

微塑料降解菌群的筛选与性能研究

朱会会, 张淑彬, 邹国元, 肖强, 刘东生, 梁子安, 刘建斌

引用本文:

朱会会, 张淑彬, 邹国元, 肖强, 刘东生, 梁子安, 刘建斌. 微塑料降解菌群的筛选与性能研究[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(3): 547–557.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0632>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

微生物强化对石油污染土壤的修复特性研究

王娣, 马闯, 高欢, 刘恒, 徐会宁, 吴蔓莉

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2798–2805 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0534>

石油降解菌群的构建及其对混合烃的降解特性

范瑞娟, 郭书海, 李凤梅

农业环境科学学报. 2017, 36(3): 522–530 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1266>

土著B[a]P降解菌群的富集及最佳降解条件研究

郭光, 田芳, 丁克强, 杨凤, 徐进, 李晓华, 刘翀

农业环境科学学报. 2021, 40(1): 123–128 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0711>

复合菌群FWD1的木质纤维素降解特性及其微生物多样性研究

赵听, 张凯煜, 谷洁, 张社奇, 王小娟, 宋雯, 史龙翔, 闫法威, 潘洪加

农业环境科学学报. 2015, 34(8): 1582–1588 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.08.022>

PBAT地膜降解菌的筛选及其降解特性研究

刘佳茜, 侯丽君, 刘婷婷, 王沛媛, 高祥, 林雁冰

农业环境科学学报. 2021, 40(1): 129–136 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0888>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

朱会会, 张淑彬, 邹国元, 等. 微塑料降解菌群的筛选与性能研究[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(3): 547-557.

ZHU H H, ZHANG S B, ZOU G Y, et al. Screening of microplastic degrading bacteria and evaluation of their performance[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(3): 547-557.

微塑料降解菌群的筛选与性能研究

朱会会^{1,2}, 张淑彬², 邹国元², 肖强², 刘东生², 梁子安^{1*}, 刘建斌^{2*}

(1. 南阳师范学院生命科学与农业工程学院, 河南 南阳 473061; 2. 北京市农林科学院植物营养与资源环境研究所, 北京 100097)

摘要:为探究微塑料降解菌群的降解性能及其对农作物种子发芽的影响,利用五点采样法于2020年9月采集北京市农林科学院长期覆膜样地土壤,通过富集培养法筛选获得一组微塑料降解菌群,命名为ZH-5,通过高通量测序技术和Biolog-Eco微平板法分析了ZH-5的组成多样性及生长特性,通过失重法、扫描电子显微镜及傅里叶变换红外光谱评估了ZH-5对微塑料的降解潜力,通过种子萌发试验探究了ZH-5对作物种子的毒性效应。结果表明:从土壤样品中筛选出的降解菌群主要由9门组成,包括94属,优势门中变形菌门(Proteobacteria)占比60.34%、放线菌门(Actinobacteriota)占比16.86%;主要菌属中新生螺旋菌(*Noviherbaspirillum* sp.)占29.81%、嗜氨菌(*Ammoniphilus* sp.)占16.28%、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)占11.76%。培养60 d后,ZH-5对聚乙烯的降解率达2.86%,对作物种子具有显著促生作用,与P0处理(未接菌液)相比,P1处理(接种稀释100倍菌液)对黄瓜、萝卜、甜瓜和香瓜根长的促生率分别为31.38%、108.13%、57.59%和223.03%。研究表明,ZH-5具有降解聚乙烯微塑料的潜力,在减轻微塑料对环境污染等方面具有一定的研究意义。

关键词:微塑料;环境污染;聚乙烯;生物降解;降解性能

中图分类号:X172;X505 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)03-0547-11 doi:10.11654/jaes.2022-0632

Screening of microplastic degrading bacteria and evaluation of their performance

ZHU Huihui^{1,2}, ZHANG Shubin², ZOU Guoyuan², XIAO Qiang², LIU Dongsheng², LIANG Zi'an^{1*}, LIU Jianbin^{2*}

(1. College of Life Science and Agriculture Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China; 2. Institute of Plant Nutrition, Resources and Environment, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: To reduce the impact of microplastics on the environment, a five-point sampling method was used to collect soil from a long-term coated plot of Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences in September 2020. A group of microplastic degrading bacteria, named ZH-5, was obtained using the enrichment culture method. The composition diversity and growth characteristics of ZH-5 were analyzed by high-throughput sequencing technology and Biolog-Eco microplate method. The degradation potential of ZH-5 for microplastics was evaluated by the weight loss method, scanning electron microscopy, and fourier infrared spectroscopy. The toxic effects of ZH-5 on crop seeds were investigated using the seed germination test. The results showed that the microplastic biodegradation flora consisted of nine phyla, belonging to 94 genera. Proteobacteria and Actinomycetes, which were the dominant phylum, accounted for 60.34% and 16.86%, respectively. The main bacteria were *Noviherbaspirillum* sp. (29.81%), *Ammoniphilus* sp. (16.28%), and *Pseudomonas* sp. (11.76%). After 60 days of culture, the degradation rate of ZH-5 for polyethylene reached 2.86%, which showed a significant growth-promoting effect on crop seeds. Compared with the P0 treatment (treatment without bacterial solution), the P1 treatment

收稿日期:2022-06-23 录用日期:2022-10-09

作者简介:朱会会(1995—),女,河南周口人,硕士研究生,从事环境保护生态修复研究。E-mail:zh13037647897@163.com

*通信作者:刘建斌 E-mail:liujianbin@baafs.net.cn; 梁子安 E-mail:liangzian1965@163.com

基金项目:现代农业产业技术体系北京市创新团队项目(BAIC08-2022-YJ01, BAIC08-2022-SYZ01);北京市农林科学院青年科研基金项目(QNJJ201908, QNJJ202004)

Project supported: Beijing Innovation Team of the Modern Agricultural Research System (BAIC08-2022-YJ01, BAIC08-2022-SYZ01); The Youth Scientific Research Fund of Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences (QNJJ201908, QNJJ202004)

(inoculated 100 times diluted bacterial solution) promoted the growth rate of cucumber, radish, melon, and cantaloupe root length by 31.38%, 108.13%, 57.59% and 223.03%, respectively. The results show that ZH-5 has the potential to degrade polyethylene microplastics, and has certain research significance in reducing environmental pollution caused by microplastics.

Keywords: microplastics; environmental pollution; polyethylene; biodegradable; degradation performance

塑料主要是指以合成树脂为原料经过聚合反应形成的塑性材料^[1],塑料具有制造成本低、应用范围广及化学性质稳定等特点,因此被广泛应用于生产生活中。塑料自被发明以来,使用量逐年提高,至今,全球塑料产量已超过83亿t^[2]。Suaria等^[3]报道指出,预计到2050年塑料产量将是现在的4倍。Eriksen等^[4]研究发现,仅在全球大洋表层,漂浮塑料的数量就超过5.25万亿,质量超过26.9万t。Nizzetto等^[5]统计发现,欧洲和北美的农田每年分别使用约6.3万t和4.4万t塑料产品。微塑料(Micro Plastics, MPs)是塑料经过人工或自然因素影响而形成的尺寸小于5 mm的细小微粒^[6],这些微粒广泛分布于自然界中,目前已在环境水和陆地环境中检测到微塑料的存在^[7]。微塑料可以分为初级微塑料和次级微塑料,初级微塑料主要是人造微材料,而次级微塑料则是由较大的塑料垃圾分解而产生^[8]。

