

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

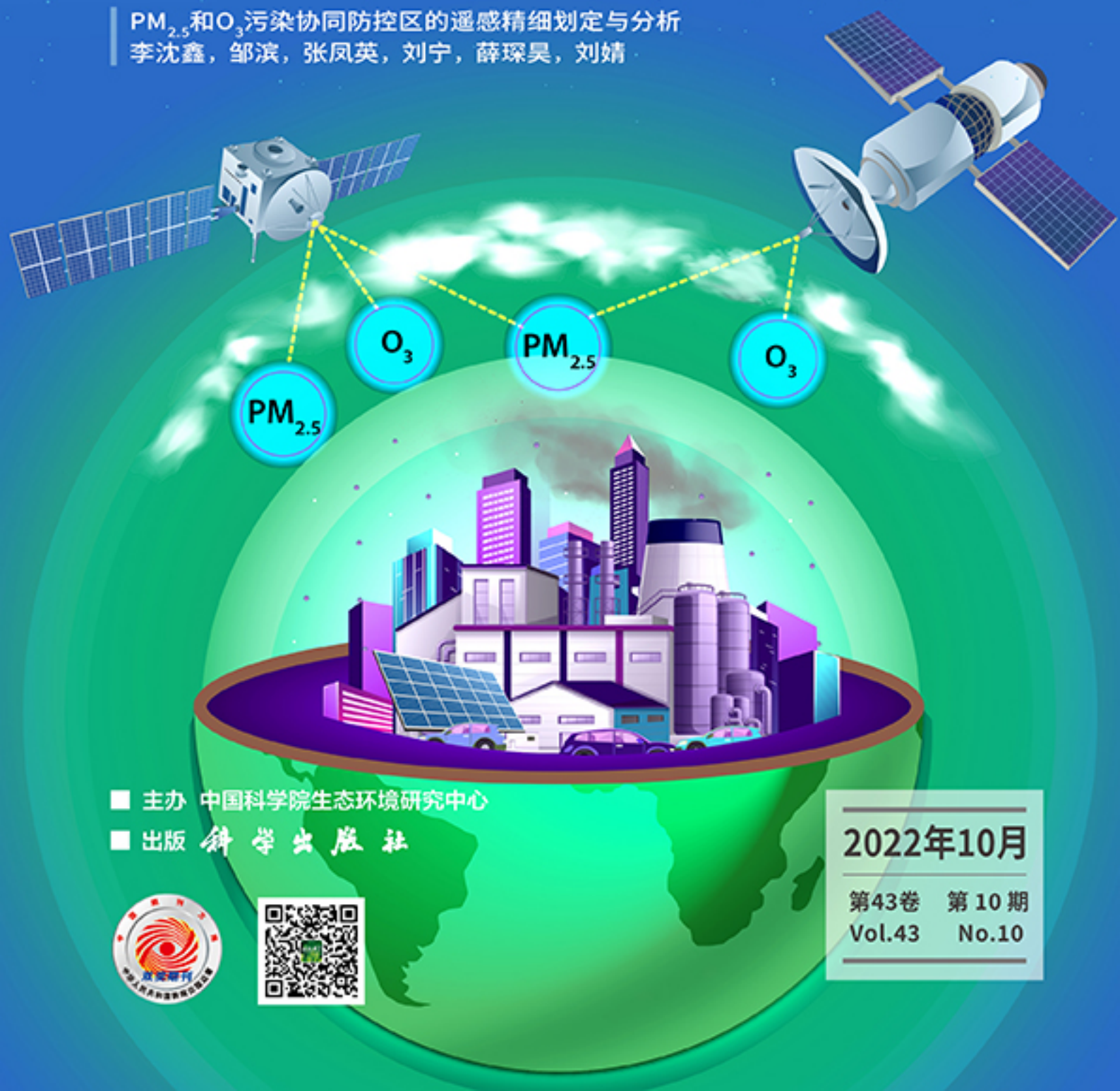
环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

PM_{2.5}和O₃污染协同防控区的遥感精细划定与分析
李沈鑫, 邹滨, 张凤英, 刘宁, 薛琛昊, 刘婧



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2022年10月

第43卷 第10期
Vol.43 No.10

目次

PM _{2.5} 和O ₃ 污染协同防控区的遥感精细划定与分析	李沈鑫, 邹滨, 张凤英, 刘宁, 薛琛昊, 刘婧 (4293)
广州市冬季一次典型臭氧污染过程分析	裴成磊, 谢雨彤, 陈希, 张涛, 邱晓暖, 王瑜, 王在华, 李梅 (4305)
佛山臭氧浓度预报方程的建立与应用	陈辰, 洪莹莹, 谭浩波, 司徒淑婷, 程银琳, 步巧利, 吴蒙, 潘巧英 (4316)
乌海市高分辨率大气污染源排放清单构建及其在臭氧污染成因探究中的应用	张瑞欣, 楚波, 尚春林, 曹喜萍, 李光耀, 朱玉凡, 刘晓, 夏佳琦, 陈强 (4327)
结合在线监测和自动识别系统分析东海沿岸船舶排放特征	邱浩, 刘丹彤, 吴杨周, 李思远, 丁朔, 胡康, 张家乐, 陈梅汀 (4338)
机动车制动磨损颗粒物及挥发性有机物的组分特征	门正宇, 刘笃优, 郭全有, 张静, 彭剑飞, 吴琳, 毛洪钧 (4348)
笼养鸡舍冬季挥发性有机物排放特征	曹甜甜, 郑云昊, 张羽, 王悦, 丛群欣, 王源昊, 董红敏 (4357)
上海市生活垃圾房气溶胶中可培养细菌污染状况及种群特征	卢冰洁, 张翔, 王川, 邱俊, 李丹 (4367)
浙江省2008~2018年人为源氨排放清单及分布特征	方利江, 杨一群, 叶观琼 (4380)
“双碳”目标下钢铁行业控煤降碳路线图	薛英岚, 张静, 刘宇, 陈瑜, 孙健, 蒋洪强, 张伟, 曹东 (4392)
空间关联网络结构特征的减排效应: 基于城市群视角	郑航, 叶阿忠 (4401)
中国对外直接投资的减污降碳效应及其实现机制	白梓函, 吕连宏, 赵明轩, 张楠, 罗宏 (4408)
近年全国地表水水质变化特征	嵇晓燕, 侯欢欢, 王姗姗, 杨凯 (4419)
湟水河流域地表水体微塑料分布、风险及影响因素	范梦苑, 黄懿梅, 张海鑫, 李好好, 黄倩 (4430)
汾河流域地表水化学同位素特征及其影响因素	赵春红, 申豪勇, 王志恒, 梁永平, 赵一, 谢浩, 唐春雷 (4440)
城镇化进程中珠江三角洲高锰地下水赋存特征及成因	吕晓立, 刘景涛, 韩占涛, 朱亮, 李海军 (4449)
喀什噶尔河下游平原区地下水咸化特征及成因分析	鲁涵, 曾妍妍, 周金龙, 孙英 (4459)
重庆市老龙洞地下河流域硝酸盐来源和生物地球化学过程的识别	王雨畅, 杨平恒, 张洁茹 (4470)
蓝藻水华过程中优势种群演替模式、效应及驱动因子分析	欧阳添, 赵璐, 纪璐璐, 杨宋琪, 郑保海, 杜雨欣, 李佳欣, 李玉鑫, 施军琼, 吴忠兴 (4480)
珠海市磨刀门水道输水水源水库群浮游植物群落特征及其环境驱动因子	张茉莉, 王思瑞, 昌盛, 王山军, 金德才, 樊月婷, 张坤峰, 谢琼, 付青 (4489)
营养物质对铜绿微囊藻生长和藻际细菌的影响	吕萍, 李慧莉, 徐勇, 郑效旭, 黄振华, 王聪, 徐圣君, 庄绪亮 (4502)
老化作用对微塑料吸附四环素的影响及其机制	王林, 王姝歆, 曾祥英, 何杨, 黄雯, 郑世界, 张建强 (4511)
沉积物和土壤中胶体对氯霉素吸附行为的影响	晏彩霞, 罗燕清, 聂明华, 周旋, 丁明军 (4522)
历史抗生素胁迫改变磺胺甲噁唑和甲氧苄啶对活性污泥的影响: ARGs及其潜在宿主	张忠兴, 樊晓燕, 李星, 高玉玺, 赵君如 (4536)
阳朔典型铅锌矿区流域土壤重金属空间分布特征及来源解析	陈盟, 潘泳兴, 黄奕翔, 王耀耀, 张睿东 (4545)
白洋淀及周边土壤重金属的分布特征及生态风险评估	郑飞, 郭欣, 汤名扬, 朱冬, 董四君, 康乐, 陈兵 (4556)
基于地理探测器的镇域尺度土壤重金属含量空间分异及其影响因素分析	龚仓, 王亮, 王顺祥, 张志翔, 董航, 刘玖芬, 王德伟, 严步青, 陈映 (4566)
燃煤电厂重金属排放与周边土壤中重金属污染特征及健康风险	车凯, 陈崇明, 郑庆宇, 范辉, 魏明磊, 罗蓬, 郁金星 (4578)
海南岛半干旱区农用地土壤重金属富集因素、健康风险及来源识别	杨剑洲, 龚晶晶, 王振亮, 高健翁, 杨建坤, 胡树起, 唐世新 (4590)
九龙江口红树林表层沉积物重金属赋存形态及污染评价	张华兰, 于瑞莲, 王瑞安, 胡恭任, 黄华斌, 吴雅清 (4601)
我国茶叶主产区有机肥重金属含量现状	伊晓云, 方丽, 杨向德, 马立峰, 刘美雅, 张群峰, 倪康, 石元值 (4613)
甘肃省农业土壤邻苯二甲酸酯累积特征及来源分析	陈玉玉, 张光全, 张杨, 李明凯, 郝佳欣, 熊有才, 李崇霄, 曹靖 (4622)
三峡库区澎溪河不同高程消落带土壤磷形态及磷酸酶活性分布特征	高艺伦, 方芳, 唐子超, 张蕊, 蒋艳雪, 郭劲松 (4630)
塔里木盆地北缘绿洲不同连作年限棉田土壤有机碳组分特征及其与理化因子的相关性	李昕竹, 贡璐, 唐军虎, 罗艳, 丁肇龙, 朱海强, 张涵, 李蕊希 (4639)
黄土丘陵区柠条人工林不同深度土壤呼吸速率对土壤湿度的响应	孙亚荣, 王亚娟, 赵敏, 薛文艳, 梁思琦, 刘乐, 刘超, 陈云明 (4648)
基于Meta-analysis的生物炭对土壤硝态氮淋失和磷酸盐固持影响	姜志翔, 崔爽, 张鑫, 郝敏, 孙德茂 (4658)
低分子有机酸强化植物修复重金属污染土壤的作用与机制	方治国, 谢俊婷, 杨青, 卢烨桢, 黄海, 朱芸娟, 尹思敏, 吴鑫涛, 都韶婷 (4669)
无机钝化剂对镉污染酸性水稻土的修复效果及其机制	张剑, 孔繁艺, 卢升高 (4679)
改良铅锌矿渣对栎树幼苗铅锌富集与耐性机制	谢天志, 陈永华, 苏荣葵, 刘慧, 姚海松 (4687)
CaO ₂ /FA复合材料富集磷效能及其回收物对土壤改良作用	岳薇, 李大鹏, 吴玲予, 王璐, 汤尧禹, 朱企, 黄勇 (4697)
早稻秸秆还田和减钾对晚稻产量和土壤肥力的影响	黄巧义, 黄建凤, 黄旭, 吴永沛, 李苹, 付弘婷, 唐拴虎, 刘一峰, 徐培智 (4706)
秸秆连续还田配施化肥对稻-油轮作土壤碳库及作物产量的影响	蔡影, 付思伟, 张博睿, 胡宏祥, 刘文雯, 俞金涛, 贾临东, 刘运峰 (4716)
化肥减量配施秸秆对双季稻田固氮微生物群落的影响	陈凯鹏, 韦菊娟, 陈丹, 王聪, 沈健林, 李勇, 吴金水 (4725)
化肥减量与有机物料添加对华北潮土微生物氮循环功能基因丰度和氮转化遗传潜力的影响	李胜君, 胡荷, 李刚, 王蕊, 赵建宁, 张贵龙, 修伟明 (4735)
长期覆膜条件下农田土壤微生物群落的响应特征	胡志娥, 肖谋良, 丁济娜, 李剑虹, 陈剑平, 葛体达, 鲁顺保 (4745)
长期秸秆还田对潮土真菌群落、酶活性和小麦产量的影响	马垒, 李燕, 魏建林, 李子双, 周晓琳, 郑福丽, 吴小宾, 王利, 刘兆辉, 谭德水 (4755)
土壤改良剂对再生水滴灌根际土壤菌群多样性及病原菌和抗生素抗性基因丰度的影响	崔丙健, 崔二革, 刘春成, 胡超, 樊向阳, 李中阳, 高峰 (4765)
氮素对苜蓿植物修复垃圾堆场镉-多环芳烃复合污染土壤及土壤细菌群落结构的影响	李怡佳, 马俊伟, 李玉倩, 肖琛, 沈心怡, 牛云, 陈家军 (4779)
抗生素降解剂对猪粪堆肥腐熟和细菌群落演替的影响	李琳琳, 张昕, 马军伟, 孙万春, 成琪璐, 林辉 (4789)
《环境科学》征订启事 (4337) 《环境科学》征稿简则 (4407) 信息 (4521, 4705, 4800)	

