

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.5
第40卷 第5期

目次

2016年10~11月期间北京市大气颗粒物污染特征与传输规律	张晗宇,程水源,姚森,王晓琦,张俊峰(1999)
餐饮排放有机颗粒物的质量浓度、化学组成及排放因子特征	王红丽,景盛翱,乔利平(2010)
泰山顶(1534 m)夏季气溶胶粒径分布特征	沈利娟,王红磊,银燕,陈魁,陈景华,施双双(2019)
郑州-新乡冬季PM _{2.5} 中元素浓度特征及其源分析	闫广轩,张朴真,黄海燕,高雅,张靖雯,宋鑫,张佳羽,李怀刚,曹治国,姜继韶,樊静,王跃思,金彩霞(2027)
我国PM _{2.5} 浓度分阶段改善目标情景分析	贺晋瑜,燕丽,王彦超,雷宇,汪旭颖(2036)
安阳市典型工业源PM _{2.5} 排放特征及减排潜力估算	杜小申,燕丽,贺晋瑜,汪旭颖,王克,张瑞芹(2043)
郑州市典型工业炉窑细颗粒物排放特征及清单	赵庆炎,韩士杰,张轶舜,杨留明,张瑞芹,燕启社(2052)
2015年南京市城区挥发性有机物组成特征及大气反应活性	乔月珍,陈凤,赵秋月,刘倩(2062)
兰州市化石燃料燃烧源排放VOCs的臭氧及二次有机气溶胶生成潜势	刘镇,朱玉凡,郭文凯,刘晓,陈强(2069)
12种常见落叶果树BVOCs排放清单和排放特征	李双江,袁相洋,李琦,冯兆忠(2078)
我国典型陆地生态系统水化学离子特征及空间分布	黄丽,张心昱,袁国富,朱治林,唐新斋,孙晓敏(2086)
我国典型区域地表水环境中抗生素污染现状及其生态风险评价	刘昔,王智,王学雷,李珍,杨超,厉恩华,位慧敏(2094)
我国七大流域水体多环芳烃的分布特征及风险评价	范博,王晓南,黄云,李霖,高祥云,李雯雯,刘征涛(2101)
大连海域入海污染源中PFASs的赋存、输入通量和季节特征	陈虹,韩建波,张灿,程嘉熠(2115)
干旱内陆河流域降水稳定同位素的时空特征及环境意义	袁瑞丰,李宗省,蔡玉琴,邹海明(2122)
柳林泉域岩溶地下水区域演化规律及控制因素	黄奇波,覃小群,刘朋雨,程瑞瑞,李腾芳(2132)
崇左响水地区岩溶地下水主要离子特征及控制因素	周巾枚,蒋忠诚,徐光黎,覃小群,黄奇波,张连凯(2143)
三峡水库水体溶解磷与颗粒磷的输移转化特征分析	秦延文,韩超南,郑丙辉,马迎群,杨晨晨,刘志超,张雷,赵艳民(2152)
三峡水库蓄水至175 m后干流沉积物磷蓄积特征及释放潜力	黎睿,潘婵娟,汤显强,肖尚斌,李青云,杨文俊(2160)
不同水期洞庭湖水体中磷分布特征及影响因素	李莹杰,王丽婧,李虹,欧阳美凤(2170)
巢湖十五里河沉积物磷平衡浓度对外源磷的响应及释放风险	李如忠,鲍琴,戴源(2178)
闽江上游溪流沉积物有机磷空间分布及其环境意义分析	徐健,袁旭音,叶宏萌,张晓辉,周慧华,韩年(2186)
生态工程综合治理系统对农业小流域氮磷污染的治理效应	蒋倩文,刘锋,彭英湘,王华,姚燃,李红芳,罗沛,刘新亮,吴金水(2194)
太湖流域河流沉积物重金属分布及污染评估	张杰,郭西亚,曾野,邓建才(2202)
三峡水库支流汝溪河口水体汞的时空变化特征	马尉斌,陈秋禹,尹德良,孙涛,王永敏,王定勇(2211)
多功能型城市人工湿地水体汞分布特征及其量变分析	刘伟豪,王永敏,樊宇飞,吕东威,王定勇(2219)
不同类型城市人工湿地水体汞的分布特征	樊宇飞,刘伟豪,孙涛,苑萌,吕东威,李先源,王永敏,王定勇(2226)
微塑料对河口沉积物抗生素抗性基因的影响	黄福义,杨凯,张子兴,苏建强,朱永官,张娟(2234)
上海市郊道路地表径流多环芳烃污染特征对比及源解析	吴杰,熊丽君,吴健,沙晨燕,唐浩,林匡飞,李大雁,沈城(2240)
异龙湖不同湖区浮游植物群落特征及其与环境因子的关系	王振方,张玮,杨丽,徐玉萍,赵凤斌,王丽卿(2249)
水库热分层期藻类水华与温跃层厌氧成因分析	刘雪晴,黄廷林,李楠,杨尚业,李扬,徐进,王涵玥(2258)
绿狐尾藻对铜绿微囊藻和羊角月牙藻的抑藻效应	毕业亮,吴诗敏,周思宁,吴尚华,宿辉,白志辉,徐圣君(2265)
紫外/亚硫酸钠还原降解三氯乙酰胺的效能	伏芝萱,郭迎庆,楚文海(2271)
UV降解水溶液中文拉法辛的影响因素及机制	吕娟,许志伟,王言(2278)
铝代水铁矿协同吸附砷的机制	黄博,郭朝晖,肖细元,彭驰,朱惠文,史磊,阳安迪(2287)
新型材料磁性氧化铁的除氟效能	方文侃,李小娣,方菁,吴德意(2295)
羧基改性阴极对微生物电合成系统产乙酸性能的影响机制	祁家欣,曾翠平,骆海萍,刘广立,张仁铎,卢耀斌(2302)
基于分区供氧与溶解氧调控的低C/N比污水短程硝化反硝化	吴春雷,荣懿,刘晓鹏,史会欣,章武首,金鹏康,马文伟(2310)
不同COD浓度下低基质厌氧氨氧化的启动特征	马艳红,赵智超,安芳娇,黄利,师晓娟,慕浩,陈永志(2317)
15℃SBBR短程硝化快速启动和稳定运行性能	孙艺齐,卞伟,李军,赵青,王文啸,梁东博,吴耀东(2326)
长期低聚磷条件对AO-SBR系统Accumulibacter代谢特性的影响	王少坡,李柱,赵乐丹,于静洁,赵明,郑胜达,孙力平(2333)
厌氧氨氧化颗粒污泥EPS及其对污泥表面特性的影响	杨明明,刘子涵,周杨,祁菁,赵凡,郭劲松,方芳(2341)
HN-AD菌生物强化接触氧化工艺处理猪场沼液	刘向阳,张千,吴恒,李宸,唐健泓,封丽,肖芃颖,赵天涛(2349)
温度对自养型同步脱氮工艺处理猪场废水厌氧消化液性能及微生物群落的影响	黄方玉,邓良伟,杨红男,杨含,肖友乾,王兰(2357)
城市污水处理系统真核微生物群落特性与地域性差异	秦文韬,张冰,孙晨翔,陈湛,文湘华(2368)
三江平原湿地开垦对土壤微生物群落结构的影响	王娜,高婕,魏静,刘颖,庄绪亮,庄国强(2375)
亚高山湖群中真菌群落的分布格局和多样性维持机制	刘晋仙,李鑫,罗正明,王雪,暴家兵,柴宝峰(2382)
生物质炭对双季稻田土壤反硝化功能微生物的影响	刘杰云,邱虎森,王聪,沈健林,吴金水(2394)
地膜覆盖和施肥对菜地CH ₄ 排放的影响	倪雪,江长胜,陈世杰,李晓茜,石孝均,郝庆菊(2404)
亏缺灌溉对冬小麦农田温室气体排放的影响	王晓云,蔡焕杰,李亮,徐家屯,陈慧(2413)
不同施肥模式对热区晚稻田CH ₄ 和N ₂ O排放的影响	田伟,伍延正,汤水荣,胡玉麟,赖倩倩,文冬妮,孟磊,吴川德(2426)
周期性变温对紫色土有机碳矿化的影响	曾蔓蔓,慈恩,樊晶晶,李江文,翁昊璐,李松(2435)
广西高镉异常区水田土壤Cd含量特征及生态风险评价	宋波,王佛鹏,周浪,吴勇,庞瑞,陈同斌(2443)
超富集植物藿香蓟(Ageratum conyzoides L.)对镉污染农田的修复潜力	张云霞,宋波,宾娟,周子阳,陈记玲,陈同斌(2453)
种植油菜麦评价多环芳烃污染土壤的农用风险	焦海华,郭佳佳,张婧旻,张晓霞,茹文明,白志辉(2460)
土壤重金属累积对土地利用与景观格局的响应	舒心,李艳,李锋,冯靖仪,沈嘉瑜,史舟(2471)
某区生活垃圾焚烧发电厂周边及厂区内土壤中重金属元素的污染特征及评价	吕占禄,张金良,陆少游,邹天森,刘凯,张晗,谷亚亚(2483)
《环境科学》征订启事(2018)	《环境科学》征稿简则(2042)
信息(2114, 2348, 2393)	

