

农田土壤抗生素抗性基因与重金属分布状况

丁记者, 李庆波, 刘佳, 李红萍, 程学敏, 李鑫, 凡玉杰, 栗向辉, 亓磊, 朱静媛

摘要: [目的] 研究农田土壤抗生素抗性基因(ARGs)及重金属的分布状况。 [方法] 在河南省某地工业区附近农田(观察区)及对照地区共9个采样区(观察区7个,对照区2个),收集16个土壤混合样本(观察区14个,对照区2个),经腐殖酸脱除剂处理后试剂盒提取土壤总DNA。通过聚合酶链反应(PCR)检测土壤中5类15种ARGs(*sulI*、*sulIII*、*tetA*、*tetC*、*tetE*、*tetM*、*tetQ*、*tetW*、*CTX-M-1*、*bla-TEM*、*SHV*、*strA*、*qnrA*、*qnrB*、*qnrS*)。PCR检测阳性结果送公司测序,并通过GenBank数据库采用BLAST软件进行同源性比对。采用原子吸收分光光度法测定土壤中总汞含量;原子荧光光谱法测定土壤中总砷含量;电感耦合等离子体发射光谱法测定土壤中铅、锌含量;电感耦合等离子体质谱法测定土壤中镉、铬、镍、铜的含量。 [结果] 观察区土壤共检测出*sulI*、*sulIII*、*tetC*、*tetA*、*tetM*、*bla-TEM*、*tetE*、*tetW*、*strA* 9种ARGs;除铬外,余7种重金属存在不同程度超标,其中镉和铅最大超标倍数达72.7和6.5。对照区农田土壤中未检测到ARGs,且无一重金属含量超标。ARGs阳性土壤中镉含量超标率为100%;而ARGs阴性土壤中各种重金属均未超标。 [结论] 河南某地工业区附近农田土壤中抗生素抗性基因*tetC*、*bla-TEM*的分布广泛,同时主要存在重金属镉、铅污染。

关键词: 农田土壤; 抗生素抗性基因; 重金属; 镉; 铅

Distribution of Antibiotic Resistance Genes and Heavy Metals in Agricultural Soil DING Ji-zhe, LI Qing-bo, LIU Jia, LI Hong-ping, CHENG Xue-min, LI Xin, FAN Yu-jie, LI Xiang-hui, QI Lei, ZHU Jing-yuan (College of Public Health, Zhengzhou University, Henan 450001, China). Address correspondence to ZHU Jing-yuan, E-mail: yuanzhu@zzu.edu.cn • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To describe the distribution of antibiotic resistance genes (ARGs) and heavy metals in soil of selected agricultural areas. [Methods] Sixteen mixed soil samples were collected from seven observation farmlands near an industrial zone (14 samples) and two control farmlands (2 samples). Total DNA in soil samples was extracted by soil DNA kit after pretreated with humic acid removal agent. Fifteen kinds of ARGs (*sulI*, *sulIII*, *tetA*, *tetC*, *tetE*, *tetM*, *tetQ*, *tetW*, *CTX-M-1*, *bla-TEM*, *SHV*, *strA*, *qnrA*, *qnrB*, and *qnrS*) were detected by polymerase chain reaction (PCR). Positive productions of PCR were out-sourced to be sequenced and using BLAST to compare sequences to Genbank. Mercury in soil samples was determined by atomic absorption spectrophotometry, arsenic by atomic fluorescence spectrometry, lead and zinc by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, as well as cadmium, chromium, nickel, and copper by inductively coupled plasma mass spectrometry. [Results] Nine kinds of ARGs (*sulI*, *sulIII*, *tetC*, *tetA*, *tetM*, *bla-TEM*, *tetE*, *tetW*, and *strA*) were found positive in the soil samples from the observation farmlands. Besides, the concentrations of seven heavy metals, except chromium, in the soil samples from the observation farmlands exceeded the relevant standard values by varied degrees; specifically, the maximum concentrations of cadmium and lead were 72.7 and 6.5 times of the corresponding standard values respectively. In control area soil samples, no ARGs or heavy metals with any concentration exceeding standard were found. The exceeding-standard rate of cadmium was 100% in the ARGs positive soil samples, whereas none of the heavy metals was found exceeding standard in the ARGs negative soil samples. [Conclusion] ARGs such as *tetC* and *bla-TEM* are prevalent in the agricultural soil near the industrial zone in Henan where cadmium and lead are the dominant heavy metal pollutants.

