

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВАХ: ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

© 2024 г. И. С. Сазыкин^а, М. А. Сазыкина^{а, *}, А. Р. Лицевич^а

^аЮжный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии
им. Д.И. Иванковского, Ростов-на-Дону, 344006 Россия

*e-mail: samara@sfedu.ru

Поступила в редакцию 19.04.2024 г.

После доработки 31.05.2024 г.

Принята к публикации 06.06.2024 г.

В обзоре рассмотрены вопросы, связанные с распространением генов антибиотикорезистентности в микробных сообществах окружающей среды. Отмечены “горячие точки” адаптивной эволюции, накопления и распространения антибиотикорезистентных бактерий и генетического материала резистентности к антибиотикам. К таким “горячим точкам” относятся антропогенные экосистемы, такие как очистные сооружения муниципальных сточных вод, полигоны твердых коммунальных отходов, животноводческие предприятия и агроценозы. Рассмотрено влияние различных типов поллютантов и биотических факторов на усиление мутагенеза и горизонтального переноса генов резистентности к антибиотикам. Показана роль мобильных генетических элементов в мобилизации и ускоренном распространения детерминант резистентности. Отдельное внимание уделено роли окислительного стресса и стрессовых регулонов, которые активируются для реализации и контроля молекулярно-генетических механизмов адаптивной эволюции бактерий и при горизонтальном распространении генетического материала в бактериальных популяциях. Окислительный стресс выделен как один из основных активаторов дестабилизации генома и адаптивной эволюции бактерий.

Ключевые слова: бактерии, гены антибиотикорезистентности, горизонтальный перенос генов, мутагенез, поллютанты, ксенобиотики, окислительный стресс

DOI: 10.31857/S0026898424060056, EDN: HMZHOY

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия значительно увеличилось количество штаммов бактерий, обладающих множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Соответственно сократился репертуар эффективных антибиотиков, пригодных для клинической практики. По этой причине возрос интерес к природным микробиомам как к источникам новых антибиотиков и генов антибиотикорезистентности (АРГ) [1]. С одной стороны, природные микробные сообщества — это источник АРГ ко всем уже применявшимся в клинике и ветеринарии, перспективным и даже еще не открытым антибиотикам естественного происхождения. С другой стороны, разнообразные таксоны микроорганизмов, включая почвенные

бактерии и грибы, служат резервуаром природных антибиотиков [2].

Антибиотики, как средства коммуникации и конкуренции популяций, появились у древних микроорганизмов задолго до того, как они были открыты. Вероятно, и антибиотики, и АРГ эволюционировали в природных микробных сообществах на протяжении миллиардов лет [3]. Хотя именно природные микробиомы — источник и резервуар АРГ, необходимо учитывать, что в окружающую среду постоянно возвращаются штаммы, мутировавшие под действием антибиотиков в антропогенных условиях, подвергшиеся адаптивной эволюции и селективному отбору [4]. Можно сказать, что постоянно происходит круговорот генов резистомы между

Сокращения: АПГ — агенты переноса генов; АРБ — антибиотикорезистентные бактерии; АРГ — гены антибиотикорезистентности; АФК — активные формы кислорода; ГПГ — горизонтальный перенос генов; МЛУ — множественная лекарственная устойчивость; МГЭ — мобильные генетические элементы; СОД — супероксиддисмутаза; IS-элементы — инсерционные последовательности; Rif-мутанты — мутанты бактерий, устойчивые к действию рифампицина.

антропогенными микробиомами и природными микробными сообществами.

К настоящему моменту АРГ признаны новым классом антропогенных биологических поллютантов [5, 6], способных самостоятельно распространяться в окружающей среде, испытывающей антропогенный прессинг, и опасных для здоровья человека.

В исследованиях почвенных коллекций за последние 70 лет выявлено, что содержание АРГ в образцах неуклонно растет с расширением производства антибиотиков [7, 8]. Один из ведущих факторов, под влиянием которого растет число и скорость распространения АРГ, — антропогенное загрязнение окружающей среды. Мобилизация АРГ и рост содержания антибиотикорезистентных бактерий (АРБ) в природных экосистемах под влиянием деятельности человека привели к появлению термина “экологическая устойчивость к антибиотикам” [9].

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АРГ БАКТЕРИЙ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ

В настоящее время для исследования распространения и распространения АРГ используют множество подходов, включая методы выделения и изучения чистых культур, разные форматы ПЦР-анализа, ДНК-микрочипы и метагеномику [10]. Эти методы позволяют дать точную количественную и пространственную оценку распространения АРБ и АРГ, а также исследовать генетическое и функциональное разнообразия резистома окружающей среды [11].

В последние годы для определения содержания целевых АРГ в мусоре и фильтрах полигонов твердых коммунальных отходов широко использовали метод количественной ПЦР. Установлено, что гены устойчивости к сульфаниламидам, β -лактамам, тетрациклинам, макролидам, аминогликозидам, фторхинолонам, а также МЛУ присутствуют в клетках бактерий, обнаруженных в бытовых отходах и фильтрах свалок [10].

Однако применение метода ПЦР для исследования АРГ накладывает свои ограничения. Из-за необходимости синтеза и верификации праймеров в одной работе, как правило, исследуют лишь несколько типов АРГ: например, *sul1*, *sul2*, *tetO*, *tetW* и *ermB* [12]. Более того, из-за низкой пропускной способности и систематической ошибки амплификации рутинной и количественной ПЦР комплексный анализ АРГ бактерий, обнаруживаемых на свалках, затруднен.

Метагеномный анализ, основанный на высокопроизводительном секвенировании, — мощ-

ный инструмент, лишенный ограничений ПЦР. Метагеномный анализ успешно использовали для определения АРГ бактерий в активном иле [13] и стоках очистных сооружений [14]. Однако подобных исследований проводится гораздо меньше, чем основанных на применении ПЦР. Zhao с соавт. [15] применили метагеномный подход для изучения спектра и распределения АРГ в бактериях, обитающих в фильтрах свалок 12 городов Китая, и обнаружили 562 АРГ, среди которых доминировали гены резистентности к сульфаниламидам, макролидам-линкозамидам-стрептограмину, аминогликозидам, тетрациклину и МЛУ. Другая группа исследователей на основании метагеномного подхода проанализировала динамику и закономерности изменения спектра АРГ и изучила состав бактериального сообщества при разложении мусора, а также взаимосвязь между АРГ и бактериальными сообществами [16].

Кроме того, по мере роста интереса к изучению резистомов природных и антропогенно измененных микробных сообществ репертуар доступных праймеров для АРГ также увеличивается. Gorecki с соавт. [17] создали базу данных ПЦР-праймеров для обнаружения АРГ бактерий в различных средах. База основана на литературных источниках, поддерживается вручную и включает 629 пар ПЦР-праймеров для АРГ. Таким образом, в настоящее время ПЦР можно использовать для обнаружения АРГ бактерий в различных образцах окружающей среды. С использованием 296 пар праймеров и метода высокопроизводительной количественной ПЦР исследовано содержание АРГ в грунтовых водах полигонов твердых коммунальных отходов [18]. Используемые праймеры “покрывали” все основные типы АРГ. Наиболее распространенными оказались гены МЛУ, а также устойчивости к β -лактамам и тетрациклину.

ИСТОЧНИКИ ПОСТУПЛЕНИЯ АНТРОПОГЕННО ИЗМЕНЕННЫХ АРГ В ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ

Очистные сооружения сточных вод

Одной из наиболее “горячих точек” кратного увеличения количества АРГ и источником поступления АРБ и АРГ в окружающую среду служат очистные сооружения муниципальных сточных вод. Причина кроется в постоянном притоке АРБ, АРГ, антибиотиков, их метаболитов и других поллютантов, высокая плотность бактерий и циркуляция активного ила [19–21].

Муниципальные очистные сооружения принимают для очистки сточные воды, богатые легко метаболизируемым органическим веществом,

которое служит питательной средой микробного сообщества. Кроме того, стоки содержат вещества, вызывающие стресс у бактерий. К таким соединениям относятся продукты органического синтеза, включая ксенобиотики, антибиотики и их метаболиты, а также соли металлов и их соединения. Эти вещества формируют микробиом очистных сооружений — в первую очередь, состоящий из микроорганизмов, устойчивых к стрессу, вызываемому поллютантами [22]. В сочетании с большим количеством питательных субстратов, тесным пространственным контактом бактериальных клеток во флоккулах активного ила, стабильными температурой и кислотностью среды вещества-стрессоры также способствуют горизонтальному переносу генетического материала (ГПП), содержащего АРГ [23, 24]. В очистных сооружениях на стадии биологической очистки стоков создаются условия, приводящие к росту бактериальной популяции, устойчивой к стрессовым условиям, включая воздействие антибиотиков.

В сточных водах медицинских учреждений заключен еще больший потенциальный риск повышения экологической антибиотикорезистентности, а значит и биологической опасности [25]. В лечебных стационарах антибиотики используют особенно широко, поэтому их остатки, а также сами АРБ и их гены присутствуют в значительных количествах в стоках этих учреждений, что способствует распространению АРГ в окружающей среде [26].

Животноводство и ветеринария

Животноводство входит в ряд наиболее значимых составляющих адаптивной эволюции, воспроизводства и распространения АРГ, так как примерно половина всех используемых антибиотиков применяется в этой сфере деятельности человека. Самым большим резервуаром АРБ и АРГ является пищеварительная система сельскохозяйственных животных, а их помет служит источником масштабного распространения генетических детерминант резистентности [27–29]. Отходы животноводства служат особенно значимым источником АРГ для агроценозов [30].

