

东寨港人工和天然红树林群落“塑料际”特征差异比较

王昊森¹, 吕淑果², 付彦¹, 吴晓晨², 孙宏飞¹, 邓惠¹, 赵媛媛^{3*}, 葛成军^{1*}

1. 海南大学环境科学与工程学院/海南省农林环境过程与生态调控重点实验室/海口市环境毒理学重点实验室, 海南海口 570228; 2. 海南省环境科学研究院, 海南海口 570203; 3. 海南大学药学院, 海南海口 570228

摘要: 作为陆海交界处独特的潮间带生态系统, 红树林是阻止微塑料 (microplastics, MPs) 进入海洋的最后一道屏障。因此沿海红树林已经成为 MPs 的主要汇集地。为探究人工与自然红树林群落中 MPs 赋存特征及细菌群落结构的差异, 本研究以海南省东寨港红树林自然保护区为研究区域, 选择典型人工和天然红树林群落为研究对象, 以聚氯乙烯 (polyvinyl chloride, PVC) 和聚乳酸 (polylactic acid, PLA) 为目标 MPs 开展原位暴露实验, 比较 PVC 与 PLA 两种 MPs 在人工和天然红树林群落暴露后微观形貌与理化性质的动态变化, 并分析不同红树林群落“塑料际”细菌群落差异。结果表明: 随着暴露时间的增加, 与人工红树林群落中的 MPs 相比, 暴露于天然红树林群落中 MPs 表面形貌塌陷程度更显著, 接触角、结晶度和疏水性变化也更剧烈, 表明天然红树林环境暴露加速了 MPs 的老化过程。人工和天然红树林群落“塑料际”和周围沉积物中细菌群落多样性均差异显著 ($P<0.05$)。暴露于天然红树林群落中的 MPs 优势菌为厚壁菌门 (Firmicutes), 而在人工红树林群落中, 变形菌门 (Proteobacteria) 细菌在 MPs 表面大量定殖。其中天然红树林群落沉积物的 pH 水平为“塑料际”微生物结构的主控因子 ($P<0.01$), 而人工红树林群落沉积物中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量与“塑料际”微生物多样性呈极显著正相关 ($P<0.01$)。综上所述, 相比于人工红树林群落, 天然红树林环境可促进 MPs 的老化效应及“塑料际”表面微生物群落演替。研究结果阐明了天然和人工红树林原位暴露下 PLA 和 PVC 的理化性质及“塑料际”的构建过程, 为进一步分析 MPs “塑料际”与环境的相互作用提供理论依据。

关键词: 红树林生态系统; 微塑料; “塑料际”; 微生物群落结构; 表面微形貌

中图分类号: X505; S718.54

文献标志码: A

Comparison of “Plastisphere” Characteristics Between Artificial and Natural Mangrove Communities in Dongzhaigang

WANG Haosen¹, LYU Shuguo², FU Yan¹, WU Xiaochen², SUN Hongfei¹, DENG Hui¹, ZHAO Yuanyuan^{3*}, GE Chengjun^{1*}

1. School of Environmental Science and Engineering, Hainan University / Key Laboratory of Agro-Forestry Environmental Processes and Ecological Regulation of Hainan Province / Haikou Key Laboratory of Environmental Toxicology, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Hainan Academy of Environmental Sciences, Haikou, Hainan 570203, China; 3. School of Pharmaceutical Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China

Abstract: As a distinctive intertidal ecosystem at the interface between terrestrial and marine realms, mangrove represents a pivotal buffer against the influx of microplastics (MPs) into the marine environment, which serves as a principal repository for MPs. To elucidate the inner differences in the temporal alterations in micro-morphology, physicochemical traits and bacterial communities of polyvinyl chloride (PVC) and polylactic acid (PLA), exposure experiments were conducted at the representative artificial and natural mangrove communities in Dongzhaigang Mangrove Nature Reserve in Hainan Province. Results revealed that MPs cultured in the natural mangrove performed more pronounced collapses

收稿日期 2024-04-02; 修回日期 2024-05-11

基金项目 海南省科技人才创新项目 (No. KJRC2023C12); 国家自然科学基金项目 (No. 42277315); 海南省自然科学基金面上项目 (No. 421MS0767)。

作者简介 王昊森 (1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 新型污染物环境行为。*通信作者 (Corresponding author): 赵媛媛 (ZHAO Yuanyuan), E-mail: zhyk0610@163.com; 葛成军 (GE Chengjun), E-mail: gcj3007@163.com。

and substantial fluctuations in contact angle, crystallinity, and hydrophobicity in comparison to that in artificial mangrove environment. This suggests that the natural mangrove environment exposure might accelerate the MPs aging processes. Significant differences were observed between the diversity of MPs bacterial communities and sediments in artificial and natural mangrove ($P<0.05$). Firmicutes plays a dominate role in MPs exposed to natural mangrove communities, while Proteobacteria was the dominant phylum colonized on MPs in artificial mangrove environment. The pH level of natural mangrove sediments was the primary factor for bacterial colonization on “plastisphere” ($P<0.01$), whereas ammonium nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) of artificial mangrove habitats showed a highly significant positive correlation ($P<0.01$) with the microbial community of MPs. In summary, MPs in natural mangrove communities showed more pronounced alterations in the surface micromorphology and microbial community succession than that in artificial mangrove communities. The surfaces of the “plastisphere” in natural mangrove communities have a high level of bacterial community richness, and their ability to enrich microorganisms differs from that of the “plastisphere” in artificial mangrove environment. Results of the study provide a foundation for the dynamic changes in physicochemical properties and microbial communities of MPs, which is expected to contribute to further investigations in the potential risks of MPs.

Keywords: mangrove ecosystem; microplastics; “plastisphere”; microbial community structure; surface micromorphology

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.11.024

作为一类新污染物, 全球范围内广泛赋存的微塑料 (microplastics, MPs) 已对生态系统构成潜在的生态环境风险^[1]。红树林生态系统是以红树植物为主要群落的湿地生态系统, 是海岸带最重要的生态系统之一, 约占全球海岸线的 60%~75%。红树林湿地已成为 MPs 重要的汇集地^[2]。研究表明, 红树林的气生根可截留大量 MPs 并使其长期蓄积于红树林生态系统^[3]。研究发现长期沉积的 MPs 表面会富集持久性有机污染物, 显著增强了 MPs 对环境污染物的载体效应, 对红树林生态系统构成潜在威胁^[4-6]。为缓解红树林湿地的退化与丧失, 各国纷纷开展人工种植工作以恢复红树林生态系统多样性。

MPs 进入自然环境后可作为微生物定殖的底物, 为微生物提供新的生态位, MPs 与环境中微生物相互作用可形成“塑料际”^[7-8]。“塑料际”的形成主要与 MPs 的物理化学性质和环境条件相关^[9]。已有研究报道, “塑料际”细菌群落的构建会改变 MPs 的理化性质, 进而影响其环境行为和归趋^[10-11]。MPs 在自然环境中的老化效应也为“塑料际”的形成提供有利条件^[12]。此外, 研究表明“塑料际”与周围生态系统之间的微生物群落组成存在显著差异, “塑料际”可以选择性富集环境中的致病菌, 促进病原微生物的扩散, 增加 MPs 对人类健康的潜在风险^[13-14]。因此 MPs 在红树林生态系统中长期赋存产生的潜在生态风险值得深入探究。然而目前对 MPs 在人工红树林与天然红树林群落中的形貌特征和“塑料际”构建差异的相关研究较为匮乏。

本研究选择东寨港红树林自然保护区中人工和天然红树林群落作为研究区域, 以生物基可降解类塑料聚乳酸 (polylactic acid, PLA) 和石油基不可降解类塑料聚氯乙烯 (polyvinyl chloride, PVC) 为目标 MPs, 探讨原位暴露过程中 PLA 与 PVC 表面微观形貌与性质的动态变化, 并分析 MPs “塑料际”细菌群落结构差异, 为评估 MPs 在红树林湿地中的生态风险提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究选择海南省东寨港国家级红树林自然保护区 (110°34'~110°38'E, 19°38'~20°01'N) 中以海南红海榄和木榄为优势种的代表性人工红树林 (生长年限 8 a 左右) 和天然红树林群落作为原位试验地区开展野外暴露实验。具体暴露点位信息与样品处理组信息如表 1、图 1 所示。

1.2 方法

1.2.1 微塑料样品制备 PVC 和 PLA 的 MPs 颗粒粒径为 0.3 mm, 购自北京安科莱尔科技有限公司。实验前, 先将 MPs 颗粒放入无水乙醇中超声震荡处理 30 min, 随后使用无菌水对 MPs 颗粒清洗 3 次, 以去除残留的乙醇及其他可能污染物。清洗后的 MPs 颗粒在实验室条件下自然风干后备用。

1.2.2 微塑料样品投放与收集 取 50 g 目标 MPs 分别置于尼龙袋 (孔径 0.15 mm) 中以保证 MPs 颗粒与外围环境得以充分接触。退潮时在选定的红树林暴露点位将 MPs 样品置于沉积物表层

表 1 东寨港红树林自然保护区中 MPs 暴露点位的信息和暴露时间

Tab. 1 Information and exposure time of MPs-exposed sites in Dongzhaigang Mangrove Nature Reserve						
暴露区域 Exposed area	暴露方式 Exposure mode	经纬度 Longitude and latitude	植被类型 Vegetation type	暴露时间 Exposure time/d	暴露对象 Exposed object	简称 Acronym
文林村 (YH)	地下暴露	110°32'19.95"E, 20°0'4.42"N	天然红海榄群落	30, 60, 120	PLA	YHPLA
					PVC	YHPVC
山尾头村 (RH)	地下暴露	110°35'18.01"E, 19°57'14.75"N	人工红海榄群落	30, 60, 120	PLA	RHPLA
					PVC	RHPVC
道学村 (YM)	地下暴露	110°35'20.54"E, 19°55'48.20"N	天然木榄群落	30, 60, 120	PLA	YMPLA
					PVC	YMPVC
河港村 (RM)	地下暴露	110°33'5.76"E, 19°58'21.59"N	人工木榄群落	30, 60, 120	PLA	RMPLA
					PVC	RMPVC

