Research Article

Agricultural Engineering., 49(2) (2026) 173-194

DOI: 10.22055/AGEN.2026.52729.1820

ISSN (P): 2588-526X

ISSN (E): 2588-5944

Effects of Microplastic Type and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Nickel and Lead Speciation in Contaminated Calcareous Soil

A. Shabani [1*] and R. Ghasemi-Fasaei[2]

1. Ph.D. Candidate, Department of Soil Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
2. Professor , Department of Soil Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 29 January 2026 Accepted: 24 August 2026 *Corresponding Author: shabani_362@yahoo.com

Abstract

Introduction: Microplastics are emerging soil contaminants that can alter soil physicochemical properties and consequently influence the mobility, bioavailability, and chemical speciation of heavy metals. Because the environmental behavior of metals is governed primarily by their chemical speciation rather than their total concentrations, understanding the factors controlling metal speciation is essential for predicting their environmental fate and ecological risk. Among these factors, soil pH and dissolved organic carbon (DOC) are the primary regulators of metal speciation, and both microplastics and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) can modify these properties, thereby influencing the geochemical behavior of metals. Although increasing attention has been paid to the interactions between microplastics and heavy metals and to the role of PGPR in regulating metal behavior in the rhizosphere, most previous studies have focused on the adsorption of metals onto microplastic surfaces, whereas their effects on metal speciation in soil solution remain poorly understood. Therefore, the present study investigated the interactive effects of low-density polyethylene (LDPE), polylactic acid (PLA), and two PGPR strains on the chemical speciation of nickel and lead in the soil solution of a contaminated calcareous soil.

Materials and Methods: A greenhouse experiment was conducted as a factorial arrangement in a completely randomized design with three replications. Artificially contaminated calcareous soil containing Pb, Ni, Cd, and Zn was amended with two types of microplastics, low-density polyethylene (LDPE) and polylactic acid (PLA), each applied at two rates (1 and 5%, w/w), and inoculated with two plant growth-promoting rhizobacterial strains, *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum lipoferum*. Maize (*Zea mays* L.) seeds were sown in the treated soils and grown for 45 days. After harvest, soil pH, electrical conductivity (EC), dissolved organic carbon (DOC), dissolved Pb and Ni concentrations, and the ionic composition of the soil solution were determined.

The chemical speciation of Pb and Ni was predicted using the geochemical equilibrium model Visual MINTEQ based on soil solution chemistry, and the resulting data were statistically analyzed using SAS software.

Results and Discussion: The results demonstrated that microplastics significantly altered the chemical speciation of nickel and lead through changes in soil chemical properties, particularly pH and DOC. LDPE decreased soil pH, shifting the speciation equilibrium toward higher proportions of free Ni^{2+} and Pb^{2+} ions and lower proportions of carbonate and hydroxide species. Under the 5% LDPE treatment, the proportion of Ni^{2+} was approximately 53–62% of total dissolved Ni, whereas Pb^{2+} accounted for approximately 11–21% of total dissolved Pb. In contrast, PLA increased both pH and DOC, promoting the formation of carbonate, hydroxide, and dissolved organic matter complexes (NiDOM and PbDOM). These findings are consistent with the well-established role of pH in regulating metal speciation and the contribution of DOC to metal–

© 2026 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

organic complexation. Furthermore, inoculation with PGPR, particularly *Azospirillum lipoferum*, further enhanced the formation of organic complexes under PLA treatments by increasing DOC. Analysis of the relative distribution of aqueous species revealed that Ni^{2+} (26–62%) and $PbCO_3$ (34–57%) were the predominant species of nickel and lead, respectively. Despite the enhanced formation of organic complexes under PLA treatments, nickel remained predominantly in its free ionic form, whereas lead exhibited a much stronger tendency to form organic complexes. In the PLA treatments inoculated with PGPR, the proportion of Ni^{2+} (34.76%) remained higher than that of NiDOM (21.97%), whereas for lead, the proportion of PbDOM (24.29%) was substantially higher than that of Pb^{2+} (1.23%). Overall, LDPE increased the proportion of free ionic species of both metals, suggesting a potential increase in their bioavailability, whereas PLA altered their geochemical behavior primarily by promoting complexation with dissolved organic matter, particularly for Pb.

Conclusion: The findings of this study demonstrated that microplastic type significantly altered the chemical speciation of nickel and lead in calcareous soil through changes in soil pH and DOC. By lowering soil pH, LDPE increased the proportion of free metal ions, thereby potentially enhancing their bioavailability. In contrast, PLA promoted the formation of metal–organic complexes, particularly for Pb, through increases in both pH and DOC. Furthermore, PGPR amplified the effect of PLA by stimulating DOC accumulation, resulting in greater metal–organic complexation. Overall, these findings highlight that both microplastic type and microbial activity are key drivers of the geochemical behavior and environmental fate of nickel and lead in the soil solution phase.

***Keywords*: *Chemical speciation, Lead, Microplastics, Nickel, PGPR*.**

مقاله پژوهشی

تأثیر نوع میکروپلاستیک و باکتری‌های محرک رشد گیاه بر گونه‌بندی شیمیایی نیکل و سرب در محلول یک خاک آهکی آلوده

اسما شعبانی [۱]* و رضا قاسمی فسایی [۲]

۱-دانشجوی دکترا، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲- استاد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۰۹

پذیرش نهایی: ۰۲/ ۱۴۰۵/۰۶

کلمات کلیدی:

باکتری‌های محرک رشد گیاه،

سرب،

گونه بندی شیمیایی،

میکروپلاستیک،

نیکل

* عهده دار مکاتبات

Email: shabani_362@yahoo.com

چکیده

گونه‌بندی شیمیایی فلزات سنگین در محلول خاک، عامل اصلی کنترل‌کننده تحرک و زیست‌فراهمی آن‌ها است و می‌تواند تحت تأثیر میکروپلاستیک‌ها و باکتری‌های محرک رشد گیاه قرار گیرد. با این حال، اطلاعات محدودی درباره اثر متقابل این دو عامل بر گونه‌بندی فلزات در فاز محلول خاک وجود دارد. این پژوهش با هدف بررسی اثر همزمان پلی‌اتیلن سبک ، پلی‌لاکتیک اسید و دو سویه *سودوموناس فلورسنت* و *آزوسپریلیوم لیپوفروم* بر گونه‌بندی شیمیایی سرب و نیکل در محلول یک خاک آهکی آلوده انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و گونه‌بندی فلزات با استفاده از مدل ژئوشیمیایی Visual MINTEQ پیش‌بینی شد. نتایج نشان داد پلی اتیلن سبک با کاهش pH، سهم گونه‌های آزاد Ni^{2+} و Pb^{2+} را افزایش و گونه‌های کربناتی و هیدروکسیدی را کاهش داد، در حالی که پلی لاکتیک اسید ، به‌ویژه در حضور باکتریهای محرک رشد گیاه ، با افزایش pH و کربن آلی محلول ، تشکیل کمپلکس‌های آلی فلزات را تقویت کرد. در تمامی تیمارها، Ni^{2+} گونه غالب نیکل، اما $PbCO_3$ گونه غالب سرب بود. همچنین، در تیمارهای پلی لاکتیک اسید همراه با باکتریهای محرک رشد گیاه ، سهم Ni^{2+} (۳٤/۷٦٪) همچنان از NiDOM (۲۱/۹۷٪) بیشتر بود، در حالی که برای سرب، سهم PbDOM (۲٤/۲۹٪) به‌مراتب بیشتر از Pb^{2+} (۱/۲۳٪) مشاهده شد. به‌طور کلی، گونه‌بندی نیکل عمدتاً از تغییرات pH تبعیت کرد، در حالی که گونه‌بندی سرب حساسیت بیشتری به کربن آلی محلول نشان داد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که میکروپلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر و غیرزیست‌تخریب‌پذیر از دو مسیر ژئوشیمیایی متفاوت رفتار سرب و نیکل را در محلول خاک کنترل می‌کنند و این موضوع می‌تواند در ارزیابی تحرک، زیست‌فراهمی و مدیریت خطر فلزات سنگین در خاک‌های آلوده مورد استفاده قرار گیرد.

مقدمه

میکروپلاستیک‌ها (ذرات پلاستیکی با قطر کمتر از ۵ میلی‌متر) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آلاینده‌های نوظهور محیط زیست، در سال‌های اخیر توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده است. تولید روزافزون مواد پلاستیکی و ورود مداوم بقایای آن‌ها به محیط موجب شده است که مقادیر قابل توجهی از میکروپلاستیک‌ها در اکوسیستم‌های خاکی تجمع یابند (Thompson et al., 2004; Koelmans et al., 2022; Chen et al., 2023). برخلاف تصور اولیه که آلودگی پلاستیکی را عمدتاً محدود به محیط‌های آبی می‌دانستند، مطالعات اخیر نشان داده است که خاک یکی از مهم‌ترین مخازن تجمع میکروپلاستیک‌ها در خاک در نظر گرفته می‌شود. حضور این ذرات در خاک نه تنها ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک را تغییر می‌دهد، بلکه می‌تواند بر رفتار، انتقال و سرنوشت سایر آلاینده‌ها نیز اثرگذار باشد.

در میان آلاینده‌هایی که به طور بالقوه تحت تأثیر میکروپلاستیک‌ها قرار می‌گیرند، فلزات سنگین از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. میکروپلاستیک‌ها به‌دلیل سطح ویژه بالا، وجود گروه‌های عاملی فعال و توانایی ایجاد تغییر در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک، قادرند با فلزات سنگین برهم‌کنش کرده و به‌عنوان جاذب یا حامل آن‌ها عمل کنند (Hüffer and Hofmann, 2016; Khalid et al., 2021). مطالعات مختلف نشان داده است که شدت این برهم‌کنش‌ها به ویژگی‌های پلیمر، غلظت میکروپلاستیک، نوع فلز و شرایط محیطی خاک وابسته است (Li et al., 2019; Wang et al., 2020a; Yuan et al., 2020; Barus et al., 2021; Surendran et al, 2023)

علاوه براین، میکروپلاستیک‌ها می‌توانند از طریق تغییر ویژگی‌های شیمیایی خاک، سرنوشت محیطی فلزات را نیز تحت تأثیر قرار دهند. گزارش شده است که این ذرات قادرند متغیرهایی نظیرpH، قدرت یونی، شرایط اکسایش–کاهش و کربن آلی محلول (DOC)[1] را تغییر دهند و از این طریق بر تحرک و فراهمی زیستی فلزات اثر بگذارند (Boots et al., 2019; Liu et al., 2022; Feng et al., 2022; Zhao et al, 2023; Chen et al., 2024).

رفتار زیست‌محیطی فلزات سنگین بیش از غلظت کل آن‌ها به گونه‌های شیمیایی موجود در محلول خاک وابسته است. گونه‌های شیمیایی فلزات در محلول خاک می‌توانند به صورت یون‌های آزاد، جفت‌یون‌ها و کمپلکس‌های معدنی و نیز کمپلکس‌های آلی حضور داشته باشند و هر یک از این گونه‌ها می‌توانند رفتاری متفاوت از نظر تحرک، انتقال، فراهمی زیستی و سمیت نشان دهند (Sauvé et al., 2000). از این‌رو، گونه‌بندی فلزات (Metal Speciation) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تعیین‌کننده رفتار فلزات در محیط‌های خاکی شناخته می‌شود (Dumat et al., 2006; Kalis et al., 2008; Schreck et al., 2011; Shahid et al., 2012).

گونه‌بندی فلزات در محلول خاک تحت تأثیر برهم‌کنش پیچیده‌ای از عوامل مختلف قرار دارد که در میان آن‌ها pH و DOC نقش تعیین‌کننده‌ای دارند. pH بر تشکیل و پایداری بسیاری از گونه‌های فلزی، به‌ویژه کمپلکس‌های کربناتی و ترکیبات مرتبط با ماده آلی محلول اثر مستقیم دارد (Sauvé et al., 2000; Vega et al., 2010). همچنین DOC یکی از مهم‌ترین لیگاندهای طبیعی در محلول خاک است و می‌تواند از طریق تشکیل کمپلکس‌های آلی–فلزی، غلظت یون آزاد فلزات را کاهش داده و توزیع گونه‌های شیمیایی آن‌ها را تغییر دهد (Tipping, 2002; Zhao et al., 2007; Cornu et al., 2011; Ren et al., 2015). بنابراین، هر عاملی که بتواند pH و DOC خاک را تغییر دهد، قادر خواهد بود که گونه‌بندی و توزیع گونه های شیمیایی فلزات را نیز تحت تأثیر قرار دهد.

