

目次

复合污染条件下人为源 VOCs 的 SOA 生成研究进展 ..... 陈天增, 刘俊, 马庆鑫, 楚碧武, 张鹏, 刘永春, 刘昌庚, 贺泓(1201)

全氟和多氟烷基化合物微生物降解与转化研究进展 ..... 孙红文, 方博, 陈浩, 赵茂森, 张耀之, 乔碧汀, 喻蒙(1214)

湖泊水质参数遥感监测研究进展 ..... 王思梦, 秦伯强(1228)

淡水环境中微塑料与重金属的“木马效应”研究进展 ..... 赵伟高, 田一梅, 赵鹏, 赵令铨, 金超(1244)

长江经济带二氧化碳净排放时空演变特征及脱钩效应 ..... 吴一帆, 许杨, 唐洋博, 贾宁, 李玮, 李翀, 殷国栋(1258)

中国土地利用碳排放变化及协调分区 ..... 李缘缘, 魏伟, 周俊菊, 郝瑞军, 陈帝伯(1267)

基于 STIRPAT 模型天津减排降碳协同效应多维度分析 ..... 刘茂辉, 岳亚云, 刘胜楠, 李婧, 刘佳泓, 孙猛(1277)

基于燃料生命周期的中国铁路排放趋势 ..... 佟惠, 范朝阳, 梁晓宇, 孙露娜, 门正宇, 赵肖阳, 毛洪钧(1287)

浙江省大气颗粒物 PM<sub>2.5</sub> 化学组分污染特征分析 ..... 周菁清, 余磊, 陈书鑫, 陆佳锋, 许亚璐, 季海冰, 张柳芳, 刘劲松, 王静(1297)

南京亚微米级颗粒物化学组成的季节变化、粒径分布和来源 ..... 徐振麒, 尚玥, 丁峰, 谢鸣捷, 王勤耕(1310)

洛阳地区碳质组分季节特征及来源解析: 棕碳的重要贡献 ..... 闫广轩, 侯明阳, 张朴真, 王洁琦, 王虎, 李崇浩, 王跃思(1319)

江苏省 2019 年 S/IVOCs 排放清单及分布特征 ..... 宋童艾, 张佳颖, 关璐, 胡建林, 于兴娜(1328)

珠三角典型工业区挥发性有机物(VOCs)组成特征: 含氧挥发性有机物的重要性 ..... 宋鑫, 袁斌, 王思行, 何贤俊, 李小兵, 彭钰雯, 陈钰彬, 齐吉朋, 蔡嘉骅, 黄山, 胡丹, 魏文, 刘可旋, 邵敏(1336)

2000~2020 年天津市机动车全过程 VOCs 排放特征及演变 ..... 孙露娜, 仲崇智, 孙世达, 刘妍, 佟惠, 吴亚君, 宋鹏飞, 张丽娜, 黄旭, 吴琳, 毛洪钧(1346)

港口自有移动源大气污染物排放清单 ..... 徐小凡, 王宝庆, 吴俊成, 李怡诺(1357)

基于改进水资源生态足迹模型的中国水资源可持续利用仿真及调控 ..... 欧阳兴涛, 廖浩宇, 姜秋香, 王子龙(1368)

黄河流域入海口典型区域有机磷酸酯分布特征和风险评估 ..... 曹渺, 郭昌胜, 张恒, 刘士清, 陈苗, 吕佳佩, 侯嵩, 尤新军, 徐建(1378)

桂林会仙岩溶湿地水体与沉积物中有机氯农药污染特征 ..... 余悦, 邢新丽, 程敏, 刘威杰, 张标, 孔祥胜, 李森, 余海阔, 罗为群, 祁士华(1387)

广东茂名主要水系表层沉积物重金属风险评估及源解析 ..... 陈小霞, 张敏, 李蓓, 温鹏翀, 丁平, 姚玲爱, 马千里, 李廷真, 蔡丹, 胡国成(1397)

宁波市地表水重金属时空分布特性和健康风险评估 ..... 徐美娟, 杨佳, 任晓景, 赵红燕, 高夫燕, 蒋跃军(1407)

典型西北山地-绿洲系统不同水体水化学特征及其水力关系分析 ..... 王诗语, 孙从建, 陈伟, 周思捷, 张鑫(1416)

牟汶河中上游孔隙水化学特征及控制因素 ..... 刘元晴, 周乐, 吕琳, 李伟, 王新峰, 邓启军, 郑一迪, 李常锁(1429)

石河子-昌吉地区地下水水质时空变化及污染源解析 ..... 丁启振, 周金龙, 季彦桢, 杨方源, 张淑霞(1440)

北方富营养分层型水库藻类季节性暴发机制及其阈值分析 ..... 温成成, 黄廷林, 孔昌昊, 张志刚, 田鹏飞(1452)

拉林河流域底栖硅藻群落结构特征及水生态健康评价 ..... 单涛, 袁安龙, 黄子芮, 周静怡, 陆欣鑫, 范亚文(1465)

南昌市湖泊丰水期浮游细菌群落结构及影响因素 ..... 高鹏飞, 王鹏, 黄伟, 丁明军, 张华, 聂明华, 黄高翔(1475)

调蓄水库细菌群落季节变化特征与影响因素 ..... 丁宁, 杨莹莹, 万年新, 徐爱玲, 葛建华, 宋志文(1484)

典型城市内河菌群组成与氮循环功能垂向分布及溯源分析 ..... 谭秋阳, 吕金燕, 白献宇, 程莉蓉, 李晚艳, 郑蕾(1497)

滇中高原水库外源污染负荷贡献解析与环境容量核算 ..... 郭玉静, 李红兵, 王树明, 白乙娟, 任良锁, 丁爱中(1508)

窄孔径含磷棉秆生物质炭的制备及对四环素的吸附机制 ..... 曾少毅, 李坤权(1519)

高比表面硫脲改性花生壳炭的制备及对四环素和铜的吸附 ..... 闵炳坤, 李坤权(1528)

不同供水管材生物膜抗生素抗性基因分布特征 ..... 刘晨旭, 白晓慧(1537)

水蚀环境植被恢复对土壤有机碳固存和团聚体稳定的影响: Meta 分析 ..... 杨睿哲, 杨世龙, 翁希哲, 徐灵颖, 刘雪健, 杜运田, 张雪辰, 郑伟, 翟丙年, 王朝辉, 李紫燕(1542)

增温施肥对稻麦农田土壤有机碳及其活性组分的影响 ..... 邓旭哲, 韩晨, 薛利祥, 侯朋福, 薛利红, 杨林章(1553)

三江源地区高寒草地土壤功能的水平分异特征及其沿发生层的垂直变化 ..... 李柏键, 申聪聪, 刘四义, 吴华勇, 王继琛, 赵冬辉, 葛源(1562)

鄱阳湖平原直播稻 CH<sub>4</sub> 通量及其与 CO<sub>2</sub> 通量的综合温室效应 ..... 时元智, 崔远来, 才硕, 洪大林, 程婕(1572)

不同土地利用类型土壤多环芳烃的纵向污染特征及来源解析 ..... 周芷嫣, 张秀秀, 王飞, 朱昌达, 潘剑君(1583)

石家庄道路灰尘中全氟/多氟化合物及其新型替代品的污染特征及健康风险评估 ..... 李鹏飞, 王媛, 杨晨, 史亚利, 崔建清(1593)

南方典型矿区农业小流域耕地土壤重金属空间分布特征及污染评价 ..... 杨宇, 郭婷婷, 刘孝利, 铁柏清(1602)

三峡库区(重庆段)菜地土壤重金属污染特征、潜在生态风险评估及源解析 ..... 石雨佳, 方林发, 方标, 叶莘莘, 范晓霞, 高坤鹏, 陈征, 肖然(1611)

兰州市耕地表层土壤重金属的积累特征及其影响因素分析 ..... 康乐, 彭鑫波, 马延龙, 张利瑞, 张妍娥, 王泉灵, 张松林(1620)

粤北典型工矿区土壤重金属富集特征、来源解析及风险评估 ..... 王越, 莫莉, 余新晓, 师华定, 费杨(1636)

三门峡某铝业厂遗留场地土壤重金属空间分布特征及来源解析 ..... 卢小慧, 余方中, 范一鸣, 杨阳(1646)

某试验场土壤重金属分布特征及其污染评价 ..... 王诗雨, 李淳, 赵洪伟, 陈希, 张慧君, 朱勇兵, 赵三平, 计超, 刘晓东(1657)

化学淋洗联合电动技术修复重金属污染土壤的效果及其机制 ..... 马强, 卫泽斌, 吴启堂(1668)

再生铜冶炼过程中重金属排放特征和控制 ..... 林炳丞, 吴广龙, 郑明辉, 刘国瑞(1678)

长江流域(安徽段)土壤-作物系统重金属污染特征及健康风险评估 ..... 刘海, 魏伟, 黄健敏, 赵国红(1686)

稻-麦轮作模式下不同钝化材料对镉污染农田土壤的原位钝化效应 ..... 张路, 唐婵, 余海英, 李廷轩, 张锡洲, 黄化刚(1698)

巯基化蒙脱石用于镉污染农田安全生产的效果及其持久性 ..... 冯先翠, 陈亚刚, 焦洪鹏, 曹鹏, 朱凤榕, 李媛媛, 江海燕(1706)

蚯蚓、秸秆和柠檬酸对少花龙葵与翅果菊修复镉污染土壤的影响 ..... 陈敏妮, 袁小奇, 张李峰, 何川黔, 高波(1714)

地质高背景区富 Se 耕地可利用性研究及区划建议 ..... 王锐, 李瑜, 余京, 周皎, 余飞, 张云逸, 蒋玉莲(1727)

张家口市北新屯地区蔬菜种植区微量元素富集特征及成因分析 ..... 安永龙, 殷秀兰, 金爱芳, 李文娟, 鲁青原(1735)

三峡库区消落带落羽杉人工林土壤细菌群落结构多样性及动态变化 ..... 谭雪, 董智, 张丽苗, 袁中勋, 李昌晓(1748)

黄土丘陵区退耕还林对土壤真菌群落的影响 ..... 张蕾, 王强, 杨新月, 吕俊平(1758)

化肥减量配施有机肥对土壤功能微生物和柠檬产量及品质的影响 ..... 王蕊燕, 熊子怡, 罗东海, 王子芳, 高明(1768)

鸡粪和猪粪生物发酵过程中抗生素抗性基因的动态变化 ..... 张丹, 彭双, 王丹青, 王-明, 林先贵(1780)

牛粪还田对土壤微生物群落特征的影响 ..... 张雅丽, 郭晓明, 胡慧, 郭暖, 徐小涛, 李建林(1792)

《环境科学》征订启事(1406) 《环境科学》征稿简则(1592) 信息(1635, 1667, 1677)

# 鸡粪和猪粪生物发酵过程中抗生素抗性基因的动态变化

张丹<sup>1,2,3</sup>, 彭双<sup>1,3</sup>, 王丹青<sup>4</sup>, 王一明<sup>1,2,3,4\*</sup>, 林先贵<sup>1,3</sup>

(1. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008; 2. 中国科学院大学, 北京 101400; 3. 江苏省有机固体废物资源化协同创新中心, 南京 210095; 4. 宁夏大学农学院, 银川 750021)

**摘要:** 畜禽粪便是储存和传播抗生素抗性基因( ARGs)的主要载体. 为明确鸡粪和猪粪堆肥过程中 ARGs 和 MGEs 相对丰度的变化及影响其消减的关键环境因子, 探索减少畜禽粪便堆肥中 ARGs 含量并降低其污染风险的有效方法, 采用实时荧光定量 PCR 技术和 16S rRNA 高通量测序技术, 测定了鸡粪和猪粪好氧堆肥 75 d 的过程中, 不同阶段 10 种 ARGs 和 7 种可移动遗传元件( MGEs) 的丰度变化和细菌群落变化, 分析了 ARGs 和 MGEs 与细菌群落的相关性和堆肥理化性质( 温度、含水率、pH 和 DOC) 变化对 ARGs 和 MGEs 丰度的影响. 结果表明, 猪粪( PM) 中 ARGs 和 MGEs 丰度显著高于鸡粪( CM). 堆肥结束后, 两种堆肥中 9 种 ARGs 和 5 种 MGEs 的相对丰度均显著降低, 其中 CM 中 3 种 ARGs( *tetM*、*tetT* 和 *aacA*) 和 4 种 MGEs( *ISEcp1*、*IS1216*、*IS613* 和 *tnp614*) 的去除率达到 99%; PM 中 9 种 ARGs[ *tetB(P)*、*tetL*、*tetM*、*tetO*、*tetT*、*aacA*、*aadD*、*aphA3* 和 *sat4*] 及 4 种 MGEs( *ISEcp1*、*IS26*、*IS1216* 和 *tnp614*) 去除率均达到 99%; 而两种堆肥中的 *tetG*、*intI1* 和 *IS6100* 相对丰度均呈增长趋势. 厚壁菌门( Firmicutes) 和放线菌门( Actinobacteria) 是堆肥中的主要细菌类群, 相关性分析结果表明放线菌门和变形菌门( Proteobacteria) 可能是 *tetG* 和 *intI1* 的潜在宿主, 它们在堆肥后期丰度增加可能是导致这 2 种基因丰度增加的原因. 冗余分析( RDA) 表明, 含水率和 pH 是影响 CM 和 PM 堆肥过程中 ARGs 和 MGEs 相对丰度变化的关键环境因子, 堆肥理化性质、细菌群落和 MGEs 共同驱动了 ARGs 的组成和丰度变化. 堆肥可显著降低鸡粪和猪粪中 ARGs 的丰度, 从而降低畜禽粪便在农业生产中 ARGs 扩散的风险; 但仍有部分 ARGs 和 MGEs 高丰度残留, 因此需进一步优化堆肥工艺, 提高畜禽粪便的无害化处理效果, 促进有机肥安全农用.

