

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



2020

Vol.41 No.9
第41卷 第9期

目次

2020年天津市两次重污染天气污染特征分析.....肖致美,徐虹,蔡子颖,李鹏,刘彬,元洁,郑乃源,唐逊,陈魁,邓小文(3879)

基于高分辨率MARGA分析成都市PM_{2.5}中水溶性离子污染特征.....尹寒梅,陈军辉,冯小琼,姜涛,钱骏,刘政(3889)

宿迁市PM_{2.5}中水溶性无机离子的季节特征和来源分析.....
.....马红璐,赵欣,陆建刚,王辉,许纯领,欧阳琰,朱新胜,殷堂兵,漆丹,陆亚秋,汪玖阳,陆声兴(3899)

鼎湖山大气颗粒物中OC与EC的浓度特征及粒径分布.....李安娜,温天雪,华维,杨员,孟泽,胡波,辛金元(3908)

鞍山市道路扬尘碳组分特征及来源解析.....林孜,姬亚芹,林宇,国纪良,马妍,赵静琦(3918)

西安市冬季PM_{2.5}中WSOC的光谱特性和来源解析.....杨毅,张亚楠,刘焕武,田萍萍,李亚飞,雷颖,王一博(3924)

长三角地区气溶胶光学性质与新粒子生成观测.....
.....杜盈盈,陈军,张家洛,甘桂城,刘瑜存,苏明旭,楼晟荣,周敏,陶士康,乔利平(3932)

连云港市挥发性有机化合物的组分特征及来源解析.....崔金梦,王体健,李秋潼,董立文,黄丛吾,曹云擎(3941)

成都市城区大气VOCs季节污染特征及来源解析.....王成辉,陈军辉,韩丽,徐晨曦,王波,李英杰,刘政,钱骏(3951)

德州市夏季臭氧敏感性特征及减排方案.....严茹莎(3961)

超低改造下中国火电排放清单及分布特征.....屈加豹,王鹏,伯鑫,薛晓达,董广霞,崔磊,康明雄,王彤,汤铃,朱法华,李时蓓(3969)

浙江省人为源氨排放清单建立及分布特征.....赵睿东,于兴娜,侯新红,沈丽(3976)

垃圾焚烧烟气中二噁英控制技术的评估与筛选.....赵思岚,奚鹏飞,郭凤艳,邓双,贾建丽(3985)

兰州市两场典型降水事件稳定同位素特征及其水汽来源.....韩婷婷,张明军,王圣杰,杜勤勤,马转转,郭蓉,曹晏风(3993)

然乌湖流域地表水水化学特征及控制因素.....张涛,王明国,张智印,刘廷,何锦(4003)

河套灌区地下水化学演变特征及形成机制.....崔佳琪,李仙岳,史海滨,孙亚楠,安海军,邢进平(4011)

石期河流域地下水化学特征及物质来源分析.....李笑,于爽,李亮,郭永丽(4021)

长江中下游湖泊水体氮磷比时空变化特征及其影响因素.....季鹏飞,许海,詹旭,朱广伟,邹伟,朱梦圆,康丽娟(4030)

2016~2017年长荡湖流域湖库系统营养盐时空分布机制分析.....李新艳,李恒鹏,姜三元,马培,赖锡军,邓建才,陈东强,耿建伟(4042)

菹草对湖泊水质及浮游植物群落结构的影响.....康丽娟,许海,邹伟,朱广伟,朱梦圆,季鹏飞,陈洁(4053)

金泽水库库区细菌群落构建过程与关键驱动因子分析.....刘明坤,童俊,朱慧峰,白晓慧(4062)

典型氟工业园周边河流沉积物中全(多)氟化合物的分布特征.....孙琳婷,赵祯,唐建辉(4069)

微塑料对河水抗生素抗性基因的影响.....周昕原,王言仔,苏建强,黄福义(4076)

莲花水库水体中抗生素污染特征及生态风险评价.....廖杰,魏晓琴,肖燕琴,李青松,范洪勇,刘学军,庄马展,刘超翔(4081)

拟柱胞藻生长及碱性磷酸酶活性对不同磷浓度和磷形态响应的株系间差异.....叶金梅,赵莉,罗旭,彭亮,雷腊梅(4088)

奶水河湿地植物作用及调水水质响应模拟.....李亚娟,杜彦良,毕二平,王亮,陈翠柏(4095)

浅基质层干植草沟运行效果的现场实验.....张佳炜,李田,张庭秀(4105)

海绵城市地块汇水区颗粒污染物的传输.....李佳,谢文霞,姜智绘,单溪环,廖云杰,赵洪涛,李叙勇(4113)

天然黄铁矿吸附去除水中Sb(V):性能与机制.....石松,吴乾元,李新正,黄满红(4124)

过硫酸盐氧化处理含砷磷酸废水.....章晋门,卢钧,刘晓琛,陈泉源(4133)

温度对城市污水厌氧生物滤池运行效果与菌群结构的影响.....刘智斌,刘秀红,周桐,章世勇,李健敏,杨庆(4141)

ABR-MBR耦合工艺启动及优化反硝化除磷性能.....缪新年,汪倩,郭凯成,刘文如,沈耀良(4150)

低温下全自养脱氮颗粒污泥适应低基质效能.....刘雨馨,王建芳,钱飞跃,陈倩苗,乔伟,沈聪(4161)

雄安新区土壤重金属地球化学监测关键问题探讨.....郭志娟,周亚龙,杨峥,赵传冬,成杭新,孔牧,彭敏(4169)

基于土壤重金属及PAHs来源的人体健康风险定量评价:以北京某工业污染场地为例.....
.....吴志远,张丽娜,夏天翔,贾晓洋,李慧颖,王世杰(4180)

