

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

环境DNA宏条形码监测湖泊真核浮游植物的精准性

张丽娟, 徐杉, 赵峥, 周小华, 冯庆, 杨江华, 李飞龙, 王志浩, 张效伟



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2021年2月

第42卷 第2期

Vol.42 No.2

目次

2013~2017年中国PM_{2.5}污染防治的健康效益评估 张梦娇, 苏方成, 徐起翔, 张瑞芹, 魏煜, 谢刘震(513)

区域气象条件和减排对空气质量改善的贡献评估 武文琪, 张凯山(523)

2016年1月京津冀地区大气污染特征与多尺度传输量化评估 姚森, 张晗宇, 王晓琦, 杨书申(534)

广州市2020年春节烟花爆竹燃放对空气质量的影响 裴成磊, 王宇骏, 毕燕茹, 廉秀峰, 周倩妮, 王在华, 马理, 李梅(546)

长三角地区一次区域污染过程中细颗粒物的来源解析及其光学特性 夏丽, 朱彬, 王红磊, 康汉青(556)

南京市不同天气过程下颗粒物中水溶性离子分布特征及其来源解析 张杨, 王红磊, 刘安康, 陈魁, 张艺馨, 刘思晗(564)

天津市冬季气溶胶吸湿因子的粒径分布特征 丁净, 张裕芬, 郑乃源, 张会涛, 余卓君, 李立伟, 元洁, 唐森, 冯银厂(574)

输送、滞留叠加海上回流的长时间沙尘天气影响判断及贡献分析 张哲, 乔利平, 周敏, 黄丹丹, 安静宇, 郭会琴, 王红丽, 黄成, 董赵鑫, 王书肖(584)

洛阳市秋冬季PM_{2.5}中多环芳烃的污染特征、来源解析及健康风险评价 齐静文, 张瑞芹, 姜楠, 李利萍, 苗青青(595)

郑州市臭氧污染变化特征、气象影响及输送源分析 王旭东, 尹沙沙, 杨健, 袁明浩, 张瑞芹, 李亚松, 卢轩(604)

基于正交试验的臭氧及其前体物的非线性响应及控制方案 李光耀, 陈强, 郭文凯, 张瑞欣, 夏佳琦(616)

汽车工业区大气挥发性有机物(VOCs)变化特征及来源解析 叶露, 邵菁菁, 俞华明(624)

兰州市高分辨率人为源排放清单建立及在WRF-Chem中应用评估 郭文凯, 李光耀, 陈冰, 夏佳琦, 张瑞欣, 刘晓, 朱玉凡, 陈强(634)

2010~2017年四川省机动车污染物排放趋势分析 李媛, 石嘉诚, 陈军辉, 潘玉瑾, 周虹辉, 范武波, 叶宏, 钱骏, 刘政(643)

珠江三角洲海陆交互沉积物中镉生物有效性及生态风险评价 王芳婷, 包科, 陈植华, 黄长生, 张彩香, 赵信文, 刘学浩(653)

乌梁素海流域地表水中全氟化合物分布、来源及其生态风险 史锐, 毛若愚, 张梦, 吕永龙, 宋帅, 赵纪新(663)

乌梁素海冰盖中微塑料的分布特征及其与盐度、叶绿素a的响应关系 王志超, 杨建林, 杨帆, 杨文焕, 李卫平, 李兴(673)

张家口清水河拦沙坝对磷输移、滞留的影响 王维, 李叙勇(681)

三峡水库典型支流磷素赋存形态特征及其成因 杨凡, 王丽婧, 纪道斌, 李虹, 李莹杰, 李鑫, 许杨, 田盼, 吴雅婷(688)

巢湖沉积物氮磷分布及污染评价 王艳平, 徐伟伟, 韩超, 胡维平(699)

巢湖南淝河口底泥污染特征及疏浚决策 杨盼, 杨春晖, 马鑫雨, 尹洪斌(712)

氧化强化对氢氧化钙原位固磷效果的影响 徐楚天, 李大鹏, 岳薇, 吴宇涵, 孙培荣, 汤尧禹, 黄勇(723)

降雨径流事件对三峡水库香溪河库湾甲烷释放的影响 陈敏, 许浩霆, 王雪竹, 肖尚斌(732)

典型喀斯特河流气-水界面二氧化碳交换特性及其营养调控因素 刘睿, 张静, 陈祖胜, 倪茂飞, 刘文胜(740)

江苏省代表性水源地抗生素及抗性基因赋存现状 王龙飞, 程逸群, 胡晓东, 朱金鑫, 李轶(749)

尾矿库水体环境抗生素抗性基因的分布特征 黄福义, 朱永官, 苏建强(761)

涡河流域中部地区地下水化学特征及其成因分析 郑涛, 焦团理, 胡波, 龚建师, 侯香梦, 王赫生(766)

天津七里海湿地水化学组成及主要离子来源分析 何明霞, 张兵, 夏文雪, 崔旭, 王中良(776)

秸秆覆盖与氮减施对土壤氮分布及地下水氮污染影响 张万锋, 杨树青, 孙多强, 靳亚红, 姜帅, 刘鹏(786)

环境DNA宏条形码监测湖泊真核浮游植物的精准性 张丽娟, 徐杉, 赵峥, 周小华, 冯庆, 杨江华, 李飞龙, 王志浩, 张效伟(796)

浮游植物群落及粒径结构对光吸收特性的影响 黄新, 施坤, 张运林, 朱广伟, 周永强(808)

松花江干流2014~2019年夏季着生藻类群落结构特征及其对环境因子的响应 于宗良, 陈威, 赵然, 李中宇, 董英莉, 张蕊, 王业耀, 金小伟(819)

汛期前后老鹳河干流人类干扰下浮游细菌多样性及功能预测 韩雪梅, 龚子乐, 杨晓明, 李玉英, 陈兆进, 朱会会, 王凡梅(831)

两种典型PPCPs在潜流人工湿地中的季节性去除效果及降解产物 李超予, 杨怡潇, 张宁, 谢惠君, 胡振, 张建(842)

人工生态系统对城市河流中抗生素和ARGs的去除 周海东, 黄丽萍, 陈晓萌, 李丹妍, 李昕, 崔锦裕(850)

紫外氯胺组合消毒供水系统中病毒微生物的分布特征 韩雪, 孙坚伟, 张力, 王哲明, 白晓慧(860)

高炉水渣负载硫化纳米零价铁对水中土霉素的去除 孙秋楠, 张荣斌, 邓曼君, 李远, 王学江(867)

胺硫改性生物炭对水溶液中不同重金属离子的吸附特性及吸附稳定性 汪存石, 何敏霞, 周峰, 陈靓, 祝建中(874)

电凝聚臭氧氧化耦合工艺的有机物处理特性及去除机制解析 谢新月, 许建军, 张少华, 刘雨果, 金鑫, 金鹏康(883)

微米零价铁对剩余活性污泥和餐厨垃圾厌氧联合消化的加强效果及机制 陈圣杰, 姚福兵, 皮洲洁, 侯坤杰, 何丽, 李小明, 王东波, 杨麒(891)

河南省典型工业区周边农田土壤重金属分布特征及风险评价 孟晓飞, 郭俊梅, 杨俊兴, 杨军, 郑国砥, 乔鹏炜, 卞建林, 陈同斌(900)

南京市绿地土壤重金属分布特征及其污染评价 陈佳林, 李仁英, 谢晓金, 王红, 徐静, 邵京, 简静, 阿克居里·乌尔曼, 沈嘉, 央宗(909)

复合改良剂FZB对砷污染土壤的修复效果 丁萍, 贺玉龙, 何欢, 余江(917)

石灰配施有机物料修复酸性Cd污染稻田 李光辉, 成晴, 陈宏(925)

叶面喷施纳米MnO₂对水稻富集镉的影响机制 周一敏, 黄雅媛, 刘晓月, 李冰玉, 刘羽翼, 李卓晴, 王薪琪, 雷鸣(932)

典型喀斯特地区土壤-作物系统镉的富集特征与污染评价 王锐, 邓海, 贾中民, 严明书, 周蛟, 董金秀, 王佳彬, 余飞(941)

辣椒果实高中低镉积型对镉的富集、转运特性及在亚细胞分布特点比较 邵晓庆, 贺章味, 徐卫红(952)

4种草本植物对镉的富集特征 陈迪, 李伯群, 杨永平, 和兆荣, 李雄(960)

不同施肥条件下紫色土旱坡地可溶性有机碳流失特征 熊子怡, 郑杰炳, 王丹, 王富华, 王莹燕, 王子芳, 高明(967)

降雨变化对荒漠草原植物群落多样性与土壤C:N:P生态化学计量特征的影响 高江平, 赵锐锋, 张丽华, 王军锋, 谢忠奎(977)

水分管理对水稻生长与根际激发效应的影响特征 林森, 肖谋良, 江家彬, 魏亮, 李科林, 刘守龙, 祝贞科, 葛体达, 吴金水(988)

铜胁迫对小麦根系微域微生物群落的影响 葛艺, 徐国民, 徐绍辉, 徐艳(996)

臭氧污染、氮沉降和干旱胁迫交互作用对杨树叶和细根非结构性碳水化合物的影响 李品, 周慧敏, 冯兆忠(1004)

颗粒物有机源示踪物的筛选与应用综述 李源速, 吴爱华, 童梦雪, 栾胜基, 李鸷(1013)

《环境科学》征订启事(522) 《环境科学》征稿简则(722) 信息(748, 899, 924)

江苏省代表性水源地抗生素及抗性基因赋存现状

王龙飞¹, 程逸群¹, 胡晓东², 朱金鑫¹, 李轶^{1*}

(1. 河海大学环境学院, 浅水湖泊综合治理与资源开发教育部重点实验室, 南京 210098; 2. 江苏省水利科学研究院, 南京 210017)

摘要: 抗生素和抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 是环境中重要的新兴污染物, 为探明江苏省代表性水源地多种环境介质中抗生素和 ARGs 的污染水平及影响因素, 于 2018 年 12 月和 2019 年 6 月采集苏北、苏中和苏南的 5 处代表性集中式饮用水水源地取水口处水体、表层沉积物和石相附着生物膜样品, 对 3 种介质中 10 种代表性抗生素浓度、1 类整合子酶基因 *intI1* 和 7 种代表性 ARGs 的绝对丰度进行检测分析. 结果表明, 5 处水源地中目标抗生素和 ARGs 处于较低赋存水平. 磺胺类抗生素在水体、表层沉积物和附着生物膜中的赋存量分别为 NF(未检出) ~ 37.4 ng·L⁻¹, NF ~ 47.3 ng·g⁻¹ 和 NF ~ 3 759.1 ng·g⁻¹. 喹诺酮类抗生素在 3 种介质中的浓度和含量分别为 NF ~ 5.3 ng·L⁻¹, 0.4 ~ 32.5 ng·g⁻¹ 和 NF ~ 4 220.9 ng·g⁻¹. 目的 ARGs 中, *sul1*、*sul2*、*tetW* 和 *tetQ* 的检出率为 100%, 其中磺胺类抗生素 ARGs, 即 *sul1* 和 *sul2* 基因丰度最高. 表层沉积物和附着生物膜中的 ARGs 丰度相当, 高于水体中 ARGs 的丰度. 网络分析结果表明, 所属拟杆菌门、变形菌门、厚壁菌门、疣微菌门和放线菌门的细菌最有可能成为代表性水源地中 ARGs 的潜在宿主, 在 ARGs 的扩散和转移过程中起重要作用. 研究结果对于江苏省集中式饮用水源地水环境质量状况评估和水质安全保障具有一定的科学指导意义.

