

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第10期

Vol.39 No.10

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

我国典型城市环境大气挥发性有机物特征比值	王鸣, 陈文泰, 陆思华, 邵敏 (4393)
2015年北京大气 VOCs 时空分布及反应活性特征	张博韬, 安欣欣, 王琴, 闫贺, 刘保献, 张大伟 (4400)
北京市建筑类涂料 VOCs 排放清单编制技术方法及应用	邓子钰, 高美平, 王庆玮, 聂磊 (4408)
基于实测的建筑类涂料挥发性有机物 (VOCs) 含量水平及组分特征	高美平, 邓子钰, 聂磊, 邵霞, 安小栓 (4414)
2014~2016年京津冀沿山城市空气质量首要污染物特征分析	王晓彦, 王帅, 朱莉莉, 许荣, 李健军 (4422)
北京市大气环境 PM _{2.5} 和 PM ₁ 及其碳质组分季节变化特征及来源分析	樊啸辰, 郎建奎, 程水源, 王晓琦, 吕喆 (4430)
南京春季北郊地区大气 PM _{2.5} 中主要化学组分及碳同位素特征	周一鸣, 韩珣, 王瑾瑾, 陈善莉, 沈潇雨, 章炎麟, 朱彬, 郭照冰 (4439)
热脱附法快速分析大气细颗粒物中非极性有机物	马英歌, 吴霞, 彭梦梦, 冯加良, 郁建珍, 乔利平, 周敏, 朱书慧, 李莉 (4446)
杭州市空气细颗粒物浓度与哮喘就诊人次的关系	王安旭, 陈曦, 宋从波, 应颂敏, 李倩, 吴琳, 毛洪钧 (4457)
基于远程通讯技术的混动公交车 SCR 系统运行及 NO _x 排放特征	杨强, 胡馨遥, 黄成, 陈昀, 刘佳栋, 李莉, 熊忠亮, 唐伟 (4463)
基于环境风险排序的流域优先污染物筛选	李奇峰, 吕永龙, 王佩, 张悦清 (4472)
重庆远郊丰都雪玉洞流域大气无机氮湿沉降变化特征与来源分析	段世辉, 蒋勇军, 张远瞩, 胡刘婵, 曾泽, 吕现福 (4479)
黑龙江凉水国家级自然保护区大气氮沉降特征	宋蕾, 田鹏, 张金波, 金光泽 (4490)
脱甲河水系 N ₂ O 关键产生过程及氮素来源探讨	赵强, 吕成文, 秦晓波, 吴红宝, 万运帆, 廖育林, 鲁艳红, 李健陵 (4497)
生物炭添加对曝气人工湿地脱氮及氧化亚氮释放的影响	王宁, 黄磊, 罗星, 梁岩, 王燕, 陈玉成 (4505)
黑麦草对水体中镉-壬基酚复合污染的生理响应及修复	史广宇, 李中义, 张路, 程媛媛, 陈宏伟, 施维林 (4512)
城市黑臭水体的吸收特性分析	丁潇蕾, 李云梅, 吕恒, 朱利, 温爽, 雷少华 (4519)
岷江上游水体中 DOM 光谱特征的季节变化	范诗雨, 秦纪洪, 刘堰杨, 孙辉 (4530)
防渗型生物滞留中试系统降雨径流水质与三维荧光特征	林修咏, 王书敏, 李强, 谢云成 (4539)
基于 $\delta^{15}\text{N}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 的农业区地下河硝酸盐污染来源	盛婷, 杨平恒, 谢国文, 洪爱花, 曹聪, 谢世友, 时伟宇 (4547)
垃圾填埋场地下水溶解性有机物光谱特征	彭莉, 虞敏达, 何小松, 刘思佳, 张鹏 (4556)
铅负载颗粒沸石改良底泥对水中磷酸盐的吸附行为	梁舒静, 林建伟, 詹艳慧, 汪振华, 李雅灵, 何思琪, 陈海洋, 唐凤霞, 李志强 (4565)
基于紫外光谱分析的腐殖质混凝控制	张北辰, 张晓蕾, 秦兰兰, 黄海鸥 (4576)
AAO 工艺联合臭氧削减污水中微量有机污染物及遗传毒性	李默, 汪震哲, 陈志强, 温沁雪 (4584)
抗生素抗性基因在两级废水处理系统中的分布和去除	李奥林, 陈吕军, 张衍, 代天娇, 田金平, 刘锐, 温东辉 (4593)
磁性壳聚糖凝胶球固定厌氧铁氨氧化菌对废水氨氮去除的影响	刘志文, 陈琛, 彭晓春, 谢武明, 黄镇扬, 韩庆吉 (4601)
海藻糖强化厌氧氨氧化耦合反硝化工艺处理高盐废水的脱氮除碳效能	杨振琳, 于德爽, 李津, 王晓霞, 冯莉 (4612)
低温下 A ² /O-BAF 反硝化除磷脱氮特性	黄剑明, 赵智超, 郑隆举, 邵兆伟, 安芳娇, 陈永志 (4621)
O ₃ -BAC 深度处理石化废水厂尾水的特性及菌群结构分析	张超, 单明皓, 许丹宁, 古明哲, 代蓓蓓, 纪轩, 孙井梅 (4628)
基于 MBR 不同种泥短程硝化启动的微生物群落结构分析	吴鹏, 陈亚, 张婷, 沈耀良, 徐乐中 (4636)
3 种不同工艺切换下活性污泥菌群结构及代谢产物对污泥沉降性能的影响	温丹丹, 袁林江, 陈希, 王洋, 申童童, 刘小博 (4644)
硫酸盐还原菌活性污泥胞外聚合物对环丙沙星的吸附机制	张会群, 贾妍艳, 方荷婷, 阴琳婉, 吕慧 (4653)
包埋活性污泥反硝化性能的快速提高及群落分析	杨宏, 徐富, 孟琛, 苏姗, 袁星 (4661)
中国粮食主产区耕地土壤重金属时空变化与污染源分析	尚二萍, 许尔琪, 张红旗, 黄彩红 (4670)
典型区土壤重金属空间插值方法与污染评价	马宏宏, 余涛, 杨忠芳, 侯青叶, 曾庆良, 王锐 (4684)
秸秆与化肥减量配施对菜地土壤温室气体排放的影响	黄容, 高明, 黎嘉成, 徐国鑫, 吕盛, 罗梅 (4694)
不同肥料施用对设施蔬菜地 NH ₃ 挥发和 N ₂ O 排放的影响	山楠, 韩圣慧, 刘继培, 陈清, 袁玉玲, 王立刚, 李虎 (4705)
施肥类型和水热变化对农田土壤氮素矿化及可溶性有机氮动态变化的影响	田飞飞, 纪鸿飞, 王乐云, 郑西来, 辛佳, 能惠 (4717)
长期不同施肥量对全程氨氧化细菌丰度的影响	王梅, 王智慧, 石孝均, 蒋先军 (4727)
典型绿洲不同土壤类型有机碳含量及其稳定碳同位素分布特征	陈新, 贡璐, 李杨梅, 安申群, 赵晶晶 (4735)
凹凸棒石及其改性材料对土壤镉生物有效性的影响与机制	陈展祥, 陈传胜, 陈卫平, 焦文涛 (4744)
天然有机物活化过硫酸盐降解土壤有机污染物效果	刘琼枝, 廖晓勇, 李尤, 龚雪刚, 曹红英, 罗俊鹏 (4752)
水分管理和外源硒对水稻吸收累积铅的影响	万亚男, 刘哲, Aboubacar Younoussa Camara, 余垚, 王琪, 李花粉 (4759)
窖水中微生物降解污染物的关键细菌	杨浩, 杨晓妮, 张国珍, 王宝山, 张翔, 李健 (4766)
砷氧化菌对砷酸根 As(Ⅲ) 的氧化作用	李泽姣, 崔岩山, 尹乃毅, 蔡晓琳, 都慧丽, 王鹏飞 (4778)
海域高温油田 1 株耐高温耐盐硫酸盐还原菌的筛选与生理特性及活性抑制	杨春璐, 苑美玉, 史荣久, 闫鹏举, 赵峰, 韩斯琴, 张颖 (4783)
1 株耐盐异养硝化-好氧反硝化菌 <i>Zobellella</i> sp. B307 的分离及脱氮特性	白洁, 陈琳, 黄潇, 胡春辉, 赵阳国, 李岍然 (4793)
1 株镰刀菌属 KY123915 的分离及其对 17 β -雌二醇的降解特性	吴蔓莉, 祝长成, 祁燕云, 时艺馨, 徐会宁, 杨瑾如 (4802)
氟喹诺酮对垂直流人工湿地性能及微生物群落的影响	李新慧, 郑权, 李静, 王晓慧, 海热提 (4809)
林可霉素菌渣堆肥微生物群落多样性分析	任省涛, 郭夏丽, 芦阿度, 张倩倩, 郭笑盈, 王岩, 王连忠, 张宝宝 (4817)
DEP 对蚯蚓抗氧化酶系的影响及 DNA 损伤	平令文, 李现旭, 张翠, 宋佩佩, 王金花, 朱鲁生, 王军 (4825)
生活垃圾焚烧灰灰矿物学特性及重金属分布	李建陶, 曾鸣 (4834)
《环境科学》征订启事 (4429) 《环境科学》征稿简则 (4471) 信息 (4529, 4777, 4816)	

