

农田土壤中重金属对抗生素抗性基因及细菌群落的影响

赵家奕 张 园* 汤欣悦 王义佳 邹 韵

(苏州科技大学环境科学与工程学院 苏州 215000)

摘 要 抗生素滥用及其诱导产生的抗生素抗性基因(ARGs) 污染是环境领域研究的新兴热点,农田土壤成为 ARGs 的潜在储库,同时重金属的胁迫不仅对 ARGs 产生持续性选择压力,也显著影响土壤细菌群落结构和功能。本文重点综述了土壤中重金属对 ARGs 和细菌群落丰度、多样性的影响,进一步揭示重金属污染造成 ARGs 水平转移的风险,最后讨论了如今研究中的不足,并对抗生素与重金属的复合污染研究进行了展望,以期重金属与 ARGs 防控政策的制定提供理论依据和科学支撑。

关键词 农田土壤 重金属 抗生素抗性基因 细菌群落

Effects of Heavy Metals in Farmland Soil on Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Communities

Zhao Jiayi, Zhang Yuan*, Tang Xinyue, Wang Yijia, Zou Yun

(School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of
Science and Technology, Suzhou, 215000)

Abstract Antibiotic abuse and its induced antibiotic resistance genes (ARGs) pollution are emerging hotspots in the field of environmental research. Farmland soil has become a potential reservoir of ARGs. At the same time, the stress of heavy metals not only exerts continuous selection pressure on ARGs, but also significantly affects the structure and function of soil bacterial communities. This paper focuses on the effects of heavy metals in soil on the abundance and diversity of ARGs and bacterial communities, and further reveals the risk of horizontal transfer of ARGs caused by heavy metal pollution. Finally, the shortcomings of current research are discussed, and the research on the combined pollution of antibiotics and heavy metals is prospected, in order to provide theoretical basis and scientific support for the formulation of prevention and control policies of heavy metals and ARGs.

Keywords Soil, Heavy metals, Antibiotic resistance gene, Bacterial community

重金属离子作为一种金属污染物,具有危害性大、无法降解、容易被生物富集的特性,主要以 Cu、Zn、Pb、Cd、Ni、Cr、Hg 以及类金属 As 污染为主^[1]。探究其根本还是与日益增加的人口需求而进行的不可阻挡的工业化和现代农业实践等因素有关^[2]。通过大量文献整理,以图 1 展示近 3 年我国城市农田土壤重金属含量检测情况。Cd 的超标率最高,达到了 35%,而 Pb 和 Zn 的超标率均有 15%。根据文献调研发现,白银作为我国典型的矿冶城市,通过施用化肥、农药以及被工业废水污染的污水进行灌溉农田土壤中 Zn 浓度竟高达 1336mg/kg,是保障农林业生产和植物正常生长的三级标准土壤临界值($Zn \leq 500\text{mg/kg}$) 的数倍。不仅如此,重金属被广泛地作为动物生长促进剂添加于饲料中,例如 Cd 就是人们常用的一种促进剂,然而其毒性很强,即使一直保持在低浓度,经过长时间接触也会对人类健康造成危害。再是,大部分重金属也会随粪便和尿液排出,粪肥在农业生产中的使用显著增加了土壤中的重金属污染负荷^[3,4],因此农田土壤中重金属污染形势十分严峻。

抗生素作为杀菌药物常被用于治疗人类疾病以及加快动植物生长^[21,22]。但由于畜禽体内无法完全吸收这些抗生素,使得大量抗生素药物及

* 联系人,张园 女,博士,副教授,主要研究方向为土壤污染与治理修复。E-mail: yuanzhang_1001@mail.usts.edu.cn
国家自然科学基金项目(41701564)、苏州市科技计划项目(SNG201613)和江苏省高校自然科学基金项目(17KJB610010)资助
2023-01-05 收稿,2023-03-05 接受

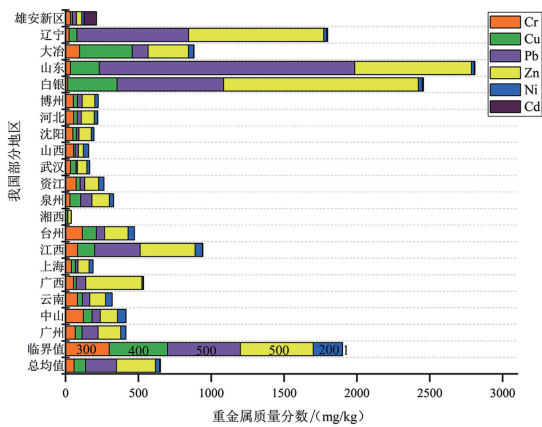


图 1 我国部分地区农田土壤重金属含量^[5~19]

Fig.1 Content of heavy metals in farmland soil in some areas of China^[5~19]

(注 1:临界值为保障农林业生产和植物正常生长的三级标准^[20],各种重金属含量限制如下:Cu≤400mg/kg、Pb≤500mg/kg、Cr≤300mg/kg、Zn≤500mg/kg、Ni≤200mg/kg、Cd≤1mg/kg;

注 2:虚线框意为其相对应颜色的重金属含量超过了临界值)

其代谢产物被排入自然生态环境中^[23,24],敏感性细菌产生选择性压力逐渐对其产生抵抗性,促进了抗生素抗性基因 (Antibiotic resistance genes, ARGs) 新型物质的演变和转移^[25]。在国家倡导

畜禽粪污资源化利用的背景下,农田土壤中的抗生素抗性水平也相应提高。纵观全球,各地各类型农田土壤中均有较多 ARGs 检出(表 1),其中检出数量最高可达 288 个。四环素类抗性基因 (TRGs)、磺胺类抗性基因 (SRGs) 普遍分布于各类农田土壤中,其在畜禽粪肥中的高残留量对微生物产生定向压力致使农田中 ARGs 的增殖。由此看来,抗生素抗性细菌 (Antibiotic resistant bacteria, ARB) 和 ARGs 进入农田土壤的媒介除了中水回用和大气沉降,其繁殖还归因于集约化畜牧业、农业实践和肥料施用,农田土壤也自然地成为了抗性基因转化和扩展的中转站。更值得关注的是,报道称市面上多种可食的蔬菜如生菜、菠菜中都检测到了多种磺胺类、四环素类等 ARGs^[42,43]。Wang 等^[44]也报道在施加了畜禽粪肥土壤中收获的蔬菜根内生菌、叶内生菌以及叶面菌都检测到 ARGs。因此添加了畜禽粪肥的土壤样品中 ARGs 可能会进一步通过水平基因转移 (HGT) 传播到作物中^[45,46],再通过食物链进入人体或动物体内,对人类和动物健康造成潜在的威胁(图 2)。

