李 艺,朱 姝,傅伊昀,等.聚乙烯对小白菜根际土壤养分循环的影响 [J]. 中国环境科学, 2025,45(9):5245-5253.
Li Y, Zhu S, Fu Y Y, et al. Impact of polyethylene on the nutrient cycling in the rhizosphere of pakchoi (*Brassica campestris* L.) [J]. China Environmental Science, 2025,45(9):5245-5253.

聚乙烯对小白菜根际土壤养分循环的影响

李 艺[1,2],朱 姝[1],傅伊昀[1],覃潇潇[1],石东弋[1],兰 威[1],唐颖璇[1],于方明[1,2*] (1.广西生态脆弱区环境过程与修复重点实验室,广西 桂林 541004；漓江流域绿色治理与低碳发展广西高校工程研究中心,广西 桂林 541004)

摘要：以小白菜作为研究对象,通过盆栽实验,分析了不同粒径和不同添加水平的聚乙烯微塑料(PE)对小白菜根际土壤养分循环的影响.结果表明,PE 添加显著提高了土壤的总碳含量(P<0.05),在粒径为 1.0μm,投加量为 0.5%(*w/w*)和 1.0%(*w/w*)的处理下,分别提高了 73.9%和 56.3%.同时,PE 添加对土壤酶活性产生了影响,在粒径为 0.5μm,投加量为 1.0%(*w/w*)的处理下,纤维素酶、蔗糖酶、淀粉酶、脲酶、蛋白酶和磷酸酶的活性均显著提高(P<0.05).二元方差结果表明,PE 粒径、投加量及其交互作用对小白菜根际土壤中硝态氮和有效磷含量、纤维素酶、蔗糖酶和磷酸酶活性均产生了极显著的影响(P<0.001).此外,PE 添加提高了碳循环过程中参与还原型柠檬酸盐循环和不完全还原柠檬酸循环过程微生物功能基因的丰度,增强了小白菜根际土壤微生物群落的固碳能力.Mantel 检验表明,纤维素酶活性与碳、氮循环功能基因的变化呈显著正相关关系(P<0.05),与磷循环功能基因的变化呈显著负相关关系(P<0.05);总碳含量与氮、磷循环功能基因的变化呈显著正相关关系(P<0.05).放线菌门、变形菌门和酸杆菌门细菌是碳、氮和磷循环关键功能基因的主要宿主.综上所述,PE 添加通过影响小白菜根际土壤理化性质和微生物群落组成,驱动碳、氮、磷循环相关功能基因的表达,从而影响根际土壤的养分循环过程.

关键词：小白菜；聚乙烯微塑料；总碳；养分循环；宏基因
中图分类号：X172 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)09-5245-09

Impact of polyethylene on the nutrient cycling in the rhizosphere of pakchoi (*Brassica campestris* L.).

LI Yi[1,2], ZHU Shu[1], FU Yi-yun[1], QIN Xiao-xiao[1], SHI Dong-yi[1], LAN Wei[1], TANG Ying-xuan[1], YU Fang-ming[1,2*] (1.Guangxi Key Laboratory of Environmental Processes and Remediation in Ecologically Fragile Regions, Guilin 541004；2.University Engineering Research Center of Green Remediation and Low Carbon Development for Lijiang River Basin, Guilin 541004). *China Environmental Science*, 2025,45(9)：5245~5253

Abstract：The effect of polyethylene (PE) microplastics with varying particle sizes and addition levels on nutrient cycling in the rhizosphere soil of pakchoi (*Brassica campestris* L.) was investigated through pot experiments. The total carbon content in the soil was found to be significantly increased by PE addition (P<0.05), with increases of 73.9% and 56.3% observed under treatments with PE particle sizes of 1.0μm and addition levels of 0.5% (w/w) and 1.0% (w/w), respectively. Moreover, soil enzyme activity was influenced by PE addition, and significant increases in cellulase, invertase, amylase, urease, protease, and phosphatase activities were recorded under treatments with a PE particle size of 0.5μm and an addition level of 1.0% (w/w) (P<0.05). A highly significant impact of PE particle size, addition level, and their interaction on the levels of nitrate nitrogen and available phosphorus, as well as the activities of cellulase, invertase, and phosphatase in the rhizosphere soil of pakchoi, was revealed by two-way ANOVA (P<0.001). Furthermore, the abundance of microbial functional genes associated with the reduction of citrate cycles and incomplete citrate cycles during carbon cycling was enhanced by PE addition, thereby partially increasing the carbon fixation potential of the microbiome in the rhizosphere soil of pakchoi. Significant positive correlations between cellulase activity and changes in carbon and nitrogen cycling functional genes (P<0.05), as well as significant negative correlations with changes in phosphorus cycling functional genes (P<0.05), were demonstrated by Mantel test results. Changes in nitrogen and phosphorus cycling functional genes were found to be positively correlated with total carbon content (P<0.05). Actinobacteria, Proteobacteria, and Acidobacteria were identified as the primary hosts of key functional genes involved in carbon, nitrogen, and phosphorus cycling in the rhizosphere soil of pakchoi. The physicochemical properties of the rhizosphere soil were altered, the microbial community structure was modified, and the expression of functional genes linked to carbon, nitrogen, and phosphorus cycling was modulated by PE addition, thereby influencing nutrient cycling processes within the rhizosphere soil of pakchoi.

Key words：*Brassica campestris* L.；polyethylene microplastics；total carbon；nutrient cycling；metagenomics

收稿日期：2025-02-20
基金项目：国家自然科学基金资助项目(42367006,42367001)

* 责任作者，教授, fmyu1215@163.com

随着全球塑料产量的急剧攀升,塑料污染已迅速演变为威胁全球生态环境的重大挑战.土壤中的塑料经过物理切割和生物作用(如土壤生物的摄食、消化及排泄)分解为微塑料(MPs)[1].迄今为止,MPs已在地球几乎所有生态系统中被检测到,它们通过多种途径进入生态系统,包括大气沉降和农业活动(如覆盖、施肥及灌溉等),并对土壤产生一系列的物理、化学和生物影响[2].尽管早期的 MPs 研究主要集中在水环境,但由于农业中广泛使用塑料薄膜覆盖物和缓释肥料,土壤系统能够储存比水生生态系统更多的 MPs.因此 MPs 污染的土壤不仅增加了 MPs 与土壤微生物的直接接触机会,也可能对土壤生物的生长、摄食行为及繁殖产生不利影响.

