

研究报告

库木塔格沙漠土壤细菌多样性及具有群体感应抑制活性放线菌筛选

柏晓玉^{1,2}, 何子璇^{2,3}, 李雪², 朱静², 顾美英², 唐琦勇², 朱艳蕾^{*1}, 张志东^{*1,2,3}

1 新疆师范大学生命科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830054

2 新疆农业科学院微生物应用研究所 新疆特殊环境微生物实验室, 新疆 乌鲁木齐 830091

3 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830046

柏晓玉, 何子璇, 李雪, 朱静, 顾美英, 唐琦勇, 朱艳蕾, 张志东. 库木塔格沙漠土壤细菌多样性及具有群体感应抑制活性放线菌筛选[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 4770-4783.

BAI Xiaoyu, HE Zixuan, LI Xue, ZHU Jing, GU Meiyong, TANG Qiyong, ZHU Yanlei, ZHANG Zhidong. Bacterial diversity in the soil from Kumutag Desert and screening of actinomycetes with quorum sensing inhibitory activity[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 4770-4783.

摘要: 【背景】群体感应抑制剂(quorum sensing inhibitor, QSI)作为抗生素潜在替代品, 可有效降低致病菌传染性和毒性。沙漠土壤蕴藏着丰富的放线菌资源, 是挖掘群体感应抑制剂的重要来源。【目的】解析库木塔格沙漠土壤细菌群落多样性, 筛选并挖掘群体感应抑制活性放线菌资源。【方法】采用 Illumina NovaSeq 高通量测序技术揭示库木塔格沙漠土壤细菌群落组成, 利用可培养方法进行土壤放线菌分离和鉴定; 选用紫色杆菌 CV026 模型筛选群体感应抑制活性放线菌, 并对其功能特性进行初步评价。【结果】Illumina NovaSeq 高通量测序结果显示, 样品土壤细菌涉及 23 门 96 目 150 属, 优势菌门为变形菌门(*Proteobacteria*, 61%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 28%), 其中分枝杆菌属(*Mycobacterium*)为放线菌门最优势菌属(87.3%), 其次为红球菌属(*Rhodococcus*, 6.8%)和丙酸杆菌属(*Cutibacterium*, 0.9%)。可培养方法共分离到 108 株放线菌, 归属 9 科 10 属, 其中优势菌属为链霉菌属(*Streptomyces*), 占 65.76%。经筛选共得到 13 株具有群体感应抑制活性的放线菌, 包括链霉菌属(*Streptomyces*) 10 株, 拟诺卡氏菌属(*Nocardopsis*)、*Bailinhaonella* 和拟孢囊菌属(*Kibdelosporangium*)各 1 株, 其中 *Streptomyces* sp. D67 表现出较为广谱的抑菌特性。【结论】库木塔格沙漠土壤细菌多样性较为丰富, 并获得多株具有群体感应抑制活性放线菌, 且部分菌株具有较强的抑菌活性, 为后续天然群体感应抑制剂和抗菌剂的开发提供菌种资源, 并为新型

资助项目: 新疆农业科学院科技创新重点培育专项(xjkcpy-2021002); 国家自然科学基金地区科学基金项目(32060004); 新疆维吾尔自治区自然科学基金杰出青年基金(2022D01E19); 新疆天山英才项目(2022TSYCCX0067)

This work was supported by the Key Cultivation Project of Science and Technology Innovation by Xinjiang Academy of Agricultural Sciences (xjkcpy-2021002), the National Natural Science Foundation of China Regional Science Foundation Project (32060004), the Xinjiang Uygur Autonomous Region Natural Science Foundation for Distinguished Young Scholars (2022D01E19), and the Tianshan Talent Training Plan of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2022TSYCCX0067).

*Corresponding authors. E-mail: ZHU Yanlei, zhuyanlei1226@163.com; ZHANG Zhidong, zhangzheedong@sohu.com

Received: 2023-03-11; Accepted: 2023-05-07; Published online: 2023-06-28

生物医药的合成、生物防治等方面提供理论依据。

关键词: 库木塔格沙漠; 细菌多样性; 群体感应抑制活性; 放线菌; 功能特性

Bacterial diversity in the soil from Kumutag Desert and screening of actinomycetes with quorum sensing inhibitory activity

BAI Xiaoyu^{1,2}, HE Zixuan^{2,3}, LI Xue², ZHU Jing², GU Meiyong², TANG Qiyong², ZHU Yanlei^{*1}, ZHANG Zhidong^{*1,2,3}

1 College of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, Xinjiang, China

2 Xinjiang Key Laboratory of Special Environmental Microbiology, Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, Xinjiang, China

3 College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, Xinjiang, China

Abstract: [Background] Quorum sensing inhibitor (QSI), promising alternatives to antibiotics, can reduce the infectivity and virulence of pathogenic bacteria by interrupting quorum sensing pathways. Desert soils contain rich actinomycetes, which are an important source for the mining of QSI. [Objective] To investigate the bacterial diversity in the soil from Kumutag Desert and screen out the actinomycetes with the quorum sensing inhibitory activity. [Methods] Illumina NovaSeq high-throughput sequencing was employed to reveal the composition of bacterial community in the soil of Kumtag Desert, and the culture method to isolate the actinomycetes. The *Chromobacterium violaceum* 026 model was used for the screening of the actinomycetes with quorum sensing inhibitory activity. The functions of the strains screened out were initially evaluated. [Results] The soil samples harbored 150 genera of bacteria belonging to 96 orders of 23 phyla. The dominant phyla were *Proteobacteria* (61%) and *Actinobacteria* (28%). As for *Actinobacteria*, the genus with the highest relative abundance was *Mycobacterium* (87.3%), followed by *Rhodococcus* (6.8%) and *Cutibacterium* (0.9%). A total of 108 isolates were obtained and identified as actinomycetes belonging to 10 genera of nine families, in which the dominant genus was *Streptomyces* (65.76%). Thirteen strains with quorum sensing inhibitory activity were screened out, including 10 strains of *Streptomyces* and each one strain of *Nocardiopsis*, *Bailinhaonella*, and *Kibdelosporangium*. Strain *Streptomyces* sp. D67 exhibited broad-spectrum antimicrobial activities. [Conclusion] The bacteria in the soil of Kumutag Desert have high diversity and contain multiple strains of actinomycetes with quorum sensing inhibitory activity. Several strains with quorum sensing inhibitory activity demonstrate strong antimicrobial activity, which provide strain resources for the subsequent development of natural QSI and antimicrobial agents and lay a theoretical foundation for the development of biopharmaceuticals and biocontrol.

