

赵素芳, 刘仁菊, 董纯明, 等. 南大洋罗斯海近海沉积物烷烃与塑料降解微生物多样性[J]. 海洋学报, 2024, 46(5): 81–92, doi:10.12284/hyxb2024066

Zhao Sufang, Liu Renju, Dong Chunming, et al. Microbial diversity of alkane- and plastic-degrading microbiome in offshore sediments of Ross Sea, Southern Ocean[J]. Haiyang Xuebao, 2024, 46(5): 81–92, doi:10.12284/hyxb2024066

南大洋罗斯海近海沉积物烷烃 与塑料降解微生物多样性

赵素芳^{1,2}, 刘仁菊^{1,3}, 董纯明¹, 吕世伟^{1,3}, 张本娟¹, 邵宗泽^{1,2,3*}

(1. 自然资源部第三海洋研究所 海洋遗传资源重点实验室, 福建 厦门 361005; 2. 哈尔滨工业大学 海洋科学与技术学院, 山东 威海 264209; 3. 哈尔滨工业大学 环境科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要: 石油污染以及塑料垃圾对海洋生态安全具有严重威胁, 甚至在南大洋的罗斯海地区也发现石油污染和微塑料的存在。本研究为了获得该地区的低温烷烃降解菌和塑料降解菌, 通过采集自南大洋罗斯海地区的 12 个沉积物样品用于富集分离南大洋低温烷烃降解菌株, 结果表明十四烷富集菌群优势属主要包括假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、食烷菌属 (*Alcanivorax*)、海单胞菌属 (*Marinomonas*)、假交替单胞菌属 (*Pseudoalteromonas*) 等。进一步利用分离获得的烃类富集菌对聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET) 和聚乙烯 (PE) 进行降解验证, 扫描电子显微镜 (SEM) 以及傅里叶变换红外光谱技术 (ATR-FTIR) 证明了 *Pseudomonas pelagia* R1-05-CR3、*Pseudomonas taeanensis* A11-04-CA4、*Halomonas titanicae* A11-02-7C2 和 *Rhodococcus cerastii* R1-05-7C3 这 4 株细菌对 PE 可进行有效降解。高效液相色谱质谱技术 (UPLC-MS) 和 SEM 结果表明 *R. cerastii* R1-05-7C3、*Microbacterium maritypicum* RA1-00-CA1、*H. titanicae* A11-02-7C2 对 PET 塑料具有降解能力。研究结果表明南大洋罗斯海近海沉积物中存在多样性的低温烃类及塑料降解菌, 在原位环境污染中发挥自净作用, 同时也为低温下烃与塑料污染生物降解提供了菌种资源。

关键词: 罗斯海; 烷烃; 聚乙烯; 聚对苯二甲酸乙二醇酯; 生物降解; 低温微生物

中图分类号: Q936

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2024)05-0081-12

1 引言

南大洋被认为是地球上最偏远和未受污染的海洋环境之一, 但是正日益受到当地科学、旅游和渔业活动以及从低纬度地区远距离迁移的持久性人为污染物的威胁, 特别是许多航运事故的发生, 释放大量石油碳氢化合物^[1]。罗斯海作为南大洋的一个深水湾, 包括从南极洲的罗斯冰架直到 60°S 的海域, 罗斯海保护区是地球上最后一个完整的海洋生态系统, 被

称为“最后的海洋”, 是南大洋生产力最高的海区^[2-5]。南极洲研究站的年总燃料消耗量约为 90×10^4 L, 这些燃料含有高含量的脂肪族化合物 ($\geq 75\%$)^[6-7]。南极的无冰区主要位于大陆海岸线上或附近, 大约一半的无冰地面位于罗斯海地区。该地区科学研究所的石油溢出事件也难以避免, 一部分石油从冰冻地面流入海洋后随着洋流扩散, 对海洋环境构成风险, 另一部分渗入未冻结的土壤活性层, 并与地下水一起渗入沿海海洋沉积物^[6,8]。由于《南极条约》禁止引进外来

收稿日期: 2023-11-11; 修订日期: 2024-03-11。

基金项目: 国家重点研发项目(2022YFC2807501); 国家自然科学基金项目(42030412); 深海生境发现计划项目(DY-XZ-04)。

作者简介: 赵素芳(1997—), 女, 河南省开封市人, 博士生, 研究方向为海洋微生物降解塑料。E-mail: zsf18238001108@163.com

* 通信作者: 邵宗泽(1964—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为海洋微生物资源开发与利用。E-mail: shaozz@163.com

生物,所以检测和表征罗斯海地区海洋沉积物中的冷适应烷烃降解细菌无疑是达到生物修复目的的重要组成部分^[9]。目前分离自罗斯海降解烷烃的菌株包括红球菌属(*Rhodococcus*)、盐单胞菌属(*Halomonas*)、弧菌属(*Vibrio*)、假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)、鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)、变异单胞菌属(*Variovorax*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、希瓦氏菌属(*Shewanella*)、海杆菌属(*Marinobacter*)、嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)、科尔韦氏菌属(*Colwellia*)、海单胞菌属(*Marinomonas*)、油螺旋菌属(*Oleispira*)、节细菌属(*Arthrobacter*)、冷杆菌属(*Cryobacterium*)、诺卡氏菌属(*Nocardioideis*)、噬甲基菌属(*Methylophaga*)，但大都来自沿岸土壤和海水，罗斯海沉积物中降解菌多样性报道还很少^[7,9-13]。

除了石油污染,利用该化石燃料提取的副产物经过聚合形成的塑料几乎存在于所有的海洋生态系统中。过去几年中,关于罗斯海地区微塑料(Microplastics, MPs < 5 mm)检测的报告显示,在罗斯海的海水、沉积物、底栖无脊椎动物体内都发现有塑料^[3-4,14]。2017年前人报道了罗斯海沿海地区的表层水和在浅海沿岸采集的多个沉积物样本中均含有塑料^[3-4]。2020年研究者对南极多个地区和南大洋深海沉积物的微塑料污染进行了调查,从南极半岛、南桑威奇群岛和南乔治亚岛3个南大洋地区的93%的沉积物样品(28/30)中发现了微塑料污染^[5]。塑料碎片可作为水生环境中污染物集中的媒介,一起沿着食物链向上迁移,给生态环境构成危害,被南极研究科学委员会视为“严重的新兴威胁”^[5]。聚乙烯(Polyethylene, PE)是利用从石油中分离出的乙烯单体组成,作为全球需求量最大的塑料种类,也是在水生环境中数量最大。据报道,橡胶红球菌(*Rhodococcus ruber*)和波茨坦短芽孢杆菌(*Brevibacillus borstelensis*)可以在实验室条件下降解PE,球形芽孢杆菌(*Bacillus sphericus*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)和泊库岛食烷菌(*Alcanivorax borkumensis*)这3种海洋细菌均可以降解PE^[15-16]。

聚对苯二甲酸乙二醇酯(Polyethylene Terephthalate, PET)是最丰富的芳香族聚酯塑料,是由对苯二甲酸乙二醇酯发生脱水缩合反应而来,其合成需要石油中的乙烯和混二甲苯作为原料,也是连接石油与化纤产业的关键产品。全球每年生产近 $7\,000 \times 10^4$ t用于包装材料、饮料瓶和功能材料等领域^[17-18]。2016年日本科学家发现世界上第一株可降解PET的细菌*Ideonella sakaiensis* 201-F6,其中PET水解酶(PETase)先将PET降解为对苯二甲酸乙二醇酯(MHET),随后

MHET水解酶(MHETase)将MHET降解为对苯二甲酸(TPA)与乙二醇^[19]。已有研究表明,南极细菌莫拉氏菌 *Moraxella* sp. TA144 和嗜油杆菌 *Oleispira antarctica* RB-8 能够分泌聚酯化水解酶,在25℃时可用于水解脂肪族聚酯聚己酸内酯以及芳香族聚酯PET^[20]。尽管近年来对塑料的微生物降解的深入研究有所增加,但与近海和公海相比,我们仍然缺乏关于罗斯海地区石油基塑料降解微生物多样性认识。最新研究证据表明,专性烃类降解细菌不仅是海洋环境中石油泄漏的生物修复者,还是塑料片的早期殖民者,而且还编码了一系列可能参与塑料降解的酶^[21-23]。