**关键词:** 畜禽粪便; 抗性基因( ARGs); 可移动遗传元件( MGEs); I 类整合子; 堆肥

中图分类号: X713 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2023)03-1780-12 DOI: 10.13227/j.hjx.202204215

## Dynamic Changes in Antibiotic Resistance Genes During Biological Fermentation of Chicken Manure and Pig Manure

ZHANG Dan<sup>1,2,3</sup>, PENG Shuang<sup>1,3</sup>, WANG Dan-qing<sup>4</sup>, WANG Yi-ming<sup>1,2,3,4\*</sup>, LIN Xian-gui<sup>1,3</sup>

(1. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101400, China; 3. Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, Nanjing 210095, China; 4. College of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

**Abstract:** Livestock manure is a major carrier that stores and transmits antibiotic resistance genes ( ARGs). The aim of this study was to identify the crucial environmental factors that result in the change in relative abundance of ARGs and MGEs to explore effective methods to reduce the occurrence of ARGs. The abundance of ten ARGs and five MGEs were measured using real-time quantitative PCR with 0, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 45, 60, and 75 d in CM and PM aerobic composting. The succession law of the bacterial community was analyzed using 16S rRNA high-throughput sequencing. Furthermore, the abundance of ARGs and MGEs was correlated with the properties ( temperature, moisture content, pH, and DOC) of composting piles to identify the crucial factors affecting the variation in ARGs and MGEs. The results showed that the abundance of ARGs and MGEs in PM was higher than that in CM. Composting significantly reduced the relative abundance of nine ARGs and five MGEs. The removal ratios of three ARGs ( *tetM*, *tetT*, and *aacA*) and four MGEs ( *ISEcp1*, *IS1216*, *IS613*, and *tnp614*) in CM reached 99%. The removal ratios of nine ARGs[ *tetB(P)*, *tetL*, *tetM*, *tetO*, *tetT*, *aacA*, *aadD*, *aphA3*, and *sat4*] and four MGEs ( *ISEcp1*, *IS26*, *IS1216*, and *tnp614*) reached 99% in PM. However, the abundance of the genes *tetG*, *intI1*, and *IS6100* increased. Firmicutes and Actinobacteria were dominant in CM and PM during composting. Actinobacteria and Proteobacteria may have been the major host bacteria of *tetG* and *intI1*. The redundancy analysis showed that moisture and pH were the crucial factors that could influence the differences in the abundance of ARGs and MGEs. The composition and abundance of ARGs were driven by physicochemical properties, bacterial community, and MGEs. Composting could significantly reduce the abundance of ARGs in CM and PM, thus reducing the risk of ARGs being distributed via livestock manure application. However, some ARGs and MGEs remained in high abundance. Therefore, it is necessary to further optimize the composting process, improve the harmless treatment effect of livestock manure, and promote the safe agricultural use of organic fertilizers.

**Key words:** livestock manure; antibiotic resistance genes ( ARGs); mobile genetic elements( MGEs); class I integron; composting

抗生素可促进动物生长, 同时在预防和治疗动物传染性疾病等方面发挥着重要作用<sup>[1]</sup>. 据估计,

收稿日期: 2022-04-18; 修订日期: 2022-06-19

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD1900602); 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2021BEE02025); 内蒙古自治区科技重大专项(NMKJXM202009); 中国科学院关键技术人才项目

作者简介: 张丹(1999~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境中抗生素抗性基因, E-mail: zhangdan@issas.ac.cn

\* 通信作者, E-mail: ymwang@issas.ac.cn

每年用于养殖业的抗生素占年总产的 46.1%<sup>[2]</sup>. 由于动物肠道对抗生素的吸收较差, 30%~90% 的抗生素通过动物排泄进入环境中<sup>[3]</sup>. 细菌在抗生素的诱导下, 产生各种抗生素抗性基因<sup>[4]</sup> (antibiotic resistance genes, ARGs). 随着我国畜禽养殖业的快速发展, 畜禽粪便产生量逐年上升. 由于畜禽粪便中含有氮、磷和钾等养分资源, 替代化肥潜力巨大, 常作为一种有机肥施入土壤<sup>[5]</sup>, 粪便中所携带的抗生素和 ARGs 也随之进入环境. 细菌中所携带的 ARGs 可通过质粒、转座子和整合子等可移动遗传元件 (mobile genetic elements, MGEs) 在细菌的种内和种间发生水平转移 (horizontal gene transfer, HGT), 加速了 ARGs 在环境中的传播和扩散<sup>[6]</sup>. 许多研究表明, 长期施用畜禽粪便后, 农田土壤中 ARGs 的多样性和丰度均显著增加<sup>[7-10]</sup>. 据统计, 我国每年畜禽粪污产生量高达 38 亿 t, 但综合利用率不足 60%<sup>[11]</sup>. 因此, 对畜禽粪便应进行无害化处理后, 再施入土壤不仅可以实现畜禽粪便的资源化利用, 还可有效减少 ARGs 在环境中的传播.

堆肥是目前应用较广的一种畜禽粪便处理方式, 具有环境友好、能耗低和成本效益高等优点<sup>[12]</sup>. 畜禽粪便堆肥一方面可以降解大部分抗生素<sup>[13]</sup>, 另一方面可通过高温杀灭粪便中的病原菌和耐药微生物, 通过改变微生物群落结构和组成, 进而影响 ARGs 丰度和多样性<sup>[14]</sup>, 从而有效缓解粪便中抗生素和抗性基因的复合污染<sup>[15]</sup>. 不同类型的畜禽粪便, 抗生素含量和 ARGs 丰度存在较大差异<sup>[16]</sup>. Hou 等<sup>[17]</sup> 和 Zhao 等<sup>[18]</sup> 的研究发现鸡粪和猪粪中的抗生素残留量远大于牛粪, 鸡粪中检出的抗生素种类繁多且量大, 喹诺酮类抗生素高浓度富集. 这是由于鸡和猪的养殖密度大, 出栏期短, 需要频繁使用抗生素来防治疾病和促进生长, 因此养鸡场和养猪场抗生素的使用量远大于养牛场<sup>[19]</sup>. 钱勋<sup>[19]</sup> 通过对不同粪便中的 ARGs 检测发现, 鸡粪中检出的 ARGs 种类最多且丰度最高, 多重耐药 ARGs 的比例显著高于猪粪. 因此, 探究堆肥过程中鸡粪和猪粪中 ARGs 的削减差异及其影响因素, 分析 ARGs 和 MGEs 与细菌群落的关系, 探索促进好氧堆肥对 ARGs 削减效果的条件, 不仅可为监测评价畜禽粪便及其堆肥产物的生态风险提供参考, 也可为优化堆肥条件削减畜禽粪便中的 ARGs 提供理论依据, 进而最大限度降低其传播扩散风险.

微生物是堆肥过程中的关键驱动因子, 其种类、数量和活性影响着物质的分解和转化, 向堆体中添加促腐微生物菌剂可通过调节微生物种群结构及活性, 有效提高堆肥效率和加速腐熟<sup>[20, 21]</sup>. 本研究以

浙江省海盐县某集约化养殖场的新鲜鸡粪和猪粪为原料, 接种微生物促腐剂进行条垛式高温好氧腐熟堆肥. 利用荧光定量 PCR 技术检测了堆肥的不同阶段两种堆体中 ARGs 和 MGEs 丰度的动态变化, 主要考虑了在畜禽养殖业中检出率较高的 10 种 ARGs [*tetB(P)*、*tetG*、*tetL*、*tetM*、*tetO*、*tetT*、*aacA*、*aadD*、*aphA3*、*sat4*] 和 7 种 MGEs (*intI1*、*ISEcp1*、*IS6100*、*IS26*、*IS1216*、*IS613*、*tnp614*)<sup>[7]</sup>, 同时采用高通量测序技术测定细菌群落结构; 并进一步分析了 ARGs 和 MGEs 与细菌群落的相关性和堆肥理化性质 (温度、含水率、pH 和 DOC) 对 ARGs 和 MGEs 的影响, 以期为畜禽粪便无害化处理与资源化利用提供理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

堆肥原料来源于浙江省海盐县某集约化养殖场的新鲜鸡粪和猪粪. 在浙江省海盐县友邦生物肥料有限公司进行堆肥实验. 粪便 (鸡粪或猪粪)、米糠和菌剂分别为 10 t、1.6 t 和 18 kg, 堆体为常规条垛, 基本保持同高同宽 (高 1.0 m, 宽 2.0 m). 堆体分别为新鲜鸡粪 + 米糠 + 菌剂 (CM) 和新鲜猪粪 + 米糠 + 菌剂 (PM). 本实验所用菌剂为酵素菌速腐剂, 购自淮安大华生物科技有限公司. 堆肥实验进行 75 d, 堆肥的一次发酵期 (1~28 d) 每 2~3 d 翻堆一次, 后熟期 (45~75 d) 每 7~10 d 翻堆一次. 堆肥实验自 2019 年 9 月 19 日至 2019 年 12 月 3 日进行, 在堆肥过程中第 0、3、7、10、14、21、28、45、60 和 75 d 分别采 400 g 左右堆肥样品, 即一次发酵期每周 1~2 次采样, 在第 28 d 取样后堆肥转入后熟期, 后熟期一个月两次采样. 实验组堆体设置 4 个采样点, 采样前搅拌均匀, 里外混合. 且 1 号和 3 号采样点同位于堆体一侧, 2 号和 4 号采样点同位于堆体另一侧. 采样后将样品分为两份, 一份置于 4℃ 冰箱中保存用于理化性质分析, 另一份放入实验室冰箱 -20℃ 冷藏保存, 用于 ARGs、MGEs、16S rRNA 丰度和细菌群落结构的测定.

### 1.2 理化性质测定

温度测定: 堆肥期间每天 10:00 和 16:00 在样品中心及两侧位置记录堆肥温度, 取平均值记为当日温度, 同时记录当日环境温度.

pH 值测定: 按新鲜堆肥样品质量与超纯水体积为 1:10 (g:mL) 混合均匀后置于水平振荡仪上振荡 1 h, 取下后静置 30 min 后测定.

含水率: 采用烘干法测定, 将铝盒洗净烘干至恒重后称取空铝盒重量记为  $W_0$ , 称取约 5 g (精确至

0.001 g) 在 4℃ 条件下保存的新鲜堆肥样品, 平铺放置于空的铝盒中, 称重记为  $W_1$ , 放置于已预热至 105℃ ± 2℃ 的电鼓风恒温干燥箱进行烘干处理, 恒重后移入干燥器中待平衡 30 min 后取出样品称重, 记为  $W_2$ . 堆肥中含水率 =  $(W_1 - W_2) / (W_1 - W_0) \times 100\%$ .

DOC: 将堆肥样品按风干后的物质重量与超纯水体积为 1:10 (g: mL) 加入超纯水, 室温条件下 170 r·min<sup>-1</sup> 水平振荡提取 1 d, 然后在 4℃, 10 000 r·min<sup>-1</sup> 下离心 20 min, 上清液过 0.45 μm 的滤膜, 滤液在 TOC 分析仪 (耶拿, MULTI N/C 2100, 德国) 测定滤液中水溶性有机碳 DOC 浓度, 并计算单位重量堆肥干物质中 DOC 的含量.

