

DOI: 10.11766/trxb202309100369

CSTR: 32215.14.trxb202309100369

于文豪, 李舒, 林于蓝, 张晶清, 徐晨伟, 刘亮亮, 张金波, 蔡祖聪, 赵军. 棉隆熏蒸和强还原处理对农田土壤抗生素抗性基因的影响研究[J]. 土壤学报, 2025, 62 (1): 114–126.

YU Wenhao, LI Shu, LIN Yulan, ZHANG Jingqing, XU Chenwei, LIU Liangliang, ZHANG Jinbo, CAI Zucong, ZHAO Jun. Effects of Dazomet Fumigation and Reductive Soil Disinfestation on Antibiotic Resistance Genes in Farmland Soil [J]. Acta Pedologica Sinica, 2025, 62 (1): 114–126.

## 棉隆熏蒸和强还原处理对农田土壤抗生素抗性基因的影响研究\*

于文豪<sup>1</sup>, 李舒<sup>1</sup>, 林于蓝<sup>1</sup>, 张晶清<sup>1</sup>, 徐晨伟<sup>2, 5</sup>, 刘亮亮<sup>1</sup>, 张金波<sup>1, 3, 4</sup>, 蔡祖聪<sup>1, 3, 4</sup>, 赵军<sup>1, 3, 4†</sup>

(1. 南京师范大学地理科学学院, 南京 210023; 2. 江苏省农业农村污染防治技术与装备工程研究中心, 江苏南通 226007; 3. 江苏省土壤利用与农业可持续发展工程研究中心, 南京 210023; 4. 江苏省地理信息资源开发与利用协同创新中心, 南京 210023; 5. 南通科技职业学院环境与生物工程学院, 江苏南通 226007)

**摘要:** 化学熏蒸和强还原处理 (Reductive soil disinfestation, RSD) 是农业生产上广泛应用的土壤灭菌措施, 但它们是否同样能够消减土壤中富集的抗生素抗性基因 (Antibiotics resistance genes, ARGs), 目前还不得而知。以长期鸡粪施用导致 ARGs 富集的农田土壤为研究对象, 分别设置 0.02% 的棉隆熏蒸 (DZ) 和以 1% 的乙醇 (ET, 总有机碳: 521.7 g·kg<sup>-1</sup>)、苜蓿粉 (AL, 总有机碳: 454.9 g·kg<sup>-1</sup>, 碳氮比: 21.2)、糖蜜 (MO, 总有机碳: 270.1 g·kg<sup>-1</sup>, 碳氮比: 12.6) 以及苜蓿粉和糖蜜复合物 (AM, m/m=1:1) 为有机物料的 RSD 处理, 同时设置最大持水量 (FCK) 和不处理对照 (CK), 利用荧光定量 PCR 技术研究土壤中主要 ARGs 和可移动遗传元件 (Mobile genetic elements, MGEs) 在绝对丰度和相对丰度上的变化, 并通过消减率来评估不同处理对土壤 ARGs 和 MGEs 的消减效果。研究发现, RSD 处理能够消减 *aadA21*、*msrE*、*tetG*、*tetM*、*ErmF* 等基因的相对丰度, 其中 AL、MO 和 AM 处理对 *aadA21* 基因相对丰度的消减率达到 50.5%~58.3%, 而 ET 处理对 *msrE*、*tetG* 和 *tetM* 基因相对丰度的消减效果显著, 其消减率分别高达 80.9%、78.3% 和 66.9%。同时, RSD 处理能够显著降低土壤中 MGEs (*IS6100* 和 *IS26*) 的相对丰度, 消减率分别为 72.5%~76.2% 和 38.4%~56.2%。此外, DZ 处理对土壤中 ARGs 和 MGEs 的相对丰度具有一定的增加作用, 其中 ARGs 和 *IS26* 的相对丰度分别提高了 21.9% 和 60.0%。综上, RSD 处理能够通过降低 ARGs 和 MGEs 的相对丰度, 限制 ARGs 的水平转移能力, 实现对土壤 ARGs 的消减, 且其消减效果与所使用的有机物料类型有关。此外, 相较于棉隆熏蒸, RSD 处理对 ARGs 和 MGEs 的消减效果更好, 具备快速修复 ARGs 污染土壤的潜力。

**关键词:** 抗生素抗性基因; 可移动遗传元件; 棉隆熏蒸; 强还原处理; 相对丰度

**中图分类号:** X53, S472 **文献标志码:** A

\* 国家自然科学基金项目 (42090065, 42077031)、江苏省农业农村污染防治技术与装备工程研究中心开放资金 (GCZXZD2301) 和江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (KYCX23\_1720, KYCX22\_1568) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 42090065, 42077031), the Opening Project of Jiangsu Province Engineering Research Center of Agricultural and Rural Pollution Prevention Technology and Equipment (No. GCZXZD2301), and the Postgraduate Research & Practice Innovation Program of Jiangsu Province (Nos. KYCX23\_1720, KYCX22\_1568)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: junzhao37@njnu.edu.cn

作者简介: 于文豪 (1998—), 男, 山东淄博人, 硕士研究生, 主要从事土壤抗生素抗性基因消减相关研究。E-mail: yuwh981120@126.com

收稿日期: 2023-09-10; 收到修改稿日期: 2024-01-19; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2024-04-03

## Effects of Dazomet Fumigation and Reductive Soil Disinfestation on Antibiotic Resistance Genes in Farmland Soil

YU Wenhao<sup>1</sup>, LI Shu<sup>1</sup>, LIN Yulan<sup>1</sup>, ZHANG Jingqing<sup>1</sup>, XU Chenwei<sup>2,5</sup>, LIU Liangliang<sup>1</sup>, ZHANG Jinbo<sup>1,3,4</sup>, CAI Zucong<sup>1,3,4</sup>, ZHAO Jun<sup>1,3,4†</sup>

(1. School of Geography, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Province Engineering Research Center of Agricultural and Rural Pollution Prevention Technology and Equipment, Nantong, Jiangsu 226007, China; 3. Jiangsu Engineering Research Center for Soil Utilization & Sustainable Agriculture, Nanjing 210023, China; 4. Jiangsu Center for Collaborative Innovation in Geographical Information Resource Development and Application, Nanjing 210023, China; 5. Faculty of Environment and Bioengineering, Nantong College of Science and Technology, Nantong, Jiangsu 226007, China)

**Abstract:** 【Objective】 The prevalence and dissemination of antibiotics resistance genes (ARGs) in farmland soils have become a major threat to food security and human health. However, there is still no effective method to remediate ARGs-contaminated farmland soil. Chemical fumigation and reductive soil disinfestations (RSD) are widely used to kill soil-borne pathogens in agricultural production, but it is still unknown whether they are capable of reducing the abundance of ARGs in ARGs-enriched soil. 【Method】 In this study, an ARGs-enriched farmland soil due to long-term application of chicken manure was selected, and soil incubation experiment with seven treatments: CK (control without soil treatment), FCK (maximum water holding capacity treatment), DZ (chemical fumigation with 0.02% dazomet), and RSD with 1% ethanol (ET, TOC: 521.7 g·kg<sup>-1</sup>), alfalfa (AL, TOC: 454.9 g·kg<sup>-1</sup>, C/N: 21.2), molasses (MO, TOC: 270.1 g·kg<sup>-1</sup>, C/N: 12.6) and the mixture of alfalfa and molasses (AM, m/m=1: 1), were conducted to investigate the shifts in absolute abundance and relative abundance of ARGs and mobile genetic elements (MGEs) via real-time PCR. The effects of different treatments on soil ARGs and MGEs were evaluated by reduction rate. 【Result】 Results showed that RSD treatment could decrease the relative abundance of *aadA21*, *msrE*, *tetG*, *tetM*, and *ErmF* genes, with the reduction of the *aadA21* gene in relative abundance being 50.5%–58.3% in AL-, MO-, and AM-treated soils, while the relative abundances of *msrE*, *tetG*, and *tetM* genes were significantly lowered by ET treatment, with the reduction rate being as high as 80.9%, 78.3%, and 66.9%, respectively. Meanwhile, RSD treatment could significantly decrease the relative abundance of MGEs (*IS6100* and *IS26* gene), with the reduction rate being 72.5%–76.2% and 38.4%–56.2%, respectively. In addition, the relative abundances of ARGs and MGEs were slightly increased in DZ treatment, with the increasing rate of ARGs and *IS26* gene being 21.9% and 60%, respectively. 【Conclusion】 Collectively, RSD treatment can decrease soil ARGs contamination by reducing the relative abundance of ARGs and MGEs, limiting the horizontal transfer ability of ARGs, and the reduction effect is related to the type of organic materials used. Moreover, RSD treatment is more effective in reducing the relative abundance of ARGs and MGEs than dazomet fumigation and has the potential for rapid remediation of ARGs-contaminated soil.