随着罗斯海地区碳氢化合物污染风险的增加,哪些微生物具有降解烷烃和塑料的潜力还有待进一步研究。本研究利用罗斯海地区的12个沉积物样品,首先在低温环境下以十四烷作为唯一碳源,进行富集培养,期望从该地区分离到能够同时降解烷烃和烃基塑料的微生物,一方面可以丰富人们对罗斯海地区烷烃及塑料降解微生物多样性认识,也为污染物治理提供菌种资源。

2 材料与方法

2.1 样品采集

南极科考航次中,我们使用箱式取样器共获得了来自罗斯海地区的12个站位的沉积物样品,用无菌密封袋保存,均于4℃冷藏保存,运输回实验室,采样深度为285.5~3 241.5 m,纬度在75°S,经度为160°E~112°W附近,待回到实验室后,进行接下来的实验处理。具体站位信息如表1和图1。

2.2 样品富集

使用无菌的取样勺将12个沉积物样品分别取1 g加到50 mL人工海水培养基(MMC)中,具体配方参考相关文献[24],富集培养方案参考相关文献[25],并进行改良,具体为50 mL MMC培养基中添加0.5%的正十四烷作为唯一的碳源和能源,10℃条件下摇床(150 r/min培养1个月,得到第一轮富集液(C1组)。培养结束后,将第一轮的富集液以2%的接种量接种到上述50 mL MMC中,培养条件不变,富集培养1个月得到第二轮富集液(C2组)。

2.3 DNA提取、PCR扩增、高通量测序及其数据分析

DNA提取:上述原始沉积物样品和第一轮以及第二轮富集液使用土壤DNA提取试剂盒(Power Soil DNA Isolation Kit)提取菌群总DNA,提取的DNA使用1%的琼脂糖凝胶电泳进行检测,其纯度及其浓度

表 1 具体采样点站位信息

Table 1 Location information of specific sampling stations

站位名称	取样时间	纬度	经度	水深/m
R1-02	2020年1月4日	74°59'S	164°59'E	893.4
R1-05	2020年1月4日	74°59'S	170°24'E	330.5
R1-07	2020年1月5日	75°00'S	175°16'E	285.5
RA1-00	2020年1月10日	75°27'S	149°57'W	3 241.5
RA2-01A	2020年1月13日	74°23'S	141°34'W	503.3
RA3-02	2020年1月13日	74°28'S	140°18'W	482
RA3-03	2020年1月14日	74°50'S	139°38'W	2 560.8
A3-01	2020年1月29日	73°00'S	119°50'W	405.8
A11-04	2020年1月25日	72°10'S	117°50'W	502.1
A11-02	2020年1月26日	72°58'S	115°03'W	659.5
A11-01	2020年1月26日	73°26'S	113°31'W	622.6
A4-03	2020年1月27日	72°42'S	112°24'W	438.2

使用 NanoDrop2000 (Thermo) 进行检测, 随后送至上海美吉生物医药科技有限公司, 进行 Illumina 高通量测序。

PCR 扩增: 使用细菌引物 338F (5'-ACTCCTACG-GGAGGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWT-CTAAT-3') 对 16S 基因序列的 V3-V4 区进行扩增子测序。PCR 扩增反应体系和程序参考相关文献 [26]。测序数据经拼接、质控、去接头之后获得优化序列。再进一步采用 RDP classifier 贝叶斯算法采用 97% 的

相似性对优化序列进行操作分类单元 (Operational Taxonomic Units, OTU) 聚类, 在聚类过程中去除嵌合体, 得到 OTU 的代表序列, 与物种分类数据库 16S_bacteria Silva138 (<http://www.arb-silva.de>) 进行比对, 分类置信度为 0.7, 得到每个 OTU 对应的物种分类信息, 生成 OTU 丰度表。OTU 表按样本中获得的最低测序深度 (R1-05: 27603) 进行抽平, 保留至少在一个样本中序列数都大于 2 的 OTU, 抽平后的 OTU 表格在美吉生信云共享平台 (<https://cloud.majorbio.com>) 用于接下来的多样性分析。其中原始样品组 (C0) 样品名标记为站位名, 第一轮富集后的 12 个样品 (C1 组) 依次在站位名称后标记 C1, 第二轮富集后的 12 个样品 (C2 组) 依次在站位名称后标记 C2。

2.4 潜在的十四烷降解菌株的分离纯化

取 200 μ L 第二轮富集液, 进行 10 倍梯度稀释 (10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9}) 涂布于 3 种平板上, 平板分别为 MA 固体培养基 (Marine Broth 2216, BD Difco), R₂A 固体培养基 (R₂A Agar, BD Difco) 和以十四烷为唯一碳源的 ONR7a 固体培养基 [27], 10 $^{\circ}$ C 培养 7 d, 对不同单菌落经过 2~3 次分离纯化后得到细菌的纯培养物, 获得不同潜在正十四烷降解菌株, 并使用 20% 甘油于 -80 $^{\circ}$ C 保存。随后使用赛百盛细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取纯菌株 DNA, 并使用引物 27F (5'-AGAG-TTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-ACGGCTA-CCTTGTTACGACT-3') 对 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增。PCR 扩增产物由生物公司完成测序拼接后上传

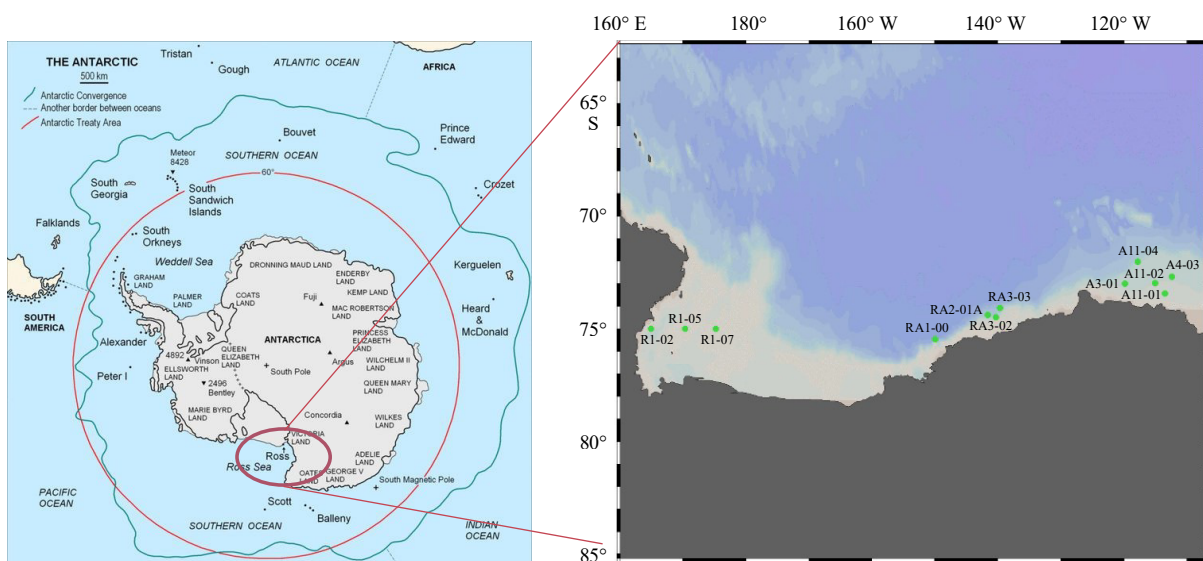


图 1 罗斯海沉积物样品采样站位图

Fig. 1 Location map of sediment sampling stations from the Ross Sea

左侧图片来自维基百科 <https://www.163.com/dy/article/GHU074P105526RB5.html>

Left image from Wikipedia <https://www.163.com/dy/article/GHU074P105526RB5.html>

至 EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net>) 和 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 进行序列比对, 获得菌株种属信息。

2.5 分离菌株烷烃, PET 和 PE 降解能力验证

为了检测不同菌株利用十四烷作为唯一碳源的能力, 将分离获得的纯菌株接种到含有 0.5% 十四烷的 50 mL MMC 液体培养基中。接种后, 将样品在 15°C, 摇床 (150 r/min) 避光培养 15 d。为了检测细菌降解 PE 和 PET 的能力, 将不同纯菌株接种到含有 3 片 (1 cm × 1 cm) 无菌 PET 或者 PE 塑料片 (GF31588229/GF94795701, Sigma, 美国) 作为唯一碳源的 50 mL MMC 培养基中。接种前塑料片用 75% 的乙醇进行表面消毒, 并使用无菌水冲洗 3 次。接种后, 将样品在 28°C, 摇床 (150 rpm) 避光培养 30 d。后续塑料代谢产物分析和塑料表征实验都使用该培养条件。通过定期观察培养基的浑浊程度, 并使用光学显微镜观察细菌的密度, 选出降解烷烃和塑料能力最佳的优势菌株。没有细菌接种的培养物作为阴性对照 (CK)。

