

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

- 主办 中国科学院生态环境研究中心
- 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.10
第40卷 第10期

目次

京津冀区域重污染期间 PM_{2.5}垂直分布及输送 肖致美, 徐虹, 李鹏, 唐遵, 陈魁, 杨宁, 郑乃源, 杨文, 邓小文 (4303)

肇庆市一次典型污染天气的污染物来源解析 常树诚, 廖程浩, 曾武涛, 杨柳林, 俞绍才, 陈雪, 郑剑平 (4310)

聊城市冬季 PM_{2.5}中水溶性化合物的昼夜变化特征及来源解析 衣雅男, 侯战方, 孟静静, 燕丽, 王心培, 刘晓迪, 伏梦璇, 魏本杰 (4319)

沈阳市国三和国四排放标准不同车型柴油车 PM_{2.5}和 PM₁₀排放因子及碳组分源谱 赵雪艳, 王静, 祝胜男, 卞思思, 张宇, 王歆华, 殷宝辉, 杨文, 白志鹏 (4330)

城市生活垃圾露天焚烧排放 PM_{2.5}中重金属污染特征及其暴露健康风险 程轲, 季婉婉, 郝炜伟, 王艳, 易鹏, 支国瑞, 张佳羽, 张洋, 张诗澜 (4337)

某工业城市大气颗粒物中 PAHs 的粒径分布及人体呼吸系统暴露评估 王娟, 郭观林, 秦宁, 侯荣, 杨敏, 康艺瑾, 段小丽 (4345)

南京城市大气氨-铵的高频演化及其气粒转化机制 邵生成, 常运华, 曹芳, 林煜棋, 范美益, 谢锋, 洪一航, 章炎麟 (4355)

广州地区大气棕色碳气溶胶吸收特性 李铸杰, 谭浩波, 郑军 (4364)

郑州市春季大气挥发性有机物污染特征及源解析 张翼翔, 尹沙沙, 袁明浩, 张瑞芹, 张猛, 于世杰, 李一丹 (4372)

基于原料类型及末端治理的典型溶剂使用源 VOCs 排放系数 梁小明, 陈来国, 孙西勃, 赵伟, 卢清, 孙家仁, 陈朋龙, 叶代启 (4382)

北京市典型溶剂使用行业 VOCs 成分谱 方莉, 刘明文, 陈丹妮, 李国昊, 王迪, 邵霞, 聂磊 (4395)

民用固体燃料源的 IVOCs 排放特征及燃烧温度的影响 卢雅静, 冯艳丽, 钱哲, 韩勇, 陈颖军 (4404)

利用地面观测资料和 AIRS 卫星资料评估 MACC 再分析臭氧数据中国地区的适用性 王闰芳, 马晓丹, 赵天良, 王红磊, 丁涵, 郑小波 (4412)

镁铝水滑石衍生复合氧化物的 COS 水解性能 魏征, 张鑫, 张凤莲, 蒋国霞, 张雨萌, 周化兵, 郝郑平, 解强 (4423)

长江源区大气降水化学特征及离子来源 汪少勇, 何晓波, 吴锦奎, 丁永建, 胡召富, 王利辉, 杨贵森 (4431)

连续极端降雨对东江流域水质影响分析 车蕊, 林澍, 范中亚, 李文静, 曾凡棠, 毛本健, 石雷, 黄志伟 (4440)

基于湖泊与出入湖水水质关联性研究:以鄱阳湖为例 黄冬凌, 倪兆奎, 赵爽, 张波涛, 冯明雷, 陈宏文, 李晓秀, 王圣瑞 (4450)

金泽水库上游来水及库区水质变化时空分布特征 刘明坤, 童俊, 胡波, 朱慧峰, 白晓慧 (4461)

太湖不同介质电导率时空变化特征 王瑞, 代丹, 张弛, 邓义祥, 何成达, 于涛 (4469)

大型浅水湖泊磷模型参数不确定性及敏感性分析 施媛媛, 李一平, 程月, 程一鑫 (4478)

基于 MODIS 影像的洪泽湖水生植被覆盖时空变化特征及影响因素分析 李娜, 施坤, 张运林, 龚志军, 查勇, 张毅博 (4487)

草型湖区沉积物营养盐分布与污染评价 张杰, 汪院生, 郭西亚, 朱金格, 邓建才 (4497)

太湖草型湖区沉积物中生物易降解物质组成与分布规律 祁闯, 方家琪, 张利民, 司泽君, 黄和笑, 王卓森, 李翔, 王磊, 王国祥 (4505)

淀山湖浮游动物群落时空分布特征及其与环境因子的关系 杜彩丽, 杨丽, 赵诣, 吴晓敏, 徐慕, 王丽卿, 张玮 (4513)

岩溶区不同土地利用地下水碳同位素地球化学特征及生态意义 任坤, 潘晓东, 曾浩, 焦友军, 彭聪, 梁嘉鹏 (4523)

岩溶地下水化学对城镇化进程的时序响应 杨应增, 何守阳, 吴攀, 吴起鑫, 韩志伟, 罗维 (4532)

巴中北部岩溶山区地下水化学特征及演化分析 唐金平, 张强, 胡漾, 邵江, 何文君, 张宇 (4543)

δ-MnO₂/沸石纳米复合材料同时去除地下水中的铁锰氨氮 马文婕, 陈天虎, 陈冬, 刘海波, 程鹏, 张泽鑫, 陶琼, 张玉珠 (4553)

不同香蒲预处理方式对水平潜流人工湿地脱氮的强化效果 熊家晴, 卢学斌, 郑于聪, 王晓昌 (4562)

不同控制策略下短程硝化启动及运行工况优化 刘安迪, 赵凯亮, 刘宏, 黄利, 倪蓉, 陈永志 (4569)

启动三级 PN/A 颗粒污泥反应器处理高浓度氨氮废水 吉晓庆, 齐泽坤, 钱飞跃, 沈耀良, 王建芳 (4578)

聚丙烯环生物滴滤塔去除实际市政污水厂硫化氢性能及微生物群落分析 孙事昊, 贾沛沛, 陈凯琦, 彭永臻, 张亮 (4585)

典型工业区土壤多环芳烃污染特征及影响因素 冉宗信, 陈靖宇, 王亚婷, 邢智, 魏威, 余江 (4594)

