

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)

尾矿库水体环境抗生素抗性基因的分布特征

黄福义^{1,2}, 朱永官^{1,2}, 苏建强^{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: 抗生素抗性基因是近年来人们普遍关注的新型环境生物污染物,也是科学家们研究的热点. 为了探究尾矿库水体环境抗生素抗性基因的污染特征,揭示尾矿库水体环境抗生素抗性基因的影响因素,本文采用超高通量定量 PCR 技术 (HT-qPCR),研究了某尾矿库的 4 个点位的水体抗生素抗性基因的多样性、丰度和驱动机制. 结果表明,尾矿库水体环境具有种类多样的抗生素抗性基因,库区水体 (WK0)、主坝排渗水 (WK1)、副坝排渗水 (WK2) 和河水 (HS) 分别检测出抗生素抗性基因 97、52、44 和 56 种,可移动遗传元件分别检测到 11、6、3 和 6 种;在绝对丰度水平上,库区水体 (WK0)、主坝排渗水 (WK1)、副坝排渗水 (WK2) 和河水 (HS) 分别有 1.75×10^8 、 6.39×10^7 、 9.90×10^7 和 7.37×10^7 copies·L⁻¹,库区水体的抗性基因丰度最高,表明库区是一个潜在的抗性基因存储库;冗余分析 (RDA) 表明,铜 Cu、总有机碳 TOC 和可移动遗传元件 (MGEs) 与抗生素抗性基因呈显著正相关的关系,这 3 个因素对抗生素抗性基因变化的解释量达到了 61.64% (前两轴),因此 Cu、TOC 和 MGEs 对尾矿库水体环境抗生素抗性基因的赋存和演变可能具有重要作用.

关键词: 尾矿库; 水体环境; 金属元素; 抗生素抗性基因; 驱动机制

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)02-0761-05 DOI: 10.13227/j.hjkk.202008051

Diversity and Abundance of Antibiotic Resistance Genes in Tailings Ponds

HUANG Fu-yi^{1,2}, ZHU Yong-guan^{1,2}, SU Jian-qiang^{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: Antibiotic resistance genes (ARGs) are considered emerging contaminants posing an increasing threat to the ecological environment and global human health. Profiling ARGs in tailings ponds is essential to better understand their spatial and temporal dynamics. In this study, high-throughput quantitative polymerase chain reaction (PCR) techniques were used to investigate the occurrence, diversity, abundance, and distribution of ARGs in a tailings pond. A total of 97, 52, 44, and 56 ARGs were detected in WK0, WK1, WK2, and HS, respectively, with 11, 6, 3, and 6 mobile genetic elements (MGEs) also being detected, respectively. The absolute abundance of ARGs in the pond water ranged from 6.39×10^7 to 1.75×10^8 copies·L⁻¹. Additionally, the abundance of MGEs were higher than ARGs in WK1 and WK2, indicating the potential for horizontal gene transfer (HGT). Furthermore, Cu, TOC, and MGEs were significantly associated with ARGs. Indeed, redundancy analysis (RDA) revealed that Cu, TOC, and MGEs explained 61.64% of the alteration of the ARG profiles, implying their potential roles in the spread and evolution of ARGs in tailings ponds.

Key words: tailings pond; river environment; heavy metals; antibiotic resistance genes; mechanisms

抗生素抗性基因被认为是一种新型环境污染物^[1],与传统化学污染物不同,抗生素抗性基因具有能够随着微生物繁殖而自我复制(污染倍增)和微生物物种间横向迁移(污染扩散)等独特的生物学特性^[2~4].目前,在城市河流^[5]、城市污水^[6]、饮用水源地的水库水^[7]和湖泊水^[8]等水体环境中都有抗生素抗性基因的检出报道,这些水体环境检测出抗性基因具有多样性高和丰度水平高的特点,甚至与微塑料和重金属元素等形成了复合环境污染的特征^[9,10].这些水体环境所在区域往往直接或间接受到了各种人类活动的影响,同时也深刻影响了环境微生物抗性基因的种类和分布^[11].不仅仅是水体环境,在农田土壤^[12]、植物叶际^[13]和空气微生物^[14]等也发现抗生素抗性基因的普遍存在,并受到多种环境因子和人类活动的影响,引发了人类干扰下的环境微生物全球大迁徙^[15].