Keywords: Kumutag Desert; bacterial diversity; quorum sensing inhibitory activity; actinomycetes; functions

群体感应抑制剂(quorum sensing inhibitor, QSI)作为一种新型活性物质可通过阻断细菌群体感应通路、降解群体感应信号分子和竞争信号分子受体等方式降低致病菌的生物毒性,并有效抑制致病菌产生耐药性^[1],主要体现在减少病原菌生物膜和毒力因子的产生、降低胞外蛋白酶活性^[2]和运动性等^[3]。因此,挖掘和利用安全、高效的群体感应抑制活性物质已成为病原菌防控新策略。自20世纪40年代Weksman等^[4]从链霉菌代谢产物中发现链霉菌素,放线菌来源的活性物质被相继报道,目前已占微生物来源天然产物的40%以上^[5],其功能包括免疫调节、抗菌、抗肿瘤、杀虫及抗群体感应活性等^[6]。

近年来,国内外从各种特殊环境(如沙漠等)中挖掘出多种具有群体感应抑制活性的放线菌资源^[7-8],表明极端环境蕴藏着丰富的潜在活性菌株,已成为相关研究的热点地区之一。极端干旱环境具有高温、高盐和高辐射等多重恶劣条件,一度被认为是“生命禁区”^[9]。但随着研究的报道,极端干旱区也存在着大量的微生物,部分干旱地区可培养微生物数量甚至能够达到 1.6×10^7 CFU/g,其中,放线菌、变形菌及拟杆菌等为优势种群^[10]。库木塔格沙漠是中国的八大沙漠之一,位于塔里木盆地东侧,自然条件恶劣,风沙弥漫气候干燥,年平均降雨不足50 mm^[11]。据报道,库木塔格沙漠地区存在丰富的细菌多样性,并发现了潜在新菌35株^[12-14],但有关该地区放线菌多样性和群体感应抑制活性菌株筛选鲜有报道。

本研究以库木塔格沙漠地区土壤样品为研究材料,利用Illumina NovaSeq高通量测序技术初步解析细菌群落组成,并利用可培养方法进行放线菌分离培养,进而通过群体感应抑制活性筛选模型,挖掘潜在群体感应抑制活性菌株,并开展相关菌株的功能特性分析,以期为进一步开发和利

用干旱区放线菌资源,加强功能菌株在新型生物医药合成、生物防治等方面的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集及理化性质测定

土壤样本于2021年7月采集于新疆库木塔格沙漠东缘,在直径为20 km的范围内,选择5个相距约5 km的采样点(42°39′–42°50′N, 90°34′–90°39′E),每个采样点设置100 m×100 m均质采样区域,使用五点蛇形采样法收集距地表10–15 cm深度样品各1 kg,将各样品混匀后装入无菌袋内带回实验室,置于4 °C冰箱备用,并开展相关样品DNA提取和菌株分离。

称取一定量土壤样品置于烘干箱中,105 °C烘干8 h,冷却称重测定土壤含水量;使用pH计在质量体积比为1:2.5的水溶液中测定土壤pH值;使用重铬酸盐氧化法测定土壤有机碳含量并估算有机质含量^[15];使用电导率仪测定土壤可溶性盐含量;参照凯氏定氮法检测土壤全氮含量^[16]。

1.2 材料

1.2.1 菌株

紫色杆菌CV026由中国海洋大学海洋生命学院王岩教授惠赠。铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) CMCC (B) 10104、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) CMCC (B) 26003、大肠杆菌(*Escherichia coli*) CMCC (B) 44102、白色念珠菌(*Candida albicans*) CMCC (F) 98001和链格孢菌(*Alternaria alternata*)由新疆微生物资源保藏管理中心提供。

1.2.2 培养基

高氏一号(Gauze's No.1, GA)培养基^[17]、ISP2 (international streptomyces project No.2)培养基^[18]、LB培养基参照文献^[19]配制。蛋白酶检测培养基(g/L): 脱脂牛奶 20.0, 琼脂 12.0, pH 7.2–7.4。淀粉酶检测培养基(g/L): 可溶性淀

粉 10.0, 磷酸二氢钾 0.3, 碳酸镁 1.0, 氯化钠 0.5, 硝酸钾 1.0, 琼脂 12.0, pH 7.2–7.4。纤维素酶检测培养基(g/L): 纤维素粉 4.0, 葡萄糖 10.0, 琼脂 5.0, 无机盐 20.0, pH 自然。

1.2.3 主要试剂和仪器

N-己酰基-L-高丝氨酸内酯标准品(C6-HSL), 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司; MP FastDNA 50 mL Spin Kit for Soil, 安信医疗器械贸易(上海)有限公司; TIANamp Bacteria DNA Kit, 天根生化科技(北京)有限公司。引物委托北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成(表 1)。

恒温培养箱, 上海福玛实验设备有限公司; 振荡培养箱, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; pH 计, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司; 医用离心机, 盐城市凯特实验仪器有限公司; 酶标仪, 伯腾仪器有限公司。

1.3 土壤样品总 DNA 提取及高通量测序

使用 MP FastDNA 50 mL Spin Kit for Soil 提取土壤微生物基因组 DNA, 取 20 份 10 g 土样按照说明书要求提取, 加入 1 mL TES 缓冲液将 DNA 洗脱合并, 并利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度和浓度。PCR 反应体系(30 μ L): Master Mix 15 μ L, 338F、806R 引物(0.2 μ mol/L)各 1 μ L, DNA 模板(10 ng/ μ L) 2 μ L, ddH₂O 补足 30 μ L。PCR 反应条件: 98 °C 1 min; 98 °C 10 s; 50 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 5 min。扩增 16S rRNA 基因高度可变区(V3–V4 区)^[20], 经

纯化后的 PCR 产物送至诺禾致源有限公司 Illumina NovaSeq 高通量平台进行测序。

采用 QIIME v1.9.1^[21]平台处理数据, 并对原始标签进行质量过滤, 获得高质量序列。使用 UCHIME 算法将标签与 Silva 数据库进行比较^[22], 获得有效序列。采用 UPARSE 算法进行聚类^[23], 并以 97% 相似性聚类到操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)中。

1.4 土壤放线菌分离

采用平板稀释涂布法, 取 5 g 土壤样品加至含有 50 mL 无菌水的三角瓶中, 30 °C、150 r/min 振荡 2 h, 静置分层, 取上清液用 0.9%生理盐水稀释 10 倍, 取 100 μ L 稀释液涂布于高氏一号培养基上, 35 °C 培养 7 d 后记录细菌(含放线菌)菌落数, 以每克土壤的 CFU 表示。通过连续划线获得放线菌单菌落, 接种至高氏一号斜面培养基, 4 °C 保存。

1.5 菌株 16S rRNA 基因测序及数据处理

使用 TIANamp Bacteria DNA Kit 提取待测菌株 DNA 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系: Master Mix 15 μ L, 27F、1492R 引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, DNA 模板(10 ng/ μ L) 1 μ L, ddH₂O 补足 30 μ L。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 94 °C 30 s; 54 °C 30 s, 72 °C 1 min, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 扩增产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测后送至北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司进行 16S rRNA 基因测序, 测序后将两端的低质量序列删除。

将所得菌株 16S rRNA 基因序列上传至美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库进行比对, 并选取相似度较高的模式菌株序列利用 MEGA 7 软件构建 neighbor-joining 系统发育树, 初步确定其分类地位。

表 1 引物信息

Table 1 Information of primers

Primers	Sequences (5'→3')	Size (bp)
338F	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	468
806R	GGACTACHVGGGTWTCTAAT	
27F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	1 465
1492R	GGTTACCTGTTCAGACTT	

