

DOI: 10.11766/trxb202210200578

张友爱, 王婷婷, 胡小婕, 秦超, 高彦征. 基于文献数据的 PAHs 生态安全土壤环境基准研究[J]. 土壤学报, 2023,

ZHANG Youai, WANG Tingting, HU Xiaojie, QIN Chao, GAO Yanzheng. Research Progress and Hotspots Analysis of Soil Antibiotic Resistance Genes[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023,

土壤抗生素抗性基因研究进展及热点分析*

张友爱, 王婷婷, 胡小婕, 秦超[†], 高彦征

(南京农业大学土壤有机污染控制与修复研究所, 南京 210095)

摘要: 抗生素抗性基因 (Antibiotic resistance genes, ARGs) 的产生和传播对全球公共健康产生巨大威胁。土壤作为 ARGs 的重要储存库和介质, 已引起众多学者广泛关注。为全面了解土壤 ARGs 相关领域的研究进展及热点, 本研究利用可视化软件 VOSviewer 和 CiteSpace, 基于 Web of Science 数据库, 对 2013—2022 年发表的土壤 ARGs 领域相关文献进行计量学分析。结果表明, 土壤 ARGs 相关研究的发文数量和被引频次逐年上升。我国在土壤 ARGs 领域的发文量最高, 占总发文量的 61.40%, 且与澳大利亚、美国等 27 个国家合作紧密。四环素和磺胺嘧啶为该领域重点关注的抗生素类型; 大肠杆菌作为模式菌一直是土壤 ARGs 领域备受关注的微生物类型。不同时期土壤 ARGs 研究热点存在明显差异: 初期关注的重点方向为 ARGs 的认识和定量, 随后引起较多关注的是 ARGs 源解析及其与微生物的内在联系, 而对 ARGs 传播扩散和归趋相关研究已成为现今科学家关注和研究的热点。

关键词: 土壤; 抗生素抗性基因; 文献计量; 研究热点

中图分类号: X171.5

文献标志码: A

Research Progress and Hotspots Analysis of Soil Antibiotic Resistance Genes

ZHANG Youai, WANG Tingting, HU Xiaojie, QIN Chao[†], GAO Yanzheng

(Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: 【Objective】The increasing emergence and spread of antibiotic resistance genes (ARGs) poses a great threat to global public health. Soil as an important repository and medium for ARGs has attracted extensive attention from many scholars. 【Method】In order to have a comprehensive understanding of the research progress and hotspots in the field of soil ARGs, the VOSviewer and CiteSpace software were used to perform a bibliometric analysis of the publications related to soil ARGs published from 2013 to 2022 in “Web of Science” database. More specifically, density visualization analysis, keyword emergence analysis, and contribution network analysis were performed to deeply discuss the types of publications, cited times, country/region and institution of publications, keywords, research directions, and the hotspots and trends of research. 【Result】Our results demonstrated that the number and cited times of the publications related to soil ARGs increased year by year. The number of publications increased slowly in the first five years (2013—2017), while it rapidly increased in the last five years (2018—2022). Besides, the maximum cited times was 22123 times. China published the most publications in the field of soil ARGs,

* 国家自然科学基金项目 (42107221) 和国家杰出青年科学基金项目 (41925029) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 42107221) and the National Science Fund for Distinguished Young Scholars of China (No. 41925029)

[†] 通讯作者 Corresponding author, E-mail: qinchao@njau.edu.cn

作者简介: 张友爱 (1998—), 女, 山东聊城人, 博士研究生, 主要从事水土环境中有毒有机污染物环境行为与效应研究。E-mail: 2022203003@stu.njau.edu.cn

收稿日期: 2022-11-21; 收到修改稿日期: 2023-01-25;

<http://pedologica.issas.ac.cn>

accounting for 61.40% of the total number of publications, and China cooperated closely with 27 countries, including Australia and the United States. Tetracycline and sulfadiazine were the two main types of antibiotics in the soil ARGs field, and *Escherichia coli* as model bacterium was a microbial type of great interest in this field. The results of citation burst and co-occurrence analysis indicated that research hotspots of soil ARGs differed significantly in different periods. At first, scholars focused on the understanding and quantification of ARGs. Subsequently, more attention was paid to the source analysis of ARGs and their intrinsic connection with microorganisms. The study of the spread and fate of ARGs has become a hot topic of interest and research for scientists today. 【Conclusion】 This study conducted a comprehensive bibliometric analysis of the relevant publications in the field of soil ARGs. On the whole, the research on the propagation deterrence and reduction techniques of soil ARGs is still insufficient. Future research may focus on the development and improvement of monitoring system as well as mathematical model establishment to assess the environmental risks of soil ARGs and their effects on human health. Besides, prevention-oriented source control of soil ARGs should be expanded. In addition, the diffusion mechanisms and influencing factors should be explored further to lay a solid foundation for ARGs reduction technology.

Key words: Soil; Antibiotic resistance genes (ARGs); Bibliometric analysis; Research hotspots

抗生素的发现是人类医学史上的重大事件之一,在预防和控制人类和动物疾病过程中占据了举足轻重的地位。抗生素作为一把双刃剑,一方面可以治病救人;另一方面,其滥用又会导致细菌耐药性的产生和传播^[1],严重威胁全球公共健康。据报道,牲畜和人类消耗抗生素的大约 30%~90%可通过粪便和尿液释放到环境中^[2],其产生的选择性压力使环境中抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)含量迅速增加。全球每年因抗生素耐药性病原体感染死亡的人口高达 70 多万人^[3]。若不加以控制,预计到 2050 年,每年将有 1 000 万人直接死于微生物耐药性病原体^[4],抗生素抗性已成为 21 世纪人类健康面临的重大挑战^[5]。

土壤是 ARGs 的重要存储库,也是抗生素抗性产生、传播和演变的介质^[6]。土壤环境中,抗生素耐药菌及 ARGs 广泛存在,且与人类致病菌关联紧密^[7-8]。除了一些土壤微生物可能存在的固有抗性外^[9],土壤中的 ARGs 主要来源于再生废水灌溉^[10-11]、粪肥施用^[12]及污水污泥施用^[13]等。这些人为活动一方面使 ARGs 通过转座子、质粒和整合子等可移动遗传元件^[14-15]发生水平转移,另一方面还可通过施加选择性压力,使土壤中耐抗生素细菌和 ARGs 大量增殖^[16-17],进而加剧了土壤 ARGs 污染。研究表明,抗生素及其 ARGs 在根际土壤中的富集,可促进土壤菌群中的耐药性向植物菌群传播^[18-19];同时,人类活动的影响也会加剧 ARGs 从非致病性宿主向病原体的水平基因转移^[20]。ARGs 的迁移和转化行为将对人体健康产生巨大威胁。因此,土壤 ARGs 污染问题仍需重点关注。

