

微塑料和镉复合污染对狼尾草根际土壤微生物群落结构和功能的影响

段莉阳¹, 张玉¹, 任学敏¹, 李玉英¹, 张英君², 张浩¹, 韩辉¹, 陈兆进^{*}

(1. 南阳师范学院水资源与环境工程学院, 河南省南水北调中线水源区流域生态安全国际联合实验室, 南水北调中线水源区水安全河南省协同创新中心, 南阳 473061; 2. 南阳师范学院生命科学与农业工程学院, 南阳 473061)

摘要: 微塑料和重金属的复合污染对植物生长和根际微生物群落和功能的影响目前尚未清晰。以狼尾草为实验材料进行盆栽模拟试验, 研究重金属镉(Cd)与不同种类(MPs, PE、PS)、粒径(13 μm 和 550 μm)、质量分数(0.1% 和 1%)的微塑料复合污染对狼尾草生长、重金属积累和根际微生物群落功能的影响。结果表明, MPs 和 Cd 复合污染条件下整体呈现对植物生长胁迫增加、Cd 含量和积累量降低的趋势。MPs 和 Cd 复合污染能改变细菌群落组成, 降低细菌多样性, 其中 550 μm 0.1% PE + Cd 处理组 ACE 指数和 Chao1 指数降低最显著。与单一 Cd 污染相比, 不同 MPs 种类、质量分数和粒径的 MPs 添加能改变新陈代谢、氨基酸的转运和代谢、能量生成和转换等功能组的基因丰度, 显著影响狼尾草根际土壤细菌的功能。本研究采用宏基因组学的方法分析了 MPs 和 Cd 复合污染对狼尾草根际细菌群落和功能的影响, 可为 MPs 重金属复合污染的生态毒理效应及其生物修复提供基础数据和科学依据。

关键词: 微塑料(MPs); 镉(Cd); 狼尾草; 宏基因组; 群落和功能

中图分类号: X55; X820.4 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2023)12-0000-00 DOI: 10.13227/j.hjks.202212135

Effects of Combined Pollution of Microplastics and Cadmium on Microbial Community Structure and Function of *Pennisetum hybridum* Rhizosphere Soil

DUAN Li-yang¹, ZHANG Yu¹, REN Xue-min¹, LI Yu-ying¹, ZHANG Ying-jun², ZHANG Hao¹, HAN Hui¹, CHEN Zhao-jin^{1*}

(1. International Joint Laboratory of Watershed Ecological Security, Collaborative Innovation Center of Water Security for Water Source Region of Middle Route Project of South-North Water Diversion in Henan Province, College of Water Resource and Environment Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China; 2. School of Life Science and Agricultural Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang, 473061, China)

Abstract: The combined pollution of microplastics and heavy metals can potentially interact. This may have an important impact on the growth and development of plants and the rhizosphere microbial community and function. In this study, the effects of heavy metal cadmium combined with different types of microplastics (MPs, PE, and PS), different particle sizes (13 μm and 550 μm), and different concentrations (0.1% and 1%) on *Pennisetum hybridum* growth were studied under pot conditions. The results showed that the effects of the combined pollution of MPs and Cd on plant dry weight and Cd accumulation varied with different types, concentrations, and particle sizes of MPs, and the combined pollution stress increased, whereas the Cd content and Cd accumulation decreased. Metagenomic analysis showed that the combined contamination of MPs and Cd could change the composition of the bacterial community and reduce bacterial diversity, among which the ACE index and Chao1 index in the 550 μm 0.1% PE + Cd treatment group were the most significant. Metagenomic analysis of microbial species function showed that the main functional groups were metabolism, amino acid transport and metabolism, energy generation and conversion, and signal transduction mechanisms. Compared with that under single Cd pollution, the addition of MPs could change the gene abundance of functional groups such as metabolism, amino acid transport and metabolism, and energy generation and conversion, and the effects of different MPs types, concentrations, and particle sizes varied. In this study, metagenomics and amplification sequencing were used to analyze the effects of the combined pollution of MPs and Cd on the bacterial community and function in *P. hybridum* in order to provide basic data and scientific basis for the ecotoxicological effects of the combined heavy metal pollution of MPs and its biological remediation.

Key words: microplastics(MPs); cadmium(Cd); *Pennisetum hybridum*; metagenome; community structure and function

我国现阶段面临着较为严峻的土壤重金属污染问题, 重金属在土壤中难以被微生物所吸收和分解, 在土壤中滞留, 累积到一定程度时还可能被活化, 然后通过食物链进入人体, 重金属的摄入会对人体健康产生不同程度的毒害作用^[1]。近年来, 微塑料(microplastics, MPs)污染作为一种新兴环境污染问题越来越受到研究人员的重视, 其泄露到土壤、水体等自然环境中对整个生态系统产生威胁^[2,3]。MPs 因其体积小且比表面积大等特点, 对植物生长和水分吸收产生影响, 表现出一定的毒性效应或刺激效应^[4]。同时, MPs 对污染物具有较强的吸附能力, 在

环境污染中可能起到“载体”作用, 探究其与其他污染物的共存时的毒性效应和作用机制具有重要意义^[5]。土壤中 MPs 和重金属共存时对植物生长和重金属积累的影响, 目前开展较少^[6,7]。宁瑞艳等^[7]研

收稿日期: 2022-12-16; 修订日期: 2023-01-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(U2004145, 41601332); 河南省高校科技创新人才项目(23HASTIT018); 河南省重点研发专项(221111520600); 河南省中央引导地方科技发展资金项目(Z20221343035); 河南省高等学校重点科研项目(23A610003)

作者简介: 段莉阳(1998~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为微塑料复合污染生态风险, E-mail: 2086059492@qq.com

* 通信作者, E-mail: Zhaojin_chen@163.com

究表明 MPs 的添加促进了东南景天和叶芽鼠耳芥对镉 (Cd) 的吸收, 增强了 Cd 对东南景天生长的抑制作用, 但当 ρ (MPs) 为 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时减弱了对叶芽鼠耳芥的毒害作用. 狼尾草作为能源植物在重金属污染修复研究中具有独特的优势, 但 MPs 和重金属复合污染对狼尾草生长和重金属积累的影响目前尚未开展^[8~10].