1.6 群体感应抑制活性放线菌筛选

从新鲜待测放线菌菌株的斜面上刮取表面孢子,接种至含有 50 mL 高氏一号液体培养基中,30 °C、150 r/min 恒温振荡培养 7 d,取培养液 10 000 r/min 常温离心 8 min,上清液用 0.22 μm 无菌滤膜过滤,收集滤液置于-20 °C 保存,备用。

使用紫色杆菌 CV026 模型筛选革兰氏阴性菌群体感应抑制活性放线菌^[24]:挑取紫色杆菌 CV026 单菌落接入 LB 液体培养基中,30 °C、150 r/min 恒温振荡培养 16 h。取 7.5 mL CV026 菌液和 150 μL 100 μmol/mL C6-HSL 加入 300 mL LB 固体培养基(约 45 °C)中,迅速混匀倒板,待培养基凝固后放入外径 8 mm 牛津杯,备用。取 100 μL 上述滤液加入孔中,并以无菌水为对照,30 °C 正置恒温培养 24 h,观察平板变色情况,牛津杯周围有明显抑菌圈,其外围呈现菌体生长且无紫色色素产生判定为阳性,将培养液稀释至亚抑菌浓度,平板显示无抑菌效果仍具有模糊圈,进一步证实为阳性菌株。

使用金黄色葡萄球菌生物膜筛选革兰氏阳性菌群体感应抑制活性放线菌^[25]:挑取金黄色葡萄球菌单菌落接入 LB 液体培养基中,30 °C、150 r/min 恒温振荡培养 16 h。在 96 孔板中加入 158 μL 培养液,分别加入 2 μL 金黄色葡萄球菌和 40 μL 上述滤液,以加入等体积无菌水为对照,培养 24 h 至菌株生长良好形成生物膜,弃菌液,加入 1%结晶紫进行生物膜染色,将其溶解在 200 μL 95%无水乙醇中,测定 OD_{590} 以量化细菌生物膜的形成。基于下述公式计算生物膜抑制率,以抑制率>75%判定为阳性菌株。

生物膜抑制率(%)=

$$\frac{OD_{590}(\text{对照}) - OD_{590}(\text{处理})}{OD_{590}(\text{对照}) - OD_{590}(\text{空白})} \times 100。$$

1.7 抑菌活性检测

将铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、白色念珠菌和链格孢菌接入 50 mL LB 液体培养基中,在 30 °C、150 r/min 培养 12 h,取 7.5 mL 培养液加入 300 mL 约 45 °C 的 LB 固体培养基中,迅速混匀倒板,待培养基凝固后放入外径 8 mm 牛津杯,备用。取 100 μL 待测菌株发酵滤液加入牛津杯中,30 °C 培养 12 h,观察孔周围是否产生透明圈,若有透明圈则视为抑菌活性菌株。

1.8 抗逆性及产酶特性检测

在 ISP2 培养基平板上观察待测菌株在不同温度(45 °C 和 55 °C)、不同盐浓度(5%、10%、12%和 15%) (质量体积分数)和不同 pH 值(5.0、9.0、11.0 和 12.0)条件下的菌株生长情况。

将蛋白酶检测培养基制成平板,待其凝固后在上方放置 8 mm 牛津杯,加入筛选菌株发酵液,30 °C 培养 24 h,观察是否产生透明圈,若有透明圈则视为蛋白酶阳性菌;将待测菌株在淀粉酶检测培养基上划线,30 °C 培养 4-7 d,滴加 1% 的碘液,观察菌落周围变色情况,若无蓝色则视为淀粉酶阳性菌;将待测菌株在纤维素酶检测平板上划线,待菌株生长后,滴加刚果红染液染色 2 h,弃染液后用 1 mol/L NaCl 溶液洗涤,观察是否出现透明圈,若有透明圈则视为纤维素酶阳性菌。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质及微生物数量分布

来自库木塔格 5 个地点的样品理化性质如表 2 所示,所有样品均呈弱碱性(pH 8.26-8.78),水溶性盐最高可达 263.5 g/kg,有机质、氮含量极低,土壤含水量在 0.06%-0.41%之间,总体上表现出极端干旱、高盐度和低养分的特征。此外,土壤样品呈现极低的微生物含量(表 3),其中 K5 微生物含量最低,仅为 2.57×10^3 CFU/g, K3 微生物含量最高,为 9.41×10^3 CFU/g,而且各样品中放线菌占绝对优势(73%-83%)。

表 2 库木塔格土壤样品理化性质

Table 2 Physicochemical properties of soil samples from Kumutag Desert

Sample No.	Soil moisture (%)	pH	Organic matter (g/kg)	Soluble salt (g/kg)	Total nitrogen (g/kg)
K1	0.20	8.78	4.2	263.5	0.20
K2	0.16	8.64	1.4	170.6	0.07
K3	0.26	8.39	4.5	62.6	0.00
K4	0.41	8.60	3.4	71.7	0.01
K5	0.06	8.26	3.2	0.0	0.09

表 3 库木塔格沙漠微生物丰度表

Table 3 Table of microbial abundance in Kumutag Desert

Sample No.	Total bacteria count (CFU/g)	Actinobacteria count (CFU/g)	Actinobacteria ratio (%)
K1	6.62×10^3	5.03×10^3	76
K2	7.20×10^3	5.98×10^3	83
K3	9.41×10^3	7.34×10^3	78
K4	5.56×10^3	4.39×10^3	79
K5	2.57×10^3	1.88×10^3	73

2.2 细菌群落组成及放线菌多样性

高通量测序共获得各样品原始序列为 84 069–99 681 条, 其中有效序列数目为 63 855–67 768 条。样品中共涉及 OTU 数目为 3 024 个, 其中样品 K4 的 OTU 数目(1 968)最高; 样品 K1 的 OTU 数目(1 155)最低(表 4)。

将所有样品细菌 OTU 进行聚类分析共得到 23 门 96 目 150 属(图 1), 其中变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、螺旋菌门(*Spirochaetota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)和芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)为所有样品中的优势菌群, 占总细菌门 95%。其中, 变形菌门(*Proteobacteria*)占比最高, 达 60%; 其次为放线菌门(*Actinobacteria*), 占 28%; 其余菌门相对丰度均未超过 5%。

对放线菌门细菌进行属水平多样性分析(图 2)共检测出 39 个属。主要优势属为分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、红球菌属(*Rhodococcus*)、丙酸杆菌属(*Cutibacterium*)、考克氏菌属(*Kocuria*)、

表 4 样品高通量测序统计表

Table 4 Data statistics of sequences in samples by high-throughput sequencing

Sample No.	Raw PE	Combined	Effective tags	Number of OTUs
K1	84 069	79 890	63 855	1 155
K2	92 080	87 768	66 193	1 413
K3	97 510	93 631	67 768	1 584
K4	99 681	95 478	66 900	1 968
K5	89 124	84 244	65 203	1 247
Total	462 464	441 011	329 919	3 024

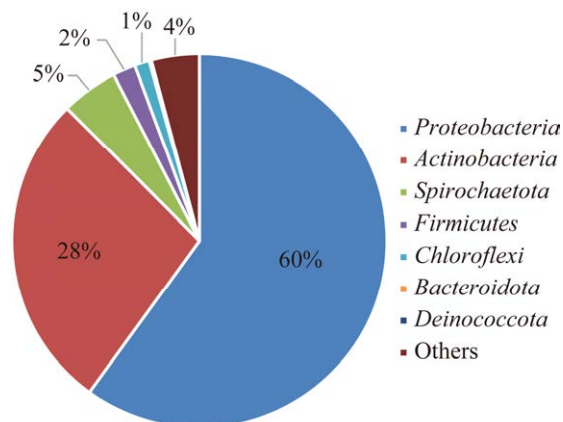


图 1 样品中各主要细菌门组成占比

Figure 1 Percentage relative abundance of the phyla in bacterial communities from samples.

