

基于文献计量学的农业种植环境中抗生素抗性基因的研究进展

赵震雄^{1,2}, 张宇轩^{2*}, 王丽平², 刘瑞志², 汤利^{1*}

1. 云南农业大学资源与环境学院, 云南昆明 650201

2. 中国环境科学研究院, 国家环境保护河口与海岸带环境重点实验室, 北京 100012

摘要: 抗生素抗性基因 (ARGs) 已发展成为一类对人体健康和生态环境造成极大威胁的新污染物. 研究表明 ARGs 会随着农产品等通过食物链进入畜禽动物或人体内, 造成较大健康风险, 然而目前关于农业种植环境中 ARGs 的系统研究仍明显不足. 该文采用文献计量学方法, 系统分析了近 5 年农业环境中 ARGs 的相关研究进展, 并对其污染来源、赋存形态、迁移风险、影响因素和控制措施等进行了系统深入的研究. 结果表明: 农业环境中 ARGs 相关研究较少且不聚焦, 有机肥/粪肥施用、生产生活污水灌溉、杀菌剂应用等生产方式导致农业种植环境中 ARGs 不断累积, 逐渐成为抗生素耐药性发展的新兴属地. 农业种植环境中, ARGs 主要赋存于胞内 DNA(iDNA)、胞外 DNA(eDNA)、可移动遗传元件 (MGEs) 和胞外聚合物 (EPS), eDNA 的广泛分布和 EPS 的稳定性导致 ARGs 持续积累. ARGs 的水平转移和扩散风险主要归因于 MGEs 的迁移、iDNA 的细菌间转导、eDNA 的自然转化和 EPS 的物质交换等过程, 并受不同农地利用模式下土壤理化性质、养分状态、抗生素及其他污染物等多重因素的影响, 土壤盐渍化、养分和污染物富集等过程会加剧抗生素耐药性传播风险. 堆肥发酵和有机碳添加是控制抗生素耐药性扩散的主要方式, 但其主要通过降解或吸附抗生素削减 ARGs 的产生, 难以满足土壤环境中大量 ARGs 积累下的控制需求. 建议进一步研究农业环境中 ARGs 的演变特征, 综合评估其生态健康风险, 并采取源头控制、营养优化和污染物修复等措施削弱抗生素、污染物和养分变化对细菌的胁迫, 抑制环境中 ARGs 的累积和迁移扩散.

关键词: 文献计量; 污染来源; 迁移风险; 影响因素; 管控措施

中图分类号: X171.3

文章编号: 1001-6929(2023)12-2393-14

文献标志码: A

DOI: 10.13198/j.issn.1001-6929.2023.09.12

Research Progress on Antibiotic Resistance Genes in Agricultural Planting Environment Based on Bibliometrics

ZHAO Zhenxiong^{1,2}, ZHANG Yuxuan^{2*}, WANG Liping², LIU Ruizhi², TANG Li^{1*}

1. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

2. State Environmental Protection Key Laboratory of Estuarine and Coastal Environment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

Abstract: Antibiotic resistance genes (ARGs), as emerging contaminants, pose a huge threat to human health and the ecological environment. It has been confirmed that ARGs can enter livestock and humans through the food chain along with agricultural products, causing greater health risks. However, there is still insufficient systematic research on ARGs in agricultural planting environment. This paper is based on bibliometrics and systematically summarizes the research progress of ARGs in agricultural environment in the past 5 years, and a systematic and in-depth study is performed on the pollution sources, occurrence forms, migration risks, influencing factors and

收稿日期: 2023-07-19

修订日期: 2023-09-22

作者简介: 赵震雄(1998-), 男, 云南大理人, dayude1129@Gmail.com.

* 责任作者: ①汤利(1964-), 女, 吉林白山人, 教授, 博士, 主要从事农业资源与环境研究, ltang@ynau.edu.cn; ②张宇轩(1992-), 女, 山东济宁人, 助理研究员, 博士, 主要从事环境中抗生素及其抗性基因研究, yxzhangstella@163.com

基金项目: 中国环境科学研究院国家环境保护河口与海岸带环境重点实验室开放基金项目 (No.HKHA2022005); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No.2022YSKY-03); 云南省重大科技专项计划项目 (No.202102AE090030)

Supported by Open Research Fund of State Environmental Protection Key Laboratory of Estuarine and Coastal Environment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences (No.HKHA2022005); Fundamental Research Funds for the Central Public-Interest Scientific Institution, China (No.2022YSKY-03); Major Science and Technology Special Project of Yunnan Province, China (No.202102AE090030)

control measures of ARGs. The result showed that there is little research on ARGs in the agricultural environments and a lack of focus. The application of organic fertilizers/manure, irrigation with production and domestic sewage, and the use of disinfectants all contributed to the accumulation of ARGs in agricultural planting environments, becoming an emerging reservoir for the development of antibiotic resistance. In agricultural planting environments, the ARGs mainly existed in intracellular DNA (iDNA), extracellular DNA (eDNA), mobile genetic elements (MGEs), and extracellular polymeric substances (EPS). The widespread distribution of eDNA and stable exchange of EPS facilitated the accumulation of ARGs. The migration risk of ARGs in agricultural planting environments, known as horizontal gene transfer (HGT), is mainly attributed to the processes such as MGE migration, inter-bacterial transfer of iDNA, natural transformation of eDNA, and EPS exchange. These processes are influenced by various factors such as soil physicochemical properties, nutrient elements, antibiotics, and other pollutants under different agricultural land use patterns. Additionally, soil salinization, nutrient and pollutant enrichment in agricultural planting environments can exacerbate the risk of the spread of antibiotic resistance. Currently, composting fermentation and organic carbon addition are the main methods to control the spread of antibiotic resistance, but these methods mainly reduce the production of ARGs by degrading and adsorbing antibiotics, which is insufficient to meet the demand for reducing the accumulation of ARGs in the soil environments. It is recommended to further study the evolutionary characteristics of ARGs in agricultural environments and conduct comprehensive risk assessment. Measures such as source control, nutrient optimization, and pollutant remediation should be taken to enhance soil stability, reduce the bacterial stress caused by changes in antibiotics, pollutants and nutrients, and inhibit the accumulation, migration and diffusion of ARGs in agricultural environment.

Keywords: bibliometric; pollution sources; migration risks; influencing factors; control measures

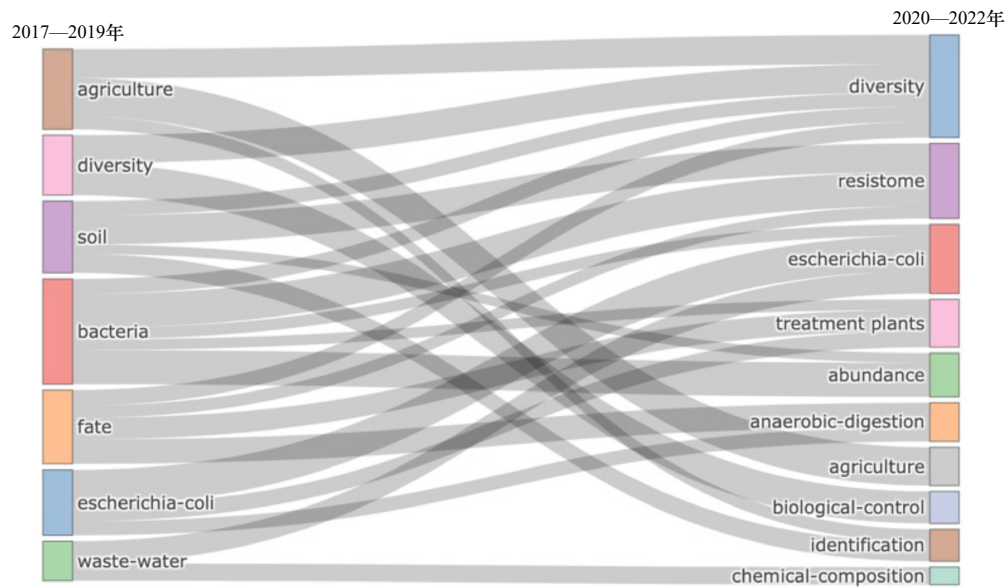
近年来,具有广泛传播性的有害生物污染成为全球关注的焦点. 抗生素作为一种新污染物,具有生物毒性、环境持久性、生物累积性等特征^[1-2]. 2022年5月,《新污染物治理行动方案》将抗生素列为重点管控新污染物,需采取源头禁限、过程减排及末端治理的全过程环境风险管控措施. 与抗生素自身危害相比,抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)的危害更为严重,能够通过基因的水平转移打破物种间的限制,实现跨物种传播^[3]. 研究证实,若抗生素耐药性问题得不到解决,预计到2050年全球每年因抗生素耐药性问题死亡的人数将达到1 000万人,造成经济损失100万亿美元^[4]. 近年来,因农药、兽药、化肥等的大量使用,以ARGs为代表的新型生物性污染呈现出复杂性和多元化特征,作为新的环境污染问题在农业环境中日益突出. 诸多研究表明,ARGs会随着农产品等通过食物链进入畜禽动物或人体内,引发的抗生素耐药性问题已发展成为生态安全和公共健康的严重威胁,但目前关于农业环境中ARGs的系统研究报道仍明显不足. 因此,亟需深入了解农业环境中ARGs的污染现状及环境风险,以期对未来农业环境中抗生素及ARGs的管控提供理论依据.