5 种典型有机磷酸酯在水-土壤界面吸附特征及影响因素 何明靖, 杨志豪, 魏世强 (4604)

Cu²⁺ 和 Pb²⁺ 在 BS-12 两性修饰膨润土上的吸附及其交互作用 卜帅宾, 孟昭福, Sambath Yek, 张梦飞, 王腾, 任爽, 张凌恺 (4611)

滇东南峰丛洼地土壤重金属含量、来源及潜在生态风险评价 洪涛, 孔祥胜, 岳祥飞 (4620)

贵州罗甸北部喀斯特地区耕地土壤镉含量特征与风险评价 唐启琳, 刘秀明, 刘方, 汪花, 王世杰 (4628)

渝西地区镉轻度污染稻田安全利用技术 李娜, 贺红周, 冯爱煊, 李伟, 蒋珍茂, 魏世强 (4637)

不同作物对土壤中 Cd 的富集特征及低累积品种筛选 陈小华, 沈根祥, 白玉杰, 郭春霞, 钱晓雍, 顾海蓉, 胡双庆, 赵庆节, 王振旗, 付侃 (4647)

小麦和水稻对纳米硒的吸收和转运 王雅琦, 朱丽娜, 李奎, 王琪, 王康, 郭岩彬, 李花粉 (4654)

微塑料对小麦生长及生理生化特性的影响 廖苑辰, 娜孜依古丽·加合甫别克, 李梅, 王晓琳, 蒋丽娟 (4661)

药渣生物炭基质联合麦饭石对土壤-黑麦草体系的调控与机制 肖亮亮, 丁园 (4668)

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 张海丰, 史明明, 孙艳梅, 程首涛, 高浩泽, 王旭明 (4678)

生活垃圾渗滤液处理过程中抗生素抗性基因的变化特征 黄福义, 周曙屹聃, 颜一军, 苏建强, 朱永官, 张炯 (4685)

有机肥施用量对土壤有机碳组分和团聚体稳定性的影响 邵慧芸, 李紫玥, 刘丹, 李熠凡, 鲁璐, 王旭东, 张阿凤, 王彦丽 (4691)

灌水和生物炭施用对水稻土呼吸温度敏感性的影响 周鹏, 祁乐, 牛海东, 王子芳, 高明 (4700)

柑橘/大蒜盖套作下土壤 CO₂ 排放及其效率对秸秆还田量的响应 游璟, 倪九派, 黄容, 张洋, 谢德体 (4708)

增温及秸秆施用对豆-麦轮作土壤微生物量碳氮及细菌群落结构的影响 张婷婷, 陈书涛, 王君, 王朝辉, 胡正华 (4718)

O₃ 胁迫下冬小麦总初级生产力的损耗模拟 徐静馨, 郑有飞, 王圣, 王立稳, 赵秀勇, 麦博儒 (4725)

2000~2015 年中国地级市化肥使用量的时空变化特征 潘晓东, 李品, 冯兆忠, 段昌群 (4733)

《环境科学》征订启事 (4394) 《环境科学》征稿简则 (4449) 信息 (4584, 4593, 4653)

生活垃圾渗滤液处理过程中抗生素抗性基因的变化特征

黄福义^{1,2}, 周曙仡聃^{1,2}, 颜一军¹, 苏建强^{1,2}, 朱永官^{1,2}, 张娴^{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: 抗生素抗性基因被认为是一种环境污染物, 城市生活垃圾填埋场及其渗滤液中存在多种类和高丰度的抗生素抗性基因. 针对生活垃圾渗滤液处理工艺流程特点, 本研究采用超高通量定量 PCR 技术, 分析生活垃圾渗滤液处理过程中抗生素抗性基因的变化特征. 结果表明, 渗滤液处理使得出水抗生素抗性基因丰度减至 9.2×10^{10} copies·L⁻¹, 降低了 5 个数量级, 能有效消减渗滤液中的抗生素抗性基因, 是一种有效消减垃圾渗滤液抗生素抗性基因丰度的方法; 渗滤液出水中的抗生素抗性基因 140 种, 检出率高达 46.7%, 相较于自然环境, 出水中抗生素抗性基因种类和丰度仍然维持在较高水平, 直接排入市政污水管网可能造成抗生素抗性基因的二次扩散, 存在着较高的生态环境风险; 渗滤液中抗生素抗性基因与 Cr、Cd、Ni、As、MGEs、integron 和 transposon 呈现极显著的正相关关系, 表明抗生素抗性基因的赋存和迁移传播可能受重金属元素和可移动遗传元件的共同影响.

关键词: 生活垃圾; 渗滤液; 重金属; 抗生素抗性; 动态

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)10-4685-06 DOI: 10.13227/j.hjxx.201902069

Dynamics of Antibiotic Resistance Genes During the Municipal Solid Waste Leachate Treatment

HUANG Fu-yi^{1,2}, ZHOU Shu-yi-dan^{1,2}, YAN Yi-jun¹, SU Jian-qiang^{1,2}, ZHU Yong-guan^{1,2}, ZHANG Xian^{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 to be emerging environmental contaminants. ARGs are frequently detected in municipal solid waste landfill and its leachate. In this study, high-throughput quantitative PCR techniques were used to investigate the dynamics of ARGs during the treatment process of landfill leachate. The results showed that ARGs in leachate were diverse and abundant, and leachate treatment could effectively reduce their abundance; the absolute abundance of ARGs was reduced to 9.2×10^{10} copies·L⁻¹, which was five orders of magnitude less than the abundance of the influent. However, the range and abundance of antibiotic resistance genes in the leachate effluents were still high compared to the natural environment. Therefore, the secondary contamination of ARGs might be caused by leachate being directly discharged into municipal sewage system. In this regard, ecological and environmental risk is an inconvenient truth. Furthermore, strong correlations indicate that heavy metals and mobile genetic elements (MGEs) in landfill leachate might influence the transfer of ARGs.

