DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251010001
引用格式: 张伊动, 刘艳, 李诗瑶, 等. 黏质沙雷菌 HBQT 的生物信息挖掘及其特性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(7): 82–90.
ZHANG YD, LIU Y, LI SY, *et al*. Bioinformatics mining and characteristic analysis of *Serratia marcescens* HBQT [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(7): 82–90. (in Chinese with English abstract).

黏质沙雷菌 HBQT 的生物信息挖掘及其特性分析

张伊动[1,2,3], 刘　艳[1,2,3], 李诗瑶[1,2,3], 何名扬[1,2,3], 李　涛[1,2,3], 万旭刚[1,2,3], 张　莉[1,2,3], 张　涛[1,2,3], 廖美林[4], 熊　坤[4], 林　津[1,2,3*]

[1. 湖北省食品质量安全监督检验研究院, 武汉　430075; 2. 国家市场监督管理总局重点实验室(动物源性食品中重点化学危害物检测技术), 武汉　430075; 3. 湖北时珍实验室, 武汉　430075; 4. 恩施土家族苗族自治州公共检验检测中心, 恩施　445000]

摘　要: 目的　挖掘黏质沙雷菌 HBQT 的生物信息, 并分析其特性。**方法**　对黏质沙雷菌 HBQT 富硒能力进行评价并进行全基因组高通量测序及生物信息学分析, 测定其对金黄色葡萄球菌和单核增生李斯特氏菌的抑菌活性, 以及对绿豆芽的促生效果, 同时检测亚硒酸盐处理前后菌株对头孢他啶等药物的敏感性变化和生物膜生长情况以及抗氧化能力。**结果**　黏质沙雷菌 HBQT 48 h 内能够转化 99%浓度为 3 mmol/L 的亚硒酸盐, 其基因组全长为 5117438 bp, 鸟嘌呤和胞嘧啶含量 59.51%, 含一个环状质粒; 生物信息学分析揭示其硫代谢与主动运输相关基因富集。该菌显著抑制金黄色葡萄球菌和单核增生李斯特氏菌生长(P<0.001), 并显著促进绿豆芽生长(P<0.001)。亚硒酸盐处理后, 菌株对头孢他啶的拮抗能力、生物膜形成能力及抗氧化力均显著提升(P<0.001)。**结论**　黏质沙雷氏菌 HBQT 具有较好的生物防治和植物促生特性, 并通过全基因组分析和其富硒后表型变化为细菌拮抗亚硒酸盐毒性生成纳米硒的分子机制阐明奠定基础。

关键词: 黏质沙雷菌 HBQT; 全基因组测序; 生物信息学分析; 亚硒酸盐; 氧化应激

Bioinformatics mining and characteristic analysis of *Serratia marcescens* HBQT

ZHANG Yi-Dong[1,2,3], LIU Yan[1,2,3], LI Shi-Yao[1,2,3], HE Ming-Yang[1,2,3], LI Tao[1,2,3], WAN Xu-Gang[1,2,3], ZHANG Li[1,2,3], ZHANG Tao[1,2,3], LIAO Mei-Lin[4], XIONG Kun[4], LIN Jin[1,2,3*]

(1. *Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test*, *Wuhan* 430075, *China*; 2. *Key Laboratory of Detection Technology of Focus Chemical Hazards in Animal-derived Food*, *State Administration for Market Regulation*, *Wuhan* 430075, *China*; 3. *Hubei Shizhen Laboratory*, *Wuhan* 430075, *China*; 4. *Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture Public Inspection and Testing Center*, *Enshi* 445000, *China*)

ABSTRACT: Objective　To mine the bioinformation of *Serratia marcescens* HBQT and analyze its characteristics.

收稿日期: 2025-10-10
基金项目: 湖北省市场监督管理局科技计划专项(Hbscjg-KJ2023005); 湖北省自然科学基金项目(2025AFD723); 湖北省技术创新计划项目(2024BBA002)
第一作者: 张伊动(1996—), 女, 硕士, 初级工程师, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: 2802129536@qq.com
***通信作者:** 林津(1988—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全质量控制。E-mail: 524153439@163.com

Methods　The selenium enrichment capacity of *Serratia marcescens* HBQT was evaluated. High-throughput whole-genome sequencing and bioinformatics analysis were performed. Its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, as well as its growth-promoting effect on mung bean sprouts, were determined. Additionally, changes in the strain's susceptibility to drugs such as ceftazidime, biofilm growth and antioxidant capacity were measured before and after selenite treatment. **Results**　Within 48 hours, *Serratia marcescens* HBQT was able to convert 99% of the selenite at a concentration of 3 mmol/L. The complete genome length was 5117438 bp, with a guanine-cytosine content of 59.51%, and it contained one circular plasmid. Bioinformatics analysis revealed enrichment of genes related to sulfur metabolism and active transport. The strain significantly inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* (P<0.001) and markedly promoted the growth of mung bean sprouts (P<0.001). After selenite treatment, the strain's antagonistic ability against ceftazidime, biofilm formation capacity and antioxidant capacity were significantly enhanced (P<0.001). **Conclusion**　*Serratia marcescens* HBQT exhibits promising biocontrol and plant growth-promoting characteristics. The whole-genome analysis and phenotypic changes after selenium enrichment lay the foundation for elucidating the molecular mechanisms by which bacteria antagonize selenite toxicity and generate selenium nanoparticles.

KEY WORDS: *Serratia marcescens* HBQT; whole genome sequencing; bioinformatics analysis; selenite; oxidative stress

0　引　言

硒是一种重要的微量元素, 在人体和微生物中有着广泛的应用, 参与包括氧化应激、生长调节、氨基酸合成等多种代谢途径, 并具有强大的抗癌和抗菌特性[1–2]。硒缺乏可导致一系列疾病, 包括胃肠道和甲状腺疾病等[3]。硒补充剂有无机和有机两种形式, 其中有机硒显示出更高的生物利用度[4–5]。硒以多种价态(–2、0、+4、+6)和形态存在于环境中, 与其他形态的硒相比, 有机硒具有更高地反应特性, 更容易转化为人体所需要的含硒氨基酸和硒蛋白来发挥代谢调节作用, 因而具有更高的安全性、生物活性和生物利用率[6–9]。因此, 涉及亚硒酸盐(Se^{4+})还原为元素硒(Se^0)的生物地球化学循环至关重要。

许多微生物具有将亚硒酸钠转化为有机硒的能力, 因此对硒污染的土壤和水的生物修复具有重要的前景[10]。这些微生物可以通过酶和非酶途径催化亚硒酸钠转化为有机硒[11–12], 通过微生物转化产生的有机硒具有多种功能益处, 并且可以提高作物质量, 因此富硒微生物的研究在生物修复和有机硒产品制备领域有着巨大的应用前景[2,13]。