表 1 ARGs 在部分地区农田土壤中的污染情况

Tab.1 Contamination of ARGs in farmland soil in some areas					
地点	土壤类型	粪肥类型	检出的抗生素抗性基因种类	数量	文献
福建省龙岩市雁石镇	水稻土	猪粪	multidrug、tetracycline、β-lactam、MLSB、aminoglycoside、vancomycin、FCA、sulfonamide 等	187	[26]
福建省连城县	水稻土	猪粪	β-lactam、MLSB、tetracycline、aminoglycoside、vancomycin	107	[27]
北京市	温室土壤	混合动物肥料	sul1、sul2、tetX、tetL 等	19	[28]
北京市	温室/大田土壤	混合动物肥料	sul1、sul2、tetL 等	18	[29]
西班牙哈罗	苜蓿地	马/鸡粪	tetA、tetW、tetM、sul1、sul2 等	96	[30]
山东省	温室土壤	猪/鸡/牛/羊粪	tetW、tetO、sul1、sul2 等	8	[31]
加拿大某农场	农场土壤	猪粪	qnrA、qnrB、qnrS、ermA、ermB 等	48	[32]
爱达荷州	农田土壤	牛粪	blaCTX-M-1、erm B、sul1、tetB、tetM、tet X	7	[33]
嘉兴、长沙、鹰潭、南昌	水稻土	混合动物肥料	tetA、tetG、tetM、tetG、tetO、tetQ、tetW、sul1、sul2	9	[34]
加拿大安大略省	试验田	牛粪	MLSB、tetracycline、sulfonamide 等	288	[35]
呼和浩特	试验田	牛粪水	tetracycline、sulfonamide、macrolides 等	14	[36]
北京市	韭菜地	猪粪	tetracycline、MLSB、sulfonamide	83	[37]
湖南省	菜地	猪粪	tetracycline、sulfonamide 等	137	[38]
美国	玉米地	牛/猪粪	tetracycline、sulfonamide 等	89	[39]
澳大利亚	菜地	猪/牛/鸡粪	tetracycline、sulfonamide 等	185	[40]
韩国	水稻地	牛/猪粪	tetracycline	24	[41]

注:1:multidrug:多重耐药类抗性基因、tetracycline:四环素类抗性基因、β-lactam:β-内酰胺类、MLSB:大环内脂类林肯酰胺类链阳性菌素 B 抗性基因、aminoglycoside:氨基糖苷类抗性基因、vancomycin:万古霉素类抗性基因、FCA:FCA 类抗性基因、sulfonamide:磺胺类抗性基因、ermA/ermB:大环内酯类抗性基因、qnrA/qnrB/qnrS:喹诺酮类抗性基因、blaCTX-M-1:产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌、Macrolides:大环内酯类抗性基因;注 2:ARGs 丰度单位为 copies·g⁻¹

抗生素和重金属是影响环境中 ARGs 传播的重要的选择性压力,重金属具有和抗生素相似的抗性产生机制,可以通过共抗性、交叉抗性和共调控三种方式对 ARGs 产生选择压力^[47]。目前抗

生素对 ARGs 的内在影响机制已有大量研究,但重金属对 ARGs 及细菌群落的影响研究并不广泛,由于三种共同的抗性机制,重金属与 ARGs 的存在和扩散间存在已知的联系。也就是说,ARGs

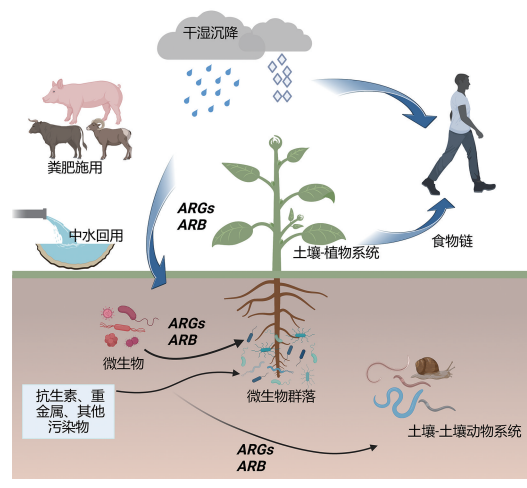


图 2 农田生态系统中 ARB 和 ARGs 的来源与传播

Fig. 2 Source and propagation of ARB and ARGs in farmland ecosystem

污染普遍会伴随着重金属的污染,很大程度上重金属会刺激 ARGs 的表达,影响 ARGs 的丰度和传播转移,并进一步通过接触或摄食等途径转移到本地细菌甚至人类病原体^[42,43]。重金属的增殖致使生物体内的污染物含量受到土壤介质中无机物质和有机物质之间的交互作用的影响而发生改变^[48,49],在一定程度上还会对微生物细菌群落造成更大的毒性影响^[50~52]。为此,本文综述了农田土壤中重金属与 ARGs 相关性,重金属增殖产生的污染导致 ARGs 丰度、多样性以及土壤细菌群落结构的变化,进而提高了 ARGs 水平转移的风险,以期 ARGs 和重金属在农业生态系统中富集的减缓制定具有科学依据的策略和方案。