Key words: municipal solid waste; leachate; heavy metal; antibiotic resistance; dynamics

抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 被认为是一种新型的环境污染物^[1, 2], 近年来逐渐引起了世界各国科学家和各种环境健康组织的关注. 与传统的化学污染物不同, 抗生素抗性基因由于其生物学特性, 可在不同细菌之间转移和传播甚至是自我扩增, 表现出独特的环境行为特征^[3]. 虽然抗生素及抗性基因在自然环境中一直存在^[4], 但是在城市污水^[5]、施用有机肥的水稻土^[6]、城市河水^[7]、河口沉积物^[8]和塑料污染土壤^[9]等受人类活动影响的环境中检测出了高丰度的各类抗生素抗性基因. 因此, 人类活动显著改变了环境微生物抗性基因的种类和分布, 形成了人为干扰下的微生物大迁徙^[10]. 在医疗保健领域和畜牧养殖行业, 存在着抗生素过度和使用不当现象^[11], 并可能导致人类无药可用的境地, 造成了极大的健康风险^[12]. 越来越多的研究表明, 致病菌耐

药性与环境微生物抗性和抗生素抗性基因有关^[13, 14]. 世界卫生组织 (WHO) 在 2018 年 11 月 12 ~ 18 日开展了世界提高抗生素认识周 (World Antibiotic Awareness Week) 相关活动, 并把本次活动周主题定为: 急需作出改变, 人们很快就没有可用的抗生素了.

生活垃圾填埋场是城市生活垃圾、废弃塑料制品、污水厂的处置污泥、医疗处理废弃物和垃圾焚烧厂飞灰残渣等固体废弃物的主要的最终堆放场所^[15]. 受人类生产生活的影响, 这些固体垃圾中往往有抗生素残留以及含有抗生素抗性的微生物^[16, 17]. 此外, 垃圾填埋场从开始垃圾填埋到填埋

收稿日期: 2019-02-20; 修订日期: 2019-05-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41807460, 21806161)

作者简介: 黄福义 (1987 ~), 男, 博士研究生, 工程师, 主要研究方向为环境科学与工程, E-mail: fyhuang@iue.ac.cn

* 通信作者, E-mail: xzhang@iue.ac.cn

场封场后一直不停地产生渗滤液^[18]。垃圾渗滤液是伴随城市生活垃圾填埋场整个运营生命周期的二次污染物。填埋场垃圾渗滤液具有污染物成分复杂、生化降解性差和污染物浓度高等特点^[19]，是一种人为制造的“极端环境”，同时也是垃圾填埋场以及垃圾渗滤液中环境微生物生存进化的一种选择压力。垃圾渗滤液处理过程中微生物抗生素抗性的研究还处于起步阶段。对垃圾渗滤液处理过程中抗生素抗性基因种类、富集情况和演变机制等还不是十分清楚，开展垃圾渗滤液抗生素抗性基因污染研究显得十分必要。

本研究采用高通量定量 PCR (high through-put qPCR, HT-qPCR) 技术，对东南沿海某城市生活垃圾填埋场渗滤液在处理过程中的环境微生物抗生素抗性进行了探讨，从环境抗生素抗性整体集合的角度出发，对垃圾渗滤液中抗生素抗性基因的多样性、丰度、演变格局和影响因子进行了分析，通过增加对垃圾渗滤液抗生素抗性污染的认识，以期为进一步提高垃圾渗滤液处置管理水平和垃圾填埋场渗滤液环境健康风险评估提供理论支撑。

1 材料与与方法

1.1 城市生活垃圾填埋场概况及垃圾渗滤液处理工艺流程

该填埋场位于福建省沿海地区，填埋场容量 715 万 m^3 (含扩容)，2015 年正式停止垃圾填埋，暂未完成封场措施。该城市生活垃圾填埋场建造年代较早，配建的垃圾渗滤液收集池和调节池为同一个池子。垃圾填埋场渗滤液处理的主要工艺如图 1 所示。与近年来的渗滤液主流处理工艺相比，该渗滤液处理工艺显得相对落后，垃圾渗滤液日均处理量约为 $800 \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$ 。渗滤液超滤出水最终直接排入市政污水收集管网。

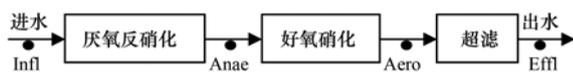


图 1 渗滤液处理工艺流程示意

Fig. 1 Flow chart of the leachate treatment

1.2 样品采集与 DNA 提取

根据渗滤液处理工艺特点，在图 1 中黑点所示的工艺段，分别采集了渗滤液进水 (Infl)、厌氧反硝化 (Anaer)、好氧硝化 (Aero) 和超滤出水 (Effl)，采样体积分别为 20、1、1 和 1 000 mL，每个工艺段进行 3 个采样重复 (1 h 内完成)。采用六联抽滤设备对所采集的总计 12 个样品进行抽滤，所用的滤膜为直径 50 mm 的 $0.22 \mu\text{m}$ 灭菌过滤膜 (ADVANTEC, 日本)，滤膜避光冷冻保存。滤膜用

手术剪剪成约 $2 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ 的小块，分别添加到 FastDNA[®] Spin Kit for Soil 试剂盒中的 Lysing Matrix E tube，根据试剂盒说明书提供的标准流程，获得样品总 DNA，然后统一用 $100 \mu\text{L}$ DES 进行洗脱，对所获得的 DNA 样品进行电泳验证 (1% 的琼脂糖凝胶)。DNA 样品用 QuantiFluor[®] dsDNA (Promega Corporation, 美国) 试剂盒测定 DNA 浓度，用灭菌的超纯水将 DNA 样品统一稀释至 $25 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ，所得到的 DNA 样品置于 -20°C 冰箱保存。

1.3 普通 qPCR 与超高通量 PCR

根据标准质粒外标法^[20]，采用普通 qPCR 方法测定渗滤液样品 16S rDNA 的绝对丰度，所用引物参照 Su 等^[21] 的研究。SmartChip Real-Time PCR Systems (WaferGen Inc., 美国) 超高通量 PCR 系统能够同时进行 5 184 个 PCR 反应，并且 PCR 体积仅为常规的 1/200，还具有 DNA 样品需求量少、节约试剂、自动化程度高等特点。实验中所用的 296 对引物简要说明如下：1 对 16S rDNA 引物、8 对转座子引物、2 对整合子引物和 285 对抗生素抗性基因引物^[21]。这些抗性基因引物具有典型的代表性，涵盖了大部分已知的抗生素抗性基因类型，整合子和转座子引物则用于研究微生物潜在的水平基因转移情况。