黏质沙雷菌(*Serratia marcescens*)是一种普遍存在于环境中的革兰氏阴性、兼性厌氧的杆状细菌, 属于肠杆菌科, 广泛分布于水、土壤、空气和不同动植物宿主中[14–15]。同时黏质沙雷菌也是人体肠道正常菌群之一, 具有强大的环境生存力和适应能力, 是一种广为人知的植物内生菌, 能与植物互利共生, 帮助植物抵御外界环境和病虫害的侵害, 具有良好的生物防治能力[16–17], 并且有研究表明它能够通过次级代谢生成具有抗菌、抗肿瘤、免疫抑制等生物活性的灵菌红素, 在医疗、环境、新能源等领域具有广泛的应用价值[18–19]。因此, 富硒与黏质沙雷菌的联合对环境保护和绿色农业可持续发展具有重要意义。但目前关于富硒黏质沙雷菌的资源发掘相对缺乏。恩施地区拥有全球罕见的独立硒矿床。鱼塘坝正处于这个富硒地质带上, 其土壤、岩石和水体中的硒含量远高于普通地区。这为依赖硒或能够转化硒的微生物(即富硒菌)提供了天然的、高强度的"选择压力"。本研究对从湖北省恩施州土壤中分离出的强富硒黏质沙雷菌 HBQT 进行全基因组测序, 并对其抑菌能力和促进植物生长能力进行评价, 同时通过富硒前后生物膜形成能力、药敏特性的变化评估拮抗亚硒酸盐过程中抗氧化能力的变化, 旨在为挖掘富硒专用微生物肥料提供菌种资源, 同时为开发富硒微生物资源市场分析方法、研究微生物的硒生物合成途径提供参考数据, 并为富硒食品的开发与品质提升提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

黏质沙雷菌 HBQT (CCTCC NO: M 20242298)菌种由湖北省食品质量安全监督检验研究院分离自湖北省恩施州鱼塘坝。

LB 肉汤培养基、LB 肉汤琼脂[生工生物工程(上海)股份有限公司]; 亚硒酸钠五水合物(分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); PALCAM 培养基(北京陆桥技术股份有限公司); Baird-Parker 琼脂(青岛海博生物技术有限公司); FastPure Bacteria DNA Isolation Mini Kit(南京诺唯赞生物科技股份有限公司); 细菌总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)检测试剂盒(上海博尔森生物科技有限公司); 结晶紫(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

ZQTY-70F 台式全温振荡培养箱(上海知楚仪器有限公司); VITEK® 2 COMPACT 全自动细菌鉴定及药敏分析系统(法国生物梅里埃公司); UH5300 紫外分光光度计(日本日立公司); PromethION 纳米孔三代测序仪(英国 Oxford 仪器公司); MULTISKAN GO 全波长酶标仪(美国赛默飞世尔科技公司); 8800 电感耦合等离子体质谱仪、1260 液相色谱仪(美国 Aglient 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 亚硒酸钠转化率检测

将黏质沙雷菌 HBQT 于 LB 肉汤中活化, 按 1%接种量接种至含 3 mmol/L 亚硒酸钠的 LB 肉汤后 36 ℃、160 r/min 培养 48 h, 12000 r/min 离心 10 min 后取上清, 经 0.22 μm 水系滤膜处理后, 以未接种的含亚硒酸钠 LB 培养基为对照, 设置 3 平行 3 重复, 用液相色谱-电感耦合等离子体质谱法(liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry, LC-ICP-MS)对亚硒酸根离子的浓度进行测量, 计算得到亚硒酸钠转化率。

1.3.2 细菌基因组 DNA 的提取

采用 FastPure Bacteria DNA Isolation Mini Kit 提取黏质沙雷菌 HBQT 基因组 DNA, 对 DNA 样品的 $OD_{260/280}$ 进行测定, 满足 $OD_{260/280}$ 在 1.8~2.0 之间后用于下一步全基因组测序。

1.3.3 全基因组测序

细菌全基因组 3 代测序由武汉臻阅生物有限公司完成。细菌基因组构建文库后经 PromethION 纳米孔三代测序仪测序。Cannu 组装软件(version 1.8)对 reads 进行校正并修剪可疑区域, 最终组装成高质量的基因组序列。

1.3.4 生物信息分析

采用 Glimmer (v3.02)分析微生物 DNA 的编码基因, 并利用 antiSMASH 程序(version 5.2.0)对基因组进行预测分析次级代谢基因簇, 进行基因组结构注释, 同时使用 diamond (v2.0.9.147)软件将预测基因的蛋白序列与非冗余蛋白质(non-redundant protein, NR)序列数据库、京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库、基因本体论(gene ontology, GO)数据库等数据库比对, 进行基本功能数据库注释。最后整合特定功能注释模块, 进行包含耐药基因数据库注释、碳水化合物相关酶数据库注释、病原与宿主互作(pathogen and host interaction, PHI)数据库注释、致病菌毒力因子数据库注释、膜转运蛋白分类数据库注释的数据整合。将各种信息综合, 全面展示基因组特征, 完成基因组圈图。

1.3.5 转录组数据分析

将黏质沙雷菌 HBQT 接种于 LB 固体培养基, 36 ℃培养 24 h 活化后, 挑选单菌落, 分别于含或不含 3 mmol/L 亚硒酸钠 LB 培养基中培养的黏质沙雷菌 HBQT, 培养至对数生长期后收集菌体, 进行转录组测序。转录组测序和数据分析由武汉 Generead 科技有限公司进行。为保证数据的可靠性, 每个样本设计了 3 个生物重复。

1.3.6 细菌药敏试验

将黏质沙雷菌 HBQT 接种于 LB 固体培养基, 36 ℃培养 24 h 活化后, 挑选单菌落, 分别于含或不含亚硒酸钠(3 mmol/L)的 LB 平板上三区划线后置于培养箱 36 ℃培养 24 h, 将平板上的菌株悬浮于 0.45%的生理盐水中, 利用麦氏比浊仪制成浊度为 0.5 左右的菌悬液, 填充于 VITEK 2 AST-N335 革兰阴性细菌药敏卡片密封后, 装载至 VITEK® 2 系统中孵育 24 h, 得到细菌每种抗菌剂的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)值[20]。

