文章编号: 0253-374X(2021)12-1720-07

渗滤液中聚苯乙烯微塑料表面老化行为及 抗性基因的富集规律

苏应龙,庞蕊蕊,邵博群,张中键,谢 冰 (华东师范大学生态与环境科学学院,上海 200241)

摘要: 以聚苯乙烯(PS)微塑料(MPs)为例,分析其在渗滤液 中的老化规律以及老化过程对抗性基因(ARGs)的富集效应 及富集机制。结果表明,90 d老化后 PS 微塑料比表面积增 大、含氧基团增加。渗滤液中的 PS 微塑料表面可选择性富 集 ARGs,并且随着老化时间延长富集程度增加。进一步采 用微生物属-ARGs共相关网络和基因表达等来揭示 PS 微塑 料富集 ARGs 的机制,证实 PS 微塑料表面形成的生态位具有 更为密切的 ARGs-微生物关联关系,并且参与 ARGs 调控的 基因表达水平较高。

关键词:微塑料(MPs);抗性基因(ARGs);渗滤液;表面老化过程;富集效应
 中图分类号:X502
 文献标志码:A

Surface Aging Behavior of Polystyrene Microplastics in Leachate and Enrichment of Antibiotic Resistance Genes

SU Yinglong, PANG Ruirui, SHAO Boqun, ZHANG Zhongjian, XIE Bing

(School of Ecological and Environmental Sciences, East China Normal University, Shanghai 200241, China)

Abstract: Polystyrene (PS) microplastics (MPs) were taken as an example to analyze its aging pattern in leachate, as well as the enrichment effect of aging process on antibiotic resistance genes (ARGs) and the enrichment mechanism. The results show that the specific surface area and oxygen-containing groups of PS microplastics increase after 90 d of aging. ARGs can be selectively enriched on the surface of PS microplastics in leachate, and the degree of enrichment increases with the aging time. Furthermore, the genus-ARGs co-correlation network and the gene expression prediction were used to reveal the mechanism of ARGs enrichment. It is found that the niche formed on the surface of PS microplastics has closer ARGs-microbe correlation, and the expression level of genes involved in ARGs spread is higher.

Key words: microplastics (MPs); antibiotic resistance genes (ARGs); leachate; surface aging process; enrichment effect

塑料制品以其轻便等特点在日常生活和工业生 产中被广泛使用,然而由于其难降解的特性而导致 的塑料污染成为重要的环境问题之一。与此同时, 废弃塑料在紫外线照射、风力等外界作用下逐步破 碎化而形成一类广受关注的新兴污染物——微塑 料。微塑料是指粒径小于5mm的塑料颗粒。目前, 微塑料已经被证实在海洋、土壤等中普遍存在[1-2]。 环境中的微塑料容易与其他污染物发生相互作用。 研究发现,微塑料表面可以富集重金属和有机污染 物,从而改变后者迁移转化规律和传播风险^[34]。He 等^[5]、Su等^[6]的调查显示,垃圾填埋系统中的渗滤液 已成为微塑料的重要污染源。同时,渗滤液中存在 抗生素抗性基因(ARGs)等具有较高风险的新兴污 染物。微塑料表面会富集 ARGs^[7], 但是在渗滤液 中,微塑料的存在是否会影响ARGs的环境行为还 有待进一步探究。

在自然环境中,塑料和微塑料颗粒在阳光、风力 等作用下逐步发生老化,从而改变其表面性质,而性 质的变化导致微塑料的环境行为以及对其他污染物 的影响效应发生改变^[8]。Liu等^[9]研究紫外加速老化



收稿日期: 2021-07-08

基金项目:国家自然科学基金(41807462);河口海岸学国家重点实验室开放基金(SKLEC-KF202011)

第一作者:苏应龙(1989—),男,研究员,博士生导师,工学博士,主要研究方向为新兴污染物迁移转化及控制。 E-mail: ylsu@des. ecnu. edu. cn

