

水产养殖环境中抗生素抗性基因的研究进展

李十盛^{1,2}, 高 会^{2*}, 赵富强^{2,4}, 陈以芹², 张克玉^{1,2}, 黄加劲^{1,2}, 那广水^{1,2,3*} (1.上海海洋大学海洋生态与环境学院,上海市 201306; 2.国家海洋环境监测中心,辽宁 大连 116023; 3.海南热带海洋学院生态环境学院,海南 三亚 572022; 4.大连海洋大学海洋科技与环境学院,辽宁 大连 116023)

摘要: 为摸清我国水产养殖环境抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)污染状况,统计了当前水产养殖环境水、沉积物和养殖对象中七大类抗性基因的赋存状况,进一步分析了影响其赋存的因素,对未来我国水产养殖 ARGs 污染研究进行了展望.水产养殖环境中 ARGs 主要以 iDNA 形式存在;磺胺类和四环素类抗性基因的丰度和检出率较高,被认为是水产养殖环境主要的 ARGs,已受到当前研究的广泛关注;而喹诺酮类、氯霉素类、 β -内酰胺类、大环内酯类和氨基糖苷类抗性基因报道的丰度和检出率相对较低.养殖过程中,养殖用药、饲料及养殖模式是影响水产养殖环境 ARGs 赋存的主要因素,但环境理化因子调节养殖环境 ARGs 的作用也不容忽视.

关键词: 抗生素抗性基因(ARGs); 水产养殖环境; 赋存状况; 影响因素

中图分类号: X52 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2021)11-5314-12

Research progress on the occurrence and influencing factors of antibiotic resistance genes in aquaculture environment. LI Shi-sheng^{1,2}, GAO Hui^{2**}, ZHAO Fu-qiang^{2,4}, CHEN Yi-qin², ZHANG Ke-yu^{1,2}, HUANG Jia-jin^{1,2}, NA Guang-shui^{1,2,3*} (1.College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2.National Marine Environmental Monitoring Center, Dalian 116023, China; 3.College of Ecology and Environment, Hainan Tropical Ocean University, Sanya 572022, China; 4.College of Marine Technology and Environment, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China). *China Environmental Science*, 2021,41(11): 5314~5325

Abstract: It is important to clarify the contamination status of antibiotic resistance genes (ARGs) in the aquaculture environment in China. In this paper, the current status of the occurrence of seven major classes of resistance genes in aquaculture environmental water, sediment and aquatic products was counted. The factors influencing their occurrence were further analyzed. The future research on the pollution of ARGs in aquaculture in China was prospected. ARGs in the aquaculture environment are mainly in the form of iDNA. Sulfonamide and tetracycline resistance genes are considered to be the major ARGs in aquaculture environments due to their high abundance and detection rates, while the abundance and detection rate of quinolones, chloramphenicol, β -lactams, macrolides and aminoglycosides resistance genes are reported to be relatively low. In the process of aquaculture, aquaculture drugs, feed and culture mode are the main factors affecting the occurrence of ARGs in aquaculture environment, but the role of environmental physical and chemical factors in regulating ARGs in aquaculture environment cannot be ignored.

Key words: antibiotic resistance genes; aquaculture environment; occurrence state; influencing factors

我国水产养殖养殖总面积高达 719 万 $\text{hm}^{[1]}$,水产养殖产量占全球的 61.2%^[2].我国水产养殖用药的种类繁多,常用的药品有抗菌类药物、水体消毒剂、抗寄生虫药物、抗真菌药物等九类^[3].其中我国批准应用于水产养殖的抗菌类药物包括多甲砒霉素、四环素、恩诺沙星、氟苯尼考、磺胺嘧啶和甲氧苄啶^[4]等数十种.但随着水产养殖产业的飞速发展,为了提高水产养殖对象产量,降低养殖成本,抗生素作为养殖药物或混合饲料大量投入使用,这和健康养殖相互矛盾^[5].水产养殖环境抗生素被认为是自然水体抗生素主要来源之一^[6-7],如长江流域和珠江下游抗生素浓度在 N.D.~537ng/L 之间^[8-9];海河流域抗生素

平均浓度为 821ng/L^[10];南黄海和东海沿岸抗生素浓度在 N.D.~497.6ng/L 之间^[6,11],北部湾河口和沿海抗生素总浓度为 1.81~118ng/L^[7];黄海、渤海抗生素浓度仅 N.D.~16.6ng/L^[12].而黄海周边典型水产养殖场和中国东南部海水养殖场中抗生素浓度在 N.D.~995.02ng/L^[13-14];北部湾海水养殖区抗生素总浓度达 43.2~885ng/L,远高于其周围环境水体^[7].抗生素

收稿日期: 2021-04-07

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD0901104);国家自然科学基金资助项目(41976222,42006195);自然资源部海洋大气化学与全球变化重点实验室开放基金(GCMAC2010)

* 责任作者,研究员, gsna@nmemc.org.cn; ** 工程师, hgao@nmemc.org.cn

的频繁使用不仅降低了抗生素的药效,还促进水产养殖环境和养殖生物体内抗性细菌及抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)的发生,加速了 ARGs 的传播,导致水产养殖环境成为抗生素和 ARGs 的潜在储藏库^[14-15]。

ARGs 是可使细菌能耐受更高浓度抗生素,或者其缺失会导致细菌对抗生素的易感性增加的基因,其可原本便存在于环境细菌的基因组中,也可细菌经过基因突变而获得^[16],通过垂直基因转移^[17]和水平基因转移^[18-19]传播,但养殖环境中持续的选择压力(抗生素等),加速了 ARGs 出现、入侵和侵占这一过程^[20]。如果抗生素选择压力足够大,很低概率的抗性也可被细菌选择获得和转移^[21]。Davies 等^[22]表示 ARGs 污染及其在整个生物圈微生物种群中的分布是人类使用抗生素的持续选择的结果,这不是自然过程,而是叠加在自然上的人为情况。

水产养殖环境中,ARGs 随着菌群迁移传播,可直接进入养殖生物体内,最终通过食物链和人类肠道微生物群进行水平基因转移^[15,23-24]。Yang 等^[25]发现海水养殖沉积物中质粒和转座子携带的 ARGs 与人类致病菌中的 ARGs 序列高度相似。即使携带 ARGs 的细菌被杀灭,它仍可以释放到环境中,并随着养殖水体扩散或定期交换到自然水体当中^[26],严重影响生态健康。Hedberg 等^[27]研究也表明水产养殖尾水是沿海水域 ARGs 的重要来源。由于 ARGs 在环境和生物体内的传播长久而持续,造成生态和食品安全的不确定性风险,引发社会越来越多的关注。世界卫生组织(WHO)将抗生素耐药性的传播列为 21 世纪公共卫生面临的三大最严重威胁之一^[28]。ARGs 作为一类新型环境污染物,其在水产养殖环境介质中的传播扩散可能比抗生素本身的危害更大^[29]。

与医疗^[30-31]、污水处理^[32-33]、禽畜粪便^[34-35]等环境相比,水产养殖环境由于养殖模式、养殖品种、养殖阶段等不同,甚至城市污水处理厂、畜禽养殖场未被完全清除的抗生素及 ARGs 排放到河流^[36-38],随着水体交换最终进入水产养殖环境,导致水产养殖中 ARGs 的研究及控制更难以开展。水产养殖环境中的 ARGs 作为影响人类健康、生态系统、养殖生产力重要节点^[39](图 1),而其赋存状况及影响因素研究相对较少。因此,本文以水产养殖环境为研究区域,结合近年相关文献(以 PCR 检测方法为基

础),分析了水产养殖环境中喹诺酮类、 β -内酰胺类、大环内酯类、氯霉素类、四环素类、磺胺类(含甲氧苄氨嘧啶类)以及氨基糖苷类 ARGs 赋存状况,探究了影响水产养殖环境 ARGs 赋存和传播的影响因素,为未来水产养殖环境 ARGs 的深入研究和控制提供科学依据。

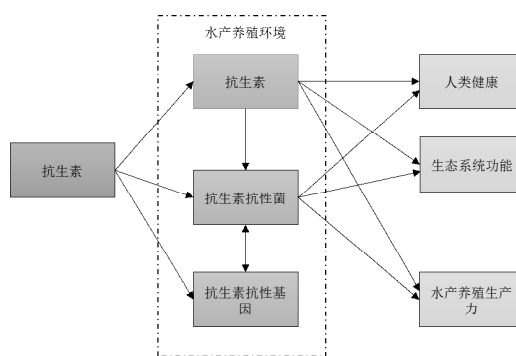


图 1 抗生素、抗性菌和 ARGs 在水产养殖环境中作用的因果关系

Fig.1 Causal relationships between the role of antibiotics, antibiotic-resistant bacteria and ARGs in aquaculture environment

