

珠江河口滩涂沉积物中可培养细菌多样性及微塑料降解功能菌资源的挖掘

王莹¹, 何欢欢¹, 卢春艳¹, 郑卓桓¹, 王森¹, 黄易¹, 李冰雨¹, 董雷^{1*},
李文均^{1,2*}

1 中山大学 生命科学学院, 水产动物疫病防控与健康养殖全国重点实验室, 广东 广州

2 中国科学院新疆生态与地理研究所, 荒漠与绿洲生态国家重点实验室, 新疆 乌鲁木齐

王莹, 何欢欢, 卢春艳, 郑卓桓, 王森, 黄易, 李冰雨, 董雷, 李文均. 珠江河口滩涂沉积物中可培养细菌多样性及微塑料降解功能菌资源的挖掘[J]. 微生物学报, 2025, 65(4): 1341-1357.

WANG Ying, HE Huanhuan, LU Chunyan, ZHENG Zhuohuan, WANG Sen, HUANG Yi, LI Bingyu, DONG Lei, LI Wenjun. Diversity of culturable bacteria in mudflat sediments of the Pearl River Estuary and exploitation of microplastic-degrading bacterial resources[J].

Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(4): 1341-1357.

摘要:【目的】探究广东珠江河口滩涂沉积物中的可培养细菌多样性, 并挖掘具有微塑料降解功能的菌株资源。【方法】使用 5 种培养基对微生物进行分离与纯化, 采用 MEGA-X 进行系统进化分析。利用聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)培养基筛选具有 PET 微塑料降解功能的菌株, 并对相关基因进行功能注释。【结果】共分离得到 265 株细菌, 分布于 4 门 32 科 71 属。其中, 假单胞菌门(*Pseudomonadota*) 168 株, 占比 63.40%; 放线菌门(*Actinomycetota*) 38 株, 占比 14.34%; 芽孢杆菌门(*Bacillota*) 31 株, 占比 11.70%; 拟杆菌门(*Bacteroidota*) 28 株, 占比 10.56%。基于 16S rRNA 基因序列的同源性分析, 推测其中 59 株菌株可能为潜在新物种。同时, 筛选获得 1 株具有潜在 PET 降解功能的菌株。【结论】本研究成功获得广东珠海香洲区滩涂特有的微生物菌株资源, 并筛选得到 1 株能以 PET 作为唯一碳源进行生长的细菌。

关键词: 珠江河口; 滩涂沉积物; 细菌分离; 微塑料降解

资助项目: 广州市科技局重点研究计划(2024B03J1276)

This work was supported by the Key Research Program of Guangzhou Science and Technology Bureau (2024B03J1276).

*Corresponding authors. E-mail: LI Wenjun: liwenjun3@mail.sysu.edu.cn; DONG Lei: donglei6@mail.sysu.edu.cn

Received: 2024-12-03; Accepted: 2024-12-19; Published online: 2025-02-08

Diversity of culturable bacteria in mudflat sediments of the Pearl River Estuary and exploitation of microplastic-degrading bacterial resources

WANG Ying¹, HE Huanhuan¹, LU Chunyan¹, ZHENG Zhuohuan¹, WANG Sen¹, HUANG Yi¹, LI Bingyu¹, DONG Lei^{1*}, LI Wenjun^{1,2*}

¹ State Key Laboratory of Biocontrol, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong, China

² State Key Laboratory of Desert and Oasis Ecology, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi, Xinjiang, China

Abstract: [Objective] To explore the diversity of culturable bacteria in the mudflat sediments of the Pearl River Estuary in Guangdong Province and to mine strain resources capable of degrading microplastics from these sediments. [Methods] Five media were used for microbial isolation, and phylogenetic analysis was performed by MEGA-X software. The polyethylene terephthalate (PET) medium was selected to screen PET microplastic-degrading strains, and then gene function annotation was performed. [Results] A total of 265 bacterial strains belonging to 71 genera, 32 families of 4 phyla were isolated, including 168 (63.40%) strains of *Pseudomonadota*, 38 (14.34%) strains of *Actinomycetota*, 31 (11.70%) strains of *Bacillota*, and 28 (10.56%) strains of *Bacteroidota*. Based on the homology of 16S ribosomal RNA (16S rRNA) gene sequences, it was hypothesized that 59 of these strains might be potential new species. From the isolated strains, one PET microplastic-degrading strain was screened. [Conclusion] This study successfully obtained unique microbial resources from the tidal flats of Xiangzhou District, Zhuhai City and one strain capable of degrading PET and using PET as the sole carbon source.

Keywords: Pearl River Estuary; mudflat sediments; bacterial isolation; microplastic degradation

微塑料(microplastics, MPs)是指尺寸小于5 mm的塑料纤维、颗粒或薄膜,包括聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)、聚乙烯(polyethylene, PE)和聚苯乙烯(polystyrene, PS)等,它们主要来自塑料包装、化妆品和衣物纤维等^[1]。随着人类对塑料使用量的增加,塑料垃圾已成为全球环境污染的主要因素之一^[2]。在自然侵蚀、机械损伤、紫外线照射等长期作用下,塑料垃圾会逐渐破碎降解为微塑料^[3]。微塑料通过风力、水流等途径广泛传播,不仅对陆地和海洋生态系统造成严重危害,还极易被环境中的生物体吸收,进而对生物的生长和繁殖

产生不利影响^[4-5]。此外,微塑料能通过食物链或呼吸道进入人体,并在人体内累积,可能诱发炎症反应、内分泌干扰和细胞损伤等疾病^[6-8]。

微塑料具有较强的稳定性,在自然环境中降解速度缓慢^[9]。然而,仍有特定的微生物能够降解微塑料^[10]。微生物降解是一种环境友好且可持续的微塑料处理方式^[11]。近年来,微生物学研究者已鉴定出众多具有微塑料降解能力的细菌分离株,这些细菌已成为当前研究的热点。微塑料降解细菌易于在微塑料表面定殖,并分泌塑料降解酶来加速其降解^[12]。目前,科学家们已围绕垃圾填埋场土壤、污水、污泥和海水

等微塑料富集环境,开展了大量关于微塑料降解细菌的研究^[13-15]。Cao 等^[16]采用文献计量分析法,系统总结了 2012–2022 年间关于微塑料生物降解及其机理的相关研究,结果表明,已报道的微塑料降解细菌主要隶属于假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)、放线菌门(*Actinomycetota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)。Dong 等^[17]通过研究中国澳门周边 4 个河流采样站和 4 个近海采样站的地表水细菌多样性和种类组成,发现 MPs 表面的塑料降解细菌比例远高于水体中的塑料降解细菌,河流内 MPs 表层细菌以假单胞菌门和放线菌门为主,而近岸 MPs 表层芽孢杆菌门占比较高。

滩涂是由潮汐或河流侵蚀产生的沉积物在潮间带区域形成的沿海湿地^[18]。根据组成成分的不同,滩涂可以分为岩滩、沙滩、泥滩三类,其组成物质从黏土大小的颗粒到粗沙,以及碳酸盐颗粒和有机物不等^[19]。当人类活动产生的微塑料进入海洋后,在潮汐、波浪等外力的作用下,微塑料会在海滩、近海以及大洋中迁移,漂浮在海岸附近的塑料很可能被冲上岸,而作为水陆交界区域的滩涂容易成为微塑料的富集地^[20-21]。因此,选择滩涂开展微塑料降解细菌的相关研究具有一定的现实意义。

位于广东珠江河口西岸的珠海市香洲区,地理位置优越,区域内包含多个岛屿,如担杆岛、外伶仃岛、野狸岛、桂山岛等,海岸线绵长,自然资源丰富^[22]。香洲区岛屿众多,滩涂广阔,生物多样性丰富,这为潜在功能菌株的

挖掘提供了宝贵的资源库。本研究选取珠海市香洲区的野狸岛、桂山岛和外伶仃岛 3 个岛屿的滩涂作为研究对象,在 5 种不同的培养基条件下对滩涂中的可培养细菌进行分离和纯化,旨在探讨香洲区滩涂可培养细菌的多样性,同时通过筛选微塑料降解细菌实验,考察香洲区滩涂细菌的微塑料降解能力及其潜在的开发价值,以期对未来开发和利用香洲区滩涂微生物资源,以及挖掘微塑料降解功能菌株资源奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样本采集

采样地点位于广东省珠海市香洲区的野狸岛滩涂、桂山岛滩涂和外伶仃岛滩涂区域(表 1)。在每个采样点采用采样柱(直径为 9.8 cm)采集 3 个平均分布的表层(5–15 cm)滩涂沉积物(去除表层腐殖质)样品。每个采样点样品分别由 3 个表层样芯放入无菌采样袋混合而成。样品置于冰袋上运输回实验室,实验前储存在 4 °C 冰箱内。

1.1.2 培养基

采用 5 种不同的培养基对珠海市香洲区 3 个滩涂中的可培养细菌进行分离和纯化。2216E、R2A 和 TSA 培养基是用于微生物分离的常规培养基。2216EM 培养基是在 2216E 培养基的基础上添加制霉菌素;2216EMN 培养基在 2216E 培养基的基础上同时添加制霉菌素和萘啶酮酸。此外,采用无机盐培养基和 PET 培养基

表1 珠海市香洲区滩涂区域采样点及信息

Table 1 Location of samples in tidal flats of Xiangzhou District, Zhuhai

Sample	Date	Island name	Sample type	Geographical coordinates
XZ1	2024-01-02	Yeli Island	Clayey	22°17'4"N, 113°35'2"E
XZ2	2024-01-02	Guishan Island	Clayey	22°8'13"N, 113°48'52"E
XZ3	2024-01-02	Wai-lingding Island	Sandy	22°6'18"N, 114°1'36"E

