DOI: 10.22059/ijswr.2021.320002.668910 تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۲، شماره ۵، مرداد ۱۴۰۰ (ص ۱۲۹۷-۱۲۸۷)
(علمی – پژوهشی)

Effect of Low-Density Polyethylene Microplastic Particles on Some Biological Properties and Enzymatic Activity in a Calcareous Soil

MEHDI TAFVIZI[*1], MOHAMMAD BABAAKBARI SARI[1], MOHAMMAD AMIR DELAVAR[1]
1. Department of soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
(Received: March. 2, 2021- Revised: Apr. 19, 2021- Accepted: May. 1, 2021)

Abstract

Microplastics are plastic particles smaller than 5 mm that are known as emerging contaminants. Most research about microplastics has been performed in aquatic ecosystems and there is limited information about the effects of these particles on soil biological and enzymatic properties. Therefore, the aim of this research was to evaluate the effect of Microplastic particles on some soil properties included basal and cumulative respiration, microbial biomass carbon as well as soil acid and alkaline phosphatase activity. For this purpose, Low-density polyethylene (LDPE) microplastic particles (diameter 0.5 - 1 mm) added to the soil (1, 2 and 4 % w/w). Incubation times for investigation of soil properties and enzymes activity were 87 and 45 days, respectively. The results showed that the microplastic particles increased the soil basal and cumulative respiration rate. Soil microbial biomass carbon increased during the 3th to 17th days of incubation, but decreased after that when compared to control treatment. LDPE Microplastic particles had a negative effect on the activity of acid and alkaline phosphatase and decreased them. The highest decline was related to the microplastic level of 4%. The rate of decrease in acid phosphatase activity was more than alkaline phosphatase activity. Briefly, the results of the present study showed that the microplastic particles can increase soil respiration, but it has a negative effect on phosphatase activity.

Keywords: Emerging Contaminant, Plastic, Pollution, Soil Enzyme.

* Corresponding Author’s Email: Tafvizi.m.s@gmail.com

تأثیر ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌اتیلن سبک بر برخی ویژگی‌های بیولوژیکی و فعالیت آنزیمی در یک خاک آهکی

مهدی تفویضی*[۱]، محمد باباکبری ساری[۱]، محمد امیر دلاور[۱]

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۲- تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱/۳۰- تاریخ تصویب: ۱۴۰۰/۲/۱۱)

چکیده

میکروپلاستیک‌ها ذرات پلاستیک کوچکتر از ۵ میلی‌متر هستند که به‌عنوان آلاینده‌های نوظهور شناخته می‌شوند. تاکنون بیشتر تحقیقات درباره میکروپلاستیک‌ها در اکوسیستم‌های آبی انجام شده و درباره اثرات این ذرات بر ویژگی‌های بیولوژیکی و آنزیمی خاک اطلاعات محدودی وجود دارد. بنابراین، هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر ذرات میکروپلاستیک پلی‌اتیلنی بر برخی ویژگی‌های خاک شامل معدنی شدن کربن آلی و تنفس تجمعی خاک، کربن توده زنده میکروبی و فعالیت آنزیم‌های فسفاتازهای اسیدی و قلیایی خاک بود. برای این منظور، ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌اتیلن سبک با ابعاد ۱ تا ۰/۵ میلی‌متر در سطح یک، دو و چهار درصد وزنی-وزنی به خاک اضافه شد. دوره خوابانیدن برای بررسی ویژگی‌های بیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌ها به ترتیب ۸۷ و ۴۵ روز بود. نتایج نشان داد که ذرات میکروپلاستیک میزان معدنی شدن کربن آلی و تنفس تجمعی خاک را افزایش داد. کربن توده زنده میکروبی خاک در اوایل دوره خوابانیدن (روزهای ۳ و ۱۷) افزایش پیدا کرد و در ادامه مقدار آن در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت. ذرات میکروپلاستیک اثر منفی بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی داشت و میزان فعالیت هر دو کاهش یافت. بیشترین مقدار کاهش مربوط به سطح ۴٪ میکروپلاستیک بود. میزان کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی تحت تأثیر ذرات میکروپلاستیک، بیشتر از آنزیم فسفاتاز قلیایی بود. به‌طورخلاصه، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ذرات میکروپلاستیک می‌تواند میزان تنفس خاک را افزایش دهد، اما بر میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اثر بازدارنده دارد.

واژه‌های کلیدی: آلاینده‌های نوظهور، پلاستیک، آلودگی، آنزیم خاک.

مقدمه

طی سال‌های اخیر، اصطلاح جدیدی با عنوان "نگرانی آلاینده‌های نوظهور[۱]" در مجامع علمی و بین‌المللی مطرح شده است. این گروه از آلاینده‌ها، شامل آلاینده‌های طبیعی و یا مصنوعی هستند که به‌طور معمول در محیط زیست ردیابی نشده‌اند و اثرات نامطلوب آن‌ها بر سلامتی انسان و اکوسیستم کمتر شناخته شده است (Rodriguez *et al*., 2017). اطلاق واژه نوظهور به این مفهوم نیست که این مواد در محیط زیست وجود نداشته‌اند، بلکه این آلاینده‌ها موادی را شامل می‌شوند که به مدت طولانی در محیط زیست به‌ویژه اکوسیستم‌های آب و خاک وجود داشته، اما اهمیت و حضور آن‌ها به تازگی شناخته شده است (Boxall, 2012; Rodriguez *et al*., 2017). میکروپلاستیک‌ها (ذرات پلاستیک کوچکتر از ۵ میلی‌متر) آلاینده‌های نوظهوری هستند که به‌طور گسترده در اکوسیستم‌های آبی به‌ویژه اقیانوس‌ها و دریاها شناسایی شده‌اند (Lambert and Wagner, 2018; Ruimin *et al*., 2019).

Thompson *et al*., (2009) در مقاله‌ای با عنوان "عصر پلاستیکی ما[۲]" بیان کردند که طی چند دهه گذشته، پلاستیک‌ها زندگی روزمره انسان‌ها را تغییر داده است. به‌طوری‌که سالانه در حدود ۲۶۰ میلیون تن پلاستیک در جهان استفاده می‌شود که این مقدار تقریبا معادل هشت درصد تولید جهانی نفت است (Thompson *et al*., 2009). بر اساس آمار انتشار یافته از سوی اتحادیه اروپا، میزان پلاستیک تولید شده در جهان در سال ۲۰۱۵ به بیش از ۳۲۲ میلیون تن در سال رسیده است (Europe, 2016). Geyer *et al*., (2017) برآورد نمودند که از سال ۱۹۵۰ تا ۲۰۱۵، در حدود ۸۳۰۰ میلیون تن پلاستیک استفاده نشده به صورت تجمعی تولید شده و اگر مقدار تولید پلاستیک با همین روند افزایشی (بین سال‌های ۱۹۵۰ تا ۲۰۱۵) ادامه پیدا نماید، تخمین

* نویسنده مسئول: Tafvizi.m.s@gmail.com

1 Contaminants of emerging concern
2 Our plastic age

زده می‌شود که تا پایان سال ۲۰۵۰ میلادی، مقدار تجمعی تولید و دفع ضایعات پلاستیکی به بیش از ۲۶۰۰۰ میلیون تن خواهد رسید. بنابراین، میزان مصرف مواد پلاستیکی و تجمع ضایعات حاصل از کاربرد آن‌ها در محیط زیست به شدت رو به افزایش است. از این‌رو، آلودگی محیط‌های طبیعی با بقایای پلاستیک به یک نگرانی بسیار بزرگ در سطح جهانی تبدیل شده است (Rochman *et al*., 2013). بر همین اساس، برنامه محیط زیست سازمان ملل متحد (UNEP[1]) آلودگی میکروپلاستیک را در لیست ۱۰ آلاینده مشکل‌ساز برای محیط زیست در نظر گرفته است (Book, 2014).

