

张 珣, 黎馨月, 高雨竹. 沈阳典型粳稻种植区稻田土壤 ARGs 和 MGEs 污染分布特征分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2024, 55(3): 306-315.

ZHANG Xun, LI Xinyue, GAO Yuzhu. Analysis of the current status of antibiotic resistance gene contamination in the soil of *Japonica* rice paddy field in Shenyang[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2024, 55(3): 306-315.

## 沈阳典型粳稻种植区稻田土壤 ARGs 和 MGEs 污染分布特征分析

张 珣<sup>1,2</sup>, 黎馨月<sup>1</sup>, 高雨竹<sup>1</sup>

(1. 沈阳大学 环境学院, 沈阳 110044; 2. 沈阳农业大学 东北粳稻遗传改良与优质高效生产部  
共建协同创新中心, 沈阳 110161)

**摘要:** 农田土壤中抗生素抗性基因( ARGs)与可移动遗传元件(MGEs)的污染问题,在学术界已引发广泛关注。为研究沈阳市粳稻种植区稻田土壤中 ARGs 与 MGEs 的存在和相关性,并探讨其对土壤-植物系统的潜在影响,通过采集沈阳市辽中区、新民市、沈北新区和苏家屯区的粳稻种植区域土壤样品,利用高通量 qPCR 技术,对 285 个 ARGs、10 个 MGEs 和一个 16S rRNA 基因进行检测和定量分析。结果表明:在不同地区的稻田土壤中共检测到 273 种 ARGs 和 MGEs,且种类和丰度存在显著差异。进一步的相关性分析发现, ARGs 与 MGEs 之间存在一定相关性,并且这种相关性在不同地区间有所差异。多种 ARGs 与 MGEs 之间存在显著正相关( $p < 0.05$ ),其中部分 ARGs[*tet(32)*等]与 MGEs[*tnpA-01*等]存在及极显著正相关( $p < 0.01$ ),这表明在土壤中 MGEs 对 ARGs 迁移和扩散起到促进作用。4 个采样区根际土中 ARGs 和 MGEs 的总相对丰度均高于非根际土壤,这进一步凸显根际环境在 ARGs 和 MGEs 分布中的重要性。此外,还发现在不同地区的稻田土壤中,抗生素失活机制在 ARGs 中占据主导地位。综上所述,试验结果为深入了解东北水稻种植区稻田土壤中 ARGs 的污染现状及其潜在影响提供了数据支持和理论基础。这些发现不仅有助于认识农田土壤中 ARGs 和 MGEs 的分布与迁移规律,还为制定针对性的土壤污染防控措施提供了科学依据。

**关键词:** 粳稻稻田土壤; 抗生素; 抗生素抗性基因; 可移动遗传元件

中图分类号: X53

文章编号: 1000-1700(2024)03-0306-10

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Analysis of the Current Status of Antibiotic Resistance Gene Contamination in the Soil of *Japonica* Rice Paddy Field in Shenyang

ZHANG Xun<sup>1,2</sup>, LI Xinyue<sup>1</sup>, GAO Yuzhu<sup>1</sup>

(1. College of Environment, Shenyang University, Shenyang 110044, China; 2. Collaborative Innovation Center for Genetic Improvement and High Quality and Efficiency Production of Northeast Japonica Rice in China, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

**Abstract:** The issue of antibiotic resistance genes (ARGs) and mobile genetic elements (MGEs) pollution in agricultural soil has attracted widespread attention in the academic community. This study aimed to investigate the presence and correlation of ARGs and MGEs in paddy soil in Shenyang City's *Japonica* rice planting areas, and explore their potential impact on soil-plant systems. Soil samples were collected from *Japonica* rice planting areas in Liaozhong District, Xinmin City, Shenbei New District, and Sujiatun District of Shenyang City. High-throughput qPCR technology was used to detect and quantify 285 ARGs, 10 MGEs and a 16S rRNA gene. The results showed that a total of 273 ARGs and MGEs were

收稿日期: 2024-03-14

基金项目: “东北粳稻遗传改良与优质高效生产省部共建协同创新中心”专项资金项目(KF2022-06); 辽宁省教育厅高校基本科研面上项目(JYTMS20231161)

第一作者: 张 珣(1979-), 男, 博士, 副教授, 从事环境科学与工程研究, E-mail: zhangxun@syu.edu.cn

detected in paddy soil from different regions, with significant differences in species and abundance. Further correlation analysis revealed a certain correlation between ARGs and MGEs, which varied among different regions. Several ARGs [such as *tet*(32)] showed significant positive correlations with MGEs (such as *tnpA*-01), indicating that MGEs play a promoting role in the migration and diffusion of ARGs in soil. The total relative abundance of ARGs and MGEs in rhizosphere soil was higher than that in non-rhizosphere soil in all four sampling areas, highlighting the importance of rhizosphere environment in the distribution of ARGs and MGEs. Additionally, the study found that the antibiotic inactivation mechanism predominated in ARGs in paddy soil in different regions. In conclusion, this study provides data support and theoretical basis for understanding the pollution status and potential impact of ARGs in paddy soil in the northeast rice planting areas. These findings not only contribute to understanding the distribution and migration patterns of ARGs and MGEs in agricultural soil but also provide scientific basis for the development of targeted soil pollution prevention and control measures.

