

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,李迎晨,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)

梅花鹿养殖场抗生素抗性基因分布特征

黄福义¹, 安新丽^{1,2}, 陈青林^{1,2}, 任红云¹, 苏建强^{1*}

(1. 中国科学院城市环境研究所城市环境与健康重点实验室, 厦门 361021; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 梅花鹿养殖是近年来我国南方地区出现的新兴养殖业. 为探究梅花鹿养殖对养殖环境抗生素抗性基因的影响, 采用高通量荧光定量 PCR 研究了抗生素抗性基因在养殖场区对照土壤、梅花鹿新鲜粪便、梅花鹿粪便堆肥产物和施用堆肥菜地土壤中的分布、丰度和多样性. 结果表明, 抗性基因的绝对丰度梅花鹿粪便堆肥产物 > 梅花鹿新鲜粪便 > 施用堆肥菜地土壤 > 养殖场区对照土壤, 抗生素抗性基因在 4 种环境样品中具有不同分布格局; 梅花鹿养殖场环境中抗性基因丰度与可移动基因元件丰度显著相关 ($P < 0.05$), 表明可移动基因元件可能加快了抗性基因的水平转移过程, 促进了抗性基因的迁移、传播和富集, 加剧了养殖环境抗生素抗性基因污染.

关键词: 梅花鹿; 养殖环境; 抗生素; 抗生素抗性基因; 高通量定量 PCR

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)11-4402-08 DOI: 10.13227/j.hjcx.201605196

Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Sika Deer Farm

HUANG Fu-yi¹, AN Xin-li^{1,2}, CHEN Qing-lin^{1,2}, REN Hong-yun¹, SU Jian-qiang^{1*}

(1. Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Sika deer breeding is rapidly developing in South China during the recent years; however, the impact of sika deer breeding on the abundance and diversity of antibiotic resistance genes (ARGs) in sika deer farm remains elusive. In this study, profiles of ARGs were investigated using high-throughput qPCR technique. The results showed that the abundance of ARGs varied among different samples in the following order, deer manure composting > vegetable soil > pristine soil, and the profiles of ARGs in these samples were significantly different ($P < 0.05$). The abundance of ARGs was significantly correlated to that of mobile genetic elements (MGEs), implicating the potential of horizontal transfer of ARGs, which might accelerate the dissemination and enrichment of ARGs in the environment of sika deer farm.

Key words: sika deer; farm-associated environment; antibiotic resistance; antibiotic resistance genes; high-throughput qPCR

养殖业是我国农业的重要组成部分, 有力地推动了农村经济社会的发展. 抗生素具有促进禽畜生长、预防疾病的功能, 抗生素被当作有效的促生长剂和亚治疗剂在全球的养殖行业中被普遍使用^[1-3]. 2000 ~ 2010 年, 全球总的抗生素消费量增加了 36%, 其中巴西、俄罗斯、印度、中国和南非这五国贡献了全球增长量的 76%^[4], 表明发展中国家的抗生素使用量迅速攀升. 2013 年我国抗生素总使用量约为 16.2 万 t, 其中人用抗生素占到总量的 48%, 其余为兽用抗生素^[5]. 一直以来, 由于抗生素管控措施松散, 抗生素生产成本低, 民众对抗生素的科学认识不足, 抗生素在我国的医疗行业和养殖业存在着长期滥用和过度使用的现象, 促使抗生素抗性的进化过程大大加快, 导致抗生素耐药性的不断发展. 抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 的快速出现和扩散极大地影响了抗生素的治疗效果, 同时, 微生物群落存在水平基因转移机制 (horizontal genes transfer, HGT), 使得抗性基因可以在不同环境微生物间迁移传播^[6, 7], 人类可能面临

着无药可用的局面^[8]. 有研究表明, 在不同环境介质中, 例如施用城市污泥土壤^[9]、城市河流^[10]、施用猪粪水稻土^[11], 甚至城市自来水^[12] 都有抗生素抗性基因检出. 环境抗生素抗性基因污染日趋严重^[13], 进而可能对人类健康和福祉造成潜在的威胁, 被认为是一种新型环境污染物质^[14]. 世界卫生组织 (WHO) 在 2015 年 11 月 16 ~ 22 日开展了首个世界提高抗生素认识周 (World Antibiotic Awareness Week) 相关活动, 并把活动周主题定为: 慎重对待抗生素 (Antibiotics: Handle With Care).

