

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第5期

Vol.37 No.5

2016

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

2015年12月北京市空气重污染过程分析及污染源排放变化	薛亦峰,周震,聂滕,潘涛,齐璐,聂磊,王占山,李云婷,李雪峰,田贺忠(1593)
北京 APEC 期间大气颗粒物中类腐殖酸的污染特征及来源	周雪明,仝雪娇,项萍,谭吉华,段菁春,何晓明,贺克斌,马永亮(1602)
利用 SPAMS 分析北京市硫酸盐、硝酸盐和铵盐季节变化特征及潜在源区分布	刘浪,张文杰,杜世勇,侯鲁健,韩斌,杨文,陈敏东,白志鹏(1609)
兰州城区大气 PM _{2.5} 污染特征及来源解析	王新,聂燕,陈红,王博,黄韬,夏敦胜(1619)
成都市西南郊区春季大气 PM _{2.5} 的污染水平及来源解析	林瑜,叶芝祥,杨怀金,张菊,殷蔚雯,李晓芬(1629)
中亚热带背景区重庆四面山大气气态总汞含量变化特征	刘伟明,马明,王定勇,孙涛,魏世强(1639)
固定源排放污染物健康风险评价方法的建立	陈强,吴焕波(1646)
北京市典型燃烧源颗粒物排放水平与特征测试	胡月琪,郭晓东,王琛,梁云平,马召辉(1653)
南京公园降尘中重金属污染水平及风险评价	王呈,钱新,李慧明,孙一轩,王金花(1662)
CoCuMnO ₂ 光催化氧化多组分 VOCs 特性及其动力学	孟海龙,卜龙利,刘嘉栋,高波,冯奇奇,谭娜,谢帅(1670)
大辽河感潮河段及近岸河口氮、磷的分布及潜在性富营养化	张雷,曹伟,马迎群,韩超南,秦延文,赵艳民,刘志超,杨晨晨(1677)
典型温冰川区湖泊的稳定同位素空间分布特征	史晓宜,蒲焘,何元庆,陆浩,牛贺文,夏敦胜(1685)
利用 $\delta^{15}\text{N}-\text{NO}_3^-$ 和 $\delta^{18}\text{O}-\text{NO}_3^-$ 示踪北京城区河流硝酸盐来源	赵庆良,马慧雅,任玉芬,王效科,彭剑锋,贺成武,武俊良,刘梦贞,闫苗苗(1692)
柳江盆地浅层地下水硝酸盐分布特征及影响因素分析	王贺,谷洪彪,迟宝明,李海君,姜海宁(1699)
三峡库区小流域不同土地利用类型对氮素流失影响	陈成龙,高明,倪九派,谢德体,邓华(1707)
亚热带农区生态沟渠对农业径流中氮素迁移拦截效应研究	王迪,李红芳,刘锋,王毅,钟元春,何洋,肖润林,吴金水(1717)
平原河网典型污染物生物降解系数的研究	冯帅,李叙勇,邓建才(1724)
沉水植物对沉积物微生物群落结构影响:以洪泽湖湿地为例	张丁予,章婷曦,董丹萍,李德芳,王国祥(1734)
苏南水库硅藻群落结构特征及其控制因素	任杰,周涛,朱广伟,金颖薇,崔扬,许海,朱梦圆,夏明芳,陈伟民(1742)
河北衡水湖湿地汞污染现状及生态风险评价	王乃姗,张曼胤,崔丽娟,马牧源,颜亮,穆泳林,秦鹏(1754)
顺德水道土壤及沉积物中重金属分布及潜在生态风险评价	蔡怡敏,陈卫平,彭驰,王铁宇,肖荣波(1763)
台州电子垃圾拆解区水和沉积物中多溴联苯醚污染特征与生态风险	陈香平,彭宝琦,吕素平,陈强,张勇,黄长江,董巧香(1771)
乌江中上游段河水主要离子化学特征及控制因素	黄奇波,覃小群,刘朋雨,蓝芙宁,张连凯,苏春田(1779)
岩溶流域地下水 TOC 输出及影响因素分析:以重庆丰都雪玉洞地下河流域为例	王巧莲,蒋勇军,陈宇(1788)
广东英德宝晶宫洞穴滴水元素季节变化与影响因素	黄嘉仪,陈琳,陈琼,刘淑华,杨亮,童晓宁,贺海波,米小建,邓肖敏,彭小桃,李汉杰,杨琰,周厚云(1798)
基于 PCR-DGGE 和拟杆菌(<i>Bacteroides</i>) 16S rRNA 的岩溶地下水粪便污染源示踪研究:以重庆南山老龙洞地下河系统为例	张弘,蒋勇军,张远瞩,段逸凡,吕现福,贺秋芳(1805)
典型岩溶区地下河中溶解态脂类生物标志物来源解析及其变化特征	梁作兵,孙玉川,李建鸿,王尊波,谢正兰,张媚,廖昱,江泽利(1814)
钴活化过一硫酸盐氧化过程中卤代副产物的生成	刘阔,金浩,董为,季跃飞,陆隽鹤(1823)
天冬氨酸在氯化过程中生成消毒副产物二氯乙腈的研究	丁春生,李乃军,张涛,章梦青(1831)
臭氧氧化饮用水过程中可同化有机碳生成的影响因素	董秉直,张佳丽,何畅(1837)
污水管网典型混流制区域水量水质波动特征解析	程珣,张明凯,刘艳臣,施汉昌(1845)
HDTMA 改性沸石的制备及吸附废水中对硝基苯酚的性能和动力学	郭俊元,王彬(1852)
放射性废水处理中吸附铀的优势藻种筛选	李鑫,胡洪营,余骏一,赵文玉(1858)
微米 Fe ₃ O ₄ 磁粉调理-压力电场污泥脱水工艺过程研究	钱旭,王毅力,赵丽(1864)
间歇曝气 SBR 处理养猪沼液的短程脱氮性能	宋小燕,刘锐,税勇,川岸朋树,占新民,陈吕军(1873)
不同灌溉方式对华北平原冬小麦田土壤 CO ₂ 和 N ₂ O 排放通量的影响	郭树芳,齐玉春,尹飞虎,彭琴,董云社,贺云龙,闫钟清(1880)
卫河新乡市区段春季溶解 CH ₄ 与 N ₂ O 浓度特征	侯翠翠,张芳,李英臣,王奇博,刘赛(1891)
模拟氮沉降对内蒙古克什克腾草原 N ₂ O 排放的影响	杨涵越,张婷,黄永梅,段雷(1900)
土壤呼吸与土壤有机碳对不同秸秆还田的响应及其机制	曹湛波,王磊,李凡,付小花,乐毅全,吴纪华,陆兵,徐殿胜(1908)
黑土丘陵区小流域土壤有机质空间变异及分布格局	高凤杰,马泉来,韩文文,单培明,周军,张少良,张志民,王宏燕(1915)
耕作方式对紫色水稻土团聚体中有机质及重金属的分布特征影响	史琼彬,赵秀兰,常同举,卢吉文(1923)
北京东南郊典型地层重金属分布特征与潜在生态风险	赵倩,马琳,刘翼飞,何江涛,李广贺(1931)
准东煤田露天矿区土壤重金属污染现状评价及来源分析	刘巍,杨建军,汪君,王果,曹月娥(1938)
纳米 TiO ₂ 对土壤重金属释放及形态变化的影响	张金洋,王定勇,梁丽,李楚娟,张成,周雄,刘娟(1946)
纳米零价铁铜双金属对铬污染土壤中 Cr(VI) 的还原动力学	马少云,祝方,商执峰(1953)
低分子有机酸对硫杆菌活性的抑制作用及对土壤重金属脱除的影响	宋永伟,王鹤茹,曹艳晓,李飞,崔春红,周立祥(1960)
粒径和包裹物对纳米银在海洋微藻中的毒性影响	黄俊,衣俊,强丽媛,程金平(1968)
萱草修复石油烃污染土壤的根际机制和根系代谢组学分析	王亚男,程立娟,周启星(1978)
高温堆肥过程对猪粪来源抗生素抗性基因的影响	郑宁国,黄南,王卫卫,喻曼,陈晓旻,姚燕来,王卫平,洪春来(1986)
磺胺抗性消长与堆肥进程交互特征	林辉,汪建妹,孙万春,符建荣,陈红金,马军伟(1993)
《环境科学》征订启事(1830) 《环境科学》征稿简则(1977) 信息(1698,1851,1992)	