### 1.3 DNA 提取

各样品称取 0.5 g, 按照 Fast DNA Spin Kit for feces (MP Biomedicals, Santa Ana, CA, 美国) 试剂盒步骤提取堆肥样品总 DNA, 利用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 浓度和纯度, 置于 -20℃ 冰箱保存.

### 1.4 实时荧光定量 PCR

采用实时荧光定量 PCR 仪 (BIO-RAD, 伯乐) 进行定量 PCR 反应, 将含有目标基因的质粒 DNA 依次进行 10 倍梯度稀释, 建立标准曲线, 超纯水作为空白. 样品在 96 孔板中进行测定, 采用 20 μL 反应体系进行反应: 超纯水 7.6 μL, TB Green II (Takara, 日本) 10 μL, 上下游引物各 0.2 μL, DNA 模板 2 μL. 利用 TB Green II 与双链 DNA 结合所发出的荧光信号监测扩增过程, 扩增效率控制在 90% ~ 110% 之间, 然后通过 Ct 值 (扩增循环次数) 和标准曲线对样品中 DNA 的起始浓度进行定量检测, 最终计算平均值. 同时对 16S rRNA 基因进行定量分析以校正细菌丰度和 DNA 提取效率差异引起的丰度差异. 在 qPCR 检测中所用的 10 种 ARGs 和 7 种 MGEs 引物信息见文献 [22].

### 1.5 细菌群落结构的测定

高通量测序技术可获得微生物群落在数量和结构方面的信息, 分析微生物群落结构的动态变化. 本实验将样品交予北京诺禾致源公司进行 16S rRNA 基因测序. 选用 16S rRNA V3 ~ V4 区引物 341F/806R 对细菌 DNA 进行扩增, 利用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 文库试剂盒进行文库构建, 构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量, 文库合格后, 使用 NovaSeq 6000 进行上机测序. 测序得到的原始数据进行拼接、过滤和嵌合体去除等步骤后得到最终的有效数据, 然后利用 Uparse 算法对有效数据进行聚类, 默认以 97% 的一致性将序列聚类成为 OTUs (operational taxonomic units), 并对每个

OTUs 序列的代表性序列进行物种注释分析, 设定阈值为 0.8 ~ 1, 获得每个分类水平下的物种丰度信息.

### 1.6 数据处理与分析

数据采用 Microsoft Excel 2016 和 SPSS 13.0 进行数据处理和分析, Origin 8.5 进行作图. Spearman 相关分析确定 ARGs、MGEs 和细菌群落之间是否具有显著相关性 ( $|r| > 0.7$ ,  $P < 0.05$ ), 基于相关性数据采用 Gephi 软件进行网络可视化. 采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 进行差异性分析 ( $P < 0.05$ ), Canoco 5.0 软件进行冗余分析 (RDA), 使用 R 语言的 vegan 包进行方差分解分析 (VPA).

## 2 结果与讨论

### 2.1 堆肥过程中理化性质变化

温度是好氧堆肥的一个重要参数, 通常用于指示微生物活性及堆肥成熟度 [23]. 由图 1(a) 可知, 两种堆体温度均呈现先上升后下降的变化趋势, 最终趋于环境温度. 在 0 ~ 7 d, 堆体迅速升温, 第 7 d 达到峰值, 分别为 69.3℃ 和 68.7℃. 其原因是在这一阶段好氧微生物大量生长繁殖, 快速利用分解物料中的糖、氨基酸、蛋白质等可降解有机物, 释放热量, 从而快速提高堆体温度. 随着堆肥的进行, 堆体中可利用物质逐渐减少, 同时高温也对微生物活性产生抑制作用, 使得微生物活性降低, 产热减少, 因此温度逐渐下降. 第 3 ~ 45 d, 堆体温度均达到 55℃ 以上.

pH 对微生物生命活动的主要作用在于引起细胞膜电荷的变化, 从而影响对营养物质的吸收 [24]. 堆肥过程中, pH 总体呈现先升高后降低的趋势 [图 1(b)]. pH 在 CM 中从 7.69 上升至 8.04, 在 PM 中从 7.03 上升至 8.44. pH 在 6.7 ~ 9.0 时, 堆肥过程中微生物均能保持较好的活性 [23]. pH 的升高可能是由于氨氮的生成和积累引起 [25]. 随着堆肥的进行, 物料中的蛋白质经过脱氨基作用产生大量的 NH<sub>3</sub>, 释放后引起了堆体 pH 的升高, 堆肥后期, 可降解的有机物减少, 微生物代谢活动降低, 氨化作用减弱, 以及在堆肥后期硝化菌的硝化作用产生的 H<sup>+</sup> 均造成 pH 的下降 [26].

堆肥中, 水分主要起到溶解有机质、参与微生物代谢和通过水分蒸发带走热量的作用. 由图 1(c) 可知, 两种堆体含水率呈现逐渐下降的趋势, 原因是堆肥翻堆发酵时, 随着堆肥温度的快速升高, 水分蒸发损失, 同时又因堆肥物料翻抛损失一部分. 随着水分含量的降低, 分解速率也会降低 [23].

有机质是微生物赖以生存和繁殖的重要因素.

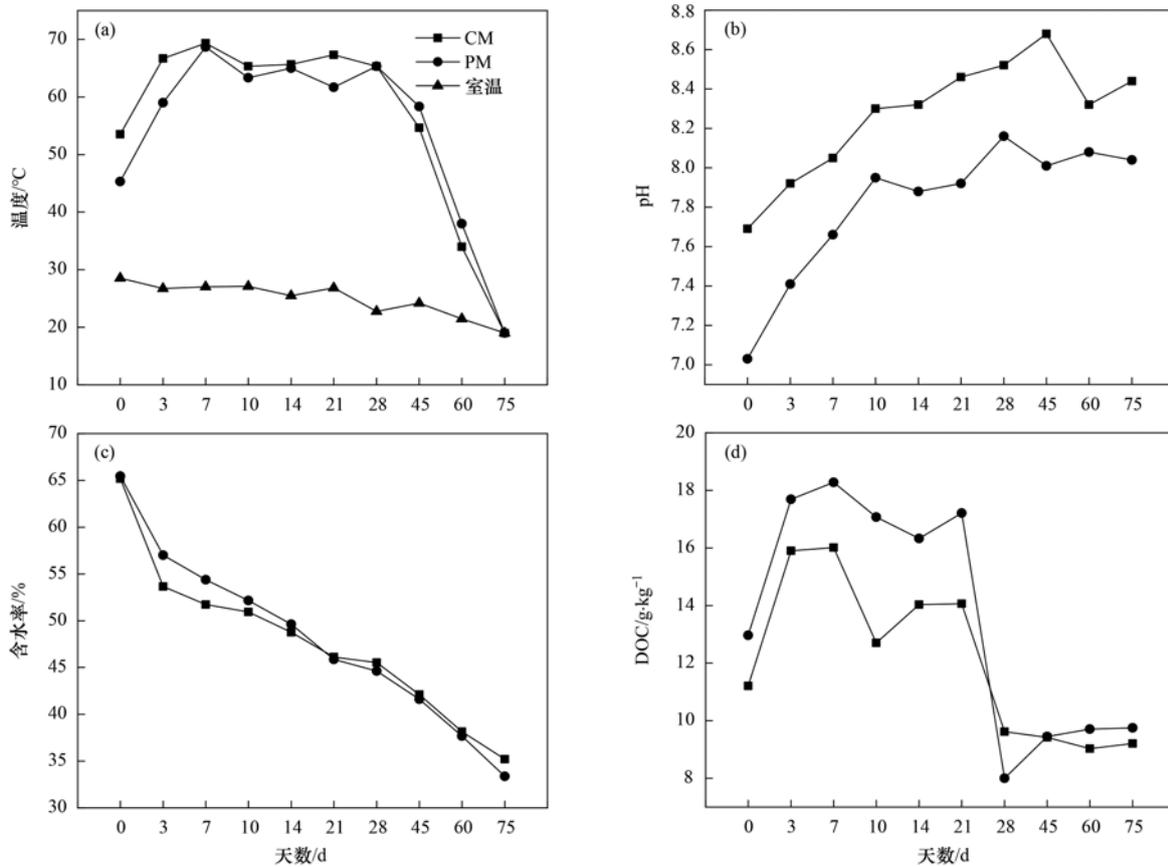


图1 堆肥过程中理化性质的变化

Fig. 1 Changes in physicochemical properties during composting

堆肥中, DOC 的变化均呈现先升高后降低最后趋于平稳的趋势[图 1(d)]. 在 0~7 d, DOC 的浓度呈现逐渐增加的趋势,其原因可能是在堆肥初期,部分有机质分解后转化为大量的可溶性碳源物质,使得 DOC 的浓度有所提高. 随着堆肥中微生物的大量繁殖,DOC 又被微生物利用而逐渐减少.

## 2.2 堆肥过程中 ARGs 的丰度变化

本研究所测定的 ARGs 主要有 3 种抗性机制: 外排泵(*tetG* 和 *tetL*)、细胞保护 [*tetB(P)*、*tetM*、*tetO* 和 *tetT*] 和抗生素失活 (*aacA*、*aadD*、*aphA3* 和 *sat4*). 结果表明,堆肥前,PM 中的 ARGs 的相对丰度是 CM 的 5 倍,显著高于 CM ( $P < 0.05$ , 图 2). 而钱勋<sup>[19]</sup>的研究结果表明鸡粪中 ARGs 高于猪粪,这可能与不同养殖场的养殖条件(饲料和抗生素使用)、动物亚种和动物年龄等不同有关. 在 CM 中,外排泵类 ARGs(*tetG* 和 *tetL*)的相对丰度最高,其中 *tetG* 的相对丰度最高. 在 PM 中则是细胞保护类 ARGs [*tetB(P)*、*tetM*、*tetO* 和 *tetT*] 相对丰度最高. 这可能与鸡和猪消化方式、饲料结构和肠道微生物等存在明显不同有关. Cheng 等<sup>[27]</sup>分析了浙江杭州不同规模的养猪场、养鸡场、养鸭场和养羊场的粪便中抗性基因的相对丰度,结果表明,养鸡场、养鸭

场和养猪场 ARGs 明显高于养羊场 ( $P < 0.05$ ), 这可能是因为相较养羊场,其他类型养殖场的养殖密度较大,使得抗生素的使用量相应增加. Zhao 等<sup>[4]</sup>的研究也发现,养殖中使用抗生素和金属作为饲料添加剂,影响了猪肠道微生物群组成,显著提高了猪肠道中 ARGs 的多样性和丰度,加剧了 ARGs 的富集.

随着堆肥过程的进行,在 CM 和 PM 中, *tetG* 在堆肥后期呈增加趋势,其余 ARGs 均呈现逐渐减少的趋势,ARGs 总相对丰度呈现先减少后逐渐上升的趋势,部分 ARGs 表现出一定的波动性(图 2). Zhang 等<sup>[28]</sup>研究污泥堆肥过程时也发现 *tetG* 出现富集. Selvam 等<sup>[29]</sup>的研究发现,堆肥物料中的抗生素浓度会造成堆肥过程中细菌群落的波动,而作为 ARGs 的主要携带者,细菌群落的改变会直接影响 ARGs 的丰度. 堆肥结束后,在 CM 中, *tetM*、*tetT* 和 *aacA* 这 3 种基因的消减率均达到 99%,其余 ARGs 的消减率均达到 85% 以上. 在 PM 中,除 *tetG* 外, ARGs 的消减率均达到 99% 以上. 这表明好氧堆肥的高温阶段能有效去除多种 ARGs. 当温度达到 55°C 持续 3 d 时可以更有效地破坏细菌宿主和质粒,并在嗜热阶段去除大多数 ARGs,其原因可能是

一方面高温可以有效破坏携带 ARGs 的宿主细菌和质粒<sup>[29]</sup>,另一方面高温可大幅减少质粒的结合,抑制了水平基因转移的过程<sup>[30]</sup>.

为进一步探究堆肥过程中 ARGs 的变化趋势,对两种堆体 ARGs 和 16S rRNA 的绝对丰度变化进行比较(图 3).由图 3(a)和图 3(b)可知,堆肥结束后,除 *tetG* 外,ARGs 的绝对丰度均明显降低. CM 和 PM 中, *tetG* 的绝对丰度从堆肥初期到高温期逐渐降低,而在高温期过渡到腐熟期时出现回升的现象.堆肥结束后,CM 和 PM 中 *tetG* 的绝对丰度从  $1.29$

$\times 10^{11} \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$  和  $1.87 \times 10^{11} \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$  增至  $5.68 \times 10^{11} \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$  和  $6.04 \times 10^{11} \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ .由图 3(c)可知,堆肥前,CM 中 16S rRNA 的绝对丰度高于 PM.虽然两种堆肥的原料中均添加了菌剂促进腐熟,但其添加量很低,仅为 0.16%,对堆肥的 16S rRNA 的影响较小.堆肥结束后,CM 中的 16S rRNA 的绝对丰度从最初  $2.50 \times 10^{12} \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$  降至  $1.37 \times 10^{12} \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ ; PM 从最初的  $1.87 \times 10^{12} \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$  降至  $1.48 \times 10^{12} \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ .由此可见好氧堆肥对 CM 中细菌的影响大于 PM.

