

## 小串链霉菌 XG40 全基因组测序及序列分析

赖宝春<sup>1</sup>, 戴瑞卿<sup>1\*</sup>, 曾天宝<sup>1</sup>, 陈淑妹<sup>1</sup>, 姚锦爱<sup>2\*\*</sup>

1. 福建省漳州市农业科学研究所, 福建漳州 363005; 2. 福建省作物有害生物监测与治理重点实验室/福建省农业科学院植物保护研究所, 福建福州 350013

**摘要:** 小串链霉菌 (*Streptomyces catenulae*) XG40 是一株对蜜柚黑斑病等真菌病害具有较好拮抗作用的生防放线菌。本研究通过第三代 PacBio 全基因组测序平台, 对小串链霉菌 XG40 进行全基因组测序和分析, 共获得 3 个 contigs, 包含 1 个染色体 DNA 和 2 个质粒 DNA, 其基因组全长为 9 772 324 bp, GC 含量为 70.58%, 蛋白编码基因 8074 个, 占整个基因组的 96.41%。利用 antiSMASH 软件, 预测到 46 个次级代谢产物合成基因簇, 其中包含聚酮合成酶 (PKS) 和非核糖体肽合成酶 (NRPS) 的基因簇共有 24 个, 占总基因簇数量的 52.17%。有 7 个基因簇与已知基因簇 (desferrioxamin B、pristinol、Neoantimyci、2-methylisoborneol、nigericin、ectoine、geosmin) 的相似性为 100%, 4 个基因簇与已知基因簇 (miharamycin A/B、SW-163C/E/F/G/UK-63598、gilvocarcin V、coelibactin) 的相似性在 80% 以上, 比较分析发现该菌株具备一定的合成尼日菌素和褐黄菌素 V 等抗菌物质的能力。共线性分析表明 XG40 与根霉链霉菌 (*S. rhizosphaericus*) DSM 41760、马来西亚链霉菌 (*S. malaysiensis*) DSM 14702、黑孢链霉菌 (*S. melanosporofaciens*) DSM 40318 和 (*S. himastatinicus*) ATCC 53653 四株链霉菌基因组之间存在插入和缺失、倒位、易位等基因组重排事件。该研究结果为深入挖掘 XG40 生防潜力, 开发可用于农业生物防治的次级代谢产物提供理论基础。

**关键词:** 小串链霉菌; 全基因组测序; 次级代谢合成基因簇; 比较基因组分析

中图分类号: S476 文献标识码: A

## Whole-genome Sequencing and Analysis of *Streptomyces catenulae* XG40

LAI Baochun<sup>1</sup>, DAI Ruiqing<sup>1\*</sup>, ZENG Tianbao<sup>1</sup>, CHEN Shumei<sup>1</sup>, YAO Jinai<sup>2\*\*</sup>

1. Zhangzhou Institute of Agricultural Sciences, Zhangzhou, Fujian 363005, China; 2. Fujian Key Laboratory for Monitoring and Integrated Management of Crop Pests / Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China

**Abstract:** *Streptomyces catenulae* XG40 is a biocontrol strain with antagonism to pathogens of pomelo black spot. In this study, the whole-genome sequence of *S. catenulae* XG40 was completed by the third generation sequencing platform PacBio Sequel. Three contigs were obtained, including one chromosomal DNA and two plasmid DNA. The total length of the genome sequencing was 9 772 324 bp with 70.58% GC content, and 8074 protein-coding genes were predicted which were accounted for 96.41% of all genes. Forty-six putative secondary metabolite biosynthetic gene clusters were found in the genome using the online antiSMASH software, among twenty-four PKS and NRPS, which were accounted for 52.17% of all gene clusters. Seven putative gene clusters showed 100% similarities to known gene clusters: desferrioxamin B, pristinol, neoantimyci, 2-methylisoborneol, nigericin, ectoine, geosmin gene clusters. Four putative gene clusters showed more than 80% similarities to known gene clusters: miharamycin A/B, SW-163C/E/F/G/UK-63598, gilvocarcin V, coelibactin. Clusters analysis showed that *S. catenulae* XG40 had certain ability of the biosynthesis of

收稿日期 2022-09-08; 修回日期 2022-10-28

基金项目 福建省科技计划项目 (No. 2020N0057); 福建省农业科学院科技创新团队建设项目 (No. STTT2021-2-2); 福建省人民政府中国农业科学院农业高质量发展超越“5511”协同创新工程 (No. XTCXGC2021011)。

作者简介 赖宝春 (1979—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 植物病害生物防治; \*同等贡献作者: 戴瑞卿 (1990—), 女, 硕士, 研究实习员, 研究方向: 微生物资源。\*\*通信作者 (Corresponding author): 姚锦爱 (YAO Jinai), E-mail: yaoja@163.com。

nigericin and gilvocarcin V with antibacterial activity. The analysis of synteny indicated that genome insertion, deletion, rearrangement and translocation happened among the genomes of *S. catenulae* XG40, *S. rhizosphaericus* DSM 41760, *S. malaysiensis* DSM 14702, *melanosporofaciens* DSM 40318 and *S. himastatinicus* ATCC 53653. This research would provide a theoretical basis for further discovering biocontrol potential of XG40 and the secondary metabolites for agricultural biological control.

**Keywords:** *Streptomyces catenulae*; whole-genome sequencing; secondary metabolite biosynthetic gene clusters; comparative genomic analysis

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.09.003

链霉菌属是一类好氧的革兰氏阳性放线菌, 具有高度分枝的基内菌丝和气生菌丝, 可代谢合成丰富的次级代谢产物, 是最重要的抗生素产生菌, 同时也是重要的促生及生防制剂, 在农业领域应用越来越广泛<sup>[1-4]</sup>。虽然链霉菌属基因组具有丰富的次级代谢产物基因簇, 但其基因组的 GC 含量较高 (66%~74%), 染色体结构复杂, 往往会发生部分基因沉默的现象, 新型活性物质的发现存在一定的难度<sup>[1, 5]</sup>。利用全基因组测序分析可以准确地预测链霉菌次级代谢基因簇的数量和类型、编码基因的大小、位置、功能和骨架结构, 以及代谢调控方式等, 有助于新型代谢产物的快速挖掘<sup>[6-7]</sup>。当前已有 696 个链霉菌的基因组公布 (<http://www.bacterio.net/streptomyces.html>)。随着测序技术的成熟, 越来越多的链霉菌基因组被测序并应用于生物防治研究。张博阳等<sup>[1]</sup>对具有良好促生防病效果的桑氏链霉菌 (*Streptomyces sampsonii*) KJ40 进行全基因组测序和分析, 明确了其次级代谢产物合成途径, 预测到与促生防病相关的功能基因。王莎等<sup>[6]</sup>通过比较基因组学和泛基因组学对植物内生链霉菌 SAT1 的全基因组序列进行分析, 预测出与 SAT1 抑菌活性相关的 2 个次级代谢产物合成基因簇。覃可等<sup>[8]</sup>通过解析生防链霉菌 (*Streptomyces* sp.) FT05W 的全基因组序列, 挖掘出与抗菌活性的 7 个几丁质酶基因, 为烟草拮抗链霉菌分子生物防治研究奠定基础。

小串链霉菌 (*S. catenulae*) 能够产生氨基酸、抗生素 FR-900130<sup>[9]</sup>、纤维抑制素<sup>[10-12]</sup>及 (S)-乙炔甘氨酸<sup>[13]</sup>等多种次级代谢产物, 具有抗菌生物活性; 还可以生物合成银纳米粒子, 有很好的稳定性、生物相容性、抗炎活性和抗菌活性<sup>[14]</sup>。小串链霉菌还能通过反硝化作用, 将硝酸盐还原为亚硝酸盐, 催化  $\alpha$ -生育酚氧化为  $\alpha$ -生育醌, 这是首次发现的生育酚微生物转化<sup>[15]</sup>。研究还发现小串链霉菌对大蜡螟幼虫有致死作用, 其提取液

