

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第11期

Vol.37 No.11

2016

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

承德市大气污染源排放清单及典型行业对 PM_{2.5} 的影响 陈国磊,周颖,程水源,杨孝文,王晓琦(4069)

浙江省木制品行业挥发性有机物排放特征及排放系数 姚轶,王浙明,何志桥,徐志荣,顾震宇(4080)

山西省人为源 VOCs 排放清单及其对臭氧生成贡献 闫雨龙,彭林(4086)

某化工区典型高污染过程 VOCs 污染特征及来源解析 高松,崔虎雄,伏晴艳,高爽,田新愿,方方,衣学文(4094)

加油 VOCs 排放因子测试方法研究与应用 黄玉虎,常耀卿,任碧琪,秦建平,胡玮,刘明宇(4103)

北京市生活垃圾填埋场氨排放特征研究 崔彤,李金香,杨妍研,程刚(4110)

西安市人为源大气氨排放清单及特征 苏航,闫东杰,黄学敏,宋文斌,王惠琴,宋雪娟(4117)

佛山市冬夏季非甲烷烃污染特征研究 周雪明,项萍,段菁春,贺克斌,马永亮,邓思欣,司徒淑婷,谭吉华(4124)

天津市道路环境大气颗粒物水溶性无机离子分析 赵梦雪,吴琳,方小珍,杨志文,李凤华,毛洪钧(4133)

戴云山国家级自然保护区大气氮沉降特点 袁磊,李文周,陈文伟,张金波,蔡祖聪(4142)

青岛近海冬季大气生物气溶胶中微生物活性研究 孟祥斌,李孟哲,李鸿涛,高冬梅,祁建华(4147)

玉米秸秆烟尘中正构脂肪酸的分子与碳同位素组成 刘刚,孙丽娜,徐慧,李久海,李中平,李立武(4156)

极低风速条件下水-气界面甲烷气体传输速率分析 张成,吕新彪,龙丽,张军伟,穆晓辉,李迎春,王圣瑞,张文丽,肖尚斌(4162)

典型水库型湖泊中 CDOM 吸收及荧光光谱变化特征:基于沿岸生态系统分析 陈雪霜,江韬,卢松,白薇扬,张成,王定勇,魏世强(4168)

西苕溪支流河口水体营养盐的特征及源贡献分析 陈诗文,袁旭音,金晶,李正阳,许海燕(4179)

周村水库主库区热分层初期氮素降低的驱动因子分析 张春华,黄廷林,方开凯,周石磊,夏超(4187)

太湖湖泛易发区沉积物中有机磷形态分布特征 董丹萍,章婷曦,张丁予,王巧云,李德芳,王国祥(4194)

多重扰动对湖泊内源磷迁移转化的影响 蔡顺智,李大鹏,王忍,刘焱见,徐垚,于胜楠,黄勇(4203)

丹江口库区覆膜耕作土壤氮素淋失随夏玉米生长期的变化 王伟,于兴修,汉强,刘航,徐苗苗,任瑞,张家鹏(4212)

营养盐恢复对氮磷饥饿铜绿微囊藻生长的影响 岳冬梅,李洁,肖琳(4220)

氯灭活地下水源中3种优势真菌的效能与机制 文刚,朱红,黄廷林,赵建超,任崑,徐向前(4228)

净水工艺对饮用水中微生物多重耐药性的影响与分析 马晓琳,陆洋,王钰,侯誉,白晓慧(4235)

单过硫酸氢钾复合粉在饮用水消毒过程中的副产物生成特性及遗传毒性变化 敖秀玮,李豪杰,刘文君,余京儒(4241)

三维有序介孔 Co₃O₄ 非均相活化单过硫酸氢钾降解罗丹明 B 冯善方,邓思萍,杜嘉雯,马晓雁,卢遇安,高乃云,邓靖(4247)

调控絮体形态强化电絮凝减缓膜污染 赵凯,杨春风,孙境求,李静,胡承志(4255)

初始 pH 值对序批式 CANON 工艺脱氮效果和 N₂O 释放的影响 付昆明,王会芳,苏雪莹,周厚田(4261)

3DBER-S-Fe 同步脱氮除磷及去除邻苯二甲酸酯的工艺特性 张娅,郝瑞霞,徐鹏程,徐忠强(4268)

基于反硝化脱氮的硫铁复合填料除磷机制 范军辉,郝瑞霞,李萌,朱晚霞,万京京(4275)

基于 ABR-MBR 组合工艺优化反硝化除磷性能的研究 程朝阳,赵诗惠,吕亮,吴鹏,沈耀良(4282)

中常温变化对 PN-ANAMMOX 联合工艺脱氮效果的影响 袁砚,朱亮(4289)

生物活性炭对不同 C/N 比废水同步硝化反硝化脱氮效果的影响 崔延瑞,邱鑫,张庆荣,王琦,吴青,孙剑辉(4296)

ANAMMOX 菌利用零价铁还原硝酸盐脱氮研究 周健,完颜德卿,黄勇,刘忻,袁怡,李祥,姚鹏程,杨朋兵,薛鹏程(4302)

间歇曝气 SBR 与传统 SBR 处理养猪沼液的比较研究 董宝刚,宋小燕,刘锐,川岸朋树,张永明,陈吕军(4309)

应用解蛋白菌生物预水解剩余污泥 何晶晶,王颖,胡洁,吕凡,邵立明(4317)

应用环境多介质逸度模型研究废旧电器拆解区多溴联苯醚的迁移及归趋 薛南冬,陈宣宇,杨兵,秦普丰,龙雨(4326)

南宁市多环境介质中多环芳烃分布特征 苗迎,孔祥胜(4333)

杭州城区室内灰尘中多溴联苯醚的含量及人体暴露水平 金漫彤,滕丹丹,郑艳霞,胡张璇,沈学优,金赞芳(4341)

应用线性自由能关系估算药用活性化合物的生物碳质-水吸附系数 王佳怡,毕二平(4349)

表流湿地细菌群落结构特征 魏佳明,崔丽娟,李伟,雷茵茹,于菁菁,秦鹏,穆泳林,梁钊瑞(4357)

城市污水中硝化菌群落结构与性能分析 于莉芳,杜倩倩,傅学焘,张茹,李文江,彭党聪(4366)

DNA 和 cDNA 水平对比研究施肥对稻田土壤细菌多样性的影响 王聪,吴讷,侯海军,汤亚芳,沈健林,秦红灵(4372)

培养条件下双酚 A 对稻田土壤微生物群落特征的影响 刘畅,黄雅丹,张莹,靳振江,梁月明,宋昂,王腾,郭佳怡,李强(4380)

1 株兼具好、厌氧汞甲基化能力细菌的分离鉴定 陶兰兰,向玉萍,王定勇,黄曼琳,申鸿(4389)

北京地区菜田土壤抗生素抗性基因的分布特征 张兰河,王佳佳,哈雪姣,邱孟超,高敏,仇天雷,王旭明(4395)

梅花鹿养殖场抗生素抗性基因分布特征 黄福义,安新丽,陈青林,任红云,苏建强(4402)

