

微塑料在非降解过程中对融合菌株F14的影响

周昌鑫, 侯彬, 郭学涛, 高乔, 刘怡暄, 卢静

引用本文:

周昌鑫, 侯彬, 郭学涛, 等. 微塑料在非降解过程中对融合菌株F14的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(2): 364–370.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0910>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

多环芳烃降解菌的细胞融合及降解性能研究

卢静, 侯彬, 郭楚玲

农业环境科学学报. 2015(6): 1134–1141 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.06.017>

生物质炭固定化融合菌株F14方法的研究及其对茚的去除

张松, 侯彬, 纪婷婷, 刘阳, 黄飞, 秦梓菲, 卢静

农业环境科学学报. 2018, 37(3): 464–470 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1337>

不同土壤环境因素对微塑料吸附四环素的影响

杨杰, 仓龙, 邱炜, 杨江俐, 周东美

农业环境科学学报. 2019, 38(11): 2503–2510 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0490>

不同地膜覆盖对土壤环境及芋艿生长的影响

白娜玲, 张海韵, 张翰林, 郑宪清, 李双喜, 张娟琴, 何宇, 吕卫光

农业环境科学学报. 2020, 39(11): 2569–2577 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0476>

苯并[a]芘对毛霉EPS特征的影响

唐蕊, 邵红, 贾春云, 张作金, 陈祥

农业环境科学学报. 2019, 38(4): 765–772 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0852>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

周昌鑫, 侯彬, 郭学涛, 等. 微塑料在非降解过程中对融合菌株 F14 的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(2): 364–370.

ZHOU Chang-xin, HOU Bin, GUO Xue-tao, et al. Effect of microplastics on fusion strain F14 during phenanthrene degradation[J].

Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40(2): 364–370.



开放科学 OSID

微塑料在非降解过程中对融合菌株 F14 的影响

周昌鑫¹, 侯彬¹, 郭学涛², 高乔¹, 刘怡暄¹, 卢静^{1*}

(1. 中北大学环境与安全工程学院, 太原 030051; 2. 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:以聚乙烯微塑料(Polyethylene Microplastics, PE-MPs)为对象,探究其对融合菌株 F14 在降解菲过程中的影响。采用扫描电镜(SEM)对添加 PE-MPs 前后细胞形态进行表征,结果显示,添加 PE-MPs 后的细胞呈现明显的凹陷,且胞外聚合物明显增多;采用傅里叶变换光谱(FTIR)对 F14 菌株细胞表面化学成分进行表征,发现在接触 PE-MPs 后,菌株细胞表面的碳水化合物、多糖和酰胺的吸收强度发生了相对变化,蛋白质、核酸、多糖的相对含量明显增加;细胞活性氧测试表明,随着 PE-MPs 浓度的增加和培养时间的延长, F14 细胞内活性氧含量逐渐降低, PE-MPs 的粒径对细胞活性氧的产生量没有明显的影响。试验浓度和粒径范围内的 PE-MPs 的存在并没有抑制融合菌株 F14 对菲的降解,反而有所促进,推测可能是 PE-MPs 作为载体增大了 F14 和菲的接触机会,同时其可能对 F14 菌株细胞产生了应激反应,促使 F14 分泌胞外聚合物,同时减弱了 F14 细胞的氧化损伤,进而影响了 F14 对菲的降解过程。

关键词:微塑料;菲;融合菌株;生物降解;胞外聚合物

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2021)02-0364-07 doi:10.11654/jaes.2020-0910

Effect of microplastics on fusion strain F14 during phenanthrene degradation

ZHOU Chang-xin¹, HOU Bin¹, GUO Xue-tao², GAO Qiao¹, LIU Yi-xuan¹, LU Jing^{1*}

(1. School of Environment and Safety Engineering, North University of China, Taiyuan 030051, China; 2. College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: This study examined the effect of polyethylene microplastics (PE-MPs) on the degradation of phenanthrene by the fusion strain F14. Scan electron microscopy (SEM) analysis showed obvious depressions in the cell and the concentration of extracellular polymeric substances increased significantly after the addition of PE-MPs. The results of the Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectroscopy used to characterize the chemical composition of the cell surface showed that after exposure to PE-MPs, the absorption intensities of carbohydrates, polysaccharides, and amides on the surfaces of the cells in the strains changed, and the relative contents of protein, nucleic acid, and polysaccharides increased significantly. The cell reactive oxygen species (ROS) test showed that with the increase in the concentration of PE-MPs and the extension of culture time, the reactive oxygen content in the F14 cells gradually decreased. The PE-MPs particle sizes had no significant effect on the production of ROS in cells. The presence of PE-MPs within the test concentration and particle size range promoted the degradation of phenanthrene by the fusion strain F14 instead of degrading it. It is speculated that the PE-MPs acted as carriers and increased the chance of contact between F14 and phenanthrene. At the same time, however, the presence of PE-MPs may have caused a stress response in F14 strain cells, prompting them to secrete extracellular polymers that may have improved the degradation of phenanthrene.

