

牛佳瑞, 简敏菲, 饶嘉欣, 张金叶, 阳文静, 丁惠君. 模拟土壤环境中聚乙烯微塑料的暴露对紫花地丁生理生态的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2022, 28 (5): 1190-1198

Niu JR, Jian MF, Rao JX, Zhang JY, Yang WJ, Ding HJ. Effects of exposure to polyethylene microplastics in a simulated soil environment on the ecophysiology of *Viola philippica* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2022, 28 (5): 1190-1198

模拟土壤环境中聚乙烯微塑料的暴露对紫花地丁生理生态的影响

牛佳瑞¹ 简敏菲^{1,2}✉ 饶嘉欣¹ 张金叶¹ 阳文静³ 丁惠君²

¹江西师范大学生命科学学院, 江西省亚热带植物资源保护与利用重点实验室 南昌 330022

²江西省水利科学院江西省鄱阳湖水资源与环境重点实验室 南昌 330029

³江西师范大学鄱阳湖湿地与流域研究教育部重点实验室 南昌 330022

摘 要 为了解土壤微塑料对野生植物生理生态的影响, 以紫花地丁为材料, 选用150 μm 聚乙烯微塑料 (polyethylene microplastics, PE-MPs), 分别设置对照组 (CK) 和不同暴露浓度, 探究模拟土壤环境中微塑料污染对植物生理生态指标及其土壤理化指标的影响。结果表明, 低浓度PE-MPs对紫花地丁产生的影响不显著, 但高浓度会对植物的生理指标产生明显的抑制作用。PE-MPs暴露浓度超出500 mg/kg时, 紫花地丁各项生理生态指标出现显著变化。在最高浓度为1 500 mg/kg的暴露下, 部分指标达最低。与CK相比, 植物根系活力、叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素分别显著降低55.2%、27.9%、23.3%和26.7%; 抗氧化酶SOD、POD和CAT等酶活指标分别显著降低55.2%、35.1%和35.5%; 植物叶绿素荧光参数 F_0 、 F_m 分别显著下降27.1%和17.8%。 NPQ_{LSS} 在暴露浓度为500 mg/kg下达到最低; $1-Q_{\text{p_LSS}}$ 随PE-MPs暴露浓度增加呈上升趋势, 在暴露浓度为1 000 mg/kg条件下达最高。荧光成像结果表明, PE-MPs暴露浓度为1 000或1 500 mg/kg下, 紫花地丁叶片活性显著降低。土壤pH和速效钾随PE-MPs暴露浓度增加呈上升趋势; 有效磷和碱解氮含量则呈显著降低, 有效磷在500 mg/kg暴露浓度下达最低, 而碱解氮在1 500 mg/kg暴露下达最低。此外, 当PE-MPs暴露浓度高于500 mg/kg时, 紫花地丁的各项生理指标受到显著抑制; 同时, 根系活力、叶绿素总量、SOD、 F_0 、 F_m 、 $1-Q_{\text{p_LSS}}$ 、 QY_{max} 等多个指标与土壤碱解氮呈显著相关性。总体上, 土壤环境中较低浓度 (100 mg/kg以下) PE-MPs的暴露对紫花地丁的生理生态影响不显著; 而较高浓度PE-MPs下紫花地丁的抗氧化酶系统与PSII光合系统均受到显著破坏, 耐受PE-MPs临界浓度约为100-500 mg/kg。 (图5 表3 参62)

关键词 微塑料; 野生植物; 根系活力; 叶绿素; 抗氧化酶; 荧光参数; 碱解氮

Effects of exposure to polyethylene microplastics in a simulated soil environment on the ecophysiology of *Viola philippica*

NIU Jiarui¹, JIAN Minfei^{1,2}✉, RAO Jiaxin¹, ZHANG Jinye¹, YANG Wenjin³ & DING Huijun²

¹ Key Laboratory of Protection and Utilization of Subtropical Plant Resources of Jiangxi Province, College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China

² Jiangxi Provincial Key Laboratory of Water Resources and Environment of Poyang Lake, Jiangxi Provincial Institute of Water Sciences, Nanchang 330029, China

³ Key Laboratory of Poyang Lake Wetland and Watershed Research of Ministry of Education, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China

Abstract To explore the effects of soil microplastics on the physiology and ecology of wild plants, 150 μm polyethylene microplastics (PE-MPs) were used in this study. Control groups (CK) and different exposure groups were established to simulate the effects of MP pollution in the soil on plant physiological and ecological indicators and their soil physicochemical indicators, respectively. The results indicated that the effect of exposure to low concentrations of PE-MPs on *Viola philippica* was not significant enough; however, exposure to high concentrations had significant inhibition effects on plant physiological indices. When the exposure concentration of PE-MPs exceeded 500 mg/kg, significant changes were observed in the various physiological and ecological indices of *Viola philippica*. Some indicators reached their lowest values at the highest PE-MP concentration of 1 500 mg/kg. Compared with the CK group, root activity, chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll were significantly decreased by 55.2%, 27.9%, 23.3%, and 26.7%, respectively, at 1 500 mg/kg. Antioxidant enzyme activity indicators such as superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and

收稿日期 Received: 2022-04-27 接受日期 Accepted: 2022-07-14

国家自然科学基金项目 (41967055)、江西省水利科学院江西省鄱阳湖水资源与环境重点实验室开放研究基金项目 (2020GPSYS03) 和江西省自然科学基金项目 (20212BAB203023) 联合资助

✉通信作者 Corresponding author (E-mail: jianminfei0914@163.com)

catalase (CAT) were significantly reduced by 55.2%, 35.1%, and 35.5%, respectively. Chlorophyll fluorescence parameters F_0 and F_m were significantly decreased by 27.1% and 17.8%, respectively. Further, NPQ_{LSS} reached its lowest level at 500 mg/kg; $1-Q_{P_{LSS}}$ increased with increase in exposure concentrations of PE-MPs and reached its highest level at 1 000 mg/kg. Fluorescence imaging results indicated that the leaf activity of *Viola philippica* significantly decreased at exposure concentrations of 1 000 or 1 500 mg/kg of PE-MPs. Fluorescence imaging indicated that the leaf activity of *Viola philippica* significantly reduced at 1 000 or 1 500 mg/kg. The soil pH value and fast-acting potassium increased with increase in exposure concentration of PE-MPs. However, the contents of effective phosphorus and alkaline nitrogen significantly decreased with exposure to the lowest effective phosphorus concentration of 500 mg/kg PE-MPs and lowest alkaline nitrogen at 1 500 mg/kg. The study also indicated that various physiological indices of *Viola philippica* were significantly inhibited when the exposure concentration of PE-MPs exceeded 500 mg/kg. Meanwhile, several indicators, such as root vigor, total chlorophyll, SOD, F_0 , F_m , $1-Q_{P_{LSS}}$, and QY_{max} , significantly correlated with soil alkaline dissolved nitrogen. Overall, the changes in physiological and ecological characteristics of *V. philippica* were not significant at lower concentrations of PE-MPs (below 100 mg/kg) in the soil environment, while the antioxidant enzyme system and PSII photosynthetic system of the plants were significantly disrupted at higher PE-MPs exposures, and their tolerable PE-MPs exposure ranged from about 100 to 500 mg/kg.

Keywords microplastics; wild plant; root vigor; chlorophyll; antioxidant enzyme; fluorescence parameter; alkaline hydrolysis nitrogen

微塑料 (microplastics, MPs) 是土壤环境中的新型污染物, 由Thompson于2004年首次提出^[1]. 国际上对于微塑料尚无明确定义, 一般是指粒径小于5 mm的塑料颗粒、碎片或薄膜^[2]. 目前, 国内外关于微塑料污染的研究多集中于海洋^[3]、河流^[4]、湖泊^[5]等领域. 随着微塑料污染研究的不断深入, 微塑料污染对植物-土壤生态系统等方面的影响研究日益受到关注. 土壤生态系统中的微塑料主要来自农用薄膜的广泛使用^[6]、堆肥产品与污水污泥^[7-8]、地表径流与污水灌溉^[9]、一次性塑料产品的废弃^[10]以及大气沉降^[11]等, 有研究发现韩国骊山公路旁土壤中MPs含量由于轮胎粉尘等因素而显著高于林地和居住用地, 丰度达1 108 ind/kg^[12]; Zhou等调查发现我国中部林地土壤中MPs含量明显高于菜地和空置土地, 丰度高达 4.1×10^5 ind/kg^[13]; 另有研究发现我国西北地区的沙地、林地、草地中MPs丰度值范围达1 360-4 960 ind/kg^[14]. 综上分析, MPs已遍布于陆地生态系统的不同生境, 但现阶段微塑料与土壤-植物系统的研究多集中于对农作物与农田方面的影响, 而有关微塑料对野生植物及其土壤环境方面的影响尚较少^[15].