1.3.7 生物膜形成测定试验

吸取活化的黏质沙雷菌 HBQT 菌悬液(初始菌悬液 OD_{600} 为 0.40)于含 3 mmol/L 亚硒酸钠的 LB 肉汤中, 并以不含硒盐的 LB 肉汤作为对照, 设置 3 平行 3 重复, 混匀后吸取 2 mL 置于 12 孔培养板中, 36 ℃静置培养 24 h。用移液枪移除生物膜上剩余的培养基, 用无菌水清洗细胞培养板中的未成膜细菌和剩余的 LB 培养液, 注意不要将成型的生物膜吹散, 共清洗 2 次, 每孔加入 2 mL 的甲醇固定 15 min, 吸取甲醇上清后于通风处晾干。每孔添加质量分数为 0.1%的结晶紫染色液染色 30 min。注意避光。用 50%甲醇清洗 1 次, 去除多余的结晶紫染色液, 而后用无菌水洗涤 2 次, 最后于 36 ℃培养箱中自然烘干 30 min, 制得生物膜染色样本。每孔添加 2mL 质量分数为 33%的冰乙酸溶液, 振荡充分溶解 20 min, 吸取 200 μL 样本置于 96 孔细胞培养板中, 与对照组对比观察颜色差异程度, 生物膜染色后的 OD 值检测用酶标仪于 570 nm 波长下进行[21]。

1.3.8 细菌总抗氧化力测定试验

吸取活化的黏质沙雷菌 HBQT 菌悬液(初始菌悬液 OD_{600} 为 0.40)于含 3 mmol/L 亚硒酸钠的 LB 肉汤中, 并以不含硒盐的 LB 肉汤作为对照, 每组设置 3 平行, 36 ℃、160 r/min 培养 24 h, 分别取 20 mL 菌液 12000 r/min 离心 10 min 后弃上清, 于细胞超声破碎仪中 300 W 条件下破碎 10 min, 12000 r/min 离心 10 min 后取上清, 使用博尔森细菌 T-AOC 检测试剂盒检测细菌 T-AOC。

1.3.9 细菌抑制试验

将黏质沙雷菌 HBQT 和目标抑制菌株(金黄色葡萄球菌和单核增生李斯特氏菌)LB 肉汤中活化, 按 1%接种量接种后 36 ℃、160 r/min 培养至对数生长期(OD_{600} 约为 0.4)后, 分别以黏质沙雷菌 HBQT 与目标抑制菌株 1:1 的比例接种于的 LB 肉汤中, 并单独接种目标抑制菌株为对照, 每组设置 3 平行, 36 ℃、160 r/min 培养 24 h, 稀释适宜梯度涂布于目标抑制菌株选择性分离固体培养基, 计算得到抑菌率 Y 计算如公式(1):

$$Y/\%=\frac{Nc-Ns}{Nc}\times 100\% \quad (1)$$

式中: Y 为抑菌率, %; Nc 为对照组的平均菌落数, CFU/mL; Ns 为实验组的平均菌落数, CFU/mL。

1.3.10　豆芽生长实验

黏质沙雷菌 HBQT 于 LB 肉汤中活化后配制成浓度为 1×10^6 CFU/mL 的种子液，以 1%的接种量接种于 LB 肉汤中，36 ℃、160 r/min 条件下培养发酵 72 h，得到该菌株的微生物菌剂。取上述微生物菌剂稀释 100 倍后进行喷洒施用，以喷洒清水的绿豆芽为对照组，每组重复 6 次，在绿豆生芽生长期间隔天喷洒，于 20 ℃条件下连续进行 14 d，测量绿豆芽长度以判断绿豆芽的生长情况。

1.4　数据处理

数据分析采用 Graphpad 9.5.0 的 *T* 检验对测试数据进行统计分析，实验设置至少 3 平行，根据数据分析结果得出相关结论。制表软件为 WPS Office 12.1.0.24034，绘图工具为 bioRender (https://www.biorender.com)。

2　结果与分析

2.1　黏质沙雷菌 HBQT 的亚硒酸盐转化率的测定

利用 LC-ICP-MS 对比培养 48 h 后的黏质沙雷氏菌 HBQT 的 LB 肉汤中和未接种的 LB 肉汤中亚硒酸离子的含量，根据与对照相比，培养 48 h 后黏质沙雷氏菌 HBQT 培养液中亚硒酸离子含量差值计算得到亚硒酸钠转化率，结果如表 1 所示，黏质沙雷菌 HBQT 在接种至含亚硒酸钠的 LB 肉汤中培养 48 h 后，成功转化了其中 99%以上的亚硒酸离子，表明黏质沙雷菌 HBQT 的强亚硒酸盐转化能力。

2.2　黏质沙雷菌 HBQT 的全基因组测序结果

对黏质沙雷菌 HBQT 三代测序结果进行分析，组装结果表明黏质沙雷菌 HBQT 基因组包括一条染色体和一条环状质粒，序列长度分别为 5117438 bp 和 170444 bp，总体鸟嘌呤和胞嘧啶(guanine and cytosine, GC)含量为 59.51%，包含 4995 个编码序列，其中包括 94 个转运 RNA(transfer RNA, tRNA)，22 个核糖体 RNA (ribosome RNA, rRNA)和 233 个其余 RNA。汇总黏质沙雷菌 HBQT 基因在正、反义链上的分布情况、基因的直系同源蛋白簇功能分类情况、GC 含量、GC 偏差、tRNA/rRNA 等信息情况，绘制黏质沙雷菌 HBQT 的染色体和质粒的基因组圈图，如图 1 所示。