2.6 塑料及其表面生物膜电镜观察

选取优势降解菌和 PET 或者 PE 孵育 1 个月后, 随机选取塑料片进行扫描电镜 (Scanning Electron Microscopy, SEM) 观察。随后使用 2% 的十二烷基硫酸钠 (SDS) 与塑料片 50°C 孵育 4 h 清洗塑料表面生物膜, 并使用无菌水将塑料表面的 SDS 清洗干净, 放置室温干燥, 对清洗干净的塑料片在扫描电镜下观察。SEM 操作流程参见相关文献 [24]。采用 LIVE/DEAD BacLight 细菌活力检测试剂盒 (美国) 测定菌株接种 30 d 后 PE 膜上的活菌膜, 之后在荧光显微镜 (尼康 80i) 下观察。没有细菌接种的培养物作为阴性对照 (CK), 其塑料片和实验组采取相同的操作。

2.7 傅立叶变换红外光谱 (ATR-FTIR)

为了表征 PE 表面化学结构的改变, 对优势菌株降解 1 个月后清洗风干的 PE 塑料和对照组 PE 进行傅里叶变换红外光谱 (Thermo Scientific, Nicolet iS50) 的检测, 清洗风干步骤与上一节相同, 利用 OMNIC 软件获取 400~4 000 cm^{-1} 的光谱。图像的光谱分辨率为 4 cm^{-1} , 平均扫描 16 次 [28]。

2.8 PET 代谢物超高效液相色谱质谱 (UPLC-MS) 分析

PET 代谢物的萃取: 将菌株 *Microbacterium maritopicum* RA1-00-CA1 和 *Rhodococcus cerastii* R1-05-7C3 与 PET 塑料片孵育 30 d 后, 4°C 离心 10 min (8 000 r/min) 去掉菌体后, 用 0.22 μm 滤膜过滤得到上清液, 用 2 mol/L 盐酸将上清液的 pH 调至为 2, 上清液用 1:1

体积比的乙酸乙酯萃取 3 次, 使用旋转蒸发仪将乙酸乙酯进行 40°C 恒温水浴悬蒸, 直至去除有机试剂, 最后用 1 mL 色谱级甲醇进行溶解, 后保存于 4°C, 用于 UPLC-MS 分析 [28]。没有细菌接种的培养物作为阴性对照 (CK), 培养液与实验组采取相同的处理手段, 检测条件参考相关文献 [24]。

3 实验结果

3.1 原始样品以及低温十四烷富集样品菌群多样性分析

3.1.1 多样性和丰富度分析

对 36 个低温十四烷富集样品进行 16S rRNA 基因高通量测序共获得 1 664 191 条有效序列, 平均长度 426 bp。稀释曲线 (图 2a) 表明随着样本测序深度增大, 曲线斜率逐渐平滑, 变化较小, 再增加测序量, 样本的 Alpha 多样性指标达到稳定, 表明测序量充足, 能够反映该富集实验中的细菌群落多样性。其中明显的看出第一轮和第二轮富集样品在 OTU 水平的 Sobs 值 (观测到的 OTU 数) 明显降低, 说明经过二次转接后, 样品中的 OTU 数明显降低, 即富集效果明显。Shannon 指数综合考虑了群落的物种数目和均匀度这两个因素。Shannon 指数值越高, 表明群落的 α 多样性越高。Chao 指数 (估计的 OTU 数) 越大, 表明某群落物种数目较多。从细菌 Alpha 多样性分析图 2c1 和 c2 中的 Chao 和 Shannon 指数可以看出经过两次富集后, 各个样本中的群落物种数目都明显降低, 并且和原样本相比存在显著差异 (Student-*t* 检验, $p < 0.05$), Venn 图分析表明经过两次富集后, 菌群已经丢失了大量的 OTU, C1 组和 C2 组共有 OTU 共 107 个, 原始样品与富集后的菌群共有 OTU 共有 69 个, 具体见图 2b。

3.1.2 细菌群落组成分析

群落柱形图直观呈现出各组或者各样品在不同水平上的优势物种以及相对丰度, 具体见图 3 和图 4。细菌物种组成分析表明, 变形菌门 (Pseudomonadota)、放线菌门 (Actinomycetota)、拟杆菌门 (Bacteroidota) 在 C0 组中的相对丰度依次为 61.6%、1.8%、12.1%; 在 C1 组中的相对丰度依次为 95%、3.7%、0.03%; 在 C2 组中的相对比例为 99%、0.84%、0.03%, 表明变形菌门 (Pseudomonadota) 得到明显富集 (图 3a)。其中 C0 组中的酸杆菌门 (Acidobacteriota) 和绿弯菌门 (Chloroflexota) 分别占据 2.8% 和 2.6%, 在接下来的两次富集中丢失。

假单胞菌科 (Pseudomonadaceae)、海单胞菌科

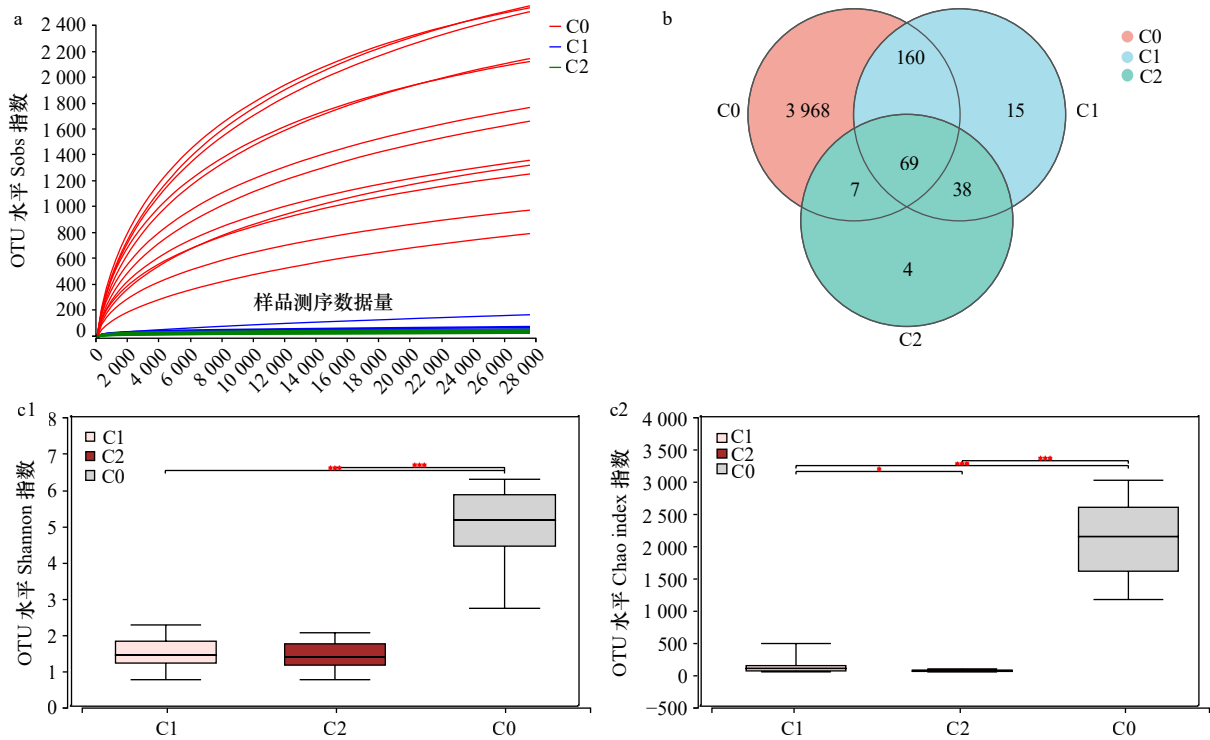


图2 罗斯海烷烃富集菌群细菌 Alpha 多样性分析

Fig. 2 Alpha diversity analysis of tetradecane-enriched consortia from Ross Sea sediments

OTU 稀释曲线 (a) OTU 水平 Venn 图分析 (C0/C1/C2) (b) Shannon 指数和 Chao 指数组间差异分析, Student-*t* 检验 (C0/C1/C2) (c1, c2)

Rarefaction curves for Sobs index on OTU level (a), Venn diagram analysis on OTU level to depict the number of exclusive and shared OTUs (C0/C1/C2) (b), analysis of intergroup differences in Shannon index and Chao index on OTU level, Student-*t* test (C0/C1/C2) (c1, c2)