尽管世界各国均在持续关注各种环境介质中 ARGs 污染现状、来源归趋、迁移转化和消减策略等方面的研究,但目前仅有少量有关近十年内水环境中 ARGs 污染状况的计量分析文章,尚缺乏有关土壤 ARGs 相关研究的计量整合分析。因此,本研究基于 Web of Science 数据库,通过文献计量学方法,对 2013—2022 年土壤 ARGs 相关文献的文献发表数量年变化、引用次数年变化、文献发表国家/地区及机构等进行分析,帮助读者认识近十年各国学者对于土壤 ARGs 的关注程度;通过 2013—2022 年土壤 ARGs 相关文献的关键词突现和共现分析,使读者了解该领域的研究热点及研究趋势,以期对未来该领域的相关研究提供参考和思路。

1 数据来源与方法

1.1 数据来源

基于文献计量学方法,以 Web of Science 数据库作为信息来源,于 2022 年 10 月 6 日收集数据,分析土壤 ARGs 研究进展及热点。文献检索主题词设定为“Antibiotic resistance genes”和“Soil”,文献类型不限,时间跨度为 2013—2022 年。检索后共得到 5 360 个结果。在所有结果中,首先根据论文的标题和摘要进行初步筛选;对于无法通过标题和摘要明确判断的文献,再通过检查已下载的文献全纪录内容进行二次筛选,确保其主要研究内容为土壤 ARGs,最终获得 627 篇有效文献。将筛选得到的结果以纯文本文件形式导出,并进一步分析。导出信息包括发表期刊、标题、作者姓名、发表年份、关键词、摘要及所引用的参考文献等在内的所有文献的全部信息。

1.2 研究方法

根据最终检索结果,利用 Origin 2017 软件对文献类别、年发文数量变化、文献年被引次数变化及研究方向变化进行分析作图。VOSviewer 可通过文献数据的连接和集群,构建关于不同知识领域的相应图谱,以提供相关清晰的可视化信息^[21]。本研究首先利用 VOSviewer 软件中的合作网络(Co-authorship)分析,对文献从属国家、机构进行分析。再通过 VOSviewer 软件中的共现(Co-occurrence)分析,对关键词进行处理,最终得到相应可视化图谱,用于分析探讨该研究领域重要关键词及其共现关系。最后根据 CiteSpace 的关键词突现分析,探讨土壤 ARGs 研究进展及热点。

2 结果与讨论

2.1 文献发表类型

根据 Web of Science 数据库的检索结果,对本研究得到的文献类型进行分析,结果如图 1a-图 1c 所示。由图 1a 可知,土壤 ARGs 相关文献类型可以分为 7 类,分别为:论文、综述论文、在线发表、会议录论文、社论材料、会议摘要和书籍。在前 5 年(2013—2017 年)的相关文献中(图 1b),该领域的文献类型仅有 3 类,分别为论文(141 篇,92.81%)、综述论文(8 篇,5.23%)及会议录论文(3 篇,1.96%);而后 5 年(2018—2022 年)中该领域相关文献类型增加至 7 类(图 1c),分别为:论文(442 篇,91.89%)、综述论文(30 篇,6.24%)、在线发表(4 篇,0.83%)、社论材料(2 篇,0.41%)、书籍(1 篇,0.21%)、会议摘要(1 篇,0.21%)及会议录论文(1 篇,0.21%)。结果表明,2013—2022 年的各类文献发表数量均有增加,尤其论文发表数量大幅上涨,后 5 年发表数量超过前 5 年 3 倍。

总体上,2013—2022 年间论文发表数量占比最大(图 1a),可达到总数的 92.11%。其次是综述论文,占比 5.99%,剩余 5 类占比较少。论文和综述论文占总发文量的 98.11%,可以很好地反映土壤 ARGs 的研究热点及进展。因此,下面的分析主要针对以上两类文献。

2.2 文献年发表数量

图 1d 显示了 2013—2022 年近 10 年间土壤 ARGs 相关文献发表数量年变化。由图可知,2013—2017 年文献发表数量增长较平缓,平均年增长量为 3 篇。表明前 5 年土壤 ARGs 相关研究发展较缓慢。而 2018—2021 年发文数量迅速上升,平均年增长量为 17 篇。截至 2022 年 9 月年最高发文量是在 2021 年,达到 142 篇。2022 年 9 个月发文量(74 篇)也均超过 2013—2017 年每年发文量。结果表明,近 5 年土壤 ARGs 污染问题已得到世界各地科研人员的关注,该领域也进入快速发展时期,并逐渐成为研究热点。

2.3 论文被引情况

文献被引次数年变化可以反映相应研究领域的发展,而单篇文献的被引次数可以作为评价其影响力和质量的指标。图 1d 为 2013—2022 年土壤 ARGs 相关文献被引次数年变化。从图中可以明显看出近 10 年被引次数稳步上升,呈指数增长趋势。有效文献的总被引次数为

22 123 次, 其中非自引次数高达 17 481 次, 每篇平均被引次数为 35.28 次。这一结果表明, 土壤 ARGs 污染问题相关研究具有较高质量和影响力, 已引起世界各地研究人员的高度重视。

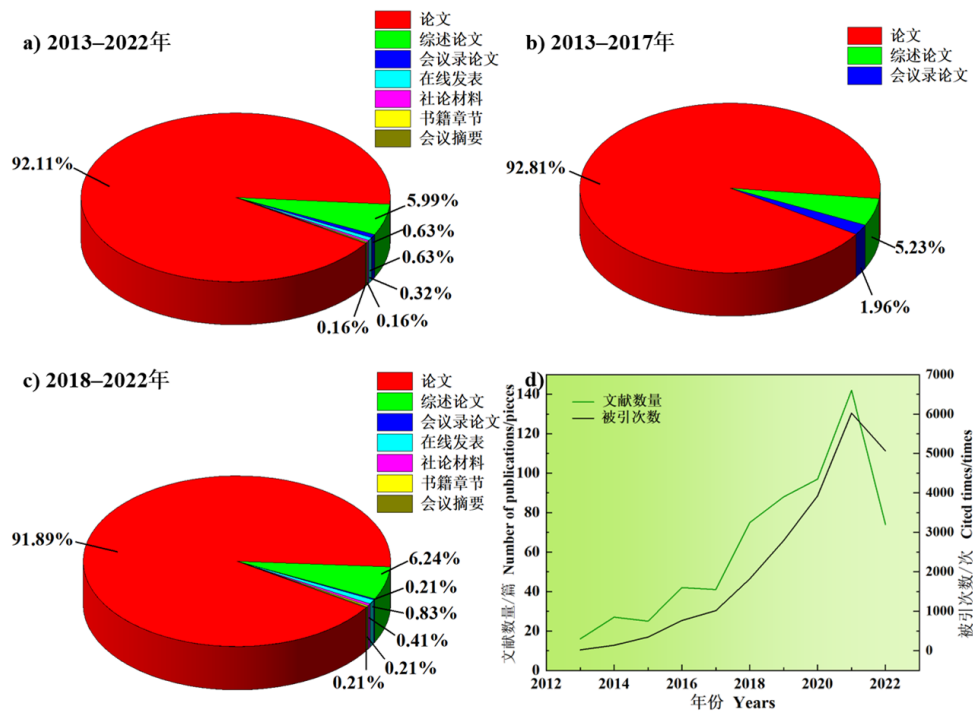


图 1 土壤抗生素抗性基因相关研究的发表类型 (a-c) 和年发文数量及被引次数变化 (d), 数据收集于 2022 年 10 月 6 日

Fig. 1 The types (a-c) and the number of publications and cited times (d) of publications related to soil antibiotic resistance genes collected on October 6th, 2022

