

DOI: 10.20103/j.stxb.202306061191

张之钰, 武海涛, 刘吉平, 王文锋, 徐磊, 张仲胜. 微塑料对稻田土壤温室气体排放和微生物群落的影响. 生态学报, 2024, 44(10): 4308-4318.

Zhang Z Y, Wu H T, Liu J P, Wang W F, Xu L, Zhang Z S. Effect of microplastics on greenhouse gas emissions and microbial communities in paddy soils.

Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(10): 4308-4318.

微塑料对稻田土壤温室气体排放和微生物群落的影响

张之钰^{1,2}, 武海涛^{2,*}, 刘吉平¹, 王文锋², 徐磊², 张仲胜²

1 吉林师范大学旅游与地理科学学院, 四平 136000

2 中国科学院东北地理与农业生态研究所湿地生物与环境重点实验室, 长春 130102

摘要: 微塑料因在土壤环境中广泛存在及其潜在的生态风险而受到越来越多的关注。微塑料的赋存会改变土壤理化性质, 并对土壤微生物群落及其驱动的生物地球化学过程产生影响, 而相关研究尚处于起步阶段。可生物降解塑料作为传统塑料的替代品, 越来越多地应用于农业活动, 并释放到土壤中。然而, 可生物降解微塑料对土壤微生物特性产生影响的研究鲜有报道。基于此, 本试验以我国三江平原水稻田土壤为研究对象, 选取了 2 种常见的微塑料为试验材料, 分别为传统型微塑料聚丙烯 (Polypropylene, PP) 和可降解微塑料聚乳酸 (Polylactic acid, PLA), 进行了为期 41d 的微宇宙培养实验, 旨在分析不同浓度与类型的微塑料对土壤可溶性有机碳 (Dissolved Organic Carbon, DOC) 含量及官能团特征、温室气体排放以及微生物群落结构的差异性影响。结果表明, 传统型微塑料 PP 与可降解微塑料 PLA 添加均对土壤理化性质与微生物群落产生显著影响。其中, 微塑料添加大体上增加了土壤 DOC 含量, PLA 的促进作用较为明显, 且增加含量与微塑料添加量呈正相关; PP 和 PLA 均影响土壤 DOC 分子结构, 削弱了土壤团聚化程度并促进了大分子量 DOC 化合物的生成; 微塑料的添加促进土壤 CH₄ 排放, 而有效抑制了土壤 CO₂ 排放; 微塑料显著改变了土壤细菌和真菌群落的丰富度与多样性。相关分析结果表明, 土壤 CO₂ 累计排放量与芳香族化合物结构及疏水性等官能团特征、变形菌门 (Proteobacteria) 与放线菌门 (Actinobacteria) 均呈显著正相关关系。以上结果表明, 微塑料添加改变了土壤 DOC 含量及官能团特征与微生物环境, 进而影响土壤温室气体排放。本研究为今后微塑料对土壤地球化学和微生物特性的影响研究提供了科学的思路, 同时也有助于评估微塑料对土壤生态系统的生态风险。

关键词: 温室气体; 微塑料; 可溶性有机碳; 土壤微生物群落

Effect of microplastics on greenhouse gas emissions and microbial communities in paddy soils

ZHANG Zhiyu^{1,2}, WU Haitao^{2,*}, LIU Jiping¹, WANG Wenfeng², XU Lei², ZHANG Zhongsheng²

1 College of Tourist and Geoscience, Jilin Normal University, Siping 136000, China

2 Key Laboratory of Wetland Ecology and Environment, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China

Abstract: Microplastics have received increasing attention due to their extensive presence in soil environments and the potential ecological risks. The presence of microplastics in soil can alter its physical and chemical properties, impacting the soil microbial communities and the carbon biogeochemical processes it drives. Research in this area is still in its early stages. Biodegradable plastics, as substitutes for traditional plastics, are increasingly being used in agricultural activities and subsequently released into the soil. However, there is scarce research on the impact of biodegradable microplastics on soil microbial characteristics. Based on this, this experiment took the paddy soils in the Sanjiang Plain of China as the

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (20230101348JC); 国家重点研发课题 (2022YFF1300900); 国家自然科学基金课题 (U20A2083)

收稿日期: 2023-06-06; **网络出版日期:** 2024-02-28

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wuhaitao@iga.ac.cn

research subjects. Two common types of microplastics were selected as experimental materials: conventional microplastic polypropylene (PP) and biodegradable microplastic polylactic acid (PLA). A 41-day microcosm cultivation experiment was conducted to analyze the differential effects of various concentrations and types of microplastics on soil dissolved organic carbon (DOC) content, functional group characteristics, greenhouse gas emissions, and microbial community structure. The results indicated that both PP and PLA had significant impacts on the soil physicochemical properties and microbial communities. In general, the addition of microplastics resulted in an increased content of DOC in the soil, with PLA having a more pronounced effect. Moreover, a significant positive correlation was observed between the increased DOC levels and the amounts of microplastics added. the effect of microplastics on soil DOC was significantly positively correlated with the amount added ($P < 0.05$). Both PP and PLA influenced the molecular structure of DOC, weakening the degree of soil aggregation and promoting the formation of high molecular weight DOC compounds. The addition of microplastics promoted soil methane (CH_4) emissions and effectively inhibited soil carbon dioxide (CO_2) emissions. Microplastics in the soil significantly altered the abundance and diversity of soil bacterial and fungal communities. The results of the correlation analysis indicated that the cumulative CO_2 emissions were significantly positively correlated with the structural features and hydrophobicity of aromatic compounds ($P < 0.05$), as well as with the phyla Proteobacteria and Actinobacteria. The results indicated that the addition of microplastics altered soil DOC content and functional group characteristics as well as the microbial environment, thereby influencing soil greenhouse gas emissions. This study can contribute to the current understanding of the ecological risks of microplastics contamination to the soil ecosystems. Additionally, it provides a scientific framework for future research on the impact of microplastics on soil geochemistry and microbial characteristics.

Key Words: greenhouse gases; microplastics; dissolved organic carbon; soil microbial communities

塑料因延展性、耐腐蚀性好及耐用、高性价比等特性而被广泛应用于各行各业中,这导致全球塑料产量在过去几十年内持续增长,到 2021 年时已达到 3.9 亿 t^[1]。而塑料的加速生产和广泛应用导致大量的塑料废弃物进入环境中,并在环境理化和生物因素的驱动下碎裂化,形成微塑料(<5mm)。研究发现全球不同地区的海洋^[1-2]、内陆河流湖泊^[3]、土壤^[4]、大气^[5]等多重环境介质中均有微塑料存在。鉴于其持续增长的环境积累以及潜在的生物毒性,微塑料已被联合国环境规划署列入全球性新污染物,成为人类驱动的全球环境变化的影响因子之一^[6]。由微塑料污染所引发的生态环境效应已日益引起关注,成为当前研究的热点课题。