梅花鹿养殖是福建省近年来调整农村经济产业结构, 转变农村经济发展方式而出现的新兴养殖业. 虽然梅花鹿疾病抵抗能力较强, 但当梅花鹿发生巴氏杆菌病、溶血性大肠杆菌病等细菌感染疾病时,

收稿日期: 2016-05-26; 修订日期: 2016-06-16

基金项目: 国家重点研发计划重点专项 (2016YFD0800205); 国家自然科学基金项目 (31270153); 国家自然科学基金国际 (地区) 合作交流项目 (21210008)

作者简介: 黄福义 (1987 ~), 男, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为环境抗生素抗性基因污染, E-mail: fyhuang@iue.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: jqsu@iue.ac.cn

也需注射抗生素进行治疗^[15, 16]。在南方地区,梅花鹿养殖业作为一种新兴的养殖业,可能产生的新型环境污染(抗生素抗性基因)目前还没有相关研究,因此开展梅花鹿养殖环境抗生素抗性基因的研究显得十分必要。

本研究采用高通量荧光定量 PCR (high-throughput qPCR, HT-qPCR) 技术,对福建省连城县某梅花鹿养殖场区对照土壤、梅花鹿新鲜粪便、梅花鹿粪便堆肥产物和施用堆肥菜地土壤中的抗生素抗性基因的丰度和多样性进行分析,以期对南方地区梅花鹿养殖业可能造成的抗生素抗性基因污染增加科学认识,提高梅花鹿养殖场的科学养殖水平,以期为梅花鹿养殖业潜在环境健康风险评估与行业管理者决策提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 样品采集及处理

采样地点位于福建省连城县某梅花鹿养殖场。

梅花鹿粪便与梅花鹿食用剩下的牧草、秸秆等形成的混合物从饲养区被清扫出来后,直接在梅花鹿粪便堆肥区进行堆肥。由于梅花鹿堆肥产物有肥效持久和肥力温和的特点,堆肥产物主要出售给周围的果园农场,用于果树的根系施肥,小部分作为养殖场内小菜园(主要种植玉米和地瓜,玉米秆和地瓜藤又作为青饲料喂给梅花鹿)的有机肥。养殖场区有明显的功能分区,是一个小型的养殖农场(图 1)。该梅花鹿养殖场建于 2015 年 2 月,截至 2016 年 5 月该养殖场梅花鹿存栏量为 220 头。本实验采集了养殖场区对照土壤 (pristine soil, PS)、梅花鹿新鲜粪便 (deer manure, DM)、梅花鹿粪便堆肥产物 (deer manure composting, DC) 和施用堆肥菜地土壤 (vegetable soil, VS), 每种样品采集了约 500 g, 每个采样点 3 个采样重复。所采集的样品放置于低温采样箱,迅速运回实验室 -20℃ 冰箱中保存,用于环境样品的 DNA 提取。此外用称重法测定了所采集样品的含水率。



图 1 梅花鹿养殖场鸟瞰示意

Fig. 1 Sketch of sika deer farm

1.2 样品 DNA 提取

所采集的样品用 FastDNA[®] Spin Kit for Soil 试剂盒 (MP Biomedicals, 美国) 进行总 DNA 的提取。其中,养殖场区对照土壤样品称取约 0.5 g, 其它样品称取约 0.15 g 分别添加到试剂盒中的 Lysing Matrix E tube, 按照生产商提供的方法提取样品的总 DNA, DNA 洗脱体积为 100 μ L, 然后用 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳验证。样品所提取的 DNA 样品用 QuantiFluor[®] dsDNA System (Promega Corporation, 美国) 试剂盒测定双链 DNA 浓度。最后, 所得到 DNA 样品置于 -20℃ 冰箱保存。

1.3 核糖体 16S rRNA 基因荧光定量 PCR

本实验采用 Roche 480 II 定量 PCR 仪 (Roche, 美国) 测定所有样品的 16S rRNA 基因, 并采用标准质粒外标法对样品的丰度进行绝对定量^[17]。所制备的标准质粒浓度为 1.68×10^{10} copies \cdot L⁻¹, 标准曲线 (10 倍稀释) 的浓度范围为 $1.68 \times 10^3 \sim 1.68 \times 10^9$ copies \cdot L⁻¹。

PCR 反应体系为 20 μ L, 包括 10 μ L 的 2 \times LightCycler 480 SYBR[®] Green I Master Mix (Roche, 美国), 1 μ L 的 DNA 模板, 各 1 μ L 的上下游引物 (10μ mol \cdot L⁻¹), 7 μ L 灭菌超纯水。PCR 反应运行

条件为: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 15 s, 总共 40 个循环; 仪器程序自动添加熔解曲线程序进行分析. 用灭菌的超纯水代替样品进行阴性对照实验, 每个样品均做 3 次技术重复实验.

1.4 抗生素抗性基因高通量定量 PCR

采用 SmartChip Real-Time PCR Systems (WaferGen Inc., 美国) 高通量荧光定量反应平台. 研究中所采用的 293 对引物在相关的研究中被有效验证过^[18]. 此外另外添加了 1 对用于检定超级细菌的抗性基因 *bla*NDM-1 的引物^[19]; 1 对 *intI1* 整合子基因 (class 1 integron) 引物^[20] 和 1 对 *CintII* 临床医学意义上的整合子基因 (clinical class 1 integron) 引物^[21], 这两个整合子基因用于分析研究抗性基因的水平基因转移情况.