基于乡镇尺度的西南重金属高背景区土壤重金属生态风险评价.....
.....张富贵,彭敏,王惠艳,马宏宏,徐仁廷,成晓梦,侯召雷,陈子万,李括,成杭新(4197)

云南兰坪铅锌矿区优势植物重金属富集特性及应用潜力.....张龙,张云霞,宋波,吴勇,周子阳(4210)

水培试验下水稻Pb吸收累积关键生育期.....胡雨丹,周航,辜娇峰,霍洋,邓鹏辉,魏宾缤,刘俊,廖柏寒(4218)

田间条件下养分调控八宝景天Cd修复效率.....郭俊梅,杨俊兴,杨军,郑国砥,周小勇,陈同斌,卞建林,孟晓飞,李玉峰(4226)

桉树枝条生物炭输入对桂北桉树人工林酸化土壤的作用效果.....
.....段春燕,沈育伊,徐广平,滕秋梅,张德楠,何成新,张中峰,周龙武,孙英杰(4234)

秸秆直接还田和炭化还田对红壤酸度、养分和交换性能的动态影响.....杨彩迪,卢升高(4246)

土壤微生物群落结构对生活源和工业源再生水灌溉的差异化响应.....王燕,程东会,檀文炳,余红,席北斗,姜永海,党秋玲(4253)

粪肥和有机肥施用对稻田土壤微生物群落多样性影响.....理鹏,吴建强,沙晨燕,叶春梅,黄沈发(4262)

松花江下游沿江湿地土地利用变化对土壤细菌群落多样性的影响.....张拓,徐飞,怀宝东,杨雪,隋文志(4273)

黄土高原草地土壤细菌群落结构对于降水变化的响应.....李娜,王宝荣,安韶山,焦峰,黄倩(4284)

土地利用方式对会仙岩溶湿地土壤真菌群落和功能类群的影响.....程跃扬,靳振江,王晓彤,贾远航,袁武,周军波(4294)

黑土真菌群落互作及其与梯度有机质碳分子结构的关系.....尚秋彤,黄瑞林,倪浩为,隋跃宇,孙波,梁玉婷(4305)

贵州茂兰喀斯特森林不同演替下土壤真核微生物多样性.....王显,龙健,李娟,刘灵飞,廖洪凯,李宜蓉,杨睿(4314)

玉米秸秆生物炭固化细菌对镉砷吸附.....刘玉玲,朱虎成,彭鸥,李丹阳,杨蕊蕊,彭晶,铁柏清(4322)

无机态氮素转化机制及水土体氮源识别方法.....梁杏,孙立群,张鑫,张洁,付鹏宇(4333)

《环境科学》征订启事(4061) 《环境科学》征稿简则(4132) 信息(4233, 4293, 4304)

微塑料对河水抗生素抗性基因的影响

周昕原^{1,2}, 王言仔^{1,2}, 苏建强^{1,2}, 黄福义^{1,2*}

(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型污染物, 两者的复合污染引发了一定的生态环境风险, 成为近年的研究热点. 本文采集了城市郊区河水, 添加不易降解微塑料(聚氯乙烯, PVC)和水溶性微塑料(聚乙烯醇, PVA)进行曝气培养实验, 采用高通量定量 PCR 技术, 研究微塑料对河水抗生素抗性基因的影响. 结果表明, 空白对照河水、添加 PVC 的河水和添加 PVA 的河水抗性基因种类数分别为 71、87 和 95 种, 微塑料的存在显著增加了河水抗生素抗性基因种类, 进而可能增加河流生态风险; 曝气培养的河水中抗性基因的种类数和丰度有所减少, 但是相对于空白对照组(2.8×10^9 copies·L⁻¹), 添加具有水溶性的微塑料仍能显著增加河水抗性基因丰度(8.1×10^9 copies·L⁻¹), 并且抗生素抗性基因丰度与可移动遗传元件呈显著正相关关系, 说明可移动遗传元件可能通过基因横向转移机制影响抗生素抗性基因的赋存与演变.

关键词: 河水; 微塑料; 抗生素; 高通量定量 PCR; 抗生素抗性基因(ARGs)

中图分类号: X522 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2020)09-4076-05 DOI: 10.13227/j.hjxk.202003146

Microplastics-Induced Shifts of Diversity and Abundance of Antibiotic Resistance Genes in River Water

ZHOU Xin-yuan^{1,2}, WANG Yan-zi^{1,2}, SU Jian-qiang^{1,2}, HUANG Fu-yi^{1,2*}

(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 (MPs) and antibiotic resistance genes (ARGs) are both considered emerging contaminants of increasing concern because their combined pollution poses a serious risk to the ecological environment and human health. In this study, high-throughput quantitative PCR techniques were used to investigate the diversity and abundance of ARGs in river water, to which two different microplastics (PVC and PVA) were added for aerated incubation. The results showed that ARGs in river water were diverse, and microplastics could induce more types of ARGs. Although the number and abundance of ARGs decreased in all three treatments, which were cultivated for 14 d by aeration, compared to those in non-treated samples, the total abundance of ARGs in treatments aerated with MPs were higher than those aerated without MPs, especially in the samples treated with water-soluble microplastics (PVA). Significant correlations between the abundance of ARGs and mobile genetic elements (MGEs) were observed, implying that the occurrence of MGEs may potentially affect the transmission and distribution of ARGs through horizontal gene transfer (HGT) in river water.