尾矿库一般是指筑坝拦截山谷谷口或者围地构成的,用以堆存金属或非金属矿山进行矿石采选后排出的尾矿或废渣的场地.尾矿库是一个具有较高势能的人造泥石流危险源,存在溃坝危险,容易发生泥石流等地质灾害,可能造成生态环境严重污染^[16].尾矿库的库区内收集了矿石采选后的随尾矿排放的废水,并涵盖一定范围的雨水汇水区,形成了库区内的独特水体环境.此外,尾矿坝一般设有尾矿排渗水收集系统,用以排出库区尾矿堆积体的水分,保障尾矿库的总体安全.尾矿库水体环境,直接受到尾矿处理等矿业活动的影响,是一个特殊水体环境,对地表水和地下水具有潜在影响.目前针

收稿日期: 2020-08-06; 修订日期: 2020-08-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(41807460, 41977210)

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科学与工程, E-mail: fyhuang@iue.ac.cn

* 通信作者, E-mail: jqsu@iue.ac.cn

对尾矿库水体环境抗生素抗性基因的相关研究还比较少,尾矿库水体环境抗生素抗性基因污染特征和驱动机制还不甚清楚. 本研究采用超高通量 PCR 技术,从抗生素抗性基因谱集合的角度,深入研究了尾矿库水体环境抗生素抗性基因的多样性、丰度和影响因素,阐释抗性基因分布和驱动机制,以期为尾矿库生态环境风险评估提供科学支撑和决策依据.

1 材料与方法

1.1 尾矿库水体环境

本研究选定的尾矿库位于福建省龙岩市境内,为山谷型尾矿库,采用上游式筑坝法,初期坝类型为透水堆石坝(有排渗管导出尾矿堆体内部的滞水,即排渗水),设计总库容为 627.98 万 m^3 ,总坝高为 57 m,初期坝坝高 13.5 m,堆积坝坝高 43.5 m,库区汇水面积为 0.662 km^2 ,属四等库. 该尾矿库的初期坝具体由主坝和副坝组成,尾矿库的东北方向有河流(汀江)经过(图 1).

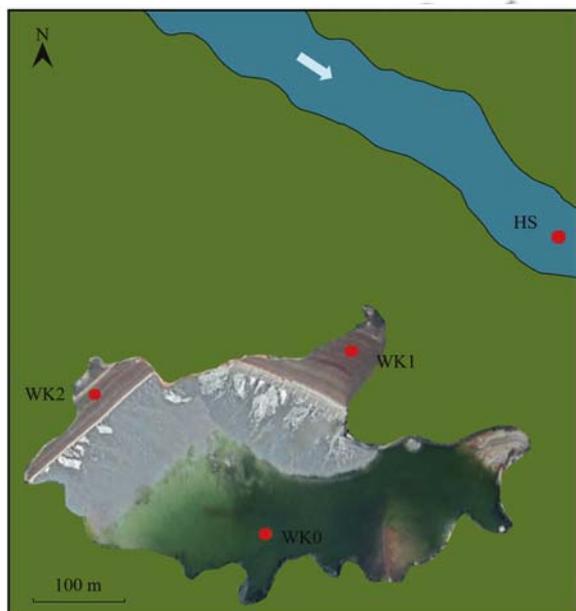


图 1 尾矿库水体环境及采样点示意
Fig. 1 Water environment and sampling points of the tailings reservoir

1.2 水样采集与微生物 DNA 提取

针对该尾矿库的水环境地理特征,采集了尾矿库主坝(WK1)和尾矿库副坝(WK2)的排渗水,同时采集了尾矿库库区水体(WK0)和附近的河流水(HS),这 4 个不同点位的水样能够较好地代表该尾矿库的总体水体环境(图 1). 采集的水样,用低温保存箱运回实验室,用六联排抽滤装置进行水样负压抽滤,获得含有微生物的滤膜,抽滤膜选用的是 0.22 μm 无菌滤膜(ADVANTEC Co., 日本).