1 基于文献计量学的农业环境中ARGs的研究热点分析

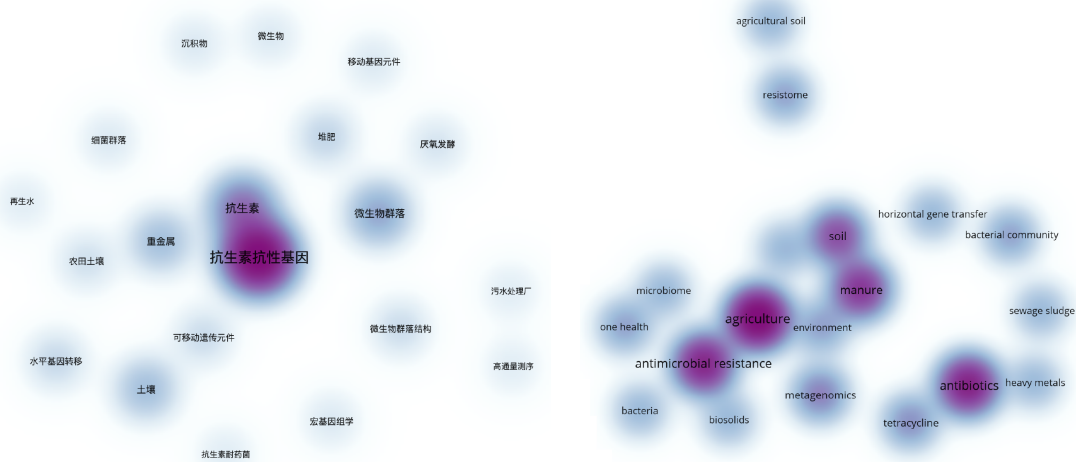
采用文献计量学方法,基于CNKI和Web of Science数据库,系统分析了近5年来农业环境中ARGs的研究热点. 检索日期为2022年7月22日,

设定检索主题为“Agriculture”或“Agricultural”中精炼检索“Antibiotic Resistance Genes”,去重后分别得到CNKI的183篇和Web of Science的115篇论文. 利用CiteSpace^[5]对检索到的文献关键词进行聚类统计,并绘制Timeline图谱(见图1). 基于CNKI[见图1(a)]和Web of Science[见图1(b)]两种检索方式,聚类模块值(Q值)分别为0.844 3和0.732 6,聚类平均轮廓值(S值)分别为0.960 8和0.900 8,表明CiteSpace能够对农业环境中ARGs的数据集准确归类. 关键词的整体网络Density值分别为0.014 0和0.021 6,表明目前农业环境中ARGs的研究较少且不聚焦. 进一步分析Timeline图谱,结果表明农业环境中ARGs的研究主题随着时间发生明显变化. 具体而言,2017年,相关研究主要集中于抗生素及其ARGs在水和土壤环境中的相关性及时空变化规律. 2019年起,关于抗生素及ARGs的研究则更多聚焦于水库、河流及海水养殖等人为干扰较多的环境. 截止到2022年,农业种植环境中ARGs的研究逐渐发展为一个新的研究热点,主要聚焦于探究有机肥、畜禽粪污和生产生活废水对农业种植环境中ARGs生物积累的影响及其环境风险,但相关研究报道仍明显不足.

进一步通过Bibliometrix^[6]基于Louvain算法得到近5年农业环境中ARGs的研究主题演化[见图2(a)],由2017—2019的7个主题演变到2020—2022年的10个主题,表明该领域ARGs的相关研究开始趋于多元化和深入化. 其中,“Agriculture”和



(a) 基于Bibliometrix的主题演化



(b) 基于Vosviewer的主题密度

图 2 基于 Bibliometrix 主题演化和 Vosviewer 主题密度的农业环境 ARGs 的研究概况

Fig.2 The general research overview of ARGs in agricultural environment based on Bibliometrix theme evolution and Vosviewer theme density

2 农业种植环境中 ARGs 的污染来源及赋存特征

2.1 ARGs 的污染来源

ARGs 一般是由于细菌对抗生素产生耐药性所致, 主要分为内源性抗性、适应性抗性和获得性抗性. 内源性抗性是指细菌本身的固有属性, Chen 等^[3]在人为干扰较少的土壤中检测到完全不同于现代抗性组的 β -内酰胺类和氟喹诺酮类 ARGs, 刘燕等^[11]在贡嘎山受人为干扰较小的极高海拔区 (2 948~3 651 m) 土壤中发现了 132 种 ARGs 和 10 种 MGEs. 然而, 内源性抗性产生的 ARGs 丰度显著低于受人为干扰较多的土壤环境, 细菌的适应性抗性和获得性抗性是 ARGs 在环境中持续富集的主要原因.

适应性抗性是指环境背景值变化或抗生素亚抑制水平导致基因和或蛋白质表达水平暂时改变, 促进细菌产生适应性耐药性. 获得性耐药性是指在细菌的繁殖生长过程中, 通过对环境中外源遗传物质行整合产生获得性耐药性. 据统计, 2013 年我国 36 种化学类抗生素使用总量约 162 000 t^[2], 其中四环素类、磺胺类、喹诺酮类、大环内酯类和 β -内酰胺类抗生素使用范围广且用量大, 分别占使用总量的 5%、7%、17%、26% 和 21%, 广泛应用于农业、畜牧业和医药行业. 基于 Vosviewer 的主题密度分析表明 ARGs 与抗生素和微生物群落密切相关[见图 2(b)], 因此, 农业环境中抗生素耐药性的发展并不仅是微生物自身所分泌物质导致, 而是在农业环境中抗生素增加的背

景条件下, 细菌更容易产生适应性抗性和获得性抗性, 导致 ARGs 持续累积并多元化发展。

农业种植活动中施肥、施药、灌溉等生产方式^[12]极大促进了 ARGs 的富集及耐药微生物的发展^[2,13], 农业种植环境面临着严峻的 ARGs 挑战。在我国主要农业产区 (见表 1), 土壤种植环境中 ARGs 平均丰度

为 $2.49 \times 10^{10} \sim 3.09 \times 10^{10}$ copies/g (绝对丰度) 和 $5.7 \times 10^{-3} \sim 2.39 \times 10^{-1}$ (相对丰度)^[14-20], 远高于水环境中 ARGs 的丰度^[21]。通过共现网络分析 (见图 3) 发现, 农业种植环境中 ARGs 与兽用抗生素密切相关, “Bacteria” 和 “Abundance” 是 ARGs、抗生素耐药性和兽用抗生素间的重要枢纽。

表 1 不同农业种植环境中的 ARGs 丰度

Table 1 Abundance of ARGs in different agricultural planting environment

研究地点	作物种类	ARGs 种类	ARGs 绝对丰度/(copies/g)	ARGs 相对丰度	数据来源
东北黑土地地区	生菜	169	$2.59 \times 10^7 \sim 4.14 \times 10^8$	NA	文献[14]
山东省	生菜	116	$4.25 \times 10^{10} \sim 1.09 \times 10^{11}$	NA	文献[15]
	西红柿	NA	4.42×10^6	NA	文献[16]
河南省	菜地	149	NA	$1.09 \times 10^{-2} \sim 3.63 \times 10^{-1}$	文献[17]
安徽省	水稻	54	NA	$2.27 \times 10^{-5} \sim 4.96 \times 10^{-3}$	文献[18]
江苏省	水稻	56	NA	$4.82 \times 10^{-3} \sim 1.12 \times 10^{-2}$	文献[18]
长三角地区	水稻	187	NA	$2.26 \times 10^{-4} \sim 1.16 \times 10^{-1}$	文献[18]
上海市	水稻	10	NA	$2.21 \times 10^{-4} \sim 1.34 \times 10^{-3}$	文献[18]
浙江省	水稻	67	NA	$2.10 \times 10^{-5} \sim 3.86 \times 10^{-3}$	文献[18]
福建省	香蕉	159	1.41×10^{10}	NA	文献[19]
	柑橘	89	6.47×10^9	NA	文献[19]
	甘蔗	NA	7.96×10^9	NA	文献[19]
	花生	NA	1.10×10^{10}	NA	文献[19]
	水稻	NA	1.28×10^{10}	NA	文献[19]
四川省	水稻	166	$9.55 \times 10^8 \sim 2.83 \times 10^9$	NA	文献[20]