土壤微生物是土壤中最活跃的组分, 被认为是植物的“第二大基因组”, 在植物生长和土壤元素生物化学地球循环等过程中均起到重要作用^[11]. 冯雪莹等^[12]研究表明 MPs 和 Cd 都存在于土壤农田中, MPs 能不同程度上改变 Pb 和 Zn 的生物有效性, 同时基于扩增子测序分析表明其对微生物群落组成和功能产生影响. 目前, MPs 重金属复合污染土壤中狼尾草根际微生物群落组成和功能研究尚未开展. 宏基因组学作为新一代测序技术, 能直接分析环境中微生物的 DNA 来获知微生物群落的遗传、功能与生态特征, 在技术上具有先进性^[13]. 因此, 本研究以狼尾草为实验对象, 开展土壤中重金属 Cd ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 与不同 MPs 种类 (聚乙烯 PE、聚苯乙烯 PS)、粒径 ($13 \text{ }\mu\text{m}$ 、 $550 \text{ }\mu\text{m}$) 和质量分数 (0.1%、1%) 复合污染对植物生长和重金属积累的影响, 同时基于宏基因组学分析该过程中微生物群落和功能, 以期对 MPs 重金属复合污染的生态毒理效应及其生物修复提供基础数据和科学依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试狼尾草种子购买自沐阳县拓景园艺有限公司, 挑选大小相近、颗粒饱满和表面无破损的种子

进行实验. MPs 聚乙烯 PE (粒径分别为 $13 \text{ }\mu\text{m}$ 和 $550 \text{ }\mu\text{m}$) 购自中国石油化工有限公司, 聚苯乙烯 PS ($13 \text{ }\mu\text{m}$) 购自广东东莞东明塑化. 供试土壤采集自河南省南阳市南阳师范学院西区石榴园周边, 土壤类型为黄棕土, 采样深度为表层土 $0 \sim 20 \text{ cm}$, 去除杂质和植物残体后, 自然风干研磨成细土, 过 20 目筛备用.

1.2 实验方法和样品采集

盆栽土壤过筛后加 $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 使其 $\omega(\text{Cd})$ 为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 充分搅拌至混匀后晾晒一周, 每盆称入净重 0.75 kg 的土壤. 本实验设计两种 MPs 种类 (PE、PS)、两个粒径 ($13 \text{ }\mu\text{m}$ 、 $550 \text{ }\mu\text{m}$) 和两种 MPs 质量分数 (0.1%、1%), 设置不添加 MPs 不添加 Cd 的处理组 (CK 组), 同时设置不添加 MPs 只添加 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd 污染组 (Cd 组). 每个处理设置 3 个重复, 具体实验设计见表 1. 盆栽种植期间, 浇水使盆栽土壤含水量保持在 75% 左右. 当狼尾草生长 70 d 后收集植物和根际土壤样品. 将盆栽中狼尾草拔出, 采用抖落法收集根际土壤, 然后用清水洗净后浸泡 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 EDTA-2Na 缓冲液中 20 min, 装入信封中放入 100°C 的烘箱中烘干 24 h 后, 测量地上部和地下部的干重. 把地上部和地下部分别研磨成粉, 消解后用 ICP-OES 测定植物不同组织中 Cd 含量^[14].

1.3 根际土壤细菌总 DNA 的提取与宏基因组测序分析

取 0.5 g 根际土壤样品, 用 FastDNA® Spin Kit for Soil 试剂盒提取土壤微生物总 DNA. 采用上海美吉生物医药科技有限公司提供的 Illumina NovaSeq 测序系统进行宏基因组学测序^[15]. 将测序平台得上得

表 1 实验设计

Table 1 Design of experiments

实验分组	MPs 种类	MPs 粒径	$\omega(\text{MPs})/\%$	$\omega(\text{Cd})/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
对照组 (CK)	无 MPs	无	0	0
单一 Cd 污染组 (Cd)	无 MPs	无	0	10
$13 \text{ }\mu\text{m}$ 粒径 0.1% PE + Cd 复合污染 ($13 \text{ }\mu\text{m}$ 0.1% PE + Cd)	PE	13	0.1	10
$13 \text{ }\mu\text{m}$ 粒径 1% PE + Cd 复合污染 ($13 \text{ }\mu\text{m}$ 1% PE + Cd)	PE	13	1	10
$550 \text{ }\mu\text{m}$ 粒径 0.1% PE + Cd 复合污染 ($550 \text{ }\mu\text{m}$ 0.1% PE + Cd)	PE	550	0.1	10
$550 \text{ }\mu\text{m}$ 粒径 1% PE + Cd 复合污染 ($550 \text{ }\mu\text{m}$ 1% PE + Cd)	PE	550	1	10
$13 \text{ }\mu\text{m}$ 粒径 0.1% PS + Cd 复合污染 ($13 \text{ }\mu\text{m}$ 0.1% PS + Cd)	PS	13	0.1	10
$13 \text{ }\mu\text{m}$ 粒径 1% PS + Cd 复合污染 ($13 \text{ }\mu\text{m}$ 1% PS + Cd)	PS	13	1	10

到的原始序列利用 Fastp (v0.20.0) 对原始序列进行质控, 去除长度小于 50bp 和平均碱基质量值低于 20 以及含 N 碱基的序列, 去除宿主污染, 获得优化序列. 采用 MEGAHIT v1.1.2 软件对优化序列进行组装^[16]. 使用 MetaGene 对拼接结果中的重叠群进行基因预测, 选择核酸长度 $\geq 100\text{bp}$ 的基因将其翻

译为氨基酸序列. 用 CD-HIT v4.6.1 软件对所有预测结果进行聚类 (相似度 $\geq 90\%$ 和覆盖率 $\geq 90\%$), 每类取最长的基因作为代表序列, 构建非冗余基因集. 使用 SOAPaligner (v2.21) 分别将每个样品的高质量序列与非冗余基因集进行比对 (相似度 $\geq 95\%$), 统计基因在对应样品中的丰度信息. 基因丰

度计算方法为 Reads Per Kilobase Million,即每 1 百万条序列中,每个基因以 1 000 个碱基为单位,比对上的序列条数.使用 Diamond (v0.8.35) 将非冗余基因集的氨基酸序列与 eggNOG 数据库和 KEGG 数据库进行比对,以获得物种和功能注释.为识别在两样本组中具有显著差异的微生物,基于费舍尔精确检验对两样本进行了组间差异检验,设置 P 值为 0.05.

1.4 数据分析

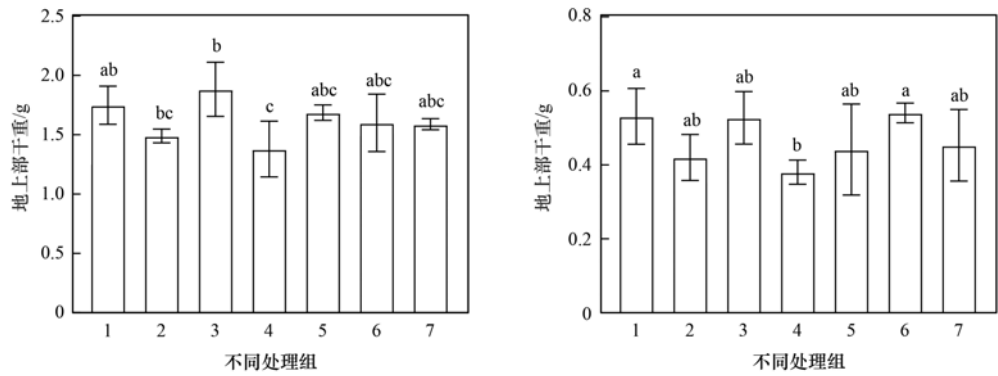
所有数据均有 3 次重复,使用 SPSS 23.0 进行统计分析,显著性差异检验使用 T 检验和单因素方差分析 ($P < 0.05$). 转移系数计算公式:转移系数 =

植物地上部 Cd 含量/根部 Cd 含量^[17].