1 水产养殖环境中抗生素抗性基因赋存状况

1.1 水产养殖环境中抗生素抗性基因存在形态

目前环境中的 ARGs 主要以两种形式存在: iARGs 和 eARGs。iARGs 是胞内 DNA(iDNA)所携带的 ARGs,主要存在抗生素抗性细菌体内,可以通过复制传给下一代,也可以通过接合和转导传递给其它物种^[8,40]。eARGs 是游离态的胞外 DNA(eDNA)所携带 ARGs,可由死细菌裂解或活细菌分泌释放,裸露于环境介质中,并具有很长的存在周期,可通过转化方式进入到水环境的细菌中,使细菌获得抗生素抗性^[8,40]。与 iARGs 相比,eARGs 因为其特有的性质更容易在环境中传播,对人体健康和生态系统产生严重的威胁,研究表明^[41]丰富的 eDNA 导致了水生环境中 ARGs 高转移频率。可见,胞内外 ARGs 的传播扩散形式大不相同。

研究发现在渤海海水,来自医院、制药厂、污水处理厂的污泥,以及渤海、海河、城市湖泊的沉积物中,eARGs 的丰度皆高于 iARGs,沉积物中的 eDNA 被认为可被粘土矿物、沙子和腐殖质吸收,保护它不受部分核酸酶失活和物理分离的攻

击^[19,42-43].与上述区域不同,Yuan 等^[41]在汕头的牛蛙和鱼,虾和蟹混养的养殖场沉积物中发现,ARGs 主要以 iARGs 形式存在,iDNA 中可检测 ARGs 的平均检测频率(60.3%)高于 eDNA(40.6%).同时,在牲畜粪便中,eDNA 占污泥中总 DNA 的不到 1.5%^[35],与汕头养殖场的 ARGs 的胞内胞外分布相似.这可能是 eDNA 主要来源是死细胞的裂解释放^[42],而牲畜和水产养殖场的营养丰富,能够很好地支持活细胞的生长和存活.因此, iDNA 可能是水产养殖环境中 ARGs 的主要存在形式.

1.2 水产养殖环境水体中抗生素抗性基因赋存状况

ARGs 在水产养殖环境水体中普遍存在,ARGs 相对丰度水平在 $1.28\times10^{-8}\sim1.87\times10^{-1}$ copies/16s rRNA 之间(见表 1).目前水产养殖环境水体中 ARGs 研究集中在磺胺类(包括甲氧苄氨嘧啶)、四环素类、喹诺酮类、氯霉素类、 β -内酰胺类、大环内酯类六大类.其中磺胺类 ARGs(含甲氧苄氨嘧啶)有 *sul1*、*sul2*、*sul3*、*dhfrA1*;四环素类 ARGs 有 *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE*、*tetG*、*tetH*、*tetL*、*tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetS*、*tetW*、*tetX*、*tetZ*、*tetB(P)*、*tetA-P*;

喹诺酮类 ARGs 有 *qnrA*、*qnrD*、*qnrS*、*aac(6')-Ib-cr*;氯霉素类 ARGs 有 *cmlA*、*floR*、*catA2*、*cml_e1*、*cml_e3*、*catA1*、*fexA*、*cfr*; β -内酰胺类 ARGs 有 *blaTEM*、*blaCTX*、*blaSHV*、*EBC*、*FOX*;大环内酯类 ARGs 有 *ermC*、*ermA*(见图 2).

在多数报道中,磺胺类 *sul1*、*sul2* 丰度占养殖水总 ARGs 相对最高,*sul2* 被认为是中国海水养殖场中最常检测到的抗性基因^[14].其次是四环素类 ARGs,其亚型最为丰富,*tetB* 和 *tetD* 在韩国海水养殖场可占总 ARG 的 74.8%~98.0%^[44].但是不同养殖区域,养殖对象不同造成的 ARGs 赋存状况存在很大差异.如喹诺酮类 *qnrD* 在珠江三角洲河口白腿虾养殖区为主要检出 ARG^[45],*qnrS* 在杭州湾河口虾养殖区相对丰度能达到 9.97×10^{-3} copies/16s rRNA^[46],这可能是喹诺酮类抗生素在虾养殖中大量使用,且喹诺酮类 ARGs 在沿海水域研究^[47]中是主要的抗性基因.而氯霉素类 ARGs,*floR* 在数地^[44-46,48]均有报道;水东湾虾场虾塘水中 *cmlA* 有极高丰度^[48]. β -内酰胺类 ARGs 的研究报道相对较少却不容忽视,韩国沿海养殖场 *blaTEM* 相对丰度能达到 1.04×10^{-3} copies/16s rRNA^[44,49].

表 1 水产养殖环境水体中 ARGs 赋存
Table 1 Occurrence of ARGs in aquaculture environmental water bodies

抗生素类型	抗生素抗性基因(ARGs)	丰度水平	环境来源地
喹诺酮类	<i>qnrA/qnrD/qnrS</i>	—	广东茂名市水东湾 ^[48]
	<i>qnrS</i>	(100%); 9.97×10^{-3} a	杭州湾,萧山,绍兴,慈溪,平湖 ^[46]
	<i>qnrS</i>	(100%); $8.57\times10^{-7}\sim3.45\times10^{-2}$ a; $8.68\sim1.37\times10^6$ b	海南东寨港 ^[50]
	<i>qnrS</i>	(83.3%); $2.43\times10^{-5}\sim1.74\times10^{-4}$ a	珠江口西岸 ^[23]
	<i>qnrD/qnrS/aac(6')-Ib-cr</i>	—	韩国全罗南道省和济州岛沿海养殖场 ^[44]
β -内酰胺类	<i>qnrA/qnrD/qnrS</i>	—	广州珠江三角洲河口水产养殖区 ^[45]
	<i>blaTEM/blaCTX/blaSHV</i>	$1.83\times10^{-5}\sim1.04\times10^{-3}$ a/ $1.28\times10^{-8}\sim1.31\times10^{-6}$ a	韩国全罗南道省和济州岛沿海养殖场 ^[44]
	<i>EBC/FOX</i>	—	珠三角华南中山 ^[49]
大环内酯类	<i>ermC</i>	—	韩国全罗南道省和济州岛沿海养殖场 ^[44]
	<i>ermA</i>	—	珠三角华南中山 ^[49]
氯霉素类	<i>cmlA/floR</i>	—	广东茂名市水东湾 ^[48]
	<i>floR</i>	(100%)	杭州湾,萧山,绍兴,慈溪,平湖 ^[46]
	<i>catA2/cml_e1/cml_e3/catA1</i>	(90%/90%/90%/80%); $8.57\times10^{-7}\sim3.45\times10^{-2}$ a; $8.68\sim1.37\times10^6$ b	海南东寨港 ^[50]
	<i>floR</i>	—	韩国全罗南道省和济州岛沿海养殖场 ^[44]
	<i>cmlA/floR/fexA/cfr</i>	—	广州珠江三角洲河口水产养殖区 ^[45]
四环素类	<i>tetQ/tetW/tetX/tetB/tetO/tetA</i>	—	中国海南省,会文、和乐、陵水、铁炉港、海头港、临高 ^[51]
	<i>tetA/tetB/tetC/tetM/tetO/tetH</i>	(100%/100%/100%/100%/50%/41.7%); 10^{-5} a/ 10^{-4} a	杭州湾,萧山,绍兴,慈溪,平湖 ^[46]
	<i>tetA/tetC/tetG/tetM</i>	(90%); $8.57\times10^{-7}\sim3.45\times10^{-2}$ a; $8.68\sim1.37\times10^6$ b	海南东寨港 ^[50]
	<i>tetA/tetB/tetC/tetH/tetM/tetO</i>	(83.3%/66.7%/83.3%/50%/66.7%/66.7%); $5.90\times10^{-6}\sim1.68\times10^{-2}$ a	珠江口西岸 ^[23]

