酚醛泡沫对蚯蚓及土壤微生物活性的影响

罗秋萍, 李虎, 苏建强

引用本文:

罗秋萍, 李虎, 苏建强. 酚醛泡沫对蚯蚓及土壤微生物活性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2022, 41(5): 976-010-1.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1120>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

蚯蚓对金霉素污染土壤酶活性和微生物群落的影响

杨思德, 常兴平, 潘政, 李明堂, 翁莉萍, 李永涛, 赵丽霞

农业环境科学学报. 2021, 40(6): 1268-1280 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1470>

高效氟吡甲禾灵对潮土微生物呼吸及酶活性的影响

程亚南, 王振东, 任秀娟, 郭彦玲, 刘根源

农业环境科学学报. 2021, 40(5): 1026-1033 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1096>

常用农药对赤子爱胜蚓急性毒性和抗氧化酶系的影响

姜锦林, 单正军, 周军英, 卜元卿, 田丰

农业环境科学学报. 2017, 36(3): 466-473 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1095>

草坪基质添加碳纳米材料对高羊茅生长和蚯蚓生理的影响

王彦力, 白雪, 多立安, 赵树兰

农业环境科学学报. 2019, 38(4): 773-778 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0851>

杀螟丹和Cr⁶⁺复合污染对赤子爱胜蚓的毒性研究

朱艳, 高晨昕, 孟雨婷, 肖娴, 刘建国, 赵远

农业环境科学学报. 2021, 40(2): 300-309 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0934>

关注微信公众号, 获得更多资讯信息

罗秋萍, 李虎, 苏建强. 酚醛泡沫对蚯蚓及土壤微生物活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(5): 976–982.

LUO Q P, LI H, SU J Q. Effects of phenolic foam on earthworms and soil microbial activities[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2022, 41(5): 976–982.

开放科学 OSID

酚醛泡沫对蚯蚓及土壤微生物活性的影响

罗秋萍^{1,2}, 李虎^{1,2*}, 苏建强^{1,2}

(1. 福建农林大学资源与环境学院, 福州 350002; 2. 中国科学院城市环境研究所, 城市环境与健康重点实验室, 厦门 361021)

摘要:为检测市面上某种农用酚醛泡沫的使用安全性,采用人工土壤法研究酚醛泡沫对赤子爱胜蚓的急性毒性;同时测定了酚醛泡沫暴露 64 d 后的慢性毒性效应,对蚯蚓超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性的影响,并分析了土壤中磷酸酶(S-NP)、脲酶(S-UE)活性和呼吸速率的变化,探讨了酚醛泡沫对土壤活性及功能的影响。结果表明:酚醛泡沫对赤子爱胜蚓的急性半致死浓度大于 5 000 mg·kg⁻¹;酚醛泡沫(1~5 000 mg·kg⁻¹)处理 64 d 后,蚯蚓 GSH-Px 活性变化范围为 27.47~56.96 U·mg⁻¹, SOD 活性变化范围为 32.43~58.10 U·mg⁻¹,两种酶活性均显著增加($P<0.05$)。不添加酚醛泡沫的对照处理土壤呼吸速率为 0.067 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,添加酚醛泡沫的处理组为 0.041~0.055 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,表明酚醛泡沫添加显著($P<0.05$)抑制了土壤呼吸;但酚醛泡沫处理对土壤 S-NP 和 S-UE 活性没有显著影响。研究表明,酚醛泡沫材料(5 000 mg·kg⁻¹)对蚯蚓没有致死作用,但会诱导蚯蚓酶活性显著增强,抑制土壤呼吸速率。

关键词:酚醛泡沫;赤子爱胜蚓;抗氧化酶;土壤酶活性;土壤呼吸速率

中图分类号:S154.3;X17 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)05-0976-07 doi:10.11654/jaes.2021-1120

Effects of phenolic foam on earthworms and soil microbial activities

LUO Qiuping^{1,2}, LI Hu^{1,2*}, SU Jianqiang^{1,2}

(1. College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China)