**Key words:** Antibiotic resistance genes; Mobile genetic elements; Dazomet fumigation; Reductive soil disinfestation; Relative abundance

抗生素自被发现以来就在治疗人类感染性疾病和促进畜禽养殖业集约化发展方面发挥着重要作用,但近年来,由于长期过度使用甚至滥用所引起的农田土壤抗生素污染问题日益突出<sup>[1]</sup>,导致耐药菌大量富集,抗生素抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)传播扩散的风险加剧,严重威胁农产品安全和生态系统健康。研究表明,长期施用猪粪有机肥能够显著增加土壤中 ARGs 的多样性和丰度,改变土壤抗生素抗性组<sup>[2]</sup>。Zhang 等<sup>[3]</sup>研究发现,

家禽粪肥施用土壤上种植生菜 90 天以后,其根际、根内和叶际的 ARGs 丰度显著增加,表明 ARGs 可通过土壤-植物生产系统向人类传播扩散。因此,倘若 ARGs 进入到人类致病菌中,将导致超级耐药菌的产生,从而严重危害人类健康<sup>[4]</sup>。当前,ARGs 已成为人类在本世纪面临的六大新环境问题和全球性挑战之首<sup>[5]</sup>。

降低土壤中 ARGs 的丰度是阻控其通过土壤-植物系统向人类传播扩散的重要手段。生物炭是一

种富含碳元素的多孔材料,能够吸附土壤中的抗生素和可移动遗传元件(Mobile genetic elements, MGEs),从而降低抗生素选择压力和 ARGs 的水平转移能力,因此对土壤 ARGs 具有较强的阻控潜力<sup>[6]</sup>。有研究表明,施用生物炭可有效消减土壤中四环素类、交叉耐药类及磺胺类 ARGs 的丰度,同时抑制某些 MGEs 从土壤微生物向植物组织迁移<sup>[7]</sup>。Ye 等<sup>[8]</sup>研究发现,生物炭改良可降低蔬菜对抗生素的吸收以及其组织中 *sull* 基因的积累。然而,也有研究报道,生物炭对土壤中 ARGs 的阻控效果受制备材料、工艺以及添加量和 ARGs 类型等因素影响,且老化会影响生物炭的吸附性能,从而降低其对 ARGs 的阻控能力<sup>[6, 9]</sup>。此外,生物炭中含有多环芳烃、重金属等内源污染物,长期使用可能会进一步加剧土壤中 ARGs 的污染和转移风险<sup>[10]</sup>。还有一些研究表明,利用蚯蚓能够降低抗生素污染土壤中磺胺类、四环素类和喹诺酮类 ARGs 的丰度及其在植物中的积累<sup>[11]</sup>。但是,由于赋存在土壤中的 ARGs 具有流行性和持久性,且同时存在基因多样性和宿主多样性等特征,因此生物炭施用和引入蚯蚓对土壤 ARGs 的消减效果具有不确定性,目前尚无稳定有效的修复措施。

强还原土壤处理(Reductive soil disinfestation, RSD)是一种作物种植前的土壤处理方法,能够广谱性地杀灭土传病原菌,改善土壤微生物群落结构,提高土壤微生物活性以及群落互作稳定性<sup>[12-13]</sup>。大量研究表明,土壤细菌群落组成与 ARGs 丰度密切相关<sup>[14]</sup>。Ji 等<sup>[15]</sup>研究发现,RSD 处理能够降低土壤中鞘酯单胞菌、链霉菌等细菌属的相对丰度,而土壤中鞘酯单胞菌、链霉菌、假单胞菌等相对丰度与 ARGs 丰度呈显著正相关,被认为是 ARGs 的重要

宿主之一<sup>[16]</sup>。由此可见,RSD 处理具有抑制土壤中某些 ARGs 宿主的潜力。此外,若某些携带 MGEs 的土壤细菌在 RSD 处理过程中被抑制,则土壤中 ARGs 的水平转移能力也会相应下降。棉隆熏蒸是目前农业生产上最为常用的土壤灭菌方法,具有广谱灭生性,因此自然会对携带 ARGs 和 MGEs 的细菌产生或多或少的抑制作用。然而,其能否有效消减土壤中富集的 ARGs 还不得而知。本研究以长期施用鸡粪的潮土为研究对象,通过设置棉隆熏蒸和不同有机物料的 RSD 处理,探究土壤灭菌方式以及物料类型对土壤中 ARGs 和 MGEs 绝对丰度及相对丰度的影响,以期快速消减农田土壤 ARGs 并降低其扩散风险、保障农产品安全和人类健康提供一定的技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试土壤采自江苏省南通市海安市一处具有长期鸡粪施用历史的农田(32°66'N, 120°70'E),按照“五点法”取样原则采集耕作层土壤(0~20 cm)若干,充分混匀过筛(2 mm)后置于 4 °C 待用。供试土壤属潮土,其基本理化性质为 pH 7.65,电导率 335  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ,有机质 11.2  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,全氮 1.41  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,有效磷 427.3  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,速效钾 648.7  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。由于长期施用鸡粪,该土壤中 ARGs 富集明显,其丰度达到  $6.96 \times 10^9$  拷贝数每克干土,主要包括多药类、氨基糖苷类、磺胺类和交叉耐药类 ARGs;而 MGEs 的丰度为  $1.42 \times 10^9$  拷贝数每克干土(图 1)。供试土壤熏蒸剂为 98% 的棉隆微粒剂,购自江苏省南通施壮化工有限公司。供试有机物料包括苜蓿粉、糖蜜

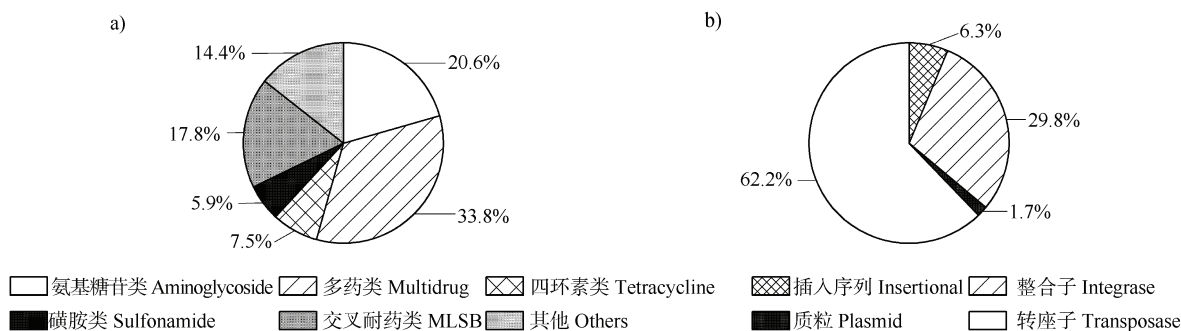


图 1 供试土壤中主要 ARGs 和 MGEs 类型的占比

Fig. 1 The proportion of major ARGs and MGEs types in tested soil

和酒精, 其中苜蓿粉总有机碳  $454.9 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、全氮  $21.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、碳/氮比 21.2、粒径小于  $0.5 \text{ cm}$ ; 糖蜜总有机碳  $270.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、全氮  $21.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、碳/氮比 12.6; 酒精的总有机碳  $521.7 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

## 1.2 试验设计

土壤培养试验在恒温培养箱中进行, 共设置 7 个处理: 1) 不做任何土壤处理的对照 (CK); 2) 最大持水量处理 (FCK); 3) 棉隆熏蒸 (DZ); 4) 乙醇 RSD 处理 (ET); 5) 苜蓿粉 RSD 处理 (AL); 6) 糖蜜 RSD 处理 (MO); 7) 苜蓿粉和糖蜜复合的 RSD 处理 (AM,  $m/m=1:1$ )。每个处理包含 3 个重复, 每个重复  $100 \text{ g}$  土, DZ 处理的棉隆用量为土壤质量的 0.02%, RSD 处理的有机物料用量均为土壤质量的 1%。土壤处理具体操作如下: 称取  $100 \text{ g}$  土壤置于 20 丝的自封袋中, 对于可溶性的有机物料 (MO 和 ET), 将其溶于水稀释后与土壤充分混匀; 对于不可溶的颗粒物 (DZ 和 AL), 将其直接添加至土壤中并充分混匀, 除 CK 外所有处理均加水至最大持水量, 排出自封袋内空气后封口密闭, 置于培养箱内在  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  下处理 30 d。处理结束后, 采集各处理的土壤样品, 保存于  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  用于土壤 DNA 的提取。

## 1.3 土壤 DNA 提取和荧光定量 PCR 测定

称取  $0.5 \text{ g}$  保存于  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中的土壤样品, 使用 FastDNA<sup>®</sup>SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, USA) 提取土壤总 DNA, 所有 DNA 样品经 DS-11 超微量分光光度计 (DeNovix, USA) 检测质量合格后保存于  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  待用。荧光定量 PCR 扩增反应在 QuanStudio 3 Real-Time PCR system (Applied Biosystems, USA) 上进行, 反应体系 ( $20 \text{ } \mu\text{L}$ ) 包括  $2\times$  SYBR<sup>®</sup>Green Pro Taq HS Premix (艾瑞科生物, 中国湖南)  $10 \text{ } \mu\text{L}$ , 正、反引物 ( $10 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 各  $1 \text{ } \mu\text{L}$ , DNA 模板  $1 \text{ } \mu\text{L}$  和 dd H<sub>2</sub>O  $7 \text{ } \mu\text{L}$ 。用于定量细菌 16S rRNA (Eub338F/518R)、氨基糖苷类抗性基因 *aadA21* (*aadA21-f/aadA21-r*)、多药类抗性基因 *msrE* (*msrE-f/msrE-r*) 和 *qacH* (*qacH-f/qacH-r*)、四环素类抗性基因 *tetM* (*tetM-f/tetM-r*) 和 *tetG* (*tetG-f/tetG-r*)、磺胺类抗性基因 *sulI* (*sulI-f/sulI-r*)、交叉耐药类抗性基因 *ErmF* (*ErmF-f/ErmF-r*)、MGEs 基因 *IS6100* (*IS6100-f/IS6100-r*) 和 *IS26* (*IS26-f/IS26-r*) 的引物及扩增条件见表 1。各基因标准曲线的扩增效率为  $97.26\%\sim 100.37\%$ , 均符合测定要求。