研究发现, 微塑料进入土壤后会累积, 并持续存在从而影响土壤功能和生物多样性, 甚至影响陆地生态系统^[16]. 微塑料对植物产生的直接影响主要体现在堵塞植物根部通道, 影响光合作用. 已有研究表明, 聚乙烯微珠通过机械阻断影响浮萍 (*Lemna minor*) 的根系生长, 降低根细胞活力^[17]; 并有研究证实, 微塑料颗粒能通过气孔抑制水稻 (*Oryza sativa*) 的光合作用, 降低净光合速率、叶绿素荧光和叶绿素a含量^[18]. 此外, MPs还能够通过影响土壤理化性质及物质循环, 进一步影响植物养分吸收及传递, 最终影响植物的生长发育. 研究表明, MPs会改变土壤的结构和代谢状态, 如土壤容重、持水量和土壤团聚体的变化可以改变根系生长, 进而改变植物生长^[19]; 不同粒径聚苯乙烯微球通过改变土壤理化性质与微生物代谢, 间接改变小麦 (*Triticum aestivum* L.) 的生长和光合作用^[20]. 因此, 研究MPs对植物的影响, 需要结合土壤理化性质的改变对植物的间接影响进行研究.

紫花地丁 (*Viola philippica*) 是一种易繁殖、分布广泛的多

年生野生草本植物, 多生于田间、荒地、山坡草丛、林缘或灌丛中, 于庭园、林下较湿润处易形成小群落, 在各种生境中较为常见. 我们以紫花地丁为供试植物, 研究不同浓度聚乙烯微塑料 (PE-MPs) 暴露对紫花地丁生长与生理生态的影响及其土壤理化性质主要指标的变化, 探究土壤环境中微塑料对植物的生态效应, 为评估微塑料对植物的生态效应及其影响机制提供基础数据和科学依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

采集江西师范大学校园内人工林下土壤, 经自然风干后去除杂质, 过2 mm筛; 参考微塑料分离与检测方法^[21]对供试土壤进行检测, 未发现微塑料; 一部分土壤用于基本理化性质测定 (表1), 大部分用于室内模拟控制培养植物. 供试植物紫花地丁采自江西师范大学校园内人工林下地被层, 选取长势一致的幼苗植株进行室内盆栽试验 (图1A); 供试微塑料为150 μ m的聚乙烯微塑料 (图1B), 购于广东东莞顺捷塑胶科技有限公司.

1.2 试验设计

参考现有相关研究^[22-23], 分别设置实验对照组 (CK, 0 mg/kg) 和PE-MPs暴露浓度为50、100、500、1 000、1 500 mg/kg等不同处理组. 分别称取2.5 kg风干处理后的供试土壤装入每花盆中 (内径20 cm, 高12 cm); 依据上述暴露浓度, 分别准确称取所需要量聚乙烯微塑料, 添加入各盆土壤并充分混匀, 待盆栽土壤和移栽植物分别经室内驯化一周后, 分别在每花盆中植入8株长势一致的紫花地丁幼苗, 每处理组设置6盆平行样. 试验盆置于室内并控制实验温度为 25 ± 3 $^{\circ}$ C, 光照黑暗为12 h:12 h; 每天用纯水补充水分, 保持土壤持水量为60%; 培养21 d后, 测定植物生长与生理生态等相关指标.

1.3 指标选择与测定

1.3.1 植物根系活力测定 采用氯化三苯基四氮唑 (TTC) 法测定根系活力^[24]. 分别采集各处理组部分受试植物样品, 称取植物根毛0.2 g置于不同烧杯, 每处理组6个平行, 分别加入0.5% TTC溶液和0.1 mol/L磷酸缓冲液后置于37 $^{\circ}$ C

表1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of the tested soil

土壤理化指标 Soil property	有机质 Organic matter (OM/g kg ⁻¹)	全磷 Total phosphorus (TP/g kg ⁻¹)	全钾 Total potassium (TK/g kg ⁻¹)	全氮 Total nitrogen (TN/g kg ⁻¹)	有效磷 Available phosphorus (AP/mg kg ⁻¹)	速效钾 Available potassium (AK/mg kg ⁻¹)	碱解氮 Alkali hydrolyzed nitrogen (AN/mg kg ⁻¹)	pH
含量 Concentration	51.16	1.53	2.43	1.66	4.77	53.55	196.56	5.4

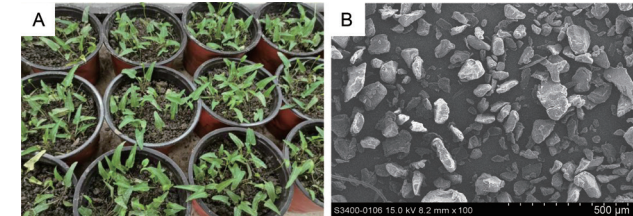


图1 供试材料。A: 室内盆栽紫花地丁; B: 150 μm PE-MPs电镜扫描图。

Fig. 1 The tested materials. A: Indoor potted *Viola philippica*; B: SEM of 150 μm PE-MPs.

保温箱内, 1-3 h后立即加入1 mol/L H₂SO₄溶液2 mL以终止反应。取出根毛并吸干水分后置于玛瑙研钵内立即研磨, 提取三苯甲脒 (TTC), 测定其在485 nm波长下的吸光度值。查标准曲线, 即可求出TTC的还原量, 根据TTC的还原强度公式从而求出其根系还原强度, 计算公式为

$$Rs = Ra/(m \times t) \quad (1)$$

式中, Rs为TTC还原强度 (μg g⁻¹ h⁻¹), Ra为TTC还原量 (μg), m为根重 (g), t为反应时间 (h)。

1.3.2 植物叶绿素指标测定 选择经处理后各组紫花地丁植物叶片的叶绿素a (Chlorophyll a, Ca)、叶绿素b (Chlorophyll b, Cb)和叶绿素总量 (Total chlorophyll, Ct)进行测定。自上至下选取各处理组植株体第2、3片完全展开叶, 分别称取0.1 g鲜样, 经洗净、擦干后置于研钵中, 加入100%二甲基亚砜 (DMSO) 进行提取, 采用分光光度法测定其在645、663 nm波长下的吸光度值^[25]。参照Arnon公式^[26], 分别计算各叶绿素含量Ca、Cb和Ct (mg/L), 计算公式为

$$Ca = 12.70A_{663} - 2.69A_{645} \quad (2)$$

$$Cb = 22.90A_{645} - 4.68A_{663} \quad (3)$$

$$Ct = 8.02A_{663} + 20.21A_{645} \quad (4)$$

式中, A₆₆₃为波长663 nm下的吸光度值, A₆₄₅为波长645 nm下的吸光度值。

1.3.3 植物抗氧化酶测定 选择超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (peroxidase, POD)及过氧化氢酶 (catalase, CAT) 等抗氧化酶活指标进行测定。分别称取新鲜的紫花地丁叶片0.1 g, 加入预冷的0.05 mol/L磷酸缓冲液于冰浴上研磨, 在4 °C、7 000 r/min下离心20 min, 取其上清液测定酶活性, 分别采用氮蓝四唑法^[27]测定SOD、愈创木酚法^[28]测定POD、紫外吸收法^[29]测定CAT。

1.3.4 叶绿素荧光参数与荧光成像测定 采用FluraCam便携式叶绿素荧光成像仪 (SN-CCD 401, 捷克) 测定紫花地丁叶片的荧光参数和活体荧光成像图, 测定时间选取晴天上午9:00-11:00。自上至下选择紫花地丁植株的第2片完全展开叶, 测定其荧光参数。测定时, 植株充分暗适应2 h, 设定快门Shutter = 0, 敏感性Sensitivity = 20, 光照AChlt2 = 100, AChlt1 = 100, Super = 70。测定最小荧光 (F₀)、最大荧光 (F_m)、稳态下的非光化学猝灭系数 (NPQ_{LSS})、稳态下的PSII反应中心关闭程度 (1-Q_p_{LSS})、最大量子产率 (QY_{max})等

