

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.7
第41卷 第7期

目次

中国钢铁行业大气环境影响	汤铃, 薛晓达, 伯鑫, 贾敏, 郭静, 田军, 黄满堂, 崔维庚, 王彤, 李时蓓, 敬红, 甄瑞卿, 孙露, 成国庆 (2981)
华北地区大气细颗粒物(PM _{2.5})年际变化及其对土地利用/覆被变化的响应	杨伟, 姜晓丽 (2995)
郑州市民运会期间大气PM _{2.5} 改善效果评估	王申博, 姜亚敏, 徐艺斐, 袁明浩, 苏方成, 张瑞芹 (3004)
成都夏冬季PM _{2.5} 中水溶性无机离子污染特征	冯炎鹏, 张军科, 黄小娟, 刘琴, 张巍, 张建强 (3012)
川南自贡市大气颗粒物污染特征及传输路径与潜在源分析	雷雨, 张小玲, 康平, 王浩霖, 青泉, 欧奕含, 卢宁生, 邓中慈 (3021)
四川省典型行业挥发性有机物源成分谱	徐晨曦, 陈军辉, 韩丽, 王继钦, 王波 (3031)
成都市工业挥发性有机物排源成分谱	周子航, 邓也, 周小玲, 吴柯颖, 谭钦文, 尹代娟, 宋丹林, 陈秋宇, 曾文斌 (3042)
郑州市典型工业企业VOCs排放特征及风险评估	齐一谨, 倪经纬, 赵东旭, 杨艺, 韩丽岩, 李博伟 (3056)
阳泉市区夏季挥发性有机物污染特征、来源解析及其环境影响	牛月圆, 刘倬诚, 李如梅, 高千卓, 邓萌杰, 闫雨龙, 胡冬梅, 吴婧, 彭林 (3066)
典型光化学污染期间杭州大气挥发性有机物污染特征及反应活性	景盛翱, 叶旭红, 高雅琴, 彭亚荣, 李英杰, 王倩, 沈建东, 王红丽 (3076)
华北地区典型重工业城市夏季近地面O ₃ 污染特征及敏感性	欧盛菊, 魏巍, 王晓琦, 姚森, 周志博, 关攀博, 段文娇, 姚诗音 (3085)
稳定同位素模型解析大气氨来源的参数敏感性	顾梦娜, 潘月鹏, 何月欣, 田世丽, 王彦君, 吕雪梅, 倪雪, 孙杰, 吴电明, 方运霞 (3095)
苏州市大气中汞的形态分布特征及来源分析	卢仁杰, 吴也正, 张晓婕, 沈莹, 吴福全, 薛媛媛, 邹强, 麻春艳 (3102)
轻型汽油车稳态工况下的尾气排放特征	谢岩, 廖松地, 朱曼妮, 王怡然, 王日超, 张立航, 余飞, 钟庄敏, 白莉, 黄江荣, 刘俊文, 郑君瑜 (3112)
非超低与超低排放煤电机组启动过程NO _x 排放特征对比分析	李辉, 朱法华, 孙雪丽, 王宗爽, 王圣, 裴杰, 谭玉菲, 薛峰, 郭敏, 郑桂博 (3121)
邢台市区道路可悬浮灰尘重金属污染特征及来源识别	宋怡, 卢新卫, 周潇, 葛子赫 (3130)
叶片微观结构变化对其颗粒物滞纳能力的影响	魏文俊, 王兵, 牛香 (3136)
关中平原降水氢氧稳定同位素特征及其水汽来源	赵明华, 陆彦玮, Rachana Heng, 司炳成 (3148)
岩溶流域不同水体硝酸盐的来源解析	田永著, 韩志伟, 赵然, 李耕, 曾祥颖, 黄家琰 (3157)
木沥河流域氮素污染及其污染源解析	齐冉, 徐菲菲, 杨帆, 颜昌宙 (3165)
辽河口沉积物环境要素时空动态及影响因素分析	齐玥, 孙永光, 马恭博, 吴楠, 付元宾 (3175)
鄱阳湖多尺度流域磷源输送特征及其生态效应	王朔月, 高扬, 陆瑶, 贾琰杰, 李兆喜, 马明真, 温学发 (3186)
象山港流域入湾河流水体中重金属风险评价及其来源解析	王磊, 汪文东, 刘懂, 李刚, 于红梅, 黄沙, 徐耀阳 (3194)
乐安河河流水体典型全氟化合物的浓度及其前体物的污染贡献	张慧, 王世亮, 余杨 (3204)
连云港海州湾海域表层水体和沉积物中微塑料的分布特征	李征, 高春梅, 杨金龙, 吴立珍, 张硕, 刘艳华, 靳迪迪 (3212)
茅洲河流域民用井中耐药基因的分布特征与健康风险	吴黛灵, 邹海燕, 何璐茜, 高方舟, 应光国, 何良英 (3222)
金盆水库沉积物铁锰释放规律	路林超, 黄廷林, 李楠, 齐允之, 张晗, 王晨旭, 司凡 (3231)
城市湖泊沉积物微塑料污染特征	王璇, 牛司平, 宋小龙, 饶竹, 战楠 (3240)
西藏尼洋河沉积物中微生物群落结构特征分析	刘晓丹, 黄毅, 王永花, 汪贝贝, 吴兵, 陆光华 (3249)
海水中的红毒素与营养盐对微藻的复合影响	王娜, 赵卫红, 苗辉 (3257)
梯级电站作用下牡丹江底栖动物沿程变化规律	温佳琦, 王皓冉, 陈永灿, 刘昭伟 (3266)
宁波市典型城市下垫面雨水径流污染特征解析	徐宇婕, 龚玥敏, 毕军鹏, 王洋, 程军蕊, 王侃 (3275)
分层型水库藻类垂直演替的水质与细菌种群调控	闫苗苗, 陈胜男, 黄廷林, 贾克宇, 刘凯文, 苗雨甜, 宗容容 (3285)
长距离供水系统中消毒副产物分布特征及二次加氯的影响	毕薇薇, 叶胜, 于建全, 杨玉龙, 陈晨, 李青松, 马晓雁 (3297)
供水管网终端消毒副产物分布特征及预测模型	刘俊萍, 陈镜吉, 宋亚丽, 杨玉龙, 李青松, 马晓雁 (3307)
碱和磁复合改性小麦秸秆生物炭对水体中镉的吸附特性及机制	崔志文, 任艳芳, 王伟, 张黎明, 张陆云, 王曦玥, 何俊瑜 (3315)
弱磁场强化氧化石墨烯负载纳米零价铁(GO-nFe ⁰ /WMF)对水中Cr(VI)的去除特性及机制	计盟, 鲍建国, 朱晓伟, 杜江坤, 郑汉 (3326)
一硫代肟在针铁矿上的吸附及影响因素	廖丹雪, 单慧娟, 张进贤, 彭三曦, 黄健, 陈辉, 赵超然, 曾春芽 (3337)
生物滤池快速启动ANAMMOX运行策略及菌群特征	王晓瞳, 杨宏, 苏杨, 刘旭妍 (3345)
低碳源条件下供氧模式对活性污泥系统脱氮性能的影响	张欣瑞, 池玉蕾, 王倩, 金鑫, 石炬, 金鹏康 (3356)
羟胺对厌氧氨氧化污泥群落的影响	邢崇阳, 范禹辰, 陈璇, 郭劲松, 申渝, 晏楠, 方芳, 陈猷鹏 (3365)
低温下丝状菌膨胀污泥的微生物多样性	高春娣, 张娜, 韩微, 任浩, 李悦, 侯春艳, 王传德, 彭永臻 (3373)
我国剩余污泥厌氧消化的主要影响因素及强化	董滨, 高君, 陈思思, 杨殿海, 戴晓虎 (3384)
城镇河流CO ₂ 及CH ₄ 排放与市政排水管网污水输入的关联影响	李磊, 陈浩, 朱奔, 王宇晖, 聂云汉, 赵昕, 贾其隆, 叶建峰 (3392)
控释尿素对黄河故道沙性潮土N ₂ O排放的影响	姜右锦, 袁俊吉, 丁维新, 刘阳, 张松林 (3402)
我国典型露地蔬菜生产中的温室气体排放	张芬, 程泰鸿, 陈新平, 王孝忠 (3410)
不同母质发育土壤Cd环境行为对水分管理模式的响应差异	黄敬, 李欣阳, 文沙, 蒋凯, 龙坚, 彭佩钦, 侯红波 (3418)
锰基改性生物炭对弱碱性Cd污染土壤团聚体结构以及Cd含量特征的影响	孙彤, 付宇童, 李可, 徐应明, 孙约兵 (3426)
钝化与叶面阻控对不同基因型红菜苔镉累积的影响	曹坤坤, 李成成, 胡学玉, 郭晓, 黄洋 (3434)
叶面喷施2,3-二巯基丁二酸对水稻幼苗镉吸收转运及抗氧化系统的影响	杨晓荣, 黄永春, 刘仲齐, 黄益宗, 程六龙, 张长波 (3441)
《环境科学》征订启事 (3011)	《环境科学》征稿简则 (3084)
信息 (3174, 3185, 3391)	

