

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第8期

Vol.33 No.8

2012

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

南海北部大气气相多溴联苯醚的含量及来源	李琦路, 李军, 刘向, 徐维海, 张干 (2533)
河北张家口市大气污染观测研究	邵平, 王莉莉, 安俊琳, 周彦丽, 王跃思 (2538)
大气中丙烷光氧化臭氧生成活性的烟雾箱模拟	黄丽华, 莫创荣, 徐永福, 贾龙 (2551)
膜生物反应器处理甲苯性能及机制	叶杞宏, 魏在山, 肖盼, 李华琴, 张再利, 樊青娟 (2558)
厨余垃圾堆肥过程中恶臭物质分析	张红玉, 邹克华, 杨金兵, 李国学, 杨青原, 张锋 (2563)
北京城市生态系统地表水硝酸盐污染空间变化及其来源研究	徐志伟, 张心昱, 任玉芬, 孙晓敏, 王效科, 王升忠 (2569)
枯、平、丰水期长江3条支流表层水中多氯联苯的分布特征及风险评价	李昆, 赵高峰, 周怀东, 曾敏, 廖柏寒, 吴正勇, 张盼伟, 柳敏 (2574)
三峡库区丰水期表层水中酚类的分布特征及潜在风险	吴正勇, 赵高峰, 周怀东, 李科林, 李昆, 张盼伟 (2580)
东湖表层水体中全氟辛酸和全氟辛磺酸空间分布特征	陈静, 王琳玲, 朱湖地, 王贝贝, 刘黄诚, 曹梦华, 苗竹, 胡丽, 陆晓华, 刘光虹 (2586)
三峡库区大宁河与磨刀溪重金属污染特征	安立会, 张艳强, 郑丙辉, 刘玥, 宋双双, 李子成, 陈浩, 赵兴茹, 林进 (2592)
长江水系表层沉积物重金属污染特征及生态风险性评价	王岚, 王亚平, 许春雪, 安子怡 (2599)
江苏如东滩涂贝类养殖区表层沉积物中重金属来源分析及其潜在生物毒性	李磊, 王云龙, 蒋玫, 袁璐, 沈新强 (2607)
扰动强度对太湖沉积物中磷释放及其形态转化的影响	李大鹏, 黄勇 (2614)
干流倒灌异重流对香溪河库湾营养盐的补给作用	张宇, 刘德富, 纪道斌, 杨正健, 陈媛媛 (2621)
常年淹水和干旱对三峡库区消落带菖蒲生长恢复的影响	李强, 高祥, 丁武泉, 朱启红, 欧媛, 刘瑜 (2628)
温州城市降雨径流磷的负荷及其初始冲刷效应	周栋, 陈振楼, 毕春娟 (2634)
沂蒙山区典型小流域降雨径流的磷素输出特征	于兴修, 李振炜, 刘前进, 井光花 (2644)
城郊农业区小流域土地利用结构对氮素输出的影响	杨峰, 王鹏举, 杨珊珊, 吴金水, 胡荣桂 (2652)
基于 AnnAGNPS 模型四岭水库小流域氮磷流失特征的模拟研究	边金云, 王飞儿, 杨佳, 俞洁, 楼莉萍, 俞丹萍 (2659)
基于 GIS 和 L-THIA 模型的深圳市观澜河流域非点源污染负荷变化分析	白凤姣, 李天宏 (2667)
黄土丘陵区坡面水蚀对降雨和下垫面微观格局的响应	卫伟, 贾福岩, 陈利顶, 吴东平, 陈瑾 (2674)
强化混凝对腐殖酸和富里酸去除对比研究	周玲玲, 张永吉, 叶河秀, 张一清 (2680)
九龙江下游水源水中新发病原微生物和抗生素抗性基因的定量 PCR 检测	王青, 林惠荣, 张舒婷, 于鑫 (2685)
布吉河丰水期总细菌和氨氧化细菌的定性和定量研究	孙海美, 白姣姣, 孙卫玲, 邵军 (2691)
曝气生物滤池工艺脱氮性能及反硝化细菌群落结构特征研究	彭晓兰, 刘聪, 陈吕军 (2701)
城市污水处理厂氧化沟工艺微生物种群分析	郭云, 杨殿海, 卢文健 (2709)
IC 反应器处理啤酒废水的效能及其微生物群落动态分析	朱文秀, 黄振兴, 任洪艳, 阮文权 (2715)
原子力显微镜液池成像技术应用于微絮凝过滤工艺过程中的实验条件优化	郑蓓, 葛小鹏, 于志勇, 原盛广, 张文婧, 孙景芳 (2723)
UV/H ₂ O ₂ 法对印染废水生化出水中不同种类有机物的去除效果	李新, 刘勇弟, 孙贤波, 徐宏勇, 钱飞跃, 李欣珏, 李暮 (2728)
蛋白核小球藻 <i>Chlorella pyrenoidosa</i> -15 的异养培养条件优化及污水养殖	王秀锦, 李兆胜, 邢冠岚, 李卓凝, 袁红莉, 杨金水 (2735)
“Fe ⁰ /优势脱氯菌”体系降解 2,4,6-TCP 特性及机制研究	戴友芝, 郭丽丽, 史雷, 刘智勇, 高宝钗 (2741)
树脂 D201 上粗漆酶的固定化及对孔雀石绿的脱色	戚绪亮, 刘翔, 刘波, 王林, 王小春, 方超 (2747)
TiO ₂ /PS/Fe ₃ O ₄ 光催化剂的低温制备及其光催化和磁回收性能	王雪姣, 任学昌, 念娟妮, 肖举强, 王刚, 常青 (2752)
微波加热下苯的催化氧化性能研究	张钰彩, 卜龙利, 王晓晖, 刘海楠, 张浩 (2759)
纳米磁粉协同解偶联剂作用下活性污泥性能的研究	高丽英, 汤兵, 梁玲燕, 黄绍松, 付丰连, 罗建中 (2766)
好氧颗粒污泥沉降选择实验研究与定量描述	苏德足, 邓绣坤, 郑丽, 王畅, 金旺江, 沈俊 (2773)
超声波促进好氧/缺氧污泥消化过程中水解酶活性变化研究	叶运弟, 孙水裕, 郑莉, 刘宝建, 许燕滨, 占星星, 刘敬勇 (2780)
微生物营养剂浓度对生物沥浸法促进城市污泥脱水性能的影响	宋永伟, 刘奋武, 周立祥 (2786)
实验室条件下蓝藻结皮对低温光照胁迫的响应与微结构变化	饶本强, 李华, 熊瑛, 兰书斌, 李敦海, 刘永定 (2793)
西南地区紫色水稻土活性碳库的季节动态	吴艳, 江长胜, 郝庆菊 (2804)
典型设施菜地土壤抗生素污染特征与积累规律研究	尹春艳, 骆永明, 滕应, 章海波, 陈永山, 赵永刚 (2810)
土壤铜硒复合污染中金属形态转化及其对生物有效性的影响	胡斌, 梁东丽, 赵文龙, 缪树寅 (2817)
土壤微生物群落对多环芳烃污染土壤生物修复过程的响应	张晶, 林先贵, 刘魏魏, 尹睿 (2825)
可可毛色二孢菌对焦化厂土壤多环芳烃污染修复	张志远, 王翠苹, 刘海滨, 孙红文 (2832)
广西茶山梯矿尾砂中微量元素的淋滤实验研究	蔡永兵, 李玲, 魏晓飞, 张国平, 李海霞, 付志平 (2840)
北京市近郊区土壤砷累积特征	戚洁, 王美娥, 汪自强, 欧阳志云 (2849)
抗氧化酶基因作为多环麝香污染分子标志物研究	陈春, 周启星, 刘满威 (2855)
臭氧污染对不同品种小麦干物质与生物量碳积累与分配的影响	寇太记, 于伟伟, 朱建国, 朱新开 (2862)
尿素分解共沉淀法中反应时间对 ZnAl 类水滑石结构和磷吸附性能的影响	陆英, 程翔, 邢波, 孙中恩, 孙德智 (2868)
铅和铜离子在纳米羟基磷灰石上的竞争吸附动力学研究	胡田田, 仓龙, 王玉军, 司友斌, 周东美 (2875)
pH 和 Ni ²⁺ 对人工纳米氧化硅吸附菲的影响	罗沛, 孙红文, 张鹏 (2882)
铈在凹凸棒石上的吸附特性与机制研究	刘娟, 陈迪云, 张静, 宋刚, 罗定贵 (2889)
环丙沙星在潮土中的吸附特性	崔皓, 王淑平 (2895)
中高温区水合肼 SNCR 脱硝反应机制和特性研究	洪彦, 陈德珍, 王渡, 黄慷 (2901)
H ₂ S 选择性催化氧化工艺及催化剂研究现状	郝郑平, 冀广玉, 张鑫, 曲思秋 (2909)
《环境科学》征稿简则 (2550) 《环境科学》征订启事 (2568) 信息 (2684, 2714, 2848, 2916)	