通信作者:谢 冰(1968—),男,教授,博士生导师,工学博士,主要研究方向为污染物微生物控制技术。 E-mail: bxie@des. ecnu. edu. cn

对聚苯乙烯(PS)、聚氯乙烯(PVC)与环丙沙星 (CIP)吸附相互作用的影响,发现老化后的塑料具有 更强的吸附能力。由此可见,研究微塑料老化过程 对其他污染物的影响可准确评估其实际环境效应。 在渗滤液体系中,存在除了微塑料之外的多类型新 兴污染物,如具有较高传播扩散风险的抗性基因^[10]。 已有研究发现,海洋环境中微塑料的存在可以促进 ARGs的传播^[11-12]。然而,目前尚未有研究分析长期 存在于渗滤液体系中微塑料的老化过程对ARGs行 为的影响。

以环境中存在浓度较高的PS微塑料为例,分析 其在渗滤液体系中的表面性质变化,揭示其自然老 化规律。在此基础上,分析PS微塑料老化过程对 ARGs的富集效应,并从微生物群落富集、微生物与 ARGs的关联关系和调控基因表达等方面揭示影响 机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验所用的PS微塑料购自中国上海阿拉丁生 化科技股份有限公司,尺寸为0.5~3.0 mm。PS是 颗粒类和泡沫类塑料的主要成分,主要来源为生活 用品及水上泡沫浮标等^[13]。渗滤液取自位于上海浦 东的老港垃圾填埋场。作为生活垃圾填埋场,该填 埋场生活垃圾日接收量约为1.2万吨。原始渗滤液 样品用500 mL的玻璃瓶从渗滤液调节池中提取,并 用铝箔覆盖瓶盖内部避免塑料瓶盖受到污染,然后 装进密封的盒子内保存并带回实验室。

1.2 批次实验

为避免渗滤液中固有微塑料和其他颗粒态杂质 的干扰,实验前对渗滤液进行300目(目=孔·m⁻²) 的筛网过滤处理。将PS微塑料添加到含100 mL渗 滤液的锥形瓶中,保证PS微塑料的最终含量为 300~400个·L⁻¹,该数值约为实际渗滤液中PS微塑 料含量的10倍^[56]。将锥形瓶置于(30±1)℃、200 rpm的摇床中以模拟实际渗滤液流动过程,进而分 析其中PS微塑料的长期老化行为,分别在30、60、 90d后取样进行分析。从锥形瓶中提取含有PS微 塑料的渗滤液样品,其中的PS微塑料颗粒用不锈钢 筛分离后用于分析物理化学特征、表面附着微生物 群落和ARGs相对丰度。过滤后的渗滤液用于测定 微生物群落和ARGs相对丰度。所有实验操作均含 有3个平行样品。

1.3 PS微塑料表面特征

在对提取的PS微塑料进行表面理化性质分析 之前,先用体积分数为30%的H₂O₂消化,再用双蒸 水(ddH₂O)冲洗3次,去除表面附着的微生物和有机 物。得到的PS微塑料进一步自然干燥,以进行后续 理化性质表征。

PS 微塑料的热稳定性采用热重分析仪 STA449F3(NETZSCH, Germany)分析。PS微塑 料质量为10 mg,通过N₂吸附/脱附,以10 ℃·min⁻¹ 的升温速率加热到800℃。采用比表面积和孔隙度 分析仪 (ASAP 2460, Micromeritics, USA) 和 Brunauer-Emmett-Teller(BET)吸附模型确定PS 微塑料的比表面积。使用EscaLab 250Xi X 射线光 电子能谱仪(XPS)(ThermoFisher Scientific, USA) 对PS微塑料表面元素组成进行分析, XPS测量光谱 能量为70 eV、能量跃迁为1.0 eV,Cls和Ols高分 辨率光谱能量为30 eV、能量跃迁为0.05 eV。使用 XPSpeak软件(4.1版)处理高分辨率光谱信号。在 衰减全反射模式下利用傅里叶变换红外光谱 (FTIR)扫描 PS 微塑料,波长范围为4 000~600 cm⁻¹, 分辨率为4 cm⁻¹。利用红外分析软件 (OMNIC)对红外光谱图进行处理,根据FTIR结果 计算羰基指数(C₁)来确定PS微塑料表面的老化程 度,C₁为羰基部分(1780~1600 cm⁻¹)与亚甲基部分 参考峰(1490~1420 cm⁻¹)的峰面积比值^[14]。

