



# 四环素残留对黄豆芽营养品质及根际微生物的影响

蔡婷, 张珊, 李鑫, 向文良\*

西华大学食品与生物工程学院 西华大学古法酿造生物技术研究所 四川省食品生物技术重点实验室,  
四川 成都 610039

蔡婷, 张珊, 李鑫, 向文良. 四环素残留对黄豆芽营养品质及根际微生物的影响[J]. 微生物学报, 2023, 63(7): 2864-2879.

CAI Ting, ZHANG Shan, LI Xin, XIANG Wenliang. Effect of tetracycline residue on rhizosphere microbes and nutrients of soybean sprouts[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(7): 2864-2879.

**摘要:**【目的】探究土壤中四环素残留对土培黄豆芽的生长发育、根际微生物及营养品质的影响,为正确评估抗生素残留对蔬菜种植业的影响及制定土壤-蔬菜系统中抗生素污染防控策略提供理论基础。【方法】模拟土壤中不同四环素残留水平(0、25、50 mg/kg),采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)方法测定黄豆芽中的四环素残留量、理化方法测定黄豆芽的营养品质、高通量技术测定根际微生物群落。【结果】黄豆芽中四环素累积量随土壤中四环素残留量的增加而增加,累积量分布表现为根>下胚轴>子叶;四环素残留显著抑制黄豆芽的根和下胚轴的发育及其生物量、维生素C含量和抗氧化性,但增加了纤维素含量。在这些指标中维生素C含量的变化最显著,在黄豆芽生长第5天,25 mg/kg和50 mg/kg四环素残留组中,黄豆芽中维生素C含量较对照组分别降低41.35%和49.80%;此外,四环素残留显著影响黄豆芽根际微生物群落结构,尤其是与氮循环相关的属。其中,明显增加了不动杆菌属(*Acinetobacter*)和栖热菌属(*Thermus*)的相对丰度,减少了假黄色单胞菌属(*Pseudoxanthomonas*)和氢嗜菌属(*Hydrogenophaga*)的相对丰度。【结论】土壤中的四环素残留显著影响黄豆芽的生长发育、根际微生物群落结构以及维生素C等重要营养品质指标。

**关键词:** 四环素残留; 黄豆芽; 根际微生物; 营养品质

资助项目: 国家自然科学基金(31571935); 四川省国际合作(澳新)研究院开放课题(AXYJ2022-007); 成都市科技项目(2020-YF09-00007-SN); 西华大学人才引进项目(Z211009)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31571935), the Open Research Subject of Sichuan Institute of International Science and Technology Cooperation (Australia and New Zealand) (AXYJ2022-007), the Chengdu Science and Technology Project (2020-YF09-00007-SN), and the Talent Introduction Program of Xihua University (Z211009).

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-28-87725899, E-mail: biounicom@mail.xhu.edu.cn

Received: 2022-11-03; Accepted: 2022-12-22; Published online: 2023-04-12

# Effect of tetracycline residue on rhizosphere microbes and nutrients of soybean sprouts

CAI Ting, ZHANG Shan, LI Xin, XIANG Wenliang\*

Key Laboratory of Food Biotechnology of Sichuan, Institutes of Ancient Fermentation & Brewing Technology, School of Food and Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, Sichuan, China

**Abstract:** [Objective] To explore the effect of soil tetracycline on the growth and development, rhizosphere microbes, and nutrients of soybean sprouts, and to lay a theoretical basis for evaluating the influence of antibiotic residue on vegetable cultivation and preventing and controlling antibiotic contamination in soil-vegetable system. [Methods] We simulated different levels of tetracycline (0, 25, 50 mg/kg) in soil and determined the tetracycline in soybean sprouts by high performance liquid chromatography (HPLC). The nutrients in soybean sprouts were measured with physicochemical methods and rhizosphere microbes were elucidated by high-throughput sequencing. [Results] Tetracycline accumulation in soybean sprouts rose with the increase in the level of tetracycline in soil, and the distribution followed the order of root>hypocotyl>cotyledon. Tetracycline residue in soil significantly inhibited the development and biomass of root and hypocotyl, vitamin C synthesis, and antioxidant activity of soybean sprouts, particularly the vitamin C synthesis. To be specific, on the fifth day of growth, vitamin C content in soybean sprouts cultivated in soil with 25 mg/kg and 50 mg/kg tetracycline was 41.35% and 49.80% lower than that of the control, respectively. Moreover, tetracycline residue significantly affected the microbial community structure in rhizosphere of soybean sprouts, especially the nitrogen cycling-related genera. Specifically, the relative abundance of *Acinetobacter* and *Thermus* significantly increased and that of *Pseudoxanthomonas* and *Hydrogenophaga* reduced. [Conclusion] Tetracycline residue in soil suppressed the growth of soybean sprouts, rhizosphere microbial community structure, and important nutrients such as vitamin C.

**Keywords:** tetracycline residue; soybean sprouts; rhizosphere microbes; nutritional quality

近年来, 新型有机污染物抗生素在环境中的残留及其对生态环境和人体健康的不利影响已成为国内外的研究热点<sup>[1]</sup>。抗生素在养殖业、畜牧业和医疗行业的大量使用或滥用是农业环境中抗生素残留的重要来源<sup>[2]</sup>。研究表明, 几乎所有的抗生素均能在土壤、地下水、灌溉用水和有机肥料等农业环境中发现, 包括四环素类、 $\beta$ 内酰胺类、氨基糖苷类等<sup>[3]</sup>。土壤根际微生物是土壤生态系统的重要组成部分

分, 土壤中的抗生素残留一方面会选择性地杀死特定微生物, 影响土壤根际微生物群落的多样性、结构及功能。研究表明抗生素不仅通过减少微生物生物量, 而且通过调控细菌和真菌之间的比例关系来诱导微生物多样性的变化<sup>[4]</sup>; Laverman 等<sup>[5]</sup>发现抗生素残留会影响环境中起硝化作用的氨氧化菌和古菌的相对丰度, 从而影响环境介质中氮转化、硫酸盐还原、养分循环等生态功能。另一方面残留在土壤中的抗生

素会被食用蔬菜吸收和累积,进而威胁人体健康<sup>[6-8]</sup>。同时,也会影响蔬菜的生长发育及其营养品质<sup>[8]</sup>。但目前为止,人们对抗生素残留的关注,多数仍集中在种植环境污染、食物残留检测和对健康的不利影响等方面<sup>[9-11]</sup>,很少关注土壤中的抗生素残留对食用蔬菜种植及其营养品质的影响。

芽苗菜是植物种子或其他营养器官生长出的可供食用的嫩芽、芽苗、芽球或幼茎。因其具有丰富的营养和独特的风味等特点,享有“活体蔬菜”和“天然胎盘素”的美誉<sup>[12]</sup>。黄豆芽是芽苗菜主要种类之一,被作为美国和日本的国防战备菜;在中国,黄豆芽的历史能追溯至郑和下西洋,它是远航时补充维生素 C 的重要来源;中医典籍中,更是将黄豆芽列为益寿食物的第一名<sup>[13]</sup>。研究表明,土培较水培黄豆芽的营养价值更高,且下胚轴更白、更细<sup>[14]</sup>。因此,目前国内市场正效仿产量庞大的日本、韩国,逐渐采用土培方式大规模生产黄豆芽。土培黄豆芽在生长过程中,一方面将黄豆本身的营养和功能成分进行复杂的生物转化,另一方面,根系通过吸收土壤中的水分和各种矿质元素合成黄豆芽自身生长所需的营养物质,其中蛋白质、脂肪、氨基酸、膳食纤维、维生素 C、酚类化合物含量等共同决定了黄豆芽的营养品质<sup>[15]</sup>。

四环素(tetracycline, TC)是使用量最大、应用最广泛的兽用抗生素,其土壤中残留量通常高于其他抗生素<sup>[16]</sup>。土培黄豆芽在种植过程中,土壤中残留的四环素不可避免地会影响土壤中的根际微生物组成,进而影响黄豆芽的营养吸收及转化。因此,本研究以土培黄豆芽为研究对象,探究土壤中的四环素残留量对黄豆芽根际微生物组成的影响。同时,通过测定黄豆芽基本生物学特性及其营养指标揭示土壤抗生素残留对黄豆芽生长发育及营养品质的影

响,其结果将为评估抗生素残留对食用蔬菜营养品质的影响及制定土壤-蔬菜系统中抗生素污染防控策略提供理论参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