陆地土壤作为微塑料的主要储存库,其微塑料年接收量是海洋的 4—23 倍^[7],在一些污染热点地区,微塑料含量可达土壤比重的 6.7%^[7]。土壤中微塑料持续积累会改变土壤理化和微生物学性质。已有研究发现,微塑料会影响土壤团聚体^[8]、通气性^[9]、土壤水分蒸发^[10]、土壤 pH 值^[8]和氧化还原电位^[11]等。另有研究表明,微塑料影响下,土壤微生物群落结构、多样性、优势菌群等指标也会发生改变^[12-14]。例如, Ren 等研究发现,聚乙烯微塑料添加能够使土壤中的优势细菌由变形菌门 (Proteobacteria) 转变为放线菌门 (Actinobacteria),导致 CO_2 排放量增加,而对 CH_4 排放量的影响不显著^[15]。然而,微塑料对土壤性质及物质循环的作用因类型、剂量、粒径等因素而异,其内在作用机理亟待进一步研究。

稻田是陆地农业系统的重要组成部分,同时也是温室气体重要排放源^[16]。微塑料可以通过灌溉、地膜覆盖、大气沉降、有机肥施用等途径进入稻田土壤^[17]。有报道指出,稻田土壤中微塑料的丰度与旱地土壤相当^[18],在具有长期地膜覆盖历史的稻田中,其耕层土壤中微塑料年输入量可达 1800 万个/hm²^[19]。由于传统塑料在环境中难以降解,一些生物可降解塑料(如聚乳酸等)开始成为替代传统塑料的理想材料,并广泛应用于农用地膜等生产制造中^[20]。然而,生物可降解塑料的赋存对土壤碳素形态及转化的影响尚不明确。

本研究利用土壤培养实验,探讨不同剂量添加条件下,传统微塑料(聚丙烯,PP)和生物可降解微塑料(聚乳酸,PLA)对稻田土壤 DOC 含量和官能团特征、 CO_2 和 CH_4 排放以及微生物群落结构的影响,分析不同测量指标之间的关联性,以期揭示两种微塑料影响稻田土壤碳素转化循环的内在机制。

1 材料与方法

1.1 供试材料

2022 年 7 月,供试土壤采集于中国黑龙江省三江自然保护区(47°23'37"N,132°37'41"E)的稻田表层。三江平原位于中国东北部,它不仅是亚洲面积最大的淡水湿地,也是中国最大的商品粮基地。三江平原属温带半湿润大陆性季风气候,年降雨量 500—650mm,平均气温 1.3—4.3℃。土壤类型主要为棕壤、黑土和白浆土。采用 S 形布点法^[21]采集土壤样品 21 个,采样深度为 0—20cm,充分混合后迅速运回实验室。将土壤中的砾石和植物组织残留物去除后分成两份:一份在室内阴凉处自然风干 15d,研磨后过 2cm 不锈钢筛用于测土壤理化性质;另一份置于-80℃冰箱保存,用于测土壤微生物。土壤理化性质如下:粘壤土质地,pH 值 6.16,总有机碳(TOC)33.2g/kg,总氮(TN)3.6g/kg,铵态氮(NH₄⁺-N)含量 0.03mg/g、硝态氮(NO₃⁻-N)含量 0.074mg/g,可溶性有机碳(DOC)含量 1.2g/kg。

实验用微塑料为直径 50μm 的聚乳酸(PLA)和聚丙烯(PP)粉末(购自广州华宇贸易有限公司)。微塑料颗粒用去离子水清洗,风干后备用。

1.2 试验设计

试验设置 7 个处理:空白对照 CK(无微塑料添加的土壤);0.5%PP(土壤中添加 0.5%质量分数的 PP);1%PP(土壤中添加 1%质量分数的 PP);1.5%PP(土壤中添加 1.5%质量分数的 PP);0.5%PLA(土壤中添加 0.5%质量分数的 PLA);1%PLA(土壤中添加 1%质量分数的 PLA);1.5%PLA(土壤中添加 0.5%质量分数的 PLA)。微塑料的添加量依据农田土壤中微塑料可能达到的赋存浓度和前人研究确定^[22-23]。每个处理设置 3 个重复。

将 150g 风干土壤称入到玻璃培养瓶中,加适量去离子水,以使土壤含水率达 40%。将装有土壤的培养瓶置于恒温培养箱中,在(25±1)℃黑暗条件下预培养 1 周,以活化土壤中的微生物并消除干湿效应。预培养结束后,向活化土壤中加入不同剂量的微塑料颗粒并充分混合,使土壤中微塑料含量达到上述不同处理设计比重。用去离子水调节土壤的含水率至 100%,并用带有小孔的铝箔膜封闭培养瓶口。将土壤在(25±1)℃黑暗条件下培养 41d。培养期间,每隔一天通过称重法补充因蒸发散失的水分,以保持土壤含水率恒定。

1.3 土壤 DOC 含量及官能团测定

培养期结束后,从每个培养瓶中称取 10g 鲜土于离心管中,加入 50mL 蒸馏水,振荡离心 30min,上层液过 0.45μm 滤膜,得到 DOC 浸提液,用总有机碳分析仪(TOC-L CPH,日本岛津)测定其浓度。用紫外分光光度计(UV-6100MPC,上海美普达)测定浸提液在 240、250、254、260、365nm 和 420nm 处的吸光度值。紫外可见吸光度值(Specific Ultraviolet Absorbance, SUVA)SUVA₂₅₄(芳香族化合物结构)和 SUVA₂₆₀(疏水性碳含量)分别以 A₂₅₄ 和 A₂₆₀ 吸光度与 DOC 含量的比值表示^[4-24],A₂₄₀/A₄₂₀(土壤团聚化程度)为 A₂₄₀ 和 A₄₂₀ 的比值^[25],A₂₅₀/A₃₆₅(DOC 分子质量)为 A₂₅₀ 和 A₃₆₅ 的比值^[26]。

1.4 土壤温室气体排放测定

土壤 CO₂与 CH₄排放采用静态箱-气相色谱法进行测定^[27]。在土壤培养实验的第 1、7、15、23、32 天和第 41 天采集温室气体采气前,将培养瓶的铝箔膜移除,使培养瓶内气体与周围空气充分交换 20min。之后,用带有两支玻璃管的橡胶塞密封瓶口,其中一支玻璃管连接密闭气球,用以平衡培养瓶内气压,另一支玻璃管连接导气管,用以采集和交换瓶内气体。用 100mL 的带有三通阀的医用注射器采集培养瓶上部空间气体,作为初始气体浓度。将培养瓶密闭静置培养 2h,反复推拉注射器以混匀培养瓶中气体,随即抽取瓶内气体并注入预真空的集气瓶中。收集的温室气体浓度用气相色谱仪(Agilent 7890A)测定。

CO₂与 CH₄排放速率计算公式见式(1):

$$F = \frac{M \times P \times V \times T_0}{V_0 \times P_0 \times T \times m} \times \frac{\Delta C}{\Delta t} \quad (1)$$

式中, $F(\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1})$ 为 CO_2 、 CH_4 的排放速率, M 是 CO_2 (44g/mol)、 CH_4 (16g/mol) 的摩尔质量, V_0 (22.4L/mol) 是标准条件下气体的摩尔体积, T (K) 和 P (kPa) 分别表示培养温度和压力, T_0 (273.15K) 和 P_0 (101.325kPa) 分别为标准条件下的绝对温度与压力, V (L) 是顶部空间体积, m (g) 是每个罐子中的土壤干质量, ΔC (mL/L) 表示培养 2h 后气体浓度差, Δt (h) 是密封时间。