1.4 DNA提取和ARGs定量

用 PowerSoil DNA 试剂盒(MoBio, USA) 提取 PS 微塑料颗粒和渗滤液样品的总 DNA。用 SMA4000分光光度计(Merinton, China)检测 DNA 含量,提取的 DNA 保存于-20℃条件下用于后续的 ARGs 定量和微生物群落分析。

采用实时定量聚合酶链式反应(PCR)在CFX96 (Bio-Rad, USA)上检测ARGs丰度^[15-16]。本研究的 目标基因包括氨基糖苷类耐药基因(*aadA*1和 *strB*)、β-内酰胺类耐药基因(*bla*_{OXA}和*bla*_{TEM})、磺胺 类耐药基因(*sul*1和*sul*2)、四环素类耐药基因(*tetQ*) 和整合子(*intI*1和*intI*2)。这些ARGs在渗滤液及其 他环境中检出频率较高^[15-16]。实时荧光定量PCR (qPCR)在96孔板中进行,分析试剂包括2.50 µL 10x缓冲液(25 mmol·L⁻¹ Mg²⁺)、0.50 µL dNTPs (10 mmol·L⁻¹)、0.50 µL Taq 聚合酶(2.50 U)、 0.50 µL 引物1(10 µmol·L⁻¹)、0.50 µL 引物2(10 µmol·L⁻¹)、1 µL DNA 模板和19.50 µL ddH₂O。引 物序列、扩增子大小和目的基因退火温度见参考文 献[17]。扩增程序:95℃预变性5min;PCR循环 (94℃,30s,在一定温度下退火30s,72℃扩增30s, 循环40次);74℃扩增30s。所有目标基因的扩增效 率在(100%±10%)内,*R*²≥0.99。拷贝数由标准曲 线确定,ARGs的数量由16SrRNA基因归一化后的 相对丰度评估。

1.5 微生物群落分析

利用 Illumina Miseq 2000 平台对细菌 16S rRNA 的基因高变区(V3-V4)进行扩增、纯化、定量并测序, 以研究渗滤液和 PS 微塑料上的细菌群落结构。生成 的序列通过 Ribosomal Database Project(RDP)将引物、 低质量、歧义碱基序列过滤掉,从而得到高质量序列^[18]。 利用 QIIME(v1.8.0)中的聚类算法 UCLUST 以97% 的相似度对得到的高质量序列进行操作分类单元(OTU) 聚类分析,然后选择每个 OTU 的代表性序列,利用 Greengenes 数据库以0.80 的置信阈值分配到分类系统 中。通过计算α-多样性来评价细菌的丰富度,β-多样 性来分析样品间基于 Bray-Curtis 距离的细菌组成结构 差异。基于这些序列,利用 Picrust 预测部分功能基因 的表达水平。

1.6 数据分析

采用SPSS 22.0软件(IBM公司,USA)进行统 计分析。采用方差分析(ANOVA)明确样品ARGs 丰度差异,将P < 0.05作为统计学意义上的显著差 异。采用R(V3.3.2)中的软件包vegan、Hmisc和 igraph构建网络来分析渗滤液和PS微塑料表面 ARGs与微生物群落结构的关联,网络由软件Gephi (V0.9.2)绘制。

