

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第10期

Vol.34 No.10

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办

科学出版社 出版



目次

南京地区大气气溶胶 PM_{2.5} 中稳定碳同位素组成研究 吴梦龙, 郭照冰, 刘凤玲, 孙德玲, 卢霞, 姜文娟 (3727)

太原市空气颗粒物中正构烷烃分布特征及来源解析 胡冬梅, 彭林, 白慧玲, 牟玲, 韩锋, 刘效峰, 冀豪栋, 张鹏九 (3733)

交通与气象因子对不同粒径大气颗粒物的影响机制研究 罗娜娜, 赵文吉, 晏星, 官兆宁, 熊秋林 (3741)

公交车燃用生物柴油的颗粒物排放特性 楼狄明, 陈峰, 胡志远, 谭丕强, 胡炜 (3749)

兰州及其周边区域大气降水 δ¹⁸O 特征及其水汽来源 陈粉丽, 张明军, 马潜, 李小飞, 王圣杰, 李菲 (3755)

天山乌鲁木齐河源 1 号冰川区气溶胶水溶性离子变化特征及来源分析 岳晓英, 李忠勤, 张明军, 周平, 樊晋 (3764)

O₃/H₂O₂ 氧化苯乙烯气体性能及机制 何觉聪, 黄倩茹, 叶杞宏, 罗雨薇, 张再利, 樊青娟, 魏在山 (3772)

马尾松针叶组织稳定硫同位素地球化学特征及来源示踪 关晖, 肖化云, 朱仁果, 郑能建, 瞿玲露 (3777)

江西省表层土壤和苔藓硫含量及硫同位素组成对比研究 李男, 肖化云, 陈永忠, 周丹, 罗笠, 吴代敏 (3782)

辽河流域非点源污染空间特征遥感解析 王雪蕾, 蔡明勇, 钟部卿, 姚延娟, 殷守敬, 吴迪 (3788)

景观带尺度高寒区水文特征时空变化规律研究 杨永刚, 胡晋飞, 肖洪浪, 邹松兵, 尹振良 (3797)

金普湾海域表层沉积物中基质结合态磷化氢的分布特征 游丽丽, 宗海波, 张淑芳, 尹国宇, 李涛, 侯立军 (3804)

崇明东滩湿地干湿交替过程脲酶活性变化初探 韩建刚, 曹雪 (3810)

FDA 水解酶分析法表征近海泥滩微生物活性 刘叶, 邹立, 刘陆, 高冬梅 (3818)

中国东北主要河流沉积物中多溴二苯醚的含量状况及生态风险分析 袁海峰, 成杭新, 赵传冬, 刘应汉, 杨柯, 李括, 彭敏, 刘飞 (3825)

深圳大鹏湾海域表层沉积物和生物体中多环芳烃残留及其风险评价 孙闰霞, 柯常亮, 谷阳光, 卢腾腾, 杜飞雁, 马胜伟, 林钦 (3832)

PMF 和 PCA/MLR 法解析上海市高架道路地表径流中多环芳烃的来源 边璐, 李田, 侯娟 (3840)

三峡库区蓄水初期大宁河重金属食物链放大特征研究 余杨, 王雨春, 周怀东, 高博, 赵高峰 (3847)

小型封闭水体环境因子与叶绿素 a 的时空分布及相关性研究 李飞鹏, 张海平, 陈玲 (3854)

太湖氮、磷自净能力的实验与模型模拟 韩涛, 翟淑华, 胡维平, 张红举, 李钦钦 (3862)

湖泊疏浚方式对内源释放影响的模拟研究 陈超, 钟继承, 范成新, 孔明, 余居华 (3872)

水体/底泥生物基城市河道富营养化水体修复试验研究 周慧华, 宋晓光, 吴革, 谢鑫源 (3879)

底泥调控剂对感潮河涌沉积物中重金属的影响 区凤荏, 孙国萍, 许玫英 (3888)

区域水化学条件对淮南采煤沉陷区水域沉积物磷吸附特征的影响研究 易齐涛, 孙鹏飞, 谢凯, 曲喜杰, 王婷婷 (3894)

4 种人工湿地填料的 f2 噬菌体吸附特性 陈迪, 郑祥, 魏源送, 杨勇 (3904)

稻壳灰对抗生素磺胺的吸附特性研究 纪莹雪, 王凤贺, 张帆, 张艳红, 王国祥, 顾中铸 (3912)

紫外辐射对腐殖酸化学稳定性影响机制研究 王文东, 周礼川, 丁真真, 王洪平, 孙学军 (3921)

基于石墨烯载体的铁基材料制备及除砷性能比较 朝木尔乐格, 冯流, 霍艳霞 (3927)

nTiO₂ 在水中的分散沉降行为研究 陈金媛, 方金凤, 魏秀珍 (3933)

微生物-铁氧化物交互作用对黄土中砷活化迁移的影响 谢芸芸, 陈天虎, 周跃飞, 谢巧勤 (3940)

两性离子在聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜表面接枝改性的研究 周桂花, 肖峰, 肖萍, 王东升, 段晋明, 石健, 臧莉 (3945)

化粪池排口处土壤对典型农户生活污水氮素污染物的消减测算研究 周锋, 王文林, 王国祥, 马久远, 万寅婧, 唐晓燕, 梁斌, 季斌 (3954)

珠江三角洲典型集约化猪场废水污染特征及风险评价 李文英, 彭智平, 于俊红, 黄继川, 徐培智, 杨少海 (3963)

污泥堆肥草坪基质利用对草坪生长及土壤和水环境的影响 金树权, 周金波, 陈若霞, 林斌, 王德耀 (3969)

活性污泥絮体粒径分布与分形维数的影响因素 李振亮, 张代钧, 卢培利, 曾善文, 杨永浩 (3975)

不同恢复方式对硝化颗粒污泥活性的影响 郭秀丽, 高大文, 卢健聪 (3981)

生物陶粒反应器的氮自养反硝化研究 陈丹, 王弘宇, 宋敏, 杨开, 刘晨 (3986)

亚高山草甸土壤呼吸的空间异质性研究 严俊霞, 李君剑, 王洪建, 张义辉 (3992)

SiB3 模式对作物区 CO₂ 通量的模拟研究 张庚军, 卢立新, 蒋玲梅, 蒋磊, Ian Baker (4000)

缙云山土地利用方式对土壤活性有机质及其碳库管理指数的影响 徐鹏, 江长胜, 郝庆菊, 祝滔 (4009)

典型农业城市街道灰尘重金属特征及其环境风险评价: 以许昌市为例 闫慧, 陈杰, 肖军 (4017)

苏州、无锡和南通道路灰尘中的多溴联苯醚和多氯联苯 史双昕, 董亮, 李玲玲, 张辉, 李斯明, 张天野, 黄业茹 (4024)

废旧汽车拆解区土壤中多环芳烃垂向分布特性 吴彦瑜, 胡小英, 洪鸿加, 彭晓春 (4031)

铬污染土壤的稳定化处理及其长期稳定性研究 王旌, 罗启仕, 张长波, 谈亮, 李旭 (4036)

典型磺胺类抗生素在土柱中的淋溶规律研究 李曼, 陈卫平, 魏福祥, 焦文涛 (4042)

3 种金属氧化物纳米材料在不同土壤中运移行为研究 方婧, 余博阳 (4050)

多孔介质中 NAPLs 流体毛细管指进形态及分形表征 李慧颖, 杜晓明, 杨宾, 伍斌, 徐竹, 史怡, 房吉敦, 李发生 (4058)

毛竹入侵对常绿阔叶林主要树种的化感作用研究 白尚斌, 周国模, 王懿祥, 梁倩倩, 陈娟, 程艳艳, 沈蕊 (4066)

珠江口典型水产养殖区抗生素抗性基因污染的初步研究 梁惜梅, 袁湘平, 施震 (4073)

江苏盐城地区水产品重金属含量与安全评价 刘洋, 付强, 高军, 徐网谷, 殷波, 曹亚乔, 秦卫华 (4081)