**Key words:** *Japonica* rice paddy soil; antibiotics; antibiotic resistance genes; mobile genetic elements

抗生素的发明以及广泛使用在医学发展历史上具有里程碑式的重要意义,因抗生素具有治疗疾病和促进生长等效用,其被广泛应用于畜禽生产<sup>[1]</sup>。随着抗生素的不断使用,微生物对抗生素的抗性逐年增加,对畜禽生产与环境安全构成了潜在危害,由于抗生素的过量使用,60%~90%的抗生素会以原始形态或其代谢物的方式随着动物粪便和尿液排出体外<sup>[2]</sup>。在农业生产中畜禽粪便又常被用作土壤改良剂以提高作物产量<sup>[3]</sup>,导致大量的抗生素流入土壤<sup>[4]</sup>,对土壤环境健康造成危害。我国目前的抗生素生产和消费量皆为世界排名靠前<sup>[5]</sup>,同时又存在极大产量的畜禽粪便。统计显示,我国每年产生约 $3.8 \times 10^9$ 亿t畜禽粪便。四环素抗性基因(*tet*)和磺胺类抗性基因(*sul*)是家畜育种中最常见的抗性基因类型<sup>[6]</sup>。这使得大量未代谢抗生素残留通过粪便外排进入土壤生态系统。XU等<sup>[7]</sup>研究表明,在土壤中施用鸡粪1年后,土壤中四环素总量比对照组增加了168.5%~217.9%。

当外源抗生素通过各种途径进入土壤环境后,土壤系统中的微生物会在抗生素的选择性压力下逐渐产生抗药性,继而形成大量抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)和抗生素耐药菌(antibiotic resistant bacteria, ARB)<sup>[8]</sup>。ARGs作为新型污染物,其污染问题是当前生态环境和健康领域面临的重大挑战之一<sup>[9]</sup>。美国自1996年起,由美国农业部、美国疾病控制中心、美国食品药品监督管理局三方部门共同实施了国家抗生素抗药性监测计划(National Antimicrobial Resistance Monitoring System, NARMS)<sup>[10]</sup>。世界卫生组织于2001年将ARGs新型污染物列为了21世纪重大威胁人类健康挑战源,继而在2014年首次发布了世界范围内114个不同国家抗生素抗药的监测报告<sup>[11]</sup>。抗生素和ARGs污染已经成为严重影响环境健康的全球性问题<sup>[12]</sup>。农业来源的抗生素被广泛认为是土壤环境中ARGs增加的主要驱动因素<sup>[13]</sup>。国内外研究表明,由于长期施用有机畜禽粪便,不论是农田菜地还是设施农业土壤均检测到不同程度的ARGs及相关的MGEs。根据GAO等<sup>[14]</sup>的研究发现,猪粪的施用会导致地表土壤中存在大量ARGs,甚至可能迁移到蔬菜上。已有研究表明ARGs扩散的重要因素是水平基因转移,可移动遗传元件(mobile genetic elements, MGEs)可以通过水平基因转移机制进一步促进ARGs在土壤中的传播和扩散<sup>[15]</sup>。PU等<sup>[16]</sup>在未施加粪肥的土壤中只检出一种独有ARGs,在施加粪肥的土壤中检测到50种独有的ARGs和4种MGEs。施用畜禽粪便的土壤中I类整合子(intI)的丰度较高<sup>[17]</sup>,且与ARGs存在呈正相关性<sup>[18]</sup>。同时土壤中的抗生素抗性基因(ARGs)还可能会通过土壤-植物系统进入到食物链<sup>[19]</sup>。武轶等<sup>[20]</sup>研究表明,ARGs和MGEs能够迁移到蔬菜内部,特别是根茎类蔬菜<sup>[21]</sup>,这将对人类健康造成潜在的风险。

水稻在各种不同的自然环境中具有良好的适应性,包括不同的土壤、水质和气候条件。水稻作为我国主要的粮食作物,稻田的ARGs污染情况应受到广泛关注。因此,探究稻田ARGs污染有助于认识稻田ARGs污染现状,降低ARGs在土壤-植物系统中的迁移和扩散速度,消减由此带来的人类和动物的潜在危害具有重要意义。目前,研究人员在稻田土壤中已经检测到ARGs的存在。GUO等<sup>[8]</sup>在我国东部11个稻田中均检测到ARGs,并强调了粪肥施加对稻田土壤中抗生素和ARGs积累的风险。WU等<sup>[19]</sup>研究发现,稻田土壤中抗生素的浓度明显高于其他土壤类型,且目前稻田土壤中ARGs的研究

依旧主要集中在我国南方地区<sup>[22-23]</sup>,东北稻田土壤 ARGs 污染状况研究较少。我国东北地区是传统粳稻种植区,高产粳稻品种多,种植面积广,肥料来源复杂。一方面,稻田施肥中畜禽农家肥所占比例依旧较高;另一方面,水稻内生菌可作为土壤植物系统中的基因传递媒介实现基因的转移。因此,本研究采用高通量 qPCR 技术,对沈阳市辽中区、新民市、沈北新区和苏家屯区等传统粳稻种植区的稻田土壤进行 ARGs 和 MGEs 检测,对 ARGs 和 MGEs 的种类、相对丰度、分布特征、相关性等进行定性定量分析,以期探究东北水稻种植区稻田土壤生态系统中 ARGs 污染现状提供依据,并为进一步明确水稻内生菌介导的抗生素抗性基因在土壤-植物系统中基因迁移风险状况提供相应的研究基础与借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

根据沈阳粳稻种植区分布,分别选取辽中区、新民市、沈北新区和苏家屯区 4 处典型粳稻田作为土壤样品采样区域。各地土壤样品名称分别按照根系土与非根系土进行编号,见表 1。4 处稻田附近均有畜禽养殖场,并长期以畜禽粪便作为肥料施用于水稻田。本研究以五点采样法进行采样。五点取样法为点状取样法中的常用方法。即首先确定不同区域的对角线中点用作中心抽样点,然后在对角线上分别选取另外 4 个与中心抽样点间距相等的点用作抽样样点。五点采样法适用于本研究的采样区个体分布比较均匀的特征,样品采集后取出石块秸秆等杂物,放置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱以备用于 DNA 的提取和 ARGs 的测定。采得土壤分为根际土壤和非根际土壤(拔出过程中能够自然抖动掉落的为非根际土,直接附着在水稻根系上土壤用毛刷轻轻扫下为根际土)。

### 1.2 土壤样品总 DNA 提取及高通量荧光定量 PCR 检测

土壤样品总 DNA 提取使用 MP Fast DNA Spin kit for Soil 试剂盒(MP, 美国)。试验操作参照试剂盒说明书进行,并通过琼脂糖凝胶电泳检测总 DNA 提纯结果。同时,使用微量核酸蛋白分析仪(Nano-drop, 美国)对提纯后的 DNA 进行纯度检测,并保证  $A_{260}/A_{280}$  数值为  $1.8\sim 2.0$ <sup>[24]</sup>。