叶绿素荧光参数^[30]。

1.3.5 土壤理化性质测定 采用重铬酸钾氧化—外加热法^[31]测定土壤有机质含量; 采用盐酸-氟化铵法^[32]测定土壤有效磷含量; 采用四苯硼钠比浊法^[33]测定土壤速效钾含量; 采用碱解扩散法^[34]测定土壤碱解氮含量; 土壤样品采用中性盐溶液浸提后使用pH计测定其pH值^[35]。

1.4 数据处理

采用Excel 2019数据处理; 利用SPSS 21.0的单因素方差分析 (one-way, ANOVA) 和Duncan法分析数据显著性, 结果采用均值±标准误差表示 (mean ± SE); 采用皮尔逊相关系数 (Pearson correlation coefficient) 进行相关分析 (P < 0.05为显著相关, P < 0.01为极显著相关); 运用Origin 2018绘图。

1.5 质量保证与质量控制

每处理组设置6个平行试验盆, 每指标分析测试6个平行样。本试验所有样品处理过程中, 全程避免接触塑料纤维制品; 实验人员穿全棉工作服, 防止其他衣物上的纤维在实验过程中与样品交叉污染; 称量土壤、聚乙烯以及药品时, 称取量均精确到0.001 g; 指标测定过程中, 所配试剂、溶液均精确到0.1 mL; 数据分析过程中, 试验数据结果均精确到0.001。试验全程进行质量控制和保证, 确保试验结果的准确性。

2 结果与分析

2.1 PE-MPs暴露下紫花地丁根系活力和叶绿素的变化

由图2A可知, 紫花地丁的根系活力随PE-MPs暴露浓度的增大而降低。与CK组相比, PE-MPs暴露浓度分别为500、1 000和1 500 mg/kg时, 根系活力分别降低19.0%、29.6%和55.2%, 且暴露浓度为1 500 mg/kg时达最低。由图2B可知, PE-MPs暴露浓度分别为500、1 000和1 500 mg/kg时, 植物叶片的Ct、Ca含量均显著低于CK组; 而Cb在PE-MPs暴露浓度为1 500 mg/kg时显著低于CK组。最高暴露浓度 (1 500 mg/kg) 下, 紫花地丁各叶绿素均受到显著抑制, Ca、Cb和Ct分别下降27.9%、23.3%、26.7%, 并显示Ca受到的影响更大。

2.2 PE-MPs暴露下紫花地丁抗氧化酶的变化

由图3可知, 随着PE-MPs暴露浓度的增加, 紫花地丁的SOD和CAT酶活性均呈下降趋势, POD呈先升后降趋势。在暴露浓度为1 500 mg/kg时, 3种酶活性均显著低于CK。图3A中, 暴露浓度为500、1 000和1 500 mg/kg条件下, SOD活性分别降低19.0%、29.6%和55.2%。图3B中, 在500、1 000、1 500 mg/kg暴露条件下POD活性呈现降低, 且与CK相比分别降低16.7%、20.9%和35.1%。图3C中, 与CK相比, 在暴露浓度为1 000和1 500 mg/kg条件下, CAT活性分别降低10.6%和35.5%。

2.3 PE-MPs暴露下紫花地丁叶绿素荧光参数的变化

由图4A可知, PE-MPs不同浓度暴露下, 暗适应状态的最小荧光F₀和最大荧光F_m均随PE-MPs暴露浓度增加呈先稳定后下降趋势。PE-MPs暴露浓度高于100 mg/kg时, F₀和F_m均随暴露浓度增加而变弱, 在暴露量1 000-1 500 mg/kg时

下降趋势不明显,达到最低值并保持稳定。图4B中,紫花地丁 NPQ_{LSS} 在PE-MPs暴露浓度范围为0-500 mg/kg时持续降低,500-1 500 mg/kg时有所上升;在500 mg/kg时达到最低值,较CK组降低32.2%。 $1-Q_{pLSS}$ 在PE-MPs暴露下整体呈上升趋势,暴露浓度范围为0-1 000 mg/kg时 $1-Q_{pLSS}$ 持续上升,在暴露浓度为1 000 mg/kg时达到最高,与CK组相比升高16.7%;在暴露浓度范围为1 000-1 500 mg/kg时,与 $1-Q_{pLSS}$ 最高值相比有所下降。

2.4 PE-MPs暴露下紫花地丁叶绿素荧光成像的变化

由图5可看出,PE-MPs不同浓度暴露下紫花地丁叶片光系统II (photosystem II complex, PSII) 最大量子产率 QY_{max} 及

其荧光成像的变化。荧光成像色彩对应大量子产率 QY_{max} ,橘黄色代表 QY_{max} 值高,绿色为低。随着PE-MPs暴露浓度增大,叶脉附近绿色区域明显扩大,即 QY_{max} 值降低。PE-MPs暴露浓度为100和500 mg/kg时,与对照组相比紫花地丁叶片的橘黄色面积减少,叶片中心及其边缘出现较大绿色面积, QY_{max} 参数也显著降低,说明叶片PSII生理活性受损;在PE-MPs浓度为1 000、1 500 mg/kg时,橘黄色部分仅集中在紫花地丁叶片边缘,其荧光强度显著降低,此时 QY_{max} 降到最低值,说明叶片受到抑制作用较大、PSII活性受损严重。

2.5 PE-MPs暴露下土壤理化性质的变化

由表2可以看出,与CK相比,不同浓度PE-MPs暴露下土

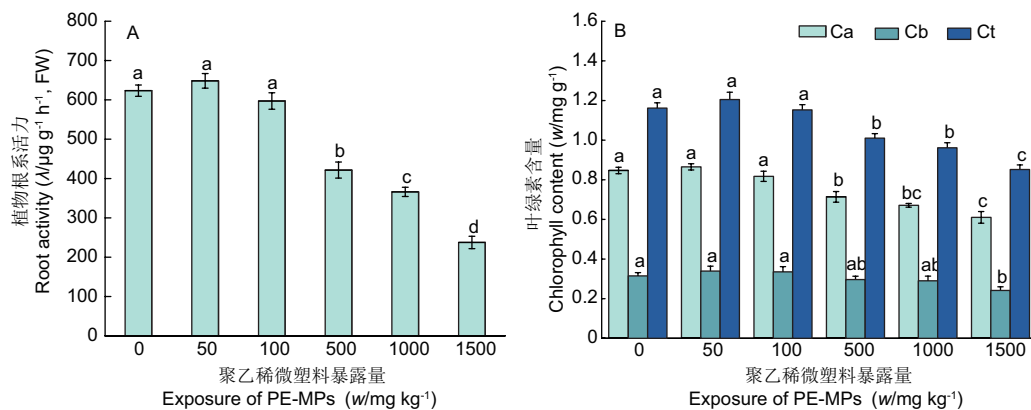


图2 不同浓度PE-MPs暴露下紫花地丁根系活力(A)和叶绿素含量(B)的变化。各图中不同小写字母表示每组间存在显著性差异($P \leq 0.05$, $N = 6$)。
Fig. 2 Changes in root activity (A) and chlorophyll content (B) of *Viola philippica* under different concentrations of PE-MPs exposure. Different lowercase letters in the same figure indicate significant difference among different groups ($P \leq 0.05$, $N = 6$).

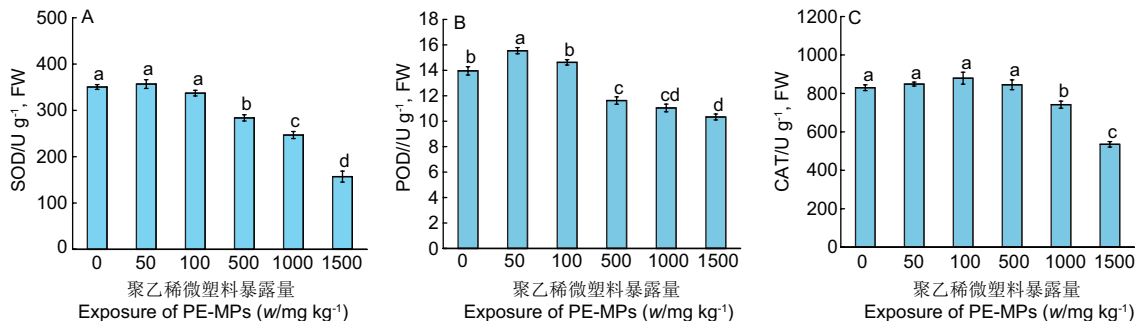


图3 PE-MPs不同暴露浓度下紫花地丁SOD(A)、POD(B)和CAT(C)的变化。各图中不同小写字母表示组间存在显著性差异($P \leq 0.05$, $N = 6$)。
Fig. 3 Changes in SOD (A), POD (B), and CAT (C) in *Viola philippica* under different exposure concentrations of PE-MPs. Different lowercase letters in the same figure indicate significant difference among different groups ($P \leq 0.05$, $N = 6$).