高通量 PCR 扩增反应体系为 100 nL. 反应体系中各试剂的终浓度为: 1 × 的 LightCycler 480 SYBR® Green I Master Mix (Roche, 美国), nuclease-free PCR-grade water, 1 ng·μL⁻¹ 的 BSA, 2 ng·μL⁻¹ 的 DNA 模板, 1 μmol·L⁻¹ 的上下游引物. 高通量 PCR 反应条件为: 95℃ 预变性 10 min; 95℃ 变性 30 s, 60℃ 退火延伸 30 s, 总共 40 个循环; 仪器程序自动升温进行熔解曲线分析. 高通量定量 PCR 每个 SmartChip 芯片都有不添加 DNA 模板 (用灭菌超纯水替代) 的阴性对照. qPCR 反应得到的数据通过 Cycler 预先设定的筛选条件 (PCR 扩增效率介于 1.8 ~ 2.2) 进行导出. 根据 SmartChip Real-Time PCR Systems 的灵敏度和精确度, 确定循环次数 C_T 值为 31 时作为仪器的检测限. 每个样品进行 3 次技术重复实验, 当 3 次技术重复都被扩增出来时认为是阳性扩增, 3 个采样平行样品都是阳性扩增时, 认为样品的目的基因被有效检出.

1.5 数据分析

高通量定量 PCR 基因的相对拷贝数 (relative copy number) 参照 Looft 等^[22] 的方法, 用公式 (1) 进行计算. 将高通量定量 PCR 得到的 16S rRNA 基因的相对拷贝数与 Roche 荧光定量 PCR 得到的 16S rRNA 基因绝对拷贝数 (absolute copy number) 进行 Pearson 线性拟合, 两者极显著相关 ($r = 0.96$, $P < 0.01$), 线性较好. 因此用公式 (2) 可以转化得到抗生素抗性基因的绝对丰度.

基因的相对拷贝数 = $10^{[(31-C_T)/(10/3)]}$ (1)
 抗性基因的绝对丰度 = 抗性基因的相对拷贝数 ÷ 16S rRNA 基因的相对拷贝数 × 16S rRNA 基因的绝

对拷贝数 (2)

高通量定量 PCR 的数据采用 Excel 2010 进行计算, OriginPro 9.0 进行相关作图, 采用 R 3.0.0 (The R Project for Statistical Computing, Vienna, Austria) vegan 数据包进行 PCA 分析以及 pheatmap 数据包进行热图分析^[23].

2 结果与讨论

2.1 梅花鹿养殖环境抗性基因的多样性

养殖场区对照土壤 (PS)、梅花鹿新鲜粪便 (DM)、梅花鹿粪便堆肥产物 (DC) 和施用堆肥菜地土壤 (VS) 这 4 种养殖环境样品分别检测到 21、120、98 和 106 种抗生素抗性基因 (图 2). 根据抗性基因相对应的抗生素类型, 抗生素抗性基因可以分为八大类: 氨基糖苷类抗生素 (Aminoglycoside)、β-内酰胺类抗生素 (β-Lactamase)、氟喹诺酮类/氯霉素类/胺酰醇抗生素类 (FCA)、大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类抗生素 (MLSB)、其它类/发挥外排泵作用 (other/efflux) 抗生素、磺胺类抗生素 (Sulfonamide)、四环素类抗生素 (Tetracycline) 和万古霉素类抗生素 (Vancomycin). 梅花鹿新鲜粪便 (DM)、梅花鹿粪便堆肥产物 (DC) 和施用堆肥菜地土壤 (VS) 在检测出的抗性基因种类组成上具有相似性, 检测出的抗性基因种类数均显著 ($P < 0.05$) 高于养殖场区对照土壤 (PS). 前三者检测出了涵盖前述的八大类抗性基因, 而养殖场区对照土壤 (PS) 未检测出磺胺类抗性基因和万古霉素类抗性基因. 磺胺类抗生素是一种广谱抗生素, 同时具有价格低廉, 性质稳定的特点在养殖业中被广泛使用^[24, 25], 万古霉素被认为是治疗危重病人最后一道防线的抗生素药物^[26], 磺胺类和万古霉素类抗性基因的出现, 表明梅花鹿养殖过程中可能使用了相应类型的抗生素, 具有潜在的环境健康风险. 抗生素抗性基因按照抗性机制可以分成抗生素失活 (deactivation)、外排泵作用机制 (efflux)、核糖体保护机制 (protection) 三大类. 将检测到的抗生素抗性基因按照抗生素抗性机制进行归类分析, 抗生素失活 (deactivation) 和外排泵作用机制 (efflux) 是养殖场土壤环境中抗生素抗性两种最主要机制, 比例分别为 47.83% 和 28.41% (图 2).