九龙江下游水源水中新发病原微生物和抗生素抗性基因的定量 PCR 检测

王青, 林惠荣, 张舒婷, 于鑫*

(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)

摘要: 新发水传病原微生物和抗生素抗性基因对于饮用水的生物安全性有重要意义. 以 7 种典型的水传病原微生物和 4 种抗生素抗性基因作为检测指标, 对闽西南地区的重要水源九龙江下游水源水进行了检测. 从九龙江下游 4 个采样点和附近某水厂进出水采集水样, 用 0.22 μm 的滤膜过滤后, 进行 DNA 提取及荧光定量 PCR 检测. 结果表明, 九龙江下游水源水中 *Salmonella enterica* (*Salmonella* spp.)、*Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) 和 *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) 等个别指标可达到 10^3 、 10^4 、 10^5 copies·mL⁻¹ 的水平. 有机物浓度可能对病原微生物和抗生素抗性基因的水平有较大影响. 水厂常规工艺对于大多数病原微生物和抗生素抗性基因可以实现有效去除, 但对 *Salmonella* spp. 的去除效果不理想. 因此为保证饮用水安全, 需要在清理污染源、提高处理工艺水平以及末端控制方面加强管理.

关键词: 病原微生物; 抗生素抗性基因; 饮用水; 九龙江; 定量 PCR

中图分类号: X172; X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)08-2685-06

Real-time PCR Detection and Quantification of Emerging Waterborne Pathogens (EWP) and Antibiotic Resistance Genes (ARGs) in the Downstream Area of Jiulong River

WANG Qing, LIN Hui-rong, ZHANG Shu-ting, YU Xin

(Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China)

Abstract: The emerging waterborne pathogens (EWPs) and antibiotic resistance genes (ARGs) are important for drinking water safety. The detection and quantification of 7 EWPs and 4 ARGs were carried out in Jiulong River, which is the main water source of southwestern Fujian Province. The water samples were collected from four sites of the Jiulong River downstream area and a drinking water treatment plant nearby. DNA was extracted and quantified by real-time (SYBR Green) PCR methods after the samples were filtered through 0.22 μm membranes. The results showed that the amount of *Salmonella enterica* (*Salmonella* spp.), *Legionella pneumophila* (*L. pneumophila*) and *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) could reach up to 10^3 , 10^4 and 10^5 copies·mL⁻¹, respectively. The concentration of organic matter in water may affect the copy numbers significantly. The water plant could effectively remove most EWPs and ARGs except *Salmonella* spp.. Therefore, more efforts should be made on water pollution source control, water treatment technology and point-of-use system to make sure the safety of drinking water.

Key words: emerging waterborne pathogens(EWPs); antibiotic resistance genes(ARGs); drinking water; Jiulong River; real-time PCR

九龙江是福建省第二大河流, 主河道长 285 km, 流域面积超过 1.4 万 km², 是闽西南生产生活的主要水源. 该流域经过多年的大规模开发, 在发挥巨大生态、环境、经济和社会效益的同时, 水环境问题也日趋严重.

新发水传病原微生物 (emerging waterborne pathogens, EWPs) 对水体安全和人类健康构成的威胁日益突出. 近年来, 国内外研究发现的 EWPs 种类在不断增加, 所引发的流行病暴发案例也得到广泛关注. 2000 年 5 月加拿大安大略省的 Walkerton 小镇, 发生了加拿大历史上最严重的大肠杆菌传染, 导致 2 300 多人住院, 7 人死亡. 2009 年 7 月, 内蒙古赤

峰新城区九龙供水公司由于水源井在大雨中受污染, 导致饮用水大肠杆菌和沙门氏菌超标, 造成 4 322 入院检查^[1]. 2008 年 4~9 月间, 美国 CDC 实验室就已确诊了 1 500 例圣保罗沙门氏菌暴发感染的病例^[2].