1 农田土壤中重金属、ARGs 及细菌群落

文献调研结果显示,截至目前经 Web of Science 检索的文献中,提及或研究农田土壤重金属、抗生素/抗生素抗性基因、细菌群落的文献有 2030 篇,CNKI 检索到的相关文献有 355 篇。其变化情况作图 3 表示。由图可看到,近 10 年相关英文及中文文献占比分别为 74.58% 和 87.44%,在过去 5 年中分别占比 55.42% 和 57.17%。尽管重金属污染问题已存在近百年,ARGs 却作为一类新型的环境污染物正广泛存在,对农田土壤的生态系统健康和微生物群落结构功能均带来不小的影响,且农田土壤是与人类关系最为密切的环境介质之一,对其内含污染物质的研究仍存在关键科学问题。

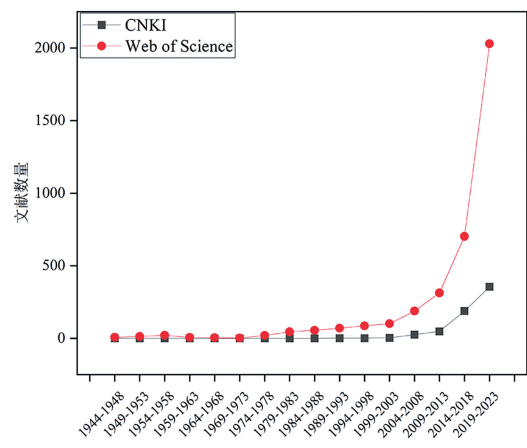


图 3 国内外文献中提及农田土壤中重金属、抗生素/抗生素抗性基因、细菌群落的论文数目

Fig. 3 Number of references on heavy metals, antibiotic/antibiotic resistance genes, and bacterial communities in farmland soils in domestic and foreign literatures

(注 1:CNKI 数据库中检索的关键词为:农田土壤 & 重金属 & 抗生素;农田土壤 & 重金属 & 抗生素抗性基因;农田土壤 & 重金属 & 细菌群落;农田土壤 & 重金属 & 抗生素抗性基因 & 细菌群落。注 2:Web of Science 数据库中检索的关键词为:farmland soil & heavy metals & antibiotics;farmland soil & heavy metals & antibiotic resistance genes;farmland soil & heavy metals & bacterial community;farmland soil & heavy metals & antibiotic resistance genes & bacterial community)

2 农田土壤中重金属和 ARGs 的相关性

表 2 表明了农田主要污染重金属种类与不同 ARGs 具有相关性,土壤中的重金属污染在一定程度上能够促进 ARGs 的筛选。其中大部分都是呈显著正相关性关系,占比 64.9%,呈显著负相关关系的仅 2.7%。例如,Graham 等的实验中 Cd、Pb、Cu 等重金属与某些磺胺类及四环素类抗性基因水平之间正相关关系显著, $R>0.70$ ^[53];Zhu 等^[54]通过高通量定量 PCR 的平台调查禽畜养殖场周边土壤时发现,重金属 Cu、Zn 与氨基糖苷类抗性基因具有非常显著的正相关性;农田土壤高浓度含量的 Zn、Cu、Zn 与 sul1、sul2 (磺胺类抗性基因)、tetG、tetW (四环素类抗性基因)、ermF、ermB (大环内酯类抗性基因)等 ARGs 呈显著正相关,这表明重金属参与了 ARGs 的共选择过程;Ji 等^[55]发现,施加猪粪的土壤中 Zn、Cu、Hg 与 sul3、sulA (磺胺类抗性基因)之间显著相关;sulA 和 Hg 之间具有最显著的正相关关系很可能归因于该金属具有高的诱导 SOS 反应(染色体

DNA 受到严重损伤时细胞做出的应激反应)的能力;将 ARGs 和它们相应的抗生素之间的系数相比时,系数也明显更高($r=0.028\sim0.888$)。ARGs 与重金属之间令人惊讶的显著相关性表明金属污染可能是导致 ARGs 丰度变化的主要因素。然而,在重金属和四环素类抗性基因之间也观察到相反的趋势,除了 As 和 tetB (P) (四环素类抗性基因)之间的显著正相关($r=0.824,p=0.023$)之

外,几乎没有发现有重金属与四环素类抗性基因有一致的正相关。Knapp 等^[56]对苏格兰不同地区土壤样品的研究表明也有一些特异性基因,例如 Ni 与 tetW (四环素类抗性基因)有相关性,tetM (四环素类抗性基因)与 Ni、Pb 和 Fe 相关,ermB 与 Pb、Zn、Fe 呈负相关,其中与 Cr 显著相关的抗性基因分别为 tetM、blaCTX-M、blaOXA (β-内酰胺类抗性基因)。

表 2 不同金属种类与部分 ARGs 间的相关关系
Tab. 2 Correlation between different metal species and some ARGs

重金属	抗生素抗性基因种类	相关性	文献
Zn	ermB、Int11、sul1、sul2、sul3、sulA、tetA、tetB、tetB (P)、tetG、tetM、tetO、tetQ、tetW、qnrA、qnrB、qnrD	显著正相关	[55~57]
	Int11、IS613、tnpA、fexA、fexB、sul1、tetO、tetQ、tetW	正相关	[58~61]
	sul3、sulA、ermB	负相关	[55,62]
Cu	tetA、tetB、tetB (P)、tetG、tetM、tetO、tetQ、tetW、blaOXA、blaOX B、sul1、sul2、sul3、sulA、ermB、ermF、qepA、qnrA、qnrB、qnrD	显著正相关	[58,61,63]
	blaOXA-1、blaampC、blaNDM-1、blaOXA-1、oqxB、qnrB、tetL、tetM、tetO、tetQ、tetW、tetX、ermB、ermC、fexA、fexA、fexB、sul1	正相关	[57,64,65]
	tetL、tetO、tetW、tetX	显著负相关	[62,66]
Cd	sul1、sul2、sul3、sulA、tetA、tetB (P)、tetM、tetO、tetW、qepA、qnrA、qnrB、qnrD	显著正相关	[55,61,62,67]
Pb	sul1、sul2、sul3、sulA、tetB (P)、tetG、tetM、tetO、tetW、ermB	显著正相关	[55,58,61,62]
	ermB	负相关	[64,68]
Co	sul1、sul2、sul3、sulA、tetB (P)、tetM、tetO、tetW	显著正相关	[58]
Cr	sul1、sul2、sul3、sulA、tetB (P)、tetM、tetO、tetW	显著正相关	[58,68]
	tetM、blaCTX-M、blaOXA	正相关	[55]
Hg	sul3、sulA、tetA、tetB、tetM、qepA、qnrA、qnrB、qnrD	显著正相关	[55,58]
Ni	sul3、tetA、tetM、qepA、qnrA、qnrB、qnrD	显著正相关	[67]
Fe	ermB	负相关	[55]
Mn	fexA、fexB、cfr、sul1、tetO、tetQ、tetW	正相关	[55,58,61]
As	fexA、fexB、cfr、sul1、tetO、tetQ、tetW	正相关	[55,58,61]
Sr	fexA、fexB、cfr、sul1、tetO、tetQ、tetW	正相关	[55,58,61]

