

目次

基于机器学习的珠三角秋季臭氧浓度预测	陈镇, 刘润, 罗征, 薛鑫, 汪瑶, 赵志军 (1)
粤港澳大湾区大气PM _{2.5} 浓度的遥感估算模型	代园园, 龚绍琦, 张存杰, 闵爱莲, 王海君 (8)
典型输送通道城市冬季PM _{2.5} 污染与传输变化特征	代武俊, 周颖, 王晓琦, 齐鹏 (23)
郑州市夏季PM _{2.5} 中二次无机组分污染特征及其影响因素	和兵, 杨洁茹, 徐艺斐, 袁明浩, 翟诗婷, 赵长民, 王申博, 张瑞芹 (36)
重庆典型城区冬季碳质气溶胶的污染特征及来源解析	彭超, 李振亮, 向英, 王晓宸, 汪凌韬, 张晟, 翟崇治, 陈阳, 杨复沐, 翟天宇 (48)
2022年8月成渝两地臭氧污染差异影响因素分析	陈木兰, 李振亮, 彭超, 邓也, 宋丹林, 谭钦文 (61)
2020年“三连击”台风对我国东部地区O ₃ 污染的影响分析	花丛, 尤媛, 王峰, 张碧辉 (71)
北京城区夏季VOCs初始体积分数特征及来源解析	张博韬, 景宽, 王琴, 安欣欣, 鹿海峰, 王陈婧, 王友峰, 刘保献 (81)
机动车减排降碳综合评价体系综述	范朝阳, 佟惠, 梁晓宇, 彭剑飞 (93)
基于LEAP模型的长三角某市碳达峰情景	杨峰, 张贵驰, 孙佑, 谢放尖, 揣小伟, 孙瑞玲 (104)
广东省船舶二氧化碳排放驱动因素与减排潜力	翁淑娟, 刘颖颖, 唐凤, 沙青娥, 彭勃, 王辉嘉, 陈诚, 张雪驰, 李京洁, 陈豪琪, 郑君瑜, 宋献中 (115)
给水厂典型工艺碳排放特征与影响因素	张翔宇, 胡建坤, 马凯, 高欣慰, 魏月华, 韩宏大, 李克勋 (123)
中国饮用水中砷的分布特征及基于伤残调整寿命年的健康风险评价	窦殿程, 齐媛, 肖淑敏, 苏高新, 郭宇新 (131)
太湖水体和沉积物中有机磷酸酯的时空分布和风险评价	张成诺, 钟琴, 栾博文, 周涛, 顾帆, 李伟飞, 邹华 (140)
水产养殖环境中农兽药物的污染暴露水平及其风险影响评价	张楷文, 张海燕, 孔聪, 顾润润, 田良良, 杨光昕, 王媛, 陈凤, 沈晓盛 (151)
长江朱沱断面磷浓度与通量变化及来源解析	姜保峰, 谢卫民, 黄波, 刘旻璇 (159)
珠江河口地表水锰氧化物对磷的“载-卸”作用	李睿, 梁作兵, 伍祺瑞, 杨晨晨, 田帝, 高磊, 陈建耀 (173)
富春江水库浮游植物功能群变化的成因	张萍, 王炜, 朱梦圆, 国超旋, 邹伟, 许海, 朱广伟 (181)
合浦盆地西部地区地下水水化学特征及形成机制	陈雯, 吴亚, 张宏鑫, 刘怀庆 (194)
新疆车尔臣河流域绿洲带地下水咸化与污染主控因素	李军, 欧阳宏涛, 周金龙 (207)
京津冀地区生态系统健康时空演变及其影响因素	李魁明, 王婉燕, 姚罗兰 (218)
近30年辽河三角洲生态系统服务价值时空演变及影响因素分析	王耕, 张芙蓉 (228)
光伏电站建设对陆地生态环境的影响:研究进展与展望	田政卿, 张勇, 刘向, 陈生云, 柳本立, 吴纪华 (239)
大兴安岭林草交错带植被NDVI时空演变及定量归因	石淞, 李文, 曲琛, 杨子仪 (248)
西南地区不同类型植被NPP时空演变及影响因素探究	徐勇, 郑志威, 孟禹弛, 盘钰春, 郭振东, 张炎 (262)
不同海拔梯度下极端气候事件对松花江流域植被NPP的影响	崔嵩, 贾朝阳, 郭亮, 付强, 刘东 (275)
基于InVEST与CA-Markov模型的昆明市碳储量时空演变与预测	帕茹克·吾斯曼江, 艾东, 方一舒, 张益宾, 李牧, 郝晋琨 (287)
基于PLUS-InVEST模型的酒泉市生态系统碳储量时空演变与预测	石晶, 石培基, 王梓洋, 程番苑 (300)
长江下游沿江平原土壤发育过程中碳库分配动态	胡丹阳, 张欢, 宿宝巍, 张娅璐, 王永宏, 纪佳辰, 杨洁, 高超 (314)
漓江流域喀斯特森林土壤有机碳空间分布格局及其驱动因子	申楷慧, 魏识广, 李林, 储小雪, 钟建军, 周景钢, 赵毅 (323)
不同土地利用方式对岩溶区土壤有机碳组分稳定性的影响	陈坚淇, 贾亚男, 贺秋芳, 江可, 陈畅, 叶凯 (335)
紫色土丘陵区坡地柑橘园土壤碳氮的空间分布特征	李子阳, 陈露, 赵鹏, 周明华, 郑静, 朱波 (343)
氮添加与凋落物处理对橡胶林砖红壤有机碳组分及酶活性的影响	薛欣欣, 任常琦, 罗雪华, 王文斌, 赵春梅, 张永发 (354)
重庆化肥投入驱动因素、减量潜力及环境效应分析	梁涛, 赵敬坤, 李红梅, 王妍, 曹中华, 张务帅, 王孝忠, 郭超仪, 石孝均, 陈新平 (364)
中国土壤中全氟和多氟烷基物质的分布、迁移及管控研究进展	刘浩然, 邢静怡, 任文杰 (376)
基于多源辅助变量和随机森林模型的耕地土壤重金属含量空间分布预测	解雪峰, 郭炜炜, 濮励杰, 缪源卿, 蒋国俊, 张建珍, 徐飞, 吴涛 (386)
基于源导向的农用地土壤重金属健康风险评估及优先控制因子分析	马杰, 葛森, 王胜蓝, 邓力, 孙静, 蒋月, 周林 (396)
铜陵某废弃硫铁矿矿区土壤重金属污染特征及来源解析	李如忠, 刘宇昊, 黄言欢, 吴鸿飞 (407)
天水市主城区公交站地表灰尘重金属来源解析及污染评价	李春艳, 王新民, 王海, 吕晓斌 (417)
基于大田试验的土壤-水稻镉对不同调理剂的响应	唐乐斌, 刘新彩, 宋波, 马丽钧, 黄凤艳 (429)
腐殖质活性组分对土壤镉有效性的调控效应与水稻安全临界阈值	胡秀芝, 宋毅, 王天雨, 蒋珍彦, 魏世强 (439)
生物炭与铁钙材料对镉砷复合污染农田土壤的修复	吴秋产, 吴骥子, 赵科理, 连斌, 袁峰, 孙洪, 田欣 (450)
人体微塑料污染特征及健康风险研究进展	马敏东, 赵洋尘, 朱龙, 王伟平, 康玉麟, 安立会 (459)
聚苯乙烯微塑料联合镉污染对土壤理化性质和生菜(<i>Lactuca sativa</i>)生理生态的影响	牛佳瑞, 邹勇军, 简敏菲, 黄楚红, 李金燕, 穆霆, 刘淑丽 (470)
转录组分析植物促生细菌缓解高粱微塑料和重金属复合污染胁迫机制	刘泳岐, 赵超禹, 任学敏, 李玉英, 张英君, 张浩, 韩辉, 陈兆进 (480)
微塑料对土壤中养分和镉淋失的影响	赵群芳, 褚龙威, 丁原红, 王发园 (489)
微塑料和非对土壤化学性质、酶活性及微生物群落的影响	刘沙沙, 秦建桥, 吴贤格 (496)
民勤荒漠绿洲过渡带人工梭梭林土壤细菌群落结构及功能预测	王安林, 马瑞, 马彦军, 吕彦勋 (508)
不同灌溉水盐度下土壤真菌群落对生物炭施用的响应	郑志玉, 郭晓雯, 闵伟 (520)
厨余垃圾有机肥对土壤微生物活性及功能的影响	刘美灵, 汪益民, 金文豪, 王永冉, 王嘉和, 柴一博, 彭丽媛, 秦华 (530)
土壤真菌群落结构对辣椒长期连作的响应特征	陈芬, 余高, 王谢丰, 李廷亮, 孙约兵 (543)
叶面喷施硅肥对再生水灌溉水稻叶际细菌群落结构及功能基因的影响	梁胜贤, 刘春成, 胡超, 崔二苹, 李中阳, 樊向阳, 崔丙健 (555)
昌黎县海域细菌群落和抗生素抗性基因分析	王秋水, 程波, 刘悦, 邓婕, 徐岩, 孙朝徽, 袁立艳, 左嘉, 司飞, 高丽娟 (567)
基于高通量定量PCR与高通量测序技术研究城市湿地公园抗生素抗性基因污染特征	黄福义, 周曙屹, 潘婷, 周昕原, 苏建强, 张炯 (576)
城区第四系沉积柱中抗生素的垂向分布特征及环境影响因素	刘可, 童蕾, 甘翠, 王逸文, 张嘉越, 何军 (584)
氢氧化钾改性玉米秸秆生物炭对水中土霉素的吸附特性及机制	刘总堂, 孙玉凤, 费正皓, 沙新龙, 温小菊, 钱彬彬, 陈建, 谷成刚 (594)
CO ₂ 气氛热解与硝酸改性的生物炭Pb ²⁺ 吸附性能对比	江豪, 陈瑞芝, 朱自洋, 王琳, 段文斌, 陈芳媛 (606)