Abstract: This study explored the effects of phenolic foam on *Eisenia fetida* and microbes in soils. In this study, we added different concentrations of phenolic foam to an artificial soil and investigated the survival and superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) enzyme activities of *E. fetida*. Meanwhile, soil respiration and neutral phosphatase (S-NP) and urease (S-UE) enzyme activities were recorded following phenolic foam addition to determine the chronic effects of phenolic foam on the activities of soil microbes. The results revealed that the half-lethal concentration of phenolic foam was higher than 5 000 mg·kg⁻¹. Moreover, in soils treated with 1~5 000 mg·kg⁻¹ phenolic foam, the levels of GSH-Px activity of *E. fetida* ranged from 27.47 U·mg⁻¹ to 56.96 U·mg⁻¹, whereas those of SOD activity of *E. fetida* ranged from 32.43 U·mg⁻¹ to 58.10 U·mg⁻¹. In addition, GSH-Px and SOD activities in soils treated with phenolic foam were significantly higher ($P<0.05$) than those in the control soil, indicating the occurrence of an anti-oxidation response to granular phenolic foam in *E. fetida*. Soil respiration rates ranged from 0.041 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ to 0.055 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, and granular phenolic foam significantly inhibited soil respiration ($P<0.05$). However, phenolic foam treatment triggered no significant differences in S-NP and S-UE activities. In summary, phenolic foam had no lethal effect on *E. fetida*, but caused oxidative stress in this species and reduced soil respiration.

Keywords: phenolic foam; *Eisenia fetida*; antioxidant enzyme; soil enzyme activity; soil respiration

收稿日期:2021-09-27 录用日期:2021-11-26

作者简介:罗秋萍(1997—),女,福建永安人,硕士研究生,主要从事环境微生物学研究。E-mail:qpluo@iue.ac.cn

*通信作者:李虎 E-mail:hli@iue.ac.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(U1805244)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(U1805244)

酚醛泡沫是由酚醛树脂^[1]、乳化剂、发泡剂和添加剂在酸碱催化剂作用下合成的多孔隙聚合材料^[2],目前使用较多的添加剂主要包括增塑剂、纤维、微米粒子和纳米粒子等^[3-5]。20世纪50年代以来,酚醛泡沫被广泛用于花卉行业^[6-7],在植物生长的早期阶段作为育苗或繁殖介质使用^[8]。酚醛泡沫回收成本高,因此使用后直接残留于土壤,同时酚醛泡沫普遍具有脆性和密度低、易破碎等特点^[2],从生产、使用到处置过程中易破碎形成微塑料(MPs,直径<5 mm)^[9],并向环境中释放具有生物毒性的单体化合物,如酚类化合物和增塑剂等^[2,10],因此被视为新污染物^[11]。

环境中的MPs普遍具有溶解度低、持久性强、粒径范围广和性质复杂等特点^[12],有研究^[13]提出超过60%的MPs是“环境友好型”,低氧和低光照条件使土壤中的MPs难以降解,因此MPs能在土壤中长期存在^[14]。已有研究^[15]发现环境中的塑料碎片在老化期间会释放出邻苯二甲酸酯类增塑剂。MPs污染引起的生物学效应包括物理毒性、氧化应激、细胞损伤、炎症、免疫反应、DNA损伤以及神经毒性和代谢作用等^[16]。目前关于MPs的研究主要针对聚乙烯(PE)、聚苯乙烯(PS)和聚乳酸(PLA)等聚合物^[17-21]。研究发现大部分塑料碎片对生物具有低致死性^[22-23]。MPs被摄食、消化等过程可能会对环境产生长期胁迫,改变土壤细菌、真菌的群落组成和功能,影响土壤的碳氮循环过程^[18,24-26]。

尽管酚醛树脂聚合物被广泛使用的时间比其他塑料聚合物更早,但有关酚醛树脂对生物毒性作用的研究却较少。研究发现酚醛树脂对大鼠经口急性毒性 $LD_{50}>16\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,该研究提出酚醛树脂的急性毒性作用很大程度上取决于材料中的游离酚含量^[10]。近年来MPs污染引起了广泛关注,然而关于酚醛泡沫MPs的研究仍然有限。TRESTRIAL等^[7]研究发现酚醛泡沫MPs会在淡水和海洋生物体中积累,MPs及其浸出的有毒化合物会影响细胞酶活性。因此,酚醛泡沫的累积残留可能会对土壤系统造成巨大压力。蚯蚓是土壤中最大、最常见的类群之一,其普遍存在于各种环境中,并可通过摄食、消化、排泄、分泌和掘穴等活动影响土壤生态系统的物质循环和能量传递,还可作为土壤环境的指示生物^[27-28]。由于MPs具有体积小、易迁移的特性,因此其可能会被土壤动物误以为是食物而被摄食吸收,从而对动物自身的生长繁殖及其生长环境产生不良影响^[19-22,29]。