3 农田土壤中重金属对 ARGs 的影响

3.1 重金属对 ARGs 多样性的影响

重金属可以在农业土壤中持续存在,可能会为抗生素耐药性提供长期的选择压力。越来越多的研究证明 ARGs 的检出频次随着重金属暴露的浓度升高而增加,畜禽养殖业中的重金属通过共同选择作用促进抗生素的耐药性^[69~71],且不同种类重金属对 ARGs 多样性的影响效果各有不同。例如 Cu、Zn、Hg、As 可以间接地增强 ARGs 的扩散^[72,55]。Hu 等^[58]使用定量 PCR 技术对常年受 Cu 污染的土壤研究,发现当 Cu 浓度为 100~200 mg/L 时,土壤中被检测到的 ARGs 数量最多。此外,在湿地进水中低浓度的 Cu²⁺、Zn²⁺对土壤中的 ARGs 的长期选择作用,大大增加了 ARGs

水平基因转移的风险^[73,74]。因为像 Cu 这样的金属可以在环境中积累到选择性的浓度,并可能引发环境抗生素抗性的扩散和进化。

3.2 重金属对 ARGs 丰度的影响

值得注意的是,已知重金属与抗生素耐药性的维持和增殖之间存在联系,重金属种类和浓度不仅影响 ARGs 多样性也会改变其丰度大小,金属污染的类型和水平通常还与抗生素抗性的特定模式相关联,已有研究也表明重金属可以通过协同机制和交叉抗性机制增加 ARGs 的丰度^[75],在检测的多种重金属中,Cu 对 ARGs 的影响强于 Ni、Pb、Zn 和 Fe,其在牛粪中的残留可导致蚯蚓转化过程中部分 ARGs 的富集^[63];即使在较低 Cu 浓度水平下,经多元线性回归分析发现土壤中 Cu 的存在与某些特定 ARGs 丰度的相关性也能得到改善。董子琨^[51]通过冗余分析得出重金属

Cu 和 Zn 浓度显著影响土壤中特定 ARGs 的分布,该结果印证了重金属胁迫能够进一步对土壤环境中 ARGs 的增殖与赋存施加选择压力。德兴铜矿区高含量存在的 Cu 可能是该区域 ARGs 形成的重要驱动因子。德兴铜矿 ARGs 的相对丰度介于 $0.3\times10^{-2}\sim8.5\times10^{-2}$,处于全球土壤 ARGs 相对丰度范围 ($10^{-7}\sim10^{-2}$) 的较高水平。分析其原因可能是由于德兴铜矿采矿场的排水形成了一个重金属元素高并含有复杂成分的采矿工艺废液沉积的土壤环境,影响了土壤中细菌群落的组成与分布,从而导致了 ARGs 丰度的增加^[76]。因此 Cu 可以通过协同选择机制和交叉选择抗性机制增加 ARGs 的丰度,加上 Cu 在环境中难以降解,能持续性地对环境中的 ARGs 产生选择压力,ARGs 的存在与传播是极其严峻的环境问题。Wardwell 等^[77]研究发现,提高美国缅因州中部的沼泽泥样品中 Hg 的浓度水平可以增强细菌对多种抗生素药物的耐药性。Zhou 等^[78]发现,粪便中的 ARGs 丰度与重金属浓度显著相关,这说明重金属促进了金属抗性的出现,参与了 ARGs 的协同选择过程。总体而言,ARGs 的丰度水平会随着重金属污染程度的加重而增加,tetM 水平与土壤金属条件的关系最为一致,而 Cu 对 ARGs 丰度的影响最大。

3.3 重金属对 ARGs 水平转移的影响

ARGs 的转移方式分为水平与垂直两种,其中水平转移指的是 ARGs 在相同或不同种属个体间传递的过程,具有速度快、周期短、范围广的特点,因此被视为 ARGs 传播的主要途径^[79]。水平转移的 3 种主要方式包括接合 (conjugation)、转化 (transformation)、转导 (transduction),其转移机制如图 4 所示。重金属胁迫对 ARGs 的传播和转移具有重要影响,许多学者的研究证实了这一观