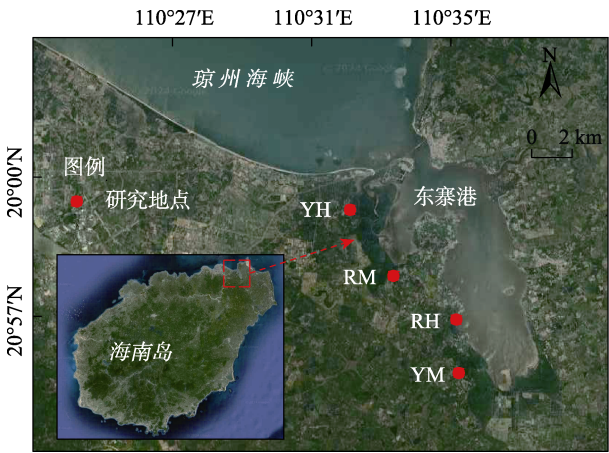


图 1 东寨港红树林自然保护区地理位置及 MPs 暴露点分布

Fig. 1 Map of geographical location of Dongzhaigang Mangrove Nature Reserve and distribution of microplastics exposure sites

5~10 cm 处。暴露结束后 (30、60、120 d) 采集 MPs 样品。使用无菌水清洗 MPs 样品后分为 2 份, 分别保存于 4 ℃ 和 -80 ℃ 环境下, 以便开展后续表征分析和微生物检测。同时取 2 份暴露点位沉积物用于沉积物理化性质和微生物多样性分析。各暴露点在不同暴露时间的沉积物理化性质指标及信息见表 2。

1.2.3 “塑料际”形貌观察与表面特征分析 (1) 表面形貌分析。使用场发射扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM, Verios G4 UC, Thermo Scientific, 美国) 观察不同暴露时间的 MPs 表面微观形貌变化。将适量样品粘附在导电胶上, 放置于真空环境中喷金以增强样品导电性。在整个分析过程中, SEM 仪器在 20 kV 的加速电压下进行操作。

表 2 各暴露点在不同暴露时间的沉积物理化性质

Tab. 2 Physicochemical properties of sediment of each exposure site at different exposure time								
暴露区域 Exposure area	暴露时间 Exposure time/d	理化指标 Physicochemical indicator						
		pH	TC/ (mg·kg ⁻¹)	H/ (mg·kg ⁻¹)	TN/ (mg·kg ⁻¹)	TS/ (mg·kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N/ (mg·kg ⁻¹)	NO ₃ ⁻ -N/ (mg·kg ⁻¹)
文林村 (S-YH)	30	5.690±0.008	0.412±0.030	3.102±0.308	0.830±0.092	0.887±0.056	0.320	0.056±0.018
	60	5.430±0.008	0.404±0.004	2.947±0.397	0.762±0.088	0.928±0.125	0.283±0.003	0.050±0.020
	120	5.360±0.018	0.406±0.005	2.527±0.165	0.938±0.083	0.834±0.023	0.336±0.003	0.043±0.003
山尾头村 (S-RH)	30	6.520±0.005	0.418±0.011	3.397±0.056	0.925±0.043	0.789±0.015	0.413±0.003	0.146±0.026
	60	6.060±0.006	0.467±0.016	3.391±0.161	0.958±0.059	0.951±0.062	0.356±0.003	0.053±0.014
	120	6.530±0.004	0.477±0.065	3.495±0.516	0.980±0.150	0.841±0.048	0.596±0.008	0.053±0.003
道学村 (S-YM)	30	6.260±0.007	0.575±0.009	7.712±0.118	1.740±0.070	1.715±0.023	1.100±0.005	0.110±0.010
	60	5.660±0.015	0.496±0.048	4.565±0.214	1.062±0.073	1.321±0.068	0.390±0.005	0.020±0.020
	120	5.420±0.007	0.741±0.005	8.578±0.112	1.786±0.021	2.016±0.031	1.033±0.026	0.023±0.013
河港村 (S-RM)	30	6.790±0.053	0.577±0.002	4.277±0.042	1.177±0.049	0.910±0.044	0.326±0.021	0.026±0.006
	60	6.810±0.002	0.351±0.018	1.948±0.075	0.850±0.055	0.649±0.022	0.213±0.006	0.056±0.018
	120	6.600±0.113	0.198±0.009	0.788±0.029	0.508±0.004	0.428±0.015	0.336±0.012	0.056±0.003

(2) 表面官能团和结晶度分析。使用傅立叶变换红外光谱仪 (Frontier, PerkinElmer, 美国) 表征“塑料际”形成所导致的 MPs 表面功能化学基团的变化。在测试前, 样品在超纯水中进行 3 次漂洗, 以确保表面清洁。光谱分析时, 每个样品扫描 64 次, 分辨率为 4 cm^{-1} , 扫描区间设定为 $500\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 。此外, 为提高数据的准确性和可靠性, 每个样品重复测量 3 次。根据获得的傅里叶变换红外光谱 (fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 计算得到羰基指数 (carbonyl index, CI), 计算公式如下:

$$CI = A_{C=O} / A_{ref}$$

式中, $A_{C=O}$ 为羰基峰的积分面积, A_{ref} 为参考峰的积分面积。

使用 X 射线衍射仪 (X-ray diffractometer, Smart Lab, Rigaku, 日本) 分析 MPs 的结晶特性, 并获得 X 射线衍射 (X-Ray Diffraction, XRD) 谱图。在分析过程中, 将适量 MPs 均匀平铺在制样板上, 随后在 2θ 扫描范围内使用 $\text{Cu-K}\alpha$ 辐射源 ($\lambda=1.5406\text{ \AA}$) 进行连续扫描。设置扫描角度范围为 $5\sim 70^\circ$, 扫描速度为 $2^\circ/\text{min}$, 电流为 30 mA , 电压为 40 kV 。利用 Jade 6.5 软件计算结晶度。

(3) 表面疏水性分析。使用 DSA30 水接触角测量仪 (DSA30, 科斯威, 中国) 测量环境条件下的静态水接触角, 结合图像处理软件分析 MPs 的疏水性变化。

(4) 表面元素分析。使用 X 射线光电子能谱仪 (Axis Supra, 岛津 KRATOS, 日本) 测定 MPs 样品中 C、O、Cl、Si 等元素, 并得到 X 射线光电子能谱 (X-ray photoelectron spectroscopy, XPS), 用 Advantage 软件进行分峰处理。

(5) DNA 提取、扩增子测序及生物信息的获取。采用 1% 的琼脂糖凝胶电泳技术提取 MPs 表面定殖和沉积物中微生物 DNA 序列, 并使用上游引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA G-3') 和下游引物 806R (5'-GGACTACHVGGGT WTCTAAT-3') 对样本中细菌的 16S rRNA 基因的 V3~V4 区进行扩增, 测序平台为 Illumina NovaSeq PE300。MPs 和沉积物样品的微生物测序工作由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2019 软件进行图表数据处理, 使用 SPSS 26 软件进行单因素方差分析和统计。使用 Canoco 5 软件对沉积物性质与细菌群

落组成进行冗余分析 (redundancy analysis, RDA)。使用 Origin 2022 软件实现数据可视化。

2 结果与分析

2.1 微塑料表面微观形貌变化

由电镜观察结果可知, 原始 PLA 和 PVC 颗粒均具有光滑无裂纹的表面, 且无其他侵蚀特征 (图 2)。经过 30 d 的暴露, MPs 表面开始出现孔洞和裂缝; 暴露 60 d 后, 与暴露于人工林中的 MPs 对比可知, 天然林中的 MPs (YHPLA 和 YHPVC) 表面均观察到更为明显的深脊与塌陷现象, 且在 YHPVC 表面褶皱处附着杆状微生物 (图 2B); 暴露 120 d 后, YHPLA 表面产生随机分布的网状裂纹, 呈现以褶皱、裂缝和突起为显著特征的变化, 且有球状微生物群落附着 (图 2A)。原位暴露后 YHPVC 表面产生若干凸起, 并分布着大面积粘附的物质 (图 2B)。在相同的暴露周期内, 天然林 MPs 老化程度比人工林中更为显著, PLA 表面微观形貌变化较 PVC 更为突出。

2.2 微塑料表面疏水性变化

如图 3 所示, 原始 PLA 和 PVC 均表现出较强疏水性。随着在人工和天然红树林群落中暴露时间的增加, MPs 接触角均显著降低 ($P<0.05$)。与原始 MPs 的接触角相比, PLA 在天然林暴露后接触角降至 $70.0\%\sim 95.1\%$; 人工林中的 MPs 接触角降至 $88.7\%\sim 97.1\%$ (图 3A)。在天然林和人工林中暴露后 PVC 的接触角分别比原始 MPs 降低 $6.6\%\sim 26.7\%$ 和 $4.9\%\sim 16.7\%$ (图 3B), 表明天然红树林群落对 MPs 疏水性的影响更为显著。相较于 PLA, PVC 的接触角变化较小。