[1] Dissolved Organic Mater

در سال‌های اخیر توجه زیادی به نقش باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)[1] در تغییر رفتار فلزات سنگین در ریزوسفر شده است. این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند با تغییر ویژگی‌های شیمیایی خاک، از جمله pH،DOC و پتانسیل اکسایش–کاهش و نیز از طریق ترشح ترکیبات زیست‌فعال مانند سیدروفورها، پلی‌ساکاریدهای خارج‌سلولی و اسیدهای آلی، بر فراهمی و تحرک فلزات سنگین در ریزوسفر اثر بگذارند (El-Meihy et al, 2019; Singh et al., 2022).

مطالعات مربوط به برهم‌کنش میکروپلاستیک‌ها و فلزات سنگین و نقش PGPR در تغییر رفتار فلزات سنگین در ریزوسفر، عمدتاً بر فرآیندهای جذب و واجذب سطحی فلزات توسط میکروپلاستیک‌ها متمرکز بوده‌اند. همچنین، در برخی مطالعات، تغییرات گونه‌بندی فلزات تحت تأثیر میکروپلاستیک‌ها در فاز جامد و کسرهای مختلف خاک بررسی شده است. با این حال، اطلاعات محدودی درباره تأثیر میکروپلاستیک‌ها بر توزیع گونه‌های شیمیایی فلزات در فاز محلول خاک در دسترس است. این موضوع از آن جهت اهمیت دارد که گونه‌های فلزی موجود در محلول خاک نقش مهمی در تحرک، انتقال و فراهمی زیستی فلزات دارند. از سوی دیگر، میکروپلاستیک‌ها و PGPR می‌توانند با ایجاد تغییر در شرایط شیمیایی محلول خاک، تعادل میان گونه‌های مختلف فلزی را تحت تأثیر قرار دهند. ازاین‌رو، بررسی اثر متقابل این دو عامل بر گونه‌بندی فلزات در فاز محلول می‌تواند به درک بهتر رفتار و سرنوشت فلزات در خاک‌های آلوده به میکروپلاستیک کمک کند. در این میان، نیکل و سرب به‌عنوان فلزات هدف انتخاب شدند؛ زیرا هر دو از آلاینده‌های مهم خاک محسوب می‌شوند و به دلیل سمیت و تفاوت در ویژگی‌های شیمیایی و تمایل به تشکیل گونه‌های مختلف، می‌توانند الگوهای متفاوتی از گونه‌بندی را در محلول خاک نشان دهند. بر همین اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر متقابل دو نوع میکروپلاستیک زیست تخریب پذیرپلی لاکتیک اسید (PLA)[2] و غیرزیست تخریب پذیر پلی اتیلن سبک (LDPE)[3] و همچنین دو سویه ی PGPR بر گونه‌بندی شیمیایی نیکل و سرب در محلول یک خاک آهکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی خاک و میکروپلاستیک ها

خاک آماده شده در مطالعه ی شعبانی و همکاران (Shabani et al., 2025) برای انجام این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. در مطالعه مذکور نمونه خاک آهکی (pH = 7.8) از ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه شیراز و از عمق ۰–۳۰ سانتی‌متری جمع‌آوری گردید. نمونه خاک پس از هواخشک شدن، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک شامل pH و هدایت الکتریکی (EC) در عصاره گل اشباع ، بافت خاک به روش هیدرومتری–بایوکاس (Bouyoucos, 1962)، کربن آلی به روش هضم تر والکلی–بلک (Walkley & Black, 1934)، کربنات کلسیم به روش کلسی‌متری (Sparks, 1996) و ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) با استفاده از روش باور (روش استات آمونیوم در pH = 7.0) (Sumner & Miller, 2018) اندازه‌گیری شد. شکل قابل جذب کادمیوم، سرب، نیکل و روی به روش استخراج با DTPA (Lindsay & Norvell, 1978) و با استفاده از دستگاه جذب اتمی (Shimadzu AA-670G) تعیین گردید. نتایج ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۱ ارائه شده است.

1- Plant growth-promoting Rhizobacteria
2- polylactic acid
3-low-density polyethylene

Table 1. Some physical and chemical properties of soil

Sand	Silt	Clay	Texture	pH	EC	%OM	CEC	CCE	Pb	Cd	Zn	Ni
---------%---------			-	-	$dS\ m^{-1}$	%	$Cmol_{(+)}\ kg^{-1}$	%	----------$mgkg^{-1}$ ----------			
31.4	27.2	41.4	Clay loam	7.8	0.85	0.68	14	41.2	0.28	0.18	0.68	0.15

EC and pH measured in saturated paste extract, OM: Organic matter, CEC: cation exchange capacity, CCE: Calcium Carbonate Equivalent, DTPA-extractable Pb, Cd, Zn and Ni

دو نوع میکروپلاستیک رایج پلی اتیلن سبک (LDPE) (از مشتقات نفتی و غیر قابل زیست تخریب پذیر) و پلی لاکتیک اسید (PLA) (زیست تخریب پذیر) از شرکت تولیدی-بازرگانی افراکم تهیه شدند. میکروپلاستیک PLA از نوع NatureWorks® PLA Polymer 2002D با گرید 2002D، تولید شرکت NatureWorks LLC، ایالات متحده آمریکا، و میکروپلاستیک LDPE از گرید 2420D، تولید شرکت پتروشیمی امیرکبیر (Amir Kabir Petrochemical Company; AKPC)، ایران، تهیه شدند. پلی لاکتیک اسید یک پلی استر زیستی مصنوعی مشتق شده از مواد خام نشاسته که زنجیره اصلی آن هیدرولیز می‌شود و بنابراین به آسانی تخریب پذیر است (Karamanlioglu et al, 2017). چگالی پلی اتیلن سبک و پلی لاکتیک اسید به ترتیب ۰/۹۲ و ۱/۲۴ گرم بر سانتی مترمکعب بود. مشخصات فیزیکوشیمیایی و ویژگی‌های سطحی میکروپلاستیک‌های مورد استفاده، شامل گروه‌های عاملی، مورفولوژی سطح، سطح ویژه و ویژگی‌های تخلخل، در مطالعه پیشین نویسندگان به‌طور کامل بررسی و گزارش شده است (Shabani et al., 2025). به‌منظور تهیه ذرات میکروپلاستیک، گرانول‌های پلیمر با ابعاد حدود پنج میلی‌متر با استفاده از آسیاب صنعتی (دارای تیغه‌های برش) آسیاب گردید و سپس با الک فلزی ذرات با ابعاد ۱- ۰/۵ میلی‌متر برای مراحل بعدی آزمایش جدا شدند. ذرات جدا شده قبل از استفاده با محلول ۰/۱ مولار HCl شست‌وشو داده شدند تا آلودگی‌ها و ناخالصی‌های سطحی احتمالی حذف گردند. سپس ذرات به‌دفعات متعدد با آب مقطر شست‌وشو داده شدند تا باقی‌مانده اسید از سطح آن‌ها حذف شود.

آماده سازی و اعمال تیمارهای آزمایش

در مطالعه شعبانی و همکاران (Shabani et al., 2025)، که پژوهش حاضر بخشی از آن است، خاک‌ها به‌طور هم‌زمان با چهار فلز سنگین شامل Pb، Cd، Zn و Ni آلوده شدند. غلظت هر یک از فلزات ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود و آلودگی مصنوعی با استفاده از نمک‌های نیتراته آن‌ها ایجاد گردید. با توجه به تمرکز این مطالعه بر گونه‌بندی شیمیایی فلزات در فاز محلول خاک، تنها گونه‌بندی شیمیایی Ni و Pb مورد بررسی قرار گرفت. پس از اختلاط کامل خاک ها با فلزات سنگین، نمونه‌ها به مدت یک ماه در دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس و در رطوبت ظرفیت زراعی خوابانیده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و در شرایط گلخانه اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل مقدار و نوع میکروپلاستیک در ۵ سطح (شاهد بدون میکروپلاستیک، پلی اتیلن ۱٪، پلی اتیلن ۵٪، پلی لاکتیک اسید ۱٪، پلی لاکتیک اسید ۵٪) و تیمار میکروبی در سه سطح (شاهد، تلقیح *آزوسپریلیوم لیپوفروم* و تلقیح *سودوموناس فلورسنت*) بود. مایه تلقیح مورد نیاز باکتری *آزوسپریلیوم لیپوفروم* (*Azospirillum lipoferum*, No: CCSM-B00232) و *سودوموناس فلورسنت* (*Pseudomonas fluorescens*, No: CCSM-B00162) با تعداد باکتری زنده و فعال (10^7 CFU/mL) از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند.

در هر یک از واحدهای آزمایشی (گلدان های یک کیلوگرمی) ذرات میکروپلاستیک به صورت وزنی- وزنی به یک کیلوگرم خاک آلوده به چهار فلز اضافه شد. سپس، نمونه‌های خاک به مدت سه هفته در رطوبت ظرفیت زراعی خوابانیده شد تا شرایط در خاک گلدان‌ها به تعادل نسبی برسد. در ادامه پس از کشت و جوانه‌زنی بذرهای ذرت (رقم Single Cross 715) ، در

هر گلدان سه بوته نگهداری گردید. تلقیح باکتریایی همزمان با کاشت و با افزودن ۲ میلی‌لیتر مایه تلقیح به ازای هر بذر انجام گرفت. عناصر غذایی مورد نیاز گیاه نیز بر اساس آزمون خاک در طول دوره رشد به خاک گلدان ها اضافه گردید.

اندازه‌گیری برخی ویژگی‌های خاک پس از برداشت گیاه

پس از دوره کشت ۴۵ روزه ، گیاهان برداشت و از خاک گلدان‌ها جدا شدند. سپس از خاک هر گلدان عصاره ۱:۱ آب به خاک (w/v) تهیه گردید. در عصاره استخراج شده از خاک، pH، هدایت الکتریکی (EC)، DOC و نیز غلظت محلول سرب، نیکل، کادمیوم و روی اندازه‌گیری شد. همچنین به‌منظور مدل‌سازی گونه‌بندی سرب و نیکل، غلظت برخی کاتیون‌ها (سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم) و آنیون‌ها (کلر، سولفات، بیکربنات)در عصاره‌ها قرائت گردید. غلظت کلسیم و منیزیم محلول به روش تیتراسیون با EDTA ، سدیم و پتاسیم محلول با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر ، کلر محلول به روش تیتراسیون با نیترات نقره ۰/۰۱ نرمال، سولفات محلول به روش افزودن کلریدباریم و تیتراسیون با EDTA و بیکربنات محلول به روش تیتراسیون با اسیدسولفوریک اندازه‌گیری شد (Rhoades, 1996). به منظور تعیین کربن آلی محلول (DOC) مخلوط آب وخاک به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۲۲۰ دور در دقیقه تکان داده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و عصاره حاصل از کاغذ صافی واتمن با اندازه منافذ ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد. جذب عصاره در طول موج ۲۵۴ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر UV–Vis اندازه‌گیری و مقدار DOC بر اساس رابطه ارائه‌شده توسط Brandstetter et al. (۱۹۹۶) محاسبه شد.

پیش‌بینی گونه‌های شیمیایی سرب و نیکل در محلول خاک با استفاده از نرم‌افزار Visual MINTEQ (Version 3.1) و بر مبنای مدل تعادل شیمیایی آبی (aqueous chemical equilibrium model) انجام شد (Gustafsson, 2011). این مدل با استفاده از ثابت‌های تعادل ترمودینامیکی، توزیع فلزات را میان یون‌های آزاد و کمپلکس‌های معدنی و آلی شبیه سازی می‌کند. مقادیر اندازه‌گیری‌شده pH، DOC، غلظت Pb، Ni، Cd و Zn و همچنین کاتیون‌ها و آنیون‌ها در عصاره آب به خاک۱:۱، به‌عنوان ورودی‌های مدل استفاده شدند و سهم گونه‌های شیمیایی مختلف سرب و نیکل در فاز محلول محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۴، و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو–ویلک بررسی گردید. رسم نمودارها در محیط نرم افزار Excel (2013) انجام شد.