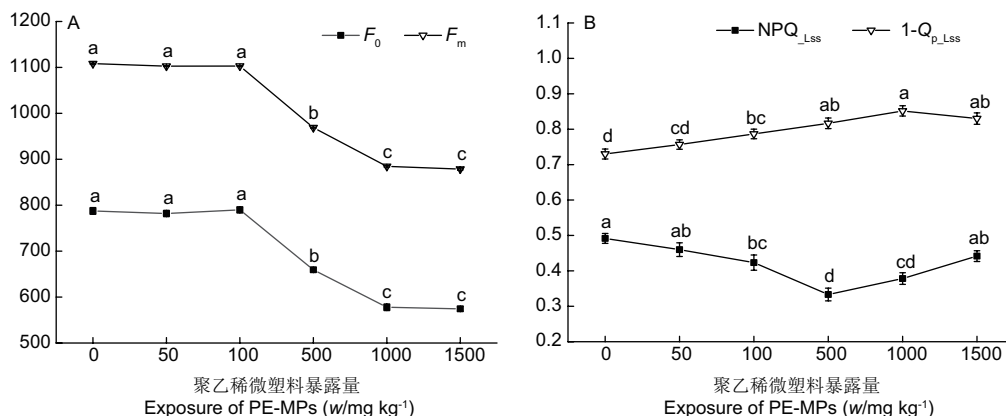


图4 PE-MPs不同暴露浓度下紫花地丁叶绿素各荧光参数的变化。各图中不同小写字母表示组间存在显著性差异($P \leq 0.05$, $N = 6$)。
Fig. 4 Changes in chlorophyll fluorescence parameters of *Viola philippica* under different exposure concentrations of PE-MPs. Different lowercase letters in the same figure indicate significant difference among different groups ($P \leq 0.05$, $N = 6$).

壤有机质含量未发生显著变化;土壤有效磷含量在PE-MPs暴露浓度为100、500、1 000、1 500 mg/kg下显著降低,并在500 mg/kg时降到最低;土壤速效钾含量在PE-MPs暴露浓度为10、100、500、1 500 mg/kg下显著升高;土壤碱解氮含量在不同浓度PE-MPs处理下均显著降低,并在1 500 mg/kg暴露浓度下降到最低;土壤pH与CK相比均显著升高,在500 mg/kg暴露浓度时升到最高。

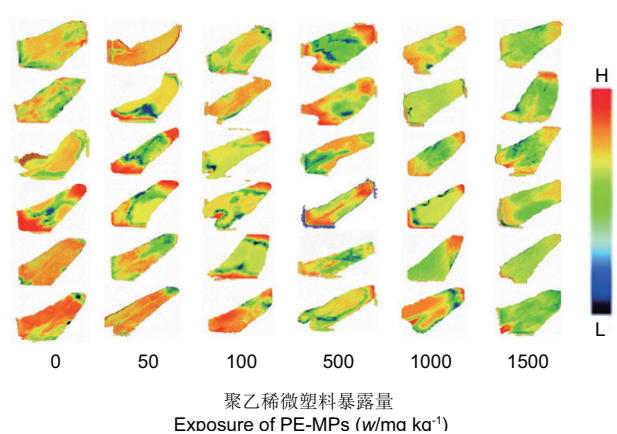
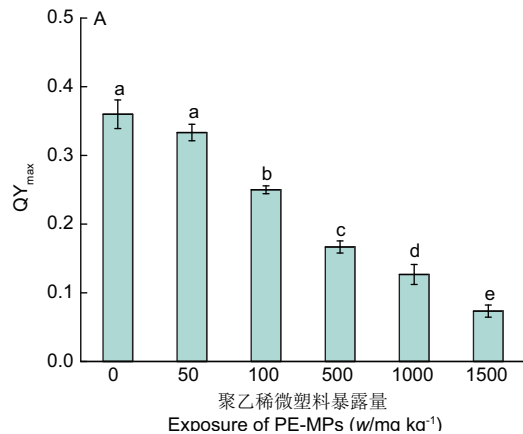


图5 不同浓度PE-MPs暴露下紫花地丁最大量子率 QY_{max} (A) 和荧光成像 (B) 变化。图A中不同小写字母表示各组间存在显著性差异 ($P \leq 0.05$, $N = 6$)。Fig. 5 Changes in chlorophyll fluorescence parameters QY_{max} (A) and fluorescence imaging (B) of *Viola philippica* under different concentrations of PE-MPs exposure. Different lowercase letters in Fig. 5A indicate significant differences among different groups ($P \leq 0.05$, $N = 6$).

表2 不同浓度PE-MPs暴露下土壤理化性质的变化

Table 2 Changes in soil physicochemical properties under exposure to different concentrations of PE-MPs

PE-MPs/mg kg ⁻¹	土壤理化指标 Soil property					pH
	有机质 Organic matter (OM/g kg ⁻¹)	有效磷 Available phosphorus (AP/mg kg ⁻¹)	速效钾 Available potassium (AK/mg kg ⁻¹)	碱解氮 Alkali hydrolyzed nitrogen (AN/mg kg ⁻¹)		
0	51.16 ± 1.74ab	4.77 ± 0.09a	53.55 ± 2.84d	196.56 ± 3.82a		5.4 ± 0.01c
50	42.89 ± 5.59b	4.64 ± 0.24a	85.15 ± 5.56a	151.69 ± 3.02b		5.7 ± 0.02b
100	43.10 ± 5.57ab	3.39 ± 0.17b	69.23 ± 1.03bc	137.45 ± 5.54b		5.9 ± 0.03a
500	46.69 ± 1.52ab	2.18 ± 0.03c	77.06 ± 7.23ab	95.05 ± 7.74c		5.9 ± 0.05a
1000	52.61 ± 0.71ab	3.46 ± 0.17b	59.73 ± 4.76cd	79.79 ± 5.46c		5.9 ± 0.03a
1500	56.16 ± 3.35a	3.13 ± 0.06b	83.18 ± 1.71ab	80.58 ± 2.06c		5.9 ± 0.03ab

同列数据后不同小写字母表示不同组间差异显著 ($P \leq 0.05$, $N = 6$)。

Different lowercase letters after data in the same column indicate significant difference among different groups ($P \leq 0.05$, $N = 6$) .

表3 不同浓度PE-MPs暴露下植物各指标与土壤理化指标间的相关性

Table 3 Correlation between plant indicators and soil physicochemical indicators under different concentrations of PE-MPs exposure

指标 Indicator	PE-MPs浓度 concentration	根系活力 Root activity	Ct	CAT	POD	SOD	F_0	F_m	NPQ_{LSS}	$1-Q_{p_{LSS}}$	QY_{max}	pH	OM	AP	AK
根系活力 Root activity	-0.976**														
Ct	-0.974**	0.999**													
CAT	-0.917*	0.846*	0.853*												
POD	-0.907*	0.965**	0.971**	0.746											
SOD	-0.990**	0.982**	0.981**	0.927**	0.911*										
F_0	-0.949**	0.964**	0.959**	0.769	0.955**	0.920**									
F_m	-0.951**	0.968	0.963**	0.768	0.957**	0.924**	1.000**								
NPQ_{LSS}	-0.312	0.461	0.437	-0.073	0.523	0.299	0.260	0.535							
$1-Q_{p_{LSS}}$	-0.828*	0.874*	0.864*	0.583	0.826*	0.828*	0.840*	0.854*	0.668						
QY_{max}	0.826*	-0.860*	-0.843*	-0.539	-0.827*	-0.790	-0.902*	-0.910*	-0.732	-0.954**					
pH	0.459	-0.503	-0.464	-0.164	-0.390	-0.442	-0.508	-0.523	-0.764	-0.776	0.792				
OM	0.794	0.643	-0.792	-0.848*	-0.801	-0.795	-0.736	-0.731	0.066	-0.473	0.447	-0.141			
AP	-0.508	-0.764	0.643	0.219	0.664	0.551	0.594	0.610	0.871*	0.821*	-0.752	-0.771	-0.132		
AK	0.245	0.657	-0.182	-0.270	-0.015	-0.275	-0.136	-0.140	-0.132	-0.188	0.177	0.536	-0.246	-0.290	
AN	-0.840*	0.875*	0.852*	0.576	0.811	0.816*	0.895*	0.903*	0.730	0.936**	-0.978**	-0.838*	-0.396	0.785	-0.369

OM: 有机质; AP: 有效磷; AK: 速效钾; AN: 碱解氮。

OM: Organic matter; AP: Available phosphorus; AK: Available potassium; AN: Alkali hydrolyzed nitrogen.

