

Оригинальная статья

УДК 631.46:579.26.579.64

<https://doi.org/10.35885/1684-7318-2024-1-98-114>

РАСПРОСТРАНЕНИЕ УСТОЙЧИВЫХ К АНТИБИОТИКАМ АКТИНОБАКТЕРИЙ В ПОЧВАХ, ПОДВЕРЖЕННЫХ РАЗНЫМ ВИДАМ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

И. Г. Широких^{1, 2✉}, Е. А. Гембицкая¹, Т. Я. Ашихмина²

¹ Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого
Россия, 610007, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а

² Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН
Россия, 167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28

Поступила в редакцию 08.08.2023 г., после доработки 03.10.2023 г., принята 06.10.2023 г., опубликована 20.03.2024 г.

Аннотация. Исследовали спектры устойчивости к определённому набору антибиотиков и частоты встречаемости резистентных штаммов среди типичных почвенных бактерий – актиномицетов. Использовали равные по объёму выборки изолятов из дерново-подзолистой почвы, отобранной на участках, типизирующих различные виды хозяйственной деятельности: производственные территории фанерного завода и химического комбината, территория медицинского учреждения, площадка сбора и хранения ТБО (твёрдых бытовых отходов). В общей сложности получено 58 изолятов с признаками, характерными для актиномицетов рода *Streptomyces* секций *Cinereus*, *Helvolo-Flavus* и *Albus*. Установлено, что различные виды хозяйственной деятельности приводят к специфическим изменениям антибиотического резистенса, которым характеризуется почва естественного злаково-разнотравного луга (фон). В образце, отобранном на территории химического комбината, чаще, чем в почве фонового участка, встречались изоляты с устойчивостью к налидиксовой кислоте, амоксициллину и цефтриаксону. В почвенных образцах, отобранных на участке сбора ТБО и территории медицинского учреждения значимо ($P < 0.05$) выше доля штаммов, резистентных к налидиксовой кислоте, линкомицину и азитромицину, а в образце с территории фанерного завода – к налидиксовой кислоте и амоксициллину. Определены группы антибиотиков (хинолоны – налидиксовая кислота и β -лактамы – амоксициллин и цефтриаксон), устойчивость к которым у изолятов стрептомицетов из почв, задействованных в хозяйственной деятельности, была значимо выше, чем у почвенных изолятов с фоновой территории. Полученные данные указывают на необходимость мониторинга в распространении устойчивости к антибиотикам в почвах, подверженных не только риску накопления остаточных концентраций антибиотиков, но и иным последствиям антропогенных воздействий.

Ключевые слова: дерново-подзолистая почва, антропогенное воздействие, антибактериальные препараты, *Streptomyces*, антибиотический резистент

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме «Структура и состояние компонентов техногенных эко-

✉ Для корреспонденции. Лаборатория биотехнологии растений и микроорганизмов Федерального аграрного научного центра Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого.

ORCID и e-mail адреса: Широких Ирина Геннадьевна: <https://orcid.org/0000-0002-3319-2729>, irgenal@mail.ru; Гембицкая Екатерина Александровна: <https://orcid.org/0009-0000-4091-1237>, ekgemb@mail.ru; Ашихмина Тамара Яковлевна: <https://orcid.org/0000-0003-4919-0047>, ecolab2@gmail.com.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ УСТОЙЧИВЫХ К АНТИБИОТИКАМ АКТИНОБАКТЕРИЙ

систем подзоны южной тайги» (государственная регистрация в ЕГИСУ № 122040100032-5) и государственного задания ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого» (№ FNWE-2022-0005).

Соблюдение этических норм. В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования. Широких И. Г., Гембицкая Е. А., Ашихмина Т. Я. Распространение устойчивых к антибиотикам актинобактерий в почвах, подверженных разным видам антропогенного воздействия // Поволжский экологический журнал. 2024. № 1. С. 98 – 114. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2024-1-98-114>

ВВЕДЕНИЕ

Устойчивость к антибиотикам – это глобальное явление, которое стало одной из наиболее острых проблем здравоохранения во всем мире и, по оценкам, к 2050 г. может привести к 10 миллионам смертей, если сохранится нынешняя тенденция к ненадлежащему и чрезмерному использованию антимикробных средств (O'Neill, 2014). Повышение уровня устойчивости бактерий к антибиотикам, несмотря на то, что их открытие спасло бесчисленное количество жизней за последние 80 лет, в наше время ставит под угрозу дальнейший прогресс в медицине, сельском хозяйстве и экономике в целом (Ikimiukor et al., 2022).

Проблема особо обострилась в связи с пандемией COVID-19 и ускоренным образованием антибиотикорезистентных внутрибольничных штаммов (Aljeldah, 2022). Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) выразила обеспокоенность тем, что пандемия могла свести на нет все усилия, которые на протяжении многих лет были предприняты во всем мире для снижения устойчивости к антибиотикам (Getahun et al., 2020). Пандемия COVID-19 не только существенно сказалась на системе здравоохранения, но и препятствовала отслеживанию внутрибольничных бактериальных инфекций, вызываемых устойчивыми к антибиотикам штаммами (Afshinnkoo et al., 2021; Livermore, 2021).

Распространение устойчивости к антибиотикам традиционно связывают с отбором, происходящим в результате применения антибиотических соединений в медицине, растениеводстве и ветеринарии. Однако ряд исследований показал, что ее глобальное распространение может быть связано также с естественными резервуарами окружающей среды (Finley et al., 2013). Интерес к микробным сообществам окружающей среды как потенциальному резервуару новых генов устойчивости значительно возрос в связи с увеличением распространения бактерий с множественной лекарственной устойчивостью и сокращением числа клинически эффективных антибиотиков (Walsh, Duffy, 2013).

Почва, как естественная среда обитания микроорганизмов, содержит соответствующую генетическую информацию об устойчивости к антибиотикам, которую в современной научной литературе принято называть ризистомом (Kozhevin et al., 2013). Исходя из гипотезы резистома, многие гены устойчивости к антибиотикам, ассоциированные с патогенами, возникли у почвенных бактерий, продуцирующих

антибиотики, и достигли патогенов путем горизонтального переноса генов (D'Costa et al., 2006). При этом важнейшую роль в распространении антибиотикорезистентности среди микробных популяций играет активность мобильных генетических элементов (транспозоны, интегроны, IS-элементы, плазмиды, бактериофаги, генные островки) (Зверева, Бойченко, 2010). Гены устойчивости, как правило, приобретаются бактериями путем трансформации (поглощение гена резистентности из окружающей среды), трансдукции (перенос гена резистентности из бактериофага) и бактериальной конъюгации (перенос гена резистентности между штаммами близкородственных бактерий) (Wright, 2010; Blair et al., 2015).

По-видимому, антибиотики, как и гены резистентности к ним, естественным образом функционировали в природных микробных сообществах как средства сигналинга, коммуникации и конкурентной защиты задолго до появления человека как биологического вида. Именно из природных микробиомов эволюционно происходит генетический материал, определяющий устойчивость современных патогенов к антибиотикам (D'Costa et al., 2011; Cytryn, 2013).