农用酚醛泡沫主要用作蔬菜育苗的栽培基质,幼

苗移植时该酚醛泡沫连同植物根系一起进入土壤,植物收获后酚醛泡沫因回收困难而大部分残留于土壤中,且其外力作用容易破碎形成微小颗粒物。虽然在成分检测中一些有害物质不超标,但易破碎、易迁移的特性使酚醛泡沫施用于土壤后一方面可能会对土壤物理结构及功能造成危害;另一方面,在土壤动物及微生物等的代谢作用下,酚醛泡沫的次生产物可能对土壤动物及其生长环境造成威胁,影响土壤的新陈代谢。目前对农用酚醛泡沫安全性的评价还停留在成分检测上,有关农业生产过程中酚醛泡沫使用对土壤动物及微生物影响的评价仍十分缺乏,从而造成材料安全性评估不够全面准确。

因此,本文以农用酚醛泡沫MPs为主要试验对象,参照经济与合作发展组织(OECD)制定的蚯蚓急性毒性试验方法^[30],以赤子爱胜蚓为模式土壤动物,应用人工土壤法分别于第7 d和第14 d测定受试物对蚯蚓的急性毒性效应,并探究酚醛泡沫对蚯蚓抗氧化酶活性的影响;测定土壤呼吸速率、中性磷酸酶和脲酶活性,探讨不同质量浓度酚醛泡沫在土壤中连续存在64 d后对土壤及功能酶的影响,以期为农业生产过程中酚醛泡沫的施用提供重要数据支撑,为农业管理提供重要依据。

1 材料与方 法

1.1 蚯蚓急性毒性试验

选用江苏省句容市王军蚯蚓养殖场繁殖的同一批次赤子爱胜蚓作为受试生物,试验前先将蚯蚓在未添加酚醛泡沫的人工土壤中培养驯化7 d,人工土壤具体组分及配比为:70%石英砂,20%高岭黏土,10%泥炭藓(以干质量计),添加碳酸钙调节pH为6.5~7.0。各组分混合均匀后,加入去离子水调节含水量为35%左右,人工土壤添加0.5%的燕麦作为蚯蚓生活所需营养。在温度为 $(20\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件进行避光培养,驯化7 d后挑选生殖环带明显且大小一致、质量在300~400 mg的蚯蚓清肠,进行毒性试验。

试验选用的农用酚醛泡沫来自福建天利高新材料有限公司,是由苯酚、甲醛、邻苯二甲酸酯等物质在碱性催化剂下通过高温发泡而成的微孔发泡材料,其孔隙率可达95%,材料内部结构均匀,吸水性好(可达95%),保水性和绝热性能好,植物根系受外界温度影响小,pH呈中性,可作为多种植物生长的基质。其化学结构详见MOUGEL等^[2]文献的描述。本试验所用酚醛泡沫中的毒性物质(如甲醛、苯酚、邻苯二甲酸酯

类等)通过气相色谱仪(7890A; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, 美国)、液相色谱仪(UltiMate 3000; Thermo Scientific, Waltham, 美国)和气相色谱质谱联用仪(2020NX; SHIMADZU, 日本)测定,检测结果均低于检出限($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),故后续未进行毒性物质检测。

参照 OECD No.207 实验准则^[30]和《化学农药环境安全评价试验准则》(GB/T 31270.15—2014)第15部分,采用人工土壤法分别于第7天和第14天测定蚯蚓的急性毒性,每个重复添加750 g人工土壤(按干质量计算),将石英砂525 g、高岭黏土150 g、泥炭藓75 g和燕麦3.75 g装入白色透明带盖塑料盒中,并加入262.5 g超纯水以维持35%的土壤湿度。依据准则建议设7个处理组,参照微塑料粒径(<5 mm)和已有文献研究^[17],将酚醛泡沫揉成碎屑,用2 mm筛网过滤酚醛泡沫颗粒(在实际生产中,该酚醛泡沫大多是以2.2 cm×2.2 cm×1.8 cm的方块大小连同植物根系一起进入土壤中,经外力作用破碎成颗粒态物质混合进入土壤,表观形态与土壤无显著差别)。酚醛泡沫MPs的添加量分别为1、10、100、1 000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;并模拟田间实际使用量,估算该酚醛泡沫使用2 a和5 a后的含量作为处理中的高含量组(假设该酚醛泡沫不被降解,模拟小番茄育苗的酚醛泡沫使用量,一年种植5茬作物,一年的平均使用量约 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),添加量分别为2 000、5 000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。称取定量的酚醛泡沫MPs($\leq 2 \text{ mm}$)加入到已混好的人工土壤中,再次搅拌均匀。另设不添加酚醛泡沫的对照组(CK),每个处理设4个重复,每个重复放置10条生长形态相近且活性较好的赤子爱胜蚓。于恒温恒湿培养箱(宁波海曙赛福实验仪器厂, HWS-450)中避光培养,每2~3 d添加1次去离子水以保持35%的土壤湿度,温度为 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ ^[31]。分别于培养第7天和第14天观察并记录蚯蚓的存活数量,用针轻触蚯蚓尾部,蚯蚓无反应则为死亡,试验期间对照组死亡率控制在10%以内^[30]。