土壤样品总 DNA 采用 Wafergen Smartchip 超高通量荧光定量 PCR 系统,对 296 个目标引物(包括 285 个 ARGs, 10 个 MGEs 和一个 16S rRNA 基因)进行检测。PCR 反应混合液首先使用纳升级多样品点样仪加入微孔芯片中,然后在热循环仪上进行荧光定量 PCR (qPCR)反应。每个反应体系使用 100 nL 的反应体系:  $1\times$ Light Cycler 480 SYBR Green I Master; 每个引物浓度为  $500\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; DNA 模板浓度为  $2\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ <sup>[25]</sup>。PCR 反应程序包括:预变性步骤  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 10 min; 40 个循环:  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 30 s;  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 30 s; 最后进行溶解曲线分析。qPCR 结果使用仪器自带的 qPCR 软件进行自动分析。检出域设定  $C_t$  值为 31, 符合曲线拟合分析条件的结果被判定为检出。

### 1.3 统计分析

采用 Excel 软件和 R 语言对 ARGs 和 MGEs 种类、数量、相对丰度进行分析,并分析 ARGs 和 MGEs 之间的 Pearson 相关系数。用 R 语言和 Origin 2022 进行相关性热图与堆积图绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 稻田土壤中 ARGs 和 MGEs 的种类和相对丰度

4 个采样区稻田土壤中共检出九大类 ARGs, 分别为氨基糖苷类(aminoglycoside)、 $\beta$ -内酰胺类( $\beta$ -lactamase)、氯霉素类(chloramphenicol)、大环内酯类-林肯酰胺类-链阳性菌素 B 类(macrolides-linco-

表1 土壤样品编号及名称

样品编号 Sample number	样品名称 Sample name
L1	辽中区根际土 The rhizosphere soil in Liaozhong District
L2	辽中区非根际土 The non-rhizosphere soil in Liaozhong District
X1	新民市根际土 The rhizosphere soil in Xinmin City
X2	新民市非根际土 The non-rhizosphere soil in Xinmin City
S1	沈北新区根际土 The rhizosphere soil in Shenbei New District
S2	沈北新区非根际土 The non-rhizosphere soil in Shenbei New District
SJ1	苏家屯区根际土 The rhizosphere soil in Sujiatun District
SJ2	苏家屯区非根际土 The non-rhizosphere soil in Sujiatun District

lamides-streptavidin class B, MLSB)、多重耐药类(multidrug)、磺胺类(sulfonamide)、四环素类(tetracycline)、万古霉素类(vancomycin)、其他(others)和两大类 MGEs (2种整合子和8种转座子),不同地土壤中 ARGs 和 MGEs 的种类和相对丰度具有明显差异。

辽中区稻田非根际土壤中检测出的 ARGs 种类最多为 233 种,苏家屯区稻田非根际土壤中检测出的 ARGs 种类最少为 191 种。除苏家屯区和沈北新区氨基糖苷类 ARGs 种类为根际土多于非根际土,其他种类均为非根际土多于根际土(图 1)。辽中区稻田根际土与非根际土中均检出 10 种 MGEs,苏家屯区非根际土壤中检测出的 MGEs 种类最少为 7 种。4 个地区氯霉素类抗生素抗性基因(*cmI*)检出率为 100%。

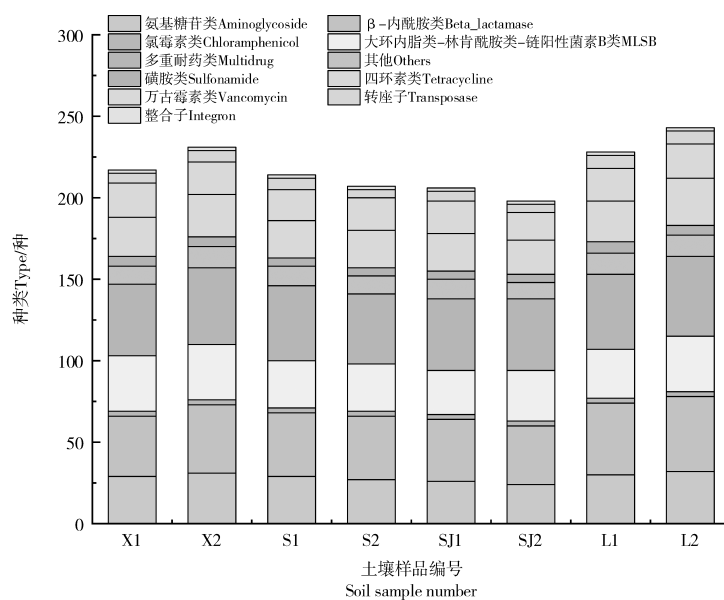


图1 土壤样品中ARGs和MGEs种类  
Figure 1 Types of ARGs and MGEs in soil samples

由图 2 可知,4 个采样区 9 类 ARGs 均有检出,沈北新区粳稻根际土中的 ARGs 总相对丰度最高,苏家屯区粳稻非根际土中的 ARGs 总相对丰度最低。同一地区根际土 ARGs 和 MGEs 的总相对丰度均大于非根际土 ARGs 和 MGEs 总相对丰度。沈北新区粳稻稻田 ARGs 相对丰度明显高于其他地区。在 9