2.3 微塑料官能团变化

由 MPs 的 FTIR 光谱图可知 (图 4A~图 4D), 暴露后的 PLA-MPs 中, 位于 1748 cm^{-1} 的羰基 (C=O) 伸缩振动峰以及 $2995\sim 2850\text{ cm}^{-1}$ 区域的 C-H 键伸缩振动峰强度有所降低, 这表明 PLA-MPs 表面可能发生酯基的降解。与原始 MPs 相比, PVC-MPs 在 3500 cm^{-1} 和 1715 cm^{-1} 处的羟基 ($-\text{OH}$) 和 C=O 振动峰的峰强随暴露时间增加而逐渐增强, 同时观察到 C-Cl 键的伸缩振动也更为显著 (图 4E~图 4H)。

由图 5 可知, 经暴露后 PVC-MPs 的 CI 值显著增加 ($P<0.05$), 而 PLA-MPs 的 CI 值则呈现出相反的趋势 ($P<0.05$)。在天然和人工红树林群落

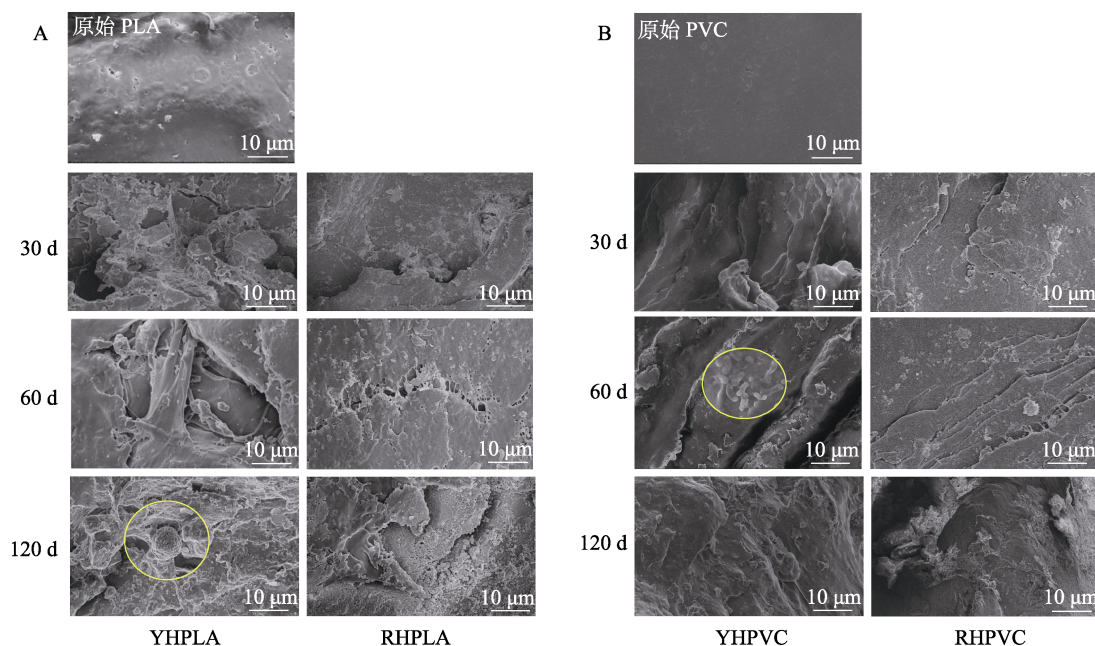
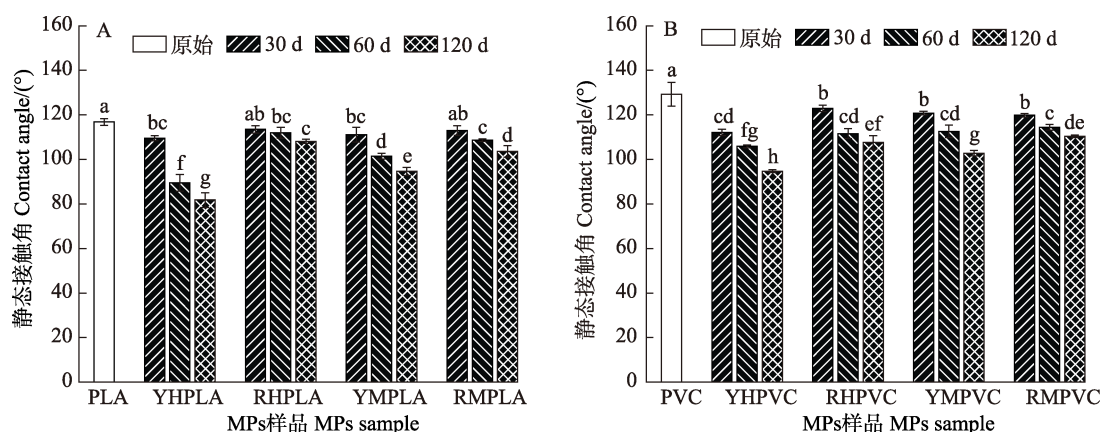


图 2 原位暴露 30、60、120 d 后 PLA-MPs (A)、PVC-MPs (B) 的表面形貌特征

Fig. 2 Surface micromorphology of PLA-MPs (A) and PVC-MPs (B) after 30, 60 and 120 day-exposure



不同小写字母表示不同暴露时间下人工和天然红树林群落中微塑料的静态接触角差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference in the static contact angle of MP exposed to artificial and natural mangrove communities for different time periods ($P < 0.05$).

图 3 原位暴露 30、60、120 d 后 PLA-MPs (A)、PVC-MPs (B) 的静态接触角

Fig. 3 Static contact angle of PLA-MPs (A) and PVC-MPs (B) after 30, 60 and 120 day-exposure

中 PVC-MPs 的 CI 值 (图 5B) 分别升高至原始 MPs 的 1.18~1.42 倍和 1.07~1.35 倍, PLA-MPs 的 CI 值 (图 5A) 则分别降低为原始 MPs 的 79.5%~98.1% 和 88.3%~98.1%。可以看出, 天然红树林群落对 MPs 的 CI 值的影响显著高于人工红树林群落。

2.4 微塑料结晶度变化

由于 PVC-MPs 在暴露后更多地表现为其他物理和化学性质的变化, 如变色和变脆, 在这里不参与比较分析。在人工和天然红树林群落中暴露 30、60、120 d 后 PLA 的 MPs 的 XRD 谱图如

图 6 所示, 衍射峰强度普遍弱于原始 MPs, 这表明与原始 MPs 相比, 暴露于红树林群落中的 MPs 结晶度下降。由图 6E 可知, 原始 PLA 的 MPs 结晶度为 58.7%, 暴露 120 d 后, YHPLA、RHPLA、YMPLA、RMPLA 的 MPs 结晶度分别降至原始 MPs 的 78.1%、85%、84.1% 和 88.1%。结果表明, 暴露后人工林和天然林的 PLA 的 MPs 结晶度均显著下降 ($P < 0.05$), 其中暴露于天然林的 PLA 的 MPs 结晶度下降幅度比人工林更大, 这可能更易导致断裂和结构剥落, 从而表现出更严重的老化现象。

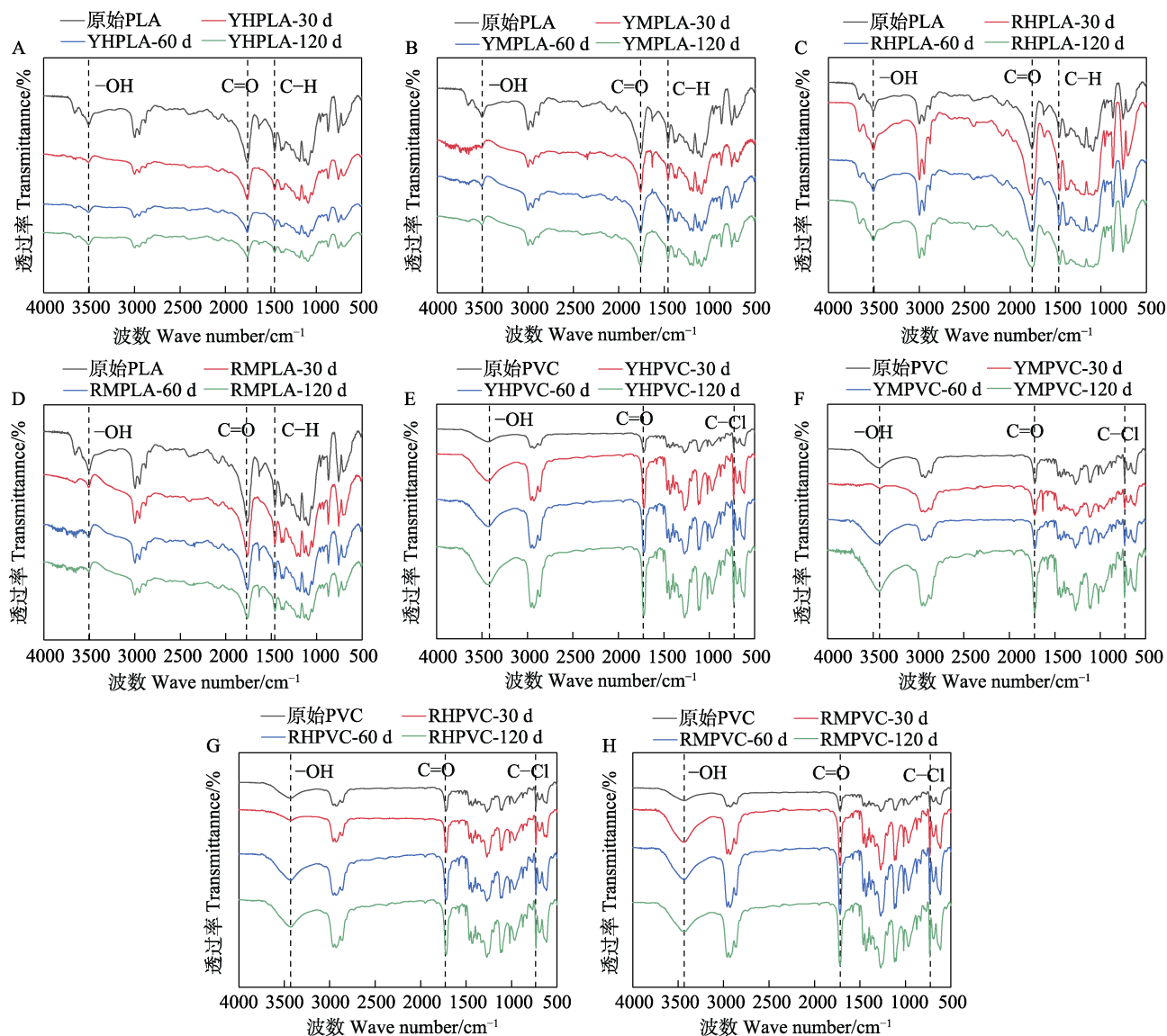
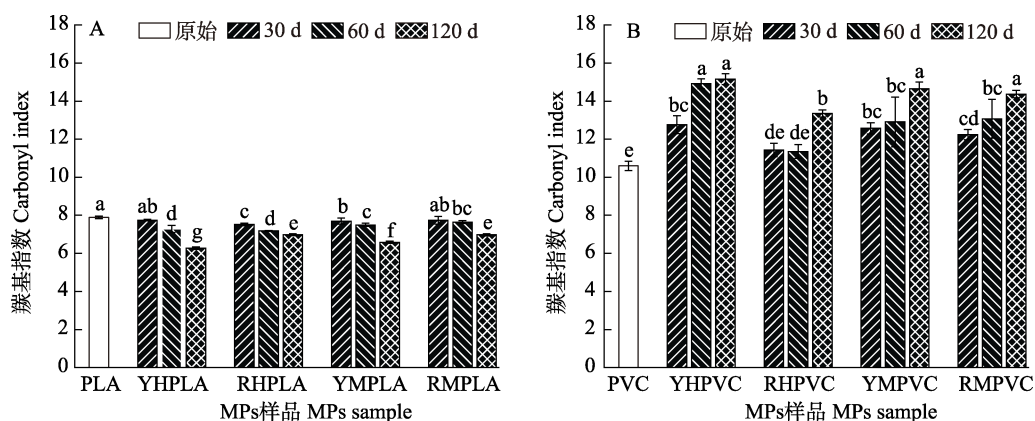