历史抗生素胁迫改变磺胺甲噁唑和甲氧苄啶对活性污泥的影响: ARGs 及其潜在宿主

张忠兴, 樊晓燕*, 李星, 高玉玺, 赵君如

(北京工业大学城市建设学部, 北京 100124)

摘要: 抗生素共暴露对污水处理厂抗生素抗性基因 (ARGs) 及微生物群落聚集过程有着重要影响. 然而, 历史抗生素接触胁迫差异 (遗留效应) 是否能决定微生物和 ARGs 对抗生素复合污染响应尚不清楚. 通过选择高浓度 ($30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 磺胺甲噁唑 (SMX) 和甲氧苄啶 (TMP) 作为历史接触胁迫条件, 探究 SMX 和 TMP 复合污染对 ARGs、细菌群落及其交互作用的短期影响. 基于高通量荧光定量 PCR, 共检测出 13 种 ARGs, 它们的绝对丰度介于 $2.21 \sim 5.42 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ (对数值, 以 DNA 计, 下同), 其中 *sul2*、*ermB*、*mefA* 和 *tetM-01* 是样品中最主要的亚型, 绝对丰度在 $2.95 \sim 5.40 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 之间; SMX 和 TMP 复合污染会引起 ARGs 和可移动基因元件 (MGEs) 的富集, 但其对各亚型的影响不同, 且 SMX 的历史遗留效应高于 TMP; 不同接触史的复合污染下, ARGs 间的共现与互斥模式均存在; MGEs (尤其是 *intI-1*) 与磺胺类 (*sul1*、*sul2*)、四环素类 [*tet(32)*] 和大环内酯-林可酰胺-链霉菌素类抗性基因 (*ermB*) 均呈显著正相关性; 基于微生物全尺度分类发现各类群微生物群落结构对复合污染的响应不同, 且条件丰富菌属 (CAT) 得到了显著富集; 陶厄氏菌属 (*Thauera*)、假黄单胞菌属 (*Pseudoxanthomonas*) 和副球菌属 (*Paracoccus*) 是优势的抗性菌属; 网络分析共发现 31 个 ARGs 的潜在宿主, 以条件稀有菌属 (CRT) 为主, 尤其是 *Candidatus_Alysiosphaera* 和纺锤状菌属 (*Fusibacter*) 与多种 ARGs 呈现正相关, 是多种 ARGs 的潜在公共细菌宿主; 部分稀有菌属 [RT, 变异杆菌属 (*Variibacter*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*) 和管道杆菌属 (*Cloacibacterium*) 等] 是转座子 *IS613* 的潜在宿主, 在 ARGs 的增殖传播中发挥重要作用. 综上, 研究揭示了污水处理系统中抗生素历史胁迫对 ARGs 赋存特征和及其宿主细胞的遗留效应, 可为削减抗生素复合污染引起的 ARGs 污染提供新思路与理论依据.

关键词: 抗生素; 复合污染; 遗留效应; 全尺度分类; 抗生素抗性基因 (ARGs); 网络分析

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2022)10-4536-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.202201136

Historical Antibiotic Stress Changed the Effects of Sulfamethoxazole and Trimethoprim on Activated Sludge: ARGs and Potential Hosts

ZHANG Zhong-xing, FAN Xiao-yan*, LI Xing, GAO Yu-xi, ZHAO Jun-ru

(Faculty of Architecture, Civil and Transportation Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

Abstract: The co-exposure of antibiotics has important effects on antibiotic resistance genes (ARGs) and microbial community aggregation in wastewater treatment plants (WWTPs). However, it is unclear whether differences in historical antibiotic exposure stress can determine responses of microbes and ARGs to combined antibiotics. By selecting a high concentration ($30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) of sulfamethoxazole (SMX) and trimethoprim (TMP) as historical exposure stress conditions, the effects of SMX and TMP-combined pollution on ARGs, bacterial communities, and their interactions were explored in short-term experiments. Based on high-throughput quantitative PCR, a total of 13 ARGs were detected, and the absolute abundance was $2.21 \sim 5.42 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ (logarithm, DNA, the same below). Among them, *sul2*, *ermB*, *mefA*, and *tetM-01* were the main subtypes in the samples, and the absolute abundance was between 2.95 and $5.40 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$. The combined contamination of SMX and TMP could cause the enrichment of ARGs and mobile genetic elements (MGEs); however, their effects on each subtype were different, and the historical legacy effect of SMX was higher than that of TMP. Under the different exposure histories, the co-occurrence and co-exclusion patterns existed between ARGs. Moreover, MGEs (especially *intI-1*) were significantly correlated with sulfonamides (*sul1* and *sul2*), tetracyclines [*tet(32)*], and macrolide-lincosamide-streptogramin (MLSB) resistance genes (*ermB*). Based on the full-scale classification of microorganisms, it was found that the microbial community structure of various groups responded differently to combined pollution, and the conditionally abundant taxa (CAT) were obviously enriched. *Thauera*, *Pseudoxanthomonas*, and *Paracoccus* were the dominant resistant bacterial genera. Furthermore, a total of 31 potential hosts of ARGs were identified with network analysis, which were dominated with conditionally rare taxa (CRT). Particularly, *Candidatus_Alysiosphaera* and *Fusibacter* were positively correlated with most of the ARGs, being the common protential hosts. Importantly, some rare genera (RT, *Variibacter*, *Aeromonas*, *Cloacibacterium*, etc.) were potential hosts of transposon *IS613*, which played an important role in the proliferation and spread of ARGs. In conclusion, this study revealed the legacy effects of historical antibiotic stress on ARGs and their hosts, which could provide new ideas and theoretical basis for reducing ARGs pollution in WWTPs.

Key words: antibiotic; compound pollution; legacy effects; full-scale classification; antibiotic resistance genes (ARGs); network analysis

抗生素被广泛用于人类疾病的治疗以及畜牧业和水产养殖业^[1], 其排放到水体中对生态系统和人类健康均构成了极大的威胁. 抗生素引起的抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 污染已成为亟需解决的公共卫生安全问题^[2]. 抗生素在生物体内

的代谢率较低, 大部分经人类及动物排泄, 进入污水

收稿日期: 2022-01-15; 修订日期: 2022-02-21

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (51808013)

作者简介: 张忠兴 (1998 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为抗生素污染及其微生态效应, E-mail: Zhangzx@emails.bjtu.edu.cn

* 通信作者, E-mail: fanxy@bjtu.edu.cn

处理厂 (wastewater treatment plants, WWTPs), 导致 WWTPs 中耐药基因迅速增加. 目前, 磺胺类, 大环内酯类和甲氧苄啶类在 WWTPs 进出水中的检出频率最高^[2]. 多种抗生素在 WWTPs 中往往并存, 其复合污染已成为水环境领域的研究热点. 其中, 磺胺甲噁唑 (sulfamethoxazole, SMX) 和甲氧苄啶 (trimethoprim, TMP) 联用是一种高效治疗药物, 在药理上具有协同靶向和双重阻断细菌叶酸代谢的作用, SMX 和 TMP 复合污染对活性污泥系统中 ARGs 传播的影响尚不清楚.