超高通量 PCR 扩增反应体系为 100 nL。PCR 体系中各个试剂的最终浓度为：1 × 的 LightCycler 480 SYBR[®] Green I Master Mix (Roche, 美国)， $1 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的 BSA， $3 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的 DNA 模板， $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的上下游引物。具体的反应条件为：初始温度 95°C 预变性 10 min； 95°C 变性 30 s， 60°C 退火延伸 30 s 后收集相应的荧光信号，总计 40 个循环；仪器可以自动进行熔解曲线分析，确保 PCR 质量。每个 SmartChip 芯片都有包含了灭菌超纯水作为阴性对照样品。每个样品须进行 3 次技术重复 PCR 实验。最终 PCR 反应得到的数据通过 Cycler 预设的过滤筛选条件 (PCR 扩增效率，单峰或多峰等) 进行导出。

1.4 重金属元素检测与抗性基因数据分析

重金属元素采用 ICP-MS 方法测定。超高通量定量 PCR 的数据采用 Excel 2013 进行计算整理。在对渗滤液样品进行 16S rDNA 常规普通 qPCR 定量的基础上，参考已有的抗生素抗性的研究方法^[22, 23]，计算沉积物样品抗性基因、可移动遗传元件 (mobile genetic elements, MGEs) 的绝对拷贝数。根据 rRNA 数据库，每个细菌细胞约含有 4.1 个 16S rRNA 基因^[24]，计算归一化的抗生素抗性基因

和可移动遗传元件丰度. 抗生素抗性基因组成和结构差异分析采用 adonis 和 anosim 检验分析方法. 抗性基因绝对丰度采用 t 检验方法分析组间差异. 分析采用 OriginPro 9.0 进行常规普通作图, 采用 R 3.3.3 进行 pheatmap 热图分析, 采用 SPSS Statistics 22 进行相关性分析.

2 结果与讨论

2.1 渗滤液处理过程中抗生素抗性基因的种类

渗滤液中总共检测出 8 大类, 192 种抗生素抗性基因, 9 种可移动遗传元件(MGEs), 具体结果见图 2(a). 渗滤液进水(Infl)和渗滤液出水(Effl)分别检测出 148 和 140 种抗生素抗性基因, 两者抗性基因种类分布和组成没有显著差异. 抗性基因定性数据表明, 渗滤液经过处理后, 仍然维持种类丰富的抗性基因, 检出率仍达 46.7%. 图 2 的结果表明, 厌氧反硝化阶段的抗性基因种类数显著高于好氧硝化阶段($P < 0.05$), 抗性基因的组成(抗性谱)也有显著差异. 有研究表明, 抗生素抗性基因和厌氧微生物有比较密切的关系^[25, 26], 因此厌氧阶段抗性基因种类数最高可能与厌氧微生物有关. 抗生素抗性基因的种类数始终处于较高水平, 表明该渗滤液处理工艺对抗生素抗性基因种类数目消减效果相对有限, 可能对接收渗滤液出水的城市污水厂和最终的受纳水体有潜在的环境健康风险.

图 2(b) 的结果表明, 抗生素本体失活(antibiotic deactivation)、抗生素外排泵(efflux pumps)和细菌个体保护(cellular protection)是渗滤液微生物抗生素抗性的最主要的 3 种机制, 比例分别为 41.82%、30.64% 和 19.45%, 这个结果与 Ouyang 等^[7]关于河水的研究相似, 表明环境微生物抗生素抗性机制比较接近.

2.2 渗滤液处理过程中抗性基因的丰度

由图 3 可知, 渗滤液处理过程中, 各类抗生素抗性基因和可移动遗传元件在绝对丰度的水平上都呈现先上升后下降的趋势. 除了出水样品, 渗滤液中各种抗生素抗性基因绝对丰度达到了 $10^{10} \sim 10^{15}$ 的数量级. 虽然渗滤液处理后的出水中抗生素抗性基因种类数没有显著下降[图 2(a)], 但是氨基糖苷类抗生素(Aminoglycoside)、 β 内酰胺类抗生素(β Lactam)、氯霉素类(Chloramphenicol)、大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类抗生素(MLSb)、多重抗药类(Multidrug)、磺胺类抗生素(Sulfonamide)、四环素类抗生素(Tetracycline)和万古霉素类抗生素(Vancomycin)这 8 大类抗生素抗性基因绝对丰度都是极显著下降的($P < 0.01$), 表明

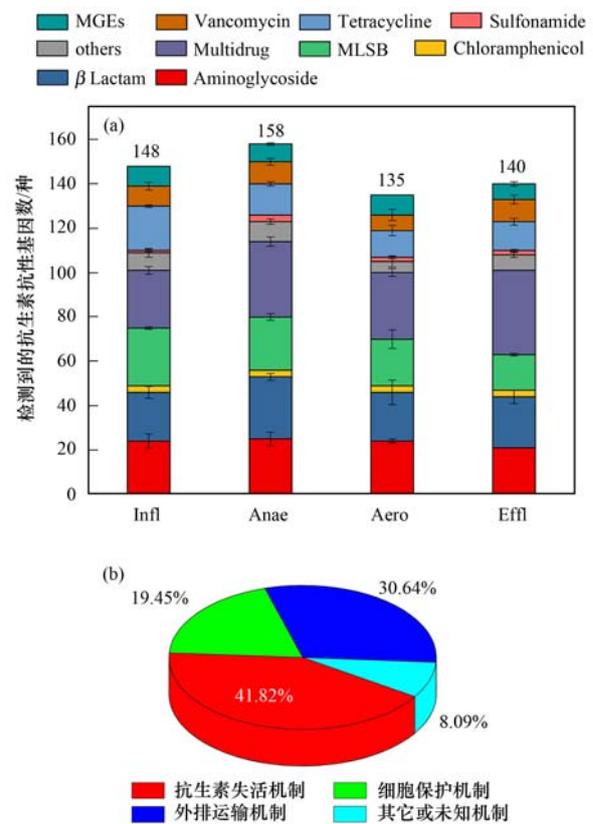


图 2 抗生素抗性基因的种类数和抗性机制

Fig. 2 Number of ARGs detected and their mechanism of resistance

渗滤液处理能够有效消减抗生素抗性基因. 但是渗滤液处理后的出水中总的抗性基因丰度仍然高达 9.2×10^{10} copies \cdot L⁻¹, 接近城市河流或者高于自然环境水体中的抗生素抗性基因^[7, 27], 显示出水中的抗生素抗性基因的环境健康风险不可忽视.