关键词: 水源地; 抗生素; 抗生素抗性基因 (ARGs); 赋存特征; 荧光实时定量 PCR

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)02-0749-12 DOI: 10.13227/j.hjkk.202006248

Occurrence of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Representative Drinking Water Resources in Jiangsu Province

WANG Long-fei¹, CHENG Yi-qun¹, HU Xiao-dong², ZHU Jin-xin¹, LI Yi^{1*}

(1. Key Laboratory for Integrated Regulation and Resources Development on Shallow Lakes of Ministry of Education, College of Environment, Hohai University, Nanjing 210098, China; 2. Jiangsu Institute of Water Resources and Hydropower Research, Nanjing 210017, China)

Abstract: Emerging contaminants including antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) have been frequently detected in drinking water resources. In this study, the occurrence of antibiotics and ARGs in various environmental matrices in representative drinking water sources in Jiangsu Province and their influencing factors were explored. Five representative drinking water sources in northern, central, and southern Jiangsu were selected. Water, surface sediment, and epilithic biofilm samples were harvested near the water intakes of each water resource in December 2018 and June 2019. The concentrations and abundances of ten antibiotics, one integrase gene *intI1*, and seven common ARGs were measured. The results suggest that the concentrations of the target antibiotics and ARGs are relatively low compared to previously reported data in China and elsewhere in the world. The target antibiotics were detected in all of the water sources. The concentrations of sulfonamides in the water, surface sediment, and epilithic biofilm ranged from not found (NF) to 37.4 ng·L⁻¹, NF to 47.3 ng·g⁻¹, and NF to 3 759.1 ng·g⁻¹, respectively; the concentrations of quinolones in three matrices were NF-5.3 ng·L⁻¹, 0.4-32.5 ng·g⁻¹, and NF-4 220.9 ng·g⁻¹, respectively. The detection rates of the ARGs including *sul1*, *sul2*, *tetW*, and *tetQ* were 100%, among which the sulfonamides *sul1* and *sul2* showed the highest abundance. The absolute abundances of *sul1* in the three matrices were 2.48 × 10⁶ copies·L⁻¹, 3.54 × 10⁷ copies·g⁻¹, and 1.44 × 10⁹ copies·g⁻¹, respectively. The abundances of ARGs in the sediments and epilithic biofilms were comparable, and were much higher than in the water body. The phyla Bacteroidetes, Proteobacteria, Firmicutes, Verrucomicrobia, and Actinomycetes have proven potential hosts for ARGs and might play an important role in the transmission and diffusion of resistance genes. This study offers baseline information on the presence of antibiotics and ARGs in the drinking water sources of Jiangsu Province, providing a significant theoretical basis for ARGs pollution control and safety guidelines for drinking water resources.

Key words: drinking water resources; antibiotics; antibiotic resistance genes (ARGs); occurrence; real-time qPCR

保障饮用水水质安全是维护人民群众根本利益的基本要求,也是建设水生态文明的重点工作. 近年来,在德国、美国和中国等集中式供水水源地中频繁检出抗生素等新兴污染物,对水生态安全和饮用水水质产生潜在威胁^[1-5]. 水环境中低浓度的抗生素可作为一种信号分子,调控微生物群落选择性适应抗生素,加快耐药细菌和抗生素抗性基因

(antibiotic resistance genes, ARGs)的产生和传播^[6]. 由于具有高传播性、环境持久性等特征, ARGs 在环

收稿日期: 2020-06-25; 修订日期: 2020-07-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(51779076, 51709079); 江苏省自然科学基金项目(BK20170883); 江苏省水利科技项目(2018030)

作者简介: 王龙飞(1988~),男,博士,副教授,主要研究方向为水污染控制与水环境修复, E-mail: lfwang@hhu.edu.cn

* 通信作者, E-mail: envly@hhu.edu.cn

境中的残留和传播带来的生态健康风险引起人们的广泛关注. 目前, ARGs 已在我国黄浦江^[7]、金山湖^[8]和东江河流域^[9]等河湖系统和饮用水水源地中广泛检出, 对人类健康造成潜在威胁. 解析水源地中抗生素和 ARGs 的污染特征, 探寻阻止抗生素及 ARGs 的传播的有效途径已成为近年来研究热点. 然而, 目前有关江苏省代表性集中式饮用水水源地中抗生素及 ARGs 的赋存特征、影响因素等方面的研究尚不多见. 本研究于 2018 ~ 2019 年开展江苏省代表性集中式饮用水水源地抗生素和 ARGs 的调研, 测定水源地取水口水体、表层沉积物以及石相附着生物膜中 10 种代表性抗生素、1 类整合子 *intl1* 以及 7 种典型 ARGs 赋存情况, 分析 ARGs 潜在宿主及传播规律, 以期为江苏省水源地中抗生素及 ARGs 的赋存、传播和归趋机制研究提供一定的基础数据.

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

高效液相色谱-三重四级杆串联质谱仪 (Waters ACQUITY UPLC Xevo TQ, 美国 Waters 公司), 配备 ACQUITY BEH C18 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm, 美国 Waters 公司); 固相萃取装置 (Mediawax 12, 美国 Supelco 公司); 氮吹仪 (KD200, 杭州奥盛仪器有限公司); 冷冻干燥仪 (18L Freeze Dry System, 美国 Labconco 公司); Oasis HLB 固相萃取柱 (6 mL, 500 mg, 美国 water 公司) Supelclean LC-SAX 固相萃取柱 (3 mL, 500 mg, 美国 Waters 公司); 加速溶剂萃取仪 (ASE350, 美国 Thermo 公

司); 0.45 μm 滤膜 (玻璃纤维材质, 上海 Whatman 公司); 高速冷冻离心机 (TGL16M, 湘智离心机仪器有限公司); 超纯水仪 (Milli-Q Advantage, 美国 Millipore 公司). 磺胺类及喹诺酮类标准品抗生素购自 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司 (Augsburg, Germany), 纯度大于 98%. 甲醇 (色谱纯) 购自于德国 Merck 公司. 使用甲醇作溶剂配制 1 mg·L⁻¹ 的混合储备液置于 -20℃ 冰箱备用. 甲酸、乙酸乙酯为色谱级, 购于江苏强盛功能化学股份有限公司. Na₂EDTA 和 PBS 缓冲液购于上海源叶生物科技有限公司.

1.2 样品采集和预处理

选取江苏省 5 处代表性集中式水源地为研究对象, 包括苏北地区的蔷薇湖 (34.53°N, 119.06°E) 和骆马湖 (34.01°N, 118.14°E)、苏中地区的高邮湖 (32.75°N, 119.24°E), 以及苏南地区的溧湖 (31.61°N, 119.87°E) 和贡湖 (31.46°N, 120.38°E), 采样点分布情况见图 1. 于 2018 年 12 月 (冬季) 和 2019 年 6 月 (夏季) 在各集中式水源地取水口水处进行采样. 利用采水器在水面下 0.5 m 处采集 5 L 水样放入玻璃瓶中并添加硫酸调至 pH 至 2 以抑制细菌生长. 用抓泥斗取取水口水处表层沉积物样约 500 g. 石相附着生物膜采集方法如下: 将采样点处附着生物膜的岩石从水中取出, 用塑料铲轻轻地将生物膜刮入塑料瓶中. 将采集到的生物膜过 10 目筛去除杂质, 并利用沉淀法去除沙石. 所有样品放入含有冰袋的样品储存箱中保存, 尽快运回实验室.

水样运回实验室后, 首先使用氢氧化钠溶液将



图1 江苏省代表性水源地采样点示意

Fig. 1 Sampling points of representative drinking water resources in Jiangsu Province

pH 值调节为中性,再用 0.45 μm 醋酸纤维滤膜进行抽滤. 每升水样加入 0.5 g Na_2EDTA ,振荡混合均匀,使用 HLB 小柱富集萃取. HLB 小柱使用前,依次用 9 mL 甲醇、5 mL 纯水、5 mL 的 0.1% 甲酸水溶液淋洗活化,取 1 L 水样以 5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速通过 HLB 小柱. 过滤后的滤膜保存于 -80°C 冰箱中待用. 样品富集完成后,使用 4 mL 高纯水清洗小柱,负压抽干 30 min. 用 6 mL 的甲醇和 6 mL 含 0.1% 甲酸的甲醇分两次洗脱小柱,洗脱液移至自动浓缩仪内,置于 40°C 水浴中氮气吹脱至近干,最后用含 0.1% 甲酸的甲醇定容至 1 mL,使用 0.22 μm 滤膜过滤后,存放于棕色气相色谱瓶中保存待测.

表层沉积物样与附着生物膜样进行冷冻干燥后研磨过 100 目孔径筛. 准确称取 5 g 干燥样品置于 50 mL 离心管中. 加入 10 mL PBS 缓冲液和乙腈的混合液(1:1, 体积比, $\text{pH}=3$), 在 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下振荡 20 min, 并进行超声提取 10 min. 以 4000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 速度离心 10 min, 收集上清液, 按上述方法提取 2 次, 合并提取液并加超纯水稀释至 300 mL. 将提取液通过 LC-SAX 和 HLB 串联柱进行富集. 串联柱预先用 10 mL 甲醇、10 mL 超纯水进行活化. 过柱流速控制在 3~5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. 样品富集完毕后,

用 10 mL 超纯水清洗串联柱, 去掉 LC-SAX 小柱, 负压抽真空干燥 5 min. 用 10 mL 甲醇对目标物进行洗脱, 收集的洗脱液于 40°C 下氮吹至近干, 然后用含 0.1% 甲酸的甲醇定容至 1 mL, 使用 0.22 μm 滤膜过滤后, 存放于棕色送样瓶中保存待测. 每个条件下设置 3 个平行.

1.3 仪器检测与质量控制

1.3.1 仪器检测

(1) 色谱条件 ACQUITY BEH C18 色谱柱, (2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm , 美国 Waters 公司); 流动相 A 为 0.1% 甲酸的水溶液, 流动相 B 为乙腈; 梯度洗脱程序: 0~0.25 min, 90% A; 3.5 min, 50% A; 4.0~5.0 min, 5% A; 5.01~6.0 min, 90% A; 流速: 0.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温: 40°C ; 进样量: 5 μL .

(2) 质谱条件 采用三重四级杆质谱仪(具电喷雾离子源, Waters Xevo TQ)对目标化合物进行定性定量分析. 离子源: ESI 源; 电离模式: 正离子模式; 毛细管电压: 3.0 kV; 离子源温度: 150°C ; 锥孔反吹气流量: 50 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$; 脱溶剂气温度: 500°C ; 脱溶剂气流量: 900 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$; 监测模式: MRM 模式. 测试抗生素的质谱条件见表 1.

表 1 10 种抗生素的质谱条件

Table 1 MS parameters used in the determination of the ten antibiotics

化合物名称	保留时间 /min	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留时间 /s	锥孔电压/V	碰撞能 /V
磺胺甲噁唑	2.98	254.0	92.0	0.050	25	26
			156.0			16
磺胺间甲氧嘧啶	2.69	281.0	92.0	0.078	27	35
			156.0			22
甲氧苄氨嘧啶	2.06	291.0	123.0	0.022	35	27
			230.0			25
磺胺喹噁啉	3.44	301.1	92.2	0.050	23	30
			156.1			16
磺胺二甲氧嘧啶	3.43	311.1	92.0	0.050	28	32
			156.0			20
诺氟沙星	2.08	320.1	233.0	0.022	32	25
			276.1			20
环丙沙星	2.12	332.1	288.1	0.022	32	18
			314.1			22
洛美沙星	2.22	352.1	265.1	0.022	31	22
			308.1			16
恩诺沙星	2.29	360.2	245.0	0.022	32	20
			316.1			22
氧氟沙星	2.08	362.1	261.1	0.022	31	25
			368.1			20

1.3.2 质量控制与保证

每份样品设置 3 个平行样. 每批样品设置一

个溶剂空白、一个野外空白和 3 个基质加标. 每种目标污染物通过离子对和色谱保留时间进行

定性,通过离子信号定量,建立标准曲线,获得处理后样品中抗生素的浓度.通过内标回收率校准后,最后得到样品中污染物的浓度.标准曲线由7个不同浓度梯度的混合标准溶液进行确定.方法定量下限采用3倍检出限确定.水样加标水平为 $50 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$,回收率范围为42.2%~70.8%;表层沉积物和附着生物膜加标水平为 $100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$,回收率范围为62.5%~70.2%,相对标准偏差低于20%.溶剂空白和野外空白中未检出目标化合物.