抗生素可以杀死或者抑制敏感细菌的生长, 使少数耐药菌 (antibiotic resistant bacteria, ARB) 获得生存空间而大量繁殖, 是 ARGs 传播的直接压力源^[3]. 目前, 已在 WWTPs 中发现众多不同类型 ARGs 的存在, 如四环素类 (*tetA* 和 *tetC*), 磺胺类 (*sul1* 和 *sul2*) 以及甲氧苄啶类 (*drfA1* 和 *drfA13*) 等均被检出^[4]. 此外, 不同 ARG 亚型及可移动基因元件 (movable genetic elements, MGEs) 与活性污泥细菌群落之间存在显著的非随机共现关系, 也会影响 ARGs 的传播^[5-7]. 不同微生物群落的组装会受到特定环境或外界胁迫条件的选择, 当过去的环境条件或冲击事件产生的影响持续存在时, 历史条件会影响当下微生物群落的构建, 即历史遗留效应^[8]. 但是, 不同抗生素接触史下抗生素复合污染对 ARGs 的传播增殖及活性污泥系统微生物群落演替尚不可知. 需要指出的是, 目前研究人员对活性污泥微生物群落及 ARGs 宿主的研究聚焦于高相对丰度的优势菌属^[9,10], 而忽略了大量存在的低相对丰度菌属或稀有菌属. 近期, 研究人员提出了微生物菌群的全尺度分类法^[9], 将微生物菌群分为 6 类: 丰富菌属 (abundant taxa, AT)、中丰度菌属 (moderate taxa, MT)、稀有菌属 (rare taxa, RT)、条件丰富菌属 (conditionally abundant taxa, CAT)、条件丰富或稀有菌属 (conditionally rare or abundant taxa, CRAT) 和条件稀有菌属 (conditionally rare taxa, CRT). 但是, 不同抗生素接触史下各类型细菌的响应及其对 ARGs 传播的贡献需要进行深入研究.

选择 SMX 和 TMP 为研究对象, 分别以 SMX 和 TMP 单独存在对活性污泥系统的胁迫作为不同抗生素接触史, 来探讨 SMX 和 TMP 复合污染胁迫对活性污泥系统 ARGs 赋存特征和细菌群落 (六类菌) 的影响, 解析 ARGs 的共现模式, 并确定 ARGs 的潜在宿主, 揭示不同类型细菌在 ARGs 传播中的重要性. 本研究为探究抗生素复合污染提供了新的视角, 以期控制 ARGs 的传播提供一定的理论基础.

1 材料与方法

1.1 活性污泥批次试验设计

本研究分两个阶段. 第 I 阶段是构建不同抗生素暴露的历史条件, 使用单一 SMX 或 TMP 进行胁迫, 运行 8 个周期. 由于高浓度 (high concentration, H) 可放大抗生素历史暴露过程对活性污泥微生物的遗留效应, 先前的文献表明, 通过间歇法测定 SMX 对微生物的最大半抑制浓度为 $32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[11], 胁迫浓度控制在临界值附近, 以免对活性污泥造成不可逆影响, 因此抗生素浓度选择 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 第 II 阶段为探究不同抗生素接触史下 SMX 和 TMP 的复合污染, 其中以 SMX 和 TMP 为历史胁迫条件的复合污染分别称为 SAT 和 TAS 模式. 阶段 II 中投加 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SMX 和 TMP 复合抗生素 (SMX: TMP = 1:1), 在相同操作条件下运行 8 个周期. 磺胺甲噁唑 (SMX > 98%) 和甲氧苄啶 (TMP > 99%) 分别购自安耐吉 (萨恩化学, 中国) 和普西唐 (谨明, 中国).

以 500 mL 的锥形瓶为反应器, 工作体积为 250 mL, 包括 125 mL 活性污泥和 125 mL 人工配水, 污泥浓度控制在 $5000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 活性污泥取自北京市某城市污水处理厂曝气池中. 人工配水组成如下: 葡萄糖 $0.560 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、氯化铵 $0.268 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、碳酸氢钠 $1.68 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、磷酸二氢钾 $0.100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、氯化钠 $1.18 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、氯化钾 $0.160 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和微量元素 $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$. 两种暴露模式下, 均设置 3 个平行, 反应装置分别命名为 SAT_H (SAT_H1、SAT_H2、SAT_H3) 和 TAS_H (TAS_H1、TAS_H2、TAS_H3), 以氨氮完全去除或氨氮去除达到平衡作为循环结束的标志 (每周期 3 ~ 21 h). 溶解氧控制在 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上, 维持 pH 在 7.5 ~ 8.5 和温度在 $(25 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$.

1.2 基因组 DNA 提取和测序

在第 16 周期末, 从反应器中收集活性污泥样品, 含种泥 (seed, S) 在内, 共得到 7 个样品: S、3 个 SAT_H 和 3 个 TAS_H 胁迫样品. 对不同模式下的 3 个平行样品进行混合, 经冻干处理后, 称取 0.05 ~ 0.10 g 干污泥, 利用 E. Z. N. A.® Soil DNA 试剂盒 (Omega Bio-tek, USA) 提取基因组 DNA, 并用 NanoDrop-2000 (Thermo Fisher Scientific, USA) 测定 DNA 浓度. 使用 Illumina MiSeq PE300 测序仪 (Illumina, USA) 进行细菌 16S rRNA 基因 (V3 ~ V4 区) 测序 (北京奥维森科技有限公司).

1.3 微生物序列分析与全尺度分类

利用 Trimmomatic 和 Pear 对 Fastq 数据进行质控, 利用 Flash、Pear 根据 overlap 关系对两端序列进

行拼接处理,得到 Fasta 序列;用 uchime 方法比去除嵌合体.将有效序列按照相似度 >97% 划分到相同的操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs).通过 RDP 数据库对 OTUs 进行物种注释.采取全尺度分类方法对细菌进行分类^[9],该分类方法共分为 6 个类群.根据细菌菌属在所属模式下活性污泥样品中的相对丰度,将其划分为 6 个类群,包括:菌属在所有样品中的相对丰度均在 1% 以上定义为 AT,菌属在部分样品中相对丰度在 1% 以上,但均不低于 0.1% 定义为 CAT;菌属在所有样品中的相对丰度在 0.1%~1% 之间定义为 MT;菌属在所有样品中相对丰度均低于 1%,在部分样品中低于 0.1% 定义为 CRT;菌属在所有样品中相对丰度均低于 0.1% 定义为 RT;菌属在样品的相对丰度从低于 0.1% 到高于 1% 都存在定义为 CRAT.

1.4 高通量荧光定量 PCR

采用高通量荧光定量 PCR (HT-qPCR) 对 SAT 和 TAS 模式下的 35 个 ARGs 和 16S rRNA 进行定量检测,HT-qPCR 在 Wafergen SmartChip 实时 PCR 系统 (Wafergen, Fremont, CA) 中完成.选择的 ARGs 涵盖 9 类抗生素:氨基糖苷类 (*aac*、*aph*、*strA*、*strB*、*adeA*)、 β -内酰胺类 (*ampC-01*、*blaCTX-M-01*、*blaSHV-01*、*blaTEM*、*fox5*)、氯霉素 [*cmx(A)*]、大环内酯-林可酰胺-链霉菌素 (macrolide-lincosamide-streptogramin, MLSB, *ereA*、*ermA*、*ermB*、*mefA*、*mphA-01*)、多药类 (*floR*、*mexA*)、磺胺类 (*sul1*、*sul2*)、四环素 [*tet(32)*、*tetA-01*、*tetB-01*、*tetG-01*、*tetM-01*、*tetO-01*]、万古霉素 (*vanA*)、甲氧苄啉 (*dfrA12*) 和其他类 (*catA1*、*qnrA*); 4 种转座子: *IS613*、*tnpA-01*、*tnpA-07* 和 *Tp614*; I 类整合子: *int1-1*. 用于 HT-qPCR 分析的引物与前人的研究结

果保持一致^[10]. qPCR 溶解曲线分析由 SmartChip qPCR 软件 (V 2.7.0.1) 自动生成,多峰/扩增效率超过范围 (1.8~2.2) 或 R^2 低于 0.99 的被定义为不合格.循环临界值 (cycle threshold, CT) 31 为检出阈,仅重复扩增 2 次以上的 ARGs 为阳性.根据先前研究中的公式计算基因拷贝数^[10,12].

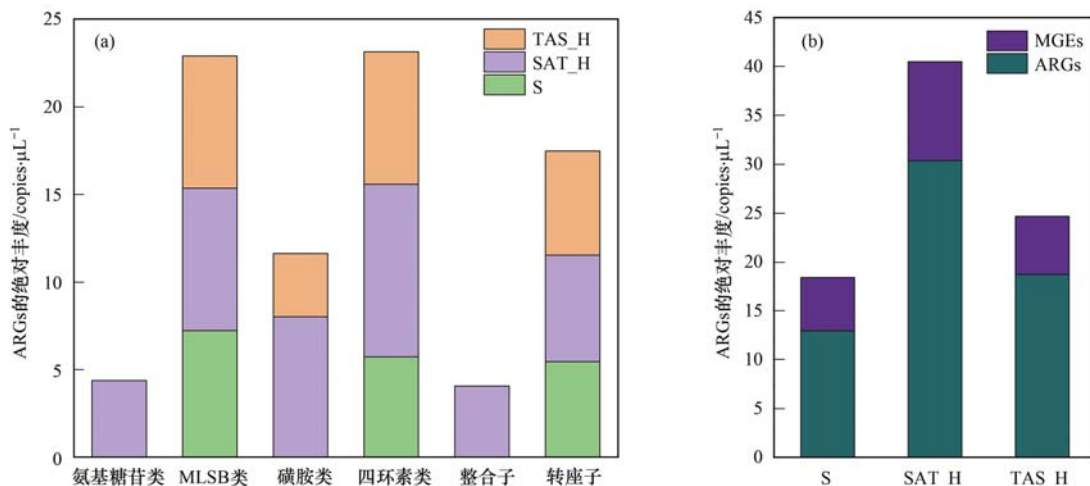
1.5 统计分析

采用 OriginPro (2022) 对 ARGs 数据进行处理,并按照 AT、CAT、MT、CRT、RT 和 CRAT 的定义,对 6 种类群在 2 种模式下的相对丰度进行了可视化.使用 Python (3.7.0) 计算了活性污泥样品中 ARGs 之间的 Spearman 等级相关系数 (SRCCs),进一步使用 R (V4.0.5) 建立热图分析.计算了 2 种模式下微生物菌属 (6 类) 与 ARGs 之间的 SRCCs,构建它们之间的相关矩阵.如果 $P \leq 0.05$ 和 $r \geq 0.6$ 或 $r \leq -0.6$,则 ARGs 与微生物菌属之间的相关性被认为是统计学上显著的^[2],使用 Gephi (V 0.92) 来展示微生物菌属 (6 类) 与 ARGs 之间的网络关系,以探究其交互作用.

