

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

长江经济带工业污染排放空间分布格局及其影响因素

李芸邑, 刘利萍, 刘元元



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2021年8月

第42卷 第8期
Vol.42 No.8

目次

上海市夏季臭氧污染特征及削峰方案	严茹莎, 王红丽, 黄成, 王倩, 安静宇 (3577)
天津市夏季不同臭氧浓度级别 VOCs 特征及来源	王文美, 高璟赞, 肖致美, 李源, 毕温凯, 李立伟, 杨宁, 徐虹, 孔君 (3585)
重庆市主城区 O ₃ 污染时期大气 VOCs 污染特征及来源解析	李陵, 李振亮, 张丹, 方维凯, 徐芹, 段林丰, 卢培利, 王锋文, 张卫东, 翟崇治 (3595)
汽车维修行业挥发性有机物排放特征及大气化学反应活性	陈鹏, 张月, 张梁, 熊凯, 邢敏, 李珊珊 (3604)
2016 冬季京津冀一次持续重度霾天气过程分析	毛曳, 张恒德, 朱彬 (3615)
北京与成都大气污染特征及空气质量改善效果评估	党莹, 张小玲, 饶晓琴, 康平, 何建军, 卢宁生, 华明, 向卫国 (3622)
郑州市 PM _{2.5} 组分、来源及其演变特征	赵孝因, 王申博, 杨洁茹, 马秋红, 刘洋, 张瑞芹 (3633)
上海市 PM _{2.5} 中重金属元素对 COVID-19 控制的高频响应	程凯, 常运华, 旷雅琼, 邹忠 (3644)
粤港澳大湾区吸收性气溶胶的解析	段家乐, 巨天珍, 黄蕊蕊, 梁卓红, 范佳晨 (3652)
河南省 2016~2019 年机动车大气污染物排放清单及特征	高丹丹, 尹沙沙, 谷幸珂, 卢轩, 张欢, 张瑞芹, 王玲玲, 齐艳杰 (3663)
广州地区室内灰尘中典型非邻苯增塑剂的污染特征与暴露风险	刘晓途, 彭长凤, 陈达, 石玉盟, 汤书琴, 谭弘李, 黄维 (3676)
天津市主要河流和土壤中全氟化合物空间分布、来源及风险评价	武倩倩, 吴强, 宋帅, 任加国, 杨胜杰, 吴颜岐 (3682)
河网水源生态湿地水氢氧同位素分异特征	杨婷, 王阳, 徐静怡, 吴萍, 王为东 (3695)
重要饮用水源地天目湖水库有色可溶性有机物来源与组成特征	周蕾, 周永强, 张运林, 朱广伟 (3709)
城市不同类型水体有色可溶性有机物来源组成特征	俞晓琴, 崔扬, 陈慧敏, 朱俊羽, 李宇阳, 郭燕妮, 周永强, 韩龙飞 (3719)
白洋淀典型淀区沉积物间隙水溶解性有机物的光谱时空演变特征	周石磊, 陈召莹, 张甜娜, 张紫薇, 孙悦, 姚波, 崔建升, 李再兴, 罗晓 (3730)
夏季巢湖入湖河流溶解性有机质来源及其空间变化	宁成武, 包妍, 黄涛, 王杰 (3743)
洪泽湖浮游动物时空分布特征及其驱动因素	陈业, 彭凯, 张庆吉, 蔡永久, 张永志, 龚志军, 项贤领 (3753)
农业耕作对三峡水库支流库湾消落带土壤氮、磷含量及流失的影响	罗芳, 鲁伦慧, 李哲, 韦方强 (3763)
沱江流域总氮面源污染负荷时空演变	肖宇婷, 姚婧, 湛书, 樊敏 (3773)
微塑料对海水抗生素抗性基因的影响	周曙屹, 朱永官, 黄福义 (3785)
磺胺甲噁唑对海水养殖废水处理过程中抗性细菌及抗性基因的富集作用	王金鹏, 赵阳国, 胡钰博 (3791)
潮汐-复合流人工湿地系统优化及对抗生素抗性基因的去除效果	程羽霄, 吴丹, 陈铨乐, 高方舟, 杨永强, 刘有胜, 应光国 (3799)
三峡库区香溪河库湾土壤多环芳烃时空分布特征及风险评价	黄应平, 金蕾, 朱灿, 李锐, 谢平, David Johnson, 刘慧刚, 席颖 (3808)
长江经济带工业污染排放空间分布格局及其影响因素	李芸邑, 刘利萍, 刘元元 (3820)
淡水系统中 4 种塑料颗粒的老化过程及 DOC 产物分析	李婉逸, 刘智临, 苗令占, 侯俊 (3829)
DOM 对沉积物悬浮颗粒吸附铜的促进作用及机制	丁翔, 李忠武, 徐卫华, 黄梅, 文佳骏, 金昌盛, 周咪, 陈佳 (3837)
市政污水二级出水中溶解性有机质在紫外/氯处理过程中的转化特性	王雪凝, 张炳亮, 潘丙才 (3847)
亚硝酸盐不同生成方式对短程硝化反硝化除磷颗粒系统的影响	王文琪, 李冬, 高鑫, 张杰 (3858)
A ² /O 与倒置 A ² /O 工艺低温条件下的氨氮去除能力解析	李金成, 郭雅妮, 齐嵘, 杨敏 (3866)
厌氧氨氧化启动过程细菌群落多样性及 PICRUS2 功能预测分析	闫冰, 付嘉琦, 夏嵩, 易其臻, 桂双林, 吴九九, 熊继海, 魏源送 (3875)
活性污泥微生物群落结构及与环境因素响应关系分析	马切切, 袁林江, 牛泽栋, 赵杰, 黄崇 (3886)
汾河沿岸农田土壤微塑料分布特征及成因解析	朱宇恩, 王瀚萱, 李唐慧烟, 李华, 吴超, 张桂香, 阎敬 (3894)
基于 GIS 及 APCS-MLR 模型的兰州市主城区土壤 PAHs 来源解析	管贤贤, 周小平, 雷春妮, 彭熾雯, 张松林 (3904)
典型碳酸盐岩区耕地土壤剖面重金属形态迁移转化特征及生态风险评价	唐世琪, 刘秀金, 杨柯, 郭飞, 杨峰, 马宏宏, 刘飞, 彭敏, 李括 (3913)
大气 CO ₂ 摩尔分数升高对高、低应答水稻稻田 N ₂ O 排放的影响	于海洋, 黄琼, 王天宇, 张广斌, 马静, 朱春梧, 徐华 (3924)
椰糠生物炭对热区双季稻田 N ₂ O 和 CH ₄ 排放的影响	王紫君, 王鸿浩, 李金秋, 伍延正, 符佩娇, 孟磊, 汤水荣 (3931)
不同水分管理条件下添加生物炭对琼北地区水稻土 N ₂ O 排放的影响	王鸿浩, 谭梦怡, 王紫君, 符佩娇, 李金秋, 汤水荣, 伍延正, 孟磊 (3943)
物种多样性对铅锌尾矿废弃地植被及土壤的生态效应	杨胜香, 曹建兵, 李凤梅, 彭禧柱 (3953)
来利山锡尾矿区优势植物调查与生态修复潜力分析	秦芙蓉, 张仕颖, 夏运生, 张乃明, 吴程龙, 何忠俊, 岳献荣, 田森林 (3963)
黄河源区高寒沼泽湿地土壤微生物群落结构对不同退化的响应	林春英, 李希来, 张玉欣, 孙华方, 李成一, 金立群, 杨鑫光, 刘凯 (3971)
秸秆还田配施化肥对稻-油轮作土壤酶活性及微生物群落结构的影响	靳玉婷, 李先藩, 蔡影, 胡宏祥, 刘运峰, 付思伟, 张博睿 (3985)
镉胁迫对芒草根际细菌群落结构、共发生网络和功能的影响	陈兆进, 林立安, 李英军, 陈彦, 张浩, 韩辉, 吴乃成, Nicola Fohrer, 李玉英, 任学敏 (3997)
岩溶区稻田土壤真菌群落结构及功能类群特征	周军波, 靳振江, 肖筱怡, 冷蒙, 王晓彤, 潘复静 (4005)
锌冶炼地块剖面土壤对镉、铅的吸附特征及机制	刘凌青, 肖细元, 郭朝晖, 彭驰, 姜智超, 阳安迪 (4015)
不同土壤调理剂对土壤镉和邻-苯二甲酸酯迁移转化影响	王璨, 张煜行, 何明靖, 刘文新, 卢俊峰, 魏世强 (4024)
4 种钝化剂对污染水稻土中 Cu 和 Cd 的固持机制	丁园, 敖师营, 陈怡红, 肖亮亮 (4037)
叶施 L-半胱氨酸对水稻镉和矿质元素含量的影响	张雅芸, 王常荣, 刘月敏, 刘雅萍, 刘仲齐, 张长波, 黄永春 (4045)
镉对不同生长期籽粒菹植物螯合肽的影响	刘佳欣, 陈文清, 杨力, 李娜, 王宇豪, 康愉晨 (4053)
中国造纸业物质代谢演化特征	刘欣, 杨涛, 武慧君, 袁增伟 (4061)
《环境科学》征订启事 (3651) 《环境科学》征稿简则 (3718) 信息 (3836, 3885, 3893)	