高温堆肥过程对猪粪来源抗生素抗性基因的影响

郑宁国^{1,2}, 黄南¹, 王卫卫¹, 喻曼², 陈晓旻^{2*}, 姚燕来², 王卫平², 洪春来²

(1. 西北大学生命科学学院, 西安 710069; 2. 浙江省农业科学院环境资源与土壤肥料研究所, 杭州 310021)

摘要: 为研究大规模好氧高温堆肥过程对猪粪来源抗生素抗性基因的影响, 采用荧光定量 PCR 法检测了 4 个大环内酯类抗性基因 (erythromycin resistance methylase, *ermA*、*ermB*、*ermC* 和 *ermF*)、3 个 β -内酰胺抗性基因 (*blaTEM*、*blaCTX* 和 *blaSHV*) 和 2 个喹诺酮类抗性基因 (quinolone resistance, *qnrA* 和 *qnrS*) 在堆肥过程中的变化趋势。结果表明, 堆肥初期大环内酯类抗性基因含量显著高于 β -内酰胺类和喹诺酮类抗性基因 ($P < 0.01$), 其中 *ermB* 基因丰度最高为 9.88×10^8 copies·g⁻¹, 其次是 *ermF* 为 9.40×10^8 copies·g⁻¹。在高温堆肥结束时 β -内酰胺抗性基因和喹诺酮类抗性基因丰度维持在较低水平, 而大环内酯类抗性基因在堆肥结束后仍然具有较高含量。其中, *ermF* 基因与堆肥初期相比甚至出现了增加的情况, 这表明高温堆肥过程不能有效去除所有抗生素抗性基因。对于某些抗生素抗性基因, 堆肥可能还是良好的生物反应器而导致抗性基因的增殖, 农田中堆肥产品的施用有可能会造成抗生素抗性基因的传递。

关键词: 猪粪; 堆肥; 抗生素抗性基因; *erm*; *bla*; *qnr*; 荧光定量 PCR

中图分类号: X172; X713 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)05-1986-06 DOI: 10.13227/j.hj.kx.2016.05.049

Effects of Thermophilic Composting on Antibiotic Resistance Genes (ARGs) of Swine Manure Source

ZHENG Ning-guo^{1,2}, HUANG Nan¹, WANG Wei-wei¹, YU Man², CHEN Xiao-yang^{2*}, YAO Yan-lai², WANG Wei-ping², HONG Chun-lai²

(1. College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. Institute of Environment, Resource, Soil and Fertilizer, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: To investigate the effects of thermophilic composting process on antibiotic resistance genes (ARGs) of swine manure source at a field scale, the abundance of four erythromycin resistance genes (*ermA*, *ermB*, *ermC* and *ermF*), three β -lactam resistance genes (*blaTEM*, *blaCTX* and *blaSHV*) and two quinolone resistance genes (*qnrA* and *qnrS*) were quantified by quantitative PCR (qPCR) during the composting process. The results suggested that the *erm* genes' copy numbers were significantly higher than those of the *bla* and *qnr* genes in the early stage of composting ($P < 0.01$). The maximum abundance of *erm* genes was *ermB* (9.88×10^8 copies·g⁻¹), following by *ermF* (9.4×10^8 copies·g⁻¹). At the end of the composting process, *bla* and *qnr* genes were at low levels, while *erm* genes were still at high levels. Even though *ermF* was proliferated comparing with the initial copies. These results indicated that thermophilic composting process could not effectively remove all ARGs. For some ARGs, compost may be a good bioreactor resulting in their proliferation. Application of composting products on farmland may cause transference of ARGs.

Key words: swine manure; composting; antibiotic resistance genes; *erm*; *bla*; *qnr*; real-time quantitative PCR

由于畜禽养殖业广泛使用抗生素, 特别是以促进畜禽生长为目的的抗生素滥用, 导致了大量抗生素抗性微生物 (antibiotic resistance bacteria, ARB) 和抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 的出现^[1]。有研究表明转座子、整合子、质粒等^[2~4]介导细菌 ARGs 的水平传递和扩散会进一步增加环境和人体健康的风险。

畜禽粪便是环境中 ARGs 的重要来源之一, 对于畜禽粪便的安全施用受到广泛关注。在我国畜禽粪便常作为有机肥的主要来源施用于农田, 这可能会造成抗生素抗性基因扩散与传播^[5,6]。黄福义等^[7]报道称长期施用猪粪水稻土壤中抗生素抗性基因的种类和含量均显著高于未施用猪粪有机肥土

壤, 其中喹诺酮类/氯霉素类抗性基因 *mexF* 的丰度是未施用猪粪水稻田的 1 791 倍。因此畜禽粪便的安全施用日益受到广泛关注。好氧堆肥是畜禽粪便无害化、资源化利用的主要手段。已有报道称堆肥技术可以降解畜禽粪便中抗生素^[8]、致病微生物^[9]和 ARGs^[10]。目前, 对于 ARGs 的堆肥法降解大多针对四环素类和磺胺类抗性基因, 而大环内酯类、 β -内酰胺类和喹诺酮类抗性基因的研究较为缺乏。在

