

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.10

第40卷 第10期

目次

京津冀区域重污染期间 PM _{2.5} 垂直分布及输送·····	肖致美, 徐虹, 李鹏, 唐遵, 陈魁, 杨宁, 郑乃源, 杨文, 邓小文 (4303)
肇庆市一次典型污染天气的污染物来源解析·····	常树诚, 廖程浩, 曾武涛, 杨柳林, 俞绍才, 陈雪, 郑剑平 (4310)
聊城市冬季 PM _{2.5} 中水溶性化合物的昼夜变化特征及来源解析·····	衣雅男, 侯战方, 孟静静, 燕丽, 王心培, 刘晓迪, 伏梦璇, 魏本杰 (4319)
沈阳市国三和国四排放标准不同车型柴油车 PM _{2.5} 和 PM ₁₀ 排放因子及碳组分源谱·····	赵雪艳, 王静, 祝胜男, 卞思思, 张宇, 王歆华, 殷宝辉, 杨文, 白志鹏 (4330)
城市生活垃圾露天焚烧排放 PM _{2.5} 中重金属污染特征及其暴露健康风险·····	程轲, 季婉婉, 郝炜伟, 王艳, 易鹏, 支国瑞, 张佳羽, 张洋, 张诗澜 (4337)
某工业城市大气颗粒物中 PAHs 的粒径分布及人体呼吸系统暴露评估·····	王娟, 郭观林, 秦宁, 侯荣, 杨敏, 康艺瑾, 段小丽 (4345)
南京城市大气氨-铵的高频演化及其气粒转化机制·····	邵生成, 常运华, 曹芳, 林煜棋, 范美益, 谢锋, 洪一航, 章炎麟 (4355)
广州地区大气棕色碳气溶胶吸收特性·····	李铸杰, 谭浩波, 郑军 (4364)
郑州市春季大气挥发性有机物污染特征及源解析·····	张翼翔, 尹沙沙, 袁明浩, 张瑞芹, 张猛, 于世杰, 李一丹 (4372)
基于原料类型及末端治理的典型溶剂使用源 VOCs 排放系数·····	梁小明, 陈来国, 孙西勃, 赵伟, 卢清, 孙家仁, 陈朋龙, 叶代启 (4382)
北京市典型溶剂使用行业 VOCs 成分谱·····	方莉, 刘明文, 陈丹妮, 李国昊, 王迪, 邵霞, 聂磊 (4395)
民用固体燃料源的 IVOCs 排放特征及燃烧温度的影响·····	卢雅静, 冯艳丽, 钱哲, 韩勇, 陈颖军 (4404)
利用地面观测资料和 AIRS 卫星资料评估 MACC 再分析臭氧数据中国地区的适用性·····	王闰芳, 马晓丹, 赵天良, 王红磊, 丁涵, 郑小波 (4412)
镁铝水滑石衍生复合氧化物的 COS 水解性能·····	魏征, 张鑫, 张凤莲, 蒋国霞, 张雨萌, 周化兵, 郝郑平, 解强 (4423)
长江源区大气降水化学特征及离子来源·····	汪少勇, 何晓波, 吴锦奎, 丁永建, 胡召富, 王利辉, 杨贵森 (4431)
连续极端降雨对东江流域水质影响分析·····	车蕊, 林澍, 范中亚, 李文静, 曾凡棠, 毛本健, 石雷, 黄志伟 (4440)
基于湖泊与出入湖水水质关联性研究:以鄱阳湖为例·····	黄冬凌, 倪兆奎, 赵爽, 张波涛, 冯明雷, 陈宏文, 李晓秀, 王圣瑞 (4450)
金泽水库上游来水及库区水质变化时空分布特征·····	刘明坤, 童俊, 胡波, 朱慧峰, 白晓慧 (4461)
太湖不同介质电导率时空变化特征·····	王瑞, 代丹, 张弛, 邓义祥, 何成达, 于涛 (4469)
大型浅水湖泊磷模型参数不确定性及敏感性分析·····	施媛媛, 李一平, 程月, 程一鑫 (4478)
基于 MODIS 影像的洪泽湖水生植被覆盖时空变化特征及影响因素分析·····	李娜, 施坤, 张运林, 龚志军, 查勇, 张毅博 (4487)
草型湖区沉积物营养盐分布与污染评价·····	张杰, 汪院生, 郭西亚, 朱金格, 邓建才 (4497)
太湖草型湖区沉积物中生物易降解物质组成与分布规律·····	祁闯, 方家琪, 张利民, 司泽君, 黄和笑, 王卓森, 李翔, 王磊, 王国祥 (4505)
淀山湖浮游动物群落时空分布特征及其与环境因子的关系·····	杜彩丽, 杨丽, 赵诣, 吴晓敏, 徐慕, 王丽卿, 张玮 (4513)
岩溶区不同土地利用下地下水碳同位素地球化学特征及生态意义·····	任坤, 潘晓东, 曾洁, 焦友军, 彭聪, 梁嘉鹏 (4523)
岩溶地下水化学对城镇化进程的时序响应·····	杨应增, 何守阳, 吴攀, 吴起鑫, 韩志伟, 罗维 (4532)
巴中北部岩溶山区地下水化学特征及演化分析·····	唐金平, 张强, 胡漾, 邵江, 何文君, 张宇 (4543)
δ-MnO ₂ /沸石纳米复合材料同时去除地下水中的铁锰氨氮·····	马文婕, 陈天虎, 陈冬, 刘海波, 程鹏, 张泽鑫, 陶琼, 张玉珠 (4553)
不同香蒲预处理方式对水平潜流人工湿地脱氮的强化效果·····	熊家晴, 卢学斌, 郑于聪, 王晓昌 (4562)
不同控制策略下短程硝化启动及运行工况优化·····	刘安迪, 赵凯亮, 刘宏, 黄利, 倪蓉, 陈永志 (4569)
启动三级 PN/A 颗粒污泥反应器处理高浓度氨氮废水·····	吉晓庆, 齐泽坤, 钱飞跃, 沈耀良, 王建芳 (4578)
聚丙烯环生物滴滤塔去除实际市政污水厂硫化氢性能及微生物群落分析·····	孙事昊, 贾沛沛, 陈凯琦, 彭永臻, 张亮 (4585)
典型工业区土壤多环芳烃污染特征及影响因素·····	冉宗信, 陈靖宇, 王亚婷, 邢智, 魏威, 余江 (4594)
5 种典型有机磷酸酯在水-土壤界面吸附特征及影响因素·····	何明靖, 杨志豪, 魏世强 (4604)
Cu ²⁺ 和 Pb ²⁺ 在 BS-12 两性修饰膨润土上的吸附及其交互作用·····	卜帅宾, 孟昭福, Sambath Yek, 张梦飞, 王腾, 任爽, 张凌恺 (4611)
滇东南峰丛洼地土壤重金属含量、来源及潜在生态风险评价·····	洪涛, 孔祥胜, 岳祥飞 (4620)
贵州罗甸北部喀斯特地区耕地土壤镉含量特征与风险评价·····	唐启琳, 刘秀明, 刘方, 汪花, 王世杰 (4628)
渝西地区镉轻度污染稻田安全利用技术·····	李娜, 贺红周, 冯爱煊, 李伟, 蒋珍茂, 魏世强 (4637)
不同作物对土壤中 Cd 的富集特征及低累积品种筛选·····	陈小华, 沈根祥, 白玉杰, 郭春霞, 钱晓雍, 顾海蓉, 胡双庆, 赵庆节, 王振旗, 付侃 (4647)
小麦和水稻对纳米硒的吸收和转运·····	王雅琦, 朱丽娜, 李奎, 王琪, 王康, 郭岩彬, 李花粉 (4654)
微塑料对小麦生长及生理生化特性的影响·····	廖苑辰, 娜孜依古丽·加合甫别克, 李梅, 王晓琳, 蒋丽娟 (4661)
药渣生物炭基质联合麦饭石对土壤-黑麦草体系的调控与机制·····	肖亮亮, 丁园 (4668)
磺胺甲噁唑污染土壤中微生物群落结构与抗生素抗性基因的分布特征·····	张海丰, 史明明, 孙艳梅, 程首涛, 高浩泽, 王旭明 (4678)
生活垃圾渗滤液处理过程中抗生素抗性基因的变化特征·····	黄福义, 周曙仡聃, 颜一军, 苏建强, 朱永官, 张炯 (4685)
有机肥施用对土壤有机碳组分和团聚体稳定性的影响·····	邵慧芸, 李紫玥, 刘丹, 李熠凡, 鲁璐, 王旭东, 张阿凤, 王彦丽 (4691)
灌水和生物炭施用对水稻土呼吸温度敏感性的影响·····	周鹏, 祁乐, 牛海东, 王子芳, 高明 (4700)
柑橘/大蒜盖套作下土壤 CO ₂ 排放及其效率对秸秆还田量的响应·····	游璟, 倪九派, 黄容, 张洋, 谢德体 (4708)
增温及秸秆施用对豆-麦轮作土壤微生物量碳氮及细菌群落结构的影响·····	张婷婷, 陈书涛, 王君, 王朝辉, 胡正华 (4718)
O ₃ 胁迫下冬小麦总初级生产力的损耗模拟·····	徐静馨, 郑有飞, 王圣, 王立稳, 赵秀勇, 麦博儒 (4725)
2000~2015 年中国地级市化肥使用量的时空变化特征·····	潘晓东, 李品, 冯兆忠, 段昌群 (4733)
《环境科学》征订启事 (4394) 《环境科学》征稿简则 (4449) 信息 (4584, 4593, 4653)	