昌黎县海域细菌群落和抗生素抗性基因分析

王秋水¹, 程波^{2*}, 刘悦¹, 邓婕¹, 徐岩³, 孙朝徽³, 袁立艳¹, 左嘉¹, 司飞³, 高丽娟^{1*}

(1. 北京市科学技术研究院分析测试研究所(北京市理化分析测试中心), 北京 100089; 2. 中国水产科学研究院, 农业农村部水产品质量安全控制重点实验室, 北京 100141; 3. 中国水产科学研究院北戴河中心试验站, 秦皇岛 066100)

摘要: 为了解秦皇岛昌黎县水产养殖海域微生物分布情况及各种抗性基因的污染状况, 使用高通量测序技术, 采用16S rDNA基因测序和宏基因组测序方法对春季养殖海域中的海水、底泥及土著鱼类矛尾复鰕虎鱼肠道内容物进行研究。结果表明, 海水中以变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidota)为主要优势菌门; 底泥中以变形菌门(Proteobacteria)、泉古菌门(Crenarchaeota)、酸杆菌门(Acidobacteriota)和放线菌门(Actinobacteriota)为主; 鰕虎鱼肠道内容物以变形菌门(Proteobacteria)、蓝藻细菌(Cyanobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidota)为主。底泥样本中的微生物多样性最丰富, 其次是海水样本, 鱼类肠道内容物的微生物多样性最低。且不同位点的同类样本之间微生物多样性较为相似, 同一位点的不同类样本中的微生物多样性差别较大。对于不同位点的样本, 各位点海水样本之间微生物群落结构均存在显著差异, 各位点底泥样本之间差异较小, 且有些底泥样本组间不存在显著的微生物组成差异。在所有样本组中, 检测到的抗性基因主要为 β -内酰胺类抗生素抗性基因有5个(*bla*_{OXA-325}、*cepS*、*bla*_{CARB-20}、*bla*_{OXA-55}和*bla*_{TRU-1}), 氨基糖苷类抗生素抗性基因有4个[*aac*(6')-IIb、*amrA*、*aac*(6')-Ie-aph(2'')-Ia和*aph*(3')-Vc]。抗生素抗性基因与微生物群落之间也存在一定的相关性。

关键词: 昌黎县; 海水养殖; 海水; 底泥; 肠道内容物; 微生物多样性; 抗生素抗性基因(ARGs)

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2024)01-0567-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.202301039

Analysis of Bacterial Communities and Antibiotic Resistance Genes in the Aquaculture Area of Changli County

WANG Qiu-shui¹, CHENG Bo^{2*}, LIU Yue¹, DENG Jie¹, XU Yan³, SUN Chao-hui³, YUAN Li-yan¹, ZUO Jia¹, SI Fei³, GAO Li-juan^{1*}

(1. Institute of Analysis and Testing, Beijing Academy of Science and Technology (Beijing Center for Physical and Chemical Analysis), Beijing 100089, China; 2. Key Laboratory of Aquatic Product Quality and Safety Control, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China; 3. Beidaihe Central Experimental Station, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qinhuangdao 066100, China)

Abstract: In order to understand the distribution of microorganisms and various antibiotic resistance genes in the aquaculture area of Changli County, Qinhuangdao, high-throughput sequencing technology was used in this study. We utilized 16S rDNA gene sequencing and metagenome sequencing methods to analyze the seawater, sediment, and gut contents of the local fish *Synechogobius hasta* in the aquaculture area in spring. The results showed that Proteobacteria, Firmicutes, and Bacteroidota were the dominant bacteria in seawater; and Proteobacteria, Crenarchaeota, Acidobacteriota, and Actinobacteriota were rich in the sediment; whereas Proteobacteria, Cyanobacteria, Firmicutes, and Bacteroidota were in relatively high abundance in fish gut contents. The microbial diversity of sediment samples was the most abundant, followed by seawater samples, and the microbial diversity of fish intestinal contents was the lowest. Moreover, the microbial diversity of similar samples was relatively similar, and the microbial diversity of different types of samples was quite different. For samples at different sites, there were significant differences between seawater samples at each site, and there were small differences between sediment samples at each site, and some sediment sample groups did not have significant differences in microbial composition. In all sample groups, five β -lactam antibiotic resistance genes (*bla*_{OXA-325}, *cepS*, *bla*_{CARB-20}, *bla*_{OXA-55}, and *bla*_{TRU-1}) and four aminoglycoside antibiotic resistance genes [*aac*(6')-IIb, *amrA*, *aac*(6')-Ie-aph(2'')-Ia, and *aph*(3')-Vc] were detected. There was also a certain correlation between antibiotic resistance genes and microbial communities.

Key words: Changli County; marine aquaculture; seawater; sediment; gut content; microbial diversity; antibiotic resistance gene(ARGs)

抗生素因其具有预防疾病和促进生长的作用, 曾经以亚治疗剂量被添加于饲料中并广泛用于养殖业^[1~4]。进入养殖动物体内的抗生素, 并不能被充分吸收和代谢, 未被吸收和代谢的抗生素通过排泄物进入环境, 进而对环境中微生物群落的进化增加了选择压力, 使得群落结构发生改变, 同时促进了抗生素抗性基因(antibiotic resistance gene, ARGs)的传播和扩散^[5~7]。水产养殖系统作为一个较为复杂的小型生态系统, 一方面受到人类活动的影响, 另一方面也对人类的生存环境和赖以生存的食物产生巨大的作用。据报道, 很多海水养殖区内各类 ARGs 及各类抗

生素抗性菌株(antibiotic resistance bacteria, ARB)的丰度要显著高于非养殖区域^[8~10], 而海水养殖区域的各类耐药菌及 ARGs 的分布不仅威胁着人民的饮食安全, 还对地球生态环境带来了很大的隐患。已有研究表明, ARGs 可以通过食物链传递给高营养级的生

收稿日期: 2023-01-06; 修订日期: 2023-03-13

基金项目: 世界自然基金会(WWF)蔚蓝星球基金项目(POR0001427); 北京市科学技术研究院“北萌芽”计划项目(11000022T000000455559); 北京市科学技术研究院市财政项目(11000022T000000442954)

作者简介: 王秋水(1991~), 女, 博士, 副研究员, 主要研究方向为环境微生物及抗性基因分布特征, E-mail: wangqius9182901@hotmail.com

* 通信作者, E-mail: chengb@cafs.ac.cn; aglj889@163.com

物,人类通过食用鱼类等海产品将 ARB 或 ARGs 转移到人体内,从而影响人类健康^[11]。

海洋微生物一方面在海洋生物地球化学循环中起到关键作用^[12-14],与此同时,也会引起养殖动物发生病害,进而导致抗生素抗性菌株和抗性基因的传播和扩散。在海洋环境及海洋鱼类肠道内,细菌数量异常庞大,而抗生素过度使用所造成的压力环境为这些抗生素抗性菌株的产生创造了条件。由突变产生的耐药菌株会在新环境中大量繁殖,发展成为优势菌株^[15]。秦皇岛市昌黎县,毗临现在的北戴河新区,是河北省沿海渔业经济大县,拥有丰富的海洋渔业资源,多年来,昌黎县依托区域资源优势大力发展浅海养殖业,逐步形成了以扇贝养殖为主的浅海筏式养殖产业,特别是扇贝养殖现已成为昌黎县渔业的支柱产业,在地方农业经济中发挥着重要作用。同时,昌黎县拥有河、海、港、潟湖、沙丘和森林等自然结合的独特景观,具备打造世界级阳光海岸的自然资源条件,切实保护好该地区海洋环境质量至关重要。但近年,随着扇贝养殖密度的不断增加,大范围高密度养殖引起的饵料不足、病害频发等,导致海域环境恶化日趋严重。高度重视和严格控制海域污染,确保浅海养殖业的可持续健康发展,在保障产业经济的同时,保障水域环境成为当前首要任务,然而目前有关该区域海洋环境中海洋微生物多样性及微生物的耐药性鲜有研究。

本文以昌黎县浅海筏式养殖海域作为研究对象,围绕主要核心养殖区域,采集海域中 5 个不同位点的海水、底泥以及野生土著矛尾复鰕虎鱼(*Symechogobius hasta*)肠道内容物样本,采用高通量测序技术对样本进行 16S 扩增子测序,研究分析各个样本组间的细菌群落组成差异。同时,把矛尾复鰕虎鱼肠道内容物样本,并捕捞该组样本的所在位点的海水和底泥样本进行宏基因组测序,深入分析抗生素抗性基因的种类和分布特征,研究微生物群落与抗性基因和抗性机制之间的关联性,以期海水养殖区域中微生物群落组成与抗性基因分布特征的研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集