微塑料普遍存在于淡水、海洋、陆地甚至生物体中,其积累会对水环境、土壤和生物产生不利影响^[9]。有研究表明,微塑料被生物误食后会导致生物产生虚假饱腹感和生长速度减慢等病理性症状^[10],此外,微塑料还含有各种添加剂,可以吸附重金属和其他有机污染物,进而污染水环境和土壤环境^[11]。微塑料在环境中不能自主降解,环境中存在的微塑料大约需要400 a左右时间才能被彻底降解,这也就加重了微塑料对环境的污染程度。在当前已有的研究中,大部分研究是对环境中微塑料的形貌特征、类型分布和丰度含量进行调查分析^[12],而对于微塑料降解的研究较少。

大量研究表明,微生物具有转化各种化合物的潜力,在某些特殊条件下,其能利用难降解化合物作为能源进行生物化学反应^[13],已有大量数据表明,自然界存在能分解塑料制品的微生物。Ali等^[14]利用10个月的土埋试验,分离得到能在聚氯乙烯(PVC)膜上旺盛生长的真菌(*Phanerochaete chrysosporium* PV1、*Len-tinus tigrinus* PV2、*Aspergillus niger* PV3和*Aspergillus sydowii* PV4),利用扫描电镜观察发现PVC薄膜表面出现孔隙,凝胶渗透色谱显示,PV1菌株使PVC薄膜的分子量显著降低,可见分离得到的真菌对PVC塑料具有一定的生物降解能力。Hadar等^[15]采用两步富

集法分离得到一株橡胶红球菌(C208),试验证明该菌株可以将聚乙烯(Polyethylene, PE)薄膜作为唯一碳源生长,液体培养30 d后发现,C208可降解高达8%的聚烯烃(质量分数)。本研究旨在分离筛选出一组PE微塑料降解菌群,为微塑料污染提供一种新的修复治理方法。Biolog-Eco微平板是一种常用于研究环境微生物群落代谢功能的载体,为探究塑料降解菌群的生长特性,通过高通量测序技术、Biolog-Eco微平板及稀释涂布平板等方法分析了微塑料降解菌群的组成和微生物间的协同关系,并利用扫描电子显微镜和傅里叶变换红外光谱对其降解效果进行评价,后期通过种子萌发试验,探究了降解菌群对作物种子生长的影响,以期消减作物生长过程中微塑料的胁迫作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 微塑料

PE微塑料颗粒为白色球形,密度为 $0.92\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,平均分子量为4 000,CAS编号为9003-88-4,购置于Sigma-Aldrich公司。试验前用75%酒精以及紫外光处理灭菌,灭菌后的颗粒储存于无菌盒中备用。

1.1.2 试剂及培养基

供试试剂为吐温20(Tween 20)和30%双氧水,二者均为分析纯。

LB培养基:10 g Tryptone,5 g Yeast extract,10 g NaCl,1 000 mL蒸馏水,pH 7.2;固体培养基添加18~20 g的琼脂粉。

牛肉膏蛋白胨(NA)培养基:5 g Lab-lemco-powder,10 g Tryptone,5 g NaCl,1 000 mL蒸馏水;固体培养基添加18~20 g的琼脂粉。

微量碳源培养基^[16]:0.5 g Yeast extract,2.0 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,100 mL微量元素母液,900 mL蒸馏水。

微量元素母液:1.0 g $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$,1.0 g $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$,0.1 g $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$,0.1 g $\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$,0.1 g $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$,1 000 mL蒸馏水,pH 7.0。

液体无碳矿物盐培养基^[17](Liquid carbon-free basal medium, LCFBM):0.92 g $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$,0.7 g

KH_2PO_4 , 0.7 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.0 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.005 g NaCl , 0.002 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.002 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.001 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1 000 mL蒸馏水;固体培养基添加18~20 g的琼脂粉。

所有培养基均在121℃条件下高压灭菌20 min后备用。

1.1.3 土壤样品

土样于2020年9月采集于北京市农林科学院温室大棚中(北京市海淀区曙光花园中路9号,116°16'E,39°56'N)常年覆盖PE薄膜的土壤。随机选取5个50 cm×50 cm的正方形采样点,采集0~20 cm之间的土壤,每点采集样品约1 kg,将收集的5份土壤样品混合均匀后装入自封袋带回实验室,4℃无菌保存,用于降解菌群的富集筛选。

1.1.4 供试种子

黄瓜品种为京研夏美2号F1,萝卜品种为京研雪玉182 F1,香瓜品种为京玉绿宝2号F1,甜瓜品种为京玉352 F1。

1.2 试验方法

1.2.1 微生物降解菌群的筛选

1.2.1.1 降解菌群的分离筛选

菌悬液的制备:将5 g土壤样品与45 mL无菌水混合,使用恒温培养摇床在28℃、180 r·min⁻¹下孵育24 h,之后沉淀30 min,去除沉淀,得到细胞悬浮液。

微量碳源富集培养^[16]:将0.35%(m/V)的PE颗粒添加到50 mL三角瓶中。按照10%的接菌量进行试验,具体为在45 mL微量碳源培养液中加入5 mL分离得到的细胞悬浮液,28℃、180 r·min⁻¹振荡培养10 d,在相同条件下以不接种细胞悬浮液的培养基作为对照,10 d后将三角瓶中的PE颗粒转移至新的微量碳源培养基中继续培养10 d。

无碳矿物盐富集培养^[17]:微量碳源富集培养20 d后,将PE颗粒用pH 7.2、浓度0.1 mol·L⁻¹的无菌磷酸缓冲液(PBS)振荡清洗,制成的菌悬液全部加入到30 mL的LCFBM中,同时按0.35%(m/V)加入约0.1 g的无菌PE颗粒,在28℃、180 r·min⁻¹下振荡培养4周,在相同条件下以未接种菌悬液的LCFBM作为对照,连续转接培养5代。所有试验均为3个重复。

1.2.1.2 DNA提取和高通量测序

将筛选的降解菌群在无碳矿物盐培养基中培养4周后,利用上海生工细菌基因组DNA快速抽提试剂盒提取细菌总DNA。采用通用引物(27F/1492R)对细菌16S rDNA基因进行PCR扩增,反应总体系为25

μL: *Taq* MIX 12.5 μL,引物27F和1492R各1 μL,模板1 μL,ddH₂O 9.5 μL。反应程序为:95℃预变性10 min;93℃变性60 s,50℃退火60 s,72℃延伸90 s,25个循环;72℃延伸90 s^[18]。采用上海美吉生物医药科技有限公司的MiSeq PE300测序仪(Illumina Inc, San Diego, CA,美国)完成高通量测序。所有试验重复3次。

1.2.2 微生物功能多样性试验

利用Biolog-Eco微平板(31种碳源)测定降解菌群的平均颜色变化率(AWCD),AWCD可以反映微生物群落的整体代谢活性。室温下取稀释为10⁻³的细菌稀释液离心,然后取上清液接种到Biolog-Eco微平板中,每孔加150 μL,将接种好的微平板置于28℃恒温培养箱中连续培养240 h,期间每隔24 h在酶标仪(SpectraMax M5,美国)上读取590 nm下的光密度值。试验设置3个重复。计算公式如下^[19]:

$$AWCD = (C_i - R) / 31$$

式中: C_i 为各反应孔在590 nm下的光密度值; R 为对照孔的光密度值; $(C_i - R)$ 小于0的孔记为0。

降解菌群多样性指数计算如下:

$$\text{Shannon 指数 } H' = - \sum P_i \times \ln P_i$$

$$\text{Simpson 指数 } D = 1 / P_i^2$$

$$\text{McIntosh 指数 } U = \sqrt{\sum (C_i - R)^2}$$

式中: $P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R)$,表示在590 nm下第*i*孔的相对吸光值与整个微平板的相对吸光值总和的比值。