收稿日期: 2015-10-27; 修订日期: 2015-12-15

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (21307115, 51108423); 国家自然科学基金项目 (41571243); 新疆生产建设兵团科技援疆项目 (2013AB008)

作者简介: 郑宁国 (1990 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: jenningoal@foxmail.com

* 通讯联系人, E-mail: xiaoyangchen@aliyun.com

我国畜产和水产养殖业,大环内酯类、 β -内酰胺类和喹诺酮类抗生素也大量地使用. Zhang 等^[11]报道称我国养猪业中常用的 36 种抗生素使用总量为 48 400 t,其中大环内酯类为 5 840 t、 β -内酰胺类为 10 600 t、喹诺酮类 13 900 t. 生猪养殖废弃物通常会有 *erm*(*A*、*B*、*C*、*E* 和 *F*)、*bla*(*TEM*、*SHV*、*OXA* 和 *CTX*)和 *qnr*(*A*、*B* 和 *S*)的存在^[12~15]. 因此有必要对高温堆肥过程对这三类基因的影响进行深入研究.

本文选取杭州市萧山某猪粪有机肥厂的猪粪堆肥为研究对象,采用普通 PCR 和荧光定量 PCR 法对堆肥过程不同时段堆肥样品中的大环内酯类、 β -内酰胺类和喹诺酮类 ARGs 进行定性和绝对定量检测,探究高温堆肥过程对不同类型 ARGs 的影响,以期猪粪有机肥安全施用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料

堆肥原料采用猪粪和锯末,取自杭州萧山汇仁有机肥厂. 堆肥初期样品理化性质见表 1.

表 1 猪粪堆肥原料理化性质

Table 1 Characteristics of raw materials for swine manure composting				
项目	含水率 /%	pH	总碳 /g·kg ⁻¹	总氮 /g·kg ⁻¹
堆肥样品(0 d)	70.12	7.4	579.40	56.71

1.2 猪粪堆肥处理

将辅料(0.7~1 cm 的锯末)和猪粪按质量比 2:8 的比例均匀混合后,堆置成条垛(长 5~7 m,宽 2.0~2.5 m,高 1.2~1.5 m). 猪粪堆肥实验设置 3 个重复,堆置 60 d 左右.

1.3 样品采集

猪粪样品:采集堆肥第 0 d 作为空白对照.

堆肥样品:在堆置的第 0、7、14、22、30、35、41、48、55 和 62 d 采集样品. 样品为堆体的 5 个点的上部、中部和下部取样并制成混合样约 1 kg,对 200 g 样品进行真空冷冻干燥(LABCONCO FreeZone® 12 L,美国)以备总基因组 DNA 提取,200 g 鲜样进行理化指标检测,剩余样品保存于 -80℃ 为后续实验用.

总碳和总氮按照中华人民共和国农业行业标准进行检测^[16],含水率按质量法测定,pH 值按堆肥样品和去离子水 1:10 的比例稀释,用 pH 计(PE20, METTLER TOLEDO, Switzerland)测定.

1.4 猪粪堆肥样品 DNA 提取

取真空冷冻干燥样品 0.100 0 g,采用 DNA 提取试剂盒 PowerSoil® DNA Isolation Kit(MoBio, USA),按照试剂盒说明书进行操作,提取的 DNA 用超微量紫外-可见分光光度计(NanoDrop2000)检测含量及纯度(A_{260}/A_{280} 值在 1.8~2.0 之间)表明 DNA 纯度较高.

1.5 普通 PCR 检测及标准质粒的制备

1.5.1 普通 PCR 检测

实验选择 5 种常见的大环内酯类抗性基因(*ermA*、*ermB*、*ermC*、*ermE* 和 *ermF*)、3 种 β -内酰胺类抗性基因(*blaTEM*、*blaSHV* 和 *blaCTX*)及 2 种喹诺酮类抗性基因(*qnrA* 和 *qnrS*)对样品进行 PCR 检测,引物设计见表 2. 25 μ L 的 PCR 反应体系包含:12.5 μ L KAPA2G Fast Multiplex Mix(KAPA Biosystems, USA), 1 μ L 的 DNA 模板,浓度为 10 μ mol·L⁻¹ 的上下游引物各 0.5 μ L 和 10.5 μ L 的 ddH₂O. 反应程序:94℃ 预变性 5 min,35 个循环为 94℃ 变性 30 s,退火 30 s(退火温度见表 2),72℃ 延伸 1 min,最终 72℃ 延伸 5 min. 引物及退火温度见表 2.

1.5.2 标准质粒的制备

将 PCR 产物点至制备好的 1% 琼脂糖凝胶点样孔内,经电泳凝胶成像仪观测结果并拍照记录后,切下目的条带并用琼脂糖凝胶回收试剂盒(QIAGEN, Germany)回收纯化. 纯化产物连接到 pMD18 T-vector(TaKaRa, Japan)载体上,然后转化感受态大肠杆菌细胞 DH5 α . 挑取单菌落,用 2 mL 氨苄抗性的 LB 培养过夜,用 PCR 法进行鉴定. 选择阳性菌进行测序,利用 BLASTn 对比目的序列与测序序列. 用质粒小量提取试剂盒(QIAGEN, Germany)提取重组菌质粒,使用 NanoDrop 测定质粒浓度. 以所提取的质粒 10 倍稀释系列(拷贝数从 $n \times 10^{10}$ 系列稀释到 $n \times 10^2$),以拷贝数为横坐标,Ct 值为纵坐标制作标准曲线. 标准质粒拷贝数计算公式如下:

$$\text{拷贝数} = \frac{\text{质量}}{\text{摩尔质量}} \times \text{NA} = \frac{x}{(2\,692 + a) \times 660} \times 10^{-9} \text{ g} \cdot \text{ng}^{-1} \times 6.02 \times 10^{23}$$

式中,NA 为阿伏伽德罗常数, x 为质粒浓度($\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$), a 为插入片段长度.

1.6 实时定量 PCR

本实验对 4 种大环内酯类抗性基因(*ermA*、*ermB*、*ermC* 和 *ermF*)、3 种 β -内酰胺类抗性基因(*blaTEM*、*blaSHV* 和 *blaCTX*)及 2 种喹诺酮类抗性基因(*qnrA* 和 *qnrS*)进行定量检测. 荧光定量反应体

系为 10 μL 体系, 包括 5 μL 的 2 × QuantiFast SYBRGreen PCR Master Mix (QIAGEN, Germany), 引物(10 μmol·L⁻¹) 各 1 μL, DNA 模板 1 μL RNase-free water 2 μL. 定量 PCR 反应程序: 95℃ 预变性 2

min, 40 个循环包括 95℃ 变性 10 s, 退火 10 s (退火温度见表 2), 72℃ 延伸 40s, 仪器自动添加溶解曲线程序. 用灭菌超纯水代替样品做为阴性对照, 每个样品 3 次重复.