微塑料对河口沉积物抗生素抗性基因的影响

黄福义^{1,2}, 杨凯^{1,2}, 张子兴¹, 苏建强¹, 朱永官¹, 张娴^{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: 微塑料和抗生素抗性基因都是环境中的新兴污染物, 也是近年来的研究热点. 为探究微塑料对河口沉积物抗生素抗性基因的影响, 在沉积物中添加3种不同的微塑料进行培养实验, 主要采用高通量定量PCR方法研究河口沉积物抗性基因种类、丰度、多样性及其变化情况. 结果表明, 微塑料显著改变了沉积物中抗生素抗性基因结构组成, 两种难降解微塑料PVC和PE使得沉积物抗生素抗性基因组成结构显著改变, 而可溶性微塑料PVA使得沉积物抗生素抗性基因种类数显著减少; 添加PVC、PE和PVA微塑料的沉积物抗生素抗性基因的绝对丰度显著增加, 分别为 4.1×10^9 、 8.1×10^9 和 2.0×10^9 copies·g⁻¹, 添加PE微塑料的沉积物抗生素抗性基因丰度增加了近一个数量级, 微塑料显著增加了沉积物抗生素抗性基因的绝对丰度; OLS回归分析显示, 抗生素抗性基因丰度与转座子、整合子基因显著正相关, 表明可移动遗传元件可能促进了抗生素抗性基因的迁移、传播和扩散.

关键词: 微塑料; 抗生素; 超高通量定量PCR; 沉积物; 抗性基因(ARs)

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)05-2234-06 DOI: 10.13227/j.hj.kx.201810108

Effects of Microplastics on Antibiotic Resistance Genes in Estuarine Sediments

HUANG Fu-yi^{1,2}, YANG Kai^{1,2}, ZHANG Zi-xing¹, SU Jian-qiang¹, ZHU Yong-guan¹, ZHANG Xian^{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: Microplastics and antibiotic resistance genes (ARs) are emerging pollutants/contaminants, and are also the research hotspots concerning environmental health in the past few years. To explore the effects of microplastics on ARs in estuarine sediment, three different microplastics were added to microcosm incubation experiments of sediments. Then, we investigated the persistence, abundance, diversity, and shifts of the ARs in estuarine sediments by high-throughput quantitative polymerase chain reaction (PCR). The results showed that the microplastics significantly changed the structure of ARs in the sediments. PVC and PE, which are hard to degrade, had significant effects on the structures and types of ARs. However, the PVA, which is soluble, reduced the types and persistence of ARs significantly. The abundance of ARs in S_PVC, S_PE, and S_PVA were 4.1×10^9 , 8.1×10^9 , and 2.0×10^9 copies·g⁻¹, respectively. The abundance of ARs in sediments with added PE almost increased by one order of magnitude, implying that microplastics could significantly increase the abundance of ARs in sediments. Furthermore, OLS regression analysis showed that ARs are significantly correlated with transposon and integron, suggesting that mobile genetic elements (MGEs) may promote the transfer and dissemination of ARs.

Key words: microplastics; antibiotic; high-throughput qPCR; sediments; antibiotic resistance genes(ARs)

塑料及其制品在工业、农业等行业中被广泛使用, 日常生活中, 人类也离不开塑料的存在. 据报道, 全球每年的塑料使用量不少于2.4亿t^[1]. 微塑料(microplastics, MPs)是一种人工合成的尺寸小于5 mm的有机聚合物, 自然降解速度缓慢^[2], 并能够在环境中累积、迁移和扩散^[3]. 环境中微塑料的来源分为初级微塑料的直接排放和环境中各种大块塑料的分化降解这两种主要途径^[4]. 初级微塑料一般是指牙膏、护肤品等含有的细小的塑料微球; 而人类丢弃或排放的塑料, 在长期的物理、化学作用下会分解成更为微小的塑料碎片、塑料条带或塑料颗粒. 有研究表明, 洗衣机每洗一次衣服就产生至少1 900个微塑料^[1]. 城市污水中存在着大量的微塑料, 即使污水经过处理后, 污水中仍能检测出大量的微塑料^[5, 6]. 我国微塑料的污染比较严重, 东南沿海的闽江、瓯江和椒江的微塑料污染程度是

发达国家的30~50倍^[7].

有研究表明^[4, 8], 微塑料对环境健康的影响主要存在3种效应: 塑料中的着色剂、增塑剂等添加剂缓慢释放并直接污染自然环境; 微塑料表面易吸附疏水性的污染物, 并随着微塑料的迁移传播而扩散; 水体和土壤环境中, 微塑料可能会被生物摄食, 进而影响生物的生长繁殖发育, 并且这种危害可能随着食物链而放大.