几种高硅质矿物细颗粒的 A549 细胞毒性对比 霍婷婷,董发勤,邓建军,张青碧,贺小春,孙东平(4410)

添加复合吸附剂对土壤吸附非和 Cr(VI) 的影响 李文斌,孟昭福,吴琼,许绍娥,刘泽(4419)

生物炭对西北黄土吸附壬基酚的影响 张振国,蒋煜峰,慕仲锋,孙航,周琦,展惠英(4428)

集雨种植下不同沟垄比对土壤呼吸的影响及其对水热因子的响应 王昌江,施成晓,冯帆,陈婷,张磊,吕晓康,王伟,廖允成(4437)

秸秆还田与化肥减量配施对稻-菜轮作下土壤养分及酶活性的影响 黄容,高明,万毅林,田冬,陶睿,王芳丽(4446)

《环境科学》征稿简则(4161) 《环境科学》征订启事(4365) 信息(4123,4132,4409)

北京地区菜田土壤抗生素抗性基因的分布特征

张兰河¹, 王佳佳^{1,2}, 哈雪姣³, 邱孟超⁴, 高敏², 仇天雷², 王旭明^{2*}

(1. 东北电力大学化学工程学院, 吉林 132012; 2. 北京市农林科学院生物技术研究中心, 北京 100097; 3. 北京市大兴区土肥工作站, 北京 102600; 4. 北京市大兴区农业技术推广站, 北京 102600)

摘要: 为研究北京地区菜田土壤抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 的污染状况和分布特征, 采集了 11 个长期施用粪肥蔬菜基地的温室土壤和大田土壤, 进行了抗生素以及 ARGs 种类和丰度的检测。结果表明, 菜田土壤中四环素类抗生素残留量最高, 其次为磺胺类抗生素, 温室土壤抗生素残留普遍高于大田土壤。温室和大田土壤磺胺类抗性基因 *sul1*、*sul2* 和四环素类抗性基因 *tetL* 的检出率均为 100%。温室土壤的 I 类整合子 (*intI1*) 检出率比大田土壤高 1.5 倍。定量 PCR 的检测结果表明, 菜田土壤中 *sul2* 和 *tetL* 的相对丰度介于 10^{-4} ~ 10^{-2} 之间, 温室土壤 *sul2* 和 *tetL* 的相对丰度普遍高于大田土壤。*sul2* 的相对丰度与磺胺二甲嘧啶和强力霉素的含量显著正相关 ($P < 0.05$), *tetL* 相对丰度与抗生素含量无明显相关性 ($P > 0.05$)。本研究结果对于掌握北京地区农田土壤 ARGs 的污染现状, 以及从 ARGs 角度评估农艺措施具有重要的指导意义。

关键词: 菜田土壤; 粪肥; 抗生素; 抗生素抗性基因; I 类整合子; 定量 PCR

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)11-4395-07 DOI: 10.13227/j.hjxk.201605077

Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Vegetable Soils in Beijing

ZHANG Lan-he¹, WANG Jia-jia^{1,2}, HA Xue-jiao³, QIU Meng-chao⁴, GAO Min², QIU Tian-lei², WANG Xu-ming^{2*}

(1. College of Chemical Engineering, Northeast Dianli University, Jilin 132012, China; 2. Beijing Agro-Biotechnology Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China; 3. Soil and Fertilizer Workstation in Daxing, Beijing 102600, China; 4. Agrotechnical Promotion Station in Daxing, Beijing 102600, China)

Abstract: In order to study the distribution characteristics and pollution status of antibiotic resistance genes (ARGs) in the vegetable soils, greenhouse and field soil samples in 11 organic vegetable bases with long-term manure amended in Beijing were collected. All samples were subjected to the determination of 13-type antibiotics and related ARGs. The experimental results showed that tetracycline residues were the highest among all antibiotics tested, followed by sulfanilamides. Antibiotic residues were higher in greenhouse soils than in field soils. For all soil samples, sulfanilamide resistance genes *sul1* and *sul2*, as well as the tetracycline resistance gene *tetL* were observed with 100% detection frequencies. Detection frequency for class I integron (*intI1*) in greenhouse soils was 1.5 times higher than that in field soils. The relative abundance for *sul2* and *tetL* in soil samples ranged 10^{-4} - 10^{-2} as found by quantitative PCR (qPCR) detection. The relative abundance of *sul2* was significantly positively correlated with the contents of sulfadimidine and doxycycline ($P < 0.05$), and the relative abundance of *tetL* did not exhibit evident correlation with the contents of antibiotics tested. These results would contribute to understanding of the pollution status of ARGs in vegetable soils in Beijing, and to evaluation of currently agricultural practices based on ARGs.

Key words: vegetable soils; manure; antibiotics; antibiotic resistance genes; class I integron (*intI1*); quantitative PCR (qPCR)

抗生素是人类医学史上的巨大发现, 除临床使用外, 在预防和治疗动物传染性疾病、促进动物生长及提高饲料转化率等方面也具有重要作用。1950 年美国食品与药品管理局 (FDA) 首次批准抗生素可作为饲料添加剂, 抗生素因此被全面推广应用于动物养殖业^[1]。但是, 养殖业和医疗行业的长期大量不规范使用抗生素, 给生态环境和人类健康构成了潜在威胁^[2]。

有研究发现, 抗生素被机体摄入后, 大约有 30% ~ 90% 以原药和代谢产物的形式通过粪尿排体外^[3], 最终进入生态环境并对其产生危害^[4]。抗生素在养殖业的长期滥用会诱导动物体内产生抗生

素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs)^[5]。ARGs 通常位于质粒、转座子、整合子等可移动遗传元件上, 通过基因水平转移在菌群间迁移, 引起抗生素耐药菌的产生和扩散, 严重威胁人类健康。

2006 年, Pruden 等^[6]首次将 ARGs 作为一种新型的环境污染物提出, 有关 ARGs 在环境中传播和污染等的报道日益增多^[7]。近年来的研究表明, 粪

收稿日期: 2016-05-11; 修订日期: 2016-06-28

基金项目: 国家重点研发计划重点专项 (2016YFD0800205); 现代农业产业技术体系北京市创新团队专项 (BAIC04-2016)

作者简介: 张兰河 (1971 ~), 男, 博士, 主要研究方向为环境生物技术, E-mail: zhanglanhe@163.com

* 通讯联系人, E-mail: wangxuming@baafs.net.cn

肥施用可导致农田土壤的 ARGs 种类和丰度增加^[8-10],使农田土壤成为一个巨大的 ARGs 储存库和传播媒介^[11].

北京作为有着2 000多万常住人口的大都市,蔬菜生产对于满足首都菜篮子供应和应急保障具有重要作用.北京地区的蔬菜生产普遍采用粪肥作为底肥,由此引起的 ARGs 污染问题还未见研究报道.为了解北京地区农田土壤 ARGs 的污染状况和分布特征,本研究选择长期施用粪肥的蔬菜基地,对土壤 ARGs 进行检测分析,通过掌握北京地区农田土壤 ARGs 的污染状况,以期从 ARGs 角度评估粪肥应用的安全性提供基础数据.