## 1.4 数据处理

采用绝对丰度、相对丰度、绝对丰度消减率以及相对丰度消减率评估不同土壤处理对 ARGs 和 MGEs 的影响。其中, 绝对丰度是指通过定量 PCR 分析直接获得的结果, 用于表示土壤中某一基因的绝对数量; 相对丰度是指某个特定 ARGs 基因的拷贝数与 16S rRNA 基因的比值, 用于表示该基因占总细菌基因的比例; 消减率是指处理前后某一特定基因绝对丰度或相对丰度的变化, 若值为正数, 则表明处理具有消减作用, 若值为负数, 则表明处理后该特定基因丰度 (绝对或相对) 增加。具体计算方法如下:

$$\text{绝对丰度 } A = \lg C \quad (1)$$

$$\text{相对丰度 } R = \frac{C_i}{C_b} \quad (2)$$

$$\text{绝对丰度消减率} = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{相对丰度消减率} = \frac{R_0 - R_i}{R_0} \times 100\% \quad (4)$$

式中,  $C$  为每克干土中基因的拷贝数,  $C_i$  为某一特定 ARGs 或 MGEs 基因的拷贝数,  $C_b$  为 16S rRNA 基因的拷贝数;  $A_0$  为对照组某一特定基因的绝对丰度,  $A_i$  为处理后该基因的绝对丰度;  $R_0$  为对照组某一特定基因的相对丰度,  $R_i$  则为处理后该基因的相对丰度。

本试验为单因素试验, 单因素方差分析 (One-way ANOVA) 配合 Duncan 新复极差法 (Duncan's multiple range test) 检验处理间均值差异的显著性 ( $P<0.05$ )。主坐标分析 (Principal coordinate analysis, PCoA) 用于比较不同处理对 ARGs 组 (所有 7 种 ARGs) 在绝对丰度和相对丰度上的差异 (Bray-Curtis 距离); 主成分分析 (Principal component analysis, PCA) 用于比较不同土壤处理对 ARGs 组绝对丰度消减率和相对丰度消减率的作用差异 (欧几里得距离)。采用置换多元方差分析检测处理之间 ARGs 组以及 ARGs 消减作用差异的显著性。所有统计分析均由 R 软件 (v4.3.2) 和 IBM SPSS Statistics 26 统计软件完成。

表 1 荧光定量 PCR 所用引物和反应条件

Table 1 Primers and PCR conditions used in real-time PCR

基因类型 Type of genes	目的基因 Target gene	引物 Primer set	引物序列 Sequence (5'-3')	扩增反应条件 Thermal profile	参考文献 Reference																																																																		
16S	Bacterial 16S rRNA	Eub338F	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	95 °C 预变性 1 min, 95 °C 解链 5 s, 60 °C 低温退火延伸 30 s, 39 个循环	[17]																																																																		
		Eub518R	ATTACCGCGGCTGCTGG			氨基糖苷类 Aminoglycoside	<i>aadA21</i>	aadA21-f	ACGGCTCCGCAGTGGAT		[18]	aadA21-r	GGCCACAGTAACCAACAAATCA	多药类 Multidrug	<i>qacH</i>	qacH-f	GTCGGTGTGCTTATGCAGTCT		[18]	qacH-r	CAACCAGGCAATGGCTGTAA	四环素类 ARGs Tetracycline	<i>msrE</i>	msrE-f	CGGCAGATGGTCTGAGCTTAAA	95 °C 预变性 1 min, 95 °C 解链 10 s, 58 °C 低温退火延伸 20 s, 35 个循环	[18]	msrE-r	CGCACTCTTCTGCATAAAGGA	磺胺类 sulfonamide	<i>tetM</i>	tetM-f	GGAGCGATTACAGAATTAGGAAGC		[18]	tetM-r	TCCATATGTCCTGGCGTGTC	交叉耐药类 MLSB	<i>tetG</i>	tetG-f	GCTCGGTGGTATCTCTGCTC		[18]	tetG-r	AGCAACAGAATCGGGAACAC	可移动遗传元件 MGEs	<i>sulI</i>	sulI-f	CACCGGAAACATCGCTGCA		[19]	sulI-r	AAGTTCCGCCGCAAGGCT	可移动遗传元件 MGEs	<i>ErmF</i>	ErmF-f	CAGCTTTGGTTGAACATTTACGAA		[18]	ErmF-r	AAATTCTAAAATCACAACCGACAA	<i>IS6100</i>	IS6100-f	CGCACCGGCTTGATCAGTA		[18]	IS6100-r	CTGCCACGCTCAATACCGA	<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC
氨基糖苷类 Aminoglycoside	<i>aadA21</i>	aadA21-f	ACGGCTCCGCAGTGGAT		[18]																																																																		
		aadA21-r	GGCCACAGTAACCAACAAATCA			多药类 Multidrug	<i>qacH</i>	qacH-f	GTCGGTGTGCTTATGCAGTCT		[18]	qacH-r	CAACCAGGCAATGGCTGTAA	四环素类 ARGs Tetracycline	<i>msrE</i>	msrE-f	CGGCAGATGGTCTGAGCTTAAA	95 °C 预变性 1 min, 95 °C 解链 10 s, 58 °C 低温退火延伸 20 s, 35 个循环	[18]	msrE-r	CGCACTCTTCTGCATAAAGGA	磺胺类 sulfonamide	<i>tetM</i>	tetM-f	GGAGCGATTACAGAATTAGGAAGC		[18]	tetM-r	TCCATATGTCCTGGCGTGTC	交叉耐药类 MLSB	<i>tetG</i>	tetG-f	GCTCGGTGGTATCTCTGCTC		[18]	tetG-r	AGCAACAGAATCGGGAACAC	可移动遗传元件 MGEs	<i>sulI</i>	sulI-f	CACCGGAAACATCGCTGCA		[19]	sulI-r	AAGTTCCGCCGCAAGGCT	可移动遗传元件 MGEs	<i>ErmF</i>	ErmF-f	CAGCTTTGGTTGAACATTTACGAA		[18]	ErmF-r	AAATTCTAAAATCACAACCGACAA		<i>IS6100</i>	IS6100-f	CGCACCGGCTTGATCAGTA		[18]	IS6100-r	CTGCCACGCTCAATACCGA	<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC		[18]	IS26-r	CGGTACTTAATCTGTGCGGTGTTCA			
多药类 Multidrug	<i>qacH</i>	qacH-f	GTCGGTGTGCTTATGCAGTCT		[18]																																																																		
		qacH-r	CAACCAGGCAATGGCTGTAA			四环素类 ARGs Tetracycline	<i>msrE</i>	msrE-f	CGGCAGATGGTCTGAGCTTAAA	95 °C 预变性 1 min, 95 °C 解链 10 s, 58 °C 低温退火延伸 20 s, 35 个循环	[18]	msrE-r	CGCACTCTTCTGCATAAAGGA	磺胺类 sulfonamide	<i>tetM</i>	tetM-f	GGAGCGATTACAGAATTAGGAAGC		[18]	tetM-r	TCCATATGTCCTGGCGTGTC	交叉耐药类 MLSB	<i>tetG</i>	tetG-f	GCTCGGTGGTATCTCTGCTC		[18]	tetG-r	AGCAACAGAATCGGGAACAC	可移动遗传元件 MGEs	<i>sulI</i>	sulI-f	CACCGGAAACATCGCTGCA		[19]	sulI-r	AAGTTCCGCCGCAAGGCT	可移动遗传元件 MGEs	<i>ErmF</i>	ErmF-f	CAGCTTTGGTTGAACATTTACGAA		[18]	ErmF-r	AAATTCTAAAATCACAACCGACAA		<i>IS6100</i>	IS6100-f	CGCACCGGCTTGATCAGTA		[18]	IS6100-r	CTGCCACGCTCAATACCGA	<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC		[18]	IS26-r	CGGTACTTAATCTGTGCGGTGTTCA											
四环素类 ARGs Tetracycline	<i>msrE</i>	msrE-f	CGGCAGATGGTCTGAGCTTAAA	95 °C 预变性 1 min, 95 °C 解链 10 s, 58 °C 低温退火延伸 20 s, 35 个循环	[18]																																																																		
		msrE-r	CGCACTCTTCTGCATAAAGGA			磺胺类 sulfonamide	<i>tetM</i>	tetM-f	GGAGCGATTACAGAATTAGGAAGC		[18]	tetM-r	TCCATATGTCCTGGCGTGTC	交叉耐药类 MLSB	<i>tetG</i>	tetG-f	GCTCGGTGGTATCTCTGCTC		[18]	tetG-r	AGCAACAGAATCGGGAACAC	可移动遗传元件 MGEs	<i>sulI</i>	sulI-f	CACCGGAAACATCGCTGCA		[19]	sulI-r	AAGTTCCGCCGCAAGGCT	可移动遗传元件 MGEs	<i>ErmF</i>	ErmF-f	CAGCTTTGGTTGAACATTTACGAA		[18]	ErmF-r	AAATTCTAAAATCACAACCGACAA		<i>IS6100</i>	IS6100-f	CGCACCGGCTTGATCAGTA		[18]	IS6100-r	CTGCCACGCTCAATACCGA	<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC		[18]	IS26-r	CGGTACTTAATCTGTGCGGTGTTCA																			
磺胺类 sulfonamide	<i>tetM</i>	tetM-f	GGAGCGATTACAGAATTAGGAAGC		[18]																																																																		
		tetM-r	TCCATATGTCCTGGCGTGTC			交叉耐药类 MLSB	<i>tetG</i>	tetG-f	GCTCGGTGGTATCTCTGCTC		[18]	tetG-r	AGCAACAGAATCGGGAACAC	可移动遗传元件 MGEs	<i>sulI</i>	sulI-f	CACCGGAAACATCGCTGCA		[19]	sulI-r	AAGTTCCGCCGCAAGGCT	可移动遗传元件 MGEs	<i>ErmF</i>	ErmF-f	CAGCTTTGGTTGAACATTTACGAA		[18]	ErmF-r	AAATTCTAAAATCACAACCGACAA		<i>IS6100</i>	IS6100-f	CGCACCGGCTTGATCAGTA		[18]	IS6100-r	CTGCCACGCTCAATACCGA	<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC		[18]	IS26-r	CGGTACTTAATCTGTGCGGTGTTCA																											
交叉耐药类 MLSB	<i>tetG</i>	tetG-f	GCTCGGTGGTATCTCTGCTC		[18]																																																																		
		tetG-r	AGCAACAGAATCGGGAACAC			可移动遗传元件 MGEs	<i>sulI</i>	sulI-f	CACCGGAAACATCGCTGCA		[19]	sulI-r	AAGTTCCGCCGCAAGGCT	可移动遗传元件 MGEs	<i>ErmF</i>	ErmF-f	CAGCTTTGGTTGAACATTTACGAA		[18]	ErmF-r	AAATTCTAAAATCACAACCGACAA		<i>IS6100</i>	IS6100-f	CGCACCGGCTTGATCAGTA		[18]	IS6100-r	CTGCCACGCTCAATACCGA	<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC		[18]	IS26-r	CGGTACTTAATCTGTGCGGTGTTCA																																			
可移动遗传元件 MGEs	<i>sulI</i>	sulI-f	CACCGGAAACATCGCTGCA		[19]																																																																		
		sulI-r	AAGTTCCGCCGCAAGGCT			可移动遗传元件 MGEs	<i>ErmF</i>	ErmF-f	CAGCTTTGGTTGAACATTTACGAA		[18]	ErmF-r	AAATTCTAAAATCACAACCGACAA		<i>IS6100</i>	IS6100-f	CGCACCGGCTTGATCAGTA		[18]	IS6100-r	CTGCCACGCTCAATACCGA	<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC		[18]	IS26-r	CGGTACTTAATCTGTGCGGTGTTCA																																											
可移动遗传元件 MGEs	<i>ErmF</i>	ErmF-f	CAGCTTTGGTTGAACATTTACGAA		[18]																																																																		
		ErmF-r	AAATTCTAAAATCACAACCGACAA				<i>IS6100</i>	IS6100-f	CGCACCGGCTTGATCAGTA		[18]	IS6100-r	CTGCCACGCTCAATACCGA	<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC		[18]	IS26-r	CGGTACTTAATCTGTGCGGTGTTCA																																																			
	<i>IS6100</i>	IS6100-f	CGCACCGGCTTGATCAGTA		[18]																																																																		
		IS6100-r	CTGCCACGCTCAATACCGA			<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC		[18]	IS26-r	CGGTACTTAATCTGTGCGGTGTTCA																																																											
<i>IS26</i>	IS26-f	ATGGATGAAACCTACGTGAAGGTC		[18]																																																																			
	IS26-r	CGGTACTTAATCTGTGCGGTGTTCA																																																																					