Реализуя механизмы горизонтального переноса, АРГ передаются от АРБ, вносимых в почву с навозом, в микробиомы окружающей среды, а затем и условно-патогенным или патогенным штаммам бактерий, что создает проблемы в антибактериальной терапии [31]. Выделяемые организмом животного антибиотики и их метаболиты могут сохранять заметную часть своей активности, что служит фактором селективного давления при распространении как поступающих с навозом АРГ, так и уже существующих в резистоме окружающей среды [32, 33]. Кроме

того, в навозе часто присутствуют металлы, используемые как стимуляторы роста сельскохозяйственных животных, такие как медь и цинк, что может приводить к коселекции генетических детерминант резистентности и усилению распространения АРГ в микробных сообществах даже в отсутствие антибиотиков [34]. Следует учитывать и тот факт, что при стоке с земель агроценозов и их выщелачивании происходит загрязнение поверхностных и грунтовых вод привнесенными с навозом АРБ и АРГ [35, 36].

Хотя микробиомы сельскохозяйственных животных и агроценозов служат одновременно и резервуаром аккумуляции АРГ, и путем их распространения, резистом сельскохозяйственных микробных сообществ в настоящий момент исследован недостаточно полно, чтобы оценить его роль в распространении генетических детерминант резистентности [37, 38].

Полигоны твердых коммунальных отходов

На полигоны твердых коммунальных отходов постоянно поступают и там же аккумулируются антибиотики, АРГ и АРБ [39, 40]. При сбросе бытовых отходов на свалки попадают в большом количестве остатки лекарственных препаратов и дезинфектантов, которые служат мощным фактором селективного давления при отборе АРГ и АРБ. Вещества, обладающие селективным давлением, такие как антибиотики, тяжелые металлы и органические поллютанты, способствуют распространению резистентных к ним бактерий и их закреплению в подобных антропогенных экосистемах. В процессе разложения мусора условия свалки могут благоприятствовать как отбору, так и горизонтальному переносу генетических детерминант резистентности, создавая экологические преимущества АРБ и увеличивая спектр и количество присутствующих в их геноме АРГ [16]. Более того, из-за отсутствия эффективных стратегий очистки фильтратов свалок АРГ могут и дальше распространяться в окружающей среде [10, 41–43].

ОДНА ИЗ ВАЖНЕЙШИХ ПРИЧИН РАСПРОСТРАНЕНИЯ АРГ В ПРИРОДЕ — АНТРОПОГЕННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ

Антропогенное загрязнение способствует эволюции резистентности, увеличению спектра и распределения АРГ в резистоме микробных сообществ окружающей среды. Многие химические вещества, включая органические поллютанты и ксенобиотики, существенно влияют на селективный отбор резистентных штаммов и адаптивную эволюцию детерминант резистентности [44]. Публикуется все больше исследований о влиянии на накопление и рас-

пространение АРБ и АРГ таких веществ, как углеводороды и их галогенированные производные, пестициды, дезинфицирующие средства, металлы и металлоиды [45]. D. Zheng с соавт. [46] также включают питательные вещества, содержащие различные формы углерода, азота и фосфора; органические поллютанты, включая микропластик; температуру и pH в число критических факторов окружающей среды, влияющих на численность АРГ в микробных сообществах. С ростом уровня загрязнения в микробиоме увеличивается также содержание мобильных элементов бактериального генома, таких как интегроны I класса, способствующих распространению АРГ среди патогенных и условно-патогенных бактерий [47].

Распространение, накопление и круговорот клинически и ветеринарно селекционированных АРГ происходит различными путями: при взаимодействии людей с микробиомами сельскохозяйственных животных, через агроценозы и другие антропогенно преобразованные сообщества, а также природную среду [48–50].

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ, СПОСОБСТВУЮЩИХ РАСПРОСТРАНЕНИЮ АРГ В ПРИРОДНЫХ И АНТРОПОГЕННО ПРЕОБРАЗОВАННЫХ МИКРОБИОМАХ

Абиотические факторы

Антибиотики и дезинфектанты. В недавнем прошлом считали, что бактерицидная активность антибиотиков обусловлена индукцией окислительного стресса в микробной клетке. James Imlay [51] привел наиболее системный критический разбор этой гипотезы, рассмотрев ее в аспекте активных форм кислорода (АФК), продуцируемых бактериальной клеткой. Автор указал на многочисленные методические ошибки исследователей, поддерживающих гипотезу АФК-индуцируемой цитотоксичности под действием антибиотиков, и привел доказательства, что при действии летальных доз антибиотика генерируемые в клетке АФК индуцируют, в лучшем случае, бактериостатический эффект.

Такой же эффект дают дезинфектанты. Под действием низких концентраций триклозана, хлорита или йодоуксусной кислоты в бактериальной клетке возникает окислительный стресс, продуцируются АФК и, как следствие, образуются резистентные к различным антибиотикам мутанты [52, 53]. Р. Merchel с соавт. [54] описали развитие резистентных к биоцидам мутантов в ходе лабораторной адаптивной эволюции в течение 500 поколений. Авторы отмечали, что при этом эволюционная траектория и тип мутаций,

приводившие к резистентности, определялись свойствами конкретного биоцида, причем некоторые вещества приводили к появлению перекрестной антибиотикорезистентности.

Металлы. Токсичность металлов обусловлена вытеснением и заменой нормальных кофакторов-металлов из металлопротеинов, инактивацией ферментов при реакциях с SH-группами и, как следствие, индукцией окислительного стресса и генерации АФК [55].

Металлы, такие как Cu и Zn, являются важными кормовыми добавками в животноводстве, которые необходимы для здоровья и роста животных. Выделяемые с продуктами жизнедеятельности избытки металлосодержащих добавок вместе с навозом попадают в почву и другие среды, вызывая их загрязнение. Тяжелые металлы могут вызывать стресс и относятся к селективным факторам отбора АРГ посредством корезистентности, перекрестной резистентности и корегуляции, тем самым поддерживая распространение АРГ [56–59]. Н. Lin с соавт. [60] оценили уровни тяжелых металлов и содержание АРГ в почве, которую удобряли навозом, содержащим тяжелые металлы. Авторы обнаружили, что с увеличением массы используемого навоза с тяжелыми металлами в почве повышается не только содержание металлов, но и количество АРГ. Это, фактически, прямое свидетельство того, что тяжелые металлы в навозе скота способствуют накоплению и распространению АРГ в почвенном микробиоме.

В работе L. Li и др. [61] продемонстрировано, что мультирезистентность к антибиотикам у бактерий часто сочетается с устойчивостью к металлам (до 25% всех образцов). А В. Christgen с соавт. [62], проведя метагеномный анализ, показали, что в микробных сообществах систем биологической очистки стоков и мест хранения и переработки коммунальных отходов самыми распространенными генетическими детерминантами мультирезистентности к металлам и антибиотикам (50–80%) служат эффлюксные насосы.

Окислительно-восстановительные соединения и пестициды. Под воздействием редокс-соединений в клетках *Escherichia coli* активируется регулятор ответа на супероксидный стресс – белок SoxR. Клетки в аэробных условиях окислительно-восстановительные соединения генерируют супероксид. Учитывая тот факт, что ген супероксиддисмутазы (СОД) входит в регулон *soxRS*, многие полагали, что именно супероксид является активатором SoxR. Однако Gu & Imlay [63] показали, что активировать SoxR напрямую могут продуцируемые в клетке производные хинонов, эксcretируемые отдельными бактериями

пиоцианины, гербициды (например, паракват), а также широкий спектр природных соединений и ксенобиотиков.

Влиянию пестицидов на бактерии посвящено немного исследований. Так, паракват и атразин, широко применяемые в качестве пестицидов, индуцируют АФК и вызывают у почвенных бактерий окислительный стресс [64]. Недавно установлено, что широко применяемый гербицид глифосат также вызывает в клетках *E. coli* окислительный стресс и усиливает мутагенез, даже в концентрации, в тысячу раз ниже рекомендованной для агротехнического применения [65].

Углеводы и ксенобиотики. Под воздействием углеводов различных классов в клетках бактерий *Acinetobacter calcoaceticus* и *Achromobacter xylosoxidans* усиливается генерация супероксида и происходит индукция СОД, а в среде культивирования накапливается перекись водорода [66, 67]. Кроме того, установлено, что актинобактерия *Rhodococcus erythropolis* при инкубации с различными углеводами усиливает в клетках генерацию супероксид-аниона, а в среде происходит накопление пероксида водорода. Одновременно в клетках *R. erythropolis* индуцируется Fe-СОД и Cu/Zn-СОД, а также активируется SOS-ответ [68].

На начальных стадиях бактериальной деградации углеводов и ксенобиотиков решающую роль играют оксигеназы. Эти ферменты с расширенной субстратной специфичностью при окислении неоптимальных субстратов могут при шунтировании каталитического цикла генерировать АФК [69]. Генерация эндогенных АФК в значительных количествах приводит к нарушению целостности клеточной мембраны, повреждению белков и ДНК, усилению мутагенеза и ГПГ в процессе биодegradации углеводов и их производных [70]. Более того, недавно в работе, выполненной нашей группой, продемонстрирована тесная взаимосвязь концентрации биодоступных полиароматических углеводов в почвах и распространения АРГ в почвенных микробных сообществах [71].

Нанопластик. Действие микро- и нанопластиков на окислительный стресс и генетические процессы в бактериальных клетках в настоящее время практически не исследовано. Посвященные этому вопросу публикации только начинают появляться. В одной из таких работ [72] показано, что частицы полистирола размером 30 нм вызывают в клетках *E. coli* окислительный стресс, в то время как частицы размером 200 нм оказывают слабый эффект. В результате воздействия наночастиц полистирола увеличивалась

доля поврежденной ДНК и уровень мутантов, устойчивых к рифампицину (Rif-мутантов).

Заметим, что микропластик в воде служит эффективным физическим носителем бактерий окружающей среды, в том числе и АРБ, что обеспечивает постоянное поступление АРГ в среду аквакультуры. Гидрофобная поверхность пластика способствует формированию биопленок, которые образуются на частицах микропластика и обеспечивают прочное взаимодействие микроорганизмов с богатой питательными веществами средой. Образование биопленки защищает АРБ, предотвращая воздействие естественного и искусственного (при дезинфекции стоков) ультрафиолетового излучения на микроорганизмы, находящиеся на поверхности частиц микропластика. Таким образом, микропластик – это еще одна “горячая точка” для обмена генами, способствующая распространению АРГ в воде и донных отложениях [73].