2 结果与讨论

2.1 SAT 和 TAS 模式对 ARGs 丰度的影响

如图 1 所示,样品中共检测出 4 类抗生素抗性基因 (氨基糖苷类、MLSB 类、磺胺类和四环素类).其中,四环素 ($23.13 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 为对数值,以 DNA 计,下同) 和 MLSB ($22.90 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 的 ARGs 在 3 个样品中的绝对丰度最高 [图 1(a)],说明四环素和 MLSB 的抗性基因在环境中更容易发生,这两类 ARGs 在其他环境中也广泛存在^[13].同时,与种泥相比,SAT 和 TAS 模式均导致了这两类 ARGs 绝对丰度的增加,尤其是在 SAT_H 样品中.此



(a) 不同类型 ARGs 和 MGEs 丰度; (b) ARGs 和 MGEs 总丰度

图 1 不同活性污泥样品中 ARGs 和 MGEs 的绝对丰度变化

Fig. 1 Variations in abundance of ARGs and MGEs in different activated sludge samples

外,在 SAT 模式下导致了磺胺类抗性基因 ($9.85 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 和 氨基糖苷类 ARGs ($4.37 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 的出现与增殖. 上述结果表明: 两种模式均导致 ARGs 绝对丰度的增加, 但高浓度 SMX 历史遗留效应对 ARGs 的影响更为明显. 进一步的, MGEs 主要以转座子 ($17.47 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 为主, 且 SAT 和 TAS 模式下的绝对丰度略有增加, 而整合子在 SAT 模式中绝对丰度最高 ($4.05 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$), 表明转座子的富集基本不受 SAT 和 TAS 模式的影响, 整合子是 ARGs 传播的主要因素.

图 1(b) 展示了不同样品中 ARGs 和 MGEs 总绝对丰度的差异. S 中检测出的 ARGs 总绝对丰度为 $12.94 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 而 SAT 和 TAS 模式下得到明显的富集, ARGs 总绝对丰度分别为 $30.36 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 和 $18.71 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$. ARGs 的富集程度在 SAT 模式胁迫下显著高于 TAS 模式, 先前的研究也表明磺胺类抗生素胁迫对 ARGs 含量的增加高于甲氧苄啶^[14,15]. 同样, MGEs 在 SAT 模式胁迫下绝对丰度最高为 $10.12 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 高于 TAS 模式 ($5.94 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$), 但均高于 S ($5.02 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$). 结果表明即使 ARGs 和 MGEs 受到相同的复合抗生素胁迫, 不同历史抗生素接触胁迫会影响其响应, 且进一步表明 SMX 的历史遗留效应高

于 TMP.

2.2 SAT 和 TAS 模式对 ARGs 亚型赋存特征的影响

不同样品中 ARGs 的赋存特征及比值变化如图 2 所示. 35 个 ARGs 中共检测到 13 个 ARGs, 其含量在 $2.21 \sim 5.42 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 之间, *sul2*、*ermB*、*mefA* 和 *tetM-01* 是样品中最主要的亚型, 含量在 $3.1 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 以上 [图 2(a)]. 与 S [*ermB*、*mefA*、*tet(32)* 和 *tetM-01*] 相比, SAT_H 中新出现了 4 种 ARGs [*sul1*、*sul2*、*strB* 和 *tetO-01*, 图 2(a)], 其中 *sul1* 和 *sul2* 属于磺胺类. TAS_H 中发现了 2 个新 ARGs (*dfrA12* 和 *tetO-01*), 其中 *dfrA12* 属于甲氧苄啶类. 上述结果表明了 SMX/TMP 的胁迫会促进同类型 ARGs 的富集, 并且也会伴随非对应 ARGs 的出现, 这可能是 SMX/TMP 胁迫使得附带耐药性发生变化, 先前的研究表明水平转移也可能伴随附带效应^[16].

如图 2(b)~2(d) 所示, SAT_H 模式下大多数抗性基因含量均得到增加 [*sul2* (5.4 倍)], 而 TAS_H 模式下仅 *dfrA12* 增加最多 (3.6 倍), 且 SAT_H/TAS_H 条件下, *sul1*、*sul2* 和 *strB* 的比值均远高于 1. 结果说明了 SMX 和 TMP 不同的历史胁迫使 ARGs 对 SMX 和 TMP 复合胁迫的响应存在差异, 并且磺胺类和甲氧苄啶类受历史胁迫条件影响最为显

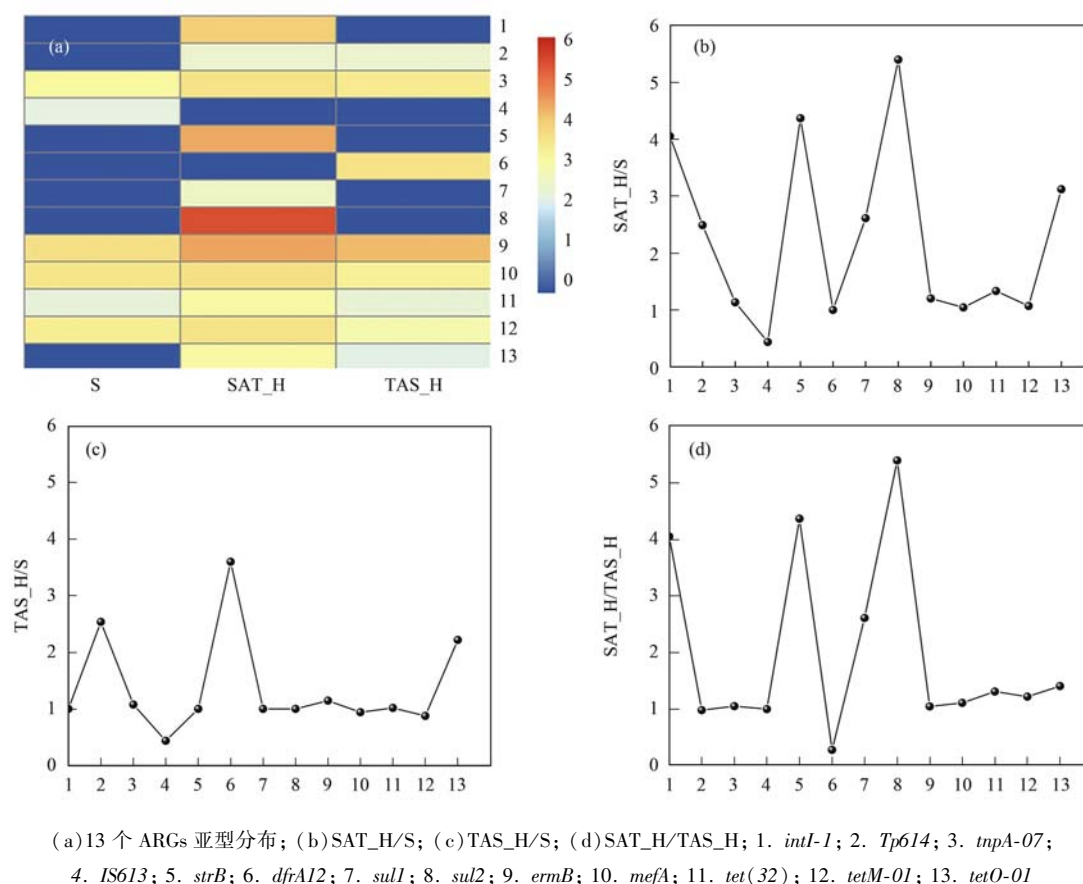


图 2 不同活性污泥中 ARGs 的赋存特征及比值变化

Fig. 2 Occurrence characteristics and ratios of ARGs in different activated sludge

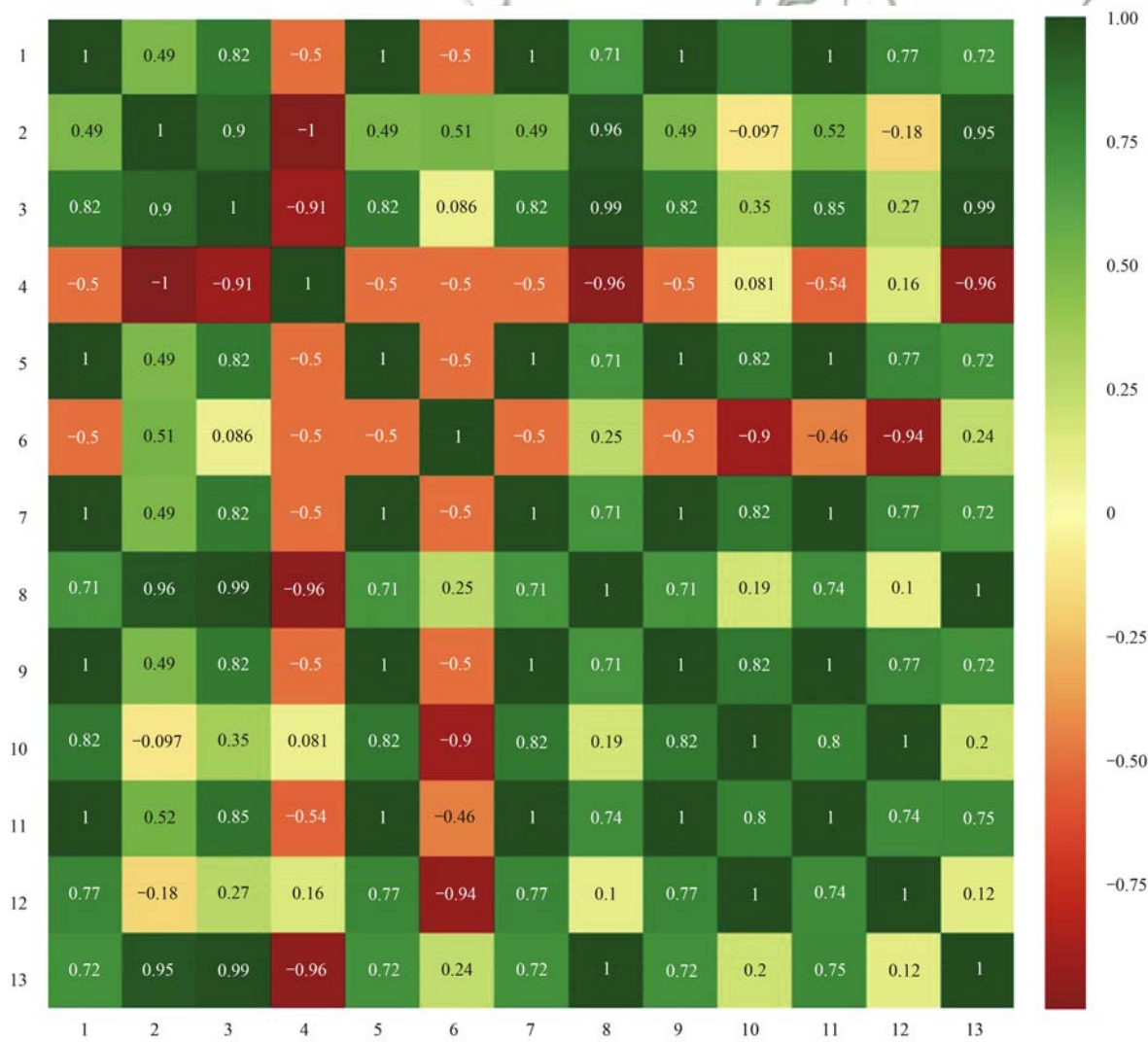
著. 研究表明磺胺类抗性基因绝对丰度与磺胺的添加浓度呈显著关系^[17,18]. *sul1*、*sul2* 和 *ermB* 等耐药基因的高发生率和高富集可能是因为他们与 MGEs 中的 I 类整合子存在非随机共现关系, 这些整合子往往会嵌入到 MGEs 中, 如质粒和转座子, 使它们成为水平转移 ARGs 的主要参与者^[15,19]. 另外, *mefA* 和 *tetM-01* 在 SAT_H/S (0.04 倍和 0.06 倍) 和 TAS_H/S (降低 20% 和 18%) 中均没有明显增加, 甚至发生下降, 表明了 SMX/TMP 的胁迫对 *mefA* 和 *tetM-01* 的丰度贡献较小.