磺胺甲噁唑对海水养殖废水处理过程中抗性细菌及抗性基因的富集作用

王金鹏¹, 赵阳国^{1,2*}, 胡钰博¹

(1. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100; 2. 中国海洋大学海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100)

摘要: 抗生素在海水养殖过程中大量使用, 但仅有少部分被生物体利用, 含有抗生素的废水进入水处理系统后, 抗生素、抗性细菌和抗性基因的响应过程尚不完全清楚. 应用缺氧/好氧移动床生物膜反应器 (A/O-MBBR) 处理含磺胺甲噁唑 (SMX) 的海水养殖废水, 探究在 SMX 选择压力下, 反应器内抗生素和抗性基因丰度的变化规律, 以及微生物群落和可培养的抗性细菌种群的响应. 结果表明, 在进水 SMX 浓度为 $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 水力停留时间为 8 h, SMX 加入初期会对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的去除率有轻微影响, 随后逐步恢复; 同时去除约 32% 的 SMX, 且 78% 以上 SMX 在缺氧区完成; 抗性基因在缺氧区富集明显高于好氧区, 在缺氧区磺胺类抗性基因 (*sul1*) 绝对丰度上升 2.43 log, 磺胺类抗性基因 (*sul2*) 上升 1.71 log; 而在好氧区, *sul1* 绝对丰度上升 1.17 log, *sul2* 上升 0.91 log. 抗性平板培养结合高通量测序表明, 假交替单胞菌属 (*Pseudoalteromonas*) 在反应器可培养抗性细菌中占最优势. 高通量测序分析发现可培养的抗性细菌假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 在反应器内占比最高. 表明含 SMX 的海水养殖废水可促进水中抗性基因的富集, 部分抗性细菌的数量显著增加.

关键词: 海水养殖废水; A/O-MBBR 反应器 (A/O-MBBR); 磺胺甲噁唑; 抗生素抗性基因 (ARG); 抗生素抗性细菌 (ARB)

中图分类号: X703 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2021)08-3791-08 **DOI:** 10.13227/j.hjxx.202012287

Enrichment of Antibiotic Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes by Sulfamethoxazole in the Biological Treatment System of Mariculture Wastewater

WANG Jin-peng¹, ZHAO Yang-guo^{1,2*}, HU Yu-bo¹

(1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Abstract: Although antibiotics are heavily used in mariculture, only a small portion of the added antibiotics is absorbed. Little is known about the response process of antibiotics, antibiotic resistant bacteria, and antibiotic resistance genes to antibiotic-containing wastewater entering a wastewater treatment system. In this study, an anoxic/aerobic moving bed biofilm reactor (A/O-MBBR) was used to treat marine aquaculture wastewater containing sulfamethoxazole (SMX). The antibiotics and resistance genes in the reactor were then evaluated under selective SMX pressure, and the changing abundance patterns and the response of microbial communities and cultivable resistant bacterial populations were further explored. The results show that with an influent SMX concentration of $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ and a hydraulic retention time of 8 h, SMX had a slight effect on the removal rate of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ and $\text{NO}_2^- - \text{N}$, following which the performance gradually recovered. During this stage, SMX removal reached approximately 32%, with more than 78% of SMX removed from the hypoxic zone. The resistance gene was more significantly enriched in the hypoxic zone than in the aerobic zone. In the hypoxic zone, the absolute abundance of gene *sul1* increased by 2.43 log, whereas that of gene *sul2* increased by 1.71 log. In the region, the absolute abundance of *sul1* increased by 1.17 log, whereas that of *sul2* increased by 0.91 log. Resistant plate culture and high-throughput sequencing showed that the genus *Pseudoalteromonas* was the most dominant culturable resistant bacteria in the reactor. The genus *Pseudomonas* predominated in the uncultured resistant bacteria in the reactor. This study showed that marine aquaculture wastewater containing SMX promotes the enrichment of resistance genes, causing the abundance of some resistant bacteria to increase significantly.

Key words: mariculture wastewater; anoxic/aerobic moving bed biofilm reactor (A/O-MBBR); sulfamethoxazole; antibiotic resistance gene (ARG); antibiotic resistant bacteria (ARB)

联合国粮农组织的报告显示, 2018 年中国水产养殖的总面积达到 $7\,449.03 \times 10^3 \text{ hm}^2$, 养殖总产量达 4 905.99 万 t, 是世界上唯一一个水产养殖产量超过捕捞量的国家^[1], 并且养殖产量仍在快速地增长中. 在 market 需求的推动下, 水产养殖业朝着密集和集约化方向发展. 这种发展模式容易导致近海过度养殖、环境污染和危害近海海洋生态环境. 在此背景下, 工厂循环水养殖模式应运而生. 与传统养殖模式

相比, 工厂循环水养殖具有节约资源、环境友好型的特点, 但是工厂循环水养殖模式同时也使水产养殖生物病害防控压力增大.

中国每年因水产养殖疾病暴发损失 1 000 ~

收稿日期: 2020-12-09; 修订日期: 2021-01-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41977315); 中央高校基本科研业务费专项 (201964004)

作者简介: 王金鹏 (1996 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为海水养殖废水处理, E-mail: wjp19960524@163.com

* 通信作者, E-mail: ygzha@ouc.edu.cn

2 000亿元人民币,超过一半的疾病是由细菌感染引起的,抗生素在促进动物生长和抑制细菌性疾病方面具有独特的作用,是目前国内外水产养殖疾病防控的有效手段.但在海水养殖过程中,往往过度使用抗生素,导致水产品质量下降和安全事故频发.近年来,海水养殖环境及附近海域发现多种残留抗生素成为公众关注的焦点.根据 Lu 等^[2]的调查,中国沿海水域检测到 7 种目标抗生素,并认为海水养殖尾水是沿海水域抗生素的重要来源.生物处理工艺通常用于处理海水养殖废水,然而,生物处理过程因其存在大量微生物长期接触低浓度抗生素被认为是引起细菌抗生素耐药性的理想环境^[3].长期接触抗生素会导致抗生素抗性细菌及抗性基因(antibiotic resistance gene, ARG)的富集. ARG 可通过基因转移引起病原微生物耐药性,扰乱生态系统平衡,危及人类健康.已有研究表明,污水生物处理系统是 ARG 传播的主要来源^[4],但在低浓度抗生素长期影响条件下,生物处理系统中抗性菌和抗性基因的变化规律还不够清楚.

本研究采用 A/O-MBBR 工艺来处理含典型抗生素磺胺甲噁唑(SMX)的海水养殖废水,探讨 SMX 在海水养殖废水处理过程中逐级变化;对磺胺类抗性基因 *sul1* 和 *sul2* 以及四环素类抗性基因 *tetM* 和

tetW 进行实时定量分析;同时揭示抗性菌的种类和变化特征,以期为工厂循环水养殖废水处理过程中抗性基因污染的控制提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 A/O-MBBR 反应器的运行

本研究使用的 A/O-MBBR 反应器材料为有机玻璃,有效容积为 46.87 L,通过隔板将反应器分成缺氧区、好氧区和沉淀区这 3 个部分.缺氧区和好氧区的体积比为 1:3,缺氧区设有蠕动泵以维持填料的运动,好氧区设有曝气管,溶解氧浓度在 4.59 ~ 5.23 mg·L⁻¹ 之间.填料材质为 PP 材料,直径 25 mm.缺氧区和好氧区中填料的体积均占 1/3.

按照参考文献^[5]配制模拟海水养殖废水,水质成分见表 1.盐度(30±0.5)‰,pH(7±0.1),水力停留时间 8 h, COD、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 分别为 120、4.9、5.1 和 0.7 mg·L⁻¹.按此条件运行反应器,在反应器运行稳定后第 10 d 加入浓度为 500 μg·L⁻¹ 的 SMX,持续运行反应器 30 d,每天监测进出水指标,包括 COD、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 和 SMX;在反应器运行第 10、20、30 和 40 d 取反应器缺氧区和好氧区的出水进行 DNA 提取,以监测 ARG.整个反应器运行阶段温度保持在 25℃ 左右.

