

DOI: 10.11766/trxb202502130059

CSTR: 32215.14.trxb202502130059

李烨珊, 冯烁, 张卓毅, 朱昌雄, 张燕荣, 李红娜. 金鸡河流域不同土地类型典型耐药菌和耐药基因的分布特征[J]. 土壤学报, 2025, LI Yeshan, FENG Shuo, ZHANG Zhuoyi, ZHU Changxiong, ZHANG Yanrong, LI Hongna. Distribution Characteristics of Typical Antibiotic-Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes in Different Land Types in Jinji River Basin[J]. Acta Pedologica Sinica, 2025,

# 金鸡河流域不同土地类型典型耐药菌和耐药基因的分布特征 \*

李烨珊<sup>1</sup>, 冯 烁<sup>1</sup>, 张卓毅<sup>2</sup>, 朱昌雄<sup>1,3</sup>, 张燕荣<sup>1</sup>, 李红娜<sup>1†</sup>

(1. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081; 2. 北京市畜牧总站, 北京 100107; 3. 河北科技大学环境科学与工程学院, 石家庄 050018)

**摘 要:** 为系统探究不同土地利用类型对土壤中抗生素耐药菌 (ARB) 及耐药基因 (ARGs) 分布的影响, 采集北京市金鸡河流域 6 种典型土地利用类型 (菜地、麦地、花圃、果园、苗圃和养殖场) 土壤样品, 对其总可培养细菌、金霉素耐药菌、磺胺甲噁唑耐药菌和代表性 ARGs 的丰度进行测定, 并结合高通量测序技术分析典型土壤微生物群落结构特征。结果表明, 金鸡河流域张镇和龙湾屯镇所受抗性污染程度最高, 菜地土壤中 ARB、ARGs 及 *intI1* 的丰度显著高于其他土地利用类型 ( $P < 0.05$ ); 拟杆菌门 (Bacteroidetes)、厚壁菌门 (Firmicutes)、龛骨细菌门 (Saccharibacteria) 和异常球菌-栖热菌门 (Deinococcus-Thermus) 是土壤中的优势菌门; 溶杆菌 (*Lysobacter*) 和德沃斯氏菌 (*Devosia*) 是 ARGs 的主要宿主菌, 与 *sul1*、*sul2*、*tetG*、*tetX* 及 *intI1* 均呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )。金鸡河流域菜地土壤的耐药水平显著高于其他土地利用类型, 应注重有机肥的优化施用以降低土壤微生物耐药性和生态健康的潜在风险。

**关键词:** 抗生素耐药菌 (ARB); 抗生素耐药基因 (ARGs); 土地利用类型; 微生物群落; 菜地

中图分类号: X53

文献标志码: A

## Distribution Characteristics of Typical Antibiotic-Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes in Different Land Types in Jinji River Basin

LI Yeshan<sup>1</sup>, FENG Shuo<sup>1</sup>, ZHANG Zhuoyi<sup>2</sup>, ZHU Changxiong<sup>1,3</sup>, ZHANG Yanrong<sup>1</sup>, LI Hongna<sup>1†</sup>

(1. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 2. Beijing Animal Husbandry General Station, Beijing 100107, China; 3. College of Environmental Sciences and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

**Abstract: 【Objective】** The application of antibiotics has significantly advanced animal husbandry and agriculture. However, the resulting contamination by antibiotic-resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARGs) poses a severe threat to the ecological environment and human health. This study aims to systematically investigate the effects of different land use

\* 国家重点研发计划项目 (2023YFC3207701)、现代农业产业技术体系北京市家畜创新团队 (BAIC05-2025) 和中国农业科学院科技创新工程项目 (CAAS-CFSGICA-IEDA-202302) 资助 Supported by the National Key R & D Program of China (No. 2023YFC3207701), the Beijing Innovation Consortium of Livestock Research System (No. BAIC05-2025), and the Agricultural Science and Technology Innovation Program of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (No. CAAS-CFSGICA-IEDA-202302)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: lihongna@caas.cn

作者简介: 李烨珊 (1999—), 女, 贵州贵阳人, 硕士研究生, 主要从事抗生素抗性基因的分布及迁移规律研究。E-mail: liyeshan113@163.com

收稿日期: 2025-02-13; 收到修改稿日期: 2025-06-21; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2025-09-24

types within the same region on the distribution of ARB and ARGs in soil. 【Method】 This study collected 210 soil samples from six typical land use types (vegetable fields, wheat fields, flower gardens, orchards, nurseries and livestock farms) in the Jinji River basin of Beijing. The abundance of total cultivable bacteria, chlortetracycline-resistant bacteria, sulfamethoxazole-resistant bacteria, and representative ARGs in the soil was measured. Additionally, the structural characteristics of representative soil microbial communities were analyzed using high-throughput sequencing technology. 【Result】 The results indicate that the resistance contamination in Zhang Town and Longwantun Town of the Jinji River basin was the most severe. The abundance of ARB, ARGs, and *intI1* in vegetable field soil was significantly higher than that in other land use types ( $P<0.05$ ). Bacteroidetes, Firmicutes, Saccharibacteria, and Deinococcus-Thermus were the dominant bacterial phyla in the soil. Also, *Lysobacter* and *Devosia* were identified as the main host bacteria for ARGs, and they showed significant positive correlations with *sul1*, *sul2*, *tetG*, *tetX*, and *intI1* ( $P<0.05$ ). 【Conclusion】 Based on our results, the resistance level of vegetable field soil in the Jinji River sub-basin was significantly higher than that of other land use types. Thus, it is essential to focus on the optimized application of organic fertilizers to reduce the potential risks of soil microbial resistance and ecological health.

**Key words:** Antibiotic-resistant bacteria (ARB); Antibiotic resistance genes (ARGs); Land use type; Microbial community; Vegetable field

抗生素的应用极大促进了畜牧业和农业发展,但由此产生的抗生素耐药菌(Antibiotic-resistant bacteria, ARB)和耐药基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)污染问题对生态环境和人类健康造成严重威胁<sup>[1]</sup>。ARGs 还可通过接合、转导和转化等作用进行水平基因转移,在不同环境和食物链中传播<sup>[2]</sup>。土壤是抗生素抗性的重要储存库,为 ARB 和 ARGs 的积累与扩散提供了重要载体<sup>[3]</sup>。土地利用类型被认为是影响 ARGs 和 ARB 分布的关键因素之一,土地利用类型的改变会显著影响土壤微生物群落多样性和组成<sup>[4]</sup>,进而影响土壤 ARB 和 ARGs 的产生、富集与传播路径<sup>[5]</sup>。已有研究表明,不同土地利用类型下 ARGs 的分布存在显著差异<sup>[6]</sup>。例如,设施菜地土壤 ARGs 的种类和丰度高于粮田和普通露天农田,这与设施农业中频繁的施肥和灌溉有关,动物粪肥和灌溉污水可影响 ARGs 分布,加速其在环境和微生物中传播<sup>[7]</sup>。以上研究证明在高强度农业管理下,土壤中 ARGs 丰度和类型会呈现增加趋势。但有长期定位研究却发现,排除人为干扰后,在自然选择作用下草地 ARGs 的多样性和丰度均高于农田和裸地<sup>[8]</sup>。因此,深入研究不同土地利用类型下 ARB 和 ARGs 的分布特征,对于全面理解抗生素抗性在环境中的传播规律具有重要意义。现有研究对养殖场、菜地和粮田等特定土地类型的关注较多,而针对同一母质多种土地利用类型的系统性比较研究仍然不足,尤其是花圃、苗圃和果园等地 ARB 和 ARGs 分布特征的差异。此外,土壤微生物群落的结构和功能可显著影响 ARGs 的丰度和类型,变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和放线菌门均为具有较强 ARGs 携带能力的门<sup>[9]</sup>,解析微生物群落与 ARGs 的相互作用机制,对于抗生素抗性扩散的防控具有重要意义。