CO_2 与 CH_4 累计排放量 (CE, mg/kg) 计算公式见式 (2):

$$CE = \sum_{i=1}^n \left(\frac{F_i + F_{i+1}}{2} \right) \times (t_{i+1} - t_i) \times 24 \quad (2)$$

式中, CE 为 CO_2 (mg/kg) 与 CH_4 (mg/kg) 的累积排放量, n 为土壤培养期间的总采样次数, F_i ($\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) 表示采样时间 i 时的气体排放率, $t_{i+1} - t_i$ (h) 为两个相邻采样时间的间隔。

1.5 土壤微生物高通量测序

培养期结束后,用消毒勺取培养瓶中不同点位土壤并混合均匀。采用美国 Omega Bio-Tek 公司的 E.Z.N. A.[®] 土壤 DNA 提取试剂盒提取土壤总 DNA,之后使用 Nanodrop2000 分光光度计和 1% 琼脂糖凝胶电泳测定 DNA 浓度与质量。采用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对细菌 16S RNA 基因 V3-V4 区进行聚合酶链式反应 (PCR) 扩增。采用 ITS5F (5'-GGAAGTAAAAGT CGTAACAAGG-3') 和 ITS1R (5'-GCTGCGTTCATGGATGC-3') 对真菌 ITS 区进行 PCR 扩增。PCR 扩增产物在上海美吉生物医药科技有限公司进行双端测序。使用 Trimmomatic 软件进行质量过滤与 FLASH 拼接,测序数据进行预处理生成优质序列。采用 UPARSE 软件对操作分类单元 (OTU) 进行聚类,选出与 OTUs 代表序列相似性在 97% 以上的序列,使用 QIIME 软件包挑选出各 OTU 的代表序列,并将所有代表序列与数据库进行比对注释。16S 与 ITS 均使用 Qiime 平台进行比对, (http://qiime.org/scripts/assign_taxonomy.html),物种比对注释使用 RDP classifier 软件保留置信区间大于 0.7 的注释结果。

1.6 数据统计分析

采用 Microsoft Excel 2010 进行数据处理,使用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析,利用 Origin 2017 进行图片绘制,采用 QIIME 软件对土壤微生物测序数据进行分析,使用 R 语言 (R-4.2.2) corplot 包和 ggplot2 包进行相关性分析及主成分分析。

2 结果分析

2.1 微塑料对土壤 DOC 及官能团的影响

PLA 和 PP 处理组土壤中 DOC 含量分别在 1.35—1.59mg/g 和 1.21—1.38mg/g 之间,整体随微塑料添加剂量的增加而升高 (图 1)。与 CK 相比,PLA 与 1.5% PP 处理显著增加了土壤中 DOC 含量,增加幅度分别为 12.5%—32.5% 与 11.2%,而 0.5% PP 与 1% PP 处理无显著差异。PLA 处理组土壤 SUVA254 范围在 0.45—0.83 $\text{L mg}^{-1} \text{m}^{-1}$ 之间 (表 1)。与 CK 相比,0.5% PLA 土壤 SUVA254 显著降低 ($P < 0.05$),而 1% PLA 和 1.5% PLA 土壤 SUVA254 分别增加了 2.6% 与 15.5%。PP 处理组土壤 SUVA254 显著低于 CK ($P < 0.05$),降低幅度在 22.2%—30.0% 之间。SUVA260 在 PLA 和 PP 处理组土壤中的浓度范围分别为 0.45—0.81 $\text{L mg}^{-1} \text{m}^{-1}$ 和 0.51—0.54 $\text{L mg}^{-1} \text{m}^{-1}$ 。与 SUVA254 相似,1% PLA 和 1.5% PLA 土壤中 SUVA260 浓度高于 CK,0.5% PLA 土壤

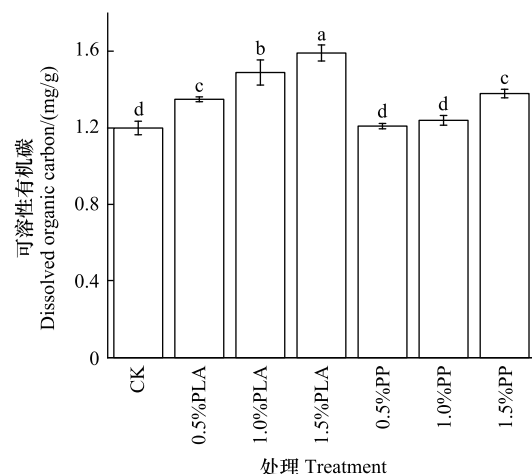


图 1 不同处理下土壤 DOC 含量

Fig.1 Soil DOC content under different treatments

DOC:可溶性有机碳;不同小写字母表示各处理在 $P < 0.05$ 水平差异显著;CK:未添加微塑料土壤;0.5% PLA、1% PLA 和 1.5% PLA:添加 0.5%、1% 或 1.5% 质量分数的聚乳酸;0.5% PP、1% PP 和 1.5% PP:添加 0.5%、1% 或 1.5% 质量分数的聚丙烯

SUVA260 显著降低 ($P<0.05$)。PP 处理土壤 SUVA260 含量显著降低,降幅在 20.3%—21.5%之间。与 CK 相比,所有微塑料处理组土壤 A240/A420 均显著降低 ($P<0.05$),降幅在 7.8%—23.1%之间。除 1.5%PP 外,其他微塑料处理土壤 A250/A365 均低于 CK,但差异不显著 ($P>0.05$)。

表 1 不同处理下波长的紫外可见吸光度值

Table 1 Ultraviolet visible absorbance value at different wavelengths under different treatments

处理 Treatment	紫外可见吸光度值 Ultraviolet visible absorbance value			
	SUVA254/ ($\text{L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$)	SUVA260/ ($\text{L mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$)	A240/A420	A250/A365
对照 Control	0.69±0.10b	0.65±0.09c	13.53±0.78a	4.63±0.10a
0.5%PLA	0.45±0.11d	0.45±0.03d	11.25±1.15b	4.30±0.13b
1%PLA	0.70±0.12b	0.74±0.01b	12.22±0.50b	4.47±0.05b
1.5%PLA	0.83±0.08a	0.81±0.02a	12.15±0.99b	4.45±0.09b
0.5%PP	0.55±0.09c	0.51±0.04d	11.22±1.14b	4.49±0.12b
1%PP	0.62±0.10c	0.53±0.05d	11.46±0.97b	4.40±0.25b
1.5%PP	0.59±0.01c	0.54±0.02d	13.09±0.89b	4.73±0.16b

0.5%PLA、1%PLA 和 1.5%PLA:添加 0.5%、1%或 1.5%质量分数的聚乳酸 The soil added 0.5%, 1% or 1.5% mass fractions of polylactic acid; 0.5%PP、1%PP 和 1.5%PP 分别表示添加 0.5%、1%与 1.5%质量分数的聚丙烯 The soil added 0.5%, 1% or 1.5% mass fractions of polypropylene; DOC:溶解性有机碳 Dissolved organic carbon;SUVA254:波长在 254nm 的紫外可见吸光度与 DOC 的比值 The ratio of ultraviolet visible absorbance with a wavelength of 254nm to DOC;SUVA260:波长在 260nm 的紫外可见吸光度与 DOC 的比值 The ratio of ultraviolet visible absorbance with a wavelength of 254nm to DOC;A240/A420:波长在 240nm 的紫外可见吸光度值与波长在 420nm 的紫外可见吸光度值的比值 The ratio of ultraviolet visible absorbance absorbance at 240nm to ultraviolet visible absorbance at 420nm;A250/A365:波长在 250nm 的紫外可见吸光度值与波长在 365nm 的紫外可见吸光度值的比值 The ratio of ultraviolet visible absorbance absorbance at 250nm to ultraviolet visible absorbance at 365nm;不同小写字母表示各处理在 $P<0.05$ 水平差异显著