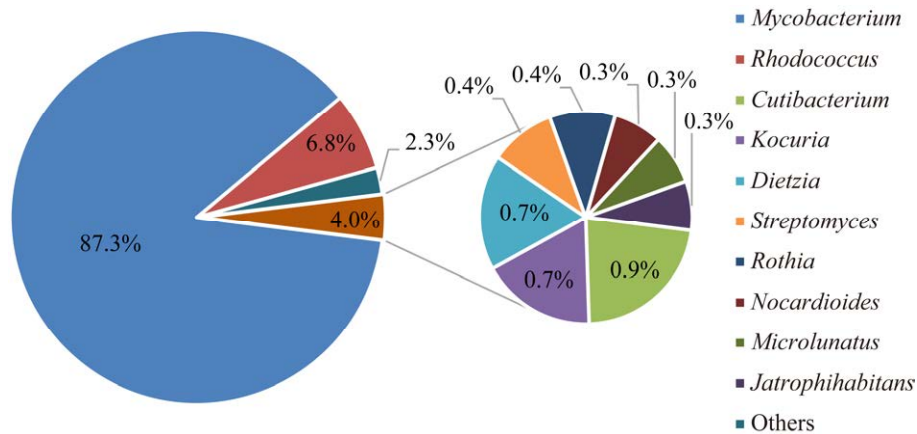


图2 样品中各主要放线菌门各属组成占比

Figure 2 Percentage relative abundance of actinobacteria genera from samples.

迪茨氏菌属(*Dietzia*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、罗氏菌属(*Rothia*)、拟诺卡氏菌属(*Nocardioiopsis*)、小月菌属(*Microlunatus*)和 *Jatrophihabitans*, 占总放线菌属的 98%, 尤其是分枝杆菌属(*Mycobacterium*)相对丰度最高(87.3%), 而链霉菌属(*Streptomyces*)仅占 0.4%左右, 其余 33 个属的相对丰度低于 0.1%。

2.3 可培养放线菌及其分子鉴定

根据菌落形态、颜色等特征差异进行分离纯化共获得 108 株放线菌, 进行分子鉴定后分别隶属于 9 科 10 属, 包括链霉菌属(*Streptomyces*) 71 株, 占 65.76%; 其余菌属数量较少, 分别为拟孢囊菌属(*Kibdelosporangium*)、壤球菌属(*Agrococcus*)、拟诺卡氏菌属(*Nocardioiopsis*)、拟无枝酸菌属(*Amycolatopsis*)、糖单孢菌属(*Saccharomonospora*)、考克氏菌属(*Kocuria*)、克里布所菌属(*Kribbella*)、*Bailinhaonella* 和芽球菌属(*Blastococcus*), 占 0.93%–5.56% (表 5)。根据新种判定原则^[26], 研究共获得 16S rRNA 基因序列与已知模式菌株相似性低于 98.65%的菌株共计 4 株, 均为链霉菌属, 分别为 *Streptomyces* sp.

D67、*Streptomyces* sp. K-1、*Streptomyces* sp. KG-35 和 *Streptomyces* sp. K-7, 最高相似度在 97.27%–98.39%之间(表 6), 初步判定为潜在新种, 相关细菌多相系统分类有待进一步开展。

2.4 群体感应抑制活性菌株筛选

对 108 株放线菌进行群体感应抑制活性筛选, 共获得 13 株具有明显群体感应抑制活性菌株, 涉及 4 属 13 种。其中链霉菌属(*Streptomyces*) 10 株, 拟诺卡氏菌属(*Nocardioiopsis*)、*Bailinhaonella* 和拟孢囊菌属(*Kibdelosporangium*) 各 1 株, 系统发育树见图 3。所有菌株均对紫色杆菌 CV026 表现出群体感应抑制活性, 如图 4 所示, *Streptomyces* sp. K-9、*Streptomyces* sp. D67、*Bailinhaonella* sp. K-11、*Streptomyces* sp. K-97 和 *Streptomyces* sp. K-35 有明显抑制紫色杆菌 CV026 紫色色素产生的模糊圈。同时, 通过生物膜抑制率筛得金黄色葡萄球菌群体感应抑制活性链霉菌 5 株和拟诺卡氏菌 1 株(图 5), 前者分别为 *Streptomyces* sp. K-18、*Streptomyces* sp. KG-35、*Streptomyces* sp. KG-19、*Streptomyces* sp. K-9、*Nocardioiopsis* sp. KG-84。

表 5 库木塔格沙漠分离放线菌一览表

Table 5 List of culturable actinomycetes in Kumutag Desert

Family	Genus	Highest similar strain	Number of strains	Ratio (%)
<i>Streptomycetaceae</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces ardesiacus</i>	7	6.48
		<i>Streptomyces thermospinosporus</i>	10	9.26
		<i>Streptomyces harenosi</i>	3	2.78
		<i>Streptomyces coeruleus</i>	6	5.56
		<i>Streptomyces radiopugnans</i>	6	5.56
		<i>Streptomyces hyderabadensis</i>	7	6.48
		<i>Streptomyces fimbriatus</i>	6	5.56
		<i>Streptomyces variabilis</i>	1	0.93
		<i>Streptomyces purpureus</i>	4	3.70
		<i>Streptomyces pini</i>	3	2.78
		<i>Streptomyces roietensis</i>	7	6.48
		<i>Streptomyces salilacus</i>	1	0.93
		<i>Streptomyces euryhalinus</i>	4	3.70
		<i>Streptomyces rubradiris</i>	6	5.56
<i>Micromonosporaceae</i>	<i>Kibdelosporangium</i>	<i>Kibdelosporangium phytohabitans</i>	3	2.78
<i>Microbacteriaceae</i>	<i>Agrococcus</i>	<i>Agrococcus carbonis</i>	2	1.85
<i>Nocardiopsaceae</i>	<i>Nocardiopsis</i>	<i>Nocardiopsis alborubida</i>	1	0.93
		<i>Nocardiopsis dassonvillei</i>	5	4.63
<i>Pseudonocardiaceae</i>	<i>Amycolatopsis</i>	<i>Amycolatopsis arida</i>	2	1.85
		<i>Amycolatopsis marina</i>	3	2.78
		<i>Amycolatopsis palatopharyngis</i>	4	3.70
		<i>Saccharomonospora</i>	<i>Saccharomonospora cyanea</i>	6
<i>Micrococcales</i>	<i>Kocuria</i>	<i>Kocuria polaris</i>	1	0.93
		<i>Kocuria turfanensis</i>	2	1.85
<i>Propionibacteriaceae</i>	<i>Kribbella</i>	<i>Kribbella flavida</i>	5	4.63
<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Bailinhaonella</i>	<i>Bailinhaonella thermotolerans</i>	2	1.85
<i>Geodermatophilaceae</i>	<i>Blastococcus</i>	<i>Blastococcus aggregatus</i>	1	0.93