Key words: river water; microplastics; antibiotic; high-throughput qPCR; antibiotic resistance genes(ARGs)

全世界每年都生产和消耗大量的塑料, 塑料及塑料制品在工业、商业和农业等行业中广泛使用. 据估计, 早在 2010 年, 全球 192 个沿海国家就产生了约 2.75 亿 t 塑料废弃物, 而到 2025 年, 经由河流排放到海洋的塑料废弃物可能增加 10 倍^[1]. 大量的塑料废弃物在全球海洋环境中积累赋存, 并可能经过数个世纪仍未降解^[2]. 有研究表明, 2015 年全球约有 $(6.0 \sim 9.9) \times 10^3$ 万 t 的处置不当的塑料废弃物 (mismanaged plastic waste, MPW) 产生, 其中超过 91% 的塑料废弃物经由河流, 最终归向大海^[3,4]. 人类弃置的塑料虽然性质稳定, 但在长期物理、化学和生物的影响下, 会部分分解成较小体积的塑料碎片、塑料纤维条带或塑料颗粒; 此外一些日化用品, 比如牙膏和护肤品等也含有塑料微球, 随着人类的日常使用排入自然环境中. 微塑料 (microplastics, MPs) 被定义为粒径小于 5 mm 且来源于人工合成的

有机聚合物, 其自然降解速度缓慢, 并可吸附、转运或释放有害污染物质^[5], 直接影响海洋生物健康, 并会经由海洋食物网传递而放大这种危害^[6,7].

抗生素自被人类发现并利用以来, 拯救了无数生命, 有效地保障了人类健康^[8]. 抗生素还广泛用于畜牧养殖中, 具有疾病预防和促进禽畜生长的作用^[9,10]. 但长期以来, 在卫生健康领域和畜禽养殖业中一直存在抗生素过度使用甚至滥用的现象, 抗生素的实效性不断降低, 抗性 (耐药性) 微生物感染或使人致病的现象不断加重和蔓延^[11], 最终可能导致人类落到无药可用的境地^[8]. 城市河流、农田水稻土、生活垃圾渗滤液甚至地下水, 都检测出了多种

收稿日期: 2020-03-13; 修订日期: 2020-03-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41807460, 41977210)

作者简介: 周昕原 (1989 ~), 博士研究生, 主要研究方向为环境微生物生态及抗生素抗性, E-mail: xzzhou@iue.ac.cn

* 通信作者, E-mail: fyhuang@iue.ac.cn

抗生素抗性基因^[11-14], 突显了抗生素和抗性基因对生态环境具有的潜在风险。

微塑料比表面积大, 具有吸附解析重金属、有机污染物及抗生素的特性^[15,16]。在河水中, 微塑料表面能附着形成微生物群落^[17]。微塑料上富集的有害物质可能对附着其上的微生物产生持久性的选择压力, 进而增加基因突变和基因水平转移 (horizontal gene transfer, HGT) 的风险^[18], 抗性基因通过基因水平转移机制进入致病菌而传播扩散, 从而危害人类的健康。有研究表明, 河口海岸带可以检测出多种类型的微塑料颗粒和种类繁多且丰度高的抗生素抗性基因^[15], 环境中微塑料和抗性基因的赋存也与人类活动密切相关^[1, 19]。目前对微塑料与河水微生物抗生素抗性基因复合污染的相关研究相对匮乏, 本文以快速城市化小流域为研究背景, 采集城郊河水, 通过添加不同类型微塑料进行培养实验, 采用高通量定量 PCR 技术研究河水的抗生素抗性基因种类、抗性机制和丰度, 探究微塑料对河水抗性基因的影响和变化特征, 以期对河流生态环境健康评估、(微)塑料污染治理和政策制定提供一定参考依据。

1 材料与与方法

1.1 河水样品采集与实验室微塑料添加模拟培养

后溪是厦门市第二大河流, 上游是石兜水库和坂头水库, 下游是杏林湾水库^[20]。后溪流域是厦门市跨岛发展战略重点发展区域, 处于快速城镇化的进程中, 外来人口快速集聚, 对所在的小流域生态环境产生了显著影响。本研究的河水采集地点为后溪的苎溪桥, 该地点位于河流上游水库下方约 610 m 处, 用 5 L 的窄口棕色玻璃瓶收集样品, 总计采集了 12 份平行水样 (3 份水样作为原样, 9 份水样用于后续培养实验)。

测得水样的悬浮物 (Suspended Solids, SS) 为 $118 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 总有机碳 (TOC) 为 $1.37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 总氮 (TN) 为 $1.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。玻璃瓶中水样体积统一至 4 L, 总计 9 份培养实验样品, 分别为空白对照组 (BLK)、添加聚氯乙烯微塑料组 (PVC, 不易降解微塑料) 和添加聚乙烯醇微塑料组 (PVA, 具有一定水溶性的微塑料), 每组各 3 个实验重复。添加的微塑料粒径为 $100 \mu\text{m}$, 浓度为所测得水样悬浮物浓度的一半 ($59 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 进行连续曝气培养 14 d。采集到的新鲜河水原样和培养后的水样采用六联抽滤设备 (天津津腾, 中国) 进行抽滤, 滤膜为 $0.22 \mu\text{m}$ 无菌的过滤膜 (ADVANTEC, 日本)。

1.2 河水微生物 DNA 提取

抽滤河水原样样品、空白对照培养样品和微塑

料添加培养实验的样品, 将得到的滤膜分别适当剪碎, 选用 FastDNA[®] Spin Kit for Soil 提取试剂盒 (MP Biomedicals, 美国), 按说明书获得水样中微生物的总 DNA^[21, 22]。每个样品用 $100 \mu\text{L}$ 洗脱液洗脱得到最终的 DNA 样品, 并用 NanoDrop 1000 超微量分光光度计 (Thermo Fisher Scientific Inc., 美国) 测定其 DNA 浓度。之后, 取每个样品的部分原液配置成体积为 $40 \mu\text{L}$, 浓度为 $50 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的样品, 并置于 -20°C 冰箱冷冻保存, 用于后续的高通量定量 PCR 实验。