Keywords: microplastics; phenanthrene; fusion strain; biodegradation; extracellular polymeric substances (EPS)

收稿日期:2020-08-04 录用日期:2020-11-09

作者简介:周昌鑫(1995—),女,山西大同人,硕士研究生,从事污染水体与土壤的生物修复技术研究。E-mail: zcx1174860843@163.com

*通信作者:卢静 E-mail: lujing@nuc.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(41977141, 21806147);国家重点研发计划项目(2018YFC1801104);山西省自然科学基金项目(201801D121268);山西省研究生教育创新项目(2020SY402)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41977141, 21806147); National Key R&D Program of China(2018YFC1801104); The Natural Science Foundation of Shanxi Province, China(201801D121268); Shanxi Graduate Education Innovation Project(2020SY402)

塑料及其制品广泛应用于工业、农业和日常生活的各个领域,全球塑料产量在2015年就已经超过3亿吨,预计到2035年塑料年产量将增加一倍^[1-2]。其中,聚乙烯(PE)塑料被大规模生产,主要用于农业覆盖物、复合材料和包装用品^[3]等多个方面。在农业领域,大量低密度PE薄膜被用于保护作物、抑制杂草、调节温度和保持土壤中的水分等,随着时间的推移,这些薄膜会变得易碎并被分解为微小颗粒^[4],即微塑料(MPs,直径小于5 mm)^[3,5]。这些微小颗粒会以空气作为载体,在土壤中富集。MPs所带来的危害不只来自于它本身(如:增塑剂长期暴露会引起生殖、呼吸、内分泌等多系统的损伤)^[6-8],更严重的是,MPs可以作为其他污染物的载体,如重金属、持久性有机污染物(POPs)、疏水性有机化学品(HOC)^[9-11]等。

多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)作为一类持久性有机污染物广泛存在于自然界中,微生物代谢是降解环境中PAHs等有机污染物的重要手段^[12]。融合菌株F14是以菲降解菌 *Sphingomonas* sp. GY2B 和茚降解菌 *Pseudomonas* sp. GP3A 为亲本,通过原生质体融合技术构建的一株高效降解PAHs的降解菌。该菌具备比亲本更广的温度(20~40℃)和pH(6.5~9)适应范围,更高效的PAHs降解性能,而且具有和亲本GY2B不同的菲降解途径,F14具有两条菲代谢途径并且在降解过程中较少积累有毒中间代谢产物。F14可以在30 d将土壤中初始浓度为10 mg·L⁻¹和50 mg·L⁻¹的菲降解89.9%和73%,并可以耐受100 mg·L⁻¹的菲^[13]。然而,这些数据都是在实验室条件下得到的,如果将融合菌株F14应用到实际环境中,环境中微塑料的存在是否会影响F14对PAHs的降解,是否会威胁或有助于F14的生存,这都需要进一步的研究。

目前,对环境中微塑料的研究主要集中在分布^[14-15]、吸附降解^[16]、生物及群落^[17]的影响等方面,涉及对微生物个体影响的研究^[2,18]相对较少。因此,本研究以聚乙烯微塑料(PE-MPs)为研究对象,探究受

微塑料影响前后F14细胞的表面形态、胞外聚合物(Extracellular polymeric substances, EPS)化学成分变化及细胞内活性氧(Reactive oxygen species, ROS)含量,考察在降解菲过程中微塑料对F14的影响,为进一步评价融合菌株F14在实际PAHs土壤污染场地修复中的潜在应用提供科学依据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

研究所使用的菲(98%)、甲醇(色谱纯)、正己烷(分析纯)、PE-MPs(粒径为500 μm和1 mm)等试剂,均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;营养肉汤购自广东环凯微生物科技有限公司。每次试验前须将PE-MPs置于超净台中进行紫外灭菌处理。

无机盐基础培养液(MSM):分别取5 mL磷酸盐缓冲液(KH₂PO₄ 8.5 g·L⁻¹, K₂HPO₄·H₂O 21.75 g·L⁻¹, Na₂HPO₄·12H₂O 33.4 g·L⁻¹, NH₄Cl 5.0 g·L⁻¹, 3 mL MgSO₄水溶液 22.5 g·L⁻¹, 1 mL CaCl₂水溶液 36.4 g·L⁻¹, 1 mL FeCl₃水溶液 0.25 g·L⁻¹)和1 mL微量元素[MnSO₄·H₂O 39.9 mg·L⁻¹, ZnSO₄·H₂O 42.8 mg·L⁻¹, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 34.7 mg·L⁻¹]并定容至1 L,调节pH为6.8~7.0,灭菌20 min后备用。

含有菲的无机盐培养液(100 mg·L⁻¹):在灭菌的三角瓶中加入适量的菲标准储备液(5 g·L⁻¹,正己烷为溶剂配制),待正己烷挥发完毕,加入灭菌后的MSM。

1.2 PE-MPs对F14降解菲的影响

在含有菲的MSM培养基(20 mL)中仅加入菌液,不添加PE-MPs,设为对照组。在对照组的基础上分别加入粒径为500 μm、1 mm,浓度为20、40、80、160、320 mg·L⁻¹的PE-MPs,设为试验组,如表1所示。每个试验组均对应设置空白组(仅含有对应浓度和粒径的微塑料,不含菌株)。所有样品30℃避光振荡培养。添加不同质量浓度的PE-MPs,分别在第3、6、9、12、15、18、21、24、48、168 h取样测定菲的降解率,每

