

周倩, 代国利, 潘晨楠, 蒋佳妙, 魏吉安, 张峻, 张明, 张道勇, 潘响亮. 土壤混合堆肥环境中聚己二酸/对苯二甲酸丁二酯微塑料膜降解菌筛选及降解特性[J]. 土壤学报, 2026,
ZHOU Qian, DAI Guoli, PAN Chennan, JIANG Jiamiao, WEI Ji'an, ZHANG Jun, ZHANG Ming, ZHANG Daoyong, PAN Xiangliang. Isolation and Characterization of Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Microplastic Film-Degrading Bacteria from Soil Co-Composting Environments[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

土壤混合堆肥环境中聚己二酸/对苯二甲酸丁二酯微塑料膜降解菌筛选及降解特性*

周倩^{1,2,3}, 代国利², 潘晨楠², 蒋佳妙², 魏吉安³, 张峻², 张明^{1,2}, 张道勇^{1,2}, 潘响亮^{2†}

(1. 浙江工业大学地理信息学院, 杭州 310014; 2. 浙江工业大学环境学院, 杭州 310014; 3. 美欣达集团有限公司, 浙江湖州 313000)

摘要: 聚己二酸/对苯二甲酸丁二酯 (Poly(butylene adipate-co-terephthalate), PBAT) 是传统塑料地膜的重要替代品, 但由于芳香族链的存在, 其较其他大多数可生物降解塑料 (如聚乳酸) 更难降解, 且现有 PBAT 生物降解菌种资源少、降解效率不高。通过土壤混合堆肥法筛选 PBAT 地膜降解菌株。试验采用 60 °C 高温堆肥环境富集菌群, 以 PBAT 为唯一碳源进行驯化培养, 筛选出 6 种菌株 (分别命名为 B1~B6)。通过质量损失、表面形貌、羧基指数 (CI) 和水接触角等多指标评估降解效果。结果表明, 菌株 B3 在 7 d 内对 PBAT 的降解率最高, 达 17.85%±11.22%; 原子力显微镜 (AFM) 分析显示, B3 暴露组中 PBAT 地膜表面粗糙度 (Ra) 增至 44.84±26.48 nm; 水接触角由 78.85°±4.65°降至 63.21°±11.23°, 表明其显著改变了 PBAT 的理化性质。通过 16S rRNA 基因序列分析, 菌株 B3 属于就地堆肥地芽孢杆菌 (*Parageobacillus toebii*)。通过全基因组测序和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 基因功能注释, 菌株 B3 存在羧酸酯酶、芳基酯酶、长链酰基辅酶 A 合成酶、醛脱氢酶、醇脱氢酶和儿茶酚 2,3-双加氧酶等编码 PBAT 降解酶的相关基因。研究结果将为生物降解 PBAT 基地膜及微塑料污染控制提供理论参考和技术支撑。

关键词: 聚己二酸/对苯二甲酸丁二酯; 土壤可生物降解地膜; 微塑料表面性能变化; 微生物降解

中图分类号: X53

文献标志码: A

Isolation and Characterization of Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Microplastic Film-Degrading Bacteria from Soil Co-Composting Environments

ZHOU Qian^{1,2,3}, DAI Guoli², PAN Chennan², JIANG Jiamiao², WEI Ji'an³, ZHANG Jun², ZHANG Ming^{1,2}, ZHANG Daoyong^{1,2}, PAN Xiangliang^{2†}

(1. College of Geomatics, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2. College of Environment, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 3. Mizuda Group Company Limited, Huzhou, Zhejiang 313000, China)

Abstract: 【Objective】 Poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) serves as a crucial alternative to conventional plastic mulch films. However, the presence of aromatic chains renders PBAT more recalcitrant to

*浙江省“尖兵领雁”计划项目 (2023C03128, 2025C02216) 和国家自然科学基金项目 (42207033) 资助 Supported by the Key Leading Research and Development Project of Zhejiang Province, China (Nos. 2023C03128 and 2025C02216) and the National Natural Science Foundation of China (No. 42207033)

†通讯作者 Corresponding author, E-mail: panxl@zjut.edu.cn

作者简介: 周倩 (1990—), 安徽六安人, 博士, 主要研究方向为环境微塑料污染。 E-mail: qianzhou@zjut.edu.cn

收稿日期: 2025-07-05; 收到修改稿日期: 2025-09-15; 网络首发日期 (www.cnki.net):

biodegradation compared to other biodegradable plastics (e.g., polylactic acid). Moreover, there are limited microbial resources exhibiting efficient PBAT degradation capabilities. 【Method】 This study employed a soil-compost enrichment approach to screen high-efficiency PBAT-degrading microbial strains. Microbial consortia were enriched at 60 °C under thermophilic composting conditions using PBAT as the sole carbon source, yielding six candidate strains (designated B1-B6). Degradation efficacy was comprehensively evaluated through mass loss, surface morphology analysis, and water contact angle measurements. 【Result】 Strain B3 demonstrated superior PBAT degradation efficiency, achieving a $17.85\% \pm 11.22\%$ mass loss within 7 days, exceeding currently reported values for PBAT-degrading microorganisms. Atomic force microscopy (AFM) analysis revealed significant surface modification across all treatment groups, with B3-exposed PBAT exhibiting the most pronounced surface roughness ($R_a = 44.84 \pm 26.48$ nm). Concurrent physicochemical characterization showed a 15.6° reduction in water contact angle, collectively indicating substantial polymer matrix alteration. Taxonomic identification through 16S rRNA gene sequencing classified strain B3 as *Parageobacillus toebii*. In addition, characterization of the degradation performance of the mixed microbial consortium (designated as MIX) showed that MIX achieved a PBAT degradation rate of $12.48\% \pm 1.11\%$. Although the impact on surface roughness of PBAT was relatively minor, MIX induced the most significant changes in water contact angle, indicating a pronounced degradation effect. High-throughput 16S rRNA sequencing analysis revealed that, at the species level, the dominant strain within the MIX consortium was *Parageobacillus toebii*, accounting for 98.50% of the population. Other minor constituents included *Aeribacillus pallidus* (1.45%), *unclassified_g_Lactobacillus* (0.01%), *unclassified_c_Bacilli* (0.02%), *unclassified_k_norank_d_Bacteria* (0.01%), and *unclassified_g_Clostridium_sensu_stricto_1* (<0.01%). These findings suggest that the PBAT degradation capability of the MIX consortium is primarily attributed to *Parageobacillus toebii*. Through whole genome sequencing and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) gene function annotation, it was identified that strain B3 possesses genes encoding enzymes relevant to PBAT degradation, including carboxylesterase, arylesterase, long-chain acyl-CoA synthetase, aldehyde dehydrogenase, alcohol dehydrogenase, and catechol 2,3-dioxygenase. Based on the above results, the potential degradation pathway of PBAT microplastics by the degrading microbes could be inferred as follows: (1) *Initial hydrolysis*: PBAT ester bonds are first cleaved by carboxylesterases, releasing intermediate products such as terephthalic acid and adipic acid. (2) *Aliphatic chain metabolism*: Adipic acid is activated into its CoA derivative by long-chain fatty acid-CoA ligase and subsequently undergoes β -oxidation catalyzed by acyl-CoA dehydrogenase to form acetyl-CoA. Short-chain aldehyde/alcohol byproducts generated during aliphatic chain metabolism are further degraded by aldehyde dehydrogenase and alcohol dehydrogenase. (3) *Aromatic ring degradation and ring-cleavage*: Terephthalic acid undergoes hydroxylation to form catechol, which is then cleaved by dioxygenases, producing intermediates that enter the tricarboxylic acid cycle. 【Conclusion】 This study successfully isolated *Parageobacillus toebii* B3 as a high-performance PBAT degrader through multi-parametric characterization (mass loss, surface topography, and hydrophilicity changes). The findings provide both theoretical foundations and practical microbial resources for controlling biodegradable microplastic pollution.