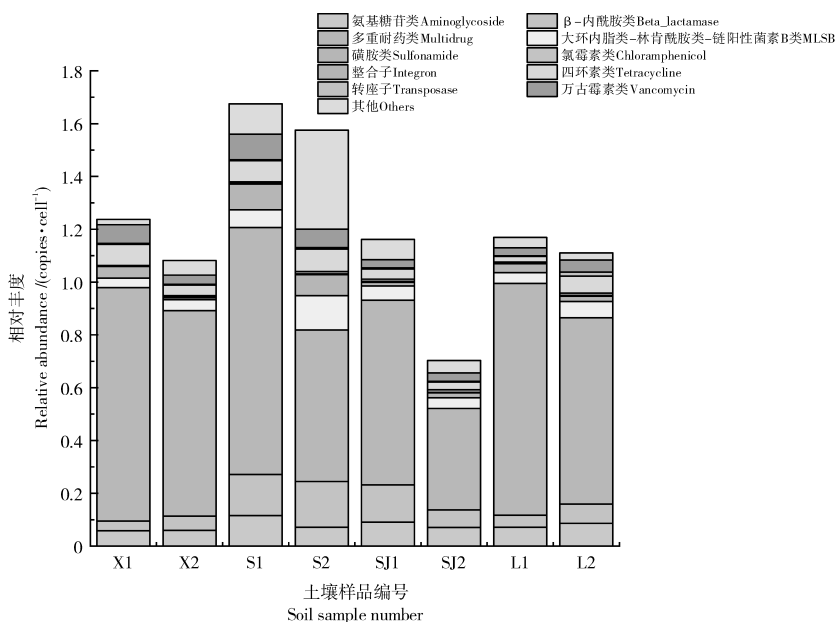
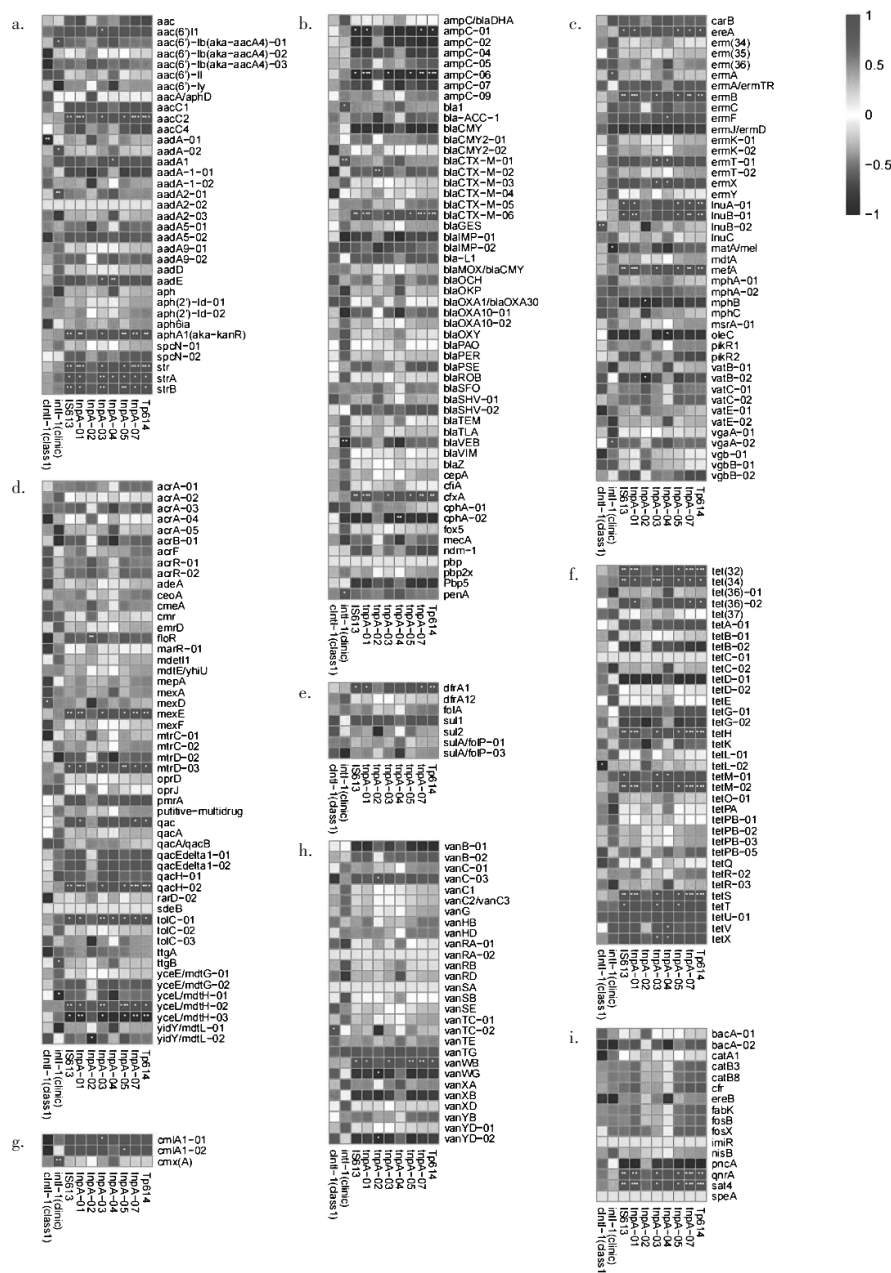


图2 土壤样品中各类ARGs和MGEs相对丰度  
Figure 2 Relative abundance of various ARGs and MGEs in soil samples

类 ARGs 中,相对丰度最高的为多重耐药类,其相对丰度为 0.384 2~0.935 5 copies·cell<sup>-1</sup>;其次依次为氨基糖苷类、β-内酰胺类和四环素类,其相对丰度区间分别为 0.058 2~0.115 6 copies·cell<sup>-1</sup>、0.046 1~0.173 0 copies·cell<sup>-1</sup>和 0.021 2~0.085 2 copies·cell<sup>-1</sup>。辽中区稻田土壤中 MGEs 总相对丰度最高,为 0.030 9 copies·cell<sup>-1</sup>;新民市稻田土壤中 MGEs 总相对丰度最低,为 0.013 5 copies·cell<sup>-1</sup>。在 10 种 MGEs 中,整合子 int1-1(clinic)相对丰度最高,并且检出率为 100%。