1.2.3 微生物接种剂的制备与检测

将降解菌群培养物按10%的接种量接种到270 mL含0.35%(m/V)PE颗粒的LCFBM中,以未接种降解菌群的培养物作为对照处理。将培养基放在恒温摇床上28℃、150 r·min⁻¹培养,于0、1、3、5、10、20、30、45 d和60 d各监测一次pH值,同时用稀释涂布平板法检测生物量,平板培养基分别是NA、LB和LCFBM,培养持续60 d。所有试验均为3个重复。

1.2.4 PE微塑料降解率测定

通过过滤和筛分,从发酵液中回收PE颗粒,用75%乙醇洗涤,去除定殖于PE颗粒上的微生物,然后在50℃的热风炉中烘干过夜。使用可读性为0.000 1 g的METTLER TOLEDO(ME104)分析天平称量残留聚合物质量,用于测定降解程度^[20]。PE的降解以质量损失百分比为依据,使用以下公式进行评估:

$$W = (IW - RW) / IW \times 100\%$$

利用一级动力学模型对数据进行进一步处理,确定PE的去除速率常数*K*:

$$K = 1/t \left(\ln \frac{RW}{IW} \right)$$

在产生 PE 去除速率常数之后,根据公式计算半衰期:

$$T_{1/2} = \ln 2 / K$$

式中: W 为 PE 的降解率,%; IW 为 PE 的初始质量,g; RW 为 PE 的最终质量,g; K 为聚合物每日吸收的一级速率常数,d⁻¹; t 为时间,d; $T_{1/2}$ 为聚合物的半衰期,d。

1.2.5 扫描电子显微镜(SEM)分析

通过扫描电镜(Leica EM SCD005,奥地利)观察培养 60 d 后降解的 PE 颗粒形态。将培养组与对照组 PE 在 0.3 MPa 的氩气下以 25 mA 的速度溅射金层,然后在 SEM 下进行观察^[21]。

1.2.6 傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析

利用傅里叶变换红外光谱仪(Vetex70; Bruker, 德国)分析降解前后 PE 微塑料化学结构的变化。在 400~4 000 cm⁻¹ 的频率范围内,测定降解后 PE 颗粒的吸光度,以未接种降解菌群的 PE 颗粒作为对照。

1.2.7 降解菌群在微塑料胁迫下对作物种子萌发的影响

参考 Zhu 等^[22]和 Murphy 等^[23]的试验中微塑料的浓度设置,本研究微塑料浓度设置为 0.05% (m/m),菌液稀释浓度选择为 10、50 倍和 100 倍,试验处理见表 1。具体步骤为:①称取 0.1 g PE,加入到 200 mL 高纯水中,再加入 0.1% Tween 20,使用(知信仪器 ZX-5200DE)超声波清洗器超声清洗 30 min (400 W、20.5 kHz),制成 500 mg·L⁻¹ 的微塑料悬浮液;②将降解菌群于 NA 培养基中培养 24 h 后稀释为 10、50 倍和 100 倍的细菌稀释液,将稀释液与原液分别加入微塑料悬浮液中制成不同稀释度的细菌悬浮液。将选取的作物种子用 30% 双氧水消毒 20 min,之后用去离子水冲洗干净,用滤纸将种子表面水分吸干,然后采用纸上

发芽法,将种子分别播于铺有两层滤纸的培养皿中,每皿播种 50 粒,将处理好的种子统一置于 (25±1)℃ 的恒温箱中萌发培养,试验以不同稀释度的细菌悬浮液为处理组,以去离子水为对照组。种子培养期间,根据培养皿中水分消耗情况每日补充水分至原刻度,记录种子每日萌发数量,培养 7 d 后,计算种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数,随机选取 10 株植株幼苗测定其根长、芽长和鲜质量,计算促生率,所有试验均设置 3 个重复。计算参考任艳芳等^[24]的方法,公式如下:

$$\text{促生率} = \frac{\text{试验组生长指标} - \text{对照组生长指标}}{\text{对照组生长指标}} \times 100\%$$

$$\text{发芽率} = \frac{\text{全部发芽种子粒数}}{\text{供试种子总数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽势} = \frac{\text{发芽高峰期的种子数}}{\text{供试种子数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽指数}(GI) = \sum Gt/Dt$$

$$\text{活力指数}(VI) = S \times GI$$

式中: Gt 为 t 时间内的发芽数; Dt 为相应的发芽时间,d; S 为种子根长度,cm。胚根突破种皮接近种子一半时认为种子萌发;每 24 h 记录一次发芽率,发芽最多的 1 d 即为发芽高峰期。

1.3 统计分析

采用 Excel 2013 软件进行数据记录与处理,采用 SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析,采用 Origin 2021 软件制图。

2 结果与讨论

2.1 PE 降解菌群的筛选

2.1.1 降解菌群的分离筛选

本研究从土壤样品中分离得到具有降解潜力的细菌菌群,命名为 ZH-5。本试验主要采用富集培养法筛选目标菌群,该方法有效提高了筛选目标菌群的稳定性^[16]。富集结果如图 1 所示,微量碳源富集后,摇瓶液体中出现了肉眼可见的浑浊状态,说明本试验使用的土壤样品中可能含有降解 PE 的潜力菌群,无碳矿物盐富集培养后,摇瓶液体中也出现了浑浊,说明该菌群具有利用 PE 作为生长底物的能力。有研究表明,微生物降解微塑料是目前理想的生物降解方法,Gajendiran 等^[25]从垃圾填埋场土壤中分离出的棒曲霉菌株 JASK1 可对低密度聚乙烯(LDPE)进行微生物降解作用。ZH-5 在经过多次富集培养后,仍能以为 PE 微塑料为唯一碳源进行生长,这源于它对塑料环境的适应,表明长期存在微塑料的环境中可以分离出微塑料降解菌群或菌株,再一次证实了自然界中存在

表 1 作物种子萌发试验处理

Table 1 Experiment treatment of crop germination

处理 Treatment	培养液组成 Composition of culture medium			
	0.1% Tween 20/mL	0.05% PE/g	去离子水 Deionized water/ mL	稀释菌液 Dilution bacteria liquid/mL
CK	2	-	198	-
P0	2	+	198	-
P1	2	+	-	198(×100)
P2	2	+	-	198(×50)
P3	2	+	-	198(×10)
P4	2	+	-	198(原液)

降解 PE 微塑料的微生物。



(a) 微量碳源富集 Enrichment of trace carbon source



(b) 无碳矿物盐培养基富集
Enriching the carbon-free mineral salt culture medium

图1 降解菌群分离试验

Figure 1 Isolation test of degrading bacteria community

2.1.2 ZH-5 菌群高通量分析

由图2可知,在以PE为唯一碳源的培养基中培养60 d后,通过高通量测序分析获得ZH-5有效序列数目35 348,有效碱基数目1 493 512,序列平均长度422 bp,操作分类单元OTUs平均数131。ZH-5由9个门组成,包括94属,其中变形菌门(Proteobacteria)占比60.34%、放线菌门(Actinobacteriota)占比16.86%,这些细菌门类为优势门,同时也鉴定出该菌群主要菌属为新生螺旋菌(*Noviherbaspirillum* sp.)占