Key Words: agricultural soil; antibiotic resistance gene; heavy metal; cadmium; lead

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2015.15193

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金(编号: 81202174); 国家级大学生创新创业训练计划项目(编号: 201510459064)

[作者简介] 丁记者(1992—),男,本科生;研究方向:劳动卫生与环境卫生学;E-mail: zzujzd529@163.com

[通信作者] 朱静媛, E-mail: yuanzhu@zzu.edu.cn

[作者单位] 郑州大学公共卫生学院, 河南 450001

随着各地工业化进程的推进,各种环境污染问题接踵而来。抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)作为新型环境污染物的正逐渐引起普遍关注。虽然绝大多数临床ARGs源于自然界^[1-2],但ARGs的分布和播散影响和改变着自然环境,特别是微生态环境,也对人体健康产生着威胁^[3]。目前,国内外对

ARGs的分布研究主要集中在工业废水和医疗废弃物污染的水体、土壤及养殖场土壤等方面,对重金属污染的农田土壤则较少涉及。抗生素与重金属之间可能存在协同选择作用,ARGs分布也可能与某些重金属的污染有关^[4]。重金属污染主要来源于工业废水、废渣、废气及人类其他活动,因其在自然界中具有降解难、毒性高等特点,不仅对微生态环境产生影响,对人体健康亦可能存在未知的潜在危害^[5]。鉴于目前我国的重金属污染现状不容忽视^[6],而关于农田土壤中抗生素抗性基因分布和重金属污染状况的报道较少,本次研究对河南某地工业区附近观察区和对照区的农田土壤同时进行了重金属含量测定和5类ARGs的检测,以了解农田土壤中2类物质的分布水平。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集

按照HJ/T 166—2004《土壤环境监测技术规范》,选择河南某地工业区某工厂附近的农田为观察区,距离工厂主烟囱西侧(主导风向下风侧)大约800~2400 m;以远离工业生产农田(距离工厂主烟囱大约10 km)为对照区。以大约200 m×200 m为一个采样区采集农田土壤混合样。观察区于2014年3月和6月下旬的晴天采样2次,采样时间均为上午,分为7个观察区,以1~7命名;对照区分2个采样区,命名为1A和2A,于2014年3月采样1次;共收集土壤混合样本16个。根据当地环境监测站数据以及实地调查情况,可确定观察区与对照区农田土壤质地相似,种植农作物相似,均不存在生产抗生素的废水、生活污水、医院废水等污染,均排除动物粪便施肥等。按照农田土壤混合样采集要求,采用梅花点法,每个区分别采集5个点的土样,竹片去除土壤表面杂质,不锈钢采样锹垂直入土,采集深度约15~20 cm,采集土样约1 kg。将5个位点土样在牛皮纸上均匀混合,采用四分法取得混合土样约1 kg,装于白色棉布采样袋中,专人填写样品标签、采样记录,送实验室进行土壤重金属及理化指标测定。另一部分混合土样(约100 g)装于已提前高压灭菌的50 mL管送实验室进行基因检测。

1.2 主要仪器

美国利曼公司Hydra-C原子吸收分光光度仪,北京吉天公司AFS 9330型原子荧光光谱,美国利曼公司电感耦合等离子体发射光谱,日本安捷伦公司7700x型电感耦合等离子体质谱仪,圣欧国际有限公司Lab

Cycler聚合酶链反应(PCR)仪。

1.3 主要试剂

土壤DNA提取试剂盒购自美国OMEGA试剂公司;2×Taq PCR Master Mix和6×DNA Loading Buffer购自康为世纪生物科技有限公司;Marker DSTM 2000购自广州东盛生物科技有限公司;硝酸、盐酸、氢氟酸、高氯酸均为优级纯,购自北京化学试剂公司。