磺胺甲噁唑污染土壤中微生物群落结构与抗生素抗性基因的分布特征

张海丰¹, 史明明^{1,2}, 孙艳梅^{2*}, 程首涛², 高浩泽², 王旭明²

(1. 东北电力大学化学工程学院, 吉林 132012; 2. 北京市农林科学院北京农业生物技术研究中心, 北京 100097)

摘要: 采用盆栽实验模拟磺胺甲噁唑污染, 通过 Illumina 高通量测序研究了土壤微生物群落组成的变化, 应用普通 PCR 和微滴数字 PCR 技术分析了 6 种抗生素抗性基因的 64 个抗性基因亚型的分布特征。结果表明, 土壤受不同浓度磺胺甲噁唑污染 120 d 后, 土壤真菌的多样性无明显变化 ($P > 0.05$), 但土壤细菌的多样性显著降低了 ($P < 0.05$), 土壤细菌和真菌群落结构均发生显著改变, 且不同浓度磺胺甲噁唑处理土壤的优势细菌与真菌在属水平上存在明显差异。磺胺甲噁唑污染使土壤中抗生素抗性基因的多样性增加, 且能显著提高磺胺抗性基因 *sul1* 的丰度 ($P < 0.05$), 但对磺胺抗性基因 *sul2*、喹诺酮抗性基因 *floR* 与 *cmlA1*、四环素抗性基因 *tet(34)*、*tetG2*、*tetG1*、*tetM* 与 *tetA/P* 的丰度均无显著性影响 ($P > 0.05$)。

关键词: 磺胺甲噁唑; 土壤; 微生物群落; 微滴数字 PCR; 抗生素抗性基因

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)10-4678-07 DOI: 10.13227/j.hjxx.201903155

Microbial Community Structure and the Distribution of Antibiotic Resistance Genes in Soil Contaminated by Sulfamethoxazole

ZHANG Hai-feng¹, SHI Ming-ming^{1,2}, SUN Yan-mei^{2*}, CHENG Shou-tao², GAO Hao-ze², WANG Xu-ming²

(1. School of Chemical Engineering, Northeast Electric Power University, Jilin 132012, China; 2. Beijing Agro-Biotechnology Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: A pot experiment was carried out to simulate soil contaminated by sulfamethoxazole at different concentrations. The community structure of soil microorganisms was investigated using Illumina high-throughput sequencing, and 64 subtypes of antibiotic resistance genes (ARGs) resistant to six classes of antibiotic were also analyzed by PCR and droplet digital PCR. The results showed that soil contamination with sulfamethoxazole had no significant effect on fungal diversity after 120 days ($P > 0.05$) whereas bacterial diversity was significantly reduced ($P < 0.05$). The microbial community structure of the contaminated soil changed significantly, with the dominant bacterial and fungal genera being significantly different from the control soil. Sulfamethoxazole contamination resulted in an increase in ARG diversity, and the abundance of the sulfonamide resistance gene *sul1* increased significantly ($P < 0.05$). However, the abundance of the sulfonamide resistance gene *sul2*, the quinolone resistance genes *floR* and *cmlA1*, and the tetracycline resistance genes *tet(34)*, *tetG2*, *tetG1*, *tetM*, and *tetA/P* did not show significant changes in the contaminated soil ($P > 0.05$).

Key words: sulfamethoxazole; soil; microbial community; droplet digital PCR; antibiotic resistance genes

抗生素作为抗感染药物, 在治疗人畜感染性疾病、促进动物生长方面发挥着重要作用, 但其大量不规范使用引起环境中抗生素与耐药菌富集, 已成为人类健康的潜在威胁。我国每年约使用 16.2 万 t 抗生素, 约占世界用量的一半, 其中 52% 为兽用^[1]。进入动物体内的抗生素有 30% ~ 90% 以原药或初级代谢产物的形式通过排泄物释放到环境中^[2]。据 2013 年统计, 中国每年向环境中释放的抗生素约 5.38 万 t, 兽用中广泛应用的四环素类、磺胺类以及喹诺酮类抗生素占释放总量的 44%^[3]。已有研究表明, 污水处理厂污泥中磺胺甲基嘧啶的含量高达 139 mg·kg⁻¹, 液态猪粪中磺胺类抗生素的质量浓度达 0.05 ~ 38.4 mg·kg⁻¹^[4,5]。

关于磺胺类抗生素的环境行为研究, 主要集中在磺胺类抗生素及相关抗性基因在土壤、水体、动植物中的残留与分布特征分析^[6~10], 各种磺胺类抗

生素在土壤中的吸附迁移分析^[8], 降解菌株筛选^[11,12], 以及对土壤微生物生物量的作用^[13]等。然而不同浓度的磺胺类抗生素污染对土壤微生物多样性与抗生素抗性基因的影响是否存在一定差异, 仍缺乏系统研究。

针对上述问题, 本文选择磺胺类抗生素中应用广泛、且半衰期较长的磺胺甲噁唑为研究对象, 通过蔬菜盆栽实验, 模拟磺胺甲噁唑污染。以此来探讨不同浓度磺胺甲噁唑对土壤微生物群落结构与抗生素抗性基因分布特征的影响, 以期对磺胺类抗生

收稿日期: 2019-03-18; 修订日期: 2019-05-14

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0800205); 北京市农林科学院青年基金项目(QNJJ201829); 北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJCX20170302); 国家自然科学基金青年科学基金项目(31800098); 北京市自然科学基金项目(5192005); 家禽产业技术体系北京市创新团队专项(BAIC04-2019)

作者简介: 张海丰(1974~), 男, 博士, 主要研究方向为环境生物技术, E-mail: zhftju@163.com

* 通信作者, E-mail: sunyanmei2001@126.com

素的生态风险评价和安全管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 盆栽实验设计

于2018年5月中旬至9月在北京市农林科学院玻璃温室内进行盆栽实验。室温20.8~35.4℃,自然光照。用塑料盆(230×180 mm)装2.5 kg过2 mm筛的农田土壤(取自河北滦平县涝洼乡)。实验共设4个处理:空白对照(SC)、低浓度(SL)、中浓度(SM)与高浓度(SH)磺胺甲噁唑处理,土壤中磺胺甲噁唑的含量分别为0、100、200和300 mg·kg⁻¹,每个处理设置3个重复。选取颗粒饱满的生菜种子播种,覆土1 cm,每盆留苗1棵。每2 d浇一次水,土壤含水率约为15%。为保证光照的一致性,每2 d随机调换盆的位置。120 d后结束实验,采集土壤样品,保存于-80℃,用于DNA的提取。