表1 对照组及主要试验组编号

Table 1 Number of control groups and experimental groups

时间 Time/h	对照组 Control group	试验组1 Experimental group 1		试验组2 Experimental group 2		试验组3 Experimental group 3		试验组4 Experimental group 4		试验组5 Experimental group 5	
		20 mg·L ⁻¹		40 mg·L ⁻¹		80 mg·L ⁻¹		160 mg·L ⁻¹		320 mg·L ⁻¹	
		500 μm	1 mm	500 μm	1 mm	500 μm	1 mm	500 μm	1 mm	500 μm	1 mm
24	0a	1a	1A	2a	2A	3a	3A	4a	4A	5a	5A
48	0b	1b	1B	2b	2B	3b	3B	4b	4B	5b	5B
168	0c	1c	1C	2c	2C	3c	3C	4c	4C	5c	5C

组试验设置3个平行样。

1.3 菲降解率的测定

在待测样品中加入适量的甲醇,超声处理整瓶萃取,用甲醇定容至50 mL。取1.5 mL溶液过0.22 μm有机滤膜后移入色谱瓶中,使用岛津(20A)高效液相色谱(HPLC)测定菲的剩余量,计算菲的降解率,计算公式如下:

$$R_e = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\%$$

式中: A_0 表示相应空白组对应的峰面积; A 表示对照组和试验组样品对应的峰面积。

1.4 扫描电镜(SEM)分析

利用扫描电镜(SU8010,日立)观察PE-MPs存在情况下菌株细胞表面形态变化。离心收集($10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min)对照组、3c、3C、5c和5C试验组细胞样品,并将PE-MPs颗粒分出,单独观察PE-MPs表面生物膜的形成情况。剩余菌体则用于分析游离在培养基中的菌株的细胞形态变化。样品使用2.5%戊二醛完全浸没固定12 h后,用磷酸缓冲液漂洗,再用1%的锇酸溶液固定样品2 h,漂洗,接着用梯度浓度的乙醇溶液(30%、50%、70%、80%、90%和95%)对样品进行脱水处理,最后用乙醇与醋酸异戊酯混合液($V/V=1/1$)处理样品30 min,再用醋酸异戊酯处理样品1 h,干燥,镀膜,观察。不含菌株的PE-MPs颗粒直接干燥,镀膜,观察。

1.5 傅里叶变换光谱(FTIR)分析

离心收集($10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min)试验组4、试验组5和对照组细胞样品,冻干($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$),使用红外光谱仪(Nicolet Is10, Thermo Fisher)进行测试(KBr压片),分析F14细胞表面的主要成分变化。

1.6 细胞活性氧(ROS)测定

离心收集($10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min)对照组和试验

组24、48 h和168 h的细胞,采用ROS酶联免疫分析试剂盒进行测试。450 nm波长下用酶标仪测定吸光度(OD值)。通过标准曲线,计算样品中ROS浓度。

2 结果与讨论

2.1 PE-MPs对F14降解菲过程的影响

添加不同粒径和不同质量浓度的PE-MPs后F14对菲的降解效果如图1所示。从图中可以看出,在添加了不同浓度的500 μm和1 mm微塑料后F14对菲的降解趋势大体一致。24 h内,添加微塑料后F14对菲的降解率明显增高,且随着微塑料浓度增大,F14对菲的降解率也逐渐升高;48 h后,试验组和对照组的菲降解率均基本达到100%;168 h后,对照组和试验组中菲的降解率均达到100%。这表明PE-MPs在一定程度上促进了F14对菲的降解,可能是由于PE-MPs为F14提供了载体,有利于其发挥更高的生理活性,同时也增加了F14和菲的接触机会^[19]。此外,PE-MPs表面分子的疏水性使得其与环境中的水分子之间存在界面,这种界面也可能为F14生物膜的形成提供了空间^[20]。

2.2 PE-MPs对F14菌株化学成分的影响

通过FTIR对添加PE-MPs前后培养体系中的F14菌株化学成分进行分析鉴定,结果如图2所示。3 700~3 050 cm^{-1} 区间出现的峰是由羟基、羧基、酚羟基等O—H键和酰胺的N—H振动引起。位于2 930 cm^{-1} 处的峰是由C—H振动(脂质或蛋白质的 CH_2 和 CH_3 官能团)引起^[21]。FTIR光谱中蛋白质特征峰主要是:位于1 640 cm^{-1} 处的酰胺I带(1 700~1 600 cm^{-1}),为C=O伸缩振动;位于1 540 cm^{-1} 处的酰胺II带(1 600~1 500 cm^{-1}),是N—H弯曲振动和C—N拉伸