1.4 ARGs检测

采用参考文献中优化的脱腐方案^[7]对土壤样品进行预处理后,按照试剂盒说明书提取土壤总DNA。以土壤总DNA为模板,根据参考文献选择引物对以下抗生素抗性基因进行PCR检测:磺胺类抗性基因(*sulI*^[8]、*sulIII*^[8])、四环素类抗性基因(*tetA*^[9]、*tetC*^[9]、*tetE*^[9]、*tetM*^[9]、*tetQ*^[9]、*tetW*^[10])、β-内酰胺类抗性基因(*bla-TEM*^[11]、*CTX-M-I*^[11]、*SHV*^[11])、链霉素类抗性基因(*strA*^[12])和喹诺酮类抗性基因(*qnrA*^[13]、*qnrB*^[11]、*qnrS*^[13])。PCR反应体系为25 μL: 2×Taq PCR Master Mix 12.5 μL, 2.5 μL引物(终浓度0.25 μmol/L), 1 μL DNA溶液, 9 μL ddH₂O。PCR扩增条件为94℃预变性5 min后,94℃变性50 s、50℃退火50 s、72℃延伸50 s共30个循环,最后72℃延伸10 min。取5 μL扩增产物行1%琼脂糖凝胶电泳检测。PCR阳性产物送博尚生物公司测序,测序结果在GenBank数据库用BLAST软件进行同源性比对。

1.5 土壤重金属测定

土壤去除砂砾、根系等,待样品自然风干,研磨制备100目土壤样品待测。依据GB/T 17136—1997《总汞的测定 冷原子吸收分光光度法》测定土壤中总汞含量;GB/T 22105.2—2008《总砷的测定 原子荧光光谱法》测定土壤中总砷含量;电感耦合等离子体发射光谱法测定土壤中铅、锌含量;电感耦合等离子体质谱法测定土壤中镉、铬、镍、铜的含量。土壤污染物超标倍数(*n*)计算公式如下: $n = (\text{土壤某污染物实测值} - \text{某污染物质量标准}) / \text{某污染物质量标准}$ 。具体污染物质量标准GB 15618—1995《土壤环境质量标准》的二级标准。

2 结果

2.1 ARGs检测结果

表1可见,观察区农田采集的14个土壤混合样品中发现9种ARGs,其中3号和7号土壤样本中检测出抗性基因种类最多,以四环素类抗性基因和β-内酰

胺类药物的抗性基因为主; 对照区农田土壤样本 1A、2A 中未检测出 ARGs。其中, 观察区土壤镉含量均超标, 并且均检出 *tetC* 和 *bla-TEM*。

表 1 农田土壤 ARGs 检出情况
Table 1 Detection of ARGs in agricultural soil samples

组别 Group	采样区编码 Sampling area No.	ARGs	抗性基因 检出个数 Number of positive ARGs
观察区 Observation area	1	<i>sulI</i> 、 <i>tetC</i> 、 <i>tetA</i> 、 <i>bla-TEM</i>	4
	2	<i>tetC</i> 、 <i>bla-TEM</i>	2
	3	<i>sulI</i> 、 <i>sulIII</i> 、 <i>tetA</i> 、 <i>tetC</i> 、 <i>tetM</i> 、 <i>bla-TEM</i> 、 <i>strA</i>	7
	4	<i>tetA</i> 、 <i>tetC</i> 、 <i>bla-TEM</i>	3
	5	<i>tetC</i> 、 <i>bla-TEM</i>	2
	6	<i>sulIII</i> 、 <i>tetC</i> 、 <i>tetE</i> 、 <i>bla-TEM</i>	4
	7	<i>sulI</i> 、 <i>sulIII</i> 、 <i>tetC</i> 、 <i>tetM</i> 、 <i>tetW</i> 、 <i>bla-TEM</i>	6
对照区 Control area	1A	—	0
	2A	—	0

[注] *tetA*、*tetC*、*tetE*、*tetM*、*tetW*: 编码四环素类药物的抗性基因;
sulI、*sulIII*: 编码磺胺类药物的抗性基因; *bla-TEM*: 编码β-内酰胺类药物的耐药基因; *strA*: 编码链霉素抗性基因。
[Note] *tetA*、*tetC*、*tetE*、*tetM*、*tetW*: encoding resistance to tetracyclines;
sulI、*sulIII*: encoding resistance to sulfonamides; *bla-TEM*:
encoding antibiotic resistance to β-lactamase; *strA*: encoding
resistance to streptomycin.

