

再生水利用对环境中抗生素抗性基因影响的研究进展

崔二苹^{1,2}, 高峰^{1,2}, 陈红³, 樊向阳^{1,2}, 李中阳^{1,2}, 刘源^{1,2}

(1. 中国农业科学院 农田灌溉研究所, 河南 新乡 453002;

2. 中国农业科学院 农业水资源高效安全利用重点开放实验室, 河南 新乡 453002;

3. 浙江大学 环境与资源学院环境工程研究所, 杭州 310058)

摘要:基于再生水利用对抗生素抗性基因的迁移转化规律及机制研究的大量文献,对当前再生水利用对环境中抗生素抗性基因影响的研究进行了较为系统的总结与分析,并对再生水利用过程中影响抗生素抗性基因传播扩散的再生水系统、环境污染物和环境因子等因素进行了简要分析。同时,在分析目前研究进展的基础上展望了今后的研究重点:灌溉技术、灌溉制度对土壤和作物体内抗生素抗性基因的影响;长期利用再生水对地下水中微生物群落结构和抗生素抗性基因的影响;抗生素抗性基因在再生水-土壤-作物系统中的迁移转化。

关键词:再生水; 抗生素抗性基因; 影响因素

中图分类号:X820.4;S153

文献标志码:A

doi:10.13522/j.cnki.ggps.2017.02.005

崔二苹,高峰,陈红,等. 再生水利用对环境中抗生素抗性基因影响的研究进展[J]. 灌溉排水学报,2017, 36(2):32-38.

0 引言

自提出将抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)作为一种新型污染物^[1]以来,抗生素抗性基因在环境中的传播扩散已引起众多研究者的关注。研究表明,污水处理系统现有的水处理技术尽管可有效去除COD、氨氮、总氮和总磷等物质,但却无法有效去除高质量浓度的抗生素抗性基因,导致可有效进行农田回用和园林绿化等的再生水中含有相当质量浓度的抗生素抗性基因^[2]。这表明再生水有可能成为抗生素抗性基因的一个重要储存库。我国是水资源短缺的国家,采用再生水进行灌溉是缓解这一现状的有效措施之一^[3]。由于再生水中含有丰富的促进作物生长的营养元素,将其用于农田灌溉或其他用途能很好地改善土壤的理化性质和作物的生长状况^[4]。但再生水灌溉对土壤-作物系统中重金属的影响研究结论不一致,需要进一步的探究^[5-6]。再生水入渗还可引起地下水中抗生素检出质量浓度的增加,并破坏地下水稳定的微生物群落结构^[7-8]。对于新型污染物(抗生素抗性基因),再生水灌溉时可能会将抗性细菌、携带质粒或可移动基因元件的抗生素抗性基因转移至土壤中^[9-11],并通过垂直基因转移(Vertical Gene Transfer, VGT)和水平基因转移(Horizontal Gene Transfer, HGT)使抗生素抗性基因在土壤中传播扩散^[12]。将作物种植在受抗生素抗性基因污染的土壤中,也可在作物体内检测到一定质量浓度的抗生素抗性基因^[13-15],表明其可通过食物链进入人体,危害人类的身体健康。此外,有研究指出,一类整合子*int1*和*sul1*的克隆体与某些致病菌如产酸克雷伯菌(*Klebsiella oxytoca*)、鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)和弗氏志贺菌(*Shigella flexneri*)具有非常高的同源性^[10]。有学者采用功能宏基因组分析发现土壤中的抗生素抗性基因和人类致病菌的抗性基因高度相似^[16]。这些试验均有力地证实了细菌和人类致病菌之间存在着抗生素抗性基因的交换和转移,从而对人类的健康产生巨大的潜在危害。

目前,再生水利用主要集中在农田灌溉和城市绿化这2方面,而且再生水还会入渗到地下,对地下水造

收稿日期:2016-09-08

基金项目:中国农业科学院科技创新工程项目;国家自然科学基金面上项目(51479201)

作者简介:崔二苹(1990-),女,研究实习员,硕士,研究方向为新型有机污染物迁移转化规律与调控机制。E-mail: erping_cui@163.com

通信作者:高峰(1963-),男,研究员,博士生导师,博士,研究方向为非常规农业水资源安全利用。E-mail: gfyx@sina.com

成影响。因此,有必要探讨再生水利用对环境中抗生素抗性基因影响的研究进展以及影响抗生素抗性基因传播扩散的因素,以期对再生水灌溉的风险控制和资源化利用的研究提供帮助。

