

# 一株耐受2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)的副氧化微杆菌基因组学研究

李双伟<sup>1,2</sup>, 郭琳珂<sup>1,2</sup>, 卢肖<sup>1,2</sup>, 赵越<sup>1,2</sup>, 杨胜辉<sup>1,2</sup>, 张林林<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>山东科技大学安全与环境工程学院, 山东 青岛

<sup>2</sup>山东科技大学黄河三角洲地表过程与生态完整性研究所, 山东 青岛

收稿日期: 2024年3月8日; 录用日期: 2024年3月29日; 发布日期: 2024年4月18日

## 摘要

本研究从球等鞭金藻培养液中分离出一种藻际细菌*Microbacterium paraoxydans*(副氧化微杆菌), 其对2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)胁迫具有一定的耐受性。之后利用基因组学技术分析了副氧化微杆菌的潜在功能。结果表明: (1) 在50 mg/L BHT条件下副氧化微杆菌仍保持生长。(2) 利用基因组学技术, 得到35个基因组序列GC含量为70.38%。(3) COG注释中记录了2908个基因。其中335个碳水化合物的运输和代谢基因。KEGG注释中将副氧化微杆菌的基因功能分成6大类。其中最多的是碳水化合物代谢, 注释了214个基因; 生物降解和代谢注释了63个基因, 包含12个通路, 11个均与有机物降解有关。另外, 环境信息处理通路中信号转导通路有10个, 基因有76个。细胞过程中有关细菌趋化性的基因有7个。(4) KEGG注释了28种与酚类物质相关的生物降解和代谢基因, 表明*Microbacterium paraoxydans*具有降解和耐受有机污染物的能力, 在基因角度解释了其在有机污染物BHT存在下可以生长的原因。(5) 代谢系统中预测到类胡萝卜素基因簇中包含合成类胡萝卜素的首要步骤所需要的*crtB*基因、*idrA\_B\_C\_D*。

## 关键词

球等鞭金藻, 副氧化微杆菌, 2,6-二叔丁基对甲酚, 基因组测序

## Genomic Study on a *Microbacterium paraoxydans* Resistant to 2,6-Di-Tert-Butyl-P-Cresol (BHT)

Shuangwei Li<sup>1,2</sup>, Linke Guo<sup>1,2</sup>, Xiao Lu<sup>1,2</sup>, Yue Zhao<sup>1,2</sup>, Shenghui Yang<sup>1,2</sup>, Linlin Zhang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>School of Safety and Environmental Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao Shandong

<sup>2</sup>Yellow River Delta Surface Processes and Ecological Integrity Research Institute, Shandong University of

\*通讯作者。

文章引用: 李双伟, 郭琳珂, 卢肖, 赵越, 杨胜辉, 张林林. 一株耐受 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)的副氧化微杆菌基因组学研究[J]. 环境保护前沿, 2024, 14(2): 308-316. DOI: 10.12677/aep.2024.142041

## Abstract

This study isolated a microalgal bacterium, *Microbacterium\_praoxydans*, from the culture medium of *Pseudomonas aeruginosa*, which has a certain tolerance to 2,6-di-tert-butyl-p-cresol (BHT) stress. Subsequently, genomic techniques were used to analyze the potential functions of *Microbacterium\_praoxydans*. The results showed that: (1) Under the condition of 50 mg/L BHT, the growth of *Microbacterium\_praoxydans* was still maintained. (2) Using genomic technology, 35 genomic sequences were obtained with a GC content of 70.38%. (3) 2908 genes were recorded in the COG annotation. Among them, there are 335 genes involved in carbohydrate transport and metabolism. The KEGG annotation categorizes the gene functions of *Microbacterium\_praoxydans* into six major categories. The most common one is carbohydrate metabolism, with 214 genes annotated; biodegradation and metabolism annotated 63 genes, including 12 pathways, all 11 of which are related to organic matter degradation. In addition, there are 10 signal transduction pathways and 76 genes in the environmental information processing pathway. There are 7 genes related to bacterial chemotaxis in cellular processes. (4) KEGG annotated 28 biodegradation and metabolism genes related to phenolic substances, indicating that *Microbacterium\_praoxydans* have the ability to degrade and tolerate organic pollutants. From a genetic perspective, it explains why they can grow in the presence of organic pollutant BHT. (5) It is predicted in the metabolic system that the carotenoid gene cluster contains the *crtB* gene and *idrA\_B\_C\_D* required for the primary step of carotenoid synthesis.