** $P < 0.01$; * $P < 0.05$.

著正相关,与土壤有机质含量呈显著负相关;POD与SOD呈显著正相关,与 F_0 、 F_m 呈极显著正相关,与 QY_{max} 呈显著负相关; F_0 与 F_m 呈极显著正相关,与 $1-Q_{p_LSS}$ 、碱解氮呈显著正相关,与 QY_{max} 呈显著负相关; F_m 与 $1-Q_{p_LSS}$ 、碱解氮呈显著正相关,与 QY_{max} 呈显著负相关;NPQ_{LSS}、 $1-Q_{p_LSS}$ 与土壤有效磷呈显著正相关; $1-Q_{p_LSS}$ 与 QY_{max} 呈显著负相关,与碱解氮呈极显著正相关; QY_{max} 与碱解氮呈显著负相关;碱解氮与SOD呈显著正相关,但与土壤pH呈显著负相关;其余指标间无显著相关性。

3 讨论

3.1 PE-MPs暴露对紫花地丁根系活力的影响

根系活力大小与整个植株生命活动强度紧密相关^[36]。研究结果表明,紫花地丁在PE-MPs暴露浓度为50 mg/kg时,根系活力略有升高,可能是因为一定程度的微塑料降低土壤容重,导致土壤大孔隙率和通气量增加,这有助于植物根系穿透土壤,促进根系生长^[24],从而影响根系活力。在PE-MPs暴露浓度高于100 mg/kg时,根系活力呈下降趋势,并在高浓度(1 500 mg/kg)下根系活力最弱,降低了52.2%,可能是PE-MPs对植物根有毒性作用,诱导根际细胞凋亡或坏死^[37],细胞壁出现变形或变薄,质壁分离现象严重,细胞结构消失^[38],导致紫花地丁根系活力降低。同时Kalčíková等的研究结果^[17]表明微塑料会机械地损坏浮萍根部,并显著影响根细胞膜的通透性。此外,Dong等人的研究结果表明微塑料改变植物根际微生物的相对丰度和酶活性,进一步影响土壤有机磷和氮的矿化,最终根际土壤的营养和肥力会发生改变^[39]。表3结果也显示可能是PE-MPs使碱解氮发生变化,土壤肥力有所变化从而间接引起植物根系活力降低,具体原因有待进一步研究。

3.2 PE-MPs暴露对紫花地丁叶绿素的影响

叶绿素含量多少反映植物光合作用的强弱。在不同浓度PE-MPs暴露下,叶绿素a比叶绿素b更易受到影响,这与Ren等的研究结果^[20]一致。叶绿素含量在不同浓度PE-MPs暴露下的变化,与廖苑辰等的研究结果^[40]具有一致性:低浓度微塑料暴露促进小麦叶片叶绿素a、叶绿素b含量增加,高浓度暴露降低叶绿素a、叶绿素b含量。本研究结果显示紫花地丁在浓度为> 500 mg/kg时,叶绿素含量与对照相比显著降低,说明高浓度逆境暴露会抑制叶绿素合成、光合色素积累,使植物光系统受损,导致光合作用强度下降^[41]。Li等人通过研究发现聚苯乙烯微塑料的生理毒性影响黄瓜(*Cucumis sativus*)叶绿素平衡,并且叶绿素的结构和功能也受到破坏,光合作用受到不利影响^[42]。因此,微塑料不仅会影响植物叶绿素合成途径,甚至能够损伤叶绿素结构,导致植物光能利用和光合作用降低。

3.3 PE-MPs暴露对紫花地丁抗氧化酶的影响

植物细胞内存在相应的抗氧化酶系统,如SOD、POD和CAT等抗氧化酶,可以有效抵抗胁迫下活性氧(reactive oxygen species, ROS)对植物造成的伤害。SOD是生物体内专一清除超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)的抗氧化酶,可将 $O_2^{\cdot-}$ 转换为 H_2O_2 并在一定程度上防止活性氧大量积累^[43]。在PE-MPs暴露浓度为50 mg/kg条件下,SOD活性稍有上升。这是SOD活性为了降低外界胁迫与毒害效应以减少ROS积累,促进抗氧化系统运作。也有研究认为SOD活性升高,与植物对环境胁迫的耐受性有关^[44]。PE-MPs暴露浓度> 100 mg/kg时,SOD活性显著降低,可能是因为ROS过量累积,超出抗氧化酶防御系统

的清除能力,从而抑制SOD活性。本研究结果与安菁等的研究^[45]发现随着PVC颗粒添加量升高,大豆(*Glycine max*)幼苗体内抗氧化酶活性升高的结果有所差异,这可能是两种植物自身清除超氧阴离子的能力存在差异,其抗氧化酶系统对不同胁迫的响应机制存在差异而导致的结果。

POD作为植物的重要保护酶之一,能清除细胞中的 H_2O_2 ,阻止 H_2O_2 攻击膜脂^[46]。高浓度暴露下POD活性显著降低,这与刘玲等研究的羧基化多壁碳纳米管处理下蚕豆(*Vicia faba*)幼苗POD的变化趋势^[47]一致。紫花地丁抗氧化酶活性的短暂升高是受PE-MPs暴露毒害时作出的调节反应,而活性下降则是超出自身调节能力的阈值,其相关酶受到损伤^[40],抗氧化酶活性的显著变化反映了紫花地丁对PE-MPs的氧化应激反应。

CAT是一种能够促进 H_2O_2 迅速分解为分子氧和水的酶类清除剂,与SOD能协同作用清除 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 ,并减少 $\cdot OH$ 的生成,使细胞免受毒害作用^[48]。低浓度PE-MPs暴露促进紫花地丁叶片细胞内CAT活性,减缓 $\cdot OH$ 的积累,缓解PE-MPs暴露对质膜的毒害作用。PE-MPs暴露浓度> 500 mg/kg时,CAT活性显著降低,说明CAT活性受到抑制。本研究发现,低浓度PE-MPs处理下紫花地丁叶片中几种具有代表性的抗氧化酶活性均增强,表明紫花地丁防御反应被激活,并可以清除过量积累的ROS;且随着PE-MPs暴露浓度升高,抗氧化酶基因的表达被破坏,叶片细胞受到严重的过氧化损伤,导致SOD、POD和CAT活性显著降低,从而导致ROS在植物体内过量积累,植物的抗氧化保护机制受到不可逆损伤^[37]。

3.4 PE-MPs暴露对紫花地丁叶绿素荧光参数的影响

叶绿素荧光参数对各种非生物胁迫(如干旱、盐度和重金属等)的响应,能够直接或间接地说明有关植物生理状况^[49]。初始荧光 F_0 是光系统II(PSII)反应中心处于完全开放时的荧光产量,是在暗适应下测量的最小荧光强度。在PE-MPs暴露达到一定强度时,紫花地丁叶片的光合机构遭到一定程度的破坏^[50]。PE-MPs暴露浓度为1 000-1 500 mg/kg时, F_0 降到最低,叶绿素总含量与 F_0 呈极显著相关性,这可能与叶绿素含量偏低有关^[51]。说明在外界暴露达到高浓度时,紫花地丁叶片中色素吸收的光能参与光化学反应的能量减少,以热量和荧光形式散失的量增加。 F_m 是PSII反应中心处于完全关闭时的荧光产量,可反映通过PSII的电子传递情况。PE-MPs暴露浓度范围> 500 mg/kg时, F_m 显著降低。许培磊等研究发现 F_m 显著降低,说明PSII的电子传递严重受阻并受到光抑制^[52]。

NPQ_{LSS}表示PSII反应中心对天然色素吸收后的热耗散能力。随着PE-MPs暴露浓度增大,NPQ_{LSS}呈现先降后升趋势,说明紫花地丁在PE-MPs暴露浓度范围内,通过启动非辐射热耗散防御保护机制来保护植株PSII的稳定性的能力先降低后升高^[53]。有研究表明,在外源胁迫下NPQ_{LSS}显著降低,叶片为保护光合机构不受到过剩光能的破坏,其吸收的光能更多地以热耗散形式消耗^[54]。 $1-Q_{p_LSS}$ 是PSII反应中心关闭的程度, $1-Q_{p_LSS}$ 越大,PSII反应活性越小^[30]。随着PE-MPs暴露浓度增大, $1-Q_{p_LSS}$ 上升,说明PE-MPs暴露使紫花地丁叶片PSII的电子传递受阻,其叶片光能利用分配改变。本研究结果表明高浓度PE-MPs处理会破坏植物PSII反应中心,阻断电子传递通量,并抑制叶片的光化学活性。