会导致大蜡螟的蛹期变长, 降低化蛹率和成虫羽化率, 30 mg/1.5 mL 条件下大蜡螟幼虫的死亡率达 86.7%, 是潜在生物杀虫剂<sup>[16]</sup>。小串链霉菌能提高花生植株对重金属的耐受能力, 增加根系定殖率, 提高固氮酶的活性, 促进植株生长, 提高作物产量<sup>[17]</sup>。此外, 小串链霉菌具有根际促生和生防作用, 含有小串链霉菌制成的复合微生物菌肥不仅可用于防治小麦全蚀病, 还可以促进植株生长<sup>[18]</sup>。小串链霉菌 XG40 是本研究室从草莓根际土壤中分离得到的拮抗菌, 其抗菌谱广, 对蜜柚黑斑病菌、番茄叶霉病菌、香蕉枯萎病菌等 14 种植物病原菌均具有较好拮抗作用; 对蜜柚果实黑斑病具有良好的防治效果, 具有良好的开发价值和前景<sup>[19-20]</sup>。小串链霉菌能产生抗菌、杀虫、促生、抗重金属等多种活性物质, 是生物防治方面利用价值较高的一种放线菌资源, 目前国内尚未发现应用全基因组挖掘小串链霉菌生物活性物质的相关研究报道。

为深入了解小串链霉菌 XG40 次级代谢产物合成潜力和抑菌机制, 本研究通过第三代 PacBio 全基因组测序分析, 对小串链霉菌 XG40 的基因组序列进行基因预测和功能注释、次级代谢产物合成基因簇分析以及比较基因组学研究, 为深入挖掘其生防潜力, 开发可用于农业生物防治的次级代谢产物提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试菌种 小串链霉菌 XG40 由本研究室从草莓根际土壤样品中分离、鉴定并保存。

1.1.2 供试培养基 高氏一号琼脂培养基: 可溶性淀粉 20 g, 硝酸钾 (KNO<sub>3</sub>) 1 g, 氯化钠 (NaCl) 0.5 g, 硫酸镁 (MgSO<sub>4</sub>) 0.5 g, 磷酸氢二钾 (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 0.5 g, 硫酸亚铁 (FeSO<sub>4</sub>) 0.01 g, 琼脂粉 13 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 7.2~7.4, 用于菌

株活化培养;高氏一号液体培养基:可溶性淀粉 20 g, 硝酸钾 ( $\text{KNO}_3$ ) 1 g, 氯化钠 ( $\text{NaCl}$ ) 0.5 g, 硫酸镁 ( $\text{MgSO}_4$ ) 0.5 g, 磷酸氢二钾 ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) 0.5 g, 硫酸亚铁 ( $\text{FeSO}_4$ ) 0.01 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 7.2~7.4, 用于发酵液培养;马铃薯液体 (PDB) 培养基:去皮马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 水 1000 mL, pH 7.0, 用于发酵液培养;马铃薯琼脂 (PDA) 培养基:去皮马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 水 1000 mL, pH 7.0, 用于拮抗实验。

1.1.3 仪器和试剂 可溶性淀粉、硝酸钾、氯化钠、硫酸镁、磷酸氢二钾、硫酸亚铁、葡萄糖、Tris、EDTA、琼脂粉等均为国产分析纯。仪器设备包括智诚 ZWY-240 恒温摇床、上海卢湘仪 TGL-20M 离心机、QIAGEN Genomic-tip DNA 提取试剂盒、BG-GDSAVTO520 凝胶成像系统、赛默飞世 Thermo NANODROP2000 超微量分光光度计、Invitrogen QubitTM3Fluorometer 荧光计、天能 Tanon EPS600 电泳仪。

## 1.2 方法

1.2.1 菌株培养与基因组 DNA 提取 XG40 菌株接种至高氏一号固体平板上, 28 °C 恒温培养 6 d, 转接至摇瓶培养基, 28 °C, 180 r/min 培养 5 d, 取发酵液经 8000 r/min 离心 10 min, 收集菌体, 用于基因组 DNA 提取。采用 QIAGEN Genomic-tip DNA 提取试剂盒抽提基因组 DNA, 利用 0.75% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性, 使用 Nanodrop 和 Qubit 测定 DNA 的浓度和纯度。

1.2.2 基因组的测序、组装和注释 本次测序委托北京百迈客生物科技有限公司完成。将检测合格的 DNA 样品进行凝胶回收和 DNA 文库构建。依次用 Illumina noveseq-6000 和 Pacbio 测序平台完成二代和三代基因组测序。首先使用 Hifiasm 软件进行组装, 然后根据二代测序数据, 采用 Pilon v1.22 软件对三代数测序数据进行纠错, 再通过 Circlator v1.5.5 软件进行环化和调整起始位点, 最终得到准确度更高的基因组序列。编码基因采用 Prodigal v2.6.3 软件进行预测; rRNA 基因用 Infernal v1.1.3 软件预测; tRNA 用 tRNAscan-SE v2.0 软件预测; 其他非编码 RNA (nc-RNA) 用 Infernal v1.1.3 软件进行预测; CRISPR 用 CRT v1.2 软件进行预测; 基因岛用 IslandPath-DIMOB v0.2 软件进行预测; 前噬菌体用 PhiSpy v2.3 软件进行预测; 基因簇用 antiSMASH v5.0.0 软件进行预测; 启动子用 PromPredict v1 软件进行预测; 旁系同

源基因用 BLASTP v2.2.29 软件进行预测。根据预测的基因组编码蛋白序列信息, 通过 NR (非冗余蛋白质数据库)、GO (基因本体数据库)、KEGG (京都基因和基因组百科全书)、eggNOG (直系同源基因簇的数据库)、Pfam 数据库、Swiss-Prot 数据库、TrEMBL 数据库对基因组进行功能注释。

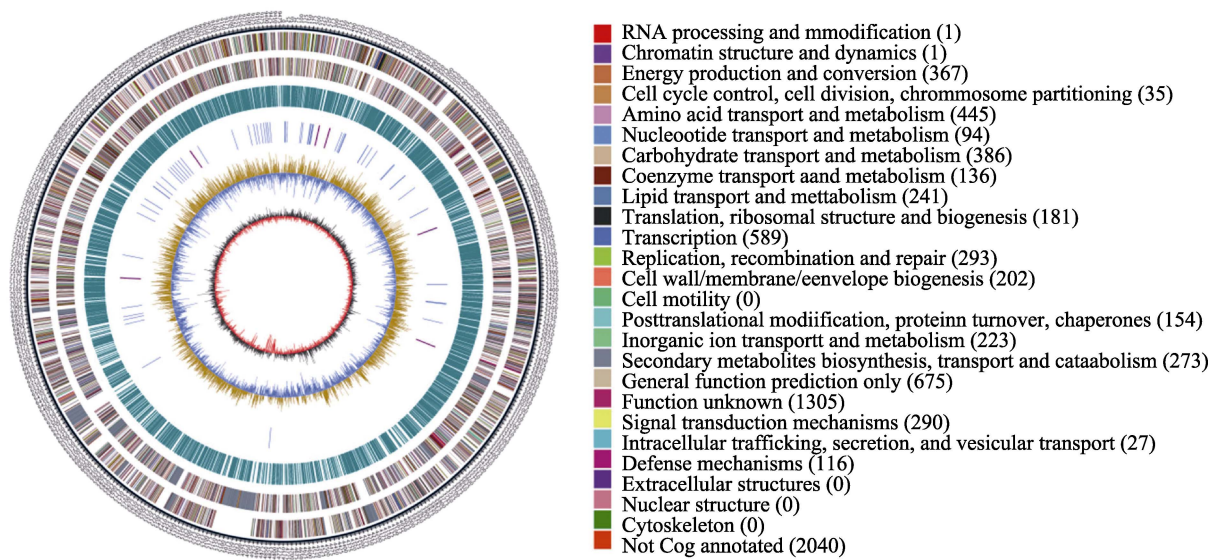
1.2.3 次级代谢产物合成基因簇分析 次级代谢产物的编码基因通常在基因组中成簇存在, 本研究采用 antiSMASH 软件对小串链霉菌 XG40 菌株中次级代谢产物合成基因簇进行分析, 并预测可能合成的代谢产物。