续表 1

抗生素类型	抗生素抗性基因(ARGs)	丰度水平	环境来源地
磺胺类	<i>tetW/tetG/tetX</i>	—	江苏省白马湖水产养殖场 ^[52]
	<i>tetA/tetB/tetD/tetE/tetG/tetH/tetM/tetQ/tetX/tetZ/tetB(P)</i>	—	韩国全罗南道省和济州岛沿海养殖场 ^[44]
	<i>tetA/tetB/tetC/tetE/tetG/tetL/tetA-P/tetM/tetO/tetS/tetW/tetX</i>	—	珠三角华南中山 ^[49]
	<i>tetM</i>	—	日本 the Uwa Sea;芬兰;台湾 ^[5]
	<i>tetO/tetQ/tetW/tetX</i>	—	广州珠江三角洲河口水产养殖区 ^[45]
	<i>sul1/sul2</i>	—	广东茂名市水东湾 ^[48]
	<i>sul1/sul2/sul3</i>	—	中国海南省,会文、和乐、陵水、铁炉港、海头港、临高 ^[51]
	<i>sul1/sul2/sul3</i>	(100%/100%/25%); 1.94×10^{-2} a/-/-	杭州湾,萧山,绍兴,慈溪,平湖 ^[46]
	<i>sul1/sul2</i>	(90%/90%); $8.57\times10^{-7}\sim3.45\times10^{-2}$ a; $8.68\sim1.37\times10^6$ b	海南东寨港 ^[50]
	<i>sul1/sul2/sul3</i>	—	日本 the Uwa Sea;芬兰;台湾 ^[5]
	<i>sul2</i>	$1\times10^4\sim2.1\times10^5$ b	Vam Co 河(越南隆安省) ^[53]
	<i>sul1</i>	—	江苏省白马湖水产养殖场 ^[52]
	<i>sul1/sul2</i>	8.55×10^{-6} a~ 5.96×10^{-5} ; $6.66\times10^{-7}\sim3.08\times10^{-5}$ a	韩国全罗南道省和济州岛沿海养殖场 ^[44]
	<i>sul1/sul2</i>	—	珠三角华南中山 ^[49]
	<i>sul1/sul2</i>	—	广州珠江三角洲河口水产养殖区 ^[45]
	<i>sul1/sul2/sul3</i>	(100%/100%/33.3%); $1.47\times10^{-4}\sim1.87\times10^{-1}$ a	珠江口西岸 ^[23]
甲氧苄氨嘧啶	<i>dfrA1</i>	(90%); $8.57\times10^{-7}\sim3.45\times10^{-2}$ a; $8.68\sim1.37\times10^6$ b	海南东寨港 ^[50]

注:a为相对丰度(copies/16S rRNA);b为绝对丰度(copies/mL;copies/g);-为数据未明确报道;()内为检出率;加粗为报道主要ARG表2、3同上。

1.3 水产养殖环境沉积物中抗生素抗性基因赋存状况

据统计水产养殖环境沉积物中 ARGs 相对丰度在 $1.25\times10^{-6}\sim1.08\times10^{-1}$ copies/16s rRNA 之间(见表 2)。其中磺胺类 ARGs(含甲氧苄氨嘧啶类)有 *sul1*、*sul2*、*sul3*、*sulA/folP*、*dfrA1*;四环素类 ARGs 有 *tetA*、*tetB*、*tetC*、*tetD*、*tetE*、*tetG*、*tetH*、*tetL*、*tetM*、*tetO*、*tetQ*、*tetS*、*tetT*、*tetW*、*tetX*、*tetA-P*;喹诺酮类 ARGs 有 *qnrA*、*qnrD*、*qnrS*、*oqxB*;氯霉素类 ARGs 有 *cmlA*、

floR、*catal*、*cata2*、*cml_e1*、*cml_e3*、*cfrr*;β-内酰胺类 ARGs 有 *blaSHV*、*blaTEM-1*、*blanps-1*、*blatla-1*、*EBC*、*FOX*;大环内酯类 ARGs 有 *ermF*、*ermB*、*ermA*;氨基糖苷类 ARGs 有 *strB*、*aacA1*、*aacA7*(见图 2)。*sul1*、*sul2* 丰度依然较高,*sul1* 被认为是珠江口水产养殖^[45]沉积物中 ARGs 的潜在指标;*tetA* 被认为是珠江三角洲养殖场沉积物中四环素 ARGs 丰度的潜在指标^[49]。

表 2 水产养殖环境沉积物中 ARGs 赋存
Table 2 Occurrence of ARGs in sediments of aquaculture environment

抗生素类型	抗生素抗性基因(ARGs)	丰度水平	环境来源地
喹诺酮类	<i>qnrA/qnrD/qnrS</i>	—	广东茂名市水东湾 ^[48]
	<i>qnrS</i>	(100%)	杭州湾,萧山,绍兴,慈溪,平湖 ^[46]
	<i>qnrA/qnrS/qnrD/oqxB</i>	2.15×10^{-2} a/ 2.13×10^{-2} a/ 1.67×10^{-2} a/ 1.47×10^{-2} a	大连,唐山,蓬莱,连云港,启东,象山,宁德,东山,湛江,陵水 ^[56-57]
	<i>qnrS</i>	(100%); $1.57\times10^{-2}\sim1.08\times10^{-1}$ a; $1.13\times10^8\sim5.34\times10^8$ b	海南东寨港 ^[50]
	<i>qnrS</i>	(80%); $9.95\times10^{-6}\sim6.30\times10^{-4}$ a	珠江口西岸 ^[23]
	<i>qnrA/qnrD</i>	—	广州珠江三角洲河口水产养殖区 ^[45]
β-内酰胺类	<i>blaSHV</i>	(5%~80%)	智利南部 Región de Los Ríos ^[58]
	<i>blaTEM-1/blanps-1/blatla-1</i>	—	中国汕头 ^[41]
	<i>EBC/FOX</i>	—	珠三角华南中山 ^[49]
大环内酯类	<i>ermF</i>	(5%~80%)	智利南部 Región de Los Ríos ^[58]
	<i>ermB</i>	—	中国汕头 ^[41]
	<i>ermA</i>	—	珠三角华南中山 ^[49]

续表 2

抗生素类型	抗生素抗性基因(ARGs)	丰度水平	环境来源地
氯霉素类	<i>cmlA/floR</i>	—	广东茂名市水东湾 ^[48]
	<i>floR</i>	(100%)	杭州湾,萧山,绍兴,慈溪,平湖 ^[46]
	<i>catA2/cml_e1/cml_e3/catA1</i>	(100%); $1.57\times10^{-2}\sim1.08\times10^{-1}$ a; $1.13\times10^8\sim5.34\times10^8$ b	海南东寨港 ^[50]
	<i>floR</i>	(5%–80%)	智利南部 Región de Los Ríos ^[58]
	<i>cmlA/floR/cfr</i>	—	广州珠江三角洲河口水产养殖区 ^[45]
四环素类	<i>tetA/tetB/tetC/tetM/tetO/tetH</i>	(100%/16.7%/100%/100%/4.2%/12.5%); 3.71×10^{-3} a/–/3. 76×10^{-3} a/–/ 1.25×10^{-6} a/–	杭州湾,萧山,绍兴,慈溪,平湖 ^[46]
	<i>tetA/tetB/tetC/tetD</i>	—	大连,唐山,蓬莱,连云港,启东,象山,宁德,东 山,湛江,陵水 ^[56–57]
	<i>tetA/tetC/tetG/tetM</i>	(100%); $1.57\times10^{-2}\sim1.08\times10^{-1}$ a; $1.13\times10^8\sim5.34\times10^8$ b	海南东寨港 ^[50]
	<i>tetB/tetC/tetH/tetM/tetO</i>	(100%/100%/20%/40%/80%); $3.18\times10^{-5}\sim2.20\times10^{-3}$ a	珠江口西岸 ^[23]
	<i>tetA/tetC/tetB/tetL/tetM/tetQ/tetS</i>	(>80%/>80%/5%–80%); $2\times10^{-5}\sim2.7\times10^8$ b/ $2\times10^5\sim3.05\times1$ 0^8 b/–; $2.6\times10^{-4}\sim2.27\times10^{-2}$ a/ $5.50\times10^{-3}\sim5.50\times10^{-3}$ a/–	智利南部 Región de Los Ríos ^[58]
	<i>tetA/tetB/tetC/tetO/tetS/tetQ/tetW</i>	—	中国汕头 ^[41]
	<i>tetA/tetB/tetC/tetE/tetG/tetL/tetA</i>	—	珠三角华南中山 ^[49]
	<i>–P/tetM/tetO/tetS/tetW/tetX</i>	—	天津北辰,东丽,西青和津南地区的六个养 鱼场 ^[59]
	<i>tetW/tetM/tetO/tetT/tetQ/tetB</i>	(83.3%;100%;100%;83.3%;16.7%;16.7%)	天津,青岛,连云港,舟山,宁海,温州,宁德,泉 州,汕头,深圳,防城港,海口,香港,三亚 ^[14]
	<i>tetW/tetQ/tetO/tetM/tetA/tetB</i>	—	广州珠江三角洲河口水产养殖区 ^[45]
	<i>tetO/tetQ/tetW/tetX</i>	—	广东茂名市水东湾 ^[48]
	<i>sul1/sul2</i>	—	杭州湾,萧山,绍兴,慈溪,平湖 ^[46]
	<i>sul1/sul2/sul3</i>	(100%/62.5%/37.5%)	大连,唐山,蓬莱,连云港,启东,象山,宁德,东 山,湛江,陵水 ^[56–57]
	<i>sul1/sul2/sul3/(sulA/folP)</i>	$3.35\times10^{-5}\sim6.87\times10^{-2}$ a/ $1.28\times10^{-5}\sim8.99\times10^{-2}$ a/ $5.23\times10^{-5}\sim$ 7.91×10^{-3} a/ $5.37\times10^{-5}\sim5.64\times10^{-3}$ a	海南东寨港 ^[50]
	<i>sul1/sul2</i>	(100%); $1.57\times10^{-2}\sim1.08\times10^{-1}$ a; $1.13\times10^8\sim5.34\times10^8$ b	智利南部 Región de Los Ríos ^[58]
磺胺类	<i>sul1/sul2</i>	(>80%/5%–80%); $2\times10^{-5}\sim4.04\times10^8$ b/–; $3.05\times10^{-6}\sim4.08\times1$ 0^{-2} a/–	珠江口西岸 ^[23]
	<i>sul1/sul2/sul3</i>	(100%/100%/20%); $4.46\times10^{-3}\sim3.09\times10^{-2}$ a	Vam Co 河(越南隆安省) ^[53]
	<i>sul2</i>	$4.4\times10^{-5}\sim7.4\times10^6$ b	天津,青岛,连云港,舟山,宁海,温州,宁德,泉 州,汕头,深圳,防城港,海口,香港,三亚 ^[14]
	<i>sul1/sul2/sul3</i>	—	中国汕头 ^[41]
	<i>sul1/sul2/sul3</i>	—	珠三角华南中山 ^[49]
	<i>sul1/sul2</i>	—	天津北辰,东丽,西青和津南地区的六个养 鱼场 ^[59]
	<i>sul1/sul2</i>	(100%;100%)	广州珠江三角洲河口水产养殖区 ^[45]
	<i>sul1/sul2</i>	—	海南东寨港 ^[50]
	<i>strB</i>	(>80%)	智利南部 Región de Los Ríos ^[58]
	<i>aacA1/aacA7</i>	—	中国汕头 ^[41]