Биотические факторы

Механизмы горизонтального переноса генетического материала между бактериями. Распространение устойчивых к антибиотикам штаммов в основном происходит благодаря активности мобильных генетических элементов (МГЭ), способных перемещаться между репликациями или внутри одной молекулы ДНК. Мобилом (совокупность МГЭ микробного сообщества) включает инсерционные последовательности (IS-элементы), интегроны и их генные кассеты, транспозоны, а также МГЭ, которые могут перемещаться между бактериальными клетками: например, плазмиды и интегративные конъюгативные элементы. Мобилом играет центральную роль в ГПГ и, следовательно, способствует приобретению и распространению АРГ [28, 74]. IS-элементы и транспозоны представляют собой дискретные сегменты ДНК, которые могут перемещаться (вместе с содержащимися в них АРГ) в новые сайты в одном и том же или в разных репликациях внутри одной клетки. IS-элементы могут влиять на резистентность к антибиотикам/ксенобиотикам, непосредственно инактивируя гены, кодирующие пути их поглощения. Так, повышенная устойчивость к карбапенемам развивается при транспозиции IS-элементов в гены, кодирующие порин: *oprD* в изолятах *Pseudomonas aeruginosa* и *P. putida*; *carO* в *Acinetobacter baumannii*; *ompE36* в *Enterobacter aerogenes*; *ompK36* в *Klebsiella pneumoniae* [75]. Опубликованы обзоры, посвященные влиянию IS-элементов на фенотипы устойчивости АРБ [28, 75]. Резистентность к неблагоприятным факторам передается посредством ГПГ, важного для адаптивной эволюции бактерий. К основным механизмам горизонтального пе-

реноса у бактерий относятся конъюгация (опосредованная плазмидами и интегративными конъюгативными элементами), трансдукция (опосредованная бактериофагами) и естественная трансформация (поглощение внеклеточной ДНК) [76].

Плазмиды резистентности. Плазмиды относятся к важным носителям МГЭ и АРГ, связанных с ними как в грамотрицательных, так и грамположительных бактериях, а их размер варьирует от тысячи до нескольких миллионов пар нуклеотидов [77]. В плазмидах резистентности области, несущие АРГ, обычно состоят из одного или нескольких генов и связанных с ними МГЭ, описанных выше (IS-элементов, транспозонов и интегронов) [28]. Увеличение количества плазмид происходит не только за счет вертикальной передачи при делении клеток, но и за счет горизонтальной передачи другим бактериальным клеткам.

Д. Мао с соавт. [78] обнаружили, что при внесении канамицина в среду, содержащую плазмиды и внеклеточную ДНК с включенными в нее АРГ, скорость поглощения генов резистентности из внеклеточного материала становится в два раза выше, чем в отсутствие канамицина. В тех же условиях канамицинового стресса, без внесения плазмид, трансформации АРГ не наблюдали. Аналогичные результаты были получены Jutkina и др. [79] при стрессе, вызванном тетрациклином, гентамицином, сульфаметоксолом, хлоргексидином и триклозаном.

Показано, что плазмиды играют крайне важную роль в распространении АРГ [80], в том числе облегчая перенос интегративных и конъюгативных МГЭ [81].

Бактериофаги. Бактериофаги – это вирусы, заражающие бактерии и размножающиеся внутри них. Фаги могут переносить ДНК от одной бактерии к другой посредством генетической трансдукции. Антагонистическая коэволюция между бактериями и бактериофагами играет ключевую роль в обеспечении и поддержании микробного разнообразия [82]. Бактериофаги считаются наиболее распространенными агентами межклеточного ГПГ. Фаговая трансдукция – основной способ приобретения бактериями факторов вирулентности и устойчивости к антибиотикам, которую считают основной движущей силой эволюции микробов [74].

Недавно J. Chen с соавт. [83] предложили модель латеральной трансдукции, которая может быть эффективным средством переноса больших сегментов бактериальных хромосом (длинной в сотни тысяч пар нуклеотидов) от одной бактерии к другой с чрезвычайно высокой час-

тотой. С открытием этого механизма ГПГ становится более понятна быстрая эволюция бактерий, в том числе появление штаммов с МЛУ. Так, фаговый элемент *Φ HKU.vir*, несущий гены суперантигена (*ssa*), орнитиндекарбоксилазы (*speC*) и ДНКазы (*spdI*), вызвал появление МЛУ у бактерий *Streptococcus pyogenes* генотипа emm12 [84]. Фаги, интегрировавшие в бактериальную хромосому, могут быть активированы либо спонтанно, либо при индукции SOS-ответа в клетке. После индукции фаг вступает в литический цикл, приводящий к образованию потомства и в конечном счете к лизису клеток-хозяев. Во время литического цикла бактериальная ДНК (а не фаговая) может быть упакована в капсид фага с образованием трансдукционной частицы, которая при высвобождении из клетки-хозяина (донора) переносит бактериальную ДНК в другую клетку (реципиент) [85]. Известно, что в окружающей среде присутствует множество фагов, несущих АРГ. Это позволяет предположить, что бактериофаги могут быть векторами микробных сообществ, активно переносящими АРГ. Фаги часто заражают бактерии в системах обработки отходов [86], где штаммы, несущие АРГ, более адаптированы к локальным условиям и поэтому становятся доминирующими.

Существенным фактором распространения резистентности бактериофагами является то, что применяемые в настоящее время технологии дезинфекции, такие как УФ-облучение и хлорирование, крайне слабо инактивируют фаговые фракции АРГ [87, 88]. Следовательно, активное размножение бактериофагов в АРБ является фактором поддержания пула АРГ в системах очистки и переработки отходов. Бактериофаги, несущие АРГ, поступают из очистных сооружений в окружающую среду вместе со стоками, где они могут трансдуцировать АРГ в микробные сообщества, ранее от них свободные [89].

Агенты переноса генов. Агенты переноса генов (АПГ) представляют собой фагоподобные частицы, содержащие ДНК, продуцируемые некоторыми видами бактерий и архей [90]. АПГ, впервые описанные в семидесятих годах прошлого века, представляют собой небольшие частицы, которые могут переносить любые случайные сегменты генома бактерий-хозяев между клетками [91]. Интересно, что для образования АПГ не требуется никакого предварительного заражения бактериального хозяина трансдуцирующим фагом. Это связано с тем, что гены, кодирующие капсиды АПГ, своего рода контейнер для мобилизации бактериальной ДНК, уже присутствуют в бактериальной хромосоме [92]. АПГ – необычный инструмент ГПГ, который можно рассматривать как гибрид фаговой трансдукции и естественной трансформации [93]. Передаваемые через АПГ гены могут повышать приспособ-

собляемость или экологическую устойчивость бактерии, а также приводить к развитию антибиотикорезистентности. Можно утверждать, что этот процесс полезен на популяционном уровне, способствуя адаптивной эволюции систем хозяина и тем самым увеличивая размер его ареала [94]. АПГ обладают потенциалом стимулировать эволюцию бактерий и пластичность генома, включая распространение генов вирулентности и антибиотикорезистентности. Доза АПГ, или множественность инфекции, линейно коррелировала с повышенной устойчивостью к антибиотикам. В экосистеме коралловых рифов частота генов АПГ-опосредованной устойчивости к канамицину оказалась значительно выше, чем частота спонтанной устойчивости [95].

Хорошо изученная система АПГ принадлежит пурпурно-несерной морской бактерии *Rhodobacter capsulatus* [96]. P. Bárdy с соавт. [97] установили, что структура АПГ *R. capsulatus* напоминает морфологию хвостатого фага со сплюснутой головкой, укороченной в направлении оси хвоста, что ограничивает его упаковочную способность до менее 4500 п.н. линейной двухцепочечной ДНК. Хвостовой канал содержит тримерные белки, которые сжимаются и выбрасывают ДНК в бактериальный перипласт. Обнаружены и другие формы АПГ. Так, *Brachyspira hyodysenteriae* продуцирует АПГ-подобные частицы, классифицируемые как сифовирусный тип и названные VSH-1 [98]. Известно, что частицы VSH-1 опосредуют перенос различных маркеров между клетками, включая гены вирулентности и устойчивости к антибиотикам [99]. Кроме того, обнаружено, что клетки *Bacillus* spp. продуцируют фагоподобные частицы PBSX, *Desulfovibrio desulfuricans* — частицы Dd1, а археи *Methanococcus voltae* — частицы VTA. Все они участвуют в ГПГ [99].

РЕГУЛОНЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ДЕСТАБИЛИЗАЦИИ ГЕНОМА, УСИЛЕНИИ МУТАГЕНЕЗА И ГОРИЗОНТАЛЬНОМ ПЕРЕНОСЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

При взаимодействии бактерий с поллютантами и ксенобиотиками возникающий в клетке окислительный стресс приводит к повреждению ДНК. Повреждения, полученные бактериальной клеткой в результате окислительного стресса, в свою очередь активируют стрессовые регулоны, влияющие на стабильность генома и усиливающие его изменчивость. Этот адаптивный ответ возникает в результате индукции SOS-ответа, RpoS и RpoE регулонов. В микробном сообществе возрастает уровень мутагенеза, рекомбинаций ГПГ, что приводит к дестабилизации генома и ускорению адаптивной эволюции.

Осознание важности окислительного стресса как универсального механизма индукции генетической изменчивости, ускоряющей отбор клонов, более адаптированных к меняющемуся химическому окружению бактериальной клетки, требует рассмотрения этих регулонов.