通过 venn 图可以进一步分析检测到的抗性基因在不同样品之间的相互关系 (图 3). 共有 18 种抗性基因在所有样品中被检出, 占有检测到基因的 12.2%, 主要是氨基糖苷类抗性基因

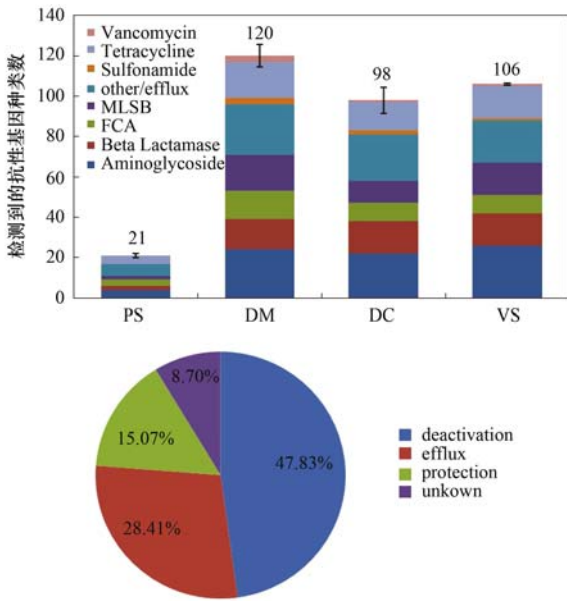


图2 抗生素抗性基因的种类

Fig. 2 Profiles of detected antibiotic resistance genes

(Aminoglycoside). 梅花鹿新鲜粪便 (DM) 和梅花鹿粪便堆肥产物 (DC) 检测到了 82 种相同的抗性基因, 占有所有检出抗性基因的比例为 55.7%, 其中共有 77 种抗生素抗性基因也存在于施用堆肥菜地土壤 (VS), 表明梅花鹿粪便及其堆肥施用对养殖环境抗生素抗性基因有直接的影响。

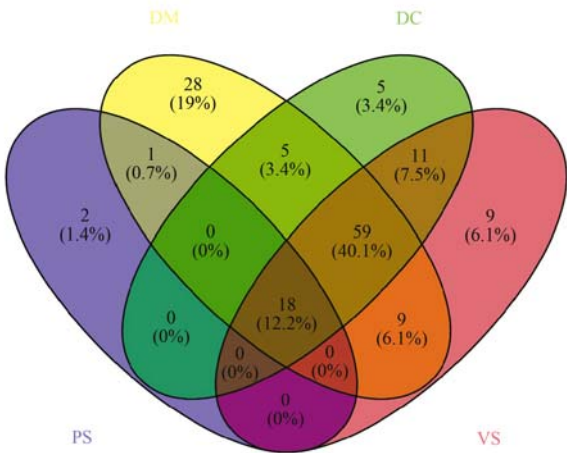


图3 抗生素抗性基因韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of antibiotic resistance genes

梅花鹿新鲜粪便及其堆肥产物、施用堆肥菜地土壤抗生素抗性基因相对于对照土壤具有更复杂的多样性, 梅花鹿养殖活动显著改变了养殖场环境土壤中的抗性基因种类组成 ($P < 0.05$)。此外, 梅花鹿是一种杂食性食草动物, 疾病抵抗力较强, 使用的抗生素种类和剂量远小于生猪养殖业, 但仍可以检测出超过 120 种抗性基因, 表明粪便是抗性基因的

重要来源, 并不一定跟抗生素滥用有关。

2.2 梅花鹿养殖环境抗生素抗性基因的丰度

梅花鹿养殖环境各样品抗生素抗性基因的绝对丰度可以达到 $10^6 \sim 10^{12}$ copies \cdot g⁻¹, 除对照土壤样品外, 各类型的抗性基因丰度可达 $10^9 \sim 10^{12}$ copies \cdot g⁻¹, 对照土壤样品总体上要比其它 3 种土壤样品低 3 个数量级 (图 4)。其中, 四环素类抗性基因呈现出最高丰度 ($1.68 \times 10^7 \sim 1.47 \times 10^{12}$ copies \cdot g⁻¹), 万古霉素类抗性基因呈现最低丰度 ($0 \sim 2.35 \times 10^9$ copies \cdot g⁻¹)。相较于对照土壤样品, 其它 3 种样品的可移动基因元件丰度高出了约 4 个数量级, 说明养殖环境可能存在高频率的抗性基因水平转移。养殖环境 4 种样品的八大类抗性基因和可移动基因元件的绝对丰度总体上具有相似分布趋势 (图 4), 梅花鹿粪便堆肥产物 (DC)、梅花鹿新鲜粪便 (DM)、施用堆肥菜地土壤 (VS)、养殖场区对照土壤 (PS) 的丰度依次递减, 表明梅花鹿新鲜粪便是养殖场区抗性基因的最重要来源, 而且堆肥产物的抗性基因的丰度增加, 这与 Su 等的研究结果一致 [27]。相较于对照土壤样品, 施用堆肥菜地土壤各类抗生素抗性基因和可移动基因元件都显著增加, 表明梅花鹿养殖活动改变了养殖环境土壤抗性基因的丰度。