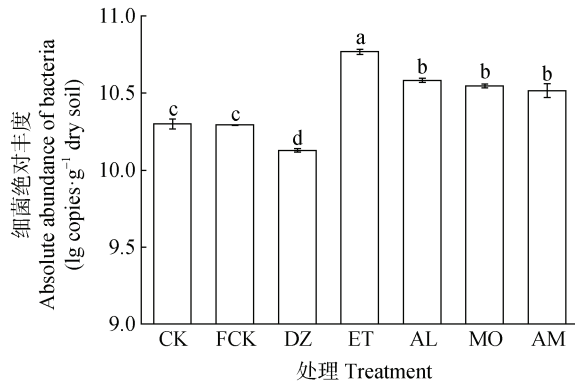
## 2 结果

### 2.1 不同土壤处理对细菌绝对丰度的影响

如图 2 所示, 与 CK 处理相比, DZ 处理后土壤细菌绝对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 降低, 而 RSD 处理均能显著 ( $P < 0.05$ ) 增加土壤细菌绝对丰度, 其中 ET 处理中细菌绝对丰度的增幅最大, 是 CK 处理的 2.9 倍, 显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 AL、MO 和 AM 处理, 而 AL、MO 和 AM 处理间差异不显著。此外, FCK 较 CK 处理对土壤细菌绝对丰度无显著影响。

### 2.2 不同土壤处理对 ARGs 绝对丰度的影响

由图 3a 可知, 不同土壤处理对 ARGs 绝对丰度的影响存在差异, 其中 ET 和 AL 处理能够显著 ( $P < 0.05$ ) 提高土壤中总 ARGs 的绝对丰度, 且 ET 处理土壤中总 ARGs 绝对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 AL 处理, 而 FCK、DZ、MO 和 AM 处理中土壤总 ARGs 绝对丰度较 CK 处理无显著差异。此外, MO 处理后土壤总 ARGs 绝对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 DZ 处理。除 DZ 处理能够显著 ( $P < 0.05$ ) 降低四环素类抗生素抗性基因 *tetG* 绝对丰度外, FCK 和 DZ 处



注：误差线表示标准误 ( $n = 3$ )，柱上方不同字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )，下同。Note: Error bars indicate the standard error of the means of three replicates. Different letters above the bars mean significant differences between treatments at 0.05 level. The same below.

图 2 不同土壤处理对细菌绝对丰度的影响

Fig. 2 Effects of different soil treatments on the absolute abundance of bacteria

理对土壤中氨基糖苷类抗生素抗性基因 *aadA21*、多药类抗生素抗性基因 (*qacH* 和 *msrE*)、四环素类抗生素抗性基因 (*tetG* 和 *tetM*)、磺胺类抗生素抗性基因 *sul1* 和交叉耐药类抗生素抗性基因 *ErmF* 的绝对丰度均无显著影响 (图 3b-h)。与 CK 处理相比, RSD 处理对土壤中 *aadA21* 基因绝对丰度的影响明显不同, 其中 ET 处理能够显著 ( $P < 0.05$ ) 提高土壤中 *aadA21* 基因的绝对丰度, AL 和 MO 处理对其无显著影响, 而 AM 处理能够显著 ( $P < 0.05$ ) 降低其绝对丰度 (图 3b)。如图 3c-d 所示, ET 处理能够显著 ( $P < 0.05$ ) 提高土壤中 *qacH* 基因的绝对丰度, 同时显著 ( $P < 0.05$ ) 降低 *msrE* 基因的绝对丰度, 而 AL、MO 和 AM 处理对土壤中 *qacH* 和 *msrE* 基因的绝对丰度均无显著影响。与 CK 处理相比, ET 处理后土壤中 *tetG* 基因绝对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 下降, 而 AL、MO 和 AM 处理能够显著增加 ( $P < 0.05$ ) 其绝对丰度, 且三者之间无显著差异 (图 3e)。类似地, AL、MO 和 AM 处理较 CK 和 ET 处理均能显著 ( $P < 0.05$ ) 提高土壤中 *tetM* 基因的绝对丰度, 且 AL 处理土壤中 *tetM* 基因的绝对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 AM 处理, 而 CK 和 ET 处理之间无显著差异 (图 3f)。由图 3g-h 可知, RSD 处理均能不同程度地提高土壤中 *sul1* 和 *ErmF* 基因的绝对丰度, 其中 ET、AL、MO 和 AM 处理土壤中 *sul1* 基因绝对丰度均显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 CK 处理, 且 ET 处

理与 AL、MO 和 AM 之间的差异达到显著; 而 AL 和 AM 处理能够显著 ( $P < 0.05$ ) 增加土壤中 *ErmF* 基因的绝对丰度, 但与 ET 和 MO 处理差异不显著。与 DZ 处理相比, ET 处理土壤中 *aadA21*、*qacH* 和 *sul1* 基因的绝对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 增加, *msrE* 基因绝对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 下降; 而除 MO 处理对 *ErmF* 基因绝对丰度影响不显著以外, AL、MO 和 AM 处理均能显著 ( $P < 0.05$ ) 提高土壤中 *tetG*、*tetM*、*sul1* 和 *ErmF* 基因的绝对丰度 (图 3)。从基因绝对丰度的变化情况看, 土壤处理仅对少数 ARGs 具有消减作用, 且存在一定的处理偏好性, 如 DZ 处理对 *tetG* 基因的消减作用最强, 消减率达到 44.5%, 而 ET 处理后, *msrE* 和 *tetG* 的消减率分别为 44.9% 和 36.7%, 大幅高于其他 ARGs (图 4a)。