SOS-регулон

При окислительном повреждении ДНК, а также при репликации ДНК с окислительными повреждениями образуются участки одноцепочечной ДНК. Каскад молекулярных событий при развитии SOS-ответа хорошо изучен на модели *E. coli* и обстоятельно описан в обзоре Baharoglu и Mazel [100]. Регулируемые SOS-ответом гены участвуют в репарации поврежденной ДНК. SOS-ответ бактерий регулирует три основных пути восстановления ДНК. Это эксцизионная репарация нуклеотидов, гомологичная рекомбинация и транслезионный синтез ДНК. Гомологичная рекомбинация, наряду с заменой поврежденных участков ДНК, может приводить к перестройкам бактериальной хромосомы путем рекомбинации между сходными нуклеотидными последовательностями, в том числе полученными клеткой в результате ГПГ. Транслезионную репарацию (мутагенную репликацию поврежденной ДНК) реализуют склонные к ошибкам ДНК-полимеразы: PolIV (ген *dinB*), PolV (гены *umuCD*) и PolIII (ген *polB*). Для высокоточной ДНК-полимеразы PolIII нуклеотиды с окислительными повреждениями становятся препятствием. PolIII не в состоянии строить комплементарную цепь на поврежденной матрице и останавливает репликацию ДНК, в то время как транслезионные полимеразы продолжают реплицировать ДНК на поврежденных участках; при этом PolIV и PolV напротив нуклеотидов с окислительными повреждениями встраивают любое основание [101, 102]. В результате транслезионной репарации увеличивается частота мутаций, так как напротив поврежденного нуклеотида матричной цепи может быть включено некомплементарное основание.

К появлению устойчивых к антибиотикам изолятов могут приводить точечные мутации. Установлено, что в присутствии антибиотика, даже в субминимальной ингибирующей концентрации, в клетках *E. coli* и *Vibrio cholerae* развивается окислительный стресс с индукцией SOS-ответа, вызывающего усиление мутагенеза. Частота возникновения Rif-мутантов при этом увеличивается на порядок: с 10^{-9} до 10^{-8} [103].

Индукцированный образованием двунитевых разрывов ДНК SOS-ответ может обеспечить бактерии в неблагоприятных условиях дополнительное преимущество. При исследовании бактериальных биопленок *P. aeruginosa* выявлено, что

двухцепочечные разрывы ДНК в присутствии антибиотика “полезны” для бактерий, так как в результате SOS-ответа происходили перестройки генома и возникали резистентные изоляты [104].

Х. Chen и др. [105] показали, что УФ-облучение, вызывая окислительный стресс, индуцирует SOS-ответ и значительно усиливает конъюгативный перенос АРГ. SOS-ответ, индуцировав гомологическую рекомбинацию, может привести к перестройке интегров и, как следствие, к развитию МЛУ. Показано, что обработка метронидазолом патогенного штамма *P. aeruginosa* вызывала SOS-индуцированную рекомбинацию интегров и приводила к резистентности к β -лактамам и цефтазидиму [106].

Наряду с усилением мутагенеза и рекомбинации, SOS-индукция активирует ГПГ даже между разными таксонами бактерий. Так, SOS-ответ индуцирует перенос интегративных конъюгативных мобильных элементов, играющих важную роль в распространении АРГ в микробных сообществах [100].

Еще один механизм ГПГ — трансформация, которая происходит при поглощении и интеграции в свой геном фрагментов внеклеточной ДНК бактериями. Трансформация происходит в состоянии компетентности, когда бактериальная клетка становится способной поглощать и процессировать одноклеточную ДНК из окружающей среды. У некоторых бактерий, лишенных SOS-регулона, компетентность является стресс-ответом и, вероятно, заменяет собой SOS-ответ. Регулон компетентности таких бактерий включает гены репарации ДНК [100]. Состояние компетентности возникает в ответ на стресс у многих бактерий, что позволяет предположить, что компетентность, по крайней мере в некоторых случаях, — альтернатива SOS-ответу.

ГПГ играет важную роль в освоении новых экологических ниш бактериями. Этот процесс обеспечивает значительную генетическую вариабельность [107] и преодоление межвидовых барьеров новыми генетическими функциями и свойствами [108, 109], ускоряющими адаптивную эволюцию бактерий под давлением изменившихся условий окружающей среды [110]. Важно, что вклад ГПГ в адаптивную эволюцию бактерий значительно превосходит мутагенез [111].

Регулон RpoS

RpoS — это сигма-фактор РНК-полимеразы, регулятор экспрессии генов общего стрессового ответа и генов стационарной фазы [112]. RpoS, вероятно, контролирует экспрессию транслезион-

ных ДНК-полимераз в еще большей степени, чем SOS-ответ. Все сказанное о роли и механизмах действия транслезионных полимераз в увеличении генетической изменчивости и ускорении эволюции бактерий в условиях стресса верно и для RpoS-регулона. В клетках *E. coli* гены *dinB*, *umuCD* и *polB* входят в состав SOS- и RpoS-регулонов и имеют сходную регуляцию экспрессии при этих двух стресс-ответах [113].

При индукции RpoS ципрофлоксацином и одновременном окислительном стрессе в популяции *E. coli* установлено образование субпопуляций клеток, имеющих разную частоту образования Rif-мутантов [114]. Значительное усиление мутагенеза выявлено только для субпопуляций с одновременно повышенным уровнем АФК и RpoS. Субпопуляция с высоким уровнем Rif-мутантов также активно образовывала мультихромосомные клеточные филаменты, в которых репликация бактериальной хромосомы опережала разделение на отдельные клетки. В таких мультихромосомных филаментах негативные эффекты множественных мутаций, вероятно, смягчались рекомбинацией и наличием немутировавших аллелей [115], что увеличивало количество выживших клеток потомства.

Регулон RpoE

Окислительный стресс в бактериальной клетке активирует также регулон RpoE. Однако роль этого регулона в изменении уровня мутагенеза/ГПГ и его влияние на адаптивную эволюцию прокариот практически не исследована.

Известно, что RpoE-регулон *Rhodobacter sphaeroides* активируется синглетным кислородом, который атакует антитранскрипционный фактор ChR, образующий комплекс с RpoE, и высвобождает активный RpoE [116, 117]. RpoE-регулон, несмотря на небольшие размеры, включает два дополнительных сигма-фактора: RpoH1 и RpoH2 [118, 119]. В свою очередь эти сигма-факторы активируют гены ответа на стресс, вызываемый синглетным кислородом; при этом каскад факторов транскрипции RpoE/RpoH1/H2 регулирует ряд малых регуляторных РНК [120, 121]. Установлено, что экспрессия ферредоксина, рубреритрина и спермидин-ацетилтрансферазы, имеющих большое значение для повышения устойчивости к окислительным повреждениям клетки, регулируется RpoE [122]. Таким образом, сеть ответа регулона RpoE на окислительный стресс достаточно обширна и пока далека от полной ясности, а для понимания физиологической роли RpoE в разных

таксонах микроорганизмов необходимы дальнейшие исследования.

МЕХАНИЗМЫ УСИЛЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АРГ В ПРИСУТСТВИИ ПОЛЛЮТАНТОВ

Окислительный стресс индуцирует мутагенез, рекомбинацию и ГПГ. При этом стрессовая дестабилизация генома, по-видимому, ускоряет генетическую адаптацию, в том числе взаимодействие патогенных бактерий с хозяином, а также распространение резистентности к антибиотикам. Скорее всего, окислительный стресс относится к важнейшим механизмам бактериальной эволюции в целом. Можно привести много примеров влияния антибиотиков и дезинфектантов на генетическую адаптацию микроорганизмов. Есть публикации, посвященные дестабилизации бактериального генома под воздействием других соединений, таких как углеводороды различных классов и их производные, а также ксенобиотики. Однако работ таких немного и пока мало изучено действие этих соединений на геном микроорганизмов.

В эксперименте по лабораторной эволюции *E. coli* в течение 100 поколений М. Li и соавт. [53] показали, что низкие дозы триклозана индуцировали повышенную резистентность клеток бактерий к данному дезинфектанту — для подавления их роста требовались концентрации, в десятки раз превышающие первоначальные. Эти изменения, по данным транскриптомного и геномного анализа, произошли из-за мутаций и сверхэкспрессии ряда генов-мишеней (*fabI*, *fabB*, *fabD* и *fabZ*). Более того, бактерии приобрели устойчивость к ряду антибиотиков. При дальнейшем выращивании на среде без триклозана устойчивость к нему сохранялась в течение всего времени эксперимента, в то время как антибиотикорезистентность со временем падала.

На примере дефектных по каталазе *KatA* бактерий *P. aeruginosa* продемонстрирована роль АФК в возникновении антибиотикорезистентных изолятов. При выращивании биопленок *P. aeruginosa* $\Delta katA$ в среде, содержащей субминимальные ингибирующие концентрации ципрофлоксацина, выделена резистентная к этому антибиотику субпопуляция клеток, количественно значительно превосходящая таковую из популяции клеток дикого типа [123].

Различные органические поллютанты и ксенобиотики также оказывают сильное влияние на дестабилизацию бактериального генома. Так, при окислительном стрессе, индуцированном присутствием фенола в качестве единственного источника углерода, в клетках *P. putida* усилива-

лась частота АФК-стимулированной гомологичной рекомбинации [124]. В результате перестройки генома, индуцированных стрессовой рекомбинацией, к клеткам данного штамма *P. putida* возвращалась способность к биodeградации фенола.

Исследовательская группа под руководством V. de Lorenzo [70] изучала гены катаболизма 2,4-динитротолуола (2,4-ДНТ) штамма *Burkholderia* sp. R34, выделенного из почвы полигона, на котором использовали взрывчатые вещества. Ими показано, что начальный этап биотрансформации идет под действием нафталин-1,2-диоксигеназы, кодируемой геном *dntA*. Этот фермент может окислять как нафталин, так и 2,4-ДНТ, причем в обоих случаях диоксигеназа производит АФК в значительных количествах. Это происходит из-за того, что и 2,4-ДНТ, и нафталин относятся к субоптимальным субстратам этого фермента. В результате ферментативный цикл часто шунтируется с образованием АФК. Согласно гипотезе авторов, диоксигеназа проходит адаптивную эволюцию при смене субстрата от нафталина к 2,4-ДНТ. При этом генерируемые ферментом АФК дестабилизируют бактериальный геном, стимулируют мутагенез и, следовательно, генетическую изменчивость.