На антибиотикорезистентность бактерий в окружающей среде могут оказывать влияние такие физико-химические факторы, как температура, доступность кислорода, pH почвенного раствора, содержание солей и трофические характеристики почвы (Kozhevin et al., 2013). Так, в недавних исследованиях показано, что удобрения растительного происхождения стимулируют в почве «внутреннюю» резистентность к антибиотикам за счет улучшения питания местных бактерий (Liu et al., 2024). Известно о повышении антибиотикоустойчивости вследствие загрязнения почвы соединениями аммония (Gaze et al., 2005), меди (Berg et al., 2005; Hu et al., 2016) и тяжелых металлов (Knapp et al., 2011). Долговременное воздействие на почву никеля способствует увеличению потенциала горизонтального переноса генов антибиотикорезистентности (Hu et al., 2017).

В связи с этим необходимо обратить внимание и на другие неосознанные риски, связанные с трансформацией природных микробиомов в результате хозяйственной деятельности, поскольку резистентность клинически значимых бактерий происходит и эволюционирует из естественного резистоста.

Цель работы – сравнительная характеристика распространения антибиотикорезистентных актиномицетов в почвах, подвергаемых разным видам хозяйственного воздействия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве индикаторной группы микроорганизмов в работе использовали типичные почвенные бактерии – актиномицеты. Для них характерны высокие уровни устойчивости как средство самозащиты от разрушения собственными антибиотиками. Роль актиномицетов в формировании почвенного антибиотического резистоста отмечалась в литературе неоднократно (D'Costa et al., 2007, 2011; Fatahi-Bafghi, 2019).

Для выделения актиномицетов в чистые культуры были использованы почвенные образцы, отобранные в центральной части Кировской области, расположенной на северо-западной окраине Вятско-Камской провинции подзоны дерново-подзолистых почв южной тайги.

Участки отбора проб имели площадь около 100 м² каждый и были расположены на производственных территориях Мурашинского фанерного завода и Кирово-Чепецкого химического комбината, на территории медицинского учреждения, на площадке сбора и хранения твердых бытовых отходов (ТБО). Фоновым служил участок природного злаково-разнотравного луга. Образцы отбирали стандартным методом конверта, из верхнего почвенного слоя до глубины 10 см. Для каждого участка объединяли по пять индивидуальных проб, массой не менее 100 г.

Культуры актиномицетов выделяли при посеве из разведений почвенных суспензий на казеин-глицериновый агар (КГА) (Добровольская и др., 2010). Для ограничения роста немиецелиальных бактерий использовали селективный приём: прогревание почвы при 70°C в течение 4 ч. Инкубация посевов происходила при 28°C в течение двух недель, после чего проводили дифференцированный учёт выросших колоний по морфотипам и выделение культур для дальнейшей работы. Изоляты хранили в пробирках со скошенной овсяной средой при 4°C. После процедуры очистки принадлежность выделенных актиномицетов к определенному роду устанавливали, используя культуральные и морфологические признаки. Морфологические свойства исследовали при помощи светового микроскопа Leica DM 2500 (Carl Zeiss, Германия).

Из каждого образца при микробиологическом посеве было получено не менее 11 изолятов с типичными для рода *Streptomyces* культуральными и морфологическими признаками (Определитель бактерий Берджи, 1997). Выборочно штаммы идентифицировали с помощью метода молекулярной филогении. Первичный сравнительный анализ полученных нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S рРНК (ООО «Синтол», г. Москва) с последовательностями из базы данных GenBank проводили с помощью программы NCBI BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Парное выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы LALIGN (https://embnet.vital-it.ch/software/LALIGN_form.html).

Для определения чувствительности выделенных культур к антибиотикам использовали диски индикаторные ДИ-ПЛС-50-01 по ТУ 9398-001-39484474-2000 (НИЦФ, Россия, СПб) с антибиотиками в следующих концентрациях: 30 мкг канамицин (КАН); 20 мкг амоксициллин (АКЦ); 30 мкг налидиксовая кислота (НК); 1.25 / 23.75 мкг триметоприм/сульфаметоксазол (ТС); 30 мкг тетрациклин (ТЕТ); 30 мкг стрептомицин (СТР), 5 мкг рифампицин (РФМ); 300 ЕД полимиксин (ПОЛ); 15 мкг линкомицин (ЛНК), 15 мкг азитромицин (АРН), 30 мкг цефтриаксон (ЦРО), 10 мкг гентамицин (ГНЦ). Фиксировали величину диаметров зон ингибирования роста изолятов каждым антибиотиком в соответствии с инструкцией к тест-системе.

По результатам измерения зон ингибирования роста антибиотиками была построена тепловая карта с использованием электронного сервиса NG-CHM BUILDER (Ryan et al., 2019).

В выборках изолятов равного объёма, полученных из почв с различным хозяйственным использованием, определяли также долю/встречаемость (%) резистентных к каждому антибиотику штаммов.

Обработку результатов осуществляли методами непараметрической статистики Statistics Kingdom (2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Среднее количество актиномицетов, вырастающих на КГА при посеве из разведений почвенных суспензий, изменялось в зависимости от участка отбора пробы от десятков тысяч до сотен тысяч колониеобразующих единиц (КОЕ) в пересчете на 1 г в.-с. почвы (таблица).

Количественные показатели актинобиоты исследуемых почв

Table. Quantitative indicators of actinobionts in the studied soils

Обследуемая территория / Surveyed area	Общая численность прокариот, тыс. КОЕ/г в.-с. почвы / Total number of prokaryotes, thousand CFU/g a.-d. soil	Численность актиномицетов, тыс. КОЕ/г в.-с. почвы / Number of actinomycetes, thousand CFU/g a.-d. soil	Доля актиномицетов в прокариотном комплексе, % / The share of actinomycetes in the total number of prokaryotes, %	Количество выделенных для исследования культур, шт. / Number of cultures allocated for research, pcs.
Медицинское учреждение / Medical institution	398±23.8	232.5±10.5	46.73	12
Фанерный завод / Plywood Factory	396±25.7	32±2.0	8.08	12
Химический комбинат / Chemical Plant	169±38.0	24±5.0	14.20	12
Площадка сбора ТБО / Solid waste collection site	1368±68.3	54±0.5	3.95	11
Злаково-разнотравный луг / Grass-herb meadow	648±5.3	28±0.9	4.32	11

Наибольшей численностью актиномицетов (232.5±10.5 тыс. КОЕ/г) характеризовалась почва, отобранная на территории медицинского учреждения, тогда как максимальная общая численность прокариот (1368±68.3 тыс. КОЕ/г) обнаружена на площадке сбора и хранения ТБО. Доля актиномицетов в прокариотном комплексе исследуемых почв (3.9 – 46.7%) также варьировала в зависимости от конкретного микробиома.