注: NA 表示数据缺失。

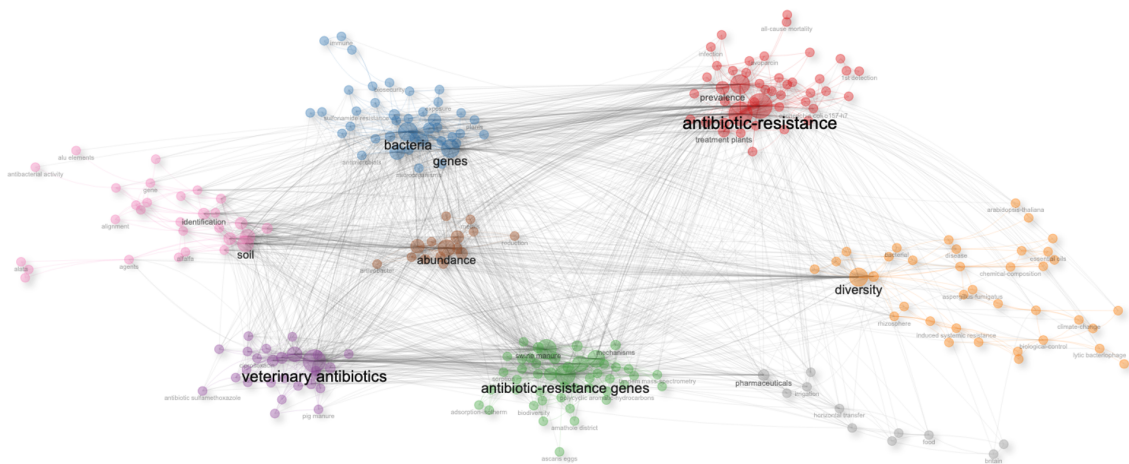


图 3 农业环境中 ARGs 相关研究的关键词共现网络图

Fig.3 Co-occurrence network of keywords in ARGs related research in agricultural environment

研究表明, 40%~90% 的抗生素不能被生物完全吸收^[22-24], 仅 2013 年被人类和动物排泄的抗生素就高达 54 000 t^[2]。粪肥粪水或农家肥等的施用导致大量生物残体和代谢产物进入种植环境, 抗生素及其 ARGs 会伴随该过程同步进入土壤, 细菌随即对其产生适应性抗性和获得性抗性, 从而加速 ARGs 的发

展。施用粪肥^[25]和长期堆放粪肥^[26]土壤中的 ARGs 相对丰度分别为 $5.02 \times 10^{-4} \sim 3.00 \times 10^{-3}$ 和 $2.94 \times 10^{-2} \sim 1.55 \times 10^{-1}$, 施用有机肥土壤中的噬菌体携带的 ARGs 总丰度显著高于不施肥和施用化肥的土壤^[27], 连续施用两年粪水的土壤中 *ermF* 和 *ermB* 的污染指数显著增加^[28]。石礼虎等^[29]研究发现, 与空白对照组相比,

施用抗生素菌渣 (高/低施用量实验组) 能够显著提高 ARGs 的检出率和检出丰度. 杀菌剂添加也会促进土壤中 ARGs 丰度的升高. 张厚朴等^[30] 利用三唑酮、百菌清、嘧菌酯和多菌灵四种杀菌剂处理设施土壤 60 天后, ARGs 总丰度是未添加杀菌剂土壤的 1.02~1.98 倍, 是森林土壤的 1.12~2.16 倍. 此外, 人类生产生活废水, 尤其是畜禽养殖、医药行业废水等通常会经污水处理厂处理后排放到自然环境或再生利用, 但现有污水处理设施对抗生素及 ARGs 的去除效果极其有限. 农业种植灌溉对水资源需求量很大, 抗生素及其 ARGs 会随河湖水体、地下水、再生水灌溉等进入农田土壤, 极大程度上促进了农业种植土壤环境中 ARGs 的富集和发展 (见图 4).

2.2 ARGs 的赋存特征

细菌受到抗生素胁迫时, 会启动主动防御机制增强抗生素耐药性^[31], 增加细胞分泌物和代谢水平, 表达更多的外排泵基因, 促进质粒、转座子和整合子等可移动遗传元件 (Mobile Genetic Elements, MGEs) 的产生和释放^[32]. ARGs 在环境中可分为胞内 ARGs

(Intracellular ARGs, iARGs) 和胞外 ARGs (Extracellular ARGs, eARGs). 研究表明, 约有 60% 和 40% 的 ARGs 分别存在于 DNA^[25] 和 MGEs 中^[33-34], Zou 等^[25] 研究发现 MGEs 和 iARGs 的相对丰度存在强相关性. 由此推知, iARGs 容易被细菌体内的遗传物质 (Intracellular DNA, iDNA) 和 MGEs 吸收和转导, 而 eARGs 则容易随着细菌在构建生物膜的过程中排出体外, 进而被环境中游离的 DNA (Extracellular DNA, eDNA) 和 MGEs 捕获^[35].

农业种植土壤中的微生物能够通过分泌核酸、多糖、蛋白质和糖醛酸等胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 以适应环境中的抗生素、除草剂和重金属等带来的压力^[36]. EPS 中富含大量的 DNase 酶, 能够水解 ARGs^[31] 和 eDNA^[37], 因此在理论上土壤中 EPS 对于 ARGs 的发展是阻碍的. 然而, 在人为影响较大的土壤中, 抗生素、重金属等污染物大量存在, 这些污染物能够被 EPS 吸收并与 DNase 酶的特征位点结合^[37], 导致 DNase 酶的活性降低, 从而使得 ARGs 免受 DNase 酶的降解并长期存

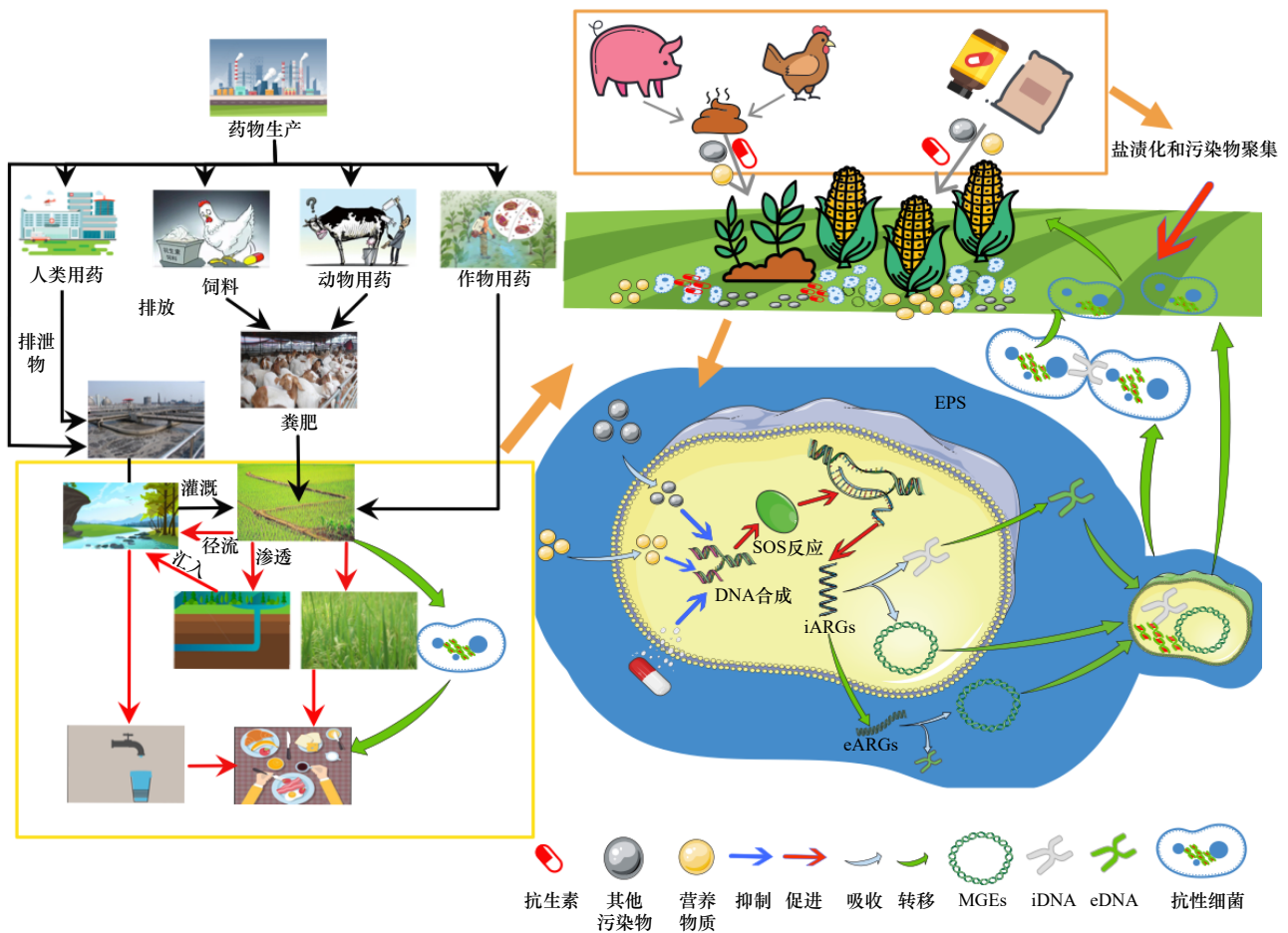


图 4 农业种植环境中 ARGs 的来源、迁移路径、影响因素与作用机制

Fig.4 Source, migration path, influencing factors and mechanism of ARGs in agricultural planting environment

在. Fan 等^[38]研究发现, 厌氧氨氧化过程中产生的 EPS 中的蛋白会分别在 GLU-307、hs-191、ASP-318 和 tr-32 等多个位点与红霉素和磺胺甲恶唑结合, 在 EPS 对抗生素的长期驯化过程中致使 ARGs 产生和累积.