有研究统计表明, 单个细菌细胞平均含有 4.1 个拷贝的 16S rRNA 基因^[24], 据此计算出单个细菌携带的抗生素抗性基因的拷贝数[图 3(b)]. 总体上, 渗滤液进水(Infl)原样单个细菌细胞携带的总的各类抗性基因拷贝数最高. 但是处理后的渗滤液出水中单个细菌的可移动遗传元件(MGEs)高达 2.1 个, 显著高于渗滤液进水, 表明渗滤液处理过程中可移动遗传元件发生了强烈变化. 此外, 抗生素抗性基因丰度和可移动遗传元件的细胞水平拷贝数都显著高于河水^[7]和污泥堆肥^[21]等样品, 表明在填埋场堆体中形成的渗滤液微生物中抗生素抗性可能有自己独特的环境行为特征.

2.3 渗滤液处理过程中抗性基因分布格局

聚类热图分析表明(图 4), 渗滤液处理过程中抗性基因分布格局发生了显著变化. 数据结果显示, 渗滤液中的抗生素抗性基因聚类成 a、b、c 和 d 簇. a 簇的基因主要有 *tnpA*、*mexF*、*blaTEM*、*blaOXY*、*vanC* 和 *aacC* 等基因, a 簇的基因在所有样品中的丰度水平都处于总体较高水平. b 簇是 4 个

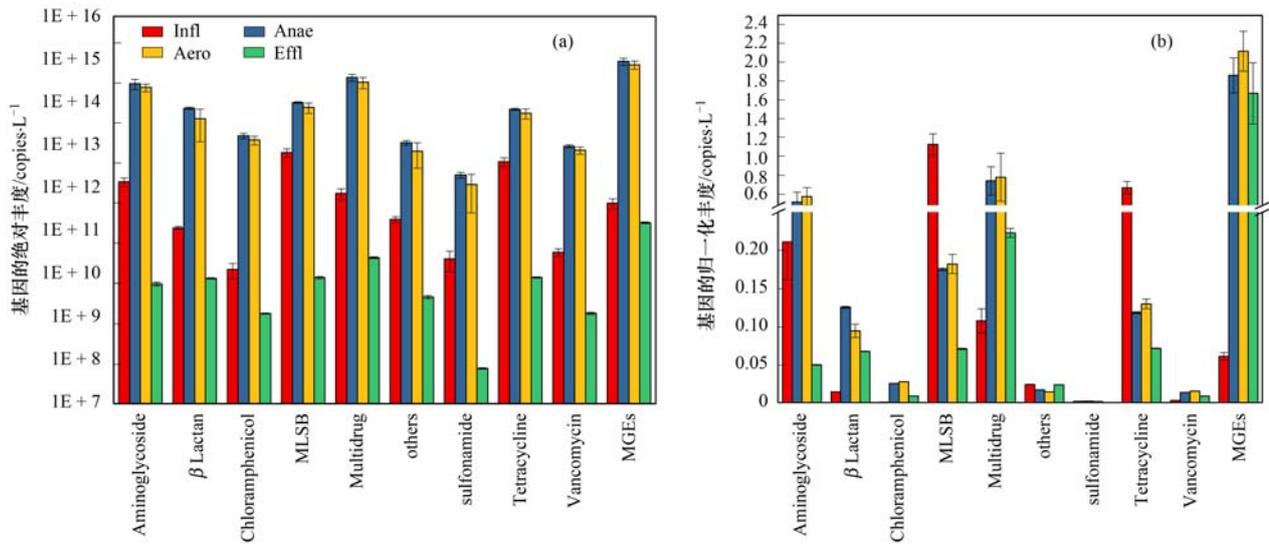


图3 抗生素抗性基因的丰度
Fig. 3 Abundance of antibiotic resistance genes

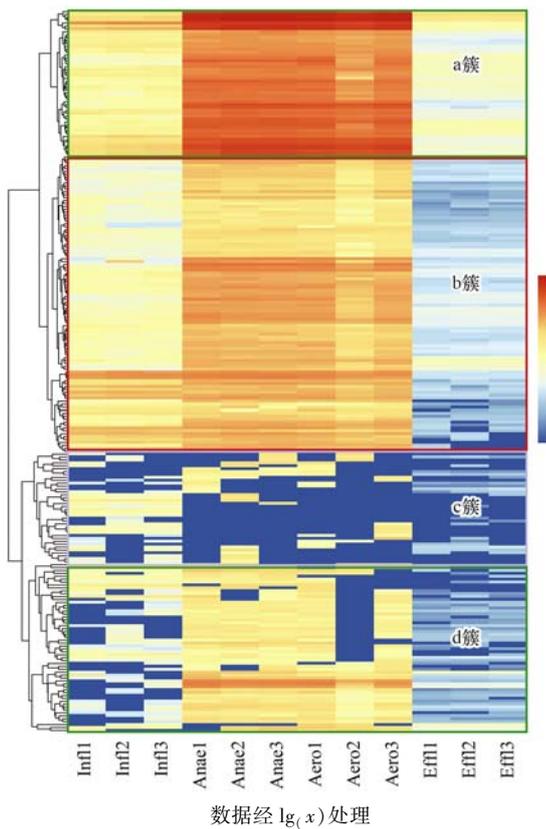


图4 抗生素抗性基因分布格局
Fig. 4 Pattern of antibiotic resistance genes

聚类基因簇中抗性基因种类最多的, 在渗滤液进水 (Infl)、厌氧反硝化 (Anae) 和好氧硝化 (Aero) 的处理阶段, 抗生素抗性基因丰度较高, 但是在出水阶段 (Efl), 抗性基因水平显著下降, 这些基因主要包含 *ampC*、*emK*、*tetV*、*oleC* 和 *ceoA* 等. c 簇是指在 整个渗滤液处理阶段, 抗生素抗性基因的检出率和绝对丰度水平都处于较低的抗性基因簇. d 簇则是在厌氧反硝化 (Anae) 和好氧硝化 (Aero) 阶段, 抗

性基因种类和丰度相对较高, 高于渗滤液进水; 在渗滤液出水阶段, 个别抗生素抗性基因仍然维持较高丰度. 渗滤液处理过程中抗生素抗性基因分布格局的变化表明, 渗滤液处理有效改变并消减了渗滤液中的抗性基因丰度, 但是渗滤液出水中的抗生素抗性基因去向、宿主和风险等仍需开展进一步研究.