四环素类的金霉素(Chlortetracycline, CTC)和磺胺类的磺胺甲噁唑(Sulfamethoxazole, SMX)在农业活动中被广泛使用<sup>[10]</sup>,相关 ARB 和 ARGs 在土壤环境中具有较高的检出率和传播风险<sup>[11]</sup>。本研究选取这两类抗生素作为研究对象,探讨北京市顺义区金鸡河小流域不同土地利用类型土壤中 ARB 和 ARGs 的分布情况及其潜在生态机制,采用 16S rRNA 基因高通量测序技术分析土壤中微生物群落的分布特征及其与 ARGs 的相关性。研究旨在揭示抗生素抗性污染在不同土地利用类型下的分布规律,为农田土壤生态健康的综合评估提供科学依据,同时为抗生素的合理使用和 ARGs 扩散的生态风险防控提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

土壤样品采集于北京市顺义区金鸡河流域覆盖的 6 个城镇, 该地区农业发达, 是我国首批农业绿色发展先行区之一。2021 年 7 月进行土壤样品采集, 选取不同方位典型村落 6 个: 北小营镇、大孙各庄镇、龙湾屯镇、木林镇、杨镇及张镇, 土地利用类型 6 种: 菜地、麦地、花圃、果园、苗圃及养殖场, 共布设 210 个采样点 (图 1)。五点混合取样法采集表层土壤 (0~10 cm), 每个样点采集 2 kg 土壤样品, 低温存放带回实验室。部分置于 4 °C 保存用于 ARB 检测, 部分 -80 °C 保存用于 DNA 提取及 ARGs 检测。

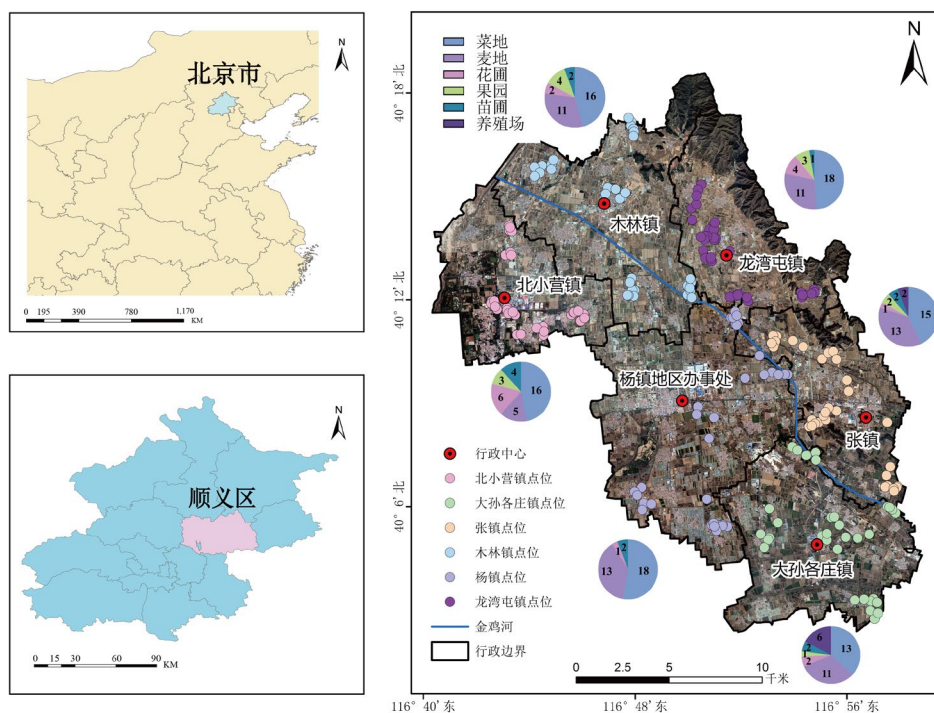


图 1 采样点分布示意图

Fig. 1 Location of sampling sites

## 1.2 总可培养细菌和 ARB 测定

称取 2 g 保存于 4 °C 的土壤样品, 置于经高温灭菌的三角瓶中, 加入 18 mL 无菌水。于 25 °C、200 r·min<sup>-1</sup> 条件下恒温振荡 30 min 以制备土壤悬浮液。静置 30 min 后, 将土壤悬浮液按梯度稀释, 以确保培养基上的菌落数量保持在 30~300 之间。在 LB 固体培养基中接种培养, 测定总可培养细菌 (Total culturable bacteria, TCB)。根据临床和实验室标准协会 (CLSI) 指南<sup>[12]</sup>, 分别配制最终浓度为 16 mg·L<sup>-1</sup> 和 152 mg·L<sup>-1</sup> 的 CTC 溶液和 SMX 溶液。随后, 将土壤悬浮液接至相应抗生素选择性培养基中, 在 35 °C 培养 24 h 后对金霉素耐药菌 (Chlortetracycline-resistant bacteria, CRB) 和磺胺甲噁唑耐药菌 (Sulfamethoxazole-resistant bacteria, SRB) 进行平板计数。每个样品设 3 个重复。

## 1.3 土壤 DNA 提取

将保存于 -80 °C 的土壤样品取出, 室温解冻后, 称取约 0.5 g 样品, 使用 FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, 美国) 试剂盒进行土壤 DNA 提取。提取后采用微量核酸蛋白分析仪测定 DNA 纯度和浓度, 以评估其是否符合实验要求。若 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 值介于 1.8~2.0 之间, 说明 DNA 纯度符合实验标准。所提取 DNA 样本置于 -20 °C 冰箱保存, 以供后续实验分析。

## 1.4 荧光定量 PCR

通过荧光定量 PCR 技术 (qPCR) 定量分析 2 类 6 种目标 ARGs 和 I 类整合子基因, 分别为 3 种磺胺类 ARGs (*sul1*、*sul2*、*dfx1*)、3 种四环素类 ARGs (*tetW*、*tetG*、*tetX*) 以及 I 类整合子 (*int1*)。所检测的 ARGs 对应引物序列、退火温度如表 1 所示<sup>[13]</sup>。

表 1 ARGs 和 I 类整合子的引物序列和退火温度

Table 1 Primer sequences and annealing temperatures for ARGs and Class I integrons