Key words: Poly(butylene adipate-co-terephthalate); Soil biodegradable mulch film; Change of microplastic surface property; Microbial degradation

传统聚乙烯等地膜在农业上的广泛使用,虽提升了作物产量与资源利用效率,但其难降解特性使其在土壤中长期残留,已对土壤结构、微生物群落及生态功能造成不可逆的负面影响^[1]。为缓解地膜残留污染问题,可生物降解地膜材料逐渐成为替代方案,并被推广应用于农田覆膜实践中^[2]。聚己二酸/对苯二甲酸丁二酯(Poly(butylene adipate-co-terephthalate), PBAT)是目前应用最广泛的化学合成型可生物降解聚酯之一。由于其良好的柔韧性、力学

性能及可加工性, PBAT 被广泛用于可降解农用地膜的生产。据统计, 2018 年我国 PBAT 地膜产量已达 3.38 万 t, 且呈持续增长态势^[3-4]。

然而, PBAT 的降解能力受其分子结构影响较大。作为脂肪族-芳香族共聚物, PBAT 中芳香族结构单元的存在显著降低其生物可降解性, 相较于聚乳酸 (PLA) 等纯脂肪族可降解塑料, 其在自然环境中的降解速率显著减缓^[5]。在工业堆肥等理想条件下, PBAT 可在数月内实现降解, 但在自然土壤中, 其完全降解可能需要数年^[6]。值得关注的是, PBAT 在自然环境中易碎裂形成大量微纳塑料 (尺寸 1 nm~5 mm 的塑料), 部分研究表明, 其在土壤中的微纳塑料产量可达传统聚乙烯地膜的 1~2 个数量级^[7-8]。这些可生物降解的微纳塑料不仅影响土壤理化性质, 还可能干扰植物生长及影响农产品安全, 具有潜在的生态风险。因此, 深入理解 PBAT 在土壤环境中的降解过程具有重要意义。

微生物是推动 PBAT 在土壤中降解的核心驱动因子。PBAT 可在微生物产生的酶类作用下逐步水解为低分子有机物, 最终矿化为 CO₂、H₂O 等无机物。目前已有文献报道多种菌株具备 PBAT 降解能力, 如耐冷芽孢杆菌 (*Peribacillus frigoritolerans*)、聚生玫瑰杆菌 (*Roseibium aggregatum* ZY-1)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、黄杆菌属 (*Chryseobacterium*)、克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)、寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*) 以及哈茨木霉 (*Trichoderma harzianum*) 等^[3,9-11]。然而, 与其他可生物降解塑料相比, 目前已知的 PBAT 降解菌种数量有限, 且大多在实验室条件下的降解效率偏低^[12-13]。例如, 霍向东等^[5]从新疆土壤中筛选出丝孔菌属金蛛孢菌 (*Sphingopyxis ginsengisoli*), 在液体培养 60 d 后 PBAT 颗粒的降解率仅为 0.92%; 刘佳茜等^[3]从垃圾场土壤中获得的铜绿假单胞菌 RD1-3 和 N1-2, 在 28 °C 下培养 8 周, 对 PBAT 的降解率分别为 6.88% 和 6.49%; 张敏等^[13]筛选的杜弗氏梭菌 (*Delftia tsuruhatensis*) 在富含胰蛋白胨的聚乳酸 (PLA) /PBAT 共混培养基中 7 d 内降解率可达 6.87%。上述研究表明, 提升 PBAT 的土壤降解效率亟需筛选具备更强降解能力的功能菌株。

此外, 农业覆膜过程形成的膜下微环境 (如高温、高湿及有机物富集) 与小型堆肥体系具有一定相似性, 特别是在全球气候变暖及极端高温事件频发背景下, 例如, 2024 年极端高温引起部分地区地面温度高达 45 °C 以上, 膜下土壤更易形成局部高温“堆肥”环境^[14-15]。因此, 具有嗜热或嗜温特性的 PBAT 降解菌株在实际土壤环境中具有潜在优势。目前, 嗜热菌已被证实普遍存在于不同纬度带的自然土壤环境中^[16], 且已有研究^[12,17]发现如嗜热放线菌 (*Thermobifida fusca* K13g) 与嗜温短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*) 等菌株在高温条件 (如堆肥环境) 表现出良好的 PBAT 降解能力 (降解速率约 14.3 μg·cm⁻²·day⁻¹)。

基于此, 本研究以土壤混合堆肥环境为筛选平台, 旨在从自然环境中获得具备 PBAT 降解能力的功能菌株, 系统评估其降解特性, 探究其作用机制, 并为可生物降解塑料地膜的环境行为评估与残留污染物的微生物修复提供理论基础与菌种资源支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 可生物降解微塑料薄膜制备 供试可生物降解微塑料材料使用聚己二酸对苯二甲酸丁二酯 (PBAT) 塑料, PBAT 母粒购自新疆蓝岭屯河科技股份有限公司, 运用吹膜挤出机 (XH-430B, 锡华检测仪器有限公司, 深圳东莞) 制备出厚度约 50 μm 的 PBAT 薄膜, 吹膜挤出机一至四段温度依次为 150、160、170、150 °C, 吹胀比 (模口直径: 膜泡直径) 为 1:3, 吹膜拉伸比为 1.2。将其裁剪为 5 mm×5 mm 的尺寸, 用 75% (v/v) 乙醇 (国药集团) 浸泡 0.5 h 后, 用去离子水冲洗 3 次, 放入超声波清洗器中超声 5 min, 清洗完成后放置于超净台中风干 24 h, 储存于无菌盒中备用。

1.1.2 土壤混合堆肥物料成分 土壤混合堆肥物料包括: 锯末 (10 g)、秸秆粉 (6 g)、花

生麸 (6 g)、营养土 (6 g)。

1.1.3 驯化筛选培养基 分离筛选所用的培养基为无碳源矿物盐培养基 (MSM), 其组分为: $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.7 g, KH_2PO_4 0.7 g, NH_4Cl 1.0g, NaCl 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.002 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.002 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.001 g。将上述试剂溶解于 1 L 蒸馏水中, 用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 调节 pH 至 7.0。

驯化培养基: 取上述 MSM 培养基 250 mL, 加入 10 片灭菌的 PBAT 塑料膜 (2 cm×2 cm) 样品。

固体分离纯化培养基: 取上述 MSM 培养基加入 $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 琼脂。

1.2 土壤混合堆肥环境设计

准备 1 000 mL 锥形瓶, 加入上述土壤混合堆肥物料, 并在其中混入 30 片制备的 PBAT 微塑料, 确保堆肥体系碳氮比 (C/N) 在 25, 放在实验室常温环境下堆肥, 在堆肥周期中每周定期取堆肥物料监测并调控含水率 ($200 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、pH (7.5~8.5), 确保堆肥指标符合 GB/T 20197—2006《降解塑料的定义、分类、标志和降解性能要求》^[18]的规定指标。

1.3 菌种筛选与富集方法

1.3.1 塑料际生物膜分离 待堆体温度升至 60 °C (堆肥嗜热期) 时, 取出所有 PBAT 薄膜样品, 放入装有 50 mL、 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 十二烷基硫酸钠 (SDS) 溶液的无菌锥形瓶中, 放置于气浴振荡培养箱中以 60 °C、 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的条件振荡 2 h, 使塑料薄膜与生物膜充分分离, 制备堆肥悬液。

1.3.2 潜在降解菌的富集培养 将堆肥悬液以 2% (v/v) 接种量转接至无碳源矿物盐培养基 (MSM) 中, 加入灭菌的塑料膜样品作为唯一碳源, 60 °C、 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡培养。定期取样, 使用紫外分光光度计测定培养基 600 nm 处的光密度值 (OD_{600}), 当培养体系 OD_{600} 达到 0.8~1.0 后继续转接, 筛选生长迅速的培养菌群, 该过程重复 3 次^[9]。

1.3.3 潜在降解菌的分离培养 富集培养后将培养液梯度稀释, 制备成不同稀释度的菌悬液, 用稀释涂布平板法分离菌株, 将菌液涂布于固体 MSM, 并覆盖无菌的 PBAT 薄膜于培养基上, 挑选生长迅速的菌落进行划线分离, 纯化得到 6 种潜在的 PBAT 降解菌株, 分别命名为 B1、B2、B3、B4、B5 和 B6, 未纯化的混菌命名为 MIX。

1.4 微塑料降解性能分析

1.4.1 培养体系设计 将菌体接种于含有 5 mL MSM 的小型培养皿中, 调整并保持菌液的 OD_{600} 值为 0.8~1.0。每个培养皿中加入 3 片表面灭菌的 1 cm×1 cm 的 PBAT 塑料薄膜 (质量均约 7 mg, 每组稍有差异, 因此, 所有组别中添加的 PBAT 在培养前均精确称重获得具体质量), 并放置于 60 °C 加热板上培养 1 周。同时设置对照组, 将不接种任何菌悬液的含有 PBAT 塑料薄膜的液体 MSM 在相同环境条件下无菌培养, 作为空白对照组 (CK)。

1.4.2 PBAT 塑料降解率计算 一周后, 取出所有培养组的 PBAT 薄膜, 将其放置在 SDS 溶液中, 以 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速振荡清洗 4 h 后, 用无菌水冲洗后低温干燥至恒重。通过精密天平称量 PBAT 薄膜降解前后的质量, 并根据式 (1) 计算 PBAT 薄膜的降解率, 考虑到非生物因素对 PBAT 降解的影响 (如水解过程等), 将各组计算获得的 PBAT 降解率与 CK 组的 PBAT 降解率的差值, 作为菌种对 PBAT 的实际降解率。

$$\text{PBAT 降解率}/\% = \frac{m_{\text{初始质量}} - m_{\text{降解后质量}}}{m_{\text{初始质量}}} \times 100 \quad (1)$$

