

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

基于高分影像的城市水体遥感综合分级方法

杨子谦, 刘怀庆, 吕恒, 李云梅, 朱利, 周亚明, 李玲玲, 毕顺



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2021年5月

第42卷 第5期

Vol.42 No.5

目次

北京冬季PM_{2.5}中有机气溶胶的化学特征和来源解析 徐楠,王甜甜,李晓,唐荣志,郭松,胡敏 (2101)

北京地区2019年2~3月供暖结束后两次污染过程特征分析 尹晓梅,蒲维维,王继康,刘湘雪,乔林 (2110)

北京2019年冬季一次典型霾污染特征与成因分析 廉涵阳,杨欣,张普,陈义珍,杨小阳,赵好希,何友江,赵丹婷 (2121)

青岛沿海地区夏季和冬季新粒子生成特征对比 孙悦,朱玉姣,孟赫,刘兵,刘玉虹,董灿,姚小红,王文兴,薛丽坤 (2133)

太原市城乡居民采暖季室内灰尘中重金属的污染特征及其生态风险评价 黄浩,徐子琪,严俊霞,赵秀阁,王丹璐 (2143)

西安市新装修公共场所空气污染物浓度分析及健康风险评价 范洁,樊灏,沈振兴,党文鹏,郑伟,王志华,付毅 (2153)

超低排放典型燃烧源颗粒物及水溶性离子排放水平与特征 胡月琪,王铮,郭建辉,冯亚君,丁萌萌,颜旭 (2159)

合肥市夏季大气颗粒物中微生物群落的高通量测序分析 姜少毅,孙博文,代海涛,王润芳,马大卫,朱仁斌 (2169)

郑州市细颗粒物时空差异及管控措施影响 董喆,袁明浩,苏方成,张剑飞,孙佳侯,张瑞芹 (2179)

2016~2019年江西省臭氧污染特征与气象因子影响分析 钱悦,许彬,夏玲君,陈燕玲,邓力琛,王欢,张根 (2190)

天山北坡城市群气溶胶光学特性时空分布特征 张喆,丁建丽,王瑾杰,陈香月,刘兴涛,阿提干·吾斯曼 (2202)

基于高分影像的城市水体遥感综合分级方法 杨子谦,刘怀庆,吕恒,李云梅,朱利,周亚明,李玲玲,毕顺 (2213)

太湖水体Chl-a预测模型ARIMA的构建及应用优化 李娜,李勇,冯家成,单雅洁,钱佳宁 (2223)

松花湖水水质空间差异及富营养化空间自相关分析 丁洋,赵进勇,张晶,付意成,彭文启,陈渠昌,李艳艳 (2232)

会仙岩溶湿地丰平枯水期地表水污染及灌溉适用性评价 朱丹尼,邹胜章,李军,樊连杰,赵一,谢浩,朱天龙,潘民强,徐利 (2240)

京杭大运河中下游段天然水化学变化特征及驱动因素 程中华,邓义祥,卓小可,代丹,于涛 (2251)

次降雨过程中不同土地利用配置对径流中氮流失的影响 罗义峰,陈方鑫,周豪,龙翼,严冬春,谭文浩,李丹丹,陈晓燕 (2260)

碳氮同位素解析典型岩溶流域地下水中硝酸盐来源与归趋 任坤,潘晓东,梁嘉鹏,彭聪,曾洁 (2268)

冰封状态下达里湖冰-水中浮游细菌群落结构差异 李文宝,杨旭,田雅楠,杜蕾 (2276)

城市再生水河道沉积物细菌群落空间变化分析:以京津冀北运河为例 邱莹,靳燕,苏振华,邱琰若,赵栋梁,郭道宇 (2287)

太湖春夏两季反硝化与厌氧氨氧化速率的空间差异及其影响因素 赵锋,许海,詹旭,朱广伟,郭宇龙,康丽娟,朱梦圆 (2296)

三峡库区典型支流水库浮游动植物群落结构特征及其与环境因子的关系 陈莎,谢青,付梅,江韬,王永敏,王定勇 (2303)

铁硫改性生物炭去除水中的磷 桑倩倩,王芳君,赵元添,周强,蔡雨麒,邓颖,田文清,陈永志,马娟 (2313)

钢渣对水体中磷的去除性能及机制解析 罗晓,张峻搏,何磊,杨雪晶,吕鹏翼 (2324)

BS-18两性修饰膨润土对四环素和诺氟沙星复合污染的吸附 王新欣,孟昭福,刘欣,王腾,胡啸龙,孙秀贤 (2334)

Ag₃PO₄/g-C₃N₄复合光催化剂的制备及其可见光催化性能 高闯闯,刘海成,孟无霜,郝双玲,薛婷婷,陈国栋,Joseph Acquah (2343)

可见光驱动下罗丹明B自活化过硫酸盐降解双酚A 张怡晨,白雪,石娟,金鹏康 (2353)

铁钛共掺杂氧化铝诱发表面双反应中心催化臭氧氧化去除水中污染物 张帆,宋阳,胡春,吕来 (2360)

硫化铁铜双金属复合材料的制备及除铬机制 屈敏,王源,陈辉霞,王兴润,徐红彬 (2370)

电催化-生物电化学耦合系统处理青霉素废水的机制 曲有鹏,吕江维,董跃,冯玉杰,张杰 (2378)

缺氧/好氧交替连续流的生活污水好氧颗粒污泥运行及污染物去除机制 李冬,杨敬畏,李悦,李帅,张诗睿,王文强,张杰 (2385)

反硝化除磷污泥聚集体内原位除磷活性及有机物浓度的影响 吕永涛,姜晓童,徒彦,王旭东,潘永宝,刘爽,崔双科,王磊 (2396)

基于臭氧旁路处理的污泥原位减量技术工艺 薛冰,刘宾寒,韦婷婷,王先恺,陈思思,董滨 (2402)

活性炭对城市有机固废厌氧消化过程抗生素抗性基因行为特征的影响 马佳莹,王盼亮,汪冰寒,苏应龙,谢冰 (2413)

6种农业废弃物初期碳源及溶解性有机物释放机制 凌宇,闫国凯,王海燕,董伟羊,王欢,常洋,李丛宇 (2422)

中国典型农田土壤有机碳密度的空间分异及影响因素 李成,王让会,李兆哲,徐扬 (2432)

不同水分条件和微生物生物量水平下水稻土有机碳矿化及其影响因子特征 刘琪,李宇虹,李哲,魏晓梦,祝贞科,吴金水,葛体达 (2440)

青藏高原林地土壤的氮转化特征及其影响因素分析:以祁连山和藏东南地区为例 何芳,张丽梅,申聪聪,陈金全,刘四义 (2449)

基于物元可拓模型的兰州市主城区公园表土重金属污染评价 胡梦瑶,李春艳,李娜娜,吉天琪,郑登友 (2457)

长期施用化肥和有有机肥对稻田土壤重金属及其有效性的影响 夏文建,张丽芳,刘增兵,张文学,蓝贤瑾,刘秀梅,刘佳,刘光荣,李祖章,王萍 (2469)

川南山区土壤与农作物重金属特征及成因 韩伟,王成文,彭敏,王乔林,杨帆,徐仁廷 (2480)

宁东能源化工基地核心区表层土壤中多环芳烃的空间分布特征、源解析及风险评价 杨帆,罗红雪,钟艳霞,王幼奇,白一茹 (2490)

重金属钝化剂阻控生菜Cd吸收的功能稳定性和适用性 鹿发虎,吴雪姣,孔雪菲,曾亮,王晓宇,陈兆进,姚伦广,韩辉 (2502)

典型污染稻田水分管理对水稻镉累积的影响 张雨婷,田应兵,黄道友,张泉,许超,朱挥华,朱奇宏 (2512)

油茶果壳改性生物炭吸附性能及其耦合淹水对土壤Cd形态影响 蔡彤,杜辉辉,刘孝利,铁柏清,杨宇 (2522)

土地利用变化对松花江下游湿地土壤真菌群落结构及功能的影响 徐飞,张拓,怀宝东,隋文志,杨雪 (2531)

渔业复垦塌陷地抗生素抗性基因与微生物群落 程森,路平,冯启言 (2541)

3种常用除草剂对细菌抗生素耐药性的影响 李曦,廖汉鹏,崔鹏,白玉丹,刘晨,文畅,周顺桂 (2550)

污水再生利用微生物控制标准及其制定方法探讨 陈卓,崔琦,曹可凡,陆韻,巫寅虎,胡洪营 (2558)

