

E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



2020

Vol.41 No.1
第41卷 第1期

目次

近20年来中国PM_{2.5}污染演变的时空过程 时燕, 刘瑞梅, 罗毅, 杨昆 (1)

2007~2016年上海颗粒物浓度特征与气候背景异同分析 郑庆锋, 史军, 谈建国, 段玉森, 林燕芬, 徐卫忠 (14)

夏季大气PM_{2.5}中元素特征及源解析:以华中地区平顶山-随州-武汉为例 刘威杰, 石明明, 程敏, 黎荧, 朱戈昊, 邢新丽, 孔少飞, 张家泉, 祁士华 (23)

呼包鄂地区冬季、夏季PM_{2.5}污染特征 李伊明, 刘佳媛, 史国良, 皇甫延琦, 张昕, 杨奕, 冯银厂 (31)

2019年元旦前后石家庄市重污染过程PM_{2.5}污染特征及来源解析 周静博, 段菁春, 王建国, 杨鹏, 刘煥武, 李梅, 靳伟 (39)

基于模型模拟的成都市PM_{2.5}污染来源解析 许艳玲, 易爱华, 薛文博 (50)

北京市PM_{2.5}中砷污染特征 石绍萱, 杨艳蓉, 秦娟娟, 周雪明, 段菁春, 谭吉华, 陈荣志 (57)

夏秋季宁波市气态元素汞(GEM)污染特征及潜在源区贡献分析 易辉, 林佳梅, 蔡秋亮, 王克强, 陈进生, 佟磊, 李建荣, 肖航 (65)

安阳市大气PM_{2.5}中水溶性离子季节特征及来源解析 孙有昌, 姜楠, 王申博, 段时光, 张瑞芹 (75)

新乡市夏冬季节PM_{2.5}稳定碳同位素特征分析 闫广轩, 宋鑫, 张靖雯, 张朴真, 王力鹏, 张佳羽, 杨争, 曹治国, 樊静, 王跃思, 刘子锐 (82)

基于颗粒物化学组分粒径分布特征的源解析方法构建与评估 梁永莉, 田瑛泽, 刘童, 冯银厂 (90)

超低排放改造后燃煤电厂细颗粒物排放特征 王润芳, 马大卫, 姜少毅, 朱仁斌, 何军, 张本耀 (98)

京津冀地区城市臭氧污染趋势及原因探讨 余益军, 孟晓艳, 王振, 周崑, 于红霞 (106)

安阳市近地面臭氧污染特征及气象影响因素分析 杨健, 尹沙沙, 于世杰, 王丽娟, 张瑞芹, 郝建尤, 苏方成, 齐艳杰 (115)

长江三角洲2017年机动车IVOCs排放清单构建及其对SOA的生成影响 王倩, 黄凌, 王杨君, 殷司佳, 张琪, 易鑫, 李莉 (125)

华东典型城市非道路移动机械排气烟度 鲁君, 胡馨遥, 杨强, 唐伟, 夏阳, 井宝莉, 陈昫, 黄成 (133)

国内外储油库VOCs排放现状与标准分析 胡玮, 任碧琪, 黄玉虎, 秦建平, 卞吉玮, 吴清柱 (139)

四乙基愈创木酚液相·OH氧化SOA产率及特征分析:初始浓度的影响 庄雨, 陈彦彤, 李旭东, 马帅帅, 赵竹子, 叶招莲, 盖鑫磊 (146)

乌鞘岭南、北坡降水稳定同位素特征及水汽来源对比 徐秀婷, 贾文雄, 朱国锋, 马兴刚, 张昱, 袁瑞丰, 张志远, 石阳 (155)

长江源多年冻土区地下水氢氧稳定同位素特征及其影响因素 汪少勇, 何晓波, 丁永建, 常福宣, 吴锦奎, 胡召富, 王利辉, 杨贵森, 邓明珊 (166)

巴尔喀什湖流域水化学和同位素空间分布及环境特征 沈贝贝, 吴敬禄, 吉力力·阿不都外力, A. S. Saparov, Gulnura Isanova (173)

城市湖泊水环境整治对改善水质的影响:以蠡湖近30年水质变化为例 田伟, 杨周生, 邵克强, 潘辉, 胡洋, 白承荣, 姜星宇, 高光, 汤祥明 (183)

典型药物及个人护理品在黄东海海域水体中的检测、分布规律及其风险评估 陈贤, 张彩杰, 杨桂朋, 张婧, 刘梦 (194)

长江南京段水源水中有机磷酸酯的污染特征与风险评估 李栋, 张圣虎, 张芹, 王博, 卜元卿, 赵欣, 李辉, 宋宁慧, 郭瑞昕 (205)

雄安新区-白洋淀冬季冰封期水体溶解性有机物的空间分布、光谱特征及来源解析 周石磊, 孙悦, 张艺冉, 蒋永丰, 尹璐, 黄廷林, 李再兴, 罗晓, 战江, 王函 (213)

白洋淀表层沉积物元素的空间特征、风险评价及来源分析 汪敬忠, 刘卓, 魏浩, 吴玉会, 占水娥, 朱迟, 张益森 (224)

松花江表层沉积物PAEs分布特征及生态风险评估 王欢, 杨永哲, 王海燕, 董伟羊, 闫国凯, 常洋, 李泽文, 赵远哲, 凌宇 (232)

鄱阳湖湖口-长江段沉积物中微塑料与重金属污染物的赋存关系 李文华, 简敏菲, 刘淑丽, 江玉梅, 邓艳彬, 朱琳 (242)

臭氧对生物活性炭中微生物及出水消毒副产物的影响 刘宝明, 王夕希, 张晓夏, 顾艳芳, 李雨平, 阮文权, 缪恒锋, 潘杨 (253)

兰州市西固区儿童饮用水重金属暴露及健康风险精细化评估 陈月芳, 孙善伟, 段小丽, 许锦荣, 王娟, 康艺瑾, 梁为纲, 曹素珍 (262)

镁铁层状双金属氢氧化物对磷酸盐的吸附作用及对内源磷释放的控制效果及机制 吴俊麟, 林建伟, 詹艳慧, 程永前, 柏晓云, 辛慧敏, 常明玥 (273)

一硫代磷酸盐在介质上的吸附特征及机制 廖丹雪, 单慧娟, 彭三曦, 潘敖然, 黄健, 陈辉, 赵超然 (284)

酸碱复合改性海泡石亚结构特征及其对Cd(II)吸附性能 谢厦, 徐应明, 闫翠侠, 罗文文, 孙约兵 (293)

脱氮菌剂在低溶解氧黑臭水体中氮代谢特征 赵志瑞, 刘硕, 李铎, 李海萍, 李方红, 张佳瑶, 白志辉 (304)

宏基因组方法分析医药化工废水厂中抗生素耐药菌及抗性基因 陈红玲, 张兴桃, 王晴, 姚沛琳 (313)

淀粉废水处理系统中活性污泥的微生物群落结构及多样性分析 赵婷婷, 乔凯, 王蕾, 张伟, 竺建荣, 唐一, 胡滨, 王香莲, 杨静, 景在涛 (321)

基于SBR-ABR实现PN-SAD耦合工艺的运行与优化调控 陈重军, 张敏, 姜滢, 郭萌蕾, 谢嘉玮, 谢军祥, 沈耀良 (330)

基于间歇饥饿的SNAD工艺运行 李冬, 刘志诚, 徐贵达, 王玉颖, 张杰 (337)

反硝化-高效部分亚硝化-厌氧氨氧化工艺处理老龄垃圾渗滤液 陈小珍, 汪晓军, Karasuta Chayangkun, 周松伟, 钟中, 陈振国, 陈晓坤 (345)

硝化微颗粒污泥快速培养及其亚硝化功能快速实现 刘文如, 宋家俊, 王建芳, 沈耀良 (353)

高频曝停下曝时间对亚硝化颗粒污泥性能的影响 张杰, 劳会妹, 李冬, 魏子清 (360)

中国东北沈抚地区土壤中PBDEs的残留、来源及风险评估 向鑫鑫, 鲁垠涛, 阮起扬, 赖德, 孙绍斌, 姚宏, 张战胜 (368)

某焦化场地非均质包气带中多环芳烃(PAHs)来源及垂向分布特征 孟祥帅, 吴萌萌, 陈鸿汉, 岳希, 陶抒远 (377)

北京蔬菜地土壤中抗生素抗性基因与可移动元件的分布特征 张汝凤, 宋渊, 高浩泽, 程首涛, 孙艳梅, 王旭明 (385)