1.4.3 表面粗糙度观测 将干燥好的降解前后的 PBAT 薄膜使用原子力显微镜 (AFM) 观察 PBAT 表面形貌, 使用 Analysis Studio 软件拟合计算粗糙度 (平均粗糙度, Ra)。AFM 形貌成像是在配备接触模式 NIR2 探针的 Nano-IR 仪器 (Nano-IR2 AFM-IR, Anasys Instruments, Santa Barbara, 美国) 上进行的。将降解前后的 PBAT 塑料粘在直径 2 cm 的圆形铁片上, 放置于磁铁样品架上, 采用 NIR2 探针以接触模式获得 PBAT 塑料表面的超微形貌结构。选

择接触模式下 0.5 Hz 的扫描速率和 5 μm ×5 μm 的扫描范围来收集形貌图像, 成像分辨率为 300×300 像素^[19]。

1.4.4 表面疏水性测定 用水接触角测量仪 (SDC-100, 晟鼎精密仪器有限公司, 深圳东莞) 表征降解前后 PBAT 膜片疏水性变化。将干燥后的样品展平、固定在载玻片表面, 设置水滴体积为 2 μL , 滴入样品表面后拍照, 通过 SCA20 (Version 2) 软件对静态水滴与 PBAT 表面的接触角进行拟合分析。

1.5 菌种鉴定与表征方法

1.5.1 混菌高通量测序 根据土壤 DNA 提取试剂盒 FastDNA™ Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, Santa Ana, 美国) 的操作方法进行微生物群落总 DNA 抽提, 使用 NanoDrop 2000 测定 DNA 浓度和纯度; 使用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增, 通过 PCR 产物回收、纯化和检测定量后建库, 利用 Illumina 公司的 Miseq PE300/NovaSeq PE250 平台进行测序 (上海美吉生物医药科技有限公司)。

1.5.2 纯菌鉴定与表征 将不同纯菌降解性能对比后, 选出最优菌株进行细菌鉴定 (上海美吉生物医药科技有限公司)。将所得的序列与美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库中已有的序列进行基于局部序列比对算法的搜索工具 (BLAST) 分析, 并选取同源性相近的菌株的 16S rRNA 基因序列, 采用 MEGA 6.0 软件用邻接法 (Neighbor Joining) 构建系统发育树。同时将纯菌经过预处理后采用扫描电子显微镜 (SEM) 观察其形貌^[11]。

1.5.3 全基因组测序 为深入了解分离菌株对 PBAT 的降解机制, 采用二代测序平台 Illumina 对 DNA 进行全基因组测序和生物信息学分析 (上海美吉生物医药科技有限公司云平台, <http://cloud.majorbio.com>)。在质量控制、序列组装和编码基因预测后, 通过将鉴定的蛋白质编码基因与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 数据库比对进行功能注释。将测序菌株的基因组序列与本地数据库对比, 基于 31 个看家基因 (*dnaG*、*frt*、*infC*、*nusA*、*pgk*、*pyrG*、*rplA*、*rplB*、*rplC*、*rplD*、*rplE*、*rplF*、*rplK*、*rplL*、*rplM*、*rplN*、*rplP*、*rplS*、*rplT*、*rpmA*、*rpoB*、*rpsB*、*rpsC*、*rpsE*、*rpsI*、*rpsJ*、*rpsK*、*rpsM*、*rpsS*、*smpB*、*tsf*) 选择在种属水平上最接近的 19 株菌, 通过 MEGA 6.0 软件选择 Neighbor-Joining 法构建系统进化树。

1.6 数据统计分析与质控

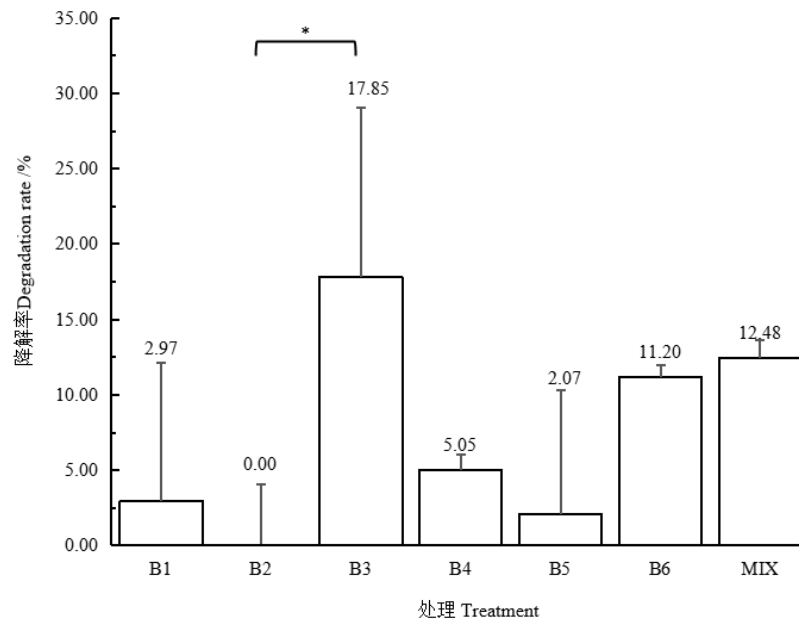
采用 Excel 2020 整理和分析数据, 采用 Origin 2022 绘制和处理降解率、粗糙度和接触角柱形图; 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 对实验数据进行统计学分析, 统计显著性接受为 $P<0.05$ (95%显著性); 设置仅加 PBAT 塑料的组别作为对照组以验证塑料非生物影响的降解作用, 每组样品取三个重复样品, 并测三次平行, 减少实验以及仪器状况所带来的数据误差。混菌 MIX 的 16S 高通量测序使用 fastp 软件对原始测序序列进行质控^[20], 使用 UPARSE 软件, 根据 97% 的相似度对序列进行操作性分类单元 (OTU) 聚类并剔除嵌合体^[21]。

2 结果与讨论

2.1 PBAT 微塑料质量变化

塑料在降解过程中会表现出物理和化学指标的变化, 其中质量损失是最直接的降解指标, 因此, 本研究首先分析了不同菌种处理组中 PBAT 样品质量变化。PBAT 薄膜在不同菌株体系下培养 7 d 后降解率如图 1 所示, 以 PBAT 为唯一碳源时, 菌株 B3 对 PBAT 膜的降解率最高, 7 d 后降解率达 $17.85\%\pm 11.22\%$, 其次为混合菌株 MIX 和菌株 B6, 降解率分别为 $12.48\%\pm 1.11\%$ 和 $11.20\%\pm 0.74\%$ 。其余菌株 (B1、B2、B4 和 B5) 对 PBAT 的降解率均在 5% 及以下。由此可初步得出, 菌株 B3、MIX 和 B6 对 PBAT 塑料具有较高的降解作用。

与现有研究报道相比,本研究获得的菌株(尤其是B3)对PBAT的降解效率较高。例如,张敏等^[13]筛选出的杜氏梭菌(*Delftia tsuruhatensis*)培养(常温)7 d后对PLA/PBAT的降解率仅为6.87%,明显低于本研究中的B3、B6和MIX处理组结果。与Pan等^[11]报道的海洋细菌*Roseibium aggregatum* ZY-1相比(20 d降解率2.29%,40 d 7.81%),本研究中菌株B3在更短时间内表现出更高的降解能力(PBAT为唯一碳源,7 d降解率 $17.85\% \pm 11.22\%$);Wufuer等^[9]分离的菌株在8周培养后降解率为12.45%,与本研究中的混合菌株降解效果相当(12.48%),但仍明显低于菌株B3。刘佳茜等^[3]报道的两种菌株RD1-3和N1-2在28℃下降解8周后降解率仅为 $6.88\% \pm 0.06\%$ 和 $6.49\% \pm 0.01\%$,霍向东等^[5]分离的*Sphingopyxis ginsengisoli* XJSL2在60 d内对PBAT颗粒的降解率仅为0.92%,均显著低于本研究的降解效率。此外,部分研究在培养基中添加了外源营养物质(如胰蛋白胨)以促进微生物生长,例如,张敏等^[13]报道的*Delftia tsuruhatensis* XJ11在添加胰蛋白胨的条件下,7 d内对PLA/PBAT的降解率为6.87%,低于本研究中菌株B3、B6和MIX在不添加任何外源营养条件下的降解效率。贾昊^[22]研究的门多萨假单胞菌与雅致放射毛霉菌共培养体系在5 d内对PLA/PBAT膜的降解率为18.95%,略高于本研究的 $17.85\% \pm 11.22\%$ 。相比之下,本研究的菌株B3、B6和MIX在不添加任何外源碳源和其他协同菌种的条件下,短期内仍可达到较高的降解率,表明其具有较强的PBAT降解特性。这可能与菌株的环境条件或代谢效率有关,本研究是在60℃高温环境下培养,高温可能有利于PBAT分子链解聚或水解,导致分子链疏松,有利于微生物的代谢与利用^[23]。进一步地,与堆肥环境条件相比,*Thermobifida fusca* K13g和*Bacillus pumilus*降解PBAT塑料的效率(约 $14.3 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$)^[12,17]仍低于本研究结果(约 $85.8 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$)。由此可见,本研究筛选出的B3、MIX和B6对PBAT具有良好的降解效果。然而,虽然质量损失是微塑料降解的重要依据,但不能完全反映塑料的降解程度^[24],还需从微塑料表面微形貌、亲疏水性及官能团等多特征变化去印证。