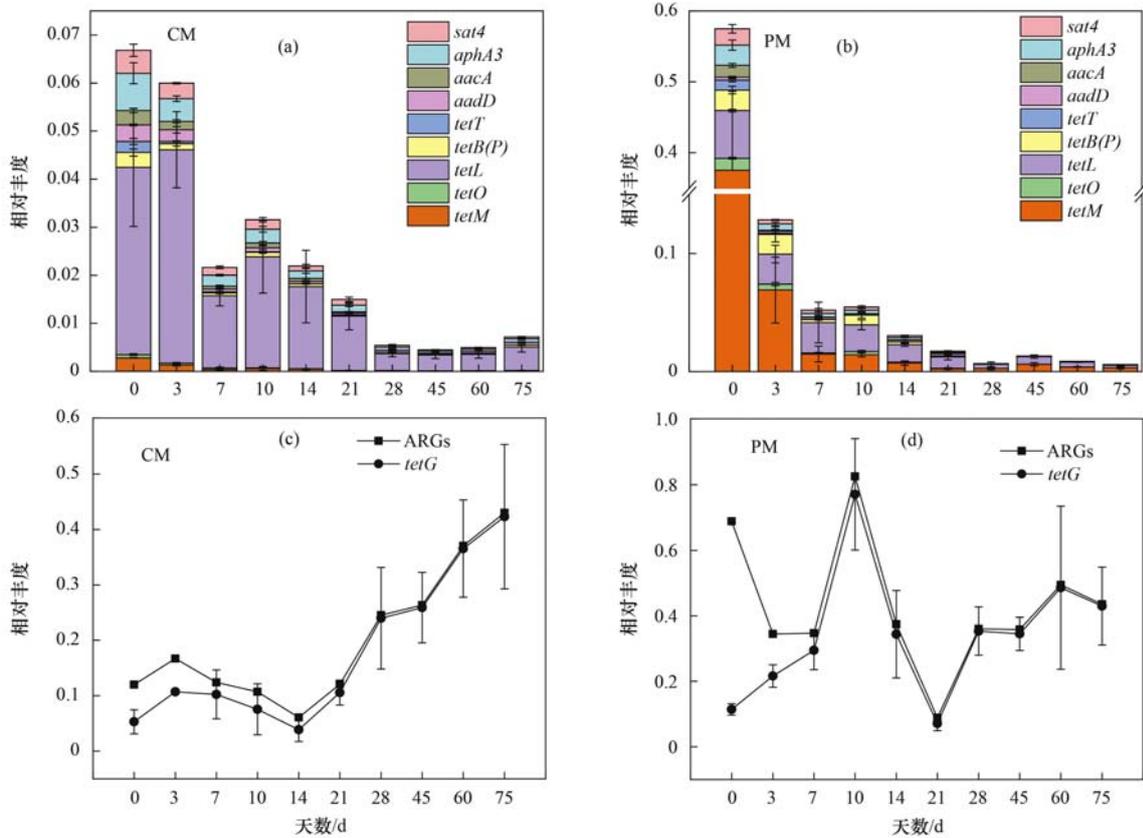


图 2 堆肥过程中 ARGs 相对丰度的变化

Fig. 2 Variations in the relative abundance of ARGs during composting

### 2.3 堆肥过程中 MGEs 的丰度变化

质粒、转座子和整合子等 MGEs 在细菌间通过接合、转化和传导等方式交换所携带的抗性基因.这些 MGEs 是 ARGs 水平转移的重要载体,其水平转移是促进 ARGs 传播扩散的主要机制<sup>[31]</sup>.整合子是水平基因转移的重要指标,其中 I 类整合子 (*intI*) 是环境中较为常见的整合子之一<sup>[32]</sup>.有研究表明,I 类整合子 (*intI*) 作为捕获和整合 ARGs 的可移动遗传因子,对 ARGs 的转移有重要影响<sup>[33]</sup>.本研究检测了 *intI*、*IS6100*、*IS613*、*IS1216*、*IS26*、*ISEcp1* 和 *tnp614* 共 7 个 MGEs 在堆肥过程中的相对丰度变化.由图 4 可知,堆肥前,PM 中 MGEs 的相对丰度是 CM 的 7 倍,显著高于 CM ( $P < 0.05$ ),表明

猪粪的抗性基因污染潜力显著高于鸡粪.与 Wu 等<sup>[34]</sup>的研究结果相似,*IS6100* 和 *intI* 是丰度较高的两种 MGEs.在 CM 中,*IS6100* 的相对丰度最高;在 PM 中,*intI* 的相对丰度最高.

随着堆肥的进行,除 *intI* 和 *IS6100* 外,两种堆体中的 MGEs 的相对丰度呈现逐渐减少的趋势[图 4(a)和 4(b)].在第 3 d, MGEs 相对丰度显著降低 ( $P < 0.05$ ),且后期未出现明显反弹.堆肥结束时,CM 中,*IS26* 的去除率达到 90%,*ISEcp1*、*IS1216*、*IS613* 和 *tnp614* 的去除率均达到 99%.PM 中 *IS613* 的去除率达到 90%,*ISEcp1*、*IS26*、*IS1216* 和 *tnp614* 的去除率均达到 99%.这一结果表明,好氧堆肥的高温过程可以有效去除鸡粪和猪粪中的大部分

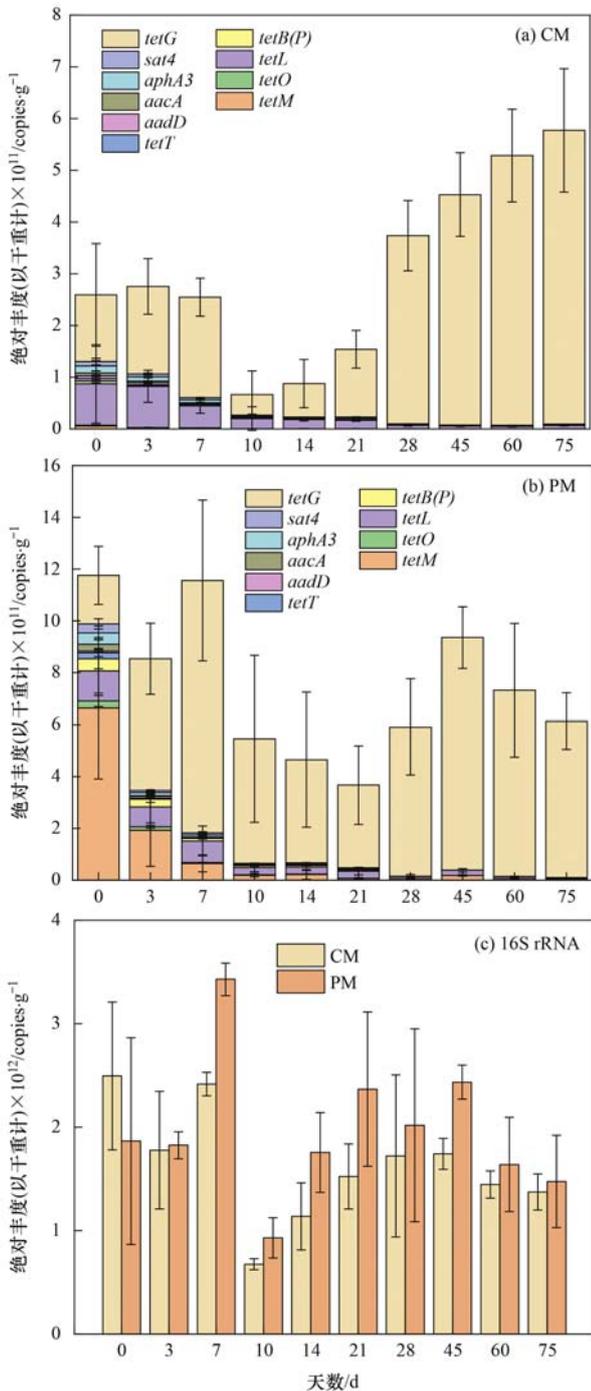


图3 堆肥过程中 ARGs 和 16S rRNA 的绝对丰度变化

Fig. 3 Variations in the absolute abundance of ARGs and 16S rRNA during composting

MGEs. Su 等<sup>[35]</sup>的研究表明, MGEs 的去除可能与污泥堆肥过程中宿主细菌群落的变化有关, MGEs 和 ARGs 的有效衰减可能是高温阶段温度升高和好氧条件的共同作用下破坏了嗜温和厌氧细菌的结果.

*IS6100* 和 *intI1* 的相对丰度在堆肥前后总体呈现增加的趋势. 堆肥结束后, 与堆肥前相比, CM 和 PM 中的 MGEs 均显著增加 ( $P < 0.05$ ), 分别增加了 21.8 倍和 3.1 倍. 在 CM 中, 随着堆肥的进行, MGEs 呈现逐渐增加的趋势[图 4(c)]. 45 d 前, 其增加趋

势较为平缓, 45 d 后, MGEs 丰度剧增, 后期缓慢增加, 这种趋势主要由 *intI1* 的变化引起. 与 CM 不同, 在 PM 中, MGEs 的丰度随着 *intI1* 的变化呈现出一定的波动性[图 4(d)]. 0 ~ 10 d, *intI1* 相对丰度逐渐增加, 10 ~ 21 d, 可能由于堆体持续高温, 破坏了宿主细菌<sup>[29]</sup>, 其丰度显著下降 ( $P < 0.05$ ), 21 d 出现明显反弹, 丰度逐渐增加. 这一结果与 Wu 等<sup>[34]</sup>的研究结果相似, 在猪粪 + 玉米秸秆的好氧堆肥过程中, *intI1* 和 *IS6100* 持续高丰度存在. 因此, 常规堆肥对 *intI1* 和 *IS6100* 的去除效率不佳, 施用于农田土壤后, 这两种基因在环境中的传播风险可能更高<sup>[36,37]</sup>.

## 2.4 堆肥过程中细菌群落结构的变化

堆肥过程中 CM 和 PM 的细菌群落结构在门分类水平上的变化如图 5(a) 所示. 在 CM 和 PM 的堆肥过程中, 厚壁菌门 (Firmicutes) 和放线菌门 (Actinobacteria) 为整个堆肥过程中的优势菌门, 在堆肥过程中占主导地位. 在不同的堆肥时期, 各细菌门类有不同的变化趋势. 在 0 ~ 21 d, 厚壁菌门为绝对优势菌门, 相对丰度最高, 这可能是由于厚壁菌在高温期可以形成耐热孢子以抵抗高温<sup>[38]</sup>, 同时可以分解纤维素进行各种代谢活动<sup>[39]</sup>. 21 d 后, CM 和 PM 中的厚壁菌门相对丰度显著下降 ( $P < 0.05$ ), 放线菌门的相对丰度呈现逐渐上升的趋势, 在堆肥后期占主导地位. 这可能是由于随着堆肥的进行, 堆体含水率逐渐降低, 而放线菌能在含水率降低的环境中形成孢子得以存活<sup>[39]</sup>. 放线菌在堆肥后期发挥着重要作用. 一方面放线菌能降解难降解的化合物, 有利于堆肥过程中有机质的分解<sup>[40]</sup>; 另一方面放线菌可以通过分泌各种抗生素抑制病原微生物<sup>[41]</sup>, 有利于堆肥产品病原菌数量的降低<sup>[42]</sup>.