1 材料与方 法

1.1 采样地点和时间

选取北京地区 11 个蔬菜生产基地作为采样点,各采样点均连续施用粪肥(大多采用以鸡粪为主的畜禽粪便经堆积发酵后使用)5 年以上,分别位于北京市的延庆、海淀、昌平、顺义、平谷、房山、大兴、通州、怀柔和密云(图 1).以上采样点的温室每年至少种植 2 茬蔬菜,每年粪肥施用量为 $6 \times 10^6 \sim 1.2 \times 10^7 \text{ kg} \cdot \text{km}^{-2}$;大田每年种植 1~2 茬蔬菜,粪肥用量一般不超过 $3 \times 10^6 \text{ kg} \cdot \text{km}^{-2}$.采样时间为 2015 年 4~5 月.采用 5 点混合采样法,每个采样点采集大田和温室表层土壤(0~15 cm)各 3 份重复样品,放入装有冰盒的采样箱运回实验室,过筛后于 -80°C 保存,用于抗生素测定和 DNA 提取.

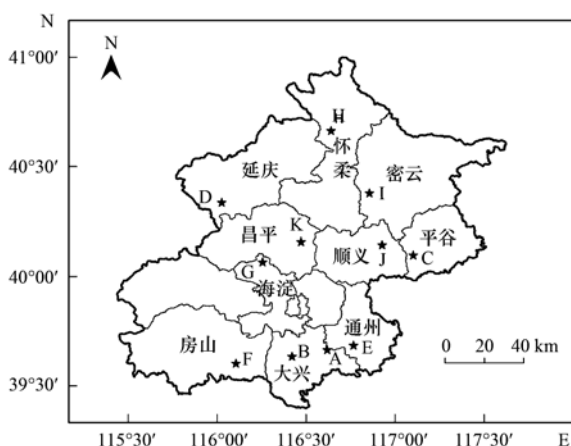


图 1 采样点分布示意

Fig. 1 Schematic diagram for location of sampling sites

1.2 ARGs 的 PCR 检测

1.2.1 DNA 提取

土壤样品总 DNA 采用 MO BIO Laboratories, Inc 生产的 The PowerSoil[®] DNA Isolation Kit (12888-

50) 进行提取. DNA 提取完毕后,用微量核酸蛋白质分析仪(Nanodrop)检测含量以及纯度(A_{260}/A_{280} 在 1.8~2.0 之间,表明用试剂盒提取的 DNA 纯度较高).

1.2.2 ARGs 的 PCR 定性检测

本研究对 3 种 β -内酰胺类 ARGs (bla_{CARB-4} 、 bla_{SPM-1} 、 bla_{TEM*}),1 种喹诺酮类 ARGs ($qnrS$),3 种磺胺类 ARGs ($sul1$ 、 $sul2$ 、 $dfrA1$),9 种四环素类 ARGs ($tetA$ 、 $tetA/P$ 、 $tetC$ 、 $tetE$ 、 $tetL$ 、 $tetW$ 、 $tetG$ 、 $tetX$ 、 $tetY$),1 种红霉素类 ARGs ($ermB$) 和 I 类整合子($int11$) 进行检测. 以上 ARGs 以及 $int11$ 的引物及退火温度见表 1.

PCR 反应体系 25 μL : 2 \times TransStartTM FastPfu PCR SuperMix 12.5 μL ; Primer F 和 Primer R (10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 1 μL ; ddH₂O 8.5 μL ; Variable template volume 1 μL .

PCR 过程: 94°C 预变性 3 min; 94°C 变性 30 s, T ($^\circ\text{C}$) 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s, 循环 30 次; 72°C 保持 5 min; 4°C 保温. 其中 T 代表不同的退火温度(表 1).

PCR 产物检测: 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 恒压 110 V, 5 μL 的 PCR 原液, 1 μL 的 6 \times Loading Buffer, Marker Trans2K plus. GelRedTM Nucleic Acid Gel Stain 染料染色, Alphamager HP 凝胶成像分析系统进行拍照检测.

1.3 ARGs 的定量 PCR (qPCR) 检测

采用 BIORAD CFX 96 Touch 实时荧光定量 PCR 仪对 ARGs 进行定量检测.

1.3.1 qPCR 反应体系及程序

反应体系为 20 μL , 其中包含 1 μL 模板 DNA, 10 μL SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa Biotechnology), 引物各 0.4 μL (与普通 PCR 所用引物相同), 反应在 200 μL 圆顶 PCR 管中进行. 反应程序为 95°C 预变性 30 s, 然后进入 40 个循环的扩增阶段, 95°C 变性 5 s, 退火 30 s, 72°C 延伸 30 s. 溶解曲线程序为 $55 \sim 95^\circ\text{C}$, 每 0.5 $^\circ\text{C}$ 读数, 其间停留 30 s. 每个样品重复 3 次, 起始模板浓度由 c_t 值确定. 数据采用 Bio-Rad IQ5 FAS Release 软件进行处理.

1.3.2 标准曲线的制作

质粒用试剂盒 MiniBEST Plasmid Purification Kit Ver (TaKaRa) 依照生产商说明的方法提取, 提取的质粒用微量核酸蛋白质分析仪(Nanodrop)检测含量以及纯度, 准备稀释标线备用. 以基因浓度的对数为横坐标, c_t 值为纵坐标绘制标准曲线, c_t 值与目的

基因拷贝数之间的相关系数 R^2 在 0.991 ~ 0.999 之间, 线性相关良好, 可用于计算各基因的拷贝数。

表 1 ARGs 以及 *intI1* 检测的 PCR 引物

Table 1 PCR primers for detection of ARGs and *intI1*

目标基因	正向引物	反向引物	退火温度 (T)/ $^{\circ}\text{C}$	文献
<i>bla</i> _{CARB-4}	ACCGTATTGAGCCTGATTTA	ATPGAAGCCTGTGTTTGAGC	55	[12]
<i>bla</i> _{SPM-1}	CTAAATCGAGAGCCCTGCTTG	CCTTTTCCGGACCTTGATC	53	[13]
<i>bla</i> _{TEM*}	TCCGCTCATGAGACAATAACC	TTGGTCTGACAGTTACCAATGC	55	[14]
<i>qnrS</i>	ACGACATTGCTCAACTGCAA	TAAATTGGCACCTGTAGGC	53	[15]
<i>sul1</i>	TTGGCATTCTGAATCTCAC	ATGATCTAACCTCGGTCTC	53	[16]
<i>sul2</i>	CGGCATCGTCAACATAACCT	TGTGCGGATGAAGTCAGCTC	66	[17]
<i>dfrA1</i>	AGCATTACCCAACCGAAACT	TGTCAGCAAGATAGCCAGAT	60	[18]
<i>tetA</i>	GCGGCTCTTTCATCATGC	CGGCAGGCAGAGCAAGTAGA	64	[17]
<i>tetA/P</i>	CTTGGATTGCGGAAGAAGAG	ATATGCCCATTTAACCACGC	55	[19]
<i>tetC</i>	GCTGTAGGCATAGGCTTGCT	GCCGGAAGCGAGAAGAATCA	64	[17]
<i>tetE</i>	GTTATTACGGGAGTTTGTGG	AATACAACCCCACTACTCGC	55	[19]
<i>tetL</i>	TCGTTAGCGTGTCTCATTC	GTATCCCACCAATGTAGCCG	55	[19]
<i>tetW</i>	GAGAGCCTGTATATGCCAGC	GGGCGTATCCACAATGTTAAC	60	[20]
<i>tetG</i>	GCTGGTGCTATCTCTGCTC	AGCAACAGAATCGGGAACAC	55	[20]
<i>tetX</i>	CAATAATTGGTGGTGACCC	TTCTTACCTTGGACATCCCG	58	[20]
<i>tetY</i>	ATTTGTACCGGCAGAGCAAAC	GGCGCTGCCCCATTATGC	55	[20]
<i>ermB</i>	GATACCGTTTACGAAATTGG	GAATCGAGACTTGAGTGTGC	58	[21]
<i>intI1</i>	CTGGATTTCGATCAGGCAGC	ACATGCGTAAATCATCGTCCG	60	[19]