铜胁迫对不同基因型谷子幼苗基因组 DNA 多态性的影响 张义贤, 付亚萍, 肖志华, 张喜文, 李萍 (4090)

利用高通量测序对封存 CO₂ 泄漏情景下土壤细菌的研究 田地, 马欣, 李玉娥, 查良松, 伍洋, 邹晓霞, 刘爽 (4096)

酸性矿山废水区域废矿石中真核生物多样性分析 李思远, 郝春博, 王丽华, 吕铮, 张丽娜, 刘莹, 冯传平 (4105)

十溴联苯醚降解菌的特性及功能蛋白初步分析 常晶晶, 尹华, 秦华明, 叶锦韶, 彭辉, 宋小飞 (4112)

硒对水稻吸收积累和转运锰、铁、磷和硒的影响 胡莹, 黄益宗, 黄艳超, 刘云霞, 梁建宏 (4119)

外源铁对不同番茄品种生理特性、镉积累及化学形态的影响 刘俊, 周坤, 徐卫红, 陈惠, 张明中, 江玲, 杨芸, 王崇力, 熊治庭 (4126)

电子废物排放持久性有毒污染物的控制政策分析 李力, 吕永龙, 王铁宇 (4132)

《环境科学》征稿简则 (3926) 《环境科学》征订启事 (4057) 信息 (3878, 3953, 3999, 4041)

珠江口典型水产养殖区抗生素抗性基因污染的初步研究

梁惜梅^{1,3}, 聂湘平², 施震^{1,3}

(1. 中国科学院南海海洋研究所热带海洋环境国家重点实验室, 广州 510301; 2. 暨南大学生态学系, 广州 510632; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 使用普通 PCR 和荧光定量 PCR 方法对珠江口典型水产养殖区水和沉积物中 3 种磺胺类、7 种四环素类、1 种喹诺酮类抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 和 1 种整合子基因进行了定性和定量研究. 结果表明, 除 *tetW* 外, 所有其他 ARGs 在珠江口养殖区中均被检出, 其中 *sul1*、*sul2* 和 *int1* 的检出率为 100%. 相同养殖模式下, 养殖时间越长 ARGs 的相对含量越高, 表明 ARGs 具有累积效应; 不同养殖模式池塘中 ARGs 的含量存在差异, 表明养殖模式可能影响 ARGs 的含量与分布. *int1* 相对含量与 *sul1* 和 ARGs 总量之间均存在显著相关性 ($P < 0.05$), 表明 *int1* 在 ARGs 的水平传播中起着非常重要的作用. 此外, 珠江口水产养殖区沉积物中抗生素浓度与 ARGs 总量存在显著相关性 ($P < 0.05$), 说明水产养殖区中抗生素残留是诱导养殖区 ARGs 的主要因素.

关键词: 抗生素抗性基因; 普通 PCR; 荧光定量 PCR; 水; 沉积物; 水产养殖区; 珠江口

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)10-4073-08

Preliminary Studies on the Occurrence of Antibiotic Resistance Genes in Typical Aquaculture Area of the Pearl River Estuary

LIANG Xi-mei^{1,3}, NIE Xiang-ping², SHI Zhen^{1,3}

(1. State Key Laboratory of Tropical Oceanography, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China; 2. Department of Ecology, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Traditional and quantitative PCR techniques were used to determine the occurrence and quantities of ARGs, including three types of genes resistant to sulfonamide, seven for tetracycline resistance and one for quinolone resistance, as well as one integron gene in typical aquaculture of the Pearl River Estuary. The results showed that all genes except for *tetW* were detectable in the aquaculture environment, and *sul1*, *sul2* and *int1* were the most frequently detected genes (detectable percentage, 100%). Relative abundances of ARGs increased with the prolongation of rearing time under the same aquaculture pattern, suggesting a cumulative effect. Moreover, the occurrences of ARGs in the ponds were different with different aquaculture patterns, indicating that the aquaculture pattern might play an important role in the abundances and distributions of ARGs. Relative abundances of *int1*, as a horizontal mobile genetic element, were significantly correlated to the levels of *sul1* and the total ARGs ($P < 0.05$). The total concentration of antibiotics exhibited a good positive correlation with the total concentration of ARGs in sediments ($P < 0.05$). All results elucidated that extensive residues of antibiotics in the aquaculture substantially increased the abundances of ARGs probably owing to the induction of horizontal gene transfer of ARGs among bacteria.

Key words: antibiotic resistance genes; traditional PCR; real-time quantitative PCR; water; sediment; aquaculture; Pearl River Estuary

在水产养殖业中, 抗生素作为防治细菌性疾病的药物和生长促进剂而被大量使用^[1,2]. 然而抗生素的长期使用、滥用除了对养殖环境产生直接污染外, 还可能会诱导环境中耐药性细菌和抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 的产生, 并加速抗生素抗性的传播和扩散^[3-5]. 近年来, 国外学者对水产养殖环境中 ARGs 进行调查研究, 发现 ARGs 在环境中可持久残留, 并可在菌群间迁移与传播, 表明 ARGs 对水产养殖业和人类健康存在潜在的生态风险^[6-9]. 然而, 国内关于环境中 ARGs 的研究还处于起步阶段^[10], 且主要集中在污水处理

厂和河流等环境介质中^[11-13], 缺乏对水产养殖区中 ARGs 的研究^[14,15]. 目前, 国内有关水产养殖区中 ARGs 污染的研究数据较为匮乏, 难以全面评估其环境生态效应^[14], 因此, 有必要加强对养殖区中 ARGs 的研究, 为评估水产养殖区环境中 ARGs 的生态风险提供科学依据.

收稿日期: 2013-01-30; 修订日期: 2013-03-15

基金项目: 中国科学院-国家外国专家局创新团队国际合作伙伴计划项目 (KZCX2-YW-T001); 中国科学院知识创新工程项目 (KZCX2-YW-Q07); 国家自然科学基金项目 (41076069, 40776086)

作者简介: 梁惜梅 (1985 ~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为海洋环境污染与生态保护, E-mail: willie3@163.com

本研究选取珠江口水产养殖区作为对象,使用普通 PCR 和荧光定量 PCR (qPCR) 方法对养殖区水和沉积物中的 3 种磺胺类、7 种四环素类、1 种喹诺酮类 ARGs 和 1 种整合子基因进行定性和定量分析,揭示 ARGs 在养殖环境中的污染现状与分布特征,并探讨了抗生素残留对 ARGs 总量的影响,以期为珠江口水产养殖区的生态环境安全评价提供科学依据,并为制定有效的 ARGs 环境污染控制方法提供理论基础。