注: B1~MIX, 分别用菌株 B1~MIX 与 PBAT 共培养; *, 与原样品具有显著差异 ($P < 0.05$); **, 与原样品具有极显著差异 ($P < 0.01$), 单因素方差分析 (One-way ANOVA)。下同。Note: B1-MIX, co-cultured with PBAT using strains B1 to MIX, respectively; * indicates significant difference compared to the control sample ($P < 0.05$); ** indicates highly significant difference ($P < 0.01$) by one-way analysis of variance (One-way ANOVA). The same below.

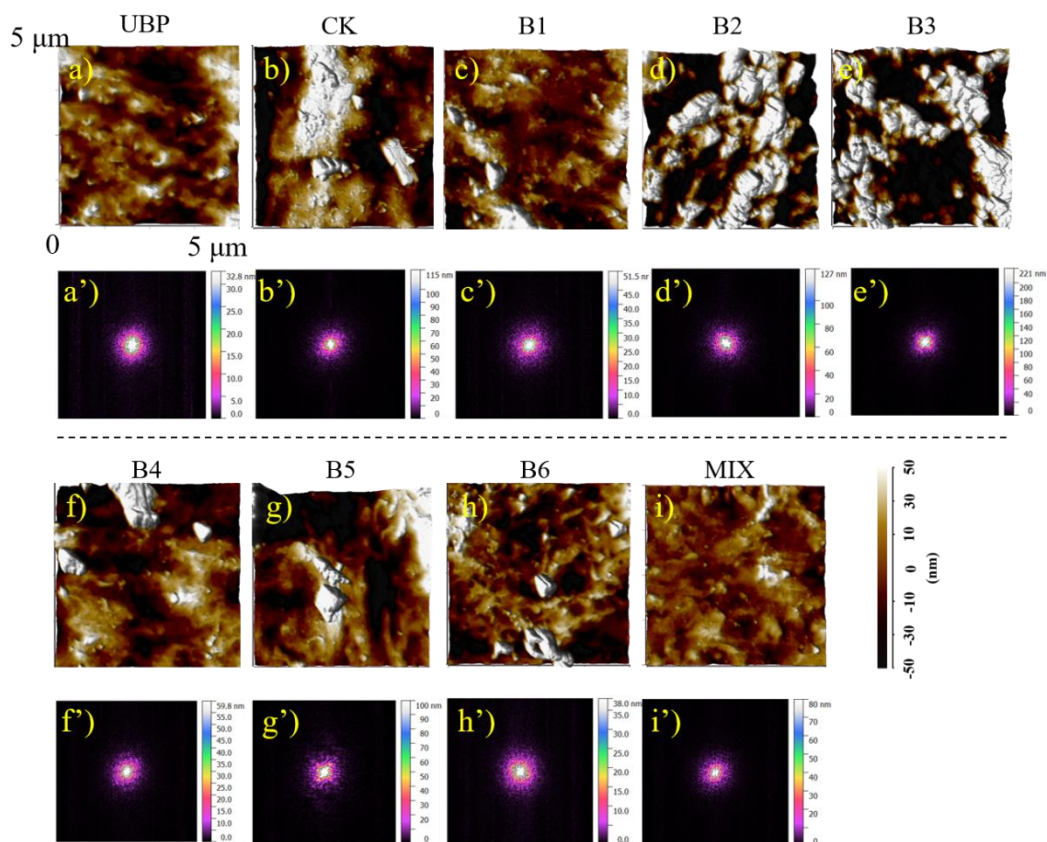
图1 聚己二酸/对苯二甲酸丁二酯 (PBAT) 薄膜在不同菌株体系下培养 7 d 后的降解率

Fig. 1 Degradation rate of poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) film after 7 days of incubation with different bacterial strains

2.2 PBAT 微塑料表面微形貌变化

为了比较不同培养体系下 PBAT 表面形貌差异, 采用 AFM 对样品表面形貌进行成像, 并分析其粗糙度变化。通过功率谱密度 (Power spectral density, PSD) 图 (图 2) 可知, 亮斑强度峰值对应样品整体的高度偏差, 其对称性表明表面形貌各向同性, 暗示蚀刻均匀、无方向性偏好, 说明本研究中样品表面形貌与粗糙度结果可信。根据样品表面形貌可以看出, 不同菌株培养体系中 PBAT 的表面形貌变化差异较大, 如图 2 所示, 未降解的原始薄膜表面总体较平整且光滑, 而降解 7 d 后 B2 和 B3 处理组中 PBAT 薄膜表面形貌变化最大, 出现明显的凹坑、沟壑, 空间差异明显; 进一步地, 根据 AFM 形貌获得其具体的粗糙度值 (R_a), 通过比较发现, 所有暴露组的 PBAT 表面 R_a 均高于原始未老化样品 (图 3), 其中 B3 的粗糙度最高 (44.84 ± 26.48 nm), B2 次之 (38.46 ± 20.10 nm), 二者与原始未老化样品均呈显著性差异 (B3, $P < 0.01$; B2, $P < 0.05$), 而 B1、B6 和 MIX 菌种处理组 PBAT 表面 R_a 与未加菌的 CK 处理组差异不明显 ($P > 0.05$)。以上表明菌株 B2 和 B3 (尤其是 B3) 对 PBAT 膜片表面形态影响较大。

降解菌对微塑料的利用过程会引起微塑料表面凹凸不平、键断裂和孔隙产生^[25], 甚至引起老化表面脱落, 以次生降解产物形式释放, 在该过程中, PBAT 表面可能会裸露出部分未老化表面^[19], 引起塑料表面局部高程差增大, 粗糙度增加; 反之, 老化表面也可以完全剥落, 裸露出平整光滑的表面^[26]。因此, 需要对 PBAT 降解过程作进一步分析, 以验证 B3 对 PBAT 的降解潜力。



注: a) 未降解的原始 PBAT 薄膜 (UBP) 表面形貌图; b) 未添加菌种组 (CK); c) 添加菌种 B1 组; d) 添加菌种 B2 组; e) 添加菌种 B3 组; f) 添加菌种 B4 组; g) 添加菌种 B5 组; h) 添加菌种 B6 组; i) 添加混合菌种 MIX 组; a')~i'),

各处理组样品表面形貌的原子力显微镜成像对应的二维功率谱密度分析结果。下同。Note: a) Surface morphology of pristine PBAT film (UBP); b) PBAT film without bacterial inoculation (CK); c) PBAT film with strain B1 inoculation; d) PBAT film with strain B2 inoculation; e) PBAT film with strain B3 inoculation; f) PBAT film with strain B4 inoculation; g) PBAT film with strain B5 inoculation; h) PBAT film with strain B6 inoculation; i) PBAT film with mixed culture MIX inoculation; a')- i'), The two-dimensional power spectral density analysis results corresponding to atomic force microscopy (AFM) imaging of surface topography for each treatment group sample. The same below.