《环境科学》征订启事(2439) 《环境科学》征稿简则(2479) 信息(2152, 2231, 2286)

3 种常用除草剂对细菌抗生素耐药性的影响

李曦, 廖汉鹏*, 崔鹏, 白玉丹, 刘晨, 文畅, 周顺桂

(福建农林大学资源与环境学院, 福州 350002)

摘要: 抗生素耐药性的传播已严重威胁全球公共健康, 近年来研究发现非抗生素类化学物质也能促进细菌耐药性的产生与传播. 然而, 除草剂的大量使用是否对细菌耐药性产生影响却鲜见报道. 本文以模式菌株大肠杆菌 (*Escherichia coli* DH5 α) 为研究对象, 探究 3 种常用除草剂 (草甘膦、草铵膦和麦草畏) 对 *E. coli* DH5 α 耐药性的影响. 结果表明, 在土壤环境浓度暴露下, 除草剂处理可以改变大肠杆菌对抗生素的敏感性, 显著提高大肠杆菌对庆大霉素的耐药能力, 其中不同除草剂对细菌耐药性影响效果为: 草甘膦 > 麦草畏 > 草铵膦. 除草剂暴露 30 d 后, 大肠杆菌突变菌株同时增强了对四环素、氯霉素和氨基糖苷类抗生素的耐药能力, 其中链霉素的最小抑制浓度提高 19.8 倍. 全基因组测序发现, 除草剂可以诱导膜蛋白 (*ompF*, *papC*)、菌毛蛋白 (*yraH*) 和核糖体 (*rpsL*) 等与抗生素耐药性相关的基因突变, 从而增强其耐药能力. 以上结果表明除草剂通过增加染色体基因突变增强细菌耐药能力, 从而促进耐药基因在环境中传播的潜在风险.

关键词: 抗生素耐药性; 基因突变; 除草剂; 大肠杆菌; 突变频率

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)05-2550-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.202009249

Effects of Three Commonly Used Herbicides on Bacterial Antibiotic Resistance

LI Xi, LIAO Han-peng*, CUI Peng, BAI Yu-dan, LIU Chen, WEN Chang, ZHOU Shun-gui

(College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The spread of antibiotic resistance has become a serious threat to global public health. Recently, several studies have found that non-antibiotic chemicals can promote the generation and spread of bacterial antibiotic resistance. However, the effects of herbicides on the antibiotic resistance of bacteria remain unclear. In this study, *Escherichia coli* DH5 α was used as the model strain to explore the effects of three commonly used herbicides (glyphosate, glufosinate, and dicamba) on the antibiotic resistance under soil environmental concentrations. The results showed that herbicide exposure affected the sensitivity of *E. coli* DH5 α to antibiotics and significantly improved the resistance of *E. coli* DH5 α to gentamicin (glyphosate > dicamba > glufosinate). After 30 d of herbicide exposure, the *E. coli* mutant strains enhanced the resistance to tetracycline, chloramphenicol, and aminoglycoside antibiotics, and the minimum inhibitory concentration of streptomycin was increased by 19.8 times. The whole-genome sequencing results illustrated that herbicides induced several previously well-characterized mutations associated with membrane proteins (*ompF* and *papC*), fimbriae proteins (*yraH*), and ribosomes (*rpsL*) related to antibiotic resistance. Together, the results showed that herbicides can enhance the antibiotic resistance of bacteria via inducing genetic mutations, thereby promoting the potential risk of the spread of antibiotic resistance genes in the environment.

Key words: antibiotic resistance; genetic mutation; herbicides; *Escherichia coli*; mutation frequency

自抗生素使用以来, 人类医疗和畜禽养殖行业得到快速的改善和发展, 但与此同时也带来了严重的公共卫生问题——抗生素耐药性的产生与传播. 在全球范围内, 每年约有 70 万人死于耐药感染性疾病, 预计到 2050 年, 每年因此而死亡的人数将达到 1 000 万^[1]. 由于抗生素在人体和牲畜体内代谢率低, 导致大量的抗生素及其代谢产物残留于水体和土壤环境中^[2-4]. 在外界环境的选择压力下, 细菌可通过基因突变、垂直基因转移和水平基因转移产生抗生素耐药性. 通常认为, 抗生素滥用是导致耐药性出现和传播的主要驱动力. 近年来, 研究者在原始森林、永久冻土等没有任何抗生素污染的环境中也检测到大量的抗生素抗性基因存在^[5], 表明抗生素不是唯一驱动耐药基因扩散传播的动力, 可能存在其他因素加速其快速传播.

最近研究发现, 非抗生物质也可以驱动耐药

基因的传播. 例如, 消毒剂和消毒副产物^[6]、汽油和柴油废气颗粒^[7]、纳米材料^[8,9]、离子液体^[10]、非抗生素药物 (三氯生、氟西汀和卡马西平)^[11-13]、CO₂^[14] 和游离亚硝酸^[15] 等物质可以促进多重耐药质粒在细菌之间的水平转移, 进而加速耐药基因在环境中的传播. 这些物质通过促进细胞膜通透性增加, 导致耐药质粒更容易进出细胞膜, 从而加速抗性基因在细菌之间的转移频率^[8]. 此外, 还可以促进胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 含量升高, 具有强氧化能力的 ROS 可直接诱导染色体 DNA 损伤进而增加复制过程中的突变频率^[14,16]. 尽管已

收稿日期: 2020-09-26; 修订日期: 2020-11-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31972521); 福建农林大学科技创新专项基金项目 (CXZX2019082S)

作者简介: 李曦 (1995 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为抗生素抗性基因的传播和危害, E-mail: 1561710773@qq.com

* 通信作者, E-mail: liaohp@fafu.edu.cn

有多种非抗生物质被证明通过增加耐药质粒(譬如 RP4 质粒)转移频率从而加速耐药基因的传播。但是,环境中依然有大量的非抗生物质在抗生素耐药性方面的贡献被忽视。

除草剂作为一种有效控制杂草的农药在全球农业生产中被广泛使用^[17]。我国使用除草剂的农田面积高达6 000万 hm²,未来可能以每年 200 万 hm² 的速度增加^[18]。除草剂的广泛使用导致其大量残留于自然环境中^[19],从而使除草剂在环境中的检测浓度从 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 上升至 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[20],尤其在土壤环境中浓度高达 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[21]。因此,除草剂在环境中,特别是在土壤中的风险不容忽视。已有报道证明除草剂和抗生素耐药性之间存在潜在的联系,Kurenbach 等^[22]的研究发现草甘膦、麦草畏和 2,4-D 的暴露会引起细菌改变对抗生素的敏感性。Xing 等^[23]的研究结果显示,大肠杆菌连续暴露于环境浓度的农药和抗生素复合污染的环境中,能够诱导耐药相关基因发生突变,从而加速耐药性的传播。尽管已有农药等化学物质影响细菌耐药性的报道,然而,这些研究存在化学处理成分复杂、选择的化学物质浓度过高和暴露时间过短等局限性。在土壤环境浓度胁迫下,不同种类除草剂(草甘膦、草铵膦和麦草畏)对细菌抗生素耐药性的影响鲜见报道,特别是影响细菌耐药性的分子机制依然未知。

因此,本文选取农业上广泛使用的 3 种除草剂(草甘膦、草铵膦和麦草畏)和 *E. coli* DH5 α 模式菌株为研究对象,探究除草剂的持续胁迫对细菌耐药性的影响。利用液体连续传代培养实验和全基因组测序解析除草剂诱导抗生素耐药性产生的作用机制。本文发现除草剂等农业化学制剂可促进抗生素耐药性的产生和传播,以期评估除草剂在环境中的风险评价提供了新的视角。

1 材料与方法

1.1 实验材料

草甘膦(glyphosate, Gly)、草铵膦(glufosinate, Glu)和麦草畏(dicamba, Dic)纯度为 99%,其分子结构式如图 1 所示;本文选用临床上使用广泛且常见的 6 种抗生素,用于表征抗生素耐药性^[24,25],如氯霉素(chloramphenicol, Chl)、庆大霉素(gentamycin, Gen)、卡那霉素(kanamycin, Kan)、利福平(rifampicin, Rif)、硫酸链霉素(streptomycin sulfate, Str)和四环素(tetracycline, Tet),具体的抗生素质量浓度见表 1,以上除草剂和抗生素均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;Luria-Bertani (LB)液体和固体培养基($5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 酵母粉, $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 胰蛋白胍,

$10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl, 2% 琼脂)购自北京索莱宝科技有限公司;本文选用无上述 6 种抗生素抗性的大肠杆菌(*E. coli* DH5 α)作为研究对象,由本课题组菌种库保藏。