نتایج

اثر تیمارهای آزمایش بر برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک

هر یک از سطوح مختلف میکروپلاستیک و باکتری‌های محرک رشد بر ویژگی های شیمیایی خاک شامل pH، EC و DOC اثر معنی‌داری داشت. اثر متقابل میکروپلاستیک و باکتری نیز تنها بر DOC معنی‌دار شد(جدول۲).

Table (2) Analysis of variance of the effects of microplastics and plant growth-promoting rhizobacteria on soil pH, EC, and DOC

Source of variation	Degree of freedom	Mean Square		
		pH	EC	DOC
A	4	0.37^{**}	0.004^{*}	3.65^{**}
B	2	0.28^{**}	0.01^{**}	30.45^{**}
A×B	8	0.004^{ns}	0.002^{ns}	1.16^{*}
Error	30	0.02	0.001	0.41
C.V	-	1.72	8.07	3.69

A: MPs (type and concentration), B: bacteria, ns: non-significant, * p< 0.05, and ** p< 0.01, respectively

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها PLA و LDPE به‌ترتیب موجب افزایش و کاهش pH خاک گردیدند. بیشترین مقدار pH در تیمار ۵ درصد PLA مشاهده شد که نسبت به شاهد ۳/۲۱ درصد افزایش داشت، در حالی که کمترین مقدار pH در تیمار ۵ درصد LDPE به دست آمد که ۳/۵۴ درصد کمتر از شاهد بود (شکل۱a).

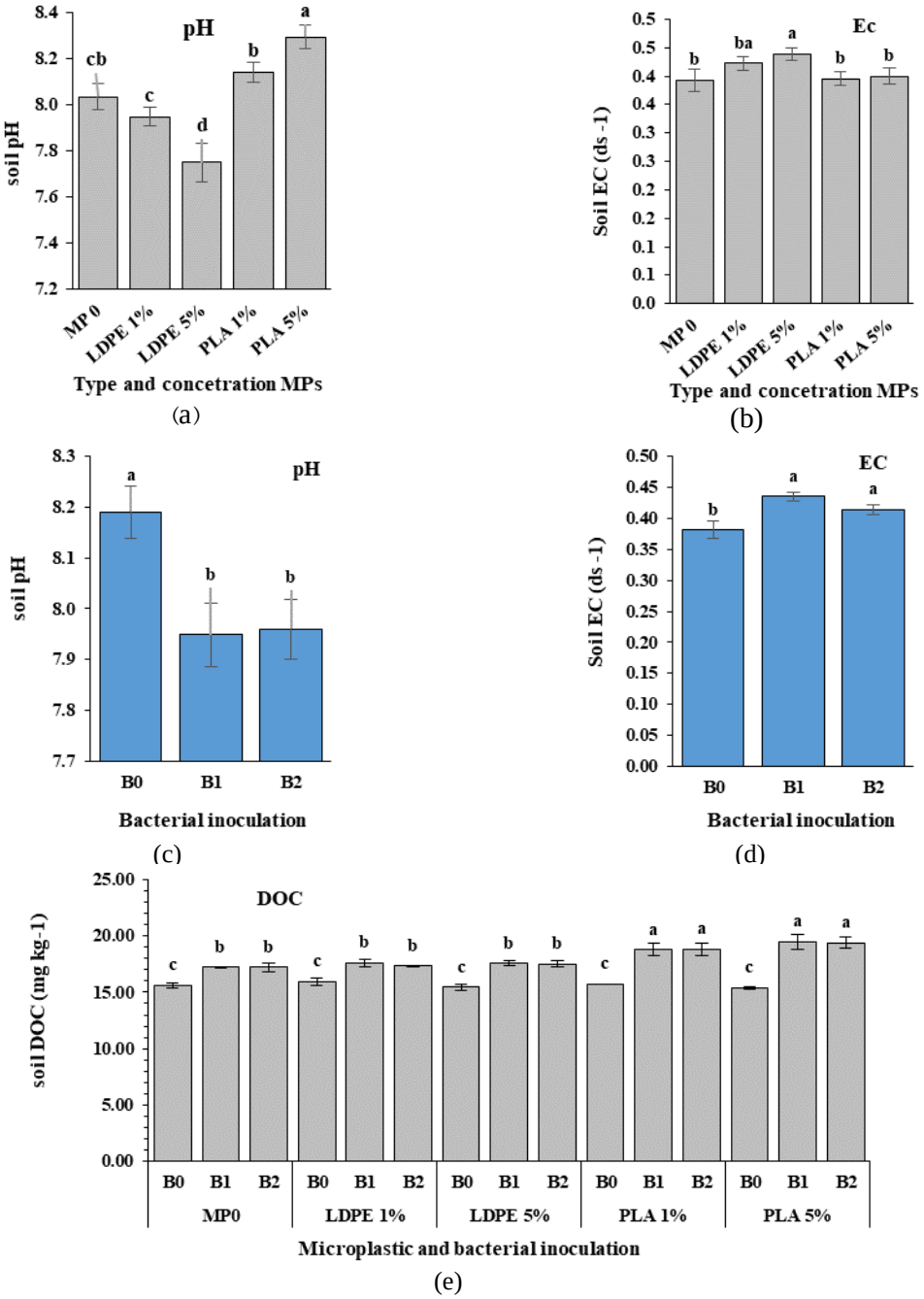


Figure 1. **Effect of the experimental treatments on soil pH, EC, and DOC. MP, microplastics; LDPE, low-density polyethylene; PLA, polylactic acid; B0, no bacterial inoculation (control); B1, inoculation with *Pseudomonas fluorescens*; B2, inoculation with *Azospirillum lipoferum*. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences among treatments according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$). Values are presented as means ± standard error (SE) (n = 3).**

در تمامی تیمارها، هدایت الکتریکی نسبت به شاهد روند افزایشی داشت، اگرچه این افزایش در تیمارهایPLA از نظر آماری معنی‌دار نبود. بیشترین مقدار EC در تیمار ۵ درصد LDPE به دست آمد که در مقایسه با شاهد ۱۱/۹درصد افزایش نشان داد (شکل 1b). تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب کاهش معنی‌دار pH خاک شد، به‌طوری‌که میانگین pH در تیمارهای تلقیح‌شده ۲/۸۸ درصد کمتر از شاهد بود (شکل 1c). تلقیح با PGPR ها همچنین به طور میانگین EC را ۱۱/۷۴ درصد نسبت به شاهد افزایش داد(شکل 1d). برهم‌کنش میکروپلاستیک و PGPR اثر معنی‌داری بر DOC خاک داشت. در عدم حضور باکتری‌ها، اختلاف معنی‌داری در DOC بین تیمارهای میکروپلاستیک مشاهده نشد. با این حال، در حضور PLA، کاربرد PGPR موجب افزایش معنی‌دار DOC نسبت به شاهد شد، به‌طوری‌که میانگینDOC درتیمارهای تلقیح‌شده با *سودوموناس فلورسنت* و *آزوسپریلیوم لیپوفروم* به‌ترتیب ۱۱/۲۴ و ۱۱/۱۳درصد بیشتر از شاهد بود (شکل 1e).

اثر تیمارهای آزمایش بر گونه‌های شیمیایی نیکل در محلول خاک

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر میکروپلاستیک (نوع و غلظت) بر غلظت گونه‌های Ni^{2+}، $NiCO_3$، NiDOM، $Ni(OH)^+$ و $Ni(OH)_2$ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، در حالی که بر غلظت گونه‌های $NiHCO_3^+$، $NiSO_4$ و $NiCl^+$ اثر معنی‌داری نداشت. اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر گونه‌های Ni^{2+}، $NiCO_3$ و NiDOM در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما بر سایر گونه‌های شیمیایی نیکل شامل $NiHCO_3^+$، $Ni(OH)^+$، $NiSO_4$، $Ni(OH)_2$ و $NiCl^+$ اثر معنی‌داری نداشت. برهم‌کنش میکروپلاستیک و باکتری نیز تنها برای گونه NiDOM در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل 2a) نشان داد که غلظت یون آزاد Ni^{2+} در تیمار ۵ درصد LDPE به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود و نسبت به شاهد ۱۷/۰۴ درصد افزایش یافت. در مقابل، کاربرد PLA موجب کاهش غلظت Ni^{2+} شد، به‌طوری‌که در تیمارهای ۱ و ۵ درصد PLA به‌ترتیب ۷/۸۸ و ۱۹/۴۵درصد کاهش نسبت به شاهد مشاهده گردید.

Table 3. Analysis of variance of the effects of microplastics and plant growth-promoting rhizobacteria on the concentrations of Ni chemical species in the soil solution

Source of variation	Degree of freedom	Mean Square			
		Ni^{+2}	$NiCO_3$	NiDOM	$NiHCO_3^+$
A	4	$3.64\times10^{-14**}$	$3.64\times10^{-14**}$	$9.42\times10^{-14**}$	5.47×10^{-16ns}
B	2	$3.5\times10^{-14**}$	$1.54\times10^{-14**}$	$4.30\times10^{-15**}$	3.25×10^{-16ns}
A×B	8	2.71×10^{-15ns}	7.07×10^{-16ns}	$2.03\times10^{-15**}$	3.43×10^{-16ns}
Error	30	3.02×10^{-15}	5.40×10^{-16}	3.88×10^{-17}	4.17×10^{-16}
C.V	-	11.92	9.17	4.30	27.49
		$Ni(OH)^+$	$NiSO_4$	$Ni(OH)_2$	$Nicl^+$
A	4	$8.42\times10^{-16**}$	1.98×10^{-18ns}	$1.88\times10^{-15**}$	8.65×10^{-19ns}
B	2	1.06×10^{-16ns}	1.23×10^{-18ns}	1.21×10^{-18ns}	4.83×10^{-19ns}
A×B	8	9.17×10^{-18ns}	4.27×10^{-18ns}	7.60×10^{-19ns}	1.28×10^{-19ns}
Error	30	3.35×10^{-17}	4.75×10^{-18}	2.58×10^{-18}	3.54×10^{-19}
C.V	-	11.19	4.99	5.51	6.56

A: MPs (type and concentration), B: bacteria, ns: non-significant, * $p< 0.05$, and ** $p< 0.01$, respectively