پلاستیک‌ها پس از ورود به محیط زیست، علاوه بر تاثیرهای بسیار منفی بر فرآیندهای اکوسیستمی از طریق بلع به‌وسیله حیوانات و موجودات زنده موجود در اکوسیستم های آب و خاک وارد زنجیره غذایی موجودات زنده و در نهایت انسان‌ها می‌شوند (Vegter *et al*., 2014). آلودگی به مواد پلاستیک اولین بار در محیط‌های دریایی شناسایی و گزارش شده است (Bläsing & Amelung, 2018). از سوی دیگر، امروزه شواهدی که نشان دهنده حضور پلاستیک‌ها در خاک باشد، افزایش یافته است. به‌عنوان مثال، اخیرا محققانی مقدار ۰/۰۳ تا ۶/۷ درصد پلاستیک را در خاک‌های واقع در یک منطقه صنعتی گزارش کردند (Fuller & Gautam, 2016).

میکروپلاستیک‌ها از طریق منابع مختلفی وارد خاک می‌شوند که از آن جمله می‌توان به دفن زباله، اصلاح‌کننده‌های خاک، استفاده از لجن فاضلاب در اراضی، آبیاری با استفاده از فاضلاب، کاربرد کودهای آلی و کمپوست، بقایای فیلم (مالچ‌های پلاستیکی) کشاورزی با هدف استفاده از آن به‌عنوان مالچ، ساییدگی لاستیک اتومبیل‌ها و همچنین از طریق ته‌نشست‌های اتمسفری اشاره نمود (Guo *et al*., 2020). در سطح جهانی، اغلب پلاستیک‌هایی که در خاک‌های کشاورزی یافت می‌شوند از جنس پلی‌اتیلن و پلی‌پروپیلن بوده و مقادیر کمتری نیز از جنس پلی‌وینیل‌کلراید و پلی‌اتیلن ترفتالات است (Qi *et al*., 2020). میکروپلاستیک‌ها پس از ورود به خاک، می‌توانند ماهیت خاک را تحت تأثیر قرار دهند و خصوصیات خاک از قبیل ساختمان خاک و نیز تنوع زیستی آن را تغییر دهند (Rillig, 2012). میکروارگانیسم‌های خاک از قبیل باکتری‌ها و قارچ‌ها، به‌دلیل قرار گرفتن در معرض مقادیر زیاد میکروپلاستیک‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Bradney *et al*., 2019; Wijesekara *et al*., 2018). در رابطه با اثر ذرات میکروپلاستیک بر فعالیت میکروبی خاک نتایج مختلفی ارائه شده است. به عنوان مثال، Liu *et al*., (2018) گزارش دادند که ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌پروپیلن با غلظت ۷ تا ۲۸ درصد وزنی، اثرات مثبتی بر فعالیت میکروبی خاک داشت، و بیان کردند که غلظت بالای میکروپلاستیک (۲۸ درصد وزنی-وزنی) به‌طور معنی‌دار مقدار مواد آلی محلول را در خاک افزایش داد که افزایش مواد آلی محلول می‌تواند اثر مثبتی بر میزان فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک داشته باشد. از سوی دیگر، میکروپلاستیک‌ها می‌توانند برخی از خصوصیات فیزیکی خاک از قبیل تخلخل خاک را افزایش داده و همچنین موجب تغییر در ساختمان خاکدانه‌ها گردند. بنابراین، در نتیجه افزایش تخلخل، مقدار جریان هوا در خاک افزایش پیدا نموده و منجر به غنی شدن خاک از میکروارگانیسم‌های هوازی شود و از این طریق نیز تأثیر مثبتی بر فعالیت میکروبی خاک داشته باشند. در مقابل Awet *et al*. (2018) نشان دادند که ذرات نانوپلاستیک از جنس پلی‌استایرن اثر منفی و بازارنده بر فعالیت میکروبی خاک دارند. نتایج این پژوهش‌ها نشان می‌دهد که حضور میکروپلاستیک‌ها بر اساس نوع پلیمر، اندازه، شکل و غلظت به‌کار رفته می‌تواند نتایج متفاوتی را در خاک ایجاد نماید. بسیاری از مطالعات انجام شده در رابطه با شناسایی، منشاء و سرنوشت پلاستیک در محیط‌های دریایی از قبیل اقیانوس‌ها، رسوبات دریایی و سواحل بوده است (Lusher, 2015). با این وجود، دانش بسیار کمی در رابطه با آلودگی میکروپلاستیک در خاک‌های کشاورزی و نیز اکوسیتم‌های خاکی وجود دارد (Rillig, 2012; Steinmetz *et al*., 2016).

بنابراین مطالعه و بررسی اثرات حضور این قبیل ذرات بر خصوصیات خاک از اهمیت بالایی برخوردار خواهد بود. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر ذرات میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سبک بر ۱) معدنی شدن کربن آلی و تنفس تجمعی خاک، ۲) کربن توده زنده میکروبی و ۳) فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی، در شرایط آزمایشگاهی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه خاک و اندازه‌گیری برخی ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی

نمونه خاک برای انجام آزمایش از یک خاک بکر (عمق صفر تا ۲۵ سانتی‌متر) واقع در دانشگاه زنجان در محدوده جغرافیایی 36°41'10.6"N - 48°23'12.8"E جمع‌آوری شد. نمونه خاک، پس از هوا خشک شدن، از الک ۲ میلی‌متر عبور داده شد. به‌طور خلاصه، بافت خاک به روش هیدرومتر (Bouyoucos, 1962)، pH

1 United Nations Environment Programmer

در عصاره ۱ به ۲/۵ خاک به آب (Thomas, 1996)، درصد کربنات کلسیم معادل (Loeppert & Suarez, 1996)، مقدار کربن آلی به روش والکی و بلک (Walkley & Black, 1934) و فسفر قابل دسترس با روش اولسن استخراج (Olsen, 1954) و غلظت آن با روش مولیبدات آمونیوم-آسکوربیک اسید اندازه‌گیری شد (Murphy & Riley, 1962).

تهیه و آلوده سازی خاک با میکروپلاستیک

گرانول‌های پلاستیک از جنس پلی‌اتیلن سبک (LDPE[1]) با میانگین ابعاد به قطر ۵ میلی‌متر از بازار پلاستیک تهران تهیه شد. گرانول‌ها در دمای اتاق حالت نرم و انعطاف پذیر داشته و امکان پودر کردن آنها با استفاده از آسیاب‌های معمولی مقدور نمی‌باشد، بدین منظور، برای تهیه ذرات ریزتر نیاز به استفاده از ازت مایع می‌باشد. پس از انتقال گرانول‌ها به داخل هاون، همزمان با کوبیدن گرانول‌ها، ازت مایع اضافه گردید (ازت مایع باعث کاهش دما و تغییر حالت گرانول‌ها از حالت نرم و انعطاف‌پذیر به حالت ترد و شکننده می‌شود و پودر کردن گرانول‌ها را تسهیل می‌نماید). در ادامه با استفاده از الک فلزی ذرات بین ۰/۵ تا ۱ میلی‌متر جداسازی شد. گروه‌های عاملی در ترکیب پلاستیک با استفاده از دستگاه طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR) (مدل Thermo Scientific Nicolet iS 10 ساخت کشور امریکا)، در سه تکرار تعیین گردید (شکل ۱). ذرات پودر شده میکروپلاستیک با غلظت‌های یک، دو و چهار درصد (وزنی-وزنی) به ۵۰ گرم خاک اضافه گردید.