1.2.4 比较基因组学分析 将小串链霉菌 XG40 的基因组序列与其他已经测序完成的链霉菌基因组序列进行比较分析, 包括天蓝色链霉菌 (*S. coelicolor*) A3(2), 吸水链霉菌 (*S. hygroscopicus* subsp. *hygroscopicus*) OsiSh-2、NBRC 12859, 陆源链霉菌 (*S. himastatinicus*) ATCC 53653, 伊朗链霉菌 (*S. iranensis*) DSM 41954, 黑孢链霉菌 (*S. melanosporofaciens*) DSM 40318, 雷帕链霉菌 (*S. rapamycinicus*) DSM 41530, 稀疏链霉菌 (*S. sparsogenes*) DSM 40356, 根霉链霉菌 (*S. rhizosphaericus*) DSM 41760、0250, 马来西亚链霉菌 (*S. malaysiensis*) F913、DSM 14702, 利迪链霉菌 (*S. lydicus*) ATCC 31975, 白色链霉菌 (*S. albus*) DSM 40763, 紫黑链霉菌 (*S. violaceusniger*) NRRL F-8817 和抗氧化链霉菌 (*S. antioxidans*) MUSC 1641 等 16 株菌株。16 株链霉菌的基因组序列及注释信息下载自 GenBank 数据库。统计 16 株菌基因组的基本特征, 采用 Geneious 软件中的 Mauve 插件进行基因组共线性分析, 程序采用默认参数运行。

## 2 结果与分析

### 2.1 小串链霉菌 XG40 全基因组概况

第三代全基因组测序结果显示, XG40 基因组由 3 个 contigs 组成, 包含 1 个染色体 DNA 和 2 个质粒 DNA。完整的 XG40 基因组序列全长 9 772 324 bp, GC 含量为 70.58%, 编码 8074 个基因, 正链 4171 个, 负链 3903 个, 编码基因占整个基因组的 96.41%, 平均长度为 1062 bp。进一步的基因组结构分析发现, XG40 基因组可能编码 18 个 rRNA、77 个 tRNA、153 个 ncRNA、4 个 CRISPR、4 个基因岛、1 个前噬菌体、46 个基因簇和 2 个启动子。基因组圈图见图 1。



The first circle: the mark of genome size, with each scale of 0.1 Mb; The second circle: gene in the positive strand, different colors represent different COG functional classification; The third circle: gene in the negative strand, different colors represent different COG functional classification; The fourth circle: repetitive sequence; The fifth circle: tRNA and rRNA; The sixth circle: GC content, pale yellow above average, blue below average; The seventh circle: GC skew, dark gray represents areas with more G than C, and red represents areas with more C than G (outside to inside).

图 1 小串链霉菌 XG40 基因组圈图

Fig. 1 Circle map of genome of *S. catenulae* XG40

## 2.2 小串链霉菌 XG40 全基因组注释分析

利用 eggNOG、GO、KEGG、Nr、Swiss-Prot、TrEMBL 和 Pfam 数据库，对 XG40 全基因组中 8074 个基因进行蛋白功能注释，在所有数据库中共有 7872 个功能基因被注释，占比为 97.50%，统计结果见表 1。进一步对 eggNOG、GO 和 KEGG 数据库中注释的功能基因进行分析，以获取 XG40 中与拮抗物质合成相关的次级代谢产物合成通路的基因信息。

### 2.2.1 eggNOG 注释结果 将 XG40 注释基因的

表 1 小串链霉菌 XG40 基因组功能蛋白注释统计  
Tab. 1 Functional protein annotation statistics of *S. catenulae* XG40 genome

数据库 Database	注释的功能蛋白数量 Number of annotated functional proteins	比例 Proportion/%
eggNOG	6033	76.64
GO	5296	65.59
KEGG	2679	33.18
Nr	7867	97.43
Swiss-Prot	3799	47.05
TrEMBL	3799	47.05
Pfam	6258	77.51
All database	7872	97.50

序列和 eggNOG 数据库进行 BLAST 比对，完成同源基因注释分类，共有 6033 个基因得到注释（图 2），其中参与转录（transcription）、氨基酸转运与代谢（amino acid transport and metabolism）、碳水化合物转运和代谢（carbohydrate transport and metabolism）、能量产生与传递（energy production and conversion）、次级代谢物生物合成（secondary metabolites biosynthesis）、信号转导机制（signal transduction mechanisms）以及复制、重组和修复（replication, recombination and repair）的基因占较大比例，分别为 9.76%、7.38%、6.61%、6.08%、4.97%、4.87%和 4.78%。其他功能属性的注释基因数量比例相对较少。值得注意的是，次级代谢产物合成相关基因达 300 个，如此多的次级代谢产物合成基因极有可能是该菌株能够产生多种次级代谢产物的原因。

### 2.2.2 KEGG 注释结果

XG40 全基因组的 KEGG 数据库分析结果显示，总共有 2679 个基因获得功能注释（图 3）。在这些功能注释基因中，主要归属于代谢（metabolism）、氨基酸的生物合成（biosynthesis of amino acids）、ABC 转运（ABC transporters）。其中，与代谢相关的注释基因数量最多，可能与 XG40 拮抗物质生成代谢通路相关。

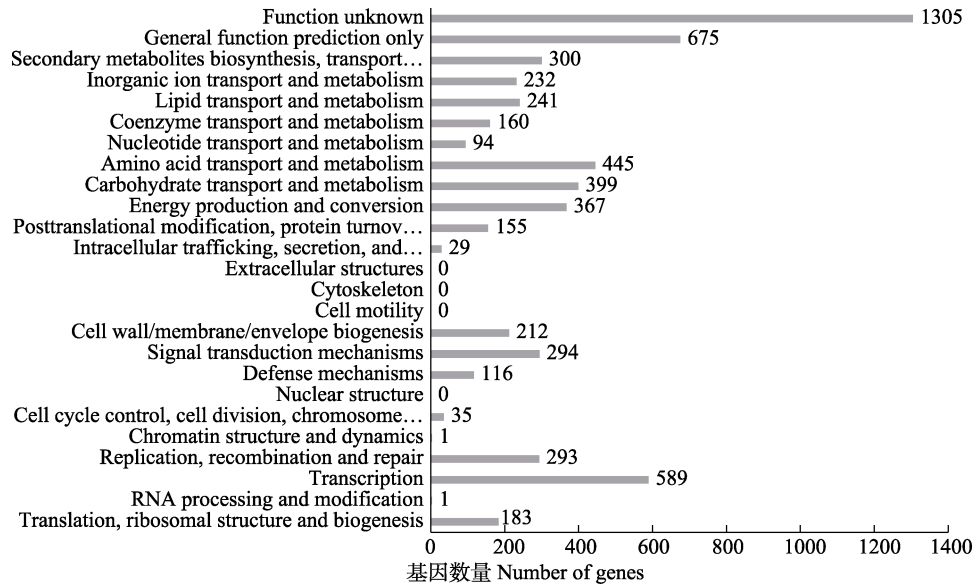


图 2 小串链霉菌 XG40 基因组编码基因 eggNOG 功能分类统计

Fig. 2 Classification and statistics of eggNOG function of *S. catenulae* XG40 genome coding genes