长期施肥和耕作下紫色土坡耕地土壤C、N、P和K化学计量特征 杜映妮, 李天阳, 何丙辉, 贺小容, 付适 (394)

亚热带稻田土壤碳氮磷生态化学计量学特征 宋佳龄, 盛浩, 周萍, 段良霞, 周清, 张杨珠 (403)

宛山荡农田土壤氮迁移过程反硝化与厌氧氨氧化 陈志浩, 覃云斌, 丁帮璟, 胡伏优, 陈伟, 李正魁 (412)

秸秆炭还田对滴灌棉田土壤微生物代谢功能及细菌群落组成的影响 王晶, 马丽娟, 刘泽华, 闵伟, 侯振安 (420)

基于PMF模型的九龙江流域农田土壤重金属来源解析 黄华斌, 林承奇, 胡恭任, 于瑞莲, 郝春莉, 陈枫桦 (430)

塔里木盆地东南缘绿洲区土壤砷空间分布及农作物砷富集特征 陈云飞, 周金龙, 曾妍妍, 王松涛, 杜江岩, 孙英, 顾思博 (438)

广西典型碳酸盐岩区农田土壤-作物系统重金属生物有效性及迁移富集特征 马宏宏, 彭敏, 刘飞, 郭飞, 唐世琪, 刘秀金, 周亚龙, 杨柯, 李括, 杨峥, 成杭新 (449)

不同钝化剂对微碱性土壤镉、镍形态及小麦吸收的影响 张静静, 朱爽阁, 朱利楠, 柳海涛, 杨金康, 化党领 (460)

不同钝化剂对鸡粪堆肥重金属钝化效果及其腐熟度指标的影响 栾润宇, 高珊, 徐应明, 纪文凝, 闫翠侠, 孙约兵 (469)

黄土丘陵区退耕草地土壤呼吸及其组分对氮磷添加的响应 周俊杰, 陈志飞, 杨全, 赖帅彬, 王智, 徐炳成 (479)

炉渣与生物炭施加对福州平原水稻田温室气体排放的后续影响 蓝兴福, 王晓彤, 周雅心, 金强, 许旭萍, 王维奇 (489)

《环境科学》征订启事(89) 《环境科学》征稿简则(97) 信息(303, 329, 344)

宏基因组方法分析医药化工废水厂中抗生素耐药菌及抗性基因

陈红玲, 张兴桃, 王晴, 姚沛琳*

(宿州学院食品与生物工程学院, 宿州 234000)

摘要: 废水厂是抗生素耐药菌 (ARB) 和抗生素耐药基因 (ARGs) 的巨大储存地。为调查医药化工废水处理厂中的 ARB 和 ARGs, 采用了宏基因组技术对医药化工废水中的活性污泥进行取样分析。结果显示, 医药化工废水厂微生物组成主要是细菌类, 主要细菌门是 Proteobacteria, 主要属是 *Hyphomicrobium*, 主要种是 *Hyphomicrobium zavarzinii*。共检测到 74 类 ARGs, 最主要的类型是 *saw1866*、*dfiE* 和 *mfd*。网络分析揭示了 ARGs 与微分类单元之间的共存模式, 即 ARGs 与废水厂中属级的微生物分类群高度相关。抗生素特异的外排泵是该微生物群落主要的抗生素耐药机制, 并且外排泵中耐药结化细胞分化家族 (RND) 外排泵占主要部分。该微生物群落最主要的功能通路是代谢相关, 并存在许多与人类疾病相关的基因, 其中主要是细菌感染性疾病。结果表明, 医药化工废水厂蕴藏着丰富的 ARB 和 ARGs, ARGs 的累积会增加潜在环境风险, 需要加强对医药化工废水厂中 ARB 和 ARGs 的监控, 并且 ARB 和 ARGs 的分析研究对于选择深度处理技术来有效去除 ARB 和 ARGs 具有重要的指导意义。

关键词: 医药化工废水处理厂; 抗生素; 宏基因组技术; 抗生素耐药菌 (ARB); 抗生素耐药基因 (ARGs)

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2020)01-0313-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201903179

Metagenomic Analysis of Antibiotic Resistant Bacteria and Resistance Genes in a Pharmaceutical and Chemical Wastewater Treatment Plant

CHEN Hong-ling, ZHANG Xing-tao, WANG Qing, YAO Pei-lin*

(College of Food and Bioengineering, Suzhou University, Suzhou 234000, China)

Abstract: Wastewater treatment plants hold a vast pool of antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARGs). The aim of this study is to analyze the ARB and ARGs in a pharmaceutical and chemical wastewater treatment plant using a metagenomic technique. The results of taxonomic annotation revealed that bacteria were the predominant domain. The most abundant phyla and genus was Proteobacteria and *Hyphomicrobium*, respectively. A total of 74 categories of ARGs were predicted using CARD with the most dominant types being *saw1866*, *dfiE*, and *mfd*. Furthermore, a network analysis was conducted to investigate the co-occurrence patterns between ARGs and microbial taxa. ARGs were found to be highly connected to microbial taxa at the genus level. With respect to the antibiotic resistance mechanisms, antibiotic-specific efflux pumps appeared to be the most common mechanisms. Among these, resistance-nodulation-cell division (RND) was the major type. The most important functional pathway of this microbial community was metabolic correlation. Interestingly, there were many genes related to human diseases, among which bacterial infectious diseases were the main ones. On the one hand, these data further confirmed that pharmaceutical and chemical wastewater treatment plants are rich in ARB and ARGs. The accumulation of ARGs increases the potential environmental risks, and hence it is necessary to strengthen the active monitoring of ARB and ARGs in pharmaceutical and chemical wastewater treatment plants. On the other hand, research on ARB and ARGs offers important information for the selection of deep processing technology to effectively remove ARB and ARGs.

Key words: pharmaceutical and chemical wastewater treatment plants; antibiotic; metagenomic technique; antibiotic resistant bacteria (ARB); antibiotic resistance genes (ARGs)

抗生素的滥用诱导和加速了抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 的产生、传播以及抗生素耐药菌 (antibiotic resistant bacteria, ARB) 形成的风险^[1,2], 并且 ARGs 的存在是细菌表现耐药性的根本原因^[3]。ARGs 作为一类新型的环境污染物^[4], 可通过质粒、整合子以及转座子等可在细菌同种属菌株间和不同种属的菌株之间发生水平基因转移, 即使 ARB 死亡后, 携带 ARGs 的裸露 DNA 会在脱氧核苷酸酶的保护作用下长期存在, 故 ARGs 在环境中的持久性残留、传播和扩散比抗生素本身

的危害还要大。目前, ARGs 广泛存在于不同的生态环境中, 如水环境^[5]、土壤^[6]和大气^[7], 其中作为水环境之一的污水厂被认为是 ARB 和 ARGs 巨大的储存地^[8-10]。以前针对 ARGs 的大多数研究主要集中在处理医院和生活污水的城市污水厂上^[11-13]。然而, 迄今为止, 很少有报道从医药化工废水中检测出 ARB 和 ARGs。

收稿日期: 2019-03-12; 修订日期: 2019-08-07

作者简介: 陈红玲 (1970~), 女, 硕士, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: skybq@sina.com

* 通信作者, E-mail: 17816860906@163.com

ARGs 的检测方法有可培方法和非培方法这两大类. 可培方法是通过培养基进行微生物分离, 而后根据所分离微生物的耐药性, 结合各种分子生物学方法或者对 ARB 进行全基因组测序可以获得该菌株抗生素耐药基因的全部信息以及耐药机制. 但是由于自然环境中超过 99% 的微生物不能用传统培养基方法进行分离培养^[14], 故可培方法会遗漏大量 ARB 和 ARGs. 非培方法有 PCR 技术、qPCR 技术、基因芯片技术及宏基因组学技术. 无论是普通 PCR 技术还是 qPCR 技术只能局限于已知序列的单一耐药基因检测, 并且只能对少数的 ARGs 进行同时检测, 最后还需要测序分析来进一步确认. 基因芯片技术虽然可以同时检测出大量的 ARGs, 但仍然要依赖于根据已知的耐药基因序列设计出相应的特异性强的探针, 并且其制作复杂, 费用昂贵. 而随着生物技术的不断发展, 宏基因组测序也越来越多地应用于医学研究及临床诊断领域, 如感染类型诊断、抗性基因的鉴定和传染病的防控等^[15]. 宏基因组技术通过高通量测序, 打破了传统以培养为主的微生物研究方式, 直接提取遗传物质进行遗传操作, 不仅可以准确获得样品微生物物种组成及丰度等信息, 进入数据库预测微生物功能, 还能分析微生物代谢网络等多方面的信息, 并且可同时检测大量的 ARGs, 为寻找新基因、研究微生物多样性提供了便利的工具^[16].