1 再生水利用对环境中抗生素抗性基因的影响

1.1 再生水灌溉对农田土壤中抗生素抗性基因的影响

通过对比清水灌溉和再生水灌溉(灌溉时间6~15 a)的土壤中抗生素抗性基因的检出丰度,发现再生水灌溉的土壤中抗生素抗性基因丰度和清水灌溉无显著性差异($P>0.05$),甚至有时候会低于清水灌溉^[17],这和粪肥施用的结果^[18]相反,可能是因为再生水中的细菌无法在土壤中生存,故不会促进抗生素抗性基因的传播扩散;而粪肥中的细菌可以在土壤中生存并促进抗生素抗性基因的传播扩散。用不同类型(二级出水、含氯出水和脱氯出水)的水源灌溉土壤仅1次时,抗生素抗性基因(*sul1*、*sul2*、*tetW*和*tetO*)的绝对检出丰度无明显变化^[19]。用二级出水重复灌溉时,*sul1*和*sul2*的绝对检出丰度均有增加,但二级出水、含氯出水和脱氯出水重复灌溉时并未影响*tetW*和*tetO*的绝对检出丰度,同时指出土壤湿度和土壤类型是影响抗生素抗性基因传播扩散的2个主要因素。此外,将污泥施用至不同类型的土壤中后,抗生素抗性基因增加程度不一致^[18],这表明土壤类型在抗生素抗性基因的迁移转化中起到了一定程度的作用,这在文献[20]研究中也得到了证实。通过对生态养殖场调查研究发现,蔬菜地和黑麦草地经沼渣和沼液的施用后,其土壤中检测到的抗生素抗性基因无显著差别($P>0.05$),表明作物类型对土壤中抗生素抗性基因的检出丰度影响较小^[21]。关于抗生素抗性基因沿土壤深度的变化,尽管随着土壤深度的增加(0~80 cm),*tetO*、*tetW*、*tetM*和*tetA*的检出丰度逐渐降低,但在60~80 cm处*tetO*、*tetM*和*tetX*的检出丰度仍高达 10^7 copies/g,说明抗生素抗性基因可以通过垂直转移污染地下水水质^[22]。可见,土壤类型、作物类型、土层深度等因素都会影响环境中抗生素抗性基因的传播扩散。

在北京和天津对无灌溉水的土壤、未处理的废水灌溉的土壤和未处理的废水灌溉停用后用再生水或地下水灌溉的土壤中抗性细菌、抗生素、抗生素抗性基因量进行调查研究^[23]发现,未处理的废水灌溉对抗性细菌无显著性影响,但可显著增加抗生素和抗生素抗性基因的检出丰度。未处理的废水停用后用再生水或地下水灌溉并不会使土壤中抗生素抗性基因丰度减少,这可能是由于后期粪肥、污泥的施用所造成的。此外,关于再生水灌溉频率在南北地区的差异研究还未见报道,但关于厌氧消化后的猪场废水灌溉频率在南北地区的差异已有报道。如将厌氧消化后的猪场废水灌溉至农田中后发现,在北方土壤中,由于冬季空闲期不施猪场废水^[24],使得冬季的抗生素抗性基因丰度比夏季少1.66个数量级;而在南方土壤中,由于全年都施猪场废水,季节的变化对南方土壤中抗生素抗性基因的变化无显著性影响。

目前,尚未有针对再生水长期灌溉的土壤中抗生素抗性基因的研究,而对未处理的废水长期灌溉对土壤中抗生素抗性基因的研究则较多。如研究^[25]发现与无灌溉水的土壤相比,未处理的废水灌溉也可增加抗生素抗性基因的检出丰度,并且灌溉时间越长(0~100 a),抗生素抗性基因的绝对检出丰度也越高,这是由于土壤微生物数量逐渐增加所导致的。基于经未处理的不同年限(0、1.5、3、6、8、85、100 a)的废水灌溉土壤中抗生素抗性基因(*tetW*、*tetM*和*aadA*),*int11*,季胺盐化合物抗性基因(*qacE*和*qacE* Δ 1),IncP-1质粒基因(*ko-rB*)的变化研究^[26],在对照组中仅检测到*int11*、*qacE*和*qacE* Δ 1,实验组中16S rRNA检出丰度随灌溉年限呈线性增长($P<0.05$),各类抗性基因的绝对检出丰度以及重金属(铜、锌、铅、铬和镍)随灌溉年限显著增加,但是各类抗性基因的相对检出丰度和灌溉年限无任何相关性,这表明未处理的废水的多次灌溉或重金属和抗生素的协同作用并未导致土壤微生物群落结构发生改变。