1.4 样品 DNA 提取和高通量测序

样品中 DNA 采用 FastDNA Spin Kit (MP Biomedicals, Solon, OH, USA) 试剂盒提取.对于水样 DNA,将 1.2.1 节中过滤后的滤膜剪成小块放入试剂盒.对于表层沉积物和附着生物膜,取 0.1 g 湿重样品置于试剂盒进行提取.提取后的 DNA 样品送至上海凌恩生物科技有限公司进行细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 高变区的高通量测序,所用引物对为 341F (5'-CCTAYGGGRBGC ASCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACNNGGTTATCT AAT-3').

1.5 实时荧光定量 PCR

对各介质中两种磺胺类 ARGs (*sul1* 和 *sul2*)、3 种四环素类 ARGs (*tetW*、*tetC* 和 *tetQ*)、两种氯霉素类 ARGs (*cmlA* 和 *floR*) 以及与 ARGs 传播密切相关的一类整合子 *intl1* 进行定量 PCR (qPCR) 分析.扩增 ARGs 片段所对应的引物名称、序列、片段大小和退火温度的信息见表 2. 目的基因的 PCR 扩增体系设置为 30 μL , 其中包括 15 μL 的 qPCR Mix, Mg^{2+} ($2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 溶液 2 μL , 正向和反向引物各 0.5 μL , 模板 2 μL , 模板 DNA 浓度约为 $10 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, 加 ddH_2O 补足至 30 μL . PCR 扩增设置程序为: 在 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 退火温度为 60 $^{\circ}\text{C}$, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 循环 30 次. PCR 产物通过琼脂糖凝胶电泳跑胶后, 割取扩增片段大小正确的条带回收, 用于后续的标准品制作. 将纯化后的 PCR 产物连接到 pMD19-T 载体上, 连接载体转化后涂布至 LB 琼脂平板, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下过夜培养, PCR 鉴定 5 个单克隆菌落, 挑选接种一个阳性菌落进行扩大培养, 之后进行质粒抽提, 即标准品质粒. 采用标准品专用稀释液做 10 倍梯度稀释, 制备目的基因的定量标准曲线.

表 2 用于定性和定量 ARGs 等目的基因片段的引物基本信息

Table 2 Specific primers used for PCR and real-time PCR analysis of ARGs and other target gene abundances

种类	抗性基因	引物	引物序列	片段大小/bp	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$
磺胺类	<i>sul1</i>	<i>sul1</i> -F	CACTGCAGGCTGGTGTAT	107	60
		<i>sul1</i> -R	GAAGAACCGCACAATCTCGT		
	<i>sul2</i>	<i>sul2</i> -F	TCCGGTGGAGGCCGTATCTGG	190	60
		<i>sul2</i> -R	CGGGAATGCCATCTGCCTTGAG		
四环素类	<i>tetW</i>	<i>tetW</i> -F	GAGAGCCTGCTATATGCCAGC	168	60
		<i>tetW</i> -R	GGCGTATCCACAATGTTAAC		
	<i>tetC</i>	<i>tetC</i> -F	CTTGAGAGCCTTCAACCCAG	418	60
		<i>tetC</i> -R	ATGGTCGTCATCTACCTGCC		
	<i>tetQ</i>	<i>tetQ</i> -F	AGAATCTGCTGTTTGCCAGTG	169	60
		<i>tetQ</i> -R	CGGAGTGTCAATGATATTGCA		
氯霉素类	<i>cmlA</i>	<i>cmlA</i> -F	GCCAGCAGTGCCGTTTAT	150	60
		<i>cmlA</i> -R	GGCCACCTCCCAGTAGAA		
	<i>floR</i>	<i>floR</i> -F	CGGTCCGTATTGTCTTCAGC	160	60
		<i>floR</i> -R	TCACGGGCCACGCTGTAT		
整合子	<i>intl1</i>	<i>intl1</i> -F	TACGAACCGAACAGGCTTATG	151	60
		<i>intl1</i> -R	TGACCATGCGTGGAGACC		

使用实时荧光定量 PCR 仪 (7900HT 型, ABI 公司, 美国) 进行目的基因的丰度分析. Real Time PCR 体系包括 12 μL ddH_2O , 15 μL qPCR Mix, 正向和反向引物 (浓度为 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 各 0.5 μL , 模板 2 μL . qPCR 程序如下: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 循环次数为 1, 循环 5 次变性为温度 95 $^{\circ}\text{C}$ 持续 30 s, 退火温度 70 $^{\circ}\text{C}$ 持续 30 s, 循环 38 次变性温度 95 $^{\circ}\text{C}$ 持续 30 s, 退火温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 持续 30 s, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s. 16S rRNA 反应条件同目的基因. 实验得到的

16S rRNA、整合子 *intl1* 和 7 种 ARGs 的扩增效率范围在 80%~97%.

1.6 数据分析

采用 QIIME 1.7.0 软件进行质量检测: ①设置 50 bp 的窗口, 如果窗口内的平均质量值低于 20, 从窗口开始截去后端碱基, 去除质控后长度低于 50 bp 的序列; ②barcode 需精确匹配, 引物允许 2 个碱基的错配, 去除模糊碱基; ③根据重叠碱基 overlap 将两端序列进行拼接, overlap 需大于 10 bp, 去除无法

拼接的序列. 将序列进行剪切, 并使用 SILVA128 参考比较数据库进行比对. 根据 97% 的相似性截断值将 16S rRNA 序列聚类为操作分类学单位 (OTUs). 使用 Microsoft Office Excel 2016 对数据进行整理计算. 使用 IBM SPSS19.0 进行数据的相关性分析. 使用 Origin Pro 9.0 绘制 ARGs 相对丰度图. 共现网络分析体现 ARGs 和微生物之间的潜在的因果相互作用结构. 首先通过 Spearman 的相关分析, 确定微生物群落的共现网络. 各 OTU 之间的 Spearman 的秩相关系数 (ρ) 至少在 25% 的样本中出现, 并且使用内部的 R 脚本在 R v3.5.3 (<http://cran.r-project.org/>) 中至少进行 30 次两两间计算, 数据可视化及模块化分析通过 Gephi 软件 (<http://gephi.github.io/>) 实现. 本研究中的细菌 16S rRNA 序列已经存入 NCBI 的 Sequence Read Archive (SRA) 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>), BioProject ID 为 PRJNA647936.

2 结果与讨论

2.1 抗生素赋存现状

江苏省 5 处代表性水源地中磺胺类抗生素检出率和丰度相对较高 (表 3), 其中磺胺甲噁唑的检出率为 100%, 磺胺甲噁唑和磺胺间甲氧嘧啶在水体中的浓度分别为 $1.0 \sim 78.1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NF (未检出, 下同) $\sim 56.7 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$. 研究区域中磺胺甲噁唑浓度远低于黄浦江流域^[10] ($2.1 \sim 623.3 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) 和珠江流域^[11] ($\text{NF} \sim 1080 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$). 相比而言, 喹诺酮类抗生素性质较不稳定, 在光照条件下易发生光解^[12], 可能是其残留浓度较低的原因. 水源地表层沉积物中磺胺类抗生素的检出率亦为 100% (表 3). 磺胺

甲噁唑、磺胺间甲氧嘧啶、甲氧苄氨嘧啶、磺胺喹噁啉和磺胺间二甲氧嘧啶的含量分别 $\text{NF} \sim 15.4$ 、 $1.7 \sim 25.3$ 、 $2.6 \sim 87.0$ 、 $\text{NF} \sim 7.9$ 和 $\text{NF} \sim 10.7 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$. 与水体中检测结果类似, 喹诺酮类抗生素在沉积物中的含量较磺胺类更低, 诺氟沙星、环丙沙星、氧氟沙星的含量分别为 $\text{NF} \sim 0.7$ 、 $\text{NF} \sim 3.8$ 和 $\text{NF} \sim 0.8 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$. 值得指出的是, 溧湖水源地取水口表层沉积物中抗生素检出含量和检出率均高于其他采样点, 10 种抗生素总检出量最高可达 $226.6 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 推测可能原因是该取水口附近村庄密集, 生活污水和面源径流等排放量较多.

石相附着生物膜是由矿物颗粒、原生动物、固着细菌、真菌和藻类等构成的集合体, 具有较强的吸附能力, 在河湖污染物的迁移转化过程中起着决定性作用. 表 3 显示骆马湖水源地生物膜中抗生素含量远高出其他采样点, 其中磺胺类抗生素含量为 $827.6 \sim 3759.1 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 喹诺酮类抗生素含量 $1.14 \sim 220.9 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 其他采样点中两大类抗生素含量分别为 $\text{NF} \sim 50.7 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.03 \sim 10.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$. 洪大林等^[13] 研究了骆马湖入湖抗生素的潜在来源, 推测污染主要来自新沂河与中运河等入湖河流承纳的生活污水与工业废水, 这可能是本研究中骆马湖表层沉积物和附着生物膜中抗生素赋存水平较高的原因.

与国内外其他流域相比, 研究区域上覆水体中磺胺类抗生素含量 ($\text{NF} \sim 37.5 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) 低于长江口 ($\text{NF} \sim 71.8 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) 和黄浦江 ($\text{NF} \sim 89.1 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)^[14] 等流域, 与深圳铁岗供水水库^[15] ($6.1 \sim 47 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)、美国东南部某饮用水源地^[16] ($2.0 \sim 19.9 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)、以及葡萄牙里斯本市地表饮用水源地^[17]

表 3 代表性水源地取水口处不同介质中抗生素含量

Table 3 Concentrations of target antibiotics in multiple potential sources in the intake area in representative drinking water resources

