



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目：一株 PHB 降解菌株的分离及其 PHB 降解特性研究
作者：王玉蝶，高美荣，马颖超，隋丽英
DOI：10.13364/j.issn.1672-6510.20240039
收稿日期：2024-03-07
网络首发日期：2024-07-12
引用格式：王玉蝶，高美荣，马颖超，隋丽英. 一株 PHB 降解菌株的分离及其 PHB 降解特性研究[J/OL]. 天津科技大学学报.
<https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20240039>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20240039

一株 PHB 降解菌株的分离及其 PHB 降解特性研究

王玉蝶, 高美荣, 马颖超, 隋丽英

(天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457)

摘要: 从海水鱼循环水养殖系统中分离筛选出一株降解 PHB 的菌株 W7, 结合其形态学、生理生化特性、16S rDNA 序列比对和系统发育分析进行物种鉴定, 确定菌株 W7 为深海弯曲菌。将菌株 W7 接种于以 PHB 为唯一碳源的液体培养基中, 探讨培养基不同初始 pH、盐度和温度对其降解 PHB 能力的影响。结果表明: 菌株 W7 为革兰氏阴性菌, 无鞭毛, 无色透明, 呈弯曲状, 少量呈短棒状, 能利用 β -羟基-D, L 丁酸和 L-乳酸等碳源, 在盐度 10~50、pH 5~8、28 °C 条件下均能生长。菌株 W7 与食碱深海弯曲菌 *Thalassolituus alkanivorans* TMPB967 同源性为 98.75%, 为深海弯曲菌属 *Thalassolituus* 首次报道具有 PHB 降解能力的菌株。1 d 后培养液均降至 pH 5.5 左右; 除盐度 50 组外, PHB 解聚酶相对酶活力均在 3 d 达到峰值; 在 28°C、pH 7.2 和盐度 30 条件下培养 5 d, PHB 降解率最高达到 79.70% \pm 0.52%。本研究获得了一株高效降解 PHB 的 *Thalassolituus* W7 并研究了菌株的 PHB 降解特性, 为该菌株应用于海水环境中 PHB 的生物降解提供依据。

关键词: 聚-3-羟基丁酸酯 (PHB); 生物降解; 深海弯曲菌属; PHB 降解率; PHB 相对解聚酶活力

中图分类号: Q939.97 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510 (0000)00-0000-00

Isolation of a PHB Degrading Bacterium Strain and Characterization of PHB Degradation Conditions

WANG Yudie, GAO Meirong, MA Yingchao, SUI Liying

(College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: In our present study, a PHB-degrading bacteria strain W7 was screened from a marine fish recirculating aquaculture system. The taxonomy identification was then performed by combining its morphology, physiological and biochemical characteristics, as well as 16S rDNA sequence alignment and phylogenetic tree analysis, and strain W7 was identified as *Thalassolituus*. The effects of initial pH and salinity of culture medium and incubation temperature on PHB degradation rate were finally investigated by inoculating strain W7 into liquid medium containing PHB as a sole carbon source. The results showed that strain W7 was identified as Gram-negative bacteria, with colorless and transparent colony and curved or rods-shaped cell without flagella. Strain W7 could utilize carbon sources such as β -hydroxy-D, L-butyric acid and L-lactic acid, and grow in salinity range of 10-50, and pH 5-8. Strain W7 belonged to genus *Thalassolituus* which exhibited 98.75% similarity with *T. alkanivorans* TMPB967. This is the first documented *Thalassolituus* strain within this genus that exhibits the capacity of PHB degradation. The pH of medium decreased to approximately 5.5 after one day incubation, while the relative PHB depolymerase activity reached its peak at day 3 except for that at salinity 50 which peaked at day 4. The highest PHB degradation rate was achieved after 5-day incubation at 28°C, pH 7.2 and salinity 30, reaching 79.70% \pm 0.52%. In summary, our study identified strain W7 belonging to *Thalassolituus* with high PHB degradation capacity, which supports the applications of this strain in PHB biodegradation in marine environments.