用无菌的不锈钢手术剪将得到的滤膜剪碎成约

1 mm \times 1 mm 的形态,选用 FastDNA[®] Spin Kit(MP, 美国)试剂盒. 确保滤膜上微生物充分震荡裂解,进而保证 DNA 提取效率. 根据试剂盒说明书的 DNA 提取步骤,获得水样中微生物的总 DNA 样品(洗脱液 DES 的体积为 100 μL). 随后用 Qubit 3 荧光计(ThermoFisher, 美国)来测定 DNA 样品初始浓度. 然后根据浓度计算每个 DNA 样品的原液所需体积,配置成浓度为 30 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 体积为 45 μL 的样品,放在 -80°C 冰箱保存,用于后续的超高通量 qPCR 上机实验.

1.3 金属元素测定与总有机碳测定

采集的尾矿库水体环境样品采用 0.45 μm 水系滤膜过滤后,每个样品得到 35 mL 的过滤水样. 取 10 mL 过滤水样,采用 ICP-MS 方法(Agilent 7500cx)测定水体的 Ni、Cu、As 和 Cd 等元素的浓度;另取 25 mL 过滤水样,采用燃烧法(Shimadzu TOC V_{CPH})测定总有机碳(TOC)的含量.

1.4 超高通量 qPCR

本研究采用的超高通量 qPCR 反应平台是 TaKaRa 公司旗下的 SmartChip Real-Time PCR 系统,定量的目标基因是课题组研究选定的 296 种基因引物^[14,17],涵盖了 283 种抗性基因. 另外,引物组合中还包含了 12 种可移动遗传元件(MGEs,其中转座子 8 种,整合子 4 种)和 1 种核糖体 16S rRNA 基因. 这些抗生素抗性基因/可移动遗传元件对应的抗性机制具有典型的代表性,而且类别全面. 该 qPCR 平台单次理论上最大 PCR 通量为 5 184 个,单个独立 PCR 反应体系为 100 nL,具有组合灵活、成本低和通量高的特点. 芯片 SmartChip 中的各试剂都是由超微量自动加样器(MSND)进行设定后自动精确加样. 超高通量 qPCR 反应采用“两步法”,具体 PCR 反应程序与条件参考 Ding 等^[14]的方法. qPCR 反应结束后, Cycler 会自动进行熔解曲线分析,并可以对 Ct 值进行初步筛选,保留扩增效率介于 1.85 ~ 2.15 的有效数据(Ct 值).

此外,还根据标准质粒外标法,采用荧光定量 PCR 仪(Roche 480 II)对尾矿库水体环境微生物的 16S rRNA 基因进行了常规荧光定量 PCR.

1.5 数据处理与分析方法

将超高通量 qPCR 定量得到的各个样品的 16S rRNA 基因 Ct 值,计算相应的相对拷贝数数值^[5], Pearson 线性回归拟合结果显示,其与常规荧光定量 PCR 得到的 16S rRNA 基因绝对丰度呈极显著正相关的关系($P < 0.01$),说明两者的线性关系极为显著. 参照相关方法^[5,18],最终可以得到尾矿库水体环境各种抗生素抗性基因的绝对丰度. 超高通量

qPCR 的数据通过 Microsoft 公司的 Excel 2019 进行综合计算整理,采用 IBM SPSS 22.0 进行数据的显著性和相关性分析,采用 OriginPro 9.1 进行直方图等的作图,采用 R 4.0.1 版本软件进行冗余分析 (RDA) 和热图分析。

2 结果与分析

2.1 尾矿库水体环境抗生素抗性基因的种类分析

尾矿库水体环境总共检测到了 106 种抗生素抗性基因 (ARGs) 和 11 种可移动遗传元件 (MGEs), 水体中各类抗性基因种类数目具体如图 2 所示。这些检测到的抗生素抗性基因涵盖了不同类型的抗性基因。具体包含有:万古霉素类 (Vancomycin)、四环素类 (Tetracycline)、磺胺类 (Sulfonamide)、大环内酯类/林肯酰胺类/链阳性菌素 B 类 (MLSb)、氟喹诺酮类/氯霉素类/胺酰醇类 (FCA)、 β -内酰胺大类 (β -Lactam) 和氨基糖苷大类 (Aminoglycoside) 等。