抗生素抗性基因 (antibiotic resistance genes, ARGs) 本身作为一种污染物, 极易在水环境中扩散, 对饮用水安全构成威胁^[3]. ARGs 已在欧洲^[4,5]、北

收稿日期: 2011-10-26; 修订日期: 2011-11-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51078343); 厦门市科技项目 (3502Z20091005, 3502Z20116007, 3502Z20101010)

作者简介: 王青 (1987~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为饮用水生物安全性, E-mail: qwang@iue.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: xyu@iue.ac.cn

美^[6,7]和亚洲^[8]被广泛地检出,其对人类健康造成的威胁也备受关注. ARGs 可以在细菌之间传播,使原本没有抗生素抗性的细菌获得了耐药性,导致抗生素的治疗效力日益下降,使许多疾病的救治越来越困难^[9].

尽管 EWP 和 ARGs 对人类健康有极大威胁,但由于测定技术和成本等原因,国内外水质标准中仅对 *E. coli* 等少数指示微生物做了规定. 由于指示微生物与其他病原微生物在数量上的相关程度尚没有得到确认,因此仅采用这些指示微生物来表征水体的微生物学风险并不全面. 此外,传统的培养计数方法仅能反映水体中可培养微生物的数目,而无法表征大多数不可培养微生物的情况. 荧光定量 PCR 方法以其特异性强、灵敏度高、重复性好、定量准确、速度快、全封闭反应等优点,在医学诊断、海关

检验检疫、国防军事、新型农业、基础研究等领域等诸多方面都得到了广泛应用^[10].

本研究采用荧光定量 PCR 技术,对闽南地区重要水源地九龙江下游的水样进行了分析,测定了其中有代表性的 7 项病原微生物以及 4 项抗生素抗性基因的水平,以期较为准确和全面地反映水体的微生物风险,为相关的风险评价和环境管理提供基础数据.

1 材料与方法

1.1 研究区域与采样点

在 2010 年 12 月中,对九龙江的龙津溪口、马洋溪口、石龟头和厦门取水口进行四次水样采集. 在 2011 年 1 月,对使用九龙江下游水源水的某水厂的进出水进行一次水样采集(图 1).



图 1 九龙江下游采样地示意

Fig. 1 Jiulong River area and the locations of sampling sites captured by Google Earth

1.2 样品采集

九龙江水样采集:用 2.5 L 的塑料采样桶,使用船只采集江面以下半米深处的水样. 随后在尽可能短的时间内将水样通过 0.22 μm 的滤膜,用无菌铝箔包裹滤膜, -20°C 下保存.

水厂进出水水样采集:用 2.5 L 的塑料采样桶,采集管网进出水. 随后在尽可能短的时间内将水样通过 0.22 μm 的滤膜,用无菌铝箔包裹滤膜, -20°C 下保存.

1.3 DNA 提取方法

采用苯酚抽提法对滤膜上的样品 DNA 进行提取^[11]. 所有的 DNA 样品溶解在 30 μL TE buffer 中, -20°C 保存. DNA 的浓度由 Q-bit (Invitrogen,

Karlsruhe, Germany) 测定, DNA 的纯度由 1.5% 琼脂糖凝胶电泳测定.

1.4 荧光定量 PCR 方法^[12]

使用 ABI 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) 对目标基因进行 SYBR Green 绝对定量 PCR 反应,每个样品 3 个平行. 在无菌 96 孔板中配置 20 μL 的 PCR 反应体系: LA Taq 溶液 10 μL ; 前引物、后引物各 0.3 μL ; 稀释后的 DNA 样品溶液 0.5 μL ; 无菌水 8.9 μL . 反应过程为: 95.0°C 下变性 5 min; 之后进行 40 次循环,每个循环在 95.0°C 下 15 s,各指标退火温度(表 1)1 min. 在 72.0°C 下采光.

以一系列已知浓度的 10 倍梯度稀释的质粒 DNA 制定标准曲线,对结果进行分析.

表 1 病原微生物和抗生素抗性基因的 PCR 引物
Table 1 PCR primers targeting ARG and EWP families

靶基因	引物	基因序列(5'-3')	扩增片段长度 /bp	退火温度 /℃	采光温度 /℃	文献
四环素抗性基因 <i>tetA</i>	tetA-1	CGATATCACTGATGGCGATG	318	60	80	[13]
	tetA-2	TGTCCGACAAGTTGCATGAT				
四环素抗性基因 <i>tetG</i>	tetG-F	GCT CGG TGG TAT CTC TGC TC	468	55	80	[14]
	tetG-R	AGC AAC AGA ATC GGG AAC AC				
万古霉素抗性基因 <i>vanA</i>	VanABF	GTAGGCTGCGATATTCAAAGC	231	60	80	[15]
	VanAR	CGATTCAATTGCGTAGTCCAA				
大环内酯类抗性基因 <i>ermB</i>	ermB-1	CATTTAACGACGAAACTGGC	424	60	80	[16]
	ermB-2	GGAACATCTGTGGTATGGCG				
霍乱弧菌 <i>Vibrio cholerae</i>	霍乱 EpsM-F	GAATTATTGGCTCCTGTGCAGG	248	60	80	[17]
	霍乱 EpsM-R	ATCGCTTGGCGCATCACTGCCC				
大肠杆菌 O157:H7 <i>Escherichia coli</i> O157:H7	大肠杆菌 stx2-r	GTC ATG GAA ACC GTT GTC AC	200	60	80	[18]
	大肠杆菌 stx-2f	ATT AAC CAC ACC CCA CCG				
宋内志贺氏菌 <i>Shigella soonei</i>	志贺 TEcol533-F	TGGGAAGCGAAAATCCTG	258	60	80	[19]
	志贺 TEcol754-R	CAGTACAGGTAGACTTCTG				
铜绿假单胞菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	铜绿 PAL1	ATGGAAATGCTGAAATTCGGC		60	80	[20]
	铜绿 PAL2	CTTCTTCAGCTCGACGCGACG				
嗜肺军团菌 <i>Legionella pneumophila</i>	JFP	AGGGTTGATAGGTTAAGAGC	386	55	78	[21]
	JRP	CCAACAGCTAGTTGACATCG				
肠道沙门氏菌 <i>Salmonella enterica</i>	沙门 H-for	ACTCAGGCTTCCCGTAACGC	423	55	80	[22]
	沙门 Ha-rev	GAGGCCAGCACCATCAAGTGC				
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	金 Sa-1	GAAAGGGCAATACGCAAAGA	482	55	73	[23]
	金 Sa-2	TAGCCAAGCCTTGACGAAC				