抗生素抗性基因在两级废水处理系统中的分布和去除

李奥林^{1,2}, 陈吕军^{1,3}, 张衍⁴, 代天娇², 田金平¹, 刘锐³, 温东辉^{2*}

(1. 清华大学环境学院, 北京 100084; 2. 北京大学环境科学与工程学院, 北京 100871; 3. 浙江清华长三角研究院生态环境研究所, 浙江省水质科学与技术重点实验室, 嘉兴 314006; 4. 江南大学环境与土木工程学院, 无锡 214122)

摘要: 废水处理系统被认为是水环境中抗生素抗性基因(ARGs)的重要污染源. 为探究 ARGs 在废水处理系统中的分布特征和去除情况, 选取某精细化工园区内的制药废水处理系统和园区综合性废水处理系统, 使用 PCR 和实时荧光定量 PCR 对不同处理单元中 ARGs 的存在情况和丰度变化进行研究. 在两个系统进水中分别检出了 10 种和 15 种 ARGs, 其中以四环素类和磺胺类 ARGs 居多, 并首次检出了 *dfrA13* 基因. 进水中 *sul I* 和 *sul II* 基因的丰度最高, 随后依次是 *dfrA13*、*tetQ*、*floR*、*tetO* 和 *tetW* 基因. 制药废水处理系统使总 ARGs 浓度上升了 0.21 个数量级, 出水汇入园区综合性废水处理系统再次处理, 其对综合性废水处理系统进水中总 ARGs 的贡献率为 5.05%. 综合性废水处理系统使总 ARGs 浓度下降了 1.03 个数量级, 残留 ARGs 同最终出水一起直接排海, 对近海环境中微生物群落的潜在影响有待深入研究.

关键词: 抗生素抗性基因(ARGs); 废水处理系统; 制药; 工业园区; 定量 PCR

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)10-4593-08 DOI: 10.13227/j.hjks.201801262

Distribution and Removal of Antibiotic Resistance Genes in Two Sequential Wastewater Treatment Plants

LI Ao-lin^{1,2}, CHEN Lü-jun^{1,3}, ZHANG Yan⁴, DAI Tian-jiao², TIAN Jin-ping¹, LIU Rui³, WEN Dong-hui^{2*}

(1. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. College of Environmental Sciences and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China; 3. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Water Science and Technology, Department of Environmental Technology and Ecology, Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaxing 314006, China; 4. School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Wastewater treatment plants (WWTPs) have been regarded as important point-sources of antibiotic resistance genes (ARGs) in aquatic environments. To investigate the distribution and removal of ARGs in WWTPs, a pharmaceutical wastewater treatment plant (PWWT) and an integrated wastewater treatment plant (IWWTP) in a fine-chemical industrial park were chosen, and polymerase chain reaction (PCR) and real-time PCR techniques were used to determine the occurrence and abundances of ARGs along the treatment processes. Ten and fifteen ARGs were detected initially in the influents of PWWT and IWWTP respectively, in which tetracycline and sulfonamide resistance genes were frequently reported, while *dfrA13* was first reported in WWTPs. The most abundant ARGs in the influents were *sul I* and *sul II*, followed by *dfrA13*, *tetQ*, *floR*, *tetO*, and *tetW*. The total ARGs increased by 0.21 log after the treatment by PWWT, whose effluent contributed 0.87% to the inflow yet 5.05% to the total ARGs of IWWTP. Finally the total ARGs removed by IWWTP was 1.03 log, with the remaining ARGs then transported within the final effluent to the nearby coastal area. The authors concluded that the environmental and other impacts from the spread of ARGs on the microbial communities of the coastal environment needed further study.

Key words: antibiotic resistance genes (ARGs); wastewater treatment plants (WWTPs); pharmacy; industrial park; real-time PCR (qPCR)

由于抗生素的广泛使用乃至滥用, 环境中残留的抗生素对自然环境中的微生物群落产生了选择性压力, 使得抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)在环境中持久存在并广泛传播. 目前 ARGs 已经成为了学术界的研究热点^[1~3], 大量研究表明 ARGs 广泛存在于自然水环境中, 如河流^[4, 5]、湖泊^[6, 7] 乃至海洋^[8, 9]. 废水处理系统(wastewater treatment plants, WWTPs)是污染治理体系中的一个重要环节, 它汇集了人类生活和生产产生的大量生活污水、医疗污水和工业废水等, 被认

为是自然水环境中 ARGs 污染的重要点源^[10], 且促进了 ARGs 的诱导和迁移^[11], 因此, ARGs 在不同类型的废水处理系统中的分布特征得到了广泛关注. 制药废水处理系统(pharmaceutical WWTPs, PWWTs)的进水中往往含有高浓度的抗生素及生产原料和中间体^[12], 对生物处理单元的微生物群

收稿日期: 2018-01-29; 修订日期: 2018-03-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(51678003, 51678334, 51708253)

作者简介: 李奥林(1993~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: aolin_pku@foxmail.com

* 通信作者, E-mail: dhwen@pku.edu.cn

落形成高强度选择性压力,为 ARGs 在污水中的持久存在和传播扩散提供了有利条件,一些研究证实制药废水处理系统的出水中 ARGs 的浓度高于市政污水处理系统的出水^[13, 14]. 制药废水处理后往往排入下水道,与其他污水(主要包括未经处理的生活污水和经过处理的其它工业废水)合并后再进入综合性废水处理系统(integrated WWTPs, IWWTPs),进行统一处理后再排入水环境中. 因此,为了保护自然水生态安全,ARGs 在制药废水和综合性两级废水处理系统中的分布特征和去除效率应给予高度关注.

本研究选取了浙江省某精细化工园区内一家药业集团的制药废水处理系统和接纳该制药废水处理系统出水的综合性废水处理系统,沿两级废水处理工艺流程采集污水和污泥样品,以 8 类共 28 种 ARGs 作为目标基因进行定性检测,并对高频率检出的 7 种 ARGs 和 16S rRNA 进行定量检测,分析 ARGs 在具有上、下游关系的两座废水处理系统中的分布特征和去除效果,探索 ARGs 的去除机制.

1 材料与方法

1.1 两级废水处理系统简介

选取浙江省某精细化工园区的两座废水处理系统为研究对象,它们分别是药业集团的废水处理系统(PWWTP)和园区综合性废水处理系统(IWWTP). 该药业集团是化学合成医药原料和兽药原料的生产商,主导产品为喹诺酮类抗菌药、大环内酯类抗菌药等抗生素类药物,其中盐酸环丙沙星、恩诺沙星、阿奇霉素、克拉霉素、罗红霉素等产品在全球市场上占据优势地位. 该公司产生的废

水是典型的制药废水,有机污染物浓度高(COD 可达 $5\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),水质波动大,可生化性较差. 该公司的废水处理系统采用 A²O 工艺,设计处理能力为 $2\,400\text{ m}^3\cdot\text{d}^{-1}$,实际处理水量约为 $1\,000\text{ m}^3\cdot\text{d}^{-1}$. 制药废水经处理后排入园区下水道,与园区其它工业废水及周边生活污水混合(工业废水和生活污水的比例约为 6:4),再进入园区综合性废水处理系统,该处理系统主体工艺为氧化沟,分厌氧段、缺氧段和好氧段运行,设计处理能力为 $22.5\text{ 万 m}^3\cdot\text{d}^{-1}$,目前实际处理水量约为 $11.5\text{ 万 m}^3\cdot\text{d}^{-1}$,处理后出水排入临近海域.