表 2 PCR 和 Q-PCR 引物序列及退火温度

Table 2 Primer sequences and annealing temperature of PCR and Q-PCR assays

目的基因	引物	引物序列(5'-3') ¹⁾	退火温度/℃	文献
<i>ermA</i>	<i>ermA</i> -F	AAGCGGTAAACCCCTCTGA	57	[17]
	<i>ermA</i> -R	TTCGCAAATCCCTTCTCAAC		
<i>ermB</i>	<i>ermB</i> -F	AAACTTACCCGCCATACCA	55	[18]
	<i>ermB</i> -R	TTTGGCGTGTTCATTGCTT		
<i>ermC</i>	<i>ermC</i> -F	GAAATCGGCTCAGGAAAAGG	59	[18]
	<i>ermC</i> -R	TAGCAAACCGTATTCCACG		
<i>ermE</i>	<i>ermE</i> -F	TGTTCGAGTGGGAGTTCGT	57	[18]
	<i>ermE</i> -R	GGTACTTGCGCAGAAGCGA		
<i>ermF</i>	<i>ermF</i> -F	TCGTTTTACGGGTCAGCACTT	57	[18]
	<i>ermF</i> -R	CAACCAAAGCTGTGTCGTTT		
<i>blaCTX</i>	<i>blaCTX</i> -F	CTATGGCACCACCAACGATA	59	[19]
	<i>blaCTX</i> -R	ACGGCTTTCTGCCTTAGGTT		
<i>blaSHV</i>	<i>blaSHV</i> -F	TGATTTATCTGCGGGATACG	61	[17]
	<i>blaSHV</i> -R	TTAGCGTTGCCAGTGCTCG		
<i>blaTEM</i>	<i>blaTEM</i> -F	TCGGGGAAATGTGCG	59	[17]
	<i>blaTEM</i> -R	GGAATAAGGGCGACA		
<i>qnrA</i>	<i>qnrA</i> -F	ATTTCACAGCCAGGATTTG	57	[20]
	<i>qnrA</i> -R	GCAGATCGGCATAGCTGAAG		
<i>qnrS</i>	<i>qnrS</i> -F	GGMATHGAAATTCGCCACTG	55	[20]
	<i>qnrS</i> -R	TTYGCBGYCGCCAGTCGAA		

1) M: A/C; Y: C/T; B: C/G/T; H: A/C/T

1.7 数据分析

数据采用 Excel 2007 和 SPSS 20.0 进行分析, 显著性检验采用单因素方差分析.

2 结果与讨论

2.1 猪粪堆肥过程中温度的变化

在理化指标中, 温度对堆肥的影响最为突出, 报道称温度可以促进抗生素和抗生素抗性基因的降解^[21]. 本实验记录了猪粪堆肥过程中温度的动态变化, 如图 1 所示. 在整个堆肥过程中, 升温阶段从开始(22℃)到第 18 d(53℃); 高温期从 19 d 持续到 49 d(55℃); 降温期从第 50 d 开始直至堆肥实验结束(29℃). 这与实验室规模的堆肥温度变化曲线明显不同^[18], 本实验猪粪堆肥温度的升温阶段缓慢, 这是由于 C/N 比低的缘故. 另外, 堆肥条垛比

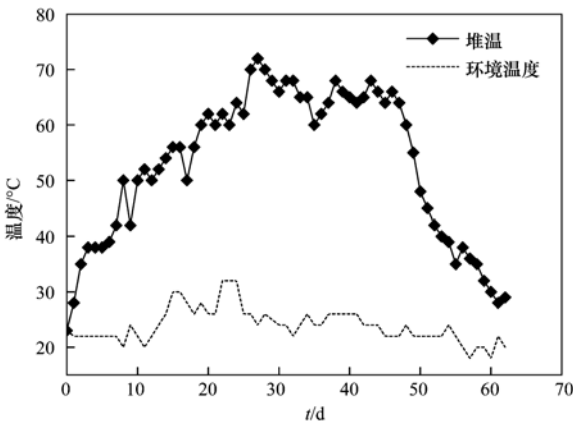


图 1 猪粪堆肥过程中温度的变化

Fig. 1 Evolution of temperature during swine manure composting

较大, 微生物的种类丰富, 条件无法如实验室规模那样精细, 也可能会导致温度与小规模实验有比较大的差异.

2.2 猪粪堆肥初始三类 ARGs 的分布和丰度

本实验从猪粪堆肥样品中共检测到 4 种大环内酯类抗性基因(*ermA*、*ermB*、*ermC* 和 *ermF*)、3 种 β -内酰胺类抗性基因(*blaTEM*、*blaSHV* 和 *blaCTX*) 和 2 种喹诺酮类抗性基因(*qnrA* 和 *qnrS*), 并对这 9 种 ARGs 进行定量检测. 为保证荧光定量 PCR 检测结果的可靠性, 将目的基因标准品质粒进行测序. 用 Blastn 对测序结果进行比对, 如表 3 所示, 所得比对结果相似度达 99% 以上. 扩增效率(Efficiency) 在 98.181% ~ 119.425% 之间, 相关系数 R^2 均高于 0.990, 所有基因溶解曲线只有唯一特异峰, 实验选取的 9 对引物具有较高特异性.

根据标准曲线得到堆肥初始样品(第 0 d) 中 ARGs 的丰度和分布情况(表 4) 和三类 ARGs 丰度变化曲线(图 2). 在堆肥初始样品中, 大环内酯类

抗性基因的丰度比 β -内酰胺类抗性基因和喹诺酮类抗性基因高 1 ~ 2 个数量级, 其中 *ermB* 丰度最高为 $9.88 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$.

ARGs 普遍存在于环境中, 大环内酯类、 β -内酰胺类和喹诺酮类抗生素抗性基因在环境中常常被检出. Marti 等^[20] 在检测了一条污水处理厂附近河流上下游水体和沉积物的 *qnrA*、*qnrB*、*qnrS*、*blaTEM*、*blaCTX*、*blaSHV* 和 *ermB*. Knapp 等^[12] 在养猪废水泻湖处理中检测到 *ermB*、*ermF*、*blaTEM* 和 *blaSHV*, 其中 *ermB* 丰度最高为 $10^{8.3} \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$. Roberts^[19] 报道称 *ermB* 基因有 33 个基因型, 其是 *erm* 类基因型最多的大环内酯类抗生素抗性基因. 由于其具有丰富的基因型, 这可能是导致其在环境中更易传播和增殖. 这些原因可能导致堆肥样品中 *ermB* 基因的丰度比较高.