2 结果与讨论

2.1 病原微生物的时空分布

病原微生物指标在九龙江下游 4 个采样点均有检出,但在水平上有比较明显的差异(图 2)。

E. coli O157:H7、*S. aureus* 和 *V. cholerae* 的水平较低,其数量级均在 $10^0 \sim 10^1$ copies·mL⁻¹ 水样,在采样点之间的数量差异不显著. 其中 *E. coli* O157:H7 在 4 个采样点的水平比较平均,*S. aureus* 在马洋溪口数量稍多,而 *V. cholerae* 在龙津溪口水平较高。

Shigella spp. 的检出水平均在 10^3 copies·mL⁻¹ 水样以下,但其在龙津溪口的检出水平明显高于其他 3 个采样点. 该采样点最大值为 676 copies·mL⁻¹,其余 3 次采样结果也在 200 copies·mL⁻¹ 水样左右. *Shigella* spp. 在其他 3 个采样点的检出水平平均在 100 copies·mL⁻¹ 水样以下. *Salmonella* spp. 的水平在 $10^1 \sim 10^3$ copies·mL⁻¹ 水样,且石龟头水样中的检出数目明显高于其他 3 个采样点,最大检出水平为 6.58×10^3 copies·mL⁻¹ 水样. *L. pneumophila* 的检出水平在 $10^2 \sim 10^4$ copies·mL⁻¹ 水样,在龙津溪口

处的检出水平高于其他 3 个采样点. *P. aeruginosa* 的检出水平在 $10^4 \sim 10^5$ copies·mL⁻¹ 水样,在厦门取水口处有较高的检出水平。

由水样的理化指标可知(表 2),4 个采样点中,龙津溪口的 BOD₅、高锰酸盐指数和 TOC 等有机物指标均高于其他 3 个采样点,而 *V. cholerae*、*Shigella* spp. 和 *L. pneumophila* 的最大检出水平均出现在这里,表明有机物污染可能是影响水体中病原微生物水平的因素。

2.2 抗生素抗性基因的时空分布

抗生素抗性基因在 4 个采样点均有检出,但在水平上有所差异(图 3). *tetA* 的检出水平在 $10^5 \sim 10^7$ copies·mL⁻¹ 水样. *tetG* 的检出水平均在 5×10^2 copies·mL⁻¹ 水样以下. *ermB* 的检出水平在 $10^2 \sim 10^5$ copies·mL⁻¹ 水样. *vanA* 的检出水平在 $10^3 \sim 10^6$ copies·mL⁻¹ 水样. 除了 *vanA* 之外,其余 3 项指标均在龙津溪口处有最大检出数目. 由水样的物化指标可知(表 2),龙津溪口的平均 BOD₅、高锰酸盐指数和 TOC 相对较高,说明有机物污染可能对水体中抗生素抗性基因的水平有较大影响。