2.2 稻田土壤中 ARGs 与 MGEs 相关性分析

分别对 273 种 ARGs 与 10 种 MGEs 进行相关性分析,结果显示不同种类的 ARGs 和 MGEs 在土壤中存在一定的相关性。在非根际土中(图 3),与 ARGs 具有相关性的 MGEs 主要有 9 种(图 4),分别 IS613、tnpA-01、tnpA-03、tnpA-04、tnpA-05、tnpA-07、tp614、clnt1-1(class1)和 int1-1(clinic)。这 9 种 MGEs 与氨基糖苷类 aacC2、str 等;β-内酰胺类 blaCTX-M-06、cfxA; MLSB 类 ereA、ermB 等;多重耐药类 mexE、



a. 氨基糖苷类; b. β-内酰胺类; c. MLSB 类; d. 多重耐药类; e. 磺胺类; f. 四环素类; g. 氯霉素类; h. 万古霉素类; i. 其他。\**p*<0.05; \*\**p*<0.01。下同

\**p*<0.05; \*\**p*<0.01. The same below

图3 非根际土各类 ARGs 与 MGEs 相关性热图  
Figure 3 Heat map of correlation between various ARGs and MGEs in non-inter-rooted soils

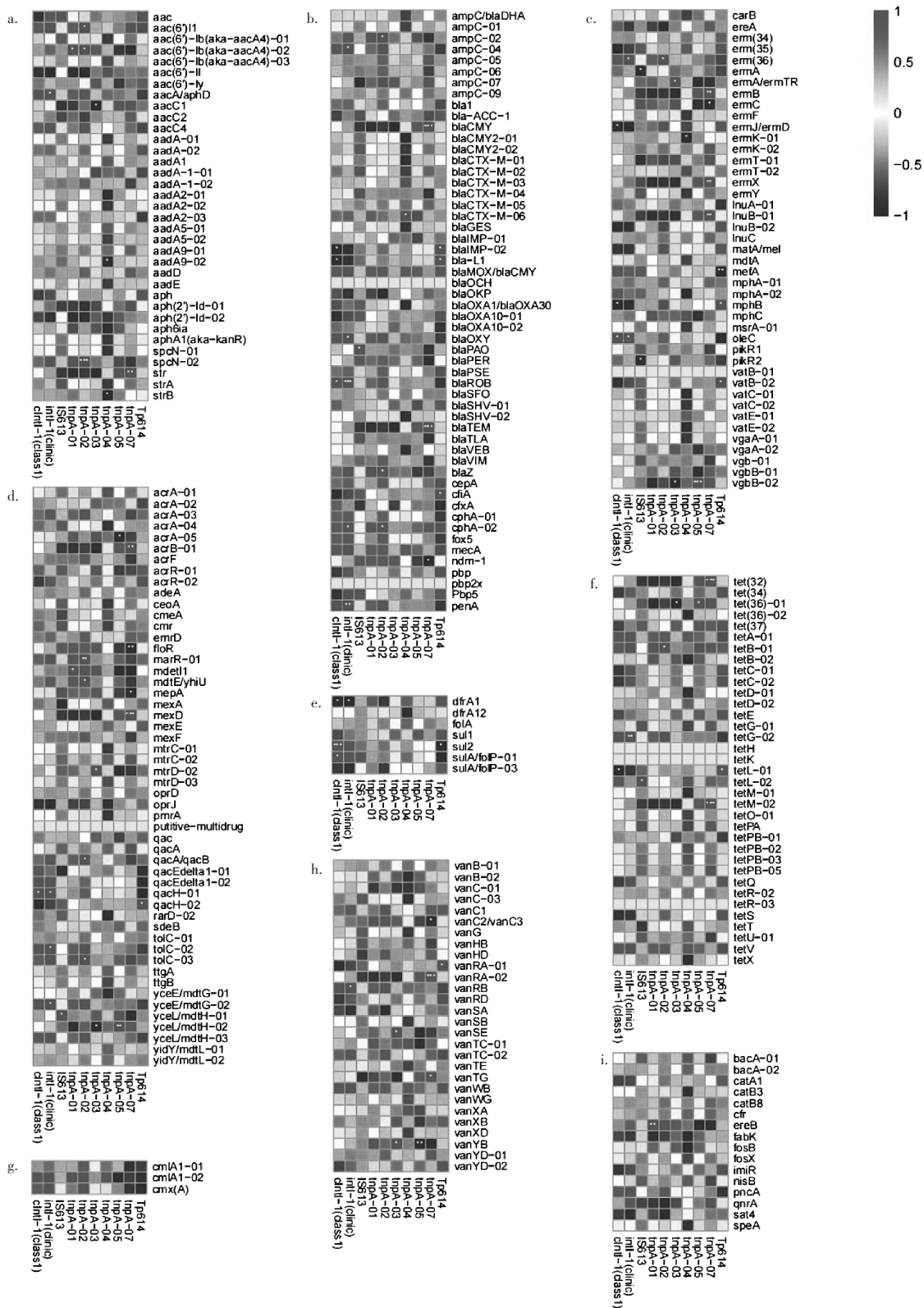


图4 根际土各类ARGs与MGEs相关性热图

Figure 4 Heat map of correlation between various ARGs and MGEs in inter-root soils

*mtrD-03* 等;其他类 *qnrA*、*sat4*;四环素类 *tet(32)*、*tet(34)*、*tetH* 等;磺胺类 *dfrA1*;万古霉素类 *vanWB* 等呈显著正相关( $p < 0.05$ )。IS613、*tnpA-01*、*tnpA-07*、*tp614* 与氨基糖苷类 *aacC2*、*str*、 $\beta$ -内酰胺类 *blaCTX-M-06* 和 *cfxA*; MLSB 类 *ermB*、*mefA*;多重耐药类 *mexE*、*qacH-02*;其他类 *qnrA*、*sat4*;四环素类 *tet(32)*、*tetM-02* 等呈极显著正相关( $p < 0.01$ )。