此外, 不同抗生素胁迫对 MGEs 的赋存特征也有影响 (图 2). S 中仅存在 *tnpA-07* 和 *IS613*, 而在 SAT 模式和 TAS 模式胁迫下, *IS613* 的绝对丰度明显下降. 在 SAT 模式下, *intI-1* 和 *Tp614* 的丰度显著上升, 而 TAS 模式下却没有检测到 *intI-1* 的存在, 且 *Tp614* 与 SAT 的含量基本一致 (SAT_H/TAS_H =

0.98). 两种模式下 *tnpA-07* 相较于 S 有小幅增加 (1.08 ~ 1.13 倍). 上述结果表明 SMX/TMP 的胁迫主要促进了 *Tp614* 和 *intI-1* 的富集, 而历史抗生素胁迫的不同仅对 *intI-1* 的存在有较明显的影响. 综上, 不同历史抗生素胁迫会影响 ARGs 和 MRGs 对后续复合抗生素胁迫的响应.

2.3 SAT 和 TAS 模式对 ARGs 和 MGEs 共现关系的影响

SAT 和 TAS 模式下不同 ARG 亚型之间的相关性分析如图 3 所示. 一方面, 同类型 ARGs 亚型之间存在显著的共线关系, 如 *sul1* 与 *sul2* ($r = 1$), *tet(32)* 与 *tetM-01* 和 *tetO-01* (r 为 0.74 和 0.75), 但磺胺类 ARGs 之间的相关性高于其他 ARGs, 表明磺胺类抗生素的胁迫强化了同类型 ARGs 之间的非随机共现关系. 另一方面, 不同类型的 ARGs 亚型也表现出明显的非随机共现关联. 如氨基糖苷类 ARGs



Spearman's, $P < 0.01$; 1. *intI-1*; 2. *Tp614*; 3. *tnpA-07*; 4. *IS613*; 5. *strB*; 6. *dfrA12*; 7. *sul1*; 8. *sul2*; 9. *ermB*; 10. *mefA*; 11. *tet(32)*; 12. *tetM-01*; 13. *tetO-01*

图 3 不同样品中 ARGs 之间的相关性热图

Fig. 3 Heatmap of ARGs correlations in different activated sludge

(*strB*) 与四环素类 [*tet* (32) 和 *tetM-01*]、磺胺类 (*sul1* 和 *sul2*) 和 MLSB 类 (*mefA*) 均有明显的非随机共现关系 (r 均大于 0.71), MLSB 类耐药基因 (*mefA*) 与 *strB* ($r=0.82$)、*sul1* ($r=0.82$)、*sul2* ($r=0.82$) 和 *tetM-01* ($r=1$) 等。此外, 不同耐药机制的 ARGs 亚型之间也表现出了显著的非随机共现关系, 如通过抗生素外排产生耐药性的 *mefA* 以及 *tetM-01* (核糖体保护) 和 *strB* (抗生素失活) 等。以上结果表明, 同类型或不同类型的 ARGs 亚型之间存在非随机的共现关系, 这与前人的研究结果一致^[6,20]。

值得注意的是, *intI-1* 与不同类型的 ARGs [*sul1* ($r=1$)、*tet* (32) ($r=1$) 和 *strB* ($r=1$) 等] 均具有高度的非随机共现关系。 *sul1* 基因一般与整合子携带其他抗性基因共存, 而 *sul2* 基因通常位于小的非接合质粒或大的可传递多抗质粒上^[21], 这正好说明了 *sul1* 和 *sul2* 与 MGEs 有很强正相关, 表明了整合子可能与 *sul1*、*sul2* 和 *tet* (32) 等耐药基因进行了重新结合并携带。前人的研究也表明 *intI-1* 与磺胺类抗性基因具有正相关性, 且容易促进其迁移和转化^[22]。转座子 *Tp614* 和 *tnpA-07* 则与 *tetO-01* ($r=0.95$, $P<0.01$) 和 *ermB* ($r=0.96$, $P<0.01$) 存在显著非随机相关性。有研究也表明 *Tp614* 和 *tnpA-07* 与多种 ARGs 有很强关联^[23], 并且 *tnpA-07* 与 *tetM* (32) ($r=0.85$, $P<0.01$)、*sul1* ($r=0.82$, $P<0.01$) 和 *sul2* ($r=0.82$, $P<0.01$) 也存在显著正相关性。上述结果可能解释了 *tetO-01* 在 SAT_H 和 TAS_H 胁迫下产生的原因, 可能由于在 *tnpA-07* 和 *Tp614* 上携带 *tetO-01* 基因, 进而发生了对该基因的间接选择^[23]。结果进一步证实 SAT 和 TAS 模式下 *intI-1* 在 ARGs 传播中的重要性, 且不同转座子所携带的 ARGs 也存在较大差异。

2.4 SAT 和 TAS 模式下微生物群落组成特征

2.4.1 SAT 和 TAS 模式对属水平微生物组成的影响

基于微生物全尺度分类方法, 共筛选得到 5 类细菌菌群 (CART、CAT、CRT、MT 和 RT)。如图 4(a) 所示, 相比于 S, 经 SAT 和 TAS 模式处理后, CART 在整个细菌菌群中占主导地位, 占比高达 63.23% 和 56.89%, 其次是 CAT (20.80%, 17.15%), 表明了 SMX/TMP 的历史胁迫进程对 CART 和 CAT 起到了富集作用, 甚至更容易对抗生素产生抗性。相反, CRT、MT 和 RT 却在 SAT 和 TAS 模式胁迫下发生下降, 甚至趋近于消失。而有趣的是, 3 种类群被 SAT 模式抑制的程度高于 TAS 模式, 表明 CRT、MT 和 RT 对 TAS 模式更为敏感。上述结果也表明了不同抗生素种类历史胁迫, 会对当下细菌菌群的组成产生明显

影响, 甚至起到主导作用。

如图 4(b) 所示, CAT 所含菌属在 SMX 和 TMP 历史胁迫下, 对 SMX 和 TMP 复合污染的响应也存在一定差异。例如, 陶厄氏菌属 (*Thauera*) 在 SAT_H 模式下相对丰度增加到 10.84%, 而在 TAS_H 中仅为 3.87%, 说明 *Thauera* 在 SMX 历史胁迫下明显得到了富集, 但铁基芽孢杆菌属 (*Ferruginibacter*) 却被 SMX/TMP 明显抑制。假黄单胞菌属 (*Pseudoxanthomonas*) 和副球菌属 (*Paracoccus*) 在 SAT 模式下的相对丰度为 2.22% 和 1.15%, 且在 TAS (2.02% 和 2.4%) 模式下也得到了富集, 这两个菌属均具有在好氧条件下, 将 NH_4^+-N 转化为 N_2 的功能, 是被广泛报道的好氧反硝化菌属^[2], 同时也表明这些菌属能够在一定浓度的抗生素复合污染下稳定生存^[24]。假丝酵母菌属 (*Candidatus_Microthrix*) 属于丝状菌, 可能导致丝状菌膨胀和恶化污泥沉降^[25], 但其在 SAT (0.155%) 和 TAS (0.175%) 模式胁迫下的相对丰度低于 S (1.003%), 这也表明经过复合污染的胁迫可能会促进了污泥沉降性能的改善。而在 MT 中 [图 4(c)], 脱氯单胞菌属 (*Dechloromonas*) 和 *Bellilinea* 均在 TAS 模式下表现出相对丰度增加, 而其他菌属有所下降。同样在 CRT 和 RT 中 [图 4(d) 和 4(e)], 大部分菌属的相对丰度变化也存在一定差异, 例如木洞菌属 (*Woodsholea*) 和 *Reyranelia* 在 S 中的相对丰度为 0.507% 和 0.672%, 但在 SAT_H 和 TAS_H 中含量下降到 0.1% 以下, 而 RT 中的浮游球衣菌属 (*Sphaerotilus*), *Piscinibacter*, 沉积物杆状菌属 (*Sediminibacterium*) 等在 S 中存在, 但经 SMX/TMP 胁迫后, 均都消失。值得注意的是, CART 是受抗生素胁迫变化最大的菌群。利德贝特氏菌属 (*Leadbetterella*)、短波单胞杆菌属 (*Brevundimonas*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 在 S 中相对丰度仅在 0.001% ~ 0.018% 之间 [图 4(f)], 3 种菌属在受 SMX/TMP 胁迫后, 相对丰度均得到明显提高, 其中 *Leadbetterella* 在 TAS_H 中丰度达到 19.33%, 远高于 SAT_H (11.12%), 而 *Brevundimonas* 和 *Pseudomonas* 则被以 SMX 为历史胁迫条件明显富集, 丰度达到 16.62% 和 13.86%, 其中 *Brevundimonas* 和 *Pseudomonas* 是被广泛报道的反硝化菌属^[26], 同样还有氢噬菌属 (*Hydrogenophaga*) 和金黄杆菌属 (*Chryseobacterium*) 被发现。结果表明了抗生素的历史遗留效应对 RT 和 CRT 的影响较小, 而主要集中在相对丰度较高的类群 (CART 和 CAT)。