抗生素在医疗领域拯救了无数的生命, 有力地保障了人类健康, 有效地增进了人类福祉^[9]. 此外, 抗生素具有疾病预防和促进禽畜生长的作用, 广泛应用于畜牧水产行业^[10, 11]. 长期以来, 抗生素

收稿日期: 2018-10-17; 修订日期: 2018-11-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(41807460, 21806161)

作者简介: 黄福义(1987~), 男, 博士研究生, 工程师, 主要研究方向为环境抗生素抗性, E-mail: fyhuang@iue.ac.cn

* 通信作者, E-mail: xzhang@iue.ac.cn

在医疗健康领域以及养殖行业中,存在着抗生素滥用和不合理使用现象,抗生素的效用不断下降,抗生素抗性(耐药性)的现象不断加重和蔓延^[12]. 人类活动的影响下,城市河水^[13],水稻土^[14],城市污水和垃圾渗滤液^[15],乃至地下水^[16],都检测出了多种抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs),表明抗生素和抗性基因潜在的生态环境风险亟待进一步研究.

微塑料的比表面积大,能够吸附解析有机污染物,重金属,并释放着色剂和增塑剂等^[4, 17],而且某些种类微塑料能够有效吸附抗生素^[18]. 微塑料复杂的表面结构,能够为微生物提供一个丰富和特异的生存环境,并形成一些特有的微生物群落^[19, 20]. 陆地环境中的微塑料随着径流雨水进入河流,沿海河口沉积物也检测出多种类型的微塑料^[21, 22],同时多种类型的抗生素抗性基因也在河口沉积物中被人类发现^[23]. 因此,入海河口沉积物是微塑料和抗生素抗性基因的热点区域,但是国内外关于微塑料对河口沉积物抗生素抗性基因的研究还很少. 本文采用微宇宙模拟培养方法,在河口沉积物中添加微塑料,采用高通量定量 PCR 方法研究抗生素抗性基因的种类、丰度、多样性和变化特征,探究微塑料对河口沉积物抗性基因的影响,以期治理河流海洋微塑料污染、遏制环境抗生素抗性基因传播和环境政策制定提供科学根据.

1 材料与方法

1.1 沉积物样品采集与实验室模拟培养

采样点位于厦门市同安区的西溪入海口. 西溪流域涵盖了同安区的老城区和新城区,是同安区最主要的人口聚集区和工业聚集区,受人类活动影响大. 2017 年 5 月退潮时段在西溪入海口采集获得新鲜沉积物后,置于低温采样箱保存并尽快运送回实验室,立即测定沉积物中的含水率,一部分沉积物放在 -20°C 冰箱长期冻存(用于 DNA 提取等),另一部分在 4°C 冷藏(用于后续培养实验).

PVC(聚氯乙烯)和 PE(聚乙烯)是世界上产量最大的两种塑料产品(前体),由于都是热塑性树脂,是具有多种优良性能的消费品,常常用于制造饮用水管、塑料袋等. PVA 是一种生物可降解高分子材料,具有较好的水溶解性,在食品、药品包装等方面具有独特优势. 3 个处理实验按照 2% 干重的比例分别单独添加 PVC、PE 和 PVA 这 3 种微塑料(经 100 目筛网过滤前处理). 培养体系净重为 500 g. 设置不添加微塑料的空白对照组 S_BLK 以及分别添加 3 种微塑料的处理组(S_PVC、S_PE 和

S_PVA),添加超纯水使得液面刚好没过沉积物 1 cm,适时添加超纯水保持培养水位,在大棚温室中进行培养,时间为 1 a(图 1).

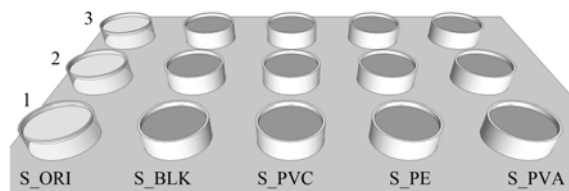


图 1 添加不同微塑料的沉积物培养实验示意

Fig. 1 Microcosm incubation sketch of sediments with the addition of different microplastics

1.2 沉积物样品 DNA 提取与浓度测定

温室培养满 1 a 后,采集空白和 3 种不同微塑料处理的沉积物培养样品,选用 FastDNA[®] Spin Kit for Soil 试剂盒(MP Biomedicals, 美国)进行沉积物总 DNA 的提取. 选取原始冻存样品和沉积物培养样品约 0.5 g 新鲜样品并称重,共计 15 个样品,分别添加到试剂盒中的 Lysing Matrix E tube,根据说明书提供的标准方法,提取沉积物总 DNA,统一用 100 μL DES 进行洗脱,并用 1% 的琼脂糖凝胶进行 DNA 电泳验证. 所获得的 DNA 样品用 QuantiFluor[®] dsDNA (Promega Corporation, 美国)试剂盒进行 DNA 浓度测定,所得到的沉积物 DNA 样品置于 -20°C 冰箱保存.

1.3 抗生素抗性基因超高通量定量 PCR

SmartChip Real-Time PCR Systems (WaferGen Inc., 美国)实时 PCR 反应平台一次能够同时进行 5184 个 PCR 反应,反应体积为常规 PCR 体系的 1/200,具有超高通量、节约试剂和自动化程度高的特点. 研究中所采用的 296 对引物说明如下:1 对 16S rDNA 引物、4 对整合子引物、8 对转座子引物和 283 对抗生素抗性基因引物^[24, 25]. 这些抗性基因引物涵盖了大部分已知的抗生素抗性基因类型,整合子和转座子基因引物则用于研究潜在的水平基因转移情况.

高通量 PCR 扩增反应体系为 100 μL . PCR 体系中各个试剂的最终浓度为:1 $\times$ LightCycler 480 SYBR[®] Green I Master Mix (Roche, 美国), PCR-grade water, 1 $\mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 的 BSA, 3 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 的 DNA 模板, 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的上下游引物. 高通量定量 PCR 反应条件为:初始温度 95°C 预变性 10 min; 95°C 变性 30 s, 60°C 退火延伸 30 s 并收集荧光信号,总共 40 个循环;仪器自动进行熔解曲线分析. 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. PCR 反应得到的数据通过 Cyclor 预先设定的筛选条件(PCR 扩增效率在 1.8

~2.2 之间)进行导出. 根据该仪器的灵敏度和精确度, 确定循环次数 C_T 值为 31 时作为检测限. 每个样品需进行 3 次技术平行实验, 当 3 次技术平行都被扩增出来时认为目标基因是有效的阳性扩增; 3 个独立培养平行样品都是阳性扩增时, 认为该沉积物样品的目标基因被最终有效检出.