昌黎县浅海扇贝筏式养殖起步于 90 年代初,所在辖区的团林、大蒲河、刘台庄和茹荷等这 4 个沿海乡镇均有涉及,2021 年养殖规模曾达到 4.33 万 hm^2 ^[16]。随着近年产业发展和调整,根据秦皇岛市人民政府公布信息,目前昌黎县扇贝筏式养殖面积约 106.67 km^2 ,养殖区域主要集中在滦河口、塔子口周

边海域^[17]。基于此,本研究针对滦河口、塔子口周边海域主要扇贝养殖海域,依据《国家海洋监测规范》^[18],尽可能沿用历史测站,照顾站位分布的均匀性,遵循近岸密、远岸疏的测站布设原则,在国家渔业资源环境秦皇岛观测实验站长期性、基础性监测站位中,针对性围绕养殖区选择 5 个站位调查(图 1)。5 个样品采集点的具体坐标分别为 S1: 39°36'52.56"N, 119°20'43.44"E; S2: 39°34'43.32"N, 119°25'32.16"E; S3: 39°31'37.20"N, 119°32'16.44"E; S4: 39°32'58.20"N, 119°19'05.52"E; S5: 39°30'51.84"N, 119°24'07.20"E。5 个站位覆盖养殖面积为 99.33 km^2 ,占该区域全部养殖海域的 93.13%。2022 年 3 月,在各位点分别采集海水和底泥样本各 3 份,共计 15 份海水样本(每份 10 L),15 份底泥样本(每份两袋,约 2 kg),海水样本名称分别为:BDHW1、BDHW2、BDHW3、BDHW4 和 BDHW5;底泥样本名称分别为:BDHS1、BDHS2、BDHS3、BDHS4 和 BDHS5。样品采集方法依据《国家海洋监测规范》^[18]执行,其中海水样本利用 Niskin 采水器采集水下 1 m 表层水体,海水样本置于无菌聚乙烯塑料桶中。底泥样本采用不锈钢抓斗式采泥器(德国 HYDRO-BIOS 公司:Van Veen 采泥器)采集表层沉积物,为防止样本相互污染,选择采集底泥样本中心淤泥作为实验样本,底泥样本置于无菌采样袋中。同时,在 S3 位点捕捞矛尾复鰕虎鱼 12 条,在无菌操作条件下剖开鱼的腹部,取出肠道部分,缓慢挤出所有肠道内容物,置于 15 mL 无菌离心管中。将以上所有内容物全部混合均匀,平均分成 3 等份,置于干冰上保存,矛尾复鰕虎鱼肠道内容物样本名称为 BDHXHY。以上采集到的各样本均设置 3 个生物学重复。

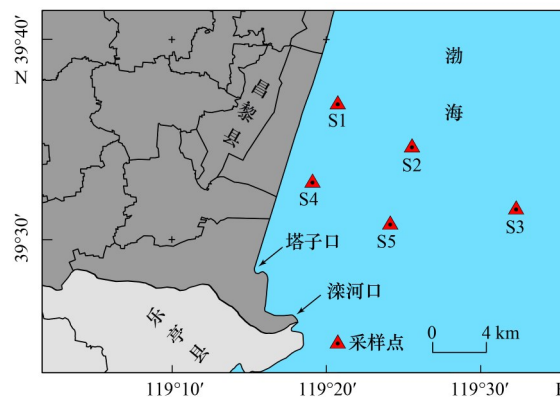


图 1 昌黎县养殖海域样品采集点位示意

Fig. 1 Sampling sites in the aquaculture area of Changli County

随后,把置于干冰上的鰕虎鱼肠道内容物和所有保存在 4℃ 条件下的海水、底泥样本运送到实验室

进行后续处理和分析. 根据测序需求, 取各个位点的海水样本各 500 mL, 经过 0.22 μm 孔径的无菌滤膜过滤后, 收集滤膜于 50 mL 无菌离心管中, 置于 -80°C 冰箱保存. 各个位点的底泥样本称取 20 g 左右置于 15 mL 无菌离心管中, 置于 -80°C 冰箱保存.

1.2 样品核酸提取

将以上所有预处理完毕的鰕虎鱼肠道内容物样品、海水过滤后的滤膜和底泥样品置于干冰上, 运送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行核酸提取和测序工作. 核酸提取后, 使用 1% 琼脂糖凝胶评估提取 DNA 的质量, 使用 NanoPhotometer[®] 分光光度计 (IMPLEN, CA, USA) 检测 DNA 纯度 (D_{260}/D_{280} 和 D_{260}/D_{230}). 使用 Qubit[®]2.0 荧光计 (Life Technologies, CA, USA) 中的 QubitA[®]dsDNA 检测试剂盒测量 DNA 浓度.

核酸提取后, 分别构建宏基因组文库和 16S 扩增子文库, 然后按照 Illumina NovaSeq6000 平台的测序要求进行测序. 原始数据上传至国家生物信息中心-国家基因组科学数据中心 (National Genomics Data Center, China National Center for Bioinformation, CNCB-NGDC) 的组学原始数据归档库 (genome sequence archive, GSA)^[19,20] (GSA 号: CRA009338 和 CRA009341).

1.3 细菌群落结构分析

根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样本数据, 截去 Barcode 和引物序列后使用 FLASH (version 1.2.11)^[21] 软件对样本的 reads 进行拼接, Fastp^[22] 软件进行质控, 得到高质量的 Clean Tags. 最后使用 Vsearch (version 2.22.1)^[23] 软件将 Clean Tags 与数据库进行比对以检测嵌合体并进行去除^[24], 从而得到最终的有效数据, 即 Effective Tags. 使用 QIIME2^[25] 软件中的 DADA2 模块进行降噪, 并过滤丰度小于 5 的序列, 从而获得最终的 OTUs 以及特征表. 将得到的 OTUs 与 Silva138.1 数据库比对得到每个 OTU 的物种信息. 使用 QIIME2 计算 Shannon、Simpson 和 Chao1 等指数, 使用 PICRUST2^[26] (version 2.2.0) 进行 16S 功能预测.

1.4 抗生素抗性基因分析

使用 Readfq (V8, https://github.com/NovogeneMicro/readfq.v8_meta) 对测序原始数据进行预处理, 获取用于后续分析的有效数据 (Clean Data). 使用 MEGAHIT^[27] 软件 (v1.0.4-beta) 对 Clean Data 进行组装分析, 然后将组装得到的 Scaffolds 从 N 连接处打断, 得到不含 N 的 Scaffigs. 使用 MetaGeneMark (V2.10, <http://exon.gatech.edu/GeneMark/>) 对各样品

的 Scaffigs ($\geq 500\text{bp}$) 进行 ORF 预测, 并过滤掉预测结果中长度小于 100 nt 的信息, 然后用 CD-HIT^[28] 软件 (V4.5.8) 进行去冗余, 得到非冗余的初始 gene catalogue. 使用 Bowtie 2^[29] 软件 (V2.2.4) 将各样品的 Clean Data 比对至初始的 gene catalogue, 计算得到基因在各样品中比对上的 reads 数目, 过滤掉各个样品中 reads 数目 ≤ 2 的基因, 获得最终用于后续分析的 Unigenes. 使用 CARD 数据库提供的 RGI (resistance gene identifier) 软件将 Unigenes 与 CARD 数据库 (<https://card.mcmaster.ca/>) 进行比对, 结合 Unigenes 丰度信息, 统计各 ARGs 的相对丰度, 绘制丰度柱形图. 同时, 计算细菌门类与 ARGs 之间的 Spearman 相关系数, 网络分析图采用生科云的在线数据分析平台 (<http://www.bioincloud.tech/>) 进行绘制.

2 结果与讨论

2.1 秦皇岛昌黎县水产养殖海域细菌群落 α 多样性分析

α 多样性可以反映样本中微生物群落的多样性, 通过单样本的多样性分析可以反映样本内的微生物群落的丰富度和多样性. 常用的 α 多样性指数有 Good coverage、Chao1、Shannon 和 Pielou E 等. 由表 1 可知, 所有样本的 Good coverage 指数均大于 0.98, 表明样本中绝大部分的细菌均被检出, 本次测序结果可充分反映样本中细菌的真实情况. Chao1、Shannon 和 Pielou E 指数分别用来描述群落样品中包含的物种丰富度、群落多样性和群落均匀度, 且指数值越大, 分别表示物种越丰富, 群落多样性越高, 群落越均匀. 由 Shannon 指数可以看出各个采样位点的底泥中细菌群落多样性明显高于海水, Chao1 指数和 Pielou E 指数表明各个采样位点底泥中细菌物种丰富度和细菌群落的均匀度均高于海水. 分析各个采样位点距离海岸线的距离与样本中细菌群落的多样性发现, 无论是海水还是底泥样本, 随着位点与海岸线之间距离的延长, 样本中细菌丰富度 (Chao1 指数) 和群落多样性 (Shannon 指数) 均下降, 其中距离海岸线最远的 S3 位点样本 (BDHW3 和 BDHS3) 的细菌丰富度和群落多样性指数在同类样本中均是最小的. 同样在 S3 位点采集到的矛尾复鰕虎鱼肠道内容物样本 (BDHXHY) 的 Chao1 和 Shannon 指数介于 S3 位点的海水 (BDHW3) 和底泥 (BDHS3) 样本之间, 说明该样本的细菌丰富度和群落多样性均高于 S3 位点处的海水样本, 低于底泥样本.