属水平的细菌群落变化情况如图 5(b) 所示. CM 和 PM 在属水平上的细菌群落组成存在一定差异. 堆肥初期, CM 中的优势菌属为 *Bacillus* 和 *Oceanobacillus*; PM 中的优势菌属为 *Clostridium\_sensu\_stricto\_1* 和 *Bacillus*. *Bacillus* 属于厚壁菌门, 高温促进其大量繁殖<sup>[43]</sup>, 使其成为优势菌属. 同时 *Bacillus* 在堆肥嗜热期可有效促进有机类物质的降解, 在一些富含木质素和纤维素的堆体中促进可溶性有机碳的降解<sup>[43]</sup>, 还可以通过降解有机酸, 分泌蛋白水解酶促进蛋白分解提高 pH<sup>[44]</sup>. *Clostridium\_sensu\_stricto\_1* 作为来自动物肠道的微生物经堆肥处理后相对丰度下降, 这与蔡涵冰等<sup>[45]</sup>的研究结果一致. 21 d 后, CM 和 PM 中的优势菌属 *Bacillus* 的相对丰度显著降低 ( $P < 0.05$ ), 细菌群落结构发生了明显变化. *Actinomadura*、*Saccharomonospora* 和

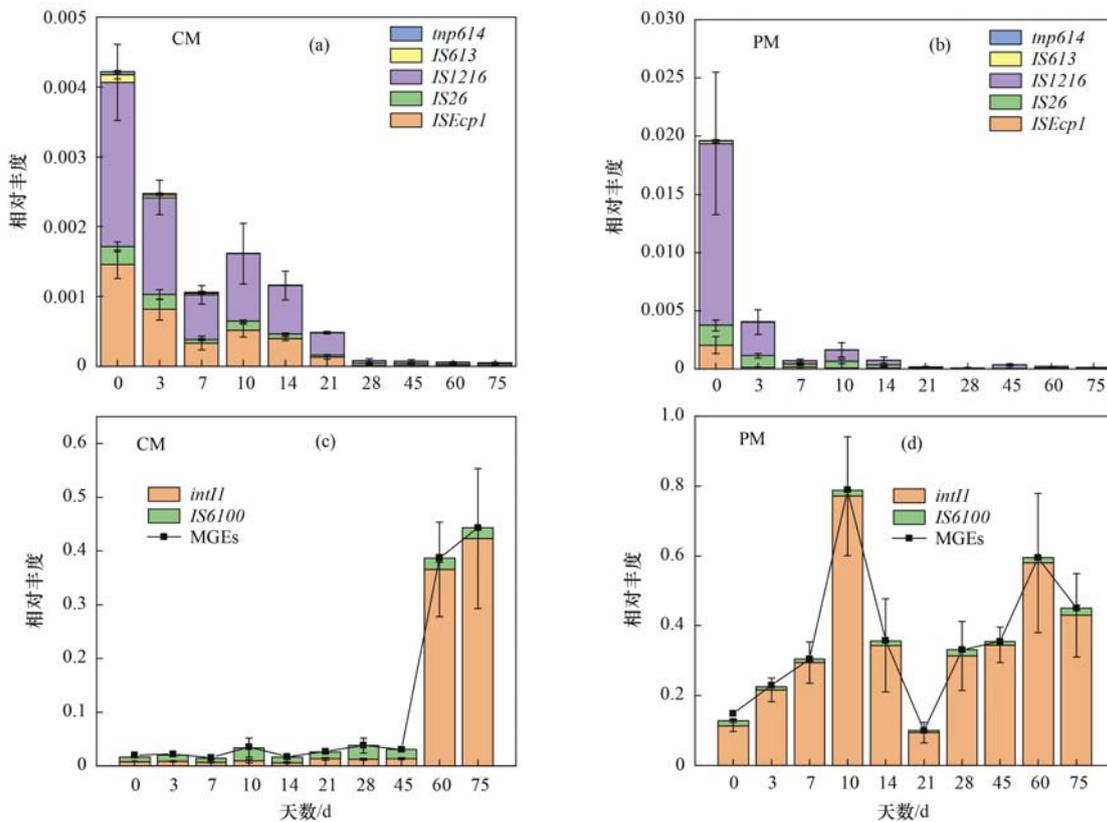


图4 堆肥过程中 MGEs 的相对丰度

Fig. 4 Variations in the relative abundance of MGEs during composting

*Glycomyces* 成为 CM 和 PM 堆肥后期的优势菌属。*Actinomadura* 被认为与有机物的周转相关,可以广泛降解纤维素和木质纤维素残留物<sup>[46]</sup>。*Saccharomonospora* 被认为具有将酚类化合物水解成无毒形式的能力<sup>[39]</sup>,有利于形成无植物毒性的堆肥产品。

## 2.5 ARGs、MGEs 和细菌群落的相关性分析

为探究细菌群落与 ARGs 和 MGEs 之间的关系,基于 Spearman 分析,进行网络可视化(图 6)。结果表明,不同 ARGs 之间存在协同性,细胞保护类 ARGs [*tetB(P)*、*tetM*、*tetO* 和 *tetT*] 与抗生素失活类 ARGs (*aacA*、*aadD*、*aphA3* 和 *sat4*) 相互之间呈显著正相关 ( $P < 0.01$ ),这是由于这些 ARGs 具有相同的宿主。在 CM 中, *tetL*、*tetB(P)*、*aphA3* 和 *aacA* 是连接度较高的 ARGs,分别与 7、6、6 和 6 个菌属呈显著正相关;在 PM 中, *sat4*、*aphA3*、*tetT*、*tetB(P)* 和 *tetO* 是连接度较高的 ARGs,分别与 9、9、7、7 和 7 个菌属呈显著正相关,这表明这些 ARGs 可能有多个潜在宿主。在 CM 和 PM 中,厚壁菌门是连接度较高的细菌菌门,与多个 ARGs 呈显著正相关,表明厚壁菌可能是多个 ARGs 的潜在宿主。同时,由图 6 可知,在 CM 中, *tetG* 与放线菌门下的 *Actinomadura*、*Saccharomonospora* 呈显著正相关, *intI1* 与 *Saccharomonospora* 呈显著正相关。在 PM 中,

*tetG* 和 *intI1* 均与变形菌门 (Proteobacteria) 下的 *Pseudomonas* 呈显著正相关。这表明这些菌属可能是 *tetG* 和 *intI1* 的潜在宿主。结合图 5 可知,堆肥后期放线菌门和变形菌门的丰度均增加, *Actinomadura* 和 *Saccharomonospora* 成为 CM 中的优势菌属,这可能是堆肥后期 *tetG* 和 *intI1* 丰度增加的原因之一。

*intI1* 可通过插入序列共同区 (ISCR) 介导 ARGs 的捕获和传播,因此被认为是 ARGs 传播的一个重要途径<sup>[47]</sup>。Guo 等<sup>[48]</sup> 对添加竹炭和竹醋液的猪粪进行好氧堆肥的实验结果表明, *intI1* 与所研究的 ARGs (*tetW*、*tetM*、*tetX*、*tetG*、*sul1*、*sul2*、*drfA7*、*ermQ*、*ermF*、*ermX* 和 *gryA*) 显著相关 ( $P < 0.01$ )。但是,本研究中, *intI1* 与除 *tetG* 之外的 ARGs 无显著相关性 ( $P > 0.05$ )。武晋萍等<sup>[49]</sup> 对鸡粪与中药渣共堆肥的研究结果也表明 *intI1* 与所研究的 ARGs (*tetG*、*tetH*、*tetM*、*tetQ*、*tetR*、*tetW*、*aacA*、*aacC2*、*aadE*、*aphA3*、*lnuA-01*、*lnuB-01*、*lnuB-02*、*mel*、*blaPSE*、*blaTEM*、*blaOXA1*、*blaOXA30*、*qnrD*、*sulI* 和 *sulIII*) 之间关系不明显。这可能是由于堆肥体系中原料、微生物群落结构、体系参数和工艺条件不同而造成 ARGs 传播条件不同<sup>[50]</sup>。因此,在不同堆肥体系中, *intI1* 和 ARGs 之间的关系以及 ARGs 的转移机制还有待进一步探究。

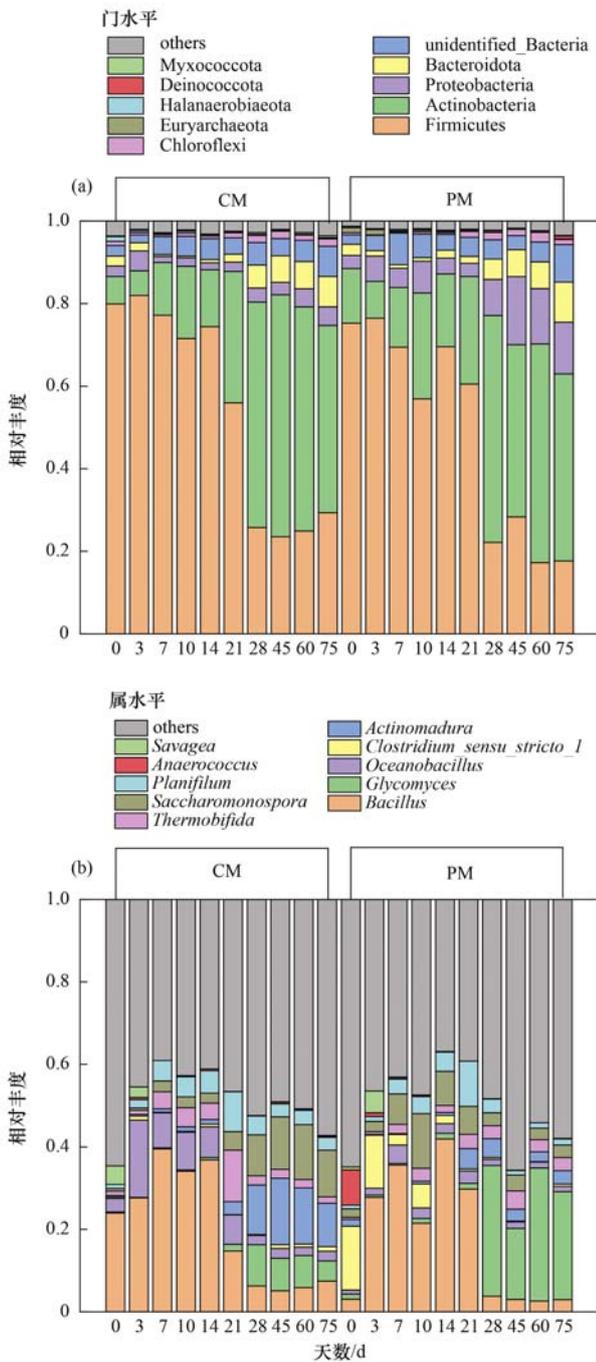


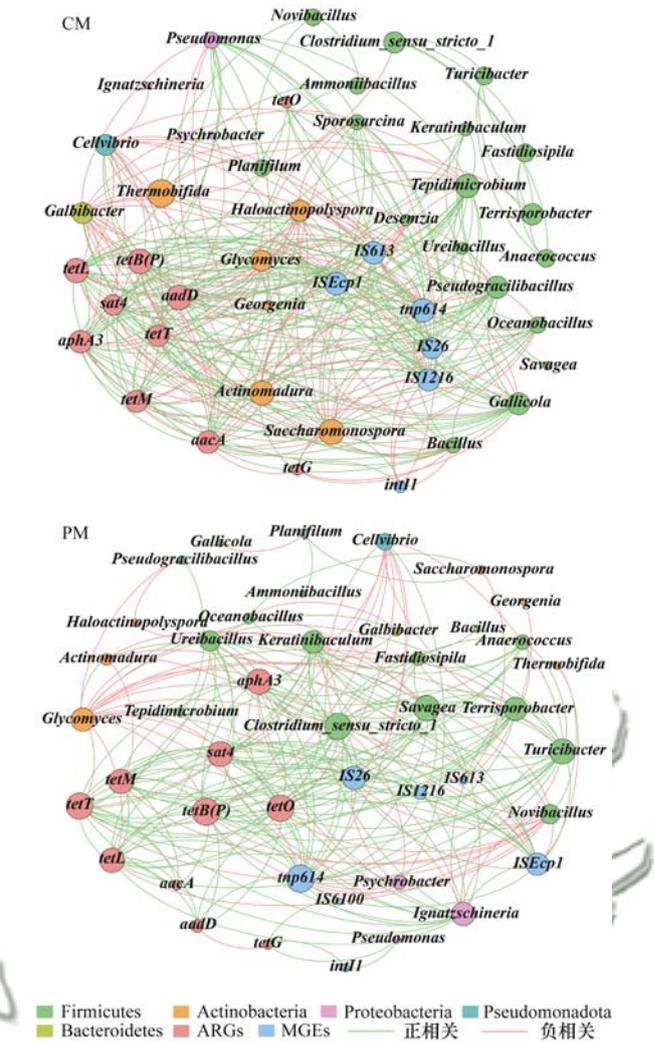
图 5 堆肥过程中细菌群落结构的变化

Fig. 5 Variations in bacterial community structure during composting

2.6 堆肥过程中 ARGs 变化的影响因素

本研究采用冗余分析(RDA)进一步探究堆体中含水率、pH、温度和 DOC 这 4 个理化性质与 ARGs 及 MGEs 丰度的相关关系(图 7). 结果表明, 在 CM 和 PM 中, 理化性质分别可解释 92.0% 和 83.5% 的 ARGs 和 MGEs 差异. 含水率对堆肥过程中 ARGs 和 MGEs 差异的解释率最高, 分别为 39.98% 和 38.98%. 其次是 pH, 解释率分别为 34.78% 和 28.86%.