项目	采样点	磺胺甲噁唑	磺胺间甲氧嘧啶	甲氧苄氨嘧啶	磺胺喹噁啉	磺胺间二甲氧嘧啶	诺氟沙星	环丙沙星	洛美沙星	恩诺沙星	氧氟沙星
水样 / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	高邮湖	9.8 ~ 15.5	4.0 ~ 12.6	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF ~ 1.1
	骆马湖	1.7 ~ 1.9	NF ~ 6.0	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF ~ 0.4	NF ~ 3.4
	蔷薇湖	11.2 ~ 21.2	10.0 ~ 13.3	NF	NF	NF	NF ~ 5.7	NF	NF	NF	NF ~ 1.7
	溧湖	5.7 ~ 78.1	8.8 ~ 56.7	13.3 ~ 21.4	NF ~ 8.1	NF ~ 3.1	NF	NF ~ 3.5	NF ~ 2.3	NF ~ 2.6	NF ~ 3.1
	贡湖	1.0 ~ 2.6	NF	NF	NF	NF	NF ~ 3.8	NF	NF	0.7 ~ 1.6	2.8 ~ 6.9
表层 沉积物 / $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	高邮湖	NF ~ 15.4	5.9 ~ 25.3	14.0 ~ 87.0	NF ~ 1.9	NF ~ 3.8	NF	NF ~ 0.7	9.0 ~ 31.0	NF ~ 0.3	0.1 ~ 0.3
	骆马湖	1.4 ~ 4.2	3.4 ~ 8.1	8.2 ~ 32.6	0.7 ~ 1.1	0.7 ~ 3.8	NF	NF	2.2 ~ 4.6	0.1 ~ 0.4	NF ~ 0.1
	蔷薇湖	1.7 ~ 6.0	5.9 ~ 9.4	2.6 ~ 12.4	0.6 ~ 1.2	NF ~ 0.8	NF	0.1 ~ 0.2	NF ~ 3.0	0.7 ~ 1.6	NF ~ 0.1
	溧湖	1.4 ~ 13.9	1.7 ~ 15.4	8.0 ~ 41.4	NF ~ 7.9	NF ~ 10.7	0.2 ~ 0.7	2.1 ~ 3.8	2.0 ~ 93.2	2.1 ~ 38.8	0.1 ~ 0.8
	贡湖	1.1 ~ 2.4	4.7 ~ 6.2	3.6 ~ 97.8	1.2 ~ 1.6	0.3 ~ 1.1	NF	NF ~ 0.1	NF	NF ~ 0.1	NF ~ 0.1
附着 生物膜 / $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	高邮湖	0.6 ~ 2.2	2.8 ~ 7.5	1.2 ~ 42.4	0.6 ~ 1.1	NF ~ 5.2	NF	NF ~ 0.3	3.2 ~ 11.2	NF ~ 0.1	NF ~ 0.1
	骆马湖	403.9 ~ 1251	442 ~ 1282	2065.4 ~ 5452.8	545.5 ~ 1483.7	759.0 ~ 2059.3	0.6 ~ 1.5	52.1 ~ 135	1930 ~ 6512	0.8 ~ 1.4	20.2 ~ 46.0
	蔷薇湖	NF ~ 2.1	1.5 ~ 3.5	NF	NF ~ 2.0	0.2 ~ 7.6	NF	NF ~ 0.2	1.2 ~ 13.2	0.1 ~ 0.2	0.04 ~ 0.3
	溧湖	NF ~ 2.4	3.9 ~ 15.3	4.8 ~ 24.2	0.6 ~ 1.8	0.4 ~ 3.4	NF ~ 0.5	0.1 ~ 1.0	NF ~ 1.40	1.6 ~ 10.5	NF ~ 0.1
贡湖	NF ~ 2.2	6.3 ~ 76.3	NF ~ 3.0	0.5 ~ 1.7	NF ~ 0.4	0.3 ~ 0.5	0.1 ~ 0.2	3.4 ~ 24.8	0.1 ~ 0.4	0.1 ~ 0.12	

($8 \sim 25 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)等水源地浓度水平相当. 喹诺酮类抗生素总量与长江口(NF $\sim 2.3 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)、黄浦江^[14](NF $\sim 34.2 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)的浓度水平相当, 低于珠江^[18]($14 \sim 74 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)流域. 表层沉积物中磺胺类抗生素的含量与三峡库区^[19]($3.0 \sim 35.9 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)、黄河^[20](NF $\sim 22 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)以及美国的 Cache La Poudre 河^[21](NF $\sim 13.7 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)中含量相当, 高于黄浦江流域($0.2 \sim 0.6 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$), 显著低于珠江流域^[22](NF $\sim 248 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)及海河流域($29.1 \sim 216.4 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$). 喹诺酮类抗生素的含量与辽河^[20](诺氟沙星: NF $\sim 3.3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)和瑞士格里芬湖^[23](诺氟沙星: $2.4 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 、环丙沙星: $2.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)等区域相当, 低于黄河^[20](NF $\sim 123 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)、海河^[20]($10.3 \sim 5770 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$)以及珠江流域^[24]($21.8 \sim 1560 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$). 总体而言, 本研究 5 处江苏省水源地的抗生素处于较低污染水平.

2.2 ARGs 赋存特征及与国内外其他流域赋存状况的比较

2018 年 12 月(冬季)与 2019 年 6 月(夏季)各采样点水体中目标 ARGs 绝对丰度如图 2 所示. *sul1*、*sul2*、*tetW* 和 *tetQ* 在各介质中的检出率为 100%. 比较发现冬季水体中各 ARGs 绝对丰度均高于夏季. 冬季水体中磺胺类 ARGs, 即 *sul1* 和 *sul2* 的丰度分别为 $1.13 \times 10^5 \sim 2.48 \times 10^6 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $6.4 \times 10^4 \sim 1.12 \times 10^6 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$, 高于夏季样品中

丰度值 $6.8 \times 10^4 \sim 1.30 \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $3.65 \times 10^2 \sim 10.34 \times 10^3 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$. 冬季水样中四环素类 ARGs, 即 *tetQ*、*tetC* 和 *tetW* 的含量分别为 $1.01 \times 10^5 \sim 3.37 \times 10^5$ 、 $9.5 \times 10^2 \sim 2.66 \times 10^6$ 和 $1.77 \times 10^4 \sim 4.7 \times 10^4 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$, 亦高于夏季样品中的各绝对丰度. 氯霉素类 ARGs, 即 *floR* 和 *cmlA* 在冬季含量分别为 $1.5 \times 10^4 \sim 2.04 \times 10^4 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $8 \times 10^2 \sim 7.52 \times 10^3 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$, 夏季含量则分别为 NF $\sim 1.62 \times 10^4 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NF $\sim 1.83 \times 10^4 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$. Jiang 等^[7]的研究结果表明, ARGs 在河湖水体中的浓度受多种因素影响, 其丰度与水体流速呈显著负相关. 江苏省夏季雨水频繁, 取水口区域水量增加, 流速增大, 而冬季水源地水体流速缓慢, 可能促进了 ARGs 的富集.

与水体中 ARGs 丰度规律不同, 夏季表层沉积物与石相附着生物膜中 ARGs 绝对丰度总体高于冬季水平, *int11*、*sul1*、*tetQ*、*tetW* 和 *floR* 等基因对温度的响应更加显著. 这与 Luo 等^[23]在海河流域观测的结论一致, 不同季节下 *sul1* 等 ARGs 在环境中的分布存在显著差异, 造成这种差异的原因包括环境温度、微生物活性, 以及 *int11* 丰度等. 由于 *int11* 基因可以促进 *sul1* 在微生物之间转移传播, 且夏季样品中的 *int11* 基因丰度较高, 可能是 *sul1* 在夏季样品中丰度增加的重要原因之一. 此外, 温度的变化会对 ARGs 的转移产生影响, 随着温度的升高, 微生物与

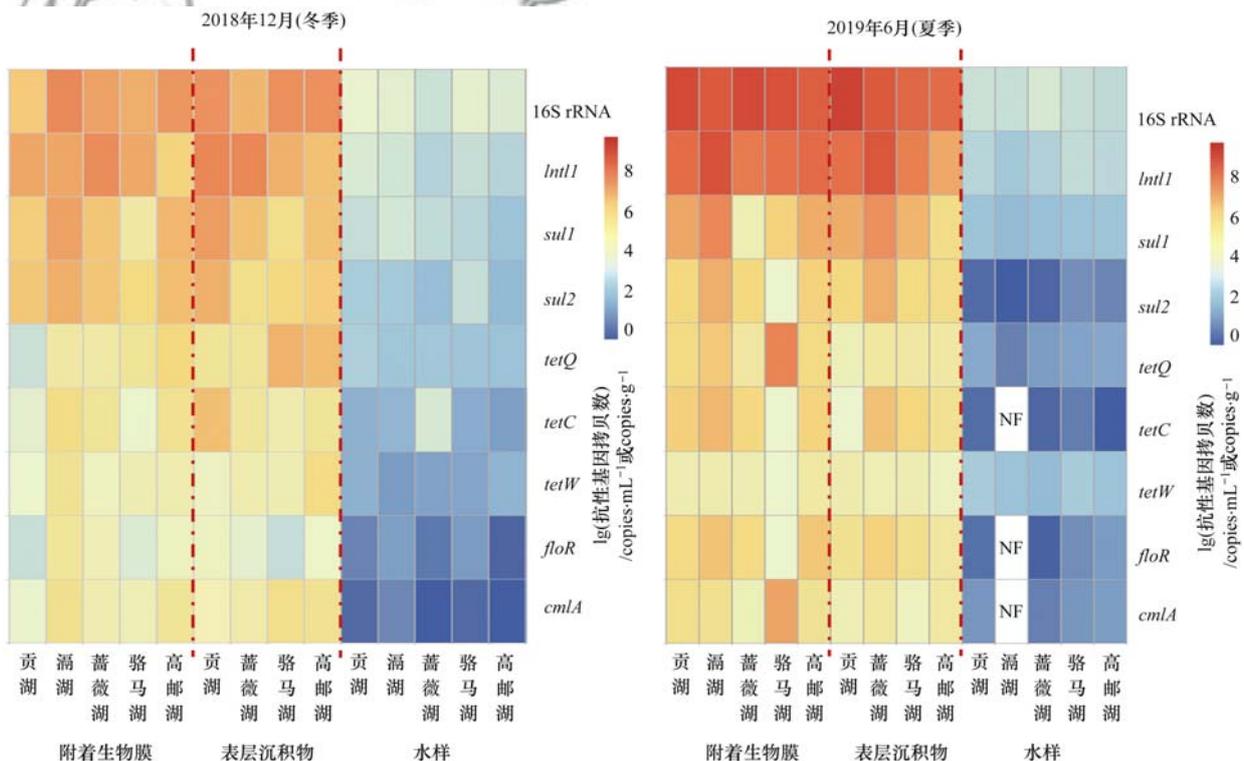


图 2 上覆水体、表层沉积物与附着生物膜中 ARGs 的绝对丰度

Fig. 2 Absolute abundances of ARGs water, sediments, and epilithic biofilm samples

ARGs 间的结合转移频率会显著增大, 加速 ARGs 的传播和扩散^[25,26]. 彭晶等^[27]研究了堆肥系统中各环境因素对 ARGs 的影响, 发现温度是影响堆肥系统中 *tetQ* 和 *tetW* 等多种 ARGs 的重要环境因子, 夏季较高的温度可能是促进沉积物和生物膜中部分 ARGs 含量增高的原因.

图 3 为目的 ARGs 在 3 种环境介质中的相对丰度. 表层水样中, 磺胺类 ARGs 的相对丰度最高, *sul1* 和 *sul2* 基因的相对丰度(以 16S rRNA 计, 下同)分别为 $3.13 \times 10^{-2} \sim 6.34 \times 10^{-1}$ 和 $1.11 \times 10^{-3} \sim 1.74 \times 10^{-1}$. 磺胺类 ARGs 在水体为优势 ARGs 的原因主要有以下 2 点: ①环境中细菌对磺胺类抗生素有较强的抗性, 磺胺类 ARGs 的潜在宿主较多; ②*sul2* 基因是一类二氢酸合成酶基因, 在环境中普遍存在. 图 3(b) 表明表层沉积物与附着生物膜中目的 ARGs 的相对丰度相当, 显著高于水体中

目的 ARGs 的丰度. 水样中 ARGs 的含量远低于沉积物和生物膜中丰度的原因可解释如下. 首先, 在水体中, 可移动遗传元件 (mobile genetic element) 主导的水平基因转移是 ARGs 传播和扩散的主要驱动因子^[28], 本研究测定的 *int11* 是一种与 ARGs 传播密切相关的可移动遗传元件, 是评价水体中 ARGs 传播的重要指标. 水样中 *int11* 丰度远低于沉积物和生物膜中的含量(图 2), 这与 3 种介质中 ARGs 相对丰度间的关系相吻合. 其次, 水环境中 ARGs 易吸附于颗粒物/悬浮物等物质表面, 随其沉降至表层沉积物和生物膜等环境介质, 这类固相环境介质的稳定生境有利于宿主微生物的繁殖, 进一步促进 ARGs 的扩散. 因此在沉积物/生物膜中, 水平基因转移和宿主微生物的繁殖都是影响 ARGs 传播和扩散的重要过程^[29].