比29.81%、嗜氨菌(*Ammoniphilus* sp.)占比16.28%、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)占比11.76%。已有研究也报道了多种微塑料降解菌,例如:Park等^[26]从城市垃圾填埋场底泥中获得嗜温混合细菌培养分离物,其中芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)和拟芽孢杆菌属(*Paenibacillus* sp.)为主要菌属。Mohan等^[20]报道了*Pseudomonas* sp.和*Bacillus* sp.的降解潜力。ZH-5中存在目前报道的具有降解塑料潜力的相同菌属,如*Pseudomonas* sp.,同时也出现了不常见的微塑料降解潜力微生物——*Noviherbaspirillum* sp.。Chaudhary等^[27]从受油污染的试验土壤中分离出橙色、棒状需氧细菌菌株DKR-6 T,通过系统发育分析和16S rRNA基因序列分析表明,菌株DKR-6 T隶属于*Noviherbaspirillum*属,说明该菌属能在含高分子聚合物的环境中生长,也进一步表明ZH-5具有降解微塑料的潜力。

2.2 ZH-5 碳源代谢活性及功能多样性指数的变化

AWCD 指示了微生物群落的整体代谢活性^[28]。功能多样性指数包括Shannon指数(H')、McIntosh指数(U)和Simpson指数(D),分别反映微生物群落的丰富度、均匀度和优势度^[29]。由图3可知,ZH-5的AWCD值在培养24~192 h期间快速增加,在192 h后趋于稳定,与初始值相比192 h的AWCD值显著提高了92.3%。由图4可知ZH-5的 H' 值整体呈增加趋势,192 h后 H' 值为16.53,显著高于初始值5.89($P < 0.05$)。 U 值则呈不断增大趋势,表明菌群的均匀度在不断增加。 D 值结果显示,ZH-5的群落代谢优势度随时间的增加不断增大,192 h后菌群的代谢优势度显著高于初始值($P < 0.05$)。李文韬^[30]通过14 d微宇宙试验探究了聚苯乙烯(PS)与芘的相互作用对沉积物群落结构的影响,结果表明,沉积物暴露于不同处理

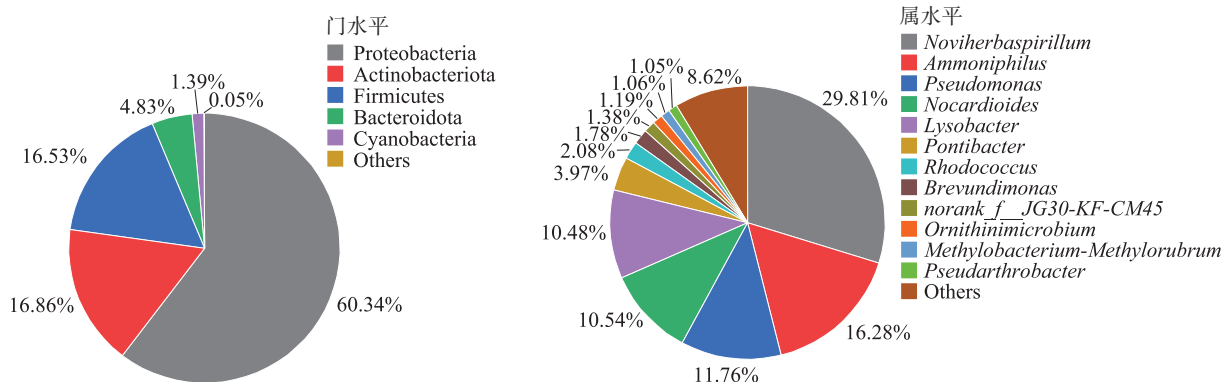


图2 降解菌群门水平和属水平下物种组成

Figure 2 Species composition of degrading flora at phylum level and genus level

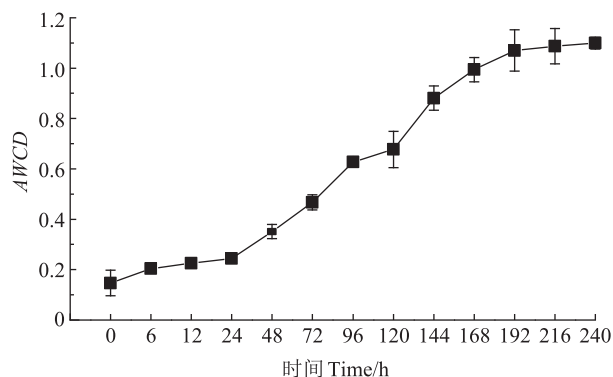


图3 降解菌群AWCD值的动态变化

Figure 3 Dynamic change of AWCD value of degradation flora

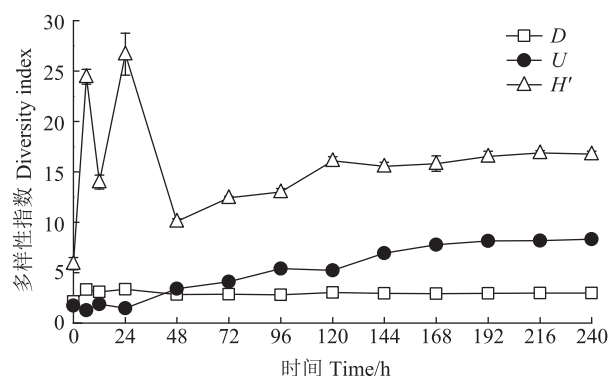


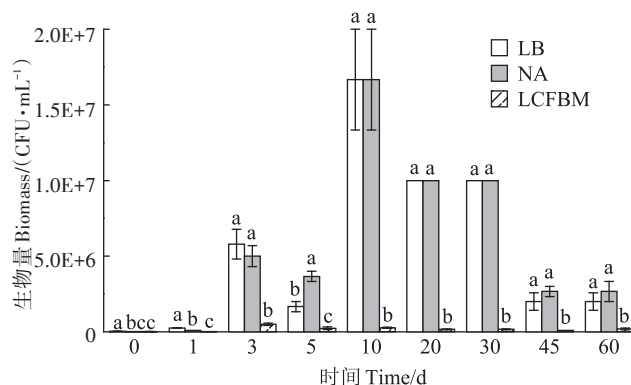
图4 降解菌群的多样性指数分析

Figure 4 Diversity index analysis of degraded bacteria community

组的污染物后,其微生物群落的丰富度和多样性均有不同程度下降。研究发现ZH-5对环境的适应性不断增加,在培养过程中,优势微生物类群不断增殖,不能降解微塑料的微生物类群逐渐死亡,该结果与前人研究结果相似。本研究用Biolog-Eco微平板法分析了ZH-5菌群的代谢活性和群落多样性变化,需要注意的是Biolog-Eco微平板法侧重于研究微生物群落对底物的利用,即代谢多样性,从而间接反映微生物多样性变化^[28],因此在后续研究中需结合其他方法综合应用,以便得到更全面的数据。

2.3 培养过程中ZH-5菌群生物量的变化

生物量是反映菌群生长活性的重要指标。如图5所示,ZH-5菌群在0~10 d时生物量迅速增加,10 d以后开始降低,其中LB、NA和LCFBM培养基中的生物量于第10天达到最高,分别为 1.7×10^7 CFU·mL⁻¹和 2.7×10^5 CFU·mL⁻¹。在培养过程中生物量的增加可能是由于ZH-5对底物的利用,进而导致PE降解^[31]。3种培养基中的生物量于10~60 d呈下降