图 4 原位暴露 30、60、120 d 后微塑料表面官能团变化

Fig. 4 Changes in surface functional groups on MPs after 30, 60 and 120 day-exposure

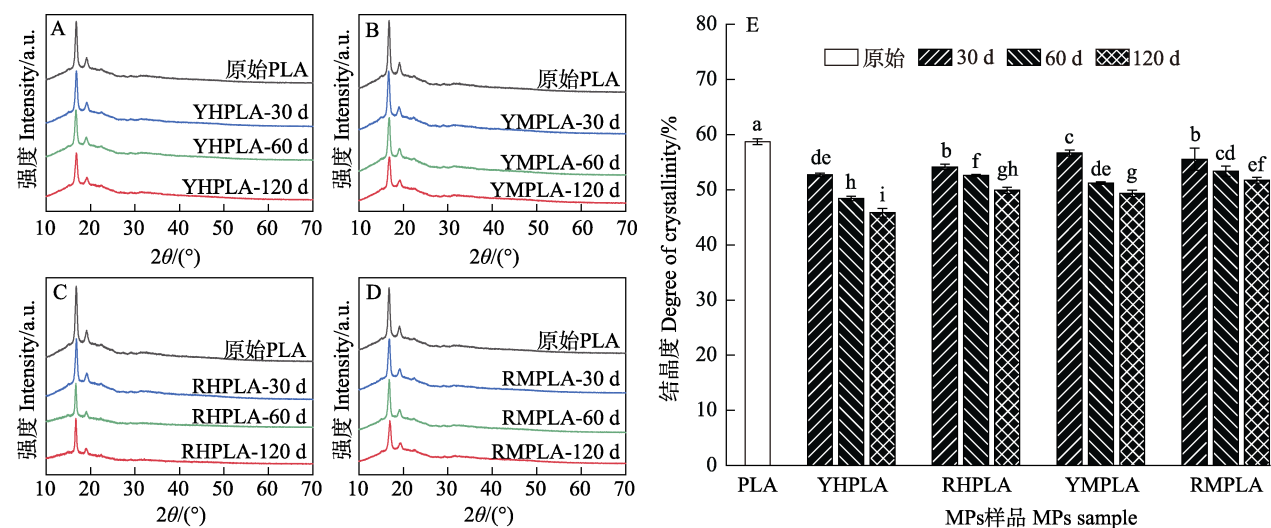


不同小写字母表示 MPs 暴露于人工和天然红树林群落不同时间段后羰基指数差异显著 ($P < 0.05$)。

The different lowercase letters indicate significant difference in the carbonyl index of MPs exposed to artificial and natural mangrove communities for different time periods ($P < 0.05$).

图 5 原位暴露 30、60、120 d 后 PLA-MPs (A)、PVC-MPs (B) 的羰基指数

Fig. 5 Carbonyl index of PLA-MPs (A) and PVC-MPs (B) after 30, 60 and 120 day-exposure



不同小写字母表示 PLA 的 MPs 暴露于人工和天然林群落不同时间段后结晶度差异显著 ($P<0.05$)。
The different lowercase letters indicate significant difference in the crystallinity of PLA-MPs exposed to artificial and natural mangrove communities for different time periods ($P<0.05$).

图 6 原位暴露 30、60、120 d 后 PLA 的微塑料的 XRD 光谱 (A~D) 和结晶度 (E)
Fig. 6 XRD spectra (A–D) and crystallinity (E) of PLA-MPs after 30, 60 and 120 day-exposure

2.5 微塑料化学元素组成变化

PLA、PVC 的 MPs 在人工和天然红树林群落中暴露后的 XPS 全谱图如图 7 所示, 原始 MPs 中仅含有少量 O 元素, 而暴露后 MPs 表面检测到

大量 O、Si 元素。相比于原始 PLA 的 MPs, YHPLA 和 YMPLA 的 MPs 氧峰强度分别增加 18.41%和 13.62%, 而人工群落中 MPs 表面氧峰强度仅增加 0.55%~1.43%, 这说明在天然林群落暴露过程中 PLA-MPs 表面引入了更多含氧官能团。由 PVC-MPs 的 XPS 全谱图 (图 7B) 显示出氯峰面积下降, 表明暴露期间可能发生脱氯效应。

根据表 3 可知, 相较于原始 MPs, 暴露后 MPs 的 O/C 值均有所增加, 其中暴露于天然红树林群落中 MPs 的 O/C 值变化最为显著。YHPLA 和 YMPLA 的极性指数分别增加至原始 MPs 的 1.57 倍和 2.19 倍; 而 YHPVC 和 YMPVC 的极性指数分别增至原始 MPs 的 4.86 倍和 4.79 倍。

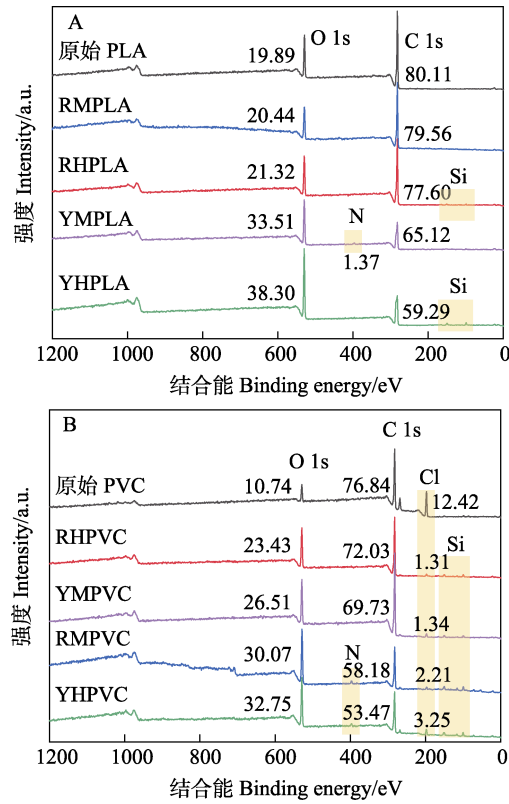


图 7 原位暴露 60 d 后 PLA (A)、PVC (B) 微塑料的 XPS 全谱图

Fig. 7 XPS wide spectra of PLA (A) and PVC (B) after 60 day-exposure

表 3 原位暴露 60 d 后 PLA、PVC 的 MPs 元素组成及 O/C 比

Tab. 3 Elemental composition and O/C ratio of PLA and PVC after 60 day-exposure

MPs	元素组成 Elemental composition					O/C
	O/%	C/%	Cl/%	Si/%	N/%	
原始 PLA	19.89	80.11				0.66
YHPLA	38.30	59.29		2.41		1.04
RHPLA	21.32	77.60		1.08		0.64
YMPLA	33.51	65.12			1.37	1.45
RMPLA	20.44	79.56				0.73
原始 PVC	10.74	76.84	12.42			0.30
YHPVC	32.75	53.47	3.25	6.41	4.12	1.47
RHPVC	23.43	72.03	1.31	3.23		1.03
YMPVC	26.51	69.73	1.34	2.42		1.45
RMPVC	30.07	58.18	2.21	5.27	4.28	0.38

原始和暴露后 MPs 的 C 1s 和 O 1s 高分辨率光谱如图 8~图 9 所示。在 C 1s 谱图 (图 8A) 中, 与原始 PLA 相比, YHPLA、YMPLA、RHPLA 和 RMPLA 的 C=O 的峰面积分别增加至 3.22 倍、2.17 倍、1.22 倍、1.23 倍, 表明在暴露过程中 PLA 表面部分 C-H 键或 C-C 键可能受到氧化导致其不