1.2 土壤微生物群落结构分析

取0.25 g土壤,用试剂盒PowerSoil DNA Isolation Kit(Mobio, USA)提取土壤微生物基因组DNA。用Qubit® assays分析DNA浓度。应用Illumina HiSeq平台(诺禾致源生物信息公司,北京)对细菌16S rRNA V3-V4区(引物341F/518R, 341F: 5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'; 518R: 5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')和真菌ITS区(引物ITS1F/ITS2R, ITS1F: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'; ITS2R: 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')进行高通量测序,分析磺胺甲噁唑污染后土壤微生物群落组成的变化。将HiSeq测序得到的原始数据进行拼接和质控,再进行嵌合体过滤,得到可用于后续分析的有效数据。对样品的全部序列与数据库进行比对分析,相似度高于97%的序列聚类为一个OTU。

1.3 土壤中抗生素抗性基因分析

应用普通PCR对不同处理土壤中的喹诺酮类、磺胺类、甲氧苄啶、红霉素、四环素以及多黏菌素这6种抗生素的64个抗性基因亚型进行普通PCR分析,抗生素抗性基因PCR的引物依据文献[14]设定。依据普通PCR结果,对检测阳性且条带清晰的11种抗生素抗性基因亚型,包括磺胺抗性基因(*sul1*、*sul2*)、四环素抗性基因[*tetM*、*tetA/P*、*tet(34)*、*tetG1*、*tetG2*]和喹诺酮抗性基因(*qnrS1*、*qnrS2*、*cmlA1*、*floR*)进行定量检测。抗性基因的定量检测采用微滴数字PCR(Droplet digital PCR, ddPCR)(Bio-Rad, USA)。ddPCR反应条件为:94℃预变性5 min、94℃变性30 s、60℃退火30 s、72℃

延伸1 min, 39个循环, 72℃延伸10 min。以土壤基因组DNA为模板,用无菌水为阴性对照,反应体系包含12.5 μL EverGreen Supermix(Bio-Rad, USA),正向和反向引物各0.25 μL, 1.25 μL DNA模板,最后无菌水补充至25 μL。采用自动微滴生成仪(QX200 droplet generator, Bio-Rad, USA)生成微滴。设置程序进行PCR扩增后,将96孔板置入微滴读取仪MyCycler Thermocycler中读取信号,分析数据,获得绝对定量结果。

1.4 数据分析处理

对Illumina高通量测序的数据进行过滤、质控获得高质量的测序数据,将其与SILVA的SSU rRNA数据库比对进行物种注释分析,得到所有OTU代表序列的微生物系统发育地位。通过Mothur计算香农指数、辛普森指数与覆盖率,以评估测序深度是否足以反映样品中微生物的组成,比较不同处理中微生物多样性的差异。采用R语言vegan软件包绘制非度量型多维尺度(NMDS)图,分析不同处理中总的微生物组成的差异。利用R语言pheatmap软件包绘制热图,对比分析不同处理中优势微生物种属差异。采用R语言TukeyHSD方法对不同处理是否存在差异进行统计分析。应用Origin绘图软件进行柱形图、箱型图与散点图的绘制。

2 结果与讨论

2.1 磺胺甲噁唑对土壤微生物多样性与群落结构的影响

2.1.1 土壤细菌及真菌的多样性指数

各处理土壤样品细菌与真菌测序的覆盖率在99.2%~99.8%,表明测序结果可以反映土壤的微生物组成(表1)。对不同浓度磺胺甲噁唑污染土壤的细菌与真菌多样性进行分析,结果显示空白组细菌的香农指数显著高于3个磺胺甲噁唑处理组($P<0.05$);几个处理中真菌的香农指数处于同等水平;不同处理下细菌与真菌的辛普森指数变化均不大(表1)。以上结果表明,磺胺甲噁唑污染显著降低了土壤细菌的多样性,对真菌的多样性无显著影响。已有研究表明,水稻土受兽用抗生素污染后可引起细菌多样性降低^[15]。以上结果与磺胺药物的功能相关,即磺胺类药物的化学结构与细菌生长所需的氨基苯甲酸很相似,可与氨基苯甲酸竞争二氢叶酸合成酶,妨碍二氢叶酸的合成,最终影响细菌核蛋白的合成,从而抑制细菌的生长繁殖^[16]。

2.1.2 土壤微生物的群落结构

依据不同处理土壤样品的OTUs组成,对样品进行NMDS分析。由细菌NMDS分析可以看出,空

表 1 不同浓度磺胺甲噁唑对土壤细菌及真菌多样性的影响¹⁾

Table 1 Effects of different sulfamethoxazole concentrations on soil bacterial and fungal diversity

处理	细菌			真菌		
	香农指数	辛普森指数	覆盖率/%	香农指数	辛普森指数	覆盖率/%
SCK	9.33 ± 0.1 a	0.994 ± 0.001 a	99.2 ± 0.1 a	6.30 ± 0.12 a	0.96 ± 0.01 a	99.7 ± 0.1 a
SL	8.88 ± 0.1 b	0.989 ± 0.002 a	99.3 ± 0.2 a	6.40 ± 0.05 a	0.96 ± 0.01 a	99.8 ± 0.1 a
SM	8.97 ± 0.1 b	0.991 ± 0.002 a	99.2 ± 0.1 a	6.23 ± 0.06 a	0.82 ± 0.07 a	99.8 ± 0.1 a
SH	9.03 ± 0.1 b	0.992 ± 0.001 a	99.3 ± 0.1 a	5.59 ± 1.10 a	0.96 ± 0.01 a	99.7 ± 0.1 a

1) SCK、SL、SM 与 SH 分别代表土壤中磺胺甲噁唑的初始浓度为 0、100、200 与 300 mg·kg⁻¹，同列中标有不同字母 a、b 表示差异显著 ($P < 0.05$)

白组与施加磺胺甲噁唑的 3 个处理组明显分开，SL、SM 与 SH 处理组分别聚在一起，施加磺胺甲噁唑的浓度越高与空白组的细菌组成差异越大 [图 1 (a)]。真菌 NMDS 分析亦表明，空白组与处理组明

显分开，施加不同浓度磺胺甲噁唑的 3 个处理组真菌群落结构相似 [图 1 (b)]，以上结果表明，土壤受磺胺甲噁唑污染后，可显著改变土壤微生物群落结构。

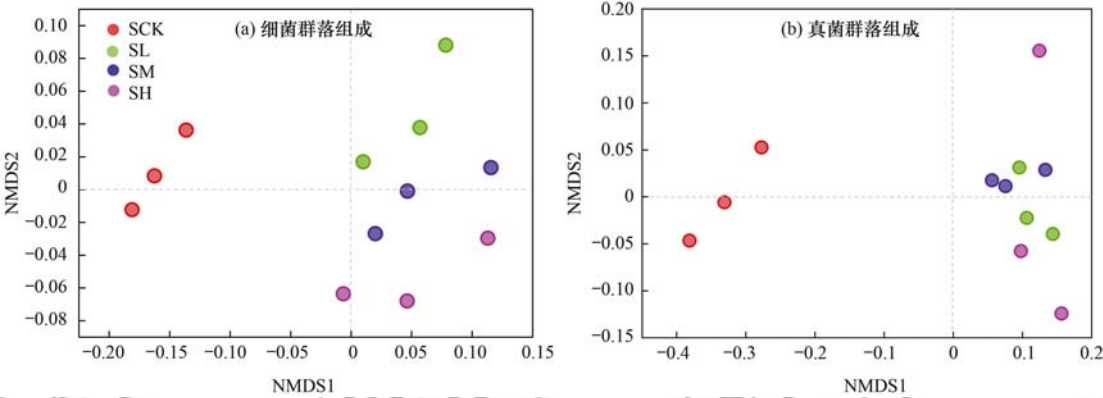


图 1 不同浓度磺胺甲噁唑对土壤微生物群落组成的影响

Fig. 1 Effect of different sulfamethoxazole concentrations on microbial composition