由图4可知,根际土中,氨基糖苷类 *aacA/aphD* 与 *intI-1(clinic)* 等;β内酰胺类 *clntI-1(class1)* 与 *intI-1(clinic)* 等;MLSB类 *erm(36)* 与 *intI-1(clinic)*、*tnpA-02* 等;多重耐药类 *qacH-01* 与 *intI-1(clinic)* 等;磺胺类 *sulA/folP-01* 与 *clntI-1(class1)*;四环素类 *tetB-01* 与 *tnpA-02* 等呈显著正相关( $p < 0.05$ );氨基糖苷类 *spcN-02* 与 *tnpA-02* 等;β-内酰胺类 *blaROB*、*penA* 与 *intI-1(clinic)*、*blaCMY* 与 *tnpA-07*;MLSB类 *ermX* 与 *tnpA-07* 等;磺胺类 *sul2* 与 *clntI-1(class1)*;四环素类 *tet(32)* 与 *tnpA-07* 等呈极显著正相关。通过对比根际土与非根土的 Pearson 相关分析结果显示,同种 ARGs 与 MGEs 的相关性在根际土和非根际土中的相关性并不相同。

数据表明,10种 MGEs(2种整合子和8种转座子)中,两种整合子的相对丰度最高,其次是 *tnpA-04*、*tnpA-02* 等。根据 ARGs 与 MGEs 相关性热图显示,非根际土中56种 ARGs 与 MGEs 具有相关性,与 *tnpA* 类 MGEs 具有正相关性的 ARGs 比例最高,为55.4%。根际土中58种 ARGs 与 MGEs 具有相关性,与整合子 *intI-1(clinic)* 具有正相关性的 ARGs 比例最高,为20.7%。不同 ARGs 与 *intI* 或 *tnpA* 会显示出不同的相关性<sup>[26]</sup>。

### 2.3 土壤中抗生素耐药机制

本研究通过深入分析不同稻田土壤样品中 ARGs 的种类与丰度,对不同采样区域的 ARGs 抗性机制进行了系统比较。由图5可知,在4个采样区域中,均检测到了6种抗生素抗性机制。其中,抗生素失活机制在不同采样稻田土壤中的 ARGs 中占据主导地位,其占比范围为35.46%~41.07%。其次是外排泵机制和细胞保护机制,它们的占比分别为25.09%~30.92%和17.14%~21.74%。

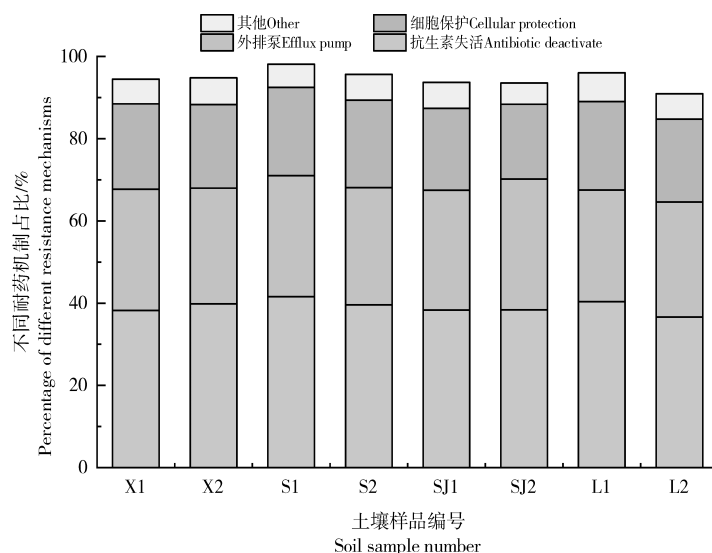


图5 不同抗生素耐药机制占比

Figure 5 Percentage of different resistance mechanisms

## 3 讨论与结论

ARGs 作为新兴污染物,已经成全球范围内的重要环境污染问题。环境中的抗生素残留对水体和土壤生态系统健康构成严重威胁,其中 ARGs 更加剧了环境风险。因此,深入探究土壤环境中 ARGs 的多样性和分布特征,对于新兴污染物的环境治理研究至关重要。本研究发现沈阳4处粳稻稻田土壤中 ARGs 和 MGEs 的种类和丰度有一定差异。4个采样区的根际土与非根际土检测结果均显示多重耐药类 ARGs 相对丰度最高,与 WU 等<sup>[19]</sup>得出的多重耐药类和四环素类 ARGs 在农业土壤中丰度较高结果相吻合。同时, QIU 等<sup>[27]</sup>的研究也表明,多重耐药基因是粪便中致病性抗生素耐药菌的主要 ARGs。不同地区土壤中 ARGs 和 MGEs 的差异可能源于不同区域土壤特性、微生物群落、耕作模式<sup>[28]</sup>、粪肥种类及施加频率<sup>[29]</sup>等多种因素影响。鉴于4个抽样地区都属于沈阳市,可排除地域和土壤类型带来的影响。因此,推测辽中区粳稻稻田土壤中 ARGs 和 MGEs 相对丰度较高的原因可能与种植过程中

施加粪肥量较大,或施加的粪肥本身 ARGs 含量较高有关。前期研究已表明,在田间施用有机粪肥可以提高土壤中 ARGs 和 MGEs 的丰度。TANG 等<sup>[5]</sup>通过田间试验证实,长期施用粪肥会普遍提高稻田土壤中抗生素浓度及 ARGs 丰度,四环素类和磺胺类抗性基因随着粪肥的施加含量显著升高<sup>[30]</sup>。施用粪肥 1 个月后,土壤中四环素抗性基因(*tet*)、1 类整合酶基因(*intI1*)和磺胺类药抗性基因(*sul*)等 ARGs 的绝对丰度均有不同程度的增加<sup>[31]</sup>。进一步分析显示,ARGs 的分布和迁移与 MGEs 密切相关。本研究中转座子 *tnpA* 与 *tet(32)*、*tet(34)*、*tetH*、*tetM* 等存在显著相关性。这与 PU 等<sup>[32]</sup>发现转座子 *tnpA* 与四环素类抗性基因(*tet*)等具有相关性的研究相似。并且许多研究均发现,在 MGEs 中整合子 *intI-1*(*clintI*)的检出率最高,本研究中其检出率为 100%。GATICA 等<sup>[33]</sup>在 2013 年提出,由于 *intI1* 与残留抗生素水平之间的明显联系( $p < 0.01$ ),*intI1* 可作为人为污染的有效评价指标。