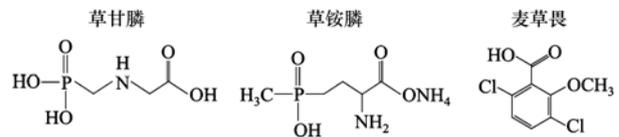


图 1 3 种除草剂的化学结构式

Fig. 1 Chemical formulae of the three herbicides

表 1 抗生素质量浓度

Table 1 Antibiotic concentrations

| 抗生素 | 缩写 | 类别 | 质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ |
|-------|-----|-------|--|
| 氯霉素 | Chl | 氯霉素类 | 16 |
| 庆大霉素 | Gen | 氨基糖苷类 | 10 |
| 卡那霉素 | Kan | 氨基糖苷类 | 50 |
| 利福平 | Rif | 利福平类 | 100 |
| 硫酸链霉素 | Str | 氨基糖苷类 | 30 |
| 四环素 | Tet | 四环素类 | 4 |

1.2 除草剂暴露实验

E. coli DH5 α 经过 12 h 活化后,取 50 μL 菌液接种至含有除草剂的 4.95 mL LB 培养基中,随后在 37°C 、 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下培养,每隔 24 h 重复上述步骤,连续传代培养 30 d。除草剂浓度根据土壤中残留的除草剂水平($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)^[20,21],草甘膦和草铵膦暴露浓度为:5、25 和 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,麦草畏暴露浓度为:2、10 和 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。通过添加相同体积的无菌水作为对照处理($0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。实验过程中,在第 0、10、15、20、25 和 30 d 取 100 μL 菌液并选择合适的稀释梯度,分别涂布至含有 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Gen 和无任何抗生素的 LB 平板上,以统计除草剂暴露后耐药菌株数量和总细菌数量,每个菌液梯度 3 个重复,所有平板在 37°C 培养 24 h 后进行菌落计数。抗生素耐药性突变频率等于耐药菌株的数量除以细菌总数。

1.3 最小抑制浓度和生长曲线的测定

最小抑制浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)是反映细菌抗生素耐药能力的重要指标,采用二倍稀释法测定细菌 MIC^[11]。具体步骤为:经过除草剂暴露 30 d 后,在抗生素平板上筛选出突变的抗性菌株,活化 12 h 后,用 PBS 调整细胞密度为 $10^6\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$,分别测定突变菌株在 6 种抗生素下的 MIC。本实验体系为:5 μL 上述调整后的菌液、15 μL 连续 2 倍稀释的抗生素溶液(根据抗生素质量浓度稀释)和 130 μL 新鲜 LB。在 37°C 培养 24 h 后,使用酶标仪(Biotek 800TS,美国)

检测 D_{600} 来表征菌株的耐药能力. MIC_{90} 是指能够抑制 90% 菌落生长的抗生素浓度.

生长曲线测定的具体步骤为: *E. coli* DH5 α 活化 12 h 后, 稀释 100 倍至含有除草剂的 LB 培养基中. 草甘膦和草铵膦暴露浓度为 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 麦草畏暴露浓度为 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 随后在 37°C 、 $150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下培养, 采样间隔为 1 h, 总共取样 12 次, 最后置于酶标仪检测 600 nm 处的吸光度以表征细菌的生长情况.

1.4 大肠杆菌突变体 DNA 的提取及全基因组测序

经过除草剂诱变的大肠杆菌突变菌[草甘膦突变菌(30d-Gly)、草铵膦突变菌(30d-Str)和麦草畏突变菌(30d-Dic)]活化 12 h 后, 使用 TIAN Bacteria DNA Kit (TIANGEN, 美国) 试剂盒提取细菌 DNA, 采用 NanoDrop 分光光度计 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 和电泳凝胶定量分析 DNA 浓度. 合格的 DNA 样品提交给广东美格基因科技有限公司, 以 HiSeq 平台 (Illumina) 进行双端测序. 使用 Trimmomatic 0.36 对 Illumina 双端测序的原始数据进行质量修剪, 保留正确配对的数据用于后续分析. 将检测的突变位点与 *E. coli* K-12 基因组 (NCBI 登录号 NC000913.3) 进行比对, 以分析突变位点所在基因的变异. 例如单核苷酸多态性 (SNP)、插入和缺失.

1.5 活性氧的检测

测定 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 这 3 种主要活性氧的浓度. 3 种活性氧的检测均在除草剂浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时测定. $\cdot\text{OH}$ 采用对苯二甲酸法测定^[26], 对苯二甲酸 (终浓度 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 添加到含有大肠杆菌的 LB 中, 通过添加除草剂处理 6 h, 取其上清液于荧光光度计检测荧光强度 [$\lambda(E_x) = 320 \text{ nm}$, $\lambda(E_m) = 425 \text{ nm}$]; H_2O_2 的测定需提前制备缓冲液 (10 mg 对羟基苯甲酸和 2 mg 过氧化物催化酶溶于 50 mL $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Tris 溶液, $\text{pH} = 8.8$), 取 5 mL 制备的缓冲液于 20 mL 含有大肠杆菌的 LB 中, 添加除草剂处理 6 h 后, 取其上清液于 $\lambda(E_x) = 316.5 \text{ nm}$, $\lambda(E_m) = 408.5 \text{ nm}$ 处检测荧光值^[27]; $\text{O}_2^{\cdot-}$ 采用氮蓝四唑法测定^[28] (氮蓝四唑与 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 反应生成蓝色物质甲脎), 氮蓝四唑 (终浓度 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 添加到经过除草剂处理 6 h 的菌液中反应 20 min, 检测 560 nm 处的吸光度.

1.6 数据分析

本实验数据均用 Microsoft Excel 2010 整理, 采用 Origin 9.0 软件作图, 采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析, 采用独立样本 t 检验进行显著性检验. 若 $P < 0.05$ 则认为具有显著性的差异, $P < 0.01$ 则认为具有极显著性的差异.

2 结果与讨论

2.1 除草剂对大肠杆菌单一抗生素耐药性的影响

为了研究除草剂暴露对细菌耐药性的影响, 本文选择无抗生素抗性的 *E. coli* DH5 α 作为研究对象, 在实验室条件下分别暴露于不同浓度的草甘膦 (5 、 25 和 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、草铵膦 (5 、 25 和 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 和麦草畏 (2 、 10 和 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 中, 进行 30 d 的液体传代培养实验. 因为氨基糖苷类抗生素是临床上使用最广泛的抗生素之一, 所以暴露期间重点观察 *E. coli* DH5 α 耐受庆大霉素的突变频率变化.

首先验证工作浓度的草甘膦、草铵膦和麦草畏对 *E. coli* DH5 α 的生长没有显著影响 [图 2(a)、2(c) 和 2(e)], 排除了除草剂对实验菌株的直接毒性作用. 图 2(b)、2(d) 和 2(f) 结果显示, 与对照处理相比, 不同类型除草剂均显著 ($P < 0.05$) 增加庆大霉素耐药的突变频率, 其中草甘膦诱导突变的频率最高, 麦草畏次之, 草铵膦最低. 可能的原因是细菌在面对外源性化合物的选择性压力时, 造成细菌细胞膜通透性的增加和强氧化性物质的产生, 从而诱导细菌突变产生抗生素抗性^[12,13]. 其次, 3 种除草剂实验组的突变频率均随时间逐渐增加, 在第 30 d 突变频率达到最高. 如草甘膦实验组为 $(6.39 \pm 0.93) \times 10^{-4}$ 、草铵膦实验组为 $(1.90 \pm 0.18) \times 10^{-4}$ 和麦草畏实验组为 $(2.92 \pm 0.98) \times 10^{-4}$. 这表明除草剂诱导的抗生素抗性具有时间依赖性. 由于土壤中的除草剂都以相对较高的浓度存在且残留时间较长^[19], 除草剂的累积作用会加剧自然环境中抗生素抗性的产生和传播. 然而, 在无除草剂暴露的对照组, 笔者发现其自发突变频率始终维持在较低的水平 ($10^{-6} \sim 10^{-8}$), 这与前人的研究结果一致^[12,29]. 此外, 3 种除草剂实验组的突变频率并不遵循剂量依赖性效应, 如草甘膦实验组突变频率变化趋势表现为 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} > 25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} > 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 草铵膦实验组变化趋势为 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} > 50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} > 25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 麦草畏实验组变化趋势为 $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} > 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} > 20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 这是由于除草剂的工作浓度较低, 大肠杆菌对其敏感性较差^[30], 导致不同质量浓度的除草剂诱导的突变频率差异较小. 以上结果表明, 3 种除草剂对细菌突变频率的诱导效果略有差异, 但总体变化趋势类似, 表明 3 种常用除草剂可以促进 *E. coli* DH5 α 耐药性的产生.