1.4 数据分析与处理

在对沉积物样品进行 16S rDNA 常规定量 PCR 基础上, 参照已有的抗生素抗性相关的研究^[23, 25], 计算沉积物样品抗性基因和可移动遗传元件的绝对拷贝数. 同时, 根据 rRNA 数据库, 每个细菌约有 4.0 个 rDNA 基因^[26], 计算归一化的抗生素抗性基因和可移动遗传元件丰度.

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 3.3.3 (The R Project for Statistical Computing, Vienna, Austria) 进行 PCA 分析以、OLS 回归分析及 Pheatmap 热图分析.

2 结果与讨论

2.1 检出的抗生素抗性基因种类数

沉积物样品总共检测出 91 种抗生素抗性基因, 具体结果见图 2. 原样沉积物(S_ORI)和空白对照沉积物(S_BLK)分别检测出 60 和 57 种抗生素抗性基因, 两者抗性基因种类数和组成没有显著差异. 而添加了 PVC、PE 和 PVA 这 3 种微塑料的沉积物则分别检测出 53、58 和 28 种抗生素抗性基因, 并且抗性基因的组成(抗性谱)差异显著, 表明微塑料改变了沉积物抗生素抗性基因的组成结构.

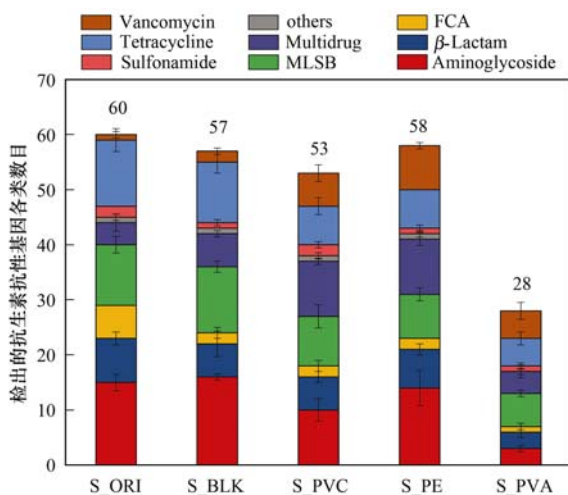


图 2 抗生素抗性基因种类数

Fig. 2 Detected number of antibiotic resistance genes

沉积物中检测出的抗生素抗性基因根据相对应的抗生素类型可以归纳为以下八大类: 氨基糖苷类抗生素 (Aminoglycoside)、β-内酰胺类抗生素 (β-

Lactam)、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)、多重抗药类 (Multidrug)、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).

添加 PVC 和 PE 两种不易降解微塑料的沉积物 (S_PVC 和 S_PE) 抗性基因检出种类数虽然与原样沉积物 (S_ORI)、空白对照沉积物 (S_BLK) 种类数接近, 但是有着不同的抗性基因种类组成结构, S_PVC、S_PE 和 S_PVA 中的万古霉素类抗性基因 (Vancomycin) 种类数显著高于 S_ORI 和 S_BLK. 多重抗药基因 (Multidrug) 在 S_PVC 和 S_PE 检出种类数都是 10 种, 高于 S_ORI (4 种) 和 S_BLK (7 种). 有研究表明, 微塑料可以作为多重耐药基因的 vector 或者 vehicle (运载工具), 促进多重耐药基因在环境中的迁移、传播和扩散^[27], 这与本研究的结果一致. 添加了可溶解微塑料 (PVA) 的沉积物 (S_PVA) 抗生素抗性基因仅检测出 28 种, 这可能是溶解的 PVA 使得土壤溶液变得黏稠, 改变了土壤的理化环境, 影响微生物生长繁殖, 使得微生物群落结构也随之发生显著改变, 对此需要进一步深入开展相关研究工作.