图 2 PBAT 薄膜在不同菌株体系下培养 7 d 后表面原子力显微镜形貌成像变化

Fig. 2 Changes in atomic force microscopy (AFM) topography of PBAT film surfaces after 7 days of cultivation in different bacterial strain

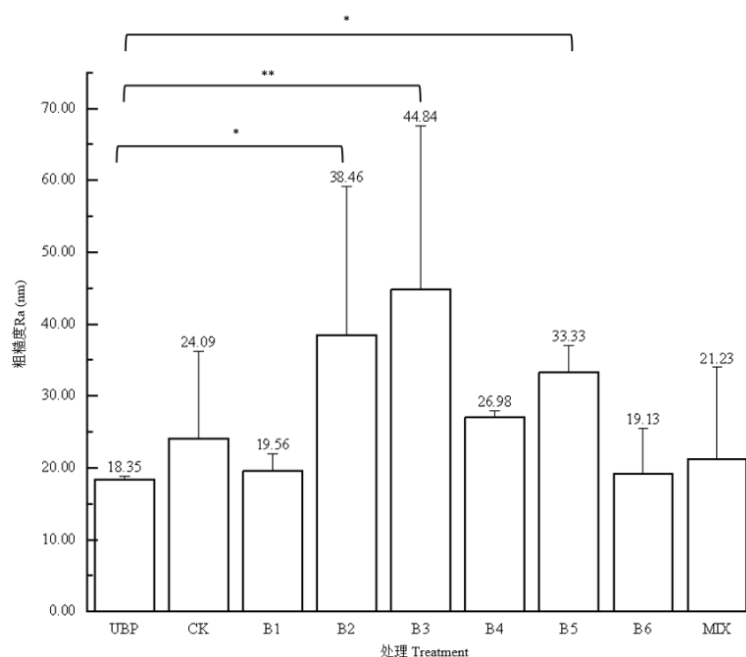


图 3 PBAT 薄膜在不同菌株体系下培养 7 d 后表面粗糙度比较

Fig. 3 Comparison of surface roughness of PBAT film after 7 days of incubation with different bacterial strains

2.3 PBAT 微塑料表面疏水性变化

样品表面疏水性变化是反映塑料降解的重要表征指标^[27], 为进一步验证每组菌株对 PBAT 样品的降解性能, 分析了降解前后 PBAT 表面水接触角变化差异。如图 4 所示, 未降解的原始薄膜样品水接触角为 $78.85^{\circ} \pm 4.65^{\circ}$, CK 组为 $76.39^{\circ} \pm 1.97^{\circ}$, 除了 CK 组外, 6 种菌株和混菌处理组中 PBAT 薄膜表面水接触角显著降低 ($P < 0.05$), 其中 B2 和 B3 菌株处理组中 PBAT 表面水接触角变化程度最大, 分别降至 $60.04^{\circ} \pm 3.40^{\circ}$ 和 $63.21^{\circ} \pm 11.23^{\circ}$ 。由此可见, 该两种菌株能较大程度降低 PBAT 塑料表面疏水性, 即 PBAT 薄膜变得更加亲水, 这可能由于细菌的定殖与代谢利用, 改变了塑料样品表面形貌和官能团分布 (如含氧官能团等极性基团的增加), 提高了亲水性, 同时也更有利于细胞在表面的黏附和生长^[11]。以上结果表明它们对 PBAT 塑料薄膜具有良好的降解效果。

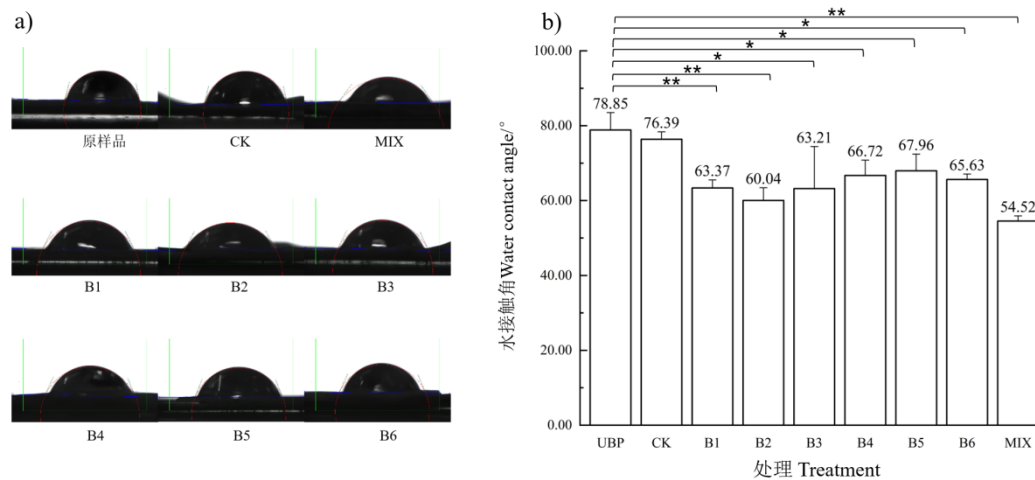
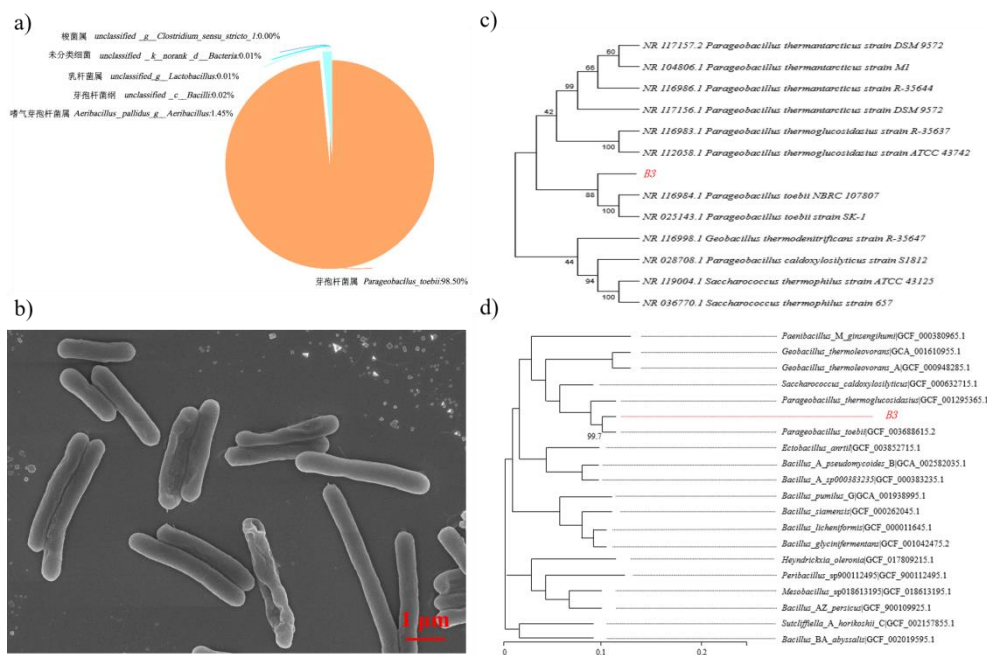


图 4 PBAT 薄膜在不同菌株体系下培养 7 d 后表面接触角变化 (a. 接触角照片; b. 接触角柱状图)
Fig. 4 Changes in contact angle on the surface of PBAT film after 7 days of incubation with different bacterial strains (a. images of contact angle; b. bar chart of contact angle values)

2.4 PBAT 微塑料降解菌鉴定与表征

根据上述各项表征结果可知,纯菌 B3 和混菌 MIX 对 PBAT 薄膜的整体降解效果最好。因此,先对混菌 MIX 进行了 16S 高通量测序分析,结果如图 5a 所示,就种水平上而言,混菌 MIX 中绝对优势菌为堆肥地芽孢杆菌 (*Parageobacillus_toebii*), 占比 98.50%, 此外还包括苍白空气芽孢杆菌 (*Aeribacillus_pallidus_g_Aeribacillus*, 1.45%)、*unclassified_c_Bacilli* (0.02%)、乳杆菌 (*unclassified_g_Lactobacillus*, 0.01%)、*unclassified_k_norank_d_Bacteria* (0.01%) 和梭状芽孢杆菌 (*unclassified_g_Clostridium_sensu_stricto_1*, <0.01%)。