1.2 样品采集及预处理

本研究的采样时间是 2015 年 4 月,两座废水处理系统的工艺流程示意图和采样点见图 1,采样点具体包括:进水(P-Inf 和 I-Inf)、缺氧池出水(P-Ax 和 I-Ax)、好氧池出水(P-Ox 和 I-Ox)和二沉池出水(P-Eff 和 I-Eff). 厌氧池出水由于取样条件限制未取得. 此外,还采集了二沉池污泥样品(P-Slu 和 I-Slu). 每个采样点采集了 1 L 水样,并存放于预先清洗干净的无菌聚乙烯塑料瓶中,冷藏运输回实验室后置于 4℃ 保存. 污泥样品存放于无菌的塑料袋中,冷藏运输回实验室后置于 -20℃ 保存.

1.3 样品 DNA 提取

水样中 DNA 的收集采用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 混合纤维素酯滤膜(Millipore, 德国)过滤截留方法,污泥样品则称取约 0.2 g 转移到洁净的收集管中,随后二者均使用 PowerSoil DNA Isolation Kit (Mo Bio, 美国)试剂盒进行 DNA 提取. 提取完成后,使用质量浓度为 1% 的琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 2000 (Thermo Fisher, 美国)对 DNA 浓度和纯度进行检测.

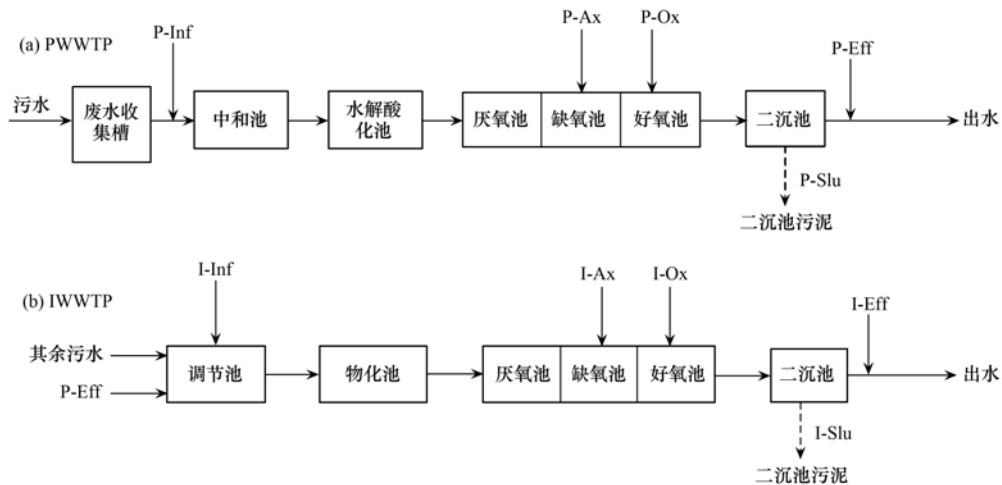


图 1 两座废水处理系统工艺流程和采样点示意

Fig. 1 Treatment processes and sampling sites of the two WWTPs

1.4 普通 PCR 检测

本研究选择了 8 类共 27 种 ARGs 进行定性检测, 具体包括 7 种四环素类 ARGs(*tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetW*), 4 种磺胺类 ARGs(*sul I*、*sul II*、*sul III*、*sulA*), 3 种甲氧苄啶 ARGs(*dfrA1*、*dfrA12*、*dfrA13*), 3 种 β -内酰胺类 ARGs(*ampC*、*blaSHV*、*blaPSE-1*), 2 种大环内酯类 ARGs(*ermA*、*ermB*), 3 种氯霉素类 ARGs(*cat I*、*cat II*、*floR*), 2 种氨基糖苷类 ARGs[*aac(3)-II a*、*aac(3)-IV*] 和 3 种万古霉素 ARGs(*vanA*、*vanB*、*vanC*). 所用的引物

序列和片段大小见表 1. 本实验所使用的引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成. 普通 PCR 采用 25 μ L 体系, 包含 12.5 μ L Premix Ex TaqTM Hot Start Version (TaKaRa, 中国); 各 1 μ L 的上、下游引物; 1 μ L 的 DNA 模板; 9.5 μ L ddH₂O. PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 共 35 个循环; 最后于 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min. PCR 产物置于 4 $^{\circ}$ C 保存, 并使用质量浓度为 1% ~ 2% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测.

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Sequences of primers in PCR reaction

目标基因	正向序列	反向序列	片段长度/bp	文献
<i>tetA</i>	GTGAAACCCACATACCCC	GAAGGCAAGCAGGATGTAG	880	[15]
<i>tetB</i>	CCTTATCATGCCAGTCTTGC	ACTGCCGTTTTTTCGCC	774	[15]
<i>tetC</i>	ACTTGGAGCCACTATCGAC	CATCAATCCATGCCAACCC	881	[15]
<i>tetM</i>	ACAGAAAGCTTATTATATAAC	TGGCGTGTCTATGATGTTTAC	171	[16]
<i>tetO</i>	GATGCGATACAGGCACAGACC	GCCCCAACCTTTTGCTTCACTA	172	[17]
<i>tetQ</i>	AGAATCTGTGTTTGCCAGTG	CGGAGTGTCAATGATATTGCA	169	[17]
<i>tetW</i>	GAGAGCCTGTATATGCCAGC	GGGCGTATCCACAATGTTAAC	168	[17]
<i>sul I</i>	TTCGGCATTTCTGAATCTCAC	ATGATCTAACCCCTCGGTCTC	158	[18]
<i>sul II</i>	CGGCATCGTCAACATAACC	GTGTGCGGATGAAGTCAG	191	[17]
<i>sul III</i>	TCCGTTACGCGAATTGGTCAG	TTCGTTACGCGCTTACACCAGC	143	[18]
<i>sulA</i>	TCTTGAGCAAGCACTCCAGCAG	TCCAGCCTTAGCAACCACATGG	198	[18]
<i>dfrA1</i>	AAGAAATGAGTTATCGGGAATG	GGGTAAAAACTGGCCTAAAAATTG	391	[15]
<i>dfrA12</i>	AAATTCGGGTGAGCAGAAG	CCCGTTGACGGAATGTTAG	429	[19]
<i>dfrA13</i>	GCAGTCGCCCTAAAAACAAAG	GATACGTGTGACAGCGTTGA	294	[19]
<i>ampC</i>	TTCTATCAAMACTGGCARCC	CCYTTTTATGTACCCAYGA	550	[20]
<i>blaSHV</i>	TCGCCTGTGTATTATCTCCC	CGCAGATAAATCACCACAATG	857	[15]
<i>blaPSE-1</i>	TGCTTCGCAACTATGACTAC	AGCCTGTGTTGAGCTAGAT	438	[19]
<i>ermA</i>	AAGCGGTAAACCCCTCTGA	TTCCGAAATCCCTTCTCAAC	190	[21]
<i>ermB</i>	CATTTAACGACGAAACTGGC	GGAACATCTGTGGTATGGCG	405	[22]
<i>cat I</i>	GGCATTTCACTCAGTTG	CCGCCCTGCCACTCATC	585	[22]
<i>cat II</i>	CCTGGAACCGCAGAGAAC	CCTGCTGAAACTTTGCCA	495	[22]
<i>floR</i>	CGCCCTCATTCTCACCTTC	GATCACGGGCCACGCTGTGTC	215	[15]
<i>aac(3)-II a</i>	CGGCCTGCTGAATCAGTTTC	AAAGCCCACGACACCTTCTC	436	[19]
<i>aac(3)-IV</i>	GTGTGCTGCTGTTCCACAGC	AGTTGACCCAGGGCTGTCCG	627	[15]
<i>vanA</i>	TCTGCAATAGAGATAGCCGC	GGAGTAGCTATCCCAGCATT	377	[22]
<i>vanB</i>	GTGACAAACCGAGGCGAGGA	CCGCCATCTCTGCAAAAAA	433	[22]
<i>vanC</i>	GAAAGACAACAGGAAGACCGC	ATCGCATCACAAGCACCAATC	796	[22]
16S rRNA	CCTACGGGAGGCAGCAG	CCTACGGGAGGCAGCAG	178	[23]