1.3 抗生素抗性基因高通量定量 PCR 与河水微生物 16S rRNA 基因定量 PCR

该研究依托的高通量定量 PCR 反应平台为 TAKARA 公司的 SmartChip Real-Time PCR Systems, 采用之前相关研究使用的 296 种目标基因引物^[9, 23, 24], 其中包含 283 种抗生素抗性基因, 12 种可移动遗传元件 (mobile genetic elements, MGEs) 及 1 种 16S rRNA 基因。这些抗生素抗性基因和可移动遗传元件涵盖的种类全面, 具有典型的代表性。该 PCR 单次通量为 5 184 个 (72×72), 单个反应体系的终体积为 100 nL , 体系中各试剂的终浓度为: $1 \times$ 的 LightCycler 480 SYBR[®] Green I Master Mix 试剂 (Roche Applied Sciences, Indianapolis, IN), $5 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的样品 DNA, $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的目标基因上下游引物。PCR 反应热循环条件为: 时长 10 min, 温度 95°C 的预变性; 时长 30 s, 温度 95°C 的变性, 时长 30 s, 温度 60°C 的退火延伸, 以上两项总计 40 个循环; 最后进行仪器 Cycler 程序自带的熔解曲线分析。反应得到的数据用 Cycler 自带程序进行初步筛选, 保留扩增效率介于 1.8 ~ 2.2 的有效特异性扩增数据。根据反应平台的检测性能 (检测限为 31), 当 PCR 热循环次数的 Ct 值小于等于 31 时, 定义样品为阳性有效扩增。

根据标准质粒外标法, 采用 Roche 480 II 荧光定量 PCR 仪对河水微生物的 16S rRNA 基因进行绝对定量 PCR。本次制备的标准质粒浓度为 $1.47 \times 10^{10} \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$, 标准曲线由 10 倍浓度梯度稀释标准质粒所组成, 浓度变化范围为 $1.47 \times 10^3 \sim 1.47 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ 。本研究的定量 PCR 扩增体系为 $20 \mu\text{L}$, 包括 $10 \mu\text{L}$ 的 $2 \times$ LightCycler 480 SYBR[®] Green I Master Mix, $1 \mu\text{L}$ DNA 模板, $7 \mu\text{L}$ 无菌超纯水, 及上下游引物各 $1 \mu\text{L}$ ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。定量 PCR 反应的热循环条件为: 5 min 时长的 95°C 预变性 (热启动); 15 s 的 95°C 变性, 40 s 的 60°C 退火, 20 s 的 72°C 延伸, 总计 40 个循环; 仪器自动进行 PCR 产物熔解曲线分析。所有 DNA 样品均进行 3 次技术重复

并用无菌超纯水进行阴性 PCR 对照实验。

1.4 实验数据分析处理

Pearson 线性拟合结果显示高通量 PCR 定量得到的核糖体 16S rRNA 基因的相对拷贝数^[11] (relative copy number) 和荧光定量 PCR 得到的 16S rRNA 基因绝对拷贝数 (absolute copy number) 呈极显著相关关系 ($P < 0.01$), 说明两者的线性关系明显. 参照现有的方法^[15,25,26], 可以得到各种抗生素抗性基因的绝对拷贝数. 本实验得到的数据通过 Excel 2010 进行计算整理, 采用 OriginPro 9.0 进行相关作图, 采用 R 3.6.3 软件进行热图综合分析, 采用 SPSS Statistics 22 进行数据的相关性分析.

2 结果与讨论

2.1 抗生素抗性基因的种类和多样性

本研究采用的高通量荧光定量 PCR 芯片可检测 283 种抗生素抗性基因, 包含以下 8 种抗生素类型: 氨基糖苷类 (Aminoglycoside)、 β -内酰胺类 (β -Lactam)、氟喹诺酮类/氯霉素类/胺酰醇类 (FCA)、大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类 (MLSb)、多重抗药类 (Multidrug)、磺胺类 (Sulfonamide)、四环素类 (Tetracycline) 和万古霉素类 (Vancomycin). 同时也检测了 12 种可移动遗传元件. 在本实验中总共检测到 165 种抗生素抗性基因 (ARGs) 和 8 种可移动遗传元件 (MGEs), 不同实验处理河水样品中的抗性基因种类数具体如图 1 所示.

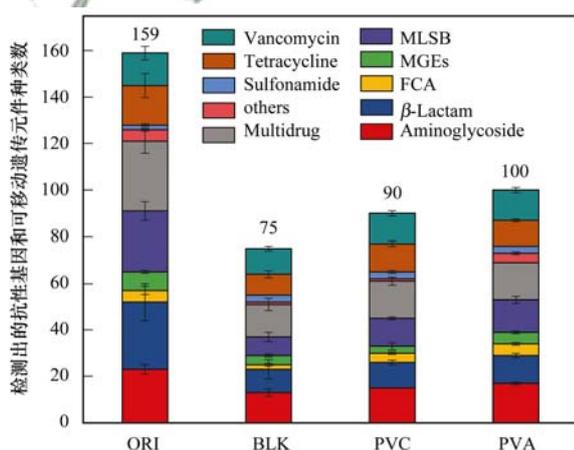


图 1 抗生素抗性基因和可移动遗传元件种类数

Fig. 1 Detected number of ARGs and MGEs

采样点河水原样 (ORI) 检测到了 151 种抗性基因和 8 种可移动遗传元件. 经过 14 d 的连续曝气培养后, 3 种不同处理的河水的抗性基因和可移动遗传元件的种类数都显著下降, 空白对照河水 (BLK)、添加 PVC 的河水 (PVC) 和添加 PVA 的河水 (PVA) 样品检测到的抗性基因种类数分别为 71、87 和 95 种, 而可移动遗传元件 (MGEs) 的种类数分别为 4、