2.2 微塑料对土壤 CO_2 与 CH_4 排放的影响

所有处理组土壤 CO_2 排放速率随时间呈现先升高后降低的趋势(图 2)。添加微塑料 PLA 或 PP 均对土壤 CO_2 排放速率产生积极影响。PLA 和 PP 处理组土壤 CO_2 排放速率范围分别为 1.52—7.52 $\text{mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 和 1.23—3.82 $\text{mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 。PLA 和 PP 处理组土壤 CO_2 累计排放量分别为 2596—4978 mg/kg 与 2385—2705 mg/kg ,除 1%PLA 外,整体较 CK 低。

土壤 CH_4 排放速率随时间整体呈先升高后降低再升高的趋势。培养期间,PLA 和 PP 处理组土壤 CH_4 排放速率分别在 0.6—1.4 $\text{mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 和 0.38—0.82 $\text{mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 之间。PP 或 PLA 添加能够促进 CH_4 排放。PLA 处理组土壤 CH_4 累计排放量在 0.50—0.64 mg/kg 之间,较 CK 增加 31.6%—68.4%。而 PP 处理土壤 CH_4 累计排放量在 0.94—1.07 mg/kg 之间,是 CK 的 1.4—1.8 倍。

2.3 微塑料对土壤微生物群落的影响

2.3.1 微塑料对土壤微生物多样性的影响

土壤样品中细菌丰度远大于真菌丰度。共检测到 7339 个细菌操作分类单元(OTUs),其中共同 OTUs 为 1257。所有处理的 Coverage 指数均大于 0.9(表 2),说明本次测序结果能客观反映样本中土壤微生物群落。与 CK 相比,PLA 和 PP 处理组细菌有效 OTUs 数均显著增加 ($P<0.05$),增幅分别为 5.6%—24.5%与 17%—24%。PLA 和 PP 处理细菌的 Chao1 指数、Simpson 指数和 Shannon 指数均高于 CK。土壤细菌主成分分析结果显示(图 3),除 CK 外,其他 6 个处理与 3 个重复分别聚在一起,重复性较高。

土壤样品中共检测出 1062 个真菌操作分类单元,其中共有个数为 106。与 CK 相比,PP 和 PLA 处理组土壤真菌物种丰度显著提升 ($P<0.05$),增幅分别在 45.3%—123.6%和 23%—148.9%之间。PLA 和 PP 处理组真菌 Chao1 指数、Simpson 指数和 Shannon 指数变化受微塑料聚合物类型和添加剂量的双重影响。土壤真菌 OTU 主成分分析结果显示(图 3),CK 与 PP 处理距离较近,而二者距 PLA 处理较远。

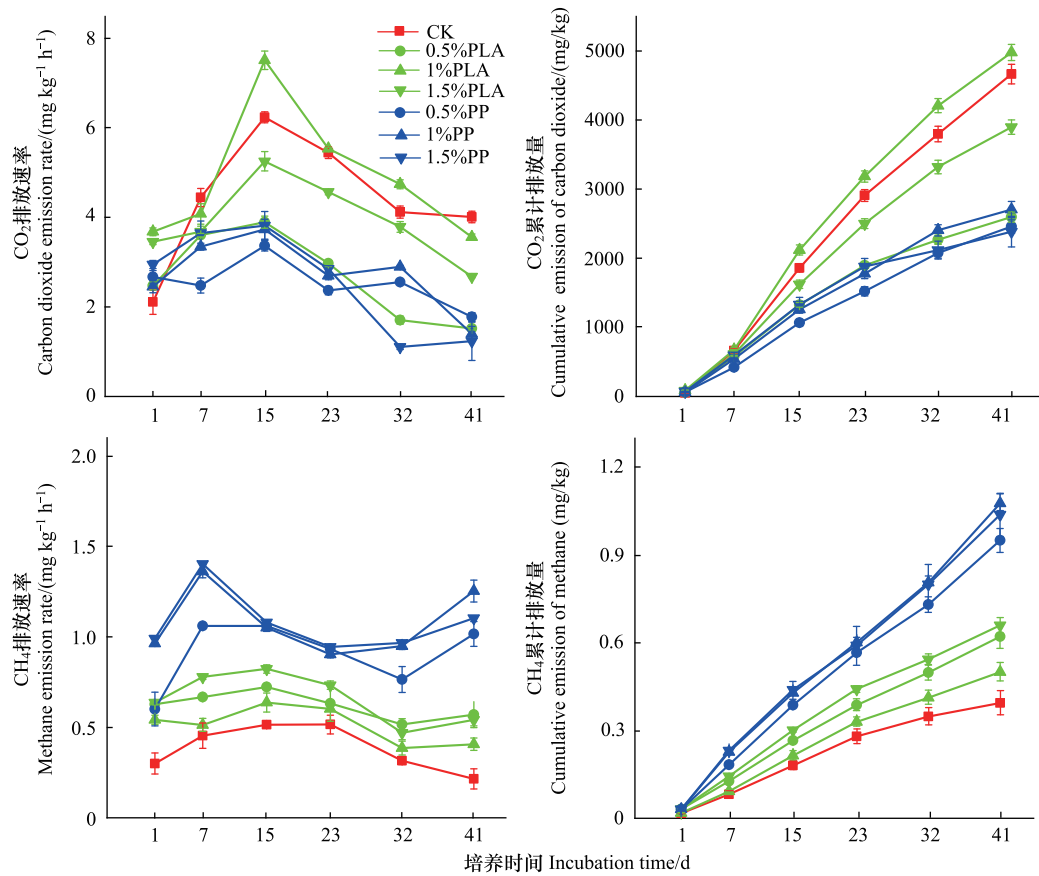
图2 CO₂与CH₄排放速率与累计排放量

Fig.2 Carbon dioxide and methane emission rates and cumulative emissions

CO₂: 二氧化碳; CH₄: 甲烷

表2 土壤微生物 Alpha 多样性指数

Table 2 Alpha diversity indexes of soil microorganisms

微生物 Microbial	处理 Treatments	多样性指数 Diversity indexes				测序深度 Goods coverage
		OTUs 总数 OTUs	Chao1 指数 Chao1	Shannon 指数 Shannon	Simpson 指数 Simpson	
细菌 Bacteria	CK	2978±13d	3451±21c	5.88±0.13d	0.004b	0.97
	0.5%PLA	3202±34c	4115±32b	6.37±0.42b	0.006a	0.98
	1%PLA	3709±23a	4841±64a	6.43±0.69a	0.006a	0.98
	1.5%PLA	3146±11c	4274±84b	6.34±0.28b	0.006a	0.99
	0.5%PP	3692±47a	4635±47a	6.35±0.87b	0.007a	0.99
	1%PP	3566±22b	3649±56c	6.08±0.08c	0.007a	0.99
	1.5%PP	3485±28b	4600±63a	6.33±0.02b	0.007a	0.99
真菌 Fungus	CK	331±15e	521±23d	3.26±0.09b	0.154b	0.99
	0.5%PLA	726±21b	771±42b	2.67±0.03c	0.314a	0.99
	1%PLA	740±14b	797±11b	4.23±0.07a	0.041c	0.99
	1.5%PLA	481±17d	507±12d	3.50±0.01b	0.121b	0.97
	0.5%PP	824±16a	853±33a	4.16±0.08a	0.052c	0.99
	1%PP	407±13d	435±19e	3.17±0.02b	0.121b	0.98
	1.5%PP	666±17c	686±23c	4.18±0.04a	0.036c	0.99