2 结果与分析

2.1 MPs 和 Cd 复合污染对狼尾草生物量的影响

由图 1 可知,与对照组 CK 相比,MPs 和 Cd 复合污染时地上部只有 13 μm 1% PE + Cd 处理下的干重增加,比例为 7.62%,其余 5 组处理分别降低 14.81%、21.14%、3.60%、5.06% 和 9.17%. 地下部只在 13 μm 0.1% PS + Cd 处理下干重增加了 1.76%,其余 5 组处理分别降低了 20.95%、0.82%、28.42%、16.94% 和 14.74%. 以上结果表明,MPs 和 Cd 复合污染整体呈现对狼尾草生长胁迫增加的趋势.



1. CK, 2. 13 μm 0.1% PE + Cd, 3. 13 μm 1% PE + Cd, 4. 550 μm 0.1% PE + Cd, 5. 550 μm 1% PE + Cd, 6. 13 μm 0.1% PS + Cd, 7. 13 μm 1% PS + Cd; 不同小写字母表示处理之间有显著差异 $P < 0.05$

图 1 狼尾草不同处理的地上部干重和地下部干重

Fig. 1 Dry weight of above-ground part and underground part of different treatments of *Pennisetum hybridum*

2.2 狼尾草各部位 Cd 含量、积累量和转移系数

由表 2 可知,单一 Cd 处理组地上部和地下部 $\omega(\text{Cd})$ 分别为 $3.595 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $2.888 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,不同 MPs 和 Cd 复合污染处理组地上部 Cd 含量均下降,下降比例为 16.31%~84.05%. MPs 和 Cd 复合污染处理组地下部 Cd 含量与地上部相似,下降比例为 5.83%~71.26%. MPs 和 Cd 复合污染处理组中 13 μm 1% PE + Cd 处理组 Cd 含量地下部和地上部均为最低,550 μm 1% PE + Cd 处理组 Cd 含量均为最高.

与单一 Cd 处理组地上部和地下部 Cd 积累量相比,不同 MPs 和 Cd 复合污染处理组地上部和地

下部 Cd 积累量均有所下降,下降比例分别为 23.34%~84.82% 和 9.35%~67.94%. MPs 和 Cd 复合污染处理组中 550 μm 1% PE + Cd 处理组地上部 Cd 积累最高,为 $5.082 \text{ mg}\cdot\text{pot}^{-1}$,13 μm 1% PE + Cd 处理组地下部 Cd 积累最高,为 $1.217 \text{ mg}\cdot\text{pot}^{-1}$.

处理也能对植物转移系数 (TF) 产生影响,与单一 Cd 处理组的转运系数 1.25 相比,550 μm 1% PE + Cd 处理组转移系数有所增加,为 1.348 6,增加了 7.89%; 其余处理组转运系数均降低,降低比例为 7.42%~55.73%,13 μm 0.1% PS + Cd 处理组转运系数最低,为 0.553 3.

表 2 狼尾草各部位 Cd 的含量、积累量和转移系数¹⁾

Table 2 Content, accumulation, and transfer factor of Cd in different parts of *Pennisetum hybridum*

实验处理	地上部 $\omega(\text{Cd})$ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	地下部 $\omega(\text{Cd})$ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	地上部 Cd 积累量 / $\text{mg}\cdot\text{pot}^{-1}$	地下部 Cd 积累量 / $\text{mg}\cdot\text{pot}^{-1}$	转移系数
Cd	$3.595 \pm 0.32\text{a}$	$2.888 \pm 0.18\text{a}$	$6.6289 \pm 1.11\text{a}$	$1.3424 \pm 0.48\text{a}$	$1.2500 \pm 0.386\text{ab}$
13 μm 0.1% PE + Cd	$1.102 \pm 0.33\text{c}$	$1.102 \pm 0.14\text{c}$	$1.6518 \pm 0.54\text{c}$	$0.4679 \pm 0.13\text{c}$	$1.0351 \pm 0.413\text{ab}$
13 μm 1% PE + Cd	$0.625 \pm 0.09\text{c}$	$0.830 \pm 0.15\text{c}$	$1.1877 \pm 0.31\text{c}$	$0.4303 \pm 0.02\text{c}$	$0.7780 \pm 0.237\text{abc}$
550 μm 0.1% PE + Cd	$0.728 \pm 0.02\text{b}$	$1.545 \pm 0.82\text{bc}$	$1.0059 \pm 0.18\text{c}$	$0.6023 \pm 0.35\text{bc}$	$0.5642 \pm 0.274\text{bc}$
550 μm 1% PE + Cd	$3.008 \pm 0.029\text{b}$	$2.298 \pm 0.39\text{ab}$	$5.0819 \pm 0.65\text{b}$	$1.0376 \pm 0.40\text{abc}$	$1.3486 \pm 0.352\text{c}$
13 μm 0.1% PS + Cd	$0.763 \pm 0.26\text{c}$	$1.668 \pm 1.04\text{bc}$	$1.1990 \pm 0.37\text{c}$	$0.9100 \pm 0.58\text{abc}$	$0.5533 \pm 0.278\text{a}$
13 μm 1% PS + Cd	$3.158 \pm 0.56\text{b}$	$2.720 \pm 0.33\text{a}$	$5.0299 \pm 1.01\text{b}$	$1.2168 \pm 0.18\text{ab}$	$1.1572 \pm 0.164\text{c}$

1) 不同小写字母表示同一列内处理之间有显著差异 $P < 0.05$

2.3 MPs 和 Cd 复合污染对土壤细菌群落组成的影响

2.3.1 α 多样性指数

微生物 α 多样性指数如表 3 所示,包括 Sobs 指数(实测 OTU 数目)、Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数^[18]. 与对照组 Cd 相比,不同 MPs 和 Cd 复合污染组 Chao1 指数和 Sobs 指数均降低,其中 550 μm 0.1% PE + Cd 处理组最

低,分别降低了 9.62% 和 10.62%; ACE 指数只有 13 μm 0.1% PS + Cd 处理组增加,增加了 2.06%,其余处理组均降低,分别降低了 5.11%、8.81%、9.90%、1.52% 和 6.43%,其中 550 μm 0.1% PE + Cd 处理组降低最多; Shannon 指数处理组 13 μm 0.1% PE + Cd、550 μm 1% PE + Cd 和 13 μm 1% PE + Cd 增加,13 μm 1% PE + Cd、550 μm 0.1% PE + Cd 和 13 μm 0.1% PS + Cd 降低.