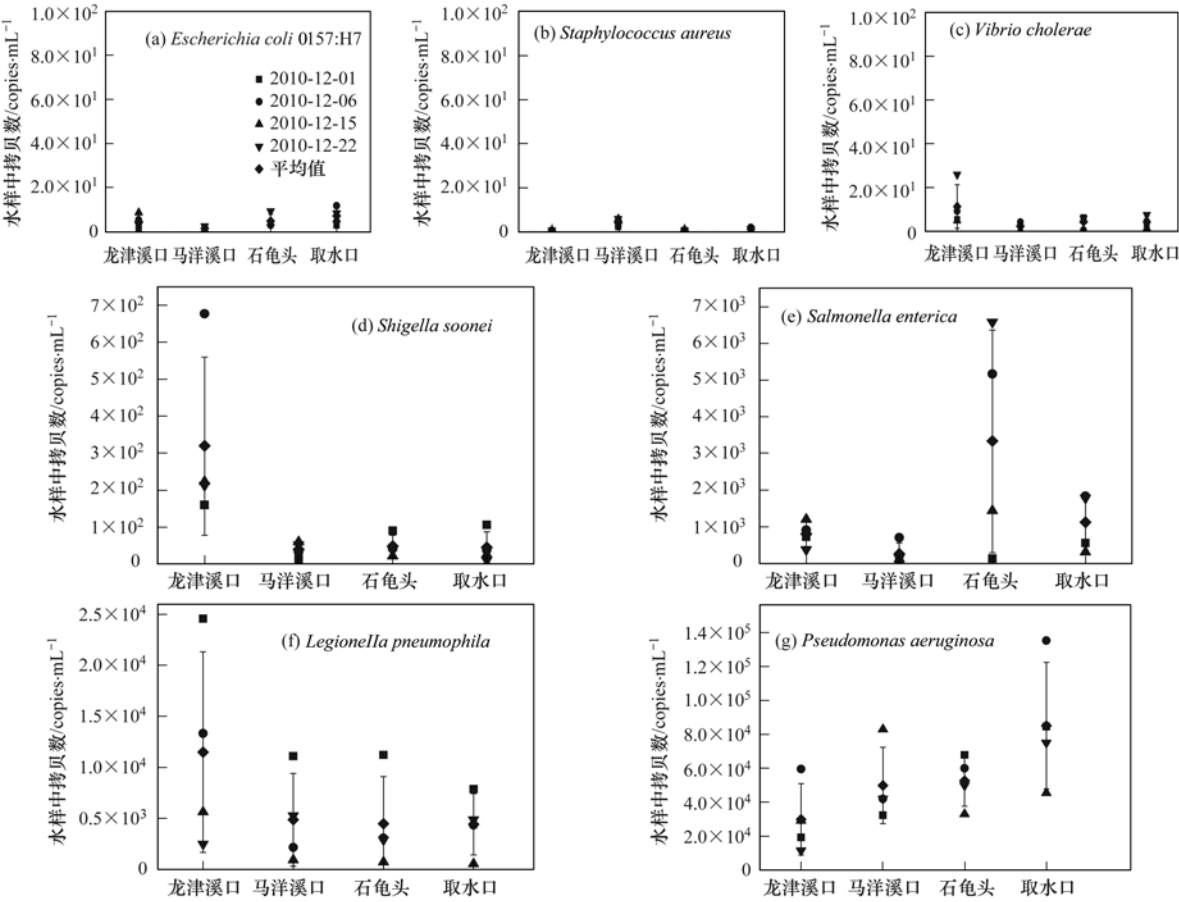


图 2 病原微生物的时空分布

Fig. 2 Geographical and temporal distribution of EWPs

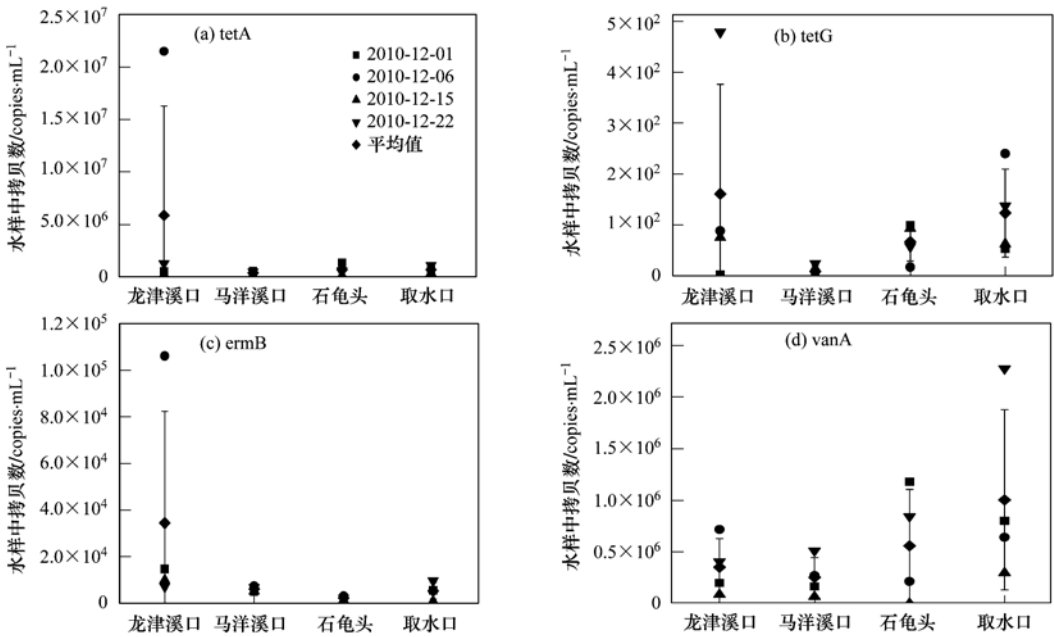


图 3 抗生素抗性基因的时空分布

Fig. 3 Geographical and temporal distribution of ARGs

抗生素抗性基因普遍在 12 月 15 日的取值较小。 机物污染程度相对较轻,也说明有机物污染情况对于
由水样的物化指标分析可知(表 2),12 月 15 日的有 病原微生物和抗生素抗性基因存在一定影响.

表 2 采样点水体的理化性质/mg·mL⁻¹

Table 2 Physicochemical properties of water samples/mg·mL⁻¹

采样日期	采样点名称	pH	溶解氧	五日生化 需氧量	高锰酸盐 指数	总氮	总磷	溶解性 总氮	溶解性 总磷	溶解性 正磷酸盐	溶解性 总有机碳
2010-12-01	龙津溪口	7.19	7.72	5	4.36	3.69	0.138	3.5	0.032	0.012	24.8
2010-12-06	龙津溪口	6.82	3.82	5.4	5.23	3.44	0.148	3.16	0.023	0.01L	29.5
2010-12-15	龙津溪口	7.14	8.62	4.9	3.23	3.9	0.125	3.77	0.041	0.035	12.3
2010-12-22	龙津溪口	7.18	6.26	6.9	2.64	3.78	0.18	3.44	0.063	0.014	15
2010-12-01	马洋溪口	7.53	10.38	4.6	3.09	2.64	0.125	2.54	0.079	0.061	11.2
2010-12-06	马洋溪口	7.06	7.79	2.1	2.44	2.28	0.077	2.24	0.041	0.031	21.6
2010-12-15	马洋溪口	7.09	11.14	2.5	1.82	2.23	0.114	2.04	0.037	0.025	15.2
2010-12-22	马洋溪口	7.53	9.04	2.8	2.18	2.44	0.141	2.36	0.047	0.035	5.54
2010-12-01	石龟头	7.24	8.54	3.1	2.61	2.31	0.053	2.23	0.022	0.01L	7.46
2010-12-06	石龟头	7.01	4.96	2.3	2.95	2.88	0.07	2.79	0.031	0.01	10.3
2010-12-15	石龟头	7.12	9.84	1.17	1.68	3.13	0.046	3.05	0.026	0.016	2.03
2010-12-22	石龟头	7.3	9	2.2	1.88	3.2	0.091	3.05	0.039	0.031	8.63
2010-12-01	厦门取水口	7.22	7.38	1.57	2.23	2.89	0.069	2.8	0.047	0.026	17.4
2010-12-06	厦门取水口	6.98	5.88	2.2	2.15	2.96	0.075	2.85	0.028	0.017	13.6
2010-12-15	厦门取水口	7.27	9.24	1.64	1.91	2.53	0.05	2.46	0.027	0.013	2.99
2010-12-22	厦门取水口	7.26	8.98	2.7	2.43	3.2	0.109	3.02	0.04	0.031	16.2

2.3 水厂进出水中的病原微生物和抗生素抗性基因 某水厂进出水的相关指标进行了取样和分析(表
水源水中检出了多项病原微生物和抗生素抗性 3).进水 1 取自进厂前水源水,进水 2 取自混凝进
指标,对饮用水生物安全性构成潜在威胁.为了解自 水,出水 1 取自加氯消毒后出水,出水 2 取自水厂附
来水厂对于这些指标的去除情况,在 2010 年 1 月对 近的管网水.