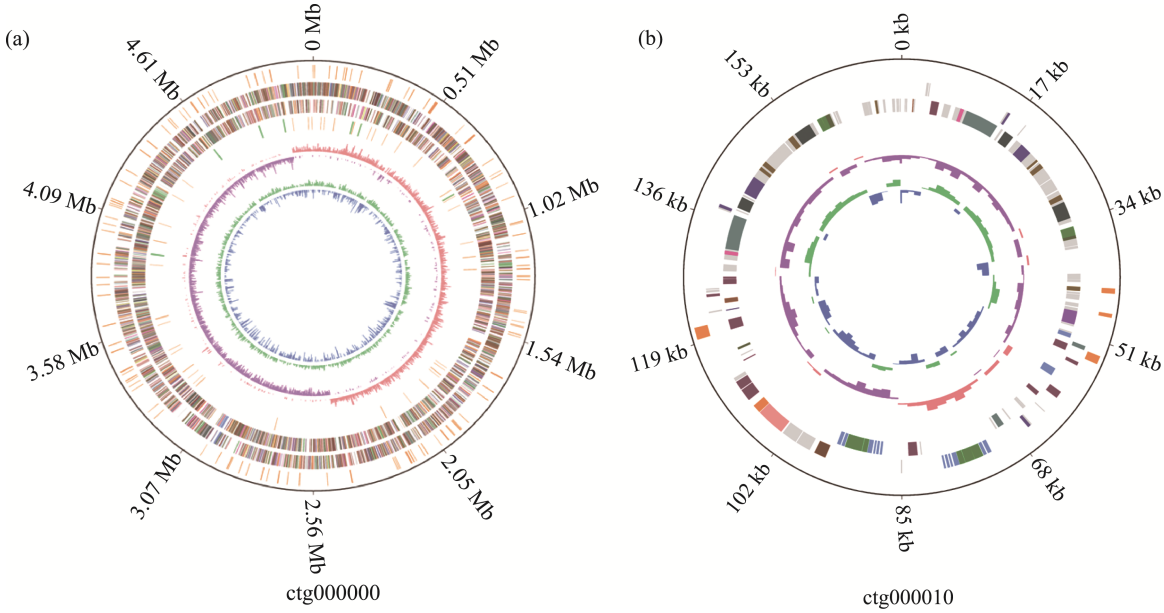
表 1　亚硒酸离子含量测定结果汇总

Table 1　Summary of selenite ion content measurement results

名称	质量浓度/(μg/L)	名称	质量浓度/(μg/L)
对照 1-1	348966.01	HBQT 1-1	27.74
对照 1-2	350956.80	HBQT 1-2	32.33
对照 1-3	347171.50	HBQT 1-3	33.33
对照 2-1	341830.02	HBQT 2-1	35.06
对照 2-2	344655.82	HBQT 2-2	17.16
对照 2-3	349305.85	HBQT 2-3	20.81
对照 3-1	348127.08	HBQT 3-1	13.04
对照 3-2	349162.28	HBQT 3-2	12.37
对照 3-3	346731.84	HBQT 3-3	16.85

2.3　黏质沙雷菌 HBQT 的生物信息分析

分析黏质沙雷菌 HBQT 基因组数据，通过对全基因组数据进行 GO 注释和数据库比对，对黏质沙雷菌 HBQT 基因组的特征有更全面、更直观的认识。次级代谢产物是微生物在一定的生长时期，以初级代谢产物为前体合成的对微生物的生命活动无明确功能，并非生长繁殖所必需的物质[22]。黏质沙雷菌 HBQT 的次级代谢基因簇分析挖掘并解析了细菌产生次级代谢产物的遗传基础，如表 2 所示，其中高丝氨酸



注：(a)染色体的基因组圈图；(b)质粒的基因组圈图。

图 1　黏质沙雷菌 HBQT 的基因组圈图

Fig.1　Genome circle diagram of *Serratia marcescens* HBQT

表 2 黏质沙雷菌 HBQT 次级代谢基因簇分析结果

Table 2 Analysis results of secondary metabolism gene clusters of *Serratia marcescens* HBQT

区域	类型	描述	位置
区域 1.1	hserlactone	高丝氨酸内酯	1~11139
区域 1.2	NRPS	非核糖体肽合成酶	235038~293816
区域 1.3	betalactone	含有 *β*-内酯的蛋白酶抑制剂	691041~716709
区域 1.4	NRPS, T1PKS	非核糖体肽合成酶, I 型聚酮合成酶	1097702~1153068
区域 1.5	thiopeptide	硫肽类抗生素	1692139~1718581
区域 1.6	RRE-containing	含 RNA 和输出因子结合蛋白(RNA and export factor binding proteins, RRE)元素的簇	2376310~2396588
区域 1.7	T1PKS, NRPS	I 型聚酮合成酶, 非核糖体肽合成酶	2421368~2489967
区域 1.8	NRPS	非核糖体肽合成酶	3109300~3185850

内脂基因簇和硫肽类(抗生素基因簇都整合有硫元素，依赖硫载体蛋白进行硫插入，表明黏质沙雷菌在硫利用方面具有高度发达的代谢网络。通过与病原与宿主互作(PHI)数据库比对分析黏质沙雷菌 HBQT 与宿主(植物、动物、人类)相互作用相关基因、蛋白质和代谢通路的生物信息学资源如图 2 所示。为后期黏质沙雷菌 HBQT 的生物应用、产品开发提供理论基础。细菌膜转运蛋白数据库的注释对于理解细菌的生理功能、环境适应性、致病机制及药物开发具有重要意义。如图 3 所示，结果表明黏质沙雷菌 HBQT 的膜转运蛋白以主要主动转运蛋白和电化学电位驱动的转运体为主，这说明黏质沙雷菌 HBQT 有着极强的环境营养获取能力和细胞稳态维持能力。研究表明微生物体内亚硒酸盐的还原途径高度依赖硫代谢相关的酶与还原力，硫与硒为同族元素，化学性质相似，会导致代谢中的替代与竞争[4,23]。同时其膜转运蛋白在主要主动转运蛋白和电化学电位驱动转运体的高占有率也能够印证黏质沙雷菌 HBQT 在细胞体内合成硒纳米颗粒并转运出体外的高效率。这为黏质沙雷菌 HBQT 的强硒转化能力及相关机制研究提供基因组数据基础。

2.4 黏质沙雷菌 HBQT 的细菌抑制能力

以常见致病菌金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)和单核增生李斯特氏菌(ATCC 19115)为目标抑制菌株，检测黏质沙雷菌 HBQT 对两种致病菌的抑制能力。如图 4 所示，与黏质沙雷菌 HBQT 共培养的金黄色葡萄球菌和单核增生李斯特氏菌的数量明显低于未经处理的空白组，说明黏质沙雷菌 HBQT 具有抑制金黄色葡萄球菌和单核增生李斯特氏菌生长的能力相。其中对金黄色葡萄球菌的抑制率为 75%，对单核增生李斯特氏菌的抑制率高达 95%，展示了其在生物生态位争斗中强大的竞争力。同时对基因组数据进行分析表明黏质沙雷菌 HBQT 存在 VI 型分泌系统(T6SS), T6SS 类似于一个“分子纳米枪”，是许多革兰氏阴性菌用来向其他细菌或真核宿主细胞注射毒性效应物的装置，能够向竞争细菌注射多种毒素，导致目标细胞膜破裂、细菌胞壁降解或代谢中断而死亡，其中黏质沙雷菌 HBQT 的 TssB 和 TssC 共同构成了 T6SS 的收缩鞘, TssG 和 TssF 是基底膜复合物的关键组成部分，TssK 则是基底膜复合物的“连接器”，将系统的不同部分紧密地结合在一起[24–25]，其具体的组装图如图 4 所示。

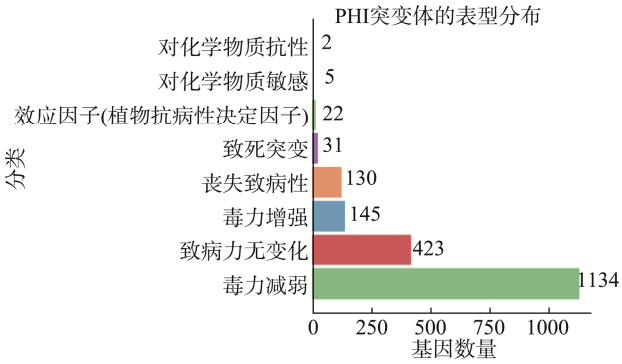


图 2 黏质沙雷菌 HBQT 病原与宿主互作数据库注释结果

Fig.2 Annotation results of the pathogen-host interaction database of the *Serratia marcescens* HBQT