2.2 微塑料对抗生素抗性基因丰度的影响

沉积物中总的抗生素抗性基因丰度 (总的绝对丰度和归一化的绝对丰度) 结果如图 3 所示, 各个种类的抗生素抗性基因绝对丰度如图 4 所示. 添加

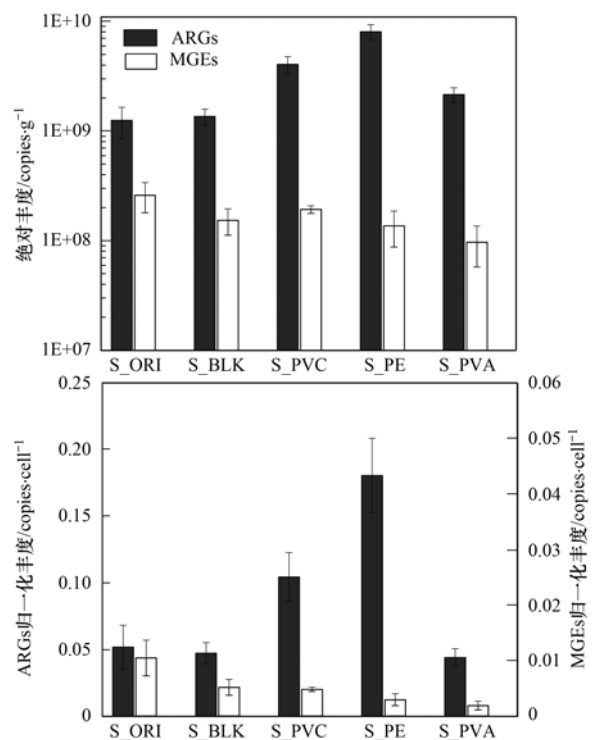


图 3 抗生素抗性基因的绝对丰度和归一化丰度

Fig. 3 Absolute and normalized abundance of ARGs and MGEs

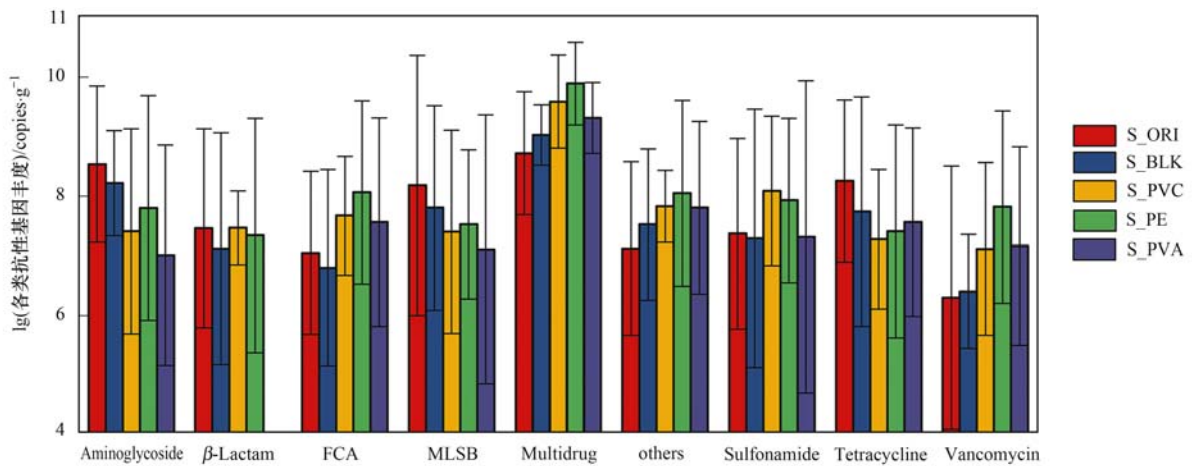


图4 各类抗生素抗性基因的绝对丰度
Fig. 4 Absolute abundance of ARGs

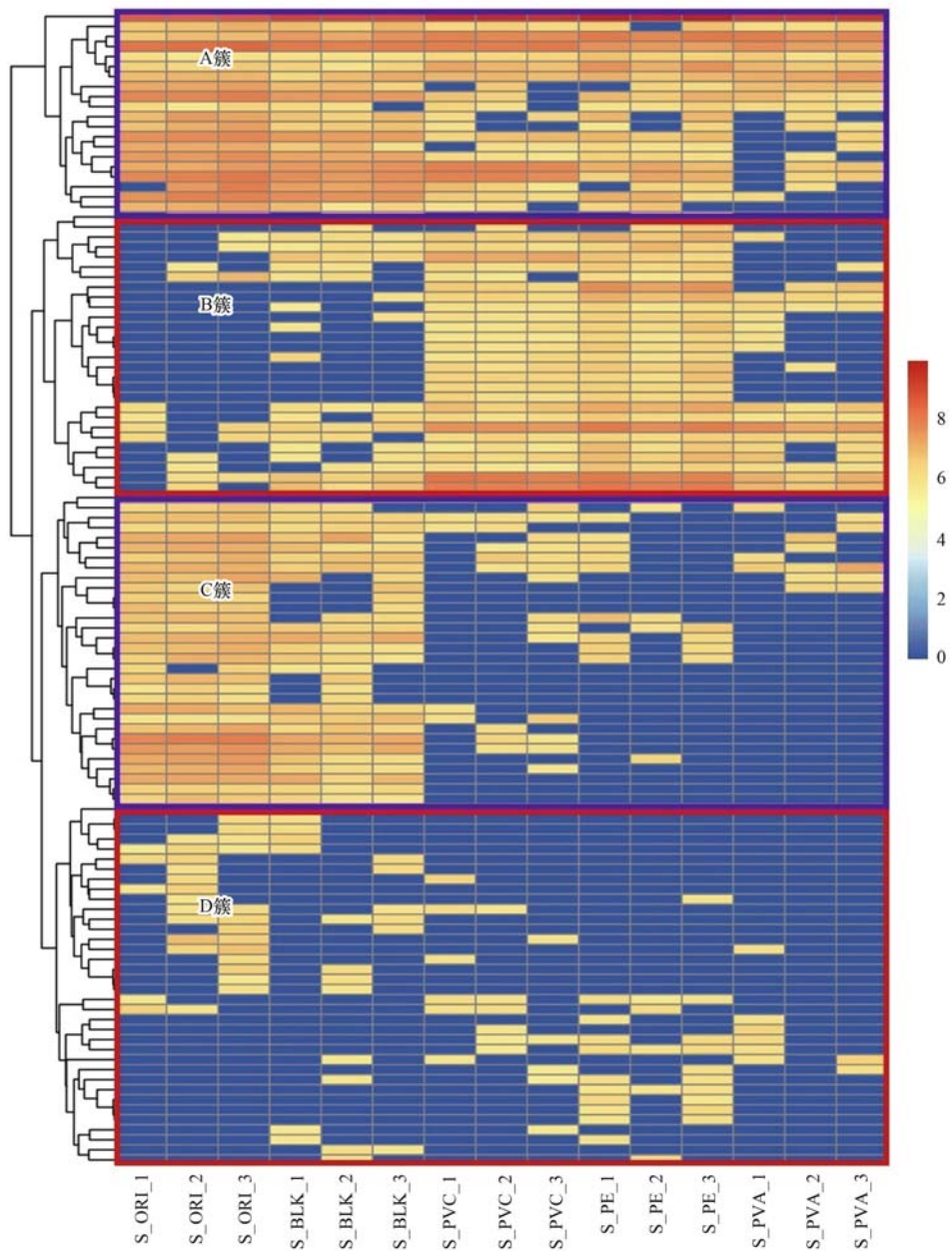


图5 沉积物抗生素抗性基因聚类分布热图
Fig. 5 Heatmap of ARGs in sediments

微塑料的 S_PVC、S_PE 和 S_PVA 的抗生素抗性基因丰度分别为 4.1×10^9 、 8.1×10^9 和 2.0×10^9 copies·g⁻¹，均显著高于未添加微塑料的 S_ORI (1.2×10^9 copies·g⁻¹) 和 S_BLK (1.2×10^9 copies·g⁻¹)。添加 PE 微塑料的沉积物抗生素抗性基因丰度增加了近一个数量级，这可能与 PE 这种微塑料相对其它微塑料更容易吸附抗生素^[18]，进而形成具有抗生素选择压力的微环境有关。特别是 S_PVA 的抗性基因种类数虽然显著低于前四者，只有 28 种(图 2)，但是抗性基因丰度却高于 S_ORI 和 S_BLK，表明 PVA 干扰了沉积物微生物过程，微塑料显著地影响了沉积物抗生素抗性丰度。此外，可移动遗传元件(mobile genetic elements, MGEs)不论在绝对丰度水平下，还是在归一化水平下，总体虽呈略微下降的趋势，但仍然保留在较高丰度水平。而从抗性基因种类角度分析，沉积物中的多重抗药基因的绝对丰度在这 5 种不同处理的沉积物中都是最高的(图 4)，并且 S_PVC、S_PE 和 S_PVA 的 Multidrug 类抗性基因显著高于 S_ORI 和 S_BLK，结果表明多重抗药基因可能是沉积物抗性组比较活跃的重要组成部分。

微塑料复杂的表面结构，对不同的环境污染物有着不同的吸附解析能力，深刻影响微生物群落结构组成，容易形成微生物膜并促进基因交流传播^[28]，因此，本实验证实了微塑料显著增加了沉积物抗生素抗性基因的丰度。

2.3 抗生素抗性基因的分布格局特征

通过聚类热图(Pheatmap)分析，可以有效地分析微塑料对沉积物抗性基因的影响，进而探究抗生素抗性基因的分布格局特征(图 5)。从图 5 可以看出：A 簇区域代表的抗生素抗性基因在大部分样品中都有检出，同时抗性基因丰度处于较高的水平，表明这类抗生素抗性基因能够在沉积物环境中相对稳定存在(persistence)，微塑料对其影响不明显；B 簇区域则表明在 S_ORI 和 S_BLK 很少检测出的抗性基因，却在 S_PVC 和 S_PE 被大量检出，并且抗性基因的丰度相对较高，特别是 *fox5*、*oprJ* 和 *cmx* (A) 等基因显著富集，表明微塑料可能导致沉积物中一些抗生素抗性基因增加和富集；C 簇区域则显示，经微塑料添加培养后，在 S_ORI 和 S_BLK 丰度较高且普遍被检出的基因，而在 S_PVC、S_PE 和 S_PVA 却很少被检测到；D 簇区域则代表在所有样品检出较少，丰度也相对较低的抗性基因类型。