表 3 9 种 ARGs 的 Blastn 结果
Table 3 Blastn results of nine ARGs

名称	比对序列描述	NCBI 登录号	覆盖率 /%	相似性 /%
<i>ermA</i> (红霉素耐药甲基化酶)	<i>Staphylococcus rostri erm(A)</i> gene for adenine methylase, strain RST492.	FN435325.1	100	99
<i>ermB</i> (红霉素耐药甲基化酶)	<i>Nocardia farcinica</i> strain CNM20080087 erythromycin resistance methylase (<i>ermB</i>) gene, partial cds.	KM194594.1	100	100
<i>ermC</i> (23S RNA 甲基化酶)	<i>Staphylococcus aureus</i> strain 7512166-1 plasmid ErmC (<i>erm(C)</i>) gene, complete cds	JF968537.1	100	99
<i>ermF</i> (大环内酯类抗性蛋白基因)	<i>Riemerella anatipestifer</i> strain NJ-4 macrolide-lincosamide-streptogramin-resistance protein (<i>ermF</i>) gene complete cds.	KC669404.1	100	99
<i>blaTEM</i> (β -内酰胺酶)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> insertion sequence IS26, partial sequence; and beta-lactamase TEM-1 (<i>blaTEM</i> -1) gene, complete cds.	KF268357.1	100	100
<i>blaCTX</i> (β -内酰胺酶)	<i>Escherichia coli</i> isolate S-FC066-028 CTX-M-172 (<i>blaCTX</i> -M-172) gene, complete cds.	KT251041.1	100	100
<i>blaSHV</i> (β -内酰胺酶)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> beta-lactamase SHV-191 (<i>blaSHV</i> -191) gene, complete cds.	KP868754.1	100	100
<i>qnrA</i> (喹诺酮抗性基因)	<i>Shewanella algae</i> plasmid QnrA7 (<i>qnrA7</i>) gene, complete cds.	GQ463707.3	100	100
<i>qnrS</i> (喹诺酮抗性基因)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain MD93 QnrS (<i>qnrS</i>) gene, partial cds.	KP340791.1	100	100

表 4 猪粪堆肥初始样品中 9 种 ARGs 的丰度和分布/ $\text{copies} \cdot \text{g}^{-1}$

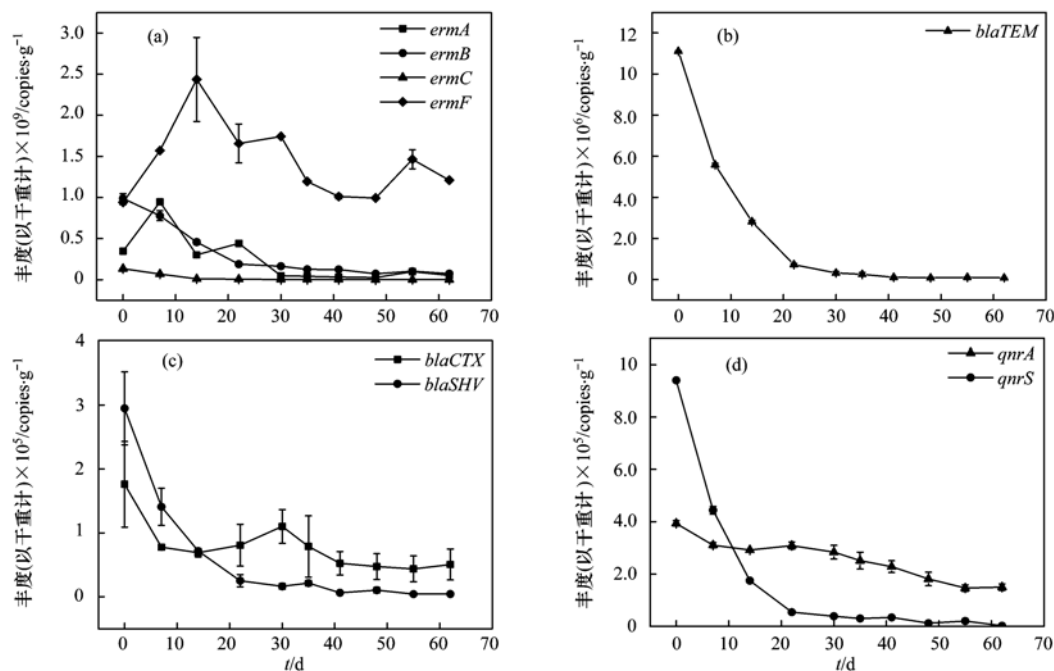
Table 4 Abundance and distribution of nine ARGs in the initial swine manure composting samples/ $\text{copies} \cdot \text{g}^{-1}$

堆肥样品	<i>ermA</i>	<i>ermB</i>	<i>ermC</i>	<i>ermF</i>	<i>blaTEM</i>	<i>blaCTX</i>	<i>blaSHV</i>	<i>qnrA</i>	<i>qnrS</i>
第 0 d	3.47×10^8	9.88×10^8	1.36×10^8	9.41×10^8	1.11×10^7	1.76×10^5	2.95×10^5	3.94×10^5	9.40×10^5

2.3 猪粪堆肥过程中大环内酯类抗性基因丰度的变化

本实验不同的 *erm* 基因堆肥中呈现出不同的变化归趋[图 2(a)]. 其中在堆肥升温阶段的第 0 ~ 7 d, *ermA* 和 *ermF* 分别从 $3.47 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $9.41 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $9.41 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$

和 $1.57 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 之后 *ermA* 开始降低, 到 30 d 之后基本维持在 $10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 去除率为 84.9%; 而 *ermF* 继续增殖到第 14 d, 第 15 ~ 50 d 开始降低, 但在之后又有上升的趋势, 最终比初始堆肥样品高 ($P > 0.05$). 在堆肥过程中, *ermB* 和 *ermC* 含量从开始就呈现下降趋势, 堆肥结束就下降至 1.24×10^6



(a) 大环内酯类抗性基因丰度的变化; (b) *blaTEM* 基因丰度的变化;
(c) *blaCTX* 和 *blaSHV* 基因丰度的变化; (d) 喹诺酮类抗性基因丰度的变化

