

研究生学号: 203031009

分类号: _____

密 级: 保密

海南热带海洋学院

Hainan Tropical Ocean University

专业硕士学位论文

海南岛南部红树林中微塑料赋存及其表面生物膜特征研究

**Characterization of microplastics enrichment and their surface
biofilm in mangroves of southern Hainan Island**

作者姓名: 杨 涛

校内导师: 徐功娣 教授, 曾映旭 研究员

校外导师: 车志伟 正高级工程师

专业学位类别: 资源与环境

研究方向: 新兴污染物研究

二零二三年五月三十日

学位论文独创性声明

本人声明兹呈交的学位论文是本人在导师指导下完成的研究成果。论文写作中不包含其他人已经发表或撰写过的研究内容，如参考他人或集体的科研成果，均在论文中以明确的方式说明。本人依法享有和承担由此论文所产生的权利和责任。

论文作者签名：杨涛

签名日期：2023 年 5 月 30 日

学位论文版权使用授权声明

本人完全了解海南热带海洋学院有关保留、使用学位论文的规定。即：海南热带海洋学院有权保留并向国家机关或机构送交学位论文的复印件和电子版，允许学位论文被查阅和借阅。本人授权海南热带海洋学院可以将本学位论文的全部内容或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

论文作者签名：杨涛

校内导师签名：符永弟

签名日期：2023 年 5 月 30 日

校外导师签名：张中

摘要

目前，红树林已被确定为受陆地和海洋来源的微塑料污染威胁最大的生态系统之一，而目前对红树林中微塑料的赋存、影响因素、相关的生态风险以及表面生物膜特征却知之甚少。本研究以海南岛南部三亚河（SYH）、青梅港（QMG）和铁炉港（TLG）红树林作为研究区域，分别采集旱季和雨季的表层海水和沉积物（根际和非根际沉积物），分析了微塑料赋存特征在不同季节、区域、环境介质之间的差异性，揭示了微塑料与环境参数之间的关联性，评价了三个红树林区域微塑料造成的生态风险。基于以上研究结果，进一步选择聚丙烯（PP）、聚乙烯（PE）、聚对苯二甲酸乙二醇酯（PET）颗粒作为研究对象，选择 QMG 和 TLG 红树林作为研究区域，分别在旱季和雨季进行微塑料的原位暴露实验，探讨了微塑料表面生物膜特征在不同时空的差异性，并于雨季在 QMG 和 TLG 红树林进行不同形状和类型微塑料（PET 颗粒和薄膜、PS 颗粒和泡沫）的原位暴露实验，进一步探讨了不同微塑料表面生物膜特征的差异性。主要研究结果如下：

（1）在两个季节里，所有研究的红树林表层海水和沉积物均普遍存在微塑料污染，其中 SYH 红树林的微塑料丰度最高。表层海水中的微塑料丰度随季节变化很大，沉积物中微塑料丰度明显受到根际效应的影响。在不同的季节、红树林区域和环境介质，微塑料的特征也表现出一些显著的差异，但检出微塑料主要以纤维状、透明颜色和较小尺寸（ $100 \sim 500 \mu\text{m}$ ）为主。最主要的聚合物类型为 PP、PET 和 PE。进一步分析发现，表层海水中微塑料丰度与营养盐的含量呈正相关（ $P < 0.05$ ），但与海水的理化参数（温度、盐度、pH 值和电导率）之间呈负相关（ $P < 0.05$ ）。

（2）使用污染物负荷指数（PLI）、聚合物危害指数（PHI）和潜在生态风险指数（PERI）三种模型进行红树林区域微塑料生态风险的联合评价，结果表明，微塑料对所有研究的红树林均造成了不同程度的生态风险。整体来看，SYH 区域的生态风险最高，其次是 TLG 区域和 QMG 区域，三个区域最高生态风险等级分别达到了 V 级（极其危险）、III 级（重度污染）和 III 级（重度污染）。

(3) 通过对不同时空红树林暴露的微塑料表面生物膜特征进行研究,发现生物膜在形貌、化学结构、细菌群落结构、重金属和有机污染物富集方面存在显著的差异性。扫描电子显微镜结果显示,在季节方面,雨季比旱季微塑料表面生物膜更密集,在区域方面,QMG红树林中微塑料表面形成的生物膜更复杂。在QMG和TLG红树林暴露后的微塑料拉曼光谱图中微塑料特征峰强度均明显降低,表明微塑料受到风化、光照老化以及生物降解的作用。高通量测序结果表明,微塑料表面生物膜的细菌群落丰度和多样性在时空方面存在显著差异,物种分析显示其优势菌群为变形菌门(Proteobacteria)和浮霉菌门(Planctomycetota)。通过测定微塑料表面吸附的重金属和有机污染物的累积量,发现Mn和多环芳烃(Σ PAH)的累积量最高,在不同时空均表现出明显的差异性。

(4) 采用不同形状和类型微塑料在红树林进行暴露,进一步探究表面生物膜特征的差异。扫描电子显微镜结果显示,与PET薄膜、PS泡沫相比,颗粒状的PET和PS表面生物膜更复杂、更密集,其中PS泡沫表面破坏更严重。微塑料在QMG和TLG区域暴露后,其拉曼光谱特征峰强度均有所降低,其中PS泡沫拉曼光谱的背景噪声增加,某些特征峰不再明显,表明微塑料表面发生了风化、老化和生物降解。高通量测序结果表明,不同形状和类型微塑料表面生物膜的细菌群落丰度和多样性均未发现显著差异,但是微塑料与海水样品之间却存在显著差异。物种分析显示,QMG红树林中暴露的微塑料表面附着优势菌群为变形菌门(Proteobacteria),TLG红树林中暴露的微塑料表面附着优势菌群为变形菌门(Proteobacteria)和浮霉菌门(Planctomycetota),微塑料样品与海水样品相比,细菌群落的组成更丰富。不同类型和形状微塑料表面吸附的重金属Mn的累积量最高,有机污染物 Σ PAH的累积量最高,其中有机污染物在不同形状和类型塑料之间表现出明显的差异性。

本研究可为深入认识微塑料富集和表面生物膜特征对红树林生态系统的影响与危害提供理论支撑,为维护海岸带的环境健康以及微塑料污染防控提供科学依据。

关键词: 微塑料 红树林 生态风险 生物膜 微生物 重金属 有机污染物

Abstract

Mangroves have been identified as one of the ecosystems most threatened by microplastic pollution from both terrestrial and marine sources, while little is known about the enrichment, influencing factors, associated ecological risks, and surface biofilm characteristics of microplastics in mangroves. In this study, surface seawater and sediments (rhizosphere and non-rhizosphere sediments) were collected from mangrove forests in Sanyahe (SYH), Qingmeigang (QMG) and Tielugang (TLG) in southern Hainan Island as the study area in the dry and wet seasons, respectively, to analyze the variability of microplastic enrichment characteristics among different seasons, areas, and environmental media, reveal the correlation between microplastics and environmental parameters, and three the ecological risks caused by microplastics in three mangrove areas were evaluated. Based on the above findings, we further selected polypropylene (PP), polyethylene (PE), and polyethylene terephthalate (PET) particles as the study objects and QMG and TLG mangrove as the study areas, and conducted in situ exposure experiments of microplastics in dry and wet seasons, respectively, to explore the variability of microplastic surface biofilm characteristics in different spatial and temporal conditions, and conducted in situ exposure experiments of different shapes and types of microplastics (PET particles and film, PS pellets and foam) in QMG and TLG mangrove in the wet season to further investigate the variability of surface biofilm characteristics of different microplastics. The main results of the study are as follows:

(1) Microplastic pollution was prevalent in surface seawater and sediments of all studied mangroves in both seasons, with the highest microplastic abundance in SYH mangrove. The abundance of microplastics in surface seawater varied greatly with season, and the abundance of microplastics in sediment was clearly influenced by inter-root effects. The characteristics of microplastics also showed some significant differences in different seasons, mangrove areas and environmental media, but the detected microplastics were mainly fibers, transparent colors and smaller sizes (100-

500 μm). The predominant polymer types were PP, PET and PE. the further analysis revealed a positive correlation ($P < 0.05$) between microplastic abundance and nutrient salt content in surface seawater, but a negative correlation ($P < 0.05$) between microplastic abundance and physicochemical parameters (temperature, salinity, pH and conductivity) of the water.

(2) The joint evaluation of the ecological risk of microplastics in mangrove areas using three models: pollutant load index (PLI), polymer hazard index (PHI) and potential ecological risk index (PERI) showed that microplastics posed different degrees of ecological risk to all studied mangroves. Overall, the highest ecological risk was found in the SYH area, followed by the TLG area and the QMG area, and the highest ecological risk levels in the three areas reached V (extremely hazardous), III (heavily polluted) and III (heavily polluted), respectively.

(3) The biofilm characteristics of microplastic surfaces exposed to mangroves in different spatial and temporal periods were investigated and significant variability was found in terms of biofilm morphology, chemical structure, bacterial community structure, heavy metal and organic pollutant enrichment. Scanning electron microscopy results showed that in terms of seasons, microplastic surface biofilms were denser in the wet season than in the dry season, and in terms of areas, biofilms formed on microplastic surfaces in QMG mangrove was more complex. The intensity of microplastic characteristic peaks in the Raman spectrograms of microplastics after exposure to both QMG and TLG mangroves was significantly reduced, indicating that microplastics were subjected to weathering, photo-aging, and biodegradation. High-throughput sequencing results showed that the abundance and diversity of bacterial communities on the microplastic surface biofilm differed significantly in spatial and temporal aspects, and species analysis showed that the dominant groups were Proteobacteria and Planctomycetota. The accumulation of heavy metals and organic pollutants adsorbed on the surface of microplastics was measured, and the highest accumulation of Mn and polycyclic aromatic hydrocarbons (ΣPAH) was found, showing significant spatial and temporal variability.

(4) Different shapes and types of microplastics were used for exposure in

mangroves to further explore the differences in surface biofilm characteristics. The scanning electron microscopy results showed that the granular PET and PS surface biofilms were more complex and dense compared to PET film and PS foam, with PS foam surface damage being more severe. The intensity of the characteristic peaks of microplastics in the Raman spectrograms of microplastics after exposure to both QMG and TLG areas decreased, with the background noise of the PS foam Raman spectra increasing and some characteristic peaks no longer evident, indicating that weathering, aging and biodegradation of the microplastic surfaces occurred. The high-throughput sequencing results showed that no significant differences were found in the abundance and diversity of bacterial communities on the biofilms of different shapes and types of microplastic surfaces, but significant differences were found between microplastic and seawater samples. Species analysis showed that the dominant groups of surface-attached microplastics in QMG mangroves was Proteobacteria, and the dominant groups of surface-attached microplastics in TLG mangroves were Proteobacteria and Planctomycetota, and microplastic samples had a richer composition of bacterial communities compared to seawater samples. The highest accumulation of heavy metals Mn and the highest accumulation of organic pollutants Σ PAH were adsorbed on the surface of different types and shapes of microplastics, where the organic pollutants showed significant variability among different shapes and types of plastics.

This study can provide theoretical support for the in-depth understanding of the effects and hazards of microplastic enrichment and surface biofilm characteristics on mangrove ecosystem, and provide scientific basis for maintaining the environmental health of coastal zone and the prevention and control of microplastic pollution.

Keywords: Microplastics Mangroves Ecological risk Biofilm Microorganisms Heavy metals Organic pollutants

目录

第 1 章 绪论	1
1.1 微塑料概述	1
1.2 红树林中微塑料赋存特征	1
1.2.1 红树林海水中微塑料赋存特征	2
1.2.2 红树林沉积物中微塑料的赋存特征	3
1.3 微塑料表面生物膜概述	6
1.3.1 微塑料表面生物膜的形成	6
1.3.2 微塑料表面生物膜微生物群落的附着特征	7
1.3.3 生物膜对微塑料富集重金属的影响	8
1.3.4 生物膜对微塑料富集有机污染物的影响	8
1.4 本学位论文的目的意义、研究内容及技术路线	8
1.4.1 目的与意义	8
1.4.2 研究内容	9
1.4.3 技术路线	9
第 2 章 海南岛南部红树林微塑料的赋存特征研究	11
2.1 引言	11
2.2 材料与方法	11
2.2.1 研究区域概况	11
2.2.2 样品采集和化学分析	13
2.2.3 微塑料的提取和表征	15
2.2.4 质量保证/质量控制 (QA/QC)	16
2.2.5 数据分析	16
2.3 结果与讨论	17
2.3.1 红树林中微塑料的丰度和时空变化特征	17
2.3.2 红树林中微塑料的形态特征	19
2.3.3 红树林中微塑料的聚合物类型	22

2.3.4 环境参数对微塑料丰度的影响	23
2.4 小结	25
第 3 章 海南岛南部红树林微塑料生态风险评价	27
3.1 引言	27
3.2 微塑料生态风险评价模型概述	27
3.3 结果与讨论	29
3.3.1 污染物负荷指数 (PLI)	29
3.3.2 聚合物危害指数 (PHI)	30
3.3.3 潜在生态风险指数 (PERI)	32
3.4 小结	34
第 4 章 海南岛南部不同时空红树林微塑料表面生物膜特征研究	35
4.1 引言	35
4.2 材料与方法	35
4.2.1 微塑料的原位暴露实验	35
4.2.2 样品和海水理化参数的采集	36
4.2.3 微塑料表面生物膜的形貌表征	37
4.2.4 微塑料表面生物膜的化学结构比较表征	37
4.2.5 微塑料表面生物膜的 DNA 提取	38
4.2.6 微塑料表面生物膜的重金属的测定	38
4.2.7 微塑料表面生物膜的有机污染物的测定	39
4.2.8 质量保证/质量控制 (QA/QC)	39
4.2.9 数据分析	41
4.3 结果与讨论	43
4.3.1 微塑料表面生物膜的形貌特征	43
4.3.2 微塑料表面生物膜的化学结构比较特征	44
4.3.3 微塑料表面生物膜的细菌群落结构特征	45
4.3.4 微塑料表面生物膜的重金属富集特征	55
4.3.5 微塑料表面生物膜的有机污染物的富集特征	56
4.4 小结	58

第 5 章 海南岛南部红树林不同形状和类型微塑料表面生物膜特征研究	60
5.1 引言	60
5.2 材料与方法	60
5.2.1 微塑料的原位暴露实验	60
5.2.2 样品和海水理化参数的采集	61
5.2.3 微塑料表面生物膜形貌的表征	61
5.2.4 微塑料表面生物膜的化学结构比较表征	61
5.2.5 微塑料表面生物膜的 DNA 提取	61
5.2.6 微塑料表面生物膜的重金属的测定	61
5.2.7 微塑料表面生物膜的有机污染物的测定	61
5.2.8 质量保证/质量控制 (QA/QC)	61
5.2.9 数据分析	62
5.3 结果与讨论	63
5.3.1 微塑料表面生物膜的形貌特征	63
5.3.2 微塑料表面生物膜的化学结构比较特征	64
5.3.3 微塑料表面生物膜的细菌群落结构特征	65
5.3.4 微塑料表面生物膜的重金属的富集特征	76
5.3.5 附着生物膜的微塑料吸附有机污染物的组成特征	78
5.4 小结	79
第 6 章 结论与展望	80
6.1 结论	80
6.2 创新点	81
6.3 展望	81
参考文献	83
致谢	93
个人简历、在学期间发表的学术论文与研究成果	95

第 1 章 绪论

1.1 微塑料概述

塑料较强的通用性和成本效益使其成为世界上最广泛的生产和消费材料。2021 年，全球塑料的年产量已达到 3.907 亿吨^[1]，到 2050 年有可能增加到 260 亿吨^[2]。由于塑料垃圾的处置不当，使其急剧释放到自然环境中，特别是海洋环境中^[3]。这些被丢弃的塑料垃圾通过各种机制，如风化、光降解、物理和生物过程，逐渐降解成更小的塑料^[4]。其中，微塑料（< 5 mm）在环境中的普遍性和持久性备受全球关注^[5, 6]。目前，微塑料已经在不同类型的环境介质检出，包括淡水^[7, 8]、表层海水^[9, 10]、深层海水^[11]、土壤^[12, 13]、极地海冰^[14]、沉积物^[15]、大气^[16, 17]和生物体^[18, 19]。

目前，已有许多毒理学研究证明了微塑料被不同营养级的生物体所摄取造成的多种不利影响^[20-22]。由于微塑料通常含有有害添加剂（如增塑剂和阻燃剂），使得微塑料的不利影响将进一步加剧^[23]。此外，微塑料较大的比表面积和较强的疏水性，使其很容易吸附一些持久性有机污染物、重金属和病原体^[24-26]。因此，微塑料将不可避免地危及食物链的各种生物，给生态系统带来巨大的环境风险。早期的微塑料污染特征研究主要聚焦于海洋、河流、河口和海岸线^[27, 28]，而典型蓝碳生态系统（如红树林生态系统）中的微塑料污染、生态风险和表面生物膜特征研究非常匮乏^[29, 30]。

1.2 红树林中微塑料赋存特征

红树林是热带和亚热带沿海地区独特的潮间带蓝碳生态系统，可提供一系列重要的生态系统服务^[31, 32]。然而，红树林正面临急剧退化，并日益受到人类活动所产生的有毒污染物的威胁^[33]。最新研究表明，红树林生态系统可能是微塑料的一个重要汇^[29, 34]。这可能归因于多种来源，包括废水排放、地表径流、水产养殖、渔业和邻近地区旅游业的直接输入，表层水流、风和潮汐对塑料碎片的输送，以及红树林发达根系对塑料碎片的捕获^[30, 35]。滞留的塑料碎片在热

带环境中很容易被分解成微塑料，导致微塑料在红树林生态系统中大量积累。

1.2.1 红树林海水中微塑料赋存特征

在牙买加^[36]、伊朗^[37]、印度尼西亚^[38]、中国^[39, 40]等地的红树林表层海水中，均检测到微塑料的存在（表 1.1）。

表 1.1 红树林海水中微塑料的污染分布特征

Table 1.1 Distribution characteristics of microplastic pollution in seawater of mangroves

红树林区域	微塑料丰度	微塑料主要形状	微塑料主要颜色	微塑料主要尺寸范围	主要聚合物类型	潜在来源	参考文献
牙买加金斯敦港	0 ~ 5.73 items m ⁻³	碎片 (86.1%)	透明 (35.0%) 和不透明 (27.0%)	1000 ~ 2500 μm (47.0%)	PE (78%)	水流	[36]
伊朗东南部恰巴哈尔湾红树林	0.14 ~ 0.06 items m ⁻³	纤维 (32.7%)	白色 (33.0%) 和蓝色 (24.0%)	100 ~ 1000 μm	PE (46.0%)	风和洋流	[37]
印度尼西亚 Muara Teluknaga	723 items L ⁻¹	纤维	-	-	-	渔网、绳索和布	[38]
中国云霄红树林	275 items m ⁻³	碎片	白色	1000 ~ 2500 μm	PP、PES 和 PET	包装、渔业和纺织业	[39]
中国北部湾	399 ~ 5531 items m ⁻³	-	白色 (16.7% ~ 78.8%) 和透明 (5.6% ~ 64.3%)	500 ~ 1000 μm (41.2% ~ 69.8%)	PP (20.0% ~ 69.2%) 和 PE (15.4% ~ 52.3%)	污水排放	[40]

由表 1.1 可见，印度尼西亚和中国红树林海水中微塑料丰度较其他国家更高，可能与这两个国家人口基数大、人为活动频繁有密切关系。目前，全球红树林海水中检出微塑料主要为纤维和碎片状，其中纤维主要源于洗衣污水、水产养殖和渔业捕捞所使用的渔具^[37-39]，碎片则是较大塑料长期受光照和物理作用破碎而成^[36]。红树林海水中微塑料以透明和白色居多，这可能由于塑料长期存在于热带环境中受光降解作用褪色所致^[41]。在伊朗东南部恰巴哈尔湾红树林海水中还检测到大量蓝色和红色微塑料，这些彩色微塑料容易被海洋生物作为

食物误食，并可能通过食物链传递对海岸带生态系统造成潜在危害^[37]。据报道，红树林海水中检出微塑料尺寸大多 $< 1000\ \mu\text{m}$ ，这表明在热带海洋环境中塑料受长期风化作用不断破碎，导致形成的微塑料粒径更小，从而更容易被海洋生物摄食。红树林海水中的微塑料类型多为聚丙烯（PP）和聚乙烯（PE），主要由于这两种塑料在全球的产量位居前列^[1, 2, 42]，且两者密度均小于海水，容易漂浮在海水中被大量检出。此外，在中国云霄红树林海水中还检出占比较大的聚醚砜树脂（PES）和聚对苯二甲酸乙二醇酯（PET），其中 PET 密度较海水大，这可能归因于风和潮汐引起的湍流使其重新悬浮在海水中^[39]。

1.2.2 红树林沉积物中微塑料的赋存特征

表 1.2 展示了目前国内外关于红树林沉积物中微塑料赋存特征的相关报道。在国外，Nor and Obbard 最早对红树林沉积物中微塑料展开研究，发现新加坡潮间带红树林存在大量的微塑料，其丰度范围为 $12.0 \pm 8.0 \sim 62.7 \pm 27.2\ \text{items kg}^{-1}$ ，且丰度与沉积物粒度之间未见明显相关性^[43]。Naji 等人重点研究了伊朗波斯湾北部海岸红树林沉积物中尺寸为 $100 \sim 1000\ \mu\text{m}$ 的微塑料，发现其中 $10 \sim 300\ \mu\text{m}$ 尺寸范围的微塑料占比 70% 左右，可见次级微塑料是塑料污染的主要来源^[44]。在人类活动频繁的菲律宾武端湾红树林沉积物中，检出了大量蓝色微塑料，这可能来自于疫情期间使用的防护口罩^[45]。与上述三个亚洲红树林区域相比，印度尼西亚爪哇海东部红树林沉积物中微塑料污染情况最为严重，其丰度高达 $896.96 \pm 160.28\ \text{items kg}^{-1}$ ，该研究指出人类活动是该地区沉积物中微塑料污染的重要因素^[46]。在南美洲，哥伦比亚加勒比地区圣玛尔塔和巴西 Vitória 湾红树林沉积物中也检出丰富的微塑料，二者丰度较为接近，前者丰度最高值出现在靠近人口密度高的红树林沉积物中，进一步印证了人类活动与微塑料污染之间的关联性^[47]；后者在红树林盆地和边缘地沉积物中检出微塑料占比分别为 66.4% 和 33.6%，表明微塑料在有机质含量更高且水动力条件更差的盆地中更容易积累^[48]。

在国内，红树林主要分布在中国东南沿海的河口。对现有文献数据进行调研分析可见，有关中国红树林沉积物中微塑料污染状况的报道较国外更多，且微塑料污染情况较严重。其中中国珠江口区域的深圳福田红树林报道的沉积物中微塑料丰度最高，这可能与深圳人口密度高、GDP 高，且所调查红树林离市

区距离近相关^[49, 50]。研究指出, 红树林沉积物微塑料丰度与人口密度呈正相关, 表明了人为活动与微塑料污染的密切关联性^[49]。调查表明, 九龙江口红树林沉积物中微塑料丰度受人为活动的影响较大, 且微塑料易受到红树林植被和根系的截留作用进一步积累^[51]。针对广西茅尾海、福建晋江和浙江乐清湾西门岛红树林沉积物的微塑料研究均印证了以上现象^[52-54]。广西茅尾海红树林河口地区根际沉积物微塑料丰度 ($1190 \pm 7 \sim 1860 \pm 2 \text{ items kg}^{-1}$) 显著高于非根际沉积物中微塑料的丰度 ($520 \pm 8 \sim 940 \pm 17 \text{ items kg}^{-1}$), 说明红树林植被根系对微塑料具有较强的截留能力^[52], 且红树植被的密度也会影响微塑料的分布, 其密度越大、根系和漂浮物越多, 微塑料滞留量则越多^[53]。同样, 在浙江乐清湾西门岛红树林检出微塑料丰度比裸滩多约 1.7 倍, 表明具有复杂根茎的红树林比裸露海滩更能有效地捕获微塑料^[54]。针对中国南方六个红树林沉积物中微塑料的研究发现, 沉积物总有机碳和沉积物粒度与微塑料丰度具有显著的相关性^[50], 可能因为微塑料容易与其他有机物絮凝后一起蓄积在沉积物中^[55]。此外, 红树林沉积物中微塑料还容易在其表面吸附多种重金属, 该现象在福建九龙江口和晋江红树林中均有报道, 说明微塑料的载体效应可能会加重微塑料对红树林生态系统的危害^[49, 53]。

综上所述, 国内外红树林沉积物中均受到不同程度的微塑料污染。目前的研究结果表明, 红树林沉积物中微塑料丰度的影响因素主要包括潮汐水动力条件、红树林植被的密度和根系截留作用、有机碳含量、城市经济发展和人类活动等。

表 1.2 红树林沉积物中微塑料的污染分布特征

Table 1.2 Distribution characteristics of microplastic pollution in sediment of mangroves

红树林区域	微塑料丰度	微塑料主要形状	微塑料主要颜色	微塑料主要尺寸范围	主要聚合物类型	潜在来源	参考文献
伊朗波斯湾北部	19.5 ~ 34.5 items kg ⁻¹	纤维 (56%)和碎片 (35%)	黑色 (41%)	10 ~ 300 μm (> 70%)	PE	污水排放	[44]
菲律宾武端湾	40.0 ~ 71.1 items kg ⁻¹	纤维 (71%)	蓝色 (35%)、透明 (24%)和白色 (22%)	-	PP (39%)	渔业活动和港口作业	[45]

红树林区域	微塑料丰度	微塑料主要形状	微塑料主要颜色	微塑料主要尺寸范围	主要聚合物类型	潜在来源	参考文献
印度尼西亚爪哇海	896.96 ± 160.28 items kg ⁻¹	碎片 (54.3%) 和纤维 (41.5%)	-	-	-	陆源塑料污染	[46]
哥伦比亚加勒比地区	31 ~ 2863 items kg ⁻¹	薄膜	-	-	PE	食品包装、塑料容器、渔网和纺织品	[47]
巴西 Vitória 湾	2175 items kg ⁻¹	纤维 (88.7%)	蓝色 (54%) 和 透明 (21%)	-	-	渔网和城市活动	[48]
中国珠江口 (3 个红树林)	100 ~ 7900 items kg ⁻¹	纤维 (69.7%) 和碎片 (27.8% ~ 28.9%)	绿色 (21.1% ~ 43.1%) 和 黑色 (28.3% ~ 47.6%)	< 500 μm (69.4%)	PP 和 PE (56.4 ~ 77.5%)	包装、纺织品和渔具	[49]
中国南部 (六个红树林)	227 $\pm$ 173 ~ 2249 $\pm$ 747 items kg ⁻¹	纤维 (>50%)	白色 - 透明 (80.6%)	500 ~ 5000 μm (61.1%)	PP (67.5%)	市政废水和捕鱼活动	[50]
中国九龙江口	640 ~ 1140 items kg ⁻¹	颗粒 (39.0%) 、碎片 (31.0%) 和纤维 (30.0%)	透明 (55.0%)	< 50 μm (55.0%)	PE (57.0%) 和 PET (34.0)	水产养殖、污水排放、洋流和潮汐作用	[51]
中国茅尾海	520 $\pm$ 8 ~ 2310 $\pm$ 29 items kg ⁻¹	-	白色 (64.6%) 和透明 (20.3%)	< 1000 μm (> 80%)	PE (47.5% ~ 79.2%) 和 PP (2.5% ~ 42.5%)	水流输送	[52]
中国福建晋江红树林	490 $\pm$ 127.3 ~ 1170 $\pm$ 99.0 items 500 g ⁻¹	纤维 (68.6%)	透明 (47.7%) 和白色 (25.3%)	< 500 μm (56.1%)	PET、 PE 和 PP	工业生产和洗衣污水排放	[53]

红树林区域	微塑料丰度	微塑料主要形状	微塑料主要颜色	微塑料主要尺寸范围	主要聚合物类型	潜在来源	参考文献
中国浙江乐清湾西门岛红树林	673.3 ± 102.6 items kg ⁻¹	碎片、纤维	黑色和红褐色	500 ~ 2000 μm	PVC、PE 和 PP	渔网、编织袋、防火材料和管道	[54]
中国东南沿海	8.3 ~ 5738.8 items kg ⁻¹	泡沫、纤维	-	1000 ~ 2000 μm	PS (75.2%)	水产养殖和水流输送	[56]
中国钦州湾	42.9 ± 26.8 items kg ⁻¹	碎片	白色	< 1000 μm	PS	水产养殖	[57]
中国北部湾	640 ~ 6360 items kg ⁻¹	-	白色 (3.7% ~ 39.4%) 和透明 (3.1% ~ 43.6%)	500 ~ 1000 μm (39.5% ~ 71.8%)	PP (13.7% ~ 83.5%)	污水排放	[40]

1.3 微塑料表面生物膜概述

1.3.1 微塑料表面生物膜的形成

当微塑料进入海水环境后,很容易被微生物定殖,形成生物膜^[58]。生物膜主要包括藻类、原生动物、细菌、真菌和胞外聚合物等^[59]。微塑料表面生物膜的形成主要分为以下三个阶段:一是微生物在微塑料表面的附着,二是胞外聚合物的分泌,三是微生物的增殖,形成生物膜^[60]。Zettler 等人研究发现海洋塑料垃圾上的微生物群落与周围海水中的微生物群落始终不同,并将微塑料与这些特定的生物膜统称为“塑料圈”,微塑料为微生物提供了一个独特的生态位^[61]。“塑料圈”的存在对于微塑料自身和海洋生态系统有重要的影响,主要包括以下几个方面:一是微生物附着在微塑料上可以通过减少浮力来保护微塑料免受紫外线辐射和光催化作用^[62]。二是形成生物膜的微塑料比原始的微塑料对污染物具有更高的亲和力,促进了对重金属和有机污染物的吸附能力^[63]。三是微塑料上附着的微生物更容易随着微塑料一起漂浮到远洋,加大了微生物在其原生栖息地之外的传播,带来种群入侵等潜在威胁^[64]。

1.3.2 微塑料表面生物膜微生物群落的附着特征

微塑料表面生物膜形成后，生物膜微生物群落的附着特征引起学者关注。早在二十世纪七十年代，Carpenter 等人首次发现微塑料表面附着了藻类、水螅虫和细菌^[65, 66]。随后，Zettler 等人通过扫描电镜和高通量测序技术分析发现，PE 和 PP 表面存在丰富的真核生物和细菌微生物群，并且单个塑料片段中观察到超过一千种微生物物种^[61]。De Tender 等人通过 16S rDNA 和 ITS 高通量测序技术分析发现 PE 表面细菌和真菌的物种数分别约为 1500 种和 500 种。Jiang 等人通过 16S rRNA 高通量测序技术分析得到聚苯乙烯（PS）、PP 和 PE 表面微生物物种数分别为 588、920、876 个，其中发现的主要细菌为变形菌门（Proteobacteria）和拟杆菌门（Bacteroidetes）^[67]。付茜茜等人通过 16S rDNA 高通量测序技术分析了 PE、PS、聚氯乙烯（PVC）、聚乳酸（PLA）表面细菌群落，主要包括变形菌门（Proteobacteria）和拟杆菌门（Bacteroidetes）^[68]。

微塑料表面生物膜微生物群落的附着特征受到多方面因素的影响：一是环境因素的影响，主要包括盐度、pH、温度等。Miao 等人研究发现环境因素对于微塑料表面生物膜的碳代谢贡献率达到了 31%^[69]。Li 等人研究发现，生物膜的平均生长速率受到营养盐（总氮和总磷）和盐度的影响，其中盐度是影响细菌多样性的主要因素。De Tender 等人得出结论，盐度、温度和氧含量等因素对在大分子塑料中微生物的定殖有一定影响^[70]。Vezzulli 等人发现，表层海水的温度和盐度对于生物膜上细菌优势菌属——弧菌属（*Vibrio*）的分布具有显著影响^[71]。二是时空方面的影响。Zhang 等人于不同季节在中国黄海三个站位暴露了 PP、PE、PLA 和玻璃，发现微塑料上的微生物群落结构和组成主要随季节和地点而变化^[72]。从中国象山港暴露的微塑料表面细菌群落分析的结果得知，夏季比冬季更有利于细菌群落的定殖，使其生物量更大、活性更高、降解细菌更多^[73]。Oberbeckmann 等人在三个站位和三个季节对 PET 进行了暴露实验后，发现了微生物群落结构和组成在时空方面的差异^[74]。三是微塑料特征影响，主要包括类型、颜色等。Li 等人发现细菌对不同塑料类型具有选择性，PVC、PP、PE、PS 和聚氨酯（PU）定殖的微生物各有不同^[75]。Wen 等人发现细菌对不同颜色的微塑料也具有选择性，蓝色微塑料上的生物膜比透明或黄色微塑料具有更高的微生物多样性^[76]。

1.3.3 生物膜对微塑料富集重金属的影响

研究表明,微塑料表面附着的生物膜促进了微塑料对重金属的吸附作用。Guan 等人通过比较有生物膜和无生物膜塑料对痕量金属的吸附性能,吸附等温线符合 Langmuir 吸附模型,表明生物膜的存在可以增强微塑料对痕量金属的吸附能力^[77]。Qi 等人进行了有生物膜和无生物膜微塑料对 Pb(II) 的吸附实验,吸附等温线的结果表明生物膜的存在增强了微塑料对 Pb(II) 的吸附能力,并且利用大型蚤进行 Pb(II) 与有/无生物膜微塑料的联合毒性实验,结果表明生物膜强化了 Pb(II) 与微塑料的联合毒性^[78]。Richard 等人通过对聚乳酸(PLA)和 PE 进行了 28 天的暴露实验后,通过分析重金属含量与生物膜生物量的关系,发现生物膜促进了微塑料上金属的累积^[79]。

1.3.4 生物膜对微塑料富集有机污染物的影响

在二十世纪七十年代,Reisser 等人在 PS 表面同时检测出细菌和多氯联苯(PCB),表明了生物膜与微塑料和有机污染物之间的关联性^[65]。Jin 等人的研究发现了有生物膜的微塑料对多环芳烃(PAHs)和 PCBs 的累积量分别为 $704.5 \pm 201.9 \text{ ng g}^{-1}$ 和 $85.1 \pm 21.0 \text{ ng g}^{-1}$,此外还发现了微塑料生物膜与有机污染物的相关性,找到了两种与降解多环芳烃有关的细菌,进一步表明微塑料对有机污染物的载体效应主要取决于附着的微生物群落与有机污染物之间的相互作用,而这种相互作用又与细菌活性和污染物特性有关^[73]。Steinman 等人将 PP、PE 和聚酯(PES)三种微塑料投放在水体中进行长期的野外暴露,发现暴露 1 个月的微塑料上的 PAHs 浓度均高于原始塑料,不同聚合物类型中含量最高的 PAH 化合物非常相似,此外暴露 1 个月后 PE 上的 PCBs 浓度显著增加了 10 倍^[63]。

1.4 本学位论文的目的意义、研究内容及技术路线

1.4.1 目的与意义

新污染物——微塑料污染已迅速发展成为全球性环境问题,其中海岸带区域微塑料的污染尤为突出。红树林作为我国典型的海岸带蓝碳生态系统,正面临大量微塑料的威胁。此外,微塑料很容易成为微生物、重金属和有机污染物的载体,威胁生态环境和人类健康。本研究旨在:(1)研究微塑料在红树林的