表 1 总结了 2013—2022 年近 10 年间土壤 ARGs 相关文献被引次数最高的 5 篇论文。发表在 *Nature* 上的文章对 18 种农业和草地土壤中的抗生素进行了功能宏基因组选择, 证明了细菌群落组成是土壤 ARGs 含量的主要决定因素^[8], 该文章以 653 次被引位居第一。而被引次数第二和第三的研究文章均提出在田间施用污水污泥堆肥可能导致大量的 ARGs 在土壤中扩散^[22-23], 警示人们污水污泥在回收利用之前应做好安全处理, 避免造成二次污染。此外, 科研人员不仅关注了 ARGs 在土壤中存在的主要因素及其来源, 还研究了 ARGs 最终对人体健康产生的影响。Jechalke 等^[24]在 *Trends in Microbiology* 上发表的文章中指出, 大量 ARGs 的出现可能会促进多耐药人类病原体的产生, 并对抗生素治疗细菌感染过程产生影响。不仅如此, Marti 等^[25]还指出土壤中的 ARGs 可能通过蔬菜进入人体, 进而对人体健康产生威胁。由表 1 可知, 5 篇被引次数较高的论文均发表于 2013—2016 年, 说明 2017 年以前有关土壤 ARGs 的研究为其今后发展奠定了坚实的基础。

表 1 2013—2022 年被引次数最高的 5 篇论文

Table 1 Top 5 most cited papers from 2013 to 2022

年份 Year	题目/期刊 Topic/Journal	国家 Country	截至 2022 年被引 总次数 Total cited times by 2022	年均被引次数 Average cited times per year
2014	Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats/ <i>Nature</i>	美国 USA	653	85

2015	Antibiotic resistome and its association with bacterial communities during sewage sludge composting/ <i>Environmental Science & Technology</i>	中国 China	539	82
2016	Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil/ <i>Environment International</i>	中国 China	468	71
2014	Fate and effects of veterinary antibiotics in soil/ <i>Trends in Microbiology</i>	德国 Germany	302	41
2013	Impact of manure fertilization on the abundance of antibiotic-resistant bacteria and frequency of detection of antibiotic resistance genes in soil and on vegetables at harvest/ <i>Applied and Environmental Microbiology</i>	加拿大 Canada	276	30

2.4 发文国家/地区与机构

网络图可以提供某些研究领域具有影响力的国家/地区和机构及合作密度的相关信息，从而推动世界各地科研人员建立合作关系。图 2 为土壤 ARGs 相关研究发文国家/地区及机构的分析结果。图中节点大小代表发文数量，节点越大代表发文数量越多。线条粗细代表各国家/地区或各机构之间合作程度，线条越粗代表合作越密切。

本研究中，与土壤 ARGs 相关的 627 篇文献分别发表于 63 个国家，发文数量前 5 的国家分别为中国（385 篇），占 61.40%；美国（127 篇），占 20.26%；澳大利亚（45 篇），占 7.18%；加拿大（27 篇），占 4.31%；德国（27 篇），占 4.31%。以上 5 个国家在土壤 ARGs 领域研究中占据重要地位。由图 2a 可知，中国与 27 个国家均有合作，总关联度（Total link strength, TLS）值高达 148。其中，与澳大利亚合作最密切，其次为美国。中国与澳大利亚和美国的合作发文量达到总发文量的 47.30%。此外，美国和澳大利亚与其他国家/地区的合作也较为密切，TLS 值分别为 71 和 48，且二者与中国的合作最密切。

世界范围内共有 780 家机构为土壤 ARGs 研究做出了贡献，其中具有突出贡献的 3 家机构如图 2b 所示。中国科学院位居第一，发文 164 篇，占据总发文量的 26.16%。其次为中国科学院大学，发文 77 篇，占 12.28%。中国科学院城市环境研究所位列第三，共发文 73 篇，占 11.64%。此外，各机构之间也建立了不同程度的合作关系。中国科学院与 140 家机构建立了合作关系，TLS 高达 331，合作机构数量位居第一，与墨尔本大学、南京农业大学和中国农业科学院合作最为密切。而中国科学院大学与国内的多家机构，如中国农业科学院、福建农林大学和浙江大学在该领域合作频繁。总体来看，致力于土壤 ARGs 相关研究机构主要分布于国内，国外研究机构的活跃度相对较低。

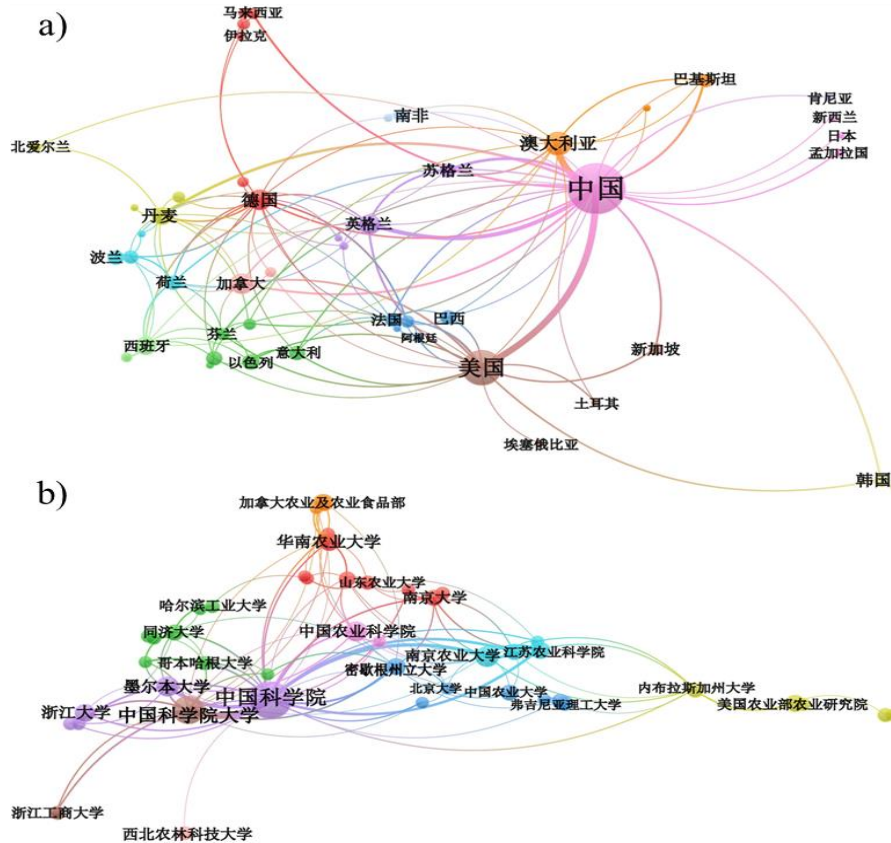


图 2 论文发表国家 (a) 和研究机构 (b) 网络图

Fig. 2 Network diagram of countries (a) and research institutions (b)