2.4 抗性基因与重金属元素和可移动元件的关系

Cr、Cd、Ni 和 As 等重金属元素的检测结果如图 5 所示. 针对相关重金属元素检测结果, 结合可移动遗传元件 (MGEs) 的绝对丰度, 进行了 Pearson 相关关系分析. 由表 1 结果可知, 各类抗生素抗性基因与 Cr、Cd、Ni、As、MGEs、整合子 (integron) 和转座子 (transposon) 都呈现极显著的强相关关系, 表明重金属元素和可移动遗传元件与抗生素抗性基因可能存在着明显的共选择作用. 以往的一些研究表明, 某些类型的抗生素抗性基因与某些重金属、可移动遗传元件存着的一定关系, 但是有些没有统计上的相关关系^[28], 而本研究表明渗滤液抗生素

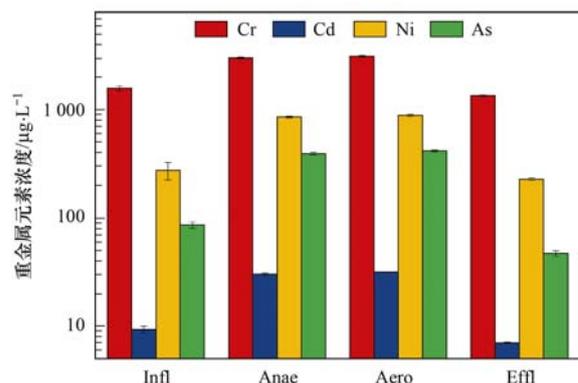


图5 渗滤液中重金属元素检测结果
Fig. 5 Concentration of heavy metals in leachate

表 1 抗生素抗性基因与重金属元素和可移动遗传元件的相关关系¹⁾

Table 1 Pearson's correlation between ARGs, metals, and MGEs

项目	Cr	Cd	Ni	As	MGEs	整合子	转座子
Aminoglycoside	0.925 **	0.940 **	0.933 **	0.933 **	0.997 **	0.999 **	0.988 **
β Lactam	0.826 **	0.837 **	0.834 **	0.830 **	0.918 **	0.913 **	0.926 **
Chloramphenicol	0.940 **	0.952 **	0.947 **	0.945 **	0.998 **	0.996 **	0.998 **
MLSB	0.942 **	0.948 **	0.946 **	0.944 **	0.974 **	0.970 **	0.981 **
Multidrug	0.921 **	0.935 **	0.929 **	0.927 **	0.997 **	0.997 **	0.994 **
others	0.853 **	0.861 **	0.859 **	0.855 **	0.918 **	0.910 **	0.931 **
Sulfonamide	0.809 **	0.819 **	0.816 **	0.812 **	0.890 **	0.883 **	0.905 **
Tetracycline	0.947 **	0.956 **	0.953 **	0.950 **	0.991 **	0.988 **	0.995 **
Vancomycin	0.955 **	0.960 **	0.960 **	0.958 **	0.950 **	0.946 **	0.955 **
ARGs	0.927 **	0.941 **	0.935 **	0.934 **	0.997 **	0.996 **	0.994 **

1) ** 表示 $P < 0.01$

抗性基因与重金属、可移动遗传元件存在着显著的相关关系,因此渗滤液中抗性基因的传播扩散机制可能比较独特,需采取多种手段进一步研究渗滤液的微生物学机制。

3 结论

(1) 渗滤液处理工艺使得渗滤液出水中抗生素抗性基因丰度减至 9.2×10^{10} copies \cdot L⁻¹, 降低了 5 个数量级,该工艺能有效消减渗滤液中的抗生素抗性基因的丰度。

(2) 相较于自然环境,渗滤液出水的抗生素抗性基因种类有 140 种,检出率高达 46.7%,种类和丰度仍然维持在较高水平,存在潜在的生态环境健康风险。

(3) 渗滤液中抗生素抗性基因与 Cr、Cd、Ni、As、MGEs、整合子(integron)和转座子(transposon)呈现极显著的强相关关系,抗生素抗性基因的迁移传播可能受重金属元素和可移动遗传元件的共同影响。

参考文献:

- [1] Zhu Y G, Zhao Y, Li B, *et al.* Continental-scale pollution of estuaries with antibiotic resistance genes [J]. *Nature Microbiology*, 2017, **2**: 16270.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] Martínez J L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments [J]. *Science*, 2008, **321** (5887): 365-367.
- [5] Rizzo L, Manaia C, Merlin C, *et al.* Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, **447**: 345-360.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] Chen B W, Yang Y, Liang X M, *et al.* Metagenomic profiles of antibiotic resistance genes (ARGs) between human impacted estuary and deep ocean sediments [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **47** (22): 12753-12760.
- [9] 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.
- [10] Zhu Y G, Gillings M, Simonet P, *et al.* Microbial mass movements [J]. *Science*, 2017, **357** (6356): 1099-1100.
- [11] Cully M. Public health; the politics of antibiotics [J]. *Nature*, 2014, **509** (7498): S16-S17.
- [12] Smith R A, M'ikanatha N M, Read A F. Antibiotic resistance: a primer and call to action [J]. *Health Communication*, 2015, **30** (3): 309-314.
- [13] 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.
- [14] Fischbach M A, Walsh C T. Antibiotics for emerging pathogens [J]. *Science*, 2009, **325** (5944): 1089-1093.
- [15] 黄福义, 安新丽, 李力, 等. 生活垃圾填埋场对河流抗生素抗性基因的影响 [J]. *中国环境科学*, 2017, **37** (1): 203-209.
Huang F Y, An X L, Li L, *et al.* High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in river in the vicinity of a landfill [J]. *China Environmental Science*, 2017, **37** (1): 203-209.
- [16] Chen Q L, Li H, Zhou X Y, *et al.* An underappreciated hotspot of antibiotic resistance: the groundwater near the municipal solid waste landfill [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **609**: 966-973.