表 1 模拟海水养殖废水成分

Table 1 Mariculture wastewater composition

成分	NH ₄ Cl	NaNO ₂	NaNO ₃	KH ₂ PO ₄	乙酸钠	海水晶
浓度/mg·L ⁻¹	18	3	30	15	150	30 000

1.2 化学指标检测方法

1.2.1 水质指标检测方法

COD 采用重铬酸钾法, NH₄⁺-N 采用纳氏试剂分光光度法, NO₂⁻-N 采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法, NO₃⁻-N 采用紫外分光光度法^[6].

1.2.2 磺胺甲噁唑检测方法

取 50 mL 待测水样经 0.22 μm 滤膜过滤,取 5 mL 甲醇和 10 mL 超纯水对 HLB 固相萃取小柱进行活化,活化后对水样中的 SMX 进行富集,流速控制在约 5 mL·min⁻¹ 左右,富集完毕后用 10 ~ 15 mL 超纯水进行冲洗以去除 HLB 固相萃取小柱中的盐离子,最后用 5 mL 甲醇洗脱 SPE 固相萃取小柱,收集洗脱液并用甲醇定容至 5 mL 经 0.22 μm 滤膜过滤后准备测样.参照文献^[7]采用超高液相色谱-串联质谱联用仪(UPLC-MS)(赛默飞,美国)测定水中的 SMX.

1.3 基因定量分析方法

取反应器缺氧区和好氧区出水各 1 L,经 0.45

μm 滤膜过滤后磨碎滤膜,用 PowerSoil DNA 提取试剂盒(MoBio,美国)提取总 DNA,经琼脂糖凝胶电泳检测后于 -20℃ 条件下保存.

本研究选取的目的基因为磺胺类抗性基因(*sul1*、*sul2*)、四环素类抗性基因(*tetM*、*tetW*)、I 类整合子整合酶基因 *int11* 和 16S rRNA 基因,引物设计详见表 2,提取的 DNA 样品经 PCR 扩增得到目的基因,扩增产物用琼脂糖凝胶电泳进行检测,之后用琼脂糖凝胶回收试剂盒(翊圣,上海)进行胶回收,回收后将目的基因连接到 pESI-T vector 载体(翊圣,上海),并转入到感受态大肠杆菌进行克隆,挑选阳性克隆子进行扩大培养并进行测序,使用 MolPure® Plasmid Mini Kit 质粒小量提取试剂盒(翊圣,上海)进行质粒提取,提取后的质粒,使用 NanoDrop 2000 微量分光光度计(Thermo FisherScientific,美国)测定质粒浓度及纯度.选取符合要求的质粒作为该基因标准品计算基因拷贝数,拷贝数计算公式如下:

$$c = 6.02 \times 10^{23} \times (c_0 \times 10^{-9} / M)$$
$$M = (1\,865 + L) \times 660$$

式中, c 为基因拷贝数, c_0 为质粒浓度, 1 865 为 pESI-T vector 载体长度, L 为目的基因长度。

将已知浓度的质粒标准品按 10 倍依次稀释 8 个梯度, 并作为荧光定量 PCR 的模板 DNA, 定量

PCR 在 Bio-RadiCFX96 实时荧光定量 PCR 仪(美国)中进行, 反应体系为 SYBR Green Master Mix 10 μ L、上游和下游引物各 1 μ L(见表 2)、模板 DNA 2 μ L 和灭菌双蒸水 6 μ L; 反应条件详见表 2, 以此条件建立标准曲线, 所有基因的标准曲线扩增效率均在 90%~110% 之间, 相关系数均大于 0.990。

表 2 目的基因引物及条件

Table 2 Target gene primers and conditions					
目标基因	引物	序列(5'-3')	扩增长度/bp	退火温度/℃	文献
16S rRNA	F	CGAATATGGAATCCCTAGTAACT	154	58.5	[8]
	R	GCCCACTCAGTTCGATACGC			
<i>intI1</i>	F	CCTCCCGCACGATGATC	280	62	[9]
	R	TCCACGCATCGTCAGGC			
<i>sul1</i>	F	CGCACCGGAAACATCGCTGCAC	163	65	[10]
	R	TGAAGTTCCGCCGCAAGGCTCG			
<i>sul2</i>	F	TCCGGTGGAGGCCGGTATCTGG	191	57.5	[10]
	R	CGGGAATGCCATCTGCCTTGAG			
<i>tetW</i>	F	GAGAGCCTGCTATATGCCAGC	168	64	[11]
	R	GGCGGTATCCACAATGTTAAC			
<i>tetM</i>	F	ACAGAAAGCTTATTATATAAC	171	55	[11]
	R	TGGCGTGCTATGATGTCAC			

1.4 微生物群落结构及抗性细菌多样性分析

在运行 A/O-MBBR 反应器第 10、20、30 和 40 d 对反应器缺氧区及好氧区出水样品取样 1 L, 过 0.45 μ m 滤膜, 并将其剪碎, 按照 PowerSoil DNA 提取试剂盒操作说明提取总 DNA, 对应的生物膜样品分别为 A₁₀、O₁₀、A₂₀、O₂₀、A₃₀、O₃₀、A₄₀ 和 O₄₀; 选取 2216E 琼脂培养基制备抗性平板, 在培养基灭菌后, 温度在 50℃ 左右时加入 SMX, 使培养基 SMX 浓度为 60 mg·L⁻¹, 取反应器缺氧区及好氧区出水各 100 μ L 进行平板涂布, 提取平板上生长的所有菌落 DNA。上述 DNA 样品均在冷冻条件下送至天津诺禾致源科技股份有限公司进行高通量测序, 基于 Illumina 平台, 以微生物 16S rDNA 的 V3-V4 区为靶对象, 经过 Reads 拼接过滤, OTUs (operational taxonomic units) 聚类, 分析反应器内微生物群落结构变化、可培养抗性细菌的种类; 揭示可培养抗性细菌在反应器内丰度占比情况以及 SMX 持续投加过程中可培养抗性细菌的丰度变化。

2 结果与分析

2.1 A/O-MBBR 废水处理效果

根据图 1, 在添加 SMX 前, 反应器对 NO₃⁻-N 和 COD 的去除率分别在 94.16% 和 92.3% 左右。对应出水浓度在 0.26 mg·L⁻¹ 和 8.31 mg·L⁻¹ 左右; 反应器对 NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 的去除率稳定在 91.16% 和 98.24% 左右, 对应出水浓度稳定在 0.26 mg·L⁻¹ 和 0.01 mg·L⁻¹ 以下。投加 500 μ g·L⁻¹ SMX 后, 反应器

对 NO₃⁻-N 和 COD 去除率并未受到显著影响; 而对 NH₄⁺-N 去除率影响较大, NH₄⁺-N 出水浓度逐渐上升, 在反应器运行第 20 d, NH₄⁺-N 出水浓度达到 1.78 mg·L⁻¹; SMX 对 NO₂⁻-N 去除率有小幅下降影响, 但 NO₂⁻-N 出水浓度仍维持在 0.1 mg·L⁻¹ 左右; 在反应器运行的第 30 d, NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 去除率逐渐恢复, 最终维持稳定状态。

2.2 磺胺甲噁唑的去除效率

为了更好地分析 SMX 在反应器各个区域的浓度变化, 监测了 SMX 从进水到缺氧区、经过好氧区、最后到出水的浓度变化(图 2)。A/O-MBBR 反应器对 SMX 的总去除率在 32% 左右; 缺氧区对 SMX 的贡献最大, 可去除 25% 以上的 SMX, 而好氧区对 SMX 的去除贡献较少。

2.3 抗性基因的变化

反应器内 ARG 丰度变化如图 3 所示, 在未投加 SMX 时, 两种磺胺类抗性基因 *sul1* 和 *sul2* 在缺氧区和好氧区均保持较高丰度。在反应器中投加 SMX 后, 缺氧区和好氧区中磺胺类抗性基因的丰度均明显上升, 随着 SMX 的持续加入, 在第 20 d 和第 30 d 的 *sul1* 和 *sul2* 保持相对稳定。在运行反应器的 40 d 中, 缺氧区 *sul1* 和 *sul2* 绝对丰度分别由 1.74 $\times 10^4$ copies·mL⁻¹ 和 2.62 $\times 10^4$ copies·mL⁻¹ 上升至 4.63 $\times 10^6$ copies·mL⁻¹ 和 1.34 $\times 10^6$ copies·mL⁻¹; 绝对丰度分别提高 2.43 log 和 1.71 log; 好氧区 *sul1* 和 *sul2* 绝对丰度分别由 8.36 $\times 10^4$ copies·mL⁻¹ 和 4.58 $\times 10^4$ copies·mL⁻¹ 上升至 1.14 $\times 10^6$ copies·mL⁻¹ 和