1.2 蚯蚓酶活性的测定

为进一步分析酚醛泡沫MPs对赤子爱胜蚓的毒性效应,采用人工土壤按照上述生长条件在恒温恒湿培养箱中持续培养64 d,假设蚯蚓在14 d不致死的条件下再持续培养50 d。试验期间只添加去离子水保持土壤湿度,不添加燕麦等食物。通过蚯蚓酶活性、土壤酶活性和土壤呼吸速率进一步表征酚醛泡沫的生理毒性。

蚯蚓酶活性测定中,蚯蚓蛋白液处理参照WANG

等^[32]的方法。具体步骤为:分别从各处理组取3条生长形态相近的赤子爱胜蚓,置于含生理盐水的培养皿中,于黑暗条件下清肠24 h,用去离子水洗净体表,吸干水分,称质量后剪碎,按1:10(m/V)加入生理盐水,用手持超声匀浆机研磨匀浆,在 $10\ 000 \times g$ 、 4°C 下离心15 min,上清液即为10%的蚯蚓匀浆液,以上操作均在 4°C 下进行。收集的上清液用于测定蚯蚓的抗氧化酶活性。上清液蛋白质含量使用生工生物工程股份有限公司的改良型BCA法蛋白质含量测定试剂盒测定;超氧化物歧化酶(SOD)选用SOD测定试剂盒(WST-1法)测定;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)选用GSH-Px测定试剂盒(比色法)测定。

1.3 土壤酶活性和呼吸速率的测定

土壤酶活性和呼吸速率的取样时间与蚯蚓相同。测定方法为^[33-34]:称取风干土0.1 g,采用土壤中性磷酸酶(Soil neutral phosphatase, S-NP)活性测定试剂盒测定S-NP活性,S-NP活性以每小时每克土样水解产生1 nmol PNP表示($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$);称取风干土0.2 g,按照土壤脲酶(Solid-Urease, S-UE)活性测定试剂盒测定S-UE活性,S-UE活性以每克土样中产生 $1 \mu\text{g NH}_3\text{-N}$ 表示($\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$)。酶活性测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

称取5 g新鲜的人工土壤放入120 mL血清瓶中, 25°C 孵育24 h后使用气相色谱仪(7890A; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, 美国)测定1 h和5 h的顶空气体中的 CO_2 含量,所测 CO_2 产气差值即为土壤呼吸速率,以 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 表示^[35]。

1.4 数据处理分析

试验数据采用Microsoft Excel 2019计算整理,差异显著性(One way ANOVA, $P < 0.05$)和相关性分析采用IBM SPSS Statistics 26.0,柱状图和线性相关分析结果图采用Origin 2021绘制。

2 结果与分析

2.1 酚醛泡沫对蚯蚓的致死作用

酚醛泡沫处理7 d和14 d的结果如图1所示。从图中可以看出,不同含量酚醛泡沫处理中蚯蚓存活率与不添加酚醛泡沫的对照组无显著差异,说明该酚醛泡沫对蚯蚓无急性致死作用。

2.2 酚醛泡沫对蚯蚓GSH-Px及SOD活性的影响

培养64 d后,赤子爱胜蚓GSH-Px及SOD活性的测定结果见图2。对照组中蚯蚓GSH-Px活性为 $15.06 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$,添加酚醛泡沫的各处理组的活性为

图1 酚醛泡沫对赤子爱胜蚓存活的影响

Figure 1 Effects of phenolic foam on the survival of earthworms

27.47~56.96 U·mg⁻¹ (图 2A), 是对照组的 1.82~3.78 倍。酚醛泡沫添加显著 ($P<0.05$) 增强了蚯蚓 GSH-Px 活性。对照组蚯蚓 SOD 活性为 20.81 U·mg⁻¹, 添加酚醛泡沫的各处理组的活性为 32.43~58.10 U·mg⁻¹ (图 2B), 是对照组的 1.56~2.75 倍, 高含量酚醛泡沫处理