基因拷贝数计算参照文献[22], 按以下公式计算: 拷贝数 = (质量/分子量) $\times 6.02 \times 10^{23}$. 按 10 倍稀释梯度稀释成标准曲线, 根据标准曲线计算出在实时荧光定量 PCR 中样品的 ARGs 浓度。

1.4 抗生素的 HPLC-MS/MS 分析

1.4.1 试剂及标准溶液配制

将 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸溶液和 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钠溶液 (体积比为 8:5) 混合, 用 NaOH 溶液调 pH 至 4, 即为 McIlvaine buffer。

配制磺胺嘧啶 (SD)、磺胺对甲氧嘧啶 (SM)、磺胺二甲氧嘧啶 (SDM)、磺胺二甲嘧啶 (SM2)、磺胺甲噁唑 (SMX)、氨苄西林 (AMP)、土霉素 (OTC)、金霉素 (CTC)、四环素 (TC)、强力霉素 (DOX)、诺氟沙星 (NOR)、环丙沙星 (CIP) 和恩诺沙星 (ENR) 共计 13 种抗生素的混合标准液, 浓度分别为 10、50、100、250 和 $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, -20°C 保存。

1.4.2 样品预处理

称取冻干样品 0.75 g 至 50 mL 离心管, 加入 5 mL 提取液 (乙腈: McIlvaine 溶液 = 1:1), 涡旋振荡 1 min, 超声振荡 15 min (冰浴); $8000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min (10°C), 上清转移至新 50 mL 离心管, 后重复提取两次, 合并上清; 在 50°C 水浴下氮吹至接近 8 mL, 涡旋 30 s, $10000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min. 吸取上清液至 500 mL 塑料瓶, 并用超纯水稀释至约 200 mL, 加入 0.4 g EDTA 二钠, 溶解已螯合阳离子。

对预处理后的溶液进行固相萃取. 将 HLB 小柱 (Waters Oasis, 美国) 和 SAX 小柱 (Agilent, 美国) 用 5 mL 甲醇和 5 mL 水活化; 用固相萃取适配器将 SAX 和 HLB 小柱串联, 先在 SAX 柱内装入稀释后提取液, 后安装 50 mL 注射器管体, 加入稀释提取液, 后开启真空泵, 控制真空泵压力低于 -50 kPa , 用固相萃取口旋钮调节溶液以 $5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 流速流下 ($1.5 \text{ 滴}\cdot\text{s}^{-1}$). 过滤完毕后, 用 10 mL 超纯水洗柱子, 抽气干燥 10 min, 加入洗脱液 (甲醇: 丙酮 = 80:20) 10 mL, 用 15 mL 离心管收集洗脱液; 在 50°C 水浴条件下氮吹洗脱液至快干, 加入 1 mL 上样溶液 (0.1 甲酸水溶液: 甲醇 = 1:1), 涡旋振荡 1 min, 超声 15 min 溶解, $0.22 \mu\text{m}$ 针头式膜过滤后备用。

1.4.3 仪器工作条件

测定方法主要参考文献[23], 简述如下: 采用配置 Thermo Hypersil GOLD ($3 \mu\text{L}$; $2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$) 色谱柱的 UltiMate 3000 色谱仪 (赛默飞世尔科技有限公司) 对样品进行分析. 柱温: 35°C ; 进样体积: $15 \mu\text{L}$; 流速: $0.35 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. 流动相 A 为 0.1% 甲酸 (甲酸/超纯水, 体积比) 和 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵, 流动相 B 为甲醇, 流动相 D 为含 0.1% 甲酸的乙腈溶液. 采用的线性梯度如下: 0 ~ 4 min, D 从 5% 线性变为 16%; 4 ~ 8 min, D 由 16% 增加到 40%; 8 ~ 15 min, D 从 40% 增加到 65%; 在 15 ~ 20 min, D 从 65% 增加到 95% 后保持 5 min, 然后回到

初始状态, D 为 5%, 保持 5 min 进行平衡.

质谱系统由 Thermo LTQ XL 检测器和离子源组成. 离子源为电喷雾电离 ESI(+). 质谱条件具体如下: 加热温度 350℃, 鞘气流速 35 arb (arbitrary unit, 自定义单位), 辅助气流速 10 arb, 喷雾电压 3.5 kV, 离子传输管温度: 350℃, Tube Lens 电压: 65 V. 检测方式: SRM.

1.4.4 方法学质量控制

做空白、空白加标(50、250 和 500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的抗生素混合标准溶液)实验. 空白中未检出目标化合物. 采用 3 倍信噪比计算检出限(LOD), 10 倍信噪比计算定量下限(LOQ). 13 种抗生素的回收率为 43.3%~99.8%, 检出限为 0.1~30.09 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 定量下限为 0.71~56.06 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 线性相关系数 R^2 为 0.999 1~0.999 7, 满足分析要求.

1.5 数据分析

采用 SPSS 23 软件进行数据的差异显著性比较和 Spearman 相关性分析.

2 结果与讨论

2.1 菜田土壤的抗生素污染特征

表 2 是 11 个蔬菜基地大田土壤和温室土壤 13 种抗生素的检测结果. 在所有检测的抗生素中, 除了 SM、SDM 和 AMP 未被检测到, 其余抗生素均有

不同程度的检出. 温室土壤中各种抗生素的检出率和含量普遍高于大田土壤, 这可能与温室土壤粪肥施用量较大有关.