农田土壤 MPs 主要由聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)、聚酯纤维(PES)和聚苯乙烯(PS)等组成[3].其中,PE 是土壤环境中最常见的塑料之一[4],土壤生物几乎无法降解 PE,因此 PE 在环境中具有较长的残留时间.土壤微生物群落组成与土壤养分循环之间存在密切联系.MPs 不仅会影响微生物的多样性,还会影响代谢功能[5].研究发现,MPs 可以影响土壤碳、氮和磷循环基因和酶的活动,进而影响土壤的养分循环过程[6-9].MPs 可以被生物作为碳源所利用,并影响环境介质中的碳储存[10].

在土壤中,有许多细菌可以促进 MPs 的降解,如放线菌、芽孢杆菌和红球菌.此外,有研究指出, MPs 添加能够增强三羧酸循环相关功能基因的表达,进而促进土壤有机质的分解和二氧化碳的释放.土壤中的 MPs 还会改变参与氮循环的微生物群落及其功能基因的表达,从而干扰土壤中氮的转化和生物利用率.例如,MPs 添加会提高氮循环相关功能基因的丰度,通过氧化亚氮和氨等排放增加氮的损失[11].Yu 等[5]的研究发现,土壤中的 MPs 明显增加了参与氮循环的 *nifK*、AOB 和 *nirS* 基因的丰度.MPs 的存在会影响根际微生物群落结构和氮循环相关基因的表达,导致根际土壤中氮转化改变和氮有效性降低[12].另外,土壤中 MPs 的存在可以刺激磷酸酶活性以促进磷转化[13], MPs 可以通过提高碱性磷酸酶活性和磷调节(*phoR*)基因的丰度而抑制有机磷矿化(*phoD*)基因的丰度[14].并且,MPs 存在于土壤中,显著提高了参与碳循环的 α-1,4 葡萄糖苷酶、参与氮循环的 L-亮氨酸氨基肽酶和参与磷循环的酸性磷酸酶活性[15].随着 MPs 在土壤中的持续积累,其对土壤养分循环的影响愈加重要.

目前,关于土壤微塑料的研究多集中于其对土壤理化性质和微生物群落的影响,而对其如何影响作物根际土壤养分循环的研究较少.因此,本研究以 PE 和常见作物小白菜作为研究对象,利用宏基因组学技术探讨 PE 添加对小白菜根际土壤中碳、氮和磷循环功能基因的影响.旨在:从功能基因层面上探究不同粒径和添加量的 PE 对小白菜根际土壤碳、氮、磷循环过程的影响;分析碳、氮和磷循环与根际土壤理化性质的相关关系,识别参与小白菜根际碳、氮和磷循环主要微生物类群.

1 材料和方法

1.1 实验材料

两种不同粒径(平均直径:0.5μm 和 1.0μm)的 PE-MPs 购买自中鑫塑料化工有限公司.使用激光散射粒度分析仪(Mastersizer 3000,马尔文,英国)测试粒度.小白菜的种子购买自桂林新希望种子有限公司.

1.2 盆栽实验设计

试验所用土壤均来自广西师范大学校园.土壤在去除大碎石、植物根等杂物后,自然风干后通过 2mm 的筛子.小白菜种子在播种前用 2%(*v*/*v*)的过氧化氢溶液消毒 10min,然后用去离子水反复冲洗.大约 10 颗小白菜种子分别在装满 1.5kg 土壤的花盆中发芽,并生长 14d.在小白菜生长的过程中,保持土壤水分在 70%的持水能力.盆栽实验设置为每盆土 1.5kg,PE-MPs 分次拌入土壤中混合均匀.PE-MPs 设置不同粒径(平均直径:0.5μm 和 1.0μm)和投加量(0.5%w/w 和 1.0%w/w).共计 5 个处理,分别为:空白(Control)、投加量 0.5%,粒径 0.5μm(A5P0.5)、投加量 0.5%,粒径 1.0μm(A5P1)、投加量 1.0%,粒径 0.5μm (A10P0.5)和投加量 1.0%,粒径 1.0μm(A10P1).每个处理设置 3 个平行.土壤稳定 14d 后移栽小白菜,每盆移栽 4 株.在小白菜培养期间,定期浇水,保持土壤含水率 60%.

1.3 土壤样本采集与分析

小白菜在栽培 45d 后收获.通过轻轻摇晃植物根冠收集根际土壤,收集的土壤一部分在 4℃下保存进行土壤理化性质的分析,另一部分新鲜部分在-80℃下保存进行 DNA 提取.土壤基本理化性质包

括 pH、总碳(TC)、微生物量碳(MBC)、总氮(TN)、铵态氮(NH_4^+−N)、硝态氮(NO_3^-−N)、可溶性有机氮(DON)、总磷(TP)和有效磷(AP)等采用《土壤农业化学分析法》进行测定[16].土壤中纤维素酶、蔗糖酶和淀粉酶活性采用 3,5−二硝基水杨酸法进行分析[17];脲酶和蛋白酶活性采用靛酚蓝比色法和茚三酮比色法进行分析[18];磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法进行分析[19].结果见表 1.

表 1　PE 添加对小白菜根际土壤理化性质和酶活性的影响

Table 1　Effects of PE addition on soil porperties and enzyme activites in the rhizosphere of *B. chinensis* L.

参　数	不同 PE 处理					二元方差分析结果(*F* 值)		
	对　照	A5P0.5	A5P1	A10P0.5	A10P1	粒径	投加量	粒径×投加量
pH 值	5.66±0.01a	5.49±0.01b	5.53±0.07b	5.48±0.06b	5.52±0.02b	2.2	0.3	0.1
总碳(g/kg)	14346±353e	20962±330c	18252±91d	24959±675a	22419±108b	141.3***	341.1***	0.15
微生物量碳(mg/kg)	3378±54a	2608±185b	2393±246bc	2152±94c	2255±186c	0.3	7.6*	2.18
总氮(g/kg)	294±11d	261±14e	381±12b	421±15a	345±1c	9.4*	73.5***	187.3***
铵态氮(mg/kg)	1.79±0.07c	1.76±0.11d	1.86±0.18b	1.74±0.12d	1.94±0.06a	4.2	0.2	0.5
硝态氮(mg/kg)	93.1±1.7b	88.1±2.5c	89.0±3.8c	85.4±0.6c	130.9±1.3a	272.9***	194.6***	251.5***
可溶性有机氮(mg/kg)	16.4±2.8a	16.9±2.1a	17.8±1.6a	18.2±1.7a	17.1±0.9a	0.1	0.1	1.1
总磷(mg/kg)	1151±14c	1227±33b	1061±34d	895±56e	1361±36a	39.8***	0.5	175.9***
有效磷(mg/kg)	24.4±0.5b	16.3±0.5d	22.4±1.5c	12.3±1.2e	32.2±0.6a	416.0***	20.3***	116.1***
纤维素酶(mg(葡萄糖)/g/d)	1.21±0.01d	1.32±0.01b	1.27±0.02c	1.37±0.02a	1.25±0.01c	454.5***	157.2***	25.0***
蔗糖酶(mg(葡萄糖)/g/d)	2.39±0.08d	3.40±0.05c	1.35±0.08e	4.35±0.03a	3.56±0.05b	1805.1***	2223.4***	349.3***
淀粉酶(mg(葡萄糖)/g/d)	38.07±0.38c	50.18±2.11b	33.69±0.50d	61.15±0.41a	49.01±1.76b	306.4***	258.4***	7.1*
脲酶(mg(氨氮)/g/d)	2.48±0.30b	5.31±0.47a	2.38±0.42b	5.99±0.55a	2.29±0.42b	147.2***	1.1	1.9
蛋白酶(mg(氨氮)/g/d)	0.43±0.07bc	0.52±0.06b	0.38±0.07c	0.79±0.04a	0.43±0.02bc	60.3***	22.8***	11.1**
磷酸酶(mg(酚)/g/d)	25.3±0.7c	28.4±1.3b	22.2±1.5d	47.1±0.6a	24.9±0.4c	480.7***	270.3***	152.4***