В дальнейших исследованиях этой группы ученых гены катаболизма 2,4-ДНТ из *Burkholderia* sp. R34 были клонированы в штамм *P. putida* EM173 [125]. Клетки *P. putida* EM173 при утилизации 2,4-ДНТ также генерировали АФК и подвергались окислительному стрессу, но при этом не происходило ни индукции SOS-ответа, ни усиления мутагенеза. Видимо, это обусловлено высокими концентрациями низкомолекулярных антиоксидантов, особенно NADFH, в клетках псевдомонад. Усиления мутагенеза в 6 раз удалось добиться только при использовании NADF-специфичной оксидазы, позволившей снизить уровень NADFH внутри бактериальной клетки.

Впоследствии те же клонированные гены метаболизма 2,4-ДНТ были перенесены в *E. coli* [126]. При биотрансформации данного соединения в клетках кишечной палочки также возникал окислительный стресс, под действием которого возрастал уровень мутагенеза. Авторы установили, что в клетках *E. coli* транслезионную репликацию ДНК индуцировал RpoS-регулон, а не SOS-ответ. Таким образом, ферментативная трансформация одного и того же соединения, в вышеописанных работах 2,4-ДНТ, при которой происходит генерация АФК, у разных бактерий может приводить к различным сценариям адаптивной эволюции, определяемым особенностями окислительно-восстановитель-

ного метаболизма и антиоксидантной защиты клетки-хозяина.

Стоит заметить, что различные субстраты, при утилизации которых возникает окислительный стресс, могут приводить к активации сходных адаптивных и защитных механизмов в бактериальной клетке. Так, клетки *R. erythropolis* сходным образом реагировали на окислительный стресс, индуцированный различными углеводородами: циклогексаном, нафталином и дизельным топливом [68]. В присутствии всех вышеперечисленных субстратов в бактериальной клетке увеличивалась генерация супероксид-анион радикала и усиливалась транскрипция генов *sodA* (СОД), *sup153* (цитохром семейства P450) и *recA* (регулятор SOS-ответа). Возможно, при окислении этих углеводородов адаптивный ответ *R. erythropolis* индуцируется SOS-ответом.

Также зарегистрировано усиление образования антибиотикорезистентных мутантов при воздействии наночастиц полистирола в диапазоне концентраций от 0.25 до 16 мг/л [72]. Интересно, что максимальная частота мутаций, вызванных нанопластиролом, составляла 400% от контроля. Авторы продемонстрировали, что amino-модифицированный полистирол индуцирует SOS-ответ, в том числе экспрессию генов *dinB*, *mutS* и *uvrD*. Немодифицированные наночастицы также стимулировали гены репарации ДНК, включая транслезионную полимеразу *dinB*, однако индукции SOS-ответа при этом не происходило. По-видимому, в этом случае транслезионную репарацию индуцировал другой стрессовый регулон.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение антибиотиков приводит к колонизации кишечника человека и животных устойчивыми к антибиотикам штаммами, гены которых, АРГ, распространяются через ГПГ в другие микроорганизмы кишечника. Это приводит к передаче АРГ условно-патогенным микроорганизмам и развитию МЛУ у многих патогенов. АРБ переносят гены устойчивости в окружающую среду через экскременты животных и человека и далее в природные экосистемы. В окружающей среде распространение и поддержание АРГ стимулируется различными поллютантами. В итоге АРГ из природных и антропогенных экосистем могут возвращаться и далее циркулировать среди животных, в человеческой популяции и в окружающей среде.

Какой из вариантов стресс-ответа (SOS-ответ, RpoS- или RpoE-регулон) будет управлять механизмами генетической адаптации в целом и распространением АРГ в частности, а также насколько окислительный стресс будет влиять

на перестройки генома, ГПГ и уровень мутагенеза, по-видимому, зависит от таксономической принадлежности, особенностей антиоксидантной защиты, редокс-метаболизма и взаимодействия стрессовых регулонов конкретного микроорганизма. Однако не вызывает сомнения, что окислительный стресс — универсальный жесткий (с повреждением клеточных компонентов и сокращением бактериальной популяции) механизм адаптивной дестабилизации бактериального генома, приводящий к ускорению эволюции микроорганизмов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания в сфере научной деятельности (№ FENW-2023-0008).

Этические нормы соблюдены. Обзор написан с использованием открытых публикаций. Статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Walsh F., Duffy B. (2013) The culturable soil antibiotic resistome: a community of multi-drug resistant bacteria. *PloS One*. **8**(6), e65567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065567>
2. Pepper I.L. (2013) The soil health-human health nexus. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **43**(24), 2617–2652. <https://doi.org/10.1080/10643389.2012.694330>
3. Adu-Oppong B., Gasparrini A.J., Dantas G. (2017) Genomic and functional techniques to mine the microbiome for novel antimicrobials and antimicrobial resistance genes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1388**(1), 42–58. <https://doi.org/10.1111/nyas.13257>
4. Hu Y., Yang X., Li J., Lv N., Liu F., Wu J., Lin I.Y., Wu N., Weimer B.C., Gao G.F., Liu Y., Zhu B. (2016) The bacterial mobile resistome transfer network connecting the animal and human microbiomes. *Appl. Environ. Microbiol.* **82**(22), 6672–6681. <https://doi.org/10.1128/AEM.01802-16>
5. Hsu C., Hsu B., Ji W., Chen J., Hsu T., Ji D., Tseng S., Chiu Y., Kao P., Huang Y. (2015) Antibiotic resistance pattern and gene expression of nontyphoid *Salmonella* in riversheds. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **22**, 7843–7850. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-4033-y>
6. Pruden A., Pei R., Storteboom H., Carlson K.H. (2006) Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in Northern Colorado. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 7445–7450. <https://doi.org/10.1021/es060413l>
7. Graham D.W., Knapp C.W., Christensen B.T., McCluskey S., Dolfing J. (2016) Appearance of beta-lac-

- tam resistance genes in agricultural soils and clinical isolates over the 20th century. *Sci. Rep.* **6**(1), 21550. <https://doi.org/10.1038/srep21550>
8. Knapp C.W., Dolfing J., Ehler P.A., Graham D.W. (2010) Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940. *Environ. Sci. Technol.* **44**(2), 580–587. <https://doi.org/10.1021/es901221x>
 9. Gaze W.H., Krone S.M., Joakim Larsson D.G., Li X.Z., Robinson J.A., Simonet P., Smalla K., Timouni M., Topp E., Wellington E.M., Wright G.D., Zhu Y.G. (2013) Influence of humans on evaluation and mobilization of environmental antibiotic resistance. *Emerging Infect. Dis.* **19**(7), e120871. <https://doi.org/10.3201/eid1907.120871>
 10. Zhang R., Yang S., An Y., Wang Y., Lei Y., Song, L. (2022) Antibiotics and antibiotic resistance genes in landfills: a review. *Sci. Total Environ.* **806**(2), 150647. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150647>
 11. Nowrotek M., Jalowiecki L., Harnisz M., Plaza G.A. (2019) Culturomics and metagenomics: in understanding of environmental resistome. *Front. Environ. Sci. Eng.* **13**, 12. <https://doi.org/10.1007/s11783-019-1121-8>
 12. Li B., Yang Y., Ma L.P., Ju F., Guo F., Tiedje J.M., Zhang T. (2015) Metagenomic and network analysis reveal wide distribution and co-occurrence of environmental antibiotic resistance genes. *ISME J.* **9**, 2490–2502. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.59>
 13. Yang Y., Li B., Ju F., Zhang T. (2013) Exploring variation of antibiotic resistance genes in activated sludge over a four-year period through a metagenomic approach. *Environ. Sci. Technol.* **47**, 10197–10205. <https://doi.org/10.1021/es4017365>
 14. Yang Y., Li B., Zou S.C., Fang H.H.P., Zhang T. (2014) Fate of antibiotic resistance genes in sewage treatment plant revealed by metagenomic approach. *Water Res.* **62**, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.05.019>
 15. Zhao R.X., Feng J., Yin X.L., Liu J., Fu W.J., Berendonk T.U., Zhang T., Li X., Li B. (2018) Antibiotic resistome in landfill leachate from different cities of China deciphered by metagenomic analysis. *Water Res.* **134**, 126–139. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.063>
 16. Liu X., Yang S., Wang Y.Q., Zhao H.P., Song L.Y. (2018) Metagenomic analysis of antibiotic resistance genes (ARGs) during refuse decomposition. *Sci. Total Environ.* **634**, 1231–1237. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.048>
 17. Gorecki A., Decewicz P., Dziurzynski M., Janeczko A., Drewniak L., Dziewit L. (2019) Literature-based, manually-curated database of PCR primers for the detection of antibiotic resistance genes in various environments. *Water Res.* **161**, 211–221. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.06.009>
 18. Chen Q.L., Li H., Zhou X.Y., Zhao Y., Su J.Q., Zhang X., Huang F.Y. (2017) An underappreciated hotspot of antibiotic resistance: the groundwater near the municipal solid waste landfill. *Sci. Total Environ.* **609**, 966–973. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.164>
 19. Rizzo L., Manaia C., Merlin C., Schwartz T., Dagot C., Ploy M.C., Michael I., Fatta-Kassinos D. (2013) Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review. *Sci. Total Environ.* **447**, 345–360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.032>
 20. Ferro G., Guarino F., Castiglione S., Rizzo L. (2016) Antibiotic resistance spread potential in urban wastewater effluents disinfected by UV/H₂O₂ process. *Sci. Total Environ.* **560–561**, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.047>
 21. Manaia C.M., Rocha J., Scaccia N., Marano R., Radu E., Biancullo F., Cerqueira F., Fortunato G., Iakovides I.C., Zammit I., Kampouris I., Vaz-Moreira I., Nunes O.C. (2018) Antibiotic resistance in wastewater treatment plants: tackling the black box. *Environ. Int.* **115**, 312–324. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.044>
 22. Manaia C.M., Macedo G., Fatta-Kassinos D., Nunes O.C. (2016) Antibiotic resistance in urban aquatic environments: can it be controlled? *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100**, 1543–1557. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7202-0>
 23. Di Cesare A., Fontaneto D., Doppelbauer J., Corno G. (2016) Fitness and recovery of bacterial communities and antibiotic resistance genes in urban wastewaters exposed to classical disinfection treatments. *Environ. Sci. Technol.* **50**, 10153–10161. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02268>
 24. Kim S., Yun Z., Ha U.H., Lee S., Park H., Kwon E.E., Cho Y., Choung S., Oh J., Medriano C.A., Chandran K. (2014) Transfer of antibiotic resistance plasmids in pure and activated sludge cultures in the presence of environmentally representative micro-contaminant concentrations. *Sci. Total Environ.* **468–469**, 813–820. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.100>
 25. Carraro E., Bonetta S., Bertino C., Lorenzi E., Bonetta S., Gilli G. (2016) Hospital effluents management: chemical, physical, microbiological risks and legislation in different countries. *J. Environ. Manage.* **168**, 185–199. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.11.021>
 26. Harris S.J., Cormican M., Cummins C. (2012) Antimicrobial residues and antimicrobial-resistant bacteria: impact on the microbial environment and risk to human health – a review. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **18**, 767–809. <https://doi.org/10.1080/10807039.2012.688702>
 27. Woolhouse M., Ward M., van Bunnik B., Farrar J. (2015) Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **370**, 20140083. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0083>
 28. Gu Y., Shen S., Han B., Tian X., Zhang K. (2020) Family livestock waste: an ignored pollutant resource of antibiotic resistance genes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **197**, 110567.