大田土壤和温室土壤中磺胺类抗生素(SAs)和四环素类抗生素(\sum TCs)的检出率均为 100%, 喹诺酮类抗生素(QNs)的检出率分别为 69.23% 和 73.68%. 大田土壤和温室土壤中 SAs 检出含量分别为 0.48~21.20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (平均值 8.02 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和 4.13~34.70 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (平均值 13.41 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), TCs 检出含量分别为 43.59~101.75 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (平均值 73.65 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和 13.80~260.28 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (平均值 103.58 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), QNs 的检出含量分别为 ND (低于检出限)~7.17 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (平均值 1.78 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和 ND~37.03 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (平均值 7.35 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). 以上结果表明, 北京地区菜田土壤中 TCs 的最高检出含量和平均含量都高于 SAs 和 QNs. 尹春艳等^[24]以及 Ji 等^[25]的研究结果也表明, \sum TCs 是山东蔬菜土壤和上海养殖场附近农田污染最严重的抗生素, 而且检出含量更高(平均浓度分别为 274 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 6120 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). 这可能与 TCs 在畜牧养殖业中被广泛用作添加剂来预防动物生病和促进其生长有关, 而且与其他抗生素相比, \sum TCs 在环境中较稳定^[26,27].

表 2 菜田土壤中 13 种抗生素的残留量¹⁾

Table 2 Concentrations of 13 classes of antibiotics in vegetable soils

抗生素	大田土壤			温室土壤		
	含量范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	平均值/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	频率/%	含量范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	平均值/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	频率/%
SD	ND	ND	0	ND	ND	0
SM2	ND~20.66	6.24	62	ND~18.87	6.38	79
SM	ND	ND	0	ND	ND	0
SMX	ND~3.76	1.78	92	ND~22.80	7.02	90
SDM	ND	ND	0	ND	ND	0
\sum SAs	0.48~21.20	8.02	100	4.13~34.70	13.41	100
OTC	ND~27.05	8.71	39	ND~41.31	11.76	42
TC	ND~16.18	12.68	92	11.46~17.66	14.11	100
CTC	ND~37.73	14.02	77	ND~182.82	31.37	74
DOX	32.68~44.20	38.24	100	ND~145.06	46.34	90
\sum TCs	43.59~101.75	73.65	100	13.80~260.28	103.58	100
NOR	ND~3.94	0.33	15	ND~9.11	1.15	21
CIP	ND~4.48	1.46	69	ND~37.03	5.92	74
ENR	ND	ND	0	ND~4.42	0.28	11
\sum QNs	ND~7.17	1.78	69	ND~37.03	7.35	74
AMP	ND	ND	0	ND	ND	0

1) ND 表示未检出; SD 为磺胺嘧啶; SM2 为磺胺二甲嘧啶; SM 为磺胺对甲氧嘧啶; SMX 为磺胺甲噁唑; SDM 为磺胺二甲氧嘧啶; OTC 为土霉素; TC 为四环素; CTC 为金霉素; DOX 为多西环素-强力霉素; NOR 为诺氟沙星; CIP 为环丙沙星; ENR 为恩诺沙星; AMP 为氨苄西林; \sum SAs 为 5 种磺胺类抗生素的总量; \sum TCs 为 4 种四环素类抗生素的总量; \sum QNs 为 3 种喹诺酮类抗生素的总量

2.2 菜田土壤的 ARGs 污染特征

2.2.1 ARGs 的 PCR 定性检测

以 17 种 ARGs 和 *intI1* 为目标基因,对 11 个蔬菜基地的大田土壤和温室土壤进行检测,结果表明,大田土壤检出了 13 种 ARGs 和 *intI1*,温室土壤检出 14 种 ARGs 和 *intI1*(图 2)。温室土壤 ARGs 的检出率普遍高于大田土壤。大田和温室土壤中磺胺抗性基因 *sul1*、*sul2* 和四环素抗性基因 *tetL* 的检出率均达到 100%；未检出四环素抗性基因 *tetE*、*tetY* 和 β -内酰胺抗性基因 *bla_{SPM-1}*。此外,大田土壤未检出喹诺酮抗性基因 *qnrS*,而温室土壤该基因的检出率为 11%。

温室土壤和大田土壤均检测到了 I 类整合子(*intI1*)。整合子是存在于细菌质粒、染色体或转座子上的一种运动性 DNA 分子,具有捕获和整合 ARGs 的独特结构,使细菌产生耐药性,甚至多重耐药性。因此,整合子被认为在 ARGs 传播过程中起到重要作用^[28]。目前,已发现的整合子主要有 5 种类型,其中 *intI1* 最为常见。本研究的结果表明,温室土壤 *intI1* 的检出率比大田土壤高 1.5 倍,说明温室土壤中 ARGs 横向转移的可能性更大^[29]。

2.2.2 ARGs 的丰度

选择检出率较高的抗性基因 *sul2* 和 *tetL* 进行 qPCR 检测。为避免分析方法和不同土壤的微生物背景值引起的偏差,将 ARGs 拷贝数与 16S rRNA 基因拷贝数做归一化处理^[30],得到 ARGs 的相对丰度(图 3)。由图 3 可以看出,温室土壤中抗性基因 *sul2* 和 *tetL* 的丰度普遍高于大田土壤。总体上看,菜田土壤中 *sul2* 和 *tetL* 的相对丰度介于 $10^{-4} \sim 10^{-2}$ 之间,与其他地区农田土壤的 ARGs 丰度相近^[30,31]。

11 个采样点的温室土壤中,*sul2* 的相对丰度均显著高于大田土壤($P < 0.05$),其中差异最大的采

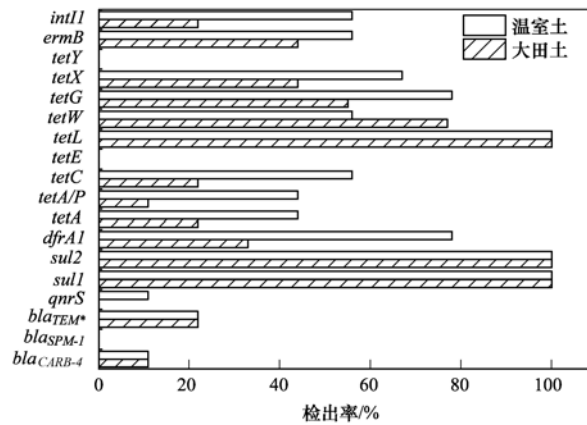


图 2 北京地区菜田土壤 17 种 ARGs 和 *intI1* 的检出率
Fig. 2 Detectable rates for 17 ARGs and *intI1* in vegetable soils in Beijing

样点 C 中,温室土壤的 *sul2* 相对丰度比大田土壤高 16.5 倍。对于抗性基因 *tetL*,采样点 A、B、C、D、E、J 的温室土壤都显著高于大田土壤($P < 0.05$),差异最大的采样点 B 中,温室土壤 *tetL* 相对丰度是大田土壤的 3.6 倍。

本研究中,温室土壤的 ARGs 和 *intI1* 检出率以及相对丰度普遍高于大田土壤,这可能与温室的粪肥施用量较大有关^[8]。

2.3 抗生素与 ARGs 的相关性

抗生素滥用和抗生素环境污染是环境中细菌耐药性增加的重要原因之一,抗生素也是诱导环境中 ARGs 产生的重要因素。表 3 为菜田土壤中磺胺抗性基因 *sul2* 和四环素 *tetL* 的相对丰度与部分抗生素残留浓度的相关性。表中数据显示 *sul2* 的相对丰度与抗生素 SM2 和 DOX 的含量显著正相关($P < 0.05$),*tetL* 相对丰度与检测的抗生素间无明显相关性($P > 0.05$)。