(2 000、5 000 mg·kg⁻¹) 显著 ($P<0.05$) 增加了蚯蚓 SOD 活性。

2.3 酚醛泡沫对土壤酶活性和呼吸速率的影响

土壤 S-NP 和 S-UE 活性变化如图 3 所示。S-NP 活性为 787.01~1 192.03 nmol·g⁻¹·h⁻¹ (图 3A), S-UE 活性为 860.69~1 066.71 U·g⁻¹ (图 3B), 各处理组 S-NP 和 S-UE 活性与对照组无显著差异, 表明该酚醛泡沫对相关微生物活性无显著影响。

土壤呼吸速率如图 4 所示。对照组土壤呼吸速率为 0.067 μmol·g⁻¹·h⁻¹, 而添加酚醛泡沫处理的土壤呼吸速率为 0.041~0.055 μmol·g⁻¹·h⁻¹, 显著低于对照组 ($P<0.05$, 图 4A)。相关性分析 (图 4B) 表明, 土壤呼吸速率与酚醛泡沫含量显著负相关 ($r=-0.652, P<0.05$), 证明酚醛泡沫对土壤呼吸存在显著抑制作用 ($P<0.05$)。

3 讨论

蚯蚓急性毒性试验可以快速地对污染物生态毒

不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。下同

Different letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$). The same below

图2 酚醛泡沫对蚯蚓谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和超氧化物歧化酶(SOD)的影响

Figure 2 Effects of phenolic foam on the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD) in earthworm

图3 酚醛泡沫对土壤中性磷酸酶(S-NP)和脲酶(S-UE)活性的影响

Figure 3 Effects of phenolic foam on the activities of neutral phosphatase (S-NP) and urease (S-UE) in soils

图4 酚醛泡沫对土壤呼吸速率的影响及添加量与土壤呼吸的相关关系

Figure 4 Effects of phenolic foam on carbon respiration of soil microbes and correlation analysis between phenolic foam and soil respiration rate

性予以初步判断,试验结果与实际土壤中观察到的结果有较好的相关性,可为慢性毒性试验和田间试验的浓度或剂量设计提供依据^[28,36]。酚醛泡沫在农业生产中应用广泛,残留于土壤中的酚醛泡沫受外力作用后会破碎为细小颗粒物,这些细小颗粒物可能对土壤及土壤动物造成不良影响。然而酚醛泡沫 MPs 施用量对土壤动物和土壤活性的影响尚不明确,由 OECD 制定的人工土壤法能很好地模拟蚯蚓生活的自然环境,可以全面地了解酚醛泡沫残留对土壤动物及其生长环境的影响,考察蚯蚓在短期暴露下 SOD 和 GSH-Px 活性的变化趋势;同时可以测定土壤 S-UE 和 S-NP 活性,并通过土壤呼吸进一步判断土壤有机碳含量的变化。

研究结果表明该酚醛泡沫 MPs 对赤子爱胜蚓没有急性致死作用(图 1),试验设计的高含量处理(2 000、5 000 mg·kg⁻¹)是为了模拟其在田间连续使用 2 a 和 5 a 且不降解的累积量,急性毒性结果表明该酚醛泡沫即使在多年使用后,其在土壤中的累积量也不足以引起蚯蚓死亡。JUDY 等^[17]研究发现,聚乙烯和聚氯乙烯 MPs(≤2 mm)的添加对土壤线虫和蚯蚓的死亡率没有显著的负面影响,表明酚醛泡沫具有低毒性。急性毒性试验仅通过蚯蚓存活率和死亡率表现酚醛泡沫的急性毒性效应,蚯蚓酶活性的变化趋势可进一步表征机体内生理生化指标的变化。由试样结果可知,1 mg·kg⁻¹的酚醛泡沫 MPs 即可引起蚯蚓机体的酶活性显著增强,高剂量组(2 000 mg·kg⁻¹和 5 000 mg·kg⁻¹),SOD 和 GSH-Px 活性显著高于对照组($P < 0.05$,图 2),表明酚醛泡沫(1~5 000 mg·kg⁻¹)作为长期的环境应激源,会对机体产生氧化胁迫,为维持蚯蚓自身的氧化平衡,蚯蚓体内的抗氧化防御系统被激