关于再生水灌溉对根际土壤和非根际土壤中抗生素抗性基因的研究还未知,但关于粪肥施用对根际土和非根际土中抗生素抗性基因的研究已见报道。研究^[15]表明,在粪肥施用的土壤中种植不同的作物虽然会影响作物体内抗生素抗性基因的分布,但对根际土壤和非根际土壤的抗生素抗性基因分布无显著性影响($P>0.05$)。Kopmann等^[27]开展了施用猪粪的玉米根际土壤与非根际土壤中抗性基因行为特征的研究,结果表明根际土壤中*sul1*和*sul2*的检出丰度比非根际土壤中的低1~2个数量级,这是由于非根际土壤中磺胺嘧啶的快速降解使得环境选择性压力减弱,从而导致非根际土壤中抗生素抗性基因的检出丰度较高。

1.2 再生水灌溉对公园绿地土壤中抗生素抗性基因的影响

研究^[11]发现,与对照组相比,经再生水灌溉的公园绿地土壤中抗生素抗性基因增加了99.3~8 655.3倍,而且土壤中最高检测到了147种抗生素抗性基因,其中抗生素灭活机制和外排泵机制是抗生素抗性基因产

生的主要机制,氨基糖苷类和 β -内酰胺类抗性基因是占主导地位的抗性基因。再生水灌溉后的公园绿地土壤中 *tnpA*-04 的检出丰度最高增加了 2 501.3 倍,表明再生水灌溉可促进抗生素抗性基因的传播扩散。也有研究^[28]发现,虽然再生水灌溉公园绿地可显著增加土壤中抗生素抗性基因的种类和丰度 ($P<0.05$),但并未显著增加 *int1* 和转座子 *tnpA* 的量 ($P>0.05$),表明再生水灌溉并未促进土壤中抗生素抗性基因的水平基因转移作用。综上可知,再生水灌溉对公园绿地土壤中的水平基因转移作用影响不一致,在之后的研究中需加深这方面的研究。

1.3 再生水利用对河流及地下水中抗生素抗性基因的影响

研究表明,污水处理厂出水是河流中抗生素抗性基因的主要来源^[29];通过研究污水排放至湖泊后底泥的抗生素抗性基因的分布,发现污水入湖口底泥中的抗生素抗性基因检出丰度是湖中心底泥的 200 倍,离污水排放点越远,抗生素抗性基因越少^[30];对我国 15 个城市的再生水入渗场地进行调查研究^[31],发现再生水和地下水中的抗生素抗性基因检出丰度表现出了明显的南北差异,且再生水中抗生素抗性基因相对丰度为 ND (未检测到)~6.47,地下水中抗生素抗性基因相对丰度为 ND~4.4, *sul1* 和 *sul2* 是所有样品中检出丰度最高的抗性基因。长期监测位点中,在垂直河流的水平方向上,离河岸越近,抗性基因的检出丰度越高,这表明入渗对浅层地下水有影响。此外,降雨量对入渗地区地下水中的抗性基因也有显著性影响,丰水期抗性基因的检出丰度明显高于枯水期的。研究指出,地下水是环境中抗生素的最终归宿地,当抗生素进入到地下水后,会在地下水中长期残留,进而破坏地下水稳定的微生物群落结构^[32];光照和温度可有效加速抗生素抗性基因的降解,但地下水的黑暗和低温条件不利于遏制抗生素抗性基因的传播扩散^[33],因此提出地下水系统很有可能成为抗性基因的另一储存库,建议开展我国地下水中抗生素抗性基因的研究,建立安全评估及预警体系^[32]。

1.4 再生水利用对作物中抗生素抗性基因的影响

再生水利用对作物中抗生素抗性基因分布的影响尚未见报道,但是在已被抗生素和粪肥等污染的土壤中种植作物后,均在作物体内检测到了抗生素抗性基因。研究指出,施用粪肥的蔬菜内生菌具有抗生素抗性,蔬菜表皮也可检测出抗生素抗性基因^[34];有机肥料种植的作物其叶际微生物内抗生素抗性基因检出丰度比无机肥料的高 7 倍,有机肥料的施用显著改变了作物体内的微生物群落结构分布 ($P<0.05$)^[13];在被磺胺类抗生素长期污染土壤中 *sul1* 和 *sul2* 的相对检出丰度为 10^{-4} copies/16S rRNA,土壤中未种植任何作物时,100 d 后土壤中抗生素抗性基因检出丰度无明显变化,但将生菜种植在土壤中后,土壤中基因的相对检出丰度降至 10^{-6} copies/16S rRNA。生菜不同部分的基因相对检出丰度顺序为根 (10^{-7} ~ 10^{-6} copies/16S rRNA) > 老叶 (10^{-8} ~ 10^{-7} copies/16S rRNA) > 新叶 (10^{-9} ~ 10^{-8} copies/16S rRNA)^[14];将不同作物(生菜和茼蒿)种植在经粪肥施用的土壤后,定性探究作物体内 12 种抗生素抗性基因(四环素类抗性基因、磺胺类抗性基因、 β -内酰胺类抗性基因、喹诺酮类抗性基因和红霉素抗性基因)的量,结果表明 *sul1*、*sul2*、*tetC* 和 *tetG* 均可在作物的不同部位检测到,且根部内生菌或叶际微生物中抗生素抗性基因的检出频率高于叶内生菌,同时作物的生长时间和作物类型均会影响抗生素抗性基因在作物体内的分布^[15]。