从门的分类水平看，各处理土壤中的优势细菌类群为放线菌门 (Actinobacteria) 占 44.3% ~ 50.6%，变形菌门 (Proteobacteria) 占 14.5% ~ 16.3%，厚壁菌门 (Firmicutes) 占 9.9% ~ 11.5% [图 2 (a)]。土壤中的优势真菌为子囊菌门 (Ascomycota) 占 60% ~ 75%，担子菌门 (Basidiomycota) 占 5% ~ 30%，接合菌门 (Zygomycota) 占 9% ~ 19%。SH 处

理组中担子菌门的相对丰度明显高于 SC 空白对照组，而子囊菌门与结合菌门低于 SC 空白对照组 [图 2 (b)]。以上结果表明，土壤受磺胺甲噁唑污染未改变优势菌门，但改变了其丰度，尤其是高浓度磺胺甲噁唑污染对真菌的组成影响较大。其它研究中也表明土壤受抗生素污染后，其中放线菌门与厚壁菌门的丰度会发生变化^[15]，表明这两大门类中的

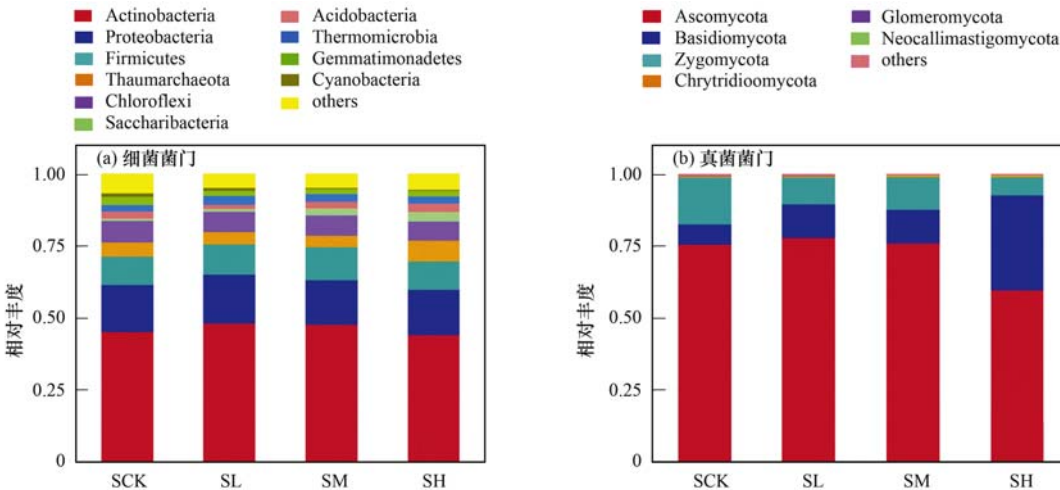


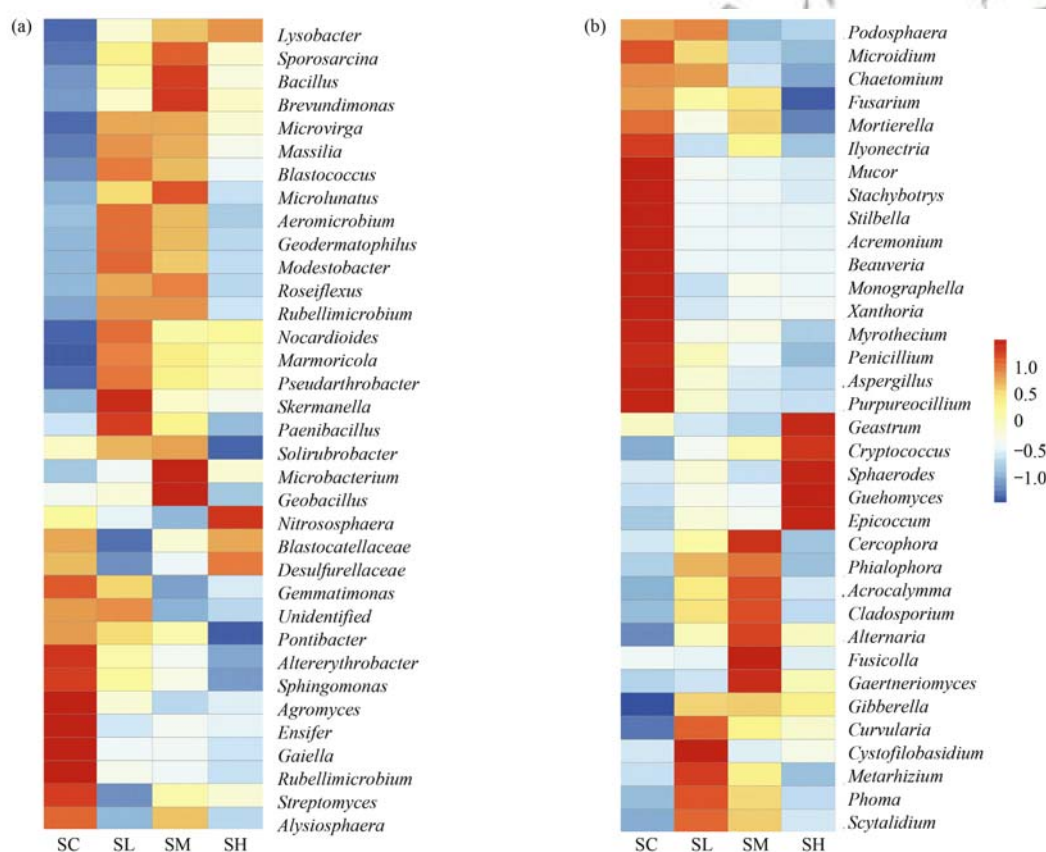
图 2 不同磺胺甲噁唑浓度对土壤中细菌及真菌优势菌门的作用

Fig. 2 Effects of different sulfamethoxazole concentrations on the predominance of bacterial and fungal phyla in soil

微生物对抗生素较为敏感. 磺胺类抗生素主要作用为抑制细菌生长, 土壤真菌的多样性未发生明显的改变, 但土壤中的担子菌门的相对丰度发生显著变化, 这可能是土壤受磺胺类抗生素污染后, 土壤的微生态环境的变化间接影响了真菌的组成.

为进一步分析磺胺甲噁唑对土壤微生物属的影响, 选取丰度排名前 35 的属进行聚类绘制成热图 (图 3), 以分析不同处理中微生物在属水平的差异. 结果表明, 磺胺甲噁唑处理后土壤优势属发生明显变化, 空白组中的优势属与磺胺甲噁唑处理组明显不同, SL 与 SM 处理组细菌优势菌属相似, SH 处理组菌属组成改变较大. 在不施加抗生素的空白组 (SC) 中, *Agromyces*、*Ensifer*、*Gaiella*、*Streptomyces*、*Rubellimicrobium*、*Alysiosphaera*、*Altererythrobacter* 与 *Sphingomona* 占优势. SL 处理组

中, *Skermanella* 与 *Paenibacillus* 为优势属; SM 处理组中, *Microbacterium*、*Geobacillus*、*Bacillus* 与 *Brevundimonas* 的相对丰度较高; SH 处理组中, *Nitrososphaera*、*Blaseocatellaceae* 与 *Desulfurellaceae* 为优势属. 与空白组相比, 施加磺胺甲噁唑 3 个处理组中均富集的微生物为 *Microvirga*、*Massilia*、*Blastococcus* 与 *Lysobacter* [图 3(a)]. 施加不同浓度磺胺甲噁唑处理亦显著改变了土壤优势真菌菌属. SL 处理组中, *Cystofilobasidium*、*Metarhizium*、*Phoma* 与 *Scytalidium* 的相对丰度较高. 然而在 SM 处理组中主要的优势真菌为 *Cercophora*、*Fusicolla* 与 *Gaertneriomyces*. SH 处理组中 *Geastrum*、*Sphaerodes*、*Guehomyces* 与 *Epicoccum* 的相对丰度较高. 由此可见, 磺胺甲噁唑污染会显著改变土壤的优势细菌与真菌属.