以上 PCR 扩增阳性的代表产物经测序后, 在 GenBank 数据库中进行 blast 序列比对, 证实与已发表相似序列的识别度在 95%~100%。*sulI* 片段 (331 bp) 序列与来自嗜麦芽寡养单胞菌的序列 (KJ541068) 识别度为 100%; *sulIII* (435 bp) 序列与来自鲍氏不动杆菌的序列 (AP014650) 识别度为 99%; *tetM* (406 bp) 序列与来自猪链球菌的序列 (GQ221243) 识别度为 95%; *tetC* (418 bp) 序列与来自假链状双歧杆菌的序列 (CP007458) 识别度为 99%; *tetW* (406 bp) 序列与来自非培养微生物克隆的序列 (GU117055) 识别度为 100%; *bla-TEM* (1 080 bp) 序列与来自大肠埃希菌的序列 (AF104442) 识别度为 98%。

2.2 重金属检测结果

观察区土壤中除铬以外, 其他重金属均存在不同程度污染。其中, 镉在 7 个观察区土壤样本中均超标, 超标倍数为 6.6~72.7; 铅在 5 个观察区土样中超标, 超标倍数为 0.1~6.5; 汞在 3 个观察区土样中超标, 超标倍数为 0.3~3.8; 砷、铜、锌、镍仅在距离工厂最近的 1 号观察区土样中出现超标, 超标倍数分别为 0.8、0.6、

0.5、0.1; 观察区土样重金属测定均值见表 2。对照区农田土壤 1A、2A 未见重金属超标。汞含量 0.052 mg/kg 及 0.046 mg/kg, 砷含量 9.49 mg/kg 及 7.84 mg/kg, 铅含量 12.50 mg/kg 及 17.10 mg/kg, 镉含量 0.10 mg/kg 及 0.09 mg/kg, 铜、锌、镍、铬含量分别为 19.30、32.60、20.20、39.9 mg/kg 及 19.20、37.20、18.80、48.6 mg/kg。

表 2 观察区农田土壤重金属含量 (n=14, mg/kg)
Table 2 Contents of heavy metals in soil samples from
observation farmlands

重金属 Heavy metal	$\bar{x} \pm s$	最小值 Minimum	最大值 Maximum
汞 (Hg)	0.78 ± 0.82	0.17	3.29
砷 (As)	24.81 ± 13.08	13.50	55.70
铅 (Pb)	660.07 ± 721.03	131.00	2601.00
镉 (Cd)	6.97 ± 6.87	2.09	24.70
铜 (Cu)	64.58 ± 42.44	26.20	156.30
锌 (Zn)	159.89 ± 98.39	80.00	404.00
镍 (Ni)	43.18 ± 5.73	33.60	54.80
铬 (Cr)	48.93 ± 17.16	27.50	73.60

2.3 ARGs 和重金属分析

分别比较 14 份 ARGs 阳性样本和 2 份阴性样本土壤中重金属超标情况, 见表 3。ARGs 阳性样本中, 镉超标率为 100%, 铅超标率达 71.4%; ARGs 阴性样本中, 各种重金属均未超标。

表 3 ARGs 阳性与否农田土壤中重金属超标情况
Table 3 Heavy metals with standard-exceeding concentrations in
agricultural soil samples with positive and negative ARGs

超标重金属 Heavy metals with standard-exceeding concentrations	ARGs 阳性 (n=14) Positive ARGs		ARGs 阴性 (n=2) Negative ARGs	
	超标样本数 n	超标率 (%) Percentage	超标样本数 n	超标率 (%) Percentage
汞 (Hg)	6	42.9	0	0.0
砷 (As)	3	21.4	0	0.0
铅 (Pb)	10	71.4	0	0.0
镉 (Cd)	14	100.0	0	0.0
铜 (Cu)	2	14.3	0	0.0
锌 (Zn)	2	14.3	0	0.0
镍 (Ni)	2	14.3	0	0.0

3 讨论

土壤是 ARGs 的天然贮存库之一。备受人们关注的是如果某些重要 ARGs 被筛选出来, 在环境微生态中形成优势, 乃至播散至临床病原体, 将对人类健康造成重要威胁, 因此对土壤环境中 ARGs 的分布及影响其分布的因素进行研究显得尤为重要。促进 ARGs 分布与扩散的常见原因为抗生素的选择压力, 本研