2 结果与讨论

2.1 渗滤液中PS微塑料的理化性质变化

在自然环境下,PS微塑料易发生老化现象,从 而导致表面理化性质的改变。采用热重分析揭示 PS微塑料的热稳定性变化。如图 la 所示,相比老化 前 PS 微塑料颗粒,渗滤液中自然老化 90 d 后的 PS 微塑料颗粒的热重性质发生了显著改变。特征温度 T_5 ,即失重率为5%时对应的温度,是用来表示聚合 物低温热性能的重要指标^[19-20]。渗滤液中老化后 PS 微塑料的 T_5 值从老化前 PS 微塑料的 370 ℃降至 293 ℃,而 T_5 值越低,表示样品中存在越多的不稳定 中间体,可在中低温条件下被分解。随着温度升高 至 800 ℃,老化后 PS 微塑料仍存在 8.5% 的残留物 质,显著高于老化前 PS 微塑料(1.2%)。原因可能 是,渗滤液中的微生物降解作用导致易降解组分含 量降低,从而难降解组分相对百分比较高。此外,老 化过程也可能形成高温下难以分解的高度交联 结构^[21]。



图 1 PS 微塑料颗粒在渗滤液中老化 90 d 前后的性质表征 Fig.1 Characteristics of PS MPs before and after being aged in leachate for 90 d

老化前后 PS 微塑料的比表面积、元素组成等理 化参数如表1所示。老化后 PS 微塑料的比表面积 增加了1.5倍。为了研究 PS 微塑料表面元素组成 的变化,利用 X射线光电子能谱(XPS)对其元素含 量进行表征(见图 1b)。图 1b 中,氧和碳的结合能分 别为532 eV 和 284.9 eV。显而易见,与老化前 PS 微塑料相比,老化后 PS 微塑料的氧元素含量更高, w_o/w_c为0.20,高于老化前的0.04,该结果表明老化 后 PS 微塑料表面含氧基团显著增多。进一步采用 C1s 高分辨率谱分析表面基团的形式,其中 284.6 eV 和 286~287 eV 分别对应主峰 C-C 键和 C-O 键,结果表明 C-O 键是老化后 PS 微塑料表面存在 的主要含氧基团。

表1 渗滤液老化前后PS微塑料的表面性质

 Tab.1
 Surface properties of PS MPs before and after being aged in leachate

项目	比表面积/ (m ² •g ⁻¹)	$w_{\rm C}/\%$	$w_{\rm O}/\%$	$w_{ m O}/w_{ m C}$
老化前PS微塑料	3.3081	94.80	4.10	0.04
老化后PS微塑料	4.8191	80.14	16.39	0.20

图 2 是 PS 微塑料在渗滤液老化过程中的红外 光谱图。从图2可以看出,老化后PS微塑料颗粒在 部分波数的信号增强,即形成新的基团,如RC-OH (1 168 cm⁻¹ 处的 C-O 伸缩振动, 1 360 cm⁻¹ 处的 O-H面内弯曲振动)、RCOOH(1732 cm⁻¹处的 C=O伸缩振动,960 cm⁻¹处的O-H面外弯曲振动) 和Ar-OH(1 380 cm⁻¹ 处的C-O伸缩振动)。此 外,羰基指数是评价微塑料表面氧化程度的重要指 标^[19,22]。在渗滤液老化90 d后PS微塑料的羰基指 数为0.35,高于老化前PS微塑料的0.11,因此自然 老化增加了PS微塑料表面的氧化程度。然而,渗滤 液中自然老化的微塑料的羰基指数低于高级氧化处 理的微塑料^[22],这表明相比物理化学处理手段,自然 老化过程造成的氧化程度较低。同时,在渗滤液的 自然老化过程中,PS微塑料表面变化主要是形成 C-O的基团发生氧化,其氧化程度低于C=O。