与水不同,沉积物是 ARGs 的一个重要的“汇”,且沉积物中 ARGs 存在持久性.越南集约化虾养殖区^[53]、海南东寨港^[50]等地沉积物中的 ARGs 的赋存量均大于水.Yuan 等^[46]发现随着时间的推移,ARGs 的扩散导致其可在沉积物中积累,沉积物很可能增强抗生素抗性的传播.但有研究^[2]认为 ARGs 在沉积物群落中的“持久性”,是水生生物粪便中 ARGs 的不断涌入所导致的.此外,不同的 ARGs 在水和沉积物

中存在不同的赋存规律.统计发现如 *tetT*、*ermF*、*strB* 等 ARGs 仅在沉积物有报道,*tetZ*、*tetB(P)*、*aac(6')-Ib-cr* 等却仅在水中有报道(图 2).Su 等^[48]研究也证实了在水产养殖环境中,ARGs 的赋存在不同介质中有明显差异.不过,PCR 检测的目标 ARGs 的局限性也可造成水和沉积物中 ARGs 统计结果产生差异,在烟台海水养殖场^[54]、瀛湖养殖区^[55]运用宏基因组方法及高通量 PCR 方法检出的 ARGs 则更加全面.

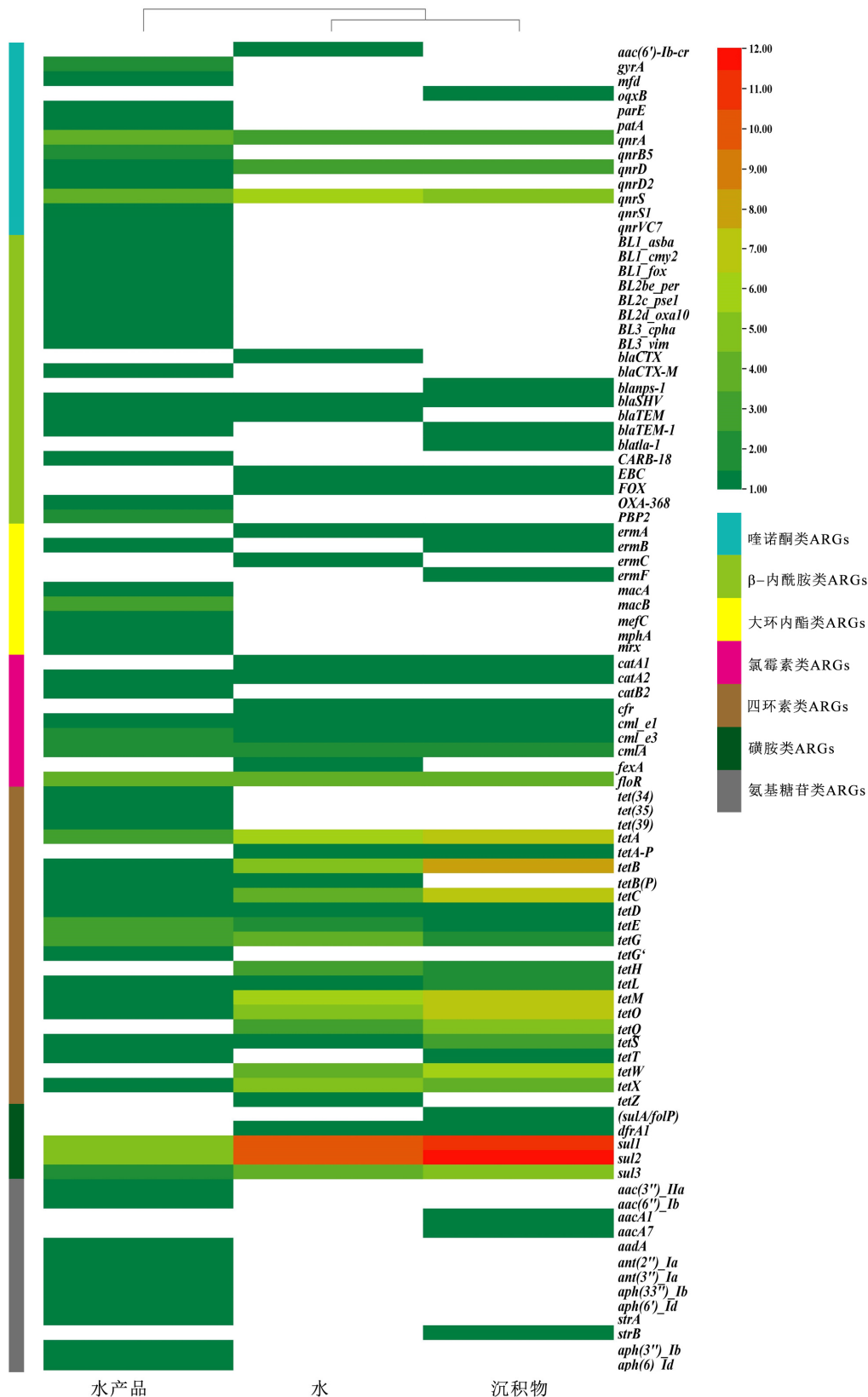


图 2 近年水产养殖环境中 ARGs 检出报道频次热
Fig.2 Heatmap of the frequency of ARGs detected in aquaculture environment in recent years

1.4 水产养殖对象中抗生素抗性基因赋存状况
水产养殖中抗生素主要作用于养殖生物,产生耐

药性不可避免.当前对水产养殖生物的 ARGs 的研究
主要针对其本身以及其肠道菌群.而鉴于运用 PCR

检测方法研究水产养殖生物 ARGs 的报道相对较少,本文结合了运用宏基因组技术的相关研究.在水产养殖生物中,喹诺酮类、β-内酰胺类、大环内酯类、氯霉素类、四环素类、磺胺类、氨基糖苷类七大类 ARGs 皆有报道,其中 *sul1*、*sul2*、*qnrA*、*qnrS*、*floR*、*macB*、*tetA*、*tetE*、*tetG* 被报道频率较高(见图 2、表 3).特别的,杆菌肽类、多重耐药性和其他类 ARGs(如 *bacA*、*mexF*、*smeE* 等)丰度非常高^[24,60].杆菌肽作为禁用的饲料添加剂,其 ARGs 似仍以很高的量存在,但未发现有运用 PCR 技术针对性对其检测的报道,而多重耐药性和其他类 ARGs 的功能和特性复杂,可促使“超级细菌”形成,对人类健康及生态环境威胁更大.但目前对多重耐药性 ARGs 的认识还相对较浅,其种类繁多,相关数据库有待丰富,需更多研究作为基础.