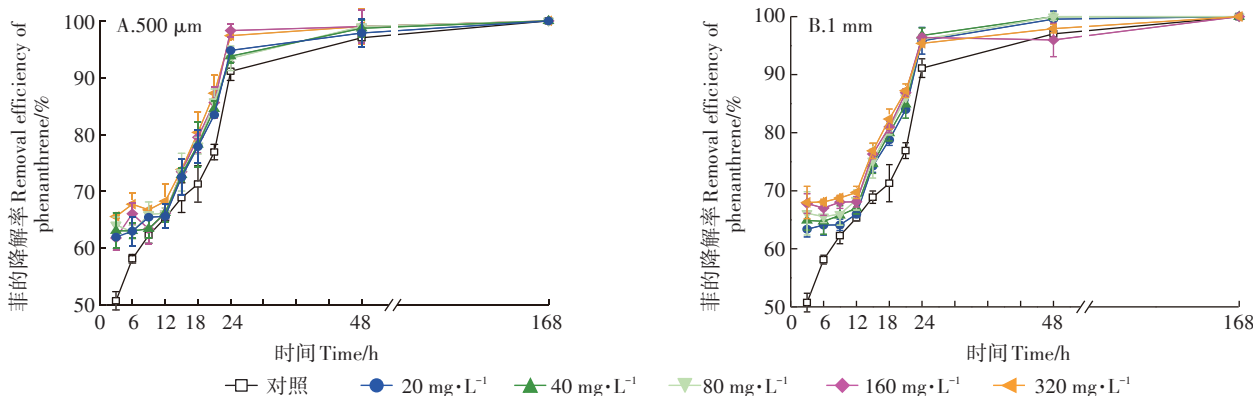


图1 微塑料对F14菌株降解菲的影响

Figure 1 Effect of microplastics on the degradation of phenanthrene by F14 strain

振动的耦合产生^[22]; $1\,450\text{ cm}^{-1}$ 处为蛋白质中的C—N键的吸收峰,且氨基在 $1\,450\sim 1\,250\text{ cm}^{-1}$ 区域存在面内摇摆振动和面外摇摆振动两个峰。由图可以看出,对照组和试验组红外吸收的相对强度存在明显变化。图2A至图2D显示,培养的第24 h和48 h试验组对应的蛋白质的特征峰相对强度增强,这说明PE-MPs存在时F14菌株的生长代谢过程更加旺盛^[23]。 $1\,080\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰归属于核酸中 PO_2 基团的特征峰^[22],试验组培养第24 h和48 h时,该吸收峰的相对强度增加,这说明PE-MPs的存在促进了F14菌株的核酸转录等过程,促进了F14的生长繁殖^[24]。 $1\,150\sim 750\text{ cm}^{-1}$ 的峰归属于多糖^[25],多糖和蛋白质是EPS的关键

成分,其源于细菌的分泌和表面黏附,细胞聚集和裂解等多种微生物生理过程^[26-27]。第24 h和48 h测试结果显示,试验组多糖的相关特征峰相对强度明显增强,表明PE-MPs的存在会影响F14细胞EPS的分泌。

在培养的第24 h和48 h,试验组的蛋白质、核酸、多糖的相对含量明显增加,且 $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 试验组略高于 $80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;在第48 h, $500\text{ }\mu\text{m}$ 试验组相对含量略高于 1 mm 试验组。第168 h(图2E和图2F)的测试结果显示,试验组与对照组具有相当的蛋白质、核酸、多糖水平。这可能是由于在第24 h和48 h时,F14在PE-MPs存在的环境下,应激产生了更多的EPS,在第48 h之后,由于培养基中的菲基本都被降解,同时,F14对