(a) 细菌菌属; (b) 真菌菌属

图 3 不同磺胺甲噁唑浓度下土壤中优势微生物属差异比较

Fig. 3 Differences of dominant soil genera contaminated with different concentrations of sulfamethoxazole

对土壤微生物优势属对比分析发现, 3 个磺胺甲噁唑处理组中均富集了一些抗生素抗性菌, 如 *Massilia* 与 *Lysobacter* 等. *Massilia* 隶属于 β -变形菌纲草酸杆菌科, 主要分离于病人、土壤与水环境, 已报道的 *Massilia* 中的很多菌种 (如 *Massilia aurea* 等) 对青霉素、杆菌肽与头孢噻吩具有抗性^[17]. *Lysobacter* 是革兰氏阴性需氧菌, 属于 γ -变形菌纲

的黄单胞菌科, 存在于土壤和淡水栖息地, 前人研究发现 *Lysobacter* 是新型抗生素的潜在来源, 可生产青霉素、头孢菌素类、大环内酰胺类、环肽等抗生素复合物^[18, 19]. 可见 *Massilia* 与 *Lysobacter* 对抗生素具有较广谱的抗性, 关于这两类微生物对磺胺甲噁唑是否具有抗性的相关报道较少, 本研究中 3 个磺胺甲噁唑处理组中均富集了 *Massilia* 与

Lysobacter, 表明它们可能对磺胺甲噁唑也具有抗性. 此外, 笔者发现土壤微生物组成随着磺胺甲噁唑污染浓度的不同而发生明显的改变. SL 中富集了一些抗氧化、抗辐射等抗逆性强的细菌, 如 *Skermamella*、*Geodermatophilus* 与 *Modestobacter* 等^[20,21]. 在 SM 中富集了一些抗生素产生菌与磺胺类抗生素的降解菌如 *Paenibacillus*、*Bacillus*、*Geobacillus*、*Microbacterium* 以及 *Brevundimonas* 等^[22~26]. 但在 SH 中, 上述的抗生素产生菌以及降解抗生素的相对丰度低于 SL 处理, 而是一些氮、硫循环相关的微生物 *Nitrososphaera* 与 *Desulfurella* 相对丰度较高. 分析原因可能是初始的磺胺甲噁唑浓度较高(土壤含量为 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 破坏了土壤中原有的细菌群落结构, 随着土壤中磺胺甲噁唑浓度的降低(120 d 时降到 $66.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 高浓度处理组中的微生物群落可能发生了重建的过程. 尽管磺胺甲噁唑的直接作用对象是细菌, 但在土壤受磺胺甲噁唑污染后, 土壤真菌属组成亦发生明显改变[图 3(b)], 这可能与土壤受磺胺甲噁唑污染后, 土壤的微生态环境发生改变相关. 例如, 土壤细菌与真菌间存在相互作用, 细菌群落组成的改变也许会影响土壤中真菌群落结构^[27]. 此外, 低浓度与中等浓度磺胺甲噁唑污染处理组的种属组成较为相似而与高浓度污染差异较大, 可能与磺胺甲噁唑的污染浓度相关. 因此, 磺胺甲噁唑污染显著改变了土壤的微生物群落组成, 且污染浓度越高变化越明显.

2.2 磺胺甲噁唑对土壤抗生素抗性基因种类与丰度的影响

2.2.1 抗生素抗性基因的定性分析

为明确不同浓度的磺胺甲噁唑污染是否会引起土壤抗生素抗性基因发生改变, 本研究选择常见的 6 种抗生素(磺胺、喹诺酮、甲氧苄啶、红霉素、四环素与多黏菌素)的 64 种抗性基因亚型, 进行普通 PCR 定性分析(表 2). 结果表明, 磺胺抗性基因检出率较多的亚型为 *sul1* 和 *sul2*, 喹诺酮抗性基因检出率较高的亚型为 *qnrS1*、*qnrS2*、*gyrA1*、*cmlA1* 和 *floR*; 红霉素抗性基因检出率较高的亚型为 *ermB*; 四环素抗性基因检出率较高的亚型为 *tetA/P*、*tetM1*、*tetG1*、*tetG2*、*tet(34)* 与 *tetM*; 多黏菌素抗性基因检出率较高的亚型为 *pmrB2* 和 *phoQ*. 与空白对照相比, 磺胺甲噁唑污染会增加土壤抗生素抗性基因亚型的种类, 如喹诺酮类的 *gyrA2* 与 *qnrC*; 四环素类的 *tetA1* 与 *tetP1* 可以在施加中等或高浓度磺胺甲噁唑的处理中检测到. 由此可见, 磺胺甲噁唑污染可增加土壤中抗生素抗性基因的多样性.

表 2 不同处理中土壤中抗生素抗性基因的定性分析¹⁾

Table 2 Qualitative analysis of antibiotic resistance genes (ARGs) in soil under the different treatments				
ARG 亚型	SCK	SL	SM	SH
喹诺酮				
<i>qnrS1/qnrS2/gyrA1/cmlA1/floR</i>	+	+	+	+
<i>gyrA2</i>	-	-	-	+
<i>qnrC</i>	-	-	+	+
<i>qnrA1/qnrA2/qnrB1/qnrB2/parC1/parC2</i>	-	-	-	-
<i>gyrB/qnrD/qepA/yidY/cfr</i>	-	-	-	-
磺胺				
<i>sul1/sul2</i>	+	+	+	+
甲氧苄啶				
<i>dhfrA1/dhfrA7/sulA1/sulA2</i>	-	-	-	-
红霉素				
<i>ermB</i>	+	+	+	+
<i>ermA/ermF/ermX/ermC/ermT/mefA</i>	-	-	-	-
四环素				
<i>tetA/P/tetM1/tetG1/tetG2/tet(34)/tetM</i>	+	+	+	+
<i>tetA1</i>	-	-	+	-
<i>tetP1</i>	-	-	-	+
<i>tetA2/tetB1/tetB2/tetB/P/tetC1/tetC2</i>	-	-	-	-
<i>tetK/tetL/tetO1/tetO2/otrA/tetQ/tetS1/tetT2/tetW/tetX/tetY/tetZ/tetD/tetH1</i>	-	-	-	-
多黏菌素				
<i>pmrB2/phoQ</i>	+	+	+	+
<i>pmrA/mgrB/pmrB1</i>	-	-	-	-

1) “+”代表检出,“-”代表未检出

2.2.2 抗生素抗性基因的丰度

土壤中抗生素抗性基因的丰度可以反映土壤中抗生素抗性组的变化, 磺胺甲噁唑的污染尤其是高浓度污染, 可以增加土壤中抗生素抗性基因亚型, 其是否会引起抗生素抗性基因丰度的变化? 为此, 应用 ddPCR 方法深入研究不同处理中抗生素抗性基因的丰度差异. 对抗生素抗性基因定性检测中阳性率较高且电泳检测条带清晰的 11 种抗性基因亚型进行定量分析. 研究结果显示, 磺胺甲噁唑污染会引起土壤中磺胺抗性基因 *sul1* 丰度显著增加($P < 0.05$)、提高 *sul2* 的丰度(图 4 中 *sul2* 列显示 3 个点是因为 SM 与 SH 两点重合); 而喹诺酮抗性基因 *floR*、*cmlA1*、*qnrS1* 与 *qnrS2* 的丰度虽然有增加趋势, 但与对照相比无显著性差异($P > 0.05$). 4 种处理的四环素抗性基因中, *tet(34)* 的丰度最高($9.42 \times 10^5 \sim 1.24 \times 10^6\text{ copies}\cdot\text{g}^{-1}$), 其次分别为 *tetG2*、*tetM*、*tetG1* 与 *tetA/P*(图 5). 与对照土壤相比, 磺胺甲噁唑处理组中上述几种四环素抗性基因亚型均呈现增加趋势(图 5), 但无显著性差异($P > 0.05$). 以上结果表明, 磺胺甲噁唑污染可显著增加土壤中磺胺抗生素抗性基因丰度, 但对喹诺酮与四环素抗性基因的丰度影响不大.