从图 2 可以看出,尾矿库水体环境具有类型多样的抗生素抗性基因,库区水体 (WK0) 的抗生素抗性基因和可移动遗传元件的种类数都是最高的,分别为 97 和 11 种。主坝排渗水 (WK1) 和副坝排渗水 (WK2) 分别检测出抗生素抗性基因 52 和 44 种,可移动遗传元件分别检测到 6 和 3 种,主坝排渗水 (WK1) 的抗性基因种类数高于副坝排渗水 (WK2),但是都显著低于库区水体 (WK0)。尾矿库附近河水 (HS) 则检测到了抗生素抗性基因 56 种和可移动遗传元件 6 种,总体上高于主坝和副坝的排渗水 (WK1 和 WK2)。从抗生素抗性基因种类数上分析,库区水体 (WK0) 的抗性基因拥有最多的种类,可能通过水体下渗过程,进而影响排渗水和河水的抗性组成和分布。

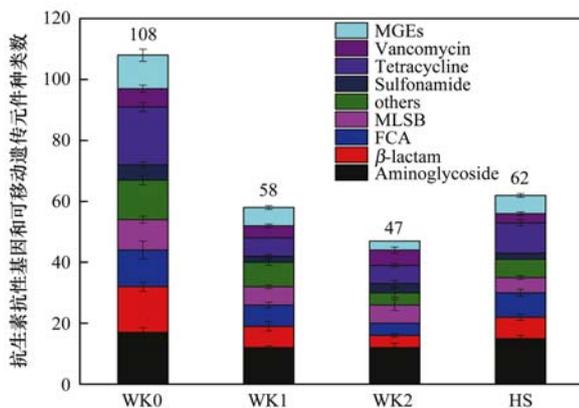


图 2 抗生素抗性基因和可移动遗传元件种类数

Fig. 2 Detected number of ARGs and MGEs

2.2 尾矿库水体环境抗生素抗性基因的丰度分析

尾矿库水体环境中抗生素抗性基因的绝对丰度水平如图 3 所示。可以看出,库区水体 (WK0) 的抗

生素抗性基因的绝对丰度最高,达到了 1.75×10^8 copies·L⁻¹,可移动遗传元件丰度为 1.21×10^8 copies·L⁻¹。主坝排渗水 (WK1) 和副坝排渗水 (WK2) 抗生素抗性基因的丰度分别为 6.39×10^7 copies·L⁻¹ 和 9.90×10^7 copies·L⁻¹,而可移动遗传元件丰度分别为 6.93×10^7 copies·L⁻¹ 和 1.18×10^8 copies·L⁻¹,都高于抗生素抗性基因的丰度水平,因此排渗水可能存在较高频次的水平基因转移情况。此外,尾矿库附近河水 (HS) 的抗生素抗性基因水平为 7.37×10^7 copies·L⁻¹,可移动遗传元件的丰度为 2.44×10^7 copies·L⁻¹。在丰度水平上,尾矿库附近河水 (HS) 的抗生素抗性基因和可移动遗传元件都显著低于库区水体 (WK0) 和副坝排渗水 (WK2),暗示着库区水环境可能是一个抗生素抗性基因的存储库,并可能直接或间接影响河水抗性基因的分布和组成。

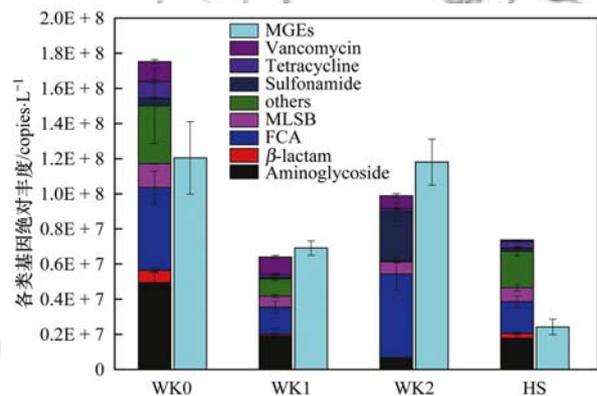


图 3 抗生素抗性基因和可移动遗传元件的丰度

Fig. 3 Abundance of ARGs and MGEs

2.3 尾矿库水体环境抗性基因分布格局

尾矿库水体环境中抗生素抗性基因的种类和丰度差异较大,将各类抗生素抗性基因和可移动遗传元件进行综合热图分析 (图 4),可以比较直观地展示尾矿库水体环境抗性基因的差异和分布格局。