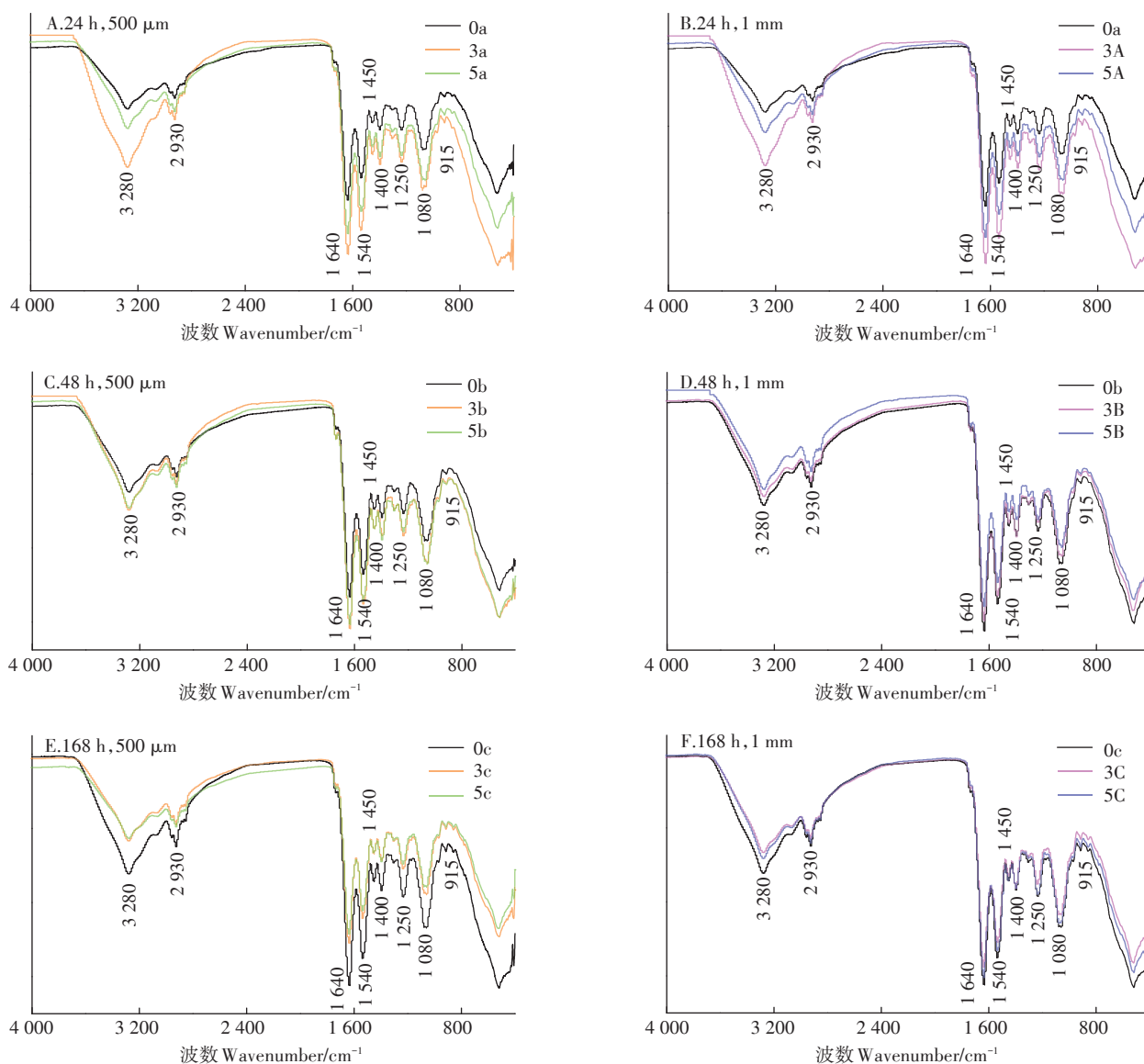


图2 与PE-MPs($80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)培养前后细胞的红外光谱图

Figure 2 Infrared spectra of cells before and after PE-MPs($80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) culture