抗生素污染对环境中的抗性基因具有一定的选

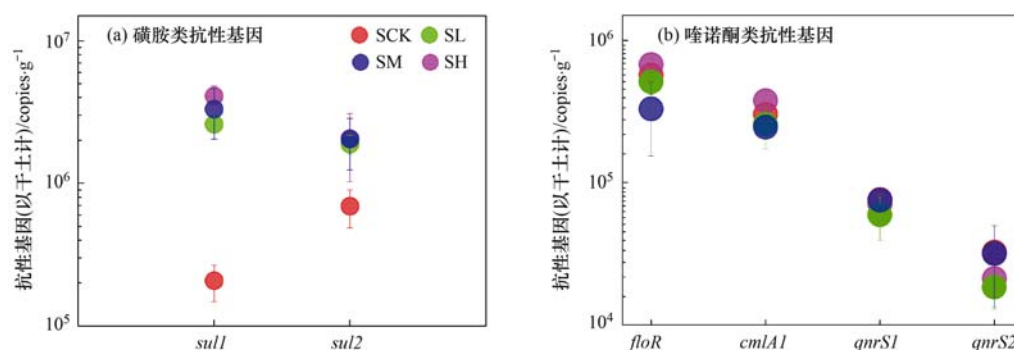


图4 磺胺甲噁唑污染对土壤中磺胺与喹诺酮抗性基因丰度的影响

Fig. 4 Effect of different sulfamethoxazole concentrations on the abundance of sulfonamide and quinolone ARGs in soil

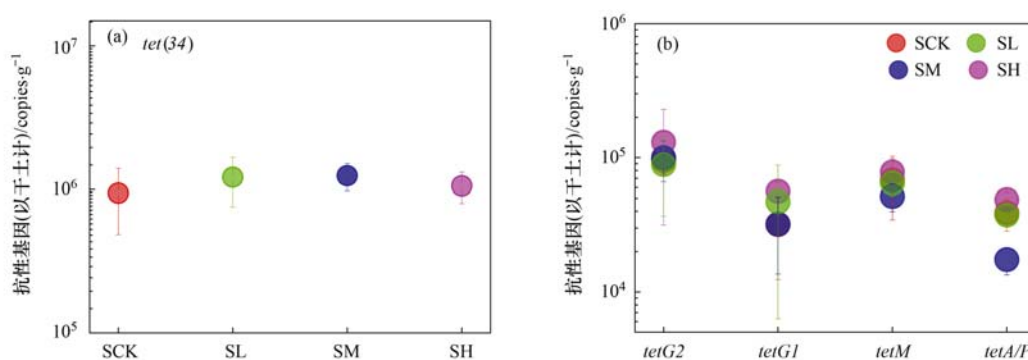


图5 磺胺甲噁唑污染对土壤四环素抗性基因亚型丰度的影响

Fig. 5 Effect of different sulfamethoxazole concentrations on soil tetracycline ARG subtypes

择性压力,土壤中检测到抗生素浓度高的土层,抗性基因的丰度也较高^[28,29].本研究也显示磺胺甲噁唑污染土壤中不仅富集了一些抗生素抗性与降解菌,且增加了土壤中磺胺抗性基因的丰度.已有报道表明,抗生素与其同类或不同类的抗生素抗性基因之间存在显著的正相关性^[30,31].本研究中,磺胺甲噁唑污染土壤中四环素与喹诺酮抗性基因的丰度没有明显增加,可能还与盆栽实验周期较短有关,后续需要关注抗生素污染对土壤抗生素抗性基因的长期影响.

3 结论

(1)温室盆栽实验模拟土壤磺胺甲噁唑污染,经过120d盆栽实验后,土壤中的微生物发生明显变化.磺胺甲噁唑污染可显著降低土壤细菌的多样性,对真菌多样性的影响较小.

(2)高浓度磺胺甲噁唑污染对真菌优势菌门的相对丰度影响较大;高、中、低浓度磺胺甲噁唑污染均显著改变了土壤优势细菌与真菌的种属组成,富集了一些生产抗生素复合物的菌属.此外,低浓度磺胺甲噁唑污染土壤中富集了抗氧化、抗辐射的菌群;中、高浓度磺胺甲噁唑污染土壤中富集了抗生素产生菌与磺胺类抗生素的降解菌群.

(3)磺胺甲噁唑污染会增加土壤中抗生素抗性

基因的多样性,显著增加磺胺抗性基因 *sul1* 的丰度,提高 *sul2* 的丰度;对喹诺酮抗性基因 *floR*、*cmlA1*、*qnrS1*、*qnrS2* 和四环素抗性基因 *tet(34)*、*tetG2*、*tetM*、*tetG1*、*tetA/P* 丰度无显著性影响.

参考文献:

- [1] Jechalke S, Kopmann C, Rosendahl I, et al. Increased abundance and transferability of resistance genes after field application of manure from sulfadiazine-treated pigs[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(5): 1704-1711.
- [2] Zhang X X, Zhang T. Occurrence, abundance, and diversity of tetracycline resistance genes in 15 sewage treatment plants across china and other global locations[J]. Environmental Science and Technology, 2011, 45(7): 2598-2604.
- [3] Yan M T, Xu C, Huang Y M, et al. Tetracyclines, sulfonamides and quinolones and their corresponding resistance genes in the Three Gorges Reservoir, China[J]. Science of the Total Environment, 2018, 631-632: 840-848.
- [4] García-Galín M J, Díaz-Cruz S, Barceló D. Multiresidue trace analysis of sulfonamide antibiotics and their metabolites in soils and sewage sludge by pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography-electrospray-quadrupole linear ion trap mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1275: 32-40.
- [5] Hölzel C S, Harms K S, Küchenhoff H, et al. Phenotypic and genotypic bacterial antimicrobial resistance in liquid pig manure is variously associated with contents of tetracyclines and sulfonamides[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 108(5): 1642-1656.
- [6] Ben Y J, Fu C X, Hu M, et al. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the