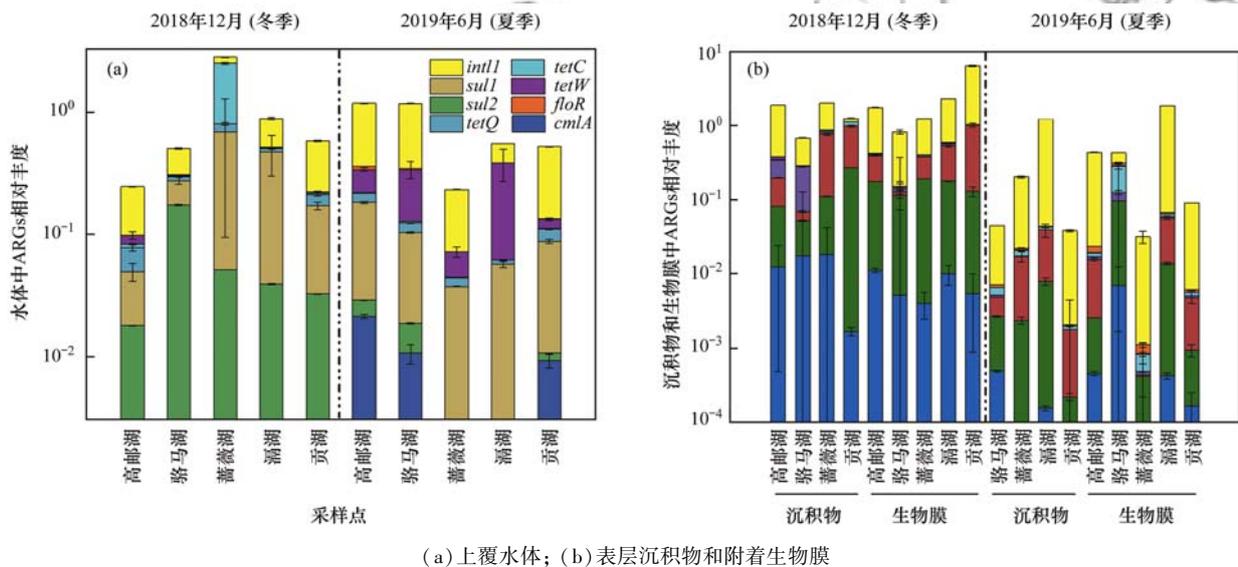


图 3 ARGs 在上覆水体、表层沉积物与附着生物膜中相对丰度

Fig. 3 Relative abundances ARGs in water, sediments, and epilithic biofilm samples

表 4 总结了国内外代表性流域表层水中 ARGs 丰度, 其中磺胺类 ARGs 在各流域丰度均为最高. 本研究中 5 处水源地中的磺胺类 ARGs 丰度远低于梅梁湾的磺胺类 ARGs 丰度, *tetW* 基因的丰度则高于梅梁湾检测的丰度. 磺胺类 ARGs 和四环素类 ARGs 与珠江流域的东河、西河、南河以及意大利的马焦雷湖相当. 与长江、黄浦江、海河、韩国的清州湖以及瓦塔尔河等流域相比, 研究区域的 ARGs 丰度较低. 与国内外代表性流域相比, 研究的 5 处水源水中的 ARGs 污染水平较低.

研究区域表层沉积物中 ARGs 的丰度与长江、洞庭湖、洪泽湖以及西班牙的 River Lobregat 相当(表 5), 低于大辽河和珠江流域. 磺胺类 ARGs 在沉积物中相对丰度最高, *sul1* 和 *sul2* 的相对丰度分别

为 $9.14 \times 10^{-4} \sim 8.88 \times 10^{-1}$ 和 $2.12 \times 10^{-4} \sim 2.68 \times 10^{-1}$. 在附着生物膜中 *sul1* 和 *sul2* 的相对丰度分别为 $1.74 \times 10^{-5} \sim 8.88 \times 10^{-1}$ 和 $4.04 \times 10^{-4} \sim 1.24$. 四环素类 ARGs, 即 *tetQ*、*tetC* 和 *tetW* 的相对丰度分别为 $5.08 \times 10^{-5} \sim 3.75 \times 10^{-2}$ 、 $5.82 \times 10^{-4} \sim 1.53 \times 10^{-1}$ 和 $1.85 \times 10^{-5} \sim 1.08 \times 10^{-2}$, 其中 *tetC* 的丰度最高. 氯霉素类抗性基因 *cmlA* 和 *floR* 的相对丰度分别为 $1.30 \times 10^{-5} \sim 1.11 \times 10^{-2}$ 和 $2.67 \times 10^{-4} \sim 2.24 \times 10^{-2}$. 以上数据表明研究区域水样和表层沉积物样品中的 ARGs 均处于低污染水平.

结合上述分析结果, 本研究所关注的 5 处代表性水源地抗生素和 ARGs 均处于较低污染水平, 且水源地间污染物赋存无显著地理性差异. 结果说明江苏省水源地整体水质状况良好, 除常规指标能达

到地表Ⅱ类至Ⅲ类水标准外,抗生素和 ARGs 等新型污染物亦控制在较低污染水平. 值得注意的是研究期间内漏湖表层沉积物和骆马湖附着生物膜样品中抗生素赋存量较高,此两处水源地取水口处沉积

物和生物膜中 ARGs 丰度也高于其他水源地,综合考虑采样频次、分析测试方法等造成的误差,该两处水源地抗生素和 ARGs 的潜在环境和生态风险仍值得关注.

表 4 国内外不同水源地水体 ARGs 绝对丰度¹⁾/copies·L⁻¹

Table 4 Absolute abundances of ARGs in various drinking water resources in China and elsewhere in the world/copies·L⁻¹

采样点	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>tetQ</i>	<i>tetC</i>	<i>tetW</i>	<i>floR</i>	<i>cmlA</i>	文献
长江口	2.26 × 10 ⁷ ~ 3.19 × 10 ⁸	5.92 × 10 ⁷	1.06 × 10 ⁷	—	3.26 × 10 ⁷	—	—	[25]
黄浦江饮用水源地	3.2 × 10 ⁷ ~ 1.74 × 10 ⁸	4.3 × 10 ⁷ ~ 4.19 × 10 ⁸	1.03 × 10 ⁶ ~ 4.08 × 10 ⁶	—	1.61 × 10 ⁴ ~ 3.84 × 10 ⁵	—	—	[7]
韩国清州河	10 ⁹ ~ 10 ¹⁰	—	—	—	—	—	10 ⁴ ~ 10 ⁶	[26]
海河	9.3 × 10 ⁷ ~ 1.8 × 10 ⁹	3.9 × 10 ⁸ ~ 3.6 × 10 ⁹	—	—	—	—	—	[18]
瓦尔塔河	—	1.9 × 10 ⁷	6.0 × 10 ⁵	—	—	—	—	[30]
北京野鸭湖	1.35 × 10 ⁵ ~ 1.42 × 10 ⁷	1.07 × 10 ⁶ ~ 1.47 × 10 ⁸	—	1.64 × 10 ⁵ ~ 1.31 × 10 ⁸	—	—	—	[31]
西安巴河	10 ⁵ ~ 10 ⁷	10 ⁵ ~ 10 ⁸	—	10 ⁷ ~ 10 ⁹	10 ⁶ ~ 10 ⁸	10 ⁵ ~ 10 ⁷	10 ⁶ ~ 10 ⁸	[32]
大辽河	1.33 × 10 ⁵ ~ 7 × 10 ⁶	10 ⁸	—	—	—	10 ¹ ~ 10 ³	—	[33]
太湖梅梁湾	1.24 × 10 ⁷ ~ 5.38 × 10 ⁸	1.23 × 10 ⁶ ~ 2.20 × 10 ⁸	—	—	NF ~ 3.34 × 10 ³	—	—	[34]
珠江流域东河	9 × 10 ⁵	8 × 10 ⁵	10 ⁴	—	8 × 10 ⁴	—	—	[35]
珠江流域西河	7 × 10 ⁵	7 × 10 ⁴	2 × 10 ⁴	—	10 ⁵	—	—	[35]
珠江流域南河	8 × 10 ⁵	9 × 10 ⁴	10 ⁴	—	6 × 10 ⁴	—	—	[35]

1) “—”表示文章中没有相关数据,下同

表 5 国内外不同水源地表层沉积物中 ARGs 绝对丰度/copies·g⁻¹

Table 5 Absolute abundances of ARGs in sediments in drinking water resources in China and elsewhere in the world/copies·g⁻¹

采样点	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>tetQ</i>	<i>tetC</i>	<i>tetW</i>	<i>floR</i>	<i>cmlA</i>	文献
长江口	3.29 × 10 ⁵ ~ 2.04 × 10 ⁶	2.32 × 10 ⁵	3.87 × 10 ³	—	5.47 × 10 ⁴	—	—	[25]
洪湖	2.85 × 10 ⁶	6.01 × 10 ⁶	—	—	—	—	—	[36]
洞庭湖	4.23 × 10 ⁶	6.59 × 10 ⁶	—	6.66 × 10 ⁵	—	—	—	[36]
海河	7.8 × 10 ⁹	1.7 × 10 ¹¹	—	—	—	—	—	[18]
东江河	3.63 × 10 ⁷ ~ 3.63 × 10 ⁸	1.0 × 10 ⁸ ~ 6.97 × 10 ⁸	2.92 × 10 ⁶ ~ 2.68 × 10 ⁷	—	3.31 × 10 ⁶ ~ 1.99 × 10 ⁷	—	—	[37]
珠江流域	10 ⁹	10 ⁹	—	—	—	—	—	[38]
北京野鸭湖	1.42 × 10 ³ ~ 9.29 × 10 ⁶	4.40 × 10 ⁵ ~ 2.01 × 10 ⁸	—	2.46 × 10 ² ~ 4.64 × 10 ⁷	—	—	—	[31]
西安巴河	10 ⁷ ~ 10 ⁸	10 ⁷	—	10 ⁶ ~ 10 ⁹	10 ⁴ ~ 10 ⁶	10 ⁵ ~ 10 ⁷	10 ⁶ ~ 10 ⁷	[32]
阿尔门达雷斯河	—	—	10 ⁵	—	10 ⁵	—	—	[39]
瓦尔塔河	4.2 × 10 ⁶	5.0 × 10 ³	—	—	—	—	—	[30]
略夫雷加特河	10 ⁶	—	—	—	—	—	—	[40]

2.3 微生物群落与抗生素 ARGs 间的关系

不同季节各介质中门水平的微生物群落组成如图 4 所示. 变形菌门(Proteobacteria)在不同季节不同介质中均为环境样本中的优势菌. 冬季表层水体中放线菌门(Actinobacteria)的丰度略低于变形菌门. 而在夏季,厚壁菌门(Firmicutes)的丰度有明显提升,丰度仅次于变形菌门. 在沉积物中,绿屈挠菌门(Chloroflexies)和酸杆菌门(Acidobacteria)为主导菌. 冬季生物膜中的主导菌为疣微菌门