## Keywords

*I. galbana*, 2,6-Di-Tert-Butyl-P-Cresol, *Microbacterium\_praoxydans*, Genomic Sequencing

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

微藻可以通过细胞活动将光和二氧化碳转化生成特殊化学物质, 包括碳水化合物、维生素、脂类、蛋白质、色素等[1]。现代工业生产的快速发展, 许多工业废水、生活污水进入水体流域, 破坏了海洋生态系统的稳定自身特性(易富集), 有必要研究 BHT 对自然环境生物的影响。BHT 作为合成酚类抗氧化剂, 成本低且具有较强的抗氧化性, 在全球范围内被广泛添加到产品中作抗氧化剂。2000 年, 全球 BHT 产量高达六万多吨[2], 被欧盟列为“高产量化学品”[3]。BHT 在自然环境中会产生一系列物理化学反应, 其本身以及反应生成的代谢有机物在环境中已被作为新型有机污染物多次检测到。在哥伦比亚种植水稻的地表水中检测到 BHT 及其代谢产物是主要有机污染物[4]。在中国太湖检测到 BHT 及其代谢产物 BHT-Q 是沉积物中主要有机污染物[5]。西班牙塔拉戈纳工业园区的室外空气中检测到 BHT 和 BHT-Q [6]。韩国海洋塑料中也同样检测到 BHT (29  $\mu\text{g/g}$ ) [7]。污染物胁迫使微藻生物量降低并损伤叶绿体, 因此生物量和色素含量常被作为污染物对藻类影响和水体污染程度的内在评价指标。目前世界上大规模培养且商

业化应用的微藻主要分为金藻门、红藻门、绿藻门和蓝藻门[8]。球等鞭金藻属于金藻门，体积微小、没有细胞壁、繁殖速度快、富含多糖以及各种多不饱和脂肪酸[9]，在水产养殖方面常被用作海洋动物的饵料[10]，是合成类胡萝卜素等抗氧化活性物质的潜在生物[11]。球等鞭金藻易于培养，因此在水环境生态系统中也常用作水生生态毒理学研究的理想生物[12]。

海洋中藻类和细菌已经共存了 2 亿多年，关系密不可分，它们之间的长久共存有利于藻菌之间的协同进化[13]。微藻生长环境周围存在着一片藻菌相互作用的微小区域——藻际环境[14]。这些藻类在其正常生长发育和繁殖的过程中，会分泌释放出不同的代谢产物例如氨基酸类物质，脂质，维生素，酶类物质等[15]。这些由微藻细胞分泌的代谢物质直接影响着这些微藻周围的环境，细菌会受到这些藻细胞在其生长的过程中释放的代谢产物的影响以及诱导，存留在藻细胞周围，从而形成了藻菌共栖群落[16]。生态环境中的微藻和细菌各自担任生产者和分解者的角色，它们之间的相互作用关系非常复杂，包括协同作用和信号转导等关系。最初发现微藻与细菌共生关系是在菌藻之间发生的  $O_2/CO_2$  交换，微藻利用光合作用生成  $O_2$  供周围细菌呼吸并释放  $CO_2$ ，然后  $CO_2$  被微藻利用于光合活动[17]。之后的研究中又深入探索了菌藻之间其他错综复杂的共生关系，发现两者之间还存在一种信号分子转导机制。Amin [18]利用转录组学技术，发现藻际细菌的色氨酸合成基因下调，并通过代谢物分析证明了细菌产生了吲哚乙酸(IAA)，刺激硅藻分裂。

全基因组测序技术(Whole Genome Sequencing)是对生物体中完整的遗传物质的总和进行测序的一项分子生物学技术，可获得生物体完整的生物信息学信息[19]。细菌基因组分析主要分为 6 部分，包括 DNA 提取及测序、基因组组装、基因组完成、基因预测、基因注释和比较基因组分析，被认为是一种强大的基因组分析技术，能够全面、精确地获得基因组中全部序列，从而通过基因组组分析、基因功能注释等充分完整地认识微生物的生物学功能，破解生物体中所包含的耐药性、致病性等信息[20]。如今，基因组测序技术已经发展到第三代。技术的更新迭代，使人类对基因组分析更加广泛深入，主要集中在溯源、功能基因鉴定等方面[21]。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 藻种及菌株