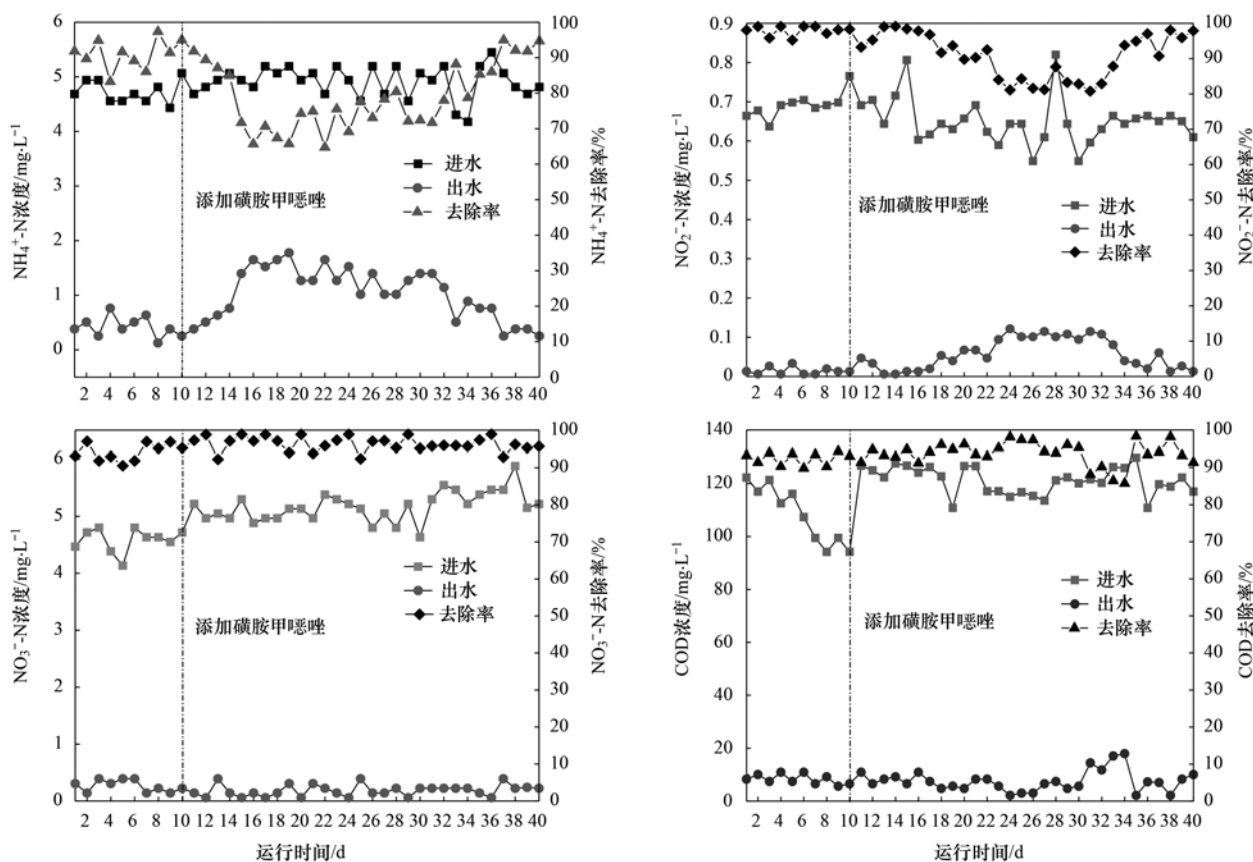


图 1 添加 SMX 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 COD 去除效果的影响

Fig. 1 Effect of adding sulfamethoxazole on the removal of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, and COD

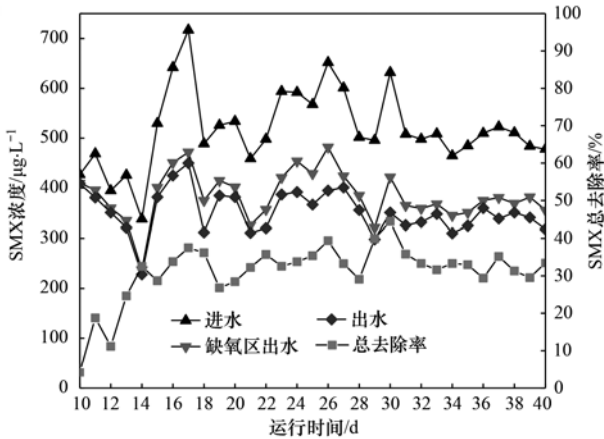


图 2 SMX 在 A/O-MBBR 各个区域浓度变化

Fig. 2 Concentration variation of sulfamethoxazole in different regions of the A/O-MBBR

$8.09 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$, 绝对丰度分别提高 1.71 log 和 0.91 log; 反应器内 16s rRNA 的丰度随着 SMX 的投加无较大变化; I 类整合酶基因 *intI1* 的绝对丰度呈小幅上升趋势, 两个功能区 *intI1* 绝对丰度分别上升 0.66 log 和 0.27 log; 而两种四环素类抗性基因 *tetM* 和 *tetW* 均没有明显变化。

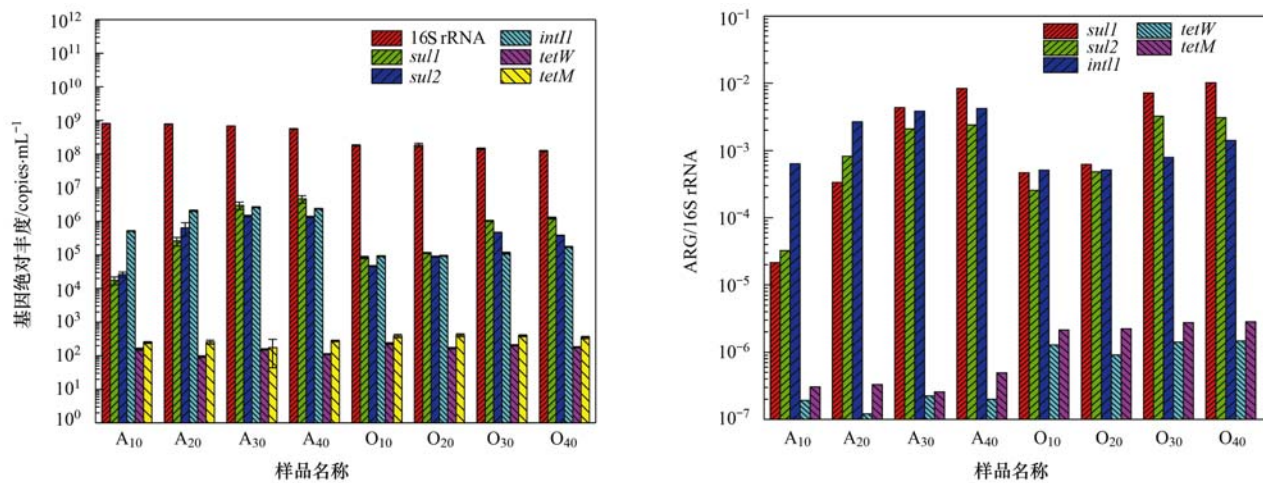
2.4 微生物群落及抗性细菌丰度变化

在反应器运行第 10、20、30 和 40 d 缺氧区和

好氧区微生物群落在门水平变化如图 4 所示, 在门水平上, 缺氧区和好氧区出水中最优的门为 Proteobacteria 和 Bacteroidetes. 在反应器运行第 10 d 缺氧区中 Proteobacteria 和 Bacteroidetes 相对丰度分别为 20.83% 和 4.77%; 第 20 d 缺氧区出水中的 Proteobacteria 迅速上升, 由 20.83% 上升至 67.38%, 与此同时, Gracilibacteria 相对丰度也有显著上升 (由 0.08% 上升至 4.4%). 随着 SMX 的持续投加, 缺氧区微生物群落在门水平上又逐渐恢复至未投加 SMX 的状态. 在反应器运行第 30 和 40 d, 缺氧区中 Proteobacteria 相对丰度分别下降到 13.49% 和 18.83%, 而 Bacteroidetes 和 Gracilibacteria 的相对丰度逐渐上升, 在反应器运行第 30 d, Bacteroidetes 的相对丰度上升至 15.01%, Gracilibacteria 的相对丰度上升至 5.29%.