2.5 文献关键词

图 3a 是根据土壤 ARGs 相关文献的关键词统计结果, 分析关键词和热点密集度, 结合颜色光谱获得的密度可视化图。图中黄色代表热点区域, 深蓝色代表关注度相对较低的区域。由图 3a 可知, 密度较高的关键词为“抗生素抗性基因”、“土壤”、“抗生素”、“粪便”、“细菌群落”及“水平基因转移”等。图 3a 中出现了多种抗生素类型, 其中“四环素”和“磺胺嘧啶”为主要研究的抗生素类型; 同时, 受关注较多的关键词还包括“动物粪便”、“堆肥”及“粪肥施用”等。这一结果说明, 人们对 ARGs 的认识和定量、源解析、微生物对 ARGs 的响应及其环境行为关注度较高。

2.6 研究方向演变

如图 3b 所示, 2013—2022 年土壤 ARGs 相关研究中出现频次最高的 6 个研究方向分别为: 生态环境科学(414 篇, 66.03%)、工程学(114 篇, 18.18%)、微生物学(107 篇, 17.06%)、农业(43 篇, 6.86%)、生物技术与应用微生物学(35 篇, 5.58%)及公共环境与职业健康(25 篇, 3.99%)。其中, 环境科学与生态学领域相关研究的文章发表数量最多, 发文量总体呈逐年升高的趋势; 文献发表数量排名第二的研究方向是工程学, 微生物学紧随其后; 生物技术与应用微生物学领域的年发文量虽然不高, 但近十年每年基本均有涉及; 2015 年后农业领域也逐渐开始土壤 ARGs 相关研究, 说明农业生产活动与 ARGs 的产生和传播关系密切。除此之外, 2017 年在公共环境和职业健康领域也出现了土壤 ARGs 相关文章的发表, 说明研究人员对土壤 ARGs 的研究远未止步于其对环境的影响, 其与人类健康风险的关联也越来越受重视。

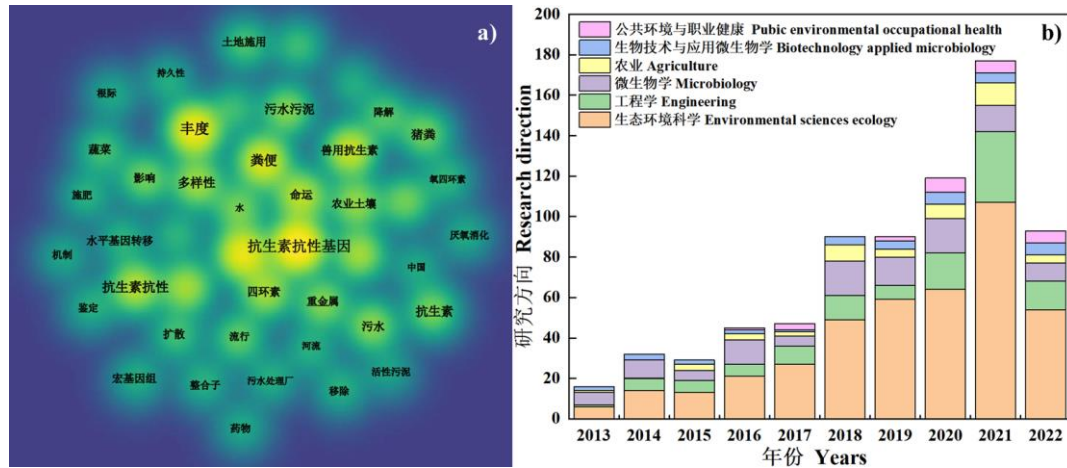


图 3 2013—2022 年土壤抗生素抗性基因相关研究的关键词密度可视化图 (a) 及研究方向变化 (b)
Fig. 3 Keywords density visualization (a) and changing research directions (b) of soil antibiotic resistance gene-related studies from 2013 to 2022

2.7 研究热点及发展趋势

关键词与文章主题密切相关,关键词出现的频次越高,说明相关主题的研究程度越高^[26]。关键词突现可以体现不同时期研究热点的变化,分析该领域潜在的发展趋势。图 4a 为土壤 ARGs 相关研究的关键词突现。图中共显示了 22 个关键词,蓝色片段表示所有文章的时间跨度,红色片段表示相应突现关键词从出现到结束的年份。而关键词共现网络可以直观显示出研究热点随时间变化情况,进而分析相应领域研究的发展趋势。本研究分析了 2013—2022 年近 10 年间土壤 ARGs 相关研究的关键词,并通过 VOSviewer 筛选出现次数在 20 次以上的关键词,获得土壤 ARGs 关键词共现网络(图 4b)。图中节点大小代表相应关键词出现的频次,节点越大表明出现频次越高。节点及连线颜色随时间推移发生相应变化,其中紫色节点代表较早提出的关键词,颜色越接近黄色代表关键词提出的时间越晚。根据 2013—2022 年近十年突现指标(图 4a)及关键词共现(图 4b),对近 10 年来土壤 ARGs 领域的研究热点与发展趋势进行归纳总结。

2.7.1 土壤中 ARGs 的认识与定量

从图 4a 和图 4b 可以看出,“四环素抗性”、“磺胺嘧啶”、“ β -内酰胺酶”、“革兰氏阴性细菌”及“荧光定量聚合酶链反应”是 2018 年前关注较多的关键词。其中,四环素类抗生素被广泛用作疾病治疗药物。美国食品和药物管理局的一份报告指出,2012 年美国用于牲畜治疗药物和饲料补充的四环素类抗生素高达 5.90×10^6 kg, 占有所有抗生素种类的 41%^[27]。在我国,2013 年磺胺类抗生素的生产量就达到 12.12 万吨,其中磺胺嘧啶是使用较多的抗生素之一^[28]。尽管在大多数环境介质中检测到的四环素等抗生素的含量在最低抑制浓度范围内,但其可对细菌暴露环境产生选择压力,进而导致 ARGs 的产生和传播^[29]。此外,有研究证实,葡萄球菌^[30]及包括肺炎克雷伯菌^[31]在内的革兰氏阴性杆菌^[32]在含有抗生素的环境中可以通过与 β -内酰胺酶相关的信号通路对抗生素产生抗性。