Key words: poly-3-hydroxybutyrate (PHB); biodegradation; *Thalassolituus*; PHB degradation rate; relative PHB depolymerase activity

收稿日期: 2024-03-07; 修回日期: 2024-05-08

作者简介: 王玉蝶 (1996—), 女, 河南许昌人, 硕士研究生; 通信作者: 隋丽英, 教授, suily@tust.edu.cn

一次性塑料产品的使用导致大量塑料垃圾的产生, 据统计每年约有 800 万吨塑料垃圾进入海洋, 给海洋环境特别是海洋生物的生存造成威胁^[1]。可生物降解塑料可通过微生物、物理和化学作用降解, 其物理特性与石油衍生塑料相似, 可替代石油衍生塑料, 从而减少塑料污染。聚-3-羟基丁酸酯 (PHB) 是一类生物可降解的聚羟基链烷酸酯 (PHA), 是原核生物在限制性条件下 (如过量碳和低磷、氮、氧等) 以聚合物的形式储存于胞内的碳源和能源物质^[2,3]。PHB 是 3-羟基丁酸 (3-HB) 聚合物, 胞内 PHB 由一层蛋白质和磷脂层包被, 处于无定形态; 而经有机溶剂提取的 PHB 则以晶体聚合物的状态存在^[4]。PHB 的生物降解包括生物腐蚀、生物破碎和同化过程^[5], 在解聚过程中微生物产生胞外酶破坏 PHB 聚合体中间的酯键, 将 PHB 降解成为可溶于水的小分子片段, 产物通常仅是 3-HB 单体, 或单体和二聚体, 或低聚物的混合物^[6]。也有研究表明, PHB 的降解产物为 3-HB、乙酰乙酸和少量乙酸, 而在同化过程中这些产物又可通过生物膜进入细胞, 进而参与代谢循环; 这些产物在有氧条件下也可能被进一步氧化为 CO₂ 和水^[7]。

目前已从淡水环境中分离得到多种 PHB 降解菌, 其中包括曲霉 (*Aspergillus*)、青霉 (*Penicillium*)、毛霉 (*Mucor*)^[8] 和拟青霉菌 (*Paecilomyces*)^[9] 属的真菌, 贪铜菌 (*Cupriavidus*)、丛毛单胞菌 (*Comamonas*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*)^[10]、嗜麦芽窄食单胞菌 (*Stenotrophomonas*)^[11] 和芽孢杆菌 (*Bacillus*)^[12] 属的细菌。从海洋环境中分离得到的 PHB 降解菌属于产微球茎属 (*Microbulbifer*)^[13]、芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 和食烷菌属 (*Alcanivorax*)^[14] 等, 针对海洋环境中的 PHB 降解菌株的分离和研究较少。

近年来, PHB 被广泛应用于生物医学材料和食品包装领域。虽然海洋环境中的 PHB 可以通过微生物进行降解, 但较低的降解速率限制了其大量应用, 因此需要在海洋环境中获得更多高效的 PHB 降解细菌菌株, 并深入了解其降解特性。深海弯曲菌属 (*Thalassolituus*) 是 2004 年首次在海洋环境中发现的烷烃降解菌, 可以利用脂肪烃及其氧化衍生物和乙酸酯为底物生长, 是石油烃污染海水中的优势菌属。该菌属多在十四烷、十六烷或混合石油烃为唯一碳源的培养基分离获得^[15,16], 但尚未发现深海弯曲菌属降解 PHB 的报道。

本文从海水鱼循环水养殖系统中分离得到一株

降解 PHB 的深海弯曲菌 W7, 并对其降解 PHB 的特性进行了初步研究, 旨在为其在海水环境中 PHB 生物降解的应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 PHB 降解菌分离与纯化

本研究获得的菌株分离纯化于天津海发珍品实业公司海水鱼循环水养殖系统。在 200 mL 水样中添加 0.03 g PHB (英国, GoodFellow; 平均粒径 (6.15±2.21) μm), 28 °C 充气富集培养 7 d。取 10 mL 富集培养水样于 200 mL 以 PHB 为唯一碳源的液体培养基中培养 5~6 d (28 °C, 200 r/min), 进行 PHB 降解菌的分离与纯化。PHB 培养基含有人工海盐 10.0 g/L, NH₄Cl 0.2 g/L 和 PHB 1.0 g/L, 添加 NaCl 调至盐度 30, 其固体培养基需添加琼脂 15.0 g/L。培养液稀释后涂布接种于 PHB 固体培养基中继续培养 4~6 d。利用点植法将 W7 菌株接种于 PHB 固体培养基中培养 5 d, 测量降解圈直径与菌落直径。在 PHB 平板上挑取产生明显透明圈的菌落, 菌株命名为 W7。

1.2 菌株形态及分子生物学鉴定

将菌株 W7 接种于 PHB 液体培养基中培养, 取 10 μL 对数生长期的菌液于载玻片上, 滴加 2.5% 戊二醛固定过夜。用 0.5 mol/L 乙酸铵洗掉外部盐分, 并用 1×PBS 冲洗, 最后用浓度梯度递增的乙醇脱水。在扫描电子显微镜 (美国, FEI Apreo) 下观察菌株细胞形态。