表 3 水产养殖生物体中 ARGs 赋存
Table 3 Occurrence of ARGs in aquatic products in aquaculture environment

抗生素类型	抗生素抗性基因(ARGs)	DNA 检测方式	取样位置	环境来源地
喹诺酮类	<i>qnrA/qnrS</i>	PCR	虾肠道	广州市水产市场 ^[24]
	<i>qnrA/qnrS/mfd/parE/qnrD2/gyrA/qnrB5/qnrVC7/qnrS1/patA</i>	宏基因组	虾肠道	广州市水产市场及江门市某对虾养殖池塘 ^[24]
	<i>qnrA/qnrS</i>	PCR	幼刺参肠道	青岛、烟台、威海 ^[63]
	<i>gyrA</i>	分离培养细菌-PCR	对虾肝胰脏(HP)	广东省茂名市养虾池 ^[64]
	<i>qnrA/qnrD/qnrS</i>	PCR	虾肠道	广东茂名市水东湾集约化海洋养殖基地 ^[48]
β-内酰胺类	<i>blaTEM</i>	分离培养细菌-PCR	罗非鱼的肝脏、脾脏、肾脏分离爱德华氏菌	泰国北部平河网箱培养的杂交红罗非鱼 ^[65]
	<i>blaCTX-M/blaNDM3</i>	PCR	虾肠道	广州市水产市场 ^[24]
	<i>CARB-18/OXA-368/PBP2/blaTEM-1</i>	宏基因组	虾肠道	广州市水产市场及江门市某对虾养殖池塘 ^[24]
	<i>BL3_cpha/BL1_fox/BL2d_oxa10/BL2be_per/BL1_asba/BL3_vim/PBP2/BL2c_pse1/BL1_cmy2</i>	宏基因组	虾肠道	江苏淡水对虾养殖场 ^[60]
大环内酯类	<i>macB</i>	宏基因组	草鱼	湖北省武汉市江夏区多福农庄养殖池塘 ^[15]
	<i>emrB</i>	PCR	虾肠道	广州市水产市场 ^[24]
	<i>macA/macB/mefC/mrx</i>	宏基因组	虾肠道	广州市水产市场及江门市某对虾养殖池塘 ^[24]
	<i>mphA/macB</i>	宏基因组	虾肠道	江苏淡水对虾养殖场 ^[60]
氯霉素类	<i>cat/floR</i>	宏基因组	虾肠道	广州市水产市场及江门市某对虾养殖池塘 ^[24]
	<i>cml_e3/floR</i>	PCR	幼刺参肠道	青岛、烟台、威海 ^[63]
	<i>catA2/cml_e1/cml_e3/catB2</i>	宏基因组	虾肠道	江苏淡水对虾养殖场 ^[60]
	<i>floR</i>	分离培养细菌-PCR	对虾肝胰脏(HP)	广东省茂名市养虾池 ^[64]
四环素类	<i>cmlA/floR</i>	PCR	虾肠道	广东茂名市水东湾集约化海洋养殖基地 ^[48]
	<i>tetA</i>	分离培养细菌-PCR	罗非鱼的肝脏、脾脏、肾脏分离爱德华氏菌	泰国北部平河网箱培养的杂交红罗非鱼 ^[65]
	<i>tetA/tetB/tetC/tetD/tetE/tetG/tetG'/tetL/tetM/tetO/tetS/tetX</i>	PCR	虾肠道	广州市水产市场 ^[24]
	<i>tetE/tetB(P)/tet(34)/tet(35)/tetT/tet(39)</i>	宏基因组	虾肠道	广州市水产市场及江门市某对虾养殖池塘 ^[24]
	<i>tetA/tetG</i>	PCR	幼刺参肠道	青岛、烟台、威海 ^[63]
磺胺类	<i>tetG/tetE</i>	宏基因组	虾肠道	江苏淡水对虾养殖场 ^[60]
	<i>sul3</i>	分离培养细菌-PCR	罗非鱼的肝脏、脾脏、肾脏分离爱德华氏菌	泰国北部平河网箱培养的杂交红罗非鱼 ^[65]
	<i>sul1/sul2/sul3</i>	PCR	虾肠道	广州市水产市场 ^[24]
	<i>sul1/sul2</i>	宏基因组	虾肠道	广州市水产市场及江门市某对虾养殖池塘 ^[24]
	<i>sul1/sul2</i>	宏基因组	虾肠道	江苏淡水对虾养殖场 ^[60]

续表 3

抗生素类型	抗生素抗性基因(ARGs)	DNA 检测方式	取样位置	环境来源地
氨基糖苷类	<i>sul1/sul2</i>	分离培养细菌-PCR	对虾肝胰脏(HP)	广东省茂名市养虾池 ^[64]
	<i>sul1/sul2</i>	PCR	虾肠道	广东茂名市水东湾集约化海洋养殖基地 ^[48]
	<i>aph(3'')-II/aph(6)-Id</i>	宏基因组	虾肠道	广州市水产市场及江门市某对虾养殖池塘 ^[24]
	<i>aadA</i>	PCR	幼刺参肠道	青岛、烟台、威海 ^[63]
	<i>ant(3'')_Ia/ant(2'')_Ia/aph(33'')_Ib/aac(6'')_I</i>	宏基因组	虾肠道	江苏淡水对虾养殖场 ^[60]
	<i>b/aph(6'')_Id/aac(3'')_Iia</i>			
	<i>strA</i>	分离培养细菌-PCR	对虾肝胰脏(HP)	广东省茂名市养虾池 ^[64]

值得注意的是,抗生素在水生生物体内经食物链富集已经得到重视,但水产养殖环境和养殖生物体内赋存的 ARGs 之间的联系的研究还处在起步阶段.早在 2003 年,Furushita 等^[61]就发现在鱼类细菌中检测到的四环素耐药基因与人类临床分离株中的基因高度相似.当前认为水平基因转移是 ARGs 水体、沉积物和水产品之间转移的关键途径^[8,41,52],且可移动遗传元件(Mobile Genetic Element,MGEs)对 ARGs 转移起着重要作用^[29,62],其本身可携带 ARGs,也与 ARGs 有共发生现象,往往代表着 ARGs 的高迁移率.Su 等^[48]通过 Source Tracer 分析发现早期和中期的虾肠道约 70%的菌群起源于沉积物,且虾肠道和沉积物赋存了相同的 ARGs(*qnrD*).由此,赋存在水产养殖水体和沉积物中的 ARGs 很可能最终富集到水产养殖对象的体内.

2 水产养殖环境中抗生素抗性基因的影响因素

2.1 养殖用药及饲料对抗生素抗性基因的影响

养殖用药及饲料的使用对 ARGs 发生及传播的影响一直被密切关注.对于养殖用药,ARGs 在养殖水域大量存在和药物在治疗养殖生物疾病中大量使用是分不开的.ARGs 与相应的同源抗生素显著相关^[66].从机制上,长期处于养殖用药的环境中,细菌的 SOS 反应(由细菌 DNA 损伤引发的修补反应)会被激活,其可以通过产生氧离子而增加突变几率,促使水平基因位移,活化整合酶,促使整合子重组,从而显著增强 ARGs 的水平转移^[56-67].控制水产养殖中抗生素类用药是减缓 ARGs 污染的重要手段.而对于饲料,市场上用于养殖水产品的饲料种类繁多,常混合抗生素使用.甲壳类水产品(日本沼虾)长期暴露在饲料中抗生素(合法使用量)下,也会严重影响虾肠道健康和 ARGs 丰度^[68].其中,鱼粉作为水产养殖饲料

的主要基础原料,含有丰富的抗生素及 ARGs,其对沉积物中 ARGs 丰度的影响有明显剂量效应,其中的营养物质可以驱动微生物群落结构来改变沉积物中 ARGs^[69].重要的,全球鱼粉产量近 70%被用于水产养殖,而中国是全球鱼粉的主要消费国^[70],“饲料禁抗”是大势所趋.

但是水产养殖环境中养殖用药和饲料中抗生素只是 ARGs 发生和传播的主要应激源,抗生素与其相应的 ARGs 并非总是同时出现,单一类型的抗生素使用下,也可能存在复杂的 ARGs 污染^[71-73].ARGs 也不是仅由于同源抗生素而引起.实际养殖过程中,尽管并未添加的抗生素,其 ARGs 照样可以存在.如氯霉素、红霉素类药品早就被禁止用于水产养殖业,但水东湾虾场中 *cmlA* 却是虾塘水中主要 ARGs,*floR* 在数地被检出,*ermC*、*ermA* 也均以一定量存在^[44-46,48].

2.2 养殖模式对抗生素抗性基因的影响

养殖模式是水产养殖独有的 ARGs 影响因素.不同单一养殖模式下,ARGs 的多样性及丰度皆有差异.Gu 等^[55]对比了瀛湖围栏养殖和箱型养鱼 ARGs 的污染情况,发现箱型养殖的 ARGs 多样性要比围栏养殖更高,其认为由于不同鱼类养殖方式,理化参数变化不同,从而引起的微生物群落变化导致,通过调节湖泊的某些因素是可以控制 ARGs 的.而相比于单一养殖模式,在当前循环资源的多营养级养殖发展趋势下,混合养殖(鸭-鱼池)水体相比于单一养殖更不易受到 ARGs 污染^[49].Yuan 等^[41]也发现单一牛蛙养殖场的沉积物中 ARGs 的检测频率和丰度均高于混养养殖场沉积物.但是,混合养殖对 ARGs 的影响还取决于混养品种.杭州湾河口养殖区报道^[46]在混养池塘中,与杂食性鱼类相结合的虾养殖可能会增加 ARGs 丰度,而与滤食性鱼类养殖可能会减

少 ARGs 丰度.合理安排混合养殖模式以及养殖品种是控制 ARGs 的重要手段.