筛选具有 PET 微塑料降解功能的菌株。上述培养基的详细配方见表 2。

1.1.3 主要仪器

微量分光光度计, ThermoFisher Scientific 公司; PCR 仪、凝胶成像仪, Bio-Rad 公司; 台式高压灭菌锅, Hirayama 公司; 台式 pH 计, Mettler Toledo 公司。

1.2 样品预处理

称取 5 g 滩涂沉积物样品, 放入已灭菌的 250 mL 三角瓶中(装有 45 mL 无菌生理盐水和 0.5 g 玻璃珠), 置于恒温摇床 28 °C、200 r/min 培养 30 min, 取出后静置 5 min, 用于后续的稀释涂布。

1.3 可培养细菌分离、纯化与保藏

将预处理后的滩涂样品悬浮液使用无菌生理盐水分别稀释至 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 这 3 个不同的稀释度, 从每个稀释度中分别吸取 100 μ L 样品, 使用无菌涂布棒将其均匀地涂布在 2216E、2216EM、2216EMN、R2A、TSA 这 5 种不同的

分离培养基上。涂布完毕后, 对每个平板做好标记, 使用封口膜将平板密封, 并小心地装入保鲜袋中, 于 28 °C 的恒温培养箱中倒置培养 1–4 周。在分离培养周期内, 定期观察平板上的菌落生长情况, 根据菌落的大小、颜色、干湿度等形态特征挑取具有代表性的菌株, 转接至四分板中继续培养, 待培养完成后使用无菌接种针将菌株以三区划线法在新的琼脂平板上进行培养纯化, 这一过程需要重复进行, 直到获得单一的菌落。纯化后的菌株加入体积分数为 20% 的甘油保藏于 -80 °C 冰箱中。

1.4 PCR 扩增与序列测序

在 PCR 管中加入 100 μ L 质量浓度为 100 g/L 的 Chelex-100 溶液, 使用接种针将板子上的单菌落挑取出来, 接着将其溶于对应的 PCR 管中, 充分混匀, 于 99 °C 加热 30 min 后, PCR 管中的上清液即为 16S rRNA 基因扩增模板。采用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492-R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')

表2 培养基配方

Table 2 Media formulation

Media	Formulation (g/L)
2216E medium (Zobell marine agar 2216)	Pronase 5.0, yeast extract 1.0, citric acid ferric 0.1, NaCl 19.45, MgCl ₂ 5.98, Na ₂ SO ₄ 3.24, CaCl ₂ 1.8, KCl 0.55, Na ₂ CO ₃ 0.16, KBr 0.08, SrCl ₂ 0.034, H ₃ BO ₃ 0.02, Na ₂ SiO ₃ 0.004, NaF 0.002 4, NH ₄ NO ₃ 0.001 6, K ₂ HPO ₄ 0.008, agar 18.0, pH 7.6±0.2
2216EM medium (2216E with nystatin)	Pronase 5.0, yeast extract 1.0, citric acid ferric 0.1, NaCl 19.45, MgCl ₂ 5.98, Na ₂ SO ₄ 3.24, CaCl ₂ 1.8, KCl 0.55, Na ₂ CO ₃ 0.16, KBr 0.08, SrCl ₂ 0.034, H ₃ BO ₃ 0.02, Na ₂ SiO ₃ 0.004, NaF 0.002 4, NH ₄ NO ₃ 0.001 6, K ₂ HPO ₄ 0.008, nystatin 0.05, agar 18.0, pH 7.6±0.2
2216EMN medium (2216E with nystatin, nalidixic acid)	Pronase 5.0, yeast extract 1.0, citric acid ferric 0.1, NaCl 19.45, MgCl ₂ 5.98, Na ₂ SO ₄ 3.24, CaCl ₂ 1.8, KCl 0.55, Na ₂ CO ₃ 0.16, KBr 0.08, SrCl ₂ 0.034, H ₃ BO ₃ 0.02, Na ₂ SiO ₃ 0.004, NaF 0.002 4, NH ₄ NO ₃ 0.001 6, K ₂ HPO ₄ 0.008, nystatin 0.05, nalidixic acid 0.05, agar 18.0, pH 7.6±0.2
R2A medium (Reasoner's 2A agar)	Yeast extract 0.5, peptone 0.5, casein 0.5, glucose 0.5, dextrose 0.5, K ₂ HPO ₄ 0.3, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.05, pyruvic acid sodium salt 0.3, agar 18.0, pH 7.5±0.2
TSA medium (tryptic soy agar)	Tryptone 17.0, soybean peptone 5.0, NaCl 5.0, glucose 2.5, K ₂ HPO ₄ 0.5, agar 18.0, pH 7.5±0.2
Inorganic salt medium	(NH ₄) ₂ SO ₄ 1.0, KH ₂ PO ₄ 0.7, K ₂ HPO ₄ 0.7, NaCl 2.0, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.7, ZnSO ₄ ·7H ₂ O 0.002, FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.002, MnSO ₄ 0.001, agar 18.0
PET medium	PET 0.005, (NH ₄) ₂ SO ₄ 1.0, KH ₂ PO ₄ 0.7, K ₂ HPO ₄ 0.7, NaCl 2.0, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.7, ZnSO ₄ ·7H ₂ O 0.002, FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.002, MnSO ₄ 0.001, agar 18.0

对分离纯化菌株的 16S rRNA 进行 PCR 扩增^[23]。PCR 反应体系 (25 μ L): 2 $\times$ Taq PCR StarMix 12.5 μ L, DNA 模板 1 μ L, 引物 27F 和 1492R (10 μ mol/L)各 1 μ L, ddH₂O 9.5 μ L。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56.5 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 32 个循环; 72 $^{\circ}$ C 终延伸 10 min。使用质量浓度为 10 g/L 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 在凝胶成像仪上观察扩增结果。将 PCR 扩增成功的产物发送至金唯智(广州)生物科技有限公司进行 16S rRNA 双向测序。在测序结果成功拼接后, 将拼接序列上传至 NCBI 网站, 利用其在线 BLAST 功能进行相似性比对。最后使用 MEGA-X 软件构建系统发育树^[24]。

1.5 微塑料降解菌筛选与鉴定

将分离纯化后的菌株分别在无机盐培养基和 PET 培养基中进行划线培养, 置于 28 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 5 d 后, 观察平板中菌株的生长情况。通过比较 2 种培养基上的菌落生长情况, 若观察到菌株仅在以 PET 为唯一碳源的 PET 培养基上生长, 而在无机盐培养基中未见生长的现象, 则表明该菌株能够利用 PET 进行生长代谢, 具备降解 PET 微塑料的能力。将筛选出的微塑料降解细菌的菌体样品送至金唯智(广州)生物科技有限公司进行 DNA 提取和全基因组测序, 以获取细菌的完整基因组信息。测序完成后, 将获得的基因组序列上传至 KEGG 数据库 (<https://www.genome.jp/kegg/>) 进行基因功能预测和代谢途径分析, 同时通过 PlasticsDB 数据库 (<https://plasticdb.org/>) 进行塑料降解基因簇的比对。

2 结果与分析

2.1 可培养细菌多样性统计

通过稀释涂布及平板划线培养, 分别在

5 种不同的培养基中, 从来自广东省珠海市香洲区的野狸岛、桂山岛和外伶仃岛 3 处滩涂区域采集的 3 份样品中共分离获得 265 株细菌。从形态上观察, 培养基中的菌落主要为圆形, 颜色主要有白色、黄色、红色等。265 株细菌分属于 4 门 7 纲 22 目 32 科 71 属 105 个种。如图 1 所示, 菌株主要分布在 4 个门, 其中 168 株分属于假单胞菌门, 占总数的 63.40%; 放线菌门 38 株, 占总数的 14.34%; 芽孢杆菌门 31 株, 占总数的 11.70%; 拟杆菌门 28 株, 占总数的 10.56% (图 1A)。

2.2 不同培养基可培养细菌多样性

采用 5 种培养基对 3 份滩涂样品中的细菌进行分离培养。其中, 2216EM 培养基中获得的菌株最多, 为 129 株(55 属), 其次是 2216E、R2A、2216EMN 和 TSA 培养基, 分别获得 86 株(31 属)、27 株(12 属)、12 株(8 属)和 11 株(8 属)。5 种培养基分离出的细菌在属水平上无共有的属, 2216EM 和 2216E 培养基共有的可培养细菌有 13 个属, 而其他培养基共有的可培养细菌数目则相对较少(图 1B、1C)。在门水平上, 5 种培养基分离出的细菌中都含有放线菌门细菌, 假单胞菌门细菌在 2216E 和 2216EM 培养基上占优势(图 1D)。不同培养基的分离类群也有明显差异, 2216EMN 和 R2A 培养基均未分离到芽孢杆菌门类群, TSA 培养基未分离到拟杆菌门类群。在属水平, 5 种培养基分离出的细菌分别属于 71 个属, 污物单胞菌属(*Defluviimonas*)的菌株数目最多(17 株, 6.42%), 是可培养细菌中丰度最高的属(图 1E)。

2.3 可培养细菌多样性在不同采样点之间的比较

在 3 份滩涂样品中, 样品 XZ1 分离得到的菌株数量最多, 共计 126 株(44 属), 而样品 XZ2 和 XZ3 分别分离得到 59 株(21 属)和 80 株