2.2 除草剂对大肠杆菌多重耐药性的影响

在验证了除草剂能够促进大肠杆菌单一耐药性产生的基础上, 进一步探究除草剂是否诱导多重耐

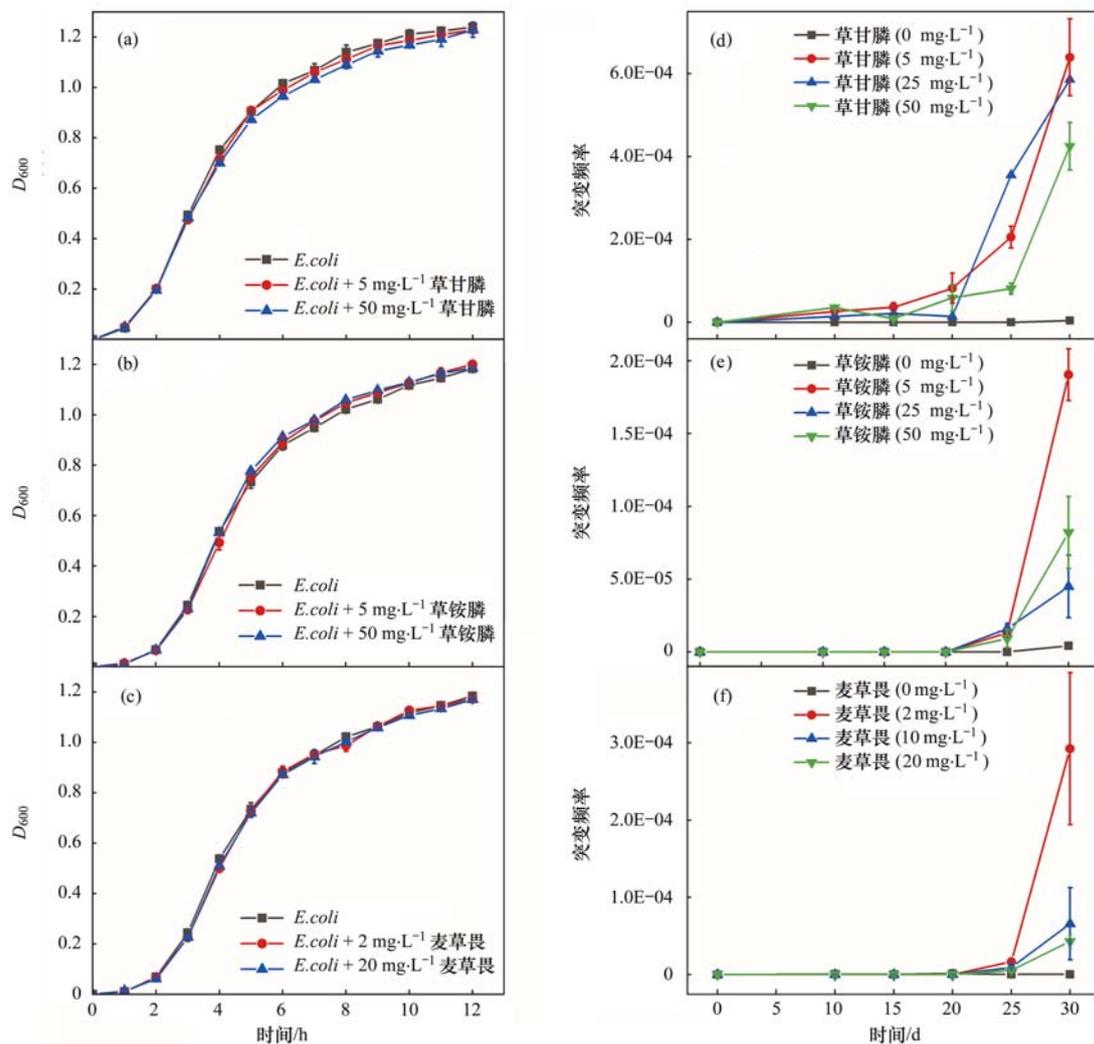


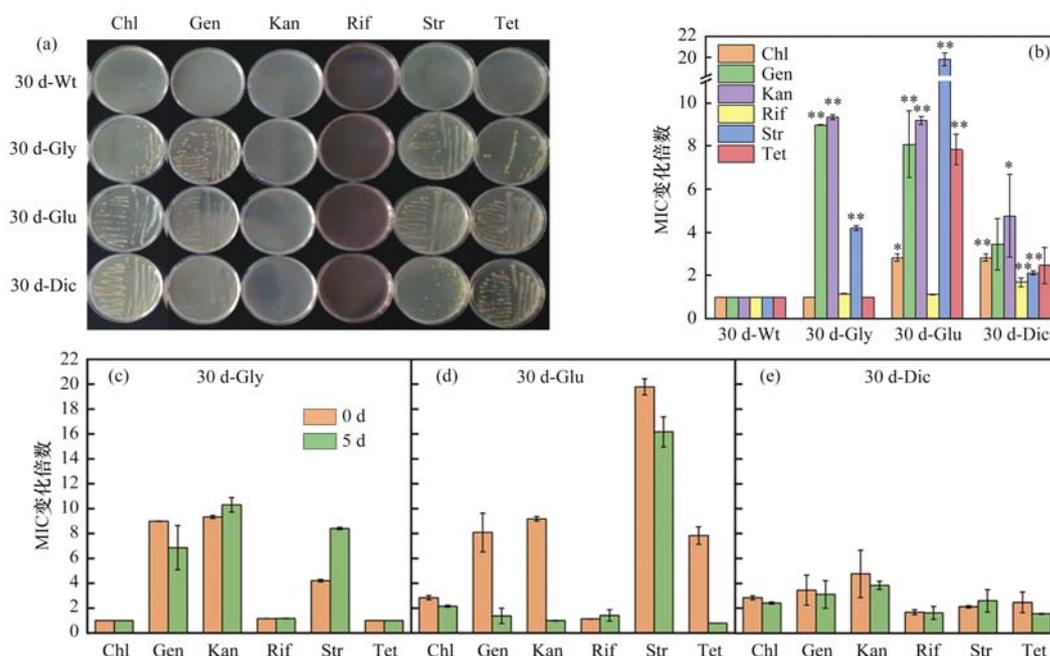
图2 3种除草剂对大肠杆菌生长和庆大霉素耐受能力的影响

Fig. 2 Effects of the three herbicides on *E. coli* growth and gentamicin antibiotic resistance

药性的产生. 分别从草甘膦(标记为 30d-Gly)、草铵膦(标记为 30d-Glu)和麦草畏(标记为 30d-Dic)暴露处理 30 d 的菌株中,随机挑选 9 株(每种除草剂 3 株)耐受庆大霉素的突变菌株并测试其多重耐药能力. 结果如图 3(a)所示,经过除草剂诱变的突变菌株对 Chl、Gen、Str 和 Tet 抗生素均表现出耐药性,而无除草剂暴露的对照组菌株对所测试的 6 种抗生素表现出敏感性. 同时, MIC 结果显示[图 3(b)],由除草剂诱变得到的突变菌株显著提高了四环素、氯霉素和氨基糖苷类抗生素的 MIC₉₀ ($P < 0.05$),表明这 3 种突变菌株对抗生素表现出更强的耐药能力,并且具有多重耐药性,进一步证实了除草剂诱导大肠杆菌产生多重耐药性. 例如,30d-Gly 突变菌对 Gen、Kan 和 Str 抗性分别提高了 8.9、9.3 和 4 倍; 30d-Glu 突变菌对 Chl、Gen、Kan、Str 和 Tet 的 MIC₉₀ 均有显著性提高 ($P < 0.05$),其中 30d-Glu 突变菌对 Str 抗性高达 19.8 倍; 30d-Dic 突变菌对 Chl、Kan、Rif 和 Str 的抗性提高了 1.7 ~ 6.7 倍(P

< 0.05). 据报道,在外源性化合物的胁迫下,*E. coli* 通过启动 AcrAB-TolC 和 MdtEF-TolC 等外排泵将阿莫西林、氯霉素和四环素排出胞外而获得多重耐药性^[12]. 本文中,除草剂诱导 *E. coli* 同时对多种抗生素 (Gen、Kan 和 Str) 耐药性的提高,可能是由于除草剂暴露导致 *E. coli* 外排泵作用增强所致. Xing 等^[23]的研究也发现多种农药混合物可以诱导大肠杆菌产生多种抗生素耐药性.