2.2 秦皇岛昌黎县水产养殖海域细菌群落组成分析

16S 扩增子高通量测序结果表明, 33 个样本共获

表 1 细菌群落 α 多样性分析
Table 1 Analysis of bacterial community α diversity

位点	名称	样品类型	Goods coverage 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Pielou E 指数
S1	BDHW1	海水	0.996	688	7.463	0.797
	BDHS1	底泥	0.993	1342	9.438	0.911
S2	BDHW2	海水	0.996	658	6.333	0.679
	BDHS2	底泥	0.989	1178	7.959	0.785
S3	BDHW3	海水	0.996	435	5.325	0.616
	BDHS3	底泥	0.997	960	8.455	0.854
S4	BDHW4	海水	0.999	520	7.256	0.805
	BDHS4	底泥	0.993	1270	9.118	0.886
S5	BDHW5	海水	0.995	686	6.593	0.702
	BDHS5	底泥	0.995	1209	9.333	0.915
S3	BDHXHY	矛尾复鰕虎鱼肠道内容物	0.993	906	6.704	0.686

得 2 673 820 个序列读长 (reads), 平均 reads 数量为 81 025. 所有 reads 可以聚类成 10 086 个细菌 OTUs, 以上 OTUs 可以注释为 54 个门, 127 个纲, 320 个目, 515 个科和 974 个属. 在门分类水平上 [图 2(a)], 变形菌门 (Proteobacteria)、蓝藻细菌 (Cyanobacteria)、泉古菌门 (Crenarchaeota)、厚壁菌门 (Firmicutes)、酸杆菌门 (Acidobacteriota)、拟杆菌门 (Bacteroidota)、放线菌门 (Actinobacteriota)、脱硫菌门 (Desulfobacterota)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 和粘球菌门 (Myxococcota) 是在所有样本中丰度排名前 10 的优势细菌门类. 海水中以变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆菌门 (Bacteroidota) 为主要优势菌门, 这 3 个门类的总丰度在所有海水样本中占比高达 62%~83%, 这与已报道的中国其他海域中的细菌群落组成情况基本一致^[30, 31]. 并且, 变形菌门和拟杆菌门是海洋异养细菌的两大优势类群^[32], 可能参与了众多物质的生物化学循环过程^[33]. 拟杆菌门是一类化能有机营养型的细菌, 广泛分布于海洋环境中, 擅长降解纤维素和果胶等聚合物, 具有重要的生态学功能. 在海洋生态系统中的拟杆菌门类细菌, 可以降解大分子量溶解性有机质, 促进海洋的碳、氮、硫循环^[34]. 此外, 在本次采样的部分海水样本中还有丰度比较高的蓝藻细菌 (Cyanobacteria). 底泥中以变形菌门 (Proteobacteria)、泉古菌门 (Crenarchaeota)、酸杆菌门 (Acidobacteriota) 和放线菌门 (Actinobacteriota) 为主. 本研究中, 泉古菌仅在底泥样本中被检测到, 相对丰度为 12%~86%, 是古菌的一大分支, 包括很多超嗜热生物, 同时在某些海洋里的超微浮游生物中也占相当大的比例, 只是这部分微生物尚未成功培养. 据报道, 泉古菌在地下放射性热泉的氮循环中扮演着非常重要的角色^[35]. 矛尾复鰕虎鱼肠道内容物中的细菌群落组成是以变形菌门 (Proteobacteria)、蓝藻细菌 (Cyanobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆菌门

(Bacteroidota) 为主. 目前国内外关于矛尾复鰕虎鱼的研究还不多, 且主要集中在生殖力及营养价值方面^[36], 本研究将为矛尾复鰕虎鱼肠道微生物组成的研究提供一定的数据支持.

从图 2(b) 属水平分析可知, 海水样品中的主要优势种属为中山菌属 (*Zhongshania* sp.)、洛克氏菌 (*Yoonia-Loktanella* sp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 和亚硫酸杆菌 (*Sulfobacter* sp.). 其中, 中山菌属在本研究中仅在海水样品中存在, 在底泥和矛尾复鰕虎鱼肠道内容物中均未发现. 在底泥样品的微生物种属分布中, 则是以伍斯菌属 (*Woeseia* sp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 和亚硝基古菌 (*Nitrosopumilus* sp.) 为主, 其中亚硝基古菌是本研究中仅在底泥中发现的种属. 在矛尾复鰕虎鱼肠道内容物样品中, 气单胞菌属 (*Aeromonas* sp.)、沃尔巴克氏体属 (*Wolbachia* sp.) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 属于优势菌属, 并且气单胞菌和沃尔巴克氏体属在本研究中主要分布在鰕虎鱼肠道内容物中. 已有国外研究发现, 丹麦虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 常检测到的气单胞菌具有抗土霉素与磺胺嘧啶/甲氧苄氨嘧啶基因的联合抗性^[37]. Čížek 等^[38] 也从鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 皮肤中分离培养出了具有多重耐药的气单胞菌. 气单胞菌本不是鱼类和人类的致病菌, 但却可以通过水平基因转移的方式将 ARGs 转移到致病菌中, 最终影响鱼类和人体的健康.

2.3 秦皇岛昌黎县水产养殖海域细菌群落功能预测

使用 PICRUSt2 软件预测秦皇岛昌黎县水产养殖海域中细菌群落的功能基因组成, 分析发现在海水、底泥和矛尾复鰕虎鱼等不同类的样本间细菌群落功能类别非常相似. COG 注释结果表明, 所有样本中的细菌群落功能主要包括: 糖基转移酶

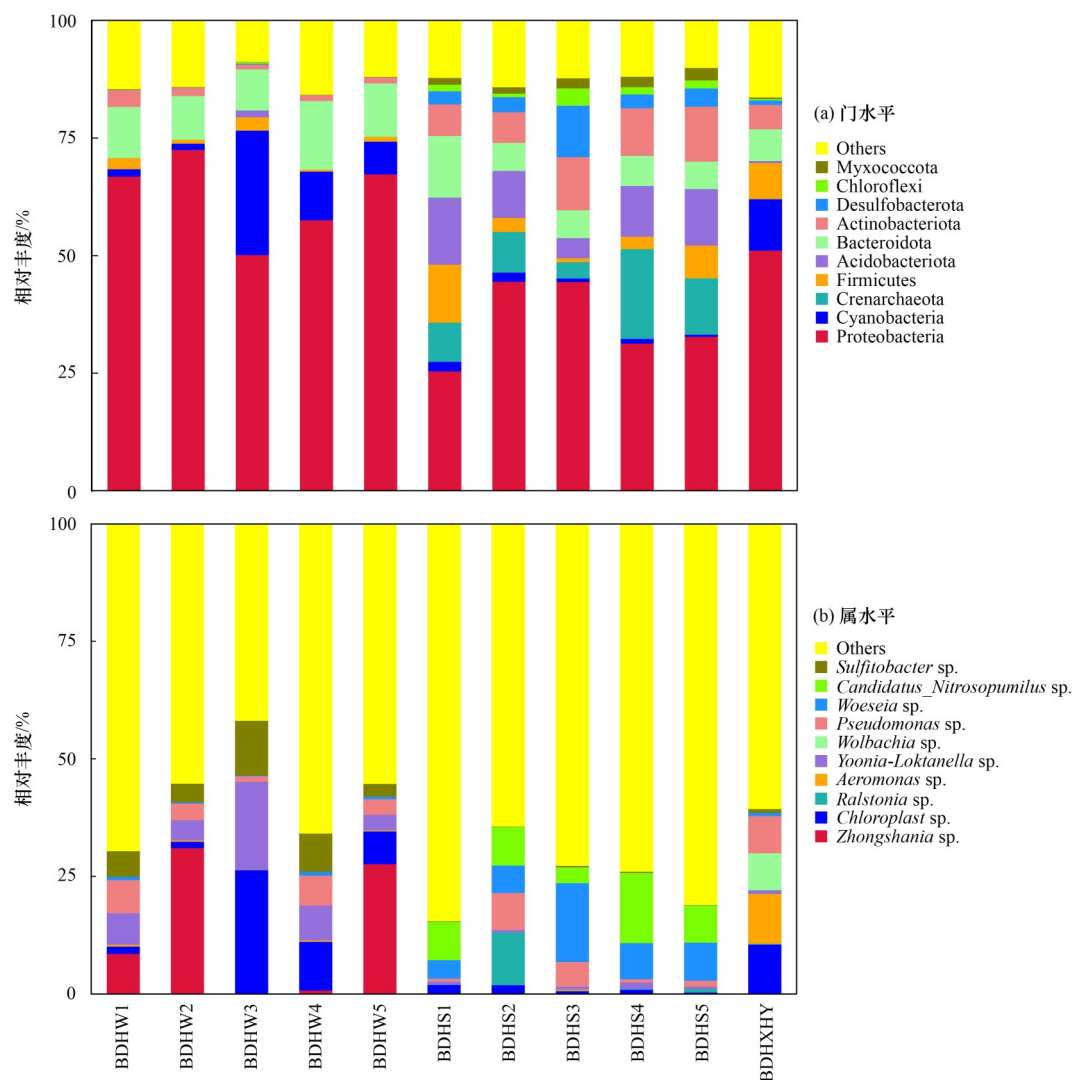


图2 在门和属分类水平样本中细菌种群结构及其相对丰度

Fig. 2 Taxonomic diversity of bacterial communities among the samples at the phylum and genus level