点。Zhang 等^[80]揭示,重金属 (Cu (Ⅱ)、Ag (Ⅰ)、Cr (Ⅵ) 和 Zn (Ⅱ)) 在环境相关和亚抑制浓度下,会促进大肠杆菌菌株之间 ARGs 的水平转移,其中当 Ag^+ 浓度处于 100mg/L 时可以促进 ARGs 在大肠杆菌属水平转移。进一步探讨这种现象的机制,其中包括细胞内活性氧 (ROS) 的形成、SOS 反应、细胞膜通透性的增加以及偶联相关基因表达的改变。有学者结合全基因组 RNA 测序和蛋白质组学分析研究银离子 (Ag^+) 或纳米银 (AgNPs) 促进质粒携带的 ARGs 在不同细菌属之间水平转移的潜在机制,结果显示,当 AgNPs 浓度为 0.1 $\mu\text{g/L}$,接合 6h 后,RP4 质粒从大肠杆菌转移到恶臭假单胞菌的效率提高了 0.8 倍;当 Ag^+ 浓度处于 0.01 ~ 10 $\mu\text{g/L}$ 时,RP4 质粒的转移率会随着银离子浓度增加而升高,当 Ag^+ 浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 时,质粒的转移效率约为空白对照的 2.4 倍。这是因为 AgNPs 和 Ag^+ 暴露诱导细菌的各种反应 (包括 ROS 生成、细胞膜损伤和修复损伤紧急启动发生的 SOS 氧化应激响应),调节了基因 mRNA 的表达,从而促进 RP4 质粒的水平转移^[81]。Wang 等^[82]验证了四种典型重金属 (Cu、Cd、Pb、Zn) 对质粒 RP4 介导的 ARGs 共轭转移的影响,其中 Cu、Pb 和 Zn 等典型重金属会促进质粒 RP4 的共轭转移,且当 Cu 的浓度为 5.0 $\mu\text{g/L}$ 时,其结合转移率比对照组高 16 倍,这主要是归咎于 Cu 胁迫通过诱导细胞损伤从而促进 ARGs 发生水平转移;但是当 Cd^{2+} 浓度为 0.05 ~ 200 $\mu\text{g/L}$ 时,RP4 质粒介导的 ARGs 接合转移率会随 Cd^{2+} 浓度的升高而降低,这是因为胞外聚合物物质 (EPS) 的大量生成阻碍了细胞之间的相互接触,重金属 Cd 通过增加 EPS 的含量来抑制 ARGs 的水平转移。Lin 等^[83]结合计算机培养箱和流式细胞术的高通量方法评估影响污泥细菌群落中 ARGs 转

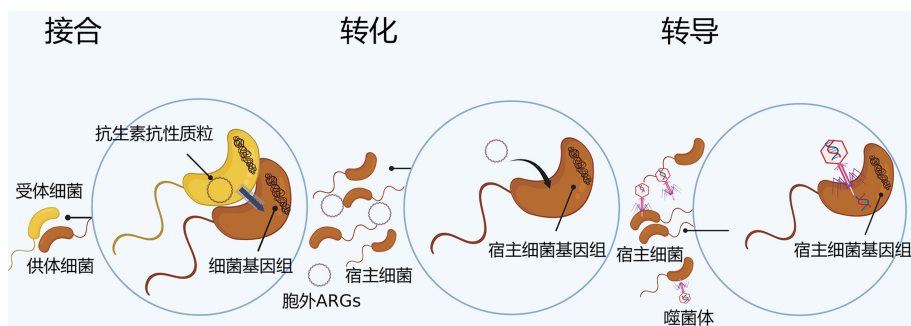


图 4 ARGs 水平转移的 3 种主要方式

Fig. 4 Three main ways of ARGs horizontal transfer

移的不同浓度重金属,以大肠杆菌 MG1655 作为宽宿主范围 IncP-1 质粒 pKJK5 的供体,Pb 的浓度为 0.5mmol/L、As 的浓度为 0.1mmol/L 和 Hg 的浓度达到 0.005mmol/L 时可显著促进细菌群落在污泥中 ARGs 转移。此外,nano-Al₂O₃ 和 nano-TiO₂ 由于其独特的纳米颗粒物理化学性质也会促进 ARGs 的接合转移^[84]。因此重金属的胁迫能够促进在群落内部及群落间传播 ARGs,从而对土壤生态系统中的 ARGs 产生持久的影响,增加抗性基因通过食物链传播给人类的可能性,加剧人类暴露在低浓度 ARGs 环境中的风险^[85,86]。

3.4 间接影响

表 2 中的研究加深了对于土壤重金属和 ARGs 相关作用的了解,尽管存在一些显著的个体相关性,但是在复杂的土壤环境中,一些其他因素间接影响到重金属对 ARGs 的变化与转移。土壤有机质是土壤中重金属和 ARGs 迁移转化的一个重要影响因素。刘艳^[87]的研究显示无论在蔬菜根际土还是非根际土中,Pb、Cu、Cd 的有效态与有机质均呈显著负相关 ($-0.395 \leq r \leq -0.822$),这说明土壤有机质对重金属影响土壤 ARGs 有效态产生响应,分析其中原因可能是由于外源添加的生物炭使土壤有机质含量显著提高,导致其具有很强的表面络合能力,如羧基、氨基、羟基等基团可与重金属发生络合、螯合作用,进而影响土壤重金属的赋存形态,提高了 Pb、Cu、Cd 在土壤中的稳定性;也可能是有机质含量的提高改变了微生物群落数量和活性,继而加剧 ARGs 在土壤中的传播扩散效率,有效消减 ARGs 在植物体内的累积能力。

可移动遗传元件在土壤细菌进化和适应特定环境压力的过程中扮演重要角色。可以通过可移动基因元件(Mobile genetic elements,MGEs)例如 IntI1(integron1)进行的水平基因转移是 ARGs 增殖的非常重要的途径,尤其是在一定的选择压力下^[88]。有报道称土壤中高含量的 Zn、Cu、Pb 与整合子 IntI 呈显著正相关,重金属可能诱导 MGEs 参与土壤中 ARGs 的转移扩散,其中整合子被认为是最常见的 MGEs,其与结合质粒中的四环素类抗性基因(例如 tetA,tetC)共存,通过它们可以容易地共同转移到受体中^[88,89]。微生物携带的重金属和 ARGs 位于同一整合子、转座子或质粒上^[73],整合子位于染色体、质粒或转座子上,质粒

在细菌中增殖或作为转座子的一部分其中整合子在抗性传播中起到了重要的作用^[90],sul2 基因通常定位于较小的非接合型质粒或较大的可移动多重抗性质粒上,质粒作为 MGEs 之一是 ARGs 水平基因转移的重要途径。Binh 等^[91]研究表明,aadA(氨基糖苷类抗性基因)与 IntI1 结合后其迁移率会随着猪粪中重金属含量的增加而提高。有趣的是,Xu 等^[62]也有相似的结论,在所有样品中,sul1 与 IntI1 基因显著相关,表明 sul1 基因的传播可以通过 IntI1 促进,IntI1 是主要的可传播载体之一,与其他移动遗传元件相比,它特别适合转移和传播抗生素抗性。