赋存特征，以及它们在不同环境介质（表层海水和根际/非根际沉积物）中的时空变化规律；（2）揭示微塑料丰度与海水和沉积物的理化参数之间的关系；（3）对微塑料在红树林的污染情况进行生态风险评价；（4）探究红树林赋存的典型微塑料类型其表面附着的微生物、重金属和有机污染物在时空方面的变化规律；（5）研究暴露于红树林的不同微塑料表面生物膜的微生物、重金属和有机污染物的差异性。为深入认识微塑料富集对红树林生态系统的危害和维护海岸带的环境健康提供理论基础，为微塑料的污染防控提供科学依据。

1.4.2 研究内容

（1）海南岛南部红树林微塑料的赋存特征研究：分析不同季节、区域、环境介质间红树林中微塑料的赋存特征，包括丰度、形状、颜色、尺寸、类型。通过监测以上红树林区域的环境参数（海水和沉积物），分析微塑料与环境参数之间的关联性。

（2）海南岛南部红树林微塑料生态风险评价：通过 PLI、PLI 和 PERI 三种生态风险评价模型综合评价海南省南部红树林区域中微塑料造成的生态风险。

（3）海南岛南部不同时空红树林微塑料表面生物膜特征研究：基于调查发现的海南红树林分布区微塑料赋存特征，对其中典型聚合物类型的微塑料在红树林区域进行不同季节的原位暴露实验，分析不同时空微塑料表面生物膜的形貌、化学结构、微生物群落结构特征、重金属及有机污染物的富集特征。

（4）海南岛南部红树林不同微塑料表面生物膜特征研究：将不同类型和形状的微塑料暴露于红树林区域，分析不同红树林、不同暴露时间、不同类型和形状微塑料表面生物膜的形貌、化学结构、微生物群落结构特征、重金属及有机污染物富集特征。

1.4.3 技术路线

本研究的技术路线如图 1.1 所示。

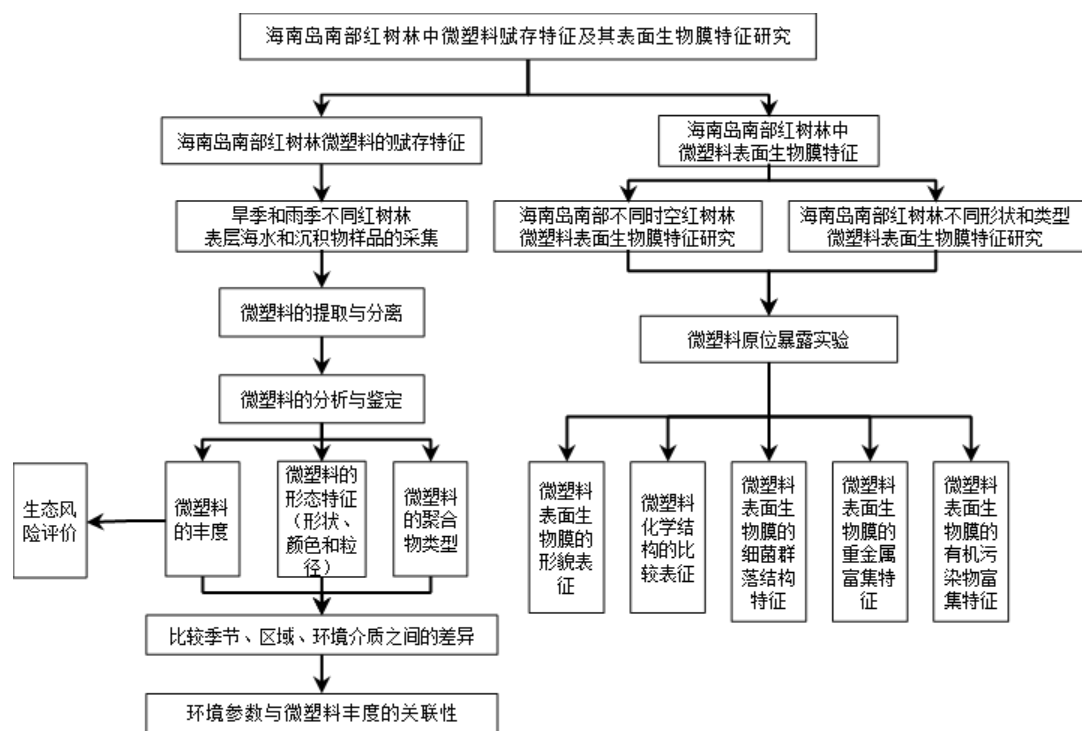


图 1.1 技术路线图

Figure 1.1 Technology roadmap

第 2 章 海南岛南部红树林微塑料的赋存特征研究

2.1 引言

近年来,在人类活动和自然环境因素的驱动下,红树林中微塑料的污染状况日益严重^[51]。由于红树发达的根系,较差的水动力条件,微塑料很容易截留并富集在红树林中,使其成为陆地和海洋微塑料的汇。研究表明,国内外红树林均存在一定程度的微塑料污染,相关研究和报道正逐年增多。值得注意的是,在各红树林区域之间,微塑料的赋存情况存在一定的差异性。

随着红树林区域微塑料研究的逐步深入,目前研究逐步开始关注微塑料在沉积物中赋存特征的影响因素。例如,红树林沉积物中微塑料的丰度和特征受到流体动力学、根际效应和沉积物性质的影响^[52]。此外,有研究发现微塑料丰度与有机碳、粒度之间的关联性^[50]。另一项研究发现,微塑料的丰度与红树林沉积物中的有机碳含量密切相关,并受到附近城市和水产养殖的人类活动影响^[80]。然而,由于目前调查有限,关于红树林在不同季节、区域和环境介质中的微塑料赋存特征和影响因素仍不明确。

本研究选取了中国海南岛最南端沿海的三个热带红树林作为研究区域。这些红树林区域主要以住宅区、旅游胜地、渔港、河口和潟湖港为主,呈现出各种复杂的微塑料输入来源,但迄今为止,这些红树林区域的微塑料污染状况很少受到关注。本研究旨在(1)研究微塑料的赋存特征在不同季节、区域、环境介质中的变化规律;(2)通过研究微塑料丰度与海水和沉积物理化参数之间的联系,探索微塑料丰度潜在的影响因素。

2.2 材料与方法

2.2.1 研究区域概况

选取的海南岛南部三个代表性红树林区域包括三亚河(SYH)、青梅港(QMG)和铁炉港(TLG)。总共设置了 9 个采样点,每个红树林区域有三个采样点(图 2.1)。这些采样点呈现出不同的资源利用情况,如河口、潟湖港、

旅游胜地、渔港和人口密集的市中心（表 2.1）。

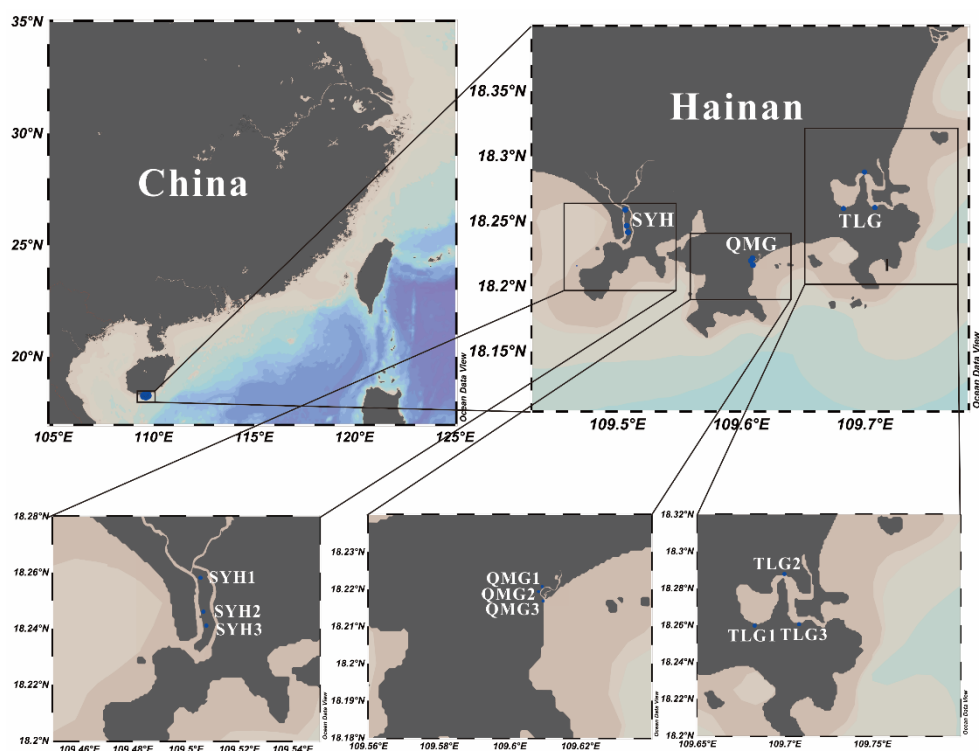


图 2.1 海南岛南部红树林区域地理位置和采样点（SYH = 三亚河；QMG = 青梅港；TLG = 铁炉港）

Figure 2.1 Geographical location and sampling sites of mangrove areas in southern Hainan Island, China (SYH= Sanyahe; QMG= Qingmeigang; TLG= Tielugang)

表 2.1 采样点基本情况

Table 2.1 Basic information of sampling points

采样点	红树林名称	位置坐标	红树林面积(hm ²)	沉积物质地	资源利用情况
SYH1	三亚河	18.2589 °N, 109.5061 °E	475.80	泥质	人口密集的市中心，旅游胜地
SYH2	三亚河	18.2467 °N, 109.5072 °E		泥质	
SYH3	三亚河	18.2417 °N, 109.5083 °E		泥质	
QMG1	青梅港	18.2216 °N, 109.6091 °E	155.67	泥质	河口，旅游胜地，渔港
QMG2	青梅港	18.2198 °N, 109.6077 °E		泥质	
QMG3	青梅港	18.2164 °N, 109.6094 °E		沙质	
TLG1	铁炉港	18.2597 °N, 109.6826 °E	292.00	沙质	河口，泻湖港口，旅游胜地
TLG2	铁炉港	18.2878 °N, 109.6996 °E		泥质	
TLG3	铁炉港	18.2605 °N, 109.7079 °E		泥质	

2.2.2 样品采集和化学分析

在 2021 年 12 月（旱季）和 2022 年 6 月（雨季），从 9 个采样点共采集了 162 个样本，包括表层海水（ $n = 54$ ）、非根际（ $n = 54$ ）和根际沉积物（ $n = 54$ ），每个采样点收集了 3 个重复样本。在采集样品前，使用手持式多参数水质测定仪（SX736 型，三信，中国）对水的理化参数（温度、盐度、pH、溶解氧和电导率）进行了三次重复测量（数据如表 2.2）。

表 2.2 各采样点收集表层海水的理化参数

Table 2.2 Physicochemical data of surface seawater collected from each sampling site.

	SYH1	SYH2	SYH3	QMG1	QMG2	QMG3	TLG1	TLG2	TLG3
旱季									
温度- Temperature (°C)	25.8 ± 0.1	26.0 ± 0.1	27.0 ± 0.2	26.1 ± 0.1	26.2 ± 0.5	24.9 ± 0.0	25.9 ± 0.0	25.0 ± 0.1	25.6 ± 0.1
盐度- Salinity (‰)	8.6 ± 0.0	14.7 ± 0.2	16.0 ± 0.5	18.5 ± 0.5	21.7 ± 0.5	24.3 ± 0.3	27.4 ± 0.2	31.1 ± 0.1	27.9 ± 0.1
pH	7.42 ±0.10	7.77 ±0.01	7.86 ±0.06	7.51 ± 0.09	7.55 ± 0.02	7.67 ± 0.04	8.24 ±0.01	8.15 ±0.02	8.16 ±0.01
溶解氧-DO (mg L ⁻¹)	6.83 ±0.00	7.97 ±0.00	8.17 ±0.10	7.40 ± 0.00	7.15 ± 0.00	6.99 ± 0.10	8.03 ±0.10	7.78 ±0.20	8.06 ±0.10
电导率- Conductivity (μS)	15.10 ±0.40	26.73 ±0.20	28.75 ±0.10	35.73 ± 0.50	39.13 ± 0.40	41.73 ± 0.30	46.57 ±0.60	51.65 ±0.10	47.37 ±0.20
雨季									
温度-T (°C)	29.2 ± 0.6	28.8 ± 0.1	29.9 ± 0.1	30.2 ± 0.1	30.6 ± 0.0	31.8 ± 0.1	32.7 ± 0.2	30.6 ± 0.0	31.1 ± 0.1
盐度- Salinity (‰)	12.1 ± 0.1	18.9 ± 0.2	20.4 ± 0.3	29.2 ± 0.2	30.0 ± 0.1	30.0 ± 0.6	27.7 ± 0.1	28.3 ± 0.1	30.3 ± 0.1
pH	7.78 ±0.03	7.84 ±0.05	7.84 ±0.01	7.98 ± 0.02	8.06 ± 0.03	8.15 ± 0.01	8.23 ±0.01	8.15 ±0.02	8.25 ±0.01
溶解氧-DO (mg L ⁻¹)	4.23 ±0.04	4.87 ±0.02	6.22 ±0.06	6.34 ± 0.06	7.58 ± 0.09	8.53 ± 0.09	10.94 ±0.01	8.29 ±0.08	9.29 ±0.14
电导率- Conductivity (μS)	25.40 ±0.70	36.10 ±0.30	36.20 ±0.60	49.50 ± 0.70	51.20 ± 0.40	51.90 ± 0.40	47.80 ±0.30	49.0 ±0.20	51.8 ±0.20

对于表层海水，使用不锈钢采水器对表层海水（~ 20 L）进行采集，随后放入铝箔袋中，其中一部分用于分析微塑料的赋存特征，另一部分用于测定水质参数，包括叶绿素 a（Chla），氨氮（NH₃-N），亚硝酸盐（NO₂-N）、硝酸盐（NO₃-N）和活性磷酸盐（PO₄-P）（方法见表 2.3，数据见表 2.4）。

表 2.3 水质参数的测定

Table 2.3 Determination of water quality parameters.

参数	环境标准	程序
Chla	GB 17378.7-2007	海洋监测规范 第 7 部分: 近海污染生态调查和生物监测
NH ₃ -N, NO ₂ -N, PO ₄ -P	GB 17378.4-2007	海洋监测规范 第 4 部分: 海水分析
NO ₃ -N	GB/T 12763.4-2007	海洋调查规范 第 4 部分: 海水化学要素调查

表 2.4 各采样点收集的水质参数

Table 2.4 Water quality parameters of surface seawater collected from each sampling site.

	SYH1	SYH2	SYH3	QMG1	QMG2	QMG3	TLG1	TLG2	TLG3
旱季									
Chl a	2.96	3.79	4.67	10.15	8.92	3.04	2.63	1.07	4.66
(µg L ⁻¹)	±0.51	±0.11	±0.58	±0.62	±0.47	±0.17	±0.46	±0.21	±0.81
NH ₃ -N	0.1136	0.1116	0.1323	0.1535	0.1561	0.1637	0.0332	0.0412	0.1110
(mg L ⁻¹)	±0.0006	±0.0012	±0.0017	±0.0004	±0.0003	±0.0001	±0.0006	±0.0007	±0.0006
NO ₂ -N	0.0941	0.0962	0.0758	0.0294	0.0230	0.0190	0.0048	0.0072	0.0643
(mg L ⁻¹)	±0.0001	±0.0004	±0.0002	±0.0001	±0.0001	±0.000	±0.0001	±0.0003	±0.0001
NO ₃ -N	0.4607	0.4486	0.4675	0.4533	0.4530	0.4684	0.0382	0.4361	0.0482
(mg L ⁻¹)	±0.0008	±0.0004	±0.0004	±0.0000	±0.0009	±0.0004	±0.0039	±0.0088	±0.0012
PO ₄ -P	0.0961	0.1239	0.0958	0.0675	0.0544	0.0501	0.0067	0.0178	0.0559
(mg L ⁻¹)	±0.0008	0.0011	±0.0003	±0.0007	±0.0005	±0.0003	±0.0006	±0.0003	±0.0009
雨季									
Chla a	6.51	11.57	12.73	1.51	1.48	1.38	17.08	3.82	1.20
(µg L ⁻¹)	±0.07	±0.11	±1.24	±0.17	±0.04	±0.07	±1.27	±0.98	±0.29
NH ₃ -N	0.1978	0.2264	0.1682	0.0104	0.0516	0.0052	0.0198	0.0396	0.0180
(mg L ⁻¹)	±0.0032	±0.0031	±0.0040	±0.0009	±0.0008	±0.0001	±0.0011	±0.0044	±0.0022
NO ₂ -N	0.0784	0.0414	0.0352	0.0051	0.0040	0.0020	0.0001	0.0060	0.0005
(mg L ⁻¹)	±0.0003	±0.0002	±0.0006	±0.0000	±0.0001	±0.0002	±0.0000	±0.0002	±0.0001
NO ₃ -N	0.4669	0.2114	0.1731	0.0759	0.0721	0.0367	0.0405	0.3225	0.0391
(mg L ⁻¹)	±0.0198	±0.0039	±0.0119	±0.0012	±0.0041	±0.0017	±0.0007	±0.0105	±0.0165
PO ₄ -P	0.1312	0.0772	0.0567	0.0168	0.0136	0.0070	0.0089	0.0025	0.0035
(mg L ⁻¹)	±0.0009	±0.0009	±0.0003	±0.0002	±0.0002	±0.0004	±0.0010	±0.0009	±0.0005

对于沉积物，使用预先清洗过的不锈钢铲分别对根际和非根际沉积物（每个样品 ~ 3kg）（0 ~ 5cm 深）进行采集，随后放入铝箔袋中。每个沉积物样品分为两部分，一部分用于分析微塑料的赋存特征，另一部分用于测定沉积物的理化参数，包括含水率（MC）（GB17378.5-2007 海洋监测规范 第 5 部分：沉积物分析）和颗粒有机碳（POC）^[80]（见表 2.5）。

表 2.5 各采样地点收集的沉积物理化参数

Table 2.5 Physicochemical parameters of sediments collected from each sampling site.

	SYH1	SYH2	SYH3	QMG1	QMG2	QMG3	TLG1	TLG2	TLG3
旱季									
MC-NRS	34.49	37.27	40.71	23.22	28.91	27.01	11.11	23.08	30.72
^a (%)	±4.80	±1.06	±1.93	±1.52	±2.89	±0.38	±0.05	±0.83	±1.25
POC-NRS	0.28	0.18	0.25	0.17	0.24	0.15	0.09	0.04	0.30
(g C cm ⁻³)	±0.01	±0.00	±0.04	±0.01	±0.01	±0.07	±0.04	±0.02	±0.02
MC-RS	31.31	27.21	39.08	29.03	31.1	29.29	10.70	17.68	24.20
(%)	±6.76	±0.55	±3.98	±2.25	±3.41	±0.00	±0.52	±4.72	±2.46
POC-RS	0.19	0.21	0.48	0.36	0.26	0.12	0.11	0.09	0.41
(g C cm ⁻³)	±0.01	±0.03	±0.03	±0.04	±0.05	±0.02	±0.00	±0.01	±0.03
雨季									
MC-NRS	33.86	39.77	41.48	26.62	30.76	30.02	17.80	20.74	33.25
(%)	±1.48	±2.69	±1.60	±1.06	±0.96	±0.51	±2.55	±2.87	±4.30
POC-NRS	0.30	0.37	0.36	0.14	0.32	0.14	0.09	0.03	0.19
(g C cm ⁻³)	±0.02	±0.04	±0.01	±0.01	±0.01	±0.03	±0.01	±0.02	±0.00
MC-RS	28.17	43.48	56.12	22.35	34.27	30.06	3.91	24.45	29.90
(%)	±3.56	±0.80	±12.40	±3.56	±1.74	±2.45	±0.34	±1.44	±0.75
POC-RS	0.40	0.44	0.43	0.16	0.34	0.18	0.13	0.13	0.31
(g C cm ⁻³)	±0.04	±0.01	±0.02	±0.03	±0.01	±0.01	±0.02	±0.02	±0.02

^a NRS: 非根际沉积物；RS: 根际沉积物。

2.2.3 微塑料的提取和表征

针对表层海水样品，通过真空抽滤、氧化消解和再次真空抽滤，从表层海水样品中提取微塑料。提取步骤在 Lin 等人^[81]描述的基础上稍加修改。简言之，使用真空泵将 5 L 表层海水样品通过水系混合纤维滤膜（孔径：2 μm）进行过滤。在 80 r/min 和 65 °C 的摇床中，用 80 mL 的 30% H₂O₂ 消解滤膜上的留存物

质 24 h。消解后，样品在超声波仪器中处理 5 min，在锥形瓶中用超纯水清洗滤膜 3 次。随后，将锥形瓶中的溶液通过新的水系混合纤维滤膜进行过滤。最后，将滤膜转移到玻璃培养皿中，并储存在 4 °C 冷藏柜内。

针对沉积物样品，通过密度分离、氧化消解和真空抽滤等步骤提取微塑料。该方案改编自 Lin 等人^[81]描述的方法。简言之，将 100 g 干燥和均质化的沉积物称量到一个浮选瓶中，再在沉积物中加入 400 mL 浮选溶液（饱和 NaCl：饱和 $\text{ZnCl}_2 = 1:1$ ，v/v，密度：1.5 g mL⁻¹）。充分振荡后，让溶液静置沉淀 24 h。收集浮选瓶中的上清液并通过水系混合纤维滤膜进行真空过滤。其余氧化消解、超声波处理、真空过滤和样品保存步骤均与表层海水样品的操作相同。

微塑料表征通过配备有显微镜（Olympus BX53）的激光共聚焦显微拉曼光谱仪（DXR2, Thermo Fisher Scientific, 美国）进行。使用该仪器配套的 OMNIC 软件（8.0 版，Thermo Fisher Scientific, 美国）进行操作。总共分析了 162 个滤膜（54 个表层海水样品，108 个沉积物样品），其中所有疑似塑料颗粒都进行了聚合物的特征分析。将带有微塑料的滤膜放在显微镜下，采用“之”字形进行观察，以确保对所有区域进行分析。利用显微镜和 OMNIC 软件来测量每个微塑料的长度。根据各种形状（纤维、碎片、颗粒、薄膜和泡沫）、颜色（白色、灰色、绿色、黄色、透明、黑色、红色和蓝色）和尺寸（长度：< 50 μm 、50 ~ 100 μm 、100 ~ 500 μm 、500 ~ 1000 μm 和 1000 ~ 5000 μm ）对所有观察到的 MP 进行分类和计数。仪器激光波长为 532 nm，激光能量设置为 5 mW，拉曼光谱扫描范围为 200 ~ 3500 cm⁻¹。使用 OMNIC 软件（8.0 版）与拉曼光谱数据库（Aldrich 拉曼库）对拉曼光谱进行处理和识别。

2.2.4 质量保证/质量控制（QA/QC）

所有采样工具和容器都由非塑料材料制成。实验器具在使用前用去离子水清洗至少 3 次，使用后用铝箔覆盖。在样品预处理和分析过程中，穿戴棉质实验服、口罩和一次性丁腈手套。实验空白对照按照样品处理的相同步骤进行，空白样品中没有检测到微塑料。

2.2.5 数据分析

微塑料丰度以 items L⁻¹（表层海水）或 items kg⁻¹ DW（干沉积物）表示。

所有数据均以平均值 $\pm$ 标准差 (SD) 表示 ($n = 3$)。统计分析使用 SPSS 26 软件进行。在进行单变量分析前,进行了 Shapiro-Wilk 检验和 Levene 检验,以检查方差的正态性和方差齐性。基于上述结果,分别采用 two-way ANOVA 分析(以季节和区域为两个因素)和 three-way ANOVA 分析(以季节、区域和沉积物类型为三个因素)来分析表层海水和沉积物中微塑料丰度的差异。LSD 检验被用作红树林区域之间微塑料丰度的事后比较。采用 t 检验分别比较了各季节和沉积物类型间的微塑料丰度。对于微塑料特征,采用 Kruskal-Wallis 检验比较红树林区域之间的差异。Wilcoxon signed rank 检验用于比较不同季节和不同环境介质之间微塑料特征的差异。P 值低于 0.05 被视为具有统计学意义。同时,进行了主成分分析 (PCA) 来研究微塑料特征潜在的时空分布规律。此外,采用 Spearman 相关性分析来分析微塑料丰度和理化参数之间的相关性。如果 P 值 < 0.05 , 则认为相关性显著。相关程度分为强 ($R \geq 0.70$)、中 ($0.30 \leq R \leq 0.69$) 和弱 ($R \leq 0.29$) [82]。

2.3 结果与讨论

2.3.1 红树林中微塑料的丰度和时空变化特征

红树林生态系统作为陆地和海洋之间的天然屏障以及地表径流营养物质的生物过滤器,极易受到各种来源微塑料的影响。研究表明,在不同季节的所有采样点采集的表层海水和沉积物中都检测到微塑料的存在(图 2.2),表明海南岛南部的三个红树林均存在不同程度的微塑料污染。

旱季表层海水中微塑料丰度为 $5.1 \pm 2.6 \text{ items L}^{-1}$ (TLG2) 至 $18.9 \pm 2.9 \text{ items L}^{-1}$ (SYH3),雨季为 $1.9 \pm 0.9 \text{ items L}^{-1}$ (TLG1) 至 $7.5 \pm 2.8 \text{ items L}^{-1}$ (TLG2) (图 2.2A)。在空间方面,表层海水中微塑料丰度在三个红树林区域之间均表现出显著的差异 ($P < 0.05$)。与 QMG 区域 ($5.0 \pm 2.4 \text{ items L}^{-1}$) 和 TLG 区域 ($5.6 \pm 3.1 \text{ items L}^{-1}$) 相比,SYH 区域的微塑料丰度 ($10.3 \pm 7.1 \text{ items L}^{-1}$) 明显更高 ($P < 0.05$)。SYH 区域地理位置特殊(靠近城市中心)、城市化程度较高,其密集的人类活动造成了塑料垃圾的过度释放。在季节方面,红树林表层海水中微塑料丰度存在显著的差异性 ($P < 0.05$)。具体来说,SYH 区域的微塑料丰度在旱季 ($15.7 \pm 5.5 \text{ items L}^{-1}$) 明显高于雨季 ($4.9 \pm 3.3 \text{ items L}^{-1}$) ($P < 0.01$)。

同样, QMG 区域表层海水中微塑料的丰度在旱季 ($6.5 \pm 2.2 \text{ items L}^{-1}$) 明显高于雨季 ($3.5 \pm 1.4 \text{ items L}^{-1}$) ($P < 0.01$)。雨季微塑料丰度较低, 可能是因为较高的水流速度和流量限制了微塑料在海水中的漂浮, 导致这些微塑料被迅速冲到下游并进入海洋^[83]。此外, 雨水的稀释作用^[32, 84]和海南省雨季的禁渔期, 也可能导致这些红树林微塑料丰度的季节性变化。

对于沉积物, 旱季微塑料丰度为 $90.0 \pm 26.5 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$ (QMG3, 非根际) 至 $2186.7 \pm 166.5 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$ (TLG2, 根际), 雨季微塑料丰度为 $120.0 \pm 105.8 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$ (QMG3, 非根际) 至 $1226.7 \pm 180.4 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$ (SYH3, 非根际)。本研究观察到沉积物中微塑料丰度略低于中国北部湾^[40]和茅尾海^[52], 但与中国南部其它红树林^[50]和印度尼西亚爪哇海^[46]中的检测到的微塑料基本相似。除季节性因素外, 空间和根际效应对沉积物中的微塑料丰度均有明显影响 ($P < 0.05$)。在空间方面, 与 QMG 区域 ($423.9 \pm 333.0 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$) 相比, SYH 区域的微塑料丰度 ($767.5 \pm 435.8 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$) 和 TLG 区域 ($693.6 \pm 471.4 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$) 明显更高 ($P < 0.05$)。显然, 密集的人类活动导致 SYH 区域的微塑料污染水平较高^[41, 50]。同时, SYH 区域和 TLG 区域较弱的水动力条件也可能加剧该区域的微塑料污染^[52]。

此外, 微塑料丰度在不同类型沉积物之间表现出明显的差异 ($P < 0.05$)。在非根际沉积物中, 微塑料丰度为 90.0 ± 26.5 (QMG3) 至 1226.7 ± 180.4 (SYH3) $\text{items kg}^{-1} \text{ DW}$, 在根际沉积物中则为 226.7 ± 140.5 (TLG1) 至 $2186.7 \pm 166.5 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$ (TLG2) (图 2.2B)。在旱季, 与非根际沉积物 ($437.4 \pm 325.0 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$) 相比, 根际沉积物中微塑料丰度 ($744.1 \pm 671.8 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$) 明显更高 ($P < 0.05$)。同样, QMG 区域的微塑料在根际沉积物中的丰度 ($545.0 \pm 371.9 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$) 明显高于非根际沉积物 ($302.8 \pm 242.8 \text{ items kg}^{-1} \text{ DW}$) ($p < 0.05$)。这表明根际效应影响了微塑料的丰度, 进一步反映了红树林植被根部对微塑料的拦截效应^[52]。

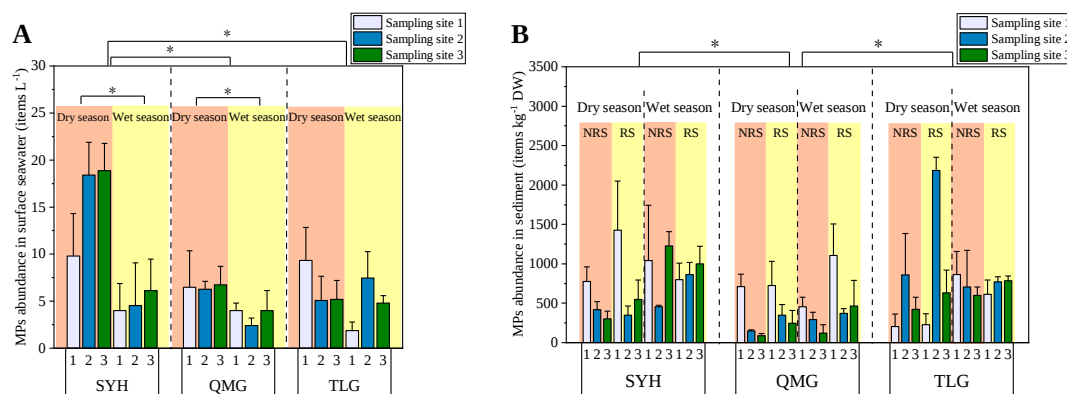


图 2.2 旱季和雨季每个采样点的表层海水 (A) 和沉积物 (B) 的微塑料丰度。*表示不同季节或区域微塑料丰度的显著差异 ($P < 0.05$) (NRS=非根际沉积物; RS=根际沉积物)

Figure 2.2 MPs abundance in surface seawater (A) and sediments (B) at each sampling site during dry and wet seasons. Asterisks indicate significant differences of microplastics abundance between seasons or areas ($p < 0.05$) (NRS= non-rhizosphere sediment; RS= rhizosphere sediment)

2.3.2 红树林中微塑料的形态特征

图 2.3 显示了每个红树林在不同季节微塑料的形态特征。结果显示, 所研究的红树林表层海水和沉积物中微塑料存在五种不同形状, 包括纤维、碎片、薄膜、颗粒和泡沫, 其中纤维 ($48.1 \pm 18.6\%$) 是最常检测到的形状, 其次是碎片 ($19.5 \pm 11.5\%$) 和薄膜 ($18.2 \pm 10.5\%$) (图 2.3A), 颗粒和泡沫的占比较小, 分别为 $7.2 \pm 6.5\%$ 和 $7.0 \pm 8.1\%$ 。在所有采样点, 检出微塑料的形状主要是纤维, 其中 SYH 区域占 $55.0 \pm 18.0\%$, QMG 区域占 $48.5 \pm 19.6\%$, TLG 区域占 $40.7 \pm 16.3\%$, 这些红树林之间的纤维占比不存在明显差异。该结果与巴西^[48]和中国南方^[49, 50]红树林的研究结果相似。纤维在红树林的大量检出可能与衣物相关的污水排放和渔网渔具的使用有关^[29]。此外, TLG 区域的薄膜比例 ($21.6 \pm 8.1\%$) 明显高于 SYH 区域 ($13.1 \pm 7.5\%$), TLG 区域的泡沫比例 ($10.6 \pm 8.1\%$) 显著高于 QMG 区域 ($5.0 \pm 8.8\%$) ($P < 0.05$), 表明这些红树林中微塑料污染的人为来源不同。微塑料的形状在表层海水和沉积物中显示出不同的分布情况。具体来说, 纤维在表层海水中的比例 ($57.1 \pm 15.6\%$) 明显高于沉积物 ($43.5 \pm 18.6\%$), 而碎片和泡沫呈现相反的趋势, 即它们在沉积物中的比例明显高于表

层海水 ($P < 0.05$)。这表明微塑料的密度对其迁移行为有明显影响,即低密度的微塑料如纤维倾向于漂浮在表层海水中,而高密度的微塑料如碎片容易沉入沉积物中^[85]。此外,微塑料形状的比例也随着季节的变化而变化,结果显示,纤维比例在雨季 ($53.3 \pm 18.4\%$) 明显高于旱季 ($42.8 \pm 17.7\%$),而碎片和颗粒的比例在雨季远低于旱季 ($P < 0.001$)。此外,所有形状的比例在不同沉积物类型之间没有表现出明显的变化。

红树林检出微塑料表现出不同的颜色,包括透明、白色、灰色、绿色、黄色、黑色、红色和蓝色(图 2.3B)。透明是每个采样点最主要的颜色,平均占比为 $52.2 \pm 16.9\%$,在其它红树林中也经常检出^[36, 40]。其它常见的微塑料颜色包括灰色 ($15.5 \pm 9.3\%$)、白色 ($12.0 \pm 9.8\%$) 和绿色 ($9.9 \pm 13.1\%$)。主要检出的透明微塑料可能来自塑料袋和农用薄膜。此外,在长期的环境暴露条件下,微塑料的颜色会由于光氧化过程而逐渐褪色,导致环境中透明微塑料的比例增加^[83, 86]。其他彩色的微塑料可能来自邻近居民区的塑料包装和衣服,以及渔业用具(一般是绿色和白色)^[29]。在所研究的红树林中,只发现白色的比例有明显的差异,其中 TLG 区域 ($16.2 \pm 9.2\%$) 的比例明显高于 QMG 区域 ($5.9 \pm 4.7\%$) ($P < 0.001$)。此外,在表层海水中观察到的透明微塑料比例 ($61.9 \pm 16.8\%$) 明显高于沉积物 ($47.3 \pm 15.0\%$) ($P < 0.001$)。这可能表明,光降解容易导致表层海水中的漂浮微塑料发生更强烈的褪色,特别是在阳光强烈和长时间照射的热带区域^[87]。与雨季相比,旱季白色微塑料的比例更大,灰色微塑料的比例明显较小 ($P < 0.05$)。此外,在非根际和根际沉积物之间,微塑料的颜色占比没有发现明显差异。

图 2.3C 显示了每个采样点微塑料的尺寸分布特征。在所研究的红树林中,大多数检测到的微塑料尺寸范围为 $100 \sim 500 \mu\text{m}$, 平均占比为 $56.1 \pm 10.8\%$ 。其次是 $50 \sim 100 \mu\text{m}$ ($14.9 \pm 9.9\%$) 和 $500 \sim 1000 \mu\text{m}$ ($14.8 \pm 8.7\%$)。检出微塑料主要尺寸范围小于中国红树林的其他研究结果^[40, 49, 50],可能是由于热带环境中强烈的海洋风化和阳光照射造成的较高程度破碎^[88]。在我们的研究中,较小的微塑料 ($100 \sim 500 \mu\text{m}$) 的高占比可能给红树林生态系统中的生物体带来较高的风险,因为较小尺寸的微塑料很容易被红树林中的鱼类和红树蚬等生物体所摄取^[40, 89]。在空间上,TLG 区域 $100 \sim 500 \mu\text{m}$ 尺寸范围的比例 ($61.8 \pm 10.2\%$) 明显高于 SYH 区域 ($52.2 \pm 8.6\%$) ($P < 0.05$)。就季节性而言, $50 \sim 100 \mu\text{m}$ 尺寸