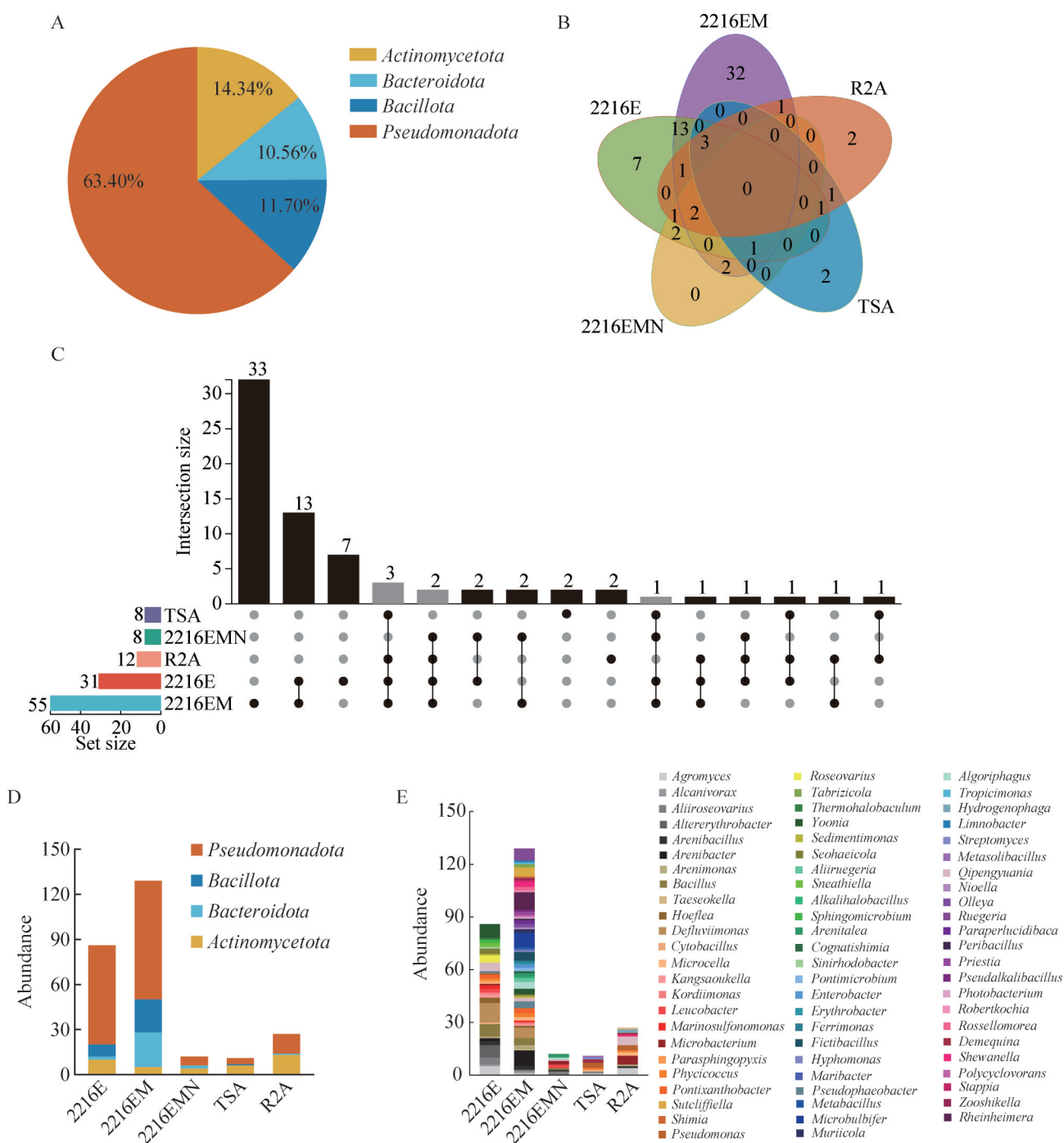


图1 不同培养基分离培养的滩涂细菌多样性

Figure 1 Diversity of bacteria from tidal flats cultured in different media. A: Community structure of isolated bacteria at phylum level; B: Venn diagram of differential genera; C: Upset plot of differential genera (The intersection column of four media was marked in grey color and the numbers represent the count of total genera or intersections of each component); D: Community structure of isolated bacteria in five different media at phylum level; E: Community structure of isolated bacteria in five different media at genus level.

(29 属), 如表 3 所示。在门水平上, 除样品 XZ2 中未分离到放线菌门细菌外, 其他每个样品中均能分离到的假单胞菌门、放线菌门、芽孢杆菌门以及拟杆菌门细菌, 且假单胞菌门细菌的占比最高(图 2A)。在属水平上, 仅污物单胞菌属和莱茵海默氏菌属(*Rheinheimera*)细菌在所有样品中均被分离得到。此外, 袁其朋菌属(*Qipengyuania*, 4.91%)为样品 XZ1 的优势类群, 假单胞菌门的尹正勋菌属(*Yoonia*, 4.15%)为样品 XZ2 的优势类群, 微杆菌属(*Microbacterium*, 3.02%)和别样玫瑰变色菌属(*Aliiroseovarius*, 3.02%)为样品 XZ3 的优势类群(图 2B)。

不同样品在属水平上的可培养细菌丰度与多样性存在明显差异(图 2C、2D)。XZ1 样品采集自野狸岛的沿海软质泥滩, 采样地点气候温暖湿润, 植被茂盛, 吸引了许多鸟类前来栖息, 土壤肥沃且含水量较高, 因此在 XZ1 样品中分离得到的菌株数量最多, 且多数为适应潮湿土壤环境的细菌, 该样品中特有的优势属包括农霉菌属(*Agromyces*)、海草球菌属(*Phycococcus*)、伪芽孢杆菌属(*Fictibacillus*)、萨克利夫氏菌属(*Sutcliffiella*)等; XZ2 样品采集自桂山岛的一湾沙滩, 桂山岛位于咸淡水交汇处, 因此既能分离到适应海洋环境的细菌, 如假暗棕色杆菌属(*Pseudophaeobacter*)、海洋硫化单胞菌属(*Marinosulfonomonas*)、居海杆菌属(*Maribacter*)等, 也能分离到适应淡水环境的细菌, 如科迪单胞菌属(*Kordiimonas*)、斯尼斯氏菌属(*Sneathiella*)等; XZ3 样品采集自外伶仃岛的沙

滩泳场附近, 该地多为疏松砂土, 透水性强, 养分含量低, 因此特有的属包括亮杆菌属(*Leucobacter*)、砂杆状菌属(*Arenitalea*)、沃雷氏菌属(*Olleya*)、砂土杆菌属(*Arenibacillus*)、食氢产水菌属(*Hydrogenophaga*)、副透明桑枣形菌属(*Paraperlucidibaca*)等。以往研究表明, 砂杆状菌属、沃雷氏菌属、砂土杆菌属、副透明桑枣形菌属等细菌常在海洋环境中被发现, 而亮杆菌属、食氢产水菌属则更多地是在土壤环境中生存^[25-26]。

2.4 分离菌株中的潜在新分类单元鉴定

对纯化成功的菌株进行 16S rRNA 基因的双向测序, 并对获得的 16S rRNA 基因序列进行了比对分析。为了探究这些菌株间的进化关系, 采用 MEGA-X 软件, 运用邻接(neighbor-joining, NJ)法构建了系统发育树(图 3)。根据测序菌株的 16S rRNA 基因在 NCBI 上的比对结果, 结合其在系统发育树中的分类位置, 共鉴定出 59 株潜在新种(相似度 $\leq 98.65\%$)。在这些潜在新种中, 假单胞菌门菌株数量最多, 共有 34 株(57.63%); 其次为拟杆菌门菌株 12 株(20.34%); 放线菌门菌株 11 株(18.64%); 而芽孢杆菌门菌株数量最少, 仅有 2 株(3.39%) (表 4)。这一发现为深入研究这些细菌的分类学和系统发育关系提供了重要线索。

2.5 微塑料降解细菌的筛选及分析

将分离纯化后的菌株分别在无机盐培养基和 PET 培养基中划线培养 5 d 后, 观察到

表3 不同样品中分离细菌的数目及多样性情况

Table 3 The number and diversity of bacteria separated from different samples

Sample	The number of isolates	The number of genera/species	The number of potential novel strains
XZ1	126	44/58	27
XZ2	59	21/28	10
XZ3	80	29/39	22