收集对数生长期的菌株 W7, 用细菌 DNA 提取试剂盒 (天根生化科技(北京)有限公司) 提取菌株的全基因组 DNA, 利用细菌通用上游引物 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和下游引物 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' 进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 56 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 2 min, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物送北京六合华大基因科技有限公司测序, 将序列在 NCBI 数据库中进行比对, 采用 DNAMAN 和 Mega X 软件 Clustal W 算法进行基因序列比对, 使用最大似然法构建系统发育树, 自展重复抽样次数为 1000 次。

1.3 菌株生理生化特性分析

将菌株 W7 在 PHB 固体培养基中 28 °C 培养 3 d, 制备细菌悬浮液。分别使用 GEN III OmniLog II

Combo Plus 自动微生物鉴定系统(美国, Biolog)和 API 20E 试剂条(法国, 梅里埃)进行菌株生理生化特性分析。

1.4 菌株降解 PHB 的特性分析

1.4.1 菌株培养

将菌株 W7 接种至 PHB 液体培养基中活化培养 2 d, 按 3% (V/V) 接种量接种于 120 mL 培养基中, 于设定的初始 pH (分别为 pH 6、pH 7.2 和 pH 8, 盐度 30 和温度 28 °C)、温度 (分别为 20 °C、28 °C 和 37 °C, 盐度 30 和 pH 7.2) 和盐度 (分别为盐度 10、30 和 50, 温度 28 °C 和 pH 7.2) 条件下培养, 相同条件下未接种菌株的培养基为空白对照。

1.4.2 PHB 解聚酶活力的测定

每天取 8 mL 培养液于 4 °C, 12000 r/min 离心 20 min, 收集上清液。将 0.1 g PHB 颗粒溶于 10 mL 氯仿并与 0.5 g/L 十二烷基硫酸钠混合, 用蒸馏水定容至 100 mL, 超声处理 30 min, 75 °C 下加热搅拌 90 min 除去氯仿, 得到 PHB 乳化液。取 3 mL PHB 乳化液, 置于恒温水浴锅中 20 min, 加入 3 mL 上清液, 40 min 后使用紫外分光光度计(中国, 美普达 UV-3100)测定 OD₆₅₀。PHB 相对解聚酶活力单位定义为: 每分钟引起 OD₆₅₀ 降低 0.1 单位所需的酶量^[11]。

1.4.3 PHB 颗粒降解率的测定

准确称取 10 mg PHB 颗粒标品(英国, GoodFellow, 纯度 98%), 加入 2 mL 浓硫酸, 沸水浴 1 h, 迅速冷却至室温。用 5 mM 稀硫酸将酸化后的 PHB 标品分别稀释至 0.025、0.05、0.1、0.2 和 0.4 mg/mL, 利用 HPLC(美国, 安捷伦 1260 Infinity)和 Aminex HPX-87H 离子排阻有机酸柱

(300 mm×7.8 mm)(美国, Bio-Red)进行 PHB 标准曲线的测定。HPLC 条件: 洗脱剂为 5 mmol/L 稀硫酸, 流速 0.7 mL/min, 上样量 20 μL, 柱温 65 °C, 在 210 nm 处检测^[17]。每天取 8 mL 培养液于 4 °C, 12000 r/min 离心 20 min, 收集沉淀并烘干, 酸化和稀释操作同上。通过 PHB 标准曲线, 计算沉淀物中 PHB 含量, 利用差减法计算 PHB 降解率^[18]。

1.5 数据统计

采用单因素方差分析和 Tukey's 多重比较对实验结果的统计学显著性进行检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义(SPSS 26 软件)。

2 结果与分析

2.1 菌落和菌株形态

菌株 W7 在 PHB 固体培养基培养 2 d 后, 菌落呈圆形, 无色, 透明, 湿润, 中央隆起, 边缘整齐, 直径 2~3 mm, 为革兰氏阴性菌(图 1a, 图 1b)。培养 5 d 后降解圈直径与菌落直径分别为 (1.28±0.08) cm 和 (0.72±0.08) cm, 比值为 1.98±0.16(图 1a)。扫描电子显微镜观察对数生长期细菌呈弯曲的弧形, 少量呈短棒状(图 1c, 图 1d), 细胞大小为 0.42~0.74 μm×1.5~6.0 μm (n=30), 无鞭毛, 且在半固体培养基中细菌只沿穿刺线呈明显生长。