注:数据表示平均值±标准偏差(n=3);不同小写字母代表处理间差异显著(P<0.05).二元方差分析结果中,*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

1.4　宏基因测序分析

使用 E.Z.N.A.® Soil DNA Kit(Omega Bio−Tek, USA)从小白菜根际土壤中提取 DNA.完成基因组 DNA 抽提后,利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA.在测序实验中采用多个样品平行混合测序,各样品中的序列均引入了一段标示其样本来源信息的 Index 标签序列.根据 Index 序列区分各个样品的数据,提取出的数据以 fastq 格式保存.基于原始测序数据,使用相应软件对其进行数据质控,剪切掉数据中的低质量的序列,获得后续分析需要的序列.通过拼接软件,选择相应的拼接策略,通过选择拼接效果好的序列,对结果进行 ORF 预测.使用 Prodigal v2.6.3(https://github.com/hyattpd/Prodigal)对拼接结果中的片段进行 ORF 预测.选择核酸长度大于等于 100bp 的基因,并将其翻译为氨基酸序列.将所有样品预测出来的基因序列,用 CD−HIT 软件(http://www.bioinformatics.org/cd−hit/)进行聚类,每个类取最长的基因作为代表序列,构建非冗余基因集.使用 SOAPaligner 软件分别将每个样品的高质量序列与非冗余基因集进行比对,统计基因在对应样品中的丰度信息.用 DIAMOND 软件(http://ab.inf.uni−tuebingen.de/software/diamond/)将非冗余基因集与 NR 数据库进行比对,并通过 NR 库对应的分类学信息数据库获得物种注释.通过 KEGG 数据库(http://www.genome.jp/keeg/)进行注释以确定土壤碳、氮和磷循环功能基因.

1.5　统计分析

所有数据均使用 SPSS 19.0 进行统计分析,并使用 Origin 2024 软件绘制图表.采用基于邓肯检验(Duncan's test)的单因素方差分析(One−way ANOVA, n=3)来确定结果的统计学意义(P<0.05).采用二元方差分析(Two−way ANOVA)来分析 PE 粒径、投加量及两者的交互作用对根际土壤理化性质和酶活性的影响.采用随机森林(Random Forest, RF)分析来评估碳、氮和磷循环功能基因在土壤关键指标中的相关性,RF 模型是使用 R 中的"random Forest"包生成的.Mantel 检验使用"vegan"包进行.采用气球图分析由随机森林确定的最重要的 21 个参与碳、氮和磷循环的功能基因.饼图大小代表相应基因的相对丰度,丰度间显著性差异采用最小显著差异法(LSD)检

验,处理与对照之间的显著性*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

2 结果

2.1 PE 添加对土壤理化性质和酶活性的影响

PE 添加对小白菜根际土壤理化性质的影响如表 1 所示.PE 添加显著提高了土壤 TC 含量(P<0.05);与对照相比,在 A10P0.5 和 A10P1 添加下分别提高了 73.9%和 56.3%.在 PE 添加为 A5P0.5、A5P1 和 A10P0.5 时,土壤中 NO_3^--N 含量显著降低(P<0.05),与对照相比,分别下降了 5.7%、4.6%和 9.1%.土壤中 TP 和 AP 的含量均在 PE 添加为 A10P1 时达到最高,与对照相比,显著提高了 18.2%和 31.9%(P<0.05).另外,PE 添加对土壤酶活性产生了影响,与对照相比,纤维素酶、蔗糖酶、淀粉酶、脲酶、蛋白酶和磷酸酶的活性都在 PE 添加为 A10P0.5 时显著提高(P<0.05).

从二元方差分析结果可以看出,PE 粒径、投加量及其交互作用对 NO_3^--N 含量、AP 含量、纤维素酶活性、蔗糖酶活性和磷酸酶活性均产生了极显著的影响(P<0.001).并且,对于 NO_3^--N 含量、AP 含量、TP 含量、纤维素酶活性、淀粉酶活性、脲酶活性、蛋白酶活性和磷酸酶活性,PE 粒径变化比投加量变化对这些指标的影响更大.而对于 TC 含量、MBC 含量和蔗糖酶活性,PE 投加量变化比粒径变化对这些指标的影响更大.对于 TN 和 TP 含量,交互作用的影响更大.另外,PE 粒径、投加量及其交互作用对 pH 值、NH_4^+-N 和 DON 含量变化均未产生显著影响(P>0.05).