不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

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

图5 培养过程中ZH-5的生物量变化

Figure 5 Changes of microbial content of ZH-5 during biodegradation process

趋势,生物量的减少是细胞裂解、营养耗竭或培养基中存在抑制产物所致^[32]。ZH-5菌群生物量在不同培养基及不同培养时间间差异显著($P < 0.05$),可能是某些微生物在代谢过程中不能适应培养条件,或培养过程存在不利于微生物生长和繁殖的降解代谢物。通过60 d培养观察,ZH-5生物量变化趋势为快速增加后下降。Auta等^[33]评估了分离聚丙烯(PP)降解菌株的生物量,发现降解菌株数量随着时间的推移而减少,与本研究结果相同。ZH-5生物量在0~10 d增加,表明微生物适应了以PE微塑料为唯一碳源的培养条件,并可能利用PE作为碳源进行生长,之后未能适应该环境的微生物开始消亡,监测生物量发现,其数量于第10天开始减小。Vásquez-murrieta等^[34]也发现当种群处于新环境时,由于生物或非生物因素,菌株数量常会随着时间的推移而减少。

2.4 ZH-5培养过程中培养基pH变化

pH是影响微生物生存和活动的关键因素,对微生物种群酶活和降解率有重要影响^[35]。由图6可知,ZH-5在PE降解过程中使培养基的pH降低,由最初的6.71降低到6.43。第10天pH为6.45时,培养基微生物含量达到最高,菌群生长较好。培养基pH逐渐减小,可能是酸性芳香族化合物或其他代谢物质的产生和积累所致,其超过微生物生长的耐受阈值将导致微生物死亡。在现有报道中,大多数降解菌的最适pH条件为碱性,如Xu等^[36]观察到在pH为8.0的情况下聚乳酸能快速被微生物降解,Auta等^[37]发现*Bacillus* sp.和红球菌(*Rhodococcus* sp.)降解PP的最适pH

条件分别为8.51和8.56。研究结果表明不同微生物对环境有不同的响应机制,另外该结果也增大了微塑料降解菌在极端环境中正常生长的条件范围。

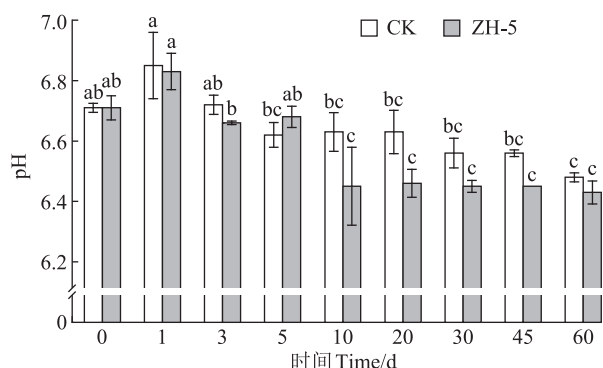


图6 接种ZH-5后PE培养基pH的变化

Figure 6 Change of pH value of PE medium after inoculation with ZH-5

2.5 ZH-5对PE的降解率

通过计算降解率和半衰期,定量评价了ZH-5降解PE的潜力。由表2可知,培养60 d后,ZH-5对PE的降解率为2.86%,半衰期约为1 386.2 d。该发现表明,ZH-5菌群对PE微塑料具有一定的降解潜力,但具体降解机制尚不明确,可能是菌群能够分泌特定的酶,这些分泌物催化代谢反应,导致PE微塑料分解,最终实现生物降解作用。Tribedi等^[38]的一项研究发现假单胞杆菌AKS2在45 d内可降解(5±1)%的PE(质量分数),Harshvardhan等^[39]也发现从远洋水中分离的沼泽杆菌、短小芽孢杆菌和枯草杆菌对PE具有降解能力,且降解率分别为1.00%、1.50%和1.75%,由于不同微生物具有不同生长特性,因此对塑料的降解程度也有所不同。本研究利用微生物菌群降解PE微塑料,与之前研究报道的单一菌株相比,ZH-5菌群降解能力更强。通过分析微塑料去除速率常数 K 和相应的半衰期,进一步证实了ZH-5菌群能在以PE为唯一碳源的培养基中生长,推测ZH-5菌群在生长过程中能够利用PE,使其部分降解。

2.6 生物降解微塑料的扫描电镜分析

扫描电镜结果显示,未处理组和对照组中PE颗

粒表面光滑(图7a和图7b),而经微生物处理60 d的PE颗粒表面变得粗糙,且具有许多孔隙、裂缝、凹槽和腐蚀痕迹(图7c)。以上结果表明,ZH-5菌群处理后的PE材料表面结构受损,推测原因可能是菌群定殖于材料表面,而后产生特定酶,这些酶分子导致材料孔径逐渐变大。已有研究证明,扫描电镜结果显示的塑料薄膜被侵蚀,形成的空洞和气孔可以反映微生物定殖和降解的程度^[40]。Bonhomme等^[41]对PE降解的一项研究中证实,聚合物表面具有物理侵蚀的痕迹。本研究通过电镜观察ZH-5生物降解后的PE颗粒,发现其表面具有类似形态变化,从而验证ZH-5菌群对PE具有降解潜力。

2.7 生物降解微塑料的红外光谱分析

利用傅里叶变换红外光谱仪,在400~4 000 cm^{-1} 频率范围内测定PE微塑料降解前后的结构变化,结果如图8所示。未处理组和对照组(图8a和图8b)中PE颗粒表面的红外光谱图显示,在1 463 cm^{-1} 和2 846 cm^{-1} 处出现碳氢键($-\text{CH}_2-$)弯曲振动和对称伸缩振动的吸收峰,在1 378 cm^{-1} 和771 cm^{-1} 处分别出现甲基($-\text{CH}_3$)对称变角振动吸收峰和乙基($-\text{C}_2\text{H}_5$)吸收峰,与其相应材质的红外特征谱图一致。而接种降解菌群的PE颗粒红外光谱图(图8c)显示,由于羰基($\text{C}=\text{O}$)的对称伸缩振动,1 723 cm^{-1} 出现了一个新的吸收峰,这可能是由于PE被氧化,导致聚合物分子量降低。Wilkes等^[42]发现微生物附着于微塑料表面后可以通过氧化反应使聚合物结构发生改变,即氧化反应通过产生羰基等官能团增加PE的亲水性,进而增强其生物降解性。962 cm^{-1} 处峰值的增加归因于 $\text{C}=\text{C}$ 双键伸缩振动,说明在降解过程中PE颗粒表面发生老化作用,使塑料材质性能发生改变,进而影响了其降解性,Park等^[26]在降解PE时也发现了该现象。以上结果表明,PE微塑料在经ZH-5降解后其表面官能团发生变化,再次验证了ZH-5菌群对PE具有降解潜力。