2.2 老化过程中PS微塑料表面上ARGs和微生物 群落的演变过程

除了PS微塑料,抗生素抗性基因(ARGs)也是 渗滤液中存在的高风险新兴污染物之一^[6,16]。研究 发现,环境中的微塑料可富集重金属、抗生素等污染 物,从而增加其扩散风险^[23-25]。Lu等^[26]在2019年报 道了海洋环境中PS微塑料表面可富集ARGs。上 述结果证实,渗滤液中PS微塑料表面性质会发生改 变,而性质变化会影响其对污染物的吸附行为。鉴 于此,通过定量分析渗滤液中PS微塑料表面上 ARGs的丰度,明确老化过程中PS微塑料对ARGs 影响规律的变化。如图3所示,随着老化时间的增 加,PS微塑料表面上ARGs如sul1、blaoxa、blaTEM、 tetQ和intI2的相对丰度显著高于渗滤液体系中,富 集倍数为1.9~31 200.0倍,而 aadA1、strB、sul2、 intI1等ARGs则无明显富集现象。Lu等^[26]的研究也 发现,微塑料上总ARGs相对丰度远远大于水中对 应值。因此,渗滤液体系中可在PS微塑料表面富集 ARGs,并且老化过程可增强富集效果。





细菌群落是决定ARGs环境行为的重要因素之 一[6,16]。大量研究表明,微塑料表面可附着和定殖微 生物群落,尤其是病原菌^[27-28]。因此,进一步分析老 化过程中渗滤液和PS微塑料表面微生物群落结构 变化规律。在属水平上,共检测到20个属,其中棒 状杆菌属(Corvnebacterium)在所有样本中为主要组 成属,相对丰度为17.318%~71.812%。孢子虫属 (Sporosarcina)在第30天和第60天渗滤液中和PS 微塑料表面上均为主要菌属,平均相对丰度分别为 24.6%和15.1%,而空白组在第60天未检出,在第 90天所有样本中均未检出。特吕珀菌属(Truepera) 在第30天未检出,在第60天开始检出,其中空白组 先提高后降低,渗滤液中和PS微塑料表面上在第90 天时相对丰度分别增加到了9.30%和15.03%。赖 氏菌属(Leifsonia)在第60天检出,在第90天渗滤液 中相对丰度显著增加,达到29.10%。此外,在PS微 塑料老化过程中,溶杆菌属(Lysobacillus)、芽孢杆菌 属(Bacillus)、少盐芽胞杆菌属(Paucisalibacillus)和 假棍状杆菌属(Pseudoclavibacter)在渗滤液中和PS 微塑料表面上相对丰度均有所下降。对渗滤液中和 PS 微塑料表面上主要菌群相对丰度进行比较, PS 微塑料表面上棒状杆菌属的相对丰度是渗滤液的 1.52~2.05倍。由此可见, PS微塑料对棒状杆菌属 具有较强的选择富集能力,而棒状杆菌属是一种重 要的病原菌。该结果与文献报道结果类似,即微塑





料可作为致病菌的主要载体,具有致病性的微生物 在其表面上进行富集从而增加环境风险^[29]。随着渗 滤液中PS微塑料表面结构发生变化,其表面更易吸 附和定殖微生物,而不同类型微生物的定殖和富集 能力具有差异,从而导致微生物相对丰度变化规律 不同。因此,随着老化过程的进行,赖氏菌属的相对 丰度逐渐增加,而其他部分微生物的相对丰度(如假 棍状杆菌属、溶杆菌属、芽孢杆菌和少盐芽胞杆菌 属)呈现降低趋势。

2.3 老化过程中PS微塑料表面上ARGs变化机制

采用网络分析进一步从群落结构变化的角度揭示 PS 微塑料表面上 ARGs 的富集规律。图4a和4b分别为整个实验周期所测得的渗滤液中和PS 微塑料表面上目标 ARGs 与微生物属之间的关联网络。其中,渗滤液体系中 ARGs 与 34 个属相关, 而 PS 微塑料表面上 ARGs 相关微生物属为 25 个, 即渗滤液