- <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110567>
29. Wang Y., Hu Y., Liu F., Cao J., Gao G.F. (2020) Integrated metagenomic and metatranscriptomic profiling reveals differentially expressed resistomes in human, chicken, and pig gut microbiomes. *Environ. Int.* **138**, 105649. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105649>
 30. Brooks J.P., McLaughlin M.R., Gerba C.P., Pepper I.L. (2012) Land application of manure and Class B biosolids: an occupational and public quantitative microbial risk assessment. *J Environ. Qual.* **41**(6), 2009–2023. <https://doi.org/10.2134/jeq2011.0430>
 31. Lin H., Zhang J., Chen H., Wang J., Sun W., Zhang X., Yang Y., Wang Q., Ma J. (2017) Effect of temperature on sulfonamide antibiotics degradation, and on antibiotic resistance determinants and hosts in animal manures. *Sci. Total Environ.* **607–608**, 725–732. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.057>
 32. Thanner S., Drissner D., Walsh F. (2016) Antimicrobial resistance in agriculture. *mBio.* **7**, e02227–15. <https://doi.org/10.1128/mBio.02227-15>
 33. Xie W.Y., Shen Q., Zhao F.J. (2018) Antibiotics and antibiotic resistance from animal manures to soil: a review. *Eur. J. Soil Sci.* **69**, 181–195. <https://doi.org/10.1111/ejss.12494>
 34. Yazdankhah S., Rudi K., Bernhoft A. (2014) Zinc and copper in animal feed – development of resistance and co-resistance to antimicrobial agents in bacteria of animal origin. *Microb. Ecol. Health Dis.* **25**, 1. <https://doi.org/10.3402/mehd.v25.25862>
 35. Kivits T., Broers H.P., Beeltje H., van Vliet M., Grifioen J. (2018) Presence and fate of veterinary antibiotics in age-dated groundwater in areas with intensive livestock farming. *Environ. Pollut.* **241**, 988–998. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.085>
 36. Manyi-Loh C.E., Mamphweli S.N., Meyer E.L., Makaka G., Simon M., Okoh A.I. (2016) An overview of the control of bacterial pathogens in cattle manure. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* **13**(9), 843. <https://doi.org/10.3390/ijerph13090843>
 37. Xiao R., Huang D., Du L., Song B., Yin L., Chen Y., Gao L., Li R., Huang H., Zeng G. (2023) Antibiotic resistance in soil-plant systems: a review of the source, dissemination, influence factors, and potential exposure risks. *Sci. Total Environ.* **869**, 161855. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161855>
 38. Prestinaci F., Pezzotti P., Pantosti A. (2015) Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathog. Glob. Health.* **109**, 309–318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>
 39. Song L.Y., Li L., Yang S., Lan J.W., He H.J., McElmurry S.P., Zhao Y. (2016) Sulfamethoxazole, tetracycline and oxytetracycline and related antibiotic resistance genes in a large-scale landfill, China. *Sci. Total Environ.* **551**, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.007>
 40. Wang Y.Q., Tang W., Qiao J., Song L.Y. (2015) Occurrence and prevalence of antibiotic resistance in landfill leachate. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **22**, 12525–12533. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4514-7>
 41. Wang J.Y., An X.L., Huang F.Y., Su J.Q. (2020) Antibiotic resistome in a landfill leachate treatment plant and effluent-receiving river. *Chemosphere.* **242**, 8. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125207>
 42. Wu D., Ma R.Q., Wei H.W., Yang K., Xie B. (2018) Simulated discharge of treated landfill leachates reveals a fueled development of antibiotic resistance in receiving tidal river. *Environ. Int.* **114**, 143–151. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.02.049>
 43. Wu Y., Cui E., Zuo Y., Cheng W., Chen H. (2018) Fate of antibiotic and metal resistance genes during two-phase anaerobic digestion of residue sludge revealed by metagenomic approach. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **25**, 13956–13963. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1598-x>
 44. An X.L., Su J.Q., Li B., Ouyang W.Y., Zhao Y., Chen Q.L., Cui L., Chen H., Gillings M.R., Zhang T., Zhu Y.G. (2018) Tracking antibiotic resistome during wastewater treatment using high throughput quantitative PCR. *Environ. Int.* **117**, 146–153. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2018.05.011>
 45. Wang J., Wang J., Zhao Z., Chen J., Lu H., Liu G., Zhou J., Guan X. (2017) PAHs accelerate the propagation of antibiotic resistance genes in coastal water microbial community. *Environ. Pollut.* **231**, 1145–1152. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2017.07.067>
 46. Zheng D., Yin G., Liu M., Chen C., Jiang Y., Hou L., Zheng Y. (2021) A systematic review of antibiotics and antibiotic resistance genes in estuarine and coastal environments. *Sci. Total Environ.* **777**, 146009. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.146009>
 47. Gillings M.R., Gaze W.H., Pruden A., Smalla K., Tiedje J.M., Zhu Y.G. (2015) Using the class I integron-integrase gene as a proxy for anthropogenic pollution. *ISME J.* **9**(6), 1269–1279. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.226>
 48. Berendonk T.U., Manaia C.M., Merlin C., Fatta-Kassinos D., Cytryn E., Walsh F., Bürgmann H., Sørum H., Norström M., Pons M.N., Kreuzinger N., Huovinen P., Stefani S., Schwartz T., Kisand V., Baquero F., Martinez J.L. (2015) Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nat. Rev. Microbiol.* **13**(5), 310–317. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3439>
 49. Storteboom H., Arabi M., Davis J.G., Crimi B., Pruden A. (2010) Identification of antibiotic-resistance-gene molecular signatures suitable as tracers of pristine river, urban, and agricultural sources. *Environ. Sci. Technol.* **44**(6), 1947–1953. <https://doi.org/10.1021/es902893f>
 50. Sazykin I.S., Seliverstova E.Yu., Khmelevtsova L.E., Azhogina T.N., Kudeevskaya E.M., Khammami M.I., Gnennaya N.V., Al-Rammahi A.A.K., Rakin A.V., Sazykina M.A. (2019) Occurrence of antibiotic resistance genes in sewages of Rostov-on-Don and lower Don River. *Theor. App. Ecol.* **4**, 76–82. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-4-076-082>