植物根际能富集大量的抗生素、ARB 以及 ARGs<sup>[34]</sup>。本研究也发现,根际土壤中 ARGs 和 MGEs 的相对丰度均高于非根际土。通过对比根际土与非根际土中 ARGs 与 MGEs 的相对丰度与相关性,发现同种 ARGs 与 MGEs 在根际土和非根际土中的相关性和相对丰度均存在显著差异,这可能与根际土壤受根系结构、根际分泌物等多种因素的影响有关。植物生长过程中会释放根际分泌物,根际分泌物会通过提供一定养分、改变土壤理化性质影响根际土壤中微生物的构成<sup>[35]</sup>,进一步对根际土壤中的 ARGs 产生影响。研究表明根际微生物可能会促进 ARB 和 ARGs 在根际传播<sup>[9]</sup>。因此,根际分泌物与根际微生物可能是 ARGs 在根际土与非根际土中存在差异的重要因素。值得注意的是,各采样区域的抗性机制分布组成特征呈现出较高的相似性,且每种抗性机制所对应的 ARGs 数量在地区间未见显著差异。这一发现与 SORG 等<sup>[36]</sup>的研究结果相契合,其指出抗生素失活机制能够通过修饰或破坏抗生素结构、改变靶点,以及降低通透性或增加外排等方式,减少抗生素的积累,从而实现细菌群落的集体耐药。

为了保障国家粮食供应安全和持续稳定发展,水稻作为我国最重要的粮食作物,其安全生产及种植稻田的生态安全尤其值得我们重视与重点关注。水稻内生菌可作为土壤植物系统中的基因传递媒介,能够实现基因的转移。已有研究表明,抗生素抗性基因可以通过植物内生菌介导的基因转移进入蔬菜植株体内。HUANG 等<sup>[37]</sup>的研究进一步表明,细菌与根际表面中所含的 ARGs 和 MGEs 最具关联性,且根际表面与细菌之间的生物网互作较叶际细菌和土壤系统之间更为紧密。这些结果均说明,根际表面很可能是土壤-植物系统内 ARGs 交换的热点区域,而植物系统则是 ARGs 迁移转化的主要媒介。综上所述,明确水稻稻田土壤生态系统中 ARGs 和 MGEs 污染分布特征,以及进一步分析不同基因型水稻植株内的内生菌群落对抗生素抗性基因水平转移的影响,将有助于深入研究阻控 ARGs 在根际土壤与植物之间的迁移,从而有效控制 ARGs 从污染土壤向植物以及动物,尤其是人体传播的潜在环境风险。

通过对东北粳稻种植区稻田土壤中 ARGs 与 MGEs 的调查分析,本研究发现了多种 ARGs 和 MGEs 的存在,并验证了它们之间存在一定的相关性。不同地区的稻田土壤中 ARGs 和 MGEs 的丰度和种类存在显著差异,反映了地域特征对土壤微生物群落的影响。此外,不同地区间 ARGs 与 MGEs 的相关性表现出一定的差异,这可能受到环境因素和微生物群落结构的影响。另外,本研究还发现了不同地区稻田土壤中抗生素抗性机制的普遍存在,其中抗生素失活机制为主导。这些发现为进一步研究土壤微生物群落结构及其与环境因素的关系提供了重要参考。未来,可以进一步研究水稻内生菌介导的抗生素抗性基因在土壤-植物系统中的基因迁移风险,以及相关的土壤管理措施,以期更好地理解抗生素抗性的传播和演化,为农业生产和环境保护提供科学依据。

#### 参考文献:

- [1] WANG J H,WANG L J,ZHU L S,et al.Antibiotic resistance in agricultural soils:Source,fate,mechanism and attenuation strategy[J].Critical Reviews in Environmental Science and Technology,2022,52(6):847-889.
- [2] LIMA T,DOMINGUES S,DA SILVA G J.Manure as a potential hotspot for antibiotic resistance dissemination by horizontal gene transfer events[J].Veterinary Sciences,2020.DOI:10.3390/vetsci7030110.
- [3] GABALLAH M S,GUO J B,SUN H,et al.A review targeting veterinary antibiotics removal from livestock manure management systems and future outlook[J].Bioresource Technology,2021.DOI:10.1016/j.biortech.2021.125069.