本研究借助宏基因组技术调查医药化工废水厂中微生物群落组成, 并分析 ARGs 的多样性及两者之间的关系, 对掌握医药化工废水中 ARGs 的污染现状及控制其传播, 保护微生态环境具有重要指导意义.

1 材料与方法

1.1 样品采集

本实验样品取自江苏某医药化工园区废水处理厂, 该废水厂主要功能是处理园区各医药化工企业排放的工业废水, 纳入废水厂管网的废水包括抗生素中间体废水及农药中间体废水等多种医药化工废水. 该废水厂日处理量 10 万 t, 收集的废水中含 β -内酰胺类、氨基糖苷类、大环内酯类、喹诺酮类和四环素类等几大类抗生素生产过程中产生的高浓发酵废水、化学合成废水、其他制剂废水及混合废水(清洗水、冷却循环水和生活污水等). 废水中含大量残留的抗生素原材料、副反应产物, 还含有机溶剂二甲基甲酰胺、丙酮、乙腈、四氢呋喃和二氯甲烷等. 废水厂主要采用厌氧-缺氧-好氧(A^2O)工艺. 本实验样品为活性污泥, 具体取自完全混合式好氧

生物处理池. 取样时先在池内前中后三段各取约 500 mL 泥水混合样品, 以保证样品具有代表性, 现场混合均匀后, 用无菌 50 mL 离心管分装后冰袋低温冷藏, 当日即进行基因组 DNA 提取.

1.2 基因组 DNA 提取

使用 FastDNA[®] Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, CA, USA) 试剂盒根据产品操作手册提取样品基因组 DNA. 采用 1% 琼脂凝胶电泳检测 DNA 样品的质量和完整性. 用 NanoDrop[™] 2 000 分光光度计 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) 和 Qubit[®] 2.0 荧光光谱仪 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) 检测 DNA 的产量和纯度. 基因组 DNA 样品用干冰保藏并立即送往上海美吉生物医药科技有限公司进行测序.

1.3 ARGs 生物信息学分析

采用 Illumina HiSeq Xten 平台进行 PE150 双端测序. 首先对原始测序数据进行质量控制, 去除碱基数大于 40 bp 但是其质量分数低于 38 的序列, 去掉歧义核苷酸超过 10 个的序列, 去掉与 adapter 序列有 15 bp 重叠的序列. 采用 SOAPdenovo 软件组装 clean reads^[17]. 当选择最高的 scaffold N50 value 来进行进一步分析时, 选择不同的 K-mer 值 (49、55 和 59) 用于使用于不同的 -d1、-M3、-u 和 -F 参数. 将得到的 scaffold 片段在 N 段打断, 进而得到 scaftig 片段. 仅仅大于 500 bp 的 scaftig 片段被保留以作进一步分析. 采用默认参数的 MetaGeneMark 软件从组装好的 scaftig 片段来预测开放阅读框 (ORFs)^[18], 采用 CD-HIT 来获得非冗余基因. 采用 SOAPaligner 软件将保留的 clean read 与基因库进行比对, 以计算匹配的数目^[8]. 通过去除含有少于 3 个 mapped reads 映射片段的基因类别来获得 unigene. 用 DIAMOND 软件将 unigene 与 NCBI-NR 数据库进行比对, 设置 blastp 参数 e-value $\leq 1e-5$, 并且采用 MEGAN 软件 LCA 算法进行注释^[19]. 采用 DIAMOND 软件 (blastp, evalue $\leq 1e-5$) 将 unigene 对应的蛋白序列在 KEGG 数据库、eggNOG 数据库和 CAZy 数据库中进行比对. 利用 BLAST 软件 (blastp, evalue $\leq 1e-5$) 将 unigene 在 CARD 数据库进行比对, 进行 ARGs 注释. 采用 Cytoscape 软件进行网络分析, 以研究 ARGs 与微生物分类的关系.

2 结果与讨论

2.1 医药化工污水厂中微生物群落结构

在该好氧活性污泥样品中, 经过质量控制后, 共得到 reads 数目 109 523 076 条, 并由此组装得到 55 255 个 scaftig, 并预测了 105 892 个 unigene. 利用

DIAMOND 软件将 unigene 在 NCBI-NR 数据库中进行比对,后续用 MEGAN 软件进行注释,统计样本在门水平(表 1)及属水平(图 1)上的前 10 个丰度最大的群落组成。

根据分类结果,细菌域(Bacteria)是该医药化工园区废水厂中主要的微生物类群。并由表 1 可知,该废水厂丰度在前 10 的优势菌门是 Proteobacteria、Chloroflexi、Bacteroidetes、Acidobacteria、Actinobacteria、Cyanobacteria、Deinococcus-Thermus、Firmicutes、Planctomycetes 和 Candidatus Saacharibacteria。其中最优势的菌门是 Proteobacteria,这与其他关于污水厂报道相符合^[8, 20, 21],丰度接近 50%;其次是 Chloroflexi,丰度约占 10%。Chloroflexi 菌株可以在极端环境中生存,比如热泉^[22]和高盐环境^[23],并且也经常从污水厂环境^[24]中分离得到,Chloroflexi 类群中的丝状菌是污水处理厂活性污泥中的常见组成,其大量出现会产生污泥膨胀现象^[25]。细菌菌群丰度居第三的是 Bacteroidetes,约占 5%;其他 7 个优势菌群的丰度在 0.5%~3% 之间。

在该混合污泥样品中,共检测到 265 个属,丰度在前 10 的优势属为 *Hyphomicrobium*、*Ardenticatena*、*Paracoccus*、*Thauera*、*Leptolyngbya*、*Filomicrobium*、*Methyloversatilis*、*Truepera*、*Ottowia* 和 *Aromatoleum*,其中 *Hyphomicrobium* 是最主要的类群,属于革兰氏阴性菌,占据约 12%;*Ardenticatena*、*Paracoccus* 和 *Thauera* 这 3 个优势属的丰度相似,均在 4.5% 左右,其中 *Ardenticatena* 丰度稍高,为 4.7%;其他 6 个优势属的丰度在 0.2%~1.0% 之间(图 1)。在属水平上,*Hyphomicrobium* 是最优势属,而在种水平上,*Hyphomicrobium zavarzinii* 是最优势种。根据报道,*Hyphomicrobium* 属类菌株也经常出现在污水环境中^[26~28],属于限制性的兼性甲基氧化菌,能够利用甲醇、甲基化胺或甲酸盐等一碳化合物作为唯一碳源生长。而 *Hyphomicrobium zavarzinii* 能通过甲醇脱氢酶的过表达,在污水甲基营养型代谢中起着关键作用^[29]。

相比之下,城市污水处理厂(wastewater treatment plants, WWTPs)中处理的废水大部分为生活污水,可生化性好,废水中的抗生素一般来源于医院排放的医疗废水,含量较少,尤其经大量其他废水稀释之后浓度一般为痕量。从 WWTPs 中分析到的主要细菌种类属于粪便污染的常见指标:大肠杆菌、总大肠菌群和肠球菌。监测到的主要耐药菌包括耐甲氧的 *Staphylococcus aureus*、耐万古霉素的 *Enterococcus* spp. 及革兰氏阴性菌(如 *Enterobacteria*、

Pseudomonads 和 *Acinetobacter*),这些菌对氟喹诺酮类、碳青霉烯类和 β -内酰胺类等抗生素具有抗性。医药化工废水处理厂的抗生素浓度高于 WWTPs 的 10~100 倍,因此其抗性菌种的种类和耐药性也一般强于 WWTPs^[30]。

表 1 废水厂中 10 个最丰富门的相对丰度

Table 1 Relative abundance of the ten most abundant phyla in the studied wastewater treatment plant

项目	占比/%
Proteobacteria	46.67
Chloroflexi	9.33
Bacteroidetes	5.00
Acidobacteria	2.50
Actinobacteria	1.94
Cyanobacteria	1.67
Deinococcus-Thermus	1.56
Firmicutes	0.78
Planctomycetes	0.56
Candidatus Saacharibacteria	0.44
others	29.55
总计	100