اندازه‌گیری معدنی شدن کربن (تنفس خاک)

اندازه‌گیری تنفس خاک به روش (Anderson, 1983) در طی دوره انکوباسیون ۸۷ روز انجام شد. برای هر یک از تیمارهای آزمایشی ۵۰ گرم خاک خشک عبور داده شده از الک ۲ میلی‌متر توزین و مقادیر مختلف میکروپلاستیک شامل ۰، ۱، ۲ و ۴ درصد وزنی-وزنی به خاک اضافه گردید. قبل از قرار دادن نمونه‌های خاک درون ظروف در بسته (جار)، رطوبت خاک به ۶۰٪ ظرفیت مزرعه رسانده شد. به‌منظور حفظ رطوبت در نمونه‌ها طی دوره خوابانیدن، مقداری آب مقطر به ارتفاع یک سانتی‌متر کف ظروف جار اضافه گردید. در کنار هر یک از نمونه‌های خاک، ظرف حاوی ۱۰ سی‌سی سود ۱ نرمال قرار داده شد. ظرف‌های حاوی نمونه‌ها در دمای ۲±۲۳ درجه سلسیوس خوابانیده شد. در هر مرحله زمانی، مقدار سود باقیمانده در نمونه‌ها پس از اضافه نمودن کلرید باریم ۰/۵مولار و ۳ الی ۴ قطره معرف فنل فتالئین، با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیتر و اندازه‌گیری شد. با استفاده از رابطه (۱) مقدار معدنی شدن کربن آلی بر حسب (میکروگرم CO_2-C بر گرم خاک خشک در روز) محاسبه گردید. ظروف حاوی NaOH بدون حضور خاک به‌عنوان شاهد لحاظ گردید. تنفس تجمعی خاک، از حاصل جمع مقادیر تنفس خاک از ابتدای دوره خوابانیدن تا زمان مورد نظر محاسبه گردید.

$$C_{min} = ((B-S)\times N\times E/dw)/days \quad \text{(رابطه ۱)}$$

C_{min}: مقدار معدنی شدن کربن بر حسب میکروگرم-CO_2C بر گرم خاک خشک در روز B: میلی‌لیتر اسید مصرفی برای نمونه‌های شاهد، S: میلی‌لیتر اسید مصرفی نمونه خاک، N: نرمالیته اسید، E: اکی والان گرم کربن (برابر با ۶)، dw: وزن خاک خشک days: تعداد روز

کربن توده زنده میکروبی (MBC)

اندازه‌گیری کربن توده زنده میکروبی با استفاده از روش تدخین (گازدهی) با کلروفرم-خوابانیدن انجام شد (Jenkinson & Ladd, 1981). نمونه‌های خاک با هدف تدخین، داخل دسیکاتور در حضور کلروفرم به مدت ۲۴ ساعت خوابانیده شد. میکروپلاستیک با غلظت‌های صفر(بدون حضور میکروپلاستیک به‌عنوان شاهد)، ۱، ۲ و ۴ درصد وزنی-وزنی به خاک تدخین شده اضافه و درون جارهای پلاستیکی قرار داده شدند. مقدار کربن توده زنده میکروبی با استفاده از رابطه (۲) محاسبه گردید.

$$MBC = \frac{Ffu - Funfu}{kc} \quad \text{(رابطه ۲)}$$

MBC: کربن توده زنده میکروبی (بر حسب میکروگرم MBC-C بر گرم خاک)، F_{fu} : تنفس میکروبی در نمونه تدخین شده، F_{unfu}: تنفس میکروبی در نمونه تدخین نشده، Kc: فاکتور اصلاح که ۰/۴۵ در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری فسفاتازهای اسیدی و قلیایی

میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی با روش (Tabatabai & Bremner, 1969) و (Eivazi & Tabatabai, 1977) اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، برای اندازه‌گیری فسفاتاز اسیدی و قلیایی، ۱ گرم از خاک تیمارهای آزمایشی داخل فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتر توزین شد. در ادامه ۴ میلی‌لیتر بافر MUB با pH=۶/۵ برای اندازه‌گیری فسفاتاز اسیدی و pH=۱۰/۵ جهت اندازه‌گیری فسفاتاز قلیایی به نمونه‌ها اضافه شد. پس از اضافه نمودن ۱ میلی‌لیتر از محلول پارانیتروفنیل فسفات ساخته شده در بافرهای مشابه، درب فالکون‌ها بسته شد. فالکون‌ها در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه به مدت ۱ ساعت قرار داده شد. سپس به نمونه‌ها ۱ میلی‌لیتر کلرید کلسیم نیم مولار و

1-Low-Density Polyethylene

۴ میلی‌لیتر سود نیم مولار اضافه شد. پس از تکان دادن محتویات فالکون به مدت چند ثانیه، سوسپانسیون خاک از کاغذ صافی عبور داده شد. شدت نور زرد ایجاد شده در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری مدل (SP-UV300SRB) در طول موج ۴۱۰ نانومتر قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی با استفاده از منحنی استاندارد پارانیتروفنل محاسبه و بر اساس میکروگرم پارانیتروفنل آزاد شده در گرم خاک در مدت زمان یک ساعت گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در شرایط آزمایشگاهی اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل مقدار میکروپلاستیک و زمان انکوباسیون بود. فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در چهار مرحله (۳، ۱۷، ۳۱ و ۴۵ روز)، معدنی شدن کربن آلی و کربن توده زنده میکروبی در هفت مرحله (۳، ۱۷، ۳۱، ۴۵، ۵۹، ۷۳، و ۸۷ روز) پس از دوره خوابانیدن اندازه‌گیری شد. به‌منظور مطالعه بیشتر در رابطه با روند تغییرات معدنی شدن کربن آلی و نیز کربن توده زنده میکروبی تحت تأثیر ذرات میکروپلاستیک، مدت زمان بیشتری برای اندازه‌گیری این ویژگی‌ها در نظر گرفته شد. از نرم افزار SAS 9.4 برای آنالیز داده‌ها و از نرم افزار Excel برای ترسیم نمودارها استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