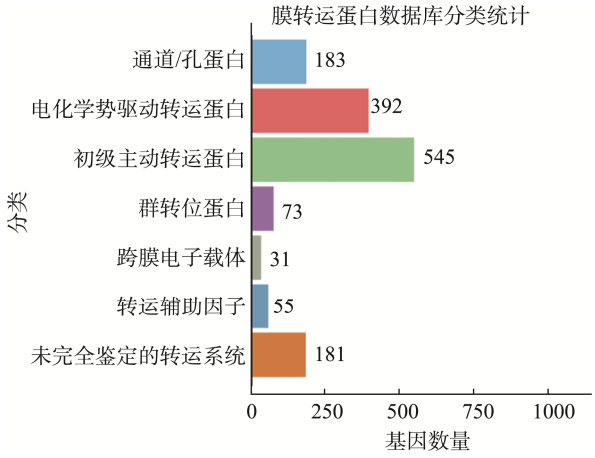


图 3 黏质沙雷菌 HBQT 细菌膜转运蛋白数据库注释结果

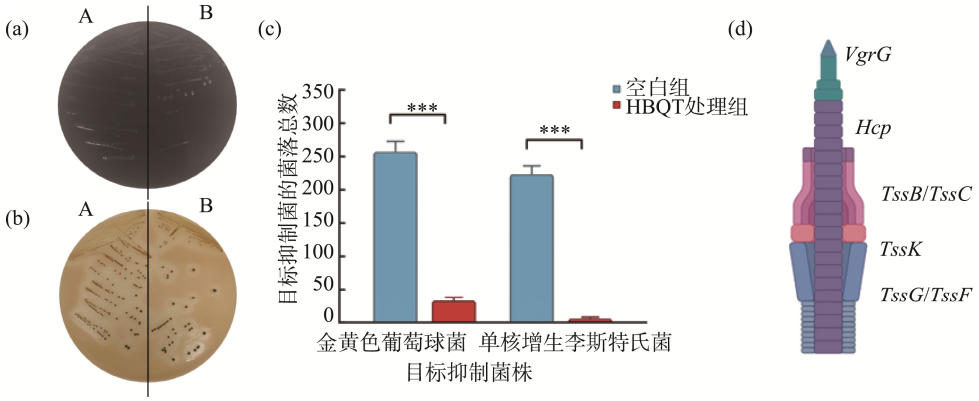
Fig.3 Annotation results of the bacterial membrane transporter protein database of the *Serratia marcescens* HBQT

2.5　黏质沙雷菌 HBQT 的促进豆芽生长能力

以绿豆芽为模式生物，以绿豆芽长度为生长指标，对绿豆芽进行喷洒处理，对比空白对照组观察黏质沙雷菌 HBQT 对植物生长的影响。如图 5 所示，其中 5(a)为黏质沙雷菌 HBQT 处理组的绿豆芽，5(b)为空白组，未经处理的空白组绿豆芽平均长度为 12.70 cm，而经黏质沙雷菌 HBQT 处理的实验组平均长度为 22.37 cm，分析结果表明黏质沙雷菌 HBQT 对绿豆芽的生长极显著的促进作用。结合 2.4 的结果，两者展示了黏质沙雷菌 HBQT 作为微生物菌剂在生物防治和植物促生方面的应用潜力。

2.6　黏质沙雷菌 HBQT 亚硒酸盐胁迫后的药敏变化

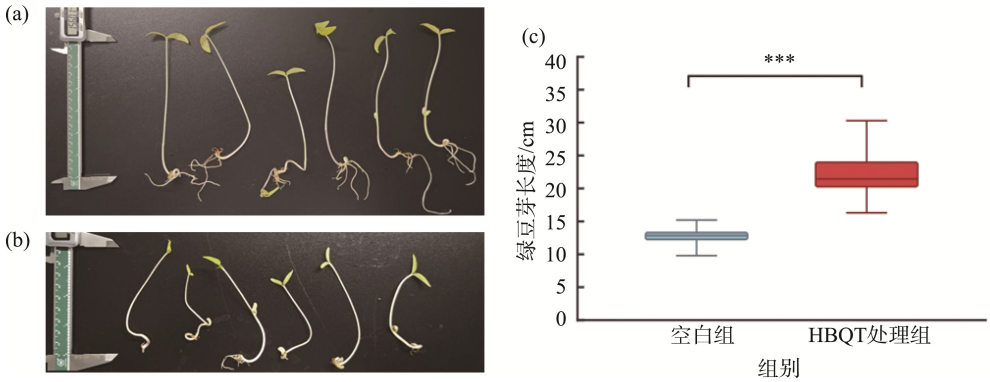
利用 VITEK® 2 COMPACT 对高浓度亚硒酸钠处理前后的药物敏感情况进行检测，得到抗菌剂头孢他啶、头孢吡肟、安曲南、美罗培南、阿米卡星、妥布霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、强力霉素、米诺环素、替加环素、复方新诺明的 MIC，值得注意的是如表 3 和表 4 所示，经亚硒酸盐处理后黏质沙雷菌 HBQT 对头孢他啶的敏感程度发生了明显变化，MIC 由 0.25 变为了大于等于 64.00，由敏感变为耐药。说明亚硒酸盐的胁迫迫使黏质沙雷菌 HBQT 的耐药表型发生变化，提升了黏质沙雷菌 HBQT 对头孢他啶的耐受性。如图 6 所示，分



注：(a)和(b)黏质沙雷菌 HBQT 处理前后单核增生李斯特氏菌、金黄色葡萄球菌在选择性培养基的生长情况，A 为未经处理的空白组；B 为黏质沙雷菌 HBQT 处理组；(c)黏质沙雷菌 HBQT 处理前后目标稀释 10^8 后的菌落数量，与空白组比较，***表示具有极显著差异，P<0.001，下同；(d)黏质沙雷菌 HBQT VI 型分泌系统组装图。

图 4　黏质沙雷菌 HBQT 细菌抑制结果图及 VI 型分泌系统组装图

Fig.4　Inhibition result diagram of the *Serratia marcescens* HBQT bacteria and the assembly diagram of the type VI secretion system



注：(a)黏质沙雷菌 HBQT 喷洒处理的绿豆芽生长图；(b)未经处理的空白组绿豆芽生长图；(c)对比分析黏质沙雷菌 HBQT 喷洒处理前后实验组对照组的绿豆芽长度。

图 5　黏质沙雷菌 HBQT 的绿豆芽生长实验结果图

Fig.5　Growth experiment result graph of *Serratia marcescens* HBQT on bean sprouts