究选择的 ARGs 类型为临床和养殖兽药中较早使用而且消费量较高的抗生素抗性基因,即针对磺胺类、四环素类和 β -内酰胺类抗生素的耐药基因 *sulI*、*sulIII*、*tetA*、*tetM*、*tetW*、*tetC* 和 *bla-TEM* 等。目前对以上 ARGs 分布的研究主要集中在海水及底泥^[14]、抗生素污染的河流底泥^[15]、从污水处理厂排出的水或淤泥^[16]、天然水体^[17]甚至生活饮用水^[18],以及接受来自养殖场动物粪便施肥的土壤^[4]中等,但在普通农田土壤中研究的较少。除了抗生素之外,还有一些其他因素也可以将微生物的抗生素抗性筛选出来,例如重金属或某些消毒剂的选择压力,但关于 ARGs 分布与土壤中重金属污染关系的研究尚不充分。本研究中所有的土壤样本可排除抗生素污染和滥用、工业废水灌溉、动物养殖粪便施肥、医疗用品或生物排泄物污染等,主要的环境选择压力来自观察区某工厂排放的工业废气。结果发现观察区农田土壤中可检测到一种或几种 ARGs,而对照区的农田土壤中则未检测到同类型 ARGs,提示这些 ARGs 的分布可能跟农田受工业废气污染有关。进一步的研究结果表明,该观察区农田土壤确实存在重金属污染。

该工厂的废气排放主要来自金属冶炼工艺,对观察区和对照区农田土壤中8种重金属含量进行检测,结果发现工业区附近农田土壤的铅、镉、汞、砷、镍、铜、锌7种重金属存在不同程度超标,以镉和铅污染为主,超标倍数分别高达72.7和6.5,与目前国内土壤重金属污染严重的其他研究报道结果相似^[19-20]。土壤污染存在气型污染方式,即大气中污染物的沉降造成土壤污染。一般认为土壤铅污染主要来自交通干道附近含铅大气的沉降^[6],但本研究中的农田土壤远离交通干道路段,土壤铅污染可能主要来自于含铅工业废气的沉降,提示大气工业污染对于土壤铅污染的贡献也值得关注。含镉废气的沉降是造成菜地土壤镉污染的主要原因^[21],可以解释本研究观察区农田土壤镉含量严重超标的现象。

有研究发现在河流中分离出对铅有抗性的粪肠球菌,同时存在对丁胺卡那、庆大霉素和单环 β -内酰胺类抗生素氨曲南的抗性,且发现这些抗性基因都同样位于染色体而非质粒,其性状和机制是紧密联系在一起的^[22],提示环境中重金属可能通过微生物共同的抗性机制来促进 ARGs 的筛选。但本研究观察区土壤铅含量超标,并未发现与 β -内酰胺类药物的抗性基因(*bla-TEM*)的分布相关,反而发现土壤镉污染可能影响

bla-TEM 的分布,其可能的机制尚需进一步研究证实。本研究中观察区土壤镉含量均超标,同时均检出 *tetC* 和 *bla-TEM*;对照区镉含量均未超标,这与其他相关研究结果较为不同。国外相关研究关注的土壤重金属种类与我国情况不同,多见铜、铬、锌、铅等,我国土壤常见的重金属污染物则是汞、镉、砷、铅等;即使相同重金属,其土壤含量水平也相差较大^[4, 23]。2011年来自英国土壤 ARGs 和重金属关系的定量研究发现,多数四环素类药物抗性基因和 β -内酰胺类药物抗性基因分布与土壤中铜含量相关,个别 ARGs 与土壤铬含量相关^[23]。2012年来自上海养殖场附近土壤的相关研究表明,磺胺类药物抗性基因丰度与土壤铜、锌、和汞含量有关,四环素类抗生素抗性基因丰度与土壤砷含量有关^[4]。与上述研究比较,本研究土壤中重金属分布的主要特点是土壤镉污染严重(文献[4]中土壤镉含量低于检出限),其他重金属含量有高有低,提示可能应综合考虑多种重金属对 ARGs 分布的影响,本研究结果为进一步研究土壤重金属对 ARGs 分布的影响提供了更多思路。

对 ARGs 的 PCR 阳性产物测序结果进行 blast 比对分析发现,这些 ARGs 序列分别与广泛分布于环境的条件致病菌(嗜麦芽寡养单胞菌、鲍氏不动杆菌),动物致病菌(猪链球菌),环境中不可培养微生物,以及可能的临床致病菌(大肠埃希菌)相关序列高度识别,揭示了土壤环境中 ARGs 来源与分布的复杂性。

本研究发现工业区附近农田土壤重金属镉污染可能与抗生素抗性基因 *tetC* 和 *bla-TEM* 的分布有关,尚需更多研究揭示多种重金属对 ARGs 分布影响的规律,为有效预防及控制 ARGs 的分布和扩散提供科学依据。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