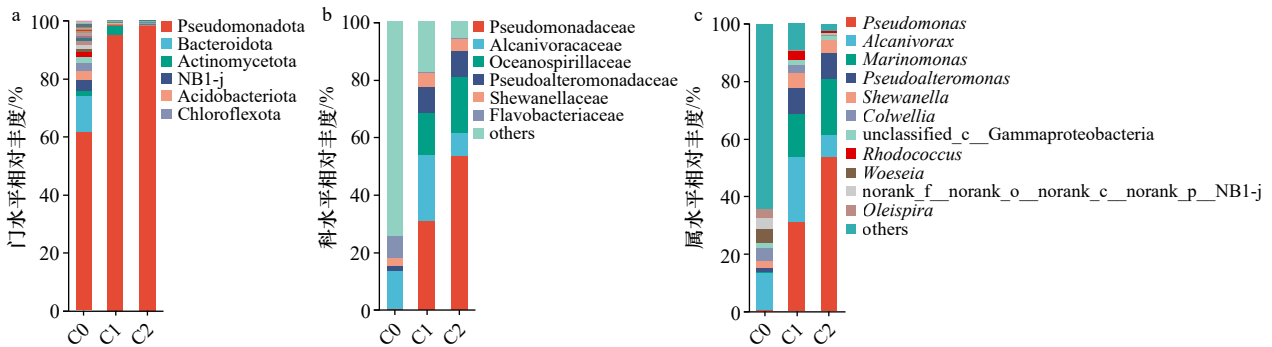


图3 罗斯海十四烷富集菌群 C0/C1/C2 组门水平 (a), 科水平 (b) 和属水平 (c) 细菌组成柱形图

Fig. 3 Column diagram of bacterial percent of community abundance at phylum level (a), family level (b), and genus level (c) of tetradecane-enriched consortia of C0/C1/C2 groups from Ross Sea

(Oceanospirillaceae)、食烷菌科 (Alcanivoraceae)、假交替单胞菌科 (Pseudoalteromonadaceae)、希瓦氏菌科 (Shewanellaceae) 在 C0/C1/C2 组为优势成员, 其相对丰度分别为 0.2%/31.9%/55.2%、0.08%/14.5%/18.2%、13.1%/22.9%/8.9%、1.5%/8.8%/7.9%、2.9%/5.3%/4.8% (图 3b)。此外, 在所有样品中经常出现的细菌还有诺卡氏菌科 (Nocardiaceae), 盐单胞菌科 (Halomonadaceae), 这表明这些细菌科可能在低温条件下直接参与了十四烷的降解。C0 组中优势属为食烷菌属

(Alcanivorax)、海洋伍斯菌属 (Woeseia)、科尔韦氏菌属 (Colwellia) 和油螺旋菌属 (Oleispira), 相对比例分别为 13.1%、4.5%、4.4% 和 3.1%。C1 和 C2 组中优势属分别为假单胞菌属 (Pseudomonas)、食烷菌属 (Alcanivorax)、海单胞菌属 (Marinomonas)、假交替单胞菌属 (Pseudoalteromonas)、希瓦氏菌属 (Shewanella)、红球菌属 (Rhodococcus)、科尔韦氏菌属 (Colwellia)、盐单胞菌属 (Halomonas), 在 C1/C2 组中的相对丰度分别为 31.9%/55.2%、22.9%/7.9%、

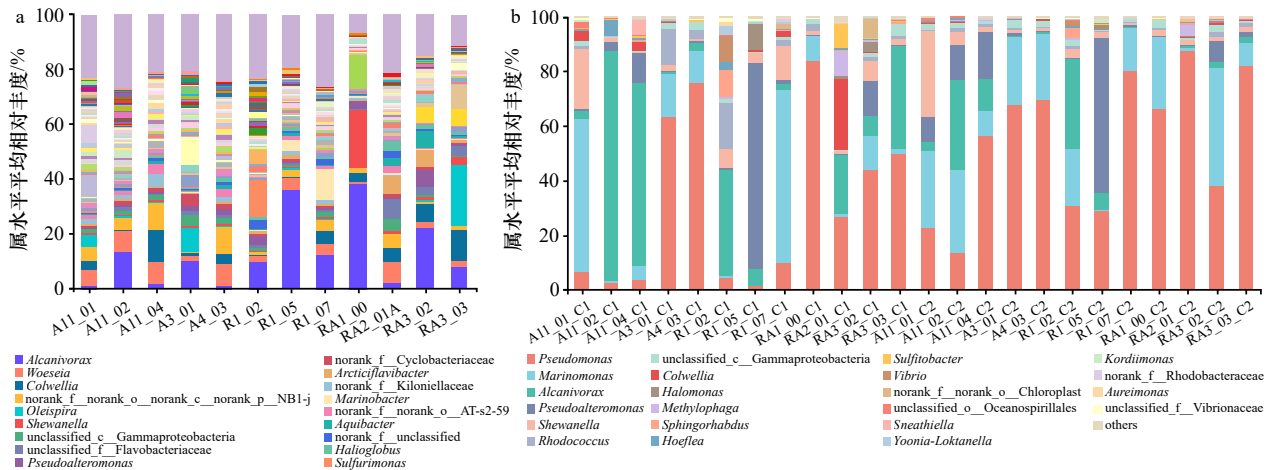


图4 罗斯海十四烷富集菌群属水平细菌组成柱形图(a: C0; b: C1, C2)

Fig. 4 Column diagram of bacterial percent of community abundance at genus level of tetradecane-enriched consortia

(a: C0; b: C1, C2) from Ross Sea

14.5%/18.2%、8.8%/8.9%、5.3%/4.8%、3.7%/0.8%、2.8%/0%、1.4%/0.6%(图 3c)。各个样本富集菌群属水平的具体组成见图 4。

采用“Kruskal-Wallis 秩和检验”对不同组微生物群落之间的物种进行假设检验,评估物种丰度差异的显著性水平,获得组间显著性差异物种。由图 5a 可知,在属水平上的原位和富集样本间菌群分布和丰度存在较大差异,假单胞菌和海单胞菌在 C1 组和 C2 组中得到显著富集,且在 C2 组丰度最高,希瓦氏菌属(*Shewanella*)和红球菌属(*Rhodococcus*) 在 C1 组中得到明显富集,丰度最高,在 C2 组中丰度比 C1 组降低,其中科尔韦氏菌属(*Colwellia*),海洋伍斯菌属(*Woeseia*),油螺旋菌属(*Oleispira*),海杆菌属(*Marinobacter*) 在经历两轮富集后丰度大幅降低,可见并不适宜在 10℃ 低温条件对十四烷进行降解。根据样本中物种之间的进化关系,使用 MEGA 软件,对富集后在样品中占比相对较高的 OTU 构建系统发育树,从分子进化的角度揭示样本中各物种在演化过程中的亲缘关系。由图 5b 可知,假交替单胞菌科中的假交替单胞菌属(OTU3376)(OTU4389)、希瓦氏菌科中的希瓦氏菌属(OTU3375)、海单胞菌科中的海单胞菌属(OTU4391)(OTU3817)、假单胞菌科中的假单胞菌属(OTU730)(OTU2835)(OTU4168)(OTU1894)、盐单胞菌科中的盐单胞菌属(OTU3368)、食烷菌科中的食烷菌属(OTU4399)、放线菌纲中的诺卡菌科中的红球菌属(OTU3753)在富集后占据优势。其中 OTU730、OTU4391、OTU4399、OTU3376、OTU3375、OTU2835 在两次富集中均占据绝对优势。

3.2 优势降解菌株 PET 和 PE 表征实验

3.2.1 十四烷降解菌株的分离纯化及其烷烃和塑料降解功能验证

共分离获得 14 株潜在的烷烃降解菌,验证后结果如表 2 所示,十四烷、PET 和 PE 优势降解菌属于微杆菌属、盐单胞菌属、假单胞菌属、嗜冷杆菌属、红球菌属、食烷菌属。