活,刺激 SOD 合成,催化 O₂⁻歧化生成 O₂和 H₂O₂,去除因氧化胁迫产生的过量 O₂⁻·^[37-38];GSH-Px 可与 SOD 协同作用去除机体产生的过量的 O₂⁻·和 H₂O₂^[39]。酶活性变化可能与 MPs 的暴露剂量和粒径有关。相关研究^[40]表明,10% 的 PE-MPs(≤300 μm)和 PS-MPs(≤250 μm)对蚯蚓酶活性没有显著影响,而 20% 的 PE-MPs 会抑制 SOD 和 GST 的酶活性。通过对轮胎 MPs(TMPs)处理下的蚯蚓酶活性分析^[41]发现,10% 的 TMPs(<25 μm)显著抑制 SOD 和 GST 的酶活性,同时也揭示了 <2 mm 的 TMPs 对蚯蚓的酶活性没有显著影响。本研究结果表明一定量的酚醛泡沫 MPs(<0.5%)可能会引起土壤动物机体损伤,增加机体抗氧化酶活性。已有研究证实蚯蚓可能通过掘穴、摄食或分泌黏液等活动将 PE-MPs(<3 mm)从表层土壤沿剖面运输至深层土壤^[22];粒径 <1 mm 的 MPs 很容易被土壤动物摄入,引起组织损伤和抗氧化酶活性增强^[20-21,40]。SHENG 等^[41]的研究也同样证实了相对于粒径较大的 MPs,蚯蚓会先摄食较小粒径的碎片。因此,该农用酚醛泡沫 MPs 中含有的较小颗粒物可能被蚯蚓摄食吸收,酶活性增强可能源于蚯蚓误食较小的酚醛泡沫 MPs,蚯蚓机体受污染物胁迫,诱导抗氧化酶活性增强,消除其对生物体的氧化毒害。尽管材料中邻苯二甲酸酯含量低于检出限,但其仍可能对蚯蚓造成一定的影响。已有研究发现 0.1 mg·kg⁻¹邻苯二甲酸酯类化合物即可诱导蚯蚓抗氧化酶活性显著增强,引起机体 DNA 损伤^[42]。

研究发现 MPs 影响土壤微生物组成、活性及功能^[24-25];土壤酶活性是微生物活性和土壤肥力的重要指标,S-UE 和磷酸酶活性与土壤能量流动和养分循环相关,常被用作污染土壤应激下土壤健康状况变化

的指标^[43-44]。磷酸酶对土壤磷化合物的水解有促进作用;S-UE活性可以指示土壤的供氮能力,与土壤中氮转化和植物对氮素的吸收利用密切相关。S-UE和磷酸酶活性对评价酚醛泡沫对土壤环境的影响具有重要意义。本研究各处理组中S-NP和S-UE活性均无显著变化(图3),表明当该酚醛泡沫使用量小于 $5\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时对微生物活性和土壤肥力没有显著影响。土壤呼吸是土壤有机碳矿化向大气环境释放 CO_2 的主要过程,可反应土壤有机碳的分解状况和微生物的活性,也是评价土壤健康的重要参数^[45]。本研究结果表明土壤呼吸即可被 $1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 酚醛泡沫显著抑制($P<0.05$,图4A),且呼吸速率与酚醛泡沫含量显著负相关($P<0.05$,图4B)。酚醛泡沫可能会抑制微生物的生长,降低其活性。研究发现MPs会导致土壤呼吸速率下降,影响微生物的生长繁殖^[17]。本研究结果表明,酚醛泡沫MPs降低了微生物呼吸强度,酚醛泡沫中易分解的碳组分含量很低,这可能会进一步影响碳周转速率。已有研究表明MPs可能通过与土壤动物相互作用来改变土壤环境,并对土壤动物的适应性和土壤微生物丰度及功能产生潜在影响^[46]。本研究对赤子爱胜蚓急性毒性、蚯蚓抗氧化酶活性及土壤活性和呼吸速率进行了研究,对于评价颗粒态酚醛泡沫对土壤动物、微生物活性及功能的影响具有一定意义。该酚醛泡沫使用后在土壤环境中随意被丢弃,光解作用和农耕活动等破碎产生的颗粒物粒径和单位面积残留量不一,实际残留粒径可能远大于 $2\ \text{mm}$,而暴露浓度可能低于试验中的高浓度处理,本试验放大了该酚醛泡沫对土壤生态系统的毒性效应,其对实际的土壤环境影响会更小。为了更加全面理清酚醛泡沫使用的安全性,酚醛泡沫对农田土壤微生物群落组成、丰度及功能的影响需要更加深入的研究。