除了认识 ARGs 产生的原因,掌握其在土壤环境中的含量也至关重要。随着分子生物技术的不断发展,基于荧光定量聚合酶链反应(Real-time quantitative polymerase chain reaction, qPCR)和宏基因组学技术等方法已被广泛应用于检测土壤等环境介质微生物群中的 ARGs。qPCR 作为一种快速、灵敏且具有特异性的定量 ARGs 的方法^[33],不仅可以鉴定同源 DNA 标记,并追踪环境中相关抗性基因的传播扩散行为,还能通过评估不同环境样本中 ARGs 随时间变化情况来检测生物对抗生素的降解能力^[34]。Wang 等^[35]在南极洲特拉诺瓦湾的两个研究站附近采集了 62 个土壤样本,采用 qPCR 技术分析检测到 8 种 ARGs。Zhao 等^[36]通过 qPCR 技术分析后发现,鸡粪施用会显著增加土壤 ARGs 丰度。虽然 qPCR 技术被众多学者

广泛应用,但该方法也具有一定局限性。一方面,它在通常情况下一次仅能检测几种 ARGs;另一方面,在检测之前需要了解目标基因的相关信息,以便设计引物。因此,qPCR法通常用于检测已知的 ARGs 或与已知序列具有同源性的基因^[37]。土壤微生物的多样性导致目前仍有众多未被识别的 ARGs,2019年后发表的文献中多次出现的“宏基因组学技术”被认为是改善这种状况的有效方法,为土壤环境中 ARGs 的定量开辟了一条新的途径^[38]。宏基因组学技术还可以完善目前已有的或构建新的宏基因组文库,从而为将来进行基因比对提供有力参考。Zheng等^[39]分析了全球范围内1088个土壤宏基因组样本,检测到558个 ARGs,并指出农业土壤中的 ARGs 丰度高于非农业土壤。Li等^[40]则通过宏基因组学技术探究了农业土壤内 Cu 和 Zn 等重金属对 ARGs 转移的影响。此外,“大肠杆菌”也是2018年以前重点关注的关键词。在众多微生物中,大肠杆菌作为模式菌,是与 ARGs 密切相关的微生物类型。一项全球监测数据表明,导致尿路感染的大肠杆菌对几乎所有用于治疗细菌感染的抗生素均有耐药性^[41]。在世界卫生组织专家研讨会中,大肠杆菌也曾被称为监测耐药性的良好指标^[42]。

2.7.2 土壤中 ARGs 的源解析 畜禽粪便是土壤中 ARGs 的主要来源。土壤拥有地球上四分之一的生物多样性,是微生物栖息的重要场所。土壤多样性中蕴藏着 ARGs 或其前体,可能促进抗生素抗性的出现和扩散^[43]。一项调查指出,中国每年抗生素产量高达2.1亿 kg,其中46.1%用于畜牧业^[44],用于动物疾病治疗和提高畜牧业产量。但有研究证实,动物体内的大部分抗生素以母体物质或具有活性的代谢物通过粪便排出体外^[45-46]。而动物粪便作为抗生素耐药菌、ARGs 及病原菌的储存库^[47]施用于土壤后,会使土壤微生物获得抗性基因,进而显著提高土壤菌群内 ARGs 丰度^[48-49]。因此,包括“猪饲养场”在内的动物养殖场产生的粪便就成为了土壤中 ARGs 的主要来源。以上研究与2018—2019年多次提到的“兽用抗生素”、“粪便”、“土地应用”、“农业土壤”、“细菌”等关键词相对应。

此外,污水和污泥也是土壤 ARGs 的重要来源。经过污水处理厂的二级和三级处理过程后,污水中的抗生素残留可以得到有效去除。但有研究表明,污水处理厂中种类繁多的营养物质、抗生素及其衍生物的存在,为抗生素耐药菌的生长和生存提供了有利条件,并有利于抗性基因横向迁移^[50]。而且部分污水处理厂的最终排水中仍检测到了高浓度的 ARGs,如果这部分污水用于污水回灌则会大大增加 ARGs 在土壤环境中传播的风险^[51]。尽管“污水处理厂”是2018年前关注的热点,但由图4b可知,与之密切相关的“污水污泥”在2019年后仍为重点关注对象。污水污泥含有丰富的营养物质,经堆肥化处理后常被作为有机肥料施用于土壤^[52]。但多项研究证明,污水污泥内蕴藏着丰富的抗生素耐药菌及 ARGs,被施用于土壤后会使 ARGs 丰度增加^[53-55]。由此可知,污水处理厂的污水、污泥均是土壤中 ARGs 的重要来源。

2.7.3 土壤中 ARGs 的传播扩散与归趋 从图4a可知,随着时间的推移,人们对土壤 ARGs 的研究更加深入。2017年出现了突变关键词“转移”;2020年出现了“可移动遗传元件”。由图4b可知,2019年以后发表的文章中还多次提到“施肥”、“水平基因转移”、“微生物群落”、“重金属”以及“蔬菜”等关键词,说明对土壤环境中 ARGs 的传播扩散及其归趋等相关探讨已成为研究热点。

以往研究发现,ARGs 与微生物群落密切相关^[56]。而作为微生物耐药组的一部分,ARGs 及其宿主细菌可随施肥或堆肥施用过程而释放至土壤环境中^[57]。进入土壤的 ARGs 会发生转移,主要包括垂直基因转移(细菌宿主繁殖)和水平基因转移(移动遗传元件)^[58-59],这些迁移过程会促进 ARGs 在土壤环境内的传播扩散,加重土壤 ARGs 污染。土壤环境条件是影响 ARGs 迁移扩散过程的重要因素。Yang等^[60]通过冗余分析评估了5种土壤理化性质(总氮、总磷、有机质、pH 和含水量)与310种 ARGs 丰度的关系。结果表明,34种 ARGs 与不同的土壤理化性质相关。水分蒸发可导致不同土层的盐积累不同。最近的一项研究指出,

ARGs 的丰度自土壤深层到表层呈现逐渐减少的趋势, 该现象说明盐度作为一种非生物胁迫可改变 ARGs 在土壤环境中的分布, 影响其迁移扩散过程^[61]。此外, 土壤中抗生素残留会影响抗性基因的筛选和传播。这种影响取决于抗生素的半衰期及其生物利用度, 而生物利用度在一定程度上又取决于土壤理化性质^[62]。Chen 等^[63]指出, 较小的土壤基质势对四环素在孔隙水中扩散的阻碍或较低渗透压对大肠杆菌吸收四环素的抑制可能会导致土壤吸附四环素的生物利用度降低, 进而影响 ARGs 的筛选。