类型 Type	目的基因 Target gene	引物序列 Primer sequence	退火温度 Annealing temperature /°C
磺胺类 ARGs Sulfonamide ARGs	<i>sul2</i>	CGGCATCGTCAACATAACCT	66
		TGTGCGGATGAAGTCAGCTC	
	<i>sul1</i>	TTCGGCATTCTGAATCTCAC	53
		ATGATCTAACCCTCGGTCTC	
	<i>dfrA1</i>	AGCATTACCCAACCGAAAGT	60
		TGTCAGCAAGATAGCCAGAT	
四环素类 ARGs Tetracycline ARGs	<i>tetW</i>	GAGAGCCTGCTATATGCCAGC	60
		GGGCGTATCCACAATGTTAAC	
	<i>tetG</i>	GCTCGGTGGTATCTCTGCTC	55
		AGCAACAGAATCGGGAACAC	
	<i>tetX</i>	CAATAATTGGTGGTGGACCC	58
		TTCTTACCTTGGACATCCCG	
I类整合子 Class I integrons	<i>intI1</i>	CTGGATTTCGATCACGGCACG ACATGCGTGTAATCATCGTCG	60

### 1.5 16S rRNA 扩增与测序分析

为研究不同土地利用类型土壤微生物群落结构组成及多样性, 采用通用引物 338F (ACTCCTACGGGAGGCAGCAG)和 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT)对细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 区域片段进行 PCR 扩增。扩增子经纯化、定量后, 由北京奥维森基因科技有限公司利用 Illumina MiSeq PE300 平台进行高通量测序。原始序列经 QIIME 过滤、拼接、去除嵌合体后, 以 97%相似度聚类为操作分类单元(OTUs), 并通过 Greengenes 数据库进行物种注释。基于 OTU 表, 计算  $\alpha$  多样性指数 (Chao1 指数和 Shannon 指数), 并在门和属水平上统计各类群的相对丰度。

### 1.6 数据处理

使用 Excel 2021 计算平均值和标准差, 采用 SPSS 27 进行统计学分析, 采用单因素方差分析 (ANOVA) 和最小显著性差异法 (LSD), 显著性水平设定为  $P<0.05$  进行显著性检验。Origin 2024 和 GraphPad Prism 10 用于创建柱状图、箱形图和相关性图表。

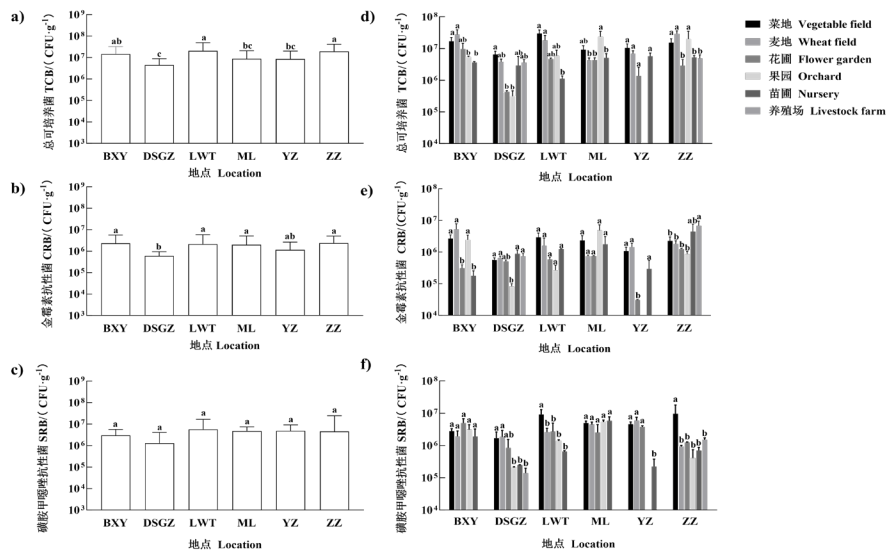
## 2 结果与讨论

### 2.1 不同土地利用类型 ARB 的分布

在不同的土地利用类型中, TCB 丰度由高到低依次为菜地、麦地、果园、花圃、苗圃、养殖场, CRB 丰度依次为养殖场、果园、菜地、麦地、苗圃、花圃; SRB 丰度依次为菜地、花圃、麦地、果园、苗圃、养殖场。在所调查的 6 个城镇中, 龙湾屯镇和张镇中 TCB 丰度显著高于其他地区, 大孙各庄镇和杨镇 CRB 丰度显著低于其他地区, SRB 丰度在各城镇间无显著差异 ( $P<0.05$ ) (图 2 a-图 2c)。各城镇内不同土地利用类型对土壤中 TCB 和 ARB 的分布具有显著影响 (图 2d-图 2f)。北小

营镇麦地 ( $2.75 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 和菜地 ( $1.69 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 土壤 TCB 丰度显著高于其他类型 ( $P < 0.05$ )。同样, CRB 在麦地中丰度最高 ( $5.21 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ), 其次为菜地 ( $2.67 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 和果园 ( $2.43 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ )。大孙各庄镇菜地 TCB 丰度最高 ( $6.50 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ), 花圃 ( $4.28 \times 10^5 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 和果园最低 ( $3.13 \times 10^5 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ )。果园 CRB 丰度也显著低于其他类型, 菜地和麦地 SRB 丰度显著高于其他土地类型, 分别达到  $1.67 \times 10^6$  和  $1.83 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $P < 0.05$ )。龙湾屯镇菜地中 TCB 和两类 ARB 丰度均显著高于其他土地类型 ( $P < 0.05$ ), 其中 TCB 丰度为  $2.98 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ , CRB 和 SRB 分别为  $2.92 \times 10^7$  和  $9.09 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 。与其他城镇不同的是, 木林镇 TCB 和 CRB 丰度最高的类型均为果园, 分别达到  $2.36 \times 10^7$  和  $4.84 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ , 其次为菜地。杨镇花圃中 CRB 丰度 ( $3.07 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 和苗圃中 SRB 丰度 ( $2.21 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 较低。张镇麦地、菜地和果园中 TCB 丰度显著高于其他类型 ( $P < 0.05$ ), 养殖场 CRB 丰度最高 ( $6.77 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ), 菜地 SRB 丰度较其他类型高至少一个数量级 ( $9.62 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ )。

菜地土壤在多个城镇中 TCB 和 ARB 丰度较高, 其次为麦地。这一分布特征与施用未处理有机肥的传统农业实践有关, 菜地和麦地有机肥施用程度远高于其他用地类型<sup>[14]</sup>, 增加了土壤中 ARB 的积累<sup>[15]</sup>。不同城镇中, 张镇 TCB 和 CRB 丰度均较高, 可能是因为张镇养鸡场多, 村民广泛施用未经处理的畜禽粪便作为肥料。对养鸡场周围土壤抗生素风险评估发现, 四环素类抗生素残留量最高 ( $9.92 \sim 133.95 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )<sup>[16]</sup>, 这与张镇土壤中 CRB 的丰度最高一致, 养殖过程中大量使用抗生素可造成相关 ARB 在周边土壤中的大量积累。此外, 木林镇不同类型土壤 SRB 丰度均呈现较高水平, 与其自然地理条件和村民施肥习惯有关, 该镇水资源丰富、地理位置优越, 因此土地利用强度较高, 高有机肥施用量导致土壤中 SRB 的丰度较高, 在不同土地类型中丰度均匀。



注: BXY、DSGZ、LWT、ML、YZ、ZZ 依次为北小营镇、大孙各庄镇、龙湾屯镇、木林镇、杨镇、张镇; 误差线为标准差; 无相同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。 Note: BXY, DSGZ, LWT, ML, YZ, and ZZ correspond to Beixiaoying, Dasungezhuang, Longwantun, Mulin, Yang, and Zhang Towns, respectively. The error bars represent the standard deviation. Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level. The same below.