中的ARGs潜在宿主具有更高的多样性。此外,通 过分析网络的拓扑性质可以发现,PS微塑料表面上 的ARGs-微生物网络的网络直径(ND)和聚类系数 (CC)分别为3.28和0.47,高于渗滤液中相应的属 性值(2.82和0.40),较高的网络直径和聚类系数表 明PS微塑料表面上的微生物与ARGs存在更为紧 密的关联关系,即宿主微生物在ARGs的传播中发 挥更为明显的作用。网络分析结果与微生物群落结 构演变过程相符合。通过图4可以发现,目标ARGs 与棒状杆菌属没有相关性,即棒状杆菌属不是 ARGs的潜在宿主微生物,因而其他ARGs宿主微生 物在PS微塑料表面上的大量富集导致棒状杆菌属 相对丰度降低。另外,特吕珀菌属和赖氏菌属与目 标ARGs相关性较高,这与两者在老化过程中相对 丰度从低到高的变化紧密相关。以上结果表明,PS 微塑料表面上的 ARGs 与微生物具有更为密切的关



联作用,即形成区别于渗滤液体系的特定生态位。

0 IOWETWO



Fig.4 Network analysis of co-occurrence of ARGs and potential host genera in leachate and on PS MPs' surface

除了细菌群落,ARGs的变化受到微生物基因 水平的调控。基于此,采用Picrust分析预测了部分 与调控抗性基因相关基因的相对丰度。图5表示部 分功能基因的表达水平,基因表达单位为RPKM,即 百万序列中来自于目标基因每千碱基长度的序列 数。其中,tcaB(K07552)为调控大环内酯类抗生素 抗性的基因,pcoD(K07245)和nrsD(K07785)分别 编码针对重金属铜和镍抗性的蛋白。大量研究表 明,微生物对抗生素与重金属抗性具有较强的共选 择效应^[30-31]。本研究中,PS微塑料表面上微生物中 抗生素和重金属抗性相关调控基因的表达水平显著 高于渗滤液体系中。由此可见,PS微塑料表面定殖 的微生物具有显著区别于渗滤液的生态位,其中涉 及抗生素抗性调控的基因表达水平较高而导致PS 微塑料表面ARGs相对丰度高于渗滤液。此外,PS 微塑料老化过程中伴随着部分降解,PS微塑料表面 上微生物群落演变过程可能与能够降解塑料的微生 物相关,从而使得相关的ARGs发生改变。



图5 渗滤液中和PS 微塑料表面上与ARGs 相关的部分功 能基因表达水平

Fig. 5 Predicted expression level of typical functional genes involved in ARGs propagation in leachate and on PS MPs' surface

3 结论

(1)渗滤液中长期存在的PS微塑料颗粒发生老 化现象,90d老化后可导致其表面理化性质改变,包 括热稳定性改变、比表面积变大、C-O基团含量增 加等。

(2)渗滤液中PS微塑料表面上选择性富集

ARGs,并且随着老化时间延长富集倍数显著增加。 此外,PS微塑料表面附着的微生物群落中含有更高 相对丰度的病原菌。

(3)相比渗滤液体系中,PS微塑料表面上ARGs 与微生物形成更为稳定和密切的关联关系,参与抗 生素抗性的调控基因表达水平较高。这些结果都导 致PS微塑料表面上ARGs相对丰度较高,从而增强 ARGs的扩散风险。

作者贡献声明:

苏应龙:制定研究方案,指导并参与实验设计、数据分 析、论文写作。

庞蕊蕊:数据分析,论文初稿写作与修改。

邵博群:参与数据分析,论文写作与修改。

张中键:参与实验设计和老化实验过程。

谢 冰:指导方案设计,论文写作与修改。

参考文献:

- [1] WONG J K H, LEE K K, TANG K H D, et al. Microplastics in the freshwater and terrestrial environments: prevalence, fates, impacts and sustainable solutions [J]. Science of the Total Environment, 2020, 719: 137512.
- [2] CHEN G, FENG Q, WANG J. Mini-review of microplastics in the atmosphere and their risks to humans [J]. Science of the Total Environment, 2020, 703: 135504.
- [3] CHEN Q, YIN D, JIA Y, et al. Enhanced uptake of BPA in the presence of nanoplastics can lead to neurotoxic effects in adult zebrafish [J]. Science of the Total Environment, 2017, 609: 1312.
- [4] XUE X D, FANG C R, ZHUANG H F. Adsorption behaviors of the pristine and aged thermoplastic polyurethane microplastics in Cu(II)-OTC coexisting system [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 407: 124835.
- [5] HE P, CHEN L, SHAO L, et al. Municipal solid waste (MSW) landfill: a source of microplastics? —evidence of microplastics in landfill leachate [J]. Water Research, 2019, 159: 38.
- [6] SU Y L, ZHANG Z J, WU D, et al. Occurrence of microplastics in landfill systems and their fate with landfill age [J]. Water Research, 2019, 164: 114968.
- [7] WANG J, QIN X, GUO J B, *et al.* Evidence of selective enrichment of bacterial assemblages and antibiotic resistant genes by microplastics in urban rivers [J]. Water Research, 2020, 183: 12.
- [8] MUELLER M T, FUESER H, TRAC L N, et al. Surfacerelated toxicity of polystyrene beads to nematodes and the role of food availability [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(3): 1790.
- [9] LIU G Z, ZHU Z L, YANG Y X, et al. Sorption behavior and

mechanism of hydrophilic organic chemicals to virgin and aged microplastics in freshwater and seawater [J]. Environmental Pollution, 2019, 246: 26.

- [10] WU D, HUANG Z T, YANG K, et al. Relationships between antibiotics and antibiotic resistance gene levels in municipal solid waste leachates in Shanghai, China [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(7): 4122.
- [11] SHI J H, WU D, SU Y L, *et al.* (Nano)microplastics promote the propagation of antibiotic resistance genes in landfill leachate
 [J]. Environmental Science: Nano, 2020, 7(11): 3536.
- [12] DONG H, CHEN Y L, WANG J, et al. Interactions of microplastics and antibiotic resistance genes and their effects on the aquaculture environments [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 403: 123961.
- [13] 褚献献,郑波,何楠,等.微塑料与污染物相互作用的研究进展[J].环境化学,2021,40(2):1.
 CHU Xianxian, ZHENG Bo, HE Nan, *et al.* Progress on the interaction between microplastics and contaminants [J]. Environment Chemistry,2021,40(2):1.
- TER HALLE A, LADIRAT L, MARTIGNAC M, et al. To what extent are microplastics from the open ocean weathered?
 [J]. Environmental Pollution, 2017, 227: 167.
- [15] SU Y L, WANG J X, XIA H P, et al. Comparative network analysis revealing the mechanisms of antibiotic resistance genes removal by leachate recirculation under different hydraulic loadings [J]. Science of the Total Environment, 2019, 649: 318.
- [16] WU D, HUANG X H, SUN J Z, et al. Antibiotic resistance genes and associated microbial community conditions in aging landfill systems [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(21): 12859.
- [17] SU Y L, WU D, XIA H P, et al. Metallic nanoparticles induced antibiotic resistance genes attenuation of leachate culturable microbiota: the combined roles of growth inhibition, ion dissolution and oxidative stress [J]. Environment International, 2019, 128: 407.
- [18] 刘山林. DNA条形码参考数据集构建和序列分析相关的新兴 技术 [J]. 生物多样性, 2019, 27(5): 526.
 LIU Shanlin. DNA barcoding and emerging reference construction and data analysis technologies [J]. Biodiversity Science, 2019, 27(5): 526.
- [19] MEHMOOD C T, QAZI I A, HASHMI I, et al. Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) modified with dye sensitized titania and starch blend using *Stenotrophomonas pavanii* [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 113: 276.
- [20] PARK S Y, KIM C G. Biodegradation of micro-polyethylene particles by bacterial colonization of a mixed microbial consortium isolated from a landfill site [J]. Chemosphere, 2019, 222: 527.
- [21] DE LA ORDEN M U, MONTES J M, URREAGA J M, (下转第 1737页)