表 6 潜在新种的 16S rRNA 基因序列比对结果

Table 6 Potential new species based on 16S rRNA gene sequence alignment

Strains No.	Highest similar strains	Accession No.	Similarity (%)
D67	<i>Streptomyces ardesiacus</i> NBRC 15402 ^T	NR112454	98.39
K-1	<i>Streptomyces pini</i> PL19 ^T	NR108264	98.11
KG-35	<i>Streptomyces purpureus</i> NRRL B-5403 ^T	KU141346	97.27
K-7	<i>Streptomyces salilacus</i> TRM41337 ^T	KU860456	98.08

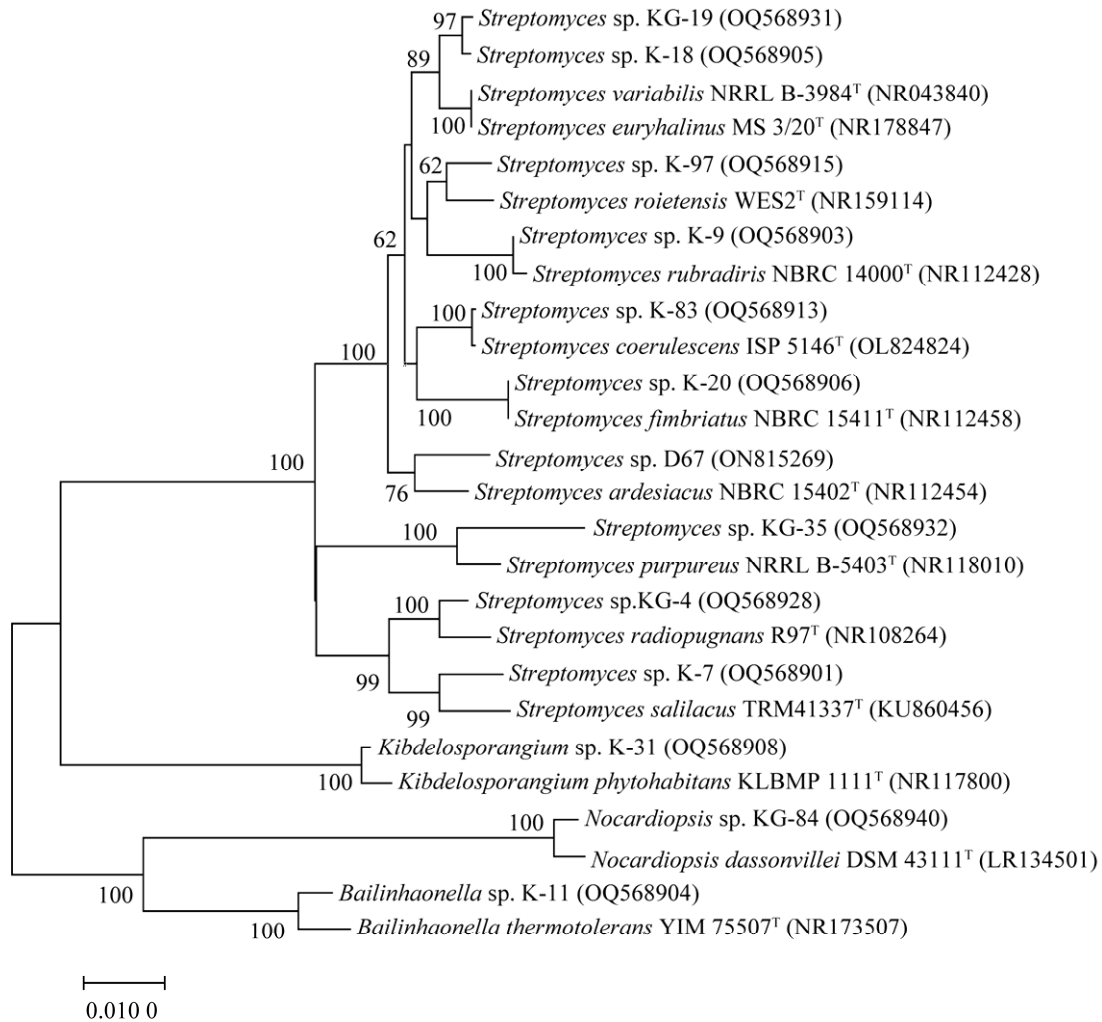


图3 菌株基于16S rRNA基因序列构建的系统发育树 Bootstrap检验次数为1 000次;分支节点上的数字为自举值(显示 $\geq 50\%$ 的数值);序列变异标尺为0.010 0

Figure 3 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of strains. Bootstrap values ($\geq 50\%$) based on 1 000 replications are shown at branch nodes. Bar 0.010 0 sequence variation.

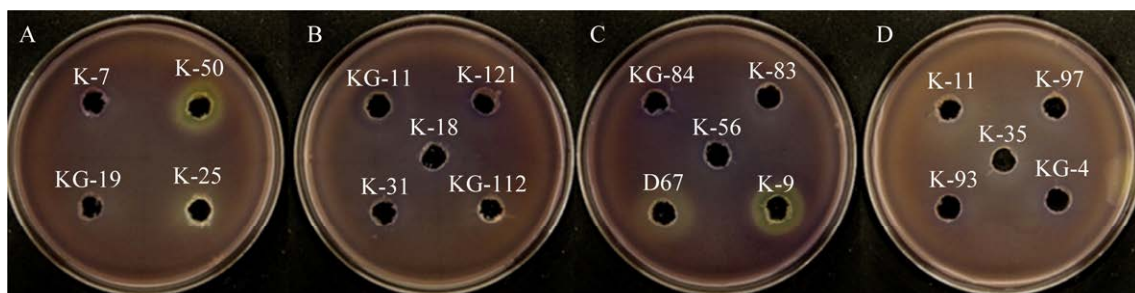


图4 抑制CV026群体感应的放线菌株筛选

Figure 4 Screening of actinomycete strains inhibiting quorum sensing of CV026.

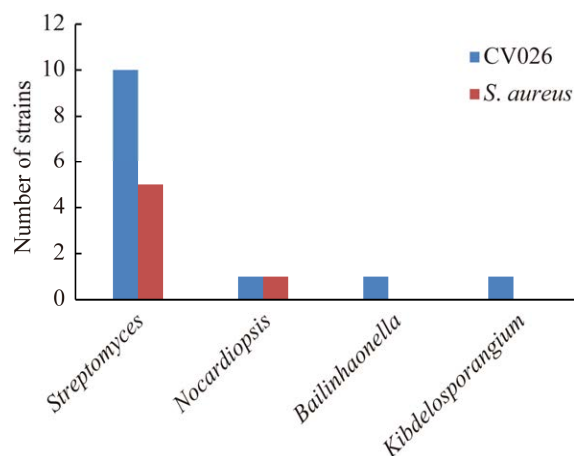


图 5 具有群体感应抑制活性菌株不同属数目统计

Figure 5 Antibacterial profile of actinomycetes with quorum-sensing inhibitory activity.