表 3 不同样品土壤细菌群落多样性评估¹⁾

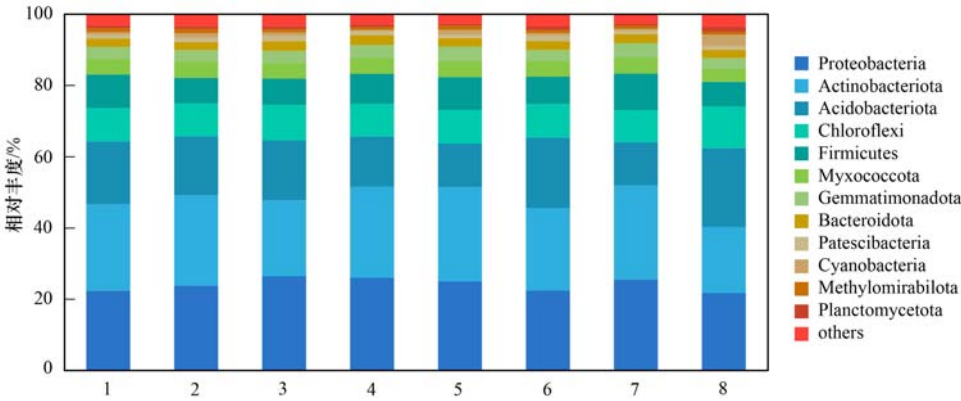
实验处理	ACE 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Sobs 指数
Cd	4 798 ± 168ab	4 796 ± 152a	6.515 ± 0.057ab	0.004 6 ± 0.001ab	3 364 ± 108a
13 μm 0.1% PE + Cd	4 553 ± 29bcd	4 506 ± 50bc	6.691 ± 0.069a	0.004 3 ± 0.000b	3 354 ± 95a
13 μm 1% PE + Cd	4 376 ± 193d	4 401 ± 125bc	6.597 ± 0.079ab	0.005 0 ± 0.001ab	3 114 ± 166bc
550 μm 0.1% PE + Cd	4 323 ± 228d	4 334 ± 211c	6.551 ± 0.109ab	0.005 1 ± 0.001ab	3 007 ± 169c
550 μm 1% PE + Cd	4 725 ± 139abc	4 677 ± 197ab	6.674 ± 0.018ab	0.004 3 ± 0.000b	3 339 ± 87a
13 μm 0.1% PS + Cd	4 897 ± 270a	4 458 ± 137bc	6.509 ± 0.099b	0.006 1 ± 0.001ab	3 047 ± 100c
13 μm 1% PS + Cd	4 490 ± 70bcd	4 482 ± 114bc	6.688 ± 0.052a	0.004 3 ± 0.000b	3 289 ± 55ab

1) 不同小写字母表示同一列内处理之间有显著差异 $P < 0.05$

2.3.2 组成分析

群落组成分析表明,狼尾草根际细菌由 41 个门和 976 个属组成. 门水平上主要有变形杆菌门(Proteobacteria, 22.29% ~ 26.35%, 占比,下同)、放线杆菌门(Actinobacteriota, 18.52% ~ 26.51%)、酸性细菌门(Acidobacteriota, 12.06% ~ 22.15%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 9.03% ~ 11.76%)、厚壁菌门(Firmicutes, 6.83% ~ 10.27%)、赭骨细菌门(Patescibacteria, 3.60% ~ 4.53%)和蓝藻门(Cyanobacteria, 3.12% ~ 4.05%)等优势菌门,占全部序列的 90% ~ 96% (图 2). 与对照组 CK 相比, Cd 处理组、13 μm 0.1% PE + Cd、13 μm 1% PE + Cd、550 μm 0.1% PE + Cd 和 13 μm 0.1% PS + Cd 处理

组中变形杆菌门丰度增加,分别增长了 6.75%、18.64%、16.66%、12.25 和 14.32%; Cd 处理组、13 μm 1% PE + Cd、550 μm 0.1% PE + Cd 和 13 μm 0.1% PS + Cd 处理中放线杆菌门丰度增加,分别增长了 4.06%、5.17%、8.66% 和 8.83%. 属水平上芽孢杆菌属(*Bacillus*, 4.91% ~ 7.77%)、厌氧菌属(*norank_f_norank_o_Vicinamibacteralesnorank*, 3.42% ~ 6.98%)、鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*, 3.27 ~ 4.42%)和诺兰克氏念珠菌属(*norank_f_Vicinamibacteraceae*, 1.95% ~ 4.47%)等优势菌属组成,占全部序列的 50% ~ 60%. 与 CK 相比, 13 μm 0.1% PS + Cd 处理组芽孢杆菌属丰度增加,增长了 4.44%; 13 μm 0.1% PE + Cd、550 μm 1% PE + Cd



1. CK, 2. Cd, 3. 13 μm 0.1% PE + Cd, 4. 13 μm 1% PE + Cd, 5. 550 μm 0.1% PE + Cd, 6. 550 μm 1% PE + Cd, 7. 13 μm 0.1% PS + Cd, 8. 13 μm 1% PS + Cd; Myxococcota: 粘球菌门, Gemmatimonadota: 芽单胞菌门, Bacteroidota: 拟杆菌门, Cyanobacteria: 浮霉菌门; Methyloirabillota

图 2 门分类水平上细菌群落相对丰度分布

Fig. 2 Relative abundance of sequences at the phylum level of the bacterial community

和 13 μm 1% PS + Cd 处理组厌氧菌属丰度增加, 分别增长了 2.80%、26.24% 和 39.56%。以上结果表明, 不同种类、粒径和质量分数 MPs 和 Cd 复合污染处理能改变狼尾草根际土壤细菌群落组成。