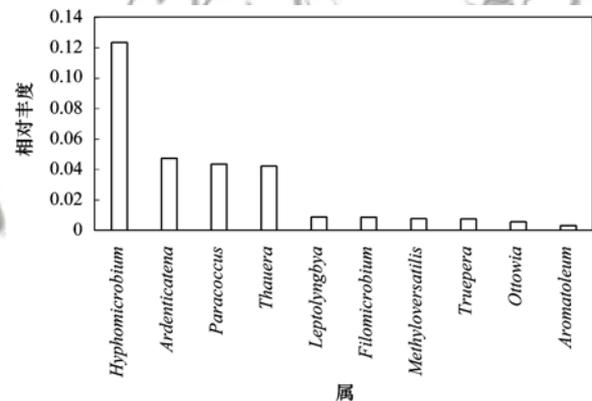


图 1 废水厂中 10 个最丰富属的相对丰度

Fig. 1 Relative abundance of the ten top identified genera in the studied wastewater treatment plant

2.2 医药化工废水厂中微生物群落功能注释

用 DIAMOND 软件将 unigene 在 KEGG 数据库进行比对,共注释了 54564 个 unigene,结果如图 2 所示。从中可知,该微生物菌群的功能通路相关的基因数量依次为:代谢>遗传信息处理>环境信息处理>人类疾病>细胞过程>生物系统,其中最主要的功能通路是代谢相关,其次是遗传信息处理,第三是环境信息处理。属于代谢类别的功能分类中丰度依次为:碳代谢>氨基酸代谢>能量代谢>核苷酸代谢>辅因子和维生素的代谢>异生素生物降解与新陈代谢>脂质代谢>萜类和聚酮化合物代谢>其他氨基酸代谢>其他次生代谢物生物合成>多糖生物合成与代谢,其中碳代谢、氨基酸代谢和能量代谢的基因数量尤为丰富,分别为 7 788、6 155 和 5 067

个.属于遗传信息处理类别的功能分类丰度依次为:复制与修复>折叠、分类与降解>翻译>转录,其中复制与修复是最主要部分,基因数量为2 535个.该微生物菌群功能通路中还有一部分的环境信息处理类别的功能,其分类类别丰度依次为:膜转运>信号转导>信号分子与相互作用,其中最主要的是膜转运,基因数据为2 678个,其他两个类别的基因合计100个,数目甚少.属于人类疾病类别丰度依次为:传染性疾病>神经退行性疾病>内分泌和代谢疾病>癌症>物质依赖>免疫疾病>心血管疾病,其中细菌传染性疾病相关的基因数目尤其突出,为517个,是其他人类疾病基因总数的约1.6倍.而在传染病疾病中,细菌感染性疾病相关的基因占据了大部分,约80%.

在该废水厂中细菌传染疾病涉及到9类(图3),其丰度依次为军团杆菌病>结核病>沙门氏菌感染>幽门螺杆菌感染的上皮细胞信号传导>金黄色葡萄球菌感染>上皮细胞的细菌入侵>百日咳>致病性大肠杆菌感染>霍乱弧菌感染,其中最主要的传染病为军团杆菌病,其基因数目为136个;其次是结核病,基因数目为108个;沙门氏菌感染和幽门螺杆菌感染的上皮细胞信号传导,基因数目均在60个左右;其他疾病的基因数目在15个以下.

根据功能注释结果,该废水厂菌群中最主要的功能通路是代谢相关,并且还存在着许多与人类疾病相关的基因,其中主要是细菌感染性疾病.到目前为止,全球新出现的传染病事件的发生率有所增加,废水厂等特殊环境可以作为许多病原体的天然宿主对人类健康存在潜在威胁^[31].

2.3 医药化工废水厂中 ARGs 及耐药机制

用BLAST软件将unigene在抗性基因数据库CARD中进行比对,结果如图4所示.经过氨基酸大

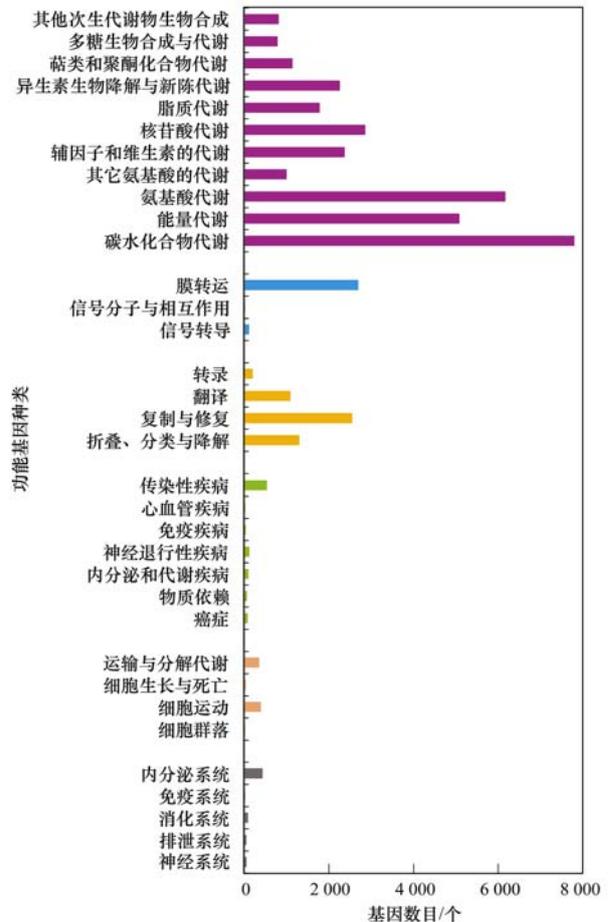


图2 基于KEGG数据库注释的废水厂微生物群落功能基因分布

Fig. 2 Distribution of genes according to functional classes annotated with KEGG database for the studied wastewater treatment plant

于50%标准控制后,共注释到74类抗生素功能基因,涉及包括β-内酰胺类、头孢菌素类、氨基糖苷类、大环内酯类、多肽类、喹诺酮类及磺胺类等多种抗生素抗性基因.

在这74类ARGs中*sav1866*、*dfrE*和*mfd*是最主要ARGs.*sav1866*基因属于多重耐药基因,其编码

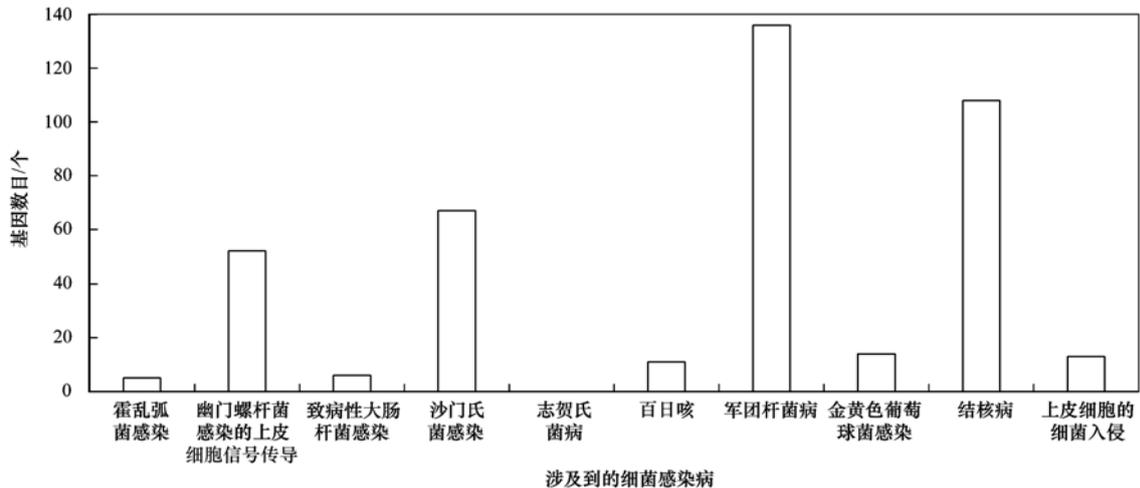


图3 废水厂中细菌感染疾病相关的基因数量

Fig. 3 Numbers of genes related to bacterial infectious diseases in the studied wastewater treatment plant

的蛋白是 ABC 膜转运蛋白,其耐药机制属于 ABC 外排泵.在细菌中,许多 ABC 家族转运蛋白都与抗生素耐受性有关^[32].*sav1866* 被检测为丰度最大的 ARGs,推测这与该废水厂处理多种抗生素中间体废水及多种农药中间体废水密切相关.*dfrE* 基因首次被发现在粪肠球菌中,其编码的蛋白是一种耐甲氧苄啶二氢叶酸还原酶(dihydrofolate reductases, DHFRs),该种 DHFRs 具有高的甲氧苄啶抗性^[33],其耐药机制是抗生素靶位点改变.*mfd* 基因的产物 Mfd 是转录-修复偶联因子蛋白,属于 DNA 移位酶,也是 DNA 修复的必须因子,其耐药机制是抗生素靶位点保护.Mfd 主要功能是促进 DNA 修复^[34],但在某些情况下,如在复制-转录冲突区域和在稳定阶段的突变中,Mfd 反而增加了突变,如 Mfd 促使空肠弯曲杆菌产生了对喹诺酮药物的抗性.在新的研究结果中,Mfd 被认为是一种促进突变的进化因子,加速了抗生素耐药性的发展,是不同类群的细菌快速获得各种抗生素耐药性所必须的^[35].由此推测,*mfd* 基因的大量存在及积累可能会促进废水厂中微生物产生更多抗生素抗性.