茅洲河流域民用井中耐药基因的分布特征与健康风险

吴黛灵^{1,2}, 邹海燕^{1,2}, 何璐茜^{1,2}, 高方舟^{1,2}, 应光国^{1,2}, 何良英^{1,2*}

(1. 华南师范大学环境研究院, 广东省化学品污染与环境安全重点实验室, 环境理论化学教育部重点实验室, 广州 510006;
2. 华南师范大学环境学院, 广州 510006)

摘要: 抗生素的大量使用促进了抗生素耐药基因的产生与传播. 地下水是重要的供水途径之一, 然而地下水中耐药基因的分布特征与健康风险尚不清楚. 采用高通量荧光定量 PCR 技术 (high-throughput qPCR), 分析了深圳茅洲河流域 11 口民用井中耐药基因的分布特征和多样性. 结果表明, 11 口民用井中共检出 141 种抗生素耐药基因和 8 种可移动遗传元件, 其中磺胺类、多重耐药类和氨基糖苷类耐药基因的丰度最高. 此外, 民用井井水中也检出了临床重要的耐药基因, 如超广谱 β -内酰胺酶基因 (*blaSHV*、*blaTEM*、*blaCTX* 和 *blaOXA-1*), 万古霉素类基因 (*vanB* 和 *vanC-03*) 等. 通过对耐药基因进行均一化计算, 发现在民用井 W7、W8 和 W10 的井水中, 平均每个细菌携带有至少一个耐药基因, 而 W11 井水中甚至每个细菌平均携带有 4 个耐药基因. 磺胺类、多重耐药类、氨基糖苷类、 β -内酰胺类以及氯霉素类耐药基因的丰度与可移动遗传元件的丰度均呈显著正相关 ($P < 0.01$), 表明民用井中可移动遗传元件可能促进了耐药基因在井水中的扩散.

关键词: 地下水; 民用井; 抗生素耐药基因 (ARGs); 可移动元件 (MGEs); 高通量荧光定量 PCR

中图分类号: X523 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2020)07-3222-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.201911256

Profiles and Risk of Antibiotic Resistance Genes in Domestic Wells in the Maozhou River Basin

WU Dai-ling^{1,2}, ZOU Hai-yan^{1,2}, HE Lu-xi^{1,2}, GAO Fang-zhou^{1,2}, YING Guang-guo^{1,2}, HE Liang-ying^{1,2*}

(1. Environmental Research Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of Chemical Pollution and Environmental Safety, Ministry of Education Key Laboratory of Theoretical Chemistry of Environment, South China Normal University, Guangzhou 510006, China;
2. School of Environment, South China Normal University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Intensive use of antibiotics promotes the occurrence and development of antibiotic resistance. Antibiotic resistance genes (ARGs) enter water environments from human and animal sources. Groundwater serves as an important water supply, while the profiles and risk of ARGs in groundwater remain unknown. The abundance and profiles of ARGs in 11 domestic wells in the Maozhou River basin of Shenzhen City were analyzed by high-throughput qPCR. The results showed that a total of 141 ARGs and 8 mobile genetic elements (MGEs) were detected, of which the genes corresponding resistance to sulfonamides, multidrugs, and aminoglycosides were the most abundant. In each well, the number of detected ARGs and MGEs ranged from 48 to 89, with an average of 68. When normalized by the abundance of 16S rRNA genes, it was found that each bacterium carried at least one ARG in the groundwater of W7, W8, and W10, while in W11, each bacterium carried at least four ARGs. Clinically relevant ARGs that code for resistance to glycopeptide (*blaSHV*, *blaTEM*, *blaCTX*, and *blaOXA-1*), β -lactams (*vanB* and *vanC-03*), or chloramphenicol (*floR*) were found in groundwater. In addition, the abundance of sulfonamides, multidrugs, aminoglycosides, β -lactam, and chloramphenicol resistance genes were positively correlated with the abundance of MGEs ($P < 0.01$), suggesting that MGEs may promote the spread of ARGs in groundwater.

Key words: groundwater; domestic wells; antibiotic resistance genes (ARGs); mobile genetic elements (MGEs); high-throughput qPCR

抗生素的大量使用以及不合理应用促进了耐药基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 的发展及其在临床、环境中的传播^[1,2]. 近年来, 抗生素耐药性已得到各国家及地区的广泛关注^[3~5]. 耐药基因和耐药菌 (antibiotic resistance bacteria, ARB) 随生活废水、医疗废水和畜禽养殖等废水排放迁移至土壤、地表水、沉积物, 通过淋溶、渗透或地表水-地下水相互交换等途径渗透到地下水中^[5~8], 从而对地下水形成污染. 地下水环境中的耐药基因可通过遗传或者水平转移 (horizontal gene transfer, HGT) 在细菌间进行扩散, 或通过饮用水和食物链进行转移, 对环

境卫生与人体健康形成潜在威胁^[9].

地下水在许多国家和地区被用作饮用水或农业用水, 是重要的公共给水来源. 城市或农业等人为活动增强了耐药基因在地下水环境中的污染与扩散^[10,11]. 地下水微生物虽然处于低丰度水平, 却天然携带多种类型质粒, 具有快速适应环境变化的潜在能力^[12]. 在污水处理厂、垃圾填埋场、畜禽养殖场

收稿日期: 2019-11-27; 修订日期: 2020-02-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (NSFC 41703117, U1701242)

作者简介: 吴黛灵 (1993~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: dailing.wu@m.scn.edu.cn

* 通信作者, E-mail: liangying.he@m.scn.edu.cn

等相关地下水中,不仅发现了多种抗生素和耐药基因,也发现粪大肠菌群、假单胞菌属、肠球菌、大肠杆菌等细菌已对多种抗生素形成耐药^[13~18]。

我国对环境中的抗生素与耐药基因研究集中在土壤、地表水和沉积物^[19~23]。由于地下水监测的难度与复杂度,目前对地下水中耐药基因的研究报道还很少^[11,24]。笔者前期调查了南方地区东江流域地表水和地下水中药和个人护理用品(PPCPs)和人工甜味剂(ASs)的分布情况,研究表明城市活动对地下水造成了严重污染^[25],由此可见,地下水中耐药基因的分布特征及其潜在风险亦不容忽视。本文选择深圳市民用井为研究对象,分析我国南方地区浅层地下水中耐药基因的分布特征及生态风险,以期为地下水的污染防治措施提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 研究区域及样品采集

深圳市位于北回归线以南,本地水资源匮乏,人均水资源拥有量低于世界水危机标准,是全国严重缺水城市之一,流域城区的河流普遍受到污染^[26]。随着人口密度的增长,地下水开采量不断加大,成为重要的水资源。据文献^[27]的数据,深圳市地下水资源量为 6.38 亿 m^3 ,年供水量为 318.31 万 m^3 ,且全为浅层地下水,要用于居民生活、农业、矿泉水和工业,其中农业灌溉用水井和居民生活用水井是主要的取水用途。

本研究采集深圳市茅洲河流域内 11 口居民生

活区地下水进行分析(图 1)。采样涉及宝安区的沙井街道、松岗街道、燕罗街道、江碧工业区以及光明新区的石岩街道。W1 ~ W8 主要位于人口较为密集的河流中下游区域,其中, W1、W2、W3、W5、W6 和 W8 位于居民区院落内,附近生活人口密集; W4 与 W7 位于居民区菜地旁。W9 位于城郊山区某林场,为数百居民日常生活用水。W10 与 W11 位于河流上游、羊台山脚下。以羊台山泉水为井水环境本底对照样品(CK)。采集的井水保存在灭菌处理过的 10 L 白色不透明聚乙烯塑料瓶中,并在 24 h 内前处理完毕。