1.5 实时荧光定量 PCR 检测

根据普通 PCR 定性检测的结果, 本研究对 *tetO*、*tetQ*、*tetW*、*sul I*、*sul II*、*dfrA13*、*floR* 共 7 种 ARGs 及 16S rRNA 进行定量测定, 所用引物序列同表 1. 采用 SYBR Green I 方法、使用实时荧光定量 PCR 仪(BioRad CFX96 Touch, 美国) 对各目标基因进行定量测定. 定量 PCR 采用 20 μ L 体系, 包含 10.0 μ L SYBR Premix Ex TaqTM (TaKaRa, 中国), 引物各 0.4 μ L, DNA 模板 1 μ L, ddH₂O 8.2 μ L. 反

应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 1 ~ 2 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 40 个循环. 溶解曲线程序为 55 ~ 95 $^{\circ}$ C, 每 0.5 $^{\circ}$ C 读数一次, 期间停留 30 s. 测定时, 将标准质粒以 10 倍梯度稀释, 再根据质粒浓度计算得到标准质粒的拷贝数, 与通过实时荧光定量 PCR 测定得到的 C_t 值对应可做出标准曲线, 标准质粒的构建方法参照张衍等^[24] 的研究. 各目标基因的标准曲线的线性相关系数在 0.988 ~ 0.999 之间. 每个样品均设置 3 个平行样, 以减少

误差.

1.6 数据分析

使用 Excel 2016 和 Past3.0 对数据进行分析, 相关性分析采用 Pearson 相关方法, $P < 0.05$ (95% 置信区间) 被认为是显著相关.

2 结果与讨论

2.1 两座废水处理系统进水中 ARGs 存在情况

在 27 种 ARGs 中, P-Inf 中共检出了 10 种 ARGs, I-Inf 中共检出了 15 种 ARGs, 结果如表 2 所

示. 与 P-Inf 相比, I-Inf 中的 ARGs 种类更为丰富. 在检出的 ARGs 中, 四环素类和磺胺类 ARGs 的检出较为普遍, 甲氧苄啶类和大环内酯类 ARGs 有少量检出, 而 β -内酰胺类 ARGs 和万古霉素类 ARGs 基本没有检出. 检测的 7 种四环素类 ARGs 包含 3 种抗性机制为编码外排泵蛋白的 *tetA*、*tetB*、*tetC* 基因和 4 种编码核糖体保护蛋白的 *tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetW* 基因, 而检出的基因都属于后者, 这说明编码核糖体保护蛋白的四环素类 ARGs 更有可能存在于废水处理系统中.

表 2 两座废水处理系统的进水中 ARGs 检出情况¹⁾

Table 2 Presence of ARGs in the influents of two WWTPs

样品	<i>tetA</i>	<i>tetB</i>	<i>tetC</i>	<i>tetM</i>	<i>tetO</i>	<i>tetQ</i>	<i>tetW</i>	<i>sul I</i>	<i>sul II</i>
P-Inf	-	-	-	-	+	+	+	+	+
I-Inf	-	-	+	+	+	+	+	+	+

样品	<i>sul III</i>	<i>sulA</i>	<i>dfrA1</i>	<i>dfrA12</i>	<i>dfrA13</i>	<i>ampC</i>	<i>blaSHV</i>	<i>blaPSE-1</i>	<i>ermA</i>
P-Inf	-	-	-	-	+	-	-	-	-
I-Inf	+	-	-	+	+	-	-	+	-

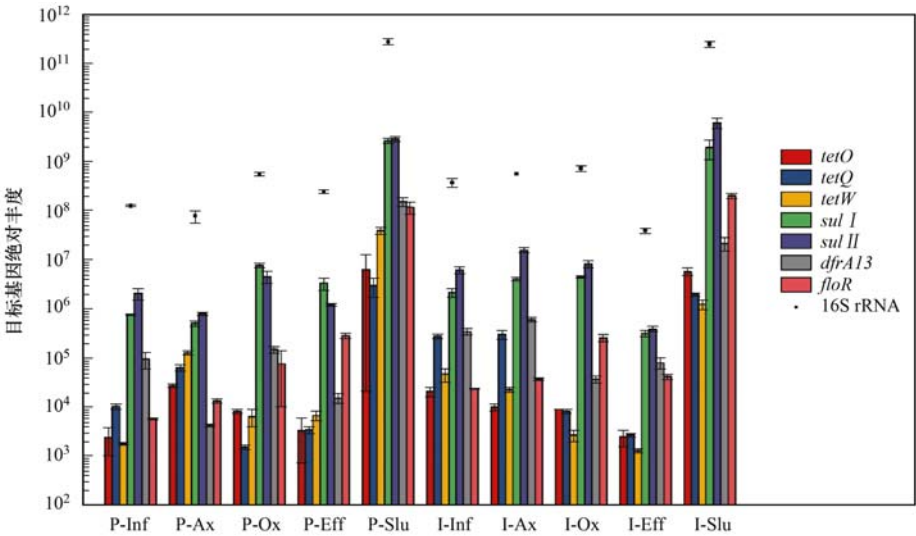
样品	<i>ermB</i>	<i>cat I</i>	<i>cat II</i>	<i>floR</i>	<i>aac(3)-II a</i>	<i>aac(3)-IV</i>	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>vanC</i>
P-Inf	+	+	-	+	+	-	-	-	-
I-Inf	+	+	-	+	+	-	-	-	-

1) “+”表示检出;“-”表示未检出

2.2 两座废水处理系统中 ARGs 的分布特征

两座废水处理系统采集的样品中目标基因的绝对丰度分布情况如图 2 所示. 在所有水样中, 16S rRNA 浓度为 $3.94 \times 10^7 \sim 7.34 \times 10^8$ copies·mL⁻¹, 高出 ARGs 浓度 0.55 ~ 4.58 个数量级; 除 P-Ax 以外, 其余生物单元水样中 16S rRNA 的浓度均高于进水和出水, 说明微生物在生物处理

单元有效地增殖. 在泥样中, 两座废水处理系统的二沉池污泥中 16S rRNA 浓度均在 10¹¹ copies·g⁻¹ 水平, 远高于水样中 16S rRNA 的浓度水平. 有报道指出 6 个 PWWT 水样中 16S rRNA 主要在 10⁵ ~ 10⁸ copies·mL⁻¹ 的浓度水平^[14], 与本研究结果一致. 另有研究显示, 在我国杭州、哈尔滨等地的市政污水处理厂的水样中, 16S rRNA 在 10⁸ ~



图中 P-Slu 和 I-Slu 样点单位为 copies·g⁻¹, 余下样点为 copies·mL⁻¹

图 2 两座废水处理系统中 ARGs 和 16S rRNA 的分布

Fig. 2 Concentrations of ARGs and 16S rRNA in the two WWTPs

10^{12} copies·mL⁻¹ 的浓度水平^[25~28]，明显高于制药废水处理系统水样中的浓度水平。这意味着与市政污水相比，制药废水和工业废水对微生物群落产生了更高的选择性压力，因此两个废水处理系统中微生物浓度下降。相关性分析结果显示(图3)，两座废水处理系统水样中 16S rRNA 浓度与 7 种 ARGs 总浓度显著正相关($P < 0.01$, $r = 0.884$)，并且与 *sul I* ($P < 0.05$, $r = 0.818$) 和 *sul II* ($P < 0.05$, $r = 0.756$) 两种磺胺类抗性基因显著正相关，说明废水水样中 ARGs 浓度受到微生物浓度变化的影响。有研究指出在 PWWT 中，相比于抗生素浓度，微生物浓度是影响 ARGs 的更为重要的因素^[14]。