表 3　黏质沙雷菌 HBQT 的药敏分析结果

Table 3　Drug sensitivity analysis results of *Serratia marcescens* HBQT

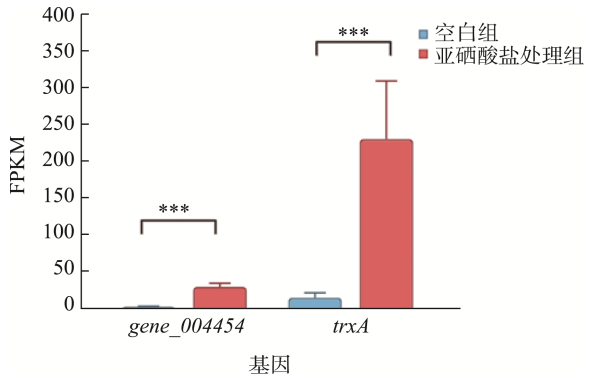
抗生素	MIC/(mg/L)	结论	抗生素	MIC/(mg/L)	结论
头孢他啶	0.25	敏感	妥布霉素	8.00	中介
头孢吡肟	≤0.12	敏感	环丙沙星	≤0.25	敏感
安曲南	≤1.00	敏感	左氧氟沙星	≤0.12	敏感
美罗培南	≤0.25	敏感	强力霉素	4.00	敏感
阿米卡星	8.00	敏感	米诺环素	4.00	敏感
复方新诺明	≤20.00	敏感	替加环素	1.00	敏感

表 4 经亚硒酸盐处理的黏质沙雷菌 HBQT 的药敏分析结果

Table 4 Drug sensitivity analysis results of *Serratia marcescens* HBQT after selenite treatment

抗生素	MIC/(mg/L)	结论	抗生素	MIC/(mg/L)	结论
头孢他啶	≥64.00	耐药	妥布霉素	8.00	中介
头孢吡肟	≤0.12	敏感	环丙沙星	≤0.25	敏感
安曲南	≤1.00	敏感	左氧氟沙星	≤0.12	敏感
美罗培南	4.00	敏感	强力霉素	4.00	敏感
阿米卡星	8.00	敏感	米诺环素	8.00	中介
复方新诺明	≤20.00	敏感	替加环素	2.00	敏感

析转录组数据发现，AcrZ 家族多药外排泵相关蛋白编码基因 *gene_004454* 在转录水平上均极显著上调，说明亚硒酸盐的胁迫极有可能激活 AcrZ 家族多药外排泵，以增强对头孢他啶的耐受能力。



注: FPKM 为每百万个比对片段中每千碱基转录本上的片段数。

图 6 黏质沙雷菌 HBQT 亚硒酸盐处理前后转录水平对比

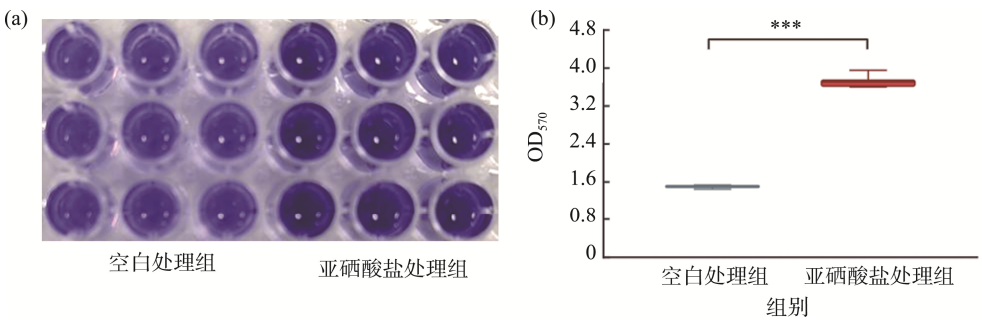
Fig.6 Comparison of transcriptional levels of *Serratia marcescens* HBQT before and after selenite treatment

2.7 黏质沙雷菌 HBQT 亚硒酸盐胁迫后的生物膜形成变化

细菌生物膜是由微生物群体及其分泌的胞外聚合物构成的复杂结构，细菌的抗氧化机制直接参与生物膜的维持[26]。由 2.2 分析可知黏质沙雷菌 HBQT 能高效利用硫源且具有高丰度的原发性主动转运蛋白，而硫源和原发性主动转运蛋白与生物膜的形成、维持及功能中发挥核心作用[27–28]，可以推测黏质沙雷菌 HBQT 在面对亚硒酸盐胁迫的情况下生物膜表型会发生明显变化。经实验验证，结果如图 7 所示，经亚硒酸钠处理的黏质沙雷菌 HBQT 的生物膜形成能力极显著高于未经亚硒酸盐处理的对照组 (P<0.001)，说明经亚硒酸钠胁迫后黏质沙雷菌 HBQT 的生物膜形成能力得到加强，可以推测在经亚硒酸盐处理后，黏质沙雷菌 HBQT 可能在氧化应激的环境下调控自身硫代谢和原发性主动运输蛋白相关基因，增强其形成生物膜的能力，保护内部细菌受损伤。

2.8 黏质沙雷菌 HBQT 亚硒酸盐胁迫后的总抗氧化力变化

细菌生物膜的形成与细菌抗氧化能力息息相关[26]，细菌的总抗氧化力的测量是评估细菌细胞对抗氧化应激能力的重要方法，用于研究细菌的抗氧化防御机制[29–30]。基于 2,2’- 联氮 - 双 (3- 乙基苯并噻唑啉 -6- 磺酸) [2,2’-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS] 阳离子自由基清除能力的总抗氧化能力测定法，利用细菌 T-AOC 测定试剂盒，对比 3 mmol/L 亚硒酸钠处理前后黏质沙雷氏菌 HBQT 的总氧化力变化，结果如图 8 所示，黏质沙雷菌 HBQT 在接种至含亚硒酸钠的 LB 肉汤中培养 24 h 后，其 T-AOC 显著高于未经亚硒酸钠处理的对照组，验证了黏质沙雷菌 HBQT 在亚硒酸盐的环境下抗氧化能力的增强。结合转录组数据分析，如图 6 所示，经亚硒酸盐处理后，编码硫氧还原系统的 *trxA* 基因表达上调，硫氧还蛋白是一类小分子还原蛋白，参与 DNA 合成、作为电子供体用于还原核糖核苷酸，并修复被氧化的蛋白质。硫氧还蛋白还原酶负责使其再生，这个系统是抗氧化防御的核心，从而进一步佐证了黏质沙雷菌 HBQT 在亚硒酸盐的胁迫下会激发抗氧化防御，提高抗氧化能力。



注: (a)亚硒酸盐处理前后黏质沙雷菌的生物膜结晶紫染色对比图; (b)对比分析亚硒酸盐处理前后的生物膜含量变化。

图 7 黏质沙雷菌 HBQT 亚硒酸盐处理前后生物膜含量对比图

Fig.7 Comparison of biofilm content of *Serratia marcescens* HBQT before and after selenite treatment