3.2.2 PE 降解菌株显微观察和降解后 PE 的傅立叶变换红外光谱检测

选取 PE 的优势降解菌株 *H. titanicae* A11-02-7C2、*R. cerastii* R1-05-7C3、*P. pelagia* R1-05-CR3 和 *P. taeanensis* A11-04-CA4 对 PE 进行降解,SEM 观察到有大量活细胞(绿色)作为生物膜定殖在降解后的 PE 膜上(图 6a,c)。生物降解前 PE 塑料薄膜表面光滑,表面没有特别明显的缺陷(图 6 中 CK)。孵育 30 d 后,PE 薄膜表面变得粗糙,呈现出来大量的孔隙和沟槽,这证明了经过微生物 PE 塑料降解酶的作用,薄膜发生劣化(图 6b)。由图 6d 可以看出 A11-02-7C2、R1-05-7C3、R1-05-CR3 和 A11-04-CA4 在 3 650~3 737 cm^{-1} 处显示新的羟基吸收峰(R-OH),另一个明显的变化是在所有样品中 1 711 cm^{-1} 处的峰强度都较高,这表明羰基(C=O)基团的增多,这可能代表由 PE 聚合物降解形成一种新的酯类或者羧酸类物质。羰基和羟基形成表明 PE 发生解聚和降解,也被认为是塑料氧化和生物降解过程中必不可少的步骤。

3.2.3 PET 降解菌株扫描电镜观察和代谢物 UPLC-MS 分析

PET 降解中间体在培养上清液中的积累是 PET

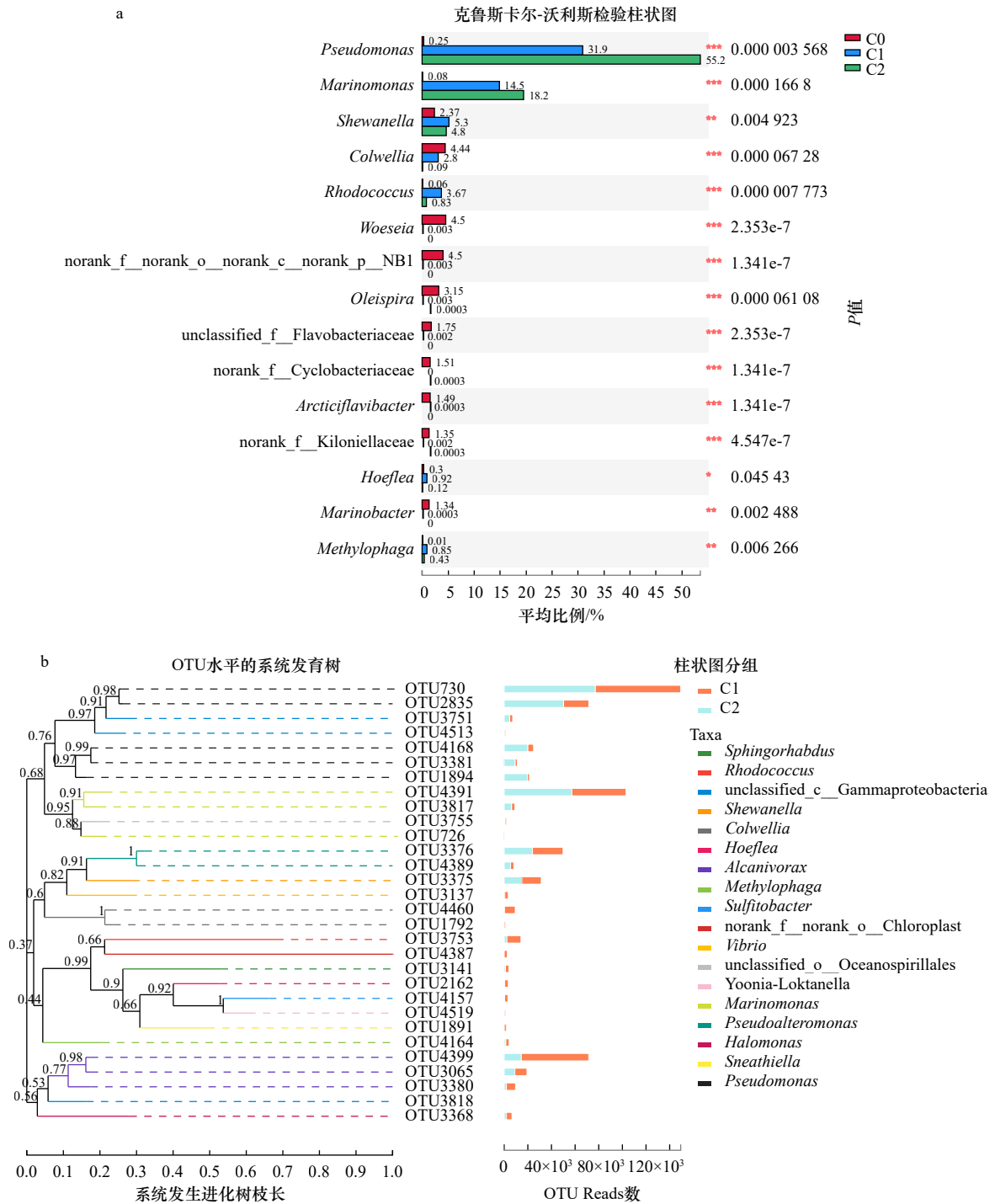


图5 罗斯海烷烃富集菌群属水平细菌物种组成差异分析(C0/C1/C2), Kruskal-Wallis 秩和检验(a) 及 OTU 水平系统进化分析(C1/C2)(b)

Fig. 5 Analysis of intergroup differences of community abundance on genus level (C0/C1/C2), Kruskal-Wallis H test (a) and phylogenetic analysis at OTU level of tetradecane-enriched consortia from Ross Sea (C1/C2) (b)

左边为系统发生进化树, 进化树中每条树枝代表一类物种, 树枝长度为两个物种间的进化距离, 右边柱状图展示的是物种在不同分组中的的 Reads 占比

Each branch of the evolutionary tree on the left represents a OTU, and the length of the branch is the evolutionary distance between two OTUs, the right bar chart shows the proportion of Reads of OTUs in different groups

分解的最有力的证据。选取 PET 的优势降解菌株 *R. cerastii* R1-05-7C3, *M. maritypicum* RA1-00-CA1 和 *H.*

titanicae A11-02-7C2 对 PET 进行降解, SEM 观察到紧密附着于 PET 塑料表面的菌体和塑料表面产生破损

表 2 验证纯菌株对烷烃, PET 和 PE 降解能力
Table 2 Verify the degradation ability of pure strains on alkanes, PET and PE

烷烃降解	PET 降解	PE降解	菌株名称	热门分类单元	所属科
w	-	+	A11-04-CA4	<i>Pseudomonas taeanensis</i> MS-3 ^T	Pseudomonadaceae
+	+	-	RA1-00-CA1	<i>Microbacterium maritypicum</i> DSM 20 578 ^T	Microbacteriaceae
+	+	+	A11-02-7C2	<i>Halomonas titanicae</i> BH1 ^T	Halomonadaceae
+	+	+	R1-05-CR3	<i>Pseudomonas pelagia</i> CL-AP6 ^T	Pseudomonadaceae
+	+	w	A11-02-CR2	<i>Pseudomonas xanthomarina</i> DSM 18 231 ^T	Pseudomonadaceae
+	+	+	A3-01-CR8	<i>Psychrobacter okhotskensis</i> MD17 ^T	Moraxellaceae
+	+	+	R1-05-7C3	<i>Rhodococcus cerastii</i> C5 ^T	Nocardiaceae
-	-	-	A11-02-CA2	<i>Marinomonas rhizomae</i> IVIA-Po-145 ^T	Oceanospirillaceae
-	-	-	A11-04-CA2	<i>Pseudoalteromonas neustonica</i> PAMC 28 425 ^T	Pseudoalteromonadaceae
-	-	-	A4-03-CR4	<i>Pseudomonas neustonica</i> SSM26 ^T	Pseudomonadaceae
+	-	-	A3-01-7C5	<i>Rhodococcus erythropolis</i> NBRC 15 567 ^T	Nocardiaceae
-	-	-	A11-02-CA1	<i>Shewanella livingstonensis</i> LMG 19 866 ^T	Shewanellaceae
+	+	+	A11-02-7C4	<i>Alcanivorax borkumensis</i> SK2 ^T	Alcanivoracaceae
w	+	w	R1-05-7C2	<i>Pseudomonas zhaodongensis</i> NEAU-ST5-21 ^T	Pseudomonadaceae