4 农田土壤中重金属对细菌群落的影响

4.1 重金属对细菌群落多样性的影响

细菌群落是土壤中最重要类群,微生物对土壤环境变化特别敏感,同时微生物群落结构也是指示土壤重金属污染的重要指标,其丰度和多样性与重金属存在显著相关性,能直接反映土壤肥力以及土壤受重金属污染的程度。重金属等污染物随着农业活动进入土壤,通过不断累积造成重金属污染,从而干扰微生物的生长、形态、代谢和生态功能,改变土壤微生物群落的品种和结构,且不同的微生物对不同种类与浓度的重金属具有一定差异的耐受性。早在 20 世纪 10 年代就有报道称重金属污染对细菌群落结构会产生严重后果,其中铅、镍、铬对土壤细菌群落多样性的抑制作用尤为显著^[92],如今该结论通过大量的室内与野外试验得到证实。张雪晴等^[93]指出,土壤微生物多样性和酶活会随着矿区土壤重金属综合污染的加重而降低。湖南省株洲市长期遭受 Cd、Pb、Zn、Cu 和 Cr 重金属综合污染的农田土壤,其中真菌对长期重金属胁迫做出了响应,其 DGGE 图谱中片段有显著的出现和消失,表示真菌群落多样性的降低^[94];而且不同 Cr(VI)浓度对微生物群落多样性有明显影响,高 Cr(VI)浓度下的抑制效果明显高于低 Cr(VI)浓度,这与韩桂琪等^[95]的研究结论相同。遭受重金属(Cu、Zn、Pb、Cr、Ni、Cd)复合污染土壤中微生物的多样性与重金属浓度有关,低重金属浓度增加细菌多样性、高浓度时抑制多样性,同时微生物群落中的大多数代谢途径和功能基因也被应激抑制。白婧等^[96]在被镉污染的土壤中发现 Sb 的添加使油菜根际土壤中

放线菌、绿弯菌和酸杆菌的丰富度降低,这表明 Sb 胁迫下会改变土壤细菌群落的结构,土壤肥力和质量随 Sb 的增加而降低,土壤中微生物的多样性减少。

4.2 重金属对细菌群落丰度的影响

付艳丽^[97]选取 Cd 作为土壤目标污染物,发现土壤中的 Cd 的添加会明显增加细菌门中拟杆菌门、绿弯菌门和细菌属层面上鞘脂单胞菌属等细菌的丰度。低浓度(100~400 mg/kg)与高浓度(800~1000 mg/kg)的 Zn 处理的土壤细菌群落特征差异明显,低浓度的 Zn 会使得土壤群落结构相似性更强,高浓度 Zn 处理对土壤群落结构的影响更为显著,且在土壤中 Zn 含量的胁迫下,与诺卡氏菌素、节杆菌等细菌丰度负相关,与鞘氨醇单胞菌属等细菌丰度呈负相关^[59]。同样, Lee 等^[98]发现韩国遭重金属严重污染的西海岸河口土壤中,由于土壤结构被破坏,其中的黑体菌门相对丰富度与重金属含量浓度存在着显著的负相关关系。吴玲^[99]的研究也得出相似结论,其设置不同 Cd²⁺ 浓度梯度的盆栽水稻土以研究水稻土样品中 Cd 含量与土壤细菌群落结构的潜在关系,发现纲水平相对丰度前 10 位细菌群落主要受水稻土 Cd 含量影响,水稻土中 Cd 含量显著影响放线菌纲、 α -变形菌纲、生氧光细菌纲、拟杆菌纲细菌;在 160mg/kg 的水稻根系土中蓝细菌门在各细菌群落中占比较高,是 Cd 污染水稻土中主要的细菌群落,主要是由于蓝细菌门不仅对重金属 Cd 具有一定的耐受能力,而且拥有在菌体中累积 Cd 的性质;浮霉状菌、硝化螺旋菌这两种菌门对土壤中高浓度的 Cd 也具有较高的耐性,丰度显著上升。放线菌丰度与大部分重金属都呈正相关关系,其对大部分金属都具有最强的耐受能力,放线菌不仅能利用生物转化减少重金属毒性,还能够利用各种各样的土壤养分与其他细菌群落共生^[100],因此放线菌能够生存适应于绝大多数环境。此外,有研究表明,土壤环境中的耐药菌具有对抗生素产生耐药性的特性,因此细菌群落中耐药菌的生成可以作为 ARGs 的载体,驱动 ARGs 在食物链中传播扩散。

总体来说,长期遭受重金属污染的农田土壤细菌从群落结构、数量、丰度与功能都可能发生显著的变化与响应,当土壤中重金属的浓度较高时,有些细菌数量会减少或绝灭,但耐重金属细菌数量会增加并累积。目前,关于长期重金属胁迫下

改变农田土壤微生物群落结构的多样性和丰度的研究报道较少。因此,探索长期暴露于重金属污染的土壤微生物的功能,明确农田土壤中的优势细菌群落,对于筛选重金属抗性细菌,更好地促进重金属污染的生物修复和农业土壤的最有效利用具有重要意义。

5 总结与展望

综上,农田土壤中重金属的存在为抗生素抗性提供选择压力,触发了更多 ARGs 的增殖;土壤中细菌群落的丰度和多样性由于重金属的胁迫均会发生显著变化,并作为抗生素耐药性的载体促进微生物获得抗生素耐药性,加速 ARGs 在群落内部及群落之间的扩散与传播。然而现在的大多数调查均落点于对 ARGs 的定量定性分析,关于重金属和抗生素的复合污染的研究并不多。因此需要更深入地了解重金属对 MGEs 介导的 ARGs 水平转移过程影响的内在作用分子机制,深入剖析复合污染对环境中 ARGs 传播的影响,以期对重金属和 ARGs 所致危害的减轻及未来复合污染相关研究的深入提供参考。