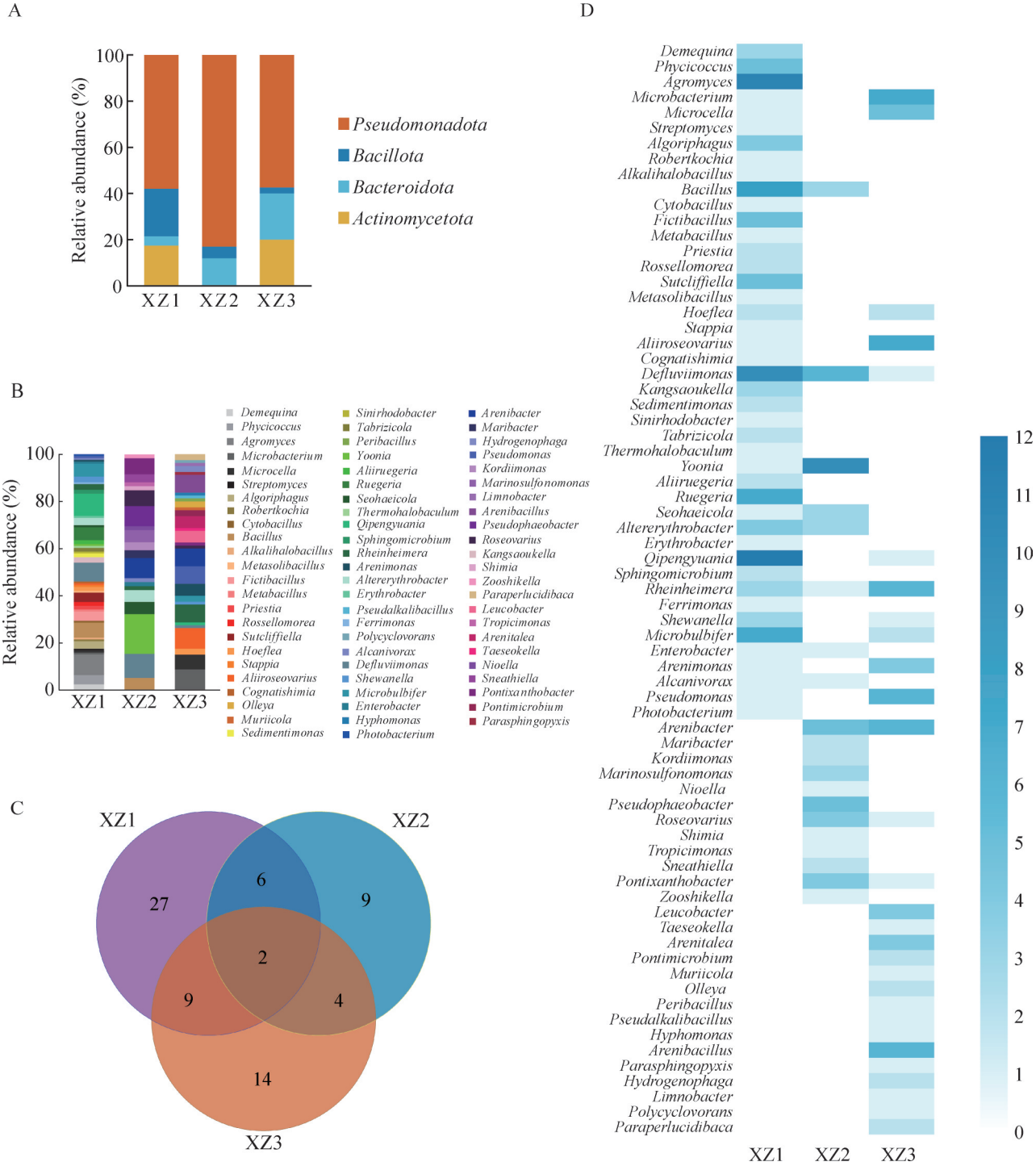


图2 香洲区不同滩涂样品分离的细菌多样性

Figure 2 Bacterial diversity of different mudflat samples in Xiangzhou District. A: Community structure of isolated bacteria in three mudflat samples at phylum level; B: Community structure of isolated bacteria in three mudflat samples at genus level; C: Venn diagram of differential genera; D: Community heatmap of differential genera.

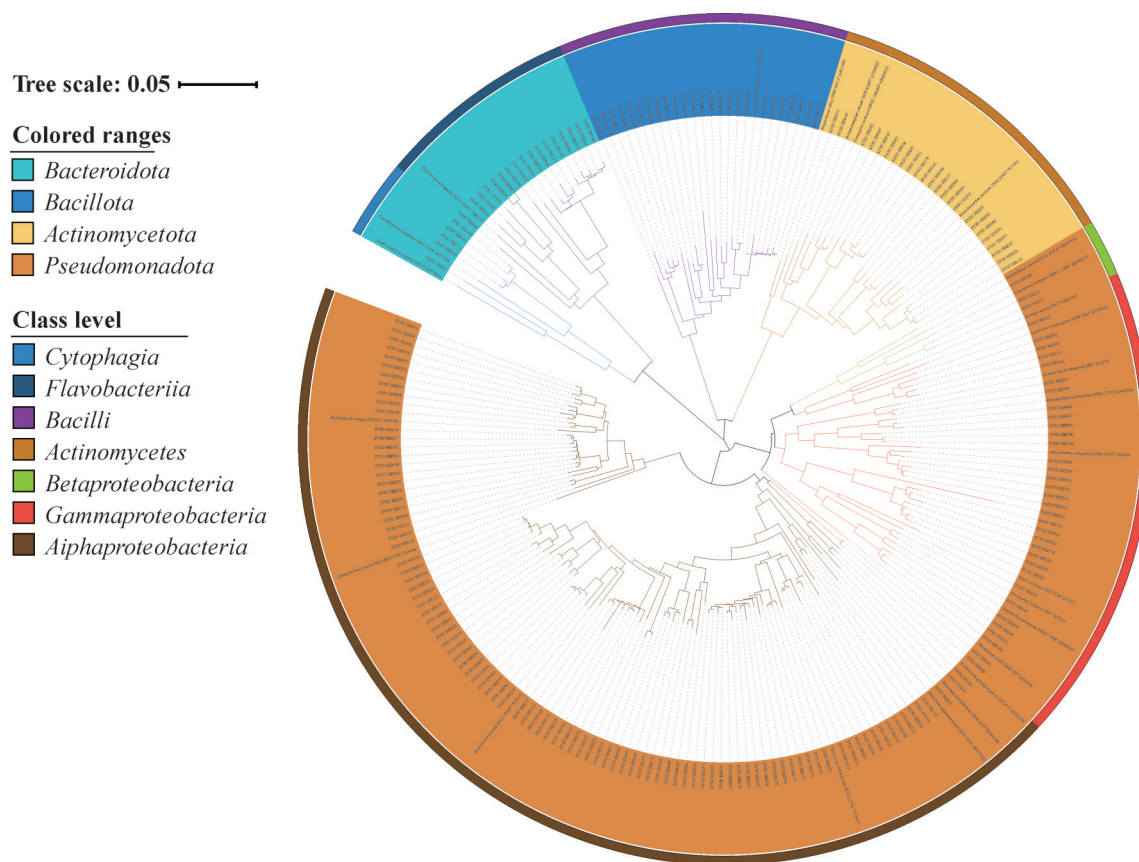


图3 珠海市香洲区滩涂可培养细菌基于16S rRNA基因序列的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree of culturable bacteria from mudflat in Xiangzhou District, Zhuhai City based on 16S rRNA gene sequence. The color ranges of the innermost circle indicates the classification on the phylum level; The color of the outnermost circle indicates the classification on the class level.

SYSU HH014 菌株能在以 PET 为唯一碳源的 PET 培养基上生长,而在无机盐培养基中未见生长,而其余菌株在 PET 培养基和无机盐培养基中均不生长,表明 SYSU HH014 菌株能够利用 PET 进行生长代谢,具备降解 PET 微塑料的潜能。如图 4A 所示,从样品 XZ1 中成功筛选出能以 PET 为唯一碳源生长的菌株 SYSU HH014。SYSU HH014 菌株在无机盐培养基中无法生长,但在 PET 培养基中却能良好生长,这一结果表明该菌株能够利用 PET 进行生长代谢,具备降解 PET 微塑料的能力。通过基因组分析,确定 SYSU HH014 菌株属于芽孢杆菌属(*Bacillus*)的卡

布氏芽孢杆菌(*B. cabrialesii*),并构建了该菌株的基因组系统发育树(图 4B)。将 SYSU HH014 菌株的基因组在 KEGG (图 4C)和 PlasticsDB (表 5)数据库进行比对分析,发现该菌株含有多个与塑料降解相关的基因簇,如 PET 水解酶(PET depolymerase, PETase)^[27]、3-羟基戊酸脱氢酶(3-hydroxyvalerate dehydrogenase, 3HV dehydrogenase)^[28]、聚乳酸解聚酶(polylactic acid depolymerase, PLA depolymerase)^[29]基因簇等,这些基因簇在 PET 降解过程中可能起着关键作用,然而其具体功能和作用机制还需在后续研究中进一步探讨。