由于抗生素耐药性的遗传能力对其在环境中传播具有重要意义,因此本文进一步探讨除草剂诱导的多重耐药性是否具有稳定的遗传能力. 突变菌在无除草剂与抗生素选择压力下连续传代培养 5 d (大约 360 代,每 20 min 一代),大部分抗生素的 MIC₉₀ 在培养前后没有发生显著的差异[图 3(c)~3(e)],表明除草剂诱导的多重耐药性具有较稳定的遗传性,也表明耐药的机制可能是改变遗传物质导致. 因此,多重耐药性的稳定遗传性会导致耐药基因在环境中长期存在,进而加剧了耐药性在环境中传



(a) 突变菌株在含有抗生素 LB 平板的生长情况; (b) 与无除草剂处理的对照菌株相比, 突变菌株对 6 种抗生素的 MIC₀ 变化; (c) ~ (e) 在无除草剂和抗生素胁迫下, 突变菌株多重耐药性的稳定遗传能力表征; 30d-Wt 表示无除草剂处理的对照菌株, 30d-Gly 表示草甘膦突变菌, 30d-Glu 表示草铵膦突变菌, 30d-Dic 表示麦草畏突变菌; * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$

图 3 除草剂诱导的突变菌株多重耐药性表征

Fig. 3 Characterization of multi-drug resistance in herbicide-induced mutant strains

播的风险。

2.3 除草剂诱导大肠杆菌耐药性的机制初探

为了揭示除草剂胁迫下大肠杆菌多重耐药性产生的潜在机制, 对 9 株突变菌株 (每种除草剂 3 株) 及 3 株对照组的敏感菌株进行全基因组测序研究。与对照组的敏感菌相比, 突变菌株中总共鉴定出 400 多个突变 (包括缺失、插入和取代), 并且大部分突变与核酸代谢、氮代谢、生物合成途径和氧化还原过程有关。根据以前的研究报道, 发现其中存在许多与抗生素抗性相关基因的突变 (表 2)。例如, 3 株突变菌株均在外膜蛋白 F (*ompF*) 和天冬酰胺-tRNA 合成酶 (*asnS*) 基因间产生了 8 bp 的移码突变 (图 4), 这些基因突变可能涉及碳青霉烯类和头孢吡肟抗生

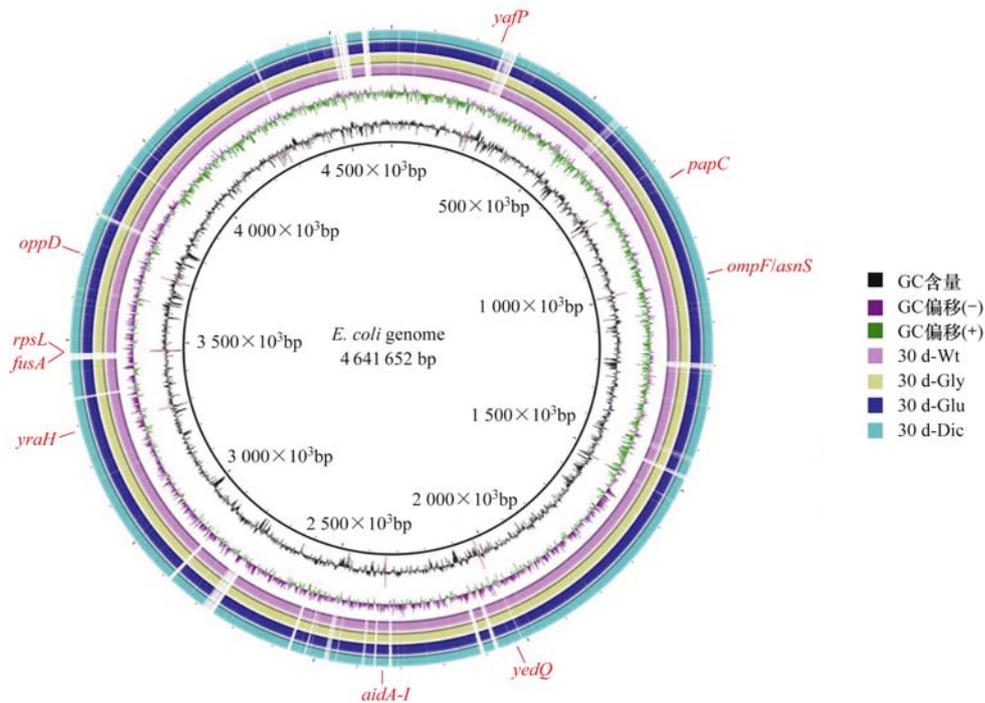
素耐药^[31]。Kurenbach 等^[22]的研究发现 *ompF* 基因的缺失增加了大肠杆菌对环丙沙星和四环素类抗生素的耐药性。除了共有的突变, 不同除草剂诱导的突变菌存在某些与耐药相关的特异性基因突变。例如, 核糖体蛋白质 S12 (*rpsL*)、延长因子 G (*fusA*) 和自主转运蛋白 (*aidA-I*) 基因的取代突变仅在 30d-Gly 突变菌出现。有研究表明, *rpsL*、*fusA* 和 *aidA-I* 的基因突变与链霉素、黄霉素和氨基糖苷类耐药性相关^[32-34]; 在 30d-Glu 突变菌中检测到菌毛蛋白 (*yraH*)、双鸟苷酸环化酶 (*yedQ*) 和寡肽转运蛋白 (*oppD*) 的基因 SNP 突变, 这与庆大霉素、多黏菌素、氨基糖苷类和大环内酯类抗生素的耐药性相关^[35-37]; 30d-Dic 突变菌在 *N*-乙酰基转移酶 (*yafP*)

表 2 突变菌株基因组中与耐药性相关的突变¹⁾

Table 2 Genetic mutations associated with antibiotic resistance in the genome of mutant strains

| 基因 | 突变 | 注释 | 功能 | 30d-Gly | 30d-Glu | 30d-Dic | 耐药性 | 文献 |
|------------------|-------|-----------------------|----------------------|---------|---------|---------|-------------|------|
| <i>ompF/asnS</i> | Δ8 bp | Intergenic (TAAAAAAA) | 外膜蛋白 F/天冬酰胺-tRNA 合成酶 | + | + | + | 碳青霉烯类/头孢吡肟 | [31] |
| <i>rpsL</i> | G → T | R85S (ACG → ACT) | 核糖体蛋白质 S12 | + | - | - | 链霉素 | [32] |
| <i>fusA</i> | G → A | A607V (CGC → CAC) | 延伸因子 G | + | - | - | 黄霉素 | [33] |
| <i>aidA-I</i> | A → T | F1053Y (AAA → ATA) | 自主转运蛋白 | + | - | - | 氨基糖苷类/头孢菌素 | [34] |
| <i>yraH</i> | A → C | I137L (ATT → CTT) | 菌毛蛋白 | - | + | - | 庆大霉素 | [35] |
| <i>yedQ</i> | C → T | D99N (ATC → ATT) | 双鸟苷酸环化酶 | - | + | - | 多黏菌素/诺氟沙星 | [36] |
| <i>oppD</i> | T → A | E68V (CTC → CAC) | 寡肽转运蛋白 | - | + | - | 大环内酯类/氨基糖苷类 | [37] |
| <i>yafP</i> | C → T | Y151H (CAT → TAT) | <i>N</i> -乙酰基转移酶 | - | - | + | 氨基糖苷类 | [38] |
| <i>papC</i> | C → T | M1185I (CAT → TAT) | 外膜蛋白 | - | - | + | β-内酰胺类 | [39] |

1) + 表示存在相应的突变, - 表示无相应突变



30d-Wt、30d-Gly、30d-Glu 和 30d-Dic 分别表示无除草剂的 30 d 培养的野生菌株,草甘膦、草铵膦和麦草畏处理的突变菌株

图 4 全基因组测序显示除草剂诱导的基因突变

Fig. 4 Herbicide-induced genetic mutations by whole-genome sequencing

和外膜蛋白(*papC*)基因上发生点突变,已有研究证明这些基因的 *yafP* 和 *papC* 突变有助于提高氨基糖苷类和 β -内酰胺类抗生素耐药性^[38,39]. 总之,这些突变可能在破坏细胞膜通透性、生物膜形成、毒力特性、代谢和应激反应等方面发挥重要作用^[40~42],以上结果证实了多重耐药性是除草剂胁迫大肠杆菌产生基因突变所导致的.