注: -, 不降解; w, 降解效果微弱; +, 降解效果良好。

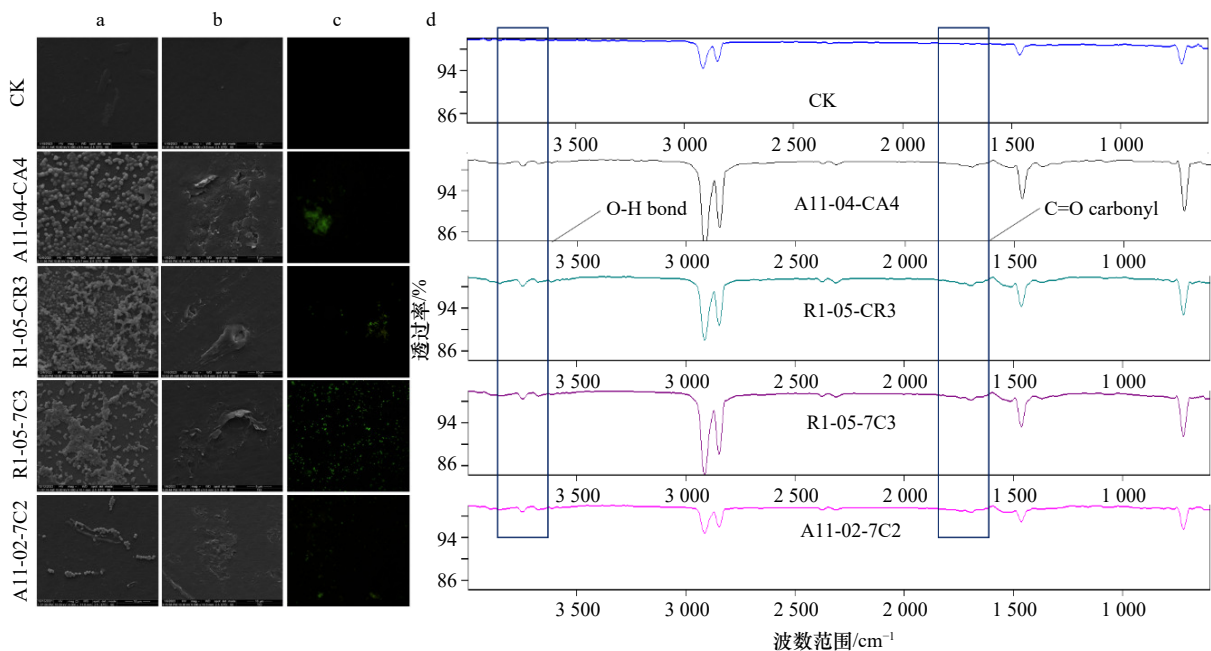


图 6 细菌 *Hallmonas titanicae* A11-02-7C2, *Rhodococcus cerastii* R1-05-7C3, *Pseudomonas pelagia* R1-05-CR3 和 *Pseudomonas taeanensis* A11-04-CA4 解聚 PE 的表征特性

Fig. 6 Depolymerization characteristics of the biodegraded PE by the isolated bacterium *Hallmonas titanicae* A11-02-7C2, *Rhodococcus cerastii* R1-05-7C3, *Pseudomonas pelagia* R1-05-CR3 and *Pseudomonas taeanensis* A11-04-CA4

左侧图片: 菌株生物降解后的 PE 膜和未接种的 PE 膜(CK)相比有生物膜附着(a, c)和破损(b)形成。右侧图像: 细菌降解后塑料和未接种的 PE 膜(CK)的 FTIR 分析(d)

Left image: the inoculated bacterium attached to PE to form the biofilms (a, c) and visible pores (b) compared with the non-inoculated PE (CK). Right image: FTIR analysis of incubated PE by corresponding strains and non-inoculated PE (CK) (d)

(图7a)。将MHET的标准品同未接种的对照组培养液(CK)和菌株 *M. maritypicum* RA1-00-CA1 和 *R. cerastii* R1-05-7C3 降解 PET 后的代谢产物一同上机, UPLC-MS 分析分离鉴定结果显示, 作为 PET 降解产物之一, MHET 标准品的相对分子量为 209.04, 元素组成报告为 $C_{10}H_{10}O_5$, 标准品 MHET 的出峰时间在 0.8 min。样品中同样出现了与标准品相同化学分子式物质, 且出峰时间同样在 0.8 min, 对照组没有 MHET 物质出峰, 说明菌株 RA1-00-CA1 和 R1-05-7C3 代谢物中出现 PET 的组成单体, 其菌株可以很好地降解 PET(图7b)。

4 讨论

自 1940 年代开始大规模生产塑料以来, 海洋环

境的微塑料污染日益严重, 但塑料作为高聚物出现时间短, 降解菌从何而来是个问题^[29]。罗斯海水和沉积物中都有检测到石油和微塑料污染物^[30], 相应碳氢化合物降解微生物还有待研究。为此, 本研究针对罗斯海沉积物中微生物自净能力研究不足的现状, 对罗斯海地区的 12 个沉积物样品以十四烷作为唯一碳源进行低温富集, 采用 16S rRNA 基因测序和纯菌培养相结合的方法, 发现假单胞菌属, 食烷菌属, 海单胞菌属, 假交替单胞菌属, 科尔韦尔氏菌属, 希瓦氏菌属在烷烃富集菌群占优势, 与分离自北极海水和海冰、南极土壤和地中海深海沉积物中的脂肪族和芳香族化合物优势降解菌种属相同^[31]; 纯菌实验结果表明, 假单胞菌、食烷菌、红球菌、盐单胞菌、微杆菌和嗜冷

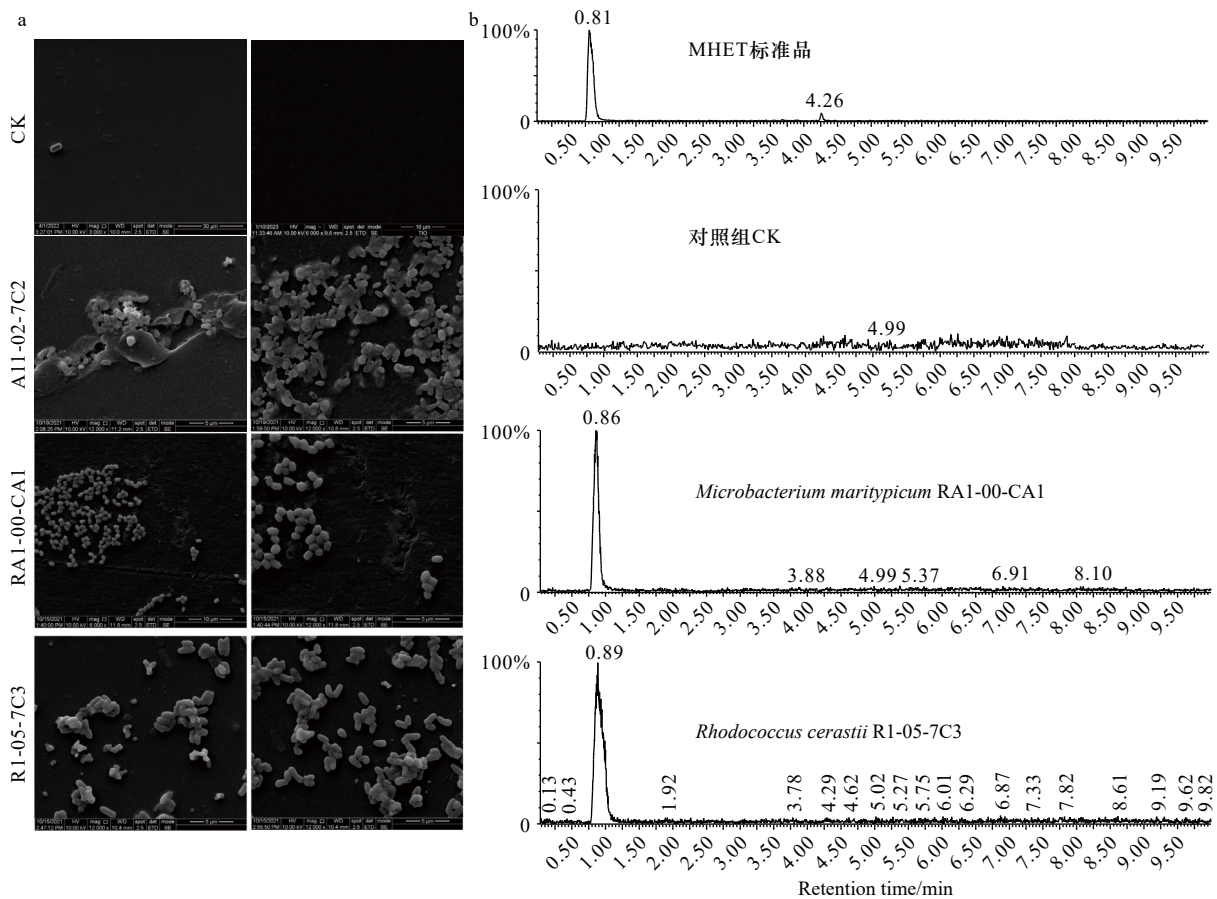


图 7 细菌解聚 PET 的表征特性

Fig. 7 Depolymerization characteristics of the biodegraded PET by the isolated bacterium