饱和度增加。与人工林中暴露的 PLA 相比, 暴露于天然林中 PLA 的 C=O 峰面积变化更为显著。在 O 1s 谱图 (图 9) 中进一步证实了 MPs 在原位暴露过程出现了氧化效应, 在天然林群落中暴露的 YHPLA 和 YMPLA 中 C=O 峰面积分别为暴露于人工林中 PLA 的 1.42 倍和 2.10 倍, YHPVC 和

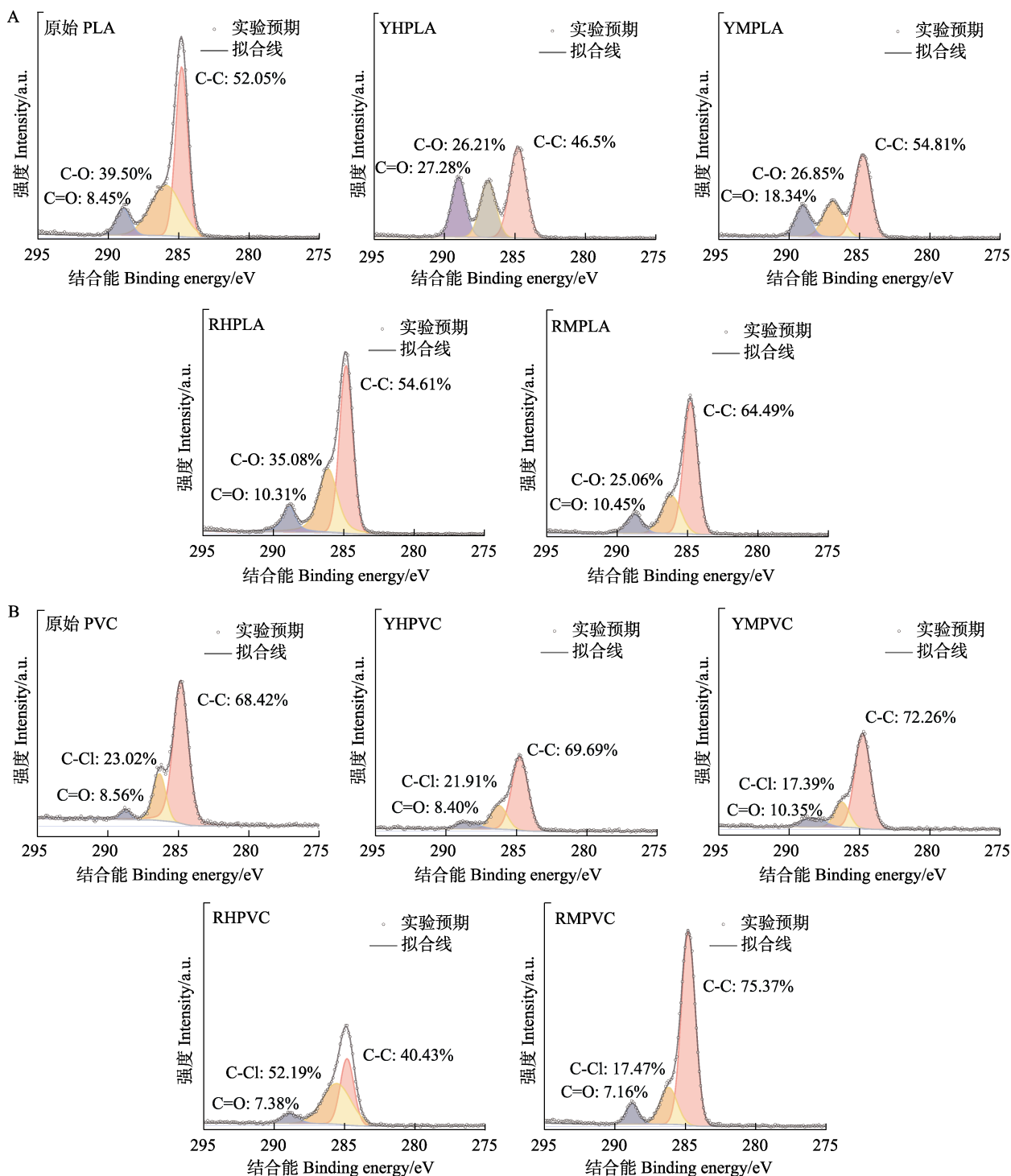


图 8 原位暴露 60 d 后 PLA (A)、PVC (B) 的 XPS-C 1s 高分辨率谱图

Fig. 8 High-resolution spectra of XPS-C 1s of PLA (A) and PVC (B) after 60 day-exposure

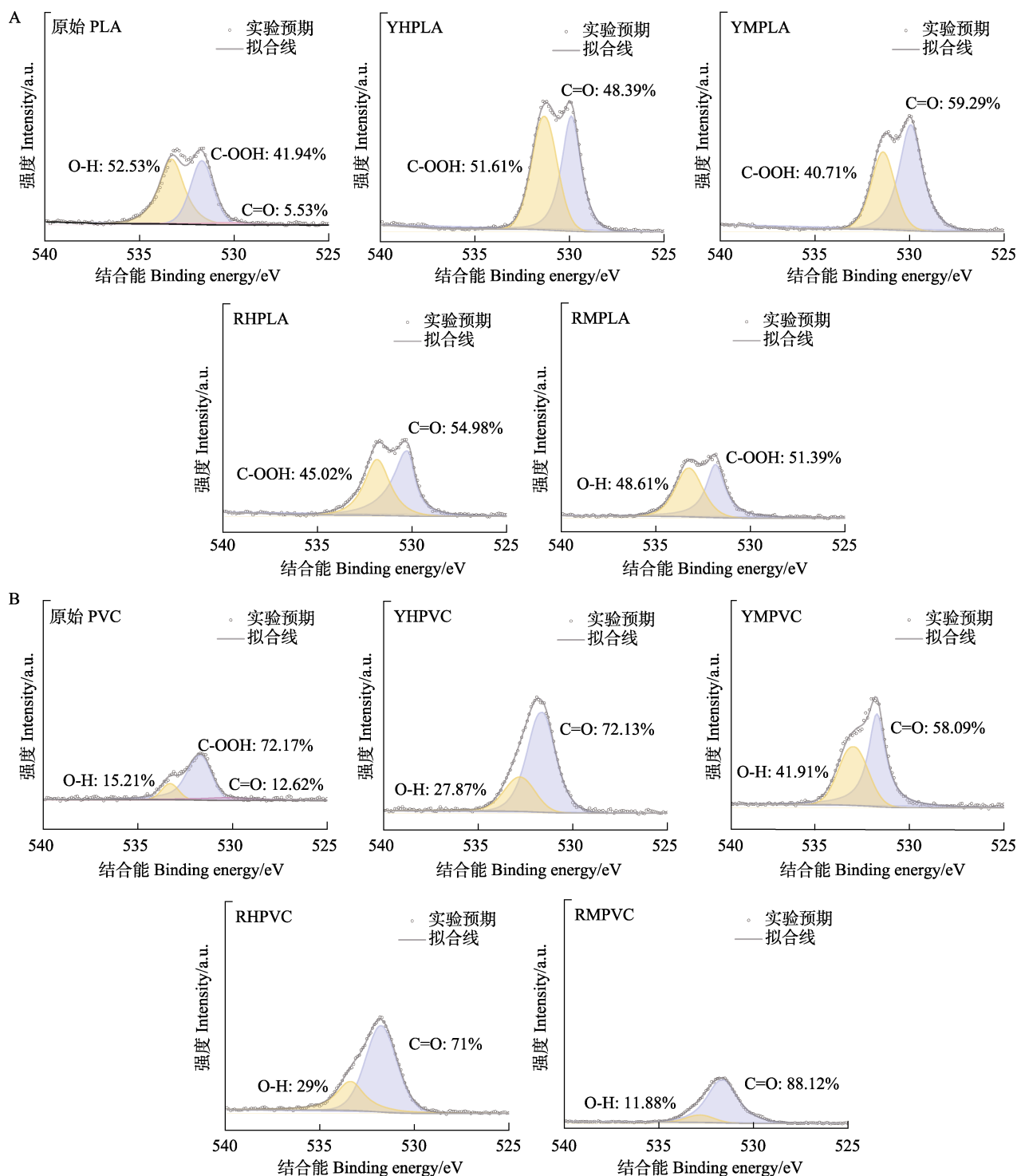


图 9 原位暴露 60 d 后 PLA-MPs (A)、PVC-MPs (B) 的 XPS-O 1s 高分辨率谱图

Fig. 9 High-resolution spectra of XPS-O 1s of PLA-MPs (A) and PVC-MPs (B) after 60 day-exposure

YMPVC 中 C=O 峰面积分别为暴露于人工林中 PVC 的 1.13 倍和 1.87 倍。原位暴露后 MPs 表面相关含氧基团的峰面积同样呈现增长趋势,与原始 MPs 相比,在天然林和人工林中 PLA 的 C=OOH 峰面积分别增长 0.67~1.44 倍和 0.22~0.34 倍, PVC 中-OH 峰面积分别增长 3.33~6.77