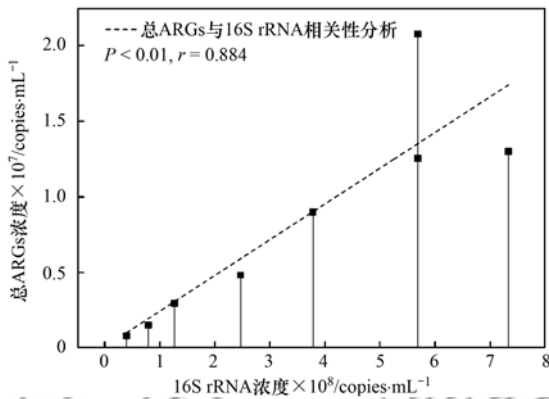


图3 废水处理系统水样中 16S rRNA 与总 ARGs 相关性
Fig. 3 Correlation between 16S rRNA and the total ARGs in water samples from the two WWTPs

在两座废水处理系统的进水中，ARGs 浓度在 1.79×10^3 copies·mL⁻¹ (*tetW*, P-Inf) ~ 6.14×10^3 copies·mL⁻¹ (*sul II*, I-Inf) 之间，其中，*sul I* 和 *sul II* 基因绝对丰度最高，随后依次是 *dfrA13*、*tetQ*、*floR*、

tetO 和 *tetW* 基因。两座系统进水中 ARGs 相对丰度的分布顺序与绝对丰度一致(图4)，仍旧是 *sul I* 和 *sul II* 基因最高，随后依次是 *dfrA13*、*tetQ*、*floR*、*tetO* 和 *tetW* 基因。有研究显示，*sul I* 和 *sul II* 基因以 $10^5 \sim 10^7$ copies·mL⁻¹ 的绝对丰度存在于不同的市政污水处理系统的进水中，浓度水平高于四环素类 ARGs^[25, 29, 30]，在制药废水处理系统中也有同样的情况^[31, 32]，这与本研究的结果一致。四环素类 ARGs 中，*tetO*、*tetQ* 和 *tetW* 基因在废水处理系统中的分布较早地得到了关注，在制药废水处理系统中也有研究^[31, 32]。本研究对这 3 种四环素类 ARGs 的相关性分析显示，*tetO* 基因与 *tetW* 基因显著正相关($P < 0.01$, $r = 0.915$)，而 *tetQ* 基因与 *tetO* ($P = 0.27$, $r = 0.442$)、*tetW* ($P = 0.56$, $r = 0.246$) 基因正相关但不显著，说明这 3 种四环素类 ARGs 在两级废水处理系统中的浓度水平具备相似性，这可能与它们具备相同的抗性机制有关。与四环素类和磺胺类 ARGs 不同，甲氧苄啶抗性基因 *dfrA13* 尚未有文献报道存在于污水处理系统中。在本研究中，*dfrA13* 的绝对丰度水平高于已有研究中检出频率较高的 3 种四环素类 ARGs，这表明仅着眼于四环素类和磺胺类 ARGs 等高频率被检出的 ARGs 类别，对废水处理系统中 ARGs 污染状况的评估将是不全面的，未来建议引入高通量 qPCR、宏基因组等新技术进行更加细致全面的研究。

P-Eff 汇入 I-Inf 中，再由 IWWTP 进行处理。IWWTP 需处理多种来源的生活污水和工业废水，不同废水对 I-Inf 中 ARGs 的贡献不同。每天 P-Eff 和 I-Inf 水样的 ARGs 总量如表 3 所示(ARGs 总量

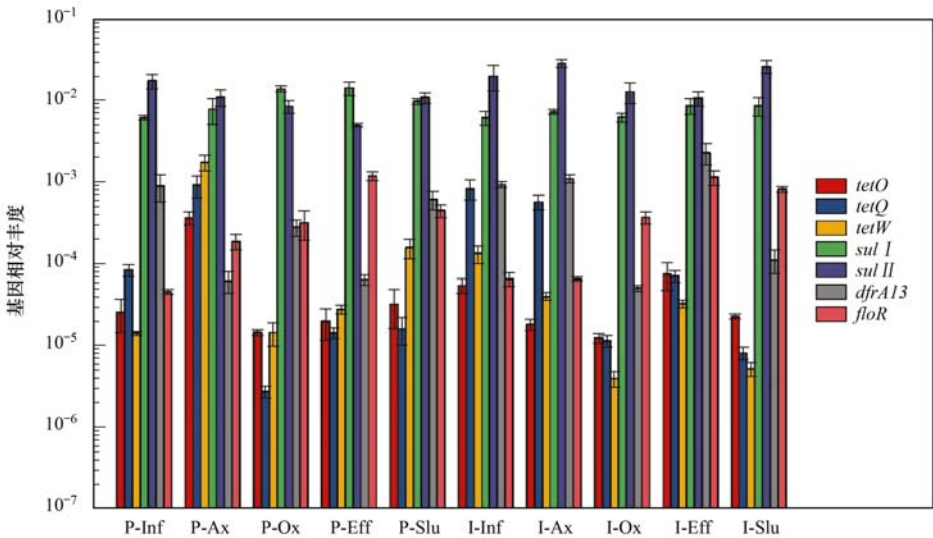


图4 两座废水处理系统中 ARGs 的相对丰度

Fig. 4 Relative abundances of ARGs in the two WWTPs

估算方法：水样中 ARGs 单位体积浓度系统每日处理水量)，可以看到：每天 P-Eff 对 I-Inf 中总 ARGs 的贡献率为 5.05%，而每天 P-Eff 的水量仅占 I-Inf 的 0.87%，说明 PWWT 对 IWWTP 中 ARGs 污染贡献较大。更进一步地，P-Eff 对 I-Inf 中不同 ARGs 的贡献率有较大差异，贡献率最高

的为 *sul I* 基因，达 9.12%，其后依次是 *floR*、*tetW*、*sul II*、*tetO*、*tetQ*，贡献率最低的是 *dfrA13* 基因，仅为 0.17%。通过对水样中 ARGs 物质流的分析，可以厘清 IWWTP 中不同来源废水的 ARGs 贡献率，为未来有针对性地控制 ARGs 污染源提供指导。

表 3 ARGs 在两座废水处理系统中的传输

Table 3 ARGs transportation from the PWWT to IWWTP

项目	<i>tetO</i>	<i>tetQ</i>	<i>tetW</i>	<i>sul I</i>	<i>sul II</i>	<i>dfrA13</i>	<i>floR</i>	总 ARGs
P-Eff	3.30E+12	3.39E+12	6.76E+12	3.31E+15	1.21E+15	1.52E+13	2.84E+14	4.83E+15
I-Inf	2.81E+14	3.06E+14	1.46E+14	3.63E+16	4.49E+16	9.14E+15	4.78E+15	9.58E+16
ARGs 贡献率/%	1.17	1.11	4.62	9.12	2.70	0.17	5.9	5.05

2.3 两座废水处理系统对 ARGs 的作用

在两座废水处理系统中，总 ARGs 浓度在生物处理单元中升高，经过二沉池的处理后，出水中的总 ARGs 浓度下降，其中 ARGs 浓度在 1.27×10^3 copies·mL⁻¹ (*tetW*, P-Eff) ~ 3.31×10^6 copies·mL⁻¹ (*sul I*, P-Eff) 之间。而二沉池污泥中，ARGs 浓度在 1.24×10^6 copies·g⁻¹ (*tetW*, I-Slu) ~ 6.19×10^9 copies·g⁻¹ (*sul II*, I-Slu) 之间，ARGs 浓度高于出水 3~4 个数量级(图 2)，这与文献[25, 33]结果一致。表明生物处理单元有可能促进 ARGs 的扩增和传播；大量的 ARGs 从水中转移到了泥中，表明二沉池的污泥沉降作用可能是去除污水中 ARGs 的主要机制。