2.4.2 SAT 和 TAS 模式对潜在 ARB 的影响

在本研究中, 抗生素胁迫后相对丰度增加的细菌

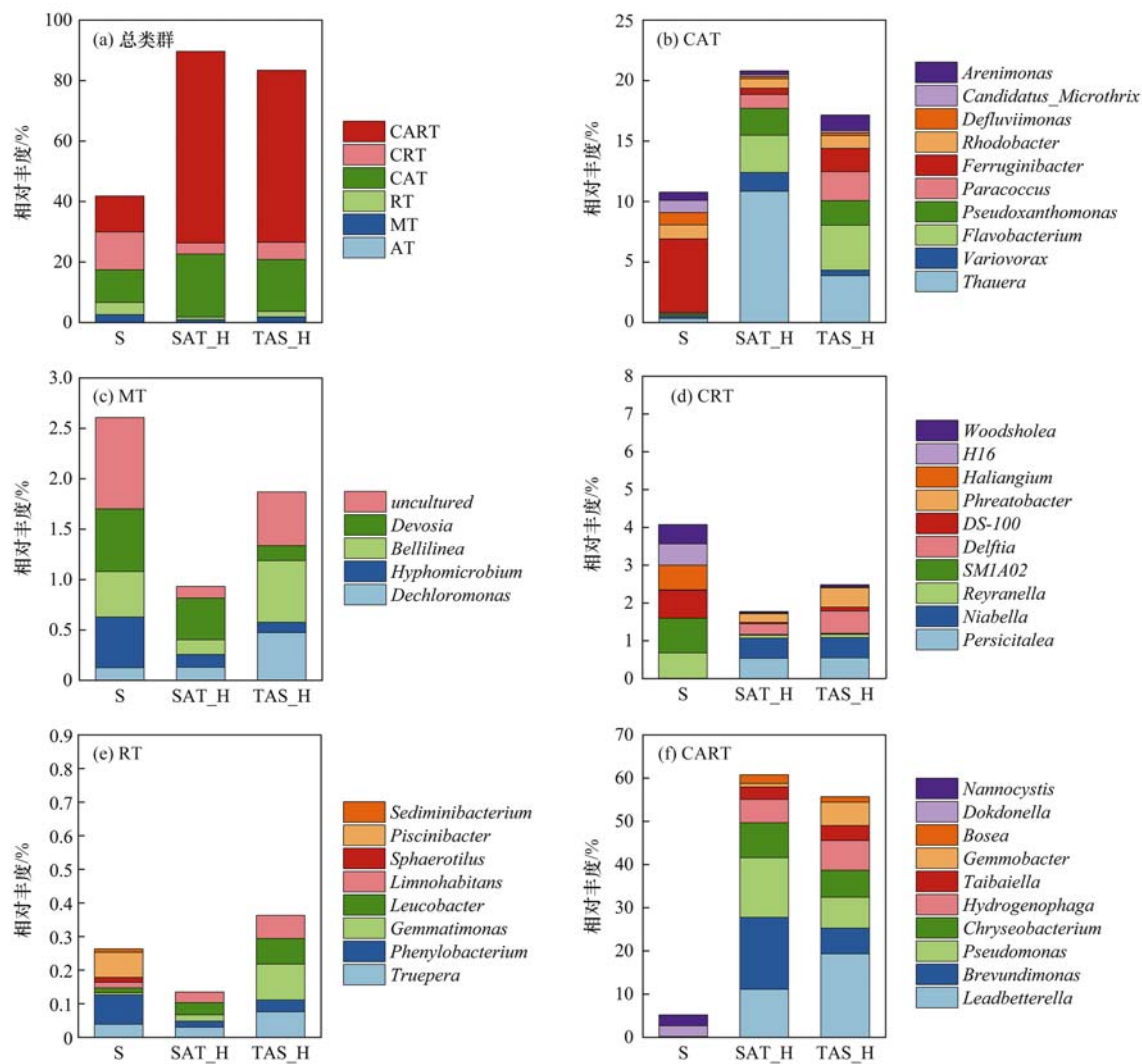


图 4 SAT 和 TAS 模式下微生物类群相对丰度的变化

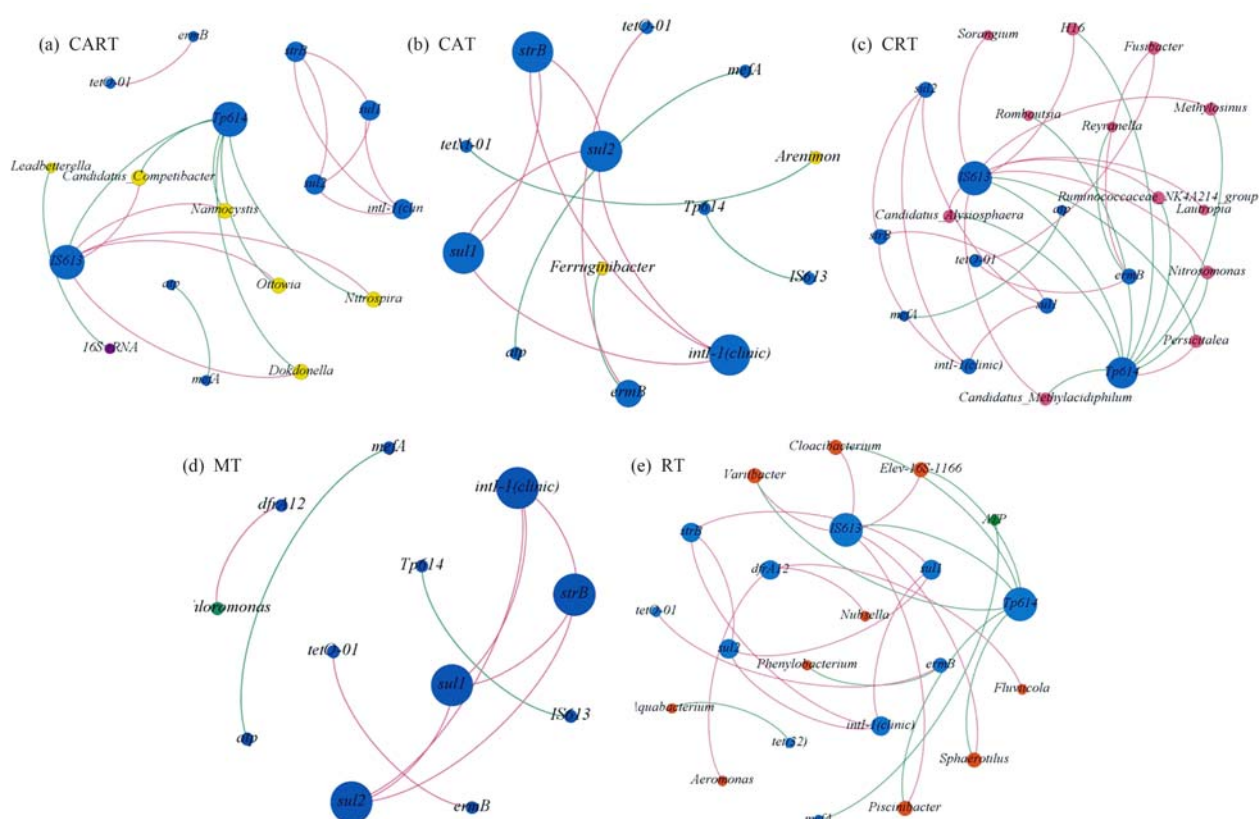
Fig. 4 Changes in relative abundance of microbial groups under SAT and TAS modes

被认为是潜在 ARB^[27]. 在属水平,最值得注意的是,潜在 ARB 主要存在于 CAT [*Thauera* 和黄杆菌属 (*Flavobacterium*)] 和 CART (*Leadbetterella*、*Brevundimonas*、*Pseudomonas*、*Chryseobacterium* 和 *Hydrogenophaga*) 中. 在两种不同的抗生素历史胁迫进程下,对 ARB 的富集程度也造成了差异. 例如,在 SAT 模式下, *Thauera* (10.84%)、*Brevundimonas* (16.62%) 和 *Pseudomonas* (13.86%) 含量很高,而 TAS_H 模式下, CART 中的 *Leadbetterella* (19.33%) 最高. *Thauera* 和 *Pseudomonas* 等被发现不止对一种抗生素存在耐药性^[28],因为它可以适应抗生素的压力和具有抗生素降解的能力^[29]. 一些在 S 中相对丰度极低的菌属[例如寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas*), 0.006%]在与 2 种模式的抗生素接触后,相对丰度分别增加到 1.30% 和 0.46%,也可能是 ARB 在抗生素耐药性起着重要作用,需要引起重视.