图 2 不同城镇及不同土地利用类型土壤中 TCB、CRB 和 SRB 的丰度

Fig. 2 Abundances of TCB, CRB, and SRB in soils across different towns and land use types

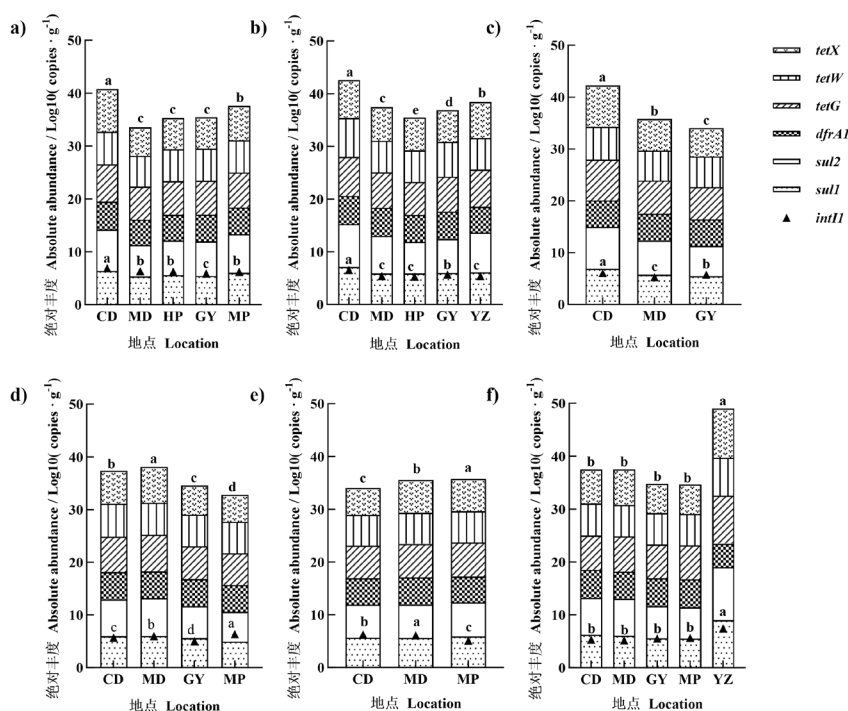
## 2.2 不同土地利用类型 ARGs 的分布规律

不同类型土壤中 ARGs 的分布特征如图 3 所示。不同土地利用类型中, ARGs 的总丰度由高到低依次为养殖场、菜地、麦地、苗圃、花圃、果园。张镇土壤 ARGs 的总丰度 ( $2.84 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ )

显著高于其他城镇 ( $P<0.05$ ), 其次是龙湾屯镇 ( $1.04\times 10^8$  copies·g<sup>-1</sup>), 总丰度最低的是杨镇 ( $6.91\times 10^6$  copies·g<sup>-1</sup>)。所检测的目的基因中 *sul2*、*tetG* 和 *tetX* 的丰度较高, 其范围分别为  $4.78\times 10^5\sim 9.91\times 10^9$ 、 $1.05\times 10^6\sim 1.18\times 10^9$  和  $1.22\times 10^5\sim 2.07\times 10^9$  copies·g<sup>-1</sup>。磺胺类 *dhfrA1* 在各类型土壤中丰度均较低, 其丰度范围在  $3.07\times 10^5\sim 2.26\times 10^5$  copies·g<sup>-1</sup>。

对比不同土地利用类型土壤中的 ARGs, 可发现北小营镇、大孙各庄和龙湾屯镇菜地土壤的 ARGs 总丰度 ( $2.08\times 10^8\sim 3.00\times 10^8$  copies·g<sup>-1</sup>) 和 *intI1* 的丰度均显著高于其他类型 ( $P<0.05$ )。这些地区农民长期种植菜地并施用有机肥, 导致 ARGs 总丰度高于其他用地类型。相比之下, 部分花圃和果园中 ARGs 的总丰度较低 ( $2.78\times 10^6\sim 1.29\times 10^7$  copies·g<sup>-1</sup>), 可能与其施肥管理更规范有关。人类活动会对土壤中 ARGs 丰度造成影响, 赵祥等<sup>[6]</sup>对北京市不同地区多种土地利用方式下土壤 ARGs 分布特征进行调查, 发现设施菜地土壤中 ARGs 检出种类最多。陈瑞等<sup>[17]</sup>对丘陵地区不同类型土壤中 ARGs 分布特征的研究却显示, 果园土壤 ARGs 相对丰度 (0.1329) 和多样性 (57 种) 高于菜地 (0.1104, 29 种)。Zhang 等<sup>[18]</sup>对太湖流域不同农业土地研究也表明, 果园径流中 ARGs 丰度是传统农田中的 2 倍~5 倍, 其粪肥指示属的相关性分析证明粪肥施用是导致径流中 ARGs 丰度增加的关键因素。尽管不同地区的研究结果存在一定差异, 但总体而言, ARGs 的丰度与施肥量密切相关, 同时还受种植作物种类和年限等因素的影响<sup>[19]</sup>。此外, 可移动遗传元件 *intI1* 在 ARGs 的水平基因转移和扩散中起到重要作用<sup>[20]</sup>, 本研究中菜地 *intI1* 的丰度较高 ( $2.05\times 10^5\sim 7.84\times 10^6$  copies·g<sup>-1</sup>), 一项关于北京市蔬菜土壤中 ARGs 与可移动遗传元件的研究中, 所有土样均检测到 *intI1*<sup>[21]</sup>, 菜地中 *intI1* 的高检出率表明其介导的水平基因转移可加速 ARGs 在菜地微生物群落中的传播和累积。

杨镇苗木产业丰富, 多地进行雪松和枫树的种植, 因培育苗木对土壤肥力的要求较高<sup>[22]</sup>, 该地区多采用粪肥施用及多次追肥的方式以维持土壤肥力, 这可能是导致该地区苗圃中 ARGs 丰度 ( $8.78\times 10^6$  copies·g<sup>-1</sup>) 高于其他土地利用类型的原因。张镇养殖场土壤的 ARGs 总丰度 ( $1.42\times 10^{10}$  copies·g<sup>-1</sup>) 较该地区其他土地利用类型高出 3~4 个数量级, 是本研究 ARGs 丰度最高的样本点。前期研究表明顺义地区废弃养殖场附近的土壤中普遍存在 ARGs<sup>[23]</sup>, 张镇养鸡场养殖中抗生素使用量大, 可能导致周边土壤环境中抗生素残留量大且难以自然消除, 对 ARGs 造成了较强的选择压力。值得注意的是, 在大孙各庄和张镇的养殖场和菜地中, ARGs 的丰度分布情况基本一致, *sul2* 和 *tetG* 的丰度较高, 这些地区直接施用粪肥至菜地的传统方式可能是土壤中相关 ARGs 累积较高的原因。