范围的比例在旱季 ($18.9 \pm 10.3\%$) 明显高于雨季 ($10.9 \pm 7.7\%$) ($P < 0.01$)。然而, 表层海水和沉积物之间, 以及非根际和根际沉积物之间, 各种尺寸范围的比例没有明显差异。

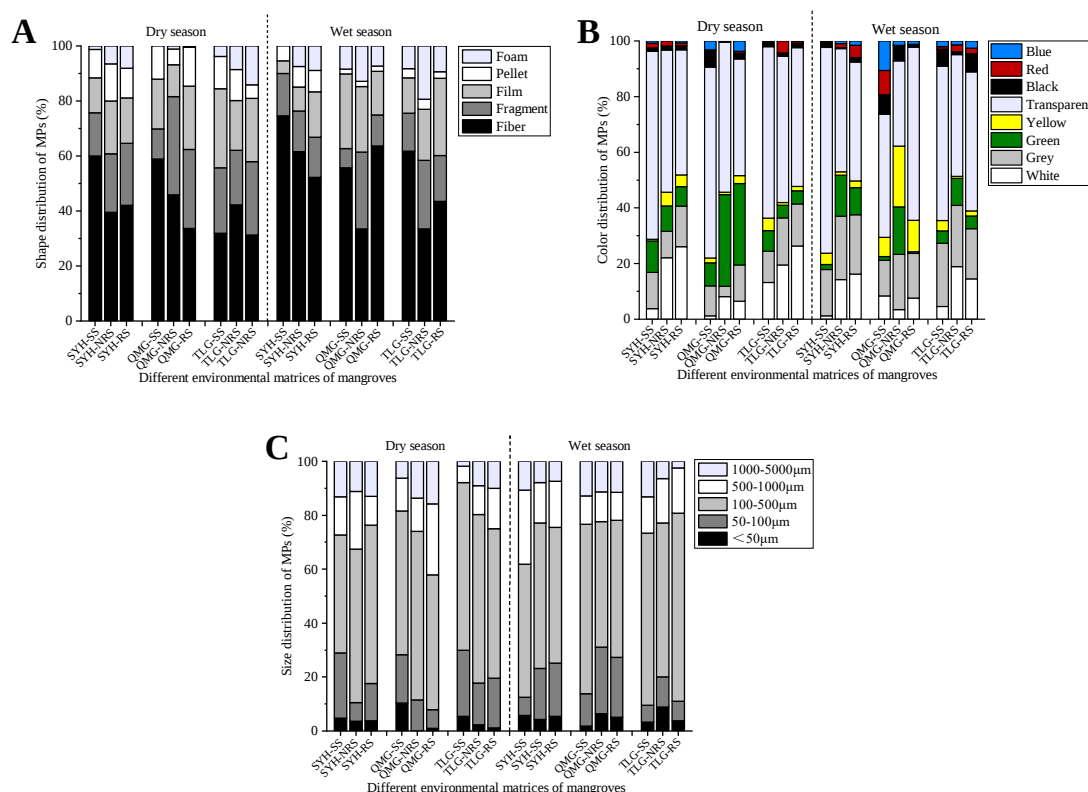


图 2.3 旱季和雨季红树林不同环境介质中微塑料的形状 (A)、颜色 (B) 和尺寸 (C) 分布 (SS=表层海水; NRS=非根际沉积物; RS=根际沉积物)

Figure 2.3 Shape (A), color (B) and size (C) distribution of microplastics in different environmental matrices of mangroves during dry and wet seasons (SS=surface seawater; NRS= non-rhizosphere sediment; RS= rhizosphere sediment)

根据微塑料的形状、颜色和尺寸, 利用 PCA 进一步直观地揭示了沉积物和表层海水中微塑料的时空分布特征 (图 2.4)。对于表层海水, 两个主成分解释了两季之间微塑料分布特征的 63.4% (图 2.4A)。PCA 得分图显示, 两个季节的表层海水样品基本上可以沿着第一主成分 (PC1) 进行区分, 这主要是由包括纤维、碎片、透明、50~100 µm 和 100~500 µm 尺寸范围等变量的贡献 (48.2%) 所驱动, 进一步证实了表层海水中微塑料污染特征的季节性变化。第二主成分

(PC2) 显示了来自泡沫、黑色、红色、蓝色和 500 ~ 1000 μm 尺寸范围的贡献 (15.2%)。此外, 来自不同红树林的海水样本的聚类趋势意味着检测到的微塑料特征存在一定的空间变化。就沉积物而言, 两个主成解释了两季之间微塑料特征总变化的 69.5% (图 2.4B)。PC1 (45.3%) 由包括碎片、透明、白色、灰色和 100 ~ 500 μm 尺寸范围的变量主导, 而 PC2 (24.2%) 由纤维、红色、黑色、500 ~ 1000 μm 和 1000 ~ 5000 μm 尺寸范围主导。PC2 方向上两个季节的沉积物样品基本分离, 表明沉积物的微塑料污染特征也存在季节性变化。

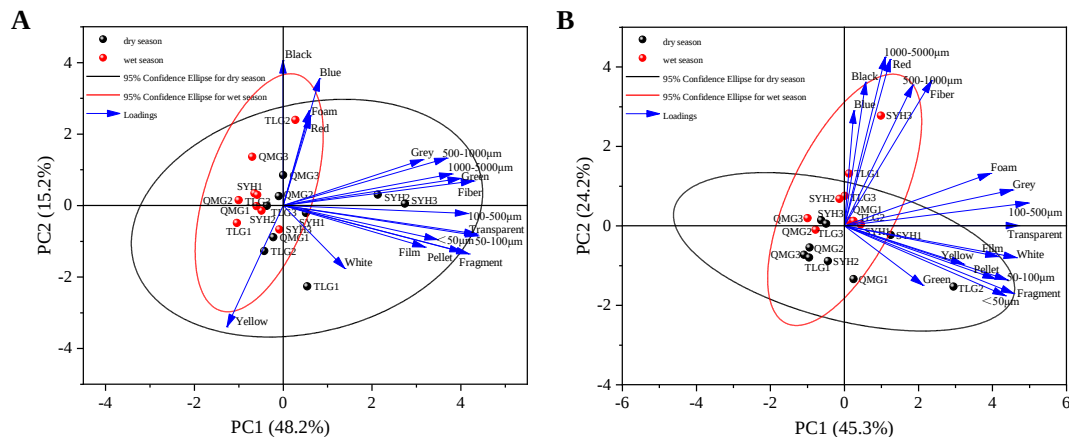


图 2.4 旱季和雨季红树林的表层海水 (A) 和沉积物 (B) 中微塑料特征的 PCA 图
Figure 2.4 PCA diagram of microplastics characteristics observed in surface seawater (A) and sediments (B) from mangroves during dry and wet seasons.

2.3.3 红树林中微塑料的聚合物类型

采用激光共聚焦显微拉曼光谱仪对微塑料聚合物进行化学表征, 结果表明, 在所研究的红树林中检测到的微塑料聚合物包括 PP、PE、PET、PS、尼龙 (PA)、PVC、聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA)、聚碳酸酯 (PC) 和 乙烯-醋酸乙烯酯 (EVA)。图 2.5A 显示了前四种丰度最高的微塑料的拉曼光谱, 包括 PP、PET、PE 和 PS, 其平均占比分别为 $32.7 \pm 9.8\%$ 、 $30.6 \pm 12.5\%$ 、 $19.7 \pm 11.2\%$ 和 $10.1 \pm 6.3\%$ 。这些聚合物不仅是其它红树林中经常检出的类型, 而且也是世界上产量最高的塑料。其中, PP 被广泛用于食品包装、家庭用品、管道和玩具, PET 则常用于纺织品、包装材料、塑料瓶等。因此, 检测到的大量 PP 和 PET 可能与附近居民区、旅游业和渔业的人为活动密切相关^[90]。从空间的角度来看,

所研究的红树林之间，微塑料聚合物类型的比例有很大的差异性（图 2.5B）。特别是，与 QMG 区域（ $6.2 \pm 9.7\%$ ）相比，SYH（ $10.3 \pm 8.4\%$ ）和 TLG（ $13.8 \pm 9.5\%$ ）区域检测到的 PS 比例明显较高（ $P < 0.05$ ），而与 TLG 区域（ $26.3 \pm 14.7\%$ ）相比，SYH 区域（ $16.3 \pm 14.6\%$ ）检测的 PE 比例明显较低（ $P < 0.05$ ）。此外，聚合物类型的比例随着季节的变化表现出明显的变化。统计分析表明，检测到的微塑料聚合物类型在旱季以 PP 和 PE 为主（ $P < 0.05$ ），在雨季以 PET 和 PS 为主（ $P < 0.01$ ）。然而，在不同的环境介质中没有发现明显的微塑料聚合物类型比例的差异。

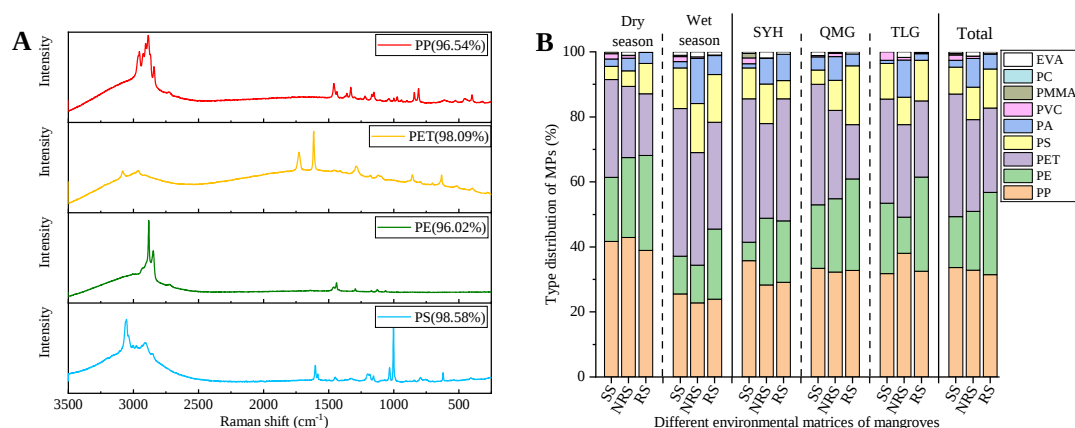


图 2.5 (A) 在红树林中检测到的主要微塑料的拉曼光谱; (B) 红树林不同环境介质中微塑料的类型分布 (SS=表层海水; NRS=非根际沉积物; RS=根际沉积物)

Figure 2.5 (A) Raman spectra of main MPs detected in mangroves; (B) Type distribution of MPs in different environmental matrices of mangroves (SS=surface seawater; NRS= non-rhizosphere sediment; RS= rhizosphere sediment)

2.3.4 环境参数对微塑料丰度的影响

相关性分析结果表明，所有研究的红树林表层海水中的微塑料丰度与营养盐的含量呈正相关，包括 $\text{NO}_2\text{-N}$ ($R = 0.473$, $P < 0.01$)、 $\text{NO}_3\text{-N}$ ($R = 0.402$, $P < 0.01$) 和 $\text{PO}_4\text{-P}$ ($R = 0.313$, $P < 0.05$)（图 2.6）。这表明营养盐对表层海水中微塑料的丰度有显著的影响。营养盐被认为是工业、农业和城市相关活动造成水污染的关键指标^[91]。微塑料丰度和营养盐之间的显著相关性可能表明它们具有相似的分布特征和污染源。此外，海水中丰富的营养物质可以促进病原菌群

落在微塑料表面的快速定殖^[92]；因此，微塑料和营养物质之间的相互作用可能对红树林生态系统中的生物构成额外威胁。此外，微塑料丰度与其他水质的理化参数之间存在中等程度的负相关性，包括电导率（ $R = -0.443$, $P < 0.01$ ）、温度（ $R = -0.426$, $P < 0.01$ ）、盐度（ $R = -0.422$, $P < 0.01$ ）和 pH（ $R = -0.319$, $P < 0.05$ ）（图 2.6），这与以前报告的结果一致^[82, 93, 94]。这些水质参数是监测海水质量的基本参数，可以反映污染状况，它们与微塑料丰度之间的负相关关系表明这些环境参数可影响红树林中微塑料分布情况。

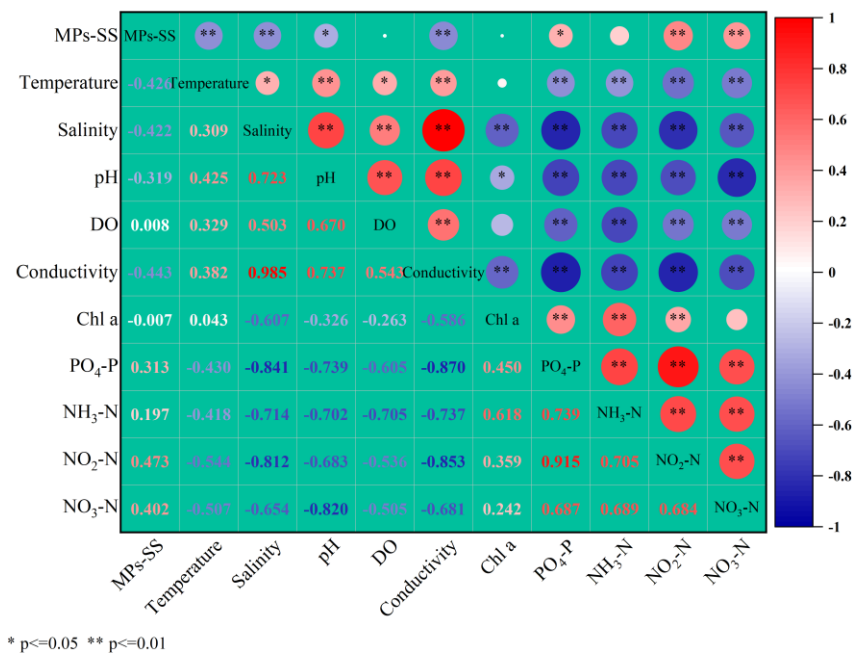


图 2.6 表层海水中微塑料丰度与理化参数的相关性（MPs-SS：表层海水中微塑料丰度）

Figure 2.6 Correlation between microplastics abundance and physicochemical parameters in surface seawater (MPs-SS: MPs abundance in surface seawater)

对于沉积物，没有观察到微塑料丰度与理化参数之间的显著关联（图 2.7）。据报道，沉积物指标，包括有机碳含量、含水率、沉积物颗粒组成，与红树林沉积物中的微塑料丰度有相关性^[50, 80, 95]。例如，沉积物中的有机碳含量和水分含量可能是微塑料积累的影响因素，因为微塑料倾向于与有机物颗粒融合成聚集体，并在低能量的潮汐环境中共同沉积^[88]。然而，这与以前红树林的研究中

结果不一致^[52, 80, 95]，表明微塑料行为除了与沉积物特性有关外，还与其他复杂因素（如波浪、潮汐、季风）相关。本研究只代表了 POC 水平较低的沉积物样本，当与有机物相关联时，可能会使结果出现偏差。需要进行进一步的研究，以验证沉积物属性与微塑料分布之间的关系，特别是在富含有机物的沉积物中。

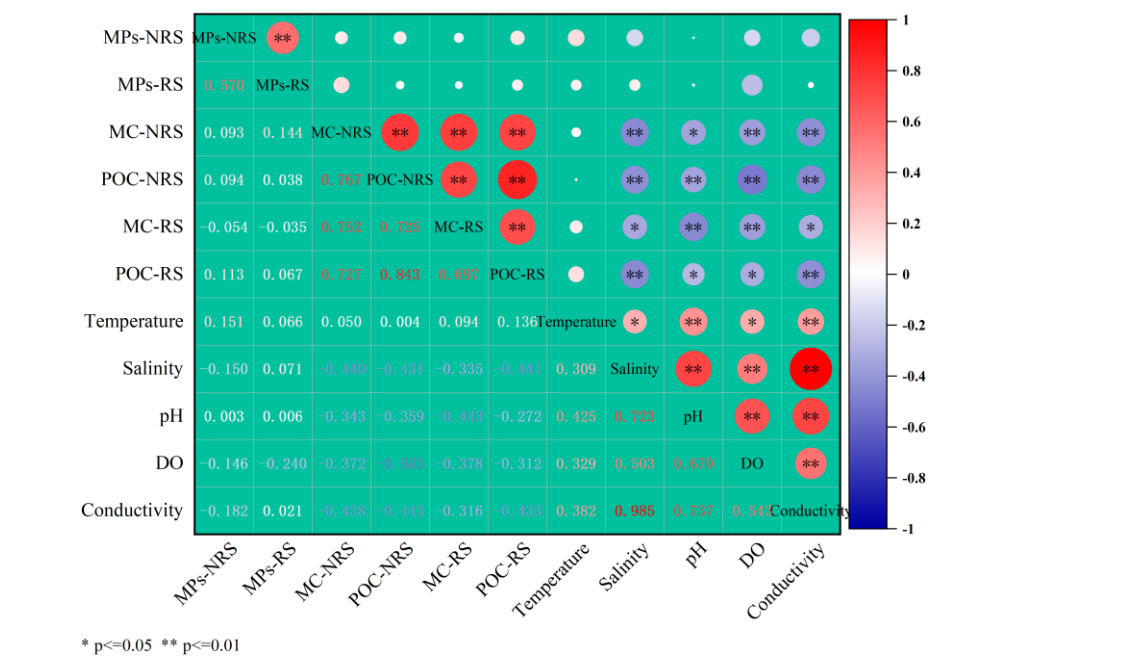


图 2.7 沉积物中微塑料丰度与水和沉积物理化参数之间的相关性（MPs-NRS：非根际沉积物中的微塑料；MPs-RS：根际沉积物中的微塑料；MC-NRS：非根际沉积物中的含水率；MC-RS：根际沉积物中的含水率；POC-NRS：非根际沉积物中的颗粒有机碳；POC-RS：根际沉积物中的颗粒有机碳）

Figure 2.7 Correlation between microplastics abundance in sediments and physicochemical parameters of water and sediments (MPS-NRS: MPs in non-rhizosphere sediment; MPs-RS: MPs in rhizosphere sediment; MC-NRS: MC in non-rhizosphere sediment; MC-RS: MC in rhizosphere sediment; POC-NRS: POC in non-rhizosphere sediment; POC-RS: POC in rhizosphere sediment)

2.4 小结

本研究分析了海南岛南部红树林不同环境介质中微塑料赋存特征的季节和空间变化规律。研究结果表明，在旱季和雨季，所有研究的红树林区域表层海

水和沉积物中普遍存在微塑料，其中三亚河红树林的微塑料丰度最高。表层海水中微塑料的丰度随季节变化较大，并且沉积物中微塑料丰度明显受到根际效应的影响。在不同的红树林、季节和环境介质，微塑料的形态特征也表现出一些明显的变化，检测到的主要是纤维状、透明颜色和较小尺寸（100~500 μm ）的微塑料，最主要的聚合物类型是 PP、PET 和 PE。进一步分析发现，微塑料丰度与表层海水中的营养盐含量呈正相关，但微塑料丰度与海水的理化参数呈负相关，包括温度、盐度、pH 值和电导率（ $P < 0.05$ ）。本研究为红树林生态系统的微塑料监测、溯源和风险评估提供了详细的基础数据，这将有助于未来对微塑料行为、迁移和生态环境影响的研究。

第3章 海南岛南部红树林微塑料生态风险评价

3.1 引言

随着微塑料在红树林不同季节、区域、环境介质中的检出，微塑料污染已成为红树林长期所面临的环境问题，关于红树林微塑料污染的生态风险评价工作迫在眉睫。目前，已有不少研究对各类环境介质中的微塑料污染进行了生态风险评价，王志超等人通过污染物负荷指数（PLI）对冰盖中微塑料的污染情况进行了生态风险评价^[96]。Mai 等人通过 PLI、聚合物危害指数（PHI）和潜在生态风险指数（PERI）三种模型对珠江河口表层水进行了全面性的生态风险评价^[97]。Al Nahian 采用 PLI、PHI、PERI 三种模型对圣马丁岛表层海水和沉积物中的微塑料污染进行了整体性的生态风险评价^[98]。Ranjani 等人^[99]和 Keerthika 等人^[100]的研究同样采用以上三种生态风险评价模型进行了评价分析。可见，PLI、PHI 和 PERI 这三种生态风险评价已被广泛用于微塑料生态风险评价，可以得到较为全面和准确的生态风险评价结果。

在红树林区域关于微塑料的生态风险评价的报道较少，并且主要是围绕沉积物方面进行微塑料生态风险评价，海水方面鲜有报道^[50]。因此，在本研究中，使用以上三种生态风险评价模型来研究这些红树林中与微塑料污染有关的潜在生态风险，全面了解海南岛南部三个红树林的表层海水和沉积物中微塑料污染带来的整体生态风险，为海南岛红树林的微塑料污染状况提供可视化的数据支撑，以此加深对红树林生态系统的保护和对微塑料污染的防控。

3.2 微塑料生态风险评价模型概述

PLI 是一个基于微塑料丰度和背景值之间比值的生态风险评价模型^[101]。

$$CF_i = \frac{C_i}{C_{oi}} \quad \text{式(3.1)}$$

$$PLI = \sqrt{CF_i} \quad \text{式(3.2)}$$

$$PLI_{zone} = \sqrt[n]{PLI_1 PLI_2 \cdots PLI_n} \quad \text{式(3.3)}$$

其中, CF_i 是每个采样点的微塑料浓度 (C_i) 与背景微塑料浓度 (C_{oi}) 的商值。在本研究中, 每个环境介质中微塑料的最低丰度被认为是 C_{oi} 。 PLI_{zone} 是整个区域的微塑料污染负荷指数。

PHI 是一个基于塑料聚合物类型和危害评分的生态风险评价模型^[102]。

$$PHI = \sum_{i=1}^n P_i \times S_i \quad \text{式(3.4)}$$

$$PHI_{zone} = \sqrt[n]{PHI_1 PHI_2 \cdots PHI_n} \quad \text{式(3.5)}$$

其中, P_i 是在每个采样点检测到的微塑料聚合物类型的百分比; S_i 是每种聚合物类型的 MP 的危害评分。PP、PE、PET、PS、PA、PVC、PMMA、PC 和 EVA 的 S_i 值分别为 1、11、4、30、50、10551、1021、1177 和 9^[102], PHI_{zone} 是整个区域的聚合物危害指数。

PERI 是一个基于传统生态风险指数的改进模型^[103]。

$$E_i = CF_i \times T_i \quad \text{式(3.6)}$$

$$PERI = \sum_{i=1}^n E_i \quad \text{式(3.7)}$$

$$PERI_{zone} = \sqrt[n]{PERI_1 PERI_2 \cdots PERI_n} \quad \text{式(3.8)}$$

其中, E_i 是单个微塑料聚合物的潜在生态风险指数; T_i 是单个微塑料聚合物的生态毒性系数, 它是单个塑料聚合物的百分比和危害评分的乘积。 $PERI_{zone}$ 是整个区域的潜在生态风险指数。

微塑料污染的风险等级标准见表 3.1。

表 3.1 微塑料污染的风险等级标准
Table 3.1 The criteria for the risk evaluation of MPs pollution

生态风险等级	I (轻度)	II (中度)	III (重度)	IV (危险)	V (极其危险)
PLI	< 10	10-20	20-30	> 30	
PHI	0-1	1-10	10-100	100-1000	> 1000
PERI	< 150	150-300	300-600	600-1200	> 1200

3.3 结果与讨论

3.3.1 污染物负荷指数 (PLI)

PLI 模型评价的微塑料污染风险主要与微塑料丰度相关。如表 3.2 所示, 所有研究的红树林微塑料污染的总体生态风险被归类为轻度污染 (I 级), 其中 SYH 区域排名第一, 其次是 TLG 和 QMG 区域。这与中国南方其它红树林区域的研究结果相似^[50], 这些区域生态风险等级也被评为 I 级 (< 10), 但福田红树林除外, 它的生态风险等级较高 (II 级, 10-20)。图 3.1A 显示了两个季节各采样点表层海水和沉积物中微塑料的 PLI 值, 总体上 PLI 值波动相对较小, 表明微塑料污染负荷随季节和环境介质的变化而略有不同。值得注意的是, PLI 模型可能低估了红树林微塑料污染的生态风险, 因为它忽略了各种类型聚合物的毒性贡献。因此, 尽管 PLI 模型估计的微塑料污染水平较低, 但所研究的红树林中微塑料引起的生态问题不容忽视, 值得进一步研究。

表 3.2 旱季和雨季各红树林各采样点的 PLI 值

Table 3.2 PLI values at each sampling site in various mangroves during dry and wet seasons

季节	采样点	PLI	PLI _{zone}
旱季	表层海水		
	SYH1	2.29(I)	2.84(I ^a)
	SYH2	3.14(I)	
	SYH3	3.18(I)	
	QMG1	1.86(I)	1.86(I)
	QMG2	1.83(I)	
	QMG3	1.90(I)	
	TLG1	2.24(I)	1.83(I)
	TLG2	1.65(I)	
	TLG3	1.67(I)	
	沉积物		
	SYH1	2.56(I)	1.83(I)
	SYH2	1.51(I)	
	SYH3	1.59(I)	
	QMG1	2.07(I)	1.36(I)
	QMG2	1.21(I)	
	QMG3	1.00(I)	
	TLG1	1.13(I)	1.82(I)
	TLG2	3.01(I)	
	TLG3	1.77(I)	

季节	采样点	PLI	PLI _{zone}
雨季	表层海水		
	SYH1	1.46(I)	1.61(I)
	SYH2	1.56(I)	
	SYH3	1.81(I)	
	QMG1	1.46(I)	1.34(I)
	QMG2	1.13(I)	
	QMG3	1.46(I)	
	TLG1	1.00(I)	1.47(I)
	TLG2	2.00(I)	
	TLG3	1.60(I)	
	沉积物		
	SYH1	2.34(I)	2.28(I)
	SYH2	1.98(I)	
	SYH3	2.57(I)	
	QMG1	2.15(I)	1.59(I)
	QMG2	1.41(I)	
	QMG3	1.32(I)	
	TLG1	2.10(I)	2.07(I)
	TLG2	2.10(I)	
	TLG3	2.03(I)	

^a 字母 (I、II、III、IV、V) 表示风险等级类别。

3.3.2 聚合物危害指数 (PHI)

根据微塑料危害评分和聚合物类型, 用 PHI 模型进一步评价了微塑料聚合物毒性带来的生态风险。结果表明, 在这些红树林中, 表层海水和沉积物中微塑料污染的 PHI 值随季节波动很大, 尤其是在表层海水中 (图 3.1B)。在旱季, PHI > 100 (IV 级) 的采样点数量比雨季要多, 其中大部分在 SYH 区域。根据 PHI_{zone} 的数值, SYH 区域微塑料污染的生态风险最高 (III 至 IV 级), TLG (II 至 III 级) 和 QMG 区域 (II 至 III 级) 紧随其后 (表 3.3)。SYH 区域的 PHI 值受到一定比例具有高危害评分的 PS、PA、PMMA 和 PVC 聚合物 (分别为 30、50、1021 和 10551) 影响。此外, 在雨季观察到 TLG2 采样点具有最高的 PHI 值 (1454.2), 这主要源于较大占比的几种有害聚合物类型, 如 PS、PA 和 PVC, 其中高危害的 PVC 占比 (13.68%) 在所有采样点中最高。检测到的 PVC 可能与该地正在进行的景观桥建设有关, 因为 PVC 在建筑物和建筑中有着广泛的应用, 如管道、地板、电线的绝缘材料。

表 3.3 旱季和雨季各红树林采样点的 PHI 值

Table 3.3 PHI values at each sampling site in various mangroves during dry and wet seasons

季节	采样点	PHI	PHI _{zone}
旱季	表层海水		
	SYH1	329.06(IV)	373.36(IV ^a)
	SYH2	515.18(IV)	
	SYH3	307.01(IV)	
	QMG1	274.63(IV)	24.09(III)
	QMG2	9.22(II)	
	QMG3	5.52(II)	
	TLG1	6.47(II)	22.90(III)
	TLG2	228.04(IV)	
	TLG3	8.13(II)	
	沉积物		
	SYH1	33.94(III)	32.12(III)
	SYH2	126.56(IV)	
	SYH3	7.71(II)	
	QMG1	7.78(II)	21.30(III)
	QMG2	4.84(II)	
	QMG3	256.47(IV)	
	TLG1	12.02(III)	9.34(II)
	TLG2	8.63(II)	
	TLG3	7.86(II)	
雨季	表层海水		
	SYH1	11.04(III)	15.00(III)
	SYH2	6.92(II)	
	SYH3	44.20(III)	
	QMG1	7.05(II)	8.01(II)
	QMG2	5.67(II)	
	QMG3	12.86(III)	
	TLG1	3.78(II)	36.08(III)
	TLG2	1454.18(V)	
	TLG3	8.55(II)	
	沉积物		
	SYH1	12.92(III)	58.38(III)
	SYH2	82.82(III)	
	SYH3	185.98(IV)	
	QMG1	21.42(III)	14.11(III)
	QMG2	13.14(III)	
	QMG3	9.99(II)	
	TLG1	9.90(II)	22.68(III)
	TLG2	94.79(III)	
	TLG3	12.43(III)	

^a 字母 (I、II、III、IV、V) 表示风险等级类别。

3.3.3 潜在生态风险指数 (PERI)

PERI 模型同时兼顾微塑料的危害评分和微塑料的丰度, 对微塑料的潜在生态风险进行评价。所研究红树林区域 PERI 值的总体趋势与 PHI 模型得到的结果相似 (图 3.1C)。根据总体 PERI_{zone} 值 (表 3.4), SYH 区域表现出最高的微塑料潜在生态风险 (I 至 V 级), 而 QMG 和 TLG 区域表现出轻微的微塑料潜在风险 (I 级)。在本研究中, 沉积物 PERI_{zone} 值 (31.0 ~ 304.4) 远低于中国南方六个红树林沉积物的报道结果 (42.0 ~ 2405.6) [50]。值得注意的是, 在一些采样点, 计算出的表层海水的 PERI_{zone} 值远高于沉积物, 从而导致危害等级达到极其危险 (V 级)。结果显示, 表层海水和沉积物的 PERI_{zone} 值之间存在巨大差异 (主要在 SYH 和 TLG2), 这是因为表层海水中存在 PVC 聚合物, 其毒性系数比其他类型的聚合物高几个数量级, 进而推测, 这些聚合物在表层海水的存在可能是通过添加大量增塑剂生产的柔性 PS, 其密度较低, 容易通过湍流悬浮在表层海水中[29]。

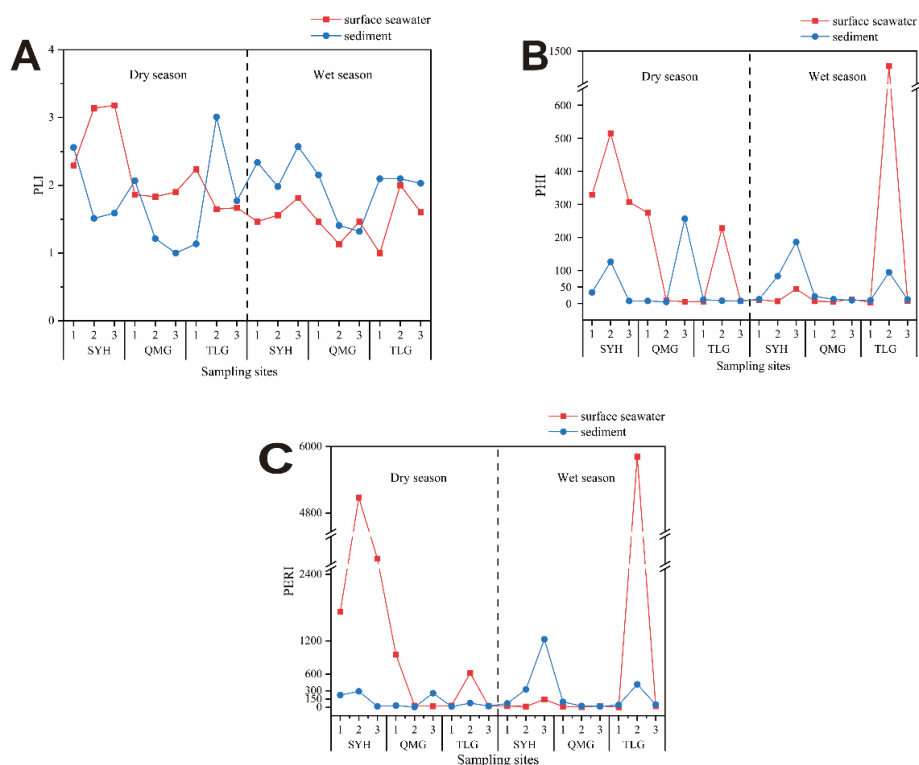


图 3.1 旱季和雨季红树林中微塑料的生态风险评价: PLI (A), PHI (B), PERI (C)

Figure 3.1 Ecological risk assessment of MPs in mangroves during dry and wet seasons: PLI (A), PHI (B), PLI (C).

