity and abundance of antibiotic resistance genes in paddy soil [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(10): 3869-3873.
- [24] 邹威, 金彩霞, 魏闪, 等. 华北地区不同规模畜禽养殖场粪 便中抗生素抗性基因污染特征 [J]. *农业环境科学学报*, 2020, **39**(11): 2640-2652.
- Zou W, Jin C X, Wei S, *et al.* Occurrence of antibiotic resistance genes in livestock farms of different scales in North China [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, **39**(11): 2640-2652.
- [25] Li C, Chen J Y, Wang J H, *et al.* Occurrence of antibiotics in soils and manures from greenhouse vegetable production bases of Beijing, China and an associated risk assessment [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, **521-522**: 101-107.
- [26] 彭秋, 王卫中, 徐卫红. 重庆市畜禽粪便及菜田土壤中四环 素类抗生素生态风险评估 [J]. *环境科学*, 2020, **41**(10): 4757-4766.
- Peng Q, Wang W Z, Xu W H. Ecological risk assessment of Tetracycline antibiotics in livestock manure and vegetable soil of Chongqing [J]. *Environmental Science*, 2020, **41**(10): 4757-4766.
- [27] 冷一非. 微生物降解四环素特性及降解机理研究 [D]. 武 汉: 中国地质大学(武汉), 2017.
- Leng Y F. Characteristics and mechanism of tetracycline degradation by microorganism [D]. Wuhan: China University of Geosciences (Wuhan), 2017.
- [28] 纪春晓. 多抗性猪源大肠杆菌的部分耐药性基因分析 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007.
- Ji C X. Analysis on some resistant genes of *Escherichia coli* with multiple drug resistance [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2007.
- [29] 韩京运, 袁居龙, 杨绍贵, 等. 畜禽粪便回田后抗生素和重 金属的残留和生态风险研究进展 [J]. *四川环境*, 2018, **37**(3): 180-186.
- Han J Y, Yuan J L, Yang S G, *et al.* A review: the residues and ecological risks of heavy metals and antibiotics in livestock manures after agricultural reutilization [J]. *Sichuan Environment*, 2018, **37**(3): 180-186.
- [30] 武丹, 张圆圆, 杨雪. 氨基糖苷类抗生素的作用机制及其在 兽医临床中的应用 [J]. *当代畜禽养殖业*, 2020, (8): 42-43.
- [31] 潘兰佳, 李杰, 李春星, 等. 嗜热栖热菌降解氟喹诺酮类抗 生素 [J]. *环境工程学报*, 2020, **14**(4): 1092-1102.
- Pan L J, Li J, Li C X, *et al.* Biodegradation of fluoroquinolones by *Thermus thermophilus* [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2020, **14**(4): 1092-1102.
- [32] 潘伟, 刘辉, 艾华庭, 等. 畜禽粪便抗生素残留和控制策略 的现状研究 [J]. *畜牧业环境*, 2020, (7): 8-10.
- [33] Gu D M, Feng Q Y, Guo C S, *et al.* Occurrence and risk assessment of antibiotics in manure, soil, wastewater, groundwater from livestock and poultry farms in Xuzhou, China [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2019, **103**(4): 590-596.
- [34] 孔晨晨, 张世文, 聂超甲, 等. 农用地土壤抗生素组成特征

- 与积累规律[J]. 环境科学, 2019, **40**(4): 1981-1989.
- Kong C C, Zhang S W, Nie C J, *et al.* Composition, characteristics, and accumulation of antibiotics in the soil in agricultural land[J]. Environmental Science, 2019, **40**(4): 1981-1989.
- [35] 李彦文, 张艳, 莫测辉, 等. 广州市蔬菜中喹诺酮类抗生素污染特征及健康风险初步研究[J]. 环境科学, 2010, **31**(10): 2445-2449.
- Li Y W, Zhang Y, Mo C H, *et al.* Preliminary study on occurrence and health risk assessment of quinolone antibiotics in vegetables from Guangzhou, China[J]. Environmental Science, 2010, **31**(10): 2445-2449.
- [36] 支苏丽, 周婧, 赵润, 等. 畜禽粪便厌氧发酵过程抗生素抗性基因归趋及驱动因子分析[J]. 农业工程学报, 2019, **35**(1): 195-205.
- Zhi S L, Zhou J, Zhao R, *et al.* Analysis of antibiotic resistance genes fate and its drivers during anaerobic digestion of animal manure[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2019, **35**(1): 195-205.
- [37] Cheng W X, Chen H, Su C, *et al.* Abundance and persistence of antibiotic resistance genes in livestock farms: a comprehensive investigation in eastern China[J]. Environment International, 2013, **61**: 1-7.