2.5 群体感应抑制活性菌株功能特性检测

2.5.1 筛选菌株抗菌活性

通过牛津杯法对 13 株群体感应抑制活性菌株的病原菌(大肠杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌和链格孢菌)抗性情况进行初步研究。结果表明, 5 株具有明显抑制细菌的能力, 8 株具有抑制真菌的能力, 其中 *Streptomyces* sp. KG-19、*Nocardiosis* sp. KG-84、*Streptomyces* sp. K-83、*Streptomyces* sp. D67 和 *Streptomyces* sp. K-9 同时具有抑制真菌和细菌的能力(表 7)。此外, *Streptomyces* sp. D67 表现出较为广谱的抑菌特性, 对 5 种指示菌均具有抑菌活性(图 6)。

2.5.2 筛选菌株抗逆及产酶特性

群体感应抑制活性菌株抗逆和产酶特性结果如图 7 所示, 绝大多数具有较强的耐盐碱特

表 7 具群体感应抑制活性放线菌抗菌情况

Table 7 Antimicrobial profile of actinomycetes with quorum-sensing inhibitory activity

Strains No.	Genus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Alternaria alternata</i>
KG-19	<i>Streptomyces</i>	-	+	+	+	-
KG-84	<i>Nocardiosis</i>	+	-	+	+	+
KG-4	<i>Streptomyces</i>	-	-	-	+	-
KG-35	<i>Streptomyces</i>	-	-	-	-	+
K-83	<i>Streptomyces</i>	-	+	-	+	-
K-97	<i>Streptomyces</i>	-	-	-	-	-
K-7	<i>Streptomyces</i>	-	-	-	-	-
K-11	<i>Bailinhaonella</i>	-	-	-	-	-
K-18	<i>Streptomyces</i>	-	-	-	+	-
K-20	<i>Streptomyces</i>	-	-	-	-	-
K-31	<i>Kibdelosporangium</i>	-	-	-	-	-
D67	<i>Streptomyces</i>	+	+	+	+	+
K-9	<i>Streptomyces</i>	+	+	+	+	-

-: 无抗菌活性; +: 有抗菌活性

-: No antimicrobial activity; +: Antimicrobial activity.

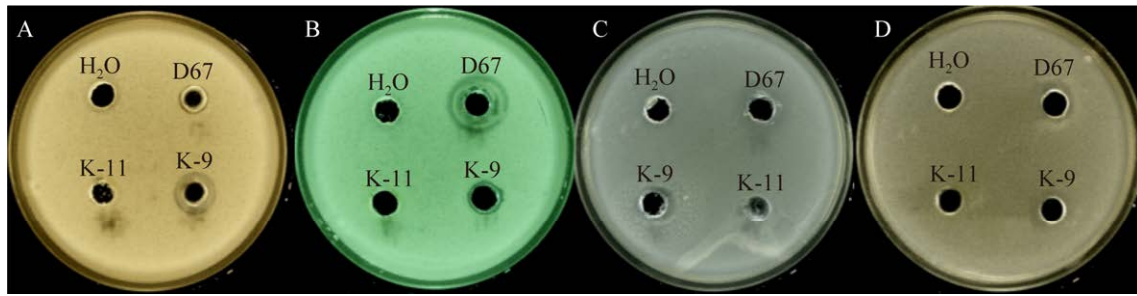


图 6 部分放线菌抑菌效果 A: 金黄色葡萄球菌. B: 铜绿假单胞菌. C: 大肠杆菌. D: 白色念珠菌

Figure 6 Display of the antagonistic effect of partial actinomycetes. A: *Staphylococcus aureus*. B: *Pseudomonas aeruginosa*. C: *Escherichia coli*. D: *Candida albicans*.

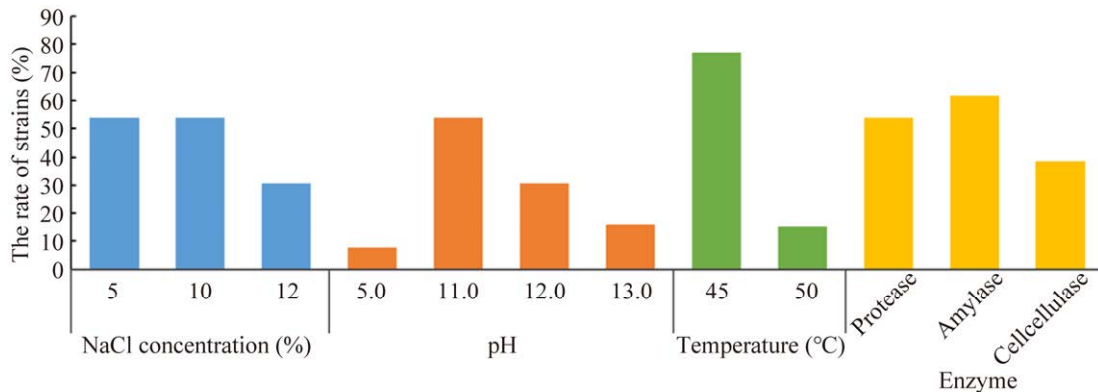


图 7 放线菌抗逆特性及产酶情况

Figure 7 Resistance and enzyme production characteristics of actinomycetes.

性, 53.85%的菌株可耐受 5% NaCl, 76.92%的菌株可在 45 °C 条件下生长, 同时也筛选到多株蛋白酶、淀粉酶和纤维素酶产生菌, 其中淀粉酶产生菌最多, 占 61.54%。

3 讨论与结论

沙漠环境呈现干旱、高温、高辐射和土壤盐碱化等众多特点^[27], 一般生物难以生存。但是微生物中放线菌以较强的抗逆性和生物活性在沙漠土壤中占有一定优势。如: 阿塔卡玛沙漠是地球上极端干旱环境之一, 该沙漠地区土壤中仍存在约 10^2 CFU/g 的微生物, 其中 94%为放线菌^[28]; 沙特阿拉伯沙漠中微生物含量为 1.6×10^3 – 2.18×10^4 CFU/g, 放线菌约占 61%^[29]; 印度卢特沙漠中也观察到较

高数量的放线菌(3.5×10^3 CFU/g)^[30]。本试验选取库木塔格沙漠东缘地区 5 种代表性土壤样品进行细菌多样性和放线菌分离研究, 其中细菌含量(1.88×10^3 – 7.34×10^3 CFU/g)与大多数沙漠类似, 而放线菌含量占比(73%–83%)普遍较高, 是筛选功能放线菌的良好资源库。

通过高通量测序技术分析发现库木塔格沙漠土壤变形菌门(61%)和放线菌门(28%)数量占该地区细菌群落的绝大多数, 这与李靖宇等^[31]研究腾格里沙漠沙坡头地区微生物群落组成结果类似, 可能与两地同属于干旱大陆性气候^[32]且土壤理化性质^[33]相似有关。对放线菌门组成分析发现, 分枝杆菌属(*Mycobacterium*)是该区域放线菌优势菌群(87.3%), 该属菌株细胞壁中含