图 4 可以看出,各类抗性基因与可移动遗传元件形成了 A、B 和 C 这 3 大簇的分布格局。A 簇包括总抗性基因 ARGs、可移动遗传元件 MGEs 和氟喹诺酮类/氯霉素类/胺酰醇类 (FCA) 抗性基因,暗示着 ARGs 和 MGEs 可能存在相互影响的关系,存在较高频次水平基因转移情况,进而改变抗性基因的分布格局。B 簇则包含了氨基糖苷类 (Aminoglycoside)、大环内酯类/林肯酰胺类/链阳性菌素 B 类 (MLSb) 和其它未知机制 (others) 的抗性基因,B 簇的抗性基因丰度水平总体略低于第一簇的基因丰度,但总体高于 C 簇,相对 B 簇的其它点位,副坝排渗水的这几类抗性基因丰度相对较低。C 簇则含有 β -内酰胺类 (β -lactam)、四环素类

(Tetracycline)、磺胺类(Sulfonamide)和万古霉素类(Vancomycin)抗性基因,C簇的抗性基因丰度低于A簇和B簇,同时内部不同点位的各类抗性基因丰度水平差异较大,特别是主坝排渗水与副坝排渗水差异大,河水(HS)中这些类别抗性基因也低于其它点位的丰度水平,C簇分布格局比较复杂,表明这几类抗性基因可能与所在的具体水环境状况有紧密的关系。

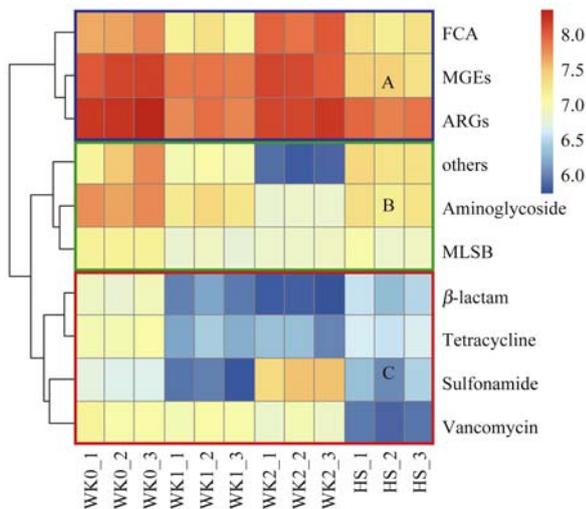


图4 河水抗生素抗性基因聚类分布热图

Fig. 4 Heatmap of ARGs in river water

3 讨论

环境抗生素抗性基因的影响因素和驱动机制国内外科学家都开展了一些相关研究. 有研究认为As和Cu等元素,可能会增加抗生素抗性的选择压力,进而增加抗性基因丰度^[19,20]. Chen等^[7]关于河流-水库系统的研究认为,可移动遗传元件(MGEs)是水环境抗生素抗性基因变化的主要因素. Bakkeren等^[21]认为微生物的进化演变是细菌抗性基因存在和传播的主要原因. 因此,在各种环境因素和微生物耦合作用下,抗生素抗性基因在不同的水体环境中的赋存和演变机制可能有不同的具体特征,但是人类活动是流域环境微生物污染的主要因素^[22]. 图2可以看出,库区水体的抗生素抗性基因和可移动遗传元件种类最多,库区水体主要来自于周围自然降水汇集而成,并含有填埋尾矿带入的废水,可能形成了一个独特的水体环境(营养元素高、

金属元素、成分复杂的洗选矿工艺废液等),进而影响了水体环境微生物的分布和结构. 而在丰度水平上(图3),虽然库区水体环境抗生素抗性基因丰度总体低于城市河水^[5,23],但是主坝和副坝排渗水中可移动遗传元件丰度高于抗生素抗性基因丰度,这与Chen等^[24]关于地下水抗生素抗性基因的研究一致,暗示着在尾矿堆体水环境中可能存在高频次和显著的抗性基因水平转移现象,尾矿库排渗水的微生物演变及其驱动机制还需结合高通量测序等手段进一步深入研究.