废水处理系统对 ARGs 能否有效去除目前尚有争议。在中国北方的两座污水处理厂中，ARGs 被证实得到了明显的扩增和传播[26]，而在意大利的 3 座污水处理厂中，大多数 ARGs 能够被显著地去除[34]。在本研究中，两座废水处理系统对 ARGs 的去除同样表现出了差异(图 5)。总体来看，经 PWWT 处理后 ARGs 浓度上升了 0.21 个数量级，未表现出对 ARGs 的去除效果，经 IWWTP 处理后总 ARGs 浓度下降了 1.03 个数量级，表明 PWWT 对 ARGs 的去除效果相对较弱。进一步分析不同基因，PWWT 仅对 *tetQ*、*sul II* 和 *dfrA13* 基因有去除作用，分别去除了 0.48、0.23 和 0.79 个数量级；而 IWWTP 对除了 *floR* 外的基因均表现出了去除效果，对 *tetO*、*tetQ*、*tetW*、*sul I*、*sul II*、*dfrA13* 以及 16S rRNA 分别去除了 0.92、2.01、1.56、0.83、1.20、0.64 及 0.98 个数量级。IWWTP 对四环素类 ARGs 表现出较好的去除效果，这与浙江省[27]、哈尔滨市[25]、江苏省[30]等地的市政污水处理厂中的情况类似。在 3 种四环素类 ARGs 中，PWWT 和

IWWTP 对 *tetQ* 的去除效果最好，这可能与 *tetQ* 基因在水环境中的迁移机制有关。有研究表明在这 3 种四环素类 ARGs 中，*tetQ* 的迁移率最高[35]，推测其能够快速地迁移到活性污泥中，并随着污泥沉降作用离开水体而得到去除。相比较之下，磺胺类 ARGs 较难被废水处理系统去除，推测可能与这两种基因均位于高效的水平转移元件上有关[36]。经 PWWT 和 IWWTP 处理后，氯霉素类抗性基因 *floR* 的浓度分别上升了 1.70 和 0.25 个数量级，由图 2 可以看出，相较于进水，*floR* 基因浓度在好氧池出水中分别上升了 1.12 和 1.05 个数量级，显示其能够在好氧环境中广泛地扩增和传播，因此，*floR* 基因在废水处理系统中的分布值得重点关注。有研究关注了浙江省四座市政污水处理系统对 ARGs 的去除情况，发现其对 *tetO*、*tetQ*、*tetW* 基因去除了 2.0~3.5 个数量级，对 *sul I*、*sul II* 去除了 1~2.5 个数量级[27]，去除效果优于本研究中的两座废水处理系统，这意味着与市政污水处理系统相比，如何去除制药废水处理系统中的 ARGs 需要更多的关注。在作者团队后期对该药业集团废水处理系统的调研中，分别在系统进水、水解酸化池出水 and 好氧池出水中检出了浓度为 5.06、4.88 和 3.23 mg·L⁻¹ 的盐酸环丙沙星[37]，表明废水处理系统中存在高浓度的抗生素，对微生物群落造成较大的抗生素选择压力，很可能导致系统中出现高丰度的 ARGs，并使得系统中的 ARGs 较难被去除。

本研究中的制药废水经 PWWT 和 IWWTP 两级处理后，最终出水(I-Eff)将排入临近海域，可能对受纳水体的微生物群落产生影响，引起抗生素抗性的蔓延和传播，进而对人类健康产生潜在风险。此外，高浓度的 ARGs 进入二沉池污泥中，可能通过污泥处理和处置过程而在土壤环境中引起 ARGs

的蔓延和传播。废水处理系统中常见的 A²O、氧化沟等工艺是为去除废水中的常规污染物而设计, 对 ARGs 没有良好的去除效果在情理之中。为减少经废水处理系统排放至自然环境的 ARGs 的总量, 在保证常规污染物去除效率的基础上, 强化 ARGs 的高效去除, 将是未来废水处理技术发展需要应对的挑战。

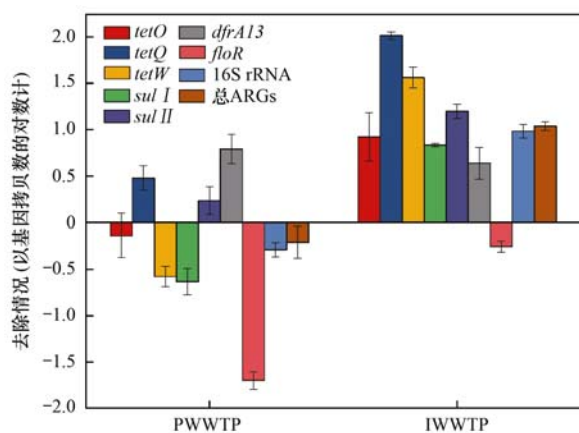


图5 两座废水处理系统对 ARGs 和 16S rRNA 的去除

Fig. 5 Removal of ARGs and 16S rRNA by the two WWTPs

3 结论

(1) 在浙江省某精细化工园区的两座废水处理系统进水中, 分别检出了 10 种和 15 种 ARGs, 其中高频检出的是四环素类和磺胺类 ARGs; 磺胺类 ARGs 的绝对丰度最高, 为 $10^5 \sim 10^6 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$, 随后浓度由高到低依次为 *dfrA13*、*tetQ*、*floR*、*tetO* 和 *tetW* 基因; 首次检出 *dfrA13* 抗性基因, 且其绝对丰度高于四环素类 ARGs。

(2) 两座废水处理系统的水样中 16S rRNA 浓度低于市政污水处理系统的浓度水平, 并与 7 种 ARGs 的总浓度、*sul I*、*sul II* 基因浓度显著正相关。

(3) 制药废水处理系统出水仅占园区综合性废水处理系统总水量的 0.87%, 而总 ARGs 的贡献率为 5.05%, 传播输出最高的 3 种 ARGs 为 *sul I*、*floR* 和 *tetW* 基因。

(4) 制药废水处理系统使废水中总 ARGs 浓度上升 0.21 个数量级, 综合性废水处理系统使废水中总 ARGs 浓度下降 1.03 个数量级; 最终出水直接排海, 可能对近海微生物群落产生影响, 应进一步评估 ARGs 通过废水处理系统进入环境的浓度水平和健康效应。

参考文献:

[1] Ferri M, Ranucci E, Romagnoli P, et al. Antimicrobial resistance: a global emerging threat to public health systems[J].

Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57(13): 2857-2876.

[2] Pruden A, Pei R T, Storteboom H, et al. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado [J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(23): 7445-7450.

[3] 黄福义, 李虎, 安新丽, 等. 城市生活污水和生活垃圾渗滤液抗生素抗性基因污染的比较研究[J]. 环境科学, 2016, 37(10): 3949-3954.

Huang F Y, Li H, An X L, et al. Comparative investigation of antibiotic resistance genes between wastewater and landfill leachate[J]. Environmental Science, 2016, 37(10): 3949-3954.

[4] Jiang L, Hu X L, Xu T, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes and their relationship with antibiotics in the Huangpu River and the drinking water sources, Shanghai, China[J]. Science of the Total Environment, 2013, 458-460: 267-272.

[5] Ouyang W Y, Huang F Y, Zhao Y, et al. Increased levels of antibiotic resistance in urban stream of Jiulongjiang River, China [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(13): 5697-5707.

[6] Czekalski N, Sigdel R, Birtel J, et al. Does human activity impact the natural antibiotic resistance background? Abundance of antibiotic resistance genes in 21 Swiss lakes[J]. Environment International, 2015, 81: 45-55.

[7] Yang Y Y, Cao X H, Lin H, et al. Antibiotics and antibiotic resistance genes in sediment of Honghu Lake and East Dongting Lake, China[J]. Microbial Ecology, 2016, 72(4): 791-801.

[8] Na G S, Fang X D, Cai Y Q, et al. Occurrence, distribution, and bioaccumulation of antibiotics in coastal environment of Dalian, China[J]. Marine Pollution Bulletin, 2013, 69(1-2): 233-237.

[9] Niu Z G, Zhang K, Zhang Y. Occurrence and distribution of antibiotic resistance genes in the coastal area of the Bohai Bay, China[J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 107(1): 245-250.