图 3 小串链霉菌 XG40 基因组编码基因 KEGG 功能分类统计

Fig. 3 Functional classification and statistics of KEGG annotated genes encoded by *S. catenulae* XG40 genome

表 2 小串链霉菌 XG40 次级代谢产物合成基因簇预测  
Tab. 2 Gene clusters involved in synthesis of secondary metabolites in *S. catenulae* XG40

基因簇编号 Cluster ID	位置 Position/nt	基因数量 Gene amount	基因簇类型 Gene cluster type	最相似的已知基因簇 Most similar known cluster	相似基因比例 Ratio of genes show similarity/%
Cluster 1	821 899~832 117	10	siderophore	desferrioxamin B	100
Cluster 2	105 207~81 136 857	46	T1PKS	naphthomycin A	31
Cluster 3	1 382 018~1 404 334	16	terpene	isorenieratene	54
Cluster 4	1 888 758~1 899 260	7	siderophore		
Cluster 5	2 065 021~2 074 544	7	RiPP-like		
Cluster 6	2 278 936~2 350 939	68	T2PKS	kanamycin	10
Cluster 7	2 424 085~2 448 965	21	terpene	hopene	76
Cluster 8	2 731 470~2 777 809	37	T1PKS-NRPS-like	spiroidimicin A/B/C/D; indimicin A/B/C/D/E; lynamicin A/D/F/G	21
Cluster 9	2 869 030~2 889 316	16	terpene	pristinol	100
Cluster 10	3 013 078~3 090 977	38	NRPS	pyoverdin	1
Cluster 11	3 172 902~3 183 744	8	butyrolactone		
Cluster 12	3 283 199~3 306 127	22	lanthipeptide	auricin	6
Cluster 13	3 435 050~3 481 054	30	T1PKS	salinomycin	6
Cluster 14	3 636 493~3 718 677	49	NRPS-T1PKS	neoantimycin	100
Cluster 15	3 734 114~3 774 835	33	NRPS-like	bacillomycin D	20
Cluster 16	3 828 692~3 870 994	35	T1PKS-NRPS-like	miharamycin A/ miharamycin B	85
Cluster 17	3 988 505~4 046 883	54	PKS-like	valclavam	57
Cluster 18	4 052 674~4 097 817	38	hgIE-KS	meilingmycin	2
Cluster 19	4 144 324~4 275 031	78	T1PKS	lasalocid	24
Cluster 20	4 439 898~4 525 714	46	T1PKS	akaecolide	24
Cluster 21	4 811 478~4 861 635	45	NRPS	niphimycins C-E	6
Cluster 22	4 873 932~4 894 350	17	terpene	2-methylisborneol	100
Cluster 23	4 900 033~5 187 646	61	NRPS-T1PKS	nystatin A1	50
Cluster 24	5 204 381~5 224 935	22	linaridin	a201a	5
Cluster 25	5 441 312~5 572 085	51	T1PKS	nigericin	100
Cluster 26	5 750 241~5 797 424	37	T1PKS	azalomycin F3a	34
Cluster 27	5 805 954~5 872 706	32	T1PKS-NRPS-like	conglobatin	26
Cluster 28	5 886 419~5 896 634	7	RiPP-like		
Cluster 29	5 913 011~5 923 460	6	melanin	melanin	28
Cluster 30	6 004 580~6 123 098	62	NRPS-T1PKS	hlorothricin / deschlorothricin	13
Cluster 31	6 125 447~6 172 327	33	NRPS	kosinostatin	9
Cluster 32	6 213 786~6 398 161	76	NRPS-T1PKS	SW-163C/UK-63598/SW-163E/SW-163F/SW-163G	89
Cluster 33	6 398 412~6 510 390	96	T1PKS-T2PKS	gilvocarcin V	88
Cluster 34	6 646 312~6 696 183	36	NRPS	coelibactin	90
Cluster 35	6 699 224~6 720 187	19	terpene	borrelidin	5
Cluster 36	6 903 954~7 002 216	44	NRPS-T1PKS	FR-900520	68
Cluster 37	7 102 286~7 116 388	11	siderophore		
Cluster 38	7 267 707~7 278 111	9	ectoine	ectoine	100
Cluster 39	7 674 803~7 716 185	34	other	A-503083 A/A-503083 B/A-503083 E/A-503083 F	7
Cluster 40	7 850 093~7 911 407	44	NRPS	CDA1b/2a/2b/3a/3b/4a/4b	17
Cluster 41	7 923 937~7 946 975	25	lanthipeptide		
Cluster 42	8 339 254~8 361 599	18	betalactone	granaticin	10
Cluster 43	8 365 124~8 407 498	47	arylpolylene	atratumycin	34
Cluster 44	8 447 869~8 491 930	38	NRPS	ochronotic pigment	75
Cluster 45	8 667 524~8 688 681	20	indole	5-isoprenylindole-3-carboxylate β-D-glycosyl ester	61
Cluster 46	9 256 656~9 278 932	21	terpene	geosmin	100

## 2.3 小串链霉菌 XG40 次级代谢产物合成基因簇预测与分析

2.3.1 小串链霉菌 XG40 次级代谢产物基因簇的预测 次级代谢产物是抗菌剂和其他生物活性化合物的重要来源,其编码基因通常在基因组中成簇存在,编码具有多种功能的复合酶。软件 antiSMASH v5.0.0 是鉴定与分析基因组序列中生物合成基因簇(BGC)的最广泛使用工具。基于特定于某些类型的基因簇的基因的隐式马尔可夫模型,antiSMASH 能够准确识别编码所有已知广泛化学类别的次级代谢产物的基因簇。本研究采用 antiSMASH 软件对小串链霉菌 XG40 中所有的次级代谢产物合成基因簇进行分析,共预测得到 46 个可能的次级代谢产物生物合成基因簇(表 2),表明小串链霉菌 XG40 菌株具有合成这些代谢产物的潜力和基因元件,但具体能否合成这些次级代谢产物还与其培养条件等因素有关。放线菌的产生的抗虫剂、抗菌剂、抗癌剂等大部分功能性化合物由聚酮合成酶(PKS)和非核糖体肽合成酶(NRPS)2 种代谢途径合成。小串链霉菌 XG40 基因组中包含 PKS 和 NRPS 的基因簇共有 24 个,占总基因簇数量的 52.17%,其中, T1PKS 6 个, T2PKS 1 个, NRPS 6 个, NRPS-T1PKS 5 个, T1PKS-NRPS-like 3 个, NRPS-T2PKS 1 个, NRPS-like 1 个, PKS-like 1 个。其他基因簇 22 个,其中铁载体 siderophore 3 个,萜烯 terpene 6 个,  $\gamma$ -丁内酯 butyrolactone 6 个, 肽 lanthipeptide 2 个,黑色素 melanin 1 个,四氢嘧啶 ectoine 1 个,  $\beta$ -莱克酮 betalactone 1 个,芳基聚烯炔 arylpolyene 1 个,吲哚 indole 1 个。

2.3.2 小串链霉菌 XG40 的尼日利亚菌素和褐黄癌菌素 V 基因簇分析 XG40 基因组编码的 46 个基因簇中,有 7 个基因簇与已知基因簇(Cluster 1、Cluster 9、Cluster 14、Cluster 22、Cluster 25、Cluster 38、Cluster 46)的相似性为 100%;有 4 个基因簇与已知基因簇(Cluster 16、Cluster 32、Cluster 33、Cluster 34)的相似性在 80%以上,表明 XG40 具有产生这些次级代谢产物的潜力。有 29 个基因簇的相似性在 1%~76%之间,说明这些基因簇具有产生已知结构代谢物或其结构类似物的潜力。其余 6 个基因簇没有匹配到相似的基因簇,表明这些基因簇为未知基因簇,可能不具有产生新代谢物的潜能。