1.2 水样 DNA 提取

取 1.5 ~ 2 L 水样经 0.22 μm 孔径混合醋酸酯纤维素膜过滤,每个样品收集 3 个平行滤膜。取滤膜用灭菌后的手术剪在无菌操作下剪碎,按照 PowerSoil DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, USA)试剂盒内的操作步骤提取滤膜上的 DNA。随后用 1.0% 琼脂凝胶电泳检测 DNA 样品的质量和完整性。采用分光光度计 (NanoDrop ND-1000, Thermo Scientific, Waltham, MA)对提取的 DNA 进行浓度与纯度的检测。DNA 样品保存在 -80°C 备用。

1.3 抗生素耐药基因检测与定量

采用高通量荧光定量 PCR (high-throughput qPCR, HT-qPCR)技术对井水中的抗生素耐药基因(ARGs)进行分析。目标基因为 248 个环境常见以及临床相关的耐药基因和可移动元件基因,包括:① 9 大类耐药基因:氨基糖苷类(aminoglycosides)、



图 1 民用井采样地示意

Fig. 1 Map of sampling wells

β -内酰胺类 (β -lactamases)、氯霉素类 (chloramphenicols)、大环内酯类-林可酰胺类-链阳性菌素 B 类 (macrolide-lincosamide-streptogramin B, MLSB)、多重耐药类 (multidrug)、磺胺类 (sulfonamides)、四环素类 (tetracyclines)、万古霉素类 (vancomycins) 及其他 (other); ②10 种可移动遗传元件 (mobile genetic elements, MGEs): 8 种转座子、一类整合子整合酶基因 (*intl1*)、临床一类整合子整合酶基因 (*cint1*); ③16S rRNA 基因. 引物设计与验证参考文献 [28] 进行.

反应体系的总体积为 100 nL, 包括 1 $\times$ LightCycler 480 SYBR Gree I Master, 500 nmol $\cdot$ L⁻¹ 引物, 2 ng $\cdot$ μ L⁻¹ DNA 模板. 反应程序为: 预变性 95 $^{\circ}$ C, 10 min; 95 $^{\circ}$ C, 30 s; 退火温度 60 $^{\circ}$ C, 30 s; 循环 40 次. 每个芯片设置一组阴性对照. 目标基因的检测与定量在安徽微分基因有限公司 Wafergen Smartchip 反应平台进行 (Microanaly Genetech Co. Limited, Anhui, China). 根据 SmartChip Real-Time PCR Systems 的仪器性能, 选取 CT 值 < 31, 且在 3 个平行中有两个及以上检出、偏差 < 20%, 且满足曲线拟合分析的样本判为阳性检出.

1.4 16S rRNA 基因丰度测定

采用荧光定量 PCR 仪 QuantStudio™ 7 Flex System (ABI, 美国) 对样品中 16S rRNA 基因丰度进行绝对定量. qPCR 反应体系为 20 μ L: 10 μ L 的 2 $\times$ SYBR® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus), 0.05 mmol $\cdot$ L⁻¹ 的上下游引物^[18] 各 0.4 μ L, 50 $\times$ ROX 参比染料 0.4 μ L, 2 μ L 的 DNA 模板 (DNA < 80 ng), 以及 6.8 μ L 灭菌超纯水. qPCR 的反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 总共 40 个循环. 阴性对照为灭菌的超纯水代替样品, 每个样品均做 3 次技术重复实验. 16S rRNA 基因的标准曲线是通过将携带该基因的质粒进行 10 倍稀释得到的, 从 10⁷ ~ 10¹ 个拷贝, 每个浓度设置 3 次重复. 16S rRNA 基因的拷贝数通过 qPCR 结果中每个基因的 CT 值所对应的标准曲线进行计算. 标准曲线相关系数的平方 (r^2) 范围为 0.99 ~ 0.998, 扩增效率为 95% ~ 110%.

1.5 数据分析

样品中 ARGs 的相对拷贝数计算参照已有研究方法^[8,28], 采用公式 (1) 进行计算. 采用公式 (2)^[29] 计算样品中 ARGs 的绝对丰度.

$$\text{ARGs 相对拷贝数} = 10^{[(31-CT)/(10/3)]} \quad (1)$$

$$\text{ARGs 绝对丰度} = \frac{16S \text{ rRNA 基因绝对拷贝数}}{16S \text{ rRNA 相对基因拷贝数}} \times \text{ARGs 相对拷贝数} \quad (2)$$

根据核糖体 RNA 操纵子拷贝数数据库 (Ribosomal RNA Operon Copy Number Database) 所述, 每个细菌平均含有 4.1 个 16S rRNA 基因^[30], 因此取每个细菌平均含有 4 个 16S rRNA 基因. 因此, 每个细菌携带的耐药基因或可移动遗传元件的相对丰度计算公式如下:

$$\text{ARGs 个数} = \frac{\text{ARGs 绝对丰度}}{16S \text{ rRNA 绝对丰度}} \times 4 \quad (3)$$

采用 Excel 2010 进行数据处理, 采用 SPSS 24.0 进行 Pearson 相关性分析, 使用 Origin 9.0 进行相关图形绘制. 对目标基因的绝对量取 log₁₀ 值, 采用 Rstudio 绘制热图.

2 结果与讨论

2.1 民用井中耐药基因检出情况

根据 HT-qPCR 筛查结果, 11 口民用井中共检出 141 种耐药基因和 8 种可移动遗传元件 (6 种转座子基因以及 2 种整合酶基因) (图 2). 在 11 口民用井分别检出 48 种至 89 种基因, 平均每口井检出 68 种 [图 3(a)]. 在环境本底对照样品 (羊台山泉水 CK) 检出 59 种目标基因. 检出的耐药基因主要分属于以下 9 大类抗生素: 氨基糖苷类、 β -内酰胺类、氯霉素类、大环内酯类-林可酰胺类-链阳性菌素 B 类 (MLSB)、多重耐药类、磺胺类、四环素类、万古霉素类及其他^[31]. 其中, 氨基糖苷类、 β -内酰胺类与多重耐药类为检出频次最高的类型. Szekeres 等^[11] 使用 qPCR 技术对 11 种耐药基因在邻近城市的地下水进行了检测, 该研究中耐药基因的检出频率为 β -内酰胺类 > 磺胺类 > 四环素类 > 其他 > MLSB > 氯霉素类 > 氨基糖苷类. 在城市水环境中, 如自来水厂^[32]、医院废水^[33]、生活污水^[34] 及养殖废水中^[18], β -内酰胺类、氯霉素类、MLSB、磺胺类和四环素类耐药基因检出频繁, 在天然水环境中, 如河流、湖泊、水库以及地下水中, β -内酰胺类、氨基糖苷类和磺胺类耐药基因相对含量最高, 为最常见的耐药基因类型^[35].

按照耐药机制的不同 [图 3(b)], 检出的耐药基因主要属于抗生素失活机制 (45.3%)、外排泵机制 (34.3%)、核糖体保护机制 (16.5%) 以及其他机制 (3.8%). 本研究结果也与 Chen 等^[30] 在生活垃圾填埋场附近的地下水中耐药基因的检测结果十分相似, 抗生素失活机制和外排泵机制成为微生物适应抗生素选择压力的最主要机制. 抗生素失活酶可将细胞内抗生素转换为低活性产物, 从而有效降低微生物胞内抗生素的浓度, 如氨基糖苷类耐药基因 (*aac6i*、*aadA2* 和 *aadD* 等). 外排泵机制可介导抗生