球等鞭金藻(*I. galbana*): 取自中国科学院海洋研究所，采用 f/2 培养基培养；

藻际细菌：采用稀释涂布平板法从球等鞭金藻藻液中筛出菌株，并用平板划线法进行纯化，之后利用甘油保菌法进行保种。

### 2.2. 实验方法

#### 2.2.1. 藻种培养

在无菌环境下将球等鞭金藻接种到 f/2 液体培养基中，设置三组平行并置于光照培养箱(设置温度： $25 \pm 1^\circ C$ ，光照强度：3800 Lux，光暗周期：12/12 h)扩大培养。每天定时摇晃锥形瓶，避免微藻沉积造成营养液应用不充分。

#### 2.2.2. 细菌培养

采用稀释涂布法，将藻液用无菌水稀释(稀释梯度为 1:100、1:1000、1:10000)，每个梯度各取微量藻液于 2216E 固体培养基，并用接种环将藻液均匀分散在培养基表面，整个操作过程应在无菌操作台且在火焰附近进行，最后置于生化培养箱(设置温度： $29.1^\circ C$ )扩大培养 3~4 d。然后采用平板划线法挑取单一菌株于固体培养基进行菌种纯化。纯化后的菌株用甘油保种法在  $-80^\circ C$  下进行保种。

### 2.2.3. BHT 母液配制

称取 BHT 于干净烧杯中, 用 DMSO 进行助溶, 配制浓度为 50 mg/L 的 BHT 母液。BHT 作为抗氧化剂暴露在空气中极易被氧化, 为避免实验误差, 实验中需要现用现配。根据预试验设置后续实验中 BHT 的浓度梯度为 0、10、20、40 mg/L, 本实验所用的 BHT 溶液均用 50 mg/L 的 BHT 母液稀释后使用。

### 2.2.4. 生长量测定

藻际细菌生物量测定: 在无菌操作台分别取 5 mL 混匀的菌液, 用可见分光光度计测定藻液在 600 nm 处的吸光度来反映藻际细菌的生长状况。

### 2.2.5. 样品制备、文库构建

取适量菌液离心(4000 rpm, 20 min)弃上清保留菌泥并做好标记。收集 DNA 进行片段化处理, 构架吧基因组测序文库。通过琼脂糖凝胶电泳进行片段筛选后, 利用氢氧化钠变性, 生成 DNA 单链片段。

### 2.2.6. PCR 扩增

使用扩增引物正向 338F (ACTCCTACGGGAGGCAGCAG)和反向 806R (GGACTCHVGGGTWTCTAAT)对提取的 DNA 基因片段进行扩增预试验。正式 PCR 采用 TransGen AP221-02: TransStart Fastpfu DNA Polymerase, 20  $\mu$ L 反应体系, 如表 1, PCR 反应条件如表 2。PCR 产物混合后用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEN 公司)切胶回收 PCR 产物, Tris-HCl 缓冲液洗脱。再将 PCR 产物用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)进行检测定量。最后用 Illumina 进行文库构建测序。

**Table 1.** PCR reaction system

**表 1.** PCR 反应体系

试剂	体积
5 $\times$ FastPfu Buffer	4 $\mu$ L
2.5 mM dNTPs	2 $\mu$ L
Forward Primer (5 $\mu$ M)	0.8 $\mu$ L
Reverse Primer (5 $\mu$ M)	0.8 $\mu$ L
FastPfu Polymerase	0.4 $\mu$ L
BSA	0.2 $\mu$ L
Template DNA	10 ng
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 $\mu$ L

**Table 2.** Reaction conditions

**表 2.** PCR 反应条件

步骤	反应温度	反应时间	备注
预变性	95 $^{\circ}$ C	3 min	
变性	95 $^{\circ}$ C	30 s	
退火	55 $^{\circ}$ C	30 s	27 个循环
延伸	72 $^{\circ}$ C	45 s	
后延伸	72 $^{\circ}$ C	10 min	
终止	10 $^{\circ}$ C		