PE-MPs的环境基本适应,致使试验组F14菌株的生长代谢过程放缓,保持正常水平,因此,第168 h时,试验组和对照组的红外测试结果基本相似。

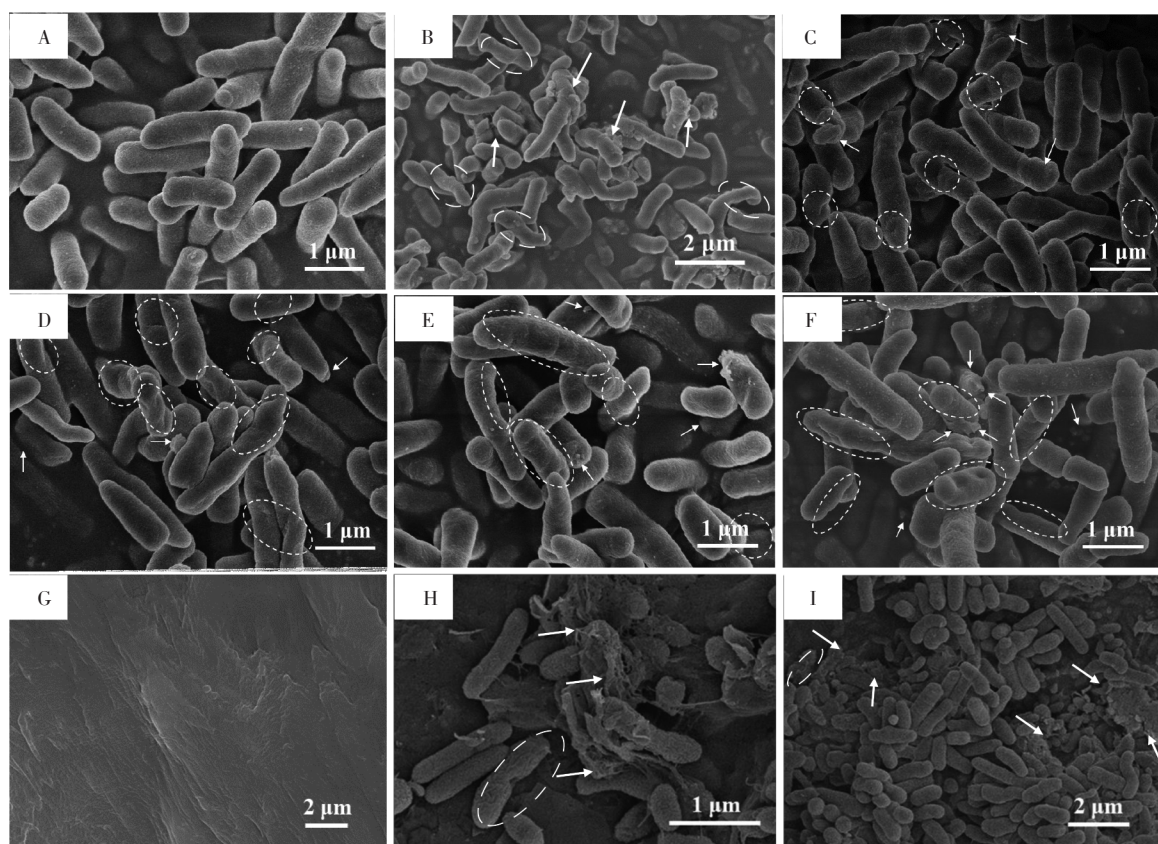
2.3 PE-MPs对F14表面形态的影响

添加PE-MPs前后F14表面形态的变化及PE-MPs表面变化见图3。结果显示,与对照组相比(图3A),添加PE-MPs后细胞出现了凹陷现象,这可能是由于添加PE-MPs引起了细胞内外渗透压的变化^[28],进而造成了细胞表面形态的变化。同时也观察到细胞出现了丝状物。与未添加微生物的PE-MPs(图3G)相比,添加了微生物的PE-MPs表面细胞分泌出更多的丝状物,结合FTIR结果推测其可能为微生物分泌的EPS,这些EPS将菌团聚在一起(图3I),也将菌和微塑料连接在一起,使菌能够附着在微塑料上,这可能有利于微生物降解微塑料表面的菲。另外,从图中可以看到生物膜中丝状的生物膜基质,生物膜能为微生物生长提供一系列的有利条件,如有利于微生物对营养物质的吸收,并且能够帮助微生物抵御有毒

物质和干燥环境^[29-30]

2.4 PE-MPs对F14细胞ROS的影响

细胞中过量ROS的产生会降低细胞的生理活性,甚至导致细胞死亡^[31]。因此,大量ROS产生是细胞氧化损伤的重要标志^[32]。然而,少量的ROS会激发细胞的防御体系,减少损伤^[33]。在不同浓度和粒径的PE-MPs存在下,F14在对菲降解过程中细胞内ROS的生成量结果如图4所示。结果表明,在培养24、48 h和168 h后,试验组细胞内ROS水平均低于对照组。对于粒径为500 μm 和1 mm的PE-MPs,随着其浓度的增加,F14细胞内ROS产生量基本呈降低趋势。随着培养时间的延长,试验组细胞ROS的产生量也有所下降。试验组细胞ROS的产生量主要与PE-MPs的浓度有关,粒径对细胞ROS的产生量没有明显的影响。PE-MPs的存在使得F14细胞ROS保持在较低水平,从而减弱了细胞自身的氧化损伤,使其能够保持较高的生理活性,促进其对菲的降解。同时,SEM与FTIR测试表明,EPS分泌量受PE-MPs的影响而增



虚线圈出的为出现凹陷的细胞,箭头所指为出现丝状物的细胞

图3 F14细胞(A-0c、B-5b、C-3c、D-3C、E-5c、F-5C)、MPs表面(G)及MPs表面生物膜(H、I)的SEM图
Figure 3 SEM micrographs of the F14 cell(A-0c, B-5b, C-3c, D-3C, E-5c, F-5C), the surface of MPs(G), and biological membrane formed on the surface of MPs(H, I)

加。EPS是微生物正常生理过程产生的分泌物,可以形成细胞保护层^[34-35]。当生存环境发生变化时,微生物的自我保护和生存机制将发挥作用,进而引起微生物EPS分泌量的波动^[36-37]。因此,PE-MPs的存在可能对F14细胞产生了刺激作用,使其应激产生了更多的EPS,这有利于F14黏附于PE-MPs表面而生长。因此,F14菌株对于PE-MPs存在的环境具有较强的适应性。