1 材料与方法

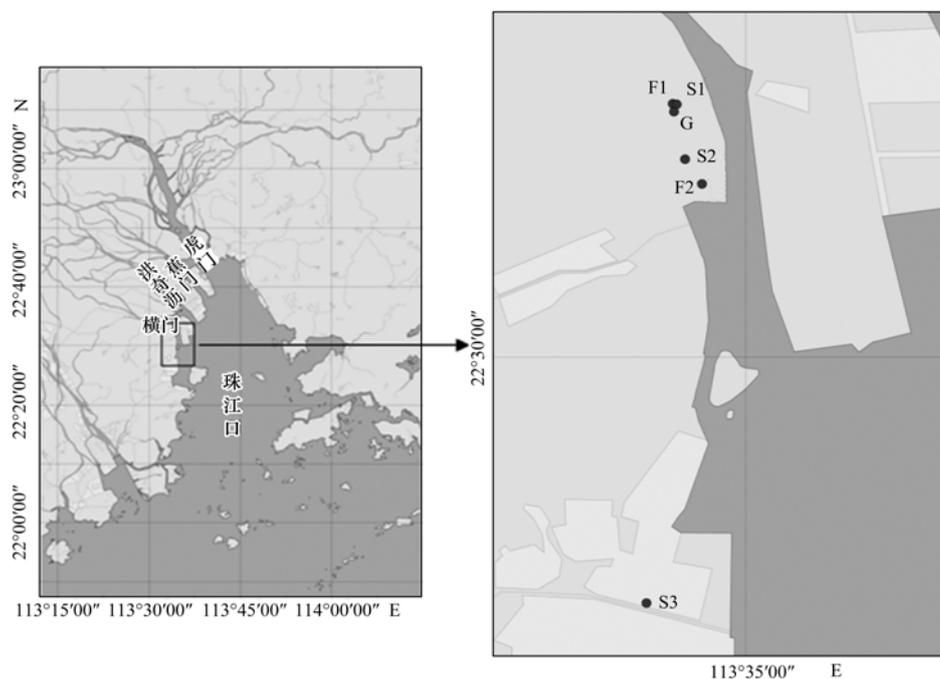
1.1 样品的采集及处理

2012 年 3 月,在珠江口西岸典型的咸淡水养殖区内,从 2 个四大家鱼养殖塘(F1 与 F2)、2 个南美白对虾养殖塘(S1 与 S2) 和一个南美白对虾与青蟹混养塘(S3)采集了表层水和沉积物样本(图 1)。其中,F1 和 F2 的养殖时间分别为 1 个月和 4 个月,养殖期间均未换水,水中盐度分别为 1.8‰和 2.3‰,投喂机投喂饲料,面积均约为 1.07 hm²,塘龄均约为 5 a; S1 和 S2 的养殖时间分别为 4 个月和 3 个月,其中,S1 已于 2012 年 1 月全部收获南美白对虾和排空养殖水体,并于 2012 年 2 月底注入三分之一的地下水(水深约 0.5 m),而 S2 在养殖过程中未换

水,水中盐度分别为 2.0‰和 2.1‰,人工投喂饲料,面积均约为 1.07 hm²,塘龄均约为 5 a; S3 为全年养殖,不定期换水,盐度为 8.7‰,人工投喂饲料和白蚬,面积约为 2.67 hm²,塘龄为 7 a。每个采样点均使用采水器在养殖塘的四角及中央采集表层(0.5 m)水样各 5 L,现场充分混匀后装于 5 L 样品瓶中;同时采集沉积物样品,充分混匀后取 200 g 左右装入样品袋中。此外,采集养殖区内离地面深度约为 25 m 的地下水样品作为空白对照(G),见图 1。采集后,所有样品随即放于 4℃ 冰盒中保存。当日,样品即被运回实验室,沉积物立即保存于 -20℃ 冰箱中。用于 DNA 提取的水样过 0.22 μm 聚碳酸酯滤膜(GTTP04700, Millipore, USA),并用冻存管收集滤膜于液氮中保存;用于抗生素检测的水样过 0.7 μm 玻璃纤维滤膜,并用样品瓶收集过滤水避光 4℃ 保存待分析。

1.2 DNA 的提取

水样和沉积物 DNA 分别用 E. Z. N. A.™ Water DNA Kit 和 E. Z. N. A.™ Soil DNA Kit (OMEGA, USA) 进行提取,操作步骤均参照试剂盒操作说明书。DNA 的完整性,纯度和浓度分别利用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳和 Thermo Nanodrop2000 微量分光光度计(Thermo Scientific, USA) 进行检测。



采样站点经纬度:F1:113°34'12.0"E/22°32'50.8"N; F2:113°34'31.3"E/22°31'56.6"N; S1:113°34'14.6"E/22°32'50.4"N;
S2:113°34'20.1"E/22°32'13.3"N; S3:113°33'54.6"E/22°27'13.7"N; G:113°34'13.6"E/22°32'47.8"N

图1 珠江口水产养殖区采样站位示意

Fig. 1 Map showing the sampling sites in aquaculture areas of the Pearl River Estuary

1.3 ARGs 的定性和定量分析

使用普通 PCR 和 qPCR 对水和沉积物样品中的 ARGs 进行定性定量分析. 引物的详细信息见表 1. 普通 PCR 的反应体系如下: 2.5 μL 10 \times buffer (Mg^{2+} Plus), 2 μL dNTPs ($2.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 上、下游引物 ($20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 各 0.4 μL , 0.2 μL *Taq* 酶 ($5 \text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) (TaKaRa Biotechnology, China), 1 μL DNA 模板 (约 20 ng), 18.5 μL ddH₂O, 总体积为 25 μL . 普通 PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, T_m 30 ~ 40 s (T_m 具体见表 1), 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min. 利用 3% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物的大小和特异性. 为了进一步确定目标基因的存在, 随机挑取目的基因的阳性片段 (至少两个) 用 Gel Extraction Kit (OMEGA, USA) 进行回收纯化, 并根据 PMD18-T vector 试剂盒操作说明书 (TaKaRa Biotechnology, China) 利用大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞进行克隆.

克隆成功后, 利用 Plasmid Mini Kit I Protocol (OMEGA, USA) 进行重组质粒的提取, 提取的质粒 Thermo Nanodrop2000 微量分光光度计检测其浓度, 随后进行序列测定 (上海生工生物技术有限公司). 利用 NCBI 网站的 BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) 进行序列的比对, 所得序列与 NCBI 上相对应目的基因的同源性很高, 匹配度均大于 98%.

使用 MJ Chromo4 (USA) 仪器进行 qPCR 定量分析. qPCR 反应体系如下: 10 μL SYBR[®] Premix Ex *Taq*[™] II (2 \times) (TaKaRa Biotechnology, China), 上、下游引物 ($20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 各 0.4 μL , 1 μL DNA 模板 (约 5 ng), 8.2 μL ddH₂O, 总体积为 20 μL . qPCR 反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 1 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, T_m 34 s (T_m 具体见表 1), 40 个循环. 反应结束后, 进行熔解曲线的测定以确定 PCR 产物的特异性, 反应程序为 65 ~ 95 $^{\circ}\text{C}$ 之间, 每 0.5 $^{\circ}\text{C}$ 读数, 其间停留 2 s. 采用

表 1 本实验所用的引物序列和 PCR 反应条件

Table 1 Sequences of primers and PCR reaction conditions used in the present study

基因	引物 ¹⁾	序列 (5'-3')	普通 PCR 退火条件	qPCR 退火条件	产物大小/bp	文献
<i>sul1</i>	<i>sul1</i> -F	CACCGGAAACATCGCTGCA	60 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	62 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	158	[12]
	<i>sul1</i> -R	AAGTTCCGCCGCAAGGCT				
<i>sul2</i>	<i>sul2</i> -F	CTCCGATGGAGGCCGGTAT	56 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	62 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	190	[12]
	<i>sul2</i> -R	GGGAATGCCATCTGCCTTGA				
<i>sul3</i>	<i>sul3</i> -F	TCCGTTACGCGAATTGGTGCAG	55 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	63 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	128	[16]
	<i>sul3</i> -R	TTCGTTACGCCCTTACACCAGC				
<i>tetA</i>	<i>tetA</i> -F	GCTACATCCTGCTTGCCTTC	57 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	64 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	210	[17]
	<i>tetA</i> -R	CATAGATCGCCGTA AGAGG				
<i>tetB</i>	<i>tetB</i> -F	CGAAGTAGGGTTGAGACGC	56 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	64 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	192	[12]
	<i>tetB</i> -R	AGACCAAGACCCGCTAATGAA				
<i>tetC</i>	<i>tetC</i> -F	TGCGTTGATGCAATTTCTATGC	64 $^{\circ}\text{C}$ /40 s	64 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	335	[17]
	<i>tetC</i> -R	GGAATGGTGCATGCAAGGAG				
<i>tetH</i>	<i>tetH</i> -F	CAACCCATTACGGTGTGCTA	58 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	63 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	164	[17]
	<i>tetH</i> -R	AAGTGTGGTTGAGAATGC CA				
<i>tetM</i>	<i>tetM</i> -F	GCAATTCTACTGATTTCTGC	60 $^{\circ}\text{C}$ /40 s	60 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	186	[17]
	<i>tetM</i> -R	CTGTTTGATTACAATTTCCGC				
<i>tetO</i>	<i>tetO</i> -F	GATGGCATAACAGGCACAGACC	56 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	62 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	172	[12]
	<i>tetO</i> -R	GCCCAACCTTTTGCTTCACTA				
<i>tetW</i>	<i>tetW</i> -F	GAGAGCCTGCTATATGCCAGC	54 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	62 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	168	[12]
	<i>tetW</i> -R	GGGCGTATCCACAATGTTAAC				
<i>qnrS</i>	<i>qnrS</i> -F	GTGAGTAATCGTATGTACTTTTGC	58 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	64 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	169	[18]
	<i>qnrS</i> -R	AAACACCTGACTTAAGTCT				
<i>int1</i>	<i>int1</i> -F	GGCTTCGTGATGCTGCTT	57 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	64 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	146	[12]
	<i>int1</i> -R	CATTCCTGGCCGTGCTTCT				
16S rRNA	16S-F	TCCTACGGGAGGCAGCAGT	60 $^{\circ}\text{C}$ /30 s	64 $^{\circ}\text{C}$ /34 s	466	[19]
	16S-R	GGACTACCAGGTATCTAATCCTGTT				