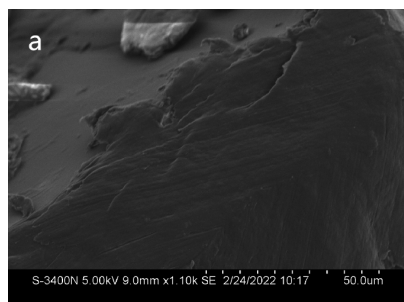
2.8 ZH-5对作物种子萌发的影响

由于自然环境中种子在萌发期就受到微塑料的污染胁迫,且种子萌发阶段是植物生长周期中的重要

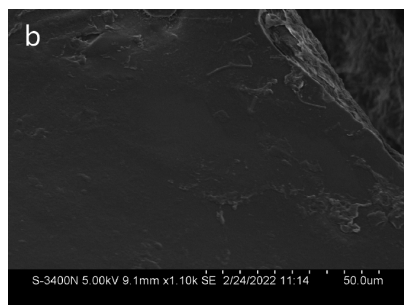
表2 ZH-5在PE微塑料培养基中的质量减量效率

Table 2 Mass reduction efficiency of ZH-5 in PE micro plastic medium

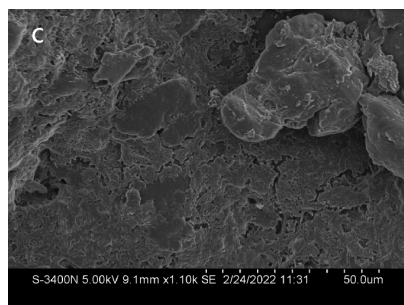
处理 Treatment	初始质量 Initial weight/g	最终质量 Final weight/g	降解率 Degradation rate/%	显著性 Sig.	还原常数(K) Reduction constant	半衰期 Half-life/d
CK	1.05	1.05	0	0.07	0	∞
ZH-5	1.05	1.02	2.86±0.000 2		0.000 5	1 386.2



(a)原始PE微塑料Original PE microplastics



(b)对照PE微塑料Control PE microplastics



(c)接种ZH-5的PE微塑料PE microplastics inoculated with ZH-5

图7 PE微塑料的SEM图($\times 100$)Figure 7 SEM photos of PE microplastics($\times 100$)

环节,因此为减轻微塑料对作物早期的伤害^[43],研究降解菌群在微塑料胁迫下对作物种子萌发的影响至关重要。发芽率、发芽势、根长和鲜质量等是衡量种子在逆境环境下萌发能力强弱的重要指标。由图9可知,作物种子在P1和P3处理下促生效果最明显,与CK相比,黄瓜、萝卜和香瓜的发芽指数在P1处理下分别增加了11.85%、9.55%和2.24%,黄瓜和萝卜在P3处理下分别增加了10.85%和5.32%。一定浓度的降解菌液提高了微塑料胁迫下作物种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数等指标,促进了幼苗的生长。由表3可知,ZH-5在一定浓度微塑料胁迫下对种子根长有显著的促生作用($P<0.05$)。P1处理对根长的促生效果最为明显,与P0相比,P1对黄瓜、萝卜、甜瓜和香瓜的根长促生率分别为31.38%、108.13%、57.59%和223.03%。大量研究证明微塑料

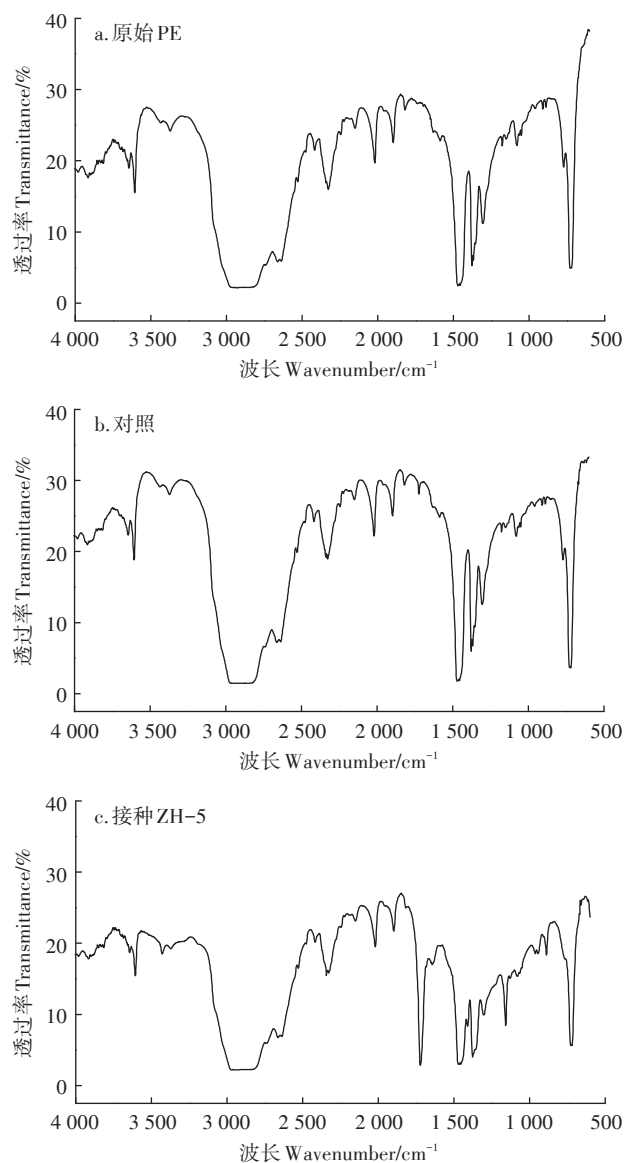


图8 PE微塑料的FTIR图

Figure 8 FTIR photos of PE microplastics

对植物生长具有抑制作用,刘莹莹等^[44]研究发现高浓度微塑料对作物种子具有一定的抑制作用,连加攀等^[45]利用3种不同类型的微塑料对小麦种子萌发进行胁迫,结果表明,加入中低浓度微塑料时,小麦种子萌发即受到抑制。目前研究中,尚未发现针对在微塑料胁迫下降解菌对植物生长影响的相关报道。本试验表明ZH-5对4种作物种子萌发及生长均产生了显著的影响,具体表现为低浓度促进高浓度抑制,较低浓度的ZH-5菌液通过刺激种胚生理活性,提高了作物种子的发芽指标,促进了根的生长,而高浓度菌液使作物种子出现无根苗,原因是其抑制了种子内淀粉和蛋白质的分解,导致种子缺少萌发所需的物质和能