OTUs: 操作分类单元总数 Total number of operation classification units; Chao1: Chao1 指数 Chao1 index; Shannon: Shannon 指数 Shannon index; Simpson: Simpson 指数 Simpson index; 不同小写字母表示各处理在 $P < 0.05$ 水平差异显著

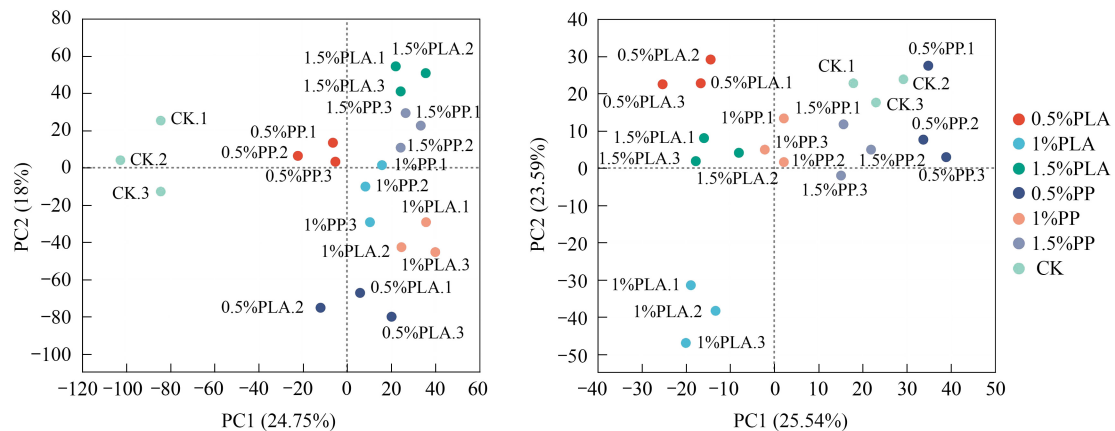


图3 土壤细菌和真菌 OTU 水平的主成分分析

Fig.3 Principal Component Analysis of soil bacteria and fungi at operation classification unit level

OTU:操作分类单元

2.3.2 微塑料对土壤微生物群落结构的影响

图4显示了不同处理在门水平下细菌和真菌的相对丰度。变形菌门(Proteobacteria)在各处理中均为优势门,相对丰度范围为17.6%—26.9%,其次是放线菌门(Actinobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria),相对丰度分别为20.1%—25.7%和15.2%—30.2%。PLA和PP处理中变形菌门(Proteobacteria)相对丰度分别增加了26.3%—54.2%与29.7%—43.8%,放线菌门(Actinobacteria)分别增加1.4%—26.4%与1.1%—6.3%。与CK相比,添加PLA和PP后,土壤酸杆菌门(Acidobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)相对丰度均显著降低($P < 0.05$)。在样本中也检测到其他菌门,如厚壁菌门(Firmicutes)、浮霉菌门(Planctomycetota)、硝化螺旋菌门(Nitrospirota)等,但相对丰度较低($< 0.5\%$)。

子囊菌门(Ascomycota)在各处理中均为优势门,相对丰度范围为15.6%—77.5%,其PLA和PP处理下的增幅分别为10%—26.2%和25%—62%,其次是担子菌门(Basidiomycota)与unclassified_k_Fungi,相对丰度分别为3.2%—23.3%与8%—45%。PLA和PP添加增加了子囊菌门(Ascomycota)与担子菌门(Basidiomycota)的相对丰度,但其增幅差异较大,子囊菌门(Ascomycota)分别增加10.0%—26.2%和25.0%—62.0%,而担子菌门增加1.0%—20.1%和12.2%—13.2%。担子菌门(Basidiomycota)增加1.0%—20.1%与12.2%—13.2%。除1.5%PLA外,各微塑料处理组unclassified_k_fungi丰度均显著减少($P < 0.05$)。被孢霉门(Mortierellomycota)与壶菌门(Chytridiomycetes)相对丰度范围为6.9%—66.1%与4%—6%。与CK相比,PP和1%—1.5%PLA处理组被孢霉门(Mortierellomycota)和壶菌门(Chytridiomycota)均显著降低($P < 0.05$)。其他菌门,如罗兹菌门(Rozellomycota),也在样本中广泛检测到,但相对丰度较低($< 0.5\%$)。

2.4 土壤温室气体排放、可溶性有机碳及微生物群落相关性分析

表3显示,土壤 CO_2 累计排放量与SUVA254、SUVA260间均呈显著正相关关系($P < 0.05$),土壤 CH_4 累计排放量与土壤DOC含量和不同紫外吸光度值之间无显著相关关系($P > 0.05$)。主成分分析提取了两个主成分(图5),土壤有机组分与细菌、真菌方差解释度分别为80.5%与71.4%。结果表明,DOC及不同紫外吸光度值在第一主成分上均有正载荷;SUVA254、SUVA260、变形菌门(Proteobacteria)及放线菌门(Actinobacteria)与 CO_2 累计排放量呈正相关;真菌中unclassified_k_fungi与 CO_2 累计排放量呈正相关。

相关性分析结果表明,土壤 CO_2 累计排放量与SUVA254、SUVA260、变形菌门(Proteobacteria)及放线菌门(Actinobacteria)呈正相关,而土壤 CH_4 累计排放量与土壤DOC含量和不同紫外吸光度值之间无显著相关关系。