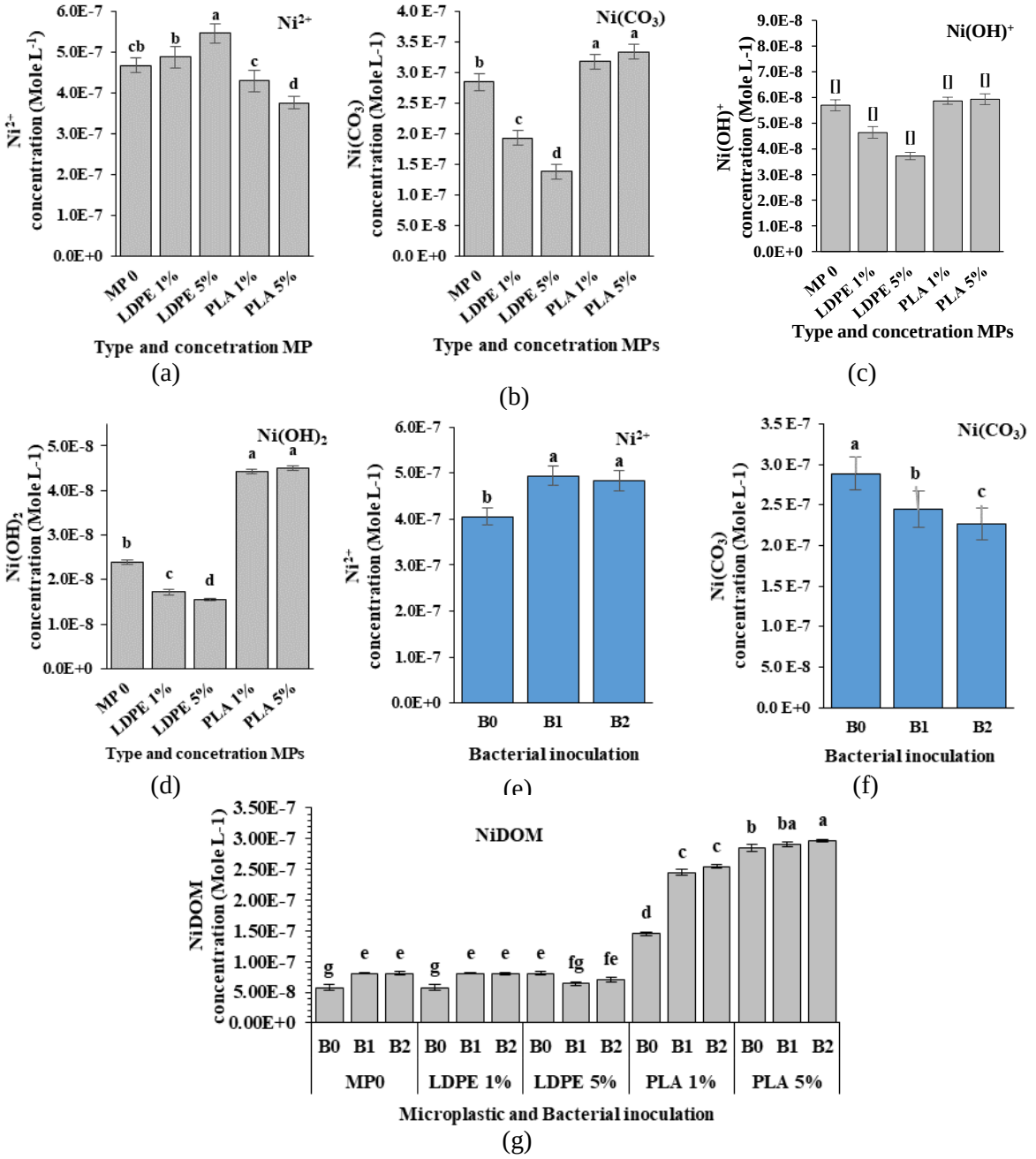


Figure 2. Effect of the experimental treatments on the concentrations of nickel (Ni) chemical species in the soil solution. MP, microplastics; LDPE, low-density polyethylene; PLA, polylactic acid; B0, no bacterial inoculation (control); B1, inoculation with *Pseudomonas fluorescens*; B2, inoculation with *Azospirillum lipoferum*. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences among treatments according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$). Values are presented as means ± standard error (SE) (n = 3).

برخلاف یون آزاد نیکل، غلظت گونه $NiCO_3$ در تیمارهای LDPE به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری‌که در تیمارهای ۱ و ۵ درصد LDPE به‌ترتیب ۳۲/۳۸ و ۵۱/۴۶ درصد کمتر از شاهد بود. در مقابل، کاربرد PLA موجب افزایش این گونه شد و غلظت آن در تیمارهای ۱ و ۵ درصد PLA به‌ترتیب ۱۱/۴۳ و ۱۷/۱۳ درصد بیشتر از شاهد به دست آمد (شکل ۲b).

گونه‌های $Ni(OH)^+$ و $Ni(OH)_2$ نیز تحت تأثیر نوع و غلظت میکروپلاستیک قرار گرفتند، به‌طوری‌که LDPE موجب کاهش و PLA موجب افزایش غلظت این دو گونه شد. بیشترین کاهش و افزایش $Ni(OH)^+$ در مقایسه با شاهد به ترتیب در تیمار ۵ درصد LDPE (۳۴/۷۶ درصد) و تیمار ۵ درصد PLA (۴/۱۵ درصد) به دست آمد. روند مشابهی برای $Ni(OH)_2$ مشاهده گردید، به‌گونه‌ای که تیمار ۵ درصد LDPE غلظت این گونه را ۳۵/۱۸ درصد کاهش داد، در حالی که تیمار ۵ درصد PLA موجب افزایش چشمگیر آن (۸۸/۴۶ درصد) نسبت به شاهد شد (شکل ۲cو۲d). تلقیح هر دو سویه *سودوموناس فلورسنت* و *آزوسپریلیوم لیپوفروم* در مقایسه با شاهد بدون تلقیح غلظت Ni^{2+} را به‌ترتیب ۲۱/۸۳و ۱۹/۱۹ درصد افزایش و غلظت $NiCO_3$ را ۱۵/۳۷ و ۲۱/۵۱درصد کاهش داد. مقایسه اثر دو سویه باکتری نشان داد که تأثیر آن‌ها بر غلظت Ni^{2+} اختلاف معنی‌داری نداشت، اما *آزوسپریلیوم لیپوفروم* کاهش بیشتری در غلظت گونه $Ni(CO_3)$ نسبت به *سودوموناس فلورسنت* ایجاد کرد (شکل ۲eو۲f).

همان گونه که گفته شد نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر برهم‌کنش میکروپلاستیک و PGPR بر غلظت NiDOM معنی‌دار بود (جدول ۳). در تیمارهای شاهد و ۱ درصد LDPE هر دو باکتری باعث افزایش معنی‌دار NiDOM شدند، در حالی که در تیمار ۵ درصد LDPE این افزایش تنها در حضور *سودوموناس فلورسنت* مشاهده شد. در مقابل، کاربرد PLA به‌تنهایی موجب افزایش قابل توجه NiDOM شد و تلقیح باکتری‌ها، به‌ویژه در غلظت ۵ درصد PLA، این روند را تقویت کرد، به‌گونه‌ای که بیشترین غلظت NiDOM در تیمار ۵٪ PLA+ *A. lipoferum* بدست آمد (شکل ۲g).

اثر تیمارهای آزمایش بر گونه‌های شیمیایی سرب در محلول خاک

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که اثر نوع و غلظت میکروپلاستیک بر غلظت گونه‌های $PbCO_3$، $PbHCO_3^+$، PbDOM، $Pb(OH)_2$، $pb(OH)^+$ و Pb^{2+} محلول خاک معنی‌دار بود، اما بر گونه‌های $PbSO_4$، $PbCl^+$ و $Pb(CO_3)_2^{2-}$ اثر معنی‌داری نداشت. اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر گونه‌های $PbCO_3$، PbDOM، $Pb(OH)_2$، $Pb(OH)^+$ و Pb^{2+} معنی‌دار بود اما بر گونه‌های $PbHCO_3^+$، $PbSO_4$، $PbCl^+$ و $Pb(CO_3)_2^{2-}$ تأثیر معنی‌داری نداشت. همچنین، اثر متقابل میکروپلاستیک و باکتری برای هیچ یک از گونه‌های شیمیایی سرب معنی‌دار نشد (جدول ۴).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها کاربرد میکروپلاستیکLDPE موجب افزایش گونه آزاد Pb^{2+} و کاهش گونه‌های کربناتی و هیدروکسیدی سرب شد. بیشترین غلظت Pb^{2+} در تیمار ۵ درصد LDPE مشاهده شد که نسبت به شاهد ۱۱۱/۳۶درصد افزایش داشت و پس از آن تیمار ۱درصد LDPE با ۸۲/۲۹ درصد افزایش قرار گرفت. در مقابل، تیمارهای یک و ۵ درصد PLA به‌ترتیب ۳/۸۱ و ۲۴/۱۶ درصد غلظت Pb^{2+} را نسبت به شاهد کاهش دادند (شکل۲a).

Table (3) Analysis of variance of the effects of microplastics and plant growth-promoting rhizobacteria on Pb chemical species concentrations in the soil solution

Source of variation	Degree of freedom	Mean Square				
		$PbCO_3$	$PbHCO_3^+$	PbDOM	$Pb(OH)_2$	$Pb(OH)^+$
A	4	$1.15\times10^{-15**}$	$1.16\times10^{-17*}$	$1.88\times10^{-16**}$	$1.97\times10^{-17**}$	$6.78\times10^{-18**}$
B	2	$5.54\times10^{-17*}$	6.63×10^{-18ns}	$2.68\times10^{-16**}$	$5.72\times10^{-18**}$	$2.24\times10^{-17**}$
A×B	8	5.56×10^{-18ns}	1.11×10^{-18ns}	7.48×10^{-18ns}	$2.10\times10^{-19\ ns}$	6.48×10^{-19ns}
Error	30	1.24×10^{-17}	3.19×10^{-18}	5.20×10^{-18}	6.46×10^{-19}	6.88×10^{-19}
C.V	-	7.16	11.09	12.73	10.50	15.36
		Pb^{2+}	$PbSO_4$	$PbCl^+$	$Pb(CO_3)_2^{2-}$	
A	4	$1.80\times10^{-16**}$	4.90×10^{-21ns}	2.33×10^{-21ns}	1.80×10^{-21ns}	
B	2	$3.66\times10^{-18**}$	4.64×10^{-21ns}	5.31×10^{-22ns}	3.33×10^{-22ns}	
A×B	8	2.07×10^{-19ns}	1.55×10^{-22ns}	4.53×10^{-23ns}	1.76×10^{-22ns}	
Error	30	1.07×10^{-19}	7.22×10^{-21}	3.60×10^{-21}	6.21×10^{-21}	
C.V	-	3.28	17.19	22.00	34.75	

AA: MPs (type and concentration), B: bacteria, ns: non-significant,* p< 0.05, and ** p< 0.01, respectively

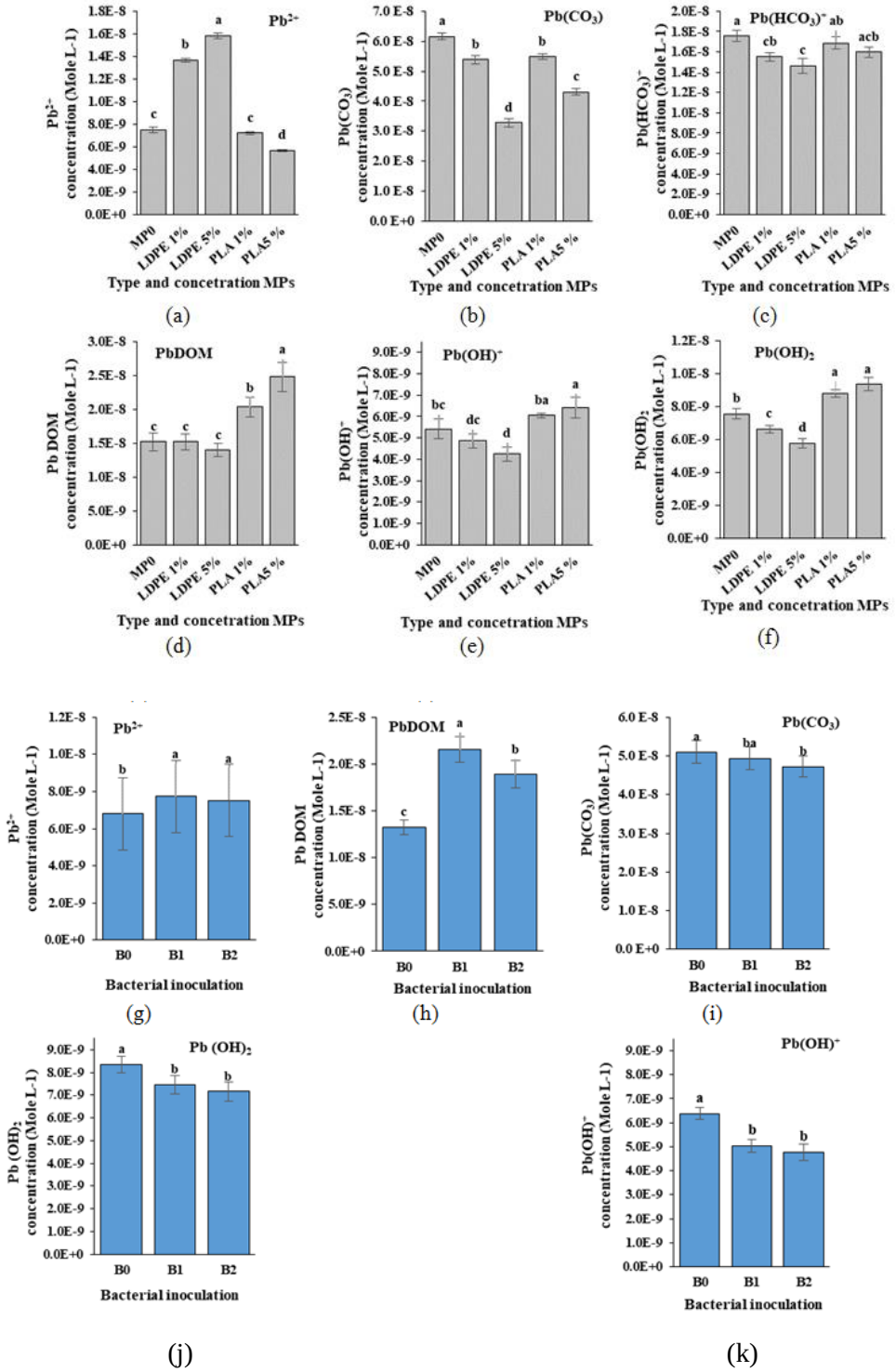


Figure 3. Effect of the experimental treatments on the concentrations of lead (Pb) chemical species in the soil solution. MP, microplastics; LDPE, low-density polyethylene; PLA, polylactic acid; B0, no bacterial inoculation (control); B1, inoculation with *Pseudomonas fluorescens*; B2, inoculation with *Azospirillum lipoferum*. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences among treatments according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$). Values are presented as means ± standard error (SE) (n = 3).