在好氧区中, 反应器运行第 10 d, Proteobacteria 和 Bacteroidetes 相对丰度分别为 72.51% 和 7.77%. 第 20 d Proteobacteria 相对丰度由 72.51% 下降至 37.59%. 在反应器运行第 40 d, 好氧区出水的微生物群落结构逐渐恢复至未投加 SMX 的状态。

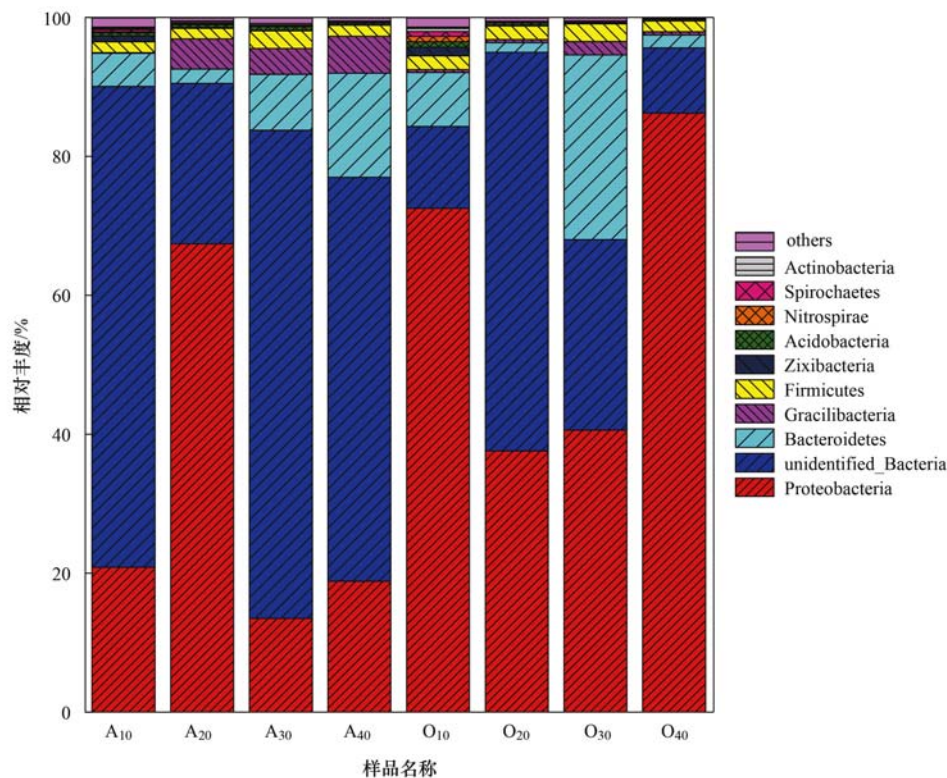
表 3 显示两个功能区中相对丰度占前 1% 属的微生物群落变化. 与反应器运行第 10 d 相比, 第 20 d 缺氧区中 *Sulfurovum* 的相对丰度迅速降低, 由



A₁₀、A₂₀、A₃₀和A₄₀分别代表反应器运行第10、20、30和40 d缺氧区出水样品；O₁₀、O₂₀、O₃₀和O₄₀代表相应时间好氧区出水样品

图3 ARG在A/O-MBBR的丰度变化和ARG占16S rRNA的比率

Fig. 3 Abundance of ARGs in the A/O-MBBR and the ratio of ARGs to 16S rRNA



A₁₀、A₂₀、A₃₀和A₄₀分别代表反应器运行第10、20、30和40 d缺氧区出水样品；O₁₀、O₂₀、O₃₀和O₄₀代表相应时间好氧区出水样品

图4 微生物群落在门水平上的组成及相对丰度变化

Fig. 4 Microbial community composition and relative abundance at the phylum level

39.18% 下降至 1.10%。在第 40 d,其相对丰度仅有 4.08%。Arcobacter 相对丰度由 29.18% 下降至 14.08%,在第 30 和 40 d 丰度上升至 46.51% 和 43.44%,最终成为缺氧区微生物群落的最优势属。

反应器中可培养的抗性细菌在门水平分布如图 5(a) 所示,在缺氧区和好氧区中,抗性细菌均以 Proteobacteria 和 Firmicutes 为主,Proteobacteria 相对丰度分别为 83.7% 和 11.2%,Firmicutes 相对丰度分别为 88.3% 和 6.63%。图 5(b) 为可培养的抗性细

菌在属水平上的丰度情况。其中,缺氧区和好氧区中 Pseudoalteromonas 的相对丰度均最高,相对丰度分别为 67.78% 和 45.5%。

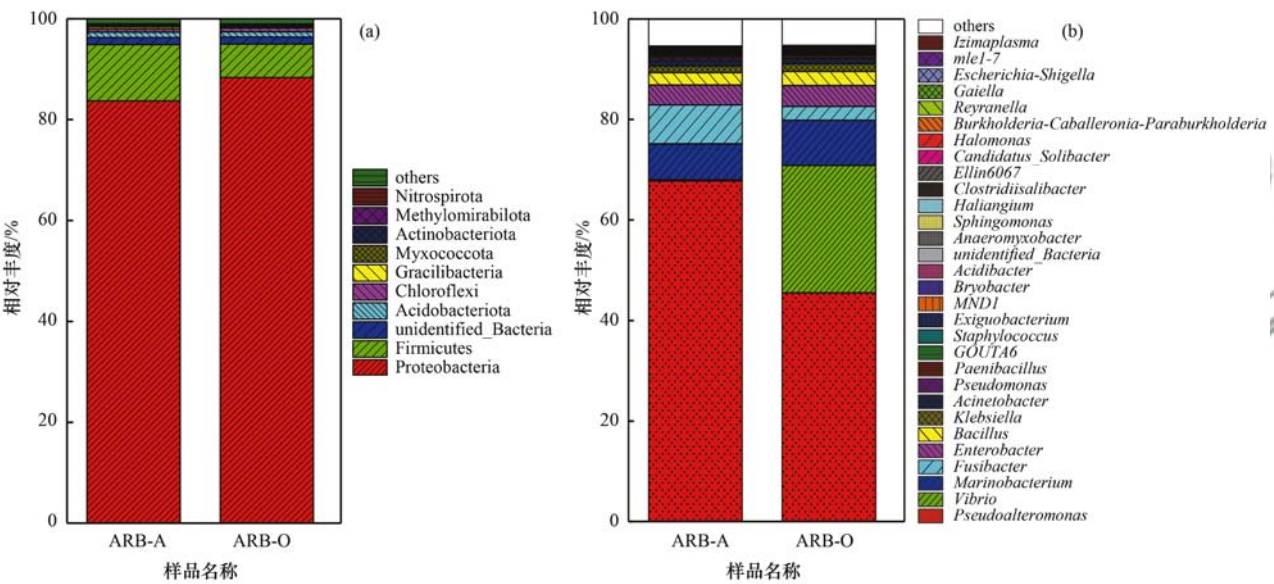
3 讨论

500 μg·L⁻¹ 的 SMX 并不会对反应器反硝化过程产生抑制,但是会对反应器的硝化过程产生一定影响,使 NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 积累,最终导致 TN 升高。NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 的去除效率波动主要与氨氧化菌

表 3 微生物群落在属水平相对丰度

Table 3 Change in relative abundance of microbes at the genus level

门	属	相对丰度/%							
		A ₁₀	A ₂₀	A ₃₀	A ₄₀	O ₁₀	O ₂₀	O ₃₀	O ₄₀
γ-Proteobacteria	<i>Neptuniibacte</i>	0.93	3.12	1.71	2.01	4.61	26.46	21.13	80.36
	<i>Thiothrix</i>	0.26	0.31	0.27	0.21	37.89	1.26	1.08	0.25
	<i>Colwellia</i>	0.59	37.59	1.66	4.21	1.05	1.17	1.91	1.00
	<i>Pseudomonas</i>	0.53	20.24	0.63	3.60	1.09	2.07	1.66	0.60
	<i>Pseudoalteromonas</i>	0.15	0.07	0.37	0.07	0.06	0.04	1.32	0.09
δ-Proteobacteria	<i>Desulfobacter</i>	1.82	1.33	3.89	3.40	0.90	0.51	1.28	0.29
	<i>Desulfuromonas</i>	0.07	3.36	2.68	3.39	0.19	0.23	1.36	0.30
	<i>Desulfuromusa</i>	2.62	0.33	0.16	0.28	0.22	0.07	0.11	0.04
ε-Proteobacteria	<i>Arcobacter</i>	29.18	14.08	46.51	43.44	5.57	53.72	19.94	7.09
	<i>Sulfurovum</i>	39.18	1.10	2.27	4.08	1.29	0.50	0.92	0.39
	<i>Sulfurimonas</i>	0.86	7.93	21.41	10.52	4.88	3.15	6.56	1.91
Bacteroidetes	<i>Crocinitomix</i>	0.09	0.12	0.13	0.12	2.60	0.29	25.32	1.23
	<i>Prosthecochloris</i>	3.08	1.05	7.46	13.93	1.31	0.26	0.67	0.22
	<i>Marinobacterium</i>	0.04	0.04	0.05	0.68	0.33	0.03	0.09	0.11



ARB-A 代表缺氧区抗性平板生长的细菌样品, ARB-O 代表好氧区抗性平板生长的细菌样品

图 5 可培养的抗生素抗性细菌在门和属水平上的分布

Fig. 5 Distribution of culturable antibiotic-resistant bacteria at the phylum level and at the genus level

和亚硝酸盐氧化菌活性受到抑制有关^[12]. 有研究表明, 抗生素(如金霉素、诺氟沙星和 SMX 等)在废水处理过程中会影响脱氮功能基因的表达^[13]以及氮循环相关的功能酶活性, 从而使脱氮效率降低^[14]. 因此, SMX 可以通过抑制 AMO 和 NOR 的活性降低 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的去除效率. 在本研究中, NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的去除效率出现了先降低后升高最后趋于稳定的情况, 这可能是在接触 SMX 一段时间内, 反应器中的硝化细菌群落做出响应, 最终适应环境.