3 和 5 种. 有研究表明, 曝气 (搅拌和增加溶解氧) 能够有效减少水中的化学需氧量 (COD) 和铵 (NH_4^+) 的浓度水平, 可能导致微生物多样性的减少^[27]. 本研究显示, 曝气培养会使得水中抗性基因种类减少, 但同时显示河水添加微塑料 (PVC 或 PVA) 后, 相对空白对照培养的河水样品抗性基因种类显著增加. 此外, 比较两种添加不同类型微塑料培养的样品, 添加具有水溶性的聚乙烯醇微塑料 (PVA) 的河水抗生素抗性基因种类增加更多. 因此, 微塑料使得河水抗性基因的组成 (抗性谱) 发生了变化, 增加了河水抗性基因种类, 表明微塑料改变了河水抗生素抗性基因的种类组成, 因此微塑料污染的河水可能会有更多的抗性基因污染.

2.2 微塑料对河水抗生素抗性基因丰度的影响

不同实验处理的河水抗生素抗性基因的丰度水平如图 2 所示. 在绝对丰度水平上, 河水原样 (ORI)、空白对照河水 (BLK)、添加 PVC 的河水 (PVC) 和添加 PVA 的河水 (PVA) 总的抗性基因丰度分别为 1.2×10^{10} 、 2.8×10^9 、 3.2×10^9 和 8.1×10^9 copies $\cdot \text{L}^{-1}$, PVC 处理组和对照组 (BLK) 的抗性基因没有显著差异 ($P > 0.05$), 但是 PVA 处理组的抗性基因丰度与对照组 (BLK) 有显著差异 ($P < 0.05$). 在单细胞水平 [图 2(a)], 添加 PVC 的河水

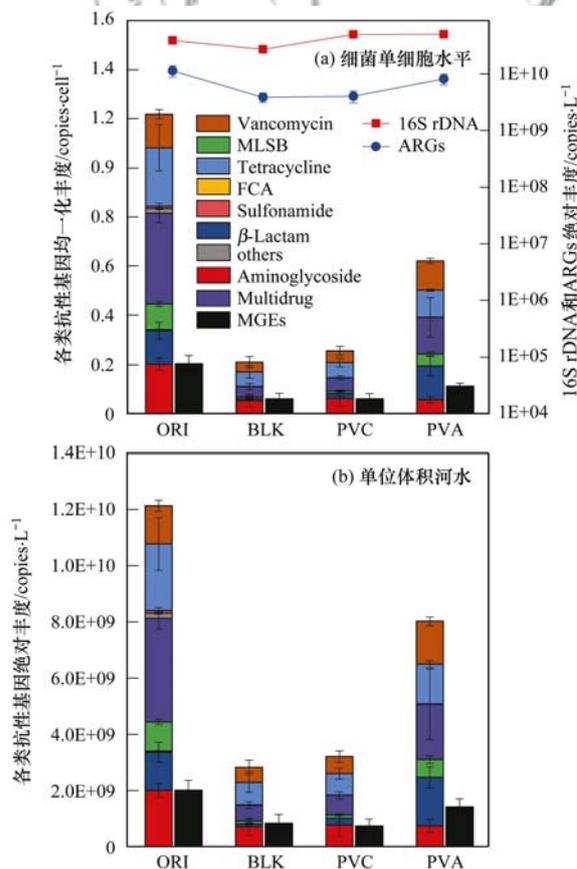


图 2 抗生素抗性基因和可移动遗传元件的丰度

Fig. 2 Abundance of ARGs and MGEs

(PVC)和添加 PVA 的河水(PVA)抗性基因的丰度分别为 $0.26 \text{ copies} \cdot \text{cell}^{-1}$ 和 $0.62 \text{ copies} \cdot \text{cell}^{-1}$, 高于空白对照河水 (BLK) 的 $0.21 \text{ copies} \cdot \text{cell}^{-1}$, 但是低于河水原样 (ORI) 的 $1.21 \text{ copies} \cdot \text{cell}^{-1}$. 从单位体积河水分析[图 2(b)], 4 类河水样品的可移动遗传元件绝对丰度分别为 2.0×10^9 、 7.6×10^8 、 7.3×10^8 和 $1.4 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$, 可移动遗传元件分布特征与总的抗性基因接近.

从图 2 可以看出, 不管是细菌单水平, 或是单位体积河水, 曝气培养的 3 种处理样品中抗性基因的丰度都低于河水原样, 因此连续曝气且没有养分补给, 可能会直接影响微生物的多样性^[27], 进而降低抗性基因的丰度. 有研究表明, 添加 PVC 和 PVA 微塑料能够显著增加河口沉积物中抗性基因的丰度^[15]. 虽然本研究培养体系不包含河流沉积物, 但添加水溶性微塑料 PVA 培养的河水抗性基因丰度也显著增加了 ($P < 0.05$), 特别是 β -内酰胺类抗性基因和多重耐药抗性基因的丰度增长明显. 相对于空白对照 (BLK), 微塑料使得河水抗性基因丰度显著增加, 说明微塑料和抗性基因的复合污染可能会引发河流生态风险.

2.3 抗生素抗性基因的分布格局

将八大类抗性基因、可移动遗传元件 (MGEs)、未知抗性机制的基因 (others) 和总抗性基因 (ARGs) 的丰度进行热图分析 (图 3), 能够比较直观地展现微塑料对河水抗性基因的影响. 在各类不同抗性基因的丰度水平上, 河水原样 (ORI) 都是最高的. 经过 14 d 的培养, 河水中的抗性基因显著减少. 添加不易降解的微塑料 (PVC) 培养后, 河水抗性基因分布格局与空白对照组 (BLK) 分布格局相似; 而

添加具有一定水溶性可降解微塑料 (PVA) 培养后的河水, 抗性基因丰度则显著增加.