统计这些 ARGs 的耐药机制,以调查该废水厂的耐药机制情况,如图 5 中(a)所示.在该医药化工废水好氧活性污泥处理系统中,微生物存在耐药的机制有 5 种,分别是抗生素失活(8%)、抗生素靶位点改变(4%)、抗生素靶位点保护(7%)、抗生素靶位点替换(11%)和抗生素特异的外排泵(70%),其中抗生素特异的外排泵是主要的耐药机制,占比 50% 以上.在所研究的菌群中的外排泵组成如图 5 (b)所以,主要由 ABC 外排泵(18%)、MFS 外排泵(10%)、RND 外排泵(34%)和 SMR 外排泵(3%)组成,其中 RND 外排泵是该微生物菌群抗生素外排泵耐药机制的最主要类型,其次是 ABC 外排泵.据报道,细菌细胞膜上的主动外排泵可将抗菌药物排至细菌外,从而阻碍抗菌药物与细菌内的靶点结合,引起耐药.并且,外排泵在细菌中广泛存在,在介导细菌多重耐药中起着重要作用^[36].本研究表明,氯霉素、四环素、磺胺类、氟喹诺酮类和大环内酯类抗生素均能通过细菌的主动外排机制而被排出细胞外.而该研究的医药化工污水系统所具有的外排泵中,RND 外排泵是主要机制.RND 外排泵的外排底物比较广泛,包括多种抗菌药物、消毒剂和染料等^[37],由此可推测该菌群对多种抗生素具有抗性.结合图 4,属于 RND 外排泵的 ARGs 有 *smeD*、*mdtB*、*mexJ*、*smeR*、*cmeB* 和 *mexQ* 等,涉及氨基香豆素抗生素、四环素抗生素、大环内酯类抗菌素、氨基糖苷抗生素、三氯沙抗生素和氟喹诺酮类抗生素、头孢菌素等 ARGs;属

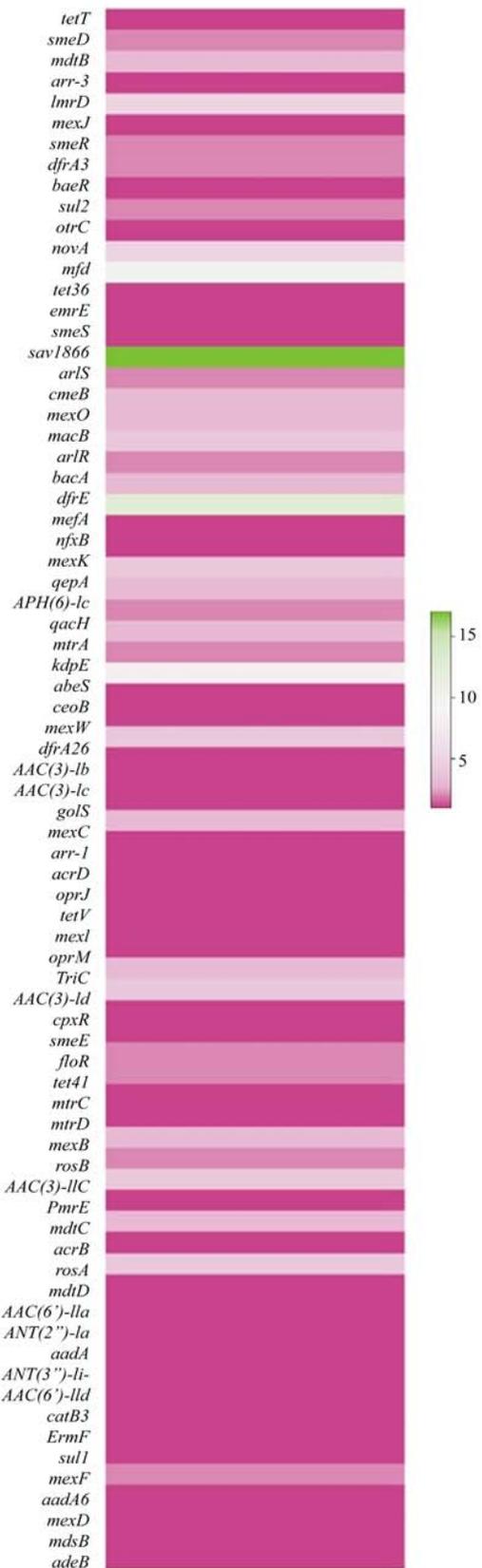
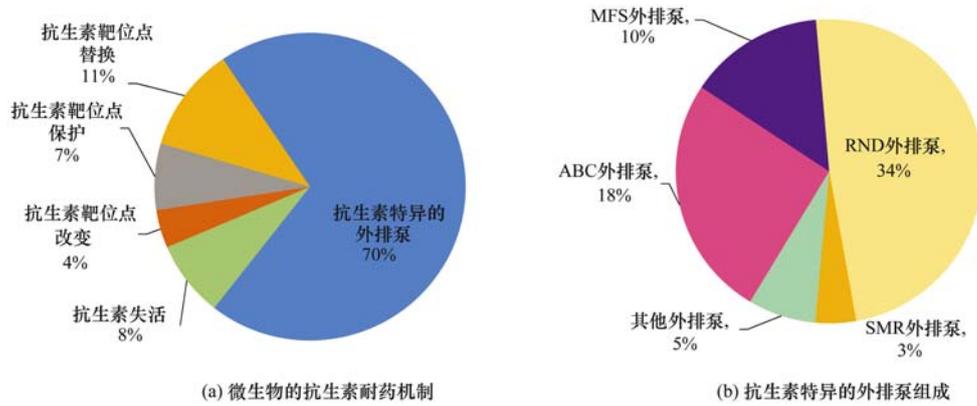


图 4 污水厂中不同 ARGs 的相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of different ARGs in the studied wastewater treatment plant

于 ABC 外排泵的 ARGs 有 *lmrD*、*otrC*、*novA*、*macB* 和 *sav1866*,涉及林可酰胺类抗生素、四环素类抗生素和大环内酯类抗生素的耐药.



(a) 微生物的抗生素耐药机制; (b) 抗生素特异的外排泵组成

图 5 污水厂中抗生素耐药机制类型占比

Fig. 5 Percentage of the antibiotic resistance mechanism types in the studied wastewater treatment plant

2.4 废水厂中 ARGs 与微生物类群的关联

对废水厂中 ARGs 与微生物类群的共存模式进行网络分析(图6),结果显示有 44 类 ARGs 与污水厂中属级的微生物分类群高度相关,并且主要类群的属都是多重耐药菌株,同时携带多种 ARGs,涉及到 4 大类 ARGs 耐药机制. *Hyphomicrobium* 属和 *Thauera* 属

均可能携带有近 20 个 ARGs, *Paracoccus* 属和 *Methyloversatilis* 属可能携带有近 10 个 ARGs. 如 *Hyphomicrobium* 属中可能携带的抗性基因有 *dfrA26*、*mdsB*、*qepA*、*tetT*、*mexQ*、*mexF*、*mexL*、*rosB*、*sul2*、*dfrE*、*mfd* 和 *bacA* 等; *Thauera* 属则可能携带有 *mdtD*、*bacA*、*mexJ*、*tet36*、*oprM*、*acrB* 和 *novA* 等.