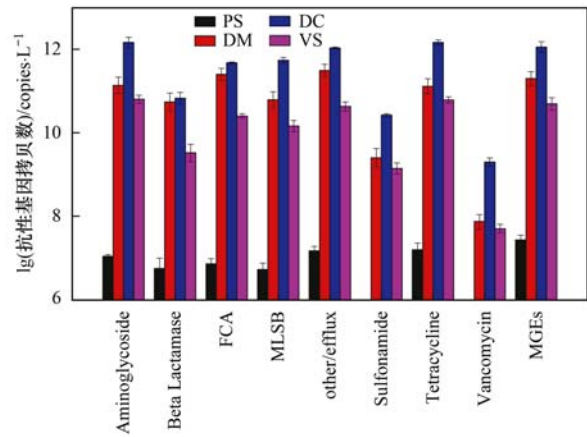


图4 抗生素抗性基因的绝对丰度

Fig. 4 Absolute abundance of antibiotic resistance genes

Klappenbach 等 [28] 的研究表明, 基于 rRNA 数据库, 每个细菌约有 4.0 个 rRNA 基因的拷贝。因此, 为了更好地评估养殖环境土壤中抗性基因的相对丰度, 将所有的抗性基因丰度均归一化到单个细菌水平 (图 5)。总体上, 梅花鹿粪便堆肥产物 (DC) 具有最高的归一化的抗生素抗性基因和可移动基因元件丰度, 分别达 6.72 copies \cdot cell⁻¹ 和 1.50 copies \cdot cell⁻¹ 把整个梅花鹿养殖场 (对照土壤除外) 环境看成一个整体, 那么

抗生素抗性基因和可移动基因元件的归一化丰度分别为 $4.77 \text{ copies} \cdot \text{cell}^{-1}$ 和 $1.08 \text{ copies} \cdot \text{cell}^{-1}$, 显著高于对照土壤样品中的 $1.22 \text{ copies} \cdot \text{cell}^{-1}$ 和 $0.55 \text{ copies} \cdot \text{cell}^{-1}$. 这也从另外一个角度证明了养殖环境微生物群落中抗性基因发生了显著富集并且具有很高的水平基因转移潜力.

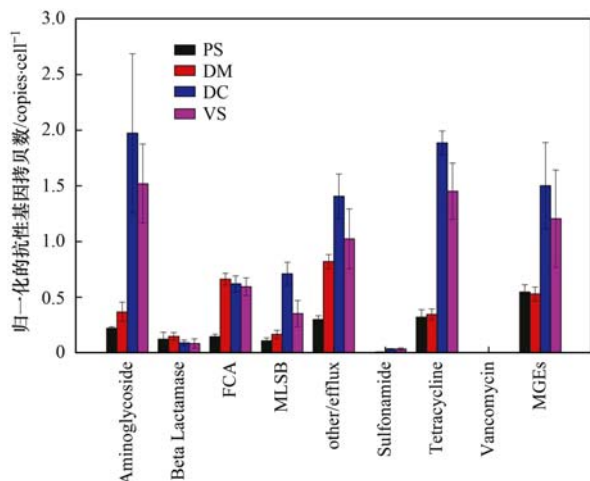


图5 归一化的抗生素抗性基因丰度

Fig. 5 Normalized abundance of antibiotic resistance genes

2.3 梅花鹿养殖环境抗生素抗性基因的分布格局

主成分分析表明, 养殖场区对照土壤(PS)、梅花鹿新鲜粪便(DM)、梅花鹿粪便堆肥产物(DC)和施用堆肥菜地土壤(VS)这4种环境样品抗生素抗性基因分布格局不同(图6). PCA1轴上(解释量60.1%), 梅花鹿新鲜粪便(DM)、梅花鹿粪便堆肥产物(DC)和施用堆肥菜地土壤(VS)这3种样品与养殖场区对照土壤(PS)样品明显分开. 经mrpp、adonis、anosim显著性分析表明, 养殖场区对照土壤(PS)与其它3种环境样品抗生素抗性基因分布格局呈显著性差异($P < 0.05$). 此外, 养殖环境4种样品当中, 梅花鹿粪便堆肥产物(DC)和施用堆肥菜地土壤(VS)在抗性基因分布结构上最为接近, 表明施用堆肥对菜地土壤抗性基因有直接影响.