注：图 a、b、c、d、e 和 f 依次为北小营镇、大孙各庄镇、龙湾屯镇、木林镇、杨镇和张镇。CD、MD、HP、GY、MP 和 YZ 分别代表菜地、麦地、花圃、果园、苗圃和养殖场。下同。Note: Figures a, b, c, d, e, and f correspond to Beixiaoying, Dasungezhuang, Longwantun, Mulin, Yang, and Zhang Towns, respectively. CD, MD, HP, GY, MP, and YZ correspond to the vegetable field, wheat field, flower garden, orchard, nursery, and livestock farm, respectively. The same below.

图 3 不同土地利用类型土壤 ARGs 和 *int11* 的绝对丰度

Fig. 3 Absolute abundance of ARGs and *int11* in different land use types

### 2.3 不同土地利用类型微生物群落的结构特征

微生物多样性结果表明，不同土地利用类型的微生物群落多样性存在显著差异，并在不同城镇间表现出区域性特征（图 4）。总体上菜地土壤的 Chao1 和 Shannon 指数高于其他土地类型。长期受到人为扰动的土壤微生物多样性可能更高，如水稻田土壤的微生物多样性显著高于林地<sup>[24]</sup>，高强度的耕作扰动及有机肥施用可为微生物群落提供丰富的碳源和养分<sup>[25]</sup>，进而提高土壤微生物群落多样性<sup>[26]</sup>。大孙各庄菜地的微生物多样性指数的差异较大，可能与该地区土肥管理强度不均（如施肥频率差异）有关，对微生物群落的均一性产生影响。张镇养殖场微生物多样性指数显著低于其他类型土壤，这与该点位 TCB 的丰度较低相符。但该地 CRB 丰度与 ARGs 总丰度均是所有点位中最高的，该地区养殖场高强度施用金霉素<sup>[27]</sup>，可能造成相关 ARB 和 ARGs 在选择压力下富集并成为优势种群，影响了其他物种进而导致土壤微生物多样性较低。



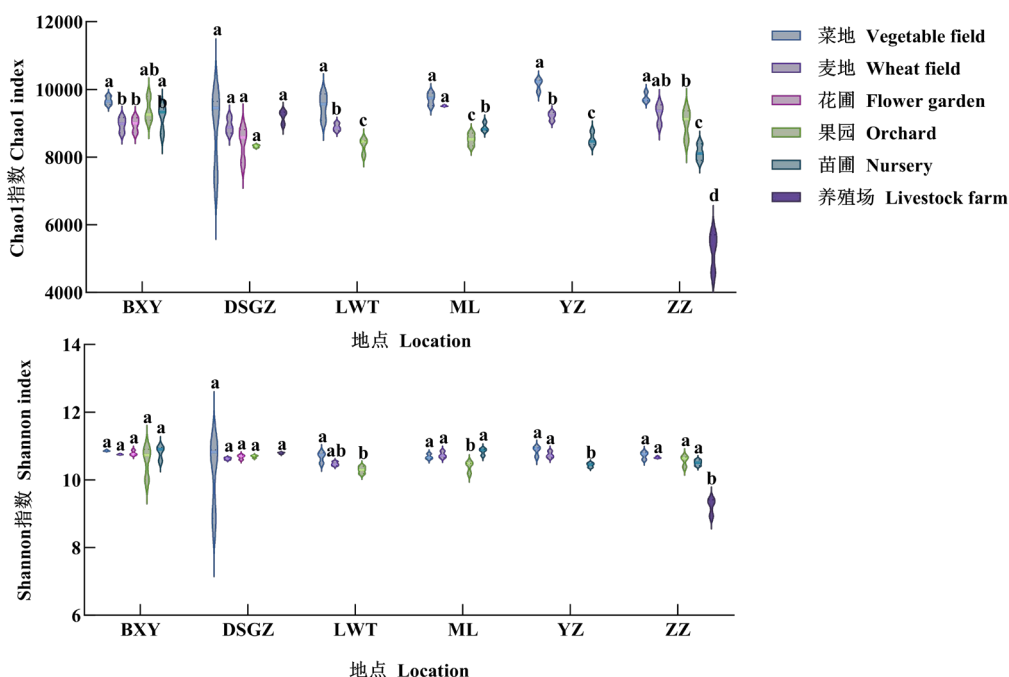


图 4 不同土地利用类型下土壤的 Chao1 指数和 Shannon 指数

Fig. 4 Chao1 index and Shannon index in different land use types

门水平丰度大于 1% 的物种组成及分类情况如图 5a 所示。不同用地类型土壤中共有的优势菌门从低到高依次为变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和绿弯菌门 (Chloroflexi)。在不同城镇, 菜地土壤中 Proteobacteria 的相对丰度 (42.96%) 均高于同一地区的其他土地类型 (36.64%~39.35%), 尤其是大孙各庄菜地土壤中 Proteobacteria 的相对丰度 (46.40%) 是其他类型的 1.22 倍~1.48 倍。同时, 养殖场和菜地中 Acidobacteria 的相对丰度 (5.82%~8.05%) 低于其他类型 (10.12%~12.41%), 这与 Kim 等<sup>[28]</sup>的研究中土地利用类型由森林过渡为耕地后, Proteobacteria 丰度增加、Acidobacteria 丰度降低的结果一致, 该变化受土壤 pH、农药及有毒金属影响。张镇养殖场周边土壤中 Bacteroidetes 的丰度 (16.91%) 高于其他的点位 (6.46%~8.00%)、Acidobacteria 的丰度 (1.85%) 低于其他点位 (8.43%~10.69%), 这可能是导致该区域养殖场 ARGs 丰度显著高于其他地区的原因。

土壤样品中共鉴定出 1 021 个菌属, 图 5b 为相对丰度排名前 35 的菌属。在不同的土地利用类型中, 鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*)、假节杆菌 (*Pseudarthrobacter*)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa* H16)、盖氏菌 (*Gaiella*)、微枝形杆菌 (*Microvirga*)、芽孢杆菌 (*Bacillus*)、根瘤菌 (*Rhizobium* RB41) 以及硝化螺旋菌 (*Nitrospira*) 的相对丰度较高 (大于 1%)。 *Sphingomonas* 是一类对重金属污染的修复效果的革兰氏阴性菌, 对芳香化合物和多环芳烃具有较强的降解能力<sup>[29]</sup>。有研究证明深翻和深松可显著提高土壤中的 *Sphingomonas*<sup>[30]</sup>。在本研究中, 各城镇麦地 (3.46%) 和菜地 (3.21%) 中 *Sphingomonas* 的平均丰度高于其他土壤 (2.52%~2.82%), 证明受到高频扰动可能会对土壤中的微生物群落结构造成影响。 *Pseudarthrobacter* 是环境中与土壤速效钾、过氧化氢酶活性等肥力指标显著相关的物种<sup>[31]</sup>。除花木圃与养殖场外, 其他类型土壤中 *Pseudarthrobacter* 的相对丰度均在 2.00% 以上。此外, 在多种耕作方式下土壤中 *Bacillus*、*Rhizobium* RB41 和 *Gaiella* 也是占主导的菌属<sup>[30]</sup>, 与本研究的结果相符。值得注意的是, 张镇养殖场土壤中与堆肥氮转化相关的食藻多贺氏菌 (*Simiduia*) 的相对丰度显著高于其他样本<sup>[32]</sup>, 并且与其他土地利用类型相比, 该地土壤