关于环境中 ARGs 与抗生素残留之间的相关

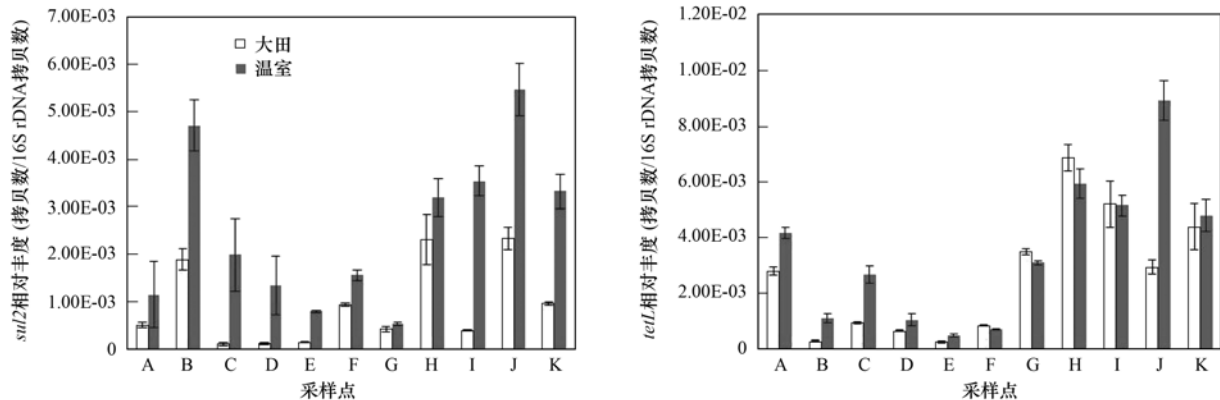


图 3 抗性基因的相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of the resistance genes

性,不同的研究者得到的结论不尽相同. Smith 等^[32]发现养殖场污水中四环素 ARGs 与抗生素之间的相关性不明显; Ji 等^[25]对猪场粪污及周边土壤的研究也得到了相似的结果. 而 Tang 等^[30]和 McKinney 等^[33]发现农田土壤和养殖场

粪污中四环素和磺胺 ARGs 与抗生素含量显著正相关. 以上相互矛盾的研究结果表明,抗生素浓度不是影响 ARGs 丰度的唯一因素,还可能受到环境中其他因素如重金属、pH 值及有机质含量等的影响^[19].

表 3 抗性基因与抗生素的相关性分析¹⁾

Table 3 Correlation analysis between antibiotics and resistance genes

	SM2	SMX	OTC	TC	CTC	DOX
<i>sul2</i>	0.524 *	0.033	-0.050	-0.015	0.163	0.515 *
<i>tetL</i>	0.107	0.029	-0.335	-0.033	0.109	0.109

1) * 表示 $P < 0.05$

3 结论

(1)北京地区菜田土壤普遍存在四环素、磺胺和喹诺酮类抗生素污染,其中四环素类抗生素残留量最高,其次为磺胺类;温室土壤的抗生素残留高于大田土壤.

(2)温室和大田土壤磺胺类抗性基因 *sulI*、*sul2* 和四环素类抗性基因 *tetL* 的检出率均为 100%,温室土壤其他 ARGs 和 *intI1* 的检出率普遍高于大田土壤,*sul2* 的相对丰度与磺胺二甲噻啉和强力霉素的含量显著正相关,而 *tetL* 与抗生素含量无明显相关性.

参考文献:

- [1] 朱永官, 欧阳纬莹, 吴楠, 等. 抗生素耐药性的来源与控制对策 [J]. 中国科学院院刊, 2015, **30**(4): 509-516.
Zhu Y G, Ouyang W Y, Wu N, *et al.* Antibiotic resistance: sources and mitigation [J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2015, **30**(4): 509-516.
- [2] 周启星, 罗义, 王美娥. 抗生素的环境残留、生态毒性及抗性基因污染 [J]. 生态毒理学报, 2007, **2**(3): 243-251.
Zhou Q X, Luo Y, Wang M E. Environmental residues and ecotoxicity of antibiotics and their resistance gene pollution: a review [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2007, **2**(3): 243-251.
- [3] Fang H, Han Y L, Yin Y M, *et al.* Variations in dissipation rate, microbial function and antibiotic resistance due to repeated introductions of manure containing sulfadiazine and chlortetracycline to soil [J]. Chemosphere, 2014, **96**: 51-56.
- [4] Hartmann A, Alder A C, Koller T, *et al.* Identification of fluoroquinolone antibiotics as the main source of *umuC* genotoxicity in native hospital wastewater [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1998, **17**(3): 377-382.
- [5] 高盼盼, 罗义, 周启星, 等. 水产养殖环境中抗生素抗性基因(ARGs)的研究及进展 [J]. 生态毒理学报, 2009, **4**(6): 770-779.
Gao P P, Luo Y, Zhou Q X, *et al.* Research advancement of antibiotics resistance genes (ARGs) in aquaculture environment [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, **4**(6): 770-779.
- [6] Pruden A, Pei R T, Storteboom H, *et al.* Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado [J]. Environmental Science & Technology, 2006, **40** (23): 7445-7450.
- [7] 苏建强, 黄福义, 朱永官. 环境抗生素抗性基因研究进展 [J]. 生物多样性, 2013, **21**(4): 481-487.
Su J Q, Huang F Y, Zhu Y G. Antibiotic resistance genes in the environment [J]. Biodiversity Science, 2013, **21** (4): 481-487.
- [8] 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.
- [9] Chee-Sanford J C, Mackie R I, Koike S, *et al.* Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste [J]. Journal of Environmental Quality, 2009, **38**(3): 1086-1108.
- [10] Udikovic-Kolic N, Wichmann F, Broderick N A, *et al.* Bloom of resident antibiotic-resistant bacteria in soil following manure fertilization [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, **111** (42): 15202-15207.
- [11] 吴楠, 乔敏. 土壤环境中四环素类抗生素残留及抗性基因污染的研究进展 [J]. 生态毒理学报, 2010, **5**(5): 618-627.
Wu N, Qiao M. Tetracycline residues and tetracycline resistance gene pollution in soil: a review [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, **5**(5): 618-627.
- [12] Bert F, Branger C, Lambert-Zechovsky N. Identification of PSE and OXA β -lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* using PCR-restriction fragment length polymorphism [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2002, **50**(1): 11-18.
- [13] Mendes R E, Kiyota K A, Monteiro J, *et al.* Rapid detection and identification of Metallo- β -Lactamase-Encoding genes by multiplex real-time PCR assay and melt curve analysis [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2007, **45**(2): 544-547.
- [14] Reinthaler F F, Feierl G, Galler H, *et al.* ESBL-producing *E. coli* in Austrian sewage sludge [J]. Water Research, 2010, **44** (6): 1981-1985.
- [15] Robicsek A, Strahilevitz J, Sahn D F, *et al.* *qnr* prevalence in ceftazidime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from the United States [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006, **50** (8): 2872-2874.