[10] Czekalski N, Díez E G, Burgmann H. Wastewater as a point source of antibiotic-resistance genes in the sediment of a freshwater lake[J]. The ISME Journal, 2014, 8(7): 1381-1390.

[11] Rizzo L, Manaia C, Merlin C, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review [J]. Science of the Total Environment, 2013, 447: 345-360.

[12] Aydin S, Ince B, Ince O. Development of antibiotic resistance genes in microbial communities during long-term operation of anaerobic reactors in the treatment of pharmaceutical wastewater [J]. Water Research, 2015, 83: 337-344.

[13] 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.

[14] Guo X Y, Yan Z, Zhang Y, et al. Behavior of antibiotic resistance genes under extremely high-level antibiotic selection pressures in pharmaceutical wastewater treatment plants [J]. Science of the Total Environment, 2018, 612: 119-128.

[15] Maynard C, Fairbrother J M, Bekal S, et al. Antimicrobial

- resistance genes in enterotoxigenic *Escherichia coli* O149: K91 isolates obtained over a 23-year period from pigs [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, **47**(10): 3214-3221.
- [16] Aminov R I, Garrigues-Jeanjean N, Mackie R I. Molecular ecology of tetracycline resistance: development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(1): 22-32.
- [17] Luo Y, Mao D Q, Rysz M, *et al.* Trends in antibiotic resistance genes occurrence in the Haihe River, China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, **44**(19): 7220-7225.
- [18] 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.
- [19] Chen S, Zhao S H, White D G, *et al.* Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from retail meats [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**(1): 1-7.
- [20] Schwartz T, Kohnen W, Jansen B, *et al.* Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, **43**(3): 325-335.
- [21] 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.
- [22] Stoll C, Sidhu J P S, Tiehm A, *et al.* Prevalence of clinically relevant antibiotic resistance genes in surface water samples collected from Germany and Australia [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(17): 9716-9726.
- [23] Zhang Y, Chen L J, Sun R H, *et al.* Effect of wastewater disposal on the bacterial and archaeal community of sea sediment in an industrial area in China [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, **88**(2): 320-332.
- [24] 张衍, 陈吕军, 谢辉, 等. 两座污水处理系统中细胞态和游离态抗生素抗性基因的丰度特征 [J]. *环境科学*, 2017, **38**(9): 3823-3830.
- Zhang Y, Chen L J, Xie H, *et al.* Abundance of cell-associated and cell-free antibiotic resistance genes in two wastewater treatment plants [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(9): 3823-3830.
- [25] Wen Q X, Yang L, Duan R, *et al.* Monitoring and evaluation of antibiotic resistance genes in four municipal wastewater treatment plants in Harbin, Northeast China [J]. *Environmental Pollution*, 2016, **212**: 34-40.
- [26] Mao D Q, Yu S, Rysz M, *et al.* Prevalence and proliferation of antibiotic resistance genes in two municipal wastewater treatment plants [J]. *Water Research*, 2015, **85**: 458-466.
- [27] Chen H, Zhang M M. Occurrence and removal of antibiotic resistance genes in municipal wastewater and rural domestic sewage treatment systems in eastern China [J]. *Environment International*, 2013, **55**: 9-14.
- [28] Chen H, Zhang M M. Effects of advanced treatment systems on the removal of antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants from Hangzhou, China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **47**(15): 8157-8163.
- [29] Rodríguez-Mozaz S, Chamorro S, Martí E, *et al.* Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river [J]. *Water Research*, 2015, **69**: 234-242.
- [30] Du J, Ren H Q, Geng J J, *et al.* Occurrence and abundance of tetracycline, sulfonamide resistance genes, and class 1 integron in five wastewater treatment plants [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014, **21**(12): 7276-7284.
- [31] Zhai W C, Yang F X, Mao D Q, *et al.* Fate and removal of various antibiotic resistance genes in typical pharmaceutical wastewater treatment systems [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, **23**(12): 12030-12038.
- [32] Wang J L, Mao D Q, Mu Q H, *et al.* Fate and proliferation of typical antibiotic resistance genes in five full-scale pharmaceutical wastewater treatment plants [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, **526**: 366-373.
- [33] Lee J, Jeon J H, Shin J, *et al.* Quantitative and qualitative changes in antibiotic resistance genes after passing through treatment processes in municipal wastewater treatment plants [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **605-606**: 906-914.
- [34] Cesare A D, Eckert E M, D'Urso S, *et al.* Co-occurrence of integrase 1, antibiotic and heavy metal resistance genes in municipal wastewater treatment plants [J]. *Water Research*, 2016, **94**: 208-214.
- [35] Engemann C A, Keen P L, Knapp C W, *et al.* Fate of tetracycline resistance genes in aquatic systems: migration from the water column to peripheral biofilms [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**(14): 5131-5136.
- [36] Skold O. Resistance to trimethoprim and sulfonamides [J]. *Veterinary Research*, 2001, **32**(3-4): 261-273.
- [37] Xie Y W, Chen L J, Liu R. AOX contamination status and genotoxicity of AOX-bearing pharmaceutical wastewater [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2017, **52**: 170-177.