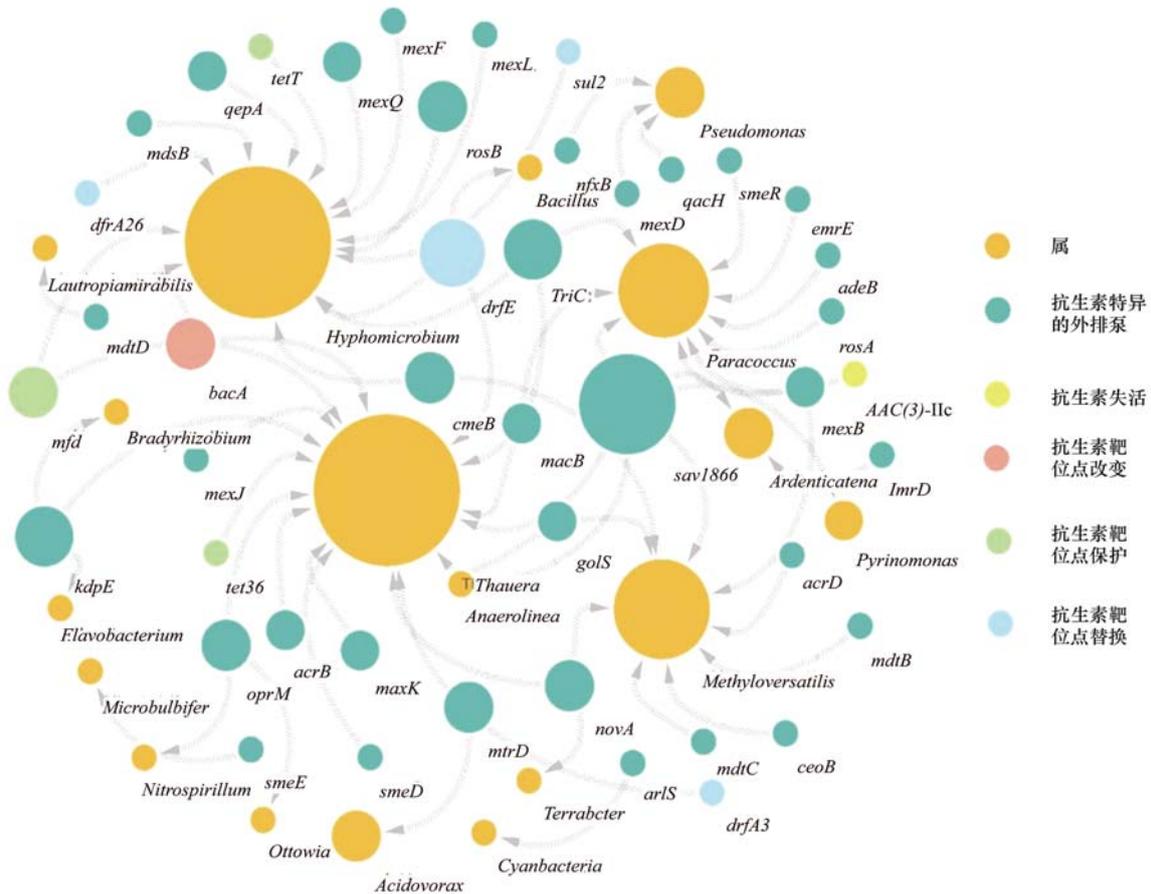


图 6 污水厂中 ARGs 与微生物类群的相关性网络分析

Fig. 6 Network analysis of the correlation between ARGs and microbial taxa in the studied wastewater treatment plant

3 结论

(1) 该医药化工废水处理厂的菌群组成结构

中,细菌域是主要微生物类群,并且最优势的菌门是 Proteobacteria, 其次是 Chloroflexi. 最优势属是 *Hyphomicrobium*, 最优势种为 *Hyphomicrobium*

zavarzinii.

(2) 该医药化工废水厂中微生物群落最主要的功能通路是代谢相关, 并还存在许多与人类疾病相关的基因, 其中主要是细菌感染性疾病。

(3) 该医药化工废水厂中 ARGs 共检测到 74 类 ARGs, 涉及包括 β -内酰胺类、头孢菌素类、氨基糖苷类、大环内酯类、多肽类、喹诺酮类、磺胺类等多种抗生素抗性基因, 其中 *sav1866*、*dfiE* 和 *mfd* 是最主要 ARGs, 而最主要的 *Hyphomicrobium* 属也同时携带这 3 种主要的 ARGs。该废水厂菌群的耐药机制主要是抗生素特异的外排泵, 其中 RND 外排泵是主要机制。

(4) 该废水厂活性污泥中微生物属级分类与 ARGs 高度相关, 并且主要类群的属都是多重耐药菌株。

参考文献:

- [1] 沈怡雯, 黄智婷, 谢冰. 抗生素及其抗性基因在环境中的污染、降解和去除研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2015, 21(2): 181-187.
Shen Y W, Huang Z T, Xie B. Advances in research of pollution, degradation and removal of antibiotics and antibiotic resistance genes in the environment [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2015, 21(2): 181-187.
- [2] 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 systems [J]. Environmental Science, 2017, 38(9): 3823-3830.
- [3] 张昊, 王盼亮, 杨清香, 等. 畜禽粪便中多重耐药细菌及耐药基因的分布特征[J]. 环境科学, 2018, 39(1): 460-466.
Zhang H, Wang P L, Yang Q X, et al. Distribution of multidrug-resistant bacteria and antibiotic-resistant genes in livestock manures [J]. Environmental Science, 2018, 39(1): 460-466.
- [4] 孙薇. 畜禽粪便厌氧发酵过程中抗生素抗性基因变化机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
Sun W. Variation mechanism of antibiotic resistance genes during anaerobic digestion with livestock manure [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2017.
- [5] 庄榆佳, 赵忆, 苏建强, 等. 抗生素抗性基因在养殖废水中的分布与去除[J]. 环境化学, 2017, 36(11): 2311-2318.
Zhuang Y J, Zhao Y, Su J Q, et al. Distribution and removal of antibiotic resistance genes in swine wastewater [J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(11): 2311-2318.
- [6] Xiao K Q, Li B, Ma L P, et al. Metagenomic profiles of antibiotic resistance genes in paddy soils from South China [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2016, 92(3): fiv023.
- [7] 高新磊, 邵明非, 贺小萌, 等. 污水处理厂空气介质抗生素抗性基因的分布[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(5): 89-94.
Gao X L, Shao M F, He X M, et al. Distribution of airborne antibiotic resistance gene in wastewater treatment plant [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(5): 89-94.
- [8] Guo J H, Li J, Chen H, et al. Metagenomic analysis reveals wastewater treatment plants as hotspots of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements [J]. Water Research, 2017, 123: 468-478.
- [9] Jałowiecki Ł, Zur J, Chojniak J, et al. Properties of antibiotic-resistant bacteria isolated from onsite wastewater treatment plant in relation to biofilm formation [J]. Current Microbiology, 2018, 75(5): 639-649.
- [10] 李奥林, 陈吕军, 张衍, 等. 抗生素抗性基因在两级废水处理系统中的分布和去除 [J]. 环境科学, 2018, 39(10): 4593-4600.
Li A L, Chen L J, Zhang Y, et al. Distribution and removal of antibiotic resistance genes in two sequential wastewater treatment plants [J]. Environmental Science, 2018, 39(10): 4593-4600.
- [11] Szekeres E, Baricz A, Chiriac C M, et al. Abundance of antibiotics, antibiotic resistance genes and bacterial community composition in wastewater effluents from different Romanian hospitals [J]. Environmental Pollution, 2017, 225: 304-315.
- [12] Yu H, Qu F, Shan B, et al. Detection of the *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from different hospitals in China [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2016, 60(8): 5033-5035.
- [13] Galler H, Feierl G, Petternel C, et al. Multiresistant bacteria isolated from activated sludge in Austria [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2018, 15(3): 479.
- [14] 邢磊, 赵圣国, 郑楠, 等. 未培养微生物分离培养技术研究进展[J]. 微生物学通报, 2017, 44(12): 3053-3066.
Xing L, Zhao S G, Zheng N, et al. Advance in isolation and culture techniques of uncultured microbes: a review [J]. Microbiology China, 2017, 44(12): 3053-3066.
- [15] 李林海, 陈丽丹, 肖斌, 等. 宏基因组测序在感染性疾病病原体检测中的应用[J]. 传染病信息, 2018, 31(1): 15-18.
Li L H, Chen L D, Xiao B, et al. Application of metagenomic sequencing in detecting the pathogens of infectious diseases [J]. Infectious Disease Information, 2018, 31(1): 15-18.
- [16] 陈泓宇, 闫海亚, 赵胤丞, 等. 宏基因组学及其在鱼类肠道微生物中的研究进展 [J]. 水产科学, 2018, 37(5): 699-706.
Chen H Y, Yan H Y, Zhao Y C, et al. Metagenomics and its advances in research of fish gut microbiome [J]. Fisheries Science, 2018, 37(5): 699-706.
- [17] Luo R B, Liu B H, Xie Y L, et al. SOAPdenovo2: an empirically improved memory-efficient short-read *de novo* assembler [J]. GigaScience, 2012, 1(1): 18.
- [18] Zhu W H, Lomsadze A, Borodovsky M. *Ab initio* gene identification in metagenomic sequences [J]. Nucleic Acids Research, 2010, 38(12): e132.
- [19] Huson D H, Beier S, Flade I, et al. MEGAN community edition-interactive exploration and analysis of large-scale microbiome sequencing data [J]. PLoS Computational Biology, 2016, 12(6): e1004957.
- [20] Yang Y, Li B, Zou S C, et al. Fate of antibiotic resistance genes in sewage treatment plant revealed by metagenomic approach [J]. Water Research, 2014, 62: 97-106.
- [21] Behnami A, Farajzadeh D, Isazadeh S, et al. Diversity of bacteria in a full-scale petrochemical wastewater treatment plant experiencing stable hydrocarbon removal [J]. Journal of Water Process Engineering, 2018, 23: 285-291.
- [22] Lavrentyeva E V, Radnagurueva A A, Barkhutova D D, et al. Bacterial diversity and functional activity of microbial communities in hot springs of the baikal rift zone [J]. Microbiology, 2018, 87(2): 272-281.