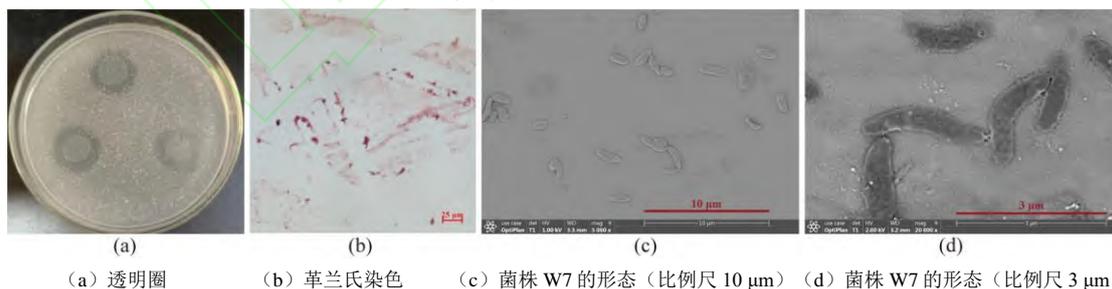


图 1 菌株 W7 在 PHB 为唯一碳源的琼脂平板上培养 5 d 天后呈现的透明圈、革兰氏染色结果和扫描电子显微镜下菌株 W7 的形态

Fig. 1 Transparent circle on PHB agar plate after 5 d culture, gram staining result and cell morphology of strain W7 observed under scanning electron microscope

2.2 菌株 16S rDNA 序列比对分析

将菌株 W7 的 16S rDNA 序列与 NCBI 数据进行 Blast 比对, 构建系统进化树, 菌株 W7 和 *T. alkanivorans* TMPB967 聚为一支(图 2)。利用

DNAMAN 进行序列比对, 菌株 W7 与食碱深海弯曲菌 *T. alkanivorans* TMPB967 (OK489464) 同源性为 98.75%。结合其形态学和 16S rDNA 序列比对以及系统发育分析, 确定菌株 W7 为深海弯曲

菌属细菌。

2.3 菌株 W7 生理生化特性分析

Biolog 表明, 菌株 W7 对 β -羟基-D, L 丁酸、L-乳酸、丙酮酸甲酯、吐温 40、丙酸和乙酸呈现较强的代谢能力, 对葡萄糖酰胺和乙酰乙酸可能存在一定的代谢。化学敏感性测试表明, 菌株 W7 可在 pH 6.5~8、1%~5%NaCl 条件下生长, 乳酸钠、利福霉素 SV、氨曲南和丁酸钠抗性结果为阳性。API 20E 试剂条测试结果显示, 菌株 W7 尿素酶、明胶酶和氧化酶等反应均呈阴性。

2.4 PHB 降解特性分析

菌株 W7 于不同盐度、初始 pH 和温度条件下培养, 所有培养基 pH 均在 12 h 内快速降低, 1 d 左右达到最低, 此后培养基 pH 趋于稳定 (pH 5.5~6.0)。各组间几乎不存在显著性差异

($P>0.05$) (图 3)。

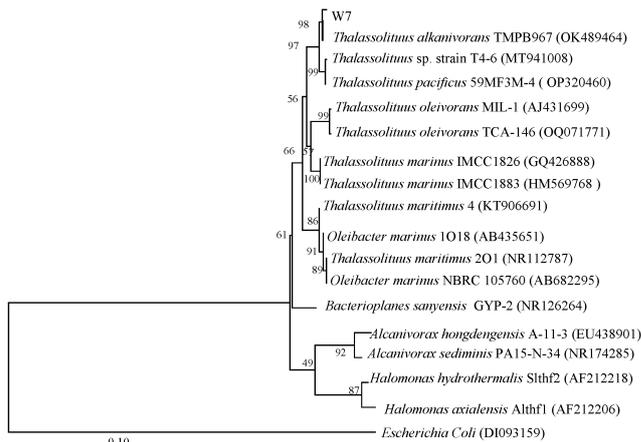


图 2 基于菌株 W7 16S rDNA 序列构建的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree constructed based on the 16S rDNA sequence of strain W7