此外, EPS 能够吸收环境中的 eDNA、eARGs 和 MGEs, 且土壤环境中的 EPS 比水环境中更稳定. Pathan 等^[39]研究发现土壤中 eDNA 含量是水体中的 3~4 倍, Wang 等^[40]研究发现, EPS 内部 ARGs 绝对丰度比相应的游离 ARGs 高 0.2~4.6 个数量级, 且 DNA 转化体含量证明与 EPS 相关的 ARGs 转化效率比游离 ARGs 高 3.3~236.3 倍. 由此表明, 农业种植环境中 EPS 和 eDNA 能够充当 ARGs 增殖的潜在遗传物质来源和载体^[33], 导致 ARGs 在农业种植环境中广泛分布并持续累积^[41].

3 农业种植环境中 ARGs 的迁移及风险

与常规的化学污染物不同, ARGs 是具有遗传信息的 DNA 片段, 位于染色体上的 ARGs 能通过染色体的自我复制遗传在细菌亲代之间垂直传播, 发生垂直基因转移 (vertical gene transfer, VGT). 更多研究表明, ARGs 的潜在生态健康风险普遍是由跨物种的基因水平迁移 (horizontal gene transfer, HGT) 造成的. ARGs 相关的基因盒、质粒、转座子和整合子等 MGEs 广泛存在于细菌中, 基因盒和整合子捕获 ARGs, 质粒进行接合和转移 ARGs, 转座子和插入序列转移 ARGs, 不同生物间可以利用这些 MGEs 作载体, 通过转化 (细菌-环境介质-吸收遗传物质)、接合 (细菌-菌毛介质-传递遗传物质)、转导 (细菌-噬菌体-传递遗传物质) 等方式使 ARGs 在细菌间相互传播, 最终导致抗生素耐药性通过基因水平迁移的方式广泛传播. 所以, ARGs 在细菌群落间的基因水平迁移和垂直基因转移是导致 ARGs 造成环境和健康风险的两个重要驱动力.

研究表明, iARGs 和 eARGs 的 HGT 过程并不相同. Zou 等^[25]研究发现, iARGs 与质粒上的整合子 ($R=0.981, P<0.001$) 与转座子 ($R=0.908, P<0.001$) 的相关性远高于 eARGs 与质粒上的整合子 ($R=0.591, P<0.05$) 与转座子 ($R=0.779, P<0.05$) 的相关性, 表明 iARGs 主要通过细菌间 iDNA 的接合、转导及 MGEs 发生水平迁移, 而 eARGs 则主要通过 eDNA 的自然转化^[34]和 MGEs 进行水平转移^[35], 进而证明 ARGs 的 HGT 主要依赖于 DNA 的遗传特性和 MGEs 的跨物种迁移能力. 然而, 并非所有的 DNA 都能成功插入细菌的基因中, 这主要取决于外源 DNA 链和染色

体 DNA 之间是否存在同源区域. 例如, 将 DNA 整合到革兰氏阴性杆菌基因组的过程中, 相较于其他 DNA, 同源 DNA 更容易被转化, 其转化率高达 10^9 倍^[42]. 研究表明, eDNA 的长度为 20~200 bp, 更容易插入细菌中进一步表达^[35], 当 eDNA 与受体基因组同源的 DNA 相连时, 整合转化的概率能够增加 10^5 倍^[42]. Ye 等^[34]研究发现, eDNA 的自然转化不需要特定的蛋白质, 能够通过维持铜绿假单胞菌生物膜结构^[43]诱导细菌富集氨基糖苷类 ARGs^[44], 影响携带 ARGs 的质粒在不同细菌间的自然转化频率^[45], 从而加速 MGEs 和 ARGs 被其他细菌转化的进程. 此外, 土壤中稳定的 EPS 不仅可以长时间保持微生物间的物质交换相对静止, 还能通过自身组分连接两个细胞的菌毛, 从而更加有利于细菌之间的单向质粒交换和基因交换过程^[40]. 这些结果意味着土壤环境中 EPS 的稳定存在、eDNA 的自然转化和 MGEs 的迁移可能是农业种植环境中 ARGs 进行 HGT 的主要方式之一.

农业生产活动导致抗生素及 ARGs 通过粪肥、粪水、灌溉污水等多种方式进入农田土壤环境, 人类可以通过多种途径接触农业种植环境中的 ARGs 并在体内蓄积, 细菌群落及基因的水平垂直转移是导致 ARGs 造成环境和健康风险的两个重要驱动力. 抗生素及 ARGs 进入土壤会直接影响土壤微生物和酶活性, 导致耐药菌产生和增殖, 改变土壤微生物群落结构, 破坏土壤生态系统平衡. 一旦土著微生物获得 ARGs, 因其具有良好的环境适应性, 会以超过亲代菌株的效率扩散, 给土壤种植环境的生态安全带来更大威胁. 随着施肥施药时间不断延长, ARGs 不断累积并在土壤不同层级迁移^[26]. 农田土壤中的抗生素及 ARGs 能够通过淋溶^[46]、渗透等方式进入到地下水环境^[47], 并通过地表或地下径流等方式进入河流、湖泊等水环境中, 导致 ARGs 在不同环境中交叉污染, 从而促进多重耐药基因的产生 (见图 4), 造成更为严重的环境风险.

植物的茎叶、果实等可食用部分是抗生素耐药性从农业种植环境向人类传播扩散的主要途径^[16], 植物根际土壤中的 ARGs 可以向植物体内组织迁移^[48]. 研究表明, 施用有机肥导致生菜叶际 ARGs 丰度是传统生菜中的 8 倍^[49], 长期施用鸡粪会显著增加玉米叶表 ARGs 丰度, ARGs 种类多达 124 种^[1], 超市购买的蔬菜 (沙拉、芝麻菜、香菜等) 中同样检出了携带四环素类 ARGs 的可进行自主转移的质粒^[50]. 由此表明, 土壤中的 ARGs 能够通过农作物从农业种植环境向

人类传播扩散^[49],对人类健康造成较大风险。

4 农业种植土壤中 ARGs 的影响因素

4.1 不同农用地利用模式及土壤性质对 ARGs 的影响

农作物种植模式和种植作物类型均会影响 ARGs 的赋存状况^[19]。例如,在设施菜地、大田和粮田等不同的农地利用方式下,设施菜地 ARGs 丰度显著高于大田及粮田。王佳佳等^[51-52]研究发现,温室土壤中 *tet* 类抗性基因和 *int1-1* 基因的丰度及菜地中 ARGs 丰度均显著高于大田土壤 ($P < 0.05$),推测与有机肥施用量高、环境密闭、环境温度高等因素相关,最终导致 ARGs 在不同种植模式下的累积差异。此外,黄福义等^[19]研究不同种植作物时发现,同样施肥方式下种植不同作物会导致 ARGs 丰度呈现显著差异 ($P > 0.05$),其中香蕉种植土壤环境中 ARGs 的绝对丰度 (1.41×10^{10} copies/g) 最高,其次为花生 (1.28×10^{10} copies/g)、水稻 (1.10×10^{10} copies/g)、甘蔗 (7.96×10^9 copies/g) 和柑橘 (6.47×10^9 copies/g),推测由于不同作物通过根系生长和渗出过程改变土壤理化性质,并富集不同类型细菌群落,从而直接或间接改变 ARGs 的赋存和演变特征^[53-54]。此外,秸秆还田同样与 ARGs 的发展存在一定关系。Zhang 等^[55]研究了秸秆还田对稻田土壤中磺胺类抗生素 (SMX) 及其 ARGs 的影响,结果表明,对于抗生素,秸秆还田可以通过共代谢作用加速 SMX 的降解;对于 ARGs,秸秆还田作用 10 天时,*int1-1* 和 *sull* 基因丰度显著高于空白对照组,但当作用 60 天后,*int1-1* 和 *sull* 基因丰度则显著低于空白对照组,其中溶解性有机碳及变形菌门和放线菌门细菌在 ARGs 消除中发挥了积极作用。

土壤自身性质对 ARGs 有重要影响,如土壤类型、土壤 pH、水分等。Wang 等^[56]研究发现,潮土和盐碱土 ARGs 的多样性和相对丰度比褐土更高,且潮土中 ARGs 的相对丰度与 MGEs 的相对丰度具有很强的相关性。土壤 pH 的升高会增加抗生素在土壤中的移动性,从而增加抗生素耐药迁移风险。土壤水分则能影响土壤间隙度、吸附系数和离子电位等。有机质分解的中间产物^[41](如链球菌素和青霉素)则会对微生物群落和 ARGs 的赋存产生影响,如碳、氮、磷作为生物合成 DNA 及生长代谢的基本营养元素,其含量与土壤中的 ARGs 密切相关。Qian 等^[57]研究表明,土壤中的氮会导致部分酶的功能富集和 ARGs 的转移;Sun 等^[58]研究发现,通过施加植物和微生物所需的氮会增加土壤和蔬菜中 *blaTEM*、*cmlA*、*sull* 和 *tnpA-4* 的丰度,表明氮形态的改变及其含量的增加能够促进 ARGs 的富集和转移^[57-60]。Meta 分析证实,ARGs