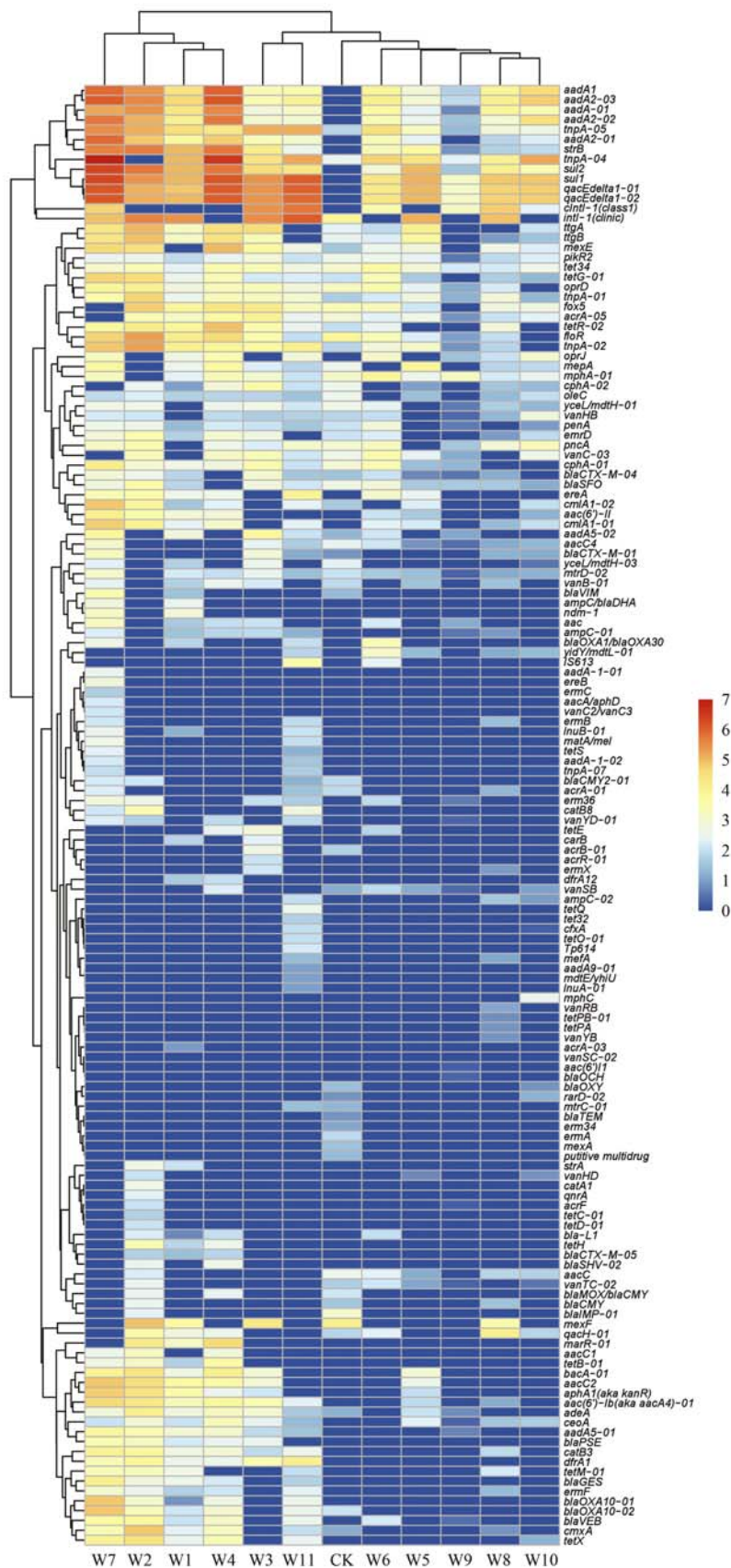


图2 民用井中耐药基因(ARGs)和可移动元件(MGEs)分布特征

Fig. 2 Distribution characteristics of ARGs and MGEs in domestic wells

素和重金属等多种污染物排至细胞外,如 *emrY* 和 *macA* 等耐药基因,也是微生物适应环境胁迫条件的主要途径^[36].

2.2 耐药基因在民用井分布特征及其健康风险
民用井中耐药基因绝对总量为 $8.0 \times 10^3 \sim 4.4 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ [图 4(a)],其中位于松岗街道

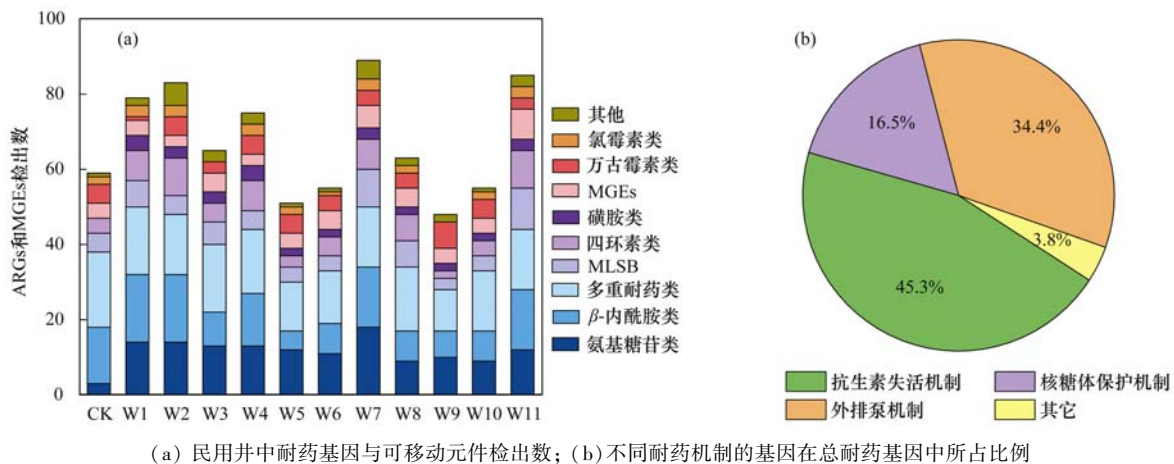


图 3 民用井中耐药基因与可移动元件的检出情况

Fig. 3 Detected ARGs and MGEs in domestic wells

的民用井 W4 中耐药基因的丰度最高,其次为茅洲河沿岸的民用井 W7. 来自林场的民用井 W9 与松岗街道的 W6 中耐药基因的丰度最低,甚至低于环境本底对照点 CK. 在所有井水中,磺胺类耐药基因及多重耐药类基因的丰度占据最高比例,此外,在 W2、W4 及 W7 等井中,氨基糖苷类耐药基因也呈现出较高丰度[图 3(a)]. 在对照点 CK 中,耐药基因的总丰度为 3.9×10^4 copies·mL⁻¹. Chen 等^[30] 通过高通量 qPCR 技术在城市垃圾填埋场的地下水中检测得出耐药基因的丰度为 $2.5 \times 10^6 \sim 1.27 \times 10^7$ copies·mL⁻¹,其中主要的耐药基因类型为多重耐药类、β-内酰胺类和四环素类.

为了降低细菌生物量所引起的差异,将耐药基因的绝对丰度与细菌细胞数进行了均一化处理. 目前,根据核糖体 RNA 操纵子拷贝数数据库 (Ribosomal RNA Operon Copy Number Database) 的描述,每个细菌平均含有 4.1 个 16S rRNA 基因^[34]. 因而,根据每口民用井中测得的 16S rRNA 的拷贝数,将耐药基因的个数分别估算至每个细菌细胞体内,其结果如图 4(b) 所示. 结果显示,在民用井 W7、

W8、W10 及 W11 的井水中,平均每个细菌携带有至少一个耐药基因,经均一化处理后的 W11 井水中甚至平均每个细菌携带有 4 个耐药基因.

在本研究所检测到的 141 种耐药基因中,*aadA-01*、*aadA1*、*aadA2*、*pikR2*、*qacEdelta1-01*、*qacEdelta1-02*、*strB*、*sul1*、*sul2* 和 *tet34* 在所有样本中均可检出,*acrA*、*floR*、*cmlA1-01*、*blaCTX-M-04*、*blaSFO*、*ceoA*、*cphA-01*、*fox5*、*mphA-01*、*mtrD-02*、*oleC*、*oprD*、*penA*、*pncA*、*tetG*、*tigB*、*vanHB* 和 *ycl/mdlH-01* 等基因在样本中的检出率超过 82%. 由于磺胺类、四环素类以及季铵盐类化合物的普遍应用^[9],磺胺类 (*sul1*、*sul2*)、四环素类 (*tet34*、*tetG*) 和季铵盐类耐药基因 (*qacEdelta1*、*qacEdealta2*) 在环境中普遍检出,是环境常见的耐药基因类型^[11,37,38]. 同时,氨基糖苷类抗生素是临床上使用量最多的五大类抗生素之一^[39],有研究认为氨基糖苷类耐药基因是在污水、废水和动物粪便中最频繁检出的一类耐药基因,在天然水体中也有检出^[40].