综上所述,再生水利用对环境中抗生素抗性基因的研究主要集中在国外,对我国的研究则较少。土壤类型、作物类型、再生水灌溉的不同技术和制度对土壤(根际土和非根际土)和作物中抗生素抗性基因的影响还未开始研究。此外,之前定量检测抗生素抗性基因时多采用的实时荧光定量 PCR 技术,由于检测的抗生素抗性基因数量较少,结果不具代表性,建议采用高通量定量 PCR 技术研究更多种类的抗生素抗性基因,从而深化结论。

2 影响抗生素抗性基因传播扩散的因素

从污水处理厂流出的再生水至农田等利用过程中,影响抗生素抗性基因传播扩散的因素有很多。总的来说,可以分为再生水系统(污水处理技术,配水管网等)、环境污染物(重金属、抗生素等)和环境因子(理化性质、微生物群落结构等)。

2.1 再生水系统

2.1.1 污水处理厂

通过研究 4 个城市污水处理厂和 8 个农村生活污水处理厂抗生素抗性基因丰度^[35],发现四环素类抗性基因 *tetO* 和 *tetQ* 的基因拷贝数和污水处理厂处理规模呈显著正相关(*tetO*: $R^2 = 0.394$, $P<0.05$; *tetQ*: $R^2 = 0.712$,

$P<0.01$)。有学者指出厌氧/好氧污泥消化处理、人工湿地、氯消毒、紫外消毒、膜处理和高级氧化处理在降低抗生素抗性基因检出丰度方面有潜在的应用价值^[36]。但也有研究^[37]表明,自来水处理厂中的生物活性炭深度处理工艺会显著增加抗生素抗性基因的检出数目和相对丰度。因此污水处理厂的工艺对对抗生素抗性基因的去除规律及机制需要更深入的研究。

2.1.2 配水管网

采用实时荧光定量PCR(qPCR)技术研究密歇根州和俄亥俄州的饮用水来源地、自来水处理厂出水和水龙头出水中的抗生素抗性基因丰度,结果表明抗生素抗性基因的检出丰度依次为水龙头出水>自来水处理厂出水>饮用水来源地^[38]。采用高通量定量PCR技术研究杭州自来水出水和经配水管网运输后水龙头的出水,发现 β -内酰胺类抗性基因的平均绝对丰度从 1.08×10^7 copies/L升至 5.12×10^8 copies/L,大部分(除others/efflux外)抗生素抗性基因的相对检出丰度增加^[37]。这些均证明配水管网可能成为抗生素抗性基因的储存库而增加水龙头出水中抗生素抗性基因的丰度。通过研究黄浦江和重要饮用水源中的抗生素抗性基因丰度和抗生素量,发现较低的水流速条件下抗生素抗性基因污染更严重^[39],这是因为抗生素抗性基因易在细菌密集的地方传播扩散,较低的水流速便利了抗性细菌的繁殖。

2.2 环境污染物

2.2.1 重金属

越来越多的研究表明环境中抗生素抗性基因的检出丰度与重金属污染密切相关。最初研究^[40]表明,除了*sul2*外,铜、锌、汞和其他*sul*类抗性基因(*sulA*、*sul1*和*sul3*)均有相关性($R=0.028\sim 0.888$);但是对于*tet*类抗性基因(*tetO*、*tetM*、*tetW*和*tetBP*),这些重金属仅和*tetBP*存在显著相关性($R=0.824$, $P=0.023$)。其他研究^[41]也表明,砷、铜和抗生素抗性基因检出丰度显著相关。在畜禽粪肥好氧堆肥过程中,有效态重金属与抗生素抗性基因的相关性高于总量重金属和抗生素抗性基因的相关性^[42],表明有效态重金属在某种程度上会影响抗生素抗性基因的传播扩散。最近的一些研究则表明,重金属抗性基因在某种程度上影响抗生素抗性基因的分布,如在研究污水处理厂时,发现重金属抗性基因(*czcA*和*arsB*)在某种程度上影响抗生素抗性基因*sul2*的传播扩散^[43];在粪肥和其对应土壤中,抗生素抗性基因数目和重金属抗性基因数目均有显著相关性($R^2=0.89$, $P<0.0001$; $R^2=0.89$, $P<0.0001$),表明重金属抗性基因可促进抗生素抗性基因传播扩散^[44]。