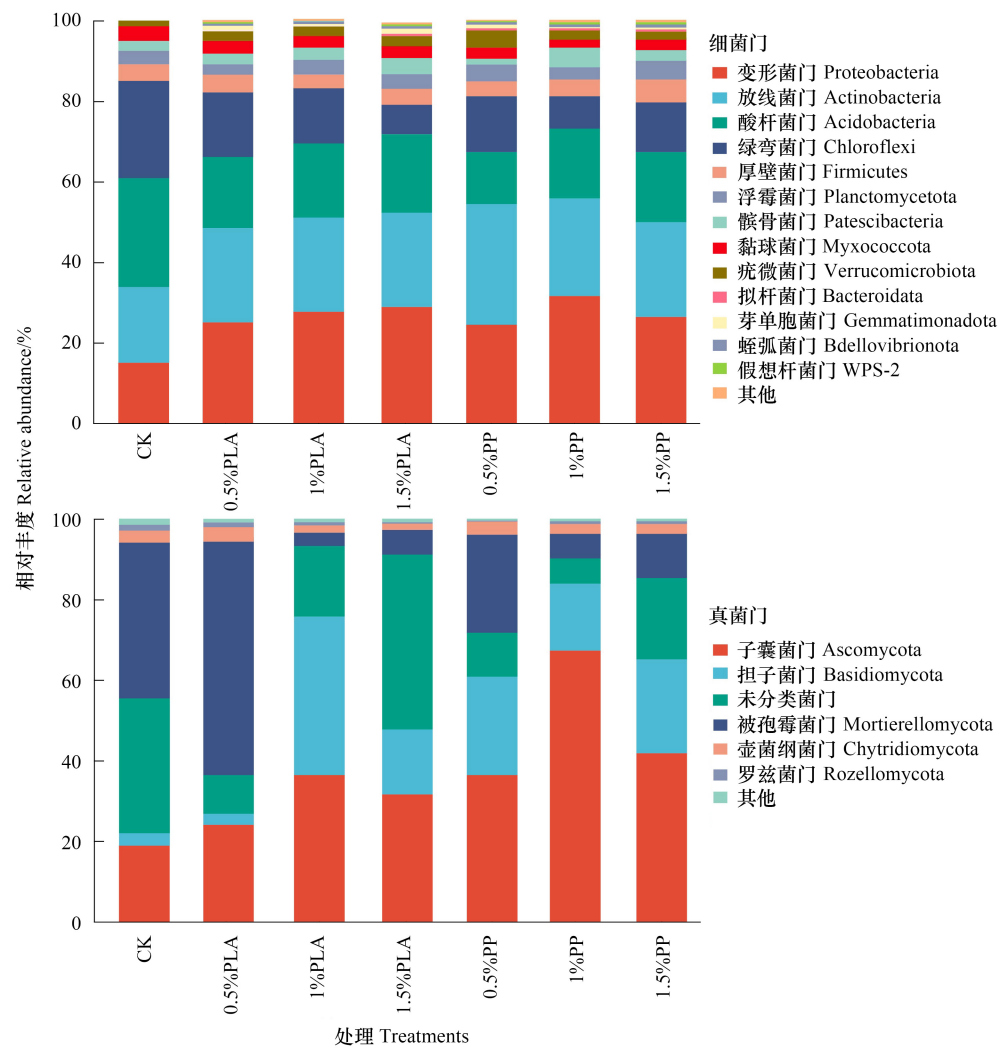


图 4 土壤细菌及真菌门水平群落丰度

Fig.4 Community abundance of soil bacteria and fungi at phylum level

表 3 温室气体累计排放量与紫外吸光度相关性

温室气体 Greenhouse gas	可溶性有机碳 Dissolved organic carbon	紫外可见吸光度值 Ultraviolet visible absorbance value			
		SUVA254/ (L mg ⁻¹ m ⁻¹)	SUVA260/ (L mg ⁻¹ m ⁻¹)	A250/A365	A240/A420
二氧化碳 CO ₂	0.49	0.89 *	0.89 *	0.11	0.49
甲烷 CH ₄	0.64	0.67	0.68	0.10	0.35

CO₂: 二氧化碳 Carbon dioxide; CH₄: 甲烷 Methane; DOC: 可溶性有机碳; * 为显著相关性 (P<0.05)

3 讨论

本研究发现,微塑料 PP 和 PLA 均能够增加稻田土壤 DOC 含量,且 PLA 对土壤 DOC 的提升效应高于 PP (图 1)。作为一种可生物降解微塑料,PLA 很容易在环境因子和微生物的驱动下发生水解^[28]。如在潮湿环境下,水分子会攻击 PLA 的酯键,进而产生可溶性小分子低聚物,使土壤 DOC 含量增加^[29]。可降解微塑料对土壤 DOC 含量的增加效应在其他研究中也得到了证实。例如,在 25℃ 培养条件下,1% 质量分数的 PLA 微塑料添加能够使黑土和黄土中的 DOC 含量分别增加 16.02% 和 24.14%^[28]。添加 5—10% 质量分数的聚己二酸

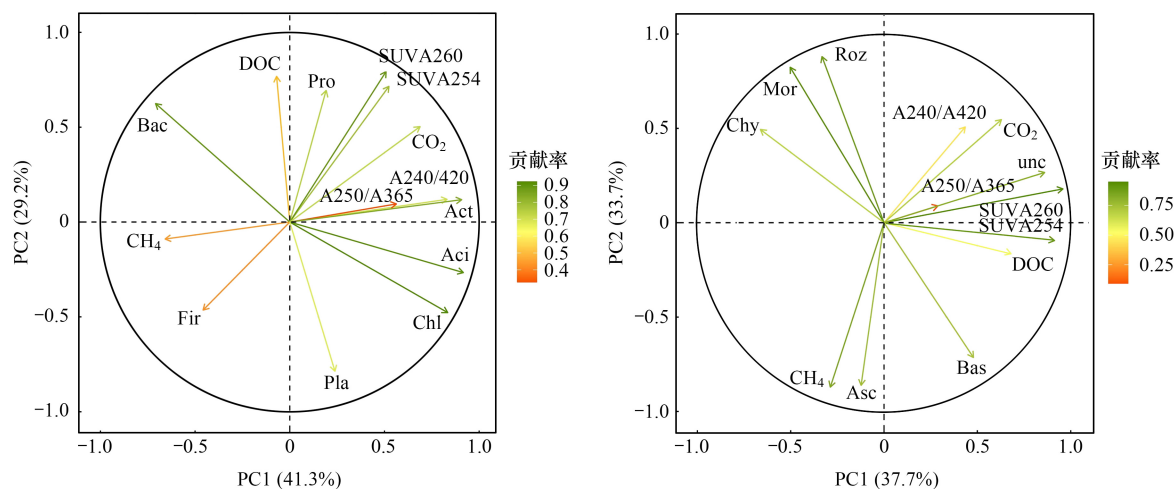


图5 土壤有机碳组分与门水平下细菌和真菌主成分分析

Fig.5 Principal Component Analysis of soil organic fractions and bacteria and fungi at the phylum level

Pro:变形菌门;Act:放线菌门;Bac:拟杆菌门;Fir:厚壁菌门;Aci:酸杆菌门;Chl:绿弯菌门;Asc:子囊菌门;Bas:担子菌门;unc:未分类菌门;Mor:被孢霉菌门;Chy:壶菌门

丁二烯-对苯二甲酸酯(PBAT)微塑料后,热带砖红壤中 DOC 的含量显著升高^[30]。与 PLA 相反,PP 等传统微塑料在土壤中极其难以降解。因此,PP 微塑料对土壤 DOC 的提升作用可能是由其他机制驱动的。有研究发现,PP、聚乙烯(PE)、聚苯乙烯(PS)等传统微塑料加入土壤后,会改变土壤微生物群落结构和酶活性,进而影响土壤有机质矿化和 DOC 释放^[31]。然而,传统微塑料对土壤 DOC 的影响受土壤和微塑料性质的双重影响,结论尚不统一。例如,有研究指出,0.10%—18.04%质量分数的低密度聚乙烯(LDPE)添加会增加菜田土壤 DOC 含量^[32]。而另有研究表明,只有较高剂量(28%)的 PP 微塑料添加使土壤 DOC 含量升高,低剂量(7%)微塑料对土壤 DOC 含量物无显著影响^[31]。土壤 DOC 组分复杂,含有苯环、羟基、羧基类等官能团,其含量和分子结构与土壤有机碳转化密切相关。本研究表明,1%—1.5%质量分数的 PLA 会增加土壤 DOC 的 SUVA254 值和 SUVA260 值(表 1),说明高浓度的 PLA 添加能够促进芳香族和疏水性 DOC 化合物的形成^[33],而 PP 添加则抑制了芳香族和疏水性 DOC 化合物的产生。此外,添加 PLA 或 PP 后,土壤 DOC 的 A240/A420 值和 A250/A365 值均显著降低(表 1),说明微塑料会削弱土壤的团聚化程度并促进大分子量 DOC 化合物的生成^[25]。综上所述可以看出,PP 和 PLA 微塑料会影响土壤 DOC 分子结构。