目前关于影响堆肥的主要因素尚无定论. Wang 等<sup>[51]</sup>认为温度是破坏耐药细菌和 ARGs 的关键因

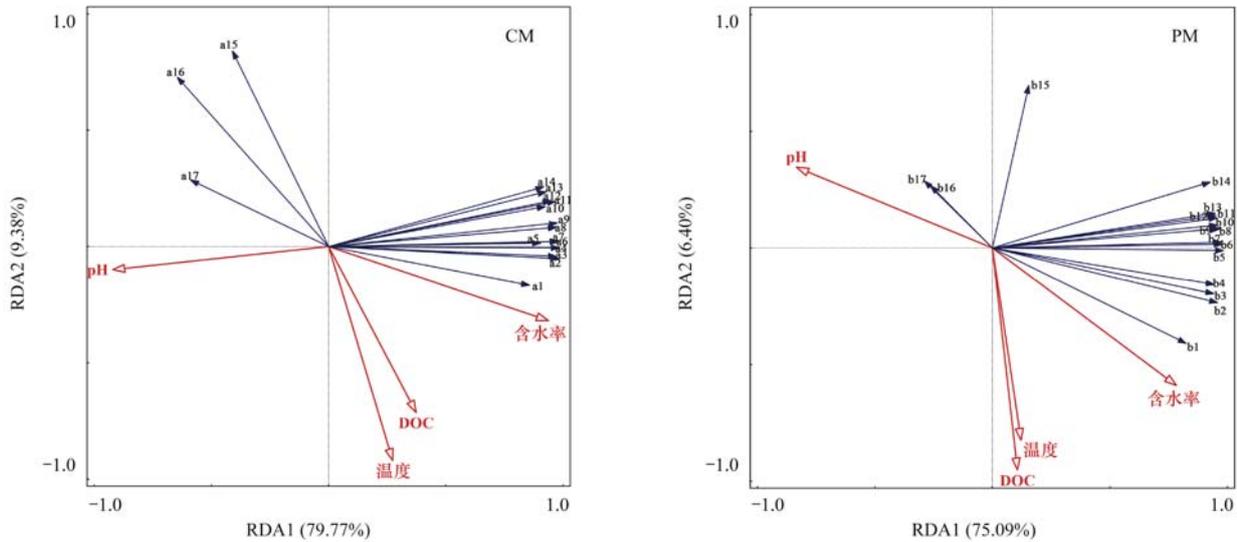


节点大小和连接的节点数目成正比, 连接代表较强的相关性( |r| > 0.7, P < 0.01)

图 6 ARGs、MGEs 和细菌群落(丰度前 30 属)的共现关系 Fig. 6 Co-occurrence patterns among ARGs, MGEs, and bacterial communities (top 30 genera)

素, 可通过影响有机物分解、抗生素去除和微生物代谢, 影响畜禽粪便堆肥过程中 ARGs 和 MGEs 的去除. 因为高温可提高嗜温菌和嗜热菌的生物活性, 促进抗生素的生物降解, 同时还可能促进抗生素的水解, 使抗生素浓度降低, ARGs 的选择性压力随之减弱<sup>[52,53]</sup>. 但也有研究认为, 相较温度, 控制畜禽粪便好氧堆肥过程中的 pH 和水分含量更为重要<sup>[54,55]</sup>.

水分作为运输营养物质的重要介质, 通过影响微生物的代谢活动和抗生素去除, 对 ARGs 的去除起着关键作用<sup>[56]</sup>. 由图 7 可知, 在本研究的堆肥体系中, 含水率与大部分 ARGs 和 MGEs 均呈正相关, 表明堆肥中含水率的降低有利于 ARGs 和 MGEs 的去除. Zhang 等<sup>[57]</sup>的研究也发现水分是影响畜禽粪便好氧堆肥的重要环境因素, 与抗生素浓度显著相关. 过低的含水率会限制微生物代谢活动, 抗生素等



红线表示环境因子,蓝线表示 ARGs 和 MGEs; a1. *tetL*, a2. *IS1216*, a3. *sat4*, a4. *ISEcp1*, a5. *IS26*, a6. *aacA*, a7. *aphA3*, a8. *tnp614*, a9. *tetM*, a10. *aadD*, a11. *tetB(P)*, a12. *IS613*, a13. *tetT*, a14. *tetO*, a15. *intI1*, a16. *tetG*, a17. *IS6100*; b1. *aadD*, b2. *tetL*, b3. *IS26*, b4. *tetB(P)*, b5. *tetO*, b6. *aphA3*, b7. *sat4*, b8. *IS1216*, b9. *tetM*, b10. *ISEcp1*, b11. *tnp614*, b12. *aacA*, b13. *tetT*, b14. *IS613*, b15. *IS6100*, b16. *tetG*, b17. *intI1*

图 7 ARGs 和 MGEs 与理化性质的关系

Fig. 7 Relationships between ARGs, MGEs, and physico-chemical properties

有机物难以分解;过高的含水率则会因孔隙积水,氧气难以传递扩散到堆肥基质中,透气性降低,形成厌氧环境,产生臭味,导致堆肥质量低下<sup>[58,59]</sup>.同时 Song 等<sup>[60]</sup>的研究表明高含水率可能会促进 ARGs 的增殖或随水迁移. Liang 等<sup>[58]</sup>通过测定污泥好氧堆肥过程中微生物活性发现,水分含量对微生物活性的影响大于温度,这可能是含水率对堆肥过程中 ARGs 和 MGEs 差异的解释率高于温度的原因之一.

pH 是影响微生物活性的一个重要因素,不适宜的 pH 会降低或抑制微生物的活性,导致堆肥有机物降解缓慢<sup>[55]</sup>.有研究表明 pH 会影响 DNA 螺旋的稳定性<sup>[61]</sup>,从而影响 ARGs 的去除.图 7 中, pH 与 *tetG*、*intI1* 和 *IS6100* 的夹角均为锐角,呈正相关,但与其他 ARGs 或 MGEs 均呈现负相关关系,表明堆肥过程中 pH 的升高可能促进了多数 ARGs 和

MGEs 的去除. Peng 等<sup>[1]</sup>的研究也发现鸡粪堆肥过程中高 pH 下 ARGs 的去除效果更好.这可能是由于高 pH 可对微生物施加选择性压力,不耐碱的宿主被灭活. Huang 等<sup>[62]</sup>发现碱性发酵可有效减少污泥中 ARGs 的数量,这是由于碱性条件导致一些携带 ARGs 的宿主的凋亡,同时污泥中遗传载体(质粒 DNA、胞外 DNA 和噬菌体 DNA)数量也减少,碱性 pH 显著降低了 Zeta 电位,导致细菌接合困难,这可能会限制 ARGs 接合、转化和转导的转移.因此,在堆肥过程中可以通过优化工艺参数,调节堆肥过程中的环境因子,从而高效去除畜禽粪便等有机废弃物携带的 ARGs,减少有机肥还田的二次污染和生态风险.

为进一步研究 ARGs 丰度变化的主要原因,通过方差分解分析(VPA)研究环境因子、细菌群落和

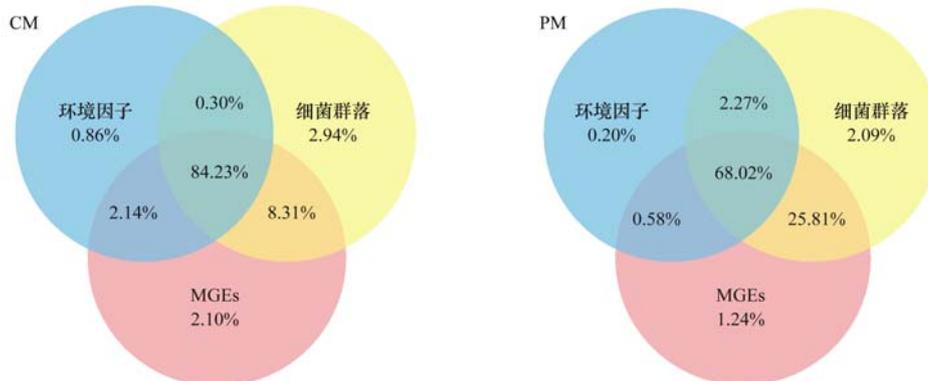


图 8 环境因子、细菌群落和 MGEs 对 ARGs 变化的方差分解分析 (VPA)

Fig. 8 Variation partitioning analysis (VPA) differentiating the effect of environmental factors, bacterial community, and mobile genetic elements on the ARGs variation

MGEs 对 ARGs 的影响(图 8)。结果表明,在 CM 和 PM 中,环境因子、细菌群落和 MGEs 对堆体中 ARGs 变化的共同解释量分别为 84.23% 和 68.02%。这表明环境因子、细菌群落和 MGEs 均为导致 ARGs 变化的因素,三者共同作用影响着 ARGs 的变化。

### 3 结论

(1) 猪粪(PM)中 ARGs 和 MGEs 相对丰度显著高于鸡粪(CM),分别是鸡粪的 5 倍和 7 倍;CM 中 *tetG*、*tetL*、*aphA3* 和 *IS6100* 的相对丰度较高,PM 中 *tetM*、*tetG*、*tetL* 和 *intI1* 的相对丰度较高。

(2) 堆肥可有效降低鸡粪和猪粪堆体中 9 种 ARGs 和 5 种 MGEs 的相对丰度,9 种 ARGs 总相对丰度消减率分别达到 85% 和 99% 以上;5 种 MGEs 消减率均达到 90% 以上。其中,鸡粪中 3 种 ARGs (*tetM*、*tetT*、*aacA*) 和 4 种 MGE (*ISEcp1*、*IS1216*、*IS613*、*tnp614*) 的去除率达到 99%;除 *tetG* 外,猪粪中 9 种 ARGs 及 4 种 MGEs (*ISEcp1*、*IS26*、*IS1216* 和 *tnp614*) 去除率达到 99%。好氧堆肥对鸡粪和猪粪中的 *tetG*、*intI1* 和 *IS6100* 的去除效果较差,且丰度增加,可能是由于其宿主细菌对堆肥环境的变化耐受性较高,针对这些基因需要进一步研究其堆肥消减措施。

(3) 堆肥过程中鸡粪和猪粪细菌群落结构变化显著,厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria)是优势菌门,相关性分析结果表明,堆肥过程中去除率高的基因与厚壁菌门相关,而堆肥后期丰度增加的基因 *tetG* 和 *intI1* 与放线菌和变形菌显著相关,暗示堆肥后期放线菌和变形菌丰度增加可能是导致这 2 种基因丰度增加的原因之一。

(4) 鸡粪和猪粪好氧堆肥过程中,堆体的温度可在 60℃ 以上保持 25 d,含水率持续下降,RDA 分析表明含水率和 pH 是影响 ARGs 和 MGEs 相对丰度变化的关键环境因子。在 CM 和 PM 中,环境因子、细菌群落和 MGEs 对堆体中 ARGs 变化的共同解释量分别为 84.23% 和 68.02%,表明环境因子、细菌群落和 MGEs 均为导致 ARGs 变化的因素,三者的共同作用影响着 ARGs 的变化。