表 3.4 旱季和雨季各红树林采样点的 PERI 值

Table 3.4 PERI values at each sampling site in various mangroves during dry and wet seasons

季节	采样点	PERI	PERI _{zone}
旱季	表层海水		
	SYH1	1727.56(V)	3008.22(V ^a)
	SYH2	5078.21(V)	
	SYH3	3103.04(V)	
	QMG1	951.38(III)	83.70(I)
	QMG2	30.97(I)	
	QMG3	19.90(I)	
	TLG1	32.36(I)	76.84(I)
	TLG2	618.97(III)	
	TLG3	22.65(I)	
	沉积物		
	SYH1	222.14(II)	107.78(I)
	SYH2	289.459(II)	
	SYH3	19.47(I)	
	QMG1	33.27(I)	39.35(I)
	QMG2	7.14(I)	
	QMG3	256.47(II)	
	TLG1	15.48(I)	31.01(I)
	TLG2	78.05(I)	
	TLG3	24.68(I)	
雨季	表层海水		
	SYH1	23.66(I)	38.65(I)
	SYH2	16.80(I)	
	SYH3	145.21(II)	
	QMG1	15.11(I)	14.48(I)
	QMG2	7.29(I)	
	QMG3	27.56(I)	
	TLG1	3.78(I)	78.47(I)
	TLG2	5816.72(V)	
	TLG3	21.99(I)	
	沉积物		
	SYH1	70.60(I)	304.39(III)
	SYH2	324.73(III)	
	SYH3	1230.07(V)	
	QMG1	99.25(I)	35.56(I)
	QMG2	26.02(I)	
	QMG3	17.40(I)	
	TLG1	43.50(I)	97.55(I)
	TLG2	416.68(III)	
	TLG3	51.21(I)	

^a 字母 (I、II、III、IV、V) 表示风险等级类别。

3.4 小结

通过 PLI、PHI 和 PERI 三个生态风险评价模型的联合使用,表明微塑料在不同季节对所研究的三个红树林表层海水和沉积物中均造成了不同程度的生态风险。PLI 模型直观反映了每个采样点微塑料丰度所带来的污染状况,三个红树林微塑料污染的生态风险均被归类为轻度污染(I级),其中 SYH 区域排名第一,其次是 TLG 和 QMG 区域。PHI 模型反映了各采样点聚合物毒性对各红树林区域污染状况的贡献,该模型结果表明,SYH、QMG 和 TLG 区域微塑料的聚合物生态风险等级最高分别达到了 IV 级、III 级、III 级。PERI 模型同时兼顾了微塑料的危害评分和丰度,该模型结果显示,SYH 区域表现出最高的微塑料潜在生态风险(I至 V 级),而 QMG 和 TLG 区域表现出轻微的微塑料潜在风险(I级)。总体来说 SYH 区域生态风险较为严重。微塑料的污染很可能对栖息在这些红树林中的各种陆地和海洋生物产生有害影响。值得注意的是,对于红树林生态系统,仍然缺乏标准化的微塑料生态风险评价模型。因此,需要进一步研究开发针对生态系统中微塑料污染的更全面的风险评价模型,可以考虑从多种不同的角度进行评价,例如从物种丰富度、生态脆弱性、多个营养级的生物毒性、人类健康等。

第 4 章 海南岛南部不同时空红树林微塑料表面生物膜特征研究

4.1 引言

微塑料进入海水环境后，随着在海水中暴露时间的增加，其表面会定殖丰富的微生物群落，微生物群落的存在会促进重金属和有机污染物的吸附^[63]。关于微塑料表面生物膜特征及其影响因素成为近年来的研究热点。已有研究报道了微塑料表面附着的微生物群落在时空方面的差异性，主要是围绕近岸海域展开的研究^[72-74]。但是，关于红树林区域微塑料表面生物膜的微生物群落结构特征，以及重金属和有机污染物的富集特征在时空方面的差异性鲜有报道。

通过前两章的研究可知，红树林区域受到了不同程度的微塑料污染，主要检出的微塑料聚合物类型为 PP、PE 和 PET，同时发现了微塑料赋存特征在时空方面的差异，以及微塑料丰度与海水环境参数之间存在一定的相关性。因此，本章进一步研究在不同时空微塑料表面生物膜特征，主要对微塑料表面生物膜的形貌、化学结构、细菌群落结构特征、重金属和有机污染物的富集特征进行分析，多角度探究时空因素对微塑料表面生物膜特征的影响。

4.2 材料与方法

4.2.1 微塑料的原位暴露实验

选择第二章中的青梅港 3 号点（QMG3）和铁炉港 2 号点（TLG2）作为原位暴露区域，分别记为 QMG 和 TLG，并基于第二章红树林中微塑料赋存特征的调查发现，购买典型的微塑料颗粒标准品，包括 PP、PE、PET，尺寸范围为 3 ~ 5 mm。每种微塑料用 75%乙醇预清洗以去除所有有机元素，然后用无菌超纯水洗涤数次，分装 10 g 在消过毒的小尼龙袋（0.3 mm，尺寸：15 × 10 cm）中，用轧带将袋口扎紧，并系上防水标签，以区分塑料类型。3 个小尼龙袋绑在一起作为 1 组样品，在不锈钢网笼（直径 24 cm，高度 24 cm，孔径 1 mm）

中放置 3 组样品，并在底部放置一些鹅卵石以增加重量，系好尼龙绳分别投放于两个区域海水水深 1 m 处。在旱季（2021 年 12 月）和雨季（2022 年 6 月）分别进行一次微塑料原位暴露实验，在每个暴露点设置一份备用样品于新的不锈钢网笼中。

4.2.2 样品和海水理化参数的采集

原位暴露实验开始后，分别在 15 天、30 天、60 天从不锈钢网笼中取出一组样品装入无菌袋中，储存在装有蓝冰的保温箱内，带回实验室在超净工作台内进行分装。用于场发射扫描电子显微镜观察表面生物膜形貌的样品和用于激光共聚焦拉曼光谱仪比较微塑料化学结构的样品，于 4℃ 冷藏保存。用于 DNA 提取分析微生物群落丰度及多样性的样品放入 5 mL 冻存管中，于 -80℃ 冰箱低温保存，用于分析微塑料表面富集的重金属和有机污染物的样品放入 5 mL 冻存管于 -20℃ 冷冻保存。

所有样品的编号以“季节+区域+微塑料类型+暴露天数”的形式进行标记。季节包括旱季和雨季，分别记为 D 和 W，区域包括青梅港和铁炉港红树林，分别记为 QMG 和 TLG；微塑料类型包括 PP、PE 和 PET；暴露天数包括 15、30 和 60。

在每次取样时，使用手持式多参数水质测定仪（SX736 型，三信，中国）同步测定站位海水的温度、盐度、pH、溶解氧和电导率，每个参数重复测量三次（表 4.1）。

表 4.1 不同季节 QMG 和 TLG 区域在不同暴露天数海水的理化参数
Table 4.1 Physicochemical parameters of QMG and TLG areas in seawater at different exposure days in different seasons

季节	区域	暴露时间 (天)	温度- Temperature (°C)	盐度- Salinity (‰)	pH	溶解氧-DO (mg L ⁻¹)	电导率- Conductivity (μS)
旱季	QMG	15	24.5 ± 0.1	28.1 ± 0.3	7.67 ± 0.03	4.90 ± 0.08	47.23 ± 0.21
		30	23.2 ± 0.2	29.3 ± 0.3	7.75 ± 0.02	4.70 ± 0.05	47.30 ± 1.18
		60	25.3 ± 0.3	30.9 ± 0.3	7.76 ± 0.03	5.46 ± 0.09	50.67 ± 0.15
	TLG	15	25.3 ± 0.3	28.9 ± 0.6	7.76 ± 0.06	8.39 ± 0.08	48.80 ± 0.26
		30	25.9 ± 0.2	29.6 ± 0.1	7.83 ± 0.02	6.64 ± 0.04	48.83 ± 0.38
		60	23.1 ± 0.5	30.4 ± 0.5	7.93 ± 0.03	8.03 ± 0.08	50.97 ± 0.51

季节	区域	暴露时间 (天)	温度- Temperature (°C)	盐度- Salinity (‰)	pH	溶解氧-DO (mg L ⁻¹)	电导率- Conductivity (μS)
雨季	QMG	15	30.7 ± 0.2	25.5 ± 0.3	8.15 ± 0.02	7.60 ± 0.06	46.10 ± 0.53
		30	30.6 ± 0.4	30.8 ± 0.6	8.25 ± 0.02	8.74 ± 0.07	51.20 ± 0.26
		60	30.6 ± 0.2	13.3 ± 0.3	7.50 ± 0.01	4.22 ± 0.01	20.43 ± 0.31
	TLG	15	31.9 ± 0.2	26.0 ± 0.7	8.02 ± 0.04	7.44 ± 0.03	45.40 ± 0.70
		30	31.6 ± 0.2	27.8 ± 0.3	8.11 ± 0.01	8.13 ± 0.01	44.23 ± 1.16
		60	30.6 ± 0.3	22.6 ± 0.3	7.79 ± 0.02	8.28 ± 0.03	38.13 ± 0.12

4.2.3 微塑料表面生物膜的形貌表征

微塑料表面生物膜形貌分析的样品主要通过清洗、细胞固定、脱水和干燥进行制备。首先，使用无菌镊子夹取微塑料，用灭菌海水洗清三次，以去除微塑料表面的杂质，随后，将微塑料放入装有 2.5%戊二醛的离心管中，在室温下固定 3 h，接着用 0.01 mol/L 的 PBS 缓冲液（0.01 mol/L，pH = 7.2）清洗 3 次，依次放入 10%、30%、50%、70%和 90%的乙醇中进行梯度脱水 10 min，再放入 100%乙醇中脱水 2 次，每次 15 min，最后将脱水后的微塑料样品放入干燥器进行干燥。

用导电胶带将干燥后的微塑料样品粘在扫描电镜样品台上，用离子溅射仪（JEC-3000FC，JEOL，日本）在微塑料表面喷金 100 s。随后将样品台送入扫描电镜真空腔内，加速电压为 10 kV。使用场发射扫描电子显微镜（JSM-7610FPlus，JEOL，日本）观察微塑料表面生物膜的形貌。原始购买的微塑料作为对照组。

4.2.4 微塑料表面生物膜的化学结构比较表征

将微塑料样品在超纯水中清洗 3 次，然后超声清洗 2 次，每次 30 min，以去除附着的生物膜。原始购买的微塑料作为对照组。微塑料样品干燥后，使用激光共聚焦显微拉曼光谱仪（DXR2，Thermo Fisher Scientific，美国）仪器进行微塑料化学结构的比较表征。激光波长选择 532 nm，所有测量的激光能量设置为 6 mW，所有的拉曼光谱都记录在 200~3500 cm⁻¹ 的光谱范围内，对比暴露前后各微塑料样品拉曼光谱变化。

4.2.5 微塑料表面生物膜的 DNA 提取

使用十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 法提取不同样品的 DNA。总 DNA 在 50 μL 洗脱缓冲液中进行洗脱, 并储存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下, 直至进行 PCR 扩增。

引物的选择如表 4.2 所示, 每个样品特异性标签 (barcodes) 引物的 5' 末端, 并测序通用引物。建立 25 μL 的 PCR 扩增反应体系: 25 ng 模板 DNA、12.5 μL PCR 预混料、每个引物 2.5 μL , PCR 级水调整体积。PCR 扩增条件为: $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ 初始变性 30 s, 随后进行 32 个循环 ($98\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下变性 10 s, $54\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 30 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 45 s), 最后在 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下让引物延伸 10 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定。

表 4.2 引物的选择
Table 4.2 Selection of primers

区域	引物
V3-V4	341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') 805R(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')
Archae	F(5'-GYGCASCAGKCGMGAAW-3') R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')
V4	515F(5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') 806R (5'- GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')
V4-V5	F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3') R(5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')

通过 AMPure XT 磁珠 (Beckman Coulter Genomics, Danvers, MA, USA) 纯化 PCR 产物, 并通过 Qubit (Invitrogen, USA) 定量。制备扩增子池用于测序, 并分别在 Agilent 2100 生物分析仪 (Agilent, USA) 和 Illumina 文库定量试剂盒 (Kapa Biosciences, Woburn, MA, USA) 上评估扩增子文库的大小和数量, 在 NovaSeq PE250 平台上对文库进行测序。

4.2.6 微塑料表面生物膜的重金属的测定

将解冻后的微塑料样品颗粒称重后放置到一个干净的 10 mL 离心管, 随后加入替代标混合液 ($10\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$) 40 μL , 随后加入 2 mL 的 20% 王水 ($\text{HCl}:\text{HNO}_3 = 3:1$, v/v), 在室温下将离心管置于恒温振荡器内振荡 24 h (转速: 100 rpm), 用玻璃滴管吸取液体至注射器内, 通过针式过滤器 ($0.45\text{ }\mu\text{m}$, PTFE 滤膜) 过滤

后的液体转移至新的离心管内，超纯水定容至 5 mL 后于 4 °C 冷藏保存，最后使用电感耦合等离子体-质谱仪（ICP-MS）（iCAP RQ, Thermo Fisher Scientific, 美国）对样品中的 Cr、Mn、Co、Ni、Cu、Cd 和 Pb 七种重金属元素进行测定分析。

4.2.7 微塑料表面生物膜的有机污染物的测定

将解冻的微塑料样品颗粒称重后放置在一个干净的 10 mL 离心管中，加入 12 μL PAHs、PCBs、OCPs 替代标混合液（10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ），以及 5 mL 正己烷：二氯甲烷（7：3，v/v）的混合液，超声辅助提取 15 min 并离心 10 min（1500 $\times g$ ）后吸取溶液至 10 mL 玻璃试管中，重复加入 5 mL 正己烷：二氯甲烷（3：7，v/v）混合液进行超声 15 min 和离心 10 min（1500 $\times g$ ），合并溶液至 10 mL 玻璃试管中，并标号，使用氮吹仪（40 °C）（MD200, 上海析谱仪器有限公司，中国）进一步浓缩至约 1 mL。接着依次用 5 mL 正己烷：二氯甲烷（1：1，v/v）和 5 mL 正己烷活化 Florisil SPE 小柱，将样品溶液添加到柱子中进行固相萃取，待固相萃取结束后取出废液槽，放入玻璃试管，收集 8 mL 正己烷：二氯甲烷（1：1，v/v）洗脱后的溶液，氮吹浓缩后再用 8 mL 正己烷重新洗脱于玻璃试管中。将洗脱液氮吹近干后，加入内标混合液 12 μL （10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ），用正己烷定容至 200 μL ，混匀后转移液体到样品瓶中。最后使用气相色谱飞行时间质谱联用仪（GC-TOFMS）（Pegasus BT, LECO, 美国）对 16 种 PAHs、18 种 PCBs 和 11 种 OCPs 进行测定分析。所用色谱柱为 Rxi-5MS（30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm ，Restek, USA），进样量为 1 μL ，不分流模式，进样口温度为 280 °C。载气为氦气，流速 1 mL/min。程序升温条件在 Van 等人^[104]分析方法基础上加以修改。质谱传输线和离子源温度分别为 280 °C 和 250 °C，EI 能量为 70 eV。

4.2.8 质量保证/质量控制（QA/QC）

在实验中，每份样品均保证有三个重复，用于微生物分析的样品均在超净工作台进行操作，在整个 DNA 提取过程中，使用超纯水代替样品溶液作为阴性对照，以排除假阳性 PCR 结果的可能性。重金属实验所用的外标样是包含 Cr、Mn、Co、Ni、Cu、Cd 和 Pb 七种元素的混标（坛墨质检，BWT30129-100-100），在进行重金属样品处理和上机测定之前，在样品中加入了 Y、In 和 Bi 的

混合替代标 (GBTC, GNW-M040037-2013), 替代标的回收率分别为 $92.6 \pm 7.7\%$ (Y)、 94.6 ± 8.0 (In)、 $106.7 \pm 6.7\%$ (Bi), 每个重金属样品上机测定之前, 均加入了内标 (Rh) 进行了定量。

有机污染物实验所用的所有试剂为色谱级, 使用的外标样分别是 16 种 PAHs 的混合外标 (博林达, 10008CCD-1), 18 种 PCBs 的混合外标 (伟业计量, BWQ8448-2016) 和 11 种 OCPs 的混合外标 (伟业计量, BWN5438-2016), 外标的具体组分见表 4.3, 在进行有机污染物样品处理之前, 在样品中加入了替代标 (PAH 替代标: 对三联苯-d14; PCB 替代标: PCB114-2',3',5',6'-d4; OCP 替代标: 2, 4, 5, 6-四氯间二甲苯), 替代标的回收率分别为: $71.0 \pm 12.0\%$ (对三联苯-d14)、 $73.2 \pm 11.6\%$ (PCB114-2',3',5',6'-d4) 和 $78.1 \pm 18.0\%$ (2, 4, 5, 6-四氯间二甲苯), 每个有机污染物样品上机测定之前, 均加入了内标 (PAH 内标: 苊-D10, 蒽-D12, 1,4-二氯苯-D4, 萘-D8, 菲-D12 和菲-d10; PCB 内标: PCB77-d6 和 PCB156-d3; OCP 内标: 五氯硝基苯) 进行定量。

表 4.3 有机污染物外标的详细组分

Table 4.3 Detailed components of organic pollutant external standards

序号	16 种 PAHs		18 种 PCBs		11 种 OCPs	
	中文名	英文名	中文名	英文名	中文名	英文名
1	萘	Naphthalene	2,4,4'-三氯联苯	PCB 28	α -六六六	α -Hexachlorocyclohexane
2	苊烯	Acenaphthalene	2,2',5,5'-四氯联苯	PCB 52	β -六六六	β -Hexachlorobenzene
3	苊	Acenaphthene	2,2',4,5,5'-五氯联苯	PCB101	γ -六六六	γ -Hexachlorobenzene
4	芴	Fluorene	3,4,4',5-四氯联苯	PCB81	δ -六六六	δ -Hexachlorobenzene
5	菲	Phenanthrene	3,3',4,4'-四氯联苯	PCB77	七氯	heptachlor
6	蒽	Anthracene	2',3,4,4',5-五氯联苯	PCB123	艾氏剂	aldrin
7	荧蒽	Fluoranthene	2,3',4,4',5-五氯联苯	PCB118	狄氏剂	dieldrin

序号	16 种 PAHs		18 种 PCBs		11 种 OCPs	
	中文名	英文名	中文名	英文名	中文名	英文名
8	芘	Pyrene	2,3,4,4',5-五氯联苯	PCB114	p,p'-DDE	p,p'-Dichlorodiphenyldi chloroethylene
9	苯并 (a) 蒽	Benzo(a)anthracene	2,2',3,4,4',5'-六氯联苯	PCB138	p,p'-DDD	p,p'-Dichlorodiphenyldi chloroethane
10	蒽	Chrysene	2,3,3',4,4',5-五氯联苯	PCB105	o,p'-DDT	o,p'-Dichlorodiphenyltri chloroethane
11	苯并 (b) 荧蒽	Benzo(b)fluoranthene	2,2',4,4',5,5'-六氯联苯	PCB153	p,p'-DDT	p,p'-Dichlorodiphenyltri chloroethane
12	苯并 (k) 荧蒽	Benzo(k)fluoranthene	3,3',4,4',5-五氯联苯	PCB126		
13	苯并 (a) 芘	Benzo(a)pyrene	2,3',4,4',5,5'-六氯联苯	PCB167		
14	茚并 (1,2,3-cd) 芘	Indeno(123-cd)pyrene	2,3,3',4,4',5'-六氯联苯	PCB156		
15	二苯并 (a,h) 蒽	Dibenzo(ah)pyrene	2,3,3',4,4',5'-六氯联苯	PCB157		
16	苯并 (g,h,i) 芘	Benzo(ghi)perylene	2,2',3,4,4',5,5'-七氯联苯	PCB180		
17			3,3',4,4',5,5'-六氯联苯	PCB169		
18			2,3,3',4,4',5,5'-七氯联苯	PCB189		

4.2.9 数据分析

在 Illumina NovaSeq 平台上对样品进行测序以分析微生物的群落结构特征。

末端 reads 根据其独特的 barcode 分配给样本，并截去 barcode 和引物序列，使用 FLASH 合并每个样本的末端 reads，得到拼接序列，即为原始数据（Raw Tags）。在特定过滤条件下对原始读数进行质量过滤，根据 fqtrim (v0.94) 获得高质量的 Clean tags。使用 Vsearch 软件 (v2.3.4) 过滤嵌合序列。用 DADA2 去重复后得到扩增子序列变异 (ASV) 特征表和特征序列，随机归一化到相同序列计算 α 多样性和 β 多样性，然后根据 SILVA (release 138) 分类器，使用每个样品的相对丰度对特征丰度进行归一化。 α 多样性通过 Chao1 和 Shannon 指数分析了样本物种多样性和丰富度，并利用 QIIME2 计算了样本的这两个指数，同样用 QIIME2 软件计算 β 多样性，用 R 软件包绘图，用 Blast 软件进行序列比对，用 SILVA 数据库对每个代表性序列注释特征序列，其他图表均用 R 软件包 (v3.5.2) 绘制。样本分组的详细信息见表 4.4。

重金属和有机污染物含量的单位分别以 $\mu\text{g g}^{-1}$ 和 ng g^{-1} 表示。所有数据均以平均值 $\pm$ 标准差 (SD) 表示 ($n = 3$)。统计分析使用 SPSS 26 软件进行。在进行单变量分析之前，进行了 Shapiro-Wilk 检验和 Levene 检验，以检查数据的正态性和方差齐性。基于上述结果，重金属和有机污染物的含量在不同季节和区域间的比较采用了 Wilcoxon signed rank 检验，在不同暴露天数和微塑料类型之间的比较 Kruskal-Wallis 检验。P 值低于 0.05 被视为具有统计学意义。

表 4.4 样本分组信息
Table 4.4 Information of sample grouping

序号	不同季节-区域分组	不同季节-暴露天数	不同区域-暴露天数
1	Dry-QMG (旱季 QMG 区域)	D15 (旱季暴露 15 天)	Q15 (QMG 暴露 15 天)
2	Wet-QMG (雨季 QMG 区域)	D30 (旱季暴露 30 天)	Q30 (QMG 暴露 30 天)
3	Dry-TLG (旱季 TLG 区域)	D60 (旱季暴露 60 天)	Q60 (QMG 区域暴露 60 天)
4	Wet-TLG (雨季 TLG 区域)		T15 (TLG 区域暴露 15 天)
5			T30 (TLG 区域暴露 30 天)
6			T60 (TLG 区域暴露 60 天)

4.3 结果与讨论

4.3.1 微塑料表面生物膜的形貌特征

在不同季节（旱季和雨季）、对 QMG 和 TLG 两个红树林区域进行了不同时间（15 天、30 天和 60 天）的原位暴露，在 PP、PE、PET 颗粒表面均形成了不同程度的生物膜。从图中 4.1 可以看出，暴露前，各个类型的塑料颗粒表面较为平整光滑。暴露后，随着暴露时间的增加，塑料表面变的粗糙、有折痕和缝隙，并且附着了一些藻类、沉积物颗粒、各种形状的细菌，这与之前报道的结果一致^[60, 61, 68]。

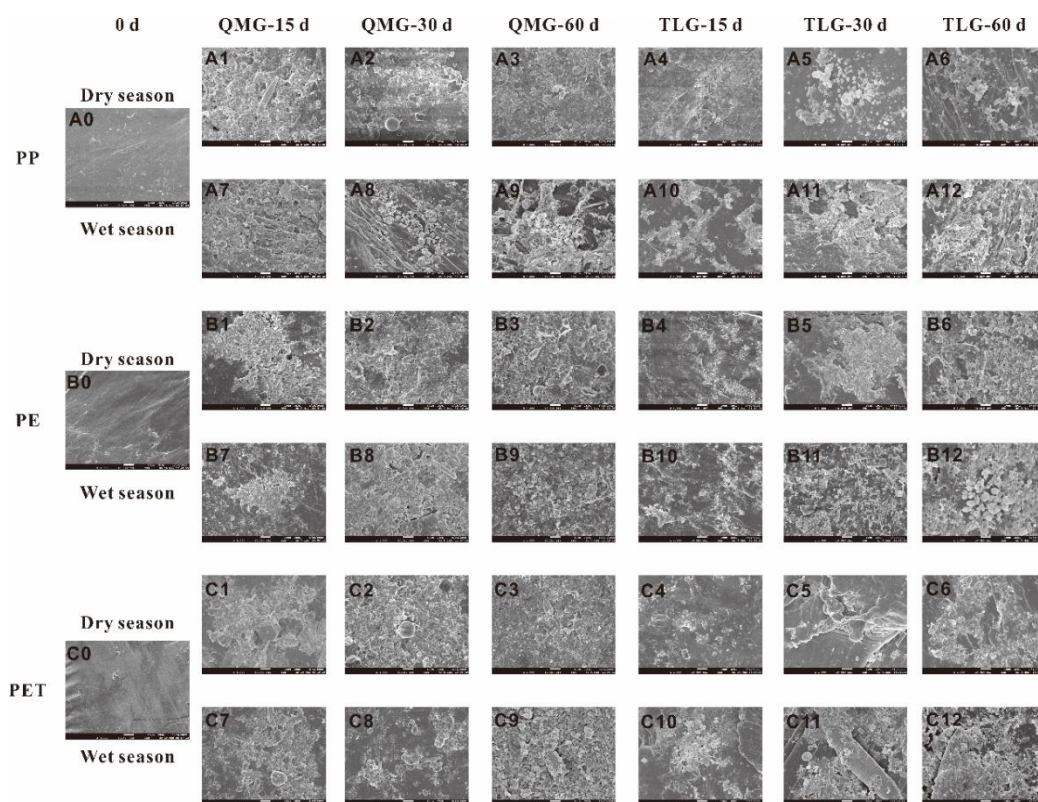


图 4.1 不同季节、区域、暴露天数 PP、PE 和 PET 表面生物膜形貌

Figure 4.1 Biofilm morphology of PP, PE and PET surfaces in different seasons, areas and exposure days

其中，附着的藻类主要有：菱形藻 *Nitzschia* sp.（图 4.1 A1、A9、B8、）、小环藻 *Cyclotella* sp.（图 4.1 A2、C2）、圆筛藻 *Coscinodiscus* sp.（图 4.1 A9、C1、

C11)、卵形藻 *Cocconeis* sp. (图 4.1 A10、B2)、双眉藻 *Amphora* sp. (图 4.1 A10、B6)、斜纹藻 *Pleurosigma* sp. (图 4.1 A11、C11、C12) 和舟形藻 *Navicula* sp. (图 4.1 B2、C12)。观察到的细菌主要以少量杆菌 (图 4.1 A2、A10-12、B2、B3、B8、C2、C3、C5-9、C11、C12)、丝状菌 (图 4.1 C9、C112) 和大量球菌 (图 4.1 A2、A3、A5、A6、B2、B3、B5、B6、B12、C9-12) 为主, 并且随着暴露天数增加球菌逐渐聚集成团。

总体来看, 在季节方面, 雨季较旱季而言, 微塑料生物膜更为密集; 在区域方面, QMG 区域较 TLG 区域微塑料表面的生物膜特征更复杂; 在暴露时间方面, 随着暴露时间的增加, 生物膜更密集, 但微生物的种类减少。

4.3.2 微塑料表面生物膜的化学结构比较特征

通过激光共聚焦显微拉曼光谱仪测定了两个季节暴露前后微塑料的拉曼光谱图 (图 4.2)。通过比较暴露 60 天和原始的塑料颗粒的拉曼光谱图, 可以发现, PP 颗粒暴露后与暴露前相比, 拉曼光谱特征峰强度明显降低, 且背景噪声增加。在旱季和雨季, QMG 区域暴露后的 PP 颗粒拉曼光谱图在 $3500 \sim 2750 \text{ cm}^{-1}$ 之间均出现宽峰。值得注意的是, 在雨季 QMG 区域暴露后的 PP 颗粒拉曼光谱图在 $750 \sim 500 \text{ cm}^{-1}$ 之间也出现了宽峰 (图 4.2A)。观察 PE 颗粒暴露前后的拉曼光谱图, 暴露后的 PE 拉曼光谱的特征峰强度也显著降低, 旱季 QMG 区域的暴露后 PE 拉曼光谱图在 $3500 \sim 2750 \text{ cm}^{-1}$ 之间, 同样出现宽峰 (图 4.2B)。通过对比暴露前后 PET 颗粒的拉曼光谱图, 其特征峰强度变化与 PP、PE 颗粒表现出同样的现象。在旱季 TLG 区域, 暴露后的 PET 颗粒拉曼光谱图在 $3500 \sim 2750 \text{ cm}^{-1}$ 之间和 $2500 \sim 1000 \text{ cm}^{-1}$ 之间均出现宽峰, 并且在 2967 cm^{-1} 处由 C-H ($-\text{CH}_2$) 伸缩振动引起的峰已较为微弱 (图 4.2C)。

综上所述, 三种微塑料暴露后拉曼光谱均发生了不同程度的改变, 这可能是由于风化、光照老化和生物降解作用所造成。有研究表明, 微塑料在环境中受到光照老化, $1820 \sim 1680 \text{ cm}^{-1}$ 位置处 (对应 C=O 键) 宽峰的出现, 可能是微生物降解微塑料的过程中, 加氧酶的存在增加了碳链中氧元素的数量^[105, 106]。老化后的微塑料会影响其对污染物的吸附性能, Mao 等人发现老化后的微塑料对重金属的吸附能力显著增加^[107]。Lapointe 等人发现风化后的 PE 塑料出现了 -OH、-COOH 和 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 等官能团, -OH 和 -COOH 源于光照老化, $-\text{CH}=\text{CH}_2$

主要与光氧化和有机污染物的吸附有关^[108]。

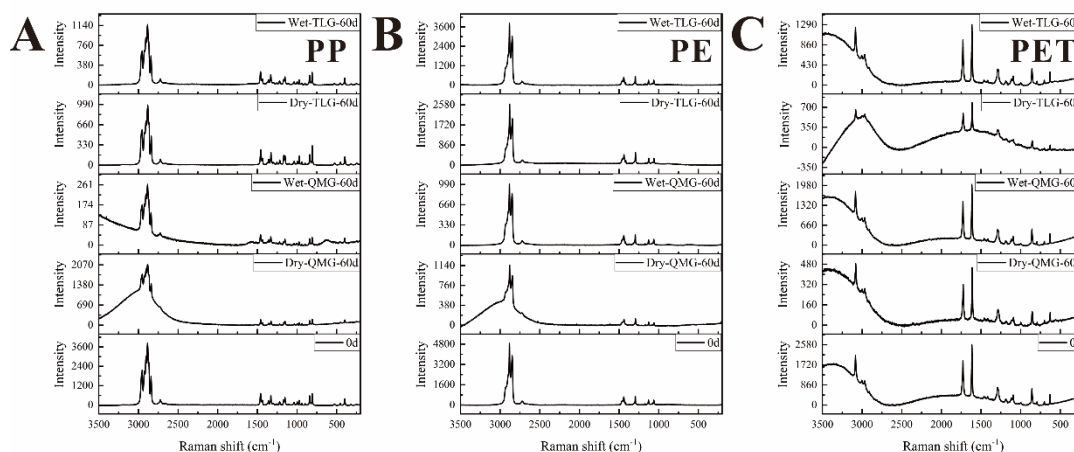


图 4.2 暴露前后 PP、PE 和 PET 拉曼光谱的变化

Figure 4.2 Changes in Raman spectra of PP, PE and PET before and after exposure

4.3.3 微塑料表面生物膜的细菌群落结构特征

4.3.3.1 微塑料表面生物膜的细菌群落丰度

通过统计暴露的微塑料样品在不同季节和红树林区域的 ASV 数目，从图 4.3 中可知旱季 QMG 区域、旱季 TLG 区域、雨季 QMG 区域和雨季 TLG 区域微塑料上的 ASV 数目分别为 24081、26809、41575 和 25462。在这四个分组之间共有的 ASV 数目为 2113，在各组 ASV 总数中的占比分别为 8.8%、7.9%、5.1%和 8.3%，特有的 ASV 数目分别为 16528、16322、29695 和 15012，分别占比为 68.6%、60.9%、71.4%和 59.0%，这表明红树林微塑料表面细菌群落丰度在时空因素方面存在差异性。

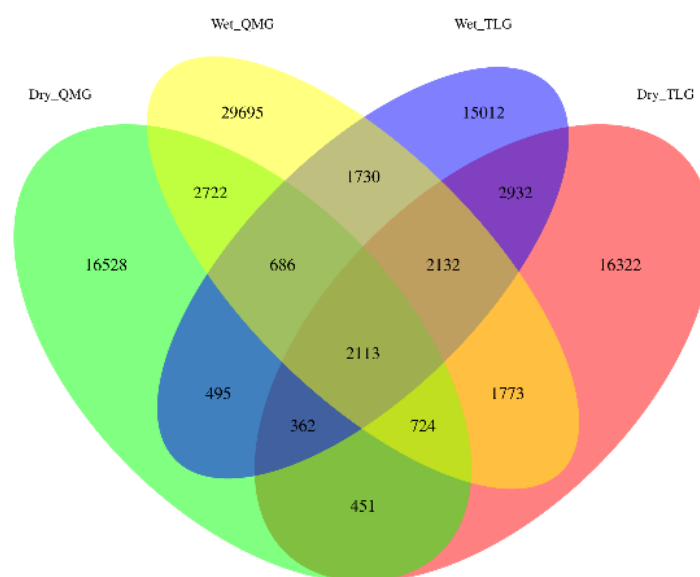


图 4.3 不同季节和区域的 ASV Venn 图 (Dry-QMG = 旱季 QMG 区域; Wet-QMG = 雨季 QMG 区域; Dry-TLG = 旱季 TLG 区域; Wet-TLG = 雨季 TLG 区域)

Fig 4.3 ASV Venn diagram of the different seasons and areas

4.3.3.2 微塑料表面生物膜的细菌群落的多样性

本研究通过 α 多样性分析中的 Chao1 指数和 Shannon 指数来反映红树林区域暴露的微塑料样品附着的细菌群落的丰富度和多样性。由图知, 在时空方面, 雨季 QMG 区域微塑料表面 Chao1 指数显著高于旱季 QMG 区域、雨季 TLG 区域和旱季 TLG 区域 ($P < 0.01$) (图 4.4A)。Shannon 指数除得到与 Chao1 指数相同的结果外, 还发现在旱季 TLG 区域 Shannon 指数显著高于旱季 QMG 区域 ($P < 0.01$) (图 4.4B)。由此可知, 微塑料表面细菌群落丰富度和多样性受到来自季节和区域的影响。值得注意的是, 雨季 QMG 区域表现出更高的细菌群落多样性, 可能是因为 QMG 区域位于入海口, 雨季水动力较强, 与近岸海域养分交换作用较强, 进而影响了细菌群落的丰富度和多样性。

再次, 从季节和区域的两个方面对不同暴露天数的微塑料表面的细菌群落 α 多样性进行了分析。结果发现, 在季节方面, 与雨季暴露 15 天和 60 天相比, 雨季暴露 30 天的 Chao1 指数显著较低 ($P < 0.01$) (图 4.4C); 在区域方面, QMG 区域暴露 30 天与暴露 15 天、60 天相比, Chao1 指数明显更低 ($P < 0.01$), 在 TLG 区域, 暴露 60 天的 Chao1 指数显著高于 15 天和 30 天 ($P < 0.01$) (图

4.4D)。Shannon 指数结果除得到上述结果外,在季节方面还进一步发现,旱季暴露 60 天的 Shannon 指数显著高于暴露 15 天 ($P < 0.05$) (图 4.4E),雨季暴露 60 天与暴露 15 天和暴露 30 天相比,Shannon 指数更高 ($P < 0.01$) (图 4.4F)。综上所述可以看出,红树林暴露的微塑料样品的细菌群落多样性不仅与季节和区域因素有关,还与暴露时间存在一定的联系。

通过 β 多样性分析揭示了微塑料上附着的细菌群落组成的差异性,主要采用了基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析 (PCoA) 和相似性分析 (ANOSIM) 的方法。PCoA 分析结果显示, QMG 区域的样品在旱季和雨季两个季节具有清晰的区分,而在 TLG 区域没有发现明显的区分,旱季和雨季 QMG 区域和 TLG 区域的样品均区分的很明显 (图 4.5A); ANOSIM 进一步分析发现四组样品间的细菌群落具有显著差异性 ($R = 0.70$, $P < 0.01$),表明了 PCoA 样品分组的可靠性。二者综合来看,微塑料附着的细菌群落的组成受到了时空因素的影响,表现出显著的差异性。接着,从季节和区域的两个方面对不同暴露天数的微塑料表面的细菌群落差异性进行了分析。在季节方面,通过 PCoA 分析可以看出,在旱季和雨季不同暴露天数的六个分组样品之间虽有一定的重叠,但是也有所区分,说明在不同暴露时间的细菌群落也存在一定的差异性 (图 4.5B), ANOSIM 分析同样说明了六组样品之间细菌群落的明显差异性 ($R = 0.29$, $P < 0.01$); 在区域方面的六个分组进行了 PCoA 分析,结果表明,在 QMG 区域和 TLG 区域不同暴露天数的样品,暴露 30 天的样品与 15 天有一定的重叠,但是暴露 60 天的样品分别与各自区域 15 天的样品相比,几乎已完全区分开,说明暴露 60 天的样品与 15 天的样品差异性显著 (图 4.5C), ANOSIM 分析进一步表明六个分组之间细菌群落的显著差异性 ($R = 0.58$, $P < 0.01$)。

综合 α 多样性和 β 多样性,在不同季节、区域和暴露天数均表现出显著差异性,表明时空因素显著影响微塑料表面细菌群落的多样性,这与其它近岸海域报道的细菌群落多样性在时空方面存在差异性的研究结果一致^[72, 74]。

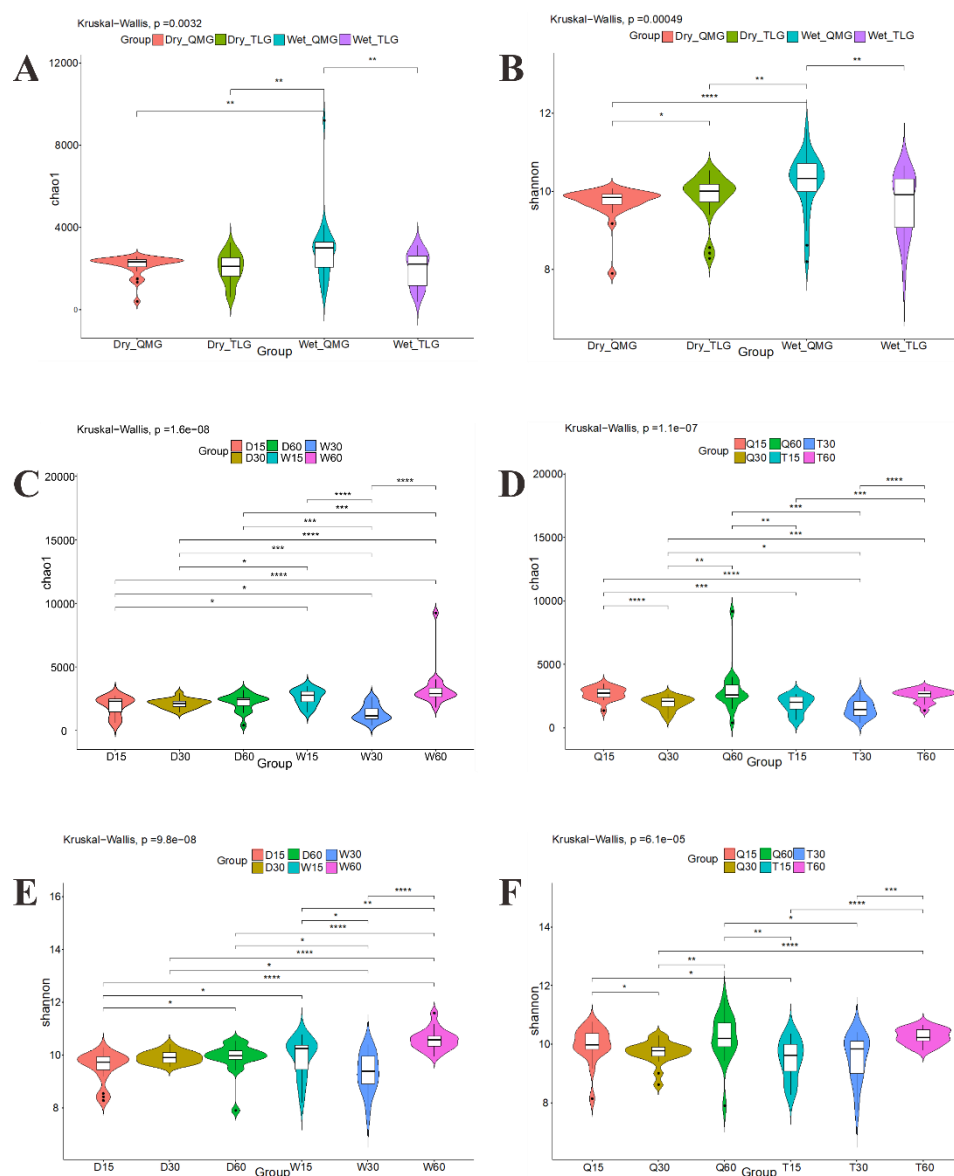


图 4.4 不同季节-区域、不同季节-暴露天数、不同区域-暴露天数分组微塑料样品附着细菌群落的 α 多样性 (A) 和 (B) 分别表示不同区域-季节微塑料细菌群落的 Chao 1 和 Shannon 指数; (C) 和 (E) 分别表示不同季节-暴露天数微塑料细菌群落的 Chao 1 和 Shannon 指数; (D) 和 (F) 分别表示不同区域-暴露天数微塑料细菌群落的 Chao 1 和 Shannon 指数

Figure 4.4 Alpha diversity of bacterial communities attached to microplastic samples in different season-area, different season-exposure days, and different area-exposure days groups (A) and (B) indicate the Chao 1 and Shannon indices of microplastic bacterial communities in different area-seasonal, respectively; (C) and (E) indicate the Chao 1 and Shannon indices of microplastic bacterial communities in different seasonal-exposure days, respectively; (D) and (F) indicate the Chao 1 and Shannon indices of microplastic bacterial communities in different area-exposure days, respectively.