图2 猪粪堆肥过程中抗生素抗性基因丰度的变化

Fig. 2 Abundance change of ARGs during swine manure composting

$\text{copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $7.47 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 去除率分别达到 92.4% 和 99.1%。 *ermC* 在堆肥过程中仅仅降低了 1 个数量级, 且保持在 $10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 左右。 同一 ARGs 在不同堆肥阶段有增加和下降趋势可能由于不同堆肥阶段微生物群落结构会有不同^[20,22], 这可能会造成携带不同类型抗生素抗性基因的变化趋势会有不同。 与 *bla* 基因相比, *erm* 基因则以质粒和转座子在革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有发现^[19]; Liu 等^[3] 在四环素废水处理系统中的抗生素抗性基因与转座子 *intI1* 的分布特征和丰度变化研究中发现, *intI1* 与抗性基因的增殖有关; Su 等^[23] 报道称可动遗传因子 (mobile genetic elements, MEG) 和群落结构会影响抗生素抗性基因的分布和归趋。 因此, *erm* 基因较难去除且环境扩散性比较强。

2.4 猪粪堆肥过程中 β -内酰胺类抗性基因丰度的变化

从堆肥开始之初, β -内酰胺类抗性基因丰度 [图 2(b) 和图 2(c)] 含量开始就呈现下降趋势, 在堆肥到第 22 d 后 *bla* 基因降解速率开始降低。 堆肥结束时 *blaTEM* 含量为 $8.71 \times 10^4 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 去除率达到了 99.9%, 比初始堆肥样品降低了 3 个数量级; *blaCTX* 堆肥结束后含量为 $2.42 \times 10^4 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 去除率为 63.8%, 降低了 1 个数量级。 *blaSHV* 堆肥结

束后含量为 $4.42 \times 10^3 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 去除率为 98.5%, 降低了 2 个数量级。 *blaTEM* 和 *blaSHV* 经常伴随质粒在肠杆菌中发现^[24], 肠杆菌是一类革兰氏阴性菌、兼性厌氧微生物。 因此, 在高温好氧堆肥作用下肠杆菌大多会被杀灭, 其携带的抗生素抗性也随之降解。 在堆肥进行完成之后, 这 3 种 β -内酰胺类抗生素抗性基因依然保持在较低含量。 这可能由于在猪粪堆肥翻堆时, 部分在条垛的底层温度比较低且是局部厌氧环境。

2.5 猪粪堆肥过程中喹诺酮类抗性基因丰度的变化

整个堆肥过程中, 喹诺酮类抗性基因丰度的变化 [图 2(d)]。 本实验堆肥初始时 *qnrA* 和 *qnrS* 的丰度都比 *erm* 和 *bla* 抗性基因丰度低, 分别为 $3.9 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $9.4 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 。 堆肥过程中 *qnrS* 呈现急剧降低趋势, 在堆肥结束时含量已降至 $2.6 \times 10^3 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 去除率达到 99.7%。 与 *qnrS* 相比, *qnrA* 含量随着堆肥的进行降解速率较为缓慢, 堆肥结束时丰度为 $1.5 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$, 去除率达到 61.8%。

Marti 等^[20] 在研究废水处理系统和排入河流的上下游的水体和污泥里 ARGs 的分布和丰度结果显示, *qnrA* 在河流下游检测不到, 而 *qnrS* 在下游河床沉积物中含量要高, 并且不同类型的抗生素抗性基

因表现出不同的丰度和归趋。这可能由于 *qnrS* 宿主菌大多是嗜温菌, 因此, 在堆肥结束后检测丰度比较低^[22,25]。而 *qnrA* 的基因型比 *qnrS* 要多且大多是通过质粒介导基因的水平传递^[26,27], 这样导致前者比后者更难从堆肥产品中去除。

3 结论

(1) 在堆肥初始红霉素类抗性基因拷贝数明显高于 β -内酰胺类和喹诺酮类抗性基因。

(2) 不同类型的抗生素抗性基因具有不同变化趋势, *blaTEM* 去除率最高, 为 99.9%; 而 *ermF* 却在堆肥结束后增加了 28.7%; 同一类型 ARGs 中不同种类的 ARGs 去除效率也有较大差异。

参考文献:

- [1] Jechalke S, Heuer H, Siemens J, *et al.* Fate and effects of veterinary antibiotics in soil[J]. Trends in Microbiology, 2014, **22**(9): 536-545.
- [2] Stokes H W, Hall R M. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrins[J]. Molecular Microbiology, 1989, **3**(12): 1669-1683.
- [3] Liu M M, Zhang Y, Yang M, *et al.* Abundance and distribution of tetracycline resistance genes and mobile elements in an oxytetracycline production wastewater treatment system [J]. Environmental Science & Technology, 2012, **46**(14): 7551-7557.
- [4] Kocsis B, Kocsis E, Fontana R, *et al.* Identification of *blaLAP₂* and *qnrS1* genes in the internationally successful *Klebsiella pneumoniae* ST147 clone[J]. Journal of Medical Microbiology, 2013, **62**(Pt 2): 269-273.
- [5] Udikovic-Kolic N, Wichmann F, Broderick N A, *et al.* Bloom of resident antibiotic-resistant bacteria in soil following manure fertilization[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, **111**(42): 15202-15207.
- [6] Hsu J T, Chen C Y, Young C W, *et al.* Prevalence of sulfonamide-resistant bacteria, resistance genes and integron-associated horizontal gene transfer in natural water bodies and soils adjacent to a swine feedlot in northern Taiwan[J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, **277**: 34-43.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Hanajima D, Kuroda K, Fukumoto Y, *et al.* Effect of addition of organic waste on reduction of *Escherichia coli* during cattle feces composting under high-moisture condition [J]. Bioresource Technology, 2006, **97**(14): 1626-1630.
- [10] Wang J, Ben W W, Zhang Y, *et al.* Effects of thermophilic composting on oxytetracycline, sulfamethazine, and their corresponding resistance genes in swine manure [J]. Environmental Science: Processes & Impacts, 2015, **17**(9): 1654-1660.
- [11] Zhang Q Q, Ying G G, Pan C G, *et al.* A 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.
- [12] Knapp C W, Zhang W, Sturm B S M, *et al.* Differential fate of erythromycin and beta-lactam resistance genes from swine lagoon waste under different aquatic conditions [J]. Environmental Pollution, 2010, **158**(5): 1506-1512.
- [13] Garofalo C, Vignaroli C, Zandri G, *et al.* Direct detection of antibiotic resistance genes in specimens of chicken and pork meat [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, **113**(1): 75-83.
- [14] Bibbal D, Dupouy V, Ferré J P, *et al.* Impact of three ampicillin dosage regimens on selection of ampicillin resistance in *Enterobacteriaceae* and excretion of *blaTEM* genes in swine feces [J]. Applied and Environmental Microbiology 2007, **73**(15): 4785-4790.
- [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] NY 525-2012, 有机肥料[S].
- [17] Strommenger B, Kettlitz C, Werner G, *et al.* Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus* [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2003, **41**(9): 4089-4094.
- [18] 韦蓓, 黄福义, 李虎, 等. 污泥堆肥过程中磺胺类和大环内酯类抗性基因的残留[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20**(3): 395-400.
- [19] Roberts M C. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes [J]. FEMS Microbiology Letters, 2008, **282**(2): 147-159.
- [20] Marti E, Jofre J, Balcazar J L. Prevalence of antibiotic resistance genes and bacterial community composition in a river influenced by a wastewater treatment plant[J]. PLoS One, 2013, **8**(10): e78906.
- [21] 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.
- [22] 王伟东, 王小芬, 朴哲, 等. 堆肥化过程中微生物群落的动态[J]. 环境科学, 2007, **28**(11): 2591-2597.
- [23] Su J Q, Wei B, Ouyang 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.
- [24] Bradford P A. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2001, **14**(4): 933-951.
- [25] Strahilevitz J, Jacoby G A, Hooper D C, *et al.* Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2009, **22**(4): 664-689.
- [26] Jacoby G, Cattoir V, Hooper D, *et al.* *qnr* Gene nomenclature [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008, **52**(7): 2297-2299.
- [27] Robicsek A, Strahilevitz J, Sahm D F, *et al.* *qnr* Prevalence in ceftazidime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from the United States[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006, **50** (8): 2872-2874.
-