2.2 PE 添加对根际土壤碳、氮和磷循环的影响

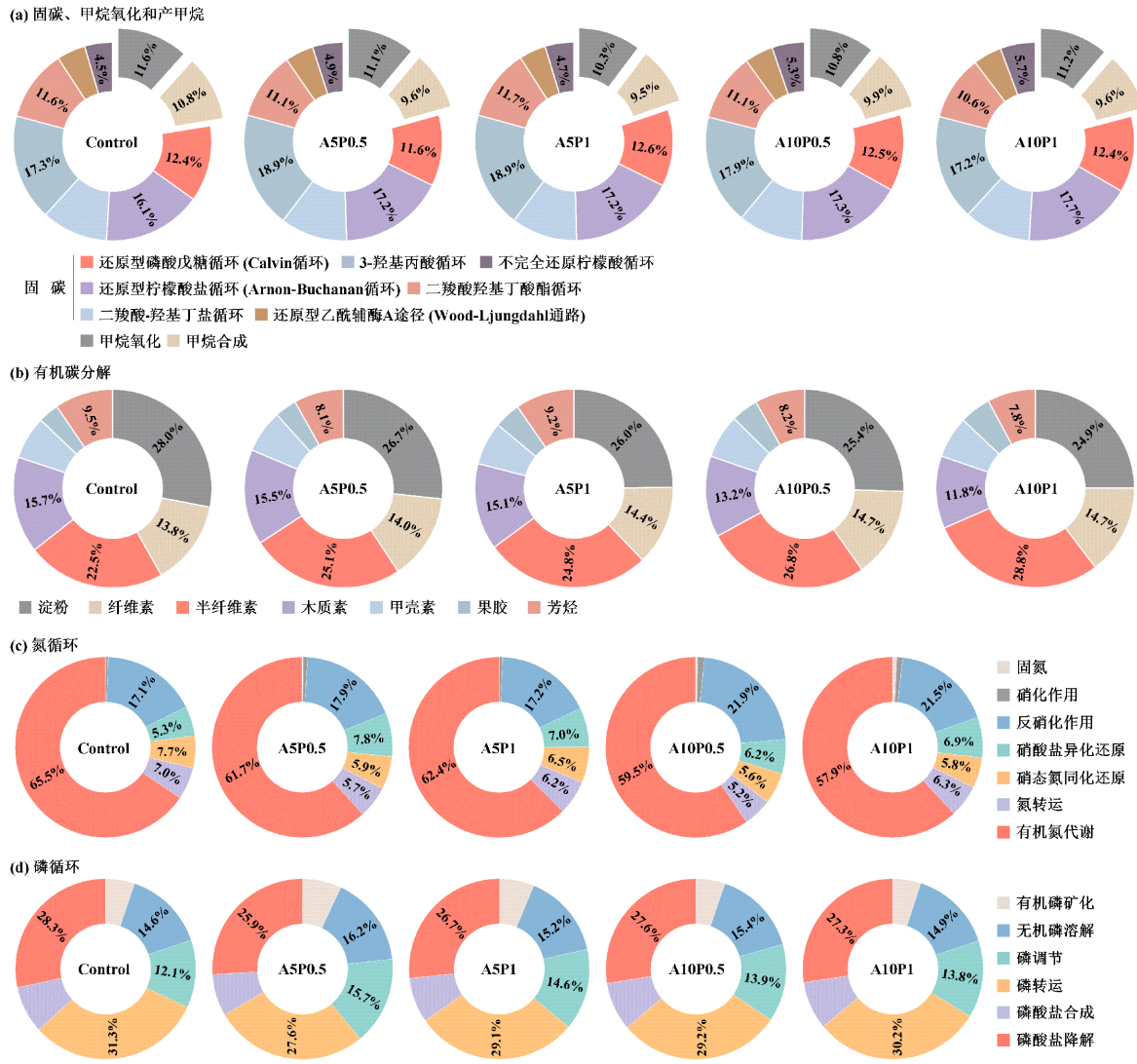


图 1 PE 添加对小白菜根际碳、氮和磷循环的影响

Fig.1 Effects of PE addition on rhizosphere carbon, nitrogen and phosphrous cycle of *B. chinensis* L

PE 添加对土壤碳、氮和磷循环过程均产生了影响(图 1).对于碳循环的固碳、甲烷氧化和产甲烷过程(图 1(a)),与对照相比,PE 添加提高了参与还原型柠檬酸盐循环(Arnon−Buchanan 循环)和不完全还原柠檬酸循环过程微生物功能基因的丰度;分别提高了 1.1%~1.6%和 0.2%~1.2%.PE 添加降低了参与甲烷氧化和甲烷还原过程微生物功能基因的丰度;分别降低了 0.4%~1.3%和 0.9%~1.3%.对于碳循环的有机碳分解过程(图 1(b)),与对照相比,PE 添加提高了参与分解半纤维素和纤维素微生物基因的丰度;与对照相比,分别提高了 0.2%~0.9%和 2.3%~6.3%.PE 添加降低了参与分解淀粉和木质素微生物基因的丰度.分别降低了 1.3%~3.1%和 0.2%~3.9%.

对于氮循环过程(图 1(c)),与对照相比,PE 添加提高了参与反硝化和硝酸盐异化还原过程微生物功能基因的丰度;分别提高了 0.1%~4.9%和 0.9%~2.5%.PE 添加降低了参与硝态氮同化还原、氮转运和有机氮代谢过程微生物功能基因的丰度;其中,参与有机氮代谢过程微生物功能基因的丰度降低幅度最大,为 3.8%~7.6%.

对于磷循环过程(图 1(d)),与对照相比,PE 添加提高了参与无机磷溶解和磷调节过程微生物功能基因的丰度,分别提高了 0.3%~1.6%和 1.7%~3.6%.PE 添加降低了参与磷转运和磷酸盐降解过程微生物功能基因的丰度;分别降低了 1.1%~3.7%和 0.7%~2.4%.

2.3　土壤理化性质与微生物功能基因之间的相关性

采用 Mantel 检验分析了 PE 添加下,小白菜根际碳、氮和磷循环功能基因与土壤碳、氮和磷含量及酶活性之间的关系(图 2).可以看出,碳循环功能基因与纤维素酶活性呈显著正相关关系(P<0.05);与脲酶活性、TN 和 AP 含量呈显著负相关关系(P<0.01).氮循环功能基因与纤维素酶活性和 TC 含量呈显著正相关关系(P<0.05);与脲酶活性、TN 和 AP 含量呈显著负相关关系(P<0.01).磷循环功能基因与淀粉酶活性和 TC 含量呈显著正相关关系(P<0.05);与纤维素酶和脲酶活性、TN 和 AP 含量呈显著负相关关系(P<0.01).