2.4 根际细菌功能分析

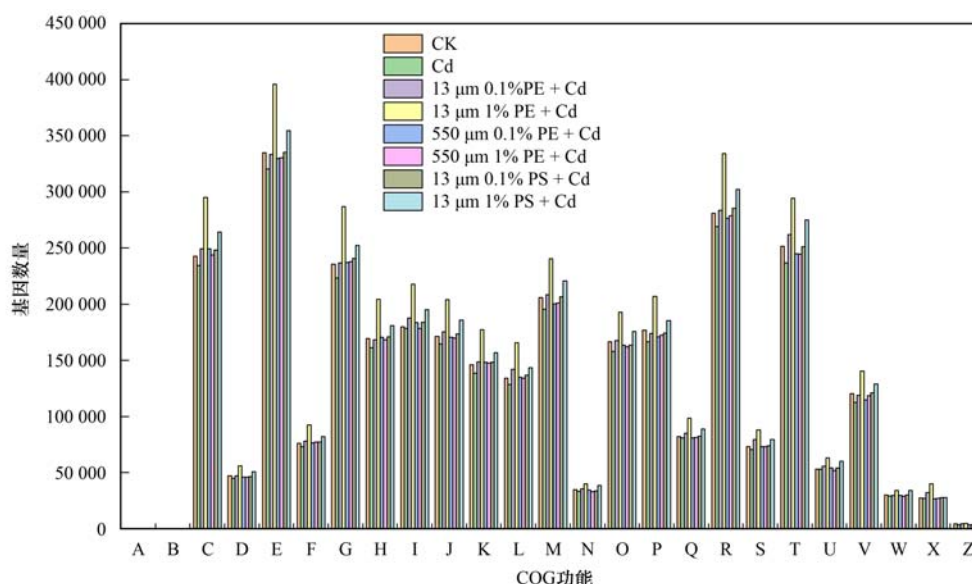
2.4.1 功能组成分析

比对 Egg NOG 数据库后, 对不同处理组狼尾草根际土壤细菌功能进行了 COG 功能注释^[19], 如图 3 所示。在 COG 中共注释到 4 个大类, 分为 25 个功能组。新陈代谢 (metabolism) 在 8 组样品中的总丰度最高, 占总丰度的 45.98%, 信号储存和处理最低 (information storage and processing), 占总丰度的 14.56%。氨基酸的转运和代谢 (amino acid transport and metabolism)、能量生成和转换 (energy production and conversion) 及信号转导机制 (signal transduction mechanisms) 是相对丰度前 3 的功能基因, 染色质结构和动力学 (chromatin structure and dynamics) 相对丰度最低。与单一 Cd 污染相比, 不同 MPs 种类、质量分数和粒径的 MPs 添加能提高新陈代谢、氨基酸的转运和代谢、能量生成和转换等功能组的基因丰度, 影响因组合的不同有所差异。其中在复合污染处理中, 13 μm 1% PE + Cd 处理组在 25

个功能组中基因数量均为最高值, 550 μm 0.1% PE + Cd 和 550 μm 1% PE + Cd 处理组在 25 个功能组中基因数量均为较低值。

2.4.2 狼尾草根际土壤细菌功能组间差异分析

采用费舍尔精确检验, 对不同品种、粒径和质量分数 MPs 和 Cd 复合污染处理间 COG 功能进行组间差异分析^[20]。由表 4 可知, 当处理中的 MPs 种类和粒径相同, 但质量分数不同时, 氨基酸的转运和代谢、辅酶转运和代谢和一般功能预测均存在显著差异, 细胞骨架均无显著差异, 其中 13 μm 0.1% PE + Cd 与 13 μm 1% PE + Cd 之间 COG 功能分组显著差异最多, 为 15 组。当处理中的 MPs 种类和质量分数相同, 但粒径不同时氨基酸的转运和代谢、细胞壁/细胞膜/包膜生物发生和复制重组修复等六个功能组均存在显著差异, 细胞内运输、分泌和囊泡运输均无显著差异。当处理中的 MPs 质量分数和粒径相同, 但种类不同时, 氨基酸的转运和代谢、信号转导机制和碳水化合物化合物的运输等 9 个功能组均存在显著差异, 细胞周期控制、细胞分裂、染色体分割和细胞骨架均无显著差异。以上结果表明, 在复合污染中不同 MPs 品种、粒径和质量分数均能显著影响狼尾草根际土壤细菌的功能。



A. RNA 加工和修饰, B. 染色质结构和动力学, C. 能源生产和转换, D. 细胞周期控制、细胞分裂和染色体分割, E. 氨基酸的转移和代谢, F. 核苷酸转运和代谢, G. 碳水化合物的运输和代谢, H. 辅酶转运和代谢, I. 脂质运输和代谢, J. 翻译、核糖体结构和生物发生, K. 翻译, L. 复制、重组和修复, M. 细胞壁/细胞膜/包膜生物发生, N. 细胞能动性, O. 翻译后修饰、蛋白质周转和伴侣蛋白, P. 无机离子转移和代谢, Q. 次生代谢物的生物合成、运输和分解代谢, R. 一般功能预测, S. 未知, T. 信号转导机制, U. 细胞内运输、分泌和囊泡运输, V. 防御机制, W. 细胞外结构, X. 移动组, 原噬菌体和转座子, Y. 细胞骨架, Z. 细胞骨架; A 中 RNA 加工和修饰功能的基因数量如下, CK; 234, Cd; 234, 13 μm 0.1% PE + Cd; 270, 13 μm 1% PE + Cd; 244, 550 μm 0.1% PE + Cd; 194, 550 μm 1% PE + Cd; 262, 13 μm 0.1% PS + Cd; 216, 13 μm 1% PS + Cd; 260, B 中染色质结构和动力学的基因数量为如下, CK; 172, Cd; 146, 13 μm 0.1% PE + Cd; 136, 13 μm 1% PE + Cd; 170, 550 μm 0.1% PE + Cd; 126, 550 μm 1% PE + Cd; 90, 13 μm 0.1% PS + Cd; 106, 13 μm 1% PS + Cd; 154

图 3 不同处理下狼尾草根际细菌 COG 功能注释

Fig. 3 COG functional annotation of *Pennisetum hybridum* rhizosphere bacteria in different treatments