然而,临床相关耐药基因(如超广谱 β-内酰胺

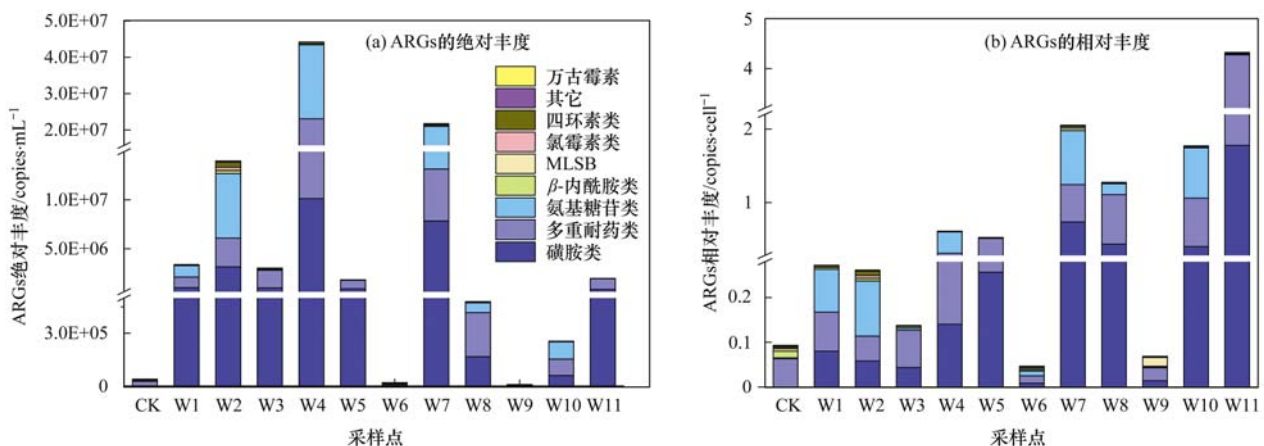


图 4 民用井中耐药基因检出水平

Fig. 4 Abundance of ARGs detected from domestic wells

酶基因 *blaSHV*、*blaTEM*、*blaCTX* 和 *blaOXA-1* 等,万古霉素类基因 *vanB* 和 *vanC-03* 等,氟苯尼考耐药基因 *floR* 等)在民用井水中的高频检出,指示一定程度的健康风险.国内外多名学者^[41~43]的研究发现大肠杆菌、沙门氏菌等多种致病菌携带 *floR* 基因,甚至同时携带其他耐药基因如 *tetA* 基因,形成多重耐药菌^[44,45]. 肠球菌是院内感染的重要致病菌,对万古霉素耐药主要由 *vanA*、*vanB*、*vanC* 和 *vanD* 等基因介导^[46]. 万古霉素耐药基因的肠球菌阳性率呈逐年上升的趋势^[46,47],对临床治疗形成一定影响.此外,汪亚斯等^[48]从医院分离获得的耐碳青霉烯酶大肠埃希菌中检出有 50% 的菌株同时携带有超广谱 β -内酰胺酶基因 *blaTEM*、*blaCTX* 和 *blaCTX*. 然而,碳青霉烯类抗生素是治疗严重细菌感染最主要的药物之一,被认为是抗产超广谱 β -内酰胺酶菌株的最后一道防线^[49].

民用井作为当地居民的饮用水源之一,耐药基因(尤其是临床相关耐药基因)带来的潜在健康风险不容忽视.若将本研究所调查的 11 口民用井看作河流域内饮用水的代表,则平均每毫升井水中含有 1.6×10^7 个细菌.将检测并计算得到的民用井井水中平均每个细菌细胞所携带的耐药基因量取平均值,可知井水中平均每个细菌细胞携带有 1.03 个耐药基因.文献^[50]中指出,我国健康成年人每天需饮水 1 500 ~ 1 700 mL,假设该流域内人均喝水量为 1 700 mL,并以井水为唯一水源,则当地居民平均每

人每天摄入的耐药基因量将达到 2.8×10^{10} 个. Xu 等^[51]对杭州两个自来水源的源水中 ARGs 的丰度检测结果显示,钱塘江江水作为自来水源水中 ARGs 的丰度为 $10^8 \sim 10^9$ copies·L⁻¹,而出水中 ARGs 的丰度在 $10^5 \sim 10^8$ copies·L⁻¹. 可见,地下水中的耐药基因对人体健康形成潜在威胁.

2.3 可移动元件在民用井中的分布特征及耐药基因水平转移风险

可移动元件基因 MGEs 在 11 口民用井中的绝对丰度为 $2.3 \times 10^3 \sim 1.96 \times 10^7$ copies·mL⁻¹,其中民用井 W7 与 W4 中 MGEs 的丰度最高[图 5(a)]. 在对照点 CK 中, MGEs 的总丰度为 9.4×10^3 copies·mL⁻¹. 经均一化处理后每个细菌细胞体内的可移动遗传元件数量估算结果如图 5(b)所示. W7、W8 和 W10 中每个细菌所携带的 MGEs 在 1 ~ 2 个,井 W11 中平均每个细菌携带有 3 个 MGEs,显示出较高的基因水平转移风险. W4、W7 及 W10 井水中检出的 MGEs 主要为 *tnpA-04*, W8 和 W11 井水中主要为 *clntI-1* (class1) 与 *intl-1* (clinic) [图 5(b)]. 值得注意的是,可移动元件基因与耐药基因的分布情况相吻合[图 2、图 4(a) 及图 5(a)],民用井 W4、W1、W2 和 W7 不仅含有高丰度的耐药基因,也含有多种 MGEs. 可见,相比环境本底对照点(CK),民用井水含有丰富的 ARGs 和 MGEs.

进一步对耐药基因与可移动元件进行相关性分析(表1),结果显示磺胺类、多重耐药类、氨基糖苷

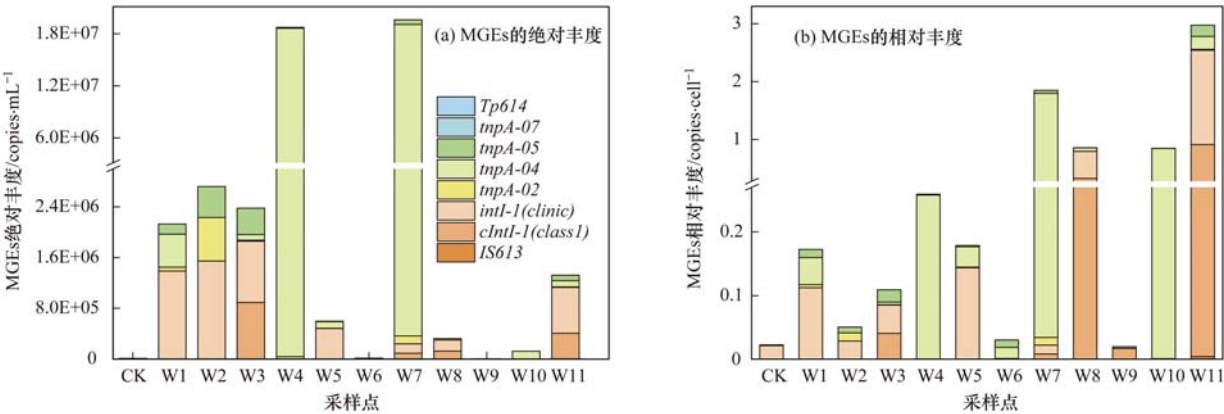


图5 民用井中移动元件检出水平
Fig. 5 Abundance of MGEs detected from domestic wells

表1 ARGs 和 MGEs 之间的相关性¹⁾

Table 1 Correlations between various ARGs and MGEs							
	多重耐药类	氨基糖苷类	β -内酰胺类	氯霉素类	四环素类	其它	MGEs
磺胺类	1.000 **	0.880 **	0.873 **	0.782 **			0.985 **
多重耐药类		0.880 **	0.873 **	0.782 **			0.985 **
氨基糖苷类			0.770 **	0.690 *	0.776 **	0.667 *	0.832 **
β -内酰胺类				0.968 **	0.618 *	0.704 *	0.885 **
氯霉素类					0.668 *	0.801 **	0.777 **

1) * * 表示 $P < 0.01$, * 表示 $P < 0.05$. 样本数量: $n = 11$

类、 β -内酰胺类以及氯霉素类耐药基因与可移动元件呈显著正相关(相关系数为 0.777 ~ 0.985, $P < 0.01$). Chen 等^[30]在城市垃圾填埋场附近的地下水中亦发现磺胺类($P < 0.05$)、多重耐药($P < 0.05$)和氯霉素类($P < 0.01$)耐药基因与可移动元件呈正相关,除此之外,四环素类($P < 0.01$)和万古霉素类($P < 0.05$)耐药基因也具有相关规律.

水平基因转移通常被认为是细菌获得抗性的主要分子机制^[10,52,53]. Zhu 等^[28]的研究指出,整合酶基因(如 *intI-1*、*cintI-1*)和转座酶基因(*tnpA*)常被用作可移动遗传元件的标志基因. 一类整合子基因 *intI* 被认为是耐药细菌和人为污染的指示基因^[10]. 有研究表明,利用 *intI-1* 或 *cintI-1* 编码的整合酶, I 类整合子以环形基因盒的形式可以捕获不同的 ARGs^[10,54,55]. 水平转移也是临床相关致病菌从环境细菌中获取抗性基因的重要途径.