В посевах преобладали колонии, микроскопия которых выявила типичные для рода *Streptomyces* морфологические признаки: нефрагментированный мицелий, длинные цепочки спор – на воздушном и отсутствие спор – на субстратном мицелии (Определитель бактерий Берджи, 1997). В общей сложности из исследуемых почв было выделено в чистую культуру 58 бактерий с характерными для рода *Streptomyces* морфологическими признаками. Выборочный анализ фрагментов гена 16S рРНК у изолятов данного морфотипа подтвердил, что выделенные культуры являются представителями рода *Streptomyces*, семейства Streptomycetaceae, порядка Kitasatosporales, класса Actinomycetes, филума Actinomycetota.

Культивирование штаммов на диагностических средах, согласно определителю (Гаузе и др., 1983), показало, что основным фон в исследуемых почвах состав-

ляют стрептомицеты, принадлежащие цветовым секциям и сериям *Cinereus Achromogenes*, *Cinereus Aureus*, *Helvolo-Flavus Helvolus*, достаточно часто встречались виды из серий *Albus Albus*, *Albus Albocoloratus*, *Cinereus Chromogenes*. Эти результаты согласуются с данными наших предыдущих исследований актинобиоты дерново-подзолистых почв умеренной зоны, в которых также преобладали виды, относящиеся к данным секциям и сериям (Широких и др., 2014; Завьялова и др., 2021). Таким образом, стрептомицетные комплексы исследуемых почв по численности и таксономическому составу не имели особенностей и соответствовали ранее выполненным описаниям комплексов актиномицетов в зональных дерново-подзолистых почвах (Звягинцев, Зенова, 2001).

Далее у полученных стрептомицетных изолятов определяли чувствительность / резистентность к антибиотикам из различных классов и разных механизмов действия. Для этого регистрировали величины зон ингибирования роста каждой культуры отдельными антибиотическими препаратами. Совокупность полученных данных визуализировали в виде тепловых карт при помощи NG-CHM BUILDER. Принадлежность отдельных изолятов к почвам с различным хозяйственным воздействием отображена на картах следующим образом: участок фоновой территории (БВ), территория фанерного завода (МФЗ), площадка сбора твердых бытовых отходов (ТБО), территория медицинского учреждения (Б) (рис. 1), территория химического комбината (КЧ) (рис. 2).

Величина зон ингибирования актиномицетов различными антибиотиками изменялась от 0 до 43 мм, что на тепловой карте показано переходом от холодного синего к теплomu красному цвету. При построении тепловой карты совокупность изолятов из почв различного хозяйственного назначения была разделена автоматизированным алгоритмом на три кластера. В первом кластере преобладали штаммы, выделенные из почвы в пределах территории медицинского учреждения (40.9%), во втором кластере – изоляты из почвы естественного злаково-разнотравного луга (фон) (40%). В третий кластер вошли в основном штаммы, выделенные из образца, отобранного на площадке сбора и хранения ТБО (62.5%), и в нем полностью отсутствуют штаммы, полученные из фоновой почвы.

Полученные для почв с различным антропогенным воздействием данные о чувствительности/резистентности их актинобиоты к антибиотикам из различных классов и разных механизмов действия позволили также кластеризировать и сами антибиотические препараты. В первом кластере представлены антибиотики, резистентность к которым при антропогенном воздействии значительно выше, чем у изолятов из фоновой почвы: налидиксовая кислота и линкомицин. Второй кластер объединил препараты, резистентность к которым у изолятов тоже высокая, но в меньшей степени, чем к предыдущим препаратам – это амоксициллин, азитромицин и цефтриаксон. В третий кластер вошли антибиотики, к которым у актиномицетов проявилась чувствительность: СТР, КАН, РИФ, ТС и ТЕТ.

Тепловая карта, построенная для выявления антибиотиков, в отношении которых проявляют резистентность штаммы из образца, отобранного на территории химического комбината, показала, что все тест-антибиотики автоматизированным алгоритмом распределены между двух кластеров (см. рис. 2). Первый объединил

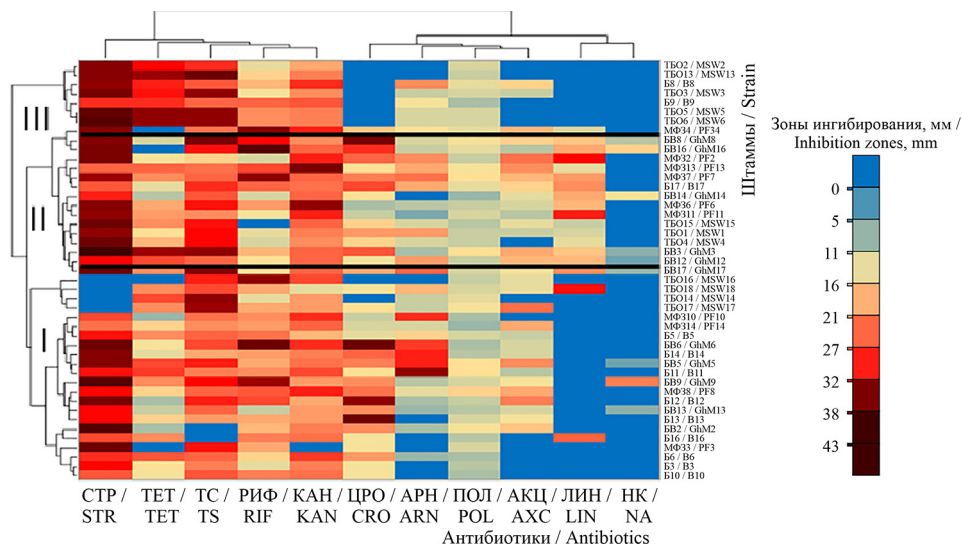


Рис. 1. Тепловая карта, отражающая различия в чувствительности / резистентности к 11 тест-антибиотикам (СТР – стрептомицин, ТЕТ – тетрациклин, ТС – триметоприм / сульфаметоксазол, РИФ – рифампицин, КАН – канамицин, ЦРО – цефтриаксон, АРН – азитромицин, ПОЛ – полимиксин, АКЦ – амоксициллин, ЛИН – линкомицин, НК – налидиксовая кислота) изолятов из почв, подвергнутых различным видам хозяйственного воздействия (ТБО – площадка сбора и хранения твердых бытовых отходов, Б – территория медицинского учреждения, МФЗ – территория фанерного завода, БВ – естественный злаково-разнотравный луг)

Fig. 1. Heat map reflecting differences in sensitivity / resistance to 11 test antibiotics (STR – streptomycin, TET – tetracycline, TS – trimethoprim / sulfamethoxazole, RIF – rifampicin, KAN – kanamycin, CRO – ceftriaxone, ARN – azithromycin, POL – polymyxin, AXC – amoxicillin, LIN – lincomycin, and NA – nalidixic acid) of isolates from soils subjected to various types of economic impact (MSW – the site of collection and storage of municipal solid waste, B – the territory of a medical institution, PF – the territory of a plywood factory, GhM – a natural grass-herb meadow)

препараты ТС, ТЕТ и гентамицин (из группы аминогликозидов), в отношении которых чувствительность изолятов, судя по величине зон ингибирования (20 – 45 мм), была достаточно высокой. Во второй кластер вошли антибиотики, к которым изоляты проявили резистентность: рифампицин, β -лактамы антибиотики амоксициллин и цефтриаксон, пептидный антибиотик полимиксин и налидиксовая кислота из группы хинолонов.