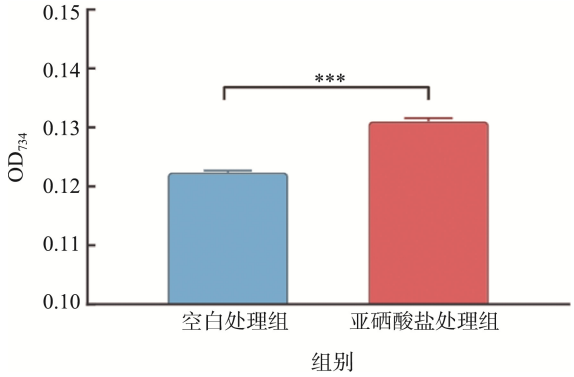


图 8　黏质沙雷菌 HBQT 亚硒酸盐处理前后 T-AOC 对比
Fig.8　Comparison of T-AOC of *Serratia marcescens* HBQT before and after selenite treatment

3　讨论与结论

本研究对分离自恩施富硒区土壤的黏质沙雷菌 HBQT 进行了系统研究。结果表明, 该菌株具有极强的亚硒酸盐转化能力, 48 h 内对 3 mmol/L 亚硒酸钠的转化率超过 99%, 展现了其在硒污染修复和有机硒生产方面的巨大潜力。全基因组分析发现 HBQT 含有丰富的次级代谢基因簇、VI 型分泌系统(T6SS)和高丰度的膜转运蛋白, 这与其强大的环境适应能力密切相关。功能验证实验表明黏质沙雷菌 HBQT 兼具良好的生物防治和植物促生功能。在亚硒酸盐胁迫响应方面, 研究发现 HBQT 表现出复杂的适应性机制。经 3 mmol/L 亚硒酸钠处理后, 菌株对头孢他啶的敏感性由敏感转为耐药, 转录组分析显示 AcrZ 家族多药外排泵相关基因显著上调, 提示这可能是一种主动防御机制。同时, 胁迫处理极显著增强了菌株的生物膜形成能力和总抗氧化力, 硫氧还蛋白系统基因表达上调, 表明其抗氧化防御系统被有效激活。

与已有研究相比[4,11−12,23], 本研究的创新性在于系统揭示了黏质沙雷菌在硒胁迫下药敏性、生物膜形成和抗氧化能力三者间的关联性变化, 并通过多组学数据初步阐明了其分子机制。研究还首次报道了该菌株同时具备高效硒转化、显著抑菌和促生等多重功能特性。

在实际应用方面, 黏质沙雷菌 HBQT 可作为多功能微生物菌剂用于富硒农产品生产、土壤硒污染修复和绿色农业实践。本研究的主要局限在于尚未完全解析硒纳米颗粒的合成途径, 耐药性变化, 生物膜变化的确切机制有待发掘证, 且缺乏田间试验数据。建议后续研究重点包括: 深入阐明硒代谢通路的关键酶及其调控机制; 通过蛋白质组学全面揭示胁迫应答网络; 开展田间试验评估实际应用效果; 探索其在医药或饲料添加剂等领域的应用潜力。

综上所述, 黏质沙雷菌 HBQT 是一株具有重要开发价值的多功能菌株, 其在硒生物转化、生物防治和植物促生方面的优异特性为富硒微生物产品的开发提供了优质资源和理论基础。

参考文献

[1] 苏梦容, 王妍, 阮莲, 等. 富硒营养强化剂的开发利用研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2025, 36(5): 137–147.
SU MR, WANG Y, RUAN L, *et al*. Research progress on the development and utilization of selenium-enriched nutrient fortifiers [J]. China Food Additives, 2025, 36(5): 137–147.

[2] 吴启超, 徐义斌, 邓先德, 等. 微量元素硒的生物学功能及其在家禽生产中的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2025(5): 75–80.
WU QC, XU YB, DENG XD, *et al*. Biological functions of trace element selenium and its research progress in poultry production [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2025(5): 75–80.

[3] 刘奇, 王少康. 硒与人类癌症关系的研究进展[J]. 现代疾病预防控制, 2024, 35(10): 721–725, 731.
LIU Q, WANG SK. Research progress on the relationship between selenium and human cancers [J]. Modern Disease Prevention and Control, 2024, 35(10): 721–725, 731.

[4] HUANG S, WANG Y, TANG C, *et al*. Speeding up selenite bioremediation using the highly selenite-tolerant strain *Providencia rettgeri* HF16-a novel mechanism of selenite reduction based on proteomic analysis [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 406: 124690.

[5] GAO L, LI X, LI Y, *et al*. Biochemical characterization, biosynthesis mechanism, and functional evaluation of selenium-enriched *Aspergillus oryzae* A02 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 275: 133714.

[6] 彭静静, 岳世阳, 卢良华, 等. 天然乳酸乳球菌硒蛋白表达机制及酶活特性[J/OL]. 食品科学, 1–11. [2025-06-09]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20250509.1429.011.html
PENG JJ, YUE SY, LU LH, *et al*. Expression mechanism and enzymatic activity characteristics of selenoproteins in natural *Lactococcus lactis* [J/OL]. Food Science, 1–11. [2025-06-09]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20250509.1429.011.html

[7] Al JB, Al RN, MG EG, *et al*. Selenium nanoparticles synthesized using an eco-friendly method: Dye decolorization from aqueous solutions, cell viability, antioxidant, and antibacterial effectiveness [J]. Journal of Materials Research and Technology, 2021, 11. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.12.098

[8] WANG Z, WANG Y, GOMES RL, *et al*. Selenium (Se) recovery for technological applications from environmental matrices based on biotic and abiotic mechanisms [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 427: 128112.

[9] XIAO D, LI T, HUANG X, *et al*. Advances in the study of selenium-enriched probiotics: From the inorganic Se into Se nanoparticles [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2023, 67: e2300432.

[10] 张琪, 李敬文, 郭嘉欣, 等. 阿维链霉菌细胞上清液生物合成纳米硒的表征及其机制[J/OL]. 生物工程学报, 1–19. [2025-06-09]. https://doi.org/10.13345/j.cjb.250268
ZHANG Q, LI JW, GUO JX, *et al*. Characterization and mechanism of biosynthesized selenium nanoparticles using Streptomyces avermitilis cell supernatant [J/OL]. Chinese Journal of Biotechnology, 1–19. [2025-06-09]. https://doi.org/10.13345/j.cjb.250268

[11] 石践知, 陈栋, 杜梦丹, 等. 多糖纳米硒的制备、特性及其在畜牧业中的应用与展望[J]. 现代畜牧科技, 2025(5): 74–79.
SHI JZ, CHEN D, DU MD, *et al*. Preparation, characteristics and application prospects of polysaccharide-selenium nanoparticles in animal husbandry [J]. Modern Animal Husbandry Science and Technology, 2025(5): 74–79.