表 3 某水厂进出水检测项目汇总/copies·mL⁻¹

Table 3 Copy numbers and average removal rates of ARGs and EWP in the inflow and outflow of a drinking water treatment plant/copies·mL⁻¹

样品名称	进水 1	进水 2	出水 1	出水 2	平均去除率/%
<i>tetA</i>	5.71×10^5	3.77×10^5	6.54×10^3	2.53×10^3	99.0
<i>tetG</i>	4.24×10^2	7.49×10^2	1.63×10^0	1.84×10^0	99.7
<i>ermB</i>	7.02×10^4	5.24×10^3	3.32×10^1	2.68×10^2	99.6
<i>vanA</i>	5.68×10^5	6.10×10^5	2.03×10^2	7.41×10^2	99.9
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	2.73×10^0	1.42×10^0	2.29×10^{-1}	4.84×10^{-1}	82.8
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.15×10^0	3.03×10^{-1}	2.37×10^{-3}	1.05×10^{-2}	99.1
<i>Legionella pneumophila</i>	3.55×10^3	1.98×10^3	6.72×10^2	2.17×10^2	83.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.79×10^4	3.16×10^4	3.47×10^2	3.26×10^2	98.9
<i>Shigella soanei</i>	5.27×10^1	3.09×10^0	1.39×10^0	1.79×10^0	94.3
<i>Vibrio cholerae</i>	1.21×10^1	1.19×10^1	1.06×10^{-1}	9.71×10^{-2}	99.1
<i>Salmonella enterica</i>	1.93×10^3	2.51×10^2	4.16×10^3	5.43×10^3	

除了 *Salmonella* spp.,自来水厂对绝大多数检 10⁴、10⁵ copies·mL⁻¹水平.多数指标在龙津溪口检
测项目可以达到很好的去除效果.尤其是 *Salmonella* 出的水平较高.在采样时间段内,龙津溪口的水体有
spp.在九龙江水样中的检出水平也较高,因此需要 机物浓度高于其他 3 个采样点,表明有机物污染可
对其微生物风险性给予重视. 能影响水体中病原微生物和抗生素抗性基因的
水平.

3 结论

(1)病原微生物和抗生素抗性基因在九龙江下 游的 4 个采样点均有检出, *Salmonella* spp.、*L.*
pneumophila 和 *P. aeruginosa* 等个别指标可达到 10³、
对于 *Salmonella* spp. 的去除效果不太理想.因此需要对
Salmonella spp. 的潜在微生物风险给予高度重视.

参考文献:

- [1] 刘文君. 高度重视饮用水微生物学安全性强化紫外线消毒技术研究与应用[J]. 给水排水, 2011, **37**(8): 1-5.
- [2] Behraves C B, Mody R K, Jungk J, *et al.* 2008 outbreak of *Salmonella* Saintpaul infections associated with raw produce[J]. The New England Journal of Medicine, 2011, **364**(10): 918-927.
- [3] Mackie R I, Koike S, Krapac I, *et al.* Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities[J]. Animal Biotechnology, 2006, **17**(2): 157-176.
- [4] Tennstedt T, Szczepanowski R, Braun S, *et al.* Occurrence of integron-associated resistance gene cassettes located on antibiotic resistance plasmids isolated from a wastewater treatment plant[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, **45**(3): 239-252.
- [5] Heuer H, Szczepanowski R, Schneiker S, *et al.* The complete sequences of plasmids pB2 and pB3 provide evidence for a recent ancestor of the IncP-1 β group without any accessory genes[J]. Microbiology, 2004, **150**(11): 3591-3599.
- [6] Poppe C, Martin L, Muckle A, *et al.* Characterization of antimicrobial resistance of *Salmonella* Newport isolated from animals, the environment, and animal food products in Canada[J]. Canadian Journal of Veterinary Research, 2006, **70**(2): 105-114.
- [7] Thompson S A, Maani E V, Lindell A H, *et al.* Novel tetracycline resistance determinant isolated from an environmental strain of *Serratia marcescens* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, **73**(7): 2199-2206.
- [8] Lee Y J, Han H S, Seong C N, *et al.* Distribution of genes coding for aminoglycoside avetyltransferases in gentamicin resistant bacteria isolated from aquatic environment[J]. Journal of Microbiology, 1998, **36**(4): 249-255.
- [9] 罗义, 周启星. 抗生素抗性基因(ARGs)——一种新型环境污染物的[J]. 环境科学学报, 2008, **28**(8): 1499-1505.
- [10] 陈旭, 齐凤坤, 康立功, 等. 实时荧光定量 PCR 技术研究进展及其应用[J]. 东北农业大学学报, 2010, **41**(8): 148-155.
- [11] Zhang S T, Wei B, Yu X, *et al.* Development of pretreatment protocol for DNA extraction from biofilm attached to biologic activated carbon (BAC) granules [J]. Frontiers of Environmental Science and Engineering in China, 2010, **4**(4): 459-465.
- [12] Pruden A, Pei R T, Storteboom H, *et al.* Antibiotic resistance genes as emerging contaminants; studies in northern Colorado [J]. Environmental Science and Technology, 2006, **40**(23): 7445-7450.
- [13] Tennstedt T, Szczepanowski R, Krahn I, *et al.* Sequence of the 68,869 bp IncP-1 α plasmid pTB11 from a waste-water treatment plant reveals a highly conserved backbone, a Tn402-like integron and other transposable elements [J]. Plasmid, 2005, **53**(3): 218-238.
- [14] Ng L K, Martin I, Alfa M, *et al.* Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes [J]. Molecular and Cellular Probes, 2001, **15**(4): 209-215.
- [15] Bell J M, Paton J C, Turnidge J. Emergence of vancomycin-resistant enterococci in Australia; phenotypic and genotypic characteristics of isolates [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1998, **36**(8): 2187-2190.
- [16] Jensen L B, Frimodt-Møller N, Aarestrup F M. Presence of *erm* gene classes in gram-positive bacteria of animal and human origin in Denmark [J]. FEMS Microbiology Letters, 1999, **170**(1): 151-158.
- [17] Kong R Y C, Lee S K Y, Law T W F, *et al.* Rapid detection of six types of bacterial pathogens in marine waters by multiplex PCR [J]. Water Research, 2002, **36**(11): 2802-2812.
- [18] Ibekwe A M, Watt P M, Grieve C M, *et al.* Multiplex fluorogenic real-time PCR for detection and quantification of *Escherichia coli* O157: H7 in dairy wastewater wetlands [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(10): 4853-4862.
- [19] Maheux A F, Picard F J, Boissinot M, *et al.* Analytical comparison of nine PCR primer sets designed to detect the presence of *Escherichia coli*/*Shigella* in water samples [J]. Water Research, 2009, **43**(12): 3019-3028.
- [20] Pirnay J P, De Vos D, Duinslaeger L, *et al.* Quantitation of *Pseudomonas aeruginosa* in wound biopsy samples; from bacterial culture to rapid 'real-time' polymerase chain reaction [J]. Critical Care, 2000, **4**(4): 255-262.
- [21] Wellingshausen N, Frost C, Marre R. Detection of *legionellae* in hospital water samples by quantitative real-time LightCycler PCR [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, **67**(9): 3985-3993.
- [22] Levy H, Diallo S, Tennant S M, *et al.* PCR method to identify *Salmonella enterica* serovars Typhi, Paratyphi A, and Paratyphi B among *Salmonella* isolates from the blood of patients with clinical enteric fever [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2008, **46**(5): 1861-1866.
- [23] Ramesh A, Padmapriya B P, Chrashekar A, *et al.* Application of a convenient DNA extraction method and multiplex PCR for the direct detection of *Staphylococcus aureus* and *Yersinia enterocolitica* in milk samples [J]. Molecular and Cellular Probes, 2002, **16**(4): 307-314.