此外, 土壤中其他污染物(重金属、微塑料及多环芳烃等)的存在会导致携带 ARGs 细菌的相对丰度升高^[62]。Chen 等^[64]采集了石化厂不同多环芳烃污染水平的三种土壤, 并对其进行宏基因组分析。结果表明, 与两种多环芳烃污染较轻的土壤相比, ARGs 在污染最严重土壤中的丰度升高了大约 15 倍。而且多环芳烃污染土壤中富集的大多数 ARGs 没有被质粒携带, 表明它们在细菌之间迁移的可能性很低。同时, 可生物降解微塑料(聚丁二酸丁二醇酯)的存在也被认为增加了土壤中 ARGs 的丰度和多样性^[65]。而传统微塑料则会抑制 ARGs 在土壤中的扩散^[66]。近期研究表明, 除了抗生素滥用带来的选择压力, 土壤中重金属等污染物也与抗生素抗性具有显著相关性^[67]。据报道, 细菌对重金属的防御机制往往与对抗生素的耐药机制类似, 重金属含量升高也会间接诱导细菌细胞获得抗生素耐药性^[68]。在盐碱地中, ARGs 丰度就与 Pb、Zn 和 Cd 等重金属浓度呈正相关^[69]。此外, 部分重金属如 Cu、Ag、Cr 和 Zn 等还可加速 ARGs 的水平转移, 从而促进耐抗生素潜在病原体的发展和传播^[70]。由此可知, 土壤中其他污染物的存在不仅会改变 ARGs 丰度, 还会影响 ARGs 在土壤中的传播扩散。

ARGs 不仅会在土壤环境内部传播扩散, 还可能从土壤转移到作物的微生物群落, 再通过食物链进入人体, 进而使人体内微生物耐药性增加^[71]。Zhang 等^[72]指出, 土壤施用有机肥后, 生菜根内生菌及叶内生菌对抗生素抗性显著增加, 而且在生菜根和叶内均检测到了 ARGs。Cerqueira 等^[73]也发现, 在商业化经营的田地收集的番茄叶片和果实中, ARGs 的检出量占其在根或土壤中检出量的 1%~10%。此外, 胡萝卜在施用有机肥的土壤中生长期, 在其表皮内检测到 ARGs 的积累, 而且部分 ARGs 亚型出现了向块茎内部迁移的现象。这对于不去皮食用胡萝卜的动物和人类而言, 面临的耐药性风险将会显著增加^[74]。因此, ARGs 在土壤-植物系统中的传播扩散是其进入人体的潜在途径, 应引起人们的重点关注。

在近十年对土壤 ARGs 的研究中, 初期是认识和量化 ARGs, 随后是土壤 ARGs 的源解析及其与微生物内在联系的挖掘。随着研究的不断深入, ARGs 在土壤中的传播扩散及其归趋的探讨成为近几年的研究热点。但总体来看, 对 ARGs 在土壤中的传播阻控及削减技术的研究仍然不足。因此, 面对严峻的土壤 ARGs 污染问题, 该领域的研究仍需进一步深入。

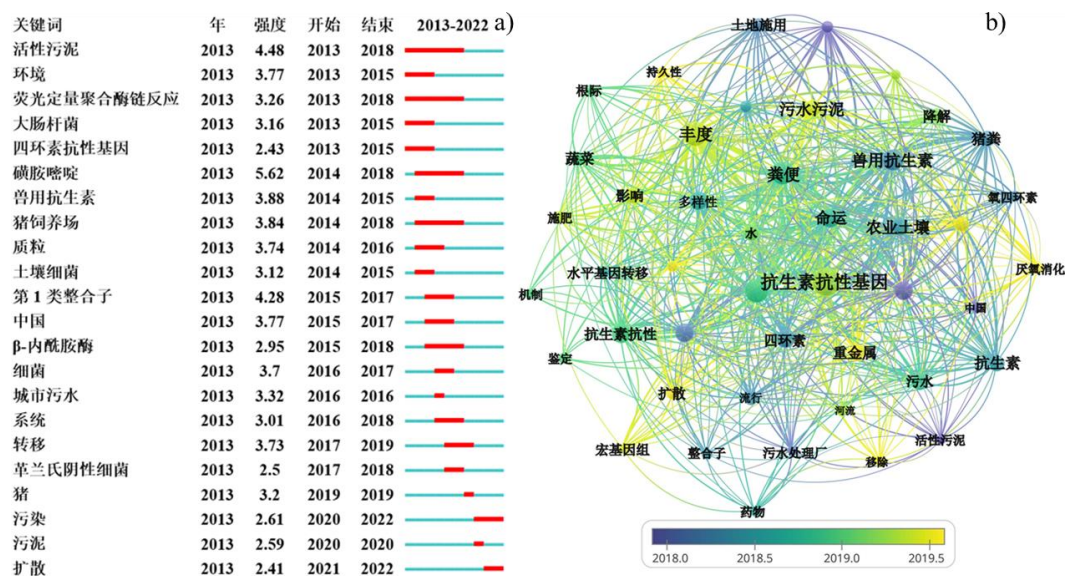


图4 土壤抗生素抗性基因相关研究的关键词突现 (a) 及共现网络图 (b) (关键词出现次数 ≥ 20)
Fig. 4 The keywords with citation bursts (a) and co-existence network (b) (occurrence times of keywords ≥ 20) of soil antibiotic resistance gene-related studies

3 结论

在过去十年中, 土壤 ARGs 研究领域飞速发展, 年发文数量和被引频次快速且持续上涨。我国在该领域的研究一直处于领先地位, 且与世界多国合作密切, 国际学术影响力较高。论文关键词分析表明, 该领域重点关注的抗生素类型主要为四环素和磺胺嘧啶; 而在众多土壤微生物类型中, 大肠杆菌是一直备受关注的与土壤 ARGs 最相关的微生物类型。关键词突变分析和共现网络分析均表明, ARGs 的定性定量、源解析及其在土壤环境中的传播扩散和归趋逐步成为该领域重点关注的研究课题。面对土壤 ARGs 污染这一全球性公共健康问题, 世界各国或组织应通力合作采取措施对其加以控制。未来研究可在“全健康”的理念下, 发展成熟完善的监测系统, 做到对土壤 ARGs 污染全方位的持续监测; 建立数学模型, 评估土壤 ARGs 的环境风险及对人体健康的影响; 关注土壤 ARGs 源解析工作, 争取做到以预防为主的源头控制; 而对于已进入土壤环境的 ARGs, 深入探讨其传播扩散机制及影响因素, 为 ARGs 削减技术研究奠定坚实基础。

参考文献 (References)

- [1] Baym M, Stone L K, Kishony R. Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance[J]. Science, 2016, 351(6268): aad3292.
- [2] Wang H X, Wang N, Wang B, et al. Antibiotics in drinking water in Shanghai and their contribution to antibiotic exposure of school children[J]. Environmental Science & Technology, 2016, 50(5): 2692-2699.
- [3] Feng M B, Ye C S, Zhang S Q, et al. Bisphenols promote the conjugative transfer of antibiotic resistance genes without damaging cell membrane[J]. Environmental Chemistry Letters, 2022, 20(3): 1553-1560.
- [4] Li H Z, Yang K, Liao H, et al. Active antibiotic resistome in soils unraveled by single-cell isotope probing and targeted metagenomics[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(40): e2201473119.
- [5] Zhao C X, Xin L Q, Xu X K, et al. Dynamics of antibiotics and antibiotic resistance genes in four types of kitchen waste composting processes[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 424: 127526.