本研究发现,与已知基因簇相似较高的 11 个

基因簇中,尼日利亚菌素(nigericin)<sup>[21-22]</sup>、褐黄癌菌素 V(gilvocarcin V)<sup>[23-24]</sup>具有抗菌活性。本研究中尼日利亚菌素和由褐黄癌菌素 V 合成基因簇均是由 PKS 代谢途径合成。尼日利亚菌素和褐黄癌菌素 V 的结构如图 4 所示。利用 antiSMASH 在线软件对 XG40 基因组的次级代谢产物合成基因簇进行分析,从而确定 XG40 中尼日利亚菌素和褐黄癌菌素 V 基因簇相关信息(图 5)。Cluster 25 与紫黑链霉菌(*S. violaceusniger*) Tu 4113 的尼日利亚菌素合成基因簇(BGC0000114)的相似性达 100%。将 2 菌株中的尼日利亚菌素各个基因进行比对,发现 Cluster 25 中的基因与 *nigA1~X1*、*nigB1~B11*、*nigC1~C11* 和 *nigD~E* 等 17 个合成尼日利亚菌素的关键编码基因的相似度为 68%~93%(表 3),说明 XG40 可能合成尼日利亚菌素。Cluster 33 与灰黄链霉菌 *S. griseoflavus* Tu 4000 的褐黄癌菌素 V 合成基因簇(BGC0001956)的相似性为 88%;将 2 菌株中的褐黄癌菌素 V 各个基因进行比对,发现 Cluster 33 中的基因与 *gilA~K*、*gilO1~IV*、*gilM*、*gilP*、*gilQ*、*gilR*、*gilT*、*gilU*、*gilV*、*gilGT*、*gilMT* 等 24 个合成褐黄癌菌素 V 的关键编码基因的相似度为 68%~93%(表 4),说明该基因簇可能负责合成褐黄癌菌素 V。

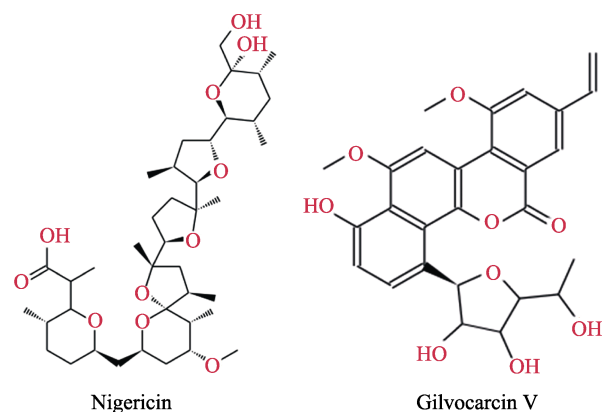


图 4 小串链霉菌 XG40 有抗菌活性的次级代谢产物结构示意图

Fig. 4 Structures of secondary metabolites with antibacterial activity in *S. catenulae* XG40

## 2.4 比较基因组学分析

对 XG40 基因组与 16 株不同链霉菌参考菌株的基因组完成图进行比较分析,发现 XG40 与参考菌株基因组大小相近,GC 含量均高于 70%,如表 5 所示。其中, XG40 与陆源链霉菌 ATCC 53653、黑孢链霉菌 DSM 40318、根霉链霉菌 DSM

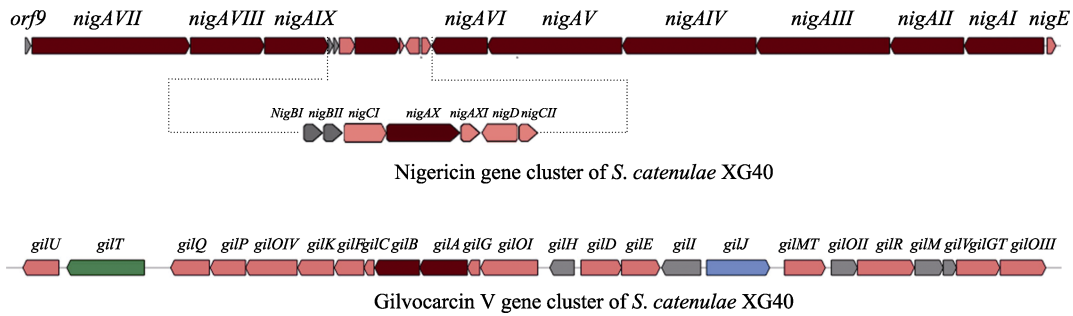


图 5 小串链霉菌 XG40 有抗菌活性的次级代谢产物合成基因簇

Fig. 5 Gene cluster of secondary metabolites with antibacterial activity in *S. catenulae* XG40

表 3 小串链霉菌 XG40 与紫黑链霉菌 Tu 4113 的尼日利亚菌素基因簇比对

Tab. 3 Comparison about the nigericin gene cluster of *S. catenulae* XG40 and *S. violaceusniger* Tu 4113

Gene	Protein accession No.	ORF of <i>S. violaceus-niger</i> Tu 4113	ORF of <i>S. catenulae</i> XG40	Similarity/%	Predicted function
<i>nigE</i>	ABC84455.1	270	271	87	O-methyltransferase
<i>nigAI</i>	ABC84456.1	2415	2392	74	Polyketide synthase KSQ ATa ACP
<i>nigAII</i>	ABC84457.1	2233	2218	78	Polyketide synthase KS ATa DH KR ACP
<i>nigAIII</i>	ABC84458.1	4083	4022	77	Polyketide synthase KS ATp DH KR ACP
<i>nigAIV</i>	ABC84459.1	4055	4030	77	Polyketide synthase KS ATp DH KR ACP
<i>nigAV</i>	BC84460.1	4045	4050	76	Polyketide synthase KS ATp DH KR ACP
<i>nigAVI</i>	ABC84461.1	1701	1669	75	Polyketide synthase KS ATp KR ACP
<i>nigCII</i>	ABC84462.1	288	290	88	Thioesterase
<i>nigD</i>	ABC84463.1	419	420	92	Cytochrome P450
<i>nigAXI</i>	ABC84464.1	112	138	88	Polyketide synthase ACP
<i>nigAX</i>	ABC84465.1	1299	1349	68	Polyketide synthase KS ATa KR
<i>nigCI</i>	ABC84466.1	476	477	87	Epoxidase
<i>nigBIII</i>	ABC84467.1	155	156	93	Cyclase
<i>nigBI</i>	ABC84468.1	145	146	82	Cyclase
<i>nigAIX</i>	ABC84469.1	1942	1918	77	Polyketide synthase KS ATp DH KR ACP
<i>nigAVIII</i>	ABC84470.1	2206	2228	76	Polyketide synthase KS ATp DH ER KR ACP
<i>nigAVII</i>	ABC84471.1	4787	4756	77	Polyketide synthase KS ATa KR ACP KS ATa
<i>ORF9</i>	ABC84472.1	182	184	73	--

41760、稀疏链霉菌 DSM 40356 和马来西亚链霉菌 DSM14702 等 4 株参考菌株在基因组大小、GC 含量、基因编码密度等方面非常相似，表明小串链霉菌 XG40 具有链霉菌的典型特征。不同菌株在 CDS 数目、rRNA 基因数目、假基因数目方面存在一些差异，表明菌株处在不同进化阶段，进化过程中丢失或新获得了一些不同的基因。

对 16 株链霉菌的全基因组序列进行 ANI 分析，结果表明，XG40 与 16 株链霉菌的 ANI 值均在 80% 以上，与根霉链霉菌 DSM 41760、马来西亚链霉菌 DSM 14702、黑孢链霉菌 DSM 40318 和陆源链霉菌 ATCC 53653 的 ANI 值较高，均在