Наряду с анализом изменчивости зон ингибирования роста изолятов одним и тем же набором тест-антибиотиков, для выявления различий антибиотических резистомов между фоновой почвой и почвами участков, типизирующих различные виды хозяйственной деятельности, определяли частоту встречаемости/долю изолятов, чувствительных к антибактериальным препаратам. По результатам анализа, проведенного в выборках культур равного объема, полученных из каждого образца, были построены антибиотикограммы, отражающие долю штаммов, чувствительных к тест-антибиотикам в каждом почвенном образце (рис. 3). Выяснилось,

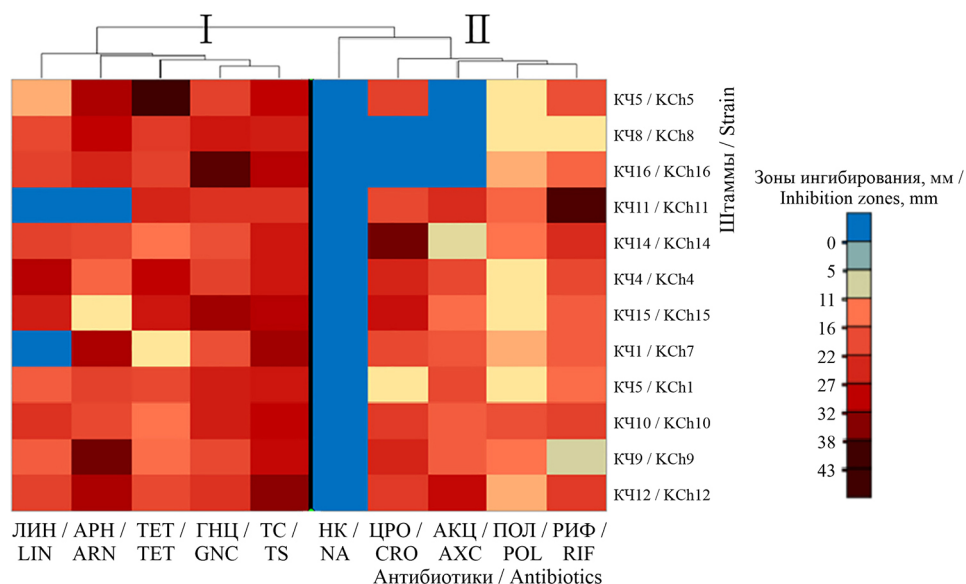


Рис. 2. Тепловая карта, отражающая различия в чувствительности / резистентности к 10 тест-антибиотикам (ЛИН – линкомицин, АРН – азитромицин, ТЕТ – тетрациклин, ГНЦ – гентамицин, ТС – триметоприм / сульфаметоксазол, НК – налидиксовая кислота, ЦРО – цефтриаксон, АКЦ – амоксициллин, ПОЛ – полимиксин, РИФ – рифампицин) изолятов из почвы, отобранной на территории химического комбината (КЧ)

Fig. 2. Heat map reflecting differences in sensitivity / resistance to 10 test antibiotics (LIN – lincomycin, ARN – azithromycin, TET – tetracycline, GNC – gentamicin, TS – trimethoprim / sulfamethoxazole, NA – nalidixic acid, CRO – ceftriaxone, AXC – amoxicillin, POL – polymyxin, RIF – rifampicin) of isolates from soil sampled on the territory of a chemical plant (KCh)

что по сравнению с фоном во всех почвах, испытывающих хозяйственное воздействие, отсутствуют штаммы, чувствительные к налидиксовой кислоте. В выборках стрептомицетов, выделенных из этих почв, существенно меньше доля изолятов, чувствительных к амоксициллину (на 20 – 50%). Встречаемость чувствительных штаммов к другому β -лактамному антибиотику цефтриаксону в выборках стрептомицетов с площадки сбора ТБО и территории химического комбината была ниже по сравнению с аналогичным показателем для фоновой почвы на 60 и 20% соответственно. В большинстве выборок стрептомицетных культур, выделенных из почв, задействованных в хозяйственной деятельности, наблюдали меньшую, чем в фоновой почве, долю штаммов, чувствительных также к азитромицину (на 5 – 50%). Встречаемость почвенных изолятов с чувствительностью к линкомицину в выборках с территории медицинского учреждения и площадки сбора ТБО была ниже по сравнению с фоном на 20 – 40%, тогда как в почвах, отобранных на территории промышленных предприятий – фанерного завода и химического комбината такая тенденция не прослеживалась.