غلظت گونه‌های کربناتی سرب در تمامی تیمارهای میکروپلاستیک کاهش یافت. بیشترین کاهش $PbCO_3$ و $PbHCO_3^+$ در تیمار ۵ درصد LDPE به ترتیب با ۴۶/۶۹ و ۱۶/۵۸ درصد کاهش نسبت به شاهد مشاهده شد، در حالی که کمترین کاهش این دو گونه در مقایسه با شاهد در تیمار ۱درصد PLA و به‌ترتیب ۱۱ و ۳/۹۹ درصد بدست آمد (شکل۳b و ۳c). برخلاف LDPE، کاربرد PLA موجب افزایش غلظت گونه کمپلکس‌شده با ماده آلی (PbDOM) شد، به‌طوری‌که این افزایش در تیمارهای ۱ و ۵ درصد PLA در مقایسه با شاهد به‌ترتیب ۳۳/۸۴ و ۶۳/۳۰ درصد بود. در مقابل، تیمار ۵ درصد LDPE غلظت این گونه را ۸/۰۹ درصد کاهش داد، و تیمار ۱ درصد LDPE نیز تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد (شکل ۳d). برای گونه‌های هیدروکسیدی نیز روند مشابهی مشاهده شد. غلظت $Pb(OH)_2$ در تیمارهای ۱ و ۵ درصد PLA به‌ترتیب ۱۶/۵۲ و ۲۳/۷۸ درصد افزایش و در تیمارهای۱ و ۵ درصد PLA به‌ترتیب ۱۱/۹۶ و ۲۳/۳۵ درصد کاهش نشان داد. همچنین غلظت $Pb(OH)^+$ در تیمارهای ۱ و ۵ درصد PLA به‌ترتیب ۱۱/۶۰ و ۱۸/۰۴ درصد بیشتر از شاهد بود، اما در تیمارهای ۱ و ۵ درصد LDPE به‌ترتیب ۱۰/۳۷ و ۲۱/۴۴ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت (شکل ۳e و ۳f). تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه غلظت گونه‌های PbDOM و Pb^{2+} را به طور میانگین ۵۲/۴۴ و ۸/۹۵ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد. (شکل ۳g و ۳h). در مقابل، غلظت گونه‌های $PbCO_3$، $Pb(OH)_2$ و $Pb(OH)^+$ کاهش یافت که بیشترین کاهش این گونه‌ها در حضور باکتری *آزوسپریلیوم لیپوفروم* و به‌ترتیب برابر با ۷/۵، ۱۴/۱۹ و ۲۵/۱۳ درصد نسبت به شاهد بدست آمد (شکل ۳i، ۳j و ۳k).

اثر تیمارهای آزمایش بر توزیع نسبی گونه‌های شیمیایی نیکل و سرب در محلول خاک

بررسی توزیع نسبی گونه‌های شیمیایی نیکل (شکل۴) نشان داد که Ni^{2+} گونه غالب محلول در تمامی تیمارها بود و بسته به نوع میکروپلاستیک و تلقیح باکتریایی حدود ۲۶ تا ۶۲٪ از کل نیکل محلول را تشکیل داد. در تیمار شاهد(بدون میکروپلاستیک) سهم این گونه حدود ۴۳ تا ۴۷٪ بود، اما در حضورLDPE ، به‌ویژه در غلظت ۵ درصد، به حدود ۵۳ تا ۶۲٪ افزایش یافت. در مقابل، کاربرد PLA سهم Ni^{2+} را به ۲۶ تا ۳۸٪ کاهش داد که کمترین مقدار آن در تیمار ۵ درصد PLA بدون تلقیح باکتری مشاهده شد. گونه $NiCO_3$ دومین گونه غالب نیکل بود و سهمی در حدود ۱۲ تا ۳۱٪ از کل گونه‌های محلول را به خود اختصاص داد. در تیمار شاهد سهم این گونه حدود ۲۵ تا ۳۰٪ بود. کاربرد LDPE موجب کاهش سهم $NiCO_3$ شد، به‌طوری‌که در تیمار ۵ درصد LDPE به حدود ۱۲ تا ۱۹٪ رسید، در حالی که در تیمارهای PLA این گونه همچنان سهم نسبتاً بالایی (۲۴ تا ۳۱٪) را حفظ کرد.

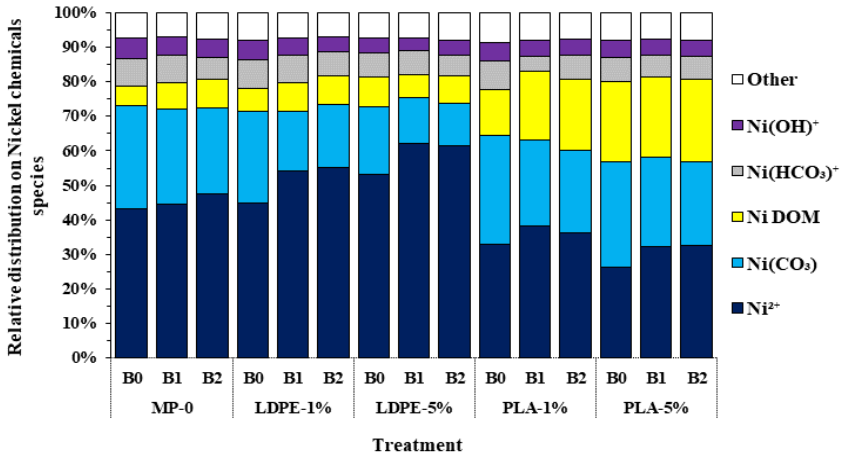


Figure 4. Relative distribution of nickel (Ni) chemical species in the soil solution under different microplastic and PGPR treatments. MP, microplastics; LDPE, low-density polyethylene; PLA, polylactic acid; B0, no bacterial inoculation (control); B1, inoculation with *Pseudomonas fluorescens*; B2, inoculation with *Azospirillum lipoferum*.

گونه NiDOM بیشترین تغییر را در پاسخ به نوع میکروپلاستیک نشان داد. در تیمار شاهد، سهم این گونه تنها حدود ۶ تا ۸٪ بود، اما در حضور تیمارهای PLA به‌طور قابل توجهی افزایش یافت و به حدود ۱۳ تا ۲۴٪ رسید. بیشترین سهم این گونه (حدود ۲۴٪) در تیمار ۵ درصد PLA همراه با *آزوسپریلیوم لیپوفروم* مشاهده شد. در مقابل، در تیمارهای LDPE سهم NiDOMعمدتاً بین ۷ تا ۹٪ باقی ماند. گونه $NiHCO_3^+$ نیز سهم نسبتاً ثابتی در حدود ۶ تا ۸٪ داشت و تغییرات آن در پاسخ به تیمارهای مختلف محدود بود. در میان گونه‌های هیدروکسیدی، $Ni(OH)^+$ سهم بیشتری نسبت به $Ni(OH)_2$ داشت. گونه $Ni(OH)^+$ حدود ۴ تا ۶ ٪ از کل نیکل محلول را تشکیل داد در حالی که $Ni(OH)_2$ تنها کسری بسیار ناچیز (کمتر از ۱٪) از گونه‌های محلول را شامل می‌شد و در مقایسه با سایر گونه‌ها نقش کمی در توزیع شیمیایی نیکل داشت. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که LDPE توزیع گونه‌های نیکل را به سمت افزایش سهم گونه آزاد Ni^{2+} و کاهش گونه کربناتی $NiCO_3$ هدایت کرد، در حالی که PLA با کاهش سهم Ni^{2+} و افزایش چشمگیر کمپلکس‌های آلی محلول (NiDOM)، الگوی گونه‌بندی متفاوتی ایجاد نمود. همچنین، اگرچه گونه‌های هیدروکسیدی سهم کمی در گونه‌بندی نیکل داشتند، اما سهم $Ni(OH)^+$ به‌طور پیوسته چندین برابر بیشتر از $Ni(OH)_2$ بود و بنابراین در میان گونه‌های هیدروکسیدی، $Ni(OH)^+$ گونه غالب محسوب می‌شد.

بررسی توزیع نسبی گونه‌های شیمیایی سرب (شکل۵) نشان داد که $PbCO_3$ گونه غالب محلول در تمامی تیمارها بود و بسته به نوع میکروپلاستیک و تلقیح باکتریایی، حدود ۳۴ تا ۵۷٪ از کل سرب محلول را تشکیل داد. در تیمار شاهد (بدون میکروپلاستیک)، سهم این گونه حدود ۵۴ تا ۵۷٪ بود، اما با افزودن LDPE، به‌ویژه در غلظت ۵ درصد، به حدود ۳۴ تا ۳۶٪ کاهش یافت. در مقابل، تیمارهای PLA کاهش ملایم‌تری در سهم $PbCO_3$ ایجاد کردند و این مقدار در محدوده ۴۱ تا ۵۲٪ باقی ماند. گونه ی کربناتی $PbHCO_3^+$ نیز سهمی در حدود ۱۴ تا ۱۷٪ از کل گونه‌های محلول را به خود اختصاص داد که تغییرات این گونه در بین تیمارها محدود بود.

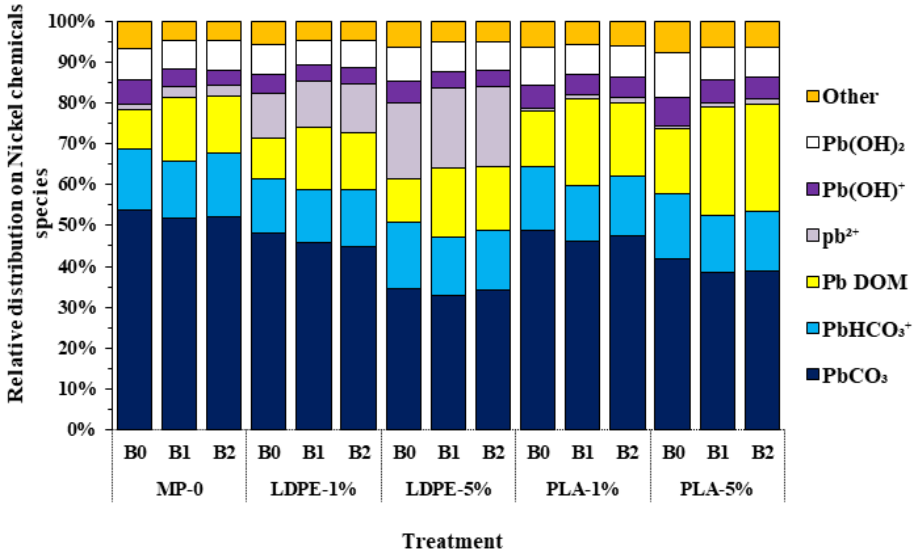


Figure 5. Relative distribution of lead (Pb) chemical species in the soil solution under different microplastic and PGPR treatments. MP, microplastics; LDPE, low-density polyethylene; PLA, polylactic acid; B0, no bacterial inoculation (control); B1, inoculation with *Pseudomonas fluorescens*; B2, inoculation with *Azospirillum lipoferum*.

سهم گونه PbDOM بیشترین تغییر را در پاسخ به تیمارها نشان داد. در تیمار شاهد، این گونه تنها حدود ۱۰٪ از کل سرب محلول را تشکیل می‌داد، اما در حضور PLA به‌طور چشمگیری افزایش یافت، به‌گونه‌ای که در تیمار ۵ درصد PLA سهم آن به حدود ۱۷٪ در غیاب باکتری و نزدیک به ۲۸٪ در حضور هر دو سویه باکتریایی رسید. در مقابل، در تیمارهای LDPE سهم PbDOMعمدتاً در محدوده ۱۰ تا ۱۸٪ باقی ماند و افزایش آن به مراتب کمتر از PLA بود.