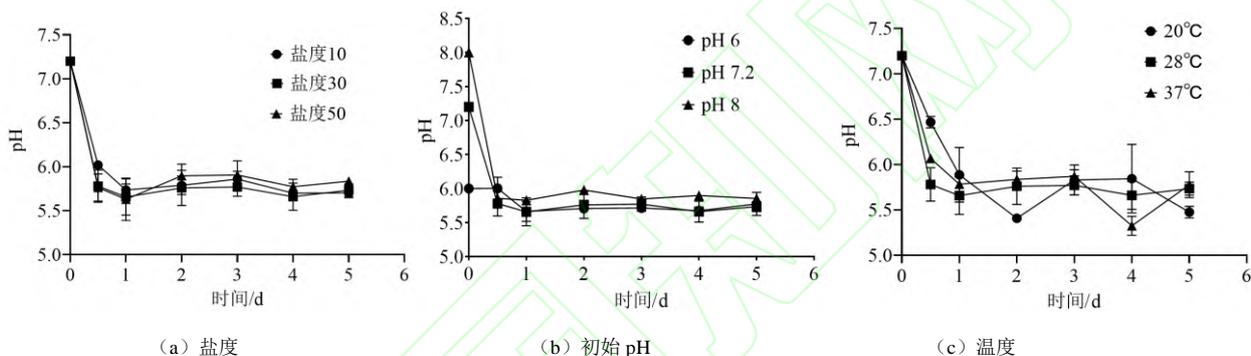


图 3 不同盐度、初始 pH 和温度培养条件下培养基 pH 变化

Fig. 3 pH changes in culture medium under different salinity, initial pH and incubation temperature

在盐度 30 和盐度 10 的培养基中培养菌株 W7 (温度 28 °C, 初始 pH 7.2), 解聚酶相对酶活力 3 d 时达到峰值, 盐度 30 时解聚酶相对酶活力峰值最大, 显著高于其他盐度 ($P<0.05$); 盐度 50 时 4 d 达到峰值。随着培养时间的延长, 菌株酶活力呈现

下降趋势。PHB 降解率在 0.5 d 时达到 20%左右, 在随后 5 d 时间内降解率逐渐增加。5 d 盐度 30 条件下 PHB 降解率最高, 为 (79.70±0.52)%, 显著高于盐度 50 组 ($P<0.05$)。

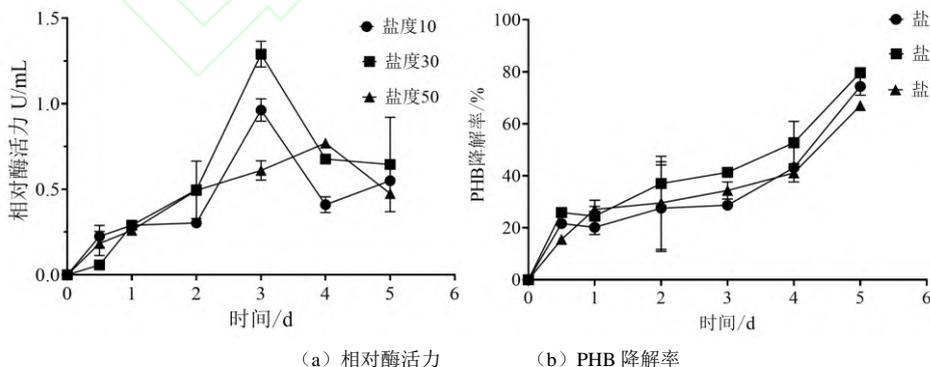


图 4 不同盐度下菌株 W7 相对酶活力及 PHB 降解率变化

Fig. 4 Changes of relative enzyme activity and PHB degradation rate of strain W7 under different salinity

在不同初始 pH 的培养基中培养菌株 W7 (温度 28 °C, 盐度 30), PHB 解聚酶相对酶活力变化趋势和数值没有显著差异 ($P>0.05$), 均在 3 d 时达

到最高值 (图 5a)。0~0.5 d PHB 降解率较高, 0.5~2 d 酶活性较低, PHB 降解率增加缓慢。2 d 后, PHB 降解率逐渐增加 (图 5b)。5 d 时初始 pH

7.2 和 pH 8 培养基的降解率显著高于 pH 6 ($P<0.05$)。

在不同温度下培养菌株 W7 (pH 7.2, 盐度 30), 相对酶活力第 3 d 达到最高, 其中 28 °C 最

高, 20 °C 最低 ($P<0.05$) (图 6a)。在 0~1 d PHB 降解率快速增加, 4 d 时达到最大降解率, 其中 28 °C 降解率最高, 显著高于 37 °C 组 ($P<0.05$) (图 6b)。