丰度与土壤碳和磷浓度呈显著正相关 ($P < 0.05$)^[61],且 ARGs 丰度与有效磷浓度的相关性强于 ARGs 丰度与总磷浓度的相关性。另一项研究^[62]指出,当土壤中的营养元素含量发生变化时,会产生暂时性的营养饥饿效应,细菌通过养分的饥饿来感受环境中营养的丰富度,从而调节自身生长,但饥饿反应受到干扰会导致细菌 DNA 损伤诱导反应 (SOS 反应) 发生,促进细菌耐药性和 ARGs 产生 (见图 4)。例如,当细菌受到氨基酸饥饿信号刺激时会诱导 *relA* 和 *spoT* 基因的表达,增加了鸟苷四磷酸分子 (ppGpp) 的含量,从而抑制肽聚糖、DNA 等相关物质合成^[63]。有研究^[64]指出,在营养缺乏的条件下,ppGpp 通过调节转录、翻译水平和细胞周期,改变细胞的新陈代谢和生理状态,有利于增强细菌的耐药性。Rodionov 等^[65]研究发现,ppGpp 的积累可以使得大肠杆菌对青霉素的敏感性降低。因此,农业种植土壤环境中,不合理施肥及养分变化均会对细菌造成选择压力^[66],增加细菌对抗生素的敏感性或胁迫效应,促进 ARGs 的产生、累积和扩散。

4.2 抗生素及其他污染物对 ARGs 的影响

抗生素可以通过有机肥、粪肥和粪水施用等方式进入土壤环境,随即发生吸附、解析、转化、固定等环境过程,从而长期存在于土壤中。当土壤中抗生素残留达到了细菌的亚抑制水平,会产生两种反应:①它能够激活细菌的双组分信号调节系统^[62](two-component regulatory systems, TCSs) 和抗毒素系统^[67](toxin-antitoxin system, TAs),提高抗生素耐药性。TCSs 通过磷酸化介导调节下游基因表达,作用于细菌细胞膜的表面修饰、通透性改变和生物膜形成^[62];而 TAs 能够通过抑制多聚磷酸酶 (PPX) 增强鸟苷酸分子累积和偶联,诱导细菌生长停滞促进耐药性形成^[64]。②抗生素残留会直接抑制细菌的 DNA 复制和修复、蛋白质及生物膜的合成,从而引发细菌 SOS 反应,如喹诺酮类、氨基糖苷类、四环素类和氯霉素类抗生素都可以诱导大肠杆菌和霍乱弧菌中细胞内的 SOS 反应^[68]。正常情况下,SOS 反应由 *recA* 和 *lexA* 基因调节,*lexA* 基因表达的 LexA 蛋白会以二聚体形式阻碍 RNA 聚合酶与 DNA 启动子结合,抑制 SOS 相关基因的表达,使得基因随机突变率降低,每条染色体每代突变率仅为 $10^{-8} \sim 10^{-6}$ ^[69]。但是环境或菌群的不稳定可能引发细菌的 DNA 损伤,进而产生更多单链 DNA(ssDNA);*recA* 基因表达的 RecA 蛋白会在 ATP 存在下与 ssDNA 结合形成复合物^[70],并作为信号分子作用于 LexA 蛋白,使之发生自催化水解,降低对

DNA 修复、突变以及细胞分裂等相关蛋白的转录抑制作用. 细菌便会发生易出错的 DNA 跨损伤合成, 导致细菌基因的突变频率提高 10~10 000 倍, 并诱导细菌产生抗药性表型的相关基因^[71-72]. 例如, *Escherichia coli* 的 DNA 修复机制中 *sulA* 基因暴露于抗生素等杀菌性物质时, 阻碍 DNA 损伤修复导致基因组不稳定, 从而促进细菌产生 ARGs^[73].

另有研究^[37]显示, 在有机污染物和重金属等污染物共存的条件下, 亚抑制浓度的抗生素更容易诱导细菌的 SOS 反应相关基因表达, 从而促进多重耐药 ARGs 富集. 有机污染物和重金属对 ARGs 的促进作用主要表现在以下几方面: ①有机污染物和金属离子都能促进细菌的 MGEs 产生. 例如, 细菌对微塑料的降解中 MGEs 会伴随着大量有机物降解基因表达而增加^[74]; 重金属使得细菌胞内胞外渗透压增加, MGEs 会伴随着外排泵系统大量表达而增加^[75]. ②有机污染物 (如十二烷基磺酸钠^[37] 和取代芳香烃^[31]) 和重金属离子 (Cu、Ag、Cr 和 Zn)^[75] 都能够与生物膜中的一些物质结合改变细菌生物膜的通透性, 在细菌体内诱导协同抗性^[66]. ③部分有机污染物能够促进 ARGs 在细菌体内转化. 例如, 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的取代芳香族化合物会促使 ARGs 到大肠杆菌 COLIK-12 的转化效率增加 1.57~2.29 倍^[31]. 此外, 环境中重金属和有机污染物还会降低 EPS 的渗透性和 DNase 酶的活性^[76], 阻碍 DNase 酶对 ARGs 降解, 促进 ARGs 跨越 EPS 渗透性屏障进入土壤中^[77], 从而促进 ARGs 的富集和迁移. 因此, 伴随着施肥、用药、灌溉等进入到农业种植环境中的多种污染物均会促进 ARGs 的富集和迁移.

4.3 农业种植环境中盐渍化对 ARGs 的影响

农业种植过程中, 人们时常会忽略不同作物生长所需的养分条件及土壤环境背景现状, 盲目施肥施药以达到作物高产的目的, 使得农田土壤中积累了大量无机和有机污染物等, 加剧了土壤盐渍化, 限制了养分利用, 从而可能加剧 ARGs 污染及水平迁移的风险. Xu 等^[76] 研究表明, 在含 Al 的高盐土壤和含 Ne 的中性盐土中 ARGs 和 MGEs 的绝对丰度和相对丰度均显著增加, 且盐胁迫条件下利于刺激细菌合成蛋白质, 增加 EPS 的分泌, 促进 ARGs 在土壤环境中的持久性^[78]. 例如, 泛生菌 (*Pantoea* sp.)、芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.)、放线菌 (*Actinomycetes* sp.)、根瘤菌 (*Rhizobium* sp.)、节杆菌 (*Arthrobacter* sp.) 和假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) 等均会在盐胁迫下增加 EPS 的分泌^[79]. 盐胁迫会导致细菌分泌的 EPS 中的多糖含量

增加, 不仅会促进 EPS 对 ARGs 和 MGEs 的吸附能力^[80], 还会抑制细菌对 ARGs 的降解.

虽然研究表明 EPS 中的 DNase 酶能够与 ARGs^[31] 和 eDNA^[37] 相互作用将其水解破坏, 但农业种植土壤中由于过量施肥施药带来的有机污染物和金属离子会与 EPS 相互缠绕, 导致 DNase 酶的三级结构和活性位点发生改变^[37], 最终导致 DNase 酶对 ARGs 的降解受阻. 例如, EPS 中携带的 eDNA 能够与无机阳离子和磷酸盐形成紧密的结合键能^[33], 十二烷基磺酸钠^[37]、取代芳香烃^[31] 和抗生素^[38] 等物质均能与 EPS、eDNA 和质粒结合.

另有研究指出, 盐渍化会抑制尿素水解和硝化过程, 限制土壤生物和微生物对营养元素的利用效率, 导致土壤中游离氨积累^[81]. 土壤中游离氨能够进入细菌细胞, 与磷脂双分子层中的脂肪酸残基发生反应形成氨基酸盐, 促进细菌细胞膜上的脂质双层蛋白质通道更易于开放^[82-83], 导致细菌细胞膜通透性增加, 细胞内外的物质交换增加, 这一过程可能促进细菌释放 iARGs 和 MGEs 或从环境中吸收 eARGs 和 MGEs, 从而加速农业种植环境中的 ARGs 的水平迁移过程. 综上所述, 农业种植环境中的土壤盐渍化问题可能促进着 ARGs 在农业种植环境中水平迁移和环境持久性^[43], 进一步加剧了 ARGs 的环境风险.