51. Imlay J.A. (2015) Diagnosing oxidative stress in bacteria: not as easy as you might think. *Curr. Opin. Microbiol.* **24**, 124–31. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.01.004>
52. Li D., Zeng S., He M., Gu A.Z. (2016) Water disinfection byproducts induce antibiotic resistance-role of environmental pollutants in resistance phenomena. *Environ. Sci. Technol.* **50**(6), 3193–3201. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05113>
53. Li M., He Y., Sun J., Li J., Bai J., Zhang C. (2019) Chronic exposure to an environmentally relevant triclosan concentration induces persistent triclosan resistance but reversible antibiotic tolerance in *Escherichia coli*. *Environ. Sci. Technol.* **53**(6), 3277–3286. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06763>
54. Merchel P., Pereira B., Wang X., Tagkopoulos I. (2021) Biocide-induced emergence of antibiotic resistance in *Escherichia coli*. *Front. Microbiol.* **12**, 640923. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.640923>
55. Waldron K.J., Robinson N.J. (2009) How do bacterial cells ensure that metalloproteins get the correct metal? *Nat. Rev. Microbiol.* **7**(1), 25–35. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2057>
56. Gullberg E., Albrecht L.M., Karlsson C., Sandegren L., Andersson D.I. (2014) Selection of a multidrug resistance plasmid by sublethal levels of antibiotics and heavy metals. *mBio.* **5**(5), e01918–14. <https://doi.org/10.1128/mBio.01918-14>
57. Seiler C., Berendonk T.U. (2012) Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. *Front. Microbiol.* **3**, 399. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00399>
58. Zhu Y.G., Johnson T.A., Su J.Q., Qiao M., Guo G.X., Stedtfeld R.D., Hashsham S.A., Tiedje J.M. (2013) Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **110**, 3435–3440. <https://doi.org/10.1073/pnas.1222743110>
59. Zhao X., Wang J., Zhu L., Wang J. (2019) Field-based evidence for enrichment of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in manure-amended vegetable soils. *Sci. Total Environ.* **654**, 906–913. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.446>
60. Lin H., Sun W., Zhang Z., Chapman S.J., Freitag T.E., Fu J., Zhang X., Ma J. (2016) Effects of manure and mineral fertilization strategies on soil antibiotic resistance gene levels and microbial community in a paddy-upland rotation system. *Environ. Pollut.* **211**, 332–337. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.007>
61. Li L.G., Xia Y., Zhang T. (2017) Co-occurrence of antibiotic and metal resistance genes revealed in complete genome collection. *ISME J.* **11**(3), 651–662. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.155>
62. Christgen B., Yang Y., Ahammad S.Z., Li B., Rodriguez D.C., Zhang T., Graham D.W. (2015) Metagenomics shows that low-energy anaerobic-aerobic treatment reactors reduce antibiotic resistance gene levels from domestic wastewater. *Environ. Sci. Technol.* **49**(4), 2577–2584. <https://doi.org/10.1021/es505521w>
63. Gu M., Imlay J.A. (2011) The SoxRS response of *Escherichia coli* is directly activated by redox-cycling drugs rather than by superoxide. *Mol. Microbiol.* **79**(5), 1136–1150. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07520.x>
64. Caba de la Peña T., Redondo F.J., Fillat M.F., Lucas M.M., Pueyo J.J. (2013) Flavodoxin overexpression confers tolerance to oxidative stress in beneficial soil bacteria and improves survival in the presence of the herbicides paraquat and atrazine. *J. Appl. Microbiol.* **115**(1), 236–246. <https://doi.org/10.1111/jam.12224>
65. Sazykin I., Naumova E., Azhogina T., Klimova M., Karchava S., Khmelevtsova L., Chernyshenko E., Litsevich A., Khammami M., Sazykina M. (2024) Glyphosate effect on biofilms formation, mutagenesis and stress response of *E. coli*. *J. Hazard. Mater.* **461**, 132574. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132574>
66. Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khmelevtsova L.E., Khammami M.I., Karchava Sh.K., Zhuravlev M.V., Kudrevskaya E.M. (2016) Expression of SOD and production of reactive oxygen species in *Acinetobacter calcoaceticus* caused by hydrocarbons oxidation. *Ann. Microbiol.* **66**(3), 1039–1045. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1188-9>
67. Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khmelevtsova L.E., Seliverstova E.Yu., Karchava Sh.K., Zhuravleva M.V. (2018) Antioxidant enzymes and reactive oxygen species level of the *Achromobacter xylosoxidans* bacteria during hydrocarbons biotransformation. *Arch. Microbiol.* **200**(7), 1057–1065. <https://doi.org/10.1007/s00203-018-1516-0>
68. Sazykin I., Makarenko M., Khmelevtsova L., Seliverstova E., Rakin A., Sazykina M. (2019) Cyclohexane, naphthalene, and diesel fuel increase oxidative stress, *CYP153*, *sodA*, and *recA* gene expression in *Rhodococcus erythropolis*. *Microbiologyopen.* **8**(9), e00855. <https://doi.org/10.1002/mbo3.855>
69. Kim J., Park W. (2014) Oxidative stress response in *Pseudomonas putida*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **98**(16), 6933–6946. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5883-4>
70. Pérez-Pantoja D., Nikel P.I., Chavarría M., de Lorenzo V. (2013) Endogenous stress caused by faulty oxidation reactions fosters evolution of 2,4-dinitrotoluene-degrading bacteria. *PLoS Genet.* **9**(8), e1003764. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003764>
71. Azhogina T., Sazykina M., Konstantinova E., Khmelevtsova L., Minkina T., Antonenko E., Sushkova S., Khammami M., Mandzhieva S., Sazykin I. (2023) Bio-accessible PAH influence on distribution of antibiotic resistance genes and soil toxicity of different types of land use. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **30**(5), 12695–12713. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23028-2>
72. Ning Q., Wang D., An J., Ding Q., Huang Z., Zou Y., Wu F., You J. (2022) Combined effects of nanosized

- polystyrene and erythromycin on bacterial growth and resistance mutations in *Escherichia coli*. *J. Hazard. Mater.* **422**, 126858.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126858>
73. Høiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O. (2010) Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int. J. Antimicrob. Agents*. **35**, 322–332.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011>
 74. Jian Z., Zeng L., Xu T., Sun S., Yan S., Yang L., Huang Y., Jia J., Dou T. (2021) Antibiotic resistance genes in bacteria: occurrence, spread, and control. *J. Basic Microbiol.* **61**(12), 1049–1070.
<https://doi.org/10.1002/jobm.202100201>
 75. Partridge S.R., Kwong S.M., Firth N., Jensen S.O. (2018) Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* **31**, e00088–17.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00088-17>
 76. Vandecraen J., Chandler M., Aertsen A., Houdt R.V. (2017) The impact of insertion sequences on bacterial genome plasticity and adaptability. *Crit. Rev. Microbiol.* **43**, 709–730.
<https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1303661>
 77. Shintani M., Sanchez Z.K., Kimbara K. (2015) Genomics of microbial plasmids: classification and identification based on replication and transfer systems and host taxonomy. *Front. Microbiol.* **6**, 242. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00242>
 78. Mao D., Luo Y., Mathieu J., Wang Q., Feng L., Mu Q., Feng C., Alvarez P.J. (2014) Persistence of extracellular DNA in river sediment facilitates antibiotic resistance gene propagation. *Environ. Sci. Technol.* **48**(1), 71–78.
<https://doi.org/10.1021/es404280v>
 79. Jutkina J., Marathe N.P., Flach C.F., Larsson D.G.J. (2018) Antibiotics and common antibacterial biocides stimulate horizontal transfer of resistance at low concentrations. *Sci. Total Environ.* **616–617**, 172–178.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.312>
 80. Li Q., Chang W., Zhang H., Hu D., Wang X. (2019) The role of plasmids in the multiple antibiotic resistance transfer in ESBLs-producing *Escherichia coli* isolated from wastewater treatment plants. *Front. Microbiol.* **10**, 633.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00633>
 81. Che Y., Xia Y., Liu L., Li A.D., Yang Y., Zhang T. (2019) Mobile antibiotic resistome in wastewater treatment plants revealed by Nanopore metagenomic sequencing. *Microbiome*. **7**(1), 44.
<https://doi.org/10.1186/s40168-019-0663-0>
 82. Scanlan P.D. (2017) Bacteria-bacteriophage coevolution in the human gut: implications for microbial diversity and functionality. *Trends Microbiol.* **25**, 614–623.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.02.012>
 83. Chen J., Quiles-Puchalt N., Chiang Y.N., Bacigalupe R., Fillol-Salom A., Chee M.S.J., Fitzgerald J.R., Penadés J.R. (2018) Genome hypermobility by lateral transduction. *Science*. **362**, 207–212.
<https://doi.org/10.1126/science.aat5867>
 84. Davies M.R., Holden M.T., Coupland P., Chen J.H., Venturini C., Barnett T.C., Zakour N.L., Tse H., Dougan G., Yuen K.Y., Walker M.J. (2015) Emergence of scarlet fever *Streptococcus pyogenes* emm12 clones in Hong Kong is associated with toxin acquisition and multidrug resistance. *Nat. Genet.* **47**, 84–87.
<https://doi.org/10.1038/ng.3147>
 85. Haaber J., Penadés J.R., Ingmer H. (2017) Transfer of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* **25**, 893–905. <https://doi.org/10.2217/17460913.2.3.323>
 86. Shapiro O.H., Kushmaro A., Brenner A. (2010) Bacteriophage predation regulates microbial abundance and diversity in a full-scale bioreactor treating industrial wastewater. *ISME J.* **4**(3), 327–336. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.118>
 87. Colomer-Lluch M., Calero-Caceres W., Jebri S., Hmaied F., Muniesa M., Jofre J. (2014) Antibiotic resistance genes in bacterial and bacteriophage fractions of Tunisian and Spanish wastewaters as markers to compare the antibiotic resistance patterns in each population. *Environ. Int.* **73**, 167–175.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.07.003>
 88. Calero-Caceres W., Muniesa M. (2016) Persistence of naturally occurring antibiotic resistance genes in the bacteria and bacteriophage fractions of wastewater. *Water Res.* **95**, 11–18.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.006>
 89. Thingstad T.F. (2000) Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. *Limnol. Oceanogr.* **45**(6), 1320–1328.
<https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.6.1320>
 90. Lang A.S., Westbye A.B., Beatty J.T. (2017) The distribution, evolution, and roles of gene transfer agents in prokaryotic genetic exchange. *Annu. Rev. Virol.* **4**, 87–104.
<https://doi.org/10.1146/annurev-virology-101416-041624>
 91. Solioz M., Marrs B. (1977) The gene transfer agent of *Rhodopseudomonas capsulata*. Purification and characterization of its nucleic acid. *Arch. Biochem. Biophys.* **181**, 300–307.
[https://doi.org/10.1016/0003-9861\(77\)90508-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(77)90508-2)
 92. Brown-Jaque M., Calero-Cáceres W., Muniesa M. (2015) Transfer of antibiotic-resistance genes via phage-related mobile elements. *Plasmid*. **79**, 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2015.01.001>
 93. Lang A.S., Zhaxybayeva O., Beatty J.T. (2012) Gene transfer agents: phage-like elements of genetic exchange. *Nat. Rev. Microbiol.* **10**, 472–482.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2802>
 94. Guy L., Nystedt B., Toft C., Zaremba-Niedzwiedzka K., Berglund E.C., Granberg F., Näslund K., Eriksson A.S., Andersson S.G. (2013) A gene transfer agent and a dynamic repertoire of secretion systems hold the keys to the explosive radiation of the emerging pathogen *Bartonella*. *PLoS Genet.* **9**, e1003393.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003393>