### 2.3 不同土壤处理对 ARGs 相对丰度的影响

与 CK 处理相比, DZ 和 ET 处理均能提高土壤中总 ARGs 的相对丰度, 其中 ET 处理中总 ARGs 的相对丰度达到  $7.3 \times 10^{-2}$ , 显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 CK 和 DZ 处理, 而 AL、MO 和 AM 处理虽能降低其相对丰度, 但差异不显著, 其消减率分别为 11.2%、20.1% 和 24.1% (图 4b 和 5a)。如图 5b 所示, ET 处理土壤中 *aadA21* 基因的相对丰度为  $9.6 \times 10^{-3}$ , 显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 CK 处理的  $3.2 \times 10^{-3}$  和 DZ 处理的  $3.8 \times 10^{-3}$ , 而 AL、MO 和 AM 处理均能显著 ( $P < 0.05$ ) 降低其相对丰度, 消减率可达到 50.5%~58.3%, 但三者之间无显著差异 (图 4b)。与 CK 处理相比, ET 处理能够显著 ( $P < 0.05$ ) 提高土壤中 *qacH* 基因的相对丰度, 而其他土壤处理均无显著影响 (图 5c)。相反地, ET 处理能够显著 ( $P < 0.05$ ) 降低土壤中 *msrE* 基因的相对丰度, 消减率高达 80.9%, 而 DZ 处理后, 土壤中 *msrE* 基因的相对丰度为  $6.4 \times 10^{-5}$ , 显著 ( $P < 0.05$ ) 高于 CK 处理的  $2.9 \times 10^{-5}$  (图 4b 和 5d)。与 CK 处理相比, DZ 和 RSD 处理均能显著 ( $P < 0.05$ ) 降低土壤中 *tetG* 基因的相对丰度, 其中 ET 处理的消减作用最为显著, 达到 78.3%, 而 DZ、AL、MO 和 AM 处理的消减效果无显著差异 (图 5e)。如图 5f 所示, DZ 处理能够显著 ( $P < 0.05$ ) 提高土壤中 *tetM* 基因的相对丰度, 而 ET 处理后其相对丰度仅为  $1.7 \times 10^{-3}$ , 显著 ( $P < 0.05$ ) 低于 CK 处理, 消减率达到 66.9% (图 4b)。DZ 和 ET 处理均能显著 ( $P < 0.05$ ) 增加土壤中 *sul1* 基因的相对丰度, 且 ET 处理的增加作用更为显著

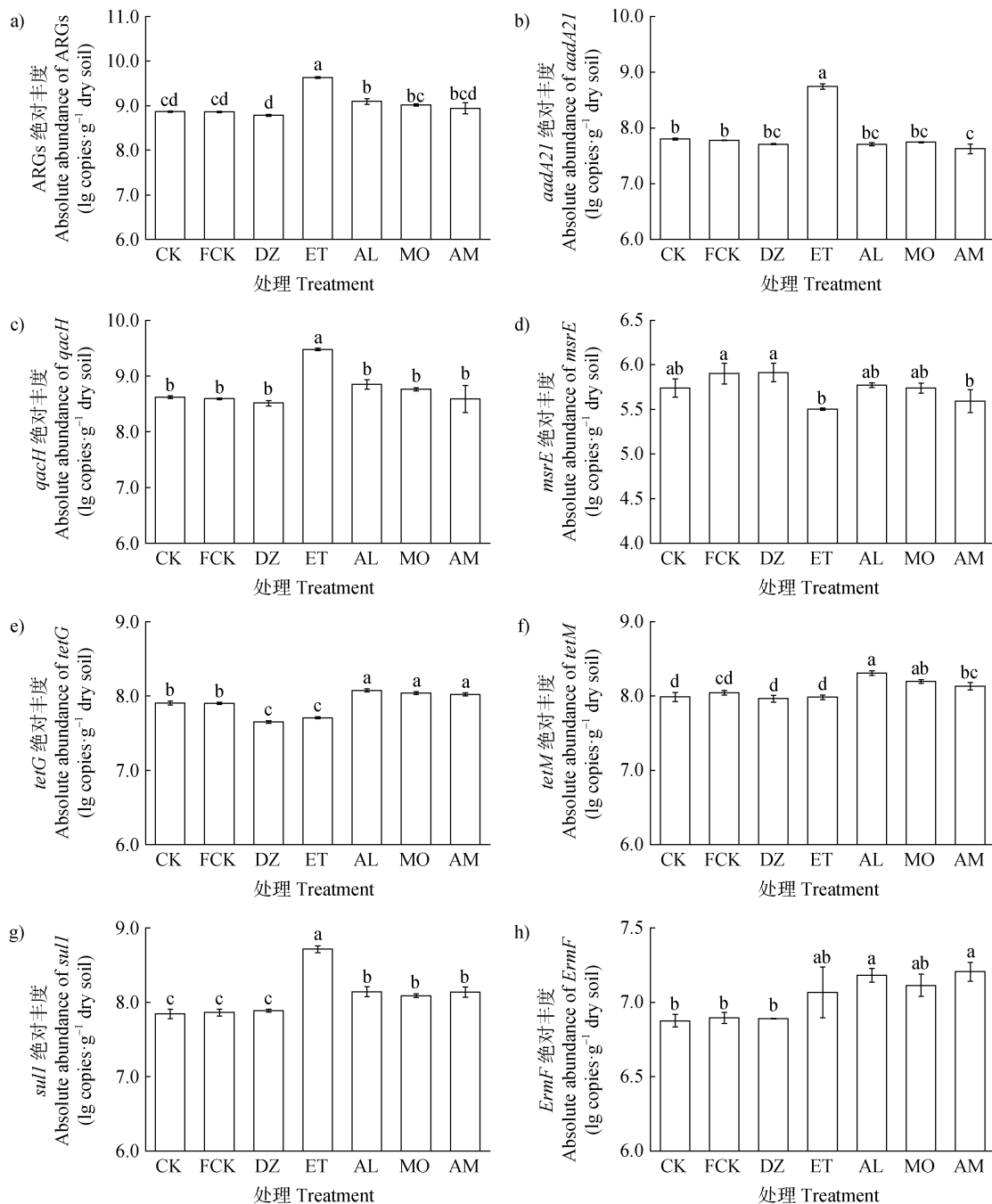


图3 不同土壤处理对总 ARGs 和单个 ARGs 绝对丰度的影响

Fig. 3 Effects of different soil treatments on the absolute abundances of total and individual ARGs

( $P < 0.05$ ), 而 AL、MO 和 AM 处理对 *sulI* 相对丰度的影响不显著 (图 5g)。由图 5h 可知, ET 处理能够降低土壤中 *ErmF* 基因的相对丰度, 其消减率为 41.7%, 但不显著, 而 DZ 处理后, 土壤中 *ErmF* 基因的相对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 提高。总体而言, RSD 处理对大部分 ARGs 的相对丰度均有不同程度的消减作用, 其中 ET 处理的作用效果与 ARGs 类

型密切相关, 而 DZ 处理对 ARGs 相对丰度的消减作用较为有限 (图 4b)。

#### 2.4 不同土壤处理对 ARGs 组及其消减作用的影响差异

PCoA 分析结果 (图 6a、图 6b) 发现, 无论绝对丰度还是相对丰度, 不同处理均对 ARGs 组有显著 ( $P < 0.05$ ) 影响。对于绝对丰度, 不同处理对 ARGs 组

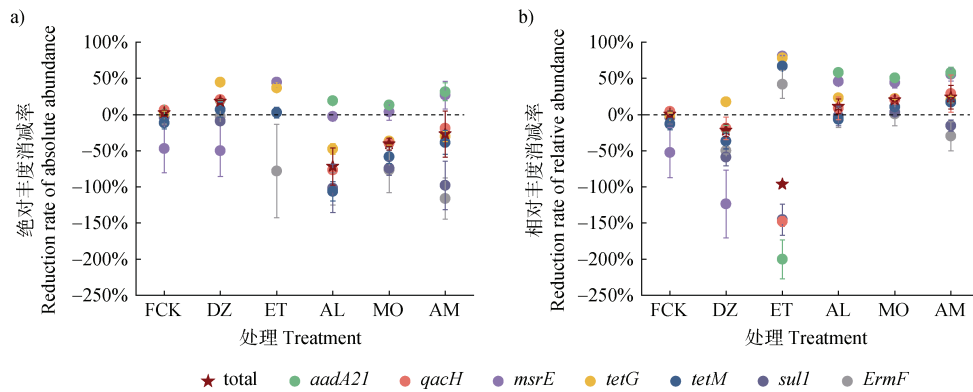


图 4 不同土壤处理对总 ARGs 和单个 ARGs 绝对丰度和相对丰度的消减率

Fig. 4 Reduction rate in the absolute and relative abundances of total and individual ARGs after different soil treatments