2.2.2 抗生素

通过研究上海黄浦江和重要饮用水源中抗生素抗性基因丰度和抗生素质量浓度,发现*sul*类抗性基因丰度与磺胺类抗生素质量浓度、*tet*类抗性基因丰度与四环素类抗生素质量浓度均存在显著相关性,表明抗生素抗性基因的传播可能与环境中残留的抗生素质量浓度相关^[39],这在其他的研究^[21]中也均有体现。抗生素抗性基因除了与同源抗生素存在显著相关性外,其与非同源的抗生素也存在着显著相关性^[45],表明不同种类抗生素的协同作用在抗性基因的传播扩散中起到了一定的作用。

2.2.3 有机污染物

基于农用土壤中有机污染物(菲、五氯苯酚、磺胺嘧啶和罗红霉素)和抗生素抗性基因的行为特征变化研究,与总量有机污染物相比,生物有效性有机污染物和抗生素抗性基因(*sul1*、*sul2*、*ermA*和*ermB*)的相关性系数分别为 $0.49\sim 0.62$ 、 $0.41\sim 0.57$ 、 $0.47\sim 0.66$ 、 $0.52\sim 0.61$ ($P<0.05$)^[46]。也有研究指出,杀虫剂、季胺类化合物、三氯生和防腐剂(三氯苯基尿素)等有可能通过协同抗性和交叉抗性这2种诱导机制成为抗生素抗性基因的潜在诱导因子^[31]。

2.3 环境因子

2.3.1 基本理化性质

基于我国3个城市9个养猪场周边土壤中的抗生素抗性基因丰度研究,发现土壤中总四环素类抗性基因(*tetM*、*tetQ*、*tetO*和*tetW*)的绝对检出丰度与土壤有机质量显著正相关($R^2=0.46$, $P<0.05$)^[47]。研究室外放养和室内养殖2种方式鸡场中的氯霉素类、四环素类、磺胺类抗性基因丰度变化时,发现某些抗生素抗性基因与环境条件显著正相关(比如:总有机碳、总氮、总磷、氨氮和*fexA*、*fexB*、*cfr*、*sul1*、*tetW*、*tetO*、*tetQ*和*tetS*的相关系数 $R=0.53\sim 0.87$, $P<0.01$)^[45]。对生态养殖场中抗生素抗性基因的分布的研究也表明抗生素抗性基因和总氮、总磷、总有机碳有显著相关性($P<0.05$), R^2 分别为0.515、0.332和0.451^[21]。不同季节的氧化沟出水(即消毒前出水)和紫外消毒出水中抗生素抗性基因(*tetA*、*tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetW*和*sul1*)存在显著

性差异 ($P<0.05$), 季节变化对抗生素抗性基因的平均去除率也有显著影响, 即冬季 (76.30%) > 春季 (64.81%) > 秋季 (44.30%) > 夏季 (34.84%), 表明温度对抗生素抗性基因的迁移转化会产生影响^[48]。

2.3.2 16S rRNA、可移动基因元件和微生物群落结构

研究表明, *tetM*、*sul2* 基因的绝对丰度与 16S rRNA 显著相关 ($tetM: R^2=0.552, P<0.05$; $sul2: R^2=0.448, P<0.05$), 表明污水处理厂细菌本底质量浓度在 *tetM*、*sul2* 的水平转移中发挥了重要作用^[35]; 此外, 在其他环境中, 也发现了类似的结论, 即总抗生素抗性基因的浓度与 16S rRNA 显著相关 ($R^2=0.882, P<0.001$)^[21]。