表4 分离菌株中筛选出的潜在新种

Table 4 The potential new species of isolated bacteria

Strains	The most similar strains (type strain)	GenBank accession number	Similarity (%)	Phylum
SYSU HH007	<i>Demequina soli</i> HI12-122 ^T	NR_179185.1	98.65	Actinomycetota
SYSU HH013	<i>Altererythrobacter xiamenensis</i> LY02 ^T	NR_133694.1	98.41	Pseudomonadota
SYSU HH015	<i>Streptomyces somaliensis</i> DSM 40738 ^T	NR_025292.1	98.46	Actinomycetota
SYSU HH019	<i>Metabacillus schmidteae</i> AS-110s11 ^T	OR825855.1	98.23	Bacillota
SYSU HH054	<i>Rheinheimera riviphila</i> KYPC3 ^T	NR_169409.1	89.67	Pseudomonadota
SYSU HH056	<i>Pontixanthobacter luteolus</i> SW-109 ^T	NR_043151.1	98.09	Pseudomonadota
SYSU HH066	<i>Arenibacter palladensis</i> LMG 21972 ^T	NR_042188.1	98.42	Bacteroidota
SYSU HH075	<i>Ruegeria conchae</i> TW15 ^T	NR_109062.1	98.65	Pseudomonadota
SYSU HH079	<i>Pseudomonas xionganensis</i> R-22-3 w-18 ^T	NR_180878.1	98.53	Pseudomonadota
SYSU HH081	<i>Microbacterium lacus</i> GP23 ^T	MW510008.1	98.64	Actinomycetota
SYSU HH084	<i>Pseudoruegeria aestuarii</i> 174 ^T	OR675238.1	97.56	Pseudomonadota
SYSU HH090	<i>Ruegeria conchae</i> TW15 ^T	NR_109062.1	98.52	Pseudomonadota
SYSU HH093	<i>Robertkochia sediminum</i> 1368 ^T	NR_181889.1	97.64	Bacteroidota
SYSU HH095	<i>Agromyces tropicus</i> CM9-9 ^T	NR_112811.1	98.44	Actinomycetota
SYSU HH097	<i>Altererythrobacter epoxidivorans</i> CGMCC 1.7731 ^T	CP012669.1	98.40	Pseudomonadota
SYSU HH098	<i>Kangsaoukella pontilimi</i> GH1-50 ^T	NR_179959.1	97.49	Pseudomonadota
SYSU HH106	<i>Agromyces tropicus</i> CM9-9 ^T	NR_112811.1	98.31	Actinomycetota
SYSU HH115	<i>Leucobacter tardus</i> K70/01 ^T	NR_042694.1	97.73	Actinomycetota
SYSU HH121	<i>Amylibacter cionae</i> H-12 ^T	NR_158032.1	95.46	Pseudomonadota
SYSU HH133	<i>Erythrobacter mangrovi</i> EB310 ^T	MT522623.1	98.37	Pseudomonadota
SYSU HH136	<i>Altererythrobacter epoxidivorans</i> JCS350 ^T	NR_043706.1	98.12	Pseudomonadota
SYSU HH141	<i>Arenimonas donghaensis</i> HO3-R19 ^T	NR_043790.1	97.92	Pseudomonadota
SYSU HH150	<i>Aliiroseovarius sediminilitoris</i> M-M10 ^T	NR_109620.1	95.00	Pseudomonadota
SYSU HH151	<i>Photobacterium gaetbulicola</i> Gung47 ^T	NR_117271.1	97.57	Pseudomonadota
SYSU HH153	<i>Arenimonas donghaensis</i> HO3-R19 ^T	NR_043790.1	97.85	Pseudomonadota
SYSU HH161	<i>Agromyces tropicus</i> CM9-9 ^T	NR_112811.1	98.44	Actinomycetota
SYSU HH176	<i>Rheinheimera aquimaris</i> SW-353 ^T	NR_044068.1	98.32	Pseudomonadota
SYSU HH178	<i>Agromyces tropicus</i> CM9-9 ^T	NR_112811.1	98.23	Actinomycetota
SYSU HH179	<i>Defluviimonas aquaemixtae</i> CDM-7 ^T	NR_134014.1	98.07	Pseudomonadota
SYSU HH181	<i>Defluviimonas aquaemixtae</i> CDM-7 ^T	NR_134014.1	97.99	Pseudomonadota
SYSU HH182	<i>Tabrizicola aquatica</i> RCRI19 ^T	NR_117979.1	97.95	Pseudomonadota
SYSU HH188	<i>Pontimicrobium aquaticum</i> CAU ^T	MK051221.1	95.86	Bacteroidota
SYSU HH189	<i>Muriicola soli</i> MMS17-SY002 ^T	NR_179812.1	98.09	Bacteroidota
SYSU HH190	<i>Arenibacter troitsensis</i> M151 ^T	OR999768.1	98.30	Bacteroidota
SYSU HH191	<i>Arenibacter troitsensis</i> M151 ^T	OR999768.1	98.49	Bacteroidota
SYSU HH195	<i>Arenibacter palladensis</i> LMG 21972 ^T	NR_042188.1	98.58	Bacteroidota
SYSU HH199	<i>Leucobacter luti</i> RF6 ^T	NR_042425.1	97.27	Actinomycetota
SYSU HH201	<i>Microbacterium saccharophilum</i> K-1 ^T	NR_114342.1	98.31	Actinomycetota
SYSU HH205	<i>Yoonia litorea</i> DPG-5 ^T	NR_118329.1	98.37	Pseudomonadota

(待续)

(续表4)

Strains	The most similar strains (type strain)	GenBank accession number	Similarity (%)	Phylum
SYSU HH207	<i>Amylibacter cionae</i> H-12 ^T	NR_158032.1	95.58	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH216	<i>Kangsaoukella pontilimi</i> GH1-50 ^T	NR_179959.1	97.63	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH223	<i>Rheinheimera aquimaris</i> SW-353 ^T	NR_044068.1	97.90	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH227	<i>Roseovarius aestuarii</i> SMK-122 ^T	NR_044424.1	98.52	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH228	<i>Sneathiella litorea</i> DP05 ^T	MN381954.1	97.82	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH239	<i>Rheinheimera aquimaris</i> SW-353 ^T	NR_044068.1	97.97	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH243	<i>Sneathiella litorea</i> DP05 ^T	MN381954.1	97.96	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH244	<i>Altererythrobacter xiamenensis</i> LY02 ^T	NR_133694.1	98.26	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH250	<i>Rheinheimera aquimaris</i> SW-353 ^T	NR_044068.1	98.14	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH259	<i>Arenibacter troitsensis</i> M151 ^T	OR999768.1	98.08	<i>Bacteroidota</i>
SYSU HH262	<i>Pontimicrobium aquaticum</i> CAU ^T	MK051221.1	96.68	<i>Bacteroidota</i>
SYSU HH265	<i>Arenibacter troitsensis</i> NBRC 101532 ^T	NR_114004.1	98.37	<i>Bacteroidota</i>
SYSU HH266	<i>Arenibacter troitsensis</i> M151 ^T	OR999768.1	98.37	<i>Bacteroidota</i>
SYSU HH270	<i>Maribacter cobaltidurans</i> PR1 ^T	OQ352841.1	97.81	<i>Bacteroidota</i>
SYSU HH296	<i>Ruegeria conchae</i> TW15 ^T	NR_109062.1	98.31	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH302	<i>Altererythrobacter xiamenensis</i> LY02 ^T	NR_133694.1	98.41	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH304	<i>Bacillus carboniphilus</i> JCM9731 ^T	NR_024690	92.70	<i>Bacillota</i>
SYSU HH311	<i>Agromyces tropicus</i> CM9-9 ^T	NR_112811.1	98.44	<i>Actinomycetota</i>
SYSU HH320	<i>Microbulbifer okinawensis</i> ABABA23 ^T	NR_112917.1	94.27	<i>Pseudomonadota</i>
SYSU HH323	<i>Defluviimonas aquaemixtae</i> CDM-7 ^T	NR_134014.1	97.79	<i>Pseudomonadota</i>

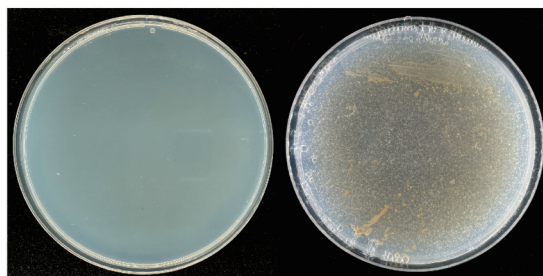
3 讨论

本研究对珠海市香洲区的野狸岛、桂山岛和外伶仃岛的滩涂区域样品进行了细菌的分离与培养。从3份滩涂样品中共分离获得265株细菌菌株,分别为168株(63.40%)假单胞菌门细菌、38株(14.34%)放线菌门细菌、31株(11.70%)芽孢杆菌门细菌和28株(10.56%)拟杆菌门细菌。这一结果与Couradeau等^[30]对波多黎各沿海岩滩细菌类群的研究以及Lee等^[31]对济州岛沙滩细菌多样性的研究结果基本一致。

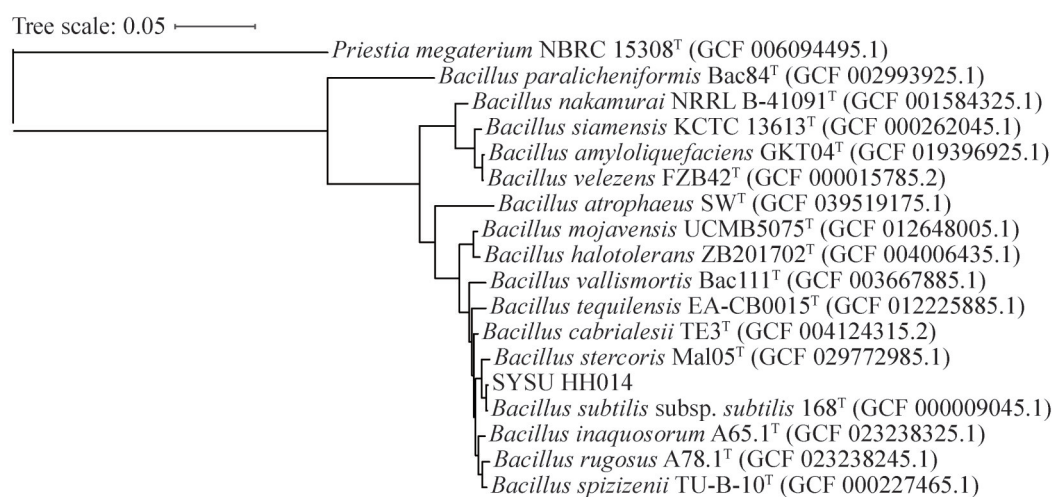
本研究中的优势属主要包括农霉菌属、芽孢杆菌属、污物单胞菌属、尹正勋菌属、袁其朋菌属、莱茵海默氏菌属和栖砂杆菌属(*Arenibacter*),这与李斌斌^[32]对我国沿海滩涂细菌资源多样性的研究结果相似。其中,污物单

胞菌属细菌的相对丰度最高,且主要在XZ1、XZ2样品中分离得到(图2B)。在之前的研究中也发现污物单胞菌属细菌可在红树林滩涂、南海海滩等环境中分离获得^[33-34]。污物单胞菌属细菌具有多种代谢功能,能够将硫酸盐、硝酸盐和亚硝酸盐分别还原为硫化氢和氮气等物质,在废水处理中参与多种污染化合物如多环芳烃、氮污染物的降解^[35-36]。在分离出的11株栖砂杆菌属细菌中有9株疑似为新物种。栖砂杆菌属细菌在海洋生态系统中发挥着关键作用,具有积累碘的能力^[37],能够降解海洋中的有机物质,如淀粉,以及表面污染物^[38-40]。此外,它们还能直接或间接分解藻类细胞,促进生态系统的物质循环^[41]。后续工作将对栖砂杆菌属中的这9株疑似新种以及本次研究中成功分离的其余50株潜在新种进行详细的物种鉴定,以便进一