本研究显示,铜Cu、总有机碳TOC、可移动遗传元件(MGEs)与抗生素抗性基因呈显著正相关的关系($P < 0.05$). RDA分析表明(图5),尾矿库水体环境抗生素抗性基因主要受到铜Cu、总有机碳TOC和可移动遗传元件(MGEs)影响和驱动,这3种影响因子能够解释抗生素抗性基因61.64%(前两轴)的变化特征. 图5还可以看出,铜Cu和可移动遗传元件(MGEs)对于库区水体(WK0)和副坝排渗水(WK2)抗生素抗性基因的影响比较大,而总有机碳TOC与河水(HS)的抗生素抗性基因关系更为密切.

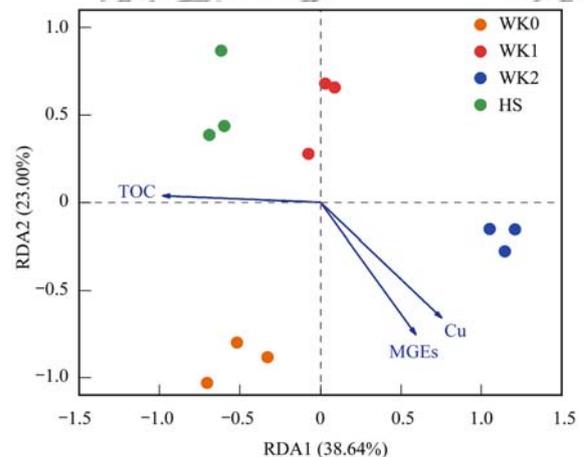


图5 影响因素与抗生素抗性基因的冗余分析

Fig. 5 Redundancy analysis (RDA) of the relationships between TOC, Cu, MGEs, and ARGs

本研究中,尾矿库水体环境各金属元素浓度水平见表1. 可以看出,水中的铜Cu和砷As的浓度水平都没有超过《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)规定的I类水标准. 镉Cd虽然在河水中未检出,但是在尾矿库水体中浓度则属于上述标准的II

表1 金属元素和总有机碳含量¹⁾

Table 1 Metal analysis and TOC

采样点	Ni	Cu	As	Cd	TOC
WK0	34.780 ± 1.818	2.605 ± 0.193	0.459 ± 0.007	1.869 ± 0.046	2.487 ± 0.286
WK1	36.347 ± 2.139	2.377 ± 0.101	0.416 ± 0.046	1.853 ± 0.034	1.737 ± 0.080
WK2	36.060 ± 0.161	2.752 ± 0.065	0.436 ± 0.006	1.700 ± 0.040	1.555 ± 0.138
HS	1.436 ± 0.038	1.596 ± 0.028	1.106 ± 0.030	N. D.	3.066 ± 0.142

1) TOC 单位为 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其余的单位为 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$; N. D. 表示低于检测限

类水标准. 因此,该尾矿库水体总体金属元素含量满足 II 类水体标准. 但是,低浓度金属元素仍可能对水中微生物群落结构和功能产生了影响,并进而影响抗生素抗性基因的组成和结构^[25]. 库区内镍 Ni 等含量较高元素对排渗水和河流水环境也可能构成了直接或间接的生态风险,虽然统计显示 Ni 与本研究中的抗生素抗性基因无显著相关关系,需采取更多研究手段对此进行综合分析 with 评估可能存在的潜在影响.

4 结论

(1)尾矿库水体环境存在着种类较丰富和丰度水平较高的抗生素抗性基因,库区水体(WKO)抗生素抗性基因的种类和丰度都是最高的,可能通过水体下渗直接影响了主坝和副坝排渗水的抗性基因组成,并可能间接影响河水抗生素抗性基因.