2.3 环境理化因子对抗生素抗性基因影响

水产养殖环境的理化因子包括水温、盐度、酸碱性、化学耗氧量、溶解氧、营养物质和重金属等.这些因子复杂多变,同气候条件、放养密度、饵料种类和投饵量、生物排泄物等有密切关系.而针对水产养殖中环境理化因子对 ARGs 赋存状况和传播规律的影响的研究极少.养殖过程中某些环境理化因子是可控的,弄清其在水产养殖环境中影响,加以有效人为调控,可能达到控制 ARGs 污染的目的.

2.3.1 温度、盐度等对抗生素抗性基因影响 对于温度,适宜的温度更有助于水产品的生长.温度也会影响质粒的转移过程,37℃下抗性质粒更容易发生水平转移^[74].长江口及邻近海域的研究^[75]发现温度与 16S *rRNA*、*sul1*、*sul2*、*sul3*、*int11*、*tetA* 和 *acc(6')-Ib* 等基因的丰度之间呈显著相关性($P<0.05$).对于盐度,其可调控微生物群落的组成和结构,从而调控环境中 ARGs.河口开放养殖区最易受其影响,随着盐度的增加,垂直传播的动态平衡会被打破,磺胺类 ARGs 会减少;盐度影响的还具有季节性,不同季节,盐度对于 ARGs 有不同的影响,所影响的 ARGs 类型也有所不同^[76].

总有机碳(TOC)、化学需氧量(COD)、总磷(TP)、总氮(TN)等水质指标,代表着养殖环境的污染状况,其皆影响 ARGs.水东湾虾塘水中 *sul1* 和 TOC 呈正相关($P<0.05$);*sul2* 和 TOC 呈极强正相关($P<0.01$);*cmlA* 与 COD 极强相关($P<0.01$)^[48].东江流域^[18]、长江口^[77]的研究也表明 TS、TOC、TN 和 *sul1*、*sul2*、*tetA*、*tetQ*、*tetW*、*tetX*、*ermB*、*ermF* 等 ARGs 呈极显著相关($P<0.01$).悬浮颗粒物(SS)还被认为是 ARGs 的载体,其丰度与 *sul1*、*sul2*、*tetA*、*tetW*、*acc(6')-Ib* 的丰度均存在显著相关性($P<0.05$)^[48,75].但在水产养殖过程中,TOC、COD、TP、TN 等从机制上如何影响 ARGs,还有待研究.适宜的含量既可保证水产品生长,水质良好,又能降低 ARGs 的威胁.

至于酸碱性,养殖环境中 pH 值一般变化幅度较小,但不同 ARGs 受 pH 值变化影响有不同的机制.如 Huang 等^[78]发现厌氧处理过程中酸性条件下,噬菌体 DNA 含量会增加,且更有利于 eDNA 的排泄,因此四环素 ARGs 水平转移的数量和其持基因能力

大大提高;而碱性条件下,接合转移可能受到限制;Lin 等^[34]研究却发现粪肥中,酸化降低了磺胺类 ARGs 的水平转移,pH 可诱导厚壁菌门的富集,增强磺胺类抗生素降解,从而抑制 *sul1* 的水平基因转移.

2.3.2 重金属对抗生素抗性基因影响 重金属对水产养殖环境中 ARGs 赋存及传播有极大影响,部分微量金属元素也是水产品生长所必须的因子之一^[79].螯合铜、硫酸铜等重金属盐作为消毒剂也在水产养殖中广泛应用^[80].研究发现重金属可与抗生素共同对微生物造成选择压力,且重金属可以抵抗降解,选择压力可以长期施加,在同一质粒中重金属甚至可和 ARGs 共同存在^[31,71,81].江苏省白马湖水产养殖场^[52]评估 Cu^{2+} 与 ARGs 呈明显的正相关关系;东江流域^[18]大部分 ARGs 与 Cu、Zn 等重金属之间存在显著的相关性.其中,弱酸提取态的重金属被认为更容易从环境中释放而被微生物利用.弱酸提取态 Zn 的含量与 ARGs 之间的显著相关性更强($P<0.01$),Zn 离子被认为是调控 ARGs 赋存的重要金属元素之一^[8,75].在机制上,已有银、锌影响机制的报道,但并不针对水产养殖环境.据报道,AgNPs 和 Ag^+ 是通过诱导 ROS 过量产生,触发 SOS 反应,增加细胞膜通透性来促进接合基因转移,从而加强 ARGs 的传播^[82];天然闪锌矿和 ZnS 纳米颗粒则是促进细菌之间质粒介导的 ARGs 水平转移,增强抗性编码质粒的接合转移^[83].这从机制上解释了重金属对 ARGs 传播的影响,为在水产养殖环境中进行类似研究提供了参考.而实际养殖过程中,重金属在水产养殖环境中易富集、有毒性、去除难度高,除了对 ARGs 产生影响,对水产品 and 整个水产养殖环境也产生严重危害.探究重金属对水产养殖环境中 ARGs 赋存和传播的影响具有重要意义.

3 结语

为了从根本上防止抗生素耐药性的发生和传播,未来水产养殖环境中 ARGs 的研究可抓住以下几点:

1) 深入解析 ARGs 在水产养殖环境、水产品以及人体致病菌之间的关系.尽管目前已发现水产养殖中的 ARGs 能通过食物链对人类造成威胁,和人类肠道菌群、致病菌所携带 ARGs 具有相似性,但缺乏更多证据及相关机制的研究.

2) 合理选择水产养殖环境中代表性污染 ARGs, 开发适合水产养殖环境准确、快捷的 ARGs 监测方法, 系统的获取水产养殖环境中 ARGs 的相关数据, 制定针对水产养殖环境 ARGs 污染的标准。传统 PCR 检测 ARGs 具有局限性, 而宏基因组和高通量 PCR 在水产养殖环境的研究中相对较少, 且检测成本高。选定代表性的 ARGs 优先控制, 将 ARGs 污染监测常规化, 是控制 ARGs 污染的必要手段

3) 探究水产养殖过程中主流养殖模式、温度、重金属盐消毒剂等可调因素对 ARGs 发生和传播的影响, 了解其影响机制, 有效的把控养殖过程中 ARGs 的发生、传播乃至去除。

4) 建立 ARGs 生态风险评估方法及预警体系, 从而对水产养殖环境中 ARGs 对人类健康和生态环境的威胁科学的评估、预防 ARGs 污染的发生。

参考文献:

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局. 2019 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2019.
Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, China. 2019 China Fisheries Statistical Yearbook [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2019.
- [2] FAO yearbook Fishery and Aquaculture Statistics 2017 FAO annuaire [M]. Rome, Italy: Food and agriculture organization of the united nations, 2017.
- [3] 胡升翔. 常用渔药分类 [J]. 渔业致富指南, 2012, (3): 54-55.
Hu S X. Classification of common fishing drugs [J]. Fishery Guide to be Rich, 2012, (3): 54-55.
- [4] Liu X, Steele J C, Meng X Z. Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review [J]. Environmental Pollution, 2017, 223: 161-169.
- [5] Suzuki S, Nakanishi S, Tamminen M, et al. Occurrence of sul and tet(M) genes in bacterial community in Japanese marine aquaculture environment throughout the year: Profile comparison with Taiwanese and Finnish aquaculture waters [J]. Science of the Total Environment, 2019, 669: 649-656.
- [6] Du J, Zhao H, Liu S, et al. Antibiotics in the coastal water of the South Yellow Sea in China: Occurrence, distribution and ecological risks [J]. Science of The Total Environment, 2017, 595: 521-527.
- [7] Zhang R, Pei J, Zhang R, et al. Occurrence and distribution of antibiotics in mariculture farms, estuaries and the coast of the Beibu Gulf, China: Bioconcentration and diet safety of seafood [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 154: 27-35.
- [8] 郭行磐. 长江口滨岸水环境中抗生素抗性基因的赋存特征 [D]. 上海: 华东师范大学, 2019.
Guo X P. Characterization of the occurrence of antibiotic resistance genes in the coastal water environment of the Yangtze estuary [D]. Shanghai: East China Normal University, 2019.
- [9] Li S, Shi W, Li H, et al. Antibiotics in water and sediments of rivers and coastal area of Zhuhai City, Pearl River estuary, south China [J]. Science of The Total Environment, 2018, 636: 1009-1019.
- [10] Lei K, Zhu Y, Chen W, et al. Spatial and seasonal variations of antibiotics in river waters in the Haihe River Catchment in China and ecotoxicological risk assessment [J]. Environment International, 2019, 130.
- [11] Li F, Chen L, Chen W, et al. Antibiotics in coastal water and sediments of the East China Sea: Distribution, ecological risk assessment and indicators screening [J]. Marine Pollution Bulletin, 2020, 151: 110810.
- [12] Zhang R, Tang J, Li J, et al. Antibiotics in the offshore waters of the Bohai Sea and the Yellow Sea in China: Occurrence, distribution and ecological risks [J]. Environmental Pollution, 2013, 174: 71-77.
- [13] Han Q F, Zhao S, Zhang X R, et al. Distribution, combined pollution and risk assessment of antibiotics in typical marine aquaculture farms surrounding the Yellow Sea, North China [J]. Environment International, 2020, 138: 105551.
- [14] Chen C Q, Zheng L, Zhou J L, et al. Persistence and risk of antibiotic residues and antibiotic resistance genes in major mariculture sites in Southeast China [J]. Science of the Total Environment, 2017, 580: 1175-1184.
- [15] 赵帝, 徐在言, 吴山功, 等. 草鱼肠道微生物抗生素抗性基因研究 [J]. 水生生态学杂志, 2019, 40(6): 111-116.
Zhao D, Xu Z Y, Wu S G, et al. Study of antibiotic resistance genes in grass carp gut microorganisms [J]. Journal of Hydroecology, 2019, 40(6): 111-116.
- [16] Martínez J L, Baquero F, Andersson D I. Predicting antibiotic resistance [J]. Nature Reviews Microbiology, 2007, 5(12): 958-965.
- [17] Li B, Qiu Y, Song Y, et al. Dissecting horizontal and vertical gene transfer of antibiotic resistance plasmid in bacterial community using microfluidics [J]. Environment International, 2019, 131: 105007.
- [18] Su H C, Pan C G, Ying G G, et al. Contamination profiles of antibiotic resistance genes in the sediments at a catchment scale [J]. Science of the Total Environment, 2014, 490: 708-714.
- [19] Zhang Y, Niu Z, Zhang Y, et al. Occurrence of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in coastal areas of Bohai Bay (China) and the factors affecting them [J]. Environmental Pollution, 2018, 236: 126-136.
- [20] Baquero F, Lanza V F, Cantón R, et al. Public health evolutionary biology of antimicrobial resistance: priorities for intervention [J]. Evol Appl, 2015, 8(3): 223-39.
- [21] Martínez J L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments [J]. Science, 2008, 321(5887): 365.
- [22] Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance [J]. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 2010 Sep; 74(3): 417-33.
- [23] 梁惜梅, 聂湘平, 施震. 珠江口典型水产养殖区抗生素抗性基因污染的初步研究 [J]. 环境科学, 2013, 34(10): 4073-4080.
Liang Xi M, Nie X P, Shi Z. Preliminary study of antibiotic resistance gene contamination in typical aquaculture areas of the Pearl River Estuary [J]. Environmental Science, 2013, 34(10): 4073-4080.
- [24] 刘可心. 南美白对虾肠道细菌抗生素抗性基因的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
Liu K X. Study of antibiotic resistance genes in intestinal bacteria of South American white shrimp [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.
- [25] Yang J, Wang C, Wu J, et al. Characterization of a multiresistant mosaic plasmid from a fish farm *Sediment Exiguobacterium* sp. isolate reveals aggregation of functional clinic-associated antibiotic resistance genes [J]. Appl. Environ. Microbiol., 2014, 80(4): 1482-8.
- [26] 付佳伦. 细菌耐药基因在斑马鱼体内定植、转移规律及机制研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2017.
Fu J L. Study on the pattern and mechanism of bacterial drug

- resistance gene colonization and transfer in zebrafish [D]. Beijing: Chinese People's Liberation Army Academy of Military Medical Sciences, 2017.
- [27] Hedberg N, Stenson I, Pettersson M N, et al. Antibiotic use in Vietnamese fish and lobster sea cage farms; implications for coral reefs and human health (vol 495, pg 366, 2018) [J]. *Aquaculture*, 2019, 500:679–679.
- [28] World Health O. Antimicrobial resistance: global report on surveillance [M]. Geneva: World Health Organization, 2014.
- [29] 杨凤霞,毛大庆,罗 义,等.环境中抗生素抗性基因的水平传播扩散 [J]. *应用生态学报*, 2013,24(10):2993–3002.
Yang F X, Mao D Q, Luo Y, et al. Horizontal dispersal of antibiotic resistance genes in the environment [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013,24(10):2993–3002.
- [30] Zhang G, Zheng G, Zhang Y, et al. Evaluation of a micro/nanofluidic chip platform for the high-throughput detection of bacteria and their antibiotic resistance genes in post-neurosurgical meningitis [J]. *International Journal of Infectious Diseases*, 2018,70:115–120.
- [31] Zhai Y, He Z, Kang Y, et al. Complete nucleotide sequence of pH11, an IncHI2 plasmid conferring multi-antibiotic resistance and multi-heavy metal resistance genes in a clinical *Klebsiella pneumoniae* isolate [J]. *Plasmid*, 2016,86:26–31.
- [32] Nnadozie C F, Kumari S, Bux F. Status of pathogens, antibiotic resistance genes and antibiotic residues in wastewater treatment systems [J]. *Reviews in Environmental Science And Bio-Technology*, 2017,16(3):491–515.
- [33] Jiao Y N, Chen H, Gao R X, et al. Organic compounds stimulate horizontal transfer of antibiotic resistance genes in mixed wastewater treatment systems [J]. *Chemosphere*, 2017,184:53–61.
- [34] Lin H, Sun W, Yu Q, et al. Acidic conditions enhance the removal of sulfonamide antibiotics and antibiotic resistance determinants in swine manure [J]. *Environmental Pollution*, 2020,263:114439.
- [35] Zhang Y, Snow D D, Parker D, et al. Intracellular and extracellular antimicrobial resistance genes in the sludge of livestock waste management structures [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013,47(18):10206–10213.
- [36] 罗 晓,张文丽,袁立霞,等.纳污河流抗性基因和微生物群落相关性 [J]. *中国环境科学*, 2019,39(6):2606–2613.
Luo X, Zhang W L, Yuan L X, et al. Resistance genes and microbial community correlation in polluted rivers [J]. *China Environmental Science*, 2019,39(6):2606–2613.
- [37] 黄福义,安新丽,李 力,等.生活垃圾填埋场对河流抗生素抗性基因的影响 [J]. *中国环境科学*, 2017,37(1):203–209.
Huang F Y, An X L, Li L, et al. Effects of domestic waste landfills on antibiotic resistance genes in rivers [J]. *China Environmental Science*, 2017,37(1):203–209.
- [38] Sabri N A, Holst S V, Schmitt H, et al. Fate of antibiotics and antibiotic resistance genes during conventional and additional treatment technologies in wastewater treatment plants [J]. *Science of the Total Environment*, 2020.
- [39] Williams–Nguyen J, Sallach J B, Bartelt–Hunt S, et al. Antibiotics and antibiotic resistance in agroecosystems: State of the science [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2016,45(2):394–406.
- [40] 张永鹏.渤海湾近岸海域抗生素及抗生素抗性基因的污染特征研究 [D]. 天津:天津大学, 2018.
Zhang Y P. Pollution characteristics of antibiotics and antibiotic resistance genes in the near-shore waters of Bohai Bay [D]. Tianjin: Tianjin University, 2018.
- [41] Yuan K, Wang X, Chen X, et al. Occurrence of antibiotic resistance genes in extracellular and intracellular DNA from sediments collected from two types of aquaculture farms [J]. *Chemosphere*, 2019,234: 520–527.
- [42] Dong P, Wang H, Fang T, et al. Assessment of extracellular antibiotic resistance genes (eARGs) in typical environmental samples and the transforming ability of eARG [J]. *Environment International*, 2019, 125:90–96.
- [43] Mao D, Luo Y, Mathieu J, et al. Persistence of extracellular DNA in river sediment facilitates antibiotic resistance gene propagation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014,48(1):71–78.
- [44] Jang H M, Kim Y B, Choi S, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes from effluent of coastal aquaculture, South Korea [J]. *Environmental Pollution*, 2018,233:1049–1057.
- [45] Su H, Liu S, Hu X, et al. Occurrence and temporal variation of antibiotic resistance genes (ARGs) in shrimp aquaculture: ARGs dissemination from farming source to reared organisms [J]. *Science of the Total Environment*, 2017,607:357–366.
- [46] Yuan J, Ni M, Liu M, et al. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a typical estuary aquaculture region of Hangzhou Bay, China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019,138:376–384.
- [47] Lu J, Zhang Y, Wu J. Continental-scale spatio-temporal distribution of antibiotic resistance genes in coastal waters along coastline of China [J]. *Chemosphere*, 2020,247:125908–125908.
- [48] Su H, Hu X, Wang L, et al. Contamination of antibiotic resistance genes (ARGs) in a typical marine aquaculture farm: source tracking of ARGs in reared aquatic organisms [J]. *Journal of Environmental Science And Health Part B–Pesticides Food Contaminants And Agricultural Wastes*, 2020,55(3):220–229.
- [49] Huang L, Xu Y B, Xu J X, et al. Antibiotic resistance genes (ARGs) in duck and fish production ponds with integrated or non-integrated mode [J]. *Chemosphere*, 2017,168:1107–1114.
- [50] 姜春霞,黎 平,李森楠,等.海南东寨港海水和沉积物中抗生素抗性基因污染特征研究 [J]. *生态环境学报*, 2019,28(1):128–135.
Jiang C X, Li P, Li S N, et al. Characterization of antibiotic resistance gene contamination in seawater and sediment of Dongzhai Port, Hainan [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2019,28(1):128–135.
- [51] Wu J, Mao C, Deng Y, et al. Diversity and abundance of antibiotic resistance of bacteria during the seedling period in marine fish cage-culture areas of Hainan, China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019,141:343–349.
- [52] Shen X, Jin G, Zhao Y, et al. Prevalence and distribution analysis of antibiotic resistance genes in a large-scale aquaculture environment [J]. *Science of the Total Environment*, 2020,711.
- [53] Thi Thu Hang P, Rossi P, Hoang Dang Khoa D, et al. Analysis of antibiotic multi-resistant bacteria and resistance genes in the effluent of an intensive shrimp farm (Long An, Vietnam) [J]. *Journal of Environmental Management*, 2018,214:149–156.
- [54] Wang J H, Lu J, Zhang Y X, et al. Metagenomic analysis of antibiotic resistance genes in coastal industrial mariculture systems [J]. *Bioresource Technology*, 2018,253:235–243.
- [55] Gu J, Zhang L, Wang X, et al. High-throughput analysis of the effects of different fish culture methods on antibiotic resistance gene abundances in a lake [J]. *Environmental Science And Pollution Research*, 2019,26(6):5445–5453.
- [56] 李云莉.中国沿海典型养殖水域抗生素及其抗性基因污染的初步研究 [D]. 上海:上海海洋大学, 2017.
Li Y L. Preliminary study on antibiotics and their resistance gene