大量研究均表明, 可移动基因元件 (质粒、转座子、整合子等) 可影响抗生素抗性基因的迁移转化。如 *int1* 与所研究的抗生素抗性基因 (*tetG*、*tetW*、*sul1* 和 *sul2*) 显著相关, 说明 *int1* 促进了抗生素抗性基因的传播扩散^[10]; 转座子与抗生素抗性基因有显著相关性 ($P<0.01$), 这说明转座子在某种程度上也促进了抗生素抗性基因的传播扩散^[11]; 除可移动基因元件外, 微生物群落结构也可影响抗生素抗性基因的迁移转化^[49]。最近的一些研究则表明, 与可移动基因元件相比, 微生物群落结构对抗生素抗性基因的影响更大。有学者采用高通量定量 PCR 技术和“扩增子”测序手段研究污泥好氧堆肥过程中抗生素抗性基因和微生物群落结构的行为特征^[50], 方差分解分析 (variation partitioning analysis: VPA) 结果表明微生物群落结构和环境因素 (温度、pH、总氮和溶解性有机碳) 可共同解释 39.9% 的抗生素抗性基因变化, 可移动基因元件可单独解释 2.6% 的抗生素抗性基因变化, 表明在污泥堆肥过程中水平基因转移并不是最主要的影响因素; 基于氯消毒过程中抗生素抗性基因和微生物群落结构的行为特征变化研究^[51], 表明微生物群落结构对抗生素抗性基因的单独解释率为 57.22%, 远高于可移动基因元件的单独解释率 (16.63%), 这也证实微生物群落结构的变化对抗生素抗性基因的行为特征影响最大。

3 结论与展望

抗生素抗性基因的污染具有特殊性, 其传播对人类健康和生态系统均会造成危害, 因此有关其在自然环境中的分布、传播已引起广泛关注。目前再生水利用对环境中抗生素抗性基因的研究大多集中在调研阶段, 缺乏具体的实验支撑和内在机理的探索。且再生水在农田中利用方式比较单一, 对地下水的长期监测位点较少, 因此当前的研究还不足以解释再生水利用对环境中抗生素抗性基因的影响。针对上述内容, 建议从以下几点展开研究:

1) 再生水利用对我国不同土壤类型 (黑土、红壤、潮土等) 中抗生素抗性基因的影响。不同灌溉技术 (喷灌、滴灌、漫灌等)、再生水与清水的混灌、轮灌等以及灌溉制度 (在不同生育期灌溉等) 是如何影响土壤和作物体内抗生素抗性基因的传播扩散, 以及水源地至灌溉区的配水管网、流速等对抗生素抗性基因的影响也都有待研究。

2) 再生水入渗对地下水的影响可能是一个长期的过程, 为了更好地探究再生水对环境的潜在性风险, 需要开展长期定位监测。上述研究指出地下水可能成为抗生素抗性基因的储存库, 因此应加强对抗生素抗性基因在地下水系统中的传播扩散机制的研究。

3) 抗生素抗性基因在再生水-土壤-作物内的迁移转化规律研究。在作物体内可检测到一定数量的抗生素抗性基因, 但关于抗生素抗性基因是如何从土壤中迁移到作物体内还未知, 建议通过“扩增子”测序或宏基因组技术手段分析抗生素抗性基因在土壤-作物内的迁移转化。此外, 上述研究表明, 不同的作物体内积累的抗生素抗性基因是不同的, 因此可找出不同作物的指示性污染因子来预测作物所受到的抗生素抗性基因污染。

参考文献:

- [1] PRUDEN A, PEI R, STORTEBOOM H, et al. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado [J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(23): 7 445-7 450.
- [2] 张明美. 污水处理系统中抗生素抗性基因污染研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [3] 李中阳, 樊向阳, 齐学斌, 等. 再生水灌溉对不同类型土壤磷形态变化的影响 [J]. 水土保持学报, 2014, 28(3): 232-235.
- [4] BECERRA-CASTRO C, LOPES A R, VAZ-MOREIRA I, et al. Wastewater reuse in irrigation: a microbiological perspective on implications in soil fertility and human and environmental health [J]. Environment International, 2015, 75: 117-135.
- [5] LU S B, WANG J H, PEI L. Study on the effects of irrigation with reclaimed water on the content and distribution of heavy metals in soil [J]. Environmental Research and Public Health, 2016, 13(3): 298.