为了进一步探究除草剂胁迫大肠杆菌产生基因突变的原因,通过查阅前人的研究发现,抗生素通过激活 ROS 介导的氧化应激反应和 SOS 反应,从而诱导基因突变产生抗生素耐药性^[11]. 因此本文检测了除草剂是否诱导大肠杆菌产生强氧化性的 ROS ($\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 和 O_2^-). 结果表明,在 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的暴露浓度下 3 种除草剂不会显著影响 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 和 O_2^- 的浓度(数据未显示),这表明除草剂诱导的基因突变不是由 ROS 驱动,其潜在的突变机制需进一步研究.

综上所述,除草剂诱导大肠杆菌产生多重耐药性的可能机制如图 5 所示. 当大肠杆菌暴露于环境浓度的除草剂时,会对其造成一定的选择性压力,大肠杆菌为了维持自身生存而产生适应性进化,从而导致耐药相关的基因(如 *ompF*、*yraH*、*asnS* 和 *rpsL* 等)发生突变,进而影响转运蛋白、外膜孔蛋白和多药外排泵编码基因的调控,最终增强了对抗生素的耐受能力.

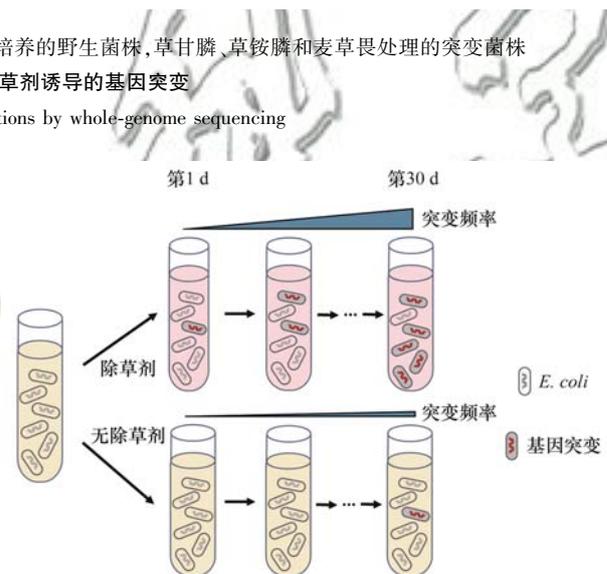


图 5 除草剂诱导多重耐药性的机制

Fig. 5 Mechanism of herbicides inducing multi-drug resistance

3 结论

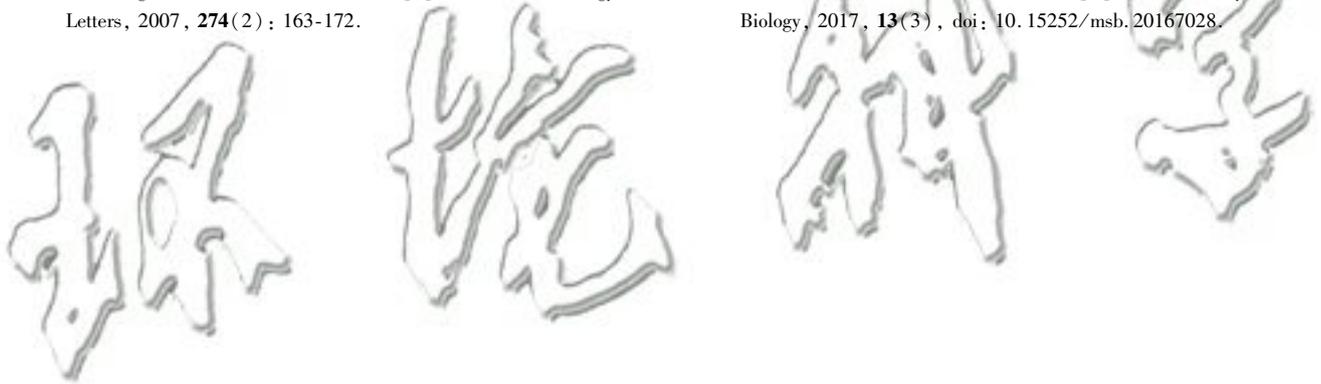
本研究结果表明,草甘膦、草铵膦和麦草畏常用除草剂暴露显著增加细菌耐受抗生素的突变频率,并且不同除草剂之间作用效果相似,最终诱导大肠杆菌产生可遗传的多重耐药性(氨基糖苷类、四环素类和氯霉素类抗生素),抗生素耐药性最高提高 19.8 倍. 全基因组测序分析表明,除草剂诱导的多重耐药性可能由膜蛋白(*ompF*、*papC*)、菌毛蛋白(*yraH*)和核糖体(*rpsL*)等染色体上的基因突变导致. 本文发现环境除草剂的残留对细菌造成一定的选择压力,增加耐药相关基因的突变频率,从而加速环境中耐药菌的出现和传播. 因此,需要重新审视与

评估环境中除草剂等非抗生素类化学物质在加速抗生素耐药传播的潜在风险.

参考文献:

- [1] O'Neill J. Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations [M]. London: Wellcome Trust, 2014. 1-16.
- [2] 廖杰, 魏晓琴, 肖燕琴, 等. 莲花水库水体中抗生素污染特征及生态风险评价 [J]. 环境科学, 2020, **41** (9): 4081-4087.
Liao J, Wei X Q, Xiao Y Q, *et al.* Pollution characteristics and risk assessment of antibiotics in Lianhua Reservoir [J]. Environmental Science, 2020, **41** (9): 4081-4087.
- [3] 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.
- [4] 彭秋, 王卫中, 徐卫红. 重庆市畜禽粪便及菜田土壤中四环素类抗生素生态风险评价 [J]. 环境科学, 2020, **41** (10): 4757-4766.
Peng Q, Wang W Z, Xu W H. Ecological risk assessment of tetracycline antibiotics in livestock manure and vegetable soil of Chongqing [J]. Environmental Science, 2020, **41** (10): 4757-4766.
- [5] Galán J C, González-Candelas F, Rolain J M, *et al.* Antibiotics as selectors and accelerators of diversity in the mechanisms of resistance: from the resistome to genetic plasticity in the β -lactamases world [J]. Frontiers in Microbiology, 2013, **4**, doi: 10.3389/fmicb.2013.00009.
- [6] Zhang J P, Li W Y, Chen J P, *et al.* Impact of disinfectant on bacterial antibiotic resistance transfer between biofilm and tap water in a simulated distribution network [J]. Environmental Pollution, 2019, **246**: 131-140.
- [7] Zhang Y, Gu A Z, Cen T Y, *et al.* Petrol and diesel exhaust particles accelerate the horizontal transfer of plasmid-mediated antimicrobial resistance genes [J]. Environment International, 2018, **114**: 280-287.
- [8] Li G Y, Chen X F, Yin H L, *et al.* Natural sphalerite nanoparticles can accelerate horizontal transfer of plasmid-mediated antibiotic-resistance genes [J]. Environment International, 2020, **136**, doi: 10.1016/j.envint.2020.105497.
- [9] Lu J, Wang Y, Jin M, *et al.* Both silver ions and silver nanoparticles facilitate the horizontal transfer of plasmid-mediated antibiotic resistance genes [J]. Water Research, 2020, **169**, doi: 10.1016/j.watres.2019.115229.
- [10] Wang Q, Mao D Q, Luo Y. Ionic liquid facilitates the conjugative transfer of antibiotic resistance genes mediated by plasmid RP4 [J]. Environmental Science & Technology, 2015, **49** (14): 8731-8740.
- [11] Lu J, Jin M, Nguyen S H, *et al.* Non-antibiotic antimicrobial triclosan induces multiple antibiotic resistance through genetic mutation [J]. Environment International, 2018, **118**: 257-265.
- [12] Jin M, Lu J, Chen Z Y, *et al.* Antidepressant fluoxetine induces multiple antibiotics resistance in *Escherichia coli* via ROS-mediated mutagenesis [J]. Environment International, 2018, **120**: 421-430.
- [13] Wang Y, Lu J, Mao L K, *et al.* Antiepileptic drug carbamazepine promotes horizontal transfer of plasmid-borne multi-antibiotic resistance genes within and across bacterial genera [J]. The ISME Journal, 2019, **13** (2): 509-522.
- [14] Liao J Q, Huang H N, Chen Y G. CO₂ promotes the conjugative transfer of multiresistance genes by facilitating cellular contact and plasmid transfer [J]. Environment International, 2019, **129**: 333-342.
- [15] Huang H N, Liao J Q, Zheng X, *et al.* Low-level free nitrous acid efficiently inhibits the conjugative transfer of antibiotic resistance by altering intracellular ions and disabling transfer apparatus [J]. Water Research, 2019, **158**: 383-391.
- [16] Lu J, Wang Y, Li J, *et al.* Triclosan at environmentally relevant concentrations promotes horizontal transfer of multidrug resistance genes within and across bacterial genera [J]. Environment International, 2018, **121**: 1217-1226.
- [17] Benbrook C M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally [J]. Environmental Sciences Europe, 2016, **28** (1), doi: 10.1186/s12302-016-0070-0.
- [18] 赵玲, 滕应, 骆永明. 中国农田土壤农药污染现状和防控对策 [J]. 土壤, 2017, **49** (3): 417-427.
Zhao L, Teng Y, Luo Y M. Present pollution status and control strategy of pesticides in agricultural soils in China: a Review [J]. Soils, 2017, **49** (3): 417-427.
- [19] Laitinen P, Siimes K, Eronen L, *et al.* Fate of the herbicides glyphosate, glufosinate-ammonium, phenmedipham, ethofumesate and metamitron in two Finnish arable soils [J]. Pest Management Science, 2006, **62** (6): 473-491.
- [20] Peruzzo P J, Porta A A, Ronco A E. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina [J]. Environmental Pollution, 2008, **156** (1): 61-66.
- [21] Motta E V S, Raymann K, Moran N A. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, **115** (41): 10305-10310.
- [22] Kurenbach B, Gibson P S, Hill A M, *et al.* Herbicide ingredients change *Salmonella enterica* sv. Typhimurium and *Escherichia coli* antibiotic responses [J]. Microbiology, 2017, **163** (12): 1791-1801.
- [23] Xing Y, Wu S Q, Men Y J. Exposure to environmental levels of pesticides stimulates and diversifies evolution in *Escherichia coli* toward higher antibiotic resistance [J]. Environmental Science & Technology, 2020, **54** (14): 8770-8778.
- [24] Chen X F, Yin H L, Li G Y, *et al.* Antibiotic-resistance gene transfer in antibiotic-resistance bacteria under different light irradiation: Implications from oxidative stress and gene expression [J]. Water Research, 2019, **149**: 282-291.
- [25] Hou A M, Yang D, Miao J, *et al.* Chlorine injury enhances antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* through over expression of drug efflux pumps [J]. Water Research, 2019, **156**: 366-371.
- [26] Yu Y Q, Tan P, Huang X J, *et al.* Homogeneous activation of peroxymonosulfate using a low-dosage cross-bridged cyclam manganese (II) complex for organic pollutant degradation via a nonradical pathway [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, **394**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122560.
- [27] Chen X Y, Feng Q Y, Cai Q H, *et al.* Mn₃O₄ Nanozyme coating accelerates nitrate reduction and decreases N₂O emission during photoelectrotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*-CdS [J]. Environmental Science & Technology, 2020, **54** (17): 10820-10830.
- [28] Chen M, Yu Y Q, Tan P, *et al.* Selective degradation of estrogens by a robust iron (III) complex bearing a cross-bridged cyclam ligand via iron (V)-oxo species [J]. Chemical