3 结论

(1)试验粒径和浓度范围内PE-MPs的存在并没有抑制F14对菲的降解,反而促进了对菲的降解。

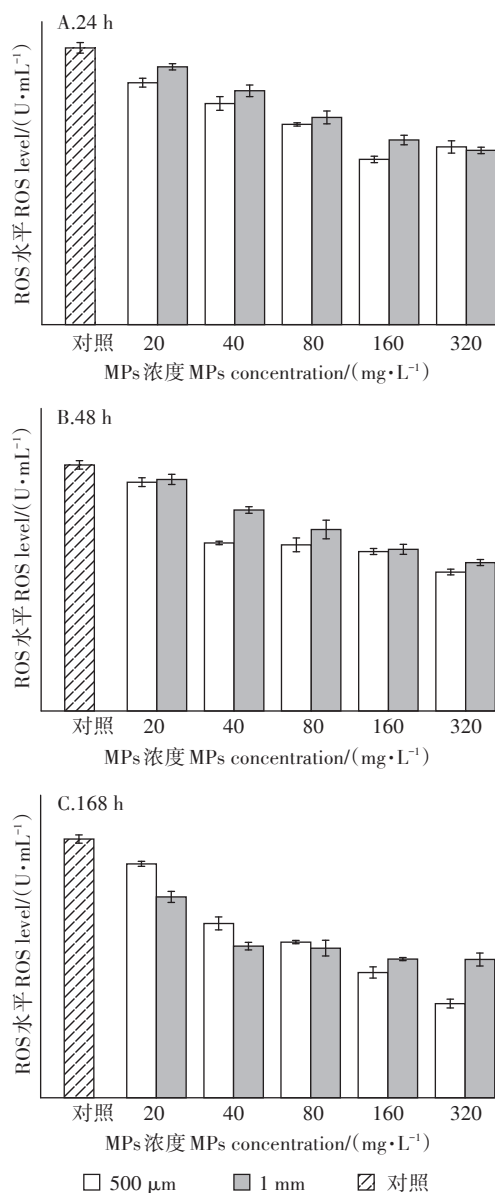


图4 F14细胞ROS含量图

Figure 4 ROS content of F14 cells

PE-MPs的存在可能会使F14分泌更多的EPS并形成生物膜,进而有利于F14对菲的降解。

(2)PE-MPs的存在使F14菌株细胞ROS保持较低水平。随着PE-MPs浓度的增加和培养时间的延长,细胞ROS产生量逐渐降低。说明PE-MPs的存在可能会激发F14细胞的防御体系,减少F14细胞的氧化损伤,使其可以保持更高的生理活性,进而有利于对菲的降解。

参考文献:

- [1] Hahladakis J N. Delineating the global plastic marine litter challenge: Clarifying the misconceptions[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2020, 192(5):267.
- [2] Sun X, Chen B, Li Q, et al. Toxicities of polystyrene nano- and microplastics toward marine bacterium *Halomonas alkaliphila*[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 642:1378-1385.
- [3] Huffer T, Metzelder F, Sigmund G, et al. Polyethylene microplastics influence the transport of organic contaminants in soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 657:242-247.
- [4] Duis K, Coors A. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: Sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects[J]. *Environmental Sciences Europe*, 2016, 28(1):2.
- [5] Huffer T, Praetorius A, Wagner S, et al. Microplastic Exposure assessment in aquatic environments: Learning from similarities and differences to engineered nanoparticles[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(5):2499-2507.
- [6] Jensen M S, Anandivell R, Norgaardpedersen B, et al. Amniotic fluid phthalate levels and male fetal gonad function[J]. *Epidemiology*, 2015, 26(1):91-99.
- [7] Steensgaard I M, Syberg K, Rist S, et al. From macro- to microplastics: Analysis of EU regulation along the life cycle of plastic bags[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 224:289-299.
- [8] Swan S H. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans[J]. *Environmental Research*, 2008, 108(2):177-184.
- [9] Brennecke D, Duarte B, Paiva F, et al. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2016, 178:189-195.
- [10] Tan X, Yu X, Cai L, et al. Microplastics and associated PAHs in surface water from the Feilaixia Reservoir in the Beijing River, China [J]. *Chemosphere*, 2019, 221:834-840.
- [11] Wardrop P, Shimeta J, Nuggeoda D, et al. Chemical pollutants sorbed to ingested microbeads from personal care products accumulate in fish [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(7):4037-4044.
- [12] 张松, 侯彬, 纪婷婷, 等. 生物炭固定比融合菌株F14方法的研究及其对菲的去除[J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37(3):464-470. ZHANG Song, HOU Bin, JI Ting-ting, et al. Degradation of pyrene by immobilized cells of fusant bacterial strain F14 using biochar[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(3):464-470.