生物吸附和生物降解是抗生素去除的两种机制^[15, 16], SMX 是一种相对稳定的抗生素, 不易发生光解作用. 根据 Alvarino 等^[17]的研究, SMX 可以作为微生物利用的唯一碳源和氮源, 当 SMX 的浓度不足以用作微生物生长的直接底物时^[18], 共代谢生物降解在去除抗生素的过程中起主要作用. 此外,

SMX 的厌氧降解和反硝化作用^[19]有关. 在厌氧条件下, 微生物能够以 NO_3^- 为电子受体实现 SMX 的降解, 同时投加碳源能够增强 SMX 的降解速率^[20]. 本研究中, SMX 浓度并不高, 同时又添加易降解的有机物乙酸钠作为碳源, 且 SMX 的投加并未影响反硝化过程, 因此缺氧区对 SMX 的去除可能是微生物利用乙酸钠实现共代谢作用降解 SMX, 也有可能是反硝化过程中实现 SMX 的共代谢降解. 而在好氧条件下, 微生物可利用分子氧为电子受体, 以代谢或共代谢的形式降解 SMX. Alvarino 等^[21]应用 ^{14}C 同位素示踪法研究好氧条件下异养污泥和硝化污泥对 SMX 的降解情况, 前者的放射性由 98% 降至 94%, 后者维持 99% 稳定不变, 在投加碳源后 SMX 开始降解, 这说明好氧条件下 SMX 的降解依赖碳源. 因此, 本研究中磺胺甲噁唑在缺氧区的去除效果优于好氧区

的原因可能是缺氧区消耗碳源导致好氧区碳源不足无法很好降解 SMX。

有研究表明 *sul1* 和 *sul2* 是污水处理厂中 ARG 检出频率和检出丰度最高的抗性基因^[22, 23],磺胺类抗性基因在环境中的广泛分布与磺胺类抗生素的使用广泛和使用历史长有关。SMX 的抑菌机制在于其能够与对氨基苯甲酸(PABA)共同竞争二氢叶酸合成酶(DHPS)从而抑制叶酸的合成阻碍细菌繁殖,而细菌对磺胺类抗生素的耐药性主要由磺胺类抗性基因引起,磺胺类抗性基因能够编码 DHPS,使细菌对磺胺类抗生素的亲合力降低,获得耐药性^[24]。由于本研究中并没有添加四环素类抗生素,细菌对四环素类抗生素的耐药机制与磺胺甲噁唑不同,四环素类抗生素通过阻止氨酰 tRNA 与核糖体结合来抑制菌体蛋白合成,达到抗菌的效果,而 *tetM* 和 *tetW* 能够编码核糖体保护蛋白保护核糖体免受四环素作用产生耐药性^[25, 26]。这与磺胺类抗性基因的耐药机制完全不同。因此,反应器内 ARG 丰度升高是由于添加相应抗生素引起的。

上述结果表明 SMX 可促进 *sul1* 和 *sul2* 的富集,因此废水中 SMX 的存在对磺胺类抗生素的富集及扩散具有促进作用。这与 Gao 等的研究结果类似,其研究表明在废水处理过程中,磺胺类抗性基因丰度与磺胺类抗生素的总浓度存在显著相关性^[27]。在本研究中,整合子 *intI1* 与两种磺胺类抗性基因的丰度变化基本一致,整合子是一类可移动遗传元件,它具有捕获和整合外源性基因,使之转变为功能性基因的作用^[28],*intI1* 是细菌最常见的整合子,被认为是参与 ARG 传播的重要遗传要素,并携带着大量的 ARG,而磺胺类抗性基因普遍存在于 *intI1* 中。

表 3 揭示了反应器内微生物群落在属水平上的丰度变化,值得注意的是 *Arcobacter* 是一种致病菌属,该种属细菌在污水处理厂以及海水浴场被广泛检出,且为优势种^[29]。*Arcobacter* 可对多种抗生素(如:青霉素、左氧氟沙星和头孢菌素等)产生耐药性^[30]。有研究表明,Proteobacteria、Firmicutes、Bacteroidetes 和 Actinobacteria 是 4 个主要携带抗生素抗性基因的门类,同时绝大多数携带 *sul1* 的细菌多属于 Proteobacteria^[31]。

Pseudoalteromonas 通常能从海洋极端环境如低温、深海沉积物中分离出来。该属微生物能够产生至少 16 种抗菌剂^[32],对传统抗生素有极强的抗性;*Vibrio* 是海洋环境中最主要的抗性细菌之一,是海水养殖环境中常见致病菌,它携带多种可移动遗传元件,对多种抗生素产生耐药性(如氨基西林、青霉素和四环素)^[33]。它可以通过水解以及化学修饰的

方式使抗生素失活^[34]。由于其在沿海海域的丰富性和多样性,被认为是抗性基因的储存库。

对比图 5(b) 和表 3 分析可培养的抗性细菌在反应器内的丰度变化,其中, *Pseudomonas* 在反应器内相对丰度占比最高,在添加 SMX 初期,缺氧区和好氧区中 *Pseudomonas* 均有明显上升,随着 SMX 的持续投加, *Pseudomonas* 呈下降趋势; *Pseudoalteromonas* 和 *Marinobacterium* 的相对丰度占比较低,变化趋势不明显。*Marinobacterium* 是海洋环境中一种可培养的异养硝化好氧反硝化菌^[35]。同时它也具有降解大分子物质如多环芳烃的功能^[36]。*Pseudomonas* 可携带大量的可移动遗传元件及多种抗性基因,在水环境中极易参与抗生素耐药性的传播^[37]。这些细菌对 SMX 均有很强的耐药性。但是除 *Pseudomonas* 外,其余细菌在反应器内丰度占比较低,因此,在本研究中投加 SMX 后,磺胺类抗性基因的富集可能和 *Pseudomonas* 的相对丰度上升有关。

4 结论

在 A/O-MBBR 反应器处理含 $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ SMX 的海水养殖废水过程中,反应器对 COD、 NO_3^- -N 的去除未受到抑制,对 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N 的去除率略有抑制;相比好氧条件下,SMX 在缺氧条件更易去除;SMX 的存在只会促进磺胺类抗性基因的富集,而对于其余种类的抗性基因影响不大;*Pseudoalteromonas* 是反应器内最主要的可培养抗性细菌,其相对丰度在缺氧区和好氧区均达到最高,同时,在海水养殖废水处理过程中,SMX 的存在会富集部分抗性细菌。

参考文献:

- [1] Liu Y M, Wang Z H, Yang X M, et al. Satellite-based monitoring and statistics for raft and cage aquaculture in China's offshore waters [J]. International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation, 2020, **91**, doi: 10.1016/j.jag.2020.102118.
- [2] Lu J, Wu J, Zhang C, et al. Occurrence, distribution, and ecological-health risks of selected antibiotics in coastal waters along the coastline of China [J]. Science of the Total Environment, 2018, **644**: 1469-1476.
- [3] Merlin C, Bonot S, Courtois S, et al. Persistence and dissemination of the multiple-antibiotic-resistance plasmid pB10 in the microbial communities of wastewater sludge microcosms [J]. Water Research, 2011, **45**(9): 2897-2905.
- [4] Pazda M, Kumirska J, Stepnowski P, et al. Antibiotic resistance genes identified in wastewater treatment plant systems-A review [J]. Science of the Total Environment, 2019, **697**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134023.
- [5] 逢文慧, 赵阳国, 郑冰冰, 等. 不同污染负荷对移动床生物膜反应器处理海水养殖废水的性能及微生物群落的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2018, **48**(S1): 137-145.
- Pang W H, Zhao Y G, Zheng B B, et al. Effects of pollutant loads on the performance of mariculture wastewater treatment and