(Verrucomicrobia),夏季主导菌门则为拟杆菌门(Bacteroidetes). 不同季节各介质中属水平的微生物群落组成如图 5 所示. 不同季节的不同介质中属水平微生物群落结构差异显著. 5 个水源地水样中占比最高的是马赛菌属(Massilia)(冬季,占比 21.3%)和不动杆菌属(Acinetobacter)(夏季,占比 53.4%). 表层沉积物样品中占比最高的是硫杆菌属(Thiobacillus),冬季占比 57.5%,夏季占比 24.1%. 附着生物膜样品中占比最高的是气单胞菌

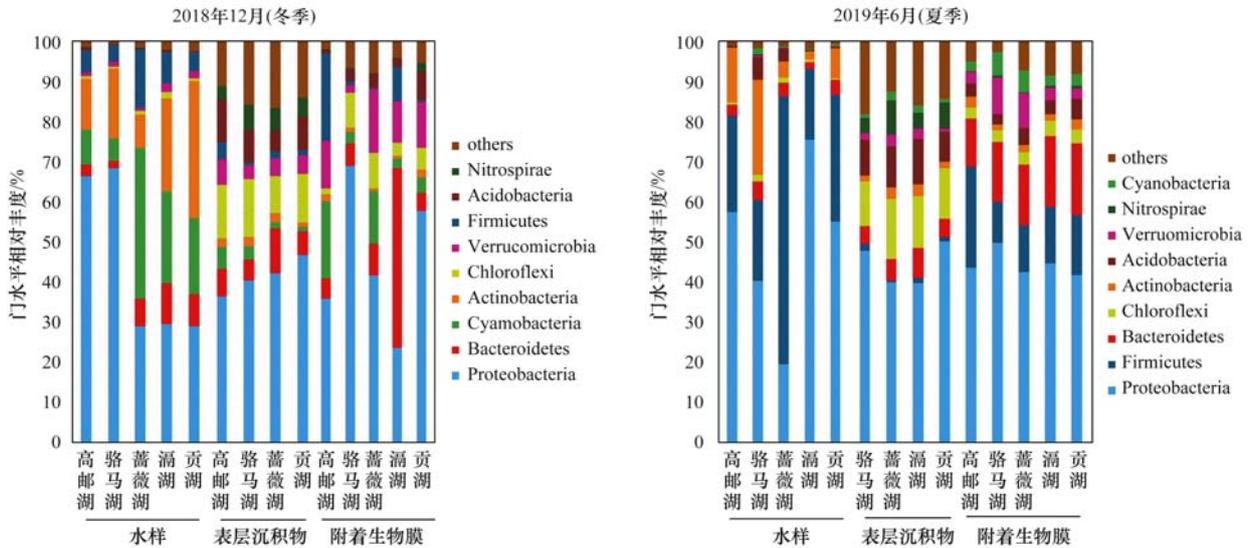


图4 门水平上微生物群落组成

Fig. 4 Microbial compositions at the phylum level

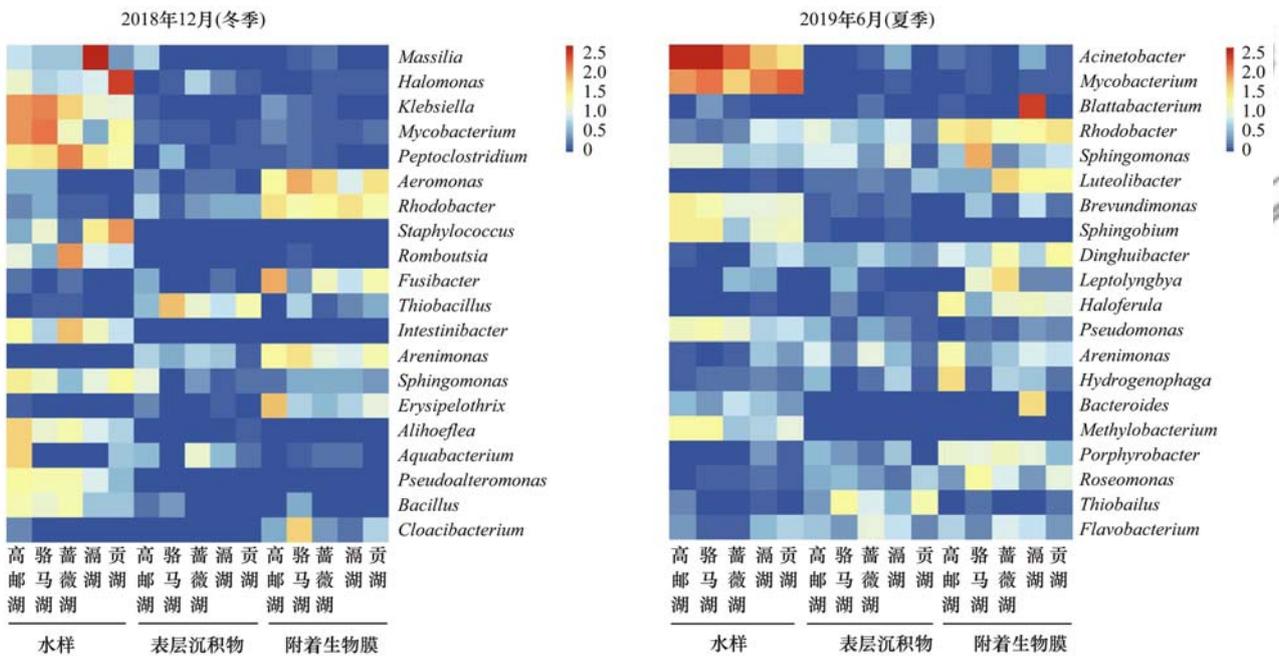


图5 15种样品中丰度前20的细菌属的分布热图

Fig. 5 Heatmap of the top 20 most abundant bacterial genera across the 15 samples

属(*Aeromonas*) (冬季, 占比 26.7%) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter*) (夏季, 占比 26.0%)。

属水平微生物和 *int11* 及 ARGs 之间的共现网络分析如图 6 所示。连接线表示节点与节点之间相关性大于 0.6, 显著性小于 0.05 的相关关系, 节点的大小与节点间的显著相关性成正比。节点间的连线颜色代表着节点间的相关关系, 红色代表正相关, 绿色代表负相关。不同着色的节点代表着不同连接度的模块。橘色代表连接度最高的 ARGs, 包括 *tetW* 和 *cmlA*; 绿色代表连接度最低的 ARGs, 包括 *sul1*、*tetC*、*int11* 和 *floR*。多种属水平上的微生物与 ARGs 丰度呈显著负相关关系, 包括 *sul2* 与

Pseudoelavibacter、*Leadbetterella* 和 *Luteolibacter*; *tetW* 与 *Novosphingobium*; *tetC* 与 *Chitinophaga*; *tetQ* 与 *Novosphingobium*、*Luteolibacter* 和 *Flavobacterium*; *clmA* 与 *Terrimonas*; *floR* 与 *Algoriphagus* 和 *Chitinilyticum*, 以及 *int11* 与 *Chitinophaga*。其中, *Luteolibacter* 和 *Flavobacterium* (两种同属于黄杆菌属) 在表层沉积物和底质中的丰度呈现出夏季大于冬季的特征。这说明 *Luteolibacter* 和 *Flavobacterium* 可能是导致冬季表层沉积物和生物膜样品中 ARGs 丰度相对较高的原因。

当目的 ARGs 和属水平微生物之间呈现显著正相关关系时, 一般认为这些菌属可能是 ARGs 的潜

在宿主. 这些菌属所属的拟杆菌门、变形菌门、厚壁菌门、疣微菌门和放线菌门都是 ARGs 的潜在宿主. Huerta 等^[41]研究了供水水库中的微生物群落和 ARGs 之间的潜在关系,发现厚壁菌门丰度与 *sul1* 基因丰度之间显著相关. Wang 等^[42]研究了洪湖中微生物群落和 ARGs 之间的变化规律,发现厚壁菌门、变形菌门、芽单胞菌门和疣微菌门丰度与 ARGs 丰度呈显著正相关,表明所属这些门的细菌可能是 ARGs 的宿主^[43]. 因此,当环境中这些潜在宿主细菌丰度增加时,会促进 ARGs 在环境中的传播和水平转移.

本研究进一步对 ARGs 的潜在宿主细菌之间进行了相关性分析. 结果表明,ARGs 的部分共同宿主之间呈显著正相关关系,如 *Novosphingobium* (新鞘脂菌属)与 *Terrimonas* (黄体土单胞菌属) ($P < 0.01, R^2 = 0.766$), *Luteolibacter* (淡黄杆菌属)与 *Chitinophagaceae* (甲壳菌属) ($P < 0.01, R^2 = 0.721$),而这些细菌都是 *tetQ*、*tetW*、*tetC* 和 *floR* 等 ARGs 的共同宿主. 研究表明某些 ARGs 的共同宿主是潜在的致病菌,如 *tetW* 和 *tetQ* 的共同宿主, *Acinetobacter* (不动杆菌属)中的 *Baumannii* (鲍氏不动杆菌), *Arcobacter* (弓形杆菌属)中的 *Butzleri* (比茨莱弓形菌)以及 *Bacteroides* (拟杆菌属)中的 *Fragilis* (脆弱拟杆菌)被认为是条件致病菌,会对水生生态和人体健康产生潜在威胁. 唐伟欣等^[44]对规模化畜禽场粪便中多重耐药菌进行了研究,结果显示多重耐药菌的菌门集中分布在 Proteobacteria (变形菌门)、Firmicutes (后壁菌门)和 Actinobacteria (放线菌门),图 6 中与抗性基因具有显著相关性的菌属中分别有 6 个、9 个和 5 个属归属于这 3 个门,占 34 个菌属中的 58.8%,说明水源地中存在部分多重耐

药菌群,但其丰度相对较低. 其中 *Corynebacterium* (棒状杆菌)是重要的多重耐药菌,与 *tetW*、*tetQ* 和 *cmlA* 的丰度均具有较强的相关性. 共同宿主的存在会促使 ARGs 水平转移,将增加细菌获得多重耐药性的概率,在一定程度上加速超级细菌的产生. 多重耐药性细菌在江苏省水源地中的赋存及变化规律值得进一步探索和研究.

3 结论

(1)江苏省代表性水源地抗生素浓度处于较低水平. 磺胺类抗生素在 5 处水源地取水口水体、表层沉积物和附着生物膜中的丰度均高于喹诺酮类抗生素. 溇湖取水口处沉积物样品和骆马湖取水口处生物膜样品中抗生素赋存量较高.

(2)目标 ARGs 中,*sul1*、*sul2*、*tetW* 和 *tetQ* 的检出率为 100%,其中磺胺类 ARGs,即 *sul1* 和 *sul2* 基因绝对丰度和相对丰度均最高. ARGs 浓度呈现季节性变化,夏季水样中 ARGs 丰度高于冬季,而冬季表层沉积物和生物膜样品中 ARGs 丰度相对较高.

(3)沉积物与生物膜中目的 ARGs 的相对丰度相当,显著高于水体中目的 ARGs 的丰度. 这是由于水体中可移动遗传元件主导的水平基因转移是 ARGs 传播的主导因子,而沉积物/生物膜中水平基因转移和宿主微生物的繁殖都是 ARGs 传播扩散的重要机制.

(4)所属拟杆菌门、变形菌门、厚壁菌门、疣微菌门和放线菌门的细菌最有可能成为代表性水源地中 ARGs 的潜在宿主. 共同宿主和多重耐药菌的存在可能会促进 ARGs 的水平转移,其变化规律和生态风险值得进一步探索和研究.