微生物群落菌属的多样性较为丰富，这可能与养殖场复杂环境有关。

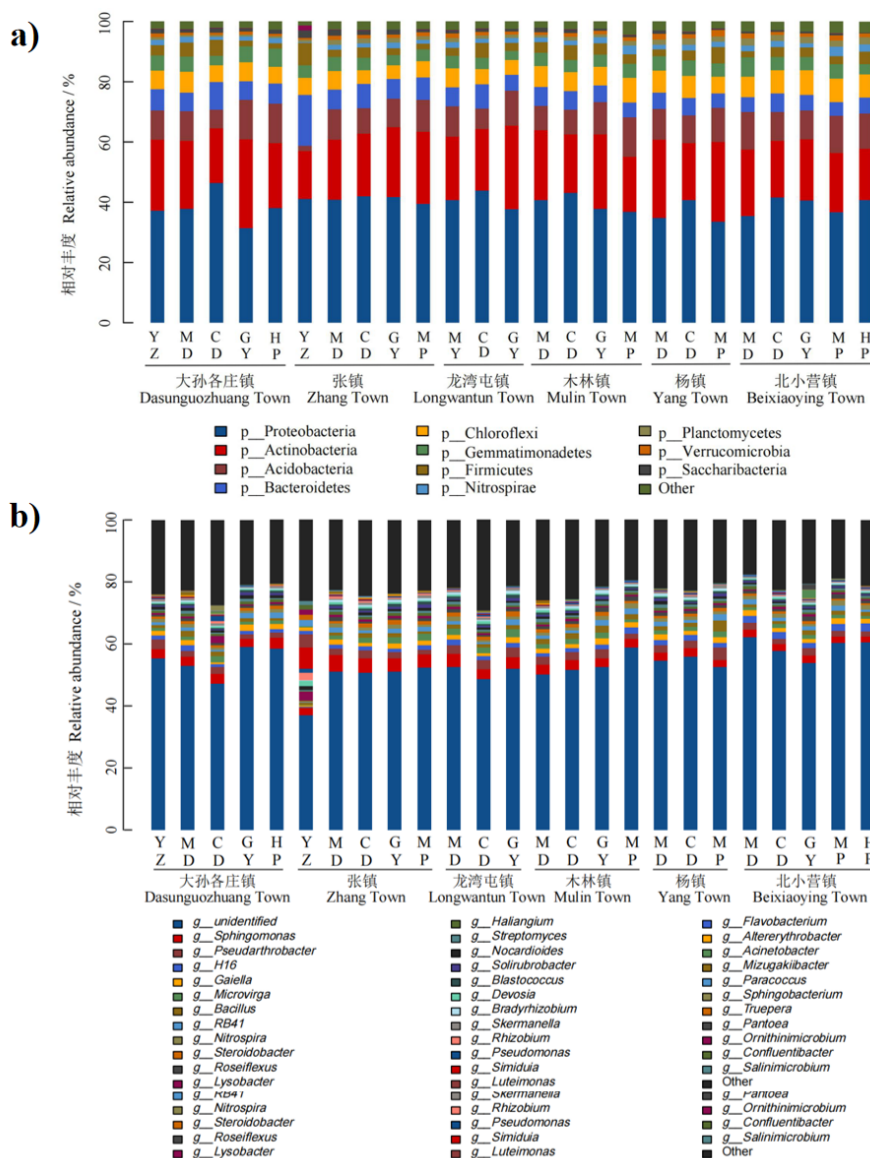


图 5 不同土地利用类型下土壤门水平 (a) 和属水平 (b) 的微生物群落组成

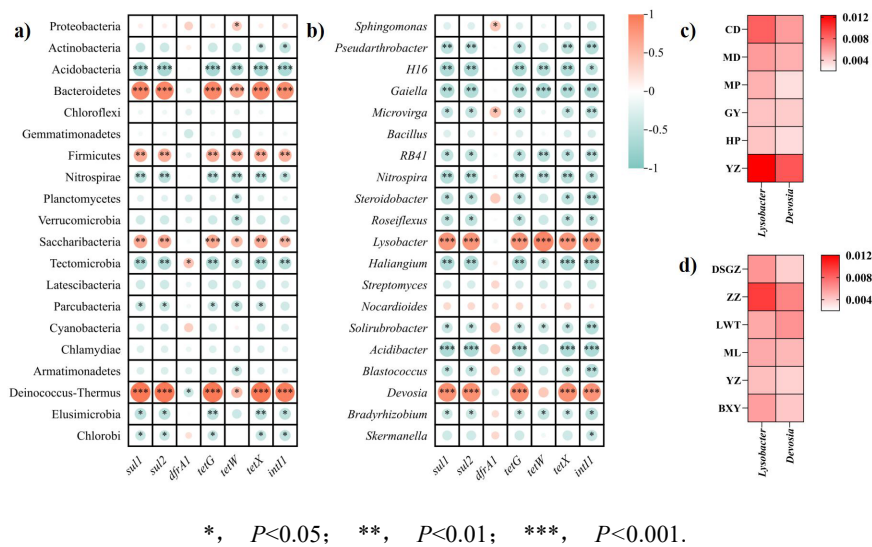
Fig. 5 Composition of soil microbial communities at the phylum (a) and genus (b) levels in different land use types

## 2.4 土壤微生物群落与 ARGs 的相关性

采用 Pearson 相关性分析，研究土壤中 ARGs 与相对丰度排名前二十的微生物群落（门和属水平）之间的关系（图 6a）。门水平上，Bacteroidetes、Firmicutes、Saccharibacteria 和 Deinococcus-Thermus 与除 *dfpA1* 外的所有 ARGs 呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )，表明这些微生物可能是 ARGs 的潜在携带者。相反，Actinobacteria、Nitrospirae 和 Tectomicrobia 等菌门与 ARGs 呈显著负相关 ( $P < 0.05$ )，可能对 ARGs 具有降解作用。属水平上（图 6b），溶杆菌（*Lysobacter*）和德沃斯氏菌（*Devosia*）与多个 ARGs 呈极显著正相关 ( $P < 0.001$ )，它们可能是 ARGs 的潜在宿主菌。*Lysobacter* 以其较强的裂解活性和产生具有抗生素活性的次级代谢产物而闻名<sup>[33]</sup>。*Devosia* 对土壤污染具有极强的抵抗力，能够调节抗生素或其他污染物的降解能力，进而调控菌群结构<sup>[34]</sup>。这些特定菌属可能在 ARGs 的环境迁移和持久性中起到重要作用。进一步分析 *Lysobacter* 和 *Devosia* 在不同土地利用类型中的丰度（图 6c），养殖场土壤中这两类菌属的丰度显著高于其他类型，*Lysobacter* 的丰度是其他类型的 3.53