1) F 表示正向引物, R 表示反向引物

绝对定量法,在对应基因标准曲线扩增的同时,检测水和沉积物中目的基因的绝对含量. 荧光定量 PCR 阳性对照的标准曲线参照 Pei 等^[16]描述的方法进行制作. 以 10 倍浓度梯度稀释的质粒作为定量的标准品. qPCR 标准曲线的扩增效率在 90% ~ 115% 之间,相关系数 R^2 均大于 0.99. 为了客观真实地反映环境样品中 ARGs 的分布情况和污染水平,所有 ARGs 的定量结果均通过 16S rRNA 基因均一化处理^[20],即目的基因与 16S rRNA 基因绝对含量的比值表示 ARGs 的相对含量.

1.4 抗生素的检测方法

水样中 9 种抗生素(包括磺胺嘧啶、磺胺二甲噻啶、磺胺甲基异噁唑、诺氟沙星、氧氟沙星、恩诺沙星、四环素、红霉素和罗红霉素)的提取参考文献^[21,22]的方法进行. 取 1 L 已过滤水样加入 10 mL 50 g·L⁻¹ Na₂EDTA,用甲酸(5 mol·L⁻¹)调 pH 至 3.0,加入 100 ng 回收率指示物¹³C₃-咖啡因(美国剑桥同位素实验室),用 Oasis HLB 小柱进行固相萃取富集,用 6 mL 甲醇洗脱. 沉积物中抗生素的提取参照 Zhou 等^[23]的方法. 沉积物样品经冷冻干燥 24 h 后,研磨并过 60 目筛,准确称取 2 g 样品,加入 100 ng 回收率指示物¹³C₃-咖啡因,涡旋混匀 1 min,4℃ 避光放置过夜,分别加入 10 mL 乙腈和 0.2 mol·L⁻¹ 柠檬酸缓冲液(pH = 3),涡旋混匀 1 min,超声波提取 15 min,然后 1370 g·min⁻¹ 离心 10 min,上清液转移至圆底烧瓶中并 4℃ 避光保存,残留物重复提取 3 次并将上清液合并,上清液 55℃ 旋转蒸发至体积不变后,加入 0.2 g Na₂EDTA,并用超纯水定容至 200 mL,过 SAX-HLB 萃取系统,用 12 mL 甲醇洗脱. 洗脱液在室温下氮吹近干,以体积比为 60:40 的甲醇-水定容至 1 mL,经 0.22 μm 针头式过滤器过滤于进样瓶中待测.

抗生素的测定采用高效液相色谱/串联质谱检测系统(API 4000, Applied Biosystems, USA). 色谱柱为 ZORBAX C₁₈(2.1 × 150 mm; 5 μm); 流动相为乙腈(A)和 0.2% (体积比)甲酸溶液(B),柱温 25℃,流速 0.3 mL·min⁻¹; 进样量 5 μL. 梯度洗脱顺序:0 min,12% A; 2 min,50% A; 10 min,70% A; 10 min,12% A; 20 min,12% A. 质谱离子源为电喷雾电离(ES I+); 检测方式为多反应监测模式.

化合物采用外标法定量. 配制一系列浓度范围 0.1 ~ 1 000 ng·L⁻¹ 的混合标准溶液进行测定,得到质量浓度-峰面积标准工作曲线,相关系数均大于

0.992. 以养殖区水和沉积物为基质进行加标回收实验,加标水平分别为 50 ng·L⁻¹和 50 ng·g⁻¹ ($n = 4$). 养殖区水中抗生素的回收率在 73.05% ~ 110.48% 之间,沉积物中的回收率在 57.81% ~ 88.90% 之间. 水中抗生素的检出限为 1.58 ~ 10.15 ng·L⁻¹,沉积物的检出限为 0.38 ~ 3.12 ng·g⁻¹.

1.5 数据处理

数据分析用 SPSS 16.0 统计软件进行,采用线性回归进行相关性分析, $P < 0.05$ 表示显著相关.

2 结果与讨论

2.1 珠江口水产养殖区 ARGs 的水平与分布特征

珠江口水产养殖区 ARGs 的检出率和相对含量如表 2 所示. 在养殖区样品中,磺胺类 ARGs *sul1* 和 *sul2* 的检出率最高,为 100%,甚至在 25 m 深的地下水 G 中也检测到它们的存在,而 *sul3* 的检出率则较低,检出率仅为 27.3%; 喹诺酮类 ARGs *qnrS* 的检出率较高,为 81.8%; 四环素类 ARGs,除 *tetW* 未检出,其它 ARGs (*tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetH*、*tetM*、和 *tetO*) 均有检出,其检出率在 36.4% ~ 90.9% 之间. 这些四环素类 ARGs,在养猪场、其它水产养殖区、污水处理厂甚至河流中也常被检测到^[12,13,17,24,25],说明四环素类药物的广泛使用,导致各种环境中细菌对四环素类抗生素的抗性显著增加^[26]. 与其它 ARGs 比较(*sul3*、*tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetH*、*tetM*、*tetO* 和 *qnrS*),*sul1* 和 *sul2* 的检出率和含量水平均较高(表 2). Luo 等^[12]对海河的 ARGs 进行调查,也发现磺胺类 ARGs *sul1* 和 *sul2* 的检出率显著高于 *sul3* 和四环素类 ARGs. Gao 等^[14]关于天津水产养殖环境中 ARGs 的研究中,同样发现磺胺类 ARGs *sul1* 和 *sul2* 在沉积物中普遍存在,且检出率和水平均高于 *sul3*、*tetB*、*tetQ*、*tetT* 和 *tetW*. 本研究结果与这些研究一致,说明在海河和珠江区域中,*sul1* 和 *sul2* 的宿主菌对各种环境的耐受能力强,有利于这两种基因在环境中广泛扩散与传播.