CONTENTS

Levels and Sources of Gaseous Polybrominated Diphenyl Ethers in Air over the Northern South China Sea	LI Qi-lu, LI Jun, LIU Xiang, <i>et al.</i> (2533)
Observation and Analysis of Air Pollution in Zhangjiakou, Hebei	SHAO Ping, WANG Li-li, AN Jun-lin, <i>et al.</i> (2538)
Smog Chamber Simulation of Ozone Formation from Atmospheric Photooxidation of Propane	HUANG Li-hua, MO Chuang-rong, XU Yong-fu, <i>et al.</i> (2551)
Mechanism and Performance of a Membrane Bioreactor for Treatment of Toluene Vapors	YE Qi-hong, WEI Zai-shan, XIAO Pan, <i>et al.</i> (2558)
Analysis of Odor Pollutants in Kitchen Waste Composting	ZHANG Hong-yu, ZOU Ke-hua, YANG Jin-bing, <i>et al.</i> (2563)
Spatial Changes and Sources of Nitrate in Beijing Urban Ecosystem Surface Water	XU Zhi-wei, ZHANG Xin-yu, REN Yu-fen, <i>et al.</i> (2569)
Distribution Characteristics and Potential Risk of PCBs in Surface Water from Three Tributaries of Yangtze River in Different Periods	LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (2574)
Distribution Characteristics and Potential Risks of Phenols in the Rainy Season Surface Water from Three Gorges Reservoir	WU Zheng-yong, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (2580)
Spatial Distribution of Perfluorooctanoic Acids and Perfluorinate Sulphonates in Surface Water of East Lake	CHEN Jing, WANG Lin-ling, ZHU Hu-di, <i>et al.</i> (2586)
Characteristics of Heavy Metal Pollution in Daninghe River and Modaoxi River of Three Gorges Reservoir Areas	AN Li-hui, ZHANG Yan-qiang, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (2592)
Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Surface Sediments of the Yangtze River	WANG Lan, WANG Ya-ping, XU Chun-xue, <i>et al.</i> (2599)
Analysis of the Source, Potential Biological Toxicity of Heavy Metals in the Surface Sediments from Shellfish Culture Mudflats of Rudong Country, Jiangsu Province	LI Lei, WANG Yun-long, JIANG Mei, <i>et al.</i> (2607)
Effect of Disturbance Intensity on Phosphorus Release and Its Transformation in the Sediment from Taihu Lake	LI Da-peng, HUANG Yong (2614)
Effects of Intrusions from Three Gorges Reservoir on Nutrient Supply to Xiangxi Bay	ZHANG Yu, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2621)
Influence of Perennial Flooding and Drought on Growth Restoration of <i>Acorus calamus</i> in Water-level-fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir	LI Qiang, GAO Xiang, DING Wu-quan, <i>et al.</i> (2628)
Pollution Load and the First Flush Effect of Phosphorus in Urban Runoff of Wenzhou City	ZHOU Dong, CHEN Zhen-lou, BI Chun-juan (2634)
Output Characteristics of Rainfall Runoff Phosphorus Pollution from a Typical Small Watershed in Yimeng Mountainous Area	YU Xing-xiu, LI Zhen-wei, LIU Qian-jin, <i>et al.</i> (2644)
Influence of Land Use Structure on Nitrogen Output in the Watershed of Suburban Agriculture Regions	YANG Feng, WANG Peng-ju, YANG Shan-shan, <i>et al.</i> (2652)
Simulation of Nitrogen and Phosphorus Loss in Siling Reservoir Watershed with AnnAGNPS	BIAN Jin-yun, WANG Fei-er, YANG Jia, <i>et al.</i> (2659)
GIS and L-THIA Based Analysis on Variations of Non-point Pollution in the Guanlan River Watershed, Shenzhen	BAI Feng-jiao, LI Tian-hong (2667)
Response of Sloping Water Erosion to Rainfall and Micro-earth Pattern in the Loess Hilly Area	WEI Wei, JIA Fu-yan, CHEN Li-ding, <i>et al.</i> (2674)
Comparison Study of Enhanced Coagulation on Humic Acid and Fulvic Acid Removal	ZHOU Ling-ling, ZHANG Yong-ji, YE He-xiu, <i>et al.</i> (2680)
Real-time PCR Detection and Quantification of Emerging Waterborne Pathogens (EWPs) and Antibiotic Resistance Genes (ARGs) in the Downstream Area of Jiulong River	WANG Qing, LIN Hui-rong, ZHANG Shu-ting, <i>et al.</i> (2685)
Quantitative and Qualitative Analysis of Total Bacteria and Ammonia-oxidizing Bacteria in Buji River in Wet Season	SUN Hai-mei, BAI Jiao-jiao, SUN Wei-ling, <i>et al.</i> (2691)
Study on the Nitrogen Removal Performance and the Characteristics of Denitrification Bacterial Community Structure of Biological Aerated Filter	PENG Xiao-lan, LIU Cong, CHEN Li-jun (2701)
Analysis of Microbial Community Structure at Full-scale Wastewater Treatment Plants by Oxidation Ditch	GUO Yun, YANG Dian-hai, LU Wen-jian (2709)
Performance and Microbial Community Dynamic Characteristics of an Internal Circulation Reactor Treating Brewery Wastewater	ZHU Wen-xiu, HUANG Zhen-xing, REN Hong-yan, <i>et al.</i> (2715)
Coupling AFM Fluid Imaging with Micro-Flocculation Filtration Process for the Technological Optimization	ZHENG Bei, GE Xiao-peng, YU Zhi-yong, <i>et al.</i> (2723)