抗生素抗性基因聚类热图可以进一步分析梅花鹿养殖环境抗性基因的分布格局及其具体差异(图7). 聚类结果与主成分分析结果一致, 具体到不同抗性基因类型在不同的样品中又有着独特的分布格局特征. A簇代表着在梅花鹿新鲜粪便中检测到的并且丰度较高的 *tnpA-02* (可移动基因元件)、*acrA* (多重抗性基因)等基因. B簇代表的是养殖场4种环境样品中都存在, 并且在梅花鹿新鲜粪便及其堆

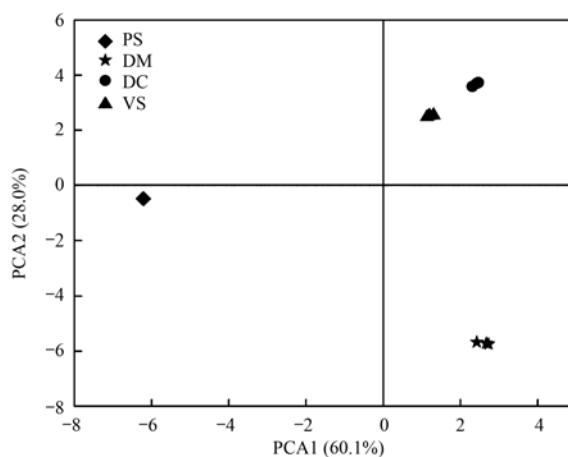


图6 梅花鹿养殖环境抗性基因主成分分析

Fig. 6 Principle component analysis of ARGs in sika deer farm

肥产物、菜地土壤样品中存在着丰度较高的抗性基因, 主要是 *tetQ*、*tetR*、*tetX*、*aadA1* 等抗性基因和 *tnpA-05*、*int11* 和 *Cint11* 等可移动元件, 表明四环素类抗性基因、氨基糖苷类抗性基因具有一定的环境本底值, 抗性基因即使在未受人类活动影响的对照土壤也可以检测到, 表明此类抗性基因是一种古老的并存在于大自然环境中^[29]. 结合图4从丰度上来看, 梅花鹿粪便堆肥产物(DC) > 梅花鹿新鲜粪便(DM) > 施用堆肥菜地土壤(VS) > 养殖场区对照土壤(PS), 这与热图结果具有一致性. 由于梅花鹿新鲜粪便四环素类抗性基因、氨基糖苷类抗性基因和可移动基因元件本身丰度较高, 并可能在 *tnpA-05*、*int11* 和 *Cint11* 等可移动基因元件存在的情况下加快抗性基因的基因水平转移(HGT), 进而促进了抗生素抗性基因在养殖环境中的进一步传播、富集和演化. C簇是在养殖场区对照土壤中未检出, 但在其它3种样品中被有效检出, 并且抗性基因丰度较高的抗生素抗性基因类型, 主要包含了 *ermC*、*aadD*、*blaMP* (分别属于MLSb类、氨基糖苷类、 β -内酰胺类抗生素)等抗性基因, 表明养殖过程中可能使用了相应的抗生素. 梅花鹿养殖活动显著改变了养殖环境的抗生素抗性基因的分布格局, 养殖场抗生素抗性基因污染加剧.

2.4 抗生素抗性基因与可移动元件的关系

抗生素抗性基因的绝对丰度和归一化的丰度以及抗性基因的热图分析都表明抗性基因与可移动元件可能存在着相关关系. 因此, 统计了各类抗生素抗性基因的绝对丰度和可移动元件的 Pearson 相关性(表1).