95. McDaniel L.D., Young E., Delaney J., Ruhnau F., Ritchie K.B., Paul J.H. (2010) High frequency of horizontal gene transfer in the oceans. *Science*. **330**, 50. <https://doi.org/10.1126/science.1192243>
96. Marrs B. (1974) Genetic recombination in *Rhodopseudomonas capsulata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **71**, 971–973. <https://doi.org/10.1073/pnas.71.3.971>
97. Bárdy P., Füzik T., Hrebík D., Plevka P. (2020) Structure and mechanism of DNA delivery of a gene transfer agent. *Nat. Commun.* **11**, 3034. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16669-9>
98. Mirajkar N.S., Gebhart C.J. (2014) Understanding the molecular epidemiology and global relationships of *Brachyspira hyodysenteriae* from swine herds in the United States: a multi-locus sequence typing approach. *PLoS One*. **9**, e107176. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107176>
99. Christensen S., Serbus L.R. (2020) Gene transfer agents in symbiotic microbes. *Results Probl. Cell Differ.* **69**, 25–76. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51849-3_2
100. Baharoglu Z., Mazel D. (2014) SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions. *FEMS Microbiol. Rev.* **38**(6), 1126–1145. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12077>
101. Napolitano R., Janel-Bintz R., Wagner J., Fuchs R.P. (2000) All three SOS-inducible DNA polymerases (Pol II, Pol IV and Pol V) are involved in induced mutagenesis. *EMBO J.* **19**(22), 6259–6265. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.22.6259>
102. Pagès V., Fuchs R.P. (2003) Uncoupling of leading- and lagging-strand DNA replication during lesion bypass *in vivo*. *Science*. **300**(5623), 1300–1303. <https://doi.org/10.1126/science.1083964>
103. Baharoglu Z., Mazel D. (2011) *Vibrio cholerae* triggers SOS and mutagenesis in response to a wide range of antibiotics: a route towards multiresistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**(5), 2438–2441. <https://doi.org/10.1128/AAC.01549-10>
104. Boles B.R., Singh P.K. (2008) Endogenous oxidative stress produces diversity and adaptability in biofilm communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **105**(34), 12503–12508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801499105>
105. Chen X., Yin H., Li G., Wang W., Wong P.K., Zhao H., An T. (2019) Antibiotic-resistance gene transfer in antibiotic-resistance bacteria under different light irradiation: implications from oxidative stress and gene expression. *Water Res.* **149**, 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.019>
106. Hocquet D., Llanes C., Thouverez M., Kulasekara H.D., Bertrand X., Plésiat P., Mazel D., Miller S.I. (2012) Evidence for induction of integron-based antibiotic resistance by the SOS response in a clinical setting. *PLoS Pathog.* **8** (6), e1002778. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002778>
107. Soucy S.M., Huang J., Gogarten J.P. (2015) Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat. Rev. Genet.* **16**, 472–482. <https://doi.org/10.1038/nrg3962>
108. Schönknecht G., Chen W.H., Ternes C.M., Barber G.G., Shrestha R.P., Stanke, M., Bräutigam A., Baker B.J., Banfield J.F., Garavito R.M., Carr K., Wilkerson C., Rensing S.A., Gagneul D., Dickenson N.E., Oesterhelt C., Lercher M.J., Weber A.P. (2013) Gene transfer from bacteria and archaea facilitated evolution of an extremophilic eukaryote. *Science*. **339**, 1207–1210. <https://doi.org/10.1126/science.1231707>
109. Lin M., Kussell E. (2019) Inferring bacterial recombination rates from large-scale sequencing datasets. *Nat. Methods*. **16**, 199–204. <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0293-7>
110. Niehus R., Mitri S., Fletcher A.G., Foster K.R. (2015) Migration and horizontal gene transfer divide microbial genomes into multiple niches. *Nat. Commun.* **6**, 8924. <https://doi.org/10.1038/ncomms9924>
111. Power J.J., Pinheiro F., Pompei S., Kovacova V., Yüksel M., Rathmann I., Förster M., Lässig M., Maier B. (2021) Adaptive evolution of hybrid bacteria by horizontal gene transfer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **118**, e2007873118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2007873118>
112. Chiang S.M., Schellhorn H.E. (2012) Regulators of oxidative stress response genes in *Escherichia coli* and their functional conservation in bacteria. *Arch. Biochem. Biophys.* **525**(2), 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.02.007>
113. Moore J.M., Correa R., Rosenberg S.M., Hastings P.J. (2017) Persistent damaged bases in DNA allow mutagenic break repair in *Escherichia coli*. *PLoS Genet.* **13**(7), e1006733. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006733>
114. Pribis J.P., García-Villada L., Zhai Y., Lewin-Epstein O., Wang A.Z., Liu J., Xia J., Mei Q., Fitzgerald D.M., Bos J., Austin R.H., Herman C., Bates D., Hadany L., Hastings P.J., Rosenberg S.M. (2019) Gamblers: an antibiotic-induced evolvable cell subpopulation differentiated by reactive-oxygen-induced general stress response. *Mol. Cell.* **74**(4), 785–800.e7. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.02.037>
115. Bos J., Zhang Q., Vyawahare S., Rogers E., Rosenberg S.M., Austin R.H. (2015) Emergence of antibiotic resistance from multinucleated bacterial filaments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **112**(1), 178–183. <https://doi.org/10.1073/pnas.1420702111>
116. Glaeser J., Zobawa M., Lottspeich F., Klug G. (2007) Protein synthesis patterns reveal a complex regulatory response to singlet oxygen in *Rhodobacter*. *J. Proteome Res.* **6**, 2460–2471. <https://doi.org/10.1021/pr060624p>
117. Campbell E.A., Greenwell R., Anthony J.R., Wang S., Lim L., Das K., Sofia H.J., Donohue T.J., Darst S.A. (2007) A conserved structural module regulates tran-

- scriptional responses to diverse stress signals in bacteria. *Mol. Cell.* **27**, 793–805.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.07.009>
118. Nuss A.M., Glaeser J., Klug G. (2009) RpoHII activates oxidative-stress defense systems and is controlled by RpoE in the singlet oxygen-dependent response in *Rhodobacter sphaeroides*. *J. Bacteriol.* **191**, 220–230.
<https://doi.org/10.1128/JB.00925-08>
119. Nuss A.M., Glaeser J., Berghoff B.A., Klug G. (2010) Overlapping alternative sigma factor regulons in the response to singlet oxygen in *Rhodobacter sphaeroides*. *J. Bacteriol.* **192**, 2613–2623.
<https://doi.org/10.1128/JB.01605-09>
120. Adnan F., Weber L., Klug G. (2015) The sRNA SorY confers resistance during photooxidative stress by affecting a metabolite transporter in *Rhodobacter sphaeroides*. *RNA Biol.* **12**, 569–577.
<https://doi.org/10.1080/15476286.2015.1031948>
121. Peng T., Berghoff B.A., Oh J.I., Weber L., Schirmer J., Schwarz J., Glaeser J., Klug G. (2016) Regulation of a polyamine transporter by the conserved 3' UTR-derived sRNA SorX confers resistance to singlet oxygen and organic hydroperoxides in *Rhodobacter sphaeroides*. *RNA Biol.* **13**, 988–999.
<https://doi.org/10.1080/15476286.2016.1212152>
122. Jitprasutwit S., Ong C., Juntawiang N., Ooi W.F., Hemsley C.M., Vattanaviboon P., Titball R.W., Tan P., Korbsrisate S. (2014) Transcriptional profiles of *Burkholderia pseudomallei* reveal the direct and indirect roles of Sigma E under oxidative stress conditions. *BMC Genomics.* **15**(1), 787.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-787>
123. Ahmed M.N., Porse A., Abdelsamad A., Sommer M., Høiby N., Ciofu O. (2019) lack of the major multifunctional catalase KatA in *Pseudomonas aeruginosa* accelerates evolution of antibiotic resistance in ciprofloxacin-treated biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.* **63**(10), e00766–19.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00766-19>
124. Tavita K., Mikkelsen K., Tark-Dame M., Jerabek H., Teras R., Sidorenko J., Tegova R., Tover A., Dame R.T., Kivisaar M. (2012) Homologous recombination is facilitated in starving populations of *Pseudomonas putida* by phenol stress and affected by chromosomal location of the recombination target. *Mutat. Res.* **737**(1–2), 12–24.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2012.07.004>
125. Akkaya Ö., Pérez-Pantoja D.R., Calles B., Nikel P.I., de Lorenzo V. (2018) The metabolic redox regime of *Pseudomonas putida* tunes its evolvability toward novel xenobiotic substrates. *MBio.* **9**(4), e01512–18.
<https://doi.org/10.1128/mBio.01512-18>
126. Akkaya Ö., Nikel P.I., Pérez-Pantoja D., de Lorenzo V. (2019) Evolving metabolism of 2,4-dinitrotoluene triggers SOS-independent diversification of host cells. *Environ. Microbiol.* **21**(1), 314–326.
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.14459>

Distribution of Antibiotic Resistance Genes in Microbial Communities: the Impact of Anthropogenic Pollution

I. S. Sazykin¹, M. A. Sazykina^{1, *}, A. R. Litsevich¹

¹Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344006 Russia

*e-mail: samara@sfedu.ru

The review considers issues related to the spread of antibiotic resistance genes in environmental microbial communities. “Hotspots” of adaptive evolution, accumulation and spread of antibiotic-resistant bacteria and genetic material of antibiotic resistance are highlighted. Such “hotspots” include anthropogenic ecosystems, such as municipal wastewater treatment plants, municipal solid waste landfills, livestock enterprises, and agroecosystems. The influence of various types of pollutants and biotic factors on enhancement of mutagenesis and horizontal transfer of antibiotic resistance genes is considered. The role of mobile genetic elements in mobilization and accelerated spread of resistance determinants is shown. Special attention is paid to the role of oxidative stress and stress regulons, which are activated for realization and control of molecular genetic mechanisms of adaptive evolution of bacteria and horizontal distribution of genetic material in bacterial populations. Oxidative stress is identified as one of the main activators of genome destabilization and adaptive evolution of bacteria.

Keywords: bacteria, antibiotic resistance genes, horizontal gene transfer, mutagenesis, pollutants, xenobiotics, oxidative stress