左侧图片: 菌株 *Rhodococcus cerastii* R1-05-7C3, *Microbacterium maritypicum* RA1-00-CA1 和 *H. alomonas titanicae* A11-02-7C2 生物降解后的 PET 膜和未接种的 PET 膜(CK)相比出现生物膜和明显的破损(a)。右侧图像: *R. cerastii* R1-05-7C3 和 *Maritypicum* RA1-00-CA1 处理 PET 30 d 和无细菌处理组(CK)的代谢产物(预测为 MHET)和 MHET 标准品的 UPLC 出峰时间图(b)

Left image: the inoculated bacterium *Rhodococcus cerastii* R1-05-7C3, *Microbacterium maritypicum* RA1-00-CA1 and *Halomonas titanicae* A11-02-7C2 attached to PET to form the biofilms and visible pores compared with the non-inoculated PET (a). Right image: UPLC spectrum (b) of the standard mono-(2-hydroxyethyl) terephthalate (MHET) and no bacteria-treat group (CK) and the metabolic products (prediction as MHET) released from PET films treated by the pure culture *R. cerastii* R1-05-7C3 and *M. maritypicum* RA1-00-CA1 after 30 days

杆菌对十四烷具有降解效果。食烷菌作为重要的专性烷烃降解菌和塑料降解的重要类群广泛存在于海洋环境中,也是罗斯海沉积物烷烃低温富集的优势菌,例如,泊库岛食烷菌不仅在低温环境降解烷烃,对 PE 也有降解效果^[32]。在罗斯海地区,本研究中的优势烷烃降解菌已有报道。研究者将罗斯海海水加入原油,在其微生物群落中分离出多个低温降解菌包括科尔韦氏菌属、盐单胞菌属、海杆菌属、嗜油菌属、假交替单胞菌属、希瓦氏菌属、假单胞菌属^[33]。分离自罗斯海的假交替菌属和嗜冷杆菌属在 4°C 和 15°C 下能降解多氯联苯^[34];红球菌可以产生海藻糖脂质表面活性剂,降解脂肪族碳氢化合物和联苯^[10];盐单胞菌 *Halomonas* sp. ANT-3b 能利用正十六烷生长并产生一种新的乳化活性糖脂^[35]。可见,本文鉴定的烷烃降解菌在罗斯海地区中较为广泛存在。

前人报道烃类降解菌与石油基塑料降解菌有相似性,但到目前为止,寒冷栖息地中的塑料降解知之甚少^[36]。本文发现的烃降解菌是否具有塑料降解能力值得尝试。为此,本文利用罗斯海烃降解菌株测试了其 PE 和 PET 的降解活性。结果表明,微杆菌 *M. maritimum* RA1-00-CA1 可以降解 PET,盐单胞菌 *H. titanicae* A11-02-7C2、红球菌 *R. cerastii* R1-05-7C3、假单胞菌 *P. pelagia* R1-05-CR3、*P. taeanensis* A11-04-CA4、*P. xanthomarina* A11-02-CR2 和 *P. okhotskensis* A3-01-CR8 对 PE 和 PET 都具有降解能力。前人已报道,盐单胞菌,假单胞菌和红球菌在常温环境下可以降解

聚乙烯、聚丙烯、聚氯乙烯、聚苯乙烯、聚氨酯、聚对苯二甲酸酯^[37,38]。例如:本课题组 Lv Shiwei 等最近证明食烷菌 *Alcanivorax xenomutans* 和本研究分离的盐单胞菌 *H. titanicae* 可以降解聚苯乙烯,并导致微塑料加速形成^[39];Liu Renju 等^[40]发现食烷菌和假单胞菌是太平洋海底沉积物富集物中优势 PET 降解菌。前人报道,分离自红树林沉积物的 *Rhodococcus* sp. 可降解聚丙烯,40 d 内塑料失重 6.4%,而深海沉积物来源的 *Rhodococcus pyridinivorans* 具有 PET 降解能力,5 周内 PET 失重 4.28%^[41,42];微杆菌 *Microbacterium oleivorans* JWG-G2 具有 PET 降解能力,编码 PET 水解酶^[43]。目前,有关南极地区塑料降解菌已有少量报道,其优势降解菌和本研究相符。例如:Habib 等^[44]发现南极土壤细菌 *Pseudomonas* sp. ADL15 和 *Rhodococcus* sp. ADL36 具有聚丙烯降解能力,40 d 内塑料分别失重 17.3% 和 7.3%;Won 等^[45]从罗斯海分离的红球菌 *Rhodococcus* sp. RosL12 中纯化出一种角质酶可以降解中链脂肪酸、聚己内酯和 PET。Zhang 等^[46]发现南极海冰嗜冷菌 *Psychrobacter* sp. NJ228 产生漆酶降解聚乙烯。

综上,罗斯海近海沉积物中存在较高生物多样性的烷烃和塑料降解微生物,包括在全球海洋中广泛分布的烃类降解菌,它们在低温下可以降解烷烃、PE 和 PET 塑料。研究结果一方面拓展了对罗斯海沉积物中塑料和烷烃降解菌多样性的认识,另一方面为低温污染环境的生物修复提供了菌株资源。降解菌在原位环境中活性与塑料降解机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Bargagli R, Rota E. Microplastic interactions and possible combined biological effects in antarctic marine ecosystems[J]. *Animals*, 2022, 13(1): 162.
- [2] Suaria G, Perold V, Lee J R, et al. Floating macro- and microplastics around the Southern Ocean: results from the Antarctic Circumnavigation Expedition[J]. *Environment International*, 2020, 136: 105494.
- [3] Cincinelli A, Scopetani C, Chelazzi D, et al. Microplastic in the surface waters of the Ross Sea (Antarctica): occurrence, distribution and characterization by FTIR[J]. *Chemosphere*, 2017, 175: 391–400.
- [4] Munari C, Infantini V, Scoptoni M, et al. Microplastics in the sediments of Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica)[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 122(1/2): 161–165.
- [5] Cunningham E M, Ehlers S M, Dick J T A, et al. High abundances of microplastic pollution in deep-sea sediments: evidence from antarctica and the Southern Ocean[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(21): 13661–13671.
- [6] Vázquez S, Monien P, Pepino Minetti R, et al. Bacterial communities and chemical parameters in soils and coastal sediments in response to diesel spills at Carlini Station, Antarctica[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 605-606: 26–37.
- [7] Zakaria N N, Convey P, Gomez-Fuentes C, et al. Oil bioremediation in the marine environment of antarctica: a review and bibliometric keyword cluster analysis[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 419.
- [8] Curtosi A, Pelletier E, Vodopivec C L, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and surface marine sediment near Jubany Station (Antarctica). Role of permafrost as a low-permeability barrier[J]. *Science of the Total Environment*, 2007, 383(1/3): 193–204.
- [9] Luigi M, Gaetano D M, Vivia B, 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.
- [10] Yakimov M M, Giuliano L, Bruni V, et al. Characterization of antarctic hydrocarbon-degrading bacteria capable of producing bioemulsi-