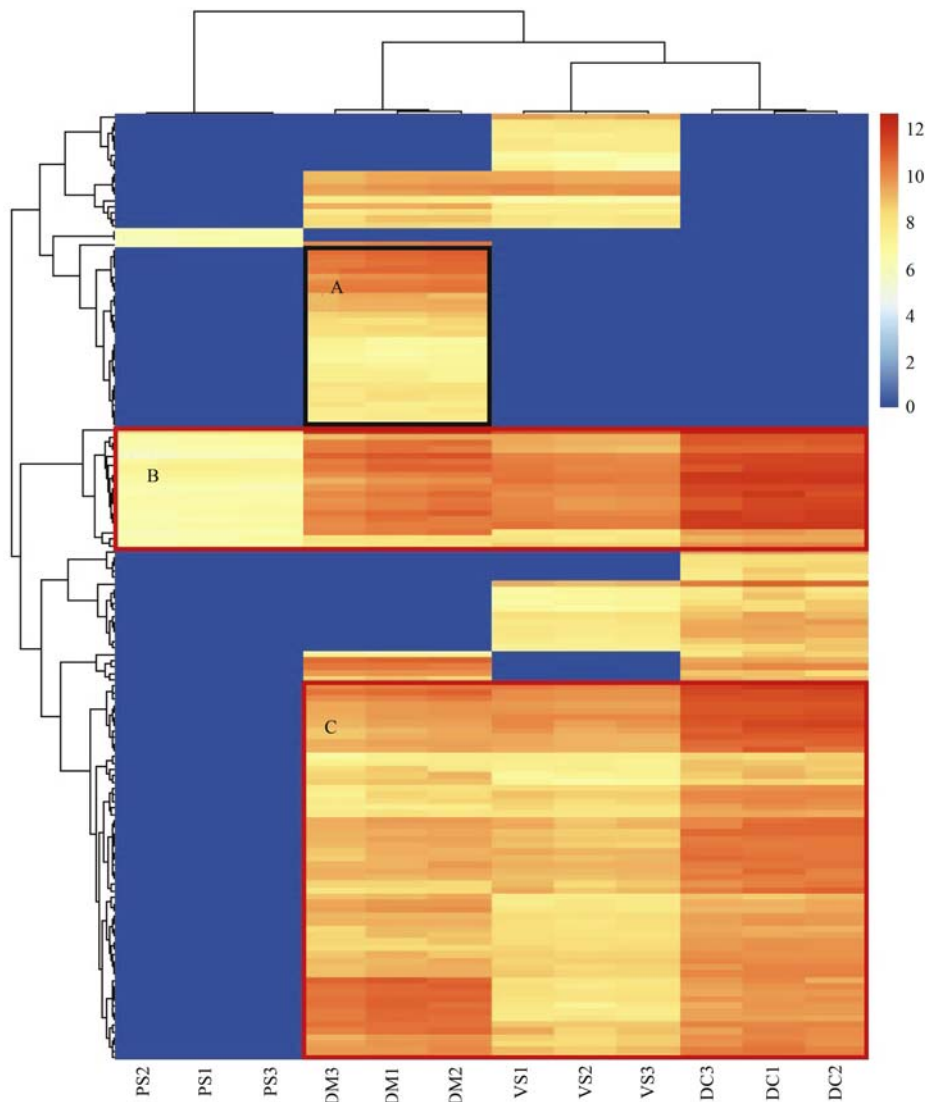


图7 梅花鹿养殖环境抗性基因丰度聚类热图

Fig. 7 Pheatmap of ARGs in sika deer farm

表1 抗生素抗性基因与可移动基因元件的相关性¹⁾

Table 1 Correlation analysis between ARGs and MGEs

ARGs	MGEs	拟合线性方程
Aminoglycoside	0.950 6 **	$y = 1.2919x - 3.0774 \times 10^{10}$
Beta Lactamase	0.592 6	
FCA	0.776 2	
MLSB	0.983 6 **	$y = 0.4663x - 8.4261 \times 10^9$
other/efflux	0.953 5 **	$y = 0.8601x - 5.5535 \times 10^{10}$
Sulfonamide	0.943 1 *	$y = 0.02122x + 1.5624 \times 10^8$
Tetracycline	0.957 5 **	$y = 1.2248x - 2.0087 \times 10^{10}$
Vancomycin	0.740 2	

1) * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$

相关研究表明,四环素类、磺胺类抗生素抗性基因与一些新型的可移动元件有关^[30, 31]。梅花鹿养殖环境氨基糖苷类(Aminoglycoside)、大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素B类(MLSB)、其它类/

发挥外排泵作用(other/efflux)抗生素和四环素类抗生素(Tetracycline)分别与可移动基因元件(MGEs)具有极显著的正相关关系($P < 0.01$),进一步表明了可移动基因元件可能加快这些抗生素抗性基因在土壤环境的迁移、传播和富集过程。抗生素抗性基因在梅花养殖场环境的变化是人类养殖活动和土壤环境微生物共同作用的结果。微生物群落的各种抗性基因之间可能存在着连锁效应、协同选择和进化的关系,需要采用宏基因组测序等方法,对微生物群落结构与抗性基因多样性及其演变开展进一步相关研究。