倍~4.60 倍, *Devosia* 的丰度是其他类型的 2.28 倍~3.63 倍, 其次是菜地。这与养殖场和菜地中 ARGs 丰度最高的结果相一致, 进一步证明 *Lysobacter* 和 *Devosia* 是多个 ARGs 的宿主菌。施用生物有机肥可显著提高土壤中 *Lysobacter* (约 3%) 和 *Sphingomonas* (约 1%) 的相对丰度<sup>[35]</sup>, 这与养殖场、菜地等土地利用类型中较高的有机肥使用量相符。人为活动不仅对 ARGs 的丰度构成直接影响, 还通过影响细菌群落间接作用于 ARGs<sup>[36]</sup>。

这些发现为理解土壤微生物群落与 ARGs 的相互作用提供了重要依据, 为减少 ARGs 扩散风险, 应重点关注与 ARGs 相关性高的核心菌群 (如 *Lysobacter* 和 *Devosia*), 通过精准施肥和减少抗生素污染来干预其生态效应。同时, 应合理利用与 ARGs 呈负相关的菌群以维持土壤生态稳定性。对于养殖场, 应严格控制抗生素的滥用。对于张镇、龙湾屯镇等依赖畜禽粪肥的农业用地, 应优先管控畜禽粪肥的使用, 推广经过堆肥等无害化处理的有机肥施用, 以从源头减少 ARGs 输入, 同时对已污染的土壤进行必要的污染修复措施<sup>[37]</sup>。



\*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ .

图 6 门水平 (a) 和属水平 (b) 土壤微生物群落 (Top 20) 与 ARGs 的相关性及不同用地类型 (c) 和不同城镇 (d) 土壤中特殊菌属的丰度

Fig. 6 Correlations between ARGs and bacterial abundance (Top 20) at the phylum (a) and genus (b) level, and soil specific genus from different land use types (c) and towns (d)

### 3 结 论

金鸡河流域不同土地利用类型显著影响土壤微生物群落组成及 ARB 和 ARGs 丰度。菜地土壤受人类活动影响, CRB、SRB 及相关 ARGs 的累积显著高于其他类型, 增加土壤的耐药风险。果园和苗圃受外界干扰较少, 微生物多样性高, ARB 和 ARGs 丰度低。土壤微生物群落中, Bacteroidetes、Firmicutes、Saccharibacteria 和 Deinococcus-Thermus 是 ARGs 的重要宿主菌门, 与磺胺类 (*sul1*, *sul2*) 和四环素类 (*tetG*, *tetX*) ARGs 以及整合子 (*intI1*) 均呈显著正相关。*Lysobacter* 和 *Devosia* 等潜在宿主菌对 ARGs 传播发挥了重要作用。农业生产中应注重有机肥的合理施用, 尤其是在菜地等有机肥依赖程度较高的土地利用类型中, 更应优化施肥策略并采用污染修复措施, 避免有机肥过量施用导致抗生素残留和 ARGs 累积, 降低土壤微生物耐药性及生态健康风险。本研究为金鸡河流域土壤 ARB 和 ARGs 的污染现状及分布特征提供了基础数据, 但其与投入品及农业生产活动等的量化关联机制仍有待完善, 未来应结合施肥历史、土壤性质以及土壤-植物系统等进一步深入研究。

## 参考文献 (References)

- [1] 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.]
- [2] Xiao R H, Huang D L, Du L, et al. Antibiotic resistance in soil-plant systems: A review of the source, dissemination, influence factors, and potential exposure risks[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 869: 161855.
- [3] Martínez J L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments[J]. *Science*, 2008, 321(5887): 365-367.
- [4] Madegwa Y M, Uchida Y. Land use and season drive changes in soil microbial communities and related functions in agricultural soils[J]. *Environmental DNA*, 2021, 3(6): 1214-1228.
- [5] Qian X, Gunturu S, Guo J R, et al. Metagenomic analysis reveals the shared and distinct features of the soil resistome across tundra, temperate prairie, and tropical ecosystems[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): 108.
- [6] Zhao X, Wang J, Xu J X, et al. Distribution characteristics of antibiotic resistance genes in soils under different land use patterns in Beijing[J]. *Environmental Science*, 2024. DOI: 10.13227/j.hjlx.202409261. [赵祥, 王健, 许俊香, 等. 北京市不同土地利用方式下土壤抗生素抗性基因分布特征[J]. *环境科学*, 2024. DOI: 10.13227/j.hjlx.202409261.]
- [7] Gong X Y, Song J Y, Wu F Z. Study on the accumulation of tetracycline resistance genes in soil with different utilization patterns in China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(1): 87-100. [龚小雅, 宋建宇, 吴凤芝. 我国不同利用方式土壤四环素类抗性基因积累的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2023, 42(1): 87-100.]
- [8] Fu Y H, Hu F, Wang F, et al. Distinct assembly patterns of soil antibiotic resistome revealed by land-use changes over 30 years[J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, 58(23): 10216-10226.
- [9] Xiang Q, Zhu D, Giles M, et al. Agricultural activities affect the pattern of the resistome within the phyllosphere microbiome in peri-urban environments[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 382: 121068.
- [10] Li H N, Awangciren, Li B X, et al. A bibliometric assessment of research into antibiotics in poultry and livestock breeding[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(11): 2297-2306. [李红娜, 阿旺次仁, 李斌绪, 等. 兽用抗生素研究的文献计量学分析[J]. *农业环境科学学报*, 2017, 36(11): 2297-2306.]
- [11] Yang Z Z, Li H N, Li N. Risk assessment of antibiotics in agricultural environment[J]. *Environmental Science*, 2024, 45(6): 3468-3479. [杨珍珍, 李红娜, 李娜. 农业环境中抗生素风险评估的研究进展[J]. *环境科学*, 2024, 45(6): 3468-3479.]
- [12] Humphries R, Bobenchik A M, Hindler J A, et al. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, M100, 31st edition[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2021, 59(12): e0021321.
- [13] Cao R K, Wang J, Ben W W, et al. The profile of antibiotic resistance genes in pig manure composting shaped by composting stage: Mesophilic-thermophilic and cooling-maturation stages[J]. *Chemosphere*, 2020, 250: 126181.
- [14] Wang H X, Wang X Y, Du Y, et al. Nitrogen budgets characteristics of different land use patterns in a small catchment[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2019, 35(9): 1206-1213. [王焕晓, 王晓燕, 杜伊, 等. 小流域不同土地利用类型氮素平衡特征[J]. *生态与农村环境学报*, 2019, 35(9): 1206-1213.]
- [15] Wang F, Dou Q Y, Fu Y H, et al. Environmental fate and risk management of manure-borne antibiotic resistance genes in soil: A review[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(12): 2563-2576. [王芳, 豆庆圆, 付玉豪, 等. 土壤有机肥源抗生素抗性基因环境归趋与风险管理研究进展[J]. *农业环境科学学报*, 2022, 41(12): 2563-2576.]
- [16] Tu Q, Xu Y, Li E H, et al. Occurrence and risk assessment of antibiotics in typical chicken farms and surrounding soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(1): 97-107. [涂棋, 徐艳, 李二虎, 等. 典型养鸡场及其周边土壤中抗生素的污染特征和风险评估[J]. *农业环境科学学报*, 2020, 39(1): 97-107.]
- [17] Chen R, Cheng J H, Tang X Y. Characteristics of antibiotic resistance genes distribution in different types of agricultural land soils in highly cultivated hilly areas[J]. *Environmental Science*, 2023, 44(12): 6947-6954. [陈瑞, 程建华, 唐翔宇. 高垦殖丘陵区不同类型农用地土壤中抗生素抗性基因分布特征[J]. *环境科学*, 2023, 44(12): 6947-6954.]
- [18] Zhang M S, Li W, Zhang W G, et al. Agricultural land-use change exacerbates the dissemination of antibiotic resistance genes *via* surface