倍和 0.03~3.24 倍。

2.6 微塑料表面细菌群落结构组成响应及环境因子影响分析

2.6.1 MPs 表面细菌群落多样性 由 OTUs 分析可知 (图 10), 所有 MPs 及沉积物共有 140~156 个 OTUs, 显示出较低的相似性。在不同红树林群

落中,天然林的 OTUs 数量 (1464~5185) 高于人工林 (1563~3754), 表明天然林中的 MPs 表面微

生物丰富度更高。由图 11 可知,不同暴露时间下 MPs 表面细菌群落的 α 多样性指数均无显著差异。

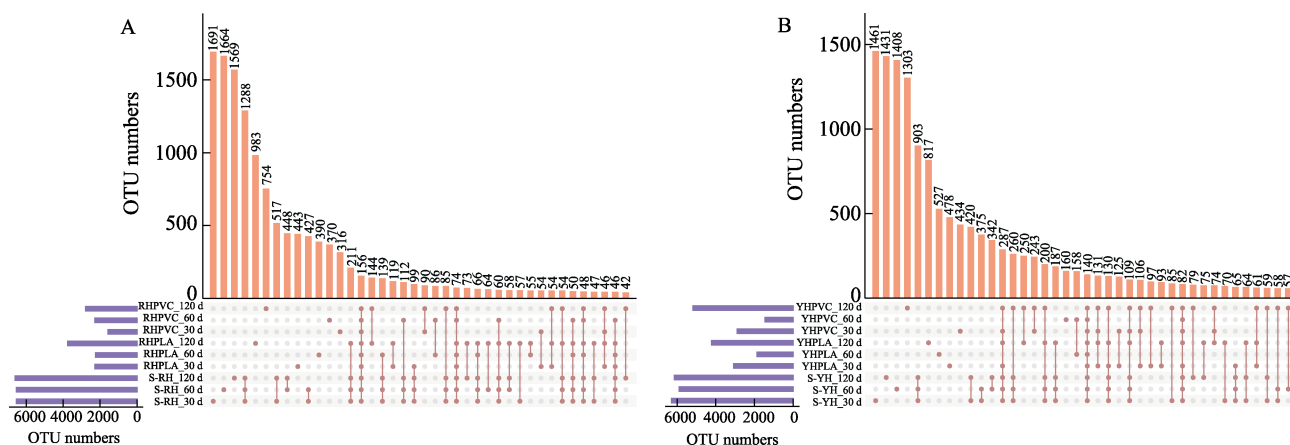
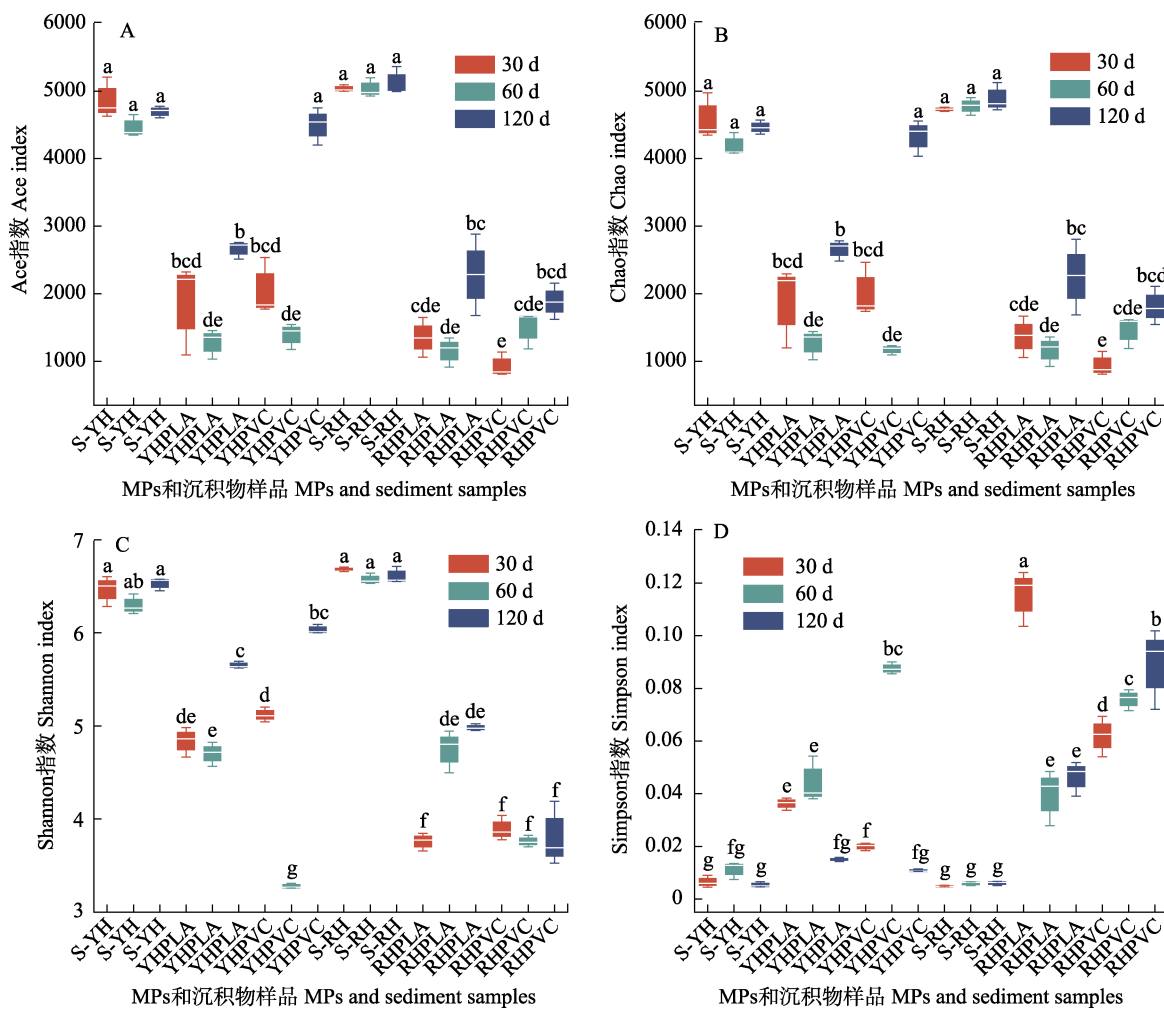


图 10 天然林 (A) 和人工林 (B) 中 PLA-MPs、PVC-MPs 和周围沉积物的 OTUs 数目随暴露时间的变化

Fig. 10 Changes in OTUs number of PLA-MPs, PVC-MPs and surrounding sediments exposed to natural (A) and artificial (B) mangrove communities during exposure



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

图 11 MPs 与周围沉积物微生物 Ace 指数 (A)、Chao 指数 (B)、Shannon 指数 (C)、Simpson 指数 (D) 随暴露时间的变化

Fig. 11 Changes in Ace index (A), Chao index (B), Shannon index (C), and Simpson index (D) of MPs and surrounding sediments microbial communities during exposure

相比于沉积物,暴露后“塑料际”中微生物的 Ace 指数、Chao 指数、Shannon 指数均显著下降 ($P<0.05$), 而 Simpson 指数显著上升 ($P<0.05$), 表明沉积物、天然林中“塑料际”和人工林中“塑料际”的细菌群落之间具有显著差异, 其中沉积物中细菌群落 α 多样性更高。

2.6.2 人工和天然微塑料际的细菌群落结构 图 12 为门水平下沉积物和 MPs 表面细菌组成及其相对丰度。主要细菌群落包括变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、脱硫菌门 (Desulfobacterota)、弯曲杆菌门 (Campilobacterota) 和绿弯菌门 (Chloroflexi)。其中厚壁菌门和变形菌门为绝对的优势菌门。在暴露于天然林 30 d 的 MPs 表面, 厚壁菌门相对丰度为 $(29.8\pm 1.8)\%$ ~ $(43.1\pm 1.8)\%$, 随着暴露时间增加到 60 d, 相对丰度显著增加至 $(62.7\pm 1.8)\%$ ~ $(74.9\pm 1.7)\%$, 在 120 d 时又锐减至 $(8.03\pm 0.3)\%$ ~ $(17.6\pm 2.7)\%$, 但厚壁菌门在人工林的“塑料际”中比例较为稳定, 为 $(32.6\pm 8.5)\%$ ~ $(54.8\pm 2.4)\%$, 且整个暴露过程中在“塑料际”的丰度均高于沉积物 $(12.1\pm 1.28)\%$ ~ $(23.5\pm 1.8)\%$ 。相比人工和天然林中的 PLA-MPs, 弯曲杆菌门、脱硫菌门和骸骨菌门 (Patescibacteria) 在 PVC-MPs 上暴露至 30 d 时更具优势, 但到 60 d 时几乎消失不见, 原位暴露 120 d 后在 MPs 表面重新定殖。在暴露于人工林中 30、60、120 d 时, 骸骨菌门 (Patescibacteria) 在不同 MPs 表面的相对丰度分别相差 1.9%、0.1%、0.4%, 而在天然林中分别相差 8.3%、0.02%、1.5%。此外, 绿弯菌门细菌在沉积物中的丰度波动较为稳定 (15%左右), 直到暴露 120 d 后才定殖于 MPs 表面, 且绿弯菌门在天然林“塑料际”中的相对丰度 $(4.0\pm 0.4)\%$ ~ $(7.4\pm 1.4)\%$ 显著高于人工林 $(1.6\pm 0.7)\%$ ~ $(2.1\pm 0.1)\%$, 表明“塑料际”对沉积物微生物具有选择富集性, 同时天然和人工林“塑料际”的富集能力不同。

如图 13 所示, 暴露于天然林、人工林中的 MPs 表面与沉积物的细菌群落具有显著差异, 其中天然林的环境对 MPs 细菌群落的变化贡献度更高。结果还表明, 人工林和天然林沉积物的细菌群落具有相似结构。此外, PVC-MPs 相比于 PLA-MPs 表现出明显的聚类, 说明二者的细菌群落产生明显区别。