- contamination in typical coastal aquaculture waters in China [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017.
- [57] Gao Q, Li Y, Qi Z, et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes from mariculture sites of China's coastline [J]. *Science of the Total Environment*, 2018,630:117-125.
- [58] Bueno I, Travis D, Gonzalez-Rocha G, et al. Antibiotic resistance genes in freshwater trout farms in a watershed in Chile [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2019,48(5):1462-1471.
- [59] Gao P, Mao D, 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.
- [60] Zhao Y, Zhang X X, Zhao Z, et al. Metagenomic analysis revealed the prevalence of antibiotic resistance genes in the gut and living environment of freshwater shrimp [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018,350:10-18.
- [61] Furushita M, Shiba T, Maeda T, et al. Similarity of Tetracycline Resistance Genes Isolated from Fish Farm Bacteria to Those from Clinical Isolates [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(9):5336-5342.
- [62] 赵小慧, 苏洁, 樊景凤, 等. 海洋环境中细菌耐药性研究进展 [J]. *中国抗生素杂志*, 2019,(4):406-412.
- Zhao S H, Su J, Fan J F, et al. Advances in the study of bacterial drug resistance in the marine environment [J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2019,(4):406-412.
- [63] 闫倩倩, 李彬, 廖梅杰, 等. 山东主要刺参养殖区幼参肠道抗生素耐药菌及耐药基因分布特征 [J/OL]. *渔业科学进展*, 1-12 [2021-08-14]. <https://doi.org/10.19663/j.issn2095-9869.20190424001>.
- Yan Q Q, Li B, Liao M J et al. Characteristics of antibiotic-resistant bacteria and resistance genes in the intestinal tract of juvenile cucumbers from major sashimi culture areas in Shandong [J/OL]. *Progress in Fishery Sciences*, 1-12 [2021-08-14]. <https://doi.org/10.19663/j.issn2095-9869.20190424001>.
- [64] Zhou R, Zeng S, Hou D, et al. Temporal variation of antibiotic resistance genes carried by culturable bacteria in the shrimp hepatopancreas and shrimp culture pond water [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020,199:110738.
- [65] Niu G, Wongsathein D, Boonyayatra S, et al. Occurrence of multiple antibiotic resistance and genotypic characterization in *Edwardsiella tarda* isolated from cage-cultured hybrid red tilapia (*Oreochromis* sp.) in the Ping River, Northern Thailand [J]. *Aquaculture Research*, 2019,50(12):3643-3652.
- [66] Xu K, Wang J, Gong H, et al. Occurrence of antibiotics and their associations with antibiotic resistance genes and bacterial communities in Guangdong coastal areas [J]. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 2019,186.
- [67] Beaber J W, Hochhut B, Waldor M K. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes [J]. *Nature*, 427(6969):72-74.
- [68] Sun S, Korheina D K A, Fu H, et al. Chronic exposure to dietary antibiotics affects intestinal health and antibiotic resistance gene abundance in oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*), and provokes human health risk [J]. *Science of The Total Environment*, 2020,720:137478.
- [69] 韩莹. 鱼粉对海水养殖沉积物中抗生素抗性基因的影响和机理研究 [D]. 大连理工大学, 2019.
- Han Y. Study on the effect and mechanism of fishmeal on antibiotic resistance genes in mariculture sediments [D]. Dalian University of Technology, 2019.
- [70] Tacon A G J, Metian M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects [J]. *Aquaculture*, 2008,285(1):146-158.
- [71] Zhang Q Q, Tian G M, Jin R C. The occurrence, maintenance, and proliferation of antibiotic resistance genes (ARGs) in the environment: influencing factors, mechanisms, and elimination strategies [J]. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 2018,102(19):8261-8274.
- [72] Chen B, Lin L, Fang L, et al. Complex pollution of antibiotic resistance genes due to beta-lactam and aminoglycoside use in aquaculture farming [J]. *Water Research*, 2018,134:200-208.
- [73] Wang J H, Lu J, Wu J, et al. Proliferation of antibiotic resistance genes in coastal recirculating mariculture system [J]. *Environmental Pollution*, 2019,248:462-470.
- [74] 李千伟. 近岸海洋环境中典型抗生素抗性污染特征与传播规律 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.
- Li Q W. Characteristics and transmission patterns of typical antibiotic resistance pollution in the nearshore marine environment [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018.
- [75] 陆大培. 长江口及邻近海域沉积物中抗生素抗性基因时空分布特征及其与环境因子相关性研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2019.
- Lu D P. Spatial and temporal distribution characteristics of antibiotic resistance genes in sediments of the Yangtze River estuary and adjacent waters and their correlation with environmental factors [D]. Shanghai: East China Normal University, 2019.
- [76] Lu Z, Na G, Gao H, et al. Fate of sulfonamide resistance genes in estuary environment and effect of anthropogenic activities [J]. *Science of The Total Environment*, 2015,527-528:429-438.
- [77] Guo X P, Yang Y, Lu D P, et al. Biofilms as a sink for antibiotic resistance genes (ARGs) in the Yangtze Estuary [J]. *Water Research*, 2018,129:277-286.
- [78] Huang H, Chen Y, Zheng X, et al. Distribution of tetracycline resistance genes in anaerobic treatment of waste sludge: The role of pH in regulating tetracycline resistant bacteria and horizontal gene transfer [J]. *Bioresource Technology*, 2016,218:1284-1289.
- [79] 焦乐飞, 代恬梦, 金敏, 等. 对虾微量元素研究进展 [J]. *水产学报*, 2019,43(10):2093-2101.
- Jiao L F, Dai T M, Jin M, et al. Progress in the study of trace elements in shrimp [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019,43(10):2093-2101.
- [80] 董晓慧, 杨原志, 郑石轩, 等. 饲料中不同铜源和水平对凡纳滨对虾生长、免疫和组织铜含量的影响 [J]. *大连水产学院学报*, 2007, (5):377-383.
- Dong X H, Yang Y Z, Zheng S X, et al. Effects of different sources and levels of copper in feed on growth, immunity and tissue copper content of *Penaeus vannamei* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2007,(5):377-383.
- [81] Li A D, Li L G, Zhang T. Exploring antibiotic resistance genes and metal resistance genes in plasmid metagenomes from wastewater treatment plants [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015,6.
- [82] Lu J, Wang Y, Jin M, et al. Both silver ions and silver nanoparticles facilitate the horizontal transfer of plasmid-mediated antibiotic resistance genes [J]. *Water Research*, 2020,169.
- [83] Li G, Chen X, Yin H, et al. Natural sphalerite nanoparticles can accelerate horizontal transfer of plasmid-mediated antibiotic-resistance genes [J]. *Environment International*, 2020,136.
- 作者简介:** 李十盛(1997-), 男, 吉林白山人, 上海海洋大学硕士研究生, 主要从事抗生素及抗生素抗性基因研究。