耐药基因的风险评估主要围绕基因的水平转移能力及其与致病菌的关联来进行. Martínez 等^[56]对 ARGs 的人体健康风险提供了一种评估模型,根据该基因是否为耐药基因、ARGs 是否在 MGEs 上以及该基因是否在人类致病菌中存在而将 ARGs 的风险分为 7 个等级. Oh 等^[57]基于宏基因组测序的数据,通过计算对 ARGs 的相对丰度、可移动性以及病原体内的存在情况进行评估,使用三维风险空间模型对 ARGs 的耐药风险进行评分. 有研究指出环境中 ARGs 的分布特征和多样性变化不仅与水平转移相关^[58~60],也与细菌群落结构密切相关^[61]. 由于微生物群落的多样性和实际环境的复杂性,迄今尚未形成完整且可靠的耐药基因风险评估框架.

3 结论

(1) 城市密集活动对地下水耐药基因具有较大影响,民用井水中耐药基因主要类型为磺胺类、多重耐药类以及氨基糖苷类,其检出水平和丰度远高于环境背景值.

(2) 民用井水不仅含有多种环境常见基因,也含有多种临床重要的耐药基因;同时可移动元件基因与耐药基因密切相关,井水中的耐药基因具有较高的转移风险,对环境卫生和人体健康具有潜在威胁.

参考文献:

- [1] Zaffiri L, Gardner J, Toledo-Pereyra L H. History of antibiotics. From salvarsan to cephalosporins [J]. Journal of Investigative Surgery, 2012, **25**(2): 67-77.
- [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] 国家卫生计生委, 国家发展改革委, 教育部, 等. 关于印发遏制细菌耐药国家行动计划(2016-2020 年)的通知. 国卫医发[2016]43 号[EB/OL]. http://www.gov.cn/xinwen/2016-08/25/content_5102348.htm, 2016-08-05.
- [4] World Health Organization. Antimicrobial resistance. Global report on surveillance [EB/OL]. <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?codlan=1&codcol=15&codcch=870>, 2014.
- [5] Sui Q, Cao X Q, Lu S G, et al. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: a review [J]. Emerging Contaminants, 2015, **1**(1): 14-24.
- [6] Balzer F, Zühlke S, Hannappel S. Antibiotics in groundwater under locations with high livestock density in Germany [J]. Water Supply, 2016, **16**(5): 1361-1369.
- [7] Hou J, Wan W N, Mao D Q, et al. Occurrence and distribution of sulfonamides, tetracyclines, quinolones, macrolides, and nitrofurans in livestock manure and amended soils of Northern China [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, **22**(6): 4545-4554.
- [8] Chen Q L, An X L, Li H, et al. Do manure-borne or indigenous soil microorganisms influence the spread of antibiotic resistance genes in manured soil? [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, **114**: 229-237.
- [9] Qiao M, Ying G G, Singer A C, et al. Review of antibiotic resistance in China and its environment [J]. Environment International, 2018, **110**: 160-172.
- [10] Gillings M R. Lateral gene transfer, bacterial genome evolution, and the Anthropocene [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2017, **1389**(1): 20-36.
- [11] Szekeres E, Chiriac C M, Baricz A, et al. Investigating antibiotics, antibiotic resistance genes, and microbial contaminants in groundwater in relation to the proximity of urban areas [J]. Environmental Pollution, 2018, **236**: 734-744.
- [12] Kothari A, Wu Y W, Chandonia J M, et al. Large circular plasmids from groundwater plasmidomes span multiple incompatibility groups and are enriched in multimetal resistance genes [J]. Mbio, 2019, **10**(1): e02899-18, doi: 10.1128/mbio.02899-18.
- [13] Li X D, Watanabe N, Xiao C L, et al. Antibiotic-resistant *E. coli* in surface water and groundwater in dairy operations in Northern California [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2014, **186**(2): 1253-1260.
- [14] Yu Z, He P, Shao L, et al. Co-occurrence of mobile genetic elements and antibiotic resistance genes in municipal solid waste landfill leachates: A preliminary insight into the role of landfill age [J]. Water Research, 2016, **106**: 583-592.
- [15] Boy-Roura M, Mas-Pla J, Petrovic M, et al. Towards the understanding of antibiotic occurrence and transport in groundwater: Findings from the Baix Fluvià alluvial aquifer (NE Catalonia, Spain) [J]. Science of the Total Environment, 2018, **612**: 1387-1406.
- [16] Tolentino F M, De Almeida I A Z C, Dos Santos C C M, et al. Phenotypic and genotypic profile of the antimicrobial resistance of bacterial isolates and evaluation of physical and chemical potability indicators in groundwater in Brazil [J]. International Journal of Environmental Health Research, doi: org/10.1080/09603123.2019.1640354.
- [17] He L Y, Liu Y S, Su H C, et al. Dissemination of antibiotic resistance genes in representative broiler feedlots environments: identification of indicator ARGs and correlations with

- environmental variables [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(22): 13120-13129.
- [18] He L Y, Ying G G, Liu Y S, *et al.* Discharge of swine wastes risks water quality and food safety: antibiotics and antibiotic resistance genes from swine sources to the receiving environments [J]. *Environment International*, 2016, **92-93**: 210-219.
- [19] Tao R, Ying G G, Su H C, *et al.* Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in *Enterobacteriaceae* isolated from the Pearl rivers in South China [J]. *Environmental Pollution*, 2010, **158**(6): 2101-2109.
- [20] Yang J F, Ying G G, Zhao J L, *et al.* Spatial and seasonal distribution of selected antibiotics in surface waters of the Pearl Rivers, China [J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2011, **46**(3): 272-280.
- [21] Zhou L J, Ying G G, Zhao J L, *et al.* Trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in the sediments of the Yellow River, Hai River and Liao River in northern China [J]. *Environmental Pollution*, 2011, **159**(7): 1877-1885.
- [22] 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.
- [23] Ying G G, He L Y, Ying A J, *et al.* China must reduce its antibiotic use [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, **51**(3): 1072-1073.
- [24] Zhang Y, Zhang Y Z, Kuang Z M, *et al.* Comparison of microbiomes and resistomes in two karst groundwater sites in Chongqing, China [J]. *Groundwater*, 2019, **57**(5): 807-818.
- [25] Yang Y Y, Zhao J L, Liu Y S, *et al.* Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and artificial sweeteners (ASs) in surface and ground waters and their application as indication of wastewater contamination [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **616-617**: 816-823.
- [26] 深圳市水务局. 深圳基本水情 [EB/OL]. http://swj.sz.gov.cn/xxgk/zfxgkml/szswgk/szjbsq/201911/t20191105_18496533.htm, 2019.
- [27] 深圳市水务局. 深圳市水资源公报 [EB/OL]. http://swj.sz.gov.cn/xxgk/zfxgkml/szswgk/tjsj/szygh/201910/t20191023_18451949.htm, 2018.
- [28] Zhu Y G, Johnson T A, Su J Q, *et al.* Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, **110**(9): 3435-3440.
- [29] 程建华, 唐翔宇, 刘琛. 紫色土丘陵区畜禽养殖场土壤中抗生素抗性基因分布特征 [J]. *环境科学*, 2019, **40**(7): 3257-3262.
- Cheng J H, Tang X Y, Liu C. Characteristics of antibiotic resistance genes in various livestock feedlot soils of the hilly purple soil region [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(7): 3257-3262.
- [30] Chen Q L, Li H, Zhou X Y, *et al.* An underappreciated hotspot of antibiotic resistance: the groundwater near the municipal solid waste landfill [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **609**: 966-973.
- [31] 黄福义, 安新丽, 陈青林, 等. 梅花鹿养殖场抗生素抗性基因分布特征 [J]. *环境科学*, 2016, **37**(11): 4402-4409.
- Huang F Y, An X L, Chen Q L, *et al.* Distribution characteristics of antibiotic resistance genes in sika deer farm [J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(11): 4402-4409.
- [32] Bergeron S, Boopathy R, Nathaniel R, *et al.* Presence of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in raw source water and treated drinking water [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, **102**: 370-374.
- [33] Rodriguez-Mozaz S, Chamorro S, Marti 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.
- [34] Lefkowitz J R, Duran M. Changes in antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* during domestic wastewater treatment [J]. *Water Environment Research*, 2009, **81**(9): 878-885.
- [35] 李林云, 谭璐, 崔玉晓, 等. 饮用水中细菌耐药及其健康风险研究进展 [J]. *生态毒理学报*, 2018, **13**(2): 1-12.
- Li L Y, Tan L, Cui Y X, *et al.* Bacterial resistance and human health risk in drinking water [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2018, **13**(2): 1-12.
- [36] Chen B W, Lin L, Fang L, *et al.* Complex pollution of antibiotic resistance genes due to *beta*-lactam and aminoglycoside use in aquaculture farming [J]. *Water Research*, 2018, **134**: 200-208.
- [37] Xu Y, Guo C S, Luo Y, *et al.* Occurrence and distribution of antibiotics, antibiotic resistance genes in the urban rivers in Beijing, China [J]. *Environmental Pollution*, 2016, **213**: 833-840.
- [38] Ling Z H, Yang Y, Huang Y L, *et al.* A preliminary investigation on the occurrence and distribution of antibiotic resistance genes in the Beijiang River, South China [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2013, **25**(8): 1656-1661.
- [39] 张红, 程寒飞. 水环境中氨基糖苷类抗性基因污染及研究进展 [J]. *环境科学与技术*, 2018, **41**(10): 121-130.
- Zhang H, Cheng H F. Aquatic environmental pollution of aminoglycoside resistance genes: a review [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, **41**(10): 121-130.
- [40] Hsu C Y, Hsu B M, Ji W T, *et al.* A potential association between antibiotic abuse and existence of related resistance genes in different aquatic environments [J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2015, **226**, doi: 10.1007/s11270-014-2235-z.
- [41] Bischoff K M, White D G, McDermott P F, *et al.* Characterization of chloramphenicol resistance in beta-hemolytic *Escherichia coli* associated with diarrhea in Neonatal swine [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, **40**(2): 389-394.
- [42] 杜向党, 吴蓓蓓, 沈建忠. 牛源致病性大肠杆菌耐氟苯尼考 *floR* 基因的克隆与序列分析 [J]. *中国兽医学报*, 2005, **25**(3): 247-250.
- Du X D, Wu B B, Shen J Z. Cloning and sequence analysis of *floR* genes isolated from bovine pathogenic *Escherichia coli* [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2005, **25**(3): 247-250.
- [43] 杜向党, 李新生, 张素梅, 等. 鸡源大肠杆菌耐氟苯尼考耐药基因 *floR* 的分子检测 [J]. *河南农业大学学报*, 2007, **41**(2): 188-191.
- Du X D, Li X S, Zhang S M, *et al.* Detection of the *floR* genes in florfenicol-resistant *Escherichia coli* isolated from diseased chickens [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2007, **41**(2): 188-191.
- [44] Mayers D L. Antimicrobial drug resistance: mechanisms of drug resistance [M]. New York: Humana Press, 2009.
- [45] Hradecka H, Karasova D, Rychlik I. Characterization of *Salmonella enterica* serovar typhimurium conjugative plasmids transferring resistance to antibiotics and their interaction with the virulence plasmid [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2008, **62**(5): 938-941.
- [46] Kak V, Chow J W. Acquired antibiotic resistances in enterococci [A]. In: Gilmore M S (Ed.). *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular biology, and Antibiotic Resistance* [M]. Washington, DC: ASM Press, 2002. 355-384.