珠江口水产养殖区水和沉积物中 ARGs (*tet* and *sul*) 的分布特征如图 2 所示. 在养鱼塘中,F2 水和沉积物中磺胺类和四环素类 ARGs 的含量水平均比 F1 的高(图 2),前者养殖期为 4 个月而后者仅为 1 个月(在此过程中均未换水). ARGs 的含量水平随着养殖时间的延长而提高,说明长的养殖时间更有利于养殖环境对 ARGs 宿主菌的选择,诱导 ARGs 在细菌间垂直或水平传播,结果导致 ARGs 在水产养殖环境中大量积累. 南美白对虾养殖塘 S1,已于

表 2 珠江口水产养殖区中 ARGs 的检出率和相对含量

Table 2 Detection frequency and relative abundances of ARGs in the water and sediments from aquaculture areas of the Pearl River Estuary

站点	<i>int1</i>	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>sul3</i>	<i>tetA</i>	<i>tetB</i>	<i>tetC</i>	<i>tetH</i>	<i>tetM</i>	<i>tetO</i>	<i>tetW</i>	<i>qnrS</i>
水	F1	7.45×10^{-3}	3.18×10^{-2}	9.68×10^{-3}	— ¹⁾	5.46×10^{-4}	4.68×10^{-5}	1.09×10^{-2}	2.37×10^{-5}	1.06×10^{-3}	—	1.18×10^{-4}
	F2	4.42×10^{-2}	3.97×10^{-2}	4.25×10^{-2}	6.52×10^{-4}	5.04×10^{-4}	2.70×10^{-5}	1.68×10^{-2}	8.47×10^{-6}	4.97×10^{-3}	6.99×10^{-5}	1.41×10^{-4}
	S1	4.82×10^{-2}	1.87×10^{-1}	1.44×10^{-1}	—	3.12×10^{-4}	2.05×10^{-5}	5.68×10^{-3}	1.35×10^{-5}	8.84×10^{-5}	5.90×10^{-6}	2.43×10^{-5}
	S2	4.47×10^{-2}	1.26×10^{-1}	1.86×10^{-2}	—	1.54×10^{-3}	—	4.26×10^{-3}	—	8.71×10^{-4}	6.08×10^{-5}	1.26×10^{-4}
	S3	3.71×10^{-3}	1.20×10^{-2}	2.18×10^{-3}	7.83×10^{-4}	1.61×10^{-3}	6.35×10^{-5}	4.71×10^{-4}	—	—	2.66×10^{-5}	1.74×10^{-4}
	G	5.58×10^{-4}	2.28×10^{-3}	1.47×10^{-4}	—	—	—	—	—	—	—	—
沉积物	F1	1.20×10^{-3}	1.85×10^{-2}	4.76×10^{-3}	—	—	3.09×10^{-4}	1.85×10^{-3}	—	1.07×10^{-4}	—	9.95×10^{-6}
	F2	3.96×10^{-3}	2.36×10^{-2}	1.28×10^{-2}	—	—	9.69×10^{-4}	2.20×10^{-3}	—	2.84×10^{-4}	3.60×10^{-5}	1.95×10^{-5}
	S1	3.21×10^{-3}	1.45×10^{-2}	3.64×10^{-2}	—	—	5.98×10^{-4}	7.74×10^{-4}	—	—	6.20×10^{-5}	—
	S2	2.54×10^{-3}	1.86×10^{-2}	9.24×10^{-3}	—	—	1.60×10^{-3}	1.20×10^{-3}	3.18×10^{-5}	—	3.57×10^{-5}	1.10×10^{-4}
	S3	1.45×10^{-3}	3.09×10^{-2}	7.61×10^{-3}	4.46×10^{-3}	—	1.47×10^{-3}	2.28×10^{-4}	—	—	3.74×10^{-5}	6.30×10^{-4}
检出率/%	100	100	100	27.3	45.5	81.8	90.9	36.4	54.5	72.7	0	81.8

1) “—”表示未检出

2012 年 1 月收获南美白对虾(养殖期为 4 个月),并排空养殖水体,于 2012 年 2 月底再注入三分之一的地下水(水深约 0.5 m),但在其水和沉积物中仍检测出较高含量的磺胺类 ARGs,甚至比 S2(养殖期为 3 个月)中磺胺类 ARGs 的水平高,说明短期停止养殖活动,不能有效地消除 ARGs. 在南美白对虾养殖塘中,四环素类 ARGs 的分布特征与磺胺类 ARGs 略有差异,S2 中的含量水平比 S1 的高,说明清空养殖水体在一定程度上会降低养殖环境中四环素类 ARGs 的水平,同时也说明不同类型的 ARGs 在相同的环境条件下存在着不同的环境行为^[12]. S1 水中检测到 *sul1*、*sul2*、*tetB*、*tetC*、*tetM* 和 *tetO*,而其地下水源 G 中仅检测到低水平的 *sul1* 和 *sul2* (表 2 和图 2),说明 S1 水中的 ARGs 主要来源于塘底的沉积物. 在停止养殖活动后,沉积物是水中 ARGs 潜在

的主要污染源^[12,14]. 在所有的养殖塘中,S3 水中 ARGs 的含量水平较低,而沉积物中 ARGs 的含量水平与其他养殖塘相当(图 2),这可能与该塘的养殖模式有关. S3 为南美白对虾与青蟹混养塘,由于青蟹对水质的要求较高,S3 塘的换水频率较高,显著降低水中 ARGs 的水平,但是对沉积物中 ARGs 的水平影响不大. 因此,养殖模式可能是影响水样中抗性基因水平的重要因素之一.

2.2 珠江口水产养殖区中 *int1* 基因与 ARGs 的相关性分析

整合子是一种基因重组表达系统,在整合酶的作用下,整合子能捕获、整合及表达抗性基因^[27]. 整合子可以随着质粒、转座子在不同的菌株间转移,导致 ARGs 在微生物之间传播和扩散^[28, 29]. 根据整合酶的种类,整合子主要分为 I、II 和 III 类整合子. 其中近

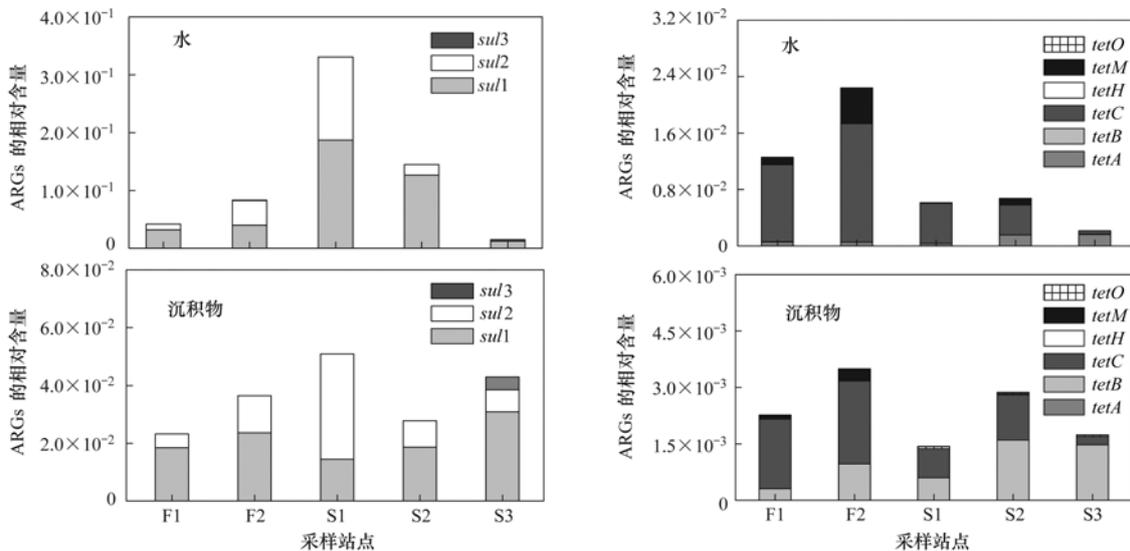


图 2 珠江口水产养殖区中 ARGs 的分布特征

Fig. 2 Distribution of ARGs (*tet* and *sul*) in the water and sediments in aquaculture of the Pearl River Estuary

年来研究最多的是I类整合子,它通常有两个保守区段,其保守区段包括编码I型整合酶的 *int1* 基因^[27]. 本研究中,珠江口水产养殖区中 *int1* 的检出率为100%,甚至在地下水G中也发现 *int1* 基因(表2), *int1* 的存在可能导致 ARGs 的捕获和整合,并在微生物之间转移,导致微生物产生耐药性和(或)多重耐药性,严重降低抗生素的疗效^[30]. Luo 等^[12] 研究发现在海河沉积物中I类整合子(*int1*)与 *sul1* 的相对含量之间存在显著相关性,并证实 *int1* 介导了 *sul1* 在环境中的水平传播. 王寰等^[31] 研究也发现 I 类整合子与

铜绿假单胞菌(PA)耐药性的形成和耐药基因的传播密切相关. 为评估珠江口水产养殖区 ARGs 在微生物菌群之间传播的风险,本研究也对 *int1* 和不同 ARGs 的相对含量之间进行相关性分析(图3),发现 *int1* 与 *sul1* 和总 ARGs 之间均存在显著相关性($P < 0.05$),说明 *int1* 可能在珠江口水产养殖区 ARGs 的水平传播中起着非常重要的作用. 此外,研究表明河流和污水处理厂等环境样品中均检测到 *int1* 基因^[13,15], *int1* 在这些环境中也是介导 ARGs 水平传播的重要因素之一.