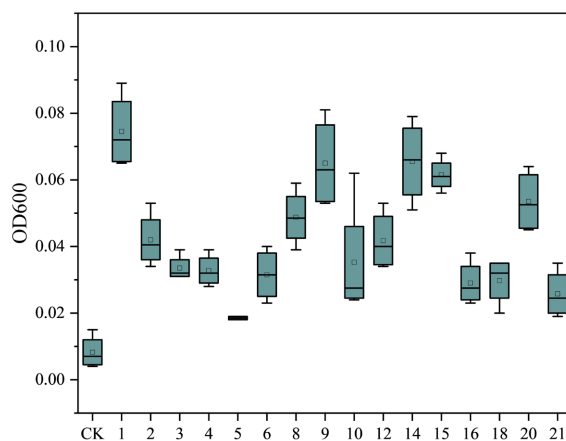
### 2.2.7. 测序数据制备

利用 Illumina 测序后得到原始数据保存为 fastq 格式, 为了精确组装, 原始数据中一些低质量数据会被剪切, 经过质控过滤, 并对初步组装的基因组数据进行质量评估, 原因包括: (1) 判断序列是否被杂菌

污染；(2) 评估测序质量；(3) 评估基因组情况。校正后得到高质量的有效代表序列。

### 3. 结果

#### 3.1. BHT 存在条件下藻际细菌的生长状况



**Figure 1.** Growth of algal bacteria under 50 mg/L BHT conditions  
**图 1.** 藻际细菌在 50 mg/L BHT 条件下的生长量

通过稀释涂布法、平板划线法从球等鞭金藻藻际环境中筛选出 16 种细菌。在无菌海水中加入适量菌液并设置 BHT 浓度为 50 mg/L 以保持细菌的生存环境中只有 BHT，置于摇床培养 5 天。用可见分光光度计测量菌液在 600 nm 处的吸光度以表示藻际细菌的生长状况(如图 1 所示)。其中 15 种细菌在 5 天内生长量始终保持下降趋势；只有副氧化微杆菌(*Microbacterium\_paroxydans*)在只有 50 mg/L BHT 条件下生长量先呈现出下降趋势，2 天后，生物量开始逐渐上升。第 5 天时 *Microbacterium\_paroxydans* 与初始量相比增加了 106.67%。

有研究报道，副氧化微杆菌一般可以从石油污染的湖泊和含重金属的植物、土壤中分离出来[22]，可以有效除去氯苯和镉，对降解有机污染物、净化水体等方面有重要作用[23]，利于生物修复。所以在有机污染物 BHT 的条件下，副氧化微杆菌可以利用 BHT 以保证自身生长。因此本研究利用基因组学技术分析副氧化微杆菌的潜在功能，为菌藻共生系统的相关研究提供依据。

#### 3.2. 副氧化微杆菌的功能预测

##### 3.2.1. 样本信息

利用 Illumina 测序平台，对菌株基因进行质控分析，获得总碱基 1503117362bp，进一步组装得到 35 个基因组序列，其中染色体序列有 13 个，已知质粒基因组序列有 10 个，新的质粒基因组序列有 12 个(如表 3 和表 4)。微生物的 DNA 中 GC 含量一般不会受外界环境干扰而轻易发生更改，所以，GC 含量经常被用来比较微生物种属间的亲缘关系，判断物种同源性。菌株的 GC 含量为 70.38%，因此可以判定其与数据库中的物种是同源。

**Table 3.** Sample genome coverage

**表 3.** 样本基因组覆盖度

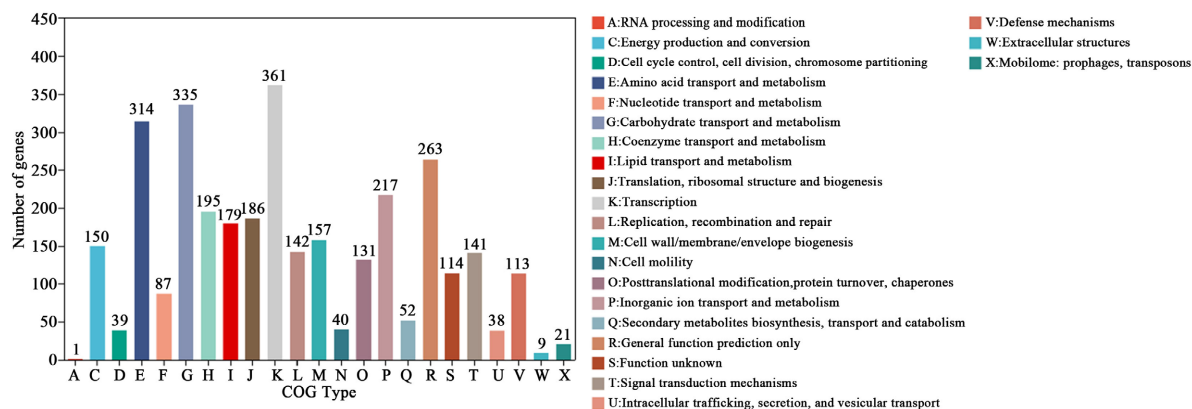
样本	基因大小(bp)	覆盖度
副氧化微杆菌(J10)	1503117362	98.46%