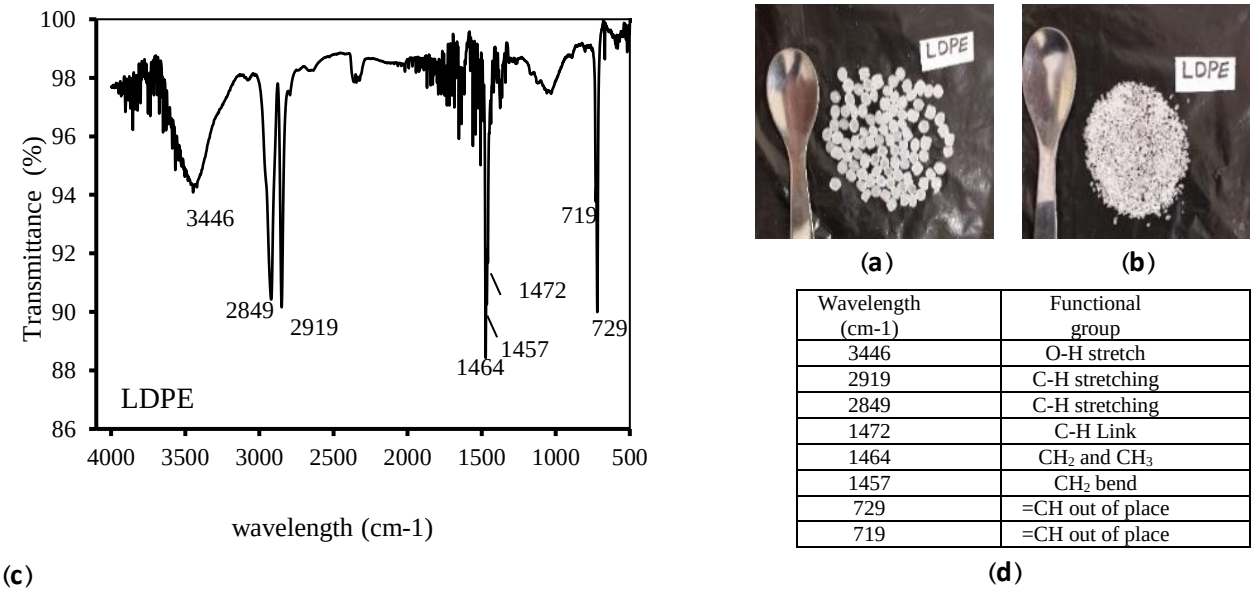
در جدول (۱) نتایج برخی ویژگی‌های خاک مورد استفاده در آزمایش ارائه شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های خاک مورد استفاده در این آزمایش

فسفر اولسن	پ هاش (نسبت ۱ به ۲/۵)	کربن آلی	کربنات کلسیم معادل	بافت خاک	ویژگی
میلی‌گرم بر کیلوگرم	-	درصد	درصد	-	واحد
۱۳/۲۲	۷/۸۷	۰/۸۵	۲۰/۱۵	لوم شنی	مقدار

ویژگی‌های میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سبک

پلی‌اتیلن سبک نوعی پلی‌مر ترموپلاستیکی است که به‌صورت گرانول (به ابعاد حدود ۵ میلی‌متر) تولید و عرضه می‌شود (شکل a-۱). گرانول‌های پودر شده با ابعاد ۱-۰/۵ میلی‌متر در شکل (b-۱) نشان داده شده است. بر اساس نتایج طیف سنجی مادون قرمز (شکل c-۱)، ساختار این پلیمر بیشتر متشکل از اتم‌های کربن و هیدروژن (شکل d-۱) است. به‌طوری که، ساختار این پلیمر در برگیرنده زنجیره‌ای از اتم‌های کربن-هیدروژن است که به‌صورت زنجیر وار به یکدیگر متصل شده است.



Wavelength (cm-1)	Functional group
3446	O-H stretch
2919	C-H stretching
2849	C-H stretching
1472	C-H Link
1464	CH_2 and CH_3
1457	CH_2 bend
729	=CH out of place
719	=CH out of place

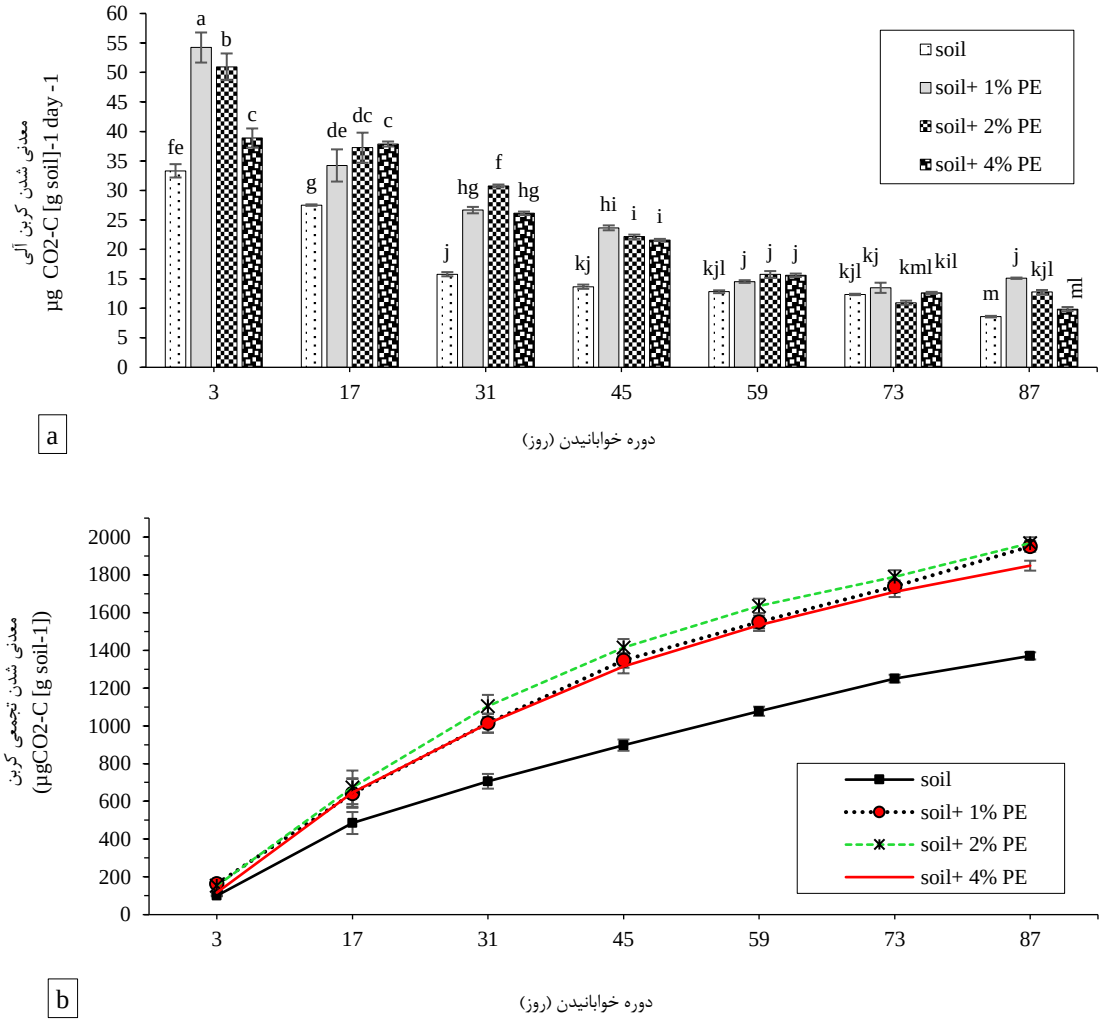
(d)

شکل ۱- گرانول‌های اولیه (a)، پودر شده (b) و طیف سنجی مادون قرمز پلی‌اتیلن سبک (c) همراه با گروههای عاملی (d)

معدنی شدن کربن آلی و تنفس تجمعی خاک

شکل (۲) تغییرات مربوط به معدنی شدن کربن آلی (شکل a-۲) و تنفس تجمعی (شکل b-۲) خاک تحت تأثیر ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌اتیلن سبک نشان داده شده است. نتایج نشان داد که سرعت آزادسازی کربن دی اکسید در تیمارهای حاوی میکروپلاستیک در مقایسه با تیمار شاهد (بدون میکروپلاستیک) بیشتر بود. بیشترین مقدار معدنی شدن کربن آلی در روز سوم و در تیمار ۱درصد میکروپلاستیک اندازه‌گیری