综上，从图 5 可以看出，S_ORI 和 S_BLK 分布格局比较接近，S_PVC 和 S_PE 的分布格局特征也比较相似，而 S_PVA 的抗生素抗性基因分布特征

显著不同于前四者，有着自己独特的分布特征。微塑料显著改变了沉积物抗生素抗性基因的分布格局。

2.4 抗生素抗性基因与可移动遗传元件的关系

抗生素抗性基因与可移动遗传元件有着密切的关系^[29]。整合子和转座子都是重要的可移动遗传元件，本研究统计了转座子(8 种)、I 类整合子与沉积物抗生素抗性基因的关系(图 6)，最小二乘法回归分析(ordinary least squares regression, OLS regression)表明，在 95% 置信区间下，转座子和 I 类整合子的基因丰度与抗生素抗性基因显著相关，可移动遗传元件可能在沉积物抗生素抗性基因的复制和传播中扮演了重要角色，促进了抗生素抗性基因在环境中的迁移、传播和扩散。

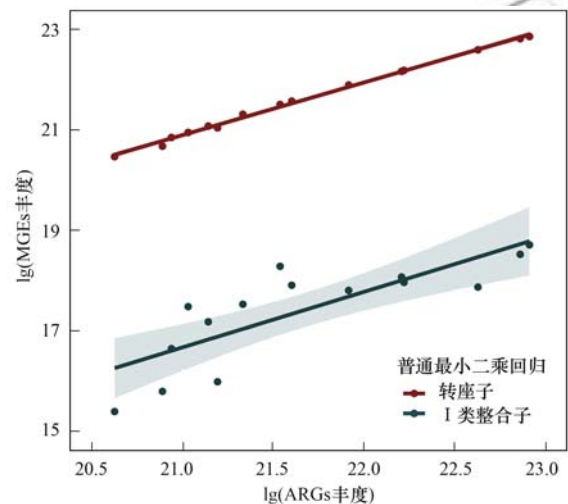


图 6 抗性基因与可移动元件回归分析

Fig. 6 Regression analysis between ARGs and MGEs

3 结论

(1) 微塑料显著改变了沉积物中抗生素抗性基因结构组成，两种难降解微塑料 PVC 和 PE 使得沉积物中万古霉素类抗性基因和多重耐药性基因种类数显著增加，而可溶性微塑料 PVA 使得沉积物中总的抗性基因种类数显著减少。

(2) 添加 PVC、PE 和 PVA 微塑料的沉积物抗生素抗性基因的绝对丰度显著增加，分别为 4.1×10^9 、 8.1×10^9 和 $2. \times 10^9$ copies·g⁻¹。添加 PE 微塑料的沉积物抗生素抗性基因丰度增加了近一个数量级，微塑料显著增加了沉积物抗生素抗性基因的绝对丰度。

(3) 沉积物抗生素抗性基因丰度与转座子、整合子基因显著正相关，表明可移动遗传元件可能促进了抗生素抗性基因的迁移、传播和扩散。

参考文献:

[1] Browne M A, Crump P, Niven S J, et al. Accumulation of

- microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45** (21): 9175-9179.
- [2] Barnes D K A, Galgani F, Thompson R C, *et al.* Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2009, **364** (1526): 1985-1998.
- [3] Ivar do Sul J A, Costa M F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment [J]. *Environmental Pollution*, 2014, **185**: 352-364.
- [4] Wang T, Hu X G, Zhou Q X. The research progress in migration, distribution, biological effects and analytical methods of microplastics [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2018, **63** (4): 385-395.
- [5] Murphy F, Ewins C, Carbonnier F, *et al.* Wastewater treatment works (WwTW) as a source of microplastics in the aquatic environment [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **50** (11): 5800-5808.
- [6] Carr S A, Liu J, Tesoro A G. Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants [J]. *Water Research*, 2016, **91**: 174-182.
- [7] 朱晓桐, 衣俊, 强丽媛, 等. 长江口潮流表层沉积物中微塑料的分布及沉降特点 [J]. *环境科学*, 2018, **39** (5): 2067-2074.
- Zhu X T, Yi J, Qiang L Y, *et al.* Distribution and settlement of microplastics in the surface sediment of Yangtze Estuary [J]. *Environmental Science*, 2018, **39** (5): 2067-2074.
- [8] Cole M, Lindeque P, Halsband C, *et al.* Microplastics as contaminants in the marine environment: a review [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, **62** (12): 2588-2597.
- [9] 张丹丹, 郭亚平, 任红云, 等. 福建省敖江下游抗生素抗性基因分布特征 [J]. *环境科学*, 2018, **39** (6): 2600-2606.
- Zhang D D, Guo Y P, Ren H Y, *et al.* Characteristics of antibiotic resistance genes in downstream areas of the aojiang river, Fujian province [J]. *Environmental Science*, 2018, **39** (6): 2600-2606.
- [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] Zhu Y G, Gillings M, Simonet P, *et al.* Human dissemination of genes and microorganisms in Earth's Critical Zone [J]. *Global Change Biology*, 2018, **24** (4): 1488-1499.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] 黄福义, 李虎, 安新丽, 等. 城市生活污水和生活垃圾渗滤液抗生素抗性基因污染的比较研究 [J]. *环境科学*, 2016, **37** (10): 3949-3954.
- Huang F Y, Li H, An X L, *et al.* Comparative investigation of antibiotic resistance genes between wastewater and landfill leachate [J]. *Environmental Science*, 2016, **37** (10): 3949-3954.
- [16] Chen Q L, Li H, Zhou X Y, *et al.* An underappreciated hotspot of antibiotic resistance: The groundwater near the municipal solid waste landfill [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **609**: 966-973.
- [17] Ashton K, Holmes L, Turner A. Association of metals with plastic production pellets in the marine environment [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2010, **60** (11): 2050-2055.
- [18] Li J, Zhang K N, Zhang H. Adsorption of antibiotics on microplastics [J]. *Environmental Pollution*, 2018, **237**: 460-467.
- [19] McCormick A, Hoellein T J, Mason S A, *et al.* Microplastic is an abundant and distinct microbial habitat in an urban river [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48** (20): 11863-11871.
- [20] Zhu D, Chen Q L, An X L, *et al.* Exposure of soil collembolans to microplastics perturbs their gut microbiota and alters their isotopic composition [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, **116**: 302-310.
- [21] Claessens M, De Meester S, Van Landuyt L, *et al.* Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, **62** (10): 2199-2204.
- [22] Nuelle M T, Dekiff J H, Remy D, *et al.* A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments [J]. *Environmental Pollution*, 2014, **184**: 161-169.
- [23] Zhu Y G, Zhao Y, Li B, *et al.* Continental-scale pollution of estuaries with antibiotic resistance genes [J]. *Nature Microbiology*, 2017, **2**: 16270.
- [24] 黄福义, 安新丽, 李力, 等. 生活垃圾填埋场对河流抗生素抗性基因的影响 [J]. *中国环境科学*, 2017, **37** (1): 203-209.
- Huang F Y, An X L, Li L, *et al.* High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in river in the vicinity of a landfill [J]. *China Environmental Science*, 2017, **37** (1): 203-209.
- [25] Chen Q L, An X L, Zhu Y G, *et al.* Application of Struvite Alters the Antibiotic Resistome in Soil, Rhizosphere, and Phyllosphere [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, **51** (14): 8149-8157.
- [26] 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.
- [27] Laganà P, Caruso G, Corsi I, *et al.* Do plastics serve as a possible vector for the spread of antibiotic resistance? First insights from bacteria associated to a polystyrene piece from King George Island (Antarctica) [J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2019, **222** (1): 89-100.
- [28] Arias-Andres M, Klümper U, Rojas-Jimenez K, *et al.* Microplastic pollution increases gene exchange in aquatic ecosystems [J]. *Environmental Pollution*, 2018, **237**: 253-261.
- [29] An X L, Chen Q L, Zhu D, *et al.* Impact of wastewater treatment on the prevalence of integrons and the genetic diversity of integron gene cassettes [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, **84** (9): e02766-17.