4 结论

(1)酚醛泡沫对赤子爱胜蚓无致死作用,但可诱导蚯蚓抗氧化酶活性显著增强。

(2)该酚醛泡沫添加对土壤中性磷酸酶和脲酶活性均没有显著影响;酚醛泡沫显著降低土壤微生物呼吸速率,且降低程度与浓度呈显著负相关,表明该酚醛泡沫能对土壤微生物活性和土壤有机碳含量造成一定影响。

参考文献:

[1] BAEKELAND L H. The synthesis, constitution, and uses of bakelite[J].

Journal of Industrial & Engineering Chemistry-US, 2002, 1(3): 149-161.

[2] MOUGEL C, GARNIER T, CASSAGNAU P, et al. Phenolic foams: A review of mechanical properties, fire resistance and new trends in phenol substitution[J]. *Polymer*, 2019, 164: 86-117.

[3] SHEN H, NUTT S. Mechanical characterization of short fiber reinforced phenolic foam[J]. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 2003, 34(9): 899-906.

[4] LI Q, CHEN L, LI X, et al. Effect of nano-titanium nitride on thermal insulating and flame-retardant performances of phenolic foam[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2016, 133(32).

[5] CHEN G, LIU J, ZHANG W, et al. Lignin-based phenolic foam reinforced by poplar fiber and isocyanate-terminated polyurethane prepolymer[J]. *Polymers*, 2021, 13(7): 1068.

[6] SMITHERS V L. Absorbent material for floral arrangements: US39003153A[P]. 1956.

[7] TRESTRAIL C, WALPITAGAMA M, HEDGES C, et al. Foaming at the mouth: Ingestion of floral foam microplastics by aquatic animals[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 705: 135826.

[8] CORNICK M. Phenolic resins: A century of progress[M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2010: 189-208.

[9] COLE M, LINDEQUE P, HALSBAND C, et al. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(12): 2588-2597.

[10] GARDZIELLA A, PILATO L A, KNOP A. Industrial safety and ecological questions (raw materials, recycling, environment) [M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2000.

[11] LITHNER D, LARSSON A, DAVE G. Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition[J]. *Science of the Total Environment*, 2011, 409(18): 3309-3324.

[12] BARBOZA L G A, DICK VETHAAK A, LAVORANTE B, et al. Marine microplastic debris: An emerging issue for food security, food safety and human health[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 133: 336-348.

[13] O'CONNOR D, PAN S, SHEN Z, et al. Microplastics undergo accelerated vertical migration in sand soil due to small size and wet-dry cycles[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 249: 527-534.

[14] HORTON A A, WALTON A, SPURGEON D J, et al. Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 586: 127-141.

[15] PALUSELLI A, FAUVELLE V, GALGANI F, et al. Phthalate release from plastic fragments and degradation in seawater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(1): 166-175.

[16] YONG C Q Y, VALIYAVEETILL S, TANG B L. Toxicity of microplastics and nanoplastics in mammalian systems[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 17(5): 1509.

[17] JUDY J D, WILLIAMS M, GREGG A, et al. Microplastics in municipal mixed-waste organic outputs induce minimal short to long-term toxicity in key terrestrial biota[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 252: 522-531.