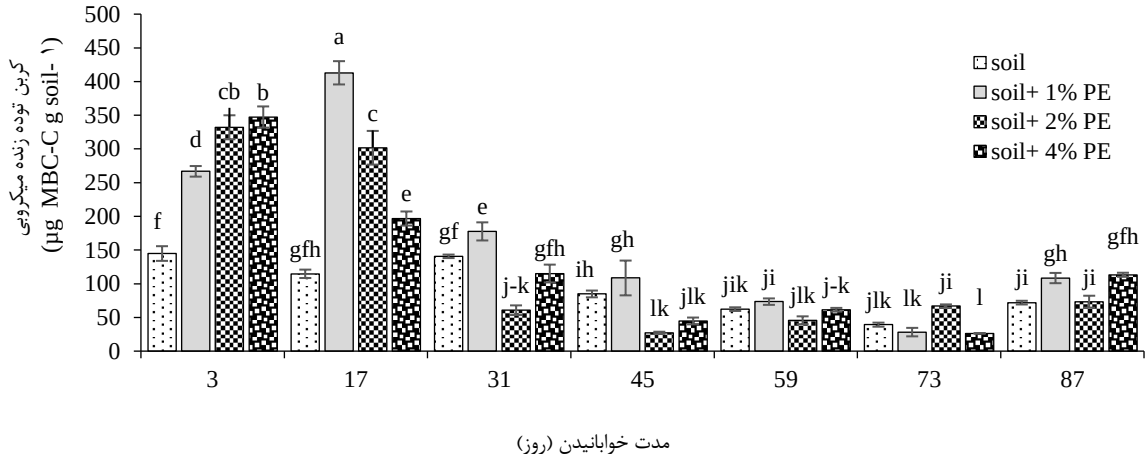
شد (شکل a-۲). با گذشت زمان، مقدار آزادسازی CO_2 کاهش پیدا نمود. در روزهای ۳، ۱۷، ۳۱ و ۴۵، تغییرات مربوط به تنفس تیمارهای میکروپلاستیک در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معناداری را نشان داد. اما، در روزهای ۵۹، ۷۳ و ۸۷، تفاوت معناداری بین تیمارهای میکروپلاستیک و تیمار شاهد مشاهده نگردید. بررسی میزان تنفس تجمعی نشان داد که مقدار تنفس تجمعی کربن تیمارهای حاوی ذرات میکروپلاستیک در مقایسه با تیمار شاهد (بدون حضور میکروپلاستیک) بیشتر بود (شکل b-۲). به‌طوری‌که، سطح ۲ درصد میکروپلاستیک، بیشترین میزان تنفس تجمعی را داشت. در حالت کلی تیمارهای حاوی ذرات میکروپلاستیک با غلظت‌های مختلف در مقایسه با تیمار شاهد (بدون حضور میکروپلاستیک) مقدار تنفس تجمعی بیشتری داشتند و مقدار تنفس تجمعی در مقدار کاربرد میکروپلاستیک از ترتیب: ۲درصد > ۱درصد > ۴درصد > شاهد پیروی کرد.



شکل ۱- معدنی شدن کربن آلی (a) و تنفس تجمعی (b) خاک تحت تأثیر مقادیر مختلف ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌اتیلن سبک (صفر، ۱، ۲ و ۴ درصد وزنی-وزنی) در هفت زمان (۳، ۱۷، ۳۱، ۴۵، ۵۹، ۷۳ و ۸۷ روز). اثر برهمکنش مقدار و زمان بر معدنی شدن کربن آلی معنادار بود ($F_{18,5}$=12.72, P<0.0001). بر اساس آزمون دانکن (سطح احتمال پنج درصد)، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنادار بین تیمارها است (هر یک از داده‌ها نشان دهنده میانگین سه تکرار همراه با خطای استاندارد است).

کربن توده زنده میکروبی (MBC)

حضور ذرات میکروپلاستیک مقدار کربن توده زنده میکروبی را تحت تأثیر قرار داد (شکل ۳). در طی دوره آزمایش مشاهده گردید که میزان کربن توده زنده میکروبی تا روز ۱۷ ام افزایش یافت و با گذشت زمان مقدار آن کاهش یافت. همانطور که شکل (۳) نشان می‌دهد، مقدار کربن توده زنده میکروبی در تیمارهای مربوط به ذرات میکروپلاستیک در مقایسه با تیمار شاهد در طی روزهای ۳ و ۱۷ ام بیشتر بود اما با گذشت زمان، حضور ذرات میکروپلاستیک اثر منفی بر مقدار کربن توده زنده میکروبی داشت. بیشترین میزان کربن توده زنده میکروبی در تیمار ۱٪ میکروپلاستیک در روز ۱۷ ام از دوره خوابانیدن مشاهده شد.

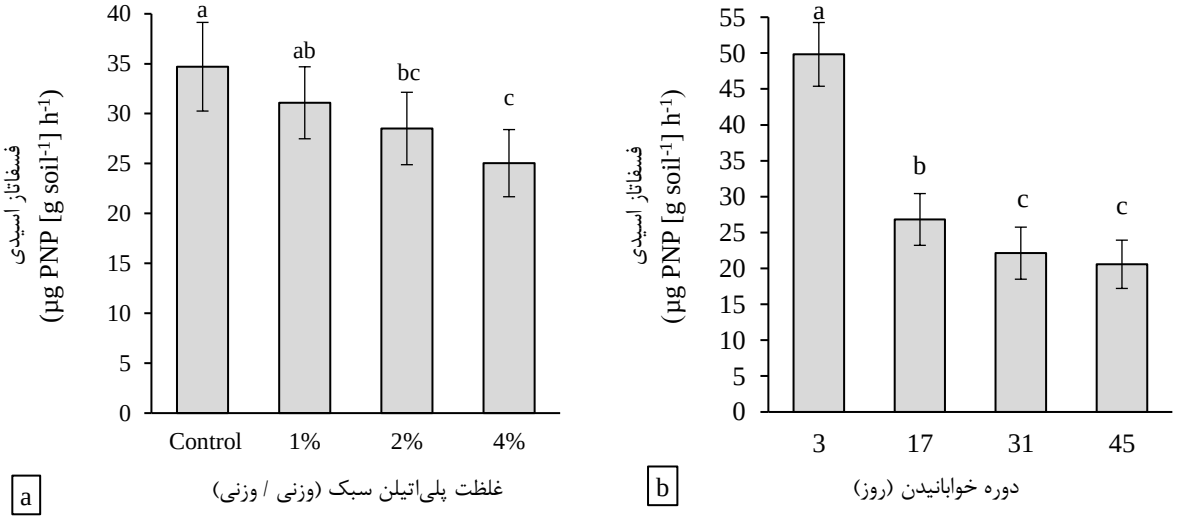


شکل ۳- توده زنده میکروبی خاک تحت تأثیر مقادیر مختلف ذرات میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سبک (صفر، ۱، ۲ و ۴ درصد وزنی-وزنی) در هفت زمان (۳، ۱۷، ۳۱، ۴۵، ۵۹، ۷۳ و ۸۷ روز). برهمکنش مقدار × زمان، بر توده زنده میکروبی معنادار ($F_{18,56}$=34.14, P<0.0001) بود. بر اساس آزمون دانکن (سطح احتمال پنج درصد)، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنادار بین تیمارها است (هر یک از داده‌ها نشان دهنده میانگین سه تکرار همراه با خطای استاندارد است).