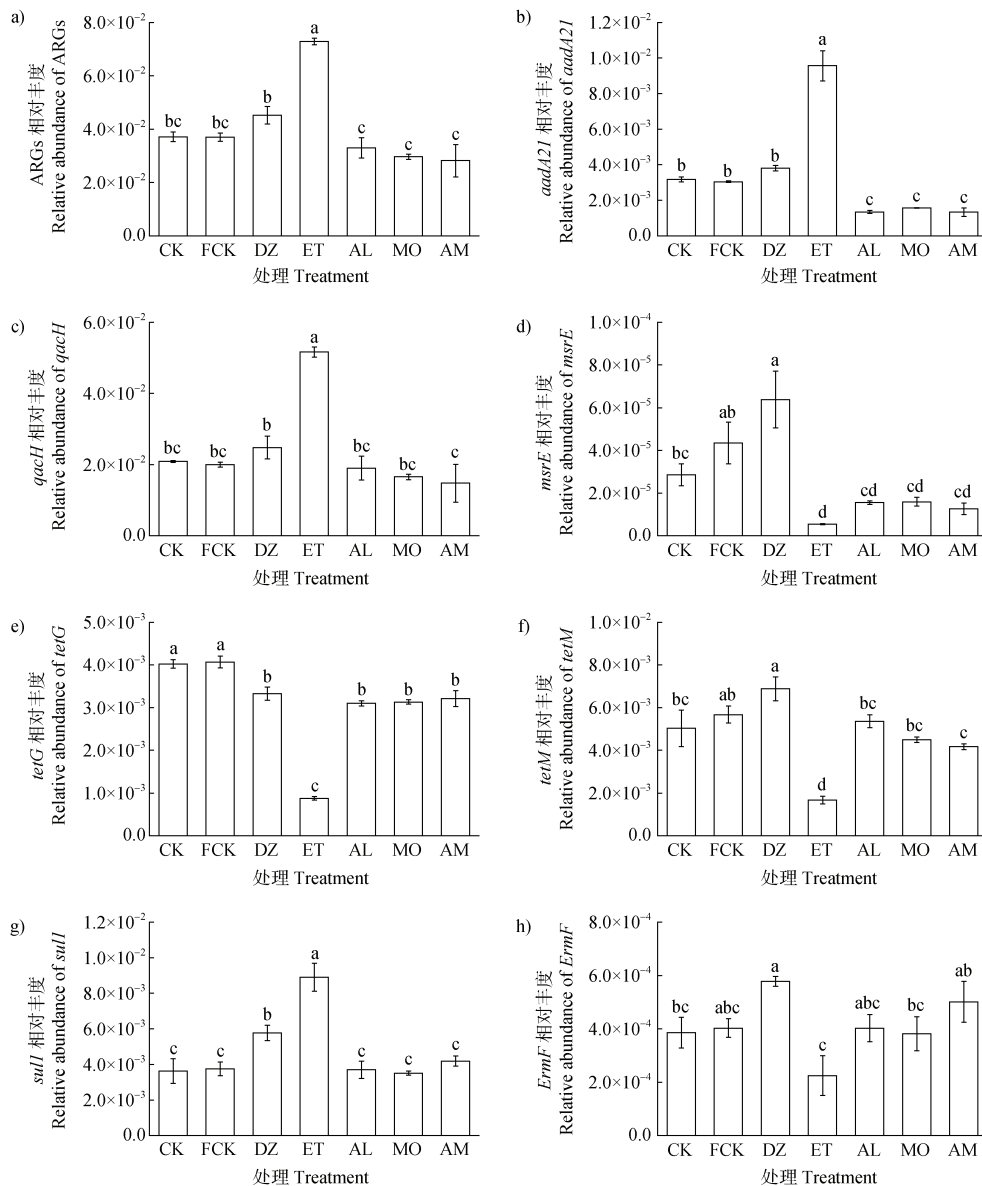


图 5 不同土壤处理对总 ARGs 和单个 ARGs 相对丰度的影响

Fig. 5 Effects of different soil treatments on the relative abundances of total and individual ARGs



的影响存在差异,其中 DZ 处理中 ARGs 组与 CK 和 FCK 相似,而 RSD 处理显著 ( $P < 0.05$ ) 改变土壤 ARGs 组,且复杂有机物料处理 (AL、MO 和 AM) 与简单有机物料处理 (ET) 对土壤 ARGs 组的影响具有明显差异 (图 6a)。基于相对丰度的 PCoA 分析结果与绝对丰度类似,只是复杂有机物料 RSD 处理中的单一有机物料处理 (AL 和 MO) 与混合有机物料处理 (AM) 对 ARGs 组的影响存在一定的分异 (图 6b)。这表明 RSD 处理能够显著改变土壤 ARGs 组,且这种改变与所用有机物料类型及多样性有关。主成分分析结果 (图 6c、图 6d) 进一步表明不同处理对 ARGs 组的消减作用显著

( $P < 0.05$ ) 不同,其中 RSD 处理对 ARGs 组在绝对丰度上的消减作用与 FCK 和 DZ 处理显著 ( $P < 0.05$ ) 不同,且 ET 处理与 AL、MO 和 AM 处理之间存在明显差异。在相对丰度消减方面,AL、MO 和 AM 处理对 ARGs 组的消减作用相似,但与 FCK、DZ 和 ET 处理显著 ( $P < 0.05$ ) 不同,且 FCK、DZ 和 ET 处理三者之间也有明显差异 (图 6d)。这表明不同土壤处理对 ARGs 组的消减作用存在明显差异,其中复杂有机物料 RSD 处理 (AL、MO 和 AM) 对 ARGs 组的消减效果类似,但与简单有机物料处理 (ET) 显著不同,且 RSD 处理对 ARGs 组的消减作用与化学熏蒸具有明显差异。

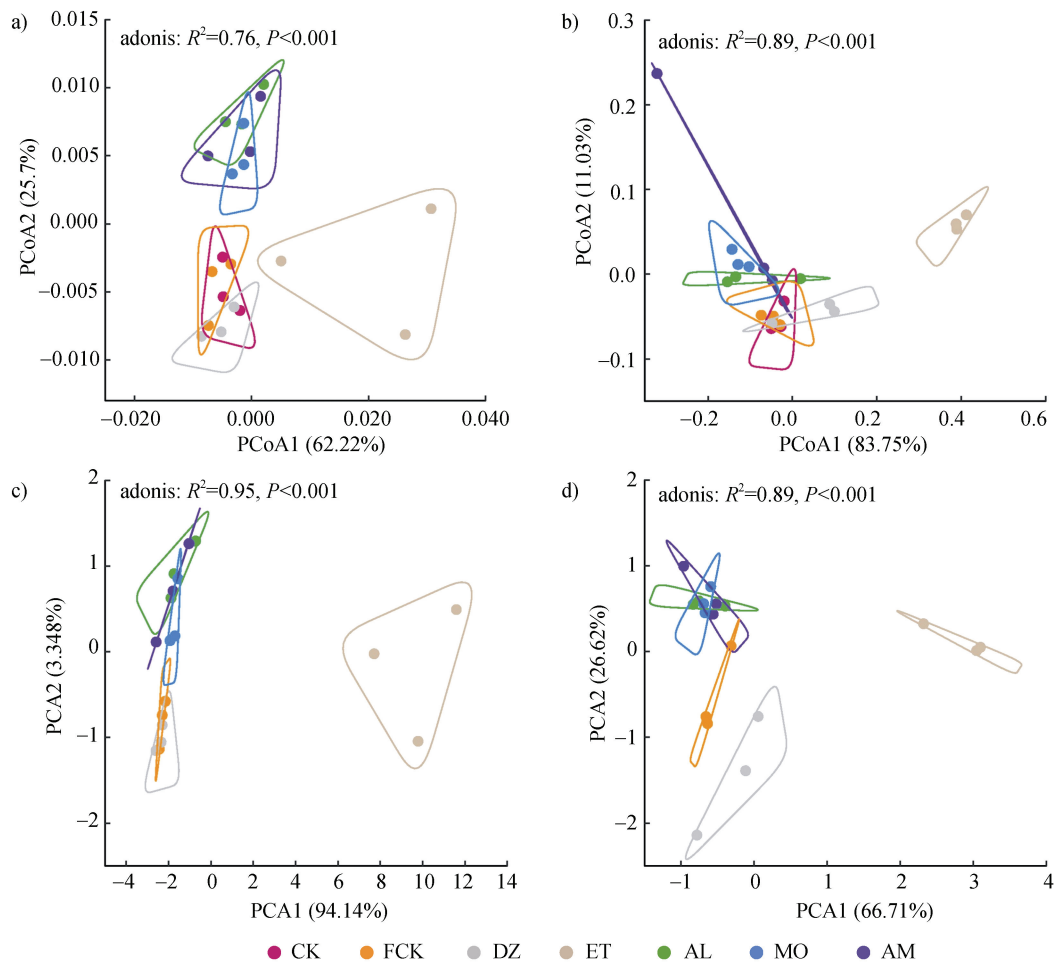


图 6 不同土壤处理对 ARGs 组绝对丰度 (a)、相对丰度 (b) 及其消减率 (c、d) 的影响

Fig. 6 Effects of different soil treatments on the absolute abundance (a), relative abundance (b), and their reduction rates (c and d) of antibiotic resistance

## 2.5 不同土壤处理对 MGEs 绝对丰度和相对丰度的影响

由图 7a 可知,与 CK 处理相比,AL、MO 和

AM 处理土壤中 *IS6100* 基因的绝对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 下降,其绝对丰度消减率达到 51.3%~55.3% (图 7e);而 FCK、DZ 和 ET 处理对其绝对丰度影

响不显著。无论 DZ 还是 RSD 处理,均对土壤中 *IS26* 基因的绝对丰度无显著影响(图 7b)。由图 7c 可知, RSD 处理后,土壤中 *IS6100* 基因的相对丰度仅为  $2.1 \times 10^{-3} \sim 2.5 \times 10^{-3}$ , 显著 ( $P < 0.05$ ) 低于 CK 处理的  $9.0 \times 10^{-3}$ , 其相对丰度消减率高达 7.2.5%~76.2%(图 7f), 而 FCK 和 DZ 处理对其相对丰度无

显著影响。类似地, RSD 处理均能显著 ( $P < 0.05$ ) 降低 *IS26* 基因的相对丰度, 其消减率为 38.4%~56.2%(图 7f), 且 ET 处理对 *IS26* 基因相对丰度的降低效果显著 ( $P < 0.05$ ) 优于 MO 处理; 而 DZ 处理后, 土壤中 *IS26* 基因的相对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 增加, 达到  $9.2 \times 10^{-3}$  (图 7d)。