CONTENTS

Ratios of Volatile Organic Compounds in Ambient Air of Various Cities of China	WANG Ming, CHEN Wen-tai, LU Si-hua, <i>et al.</i> (4393)
Temporal Variation, Spatial Distribution, and Reactivity Characteristics of Air VOCs in Beijing 2015	ZHANG Bo-tao, AN Xin-xin, WANG Qin, <i>et al.</i> (4400)
Research and Application of the Technical Method for the Compilation of VOCs Emission Inventories from Architectural Coatings in Beijing	DENG Zi-yu, GAO Mei-ping, WANG Qing-wei, <i>et al.</i> (4408)
Content Levels and Compositions Characteristics of Volatile Organic Compounds(VOCs) Emission from Architectural Coatings Based on Actual Measurement	GAO Mei-ping, DENG Zi-yu, NIE Lei, <i>et al.</i> (4414)
Characteristics of Primary Pollutants of Air Quality in Cities Along the Taihang Mountains in Beijing-Tianjin-Hebei Region During 2014-2016	WANG Xiao-yan, WANG Shuai, ZHU Li-li, <i>et al.</i> (4422)
Seasonal Variation and Source Analysis for PM _{2.5} , PM ₁ and Their Carbonaceous Components in Beijing	FAN Xiao-chen, LANG Jian-lei, CHENG Shui-yuan, <i>et al.</i> (4430)
Chemical Constitution and Carbon Isotopic Compositions of PM _{2.5} in the Northern Suburb of Nanjing in Spring	ZHOU Yi-ming, HAN Xun, WANG Jin-jin, <i>et al.</i> (4439)
Analysis of Non-polar Organic Compounds in PM _{2.5} by Rapid Thermo-desorption Method Coupled with GC/MS	MA Ying-ge, WU Xia, PENG Meng-meng, <i>et al.</i> (4446)
Association Between Fine Particulate Matter and Asthma Hospital Outpatient Visits in Hangzhou	WANG An-xu, CHEN Xi, SONG Cong-bo, <i>et al.</i> (4457)
Hybrid Electric Bus SCR System Operation and NO _x Emission Characteristics Based on Remote Communication Technology	YANG Qiang, HU Qing-yao, HUANG Cheng, <i>et al.</i> (4463)
Selection of Priority Contaminants in a Watershed Using Risk Ranking Methodology	LI Qi-feng, LÜ Yong-long, WANG Pei, <i>et al.</i> (4472)
Characteristics and Sources of Atmospheric Inorganic Nitrogen Wet Deposition in Xueyu Cave Watershed, Outer Suburbs of Chongqing City	DUAN Shi-hui, JIANG Yong-jun, ZHANG Yuan-zhu, <i>et al.</i> (4479)
Characteristics of Nitrogen Deposition in Heilongjiang Liangshui National Nature Reserve	SONG Lei, TIAN Peng, ZHANG Jin-bo, <i>et al.</i> (4490)
Key Production Process of Nitrous Oxide and Nitrogen Sources in Tuojia River	ZHAO Qiang, LÜ Cheng-wen, QIN Xiao-bo, <i>et al.</i> (4497)
Impact of Biochar on Nitrogen Removal and Nitrous Oxide Emission in Aerated Vertical Flow Constructed Wetland	WANG Ning, HUANG Lei, LUO Xing, <i>et al.</i> (4505)
Physiological Responses of Ryegrass in Cadmium-Nonylphenol Co-contaminated Water and the Phytoremediation Effects	SHI Guang-yu, LI Zhong-yi, ZHANG Lu, <i>et al.</i> (4512)
Analysis of Absorption Characteristics of Urban Black-odor Water	DING Xiao-lei, LI Yun-mei, LÜ Heng, <i>et al.</i> (4519)
Seasonal Variations of DOM Spectral Characteristics in the Surface Water of the Upstream Minjiang River	FAN Shi-yu, QIN Ji-hong, LIU Yan-yang, <i>et al.</i> (4530)
Water Quality and Three-Dimensional Fluorescence of Stormwater Runoff from Lined Bioretention Field Cells	LIN Xiu-yong, WANG Shu-min, LI Qiang, <i>et al.</i> (4539)
Nitrate-Nitrogen Pollution Sources of an Underground River in Karst Agricultural Area Using ¹⁵ N and ¹⁸ O Isotope Technique	SHENG Ting, YANG Ping-heng, XIE Guo-wen, <i>et al.</i> (4547)
Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matter in Landfill Groundwater	PENG Li, YU Min-da, HE Xiao-song, <i>et al.</i> (4556)
Adsorption Behavior of Phosphate from Water on Zirconium-loaded Granular Zeolite-amended Sediment	LIANG Shu-jing, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (4565)
Control of Coagulant Dosing for Humic Substances Based on Ultraviolet Spectrum Analysis	ZHANG Bei-chen, ZHANG Xiao-lei, QIN Lan-lan, <i>et al.</i> (4576)
Reduction of Wastewater Organic Micro-pollutants and Genotoxicity in a Hybrid Process Involving Anaerobic-anoxic-oxic and Ozonation Treatments	LI Mo, WANG Zhen-zhe, CHEN Zhi-qiang, <i>et al.</i> (4584)
Distribution and Removal of Antibiotic Resistance Genes in Two Sequential Wastewater Treatment Plants	LI Ao-lin, CHEN Li-jun, ZHANG Yan, <i>et al.</i> (4593)
Effect of Magnetic Chitosan Hydrogel Beads with Immobilized Feamnox Bacteria on the Removal of Ammonium from Wastewater	LIU Zhi-wen, CHEN Chen, PENG Xiao-chun, <i>et al.</i> (4601)
Enhanced Nitrogen and Carbon Removal Performance of Simultaneous ANAMMOX and Denitrification (SAD) with Trehalose Addition Treating Saline Wastewater	YANG Zhen-lin, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (4612)
Characteristics of Denitrifying Phosphorus Removal by A ² /O-BAF at Low Temperatures	HUANG Jian-ming, ZHAO Zhi-chao, ZHENG Long-ju, <i>et al.</i> (4621)
Characteristics of Advanced Treatment of Treated Petrochemical Water by O ₃ -BAC and Analysis of Consortium Structure	ZHANG Chao, SHAN Ming-hao, XU Dan-ning, <i>et al.</i> (4628)
Microbial Community Characteristics of Shortcut Nitrification Start-up in Different MBR-Inoculated Sludges	WU Peng, CHEN Ya, ZHANG Ting, <i>et al.</i> (4636)
Effect of Microbial Community Structure and Metabolites on Sludge Settling Ability Under Three Different Switching Condition Processes	WEN Dan-dan, YUAN Lin-jiang, CHEN Xi, <i>et al.</i> (4644)
Adsorption Mechanisms of Ciprofloxacin by Extracellular Polymeric Substances of Sulfate-reducing Bacteria Sludge	ZHANG Hui-qun, JIA Yan-yan, FANG He-ting, <i>et al.</i> (4653)
Rapid Improvement of Denitrification Performance of Embedded Activated Sludge and Community Analysis	YANG Hong, XU Fu, MENG Chen, <i>et al.</i> (4661)
Spatial-Temporal Trends and Pollution Source Analysis for Heavy Metal Contamination of Cultivated Soils in Five Major Grain Producing Regions of China	SHANG Er-ping, XU Er-qi, ZHANG Hong-qi, <i>et al.</i> (4670)
Spatial Interpolation Methods and Pollution Assessment of Heavy Metals of Soil in Typical Areas	MA Hong-hong, YU Tao, YANG Zhong-fang, <i>et al.</i> (4684)
Effect of Straw Residues in Combination with Reduced Fertilization Rate on Greenhouse Gas Emissions from a Vegetable Field	HUANG Rong, GAO Ming, LI Jia-cheng, <i>et al.</i> (4694)
Emission of NH ₃ and N ₂ O from Spinach Field Treated with Different Fertilizers	SHAN Nan, HAN Sheng-hui, LIU Ji-pei, <i>et al.</i> (4705)
Effects of Various Combinations of Fertilizer, Soil Moisture, and Temperature on Nitrogen Mineralization and Soluble Organic Nitrogen in Agricultural Soil	TIAN Fei-fei, JI Hong-fei, WANG Le-yun, <i>et al.</i> (4717)
Long-term Fertilization Effects on the Abundance of Complete Ammonia Oxidizing Bacteria(<i>Comammox Nitrospira</i>) in a Neutral Paddy Soil	WANG Mei, WANG Zhi-hui, SHI Xiao-jun, <i>et al.</i> (4727)
Spatial Variation of Soil Organic Carbon and Stable Isotopes in Different Soil Types of a Typical Oasis	CHEN Xin, GONG Lu, LI Yang-mei, <i>et al.</i> (4735)
Effect and Mechanism of Attapulgite and Its Modified Materials on Bioavailability of Cadmium in Soil	CHEN Zhan-xiang, CHEN Chuan-sheng, CHEN Wei-ping, <i>et al.</i> (4744)
Persulfate Oxidation Effect of Soil Organic Pollutants by Natural Organic Matters	LIU Qiong-zhi, LIAO Xiao-yong, LI You, <i>et al.</i> (4752)
Lead Uptake and Accumulation in Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) with Water Management and Selenite Fertilization	WAN Ya-nan, LIU Zhe, Aboubacar Younoussa Camara, <i>et al.</i> (4759)
Key Bacteria for the Microbial Degradation of Pollutants in Cellar Water	YANG Hao, YANG Xiao-ni, ZHANG Guo-zhen, <i>et al.</i> (4766)
Oxidation of Humic Acid Complexing As(III) by As(III)-Oxidizing Bacteria	LI Ze-jiao, CUI Yan-shan, YIN Nai-yi, <i>et al.</i> (4778)
A Thermotolerant and Halotolerant Sulfate-reducing Bacterium in Produced Water from an Offshore High-temperature Oilfield in Bohai Bay, China: Isolation, Phenotypic Characterization, and Inhibition	YANG Chun-lu, YUAN Mei-yu, SHI Rong-jiu, <i>et al.</i> (4783)
Isolation and Nitrogen Removal Characteristics of Salt-tolerant Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacteria <i>Zobellella</i> sp. B307	BAI Jie, CHEN Lin, HUANG Xiao, <i>et al.</i> (4793)
Isolation, Identification and Degradation Characteristics of a 17 β -estradiol Degrading Strain <i>Fusarium</i> sp. KY123915	WU Man-li, ZHU Chang-cheng, QI Yan-yun, <i>et al.</i> (4802)
Effect of Fluoroquinolones on Performance and Microbial Community of a Vertical Flow Constructed Wetland	LI Xin-hui, ZHENG Quan, LI Jing, <i>et al.</i> (4809)
Microbial Community Diversity Analysis During Lincomycin Mycelia Dreg with Manure	REN Sheng-tao, GUO Xia-li, LU A-qian, <i>et al.</i> (4817)
Oxidative Stress and DNA Damage Induced by DEP Exposure in Earthworms	PING Ling-wen, LI Xian-xu, ZHANG Cui, <i>et al.</i> (4825)
Mineralogy Characteristics and Heavy Metal Distribution of MSWI Fly Ash	LI Jian-tao, ZENG Ming (4834)