runoffs in Lake Tai Basin, China[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 220: 112328.

[19] Huang F Y, Zhou S Y D, Wang J N, et al. Profiling of antibiotic resistance genes in different croplands[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(6): 2975-2980. [黄福义, 周曙屹聃, 王佳妮, 等. 不同作物农田土壤抗生素抗性基因多样性[J]. *环境科学*, 2021, 42(6): 2975-2980.]

[20] Ma L P, Li A D, Yin X L, et al. The prevalence of integrons as the carrier of antibiotic resistance genes in natural and man-made environments[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(10): 5721-5728.

[21] Zhang R F, Song Y, Gao H Z, et al. Distribution characteristics of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in Beijing vegetable base soils[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(1): 385-393. [张汝凤, 宋渊, 高浩泽, 等. 北京蔬菜地土壤中抗生素抗性基因与可移动元件的分布特征[J]. *环境科学*, 2020, 41(1): 385-393.]

[22] Zeng T, Hou M, Wang Y, et al. Effects of different land use types on soil cellulase activity and fertility factors[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2024, 26(1): 193-200. [曾婷, 侯萌, 王耀, 等. 不同土地利用类型对土壤纤维素酶活性及肥力因子的影响[J]. *中国农业科技导报*, 2024, 26(1): 193-200.]

[23] Li N, Zhu C X, Liu C, et al. The persistence of antimicrobial resistance and related environmental factors in abandoned and working swine feedlots[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 255: 113116.

[24] Wu F, Xu C L, Nie X L, et al. The mechanism of soil microbial community structure affected by land use patterns in Guangze County[J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, 47(12): 190-198. [吴丰, 徐晨璐, 聂小力, 等. 光泽县土地利用方式对土壤微生物群落结构的影响机制[J]. *环境科学与技术*, 2024, 47(12): 190-198.]

[25] Zhong R, Wang P R, Sun P J, et al. Effects of long-term tillage on soil bacterial community structure and physicochemical properties of dryland wheat fields in northern China[J]. *Environmental Science*, 2023, 44(10): 5800-5812. [钟融, 王培如, 孙培杰, 等. 长年耕作对北方旱作麦田土壤细菌群落结构及理化性质的影响[J]. *环境科学*, 2023, 44(10): 5800-5812.]

[26] Liu W B, Ling N, Guo J J, et al. Dynamics of the antibiotic resistome in agricultural soils amended with different sources of animal manures over three consecutive years[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 401: 123399.

[27] Ling W C, Fan Y M, Fang Y Y, et al. Antibiotics pollution of livestock and poultry breeding in Beijing-Tianjin-Hebei region[J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 2018, 8(4): 390-397. [凌文翠, 范玉梅, 方瑶瑶, 等. 京津冀地区畜禽养殖业抗生素污染现状分析[J]. *环境工程技术学报*, 2018, 8(4): 390-397.]

[28] Kim H S, Lee S H, Jo H Y, et al. Diversity and composition of soil Acidobacteria and Proteobacteria communities as a bacterial indicator of past land-use change from forest to farmland[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 797: 148944.

[29] Lu Z Z G, Zhu L X, Ji H B, et al. Research progress in remediation of soil heavy metal pollution by *Sphingosinomonas*[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2024, 36(5): 1208-1216. [鲁子正钢, 朱立新, 季宏兵, 等. 鞘氨醇单胞菌修复土壤重金属污染研究进展[J]. *浙江农业学报*, 2024, 36(5): 1208-1216.]

[30] Feng B, Qing G E, Gao J L, et al. Effects of different tillage methods on soil enzyme activity, microbial biomass and community composition[J]. *Journal of Northern Agriculture*, 2021, 49(3): 64-73. [冯彪, 青格尔, 高聚林, 等. 不同耕作方式对土壤酶活性及微生物量和群落组成关系的影响[J]. *北方农业学报*, 2021, 49(3): 64-73.]

[31] Fang Y P, Wang N, Bai Y X, et al. Differences of soil bacterial community characteristics in tobacco field under different long-term cropping systems[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2023, 28(7): 20-34. [方远鹏, 王娜, 白羽祥, 等. 长期不同种植制度下植烟土壤细菌群落特征差异分析[J]. *中国农业大学学报*, 2023, 28(7): 20-34.]

[32] Sun Y, Men M Q, Xu B S, et al. Assessing key microbial communities determining nitrogen transformation in composting of cow manure using illumina high-throughput sequencing[J]. *Waste Management*, 2019, 92: 59-67.

[33] Lin L, Shao X L, Yang Y C, et al. *Lysobacter enzymogenes*: A fully armed biocontrol warrior[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2025, 24(1): 23-35.

[34] Boros-Lajszner E, Wyszowska J, Borowik A, et al. The response of the soil microbiome to contamination with cadmium, cobalt and nickel in soil sown with *Brassica napus*[J]. *Minerals*, 2021, 11(5): 498.

[35] Zhou R C, Guan H L, Liu K, et al. Effects of applying bio-organic fertilizer on water retention and bacterial community of dryland red soil[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2024(7): 153-160. [周瑞春, 官会林, 刘奎, 等. 施用生物有机肥对旱地红壤保水性及细菌

群落的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2024(7): 153-160.]

[36] Xiao J M, Zhang B W, Zhang R B, et al. Impact of land use on antibiotic resistance genes and bacterial communities in rivers[J]. Environmental Research, 2025, 276: 121475.

[37] Yang Z Z, Geng B, Tian Y L, et al. Research progresses on remediation of organic contaminated soils with electrochemical technologies[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(5): 1110-1122. [杨珍珍, 耿兵, 田云龙, 等. 土壤有机污染物电化学修复技术研究进展[J]. 土壤学报, 2021, 58(5): 1110-1122.]

(责任编辑: 卢 萍)