有大量脂质物质, 喜干旱, 在 25–45 °C 均可生长, 具有较强的耐酸碱性^[34], 在其他荒漠土壤的研究中也常被检测到。此外, 其他放线菌如红球菌属(*Rhodococcus*)、丙酸杆菌属(*Cutibacterium*)、考克氏菌属(*Kocuria*)和迪茨氏菌属(*Dietzia*)也占比较高, 而链霉菌属(*Streptomyces*)仅为 0.4% 左右。

可培养方法共分离的放线菌有 9 科 10 属, 链霉菌属为绝对优势菌属, 占总菌数的 65.76%, 稀有放线菌占 34.24%, 与高通量结果明显相反, 这也与现有沙漠地区研究报道类似, 尽管稀有放线菌含量较高, 但实际分离出的链霉菌占优势^[35-36]。在阿塔卡马沙漠中占主导地位的放线菌类群为稀有放线菌酸微菌科(*Acidimicrobiaceae*)、地嗜皮菌科(*Geodermatophilaceae*)和微球菌科(*Micrococcaceae*)等, 在纯培养结果中分离到的链霉菌为绝对优势菌属(76%)^[28]; 在对巴丹吉林沙漠的研究表明^[36], 链霉菌属也为优势菌群(25%), 且稀有放线菌属丰度远低于高通量测序结果, 这可能与部分稀有放线菌生长条件高、难分离有关。

从沙漠等极端环境中分离出的放线菌往往具有更丰富的天然产物和更强的产物活性^[35]。如在红海沉积物岩心中发现 20% 的分离株具有群体感应抑制活性, 其中赤杆菌、拉布伦茨氏菌可以产生群体感应淬灭酶^[7]; 在印度洋深海沉积物样品中发现考克氏菌属发酵液能够显著降低指示菌株的紫色菌素产量^[8]。本研究从库木塔格沙漠极干旱环境分离出 13 株具有群体感应抑制活性菌株, 其中包括链霉菌属、拟诺卡氏菌属、*Bailinhaonella* 和拟孢囊菌属菌株。目前, 有关链霉菌和拟诺卡氏菌代谢群体感应抑制活性的小分子产物多有报道, 先后从 *Streptomyces coelicoflavus*、*Streptomyces tendae* 和 *Nocardopsis dassonvillei* 等分离出山萘酸(behenic acid)、1H-

吡咯-2-羧酸(1H-pyrrole-2-carboxylic)、2,5-二酮哌嗪(2,5-diketopiperazines, DKPs)、1,6-二羟基吩嗪(1,6-phenazinediol)、4',7-二甲氧基异黄酮(4',7-dimethoxyisoflavone)和邻乙酰氨基苯酚(2-acetamidophenol)等群体感应抑制活性化合物^[37-39], 而有关 *Bailinhaonella* 和 *Kibdelosporangium* 属菌株代谢相关活性产物鲜有报道, 有待深入研究。

本研究筛选出的 13 株群体感应抑制活性菌株中有 8 株表现出不同程度的抑菌活性, 其中 *Streptomyces* sp. D67 为潜在新种, 抑菌谱最为广泛, 同时对本研究中所有细菌和真菌指示菌具有抑制活性, 且该菌株还同时具有产蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶的能力, 展现出潜在的应用价值, 为今后利用群体感应抑制活性与抑菌活性联合协同进行病原菌防治提供了优良的菌种资源。

REFERENCES

- [1] LU L, LI MX, YI GJ, LIAO L, CHENG Q, ZHU J, ZHANG B, WANG YY, CHEN Y, ZENG M. Screening strategies for quorum sensing inhibitors in combating bacterial infections[J]. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2022, 12(1): 1-14.
- [2] SOLANO C, ECHEVERZ M, LASA I. Biofilm dispersion and quorum sensing[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2014, 18: 96-104.
- [3] HENTZER M, WU H, ANDERSEN JB, RIEDEL K, RASMUSSEN TB, BAGGE N, KUMAR N, SCHEMBRI MA, SONG ZJ, KRISTOFFERSEN P, MANEFIELD M, COSTERTON JW, MOLIN S, EBERL L, STEINBERG P, KJELLEBERG S, HØIBY N, GIVSKOV M. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors[J]. *The EMBO Journal*, 2003, 22(15): 3803-3815.
- [4] SCHATZ A, WAKSMAN SA. Effect of streptomycin and other antibiotic substances upon *Mycobacterium tuberculosis* and related organisms[J]. *Experimental Biology & Medicine*. 1944, 57(2): 244-248.
- [5] BÉRDY J. Thoughts and facts about antibiotics: where we are now and where we are heading[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2012, 65(8): 385-395.
- [6] AL-MAHDI AY. Isolation and identification of bioactive actinomycete isolates from Yemen soils[J]. *Thamar*