A



B



C

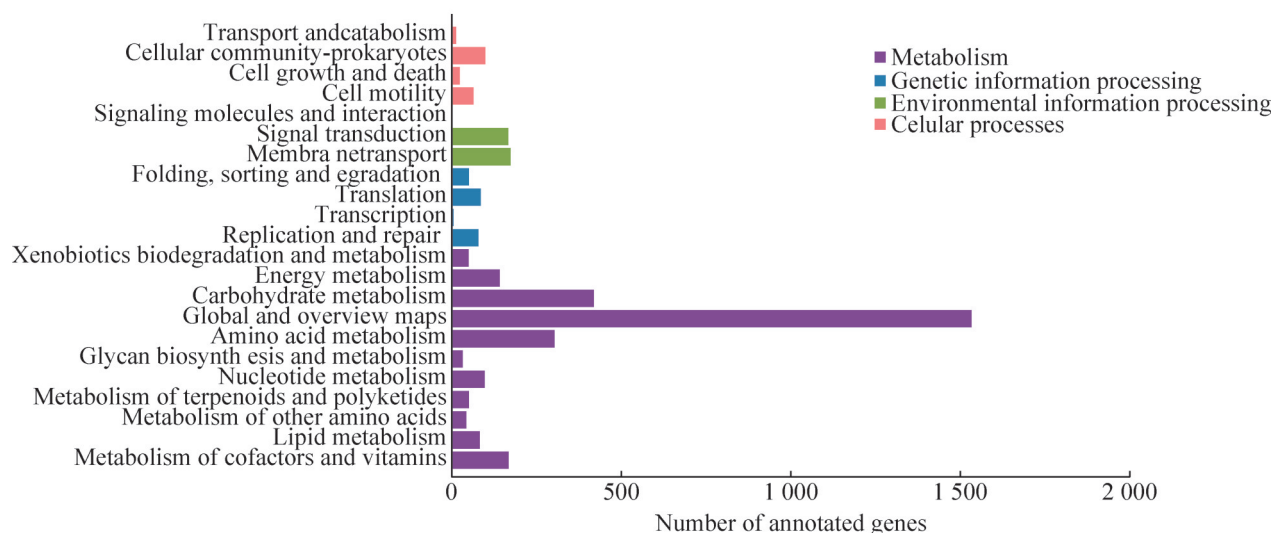


图4 微塑料降解细菌的筛选与鉴定

Figure 4 Screening and identification of microplastic-degrading bacteria. A: Comparison of the growth of SYSU HH014 strain in inorganic salt medium (left) and PET medium (right); B: Phylogenetic analysis of SYSU HH014 strain based on genome; C: Annotation results of the SYSU HH014 strain genome on the KEGG.

表5 SYSU HH014菌株基因组在PlasticsDB的比对结果

Table 5 The BLAST results of SYSU HH014 strain genome on the PlasticsDB

Sequence	Enzyme	Strains	Percent identity	Length (bp)	E-value	Bitscore
00013	PU esterase	<i>Comamonas acidovorans</i>	35.0	492	3.30E-57	208.8
00027	PLA depolymerase	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	49.8	203	1.10E-52	182.2
00035	PEG aldehyde dehydrogenase	<i>Streptomyces</i> sp.	41.7	468	1.50E-99	329.7
00040	Protease	<i>Paragyodontium album</i>	39.6	321	2.60E-43	163.7
00071	3HV dehydrogenase	<i>Paracoccus denitrificans</i>	42.7	255	1.30E-53	188.7
00079	Esterase	<i>Clostridium hathewayi</i>	35.0	409	1.60E-54	196.8
00093	PVA dehydrogenase	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	41.7	120	1.40E-22	100.1
00152	Protease	<i>Lederbergia lenta</i>	60.7	275	1.80E-99	321.2
00154	Protease (PLA)	<i>Bacillus licheniformis</i>	65.1	381	1.30E-149	469.9
00157	Esterase (PLA; PBSA)	<i>Alcanivorax borkumensis</i>	36.8	473	4.00E-72	251.1
00179	Hydrolase (PBAT; PBSA; PCL)	<i>Bacillus pumilus</i>	75.1	209	3.00E-99	316.2
00185	PETase (PET)	<i>Uncultured bacterium</i>	40.4	277	2.30E-52	186.8
00209	Oxidoreductase (PU; PBAT)	<i>Bacillus velezensis</i>	66.0	47	2.30E-12	71.6

步探索和解析它们的生物学功能和特性。

在获得的可培养细菌中,许多属具有应用潜能。例如,在样品 XZ1 中发现的罗伯特科赫菌属(*Robertkochia*)细菌能够分解木质纤维素,可用于制造生物燃料和化学制品,其产生的碱性磷酸酶可促进盐碱农田植物的生长^[42-43]。在样品 XZ1 和 XZ3 中分离得到的袁其朋菌属细菌曾在多种滩涂环境中被分离得到,已有报道指出该属的一株菌 *Qipengyuania* sp. 3-20A1M 对于控制海洋生态系统中由鞭毛藻造成的水华污染具有一定潜在效用^[44-46]。在 3 份样品中都分离得到了莱茵海默氏菌属的细菌,该属的多个物种均具有抗菌活性^[47-48]。值得注意的是,近年来研究者们发现莱茵海默氏菌属的部分物种具有汞耐受性,可以有效地挥发和去除汞,为汞污染的生物处理提供了新的方向^[49-50]。

在培养基方面,2216E 培养基常用于海洋细菌的培养^[51]。在本研究中,通过 5 种培养基对滩涂细菌进行分离培养,成功鉴定了 4 门 71 属的细菌。相比之下,2216E、2216EM、2216EMN 这 3 种培养基表现出了优越的覆盖能力,共分

离得到 4 个门 66 个属的细菌。这一结果表明,2216E 系列培养基能够有效支持海洋滩涂微生物的分离与鉴定工作,为后续研究提供了有力的实验基础和技术手段。R2A 培养基主要用于分离和培养在寡营养条件下生长的微生物,这类培养基更容易分离得到稀有和难培养的细菌类群^[52-53]。本研究使用 R2A 培养基虽然未发现更多新物种,但仅有该培养基分离到了食氢产水菌属、泰熙菌属(*Taeseokella*)的微生物。TSA 培养基包含胰蛋白胨和大豆酪蛋白水解物,提供了维生素、矿物质等微量营养物质,常用于多种细菌的分离和培养^[54]。然而,在本研究中,TSA 培养基的分离效果较差,仅分离出 11 株细菌。

筛选出的 PET 降解细菌 SYSU HH014 呈现为圆形菌落,颜色为浅橘色。SYSU HH014 菌株被鉴定为卡布氏芽孢杆菌,隶属于芽孢杆菌属。近年来,多个芽孢杆菌菌株被证实具备塑料降解活性。例如,周剑桥等^[55]已证明嗜热淀粉芽孢杆菌(*B. thermoamylovorans*)能够降解 PET 及其中间体;Auta 等^[56]发现蜡样芽孢杆菌(*B.*

cereus)能够降解 PE、PS 以及 PET 等多种塑料; Nowak 等^[57]首次证实解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)具有降解土壤中低密度聚乙烯(low-density polyethylene, LDPE)的能力。这些实验结果说明芽孢杆菌属在微塑料降解研究中具有潜在价值。通过对 SYSU HH014 进行全基因组测序, 获取了其基因组信息, 并借助 KEGG 数据库通路进行了通路分析以及功能基因注释。KEGG 通路分析显示, SYSU HH014 菌株的大多数注释序列与代谢途径有关, 包括氨基酸代谢、聚糖生物合成和代谢、碳水化合物代谢、脂质代谢、辅因子和维生素代谢、外源性生物降解和代谢、萜类化合物和聚酮类化合物的代谢等(图 4C), 其中, 外源性生物降解和代谢通路包括将药物、色素、塑料前体等外源物质的降解过程^[58]。同时, 该菌株在 PlasticsDB 中也比对到了许多已知的塑料降解基因, 包括 PETase、3HV dehydrogenase、PLA depolymerase 等(表 7)。这些结果表明, SYSU HH014 菌株拥有多个关键的塑料降解酶基因簇, 能够在其生长代谢过程中通过这些酶的相互作用来分解塑料中的聚合物链。后续实验将开展对 SYSU HH014 菌株的降解能力进行进一步的分析与研究, 以期开发新的微塑料降解技术提供可能性。

4 结论

本研究采用 5 种培养基对珠海市香洲区的野狸岛滩涂、桂山岛滩涂和外伶仃岛滩涂的细菌多样性进行了初步分析。从 3 份滩涂样品中共获得 265 株细菌, 其中假单胞菌门的细菌数量最多。在所有使用的培养基中, 2216EM 培养基分离获得的菌株数目最多。在获得的可培养细菌中发现 59 株潜在新种, 并成功筛选出 1 株具有微塑料降解能力的细菌。然而, 在对微塑