- [16] Maynard C, Fairbrother J M, Bekal S, *et al.* Antimicrobial resistance genes in enterotoxigenic *Escherichia coli* O149: K91 isolates obtained over a 23-year period from pigs [J]. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, 2003, **47** (10): 3214-3221.
- [17] Boerlin P, Travis R, Gyles C L, *et al.* Antimicrobial resistance and virulence genes of *Escherichia coli* isolates from swine in Ontario [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(11): 6753-6761.
- [18] Frank T, Gautier V, Talarmin A, *et al.* Characterization of sulphonamide resistance genes and class I integron gene cassettes in Enterobacteriaceae, Central African Republic (CAR) [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2007, **59** (4): 742-745.
- [19] Wang F H, Qiao M, Lv Z E, *et al.* Impact of reclaimed water irrigation on antibiotic resistance in public parks, Beijing, China [J]. *Environmental Pollution*, 2014, **184**: 247-253.
- [20] 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.
- [21] Just N A, Létourneau V, Kirychuk S P, *et al.* Potentially pathogenic bacteria and antimicrobial resistance in bioaerosols from cage-housed and floor-housed poultry operations [J]. *Annals of Occupational Hygiene*, 2012, **56**(4): 440-449.
- [22] 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.
- [23] 万位宁, 陈熹, 居学海, 等. 固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法同时检测禽畜粪便中多种抗生素残留 [J]. *分析化学*, 2013, **41**(7): 993-999.
- Wan W N, Chen X, Ju X H, *et al.* Simultaneous determination of residual antibiotics in livestock manure by solid phase extraction-ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2013, **41**(7): 993-999.
- [24] 尹春艳, 骆永明, 滕应, 等. 典型设施菜地土壤抗生素污染特征与积累规律研究 [J]. *环境科学*, 2012, **33**(8): 2810-2816.
- Yin C Y, Luo Y M, Teng Y, *et al.* Pollution characteristics and accumulation of antibiotics in typical protected vegetable soils [J]. *Environmental Science*, 2012, **33**(8): 2810-2816.
- [25] Ji X L, Shen Q H, Liu F, *et al.* Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai; China [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, **235-236**: 178-185.
- [26] Li Y X, Zhang X L, Li W, *et al.* The residues and environmental risks of multiple veterinary antibiotics in animal faeces [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2013, **185**(3): 2211-2220.
- [27] Hu X G, Zhou Q X, Luo Y. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China [J]. *Environmental Pollution*, 2010, **158**(9): 2992-2998.
- [28] Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, **4**(8): 608-620.
- [29] Cheng W X, Chen H, Su C, *et al.* Abundance and persistence of antibiotic resistance genes in livestock farms: a comprehensive investigation in eastern China [J]. *Environment International*, 2013, **61**: 1-7.
- [30] Tang X J, Lou C L, Wang S X, *et al.* Effects of long-term manure applications on the occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) in paddy soils: evidence from four field experiments in south of China [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **90**: 179-187.
- [31] Cheng W X, Li J N, Wu Y, *et al.* Behavior of antibiotics and antibiotic resistance genes in eco-agricultural system: a case study [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, **304**: 18-25.
- [32] Smith M S, Yang R K, Knapp C W, *et al.* Quantification of tetracycline resistance genes in feedlot lagoons by real-time PCR [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**(12): 7372-7377.
- [33] McKinney C W, Loftin K A, Meyer M T, *et al.* *tet* and *sul* antibiotic resistance genes in livestock lagoons of various operation type, configuration, and antibiotic occurrence [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, **44** (16): 6102-6109.