对降解效果最好的纯菌株 B3 进行菌形态观察和 16S rRNA 基因序列分析。结果如图 5 所示, B3 的菌体形态为长杆状、具圆端、成对排列, 长度在 2~3 μm (图 5b)。16S rRNA 测序结果显示, 菌株 B3 与就地堆肥地芽孢杆菌 (*Parageobacillus_toebii*) 的相似性最高 (88%) (图 5c)。全基因组测序结果进一步表明, 该菌株与 *Parageobacillus_toebii*|GCF_003688615.2 在同一分支上且同源性为 99.7% (图 5d), 表明两菌株的亲缘关系较近。综合 SEM 的菌体形态和基因测序结果, 菌株 B3 属于 *Parageobacillus_toebii*, 一种芽孢杆菌属。目前关于芽孢杆菌属细菌降解微塑料的研究已有报道, 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、*Bacillus pumilus*、*Peribacillus frigiditolerans*、沙福芽孢杆菌 (*Bacillus safensis* FO-36b) 和解淀粉芽孢杆菌菌株 (*Bacillus amyloliquefaciens* ML274) 等均具有降解 PBAT 等可生物降解微塑料的能力 [9,17,28-29]。PBAT 包括由己二酸和丁二醇组成的脂肪族链段 (BA) 和由对苯二甲酸构成的芳香族链段 (BT), BA 链段因柔性高、结晶度低, 更易被酶解为小分子 (如己二酸、丁二醇), 而 BT 链段因苯环结构稳定, 需特定酶才能高效水解。芽孢杆菌属降解 PBAT 的机制主要包括酶促水解和微生物代谢两个关键阶段, 芽孢杆菌通常会分泌酯酶和角质酶等水解酶, 例如, *Bacillus subtilis* 可分泌角质酶 CutA, 巨型芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) 分泌酯酶 BmEstB, 并对芳香族酯键有特异性作用, 可有效降解 PBAT 等塑料地膜 [30-31]。 *Parageobacillus_toebii* 是堆肥环境中常见的菌株, 已证实可高效降解纤维素和蛋白 [32-34], 但据笔者所知, 目前其对可生物降解塑料的降解过程尚未得到关注。本研究筛选的菌株 B3 属于嗜热菌, 高温环境一方面可有效提高菌株 B3 对 PBAT 的代谢能力, 另一方面可增加 PBAT 水解程度, 且微生物利用过程中引起的 PBAT 薄膜表面粗糙度增加、亲水性增强, 均有利于微生物在薄膜表面的附着和代谢, 从而进一步加快了菌株的降解作用 [35]。



注: a) 混菌的种水平群落分析饼图; b) B3 菌株的扫描电子显微镜图; c) B3 菌株的 16SrRNA 系统发育树; d) B3 菌株的基于看家基因的样本进化分析。 Note: a) pie chart of species-level community analysis of the mixed culture; b) scanning electron microscope image of strain B3; c) 16S rRNA phylogenetic tree of strain B3; d) phylogenetic tree of house-keeping genes of strain B3.

图 5 混菌的群落特征及 B3 菌株鉴定

Fig. 5 Community characteristics of the mixed bacterial culture and identification of strain B3

2.5 降解菌对 PBAT 微塑料的潜在降解途径

为进一步探究筛选出的降解菌对 PBAT 薄膜的降解过程,根据 KEGG 的代谢通路分析,预测筛选的降解菌对 PBAT 薄膜的可能代谢通路。基于系统发育重建未观测状态的群落系统发育调查 (PICRUSt2) 方法对 KEGG 通路进行的预测显示,参与降解菌降解 PBAT 薄膜的潜在酶主要包括醛脱氢酶、醇脱氢酶、长链脂肪酸-辅酶 A 连接酶、中链酰基-辅酶 A 脱氢酶、儿茶酚 2,3-双加氧酶、3,4-二羟基苯乙酸 2,3-双加氧酶和羧酸酯酶等 (表 1), 其中,长链脂肪酸-辅酶 A 连接酶是脂肪酸代谢中的关键酶,可催化长链脂肪酸 (如棕榈酸、油酸等) 与辅酶 A 结合,生成脂酰-辅酶 A (acyl-CoA) [36]。为进一步解析 B3 菌株降解 PBAT 的分子基础,本研究进行了全基因组测序。根据 KEGG 的基因功能注释,与 PBAT 塑料降解相关的酶编码基因列于表 2,在 B3 菌株中鉴定出两个羧酸酯酶基因 (EC3.1.1.1) [37] 以及一个编码芳基酯酶 (EC 3.1.1.2) 的基因 *tesA*, 该基因源自假产碱假单胞菌 (CECT 5344 菌株) [38]。据推测,能够水解 PBAT 的酶属于细胞外丝氨酸水解酶家族 [39]。该酶类成员如脂肪酶 (EC 3.1.1.3) [12,40]、酯酶 (EC 3.1.1.1) 和角质酶 (EC 3.1.1.74) 已被报道可水解 PET 或 PBAT 等合成聚合物 [38, 41-42]。因此,推测这三类酶可作用于 PBAT 中的酯键,首先将 PBAT 水解为其单体己二酸 (A)、对苯二甲酸 (T)、1,4-丁二醇 (B) 或其寡聚物 (如 TB 和 BTB 等)。通过酯酶的水解作用,寡聚物 (如 TB 和 BTB) 可能被进一步代谢为其单体 T 和 B。

此外,编码长链酰基辅酶 A 合成酶 (EC 6.2.1.3)、醛脱氢酶 (EC1.2.1.20; EC1.2.1.16; EC1.2.1.79)、醇脱氢酶 (EC1.1.1.1) 和儿茶酚 2,3-双加氧酶 (EC1.13.11.2) 等相关基因也被鉴定出 (表 2)。PBAT 薄膜在降解过程中可能会生成中/长链脂肪酸等中间降解产物,降

解菌可通过长链脂肪酸-辅酶 A 合成酶将其进一步转化为脂酰-辅酶 A, 进入 β -氧化或合成代谢。醇脱氢酶能将 PBAT 降解过程中产生的乙醇或短链醇类转化为乙酰-辅酶 A, 进入三羧酸循环, 为降解微生物提供能量^[43]。儿茶酚 2,3-双加氧酶是 PBAT 中对苯二甲酸降解的关键酶之一, 其和 3,4-二羟基苯乙酸 2,3-双加氧酶可裂解芳香环, 参与芳香族化合物的降解^[43-45]。

综合以上结果, 可推测降解菌对 PBAT 微塑料的潜在降解途径如下: (1) 初始水解过程。首先, 在羧酸酯酶作用下, PBAT 酯键切断^[46], 释放对苯二甲酸、己二酸及其中间体等产物。(2) 脂肪族链代谢过程。己二酸被长链脂肪酸-辅酶 A 合成酶激活为辅酶 A 衍生物, 并在酰基-辅酶 A 脱氢酶作用下进一步 β -氧化生成乙酰-辅酶 A; 脂肪族链代谢过程中产生的短链醛/醇副产物还会被醛脱氢酶和乙醇脱氢酶降解。(3) 芳香环降解开环过程。对苯二甲酸经羟基化生成儿茶酚, 被双加氧酶开环, 生成三羧酸循环 (TCA) 的底物进入 TCA 循环。未来应进一步通过实时荧光定量或转录组等手段验证降解菌 B3 的基因表达与代谢过程, 并同步分析 PBAT 降解过程中的中间产物类型, 以明确降解菌对 PBAT 微塑料的实际降解途径。

本研究采用的土壤混合堆肥体系与实际自然土壤在 pH、含水率、土著微生物群落及氧气梯度等关键环境参数上存在显著差异。例如, 土壤堆肥体系主要是嗜热菌富集, 而自然土壤大多为常温, 尽管嗜热菌已被证实普遍存在于不同纬度带的自然土壤环境中, 但在常温土壤环境中其丰度较低, 且需面对营养竞争、空间竞争等复杂的微生物互作网络^[16,47]。此外, 实际土壤的 pH、含水量等非生物因素波动较大, 复杂程度高。因此, 当菌株 B3 投入实际土壤应用时, 可能会因环境压力作用降低其活性及代谢能力, 这可能导致筛选菌株 B3 的 PBAT 降解效率降低, 因此, 未来需进一步通过土壤微宇宙或田间试验验证其生态适应性, 探究其在实际土壤环境应用的潜力。

表 1 筛选的菌株 B3 中与微塑料降解有关的酶 (通过未观测状态重建进行群落系统发育分析工具 PICRUST2 的京都基因和基因组百科全书 KEGG 预测代谢通路)

Table 1 Enzymes related to microplastic degradation in the screened bacterial strain B3 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) predicted metabolic pathways based on Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States2 (PICRUST2))

酶名称 Enzyme name	分类编号 (EC) Number	功能 Function
醛脱氢酶 (NAD ⁺) Aldehyde dehydrogenase (NAD ⁺)	EC:1.2.1.20	参与氧化醛类化合物形成羧酸
长链脂肪酸-辅酶 A 合成酶 Long-chain-fatty-acid-CoA ligase	EC:6.2.1.3	将 PBAT 长链脂肪酸转化为脂酰-辅酶 A
中链酰基-辅酶 A 脱氢酶 Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase	EC:1.3.8.7	催化中链脂肪酸 (C6-C12) 的酰基-CoA 衍生物脱氢
乙醇脱氢酶 Alcohol dehydrogenase	EC:1.1.1.1	将乙醇或短链醇类转化为乙酰-辅酶 A
儿茶酚 2,3-双加氧酶 Catechol 2,3-dioxygenase	EC:1.13.11.2	裂解儿茶酚 (邻苯二酚) 及其衍生物的芳香环
3,4-二羟基苯乙酸 2,3-双加氧酶 3,4-dihydroxyphenylacetate 2,3-dioxygenase	EC:1.13.11.15	裂解芳香环, 参与芳香族化合物的降解
羧酸酯酶 Carboxylesterase	EC:3.1.1.1	水解 PBAT 中的酯键

注: EC, 国际酶学委员会。Note: EC, International Enzyme Commission.