- [47] 郑波, 王珊, 李耘, 等. 万古霉素耐药肠球菌基因及水平转移研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2007, **23**(2): 133-136.
Zheng B, Wang S, Li Y, *et al.* Study of gene and horizontal gene transfer of vancomycin resistant *Enterococci* [J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2007, **23**(2): 133-136.
- [48] 汪亚斯, 董爱英, 周海健, 等. 不同感染途径 CREC 分子分型特点及耐药分析[J]. 中国抗生素杂志, doi:10.13461/j.cnki.cja.006801.
Wang Y S, Dong A Y, Zhou H J, *et al.* Molecular typing and drug resistance analysis of carbapenem-resistant *Escherichia coli* in different infection [J]. Chinese Journal of Antibiotics, doi: 10.13461/j.cnki.cja.006801.
- [49] Abbas H A, Kadry A A, Shaker G H, *et al.* Impact of specific inhibitors on metallo- β -carbapenemases detected in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates [J]. Microbial Pathogenesis, 2019, **132**: 266-274.
- [50] 中国营养学会. 中国居民膳食指南(2016)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016.
- [51] Xu L K, Ouyang W Y, Qian Y Y, *et al.* High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in drinking water treatment plants and distribution systems [J]. Environmental Pollution, 2016, **213**: 119-126.
- [52] Gaze W H, Zhang L H, Abdoulsalam N A, *et al.* Impacts of anthropogenic activity on the ecology of class 1 integrons and integron-associated genes in the environment [J]. The ISME Journal, 2011, **5**(8): 1253-1261.
- [53] Marshall B M, Levy S B. Food animals and antimicrobials: impacts on human health [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2011, **24**(4): 718-733.
- [54] Heuer H, Binh C T, Jechalke S, *et al.* IncP-1 ϵ plasmids are important vectors of antibiotic resistance genes in agricultural systems: diversification driven by class 1 Integron gene cassettes [J]. Frontiers in Microbiology, 2012, **3**: 2, doi: 10.3389/fmicb.2012.00002.
- [55] Partridge S R, Tsafnat G, Coiera E, *et al.* Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2009, **33**(4): 757-784.
- [56] Martínez J L, Coque T M, Baquero F. What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes [J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, **13**(2): 116-123.
- [57] Oh M, Pruden A, Chen C Q, *et al.* MetaCompare: a computational pipeline for prioritizing environmental resistome risk [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2018, **94**(7): fty079, doi: 10.1093/femsec/fty079.
- [58] Jia S Y, Shi P, Hu Q, *et al.* Bacterial community shift drives antibiotic resistance promotion during drinking water chlorination [J]. Environmental Science & Technology, 2015, **49**(20): 12271-12279.
- [59] Sun M M, Ye M, Wu J, *et al.* Impact of bioaccessible pyrene on the abundance of antibiotic resistance genes during *Sphingobium* sp. - and sophorolipid-enhanced bioremediation in soil [J]. Journal of Hazardous Materials, 2015, **300**: 121-128.
- [60] Chen Q L, An X L, Li H, *et al.* Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil [J]. Environment International, 2016, **92-93**: 1-10.
- [61] Forsberg K J, Patel S, Gibson M K, *et al.* Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats [J]. Nature, 2014, **509**(7502): 612-616.