参考文献:

- [1] Voigt A M, Ciorba P, Döhla M, et al. The investigation of antibiotic residues, antibiotic resistance genes and antibiotic-resistant organisms in a drinking water reservoir system in Germany [J]. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2020, 224, doi: 10.1016/j.ijheh.2020.113449.
- [2] Kim S C, Carlson K. Temporal and spatial trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in aqueous and river sediment matrices [J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(1): 50-57.
- [3] 张海丰, 史明明, 孙艳梅, 等. 磺胺甲噁唑污染土壤中微生物群落结构与抗生素抗性基因的分布特征 [J]. 环境科学, 2019, 40(10): 4678-4684.
- [4] Zhang H F, Shi M M, Sun Y M, et al. Microbial community structure and the distribution of antibiotic resistance genes in soil contaminated by sulfamethoxazole [J]. Environmental Science, 2019, 40(10): 4678-4684.
- [4] 胡亚茹, 姜蕾, 张天阳, 等. 华东地区某饮用水源地中磺胺类抗性基因的分布特征 [J]. 环境科学, 2018, 39(9): 4222-4228.
- Hu Y R, Jiang L, Zhang T Y, et al. Distribution characteristics

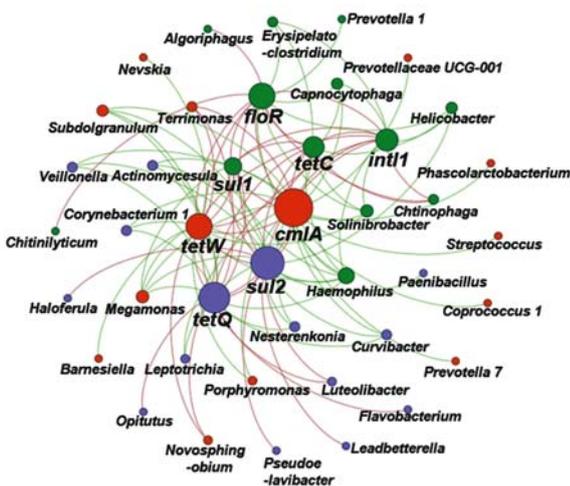


图 6 属水平微生物群落与 ARGs 之间网络分析

Fig. 6 Network analysis between microbial communities at genus level and ARGs

- of sulfonamide antibiotic resistance genes in a drinking water source in East China [J]. *Environmental Science*, 2018, **39** (9): 4222-4228.
- [5] 姚鹏城, 陈嘉瑜, 张永明, 等. 废水处理系统中抗生素抗性基因分布特征[J]. *环境科学*, 2019, **40**(11): 5024-5031.
Yao P C, Chen J Y, Zhang Y M, *et al.* Distribution characteristics of antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants[J]. *Environmental Science*, 2019, **40** (11): 5024-5031.
- [6] 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.
- [7] Jiang L, Hu X L, Xu T, *et al.* Prevalence of antibiotic resistance genes and their relationship with antibiotics in the Huangpu River and the drinking water sources, Shanghai, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, **458-460**: 267-272.
- [8] Wang C, Gu X C, Zhang S H, *et al.* Characterization of antibiotic-resistance genes in antibiotic resistance *Escherichia coli* isolates from a lake [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2013, **65**(4): 635-641.
- [9] 房平, 代鹤峰, 庄伟, 等. 东江下游典型饮用水源地抗生素抗性基因分布研究[J]. *生态环境学报*, 2019, **28**(3): 548-554.
Fang P, Dai H F, Zhuang X, *et al.* Distribution of antibiotic resistance genes in typical drinking water sources in the lower Dongjiang River [J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2019, **28**(3): 548-554.
- [10] Chen K, Zhou J L. Occurrence and behavior of antibiotics in water and sediments from the Huangpu River, Shanghai, China [J]. *Chemosphere*, 2014, **95**: 604-612.
- [11] 徐维海, 张干, 邹世春, 等. 香港维多利亚港和珠江广州河段水体中抗生素的含量特征及其季节变化[J]. *环境科学*, 2006, **27**(12): 2458-2462.
Xu W H, Zhang G, Zou S C, *et al.* Occurrence and seasonal changes of antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China [J]. *Environmental Science*, 2006, **27** (12): 2458-2462.
- [12] 张力媛, 马秀兰, 王富民, 等. 喹诺酮类抗生素在水环境中危害及降解特性研究进展[J]. *广州化工*, 2016, **44** (10): 22-23, 26.
Zhang L Y, Ma X L, Wang F M, *et al.* Research progress on quinolone antibiotics harm in the water environment and degradation characteristics [J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2016, **44**(10): 22-23, 26.
- [13] 申霞, 洪大林, 谈永锋, 等. 骆马湖生态环境现状及其保护措施[J]. *水资源保护*, 2013, **29**(3): 39-43, 50.
Shen X, Hong D L, Tan Y F, *et al.* Ecological environment of Luoma Lake and protection measures [J]. *Water Resources Protection*, 2013, **29**(3): 39-43, 50.
- [14] Shi H, Yang Y, Liu Z, *et al.* Occurrence and distribution of antibiotics in the surface sediments of the Yangtze Estuary and nearby coastal areas [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, **83** (1): 317-323.
- [15] 朱婷婷, 段标标, 宋战锋, 等. 深圳铁岗水库水体中抗生素污染特征分析及生态风险评价[J]. *生态环境学报*, 2014, **23**(7): 1175-1180.
Zhu T T, Duan B B, Song Z F, *et al.* Pollution characteristics and ecological risk assessment of antibiotics in Tiegang reservoir in Shenzhen [J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2014, **23** (7): 1175-1180.
- [16] Padhye L P, Yao H, Kung'u F T, *et al.* Year-long evaluation on the occurrence and fate of pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disrupting chemicals in an urban drinking water treatment plant [J]. *Water Research*, 2014, **51**: 266-276.
- [17] Gaffney V D J, Almeida C M M, Rodrigues A, *et al.* Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment [J]. *Water Research*, 2015, **72**: 199-208.
- [18] Xu W H, Yan W, Li X D, *et al.* Antibiotics in riverine runoff of the Pearl River Delta and Pearl River Estuary, China: concentrations, mass loading and ecological risks [J]. *Environmental Pollution*, 2013, **182**: 402-407.
- [19] 徐晨. 三峡库区水体、土壤和沉积物中抗生素与抗生素抗性基因的污染特征[D]. 武汉: 中国科学院武汉植物园, 2017.
Xu C. Contamination of Antibiotic and antibiotic resistance genes in water, soil and sediment of the Three Gorges Reservoir [D]. Wuhan: Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, 2017.
- [20] Zhou L J, Ying G G, Zhao J L, *et al.* Trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in the sediments of the Yellow River, Hai River and Liao River in northern China [J]. *Environmental Pollution*, 2011, **159**(7): 1877-1885.
- [21] 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.
- [22] Yang J F, Ying G G, Zhao J L, *et al.* Simultaneous determination of four classes of antibiotics in sediments of the Pearl Rivers using RRLC-MS/MS [J]. *Science of the Total Environment*, 2010, **408**(16): 3424-3432.
- [23] Luo Y, Mao D Q, Rysz M, *et al.* Trends in antibiotic resistance genes occurrence in the Haihe River, China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, **44**(19): 7220-7225.
- [24] Golet E M, Strehler A, Alder A C, *et al.* Determination of fluoroquinolone antibacterial agents in sewage sludge and sludge-treated soil using accelerated solvent extraction followed by solid-phase extraction [J]. *Analytical Chemistry*, 2002, **74** (21): 5455-5462.
- [25] Guo X P, Yang Y, Lu D P, *et al.* Biofilms as a sink for antibiotic resistance genes (ARGs) in the Yangtze Estuary [J]. *Water Research*, 2018, **129**: 277-286.
- [26] Son D I, Aleta P, Park M, *et al.* Seasonal changes in antibiotic resistance genes in rivers and reservoirs in South Korea [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2018, **47**(5): 1079-1085.
- [27] 彭晶, 王科, 谷月, 等. 牛粪堆肥系统环境因子对抗性基因的影响[J]. *环境科学*, 2019, **40**(3): 1439-1445.
Peng J, Wang K, Gu Y, *et al.* Effects of environmental factors on tetracycline and macrolides resistance genes in cattle manure composting systems [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(3): 1439-1445.
- [28] Li P, Wu Y F, He Y L, *et al.* Occurrence and fate of antibiotic residues and antibiotic resistance genes in a reservoir with ecological purification facilities for drinking water sources [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **707**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135276.
- [29] Brown P C, Borowska E, Peschke R, *et al.* Decay of elevated antibiotic resistance genes in natural river sediments after sedimentation of wastewater particles [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **705**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.

- 135861.
- [30] Koczura R, Mokracka J, Taraszewska A, *et al.* Abundance of class 1 integron-integrase and sulfonamide resistance genes in river water and sediment is affected by anthropogenic pressure and environmental factors [J]. *Microbial Ecology*, 2016, **72**(4): 909-916.
- [31] Li S, Zhang R J, Hu J R, *et al.* Occurrence and removal of antibiotics and antibiotic resistance genes in natural and constructed riverine wetlands in Beijing, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, **664**: 546-553.
- [32] Jia J, Guan Y J, Cheng M Q, *et al.* Occurrence and distribution of antibiotics and antibiotic resistance genes in Ba River, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **642**: 1136-1144.
- [33] Lu Z H, Na G S, Gao H, *et al.* Fate of sulfonamide resistance genes in estuary environment and effect of anthropogenic activities [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, **527-528**: 429-438.
- [34] Zhang X X, Wu B, Zhang Y, *et al.* Class 1 integronase gene and tetracycline resistance genes *tetA* and *tetC* in different water environments of Jiangsu Province, China [J]. *Ecotoxicology*, 2009, **18**(6): 652-660.
- [35] Su H C, Liu Y S, Pan C G, *et al.* Persistence of antibiotic resistance genes and bacterial community changes in drinking water treatment system: From drinking water source to tap water [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **616-617**: 453-461.
- [36] Yang Y Y, Cao X H, Lin H, *et al.* Antibiotics and antibiotic resistance genes in sediment of Honghu Lake and East Dongting Lake, China [J]. *Microbial Ecology*, 2016, **72**(4): 791-801.
- [37] Su H C, Pan C G, Ying G G, *et al.* Contamination profiles of antibiotic resistance genes in the sediments at a catchment scale [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, **490**: 708-714.
- [38] Chen B W, Liang X M, Nie X P, *et al.* The role of class I integrons in the dissemination of sulfonamide resistance genes in the Pearl River and Pearl River Estuary, South China [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, **282**: 61-67.
- [39] Knapp C W, Lima L, Olivares-Rieumont S, *et al.* Seasonal variations in antibiotic resistance gene transport in the Almendares River, Havana, Cuba [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, **3**: 396.
- [40] Calero-Cáceres W, Méndez J, Martín-Díaz J, *et al.* The occurrence of antibiotic resistance genes in a Mediterranean river and their persistence in the riverbed sediment [J]. *Environmental Pollution*, 2017, **223**: 384-394.
- [41] Huerta B, Marti E, Gros M, *et al.* Exploring the links between antibiotic occurrence, antibiotic resistance, and bacterial communities in water supply reservoirs [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, **456-457**: 161-170.
- [42] Wang Z, Han M Z, Li E H, *et al.* Distribution of antibiotic resistance genes in an agriculturally disturbed lake in China: Their links with microbial communities, antibiotics, and water quality [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, **393**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122426.
- [43] Forsberg K J, Patel S, Gibson M K, *et al.* Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats [J]. *Nature*, 2014, **509**(7502): 612-616.
- [44] 唐伟欣, 孙兴滨, 高浩泽, 等. 规模化畜禽养殖场粪便中多重耐药菌分离鉴定及其耐药特征 [J]. *农业环境科学学报*, 2020, **39**(1): 207-216.
Tang W X, Sun X B, Gao H Z, *et al.* Isolation and identification of multidrug-resistant bacteria in feces from large-scale livestock and poultry farms and their antibiotic-resistance characteristics [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, **39**(1): 207-216.