- [1] Martinez J L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments[J]. Science, 2008, 321(5887): 365-367.
- [2] Munir M, Xagoraki I. Levels of antibiotic resistance genes in manure, biosolids, and fertilized soil[J]. J Environ Qual, 2011, 40(1): 248-255.
- [3] Djordjevic S P, Stokes H W, Roy Chowdhury P. Mobile elements, zoonotic pathogens and commensal bacteria: conduits for the delivery of resistance genes into humans,

- production animals and soil microbiota[J]. *Front Microbiol*, 2013, 4: 86.
- [4] Ji X, Shen Q, 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]. *J Hazard Mater*, 2012, 235-236: 178-185.
- [5] Zhuang P, McBride MB, Xia H, et al. Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China[J]. *Sci Total Environ*, 2009, 407(5): 1551-1561.
- [6] He B, Yun ZJ, Shi JB, et al. Research progress of heavy metal pollution in China: Sources, analytical methods, status, and toxicity[J]. *Chinese Sci Bull*, 2013, 58(2): 134-140.
- [7] 席峰, 傅莲英, 王桂忠, 等. 海洋沉积物DNA提取前的简易脱腐方法研究[J]. *高技术通讯*, 2006, 16(5): 539-544.
- [8] Chen S, Zhao S, White DG, et al. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant salmonella serovars isolated from retail meats[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(1): 1-7.
- [9] Ng LK, Martin I, Alfa M, et al. Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes[J]. *Mol Cell Probes*, 2001, 15(4): 209-215.
- [10] Aminov RI, Garrigues-Jeanjean N, Mackie RI. Molecular ecology of tetracycline resistance: development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(1): 22-32.
- [11] Wu JJ, Ko WC, Tsai SH, et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA, QnrB, and QnrS among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese hospital[J]. *Antimicrob Agents Chemothe*, 2007, 51(4): 1223-1227.
- [12] Toleman MA, Bennett PM, Bennett DM, et al. Global emergence of trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* mediated by acquisition of sul genes[J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(4): 559-565.
- [13] Adachi F, Yamamoto A, Takakura K, et al. Occurrence of fluoroquinolones and fluoroquinolone-resistance genes in the aquatic environment[J]. *Sci Total Environ*, 2013, 444: 508-514.
- [14] Rahman MH, Nonaka L, Tago R, et al. Occurrence of two genotypes of tetracycline (TC) resistance gene tet(M) in the TC-resistant bacteria in marine sediments of Japan[J]. *Environ Sci Technol*, 2008, 42(14): 5055-5061.
- [15] Kristiansson E, Fick J, Janzon A, et al. Pyrosequencing of antibiotic-contaminated river sediments reveals high levels of resistance and gene transfer elements[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e17038.
- [16] Zhang T, Zhang XX, Ye L. Plasmid metagenome reveals high levels of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in activated sludge[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26041.
- [17] Colomer-Lluch M, Jofre J, Muniesa M. Antibiotic resistance genes in the bacteriophage DNA fraction of environmental samples[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17549.
- [18] Guo X, Li J, Yang F, et al. Prevalence of sulfonamide and tetracycline resistance genes in drinking water treatment plants in the Yangtze River Delta, China[J]. *Sci Total Environ*, 2014, 493: 626-631.
- [19] Wei BG, Yang LS. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China[J]. *Microchemical J*, 2009, 94(2): 99-107.
- [20] Chang CY, Xu XH, Liu CP, et al. Heavy metal accumulation in balsam pear and cowpea related to the geochemical factors of variable-charge soils in the Pearl River Delta, South China[J]. *Environ Sci Process Impacts*, 2014, 16(7): 1790-1798.
- [21] 黄顺生, 华明, 金洋, 等. 南京郊区某菜地土壤镉污染水平及其来源调查[J]. *土壤通报*, 2008, 39(1): 129-132.
- [22] Aktan Y, Tan S, Icen B. Characterization of lead-resistant river isolate *Enterococcus faecalis* and assessment of its multiple metal and antibiotic resistance[J]. *Environ Monit Assess*, 2013, 185(6): 5285-5293.
- [23] Knapp CW, McCluskey SM, Singh BK, et al. Antibiotic resistance gene abundances correlate with metal and geochemical conditions in archived Scottish soils[J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27300.

(收稿日期: 2015-02-28)

(英文编辑: 汪源; 编辑: 洪琪; 校对: 王晓宇)