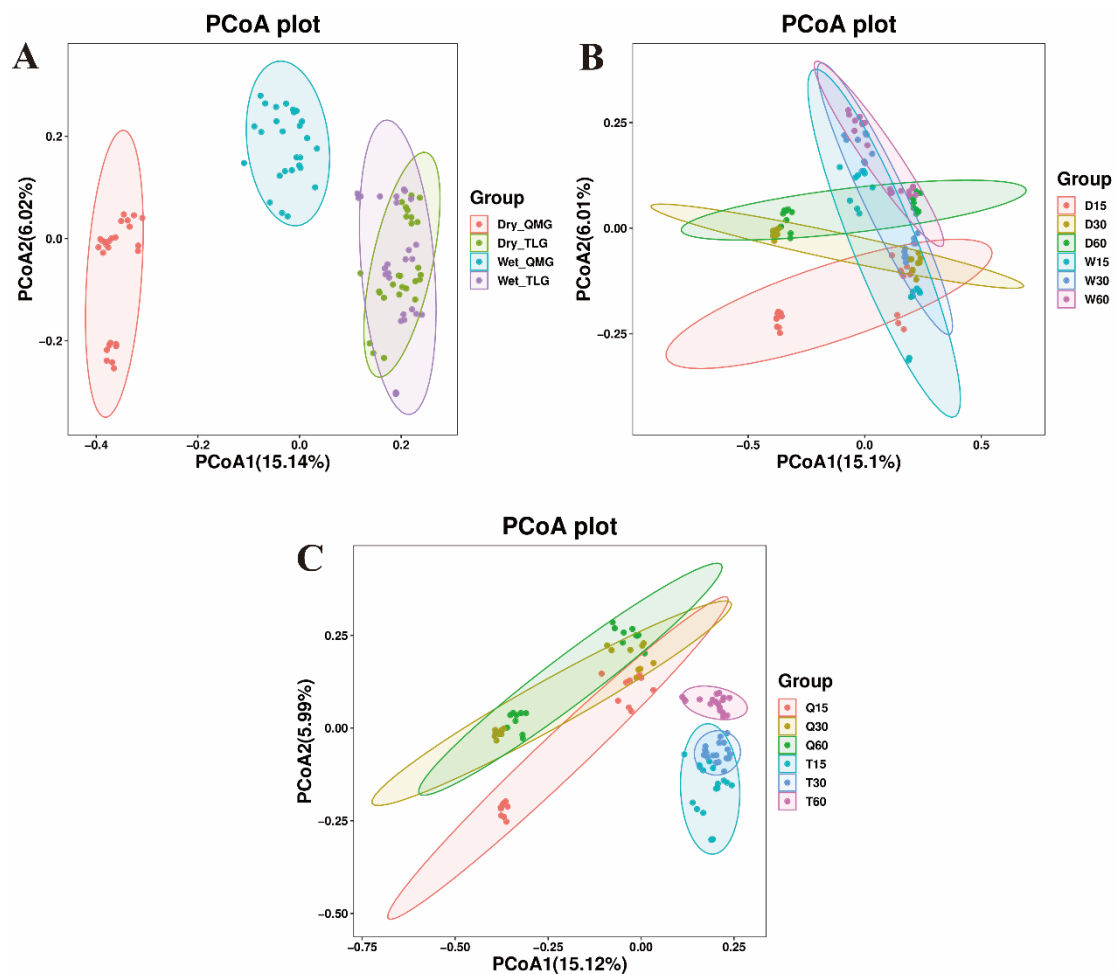


图 4.5 不同季节-区域 (A)、不同季节-暴露天数 (B) 和不同区域-暴露天数 (C) 分组微塑料样品附着细菌群落的 PCoA 分析图

Figure 4.5 PCoA analysis of bacterial communities attached to microplastic samples in different season - area (A), different season - exposure days (B), and different area - exposure days(C)

4.3.3.3 微塑料表面生物膜的细菌群落的组成分析

根据时空因素分成的四个分组，在门水平上，微塑料样品表面附着的细菌群落前五位均为：变形菌门 (Proteobacteria)、浮霉菌门 (Planctomycetota)、放线菌门 (Actinobacteriota)、拟杆菌门 (Bacteroidota) 和蓝藻门 (Cyanobacteria)，在四个分组中绝对优势菌群均为 Proteobacteria 和 Planctomycetota。有研究表明，Proteobacteria (40.60% ~ 47.68%) 和 Bacteroidota (11.33% ~ 19.43%) 在生物膜形成的早期阶段具有较高的丰度^[67, 68]。

^{70]}。然而在本研究中未发现 *Bacteroidota* 高丰度，却发现了较高占比的 *Planctomycetota*，出现此差异可能源于不同的气候和环境条件等多方面的影响。虽然每个分组的细菌群落组成大致相同，但是占比有也存在一定的差异。从图中可以看出，QMG 区域有较丰富的放线菌门 (*Actinobacteriota*) (11.55% ~ 11.81%)，TLG 区域有较丰富的蓝藻门 (*Cyanobacteria*) (4.81% ~ 5.40%)。

在属水平上，旱季 QMG 区域的主要菌群为 *Alphaproteobacteria_unclassified* (α -变形菌纲的分支) 和 胚泡菌属 (*Blastopirellula*)，旱季 TLG 区域的主要菌群为 *Gammaproteobacteria_unclassified* (γ -变形菌纲的分支) 和 海洋伍斯菌 (*Woeseia*)，雨季 QMG 区域的主要菌群为 *Actinomarinales_unclassified* (放线念珠菌目的分支)、*Gammaproteobacteria_unclassified* 和 *Alphaproteobacteria_unclassified*，雨季 TLG 区域的主要菌群为 *Gammaproteobacteria_unclassified*、*Alphaproteobacteria_unclassified* 和 *Blastopirellula*。从以上结果来看，在四个分组中，*Alphaproteobacteria_unclassified* (3.44%~5.96%) 和 *Gammaproteobacteria_unclassified* (1.31%~5.77%) 是最为常见的菌群，可能与其较强的环境适应性有关，该结果 Kesy 等人^[109]与 Zhang 等人^[72]研究结果一致。此外，各分组主要菌群也存在一定的差异性，表明时空因素对属水平的细菌群落组成具有一定的影响。

通过热图进一步揭示时空因素对于细菌群落组成的影响。从图中可以看出，旱季 QMG 区域的特殊菌群为 *Alphaproteobacteria_unclassified*、螺旋藻属 (*Bythopirellula*)、微酸菌属 (*Ilumatobacter*) 和 *DEV007_unclassified* (疣微菌门的分支)，旱季 TLG 区域的特殊菌群为 *Actinomarinales_unclassified*，雨季 QMG 区域的特殊菌群为 *OM190_unclassified* (浮霉菌门的分支)，雨季 TLG 区域的特殊菌群为 *Planctomycetales_unclassified* (浮霉菌门的分支)。由此可知，不同分组找到的特殊菌群均存在明显的差异性，并受到时空因素的影响。

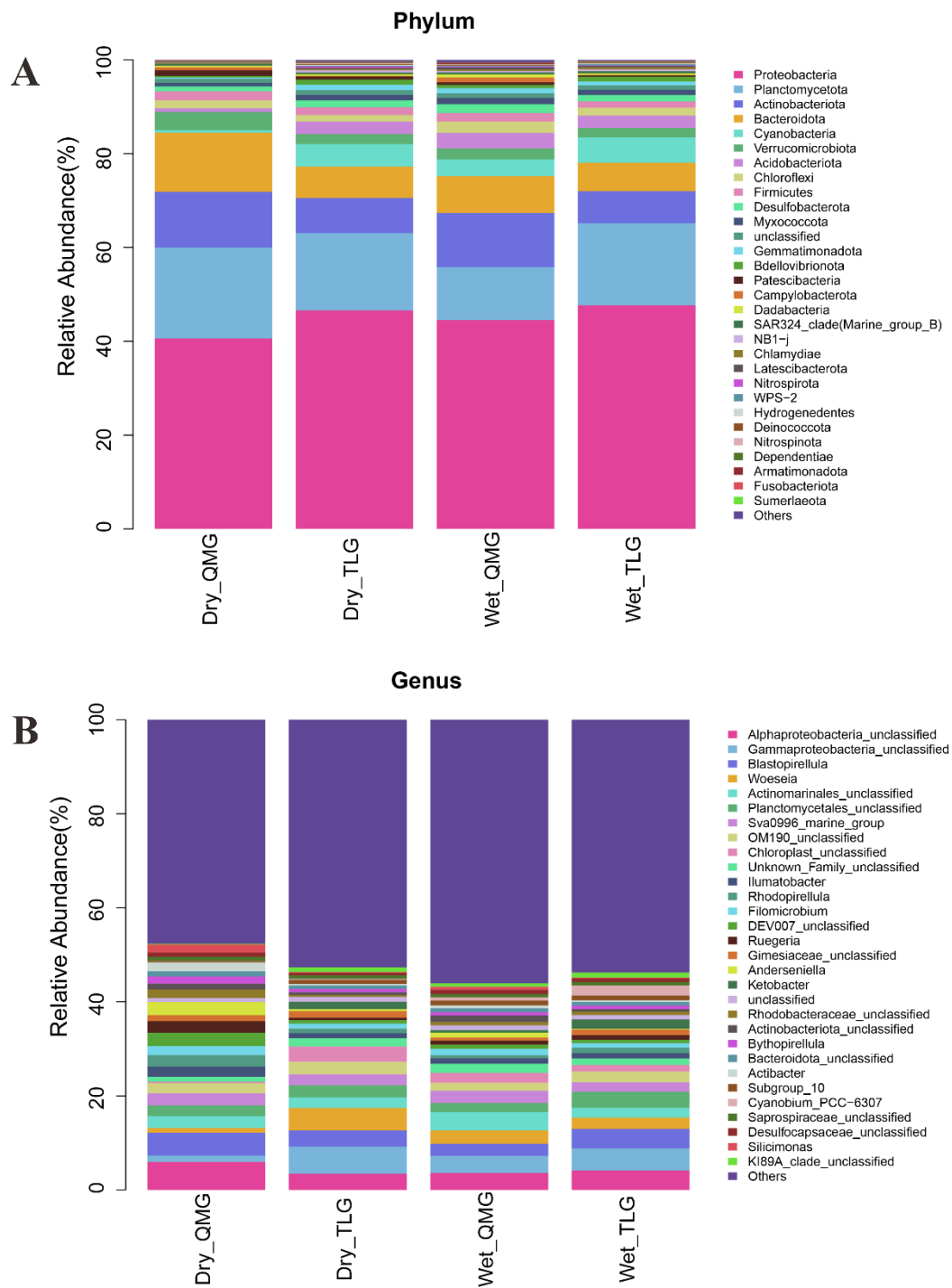


图 4.6 不同时空方面微塑料样品基于门（A）和属（B）两个分类水平的细菌群落组成（前 30 名）

Fig4.6 Composition of bacterial communities based on phylum (A) and genus (B) taxonomic levels for different spatial and temporal aspects of microplastic samples (Top 30)

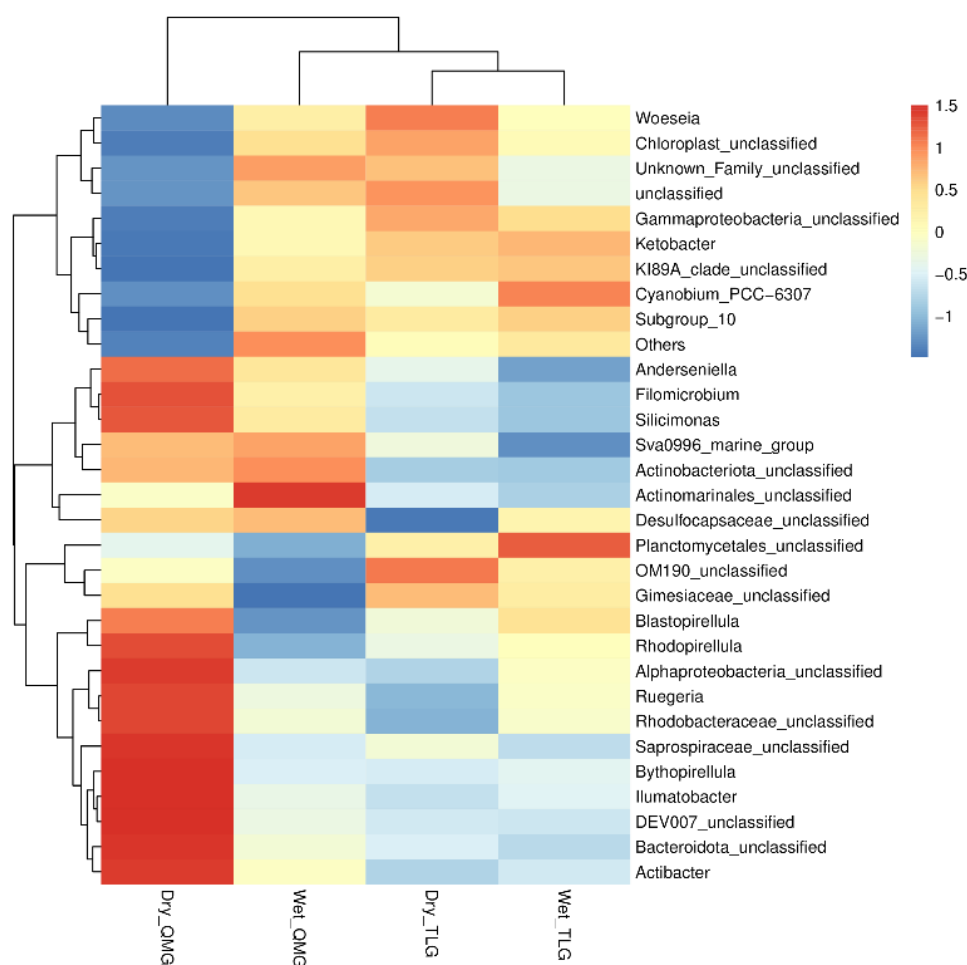


图 4.7 不同时空方面微塑料样品基于属水平的细菌群落（前 30 名）的热图
Figure 4.7 Heat map of bacterial communities (Top 30) based on genus level for microplastic samples in different spatial and temporal aspects

4.3.3.4 微塑料表面生物膜的细菌群落与环境参数的相关性

Spearman 相关性热图显示在属水平丰度 Top 20 的细菌群落与环境参数的关联性，溶解氧和 pH 是主要影响细菌群落的环境参数，其次是温度和盐度，电导率的影响较小（图 4.8）。其中最常见的菌属 *Alphaproteobacteria_unclassified* 和 *Gammaproteobacteria_unclassified* 分别与环境参数存在相关性，*Alphaproteobacteria_unclassified* 与溶解氧和 pH 之间具有显著的负相关关系，而 *Gammaproteobacteria_unclassified* 与溶解氧、pH 和温度之间却具有显著的正相关关系。由此可知，细菌群落与环境参数（溶解氧和 pH）之间存在显著的相关

性，已有研究报道了二者之间的相关性^[74, 75]，由此推测在不同时空与环境相关的理化参数可能会影响微生物群落。

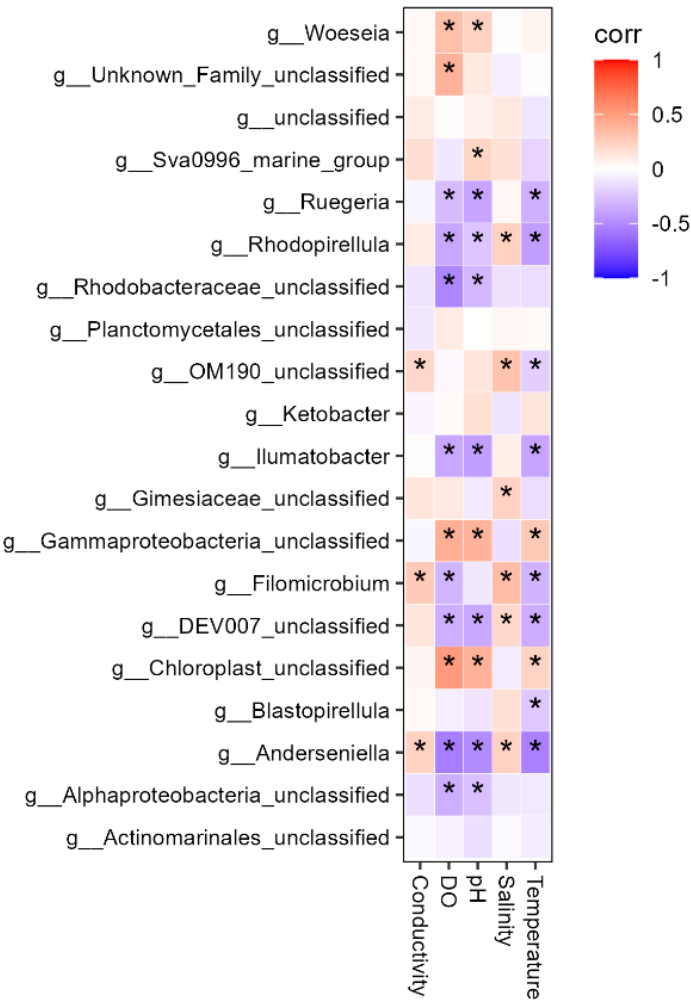


图 4.8 微塑料样品基于属水平的细菌群落（前 20 名）与环境参数的 Spearman 相关性热图

Figure 4.8 Heat map of Spearman correlation between bacterial communities (Top 20) and environmental parameters based on genus level for microplastic samples

4.3.3.5 微塑料表面生物膜的细菌群落的指示物种分析

使用属水平丰度 Top 30 的细菌群落进行指示物种分析，寻找在时空方面可以作为微塑料表面的生物标志菌群（图 4.9）。旱季 QMG 区域与其它三个分组相比，生物标志菌群较多，包括矽肺菌属（*Silicimonas*）、安德森氏菌属

(*Anderseniella*)、醋菌属 (*Actibacter*)，有研究表明 *Actibacter* 的丰度与金属之间存在正相关关系^[110]。值得注意的是，*Actibacter* 在微塑料样品上的检出，侧面反映了微塑料表面附着的微生物与金属的联系。旱季 TLG 区域的生物标志菌群为 *Chloroplast_unclassified* 和 *Woeseia*。雨季 QMG 区域的生物标志菌群为 *Actinobacteriota_unclassified* (放线菌门的分支) 和 *Actinomarinales_unclassified*。雨季 TLG 区域的生物标志菌群为 *Cyanobium_PCC_6307* 和 *KI89A_clade_unclassified*。以上生物标志菌群对于各分组时空方面的特征具有较好的指示作用，但是在这些菌群中未发现潜在病原菌的存在。

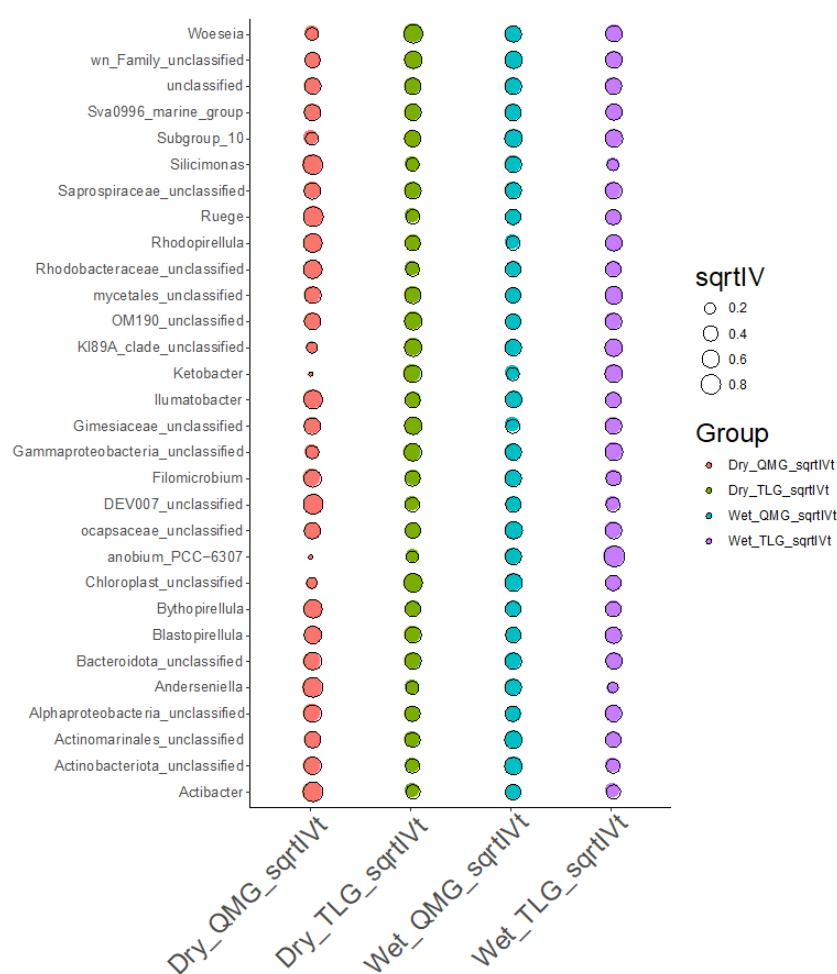


图 4.9 不同时空方面微塑料样品基于属水平的细菌群落（前 30 名）指示物种分析
Figure 4.9 Indicator species analysis of bacterial communities (Top 30) based on genus level for microplastic samples with different spatial and temporal aspects

4.3.4 微塑料表面生物膜的重金属富集特征

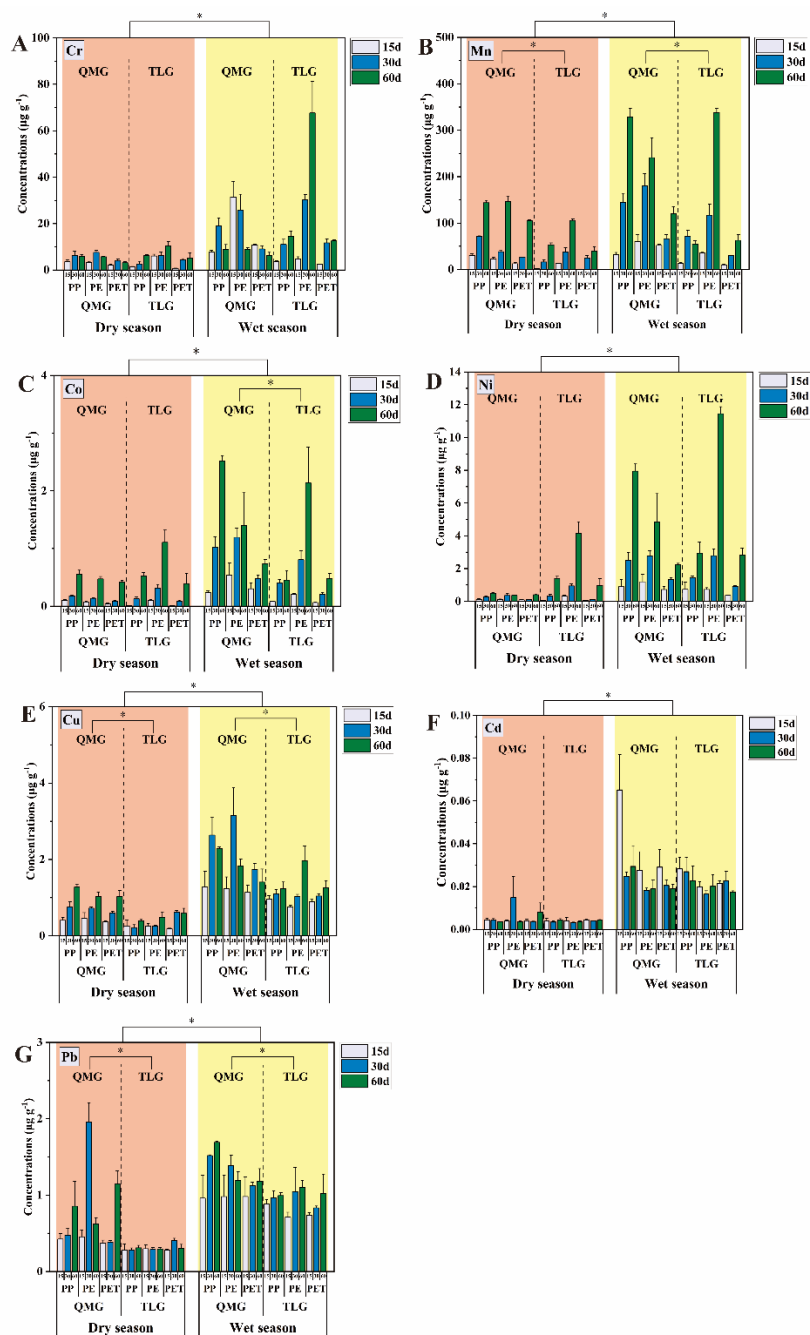


图 4.10 不同季节、区域、暴露天数附着生物膜的 PP、PE 和 PET 颗粒表面七种重金属：Cr (A)、Mn (B)、Co (C)、Ni (D)、Cu (E)、Cd (F) 和 Pb (G) 的累积量
 Figure 4.10 Accumulation of seven heavy metals: Cr (A), Mn (B), Co (C), Ni (D), Cu (E), Cd (F), and Pb (G) on the surface of PP, PE, and PET particles with biofilm attached in different seasons, areas, and exposure days

图 4.10 展示了不同季节、区域、暴露天数附着生物膜的 PP、PE 和 PET 微塑料颗粒表面吸附的七种重金属含量。可以看出, Mn 与其它重金属相比, 其累积量 ($0.74 \pm 0.11 \mu\text{g g}^{-1}$ 至 $146.38 \pm 10.60 \mu\text{g g}^{-1}$) 最高。与亚洲地区微塑料吸附重金属的研究结果相比, 除 Mn 外, 重金属的累积量均处于中低水平^[111]。在季节方面, 七种重金属累积量均表现出显著差异 ($P < 0.01$), 雨季附着生物膜微塑料吸附的重金属含量均高于旱季, 这可能与水体流量和降雨量的季节性差异有关^[112]。在空间方面, 旱季和雨季附着生物膜微塑料吸附的某些重金属的含量在区域之间观察到明显的差异性。具体来说, 在旱季, QMG 区域微塑料的 Mn、Cu、Pb 累积量明显高于 TLG 区域; 在雨季, QMG 区域微塑料的 Mn、Co、Cu、Pb 累积量同样显著高于 TLG 区域 ($P < 0.05$), 这与此前研究报道微塑料上吸附的金属存在空间方面差异的结果一致^[113]。总体上, Cr、Mn、Co 和 Ni 累积量在不同塑料类型之间也表现出明显的差异性 ($P < 0.05$), Cr、Mn、Co 和 Ni 在 PE 表面的累积量要显著高于 PET。在暴露天数方面, 除 Cd 外, 其它微塑料重金属累积量在不同暴露天数均表现出显著差异 ($P < 0.01$)。其中, Mn、Co 和 Ni 的累积量随着暴露天数的增长呈增大趋势。随着时间的推移, 生物膜不断附着在微塑料表面, 重金属的累积量可能会不断增加^[114]。

因此, 微塑料表面生物膜的重金属的富集特征除在不同时空表现出差异性外, 在不同塑料类型之间也表现出显著的差异性。

4.3.5 微塑料表面生物膜的有机污染物的富集特征

在不同时空附着生物膜的微塑料样品上均检测到有机污染物的存在。其中, ΣPAH 的累积量范围为 37.11 ± 0.61 (DQPET30) 至 $127.03 \pm 37.85 \text{ ng g}^{-1}$ (WQPP60), ΣPCB 的累积量范围为 0.18 ± 0.01 (WTPE15) 至 $0.44 \pm 0.03 \text{ ng g}^{-1}$ (WQPP30), ΣOCP 的累积量范围为 3.89 ± 0.26 (WTPE60) 至 $34.74 \pm 3.25 \text{ ng g}^{-1}$ (WTPE15) (图 4.11)。由此可见, 附着生物膜的微塑料样品上 ΣPAH 的累积量最高, 比 ΣPCB 和 ΣOCP 的累积量高出约一个数量级, 但其累积量低于中国其它海域报道的微塑料表面富集有机污染物的含量^[73, 115, 116]。三类有机污染物主要源于近岸的人类活动, 主要包括航运、农业和工业活动等, 其中 ΣPAH 是用于监测海洋中的石油污染的常用指标^[116]。

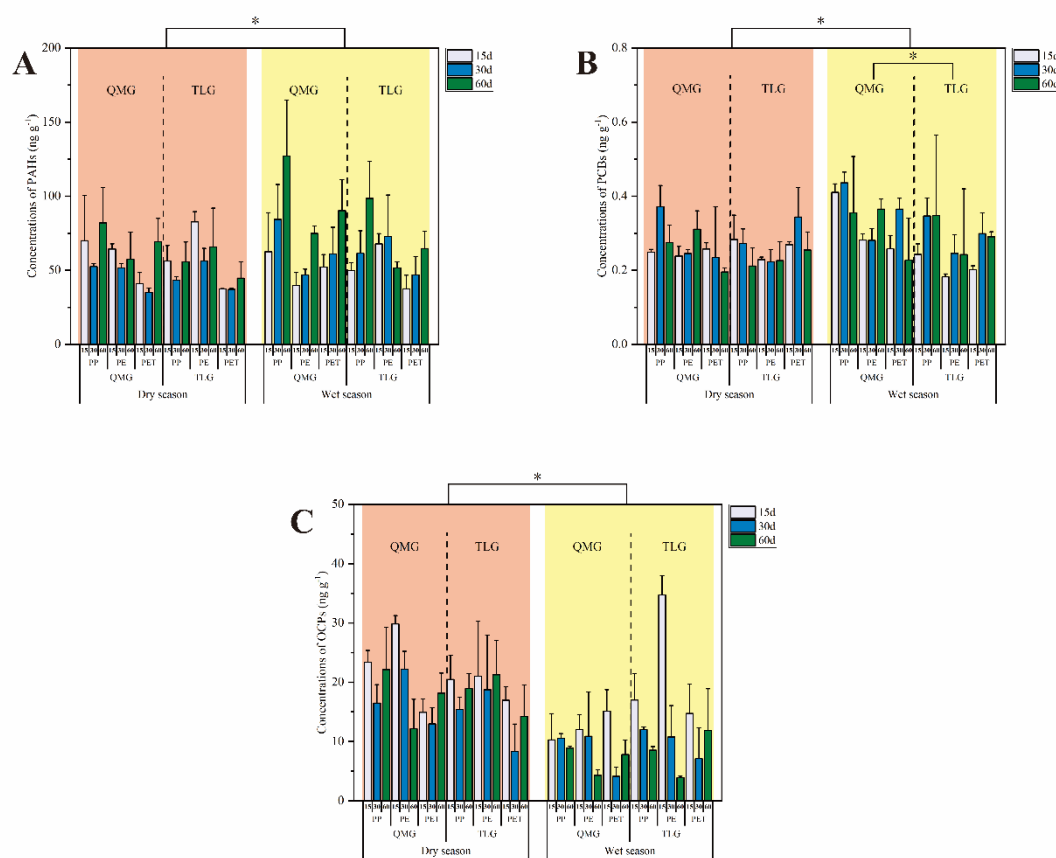


图 4.11 不同季节、区域、暴露天数附着生物膜的 PP、PE 和 PET 颗粒表面三类有机污染物： Σ PAH (A)、 Σ PCB (B) 和 Σ OCP (C) 的累积量