CONTENTS

Health Impact Attributable to the Control of PM _{2.5} Pollution in China During 2013-2017	ZHANG Meng-jiao, SU Fang-cheng, XU Qi-xiang, <i>et al.</i> (513)
Contributions of Emissions Reduction and Regional Meteorological Conditions to Air Quality Improvement	WU Wen-qi, ZHANG Kai-shan (523)
Air Pollution Characteristics and Quantitative Evaluation of Multi-scale Transport in the Beijing-Tianjin-Hebei Region in January, 2016	YAO Sen, ZHANG Han-yu, WANG Xiao-qi, <i>et al.</i> (534)
Influence of Burning Fireworks on the Atmosphere During the Spring Festival in Guangzhou in 2020	PEI Cheng-lei, WANG Yu-jun, BI Yan-ru, <i>et al.</i> (546)
Source Apportionment and Optical Properties of Fine Particles Associated with Regional Pollution in the Yangtze River Delta	XIA Li, ZHU Bin, WANG Hong-lei, <i>et al.</i> (556)
Distribution Characteristics and Source Analysis of Water-soluble Ions in Particulate Matter Under Different Weather Processes in Nanjing	ZHANG Yang, WANG Hong-lei, LIU An-kang, <i>et al.</i> (564)
Size Distribution of Aerosol Hygroscopic Growth Factors in Winter in Tianjin	DING Jing, ZHANG Yu-fen, ZHENG Nai-yuan, <i>et al.</i> (574)
Time-Determination and Contribution Analysis of Transport, Retention, and Offshore Backflow to Long-Term Sand-Dust Coupling	ZHANG Zhe, QIAO Li-ping, ZHOU Min, <i>et al.</i> (584)
Characterization, Sources, and Health Risks of PM _{2.5} -bound PAHs During Autumn and Winter in Luoyang City	QI Jing-wen, ZHANG Rui-qin, JIANG Nan, <i>et al.</i> (595)
Characteristics, Meteorological Influences, and Transport Source of Ozone Pollution in Zhengzhou City	WANG Xu-dong, YIN Sha-sha, WANG Jian, <i>et al.</i> (604)
Nonlinear Response Characteristics and Control Scheme for Ozone and Its Precursors Based on Orthogonal Experimental Methods	LI Guang-yao, CHEN Qiang, GUO Wen-kai, <i>et al.</i> (616)
Characteristics and Source Apportionment of Volatile Organic Compounds (VOCs) in the Automobile Industrial Park of Shanghai	YE Lu, TAI Qing-qing, YU Hua-ming (624)
Establishment of a High-resolution Anthropogenic Emission Inventory and Its Evaluation Using the WRF-Chem Model for Lanzhou	GUO Wen-kai, LI Guang-yao, CHEN Bing, <i>et al.</i> (634)
Trends in Vehicle Emissions in Sichuan Province, 2010-2017	LI Yuan, SHI Jia-cheng, CHEN Jun-hui, <i>et al.</i> (643)
Bioavailability and Ecological Risk Assessment of Cadmium in the Sea-Land Interaction Sediments of the Pearl River Delta	WANG Fang-ting, BAO Ke, CHEN Zhi-hua, <i>et al.</i> (653)
Distribution, Sources, and Ecological Risks of Polyfluoroalkyl Substances in the Surface Water of the Wuliangshui Watershed	SHI Rui, MAO Ruo-yu, ZHANG Meng, <i>et al.</i> (663)
Distribution Characteristics of Microplastics in Ice Sheets and Its Response to Salinity and Chlorophyll a in the Lake Wuliangshui	WANG Zhi-chao, YANG Jian-lin, YANG Fan, <i>et al.</i> (673)
Effect of Check Dam on Phosphorus Transport and Retention in the Qingshui River, in Zhangjiakou City	WANG Wei, LI Xu-yong (681)
Characteristics of Phosphorus Speciation and Genesis in Typical Tributaries of the Three Gorges Reservoir	YANG Fan, WANG Li-jing, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (688)
Distribution of Nitrogen and Phosphorus in Lake Chaohu Sediments and Pollution Evaluation	WANG Yan-ping, XU Wei-wei, HAN Chao, <i>et al.</i> (699)
Sediment Pollution Characteristics and Dredging in the Nanfei River Estuary, Chaohu Lake	YANG Pan, YANG Chun-hui, MA Xin-yu, <i>et al.</i> (712)
Effect of Oxidation Strengthening on In-situ Phosphorus Immobilization of Calcium Hydroxide	XU Chu-tian, LI Da-peng, YUE Wei, <i>et al.</i> (723)
Impact of Rainfall-Runoff Events on Methane Emission from Xiangxi Bay of the Three Gorges Reservoir	CHEN Min, XU Hao-ting, WANG Xue-zhu, <i>et al.</i> (732)
Water-air Carbon Dioxide Exchange and Nutritional Controls in a Typical Karst River	LIU Rui, ZHANG Jin, CHEN Zu-sheng, <i>et al.</i> (740)
Occurrence of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Representative Drinking Water Resources in Jiangsu Province	WANG Long-fei, CHENG Yi-qun, HU Xiao-dong, <i>et al.</i> (749)
Diversity and Abundance of Antibiotic Resistance Genes in Tailings Ponds	HUANG Fu-yi, ZHU Yong-guan, SU Jian-qiang (761)
Hydrochemical Characteristics and Origin of Groundwater in the Central Guohe River Basin	ZHENG Tao, JIAO Tuan-li, HU Bo, <i>et al.</i> (766)
Hydrochemical Characteristics and Analysis of the Qilihai Wetland, Tianjin	HE Ming-xia, ZHANG Bing, XIA Wen-xue, <i>et al.</i> (776)
Effects of Straw Mulching and Nitrogen Reduction on the Distribution of Soil Nitrogen and Groundwater Nitrogen Pollution	ZHANG Wan-feng, YANG Shu-qing, SUN Duo-qiang, <i>et al.</i> (786)
Precision of eDNA Metabarcoding Technology for Biodiversity Monitoring of Eukaryotic Phytoplankton in Lakes	ZHANG Li-juan, XU Shan, ZHAO Zheng, <i>et al.</i> (796)
Effect of Phytoplankton Community Composition and Size Structure on Light Absorption Properties	HUANG Xin, SHI Kun, ZHANG Yun-lin, <i>et al.</i> (808)
Periphytic Algae Community Structure and Its Relation to Environment Factors in the Main Stream of the Songhua River from 2014 to 2019	YU Zong-ling, CHEN Wei, ZHAO Ran, <i>et al.</i> (819)
Diversity and Function Prediction of Bacterioplankton Under Human Disturbance in the Main Stream of the Laoguan River Before and After the Flood Season	HAN Xue-mei, GONG Zi-le, YANG Xiao-ming, <i>et al.</i> (831)
Seasonal Removal Efficiency and Degradation Products of Two Typical PPCPs in Subsurface Flow Constructed Wetlands	LI Chao-yu, YANG Yi-xiao, ZHANG Ning, <i>et al.</i> (842)
Removal of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes from Urban Rivers Using Artificial Ecosystems	ZHOU Hai-dong, HUANG Li-ping, CHEN Xiao-meng, <i>et al.</i> (850)
Distribution Characteristics of Viruses Microorganisms in a Water Supply System with Combined Ultraviolet Chloramine Disinfection	HAN Xue, SUN Jian-wei, ZHANG Li, <i>et al.</i> (860)
Removal of Oxytetracycline from Water Using Blast Furnace Slag Loaded Sulfide Nanoscale Zero-valent Iron	SUN Qiu-nan, ZHANG Rong-bin, DENG Man-jun, <i>et al.</i> (867)
Heavy Metal Ion Adsorption Properties and Stability of Amine-sulfur Modified Biochar in Aqueous Solution	WANG Cun-shi, HE Min-xia, ZHOU Feng, <i>et al.</i> (874)
Characteristics and Removal Mechanism of an Electro-Hybrid Ozonation-Coagulation System in the Treatment of Organic Matters	XIE Xin-yue, XU Jian-jun, ZHANG Shao-hua, <i>et al.</i> (883)
Enhancement Effects and Mechanisms of Microscale Zero Valent Iron on the Performance of Anaerobic Co-digestion of Waste Activated Sludge and Food Waste	CHEN Sheng-jie, YAO Fu-bing, PI Zhou-jie, <i>et al.</i> (891)
Spatial Distribution and Risk Assessment of Heavy Metal Pollution in Farmland Soils Surrounding a Typical Industrial Area of Henan Province	MENG Xiao-fei, GUO Jun-mei, YANG Jun-xing, <i>et al.</i> (900)
Distribution Characteristics and Pollution Evaluation of Heavy Metals in Greenbelt Soils of Nanjing City	CHEN Jia-lin, LI Ren-ying, XIE Xiao-jin, <i>et al.</i> (909)
Remediation Effect of Compound Modifier FZB on Arsenic and Cadmium Contaminated Soil	DING Ping, HE Yu-long, HE Huan, <i>et al.</i> (917)
Remediation of Cd Contaminated Acidic Rice Fields Using the Combined Application of Lime and Organic Matter	LI Guang-hui, CHENG Qing, CHEN Hong (925)
Effect and Mechanism of Foliar Application Nano-MnO ₂ on Cadmium Enrichment of Rice	ZHOU Yi-min, HUANG Ya-yuan, LIU Xiao-yue, <i>et al.</i> (932)
Characteristics of Cadmium Enrichment and Pollution Evaluation of a Soil-Crop System in a Typical Karst Area	WANG Rui, DENG Hai, JIA Zhong-min, <i>et al.</i> (941)
Comparison of Enrichment and Transport of Cadmium in the Fruit of High and Low Enrichment Pepper Varieties and Its Distribution in Subcells	SHAO Xiao-qing, HE Zhang-mi, XU Wei-hong (952)
Cadmium Accumulation Characteristics of Four Herbs	CHEN Di, LI Bo-qun, YANG Yong-ping, <i>et al.</i> (960)
Characteristics of Dissolved Organic Carbon Loss in Purple Soil Sloping Fields with Different Fertilization Treatments	XIONG Zi-yi, ZHENG Jie-bing, WANG Dan, <i>et al.</i> (967)
Effects of Precipitation Changes on Plant Community Diversity and Soil C:N:P Ecological Stoichiometric Characteristics in a Desert Steppe of China	GAO Jiang-ping, ZHAO Rui-feng, ZHANG Li-hua, <i>et al.</i> (977)
Effect of Water Management on Rice Growth and Rhizosphere Priming Effect in Paddy Soils	LIN Sen, XIAO Mou-liang, JIANG Jia-bin, <i>et al.</i> (988)
Effects of Copper Pollution on Microbial Communities in Wheat Root Systems	GE Yi, XU Min-min, XU Shao-hui, <i>et al.</i> (996)
Ozone Pollution, Nitrogen Addition, and Drought Stress Interact to Affect Non-structural Carbohydrates in the Leaves and Fine Roots of Poplar	LI Pin, ZHOU Hui-min, FENG Zhao-zhong (1004)
Review of Screening and Applications of Organic Tracers in Fine Particulate Matter	LI Yuan-ju, WU Ai-hua, TONG Meng-xue, <i>et al.</i> (1013)