

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241110001

引用格式: 温冬灼, 张智. 耐高温解淀粉芽孢杆菌 BA-DES4 基因组分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(6): 10–16.
WEN DZ, ZHANG Z. Genomic analysis of high temperature resistant *Bacillus amylopliticus* BA-DES4 [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(6): 10–16. (in Chinese with English abstract).

耐高温解淀粉芽孢杆菌 BA-DES4 基因组分析

温冬灼¹, 张智^{2*}

(1. 吉林工程职业学院粮油食品学院, 四平 136001; 2. 东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 利用生物软件和数据库对耐高温解淀粉芽孢杆菌 BA-DES4 的基因组数据进行处理、注释和分析, 并在基因水平上对菌株特征进行功能注释。**方法** 通过京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)和基因本体论(gene ontology, GO)等代谢信号通路, 蛋白质同源组(clusters of orthologous groups of proteins, COG)、非冗余蛋白质(non-redundant protein, NR)数据库等分析, 分别与预测得到的基因序列做比对, 获得基因功能注释表。将预测得到基因的蛋白序列与 COG、KEGG 和 GO 数据库进行蛋白质序列对蛋白质序列库比对(basic local alignment search tool: protein, BLASTP)比对分析, 从而实现基因注释信息预测及功能预测。**结果** 通过数据库分析可知其碱基数目为 4188731, GC 含量占比为 46.18%, 编码的蛋白基因 4445 条, 基因总长度为 3696380 bp。对基因组蛋白编码基因进行功能注释可知, COG 注释基因中占比最高的功能为 G(碳水化合物的转运和代谢), 其次为 K(转录), 表明 COG 数据库编码的蛋白基因主要参与细胞的基本功能。GO 注释中, 基因种类和数目最多的为生物学过程; 碳水化合物活性酶(carbohydrate-active enzymes, CAZy)注释中, 水解酶占比最高; KEGG 注释中, 碳水化合物代谢数目最多; 在环境信息中, 信息转导占比最多。耐高温解淀粉芽孢杆菌 BA-DES4 共 11 条编码纤维素酶的基因, β -葡萄糖苷酶和内切葡聚糖酶为基因编码的酶。**结论** 本研究对耐高温解淀粉芽孢杆菌 BA-DES4 的基因组数据进行处理、注释和分析, 进一步探索菌株研究潜力, 以便更好地探究菌株产纤维素的调控机制, 为后续实验提供理论基础。

关键词: 解淀粉芽孢杆菌; 纤维素酶; 基因组

Genomic analysis of high temperature resistant *Bacillus amylopliticus* BA-DES4

WEN Dong-Zhuo¹, ZHANG Zhi^{2*}

(1. College of Cereals, Oils and Foodstuffs, Jilin Engineering Vocational College, Siping 136001, China;
2. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

ABSTRACT: Objective To process, annotate and analyze the genomic data of the high temperature resistant *Bacillus amylopliticus* BA-DES4 by biological software and databases, and to functionally annotate the strain characteristics at the gene level. **Methods** Metabolic signaling pathways were analyzed by metabolic signaling pathways kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) and gene ontology (GO), clusters of orthologous groups of proteins (COG), non-redundant protein (NR) database, etc., which were compared with the predicted gene

收稿日期: 2024-11-10

第一作者: 温冬灼(1997—), 男, 硕士, 主要研究方向为食品发酵、功能食品等研究。E-mail: wendongzhuo@126.com

*通信作者: 张智(1964—), 女, 教授, 主要研究方向为食品发酵、植物生物转化、功能食品等研究。E-mail: Idzhangzhi@163.com

sequences to obtain the gene function annotation table. The protein sequences of the predicted genes were compared with COG, KEGG and GO databases for BLASTP analysis, to realize the prediction of gene annotation information and function prediction. **Results** The database analysis showed that the number of bases was 4188731, and the GC content accounted for 46.18%. There were 4445 protein genes, with a total length of 3696380 bp. Functional annotation of genomic protein coding genes showed that the highest proportion of COG-annotated genes was for G (carbohydrate transport and metabolism), followed by K (transcription), which indicated that protein genes encoded in the COG database were mainly involved in the basic cellular function. The GO annotation revealed that the predominant gene types and genes were classified under biological processes. The carbohydrate-active enzymes (CAZy) annotation identified hydrolytic enzymes as the most prevalent category. The KEGG annotation showed that carbohydrate metabolism accounted for the highest number of genes. In the environmental information category, information transduction emerged as the most significant percentage. In the high-temperature resistant *Bacillus amylopliticus* BA-DES4, 11 genes were found to encode cellulases, with β -glucosidase and endoglucanase being the genes encoding enzymes. **Conclusion** In this study, the genomic data of *Bacillus amylopliticus* BA-DES4 is processed, annotated and analysed in order to further explore the research potential of the strain, to better investigate the regulatory mechanism of cellulose production in *Bacillus amylopliticus* BA-DES4 and to provide a theoretical basis for subsequent experiments.