在添加 PLA 和 PP 微塑料后,稻田土壤 CH₄ 和 CO₂ 的排放也发生了变化。整体来看,PLA 和 PP 微塑料添加均抑制了土壤 CO₂ 的排放(图 2)。在土壤中,CO₂ 的排放主要来源于土壤呼吸,尤其是土壤微生物的代谢活动^[34]。因此,影响土壤微生物活性的因子将对土壤 CO₂ 产生和排放产生影响。在本实验中,土壤含水率为 100%,由此形成的厌氧环境也会抑制好氧微生物的活动,从而降低 CO₂ 的产生和排放。有研究发现,100 天培养实验结束后土壤中聚乙烯(LDPE)质量无显著变化,而可降解微塑料 PBAT 的质量显著下降,且添加微塑料 PBAT 的处理组显著促进了 CO₂ 累计排放量^[35],因此,可降解微塑料对温室气体排放的影响部分来源于其本身的降解过程。在本次实验中,土壤 CO₂ 累计排放量与 SUVA254 及 SUVA260 值呈显著正相关关系(表 3),这说明 CO₂ 的改变与 DOC 组分中的芳香族化合物含量与疏水性组分含量有关^[36]。微塑料进入土壤后,土壤有机质被微生物分解,释放出大量的 CO₂,此时被分解的原土有机质中的 DOC 也会被分解^[37],芳香族碳结构也会随之发生变化。在土壤中,CH₄ 主要是由产甲烷细菌在厌氧环境下产生的^[38]。本研究发现,与 CO₂ 相反,PLA 或 PP 微塑料对 CH₄ 排放有促进作用(图 2)。类似结果在其他研究中也有报道^[14]。而另有研究表明,微塑料能够抑制土壤 CH₄ 的排放或无显著作用^[14—22]。这可能归因于微塑料及土壤的性质不同,导致产甲烷菌

和产甲烷菌的相对丰度和活性发生变化^[22]。

微生物群落的组成是土壤环境变化的重要生物学指标,对土壤生态系统的物质循环和能量交换等核心功能起着至关重要的作用^[39]。在本研究中,加入微塑料 PLA 或 PP 后土壤细菌群落及结构发生显著变化(图 4),这可能是由于微塑料通过改变土壤理化性质或资源供应而对细菌和真菌群落产生显著影响^[24—39]。例如,有研究发现,PE 微塑料添加可以影响菜田土壤 pH 值以及碳、氮养分含量,导致土壤微生物群落多样性降低^[32]。本研究结果显示变形菌门、放线菌门与 CO₂ 累计排放量呈正相关关系(图 5)。这可能是由于另有研究表明,掺入塑料碎片后,土壤 pH、电导率及碳、氮、磷养分含量均发生显著变化,而土壤中的优势菌也由变形杆菌门(Proteobacteria)转变为放线菌门(Actinobacteria)^[40]。Shi 等研究也发现 PLA 微塑料进入土壤后放线菌门(Actinobacteria)丰度有所提高,并推测是由于放线菌(Actinobacteria)中的某种具有通过合成水解酶来降解 PLA 微塑料的功能潜力^[28]。现研究发现,100 天培养实验结束后土壤中聚乙烯(LDPE)质量无显著变化,而可降解微塑料 PBAT 的质量显著下降,且添加微塑料 PBAT 的处理组显著促进了 CO₂ 累计排放量,因此,可降解微塑料对温室气体排放的影响部分来源于其本身的降解过程^[35]。目前,有关微塑料对土壤微生物群落结构影响的研究还较为分散且报道结果差异在不同研究之间存在较大差异,亟需进一步探究以厘清其内在作用机理。

4 结论

- (1) PLA 和 PP 处理组土壤中 DOC 含量整体随微塑料添加剂量的增加而升高;
- (2) PP 或 PLA 添加均能促进 CH₄ 排放,而除 1% PLA 外,其他微塑料处理土壤 CO₂ 排放整体较 CK 低;
- (3) 添加 PP 或 PLA 处理中土壤微生物多样性及群落结构的变化受聚合物类型和添加剂量的双重作用;
- (4) 土壤 CO₂ 累计排放量与 SUVA₂₅₄、SUVA₂₆₀、变形菌门(Proteobacteria)及放线菌门(Actinobacteria)呈正相关关系。

参考文献(References):

- [1] Desforges J P W, Galbraith M, Dangerfield N, Ross P S. Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 79(1/2): 94-99.
- [2] 刘强,徐旭丹,黄伟,徐晓群,寿鹿,曾江宁. 海洋微塑料污染的生态效应研究进展. *生态学报*, 2017, 37(22): 7397-7409.
- [3] Wang W F, Ndungu A W, Li Z, Wang J. Microplastics pollution in inland freshwaters of China: a case study in urban surface waters of Wuhan, China. *Science of the Total environment*, 2017, 575: 1369-1374.
- [4] 杨光蓉,陈历睿,林敦梅. 土壤微塑料污染现状、来源、环境命运及生态效应. *中国环境科学*, 2021, 41: 353-365.
- [5] 周倩,田崇国,骆永明. 滨海城市大气环境中发现多种微塑料及其沉降通量差异. *科学通报*, 2017, 62(33): 3902-3909.
- [6] 骆永明,涂晨. 见微知著 塑战速决面向可持续发展的环境微塑料研究. *科学通报*, 2021, 66(13): 1544-1546.
- [7] Fuller S, Gautam A. A procedure for measuring microplastics using pressurized fluid extraction. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(11): 5774-5780.
- [8] Lozano Yudi M, AguilarTrigueros Carlos A, Gabriela O, Stefanie M, Zhao T T, Rillig Matthias C. Effects of microplastics and drought on soil ecosystem functions and multifunctionality. *Journal of Applied Ecology*, 2021, 58(5): 988-996.
- [9] Lozano Yudi M, Lehnert T, Linck L T, Lehmann A, Rillig Matthias C. Microplastic shape, polymer type, and concentration affect soil properties and plant biomass. *Frontier in Plant Science*, 2021, 12: 616645.
- [10] de Souza Machado A A, Lau C W, Kloas W, Bergmann J, Bachelier J, Faltin E, Becker R, Görlich A, Rillig M. Microplastics can change soil properties and affect plant performance. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(10): 6044-6052.
- [11] Zhang Z Y, Wang W F, Liu J P, Wu H T. Discrepant responses of bacterial community and enzyme activities to conventional and biodegradable microplastics in paddy soil. *Science of the Total environment*, 2024, 909: 168513.
- [12] Yu Y X, Li X, Feng Z Y, Xiao M L, Ge T D, Li Y Y, Yao H Y. Polyethylene microplastics alter the microbial functional gene abundances and increase nitrous oxide emissions from paddy soils. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 432: 128721.
- [13] Lin L, Xu E G, Liu M X, Yang Y Y, Zhou A M, Suyamud B, Pan X, Yuan W K. Microbiological processes of submicrometer plastics affecting submerged plant growth in a chronic exposure microcosm. *Environmental Science & Technology Letters*, 2022, 10(1): 33-39.
- [14] Han L F, Chen L Y, Li D T, Ji Y, Feng Y Y, Feng Y F, Yang Z F. Influence of polyethylene terephthalate microplastic and biochar co-existence on paddy soil bacterial community structure and greenhouse gas emission. *Environmental Pollution*, 2022, 292: 118386.