(2)铜 Cu、总有机碳 TOC 和可移动遗传元件(MGEs)与抗生素抗性基因(ARGs)呈显著相关的关系,总共解释了抗生素抗性基因 61.64% (前两轴)的变化特征,表明尾矿库水体环境抗生素抗性基因的分布主要受到了这 3 个因素的影响和驱动.

参考文献:

- [1] Pruden A, Pei R T, Storteboom H, *et al.* Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, **40** (23): 7445-7450.
- [2] 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.
- [3] McInnes R S, McCallum G E, Lamberte L E, *et al.* Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2020, **53**: 35-43.
- [4] Fan X T, Li H, Chen Q L, *et al.* Fate of antibiotic resistant *Pseudomonas putida* and broad host range plasmid in natural soil microcosms [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, **10**: 194.
- [5] 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.
- [6] Su J Q, An X L, Li B, *et al.* Metagenomics of urban sewage identifies an extensively shared antibiotic resistome in China [J]. *Microbiome*, 2017, **5**: 84.
- [7] 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.
- [8] Yang Y Y, Song W J, Lin H, *et al.* Antibiotics and antibiotic resistance genes in global lakes: a review and meta-analysis [J]. *Environment International*, 2018, **116**: 60-73.
- [9] Moore R E, Millar B C, Moore J E. Antimicrobial resistance (AMR) and marine plastics: can food packaging litter act as a dispersal mechanism for AMR in oceanic environments? [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, **150**, doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.110702.
- [10] Yang Y Y, Liu G H, Song W J, *et al.* Plastics in the marine environment are reservoirs for antibiotic and metal resistance genes [J]. *Environment International*, 2019, **123**: 79-86.
- [11] Flandroy L, Poutahidis T, Berg G, *et al.* The impact of human activities and lifestyles on the interlinked microbiota and health of humans and of ecosystems [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **627**: 1018-1038.
- [12] 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.
- [13] Chen Q L, An X L, Zheng B X, *et al.* Long-term organic fertilization increased antibiotic resistome in phyllosphere of maize [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **645**: 1230-1237.
- [14] Ding L J, Zhou X Y, Zhu Y G. Microbiome and antibiotic resistome in household dust from Beijing, China [J]. *Environment International*, 2020, **139**, doi: 10.1016/j.envint.2020.105702.
- [15] Zhu Y G, Gillings M, Simonet P, *et al.* Microbial mass movements [J]. *Science*, 2017, **357**(6356): 1099-1100.
- [16] 刘玉林, 刘长森, 刘红召, 等. 我国矿山尾矿利用技术及开发利用建议 [J]. *矿产保护与利用*, 2018, (6): 140-144, 150.
Liu Y L, Liu C M, Liu H Z, *et al.* Utilization technology of mine tailings in China and exploitation suggestions [J]. *Conservation and Utilization of Mineral Resources*, 2018, (6): 140-144, 150.
- [17] 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.
- [18] Su J Q, Wei B, Ouyang W Y, *et al.* Antibiotic resistome and its association with bacterial communities during sewage sludge composting [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, **49**(12): 7356-7363.
- [19] 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.
- [20] Poole K. At the nexus of antibiotics and metals: the impact of Cu and Zn on antibiotic activity and resistance [J]. *Trends in Microbiology*, 2017, **25**(10): 820-832.
- [21] Bakkeren E, Diard M, Hardt W D. Evolutionary causes and consequences of bacterial antibiotic persistence [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, **18**(9): 479-490.
- [22] 庄芳芳, 苏建强, 陈辉煌, 等. 基于高通量定量 PCR 研究城市化小流域微生物污染特征 [J]. *生态毒理学报*, 2017, **12**(5): 141-152.
Zhuang F F, Su J Q, Chen H H, *et al.* Characterization of microbial contaminants using high-throughput quantitative PCR in a small urbanizing catchment [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, **12**(5): 141-152.
- [23] Xu L K, Ouyang W Y, Qian Y Y, *et al.* High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in drinking water treatment plants and distribution systems [J]. *Environmental Pollution*, 2016, **213**: 119-126.
- [24] 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.
- [25] Pal C, Asiani K, Arya S, *et al.* Metal resistance and its association with antibiotic resistance [J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2017, **70**: 261-313.

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 Wuliangshai 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 Wuliangshai	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)