(glycosyltransferase)、信号转导组氨酸激酶(signal transduction histidine kinase)、NAD(P)-依赖性脱氢酶[NAD(P)-dependent dehydrogenase]、DNA结合转录调节因子(DNA-binding transcriptional regulator)、2-琥珀酸-6-羧基-2,4-环己二烯-1-羧酸合成酶MenH和相关酯酶(2-succinyl-6-hydroxy-2,4-cyclohexadiene-1-carboxylate synthase MenH and related esterases)、DNA结合反应调节因子(DNA-binding response regulator)、核苷二磷酸糖差向异构体(nucleoside-diphosphate-sugar epimerase)、阿拉伯糖外排渗透酶(arabinose efflux permease)、DNA介导的RNA聚合酶(DNA-directed RNA polymerase)和DNA结合蛋白(DNA-binding protein)[图3(a)]. MetaCyc代谢途径注释发现,细菌群落功能主要与有氧呼吸Ⅰ(aerobic respiration Ⅰ)、丙酮酸发酵生成异丁醇(pyruvate fermentation to isobutanol)、L-异亮氨酸生物合成途径Ⅱ(L-isoleucine biosynthesis Ⅱ)、弓形虫生物合成途

径(gondooate biosynthesis)、L-缬氨酸生物合成途径(L-valine biosynthesis)、L-异亮氨酸生物合成途径Ⅰ(L-isoleucine biosynthesis Ⅰ)、支链氨基酸生物合成的超途径(superpathway of branched chain amino acid biosynthesis)、饱和脂肪酸链延长(saturated fatty acid elongation)、顺式vaccenate生物合成途径(cis-vaccenate biosynthesis)和甲苯降解途径Ⅰ(toluene degradation Ⅰ)有关[图3(b)]. 整体来看,秦皇岛昌黎县水产养殖海域中细菌群落在多种化合物的生物合成途径中扮演着非常重要的角色,促进了海洋系统内部的能量传递和物质代谢过程.

2.4 秦皇岛昌黎县水产养殖海域抗生素抗性基因丰度

本研究采用宏基因组测序方法,对距离海岸线最远,受人类活动影响最小的S3位点的海水BDHW3(3个重复分别为BDHW3.1、BDHW3.2和BDHW3.3)、底泥BDHS3(3个重复分别为

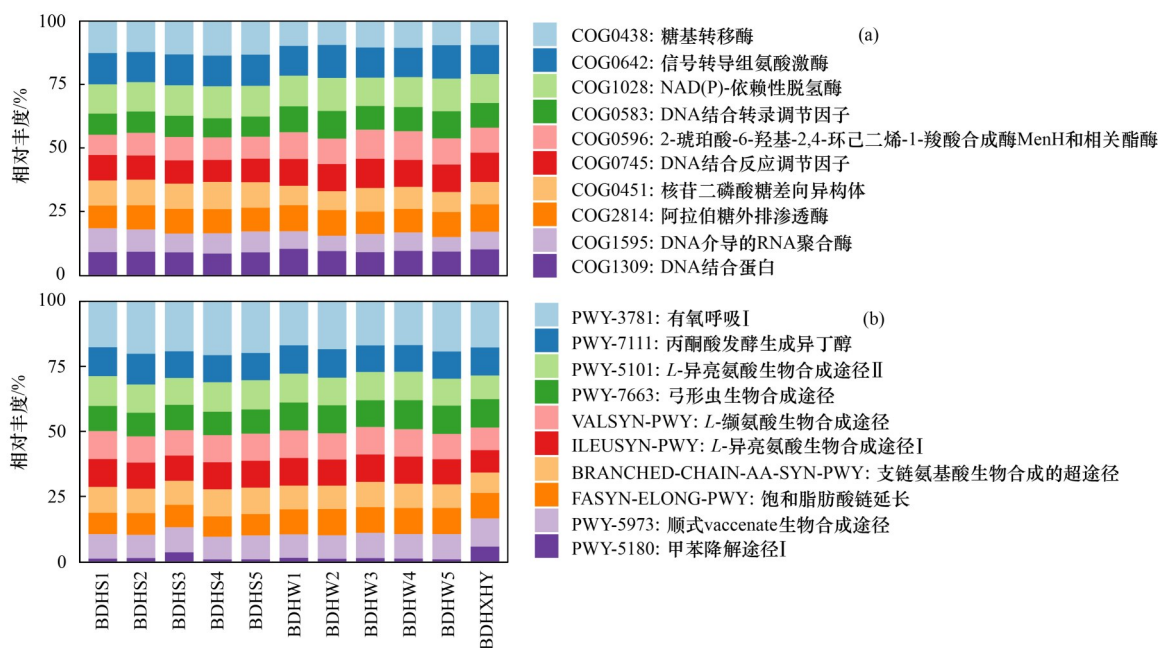


图3 不同组样品细菌的COG功能预测和MetaCyc代谢途径预测

Fig. 3 COG function prediction and MetaCyc metabolic pathways prediction of bacterial communities

BDHS3.1、BDHS3.2和BDHS3.3)和矛尾复鰕虎鱼肠道内容物BDHXHY(3个重复分别为BDHXHY.1、BDHXHY.2和BDHXHY.3)样本进行分析,其中丰度排名前20的ARG种类如图4所示。在丰度最高的20种ARGs中,有5种ARGs属于多重耐药菌,包括 *smeE*、*adeF*、*ermW*、*mexB* 和 *mexQ*。 β -内酰胺类ARGs(*bla*_{OXA-325}、*cepS*、*bla*_{CARB-20}、*bla*_{OXA-55}和*bla*_{TRU-1})有5个,氨基糖苷类ARGs[*aac*(6')-IIb、*amrA*、*aac*(6')-Ie-aph(2'')-Ia和*aph*(3')-Vc]有4个。在有关我国水产养殖环境的报道中, β -内酰胺类ARGs的研究报道相对较少,而在韩国沿海养殖场中已经检测到该

类ARGs的存在^[39,40]。事实上,关于 β -内酰胺类ARGs的相关研究是不可忽视的重要内容。四环素类、大环内酯类以及喹诺酮类等抗生素抗性基因在本研究发现较少。其中多数报道均显示,四环素类ARGs在水产养殖环境中具有较高丰度^[41],而在本研究中仅在矛尾复鰕虎鱼肠道内容物中检测到了丰度较高的*tetQ*,说明该养殖海域的ARGs赋存特征与之前报道的各类养殖海域之间存在一定差异。另外一些常用消毒剂、防腐剂的抗性基因(*triC*和*qacH*)等也在本研究中被检测到,这一结果在以往报道中较少涉及。

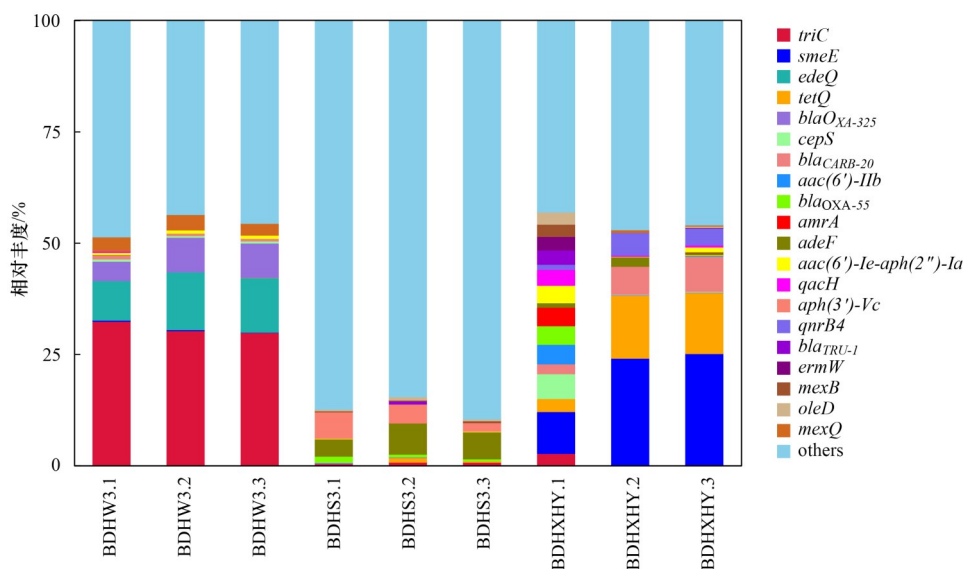


图4 抗生素抗性基因相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of antibiotic resistance gene

有研究表明, ARGs 会随着微生物群落的改变而改变^[42], ARGs 的减少一般与细菌群落的减少呈正相关. 在本研究中底泥比海水和矛尾复鰕虎鱼肠道内容物都具有更丰富的细菌群落, 但底泥中 ARGs 的相对丰度比海水和矛尾复鰕虎鱼肠道内容物都要低, 这表明载体富集细菌群落时并没有促进底泥中 ARGs 丰度的升高, 这与已报道的污水处理厂中细菌群落与 ARGs 的关系相似^[43].

2.5 秦皇岛昌黎县水产养殖海域细菌群落与 ARGs 间的关系

S3 位点的海水 BDHW3、底泥 BDHS3 和矛尾复鰕虎鱼肠道内容物 BDHXHY 样本与 ARGs 之间的共现网络分析如图 5 所示, 图中展示了丰度排名前 5 位的 ARGs 与丰度排名前 20 的门水平的微生物之间的相关性, 连接线表示节点与节点之间具有显著相

关性 (Spearman 相关系数 > 0.7 , 显著性 $P < 0.05$), 红色线条代表节点相关度最高, 绿色线条代表节点相关度最低, 节点的大小与节点间的显著相关程度成正比.