Fig 4.11 Accumulation of three types of organic pollutants: Σ PAH(A)、 Σ PCB(B) and Σ OCP(C) on the surface of PP, PE and PET particles with biofilm attached in different seasons, areas and exposure days

比较旱季和雨季结果可知,附着生物膜的微塑料上 Σ PAH、 Σ PCB 和 Σ OCP 的累积量均存在季节性差异,雨季 Σ PAH 的累积量 ($66.12 \pm 3.63 \text{ ng g}^{-1}$) 显著高于旱季 ($55.68 \pm 3.25 \text{ ng g}^{-1}$) ($P < 0.05$), 同样, 雨季 Σ PCB 的累积量 ($0.30 \pm 0.01 \text{ ng g}^{-1}$) 显著高于旱季 ($0.26 \pm 0.01 \text{ ng g}^{-1}$) ($P < 0.05$), 这与重金属表现出相同的季节性趋势。而 Σ OCP 在旱季的累积量 ($18.20 \pm 0.85 \text{ ng g}^{-1}$) 却显著高于雨季 ($11.37 \pm 1.02 \text{ ng g}^{-1}$) ($P < 0.01$), 这可能与旱季较多的农业活动有关。在空间上, 只在雨季 QMG 区域和 TLG 区域之间发现 Σ PCB 累积量明显的差异性。具体来说, 雨季 QMG 区域附着生物膜的微塑料样品的 Σ PCB 累积量 ($0.33 \pm 0.02 \text{ ng g}^{-1}$) 显著高于 TLG 区域 ($0.27 \pm 0.02 \text{ ng g}^{-1}$) ($P < 0.05$)。总体上, 在不

同塑料类型之间, ΣPAH 和 ΣPCB 的累积量也表现出显著的差异性, PP ($70.30 \pm 4.86 \text{ ng g}^{-1}$) 和 PE 上吸附的 ΣPAH 的累积量 ($60.98 \pm 2.74 \text{ ng g}^{-1}$) 显著高于 PET ($51.43 \pm 3.17 \text{ ng g}^{-1}$) ($P < 0.01$), PP 上 ΣPCB 的累积量 ($0.32 \pm 0.02 \text{ ng g}^{-1}$) 明显高于 PE ($0.26 \pm 0.01 \text{ ng g}^{-1}$) ($P < 0.05$), 这表明 PP 和 PE 材质的塑料制品具有更大的风险, 特别是 PP 类型的微塑料在富集有机污染物之后被海洋生物所摄食, 将会对食物网构成更严重威胁^[117]。然而, ΣOCP 的累积量在塑料类型之间未发现显著差异。但有研究发现, OCPs 对 PE 塑料有较好的亲和力, 更容易富集在 PE 塑料上^[118]。在不同暴露天数方面, 三类有机污染物的累积量均表现出一定的差异性, 但是差异性略有不同, 暴露 60 天的微塑料表面 ΣPAH 的累积量 ($73.48 \pm 4.66 \text{ ng g}^{-1}$) 显著高于 15 天 ($55.12 \pm 3.01 \text{ ng g}^{-1}$) 和 30 天 ($54.11 \pm 2.96 \text{ ng g}^{-1}$) ($P < 0.05$), ΣPCB 的累积量在暴露 30 天时 ($0.33 \pm 0.02 \text{ ng g}^{-1}$) 显著高于 15 天 ($0.33 \pm 0.02 \text{ ng g}^{-1}$) ($P < 0.05$), 而 ΣOCP 的累积量却表现出相反的差异, ΣOCP 的累积量在暴露 15 天 ($19.21 \pm 1.30 \text{ ng g}^{-1}$) 时显著高于 30 天 ($12.47 \pm 1.04 \text{ ng g}^{-1}$) 和 60 天 ($12.68 \pm 1.08 \text{ ng g}^{-1}$) ($P < 0.05$)。

综上可知, 微塑料表面有机污染物的富集特征在不同季节、不同塑料类型、不同暴露天数差异显著, 而在不同区域方面未发现较明显的差异性。

4.4 小结

(1) 通过扫描电子显微镜观察, PP、PE、PET 颗粒微塑料表面附着了藻类、沉积物颗粒、杆菌和球菌等。在季节方面, 雨季微塑料表面的生物膜更密集。在区域方面, QMG 区域微塑料表面生物膜更复杂, 且随着暴露天数的增加, 生物膜也更密集。

(2) 对比暴露前后 PP、PE、PET 颗粒微塑料的拉曼光谱图, 特征峰的程度明显降低, 且背景噪声增加, 表明其表面发生了风化、老化和生物降解。

(3) PP、PE、PET 颗粒微塑料表面细菌群落的组成、丰度及多样性在不同时空(区域、季节及暴露时长)方面均表现出显著的差异性。在门水平, 不同时空微塑料样品表面附着的最主要细菌群落均为变形菌门(Proteobacteria)和浮霉菌门(Planctomycetota)。

(4) PP、PE、PET 颗粒微塑料表面检出含量最高的重金属均为 Mn, 且重金属的累积量在不同时空和不同塑料类型之间存在明显的差异性。

(5) PP、PE、PET 颗粒微塑料表面检测到三类有机污染物，其中 Σ PAH 的累积量最高。有机污染物的累积量在不同季节、不同塑料类型、不同暴露天数差异显著，而在不同区域方面未发现明显的差异性。

第 5 章 海南岛南部红树林不同形状和类型微塑料表面生物膜特征研究

5.1 引言

目前,已有研究表明微塑料表面附着微生物群落组成与周围海水存在显著差异性^[61]。此外,在不同塑料类型之间,微生物对微塑料附着也有一定的选择性,Li 等人通过将五种类型的微塑料(PVC、PP、PE、PS 和 PU)暴露在海河河口区域,发现微塑料表面附着的细菌群落组成各不相同^[75]。目前,关于不同类型和形状微塑料对生物膜特征的报道较为匮乏。在不同微塑料表面附着的微生物中很可能存在对应塑料的降解菌^[119],因此研究不同微塑料表面附着的微生物群落组成、丰度及多样性具有生态学意义。此外,在不同微塑料表面附着的微生物对重金属和有机污染物的富集情况仍不太明晰,因此,全面而系统地研究不同微塑料表面生物膜特征十分必要。

在第四章研究中发现微塑料表面生物膜特征在时空方面存在显著的差异性,本章实验在此基础上进一步研究在各个红树林区域暴露的不同微塑料(包括类型和形状)表面生物膜特征的差异性,主要包括表面生物膜的形貌、化学结构比较表征、细菌群落结构特征、重金属和有机污染物的富集特征,为未来寻找红树林区域微塑料的降解菌、探究不同形状和类型微塑料与微生物、重金属、有机污染物之间的相互作用以及潜在的生态毒理效应提供理论支撑。

5.2 材料与方法

5.2.1 微塑料的原位暴露实验

选择第二章中的青梅港 3 号点(QMG3)和铁炉港 2 号点(TLG2)作为原位暴露区域,分别记为 QMG 和 TLG。选择 PET 塑料颗粒和薄膜,PS 塑料颗粒和泡沫作为研究对象,在雨季(2022 年 6 月)进行原位暴露实验,原位暴露实验具体步骤参照第四章 4.2.1 微塑料的原位暴露实验。此外,在暴露实验开始时,

两个区域各收集海水样品 1 L 用于测定海水中细菌群落结构，每个区域有 3 个重复样本。

5.2.2 样品和海水理化参数的采集

参照第四章 4.2.2 样品和海水理化参数的采集，海水理化参数数据见第四章夏季的海水理化参数。所有样品的编号以“雨季+区域+微塑料类型+微塑料形状+暴露天数”的形式进行标记。雨季记为 W；区域包括青梅港和铁炉港，分别记为 QMG 和 TLG；微塑料类型包括 PET 和 PS；微塑料形状包括颗粒、薄膜和泡沫，其中，颗粒不做标记，薄膜和泡沫记为 f；暴露天数包括 15、30 和 60。

5.2.3 微塑料表面生物膜形貌的表征

参考第四章 4.2.3 微塑料表面生物膜形貌的表征，主要通过场发射扫描电子显微镜进行表征。

5.2.4 微塑料表面生物膜的化学结构比较表征

参考第四章 4.2.4 微塑料结构变化的表征，主要通过激光共聚焦显微拉曼光谱仪进行表征。

5.2.5 微塑料表面生物膜的 DNA 提取

参考第四章 4.2.5 微塑料表面生物膜的 DNA 提取。

5.2.6 微塑料表面生物膜的重金属的测定

参考第四章 4.2.6 微塑料表面吸附重金属的测定，主要通过电感耦合等离子体-质谱仪（ICP-MS）进行分析。

5.2.7 微塑料表面生物膜的有机污染物的测定

参考第四章 4.2.7 微塑料表面吸附有机污染物的测定，主要通过气相色谱飞行时间质谱联用仪（GC-TOFMS）进行分析。

5.2.8 质量保证/质量控制（QA/QC）

Cr、Mn、Co、Ni、Cu 和 Pb 六种重金属含量的单位以 ng mm^{-2} 表示，Cd 的

含量以 $10^{-3} \text{ ng mm}^{-2}$ 表示。有机污染物含量的单位以 $10^{-3} \text{ ng mm}^{-2}$ 表示。所有数据均以平均值 $\pm$ 标准差 (SD) 表示 ($n = 3$)。重金属和有机污染物实验所用的外标、替代标和内标的选择参照第四章 4.2.8 质量保证/质量控制 (QA/QC)。重其中, 金属样品替代标的回收率分别为 $90.6 \pm 6.6\%$ (Y)、 92.6 ± 7.0 (In)、 $105.9 \pm 7.1\%$ (Bi), 有机污染物样品替代标的回收率分别为 $60.7 \pm 7.1\%$ (对三联苯-d14)、 $64.9 \pm 9.0\%$ (PCB114-2',3',5',6'-d4) 和 $68.4 \pm 10.0\%$ (2, 4, 5, 6-四氯间二甲苯)。

5.2.9 数据分析

微生物样品参照第四章 4.2.9 数据分析。雨季 QMG 区域和 TLG 区域微塑料和海水微生物样品分组的详细信息见表 5.1。

表 5.1 样品分组信息
Table 5.1 Information of sample grouping

分组因素	雨季 QMG 区域	雨季 TLG 区域	雨季 QMG 区域+雨季 TLG 区域
不同形状-类型微塑料	WQPET (雨季 QMG 区域 PET 颗粒)	WTPET (雨季 TLG 区域 PET 颗粒)	PET (PET 颗粒)
	WQPETf (雨季 QMG 区域 PET 薄膜)	WTPETf (雨季 TLG 区域 PET 薄膜)	PETf (PET 薄膜)
	WQPS (雨季 QMG 区域 PS 颗粒)	WTPS (雨季 TLG 区域 PS 颗粒)	PS (PS 颗粒)
	WQPSf (雨季 QMG 区域 PS 泡沫)	WTPSf (雨季 TLG 区域 PS 泡沫)	PSf (PS 泡沫)
海水	WQW (雨季 QMG 区域海水)	WTW (雨季 TLG 区域海水)	W (海水)
区域-暴露时长	WQ15d (雨季 QMG 区域暴露 15 天的所有微塑料和海水样品)	WT15d (雨季 TLG 区域暴露 15 天的所有微塑料和海水样品)	
	WQ30d (雨季 QMG 区域暴露 30 天的所有微塑料和海水样品)	WT30d (雨季 TLG 区域暴露 30 天的所有微塑料和海水样品)	
	WQ60d (雨季 QMG 区域暴露 60 天的所有微塑料和海水样品)	WT60d (雨季 TLG 区域暴露 60 天的所有微塑料和海水样品)	

重金属样品和有机污染物样品统计分析使用 SPSS 26 软件进行。在进行单变量分析之前,进行了 Shapiro - Wilk 检验和 Levene 检验,以检查数据的正态性和方差齐性。基于上述结果,重金属和有机污染物含量在季节间和区域间比较中采用了 Wilcoxon signed rank 检验,在暴露天数和微塑料形状-类型之间的比较则采用了 Kruskal - Wallis 检验。P 值低于 0.05 被视为具有统计学意义。

5.3 结果与讨论

5.3.1 微塑料表面生物膜的形貌特征

在 QMG 和 TLG 两个红树林区域对不同形状的 PET 和 PS 塑料进行了不同时间(15 天、30 天和 60 天)的原位暴露,生物膜的形貌特征均发生了不同程度的改变。

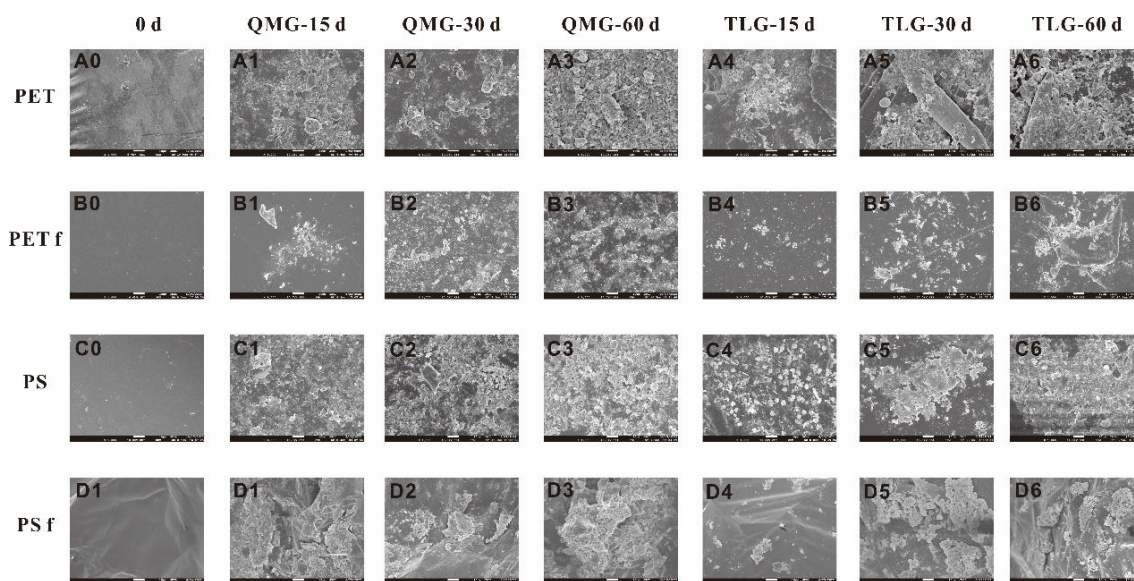


图 5.1 在 QMG 和 TLG 区域不同暴露天数的 PET 颗粒 (A0-A6)/薄膜 (B0-B6) 和 PS 颗粒 (C0-C6)/泡沫 (D0-D6) 表面生物膜形貌

Figure 5.1 Biofilm morphology on the surface of PET pellets (A0-A6)/film (B0-B6) and PS pellets (C0-C6)/foam (D0-D6) at different exposure days in the QMG and TLG areas

如图 5.1 所示,暴露后与暴露前相比,微塑料平整光滑的表面变得粗糙、有裂纹和凹坑,并附着了一些藻类、沉积物颗粒、各种形状的细菌。PET 和 PS 两种类型表面生物膜形貌特征与之前的报道一致^[68, 74, 120]。其中,附着的藻类主

要有：菱形藻 *Nitzschia* sp. (图 5.1 B5、C6、D1、D6)、双眉藻 *Amphora* sp. (图 C1) 和舟形藻 *Navicula* sp. (图 C6)。附着的细菌主要有少量杆菌 (图 5.1 A3、A5、A6、C6、D1) 和大量球菌 (图 5.1 A3-A6、B2、B3、B6、C1-C6、D2、D3、D5、D6)。总体来看，PET 颗粒、PS 颗粒与 PET 薄膜、PS 泡沫相比，生物膜更复杂、更密集。PS 泡沫由于材质的因素，其表面破坏的更严重。从区域方面来看，QMG 区域较 TLG 区域而言，微塑料表面的生物膜特征更复杂。在暴露时间方面，随着暴露时间的增加，细菌聚集成团的现象更显著。

5.3.2 微塑料表面生物膜的化学结构比较特征

通过对比暴露 60 天和原始微塑料拉曼光谱的变化，发现 PET 颗粒和 PET 薄膜在 QMG 区域和 TLG 区域暴露后，其拉曼光谱的特征峰强度均有所降低 (图 5.2 A、B)。而 PS 颗粒和 PS 泡沫在 QMG 区域和 TLG 区域暴露后与暴露前相比，除拉曼光谱的特征峰强度降低外，PS 泡沫拉曼光谱的背景噪声增加，在 $3100 \sim 2800 \text{ cm}^{-1}$ 、 1202 cm^{-1} 和 1004 cm^{-1} 位置处分别由 C-H 伸缩振动、苯环变形振动和 C-C 苯环呼吸振动所引起的特征峰不再明显，说明 PS 泡沫可能由于生物风化和光照辐射老化的作用，其结构发生严重破坏，由紧密有序的状态变得松散 (图 5.2 C、D) [121]。

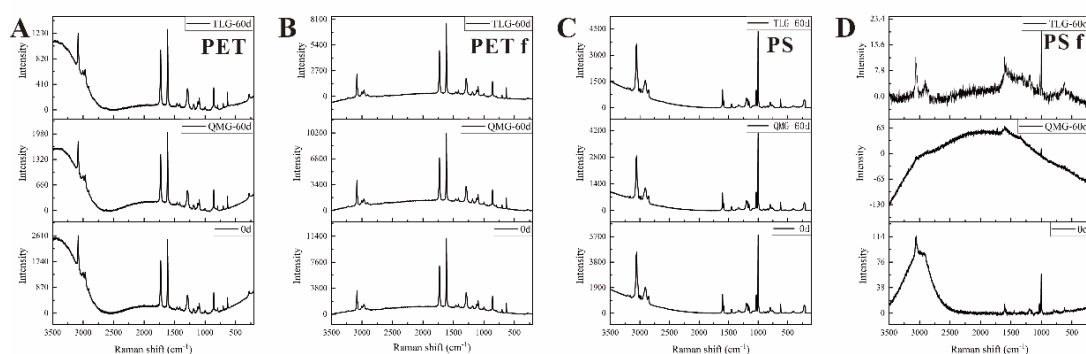


图 5.2 暴露前后 PET 颗粒 (A) /薄膜 (B) 和 PS 颗粒 (A) /泡沫 (B) 拉曼光谱的变化

Figure 5.2 Changes in Raman spectra of PET pellets/film and PS pellets/foam before and after exposure

5.3.3 微塑料表面生物膜的细菌群落结构特征

5.3.3.1 微塑料表面生物膜的细菌群落丰度

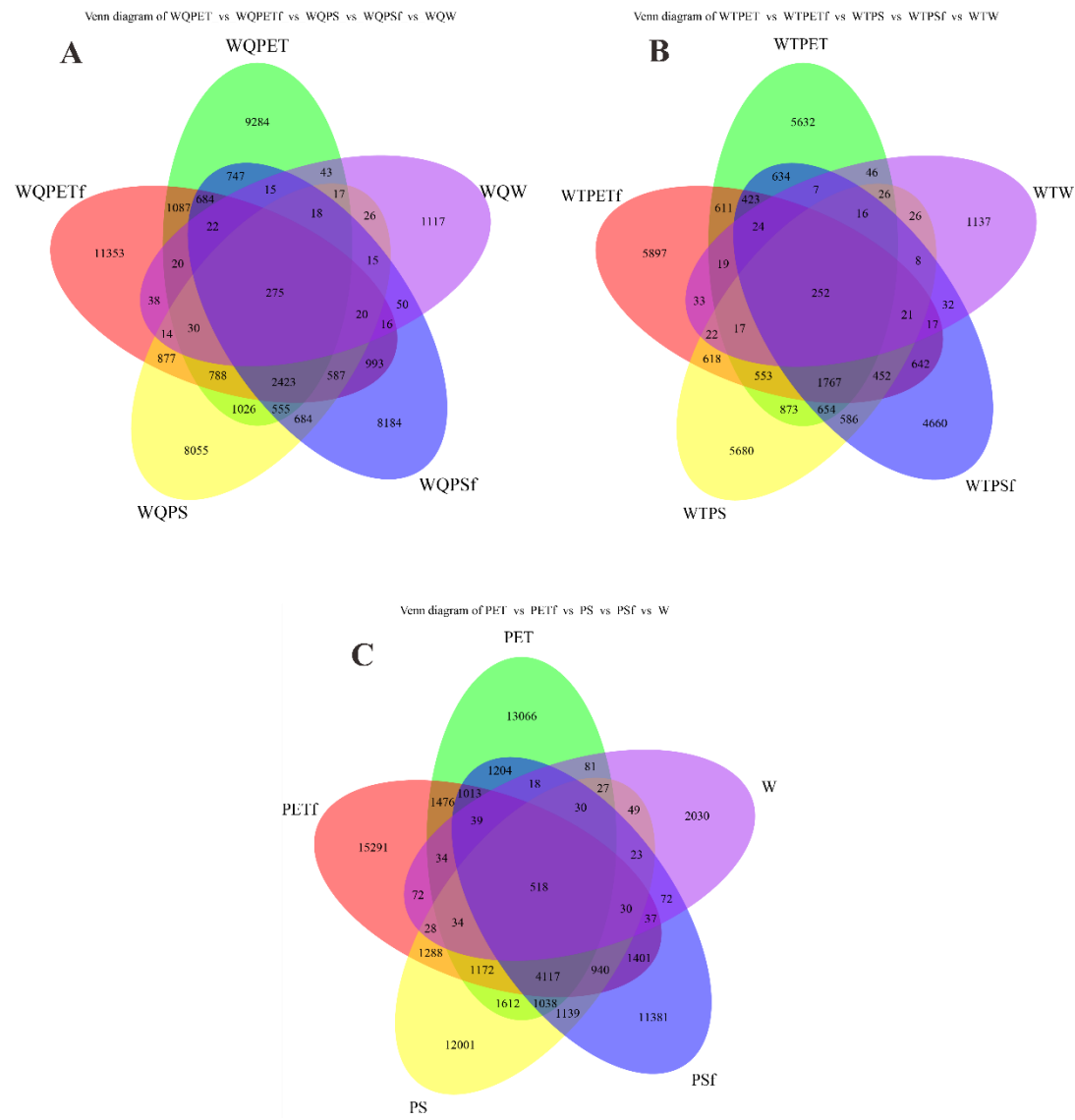


图 5.3 不同形状和类型微塑料的 ASV Venn 图 (A) QMG 区域; (B) TLG 区域; (C) QMG 区域 + TLG 区域

Fig 5.3 ASV Venn diagram for different shapes and types of microplastics (A) QMG area; (B) TLG area; (C) QMG area + TLG area

通过统计不同类型和形状微塑料样品的 ASV 数目得知，在 QMG 区域，PET 颗粒、PET 薄膜、PS 颗粒、PS 泡沫和海水的 ASV 数目分别为 17034、19227、15410、15288 和 1736。五个分组共有的 ASV 数目为 275（图 5.3A），

在每组中占比分别为 1.6%、1.4%、1.8%、1.8%和 15.8%，特有的 ASV 数目分别为 9284、11353、8055、8184 和 1117，在每组中占比分别为 54.5%、59.0%、52.3%、53.5%、64.3%。在 TLG 区域，PET 颗粒、PET 薄膜、PS 颗粒、PS 泡沫和海水的 ASV 数目分别为 11554、11368、11571、10195 和 1703。五个分组共有的 ASV 数目为 252（图 5.3B），在每组中占比分别为 2.2%、2.2%、2.2%、2.5%和 14.8%，特有的 ASV 数目（占比）在每组分别为 5632（48.7%）、5897（51.9%）、5680（49.1%）、4660（45.7%）和 1137（66.8%）。总体来看，PET 颗粒、PET 薄膜、PS 颗粒、PS 泡沫和海水的 ASV 数目分别为 25479、27490、24046、23000 和 3122，五个分组共有的 ASV 数目为 518（图 5.3C），在每组中占比分别为 2.0%、1.9%、2.2%、2.3%和 16.6%，特有的 ASV 数目分别为 13066、15291、12001、11381 和 2030，在每组占比分别为 51.3%、55.6%、49.9%、49.5%、65.0%。综上可知，不同形状和类型微塑料共有和特有的 ASV 占比较相似，与海水 ASV 相比，发现明显的差异性。

5.3.3.2 微塑料表面生物膜的细菌群落的多样性

α 多样性分析中的 Chao1 指数和 Shannon 指数在 QMG 区域和 TLG 区域的不同类型和形状微塑料样品之间未发现显著差异性（图 5.4A-D），但是在两个区域不同暴露时间发现了显著差异。具体来说，QMG 区域暴露 30 天的 Chao1 指数显著低于暴露 15 天和 60 天的结果（ $P < 0.05$ ），TLG 区域与 QMG 暴露 30 天的 Chao1 指数表现出同样的规律，暴露 30 天的 Chao1 指数明显更低（ $P < 0.05$ ）（图 5.4E）。Shannon 指数分析发现，QMG 区域暴露 60 天的细菌群落多样性显著高于 15 天和 30 天（ $P < 0.05$ ）（图 5.4F）。

β 多样性分析主要采用了基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析（PCoA）和相似性分析（ANOSIM）的方法。PCoA 图展示了 QMG 区域和 TLG 区域不同形状和类型微塑料样品之间的变化趋势。可以看出，不同微塑料样品之间聚集程度较高，但是与海水样品的区分较为明显。与此同时，ANOSIM 分析显示 QMG 区域和 TLG 区域不同形状和类型微塑料样品间的细菌群落均具有显著差异性（QMG 区域： $R=0.86$ ， $P < 0.01$ ；TLG 区域： $R=0.30$ ， $P < 0.01$ ）。接着，按区域和暴露时间分成六个分组，进行 PCoA 分析发现，六个分组均可明显区分，进一步表明细菌群落在时空方面存在显著的差异性，ANOSIM 分析同样说明了六组样品细菌群落的显著差异性（ $R = 0.85$ ， $P < 0.01$ ）。

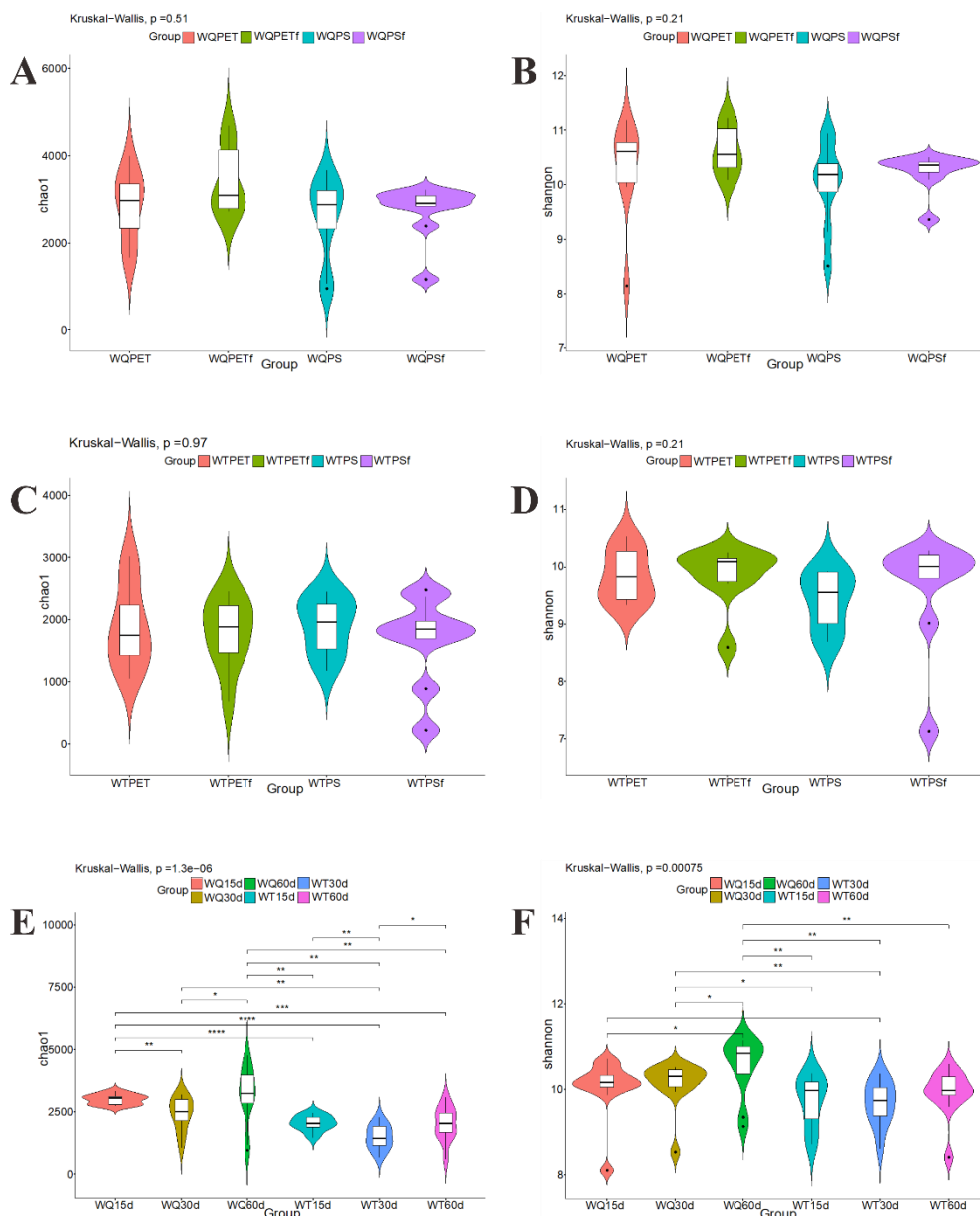


图 5.4 微塑料样品附着细菌群落的 α 多样性 (A) 和 (B) 分别表示 QMG 区域不同形状-类型微塑料细菌群落的 Chao1 和 Shannon 指数; (C) 和 (D) 分别表示 TLG 区域不同形状-类型微塑料细菌群落的 Chao1 和 Shannon 指数; (E) 和 (F) 分别表示不同区域-暴露时间微塑料细菌群落的 Chao1 和 Shannon 指数

Figure 5.4 Alpha diversity of bacterial communities attached to microplastic samples. (A) and (B) indicate the Chao1 and Shannon indices of different shape-type microplastic bacterial communities in the QMG area, respectively; (C) and (D) indicate Chao1 and Shannon indices of different shape-type microplastic bacterial communities in the TLG area, respectively; (E) and (F) indicate the Chao1 and Shannon indices of microplastic bacterial communities in different area-exposure days, respectively.