- [38] Qian X, Gu J, Sun W, *et al.* Diversity, abundance, and persistence of antibiotic resistance genes in various types of animal manure following industrial composting[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, **344**: 716-722.
- [39] Zhang Q Q, Ying G G, Pan C G, *et al.* Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance[J]. Environmental Science & Technology, 2015, **49**(11): 6772-6782.
- [40] Hou J, Wan W N, Mao D Q, *et al.* Occurrence and distribution of sulfonamides, tetracyclines, quinolones, macrolides, and nitrofurans in livestock manure and amended soils of Northern China[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, **22**(6): 4545-4554.
- [41] Wei R C, He T, Zhang S X, *et al.* Occurrence of seventeen veterinary antibiotics and resistant bacteria in manure-fertilized vegetable farm soil in four provinces of China[J]. Chemosphere, 2019, **215**: 234-240.
- [42] Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution[J]. Nature Reviews Microbiology, 2006, **4**(8): 608-620.
- [43] Byrne-Bailey K G, Gaze W H, Kay P, *et al.* Prevalence of sulfonamide resistance genes in bacterial isolates from manured agricultural soils and pig slurry in the United Kingdom[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2009, **53**(2): 696-702.
- [44] 张汝凤, 宋渊, 高浩泽, 等. 北京蔬菜地土壤中抗生素抗性基因与可移动元件的分布特征[J]. 环境科学, 2020, **41**(1): 385-393.
- Zhang R F, Song Y, Gao H Z, *et al.* Distribution characteristics of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in Beijing vegetable base soils[J]. Environmental Science, 2020, **41**(1): 385-393.
- [45] 朱蓉蓉. *Arthrobacter nicotianae* OTC-16 对根际土壤中土霉素的降解效应及生态风险研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2020.
- Zhu R R. Study on the effect of *Arthrobacter nicotianae* OTC-16 application on oxytetracycline removal in rhizosphere soil and the ecological risk[D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2020.
- [46] 赵祥. 施用粪肥的设施菜地土壤中抗生素及抗性基因多样性及丰度的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2017.
- Zhao X. Diversity and abundance of antibiotics and ARGs in vegetable soil with manure application[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2017.
- [47] Chen Q L, An X L, Zhu Y G, *et al.* Application of struvite alters the antibiotic resistome in soil, rhizosphere, and phyllosphere[J]. Environmental Science & Technology, 2017, **51**(14): 8149-8157.
- [48] Ji X L, Shen Q H, Liu F, *et al.* Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai; China[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, **235**-**236**: 178-185.
- [49] 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.
- [50] Looft T, Johnson T A, Allen H K, *et al.* In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, **109**(5): 1691-1696.

CONTENTS

Characteristics of PM _{2.5} Pollution in Beijing During the Historical Period of the 2022 Olympic Winter Games	LIU Yue-chen, MAN Rui-qi, QIU Yan-ting, <i>et al.</i>	(3895)
Observation Analyses of Aerosol Size Distribution Properties from February to March, 2019 in Tianjin Urban Area	HAO Jian, CAI Zi-ying, LIU Jing-le, <i>et al.</i>	(3903)
Analysis of Typical Weather Circulation Patterns of Heavy PM _{2.5} Pollution and the Transport Pattern in the Yangtze River Middle Basin	WANG Ying, ZHI Xie-fei, BAI Yong-qing, <i>et al.</i>	(3913)
Characteristics of Heavy Metals and Other Elements in Atmospheric Dry and Wet Deposition and Health Risk Assessment of a Typical Industrial and Mining City in Central Yunnan	FAN Chen-zi, LIU Yong-bing, YUAN Ji-hai, <i>et al.</i>	(3923)
Characteristics and Reactivity of VOCs in a Typical Industrial City in Summer	QIN Tao, LI Li-ming, WANG Xin-wu, <i>et al.</i>	(3934)
Chemical Reaction Activity and Source Apportionment of Atmospheric VOCs in Summer in Dalian	ZHU Ke-xin, LIU Li-zhong, LIU Huan-wu, <i>et al.</i>	(3944)