由图 5 可知, 样本中丰度较高的 ARGs 如 *triC* 与放线菌门 (Actinobacteria), *smeE* 与拟杆菌门 (Bacteroidetes), *bla_{OXA-325}* 与酸杆菌门等呈显著正相关关系, 这表明以上微生物可能是对应 ARGs 的潜在宿主. 当同一种抗性基因与多个门水平的微生物存在相关性时, 意味着这种抗性基因可能有多个潜在宿主^[44]. *tetQ*、*smeE* 和 *bla_{OXA-325}* 是连接度较高的 ARGs, 表明这些抗性基因可以在多种微生物之间进行传递. 其中, *smeE* 可以对四环素类、大环内酯类等多种类型的抗生素具有抗药性, 这种多重耐药基因的广泛传播会对人类健康产生一定的威胁^[45].

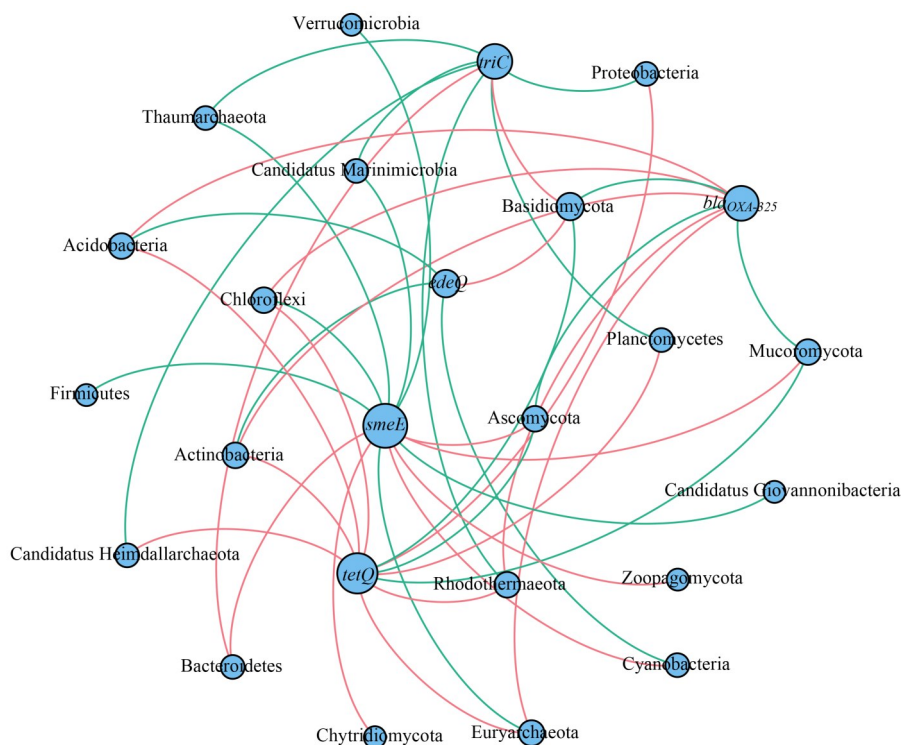


图 5 门水平细菌群落与 ARGs 的网络分析

Fig. 5 Network analysis between microbial communities at phylum level and ARGs

3 结论

(1) 距离海岸线最远的 S3 位点的海水和底泥样本中, 细菌物种丰富度和群落多样性均是同类载体中最低的, 并且越靠近海岸线, 物种丰富度和群落多样性越高, 表明人类活动可能对开放海域中的微生物物种多样性和群落组成带来了一定影响, 近海区由于受人类活动影响更大, 故微生物多样性也更加丰富.

(2) 细菌群落结构上, 海水样品中以变形菌门

(Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 为主要优势菌门; 底泥样品中以变形菌门 (Proteobacteria)、泉古菌门 (Crenarchaeota)、酸杆菌门 (Acidobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteria) 为主; 矛尾复鰕虎鱼肠道内容物以变形菌门 (Proteobacteria)、蓝藻细菌 (Cyanobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 为主.

(3) 秦皇岛昌黎县水产养殖海域中细菌的功能以新陈代谢, 初级和次级代谢产物生物合成等生化反应过程为主, 说明海洋环境中的微生物特别是细

菌在海洋系统内部的能量传递和物质代谢过程中扮演着非常重要的角色。

(4)微生物是 ARGs 存在和传播的重要载体, S3 位点的海水、底泥和矛尾复鰕虎鱼肠道内容物样本中 ARGs 丰度最高的是 *triC*、*smeE*、*edeQ*、*tetQ* 和 *bla_{oxA-325}* 等, 其中 *tetQ*、*smeE* 和 *bla_{oxA-325}* 是潜在宿主种类最多的 3 种 ARGs。

参考文献:

- [1] Khardori N, Stevaux C, Ripley K. Antibiotics: from the beginning to the future: part 2[J]. Indian Journal of Pediatrics, 2020, **87** (1): 43-47.
- [2] Khardori N, Stevaux C, Ripley K. Antibiotics: from the beginning to the future: part 1[J]. Indian Journal of Pediatrics, 2020, **87** (1): 39-42.
- [3] Reis A C, Kolvenbach B A, Nunes O C, et al. Biodegradation of antibiotics: the new resistance determinants - part I[J]. New Biotechnology, 2020, **54**: 34-51.
- [4] Reis A C, Kolvenbach B A, Nunes O C, et al. Biodegradation of antibiotics: the new resistance determinants-part II[J]. New Biotechnology, 2020, **54**: 13-27.
- [5] Nava A R, Daneshian L, Sarma H. Antibiotic resistant genes in the environment-exploring surveillance methods and sustainable remediation strategies of antibiotics and ARGs[J]. Environmental Research, 2022, **215**, doi: 10.1016/j.envres.2022.114212.
- [6] Zainab S M, Junaid M, Xu N, et al. Antibiotics and antibiotic resistant genes (ARGs) in groundwater: a global review on dissemination, sources, interactions, environmental and human health risks[J]. Water Research, 2020, **187**, doi: 10.1016/j.watres.2020.116455.
- [7] Zhang R, Yang S, An Y W, et al. Antibiotics and antibiotic resistance genes in landfills: a review[J]. Science of the Total Environment, 2022, **806**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150647.
- [8] Pan X, Qiang Z M, Ben W, et al. Residual veterinary antibiotics in swine manure from concentrated animal feeding operations in Shandong Province, China[J]. Chemosphere, 2011, **84** (5): 695-700.
- [9] Suzuki S, Nakanishi S, Tamminen M, et al. Occurrence of sul and tet (M) genes in bacterial community in Japanese marine aquaculture environment throughout the year: profile comparison with Taiwanese and Finnish aquaculture waters[J]. Science of the Total Environment, 2019, **669**: 649-656.
- [10] Wu J J, Su Y L, Deng Y Q, et al. Prevalence and distribution of antibiotic resistance in marine fish farming areas in Hainan, China[J]. Science of the Total Environment, 2019, **653**: 605-611.
- [11] 李云莉, 高权新, 张晨捷, 等. 养殖水域抗生素抗性基因污染的研究概况与展望[J]. 海洋渔业, 2017, **39**(3): 351-360.
- [12] Li Y L, Gao Q X, Zhang C J, et al. Current status and prospect of antibiotic resistance genes (ARGs) pollution in the aquaculture[J]. Marine Fisheries, 2017, **39**(3): 351-360.
- [13] 赵旺, 黄星美, 邓正华, 等. 夏季美济礁潟湖养殖区海水细菌多样性及其与环境因子的相关性[J]. 中国水产科学, 2022, **29**(5): 720-731.
- [14] Zhao W, Huang X M, Deng Z H, et al. Analysis of bacterial diversity and correlation with environmental factors in the aquaculture area of Mischief Reef Lagoon in summer[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, **29**(5): 720-731.
- [15] Biller S J, Berube P M, Dooley K, et al. Marine microbial metagenomes sampled across space and time[J]. Scientific Data, 2018, **5**, doi: 10.1038/sdata.2018.176.
- [16] Zhang X X, Xu W, Liu Y, et al. Metagenomics reveals microbial diversity and metabolic potentials of seawater and surface sediment from a Hadal Biosphere at the Yap Trench[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, **9**, doi: 10.3389/fmicb.2018.02402.
- [17] Nikaido H. Multidrug resistance in bacteria[J]. Annual Review of Biochemistry, 2009, **78**: 119-146.
- [18] 张丽敏. 昌黎县扇贝养殖业现状及发展策略[J]. 河北渔业, 2013, (7): 60-61.
- [19] 秦皇岛市人民政府. 河北昌黎: 扇贝“肥美”上市渔民“点海成金”[EB/OL]. http://mail.qhd.gov.cn/front_pcthi.do?uid=2DE30BC98D5E5B2EE7B46ED49770E3D8, 2022-11-08.
- [20] GB 17378.1-2007, 海洋监测规范 第1部分: 总则[S].
- [21] CNCB-NGDC Members and Partners. Database resources of the national genomics data center, China national center for bioinformatics in 2022[J]. Nucleic Acids Research, 2022, **50** (D1): D27-D38.
- [22] Chen T T, Chen X, Zhang S S, et al. The genome sequence archive family: toward explosive data growth and diverse data types[J]. Genomics, Proteomics & Bioinformatics, 2021, **19** (4): 578-583.
- [23] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics, 2011, **27** (21): 2957-2963.
- [24] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, et al. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics, 2018, **34** (17): i884-i890.
- [25] Rognes T, Flouri T, Nichols B, et al. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics[J]. PeerJ, 2016, **4**, doi: 10.7717/peerj.2584.
- [26] Haas B J, Gevers D, Earl A M, et al. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons[J]. Genome Research, 2011, **21** (3): 494-504.
- [27] Hall M, Beiko R G. 16S rRNA gene analysis with QIIME2[A]. In: Beiko R G, Hsiao W, Parkinson J (Eds.). Microbiome Analysis: Methods and Protocols[M]. New York: Humana Press, 2018. 113-129.
- [28] Douglas G M, Maffei V J, Zaneveld J R, et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions[J]. Nature Biotechnology, 2020, **38**(6): 685-688.
- [29] Li D H, Liu C M, Luo R B, et al. MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph[J]. Bioinformatics, 2015, **31** (10): 1674-1676.
- [30] Fu L M, Niu B F, Zhu Z W, et al. CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data[J]. Bioinformatics, 2012, **28**(23): 3150-3152.
- [31] Langmead B, Salzberg S L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2[J]. Nature Methods, 2012, **9**(4): 357-359.
- [32] Wang C, Chuprom J, Wang Y, et al. Beneficial bacteria for aquaculture: nutrition, bacteriostasis and immunoregulation[J]. Journal of Applied Microbiology, 2020, **128**(1): 28-40.
- [33] Xu C Y, Lv Z Q, Shen Y B, et al. Metagenomic insights into differences in environmental resistome profiles between integrated and monoculture aquaculture farms in China[J]. Environment International, 2020, **144**, doi: 10.1016/j.envint.2020.106005.
- [34] 赵秀, 胡晓娟, 任丽娟, 等. 汕头南澳海域龙须菜栽培系统细菌群落结构特征[J]. 中国水产科学, 2022, **29**(9): 1312-