- University Journal of Natural and Applied Sciences, 2023, 4(4): 109-119.
- [7] REHMAN ZU, LEIKNES T. Quorum-quenching bacteria isolated from red sea sediments reduce biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1354.
- [8] 李艳群, 陈柔雯, 林宗豪, 田新朋, 尹浩. 一株群体感应抑制活性海洋放线菌的筛选与鉴定[J]. *热带海洋学报*, 2021, 40(1): 75-81.
LI YQ, CHEN RW, LIN ZH, TIAN XP, YIN H. Screening and identification of a quorum sensing inhibitory actinomycetes derived from marine sediments[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2021, 40(1): 75-81 (in Chinese).
- [9] ACOSTA-MARTINEZ V, MOORE-KUCERA J, COTTON J, GARDNER T, WESTER D. Soil enzyme activities during the 2011 Texas record drought/heat wave and implications to biogeochemical cycling and organic matter dynamics[J]. *Applied Soil Ecology*, 2014, 75: 43-51.
- [10] 李婷, 张威, 刘光琇, 陈拓. 荒漠土壤微生物群落结构特征研究进展[J]. *中国沙漠*, 2018, 38(2): 329-338.
LI T, ZHANG W, LIU GX, CHEN T. Advances in the study of microbial ecology in desert soil[J]. *Journal of Desert Research*, 2018, 38(2): 329-338 (in Chinese).
- [11] WANG F, CHU JM, WANG XQ, CUI XH, WU B, YANG WB, LU Q. A study of Kumtag Desert: progresses and achievements[J]. *Journal of Resources and Ecology*, 2011, 2(3): 193-201.
- [12] 许璐, 曹晓璐, 王士燕, 孙磊, 李潞滨. 库姆塔格沙漠北界阿奇克谷地土壤可培养细菌多样性[J]. *核农学报*, 2017, 31(2): 342-349.
XU L, CAO XL, WANG SY, SUN L, LI LB. The diversity of cultivable bacteria of soil in Aqik Valley, the north boundary of Kumtag Desert[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, 31(2): 342-349 (in Chinese).
- [13] 张晓波, 陈鑫源, 焦雷, 刘毅, 肖霞, 伊法尔·艾合买江, 迪丽达尔·库德热提, 孙玉萍. 极端沙漠干燥炎热环境土壤中耐热和耐辐射菌的分离、培养与鉴定[J]. *生物学通报*, 2017, 52(9): 37-40.
ZHANG XB, CHEN XY, JIAO L, LIU Y, XIAO X, YIFAER AIHEMAJIANG, DILIDAER KUDERETI, SUN YP. Isolation, culture and identification of heat-and radiation-tolerant bacteria from soil in extreme desert dry and hot environment[J]. *Bulletin of Biology*, 2017, 52(9): 37-40 (in Chinese).
- [14] 吕纪涛. 库姆塔格沙漠微生物物种多样性及建兰炭疽病菌拮抗菌株的筛选[D]. 保定: 河北农业大学硕士学位论文, 2015.
LYU JT. Diversity of microbial species in Kumtag desert and screening of antagonistic strains of *Colletotrichum gloeosporioides* in *Cymbidium*[D]. Baoding: Master's Thesis of Hebei Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [15] WALKLEY A, BLACK IA. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method[J]. *Soil Science*, 1934, 37(1): 29-38.
- [16] REN M, ZHANG ZF, WANG XL, ZHOU ZW, CHEN D, ZENG H, ZHAO SM, CHEN LL, HU YL, ZHANG CY, LIANG YX, SHE QX, ZHANG Y, PENG N. Diversity and contributions to nitrogen cycling and carbon fixation of soil salinity shaped microbial communities in Tarim Basin[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 431.
- [17] 廖敏, 张波, 范中菡, 陈熊春蕊, 张小平. 阿坝地区狼毒内生放线菌多样性及抗菌活性[J]. *草业学报*, 2016, 25(3): 43-51.
LIAO M, ZHANG B, FAN ZH, CHEN XCR, ZHANG XP. Diversity and anti-microbial activity of endophytic actinomycetes isolated from *Stellera chamaejasme* sampled in Aba, Sichuan[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(3): 43-51 (in Chinese).
- [18] SHIRLIONG EB, GOTTLIEB D. Methods for characterization of *Streptomyces* species[J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1966, 16(3): 313-340.
- [19] BERTANI G. Studies on lysogenesis I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bactweiology*, 1951(62): 293-300.
- [20] HOU X, PAN SK, LIN ZZ, XU JL, ZHANG XJ. Performance comparison of different microbial DNA extraction methods on bird feces[J]. *Article Navigation*, 2021, 012(002): 247-254.
- [21] CAPORASO JG, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, BITTINGER K, BUSHMAN FD, COSTELLO EK, FIERER N, PEÑA AG, GOODRICH JK, GORDON JI, HUTTLEY GA, KELLEY ST, KNIGHTS D, KOENIG JE, LEY RE, LOZUPONE CA, MCDONALD D, MUEGGE BD, PIRRUNG M, REEDER J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336.
- [22] HAAS BJ, GEVERS D, EARL AM, FELDGARDEN M, WARD DV, GIANNOUKOS G, CIULLA D, TABBAA D, HIGHLANDER SK, SODERGREN E, METHÉ B, DESANTIS TZ, CONSORTIUM HM, PETROSINO JF,

- KNIGHT R, BIRREN BW. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons[J]. *Genome Research*, 2011, 21(3): 494-504.
- [23] EDGAR RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [24] MARTINELLI D, GROSSMANN G, SÉQUIN U, BRANDL H, BACHOFEN R. Effects of natural and chemically synthesized furanones on quorum sensing in *Chromobacterium violaceum*[J]. *BMC Microbiology*, 2004, 4: 25.
- [25] MIAO L, QIAN S, QI S, JIANG W, DONG K. Culture medium optimization and active compounds investigation of an anti-quorum sensing marine actinobacterium *Nocardiopsis dassonvillei* JS106[J]. *Microbiology*, 2021, 90(1): 112-123.
- [26] KIM M, OH HS, PARK SC, CHUN J. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(Pt_2): 346-351.
- [27] BULL AT, ASENJO JA. Microbiology of hyper-arid environments: recent insights from the *Atacama* Desert, *Chile*[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2013, 103(6): 1173-1179.
- [28] OKORO CK, BROWN R, JONES AL, ANDREWS BA, ASENJO JA, GOODFELLOW M, BULL AT. Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the *Atacama* Desert, *Chile*[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2009, 95(2): 121-133.
- [29] NITHYA K, MUTHUKUMAR C, DURAI PANDIYAN V, DHANASEKARAN D, THAJUDDIN N. Diversity and antimicrobial potential of culturable actinobacteria from desert soils of Saudi Arabia[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2015, 7(3): 117-122.
- [30] FATAHI-BAFGHI M, RASOULI-NASAB M, YASLIANI-FARD S, HABIBNIA S, GHAREHBAGHI F, ESHRAGHI SS, KABIR K, HEIDARIEH P. Diversity and antimicrobial activity of actinomycetes isolated from Lut Desert: the extremely arid climatic zones of Iran[J]. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2019, 25(3): 1201-1207.
- [31] 李靖宇, 张琇, 孙敏, 张燕灵. 腾格里沙漠沙坡头地区土壤微生物多样性分析[J]. *生态与农村环境学报*, 2016, 32(5): 780-787.
- LI JY, ZHANG X, SUN M, ZHANG YL. Analysis of soil microbial diversity in Shapotou area of Tengger Desert[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2016, 32(5): 780-787 (in Chinese).
- [32] LIN YT, JANGID K, WHITMAN WB, COLEMAN DC, CHIU CY. Soil bacterial communities in native and regenerated perhumid montane forests[J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, 47(2): 111-118.
- [33] 谢水祥. 医学微生物学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2014: 210.
- XIE SX. *Medical Microbiology*[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2014: 210 (in Chinese).
- [34] OUCHARI L, BOUKESKASSE A, BOUIZGARNE B, OUHDOUCH Y. Antimicrobial potential of actinomycetes isolated from unexplored hot Merzouga Desert and their taxonomic diversity[J]. *Biology Open*, 2018; 8(2): 1-7.
- [35] HE ZX, WANG YX, BAI XY, CHU M, YI YY, ZHU J, GU MY, JIANG L, ZHANG ZD. Bacterial community composition and isolation of actinobacteria from the soil of Flaming Mountain in Xinjiang, China[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(2): 489.
- [36] SUN Y, SHI YL, WANG H, ZHANG T, YU LY, SUN H, ZHANG YQ. Diversity of bacteria and the characteristics of Actinobacteria community structure in Badain Jaran Desert and Tengger Desert of China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1068.
- [37] HASSAN R, SHAABAN MI, ABDEL BAR FM, EL-MAHDY AM, SHOKRALLA S. Quorum sensing inhibiting activity of *Streptomyces coelicoflavus* isolated from soil[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 659.
- [38] ISHAQUE NM, BURGSDORF I, LIMLINGAN MALIT JJ, SAHA S, TETA R, EWE D, KANNABIRAN K, HROUZEK P, STEINDLER L, COSTANTINO V, SAURAV K. Isolation, genomic and metabolomic characterization of *Streptomyces tendae* VITAKN with quorum sensing inhibitory activity from southern India[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(1): 121.
- [39] 周恒. 海洋底泥放线菌抗群体感应活性及次级代谢产物的研究[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2020.
- ZHOU H. Study on anti-quorum sensing activity and secondary metabolites of actinomycetes from marine sediments[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2020 (in Chinese).