黄豆购买于河南省商科种业有限公司;供试土壤采自四川某有机蔬菜地,采集后自然风干,磨碎过 5 mm 筛备用。土壤基础理化性质为:pH 5.83、有机质 19.24 g/kg、全氮 11.29 g/kg、全磷 8.45 g/kg、碱解氮 164.29 mg/kg、有效磷 96.12 mg/kg、速效钾 132.57 mg/kg;所有原材料均未检测出抗生素残留。

### 1.2 主要试剂和仪器

盐酸四环素、牛血清白蛋白、考马斯亮蓝 G-250、蒽酮、蔗糖,购自北京索莱宝科技有限公司;甲醇、乙腈、甲酸,购自 Merck 公司;草酸、抗坏血酸、纤维素,购自上海源叶生物科技有限公司;Soil DNA Extration 试剂盒,购自成都福际生物技术有限公司;植物类黄酮测试盒、植物总酚检测试剂盒、抑制与产生超氧阴离子自由基测定试剂盒、羟自由基测定试剂盒、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical, DPPH)自由基清除能力试剂盒,购自南京建成生物工程研究所。

FDU-1100 真空冷冻干燥机,东京理化器械株式会社;5804R 冷冻离心机, Eppendorf 公司;Water 2695 高效液相色谱仪, Waters 公司;UV2400 紫外-可见分光光度计,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;NanoDrop 2000, Thermo 公司;T-1 Thermoblock PCR 自动扩增仪, Biometra Tgradient 公司;720BR 电泳凝胶成像分析仪, Bio-Rad 公司。

### 1.3 黄豆芽的培养

采用 Płonka 等<sup>[17]</sup>的方法进行黄豆芽的培养。

挑选成熟饱满未破损的黄豆, 用自来水清洗 3 次, 在 30 °C 浸泡 3 h。实验组添加 25 mg/kg (TC25) 和 50 mg/kg (TC50) 四环素模拟土壤中抗生素污染现状, 并以未加四环素为对照组 (CON)。将浸泡后的种子单层平铺在装有土壤的育苗盘中, 置于 25 °C、遮光条件下培养 5 d。每个处理重复 3 次。每天取黄豆芽, 清洗残留土壤后, 一部分样品分为根、下胚轴和子叶用于四环素残留测定, 一部分去根后用于基本营养指标和抗氧化能力的测定。第 3 天和第 5 天取根际土壤用于高通量测序。

#### 1.4 黄豆芽中四环素残留量

采用 Gu 等<sup>[18]</sup>的方法测定四环素残留量。将 10 mg 四环素标准品定容至 10 mL 甲醇溶液中, 分别稀释成终质量浓度为 5、10、15、20、25、50、100  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液。冷冻干燥后的各组样品经提取、纯化、浓缩, 待 HPLC 检测。

HPLC 条件为色谱柱: Agilent Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$  柱(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: A 为 0.1% 甲酸, B 为乙腈; 流速 1.0 mL/min; 进样量 20  $\mu\text{L}$ ; 紫外检测波长 340 nm; 柱温 30 °C; 等度洗脱程序: 90% A、10% B, 洗脱时间 30 min。四环素标准溶液不同质量浓度(x)与(y)作标准曲线, 方程为  $y=27\ 197x+418$  ( $R^2=0.999\ 9$ )。根据回归方程计算黄豆芽中四环素的残留量。

#### 1.5 基本生物学特性

根长: 从每组样品中随机选取 120 株, 在平底玻璃盘中铺上带刻度的方格纸, 用一块玻璃压平, 然后加入少量水保持浅水层, 将黄豆芽的根置于其中, 用镊子拉直测定其长度。

下胚轴长: 从每组样品中随机选取 120 株, 用 10 分度游标卡尺测量下胚轴的长度。

生物量: 从每组样品中随机选取 120 株, 去根后 105 °C 烘干至恒重进行称量。

#### 1.6 黄豆芽生长过程中营养指标的测定

##### 1.6.1 维生素 C

采用华晶忠等<sup>[19]</sup>的方法测定维生素 C 含量。样品前处理后制备成提取液, 向 5.0 mL 提取液中依次加入 2.0 mL 染液、5.0 mL 二甲苯, 涡旋混匀 0.5 min, 静置后取上层二甲苯萃取液在 500 nm 处测吸光度。相同条件下测定不同浓度抗坏血酸溶液的吸光值并制作标准曲线。

##### 1.6.2 纤维素

采用王伟<sup>[20]</sup>的方法测定纤维素含量。样品前处理后制备成提取液, 取 2.0 mL 于具塞试管中, 加入 2% 蒽酮试剂 0.5 mL, 再沿管壁加入 5.0 mL 浓硫酸, 混匀后静置 12 min, 在 620 nm 处测量吸光度。相同条件下测定不同浓度纤维素溶液的吸光值并制作标准曲线。

##### 1.6.3 蛋白质

采用 Grintzalis 等<sup>[21]</sup>的方法测定蛋白质含量。样品前处理后制备成提取液, 经稀释后取 1.0 mL, 加入考马斯亮蓝染料 5.0 mL, 混匀后静置 5 min, 在 595 nm 处测量吸光度。相同条件下测定不同浓度牛血清白蛋白溶液的吸光值并制作标准曲线。

##### 1.6.4 可溶性糖

采用王伟<sup>[20]</sup>的方法测定可溶性糖含量。样品前处理后制备成提取液, 取 0.5 mL 于具塞试管中, 加入 1.5 mL 蒸馏水后, 加入 2% 蒽酮试剂 0.5 mL, 再沿管壁加入 5.0 mL 浓硫酸, 混匀后沸水浴保温 1 min, 自然冷却后在 630 nm 处测量吸光度。相同条件下测定不同浓度蔗糖溶液的吸光值并制作标准曲线。

##### 1.6.5 脂肪

脂肪的测定参考国标《GB 5009.6—2016 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》中的索氏抽提法<sup>[22]</sup>。

##### 1.6.6 类黄酮、总酚及抗氧化性

(1) 类黄酮和总酚: 参照植物类黄酮测试

盒、植物总酚(total phenols, TP)检测试剂盒说明书进行测定。

(2) 超氧阴离子、羟自由基和 DPPH 清除能力: 参照抑制与产生超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )测定试剂盒、羟自由基( $OH^{\cdot}$ )测定试剂盒、DPPH 自由基清除能力试剂盒说明书进行测定。

(3) 铁离子还原能力(ferric ion reducing antioxidant power, FRAP): 参考 Pajak 等<sup>[23]</sup>的方法并略有改动。样品经前处理制备成提取液, 并向试管中加入 3 mL FRAP 工作液, 37 °C 水浴 5 min 后加入 400  $\mu$ L 提取液, 混合后静置 4 min, 以工作液调零, 在 593 nm 处测定吸光值。相同条件下测定不同浓度  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  溶液的吸光值并制作标准曲线。

### 1.7 16S rRNA 基因高通量测序

根据 Soil DNA Extration 试剂盒说明书提取样品中的总 DNA, 使用 NanoDrop 2000 进行 DNA 浓度和纯度测定; 采用 16S V4 区正向引物 515F (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3')和反向引物 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')扩增 16S rRNA 基因以鉴定细菌群落组成及多样性。PCR 反应体系为(50  $\mu$ L): 5  $\mu$ L 1 $\times$ PCR Buffer for KOD-Plus-Neo, 5  $\mu$ L dNTPs (0.2 mmol/L), 1  $\mu$ L KOD-Plus-Neo, 3  $\mu$ L  $MgSO_4$  (1.5  $\mu$ mol/L), 上下游引物(0.3  $\mu$ mol/L)各 1.5  $\mu$ L, 2  $\mu$ L 模板 DNA, ddH<sub>2</sub>O 31  $\mu$ L。PCR 反应程序为: 94 °C 预变性 1 min; 94 °C 变性 20 s, 54 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 然后 72 °C 稳定延伸 5 min, 最后在 4 °C 进行保存。利用 Illumina 公司的 MiSeq PE250 高通量测序平台进行测序, 使用 QIIME (v1.9.0)软件对原始测序序列进行质控, 使用 FLASH 软件进行拼接; 然后基于 Usearch 软件(<http://www.drive5.com/usearch/>), 使用 UPARSE 算法在 97%的一致性水平上进行分类操作单元(operational taxonomic

unit, OTU)聚类并剔除嵌合体; 利用 UCLUST 分类和 SILVA 数据库进行注释分析。

### 1.8 统计分析

试验数据用 SPSS Statistics25 和 GraphPad Prism 8 软件进行处理, 所有分析重复 3 次, 结果以平均值 $\pm$ 标准差表示。采用双向方差分析(two-way analysis of variance, two-way ANOVA)检验差异是否显著。利用 R 语言对样品中根际微生物群落的分布和相对丰度进行可视化处理, 同时分析根际微生物与营养指标的相关性。