- [6] TUNC T, SAHIN U. Red cabbage yield, heavy metal content, water use and soil chemical characteristics under wastewater irrigation [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(7): 6 264-6 276.
- [7] LOPEZ-SERNA R, JURADO A, VAZQUEZ-SUNE E, et al. Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban ground waters underlying the metropolis of Barcelona, Spain [J]. *Environmental Pollution*, 2013, 174: 305-315.
- [8] HAACK S K, METGE D W, FOGARTY L R, et al. Effects on groundwater microbial communities of an engineered 30-day in situ exposure to the antibiotic sulfamethoxazole [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(14): 7 478-7 486.
- [9] AL-JASSIM N, ANSARI M I, HARB M, et al. Removal of bacterial contaminants and antibiotic resistance genes by conventional wastewater treatment processes in Saudi Arabia: Is the treated wastewater safe to reuse for agricultural irrigation [J]. *Water Research*, 2015, 73: 277-290.
- [10] WANG F H, QIAO M, LV Z E, et al. Impact of reclaimed water irrigation on antibiotic resistance in public parks, Beijing, China [J]. *Environmental Pollution*, 2014, 184: 247-253.
- [11] WANG F H, QIAO M, SU J Q, et al. High throughput profiling of antibiotic resistance genes in urban park soils with reclaimed water irrigation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(16): 9 079-9 085.
- [12] 闫书海. 畜禽养殖废水/粪便中典型抗药基因的调查研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [13] ZHU B K, CHEN Q L, CHEN S C, et al. Does organically produced lettuce harbor higher abundance of antibiotic resistance genes than conventionally produced? [J]. *Environment International*, 2016, 98: 152-159.
- [14] YE M, SUN M M, FENG Y F, et al. Effect of biochar amendment on the control of soil sulfonamides, antibiotic-resistant bacteria, and gene enrichment in lettuce tissues [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 309: 219-227.
- [15] WANG F H, QIAO M, CHEN Z, et al. Antibiotic resistance genes in manure-amended soil and vegetables at harvest [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 299: 215-221.
- [16] FORSBERG K J, REYES A, WANG B, et al. The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens [J]. *Science*, 2012, 337 (6098): 1 107-1 011.
- [17] NEGREANU Y, PASTERNAK Z, JURKEVITCH E, et al. Impact of treated wastewater irrigation on antibiotic resistance in agricultural soils [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46 (9): 4 800-4 808.
- [18] MUNIR M, XAGORAKI I. Levels of antibiotic resistance genes in manure, biosolids, and fertilized soil [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2011, 40 (1), 248-255.
- [19] FAHRENFELD N, MA Y, O'BRIEN M, et al. Reclaimed water as a reservoir of antibiotic resistance genes: distribution system and irrigation implications [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 130.
- [20] HEUER H, SMALLA K. Manure and sulfadiazine synergistically increased bacterial antibiotic resistance in soil over at least two months [J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9 (3): 657-666.
- [21] CHENG W X, LI J N, WU Y, et al. Behavior of antibiotics and antibiotic resistance genes in eco-agricultural system: A case study [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 304: 18-25.
- [22] HUANG X, LIU C X, LI K, et al. Occurrence and distribution of veterinary antibiotics and tetracycline resistance genes in farmland soils around swine feedlots in Fujian Province, China [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(12): 9 066-9 074.
- [23] CHEN C Q, LI J, CHEN P P, et al. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistances in soils from wastewater irrigation areas in Beijing and Tianjin, China [J]. *Environmental Pollution*, 2014, 193: 94-101.
- [24] SUI Q W, ZHANG J Y, CHEN M X, et al. Distribution of antibiotic resistance genes (ARGs) in anaerobic digestion and land application of swine wastewater [J]. *Environmental Pollution*, 2016, 213: 751-759.
- [25] DALKMANN P, BROSZAT M, SIEBE C, et al. Accumulation of pharmaceuticals, *Enterococcus*, and resistance genes in soils irrigated with wastewater for zero to 100 years in central Mexico [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e45397.
- [26] JECHALKE S, BROSZAT M, LANG F, et al. Effects of 100 years wastewater irrigation on resistance genes, class 1 integrons and IncP-1 plasmids in Mexican soil [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6(12): 163.
- [27] KOPMANN C, JECHALKE S, ROSENDAHL I, et al. Abundance and transferability of antibiotic resistance as related to the fate of sulfadiazine in maize rhizosphere and bulk soil [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 83(1): 125-134.
- [28] HAN X M, HU H W, SHI X Z, et al. Impacts of reclaimed water irrigation on soil antibiotic resistome in urban parks of Victoria, Australia [J]. *Environmental Pollution*, 2016, 211: 48-57.
- [29] LAPARA T M, BURCH T R, MCNAMARA P J, et al. Tertiary-treated municipal wastewater is a significant point source of antibiotic resistance genes into Duluth-Superior Harbor [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(22): 9 543-9 549.
- [30] CZEKALSKI N, GASCON D E, BURGMANN H. Wastewater as a point source of antibiotic-resistance genes in the sediment of a freshwater lake [J]. *ISME Journal*, 2014, 8 (7): 1 381-1 390.
- [31] 马业萍. 再生水入渗过程抗生素及抗性基因的分布及关联性分析[D]. 北京: 清华大学, 2015.
- [32] 童蕾, 姚林林, 刘慧, 等. 抗生素在地下水系统中的环境行为及生态效应研究进展 [J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(2): 27-36.
- [33] 徐冰洁, 罗义, 周启星, 等. 抗生素抗性基因在环境中的来源、传播扩散及生态风险 [J]. *环境化学*, 2010, 29(2): 169-178.
- [34] 隋倩雯, 张俊亚, 魏源送, 等. 畜禽养殖废水生物处理与农田利用过程抗生素抗性基因的转归特征研究进展 [J]. *环境科学学报*, 2016, 36 (1): 16-26.