**Table 4.** Genomic sequence information**表 4.** 基因组序列信息

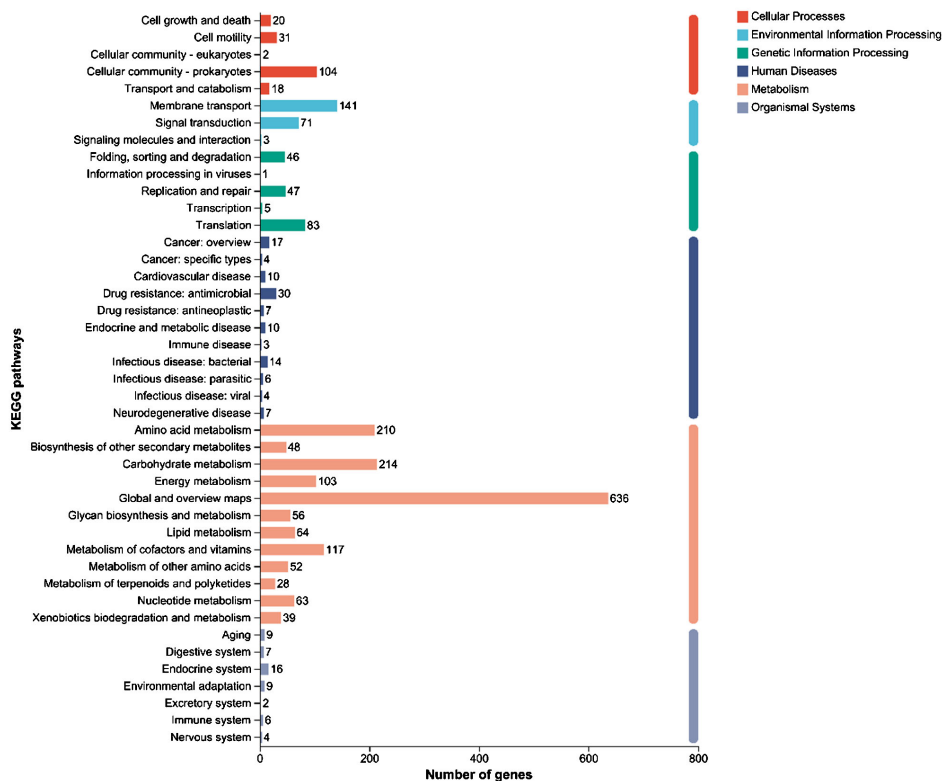
Type	Genome Size (bp)	Scaffolds	Coverage (%)	G + C (%)	CDS	tRNA	rRNA	sRNA
J10	3849123	35	98.46	70.38	3679	46	3	14

### 3.2.2. 基因组功能注释

COG function classification: J10

**Figure 2.** Genomic COG annotation of *Microbacterium paraoxydans***图 2.** 基因组 COG 注释图

Histogram of KEGG

**Figure 3.** Genomic KEGG annotation of *Microbacterium paraoxydans***图 3.** 基因组 KEGG 注释图

通过与数据库比对进行功能注释,得到的功能注释信息如图2和图3。COG注释图中可以看出,共记录了2908个基因。其中361个转录基因(K),335个碳水化合物的运输和代谢基因(G),314个氨基酸运输与代谢基因(E)。

KEGG注释结果将副氧化微杆菌的基因功能分成6大类。新陈代谢通路被注释的基因最多,有2883个;其中最多的是碳水化合物代谢,注释了214个基因,15个通路;生物降解和代谢注释了63个基因,包含12个通路,11个均与有机物降解有关。综上,在只有BHT存在的条件下,副氧化微杆菌通过对有机物的代谢或降解以维持自身生存。另外,环境信息处理通路中信号转导通路有10个,基因有76个。细胞过程中有关细菌趋化性的基因有7个。