- Engineering Journal, 2019, **378**, doi: 10.1016/j.cej.2019.122223.
- [29] Li X Y, Gu A Z, Zhang Y, *et al.* Sub-lethal concentrations of heavy metals induce antibiotic resistance via mutagenesis [J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, **369**: 9-16.
- [30] Kurenbach B, Marjoshi D, Amábile-Cuevas C F, *et al.* Sublethal exposure to commercial formulations of the herbicides dicamba, 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid, and glyphosate cause changes in antibiotic susceptibility in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium [J]. mBio, 2015, **6** (2), doi: 10.1128/mBio.00009-15.
- [31] Ghai I, Ghai S. Understanding antibiotic resistance via outer membrane permeability [J]. Infection and Drug Resistance, 2018, **11**: 523-530.
- [32] Carr J F, Hamburg D M, Gregory S T, *et al.* Effects of streptomycin resistance mutations on posttranslational modification of ribosomal protein S12 [J]. Journal of Bacteriology, 2006, **188** (5): 2020-2023.
- [33] Ibacache-Quiroga C, Oliveros J C, Couce A, *et al.* Parallel evolution of high-level aminoglycoside resistance in *Escherichia coli* under low and high mutation supply rates [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, **9**, doi: 10.3389/fmicb.2018.00427.
- [34] Wells T J, Tree J J, Ulett G C, *et al.* Autotransporter proteins: novel targets at the bacterial cell surface [J]. FEMS Microbiology Letters, 2007, **274**(2): 163-172.
- [35] Vizcarra I A, Hosseini V, Kollmannsberger P, *et al.* How type 1 fimbriae help *Escherichia coli* to evade extracellular antibiotics [J]. Scientific Reports, 2016, **6**, doi: 10.1038/srep18109.
- [36] Gupta K, Liao J L, Petrova O E, *et al.* Elevated levels of the second messenger c-di-GMP contribute to antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Molecular Microbiology, 2014, **92**(3): 488-506.
- [37] Locher K P. Mechanistic diversity in ATP-binding cassette (ABC) transporters [J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2016, **23**(6): 487-493.
- [38] Favrot L, Blanchard J S, Vergnolle O. Bacterial GCN5-Related N-Acetyltransferases: from resistance to regulation [J]. Biochemistry, 2016, **55**(7): 989-1002.
- [39] Alekshun M N, Levy S B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance [J]. Cell, 2007, **128**(6): 1037-1050.
- [40] May K L, Grabowicz M. The bacterial outer membrane is an evolving antibiotic barrier [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, **115** (36): 8852-8854.
- [41] Hall C W, Mah T F. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2017, **41**(3): 276-301.
- [42] Zampieri M, Enke T, Chubukov V, *et al.* Metabolic constraints on the evolution of antibiotic resistance [J]. Molecular Systems Biology, 2017, **13**(3), doi: 10.15252/msb.20167028.