در میان گونه‌های هیدروکسیدی، $Pb(OH)_2$ سهم بیشتری نسبت به $Pb(OH)^+$ داشت و حدود ۶ تا ۱۲٪ از کل گونه‌های محلول را شامل می‌شد. در حالی که سهم $Pb(OH)^+$ در محدوده ۴ تا ۷٪ قرار داشت. بیشترین سهم هر دو گونه نیز در تیمار ۵ درصد PLA مشاهده شد.گونه Pb^{2+} در تیمار شاهد حدود ۱ تا ۳٪ از کل سرب محلول را تشکیل می‌داد، اما در تیمارهای حاوی LDPE سهم آن به ۱۱ تا ۲۱٪ افزایش یافت و بیشترین مقدار در تیمار ۵ درصد LDPE مشاهده شد. در مقابل، در تیمارهای PLA سهم Pb^{2+} همچنان پایین (در حدود ۱٪) باقی ماند. همچنین، تلقیح هر دو سویه باکتریایی موجب افزایش جزئی سهم Pb^{2+} در تیمارهای حاوی LDPE شد، در حالی که در تیمارهای PLA تغییر محسوسی مشاهده نشد.

به‌طور کلی، نتایج نشان داد که LDPE توزیع گونه‌های سرب را به سمت افزایش سهم گونه آزاد (Pb^{2+}) و کاهش گونه‌های کربناتی هدایت کرد، در حالی که PLA با افزایش سهم گونه‌های کمپلکس‌شده با ماده آلی محلول (PbDOM) و گونه‌های هیدروکسیدی، به ویژه $Pb(OH)_2$، الگوی گونه‌بندی متفاوتی نسبت به LDPE ایجاد نمود. این تفاوت در توزیع نسبی گونه‌ها نشان‌دهنده اثر متمایز دو نوع میکروپلاستیک بر توزیع گونه های شیمیایی سرب در محلول خاک است.

بحث

اثر تیمارهای آزمایش بر برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک

نتایج این پژوهش نشان داد که نوع میکروپلاستیک نقش تعیین‌کننده‌ای در تغییر ویژگی‌های شیمیایی خاک مورد مطالعه داشت، به‌طوری‌که LDPE موجب کاهش pH و افزایش هدایت الکتریکی شد، در حالی که PLA سبب افزایش pH گردید. مطالعات پیشین نیز کاهش pH خاک در اثر آلودگی با پلی‌اتیلن را گزارش کرده‌اند (Wang etal, 2021, Palansooriya et al, 2022, Ding et al, 2022,). بتانیس و گولیا (Bethanis & Golia,2022) نشان دادند که کاربرد ۲/۵ و ۵ درصد LDPE به‌ترتیب pH را ۲/۹و ۵/۴ درصد کاهش داد. رانگ و همکاران (Rong et al., 2021) اظهار داشتند که میکروپلاستیک‌های پلی اتیلن می‌توانند فراوانی باکتری‌های اکسید کننده آمونیاک و نیتریفیکانتورها را تغییر دهند و این باکتری‌ها با آزادسازی یون H^+ سبب کاهش pH شوند. از سوی دیگر وانگ و همکاران (Wang et al., 2023) کاهش معنی‌دار در فراوانی نیتریفیکانتورها را در حضور ۱۰ درصد پلی لاکتیک اسید دلیل افزایش pH در حضور این میکروپلاستیک دانستند. این افزایش pH در حضور PLAدر مطالعه حاضر نیز مشاهده شد و با نتایج فنگ و همکاران(Feng et al., 2022)، لیو و همکاران (Liu et al.,2023)، وانگ و همکاران (Wang et al., 2020) و شو و همکاران (Xu et al., 2024) مطابقت داشت. افزایش هدایت الکتریکی خاک در حضور میکروپلاستیک‌ها، به‌ویژه پلی اتیلن، نیز در مطالعات پیشین گزارش شده است (Palansooriya et al, 2022, Zhao et al, 2023, Li et al, 2024). پالانسوریا و همکاران (Palansooriya et al., 2022) افزایش فعالیت گروهی از میکروب‌ها در حضور میکروپلاستیک پلی اتیلن و به دنبال آن افزایش تجزیه مواد آلی و آزادسازی آمونیوم، فسفات، پتاسیم، کلسیم و سایر یون های غیرآلی را علت افزایش هدایت الکتریکی خاک دانستند. نتایج همچنین نشان داد که تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب کاهش pH و افزایش EC شد، این نتیجه با گزارش لی و همکاران (Li et al., 2020) و عبدالهی و همکاران (Abdollahi et al., 2020) مطابقت دارد که کاهش pH را به ترشح اسیدهای آلی توسط PGPR نسبت داده‌اند. این پژوهشگران همچنین بیان کردند که افزایش فعالیت میکروبی و آنزیمی، انحلال ترکیبات نامحلول فسفر و پتاسیم و تثبیت نیتروژن توسط PGPR موجب افزایش غلظت عناصر غذایی محلول و در نتیجه افزایش هدایت الکتریکی خاک می‌شود.

در این مطالعه، اثر متقابل میکروپلاستیک و PGPR تنها برای DOC معنی‌دار بود. در غیاب باکتری‌ها، میکروپلاستیک‌ها تغییر محسوسی در مقدار DOC ایجاد نکردند، اما در حضورPGPR، به‌ویژه در تیمارهایPLA ، غلظت DOC به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. مطالعات متعددی بر نقش میکروپلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر، از جمله پلی لاکتیک اسید، در افزایش DOC خاک تأکید کرده‌اند. لی و همکاران (Li et al., 2024) و سو و همکاران (Soo et al., 2024) گزارش کردند که کربن موجود در پلی لاکتیک اسید در مقایسه با پلی اتیلن به راحتی توسط ریزجانداران تجزیه شده و به پلیمرهای محلول در آب تبدیل می‌شود. این ترکیبات محلول سپس به‌عنوان منبع کربن در دسترس برای ریزجانداران مورد استفاده قرار می‌گیرند و در نهایت موجب افزایش DOC خاک می‌شوند. به طور مشابه، سان و همکاران (Sun et al., 2022) نیز اثرات میکروپلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر مانند پلی‌بوتیلن سوکسینات و پلی لاکتیک اسید را بر DOC خاک در مقایسه با میکروپلاستیک‌های غیرزیست‌تخریب‌پذیر نظیر پلی اتیلن و پلی استایرن گزارش کردند.

همچنین، چن و همکاران (Chen et al., 2020)، فنگ و همکاران (Feng et al., 2022) و وانگ و همکاران (Wang et al., 2022) افزایش غلظت DOC خاک را به‌ترتیب پس از افزودن ۲، ۲ و ۱۰ درصد PLA به خاک گزارش کردند که این یافته‌ها نقش مهم PLA در تغییر پویایی کربن خاک را تأیید می‌کند. در مورد میکروپلاستیک‌های غیرزیست‌تخریب‌پذیر مانند LDPE، برخی پژوهشگران افزایش DOC خاک را به تغییرات فیزیکی خاک نسبت داده‌اند. به‌طور مشخص، کاهش چگالی ظاهری خاک و افزایش تخلخل و تهویه ناشی از حضور میکروپلاستیک‌ها، به‌ویژه انواع غیرزیست‌تخریب‌پذیر، می‌تواند فعالیت زیستی را تقویت کند. این افزایش فعالیت زیستی در نهایت موجب تسریع تجزیه مواد آلی خاک و افزایش DOC می‌شود (Joos & De Tender, 2022; Shi et al., 2022; Yang et al., 2018).

اثر تیمارهای آزمایش بر گونه‌بندی نیکل و سرب در فاز محلول خاک

نتایج این پژوهش نشان داد که نوع میکروپلاستیک موجب تغییر الگوی گونه‌بندی هر دو فلز نیکل و سرب در محلول خاک مورد مطالعه شد، اما شدت و نحوه پاسخ این دو فلز یکسان نبود. در تیمارهای LDPE، سهم گونه‌های آزاد Ni^{2+} و Pb^{2+} افزایش یافت و همزمان سهم گونه‌های کربناتی و هیدروکسیدی کاهش پیدا کرد، در حالی که کاربرد PLA موجب کاهش گونه‌های آزاد و افزایش گونه‌های کمپلکس‌شده با ماده آلی محلول (DOM) و در برخی موارد گونه‌های هیدروکسیدی گردید. این تغییرات را می‌توان در چارچوب نقش pH و DOC در کنترل تعادل گونه‌های شیمیایی فلزات تفسیر کرد. الگوی گونه‌بندی به‌دست‌آمده در این پژوهش با نتایج تجربی مطالعه پیشین بر روی همین خاک و تیمارها همخوانی دارد. در آن مطالعه، تیمار ۵ درصد LDPE که در پژوهش حاضر با افزایش سهم گونه‌های آزاد Ni^{2+} و Pb^{2+} همراه است، غلظت Ni را در اندام هوایی و ریشه ذرت به‌ترتیب ۴۸/۷ و ۴۸/۲۷ درصد و غلظت Pb را به‌ترتیب ۳۷/۱۲ و ۵۹/۲۳ درصد افزایش داد. در مقابل، در تیمار ۵ درصد PLA که سهم گونه‌های کمپلکس‌شده با ماده آلی محلول افزایش یافت، غلظت Ni در اندام هوایی و ریشه به‌ترتیب ۲۲/۰۵ و ۱۷/۹۳ درصد و غلظت Pb به‌ترتیب ۳۳/۲۷ و ۱۲/۳۰ درصد کاهش پیدا کرد (Shabani et al., 2025). این همخوانی نشان می‌دهد که افزایش سهم گونه‌های آزاد در محلول خاک می‌تواند با افزایش دسترسی و انتقال فلزات به گیاه همراه باشد، در حالی که افزایش کمپلکس‌شدن فلزات با ماده آلی محلول ممکن است با کاهش بخش قابل‌جذب فلزات توسط گیاه همراه شود.

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که pH مهم‌ترین عامل کنترل‌کننده گونه‌بندی، تحرک و فعالیت ترمودینامیکی نیکل در محلول خاک است و نقش سایر ویژگی‌های خاک مانند ماده آلی، رس و اکسیدهای آهن در مرتبه بعد قرار می‌گیرد (Ge et al., 2000, Sauvé et al., 2000, Tye et al., 2004, Iyaka, 2011). در پژوهش حاضر نیز تغییرات گونه‌بندی نیکل بیش از

همه با تغییرات pH همخوانی داشت، به‌طوری که کاهش pH در تیمارهای LDPE با افزایش سهم یون آزاد Ni^{2+} و کاهش گونه‌های $NiCO_3$، $NiOH^+$ و $Ni(OH)_2$ همراه بود، در حالی که افزایش pH در تیمارهای PLA روندی معکوس ایجاد کرد. نتایج این پژوهش با گزارش جلالی و طاهروند (Jalali & Tahervand., 2016) نیز همخوانی دارد. این پژوهشگران با بررسی گونه‌بندی نیکل در خاک‌های آهکی و مدل‌سازی با Visual MINTEQ نشان دادند که نیکل در محدوده pH ۲ تا ۹ عمدتاً به صورت یون آزاد Ni^{2+} در محلول خاک حضور دارد، و با افزایش pH، سهم گونه آزاد کاهش یافته و در مقابل، سهم گونه‌های کربناتی ($NiCO_3$) و هیدروکسیدی ($NiOH^+$) افزایش می‌یابد. به همین ترتیب، در مطالعه حاضر نیز Ni^{2+} در تمامی تیمارها گونه غالب نیکل بود، که افزایش pH در تیمارهای PLA با کاهش سهم Ni^{2+} و افزایش گونه‌های کربناتی و هیدروکسیدی همراه بود. افزایش DOC نیز نقش مهمی در تغییر گونه‌بندی نیکل داشت. برخی مطالعات گذشته اظهار داشته اند که افزایش DOCاز طریق تشکیل کمپلکس‌های آلی، توزیع فلزات بین گونه‌های آزاد و کمپلکس‌شده را تغییر می‌دهد (Chen et al, 2003, Cornu et al, 2011, Ren et al,2015). مطالعات Weng و همکاران (Weng et al., 2003) نیز نشان داد که افزایش pHباعث افزایش DOC محلول شده و در نتیجه تشکیل کمپلکس‌های نیکل با ماده آلی محلول افزایش می‌یابد که پیامد آن کاهش سهم یون آزاد Ni^{2+} است. بنابراین افزایش معنی‌دار گونه NiDOM در تیمارهایPLA، به‌ویژه در حضورPGPR، با افزایش DOC مشاهده‌شده در همین پژوهش کاملاً همخوانی دارد.