## 2 结果与分析

### 2.1 黄豆芽中四环素的残留

抗生素进入土壤、灌溉水等农业环境后, 可通过植物的吸收在蔬菜及粮食作物中富集<sup>[24]</sup>。Hu 等<sup>[3]</sup>在对萝卜、油菜、芹菜和香菜等蔬菜中多种抗生素残留情况的检测中发现, 四环素类抗生素浓度最高。因此, 本研究用四环素作为研究对象模拟土壤样本中的抗生素残留现状, 结果表明, 黄豆芽的根、下胚轴和子叶中四环素的残留量均随土壤环境中抗生素浓度的增加而增加, 且与生长周期呈现正相关(表 1)。黄豆芽各器官中累积的四环素浓度表现出一定的差异性, 根系中四环素浓度明显高于下胚轴和子叶( $P < 0.01$ )。黄豆芽生长的第 5 天, TC25 试验组中根、下胚轴、子叶中的四环素残留量分别为 21.31、2.87 和 0.21 mg/kg; 而 TC25 试验组各器官中的四环素残留量更高, 分别为 36.99、5.04 和 0.41 mg/kg。

### 2.2 四环素残留对黄豆芽基本生物学特性的影响

土壤中的抗生素在蔬菜作物中富集后, 会直接影响其生长发育, 研究发现四环素类抗生素可影响蔬菜作物的发芽率和根长等<sup>[25]</sup>。在本研究中, 土壤中的四环素残留显著抑制了黄豆芽的生物基本指标, 且四环素浓度越高其抑制作

**表 1 黄豆芽不同器官中四环素的残留量**  
Table 1 Tetracycline residues in different organs of soybean sprouts

t/d	Groups	Different organs (mg/kg DW)		
		Cotyledon	Hypocotyl	Root
1	CON	ND	—	—
	TC25	ND	—	—
	TC50	ND	—	—
2	CON	ND	ND <sup>a</sup>	—
	TC25	ND	0.83±0.06 <sup>b</sup>	—
	TC50	ND	1.67±0.06 <sup>c</sup>	—
3	CON	ND	ND <sup>a</sup>	0.50±0.05 <sup>a</sup>
	TC25	ND	1.42±0.32 <sup>b</sup>	9.85±4.22 <sup>b</sup>
	TC50	ND	3.20±0.89 <sup>c</sup>	17.84±6.41 <sup>c</sup>
4	CON	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	0.51±0.65 <sup>a</sup>
	TC25	ND <sup>a</sup>	2.02±0.02 <sup>b</sup>	16.40±6.16 <sup>b</sup>
	TC50	0.27±0.07 <sup>b</sup>	4.24±0.45 <sup>c</sup>	29.47±1.19 <sup>c</sup>
5	CON	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	0.70±0.47 <sup>a</sup>
	TC25	0.21±0.02 <sup>b</sup>	2.87±0.18 <sup>b</sup>	21.31±4.16 <sup>b</sup>
	TC50	0.41±0.04 <sup>c</sup>	5.04±1.03 <sup>c</sup>	36.99±4.17 <sup>c</sup>

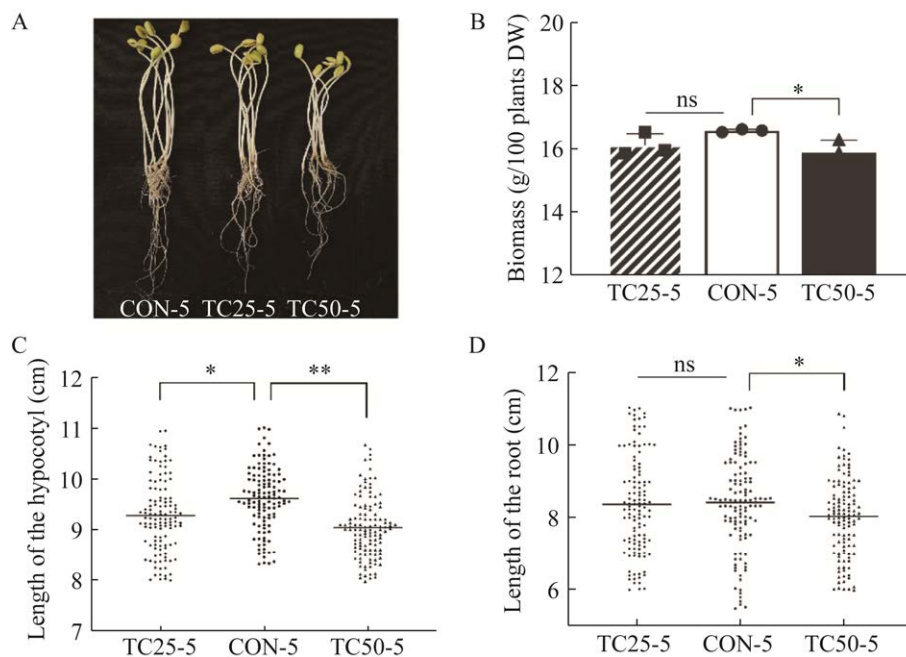
The presented values are the means of three determinations, with standard deviations indicated; ND: Not detected; —: No samples were collected; DW: Dry weight. Different letters indicate significant differences from the CON group ( $P < 0.05$ ).

用更为明显。在黄豆芽生长第 5 天, TC25 组与 CON 组的生物量、根长无显著差异( $P > 0.05$ ), 而下胚轴长有显著差异( $P < 0.05$ ); TC50 组与 CON 组的生物量( $P < 0.05$ )、根长( $P < 0.05$ )及下胚轴( $P < 0.01$ )影响显著, 降幅分别为 4.28%、4.64% 和 6.03% (图 1)。

### 2.3 四环素残留对黄豆芽基本营养指标的影响

#### 2.3.1 四环素残留对黄豆芽中维生素 C 的影响

维生素 C 是食用蔬菜中的一种重要营养素, 具有很强的抗氧化活性, 测定其含量具有重要意义<sup>[26]</sup>。在整个发芽过程中, CON 组维生素 C 含量逐渐升高并趋于平稳, 发芽第 5 天达到峰值 75.92 mg/100g; 而实验组黄豆芽生长过程中, 维生素 C 含量先增加后减少, 在发芽第 3 天 TC25 组和 TC50 组维生素 C 达到峰值, 分别为 60.48 mg/100g 和 51.37 mg/100g。四环素对黄豆芽中维生素 C 的形成具有显著抑制作



**图 1 四环素残留对黄豆芽基本生物学特性的影响**

Figure 1 Tetracycline residues in different organs of soybean sprouts. A: The above-ground fresh mass. B: Biomass. C: Length of the hypocotyls. D: Length of the root. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; ns:  $P > 0.05$ .

用( $P<0.05$ ),且随四环素浓度增加,其抑制作用越明显,在黄豆芽生长第5天,TC25组和TC50组黄豆芽中维生素C含量较对照组分别降低41.35%和49.80%( $P<0.01$ )(图2A)。

### 2.3.2 四环素残留对黄豆芽中纤维素的影响

纤维素具有吸附大量水分、增加粪便量、促进胃肠蠕动、加快粪便的排泄的功能<sup>[27]</sup>。黄豆芽在培育过程中,纤维素的含量呈现逐渐增加的趋势,发芽第5天,CON组黄豆芽中纤维素含量从104.34 mg/g增加到306.15 mg/g,显著增加了193.42%( $P<0.01$ );低浓度四环素对纤维素含量增加无显著的抑制,而高浓度四环素残留显著降低纤维素的增加趋势( $P<0.05$ );整个发芽期间,四环素使黄豆芽中纤维素含量显著增加,在成品黄豆芽中,TC25组和TC50组黄豆芽中纤维素含量分别较CON组增加了22.45%和9.87%( $P<0.05$ )(图2B)。

### 2.3.3 四环素残留对黄豆芽中蛋白质的影响

蛋白质具有维持身体结构和生命运动的作用,是人们身体不可或缺的重要营养素,植物蛋白质是人类膳食蛋白质的重要来源<sup>[28]</sup>。黄豆芽生长过程中,对照组和实验组蛋白质含量均呈逐渐下降趋势,发芽第5天,CON组黄豆芽中蛋白质含量从305.50 mg/g降低到121.05 mg/g,显著下降了60.38%( $P<0.01$ );而四环素残留可以在一定程度上缓和下降趋势;在发芽第1-5天,实验组与对照组黄豆芽的蛋白质含量无显著差异(图3A)( $P>0.05$ )。