- fiers[J]. *The New Microbiologica*, 1999, 22(3): 249–256.
- [11] Pepi M, Cesàro A, Liut G, et al. An antarctic psychrotrophic bacterium *Halomonas* sp. ANT-3b, growing on *n*-hexadecane, produces a new emulsifying glycolipid[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 53(1): 157–166.
- [12] Lo Giudice A, Michaud L, De Pascale D, et al. Lipolytic activity of Antarctic cold-adapted marine bacteria (Terra Nova Bay, Ross Sea)[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, 101(5): 1039–1048.
- [13] Yakimov M M, Gentile G, Bruni V, et al. Crude oil-induced structural shift of coastal bacterial communities of rod bay (Terra Nova Bay, Ross Sea, Antarctica) and characterization of cultured cold-adapted hydrocarbonoclastic bacteria[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 49(3): 419–432.
- [14] Sfriso A A, Tomio Y, Rosso B, et al. Microplastic accumulation in benthic invertebrates in Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica)[J]. *Environment International*, 2020, 137: 105587.
- [15] Zadjelovic V, Erni-Cassola G, Obrador-Viel T, et al. A mechanistic understanding of polyethylene biodegradation by the marine bacterium *Alcanivorax*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 436: 129278.
- [16] Delacuvellerie A, Cyriaque V, Gobert S, et al. 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.
- [17] Moog D, Schmitt J, Senger J, et al. Using a marine microalga as a chassis for polyethylene terephthalate (PET) degradation[J]. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18(1): 171.
- [18] Tournier V, Topham C M, Gilles A, et al. An engineered PET depolymerase to break down and recycle plastic bottles[J]. *Nature*, 2020, 580(7802): 216–219.
- [19] Yoshida S, Hiraga K, Takehana T, et al. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate)[J]. *Science*, 2016, 351(6278): 1196–1199.
- [20] Blázquez-Sánchez P, Engelberger F, Cifuentes-Anticevic J, et al. Antarctic polyester hydrolases degrade aliphatic and aromatic polyesters at moderate temperatures[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2022, 88(1): e0184221.
- [21] Yakimov M M, Bargiela R, Golyshin P N. Calm and Frenzy: Marine obligate hydrocarbonoclastic bacteria sustain ocean wellness[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2022, 73: 337–345.
- [22] Denaro R, Aulenta F, Crisafi F, et al. Marine hydrocarbon-degrading bacteria breakdown poly(ethylene terephthalate) (PET)[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 749: 141608.
- [23] Roberts C, Edwards S, Vague M, et al. Environmental consortium containing *Pseudomonas* and *Bacillus* species synergistically degrades polyethylene terephthalate plastic[J]. *mSphere*, 2020, 5(6): e01151–20.
- [24] Zhao Sufang, Liu Renju, Wang Juan, et al. Biodegradation of polyethylene terephthalate (PET) by diverse marine bacteria in deep-sea sediments[J]. *Environmental Microbiology*, 2023, 25(12): 2719–2731.
- [25] Hassanshahian M, Emtiaz G, Cappello S. Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2012, 64(1): 7–12.
- [26] 叶静, 戴文芳, 刘圣, 等. 熊本牡蛎、葡萄牙牡蛎和长牡蛎组织菌群构成及功能的比较分析 [J]. *海洋学报*, 2022, 44(8): 66–77.
Ye Jing, Dai Wenfang, Liu Sheng, et al. Comparison of the composition and functional potentials of bacterial communities in different tissues from *Crassostrea sikamea*, *Crassostrea angulata* and *Crassostrea gigas*[J]. *Haiyang Xuebao*, 2022, 44(8): 66–77.
- [27] Hassanshahian M, Boroujeni N A. Enrichment and identification of naphthalene-degrading bacteria from the Persian Gulf[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, 107(1): 59–65.
- [28] Gao Rongrong, Sun Chaomin. A marine bacterial community capable of degrading poly(ethylene terephthalate) and polyethylene[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416: 125928.
- [29] Cole M, Lindeque P, Halsband C, et al. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(12): 2588–2597.
- [30] Vergeynst L, Wegeberg S, Aamand J, et al. Biodegradation of marine oil spills in the Arctic with a Greenland perspective[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 626: 1243–1258.
- [31] Tapilatu Y, Acquaviva M, Guigue C, et al. Isolation of alkane-degrading bacteria from deep-sea Mediterranean sediments[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2010, 50(2): 234–236.
- [32] 王世杰, 王翔, 卢桂兰, 等. 低温微生物修复石油烃类污染土壤研究进展 [J]. *应用生态学报*, 2011, 22(4): 1082–1088.
Wang Shijie, Wang Xiang, Lu Guilin, et al. Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils by cold-adapted microorganisms: research advance[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(4): 1082–1088.
- [33] Cappello S, Corsi I, Patania S, et al. Characterization of five psychrotolerant *Alcanivorax* spp. strains isolated from antarctica[J]. *Microorganisms*, 2022, 11(1): 58.
- [34] Koh J, Bairoliya S, Salta M, et al. Sediment-driven plastisphere community assembly on plastic debris in tropical coastal and marine environments[J]. *Environment International*, 2023, 179: 108153.
- [35] Khandare S D, Chaudhary D R, Jha B. Marine bacterial biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) plastic[J]. *Biodegradation*, 2021, 32(2): 127–143.

- [36] Bitalac J M S, Lantican N B, Gomez N C F, et al. Attachment of potential cultivable primo-colonizing bacteria and its implications on the fate of low-density polyethylene (LDPE) plastics in the marine environment[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 451: 131124.
- [37] 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.
- [38] Bacha A U R, Nabi I, Zaheer M, et al. Biodegradation of macro- and micro-plastics in environment: A review on mechanism, toxicity, and future perspectives[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 858: 160108.
- [39] Lv Shiwei, Cui Kexin, Zhao Sufang, et al. Continuous generation and release of microplastics and nanoplastics from polystyrene by plastic-degrading marine bacteria[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 465: 133339.
- [40] Liu R, Xu H, Zhao S, et al. Polyethylene terephthalate (PET)-degrading bacteria in the pelagic deep-sea sediments of the Pacific Ocean[J]. *Environ Pollut*, 2024, 352:124131.
- [41] 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.
- [42] Guo Wenbin, Duan Jingjing, Shi Zhengguang, et al. Biodegradation of PET by the membrane-anchored PET esterase from the marine bacterium *Rhodococcus pyridinivorans* P23[J]. *Communications Biology*, 2023, 6(1): 1090.
- [43] Yan Zhengfei, Wang Lei, Xia Wei, et al. Synergistic biodegradation of poly(ethylene terephthalate) using *Microbacterium oleivorans* and *Thermobifida fusca* cutinase[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105(11): 4551–4560.
- [44] Habib S, Iruthayam A, Abd Shukor M Y, et al. Biodeterioration of untreated polypropylene microplastic particles by antarctic bacteria[J]. *Polymers*, 2020, 12(11): 2616.
- [45] Won S J, Yim J H, Kim H K. Functional production, characterization, and immobilization of a cold-adapted cutinase from Antarctic *Rhodococcus* sp.[J]. *Protein Expression and Purification*, 2022, 195–196: 106077.
- [46] Zhang Ailin, Hou Yanhua, Wang Quanfu, et al. Characteristics and polyethylene biodegradation function of a novel coldadapted bacterial laccase from Antarctic sea ice psychrophile *Psychrobacter* sp. NJ228[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 439: 129656.

Microbial diversity of alkane- and plastic-degrading microbiome in offshore sediments of Ross Sea, Southern Ocean

Zhao Sufang^{1,2}, Liu Renju^{1,3}, Dong Chunming¹, Lv Shiwei^{1,3}, Zhang Benjuan¹, Shao Zongze^{1,2,3}

(1. Key Laboratory of Marine Genetic Resources, Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources of China; Xiamen 361005, China; 2. School of Marine Science and Technology, Harbin Institute of Technology, Weihai 264209, China; 3. School of Environmental Science, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: Oil and plastic pollutants are a serious threat to marine ecosystems and have even been found in the Ross Sea of the Southern Ocean. In order to obtain low-temperature alkane degrading bacteria and plastic-degrading bacteria in the region, a total of twelve sediment samples were collected in the Ross Sea area for enrichment and isolation of alkane-degrading bacteria at low-temperature, and the diversity analyses of the tetradecane-enriched communities showed that the most dominant genera were *Pseudomonas*, *Alcanivorax*, *Marinomonas*, *Pseudoalteromonas*. The polyethylene terephthalate(PET) and polyethylene(PE) was further validated using the dominant alkane-degrading bacteria. Scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) demonstrated that the four pure cultures of *Pseudomonas pelagia* R1-05-CR3, *Pseudomonas taeanensis* A11-04-CA4, *Halomonas titanicae* A11-02-7C2 and *Rhodococcus cerastii* R1-05-7C3 could degrade PE effectively. The results of UPLC-MS and SEM confirmed the PET degradation by isolates of *R. cerastii* R1-05-7C3, *Microbacterium maritypicum* RA1-00-CA1, and *H. titanicae* A11-02-7C2. In conclusion, this study reports the diversity of the tetradecane-enriched consortia at low-temperature and plastic degrading bacteria in the offshore sediments of the Ross Sea in the Southern Ocean, which play a selfpurifying role in in-situ environmental contamination, and also provided strain resources for the biodegradation of hydrocarbon and plastic contaminants at low temperature.

Key words: Ross Sea; alkanes; polyethylene; polyethylene terephthalate; biodegradation; cold-adapted microorganisms