表 4 狼尾草根际土壤细菌 COG 功能组间差异性¹⁾

Table 4 Differences in COG functional groups of bacteria in <i>Pennisetum hydridum</i> rhizosphere soil							
COG 功能组	13 μm 0.1% PE + Cd 与 13 μm 1% PE + Cd	550 μm 0.1% PE + Cd 与 550 μm 1% PE + Cd	13 μm 0.1% PS + Cd 与 13 μm 1% PS + Cd	13 μm 0.1% PE + Cd 与 550 μm 0.1% PE + Cd	13 μm 1% PE + Cd 与 550 μm 1% PE + Cd	13 μm 0.1% PE + Cd 与 13 μm 0.1% PS + Cd	13 μm 1% PE + Cd 与 13 μm 1% PS + Cd
氨基酸的转运和代谢 (amino acid transport and metabolism)	***	*	***	***	**	***	**
一般功能预测 (general function prediction only)	*	***	**		**	***	
信号转导机制 (signal transduction mechanisms)	***		***	***		***	***
能源生产和转换 (energy production and conversion)	***	***		***		*	
碳水化合物的运输和代谢 (carbohydrate transport and metabolism)	***		***	***		***	***
细胞壁/细胞膜/包膜生物发生 (cell wall/membrane/envelope biogenesis)	***	*		***	***		***
脂质运输和代谢 (lipid transport and metabolism)	***	***			***	***	
无机离子转运和代谢 (inorganic ion transport and metabolism)	***	***		*		***	
翻译、核糖体结构和生物发生 (translation, ribosomal structure and biogenesis)	***						***
辅酶转运和代谢 (coenzyme transport and metabolism)	***	**	**	***		***	***
翻译后修饰, 蛋白质周转, 伴侣蛋白 (posttranslational modification, protein turnover, chaperones)	***		*		***	***	***
翻译 (transcription)	***		*	***			***
复制、重组和修复 (replication, recombination and repair)			***	***	***	***	***
防御机制 (defense mechanisms)	*	***		*	***	***	***
次生代谢物的生物合成、运输和分解代谢 (secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism)	**		*	***		***	
核苷酸转运和代谢 (nucleotide transport and metabolism)		**			*		**
未知 (function unknown)	***			***		***	
细胞内运输、分泌和囊泡运输 (intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport)		***	***			*	***
细胞周期控制、细胞分裂、染色体分割 (cell cycle control, cell division, chromosome partitioning)			***				
细胞能动性 (cell motility)		***	***			***	***
移动组: 原噬菌体, 转座子 (mobilome: prophages, transposons)			***	***	***		***
细胞外结构 (extracellular structures)		**	***	**	*		***
细胞骨架 (cytoskeleton)				***			
RNA 加工和修饰 (RNA processing and modification)		**			**		
染色质结构和动力学 (chromatin structure and dynamics)		*	*		***		

1) * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$, *** 表示 $P < 0.001$, 未标注为没有显著差异

3 讨论

3.1 Cd 与 MPs 复合污染影响狼尾草生长和 Cd 积累

MPs 和重金属在土壤中单独存在时能通过影响土壤理化性质、对植物直接产生胁迫从而影响植物的生长^[21]. MPs 和重金属复合存在时, MPs 具有较大的比表面积, 可以作为污染物的载体加剧重金属的毒性^[22]. 本研究对狼尾草生物量的测定结果表

明, 复合污染处理中除 13 μm 0.1% PS + Cd 外, 地下部和地上部干重降低 0.82% ~ 28.42% 和 3.60% ~ 21.14%, 整体呈现复合污染胁迫增加的趋势. 刘莹莹等^[23]研究了聚乙烯微塑料对绿豆发芽的毒性效果, 指出聚乙烯微塑料的植物毒性与粒径和质量分数密切相关, 粒径越小、质量分数越高, 其植物毒性可能越强. 本研究对比分析 PE + Cd 复合污染中粒径 550 μm 地上部和地下部生物量均低于 13 μm,

表明 MPs 和重金属复合污染时粒径越小复合污染毒性越大。

有研究表明不同种类的 MPs 对 Cd 的吸附能力具有差异,且对不同质量分数 Cd 的吸附能力不同,因此推断 MPs 与 Cd 联合作用对植物的作用机制差异较大^[24]。MPs 可能会改变重金属在土壤中的流动性和生物有效性,对植物生长和重金属积累产生影响。本研究对狼尾草重金属含量和积累量测定表明 MPs + Cd 复合污染处理组地上部和地下部 Cd 含量均下降,比例分别为 16.31%~84.05% 和 5.83%~71.26%。MPs + Cd 复合污染处理组地上部和地下部 Cd 积累量均有所下降,下降比例分别为 23.34%~84.82% 和 9.35%~67.94%。有研究表明土壤中的 MPs 通过物理吸附和共沉降,能降低重金属的交换态、碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态,增加有机结合态,这样的作用会降低重金属在土壤中的生物有效性和迁移率,从而降低植物重金属的积累^[25]。另外降低重金属吸收的原因可能是与 MPs 添加到土壤之后抑制狼尾草水分吸收,进而影响水溶性 Cd 进入植物体内有关^[26]。

3.2 Cd 与 MPs 复合污染影响狼尾草根际土壤细菌群落和功能

根际微生物能直接参与和影响植物的生理过程,土壤环境的变化更会直接影响到微生物群落结构和功能^[27]。Feng 等^[28]研究表明,MPs 对微生物群落的丰富度和多样性产生了负面影响,其影响因素主要是 MPs 的类型和质量分数。本研究实验结果表明与之一致,MPs 重金属复合污染中 Chao1 指数和 Sobs 指数均降低,表明复合处理会对土壤细菌群落产生胁迫,降低其多样性。复合污染降低细菌多样性因 MPs 种类、质量分数和粒径不同有所差异。Feng 等^[28]研究表明相较于单一重金属污染,MPs 导致的土壤性质(pH、DOC、 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N)和提取态重金属(DTPA-Pb 和 DTPA-Zn)与微生物群落多样性和组成有显著负相关性。本实验中不同 MPs 品种、粒径和质量分数对土壤有效态重金属和理化性质等的影响未进行测定,后续需加以测定,分析不同 MPs 类型、粒径、质量分数和与土壤重金属的交互作用对微生物群落组成的影响^[29]。

在重金属和 MPs 等胁迫条件下,具有相应耐受能力的微生物得以富集生长^[30]。在组成上,MPs 与 Cd 复合污染土壤中以变形杆菌门、放线杆菌门、酸性细菌门、绿弯菌门和厚壁菌门等优势菌门组成,这些优势菌门广泛存在其他重金属和 MPs 污染土壤中^[31,32]。其中变形杆菌门作为重金属和 MPs 抗性微生物在复合污染中比例得以提升^[32]。属的水平

上由芽孢杆菌属、鞘脂单胞菌属、诺兰克氏念珠菌属等优势菌属组成,其中芽孢杆菌属和鞘脂单胞菌属是已报道的重金属抗性细菌,广泛存在不同的重金属土壤中^[31,33]。同时,MPs 的添加 MPs 能够为这些微生物提供附着点,芽孢杆菌属和鞘脂单胞菌属是 MPs 表面生物膜的重要组成,在 MPs 降解中起到重要作用^[34,35]。