- microbial community in an A/O-MBBR system[J]. Periodical of Ocean University of China, 2018, **48**(S1): 137-145.
- [6] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [7] Chen C Q, Zheng L, Zhou J L, *et al.* Persistence and risk of antibiotic residues and antibiotic resistance genes in major mariculture sites in Southeast China[J]. Science of the Total Environment, 2017, **580**: 1175-1184.
- [8] Luo Y, Mao D Q, Rysz M, *et al.* Trends in antibiotic resistance genes occurrence in the Haihe River, China[J]. Environmental Science & Technology, 2010, **44**(19): 7220-7225.
- [9] Petrovich M L, Rosenthal A F, Griffin J S, *et al.* Spatially resolved abundances of antibiotic resistance genes and int1 in wastewater treatment biofilms [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2019, **116**(3): 543-554.
- [10] Pei R T, Kim S C, Carlson K H, *et al.* Effect of river landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG)[J]. Water Research, 2006, **40**(12): 2427-2435.
- [11] Aminov R I, Garrigues-Jeanjean N, Mackie R I. Molecular ecology of tetracycline resistance: development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, **67**(1): 22-32.
- [12] Du B B, Yang Q X, Li X N, *et al.* Impacts of long-term exposure to tetracycline and sulfamethoxazole on the sludge granules in an anoxic-aerobic wastewater treatment system[J]. Science of the Total Environment, 2019, **684**: 67-77.
- [13] Gui M Y, Chen Q, Ni J R. Effect of sulfamethoxazole on aerobic denitrification by strain *Pseudomonas stutzeri* PCN-1[J]. Bioresource Technology, 2017, **235**: 325-331.
- [14] Zhu Y J, Wang Y Y, Jiang X X, *et al.* Microbial community compositional analysis for membrane bioreactor treating antibiotics containing wastewater[J]. Chemical Engineering Journal, 2017, **325**: 300-309.
- [15] Luo Y L, Guo W S, Ngo H H, *et al.* A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment[J]. Science of the Total Environment, 2014, **473-474**: 619-641.
- [16] Wang J, Ben W W, Yang M, *et al.* Dissemination of veterinary antibiotics and corresponding resistance genes from a concentrated swine feedlot along the waste treatment paths[J]. Environment International, 2016, **92-93**: 317-323.
- [17] Alvarino T, Suarez S, Lema J M, *et al.* Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors[J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, **278**: 506-513.
- [18] Fischer K, Majewsky M. Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, **98**(15): 6583-6597.
- [19] Nödler K, Licha T, Fischer S, *et al.* A case study on the correlation of micro-contaminants and potassium in the Leine River (Germany)[J]. Applied Geochemistry, 2011, **26**(12): 2172-2180.
- [20] Yang C W, Tsai L L, Chang B V. Anaerobic degradation of sulfamethoxazole in mangrove sediments[J]. Science of the Total Environment, 2018, **643**: 1446-1455.
- [21] Alvarino T, Nastold P, Suarez S, *et al.* Role of biotransformation, sorption and mineralization of ¹⁴C-labelled sulfamethoxazole under different redox conditions[J]. Science of the Total Environment, 2016, **542**: 706-715.
- [22] Aydin S, Ince B, Ince O. Development of antibiotic resistance genes in microbial communities during long-term operation of anaerobic reactors in the treatment of pharmaceutical wastewater [J]. Water Research, 2015, **83**: 337-344.
- [23] 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.
- [24] Perreten V, Boerlin P. A new sulfonamide resistance gene (Sul3) in *Escherichia coli* is widespread in the pig population of switzerland[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, **47**(3): 1169-1172.
- [25] 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.
- [26] Yu J, Liu D F, Li K X. Influence of tetracycline on tetracycline-resistant heterotrophs and *tet* genes in activated sludge process [J]. Current Microbiology, 2015, **70**(3): 415-422.
- [27] Gao P, Munir M, Xagorarakis I. Correlation of tetracycline and sulfonamide antibiotics with corresponding resistance genes and resistant bacteria in a conventional municipal wastewater treatment plant[J]. Science of the Total Environment, 2012, **421-422**: 173-183.
- [28] Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution [J]. Nature Reviews Microbiology, 2006, **4**(8): 608-620.
- [29] 郎秀璐, 宋志文, 徐爱玲, 等. 不同排海方式城市尾水微生物扩散规律[J]. 环境科学, 2018, **39**(5): 2380-2388.
- Lang X L, Song Z W, Xu A L, *et al.* Influence of different patterns of discharge on microbial diffusion in municipal treated wastewater[J]. Environmental Science, 2018, **39**(5): 2380-2388.
- [30] Ferreira S, Luis Â, Oleastro M, *et al.* A meta-analytic perspective on *Arcobacter* spp. antibiotic resistance[J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2019, **16**: 130-139.
- [31] Gaze W H, Zhang L H, Abdoulsam 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.
- [32] Offret C, Desriac F, Le Chevalier P, *et al.* Spotlight on antimicrobial metabolites from the marine bacteria *Pseudoalteromonas*: chemodiversity and ecological significance [J]. Marine Drugs, 2016, **14**(7), doi: 10.3390/md14070129.
- [33] Elmahdi S, DaSilva L V, Parveen S. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in various countries: a review[J]. Food Microbiology, 2016, **57**: 128-134.
- [34] Das B, Verma J, Kumar P, *et al.* Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: understanding the ecology of resistance genes and mechanisms[J]. Vaccine, 2020, **38**(S1): A83-A92.
- [35] Huang F, Pan L Q, He Z Y, *et al.* Identification, interactions, nitrogen removal pathways and performances of culturable heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria from mariculture water by using cell culture and metagenomics[J]. Science of the Total Environment, 2020, **732**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139268.
- [36] Wang L, Huang X, Zheng T L. Responses of bacterial and archaeal communities to nitrate stimulation after oil pollution in mangrove sediment revealed by illumina sequencing[J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, **109**(1): 281-289.
- [37] Flores Ribeiro A, Bodilis J, Alonso L, *et al.* Occurrence of multi-antibiotic resistant *Pseudomonas* spp. in drinking water produced from karstic hydrosystems [J]. Science of the Total Environment, 2014, **490**: 370-378.