2.5 SAT 和 TAS 模式对 ARGs 潜在宿主的影响

通过网络分析探究了不同类群细菌与 ARGs 间

的交互作用(图 5). SAT/TAS 模式下,细菌菌落可能是耐药基因产生和转移的驱动因子. 在本研究中,共发现 31 个细菌菌属与检测到的 13 个 ARGs 呈现明显的正相关,是其潜在宿主. 但在 5 种细菌类群中的宿主数量和关联程度存在一定差异. 在 CRT 中,包含最多潜在宿主菌属(12 种), *Candidatus_Alysiosphaera* 与 *sul2*、*strB* 和 *IS613* 均表现出显著共现关系,纺锤状菌属 (*Fusibacter*) 与 *ermB* 和 *tetO-01* 显著相关,而其余宿主细胞只与一个 ARGs 亚型存在正显著关系. 上述结果表明 *Candidatus_Alysiosphaera* 和 *Fusibacter* 是 SAT/TAS 模式下的主要潜在宿主. 而 CAT 中没有发现潜在宿主,微生物与 ARGs 呈现负相关. 在 MT 中仅有脱氯单胞菌属 (*Dechloromonas*) 与 *dfrA12* 表现出共现关系,是其潜在宿主. 但 RT 的 10 个细菌菌属[如湖水水杆状菌属 (*Aquabacterium*)、*Fluviicola* 和水库杆菌属 (*Piscinibacter*) 等]与不同 ARGs (*strB*、*mefA*、*ermB* 和 *sul2* 等)存在显著共现关系. 上述结果表明:相较于



红色连接线代表正相关,绿色连接线代表负相关,Spearman's, $P < 0.01$

图5 ARGs 与不同类型微生物的共现关系

Fig. 5 Co-occurrence relationships between ARGs and microorganisms

丰富菌属 (CAT 和 MT), 稀有菌属 (CRT 和 RT) 在 ARGs 的富集与传播中具有重要的作用. 先前的研究结果已证实活性污泥中的稀有菌属 (RT) 在抗生素和重金属胁迫效应中处于重要的生态位^[2]

需要注意的是, 转座子 *IS613* 与 CART [硝化螺旋菌 (*Nitrospira*)、*Dokdonella*]、CRT [亚硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas*)、甲基弯曲菌属 (*Methylosinus*)]、RT [变异杆菌属 (*Variibacter*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*)、管道杆菌属 (*Cloacibacterium*)] 均存在一定的共现关系. 其中, *Nitrospira* 和 *Nitrosomonas* 属于硝化细菌^[29], 这也说明参与氮代谢的功能菌属也可能是 ARGs 的潜在宿主, 先前的研究也证明了这一点^[30]. 而 *Tp614* 的关联度为 16, 却仅与 CRT (*Persicitalea*) 存在一条正相关性. 上述结果表明: 相比于 *Tp614*, *IS613* 可能具有广泛共现性. 总的来说, SMX 和 TMP 的胁迫下, 宿主主要集中在 RT 和 CRT. 因此, 未来研究中需要对活性污泥系统中的稀有菌属给予更多的关注并开展系统深入的研究.

3 结论

(1) 共检测出 13 种 ARGs, 它们的绝对丰度介

于 $2.21 \sim 5.42 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 其中, *sul2*、*ermB*、*mefA* 和 *tetM-01* 是样品中最主要的亚型, 绝对丰度在 $2.95 \sim 5.40 \text{ copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 之间; SMX 和 TMP 复合污染的两种模式均会引起 ARGs 和 MGEs 绝对丰度的增加, 但其对各亚型的影响存在差异, 且 SMX 的历史遗留效应高于 TMP.

(2) SAT 和 TAS 模式下 ARGs 间的共现与互斥模式均存在; MGEs 与氨基糖苷类、磺胺类、四环素类和 MLSB 类抗性基因均呈显著正相关性, 尤其是 *intI-1*、*sul1*、*sul2* 和 *drfA12* 受历史胁迫条件影响最为显著.

(3) CART 在整个细菌菌群中占主导地位, SMX/TMP 的历史胁迫进程对 CART 和 CAT 起到了富集作用; 抗生素的历史遗留效应对丰富类群 (CART 和 CAT) 影响要明显于稀有类群 (RT 和 CRT); *Thauera*、*Pseudoxanthomonas* 和 *Paracoccus* 是优势的抗性菌属.

(4) 共发现 31 个潜在宿主, CRT 中最多, 其中 *Candidatus_Alysiosphaera* 和 *Fusibacter* 是多种 ARGs 的潜在细菌宿主; 部分稀有菌属 (RT 和 CRT) 是转座子 *IS613* 的潜在宿主, 在 ARGs 的传播中具有重要作用.

参考文献:

- [1] Yang Y Y, Song W J, Lin H, *et al.* Antibiotics and antibiotic resistance genes in global lakes: A review and meta-analysis[J]. *Environment International*, 2018, **116**: 60-73.
- [2] 高玉玺, 李星, 赵君如, 等. 阿奇霉素和铜对活性污泥细菌群落和 ARGs 的胁迫影响及后效应[J]. *环境科学*, 2021, **42** (12): 5921-5929.
Gao Y X, Li X, Zhao J R, *et al.* Stress and post effects of azithromycin and copper on archaeal community and ARGs in activated sludge[J]. *Environmental Science*, 2021, **42** (12): 5921-5929.
- [3] Andersson D I, Hughes D. A Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, **12** (7): 465-478.
- [4] 颜亚玮, 於驰晟, 李菲菲, 等. 某市污水厂抗生素和抗生素抗性基因的分布特征[J]. *环境科学*, 2021, **42** (1): 315-322.
Xie Y W, Yu C S, Li F F, *et al.* Distribution characteristics of antibiotics and antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants[J]. *Environmental Science*, 2021, **42** (1): 315-322.
- [5] Liu Z B, Klümper U, Liu Y, *et al.* Metagenomic and metatranscriptomic analyses reveal activity and hosts of antibiotic resistance genes in activated sludge [J]. *Environment International*, 2019, **129**: 208-220.
- [6] Fan X Y, Gao J F, Pan K L, *et al.* Functional genera, potential pathogens and predicted antibiotic resistance genes in 16 full-scale wastewater treatment plants treating different types of wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2018, **268**: 97-106.
- [7] Quintela-Baluja M, Abouelnaga M, Romalde J, *et al.* Spatial ecology of a wastewater network defines the antibiotic resistance genes in downstream receiving waters [J]. *Water Research*, 2019, **162**: 347-357.
- [8] Vass M, Langenheder S. The legacy of the past: effects of historical processes on microbial metacommunities[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2017, **79** (1): 13-19.
- [9] Dai T J, Zhang Y, Tang Y S, *et al.* Identifying the key taxonomic categories that characterize microbial community diversity using full-scale classification: a case study of microbial communities in the sediments of Hangzhou Bay [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, **92** (10), doi: 10.1093/femsec/fiw150.
- [10] 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.
- [11] Fan N S, Fu J J, Huang D Q, *et al.* Resistance genes and extracellular proteins relieve antibiotic stress on the anammox process[J]. *Water Research*, 2021, **202**, doi: 10.1016/j.watres.2021.117453.
- [12] Chen Q L, An X L, Li H Q, *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.
- [13] 黄福义, 周曙屹, 王佳妮, 等. 不同作物农田土壤抗生素抗性基因多样性[J]. *环境科学*, 2021, **42** (6): 2975-2980.
Huang F Y, Zhou S Y D, Wang J N, *et al.* Profiling of antibiotic resistance genes in different croplands [J]. *Environmental Science*, 2021, **42** (6): 2975-2980.
- [14] Zhang Y Y, Geng J J, Ma H J, *et al.* Characterization of microbial community and antibiotic resistance genes in activated sludge under tetracycline and sulfamethoxazole selection pressure [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, **571**: 479-486.
- [15] Zhao R X, Feng J, Liu J, *et al.* Deciphering of microbial community and antibiotic resistance genes in activated sludge reactors under high selective pressure of different antibiotics[J]. *Water Research*, 2019, **151**: 388-402.
- [16] Lázár V, Nagy I, Spohn R, *et al.* Genome-wide analysis captures the determinants of the antibiotic cross-resistance interaction network[J]. *Nature Communications*, 2014, **5**, doi: 10.1038/ncomms5352.
- [17] He X L, Xu Y B, Chen J, *et al.* Evolution of corresponding resistance genes in the water of fish tanks with multiple stresses of antibiotics and heavy metals[J]. *Water Research*, 2017, **124**: 39-48.
- [18] Guo X P, Pang W H, Dou C L, *et al.* Sulfamethoxazole and COD increase abundance of sulfonamide resistance genes and change bacterial community structures within sequencing batch reactors[J]. *Chemosphere*, 2017, **175**: 21-27.
- [19] 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.
- [20] Ju F, Li B, Ma L P, *et al.* Antibiotic resistance genes and human bacterial pathogens: co-occurrence, removal, and enrichment in municipal sewage sludge digesters [J]. *Water Research*, 2016, **91**: 1-10.
- [21] Wu D L, Zhang M, He L X, *et al.* Contamination profile of antibiotic resistance genes in ground water in comparison with surface water[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **715**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.136975.
- [22] 姚鹏城, 陈嘉瑜, 张永明, 等. 废水处理系统中抗生素抗性基因分布特征[J]. *环境科学*, 2019, **40** (11): 5024-5031.
Yao P C, Chen J Y, Zhang Y M, *et al.* Distribution characteristics of antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants[J]. *Environmental Science*, 2019, **40** (11): 5024-5031.
- [23] Yu K F, Li P, He Y L, *et al.* Unveiling dynamics of size-dependent antibiotic resistome associated with microbial communities in full-scale wastewater treatment plants[J]. *Water Research*, 2020, **187**, doi: 10.1016/j.watres.2020.116450.
- [24] Song Z W, Pan Y J, Zhang K. Effect of seed sludge on characteristics and microbial community of aerobic granular sludge[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2010, **22** (9): 1312-1318.
- [25] Nierychlo M, Mellroy S J, Kucheryavskiy S, *et al.* *Candidatus Amarolinea* and *Candidatus Microthrix* are mainly responsible for filamentous bulking in Danish municipal wastewater treatment plants[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, **11**, doi: 10.3389/fmicb.2020.01214.
- [26] Zhang L L, Yue Q Y, Yang K L, *et al.* Analysis of extracellular polymeric substances (EPS) and ciprofloxacin-degrading microbial community in the combined Fe-C micro-electrolysis-UBAF process for the elimination of high-level ciprofloxacin[J]. *Chemosphere*, 2018, **193**: 645-654.
- [27] Sommer M O A, Munck C, Toft-Kehler R V, *et al.* Prediction of antibiotic resistance: time for a new preclinical paradigm? [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, **15** (11): 689-696.
- [28] 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.
- [29] Verhagen F J M, Laanbroek H J. Competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in dual energy-limited chemostats [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, **57** (11): 3255-3263.
- [30] Miran W, Jang J, Nawaz M, *et al.* Biodegradation of the sulfonamide antibiotic sulfamethoxazole by sulfamethoxazole acclimatized cultures in microbial fuel cells[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **627**: 1058-1065.