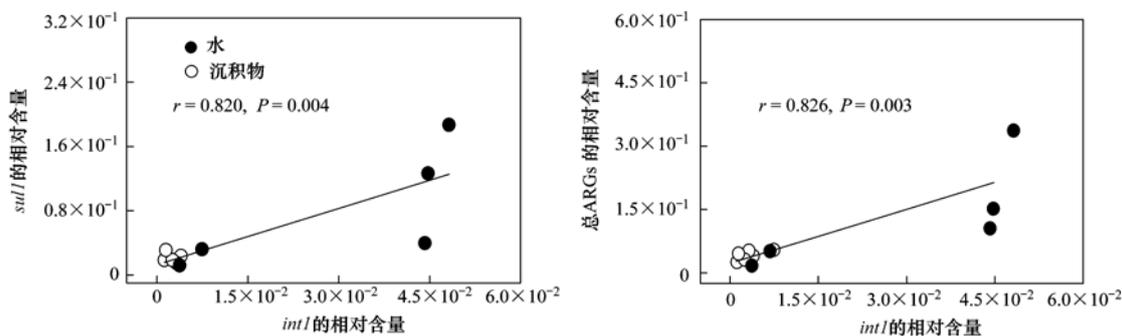


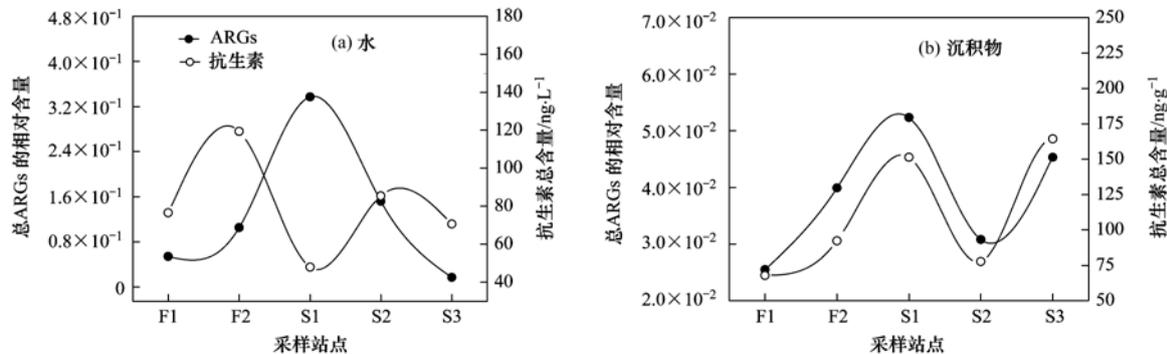
图3 *int1* 与 ARGs 相对含量之间的相关性分析

Fig. 3 Analysis of relationships between the relative abundances of *int1* and ARGs

2.3 珠江口水产养殖区中抗生素残留与 ARGs 含量水平的关系

研究表明,由于抗生素在水产养殖区内的大量使用,使得耐药细菌在养殖区内的数量远远高于周边环境,说明抗生素的使用是提高细菌耐药性的重要原因之一^[32]. 本研究发现,珠江口水产养殖区沉积物样品中抗生素总浓度与 ARGs 总含量显著相关($P < 0.05$) (图4),说明珠江口水产养殖区抗生素的残留是 ARGs 含量提高的重要因素. 抗生素进入水环境后,相当量的抗生素会吸附在沉积物上,尽管

吸附过程会降低抗生素对水的生态效应,但明显提高了沉积物中抗生素的环境选择压力,使得沉积物中的 ARGs 稳定存在^[13,33]. 与沉积物相比,养殖水体中的 ARGs 和抗生素更容易受养殖活动和养殖模式的影响(如养殖塘内水的更换频率),从而导致水中 ARGs 含量和抗生素浓度发生变化. 因此,水中抗生素浓度与 ARGs 的相关性较弱($P > 0.05$) (图4). 图4显示,水中抗生素总浓度与 ARGs 总含量之间变化趋势的差异主要是由 S1 塘中的差异引起的. S1 塘在清空养殖水后注入三分



抗生素包括:磺胺类、喹诺酮类和四环素类抗生素; ARGs 包括:磺胺类、喹诺酮类和四环素类 ARGs

图4 珠江口水产养殖区样品中抗生素总浓度与 ARGs 总含量之间的相关性分析

Fig. 4 Relationships of ARGs and the total concentration of antibiotics in the water and sediments in the aquaculture environment of the Pearl River Estuary

之一的地下水,与其他养殖塘比较,由于新的养殖活动还未开始,S1 水中的抗生素含量很低。但是由于前面长期的养殖活动,S1 塘沉积物中含有很高水平的 ARGs,抗性基因从沉积物迁移到水中,从而导致水中抗性基因的水平并没有显著的降低。Tamminen 等^[17]研究发现,即使在不存在抗生素选择压力的水产养殖区中,四环素抗性基因也能长期持久性地存在。Kim 等^[3]研究发现,在水产养殖区的鱼体内和水中均检测到 ARGs,表明抗生素在水产养殖业的大量使用可能会使水产养殖区成为 ARGs 的重要污染源。

3 结论

(1) ARGs 在珠江口水产养殖区中普遍存在。在相同养殖模式的池塘中养殖时间越长 ARGs 的相对含量越高;而在不同养殖模式的池塘中 ARGs 的含量存在一定的差异,表明养殖模式和养殖时间可能影响 ARGs 的含量与分布。

(2) *int1* 含量与 *sul1*、总 ARGs 含量之间均存在显著相关性,*int1* 在珠江口水产养殖区 ARGs 的水平传播中起着非常重要的作用。

(3) 抗生素与抗性基因相关性分析表明,在珠江口水产养殖区中抗生素污染是诱导 ARGs 的重要因素。

参考文献:

- [1] Cromwell G L. Why and how antibiotics are used in swine production [J]. *Animal Biotechnology*, 2002, **13**(1): 7-27.
- [2] Gaskins H R, Collier C T, Anderson D B. Antibiotics as growth promotants; mode of action [J]. *Animal Biotechnology*, 2002, **13**(1): 29-42.
- [3] Kim S R, Nonaka L, Suzuki S. Occurrence of tetracycline resistance genes *tet*(M) and *tet*(S) in bacteria from marine aquaculture sites [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, **237**(1): 147-156.
- [4] Chee-Sanford J C, Mackie R I, Koike S, *et al.* Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2009, **38**(3): 1086-1108.
- [5] He X T, Wang Z H, Nie X P, *et al.* Residues of fluoroquinolones in marine aquaculture environment of the Pearl River Delta, South China [J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2012, **34**(3): 323-335.
- [6] Schmidt A S, Bruun M S, Dalsgaard I, *et al.* Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(12): 5675-5682.
- [7] Akinbowale O L, Peng H, Barton M D. Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from aquaculture sources in Australia [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, **103**(5): 2016-2025.
- [8] Jacobs L, Chenia H Y. Characterization of integrons and tetracycline resistance determinants in *Aeromonas* spp. isolated from South African aquaculture systems [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, **114**(3): 295-306.
- [9] Guglielmetti E, Korhonen J M, Heikkinen J, *et al.* Transfer of plasmid-mediated resistance to tetracycline in pathogenic bacteria from fish and aquaculture environments [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2009, **293**(1): 28-34.
- [10] 罗义,周启星. 抗生素抗性基因(ARGs) ——一种新型环境污染物[J]. *环境科学学报*, 2008, **28**(8): 1499-1505.
- [11] 邹世春,朱春敬,贺竹梅,等. 北江河水中抗生素抗性基因污染初步研究[J]. *生态毒理学报*, 2009, **4**(5): 655-660.
- [12] 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.
- [13] 何基兵,胡安谊,陈猛,等. 九龙江河口及厦门污水处理设施抗生素抗性基因污染分析[J]. *微生物学通报*, 2012, **39**(5): 683-695.
- [14] Gao P P, Mao D Q, Luo Y, *et al.* Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment [J]. *Water Research*, 2012, **46**(7): 2355-2364.
- [15] Su H C, Ying G G, Tao R, *et al.* Occurrence of antibiotic resistance and characterization of resistance genes and integrons in *Enterobacteriaceae* isolated from integrated fish farms in South China [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2012, **13**(11): 3229-3236.
- [16] 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.
- [17] Tamminen M, Karkman A, Lohmus A, *et al.* Tetracycline resistance genes persist at aquaculture farms in the absence of selection pressure [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45**(2): 386-391.
- [18] Guillard T, Moret H, Brasme L, *et al.* Rapid detection of *qnr* and *qepA* plasmid-mediated quinolone resistance genes using real-time PCR [J]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2011, **70**(2): 253-259.
- [19] Nadkarni M A, Martin F E, Jacques N A, *et al.* Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set [J]. *Microbiology*, 2002, **148**(1): 257-266.
- [20] Graham D W, Olivares-Rieumont S, Knapp C W, *et al.* Antibiotic resistance gene abundances associated with waste discharges to the Almendares River near Havana, Cuba [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45**(2): 418-424.
- [21] Gulkowska A, He Y H, So M K, *et al.* The occurrence of selected antibiotics in Hong Kong coastal waters [J]. *Marine*

- Pollution Bulletin, 2007, **54**(8): 1287-1293.
- [22] Xu W H, Zhang G, Zou S C, *et al.* Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Environmental Pollution, 2007, **145**(3): 672-679.
- [23] 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 Liaohe River in northern China [J]. Environmental Pollution, 2011, **159**(7): 1877-1885.
- [24] Storteboom H, Arabi M, Davis J G, *et al.* Identification of antibiotic-resistance-gene molecular signatures suitable as tracers of pristine river, urban, and agricultural sources [J]. Environmental Science & Technology, 2010, **44**(6): 1947-1953.
- [25] Tao R, Ying G G, Su H C, *et al.* Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in *Enterobacteriaceae* isolated from the Pearl rivers in South China [J]. Environmental Pollution, 2010, **158**(6): 2101-2109.
- [26] 高盼盼, 罗义, 周启星, 等. 水产养殖环境中抗生素抗性基因(ARGs)的研究及进展[J]. 生态毒理学报, 2009, **4**(6): 770-779.
- [27] Hall R M, Collis C M. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination [J]. Molecular Microbiology, 1995, **15**(4): 593-600.
- [28] Di Conza J A, Gutkind G O. Integrones; los coleccionistas de genes [J]. Revista Argentina de Microbiologia, 2010, **42**(1): 63-78.
- [29] Partridge S R, Tsafnat G, Coiera E, *et al.* Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2009, **33**(4): 757-784.
- [30] Hall R M. Mobile gene cassettes and integrons; moving antibiotic resistance genes in gram-negative bacteria [J]. Ciba Foundation Symposium, 1997, **207**: 192-202; discussion 202-205.
- [31] 王寰, 范晓磊, 王海涟. I类整合子介导的铜绿假单胞菌耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, **32**(12): 1304-1305, 1307.
- [32] Kerry J, Coyne R, Gilroy D, *et al.* Spatial distribution of oxytetracycline and elevated frequencies of oxytetracycline resistance in sediments beneath a marine salmon farm following oxytetracycline therapy[J]. Aquaculture, 1996, **145**(1-4): 31-39.
- [33] Luo Y, Xu L, Rysz M, *et al.* Occurrence and transport of tetracycline, sulfonamide, quinolone, and macrolide antibiotics in the Haihe River Basin, China [J]. Environmental Science & Technology, 2011, **45**(5): 1827-1833.