CONTENTS

Characteristics and Control Strategies on Summertime Peak Ozone Concentration in Shanghai	YAN Ru-sha, WANG Hong-li, HUANG Cheng, <i>et al.</i> (3577)
Characteristics and Sources of VOCs at Different Ozone Concentration Levels in Tianjin	WANG Wen-mei, GAO Jing-yun, XIAO Zhi-mei, <i>et al.</i> (3585)
Pollution Characteristics and Source Apportionment of Atmospheric VOCs During Ozone Pollution Period in the Main Urban Area of Chongqing	LI Ling, LI Zhen-liang, ZHANG Dan, <i>et al.</i> (3595)
Emission Characteristics and Atmospheric Chemical Reactivity of Volatile Organic Compounds(VOCs) in Automobile Repair Industry	CHEN Peng, ZHANG Yue, ZHANG Liang, <i>et al.</i> (3604)
Analysis of the Continuous Heavy Pollution Process in the Winter of 2016 in Beijing, Tianjin, and Hebei	MAO Ye, ZHANG Heng-de, ZHU Bin (3615)
Evaluation of Air Pollution Characteristics and Air Quality Improvement Effect in Beijing and Chengdu	DANG Ying, ZHANG Xiao-ling, RAO Xiao-qin, <i>et al.</i> (3622)
Chemical Components and Sources of PM _{2.5} and Their Evolutive Characteristics in Zhengzhou	ZHAO Xiao-nan, WANG Shen-bo, YANG Jie-ru, <i>et al.</i> (3633)
High-frequency Responses to the COVID-19 Shutdown of Heavy Metal Elements in PM _{2.5} in Shanghai	CHENG Kai, CHANG Yun-hua, KUANG Ya-qiong, <i>et al.</i> (3644)
Analysis of Ultraviolet Aerosol Index in Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area	DUAN Jia-le, JU Tian-zhen, HUANG Rui-nui, <i>et al.</i> (3652)
Vehicle Air Pollutant Emission Inventory and Characterization in Henan Province from 2016 to 2019	GAO Dan-dan, YIN Sha-sha, GU Xing-ke, <i>et al.</i> (3663)
Characterization and Exposure Risk Assessment of Non-phthalate Plasticizers in House Dust from Guangzhou	LIU Xiao-tu, PENG Chang-feng, CHEN Da, <i>et al.</i> (3676)
Distribution, Sources, and Risk Assessment of Polyfluoroalkyl Substances in Main Rivers and Soils of Tianjin	WU Qian-qian, WU Qiang, SONG Shuai, <i>et al.</i> (3682)
Differentiation of Hydrogen and Oxygen Isotopes in the Water Source Treatment Wetlands of Stream Networks	YANG Ting, WANG Yang, XU Jing-yi, <i>et al.</i> (3695)
Characterizing Sources and Composition of Chromophoric Dissolved Organic Matter in a Key Drinking Water Reservoir Lake Tianmu	ZHOU Lei, ZHOU Yong-qiang, ZHANG Yun-lin, <i>et al.</i> (3709)
Sources and Optical Dynamics of Chromophoric Dissolved Organic Matter in Different Types of Urban Water Bodies	YU Xiao-qin, CUI Yang, CHEN Hui-min, <i>et al.</i> (3719)
Temporal and Spatial Evolution Characteristics of DOM Spectra in Sediment Interstitial Water in Typical Zones of Baiyangdian Lake	ZHOU Shi-lei, CHEN Zhao-ying, ZHANG Tian-na, <i>et al.</i> (3730)
Sources and Spatial Variation of Dissolved Organic Matter in Summer Water of Inflow Rivers Along Chaohu Lake Watershed	NING Cheng-wu, BAO Yan, HUANG Tao, <i>et al.</i> (3743)
Spatio-temporal Distribution Characteristics and Driving Factors of Zooplankton in Hongze Lake	CHEN Ye, PENG Kai, ZHANG Qing-ji, <i>et al.</i> (3753)
Effects of Farming Practices on Soil Nitrogen and Phosphorus Concentrations and Its Loss in the Drawdown Area of the Tributary Embayment of the Three Gorges Reservoir	LUO Fang, LU Lun-hui, LI Zhe, <i>et al.</i> (3763)
Temporal and Spatial Evolution of Non-point Source Pollution Load of Total Nitrogen in Tuojiang River Basin	XIAO Yu-ting, YAO Jing, CHEN Shu, <i>et al.</i> (3773)
Microplastic-Induced Alterations to Antibiotic Resistance Genes in Seawater	ZHOU Shu-yi-dan, ZHU Yong-guan, HUANG Fu-yi (3785)
Enrichment of Antibiotic Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes by Sulfamethoxazole in the Biological Treatment System of Mariculture Wastewater	WANG Jin-peng, ZHAO Yang-guo, HU Yu-bo (3791)
Optimization of Tidal-Combined Flow Constructed Wetland System and Its Removal Effect on Antibiotic Resistance Genes	CHENG Yu-xiao, WU Dan, CHEN Quan-le, <i>et al.</i> (3799)
Temporal-spatial Distribution and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil of Xiangxi Bay in Three Gorges Reservoir Area	HUANG Ying-ping, JIN Lei, ZHU Can, <i>et al.</i> (3808)
Spatial Distribution Pattern and Influencing Factors of Industrial Pollution Emissions in Yangtze River Economic Belt	LI Yun-yi, LIU Li-ping, LIU Yuan-yuan (3820)
Aging Process and DOC Analysis of Four Different Types of Plastic Particles in Freshwater Systems	LI Wan-yi, LIU Zhi-lin, MIAO Ling-zhan, <i>et al.</i> (3829)
Promotion and Mechanisms of DOM on Copper Adsorption by Suspended Sediment Particles	DING Xiang, LI Zhong-wu, XU Wei-hua, <i>et al.</i> (3837)
Transformation Characteristics of Dissolved Organic Matter During UV/Chlorine Treatment of Municipal Secondary Effluent	WANG Xue-ning, ZHANG Bing-liang, PAN Bing-cai (3847)
Effects of Different Nitrite Generation on the Short-cut Nitrification Denitrifying Phosphorus Removal Granules System	WANG Wen-qi, LI Dong, GAO Xin, <i>et al.</i> (3858)
Ammonia Nitrogen Removal Performance with Parallel Operation of Conventional and Inverted A ² /O Sewage Treatment Processes in Winter	LI Jin-cheng, GUO Ya-ni, QI Rong, <i>et al.</i> (3866)
Diversity and PICRUS2-based Predicted Functional Analysis of Bacterial Communities During the Start-up of ANAMMOX	YAN Bing, FU Jia-qi, XIA Song, <i>et al.</i> (3875)
Microbial Community Structure of Activated Sludge and Its Response to Environmental Factors	MA Qie-qie, YUAN Ling-jiang, NIU Ze-dong, <i>et al.</i> (3886)
Distribution and Sources of Microplastics in Farmland Soil Along the Fenhe River	ZHU Yu-en, WEN Han-xuan, LI Tang-hui-xian, <i>et al.</i> (3894)
Source Apportionment of Soil PAHs in Lanzhou Based on GIS and APCS-MLR Model	GUAN Xian-xian, ZHOU Xiao-ping, LEI Chun-ni, <i>et al.</i> (3904)
Migration, Transformation Characteristics, and Ecological Risk Evaluation of Heavy Metal Fractions in Cultivated Soil Profiles in a Typical Carbonate-Covered Area	TANG Shi-qi, LIU Xiu-jin, YANG Ke, <i>et al.</i> (3913)
Effect of Elevated CO ₂ on N ₂ O Emissions from Different Rice Cultivars in Rice Fields	YU Hai-yang, HUANG Qiong, WANG Tian-yu, <i>et al.</i> (3924)
Effects of Coconut Chaff Biochar Amendment on Methane and Nitrous Oxide Emissions from Paddy Fields in Hot Areas	WANG Zi-jun, WANG Hong-hao, LI Jin-qiu, <i>et al.</i> (3931)
Effects of Biochar Addition Under Different Water Management Conditions on N ₂ O Emission From Paddy Soils in Northern Hainan	WANG Hong-hao, TAN Meng-yi, WANG Zi-jun, <i>et al.</i> (3943)
Ecological Effects of Species Diversity on Plant Growth and Physico-Chemical Properties in a Pb-Zn Mine Tailings	YANG Sheng-xiang, CAO Jian-bing, LI Feng-mei, <i>et al.</i> (3953)
Investigation of Dominant Plants and Analysis of Ecological Restoration Potential in Lailishan Tin Tailings	QIN Fu-rong, ZHANG Shi-ying, XIA Yun-sheng, <i>et al.</i> (3963)
Responses of Different Degradation Stages of Alpine Wetland on Soil Microbial Community in the Yellow River Source Zone	LIN Chun-ying, LI Xi-lai, ZHANG Yu-xin, <i>et al.</i> (3971)
Effects of Straw Returning with Chemical Fertilizer on Soil Enzyme Activities and Microbial Community Structure in Rice-Rape Rotation	JIN Yu-ting, LI Xian-fan, CAI Ying, <i>et al.</i> (3985)
Shifts in Rhizosphere Bacterial Community Structure, Co-occurrence Network, and Function of <i>Miscanthus</i> Following Cadmium Exposure	CHEN Zhao-jin, LIN Li-an, LI Ying-jun, <i>et al.</i> (3997)
Investigation of Soil Fungal Communities and Functionalities within Karst Paddy Fields	ZHOU Jun-bo, JIN Zhen-jiang, XIAO Xiao-yi, <i>et al.</i> (4005)
Adsorption Characteristics and Mechanism of Cd and Pb in Tiered Soil Profiles from a Zinc Smelting Site	LIU Ling-qing, XIAO Xi-yuan, GUO Zhao-hui, <i>et al.</i> (4015)
Influence of Different Soil Conditioner on the Transfer and Transformation of Cadmium and Phthalate Esters in Soil	WANG Can, ZHANG Yu-liang, HE Ming-jing, <i>et al.</i> (4024)
Immobilization Mechanism of Four Types of Amendments on Cu and Cd in Polluted Paddy Soil	DING Yuan, AO Shi-ying, CHEN Yi-hong, <i>et al.</i> (4037)
Foliar Application of L-Cysteine: Effects on the Concentration of Cd and Mineral Elements in Rice	ZHANG Ya-hui, WANG Chang-rong, LIU Yue-min, <i>et al.</i> (4045)
Effect of Cadmium Stress on Phytochelatins in <i>Amaranthus hypochondriacus</i> L. During Different Growth Periods	LIU Jia-xin, CHEN Wen-qing, YANG Li, <i>et al.</i> (4053)
Evolution of Material Metabolism in China's Pulp and Paper Industry	LIU Xin, YANG Tao, WU Hui-jun, <i>et al.</i> (4061)