برای سرب، گونه غالب در تمامی تیمارها $PbCO_3$ بود و سهم یون آزاد سرب Pb^{2+} در بیشترین مقدار خود (تیمار ۵ درصد LDPE) به حدود ۲۱٪ از کل غلظت سرب محلول رسید. این در حالی است که کمترین سهم یون آزاد نیکل Ni^{2+} در تیمار ۵ درصد PLA حدود ۲۶٪ بود. این الگوی گونه‌بندی نشان می‌دهد که نیکل حتی در شرایطی که تشکیل گونه‌های کربناتی، هیدروکسیدی و آلی آن افزایش می‌یابد، همچنان تمایل بیشتری به حضور به صورت یون آزاد در محلول خاک دارد، در حالی که سرب عمدتاً به صورت گونه‌های کمپلکس‌شده، به‌ویژه در خاک مورد مطالعه به شکل گونه‌های کربناتی، حضور دارد. این یافته با نتایج رن و همکاران (Ren et al., 2015) که با استفاده از مدل Visual MINTEQ گونه‌بندی فلزات را بررسی کردند، مطابقت دارد. آنها دریافتند که نیکل در اغلب محلول‌های خاک عمدتاً به صورت یون آزاد حضور دارد، در حالی که گونه‌بندی سرب وابستگی بیشتری به شرایط شیمیایی محلول خاک و میزان لیگاندهای موجود دارد و سهم گونه‌های کمپلکس‌شده در سرب به مراتب بیشتراز نیکل است. همچنین ونگ و همکاران (Weng et al, 2002) گزارش کردند که کمپلکس شدن با ماده آلی محلول برای سرب بسیار مهم‌تر از نیکل است. در این مطالعه در تیمارهای حاوی PLA همراه با PGPR که بیشترین افزایش DOC را ایجاد کردند، میانگین سهم Ni^{2+} (۳۴/۷۶٪) همچنان بیشتر از NiDOM (۲۱/۹۷٪) بود. در مقابل، برای سرب، میانگین سهم PbDOM (۲۴/۲۹٪) به‌مراتب بیشتر از Pb^{2+} (۱/۲۳٪) بود. این تفاوت نشان می‌دهد که افزایش DOC در شرایط این پژوهش نیز، تشکیل کمپلکس‌های آلی را در سرب بسیار بیشتر از نیکل تقویت کرده است.

نتایج حاضر همچنین نشان داد که افزایش pH در تیمارهای PLA موجب افزایش گونه‌های هیدروکسیدی هر دو فلز شد، اما نوع گونه غالب در دو فلز متفاوت بود. در نیکل، گونه $NiOH^+$ سهم بیشتری نسبت به $Ni(OH)_2$ داشت، در حالی که در سرب، گونه $Pb(OH)_2$ فراوان‌تر از $PbOH^+$ بود. این تفاوت با رفتار ترمودینامیکی هیدرولیز این دو فلز مطابقت دارد. بر اساس گزارش براون و اکبرگ (Brown& Ekberg, 2016) یون Pb^{2+} نسبت به Ni^{2+} تمایل بیشتری به هیدرولیز دارد و درpH های پایین‌تر وارد مراحل بعدی هیدرولیز می‌شود، ازاین‌رو تشکیل $Pb(OH)_2(aq)$ نسبت به $PbOH^+$ سهم بیشتری دارد، در حالی که در نیکل، گونه $NiOH^+$ محصول غالب مرحله نخست هیدرولیز بوده و تشکیل $Ni(OH)_2(aq)$ در شرایط خنثی تا کمی قلیایی محدودتر است. الگوی مشاهده‌شده در این پژوهش نیز دقیقاً با این رفتار ترمودینامیکی مطابقت داشت.

تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه گونه‌بندی هر دو فلز را تحت تأثیر قرار داد، اما الگوی تغییرات نشان می‌دهد که این اثر احتمالاً از دو مسیر متفاوت اعمال شده است. همان‌گونه که در بخش قبل بحث شد، PGPR ها موجب کاهش pH خاک شدند، در حالی که در حضور PLA افزایش معنی‌دار DOC نیز مشاهده گردید. کاهش pH می‌تواند تعادل گونه‌بندی را به سمت افزایش گونه‌های یونی هدایت کند، در حالی که افزایش DOC با فراهم کردن لیگاندهای آلی، تشکیل کمپلکس‌های فلز–ماده آلی را تقویت می‌کند (Chen et al.,2003; Shahid, 2010; Cornu et al., 2011; Ren et al., 2015). در مطالعه حاضر نیز افزایش غلظت یون‌های آزاد Ni^{2+} و Pb^{2+} در حضور PGPR را می‌توان در ارتباط با کاهش pH تفسیر کرد، در حالی که افزایش گونه‌های NiDOM و PbDOM در حضور PGPR و در تیمارهای PLA مشاهده شد، تیمارهایی که افزایش DOC نیز در آن‌ها معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری

نتایج مدل Visual MINTEQ در پیش‌بینی و تعیین سهم گونه‌های شیمیایی مختلف Ni و Pb در محلول خاک، مبنایی برای تفسیر الگوی گونه‌بندی مشاهده‌شده در تیمارهای مختلف فراهم کرد. یافته ها نشان دادند که میکروپلاستیک‌ها و باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق تغییر ویژگی‌های ژئوشیمیایی محلول خاک، به‌ویژه pH و DOC، نقش مهمی در کنترل گونه‌بندی شیمیایی سرب و نیکل در فاز محلول خاک ایفا می‌کنند. نوع پلیمر، عامل اصلی تعیین‌کننده مسیر تغییرات گونه‌بندی فلزات بود؛ به‌گونه‌ای که پلی‌اتیلن سبک (LDPE) با کاهش pH، سهم گونه‌های آزاد Ni^{2+} و Pb^{2+} را افزایش و سهم گونه‌های کربناتی و هیدروکسیدی را کاهش داد، در حالی که PLA با افزایش pH و به‌ویژه افزایش DOC، تشکیل کمپلکس‌های آلی فلزات را تقویت کرد. برخلاف نیکل که گونه‌بندی آن عمدتاً توسط pH کنترل شد، گونه‌بندی سرب وابستگی بیشتری به DOC داشت. ازاین‌رو، افزایش DOC ناشی از حضور PLA و باکتری‌های محرک رشد گیاه، تعادل گونه‌های سرب را به سمت تشکیل کمپلکس‌های آلی سوق داد، در حالی که گونه غالب نیکل در تمامی تیمارها همچنان یون آزاد Ni^{2+} باقی ماند. این تفاوت نشان می‌دهد که مکانیسم‌های کنترل‌کننده گونه‌بندی نیکل و سرب در خاک یکسان نیستند و هر فلز به محرک‌های ژئوشیمیایی متفاوتی پاسخ می‌دهد. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که میکروپلاستیک‌های زیست‌تخریب‌پذیر و غیرزیست‌تخریب‌پذیر از دو مسیر ژئوشیمیایی متفاوت، گونه بندی و سرنوشت فلزات سنگین را در خاک کنترل می‌کنند؛ به‌طوری‌که LDPE با افزایش سهم گونه‌های آزاد، پتانسیل تحرک و فراهمی زیستی فلزات را افزایش می‌دهد، در حالی که PLA بیشتر موجب تغییر الگوی گونه‌بندی از طریق تشکیل کمپلکس‌های آلی می‌شود. این یافته‌ها اهمیت در نظر گرفتن همزمان نوع میکروپلاستیک و فعالیت میکروبی را در ارزیابی خطر زیست‌محیطی، پیش‌بینی تحرک و پتانسیل فراهمی زیستی فلزات سنگین و طراحی راهبردهای مدیریت خاک‌های آلوده نشان می‌دهد. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های آینده، پایداری بلندمدت این تغییرات در شرایط مزرعه و نقش سایر انواع میکروپلاستیک‌ها و جوامع میکروبی بر گونه‌بندی و انتقال فلزات سنگین نیز مورد بررسی قرار گیرد.

References

Abdollahi, S., Golchin, A., Shahryari, F., & Alamdari, P. (2022). PGPR inoculation of a contaminated soil affects plant growth and phytoavailability of Cd and Pb. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *68*(5), 579-596. https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1843157

Barus, B. S., Chen, K., Cai, M., Li, R., Chen, H., Li, C., & Cheng, S. Y. (2021). *Heavy metal adsorption and release on polystyrene particles at various salinities. Front Mar Sci 8:* 671802.https://doi.org/10.3389/fmars.2021.671802.

Bethanis, J., & Golia, E. E. (2023). Revealing the combined effects of microplastics, Zn, and Cd on soil properties and metal accumulation by leafy vegetables: a preliminary investigation by a laboratory experiment. *Soil Systems*, *7*(3), 65. https://doi.org/10.3390/soilsystems7030065

Boots, B., Russell, C. W., & Green, D. S. (2019). Effects of Microplastics in Soil Ecosystems: Above and below Ground. *Environmental Science and Technology*, *53*(19), 11496–11506. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03304

Bouyoucos, G. J. (1962). Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils 1. *Agronomy journal*, *54*(5), 464-465. https://doi.org/10.2134/agro nj1962.00021962005400050028x

Brandstetter, A., Sletten, R. S., Mentler, A., & Wenzel, W. W. (1996). Estimating dissolved organic carbon in natural waters by UV absorbance (254 nm). Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 159(6), 605–607. https://doi.org/10.1002/jpln.1996.3581590612

Brown, P. L., & Ekberg, C. (2016). Hydrolysis of metal ions (Vol. 1). John Wiley & Sons.

Chen, H., Wang, Y., Sun, X., Peng, Y., & Xiao, L. (2020). Mixing effect of polylactic acid microplastic and straw residue on soil property and ecological function. *Chemosphere*, *243*, 125271. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125271 PMID: 31760289

Chen, M, Cao, M., Zhang, W., Chen, X., Liu, H., Ning, Z., others, & Li, Q. (2024). Effect of biodegradable PBAT microplastics on the C and N accumulation of functional organic pools in tropical latosol. *Environment International*, *183*, 108393. https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.108393

Chen, Q., Shi, G., Revell, L. E., Zhang, J., Zuo, C., Wang, D., & Mitrano, D. M. (2023). Long-range atmospheric transport of microplastics across the southern hemisphere. *Nature Communications*, *14*(1), 7898. https://doi.org/10.1038/s41467- 023-43695-0.

Chen, Y. X., Lin, Q., Luo, Y. M., He, Y. F., Zhen, S. J., Yu, Y. L., ... & Wong, M. H. (2003). The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere*, *50*(6), 807-811

Cornu, J. Y., Schneider, A., Jezequel, K., & Denaix, L. (2011). Modelling the complexation of Cd in soil solution at different temperatures using the UV-absorbance of dissolved organic matter. *Geoderma*, *162*(1-2), 65-70.

Ding, L., Huang, D., Ouyang, Z., & Guo, X. (2022). The effects of microplastics on soil ecosystem: A review. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, *26*, 100344. https://doi.org/10.1016/j.coesh.2022.100344

Dumat, C., Quenea, K., Bermond, A., Toinen, S., & Benedetti, M. F. (2006). Study of the trace metal ion influence on the turnover of soil organic matter in cultivated contaminated soils. *Environmental Pollution*, *142*(3), 521-529.

El-Meihy, R. M., Abou-Aly, H. E., Youssef, A. M., Tewfike, T. A., & El-Alkshar, E. A. (2019). Efficiency of heavy metals-tolerant plant growth promoting bacteria for alleviating heavy metals toxicity on sorghum. *Environmental and Experimental Botany*, *162*, 295-301. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.03.005

Feng, X., Wang, Q., Sun, Y., Zhang, S., & Wang, F. (2022). Microplastics change soil properties, heavy metal availability and bacterial community in a Pb-Zn-contaminated soil. *Journal of Hazardous materials*, *424*, 127364.1

Ge, Y., Murray, P., & Hendershot, W. H. (2000). Trace metal speciation and bioavailability in urban soils. *Environmental Pollution*, *107*, 137–144.

Ghani, A., Dexter, M., & Perrott, K. W. (2003). Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil biology and biochemistry*, *35*(9), 1231-1243.