CONTENTS

Pollution Characteristics and Regional Transport of Atmospheric Particulate Matter in Beijing from October to November, 2016	ZHANG Han-yu, CHENG Shui-yuan, YAO Sen, <i>et al.</i> (1999)
Chemical Compositions, Mass Concentrations, and Emission Factors of Particulate Organic Matters Emitted from Catering	WANG Hong-li, JING Sheng-ao, QIAO Li-ping (2010)
Size Distributions of Aerosol During the Summer at the Summit of Mountain Taishan (1534 m) in Central East China	SHEN Li-juan, WANG Hong-lei, YIN Yan, <i>et al.</i> (2019)
Concentration Characteristics and Source Analysis of PM _{2.5} During Wintertime in Zhengzhou-Xinxiang	YAN Guang-xuan, ZHANG Pu-zhen, HUANG Hai-yan, <i>et al.</i> (2027)
Scenario Analysis of PM _{2.5} Concentration Targets and Milestones in China	HE Jin-yu, YAN Li, WANG Yan-chao, <i>et al.</i> (2036)
PM _{2.5} Emission Characteristics and Estimation of Emission Reduction Potential from Typical Industrial Sources in Anyang	DU Xiao-shen, YAN Li, HE Jin-yu, <i>et al.</i> (2043)
Emission Characteristics and List of Inorganic Elements in Fine Particles of Typical Industrial Kilns in Zhengzhou City	ZHAO Qing-yan, HAN Shi-jie, ZHANG Yi-shun, <i>et al.</i> (2052)
Composition and Atmospheric Reactivity of Ambient Volatile Organic Compounds(VOCs)in the Urban Area of Nanjing, China	QIAO Yue-zhen, CHEN Feng, ZHAO Qiu-yue, <i>et al.</i> (2062)
Formation Potential of Ozone and Secondary Organic Aerosol of VOCs from Fossil Fuel Combustion in Lanzhou City	LIU Zhen, ZHU Yu-fan, GUO Wen-kai, <i>et al.</i> (2069)
Inventory and Characteristics of Biogenic Volatile Organic Compounds (BVOCs) for 12 Deciduous Fruit Trees	LI Shuang-jiang, YUAN Xiang-yang, LI Qi, <i>et al.</i> (2078)
Ion Concentrations and Their Spatial Variability in Underground Water and Surface Water in Typical Terrestrial Ecosystems in China	HUANG Li, ZHANG Xin-yu, YUAN Guo-fu, <i>et al.</i> (2086)
Status of Antibiotic Contamination and Ecological Risks Assessment of Several Typical Chinese Surface-Water Environments	LIU Xi, WANG Zhi, WANG Xue-lei, <i>et al.</i> (2094)
Distribution and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Bodies in Seven Basins of China	FAN Bo, WANG Xiao-nan, HUANG Yun, <i>et al.</i> (2101)
Occurrence, Input, and Seasonal Variations of Poly- and Perfluoroalkyl Substances (PFASs) in Rivers and Drain Outlets from the Dalian Coastal Area, China	CHEN Hong, HAN Jian-bo, ZHANG Can, <i>et al.</i> (2115)
Space-time Characteristics and Environmental Significance of Stable Isotopes in Precipitation at an Arid Inland River Basin	YUAN Rui-feng, LI Zong-xing, CAI Yu-qin, <i>et al.</i> (2122)
Regional Evolution and Control Factors of Karst Groundwater in Liulin Spring Catchment	HUNAG Qi-bo, QIN Xiao-qun, LIU Peng-yu, <i>et al.</i> (2132)
Major Ionic Characteristics and Controlling Factors of Karst Groundwater at Xiangshui, Chongzuo	ZHOU Jin-mei, JIANG Zhong-cheng, XU Guang-li, <i>et al.</i> (2143)
Analysis of Transport and Transformation Characteristics Between Dissolved Phosphorus and Particulate Phosphorus in Water of the Three Gorges Reservoir	QIN Yan-wen, HAN Chao-nan, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (2152)
Vertical Distribution Profiles and Release Potential of Mainstream Column Sediments in the Three Gorges Reservoir After Impoundment to 175 m	LI Rui, PAN Chan-juan, TANG Xian-qiang, <i>et al.</i> (2160)
Distribution Characteristics and Influencing Factors of Phosphorus in the Dongting Lake at Different Water Periods	LI Ying-jie, WANG Li-jing, LI Hong, <i>et al.</i> (2170)
Effects of Exogenous Carbon Addition on Equilibrium Phosphate Concentration and Risk of Phosphorus Release from Sediments in the Shiwuli River, Chaohu Lake Basin	LI Ru-zhong, BAO Qin, DAI Yuan (2178)
Spatial Distribution of Organic Phosphorus in Sediment and Its Environmental Implication in the Upper Stream of Minjiang River	XU Jian, YUAN Xu-yin, YE Hong-meng, <i>et al.</i> (2186)
Nitrogen and Phosphorus Removal by Integrated Ecological Engineering Treatment System in a Small Agricultural Watershed	JIANG Qian-wen, LIU Feng, PENG Ying-xiang, <i>et al.</i> (2194)
Spatial Distribution and Pollution Assessment of Heavy Metals in River Sediments from Lake Taihu Basin	ZHANG Jie, GUO Xi-ya, ZENG Ye, <i>et al.</i> (2202)
Temporal and Spatial Variation of Mercury in the Water of the Ruxi River Estuary, a Typical Tributary of the Three Gorges Reservoir Area	MA Wei-bin, CHEN Qiu-yu, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2211)
Mercury Distribution Characteristics and Its Mass Balance in a Multifunctional Urban Wetland	LIU Wei-hao, WANG Yong-min, FAN Yu-fei, <i>et al.</i> (2219)
Distribution Characteristics of Mercury in Different Urban Constructed Wetlands	FAN Yu-fei, LIU Wei-hao, SUN Tao, <i>et al.</i> (2226)