- [4] LUO G W, LI L, FRIMAN V P, et al. Organic amendments increase crop yields by improving microbe-mediated soil functioning of agroecosystems: A meta-analysis[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 124: 105–115.
- [5] TANG X J, LOU C L, WANG S X, et al. Effects of long-term manure applications on the occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) in paddy soils: Evidence from four field experiments in south of China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90: 179–187.
- [6] TIAN M, HE X M, FENG Y Z, et al. Pollution by antibiotics and antimicrobial resistance in LiveStock and poultry manure in China, and countermeasures[J]. *Antibiotics*, 2021. DOI:10.3390/antibiotics10050539.
- [7] XU L S, WANG W Z, XU W H. Effects of tetracycline antibiotics in chicken manure on soil microbes and antibiotic resistance genes (ARGs)[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2022, 44(1): 273–284.
- [8] GUO Y W, XIAO X, ZHAO Y, et al. Antibiotic resistance genes in manure-amended paddy soils across Eastern China: Occurrence and influencing factors[J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2021. DOI:10.1007/s11783-021-1499-y.
- [9] ZAINAB S M, JUNAID M, XU N, et al. Antibiotics and antibiotic resistant genes (ARGs) in groundwater: A global review on dissemination, sources, interactions, environmental and human health risks[J]. *Water Research*, 2020. DOI: 10.1016/j.watres.2020.116455.
- [10] KARP B E, TATE H, PLUMBLEE J R, et al. National antimicrobial resistance monitoring system: Two decades of advancing public health through integrated surveillance of antimicrobial resistance[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2017, 14(10): 545–557.
- [11] 张脉然, 许伊, 彭灯云, 等. 不同耕作管理模式对稻田土壤中抗生素抗性基因影响的研究进展[J]. *环境污染与防治*, 2023, 45(6): 862–869.
- [12] TAO Y, WANG Y, ZHANG Y, et al. A qualitative study of the factors impacting implementation of the national action plan to contain antimicrobial resistance (2016–2020) in medical institutions[J]. *BMC Health Services Research*, 2024. DOI:10.1186/s12913-023-10404-y.
- [13] KUPPUSAMY S, KAKARLA D, VENKATESWARLU K, et al. Veterinary antibiotics (VAs) contamination as a global agro-ecological issue: A critical view[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018, 257: 47–59.
- [14] GAO F Z, HE L Y, HE L X, et al. Untreated swine wastes changed antibiotic resistance and microbial community in the soils and impacted abundances of antibiotic resistance genes in the vegetables[J]. *The Science of the Total Environment*, 2020. DOI:10.1016/j.scitotenv.2020.140482.
- [15] SHEN Y K, RYSER E T, LI H, et al. Bacterial community assembly and antibiotic resistance genes in the lettuce-soil system upon antibiotic exposure[J]. *The Science of the Total Environment*, 2021. DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.146255.
- [16] PU Q, ZHAO L X, LI Y T, et al. Manure fertilization increase antibiotic resistance in soils from typical greenhouse vegetable production bases, China[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.122267.
- [17] ZHANG H P, ZHANG Q K, SONG J J, et al. Tracking resistomes, virulence genes, and bacterial pathogens in long-term manure-amended greenhouse soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.122618.
- [18] ZHANG Y, WANG J, LU J, et al. Antibiotic resistance genes might serve as new indicators for wastewater contamination of coastal waters: Spatial distribution and source apportionment of antibiotic resistance genes in a coastal bay[J]. *Ecological Indicators*, 2020. DOI:10.1016/j.ecolind.2020.106299.
- [19] WU J, WANG J Y, LI Z T, et al. Antibiotics and antibiotic resistance genes in agricultural soils: A systematic analysis[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2023, 53(7): 847–864.
- [20] 武轶, 张珣, 王宝玉, 等. 四环素类抗性基因在黑土农田和蔬菜中的分布特征[J]. *生态学杂志*, 2023, 43(3): 758–765.
- [21] ZHAO W Y, DENG J B, CHI S L, et al. Sustainability assessment of topsoil ecology in Chongqing, China based on the application of livestock and poultry manure[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022. DOI: 10.1016/j.jclepro.2022.131969.
- [22] CERQUEIRA F, MATAMOROS V, BAYONA J, et al. Distribution of antibiotic resistance genes in soils and crops. A field study in legume plants (*Vicia faba* L.) grown under different watering regimes[J]. *Environmental Research*, 2019, 170: 16–25.
- [23] 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.

- [24] 林 辉,成琪璐,邹 平,等.长期植稻年限序列土壤耐药组演替特征[J].农业环境科学学报,2022,41(12):2711-2721.
- [25] 王百羽,张 珣,王宝玉,等.沈阳蔬菜地土壤中典型抗生素抗性基因与可移动元件分布特征[J].生态学杂志,2021,40(7):2113-2119.
- [26] ZHU Y G,ZHAO Y,LI B,et al.Continental-scale pollution of estuaries with antibiotic resistance genes[J].Nature Microbiology,2017.DOI:10.1038/nmicrobiol.2016.270.
- [27] QIU T L,HUO L H,GUO Y J,et al.Metagenomic assembly reveals hosts and mobility of common antibiotic resistance in animal manure and commercial compost[J].Environmental Microbiome,2022.DOI:10.1186/s40793-022-00437-x.
- [28] HAENNI M,DAGOT C,CHESNEAU O,et al.Environmental contamination in a high-income country (France) by antibiotics,antibiotic-resistant bacteria,and antibiotic resistance genes:Status and possible causes[J].Environment International,2022.DOI:10.1016/j.envint.2021.107047.
- [29] 刘志平,解文艳,杨振兴,等.长期施用牛粪对褐土抗生素抗性基因多样性的影响[J].生态毒理学报,2023,18(1):78-87.
- [30] LI J J,XIN Z H,ZHANG Y Z,et al.Long-term manure application increased the levels of antibiotics and antibiotic resistance genes in a greenhouse soil[J].Applied Soil Ecology,2017,121:193-200.
- [31] 陈菲然,许一诺,杜 昊,等.纳米材料与环境抗生素耐药性:抗性基因流在土壤-植物系统中的迁移与阻断[J].科学通报,2022,67(35):4206-4223.
- [32] PU C J,YU Y,DIAO J X,et al.Exploring the persistence and spreading of antibiotic resistance from manure to biocompost,soils and vegetables[J].The Science of the Total Environment,2019,688:262-269.
- [33] GATICA J,CYTRYN E.Impact of treated wastewater irrigation on antibiotic resistance in the soil microbiome[J].Environmental Science and Pollution Research,2013,20(6):3529-3538.
- [34] GUO Y J,QIU T L,GAO M,et al.Diversity and abundance of antibiotic resistance genes in rhizosphere soil and endophytes of leafy vegetables:Focusing on the effect of the vegetable species[J].Journal of Hazardous Materials, 2021.DOI:10.1016/j.jhazmat.2021.125595.
- [35] XIAO Z F,ZHANG Y,LI G,et al.Application of pharmaceutical waste sludge compost alters the antibiotic resistance in soil under the Chinese cabbage system[J].Journal of Cleaner Production,2021.DOI:10.1016/j.jclepro.2020.125229.
- [36] SORG R A,LIN L,VAN DOORN G S,et al.Collective resistance in microbial communities by intracellular antibiotic deactivation[J].PLoS Biology,2016.DOI:10.1371/journal.pbio.2000631.
- [37] HUANG R L,DING J X,GUO Y W,et al.Habitat determines the relationships among bacteria,resistance genes and mobile genetic elements in the soil - plant system[J].European Journal of Soil Science,2022.DOI:10.1111/ejss.13132.

[责任编辑 李 薇]