- [15] Ren X W, Tang J C, Liu X M, Liu Q L. Effects of microplastics on greenhouse gas emissions and the microbial community in fertilized soil. *Environmental Pollution*, 2020, 256: 113347.
- [16] Zhang Z Y, Kang Y J, Wang W F, Xu L, Liu J P, Zhang Z S, Wu H T. Low-density polyethylene microplastics and biochar interactively affect greenhouse gas emissions and microbial community structure and function in paddy soil. *Chemosphere*, 2023, 340: 139860.
- [17] Weithmann N, Möller J N, LöderLoder M G J, Piehl S, Laforsch C, Freitag R. Organic fertilizer as a vehicle for the entry of microplastic into the environment. *Science Advance*, 2018, 4(4): eaap8060.
- [18] Wang J, Li J Y, Liu S T, Li H Y, Chen X C, Peng C, Zhang P P, Liu X H. Distinct microplastic distributions in soils of different land-use types: a case study of Chinese farmlands. *Environmental Pollution*, 2021, 269: 116199.
- [19] Yang J, Song K F, Tu C, Li L Z, Feng Y D, Li R J, Xu H, Luo Y M. Distribution and weathering characteristics of microplastics in paddy soils following long-term mulching: a field study in Southwest China. *Science of the Total Environment*, 2023, 858: 159774.
- [20] Filiciotto L, Rothenberg G. Biodegradable plastics: standards, policies, and impacts. *ChemSusChem*, 2021, 14(1): 56-72.
- [21] 刘沙沙, 操江飞, 陈显宇, 梁绮彤. 微塑料-多环芳烃对农用地土壤微生物群落结构和功能的影响. *广东农业科学*, 2022, 49(8): 64-72.
- [22] Zhang Z H, Yang Z H, Yue H W, Xiao M L, Ge T D, Li Y Y, Yu Y X, Yao H Y. Discrepant impact of polyethylene microplastics on methane emissions from different paddy soils. *Applied Soil Ecology*, 2023, 181: 104650.
- [23] Kumar M, Xiong X N, He M J, Tsang D C W, Gupta J, Khan E, Harrad S, Hou D Y, Ok Y S, Bolan N S. Microplastics as pollutants in agricultural soils. *Environmental Pollution*, 2020, 265: 114980.
- [24] Wang F Y, Wang Q L, Adams C A, Sun Y H, Zhang S W. Effects of microplastics on soil properties: current knowledge and future perspectives. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 424: 127531.
- [25] 张甲, 曹军, 陶澍. 土壤水溶性有机物的紫外光谱特征及地域分异. *土壤学报*, 2003, 40(1): 118-122.
- [26] 李彬彬, 武兰芳, 许艳艳, 秦越. 秸秆还田土壤溶解性有机碳的官能团特征及其与 CO₂ 排放的关系. *农业环境科学学报*, 2017, 36(12): 2535-2543.
- [27] Mosier A R, Morgan J A, King J Y, LeCain D, Milchunas D G. Soil-atmosphere exchange of CH₄, CO₂, NO_x, and N₂O in the Colorado shortgrass steppe under elevated CO₂. *Plant and Soil*, 2022, 240(2): 201-211.
- [28] Shi J, Wang J, Lv J F, Wang Z, Peng Y M, Shang J Y, Wang X. Microplastic additions alter soil organic matter stability and bacterial community under varying temperature in two contrasting soils. *Science of the Total Environment*, 2022, 838: 156471.
- [29] Sun Y Z, Duan C X, Cao N, Ding C F, Huang Y, Wang J. Biodegradable and conventional microplastics exhibit distinct microbiome, functionality, and metabolome changes in soil. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 424: 127282.
- [30] Chen M, Zhao X W, Wu D M, Peng L C, Fan C H, Zhang W, Li Q F, Ge C J. Addition of biodegradable microplastics alters the quantity and chemodiversity of dissolved organic matter in latosol. *Science of the Total Environment*, 2022, 816: 151960.
- [31] Liu H F, Yang X M, Liu G B, Liang C T, Xue S, Chen H, Ritsema C J, Geissen V. Response of soil dissolved organic matter to microplastic addition in Chinese loess soil. *Chemosphere*, 2017, 185: 907-917.
- [32] Gao B, Yao H Y, Li Y Y, Zhu Y Z. Microplastic addition alters the microbial community structure and stimulates soil carbon dioxide emissions in vegetable-growing soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2021, 40(2): 352-365.
- [33] Jaffrain J, Gérard F, Meyer M, Ranger J. Assessing the quality of dissolved organic matter in forest soils using ultraviolet absorption spectrophotometry. *Soil Science Society of America Journal*, 2007, 71(6): 1851-1858.
- [34] Rillig M C, Hoffmann M, Lehmann A, Liang Y, Lück M, Augustin J. Microplastic fibers affect dynamics and intensity of CO₂ and N₂O fluxes from soil differently. *Microplastics and Nanoplastics*, 2021, 1(1): 1-11.
- [35] Meng F R, Yang X M, Riksen M, Geissen V. Effect of different polymers of microplastics on soil organic carbon and nitrogen-A mesocosm experiment. *Environmental Research*, 2022, 204(Pt A): 111938.
- [36] 常怡慧, 牟长城, 彭文宏, 郝利, 韩丽冬. 大兴安岭永久冻土区 7 种沼泽类型土壤温室气体排放特征. *生态学报*, 2020, 40(7): 2333-2346.
- [37] Yu Y X, Li X, Feng Z Y, Xiao M L, Ge T D, Li Y Y, Yao H Y. Polyethylene microplastics alter the microbial functional gene abundances and increase nitrous oxide emissions from paddy soils. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 432: 128721.
- [38] Malyan S K, Bhatia A, Kumar A, Gupta D K, Singh R, Kumar S S, Tomer R, Kumar O, Jain N. Methane production, oxidation and mitigation: a mechanistic understanding and comprehensive evaluation of influencing factors. *Science of the Total Environment*, 2016, 572: 874-896.
- [39] Zhang X Y, Li Y, Ouyang D., Lei J J, Tan Q L, Xie L L, Li Z Q, Liu T, Xiao Y M, Farooq T H, Wu X H, Wu X H, Chen L, Yan W D. Systematical review of interactions between microplastics and microorganisms in the soil environment. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 418: 126288.
- [40] Zhang Q, Xiao J, Xue J H, Zhang L. Quantifying the effects of biochar application on greenhouse gas emissions from agricultural soils: a global meta-analysis. *Sustainability*, 2020, 12(8): 3436.