- [17] Song L Y, Li L, Yang S, *et al.* Sulfamethoxazole, tetracycline and oxytetracycline and related antibiotic resistance genes in a large-scale landfill, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, **551-552**: 9-15.
- [18] 熊建英, 郑正. 垃圾填埋场渗滤液溶解性有机质特性及其去除技术综述[J]. *环境化学*, 2015, **34**(1): 44-53.
Xiong J Y, Zheng Z. Characteristics of the dissolved organic matter in landfill leachate and their removal technology: a review [J]. *Environmental Chemistry*, 2015, **34**(1): 44-53.
- [19] 王鹤茹, 宋永伟, 徐峙辉, 等. 均相/异相催化剂光降解垃圾渗滤液效果的研究[J]. *环境科学学报*, 2016, **36**(9): 3243-3250.
Wang H R, Song Y W, Xu Z H, *et al.* Photochemical degradation of landfill leachate by homogeneous/heterogeneous catalyst combinations[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, **36**(9): 3243-3250.
- [20] 李丽, 赵成萍, 李宏, 等. 质粒制备绝对定量 PCR 标准曲线方法的建立[J]. *农业生物技术学报*, 2011, **19**(6): 1157-1162.
Li L, Zhao C P, Li H, *et al.* Establishment of the plasmid standard curve generation method for absolute quantification PCR [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2011, **19**(6): 1157-1162.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] Chen Q L, An X L, Zhu Y G, *et al.* Application of Struvite Alters the Antibiotic Resistome in Soil, Rhizosphere, and Phyllosphere[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, **51**(14): 8149-8157.
- [24] Klappenbach J A, Saxman P R, Cole J R, *et al.* rrndb: the ribosomal RNA operon copy number database[J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, **29**(1): 181-184.
- [25] Aydin S, Ince B, Ince O. Assessment of anaerobic bacterial diversity and its effects on anaerobic system stability and the occurrence of antibiotic resistance genes [J]. *Bioresource Technology*, 2016, **207**: 332-338.
- [26] Aydin S, Ince B, Ince O. Development of antibiotic resistance genes in microbial communities during long-term operation of anaerobic reactors in the treatment of pharmaceutical wastewater [J]. *Water Research*, 2015, **83**: 337-344.
- [27] 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.
- [28] Zhao Y, Su J Q, An X L, *et al.* Feed additives shift gut microbiota and enrich antibiotic resistance in swine gut [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **621**: 1224-1232.