- [35] CHEN H, ZHANG M M. Occurrence and removal of antibiotic resistance genes in municipal wastewater and rural domestic sewage treatment systems in eastern China [J]. *Environment International*, 2013, 55: 9-14.
- [36] 文汉卿, 史俊, 寻昊, 等. 抗生素抗性基因在水环境中的分布、传播扩散与去除研究进展 [J]. *应用生态学报*, 2015, 26(2): 625-635.
- [37] XU L K, OUYANG W Y, QIAN Y Y, et al. High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in drinking water treatment plants and distribution systems [J]. *Environmental Pollution*, 2016, 213: 119-126.
- [38] XI C W, ZHANG Y L, MARRS C F, et al. Prevalence of antibiotic resistance in drinking water treatment and distribution systems [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(17): 5 714-5 718.
- [39] JIANG L, HU X L, XU T, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes and their relationship with antibiotics in the Huangpu River and the drinking water sources, Shanghai, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 458-460: 267-272.
- [40] JI X L, SHEN Q H, LIU F, et al. Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai, China [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 235-236: 178-185.
- [41] ZHU Y G, JOHNSON T A, SU J Q, et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(9): 3 435-3 440.
- [42] CUI E P, WU Y, ZUO Y R, et al. Effect of different biochars on antibiotic resistance genes and bacterial community during chicken manure composting [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 203: 11-17.
- [43] DI CESARE A, ECKERT E M, D'URSO S, et al. Co-occurrence of integrase 1, antibiotic and heavy metal resistance genes in municipal waste water treatment plants [J]. *Water Research*, 2016, 94: 208-214.
- [44] ZHOU B R, WANG C, ZHAO Q, et al. Prevalence and dissemination of antibiotic resistance genes and coselection of heavy metals in Chinese dairy farms [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 320: 10-17.
- [45] HE L Y, LIU Y S, SU H C, et al. Dissemination of antibiotic resistance genes in representative broiler feedlots environments: identification of indicator ARGs and correlations with environmental variables [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(22): 13 120-13 129.
- [46] SUN M M, YE M, WU J, et al. Positive relationship detected between soil bioaccessible organic pollutants and antibiotic resistance genes at dairy farms in Nanjing, Eastern China [J]. *Environmental Pollution*, 2015, 206: 421-428.
- [47] WU N, QIAO M, ZHANG B, et al. Abundance and diversity of tetracycline resistance genes in soils adjacent to representative swine feedlots in China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(18): 6 933-6 939.
- [48] 苏超. 不同消毒方法削减城市污水处理厂尾水中抗生素抗性基因的比较研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [49] TAO W, ZHANG X X, ZHAO F Z, et al. High levels of antibiotic resistance genes and their correlations with bacterial community and mobile genetic elements in pharmaceutical wastewater treatment bioreactors [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (6): e0156854.
- [50] 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): 7 356-7 363.
- [51] JIA S Y, SHI P, HU Q, et al. Bacterial community shift drives antibiotic resistance promotion during drinking water chlorination [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(20): 12 271-12 279.

Occurrence of Antibiotic Resistance Genes in Environment with the Application of Reclaimed Water: A Review

CUI Erping^{1,2}, GAO Feng^{1,2}, CHEN Hong³, FAN Xiangyang^{1,2}, LI Zhongyang^{1,2}, LIU Yuan^{1,2}

(1. Farmland Irrigation Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang 453002, China; 2. Key Laboratory of High-efficient and Safe Utilization of Agriculture Water Resources of CAAS, Xinxiang 453003, China; 3. Department of Environmental Engineering, College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: The fate of heavy metal, antibiotics, bacterial community and so on in soil with reclaimed water irrigation had been investigated, however, the effect of reclaimed water irrigation on the fate of antibiotics resistance genes (ARGs) was remain unknown. Through the literature review, the occurrence of ARGs in environment with the application of reclaimed water and the factors that affecting the behavior of ARGs during the process of reclaimed water irrigation were illustrated. To better interpret the fate of ARGs, future research should focus on: the occurrence of ARGs in soil and crop with various irrigation technique and irrigation system, long-time monitoring the fate of ARGs and bacterial community in groundwater under reuse of reclaimed water, and the transformation of ARGs in reclaimed water-soil-crop system.

Key words: reclaimed water; antibiotic resistance genes; factors

责任编辑: 刘春成