5 ARGs 的削减与管控

目前, ARGs 管控策略主要集中在减少和限制抗生素的使用. 例如, 临床上积极推广和应用疫苗, 在剂量和疗程上优化抗生素的使用, 畜禽养殖中通过强化养殖管理、优化饲料配方及疫苗接种减少抗生素的使用. 由于抗生素类药物的化学性质稳定且溶解性强, 导致其在环境中持久性及迁移性强. 对于早已面临较高水平 ARGs 污染且长期种植的土壤, 源头管控措施已难以满足 ARGs 的削减需求. 畜禽养殖中, 大量抗生素会随畜禽粪便进入环境, 堆肥及高温发酵可以有效减少粪便中的抗生素, Yue 等^[54] 研究发现, 高温堆肥主要通过降解抗生素促进 ARGs 的削减. ARGs 的控制与抗生素有所不同, 李厚禹等^[84] 研究发现, 虽然好氧-厌氧两相堆肥能有效去除 ARGs, 但 *strB*、*ermB*、*sul1* 和 *sul2* 等 ARGs 和潜在耐药致病菌仍存在增殖现象. 姜欣然等^[85] 发现, 在高温堆肥过程中 *aadA*、*sul2*、*mcr-1* 和 *oqxB* 的消减率分别为 89.39%、97.99%、99.89% 和 99.81%, *int1-1* 基因的消减率高于 80%, 但大多数 ARGs 的相对丰度表现出先降低后升高的趋势. 另有研究^[48,86] 指出, 猪粪生物脱氮堆肥处理后, 产物中部分抗生素、ARGs 及人畜共患病病原菌的浓

度/丰度均会有所降低. 综上, 虽然堆肥工艺能够减少部分 ARGs 的丰度, 但并不能将 ARGs 降低到零风险水平, 甚至导致部分 ARGs 在堆肥区发生多样性变化并长期存在^[26].

另有研究利用外源添加生物炭降低土壤中 ARGs 的污染水平. Wan 等^[87]研究发现, ARGs 丰度与有机碳含量间呈显著负相关, 进一步研究表明生物炭能够吸附并促进土壤中抗生素的降解, 从而减少细菌耐药性产生几率和迁移效率. 段曼莉等^[88]研究表明, 苹果树枝制备的生物炭可以增加土壤对土霉素的吸附能力, 降低土壤、生菜叶和根系中土霉素和 ARGs 的累积和迁移^[49]. 需要注意的是, 生物炭并不能有效控制所有的 ARGs, Shi 等^[89]发现生物炭虽然能够降低土壤中 *tetW*、*sul2* 和 *ermB* 的丰度, 但它显著增加了 *tetX* 和 *int1-1* 的丰度. Zhang 等^[55]发现秸秆还田可以通过增加土壤有机碳促进微生物群落的共代谢作用加速磺胺类抗生素的降解, 但第 90 天土壤中 *sul1*、*int1-1* 和 *sul3* 的丰度为第 10 天的 1~1.5 倍. 此外, 噬菌体疗法也是控制抗生素耐药性的新方法, 生物炭-噬菌体协同作用可以提高土壤和生菜内生细菌群落的结构多样性和功能稳定性, 阻控 ARGs 或耐药菌的迁移, 促进微生物对有机污染物的生物强化降解^[90].

综上, 目前农业种植环境中控制 ARGs 的方法主要包括两个方面: 一是通过堆肥发酵等高温热解方式减少抗生素和耐药菌, 从而实现 ARGs 的初步削减; 二是通过活性炭等外源物质添加降低污染物有效性, 增强土壤微生物稳定性, 以此达到对土壤中 ARGs 的进一步控制^[91-92], 但两种方式均不能实现所有 ARGs 的有效去除, 且去除效果并不显著, 甚至造成部分 ARGs 的累积. 因此, 对于控制农业种植环境中的 ARGs 管控可以从以下几方面着手: 一是优化有机肥的生产工艺, 控制其中的抗生素及 ARGs 残留; 二是优化养分和肥料配方, 减少重金属及其他污染物进入土壤环境; 三是针对 ARGs 特性, 开发能够对其进行高效吸附和降解的新材料.

6 结论与展望

6.1 结论

a) 2017—2022 年的文献计量结果表明, 农业种植环境已发展成为抗生素耐药性发展的新兴归属地, 面临较为严重的 ARGs 污染问题, 但相关研究却相对较少且不聚焦.

b) 施肥、施药、灌溉等农业生产方式极大促进了抗生素耐药性的发展, 细菌的适应性和获得性抗性是 ARGs 在环境中持续富集的主要原因, ARGs 的迁

移主要归因于 MGEs 的水平转移、细菌间 iDNA 的转导、eDNA 的自然转化和 EPS 的物质交换等过程, 导致 ARGs 在农业种植环境中广泛分布.

c) 不同农地利用模式下, 土壤理化性质、营养元素、抗生素及重金属等均会影响 ARGs 的赋存特征, 农业生产引发的土壤盐渍化和污染物富集问题会增加细菌对抗生素的胁迫效应和敏感性, 加速 ARGs 在环境中的累积和迁移.

d) 农业种植环境中的 ARGs 可以通过食物链等多种途径进入生物体内并不断蓄积, 细菌群落及基因的水平垂直转移是导致 ARGs 风险累积的重要驱动力, 对生态环境和人体健康造成严重威胁.

e) 堆肥发酵和外源有机碳添加是控制农业种植环境中抗生素耐药性的主要方式, 但其作用效果有限, 仍需进一步研究新技术新方法, 实现对种植环境中早已大量累积的 ARGs 的有效控制.

6.2 展望

农田土壤是农业环境中抗生素耐药性传播和扩散的重要载体, 存在较高的环境风险和人体健康风险, 必须采取有效措施降低 ARGs 和耐药菌污染风险. 要实现此目标, 建议从以下方面着手:

a) 重视抗生素的源头削减和控制, 加强生产管理及对生产废水和废弃物的管理.

b) 深入探讨不同种植环境中 MGEs、iARGs 和 eARGs 的赋存特征, 并探究其组成成分对 ARGs 积累和迁移风险的影响机制.

c) 利用科学方法进一步优化养分及肥料配比, 削弱污染物和养分变化对微生物的胁迫效应, 降低微生物适应过程中 ARGs 产生和累积的概率.

d) 进一步开展农业环境中的 ARGs 的演变特征研究, 构建其在环境介质中转移的数学模型, 进一步制定并完善 ARGs 从土壤环境到人类病原体细菌传播的风险评估准则.

参考文献 (References):

- [1] HE J Z, YAN Z Z, CHEN Q L. Transmission of antibiotic resistance genes in agroecosystems: an overview [J]. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 2020, 7(3): 329.
- [2] ZHANG Q Q, YING G G, PAN C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(11): 6772-6782.
- [3] CHEN B W, YANG Y, LIANG X M, et al. Metagenomic profiles of antibiotic resistance genes (ARGs) between human impacted estuary and deep ocean sediments [J]. *Environmental Science &*