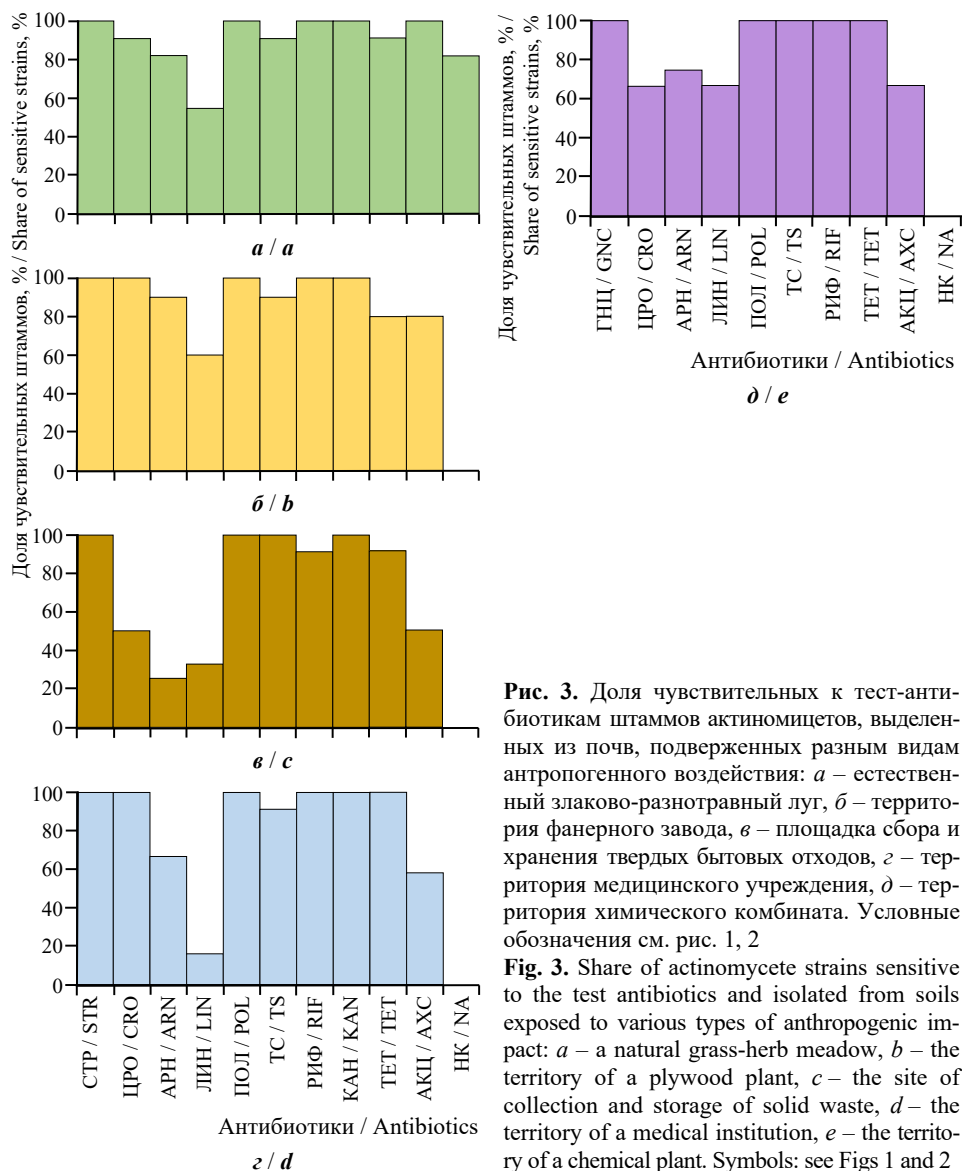


Рис. 3. Доля чувствительных к тест-антибиотикам штаммов актиномицетов, выделенных из почв, подверженных разным видам антропогенного воздействия: *а* – естественный злаково-разнотравный луг, *б* – территория фанерного завода, *в* – площадка сбора и хранения твердых бытовых отходов, *г* – территория медицинского учреждения, *д* – территория химического комбината. Условные обозначения см. рис. 1, 2

Fig. 3. Share of actinomycete strains sensitive to the test antibiotics and isolated from soils exposed to various types of anthropogenic impact: *a* – a natural grass-herb meadow, *b* – the territory of a plywood plant, *c* – the site of collection and storage of solid waste, *d* – the territory of a medical institution, *e* – the territory of a chemical plant. Symbols: see Figs 1 and 2

Сочетание в оценке антибиотических резистомов двух показателей – изменчивости зон ингибирования роста изолятов антибиотическими препаратами и относительной доли/частоты встречаемости изолятов с чувствительностью к этим же препаратам в выборках равного объема, позволило выявить антибиотики, рези-

стентность к которым среди почвенных бактерий рода *Streptomyces* значимо выше в почвах, подверженных различным видам хозяйственного использования – это налидиксовая кислота (группа хинолонов), амоксициллин (группа β -лактамов) и азитромицин (группа макролидов). Среди почвенных изолятов, полученных с участка сбора ТБО и на территории медицинского учреждения, по сравнению с фоном значимо ($P < 0.05$) выше доля штаммов, резистентных к линкомицину и азитромицину.

Наземные резервуары устойчивости к антибиотикам традиционно связаны с антропогенной деятельностью, такой как внесение навоза и твердых бытовых отходов, орошение сточными водами или применение антибиотических соединений в растениеводстве и ветеринарии (Сазыкин и др., 2021). Все это способствует накоплению в почвах антибиотических соединений в остаточных концентрациях, которые служат селективным фоном к направленному отбору устойчивых бактерий и генов антибиотикорезистентности, способствуя эволюции существующих и появлению новых детерминант устойчивости (Berglund, 2015). Но влияние экологического состояния почвы на природные резистомы не ограничивается лишь антибиотиками. Многие исследования показали, что антибиотики и тяжелые металлы, как экологические токсиканты, сталкиваясь в клетках с одними и теми же мишенями, инициируют путь к апоптозу или же, напротив, способствуют эволюционному развитию одних и тех же механизмов устойчивости в результате коселекции соответствующих детерминант резистентности (Kozhevin et al., 2013; Seiler, Berendonk, 2012). Из литературы известно, что распространению устойчивости в почвенных популяциях микроорганизмов способствуют также многие другие поллютанты (Ажогина и др., 2020), в их числе ароматические углеводороды (Sun et al., 2015), пестициды (Ramakrishnan et al., 2019), микропластик (Lu et al., 2020) и пр., суммарное влияние которых на природный резистом в условиях *in situ* сложно разграничить. Оценка антибиотикоустойчивости природных изолятов актинобактерий с использованием двух предложенных показателей позволит своевременно выявлять изменения почвенных резистомов, обусловленные комплексом загрязняющих веществ, в зависимости от вида антропогенного воздействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с угрожающими темпами глобального распространения устойчивости патогенов к антимикробным препаратам, в частности, антибиотикам, гены антибиотикорезистентности рассматриваются в настоящее время как новый класс антропогенных биологических поллютантов, которые способны накапливаться в окружающей среде. Природным резервуаром антибиотикорезистентности является почва, где посредством мобильных генетических элементов может осуществляться горизонтальный перенос генов в клинически значимые патогенные виды, что создает риски для эффективности антибиотиков как лекарственных средств. Использование двух предложенных в работе показателей – изменчивости зон ингибирования роста антибиотиками и относительной доли / частоты встречаемости природных изолятов с чувствительностью к этим же препаратам в выборках равного объема, позволило выявить изменения почвенных резистомов в почвах, подвер-

женных разным видам хозяйственной деятельности. В результате исследований, выполненных на индикаторной группе почвенных актиномицетов, определены группы антибиотиков – хинолоны и β -лактамы – устойчивость к которым у природных изолятов значимо выше, чем у изолятов из почвы фоновой территории, если они получены из почв, подверженных разным видам хозяйственной деятельности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ажогоина Т. Н., Скугорева С. Г., Аль-Раммахи А. А. К., Гненная Н. В., Сазыкина М. А., Сазыкин И. С. Влияние поллютантов на распространение генов устойчивости к антибиотикам в окружающей среде // Теоретическая и прикладная экология. 2020. № 3. С. 6 – 14. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-3-006-014>

Гаузе Г. Ф., Преображенская Т. П., Свешикова М. А., Терехова Л. П., Максимова Т. С. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia*. М.: Наука, 1983. 248 с.

Добровольская Т. Г., Головченко А. В., Лысак Л. В., Зенова Г. М. Физикохимия и биология торфа. Методы оценки численности и разнообразия бактериальных и актиномицетных комплексов торфяных почв. Томск: Издательство ТГПУ, 2010. 97 с.

Завьялова Н. Е., Широких И. Г., Васбиева М. Т., Фомин Д. С. Влияние различных типов землепользования на прокариотные сообщества и стабилизацию органического вещества дерново-подзолистой почвы // Почвоведение. 2021. № 2. С. 232 – 239. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21020167>

Зверева В. В., Бойченко М. Н. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: в 2 т. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. Т. 1. 448 с.