参 考 文 献

- [1] Sojka M, Ptak M, Jaskuła J, et al. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2022, 20(1): 324.
- [2] Qiao P W, Wang S, Lei M, et al. *J. Hazard. Mater.*, 2023, 449: 130961.
- [3] Leclerc A, Laurent A. *Sci. Total Environ.*, 2017, 590: 452~460.
- [4] Seiler C, Berendonk T U. *Front. Microbiol.*, 2012, 3: 399.
- [5] Guo Z Y, Dai H M, Wang M, et al. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2023, 30: 35617~35634.
- [6] 尚誉, 桑楠. *环境科学*, 2022, 43(7): 3773~3780.
- [7] Dai H M, Yang Z, Zhang Y H, et al. *Results Geochem.*, 2023;10: 100021.
- [8] 陈瑜佳, 屈星辰, 张斌, 等. *环境科学*, 2022, 43(12): 5728~5741.
- [9] 米热阿依·吐尔地, 王勇辉. *化学工程*, 2022, 50(3): 13~19.
- [10] Tholley M S, George L Y, Wang G H, et al. *Process Saf. Environ.*, 2023, 171: 16852~16863.
- [11] Zhou H M, Ouyang T P, Guo Y, et al. *Appl. Sci.*, 2022, 12(18): 27043601.
- [12] Xu L, Dai H P, Skuza L, et al. *Chemosphere*, 2021, 285: 34265711.
- [13] Yu Y, Zhang J P, Qin J F, et al. *Front. Mar. Sci.*, 2022, 9: 1011457.
- [14] 郭志娟, 周亚龙, 杨峥, 等. *环境科学*, 2020, 41(9): 4169~4179.

[15] Liu P, Wu Z, Luo X, et al. Appl. Geochem. , 2020, 123: 104764.

[16] Liang Q, Tian K, Li L, et al. Ecotoxicol. Environ. Saf. , 2022, 242:113929.

[17] 黄钟霆, 易盛炜, 陈贝贝, 等. 环境科学, 2022, 43(2): 975~984.

[18] Song S J, Peng R S, Wang Y, et al. Environ. Geochem. Health, 2023: <https://doi.org/10.1007/s10653-023-01530-x>.

[19] Yuan C Z, Wang X R. Int. J. Environ. Res. Public Health, 2023, 20(3): 2395.

[20] 顾晋飴, 张俊, 王俊杰, 等. 环境工程技术学报, 2018, 8(3):343~348.

[21] Liu W B, Cheng Y F, Guo J J, et al. J. Hazard. Mater. , 2022, 436:129163.

[22] 胡娴, 马莎莎, 姚丽贤, 等. 化学通报, 2022, 85(2): 221~227.

[23] 高品, 阮晓慧, 邱文婕, 等. 环境科学, 2020, 41(8): 3758~3764.

[24] Sazykin I S, Khmelevtsova L E, Seliverstova E Y, et al. Appl. Biochem. Microb. , 2021, 57(1): 20~30.

[25] Engin A B, Engin E D, Engin A. Environ. Toxicol. Pharm. , 2023, 98: 104081.

[26] 黄福义, 周曙仡聃, 王佳妮, 等. 环境科学, 2021, 42(6): 2975~2980.

[27] Ren Z X, ZhaoY Y, Han S, et al. Sci. Total Environ. , 2023, 856 (P1): 159096.

[28] 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. 济南大学硕士论文, 2021.

[29] 张汝凤, 宋渊, 高浩泽, 等. 环境科学, 2020, 41(1):385~393.

[30] Urrea J, Alkorta I, Mijangos I, et al. Sci. Total Environ. , 2019, 647: 1410~1420.

[31] Yuan X X, Zhang Y, Fan L X, et al. J. Soil. Sci. Plant Nut. , 2022, 22(4): 5144~5158.

[32] Marti R, Scott A, Tien Y C, et al. Appl. Environ. Microbiol. , 2013, 79(18): 5701~5709.

[33] Dungan R S, Strausbaugh C A, Leytem A B. FEMS Microbiol. Ecology, 2019, 95(6): fiz071.

[34] Tang X, Lou C, Wang S, et al. Soil. Boil. Biochem. , 2015, 90:179~187.

[35] Lau C H-F, Li B, Zhang T, et al. Sci. Total Environ. , 2017, 587: 214~222.

[36] 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. 内蒙古大学硕士论文, 2021.

[37] 李森. 东北黑土农田抗生素抗性基因污染及调控研究. 中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所)博士学位论文, 2021.

[38] 张秋萍. 奶牛粪液资源化过程中抗生素抗性基因转移特征及微生态机制研究. 内蒙古大学博士论文, 2021.

[39] Ibekwe A M, Bhattacharjee A S, Phan D, et al. Sci. Total Environ. , 2023, 872: 162194.

[40] Messele Y E, Alkhalawi M, Veltman T, et al. Animals, 2022, 12(17): 2256.

[41] Yeob K S, Saranya K, Hwan K J, et al. Environ. Sci. Pollut. Res. , 2016, 23(21): 22190~22196.

[42] 冉继伟, 肖琼, 黄敏, 等. 环境科学, 2022, 43(3): 1688~1696.

[43] Zhao X, Shen J P, Shu C L, et al. Sci. Total Environ. , 2022, 807(P1): 150781.

[44] Wang Y Z, Zhou X Y, An X L, et al. Sci. Total Environ. , 2023, 860: 160515.

[45] Horne T, Orr V T, Hall J P. Curr. Opin. Microbiol. , 2023, 73: 102282.

[46] Wackett L P. Environ. Microbiol. , 2023, 25(3): 772~773.

[47] Wright M S, Loeffler P G, Stepanauskas R, et al. FEMS Microbiol. Ecol. , 2006, 58(2): 293~302.

[48] 王迎娣. 老化生物质炭对 PAHs 和重金属生物有效性的影响. 山西大学硕士论文, 2018.

[49] 应多, 赵熙君, 张旭辉, 等. 土壤, 2020, 52(2): 340~347.

[50] Gupta S, Graham D W, Sreekrishnan T R, et al. Environ. Pollution, 2022, 306: 119326.

[51] 董子琨. 鸡粪施用土壤中抗生素抗性基因在土壤-植物系统的迁移与阻控研究. 山东农业大学硕士论文, 2022.

[52] Wang X Y, He P, Xu X P, et al. Sci. Rep. , 2022, 12(1): 20893.