CONTENTS

Vertical Distribution and Transport of PM _{2.5} During Heavy Pollution Events in the Jing-Jin-Ji Region	XIAO Zhi-mei, XU Hong, LI Peng, <i>et al.</i> (4303)
Source Apportionment of Air Pollutants for a Typical Pollution Event in Zhaoqing	CHANG Shu-cheng, LIAO Cheng-hao, ZENG Wu-tao, <i>et al.</i> (4310)
Diurnal Variations and Source Analysis of Water-soluble Compounds in PM _{2.5} During the Winter in Liaocheng City	YI Ya-nan, HOU Zhan-fang, MENG Jing-jing, <i>et al.</i> (4319)
Emission Characteristics of Exhaust PM and Its Carbonaceous Components from China III to China IV Diesel Vehicles in Shenyang	ZHAO Xue-yan, WANG Jing, ZHU Sheng-nan, <i>et al.</i> (4330)
Characteristics of Heavy Metal Pollutants of PM _{2.5} from Open Burning of Municipal Solid Waste (MSW) and the Associated Exposure Health Risks	CHENG Ke, JI Wan-wan, HAO Wei-wei, <i>et al.</i> (4337)
Size Distribution Characteristics and Inhalation Exposure of Particle-Bound PAHs in an Industrial City	WANG Juan, GUO Guan-lin, QIN Ning, <i>et al.</i> (4345)
High-frequency Evolution of Urban Atmospheric Ammonia and Ammonium and Its Gas-to-Particle Conversion Mechanism in Nanjing City	SHAO Sheng-cheng, CHANG Yun-hua, CAO Fang, <i>et al.</i> (4355)
Optical Absorption Properties of Brown Carbon Aerosols in Guangzhou	LI Zhu-jie, TAN Hao-bo, ZHENG Jun (4364)
Characteristics and Source Apportionment of Ambient VOCs in Spring in Zhengzhou	ZHANG Yi-xiang, YIN Sha-sha, YUAN Ming-hao, <i>et al.</i> (4372)
Raw Materials and End Treatment-based Emission Factors for Volatile Organic Compounds (VOCs) from Typical Solvent Use Sources	LIANG Xiao-ming, CHEN Lai-guo, SUN Xi-bo, <i>et al.</i> (4382)
Source Profiles of Volatile Organic Compounds (VOCs) from Typical Solvent-based Industries in Beijing	FANG Li, LIU Wen-wen, CHEN Dan-ni, <i>et al.</i> (4395)
Emission Characteristics of IVOCs from the Combustion of Residential Solid Fuels and the Impact of Burning Temperature	LU Ya-jing, FENG Yan-li, QIAN Zhe, <i>et al.</i> (4404)
Evaluation of MACC Reanalysis Ozone Data over China Using Ground-based and AIRS Satellite Observations	WANG Run-fang, MA Xiao-dan, ZHAO Tian-liang, <i>et al.</i> (4412)
Hydrolysis of COS over MgAl Mixed Oxides Derived from Hydrotalcites	WEI Zheng, ZHANG Xin, ZHANG Feng-lian, <i>et al.</i> (4423)
Chemical Characteristics and Ionic Sources of Precipitation in the Source Region of the Yangtze River	WANG Shao-yong, HE Xiao-bo, WU Jing-kui, <i>et al.</i> (4431)
Effects of Continuous Extreme Rainfall on Water Quality of the Dongjiang River Basin	CHE Rui, LIN Shu, FAN Zhong-ya, <i>et al.</i> (4440)
Correlation Analysis of Water Quality Between Lake Inflow and Outflow: A Case Study of Poyang Lake	HUANG Dong-ling, NI Zhao-kui, ZHAO Shuang, <i>et al.</i> (4450)
Spatio-temporal Distribution Characteristics of the Water Quality in the Jinze Reservoir and Its Inflow	LIU Ming-kun, TONG Jun, HU Bo, <i>et al.</i> (4461)
Temporal and Spatial Variations in the Conductivity in Different Media in Taihu Lake, China	WANG Rui, DAI Dan, ZHANG Chi, <i>et al.</i> (4469)
Uncertainty and Sensitivity Analysis of Phosphorus Model Parameters in Large Shallow Lakes	SHI Yuan-yuan, LI Yi-ping, CHENG Yue, <i>et al.</i> (4478)
Spatio-temporal Variations in Aquatic Vegetation Cover and the Potential Influencing Factors in Lake Hongze Based on MODIS Images	LI Na, SHI Kun, ZHANG Yun-lin, <i>et al.</i> (4487)
Distribution and Pollution Assessment of Nutrients in the Surface Sediments of a Macrophyte-Dominated Zone in Lake Taihu	ZHANG Jie, WANG Yuan-sheng, GUO Xi-ya, <i>et al.</i> (4497)
Composition and Distribution of Biodegradable Compounds in the Macrophyte Dominated Zone of Lake Taihu	QI Chuang, FANG Jia-qi, ZHANG Li-min, <i>et al.</i> (4505)
Temporal and Spatial Variation of Zooplankton Community Structure and Its Relationship with Environmental Factors in Dianshan Lake, Shanghai	DU Cai-li, YANG Li, ZHAO Yi, <i>et al.</i> (4513)
Geochemical Characteristics and Ecological Significance of Carbon Isotopes in Groundwater Under the Influence of Different Land Use Types in Karst Areas	REN Kun, PAN Xiao-dong, ZENG Jie, <i>et al.</i> (4523)
Temporal Response of Subterranean Karst Stream Hydrochemistry to Urbanization	YANG Ying-zeng, HE Shou-yang, WU Pan, <i>et al.</i> (4532)
Hydrochemical Characteristics of Karst Groundwater in the Mountains of Northern Bazhong City, China	TANG Jin-ping, ZHANG Qiang, HU Yang, <i>et al.</i> (4543)
Removal of Fe(II), Mn(II), and NH ₄ ⁺ -N by Using δ-MnO ₂ Coated Zeolite	MA Wen-jie, CHEN Tian-hu, CHEN Dong, <i>et al.</i> (4553)
Strengthening Effect of Different Cattail Pretreatment Methods on the Denitrification of Horizontal Subsurface Flow in a Constructed Wetland	XIONG Jia-qing, LU Xue-bin, ZHENG Yu-cong, <i>et al.</i> (4562)
Short-cut Nitrification Start-up and Optimization of Operating Conditions Under Different Control Strategies	LIU An-di, ZHAO Kai-liang, LIU Hong, <i>et al.</i> (4569)
Start-up of a Three-stage PNA Granular Sludge Reactor for Treating Wastewater with High Concentrations of Ammonia	Ji Xiao-qing, Qi Ze-kun, QIAN Fei-yue, <i>et al.</i> (4578)
Removal of Hydrogen Sulfide Produced in a Municipal WWTP Using a Biotrickling Filter with Polypropylene Rings as the Packing Material and Microbial Community Analysis	SUN Shi-hao, JIA Ti-pei, CHEN Kai-qi, <i>et al.</i> (4585)
Characteristics and Influencing Factors of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Soils from Typical Industrial Areas of Chengdu	RAN Zong-xin, CHEN Jin-yu, WANG Ya-ting, <i>et al.</i> (4594)
Absorption Characterization and the Identification of Factors Influencing Five Organophosphate Esters in Water-Soil System	HE Ming-jing, YANG Zhi-hao, WEI Shi-qiang (4604)
Adsorption and Interaction of Cu ²⁺ and Pb ²⁺ on BS-12 Amphoteric Modified Bentonites	BU Shuai-bin, MENG Zhao-fu, Sambath Yek, <i>et al.</i> (4611)
Concentration Characteristics, Source Analysis, and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in a Peak-cluster Depression Area, Southeast of Yunnan Province	HONG Tao, KONG Xiang-sheng, YUE Xiang-fei (4620)
Cd Accumulation and Risk Assessment for Arable Soils in the Karst Region of Northern Luodian, Guizhou	TANG Qi-lin, LIU Xiu-ming, LIU Fang, <i>et al.</i> (4628)
Safe Utilization of Paddy Soils Lightly Polluted with Cadmium in Western Chongqing	LI Na, HE Hong-zhou, FENG Ai-xuan, <i>et al.</i> (4637)
Accumulation of Cd in Different Crops and Screening of Low-Cd Accumulation Cultivars	CHEN Xiao-hua, SHEN Gen-xiang, BAI Yu-jie, <i>et al.</i> (4647)
Absorption and Transportation of Selenium Nanoparticles in Wheat and Rice	WANG Ya-qi, ZHU Li-na, LI Kui, <i>et al.</i> (4654)
Effects of Microplastics on the Growth, Physiology, and Biochemical Characteristics of Wheat (<i>Triticum aestivum</i>)	LIAO Yuan-chen, Nazgul-Jahitbek, LI Mei, <i>et al.</i> (4661)
Regulation and Mechanism of a Dregs Biochar Matrix Combined with Maifanite on a Soil-Ryegrass System	XIAO Liang-liang, DING Yuan (4668)
Microbial Community Structure and the Distribution of Antibiotic Resistance Genes in Soil Contaminated by Sulfamethoxazole	ZHANG Hai-feng, SHI Ming-ming, SUN Yan-mei, <i>et al.</i> (4678)
Dynamics of Antibiotic Resistance Genes During the Municipal Solid Waste Leachate Treatment	HUANG Fu-yi, ZHOU Shu-yi-dan, YAN Yi-jun, <i>et al.</i> (4685)
Effects of Manure Application Rates on the Soil Carbon Fractions and Aggregate Stability	SHAO Hui-yun, LI Zi-yue, LIU Dan, <i>et al.</i> (4691)
Effects of Irrigation and Biochar Application on the Respiratory Temperature Sensitivity of Paddy Soil	ZHOU Peng, QI Le, NIU Hai-dong, <i>et al.</i> (4700)
Response of Soil CO ₂ Emissions to Straw-returning in Citrus/Mushroom Intercropping Systems	YOU Jing, NI Jiu-pai, HUANG Rong, <i>et al.</i> (4708)
Effects of Warming and Straw Application on Soil Microbial Biomass Carbon and Nitrogen and Bacterial Community Structure	ZHANG Ting-ting, CHEN Shu-tao, WANG Jun, <i>et al.</i> (4718)
Simulated Ozone Damage on Gross Primary Productivity (GPP) in a Winter Wheat Field	XU Jing-xin, ZHENG You-fei, WANG Sheng, <i>et al.</i> (4725)
Spatial and Temporal Variations in Fertilizer Use Across Prefecture-level Cities in China from 2000 to 2015	PAN Xiao-dong, LI Pin, FENG Zhao-zhong, <i>et al.</i> (4733)