MPs 与 Cd 复合污染导致的微生物群落变化可能会影响代谢功能的多样性。Feng 等^[28]采用扩增子测序结合 PICRUSt2 功能预测分析表明 MPs 增加了次生代谢产物的生物合成、核苷酸代谢、萜类和聚酮化合物代谢等功能基因丰度。但正如 Feng 等^[28]指出的 PICRUSt2 功能预测分析有一定的局限性,需要结合宏基因组测序等更为准确的技术掌握 MPs 引起的基因组学变化。目前宏基因组在 MPs 与 Cd 复合污染中应用较少,本研究通过宏基因组分析发现与单一 Cd 污染相比,不同 MPs 种类、质量分数和粒径的 MPs 添加能提高新陈代谢、氨基酸的转运和代谢、能量生成和转换等功能组的基因丰度,影响因组合的不同有所差异,这与 Fei 等^[36]分析的 PE 和 PVC 添加能提高膜转运蛋白(membrane transporters)和信号转导等丰度的研究结论相似。不同样品功能分组差异分析,发现氨基酸的转运和代谢在所有分组之间均呈现显著差异($P < 0.05$),另外辅酶转运和代谢、信号转导机制、能源生产和转换、碳水化合物的运输和代谢等都是差异的主体。以上功能分组也是其他研究者分析的 MPs 污染土壤中微生物功能的主要组成,在微生物耐受 MPs 和重金属污染中可能起到重要作用^[28,37~40]。总体来看,不同处理的根际土壤中微生物的代谢功能产生差异,微生物多样性也会降低,体现了重金属和 MPs 复合污染胁迫能影响微生物多样性和物种功能。

5 结论

(1) 不同种类、粒径和质量分数的 MPs 和 Cd 复合污染对狼尾草生物量、Cd 含量和积累量产生影响,整体呈现复合污染胁迫增加的趋势。

(2) MPs 和 Cd 复合污染能影响狼尾草根际土壤群落组成。

(3) 不同种类、粒径和质量分数的 MPs 和 Cd 复合污染会对土壤细菌群落产生胁迫,降低其多样性,影响因组合的不同有所差异。

(4) 宏基因组分析表明与单一 Cd 污染相比,不同 MPs 品种、粒径和质量分数的 MPs 添加能提高新陈代谢、氨基酸的转运和代谢、能量生成和转换等功能组的基因丰度,显著影响狼尾草根际土壤细

菌的功能.

参考文献:

- [1] 周建军, 周桔, 冯仁国. 我国土壤重金属污染现状及治理战略[J]. 中国科学院院刊, 2014, **29**(3): 315-320, 350.
Zhou J J, Zhou J, Feng R G. Status of China's heavy metal contamination in soil and its remediation strategy[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2014, **29**(3): 315-320, 350.
- [2] Wang F Y, Wang Q L, Adams C A, *et al.* Effects of microplastics on soil properties: current knowledge and future perspectives[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, **424**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127531.
- [3] 朱宇恩, 文瀚萱, 李唐慧娟, 等. 汾河沿岸农田土壤微塑料分布特征及成因解析[J]. 环境科学, 2021, **42**(8): 3894-3903.
Zhu Y E, Wen H X, Li T H X, *et al.* Distribution and sources of microplastics in farmland soil along the Fenhe river [J]. Environmental Science, 2021, **42**(8): 3894-3903.
- [4] 杜云燕, 张大为, 陈红松, 等. 镉胁迫对2种油菜土壤真菌群落的影响[J]. 微生物学通报, 2021, **48**(11): 4030-4045.
Du Y Y, Zhang D W, Cheng H S, *et al.* Effect of cadmium stress on the soil fungal communities of two oilseed rape species [J]. Microbiology China, 2021, **48**(11): 4030-4045.
- [5] Sarkar D J, Das Sarkar S, Das B K, *et al.* Occurrence, fate and removal of microplastics as heavy metal vector in natural wastewater treatment wetland system [J]. Water Research, 2021, **192**, doi: 10.1016/j.watres.2021.116853.
- [6] 王铁军, 苏楠楠, 雷鹏, 等. 重金属污染农田生菜根际重金属固定细菌群落组成及其阻控效应[J]. 环境科学, 2019, **40**(11): 5133-5141.
Wang T J, Su N N, Lei P, *et al.* Community structure of heavy metal immobilized bacteria in the Lettuce (*Lactuca sativa* L.) rhizosphere in soil polluted by heavy metals and its effects on reducing heavy metal accumulation in Lettuce[J]. Environmental Science, 2019, **40**(11): 5133-5141.
- [7] 宁瑞艳, 刘娜, 程红艳, 等. 微塑料和镉及其复合对超富集植物生长和富集镉的影响[J]. 环境科学学报, 2022, **42**(6): 415-425.
Ning R Y, Liu N, Cheng H Y, *et al.* Effects of microplastics, cadmium and their combination on the growth and cadmium accumulation of hyperaccumulators [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2022, **42**(6): 415-425.
- [8] 程薛霖, 贾丽萍, 常粟淮, 等. 狼尾草对铬、镍复合型污染土壤修复的潜力[J]. 闽南师范大学学报(自然科学版), 2022, **35**(1): 77-83.
Cheng X L, Jia L P, Chang S H, *et al.* Potential of *Pennisetum alopecuroides* for remediation of Cr and Ni contaminated soil[J]. Journal of Minnan Normal University (Natural Science), 2022, **35**(1): 77-83.
- [9] 杨云, 王晨骄, 郭嘉航, 等. 镉胁迫对鬼针草和狼尾草种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2022, **42**(1): 58-63.
Yang Y, Wang C J, Guo J H, *et al.* The effects of cadmium stress on seed germination and seedling growth of *Bidens pilosa* (L.) and *Pennisetum Alopecuroides* (L.) [J]. Journal of Yunnan Normal University (Natural Sciences Edition), 2022, **42**(1): 58-63.
- [10] Huang D L, Zhou W, Chen S, *et al.* Presence of polystyrene microplastics in Cd contaminated water promotes Cd removal by nano zero-valent iron and ryegrass (*Lolium Perenne* L.) [J]. Chemosphere, 2022, **303**, doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.134729.
- [11] Jacoby R, Peukert M, Succurro A, *et al.* The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition—current knowledge and future directions[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, **8**, doi: 10.3389/fpls.2017.01617.
- [12] 冯雪莹, 孙玉焕, 张书武, 等. 微塑料对土壤-植物系统的生态效应[J]. 土壤学报, 2021, **58**(2): 299-313.
Feng X Y, Sun Y H, Zhang S W, *et al.* Ecological effects of microplastics on soil-plant systems[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, **58**(2): 299-313.
- [13] 贺纪正, 袁超磊, 沈菊培, 等. 土壤宏基因组学研究方法与进展[J]. 土壤学报, 2012, **49**(1): 155-164.
He J Z, Yuan C L, Shen J P, *et al.* Methods for and progress in research on soil metagenomics [J]. Acta Pedologica Sinica, 2012, **49**(1): 155-164.
- [14] Chen Z J, Tian W, Li Y J, *et al.* Responses of rhizosphere bacterial communities, their functions and their network interactions to Cd stress under phytostabilization by *Miscanthus* spp[J]. Environmental Pollution, 2021, **287**, doi: 10.1016/j.envpol.2021.117663.
- [15] Du K, Yang F, Zhang J T, *et al.* Comparative genomic analysis of five freshwater cyanophages and reference-guided metagenomic data mining[J]. Microbiome, 2022, **10**, doi: 10.1186/s40168-022-01324-w.
- [16] Li D H, Luo R B, Liu C M, *et al.* MEGAHIT v1.0: A fast and scalable metagenome assembler driven by advanced methodologies and community practices[J]. Methods, 2016, **102**: 3-11.
- [17] Ju W L, Liu L, Fang L C, *et al.* Impact of co-inoculation with plant-growth-promoting rhizobacteria and rhizobium on the biochemical responses of alfalfa-soil system in copper contaminated soil[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, **167**: 218-226.
- [18] 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**, doi: 10.1016/j.soilbio.2021.108211.
- [19] Cantalapiedra C P, Hernández-Plaza A, Letunic I, *et al.* eggNOG-mapper v2: functional annotation, orthology assignments, and domain prediction at the metagenomic scale [J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, **38**(12): 5825-5829.
- [20] 王国峥, 陈笔, 卢建军, 等. 基于宏基因组学测序技术分析三个轮次高温大曲微生物群落[J]. 食品科学, 2022, <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20221110.2134.040.html>, 2022-11-11. (正式出版以后补充年卷期号及页码)
- Wang G Z, Chen B, Lu J J, *et al.* Analysis of microbial communities in three batches high-temperature Daqu based on metagenomics technology [J]. Food Science, 2022, <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20221110.2134.040.html>, 2022-11-11.
- [21] Kumar R, Ivy N, Bhattacharya S, *et al.* Coupled effects of microplastics and heavy metals on plants: Uptake, bioaccumulation, and environmental health perspectives [J]. Science of the Total Environment, 2022, **836**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.155619.
- [22] Cao Y X, Zhao M J, Ma X Y, *et al.* A critical review on the interactions of microplastics with heavy metals: mechanism and their combined effect on organisms and humans[J]. Science of the Total Environment, 2021, **788**, doi: 10.1016/j.scitotenv.