### 3.2.3. 生物降解及代谢分析

表5展示了*Microbacterium paraoxydans*的基因组中有关生物降解和代谢功能的基因。通过KEGG功能注释,该菌株*Microbacterium paraoxydans*共注释了28种有机物降解基因,表明其具有降解和耐受有机污染物的能力,在基因角度解释了*Microbacterium paraoxydans*在有机污染物BHT存在下可以生长的原因。

**Table 5.** Biodegradation and metabolic gene statistics of *Microbacterium paraoxydans*

**表 5.** *Microbacterium paraoxydans* 的生物降解及代谢基因统计

编号	基因	名称	功能
1	<i>guaA</i>	GMP合成酶(谷氨酰胺水解)	二甲苯降解
2	<i>ndk</i>	核苷二磷酸激酶	药物代谢-其他酶
3	<i>dut</i>	dUTP焦磷酸酶	药物代谢-其他酶
4	<i>choD</i>	胆固醇氧化酶	类固醇降解
5	<i>fadA</i>	乙酰辅酶A酰基转移酶	苯甲酸盐降解、乙苯降解
6	<i>atoB</i>	酰基转移酶	苯甲酸盐降解
7	<i>guaB</i>	次黄嘌呤核苷酸脱氢酶	二甲苯降解
8	<i>dmpH</i>	2-氧代-3-己二酸脱羧酶	二恶英降解、苯甲酸盐降解、类固醇降解
9	<i>mhpE</i>	4-羟基-2-氧代戊酸醛缩酶	二恶英降解、苯甲酸盐降解、类固醇降解
10	<i>mhpF</i>	乙醛脱氢酶	二恶英降解、苯甲酸盐降解、类固醇降解
11	<i>mhpD</i>	2-酮-4-戊烯酸水合物	二恶英降解、苯甲酸盐降解、类固醇降解
12	<i>dmpC</i>	氨基粘酸半醛/2-羟基粘酸-6-半醛脱氢酶	苯甲酸盐降解、类固醇降解
13	<i>paaF</i>	烯酰基辅酶A水合酶	己内酰胺降解、苯甲酸盐降解、氨基苯甲酸降解
14	<i>badH</i>	2-羟基环己烷羧酸-CoA脱氢酶	苯甲酸盐降解
15	<i>fadD3</i>	HIP-CoA连接	类固醇降解
16	-	邻氨基苯甲酰基辅酶A单加氧酶	氨基苯甲酸降解
17	<i>tdk</i>	胸苷激酶	药物代谢-其他酶
18	<i>dehH</i>	卤乙酸盐脱卤酶	氯代烷烃与氯代烯烃降解、氯代环己烷和氯苯的降解
19	<i>hprT</i>	次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶	二甲苯降解
20	-	2-卤代脱卤物	氯代环己烷和氯苯的降解
21	<i>fdhA</i>	谷胱甘肽非依赖性甲醛脱氢酶	氯代烷烃与氯代烯烃降解
22	<i>paaH</i>	3-羟基丁基-CoA脱氢酶	苯甲酸盐降解
23	-	苯酚2-单加氧酶(NADPH)	二甲苯降解、氨基苯甲酸降解

续表

24	<i>dmpB</i>	儿茶酚 2,3-双加氧酶	苯甲酸盐降解、苯乙烯降解、氯代环己烷和氯苯的降解、类固醇降解
25	<i>gcdH</i>	戊二酰辅酶 A 脱氢酶	苯甲酸盐降解
26	<i>rdgB</i>	XTP/dITP 二磷酸水解酶	二甲苯降解
27	<i>deoA</i>	胸苷磷酸化酶	二甲苯降解
28	<i>cdd</i>	胞苷脱氨酶	二甲苯降解

### 3.2.4. 次级代谢产物合成分析

微生物生长到稳定期，会利用初级产物进行代谢合成一些有重要生态功能的次级代谢产物。副氧化微杆菌预测出 5 种基因簇。其中类胡萝卜素基因簇中所包含的基因数量有 19 个，包括 *crtB* 等。