CONTENTS

Contribution of Emissions from the Iron and Steel Industry to Air Quality in China	TANG Ling, XUE Xiao-da, BO Xin, <i>et al.</i> (2981)
Interannual Characteristics of Fine Particulate Matter in North China and Its Relationship with Land Use and Land Cover Change	YANG Wei, JIANG Xiao-li (2995)
Evaluation of the Reduction in PM _{2.5} Concentration During the National Traditional Games of Ethnic Minorities in Zhengzhou	WANG Shen-bo, LOU Ya-min, XU Yi-fei, <i>et al.</i> (3004)
Pollution Characteristics of Water-soluble Inorganic Ions in Chengdu in Summer and Winter	FENG Yan-peng, ZHANG Jun-ke, HUANG Xiao-juan, <i>et al.</i> (3012)
Analysis of Transport Pathways and Potential Sources of Atmospheric Particulate Matter in Zigong, in South of Sichuan Province	LEI Yu, ZHANG Xiao-ling, KANG Ping, <i>et al.</i> (3021)
Source Composition Spectrum of Volatile Organic Compounds in Typical Industries in Sichuan	XU Chen-xi, CHEN Jun-hui, HAN Li, <i>et al.</i> (3031)
Source Profiles of Industrial Emission-Based VOCs in Chengdu	ZHOU Zi-hang, DENG Ye, ZHOU Xiao-ling, <i>et al.</i> (3042)
Emission Characteristics and Risk Assessment of Volatile Organic Compounds from Typical Factories in Zhengzhou	QI Yi-jin, NI Jing-wei, ZHAO Dong-xu, <i>et al.</i> (3056)
Characteristics, Source Apportionment, and Environmental Impact of Volatile Organic Compounds in Summer in Yangquan	NIU Yue-yuan, LIU Zhuo-cheng, LI Ru-mei, <i>et al.</i> (3066)
Characteristics and Reactivity of VOCs in Hangzhou During a Typical Photochemical Pollution Episode	JING Sheng-ao, YE Xu-hong, GAO Ya-qin, <i>et al.</i> (3076)
Pollution Characteristics and Sensitivity of Surface Ozone in a Typical Heavy-Industry City of the North China Plain in Summer	OU Sheng-ju, WEI Wei, WANG Xiao-qi, <i>et al.</i> (3085)
Source Apportionment of Atmospheric Ammonia; Sensitivity Test Based on Stable Isotope Analysis in R Language	GU Meng-na, PAN Yue-peng, HE Yue-xin, <i>et al.</i> (3095)
Distribution Characteristics and Source Analysis of Atmospheric Mercury Speciation in Suzhou	LU Ren-jie, WU Ye-zheng, ZHANG Xiao-jie, <i>et al.</i> (3102)
Emission Characteristics of Light-Duty Gasoline Vehicle Exhaust Based on Acceleration Simulation Mode	XIE Yan, LIAO Song-di, ZHU Man-ni, <i>et al.</i> (3112)
Comparative Analysis of NO _x Emission Characteristics of Non-Ultra-Low- and Ultra-Low-Emission Coal-Fired Power Units During the Start-Up Process	LI Hui, ZHU Fa-hua, SUN Xue-li, <i>et al.</i> (3121)
Source Identification and Pollution Characteristics of Heavy Metals in Suspended Particles of Urban Road Dust from Xingtai City	SONG Yi, LU Xin-wei, ZHOU Xiao, <i>et al.</i> (3130)
Impacts of Leaf Surface Micromorphology Variation on the Ability to Capture Particulate Matter	WEI Wen-jun, WANG Bing, NIU Xiang (3136)
Analysis of Hydrogen and Oxygen Stable Isotope Characteristics and Vapor Sources of Precipitation in the Guanzhong Plain	ZHAO Ming-hua, LU Yan-wei, Rachana Heng, <i>et al.</i> (3148)
Analysis of Nitrate Sources in Different Waters of a Karst Basin	TIAN Yong-zhu, HAN Zhi-wei, ZHAO Ran, <i>et al.</i> (3157)
Analysis of Nitrogen Pollution and Its Pollution Sources in the Muli River Basin	QI Ran, XU Fei-fei, YANG Fan, <i>et al.</i> (3165)
Temporal and Spatial Variation Patterns of the Environmental Elements in the Sediments of the Liaohe Estuary and the Related Influencing Factors	QI Yue, SUN Yong-guang, MA Gong-bo, <i>et al.</i> (3175)
Transport Characteristics of Phosphorus Sources at the Multi-scale Watershed and the Associated Ecological Effects on Poyang Lake	WANG Shuo-yue, GAO Yang, LU Yao, <i>et al.</i> (3186)
Risk Assessment and Source Analysis of Heavy Metals in the River of a Typical Bay Watershed	WANG Lei, WANG Wen-dong, LIU Dong, <i>et al.</i> (3194)
Concentrations of Typical Perfluoroalkyl Acids and Contributions of Their Precursors in the Water of the Le'an River in China	ZHANG Hui, WANG Shi-liang, YU Yang (3204)
Distribution Characteristics of Microplastics in Surface Water and Sediments of Haizhou Bay, Lianyungang	LI Zheng, GAO Chun-mei, YANG Jin-long, <i>et al.</i> (3212)
Profiles and Risk of Antibiotic Resistance Genes in Domestic Wells in the Maozhou River Basin	WU Dai-ling, ZOU Hai-yan, HE Lu-xi, <i>et al.</i> (3222)
Release Mechanisms of Iron and Manganese from Sediments in Jinpen Reservoir	LU Lin-chao, HUANG Ting-lin, LI Nan, <i>et al.</i> (3231)
Characterization of Microplastic Pollution of Sediments from Urban Lakes	WANG Xuan, NIU Si-ping, SONG Xiao-long, <i>et al.</i> (3240)
Structural Characteristics of Microbial Communities in the Sediments of the Niyang River in Tibet	LIU Xiao-dan, HUANG Yi, WANG Yong-hua, <i>et al.</i> (3249)
Combined Effects of Erythromycin and Nutrients on Microalgae in Seawater	WANG Na, ZHAO Wei-hong, MIAO Hui (3257)
Longitudinal Distribution of Benthic Macroinvertebrates Affected by a Hydropower Plant Cascade in the Mudan River	WEN Jia-qi, WANG Hao-ran, CHEN Yong-can, <i>et al.</i> (3266)
Analysis of Rainwater Runoff Pollution Characteristics of Various Typical Underlying Surfaces in Ningbo	XU Yu-jie, GONG Yue-min, BI Jun-peng, <i>et al.</i> (3275)
Water Quality and Bacterial Population Driving Mechanism of Algae Vertical Succession in Stratified Reservoir	YAN Miao-miao, CHEN Sheng-nan, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (3285)
Distribution Characteristics of Disinfection By-Products and the Effects of Booster Chlorination in Long-Distance Water Supply Systems	BI Wei-wei, YE Sheng, YU Jian-quan, <i>et al.</i> (3297)
Occurrence and Prediction Model of Disinfection By-Products in Tap Water	LIU Jun-ping, CHEN Jing-ji, SONG Ya-li, <i>et al.</i> (3307)
Adsorption Characteristics and Mechanism of Cadmium in Water by Alkali and Magnetic Composite Modified Wheat Straw Biochar	CUI Zhi-wen, REN Yan-fang, WANG Wei, <i>et al.</i> (3315)
Enhanced Chromate (VI) Removal Characteristics and Mechanism Using Graphene Oxide Immobilized Nanoscale Zero-Valent Iron Coupled with a Weak Magnetic Field (GO-nFe ⁰ /WMF)	JI Meng, BAO Jian-guo, ZHU Xiao-wei, <i>et al.</i> (3326)
Characteristics and Influencing Factors of Monothioarsenate Adsorption on Goethite	LIAO Dan-xue, SHAN Hui-mei, ZHANG Jin-xian, <i>et al.</i> (3337)
Fast Start-Up ANAMMOX Operation Strategy and Flora Characteristics of a Biofilter	WANG Xiao-tong, YANG Hong, SU Yang, <i>et al.</i> (3345)
Effects of Aeration Strategy on Denitrifying Performance of Activated Sludge Processes in Treating Low-Carbon-Source Municipal Wastewater	ZHANG Xin-ni, CHI Yu-lei, WANG Qian, <i>et al.</i> (3356)
Effect of Hydroxylamine on Community of ANAMMOX Sludge	XING Chong-yang, FAN Yu-chen, CHEN Xuan, <i>et al.</i> (3365)
Microbial Diversity of Filamentous Sludge Bulking at Low Temperature	GAO Chun-di, ZHANG Na, HAN Hui, <i>et al.</i> (3373)
Main Influencing Factors and Strengthening of Anaerobic Transformation of Excess Sludge in China	DONG Bin, GAO Jun, CHEN Si-si, <i>et al.</i> (3384)
Relationship Between CO ₂ and CH ₄ Emissions in Urban Rivers and Sewage Discharging from a Municipal Drainage Network	LI Lei, CHEN Hao, ZHU Yi, <i>et al.</i> (3392)
Effects of Controlled-Release Urea Application on N ₂ O Emission in Maize-Cultivated Sandy Loam Soil	JIANG You-jin, YUAN Jun-ji, DING Wei-xin, <i>et al.</i> (3402)
Greenhouse Gas Emissions for Typical Open-Field Vegetable Production in China	ZHANG Fen, CHENG Tai-hong, CHEN Xin-ping, <i>et al.</i> (3410)
Effects of Water Management on Soil Properties and Cd Behavior of Typical Paddy Soils	HUANG Jing, LI Xin-yang, WEN Sha, <i>et al.</i> (3418)
Effect of Mn-Modified Biochar on the Characteristics of Aggregate Structure and the Content of Cd in Weakly Alkaline Cd-Contaminated Soil	SUN Tong, FU Yu-tong, LI Ke, <i>et al.</i> (3426)
Effects of the Immobilization of Cadmium in Soil Alone or Combined with Foliar Application of Selenium on Cadmium Accumulation in the Plants of Different Genotypes of Tsai-tai	CAO Kun-kun, LI Cheng-cheng, HU Xue-yu, <i>et al.</i> (3434)
Effects of Foliar Spraying of 2,3-dimercaptosuccinic Acid on Cadmium Uptake, Transport, and Antioxidant System in Rice Seedlings	YANG Xiao-rong, HUANG Yong-chun, LIU Zhong-qi, <i>et al.</i> (3441)