#### 参考文献:

- [1] Peng S, Li H J, Song D, et al. Influence of zeolite and superphosphate as additives on antibiotic resistance genes and bacterial communities during factory-scale chicken manure composting[J]. *Bioresource Technology*, 2018, **263**: 393-401.
- [2] Li J J, Xin Z H, Zhang Y Z, et al. Long-term manure application increased the levels of antibiotics and antibiotic resistance genes in a greenhouse soil[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, **121**: 193-200.
- [3] Sarmah A K, Meyer M T, Boxall A B A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment [J]. *Chemosphere*, 2006, **65**(5): 725-759.
- [4] Zhao Y, Su J Q, An X L, et al. Feed additives shift gut microbiota and enrich antibiotic resistance in swine gut [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **621**: 1224-1232.
- [5] 石晓晓, 郑国砥, 高定, 等. 中国畜禽粪便养分资源总量及替代化肥潜力[J]. *资源科学*, 2021, **43**(2): 403-411.
- [5] Shi X X, Zheng G D, Gao D, et al. Quantity of available nutrient in livestock manure and its potential of replacing chemical fertilizers in China [J]. *Resources Science*, 2021, **43**(2): 403-411.
- [6] 杨凤霞, 毛大庆, 罗义, 等. 环境中抗生素抗性基因的水平传播扩散[J]. *应用生态学报*, 2013, **24**(10): 2993-3002.
- [6] Yang F X, Mao D Q, Luo Y, et al. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the environment [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, **24**(10): 2993-3002.
- [7] 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.
- [8] Chen Q L, An X L, Li H, et al. Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil [J]. *Environment International*, 2016, **92-93**: 1-10.
- [9] Wang N, Yang X H, Jiao S J, et al. Sulfonamide-resistant bacteria and their resistance genes in soils fertilized with manures from Jiangsu Province, Southeastern China [J]. *PLoS One*, 2014, **9**, doi: 10.1371/journal.pone.0112626.
- [10] Mu Q H, Li J, Sun Y X, et al. Occurrence of sulfonamide-, tetracycline-, plasmid-mediated quinolone- and macrolide-resistance genes in livestock feedlots in Northern China [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, **22**(9): 6932-6940.
- [11] 吴浩玮, 孙小淇, 梁博文, 等. 我国畜禽粪便污染现状及处理与资源化利用分析[J]. *农业环境科学学报*, 2020, **39**(6): 1168-1176.
- [11] Wu H W, Sun X Q, Liang B W, et al. Analysis of livestock and poultry manure pollution in China and its treatment and resource utilization [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, **39**(6): 1168-1176.
- [12] Ezugworie F N, Igbokwe V C, Onwosi C O. Proliferation of antibiotic-resistant microorganisms and associated genes during composting: An overview of the potential impacts on public health, management and future [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, **784**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147191.
- [13] Chen C Q, Ray P, Knowlton K F, et al. Effect of composting and soil type on dissipation of veterinary antibiotics in land-applied manures [J]. *Chemosphere*, 2018, **196**: 270-279.
- [14] Qian X, Sun W, Gu J, et al. Variable effects of oxytetracycline on antibiotic resistance gene abundance and the bacterial community during aerobic composting of cow manure [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, **315**: 61-69.
- [15] Lin H, Sun W C, Yu Y J, et al. Simultaneous reductions in antibiotics and heavy metal pollution during manure composting [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, **788**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147830.
- [16] 李谦. 畜禽粪便及有机肥中的重金属、抗生素和抗性基因及

- 其在堆肥过程中的变化[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [17] 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.
- [18] Zhao L, Dong Y H, Wang H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, **408**(5): 1069-1075.
- [19] 钱勋. 好氧堆肥对畜禽粪便中抗生素抗性基因的削减条件探索及影响机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [20] Xue S D, Zhou L N, Zhong M Z, *et al.* Bacterial agents affected bacterial community structure to mitigate greenhouse gas emissions during sewage sludge composting [J]. *Bioresource Technology*, 2021, **337**, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125397.
- [21] 王晓娟, 李博文, 刘微, 等. 不同微生物促腐剂在鸡粪好氧堆肥中的应用研究[J]. *水土保持学报*, 2011, **25**(1): 238-241.
- Wang X J, Li B W, Liu W, *et al.* Effects of different microorganisms on chicken manure compost[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2011, **25**(1): 238-241.
- [22] Muurinen J, Stedtfeld R, Karkman A, *et al.* Influence of manure application on the environmental resistome under finnish agricultural practice with restricted antibiotic use [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, **51**(11): 5989-5999.
- [23] Bernal M P, Albuquerque J A, Moral R. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review[J]. *Bioresource Technology*, 2009, **100**(22): 5444-5453.
- [24] Bai L, Deng Y, Li J, *et al.* Role of the proportion of cattle manure and biogas residue on the degradation of lignocellulose and humification during composting [J]. *Bioresource Technology*, 2020, **307**, doi: 10.1016/j.biortech.2020.122941.
- [25] Zhao J C, Sun X N, Awasthi M K, *et al.* Performance evaluation of gaseous emissions and Zn speciation during Zn-rich antibiotic manufacturing wastes and pig manure composting [J]. *Bioresource Technology*, 2018, **267**: 688-695.
- [26] 马开星, 邹长明, 赵建荣. 鸡粪堆肥腐熟过程中腐熟度参数的变化[J]. *中国农学通报*, 2011, **27**(3): 289-292.
- Ma K X, Zou C M, Zhao J R. Changes of maturity indexes during the chicken manure composting[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, **27**(3): 289-292.
- [27] 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.
- [28] Zhang J Y, Chen M X, Sui Q, *et al.* Impacts of addition of natural zeolite or a nitrification inhibitor on antibiotic resistance genes during sludge composting[J]. *Water Research*, 2016, **91**: 339-349.
- [29] Selvam A, Xu D L, Zhao Z Y, *et al.* Fate of tetracycline, sulfonamide and fluoroquinolone resistance genes and the changes in bacterial diversity during composting of swine manure [J]. *Bioresource Technology*, 2012, **126**: 383-390.
- [30] Guan J, Wasty A, Grenier C, *et al.* Influence of temperature on survival and conjugative transfer of multiple antibiotic-resistant plasmids in chicken manure and compost microcosms[J]. *Poultry Science*, 2007, **86**(4): 610-613.
- [31] Ling A L, Pace N R, Hernandez M T, *et al.* Tetracycline resistance and Class I integron genes associated with indoor and outdoor aerosols [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **47**(9): 4046-4052.
- [32] Bai Y, Xu R, Wang Q P, *et al.* Sludge anaerobic digestion with high concentrations of tetracyclines and sulfonamides; Dynamics of microbial communities and change of antibiotic resistance genes [J]. *Bioresource Technology*, 2019, **276**: 51-59.
- [33] Song W, Wang X J, Gu J, *et al.* Effects of different swine manure to wheat straw ratios on antibiotic resistance genes and the microbial community structure during anaerobic digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2017, **231**: 1-8.
- [34] Wu N, Xie S Y, Zeng M, *et al.* Impacts of pile temperature on antibiotic resistance, metal resistance and microbial community during swine manure composting [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **744**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140920.
- [35] Su J Q, Wei B, Ou-Yang W Y, *et al.* Antibiotic resistome and its association with bacterial communities during sewage sludge composting[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(12): 7356-7363.
- [36] Wu N, Zhang W Y, Xie S Y, *et al.* Increasing prevalence of antibiotic resistance genes in manured agricultural soils in northern China [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2020, **14**(1): 1.
- [37] Zhang Y J, Hu H W, Gou M, *et al.* Temporal succession of soil antibiotic resistance genes following application of swine, cattle and poultry manures spiked with or without antibiotics [J]. *Environmental Pollution*, 2017, **231**: 1621-1632.
- [38] Wei H W, Wang L H, Hassan M, *et al.* Succession of the functional microbial communities and the metabolic functions in maize straw composting process [J]. *Bioresource Technology*, 2018, **256**: 333-341.
- [39] Zhou G X, Xu X F, Qiu X W, *et al.* Biochar influences the succession of microbial communities and the metabolic functions during rice straw composting with pig manure [J]. *Bioresource Technology*, 2019, **272**: 10-18.
- [40] 李文兵, 毕江涛, 刘鹏, 等. 牛粪好氧堆肥发酵微生物群落结构演替与环境因子和腐熟度的相关性[J]. *环境工程*, 2022, **40**(1): 69-77.
- Li W B, Bi J T, Liu P, *et al.* Correlation between the succession of microbial community structure and environmental factors and maturity of cattle manure aerobic composting[J]. *Environmental Engineering*, 2022, **40**(1): 69-77.
- [41] Tian W, Sun Q, Xu D B, *et al.* Succession of bacterial communities during composting process as detected by 16S rRNA clone libraries analysis [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, **78**: 58-66.
- [42] 杨萍萍, 尹华, 彭辉, 等. 外接菌种对污泥堆肥效能及堆体细菌群落的影响[J]. *环境科学*, 2017, **38**(8): 3536-3543.
- Yang P P, Yin H, Peng H, *et al.* Effects of exogenous microorganism inoculation on efficiency and bacterial community structure of sludge composting [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(8): 3536-3543.
- [43] Liu Y W, Feng Y, Cheng D M, *et al.* Dynamics of bacterial composition and the fate of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements during the co-composting with gentamicin fermentation residue and lovastatin fermentation residue [J]. *Bioresource Technology*, 2018, **261**: 249-256.
- [44] Watanabe K, Nagao N, Toda T, *et al.* The dominant bacteria shifted from the order "Lactobacillales" to Bacillales and

- Actinomycetales* during a start-up period of large-scale, completely-mixed composting reactor using plastic bottle flakes as bulking agent [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, **25**(5): 803-811.
- [45] 蔡涵冰, 冯雯雯, 董永华, 等. 畜禽粪便和桃树枝工业化堆肥过程中微生物群演替及其与环境因子的关系[J]. *环境科学*, 2020, **41**(2): 997-1004.
- Cai H B, Feng W W, Dong Y H, *et al.* Microbial community succession in industrial composting with livestock manure and peach branches and relations with environmental factors [J]. *Environmental Science*, 2020, **41**(2): 997-1004.
- [46] Anderson C R, Condrón L M, Clough T J, *et al.* Biochar induced soil microbial community change: Implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen and phosphorus [J]. *Pedobiologia*, 2011, **54**(5-6): 309-320.
- [47] Toleman M A, Bennett P M, Walsh T R. ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2006, **70**(2): 296-316.
- [48] Guo H H, Gu J, Wang X J, *et al.* Responses of antibiotic and heavy metal resistance genes to bamboo charcoal and bamboo vinegar during aerobic composting [J]. *Environmental Pollution*, 2019, **252**: 1097-1105.
- [49] 武晋萍, 陈建文, 刘勇, 等. 鸡粪与中药渣共堆肥对抗生素抗性基因的影响 [J]. *环境科学*, 2019, **40**(7): 3276-3284.
- Wu J P, Chen J W, Liu Y, *et al.* Effect of co-composting of chicken manure with Chinese medicinal herbal residues on antibiotic resistance genes [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(7): 3276-3284.
- [50] 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.
- [51] Wang G Y, Kong Y L, Yang Y, *et al.* Composting temperature directly affects the removal of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in livestock manure [J]. *Environmental Pollution*, 2022, **303**, doi: 10.1016/j.envpol.2022.119174.
- [52] Ho Y B, Zakaria M P, Latif P A, *et al.* Degradation of veterinary antibiotics and hormone during broiler manure composting [J]. *Bioresource Technology*, 2013, **131**: 476-484.
- [53] 潘寻, 强志民, 贲伟伟. 高温堆肥对猪粪中多类抗生素的去除效果 [J]. *生态与农村环境学报*, 2013, **29**(1): 64-69.
- Pan X, Qiang Z M, Ben W W. Effects of high-temperature composting on degradation of antibiotics in swine manure [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2013, **29**(1): 64-69.
- [54] Chen Z Q, Fu Q Q, Wen Q X, *et al.* Microbial community competition rather than high-temperature predominates ARGs elimination in swine manure composting [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, **423**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127149.
- [55] Ge M S, Shen Y J, Ding J T, *et al.* New insight into the impact of moisture content and pH on dissolved organic matter and microbial dynamics during cattle manure composting [J]. *Bioresource Technology*, 2022, **344**, doi: 10.1016/j.biortech.2021.126236.
- [56] Zhang M, He L Y, Liu Y S, *et al.* Variation of antibiotic resistome during commercial livestock manure composting [J]. *Environment International*, 2020, **136**, doi: 10.1016/j.envint.2020.105458.
- [57] Zhang M, He L Y, Liu Y S, *et al.* Fate of veterinary antibiotics during animal manure composting [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, **650**: 1363-1370.
- [58] Liang C, Das K C, Mcclendon R W. The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend [J]. *Bioresource Technology*, 2003, **86**(2): 131-137.
- [59] Zang B, Li S Y, Michel F, *et al.* Effects of mix ratio, moisture content and aeration rate on sulfur odor emissions during pig manure composting [J]. *Waste Management*, 2016, **56**: 498-505.
- [60] Song L Y, Li L, Yang S, *et al.* Sulfamethoxazole, tetracycline and oxytetracycline and related antibiotic resistance genes in a large-scale landfill, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, **551-552**: 9-15.
- [61] Williams M C, Wenner J R, Rouzina I, *et al.* Effect of pH on the overstretching transition of double-stranded DNA: Evidence of force-induced DNA melting [J]. *Biophysical Journal*, 2001, **80**(2): 874-881.
- [62] Huang H N, Zheng X, Chen Y G, *et al.* Alkaline fermentation of waste sludge causes a significant reduction of antibiotic resistance genes in anaerobic reactors [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **580**: 380-387.