- 1325.
- Zhao X, Hu X J, Ren L J, *et al.* Characteristics of bacterial community structure in the cultivation system of *Gracilaria lemaneiformis* in the Nan'ao area, Shantou[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2022, **29**(9): 1312-1325.
- [33] 徐秋鸿, 刘曙光, 娄厦, 等. 长江口近岸地区抗生素抗性基因与微生物群落分布特征[J]. *环境科学*, 2023, **44**(1): 158-168.
- Xu Q H, Liu S G, Lou X, *et al.* Distributions of antibiotic resistance genes and microbial communities in the nearshore area of the Yangtze River Estuary[J]. *Environmental Science*, 2023, **44**(1): 158-168.
- [34] 尹霞, 许晓晴, 王勋功, 等. 潮汐作用对黄河口滨海浅层地下水细菌群落结构的影响[J]. *海洋环境科学*, 2022, **41**(4): 526-533.
- Yin X, Xu X Q, Wang X G, *et al.* Tide effects on bacterial community structure in the shallow groundwater from Yellow River Estuary[J]. *Marine Environmental Science*, 2022, **41**(4): 526-533.
- [35] Weidler G W, Gerbl F W, Stan-Lotter H. *Crenarchaeota* and their role in the nitrogen cycle in a subsurface radioactive thermal spring in the Austrian Central Alps[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, **74**(19): 5934-5942.
- [36] 潘鑫伟, 尹增强, 李效恒. 唐山海洋牧场附近海域矛尾鰕虎鱼生长特征与资源利用[J]. *安徽农学通报*, 2020, **26**(2-3): 81-85.
- Pan X W, Yin Z Q, Li X H. The growth characteristics and resource assessment of *Chaeturichthys stigmatias Richardson* in marine ranch area of Tangshan[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2020, **26**(2-3): 81-85.
- [37] Schmidt A S, Bruun M S, Dalsgaard L, *et al.* Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(12): 5675-5682.
- [38] Čížek A, Dolejšká M, Sochorová R, *et al.* Antimicrobial resistance and its genetic determinants in aeromonads isolated in ornamental (koi) carp (*Cyprinus carpio koi*) and common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Veterinary Microbiology*, 2010, **142**(3-4): 435-439.
- [39] Huang L, Xu Y B, Xu J X, *et al.* Antibiotic resistance genes (ARGs) in duck and fish production ponds with integrated or non-integrated mode[J]. *Chemosphere*, 2017, **168**: 1107-1114.
- [40] Jang H M, Kim Y B, Choi S, *et al.* Prevalence of antibiotic resistance genes from effluent of coastal aquaculture, South Korea[J]. *Environmental Pollution*, 2018, **233**: 1049-1057.
- [41] 李十盛, 高会, 赵富强, 等. 水产养殖环境中抗生素抗性基因的研究进展[J]. *中国环境科学*, 2021, **41**(11): 5314-5325.
- Li S S, Gao H, Zhao F Q, *et al.* Research progress on the occurrence and influencing factors of antibiotic resistance genes in aquaculture environment[J]. *China Environmental Science*, 2021, **41**(11): 5314-5325.
- [42] Zhao Q, Guo W Q, Luo H C, *et al.* Deciphering the transfers of antibiotic resistance genes under antibiotic exposure conditions: driven by functional modules and bacterial community[J]. *Water Research*, 2021, **205**, doi: 10.1016/j.watres.2021.117672.
- [43] 杜文琰, 姚俊芹, 马辉英, 等. 寒冷地区 IFAS+磁混凝污水处理厂菌群结构和抗生素抗性基因分析[J]. *环境科学*, 2022, **43**(11): 5123-5130.
- Du W Y, Yao J Q, Ma H Y, *et al.* Bacterial community structure and antibiotic resistance gene changes in IFAS+magnetic coagulation process wastewater treatment plant in cold regions[J]. *Environmental Science*, 2022, **43**(11): 5123-5130.
- [44] 王龙飞, 程逸群, 胡晓东, 等. 江苏省代表性水源地抗生素及抗性基因赋存现状[J]. *环境科学*, 2021, **42**(2): 749-760.
- Wang L F, Cheng Y Q, Hu X D, *et al.* Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in representative drinking water resources in Jiangsu Province[J]. *Environmental Science*, 2021, **42**(2): 749-760.
- [45] 陈红玲, 张兴桃, 王晴, 等. 宏基因组方法分析医药化工废水厂中抗生素耐药菌及抗性基因[J]. *环境科学*, 2020, **41**(1): 313-320.
- Chen H L, Zhang X T, Wang Q, *et al.* Metagenomic analysis of antibiotic resistant bacteria and resistance genes in a pharmaceutical and chemical wastewater treatment plant[J]. *Environmental Science*, 2020, **41**(1): 313-320.