اثر میکروپلاستیک بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز

فسفاتاز اسیدی

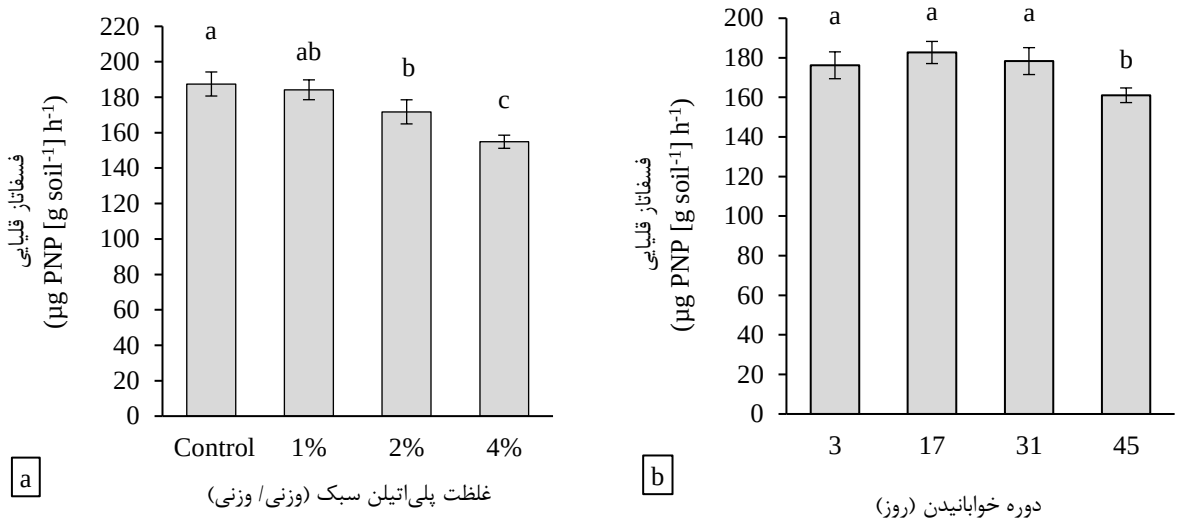
ذرات میکروپلاستیک اضافه شده به خاک، مقدار فعالیت فسفاتاز اسیدی را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش داد. (شکل ۴). به‌طوری‌که، تیمارهای یک، دو و چهار درصد میکروپلاستیک مقدار فعالیت فسفاتاز اسیدی را در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۱۰/۴، ۱۷/۸ و ۲۷/۸ درصد کاهش داد. بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۴ درصد میکروپلاستیک بود. از نظر آماری، تفاوت معناداری در مقدار کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی تحت تأثیر تیمار ۱ درصد میکروپلاستیک در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نگردید، در مقابل، اختلاف بین میانگین فعالیت این آنزیم در سطوح ۲ و ۴ درصد میکروپلاستیک در مقایسه با تیمار شاهد معنادار بود (شکل a-۴). کمترین مقدار فعالیت فسفاتاز اسیدی در تیمار ۴ درصد (وزنی/ وزنی) میکروپلاستیک مشاهده گردید. همچنین مشاهده گردید که در طی دوره ۴۵ روز، حضور ذرات میکروپلاستیک میزان فعالیت فسفاتاز اسیدی را کاهش داد (شکل b-۴). در روز سوم، میزان فعالیت این آنزیم بیشتر بود و با گذشت زمان میزان فعالیت آن کاهش یافت. در روزهای ۳۱ و ۴۵ روز، روند کاهش به میزان ثابتی رسید به‌طوری‌که، بین این دو زمان از نظر آماری تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد.



شکل ۲. فعالیت فسفاتاز اسیدی خاک تحت تأثیر مقدار میکروپلاستیک پلی‌اتیلن سبک (صفر، ۱، ۲ و ۴ درصد وزنی-وزنی) در چهار زمان (۳، ۱۷، ۳۱ و ۴۵ روز). اثر مقدار میکروپلاستیک ($F_{3,32}$ = 9.6, P < 0.0001) و زمان خوابانیدن ($F_{3,32}$ = 106.31, P < 0.0001) بر فعالیت این آنزیم معنادار بود. بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنادار بین تیمارها است (هر یک از داده‌ها نشان دهنده میانگین سه تکرار همراه با خطای استاندارد است).

فسفاتاز قلیایی

فعالیت فسفاتاز قلیایی در شکل (۵) نشان داده شده است. ذرات میکروپلاستیک تأثیر منفی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاک داشت و فعالیت این آنزیم را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش داد. میزان کاهش فعالیت این آنزیم در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ ٪ میکروپلاستیک در مقایسه با تیمار شاهد، به ترتیب، ۱/۷، ۸/۴ و ۱۷/۴ درصد بود. بین تیمارهای میکروپلاستیک، کمترین مقدار فعالیت آنزیم مربوط به تیمار ۴ درصد بود. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن نشان داد که اختلاف بین تیمار ۱ درصد و تیمار شاهد معنادار نبود، در مقابل اختلاف بین تیمارهای ۲ و ۴ درصد در مقایسه با تیمار شاهد معنادار بود (شکل a-۵). تأثیر زمان بر مقدار فعالیت این آنزیم نشان داد که تا روز ۳۱ خوابانیدن، تفاوت معنی‌داری در میزان این آنزیم مشاهده نگردید. اما، در روز ۴۵ خوابانیدن، میزان فعالیت این آنزیم کاهش معناداری را نشان داد (شکل b-۵).



شکل ۵- فعالیت فسفاتاز قلیایی خاک تحت تأثیر مقدار میکروپلاستیک (صفر، ۱، ۲ و ۴ درصد وزنی-وزنی) در چهار زمان (۳، ۱۷، ۳۱ و ۴۵ روز). اثر مقدار میکروپلاستیک ($F_{3,32}$ = 8.46, P < 0.0003) و زمان خوابانیدن ($F_{3,32}$ = 3.42, P < 0.0287) بر فعالیت آنزیم معنادار بود. . بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنادار بین تیمارها است. (هر یک از داده‌ها نشان دهنده میانگین ۳ تکرار همراه با خطای استاندارد است).

بحث

میکروپلاستیک‌ها آلاینده‌های نوظهوری هستند که اطلاعات کمی در رابطه با اثرات آنها بر ویژگی‌های خاک وجود دارد. از سوی دیگر، پارامترهای بیولوژیکی خاک مانند تنفس خاک به‌منظور بررسی اثر عوامل محیطی و نیز تنش‌های محیطی بر جمعیت میکروبی خاک به منظور ارزیابی کیفیت و سلامت خاک استفاده می‌شود (Killham, 1994).