## CONTENTS

Research Progress of SOA Formation from Anthropogenic VOCs Under Complex Pollution Condition .....	CHEN Tian-zeng, LIU Jun, MA Qing-xin, <i>et al.</i>	(1201)
Advances in Microbial Degradation and Transformation of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) .....	SUN Hong-wen, FANG Bo, CHEN Hao, <i>et al.</i>	(1214)
Research Progress on Remote Sensing Monitoring of Lake Water Quality Parameters .....	WANG Si-meng, QIN Bo-qiang	(1228)
Research Progress on Trojan-horse Effect of Microplastics and Heavy Metals in Freshwater Environment .....	ZHAO Wei-gao, TIAN Yi-mei, ZHAO Peng, <i>et al.</i>	(1244)
Temporal and Spatial Characteristics of Net CO <sub>2</sub> Emissions and Decoupling Analysis in Yangtze River Economic Belt .....	WU Yi-fan, XU Yang, TANG Yang-bo, <i>et al.</i>	(1258)
Changes in Land Use Carbon Emissions and Coordinated Zoning in China .....	LI Yuan-yuan, WEI Wei, ZHOU Jun-ju, <i>et al.</i>	(1267)
Multi-dimensional Analysis of the Synergistic Effect of Pollution Reduction and Carbon Reduction in Tianjin Based on the STIRPAT Model .....	LIU Mao-hui, YUE Ya-yun, LIU Sheng-nan, <i>et al.</i>	(1277)
Railway Emission Trends in China Based on Fuel Life Cycle Analysis .....	TONG Hui, FAN Zhao-yang, LIANG Xiao-yu, <i>et al.</i>	(1287)
Pollution Characteristics of PM <sub>2.5</sub> Chemical Composition in Zhejiang Province .....	ZHOU Jing-qing, YU Lei, CHEN Shu-xin, <i>et al.</i>	(1297)
Seasonal Variations, Size Distributions, and Sources of Chemical Components of Submicron Particulate Matter in Nanjing .....	XU Zhen-qi, SHANG Yue, DING Feng, <i>et al.</i>	(1310)
Seasonal Variations and Source Apportionment of Carbonaceous Components in Luoyang: Implication for Brown Carbon Contribution .....	YAN Guang-xuan, HOU Ming-yang, ZHANG Pu-zhen, <i>et al.</i>	(1319)
Establishment and Spatial Distribution of S/IVOCs Emission Inventory in Jiangsu Province in 2019 .....	SONG Tong-ai, ZHANG Jia-ying, GUAN Lu, <i>et al.</i>	(1328)
Compositional Characteristics of Volatile Organic Compounds in Typical Industrial Areas of the Pearl River Delta: Importance of Oxygenated Volatile Organic Compounds .....	SONG Xin, YUAN Bin, WANG Si-hang, <i>et al.</i>	(1336)
Evolution and Characteristics of Full-process Vehicular VOCs Emissions in Tianjin from 2000 to 2020 .....	SUN Lu-na, ZHONG Chong-zhi, SUN Shi-cla, <i>et al.</i>	(1346)
Port-owned Mobile Source Air Pollutant Emission Inventory .....	XU Xiao-fan, WANG Bao-qing, WU Jun-cheng, <i>et al.</i>	(1357)
Simulation and Regulation of Sustainable Utilization of Water Resources in China Based on Improved Water Resources Ecological Footprint Model .....	OUYANG Xing-tao, LIAO Hao-yu, JIANG Qiu-xiang, <i>et al.</i>	(1368)
Occurrence Distribution and Risk Assessment of Organophosphate Esters in A Typical Area of the Estuary in the Yellow River Basin .....	CAO Miao, GUO Chang-sheng, ZHANG Heng, <i>et al.</i>	(1378)
Pollution Characteristics of Organochlorine Pesticides in Water and Sediments of Huixian Karst Wetland in Guilin .....	YU Yue, XING Xin-li, CHENG Cheng, <i>et al.</i>	(1387)
Risk Assessment and Source Analysis of Heavy Metal Pollution in Surface Sediments from Major River Systems in Maoming City, Guangdong Province .....	CHEN Xiao-xia, ZHANG Min, LI Bei, <i>et al.</i>	(1397)
Temporal-spatial Distribution and Health Risk Assessment of Heavy Metals in the Surface Water of Ningbo .....	XU Mei-juan, YANG Jia, REN Xiao-jing, <i>et al.</i>	(1407)
Analysis of Water Chemistry Characteristics and Hydraulic Relationships of Different Water Bodies in Typical Mountain-oasis Systems in the Northwest Inland Area .....	WANG Shi-yu, SUN Cong-jian, CHEN Wei, <i>et al.</i>	(1416)
Hydrochemical Characteristics and Control Factors of Pore-water in the Middle and Upper Reaches of Muwen River .....	LIU Yuan-qing, ZHOU Le, LÜ Lin, <i>et al.</i>	(1429)
Spatial-temporal Variation in Groundwater Quality and the Contamination Source Analysis in Shihezi-Changji Area .....	DING Qi-zhen, ZHOU Jin-long, JI Yan-zhen, <i>et al.</i>	(1440)
Analysis of Mechanism and Start-up Thresholds of Seasonal Algal Blooms in a Northern Eutrophic Stratified Reservoir .....	WEN Cheng-cheng, HUANG Ting-lin, KONG Chang-hao, <i>et al.</i>	(1452)
Characteristics of Benthic Diatom Community Structure and Water Ecological Health Evaluation in the Lalin River Basin .....	SHAN Tao, YUAN An-long, HUANG Zi-ni, <i>et al.</i>	(1465)
Bacterioplankton Communities and Assembly Mechanisms in Wet Season of Lakes, Nanchang .....	GAO Peng-fei, WANG Peng, HUANG Yi, <i>et al.</i>	(1475)
Seasonal Variation and Influencing Factors of Bacterial Communities in Storage Reservoirs .....	DING Ning, YANG Ying-ying, WAN Nian-xin, <i>et al.</i>	(1484)
Vertical Distribution and Source Tracking Analysis of Bacteria Composition and Nitrogen Metabolism Function of a Typical Urban Inland River .....	TAN Qiu-yang, LÜ Jin-yan, BAI Xian-yu, <i>et al.</i>	(1497)
Contribution Analysis of External Source Pollution Load and Environmental Capacity Estimation of Reservoirs in Central Yunnan Plateau .....	GUO Yu-jing, LI Hong-bing, WANG Shu-ming, <i>et al.</i>	(1508)
Preparation of Narrow Pore Diameter Phosphorus Containing Cotton Stalk Carbon and Its Adsorption Mechanism for Tetracycline .....	ZENG Shao-yi, LI Kun-quan	(1519)
Preparation of High Specific Surface Thiourea Modified Peanut Shell Carbon and Adsorption of Tetracycline and Copper .....	MIN Bing-kun, LI Kun-quan	(1528)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes on Different Water Supply Pipes .....	LIU Chen-xu, BAI Xiao-hui	(1537)
Effects of Vegetation Restoration on Soil Organic Carbon Sequestration and Aggregate Stability in Water-Eroded Environment: A Meta-analysis .....	YANG Rui-zhe, YANG Shi-long, WENG Xi-zhe, <i>et al.</i>	(1542)
Effects of Warming and Fertilization on Soil Organic Carbon and Its Labile Components in Rice-wheat Rotation .....	DENG Xu-zhe, HAN Chen, XUE Li-xiang, <i>et al.</i>	(1553)
Horizontal Variation Characteristics of Alpine Grassland Soil Function and Vertical Changes Along Soil Genetic Horizons in the Three-River Headwaters Region .....	LI Bo-jian, SHEN Cong-cong, LIU Si-yi, <i>et al.</i>	(1562)
CH <sub>4</sub> Fluxes and Their Comprehensive Greenhouse Effects with CO <sub>2</sub> Fluxes in Direct-seeded Rice in Poyang Lake Plain .....	SHI Yuan-zhi, CUI Yuan-lai, CAI Shuo, <i>et al.</i>	(1572)
Vertical Pollution Characteristics and Source Analysis of Soil PAHs in Different Land Use Types .....	ZHOU Zhi-yan, ZHANG Xiu-xiu, WANG Fei, <i>et al.</i>	(1583)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Per- and Polyfluoroalkyl Substances and Emerging Alternatives in Road Dust, Shijiazhuang .....	LI Peng-fei, WANG Yuan, YANG Chen, <i>et al.</i>	(1593)
Spatial Distribution Characteristics and Assessment of Heavy Metal Pollution in Cultivated Soil of Agricultural Small Watershed in Typical Mining Area in South China .....	YANG Yu, GUO Ting-ting, LIU Xiao-li, <i>et al.</i>	(1602)
Pollution Characteristics and Source Apportionment of Heavy Metals in Vegetable Field in the Three Gorges Reservoir Area (Chongqing Section) .....	SHI Yu-jia, FANG Lin-fa, FANG Biao, <i>et al.</i>	(1611)
Accumulation Characteristics and Influencing Factors of Heavy Metals in Cultivated Land Surface Soil in Lanzhou .....	KANG Le, PENG Xin-bo, MA Yan-long, <i>et al.</i>	(1620)
Enrichment Characteristics, Source Apportionment, and Risk Assessment of Heavy Metals in the Industrial and Mining Area of Northern Guangdong Province .....	WANG Yue, MO Li, YU Xin-xiao, <i>et al.</i>	(1636)
Spatial Distribution Characteristics and Source Analysis of Heavy Metals in Soil of a Lead Plant in Sanmenxia .....	LU Xiao-hui, YU Fang-zhong, FAN Yi-ming, <i>et al.</i>	(1646)
Distribution Characteristics and Pollution Assessment of Heavy Metals in Soils of a Testing Range .....	WANG Shi-yu, LI Chun, ZHAO Hong-wei, <i>et al.</i>	(1657)
Effectiveness and Mechanisms of Chemical Leaching Combined with Electrokinetic Technology on the Remediation of Heavy Metal Contaminated Soil .....	MA Qiang, WEI Ze-bin, WU Qi-tang	(1668)
Emission Characteristics and Control of Heavy Metals in Secondary Copper Smelting Process .....	LIN Bing-cheng, WU Guang-long, ZHENG Ming-hui, <i>et al.</i>	(1678)
Heavy Metal Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Soil-crops System in Anhui Section of the Yangtze River Basin .....	LIU Hai, WEI Wei, HUANG Jian-min, <i>et al.</i>	(1686)
In-situ Remediation Effect of Cadmium-polluted Agriculture Land Using Different Amendments Under Rice-wheat Rotation .....	ZHANG Lu, TANG Chan, YU Hai-ying, <i>et al.</i>	(1698)
Effect and Persistent Effect of Thiolated Montmorillonite on Safe Production in Cadmium-contaminated Cropland .....	FENG Xian-cui, CHEN Ya-gang, JIAO Hong-peng, <i>et al.</i>	(1706)
Effects of Earthworm, Straw, and Citric Acid on the Remediation of Zn, Pb, and Cd Contaminated Soil by <i>Solanum photeinocarpum</i> and <i>Pterocypselia indica</i> .....	CHEN Min-ni, NIE Xiao-qi, ZHANG Xing-feng, <i>et al.</i>	(1714)
Availability of Se-rich Arable Land in High Geological Background Area and Suggestions for Zoning .....	WANG Rui, LI Yu, YU Jing, <i>et al.</i>	(1727)
Characteristics and Causes of Ge Enrichment in Vegetable Growing Areas of Beixintun Town, Zhangjiakou City .....	AN Yong-long, YIN Xiu-lan, JIN Ai-fang, <i>et al.</i>	(1735)
Structural Diversity and Its Temporal Variation in the Soil Bacterial Community Under Plantations of <i>Taxodium distichum</i> in the Riparian Zone of the Three Gorges Reservoir Area .....	TAN Xue, DONG Zhi, ZHANG Li-miao, <i>et al.</i>	(1748)
Effect of the Process of Returning Farmland to Forest in the Loess Hilly Area on Soil Fungal Communities .....	ZHANG Lei, WANG Qiang, YANG Xin-yue, <i>et al.</i>	(1758)
Effects of Chemical Fertilizer Reduction Substitute with Organic Fertilizer on Soil Functional Microbes and Lemon Yield and Quality .....	WANG Ying-yan, XIONG Zi-yi, LUO Dong-hai, <i>et al.</i>	(1768)
Dynamic Changes in Antibiotic Resistance Genes During Biological Fermentation of Chicken Manure and Pig Manure .....	ZHANG Dan, PENG Shuang, WANG Dan-qing, <i>et al.</i>	(1780)
Effects of Cow Manure Application on Soil Microbial Community in Farmland .....	ZHANG Ya-li, GUO Xiao-ming, HU Hui, <i>et al.</i>	(1792)