Effects of Microplastics on Antibiotic Resistance Genes in Estuarine Sediments	HUANG Fu-yi, YANG Kai, ZHANG Zi-xing, <i>et al.</i> (2234)
Comparison and Source Apportionment of PAHs Pollution of Runoff from Roads in Suburb and Urban Areas of Shanghai	WU Jie, XIONG Li-jun, WU Jian, <i>et al.</i> (2240)
Characteristics of Phytoplankton Community and Its Relationship with Environmental Factors in Different Regions of Yilong Lake, Yunnan Province, China	WANG Zhen-fang, ZHANG Wei, YANG Li, <i>et al.</i> (2249)
Algal Bloom and Mechanism of Hypoxia in the Metalimnion of the Lijiahe Reservoir During Thermal Stratification	LIU Xue-qing, HUANG Ting-lin, LI Nan, <i>et al.</i> (2258)
Allelopathic Effects and Allelochemicals of <i>Myriophyllum elatinoides</i> on <i>Microcystis aeruginosa</i> and <i>Selenastrum capricornutum</i>	BI Ye-liang, WU Shi-min, ZHOU Si-ning, <i>et al.</i> (2265)
Removal Efficiency of Trichloroacetamide by UV/Sodium Sulfite	FU Zhi-xuan, GUO Ying-qing, CHU Wen-hai (2271)
Influencing Factors and Transformation Mechanism of Venlafaxine Degradation by UV	LÜ Juan, XU Zhi-wei, WANG Yan (2278)
Mechanism of Synergistic Adsorption of Arsenic and Cadmium by Aluminium-substituted Ferrihydrites	HUANG Bo, GUO Zhao-hui, XIAO Xi-yuan, <i>et al.</i> (2287)
Fluoride Removal Efficiency of Novel Material: Magnetite Core/Zirconia Shell Nanocomposite	FANG Wen-kan, LI Xiao-di, FANG Jing, <i>et al.</i> (2295)
Impact Mechanisms of Carboxyl Group Modified Cathode on Acetate Production in Microbial Electrosynthesis Systems	QI Jia-xin, ZENG Cui-ping, LUO Hai-ping, <i>et al.</i> (2302)
Partial Nitrification and Denitrification of Low C/N Ratio Sewage Based on Zoning Oxygen and Dissolved Oxygen Control	WU Chun-lei, RONG Yi, LIU Xiao-peng, <i>et al.</i> (2310)
Start-up Performance of Low-substrate Anaerobic Ammonium Oxidation Under Different COD Concentrations	MA Yan-hong, ZHAO Zhi-chao, AN Fang-jiao, <i>et al.</i> (2317)
Partial Nitrification Fast Start-up and Stable Performance of 15°C SBBR	SUN Yi-qi, BIAN Wei, LI Jun, <i>et al.</i> (2326)
Effects of Long-term Poly-P Deficiency on the Metabolic Properties of <i>Accumulibacter</i> in AO-SBR System	WANG Shao-po, LI Zhu, ZHAO Le-dan, <i>et al.</i> (2333)
Extracellular Polymeric Substances of ANAMMOX Granular Sludge and Its Effects on Sludge Surface Characteristics	YANG Ming-ming, LIU Zi-han, ZHOU Yang, <i>et al.</i> (2341)
Treatment of Piggery Biogas Slurry by Enhanced Biological Contact Oxidation with HN-AD Bacteria	LIU Xiang-yang, ZHANG Qian, WU Heng, <i>et al.</i> (2349)
Effect of Different Temperatures on the Performance of Autotrophic Nitrogen Removal and Microbial Community from Swine Wastewater	HUANG Fang-yu, DENG Liang-wei, YANG Hong-nan, <i>et al.</i> (2357)
Characteristics and Regional Heterogeneity of Eukaryotic Microbial Community in Wastewater Treatment Plants	QIN Wen-tao, ZHANG Bing, SUN Chen-xiang, <i>et al.</i> (2368)
Effects of Wetland Reclamation on Soil Microbial Community Structure in the Sanjiang Plain	WANG Na, GAO Jie, WEI Jing, <i>et al.</i> (2375)
Distribution Pattern and Diversity Maintenance Mechanisms of Fungal Community in Subalpine Lakes	LIU Jin-xian, LI Cui, LUO Zheng-ming, <i>et al.</i> (2382)
Influence of Biochar Amendment on Soil Denitrifying Microorganisms in Double Rice Cropping System	LIU Jie-yun, QIU Hu-sen, WANG Cong, <i>et al.</i> (2394)
Effects of Plastic Film Mulching and Nitrogen Fertilizer Application on CH ₄ Emissions from a Vegetable Field	NI Xue, JIANG Chang-sheng, CHEN Shi-jie, <i>et al.</i> (2404)
Effects of Water Deficit on Greenhouse Gas Emission in Wheat Field in Different Periods	WANG Xiao-yun, CAI Huan-jie, LI Liang, <i>et al.</i> (2413)
Effects of Different Fertilization Modes on Greenhouse Gas Emission Characteristics of Paddy Fields in Hot Areas	TIAN Wei, WU Yan-zheng, TANG Shui-rong, <i>et al.</i> (2426)
Effects of Cyclical Temperature Fluctuations on Organic Carbon Mineralization in Purple Soil	ZENG Man-man, CI En, FAN Jing-jing, <i>et al.</i> (2435)
Cd Content Characteristics and Ecological Risk Assessment of Paddy Soil in High Cadmium Anomaly Area of Guangxi	SONG Bo, WANG Fo-peng, ZHOU Lang, <i>et al.</i> (2443)
Remediation Potential of <i>Ageratum conyzoides</i> L. on Cadmium Contaminated Farmland	ZHANG Yun-xia, SONG Bo, BIN Juan, <i>et al.</i> (2453)
Evaluation of the Potential Agricultural Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Contaminated Soil by Planting <i>Lactuca sativa</i> L.	JIAO Hai-hua, GUO Jia-jia, ZHANG Jing-min, <i>et al.</i> (2460)
Impacts of Land Use and Landscape Patterns on Heavy Metal Accumulation in Soil	SHU Xin, LI Yan, LI Feng, <i>et al.</i> (2471)
Pollution Characteristics and Evaluation of Heavy Metal Pollution in Surface Soil Around a Municipal Solid Waste Incineration Power Plant	LÜ Zhan-lu, ZHANG Jin-liang, LU Shao-you, <i>et al.</i> (2483)