همانطور که بیان گردید حضور ذرات میکروپلاستیک در خاک، میزان معدنی شدن کربن آلی و تنفس تجمعی را در خاک افزایش داد. برخی شواهد نشان می‌دهد که ذرات میکروپلاستیک شدت و پویایی گازهایی مانند CO_2 را در خاک تحت تأثیر قرار می‌دهد و این تغییرات عمدتا به‌دلیل اثراتی است که ذرات میکروپلاستیک می‌تواند بر ساختمان خاک داشته باشد (Rillig *et al*., 2020). در واقع میکروپلاستیک‌ها برخی از خصوصیات خاک از قبیل ساختمان و نیز تنوع میکروبی خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهند (He *et al*., 2019; Rillig, 2012). در واقع، تغییر تخلخل و میزان رطوبت خاک ناشی از حضور ذرات میکروپلاستیک ممکن است جریان اکسیژن را در خاک تغییر دهد که این امر منجر به تغییر در توزیع نسبی میکروارگانیسم‌های هوازی و غیر هوازی در خاک می‌شود (Guo *et al*., 2020). بنابراین، افزایش تخلخل خاک ممکن است جریان اکسیژن از هوا به خاک را افزایش داده و از این طریق موجب افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های هوازی خاک شود (Rubol *et al*., 2013). علاوه براین، در تحقیقی محققین یافتند که فیبرهای پلی‌استر به‌طور معناداری ظرفیت نگهداری آب را در خاک افزایش دادند و در مقابل موجب کاهش چگالی ظاهری خاک و نیز خاکدانه‌های پایدار در آب گردید با این وجود، اثر ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌اتیلن بر ظرفیت نگهداری آب در خاک روند مشخصی را از خود نشان نداد. از سوی دیگر، قرار گرفتن ذرات پلی‌اتیلن در خاک به‌طور نسبی، ارتباط بین فعالیت میکروبی و خاکدانه‌های

خاک را افزایش داد (Abel *et al*., 2018).

دلیل دیگر برای افزایش میزان تنفس میکروبی خاک می‌تواند مربوط به اثر ضد میکروبی ذرات میکروپلاستیک در خاک باشد. محققانی گزارش دادند که ذرات پلی‌استایرن (نوعی پلاستیک) در اندازه نانو، معدنی شدن کربن آلی را در خاک افزایش داد که علت این افزایش ممکن است به‌دلیل اثر ضد میکروبی ذرات پلی‌استایرن بر میکروارگانیسم‌های خاک باشد. به‌طوری‌که، ممکن است باعث سمیت سلولی برای برخی از میکروارگانیسم‌ها از قبیل قارچ‌ها شود که ترکیب شیمیایی دیواره سلولی آنها ذخیره کربن بالایی دارد و از این طریق، میکروارگانیسم‌های مرده ممکن است قابلیت دسترسی به کربن را در خاک افزایش دهد (Awet *et al*., 2018).

نتایج این تحقیق نشان داد که ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌اتیلن سبک اثر منفی بر فعالیت هر دو آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدی خاک داشت و مقدار هر دو را در خاک کاهش داد. آنزیم‌های خاک از جمله ویژگی‌های خاک هستند که در مقایسه با سایر متغیرهای فیزیکو-شیمیایی به تغییرات خاک واکنش سریعتری را نشان می‌دهند (Panettieri *et al*, 2013). آنزیم‌های خاک تولید شده توسط گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک، ارتباط بسیار نزدیکی با چرخه عناصر و جریان انرژی در خاک دارند و به تغییرات ایجاد شده در خاک به سرعت پاسخ نشان می‌دهند (Cui *et al*., 2019). اوت و همکاران (2018) گزارش دادند که نانوپلاستیک‌های پلی‌استایرن میزان فعالیت برخی از آنزیم‌های خاک مانند آنزیم فسفاتاز قلیایی و نیز توده زنده میکروبی خاک را در طی یک دوره ۲۸ روزه، کاهش داد که نشان دهنده اثرات ضد میکروبی ذرات پلی‌استایرن بر آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌های خاک است. در تحقیقی گزارش دادند که ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌اتیلن و پلی‌وینیل کلراید اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، فسفاتاز اسیدی و فلورسین دی استات هیدرولاز در یک خاک اسیدی (pH=5.5) داشتند. هر دو نوع ماده پلاستیکی موجب کاهش فعالیت آنزیم فلورسین دی استات هیدرولاز و تحریک نمودن فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز اسیدی گردیدند (Fei *et al*., 2019). در مقابل، محققانی گزارش دادند که ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌پروپیلن با غلظت ۷ تا ۲۸ درصد وزنی، اثرات مثبتی بر فعالیت میکروبی در یک خاک لوسی (pH=8.45) داشت و پس از اضافه نمودن ذرات میکروپلاستیک به خاک، مقدار فعالیت آنزیم‌های فنل اکسیداز و فلورسین دی استات هیدرولاز به‌ویژه در طی روزهای ۷ و ۱۴ انکوباسیون افزایش یافت (Liu, *et al*.,2017). Yi et al., (2021) نیز کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز خاک را در حضور ذرات میکروپلاستیک از جنس پلی‌پرولین گزارش دادند. همچنین بیان کردند که ذرات پلی‌اتیلنی میزان فعالیت این آنزیم را در ۱۴ روز اول دوره انکوباسیون کاهش و در ادامه تا روز ۲۹، افزایش داد. نتایج محققین نشان می‌دهد که آنزیم‌های مختلف خاک در شرایط متفاوت به حضور میکروپلاستیک‌های مشابه رفتار متفاوتی را نشان دهند و نوع، اندازه و مقدار میکروپلاستیک‌ها در رفتار آنزیم‌های خاک اثر گذار خواهد بود.

فسفاتازها انواعی از آنزیمهای خاک هستند که از طریق هیدرولیز منواسترهای اسید فسفریک، توانایی معدنی کردن فسفر آلی خاک را داشته و از این طریق در چرخه بیوژئوشیمی فسفر خاک نقش مهمی دارند (Nannipieri *et al*., 2011). از سوی دیگر، فعالیت فسفاتازها همبستگی مثبتی با مقدار کربن و نیتروژن خاک و همچنین مقدار فسفر قابل دسترس و pH خاک دارند (Yi *et al*., 2021). بنابراین، ممکن است، دلیل کاهش میزان فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی در ارتباط با اثرات منفی ذرات پلاستیک بر فعالیت میکروبی خاک باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که اضافه شدن ذرات پلاستیک به خاک، میزان تنفس خاک را با گذشت زمان افزایش داد. به‌طوری‌که مقدار تنفس تجمعی خاک در تیمارهای مربوط به میکروپلاستیک در مقایسه با تیمار شاهد (بدون میکروپلاستیک) افزایش یافت. از سوی دیگر، مقدار کربن توده زنده میکروبی در اوایل دوره خوابانیدن افزایش و با گذشت زمان کاهش پیدا نمود. همچنین، با گذشت زمان تأثیر منفی ذرات میکروپلاستیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی مشاهده گردید. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که رفتار میکروپلاستیک‌ها در خاک و اثراتی که ممکن است بر خصوصیات خاک داشته باشند غالبا تحت تأثیر نوع، مقدار، اندازه و همچنین شرایط مختلف محیط مورد مطالعه دارد. پیشنهاد می‌شود با توجه به مطالعات محدودی که در این زمینه انجام شده، تحقیقات بیشتر در خاک‌های با خصوصیات مختلف و همچنین بررسی انواع مختلفی از ذرات پلاستیک در اندازه‌ها و مقادیر متفاوت انجام گیرد.

"هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCE

Abel, A., Machado, D. S., Lau, C. W., Till, J., Kloas, W., Lehmann, A., Becker, R., & Rillig, M. C. (2018). Impacts of Microplastics on the Soil Biophysical Environment [Research-article]. *Environmental Science & Technology*, *52*, 9656–9665.

Anderson, J. P. E. (1983). Soil respiration. Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties, 9, 831–871.

Awet, T. T., Kohl, Y., Meier, F., Straskraba, S., Grün, A.-L., Ruf, T., Jost, C., Drexel, R., Tunc, E., & Emmerling, C. (2018). Effects of polystyrene nanoparticles on the microbiota and functional diversity of enzymes in soil. *Environmental Sciences Europe*, *30*(1), 1–10.