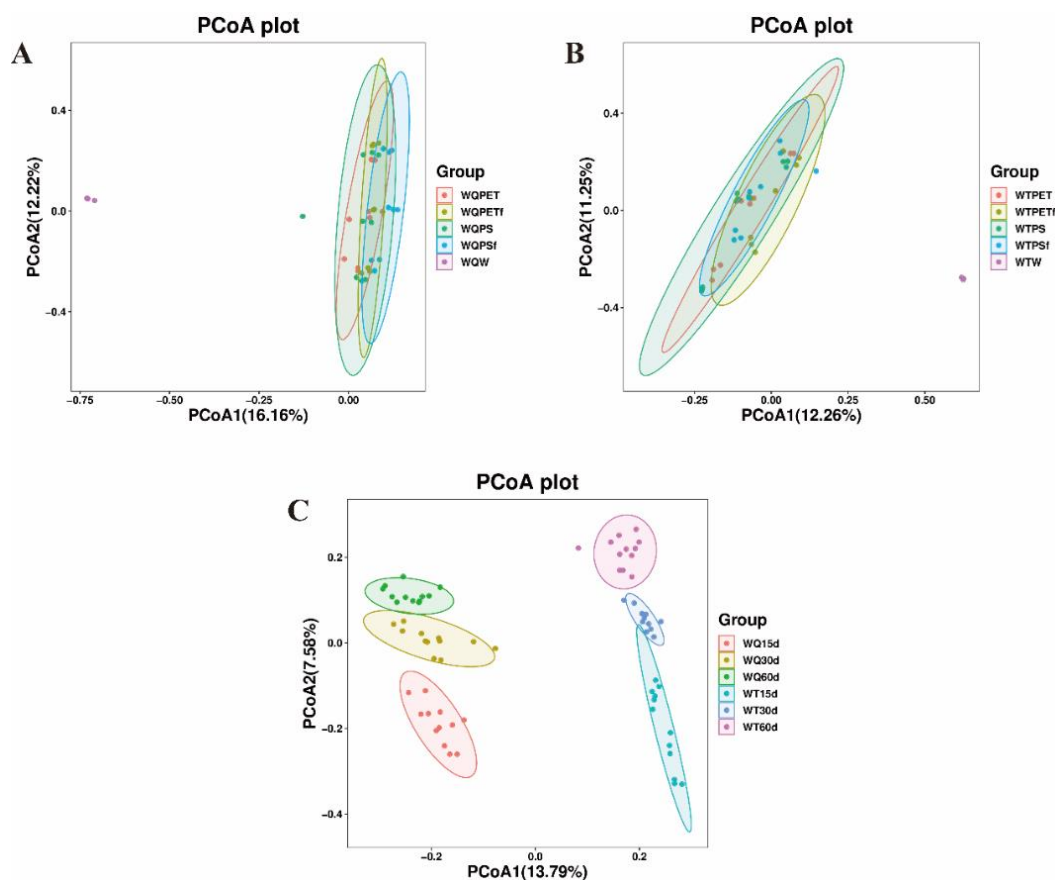


图 5.5 QMG 区域不同形状-类型 (A)、TLG 区域不同形状-类型 (B) 和不同区域-暴露天数 (C) 微塑料样品附着细菌群落的 PCoA 分析图

Figure 5.5 PCoA analysis of bacterial communities attached to microplastic samples of different shape-type in the QMG area(A), different season - exposure days in the TLG area (B), and different area - exposure days(C)

综上 α 和 β 多样性分析的结果来看, 在不同区域的微塑料样品中, 附着的细菌群落的多样性在微塑料形状和类型方面未表现显著的差异性, 表明微塑料形状和类型对其影响较小, 这与 Li 等人^[75]和 Jiang 等人^[67]的研究结果一致, 但也有研究发现微塑料类型对细菌群落组成的影响^[61, 122]。微塑料样品附着的细菌群落组成与海水样品之间存在显著的差异, 这与 Zettler 等人的研究结果一致^[61]。此外, 在不同时空表现出显著的差异性, 表明时空因素对微塑料表面细菌群落多样性的影响较大。

5.3.3.3 微塑料表面生物膜的细菌群落的组成分析

通过分析 QMG 区域和 TLG 区域不同形状和类型微塑料样品和海水样品的细菌群落结构组成发现, 在门水平, QMG 区域不同微塑料样品表面附着的前五个细菌群落较为相似, 均为: Proteobacteria、Actinobacteriota、Planctomycetota、Bacteroidota 和 Cyanobacteria, 在不同微塑料样品的四个分组中绝对优势菌群为 Proteobacteria (41.24% ~ 48.01%)。海水样品与微塑料样品相比, 绝对优势菌群同样为 Proteobacteria (43.53%), 但是 Cyanobacteria 有较高的占比 (8.75%), Planctomycetota 占比却很小 (0.30%) (图 5.6A); 在 TLG 区域, 不同微塑料样品表面附着的前五个细菌群落均为: Proteobacteria、Planctomycetota、Actinobacteriota、Cyanobacteria 和 Bacteroidota, 在不同微塑料样品的四个分组中绝对优势菌群为 Proteobacteria (38.81% ~ 50.08%) 和 Planctomycetota (16.15% ~ 23.48%)。而 TLG 区域海水样品中主要的细菌群落为 Proteobacteria、Actinobacteriota、Cyanobacteria 和 Bacteroidota, 其中 Cyanobacteria (41.58%) 是海水样品的绝对优势菌群 (图 5.6B)。

在属水平上, 在 QMG 区域不同形状和类型微塑料样品表面附着的细菌群落主要菌属如图 5.7A, PET 颗粒的主要菌属为 *Chloroplast_unclassified* (4.94%)、*Woeseia* (4.15%) 和 *Gammaproteobacteria_unclassified* (3.97%), PET 薄膜的主要菌属为 *Actinomarinales_unclassified* (3.71%), PS 颗粒的主要菌属为 *Alphaproteobacteria_unclassified* (7.51%)、*Woeseia* (3.67%) 和 *Actinomarinales_unclassified* (3.51%), PS 泡沫的主要菌属为 *Actinomarinales_unclassified* (5.36%)、*Sva0996_marine_group* (放线菌门的一个分支) (3.61%), 海水样品的主要菌属为 *Microbacteriaceae_unclassified* (微杆菌科的分支) (10.68%)、*Alphaproteobacteria_unclassified* (4.42%)、*Rhodobacteraceae_unclassified* (红杆菌科的分支) (3.71%)。可以看出, QMG 区域不同形状和类型微塑料样品之间, 颗粒状微塑料有较高丰度占比的 *Woeseia* (3.67 ~ 4.15%), 可能该菌属的附着与塑料形状有关。此外, 不同形状 PS 上主要菌属均含有 *Actinomarinales_unclassified* (3.51% ~ 5.36%), 可能该菌属对微塑料类型具有一定的选择性。然而微塑料样品与海水样品之间, 属水平附着的主要菌属有所差异。在 TLG 区域, 不同形状和类型微塑料样品表面附着的细菌群落主要菌属如图 5.7B, PET 颗粒的主要菌属为

Alphaproteobacteria_unclassified (4.15%) 和 *Blastopirellula* (3.97%), PET 薄膜的主要菌属为 *Blastopirellula* (5.43%)、*Planctomycetales_unclassified* (4.87%), PS 颗粒的主要菌属为 *Alphaproteobacteria_unclassified* (9.66%)、*Blastopirellula* (4.19%)、*Neptuniibacter* (4.15%) 和 *Planctomycetales_unclassified* (3.52%), PS 泡沫的主要菌属为 *Blastopirellula* (6.01%)、*Planctomycetales_unclassified* (3.72%)、*Woeseia* (3.66%), 海水样品的主要菌属为 *Synechococcus_CC9902* (17.66%)、*Cyanobium_PCC-6307* (15.65%)、*HIMB11* (12.52%) 和 *Candidatus_Actinomarina* (11.50%)。值得注意的是, 在不同形状和类型塑料表面均附着了 *Blastopirellula* (3.97%~5.43%), 在 PET 和 PS 颗粒上均附着了较高丰度占比的 *Alphaproteobacteria_unclassified* (α -变形菌纲的分支), 已有研究表明 *Alphaproteobacteria* 是微塑料颗粒表面主要的附着菌群^[123, 124]。在不同形状的 PS 上主要菌属都含有 *Planctomycetales_unclassified*。此外, 微塑料样品与海水样品相比, 细菌群落的组成更丰富, 并且主要菌属与微塑料样品之间也存在一定的差异性。

通过热图进一步分析不同微塑料的细菌群落组成, 发现在 QMG 区域, *Microbacteriaceae_unclassified*、*Rhodobacteraceae_unclassified* 和 *Actinobacteriota_unclassified* 是海水样品中的特殊菌群, *Alphaproteobacteria_unclassified* 是 PS 颗粒的特殊菌群 (图 5.8)。在 TLG 区域, 海水样品中的特殊菌群有 *Actinobacteriota_unclassified*、*HIMB11*、*Synechococcus_CC9902*、*Cyanobium-PPC-6307* 和 *Candidatus_Actinomarina*, PET 薄膜样品的特殊菌群是 *Pirellulaceae_unclassified* (图 5.9)。微塑料样品与海水样品相比, 特殊菌群较少, 侧面反映了不同类型和形状的微塑料对附着细菌群落的结构组成影响较小。

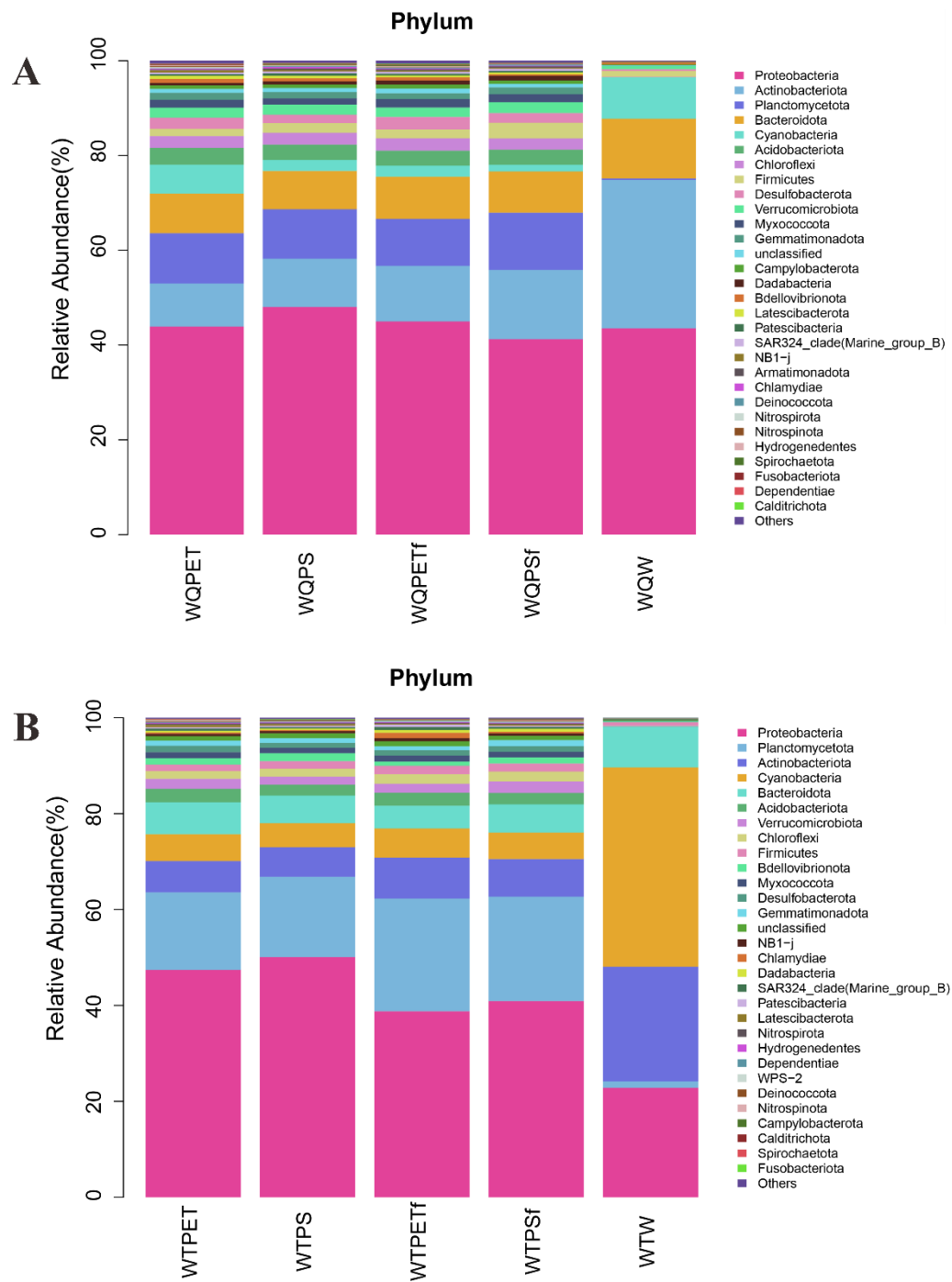


图 5.6 在 QMG 区域 (A) 和 TLG 区域 (B) 不同形状-类型微塑料样品和海水样品基于门水平的细菌群落组成 (前 30 名)

Figure 5.6 Composition of bacterial communities based on phylum level (Top 30) in QMG area (A) and TLG area (B) for different shape - type microplastic samples and seawater samples

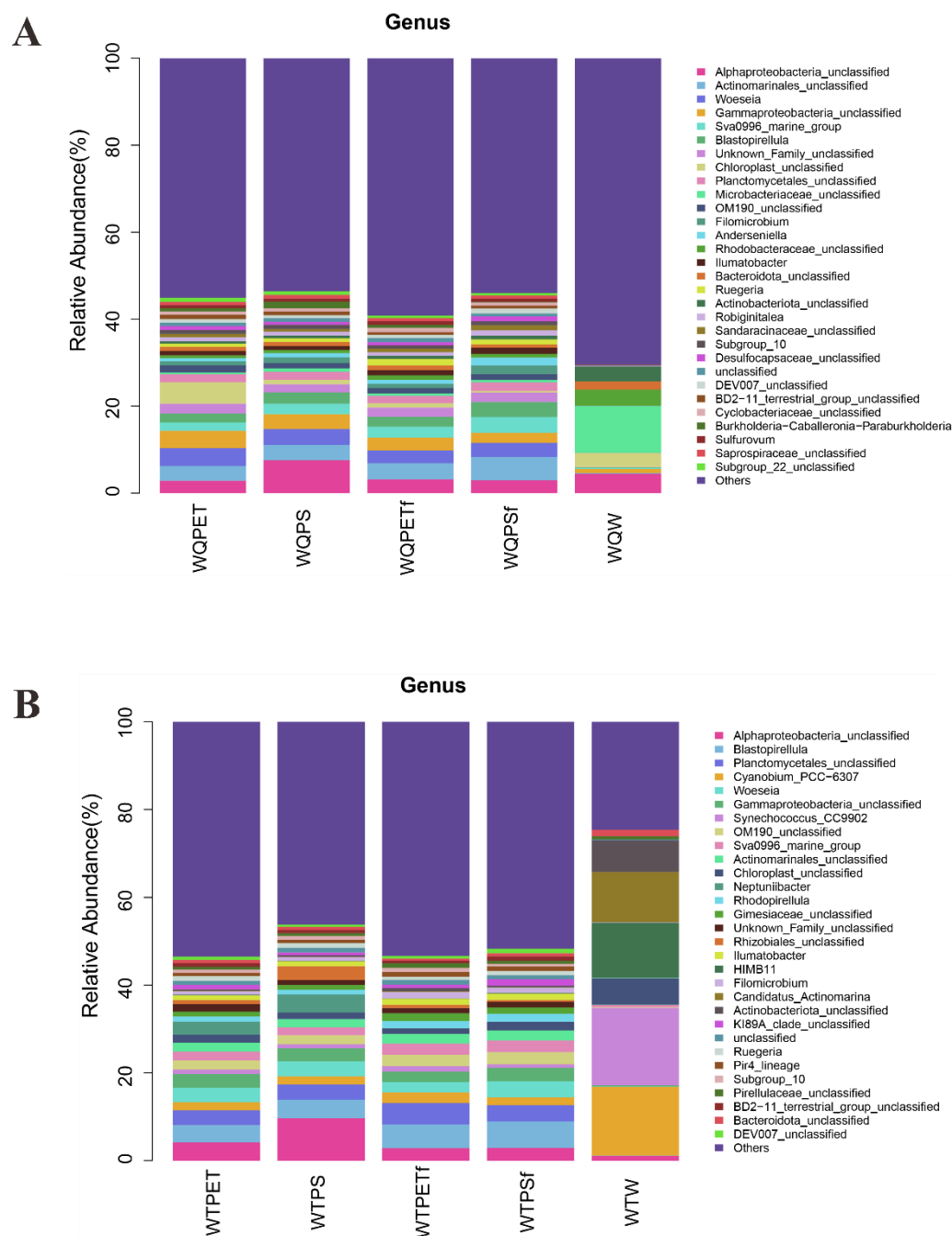


图 5.7 在 QMG 区域 (A) 和 TLG 区域 (B) 不同形状-类型微塑料样品和海水样品基于属水平的细菌群落组成 (前 30 名)

Figure 5.7 Composition of bacterial communities based on genus level (Top 30) in QMG area (A) and TLG area (B) for different shape - type microplastic samples and seawater samples

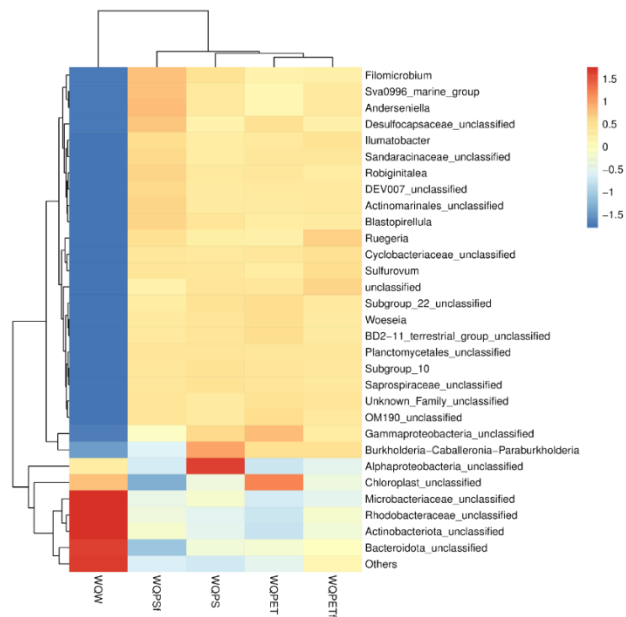


图 5.8 QMG 区域不同形状-类型微塑料和海水样品基于属水平的细菌群落（前 30 名）的热图

Figure 5.8 Heat map of bacterial communities (Top 30) based on genus level for different shape - type microplastic and seawater samples in the QMG area

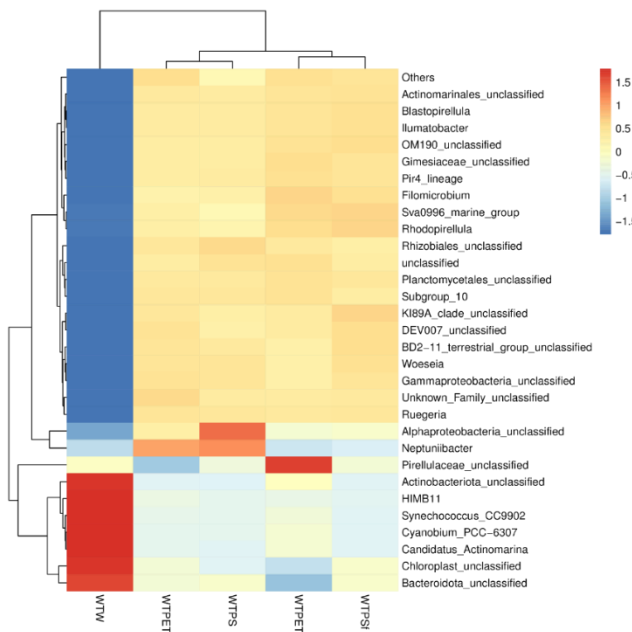


图 5.9 TLG 区域不同微塑料和海水样品基于属水平的细菌群落（前 30 名）的热图

Figure 5.9 Heat map of bacterial communities (Top 30) based on genus level for different shape - type microplastic and seawater samples in the TLG area

5.3.3.4 微塑料表面生物膜的细菌群落与环境参数的相关性

将属水平丰度 Top 20 的细菌群落与环境参数进行 Spearman 相关性分析，结果显示，QMG 区域与 TLG 区域相比，微塑料表面细菌群落与环境参数之间存在较多相关性。在 QMG 区域，PET 颗粒样品表面丰度最高的菌属 *Chloroplast_unclassified* 与盐度、pH、溶解氧、电导率之间存在显著的正相关，然而 PET 薄膜和 PS 类型的样品表面丰度最高的菌属均未发现与环境参数之间的相关性（图 5.10A）。在 TLG 区域，颗粒状微塑料样品表面丰度最高的菌属 *Alphaproteobacteria_unclassified* 与溶解氧具有显著负相关，而与温度具有显著正相关。PET 薄膜和 PS 泡沫样品表面丰度最高的菌属 *Blastopirellula* 分别与溶解氧呈正相关性，而与温度和电导率呈负相关性（图 5.10B）。

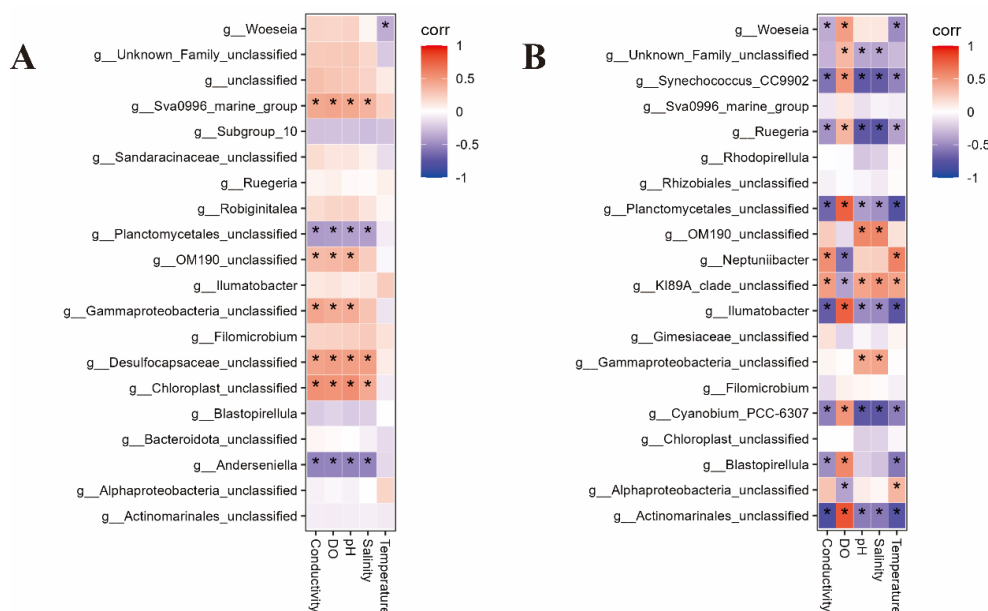


图 5.10 QMG 区域 (A) 和 TLG 区域 (B) 微塑料样品基于属水平的细菌群落 (前 20 名) 与环境参数 Spearman 相关性热图

Figure 5.10 Heat map of Spearman correlation between bacterial communities (Top 20) and environmental parameters based on genus level for microplastic samples

5.3.3.5 微塑料表面生物膜的细菌群落的指示物种分析

对微塑料样品属水平丰度 Top 30 和海水样品的细菌群落进行指示物种分析，分别在 QMG 和 TLG 区域寻找不同形状和类型微塑料的生物标志菌群。如图 5.11 所示，在 QMG 区域，PET 颗粒的生物标志菌群为 *Chloroplast_unclassified*,

PS 颗粒的生物标志菌群为 *Alphaproteobacteria_unclassified*, PET 薄膜的生物标志菌群为鲁杰氏菌 (*Ruegeria*), 值得注意的是, *Ruegeria* 是抗生素的耐药菌^[125]。PS 泡沫的生物标志菌群为丝状微菌属 (*Filomicrobium*) 和安德森氏菌属 (*Andersenella*), 海水样品的生物标志菌群为 *Microbacteriaceae_unclassified*。在 TLG 区域, PET 颗粒的生物标志菌群为海王星杆菌属 (*Neptuniibacter*), PS 颗粒的生物标志菌群为 *Alphaproteobacteria_unclassified*、*Neptuniibacter* 和 *Rhizobiales_unclassified* (根瘤菌目 *Rhizobiales* 的分支), 有研究报道 *Neptuniibacter* 通常能够降解碳氢化合物^[126], 而 *Rhizobiales* 可引起黄龙病等植物疾病^[127]。PET 薄膜的生物标志菌群为 *KI89A_clade_unclassified*, PS 泡沫的生物标志菌群为 *KI89A_clade_unclassified*, 海水样品的生物标志菌群有 *HIMB11*, *Candidatus_Actinomarina*。值得注意的是, 两个区域的 PS 颗粒的生物标志菌群都是 *Alphaproteobacteria_unclassified*, 说明该菌属可能与 PS 颗粒之间存在一定的关联性。

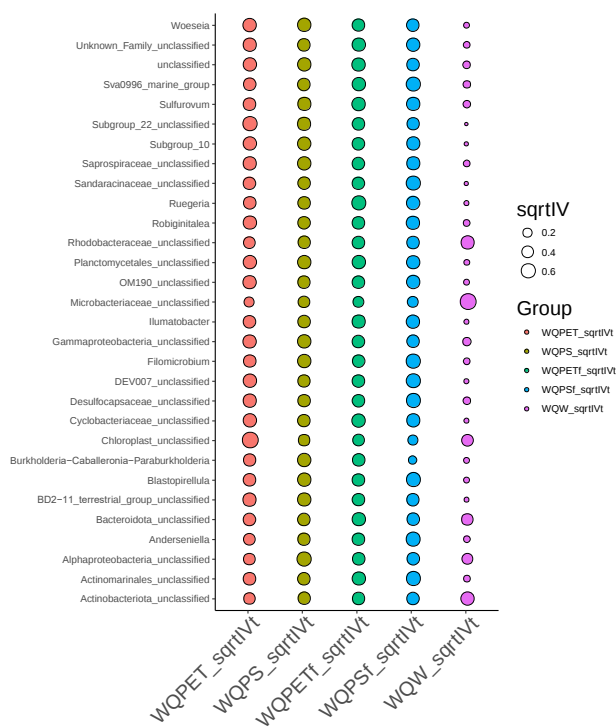


图 5.10 QMG 区域不同形状-类型微塑料和海水样品基于属水平的细菌群落 (前 30 名) 指示物种分析

Figure 5.10 Indicator species analysis of bacterial communities (Top 30) based on genus level for different shape - type microplastic and seawater samples in the QMG area

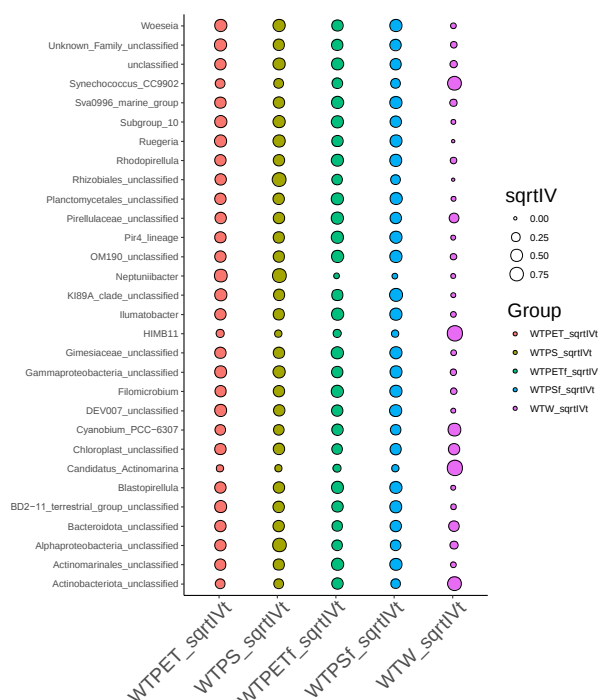


图 5.11 TLG 区域不同形状-类型微塑料和海水样品基于属水平的细菌群落（前 30 名）指示物种分析

Figure 5.11 Indicator species analysis of bacterial communities (top 30) based on genus level for different shape - type microplastic and seawater samples in the TLG area

5.3.4 微塑料表面生物膜的重金属的富集特征

图 5.12 展示了 QMG 和 TLG 区域附着生物膜的不同形状 PET 和 PS 微塑料的七种重金属累积量。在七种重金属中，Mn 在各附着生物膜的微塑料上的累积量最高（ $2.08 \pm 0.1 \mu\text{g mm}^{-2}$ 至 $48.8 \pm 14.5 \text{ ng mm}^{-2}$ ）。在区域方面，QMG 区域附着生物膜的微塑料的 Mn、Co Cu、Cd 和 Pb 累积量显著高于 TLG 区域（ $P < 0.05$ ），进一步验证了第四章中附着生物膜的微塑料上的重金属在区域方面存在差异性。在塑料形状和类型方面，在 QMG 区域，PS 颗粒和 PS 泡沫上 Mn 的累积量显著高于 PET 薄膜（ $P < 0.05$ ），PS 泡沫上 Cd 的累积量显著高于 PET 颗粒和 PS 颗粒（ $P < 0.05$ ），这可能归因于 PS 泡沫在水环境中更容易发生老化，增加了表面积、亲水性和含氧官能团，更有助于吸附重金属^[128]。然而在 TLG 区域，PET 薄膜 Cd 的累积量显著高于 PS 颗粒（ $P < 0.05$ ）。在暴露天数方面，除 Cd 外，其余六种重金属在不同暴露时间均表现出显著的差异性（ $P < 0.01$ ）。其

中，暴露 30 天和 60 天的微塑料上 Cr、Co、Cu 和 Pb 的累积量均显著高于 15 天的结果。值得注意的是，暴露 15 天、30 天和 60 天微塑料上 Mn 和 Ni 的累积量展现出较大差异性，并且累积量随暴露天数的增加而增加。

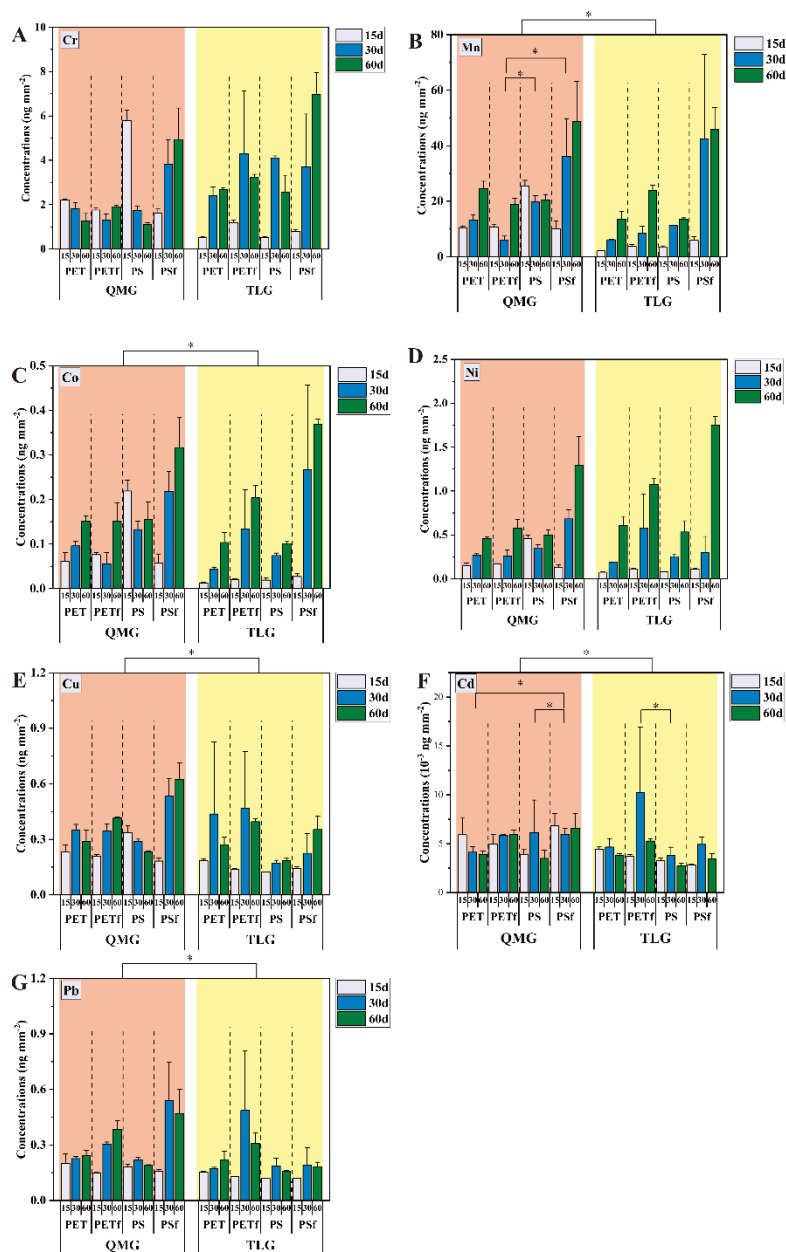


图 5.12 不同区域、暴露天数附着生物膜的 PET 颗粒/薄膜和 PS 颗粒/泡沫表面七种重金属：Cr (A)、Mn (B)、Co (C)、Ni (D)、Cu (E)、Cd (F) 和 Pb (G) 的累积量

Figure 5.12 Accumulation of seven heavy metals: Cr (A)、Mn (B)、Co (C)、Ni (D)、Cu (E)、Cd (F) 和 Pb (G) on the surface of PET pellets/films and PS pellets/foams with biofilm attached in different seasons, areas and exposure days

综上，微塑料的形状和类型因素只影响其对重金属 Mn 和 Cd 的富集特征，而对其它重金属的累积量无显著影响，更显著的差异性体现在区域和暴露天数方面，进一步表明时空因素可显著影响微塑料表面重金属的富集。

5.3.5 附着生物膜的微塑料吸附有机污染物的组成特征

在不同形状和类型的微塑料上均检测到有机污染物的存在，其含量普遍较低（图 5.13）。 ΣPAH 在 QMG 和 TLG 区域附着生物膜的微塑料样品上的平均累积量分别为 $17.84 \pm 1.50 \times 10^{-3} \text{ ng mm}^{-2}$ 和 $17.06 \pm 1.79 \times 10^{-3} \text{ ng mm}^{-2}$ ，同样， ΣPCB 的平均累积量分别为 $0.11 \pm 0.01 \times 10^{-3} \text{ ng mm}^{-2}$ 和 $0.10 \pm 0.01 \times 10^{-3} \text{ ng mm}^{-2}$ ， ΣOCP 的平均累积量分别为 $3.05 \pm 0.51 \times 10^{-3} \text{ ng mm}^{-2}$ 和 $2.11 \pm 0.33 \times 10^{-3} \text{ ng mm}^{-2}$ ，三类有机污染物在不同区域之间未见明显的差异性。

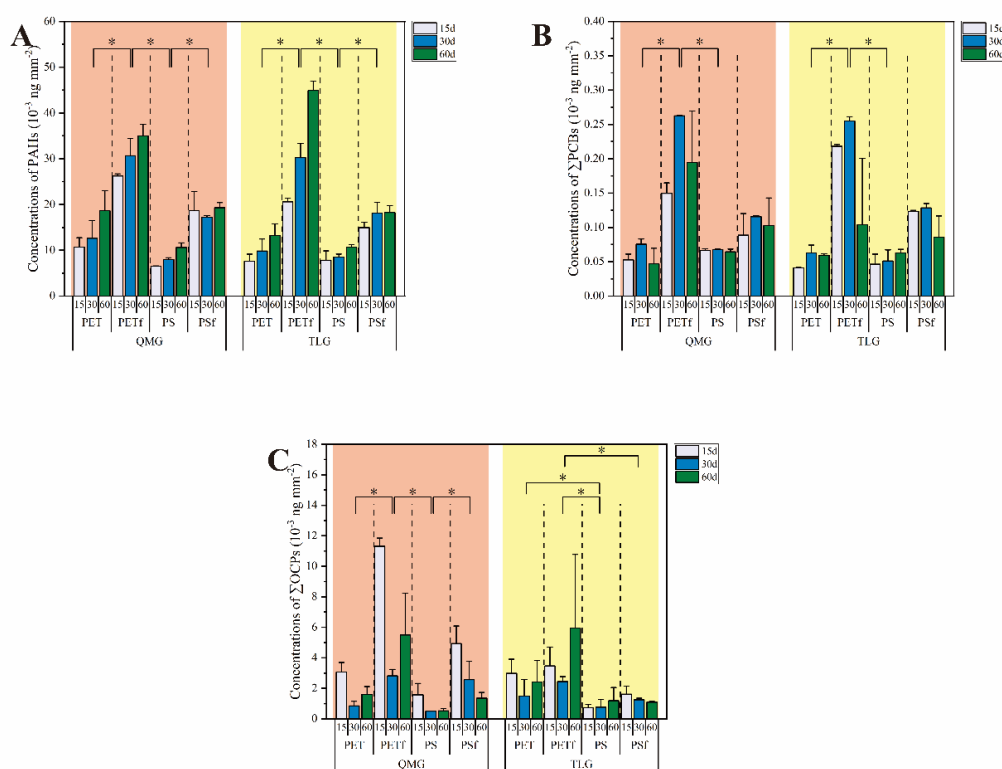


图 5.13 不同区域、暴露天数附着生物膜的 PET 颗粒/薄膜和 PS 颗粒/泡沫表面三类有机污染物： ΣPAH (A)、 ΣPCB (B) 和 ΣOCP (C) 的累积量

Figure 5.13 Accumulation of three types of organic pollutants: ΣPAH (A)、 ΣPCB (B) and ΣOCP (C) on the surface of PET pellets/films and PS pellets/foams with biofilms attached in different areas and exposure days

在塑料类型和形状方面，在 QMG 区域和 TLG 区域不同微塑料上有机污染物的累积量均表现出显著的差异性 ($P < 0.01$)。具体表现为：在 QMG 区域，PET 薄膜上 Σ PAH、 Σ PCB、 Σ OCP 的累积量均显著高于 PET 颗粒和 PS 颗粒；在 TLG 区域，PET 薄膜上 Σ PAH、 Σ PCB 的累积量显著高于 PET 颗粒，但是 Σ OCP 的累积量在 PET 不同形状之间未发现差异。PET 薄膜上 Σ PAH、 Σ PCB、 Σ OCP 的累积量同样显著高于 PS 颗粒。在两个区域的 PS 泡沫上 Σ PAH 的累积量均显著高于 PS 颗粒，而且在 QMG 区域 PS 泡沫上 Σ OCP 的累积量同样显著高于 PS 颗粒。此外，还发现在 TLG 区域 PET 颗粒的 Σ OCP 的累积量显著高于 PS 颗粒，PET 薄膜 Σ OCP 的累积量显著高于 PS 泡沫。由此可见，薄膜和泡沫与颗粒形状相比，更容易富集有机污染物。究其原因，可能是由于薄膜和泡沫状的微塑料在水环境中更容易老化，使其结构发生变化，更有利于吸附有机污染物。在暴露天数方面，暴露 60 天的微塑料样品表面 Σ PAH 的累积量显著高于 15 天，但是暴露 30 天的微塑料样品表面 Σ OCP 的累积量却显著低于 15 天。

5.4 小结

(1) 在 QMG 和 TLG 区域暴露的不同形状和类型的微塑料表面均形成了生物膜，附着有一些藻类、沉积物颗粒、少量杆菌和大量球菌。

(2) 通过对比暴露前后 PET 颗粒、PET 薄膜、PS 颗粒和 PS 泡沫的拉曼光谱图，发现微塑料的拉曼光谱特征峰强度均有所降低，其中 PS 泡沫的拉曼光谱变化最明显。

(3) 在不同形状和类型的微塑料之间，细菌群落丰度和多样性未发现明显差异，但是微塑料样品与海水样品之间存在显著的差异性。此外，在不同暴露时间也发现了显著差异。在门水平，不同形状和类型的微塑料在 QMG 区域和 TLG 区域主要的细菌群落基本相同，以变形菌门 (Proteobacteria) 为主。

(4) 通过比较 QMG 和 TLG 区域不同形状 PET 和 PS 微塑料上重金属的累积量，发现微塑料形状和类型可显著影响微塑料吸附重金属 Mn 和 Cd 的含量。此外，还进一步验证了微塑料表面重金属含量在区域和暴露天数方面的差异。