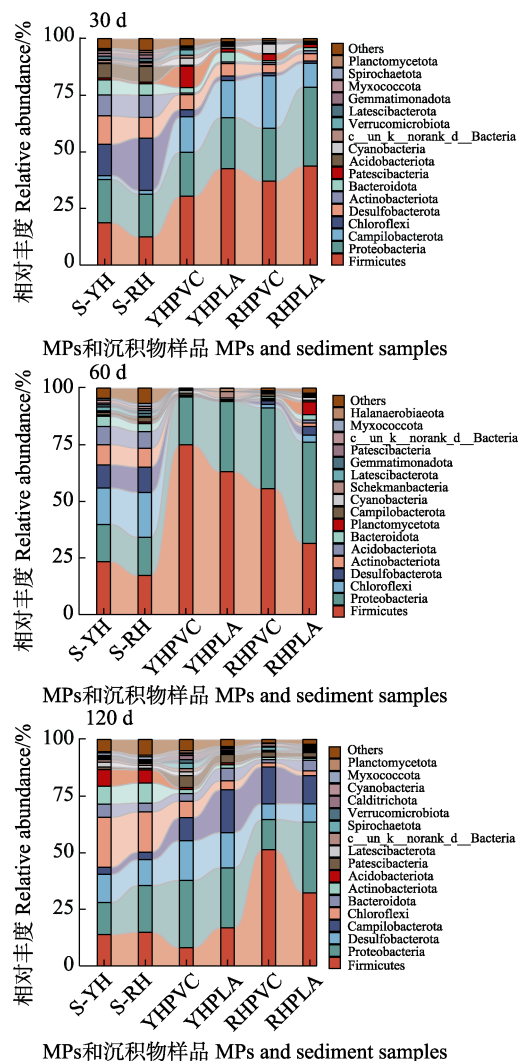


图 12 原位暴露 30、60、120 d 后 MPs 表面细菌在门水平的相对丰度

Fig. 12 Relative abundance of bacteria on MPs at level of phylum after 30 d, 60 d, 120 d exposure

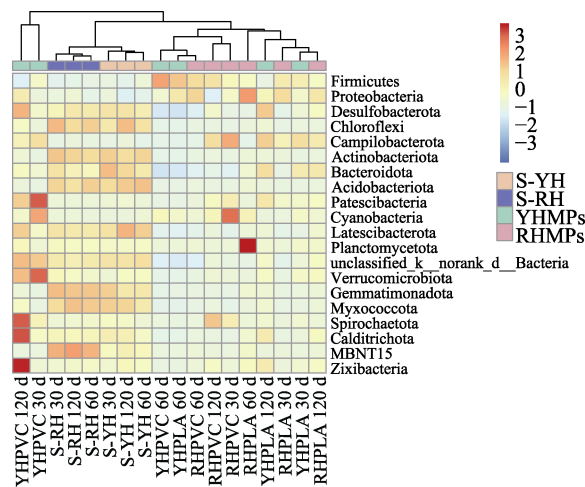


图 13 原位暴露 30、60、120 d 后 MPs 表面细菌在门水平的丰度热图

Fig. 13 Heat map of abundance of bacteria on MPs at level of phylum after 30, 60 and 120 day-exposure

2.6.3 环境因子分析 冗余分析 (图 14) 很好地解释了 69.28% 的细菌群落变异, 其中 RDA1 可解释 50.57% 的变异, RDA2 可解释 18.71% 的变异。如表 4 所示, 沉积物 pH 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是较为重要的影响细菌群落组成的因子, 其次是 H 元素、TC 和 TN 的含量。天然林“塑料际”细菌群落组成与 pH 呈极显著负相关 ($P<0.01$); 人工林“塑料际”细菌群落组成与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 呈极显著正相关 ($P<0.01$)。

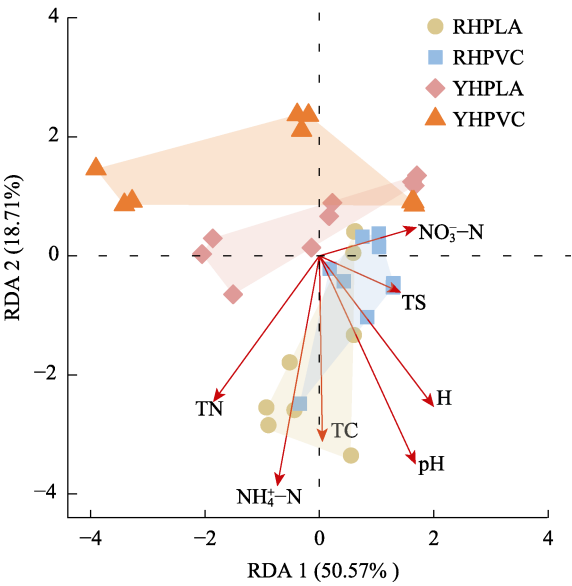


图 14 人工和天然林群落中沉积物理化性质对细菌群落影响的 RDA 分析

Fig. 14 RDA analysis of effects of sediment physico-chemical properties on bacterial communities in artificial and natural mangrove communities

表 4 环境因子对细菌群落结构差异的解释率

Tab. 4 Explanation rate of environmental factors for differences in bacterial community

环境因子 Environmental factors	解释率 Explanation rate/%	P
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	36.4	0.004
pH	36.3	0.001
H	24.7	0.014
TC	22.7	0.017
TN	21.2	0.023
$\text{NO}_3^-\text{-N}$	6.5	0.340
TS	5.0	0.412

3 讨论

本研究通过 SEM、XRD、FTIR、XPS 和高通量测序技术表征 MPs 在人工红树林和天然红树林

中表面微形态特征及细菌群落结构的动态变化。各项表征结果表明, 与人工林中 MPs 相比, 暴露于天然林中的 MPs 表面形貌和结构破碎化更为严重, 进一步促进其他老化过程的进行, 如氧化和降解, 导致 MPs 表面形成更多极性官能团, 进而提高 MPs 的亲水性。值得注意的是, PLA-MPs 在人工林和天然林原位暴露中均出现 C=O 和长烷基链断裂现象, LV 等^[15]同样发现 PLA-MPs 在土壤掩埋过程中 C=O 强度显著降低。而暴露后 PVC-MPs 表面含氧官能团数量随暴露时间延长而增多。ANDRADY^[16]的研究结果与之相同, 他们发现沉积物中原位暴露的塑料聚合物表面可形成大量羰基, 使其更容易断裂并促进其降解过程。这表明红树林湿地原位暴露可能促进 PVC-MPs 表面产生羰基与羟基等含氧官能团^[17]。天然林对 MPs 物理和化学性质的影响更为显著, 因此 MPs 在天然林中的老化程度和降解速度高于人工林^[18]。

本研究揭示了天然红树林群落对 MPs 表面特性的显著影响。由元素分析结果可知, MPs 在天然林环境暴露后表面 O/C 值的显著升高与羰基的形成具有密切联系, 这一结论与 XPS 结果一致。C 1s 分峰结果表明, 相比于人工林中的 PLA-MPs, 天然林中 PLA-MPs 的 C=O 峰面积显著增加可能由于天然林环境促进酯键发生水解作用, 导致分子结构中羧基数量增加, 进而引起氧原子含量的增加^[19]。O 1s 分峰结果表明 PLA-MPs 在暴露过程中逐渐发生氧化作用, 其中的羰基可能来自于羧基的转化^[20]。ZHU 等^[21]发现 PVC-MPs 在降解过程中会产生中间产物环境持久性自由基, 导致 MPs 在暴露期间分解出 -CH-OOH 自由基, 随后裂解转化为 C=O。DUAN 等^[22]也发现类似的结果, 即老化后 MPs 表面产生不同的含氧官能团, 主要包括 -OH 和 C=O。此外, 羰基易于分解的特性能够促进 MPs 的降解^[23]。因此, 天然林环境比人工林对 MPs 含氧官能团的影响更显著, 这与表面形貌的观察结果一致, 即暴露于天然林中 MPs 的老化程度更高。

暴露于天然林中 PLA-MPs 的羰基指数下降幅度高于人工林, 这可能由于暴露过程中发生了酯基降解^[24], 亦因为 PLA-MPs 自身分子结构稳定性差, 导致其在天然林沉积物中易发生水解作用或被微生物分解^[15], 这可能是天然林 PLA-MPs 的结晶度显著下降的原因。此外, PVC-MPs 在暴

露于天然林后羰基指数同样出现大幅波动,表明天然林环境中 MPs 的氧化程度更高^[25]。

研究表明, MPs 在短期内就可以吸引微生物定殖,且环境条件是影响 MPs 表面细菌群落多样性的关键因素之一^[26]。本研究发现不同暴露时间“塑料际”微生物群落的 α 多样性相似,这可能归因于 MPs 表面定殖的微生物活性主要受 MPs 特性和环境介质的影响。天然林群落中暴露的 MPs 表面微生物群落显示出高水平的丰富度,表明天然林微生物群落的多样性较高,新陈代谢过程活跃^[27]。定殖底物的疏水性、粗糙度等在细菌定殖初期可能起到主要作用^[28],而天然林 MPs 老化程度高于人工群落。在整个暴露过程中,天然林 MPs 较人工林 MPs 的细菌组成变化明显,表明二者在不同阶段对特定细菌的富集能力不同。已有研究表明, PLA-MPs 和 PVC-MPs 表面微生物具有丰富的硫循环功能,厚壁菌门中的脱硫杆菌属可以利用 MPs 作为电子供体参与硫代谢^[18, 29],因此厚壁菌门在 MPs 表面的相对丰度变化可能与微生物复杂的代谢活动和能量利用有关。DE TENDER 等^[30]发现某些细菌物种可以将 MPs 作为碳源分解利用,从而获得更多的生存资源和适应优势。微生物的选择性定殖对“塑料际”的形成过程具有关键作用^[31]。这导致在天然林的暴露过程中, MPs 表面定殖的髌骨菌门细菌丰度具有差异性。然而人工红树林群落中暴露的 MPs 表面髌骨菌门丰度的差异性较小,这可能与人工红树林中细菌群落多样性较低有关。