Bläsing, M., & Amelung, W. (2018). Science of the Total Environment Plastics in soil : Analytical methods and possible sources. *Science of the Total Environment*, *612*, 422–435.

Book, U. Y. (2014). Emerging issues update air pollution: World's worst environmental health risk. *United Nations Environment Programme*.

Bouyoucos, G. J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils 1. *Agronomy Journal*, *54*(5), 464–465.

Boxall, A. (2012). *New and emerging water pollutants arising from agriculture*. http://eprints.whiterose.ac.uk/75319/1/oecdreport.pdf

Bradney, L., Wijesekara, H., Palansooriya, K. N., Obadamudalige, N., Bolan, N. S., Ok, Y. S., Rinklebe, J., Kim, K.-H., & Kirkham, M. B. (2019). Particulate plastics as a vector for toxic trace-element uptake by aquatic and terrestrial organisms and human health risk. *Environment International*, *131*, 104937.

Cui, Y., Fang, L., Guo, X., Wang, X., Wang, Y., Zhang, Y., & Zhang, X. (2019). Responses of soil bacterial communities, enzyme activities, and nutrients to agricultural-to-natural ecosystem conversion in the Loess Plateau, China. *Journal of Soils and Sediments*, *19*(3), 1427–1440.

Eivazi, F., & Tabatabai, M. A. (1977). Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *9*(3), 167–172.

Europe, P. (2016). Plastics—The Facts 2016. An Analysis of European Latest Plastics Production, Demand and Waste Data.

Fei, Y., Huang, S., Zhang, H., Tong, Y., Wen, D., Xia, X., Wang, H., Luo, Y., & Barceló, D. (2019). Science of the Total Environment Response of soil enzyme activities and bacterial communities to the accumulation of microplastics in an acid cropped soil. *Science of the Total Environment*, *xxxx*, 135634.

Fuller, S., & Gautam, A. (2016). A procedure for measuring microplastics using pressurized fluid extraction. *Environmental Science & Technology*, *50*(11), 5774–5780.

Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, *3*(7), e1700782.

Guo, J., Huang, X., Xiang, L., Wang, Y., Li, Y., Li, H., & Cai, Q. (2020). Source , migration and toxicology of microplastics in soil. *Environment International*, *137*(July 2019), 105263.

He, P., Chen, L., Shao, L., Zhang, H., research, F. L.-W., & (2019), undefined. (n.d.). Municipal solid waste (MSW) landfill: A source of microplastics?-Evidence of microplastics in landfill leachate. *Elsevier*. Retrieved January 29, 2021, from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004313541930377X

Jenkinson, D. S., & Ladd, J. N. (1981). Microbial biomass in soil: measurement and turnover. *Soil Biochemistry*, *5*(1), 415–471.

Killham, K. (1994). *Soil ecology*. https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=zDIaumF3MCYC&oi=fnd&pg=PR15&dq=Killham,+K.+(1994),+Soil+Ecology,+Cambridge+University+Press,+UK&ots=7ImM0x3M5l&sig=jLjzfUHu0FmNKSRbO0fZ0LF3h38

Lambert, S., & Wagner, M. (2018). Microplastics are contaminants of emerging concern in freshwater environments: An overview. *Handbook of Environmental Chemistry*, *58*, 1–23.

Liu, H., Yang, X., Liu, G., Liang, C., Xue, S., & Chen, H. (2017a). Response of soil dissolved organic matter to microplastic addition in Chinese loess soil. *Chemosphere*.

Liu, H., Yang, X., Liu, G., Liang, C., Xue, S., Chen, H., Ritsema, C. J., & Geissen, V. (2017b). Response of soil dissolved organic matter to microplastic addition in Chinese loess soil. *Chemosphere*, *185*, 907–917.

Loeppert, R. H., & Suarez, D. L. (1996). Carbonate and gypsum. *Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods*, *5*, 437–474.

Lusher, A. (2015). Microplastics in the marine environment: distribution, interactions and effects. In *Marine anthropogenic litter* (pp. 245–307). Springer, Cham.

Murphy, J., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, *27*, 31–36.

Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., & Renella, G. (2011). *Role of Phosphatase Enzymes in Soil* (pp. 215–243).

Olsen, S. R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate (Issue 939). US Department of Agriculture.

Panettieri, M., Lazaro, L., López-Garrido, R., Murillo, J. M., & Madejón, E. (2013). Glyphosate effect on soil biochemical properties under conservation tillage. *Soil and Tillage Research*, *133*, 16–24.

Qi, R., Jones, D. L., Li, Z., Liu, Q., & Yan, C. (2020). Behavior of microplastics and plastic film residues in the soil environment: A critical review. *Science of the Total Environment*, *703*.

Rillig, M. C. (2012). Microplastic in terrestrial ecosystems and the soil? ACS Publications.

Rillig, M. C., Hoffmann, M., Lehmann, A., Liang, Y., Lück, M., & Augustin, J. (2020). Microplastic fibers affect dynamics and intensity of CO2 and N2O fluxes from soil differently. *BioRxiv*.

Rochman, C. M., Browne, M. A., Halpern, B. S., Hentschel, B. T., Hoh, E., Karapanagioti, H. K., Rios-Mendoza, L. M., Takada, H., Teh, S., & Thompson, R. C. (2013). Classify plastic waste as

hazardous. *Nature*, *494*(7436), 169–171.

Rodriguez, O., Peralta-hernandez, J. M., & Goonetilleke, A. (2017). Treatment Technologies for Emerging Contaminants in water: A review. *Chemical Engineering Journal*.

Rubol, S., Manzoni, S., Bellin, A., resources, A. P.-A. in water, & (2013), undefined. (n.d.). Modeling soil moisture and oxygen effects on soil biogeochemical cycles including dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA). *Elsevier*. Retrieved January 29, 2021, from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309170813001772

Ruimin, Q., Jones, D. L., Zhen, L., Qin, L., & Changrong, Y. (2019). Behavior of microplastics and plastic film residues in the soil environment : A critical. *Science of the Total Environment*, 134722.

Steinmetz, Z., Wollmann, C., Schaefer, M., Buchmann, C., David, J., Tröger, J., Muñoz, K., Frör, O., & Ellen, G. (2016). Science of the Total Environment Plastic mulching in agriculture . Trading short-term agronomic bene fi ts for long-term soil degradation ? *Science of the Total Environment*, *550*, 690–705.

Tabatabai, M. A., & Bremner, J. M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, *1*(4), 301–307.

Thomas, G. W. (1996). Soil pH and soil acidity. *Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods*, *5*, 475–490.

Thompson, R. C., Swan, S. H., Moore, C. J., & Vom Saal, F. S. (2009). *Our plastic age*. The Royal Society Publishing.

Vegter, A. C., Barletta, M., Beck, C., Borrero, J., Burton, H., Campbell, M. L., Costa, M. F., Eriksen, M., Eriksson, C., & Estrades, A. (2014). Global research priorities to mitigate plastic pollution impacts on marine wildlife. *Endangered Species Research*, *25*(3), 225–247.

Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, *37*(1), 29–38.

Wijesekara, H., Bolan, N. S., Bradney, L., Obadamudalige, N., Seshadri, B., Kunhikrishnan, A., Dharmarajan, R., Ok, Y. S., Rinklebe, J., & Kirkham, M. B. (2018). Trace element dynamics of biosolids-derived microbeads. *Chemosphere*, *199*, 331–339.

Yi, M., Zhou, S., Zhang, L. & Ding, S. (2021). The effects of three different microplastics on enzyme activities and microbial communities in soil. 1–9.