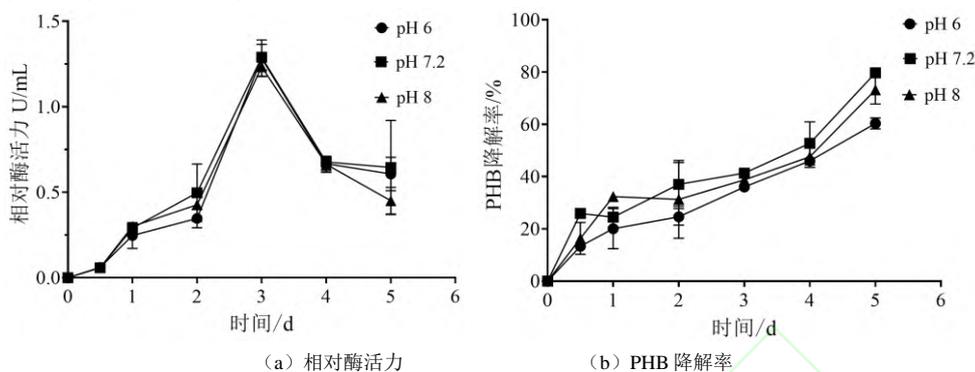


图 5 不同初始 pH 下菌株 W7 相对酶活力及 PHB 降解率变化

Fig. 5 Changes of relative enzyme activity and PHB degradation rate of strain W7 under different initial pH

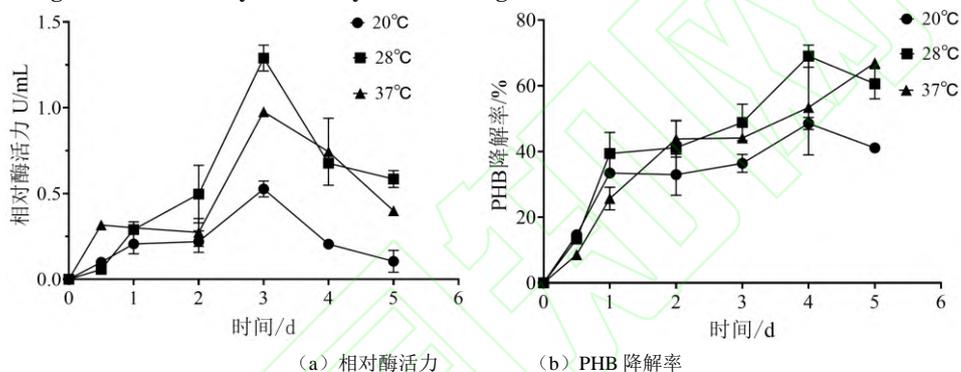


图 6 不同温度下菌株 W7 相对酶活力及 PHB 降解率变化

Fig. 6 Changes of relative enzyme activity and PHB degradation rate of strain W7 under different incubation temperatures

3 讨论

结合分子生物学和形态学分析鉴定, 菌株 W7 属于深海弯曲菌属 (*Thalassolituus*), 与食碱深海弯曲菌 (*T. alkanivorans*) 聚为一支, 此前未见关于深海弯曲菌属菌株降解 PHB 的报道。该属已报道的有效种有 *T. marinus*^[19]、*T. alkanivorans*^[20]、*T. oleivorans*^[21]、*T. hydrocarboniclasticus*、*T. maritimus* 和 *T. pacificus*^[22], 均为革兰氏阴性菌, 需氧生长, 有鞭毛, 弯曲杆状。其中 *T. alkanivorans* 模式菌株细胞大小为 $0.35\sim 0.6\ \mu\text{m}\times 2\sim 4\ \mu\text{m}$, 可在 pH 6~9 (最适 pH 6~7)、盐度 0~80 (最适盐度 50) 条件下生长, 为烷烃类专属降解菌。*T. hydrocarboniclasticus* 在 MA 平板中菌落呈白色、光滑、圆形、不透明, 边缘完整, 直径为 1~2 mm, 其最适生长条件为 25 °C、pH 7~8 和 3% NaCl (w/v), 过氧化氢酶、氧化酶、尿素酶和明胶酶

呈阳性^[19]。在本研究中菌株 W7 为革兰氏阴性, 在 PHB 和 LB 固体培养基中为无色、光滑、圆形、透明的菌落, 可在 pH 5~8、盐度 10~50 条件下需氧生长, 但未观察到鞭毛, 且菌株在半固体培养基中只沿穿刺方向生长, 不具有运动能力。综合菌株 W7 独特的 PHB 降解能力和无鞭毛的特性, 且与 *T. alkanivorans* 同源性 98.75% 接近于种属新物种的临界值, 推测该菌株可能为新种。确定新菌种需进一步开展 GC 含量、DNA-DNA 杂交率和全基因组分析等。