Gustafsson, J. P. (2011). Visual MINTEQ, version 3.1. Department of Land and Water Resources Engineering, Royal Institute of Technology (KTH), Stockholm, Sweden.

Hüffer, T., Hofmann, T., 2016. Sorption of non-polar organic compounds by micro-sized plastic particles in aqueous solution. Environmental *Pollution*, *214*, 194–201. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.018.

Iyaka, Y. A. (2011). Nickel in soils: a review of its distribution and impacts. Scientific Research and Essays, *6*, 6774–6777.

Joos, L., & De Tender, C. (2022). Soil under stress: The importance of soil life and how it is influenced by (micro) plastic pollution. *Computational and structural biotechnology journal*, *20*, 554-1566

Kalis, E. J., Temminghoff, E. J., Town, R. M., Unsworth, E. R., & van Riemsdijk, W. H. (2008). Relationship between metal speciation in soil solution and metal adsorption at the root surface of ryegrass. *Journal of Environmental Quality*, 37(6), 2221-2231.

Karamanlioglu, M., Preziosi, R., & Robson, G.D. (2017). Abiotic and biotic environmental degradation of the bioplastic polymer poly (lactic acid): a review. *Polymer Degradation and stability*, *137*, 122–130. https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2017.01.009.

Khalid, N., Aqeel, M., Noman, A., Khan, S. M., & Akhter, N. (2021). Interactions and effects of microplastics with heavy metals in aquatic and terrestrial environments. *Environmental Pollution*, *290*, 118104.

Koelmans, A. A., Redondo-Hasselerharm, P. E., Nor, N. H. M., de Ruijter, V. N., Mintenig, S. M., & Kooi, M. (2022). Risk assessment of microplastic particles. *Nature Reviews Materials*, *7*(2), 138-152

Li, H., Qiu, Y., Yao, T., Ma, Y., Zhang, H., & Yang, X. (2020). Effects of PGPR microbial inoculants on the growth and soil properties of Avena sativa, Medicago sativa, and Cucumis sativus seedlings. *Soil and Tillage Research*, *199*, 104577. https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104577

Li, Q., Yan, J., Li, Y., Liu, Y., Andom, O., & Li, Z. (2024). Microplastics alter cadmium accumulation in different soil-plant systems: Revealing the crucial roles of soil bacteria and metabolism. *Journal of Hazardous Materials*, 134768

Li, X., Mei, Q., Chen, L., Zhang, H., Dong, B., Dai, X., He, C., Zhou, J., 2019. Enhancement in adsorption potential of microplastics in sewage sludge for metal pollutants after the wastewater treatment process. *Water Research*. 157, 228–237. https:// doi.org/10.1016/j.watres.2019.03.069.

Lindsay WL, Norvell WA. Development of a DTPA Soil Test for Zinc, Iron, Manganese, and Copper. Soil Sci Soc Am J. 1978; *42*(3):421–8. https:// doi.org/10.2136/sssaj1978.03615995004200030009x

Liu, S., Huang, J., Zhang, W., Shi, L., Yi, K., Zhang, C., & Li, S. (2022). Investigation of the adsorption behavior of Pb (II) onto natural-aged microplastics as affected by salt ions. *Journal of Hazardous Materials*, *431*, 128643. https://doi.org/10.1016/j. jhazmat.2022.128643.

Liu, Y., Cui, W., Li, W., Xu, S., Sun, Y., Xu, G., & Wang, F. (2023). Effects of microplastics on cadmium accumulation by rice and arbuscular mycorrhizal fungal communities in cadmium-contaminated soil. Journal of Hazardous Materials, *442*, 130102. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130102

Palansooriya, K. N., Sang, M. K., Igalavithana, A. D., Zhang, M., Hou, D., Oleszczuk, P., & Ok, Y. S. (2022). Biochar alters chemical and microbial properties of microplastic-contaminated soil. *Environmental Research*, *209*, 112807.

Ren, Z. L., Tella, M., Bravin, M. N., Comans, R. N., Dai, J., Garnier, J. M., ... & Benedetti, M. F. (2015). Effect of dissolved organic matter composition on metal speciation in soil solutions. *Chemical Geology*, *398*, 61-69.

Rhoades, J. D. 1996. *Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids*. PP. 417-435. D.L. Sparks (Eds.), Soil Science Society of America book series, adison. https://doi.org/10.2136/sssabookser5.3.c14

Rong, L., Zhao, L., Zhao, L., Cheng, Z., Yao, Y., Yuan, C., & Sun, H. (2021). LDPE microplastics affect soil microbial communities and nitrogen cycling. *Science of the Total Environment*, *773*, 145640.

Sauvé, S., McBride, M., & Hendershot, W. (1998). Soil solution speciation of lead (II): Effects of organic matter and pH. *Soil Science Society of America Journal*, *62*(3), 618-621.

Schreck, E., Foucault, Y., Geret, F., Pradère, P., & Dumat, C. (2011). Influence of soil ageing on bioavailability and ecotoxicity of lead carried by process waste metallic ultrafine particles. *Chemosphere*, *85*(10), 1555-1562.

Shabani, A., Ghasemi-Fasaei, R., Zarei, M., & Abbasi, S. (2025). Combined effects of heavy metals and microplastics on maize grown in acid and alkaline soils inoculated with plant growth promoting rhizobacteria. PLOS ONE, 20(12), e0338112. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0338112

Shahid, M. (2010). Lead-induced toxicity to *Vicia faba* L. in relation with metal cell uptake and initial speciation (Doctoral dissertation, PhD Thesis, INPT, Toulouse-France).

Shahid, M., Dumat, C., Aslam, M., & Pinelli, E. (2012). Assessment of lead speciation by organic ligands using speciation models. *Chemical Speciation & Bioavailability*, *24*(4), 248-252.

Shi, J., Wang, J., Lv, J., Wang, Z., Peng, Y., Shang, J., & Wang, X. (2022). Microplastic additions alter soil organic matter stability and bacterial community under varying temperature in two contrasting soils. *Science of the Total Environment*, *838*, 156471.

Singh, P., Chauhan, P. K., Upadhyay, S. K., Singh, R. K., Dwivedi, P., Wang, J., ... & Jiang, M. (2022). Mechanistic insights and potential use of siderophores producing microbes in rhizosphere for mitigation of stress in plants grown in degraded land. *Frontiers in microbiology*, *13*, 898979. https://doi.org/10.3389/ fmicb.2022.898979 PMID: 35898908

Soo, X.Y.D., Jia, L., Lim, Q.F., Chua, M.H., Wang, S., Hui, H.K., See, J.M.R., Chen, Y., Li, J., Wei, F., Tomczak, N., Kong, J., Loh, X.J., Fei, X., Zhu, Q., 2024. Hydrolytic degradation and biodegradation of polylactic acid electrospun fibers. *Chemosphere 350*, 141186. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141186.

Sparks DL, Helmke PA, Loeppert RH, Soltanpour PN, Tabatabai MA, Johnston CT, et al. Methods of Soil Analysis: Part 3 Chemical Methods. Soil Science Society of America, Inc., *American Society of Agronomy*, Inc.; 1996.

Suavé, S., Hendershot, W., & Allen, H. E. (2000). Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environmental Science and Technology*, *34*, 1125–1131.

Sumner, M. E., & Miller, W. P. (1996). Cation exchange capacity and exchange coefficients. *Methods of soil analysis: Part 3 Chemical methods*, *5*, 1201-1229.

Sun, Y.; Li, X.; Li, X.; Wang, J. Deciphering the fingerprint of dissolved organic matter in the soil amended with biodegradable and conventional microplastics based on optical and molecular signatures. Environ. Sci. Technol. 2022, *56*, 15746−15759.

Surendran, U., Jayakumar, M., Raja, P., Gopinath, G., Chellam, P.V., 2023. Microplastics in terrestrial ecosystem: sources and migration in soil environment. *Chemosphere 318*, 137946. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137946.

Tahervand, S., & Jalali, M. (2016). Sorption, desorption, and speciation of Cd, Ni, and Fe by four calcareous soils as affected by pH. *Environmental monitoring and assessment*, *188* (6), 322.

Thompson, R. C., Olsen, Y., Mitchell, R. P., Davis, A., Rowland, S. J., John, A. W., ... & Russell, A. E. (2004). Lost at sea: where is all the plastic?. *Science*, *304*(5672), 838-838. https://doi.org/10.1126/science.1094559.

Tipping, E., 2002. *Cation Binding by Humic Substances*. Cambridge University Press, Cambridge.

Tye, A. M., Young, S., Crout, N. M. J., Zhang, H., Preston, S., Zhao, F. J., & McGrath, S. P. (2004). Speciation and solubility of Cu, Ni and Pb in contaminated soils. *European Journal of Soil Science*, *55*(3), 579-590.

Vega, F. A., Andrade, M. L., & Covelo, E. F. (2010). Influence of soil properties on the sorption and retention of cadmium, copper and lead, separately and together, by 20 soil horizons: comparison of linear regression and tree regression analyses. *Journal of Hazardous Materials*, *174* (1-3), 522-533.

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.

Wang, F., Wang, X., & Song, N. (2021). Polyethylene microplastics increase cadmium uptake in lettuce (Lactuca sativa L.) by altering the soil microenvironment. *Science of the Total Environment*, *784*, 147133. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147133 PMID: 33895518

Wang, F., Zhang, X., Zhang, S., Zhang, S., & Sun, Y. (2020). Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil. *Chemosphere*, *254*, 126791.

Wang, F., Zhang, X., Zhang, Shuqi, Zhang, Shuwu, Adams, C.A., Sun, Y., 2020a. Effects of co-contamination of microplastics and Cd on plant growth and Cd accumulation. *Toxics, 8*, 36. https://doi.org/10.3390/toxics8020036.

Wang, Q., Feng, X., Liu, Y., Cui, W., Sun, Y., Zhang, S., & Wang, F. (2022). Effects of microplastics and carbon nanotubes on soil geochemical properties and bacterial communities. *Journal of Hazardous Materials*, *433*, 128826.

Wang, Q., Feng, X., Liu, Y., Li, W., Cui, W., Sun, Y., & Xing, B. (2023). Response of peanut plant and soil N-fixing bacterial communities to conventional and biodegradable microplastics. *Journal of hazardous materials*, *459*, 132142.

Weng, L., Lexmond, T. M., Wolthoorn, A., Temminghoff, E. J., & van Riemsdijk, W. H. (2003). Phytotoxicity and bioavailability of nickel: chemical speciation and bioaccumulation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *22*(9), 2180-2187.

Weng, L., Temminghoff, E.J.M., Lofts, S., Tipping, E., Van Riemsdijk, W.H., 2002. Complexation with dissolved organic matter and solubility control of heavy metals in a sandy soil. Environ. Sci. Technol. *36*, 4804e4810.

Xu, S., Zhao, R., Sun, J., Sun, Y., Xu, G., & Wang, F. (2024). Microplastics change soil properties, plant performance, and bacterial communities in salt-affected soils. *Journal of Hazardous Materials*, *471*, 134333

Yang, X., Bento, C. P., Chen, H., Zhang, H., Xue, S., Lwanga, E. H., & Geissen, V. (2018). Influence of microplastic addition on glyphosate decay and soil microbial activities in Chinese loess soil. *Environmental Pollution*, *242*, 338-347.

Yuan, W., Zhou, Y., Chen, Y., Liu, X., Wang, J., 2020. Toxicological effects of microplastics and heavy metals on the Daphnia magna. Sci. Total Environ. *746*, 141254 https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141254.

Zhao, L.Y.L., Schulin, R., Weng, L., Nowack, B., 2007. Coupled mobilization of dissolved organic matter and metals (Cu and Zn) in soil columns. Geochim. Cosmochim. Acta71, 3407–3418.

Zhao, M., Xu, L., Wang, X., Li, C., Zhao, Y., Cao, B., Zhang, C., Zhang, J., Wang, J., Chen, Y., & Zou, G. (2023). Microplastics promoted cadmium accumulation in maize plants by improving active cadmium and amino acid synthesis. Journal of Hazardous Materials (Vol. 447). https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130788

Zhao, M., Xu, L., Wang, X., Li, C., Zhao, Y., Cao, B., Zhang, C., Zhang, J., Wang, J., Chen, Y., & Zou, G. (2023). Microplastics promoted cadmium accumulation in maize plants by improving active cadmium and amino acid synthesis. Journal of Hazardous Materials (Vol. 447). https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130788