3.5 PE-MPs暴露对紫花地丁叶绿素荧光成像的影响

QY_{max} 是PSII的最大量子产量,并反映了植物潜在的最大

光合能力,其荧光成像橘黄色部位面积越大,植物的潜在光能转化率 QY_{max} 越高^[55]。叶绿素荧光成像最能反映外源暴露对PSII的损害,荧光成像表明紫花地丁受到PE-MPs暴露时,橘黄色部分面积减少,并且与叶绿素荧光参数呈现出一致的变化特征,这说明叶片PSII反应中心受阻、PSII的电子传递链受到损害,即植物的潜在光能转化率升高、叶片逐渐失去光合活性。在PE-MPs浓度为1 000和1 500 mg/kg时,紫花地丁叶片活性受损,仅叶片边缘小面积部位有光合活性。因此,随着PE-MPs暴露下紫花地丁叶片荧光成像中橘黄色的面积逐渐减少,叶片光合活性由高变低,紫花地丁叶片光合活性的降低在叶片中心更为显著,这与张晨等研究聚苯乙烯胁迫对黑藻(*Hydrilla verticillate*)的荧光成像研究结果^[56]有所不同,可能是因为两种植物叶的结构及其生长环境不同,需要进一步研究。

3.6 PE-MPs暴露对土壤理化性质的影响

有研究发现高分子聚合物对土壤磷元素有物理吸附作用,会导致土壤对磷的吸附减弱^[57]。因此,土壤有效磷含量显著变化可能与微塑料对土壤P的吸附和解析作用有关。土壤速效钾含量上升可能是因为土壤微生物发生变化,使得胞外酶分泌改变,从而影响钾元素的释放^[58]。然而Yang等人发现高施用量(20 g/kg)的高密度聚乙烯和通用聚苯乙烯显著降低了土壤中的速效钾浓度^[59],这与我们在本研究中的结果不一致,可能是由于MPs类型和用量的差异造成的。其他研究^[59-60]发现,不同MPs处理会提高土壤的pH值,其原因尚需要进一步研究。然而,在不同浓度PE-MPs暴露下土壤碱解氮浓度均显著下降,有研究认为是微塑料通过改变土壤孔隙度改变土壤

生态系统养分通量的速率以及硝化作用和反硝化作用相关酶活性变化所导致的^[61-62]。相关性分析结果显示土壤碱解氮与多个指标具有显著相关性,推测土壤理化性质中碱解氮起着关键性作用,进而影响紫花地丁的生理指标。这表明,当前也迫切需要针对微塑料影响土壤氮循环具体机制这一方面进行深入研究。

4 结论

土壤环境中PE-MPs低浓度暴露(50和100 mg/kg⁻¹)下,紫花地丁植物的根系活力、叶绿素各指标、抗氧化酶活性(SOD、POD和CAT)和光合荧光等各项指标的变化不明显。当PE-MPs暴露浓度> 500 mg/kg时,紫花地丁植物的根系活力和叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量等指标均呈显著降低,植物叶绿素合成受到抑制,光合作用强度下降;PE-MPs暴露浓度为50、100 mg/kg时,紫花地丁本身对外界胁迫有一定程度的保护性反应,此时的抗氧化酶活性上升。由此推测,紫花地丁耐受PE-MPs暴露的临界浓度大约为100-500 mg/kg。当PE-MPs暴露浓度> 500 mg/kg时,紫花地丁植物的抗氧化酶系统受到破坏,其活性显著降低;且植物的PSII的电子传递严重受阻、叶片光合机构受到破坏、叶片光能利用分配改变、光系统II受到严重损害。土壤pH和速效钾在不同PE-MPs浓度暴露下均升高,碱解氮和有效磷含量均显著降低,其中碱解氮与植物根系活力、叶绿素含量、SOD、 F_0 、 F_m 、 $1-Q_{p-Lss}$ 、 QY_{max} 、pH呈显著相关性,是间接影响植物生理反应的关键因素。

参考文献 [References]

- Thompson RC, Olsen Y, Mitchell RP, Davis A, Rowland SJ, John AWG, McGonigle D, Russell AE. Lost at sea: where is all the plastic [J]. *Science*, 2004, **304** (5672): 838
- 马乃龙, 程勇, 张利兰. 微塑料的生态毒理效应研究进展及展望[J]. 环境保护科学, 2018, **44** (6): 117-123 [Ma NL, Cheng Y, Zhang LL. Research progress and prospect of ecotoxicological effects of microplastic [J]. *Environ Prot Sci*, 2018, **44** (6): 117-123]
- Windsor FM, Durance I, Horton AA, Thompson RC, Tyler CR, Ormerod SJ. A catchment-scale perspective of plastic pollution [J]. *Glob Chang Biol*, 2019, **25**: 1207-1221
- 潘雄, 林莉, 张胜, 翟文亮, 陶晶祥, 李丹文. 丹江口水库及其入库支流水体中微塑料组成与分布特征[J]. 环境科学, 2021, **42** (3): 1372-1379 [Pan X, Lin L, Zhang S, Zhai WL, Tao JX, Li DW. Composition and distribution characteristics of microplastics in Danjiangkou reservoir and its tributaries [J]. *Chin J Environ Sci*, 2021, **42** (3): 1372-1379]
- 余厚平, 廖远鑫, 简敏菲, 李文华, 周隆胤, 谭佳冰, 陈娅萍. 鄱阳湖五河流域入湖口沉积物中微塑料的赋存特征[J]. 环境化学, 2019, **38** (8): 1842-1849 [Yu HP, Liao YX, Jian MF, Li WH, Zhou LY, Tan JB, Chen YP. Occurrence of microplastics in the sediments of the five rivers estuaries in Poyang Lake Basin [J]. *Environ Chem*, 2019, **38** (8): 1842-1849]
- Kumar M, Xiong XN, He MJ, Tsang DCW, Gupta J, Khan E, Harrad S, Hou D, Yong SO, Bolan NS. Microplastics as pollutants in agricultural soils [J]. *Environ Pollut*, 2020, **265** (Pt A): 114980
- Weithmann N, Moeller JN, Loder MGJ, PIEHL S, Laforsch C, Freitag R. Organic fertilizer as a vehicle for the entry of microplastic into the environment [J]. *Sci Adv*, 2018, **4** (4): eaap8060
- Corradini F, Meza P, Eguiluz R, Casado F, Lwanga EH, Geissen V. Evidence of microplastic accumulation in agricultural soils from sewage sludge disposal [J]. *Sci Total Environ*, 2019, **671**: 411-420
- Mintening SM, Veen II, Lder MGJ, Primpke S, Gerdt S. Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging [J]. *Water Res*, 2017, **108**: 365-372
- Jambeck JR, Geyer R, Wilcox C, Siegler TR, Perryman M, Andrady A, Narayan R, Law KL. Plastic waste inputs from land into the ocean [J]. *Science*, 2015, **347** (6223): 768-771
- Dris R, Gasperi J, Rocher V, Saad M, Renault N, Tassin B. Microplastic contamination in an urban area: a case study in Greater Paris [J]. *Environ Chem*, 2015, **12** (5): 592
- Choi YR, Kim YN, Yoon JH, Dickinson N, Kim KH. Plastic contamination of forest, urban, and agricultural soils: a case study of Yeosu City in the Republic of Korea [J]. *J Soil Sediment*, 2021, **21** (5): 1962-1973
- Zhou YF, Liu XN, Wang J. Characterization of microplastics and the association of heavy metals with microplastics in suburban soil of central China [J]. *Sci Total Environ*, 2019, **694**: 133798
- Ding L, Wang XL, Ouyang ZZ, Wang XX, Liu DS, Liu SS, Yang XM, Jia HZ, Guo XT. The occurrence of microplastic in Mu