CONTENTS

Stable Carbon Isotopic Composition in PM _{2.5} in Nanjing Region	WU Meng-long, GUO Zhao-bing, LIU Feng-ling, <i>et al.</i> (3727)
Distribution and Source Apportionment of <i>n</i> -Alkanes in Atmospheric Particle in Taiyuan, China	HU Dong-mei, PENG Lin, BAI Hui-ling, <i>et al.</i> (3733)
Study on Influence of Traffic and Meteorological Factors on Inhalable Particle Matters of Different Size	LUO Na-na, ZHAO Wen-ji, YAN Xing, <i>et al.</i> (3741)
Particle Emission Characteristics of Diesel Bus Fueled with Bio-diesel	LOU Di-ming, CHEN Feng, HU Zhi-yuan, <i>et al.</i> (3749)
Characteristics of δ ¹⁸ O in Precipitation and Water Vapor Sources in Lanzhou City and Its Surrounding Area	CHEN Fen-li, ZHANG Ming-jun, MA Qian, <i>et al.</i> (3755)
Characteristics and Sources of Soluble Ions in Aerosols from Glacier No. 1 at the Headwater of Urumqi River, Tianshan Mountains, China	YUE Xiao-ying, LI Zhong-qin, ZHANG Ming-jun, <i>et al.</i> (3764)
Mechanism and Performance of Styrene Oxidation by O ₃ /H ₂ O ₂	HE Jue-cong, HUANG Qian-ru, YE Qi-hong, <i>et al.</i> (3772)
Sulfur Isotopic Signatures in Leaves of <i>Pinus massoniana</i> Lamb. and Source Apportionment	GUAN Hui, XIAO Hua-yun, ZHU Ren-guo, <i>et al.</i> (3777)
Comparisons of Sulfur Contents and Isotopes Between Mosses and Surface Soils in Jiangxi Province	LI Nan, XIAO Hua-yun, CHEN Yong-zhong, <i>et al.</i> (3782)
Research on Spatial Characteristic of Non-point Source Pollution in Liaohe River Basin	WANG Xue-lei, CAI Ming-yong, ZHONG Bu-qing, <i>et al.</i> (3788)
Spatial and Temporal Variations of Hydrological Characteristic on the Landscape Zone Scale in Alpine Cold Region	YANG Yong-gang, HU Jin-fei, XIAO Hong-lang, <i>et al.</i> (3797)
Distribution of Matrix-Bound Phosphine in Surface Sediments of Jinpu Bay	YOU Li-li, ZONG Hai-bo, ZHANG Shu-fang, <i>et al.</i> (3804)
Effects of Drying-Rewetting Alternation on Urease Activity in Chongming East Intertidal Flat; Results of a Simulation Study	HAN Jian-gang, CAO Xue (3810)
Characterization of Microbial Activities in Marine Mudflat Sediment Using FDA Hydrolase Analysis	LIU Ye, ZOU Li, LIU Lu, <i>et al.</i> (3818)
Analysis of Ecological Risk and the Content Situation of Polybrominated Diphenyl Ethers in Sediments from Northeast China River Basin	NIE Hai-feng, CHENG Hang-xin, ZHAO Chuan-dong, <i>et al.</i> (3825)
Residues and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Surface Sediments and Marine Organisms from Dapeng Bay, Shenzhen	SUN Run-xia, KE Chang-liang, GU Yang-guang, <i>et al.</i> (3832)
Source Apportionment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Two Mathematical Models for Runoff of the Shanghai Elevated Inner Highway, China	BIAN Lu, LI Tian, HOU Juan (3840)
Biomagnification of Heavy Metals in the Aquatic Food Chain in Daning River of the Three Gorges Reservoir During Initial Impoundment	YU Yang, WANG Yu-chun, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (3847)
Temporal and Spatial Distribution of Environmental Factors and Chlorophyll-a and Their Correlation Analysis in a Small Enclosed Lake	LI Fei-peng, ZHANG Hai-ping, CHEN Ling (3854)
Experiment and Model Simulation of Self-Purification Capacity of Nitrogen and Phosphorus in Lake Taihu	HAN Tao, ZHAI Shu-hua, HU Wei-ping, <i>et al.</i> (3862)
Simulation Research on the Release of Internal Nutrients Affected by Different Dredging Methods in Lake	CHEN Chao, ZHONG Ji-cheng, FAN Cheng-xin, <i>et al.</i> (3872)
Research of Urban Eutrophic Water Repair by Water/Sediment Biological Bases	ZHOU Hui-hua, SONG Xiao-guang, WU Ge, <i>et al.</i> (3879)
Effects of Regulatory Agent on the Heavy Metal Stability in Tidal Sediments	OU Feng-zhuang, SUN Guo-ping, XU Mei-ying (3888)
Impact of Regional Water Chemistry on the Phosphorus Isothermal Adsorption of the Sediments in Three Subsidence Waters of the Huainan Mine Areas	YI Qi-tao, SUN Peng-fei, XIE Kai, <i>et al.</i> (3894)
Adsorption Characteristics of f2 Bacteriophages by Four Substrates in Constructed Wetland	CHEN Di, ZHENG Xiang, WEI Yuan-song, <i>et al.</i> (3904)
Adsorption Characteristics of the Antibiotic Sulfanilamide onto Rice Husk Ash	Ji Ying-xue, WANG Feng-he, ZHANG Fan, <i>et al.</i> (3912)
Study on the Stability Variation Mechanism of Humic Acid Water Solution After Radiated by the UV Light	WANG Wen-dong, ZHOU Li-chuan, DING Zhen-zhen, <i>et al.</i> (3921)
Comparison of As Removal Performance by Graphene/Iron-Based Material	Chaomuerlege, FENG Liu, HUO Yan-xia (3927)
Studies on the Dispersion and Deposition Behavior of Nano-TiO ₂ in Aquatic System	CHEN Jun-yuan, FANG Jin-feng, WEI Xiu-zhen (3933)
Effect of the Interaction of Microorganisms and Iron Oxides on Arsenic Releasing into Groundwater in Chinese Loess	XIE Yun-yun, CHEN Tian-hu, ZHOU Yue-fei, <i>et al.</i> (3940)
Surface Modification of Polyvinylidene Fluoride (PVDF) Membrane by Using the Zwitterionic Substance	ZHOU Gui-hua, XIAO Feng, XIAO Ping, <i>et al.</i> (3945)
Estimate the Abatement Rate of Septic Tank Sewage Outfall Soil on Nitrogen Pollutants of Typical Farmer Household Sewage	ZHOU Feng, WANG Wen-lin, WANG Guo-xiang, <i>et al.</i> (3954)
Wastewater Pollution Characteristics from Typical Intensive Pig Farms in the Pearl River Delta and Its Ecological Risk Assessment	LI Wen-ying, PENG Zhi-ping, YU Jun-hong, <i>et al.</i> (3963)
Effects of Sludge Compost Used as Lawn Medium on Lawn Growth and Soil and Water Environment	JIN Shu-quan, ZHOU Jin-bo, CHEN Ruo-xia, <i>et al.</i> (3969)
Influencing Factors of Floc Size Distribution and Fractal Dimension of Activated Sludge	LI Zhen-liang, ZHANG Dai-jun, LU Pei-li, <i>et al.</i> (3975)
Influence of Different Recovery Methods on the Activity of Nitrification Granular Sludge	GUO Xiu-li, GAO Da-wen, LU Jian-cong (3981)
Study on Hydrogen Autotrophic Denitrification of Bio-ceramic Reactor	CHEN Dan, WANG Hong-yu, SONG Min, <i>et al.</i> (3986)
Studies on Spatial Heterogeneity of Soil Respiration in a Subalpine Meadow	YAN Jun-xia, LI Jun-jian, LI Hong-jian, <i>et al.</i> (3992)
Modeling of CO ₂ Fluxes at Cropland by Using SIB3 Model	ZHANG Geng-jun, LU Li-xin, JIANG Ling-mei, <i>et al.</i> (4000)
Effects of the Different Land Use on Soil Labile Organic Matter and Carbon Management Index in Junyun Mountain	XU Peng, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju, <i>et al.</i> (4009)
Heavy Metal Content in Street Dust and Environmental Risk Assessment of Agricultural City: A Case Study of Xuchang City	YAN Hui, CHEN Jie, XIAO Jun (4017)
Polybrominated Diphenyl Ethers and Polychlorinated Biphenyls in Road Dust from Suzhou, Wuxi and Nantong	SHI Shuang-xin, DONG Liang, LI Ling-ling, <i>et al.</i> (4024)
Vertical Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Abandoned Vehicles Dismantling Area Soil	WU Yan-yu, HU Xiao-ying, HONG Hong-jia, <i>et al.</i> (4031)
Stabilization and Long-term Effect of Chromium Contaminated Soil	WANG Jing, LUO Qi-shi, ZHANG Chang-bo, <i>et al.</i> (4036)
Leaching Characteristics of Sulfadiazine and Sulfamethoxazole in Soil Column	LI Man, CHEN Wei-ping, WEI Fu-xiang, <i>et al.</i> (4042)
Transport Behaviors of Metal Oxide Nanomaterials in Various Soils	FANG Jing, YU Bo-yang (4050)
Fractal Characteristics of Capillary Finger Flow for NAPLs Infiltrated in Porous Media	LI Hui-ying, DU Xiao-ming, YANG Bin, <i>et al.</i> (4058)
Allelopathic Potential of <i>Phyllostachys edulis</i> on Two Dominant Tree Species of Evergreen Broad-leaved Forest in Its Invasive Process	BAI Shang-bin, ZHOU Guo-mo, WANG Yi-xiang, <i>et al.</i> (4066)
Preliminary Studies on the Occurrence of Antibiotic Resistance Genes in Typical Aquaculture Area of the Pearl River Estuary	LIANG Xi-mei, NIE Xiang-ping, SHI Zhen (4073)
Concentrations and Safety Evaluation of Heavy Metals in Aquatic Products of Yancheng, Jiangsu Province	LIU Yang, FU Qiang, GAO Jun, <i>et al.</i> (4081)
Effects of Cu ²⁺ Stress on DNA Polymorphism of Genome in Foxtail Millet of Different Genotypes	ZHANG Yi-xian, FU Ya-ping, XIAO Zhi-hua, <i>et al.</i> (4090)
Research on Soil Bacteria Under the Impact of Sealed CO ₂ Leakage by High-throughput Sequencing Technology	TIAN Di, MA Xin, LI Yu-e, <i>et al.</i> (4096)
Microeukaryotic Biodiversity in the Waste Ore Samples Surrounding an Acid Mine Drainage Lake	LI Si-yuan, HAO Chun-bo, WANG Li-hua, <i>et al.</i> (4105)
Characteristics and Functional Protein Analysis of an Effective Decabromodiphenyl Ether-Degrading Strain	CHANG Jing-jing, YIN Hua, QIN Hua-ming, <i>et al.</i> (4112)
Effect of Selenium on the Uptake and Translocation of Manganese, Iron, Phosphorus and Selenium in Rice (<i>Oryza sativa</i> L.)	HU Ying, HUANG Yi-zong, HUANG Yan-chao, <i>et al.</i> (4119)
Effect of Exogenous Iron on Accumulation and Chemical Forms of Cadmium, and Physiological Characterization in Different Varieties of Tomato	LIU Jun, ZHOU Kun, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (4126)
Analysis of Control Policy for Persistent Toxic Substances from Electronic Wastes in China	LI Li, LÜ Yong-long, WANG Tie-yu (4132)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2013年10月15日 34卷 第10期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 10 Oct. 15, 2013

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行