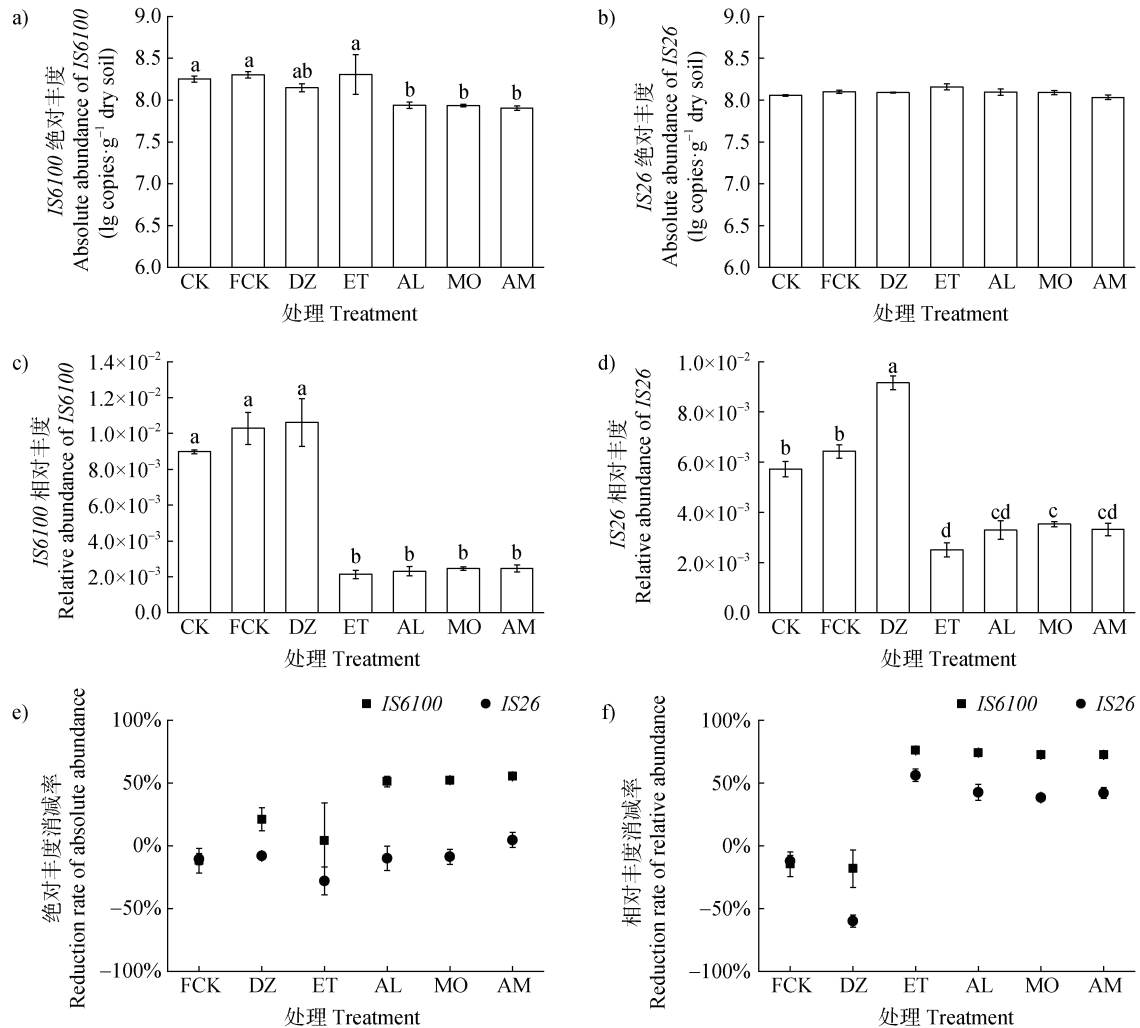


图 7 不同土壤处理对 MGEs 绝对丰度和相对丰度的影响

Fig. 7 Effects of different soil treatments on the absolute abundance and relative abundance of MGEs

### 3 讨论

#### 3.1 RSD 处理对大部分 ARGs 具有消减作用

由富含抗生素粪肥长期施用导致的农田土壤 ARGs 污染问题日益突出, 已成为农产品安全和人类健康的重要威胁, 且尚无适用于大规模农田污染土壤的修复方法<sup>[6, 20]</sup>。本研究, RSD 处理能够有效消减 *aadA21*、*msrE*、*tetG*、*tetM*、*ErmF* 等基因的

相对丰度, 且 AL、MO 和 AM 处理对 ARGs 相对丰度的消减率达到 11.2%~24.1%。Chen 等<sup>[21]</sup>的研究结果同样表明 RSD 处理能够大幅降低土壤中赋存的 ARGs, 这可能与该处理过程中高温、厌氧的环境条件对携带 ARGs 的抗性菌具有直接致死作用或不利于其增殖有关<sup>[12]</sup>。研究显示, RSD 处理能够有效降低鞘酯单胞菌属的相对丰度, 而该属细菌是多药类、氨基糖苷类、 $\beta$ -内酰胺类等多种抗生素抗性

基因的潜在宿主,故 RSD 处理可通过杀灭抗性菌实现土壤中 ARGs 的消减<sup>[15, 21]</sup>。此外, RSD 处理能够改善土壤微生物群落结构、提高土壤微生物活性和群落互作稳定性,这也可能是 RSD 处理消减 ARGs 的重要原因之一<sup>[13, 22]</sup>。与 RSD 处理不同, DZ 处理后,大部分 ARGs 的相对丰度呈现增加的趋势,其中 *tetM*、*sull* 和 *ErmF* 基因增加显著, ARGs 相对丰度较 CK 处理增加 21.9%。这与 Du 等<sup>[23]</sup>的研究结果一致,即棉隆熏蒸能够促进携带 ARGs 的抗性菌增殖,从而提高根际微生物组的抗生素耐药性,其原因与某些抗性菌对农用化学品如除草剂、杀菌剂等适应能力的非抗性菌强有关<sup>[24-25]</sup>。此外, RSD 处理对土壤中 ARGs 绝对丰度的消减作用并不显著,这与 RSD 处理后土壤中细菌绝对丰度大幅增加密切相关。结合 RSD 处理在杀灭土传病原菌上的突出效果,认为该处理具有修复病原菌与 ARGs 复合污染土壤的潜力。

### 3.2 RSD 处理能够显著降低 ARGs 的水平转移能力

以 MGEs 为载体的基因水平转移是 ARGs 在不同细菌类群间传播扩散的主要方式,因此降低 ARGs 的水平转移能力能够有效削减其扩散风险,是消减土壤 ARGs 的重要途径之一<sup>[26]</sup>。大量研究表明, IS26 是革兰氏阴性菌尤其是肠杆菌科细菌中最为活跃的插入序列之一,能够参与 ARGs 的募集、重排和流动;而 IS6100 多见于鞘酯菌属细菌,可介导基因序列在不同细菌之间转移<sup>[27-28]</sup>。本研究发现, AL、MO 和 AM 处理能够使 *IS6100* 基因绝对丰度消减 50% 以上,表明以苜蓿粉、糖蜜等为复杂有机碳源的 RSD 处理能够在一定程度上降低 ARGs 的水平转移能力,而 DZ 和 ET 处理对其无显著影响。进一步分析发现,所有 RSD 处理均能显著降低 *IS6100* 和 *IS26* 基因的相对丰度,表明该处理能够通过大幅减少 MGEs 与 ARGs 的接触机率,以降低 ARGs 的水平转移潜力。Zhu 等<sup>[29]</sup>研究证实了这一观点,即 MGEs (*intl1* 和 *Tn916/1545*) 相对丰度下降引起的基因水平转移能力削弱是高温预处理促进堆肥过程中 ARGs 去除的重要机制。Du 等<sup>[23]</sup>研究发现,棉隆熏蒸能够提高西瓜根际土壤中 MGEs 的相对丰度,从而增加 ARGs 的扩散风险,这与本研究结果类似,即 DZ 处理后,土壤中 *IS26* 基因的相对丰度显著增加。以上结果表明, RSD 处理能够通过降低 MGEs

的绝对丰度以及相对丰度,实现 ARGs 水平转移能力的消减。

### 3.3 RSD 处理对 ARGs 和 MGEs 的消减效果与有机物料类型有关

研究表明,土壤微生物群落组成、结构与多样性特征与抗性菌种群数量和 ARGs 丰度密切相关,因此降低 ARGs 宿主细菌的比例以及提高土壤微生物多样性对消减 ARGs 至关重要<sup>[6, 30]</sup>。Liu 等<sup>[31]</sup>发现,有机物料类型(如易分解有机碳含量、碳氮比)在很大程度上决定了 RSD 处理后土壤微生物群落的组成和结构,因此采用不同有机物料进行的 RSD 处理能够塑造差异化的土壤微生物群落。在本研究中,乙醇与苜蓿粉、糖蜜等有机物料在消减 *aadA21*、*qacH*、*tetG*、*tetM* 和 *sull* 基因绝对丰度方面展现出截然不同的作用效果。这种差异在 ARGs 相对丰度上表现更为显著,其中 ET 处理对 *msrE*、*tetG* 和 *tetM* 基因相对丰度的消减效果显著优于 AL、MO 和 AM 处理,而 *aadA21*、*qacH* 和 *sull* 基因则呈现出相反的趋势。主坐标分析和主成分分析均表明 ET 处理对 ARGs 组在绝对丰度、相对丰度以及消减作用上与 AL、MO 和 AM 处理存在显著差异。类似地,ET 处理对 MGEs 的影响与 AL、MO 和 AM 处理也存在一定的差异。此外,AL、MO 和 AM 处理对土壤中 ARGs 与 MGEs 的消减作用强度也有所不同。造成上述差异的原因主要有:1) 以不同有机物料进行的 RSD 处理对不同抗性菌的直接抑制作用存在差异;2) 不同有机物料 RSD 处理驱动的微生物群落(组成和结构)对抗性菌的抑制作用具有差异<sup>[32]</sup>。因此,在实际应用过程中,应根据污染土壤中 ARGs 和 MGEs 的类型以及宿主特征,选择适宜的有机物料进行 RSD 处理,才能取得理想的修复效果。