《环境科学》多项引证指标名列前茅

2015年10月21日,中国科学技术信息研究所在中国科技论文统计结果发布会上公布了2014年度中国科技论文统计结果.统计结果显示2014年度《环境科学》多项引证指标位居环境科学技术及资源科学技术类科技期刊前列.

《环境科学》综合评价总分76.00,排名第一,总被引频次7 733,影响因子1.294.

综合评价总分是根据中国科技期刊综合评价指标体系,计算多项科学计量指标(总被引频次、影响因子、他引率、基金论文比、引文率等),采用层次分析法确定重要指标的权重,分学科对每种期刊进行综合评定,计算出每个期刊的综合评价总分.这项指标屏蔽了各个学科之间总体指标背景值的差异,使科技期刊可以进行跨学科比较.根据发布的统计结果,2014年度《环境科学》综合评价总分76.00,在被统计的33种环境科学技术及资源科学技术类期刊中名列第一.

CONTENTS

Exploring the Severe Haze in Beijing During December, 2015; Pollution Process and Emissions Variation	XUE Yi-feng, ZHOU Zhen, NIE Teng, <i>et al.</i> (1593)
Pollution Characteristics and Source of HULIS in the Fine Particle During the Beijing APEC	ZHOU Xue-ming, QI Xue-jiao, XIANG Ping, <i>et al.</i> (1602)
Seasonal Variation Characteristics and Potential Source Contribution of Sulfate, Nitrate and Ammonium in Beijing by Using Single Particle Aerosol Mass Spectrometry	LIU Lang, ZHANG Wen-jie, DU Shi-yong, <i>et al.</i> (1609)
Pollution Characteristics and Source Apportionment of PM _{2.5} in Lanzhou City	WANG Xin, NIE Yan, CHEN Hong, <i>et al.</i> (1619)
Pollution Level and Source Apportionment of Atmospheric Particles PM _{2.5} in Southwest Suburb of Chengdu in Spring	LIN Yu, YE Zhi-xiang, YANG Huai-jin, <i>et al.</i> (1629)
Variation Characteristics of Total Gaseous Mercury at Simian Mountain Background Station in Mid-subtropical Region	LIU Wei-ming, MA Ming, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (1639)
Establishment of Method for Health Risk Assessment of Pollutants from Fixed Sources	CHEN Qiang, WU Huan-bo (1646)
Testing of Concentration and Characteristics of Particulate Matters Emitted from Stationary Combustion Sources in Beijing	HU Yue-qi, WU Xiao-dong, WANG Chen, <i>et al.</i> (1653)
Pollution Evaluation and Risk Assessment of Heavy Metals from Atmospheric Deposition in the Parks of Nanjing	WANG Cheng, QIAN Xin, LI Hui-ming, <i>et al.</i> (1662)
CoCuMnO ₂ Photocatalyzed Oxidation of Multi-component VOCs and Kinetic Analysis	MENG Hai-long, BO Long-li, LIU Jia-dong, <i>et al.</i> (1670)
Distribution of Nitrogen and Phosphorus in the Tidal Reach and Estuary of the Daliao River and Analysis of Potential Eutrophication	ZHANG Lei, CAO Wei, MA Ying-qun, <i>et al.</i> (1677)
Spatial Distribution of Stable Isotope from the Lakes in Typical Temperate Glacier Region	SHI Xiao-yi, PU Tao, HE Yuan-qing, <i>et al.</i> (1685)
$\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ and $\delta^{18}\text{O-NO}_3^-$ Tracing of Nitrate Sources in Beijing Urban Rivers	ZHAO Qing-liang, MA Hui-ya, REN Yu-fen, <i>et al.</i> (1692)
Distribution Characteristics and Influencing Factors of Nitrate Pollution in Shallow Groundwater of Liujiang Basin	WANG He, GU Hong-biao, CHI Bao-ming, <i>et al.</i> (1699)
Nitrogen Losses Under the Action of Different Land Use Types of Small Catchment in Three Gorges Region	CHEN Cheng-long, GAO Ming, NI Jiu-pai, <i>et al.</i> (1707)
Interception Effect of Ecological Ditch on Nitrogen Transport in Agricultural Runoff in Subtropical China	WANG Di, LI Hong-fang, LIU Feng, <i>et al.</i> (1717)
Biodegradation Coefficients of Typical Pollutants in the Plain Rivers Network	FENG Shuai, LI Xu-yong, DENG Jian-cai (1724)
Influence of Submerged Plants on Microbial Community Structure in Sediment of Hongze Lake	ZHANG Ding-yu, ZHANG Ting-xi, DONG Dan-ping, <i>et al.</i> (1734)
Community Structure Characteristics of Diatom in Reservoirs Located in the South of Jiangsu Province, China and Its Control Factors	REN Jie, ZHOU Tao, ZHU Guang-wei, <i>et al.</i> (1742)
Contamination and Ecological Risk Assessment of Mercury in Hengshuihu Wetland, Hebei Province	WANG Nai-shan, ZHANG Man-yin, CUI Li-juan, <i>et al.</i> (1754)
Spatial Distribution and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Soils and Sediments in Shunde Waterway, Southern China	CAI Yi-min, CHEN Wei-ping, PENG Chi, <i>et al.</i> (1763)
Pollution Characteristics and Ecological Risk of PBDEs in Water and Sediment from an Electronic Waste Dismantling Area in Taizhou	CHEN Xiang-ping, PENG Bao-qi, LÜ Su-ping, <i>et al.</i> (1771)
Major Ionic Features and Their Controlling Factors in the Upper-Middle Reaches of Wujiang River	HUANG Qi-bo, QIN Xiao-qun, LIU Peng-yu, <i>et al.</i> (1779)
Export of Total Organic Carbon (TOC) from Karst Watershed and Its Influencing Factors; An Example from Xueyudong Underground River System, Chongqing	WANG Qiao-lian, JIANG Yong-jun, CHEN Yu (1788)
Seasonal Variations and Controlling Factors of the Element Contents in Drip Waters Collected from the Baojinggong Cave in Guangdong Province	HUANG Jia-yi, CHEN Lin, CHEN Qiong, <i>et al.</i> (1798)