### 2.3.4 四环素残留对黄豆芽中可溶性糖的影响

可溶性糖在植物生命周期中也具有重要作用,不仅是代谢资源和细胞的结构成分,而且还作为信号调节与植物生长和发育相关的各种过程<sup>[29]</sup>。对照组和实验组黄豆芽生长过程中,可溶性糖均呈上升的趋势,且第2天和第5天较前一天相比,均出现显著升高( $P<0.05$ )。发芽第2天与第1天相比,各实验组中黄豆芽的可溶

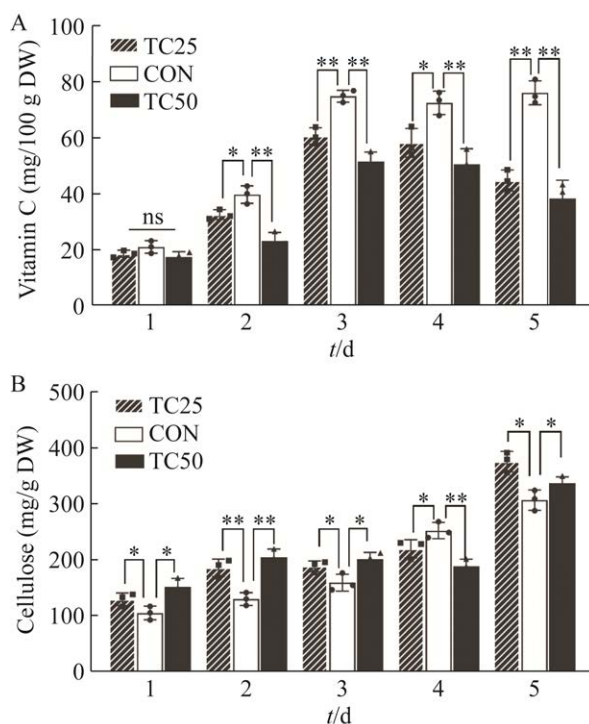


图2 黄豆芽生长过程中维生素C(A)和纤维素(B)含量的变化

Figure 2 Changes of vitamin C (A) and cellulose (B) content in soybean sprouts during growth. \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ ; ns:  $P>0.05$ .

性糖含量分别显著上升了72.06%、73.27%及78.44%( $P<0.01$ );发芽第5天,CON组、TC25组和TC50组黄豆芽中可溶性糖含量分别达到第1天的2.32倍、2.36倍、2.38倍。发芽第3天,实验组黄豆芽中可溶性糖含量较对照组有所升高,但整体上来说,四环素残留对黄豆芽中可溶性含量无显著影响(图3B)( $P>0.05$ )。

### 2.3.5 四环素残留对黄豆芽中脂肪的影响

脂肪作为人体所需的七大营养素之一,是人体需要的重要营养物质。蔬菜中的脂肪不仅可以增加饱腹感,还可以促进脂溶性维生素的吸收<sup>[30]</sup>。黄豆芽生长的1-3 d,脂肪含量变化不明显,从第4天开始,均出现下降趋势,但整体变化不明显。在黄豆芽生长的1-5 d,四环素残留对其脂肪含量的影响并不显著(图3C)( $P>0.05$ )。

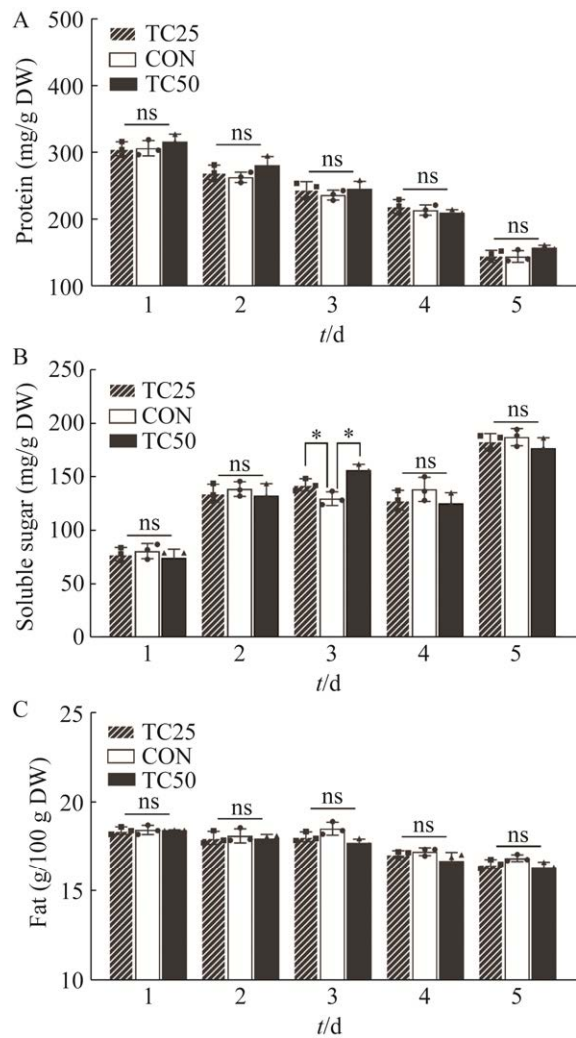


图3 黄豆芽生长过程中蛋白质(A)、可溶性糖(B)和脂肪(C)含量的变化

Figure 3 Changes of protein (A), soluble sugar (B) and fat contents (C) in soybean sprouts during growth. \*:  $P < 0.05$ ; ns:  $P > 0.05$ .

#### 2.4 四环素残留对黄豆芽中类黄酮和总酚含量以及抗氧化性的影响

类黄酮和多酚物质广泛存在于植物中,对植物本身具有重要的生理功能<sup>[31]</sup>。黄豆在发芽期间,类黄酮和总酚含量会随豆芽生长而积累,类黄酮呈现先上升后下降的趋势,第4天达到峰值1.96 mg/g,而总酚含量呈现逐渐升高趋势,第5天达到峰值7.70 mg/g(表2)。整体上看,

四环素残留对黄豆芽中类黄酮含量有显著影响( $P < 0.05$ ),而对总酚无影响。黄豆芽生长第5天,TC25组和TC50组黄豆芽中类黄酮含量较CON组分别降低11.17%和29.61%( $P < 0.05$ ),说明四环素残留显著抑制了黄豆芽中类黄酮的积累,并随浓度增加抑制作用越明显。

蔬菜的抗氧化能力是指通过清除氧自由基来促进人体内源性抗氧化物质的产生;对蔬菜本身而言,抗氧化性可以防止氧化变质从而减少营养物质的损失<sup>[32]</sup>。为进一步评价四环素对黄豆芽生长过程中抗氧化能力的影响,以超氧阴离子清除能力、羟自由基清除能力、DPPH自由基清除能力和FRAP四个指标作为黄豆芽抗氧化能力的评价指标。总体而言,黄豆芽生长发育过程中抗氧化能力随时间增强。四环素残留降低了黄豆芽的抗氧化能力,例如类黄酮和总酚含量、羟自由基清除能力、DPPH自由基清除能力和FRAP,且随抗生素浓度的增加降低更显著。在黄豆芽生长第5天,TC50较CON组,类黄酮含量降低了29.61%( $P < 0.05$ );羟自由基清除能力和FRAP分别降低了31.80%和24.79%( $P < 0.05$ )(表2)。

#### 2.5 黄豆芽根际微生物群落的变化

##### 2.5.1 黄豆芽根际微生物群落的 $\alpha$ 多样性分析

$\alpha$ 多样性可用于评估样本中微生物的复杂度,是反映物种丰富度和均匀度的综合指标。Chao1指数和ACE指数可以反映出微生物群落的丰富度,而Shannon指数和Simpson指数则反映出群落的多样性<sup>[33]</sup>。在黄豆芽生长过程中,Chao1、ACE和Shannon指数增加,说明黄豆芽生长过程中根际微生物群落丰富度和多样性增大。黄豆芽生长第5天,四环素残留导致黄豆芽根际微生物群落Chao1、ACE和Shannon指数降低,说明四环素抑制了黄豆芽生长过程中根际微生物群落丰富度和多样性(图4)。