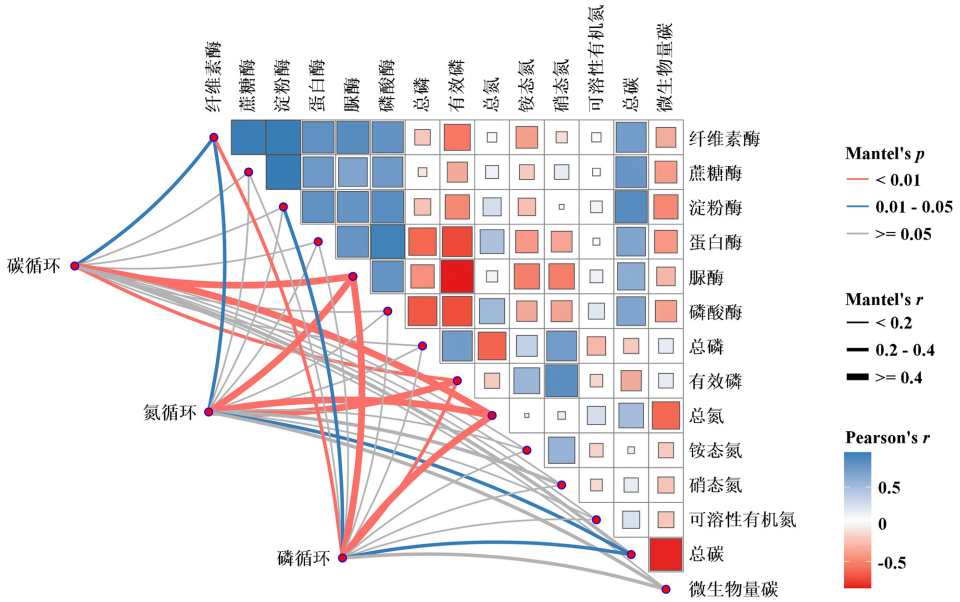


图 2　基于 Mantel 检验的小白菜根际碳、氮和磷循环与土壤理化性质的关系

Fig.2　Relationships between rhizosphere carbon. nitrogen and phosphrous cycling of *B. chinensis* L. with soil properties parameters based on Mantel test

2.4　PE 处理下根际土壤碳、氮和磷循环基因的分布特征

基于 Mantel 检验,利用随机森林,分析了碳、氮和磷循环相关功能基因对土壤纤维素酶活性、TN 含量和 AP 含量变化的贡献(图 3).结果表明,碳循环相关功能基因对纤维素酶活性变化的影响显著(R^2=0.95, P<0.001)(图 3(a));氮循环相关功能基因对 TN 含量变化的影响显著(R^2=0.90, P<0.001)(图 3(b));

磷循环相关功能基因对 AP 含量变化的影响显著(R^2=0.94, P<0.001)(图 3(c)).

基于随机森林的分析结果,从碳、氮和磷循环基因中各选取了贡献最大的 7 个基因进行了注释(图 3(d)).其中,碳循环基因包括:还原乙酰辅酶 A 途径(Wood−Ljungdahl 途径)基因*fhs*、*fhcB* 和 K15052、甲烷氧化基因 *pmoC*、甲烷合成基因 *fwdB*、3−羟基丙酸循环基因 *PC* 和有机碳分解基因 *meh*.氮循环基因包括:反硝化作用基因 *nirK* 和 *nirS*、硝化作用基因 *pmoB−amoB*、硝酸盐异化还原基因 *nrfH* 和 *nrfA*、硝态氮同化还原基因 *nirA* 和固氮基因 *gltB*.磷循环基因包括:有机磷矿化基因 *glpQ*、*phnE*、*phnM*、*phnW* 和 *phoD*、磷酸盐降解基因 *appA* 和磷转运基因 *phnC*.

从微生物注释结果可以看出,在门水平上,对于碳循环关键功能基因,放线菌门(Actinobacteria)和变形菌门(Proteobacteria)细菌是其主要宿主.对于 K15052 和 *fwdB* 基因,绿弯菌门(Chloroflexi)细菌也是其主要宿主.特别的,对于 *pmoC* 基因,奇古菌门(Thaumarchaeota)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)细菌是其主要宿主.对于氮循环关键功能基因,放线菌门、变形菌门和酸杆菌门(Acidobacteria)细菌是其主要宿主.此外,对于 *nirK*、*gltB*、*nrfH* 和 *nrfA* 基因,芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)细菌也是其主要宿主.对于 *pmoC−amoB* 基因,奇古菌门和硝化螺旋菌门细菌是其主要宿主.对于磷循环基因,变形菌门细菌是其主要宿主.特别的,对于 *glpQ* 基因,放线菌门、绿弯菌门也是其主要宿主.对于 *phoD* 和 *appA* 基因,酸杆菌门细菌也是其主要宿主.对所选取的基因进行了 LSD 检验,结果表明,与对照相比,除了 *pmoB−amoB* 和 *phnM* 基因,PE 添加对其他碳、氮和磷循环关键基因的丰度均产生了显著影响(P<0.05 或 P<0.001).

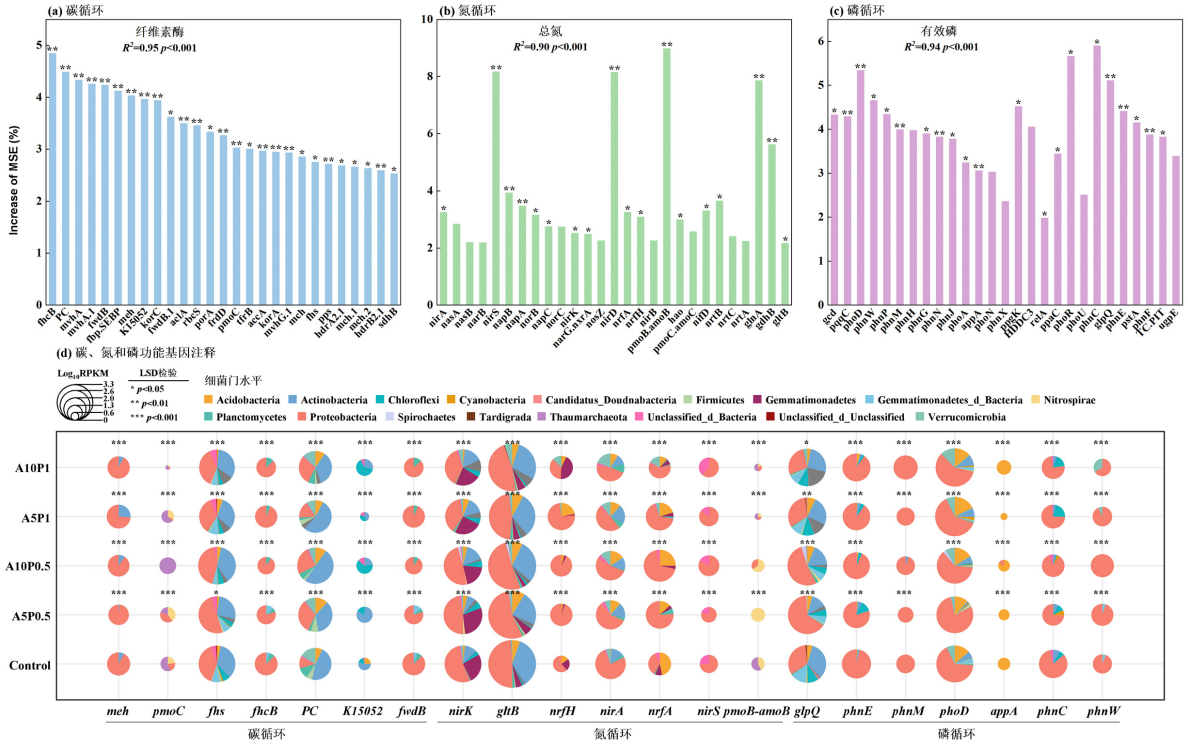


图 3 基于宏基因分析碳、氮和磷循环基因对小白菜根际土壤纤维素酶、总氮和有效磷变化的贡献

Fig.3 Carbon, nitrogen and phosphorus cycling genes inferred from metagenome and their contribution to the variations of cellulase, total nitrogen and available phosphrous in the rhizosphere soil of *B. chinensis* L.