3 结论

抗生素抗性基因在梅花鹿养殖场不同环境样品

中具有不同的分布格局,其中抗性基因丰度梅花鹿粪便堆肥产物(DC) > 梅花鹿新鲜粪便(DM) > 施用堆肥菜地土壤样品(VS) > 养殖场区对照土壤(PS),梅花鹿养殖导致养殖环境土壤中抗性基因的丰度和多样性显著增加;抗性基因与可移动基因元件丰度存在显著的线性相关关系,表明可移动基因元件可能促进了抗性基因的水平转移,加剧了养殖环境抗生素抗性基因污染。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] Zhao L, Dong Y H, Wang H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China [J]. *Science of the Total Environment*, 2010, **408**(5): 1069-1075.
- [3] Ghosh S, LaPara T M. The effects of subtherapeutic antibiotic use in farm animals on the proliferation and persistence of antibiotic resistance among soil bacteria [J]. *The ISME Journal*, 2007, **1**(3): 191-203.
- [4] Van Boeckel T P, Gandra S, Ashok A, *et al.* Global antibiotic consumption 2000 to 2010; an analysis of national pharmaceutical sales data [J]. *The Lancet Infectious Diseases*, 2014, **14**(8): 742-750.
- [5] Zhang Q Q, Ying G G, Pan C G, *et al.* Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(11): 6772-6782.
- [6] Ochman H, Lawrence J G, Groisman E A. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation [J]. *Nature*, 2000, **405**(6784): 299-304.
- [7] De La Cruz F, Davies J. Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria [J]. *Trends in Microbiology*, 2000, **8**(3): 128-133.
- [8] 袁经松, 方菁. 我国细菌对抗生素耐药性监测的研究进展 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2015, **25**(4): 605-608.
- [9] Chen Q L, An X L, Li H, *et al.* Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil [J]. *Environment International*, 2016, **92-93**: 1-10.
- [10] Ouyang W Y, Huang F Y, Zhao Y, *et al.* Increased levels of antibiotic resistance in urban stream of Jiulongjiang River, China [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, **99**(13): 5697-5707.
- [11] 黄福义, 李虎, 韦蓓, 等. 长期施用猪粪水稻土抗生素抗性基因污染研究 [J]. *环境科学*, 2014, **35**(10): 3869-3873.
Huang F Y, Li H, Wei B, *et al.* Long-term manure application induced shift of diversity and abundance of antibiotic resistance genes in paddy soil [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(10): 3869-3873.
- [12] Xu L K, Ouyang W Y, Qian Y Y, *et al.* High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in drinking water treatment plants and distribution systems [J]. *Environmental Pollution*, 2016, **213**: 119-126.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] 刘守振, 任志华, 杨康, 等. 一起梅花鹿巴氏杆菌病的诊治 [J]. *畜牧与兽医*, 2011, **43**(10): 106-107.
- [16] 陶福军. 西丰县某养鹿场梅花鹿溶血性大肠杆菌病的诊疗 [J]. *山东畜牧兽医*, 2011, **32**(3): 64-65.
- [17] 李丽, 赵成萍, 李宏, 等. 质粒制备绝对定量 PCR 标准曲线方法的建立 [J]. *农业生物技术学报*, 2011, **19**(6): 1157-1162.
Li L, Zhao C P, Li H, *et al.* Establishment of the plasmid standard curve generation method for absolute quantification PCR [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2011, **19**(6): 1157-1162.
- [18] 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.
- [19] Ahammad Z S, Sreekrishnan T, Hands C L, *et al.* Increased waterborne *bla*_{NDM-1} resistance gene abundances associated with seasonal human pilgrimages to the Upper Ganges River [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(5): 3014-3020.
- [20] Stokes H W, Nesbø C L, Holley M, *et al.* Class 1 integrons potentially predating the association with Tn402-like transposition genes are present in a sediment microbial community [J]. *Journal of Bacteriology*, 2006, **188**(16): 5722-5730.
- [21] Gillings M R, Gaze W H, Pruden A, *et al.* Using the class 1 integron-integrase gene as a proxy for anthropogenic pollution [J]. *The ISME Journal*, 2015, **9**(6): 1269-1279.
- [22] Looft T, Johnson T A, Allen H K, *et al.* In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, **109**(5): 1691-1696.
- [23] R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing [R]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2011.
- [24] Jia A, Hu J Y, Wu X Q, *et al.* Occurrence and source apportionment of sulfonamides and their metabolites in Liaodong Bay and the adjacent Liao River Basin, North China [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, **30**(6): 1252-1260.
- [25] 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.
- [26] Osmon D R, Berbari E F, Berendt A R, *et al.* Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2013, **56**(1): e1-e25.

- [27] Su J Q, Wei B, Ouyang W Y, *et al.* Antibiotic resistome and its association with bacterial communities during sewage sludge composting[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49** (12): 7356-7363.
- [28] Klappenbach J A, Saxman P R, Cole J R, *et al.* rrndb: the ribosomal RNA operon copy number database[J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, **29**(1): 181-184.
- [29] D'Costa V M, King C E, Kalan L, *et al.* Antibiotic resistance is ancient[J]. *Nature*, 2011, **477**(7365): 457-461.
- [30] Bunny K L, Hall R M, Stokes H W. New mobile gene cassettes containing an aminoglycoside resistance gene, *aacA7*, and a chloramphenicol resistance gene, *catB3*, in an integron in *pBWH301*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1995, **39**(3): 686-693.
- [31] Ciric L, Mullany P, Roberts A P. Antibiotic and antiseptic resistance genes are linked on a novel mobile genetic element: *Tn6087*[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2011, **66** (10): 2235-2239.

《环境科学》编辑部关于启用编辑信息管理系统公告

《环境科学》编辑部已经开通本刊网站并启用编辑信息管理系统(网站地址:<http://www.hjcx.ac.cn>)。该系统能实现在线投稿、在线审稿、期刊浏览检索等功能,欢迎广大作者、读者和审稿专家使用。目前我刊所有来稿都通过网站编辑信息管理系统进行。作者使用编辑信息管理系统投稿时请先进行注册,注册完毕后以作者身份登录,按照页面上给出的提示投稿即可。如果您在使用过程中有问题,请及时与我刊编辑部联系。

邮政地址:北京市海淀区双清路18号《环境科学》编辑部

邮 编:100085

电 话:010-62941102,010-62849343

传 真:010-62849343

E-mail:hjcx@rcees.ac.cn

网 址:www.hjcx.ac.cn

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