PHB 可在淡水和海水环境中由微生物降解, 但在海水中的降解效率降低。草酸青霉 (*Penicillium oxalicum* PHBd-1) 在淡水中能快速有效降解 PHB, 4 d 内 PHB 降解率高达 90%^[23]。在不外加碳源、37 °C、3% NaCl 条件下, *Microbulbifer* sp. 在 5 d 时 PHB 降解率为 75%, 10 d 后 PHB 降解率接近 97%^[24]。Suzuki 等^[25]从海滩分离获得 *Nocardioides marinisabuli*, 该菌株在 30 °C 下 PHB 降解速率为 $(318\pm 75)\ \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{day}$ 。Cho 等^[13]在海洋环境中分

离得到 *Bacillus* sp., 14 d 后 PHB 降解率接近 98%。本研究中菌株 W7 在盐度 30 和 28 °C 时 PHB 降解率在 5 d 时可达 (79.70±0.52)%, 但在盐度 10 和 50 条件下降解率较低, 因此该菌株是海水环境中高效降解 PHB 的菌株。

微生物通过分泌胞外 PHB 解聚酶使环境中的 PHB 降解为 3-HB 单体、二聚体或寡聚体^[7], 这些降解产物可再进入细胞内用于自身生长。虽然本研究在菌株 W7 培养液中未检测到 3-HB (数据未在结果中给出), 但接种菌株 W7 于培养液中培养 1 d 后, 其 pH 降至 5.5 左右, 推测是由菌株 W7 通过分泌 PHB 解聚酶使 PHB 降解为寡聚体, 或者菌株 W7 在有氧条件下进一步将寡聚体或 3-HB 降解后产生 CO₂^[7], 从而使 pH 降低, 但菌株 W7 的降解产物尚不清楚。

培养液初始 pH 对于解聚酶活性影响较小, 不同初始 pH 条件下最大相对酶活力无显著差异, 可能与海水的 pH 缓冲作用有关。在盐度 50 条件下, 菌株 W7 由于生长受到抑制, 最大酶活性出现较盐度 10 和盐度 30 延迟 1 天, 可能由于盐度较低抑制菌株生长, 抑制解聚酶活性。在不同温度条件下降解 PHB, 3 天时 28 °C 的相对酶活力显著高于 37 °C 和 20 °C, 说明温度过高或过低抑制细胞的生长, 从而导致 PHB 解聚酶相对酶活力降低。

4 结论

本研究从海水鱼循环水养殖系统中分离获得一株 PHB 降解菌 W7, 该菌株属于深海弯曲菌 *Thalassolituus*, 为革兰氏阴性菌、弯曲杆状, 无鞭毛, 能利用 β-羟基-D, L 丁酸和 L-乳酸等碳源。菌株 W7 生长和相对酶活力受环境 pH 影响较小, 但受环境盐度和温度的影响较大, 环境盐度和温度过高或过低均会抑制菌株 W7 的生长和相对酶活性。在 28 °C 和盐度 30 条件下, 达到最大相对酶活力, 5 天时最大 PHB 降解率可达到 79%。

参考文献:

- [1] MA H, CHAO LQ, WAN H, et al. Microplastic pollution in water systems: characteristics and control methods[J]. *Diversity*, 2024, 16(1): 70.
- [2] JOST V. Packaging related properties of commercially available biopolymers-An overview of the status quo[J]. *Express polymer letters*, 2018, 12(5): 429-435.
- [3] ARIAS-ROBLERO M, MORA-VILLALOBOS V, VELAZQUEZ-CARRILLO C. Evaluation of fed-batch fermentation for production of polyhydroxybutyrate with a banana pulp juice substrate from an agro industrial by-product[J]. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, 5: 681596.
- [4] JENDROSSEK D, SCHIRMER A, SCHLEGEL H G. Biodegradation of polyhydroxyalkanoic acids[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1996, 46: 451-463.
- [5] LUCAS N, BIENAIME C, BELLOY C, et al. Polymer biodegradation, mechanisms and estimation techniques-A review[J]. *Chemosphere*, 2008, 73(4): 429-442.
- [6] MÜLLER-SANTOS M, KOSKIMÄKI J J, Alves L P S, et al. The protective role of PHB and its degradation products against stress situations in bacteria[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2021, 45(3): fuaa058.
- [7] 杨宇, 徐爱玲, 张燕飞, 等. 生物合成材料聚 β-羟基丁酸 (PHB) 的研究进展[J]. *生命科学研究*, 2006, 10(4): 61-67.
- [8] 陈珊, 刘东波, 夏红梅, 等. 13 株真菌对聚 β-羟基丁酸酯膜的降解特性[J]. *应用与环境生物学报*, 2003, 9(4): 395-399.
- [9] ODA Y, OSAKA H, URAKAMI T, et al. Purification and properties of poly(3-hydroxybutyrate) depolymerase from the fungus *Paecilomyces lilacinus* D218[J]. *Current Microbiology*, 1997, 34(4): 230-232.
- [10] MARTÍNEZ-TOBÓN D I, GUL M, ELIAS A L, et al. Polyhydroxybutyrate (PHB) biodegradation using bacterial strains with demonstrated and predicted PHB depolymerase activity[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(18): 8049-8067.
- [11] WANI S J, SHAIKH S S, TABASSUM B, et al. *Stenotrophomonas* sp. RZS 7, a novel PHB degrader isolated from plastic contaminated soil in Shahada, Maharashtra, Western India[J]. *3 Biotech*, 2016, 6(2): 179.
- [12] JEON YB, JIN HJ, KONG YJ, et al. Poly(3-hydroxybutyrate) degradation by *Bacillus infantis* sp. isolated from soil and identification of *phaZ* and *bdhA* expressing PHB depolymerase[J]. *Korean Society for Microbiology and Biotechnology*, 2023, 33(8): 1076-1083.
- [13] CHO J Y, LEE PARK S, LEE H J, et al. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) degradation by the newly isolated marine *Bacillus* sp. JY14[J]. *Chemosphere*, 2021, 283: 131172.
- [14] PARK S L, CHO J Y, KIM S H, et al. Isolation of *Microbulbifer* sp. SOL66 with high polyhydroxyalkanoate-

- degrading activity from the marine environment[J]. *Polymers*, 2021, 13(23): 4257.
- [15] 刘仁菊, 董纯明, 李登峰, 等. 海洋石油降解菌深海弯曲菌的种类多样性及地理分布特征分析[J]. *应用海洋学学报*, 2017, 36(4): 565-574.
- [16] CAO YQ, ZHANG BY, CAI QY, et al. Responses of *Alcanivorax* species to marine alkanes and polyhydroxybutyrate plastic pollution: Importance of the ocean hydrocarbon cycles[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 313: 120177.
- [17] GAO MR, DU DD, BO ZX, et al. Poly- β -hydroxybutyrate (PHB)-accumulating *Halomonas* improves the survival, growth, robustness and modifies the gut microbial composition of *Litopenaeus vannamei postlarvae*[J]. *Aquaculture*, 2019, 500: 607-612.
- [18] 马瑞, 欧阳嘉, 李鑫, 等. 高效液相色谱法同时测定生物质乳酸发酵液中有机酸及糖类化合物[J]. *色谱*, 2012, 30(1): 62-66.
- [19] CHOI A, CHO J C. *Thalassolituus marinus* sp. Nov., a hydrocarbon-utilizing marine bacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013, 63: 2234-2238.
- [20] WEI TT, HE S, QUAN ZX. *Thalassolituus alkanivorans* sp. Nov., a hydrocarbon-utilizing bacterium isolated from the Mariana Trench[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2022, 72(5): 005404.
- [21] YAKIMOV M M, GIULIANO L, DENARO R, et al. *Thalassolituus oleivorans* gen. nov., sp. Nov., a novel marine bacterium that obligately utilizes hydrocarbons[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54(1): 141-148.
- [22] DONG CM, WEI L, WANG JN, et al. Genome-based taxonomic rearrangement of Oceanobacter-related bacteria including the description of *Thalassolituus hydrocarbonoclasticus* sp. Nov. and *Thalassolituus pacificus* sp. Nov. and emended description of the genus *Thalassolituus*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1051202.
- [23] 王振乾, 李骏鸣, 邓元告, 等. 一株降解 PHB 菌株的分离、鉴定及特性[J]. *天津科技大学学报*, 2020, 35(4): 8-13.
- [24] PARK S L, CHO J Y, KIM S H, et al. Novel polyhydroxybutyrate-degrading activity of the *Microbulbifer* genus as confirmed by *Microbulbifer* sp. SOL03 from the marine environment[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2022, 32(1): 27-36.
- [25] SUZUKI M, TACHIBANA Y, TAKIZAWA R, et al. A novel poly(3-hydroxybutyrate)-degrading actinobacterium that was isolated from plastisphere formed on marine plastic debris[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2021, 183: 109461.