气球图描述了通过随机森林分析确定的 21 个最重要的碳、氮和磷循环基因的相对丰度和分类.饼图大小代表相应基因的相对丰度,计算为 Log_{10}RPKM (每百万映射读数每千碱基读数).统计显著性采用 LSD 检验,处理与对照之间的显著性用黑色星号(*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001)表示

3 讨论

MPs 广泛存在于土壤中,对土壤生物的地球化学循环产生的影响目前正成为研究热点.作为一种主要由碳组成的 MPs, PE 添加提高了小白菜根际土壤 TC、TN 和 AP 的含量(表 1).并且,作为碳质有机

材料,PE 添加为土壤提供了额外碳源[20],随之引发纤维素酶和蔗糖酶等碳相关酶活性的显著变化.其中,纤维素酶作为分解植物残体和有机碳的重要酶,其活性显著提高,表明 PE 通过提供微生物栖息地和碳源,促进了有机碳的降解和转化[21].二元方差分析显示,粒径、投加量对总碳有显著影响,粒径、投加量以及两者交互作用均对碳素类土壤酶活性有显著影响.碳循环是土壤生态系统中最重要且复杂的生物地球化学循环[22],PE 的存在可能对土壤的碳循环过程,尤其是固碳能力产生深远影响,这一观点在本研究中得到了验证.研究结果表明,PE 添加提高了参与还原型柠檬酸盐循环和不完全还原柠檬酸循环的相关基因的丰度,说明 PE 添加增强了土壤微生物的固碳能力[23].这可能是由于 PE 为土壤微生物提供了额外的碳源,促进了依赖碳源支持的还原反应和能量代谢途径,从而增强了微生物的固碳能力[24].此外,与 Zhang 等[21]发现 MPs 添加降低了淀粉水解、半纤维素和纤维素降解相关功能基因的丰度不同,本研究表明,PE 添加可能通过改变微生物群落结构或调节微生物的分解能力,促进了与半纤维素和纤维素降解相关功能基因的表达[25].PE 添加还对土壤有机碳分解和温室气体排放产生了复杂的影响.一方面,PE 可能通过促进可溶性有机质的腐殖化,降低其生物利用率,抑制微生物对可溶性有机质的降解,从而间接减少了二氧化碳的排放[26].另一方面,PE 添加可能促进甲烷排放,这是由于其对可溶性有机质腐殖化过程的影响导致的微生物代谢路径变化.此外,PE 还能通过吸附可利用碳源抑制二氧化碳的生成[6].这些机制也解释了 PE 添加下甲烷氧化和甲烷合成相关基因丰度降低的现象(图 1(a)).

PE 对土壤氮转化过程的影响同样显著.硝化作用主要发生在有氧条件下,而反硝化、厌氧氨氧化以及亚硝酸盐异化还原为铵的反应更常见于厌氧环境中[27].PE 微塑料因其小粒径特性,可以增加土壤孔隙度,促进氧气扩散,从而影响硝化与反硝化过程.研究表明,较大的 MPs 显著促进了氮循环的相关过程[28].例如,Huang 等[29]的研究指出,PE 微塑料能够促进反硝化细菌和厌氧氨氧化细菌的生长,而 Dai 等[30]进一步表明,高碳含量的物质可以显著刺激土壤反硝化作用,增强反硝化基因(如 *nirK*)的丰度,并加剧 N_2O 排放.PE 添加降低了 NO_3^-−N 含量,这可能是由于 PE 添加对微生物群落和代谢途径的影响,抑制了硝化过程或促进了反硝化过程所导致的[31-32].这与 Fei 等[33]关于聚氯乙烯添加对氮循环微生物群落结构产生影响的研究一致.同时,总氮含量的变化(表 1)表明,PE 添加可能干扰了土壤氮循环的平衡.此外,本研究还发现,PE 添加促进了硝酸盐异化还原过程,增加了相关功能基因的丰度,加速了硝酸盐转化为氨并最终形成铵离子(NH_4^+),留存在土壤中,为植物提供可利用的氮源[34].在本研究中,当 PE 粒径为 1.0μm 时,土壤中 NH_4^+−N 含量显著提高(P<0.05,表 1),这种作用在一定程度上有助于减少氮素流失,提升土壤氮储量.值得注意的是,PE 粒径与投加量对氮相关因子影响程度不同(表 1).二元方差分析表明,粒径、投加量以及两者交互作用均对 NO_3^-−N、TN 有显著影响.

在磷循环方面,MPs 对土壤磷的影响随 MPs 的类型、大小和浓度而变化[35].本研究发现,除 A10P1 处理以外,PE 添加降低了土壤中 AP 的含量,可能是由于 PE 颗粒表面生物膜的形成增加了 AP 的吸附位点[36].PE 添加显著影响了土壤中与磷循环相关的微生物功能基因丰度,并对不同过程的基因表现出促进和抑制的双重作用.土壤微生物通过分泌大量有机酸溶解顽固的无机磷形式,从而提高土壤中可用磷的浓度[37].Zhang 等[38]也发现 MPs 添加能够显著提高编码无机磷溶解的微生物功能基因丰度.这种效应改善了植物对磷的吸收,促进了土壤磷循环的效率,进而增强了土壤肥力[39].此外,二元方差分析表明,PE 粒径、投加量以及两者交互作用均对 AP 含量产生显著影响,表明粒径和浓度都是调节土壤磷活化潜力的重要因子.综上所述,PE 微塑料通过调控微生物群落结构和关键功能基因的表达,影响了土壤碳、氮、磷循环的动态过程.