- Technology,2013,47(22):12753-12760.
- [4] DAVIES S C,OXLADE C.Innovate to secure the future:the future of modern medicine[J].*Future Healthcare Journal*,2021,8(2):e251-e256.
- [5] CHEN C M,SONG M.Visualizing a field of research:a methodology of systematic scientometric reviews[J].*PLoS One*,2019,14(10):e0223994.
- [6] ARIA M,CUCCURULLO C.*bibliometrix*:an R-tool for comprehensive science mapping analysis[J].*Journal of Informetrics*,2017,11(4):959-975.
- [7] 张焕军,王席席,李轶.水体中抗生素污染现状及其对氮转化过程的影响研究进展 [J].*环境化学*,2022,41(4):1168-1181.
- ZHANG H J,WANG X X,LI Y.Progress in current pollution status of antibiotics and their influences on the nitrogen transformation in water[J].*Environmental Chemistry*,2022,41(4):1168-1181.
- [8] YANG J F,YING G G,ZHAO J L,et al.Spatial and seasonal distribution of selected antibiotics in surface waters of the Pearl Rivers,China[J].*Journal of Environmental Science and Health, Part B*,2011,46(3):272-280.
- [9] HE L Y,YING G G,LIU Y S,et al.Discharge of swine wastes risks water quality and food safety:antibiotics and antibiotic resistance genes from swine sources to the receiving environments[J].*Environment International*,2016,92/93:210-219.
- [10] ECK N J V,WALTMAN L.Vosviewer manual[R].Leiden:Leiden University,2015:54.
- [11] 刘燕,路璐.贡嘎山不同海拔土壤中抗生素抗性基因的多样性特征 [J].*西昌学院学报(自然科学版)*,2021,35(2):1-7.
- LIU Y,LU L.Diversity characteristics of antibiotic resistance genes in soils at different altitudes in Gongga Mountain[J].*Journal of Xichang University (Natural Science Edition)*,2021,35(2):1-7.
- [12] 张宇亭.长期施肥对土壤微生物多样性和抗生素抗性基因累积的影响 [D].重庆:西南大学,2017.
- [13] HUYGENS J,RASSCHAERT G,HEYNDRIKX M,et al.Impact of fertilization with pig or calf slurry on antibiotic residues and resistance genes in the soil[J].*Science of the Total Environment*,2022,822:153518.
- [14] 李森.东北黑土农田抗生素抗性基因污染及调控研究 [D].哈尔滨:中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所),2021.
- [15] 李金阳.施用牛粪/堆肥对农田土壤和生菜中抗生素抗性基因传播的影响 [D].济南:济南大学,2021.
- [16] 王兰君.施用粪肥设施菜地土壤中抗生素抗性基因赋存特征和扩散机制 [D].泰安:山东农业大学,2021.
- [17] 张凤丽.某冶炼厂周围农田土壤中抗生素抗性基因分布及其影响因素 [D].郑州:郑州大学,2018.
- [18] 李文.长三角农田土壤中 crAssphage 与抗生素抗性基因共存关系研究 [D].杭州:浙江大学,2021.
- [19] 黄福义,周曙屹,王佳妮,等.不同作物农田土壤抗生素抗性基因多样性 [J].*环境科学*,2021,42(6):2975-2980.
- HUANG F Y,ZHOU S,WANG J N,et al.Profiling of antibiotic resistance genes in different croplands[J].*Environmental Science*,2021,42(6):2975-2980.
- [20] 何燕,朱冬,王东,等.四川省稻田土壤的抗生素抗性基因多样性研究 [J].*农业环境科学学报*,2020,39(6):1249-1258.
- HE Y,ZHU D,WANG D,et al.Diversity of antibiotic resistance genes in paddy soils in Sichuan Province,China[J].*Journal of Agro-Environment Science*,2020,39(6):1249-1258.
- [21] HU Y R,JIANG L,SUN X Y,et al.Risk assessment of antibiotic resistance genes in the drinking water system[J].*Science of the Total Environment*,2021,800:149650.
- [22] CASTIGLIONI S,BAGNATI R,FANELLI R,et al.Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy[J].*Environmental Science & Technology*,2006,40(1):357-363.
- [23] LINDBERG R H,WENBERG P,JOHANSSON M I,et al.Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden[J].*Environmental Science & Technology*,2005,39(10):3421-3429.
- [24] ZHANG H,LI X N,YANG Q X,et al.Plant growth,antibiotic uptake,and prevalence of antibiotic resistance in an endophytic system of pakchoi under antibiotic exposure[J].*International Journal of Environmental Research and Public Health*,2017,14(11):1336.
- [25] ZOU Y N,WU M H,LIU J Y,et al.Deciphering the extracellular and intracellular antibiotic resistance genes in multiple environments reveals the persistence of extracellular ones[J].*Journal of Hazardous Materials*,2022,429:128275.
- [26] 韩婉雪,王凤花,柏兆海,等.畜禽粪便堆放地土壤中抗生素抗性基因和细菌群落的垂直分布特征 [J].*中国生态农业学报(中英文)*,2022,30(2):268-275.
- HAN W X,WANG F H,BAI Z H,et al.Vertical distribution of antibiotic resistance genes and bacterial communities in soil of livestock manure stacking site[J].*Chinese Journal of Eco-Agriculture*,2022,30(2):268-275.
- [27] 胡雪莹,张越,郭雅杰,等.不同施肥处理农田土壤中噬菌体与细菌携带抗生素抗性基因的比较 [J].*生物技术通报*,2022,38(9):116-126.
- HU X Y,ZHANG Y,GUO Y J,et al.Comparison of antibiotic resistance genes carried by bacteriophages and bacteria in farmland soil under different fertilization treatments[J].*Biotechnology Bulletin*,2022,38(9):116-126.
- [28] 范德亮.养殖粪水施用对土壤中抗生素抗性基因的赋存特征影响及其风险评估 [D].呼和浩特:内蒙古大学,2021.
- [29] 石礼虎,吴昊,田书磊,等.β-内酰胺类菌渣肥对生菜根际土壤细菌及抗性基因的影响 [J].*环境科学研究*,2023,36(4):773-782.
- SHI L H,WU H,TIAN S L,et al.Effect of β-lactam-based bacterial residue fertilizer on lettuce rhizosphere soil bacteria and antibiotic resistance genes[J].*Research of Environmental Sciences*,2023,

- 36(4):773-782.
- [30] 张厚朴. 农用杀菌剂胁迫下质粒 RP4 介导的抗生素抗性基因接合转移及其机制 [D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
- [31] SHOU W J, KANG F X, HUANG S H, et al. Substituted aromatic-facilitated dissemination of mobile antibiotic resistance genes via an antihydrolysis mechanism across an extracellular polymeric substance permeable barrier [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(2): 604-613.
- [32] COSTE GRAHL M V, PERIN A P A, LOPES F C, et al. The role of extracellular nucleic acids in the immune system modulation of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2020, 167: 104591.
- [33] SIVALINGAM P, POTÉ J, PRABAKAR K. Extracellular DNA (eDNA): neglected and potential sources of antibiotic resistant genes (ARGs) in the aquatic environments [J]. *Pathogens*, 2020, 9(11): 874.
- [34] YE M, ZHANG Z, SUN M, et al. Dynamics, gene transfer, and ecological function of intracellular and extracellular DNA in environmental microbiome [J]. *iMeta*, 2022. doi: 10.1002/imt.2.34.
- [35] THOMAS C M, NIELSEN K M. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(9): 711-721.
- [36] SUN H W, LI Y R, TANG W, et al. Responses of nitrogen removal, extracellular polymeric substances (EPSs), and physicochemical properties of activated sludge to different free ammonia (FA) concentrations [J]. *Water*, 2022, 14(4): 620.
- [37] ZOU Y N, TU W M, WANG H, et al. Anaerobic digestion reduces extracellular antibiotic resistance genes in waste activated sludge: the effects of temperature and degradation mechanisms [J]. *Environment International*, 2020, 143: 105980.
- [38] FAN N S, FU J J, HUANG D Q, et al. Resistance genes and extracellular proteins relieve antibiotic stress on the anammox process [J]. *Water Research*, 2021, 202: 117453.
- [39] PATHAN S I, ARFAIOLI P, TASKIN E, et al. The extracellular DNA can baffle the assessment of soil bacterial community, but the effect varies with microscale spatial distribution [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2021, 368(12): fnab074. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab074>.
- [40] WANG L, YUAN L, LI Z H, et al. Quantifying the occurrence and transformation potential of extracellular polymeric substances (EPS)-associated antibiotic resistance genes in activated sludge [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 408: 124428.
- [41] GRALKA M, SZABO R, STOCKER R, et al. Trophic interactions and the drivers of microbial community assembly [J]. *Current Biology*, 2020, 30(19): R1176-R1188.
- [42] de VRIES J, WACKERNAGEL W. Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(4): 2094-2099.
- [43] MULCAHY H, CHARRON-MAZENOD L, LEWENZA S. Extracellular DNA chelates cations and induces antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. *PLoS Pathogens*, 2008, 4(11): e1000213.
- [44] CHIANG W C, NILSSON M, JENSEN P Ø, et al. Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2013, 57(5): 2352-2361.
- [45] VAISHNAV A, SHUKLA A K, SHARMA A, et al. Endophytic bacteria in plant salt stress tolerance: current and future prospects [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2019, 38(2): 650-668.
- [46] 胡双庆, 张玉, 沈根祥. 抗生素磺胺嘧啶和磺胺甲恶唑在土壤中的淋溶行为研究 [J]. *环境科学研究*, 2022, 35(2): 470-477.
- HU S Q, ZHANG Y, SHEN G X. Leaching behavior of antibiotics sulfadiazine and sulfamethoxazole in soil [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2022, 35(2): 470-477.
- [47] 邓星亮, 杨安富, 杜涛, 等. 海南省三座典型垃圾填埋场渗滤液及周边地下水中抗生素的污染特征研究 [J]. *环境科学研究*, 2023. doi: 10.13198/j.issn.1001-6929.2023.06.03.
- DENG X L, YANG A F, DU T, et al. Study on the pollution characteristics of antibiotics in leachate and surrounding groundwater from three typical landfill sites in Hainan Province [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2023. doi: 10.13198/j.issn.1001-6929.2023.06.03.
- [48] MUHAMMAD J, KHAN S, SU J Q, et al. Antibiotics in poultry manure and their associated health issues: a systematic review [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2020, 20(1): 486-497.
- [49] 邓贝奇. 生菜中抗生素抗性基因污染溯源初探 [D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
- [50] BLAU K, BETTERMANN A, JECHALKE S, et al. The transferable resistome of produce [J]. *mBio*, 2018, 9(6): e01300-e01318.
- [51] 王佳佳. 北京地区蔬菜土壤抗生素抗性基因分布特征的研究 [D]. 吉林: 东北电力大学, 2016.
- [52] 张秀, 宋建宇, 高欢, 等. 我国不同利用方式土壤的磺胺类和大环内酯类抗生素抗性基因积累 [J]. *环境科学*, 2023. doi: 10.13227/j.hjcx.202211042.
- ZHANG X, SONG J Y, GAO H, et al. Accumulation of sulfonamide and macrolide antibiotic resistance genes in soils under different land use types in China [J]. *Environmental Science*, 2023. doi: 10.13227/j.hjcx.202211042.
- [53] KORENBLUM E, DONG Y H, SZYMANSKI J, et al. Rhizosphere microbiome mediates systemic root metabolite exudation by root-to-root signaling [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(7): 3874-3883.
- [54] YUE Z F, ZHANG J, ZHOU Z G, et al. Antibiotic degradation dominates the removal of antibiotic resistance genes during composting [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 344: 126229.
- [55] ZHANG Y, ZHENG X Q, XU X Y, et al. Straw return promoted the