- Us Sand Land soils in northwest China: Different soil types, vegetation cover and restoration years [J]. *J Hazard Mater*, 2021, **403**: 123982
- 15 Kleunen V, Brumer A, Gutbrod L, Zhang ZJ. A microplastic used as infill material in artificial sport turfs reduces plant growth [J]. *Plants People Planet*, 2020, **2**: 157-166
- 16 Rilling MC. Microplastic in terrestrial ecosystems and the soil [J]. *Environ Sci Technol*, 2012, **46** (12): 6453-6454
- 17 Kalíková G, Gotvajn ZA, Kladník A, Jemec A. Impact of polyethylene microbeads on the floating freshwater plant duckweed *Lemna minor* [J]. *Environ Pollut*, 2017, **230**: 1108-1115
- 18 Dong YM, Gao ML, Song ZG, Qiu WW. Microplastic particles increase arsenic toxicity to rice seedlings [J]. *Environ Pollut*, 2019, **259**: 113892
- 19 Zang H, Zhou J, Marshall MR, Chadwick DR, Yuan W, Jones DL. Microplastics in the agroecosystem: are they an emerging threat to the plant-soil system? [J]. *Soil Biol Biochem*, 2020, **148**: 107926
- 20 Ren XW, Tang JC, Wang L, Liu QL. Microplastics in soil-plant system: effects of nano/microplastics on plant photosynthesis, rhizosphere microbes and soil properties in soil with different residues [J]. *Plant Soil*, 2021, **462**: 561-576
- 21 Jian MF, Zhang Y, Yang WJ, Zhou LY, Liu SL, Xu EG. Occurrence and distribution of microplastics in China's largest freshwater lake system [J]. *Chemosphere*, 2020, **261**: 128186
- 22 Machado A, Chung Wai Lau, Jennifer Till, Werner Kloas, Anika Lehmann, Roland Becker, Matthias C. Rillig. Impacts of microplastics on the soil biophysical environment [J]. *Environ Sci Technol*, 2018, **52** (17): 9656-9665
- 23 Meng FR, Yang XM, Riksen M, Xu MG, Geissen V. Response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth to soil contaminated with microplastic [J]. *Sci Total Environ*, 2021, **755** (Pt 2): 142516
- 24 Lozano YM, Lehnert T, Linck LT, Lehmann A, Rillig MC. Microplastic shape, concentration and polymer type affect soil properties and plant biomass [J]. *Front Plant Sci*, 2021, **12**: 616645
- 25 陈振德, 傅以彬, 邹琦, 程炳嵩, 梁作勤. 二甲亚砷和丙酮混合液测定叶绿素含量[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 1989, **20** (2): 34-38 [Chen ZD, Fu YB, Zou Q, Cheng BS, Liang ZQ. Determination of chlorophyll content by the mixed method of dimethyl sulphoxide with acetone [J]. *J Shandong Agric Univ (Nat Sci)*, 1989, **20** (2): 34-38]
- 26 叶济宇. 关于叶绿素含量测定中的Arnon计算公式[J]. 植物生理学通讯, 1985 (6): 69 [Ye JY. Arnon calculation formula for chlorophyll content determination [J]. *Plant Physiol J*, 1985 (6): 69]
- 27 Lian JP, Wu JN, Aurang Zeb, Zheng SN, Ma T, Peng FH, Tang JC, Liu WT. Do polystyrene nanoplastics affect the toxicity of cadmium to wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Environ Pollut*, 2020, **263** (Pt A): 114498
- 28 Wang S, Li Q, Huang SZ, Zhao W, Zheng Z. Single and combined effects of microplastics and lead on the freshwater algae *Microcystis aeruginosa* [J]. *Ecotox Environ Safe*, 2021, **208**: 111664
- 29 Lin W, Su F, Lin M, Jin MF, Li YH, Ding KW, Chen QH, Qian QR, Sun XL. Effect of microplastics PAN polymer and/or Cu²⁺ pollution on the growth of *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Environ Pollut*, 2020, **265** (Pt A): 114985
- 30 简敏菲, 汪斯琛, 余厚平, 李玲玉, 简美锋, 余冠军. Cd²⁺、Cu²⁺胁迫对黑藻(*Hydrilla verticillate*)的生长及光合荧光特性的影响[J]. 生态学报, 2016, **36** (6): 1719-1727 [Jian MF, Wang SC, Yu HP, Li LY, Jian MF, Yu GJ. Influence of Cd²⁺ or Cu²⁺ stress on the growth and photosynthetic fluorescence characteristics of *Hydrilla verticillate* [J]. *Acta Ecol Sin*, 2016, **36** (6): 1719-1727]
- 31 郝国辉, 邵劲松. 土壤有机质含量测定方法的改进研究[J]. 农业资源与环境学报, 2014, **31** (2): 202-204 [Hao GH, Song JS. Improvement research on the measurement method for organic matter content in soil [J]. *J Agr Res Environ*, 2014, **31** (2): 202-204]
- 32 傅绍清, 宋金玉. 土壤有效磷的测定方法及其与磷素形态关系的研究[J]. 土壤学报, 1982, **19** (3): 305-310 [Fu SQ, Song JY. The study on the method of determination of soil available phosphorus in relation to the phosphorus forms [J]. *Acta Pedol Sin*, 1982, **19** (3): 305-310]
- 33 万德苍. 低浓度标准液的四苯硼钠比浊法测定土壤速效钾[J]. 土壤通报, 1984, **15** (2): 83-85 [Wang DC. Determination of soil available potassium by turbidimetric method with sodium tetraphenobboron in low concentration standard liquid [J]. *Chin J Soil Sci*, 1984, **15** (2): 83-85]
- 34 邵煜庭, 甄清香. 土壤碱解氮的扩散比色测定法[J]. 土壤通报, 1986, **17** (1): 40-41 [Shao YT, Zhen QX. Soil alkali-hydrolyzed nitrogen - diffusion colorimetric method [J]. *Chin J Soil Sci*, 1986, **17** (1): 40-41]
- 35 李召阳, 刘晟, 刘嘉元, 李德生, 刘福德. 滨海不同生境湿地土壤有机碳官能团特征及其影响因子[J]. 应用与环境生物学报, 2022, **28** (2): 276-282 [Li ZY, Liu S, Liu JY, Li DS, Liu FQ. Characteristics and influencing factors of soil organic carbon functional groups in coastal wetlands with different habitats [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2022, **28** (2): 276-282]
- 36 罗姗姗, 曹昀, 纪欣圣, 许令明, 王佳艺, 王文林. 水深对黑藻叶绿素含量和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学杂志, 2019, **38** (1): 221-228 [Luo SS, Cao Y, Ji XS, Xu LM, Wang JY, Wang WL. Effects of water depth on chlorophyll content and antioxidant enzyme activity of *Hydrilla verticillata* [J]. *Chin J Ecol*, 2019, **38** (1): 221-228]
- 37 Lu Y, Ma Q, Xu XL, Yu ZF, Guo TJ, Wu YK. Cytotoxicity and genotoxicity evaluation of polystyrene microplastics on *Vicia faba* roots [J]. *Environ Pollut*, 2021, **288** (6): 117821
- 38 王胜利, 宋正国, 王成伟, 刘禹, 高敏苓. 聚苯乙烯与邻苯二甲酸二丁酯共存对紫叶生菜的毒性效应[J]. 应用生态学报, 2021, **32** (9): 3335-3340 [Wang SL, Song ZG, Wang CW, Liu Y, Gao ML. Toxic effects of polystyrene and dibutyl phthalate on purple lettuce [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2021, **32** (9): 3335-3340]
- 39 Dong YM, Gao ML, Qiu WW, Song ZG. Effect of microplastics and arsenic on nutrients and microorganisms in rice rhizosphere soil [J]. *Ecotox Environ Safe*, 2021, **211** (3): 111899
- 40 廖苑辰, 娜孜依古丽·加合甫别克, 李梅, 王晓琳, 蒋丽娟. 微塑料对小麦生长及生理生化特性的影响[J]. 环境科学, 2019, **40** (10): 361-367 [Liao YC, Nazygul-Jahitbek, Li M, Wang XL, Jiang LJ. Effects of microplastics on the growth, physiology, and biochemical characteristics of wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Chin J Environ Sci*, 2019, **40** (10): 361-367]
- 41 钟嘉文, 单晓冉, 章家恩, 向慧敏, 任晓巧, 黑泽文, 刘清山. 酸雨对生菜的光合、抗氧化系统和产量的影响研究[J]. 生态环境学报, 2021, **30** (3): 532-540 [Zhong JW, Shan XR, Zhang JE, Xiang HM, Ren XQ, Hei JW, Liu QS. Study on the effects of acid rain on the photosynthetic and antioxidant systems and yield of lettuce [J]. *J Ecol Environ Sci*, 2021, **30** (3): 532-540]
- 42 Li ZX, Li RJ, Li QF, Zhou JG, Wang GY. Physiological response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves to polystyrene nanoplastics