碳和氮的耦合过程是土壤生物地球化学循环中最常见且最重要的潜在关联之一.土壤生态系统中,放线菌门因其降解顽固碳化合物的能力以及参与多种氮循环过程,也是碳−氮耦合过程的主要参与者[40-42].本研究也表明,放线菌门微生物是小白菜根际土壤中碳和氮循环关键功能基因的潜在宿主(图 3(d)).研究还表明,土壤磷酸酶在有机碳矿化过程中发挥重要作用,通过促进有机磷酸盐化合物的分解,提高磷和碳的生物可利用性[43-44].此外,为应对磷胁

迫,微生物常通过加快有机质分解来释放磷和碳,为自身提供必需的能量和养分[45].在碳、氮和磷循环的耦合过程中,变形菌门表现出显著的碳分解和磷溶解能力[46].同时,酸杆菌门通过驱动磷调节和磷运输途径低磷条件中发挥重要作用[46].这可能是因为低磷环境刺激了与磷调节和运输相关的功能基因表达,以及酸杆菌门的适应性生长[47].总体而言,在 PE 添加下,放线菌门、变形菌门和酸杆菌门微生物对小白菜根际土壤中碳、氮和磷循环的耦合转化过程具有重要贡献,揭示了微生物群落变化在土壤碳、氮、磷循环偶联中的核心作用.

此外,土壤环境因子变化在调节 PE 添加后碳、氮、磷循环中起到了关键作用.本研究表明,纤维素酶、脲酶、TN 和 AP 是驱动碳、氮、磷循环的主要环境因子(图 2).纤维素酶活性显著影响碳循环功能基因的表达,PE 微塑料的高碳含量(约 80%)可能为微生物提供了额外的碳源,从而改变土壤碳循环过程[20].脲酶活性与氮循环密切相关,其表达与氮循环基因高度相关,奇古菌门携带的脲酶基因能够促进硝化作用[48].此外,芽单胞菌门作为好氧反硝化菌,携带多种氮循环功能基因(如 *nirK* 和 *narG*),其丰度变化显著影响土壤总氮含量[49].本研究中随机森林的分析结果进一步证实了氮循环功能基因对总氮的变化贡献显著(图 3(b)).同时,土壤 AP 含量对磷调节及磷运输相关功能基因的表达起到重要作用(图 2),这与已有研究一致[50-51].随机森林分析也显示多个磷循环功能基因对有效磷含量具有显著贡献(图 3(b)).总体而言,PE 添加通过影响根际土壤相关理化性质(如酶活性、TN 和 AP 含量),改变土壤微生物群落组成,驱动碳、氮、磷循环相关功能基因的表达,从而影响小白菜根际土壤养分循环的动态过程.

4 结论

4.1 PE 添加显著提高了小白菜根际土壤 TC 的含量(P<0.05),与对照相比,在 A10P0.5 和 A10P1 添加下分别提高了 73.9%和 56.3%;相比于粒径,PE 投加量变化对 TC 的影响更大.

4.2 PE 添加提高了碳循环过程中参与还原型柠檬酸盐循环和不完全还原柠檬酸循环过程微生物功能基因的丰度,分别提高了 1.1%~1.6%和 0.2%~1.2%;一定程度上增强了小白菜根际土壤微生物的固碳能力.

4.3 根际土壤纤维素酶活性与碳循环和氮循环功能基因变化呈显著正相关关系(P<0.05);与磷循环功能基因变化呈显著负相关关系(P<0.05).TC 含量与氮循环和磷循环功能基因变化呈显著正相关关系(P<0.05).

4.4 放线菌门、变形菌门和酸杆菌门细菌是小白菜根际土壤中碳、氮和磷循环关键功能基因的主要宿主.

参考文献:

[1] Thompson R C, Olsen Y, Mitchell R P, et al. Lost at sea: where is all the plastic? [J]. Science, 2004,304(5672):838.

[2] Zhang X, Li Y, Ouyang D, et al. Systematical review of interactions between microplastics and microorganisms in the soil environment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,418:126288.

[3] Ren S, Wang K, Zhang J, et al. Potential sources and occurrence of macro-plastics and microplastics pollution in farmland soils: A typical case of China [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2023,54(7):533-556.

[4] Qiang L, Hu H, Li G, et al. Plastic mulching, and occurrence, incorporation, degradation, and impacts of polyethylene microplastics in agroecosystems [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023,263:115274.

[5] Liu Y, Liu W, Yang X, et al. Microplastics are a hotspot for antibiotic resistance genes: Progress and perspective [J]. Science of the Total Environment, 2021,773:145643.

[6] Rillig M C, Leifheit E, Lehmann J. Microplastic effects on carbon cycling processes in soils [J]. Plos Biology, 2021,19(3):e3001130.

[7] Ghuge S A, Nikalje G C, Kadam U S, et al. Comprehensive mechanisms of heavy metal toxicity in plants, detoxification, and remediation [J]. Journal of Hazardous materials, 2023,450:131039.

[8] Xu C, Lu J, Shen C, et al. Deciphering the mechanisms shaping the plastisphere antibiotic resistome on riverine microplastics [J]. Water Research, 2022,225:119192.

[9] Huang D, Wang X, Yin L, et al. Research progress of microplastics in soil-plant system: Ecological effects and potential risks [J]. Science of the Total Environment, 2022,812:151487.

[10] Rillig M C. Microplastic Disguising As Soil Carbon Storage [J]. Environmental Science & Technology, 2018,52(11):6079-6080.

[11] Xiang Y, Peñuelas J, Sardans J, et al. Effects of microplastics exposure on soil inorganic nitrogen: A comprehensive synthesis [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,460:132514.

[12] Liu Y, Xu F, Ding L, et al. Microplastics reduce nitrogen uptake in peanut plants by damaging root cells and impairing soil nitrogen cycling [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,443:130384.

[13] Wang X, Xing Y, Lv M, et al. Recent advances on the effects of microplastics on elements cycling in the environment [J]. Science of the Total Environment, 2022,849:157884.

[14] Yin M, Yan B, Wang H, et al. Effects of microplastics on nitrogen and phosphorus cycles and microbial communities in sediments [J]. Environmental Pollution, 2023,318:120852.

[15] Lin D, Yang G, Dou P, et al. Microplastics negatively affect soil fauna but stimulate microbial activity: insights from a field-based microplastic addition experiment [J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2020,287(1934):20201268.