85% 以上，分别为 85.70%、85.58%、85.54% 和 85.06%。采用 Geneious 软件对 XG40 和 4 株 ANI 值较高的链霉菌进行全基因组比对分析（图 6），5 株链霉菌基因组之间存在共线性，XG40 与根霉链霉菌 DSM 41760 基因组之间有 35 个局部共线性区（locally collinear blocks, LCBs），与马来西亚链霉菌 DSM 14702、黑孢链霉菌 DSM 40318 和陆源链霉菌 ATCC 53653 基因组之间各有 46、47、49 个局部共线性区。XG40 与 4 株菌的基因组之间存在较多的插入和缺失、倒位、易位等基因组重排事件，其中，XG40 相对于其他 4 株菌的基因组存在 3 个较大的 DNA 片段（分别为 0.9 Mb、

表 4 小串链霉菌 XG40 与灰黄链霉菌 Tu 4000 的褐黄癌菌素 V 基因簇比对

Tab. 4 Comparison about the gilvocarcin V gene cluster of *S. catenulae* XG40 and *S. violaceusniger* Tu 4000

Gene	Protein accession No.	ORF of <i>S.</i>		Similarity/%	Predicted function
		<i>violaceusniger</i> Tu 4000	<i>catenulae</i> XG40		
<i>gilOIII</i>	AAP69584.1	398	396	93	Putative cytochrome P-450 monooxygenase
<i>gilGT</i>	AAP69578.2	379	380	89	Putative C-glycosyltransferase
<i>gilV</i>	ABE03981.1	116	117	91	Hypothetical protein
<i>gilM</i>	AAP69591.1	247	248	89	Hypothetical protein
<i>gilR</i>	AAP69581.1	498	499	85	Putative oxidoreductase
<i>gilOII</i>	AAP69583.1	228	229	93	Putative anthrone monooxygenase
<i>gilMT</i>	AAP69580.1	357	359	83	Putative O-methyltransferase
<i>gilJ</i>	AAP69589.1	551	554	87	Putative transmembrane efflux protein
<i>gilI</i>	AAP69588.1	341	343	86	Putative repressor
<i>gilE</i>	AP69571.1	341	335	91	Putative NDP-glucose 4,6 dehydratase
<i>gilD</i>	AAP69577.1	355	356	90	Putative NDP-glucose synthase
<i>gilH</i>	AP69587.1	213	214	84	Putative reductase
<i>gilOI</i>	AAP69582.1	500	476	82	Putative FAD-dependent oxygenase
<i>gilG</i>	AAP69575.1	108	109	86	Putative cyclase
<i>gilA</i>	AAP69573.1	419	420	91	Putative alpha-ketoacyl synthase
<i>gilB</i>	P69574.1	391	392	88	Putative beta-ketoacyl synthase
<i>gilC</i>	AAP69572.1	89	90	91	Putative acyl carrier protein
<i>gilF</i>	AAP69586.1	259	260	89	Putative ketoreductase
<i>gilK</i>	AAP69576.1	316	317	88	Putative cyclase/dehydratase
<i>gilOIV</i>	AAP69585.1	451	449	77	Putative FAD-dependent oxygenase
<i>gilP</i>	AAP69579.1	310	311	84	Putative malonyl-CoA acyl carrier protein transacylase
<i>gilQ</i>	AAP69595.1	339	307	68	Putative acyl transferase
<i>gilT</i>	AAP69593.1	678	678	79	Putative regulatory protein
<i>gilU</i>	AAP69596.1	315	339	77	Putative NDP-sugar dehydratase/epimerase

表 5 小串链霉菌 XG40 与其他部分链霉菌基因组比较

Tab. 5 Genome characters comparison of *S. catenulae* XG40 with other *Streptomyces* sp.

Strain	Genome size/bp	GC content/%	CDS	Coding percent/%	Ribosomal RNA	tRNA	GenBank accession No.
<i>S. catenulae</i> XG40	9772324	70.58	8074	96.41	18	77	
<i>S. coelicolor</i> A3(2)	9054847	71.98	8154	98.11	18	65	NC_003888.3
<i>S. hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> OsiSh-2	10242426	72.10	7913	94.42	4	65	NZ_ACEX00000000.1
<i>S. hygroscopicus</i> subsp. <i>hygroscopicus</i> NBRC 12859	9781661	71.90	7691	92.54	5	68	NZ_BBOY01000006.1
<i>S. himastatinicus</i> ATCC 53653	104666286	70.00	8380	88.31	5	64	NZ_ACEX00000000.1
<i>S. iranensis</i> DSM 41954	11981584	70.90	9319	94.66	9	71	NZ_JAGGLR010000001.1
<i>S. melanosporofaciens</i> DSM 40318	10769732	71.00	8448	91.54	18	66	NZ_FNST00000000.1
<i>S. rapamycinicus</i> DSM 41530	12628629	71.10	9363	90.12	18	66	NZ_JACHNG010000001.1
<i>S. sparsogenes</i> DSM 40356	9699678	72.20	8104	91.85	4	67	NZ_ASQP01000321.1
<i>S. rhizosphaericus</i> DSM 41760	11044339	71.10	8595	93.73	18	68	NZ_JAGMTS000000000.1
<i>S. rhizosphaericus</i> 0250	11215006	71.10	8750	91.41	8	68	NZ_JAAIKT010000001.1
<i>S. malaysiensis</i> F913	11592529	71.00	8957	93.82	16	64	NZ_LJIW01000001.1
<i>S. malaysiensis</i> DSM14702	10683220	70.80	8060	90.63	21	66	NZ_JAALLH000000000.1
<i>S. lydicus</i> ATCC 31975	9244118	70.90	7723	95.97	21	69	NZ_RDTE01000003.1
<i>S. albus</i> DSM 40763	8093337	72.60	6540	95.17	19	61	NZ_RCIY01000040.1
<i>S. violaceusniger</i> NRRL F-8817	10460168	71.00	8494	92.37	12	64	NZ_LLZJ01000414.1
<i>S. antioxidans</i> MUSC 1641	9118065	71.50	7342	96.05	10	61	NZ_LAKD00000000.2

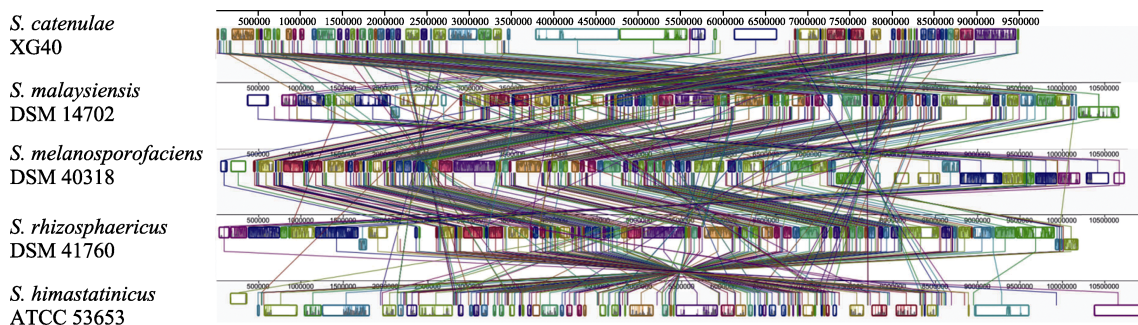


图 6 5 株链霉菌基因组共线性分析

Fig. 6 Synteny analysis of 5 *Streptomyces* strains

0.85 Mb、0.5 Mb) 插入和易位, 分析发现, 三原霉素、尼日利亚菌素和褐黄癌菌素 V 等生物合成基因簇分别位于 3 个 DNA 片段上, 因此推断此插入和易位可能是因为 XG40 存在合成三原霉素、尼日利亚菌素和褐黄癌菌素 V 的关键编码基因, 从而介导其生物合成。