- simultaneous elimination of sulfamethoxazole and related antibiotic resistance genes in the paddy soil[J].*Science of the Total Environment*,2022,806:150525.
- [56] WANG L J,WANG J H,WANG J,et al.Soil types influence the characteristic of antibiotic resistance genes in greenhouse soil with long-term manure application[J].*Journal of Hazardous Materials*,2020,392:122334.
- [57] QIAN X,GU J,SUN W,et al.Diversity,abundance,and persistence of antibiotic resistance genes in various types of animal manure following industrial composting[J].*Journal of Hazardous Materials*,2018,344:716-722.
- [58] SUN S L,LU C,LIU J,et al.Antibiotic resistance gene abundance and bacterial community structure in soils altered by Ammonium and Nitrate Concentrations[J].*Soil Biology and Biochemistry*,2020,149:107965.
- [59] CERQUEIRA F,MATAMOROS V,BAYONA J M,et al.Antibiotic resistance gene distribution in agricultural fields and crops.A soil-to-food analysis[J].*Environmental Research*,2019,177:108608.
- [60] CHEN Z Q,FU Q Q,WEN Q X,et al.Microbial community competition rather than high-temperature predominates ARGs elimination in swine manure composting[J].*Journal of Hazardous Materials*,2022,423:127149.
- [61] ZHANG Y,CHENG D M,XIE J,et al.Impacts of farmland application of antibiotic-contaminated manures on the occurrence of antibiotic residues and antibiotic resistance genes in soil:a meta-analysis study[J].*Chemosphere*,2022,300:134529.
- [62] 黄璐璐,谷宇锋,吴翠蓉,等.细菌的应激反应和生理代谢与耐药性及其控制策略 [J].*生物工程学报*,2020,36(11):2287-2297.
HUANG L L,GU Y F,WU C R,et al.Bacterial stress response, physiological metabolism and antimicrobial tolerance and the control strategies[J].*Chinese Journal of Biotechnology*,2020,36(11):2287-2297.
- [63] RONNEAU S,HALLEZ R.Make and break the alarmone: regulation of (p)ppGpp synthetase/hydrolase enzymes in bacteria [J].*FEMS Microbiology Reviews*,2019,43(4):389-400.
- [64] DALEBROUX Z D,SWANSON M S.ppGpp:magic beyond RNA polymerase[J].*Nature Reviews Microbiology*,2012,10(3):203-212.
- [65] RODIONOV D G,ISHIGURO E E.Direct correlation between overproduction of guanosine 3',5'-bispyrophosphate (ppGpp) and penicillin tolerance in *Escherichia coli*[J].*Journal of Bacteriology*,1995,177(15):4224-4229.
- [66] WANG F H,HAN W X,CHEN S M,et al.Fifteen-year application of manure and chemical fertilizers differently impacts soil ARGs and microbial community structure[J].*Frontiers in Microbiology*,2020,11:62.
- [67] YANG Q E,WALSH T R.Toxin-antitoxin systems and their role in disseminating and maintaining antimicrobial resistance[J].*FEMS Microbiology Reviews*,2017,41(3):343-353.
- [68] BABOSAN A,SKURNIK D,MUGGEO A,et al.A qnr-plasmid allows aminoglycosides to induce SOS in *Escherichia coli*[J].*eLife*,2022,11:69511.
- [69] ERILL I,CAMPOY S,BARBÉ J.Aeons of distress:an evolutionary perspective on the bacterial SOS response[J].*FEMS Microbiology Reviews*,2007,31(6):637-656.
- [70] RODRÍGUEZ-ROSADO A I,VALENCIA E,RODRÍGUEZ-ROJAS A,et al.N-acetylcysteine blocks SOS induction and mutagenesis produced by fluoroquinolones in *Escherichia coli*[J].*The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*,2019,74(8):2188-2196.
- [71] JOLIVET-GOUGEON A,KOVACS B,Le GALL-DAVID S,et al. Bacterial hypermutation:clinical implications[J].*Journal of Medical Microbiology*,2011,60(5):563-573.
- [72] APREJA M,SHARMA A,BALDA S,et al.Antibiotic residues in environment:antimicrobial resistance development,ecological risks, and bioremediation[J].*Environmental Science and Pollution Research*,2022,29(3):3355-3371.
- [73] BRANZEI D,FOIANI M.Regulation of DNA repair throughout the cell cycle[J].*Nature Reviews Molecular Cell Biology*,2008,9(4):297-308.
- [74] LU X M,LU P Z.Seasonal variations in antibiotic resistance genes in estuarine sediments and the driving mechanisms[J].*Journal of Hazardous Materials*,2020,383:121164.
- [75] ZHANG Y,GU A Z,CEN T Y,et al.Sub-inhibitory concentrations of heavy metals facilitate the horizontal transfer of plasmid-mediated antibiotic resistance genes in water environment[J].*Environmental Pollution*,2018,237:74-82.
- [76] XU Y,YOU G X,ZHANG M R,et al.Antibiotic resistance genes alternation in soils modified with neutral and alkaline salts: interplay of salinity stress and response strategies of microbes[J].*Science of the Total Environment*,2022,809:152246.
- [77] KANG F X,WANG H,GAO Y Z,et al.Ca²⁺ promoted the low transformation efficiency of plasmid DNA exposed to PAH contaminants[J].*PLoS One*,2013,8(3):e58238.
- [78] ZHAI Z F,LUO M,YANG Y,et al.Trade-off between microbial carbon use efficiency and microbial phosphorus limitation under salinization in a tidal wetland[J].*CATENA*,2022,209:105809.
- [79] SAHA I,DATTA S,BISWAS D.Exploring the role of bacterial extracellular polymeric substances for sustainable development in agriculture[J].*Current Microbiology*,2020,77(11):3224-3239.
- [80] YANG Y,LI M F,ZHENG X,et al.Extracellular DNA plays a key role in the structural stability of sulfide-based denitrifying biofilms [J].*Science of the Total Environment*,2022,838:155822.
- [81] ZHU H,YANG J S,YAO R J,et al.Interactive effects of soil amendments (biochar and gypsum) and salinity on ammonia volatilization in coastal saline soil[J].*CATENA*,2020,190:104527.
- [82] KIM M,ZHANG Z G,OKANO H,et al.Need-based activation of ammonium uptake in *Escherichia coli*[J].*Molecular Systems*

- [Biology](#),2012,8:616.
- [83] LIN Y C,CAO Z X,MO Y R.Molecular dynamics simulations on the *Escherichia coli* ammonia channel protein AmtB: mechanism of ammonia/ammonium transport[J].[Journal of the American Chemical Society](#),2006,128(33):10876-10884.
- [84] 李厚禹,徐艳,成卫民,等.好氧-厌氧两相堆肥过程中抗生素耐药基因的变化特征及影响因素研究 [J].[环境科学研究](#),2021,34(2):431-438.
- LI H Y,XU Y,CHENG W M,et al.Change characteristics and influencing factors of antibiotic resistance genes in aerobic and anaerobic two-phase composting[J].[Research of Environmental Sciences](#),2021,34(2):431-438.
- [85] 姜欣然,李涛,孙兴滨,等.鸡粪模拟堆肥中多重耐药菌、耐药基因和整合酶基因的消减动力学解析 [J].[环境科学研究](#),2022,35(4):1045-1055.
- JIANG X R,LI T,SUN X B,et al.Dissipation kinetics of multidrug-resistant bacteria,antibiotic resistance genes and integrase genes during simulated composting of chicken manure[J].[Research of Environmental Sciences](#),2022,35(4):1045-1055.
- [86] 马骏.四环素在堆肥过程中的降解及其对堆肥中微生物群落功能多样性的影响 [D].杨凌:西北农林科技大学,2016.
- [87] WAN K,ZHANG M L,YE C S,et al.Organic carbon:an overlooked factor that determines the antibiotic resistome in drinking water sand filter biofilm[J].[Environment International](#),2019,125:117-124.
- [88] 段曼莉.生物炭对土壤中抗生素及其抗性基因变化的影响研究 [D].杨凌:西北农林科技大学,2017.
- [89] SHI Z M,ZHANG P,LIU Y,et al.Accumulation of antibiotic resistance genes in pakchoi (*Brassica chinensis* L.) grown in chicken manure-fertilized soil amended with fresh and aged biochars[J].[Environmental Science and Pollution Research](#),2022,29(26):39410-39420.
- [90] ZHANG P,SUN H W,YU L,et al.Adsorption and catalytic hydrolysis of carbaryl and atrazine on pig manure-derived biochars:impact of structural properties of biochars[J].[Journal of Hazardous Materials](#),2013,244/245:217-224.
- [91] SUN M M,YE M,ZHANG Z Y,et al.Biochar combined with polyvalent phage therapy to mitigate antibiotic resistance pathogenic bacteria vertical transfer risk in an undisturbed soil column system[J].[Journal of Hazardous Materials](#),2019,365:1-8.
- [92] YE M,SUN M M,ZHAO Y C,et al.Targeted inactivation of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in a soil-lettuce system by combined polyvalent bacteriophage and biochar treatment[J].[Environmental Pollution](#),2018,241:978-987.

(责任编辑:周巧富)