料降解细菌的筛选与分析过程中, 本研究仍存在一定局限性。本研究仅基于 PET 微塑料进行了初步筛选, 对于筛选出的微塑料降解细菌的降解特性尚需进一步深入和全面的探讨。从分离出的可培养菌株中发现共有 73 株属于红细菌目(*Rhodobacterales*)的细菌。目前, 多个红细菌被证实具有塑料降解活性, 如海岸沉积物别样玫瑰变色菌(*A. sediminilitoris*)^[59]、红球菌属细菌 *Rhodococcus* sp. 36^[60]等。除此之外本研究还筛选到了微杆菌属、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、斯塔普氏菌属(*Stappia*)、食烷菌属(*Alcanivorax*)等属的细菌, 这些属中的一些细菌能够降解其他类型的塑料, 如微杆菌属的 *Microbacterium* sp. 4-7 细菌能降解 PE; 铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)细菌可通过产生特定酶来分解聚氨酯塑料; 泊库岛食烷菌(*A. borkumensis*)细菌能够在 LDPE 上形成厚生物膜并对其进行降解等^[40,61-63]。因此, 在后续的实验中可以采用多类型微塑料无机盐培养基进行细菌筛选, 以便于识别和分离出针对不同类型微塑料具有高效降解能力的特异性菌株。同时, 应对筛选出的微塑料降解细菌进行详细的降解特性分析, 并从基因组层面进行深入研究, 揭示其在降解微塑料过程中所涉及的关键基因和代谢途径, 以深入地理解微塑料降解细菌的降解机制, 为开发新型生物降解技术、减少微塑料污染提供科学依据和技术支持, 进而促进生态环境的可持续发展。

作者贡献声明

王莹: 实验操作、数据分析和论文撰写; 何欢欢: 实验设计、实验操作、数据收集; 卢春艳: 实验设计、实验操作; 郑卓桓: 样本采集、菌株分离; 王森: 微塑料降解细菌筛选与鉴定; 黄易: 菌株分离; 李冰雨: 菌株纯化与

保藏; 董雷: 实验设计、数据分析、论文审阅和修改; 李文均: 实验设计、数据分析、论文审阅和修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] PENG GY, XU P, ZHU BS, BAI MY, LI DJ. Microplastics in freshwater river sediments in Shanghai, China: a case study of risk assessment in mega-cities[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 234: 448-456.
- [2] LIM X. Microplastics are everywhere — but are they harmful?[J]. *Nature*, 2021, 593: 22-25.
- [3] MOITA NETO JM, SILVA EAD. Sources of microplastic generation in the environment[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2023, 20(13): 6202.
- [4] BOSTAN N, ILYAS N, AKHTAR N, MEHMOOD S, SAMAN RU, SAYYED RZ, SHATID AA, ALFAIFI MY, ELBEHAIRI SEI, PANDIARAJ S. Toxicity assessment of microplastic (MPs); a threat to the ecosystem[J]. *Environmental Research*, 2023, 234: 116523.
- [5] THOMPSON RC, OLSEN Y, MITCHELL RP, DAVIS A, ROWLAND SJ, JOHN AWG, McGONIGLE D, RUSSELL AE. Lost at sea: where is all the plastic? [J]. *Science*, 2004, 304(5672): 838.
- [6] SURAN M. Microplastics are found outside in nature and inside the body-but evidence of health risks is inconclusive[J]. *JAMA*, 2022, 328(10): 911-913.
- [7] JIANG BR, KAUFFMAN AE, LI L, McFEE W, CAI B, WEINSTEIN J, LEAD JR, CHATTERJEE S, SCOTT GI, XIAO S. Health impacts of environmental contamination of micro- and nanoplastics: a review[J]. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 2020, 25(1): 29.
- [8] CHANG XR, XUE YY, LI JY, ZOU LY, TANG M. Potential health impact of environmental micro- and nanoplastics pollution[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2020, 40(1): 4-15.
- [9] KRUEGER MC, HARMS H, SCHLOSSER D. Prospects for microbiological solutions to environmental pollution with plastics[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(21): 8857-8874.
- [10] YUAN JH, MA J, SUN YR, ZHOU T, ZHAO YC, YU F. Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 715: 136968.
- [11] JAIN R, GAUR A, SURAVAJHALA R, CHAUHAN U, PANT M, TRIPATHI V, PANT G. Microplastic pollution: understanding microbial degradation and strategies for pollutant reduction[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 905: 167098.
- [12] HOSSAIN MR, EAGAR AC, BLACKWOOD CB, LEFF LG. Nascently generated microplastics in freshwater stream are colonized by bacterial communities from stream and riparian sources[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2024, 53(5): 577-588.
- [13] TUN TZ, KUNISUE T, TANABE S, PRUDENTE M, SUBRAMANIAN A, SUDARYANTO A, VIET PH, NAKATA H. Microplastics in dumping site soils from six Asian countries as a source of plastic additives[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 806: 150912.
- [14] WRÓBEL M, DEJA-SIKORA E, HRYNKIEWICZ K, KOWALKOWSKI T, SZYMAŃSKA S. Microbial allies in plastic degradation: specific bacterial genera as universal plastic-degraders in various environments[J]. *Chemosphere*, 2024, 363: 142933.
- [15] SEKUDEWICZ I, DĄBROWSKA AM, SYCZEWSKI MD. Microplastic pollution in surface water and sediments in the urban section of the Vistula River (Poland)[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 762: 143111.
- [16] CAO YN, BIAN J, HAN YP, LIU JG, MA YP, FENG WY, DENG YX, YU YJ. Progress and prospects of microplastic biodegradation processes and mechanisms: a bibliometric analysis[J]. *Toxics*, 2024, 12(7): 463.
- [17] DONG XR, ZHU LX, HE YR, LI CJ, LI DJ. Salinity significantly reduces plastic-degrading bacteria from rivers to oceans[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 451: 131125.
- [18] PHONG NT, THUAN NB, LOI LT, QUOC HV. Morphological evolution of an intertidal mudflat in relation to mangrove growth: implications for future erosion control[J]. *Life*, 2024, 14(6): 711.
- [19] JAIN A, RAMAKRISHNAN R, THOMASKUTTY AV, AGRAWAL R, RAJAWAT AS, SOLANKI H. Topography and morphodynamic study of intertidal mudflats along the eastern coast of the Gulf of Khambhat, India using remote sensing techniques[J]. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 2022, 27: 100798.
- [20] 张权, 邓春暖, 郭锋锋, 张浩, 马欠. 滇池南部沿岸滩涂塑料污染特征研究[J]. *宜春学院学报*, 2020, 42(12): 17-21, 110.
- [21] ZHANG Q, DENG CN, GUO FF, ZHANG H, MA Q. Pollution characteristic analysis on tidal-flat area plastics in the southern coast of the Dian Lake[J]. *Journal of Yichun University*, 2020, 42(12): 17-21, 110 (in Chinese).
- [22] ISOBE A, KUBO K, TAMURA Y, KAKO S, NAKASHIMA E, FUJII N. Selective transport of microplastics and mesoplastics by drifting in coastal waters[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 89(1/2): 324-330.
- [23] 杜家贤. 广东省珠海市香洲区药用植物资源多样性研究[D]. 广州: 华南农业大学硕士学位论文, 2020.
- [24] DU JX. Study on medicine plant resources and diversity in Xiangzhou, Zhuhai, Guangdong[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [25] LI S, DONG L, LIAN WH, LIN ZL, LU CY, XU L, LI L, HOZZEIN WN, LI WJ. Exploring untapped potential of *Streptomyces* spp. in Gurbantungut Desert by use of