具体来看, 各类抗性基因聚类成两大簇, 一簇是磺胺类 (Sulfonamide)、氟喹诺酮类/氯霉素类/酰胺醇类 (FCA) 及其它未知机制的抗性基因 (others), 经曝气培养后, 这 3 类抗性基因丰度显著降低, 特别是空白对照河水 (BLK) 中丰度最低, 而微塑料对这几类抗性基因的影响不大; 另一大簇则包含除以上 3 种之外的其他抗性基因. 经相关性分析得知, 可移动遗传元件 (MGEs) 丰度与四环素类 (Tetracycline)、氨基糖苷类 (Aminoglycoside)、多重抗药类 (Multidrug) 和万古霉素类 (Vancomycin) 四类抗生素抗性基因丰度呈显著正相关关系 ($r > 0.9$, $P < 0.05$). 同时, 河水总抗性基因 (ARGs) 也聚类在此簇, 表明这几类抗性基因对河水总体抗生素抗性基因的分布格局影响较大 (图 3). 相关性分析结果也显示, 河水总抗性基因与可移动遗传元件呈显著正相关关系 ($r > 0.9$, $P < 0.05$), 表明可移动遗传元件可能通过基因横向转移机制影响河水抗性基因的赋存与演变.

3 结论

(1) 加入微塑料培养可改变河水抗生素抗性基因的组成 (抗性谱), 不易降解的微塑料 (PVC) 和具有水溶性的微塑料 (PVA) 均能够增加河水中抗性基因的种类.

(2) 曝气培养可显著减少河水中抗性基因的种类和丰度, 但相对于空白对照, 添加具有水溶性的微塑料能使得河水抗性基因丰度显著增加. 同时, 抗生素抗性基因与可移动遗传元件呈显著正相关关系, 说明可移动遗传元件可能通过基因横向转移机制影响河水抗生素抗性基因的赋存与演变.

参考文献:

- [1] Jambeck J R, Geyer R, Wilcox C, *et al.* Plastic waste inputs from land into the ocean[J]. *Science*, 2015, **347**(6223): 768-771.
- [2] Thompson R C, Olsen Y, Mitchell R P, *et al.* Lost at sea: where is all the plastic? [J]. *Science*, 2004, **304**(5672): 838-838.
- [3] Lebreton L, Andrady A. Future scenarios of global plastic waste generation and disposal [J]. *Palgrave Communications*, 2019, **5**: 6.
- [4] 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.
- [5] Alimi O S, Farmer Budarz J, Hernandez L M, *et al.* Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, **52**(4): 1704-1724.

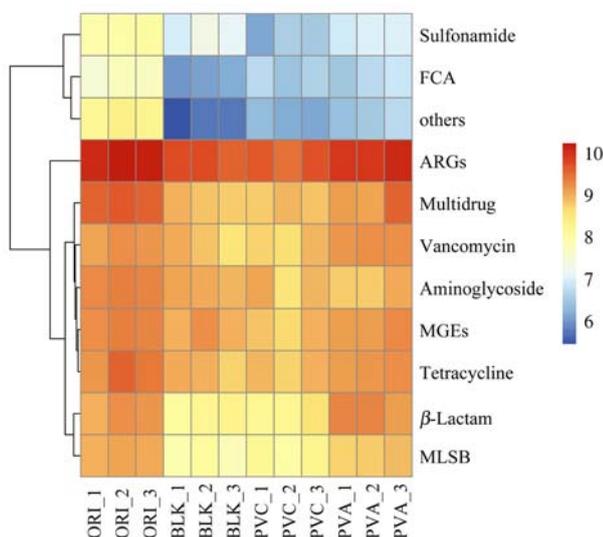


图 3 河水抗生素抗性基因聚类分布热图

Fig. 3 Heatmap of ARGs in river water

- [6] Do Sul J A I, Costa M F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment [J]. *Environmental Pollution*, 2014, **185**: 352-364.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] Zhuang F F, Li H, Zhou X Y, *et al.* Quantitative detection of fecal contamination with domestic poultry feces in environments in China [J]. *AMB Express*, 2017, **7**(1): 80.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] 黄福义, 杨凯, 张子兴, 等. 微塑料对河口沉积物抗生素抗性基因的影响 [J]. *环境科学*, 2019, **40**(5): 2234-2239.
Huang F Y, Yang K, Zhang Z X, *et al.* Effects of microplastics on antibiotic resistance genes in estuarine sediments [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(5): 2234-2239.
- [16] Li J, Zhang K N, Zhang H. Adsorption of antibiotics on microplastics [J]. *Environmental Pollution*, 2018, **237**: 460-467.
- [17] 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.
- [18] Zhu Y G, Gillings M, Simonet P, *et al.* Microbial mass movements [J]. *Science*, 2017, **357**(6356): 1099-1100.
- [19] Zhu Y G, Zhao Y, Li B, *et al.* Continental-scale pollution of estuaries with antibiotic resistance genes [J]. *Nature Microbiology*, 2017, **2**(4): 16270.
- [20] 朱珍香, 高肖飞, 彭凤, 等. 厦门后溪水质与流域景观特征沿城乡梯度的变化分析 [J]. *生态学报*, 2019, **39**(6): 2021-2033.
Zhu Z X, Gao X F, Peng F, *et al.* Relationship between water quality and landscape characteristics of the Houxi River watershed in Xiamen City along a rural-urban gradient [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, **39**(6): 2021-2033.
- [21] 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.
- [22] 吴韵斐, 何义亮, 袁其懿, 等. 水源型水库抗生素抗性基因赋存特征研究 [J]. *环境科学学报*, 2019, **39**(6): 1834-1841.
Wu Y F, He Y L, Yuan Q Y, *et al.* Study on antibiotic resistance genes characteristics in a drinking water reservoir [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2019, **39**(6): 1834-1841.
- [23] Zhu D, Xiang Q, Yang X R, *et al.* Trophic transfer of antibiotic resistance genes in a soil detritus food chain [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, **53**(13): 7770-7781.
- [24] Su J Q, Wei B, Ou-Yang 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.
- [25] 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.
- [26] Chen Y H, Su J Q, Zhang J Y, *et al.* High-throughput profiling of antibiotic resistance gene dynamic in a drinking water river-reservoir system [J]. *Water Research*, 2019, **149**: 179-189.
- [27] Yuan Q B, Shen Y, Huang Y M, *et al.* A comparative study of aeration, biostimulation and bioaugmentation in contaminated urban river purification [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2018, **11**: 276-285.