Звягинцев Д. Г., Зенова Г. М. Экология актиномицетов. М.: ГЕОС, 2001. 256 с.

Сазыкин И. С., Хмелевцова Л. Е., Селиверстова Е. Ю., Сазыкина М. А. Влияние антибиотиков, используемых в животноводстве, на распространение лекарственной устойчивости бактерий (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2021. Т. 57, № 1. С. 24 – 35. <https://doi.org/10.31857/S0555109921010335>

Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / под ред. Дж. Хоулт, Н. Криг, П. Снит, Дж. Стейли, С. С. Уильямс. М.: Мир, 1997. Т. 2. 800 с.

Широких И. Г., Соловьева Е. С., Ашихмина Т. Я. Комплексы актиномицетов в почвах промышленной и селитебной зон Кирова // Почвоведение. 2014. № 2. С. 203 – 209. <https://doi.org/10.7868/S0032180X13100122>

Afshinnkoo E., Bhattacharya C., Burguete-García A., Castro-Nallar E., Deng Y., Desnues C., Dias-Neto E., Elhaik E., Iraola G., Jang S. COVID-19 drug practices risk antimicrobial resistance evolution // The Lancet Microbe. 2021. Vol. 2, no. 4. P. 135 – 136. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00039-2](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00039-2)

Aljeldah M. M. Antimicrobial resistance and its Spread Antimicrobial resistance and its Spread is a global threat // Antibiotics. 2022. Vol. 11, iss. 8. Article number 1082. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081082>

Berg J., Tom-Petersen A., Nybroe O. Copper amendment of agricultural soil selects for bacterial antibiotic resistance in the field // Letters in Applied Microbiology. 2005. Vol. 40, iss. 2. P. 146 – 151. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01650.x>

Berglund B. Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and correlation to anthropogenic contamination with antibiotics // Infection Ecology & Epidemiology. 2015. Vol. 5, iss. 1. Article number 28564. <https://doi.org/10.3402/iee.v5.28564>

Blair J. M., Webber M. A., Baylay A. J., Ogbolu D. O., Piddock L. J. Molecular mechanisms of antibiotic resistance // *Nature Reviews Microbiology*. 2015. Vol. 13, iss. 1. P. 42 – 51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>

Cytryn E. The soil resistome: The anthropogenic, the native, and the unknown // *Soil Biology and Biochemistry*. 2013. Vol. 63. P. 18 – 23. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.03.017>

D'Costa V. M., Griffiths E., Wright G. D. Expanding the soil antibiotic resistome: Exploring environmental diversity // *Current Opinion in Microbiology*. 2007. Vol. 10, iss. 5. P. 481 – 489. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2007.08.009>

D'Costa V. M., McGrann K. M., Hughes D. W., Wright G. D. Sampling the antibiotic resistome // *Science*. 2006. Vol. 311, № 5759. P. 374 – 377. <https://doi.org/10.1126/science.1120800>

D'Costa V. M., King C. E., Kalan L., Morar M., Sung W. W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne R., Golding G. B., Poinar H. N., Wright G. D. Antibiotic resistance is ancient // *Nature*. 2011. Vol. 477, № 7365. P. 457 – 461. <https://doi.org/10.1038/nature10388>

Fatahi-Bafghi M. Antibiotic resistance genes in the Actinobacteria phylum // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2019. Vol. 38, iss. 9. P. 1599 – 1624. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03580-5>

Finley R. L., Collignon P., Larsson D. J., McEwen S. A., Li X. Z., Gaze W. H., Topp E. The scourge of antibiotic resistance: The important role of the environment // *Clinical Infectious Diseases*. 2013. Vol. 57, iss. 5. P. 704 – 710. <https://doi.org/10.1093/cid/cit355>

Gaze W. H., Abdousslam N., Hawkey P. M., Wellington E. M. H. Incidence of class 1 integrons in a quaternary ammonium compound-polluted environment // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2005. Vol. 49, iss. 5. P. 1802 – 1807. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.5.1802-1807.2005>

Getahun H., Smith I., Trivedi K., Paulin S., Balkhy H. H. Tackling antimicrobial resistance in the COVID-19 pandemic // *Bulletin of the World Health Organization*. 2020. Vol. 98, iss. 7. P. 442 – 442A. <https://doi.org/10.2471/BLT.20.268573>

Hu H. W., Wang J. T., Li J., Li J. J., Ma Y. B., Chen D., He J. Z. Field-based evidence for copper contamination induced changes of antibiotic resistance in agricultural soils // *Environmental Microbiology*. 2016. Vol. 18, iss. 11. P. 3896 – 3909. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13370>

Hu H. W., Wang J. T., Li J., Shi X. Z., Ma Y. B., Chen D., He J. Z. Long-term nickel contamination increases the occurrence of antibiotic resistance genes in agricultural soils // *Environmental Science & Technology*. 2017. Vol. 51, iss. 2. P. 790 – 800. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03383>

Ikhimiukor O. O., Odih E. E., Donado-Godoy P., Okeke I. N. A bottom-up view of antimicrobial resistance transmission in developing countries // *Nature Microbiology*. 2022. Vol. 7, iss. 6. P. 757 – 765. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01124-w>

Knapp C. W., McCluskey S. M., Singh B. K., Campbell C. D., Hudson G., Graham D. W. L. Antibiotic resistance gene abundances correlate with metal and geochemical conditions in archived Scottish soils // *PLoS ONE*. 2011. Vol. 6, iss. 11. Article number e27300. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027300>

Kozhevnikov P. A., Vinogradova K. A., Bulgakova V. G. The soil antibiotic resistome // *Moscow University Soil Science Bulletin*. 2013. Vol. 68, iss. 2. P. 53 – 59. <https://doi.org/10.3103/S014768741302004X>

Liu S., Han Z., Zhu D., Luan X., Deng L., Dong L., Zhang Y. Field-based evidence for the enrichment of intrinsic antibiotic resistome stimulated by plant-derived fertilizer in agricultural soil // *Journal of Environmental Sciences*. 2024. Vol. 135. P. 728 – 740. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2022.08.009>

Livermore D. M. Antibiotic resistance during and beyond COVID-19 // *JAC-Antimicrobial Resistance*. 2021. Vol. 3, suppl. 1. P. 5 – 16. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab109>

Lu X. M., Lu P. Z., Liu X. P. Fate and abundance of antibiotic resistance genes on microplastics in facility vegetable soil // *Science of the Total Environment*. 2020. Vol. 709. Article number 136276. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136276>

O'Neill J. Antimicrobial resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations // *The Review on Antimicrobial Resistance*. 2014. Vol. 20. P. 1 – 16.

Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N., Megharaj M. Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance? // *Science of the Total Environment*. 2019. Vol. 654. P. 177 – 189. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.041>

Ryan M. C., Stucky M., Wakefield C., Melott J. M., Akbani R., Weinstein J. N., Broom B. M. Interactive clustered heat map builder: An easy web-based tool for creating sophisticated clustered heat maps // *F1000Research*. 2019. Vol. 8. Article number 1750. <https://doi.org/10.12688/f1000research.20590.2>

Seiler C., Berendonk T. U. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture // *Frontiers in Microbiology*. 2012. Vol. 3. Article number 399. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00399>

Sun M., Ye M., Wu J., Feng Y., Shen F., Tian D., Liu K., Hu F., Li H., Jiang X., Yang L., Kengara F. Impact of bioaccessible pyrene on the abundance of antibiotic resistance genes during *Sphingobium* sp.-and sphorolipid-enhanced bioremediation in soil // *Journal of Hazardous Materials*. 2015. Vol. 300. P. 121 – 128. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.06.065>

Walsh F., Duffly B. The culturable soil antibiotic resistome: A community of multi-drug resistant bacteria // *PloS ONE*. 2013. Vol. 8, iss. 6. Article number e65567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065567>

Wright G. D. Q&A: Antibiotic resistance: Where does it come from and what can we do about it? // *BMC Biology*. 2010. Vol. 8. Article number 123. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-8-123>

Spread of antibiotic-resistant actinobacteria in soils exposed to various types of anthropogenic impact

I. G. Shirokikh ^{1, 2✉}, E. A. Gembitskaya ¹, T. Ya. Ashikhmina ²

¹ Federal Agrarian Scientific Center of the North-East named after N. V. Rudnitsky
166a Lenin St., Kirov 610007, Russia

² Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS
28 Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Republic of Komi 167982, Russia

Received: August 8, 2023 / revised: October 3, 2023 / accepted: October 6, 2023 / published: March 20, 2024

Abstract. The work investigated the spectra of resistance to a certain set of antibiotics and the frequency of occurrence of resistant strains among typical soil bacteria – actinomycetes. Equal samples of isolates from sod-podzolic soil were used, selected at sites typifying various types of economic activity, namely: the production areas of a plywood factory and a chemical plant, the territory of a medical institution, and a solid waste collection and storage site. A total of 58 isolates with features characteristic of actinomycetes of the genus *Streptomyces* of the sections *Cinereus*, *Helvolum*, *Flavus* and *Albus* were obtained. It has been established that various types of economic activity lead to specific changes in the antibiotic resistance, which characterizes the soil of a natural grass-meadow (back-ground). Isolates with resistance to nalidixic acid, amoxicillin and ceftriaxone were found in the sample taken on the territory of the chemical plant more often than in the soil of the background site. The proportion of strains resistant to nalidixic acid, lincomycin and azithromycin was significantly ($P < 0.05$) higher in the soil samples taken at the MSW collection site and the territory of the medical institution, while those resistant to nalidixic acid and amoxicillin were in the sample from the plywood factory. Groups of antibiotics (quinolones – nalidixic acid, and β -lactams – amoxicillin and ceftriaxone) were identified, the resistance to which in streptomyces isolates from soils involved in economic activity was significantly higher than in soil isolates from the background territory. The data obtained in the work indicate the need to monitor the spread of antibiotic resistance in soils that are not only at risk of accumulation of residual concentrations of antibiotics, but also other consequences of anthropogenic influences.

Keywords: sod-podzolic soil, anthropogenic impact, antibacterial drugs, *Streptomyces*, antibiotic resistance

Funding. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Institute of Biology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences on the theme “Structure and Condition of Components of Anthropogenic Ecosystems of the Southern Taiga Subzone” (state registration in EGISU No. 122040100032-5) and the state assignment of Federal Agrarian Scientific Center of the North-East named after N. V. Rudnitsky (No. FNWE-2022-0005).

Ethics approval and consent to participate: This work does not contain any studies involving human and animal subjects.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

✉ *Corresponding author.* Laboratory of Plant and Microorganism Biotechnology, Federal Agrarian Scientific Center of the North-East named after N. V. Rudnitsky, Russia.

ORCID and e-mail addresses: Irina G. Shirokikh: <https://orcid.org/0000-0002-3319-2729>, irgenal@mail.ru; Ekaterina A. Gembitskaya: <https://orcid.org/0009-0000-4091-1237>, ekgemb@mail.ru; Tamara Ya. Ashikhmina: <https://orcid.org/0000-0003-4919-0047>, ecolab2@gmail.com.

For citation: Shirokikh I. G., Gembitskaya E. A., Ashikhmina T. Ya. Spread of antibiotic-resistant actinobacteria in soils exposed to various types of anthropogenic impact. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2024, no. 1, pp. 98–114 (in Russian). <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2024-1-98-114>

REFERENCES

- Azhogina T. N., Skugoreva S. G., Al-Rammahi A. A. K., Gnennaya N. V., Sazykina M. A., Sazykin I. S. Influence of pollutants on the spread of antibiotic resistance genes in the environment. *Theoretical and Applied Ecology*, 2020, no. 3, pp. 6–14 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-3-006-014>
- Gause G. F., Preobrazhenskaya T. P., Sveshnikova M. A., Terekhova L. P., Maksimova T. S. *Opredelitel' aktinomisetov. Rody Streptomyces, Streptovorticillium, Chainia* [The Determinant of Actinomycetes. Genera of *Streptomyces*, *Streptovorticillium*, *Chainia*]. Moscow, Nauka, 1983. 248 p. (in Russian).
- Dobrovolskaya T. G., Golovchenko A. V., Lysak L. V., Zenova G. M. *Fizikokhimiya i biologiya torfa. Metody otsenki chislennosti i raznoobraziya bakterial'nykh i aktinomisetnykh kompleksov torfianykh pochv* [Physicochemistry and Biology of Peat. Methods for Estimating the Abundance and Diversity of Bacterial and Actinomycete Complexes of Peat Soils]. Tomsk, Tomsk State Pedagogical University Publ., 2010. 97 p. (in Russian).
- Zavyalova N. E., Shirokikh I. G., Vasbieva M. T., Fomin D. S. Influence of different types of land use on prokaryotic communities and organic matter stabilization in soddy-podzolic soil. *Eurasian Soil Science*, 2021, vol. 54, no. 2, pp. 232–239. <https://doi.org/10.1134/S1064229321020162>
- Zvereva V. V., Boychenko M. N. *Meditinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya: v 2 t.* [Medical Microbiology, Virology and Immunology: in 2 vols]. Moscow, GEOTAR-Media, 2010, vol. 1. 448 p. (in Russian).
- Zvyagintsev D. G., Zenova G. M. *Ekologiya aktinomisetov* [Ecology of Actinomycetes]. Moscow, GEOS, 2001. 256 p. (in Russian).
- Sazykin I. S., Khmelevtsova L. E., Seliverstova E. Y., Sazykina M. A. Effect of antibiotics used in animal husbandry on the distribution of bacterial drug resistance (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2021, vol. 57, no. 1, pp. 20–30. <https://doi.org/10.1134/S0003683821010166>
- Hoult J., Krieg N., Snit P., Staley J., Williams S. S., eds. *The Determinant of Bergi Bacteria*: in 2 vols. Moscow, Mir, 1997, vol. 2. 800 p. (in Russian).
- Shirokikh I. G., Solov'eva E. S., Ashikhmina T. Y. Actinomycete complexes in soils of industrial and residential zones in the city of Kirov. *Eurasian Soil Science*, 2014, vol. 47, no. 3, pp. 89–95. <https://doi.org/10.1134/S1064229313100062>
- Afshinnkoo E., Bhattacharya C., Burguete-García A., Castro-Nallar E., Deng Y., Desnues C., Dias-Neto E., Elhaik E., Iraola G., Jang S. COVID-19 drug practices risk antimicrobial resistance evolution. *The Lancet Microbe*, 2021, vol. 2, no. 4, pp. 135–136. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00039-2](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00039-2)
- Aljeldah M. M. Antimicrobial resistance and its Spread Antimicrobial resistance and its Spread is a global threat. *Antibiotics*, 2022, vol. 11, iss. 8, article no. 1082. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11081082>
- Berg J., Tom-Petersen A., Nybroe O. Copper amendment of agricultural soil selects for bacterial antibiotic resistance in the field. *Letters in Applied Microbiology*, 2005, vol. 40, iss. 2, pp. 146–151. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01650.x>
- Berglund B. Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and correlation to anthropogenic contamination with antibiotics. *Infection Ecology & Epidemiology*, 2015, vol. 5, iss. 1, article no. 28564. <https://doi.org/10.3402/iee.v5.28564>