One-year Simulation of Air Pollution in Central China, Characteristics, Distribution, Inner Region Cross-transmission, and Pathway Research in 18 Cities	LIU Guang-jin, SU Fang-cheng, XU Qi-xiang, <i>et al.</i>	(3953)
Characteristics of Ozone Pollution, Meteorological Impact, and Evaluation of Forecasting Results Based on a Neural Network Model in Beijing-Tianjin-Hebei Region	ZHU Yuan-yuan, LIU Bing, GUI Hai-lin, <i>et al.</i>	(3966)
Temporal and Spatial Variations in Black Carbon Aerosol in Different Atmospheric Background Stations in China from 2006 to 2020	WANG Hong-lei, YAN Xue, SHEN Li-juan, <i>et al.</i>	(3977)
Pollution Characteristics and Emission Factors of PCDD/Fs from Iron and Steel Industry	YANG Yan-yan, XIE Dan-ping, FU Jian-ping, <i>et al.</i>	(3990)
Community Composition and Assessment of the Aquatic Ecosystem of Periphytic Algae in the Yangtze River Basin	HU Yu-xin, CAO Liang, QU Ren-chao, <i>et al.</i>	(3998)
Evaluation and Source Analysis of Heavy Metal Pollution in Sediments of the Yellow River Basin Based on Monte Carlo Simulation and PMF Model	PANG Kuo, LI Min, LIU Lu, <i>et al.</i>	(4008)
Retention Effect of Heavy Metals in Rivers of a Typical Mountainous City by Cascade Weirs; A Case Study of Liangtan River in Chongqing	WANG Chao, JIA Bo-yang, PAN Cheng-yong, <i>et al.</i>	(4018)
Estimation of Agricultural Non-point Source TN and TP Export Coefficients Based on Soil Loss	WANG You-xiao, HUANG Chong, LIU Gao-huan, <i>et al.</i>	(4032)
Influence of Land Use and Land Cover Patterns on Water Quality at Different Spatio-temporal Scales in Hehuang Valley	LI Hao-hao, HUANG Yi-mei, GUO Wei, <i>et al.</i>	(4042)
Groundwater Pollution Source Identification by Combination of PMF Model and Stable Isotope Technology	ZHANG Han, DU Xin-yu, GAO Fei, <i>et al.</i>	(4054)
Antibiotic Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment in Jinjiang River Basin, Jiangxi Province	LI Jia-le, WANG Meng, HU Fa-wang, <i>et al.</i>	(4064)
Screening and Control Measures for New Priority Pollutants in Surface Water of Tianjin	WU Yan-qi, SONG Shuai, SHI Ya-juan, <i>et al.</i>	(4074)
Contamination Characteristics and Ecological Risk Assessment of Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in the Third Drain of Ningxia	LI Fu-juan, GAO Li, LI Ling-yun, <i>et al.</i>	(4087)
Analysis of the Seasonal Changes in Planktonic Microbial Diversity in Urban River Supplied with Reclaimed Water: A Case Study of the North Canal River	YUAN Xun-chao, WANG Min, GUO Xiao-yu, <i>et al.</i>	(4097)
Spectroscopic and Molecular Characterization of Water Soluble Organic Matter from Sediments in the Macrophyte-dominated and Algae-dominated Zones of Taihu Lake	DU Ying-xun, DAI Jia-ru, ZHANG Qiao-ying, <i>et al.</i>	(4108)
Emission of Nitrous Oxide (N ₂ O) from Lake Taihu and the Corresponding Potential Driving Factors	LIU Chao-rong, ZHU Jun-yu, LI Yu-yang, <i>et al.</i>	(4118)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals in the Bioretention Systems of Sponge Cities	LEI Xiao-ling, QIU Li-na, WEI Ze-jun, <i>et al.</i>	(4127)
Treatment Effect of Corncob and Rice Straw Enhanced Subsurface Flow Constructed Wetland on Low C/N Ratio Wastewater	HU Man-li, HAO Qing-ju, MA Rong-zhen, <i>et al.</i>	(4136)
Investigation of the Performance of Organic Contaminant Degradation by Fe ²⁺ /PDS Under Environmentally Relevant pH Conditions	LIU Ying, GUO Yi-wei, QIAO Jun-lian, <i>et al.</i>	(4146)
Typical Pesticide Residues and Their Risk Assessment in Farmland Environment of Different Plant Types in Shay County, Xinjiang	XIE Xuan-xuan, NUERLA Ailijiang, BALATI Maihemuti, <i>et al.</i>	(4154)
Distribution Characteristics of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Manure and Surrounding Soil of Poultry Farm in Ningxia	SHEN Cong, ZHANG Jun-hua, LIU Ji-li, <i>et al.</i>	(4166)
Enrichment Factors of Soil-Se in the Farmland in Shizuishan City, Ningxia	WANG Ying, LIU Hai-yan, WANG Ze-jing, <i>et al.</i>	(4179)