表 2 黄豆芽生长过程中抗氧化能力变化

Table 2 Changes of antioxidant capacity in soybean sprouts during growth

<i>t</i> /d	Groups	Total flavonoid (mg/g DW)	Total phenol (mg/g DW)	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup> (U/g DW)	OH <sup>·-</sup> (U/mg DW)	DPPH (mg trolox/g DW)	FRAP (mmol Fe <sup>2+</sup> /100 g DW)
1	CON	0.61±0.06 <sup>a</sup>	1.41±0.12 <sup>a</sup>	14.59±2.54 <sup>a</sup>	23.68±1.55 <sup>a</sup>	0.27±0.01 <sup>a</sup>	0.92±0.02 <sup>a</sup>
	TC25	0.54±0.06 <sup>a</sup>	1.30±0.04 <sup>a</sup>	15.02±1.43 <sup>a</sup>	19.02±4.21 <sup>a</sup>	0.26±0.01 <sup>a</sup>	0.88±0.01 <sup>b</sup>
	TC50	0.51±0.07 <sup>a</sup>	1.27±0.01 <sup>a</sup>	15.29±1.36 <sup>a</sup>	21.14±1.84 <sup>a</sup>	0.25±0.01 <sup>a</sup>	0.87±0.02 <sup>b</sup>
2	CON	0.91±0.01 <sup>a</sup>	2.26±0.19 <sup>a</sup>	25.32±1.60 <sup>a</sup>	47.06±1.51 <sup>a</sup>	0.38±0.01 <sup>a</sup>	1.08±0.02 <sup>a</sup>
	TC25	0.90±0.02 <sup>a</sup>	2.75±0.17 <sup>b</sup>	34.50±1.23 <sup>b</sup>	47.58±1.79 <sup>a</sup>	0.43±0.02 <sup>b</sup>	0.99±0.02 <sup>b</sup>
	TC50	0.89±0.02 <sup>a</sup>	2.45±0.14 <sup>a</sup>	31.55±1.02 <sup>b</sup>	49.65±1.37 <sup>a</sup>	0.44±0.01 <sup>b</sup>	0.93±0.02 <sup>b</sup>
3	CON	1.43±0.06 <sup>a</sup>	4.03±0.37 <sup>a</sup>	48.96±1.92 <sup>a</sup>	85.09±4.84 <sup>a</sup>	0.55±0.03 <sup>a</sup>	1.14±0.04 <sup>a</sup>
	TC25	1.37±0.05 <sup>a</sup>	4.52±0.31 <sup>a</sup>	51.78±0.95 <sup>a</sup>	81.85±1.89 <sup>a</sup>	0.38±0.03 <sup>b</sup>	1.06±0.05 <sup>a</sup>
	TC50	1.22±0.06 <sup>b</sup>	3.68±0.41 <sup>a</sup>	53.39±1.30 <sup>b</sup>	86.19±6.37 <sup>a</sup>	0.41±0.01 <sup>b</sup>	0.95±0.03 <sup>b</sup>
4	CON	1.96±0.01 <sup>a</sup>	5.86±0.43 <sup>a</sup>	58.32±0.84 <sup>a</sup>	60.81±3.10 <sup>a</sup>	0.70±0.02 <sup>a</sup>	1.18±0.05 <sup>a</sup>
	TC25	1.92±0.03 <sup>a</sup>	5.19±0.32 <sup>a</sup>	59.86±2.39 <sup>a</sup>	55.31±2.97 <sup>a</sup>	0.63±0.01 <sup>b</sup>	1.02±0.02 <sup>b</sup>
	TC50	1.71±0.07 <sup>b</sup>	4.54±0.26 <sup>b</sup>	59.07±1.60 <sup>a</sup>	44.14±3.10 <sup>b</sup>	0.56±0.02 <sup>b</sup>	0.93±0.03 <sup>b</sup>
5	CON	1.79±0.03 <sup>a</sup>	7.57±0.30 <sup>a</sup>	74.91±2.59 <sup>a</sup>	51.95±2.19 <sup>a</sup>	1.39±0.02 <sup>a</sup>	1.21±0.03 <sup>a</sup>
	TC25	1.59±0.04 <sup>b</sup>	7.70±0.15 <sup>a</sup>	80.63±2.12 <sup>b</sup>	43.27±2.19 <sup>b</sup>	1.39±0.02 <sup>a</sup>	1.00±0.02 <sup>b</sup>
	TC50	1.26±0.03 <sup>c</sup>	7.37±0.14 <sup>a</sup>	91.55±2.55 <sup>b</sup>	35.43±2.59 <sup>b</sup>	1.37±0.04 <sup>a</sup>	0.91±0.03 <sup>b</sup>

The presented values are the means of three determinations, with standard deviations indicated; DW: Dry weight. Different letters indicate significant differences from the CON group ( $P<0.05$ ).

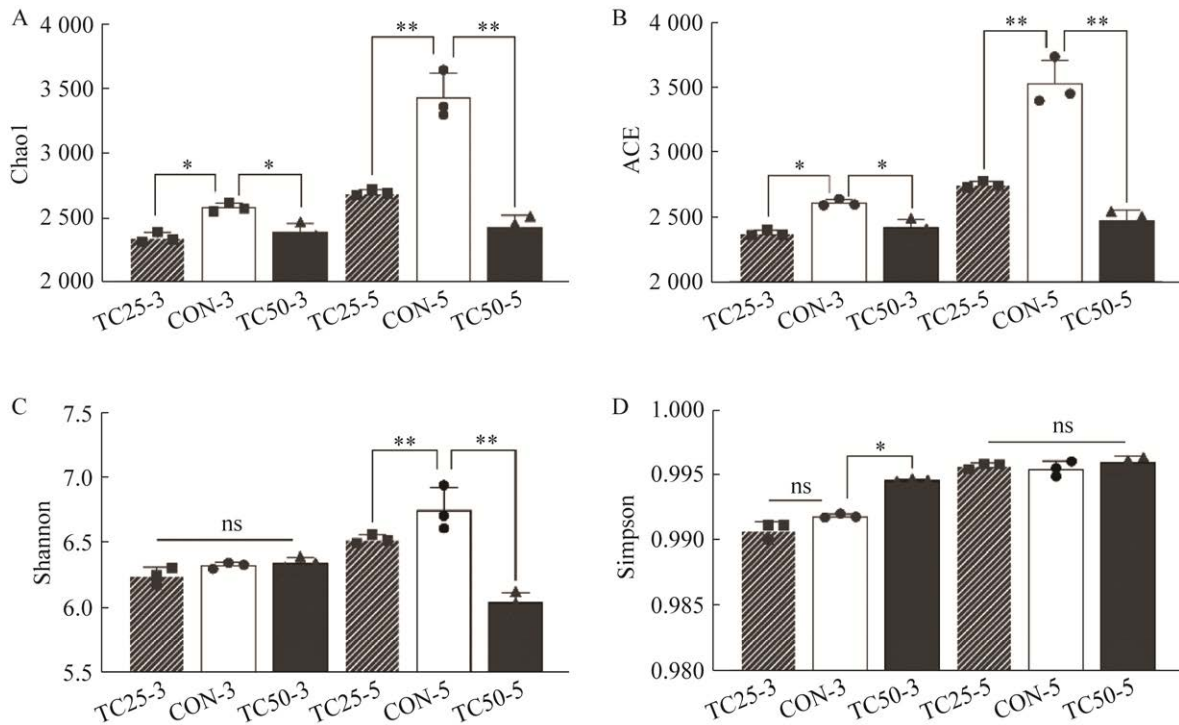
图 4 黄豆芽根际微生物群落  $\alpha$  多样性

Figure 4 Alpha diversity of rhizosphere microbial communities in soybean sprouts. A: Chao1. B: ACE. C: Shannon. D: Simpson. \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ ; ns:  $P>0.05$ .

### 2.5.2 黄豆芽根际微生物群落的 $\beta$ 多样性分析

$\beta$  多样性不仅可以反映样本之间的多样性距离关系, 而且还可以反映生物群落之间的分化程度, 考察不同样本之间群落结构的相似性<sup>[34]</sup>。黄豆芽生长第 3 天, CON-3 与 TC25-3 的距离为 0.238 5, 与 TC50-3 的距离为 0.282 0, 表明

四环素残留影响了黄豆芽根际微生物群落结构, 且随四环素浓度增加, 影响作用越显著。黄豆芽生长第 5 天, CON-5 与 TC25-5 的距离为 0.490 9, 与 TC50-5 的距离为 0.480 5, 说明随时间增加, 四环素残留对黄豆芽根际微生物群落结构影响越显著(图 5)。