(5) 通过比较 QMG 和 TLG 区域不同形状 PET 和 PS 微塑料上有机污染物的累积量，发现微塑料形状和类型因素可影响其吸附有机污染物的含量。

第6章 结论与展望

6.1 结论

本论文以海南岛南部 SYH、QMG、TLG 红树林为研究区域,分析旱季和雨季三个红树林表层海水和沉积物(根际沉积物和非根际沉积物)中微塑料的赋存特征、生态风险评价,接着在 QMG 和 TLG 红树林开展微塑料原位暴露实验,分析微塑料表面生物膜形貌、化学特征、附着的细菌群落结构特征、重金属和有机污染物的富集特征在季节、区域、暴露天数、微塑料形状和类型的差异性,初步揭示不同因素对红树林中微塑料富集及其表面生物膜特征的影响。主要结果如下:

(1) 在旱季和雨季所有研究的红树林的表层海水和沉积物中普遍存在微塑料,其中 SYH 红树林的微塑料丰度最高。表层海水中微塑料的丰度随季节变化,此外根际效应对微塑料丰度有较大影响。在不同红树林区域、季节和环境介质,微塑料的形态特征表现出显著的差异性,检测出的微塑料主要以纤维状、透明颜色和 100 ~ 500 μm 尺寸范围为主。最主要的聚合物类型是 PP、PET 和 PE。微塑料丰度与表层海水中的营养盐含量呈正相关 ($P < 0.05$),包括 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4\text{-P}$,但微塑料丰度与海水的理化参数呈负相关 ($P < 0.05$),包括温度、盐度、pH 值和电导率。

(2) PLI、PHI、PERI 三种生态风险评价模型对海南岛南部三个红树林表层海水和沉积物中的微塑料污染进行了全面的生态风险评价,其中 SYH 区域的生态风险最高,其次是 TLG 区域和 QMG 区域,三个区域最高生态风险等级分别达到了 V 级(极其危险)、III 级(重度污染)和 III 级(重度污染)。

(3) 在不同时空暴露的微塑料表面生物膜特征存在显著的差异性。暴露后与暴露前的塑料相比,微塑料的形貌和结构发生了变化,其表面附着了藻类、沉积物颗粒、杆菌和球菌等,表面结构受到风化、生物降解等因素的影响,其拉曼光谱图的特征峰的强度明显降低。时空因素对于微塑料表面细菌群落的丰度及多样性具有显著影响。在门水平,微塑料样品表面附着的最主要细菌群落为变形菌门(Proteobacteria)和浮霉菌门(Planctomycetota)。在 PP、PE、PET

颗粒微塑料表面，Mn 和 Σ PAH 的累积量的累积量是最高的，并且微塑料表面重金属和有机污染物的累积量在不同时空均表现出显著性差异。

（4）在不同形状和类型微塑料方面，通过对比观察暴露前后不同形状和类型的微塑料表面形貌和拉曼光谱，发现暴露后的微塑料表面均附着了一些藻类、沉积物颗粒、少量杆菌和大量球菌，且拉曼光谱的特征峰强度有所降低，特别是 PS 泡沫由于风化和生物降解的作用，其结构发生严重破坏。不同形状和类型的微塑料上附着的细菌群落丰度和多样性均未发现显著差异，但在微塑料与海水样品之间发现明显差异性。此外，在门水平，最主要的细菌群落以变形菌门（Proteobacteria）为主。在不同微塑料表面，重金属 Mn 和有机污染物 Σ PAH 的累积量均最高，且微塑料的形状和类型因素可显著影响其吸附有机污染物的含量。

6.2 创新点

本研究选择中国海南岛最南端沿海的三个热带红树林地区作为研究区域，从时空和环境介质角度分析了微塑料的赋存特征，解释了微塑料与环境参数之间的关联性，联合多个生态风险评价模型对各个红树林区域进行了全面性的评价，并从多个角度（时空、微塑料类型和形状）分析了微塑料表面生物膜的特征，主要包括附着微生物群落结构特征、重金属和有机污染物的富集特征的差异性。

6.3 展望

（1）本研究仅对红树林表层海水和沉积物进行了微塑料赋存特征的研究，未来可以进一步探索红树林典型生物体微塑料的赋存情况，为全面深入了解微塑料在红树林污染现状以及在食物链的迁移富集情况提供基础数据参考。

（2）目前仍缺乏更全面系统的针对微塑料生态风险的评价模型，未来研究可考虑从多种不同的角度进行评价，例如物种丰富度、生态脆弱性、多个营养级的生物毒性、人类健康等。

（3）关于微塑料表面生物膜特征的研究，在未来研究中可以通过纳入更多因素（不同海域、水深、暴露时长、微塑料形状/类型/尺寸）进行微塑料暴

露实验，进一步深入探究影响微塑料表面生物膜特征的因素。

（4）在本研究中，在暴露的微塑料上不仅附着了多种细菌群落（包括塑料降解菌、抗生素耐药菌），还检测到了重金属和有机污染物的存在，未来应更深入研究微塑料附着微生物群落与重金属、有机污染物之间的互作机制以及对生物的复合毒理效应。

（5）生物膜的形成对于微塑料的影响仍有待深入研究，包括生物膜如何改变微塑料物理化学性质，如何影响其生物有效性及毒性，如何影响其对污染物的吸附与解吸过程，进而如何影响微塑料的环境行为和生态效应等。

参考文献

- [1] PLASTICSEUROPE. Plastics - the facts 2022 [J]. 2022.
- [2] GEYER R, JAMBECK J R, LAW K L. Production, use, and fate of all plastics ever made [J]. *Science Advances*, 2017, 3(7): e1700782.
- [3] LI W C, TSE H F, FOK L. Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects [J]. *Science of The Total Environment*, 2016, 566-567: 333-349.
- [4] NAJI A, ESMAILI Z, KHAN F R. Plastic debris and microplastics along the beaches of the Strait of Hormuz, Persian Gulf [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 114(2): 1057-1062.
- [5] ROCHMAN C M, BROOKSON C, BIKKER J, et al. Rethinking microplastics as a diverse contaminant suite [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2019, 38(4): 703-711.
- [6] THOMPSON R C, OLSEN Y, MITCHELL R P, et al. Lost at sea: where is all the plastic? [J]. *Science*, 2004, 304(5672): 838.
- [7] HYLTON L, GHEZZI J L, HAN B. Microplastic Pollution in Indiana's White River: an Exploratory Study[C]. *Proceedings of the Indiana Academy of Science*. 2018, 127(1): 72-81.
- [8] LI J, LIU H, PAUL CHEN J. Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection [J]. *Water Research*, 2018, 137: 362-374.
- [9] CAI M, HE H, LIU M, et al. Lost but can't be neglected: Huge quantities of small microplastics hide in the South China Sea [J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 633: 1206-1216.
- [10] KISNARTI E A, NINGSIH N S, PUTRI M R, et al. Microplastic Observations in the Waters of Labuan Bajo-Gili Trawangan, Indonesia [J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 925(1):012043.
- [11] ZHANG D, LIU X, HUANG W, et al. Microplastic pollution in deep-sea sediments and organisms of the Western Pacific Ocean [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 259: 113948.
- [12] KIM Y N, YOON J H, KIM K H. Microplastic contamination in soil environment -a review [J]. *Soil Science Annual*, 2020, 71(4): 300-308.
- [13] RILLIG, MC, INGRAFFIA, et al. Microplastic Incorporation into Soil in Agroecosystems [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1805.
- [14] OBBARD R W. Microplastics in Polar Regions: The role of long range transport [J]. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2018, 1: 24-29.
- [15] AMIN B, FEBRIANI I S, NURRACHMI I, et al. The Occurrence and Distribution of Microplastic in Sediment of the Coastal Waters of Bengkalis Island Riau Province [J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 695(1): 012041.
- [16] AMATO-LOURENO L F, GALVO L, WIEBECK H, et al. Atmospheric microplastic fallout in

- outdoor and indoor environments in So Paulo megacity [J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 821: 153450.
- [17] WANG X, LI C, LIU K, et al. Atmospheric microplastic over the South China Sea and East Indian Ocean: abundance, distribution and source [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 389: 121846.
- [18] THOMPSON, RICHARD C, STEER, et al. Microplastic ingestion in fish larvae in the western English Channel [J]. *Environmental Pollution*, 2017, 226: 250-259.
- [19] YU X, HUANG W, WANG Y, et al. Microplastic pollution in the environment and organisms of Xiangshan Bay, East China Sea: An area of intensive mariculture [J]. *Water Research*, 2022, 212: 118117.
- [20] KIM J H, YU Y B, CHOI J H. Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative stress, immune responses and neurotoxicity in fish exposed to microplastics: A review [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 413: 125423.
- [21] KOLANDHASAMY P, SU L, LI J, et al. Adherence of microplastics to soft tissue of mussels: A novel way to uptake microplastics beyond ingestion [J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 610-611: 635-640.
- [22] SUSANTI N K Y, MARDIASTUTI A, WARDIATNO Y. Microplastics and the Impact of Plastic on Wildlife: A Literature Review [J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2020, 528(1): 012013.
- [23] LEON V M, GARCIA-AGUERA I, MOLTO V, et al. PAHs, pesticides, personal care products and plastic additives in plastic debris from Spanish Mediterranean beaches [J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 670: 672-684.
- [24] BOWLEY J, BAKER-AUSTIN C, HARTNELL R, et al. Oceanic Hitchhikers - Assessing Pathogen Risks from Marine Microplastic [J]. *Trends in Microbiology*, 2020, 29(2): 107-116.
- [25] SRENSEN L, ROGERS E, ALTIN D, et al. Sorption of PAHs to microplastic and their bioavailability and toxicity to marine copepods under co-exposure conditions [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 258: 113844.
- [26] TA A T, BABEL S. Microplastic contamination on the lower Chao Phraya: Abundance, characteristic and interaction with heavy metals [J]. *Chemosphere*, 2020, 257: 127234.
- [27] AJITH N, ARUMUGAM S, PARTHASARATHY S, et al. Global distribution of microplastics and its impact on marine environment-a review [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27: 25970-25986.
- [28] AUTA H S, EMENIKE C U, FAUZIAH S H. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions [J]. *Environment International*, 2017, 102: 165-76.
- [29] DENG H, HE J, FENG D, et al. Microplastics pollution in mangrove ecosystems: A critical review of current knowledge and future directions [J]. *Science of The Total Environment*, 2021,

753: 142041.

- [30] LUO Y Y, NOT C, CANNICCI S. Mangroves as unique but understudied traps for anthropogenic marine debris: A review of present information and the way forward [J]. *Environmental Pollution*, 2021, 271: 116291.
- [31] CHI Z-M, LIU T-T, CHI Z, et al. Occurrence and diversity of yeasts in the mangrove ecosystems in Fujian, Guangdong and Hainan provinces of China [J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2012, 52(3): 346-353.
- [32] WANG Y-S, GU J-D. Ecological responses, adaptation and mechanisms of mangrove wetland ecosystem to global climate change and anthropogenic activities [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2021, 162: 105248.
- [33] CARUGATI L, GATTO B, RASTELLI E, et al. Impact of mangrove forests degradation on biodiversity and ecosystem functioning [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 13298.
- [34] LIU X, LIU H, CHEN L, et al. Ecological interception effect of mangroves on microplastics [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423(Pt B): 127231.
- [35] DUAN J, HAN J, CHEUNG S G, et al. How mangrove plants affect microplastic distribution in sediments of coastal wetlands: Case study in Shenzhen Bay, South China [J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 767: 144695.
- [36] ROSE D, WEBBER M. Characterization of microplastics in the surface waters of Kingston Harbour [J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 664: 753-760.
- [37] ALIABAD M K, NASSIRI M, KOR K. Microplastics in the surface seawaters of Chabahar Bay, Gulf of Oman (Makran Coasts) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 143: 125-133.
- [38] RAHMAWATI N H F, PATRIA M P. Microplastics Dissemination from Fish Mugil dussumieri and Mangrove Water of Muara Teluknaga, Tangerang, Banten [J]. *Journal of Physics: Conference Series*, 2019, 1282(1): 012104.
- [39] PAN Z, SUN Y, LIU Q, et al. Riverine microplastic pollution matters: A case study in the Zhangjiang River of Southeastern China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 159: 111516.
- [40] LI R, ZHANG S, ZHANG L, et al. Field study of the microplastic pollution in sea snails (*Ellobium chinense*) from mangrove forest and their relationships with microplastics in water/sediment located on the north of Beibu Gulf [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263(Pt B): 114368.
- [41] FAN Y, ZHENG K, ZHU Z, et al. Distribution, sedimentary record, and persistence of microplastics in the Pearl River catchment, China [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 251: 862-870.
- [42] MARTÍN A J, MONDELLI C, JAYDEV S D, et al. Catalytic processing of plastic waste on the rise[J]. *Chem*, 2021, 7(6): 1487-1533.
- [43] NOR N H, OBBARD J P. Microplastics in Singapore's coastal mangrove ecosystems [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 79(1-2): 278-283.

- [44] NAJI A, NURI M, AMIRI P, et al. Small microplastic particles (S-MPPs) in sediments of mangrove ecosystem on the northern coast of the Persian Gulf [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 146: 305-311.
- [45] NAVARRO C K P, ARCADIO C G L A, SIMILATAN K M, et al. Unraveling Microplastic Pollution in Mangrove Sediments of Butuan Bay, Philippines [J]. *Sustainability*, 2022, 14(21): 14469.
- [46] YONA D, SARI S H J, IRANAWATI F, et al. Microplastics in the surface sediments from the eastern waters of Java Sea, Indonesia [J]. *F1000Research*, 2019, 8: 98.
- [47] GARCES-ORDONEZ O, CASTILLO-OLAYA V A, GRANADOS-BRICENO A F, et al. Marine litter and microplastic pollution on mangrove soils of the Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombian Caribbean [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 145: 455-462.
- [48] ZAMPROGNO G C, CANICALI F B, COZER C D R, et al. Spatial distribution of microplastics in the superficial sediment of a mangrove in Southeast Brazil: A comparison between fringe and basin [J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 784: 146963.
- [49] ZUO L, SUN Y, LI H, et al. Microplastics in mangrove sediments of the Pearl River Estuary, South China: Correlation with halogenated flame retardants' levels [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 725: 138344.
- [50] LI R, YU L, CHAI M, et al. The distribution, characteristics and ecological risks of microplastics in the mangroves of Southern China [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 708: 135025.
- [51] 刘倡君, 罗专溪, 闫钰, 等人. 九龙江口红树林湿地表层沉积物中微塑料赋存特征与重金属的关系 [J]. *环境科学*, 2022, 43(1), 239-246.
- [52] LI R, ZHANG L, XUE B, et al. Abundance and characteristics of microplastics in the mangrove sediment of the semi-enclosed Maowei Sea of the south China sea: New implications for location, rhizosphere, and sediment compositions [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 244: 685-692.
- [53] DENG J, GUO P, ZHANG X, et al. Microplastics and accumulated heavy metals in restored mangrove wetland surface sediments at Jinjiang Estuary (Fujian, China) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 159: 111482.
- [54] LI Y, HUANG R, HU L, et al. Microplastics distribution in different habitats of Ximen Island and the trapping effect of blue carbon habitats on microplastics [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2022, 181: 113912.
- [55] RILLIG M C. Microplastic Disguising As Soil Carbon Storage [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(11): 6079-6080.
- [56] ZHOU Q, TU C, FU C, et al. Characteristics and distribution of microplastics in the coastal mangrove sediments of China [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 703: 134807.
- [57] LI J, ZHANG H, ZHANG K, et al. Characterization, source, and retention of microplastic in sandy beaches and mangrove wetlands of the Qinzhou Bay, China [J]. *Marine Pollution Bulletin*,

- 2018, 136: 401-406.
- [58] KIRSTEIN I V, WICHELS A, KROHNE G, et al. Mature biofilm communities on synthetic polymers in seawater - Specific or general? [J]. *Marine Environmental Research*, 2018, 142: 147-154.
- [59] RUMMEL C D, JAHNKE A, GOROKHOVA E, et al. Impacts of Biofilm Formation on the Fate and Potential Effects of Microplastic in the Aquatic Environment [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2017, 4(7): 258-267.
- [60] TU C, CHEN T, ZHOU Q, et al. Biofilm formation and its influences on the properties of microplastics as affected by exposure time and depth in the seawater [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 734: 139237.
- [61] ZETTLER E R, MINCER T J, AMARAL-ZETTLER L A. Life in the "plastisphere": microbial communities on plastic marine debris [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(13): 7137-7146.
- [62] DIAZ J M, HANSEL C M, VOELKER B M, et al. Widespread production of extracellular superoxide by heterotrophic bacteria [J]. *Science*, 2013, 340(6137): 1223-1226.
- [63] STEINMAN A D, SCOTT J, GREEN L, et al. Persistent organic pollutants, metals, and the bacterial community composition associated with microplastics in Muskegon Lake (MI) [J]. *Journal of Great Lakes Research*, 2020, 46(5): 1444-1458.
- [64] REISSER J, SHAW J, HALLEGRAEFF G, et al. Millimeter-sized marine plastics: a new pelagic habitat for microorganisms and invertebrates [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e100289.
- [65] CARPENTER E J, ANDERSON S J, HARVEY G R, et al. Polystyrene spherules in coastal waters [J]. *Science*, 1972, 178(4062): 749-750.
- [66] CARPENTER E J, SMITH JR K L. Plastics on the Sargasso sea surface [J]. *Science*, 1972, 175(4027): 1240-1241.
- [67] JIANG P, ZHAO S, ZHU L, et al. Microplastic-associated bacterial assemblages in the intertidal zone of the Yangtze Estuary [J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 624: 48-54.
- [68] 付茜茜, 李大圳, 章宇晴, 等. 城市红树林系统中微塑料表面细菌群落结构特征分析 [J]. *热带作物学报*, 2021, 42(12): 3692-3698.
- [69] MIAO L, YU Y, ADYEL T M, et al. Distinct microbial metabolic activities of biofilms colonizing microplastics in three freshwater ecosystems [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403: 123577.
- [70] DE TENDER C A, DEVRIESE L I, HAEGEMAN A, et al. Bacterial Community Profiling of Plastic Litter in the Belgian Part of the North Sea [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(16): 9629-9638.
- [71] THOMPSON J R, RANDA M A, MARCELINO L A, et al. Diversity and dynamics of a north atlantic coastal *Vibrio* community [J]. *Applied and environmental microbiology*, 2004, 70(7): 4103-4110.

- [72] ZHANG B, YANG X, LIU L, et al. Spatial and seasonal variations in biofilm formation on microplastics in coastal waters [J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 770: 145303.
- [73] JIN M, YU X, YAO Z, et al. How biofilms affect the uptake and fate of hydrophobic organic compounds (HOCs) in microplastic: Insights from an In situ study of Xiangshan Bay, China [J]. *Water Research*, 2020, 184: 116118.
- [74] OBERBECKMANN S, LOEDER M G, GERDTS G, et al. Spatial and seasonal variation in diversity and structure of microbial biofilms on marine plastics in Northern European waters [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 90(2): 478-492.
- [75] LI W J, ZHANG Y, WU N, et al. Colonization Characteristics of Bacterial Communities on Plastic Debris Influenced by Environmental Factors and Polymer Types in the Haihe Estuary of Bohai Bay, China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(18): 10763-10773.
- [76] WEN B, LIU J H, ZHANG Y, et al. Community structure and functional diversity of the plastisphere in aquaculture waters: Does plastic color matter? [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 740: 140082.
- [77] GUAN J, QI K, WANG J, et al. Microplastics as an emerging anthropogenic vector of trace metals in freshwater: Significance of biofilms and comparison with natural substrates [J]. *Water Research*, 2020, 184: 116205.
- [78] QI K, LU N, ZHANG S, et al. Uptake of Pb(II) onto microplastic-associated biofilms in freshwater: Adsorption and combined toxicity in comparison to natural solid substrates [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 411: 125115.
- [79] RICHARD H, CARPENTER E J, KOMADA T, et al. Biofilm facilitates metal accumulation onto microplastics in estuarine waters [J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 683: 600-608.
- [80] HUANG Y, XIAO X, EFFIONG K, et al. New Insights into the Microplastic Enrichment in the Blue Carbon Ecosystem: Evidence from Seagrass Meadows and Mangrove Forests in Coastal South China Sea [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(8): 4804-4812.
- [81] LIN L, ZUO L Z, PENG J P, et al. Occurrence and distribution of microplastics in an urban river: A case study in the Pearl River along Guangzhou City, China [J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 644: 375-381.
- [82] IBRAHIM Y S, HAMZAH S R, KHALIK W, et al. Spatiotemporal microplastic occurrence study of Setiu Wetland, South China Sea [J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 788: 147809.
- [83] WU X, LIU H, GUO X, et al. Microplastic distribution and migration in soil, water and sediments in Caohai Lake under the different hydrological periods, Southwest China [J]. *Science of The Total Environment*, 2023, 865: 161292.
- [84] LIU K, WANG X, FANG T, et al. Source and potential risk assessment of suspended atmospheric microplastics in Shanghai [J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 675: 462-471.
- [85] VAN CAUWENBERGHE L, DEVRIESE L, GALGANI F, et al. Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects [J]. *Marine Environmental Research*, 2015, 111: 5-

17.

[86] DING L, YU X, GUO X, et al. The photodegradation processes and mechanisms of polyvinyl chloride and polyethylene terephthalate microplastic in aquatic environments: Important role of clay minerals [J]. *Water Research*, 2022, 208: 117879.

[87] DING R, OUYANG F, PENG D, et al. A case study of distribution and characteristics of microplastics in surface water and sediments of the seas around Shenzhen, southern coastal area of China [J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 838(Pt 1): 156063.

[88] JONG M C, TONG X, LI J, et al. Microplastics in equatorial coasts: Pollution hotspots and spatiotemporal variations associated with tropical monsoons [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 424(Pt C): 127626.

[89] HUANG J S, KOONGOLLA J B, LI H X, et al. Microplastic accumulation in fish from Zhanjiang mangrove wetland, South China [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 708: 134839.

[90] MANBOHI A, MEHDINIA A, RAHNAMA R, et al. Microplastic pollution in inshore and offshore surface waters of the southern Caspian Sea [J]. *Chemosphere*, 2021, 281: 130896.

[91] OUYANG Y, NKEDI-KIZZA P, WU Q T, et al. Assessment of seasonal variations in surface water quality [J]. *Water Research*, 2006, 40(20): 3800-3810.

[92] HOU D, HONG M, WANG Y, et al. Assessing the Risks of Potential Bacterial Pathogens Attaching to Different Microplastics during the Summer-Autumn Period in a Mariculture Cage [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(9): 1909.

[93] KANHAI D K, OFFICER R, LYASHEVSKA O, et al. Microplastic abundance, distribution and composition along a latitudinal gradient in the Atlantic Ocean [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 115(1-2): 307-314.

[94] VIBHATABANDHU P, SRITHONGOUTHAI S. Influence of seasonal variations on the distribution characteristics of microplastics in the surface water of the Inner Gulf of Thailand [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2022, 180: 113747.

[95] LIANG T, LEI Z, FUAD M T I, et al. Distribution and potential sources of microplastics in sediments in remote lakes of Tibet, China [J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 806(Pt 2): 150526.

[96] 王志超, 窦雅娇, 周鑫, 等. 岱海冰封期微塑料与环境因子的关系及风险评价 [J]. *中国环境科学*, 2022, 42(2): 8.

[97] MAI Y, PENG S, LAI Z, et al. Measurement, quantification, and potential risk of microplastics in the mainstream of the Pearl River (Xijiang River) and its estuary, Southern China [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(38): 53127-53140.

[98] AL NAHIAN S, RAKIB M R J, HAIDER S M B, et al. Occurrence, spatial distribution, and risk assessment of microplastics in surface water and sediments of Saint Martin Island in the Bay of Bengal [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2022, 179: 113720.

- [99] RANJANI M, VEERASINGAM S, VENKATACHALAPATHY R, et al. Assessment of potential ecological risk of microplastics in the coastal sediments of India: A meta-analysis [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2021, 163: 111969.
- [100] KEERTHIKA K, PADMAVATHY P, RANI V, et al. Spatial, seasonal and ecological risk assessment of microplastics in sediment and surface water along the Thoothukudi, south Tamil Nadu, south east India [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2022, 194(11): 820.
- [101] TOMLINSON D, WILSON J, HARRIS C, et al. Problems in the assessment of heavy-metal levels in estuaries and the formation of a pollution index [J]. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 1980, 33(1): 566-575.
- [102] 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.
- [103] XU P, PENG G, SU L, et al. Microplastic risk assessment in surface waters: A case study in the Changjiang Estuary, China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 133: 647-654.
- [104] VAN A, ROCHMAN C M, FLORES E M, et al. Persistent organic pollutants in plastic marine debris found on beaches in San Diego, California [J]. *Chemosphere*, 2012, 86(3): 258-263.
- [105] XIONG X, ZHANG K, CHEN X, et al. Sources and distribution of microplastics in China's largest inland lake - Qinghai Lake [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 235: 899-906.
- [106] 李大圳, 章宇晴, 付茜茜, 等. 海洋环境暴露下生物膜对微塑料的理化性质和环境行为影响研究进展 [J]. *生态毒理学报*, 2022, 17(3): 339-353.
- [107] MAO R, LANG M, YU X, et al. Aging mechanism of microplastics with UV irradiation and its effects on the adsorption of heavy metals [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 393: 122515.
- [108] LAPOINTE M, FARNER J M, HERNANDEZ L M, et al. Understanding and Improving Microplastic Removal during Water Treatment: Impact of Coagulation and Flocculation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(14): 8719-8727.
- [109] KESY K, OBERBECKMANN S, KREIKEMEYER B, et al. Spatial Environmental Heterogeneity Determines Young Biofilm Assemblages on Microplastics in Baltic Sea Mesocosms [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1665.
- [110] ZHANG X, CHEN Z, YU Y, et al. Response of bacterial diversity and community structure to metals in mangrove sediments from South China [J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 850: 157969.
- [111] KUTRALAM-MUNIASAMY G, PEREZ-GUEVARA F, MARTINEZ I E, et al. Overview of microplastics pollution with heavy metals: Analytical methods, occurrence, transfer risks and call for standardization [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 415: 125755.
- [112] ZHANG L, SHI Z, ZHANG J, et al. Spatial and seasonal characteristics of dissolved heavy metals in the east and west Guangdong coastal waters, South China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 95(1): 419-426.

- [113] HOLMES L A, TURNER A, THOMPSON R C. Adsorption of trace metals to plastic resin pellets in the marine environment [J]. *Environmental Pollution*, 2012, 160(1): 42-48.
- [114] ROCHMAN C M, HENTSCHEL B T, TEH S J. Long-term sorption of metals is similar among plastic types: implications for plastic debris in aquatic environments [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e85433.
- [115] MAI L, BAO L J, SHI L, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons affiliated with microplastics in surface waters of Bohai and Huanghai Seas, China [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 241: 834-840.
- [116] SHI J, SANGANYADO E, WANG L, et al. Organic pollutants in sedimentary microplastics from eastern Guangdong: Spatial distribution and source identification [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 193: 110356.
- [117] ROCHMAN C M, HOH E, HENTSCHEL B T, et al. Long-term field measurement of sorption of organic contaminants to five types of plastic pellets: implications for plastic marine debris [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(3): 1646-1654.
- [118] BAKIR A, ROWLAND S J, THOMPSON R C. Competitive sorption of persistent organic pollutants onto microplastics in the marine environment [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2012, 64(12): 2782-2789.
- [119] YUAN J, MA J, SUN Y, et al. Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 715: 136968.
- [120] ARIAS-ANDRES M, KETTNER M T, MIKI T, et al. Microplastics: New substrates for heterotrophic activity contribute to altering organic matter cycles in aquatic ecosystems [J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 635: 1152-1159.
- [121] 张秀娟, 李翠梅, 彭立新, 等. 单粒子拉曼光谱分析聚苯乙烯微球的老化机理[J]. *中国激光*, 2022, 49(4): 190-200.
- [122] DUSSUD C, MEISTERTZHEIM A L, CONAN P, et al. Evidence of niche partitioning among bacteria living on plastics, organic particles and surrounding seawaters [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 236: 807-816.
- [123] HARRISON J P, SCHRATZBERGER M, SAPP M, et al. Rapid bacterial colonization of low-density polyethylene microplastics in coastal sediment microcosms [J]. *BMC Microbiol*, 2014, 14: 232.
- [124] DEBROAS D, MONE A, TER HALLE A. Plastics in the North Atlantic garbage patch: A boat-microbe for hitchhikers and plastic degraders [J]. *Science of The Total Environment*, 2017, 599-600: 1222-1232.
- [125] ZHANG Y, LU J, WU J, et al. Potential risks of microplastics combined with superbugs: Enrichment of antibiotic resistant bacteria on the surface of microplastics in mariculture system [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 187: 109852.
- [126] GUTIERREZ T. Occurrence and roles of the obligate hydrocarbonoclastic bacteria in the

ocean when there is no obvious hydrocarbon contamination [J]. *Taxonomy, Genomics and Ecophysiology of Hydrocarbon-Degrading Microbes*, 2019: 337-352.

[127] SONG Y, WANG Y, LI R, et al. Effects of common microplastics on aerobic composting of cow manure: Physiochemical characteristics, humification and microbial community [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2022, 10(6): 108681.

[128] HUANG X, ZEMLYANOV D Y, DIAZ-AMAYA S, et al. Competitive heavy metal adsorption onto new and aged polyethylene under various drinking water conditions [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 385: 121585.

致谢

花开花落万物道，聚散离别终有时。三年的研究生学业生涯转眼就到尾声了。回首三年时光，忙碌且快乐，从刚入学的迷茫忐忑到现在成为一位稳重男孩，令人感慨万分，并且在学习上、工作上、科研上和生活上，均得到了很大的提升，使我受益匪浅，在此，感谢三年来老师的教导和同学们的帮助，感谢三年的淬炼和三年美好的经历，一切都是最好的安排。

首先，我要深深地感谢我的导师徐功娣教授和曾映旭研究员三年来在学习和生活上对我的悉心指导和亲切关怀。在整个研究生科研工作期间，徐老师和曾老师不仅为我提供了良好的实验环境以及充足的项目资金支持，从论文最初的选题、实验方案的设计再到课题的最终完成，都离不开两位老师对我的悉心指导。两位老师认真严谨、精益求精、一丝不苟的工作态度时刻感染并激励着我，平日里，两位老师不仅给我提供了出海调查和参加学术会议的机会，还培养了我们认真钻研、脚踏实地、臻于至善的科研态度，使我的科研能力达到了一个新的高度。生活上，两位老师对我无微不至的关怀让我终身难忘。桃李不言，下自成蹊。能遇到两位老师，无疑是我人生中最大的幸事。

感谢刘瑞娜、齐丹、黄朝晖、屈原皋等老师在科研和生活上对我提供的指导和帮助，同时感谢校外导师车志伟老师在专业实践上

对我提供的帮助。

感谢冯军宝师姐和凌胜昔同学在我入学以来科研和生活上给予的帮助，感谢赵茜、康子歆和林健晖研究生科研和生活期间的深情陪伴、鼓励、关怀和帮助，定期的学术交流也使我的专业水平更上一层楼，一块度过的快乐时光也都历历在目。感谢徐若扬、邓希、李萍萍、田毅桓、徐庆林、高小龙、刘晴晴、卫大蔚等学弟学妹在科研方面对我的帮助，感谢 2020 级资源与环境班每一位同学日常生活中的帮助。一块度过的美好时光总是很短很短，祝愿我们在以后的日子里闪闪发光，每一个都成为更棒的自己。

最后，感谢一直在我背后默默支持我的家人们，谢谢你们三年来对我的无私付出。

最后的最后，祝祖国山河无恙，愿我所爱的、读到这里的所有人们和自己，星河徜徉，一路有光！

个人简历、在学期间发表的学术论文与研究成果

个人简历

1996 年 12 月 5 日出生于山西省原平市。2014 年 9 月考入太原科技大学环境与安全学院，就读于环境工程专业，2018 年 7 月毕业并获得本科学历及工学学士学位。2020 年 9 月考入海南热带海洋学院生态环境学院，就读于资源与环境专业，攻读硕士研究生至今。

在学期间发表的学术论文与科研成果

- [1] **Tao Yang**, Yingxu Zeng *, Zixin Kang, Minggang Cai, Kai Chen, Qian Zhao, Jianhui Lin, Ruina Liu, Gongdi Xu *. Enrichment and ecological risks of microplastics in mangroves of southern Hainan Island, China. *Science of the Total Environment*, 2023, 889: 164160.
- [2] **杨涛**, 曾映旭*, 康子歆, 赵茜, 林健晖, 刘瑞娜, 徐功娣*. 海岸带蓝碳生态系统中微塑料污染特征及生态风险研究进展. *海洋湖沼通报*.
- [3] Yingxu Zeng *, Baichuan Deng, Zixin Kang, Pedro Araujo, Svein Are Mjøs, Ruina Liu, Jianhui Lin, **Tao Yang**, Yuangao Qu. Tissue accumulation of polystyrene microplastics causes oxidative stress, hepatopancreatic injury and metabolome alterations in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 256: 114871.
- [4] 康子歆, 林健晖, **杨涛**, 翬广能, 廖武森, 曾映旭 *. 不同官能团纳米塑料在波纹巴非蛤体内的蓄积特征及毒性效应[J]. *海洋环境科学*, 2023, 42(03): 362-368.
- [5] **杨涛**, 徐功娣, 刘瑞娜. 一种海水微塑料自动采样装置[P]. 海南省: CN214844176U, 2021-11-23.

[6] 徐功娣, **杨涛**, 刘瑞娜. 一种海水微塑料快速检测装置[P]. 海南省: CN214844801U, 2021-11-23.

[7] 曾映旭, 林健晖, 康子歆, 刘瑞娜, 齐丹, **杨涛**. 一种高效提取海水微塑料的装置[P]. 海南省: CN218035981U, 2022-12-13.

[8] 曾映旭, 康子歆, 林健晖, 那广水, 刘敏, **杨涛**. 一种检测海洋生物体内微塑料含量的高通量方法[P]. 海南省: CN115290615A, 2022-11-04.

在学期间参与的科研项目

1. 海南省研究生创新科研课题, 海南红树林分布区微塑料表面生物膜特征及相关性分析 (Qhys2021-397), 主持。
2. 海南热带海洋学院硕士研究生创新项目课题, 海南红树林分布区沉积物微塑料赋存特征及生态风险评价 (RHDYC-202119), 主持。
3. 国家自然科学基金项目课题, 基于化学计量/代谢组学探讨生物膜对微塑料生物毒性的影响机制 (4216070258), 参与。
4. 国家人社部高层次留学人才回国资助项目, 参与。
5. 海南省科技计划项目课题, 优质菜用藜麦新品系选育及高效栽培技术与示范 (ZDYE2021XDNY294), 参与。
6. 海南热带海洋学院硕士研究生创新项目课题, 微塑料与重金属单独及联合暴露对凡纳滨对虾的交互毒理效应及机制研究 (RHDYC-202217), 参与。
7. 海南热带海洋学院硕士研究生创新项目课题, 附着生物膜微塑料在波纹巴非蛤体内的富集和毒性效应研究 (RHDYC-202220), 参与。
8. 海南热带海洋学院硕士研究生创新项目课题, 三亚湾近岸海域浮游植物结构

群落初步研究（RHDYC-202123），参与。

9. 海南热带海洋学院硕士研究生创新项目课题，降解近海养殖废水残留抗生素的微生物多样性分析（RHDYC-202112），参与。

10. 海南热带海洋学院引进人才科研启动项目课题，微塑料对南美对虾脂质代谢影响及机制研究（RHDRC201906），参与。