- highly selective culture strategy[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 790: 148235.
- [24] KUMAR S, STECHER G, LI M, KNYAZ C, TAMURA K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [25] ZHANG XY, LIU A, LIU C, LI H, LI GW, XU Z, CHEN XL, ZHOU BC, ZHANG YZ. *Arenitalea lutea* gen. nov., sp. nov., a marine bacterium of the family *Flavobacteriaceae* isolated from intertidal sand[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(Pt 8): 2853-2858.
- [26] LEE SY, PARK S, OH TK, YOON JH. Description of *Olleya aquimaris* sp. nov., isolated from seawater, and emended description of the genus *Olleya* Mancuso Nicholset al. 2005[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2010, 60(Pt 4): 887-891.
- [27] CHEN CC, HAN X, KO TP, LIU WD, GUO RT. Structural studies reveal the molecular mechanism of PETase[J]. *The FEBS Journal*, 2018, 285(20): 3717-3723.
- [28] ZHOU L, SANG SL, LI JJ, LI YS, WANG DP, GAN LH, ZHAO ZL, WANG J. From waste to resource: metagenomics uncovers the molecular ecological resources for plastic degradation in estuaries of South China[J]. *Water Research*, 2023, 242: 120270.
- [29] SHALEM A, YEHEZKELI O, FISHMAN A. Enzymatic degradation of polylactic acid (PLA) [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2024, 108(1): 413.
- [30] COURADEAU E, ROUSH D, GUIDA BS, GARCIA-PICHEL F. Diversity and mineral substrate preference in endolithic microbial communities from marine intertidal outcrops (Isla de Mona, Puerto Rico)[J]. *Biogeosciences*, 2017, 14(2): 311-324.
- [31] LEE E, SHIN D, HYUN SP, KO KS, MOON HS, KOH DC, HA K, KIM BY. Periodic change in coastal microbial community structure associated with submarine groundwater discharge and tidal fluctuation[J]. *Limnology and Oceanography*, 2017, 62(2): 437-451.
- [32] 李斌斌. 沿海滩涂细菌资源多样性及部分放线菌菌株抗菌活性研究[D]. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文. 2023.
- LI BB. Study of bacterial diversity and antibacterial activity of *Actinomycetota* in intertidal zone[D]. Xinxiang: Master's Thesis of Henan Normal University, 2023 (in Chinese).
- [33] LIU LR, LI JY, HUANG YH, PAN J, LI M. *Defluviimonas sediminis* sp. nov., isolated from mangrove sediment[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2023, 73(7): 005975.
- [34] MATH RK, JIN HM, JEONG SH, JEON CO. *Defluviimonas aestuarii* sp. nov., a marine bacterium isolated from a tidal flat, and emended description of the genus *Defluviimonas* Foeselet al. 2011[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(Pt 8): 2895-2900.
- [35] FOESEL BU, DRAKE HL, SCHRAMM A. *Defluviimonas denitrificans* gen. nov., sp. nov., and *Pararhodobacter aggregans* gen. nov., sp. nov., non-phototrophic *Rhodobacteraceae* from the biofilter of a marine aquaculture[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2011, 34(7): 498-502.
- [36] ZHANG SF, SUN CR, XIE JL, WEI H, HU Z, WANG H. *Defluviimonas pyrenivorans* sp. nov., a novel bacterium capable of degrading polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2018, 68(3): 957-961.
- [37] ITO K, NAKAJIMA N, YAMAMURA S, TOMITA M, SUZUKI H, AMACHI S. Draft genome sequence of *Arenibacter* sp. strain C-21, an iodine-accumulating bacterium isolated from surface marine sediment[J]. *Genome Announcements*, 2016, 4(5): e01155-16.
- [38] SIDHU C, SAINI MK, TANUKU NRS, PINNAKA AK. *Arenibacter amylolyticus* sp. nov., an amylase-producing bacterium of the family *Flavobacteriaceae* isolated from marine water in India[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2019, 71(3): 004664.
- [39] GUTIERREZ T, WHITMAN WB, HUNTEMANN M, COPELAND A, CHEN A, KYRPIDES N, MARKOWITZ V, PILLAY M, IVANOVA N, MIKHAILOVA N, OVCHINNIKOVA G, ANDERSEN E, PATI A, STAMATIS D, REDDY TBK, NGAN CY, CHOVIATIA M, DAUM C, SHAPIRO N, CANTOR MN, et al. Genome sequence of *Arenibacter algicola* strain TG409, a hydrocarbon-degrading bacterium associated with marine eukaryotic phytoplankton[J]. *Genome Announcements*, 2016, 4(4): e00765-16.
- [40] DELACUVELLERIE A, CYRIAQUE V, GOBERT S, BENALI S, WATTIEZ R. The plastisphere in marine ecosystem hosts potential specific microbial degraders including *Alcanivorax borkumensis* as a key player for the low-density polyethylene degradation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 380: 120899.
- [41] CHEN JH, TONG J, LI SF, HU ZL, WANG LY, CHEN HR. Draft genome sequence of an algicidal bacterium, *Arenibacter* sp. strain 6A1, isolated from seawater during an *Akashiwo sanguinea* bloom in Shenzhen, China[J]. *Microbiology Resource Announcements*, 2020, 9(50): e00964-20.
- [42] LAM MQ, OATES NC, LEADBEATER DR, GOH KM, YAHYA A, MD SALLEH M, IBRAHIM Z, BRUCE NC, CHONG CS. Genomic analysis to elucidate the lignocellulose degrading capability of a new halophile *Robertkochia Solimangrovi*[J]. *Genes*, 2022, 13(11): 2135.
- [43] LAM MQ, CHEN SJ, GOH KM, ABD MANAN F, YAHYA A, SHAMSIR MS, CHONG CS. Genome sequence of an uncharted halophilic bacterium *Robertkochia marina* with deciphering its phosphate-solubilizing ability[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2021, 52(1): 251-256.
- [44] KO SR, LE VV, SRIVASTAVA A, KANG M, OH HM, AHN CY. Algicidal activity of a novel bacterium, *Qipengyuania* sp. 3-20A1M, against harmful *Margalefidinium polykrikoides*: effects of its active compound[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2023, 186: 114397.
- [45] LIU WJ, ZHANG Y, CAO K, LI JX, WEN YQ, SUN C, XU L. *Aurantiacibacter hainanensis* sp. nov. and *Qipengyuania zhejiangensis* sp. nov., two novel *Erythrobacteraceae* species isolated from tidal flat

- sediments[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2024, 74(7): 006469.
- [46] LIU Y, PEI T, DENG MR, ZHU H. *Qipengyuania soli* sp. nov., isolated from Mangrove Soil[J]. Current Microbiology, 2021, 78(7): 2806-2814.
- [47] CHEN WM, LIN CY, YOUNG CC, SHEU SY. *Rheinheimera aquatica* sp. nov., an antimicrobial activity producing bacterium isolated from freshwater culture pond[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 20(10): 1386-1392.
- [48] ROMANENKO LA, TANAKA N, SVETASHEV VI, KALINOVSKAYA NI, MIKHAILOV VV. *Rheinheimera japonica* sp. nov., a novel bacterium with antimicrobial activity from seashore sediments of the Sea of Japan[J]. Archives of Microbiology, 2015, 197(4): 613-620.
- [49] ZHAO MM, ZHENG GG, KANG XY, ZHANG XY, GUO JM, WANG SM, CHEN YP, XUE LG. Aquatic bacteria *Rheinheimera tangshanensis* new ability for mercury pollution removal[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(5): 5009.
- [50] YADAV V, MANJHI A, VADAKEDATH N. Mercury remediation potential of mercury-resistant strain *Rheinheimera metallidurans* sp. nov. isolated from a municipal waste dumping site[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 257: 114888.
- [51] 庄康, 胡晓娟, 曹煜成, 许云娜, 张建设, 文国樑. 不同寡营养培养条件下南海水体细菌群落结构及其对碳源的利用特征[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2697-2710.
- ZHUANG K, HU XJ, CAO YC, XU YN, ZHANG JS, WEN GL. Bacterial community structure and its utilization characteristics of carbon sources in water of South China Sea under different low-nutrient culture conditions[J]. Microbiology China, 2020, 47(9): 2697-2710 (in Chinese).
- [52] GARCIA-PICHEL F, JOHNSON SL, YOUNGKIN D, BELNAP J. Small-scale vertical distribution of bacterial biomass and diversity in biological soil crusts from arid lands in the Colorado plateau[J]. Microbial Ecology, 2003, 46(3): 312-321.
- [53] 何媛秋, 李存, 陈柔雯, 崔林青, 田新朋. 不同培养条件对海洋沉积环境细菌的选择性分离[J]. 生物资源, 2020, 42(5): 540-548.
- HE YQ, LI C, CHEN RW, CUI LQ, TIAN XP. Selective isolation of bacteria from marine sedimentary environment by different culture conditions[J]. Biotic Resources, 2020, 42(5): 540-548 (in Chinese).
- [54] 寇文月, 江雨茹, 郝璐瑶, 唐宇毅, 周雪云, 朱秀娟, 钱臻, 金歌, 王娇娇. 商品化的预制TSA培养基有效期确定方法的探讨[J]. 中国药品标准, 2024, 25(3): 289-295.
- KOU WY, JIANG YR, HAO LY, TANG YY, ZHOU XY, ZHU XJ, QIAN Z, JIN G, WANG JJ. Discussion on the validity period determination method of commercial ready-to-use TSA medium[J]. Drug Standards of China, 2024, 25(3): 289-295 (in Chinese).
- [55] 周剑桥, 黄青松, 李娟, 金昶序, 陈晓倩, 吴敬, 颜正飞. 一株嗜热聚对苯二甲酸乙二醇酯降解菌的分离及其降解特性解析[J]. 微生物学报, 2023, 63(7): 2822-2834.
- ZHOU JQ, HUANG QS, LI J, JIN CX, CHEN XQ, WU J, YAN ZF. Isolation and characterization of a thermophilic PET-degrading bacterium[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(7): 2822-2834 (in Chinese).
- [56] AUTA HS, EMENIKE CU, FAUZIAH SH. Screening of *Bacillus* strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation[J]. Environmental Pollution, 2017, 231: 1552-1559.
- [57] NOWAK B, PAJĄK J, DROZD-BRATKOWICZ M, RYMARZ G. Microorganisms participating in the biodegradation of modified polyethylene films in different soils under laboratory conditions[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, 65(6): 757-767.
- [58] KIM HS, LEE BY, WON EJ, HAN J, HWANG DS, PARK HG, LEE JS. Identification of xenobiotic biodegradation and metabolism-related genes in the copepod *Tigriopus japonicus* whole transcriptome analysis[J]. Marine Genomics, 2015, 24: 207-208.
- [59] 穆军, 姚玲弟. 别样玫瑰变色菌及其应用和培养方法、降解塑料的方法: CN202310029951.0[P]. 2023-03-03.
- MU J, YAO LD. Aliiroseovarius ediminilitoris and its application and cultivation method, degradation of plastic method: CN202310029951.0[P]. 2023-03-03 (in Chinese).
- [60] WU XW, LIU P, ZHAO XL, WANG JY, TENG MM, GAO SX. Critical effect of biodegradation on long-term microplastic weathering in sediment environments: a systematic review[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 437: 129287.
- [61] 胡逸晨. 细菌 *Microbacterium* sp. 4-7降解聚乙烯[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2015.
- HU YC. Degradation of polyethylene by *Microbacterium* sp. 4-7[D]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [62] ESPINOSA MJC, BLANCO AC, SCHMIDGALL T, ATANASOFF-KARDJALIEFF AK, KAPPELMEYER U, TISCHLER D, PIEPER DH, HEIPIEPER HJ, EBERLEIN C. Toward biorecycling: isolation of a soil bacterium that grows on a polyurethane oligomer and monomer[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 404.
- [63] LIU RJ, ZHAO SF, ZHANG BJ, LI GY, FU XT, YAN PS, SHAO ZZ. Biodegradation of polystyrene (PS) by marine bacteria in mangrove ecosystem[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 442: 130056.