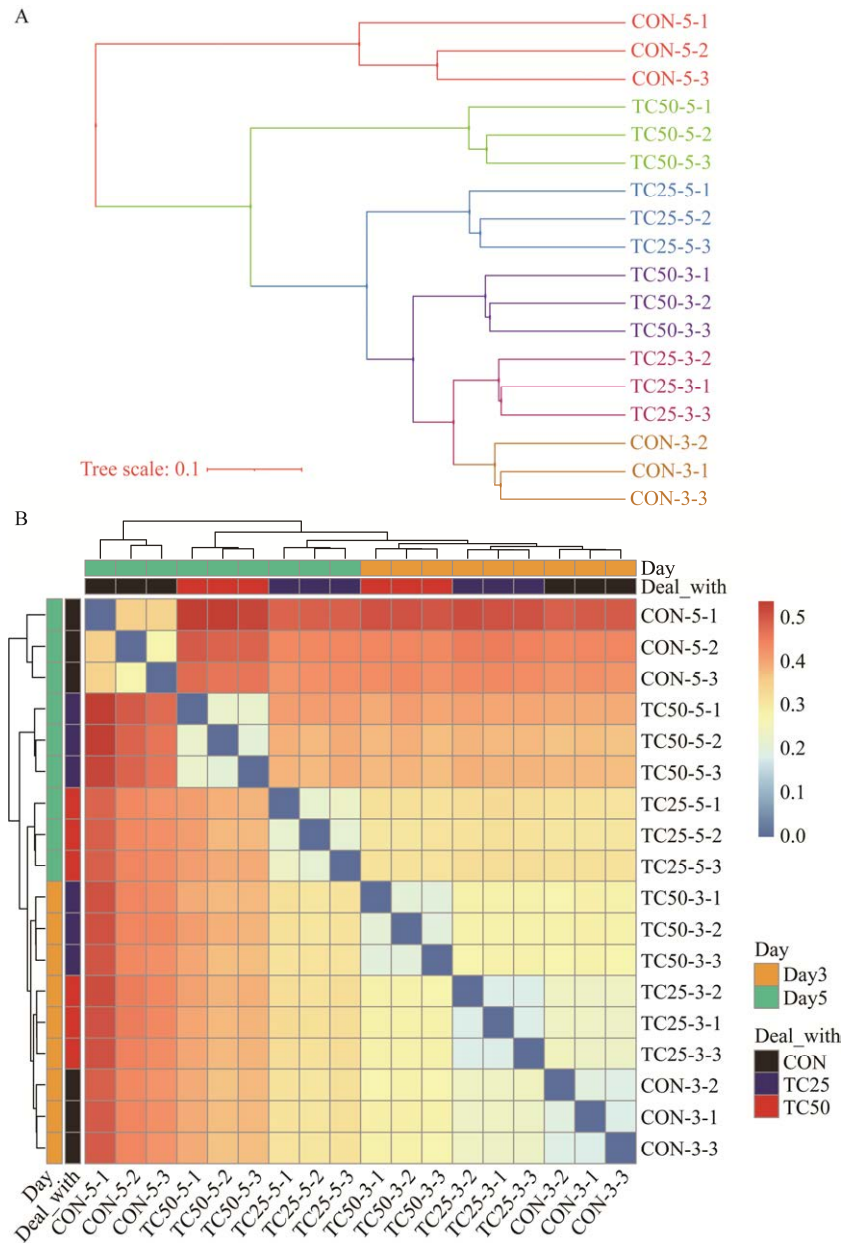


图 5 黄豆芽根际微生物群落层级聚类树(A)和距离热图(B)

Figure 5 Hierarchical cluster tree (A) and distance heatmap (B) of soybean sprout rhizosphere microbial community.

### 2.5.3 黄豆芽根际微生物群落的结构分布及动态变化

根际微生物在食用蔬菜的生长发育中具有重要的作用<sup>[35]</sup>。在黄豆芽生长的第3天,四环素残留并未改变其黄豆芽根际微生物的组成,TC25组、TC50组和CON组的优势菌属相同,包括 *Acinetobacter*、*Pseudomona*、*Flavobacterium* 且相对丰度差异不大。然而,在黄豆芽生长的第5天,四环素残留显著改变了其根际微生物的组成,CON组优势菌属为 *Acinetobacter* (4.86%)、*Dokdonella* (3.51%)、*Devosia* (3.30%); TC25组转变为 *Acinetobacter* (5.43%)、*Pseudomonas* (3.97%)、*Pseudoxanthomonas* (3.44%); TC50组转变为 *Thermobispora* (12.47%)、*Acinetobacter* (6.95%)、*Thermus* (4.26%)。结果表明,四环素残留显著影响了黄豆芽生长过程中根际微生物群落的结构分布(图6)。

### 2.6 黄豆芽根际微生物与营养指标的关联分析

根际微生物群落为食用蔬菜提供间接的保护,以抵御土壤传播的病原真菌,同时可以通过提高营养物质的生物利用率来改善宿主的营养,因此根际微生物的分布与其宿主营养品质密切相关<sup>[36]</sup>。本研究将测定的营养指标与根际微生物进行关联分析发现, *Acinetobacter*、*Flaviumibacter*、*Flavobacterium*、*Pseudomonas*、*Sphingobium*、*Thermobispora* 及 *Thermomonas* 与黄豆芽的多种营养物质有关联,其中 *Acinetobacter*、*Flaviumibacter*、*Flavobacterium* 与维生素C、类黄酮、可溶性糖、蛋白质、超氧阴离子清除能力、羟自由基清除能力和脂肪含量呈正相关,与下胚轴长、生物量、总酚和DPPH自由基清除能力呈负相关( $P<0.05$ ); *Thermobispora* 与维生素C(-0.80)、类黄酮(-0.84)、可溶性糖(-0.83)、羟自由基清除能力

(-0.80)呈强负相关( $P<0.0001$ ),四环素导致成品黄豆芽根际 *Thermobispora* 丰度显著增强(图6),这与四环素导致黄豆芽中维生素C、类黄酮、羟自由基清除能力下降相一致(图2A,表2); *Thermomonas* 与总酚(0.81)、可溶性糖(0.81)和羟自由基清除能力(0.82)呈强正相关( $P<0.0001$ ) (图7)。

## 3 讨论与结论

抗生素能通过人类使用动物粪便、淤泥和再生水灌溉等农业活动进入土壤生态系统中<sup>[37]</sup>。土壤中的抗生素被食用蔬菜根系吸收后,从而影响食用蔬菜的品质特性,土壤根际微生物是土壤生态系统的重要组成部分,抗生素能选择性杀死特定微生物来影响根际微生物的群落分布和组成<sup>[38]</sup>。因此,分析抗生素残留对食用蔬菜根际微生物和蔬菜品质的影响,对于深入了解抗生素残留在土壤-蔬菜系统中的累积特征及影响机制具有重要意义。

四环素类抗生素是我国使用最广泛的抗生素类群之一, Sun等<sup>[24]</sup>研究不同抗生素类型在土壤-蔬菜系统中累积时发现,四环素类抗生素在蔬菜中的残留量较其他类别更高,在土壤中更不易降解。本研究结果表明,黄豆芽中四环素的残留量随土壤中的残留量增加而增加,其中黄豆芽对四环素富集能力表现为:根>下胚轴>子叶(表1),根部是食用蔬菜累积抗生素的主要场所,再经蒸腾作用转移至植物的下胚轴及子叶中<sup>[39]</sup>,这与Pan等<sup>[40]</sup>的研究结果一致。已有研究报道,累积在土壤中的抗生素被食用蔬菜吸收后,会对其根长、下胚轴长等生物学特性有影响,且环境中抗生素的残留浓度不同时,对食用蔬菜影响程度也不一样<sup>[25]</sup>。本研究中四环素浓度为25 mg/kg时,黄豆芽的下胚轴长、根长和生物量均受到抑制,当四环素浓度增加



图 6 黄豆芽生长过程中根际细菌群落属水平相对丰度分布

Figure 6 Relative abundance distribution of rhizosphere bacterial community at genus level during soybean sprout growth.