- [6] Martínez J L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments[J]. *Science*, 2008, 321(5887): 365-367.
- [7] Forsberg K J, Reyes A, Wang B, et al. The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens[J]. *Science*, 2012, 337(6098): 1107-1111.
- [8] Forsberg K J, Patel S, Gibson M K, et al. Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats[J]. *Nature*, 2014, 509(7502): 612-616.
- [9] D'Costa V M, King C E, Kalan L, et al. Antibiotic resistance is ancient[J]. *Nature*, 2011, 477(7365): 457-461.
- [10] Cytryn E. The soil resistome: The anthropogenic, the native, and the unknown[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, 63: 18-23.
- [11] Chen C Q, Li J, Chen P P, et al. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistances in soils from wastewater irrigation areas in Beijing and Tianjin, China[J]. *Environmental Pollution*, 2014, 193: 94-101.
- [12] Fang H, Wang H F, Cai L, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes and bacterial pathogens in long-term manured greenhouse soils as revealed by metagenomic survey[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(2): 1095-1104.
- [13] Czatzkowska M, Harnisz M, Korzeniewska E, et al. The impact of antimicrobials on the efficiency of methane fermentation of sewage sludge, changes in microbial biodiversity and the spread of antibiotic resistance[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416: 125773.
- [14] Schlüter A, Szczepanowski R, Pühler A, et al. Genomics of IncP-1 antibiotic resistance plasmids isolated from wastewater treatment plants provides evidence for a widely accessible drug resistance gene pool[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2007, 31(4): 449-477.
- [15] Wang F H, Qiao M, Su J Q, et al. High throughput profiling of antibiotic resistance genes in urban park soils with reclaimed water irrigation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(16): 9079-9085.
- [16] Udikovic-Kolic N, Wichmann F, Broderick N A, et al. Bloom of resident antibiotic-resistant bacteria in soil following manure fertilization[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(42): 15202-15207.
- [17] Berendonk T U, Manaia C M, Merlin C, et al. Tackling antibiotic resistance: The environmental framework[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, 13(5): 310-317.
- [18] Pan M, Chu L M. Fate of antibiotics in soil and their uptake by edible crops[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 599/600: 500-512.
- [19] 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.
- [20] Zhang Z Y, Zhang Q, Wang T Z, et al. Assessment of global health risk of antibiotic resistance genes[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 1553.
- [21] Kasavan S, Yusoff S, Fakri M F R, et al. Plastic pollution in water ecosystems: A bibliometric analysis from 2000 to 2020[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 313: 127946.
- [22] Su J Q, Wei B, Ou-Yang W Y, et al. Antibiotic resistome and its association with bacterial communities during sewage sludge composting[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(12): 7356-7363.
- [23] Chen Q L, An X L, Li H, et al. Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil[J]. *Environment International*, 2016, 92/93: 1-10.
- [24] Jechalke S, Heuer H, Siemens J, et al. Fate and effects of veterinary antibiotics in soil[J]. *Trends in Microbiology*, 2014, 22(9): 536-545.
- [25] Marti R, Scott A, Tien Y C, et al. Impact of manure fertilization on the abundance of antibiotic-resistant bacteria and frequency of detection of antibiotic resistance genes in soil and on vegetables at harvest[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(18): 5701-5709.
- [26] Yan K, Lou J, Wang H Z, et al. Research of contaminated sites based on knowledge graph analysis and its development trend[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(5): 1234-1245. [严康, 楼骏, 汪海珍, 等. 污染场地研究现状与发展趋势: 基于知识图谱的分析[J]. *土壤学报*, 2021, 58(5): 1234-1245.]
- [27] Chen Z Y, Zhang Y J, Gao Y Z, et al. Influence of dissolved organic matter on tetracycline bioavailability to an antibiotic-resistant bacterium[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(18): 10903-10910.

- [28] Zhou A X. Research on the migration and transformation mechanism and remediation technique of sulfa antibiotics in phreatic water[D]. Changchun: Jilin University, 2015. [周爱霞. 潜水中磺胺抗生素迁移转化机理及修复技术研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015.]
- [29] Zhang Y J, Boyd S A, Teppen B J, et al. Role of tetracycline speciation in the bioavailability to *Escherichia coli* for uptake and expression of antibiotic resistance[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(9): 4893-4900.
- [30] Archer G L, Bosilevac J M. Signaling antibiotic resistance in staphylococci[J]. Science, 2001, 291(5510): 1915-1916.
- [31] Jiang W, Yang W J, Liu P, et al. Antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* through β -arrestin recruitment-induced β -lactamase signaling pathway[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 15(3): 2247-2254.
- [32] Walker G T, Rockweiler T J, Kersey R K, et al. Analytical performance of multiplexed screening test for 10 antibiotic resistance genes from perianal swab samples[J]. Clinical Chemistry, 2016, 62(2): 353-359.
- [33] Aydin S, Ince B, Ince O. Development of antibiotic resistance genes in microbial communities during long-term operation of anaerobic reactors in the treatment of pharmaceutical wastewater[J]. Water Research, 2015, 83: 337-344.
- [34] Aydin S, Ince B, Ince O. Assessment of anaerobic bacterial diversity and its effects on anaerobic system stability and the occurrence of antibiotic resistance genes[J]. Bioresource Technology, 2016, 207: 332-338.
- [35] Wang F, Stedtfeld R D, Kim O S, et al. Influence of soil characteristics and proximity to Antarctic research stations on abundance of antibiotic resistance genes in soils[J]. Environmental Science & Technology, 2016, 50(23): 12621-12629.
- [36] Zhao X, Wang J H, Zhu L S, et al. Environmental analysis of typical antibiotic-resistant bacteria and ARGs in farmland soil chronically fertilized with chicken manure[J]. Science of the Total Environment, 2017, 593/594: 10-17.
- [37] Fouhy F, Stanton C, Cotter P D, et al. Proteomics as the final step in the functional metagenomics study of antimicrobial resistance[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 172.
- [38] Willms I M, Grote M, Kocatürk M, et al. Novel soil-derived beta-lactam, chloramphenicol, fosfomycin and trimethoprim resistance genes revealed by functional metagenomics[J]. Antibiotics: Basel, Switzerland, 2021, 10(4): 378.
- [39] Zheng D S, Yin G Y, Liu M, et al. Global biogeography and projection of soil antibiotic resistance genes[J]. Science Advances, 2022, 8(46): eabq8015.
- [40] Li N, Chen J G, Liu C, et al. Cu and Zn exert a greater influence on antibiotic resistance and its transfer than doxycycline in agricultural soils[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 423: 127042.
- [41] Bryce A, Hay A D, Lane I F, et al. Global prevalence of antibiotic resistance in paediatric urinary tract infections caused by *Escherichia coli* and association with routine use of antibiotics in primary care: Systematic review and meta-analysis[J]. BMJ: Clinical Research Ed, 2016, 352: i939.
- [42] Vikesland P J, Pruden A, Alvarez P J J, et al. Toward a comprehensive strategy to mitigate dissemination of environmental sources of antibiotic resistance[J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(22): 13061-13069.
- [43] Wang F, Fu Y H, Sheng H J, et al. Antibiotic resistance in the soil ecosystem: A One Health perspective[J]. Current Opinion in Environmental Science & Health, 2021, 20: 100230.
- [44] Zhu Y G, Johnson T A, Su J Q, et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(9): 3435-3440.
- [45] Chen Z Q, Wang Y, Wen Q X. Effects of chlortetracycline on the fate of multi-antibiotic resistance genes and the microbial community during swine manure composting[J]. Environmental Pollution, 2018, 237: 977-987.
- [46] Menz J, Olsson O, Kümmerer K. Antibiotic residues in livestock manure: Does the EU risk assessment sufficiently protect against microbial toxicity and selection of resistant bacteria in the environment?[J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 379: 120807.
- [47] Heuer H, Smalla K. Manure and sulfadiazine synergistically increased bacterial antibiotic resistance in soil over at least two months[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(3): 657-666.
- [48] Sun Y M, Qiu T L, Gao M, et al. Inorganic and organic fertilizers application enhanced antibiotic resistome in greenhouse soils growing vegetables[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 179: 24-30.
- [49] Zhu D, Xiang Q, Yang X R, et al. Trophic transfer of antibiotic resistance genes in a soil detritus food chain[J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(13): 7770-7781.