RDA 分析表明环境因子是影响人工林中“塑料际”细菌群落结构的主导因素,其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 影响最为显著。据报道, PLA-MPs 可将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 作为氮源利用并促进氮的循环过程^[32]。KIELAK 等^[33]也发现在 PVC-MPs 暴露一年后的土壤中富含促进氮循环的细菌。这可能导致暴露于人工林中不同 MPs 表面出现相似的细菌群落。而天然红树林群落具有较为复杂的生态系统,可能导致天然林“塑料际”并不受到环境因子的显著影响,其深层机理尚待进一步研究。

综上,在人工和天然红树林群落的暴露过程显著改变 MPs 的基质特性,从而影响“塑料际”中细菌群落结构,其中天然林环境暴露对 MPs 理化性质和“塑料际”构建过程的影响更为显著。在原位暴露过程中,相较于人工林的 MPs,暴露于天然林中 MPs 表面形貌、接触角、结晶度、含

氧官能团含量和细菌群落组成的变化更明显。同时天然林的“塑料际”中具有高水平的细菌群落丰富度,微生物在其表面的富集能力与人工林“塑料际”有所区别。因此, MPs 在天然林群落环境中暴露可能进一步加剧其环境风险,需要开展进一步广泛和全面的实地研究。

参考文献

- [1] CHEN X C, XIONG X, JIANG X M, SHI H H, WU C X. Sinking of floating plastic debris caused by biofilm development in a freshwater lake[J]. *Chemosphere*, 2019, 222: 856-864.
- [2] DENG H, FU Q Q, ZHANG Y Q, LI D Z, HE J X, FENG D, ZHAO Y Y, YU H M, GE C J. Bacterial communities on polyethylene microplastics in mangrove ecosystems as a function of exposure sites: compositions and ecological functions[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2022, 10(3): 107924.
- [3] TALUKDAR A, KUNDU P, BHATTACHARJEE S, DEY S, DEY A, BISWAS J K, CHAUDHURI P, BHATTACHARYA S. Microplastics in mangroves with special reference to Asia: occurrence, distribution, bioaccumulation and remediation options[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 904: 166165.
- [4] JIN M, YU X B, YAO Z Y, TAO P R, LI G, YU X W, ZHAO J L, PENG J P. How biofilms affect the uptake and fate of hydrophobic organic compounds (HOCs) in microplastic: insights from an in situ study of Xiangshan Bay, China[J]. *Water Research*, 2020, 184: 116118.
- [5] BHAGWAT G, TRAN T K A, LAMB D, SENATHIRAJAH K, GRAINGE I, OCONNOR W, JUHASZ A, PALANISAMI T. Biofilms enhance the adsorption of toxic contaminants on plastic microfibers under environmentally relevant conditions[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(13): 8877-8887.
- [6] NAJI A, NURI M, VETHAAK A D. Microplastics contamination in molluscs from the northern part of the Persian Gulf[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 235: 197-200.
- [7] LOBELE D, CUNLIFFE M. Early microbial biofilm formation on marine plastic debris[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(1): 197-200.
- [8] ZETTLER E R, MINCER T J, AMARAL-ZETTLER L A. Life in the “Plastisphere”: microbial communities on plastic marine debris[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(13): 7137-7146.
- [9] CARLE A, NIKDEL K, WENNERBERG A, HOLMBERG K, OLSSON J. Surface characteristics and *in vitro* biofilm formation on glass ionomer and composite resin[J]. *Bio-*

- terials, 2001, 22(5): 481-487.
- [10] LI W J, ZHANG Y, WU N, ZHAO Z, XU W A, MA Y Z, NIU Z G. Colonization characteristics of bacterial communities on plastic debris influenced by environmental factors and polymer types in the haihe estuary of Bohai Bay, China[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(18): 10763-10773.
- [11] LUO H, ZHAO Y, LI Y, XIANG Y H, HE D Q, PAN X L. Aging of microplastics affects their surface properties, thermal decomposition, additives leaching and interactions in simulated fluids[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 714: 136862.
- [12] RESMERIȚĂ A M, COROABA A, DARIE R, DOROFTEI F, SPIRIDON I, SIMIONESCU B C, NAVARD P. Erosion as a possible mechanism for the decrease of size of plastic pieces floating in oceans[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 127: 387-395.
- [13] DUSSUD C, MEISTERTZHEIM A L, CONAN P, PAY M P, GEORGE M, FABRE P, COUDANE J, HIGGS P, ELINEAU A, PEDROTTI M L, GORSKY G, GHIGLIONE J F. Evidence of niche partitioning among bacteria living on plastics, organic particles and surrounding seawaters[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 236: 807-816.
- [14] WU X J, PAN J, LI M, LI Y, BARTLAM M, WANG Y Y. Selective enrichment of bacterial pathogens by microplastic biofilm[J]. *Water Research*, 2019, 165: 114979.
- [15] LV S S, ZHANG Y H, GU J Y, TAN H Y. Physicochemical evolutions of starch/poly (lactic acid) composite biodegraded in real soil[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 228: 223-231.
- [16] ANDRADY A L. The plastic in microplastics: a review[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 119(1): 12-22.
- [17] CHEN C Z, CHEN L, YAO Y, ARTIGAS F, HUANG Q H, ZHANG W. Organotin release from polyvinyl chloride microplastics and concurrent photodegradation in water: impacts from salinity, dissolved organic matter, and light exposure[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(18): 10741-10752.
- [18] DENG H, ZHANG Y Q, LI D Z, FU Q Q, HE J X, ZHAO Y Y, FENG D, YU H M, GE C J. Mangrove degradation retarded microplastics weathering and affected metabolic activities of microplastics-associated microbes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 445: 130535.
- [19] WENG Y X, JIN Y J, MENG Q Y, WANG L, ZHANG M. Biodegradation behavior of poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), poly (lactic acid) (PLA), and their blend under soil conditions[J]. *Polymer Testing*, 2013, 32(5): 918-926.
- [20] CHEN Z, ZHAO W, XING R, XIE S J, YANG X G, CUI P, LV J, LIAO H P, YU Z, WANG S H, ZHOU S G. Enhanced in situ biodegradation of microplastics in sewage sludge using hyperthermophilic composting technology[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 384: 121271.
- [21] ZHU K C, JIA H Z, SUN Y J, DAI Y C, ZHANG C, GUO X T, WANG T C, ZHU L Y. Long-term phototransformation of microplastics under simulated sunlight irradiation in aquatic environments: roles of reactive oxygen species[J]. *Water Research*, 2020, 173: 115564.
- [22] DUAN J J, BOLAN N, LI Y, DING S Y, ATUGODA T, VITHANAGE M, SARKAR B, TSANG D C, KIRKHAM M. Weathering of microplastics and interaction with other coexisting constituents in terrestrial and aquatic environments[J]. *Water Research*, 2021, 196: 117011.
- [23] AMMALA A, BATEMAN S, DEAN K, PETINAKIS E, SANGWAN P, WONG S S, YUAN Q, YU L, PATRICK C, LEONG K. An overview of degradable and biodegradable polyolefins[J]. *Progress in Polymer Science*, 2011, 36(8): 1015-1049.
- [24] WEI L, LIANG S, MCDONALD A G. Thermophysical properties and biodegradation behavior of green composites made from polyhydroxybutyrate and potato peel waste fermentation residue[J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 69: 91-103.
- [25] SINGH B, SHARMA N. Mechanistic implications of plastic degradation[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2008, 93(3): 561-584.
- [26] FERER L, MAIGNIEN L, CHALOPIN M, HUVET A, RINNERT E, MORRISON H, KERNINON S, CASSONE A L, LAMBERT C, REVEILLAUD J, PONT I. Microplastic bacterial communities in the Bay of Brest: influence of polymer type and size[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 242: 614-625.
- [27] OBERBECKMANN S, KREIKEMEYER B, LABRENZ M. Environmental factors support the formation of specific bacterial assemblages on microplastics[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 8: 2709.
- [28] RUMMEL C D, JAHNKE A, GOROKHOVA E, KUHNEL D, SCHMITT-JANSEN M. Impacts of biofilm formation on the fate and potential effects of microplastic in the aquatic environment[J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2017, 4(7): 258-267.
- [29] XIE H F, CHEN J J, FENG L M, HE L, ZHOU C X, HONG P Z, SUN S L, ZHAO H, LIANG Y Q, REN L, ZHANG Y Q, LI C Y. Chemotaxis-selective colonization of mangrove rhizosphere microbes on nine different microplastics[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 752: 142223.

- [30] DE TENDER C A, DEVRIESE L I, HAEGEMAN A, MAES S, RUTTINK T, DAWYNDET P. Bacterial community profiling of plastic litter in the belgian part of the North Sea[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(16): 9629-9638.
- [31] DUSSUD C, HUDEC C, GEORGE M, FABRE P, HIGGS P, BRUZAUD S, DELORT A, EYHERAGUIBEL B, MEISTERZHEIM A, JACQUIN J, CHENG J G, CALLAC N, ODOBEL C, RABOUILLE S, GHIGLIONE J. Colonization of non-biodegradable and biodegradable plastics by marine microorganisms[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1571.
- [32] CHEN H, WANG Y, SUN X, PENG Y K, XIAO L. Mixing effect of polylactic acid microplastic and straw residue on soil property and ecological function[J]. *Chemosphere*, 2020, 243: 125271.
- [33] KIELAK A M, BARRETO C C, KOWALCHUK G A, VAN VEEN J A, KURAMAE E E. The ecology of *Acidobacteria*: moving beyond genes and genomes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 00744.