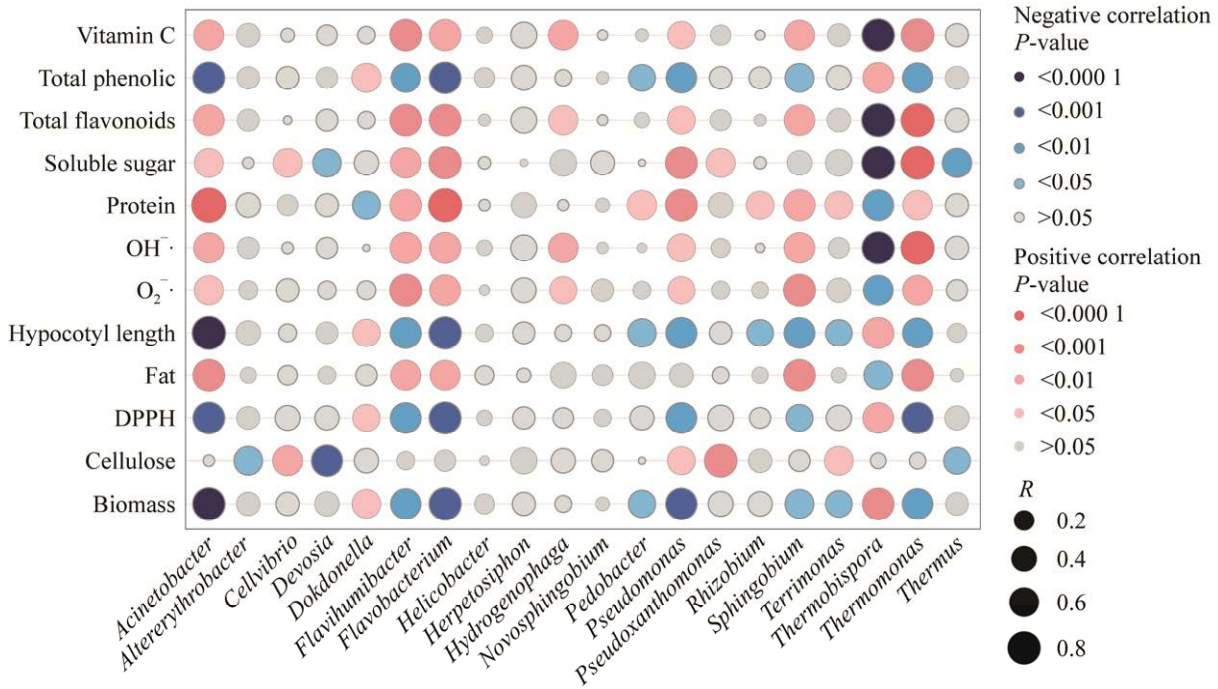


图 7 根际微生物与营养指标的关联分析

Figure 7 Correlation between important nutrient indexes and rhizosphere microorganisms.

至 50 mg/kg 时, 其抑制作用更为显著(图 1)。黄豆芽在发芽及生长过程中, 黄豆的营养和功能成分会经历复杂的生物转化, 其中脂肪含量变化不明显, 蛋白质含量持续下降, 而维生素 C、纤维素和可溶性糖含量有所增加; TC25 组和 TC50 组中维生素 C 含量( $P < 0.01$ )和类黄酮含量( $P < 0.05$ )显著低于 CON 组, 而纤维素含量显著高于 CON 组(图 2, 表 2) ( $P < 0.05$ ), 表明四环素的残留会影响黄豆芽的基本营养品质。Lucas 等<sup>[41]</sup>和 Qian 等<sup>[42]</sup>发现抗生素能通过影响土壤水解酶类活性, 如纤维素酶、蔗糖酶、脲酶、磷酸酶等来参与其养分循环, 而土壤是食用蔬菜的主要营养来源, 因此土壤中四环素残留势必会影响其食用蔬菜的品质。

土壤中的抗生素能将土壤介质中的一些微生物直接杀死, 或者对微生物的生长产生抑制作用, 进而对微生物的群落结构形成影响, 降

低其土壤酶活性, 使其对土壤中有机物的降解能力大大降低<sup>[43]</sup>。有研究表明, 四环素类抗生素可抑制土壤细菌和放线菌生长, 降低土壤微生物生物量, 当抗生素污染浓度较高时, 这种抑制作用会更加明显<sup>[44]</sup>。本研究结果表明, 土壤中的四环素残留能够显著降低根际微生物的多样性以及细菌群落的分布(图 4 和图 6), 在黄豆芽生长第 3 天, 四环素对优势菌的影响并不显著, 但是生长第 5 天, 其主要优势菌发生了重要转变, 四环素显著增加了 *Acinetobacter* 和 *Thermus* 菌属相对丰度, 减少了 *Pseudoxanthomonas* 和 *Hydrogenophaga* 相对丰度(图 6)。*Acinetobacter* 是异养硝化菌, 能够参与硝化作用和反硝化作用, 使含氮化合物最终转化为氮气, 造成氮损失; Santana 等<sup>[45]</sup>的研究发现, *Thermus* 可能导致一氧化氮过剩堆积, 触发植物病理发生; *Pseudoxanthomonas* 与氮循环有关, 可以驱动土

壤氮矿化和有效性, 促进植物的生长<sup>[46]</sup>, 而 *Hydrogenophaga* 为根际微生物的有益菌株, 能促进植物生长<sup>[47]</sup>。因此土壤中的四环素可能通过改变黄豆芽根际微生物的组成和分布来影响土壤-蔬菜系统中的氮代谢, 从而影响黄豆芽的营养品质, 后续将通过组学手段来进一步分析土壤-蔬菜系统中四环素对黄豆芽的品质影响机制。

### 参考文献

- [1] MANYI-LOH C, MAMPHWELI S, MEYER E, OKOH A. Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: potential public health implications[J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 795.
- [2] SONG MK, PENG K, JIANG LF, ZHANG DY, SONG DD, CHEN GE, XU HJ, LI YT, LUO CL. Alleviated antibiotic-resistant genes in the rhizosphere of agricultural soils with low antibiotic concentration[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(8): 2457-2466.
- [3] HU XG, ZHOU QX, LUO Y. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(9): 2992-2998.
- [4] UNDERWOOD JC, HARVEY RW, METGE DW, REPERT DA, BAUMGARTNER LK, SMITH RL, ROANE TM, BARBER LB. Effects of the antimicrobial sulfamethoxazole on groundwater bacterial enrichment[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(7): 3096-3101.
- [5] LAVERMAN AM, CAZIER T, YAN C, ROOSE-AMSALEG C, PETIT F, GARNIER J, BERTHE T. Exposure to vancomycin causes a shift in the microbial community structure without affecting nitrate reduction rates in river sediments[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(18): 13702-13709.
- [6] SANZ C, CASADO M, NAVARRO-MARTIN L, CAÑAMERAS N, CARAZO N, MATAMOROS V, BAYONA JM, PIÑA B. Implications of the use of organic fertilizers for antibiotic resistance gene distribution in agricultural soils and fresh food products. A plot-scale study[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 815: 151973.
- [7] HAN T, LIANG YP, WU ZN, ZHANG L, LIU ZW, LI QF, CHEN XJ, GUO WL, JIANG LN, PAN FF, GE SD, MI ZC, HUANG H, LI XZ, ZHOU JG, LI Y, WANG JL, ZHANG Z, TANG YY, YANG LR, et al. Effects of tetracycline on growth, oxidative stress response, and metabolite pattern of ryegrass[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 380: 120885.
- [8] PROSSER RS, SIBLEY PK. Human health risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in plant tissue due to biosolids and manure amendments, and wastewater irrigation[J]. *Environment International*, 2015, 84: 203-208.
- [9] FENG Y, ZHANG WJ, LIU YW, XUE JM, ZHANG SQ, LI ZJ. A simple, sensitive, and reliable method for the simultaneous determination of multiple antibiotics in vegetables through SPE-HPLC-MS/MS[J]. *Molecules*, 2018, 23(8): 1953.
- [10] CHUNG HS, LEE YJ, RAHMAN MM, ABD EL-ATY AM, LEE HS, KABIR MH, KIM SW, PARK BJ, KIM JE, HACIMÜFTÜOĞLU F, NAHAR N, SHIN HC, SHIM JH. Uptake of the veterinary antibiotics chlortetracycline, enrofloxacin, and sulphathiazole from soil by radish[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 605: 322-331.
- [11] HANNA N, SUN P, SUN Q, LI XW, YANG XW, JI X, ZOU HY, OTTOSON J, NILSSON LE, BERGLUND B, DYAR OJ, TAMHANKAR AJ, LUNDBORG CS. Presence of antibiotic residues in various environmental compartments of Shandong Province in eastern China: its potential for resistance development and ecological and human risk[J]. *Environment International*, 2018, 114: 131-142.
- [12] 陈日益. 活体蔬菜之冠—黄豆芽[J]. *家庭医学*, 2022(4): 38-39.  
CHEN RY. The crown of live vegetables-soybean sprouts[J]. *Family Medicine*, 2022(4): 38-39 (in Chinese).
- [13] 张玉娟, 张志强, 刘静. 豆芽中 4-氯苯氧乙酸钠检测现状综述[J]. *科技风*, 2014(15): 177.  
ZHANG YJ, ZHANG ZQ, LIU J. Review on the detection status of sodium 4-chlorophenoxyacetate in bean sprouts[J]. *Technology Wind*, 2014(15): 177 (in Chinese).
- [14] 黄玉国, 沈雪辉, 程沛东, 程雅琳, 张双信. 一种生态豆芽的土培种植方法. 中国: CN202110758596.1[P]. 2021-07-12.  
HUANG YG, SHEN XH, CHENG PD, CHENG YL,