Study on Removal Effect of Different Organic Fractions from Bio-treated Effluent of Dye Wastewater by UV/H ₂ O ₂ Process	LI Xin, LIU Yong-di, SUN Xian-bo, <i>et al.</i> (2728)
Optimization of <i>Chlorella pyrenoidosa</i> -15 Photoheterotrophic Culture and Its Use in Wastewater Treatment	WANG Xiu-jin, LI Zhao-sheng, XING Guan-lan, <i>et al.</i> (2735)
Characteristics and Mechanism of 2,4,6-TCP Degradation by the "Fe ⁰ /Enriched-Bacteria" System	DAI You-zhi, GUO Li-li, SHI Lei, <i>et al.</i> (2741)
Immobilization of Crude Laccase onto Anion Exchange Resin and Its Application in Decoloration of Malachite Green	QI Xu-liang, LIU Xiang, LIU Bo, <i>et al.</i> (2747)
Low-Temperature Preparation of TiO ₂ /PS/Fe ₃ O ₄ and Its Photocatalytic Activity and Magnetic Recovery	WANG Xue-jiao, REN Xue-chang, NIAN Juan-ni, <i>et al.</i> (2752)
Study on Catalytic Oxidation of Benzene by Microwave Heating	ZHANG Yu-cai, BO Long-li, WANG Xiao-hui, <i>et al.</i> (2759)
Synergistic Effects of Nano-sized Magnetic Particles and Uncoupler to the Characteristics of Activated Sludge	GAO Li-ying, TANG Bing, LIANG Ling-yan, <i>et al.</i> (2766)
Experimental and Modeling Research on the Settlement of Aerobic Granular Sludge	SU Kui-zu, DENG Xiu-kun, ZHENG Li, <i>et al.</i> (2773)
Analysis of Hydrolytic Enzyme Activities on Sludge Aerobic/Anoxic Digestion After Ultrasonic Pretreatment	YE Yun-di, SUN Shui-yu, ZHENG Li, <i>et al.</i> (2780)
Effect of Microbial Nutrient Concentration on Improvement of Municipal Sewage Sludge Dewaterability Through Bioleaching	SONG Yong-wei, LIU Fen-wu, ZHOU Li-xiang (2786)
Response of the Artificial Cyanobacterial Crusts to Low Temperature and Light Stress and the Micro-structure Changes Under Laboratory Conditions	RAO Ben-qiang, LI Hua, XIONG Ying, <i>et al.</i> (2793)
Seasonal Dynamics of Soil Active Carbon Pool in a Purple Paddy Soil in Southwest China	WU Yan, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju (2804)
Pollution Characteristics and Accumulation of Antibiotics in Typical Protected Vegetable Soils	YIN Chun-yan, LUO Yong-ming, TENG Ying, <i>et al.</i> (2810)
Transformation and Influences of Copper and Selenium Fractions on Heavy Metals Bioavailability in Co-contaminated Soil	HU Bin, LIANG Dong-li, ZHAO Wen-long, <i>et al.</i> (2817)
Response of Soil Microbial Community to the Bioremediation of Soil Contaminated with PAHs	ZHANG, Jing, LIN Xian-gui, LIU Wei-wei, <i>et al.</i> (2825)
Bioremediation of PAHs Contaminated Soil from Beijing Coking Plant by <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	ZHANG Zhi-yuan, WANG Cui-ping, LIU Hai-bin, <i>et al.</i> (2832)
Leaching Experiments on the Release of Trace Elements from Tailings of Chashan Antimony Mine, Guangxi, China	CAI Yong-bing, LI Ling, WEI Xiao-fei, <i>et al.</i> (2840)
Accumulation Characteristics of Arsenic in Suburban Soils of Beijing	QI Jie, WANG Mei-e, WANG Zi-qiang, <i>et al.</i> (2849)
Antioxidant Enzyme Gene Expression as Molecular Biomarkers of Exposure to Polycyclic Musks	CHEN Chun, ZHOU Qi-xing, LIU Xiao-wei (2855)
Effects of Ozone Pollution on the Accumulation and Distribution of Dry Matter and Biomass Carbon of Different Varieties of Wheat	KOU Tai-ji, YU Wei-wei, ZHU Jian-guo, <i>et al.</i> (2862)
Influence of Reaction Time of Urea Hydrolysis-Based Co-precipitation on the Structure of ZnAl Layered Double Hydroxides and the Phosphate Adsorption	LU Ying, CHENG Xiang, XING Bo, <i>et al.</i> (2868)
Competitive Adsorption Kinetics of Aqueous Pb ²⁺ and Cu ²⁺ on Nano-HAP Surfaces	HU Tian-tian, CANG Long, WANG Yu-jun, <i>et al.</i> (2875)
Effects of pH and Ni ²⁺ on Sorption Behavior of Phenanthrene on Engineered Nano-Silica	LUO Pei, SUN Hong-wen, ZHANG Peng (2882)
Adsorption Characteristics and Mechanism of Uranium on Attapulgite	LIU Juan, CHEN Di-yun, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (2889)
Adsorption Characteristics of Ciprofloxacin in Ustic Cambosols	CUI Hao, WANG Shu-ping (2895)
Kinetic Mechanism and Characteristics Researches for Hydrazine-based NO _x Removal at Moderate to High Temperatures	HONG Liu, CHEN De-zhen, WANG Du, <i>et al.</i> (2901)
Current Research Situation of H ₂ S Selective Catalytic Oxidation Technologies and Catalysts	HAO Zheng-ping, DOU Guang-yu, ZHANG Xin, <i>et al.</i> (2909)

《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)

2012年8月15日 33卷 第8期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 8 Aug. 15, 2012

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: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行