### 3 讨论

由于全基因组测序技术取得的长足发展, 测序时间大大缩短且测序成本不断下降, 研究者可以快速经济地完成微生物全基因组测序和生物学功能注释<sup>[25-26]</sup>。本研究通过第三代 PacBio 全基因组测序分析, 结果表明, 小串链霉菌 XG40 基因组全长 9 772 324 bp, GC 含量为 70.58%, 编码 8074 个基因, 与模式菌株天蓝色链霉菌 (A3) 2 及其他拮抗链霉菌相近, 表明小串链霉菌 XG40 具有链霉菌的典型特征。本研究对小串链霉菌 XG40 进行全基因组测序分析, 有助于从分子水平了解其生物学功能和次级代谢产物的合成潜力, 为解析其高效的防病机制奠定基础。

链霉菌能够产生具有生物活性的次级代谢产物和酶, 在生物防治方面具有良好的应用潜力。通过全基因组测序等高通量测序手段, 解析链霉菌属次级代谢产物合成途径已经成为一种趋势<sup>[1, 8]</sup>。本研究中小串链霉菌 XG40 基因组中有 8074 个基因, eggNOG 数据库中有 6033 个蛋白序列得到注释, 其中有 300 个基因参与次级代谢产物合成、转运和代谢, 占注释到总基因的 4.97%。通过 antiSMASH 软件预测到 XG40 基因组有 46 个次级代谢产物生物合成基因簇。基因簇类型有 T1PKS、T2PKS、NRPS、NRPS-T1PKS、NRPS-T2PKS、铁载体、萜烯、 $\gamma$ -丁内酯、镧肽、黑色素、四氢嘧啶、 $\beta$ -莱克酮、芳基聚烯炔和吡啶等。放线菌产生的杀虫剂、抗菌剂、抗癌剂等大部分功能性

化合物由 PKS 和 NRPS 两种代谢途径合成<sup>[27-28]</sup>。本研究发现的具有抗菌活性的尼日利亚菌素和褐黄癌菌素 V 合成基因簇均是由 PKS 代谢途径合成。通过比对尼日利亚菌素基因簇中各个基因片段发现, 小串链霉菌 XG40 的尼日利亚菌素基因簇的基因与紫黑链霉菌 Tu 4113 中对应的基因均具有较高的相似性, 具有合成尼日利亚菌素的潜力。研究表明紫黑链霉菌 (*S. violaceusniger*) YCED9 产生的尼日利亚菌素可以抑制腐霉菌、镰孢菌和核盘菌等病原真菌的生长<sup>[21]</sup>。吸水链霉菌 (*S. hygroscopicus*) BRM10 产生的尼日利亚菌素可以抑制金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌等细菌的生长<sup>[29]</sup>。此外, 徐婷<sup>[30]</sup>利用生物信息学分析和 LC/MS 研究表明吸水链霉菌 (*S. hygroscopicus*) OsiSh-2 能产生尼日利亚菌素, 其对稻瘟病菌有一定的抑制效果。通过对比褐黄癌菌素 V 中各个基因片段发现, 除 *gilS*、*gilN*、*gilL* 基因外, 小串链霉菌 XG40 的褐黄癌菌素 V 基因簇的其他基因与灰黄链霉菌 Tu 4000 中对应的基因相似性均较高, 具有一定的合成褐黄癌菌素 V 能力。研究发现, 褐黄癌菌素 V 对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、肺炎链球菌、粪链球菌及变形杆菌等革兰氏阳性细菌均有较强的抑制活性<sup>[23-24]</sup>。小串链霉菌 XG40 基因组中这些与抗菌相关活性物质合成基因簇的发现, 为小串链霉菌 XG40 的生防作用机制提供了新的思路。该菌株具备一定的合成尼日利亚菌素和褐黄癌菌素 V 等抗菌物质的能力, 后续将探讨小串链霉菌 XG40 中尼日利亚菌素和褐黄癌菌素 V 等次级代谢产物的结构鉴定以及生防机制研究。

为挖掘小串链霉菌 XG40 与其他链霉菌的特性及共性, 本研究对小串链霉菌 XG40 和其他 16 株链霉菌进行比较分析, 结果表明, 小串链霉菌 XG40 基因组的基本特征与其他链霉菌属菌株非

常相似,符合链霉菌的基本特征。小串链霉菌 XG40 与根霉链霉菌 DSM 41760、马来西亚链霉菌 DSM 14702、黑孢链霉菌 DSM 40318 和陆源链霉菌 ATCC 53653 基因组进行共线性比较分析发现,5 株链霉菌基因组之间存在局部共线区,同时存在较多的插入和缺失、倒位、易位等基因组重排事件,基因组之间具有保守性,又具有独特性。本研究发现 17 株链霉菌中特有基因数目较多,表明菌株处在不同进化阶段,进化过程中丢失或新获得了一些不同的基因,该属在长期进化的过程中具有较高程度的水平基因转移现象。本研究为深入了解链霉菌次级代谢合成途径提供了参考信息,为进一步挖掘小串链霉菌 XG40 的生防潜力提供有力依据。