- [23] Nunoura T, Nishizawa M, Hirai M, *et al.* Microbial diversity in sediments from the bottom of the Challenger Deep, the Mariana Trench[J]. *Microbes and Environments*, 2018, **33**(2): 186-194.
- [24] Buelow E, Bayjanov J R, Majoor E, *et al.* Limited influence of hospital wastewater on the microbiome and resistome of wastewater in a community sewerage system [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, **94**(7): fty087.
- [25] Nierychlo M, Miłobędzka A, Petriglieri F, *et al.* The morphology and metabolic potential of the Chloroflexi in full-scale activated sludge wastewater treatment plants [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, **95**(2): fty228.
- [26] Wang X H, Zheng Q, Yuan Y, *et al.* Bacterial community and molecular ecological network in response to Cr₂O₃ nanoparticles in activated sludge system [J]. *Chemosphere*, 2017, **188**: 10-17.
- [27] Gao F, Li Z W, Chang Q B, *et al.* Effect of florfenicol on performance and microbial community of a sequencing batch biofilm reactor treating mariculture wastewater [J]. *Environmental Technology*, 2017, **39**(3): 363-372.
- [28] Li E C, Lu S G. Denitrification processes and microbial communities in a sequencing batch reactor treating nanofiltration (NF) concentrate from coking wastewater [J]. *Water Science and Technology*, 2017, **76**(11-12): 3289-3298.
- [29] Salerno C, Benndorf D, Kluge S, *et al.* Metaproteomics applied to activated sludge for industrial wastewater treatment revealed a dominant methylotrophic metabolism of *Hyphomicrobium zavarzinii* [J]. *Microbial Ecology*, 2016, **72**(1): 9-13.
- [30] Karkman A, Do T T, Walsh F, *et al.* Antibiotic-resistance genes in waste water [J]. *Trends in Microbiology*, 2018, **26**(3): 220-228.
- [31] Sandifer P A, Sutton-Grier A E, Ward B P. Exploring connections among nature, biodiversity, ecosystem services, and human health and well-being: opportunities to enhance health and biodiversity conservation [J]. *Ecosystem Services*, 2015, **12**: 1-15.
- [32] 任远, 司维, 任恒, 等. ABC 家族转运蛋白及应对抗生素耐药性的概述 [J]. *河南医学研究*, 2016, **25**(1): 82-84.
- [33] Coque T M, Singh K V, Weinstock G M, *et al.* Characterization of dihydrofolate reductase genes from trimethoprim-susceptible and trimethoprim-resistant strains of *Enterococcus faecalis* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999, **43**(1): 141-147.
- [34] Million-Weaver S, Samadpour A N, Moreno-Habel D A, *et al.* An underlying mechanism for the increased mutagenesis of lagging-strand genes in *Bacillus subtilis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, **112**(10): E1096-E1105.
- [35] Ragheb M N, Thomason M K, Hsu C, *et al.* Inhibiting the evolution of antibiotic resistance [J]. *Molecular Cell*, 2019, **73**(1): 157-165. e5.
- [36] 欧阳净, 陈耀凯. 细菌多重耐药外排泵的研究进展 [J]. *临床内科杂志*, 2018, **35**(3): 149-151.
- [37] 陈小燕, 潘珏. 细菌耐多药外排泵的研究进展 [J]. *微生物与感染*, 2016, **11**(3): 183-187.
- Chen X Y, Pan J. Research progress on bacterial multidrug efflux pumps and biofilm formation [J]. *Journal of Microbes and Infections*, 2016, **11**(3): 183-187.