## 4 结 论

RSD 处理对土壤中大部分 ARGs 具有消减作用,且能大幅降低 *IS6100* 和 *IS26* 等 MGEs 的相对丰度。RSD 处理所用有机物料类型对 ARGs 和 MGEs 的消减作用具有偏好性,其中以苜蓿粉、糖蜜等有机物料进行的 RSD 处理能够显著降低氨基糖苷类抗性基因 *aadA21* 的相对丰度,而乙醇 RSD 处理可有效消减四环素类抗性基因 *tetM*、*tetG* 以及交叉耐

药类抗性基因 *ErmF* 的相对丰度。棉隆熏蒸在一定程度上能促进 ARGs 和 MGEs 相对丰度的增加。RSD 处理能够通过降低 ARGs 的相对丰度，限制 ARGs 的水平转移能力，从而实现土壤中 ARGs 的快速消减，是一种具有 ARGs 污染土壤修复潜力的土壤调控措施。但是，有机物料类型与可消减 ARGs 类型之间的偶联关系以及 RSD 处理去除 ARGs 的内在作用机制，还需进一步深入研究。

### 参考文献 (References)

- [ 1 ] Zhao Y, Yang Q E, Zhou X, et al. Antibiotic resistome in the livestock and aquaculture industries: Status and solutions[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2021, 51 ( 19 ): 2159—2196.
- [ 2 ] Xie W Y, Yuan S T, Xu M G, et al. Long-term effects of manure and chemical fertilizers on soil antibiotic resistome[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018, 122: 111—119.
- [ 3 ] 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.
- [ 4 ] Luo Y, Yang F, Mathieu J, et al. Proliferation of multidrug-resistant new delhi metallo- $\beta$ -lactamase genes in municipal wastewater treatment plants in northern China[J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2014, 1 ( 1 ): 26-30.
- [ 5 ] Tiedje J M, Wang F, Manaia C M, et al. Antibiotic resistance genes in the human-impacted environment: A One Health perspective[J]. *Pedosphere*, 2019, 29 ( 3 ): 273—282.
- [ 6 ] Wang Y J, Tang Y J, Zhang Y P, et al. Retarding potential of biochar on antibiotic resistance genes and the mechanisms: A review[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2022, 33 ( 11 ): 3116—3126. [王玉洁, 唐宇嘉, 张亚平, 等. 生物炭对土壤中抗生素抗性基因的阻控潜力及机制研究进展[J]. *应用生态学报*, 2022, 33 ( 11 ): 3116—3126.]
- [ 7 ] Duan M L, Li H C, Gu J, et al. Effects of biochar on reducing the abundance of oxytetracycline, antibiotic resistance genes, and human pathogenic bacteria in soil and lettuce[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 224: 787—795.
- [ 8 ] Ye M, Sun M M, Feng Y F, et al. Effect of biochar amendment on the control of soil sulfonamides, antibiotic-resistant bacteria, and gene enrichment in lettuce tissues[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 309: 219—227.
- [ 9 ] 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.
- [ 10 ] Cui E P, Gao F, Liu Y, et al. Amendment soil with biochar to control antibiotic resistance genes under unconventional water resources irrigation: Proceed with caution[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 240: 475—484.
- [ 11 ] He W C, Chen M L, Shi X C, et al. Effects of earthworms on resistance genes of antibiotics in different soil-plant systems[J]. *Environmental Science and Technology*, 2022, 45 ( 5 ): 92—98. [何文程, 陈明龙, 史鑫成, 等. 蚯蚓对土壤-植物系统中抗性基因的影响[J]. *环境科学与技术*, 2022, 45 ( 5 ): 92—98.]
- [ 12 ] Cai Z C, Zhang J B, Huang X Q, et al. Application of reductive soil disinfection to suppress soil-borne pathogens[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2015, 52 ( 3 ): 469—476. [蔡祖聪, 张金波, 黄新琦, 等. 强还原土壤灭菌防控作物土传病的应用研究[J]. *土壤学报*, 2015, 52 ( 3 ): 469—476.]
- [ 13 ] Zhao J, Zhang J Q, Lin Y L, et al. Correlation between the stability and function of soil microbial community driven by reductive soil disinfection[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2024, 61 ( 1 ): 187—199. [赵军, 张晶清, 林于蓝, 等. 强还原土壤处理驱动的微生物群落稳定性与功能的关联性[J]. *土壤学报*, 2024, 61 ( 1 ): 187—199.]
- [ 14 ] Tian Q F, He Q S, Lu A X, et al. Relationship between antibiotic resistance genes and microbial communities in farmland soil[J]. *Environmental Chemistry*, 2020, 39 ( 5 ): 1346—1355. [田其凡, 何纪霜, 陆安祥, 等. 农田土壤抗生素抗性基因与微生物群落的关系[J]. *环境化学*, 2020, 39 ( 5 ): 1346—1355.]
- [ 15 ] Ji C Y, Ye R Z, Yin Y F, et al. Reductive soil disinfection with biochar amendment modified microbial community composition in soils under plastic greenhouse vegetable production[J]. *Soil and Tillage Research*, 2022, 218: 105323.
- [ 16 ] Cui E P, Fan X Y, Hu C, et al. Reduction effect of individual N, P, K fertilization on antibiotic resistance genes in reclaimed water irrigated soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 231: 113185.
- [ 17 ] Dorsch M, Lane D, Stackebrandt E. Towards a phylogeny of the genus *Vibrio* based on 16S rRNA sequences[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1992, 42 ( 1 ): 58—63.
- [ 18 ] Stedtfeld R D, Guo X, Stedtfeld T M, et al. Primer set 2.0 for highly parallel qPCR array targeting antibiotic resistance genes and mobile genetic elements[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, 94 ( 9 ): fty130.
- [ 19 ] Yang B, Yu Y L, Liu H, et al. Natural N-doped carbon quantum dots derived from straw and adhered onto TiO<sub>2</sub> nanospheres for enhancing the removal of antibiotics and

- resistance genes[J]. ACS Omega, 2023, 8(1): 718—725.
- [ 20 ] An X L, Chen Q L, Zhu D, et al. Distinct effects of struvite and biochar amendment on the class 1 integron antibiotic resistance gene cassettes in phyllosphere and rhizosphere[J]. Science of the Total Environment, 2018, 631/632: 668—676.
- [ 21 ] Chen Y L, Yang K J, Ye Y, et al. Reductive soil disinfection attenuates antibiotic resistance genes in greenhouse vegetable soils[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 420: 126632.
- [ 22 ] Zhao J, Liu S Z, Zhou X, et al. Reductive soil disinfection incorporated with organic residue combination significantly improves soil microbial activity and functional diversity than sole residue incorporation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104 ( 17 ): 7573—7588.
- [ 23 ] Du S, Ge A H, Liang Z H, et al. Fumigation practice combined with organic fertilizer increase antibiotic resistance in watermelon rhizosphere soil[J]. Science of the Total Environment, 2022, 805: 150426.
- [ 24 ] Liao H P, Li X, Yang Q E, et al. Herbicide selection promotes antibiotic resistance in soil microbiomes[J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38 ( 6 ): 2337—2350.
- [ 25 ] Lu J, Guo J H. Disinfection spreads antimicrobial resistance [J]. Science, 2021, 371 ( 6528 ): 474.
- [ 26 ] von Wintersdorff C J, Penders J, van Niekirk J M, et al. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 173—183.
- [ 27 ] Nie L, Wu K H, Chen W J, et al. The mechanism of insertion sequence IS6100 mediated transfer of DNA sequences[J]. Chinese Medicinal Biotechnology, 2019, 14 ( 4 ): 341—346. [聂璐, 吴奎海, 陈文静, 等. 插入序列 IS6100 介导 DNA 序列转移的机制研究[J]. 中国医药生物技术, 2019, 14 ( 4 ): 341—346.]
- [ 28 ] He S S, Hickman A B, Varani A M, et al. Insertion sequence IS26 reorganizes plasmids in clinically isolated multidrug-resistant bacteria by replicative transposition[J]. mBIO, 2015, 6 ( 3 ): e00762.
- [ 29 ] Zhu N, Long Y J, Kan Z X, et al. Reduction of mobile genetic elements determines the removal of antibiotic resistance genes during pig manure composting after thermal pretreatment[J]. Bioresource Technology, 2023, 387: 129672.
- [ 30 ] Xiang Y P, Yang Z H, Zhang Y R, et al. Influence of nanoscale zero-valent iron and magnetite nanoparticles on anaerobic digestion performance and macrolide, aminoglycoside,  $\beta$ -lactam resistance genes reduction[J]. Bioresource Technology, 2019, 294: 122139.
- [ 31 ] Liu L L, Kong J J, Cui H L, et al. Relationships of decomposability and C/N ratio in different types of organic matter with suppression of *Fusarium oxysporum* and microbial communities during reductive soil disinfection[J]. Biological Control, 2016, 101: 103—113.
- [ 32 ] Forsberg K J, Patel S, Gibson M K, et al. Bacterial phylogeny structures soil resistomes across habitats[J]. Nature, 2014, 509 ( 7502 ): 612—616.

(责任编辑: 卢 萍)