- 2021.147620.
- [23] 刘莹莹, 张旗, 崔文智, 等. 聚乙烯微塑料对绿豆发芽的毒性研究[J]. 环境与发展, 2019, **31**(5): 123-125.
Liu Y Y, Zhang Q, Cui W Z, *et al.* Toxicity of polyethylene microplastics to seed germination of mung bean[J]. Environment and Development, 2019, **31**(5): 123-125.
- [24] 王泽正, 杨亮, 李婕, 等. 微塑料和镉及其复合对水稻种子萌发的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, **40**(1): 44-53.
Wang Z Z, Yang L, Li J, *et al.* Single and combined effects of microplastics and cadmium on the germination characteristics of rice seeds[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, **40**(1): 44-53.
- [25] Yu H, Hou J H, Dang Q L, *et al.* Decrease in bioavailability of soil heavy metals caused by the presence of microplastics varies across aggregate levels[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, **395**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122690.
- [26] 陈春乐, 刘雅慧, 田甜. 几种典型微塑料对镉离子的吸附行为及其影响因素研究[J]. 安全与环境学报, 2022, doi: 10.13637/j.issn.1009-6094.2022.0844. (查阅所有网上资料, 未找到卷期页码信息, 请核对补充)
Chen C L, Liu Y H, Tian T. Study on the adsorption behaviors of cadmium ion by several typical microplastics and its influencing factors[J]. Journal of Safety and Environment, 2022, doi: 10.13637/j.issn.1009-6094.2022.0844.
- [27] 庞发虎, 李晓琦, 段莉阳, 等. 基于高通量测序和代谢组学解析重金属污染对农田微生物群落组成和功能的影响[J]. 环境科学, 2022, **43**(8): 4333-4341.
Pang F H, Li X Q, Duan L Y, *et al.* High-throughput sequencing combined with metabonomics to analyze the effect of heavy metal contamination on farmland soil microbial community and function[J]. Environmental Science, 2022, **43**(8): 4333-4341.
- [28] Feng X Y, Wang Q L, Sun Y H, *et al.* Microplastics change soil properties, heavy metal availability and bacterial community in a Pb-Zn-contaminated soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, **424**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127364.
- [29] Yi M L, Zhou S H, Zhang L L, *et al.* The effects of three different microplastics on enzyme activities and microbial communities in soil[J]. Water Environment Federation, 2021, **93**(1): 24-32.
- [30] Zhao X Q, Sun Y, Huang J, *et al.* Effects of soil heavy metal pollution on microbial activities and community diversity in different land use types in mining areas[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, **27**(16): 20215-20226.
- [31] Yang G L, Zheng M M, Liao H M, *et al.* Influence of cadmium and microplastics on physiological responses, ultrastructure and rhizosphere microbial community of duckweed[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, **243**, doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.114011.
- [32] Alotaibi B S, Khan M, Shamim S. Unraveling the underlying heavy metal detoxification mechanisms of *Bacillus* species[J]. Microorganisms, 2021, **9**(8), doi: 10.3390/microorganisms9081628.
- [33] Asaf S, Numan M, Khan A L, *et al.* *Sphingomonas*: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2020, **40**(2): 138-152.
- [34] Chen Y, Wang X B, Wang X L, *et al.* Biofilm structural and functional features on microplastic surfaces in greenhouse agricultural soil[J]. Sustainability, 2022, **14**(12), doi: 10.3390/su14127024.
- [35] Kelly J J, London M G, McCormick A R, *et al.* Wastewater treatment alters microbial colonization of microplastics[J]. PLoS One, 2021, **16**(1), doi: 10.1371/journal.pone.0244443.
- [36] Fei Y F, Huang S Y, Zhang H B, *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**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135634.
- [37] Bao R Q, Cheng Z R, Hou Y P, *et al.* Secondary microplastics formation and colonized microorganisms on the surface of conventional and degradable plastic granules during long-term UV aging in various environmental media[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, **439**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.129686.
- [38] Giangieri G, Morlino M S, De Bernardini N, *et al.* Preliminary investigation of microorganisms potentially involved in microplastics degradation using an integrated metagenomic and biochemical approach[J]. Science of the Total Environment, 2022, **843**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.157017.
- [39] Sun Y Z, Duan C X, Cao N, *et al.* Effects of microplastics on soil microbiome: The impacts of polymer type, shape, and concentration[J]. Science of the Total Environment, 2022, **806**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.150516.
- [40] 陈玉芳, 闫振华, 张燕, 等. 城市水体微塑料垂直分布下附着细菌群落结构和功能响应[J]. 环境科学, 2022, **43**(6): 3088-3096.
Chen Y F, Yan Z H, Zhang Y, *et al.* Community structure and microbial function responses of biofilms colonizing on microplastics with vertical distribution in urban water[J]. Environmental Science, 2022, **43**(6): 3088-3096.