[12] KARTHIK KK, CHERIYAN BV. A review on selenium nanoparticles and their biomedical applications [J]. Biomedical Technology, 2024, 6: 204-215.

[13] KHOEI NS, LAMPIS S, ZONARO E, *et al*. Insights into selenite reduction and biogenesis of elemental selenium nanoparticles by two environmental isolates of *Burkholderia fungorum* [J]. Nat Biotechnol, 2017, 34: 1-11.

[14] 金融. 黏质沙雷菌和假单胞菌对稻纵卷叶螟幼虫防治效果研究及杀虫机理初探[D]. 扬州: 扬州大学, 2024.
JIN R. Study on the control efficacy and preliminary investigation of insecticidal mechanism of *Serratia marcescens* and *Pseudomonas* against *Cnaphalocrocis medinalis* larvae [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2024.

[15] TAVARES CF, DE AK, ROJAS BI, *et al*. *Serratia marcescens* antibiotic resistance mechanisms of an opportunistic pathogen: A literature review [J]. PeerJ, 2023, 11: e14399.

[16] 苟芳, 石云椿, 陈灏, 等. 黏质沙雷菌 TF-1 对土壤中氯苯类污染物生物降解及其在场地原位修复中的应用[J/OL]. 生物工程学报, 1–17. [2025-06-09]. https://doi.org/10.13345/j.cjb.241011
GOU F, SHI YC, CHEN H, *et al*. Biodegradation of chlorobenzene pollutants in soil by *Serratia marcescens* TF-1 and its application in in-situ site remediation [J/OL]. Chinese Journal of Biotechnology, 1–17. [2025-06-09]. https://doi.org/10.13345/j.cjb.241011

[17] 朱宇锟, 胡昕然, 纪国茜, 等. 黏质沙雷菌 BRC-CXG2 对松材线虫的防治效果及全基因组分析[J]. 中国森林病虫, 2024, 43(5): 1–10.
ZHU YK, HU XR, JI GX, *et al*. Control efficacy of *Serratia marcescens* BRC-CXG2 against *Bursaphelenchus xylophilus* and its whole genome analysis [J]. Forest Pest and Disease, 2024, 43(5): 1–10.

[18] CLEMENTS T, NDLOVU T, KHAN W. Broad-spectrum antimicrobial activity of secondary metabolites produced by *Serratia marcescens* strains [J]. Microbiological Research, 2019, 229: 126329.

[19] 赵崇飞. 柑橘木虱 Duox-ROS 系统响应黏质沙雷菌侵袭的作用机理研究[D]. 赣州: 赣南师范大学, 2024.
ZHAO CF. Study on the mechanism of Duox-ROS system response to Serratia marcescens infection in *Diaphorina citri* [D]. Ganzhou: Gannan Normal University, 2024.

[20] 张基镕, 黄利美, 付瑶. 3 种体外药敏试验检测鲍曼不动杆菌和肺炎克雷伯菌对替加环素敏感性的评价[J]. 医学理论与实践, 2025, 38(6): 1019–1021, 1072.
ZHANG JR, HUANG LM, FU Y. Evaluation of three *in vitro* antimicrobial susceptibility testing methods for detecting tigecycline susceptibility in *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* [J]. Journal of Medical Theory and Practice, 2025, 38(6): 1019–1021, 1072.

[21] 崔阳, 罗文轩, 赵汝臻, 等. 1 株鸡源奇异变形杆菌的分离、鉴定与生物学特性研究[J/OL]. 中兽医医药杂志, 1–12. [2025-06-09]. https://doi.org/10.13823/j.cnki.jtcvm.2025.032
CUI Y, LUO WX, ZHAO RZ, *et al*. Isolation, identification and biological characteristics of a chicken-derived *Proteus mirabilis* strain [J/OL]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 1–12. [2025-06-09]. https://doi.org/10.13823/j.cnki.jtcvm.2025.032

[22] 李海利, 杨帆, 陈建豪, 等. 类芽孢杆菌对携带新德里金属 β-内酰胺酶 NDM 基因的大肠杆菌的抑菌活性及其抗菌次级代谢产物分析[J/OL]. 中国农业科技导报, 1–13. [2025-06-09]. https://doi.org/10.13304/j.nykjdb.2024.0457
LI HL, YANG F, CHEN JH, *et al*. Antibacterial activity of *Paenibacillus* spp. against New Delhi metallo-*β*-lactamase (NDM)-producing *Escherichia coli* and analysis of its antimicrobial secondary metabolites [J/OL]. Journal of Agricultural Science and Technology, 1–13. [2025-06-09] https://doi.org/10.13304/j.nykjdb.2024.0457

[23] JIA H, HUANG S, CHENG S, *et al*. Novel mechanisms of selenite reduction in *Bacillus subtilis* 168: Confirmation of multiple-pathway mediated remediation based on transcriptome analysis [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 433: 128834.

[24] LIANG X, PEI TT, LI H, *et al*. VgrG-dependent effectors and chaperones modulate the assembly of the type VI secretion system [J]. PLoS Pathogens, 2021, 17(12): e1010116.

[25] LIEBL D, ROBERT CM, JOB V, *et al*. Baseplate component TssK and spatio-temporal assembly of T6SS in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1615.

[26] 王丹丹. 掷孢酵母NGR生物膜特性及抗逆机制研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2024.
WANG DD. Study on biofilm characteristics and stress resistance mechanisms of *Sporidiobolus* NGR [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2024.

[27] 周铁丽, 孙瑶. 细菌生物膜的耐受性、耐药性和治疗策略研究新进展[J]. 浙江医学, 2024, 46(3): 234–239, 256.
ZHOU TL, SUN Y. New advances in research on tolerance, drug resistance and treatment strategies of bacterial biofilms [J]. Zhejiang Medical Journal, 2024, 46(3): 234–239, 256.

[28] 王圣学, 范颖, 王振敏, 等. 硒对动物机体细胞损伤的保护作用研究进展[J]. 养殖与饲料, 2025, 24(5): 10–14.
WANG SX, FAN Y, WANG ZM, *et al*. Research progress on the protective effects of selenium against cellular damage in animals [J]. Animals Breeding and Feed, 2025, 24(5): 10–14.

[29] WANG W, DONG H, CHANG XH, *et al*. Bifidobacterium lactis and lactobacillus plantarum enhance immune function and antioxidant capacity in cats through modulation of the gut microbiota [J]. Antioxidants (Basel), 2024, 13(7): 764.

[30] ZHANG Y, MENG D, WANG ZG, *et al*. Oxidative stress response in two representative bacteria exposed to atrazine [J]. FEMS Microbiology Letters, 2012, 334(2): 95–101.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)