- [50] Yuan Q B, Guo M T, Yang J. Fate of antibiotic resistant bacteria and genes during wastewater chlorination: Implication for antibiotic resistance control[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119403.
- [51] Nnadozie C F, Kumari S, Bux F. Status of pathogens, antibiotic resistance genes and antibiotic residues in wastewater treatment systems[J]. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2017, 16(3): 491-515.
- [52] Kirchmann H, Börjesson G, Kätterer T, et al. From agricultural use of sewage sludge to nutrient extraction: A soil science outlook[J]. Ambio, 2017, 46(2): 143-154.
- [53] Urrea J, Alkorta I, Mijangos I, et al. Application of sewage sludge to agricultural soil increases the abundance of antibiotic resistance genes without altering the composition of prokaryotic communities[J]. Science of the Total Environment, 2019, 647: 1410-1420.
- [54] Markowicz A, Bondarczuk K, Cycoń M, et al. Land application of sewage sludge: Response of soil microbial communities and potential spread of antibiotic resistance[J]. Environmental Pollution: 1987, 2021, 271: 116317.
- [55] Chen M L, An X L, Liao H, et al. Viral community and virus-associated antibiotic resistance genes in soils amended with organic fertilizers[J]. Environmental Science & Technology, 2021, 55(20): 13881-13890.
- [56] Liu Y W, Feng Y, Cheng D M, et al. Dynamics of bacterial composition and the fate of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements during the co-composting with gentamicin fermentation residue and lovastatin fermentation residue[J]. Bioresource Technology, 2018, 261: 249-256.
- [57] Bai Y, Xu R, Wang Q P, et al. Sludge anaerobic digestion with high concentrations of tetracyclines and sulfonamides: Dynamics of microbial communities and change of antibiotic resistance genes[J]. Bioresource Technology, 2019, 276: 51-59.
- [58] Gao Q, Dong Q, Wu L W, et al. Environmental antibiotics drives the genetic functions of resistome dynamics[J]. Environment International, 2020, 135: 105398.
- [59] Zhang S, Wang Y, Song H L, et al. Copper nanoparticles and copper ions promote horizontal transfer of plasmid-mediated multi-antibiotic resistance genes across bacterial Genera[J]. Environment International, 2019, 129: 478-487.
- [60] Yang F, Zhang F L, Li H P, et al. Contribution of environmental factors on the distribution of antibiotic resistance genes in agricultural soil[J]. European Journal of Soil Biology, 2021, 102: 103269.
- [61] Tan L, Wang F, Liang M M, et al. Antibiotic resistance genes attenuated with salt accumulation in saline soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 374: 35-42.
- [62] Smalla K, Cook K, Djordjevic S P, et al. Environmental dimensions of antibiotic resistance: Assessment of basic science gaps[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2018, 94(12): fty195.
- [63] Chen Z Y, Zhang W, Wang G, et al. Bioavailability of soil-sorbed tetracycline to *Escherichia coli* under unsaturated conditions[J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(11): 6165-6173.
- [64] Chen B W, He R, Yuan K, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) enriching antibiotic resistance genes (ARGs) in the soils[J]. Environmental Pollution, 2017, 220: 1005-1013.
- [65] Song R P, Sun Y Z, Li X F, et al. Biodegradable microplastics induced the dissemination of antibiotic resistance genes and virulence factors in soil: A metagenomic perspective[J]. Science of the Total Environment, 2022, 828: 154596.
- [66] Sun M M, Ye M, Jiao W T, et al. Changes in tetracycline partitioning and bacteria/phage-comediated ARGs in microplastic-contaminated greenhouse soil facilitated by sophorolipid[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 345: 131-139.
- [67] Gupta S, Graham D W, Sreekrishnan T R, et al. Heavy metal and antibiotic resistance in four Indian and UK rivers with different levels and types of water pollution[J]. Science of the Total Environment, 2022, 857: 159059.
- [68] Baker-Austin C, Wright M S, Stepanauskas R, et al. Co-selection of antibiotic and metal resistance[J]. Trends in Microbiology, 2006, 14(4): 176-182.
- [69] 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.
- [70] 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.

- [71] Sheng H J, Wang F, Xiang L L, et al. Environmental behavior and control of antibiotic resistance genes in soil – A review[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60(1):39-49. [生弘杰, 王芳, 相雷雷, 等. 土壤中抗生素抗性基因的环境行为与阻控研究进展[J]. 土壤学报, 2023, 60(1):39-49.]
- [72] Zhang Y J, Hu H W, Chen Q L, et al. Transfer of antibiotic resistance from manure-amended soils to vegetable microbiomes[J]. Environment International, 2019, 130: 104912.
- [73] Cerqueira F, Matamoros V, Bayona J, et al. Antibiotic resistance genes distribution in microbiomes from the soil-plant-fruit continuum in commercial *Lycopersicon esculentum* fields under different agricultural practices[J]. Science of the Total Environment, 2019, 652: 660-670.
- [74] Mei Z, Xiang L L, Wang F, et al. Bioaccumulation of Manure-borne antibiotic resistance genes in carrot and its exposure assessment[J]. Environment International, 2021, 157: 106830.

(责任编辑: 卢 萍)