CONTENTS

Characterization of Two Heavy Pollution Episodes in Tianjin in 2020	XIAO Zhi-mei, XU Hong, CAI Zi-ying, <i>et al.</i> (3879)
Analysis of Characteristics of Water-soluble Ions in PM _{2.5} in Chengdu Based on the MARGA	YIN Han-mei, CHEN Jun-hui, FENG Xiao-qiong, <i>et al.</i> (3889)
Seasonal Characteristics and Source Analysis of Water-soluble Inorganic Ions in PM _{2.5} in Suqian City	MA Hong-lu, ZHAO Xin, LU Jian-gang, <i>et al.</i> (3899)
Characterization and Size Distribution of Carbonaceous Aerosols at Mountain Dinghu	LI An-na, WEN Tian-xue, HUA Wei, <i>et al.</i> (3908)
Characteristics and Source Apportionment of Carbon Components in Road Dust in Anshan	LIN Zi, JI Ya-qin, LIN Yu, <i>et al.</i> (3918)
Spectral Characteristics and Source Analysis of WSOC of PM _{2.5} in Winter of Xi'an	YANG Yi, ZHANG Ya-nan, LIU Huan-wu, <i>et al.</i> (3924)
Observation of Aerosol Optical Properties and New Particle Formation in the Yangtze River Delta	DU Ying-ying, CHEN Jun, ZHANG Jia-luo, <i>et al.</i> (3932)
Component Characteristics and Source Apportionment of Volatile Organic Compounds in Lianyungang City	CUI Jin-meng, WANG Ti-jian, LI Qiu-tong, <i>et al.</i> (3941)
Seasonal Pollution Characteristics and Analysis of the Sources of Atmospheric VOCs in Chengdu Urban Area	WANG Cheng-hui, CHEN Jun-hui, HAN Li, <i>et al.</i> (3951)
Ozone Sensitivity Analysis and Emission Controls in Dezhou in Summer	YAN Ru-sha (3961)
Inventory and Distribution Characteristics of China's Thermal Power Emissions Under Ultra-Low Reconstruction	QU Jia-bao, WANG Peng, BO Xin, <i>et al.</i> (3969)
Establishment and Spatial Distribution of Anthropogenic Ammonia Emission Inventory in Zhejiang Province	ZHAO Rui-dong, YU Xing-na, HOU Xin-hong, <i>et al.</i> (3976)
Evaluation and Screening of Dioxin Control Technology in Waste Incineration Flue Gas	ZHAO Si-lan, XI Peng-fei, GUO Feng-yan, <i>et al.</i> (3985)
Characteristics of Stable Isotopes and Moisture Sources of Two Typical Precipitation Events in Lanzhou City	HAN Ting-ting, ZHANG Ming-jun, WANG Sheng-jie, <i>et al.</i> (3993)
Hydrochemical Characteristics and Possible Controls of the Surface Water in Ranwu Lake Basin	ZHANG Tao, WANG Ming-guo, ZHANG Zhi-yin, <i>et al.</i> (4003)
Chemical Evolution and Formation Mechanism of Groundwater in Hetao Irrigation Area	CUI Jia-qi, LI Xian-yue, SHI Hai-bin, <i>et al.</i> (4011)
Chemical Characteristics of Groundwater and Material Sources Analysis in Shiqi River Basin	LI Xiao, YU Shi, LI Liang, <i>et al.</i> (4021)
Spatial-temporal Variations and Driving of Nitrogen and Phosphorus Ratios in Lakes in the Middle and Lower Reaches of Yangtze River	JI Peng-fei, XU Hai, ZHAN Xu, <i>et al.</i> (4030)
Spatiotemporal Variations in Nutrient Loads in River-lake System of Changdang Lake Catchment in 2016-2017	LI Xin-yan, LI Heng-peng, JIANG San-yuan, <i>et al.</i> (4042)
Influence of <i>Potamogeton crispus</i> on Lake Water Environment and Phytoplankton Community Structure	KANG Li-juan, XU Hai, ZOU Wei, <i>et al.</i> (4053)
Phylogenetic Processes and Key Driving Factors of Bacterial Communities in Jinze Reservoir	LIU Ming-kun, TONG Jun, ZHU Hui-feng, <i>et al.</i> (4062)
Distribution Characteristics of Per-/polyfluoralkyl Substances in River Sediments Around Typical Fluorine Industrial Parks	SUN Lin-ting, ZHAO Zhen, TANG Jian-hui (4069)
Microplastics-Induced Shifts of Diversity and Abundance of Antibiotic Resistance Genes in River Water	ZHOU Xin-yuan, WANG Yan-zi, SU Jian-qiang, <i>et al.</i> (4076)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Antibiotics in Lianhua Reservoir	LIAO Jie, WEI Xiao-qin, XIAO Yan-qin, <i>et al.</i> (4081)
Intraspecific Variation in Growth and Alkaline Phosphatase Activity of <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> Strains in Response to Different Phosphorus Concentrations and Sources	YE Jin-mei, ZHAO Li, LUO Xu, <i>et al.</i> (4088)
Simulation of Water Quality Response of Guishui River Wetland Plants and Water Diversion	LI Ya-juan, DU Yan-liang, BI Er-ping, <i>et al.</i> (4095)