CONTENTS

Spatiotemporal Variations of PM _{2.5} Pollution Evolution in China in Recent 20 Years	SHI Yan, LIU Rui-mei, LUO Yi, <i>et al.</i>	(1)
Characteristics of Aerosol Particulate Concentrations and Their Climate Background in Shanghai During 2007-2016	ZHENG Qing-feng, SHI Jun, TAN Jian-guo, <i>et al.</i>	(14)
Characteristics and Sources of Elements in PM _{2.5} During Summer for Three Typical Cities in Pingdingshan-Suizhou-Wuhan, Central China	LIU Wei-jie, SHI Ming-ming, CHENG Cheng, <i>et al.</i>	(23)
PM _{2.5} Pollution Characteristics During Winter and Summer in the Hohhot-Baotou-Ordos Region, China	LI Yi-ming, LIU Jia-yuan, SHI Guo-liang, <i>et al.</i>	(31)
Analysis of Pollution Characteristics and Sources of PM _{2.5} During Heavy Pollution in Shijiazhuang City Around New Year's Day 2019	ZHOU Jing-bo, DUAN Jing-chun, WANG Jian-guo, <i>et al.</i>	(39)
Modeling Studies of Source Contributions to PM _{2.5} in Chengdu, China	XU Yan-ling, YI Ai-hua, XUE Wen-bo	(50)
Chemical Characteristics of Arsenic in PM _{2.5} in Beijing	SHI Shao-xuan, YANG Yan-rong, QIN Juan-juan, <i>et al.</i>	(57)
Pollution Characteristics and Potential Source Contributions of Gaseous Elemental Mercury (GEM) During Summer and Autumn in Ningbo City	YI Hui, LIN Jia-mei, CAI Qiu-liang, <i>et al.</i>	(65)
Seasonal Characteristics and Source Analysis of Water-Soluble Ions in PM _{2.5} of Anyang City	SUN You-chang, JIANG Nan, WANG Shen-bo, <i>et al.</i>	(75)
Analysis of Stable Carbon Isotope Characteristics of PM _{2.5} in Summer and Winter Season in Xinxiang City	YAN Guang-xuan, SONG Xin, ZHANG Jing-wen, <i>et al.</i>	(82)
Construction and Evaluation on Size Resolved Source Apportionment Methods Based on Particle Size Distribution of Chemical Species	LIANG Yong-li, TIAN Ying-ze, LIU Tong, <i>et al.</i>	(90)
Fine Particulate Emission Characteristics of an Ultra-Low Emission Coal-Fired Power Plant	WANG Run-fang, MA Da-wei, JIANG Shao-yi, <i>et al.</i>	(98)
Driving Factors of the Significant Increase in Surface Ozone in the Beijing-Tianjin-Hebei Region, China, During 2013-2018	YU Yi-jun, MENG Xiao-yan, WANG Zhen, <i>et al.</i>	(106)
Characteristic of Surface Ozone and Meteorological Parameters Analysis in Anyang City	YANG Jian, YIN Sha-sha, YU Shi-jie, <i>et al.</i>	(115)
Emission Inventory of Intermediate Volatility Organic Compounds from Vehicles in the Yangtze River Delta in 2017 and the Impact on the Formation Potential of Secondary Organic Aerosols	WANG Qian, HUANG Ling, WANG Yang-jun, <i>et al.</i>	(125)
Exhaust Smoke of Non-Road Vehicles in Typical Cities of Eastern China	LU Jun, HU Qing-yao, YANG Qiang, <i>et al.</i>	(133)
Emission Status and Standards of Volatile Organic Compounds from Chinese and Foreign Bulk Petroleum Terminals	HU Wei, REN Bi-qi, HUANG Yu-hu, <i>et al.</i>	(139)
Secondary Organic Aerosol Mass Yield and Characteristics from 4-ethylguaiaicol Aqueous ·OH Oxidation: Effects of Initial Concentration	ZHUANG Yu, CHEN Yan-tong, LI Xu-dong, <i>et al.</i>	(146)
Stable Isotope Characteristics and Vapor Source of Precipitation in the South and North Slopes of Wushaoling Mountain	XU Xiu-ting, JIA Wen-xiong, ZHU Guo-feng, <i>et al.</i>	(155)
Characteristics and Influencing Factors of Stable Hydrogen and Oxygen Isotopes in Groundwater in the Permafrost Region of the Source Region of the Yangtze River	WANG Shao-yong, HE Xiao-bo, DING Yong-jian, <i>et al.</i>	(166)
Hydrochemical and Isotopic Characteristics of the Lake Balkhash Catchment, Kazakhstan	SHEN Bei-bei, WU Jing-lu, JILILI Abuduwalli, <i>et al.</i>	(173)
Effect of a Comprehensive Improvement Project on Water Quality in Urban Lakes: A Case Study of Water Quality Variation in Lihu Lake Over the Past 30 Years	TIAN Wei, YANG Zhou-sheng, SHAO Ke-qiang, <i>et al.</i>	(183)
Detection Method, Distribution, and Risk Assessment of Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Yellow Sea and the East China Sea	CHEN Xian, ZHANG Cai-jie, YANG Gui-peng, <i>et al.</i>	(194)
Occurrence and Risk Assessment of Organophosphate Esters in Source Water of the Nanjing Section of the Yangtze River	LI Dong, ZHANG Sheng-hu, ZHANG Qin, <i>et al.</i>	(205)
Spatial Distribution, Spectral Characteristics, and Sources Analysis of Dissolved Organic Matter from Baiyangdian Lake in Xiong'an New District During the Winter Freezing Period	ZHOU Shi-lei, SUN Yue, ZHANG Yi-ran, <i>et al.</i>	(213)
Spatial Characteristics, Risk Assessment, and Source Analysis of Elements in Surface Sediments from the Baiyangdian Lake	WANG Jing-zhong, LIU Zhou, WEI Hao, <i>et al.</i>	(224)
Distribution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Phthalate Esters in Surface Sediments of the Songhua River	WANG Huan, YANG Yong-zhe, WANG Hai-yan, <i>et al.</i>	(232)
Occurrence Relationship Between Microplastics and Heavy Metals Pollutants in the Estuarine Sediments of Poyang Lake and the Yangtze River	LI Wen-hua, JIAN Min-fei, LIU Shu-li, <i>et al.</i>	(242)
Effect of Ozonation on Microorganism in the Biological Activated Carbon and Disinfection By-Products in the Effluent	LIU Bao-ming, WANG Xi-xi, ZHANG Xiao-xia, <i>et al.</i>	(253)
Refined Assessment of Exposure and Health Risks of Heavy Metals in Water for the Children in Xigu District, Lanzhou	CHEN Yue-fang, SUN Shan-wei, DUAN Xiao-li, <i>et al.</i>	(262)
Adsorption of Phosphate on Mg/Fe Layered Double Hydroxides (Mg/Fe-LDH) and Use of Mg/Fe-LDH as an Amendment for Controlling Phosphorus Release from Sediments	WU Jun-lin, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i>	(273)
Characteristics and Mechanism of Monothioarsenate Adsorption on Sand, Sediment, and Goethite	LIAO Dan-xue, SHAN Hui-mei, PENG San-xi, <i>et al.</i>	(284)
Substructure Characteristics of Combined Acid-Base Modified Sepiolite and Its Adsorption for Cd(II)	XIE Sha, XU Ying-ming, YAN Cui-xia, <i>et al.</i>	(293)
Characteristics of Nitrogen Metabolism by Denitrifying Bacterial Agents in Low Dissolved Oxygen Black Odor Water	ZHAO Zhi-rui, LIU Shuo, LI Duo, <i>et al.</i>	(304)
Metagenomic Analysis of Antibiotic Resistant Bacteria and Resistance Genes in a Pharmaceutical and Chemical Wastewater Treatment Plant	CHEN Hong-ling, ZHANG Xing-tao, WANG Qing, <i>et al.</i>	(313)
Measurements of Bacterial Community and Biodiversity from Activated Sludge for a Wastewater Treatment Containing Starch	ZHAO Ting-ting, QIAO Kai, WANG Lei, <i>et al.</i>	(321)
Process Control and Operation Optimization of PN-SAD Coupling Process Based on SBR-ABR	CHEN Chong-jun, ZHANG Min, JIANG Ying, <i>et al.</i>	(330)
Effects of Intermittent Starvation on the Operation of the SNAD Process	LI Dong, LIU Zhi-cheng, XU Gui-da, <i>et al.</i>	(337)
Nitrogen Removal from Mature Landfill Leachate via Denitrification-Partial Nitrification-ANAMMOX Based on a Zeolite Biological Aerated Filter	CHEN Xiao-zhen, WANG Xiao-jun, Karasuta Chayangkun, <i>et al.</i>	(345)
Rapid Achievement of Nitrifying Micro-granular Sludge and Its Nitrification Function	LIU Wen-ru, SONG Jia-jun, WANG Jian-fang, <i>et al.</i>	(353)
Effect of On/Off Aeration Time Ratio Under High Frequency On/Off Aeration on Performance of Nitrosated Granular Sludge	ZHANG Jie, LAO Hui-mei, LI Dong, <i>et al.</i>	(360)
Occurrence, Distribution, Source, and Health Risk Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers in Surface Soil from the Shen-Fu Region, Northeast China	XIANG Xin-xin, LU Yin-tao, RUAN Qi-yang, <i>et al.</i>	(368)
Vertical Pollution Characteristics and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in a Heterogeneous Unsaturated Zone Under a Coking Plant	MENG Xiang-shuai, WU Meng-meng, CHEN Hong-han, <i>et al.</i>	(377)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes and Mobile Genetic Elements in Beijing Vegetable Base Soils	ZHANG Ru-feng, SONG Yuan, GAO Hao-ze, <i>et al.</i>	(385)
Stoichiometric Characteristics of Purple Sloping Cropland Under Long-term Fertilization and Cultivation	DU Ying-ni, LI Tian-yang, HE Bing-hui, <i>et al.</i>	(394)
Ecological Stoichiometry of Carbon, Nitrogen, and Phosphorus in Subtropical Paddy Soils	SONG Jia-ling, SHENG Hao, ZHOU Ping, <i>et al.</i>	(403)
Denitrification and Anaerobic Ammonium Oxidation in Soil Nitrogen Migration Process in a Farmland of Wanshandang Lake	CHEN Zhi-hao, QIN Yun-bin, DING Bang-jing, <i>et al.</i>	(412)
Effects of Straw Biochar on Soil Microbial Metabolism and Bacterial Community Composition in Drip-irrigated Cotton Field	WANG Jing, MA Li-juan, LONG Ze-hua, <i>et al.</i>	(420)
Source Appointment of Heavy Metals in Agricultural Soils of the Julong River Basin Based on Positive Matrix Factorization	HUANG Hua-bin, LIN Cheng-ni, HU Gong-qi, <i>et al.</i>	(430)
Spatial Distribution of Soil Arsenic and Arsenic Enrichment in Crops in the Oasis Region of the Southeastern Tarim Basin	CHEN Yun-fei, ZHOU Jin-long, ZENG Yan-yan, <i>et al.</i>	(438)
Bioavailability, Translocation, and Accumulation Characteristic of Heavy Metals in a Soil-Crop System from a Typical Carbonate Rock Area in Guangxi, China	MA Hong-hong, PENG Min, LIU Fei, <i>et al.</i>	(449)
Effects of Different Amendments on Fractions and Uptake by Winter Wheat in Slightly Alkaline Soil Contaminated by Cadmium and Nickel	ZHANG Jing-jing, ZHU Shuang-ge, ZHU Li-nan, <i>et al.</i>	(460)
Effect of Different Passivating Agents on the Stabilization of Heavy Metals in Chicken Manure Compost and Its Maturity Evaluating Indexes	LUAN Run-yu, GAO Shan, XU Ying-ming, <i>et al.</i>	(469)
Response of Soil Respiration and Its Components to Nitrogen and Phosphorus Addition in Farming-Withdrawn Grassland in the Semiarid Loess Hilly-Gully Region	ZHOU Jun-jie, CHEN Zhi-fei, YANG Quan, <i>et al.</i>	(479)
Subsequent Effects of Slag and Biochar Application on Greenhouse Gas Emissions from Paddy Fields in the Fuzhou Plain	LAN Xing-fu, WANG Xiao-tong, ZHOU Ya-xin, <i>et al.</i>	(489)