- [13] 刘锦卉. 融合菌株F14降解菲过程中细胞表面性质变化及对土壤中多环芳烃修复研究[D]. 山西: 中北大学, 2017: 28-38. LIU Jin-hui. The research of surface characteristics changing fusnt strain F14 in the process of phenanthrene degrading and its application in remediating PAHs polluted soil[D]. Shanxi: North University of China, 2017: 28-38.
- [14] Amy L Lusher, Burke A, O'connor I, et al. Microplastic pollution in the Northeast Atlantic Ocean: Validated and opportunistic sampling [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 88(1/2): 325-333.
- [15] Peng G, Zhu B, Yang D, et al. Microplastics in sediments of the Changjiang Estuary, China[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 225: 283-290.
- [16] Tan X, Yu X, Cai L, et al. Microplastics and associated PAHs in surface water from the Feilaixia Reservoir in the Beijiing River, China [J]. *Chemosphere*, 2019, 221: 834-840.
- [17] Meneish R E, Kim L H, Barrett H A, et al. Microplastic in riverine fish is connected to species traits[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 11639.
- [18] 陈涛. 近海微塑料表面生物膜的形成及其对微塑料理化性质的影响[D]. 北京: 中国科学院大学, 2018: 1-2. CHEN Tao. Formation of biofilm on microplastics and its influences on physicochemical properties of microplastics in the coastal sea[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2018: 1-2.
- [19] 何蕾, 黄芳娟, 殷克东. 海洋微塑料作为生物载体的生态效应[J]. 热带海洋学报, 2018, 37(4): 1-8. HE Lei, HUANG Fang-juan, YIN Ke-dong. The ecological effect of marine microplastics as a biological vector[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2018, 37(4): 1-8.
- [20] 刘玮婷, 郭楚玲, 刘沙沙, 等. 微塑料对近岸多环芳烃降解菌群结构及其降解能力的影响[J]. 环境科学学报, 2018, 38(10): 4052-4056. LIU Wei-ting, GUO Chu-ling, LIU Sha-sha, et al. Effect of microplastic on the community structure and biodegradation potential of PAHs-degrading bacterial consortium in coastal environment[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, 38(10): 4052-4056.
- [21] Paço A, Duarte K, Da Costa J P, et al. Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 586: 10-15.
- [22] Feng L J, Wang J J, Liu S C, et al. Role of extracellular polymeric substances in the acute inhibition of activated sludge by polystyrene nanoparticles[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 238: 859-865.
- [23] 吴谋胜, 彭宣宪. 采用蛋白质组学方法研究嗜水气单胞菌的生长代谢[J]. 水产学报, 2002, 26(1): 42-46. WU Mou-sheng, PENG Xuan-xian. Studying the growth metabolism of *Aeromonas hydrophila* with the methods of proteomics[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26(1): 42-46.
- [24] 张炜, 童贻刚, 冯福民. 细菌非编码小RNA研究进展[J]. 微生物学通报, 2009, 36(7): 1025-1030. ZHANG Wei, TONG Yi-gang, FENG Fu-min. Research progress of small non-coding RNA in bacteria[J]. *Microbiology*, 2009, 36(7): 1025-1030.
- [25] Schmitt J, Flemming H C. FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis[J]. *International Biodeterioration Biodegradation*, 1998, 41(1): 1-11.
- [26] Li C C, Wang Y J, Dang F, et al. Mechanistic understanding of reduced AgNP phytotoxicity induced by extracellular polymeric substances[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 308(5): 21-28.
- [27] Wingender J, Neu T R, Flemming H C. Microbial extracellular polymeric substances: Characterization, structure and function[M]. Springer Berlin Heidelberg, 1999: 99-101.
- [28] Li S, Wang P, Zhang C, et al. Influence of polystyrene microplastics on the growth, photosynthetic efficiency and aggregation of freshwater microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 714: 136767.
- [29] 马文婷. 土壤矿物介导下细菌生物膜形成过程及机制[D]. 湖北: 华中农业大学, 2017: 11-14. MA Wen-ting. The processes and mechanisms of bacteria biofilm formation in the presence of soil minerals[D]. Hubei: Huazhong Agricultural University, 2017: 11-14.
- [30] Flemming H C. Relevance of biofilms for the biodeterioration of surfaces of polymeric materials[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 1998, 59(1/2/3): 309-315.
- [31] Vaccaro A, Dor Y K, Nambara K, et al. Sleep loss can cause death through accumulation of reactive oxygen species in the gut[J]. *Cell*, 2020, 118(6): 1307-1328.
- [32] Fu P P, Xia Q, Hwang H M, et al. Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species[J]. *Journal of Food Drug Analysis*, 2014, 22(1): 64-75.
- [33] 刘武康, 吴淑燕, 陈国薇, 等. 细菌产生的活性氧及其功能[J]. 微生物学杂志, 2016, 36(1): 89-95. LIU Wu-kang, WU Shu-yan, CHEN Guo-wei, et al. The reactive oxygen species generated by bacteria and its functions[J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 36(1): 89-95.
- [34] 姜春阳. 微生物胞外聚合物在多环芳烃降解酶释放过程中的作用[D]. 沈阳: 沈阳理工大学, 2015: 1-2. JIANG Chun-yang. The function of microbial EPS in the process of PAH-degradating enzyme release[D]. Shenyang: Shenyang Ligong University, 2015: 1-2.
- [35] 谷玥. 分枝杆菌BFZG胞外聚合物对土壤砒去除作用的研究[D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2016: 6-8. GU Yue. Study on the removal of pyrene from soil by extracellular polymeric of *Mycobacterium BFZG* [D]. Shenyang: Shenyang Normal University, 2016: 6-8.
- [36] 黄春基, 董解菊, 黄辉, 等. 细菌波动生长过程中代谢活性与环境变化的统一性研究[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(1): 78-80. HUANG Chun-Ji, DONG Jie-ju, HUANG Hui, et al. The unity between environmental changes and metabolic activity in bacterial wave growth[J]. *Journal of Third Military Medical University*, 2000, 22(1): 78-80.
- [37] Fang H H P, Chan K Y, Xu L C. Quantification of bacterial adhesion forces using atomic force microscopy (AFM) [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2000, 40(1): 89-97.