Zoning and Safe Utilization Method of Heavy Metal Contaminated Cultivated Land at Block Scale	WANG Rui, YU Jing, LI Yu, <i>et al.</i>	(4190)
Spatial Distribution, Source Apportionment, and Ecological Risk Assessment of Soil Heavy Metals in Jianghugongmi Producing Area, Shandong Province	YU Lin-song, WAN Fang, FAN Hai-yin, <i>et al.</i>	(4199)
Assessing the Lead Accumulation Risks of Wheat Grain by Developing a Source-Specific Accumulation Risk Assessment Model	YANG Yang, LI Yan-ling, NIU Shuo, <i>et al.</i>	(4212)
Accumulation Effects and Health Risks of Heavy Metals in Rice in Location-based Cadmium Anomaly Area in Liuzhou	ZHU Liang-liang, WANG Fu-peng, TANG Le-bin, <i>et al.</i>	(4219)
Accumulation and Transport Characteristics of Cd, Pb, Zn, and As in Different Maize Varieties	REN Chao, XIAO Jian-hui, LI Jing-tian, <i>et al.</i>	(4232)
Remediation Potential of <i>Taraxacum kok-saghyz</i> Rodin on Lead and Cadmium Contaminated Farmland Soil	ZHANG Heng, XIONG Ming-biao, WANG Qian-xin, <i>et al.</i>	(4253)
Remediation Potential of Three Dwarf Bamboos on Farmland Soils Contaminated with Mixed Heavy Metals	ZHANG Ying, ZHAO Xin, ZHANG Sheng-hu, <i>et al.</i>	(4262)
Impacts of Uptake and Accumulation of Cd on Double Rice-Paddy Soil by Silicon Fertilizer Continuous Application	PENG Hua, DENG Kai, SHI Yu, <i>et al.</i>	(4271)
Effect of Modified Chitosan Loaded with Silica on Arsenic Uptake and Transport in Rice	YANG Jia-yi, SUN Meng-qiang, XIAO Yu-tang, <i>et al.</i>	(4282)
Effect of Chelating Agents and Organic Acids on Remediation of Cadmium and Arsenic Complex Contaminated Soil Using <i>Xanthium sibiricum</i>	ZHANG Ya-rui, HUANG Yi-zong, BAO Qiong-li, <i>et al.</i>	(4292)
Effects of Water Management on the Transformation of Iron Oxide Forms in Paddy Soils and Its Coupling with Changes in Cadmium Activity	LI Ming-yuan, ZHANG Xiao-ting, LIU Han-yi, <i>et al.</i>	(4301)
Effects of Iron Intensity-regulated Root Microbial Community Structure and Function on Cadmium Accumulation in Rice	ZHENG Shen, HUANG Dao-you, LI Bo, <i>et al.</i>	(4313)
Effects of Mulching and Slow-release Fertilizer Application Reduction on Soil Microbial Community Structure in Rapeseed Field Under Two Different Rainfall Conditions	FENG Jun, SHI Chao, Hafiz Athar Hussain, <i>et al.</i>	(4322)
High-Throughput Sequencing Combined with Metabonomics to Analyze the Effect of Heavy Metal Contamination on Farmland Soil Microbial Community and Function	PANG Fa-hu, LI Xiao-qi, DUAN Li-yang, <i>et al.</i>	(4333)
Characteristics of Microbial Community Structure in the Surrounding Farmlands of a Mercury Mining Area and Its Environmental Driving Factors	CHEN Fen, YU Gao, SUN Yue-bing, <i>et al.</i>	(4342)
Comparison of Bacterial Community Structure in Soil Aggregates Between Natural Karst Wetland and Paddy Field	LENG Meng, JIN Zhen-jiang, XIAO Xiao-yi, <i>et al.</i>	(4353)
Elevational Pattern and Control Factors of Soil Microbial Carbon Use Efficiency in the Daiyun Mountain	LÜ Kun, WANG Jing-jing, WU Guo-peng, <i>et al.</i>	(4364)
Effect of Long-term Straw Returning on the Mineralization and Priming Effect of Rice Root-carbon	LIU Feng, WANG Yun-qiu, ZHANG Yun, <i>et al.</i>	(4372)
Effects of Straw Returning and Biochar Application on Summer Maize Yield and Soil N ₂ O Emission in Guanzhong Plain	BAI Jin-ze, LIU Zhen-yuan, SONG Jia-jie, <i>et al.</i>	(4379)
Effects of Polystyrene Nanoplastics (PS-NPs) on the Physiology of <i>Allium sativum</i> L.	QIU Chen-chen, LI Guo-xin, LI Qing-song, <i>et al.</i>	(4387)
Effect of Microplastics on Soil Water Infiltration and Evaporation	WANG Zhi-chao, ZHANG Bo-wen, NI Jia-xuan, <i>et al.</i>	(4394)
Life Cycle Assessment and Key Parameter Comparison of Hydrogen Fuel Cell Vehicles Power Systems	CHEN Yi-song, LAN Li-bo, HAO Zhuo, <i>et al.</i>	(4402)