表 2 与 PBAT 降解相关的基因 KEGG 注释结果¹⁾

Table 2 KEGG annotation results of genes related to PBAT degradation					
基因编号 ^①	KEGG 注释名称 ^②	KEGG 的基因编号 ^③	KEGG 直系同源编号 ^④	KEGG 注释功能描述 ^⑤	KEGG 直系同源酶编号 ^⑥
gene2913	tesA	pmar:B0X71_13420	K10804	酰基辅酶 A 硫酯酶 I Acyl-CoA thioesterase I	3.1.1.2;3.1.1.5; 3.1.2.2
gene1020	pbp4b	gtn:GTNG_1288	K21469	丝氨酸型 D-丙氨酰-D-丙氨酰羧肽酶 Serine-type D-Ala-D-Ala carboxypeptidase	3.4.16.4
gene1646	yvaK	gwc:GWCH70_2956	K03928	羧酸酯酶 Carboxylesterase	3.1.1.1
gene2354	yvaK	sste:SAMEA4384403_0674	K03928	羧酸酯酶 Carboxylesterase	3.1.1.1
gene0220	fadD	gwc:GWCH70_2629	K01897	长链酰基辅酶 A 合成酶 Long-chain acyl-CoA synthetase	6.2.1.3
gene2245	fadD	gwc:GWCH70_0656	K01897	长链酰基辅酶 A 合成酶 Long-chain acyl-CoA synthetase	6.2.1.3
gene2418	K00666	gwc:GWCH70_1943	K00666	脂肪酰基辅酶 A 合成酶 Fatty-acyl-CoA synthase	6.2.1.-
gene2651	K00666	gth:Geoth_1781	K00666	脂肪酰基辅酶 A 合成酶 Fatty-acyl-CoA synthase	6.2.1.-
gene2927	dmdB	kak:Kalk_14380	K20034	3-(甲硫基)丙酰辅酶 A 连接酶 3-(methylthio)propionyl---CoA ligase	6.2.1.44
gene3490	dmdB	pat:Patl_1913	K20034	3-(甲硫基)丙酰辅酶 A 连接酶 3-(methylthio)propionyl---CoA ligase	6.2.1.44
gene0219	ysiA	gwc:GWCH70_2628	K13770	TetR/AcrR 家族转录调节因子 (脂肪酸代谢调节蛋白) TetR/AcrR family transcriptional regulator, fatty acid metabolism regulator protein	-
gene0581	gabD	bce:BC2241	K00135	琥珀酸半醛脱氢酶/戊二酸半醛脱氢酶 Succinate-semialdehyde dehydrogenase / Glutarate-semialdehyde dehydrogenase	1.2.1.20;1.2.1.1 6;1.2.1.79
gene0579	adh1	ptb:DER53_12035	K19954	醇脱氢酶 Alcohol dehydrogenase	1.1.1.-
gene2683	adh2	gwc:GWCH70_2858	K19955	醇脱氢酶 Alcohol dehydrogenase	1.1.1.-
gene2684	adh2	gwc:GWCH70_2858	K19955	醇脱氢酶 Alcohol dehydrogenase	1.1.1.-
gene3488	acd	gwc:GWCH70_1226	K00249	酰基辅酶 A 脱氢酶 Acyl-CoA dehydrogenase	1.3.8.7
gene0911	acd	ptb:DER53_09190	K00249	酰基辅酶 A 脱氢酶 Acyl-CoA dehydrogenase	1.3.8.7
gene0750	adhP	pcal:BV455_01918	K13953	醇脱氢酶 (偏好丙醇) Alcohol dehydrogenase, propanol-preferring	1.1.1.1
gene0754	yiaY	caby:Cabys_569	K13954	醇脱氢酶 Alcohol dehydrogenase	1.1.1.1
gene2085	adh2	gwc:GWCH70_0570	K18369	醇脱氢酶 Alcohol dehydrogenase	1.1.1.-
gene1495	yaeR	ptb:DER53_03690	K08234	乙二醛酶 I 家族蛋白 Glyoxylase I family protein	-
gene2330	catE	ptb:DER53_07510	K07104	儿茶酚 2,3-双加氧酶 Catechol 2,3-dioxygenase	1.13.11.2

注: 1) E-值: $\leq 1 \times 10^{-5}$. Note: 1) E-value: $\leq 1 \times 10^{-5}$. ①Gene_id, ②KEGG name, ③KEGG_geneID, ④Ko_id, ⑤Ko_description, ⑥Ko_EC.

3 结 论

通过 PBAT 薄膜在微生物降解过程中的质量损失、形貌粗糙度和疏水性变化等多指标表征,成功筛选出对 PBAT 地膜微塑料具有良好降解效果的菌株。菌株 *Paragebobbacillus toebii* B3 和混合菌群 MIX (以 *Paragebobbacillus toebii* B3 为优势菌) 对 PBAT 薄膜表现出显著的降解能力,菌株 B3 对 PBAT 降解率最高,培养 7 d 后平均降解率可达 17.85%±11.22%,且伴随明显的 PBAT 表面形貌破坏和疏水性下降等特征。通过全基因组测序和 KEGG 基因功能注释, B3 存在编码 PBAT 降解相关的羧酸酯酶、芳基酯酶、长链酰基辅酶 A 合成酶、醛脱氢酶、醇脱氢酶和儿茶酚 2,3-双加氧酶等基因。可见,菌株 B3 在以 PBAT 为主要原料的生物降解薄膜的消减过程中具有潜在应用价值。

参考文献 (References)

- [1] Rose P K, Yadav S, Kataria N, et al. Microplastics and nanoplastics in the terrestrial food chain: Uptake, translocation, trophic transfer, ecotoxicology, and human health risk[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2023, 167: 117249.
- [2] Fan P, Yu H, Xi B D, et al. A review on the occurrence and influence of biodegradable microplastics in soil ecosystems: Are biodegradable plastics substitute or threat?[J]. Environment International, 2022, 163: 107244.
- [3] Liu J Q, Hou L J, Liu T T, et al. Isolation of PBAT plastic-degrading bacteria and their degradation characteristics[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40(1):129-136. [刘佳茜, 侯丽君, 刘婷婷, 等. PBAT 地膜降解菌的筛选及其降解特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(1): 129-136.]
- [4] Coralli I, Rombolà A G, Fabbri D. Analytical pyrolysis of the bioplastic PBAT poly(butylene adipate-co-terephthalate)[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2024, 181: 106577.
- [5] Huo X D, Gao Y, Lin Q, et al. Isolation and identification of poly (butylene adipate-co-terephthalate)-degrading bacteria[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2017, 54(11): 2086-2091. [霍向东, 高雁, 林青, 等. 聚对苯二甲酸-己二酸丁二酯 (PBAT) 降解菌的分离鉴定和降解能力测定[J]. 新疆农业科学, 2017, 54(11): 2086-2091.]
- [6] Griffin-LaHue D, Ghimire S, Yu Y X, et al. In-field degradation of soil-biodegradable plastic mulch films in a Mediterranean climate[J]. Science of the Total Environment, 2022, 806: 150238.
- [7] Tong H Y, Zhong X C, Duan Z H, et al. Micro- and nanoplastics released from biodegradable and conventional plastics during degradation: Formation, aging factors, and toxicity[J]. Science of the Total Environment, 2022, 833: 155275.
- [8] Wang K, Flury M, Sun S Y, et al. In-field degradation of polybutylene adipate-co-terephthalate (PBAT) films, microplastic formation, and impacts on soil health[J]. Environmental Research, 2025, 272: 121086.
- [9] Wufuer R, Li W F, Wang S Z, et al. Isolation and degradation characteristics of PBAT film degrading bacteria[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, 19(24): 17087.
- [10] Zhen Z, Yang C H, Lin Z, et al. A salt-tolerant PBAT-degrading bacterium and its application: CN202410493063.9[P]. 2024-05-28.[甄珍, 阳长洪, 蔺中, 等. 一株耐盐的 PBAT 降解菌及其应用: CN202410493063.9[P]. 2024-05-28.]
- [11] Pan H X, Yu T Y, Zheng Y, et al. Isolation, characteristics, and poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) degradation mechanism of a marine bacteria *Roseibium aggregatum* ZY-1[J]. Marine Pollution Bulletin, 2024, 201: 116261.
- [12] Muroi F, Tachibana Y, Soulethone P, et al. Characterization of a poly(butylene adipate-co-terephthalate) hydrolase from the aerobic mesophilic bacterium *Bacillus Pumilus*[J]. Polymer Degradation and Stability, 2017, 137: 11-22.
- [13] Zhang M, Jia H, Weng Y X, et al. Effects of polylactide/polybutylene adipate-co-terephthalate on bacterial community structure of soil and isolation of degrading bacteria[J]. Microbiology, 2020, 47(2): 420-430. [张敏, 贾昊, 翁云宣, 等. 聚乳酸/聚己二酸-对苯二甲酸丁二酯对土壤细菌群落结构的影响及其降解菌的筛选[J]. 微生物学通报, 2020, 47(2): 420-430.]