CONTENTS

| | |
|---|--|
| Chemical Characteristics and Source Apportionment of Organic Aerosols in Atmospheric PM _{2.5} in Winter in Beijing | XU Nan, WANG Tian-tian, LI Xiao, <i>et al.</i> (2101) |
| Characteristics of Two Pollution Episodes Before and After City Heating in Beijing from February to March of 2019 | YIN Xiao-mei, PU Wei-wei, WANG Ji-kang, <i>et al.</i> (2110) |
| Analysis of Characteristics and Causes of a Typical Haze Pollution in Beijing in the Winter of 2019 | LIAN Han-yang, YANG Xin, ZHANG Pu, <i>et al.</i> (2121) |
| New Particle Formation Events in Summer and Winter in the Coastal Atmosphere in Qingdao, China | SUN Yue, ZHU Yu-jiao, MENG He, <i>et al.</i> (2133) |
| Characteristics of Heavy Metal Pollution and Ecological Risk Evaluation of Indoor Dust from Urban and Rural Areas in Taiyuan City During the Heating Season | HUANG Hao, XU Zi-qi, YAN Jun-xia, <i>et al.</i> (2143) |
| Concentration Analysis and Health Risk Assessment of Air Pollutants in Newly Decorated Public Places in Xi'an | FAN Jie, FAN Hao, SHEN Zhen-xing, <i>et al.</i> (2153) |
| Emission Concentration and Characteristics of Particulate Matter and Water-Soluble Ions in Exhaust Gas of Typical Combustion Sources with Ultra-Low Emission | HU Yue-qi, WANG Zheng, GUO Jian-hui, <i>et al.</i> (2159) |
| High-Throughput Sequencing Analysis of Microbial Communities in Summertime Atmospheric Particulate Matter in Hefei City | JIANG Shao-yi, SUN Bo-wen, DAI Hai-tao, <i>et al.</i> (2169) |
| Spatiotemporal Variations in Fine Particulate Matter and the Impact of Air Quality Control in Zhengzhou | DONG Zhe, YUAN Ming-hao, SU Fang-cheng, <i>et al.</i> (2179) |
| Characteristics of Ozone Pollution and Relationships with Meteorological Factors in Jiangxi Province | QIAN Yue, XU Bin, XIA Ling-jun, <i>et al.</i> (2190) |
| Temporal and Spatial Distribution Characteristics of Aerosol Optical Properties in Urban Agglomerations on the North Slope of the Tianshan Mountains | ZHANG Zhe, DING Jian-li, WANG Jin-jie, <i>et al.</i> (2202) |
| Comprehensive Classification Method of Urban Water by Remote Sensing Based on High-Resolution Images | YANG Zi-qian, LIU Huai-qing, LÜ Heng, <i>et al.</i> (2213) |
| Construction and Application Optimization of the Chl-a Forecast Model ARIMA for Lake Taihu | LI Na, LI Yong, FENG Jia-cheng, <i>et al.</i> (2223) |
| Spatial Differences in Water Quality and Spatial Autocorrelation Analysis of Eutrophication in Songhua Lake | DING Yang, ZHAO Jin-yong, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (2232) |
| Pollution and Irrigation Applicability of Surface Water from Wet, Normal, and Dry Periods in the Huixian Karst Wetland, China | ZHU Dan-ni, ZOU Sheng-zhang, LI Jun, <i>et al.</i> (2240) |
| Changes in Water Chemistry and Driving Factors in the Middle and Lower Reaches of the Beijing-Hangzhou Grand Canal | CHENG Zhong-hua, DENG Yi-xiang, ZHUO Xiao-ke, <i>et al.</i> (2251) |
| Effects of Different Land Use Practices on Nitrogen Loss from Runoff During Rainfall Events | LUO Yi-feng, CHEN Fang-xin, ZHOU Hao, <i>et al.</i> (2260) |
| Sources and Fate of Nitrate in Groundwater in a Typical Karst Basin: Insights from Carbon, Nitrogen, and Oxygen Isotopes | REN Kun, PAN Xiao-dong, LIANG Jia-peng, <i>et al.</i> (2268) |
| Changes in the Bacterioplankton Community Between "Ice" and "Water" in the Frozen Dali Lake | LI Wen-bao, YANG Xu, TIAN Ya-nan, <i>et al.</i> (2276) |
| Analysis of the Spatial Changes in Bacterial Communities in Urban Reclaimed Water Channel Sediments; A Case Study of the North Canal River | QIU Ying, JIN Yan, SU Zhen-hua, <i>et al.</i> (2287) |
| Spatial Differences and Influencing Factors of Denitrification and ANAMMOX Rates in Spring and Summer in Lake Taihu | ZHAO Feng, XU Hai, ZHAN Xu, <i>et al.</i> (2296) |
| Structural Characteristics of Zooplankton and Phytoplankton Communities and Its Relationship with Environmental Factors in a Typical Tributary Reservoir in the Three Gorges Reservoir Region | CHEN Sha, XIE Qing, FU Mei, <i>et al.</i> (2303) |
| Application of Iron and Sulfate-Modified Biochar in Phosphorus Removal from Water | SANG Qian-qian, WANG Fang-jun, ZHAO Yuan-tian, <i>et al.</i> (2313) |
| Analysis of the Performance and Mechanism of Phosphorus Removal in Water by Steel Slag | LUO Xiao, ZHANG Jun-bo, HE Lei, <i>et al.</i> (2324) |
| Adsorption of BS-18 Amphoterically Modified Bentonite to Tetracycline and Norfloxacin Combined Pollutants | WANG Xin-xin, MENG Zhao-fu, LIU Xin, <i>et al.</i> (2334) |
| Preparation of Ag ₃ PO ₄ /g-C ₃ N ₄ Composite Photocatalysts and Their Visible Light Photocatalytic Performance | GAO Chuang-chuang, LIU Hai-cheng, MENG Wu-shuang, <i>et al.</i> (2343) |
| Activation of Permonosulfate by Rhodamine B for BPA Degradation Under Visible Light Irradiation | ZHANG Yi-chen, BAI Xue, SHI Juan, <i>et al.</i> (2353) |
| Fe-Ti Co-Doped Alumina-Induced Surface Dual Reaction Center for Catalytic Ozonation to Remove Pollutants from Water | ZHANG Fan, SONG Yang, HU Chun, <i>et al.</i> (2360) |
| Preparation of Sulfidated Copper-Iron Bimetallic Composites and Its Mechanism for Chromium Removal | QU Min, WANG Yuan, CHEN Hui-xia, <i>et al.</i> (2370) |
| Mechanisms of Penicillin Wastewater Treatment by Coupled Electrocatalytic and Bioelectrochemical Systems | QU You-peng, LÜ Jiang-wei, DONG Yue, <i>et al.</i> (2378) |
| Aerobic Granular Sludge Operation and Nutrient Removal Mechanism from Domestic Sewage in an Anaerobic/Aerobic Alternating Continuous Flow System | LI Dong, YANG Jing-wei, LI Yue, <i>et al.</i> (2385) |
| In-situ Phosphorus Removal Activity and Impact of the Organic Matter Concentration on Denitrifying Phosphorus Removal in Sludge Aggregates | LÜ Yong-tao, JIANG Xiao-tong, TU Yan, <i>et al.</i> (2396) |
| In-situ Sludge Reduction Technology Based on Ozonation | XUE Bing, LIU Bin-han, WEI Ting-ting, <i>et al.</i> (2402) |
| Effects of Activated Carbon on the Fate of Antibiotic Resistance Genes During Anaerobic Digestion of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste | MA Jia-ying, WANG Pan-liang, WANG Bing-han, <i>et al.</i> (2413) |
| Release Mechanisms of Carbon Source and Dissolved Organic Matter of Six Agricultural Wastes in the Initial Stage | LING Yu, YAN Guo-kai, WANG Hai-yan, <i>et al.</i> (2422) |
| Spatial Differentiation of Soil Organic Carbon Density and Influencing Factors in Typical Croplands of China | LI Cheng, WANG Rang-hui, LI Zhao-zhe, <i>et al.</i> (2432) |
| Characteristics of Paddy Soil Organic Carbon Mineralization and Influencing Factors Under Different Water Conditions and Microbial Biomass Levels | LIU Qi, LI Yu-hong, LI Zhe, <i>et al.</i> (2440) |
| Analysis of Nitrogen Transformation Characteristics and Influencing Factors of Forestland Soil in the Qinghai-Tibet Plateau; A Case Study of the Qilian Mountains and Southeast Tibet | HE Fang, ZHANG Li-mei, SHEN Cong-cong, <i>et al.</i> (2449) |
| Using the Matter-Element Extension Model to Assess Heavy Metal Pollution in Topsoil in Parks in the Main District Park of Lanzhou City | HU Meng-jun, LI Chun-yan, LI Na-na, <i>et al.</i> (2457) |
| Effects of Long-Term Application of Chemical Fertilizers and Organic Fertilizers on Heavy Metals and Their Availability in Reddish Paddy Soil | XIA Wen-jian, ZHANG Li-fang, LIU Zeng-bing, <i>et al.</i> (2469) |
| Characteristics and Origins of Heavy Metals in Soil and Crops in Mountain Area of Southern Sichuan | HAN Wei, WANG Cheng-wen, PNEG Min, <i>et al.</i> (2480) |
| Spatial Distribution Characteristics, Source Apportionment, and Risk Assessment of Topsoil PAHs in the Core Area of the Ningdong Energy and Chemical Industry Base | YANG Fan, LUO Hong-xue, ZHONG Yan-xia, <i>et al.</i> (2490) |
| Functional Stability and Applicability of Heavy Metal Passivators in Reducing Cd Uptake by Lettuce | PANG Fa-hu, WU Xue-jiao, KONG Xue-fei, <i>et al.</i> (2502) |
| Effects of Water Management on Cadmium Accumulation by Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) Growing in Typical Paddy Soil | ZHANG Yu-ting, TIAN Ying-bing, HUANG Dao-you, <i>et al.</i> (2512) |
| Adsorption Properties of Oiltea Camellia Shell-Modified Biochar and Effects of Coupled Waterlogging on Soil Cd Morphology | CAI Tong, DU Hui-hui, LIU Xiao-li, <i>et al.</i> (2522) |
| Effects of Land Use Changes on Soil Fungal Community Structure and Function in the Riparian Wetland Along the Downstream of the Songhua River | XU Fei, ZHANG Tuo, HUAI Bao-dong, <i>et al.</i> (2531) |
| Distribution of Antibiotic Resistance Genes and Microbial Communities in a Fishery Reclamation Mining Subsidence Area | CHENG Sen, LU Ping, FENG Qi-yan (2541) |
| Effects of Three Commonly Used Herbicides on Bacterial Antibiotic Resistance | LI Xi, LIAO Han-peng, CUI Peng, <i>et al.</i> (2550) |
| Discussion of Microbial Control Standards of Water Reclamation and Formulation Methods | CHEN Zhuo, CUI Qi, CAO Ke-fan, <i>et al.</i> (2558) |