- [18] CHEN H, WANG Y, SUN X, et al. Mixing effect of polylactic acid microplastic and straw residue on soil property and ecological function [J]. *Chemosphere*, 2020, 243:125271.
- [19] CHENG Y, ZHU L, SONG W, et al. Combined effects of mulch film-derived microplastics and atrazine on oxidative stress and gene expression in earthworm (*Eisenia fetida*) [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 746:141280.
- [20] JIANG X, CHANG Y, ZHANG T, et al. Toxicological effects of polystyrene microplastics on earthworm (*Eisenia fetida*) [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 259:113896.
- [21] CHENG Y, SONG W, TIAN H, et al. The effects of high-density polyethylene and polypropylene microplastics on the soil and earthworm *Metaphire guillelmi* gut microbiota [J]. *Chemosphere*, 2021, 267:129219.
- [22] RILLIG M C, ZIERSCH L, HEMPEL S. Microplastic transport in soil by earthworms [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1):1362.
- [23] RILLIG M C, LEHMANN A. Microplastic in terrestrial ecosystems [J]. *Science*, 2020, 368(6498):1430-1431.
- [24] IQBAL S, XU J, ALLEN S D, et al. Unraveling consequences of soil micro- and nano-plastic pollution on soil-plant system: Implications for nitrogen (N) cycling and soil microbial activity [J]. *Chemosphere*, 2020, 260:127578.
- [25] LI H Z, ZHU D, LINDHARDT J H, et al. Long-term fertilization history alters effects of microplastics on soil properties, microbial communities, and functions in diverse farmland ecosystem [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(8):4658-4668.
- [26] ZHOU J, GUI H, BANFIELD C C, et al. The microplastisphere: biodegradable microplastics addition alters soil microbial community structure and function [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2021, 156:108211.
- [27] PELOSI C, BAROT S, CAPOWIEZ Y, et al. Pesticides and earthworms: A review [J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2013, 34(1):199-228.
- [28] DATTA S, SINGH J, SINGH S, et al. Earthworms, pesticides and sustainable agriculture: A review [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(9):8227-8243.
- [29] REN Z, GUI X, XU X, et al. Microplastics in the soil-groundwater environment: Aging, migration, and co-transport of contaminants: A critical review [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 419:126455.
- [30] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). Guideline for testing of chemicals. No. 207, Earthworm acute toxicity test [S]. Paris: OECD, 1984.
- [31] DENG S, WU Y, DUAN H, et al. Toxicity assessment of earthworm exposed to arsenate using oxidative stress and burrowing behavior responses and an integrated biomarker index [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 800:149479.
- [32] WANG Z, CUI Z, LIU L, et al. Toxicological and biochemical responses of the earthworm *Eisenia fetida* exposed to contaminated soil: Effects of arsenic species [J]. *Chemosphere*, 2016, 154:161-170.
- [33] DICK R P. Methods of soil enzymology [M]. Madison: Soil Science Society of America, Inc, Wisconsin, USA. 2011.
- [34] 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.
- [35] LIU Y R, DELGADO-BAQUERIZO M, WANG J T, et al. New insights into the role of microbial community composition in driving soil respiration rates [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018, 118:35-41.
- [36] 姜锦林, 单正军, 周军英, 等. 常用农药对赤子爱胜蚓急性毒性和抗氧化酶系的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(3):466-473.
- JIANG J L, SHAN Z J, ZHOU J Y, et al. Influence of commonly used pesticides on acute toxicity to earthworm *Eisenia fetida* and alteration of antioxidant enzyme activities [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(3):466-473.
- [37] MCCORD J M, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase. an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein) [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1969, 244(22):6049-6055.
- [38] 徐靖. 超氧化物歧化酶及其应用的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(12):387-391. XU J. Research progress in superoxide dismutase and its application [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(12):387-391.
- [39] 周玫, 陈媛. 谷胱甘肽过氧化物酶 [J]. 生命的化学 (中国生物化学会通讯), 1985(4):17-18. ZHOU M, CHEN Y. Glutathione peroxidase [J]. *Chemistry of Life*, 1985(4):17-18.
- [40] WANG J, COFFIN S, SUN C, et al. Negligible effects of microplastics on animal fitness and HOC bioaccumulation in earthworm *Eisenia fetida* in soil [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 249:776-784.
- [41] SHENG Y, LIU Y, WANG K, et al. Ecotoxicological effects of micronized car tire wear particles and their heavy metals on the earthworm (*Eisenia fetida*) in soil [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 793:148613.
- [42] SONG P, GAO J, LI X, et al. Phthalate induced oxidative stress and DNA damage in earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. *Environment International*, 2019, 129:10-17.
- [43] HAGMANN D F, GOODEY N M, MATHIEU C, et al. Effect of metal contamination on microbial enzymatic activity in soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 91:291-297.
- [44] XIAO X Y, WANG M W, ZHU H W, et al. Response of soil microbial activities and microbial community structure to vanadium stress [J]. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 2017, 142:200-206.
- [45] WANG L, YAN B, PRASHER S O, et al. The response of microbial composition and enzyme activities to hydrological gradients in a riparian wetland [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2019, 19(12):4031-4041.
- [46] BHAGWAT G, ZHU Q, O'CONNOR W, et al. Exploring the composition and functions of plastic microbiome using whole-genome sequencing [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(8):4899-4913.

(责任编辑:李丹)