[16] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法 [M]. 北京:中国农业科技出版社, 1999.
Lu R K. Agrochemical analysis method of soil [M]. Beijing: China

Agricultural Science and Technology Press, 1999.
[17] Wu L, Feng S, Nie Y, et al. Soil cellulase activity and fungal community responses to wetland degradation in the Zoige Plateau, China [J]. Journal of Mountain Science, 2015,12(2):471−482.
[18] Yang W, Hu H, Ru M, et al. Changes of microbial properties in (near−) rhizosphere soils after phytoextraction by *Sedum alfredii* H: A rhizobox approach with an artificial Cd−contaminated soil [J]. Applied Soil Ecology, 2013,72:14−21.
[19] Ge Y, Wang Q, Wang L, et al. Response of soil enzymes and microbial communities to root extracts of the alien *Alternanthera philoxeroides* [J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2018,64(5):708−717.
[20] Zhou J, Gui H, Banfield C C, et al. The microplastisphere: biodegradable microplastics addition alters soil microbial community structure and function [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021,156: 108211.
[21] Zhang Y, Li X, Xiao M, et al. Effects of microplastics on soil carbon dioxide emissions and the microbial functional genes involved in organic carbon decomposition in agricultural soil [J]. Science of the Total Environment, 2022,806:150714.
[22] Wang Q, Zhang Q, Han Y, et al. Carbon cycle in the microbial ecosystems of biological soil crusts [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2022,171:108729.
[23] Zhou J, Jia R, Brown R W, et al. The long−term uncertainty of biodegradable mulch film residues and associated microplastics pollution on plant−soil health [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,442:130055.
[24] Montoya L, Celis L B, Razo−Flores E, et al. Distribution of CO_2fixation and acetate mineralization pathways in microorganisms from extremophilic anaerobic biotopes [J]. Extremophiles, 2012,16: 805−817.
[25] Yu F, Tang S, Shi X, et al. Phytoextraction of metal(loid)s from contaminated soils by six plant species: A field study [J]. Science of the Total Environment, 2022,804:150282.
[26] Chen M, Liu S, Bi M, et al. Aging behavior of microplastics affected DOM in riparian sediments: From the characteristics to bioavailability [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022,431:128522.
[27] Shen M, Song B, Zhou C, et al. Recent advances in impacts of microplastics on nitrogen cycling in the environment: A review [J]. Science of the Total Environment, 2022,815:152740.
[28] Ma J, Xu M, Wu J, et al. Effects of variable−sized polyethylene microplastics on soil chemical properties and functions and microbial communities in purple soil [J]. Science of the Total Environment, 2023,868:161642.
[29] Huang Y, Li W, Gao J, et al. Effect of microplastics on ecosystem functioning: Microbial nitrogen removal mediated by benthic invertebrates [J]. Science of the Total Environment, 2021,754:142133.
[30] Dai Z M, Li Y, Zhang X J, et al. Easily mineralizable carbon in manure−based biochar added to a soil influences N_2O emissions and microbial−N cycling genes [J]. Land Degradation & Development, 2019,30(4):406−416.
[31] Liu W, Wang Y, Gu C, et al. Polyethylene microplastics distinctly affect soil microbial community and carbon and nitrogen cycling during plant litter decomposition [J]. Journal of Environmental Management, 2025,373:123616.
[32] He T, Li Z, Xie D, et al. Simultaneous nitrification and denitrification with different mixed nitrogen loads by a hypothermia aerobic bacterium [J]. Biodegradation, 2018,29:159−170.
[33] Fei Y, Huang S, Zhang H, et al. Response of soil enzyme activities and bacterial communities to the accumulation of microplastics in an acid cropped soil [J]. Science of the Total Environment, 2020,707:135634.
[34] Nie S, Mo S, Gao T, et al. Coupling effects of nitrate reduction and sulfur oxidation in a subtropical marine mangrove ecosystem with *Spartina alterniflora* invasion [J]. Science of the Total Environment, 2023,862:160930.
[35] Zhou J, Xu H, Xiang Y, et al. Effects of microplastics pollution on plant and soil phosphorus: A meta−analysis [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024,461:132705.
[36] Cao K, Sun F, Xin Z, et al., Enhanced production of high−value porphyrin compound heme by metabolic engineering modification and mixotrophic cultivation of *Synechocystis* sp. PCC6803 [J]. Marine Drugs, 2024,22(9):378.
[37] Alori E T, Glick B R, Babalola O O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture [J]. Frontiers in microbiology, 2017,8:971.
[38] Zhang N, Sainju U M, Zhao F, et al. Mulching decreased the abundance of microbial functional genes in phosphorus cycling under maize [J]. Applied Soil Ecology, 2023,187:104833.
[39] Goswami S P, Maurya B, Dubey A N, et al. Role of phosphorus solubilizing microorganisms and dissolution of insoluble phosphorus in soil [J]. International Journal of Chemical Studies, 2019,7(3):3905−3913.
[40] Lewin G R, Carlos C, Chevrette M G, et al. Evolution and ecology of Actinobacteria and their bioenergy applications [J]. Annual Review of Microbiology, 2016,70(1):235−254.
[41] Zhang B, Wu X, Tai X, et al. Variation in actinobacterial community composition and potential function in different soil ecosystems belonging to the arid Heihe River Basin of Northwest China [J]. Frontiers in microbiology, 2019,10:2209.
[42] Bao Y, Dolfing J, Guo Z, et al. Important ecophysiological roles of non−dominant Actinobacteria in plant residue decomposition, especially in less fertile soils [J]. Microbiome, 2021,9:1−17.
[43] Spohn M, Kuzyakov Y. Phosphorus mineralization can be driven by microbial need for carbon [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 61:69−75.
[44] Luo G, Sun B, Li L, et al. Understanding how long−term organic amendments increase soil phosphatase activities: insight into *phoD*−and *phoC*−harboring functional microbial populations [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019,139:107632.
[45] Ding W, Cong W−F, Lambers H. Plant phosphorus−acquisition and−use strategies affect soil carbon cycling [J]. Trends in Ecology & Evolution, 2021,36(10):899−906.
[46] Liu Z, Gu H, Yao Q, et al. Soil pH and carbon quality index regulate the biogeochemical cycle couplings of carbon, nitrogen and phosphorus in the profiles of Isohumosols [J]. Science of the Total Environment, 2024,922:171269.
[47] Dai Z, Liu G, Chen H, et al. Long−term nutrient inputs shift soil microbial functional profiles of phosphorus cycling in diverse agroecosystems [J]. The ISME journal, 2020,14(3):757−770.
[48] Alonso−Sáez L, Waller A S, Mende D R, et al. Role for urea in nitrification by polar marine Archaea [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012,109(44):17989−17994.
[49] Jia L, Cheng X, Fang L, et al. Nitrogen removal in improved subsurface wastewater infiltration system: Mechanism, microbial indicators and the limitation of phosphorus [J]. Journal of Environmental Management, 2023,335:117456.
[50] Siles J A, Starke R, Martinovic T, et al. Distribution of phosphorus cycling genes across land uses and microbial taxonomic groups based on metagenome and genome mining [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2022,174:108826.
[51] Hu X, Gu H, Liu J, et al. Metagenomic strategies uncover the soil bioavailable phosphorus improved by organic fertilization in Mollisols [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2023,349:108462.

作者简介：李　艺(1986−),女,辽宁盖州人,教授,博士,主要从事重金属污染土壤的生态修复研究.发表论文 50 余篇.liyi412@mailbox.gxnu.edu.cn.