Blair J. M., Webber M. A., Baylay A. J., Ogbolu D. O., Piddock L. J. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, vol. 13, iss. 1, pp. 42–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>

Cytryn E. The soil resistome: The anthropogenic, the native, and the unknown. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, vol. 63, pp. 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.03.017>

D'Costa V. M., Griffiths E., Wright G. D. Expanding the soil antibiotic resistome: Exploring environmental diversity. *Current Opinion in Microbiology*, 2007, vol. 10, iss. 5, pp. 481–489. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2007.08.009>

D'Costa V. M., McGrann K. M., Hughes D. W., Wright G. D. Sampling the antibiotic resistome. *Science*, 2006, vol. 311, no. 5759, pp. 374–377. <https://doi.org/10.1126/science.1120800>

D'Costa V. M., King C. E., Kalan L., Morar M., Sung W. W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne R., Golding G. B., Poinar H. N., Wright G. D. Antibiotic resistance is ancient. *Nature*, 2011, vol. 477, no. 7365, pp. 457–461. <https://doi.org/10.1038/nature10388>

Fatahi-Bafghi M. Antibiotic resistance genes in the Actinobacteria phylum. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2019, vol. 38, iss. 9, pp. 1599–1624. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03580-5>

Finley R. L., Collignon P., Larsson D. J., McEwen S. A., Li X. Z., Gaze W. H., Topp E. The scourge of antibiotic resistance: The important role of the environment. *Clinical Infectious Diseases*, 2013, vol. 57, iss. 5, pp. 704–710. <https://doi.org/10.1093/cid/cit355>

Gaze W. H., Abdouslam N., Hawkey P. M., Wellington E. M. H. Incidence of class 1 integrons in a quaternary ammonium compound-polluted environment. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, vol. 49, iss. 5, pp. 1802–1807. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.5.1802-1807.2005>

Getahun H., Smith I., Trivedi K., Paulin S., Balkhy H. H. Tackling antimicrobial resistance in the COVID-19 pandemic. *Bulletin of the World Health Organization*, 2020, vol. 98, iss. 7, pp. 442–442A. <https://doi.org/10.2471/BLT.20.268573>

Hu H. W., Wang J. T., Li J., Li J. J., Ma Y. B., Chen D., He J. Z. Field-based evidence for copper contamination induced changes of antibiotic resistance in agricultural soils. *Environmental Microbiology*, 2016, vol. 18, iss. 11, pp. 3896–3909. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13370>

Hu H. W., Wang J. T., Li J., Shi X. Z., Ma Y. B., Chen D., He J. Z. Long-term nickel contamination increases the occurrence of antibiotic resistance genes in agricultural soils. *Environmental Science & Technology*, 2017, vol. 51, iss. 2, pp. 790–800. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03383>

Ikhimiukor O. O., Odih E. E., Donado-Godoy P., Okeke I. N. A bottom-up view of antimicrobial resistance transmission in developing countries. *Nature Microbiology*, 2022, vol. 7, iss. 6, pp. 757–765. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01124-w>

Knapp C. W., McCluskey S. M., Singh B. K., Campbell C. D., Hudson G., Graham D. W. L. Antibiotic resistance gene abundances correlate with metal and geochemical conditions in archived Scottish soils. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, iss. 11, article no. e27300. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027300>

Kozhevnikov P. A., Vinogradova K. A., Bulgakova V. G. The soil antibiotic resistome. *Moscow University Soil Science Bulletin*, 2013, vol. 68, iss. 2, pp. 53–59. <https://doi.org/10.3103/S014768741302004X>

Liu S., Han Z., Zhu D., Luan X., Deng L., Dong L., Zhang Y. Field-based evidence for the enrichment of intrinsic antibiotic resistome stimulated by plant-derived fertilizer in agricultural soil. *Journal of Environmental Sciences*, 2024, vol. 135, pp. 728–740. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2022.08.009>

Livermore D. M. Antibiotic resistance during and beyond COVID-19. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 2021, vol. 3, suppl. 1, pp. 5–16. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab109>

Lu X. M., Lu P. Z., Liu X. P. Fate and abundance of antibiotic resistance genes on microplastics in facility vegetable soil. *Science of the Total Environment*, 2020, vol. 709, article no. 136276. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136276>

O'Neill J. Antimicrobial resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. *The Review on Antimicrobial Resistance*, 2014, vol. 20, pp. 1–16.

Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N., Megharaj M. Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance? *Science of the Total Environment*, 2019, vol. 654, pp. 177–189. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.041>

Ryan M. C., Stucky M., Wakefield C., Melott J. M., Akbani R., Weinstein J. N., Broom B. M. Interactive clustered heat map builder: An easy web-based tool for creating sophisticated clustered heat maps. *F1000Research*, 2019, vol. 8, article no. 1750. <https://doi.org/10.12688/f1000research.20590.2>

Seiler C., Berendonk T. U. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. *Frontiers in Microbiology*, 2012, vol. 3, article no. 399. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00399>

Sun M., Ye M., Wu J., Feng Y., Shen F., Tian D., Liu K., Hu F., Li H., Jiang X., Yang L., Kengara F. Impact of bioaccessible pyrene on the abundance of antibiotic resistance genes during *Sphingobium* sp.-and sphorolipid-enhanced bioremediation in soil. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, vol. 300, pp. 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.06.065>

Walsh F., Duffy B. The culturable soil antibiotic resistome: A community of multi-drug resistant bacteria. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, iss. 6, article no. e65567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065567>

Wright G. D. Q&A: Antibiotic resistance: Where does it come from and what can we do about it? *BMC Biology*, 2010, vol. 8, article no. 123. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-8-123>