- [14] Zhao Y, Xu Z Q, Mao X M, et al. Influence of film color, mulching ratio and soil-mulch contact degree on heat transfer in Northwest China[J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2024, 357: 110208.
- [15] Jha R, Perkins-Kirkpatrick S E, Singh D, et al. Extreme terrestrial heat in 2024[J]. Nature Reviews Earth & Environment, 2025, 6(4): 234-236.
- [16] DePoy A N, King G M. Distribution and diversity of anaerobic thermophiles and putative anaerobic nickel-dependent carbon monoxide-oxidizing thermophiles in mesothermal soils and sediments[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 13: 1096186.
- [17] Kleeberg I, Hetz C, Kroppenstedt R M, et al. Biodegradation of aliphatic-aromatic copolyesters by *Thermomonospora fusca* and other thermophilic compost isolates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(5): 1731-1735.
- [18] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Define, classify, marking and degradability requirement of degradable plastic: GB/T 20197—2006[S]. 2006-03-08. [中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局、中国国家标准化管理委员会. 降解塑料的定义、分类、标志和降解性能要求: GB/T 20197—2006[S]. 2006-03-08.]
- [19] Zhou Q, Zhang J, Meng Z, et al. Nanoscale degradation characteristics of biodegradable bag-derived microplastics in soil[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2023, 39(5): 675-684. [周倩, 张峻, 孟竺, 等. 可生物降解塑料袋膜在土壤中降解的纳米尺度特征[J]. 生态与农村环境学报, 2023, 39(5): 675-684.]
- [20] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, et al. Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): i884-i890.
- [21] Edgar R C. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [22] Jia H. Isolation, screening of polylactic acid/poly(adipic acid-co-terephthalic acid-butylene glycol) degrading bacteria and study on their degradation mechanisms[D]. Xia'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2020. [贾昊. 聚乳酸/聚己二酸-对苯二甲酸丁二酯降解菌的分离筛选及其降解机制研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2020.]
- [23] Qiu Y Z, Wang P, Zhang L X, et al. Enhancing biodegradation efficiency of PLA/PBAT-ST20 bioplastic using thermophilic bacteria co-culture system: New insight from structural characterization, enzyme activity, and metabolic pathways[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 477: 135426.
- [24] Wang H, Wei D F, Zheng A N, et al. Soil burial biodegradation of antimicrobial biodegradable PBAT films[J]. Polymer Degradation and Stability, 2015, 116: 14-22.
- [25] Weng Y X, Jin Y J, Meng Q Y, et al. Biodegradation behavior of poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), poly(lactic acid) (PLA), and their blend under soil conditions[J]. Polymer Testing, 2013, 32(5): 918-926.
- [26] Wang X W, Wang G X, Huang D, et al. Degradability comparison of poly(butylene adipate terephthalate) and its composites filled with starch and calcium carbonate in different aquatic environments[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2019, 136(2): 46916.
- [27] Al Harraq A, Bharti B. Microplastics through the lens of colloid science[J]. ACS Environmental Au, 2022, 2(1): 3-10.
- [28] Cho J Y, Park S L, Kim S H, et al. Novel Poly(butylene adipate-co-terephthalate)-degrading *Bacillus* sp. JY35 from wastewater sludge and its broad degradation of various bioplastics[J]. Waste Management, 2022, 144: 1-10.
- [29] Li S X, Xu S Q, Zhang L P, et al. Demonstrating the key role of *Bacillus* in poly lactic acid film degradation through statistical analysis and strain screening[J]. Environmental Pollution, 2024, 363: 125229.
- [30] Liu J J, Zhao P Y, Yang L S, et al. *Bacillus subtilis* volatile organic compounds inhibit the cutinase gene expression of *Colletotrichum gloeosporioides* resulting in the control of postharvest fruit anthracnose[J]. Postharvest Biology and Technology, 2025, 224: 113482.
- [31] Kanwal A, Min Z, Sharaf F, et al. Screening and characterization of novel lipase producing *Bacillus* species from agricultural soil with high hydrolytic activity against PBAT poly (butylene adipate co terephthalate) co-polyesters[J]. Polymer Bulletin, 2022, 79(11): 10053-10076.
- [32] Zou L K, Fu J X, Zhao K, et al. A strain of *Parageobacillus toebii* PMBT002 and its application: CN202310466754.5[P].

- 2023-11-28. [邹立扣, 付静霞, 赵珂, 等. 一株 *Parageobacillus toebii* PMBT002 及其应用: CN202310466754.5[P]. 2023-11-28.]
- [33] Zhang S Q, Fu T, Tang J H, et al. The activation of *Parageobacillus toebii* in hyperthermophilic composting was depended on the bioavailability of raw materials[J]. Journal of Environmental Management, 2025, 373: 123611.
- [34] Hasan S F, Abo Elsoud M M, Sidkey N M, et al. Production and characterization of polyhydroxybutyrate bioplastic precursor from *Parageobacillus toebii* using low-cost substrates and its potential antiviral activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 262: 129915.
- [35] Restrepo-Flórez J M, Bassi A, Thompson M R. Microbial degradation and deterioration of polyethylene—A review[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 88: 83-90.
- [36] Tian Y Y, Fu N, Wu Q. Long-chain acyl-coA synthetases: Functions and regulatory factors[J]. Journal of Medical Research, 2018, 47(10): 13-15. [田亚英, 傅念, 吴清. 长链脂酰辅酶 A 合成酶及其调控因素的研究及进展[J]. 医学研究杂志, 2018, 47(10): 13-15.]
- [37] Meyer-Cifuentes I E, Werner J, Jehmlich N, et al. Synergistic biodegradation of aromatic-aliphatic copolyester plastic by a marine microbial consortium[J]. Nature Communications, 2020, 11: 5790.
- [38] Wallace P W, Haernvall K, Ribitsch D, et al. PpEst is a novel PBAT degrading polyesterase identified by proteomic screening of *Pseudomonas pseudoalcaligenes*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(6): 2291-2303.
- [39] Müller C A, Perz V, Provasnek C, et al. Discovery of polyesterases from moss-associated microorganisms[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(4): e02641-16.
- [40] Biundo A, Hromic A, Pavkov-Keller T, et al. Characterization of a poly(butylene adipate-co-terephthalate)-hydrolyzing lipase from *Pelosinus fermentans*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(4): 1753-1764.
- [41] Perz V, Baumschlager A, Bleymaier K, et al. Hydrolysis of synthetic polyesters by *Clostridium botulinum* esterases[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2016, 113(5): 1024-1034.
- [42] Perz V, Hromic A, Baumschlager A, et al. An esterase from anaerobic *Clostridium hathewayi* can hydrolyze aliphatic-aromatic polyesters[J]. Environmental Science & Technology, 2016, 50(6): 2899-2907.
- [43] Keller M W, Lipscomb G L, Nguyen D M, et al. Ethanol production by the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* by expression of bacterial bifunctional alcohol dehydrogenases[J]. Microbial Biotechnology, 2017, 10(6): 1535-1545.
- [44] Wang Y X, Dong B X, Liu Y J, et al. Molecular cloning, characterization, and structural stability analysis of a rare acidic catechol 2, 3-dioxygenase from the metagenome of coal-polluted soil[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 311: 143652.
- [45] Guo W B, Zhou W G, Zhou H B, et al. Characterization of enzymatic properties of two novel enzymes, 3, 4-dihydroxyphenylacetate dioxygenase and 4-hydroxyphenylacetate 3-hydroxylase, from *Sulfobacillus acidophilus* TPY[J]. BMC Microbiology, 2019, 19: 40.
- [46] Bian J, Cao Y N, Han Y P, et al. Screening, identification, and performance of microplastic degrading functional bacteria in saline-alkali soil environment[J/OL]. Environmental Science, 2025, DOI: 10.13227/j.hjlx.202411208. [边静, 曹英楠, 韩云平, 等. 盐碱土壤环境中微塑料降解功能菌的筛选、鉴定及性能[J/OL]. 环境科学, 2025, DOI: 10.13227/j.hjlx.202411208.]

(责任编辑: 陈荣府)