Performance Assessment of Field-scale Dry Grass Swale with Shallow Substrate Layer	ZHANG Jia-wei, LI Tian, ZHANG Ting-xiu (4105)
Transition of Particulate Pollutant in the Parcel-based Catchment of Sponge City	LI Jia, XIE Wen-xia, JIANG Zhi-hui, <i>et al.</i> (4113)
Adsorption of Sb(V) in Water by Natural Pyrite: Performance and Mechanism	SHI Song, WU Qian-yuan, LI Xin-zheng, <i>et al.</i> (4124)
Treatment of Wastewater Containing Naphthalene Sulfonic Acid by Persulfate Oxidation	ZHANG Jin-men, LU Jun, LIU Xiao-chen, <i>et al.</i> (4133)
Effect of Temperature on Performance and Microbial Community Structure of Anaerobic Biofilter-Treated Domestic Wastewater	LIU Zhi-bin, LIU Xiu-hong, ZHOU Tong, <i>et al.</i> (4141)
Start-up and Optimization of Denitrifying Phosphorus Removal in ABR-MBR Coupling Process	MIAO Xin-nian, WANG Qian, GUO Kai-cheng, <i>et al.</i> (4150)
Adaptability of Completely Autotrophic Nitrogen Removal over Granular Sludge to Low-Strength at Low Temperature	LIU Yu-xin, WANG Jian-fang, QIAN Fei-yue, <i>et al.</i> (4161)
Discussion on Key Issues of Geochemical Monitoring of Soil Heavy Metal in Xiong'an New District	GUO Zhi-juan, ZHOU Ya-long, YANG Zheng, <i>et al.</i> (4169)
Quantitative Assessment of Human Health Risks Based on Soil Heavy Metals and PAHs Sources: Take a Polluted Industrial Site of Beijing As an Example	WU Zhi-yuan, ZHANG Li-na, XIA Tian-xiang, <i>et al.</i> (4180)
Ecological Risk Assessment of Heavy Metals at Township Scale in the High Background of Heavy Metals, Southwestern, China	ZHANG Fu-gui, PENG Min, WANG Hui-yan, <i>et al.</i> (4197)
Potential of Accumulation and Application of Dominant Plants in Lanping Lead-zinc Mine, Yunnan Province	ZHANG Long, ZHANG Yun-xia, SONG Bo, <i>et al.</i> (4210)
Key Growth Stage of Pb Accumulation in Rice Through a Hydroponic Experiment with Pb Stress	HU Yu-dan, ZHOU Hang, GU Jiao-feng, <i>et al.</i> (4218)
Effect of Nutrient Regulation and Control on Cd Accumulation Efficiency of <i>Hylotelephium spectabile</i> Under Field Conditions	GUO Jun-mei, YANG Jun-xing, YANG Jun, <i>et al.</i> (4226)
Effects of <i>Eucalyptus</i> Branches Biochar Application on Soil Physicochemical Properties of Acidified Soil in a <i>Eucalyptus</i> plantation in Northern Guangxi	DAUN Chun-yan, SHEN Yu-yi, XU Guang-ping, <i>et al.</i> (4234)
Dynamic Effects of Direct Returning of Straw and Corresponding Biochar on Acidity, Nutrients, and Exchangeable Properties of Red Soil	YANG Cai-di, LU Sheng-gao (4246)
Different Responses of Soil Microbial Community Structure to Irrigation with Treated Wastewater from Domestic and Industrial Sources	WANG Yan, CHENG Dong-hui, TAN Wen-bing, <i>et al.</i> (4253)
Effects of Manure and Organic Fertilizer Application on Soil Microbial Community Diversity in Paddy Fields	LI Peng, WU Jian-qiang, SHA Chen-yan, <i>et al.</i> (4262)
Effects of Land Use Changes on Soil Bacterial Community Diversity in the Riparian Wetland Along the Downstream of Songhua River	ZHANG Tuo, XU Fei, HUAI Bao-dong, <i>et al.</i> (4273)
Response of Soil Bacterial Community Structure to Precipitation Change in Grassland of Loess Plateau	LI Na, WANG Bao-rong, AN Shao-shan, <i>et al.</i> (4284)
Effect of Land-use on Soil Fungal Community Structure and Associated Functional Group in Huixian Karst Wetland	CHENG Yue-yang, JIN Zhen-jiang, WANG Xiao-tong, <i>et al.</i> (4294)
Interactions of Fungi Community and Relationship with the Carbon Structure in Arable Mollisols with Gradient Organic Matter Content	SHANG Qiu-tong, HUANG Rui-lin, NI Hao-wei, <i>et al.</i> (4305)
Diversity of Soil Eukaryotic Microbes in Different Succession Stages in Maolan Karst Forest of Guizhou	WANG Xian, LONG Jian, LI Juan, <i>et al.</i> (4314)
Adsorption of Cadmium and Arsenic by Corn Stalk Biochar Solidified Microorganism	LIU Yu-ling, ZHU Hu-cheng, PENG Ou, <i>et al.</i> (4322)
Mechanism of Inorganic Nitrogen Transformation and Identification of Nitrogen Sources in Water and Soil	LIANG Xing, SUN Li-qun, ZHANG Xin, <i>et al.</i> (4333)