Tracing the Fecal Contamination Sources Based on <i>Bacteroides</i> 16S rRNA PCR-DGGE in Karst Groundwater; Taking Laolongdong Underground River System, Nanshan, Chongqing as an Example	ZHANG Hong, JIANG Yong-jun, ZHANG Yuan-zhu, <i>et al.</i> (1805)
Sources and Variation Characteristics of Dissolved Lipid Biomarkers in a Typical Karst Underground River	LIANG Zuo-bing, SUN Yu-chuan, LI Jian-hong, <i>et al.</i> (1814)
Formation of Halogenated By-products in Co ²⁺ Activated Peroxymonosulfate Oxidation Process	LIU Kuo, JIN Hao, DONG Wei, <i>et al.</i> (1823)
Aspartic Acid Generated in the Process of Chlorination Disinfection By-product Dichloroacetonitrile	DING Chun-sheng, LI Nai-jun, ZHANG Tao, <i>et al.</i> (1831)
Influencing Factors of Assimilable Organic Carbon (AOC) Formation in Drinking Water During Ozonation Process	DONG Bing-zhi, ZHANG Jia-li, HE Chang (1837)
Wastewater Quantity and Quality Fluctuation Characteristics of Typical Area of Hybrid Sewage System	CHENG Xun, ZHANG Ming-kai, LIU Yan-chen, <i>et al.</i> (1845)
Preparation of HDTMA-modified Zeolite and Its Performance in Nitro-phenol Adsorption from Wastewaters	GUO Jun-yuan, WANG Bin (1852)
Selection of Suitable Microalgal Species for Sorption of Uranium in Radioactive Wastewater Treatment	LI Xin, HU Hong-ying, YU Jun-yi, <i>et al.</i> (1858)
Magnetic Fe ₃ O ₄ Microparticles Conditioning-Pressure Electro-osmotic Dewatering (MPEOD) of Sewage Sludge	QIAN Xu, WANG Yi-li, ZHAO Li (1864)
Stability of Short-cut Nitrification Nitrogen Removal in Digested Piggery Wastewater with an Intermittently Aerated Sequencing Batch Reactor	SONG Xiao-yan, LIU Rui, SHUI Yong, <i>et al.</i> (1873)
Effect of Irrigation Patterns on Soil CO ₂ and N ₂ O Emissions from Winter Wheat Field in North China Plain	GUO Shu-fang, QI Yu-chun, YIN Fei-hu, <i>et al.</i> (1880)
Characteristics of Dissolved CH ₄ and N ₂ O Concentrations of Weihe River in Xinxiang Section in Spring	HOU Cui-cui, ZHANG Fang, LI Ying-chen, <i>et al.</i> (1891)
Effect of Stimulated N Deposition on N ₂ O Emission from a <i>Stipa krylovii</i> Steppe in Inner Mongolia, China	YANG Han-yue, ZHANG Ting, HUANG Yong-mei, <i>et al.</i> (1900)
Response of Soil Respiration and Organic Carbon to Returning of Different Agricultural Straws and Its Mechanism	CAO Zhan-bo, WANG Lei, LI Fan, <i>et al.</i> (1908)
Spatial Variability and Distribution Pattern of Soil Organic Matter in a Mollisol Watershed of China	GAO Feng-jie, MA Quan-lai, HAN Wen-wen, <i>et al.</i> (1915)
Effects of Tillage on Distribution of Heavy Metals and Organic Matter Within Purple Paddy Soil Aggregates	SHI Qiong-bin, ZHAO Xiu-lan, CHANG Tong-ju, <i>et al.</i> (1923)
Distribution Characteristics and Potential Ecological Hazards Assessment of Soil Heavy Metals in Typical Soil Profiles in Southeast Suburb of Beijing	ZHAO Qian, MA Lin, LIU Yi-fei, <i>et al.</i> (1931)
Contamination Assessment and Sources Analysis of Soil Heavy Metals in Opencast Mine of East Junggar Basin in Xinjiang	LIU Wei, YANG Jian-jun, WANG Jun, <i>et al.</i> (1938)
Effect of Nano-TiO ₂ on Release and Speciation Changes of Heavy Metals in Soil	ZHANG Jin-yang, WANG Ding-yong, LIANG Li, <i>et al.</i> (1946)
Reduction Kinetics of Cr(VI) in Chromium Contaminated Soil by Nanoscale Zerovalent Iron-copper Bimetallic	MA Shao-yun, ZHU Fang, SHANG Zhi-feng (1953)
Inhibition of Low Molecular Organic Acids on the Activity of <i>Acidithiobacillus</i> Species and Its Effect on the Removal of Heavy Metals from Contaminated Soil	SONG Yong-wei, WANG He-ru, CAO Yan-xiao, <i>et al.</i> (1960)
Contribution of Particle Size and Surface Coating of Silver Nanoparticles to Its Toxicity in Marine Diatom <i>Skeletonema costatum</i>	HUANG Jun, YI Jun, QIANG Li-yuan, <i>et al.</i> (1968)
Rhizospheric Mechanisms of <i>Hemerocallis middendorffii</i> Trautv. et Mey. Remediating Petroleum-contaminated Soil and Metabonomic Analyses of the Root Systems	WANG Ya-nan, CHENG Li-juan, ZHOU Qi-xing (1978)
Effects of Thermophilic Composting on Antibiotic Resistance Genes (ARGs) of Swine Manure Source	ZHENG Ning-guo, HUANG Nan, WANG Wei-wei, <i>et al.</i> (1986)
Interaction Between Sulfonamide Antibiotics Fates and Chicken Manure Composting	LIN Hui, WANG Jian-mei, SUN Wan-chun, <i>et al.</i> (1993)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2016年5月15日 第37卷 第5期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 5 May 15, 2016

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧 阳 自 远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国 内 定 价: 120.00 元

国外发行代号: M 205

国 内 外 公 开 发 行