CONTENTS

Air Pollutant Emission Inventory and Impact of Typical Industries on PM _{2.5} in Chengde	CHEN Guo-lei, ZHOU Ying, CHENG Shui-yuan, <i>et al.</i> (4069)
Pollution Characteristics and Emission Coefficient of Volatile Organic Compounds from Woodwork-making Industry in Zhejiang Province	YAO Yi, WANG Zhe-ming, HE Zhi-qiao, <i>et al.</i> (4080)
Emission Inventory of Anthropogenic VOCs and Its Contribution to Ozone Formation in Shanxi Province	YAN Yu-long, PENG Lin (4086)
Characteristics and Source Apportionment of VOCs of High Pollution Process at Chemical Industrial Area in Winter of China	GAO Song, CUI Hu-xiong, FU Qing-yan, <i>et al.</i> (4094)
Study and Application of Test Method for VOCs Emission Factor of Refueling in Service Station	HUANG Yu-hu, CHANG Yao-qing, REN Bi-qi, <i>et al.</i> (4103)
NH ₃ Emission Characteristics in Landfill Sites in Beijing	CUI Tong, LI Jin-xiang, YANG Yan-yan, <i>et al.</i> (4110)
Inventory and Characteristics of Anthropogenic Ammonia Emission in Xi'an	SU Hang, YAN Dong-jie, HUANG Xue-min, <i>et al.</i> (4117)
Pollution Characteristics of Non-methane Hydrocarbons During Winter and Summer in Foshan City	ZHOU Xue-ming, XIANG Ping, DUAN Jing-chun, <i>et al.</i> (4124)
Water-soluble Inorganic Ions in the Road Ambient Atmospheric Particles of Tianjin	ZHAO Meng-xue, WU Lin, FANG Xiao-zhen, <i>et al.</i> (4133)
Characteristics of Nitrogen Deposition in Daiyun Mountain National Nature Reserve	YUAN Lei, LI Wen-zhou, CHEN Wen-wei, <i>et al.</i> (4142)
Microbial Activity in Bioaerosols in Winter at the Coastal Region of Qingdao	MENG Xiang-bin, LI Meng-zhe, LI Hong-tao, <i>et al.</i> (4147)
Molecular and Carbon Isotopic Compositions of <i>n</i> -Alkanoic Acids in Smoke from Maize Straw Combustion	LU Gang, SUN Li-na, XU Hui, <i>et al.</i> (4156)
Gas Transfer Velocity of CH ₄ at Extremely Low Wind Speeds	ZHANG Cheng, LÜ Xin-biao, LONG Li, <i>et al.</i> (4162)
Spectral Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter (DOM) from a Typical Reservoir Lake from Inland of Three Gorges Reservoir Areas: In the View of Riparian Ecosystem Analysis	CHEN Xue-shuang, JIANG Tao, LU Song, <i>et al.</i> (4168)
Characteristics and Pollution Source Analysis of Nutrients in Tributary Outlets of Xitaoxi Watershed	CHEN Shi-wen, YUAN Xu-yin, JIN Jing, <i>et al.</i> (4179)
Analysis of Driving Factors on the Nitrogen Decrease in the Early Stage of the Thermal Stratification in Main Area of Zhoucun Reservoir	ZHANG Chun-hua, HUANG Ting-lin, FANG Kai-kai, <i>et al.</i> (4187)
Characteristics of Organic Phosphorus Fractions in the Sediments of the Black Water Aggregation in Lake Taihu	DONG Dan-ping, ZHANG Ting-xi, ZHANG Ding-yu, <i>et al.</i> (4194)
Impacts of Multiple Disturbance on Migration and Transformation of Endogenous Phosphorus in Lake	CAI Shun-zhi, LI Da-peng, WANG Ren, <i>et al.</i> (4203)
Change of Soil Nitrogen Leaching with Summer Maize Growing Periods Under Plastic Film Mulched Cultivation in Danjiangkou Reservoir Area, China	WANG Wei, YU Xing-xiu, HAN Qiang, <i>et al.</i> (4212)
Nutrients Recovery on the Growth of Nitrogen and Phosphorus Starved <i>Microcystis aeruginosa</i>	YUE Dong-mei, LI Jie, XIAO Lin (4220)
Inactivation Efficiency and Mechanism of Three Dominant Fungal Spores in Drinking Groundwater by Chlorine	WEN Gang, ZHU Hong, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (4228)
Effect of Water Treatment Process on the Bacterial Multidrug Resistance in Drinking Water	MA Xiao-lin, LU Yang, WANG Yu, <i>et al.</i> (4235)
Characteristics of Disinfection By-products and Genotoxicity During Drinking Water Disinfection with Potassium Monopersulfate Compound Powder	AO Xiu-wei, LI Hao-jie, LIU Wen-jun, <i>et al.</i> (4241)
Heterogeneous Activation of Peroxymonosulfate with Three-dimensional Ordered Mesoporous Co ₃ O ₄ for the Degradation of Rhodamine B	FENG Shan-fang, DENG Si-ping, DU Jia-wen, <i>et al.</i> (4247)
Enhanced Mitigation of Membrane Fouling by Regulations on Floc Morphology in Electrocoagulation	ZHAO Kai, YANG Chun-feng, SUN Jing-qiu, <i>et al.</i> (4255)
Effect of Initial pH on Nitrogen Removal Performance and N ₂ O Emission of a Sequencing Batch CANON Reactor	FU Kun-ming, WANG Hui-fang, SU Xue-ying, <i>et al.</i> (4261)
Operational Characteristics of the Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal and Removal of Phthalate Esters by Three-dimensional Biofilm-electrode Coupled with Iron/Sulfur Reactor	ZHANG Ya, HAO Rui-xia, XU Peng-cheng, <i>et al.</i> (4268)
Phosphorus Removal Mechanism of Sulfur/Sponge Iron Composite Fillers Based on Denitrification	FAN Jun-hui, HAO Rui-xia, LI Meng, <i>et al.</i> (4275)
Optimization of Denitrifying Phosphorus Removal Performance Based on ABR-MBR Combined Process	CHENG Chao-yang, ZHAO Shi-hui, LÜ Liang, <i>et al.</i> (4282)
Effect of Moderate and Room Temperature on Nitrogen Removal in PN-ANAMMOX Process	YUAN Yan, ZHU Liang (4289)
Influence of Biological Activated Carbon on Simultaneous Nitrification and Denitrification in Inflow with Different C/N Ratios	CUI Yan-rui, QIU Xin, ZHANG Qing-rong, <i>et al.</i> (4296)
Biotransformation of Nitrate to Nitrogen Gas Driven by ANAMMOX Microbes via Zero-valent Iron Under Anaerobic Conditions	ZHOU Jian, WANYAN De-qing, HUANG Yong, <i>et al.</i> (4302)
A Comparative Study on Performance of an Intermittent Aeration SBR and a Traditional SBR for Treatment of Digested Piggyery Wastewater	DONG Bao-gang, SONG Xiao-yan, LIU Rui, <i>et al.</i> (4309)
Biological Pre-treatment of Surplus Sludge Using the Protease-secreting Bacteria	HE Pin-jing, WANG Ying, HU Jie, <i>et al.</i> (4317)
Transfer and Fate of Polybrominated Diphenyl Ethers in an Electrical Equipment Dismantling Area Using a Multimedia Fugacity Model	XUE Nan-dong, CHEN Xuan-yu, YANG Bing, <i>et al.</i> (4326)
Distribution Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Media in Nanning City	MIAO Ying, KONG Xiang-sheng (4333)
PBDEs Levels in House Dust and Human Exposure to PBDEs via Dust Ingestion in Hangzhou	JIN Man-tong, TENG Dan-dan, ZHENG Yan-xia, <i>et al.</i> (4341)
Evaluating Biochar-Water Sorption Coefficients of Pharmaceutically Active Compounds by Using a Linear Free Energy Relationship	WANG Jia-yi, BI Er-ping (4349)
Characteristics of Bacterial Communities in Surface-flow Constructed Wetlands	WEI Jia-ming, CUI Li-juan, LI Wei, <i>et al.</i> (4357)
Community Structure and Activity Analysis of the Nitrifiers in Raw Sewage of Wastewater Treatment Plants	YU Li-fang, DU Qian-qian, FU Xue-tao, <i>et al.</i> (4366)
Effects of Fertilization on Soil Microbial Abundance and Community Structure at DNA and cDNA Levels in Paddy Soils	WANG Cong, WU Ne, HOU Hai-jun, <i>et al.</i> (4372)
Effects of Bisphenol A on Characteristics of Paddy Soil Microbial Community Under Different Cultural Conditions	LIU Chang, HUANG Ya-dan, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (4380)
Identification of a Facultative Bacterium Strain with the Ability to Methylate Mercury Under Both Aerobic and Anaerobic Conditions	TAO Lan-lan, XIANG Yu-ping, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (4389)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Vegetable Soils in Beijing	ZHANG Lan-he, WANG Jia-jia, HA Xue-jiao, <i>et al.</i> (4395)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Sika Deer Farm	HUANG Fu-yi, AN Xin-li, CHEN Qing-lin, <i>et al.</i> (4402)
Comparison of Toxic Effect of Siliceous Mineral Dusts on Lung Epithelial A549 Cells	HUO Ting-ting, DONG Fa-qin, DENG Jian-jun, <i>et al.</i> (4410)
Effect of Adding Compound Adsorbent on Phenanthrene and Cr(VI) Absorption by Lou Soil	LI Wen-bin, MENG Zhao-fu, WU Qiong, <i>et al.</i> (4419)
Effect of Biochar on Adsorption Behavior of Nonylphenol onto Loess Soil in Northwest China	ZHANG Zhen-guo, JIANG Yu-feng, MU Zhong-feng, <i>et al.</i> (4428)
Soil Respiration in Response to Different Ridge/Furrow Ratios and Its Relationship with Soil Moisture and Temperature Under Ridge-Furrow Planting Patterns	WANG Chang-jiang, SHI Cheng-xiao, FENG Fan, <i>et al.</i> (4437)
Effects of Straw in Combination with Reducing Fertilization Rate on Soil Nutrients and Enzyme Activity in the Paddy-Vegetable Rotation Soils	HUANG Rong, GAO Ming, WAN Yi-lin, <i>et al.</i> (4446)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 赵进才

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明
赵进才 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2016年11月15日 第37卷 第11期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 11 Nov. 15, 2016

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	赵进才	Editor-in -Chief		ZHAO Jin-cai
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易集团有限公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行