### 参考文献

- [1] 张博阳,朱天辉,韩珊,王莹,李姝江,谯天敏. 桑氏链霉菌 KJ40 全基因组测序及分析[J]. 微生物学通报, 2018, 45(4): 805-818.  
ZHANG B Y, ZHU T H, HAN S, WANG Y, LI S J, QIAO T M. Whole-genome sequencing and analysis of *Streptomyces sampsonii* KJ40[J]. Microbiology China, 2018, 45(4): 805-818. (in Chinese)
- [2] 周奕帆,李陈贵,许云,吴文婧,夏薇,黄小龙,黄东益,周双清. 紫黑链霉菌进化枝菌株 *Streptomyces solisilvae* HNM0141<sup>T</sup> 的全基因组分析[J]. 热带作物学报, 2022, 43(3): 455-462.  
ZHOU Y F, LI C G, XU Y, WU W Q, XIA W, HUANG X L, HUANG D Y, ZHOU S Q. Analysis of complete genome sequence of *Streptomyces solisilvae* HNM0141<sup>T</sup> of the *Streptomyces violaceusniger* clade[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(3): 455-462. (in Chinese)
- [3] 徐玲霞,王筱兰,杨慧林,杨林,施文杰,谢雅雯,林珊. 雄烯二酮高产菌新金分枝杆菌 MN4 的全基因组测序及序列分析[J]. 微生物学报, 2016, 56(8): 1358-1367.  
XU L X, WANG X L, YANG H L, YANG L, SHI W J, XIE Y W, LIN S. Whole-genome sequencing and analysis of a adrostenedione yielding strains *Mycobacterium neoaurum* MN4[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(8): 1358-1367. (in Chinese)
- [4] HOPWOOD D A. *Streptomyces* in nature and medicine: the antibiotic makers[J]. Journal of the History of Medicine and Allied Sciences, 2008, 63(2): 273-274.
- [5] PATERSON J, JAHANSHAH G, LI Y, WANG Q, MEHNAZ S, GROSS H. The contribution of genome mining strategies to the understanding of active principles of PGPR strains[J]. Fems Microbiology Ecology, 2017, 93(3): fiw249.
- [6] 王莎,窦桂铭,马玉超. 植物内生链霉菌 *Streptomyces* sp. SAT1 的基因组测序和比较基因组分析[J]. 微生物学通报, 2021, 48(9): 3039-3053.  
WANG S, DOU G M, MA Y C. Genome sequencing and comparative genome analysis of *Streptomyces* sp. SAT1[J]. Microbiology China, 2021, 48(9): 3039-3053. (in Chinese)
- [7] SAHA S, BRIDGES S, MAGBANUA Z V, PETERSON D G. Empirical comparison of *ab initio* repeat finding programs[J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36(7): 2284-2294.
- [8] 覃可,桑维钧,陈孝玉龙,李昊熙,杨茂发. 烟草拮抗链霉菌 FT05W 基因组测序与几丁质酶家族基因鉴定[J]. 中国生物防治学报, 2019, 35(3): 463-473.  
QIN K, SANG W J, CHEN X Y L, LI H X, YANG M F. Genome sequencing and identification of chitinase family genes of *Streptomyces* sp. FT05W, an antagonist of tobacco pathogens[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2019, 35(3): 463-473. (in Chinese)
- [9] KURODA Y, OKUHARA M, GOTO T, IGUCHI E, KOHSAKA M, AOKI H, IMANAKA H. FR-900130, a novel amino acid antibiotic I. discovery, taxonomy, isolation, and properties[J]. The Journal of Antibiotics, 1980, 33(2): 125-131.
- [10] SABUTSKII Y E, DENISENKO V A, DMITRENOK P S, POLONIK S G. Development of approaches to fibrostatin F, N-acetyl-L-cysteinyll-containing 1,4-naphthoquinone metabolite of *Streptomyces catenulae*[J]. Russian Chemical Bulletin, 2016, 65: 774-778.
- [11] ISHIMARU T, KANAMARU T, TAKAHASHI T, OKAZAKI H. Inhibition of prolyl hydroxylase activity and collagen biosynthesis by fibrostatin c, a novel inhibitor produced by *streptomyces catenulae* subsp. griseospora No. 23924[J]. Europe PMC, 1988, 41(11): 1668-1674.
- [12] ISHIMARU T, KANAMARU T, OHTA T, OKAZAKI H. Fibrostatins, new inhibitors of prolyl hydroxylase I. taxonomy, isolation and characterization[J]. The Journal of Antibiotics, 1987, 9: 1231-1238.
- [13] RUTJES F P J, WOLF L B, SCHOEMAKER H E. Applications of aliphatic unsaturated non-proteinogenic  $\alpha$ -H- $\alpha$ -amino acids[J]. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 2000, 1(24): 4197-4212.
- [14] KHALIL M A, EI-SHANSHOURY A E R, ALGHAMDI M A, SUN J Z, ALI S S. *Streptomyces catenulae* as a novel marine actinobacterium mediated silver nanoparticles: characterization, biological activities, and proposed mechanism of antibacterial action[J]. Front Microbiol, 2022, 13: 833154.
- [15] ROUSSEAU B, DOSTAL L, ROSAZZA J P. Biotransformations of tocopherols by *Streptomyces catenulae*[J]. Lipids,

- 1997, 32(1): 79-84.
- [16] SOLIMAN M A W, HAMZA A F, ZAHRAN N F, BASSIONI G. Microbiological study and insecticidal potential of purified extract from *Streptomyces* sp. on the larvae of *Galleria mellonella*[J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 2021, 128: 1565-1574.
- [17] ABO-GHALIA H H, MOHAMED A F, HAFEZ S S. Effect of the actinomycetes and arbuscular mycorrhizae isolated from heavy metal polluted sites on tolerance of peanut plants grown in soil spiked with manganese, zinc and iron[J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 6(1): 47-72.
- [18] 蒋常德, 胡艳晖. 一种防治小麦全蚀病的复合微生物菌肥及其制备方法: CN106244490A[P]. 2016-12-21.  
JIANG C D, HU Y H. A compound biofertilizer for controlling wheat take-all and its preparation method: CN106244490A[P]. 2016-12-21. (in Chinese)
- [19] 赖宝春, 戴瑞卿, 吴振强, 姚锦爱, 曾天宝, 王家瑞. 链霉菌 XG40 的鉴定及其对琯溪蜜柚黑斑病的防效[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(3): 662-672.  
LAI B C, DAI R Q, WU Z Q, YAO J A, ZENG T B, WANG J R. Screening, identification and biological control activity of *Streptomyces* sp. XG40 against black spot disease of guanxi honey pomelo cultivar[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2022, 38(3): 662-672. (in Chinese)
- [20] 赖宝春, 戴瑞卿, 吴振强, 曾天宝. 一株小串链霉菌 XG40 及其应用: CN113278564B[P]. 2022-02-08.  
LAI B C, DAI R Q, WU Z Q, ZENG T B. *Streptomyces catenulae* XG40 and its application: CN113278564B[P]. 2022-02-08. (in Chinese)
- [21] TREJO-ESTRADA S R, SEPULVEDA I, CRAWFORD D L. *In vitro* and *in vivo* antagonism of *Streptomyces violaceus-niger* YCED9 against fungal pathogens of turfgrass[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1998, 14: 865-872.
- [22] HARBEBY B, MIRONENKO T, SUN Y H, HONG H, DENG Z X, LEADLAY P F, WEISSMAN K J, HAYDOCK S F. Insights into polyether biosynthesis from analysis of the nigericin biosynthetic gene cluster in *Streptomyces* sp. DSM4137[J]. Chemistry and Biology, 2007, 14: 703-714.
- [23] 侯加波. 两株深层土壤链霉菌的次生代谢产物研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.  
HOU J B. Studies on the secondary metabolite from two strains of deep soil *Streptomyces*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012. (in Chinese)
- [24] NAKANO H, MATSUDA Y, ITO K, OHKUBO S, MORIMOTO M, TOMITA F. Gilvocarcins, new antitumor antibiotics 1. taxonomy, fermentation, isolation and biological activities[J]. The Journal of Antibiotics, 1981, 34(3): 266-270.
- [25] 贾慧琼, 阮陟. 全基因组测序在病原菌分型与溯源中的应用研究进展[J]. 微生物学报, 2022, 62(3): 949-967.  
JIA H Q, RUAN Z. Advances on whole genome sequencing-powered typing and source tracking of bacterial pathogens[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(3): 949-967. (in Chinese)
- [26] 吴杭, 白林泉, 周秀芬, 邓子新. 微生物药物产生菌功能基因组学研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2013, 38(3): 175-184.  
WU H, BAI L Q, ZHOU X F, DENG Z X. Progress in functional genomics of drug-producing microorganisms[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2013, 38(3): 175-184. (in Chinese)
- [27] GE B B, LIU Y, LIU B H, ZHANG K C. Draft genome sequence of *Streptomyces ahygroscopicus* subsp. wuyiensis ck-15, isolated from soil in Fujian province, China[J]. Genome Announcements, 2015, 3(5): e01125-15.
- [28] 王浩, 刘宁, 黄英. 放线菌模块型聚酮合酶的系统发育组学分析及其在聚酮类化合物筛选中的应用[J]. 微生物学报, 2010, 50(10): 1293-1304.  
WANG H, LIU N, HUANG Y. Phylogenomic analysis of modular polyketide synthases in actinomycetes and its application in product screening[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(10): 1293-1304. (in Chinese)
- [29] TAECHOWISAN T, CHANAPHAT S, RUENSAMRAN W, PHUTDHAWONG W S. Antibacterial activity of 1-methyl ester-nigericin from *Streptomyces hygroscopicus* BRM10, an endophyte in *Alpinia galangal*[J]. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2013, 3(5): 104-109.
- [30] 徐婷. 水稻内生放线菌 OsiSh-2 抗稻瘟病活性分析及抗菌物质鉴定[D]. 长沙: 湖南大学, 2020.  
XU T. The analysis of action mode against rice blast fungus of the rice endophyte OsiSh-2 and identification of its bioactive metabolites[D]. Changsha: Hunan University, 2020. (in Chinese)