- ZHANG SX. The invention relates to soil culture planting method of ecological bean sprouts. China: CN202110758596.1[P]. 2021-07-12 (in Chinese).
- [15] MA M, ZHANG HX, XIE YJ, YANG M, TANG JF, WANG P, YANG RQ, GU ZX. Response of nutritional and functional composition, anti-nutritional factors and antioxidant activity in germinated soybean under UV-B radiation[J]. *LWT-Science and Technology*, 2020, 118: 108709.
- [16] LIU XH, LV Y, XU K, XIAO XX, XI BD, LU SY. Response of ginger growth to a tetracycline-contaminated environment and residues of antibiotic and antibiotic resistance genes[J]. *Chemosphere*, 2018, 201: 137-143.
- [17] PŁONKA J, BARCHAŃSKA H, KOKOSZKA K, KRZYŻANOWSKA A. Effect of herbicide stress on the content of tyramine and its metabolites in Japanese radish sprouts (*Raphanus sativus*)[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022, 106: 104301.
- [18] GU JY, CHEN CY, HUANG XY, MO JC, XIE QL, ZENG QY. Occurrence and risk assessment of tetracycline antibiotics in soils and vegetables from vegetable fields in pearl river delta, South China[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 776: 145959.
- [19] 华晶忠, 刘笑笑, 武巍, 魏春雁. 苜蓿中维生素 C 含量测定及变化规律[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(1): 45-47.
- HUA JZ, LIU XX, WU W, WEI CY. Determination of vitamin C and its content changes in clover[J]. *Food Research and Development*, 2016, 37(1): 45-47 (in Chinese).
- [20] 王伟. 不同大豆品种对低钾胁迫的生物学响应及耐性机制研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学博士学位论文, 2008.
- WANG W. Study on biological response and tolerance mechanism of different soybean varieties to low potassium stress[D]. Shenyang: Doctoral Dissertation of Shenyang Agricultural University, 2008 (in Chinese).
- [21] GRINTZALIS K, GEORGIOU CD, SCHNEIDER YJ. An accurate and sensitive coomassie brilliant blue G-250-based assay for protein determination[J]. *Analytical Biochemistry*, 2015, 480: 28-30.
- [22] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定: GB 5009.6—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission, National Medical Products Administration. National food safety standard determination of fat in food: GB 5009.6—2016[S]. Beijing: Standard Press of China, 2017 (in Chinese).
- [23] PAJAŁ P, SOCHA R, GAŁKOWSKA D, ROŻNOWSKI J, FORTUNA T. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts[J]. *Food Chemistry*, 2014, 143: 300-306.
- [24] SUN YM, GUO YJ, SHI MM, QIU TL, GAO M, TIAN SL, WANG XM. Effect of antibiotic type and vegetable species on antibiotic accumulation in soil-vegetable system, soil microbiota, and resistance genes[J]. *Chemosphere*, 2021, 263: 128099.
- [25] 徐秋桐. 土壤—蔬菜系统典型污染物的污染特征及抗生素的生理效应[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2019.
- XU QT. Pollution characteristics of typical pollutants in soil-vegetable system and physiological effects of antibiotics[D]. Hangzhou: Doctoral Dissertation of Zhejiang University, 2019 (in Chinese).
- [26] PADAYATTY SJ, KATZ A, WANG YH, ECK P, KWON O, LEE JH, CHEN SL, CORPE C, DUTTA A, DUTTA SK, LEVINE M. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention[J]. *Journal of the American College of Nutrition*, 2003, 22(1): 18-35.
- [27] XIE T, JIN F, JIA XK, MAO HX, XU YT, ZHANG SZ. High cellulose diet promotes intestinal motility through regulating intestinal immune homeostasis and serotonin biosynthesis[J]. *Biological Chemistry*, 2022, 403(3): 279-292.
- [28] MARIOTTI F. Animal and plant protein sources and cardiometabolic health[J]. *Advances in Nutrition*, 2019, 10(supplement\_4): S351-S366.
- [29] ROSA M, PRADO C, PODAZZA G, INTERDONATO R, GONZÁLEZ JA, HILAL M, PRADO FE. Soluble sugars: metabolism, sensing and abiotic stress: a complex network in the life of plants[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2009, 4(5): 388-393.
- [30] FIELD CJ, ROBINSON L. Dietary fats[J]. *Advances in Nutrition*, 2019, 10(4): 722-724.
- [31] CHEN MS, MENG HC, ZHAO Y, CHEN FQ, YU SJ. Antioxidant and *in vitro* anticancer activities of phenolics isolated from sugar beet molasses[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 15: 313.
- [32] VERNI M, VERARDO V, RIZZELLO CG. How fermentation affects the antioxidant properties of cereals and legumes[J]. *Foods*, 2019, 8(9): 362.

- [33] 刘璐, 蒋慧丹, 张鑫, 彭迪. 野葛根际固氮微生物群落分布特征及其影响因素[J]. 微生物学报, 2022, 62(2): 590-601.  
LIU L, JIANG HD, ZHANG X, PENG D. Distribution pattern and influencing factors of nitrogen-fixing microbial community in the rhizosphere of *Pueraria Lobata*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(2): 590-601 (in Chinese).
- [34] XING D, HE F. Analytical models for  $\beta$ -diversity and the power-law scaling of  $\beta$ -deviation[J]. Methods in Ecology and Evolution, 2021, 12(3): 405-414.
- [35] BAI B, LIU WD, QIU XY, ZHANG J, ZHANG JY, BAI Y. The root microbiome: community assembly and its contributions to plant fitness[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2022, 64(2): 230.
- [36] HARBORT CJ, HASHIMOTO M, INOUE H, NIU YL, GUAN R, ROMBOLÀ AD, KOPRIVA S, VOGES MJEE, SATTELY ES, GARRIDO-OTER R, SCHULZE-LEFERT P. Root-secreted coumarins and the microbiota interact to improve iron nutrition in *Arabidopsis*[J]. Cell Host & Microbe, 2020, 28(6): 825-837.
- [37] CERQUEIRA F, MATAMOROS V, BAYONA J, ELSINGA J, HORNSTRA LM, PIÑA B. Distribution of antibiotic resistance genes in soils and crops. A field study in legume plants (*Vicia faba* L.) grown under different watering regimes[J]. Environmental Research, 2019, 170: 16-25.
- [38] UDDIN M, CHEN JW, QIAO XL, TIAN R, ARAFAT Y, YANG XJ. Bacterial community variations in paddy soils induced by application of veterinary antibiotics in plant-soil systems[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 167: 44-53.
- [39] GOLDSTEIN M, SHENKER M, CHEFETZ B. Insights into the uptake processes of wastewater-borne pharmaceuticals by vegetables[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(10): 5593-5600.
- [40] PAN M, CHU LM. Fate of antibiotics in soil and their uptake by edible crops[J]. Science of the Total Environment, 2017, 599: 500-512.
- [41] LUCAS JM, SONE BM, WHITMORE D, STRICKLAND MS. Antibiotics and temperature interact to disrupt soil communities and nutrient cycling[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 163: 108437.
- [42] QIAN X, GU J, SUN W, LI YD, FU QX, WANG XJ, GAO H. Changes in the soil nutrient levels, enzyme activities, microbial community function, and structure during apple orchard maturation[J]. Applied Soil Ecology, 2014, 77: 18-25.
- [43] GAO Q, GAO SH, BATES C, ZNEG YF, LEI JS, SU H, DONG Q, QIN ZY, ZHAO JS, ZHANG QT, NING DL, HUANG Y, ZHOU JZ, YANG YF. The microbial network property as a bio-indicator of antibiotic transmission in the environment[J]. Science of the Total Environment, 2021, 758: 143712.
- [44] SANTÁS-MIGUEL V, DÍAZ-RAVIÑA M, MARTÍN A, GARCÍA-CAMPOS E, BARREIRO A, NÚÑEZ-DELGADO A, ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ E, ARIAS-ESTÉVEZ M, FERNÁNDEZ-CALVIÑO D. Soil enzymatic activities and microbial community structure in soils polluted with tetracycline antibiotics[J]. Agronomy, 2021, 11(5): 906.
- [45] SANTANA MM, GONZALEZ JM, CRUZ C. Nitric oxide accumulation: the evolutionary trigger for phytopathogenesis[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1947.
- [46] MILKEREIT J, GEISSELER D, LAZICKI P, SETTLES ML, DURBIN-JOHNSON BP, HODSON A. Interactions between nitrogen availability, bacterial communities, and nematode indicators of soil food web function in response to organic amendments[J]. Applied Soil Ecology, 2021, 157: 103767.
- [47] ILANGUMARAN G, SUBRAMANIAN S, SMITH DL. Soybean leaf proteomic profile influenced by rhizobacteria under optimal and salt stress conditions[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 809906.