量^[43]。本研究探究了ZH-5对作物种子的毒理作用,并证实了其具有消减微塑料对作物生长胁迫的能力,在农业生产方面有一定的应用价值。

3 结论

本研究从土壤中分离筛选出一组具有降解聚乙

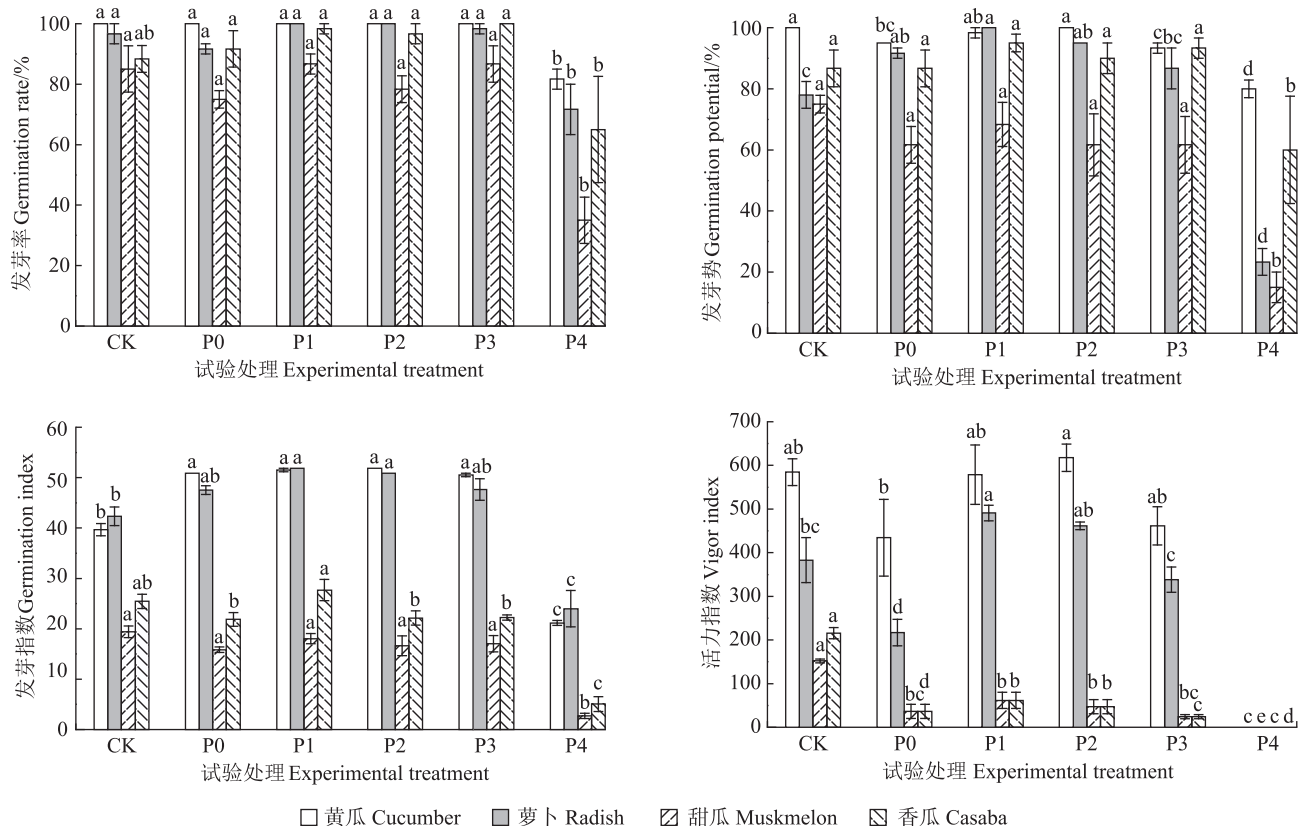


图9 微塑料对植物种子萌发的影响

Figure 9 Effects of microplastics on plant seed germination

表3 在微塑料胁迫下ZH-5对植物幼苗的影响

Table 3 Effects of ZH-5 on plant seedlings under micro plastic stress

植物品种 Plant variety	处理 Treatment	根长 Root length/cm	芽长 Buds long/cm	鲜质量 Fresh weight/g	植物品种 Plant variety	处理 Treatment	根长 Root length/cm	芽长 Buds long/cm	鲜质量 Fresh weight/g
黄瓜	CK	15.38±0.01a	1.63±0.01a	0.35±0.01a	甜瓜	CK	7.86±0.29a	0.97±0.01a	0.09±0.01a
	P0	8.54±1.73c	1.21±0.03c	0.27±0.02c		P0	2.24±0.98bc	0.66±0.02b	0.07±0.01a
	P1	11.22±1.26bc	1.18±0.01c	0.28±0.02bc		P1	3.53±1.14b	0.64±0.03b	0.09±0.01a
	P2	11.91±0.60b	1.30±0.04b	0.32±0.01abc		P2	2.81±0.98b	0.62±0.01b	0.08±0.02a
	P3	9.14±0.85bc	1.18±0.02c	0.33±0.03ab		P3	1.40±0.12bc	0.61±0.03b	0.07±0.01a
	P4	<0.01±<0.01d	<0.01±<0.01d	<0.01±<0.01d		P4	<0.01±<0.01c	<0.01±<0.01c	<0.01±<0.01b
萝卜	CK	9.03±1.12a	1.18±0.06a	0.19±0.01b	香瓜	CK	8.47±0.22a	0.93±0.02a	0.09±0.01a
	P0	4.55±0.60c	0.50±0.01b	0.18±0.01b		P0	1.65±0.83d	0.50±0.25b	0.04±0.02b
	P1	9.47±0.35a	0.50±0.01b	0.23±0.01a		P1	5.33±1.19bc	0.64±0.02ab	0.08±0.01a
	P2	9.07±0.17a	0.48±0.02b	0.23±0.01a		P2	7.10±0.53ab	0.64±0.03ab	0.10±0.01a
	P3	7.08±0.36b	0.48±0.01b	0.25±0.01a		P3	4.13±0.80c	0.63±0.01ab	0.10±0.01a
	P4	<0.01±<0.01d	<0.01±<0.01c	<0.01±<0.01c		P4	<0.01±<0.01d	<0.01±<0.01c	<0.01±<0.01c

注: 同列不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

Note: Different lowercase letters in a column indicate significant differences among treatments (P<0.05).

烯微塑料潜力的菌群ZH-5。该菌群主要菌属为新生螺旋菌、嗜氨菌和假单胞菌等,均为目前报道的具有降解塑料潜力的微生物菌属,表明ZH-5菌群具有降解微塑料的潜力。通过生物降解性能试验,分析了该菌群的生物量变化及其微生物代谢功能多样性,结合菌群对微塑料质量损失、形态及结构变化的影响,证实ZH-5在生物降解过程中对PE微塑料具有较强的利用能力。通过研究微塑料胁迫下对作物种子萌发的影响,验证了ZH-5菌群能够消减微塑料对作物生长的毒性效应。

参考文献:

- [1] 扈瀚文, 杨萍萍, 薛含含, 等. 环境微塑料污染的研究进展[J]. 合成材料老化与应用, 2020, 49(1): 97-102. HU H W, YANG P P, XUE H H, et al. Research progress on environmental pollution of microplastic[J]. *Synthetic Materials Aging and Application*, 2020, 49(1): 97-102.
- [2] 伍珊. 海洋微塑料污染及生物降解研究进展[J]. 现代商贸工业, 2019, 40(9): 191-193. WU S. Research progress on marine microplastic pollution and biodegradation[J]. *Modern Business Trade Industry*, 2019, 40(9): 191-193.
- [3] SUARIA G, AVIO C G, MINEO A, et al. The mediterranean plastic soup: Synthetic polymers in mediterranean surface waters[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 1-10.
- [4] ERIKSEN M, LEBRETON L C M, CARSON H S, et al. Plastic pollution in the world's oceans: More than 5 trillion plastic pieces weighing over 250 000 tons afloat at sea[J]. *Public Library of Science One*, 2014, 9(12): e111913.
- [5] NIZZETTO L, FUTTER M, LANGAAS S. Are agricultural soils dumps for microplastics of urban origin?[J]. *Environmental Science and Technology*, 2016, 50(20): 10777-10779.
- [6] THOMPSON R C, OLSEN Y, MITCHELL R P, et al. Lost at sea: Where is all the plastic?[J]. *Science*, 2004, 304(5672): 838.
- [7] YU X, PENG J, WANG J, et al. Occurrence of microplastics in the beach sand of the Chinese inner sea: The Bohai Sea[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 214: 722-730.
- [8] ZHAO J, RAN W, TENG J, et al. Microplastic pollution in sediments from the Bohai Sea and the Yellow Sea, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 640/641: 637-645.
- [9] YUAN W, LIU X, WANG W, et al. Microplastic abundance, distribution and composition in water, sediments, and wild fish from Poyang Lake, China[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 170: 180-187.
- [10] BATEL A, LINTI F, SCHERER M, et al. Transfer of benzo[a] pyrene from microplastics to Artemia nauplii and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2016, 35(7): 1656-1666.
- [11] LWANGA E H, GERTSEN H, GOOREN H, et al. Incorporation of microplastics from litter into burrows of *Lumbricus terrestris*[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 220: 523-531.
- [12] SIGLER M. The effects of plastic pollution on aquatic wildlife: Current situations and future solutions[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2014, 225(11): 1-9.
- [13] MICHAUD L, DI M G, BRUNI V, et al. Biodegradative potential and characterization of psychrotolerant polychlorinated biphenyl-degrading marine bacteria isolated from a coastal station in the Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2007, 54(11): 1754-1761.
- [14] ALI M I, AHMED S, ROBSON G, et al. Isolation and molecular characterization of polyvinyl chloride (PVC) plastic degrading fungal isolates[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2014, 54(1): 18-27.
- [15] HADAR Y, SIVAN A. Colonization, biofilm formation and biodegradation of polyethylene by a strain of *Rhodococcus ruber*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 65(1): 97-104.
- [16] 侯丽君. 不同类型塑料降解菌的筛选及降解机理初探[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020: 10-12. HOU L J. Screening of different types of plastic degradable microbes and its potential genetic mechanism[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2020: 10-12.
- [17] 赵文琪. 超高温堆肥去除污泥微塑料及其微生物-化学耦合机制[D]. 福州: 福建农林大学, 2019: 31-37. ZHAO W Q. Removal of sludge-based microplastics by hyper thermophilic composting and its microbial-chemical mechanism[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2019: 31-37.
- [18] CHEN Z, ZHENG Y, DING C, et al. Integrated metagenomics and molecular ecological network analysis of bacterial community composition during the phytoremediation of cadmium-contaminated soils by bioenergy crops[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 145: 111-118.
- [19] LI C, LIU X, MENG M, et al. The use of Biolog Eco microplates to compare the effects of sulfuric and nitric acid rain on the metabolic functions of soil microbial communities in a subtropical plantation within the Yangtze River Delta region[J]. *Catena*, 2021, 198: 105039.
- [20] MOHAN A J, SEKHAR V C, BHASKAR T, et al. Microbial assisted high impact polystyrene (HIPS) degradation[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 213: 204-207.
- [21] SEKHAR V C, NAMPOOTHIRI K M, MOHAN A J, et al. Microbial degradation of high impact polystyrene (HIPS), an e-plastic with decabromodiphenyl oxide and antimony trioxide[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 318: 347-354.
- [22] ZHU B K, FANG Y M, ZHU D, et al. Exposure to nanoplastics disturbs the gut microbiome in the soil oligochaete *Enchytraeus crypticus* [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 239: 408-415.
- [23] MURPHY F, QUINN B. The effects of microplastic on freshwater *Hydra attenuata* feeding, morphology & reproduction[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 234: 487-494.
- [24] 任艳芳, 何俊瑜, 杨军, 等. 外源H₂O₂对盐胁迫下小白菜种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. 生态学报, 2019, 39(20): 7745-7756. REN Y F, HE J Y, YANG J, et al. Effects of exogenous hydrogen peroxide on seed germination and physiological characteristics of pak-choi seedlings (*Brassica chinensis* L.) under salt stress[J]. *Acta Ecologi-*

- ca Sinica, 2019, 39(20):7745–7756.
- [25] GAJENDIRAN A, KRISHNAMOORTHY S, ABRAHAM J. Microbial degradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Aspergillus clavatus* strain JASK1 isolated from landfill soil[J]. *3 Biotech*, 2016, 6(1): 1–6.
- [26] PARK S Y, KIM C G. Biodegradation of micro-polyethylene particles by bacterial colonization of a mixed microbial consortium isolated from a landfill site[J]. *Chemosphere*, 2019, 222:527–533.
- [27] CHAUDHARY D K, DAHAL R H, HONG Y. *Noviherbaspirillum pedocola* sp. nov., isolated from oil-contaminated experimental soil[J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 203(6):3071–3076.
- [28] CA Z, JE G. Effects of recreational impacts on soil microbial communities[J]. *Environmental Management*, 1997, 21(2):233–238.
- [29] ZHOU H, ZHANG T, ZHUANG J, et al. Study on the regulation of earthworm physiological function under cadmium stress based on a compound mathematical model[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020, 80:103499.
- [30] 李文韬. 聚苯乙烯微塑料对海洋微生物的毒性研究[D]. 大连:大连理工大学, 2021:12–30. LI W T. Toxicity of polystyrene microplastics to marine microorganisms[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2021:12–30.
- [31] OKPOKWASILI G C, NWEKE C O. Microbial growth and substrate utilization kinetics[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2006, 5(4): 305–317.
- [32] ANDRADY A L. Microplastics in the marine environment[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(8):1596–1605.
- [33] AUTA H S, EMENIKE C U, FAUZIAH S H. Screening of *Bacillus* strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 231: 1552–1559.
- [34] VÁSQUEZ-MURRIETA M S, HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ O J, CRUZ-MAYA J A, et al. Approaches for removal of PAHs in soils: Bioaugmentation, biostimulation and bioattenuation[J]. *Soil Contamination—Current Consequences and Further Solutions*, 2016:329–342.
- [35] GU J D. Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: Recent research advances[J]. *International Biodegradation and Biodegradation*, 2003, 52(2):69–91.
- [36] XU L, CRAWFORD K, GORMAN C B. Effects of temperature and pH on the degradation of poly (lactic acid) brushes[J]. *Macromolecules*, 2011, 44(12):4777–4782.
- [37] AUTA H S, EMENIKE C U, JAYANTHI B, et al. Growth kinetics and biodeterioration of polypropylene microplastics by *Bacillus* sp. and *Rhodococcus* sp. isolated from mangrove sediment[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 127:15–21.
- [38] TRIBEDI P, SIL A K. Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(6):4146–4153.
- [39] HARSHVARDHAN K, JHA B. Biodegradation of low-density polyethylene by marine bacteria from pelagic waters, Arabian Sea, India [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2013, 77(1/2):100–106.
- [40] SOWMYA H V, RAMALINGAPPA M K, THIPPESWAMY B. Biodegradation of polyethylene by *Bacillus cereus*[J]. *Advances in Polymer Science and Technology*, 2014, 4(2):28–32.
- [41] BONHOMME S, CUER A, DELORT A M, et al. Environmental biodegradation of polyethylene[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2003, 81(3):441–452.
- [42] WILKES R A, ARISTILDE L. Degradation and metabolism of synthetic plastics and associated products by *Pseudomonas* sp.: Capabilities and challenges[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2017, 123(3): 582–593.
- [43] 张义贤. 汞、镉、铅胁迫对油菜的毒害效应[J]. 山西大学学报:自然科学版, 2004, 27(4):410–413. ZHANG Y X. The toxic effects of mercury, cadmium and lead to *Brassica chinensis* L. [J]. *Journal of Shanxi University(Natural Science Edition)*, 2004, 27(4):410–413.
- [44] 刘莹莹, 张旗, 崔文智, 等. 聚乙烯微塑料对绿豆发芽的毒性研究[J]. 环境与发展, 2019, 31(5):123–125. LIU Y Y, ZHANG Q, CUI W Z, et al. Toxicity of polyethylene microplastics to seed germination of mung bean[J]. *Environment and Development*, 2019, 31(5): 123–125.
- [45] 连加攀, 沈玫玫, 刘维涛. 微塑料对小麦种子发芽及幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(4):737–745. LIAN J P, SHEN M M, LIU W T. Effects of microplastics on wheat seed germination and seedling growth[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(4):737–745.

(责任编辑:李丹)