- environment: A review [J]. *Environmental Research*, 2019, **169**: 483-493.
- [7] Conde-Cid M, Álvarez-Esmoris C, Paradelo-Núñez R, *et al.* Occurrence of tetracyclines and sulfonamides in manures, agricultural soils and crops from different areas in Galicia (NW Spain) [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, **197**: 491-500.
- [8] 胡亚茹, 姜蕾, 张天阳, 等. 华东地区某饮用水源地中磺胺类抗性基因的分布特征[J]. *环境科学*, 2018, **39**(9): 4222-4228.
Hu Y R, Jiang L, Zhang T Y, *et al.* Distribution characteristics of sulfonamide antibiotic resistance genes in a drinking water source in east China[J]. *Environmental Science*, 2018, **39**(9): 4222-4228.
- [9] 花莉, 李璐, 杨春燕. 制革废水处理过程中磺胺类抗生素和抗性细菌的分布特征[J]. *环境科学*, 2018, **39**(9): 4229-4235.
Hua L, Li L, Yang C Y. Distribution characteristics of sulfonamides and sulfamethoxazole-resistant bacteria in Tannery wastewater treatment processes [J]. *Environmental Science*, 2018, **39**(9): 4229-4235.
- [10] Park J Y, Huwe B. Effect of pH and soil structure on transport of sulfonamide antibiotics in agricultural soils [J]. *Environmental Pollution*, 2016, **213**: 561-570.
- [11] Yang C W, Tsai L L, Chang B V. Fungi extracellular enzyme-containing microcapsules enhance degradation of sulfonamide antibiotics in mangrove sediments [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, **25**(1): 10069-10079.
- [12] Chen J F, Xie S G. Overview of sulfonamide biodegradation and the relevant pathways and microorganisms [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **640-641**: 1465-1477.
- [13] Li X D, Yu H X, Xu S S, *et al.* Uptake of three sulfonamides from contaminated soil by pakchoi cabbage [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2013, **92**: 297-302.
- [14] Su J Q, Wei B, Ou-Yang W Y, *et al.* Antibiotic resistome and its association with bacterial communities during sewage sludge composting [J]. *Environmental Science and Technology*, 2015, **49**(12): 7356-7363.
- [15] Uddin M, Chen J W, Qiao X L, *et al.* Bacterial community variations in paddy soils induced by application of veterinary antibiotics in plant-soil systems [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, **167**: 44-53.
- [16] Wood W B, Austrian R. Studies on the antibacterial action of the sulfonamide drugs [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1942, **75**(4): 383-394.
- [17] Gallego V, Sánchez-Porro C, García M T, *et al.* *Massilia aurea* sp. nov., isolated from drinking water [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, **56**: 2449-2453.
- [18] Li S, Jochum C C, Yu F, *et al.* An antibiotic complex from *Lysobacter enzymogenes* strain C3: antimicrobial activity and role in plant disease control [J]. *Phytopathology*, 2008, **98**(6): 695-701.
- [19] Panthee S, Hamamoto H, Paudel A, *et al.* *Lysobacter* species: a potential source of novel antibiotics [J]. *Archives of Microbiology*, 2016, **198**(9): 839-845.
- [20] Montero-Calasanz M C D, Göker M, Broughton W J, *et al.* *Geodermatophilus tzadiensis* sp. Nov., a UV radiation-resistant bacterium isolated from sand of the saharan desert [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2003, **36**(3): 177-182.
- [21] Shirsalimian M S, Sepahy A A, Amoozegar M A, *et al.* Isolation of two radiation resistant and desiccation tolerant bacteria, *Modestobacter* sp. A2 and *Maritalea* sp. B9, from gandom beryan hill in the lut desert of iran [J]. *Microbiology*, 2018, **87**(3): 363-371.
- [22] Lorentz R H, Artico S, Da Silveira A B, *et al.* Evaluation of antimicrobial activity in *Paenibacillus* spp. strains isolated from natural environment [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2010, **43**(5): 541-547.
- [23] Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions [J]. *Molecular Microbiology*, 2010, **56**(4): 845-857.
- [24] Ren Y H, Strobel G, Sears J, *et al.* *Geobacillus* sp., a thermophilic soil bacterium producing volatile antibiotics [J]. *Microbial Ecology*, 2010, **60**(1): 130-136.
- [25] Martin-Laurent F, Marti R, Waglechner N, *et al.* Draft genome sequence of the sulfonamide antibiotic-degrading *Microbacterium* sp. strain c448 [J]. *Genome Announcements*, 2014, **2**(1): e01113-13.
- [26] Zhang C C, Hsu H J, Li C M. *Brevundimonas vesicularis* bacteremia resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole and ceftazidime in a tertiary hospital in southern Taiwan [J]. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2012, **45**(6): 448-452.
- [27] De Menezes A B, Richardson A E, Thrall P H. Linking fungal-bacterial co-occurrences to soil ecosystem function [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, **37**: 135-141.
- [28] Lin H, Sun W C, Zhang Z L, *et al.* Effects of manure and mineral fertilization strategies on soil antibiotic resistance gene levels and microbial community in a paddy-upland rotation system [J]. *Environmental Pollution*, 2016, **211**: 332-337.
- [29] Tang J, Wang L L, Xi Y F, *et al.* A three-year survey of the antimicrobial resistance of microorganisms at a Chinese hospital [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016, **11**(3): 731-736.
- [30] Zhu S C, Chen H, Li J N. Sources, distribution and potential risks of pharmaceuticals and personal care products in Qingshan Lake basin, Eastern China [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2013, **96**: 154-159.
- [31] Su H C, Pan C G, Ying G G, *et al.* Contamination profiles of antibiotic resistance genes in the sediments at a catchment scale [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, **490**: 708-714.