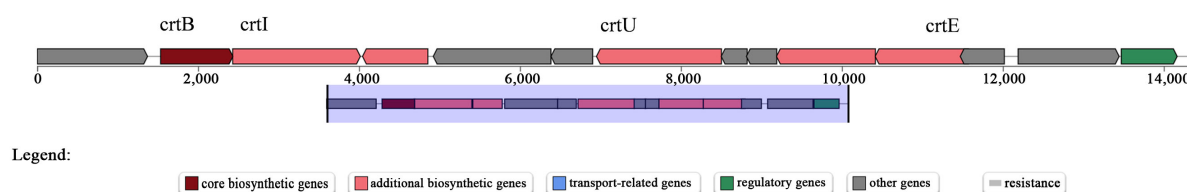


Figure 4. Linetype map of carotenoid gene clusters

图 4. 类胡萝卜素基因簇线型图谱

类胡萝卜素在细胞间通信、抗菌抗癌中起到重要作用。它可以作为抗氧化剂保护微生物免受活性氧累积引起的氧化应激损伤。因此细菌合成类胡萝卜素具有特殊意义，目前有关参与合成类胡萝卜素的细菌基因已经被鉴定。Swati Ojha 等[24]利用 LB 培养基培养了一种副氧化微杆菌提取并鉴定出类胡萝卜素。P. Krubasik 等[25]人从亚麻短杆菌中鉴定出类胡萝卜素(*crt*)的基因簇，如图 4。八氢番茄红素合成酶基因 *crtB* 催化两个香叶基香叶酰二磷酸分子合成八氢番茄红素是类胡萝卜素生物合成的第一个步骤。在本研究中注释到 *crtB* 和 *idrA\_B\_C\_D*，说明副氧化微杆菌具有潜在的类胡萝卜素生物合成能力。

## 4. 结论

副氧化微杆菌可以有效降解有机污染物，因此在只有 BHT 条件下可以生存，在第 5 天生长量增加了 106.67%。二代测序得到菌株的 GC 含量为 70.38%，因此可以判定其与副氧化微杆菌是同源。COG 注释中记录了 2908 个基因。其中 361 个转录基因，335 个碳水化合物的运输和代谢基因，314 个氨基酸运输与代谢基因。KEGG 通路将基因功能分成 6 大类。新陈代谢通路被注释的基因最多，有 2883 个；其中最多的是碳水化合物代谢，注释了 214 个基因，15 个通路；生物降解和代谢注释了 63 个基因，包含 12 个通路，11 个均与有机物降解有关。另外，环境信息处理通路中信号转导通路有 10 个，基因有 76 个。KEGG 注释了 28 种生物降解和代谢基因，表明 *Microbacterium paraoxydans* 具有降解和耐受有机污染物的能力，在基因角度解释了其在有机污染物 BHT 存在下可以生长的原因。细胞过程中有关细菌趋化性的基因有 7 个。副氧化微杆菌中含有合成类胡萝卜素首需的 *crtB* 基因，因此可以解释其在 BHT 条件下可以对 BHT 产生的活性氧进行去除以保持生长。

## 参考文献

- [1] Oncel, S.S. (2013) Microalgae for a Macroenergy World. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **26**, 241-264. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.05.059>