- pollution [J]. *Chemosphere*, 2020, **255**: 127041
- 43 彭月丽, 王秀峰, 李飘飘, 韩宇睿, 杨凤娟. 营养液 NO_3^- 浓度对草莓幼苗生长和抗氧化酶系统的影响[J]. 应用生态学报, 2014, **25** (4): 1051-1056 [Peng YL, Wang XF, Li PP, Han RY, Yang FJ. Effects of different NO_3^- concentrations on the growth and antioxidant enzyme systems of strawberry seedlings [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2014, **25** (4): 1051-1056]
 - 44 Yasar F, Ellialtioglu S, Yildiz K. Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean [J]. *Russ J Plant Physiol*, 2008, **55** (6): 782
 - 45 安菁, 刘欢语, 郑艳. 土壤微塑料残留对大豆幼苗生长及生理生化特征的影响[J]. 四川农业大学学报, 2021, **39** (1): 41-48 [An J, Liu HY, Zheng Y. Effects of Soil microplastics residue on soybean seedlings growth and the physiological and biochemical characteristics [J]. *J Sichuan Agric Univ*, 2021, **39** (1): 41-48]
 - 46 史静, 潘根兴, 夏运生, 张仕颖, 张乃明. 镉胁迫对两品种水稻生长及抗氧化酶系统的影响[J]. 生态环境学报, 2013, **22** (5): 832-837 [Shi J, Pan GS, Xia YS, Zhang SY, Zhng NM. Effects of Cd on different rice growth and antioxidant enzyme system [J]. *Ecol Environ Sci*, 2013, **22** (5): 832-837]
 - 47 刘玲, 许婷婷, 赵薪程, 刘海燕, 戴慧芳, 杨俊文, 汪承润. 羧基化多壁碳纳米管与镉复合干扰蚕豆幼苗生理特性的研究[J]. 生态毒理学报, 2016, **15** (6): 252-261 [Liu L, Xu TT, Zhao XC, Liu HY, Dai HF, Yang JF, Wang CR. Study on the distribution of physiological characteristics in *Vicia faba* L. seedlings exposed to combination of carboxylated multi-walled carbon nanotubes and cadmium [J]. *Asian J Ecotox*, 2016, **15** (6): 252-261]
 - 48 曹祝, 李广雨, 赫娟, 赵惠燕, MKDK Piyyaratne, 胡祖庆, 胡想顺. 高压静电场对小麦叶片保护酶系统及麦长管蚜种群动态的影响[J]. 生态学报, 2016, **36** (4): 1001-1009 [Cao Z, Li GY, He J, Zhao HY, Piyyaratne MKDK, Hu ZQ, Hu XS. Effects of high voltage electrostatic fields on protective enzyme activity in wheat plants and on the population dynamics of *Sitobion avenae* Fabricius (Hemiptera:Aphididae) [J]. *Acta Ecol Sin*, 2016, **36** (4): 1001-1009]
 - 49 Kalaji HM, Jajoo A, Oukarroum A, Brestic M, Zivcak M, Samborska IA, Cetner MD, Łukasik I, Goltsev V, Ladle RJ. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions [J]. *Acta Physiol Plant*, 2016, **38** (4): 102
 - 50 吴甘霖, 段仁燕, 王志高, 张中信, 吴礼凤. 干旱和复水对草莓叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. 生态学报, 2010, **30** (14): 3941-3946 [Wu GL, Duan RY, Wang ZG, Zhang ZX, Wu LF. Effects of drought stress and rehydration on chlorophyll fluorescence characteristics in *Fragaria × ananassa* Duch [J]. *Acta Ecol Sin*, 2010, **30** (14): 3941-3946]
 - 51 杨会肖, 廖焕琴, 杨晓慧, 徐放, 潘文, 张卫华. 土壤水肥胁迫对尾叶桉叶绿素荧光参数的影响[J]. 林业与环境科学, 2018, **34** (3): 1-5 [Yang HX, Liao HQ, Yang XH, Xu F, Pan W, Zhang WH. Effects of different water and nutrient stress on chlorophyll fluorescence parameters of *Eucalyptus urophylla* seedlings [J]. *For Environ Sci*, 2018, **34** (3): 1-5]
 - 52 许培磊, 焦竹青, 王振兴, 张庆田, 李晓红, 刘迎雪, 赵滢, 杨义明. 五味子休眠前叶片的叶绿素荧光参数变化研究[J]. 华北农学报, 2012, **27** (B12): 209-212 [Xu PL, Jiao ZQ, Wang ZX, Zhang QT, Li XH, Liu YX, Zhao Y, Yang YM. Study the changes of chlorophyll fluorescence parameters of *Schisandra chinensis* in predormancy [J]. *Acta Agric Bor Sin*, 2012, **27** (B12): 209-212]
 - 53 史雅甜, 简敏菲, 苗艳娇, 贾蕊霞. 土壤重金属镉、铅及其复合污染对羊蹄(*Rumex ja-ponicus* Houtt)生长及其抗性生理指标的影响[J]. 生态毒理学报, 2019, **14** (3): 297-306 [Shi YT, Jian MF, Miao YJ, Jia RX. Effects of cadmium and lead pollution in soils on the growth and resistance physiological indexes of *Rumex japonicus* Houtt [J]. *Asian J Ecotox*, 2019, **14** (3): 297-306]
 - 54 卞凤娥, 唐翠花, 邢浩, 徐玉涵, 黄丽鹏, 张雪, 陆文利, 杜远鹏, 翟衡, 孙永江. 外源褪黑素对干旱胁迫下葡萄内源褪黑素及叶绿素荧光特性的影响[J]. 植物生理学报, 2018, **54** (10): 1615-1623 [Bian FE, Tang CH, Xing H, Xu YH, Huang LP, Zhang X, Lu WL, Du YP, Zhai H, Sun YJ. Effect of exogenous melatonin on endogenous melatonin and chlorophyll fluorescence characteristics in grapevine under drought stress [J]. *Plant Physiol J*, 2018, **54** (10): 1615-1623]
 - 55 简敏菲, 张乖乖, 史雅甜, 余厚平, 陈奕奇. 土壤镉、铅及其复合污染胁迫对丁香蓼(*Ludwigia prostrata*)生长和光合荧光特性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2017, **23** (5): 837-844 [Jian MF, Zhang GG, Shi YT, Yu HP, Chen YQ. Effects of single and combined pollution stress of cadmium and lead in soil on the growth and photosynthetic fluorescence characteristics of *Ludwigia prostrata* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2017, **23** (5): 837-844]
 - 56 张晨, 简敏菲, 陈宇蒙, 陈晴晴, 何旭芬, 丛明旸, 阳文静. 聚苯乙烯微塑料对黑藻生长及生理生化特征的影响[J]. 应用生态学报, 2021, **32** (1): 317-325 [Zhang C, Jian MF, Chen YM, Chen QQ, He XF, Yang WJ. Effects of polystyrene microplastics (PS-MPs) on the growth, physiology, and biochemical characteristics of *Hydrilla verticillate* [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2021, **32** (1): 317-325]
 - 57 王旭东, 杨雪芹. 聚丙烯酰胺对磷素在土壤中吸附-解析与迁移的影响[J]. 环境科学学报, 2006 (2): 300-305 [Wang XD, Yang X. Effect of polyacrylamide on phosphorus adsorption, desorption and translocation [J]. *Acta Sci Circumst*, 2006, **26** (2): 300-305]
 - 58 Liu HF, Yang XM, Liu GB, Liang CT, Xue S, Chen H, Ritsema CJ, Geissen V. Response of soil dissolved organic matter to microplastic addition in Chinese loess soil [J]. *Chemosphere*, 2017, **185**: 907-917
 - 59 Yang M, Huang DY, Tian YB, Zhu QH, Zhang Q, Zhu HH, Xu C. Influences of different source microplastics with different particle sizes and application rates on soil properties and growth of Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.) [J]. *Ecotox Environ Safe*, 2021, **222**: 112480
 - 60 Qi RM, Jones DL, Li Z, Liu Q, Yang CR. Behavior of microplastics and plastic film residues in the soil environment: a critical review [J]. *Sci Total Environ*, 2020, **703**: 134722
 - 61 Green DS, Boots B, O'Connor NE, Thompson R. Microplastics affect the ecological functioning of an important biogenic habitat [J]. *Environ Sci Technol*, 2017, **51** (1): 68-77
 - 62 Seeley ME, Song B, Passie R, Hale RC. Microplastics affect sedimentary microbial communities and nitrogen cycling [J]. *Nat Commun*, 2020, **11** (1): 1-10