CONTENTS

Vertical Distribution and Transport of PM _{2.5} During Heavy Pollution Events in the Jing-Jin-Ji Region	XIAO Zhi-mei, XU Hong, LI Peng, <i>et al.</i> (4303)
Source Apportionment of Air Pollutants for a Typical Pollution Event in Zhaoqing	CHANG Shu-cheng, LIAO Cheng-hao, ZENG Wu-tao, <i>et al.</i> (4310)
Diurnal Variations and Source Analysis of Water-soluble Compounds in PM _{2.5} During the Winter in Liaocheng City	YI Ya-nan, HOU Zhan-fang, MENG Jing-jing, <i>et al.</i> (4319)
Emission Characteristics of Exhaust PM and Its Carbonaceous Components from China III to China IV Diesel Vehicles in Shenyang ...	ZHAO Xue-yan, WANG Jing, ZHU Sheng-nan, <i>et al.</i> (4330)
Characteristics of Heavy Metal Pollutants of PM _{2.5} from Open Burning of Municipal Solid Waste (MSW) and the Associated Exposure Health Risks	CHENG Ke, JI Wan-wan, HAO Wei-wei, <i>et al.</i> (4337)
Size Distribution Characteristics and Inhalation Exposure of Particle-Bound PAHs in an Industrial City	WANG Juan, GUO Guan-lin, QIN Ning, <i>et al.</i> (4345)
High-frequency Evolution of Urban Atmospheric Ammonia and Ammonium and Its Gas-to-Particle Conversion Mechanism in Nanjing City	SHAO Sheng-cheng, CHANG Yun-hua, CAO Fang, <i>et al.</i> (4355)
Optical Absorption Properties of Brown Carbon Aerosols in Guangzhou	LI Zhu-jie, TAN Hao-bo, ZHENG Jun (4364)
Characteristics and Source Apportionment of Ambient VOCs in Spring in Zhengzhou	ZHANG Yi-xiang, YIN Sha-sha, YUAN Ming-hao, <i>et al.</i> (4372)
Raw Materials and End Treatment-based Emission Factors for Volatile Organic Compounds (VOCs) from Typical Solvent Use Sources	LIANG Xiao-ming, CHEN Lai-guo, SUN Xi-bo, <i>et al.</i> (4382)
Source Profiles of Volatile Organic Compounds (VOCs) from Typical Solvent-based Industries in Beijing	FANG Li, LIU Wen-wen, CHEN Dan-ni, <i>et al.</i> (4395)
Emission Characteristics of IVOCs from the Combustion of Residential Solid Fuels and the Impact of Burning Temperature	LU Ya-jing, FENG Yan-li, QIAN Zhe, <i>et al.</i> (4404)
Evaluation of MACC Reanalysis Ozone Data over China Using Ground-based and AIRS Satellite Observations	WANG Run-fang, MA Xiao-dan, ZHAO Tian-liang, <i>et al.</i> (4412)
Hydrolysis of COS over MgAl Mixed Oxides Derived from Hydrotalcites	WEI Zheng, ZHANG Xin, ZHANG Feng-lian, <i>et al.</i> (4423)
Chemical Characteristics and Ionic Sources of Precipitation in the Source Region of the Yangtze River	WANG Shao-yong, HE Xiao-bo, WU Jing-kui, <i>et al.</i> (4431)
Effects of Continuous Extreme Rainfall on Water Quality of the Dongjiang River Basin	CHE Rui, LIN Shu, FAN Zhong-ya, <i>et al.</i> (4440)
Correlation Analysis of Water Quality Between Lake Inflow and Outflow: A Case Study of Poyang Lake	HUANG Dong-ling, NI Zhao-kui, ZHAO Shuang, <i>et al.</i> (4450)
Spatio-temporal Distribution Characteristics of the Water Quality in the Jinze Reservoir and Its Inflow	LIU Ming-kun, TONG Jun, HU Bo, <i>et al.</i> (4461)
Temporal and Spatial Variations in the Conductivity in Different Media in Taihu Lake, China	WANG Rui, DAI Dan, ZHANG Chi, <i>et al.</i> (4469)
Uncertainty and Sensitivity Analysis of Phosphorus Model Parameters in Large Shallow Lakes	SHI Yuan-yuan, LI Yi-ping, CHENG Yue, <i>et al.</i> (4478)
Spatio-temporal Variations in Aquatic Vegetation Cover and the Potential Influencing Factors in Lake Hongze Based on MODIS Images	LI Na, SHI Kun, ZHANG Yun-lin, <i>et al.</i> (4487)
Distribution and Pollution Assessment of Nutrients in the Surface Sediments of a Macrophyte-Dominated Zone in Lake Taihu	ZHANG Jie, WANG Yuan-sheng, GUO Xi-ya, <i>et al.</i> (4497)
Composition and Distribution of Biodegradable Compounds in the Macrophyte Dominated Zone of Lake Taihu	QI Chuang, FANG Jia-qi, ZHANG Li-min, <i>et al.</i> (4505)
Temporal and Spatial Variation of Zooplankton Community Structure and Its Relationship with Environmental Factors in Dianshan Lake, Shanghai ...	DU Cai-li, YANG Li, ZHAO Yi, <i>et al.</i> (4513)
Geochemical Characteristics and Ecological Significance of Carbon Isotopes in Groundwater Under the Influence of Different Land Use Types in Karst Areas	REN Kun, PAN Xiao-dong, ZENG Jie, <i>et al.</i> (4523)
Temporal Response of Subterranean Karst Stream Hydrochemistry to Urbanization	YANG Ying-zeng, HE Shou-yang, WU Pan, <i>et al.</i> (4532)
Hydrochemical Characteristics of Karst Groundwater in the Mountains of Northern Bazhong City, China	TANG Jin-ping, ZHANG Qiang, HU Yang, <i>et al.</i> (4543)
Removal of Fe(II), Mn(II), and NH ₄ ⁺ -N by Using δ-MnO ₂ Coated Zeolite	MA Wen-jie, CHEN Tian-hu, CHEN Dong, <i>et al.</i> (4553)
Strengthening Effect of Different Cattail Pretreatment Methods on the Denitrification of Horizontal Subsurface Flow in a Constructed Wetland	XIONG Jia-qing, LU Xue-bin, ZHENG Yu-cong, <i>et al.</i> (4562)
Short-cut Nitrification Start-up and Optimization of Operating Conditions Under Different Control Strategies	LIU An-di, ZHAO Kai-liang, LIU Hong, <i>et al.</i> (4569)
Start-up of a Three-stage PN/A Granular Sludge Reactor for Treating Wastewater with High Concentrations of Ammonia	JI Xiao-qing, QI Ze-kun, QIAN Fei-yue, <i>et al.</i> (4578)
Removal of Hydrogen Sulfide Produced in a Municipal WWTP Using a Biotrickling Filter with Polypropylene Rings as the Packing Material and Microbial Community Analysis	SUN Shi-hao, JIA Ti-pei, CHEN Kai-qi, <i>et al.</i> (4585)
Characteristics and Influencing Factors of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Soils from Typical Industrial Areas of Chengdu	RAN Zong-xin, CHEN Jin-yu, WANG Ya-ting, <i>et al.</i> (4594)
Absorption Characterization and the Identification of Factors Influencing Five Organophosphate Esters in Water-Soil System	HE Ming-jing, YANG Zhi-hao, WEI Shi-qiang (4604)
Adsorption and Interaction of Cu ²⁺ and Pb ²⁺ on BS-12 Amphoteric Modified Bentonites	BU Shuai-bin, MENG Zhao-fu, Sambath Yek, <i>et al.</i> (4611)
Concentration Characteristics, Source Analysis, and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in a Peak-cluster Depression Area, Southeast of Yunnan Province	HONG Tao, KONG Xiang-sheng, YUE Xiang-fei (4620)
Cd Accumulation and Risk Assessment for Arable Soils in the Karst Region of Northern Luodian, Guizhou	TANG Qi-lin, LIU Xiu-ming, LIU Fang, <i>et al.</i> (4628)
Safe Utilization of Paddy Soils Lightly Polluted with Cadmium in Western Chongqing	LI Na, HE Hong-zhou, FENG Ai-xuan, <i>et al.</i> (4637)
Accumulation of Cd in Different Crops and Screening of Low-Cd Accumulation Cultivars	CHEN Xiao-hua, SHEN Gen-xiang, BAI Yu-jie, <i>et al.</i> (4647)
Absorption and Transportation of Selenium Nanoparticles in Wheat and Rice	WANG Ya-qi, ZHU Li-na, LI Kui, <i>et al.</i> (4654)
Effects of Microplastics on the Growth, Physiology, and Biochemical Characteristics of Wheat (<i>Triticum aestivum</i>)	LIAO Yuan-chen, Nazgul·Jahitbek, LI Mei, <i>et al.</i> (4661)
Regulation and Mechanism of a Dregs Biochar Matrix Combined with Maifanite on a Soil-Ryegrass System	XIAO Liang-liang, DING Yuan (4668)
Microbial Community Structure and the Distribution of Antibiotic Resistance Genes in Soil Contaminated by Sulfamethoxazole	ZHANG Hai-feng, SHI Ming-ming, SUN Yan-mei, <i>et al.</i> (4678)
Dynamics of Antibiotic Resistance Genes During the Municipal Solid Waste Leachate Treatment	HUANG Fu-yi, ZHOU Shu-yi-dan, YAN Yi-jun, <i>et al.</i> (4685)
Effects of Manure Application Rates on the Soil Carbon Fractions and Aggregate Stability	SHAO Hui-yun, LI Zi-yue, LIU Dan, <i>et al.</i> (4691)
Effects of Irrigation and Biochar Application on the Respiratory Temperature Sensitivity of Paddy Soil	ZHOU Peng, QI Le, NIU Hai-dong, <i>et al.</i> (4700)
Response of Soil CO ₂ Emissions to Straw-returning in Citrus/Mushroom Intercropping Systems	YOU Jing, NI Jiu-pai, HUANG Rong, <i>et al.</i> (4708)
Effects of Warming and Straw Application on Soil Microbial Biomass Carbon and Nitrogen and Bacterial Community Structure	ZHANG Ting-ting, CHEN Shu-tao, WANG Jun, <i>et al.</i> (4718)
Simulated Ozone Damage on Gross Primary Productivity (GPP) in a Winter Wheat Field	XU Jing-xin, ZHENG You-fei, WANG Sheng, <i>et al.</i> (4725)
Spatial and Temporal Variations in Fertilizer Use Across Prefecture-level Cities in China from 2000 to 2015	PAN Xiao-dong, LI Pin, FENG Zhao-zhong, <i>et al.</i> (4733)