- [2] 张瑞瑞. 叔丁基羟基甲苯的生物可给性和健康风险研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京大学, 2020.
- [3] Lanigan, R.S. and Yamarik, T.A. (2002) Final Report on the Safety Assessment of BHT. *International Journal of Toxicology*, **21**, 19-94. <https://doi.org/10.1080/10915810290096513>
- [4] Hernández, F., Portoles, T., Ibanez, M., *et al.* (2012) Use of Time-of-Flight Mass Spectrometry for Large Screening of Organic Pollutants in Surface Waters and Soils from a Rice Production Area in Colombia. *Science of the Total Environment*, **439**, 249-259. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.09.036>
- [5] Liu, R. and Mabury, S.A. (2020) Synthetic Phenolic Antioxidants: A Review of Environmental Occurrence, Fate, Human Exposure, and Toxicity. *Environmental Science & Technology*, **54**, 11706-11719. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c05077>
- [6] Maceira, A., Borrull, F. and Marcé, R.M. (2019) Occurrence of Plastic Additives in Outdoor Air Particulate Matters from Two Industrial Parks of Tarragona, Spain: Human Inhalation Intake Risk Assessment. *Journal of Hazardous Materials*, **373**, 649-659. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.04.014>
- [7] Rani, M., Shim, W.J., Han, G.M., *et al.* (2017) Benzotriazole-Type Ultraviolet Stabilizers and Antioxidants in Plastic Marine Debris and Their New Products. *Science of the Total Environment*, **579**, 745-754. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.033>
- [8] 陆苗苗. 微藻膜法培养处理水产养殖废水及膜污染的特性研究[D]: [硕士学位论文]. 舟山: 浙江海洋大学, 2021.
- [9] 梁英, 孟祥荣, 范丽敏, 等. IAA 对球等鞭金藻和棕鞭藻生长及总脂含量的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2018, 48(2): 22-31.
- [10] 王星宇, 黄旭雄. 不同碳源对球等鞭金藻生长和细胞组成的影响[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2016, 47(4): 506-513.
- [11] Ou, D.Y., Chen, B., Chen, C.X. and Chen, X.Q. (2013) Distribution of Antibiotics Residue and Resistant Bacteria in the Downstream and Estuarine Area in Jiulong River. *China Environmental Science*, **33**, 2243-2250.
- [12] 张莺脐, 张焱宇, 石硕. 球等鞭金藻对氟苯尼考胁迫的响应研究[J]. 水生生物学报, 2020, 44(6): 1278-1286.
- [13] 费聪. 两种微藻与其藻际细菌的相互作用机制[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- [14] Bell, W. and Mitchell, R. (1972) Chemotactic and Growth Responses of Marine Bacteria to Algal Extracellular Products. *The Biological Bulletin*, **143**, 265-277. <https://doi.org/10.2307/1540052>
- [15] 高亚辉. 海洋微藻分类生态及生物活性物质研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2001, 40(2): 566-573.
- [16] 任舒天. 纤维裸藻共栖细菌的分离鉴定与藻菌共培养的研究[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津农学院, 2020.
- [17] Kim, B.H., Ramanan, R., Chod, H., *et al.* (2014) Role of Rhizobium, a Plant Growth Promoting Bacterium, in Enhancing Algal Biomass through Mutualistic Interaction. *Biomass and Bioenergy*, **69**, 95-105. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.07.015>
- [18] Amin, S.A., Hmelo, L.R., Van Tol, H.M., *et al.* (2015) Interaction and Signalling between a Cosmopolitan Phytoplankton and Associated Bacteria. *Nature*, **522**, 98-101. <https://doi.org/10.1038/nature14488>
- [19] Ng, P.C. and Kirkness, E.F. (2010) Whole Genome Sequencing. In: Barnes, M. and Breen, G., Eds., *Genetic Variation*, Humana Press, Totowa, 215-226. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-367-1\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-367-1_12)
- [20] 谷美, 刘慧敏, 孟璐, 等. 全基因组测序技术在细菌耐药性检测中的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2019, 47(5): 26-31.
- [21] 付宇航. 麋鹿源产气荚膜梭菌的分离鉴定及强毒株 CX1-4 全基因组测序分析[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- [22] Enoch, D.A., Richardson, M.P., Hill, R.L., *et al.* (2011) Central Venous Catheter-Related Bacteraemia Due to *Microbacterium paraoxydans* in a Patient with No Significant Immunodeficiency. *Journal of Clinical Pathology*, **64**, 179-180. <https://doi.org/10.1136/jcp.2010.084210>
- [23] Corretto, E., Anotonielli, L., Sessitsch, A., *et al.* (2015) Draft Genome Sequences of 10 *Microbacterium* spp., with Emphasis on Heavy Metal-Contaminated Environments. *Genome Announcements*, **3**, e00432-15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00432-15>
- [24] Ojha, S., Kapoor, S. and Mishra, S. (2018) Carotenoid Production by a Novel Isolate of *Microbacterium paraoxydans*. *Indian Journal of Microbiology*, **58**, 118-122. <https://doi.org/10.1007/s12088-017-0686-9>
- [25] Krubasik, P. and Sandmann, G. (2000) A Carotenogenic Gene Cluster from *Brevibacterium Linens* with Novel Lycopene Cyclase Genes Involved in the Synthesis of Aromatic Carotenoids. *Molecular and General Genetics MGG*, **263**, 423-432. <https://doi.org/10.1007/s004380051186>