CONTENTS

Prediction of Autumn Ozone Concentration in the Pearl River Delta Based on Machine Learning	CHEN Zhen, LIU Run, LUO Zheng, <i>et al.</i> (1)
Remote Sensing Model for Estimating Atmospheric PM _{2.5} Concentration in the Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area	DAI Yuan-yuan, GONG Shao-qi, ZHANG Cun-jie, <i>et al.</i> (8)
Variation Characteristics of PM _{2.5} Pollution and Transport in Typical Transport Channel Cities in Winter	DAI Wu-jun, ZHOU Ying, WANG Xiao-qi, <i>et al.</i> (23)
Characteristics of Secondary Inorganic Ions in PM _{2.5} and Its Influencing Factors in Summer in Zhengzhou	HE Bing, YANG Jie-ru, XU Yi-fei, <i>et al.</i> (36)
Characteristics and Source Apportionment of Carbonaceous Aerosols in the Typical Urban Areas in Chongqing During Winter	PENG Chao, LI Zhen-liang, XIANG Ying, <i>et al.</i> (48)
Analysis of Influencing Factors of Ozone Pollution Difference Between Chengdu and Chongqing in August 2022	CHEN Mu-lan, LI Zhen-liang, PENG Chao, <i>et al.</i> (61)
Analysis of O ₃ Pollution Affected by a Succession of Three Landfall Typhoons in 2020 in Eastern China	HUA Cong, YOU Yuan, WANG Qian, <i>et al.</i> (71)
Characteristics and Source Apportionment of VOCs Initial Mixing Ratio in Beijing During Summer	ZHANG Bo-tao, JING Kuan, WANG Qin, <i>et al.</i> (81)
Review of Comprehensive Evaluation System of Vehicle Pollution and Carbon Synergistic Reduction	FAN Zhao-yang, TONG Hui, LIANG Xiao-yu, <i>et al.</i> (93)
Study of Peak Carbon Emission of a City in Yangtze River Delta Based on LEAP Model	YANG Feng, ZHANG Gui-chi, SUN Ji, <i>et al.</i> (104)
Driving Forces and Mitigation Potential of CO ₂ Emissions for Ship Transportation in Guangdong Province, China	WENG Shu-juan, LIU Ying-ying, TANG Feng, <i>et al.</i> (115)
Carbon Emission Characteristics and Influencing Factors of Typical Processes in Drinking Water Treatment Plant	ZHANG Xiang-yu, HU Jian-kun, MA Kai, <i>et al.</i> (123)
Distribution Characteristics of Arsenic in Drinking Water in China and Its Health Risk Based on Disability-adjusted Life Years	DOU Dian-cheng, QI Rong, XIAO Shu-min, <i>et al.</i> (131)
Spatiotemporal Occurrence of Organophosphate Esters in the Surface Water and Sediment of Taihu Lake and Relevant Risk Assessment	ZHANG Cheng-nuo, ZHONG Qin, LUAN Bo-wen, <i>et al.</i> (140)
Exposure Level and Risk Impact Assessment of Pesticides and Veterinary Drugs in Aquaculture Environment	ZHANG Kai-wen, ZHANG Hai-yan, KONG Cong, <i>et al.</i> (151)
Variation in Phosphorus Concentration and Flux at Zhutuo Section in the Yangtze River and Source Apportionment	LOU Bao-feng, XIE Wei-min, HUANG Bo, <i>et al.</i> (159)
“Load-Unload” Effect of Manganese Oxides on Phosphorus in Surface Water of the Pearl River Estuary	LI Rui, LIANG Zuo-bing, WU Qi-rui, <i>et al.</i> (173)
Factors Influencing the Variation in Phytoplankton Functional Groups in Fuchunjiang Reservoir	ZHANG Ping, WANG Wei, ZHU Meng-yuan, <i>et al.</i> (181)
Hydrochemical Characteristics and Formation Mechanism of Groundwater in the Western Region of Hepu Basin, Beihai City	CHEN Wen, WU Ya, ZHANG Hong-xin, <i>et al.</i> (194)
Controlling Factors of Groundwater Salinization and Pollution in the Oasis Zone of the Cherchen River Basin of Xinjiang	LI Jun, OUYANG Hong-tao, ZHOU Jin-long (207)
Spatial-temporal Evolution of Ecosystem Health and Its Influencing Factors in Beijing-Tianjin-Hebei Region	LI Kui-ming, WANG Xiao-yan, YAO Luo-lan (218)
Spatial and Temporal Evolution and Impact Factors Analysis of Ecosystem Service Value in the Liaohe River Delta over the Past 30 Years	WANG Geng, ZHANG Fu-rong (228)
Effects of Photovoltaic Power Station Construction on Terrestrial Environment: Retrospect and Prospect	TIAN Zheng-qing, ZHANG Yong, LIU Xiang, <i>et al.</i> (239)
Spatiotemporal Evolution and Quantitative Attribution Analysis of Vegetation NDVI in Greater Khingan Mountains Forest-Steppe Ecotone	SHI Song, LI Wen, QU Chen, <i>et al.</i> (248)
Spatio-temporal Variation in Net Primary Productivity of Different Vegetation Types and Its Influencing Factors Exploration in Southwest China	XU Yong, ZHENG Zhi-wei, MENG Yu-chi, <i>et al.</i> (262)
Impacts of Extreme Climate Events at Different Altitudinal Gradients on Vegetation NPP in Songhua River Basin	CUI Song, JIA Zhao-yang, GUO Liang, <i>et al.</i> (275)
Spatial and Temporal Evolution and Prediction of Carbon Storage in Kunming City Based on InVEST and CA-Markov Model	Paruke Wusimanjiang, AI Dong, FANG Yi-shu, <i>et al.</i> (287)
Spatial-Temporal Evolution and Prediction of Carbon Storage in Jiuquan City Ecosystem Based on PLUS-InVEST Model	SHI Jing, SHI Pei-ji, WANG Zi-yang, <i>et al.</i> (300)
Soil Carbon Pool Allocation Dynamics During Soil Development in the Lower Yangtze River Alluvial Plain	HU Dan-yang, ZHANG Huan, SU Bao-wei, <i>et al.</i> (314)
Spatial Distribution Patterns of Soil Organic Carbon in Karst Forests of the Lijiang River Basin and Its Driving Factors	SHEN Kai-hui, WEI Shi-guang, LI Lin, <i>et al.</i> (323)
Effect of Land Use on the Stability of Soil Organic Carbon in a Karst Region	CHEN Jian-qi, JIA Ya-nan, HE Qiu-fang, <i>et al.</i> (335)
Spatial Distribution Characteristics of Soil Carbon and Nitrogen in Citrus Orchards on the Slope of Purple Soil Hilly Area	LI Zi-yang, CHEN Lu, ZHAO Peng, <i>et al.</i> (343)
Effects of Experimental Nitrogen Deposition and Litter Manipulation on Soil Organic Components and Enzyme Activity of Latosol in Tropical Rubber Plantations	XUE Xin-xin, REN Chang-qi, LUO Xue-hua, <i>et al.</i> (354)
Analysis on Driving Factors, Reduction Potential, and Environmental Effect of Inorganic Fertilizer Input in Chongqing	LIANG Tao, ZHAO Jing-kun, LI Hong-mei, <i>et al.</i> (364)
Research Progress on Distribution, Transportation, and Control of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Chinese Soils	LIU Hao-ran, XING Jing-yi, REN Wen-jie (376)
Prediction of Spatial Distribution of Heavy Metals in Cultivated Soil Based on Multi-source Auxiliary Variables and Random Forest Model	XIE Xue-feng, GUO Wei-wei, PU Li-jie, <i>et al.</i> (386)
Health Risk Assessment and Priority Control Factors Analysis of Heavy Metals in Agricultural Soils Based on Source-oriented	MA Jie, GE Miao, WANG Sheng-lan, <i>et al.</i> (396)
Contamination Characteristics and Source Apportionment of Soil Heavy Metals in an Abandoned Pyrite Mining Area of Tongling City, China	LI Ru-zhong, LIU Yu-hao, HUANG Yan-huan, <i>et al.</i> (407)
Source Appointment and Assessment of Heavy Metal Pollution in Surface Dust in the Main District Bus Stops of Tianshui City	LI Chun-yan, WANG Xin-min, WANG Hai, <i>et al.</i> (417)
Response of Cadmium in Soil-rice to Different Conditioners Based on Field Trials	TANG Le-bin, LIU Xin-cai, SONG Bo, <i>et al.</i> (429)
Regulation Effects of Humus Active Components on Soil Cadmium Availability and Critical Threshold for Rice Safety	HU Xiu-zhi, SONG Yi, WANG Tian-yu, <i>et al.</i> (439)
Using Biochar and Iron-calcium Material to Remediate Paddy Soil Contaminated by Cadmium and Arsenic	WU Qiu-chan, WU Ji-zi, ZHAO Ke-li, <i>et al.</i> (450)
Research Progress on Characteristics of Human Microplastic Pollution and Health Risks	MA Min-dong, ZHAO Yang-chen, ZHU Long, <i>et al.</i> (459)
Effects of Polystyrene Microplastics Combined with Cadmium Contamination on Soil Physicochemical Properties and Physiological Ecology of <i>Lactuca sativa</i>	NIU Jia-rui, ZOU Yong-jun, JIAN Min-fei, <i>et al.</i> (470)
Transcriptome Analysis of Plant Growth-promoting Bacteria Alleviating Microplastic and Heavy Metal Combined Pollution Stress in Sorghum	LIU Yong-qi, ZHAO Si-yu, REN Xue-min, <i>et al.</i> (480)
Effects of Microplastics on the Leaching of Nutrients and Cadmium from Soil	ZHAO Qun-fang, CHU Long-wei, DING Yuan-hong, <i>et al.</i> (489)
Effect of Microplastics and Phenanthrene on Soil Chemical Properties, Enzymatic Activities, and Microbial Communities	LIU Sha-sha, QIN Jian-qiao, WU Xian-ge (496)
Prediction of Soil Bacterial Community Structure and Function in Minqin Desert-oasis Ecotone Artificial <i>Haloxylon ammodendron</i> Forest	WANG An-lin, MA Rui, MA Yan-jun, <i>et al.</i> (508)
Response of Soil Fungal Community to Biochar Application Under Different Irrigation Water Salinity	ZHENG Zhi-yu, GUO Xiao-wen, MIN Wei (520)
Effects of Organic Fertilizer of Kitchen Waste on Soil Microbial Activity and Function	LIU Mei-ling, WANG Yi-min, JIN Wen-hao, <i>et al.</i> (530)
Response Characteristics of Soil Fungal Community Structure to Long-term Continuous Cropping of Pepper	CHEN Fen, YU Gao, WANG Xie-feng, <i>et al.</i> (543)
Effects of Foliar Application of Silicon Fertilizers on Phyllosphere Bacterial Community and Functional Genes of Paddy Irrigated with Reclaimed Water	LIANG Sheng-xian, LIU Chun-cheng, HU Chao, <i>et al.</i> (555)
Analysis of Bacterial Communities and Antibiotic Resistance Genes in the Aquaculture Area of Changli County	WANG Qiu-shui, CHENG Bo, LIU Yue, <i>et al.</i> (567)
High-throughput qPCR and Amplicon Sequencing as Complementary Methods for Profiling Antibiotic Resistance Genes in Urban Wetland Parks	HUANG Fu-yi, ZHOU Shu-yi-dan, PAN Ting, <i>et al.</i> (576)
Characteristics of Vertical Distribution and Environmental Factors of Antibiotics in Quaternary Sedimentary Column in Urban Areas	LIU Ke, TONG Lei, GAN Cui, <i>et al.</i> (584)
Adsorption Performance and Mechanism of Oxytetracycline in Water by KOH Modified Biochar Derived from Corn Straw	LIU Zong-tang, SUN Yu-feng, FEI Zheng-hao, <i>et al.</i> (594)
Comparison of Pb ²⁺ Adsorption Properties of Biochars Modified Through CO ₂ Atmosphere Pyrolysis and Nitric Acid	JIANG Hao, CHEN Rui-zhi, ZHU Zi-yang, <i>et al.</i> (606)