[53] Graham D W, Olivares-Rieumont S, Knapp C W, et al. Environ. Sci. Technol. , 2011, 45(2): 418~424.

[54] Zhu Y G, Johnson T, Su J Q, et al. PNAS, 2013, 110(9): 3435.

[55] Ji X, Shen Q, Liu F, et al. J. Hazard. Mater. , 2012, 235: 178~185.

[56] Knapp C W, Callan A C, Aitken B, et al. Environ. Sci. Pollut. Res. , 2017, 24(3): 2484~2494.

[57] He X, Xu Y, Chen J, et al. Water Res. , 2017, 124: 39~48.

[58] Hu H W, Wang J T, Li J, et al. Environ. Microbiol. , 2016, 18(11): 3896~3909.

[59] 杨统一, 李静, 唐国腾, 等. 生态与农村环境学报, 2022, 38(2): 236~243.

[60] Rosewarne C P, Pettigrove V, Stokes H W, et al. FEMS Microbiol. Ecol. , 2010, 72(1): 35~46.

[61] Peng S, Feng Y, Wang Y, et al. J. Hazard. Mater. , 2017, 340:16~25.

[62] Xu Y, Xu J, Mao D, et al. Environ. Pollution, 2017, 220(B): 900~908.

[63] 田雪力, 李仲瀚, 杨凤霞, 等. 中国环境科学, 2022, 42(10):4688~4695.

[64] Wang R, Chen M, Feng F, et al. Bioresource Technol. , 2017, 238: 57~69.

[65] 刘佳. 重金属污染农田土壤中抗生素抗性基因与可移动遗传元件的分布. 郑州大学硕士论文, 2016.

[66] de la Iglesia R, Valenzuela-Heredia D, Pavissich J P, et al. Lett. Appl. Microbiol. , 2010, 50(6) :552~562.

[67] Stepanauskas R, Glenn T C, Jagoe C H, et al. Environ. Microbiol. , 2006, 8(9) : 1510~1514.

[68] Ng Y S, Gupta B S, Hashim M A. Paper presented at 5th Int. Conf. Chem. Engineer. Appl. Taipei, IACSIT Press, Singapore, 2014; 44~47.

[69] Eseiler C, Berendonk T U. Front. Microbiol. , 2012, 3:339.

[70] Yi X T, Qian X, Hai Y P, et al. Atherosclerosis, 2015, 243(2) :357~363.

[71] Wang Q, Shi S J, Liu X S. Mar. Pollut. Bull. , 2022,185(PA) :114265.

[72] Alonso A, Sánchez P, Martínez J L. Environ. Microbiol. , 2001, 3(1) :1~9.

[73] Pal C, Asiani K, Arya S, et al. Adv. Microb. Physiol. , 2017, 70: 261~313.

[74] Ebrahim A E S.堆肥过程中砷铜生物有效性和土霉素降解及其微生物群落动态变化研究. 中国农业科学院博士学位论文, 2020.

[75] David F C, Erland B. Soil Boil. Biochem. , 2013, 57(C) : 953~956.

[76] 韩柳, 楼倩, 乔敏, 等. 环境科学, 2022, 43(2) : 1089~1096.

[77] Wardwell L H, Huttenhower C, Garrett W S. Curr. Infect. Dis. Rep. , 2011, 13(1) : 28~34.

[78] Zhou L, Li S N, Li F X. Environ. Res. , 2022, 215(P2) :114188.

[79] Yan X J, Liu W W, Wen S F, et al. J. Environ. Sci. , 2023,127:399~409.

[80] Zhang Y, April Z G, Tian Y C, et al. Environ. Pollution, 2018, 237: 74~82.

[81] Ji L, Yue W, Min J, et al. Water Res. , 2020, 169(C) :115229.

[82] Wang Q, Liu L, Hou Z L, et al. Sci. Total Environ. , 2020, 717(C) :137055.

[83] Lin H, Jiang L T, Li B, et al. Sci. Total Environ. , 2019, 695(C) :133862.

[84] Qiu Z, Shen Z, Qian D, et al. Nanotoxicology, 2015, 9(7) : 895~904.

[85] Wei H, Ding S, Qiao Z, et al. Sci. Total Environ. , 2020, 729: 138990.

[86] Fu J, Zhou Q, Liu J, et al. Chemosphere, 2008, 71(7) : 1269~1275.

[87] 刘艳. 老化生物炭对蔬菜累积抗生素抗性基因的影响. 山西大学硕士论文, 2019.

[88] Agerso Y, Sandvang D. Appl. Environ. Microbiol. , 2005, 71(12) : 7941~7947.

[89] Liu M, Zhang Y, Yang M, et al. Environ. Sci. Technol. , 46(14) : 7551~7557.

[90] Mcinnes R S, Mccallum G E, Lamberte L E, et al. Curr. Opin. Microbiol. , 2020, 53(C) : 35~43.

[91] Binh C T T, Heuer H, Kaupenjohann M, et al. Res. Microbiol. , 2009, 160(6) : 427~433.

[92] Omena O, Olubukola B. Int. J. Environ. Res. Public Health, 2017, 14(12) : 1504.

[93] 张雪晴, 张琴, 程园园, 等. 生态环境学报, 2016, 25(3) : 517~522.

[94] Deng L J, Zeng G M, Fan C Z, et al. Appl. Microbiol. Biotech. , 2015, 99(19) : 8259~8269.

[95] 韩桂琪, 王彬, 徐卫红, 等. 中国生态农业学报, 2012, 20(9) : 1236~1242.

[96] 白婧, 刘宏辉, 卢丹, 等. 农业环境科学学报, 2023: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1347.S.20230222.1108.006.html>.

[97] 付艳丽. 重金属胁迫下抗生素和腐殖酸对抗生素抗性基因影响机制研究. 齐鲁工业大学硕士论文, 2022.

[98] Lee A H, Lee J, Hong S, et al. Environ. Int. , 2020,137(C) : 105569.

[99] 吴玲. 江苏农业科学, 2022, 50(22) : 233~238.

[100] Bouskill N J, Barker F J, Galloway T, et al. Ecotoxicology, 2010,19(2) : 317~328.