CONTENTS

Regionalization and Analysis of PM _{2.5} and O ₃ Synergetic Prevention and Control Areas Based on Remote Sensing Data	LI Shen-xin, ZOU Bin, ZHANG Feng-ying, <i>et al.</i>	(4293)
Analysis of a Typical Ozone Pollution Process in Guangzhou in Winter	PEI Cheng-lei, XIE Yu-tong, CHEN Xi, <i>et al.</i>	(4305)
Establishment and Application of Foshan Ozone Concentration Forecast Equation	CHEN Chen, HONG Ying-ying, TAN Hao-bo, <i>et al.</i>	(4316)
Establishment of High-Resolution Emissions Inventory in Wuhai and Its Application in Exploring the Causes of Ozone Pollution	ZHANG Rui-xin, CHU Bo, SHANG Chun-lin, <i>et al.</i>	(4327)
Investigating the Pollutants of Marine Shipping Emissions Along the East China Sea by Combining in-situ Measurements and Automatic Identification System	QIU Hao, LIU Dan-long, WU Yang-zhou, <i>et al.</i>	(4338)
Chemical Component of Particulate Matters and VOCs Characteristics During Vehicle Brake Processes	MEN Zheng-yu, LIU Du-you, GUO Quan-you, <i>et al.</i>	(4348)
Characterization of VOCs Emissions from Caged Broiler House in Winter	CAO Tian-tian, ZHENG Yun-hao, ZHANG Yu, <i>et al.</i>	(4357)
Concentrations and Community Structures of Culturable Bacteria in Aerosols of Household Garbage Stations in Shanghai	LU Bing-jie, ZHANG Xiang, WANG Chuan, <i>et al.</i>	(4367)
Inventory and Distribution Characteristics of Anthropogenic Ammonia Emissions in Zhejiang Province from 2008 to 2018	FANG Li-jiang, YANG Yi-qun, YE Guan-qiong	(4380)
Roadmap of Coal Control and Carbon Reduction in the Steel Industry Under the Carbon Peak and Neutralization Target	XUE Ying-lan, ZHANG Jing, LIU Yu, <i>et al.</i>	(4392)
Carbon Emission Reduction Effect of Spatial Correlation Network Structure Characteristics: From the Perspective of Urban Agglomeration	ZHENG Hang, YE A-zhong	(4401)
Pollution and Carbon Reduction Effect of OFDI in China and Its Mechanism	BAI Zi-han, LÜ Lian-hong, ZHAO Ming-xuan, <i>et al.</i>	(4408)
Variation Characteristics of Surface Water Quality in China in Recent Years	JI Xiao-yan, HOU Huan-huan, WANG Shan-shan, <i>et al.</i>	(4419)
Distribution, Risk, and Influencing Factors of Microplastics in Surface Water of Huangshui River Basin	FAN Meng-yuan, HUANG Yi-mei, ZHANG Hai-xin, <i>et al.</i>	(4430)
Hydrochemical and Isotopic Characteristics in the Surface Water of the Fenhe River Basin and Influence Factors	ZHAO Chun-hong, SHEN Hao-yong, WANG Zhi-heng, <i>et al.</i>	(4440)
Characteristics and Causes of High-manganese Groundwater in Pearl River Delta During Urbanization	LÜ Xiao-li, LIU Jing-tao, HAN Zhan-tao, <i>et al.</i>	(4449)
Characteristics and Causes of Groundwater Salinization in the Plain Area of the Lower Kashgar River	LU Han, ZENG Yan-yan, ZHOU Jin-long, <i>et al.</i>	(4459)
Sources and Biogeochemical Processes of Nitrate in the Laolongdong Karst Underground River Basin, Chongqing	WANG Yu-yang, YANG Ping-heng, ZHANG Jie-ru	(4470)
Succession Pattern and Consequences of the Dominant Species During Cyanobacterial Bloom and Its Influencing Factors	OUYANG Tian, ZHAO Lu, JI Lu-lu, <i>et al.</i>	(4480)
Structural Characteristics of Phytoplankton Communities and Its Relationship with Environmental Factors in a Group of Drinking Water Reservoirs by Water Transmission from Modaomen Waterway in Zhuhai	ZHANG Mo-li, WANG En-rui, CHANG Sheng, <i>et al.</i>	(4489)
Effects of Nutrients on the Growth of <i>Microcystis aeruginosa</i> and Bacteria in the Phycosphere	LÜ Ping, LI Hui-li, XU Yong, <i>et al.</i>	(4502)
Effect of Aging on Adsorption of Tetracycline by Microplastics and the Mechanisms	WANG Lin, WANG Shu-xin, ZENG Xiang-ying, <i>et al.</i>	(4511)
Effect of Colloids in Sediment and Soil on Their Sorption Behavior of Chloramphenicol	YAN Cai-xia, LUO Yan-qing, NIE Ming-hua, <i>et al.</i>	(4522)
Historical Antibiotic Stress Changed the Effects of Sulfamethoxazole and Trimethoprim on Activated Sludge: ARGs and Potential Hosts	ZHANG Zhong-xing, FAN Xiao-yan, LI Xing, <i>et al.</i>	(4536)
Spatial Distribution and Sources of Heavy Metals in Soil of a Typical Lead-Zinc Mining Area, Yangshuo	CHEN Meng, PAN Yong-xing, HUANG Yi-xiang, <i>et al.</i>	(4545)
Distribution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Soil Heavy Metals in Baiyangdian Lake	ZHENG Fei, GUO Xin, TANG Ming-yang, <i>et al.</i>	(4556)
Spatial Differentiation and Influencing Factor Analysis of Soil Heavy Metal Content at Town Level Based on Geographic Detector	GONG Cang, WANG Liang, WANG Shun-xiang, <i>et al.</i>	(4566)
Heavy Metal Emissions from Coal-fired Power Plants and Heavy Metal Pollution Characteristics and Health Risks in Surrounding Soils	CHE Kai, CHEN Chong-ming, ZHENG Qing-yu, <i>et al.</i>	(4578)
Enrichment Factors, Health Risk, and Source Identification of Heavy Metals in Agricultural Soils in Semi-arid Region of Hainan Island	YANG Jian-zhou, GONG Jing-jing, WANG Zhen-liang, <i>et al.</i>	(4590)
Speciation and Pollution Assessment of Heavy Metals in Mangrove Surface Sediments in Jiulong River Estuary	ZHANG Hua-lan, YU Rui-lian, WAN Rui-an, <i>et al.</i>	(4601)
Status of Heavy Metal in Organic Fertilizers in Main Tea Growing Regions of China	YI Xiao-yun, FANG Li, YANG Xiang-de, <i>et al.</i>	(4613)
Accumulation Characteristics and Sources of PAEs in Agricultural Soils in Gansu Province	CHEN Yu-yu, ZHANG Guang-quan, ZHANG Yang, <i>et al.</i>	(4622)
Distribution Characteristics of Soil Phosphorus Forms and Phosphatase Activity at Different Altitudes in the Soil of Water-Level-Fluctuation Zone in Pengxi River, Three Gorges Reservoir	GAO Yi-lun, FANG Fang, TANG Zi-chao, <i>et al.</i>	(4630)
Characteristics of Soil Organic Carbon Components and Their Correlation with Other Soil Physical and Chemical Factors in Cotton Fields with Different Continuous Cropping Years in the Oasis on the Northern Edge of Tarim Basin	LI Xin-zhu, GONG Lu, TANG Jun-hu, <i>et al.</i>	(4639)
Response of Soil Respiration Rates to Soil Temperature and Moisture at Different Soil Depths of <i>Caragana korshinskii</i> Plantation in the Loess-Hilly Region	SUN Ya-rong, WANG Ya-juan, ZHAO Min, <i>et al.</i>	(4648)
Influence of Biochar Application on Soil Nitrate Leaching and Phosphate Retention: A Synthetic Meta-analysis	JIANG Zhi-xiang, CUI Shuang, ZHANG Xin, <i>et al.</i>	(4658)
Role and Mechanism of Low Molecular-Weight-Organic Acids in Enhanced Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soil	FANG Zhi-guo, XIE Jun-ting, YANG Qing, <i>et al.</i>	(4669)
Remediation Effect and Mechanism of Inorganic Passivators on Cadmium Contaminated Acidic Paddy Soil	ZHANG Jian, KONG Fan-yi, LU Sheng-gao	(4679)
Mechanism of Lead-zinc Enrichment and Resistance of Spent Mushroom Compost to Lead-Zinc Slag in <i>Koelerutera paniculata</i>	XIE Tian-zhi, CHEN Yong-hua, SU Rong-kui, <i>et al.</i>	(4687)
Phosphorus Enrichment Efficiency of CaO ₂ @FA Composites and the Effect of Its Recovered Material on Soil Improvement	YUE Wei, LI Da-peng, WU Ling-yu, <i>et al.</i>	(4697)
Effects of Early Rice Straw Returning with Reducing Potassium Fertilizer on Late Rice Yield and Soil Fertility	HUANG Qiao-yi, HUANG Jian-feng, HUANG Xu, <i>et al.</i>	(4706)
Effects of Continuous Straw Returning with Chemical Fertilizer on the Carbon Pool and Crop Yield of Rice-Rape Rotation Soils	CAI Ying, FU Si-wei, ZHANG Bo-rui, <i>et al.</i>	(4716)
Effects of Chemical Fertilizer Reduction Combined with Straw Application on Diazotrophic Communities in a Double Rice Cropping System	CHEN Kai-peng, WEI Ju-xian, CHEN Dan, <i>et al.</i>	(4725)
Impacts of Co-application of Chemical Fertilizer Reduction and Organic Material Amendment on Fluvio-aquic Soil Microbial N-cycling Functional Gene Abundances and N-converting Genetic Potentials in Northern China	LI Sheng-jun, HU He, LI Gang, <i>et al.</i>	(4735)
Response Characteristics of Soil Microbial Community Under Long-term Film Mulching	HU Zhi-e, XIAO Mou-liang, DING Ji-na, <i>et al.</i>	(4745)
Effects of Long-term Straw Returning on Fungal Community, Enzyme Activity and Wheat Yield in Fluvio-aquic Soil	MA Lei, LI Yan, WEI Jian-lin, <i>et al.</i>	(4755)
Effects of Soil Amendments on the Bacterial Diversity and Abundances of Pathogens and Antibiotic Resistance Genes in Rhizosphere Soil Under Drip Irrigation with Reclaimed Water	CUI Bing-jian, CUI Er-ping, LIU Chun-cheng, <i>et al.</i>	(4765)
Effect of Nitrogen on the Phytoremediation of Cd-PAHs Co-contaminated Dumpsite Soil by Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.) and on the Soil Bacterial Community Structure	LI Yi-jia, MA Jun-wei, LI Yu-qian, <i>et al.</i>	(4779)
Effect of Antibiotic-Degrading Bacteria on Maturity and Bacterial Community Succession During Pig Manure Composting	LI Wei-lin, ZHANG Xin, MA Jun-wei, <i>et al.</i>	(4789)