KEY WORDS: *Bacillus amylopliticus*; cellulase; genome

0 引言

纤维素是自然界中蕴藏最为丰富的可再生资源,绝大部分尚未被人类利用,采用适合的方法高效降解纤维素逐渐成为研究热点^[1-2]。生物降解法降解纤维素具有耗费小、污染少、效果好的优点,是一种理想的降解手段^[3]。在生物降解纤维素中,纤维素降解菌是纤维素降解的关键,纤维素降解菌的筛选和应用对于提高纤维素的转化效率、农业废弃物处理具有重要意义。传统工业上利用的真菌类纤维素降解菌有一定的局限性,而细菌类纤维素降解菌株具有生长速度快、酶产量高、对环境条件适应性强等优点,是不错的菌株来源^[4-5]。本研究实验菌株为经诱变后获得的耐高温产纤维素酶菌株,菌株名称为解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amylopliticus* BA-DES4),该菌株具有耐高温、兼性厌氧等生物性状,为其工业的发展,满足其工业生产上的需求。

近年来,生物信息学作为菌株探索的新手段逐渐进入人们视野,基因功能越来越多通过基因组挖掘导向而发现,生物信息学手段具有操作简便、效率高以及目的性强等优点,为微生物潜力开发奠定了基础,也推动了新型次级代谢产物的挖掘^[6-7]。张晶^[8]通过宏基因组测序探究了麦曲阿魏酸产生功能酶基因和微生物多样性,最终发现共有8个细菌属和2个真菌属的微生物注释到阿魏酸酯酶,共有23个细菌属和13个真菌属注释到的5种参与纤维素降解相关的酶类基因。杨美玲^[9]通过对放线菌的新物种进行生物信息学分析研究,分析京都基因和基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)代谢途径中,碳水化合物代谢及氨基酸代谢占比较大。内切葡聚糖

酶是纤维素酶系统最主要部分,对纤维素降解有至关重要的作用,但天然微生物中产生的内切葡聚糖酶活性低、稳定性差,难以满足工业生产中的要求。可以通过基因工程技术,将内切葡聚糖酶的基因插入到高效的宿主细胞中,从而大规模生产内切葡聚糖酶,显著提高酶的产量^[10-12]。因此,本研究目的菌株基因编码蛋白的结构与功能,预测降解纤维素有关的功能基因。通过蛋白质同源组(clusters of orthologous groups of proteins, COG)、KEGG、基因本体论(gene ontology, GO)数据库及非冗余蛋白质(non-redundant protein database, NR)功能数据库分别与预测得到的基因序列做比对,获得基因功能注释表。将预测得到基因的蛋白序列与COG、KEGG和GO数据库进行蛋白质序列对蛋白质序列库比对(basic local alignment search tool: protein, BLASTP)比对分析,从而实现基因注释信息预测及功能预测,以便更好地探究菌株产纤维素的调控机制,进一步探索该菌株研究潜力,为后续基因工程实验提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验菌株

解淀粉芽孢杆菌 BA-DES4,由东北林业大学发酵实验室筛选保藏,纤维素酶活力为61.5 U/mL。

1.2 试剂与设备

1.2.1 试剂

蛋白胨、酵母粉、牛肉膏(生物试剂,北京奥博星生物技术有限公司);二硝基水杨酸(3,5-dinitro salicylic acid, DNS)试剂(生物试剂)、羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethyl cellulose, CMC-Na)、硫酸镁、氯化钠、柠檬酸、柠檬

酸钠、蔗糖、磷酸二氢钾、氯化钙、氯化镁(分析纯)(天津市天力试剂有限公司); Rapid Bacterial Genomic DNA Isolation Kit 试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司]。

1.2.2 仪器与设备

JA2003 分析天平(感量 0.1 mg, 上海良平仪器仪表有限公司); BS 124 S 电子天平(感量 0.01 g, 沈阳龙腾电子仪器厂); DHG-9240 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); SJ-3 F pH 计(上海圣科仪器设备有限公司); TGL-16G 台式离心机(上海科雳仪器设备有限公司); DK-98-II A 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司); RT-6000 酶标仪(深圳雷杜生命科学有限公司); KQ-300 DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); UV-5500 PC 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 发酵产酶培养基配制

分别称量蛋白胨 3 g, 酵母粉 0.5 g, 硫酸铵 2.0 g, 磷酸二氢钾 4 g, 氯化钠 0.3 g, 硫酸镁 0.3 g, CMC-Na 20 g, 加入蒸馏水 1000 mL, 121 °C 灭菌 20 min^[13-14]。

1.3.2 目的菌株全基因组测序分析

(1) 基因组测序

对解淀粉芽孢杆菌 BA-DES4 的基因组序列的测定由上海生工公司利用 Illumina 高通量测序平台完成^[15]。

(2) 基因组 DNA 提取

对解淀粉芽孢杆菌 BA-DES4 的基因组提取采用试剂盒(Rapid Bacterial Genomic DNA Isolation Kit)^[16]。

(3) 基因组基因注释预测

GeneMark(版本 4.17)软件可以预测基因, 以及蛋白编码区阅读框的位移的工具。通过 GeneMark 软件对菌株全基因组进行编码基因预测及过滤^[17-19]。

(4) 基因组的非编码基因预测

非编码 RNA, 指不翻译成蛋白质的 RNA, 如 tRNA、rRNA 等。软件 tRNAscan-SE 可对基因组中 tRNA 进行注释, 将拼接组装好的的基因组输入进行注释, 使用 tRNAscan-SE v1.3.1 预测 tRNA; 然后使用 RNAmmer v1.2 进行 rRNA 预测^[20-22]。

(5) 基因组的蛋白编码基因功能注释

蛋白编码基因的功能注释的目的在于对蛋白编码基因的功能进行注释可以从分子水平角度对物种认识更加清晰。基因(蛋白)常见的功能分析方法有: 代谢信号通路 KEGG 和 GO 分析。另外还有 COG、NR 数据库等分析^[23-24]。

(6) 全基因组数据处理分析

对组装结果进行预测由 GeneMark 软件完成^[20], 通过 GO、COG、KEGG 及 NR 功能数据库分别与预测得到的基

因序列做比对, 获得基因功能注释表。将预测得到基因的蛋白序列与 COG、KEGG 和 GO 数据库进行 BLASTP 比对分析, 从而实现基因注释信息预测及功能预测^[25-27]。

1.4 数据处理

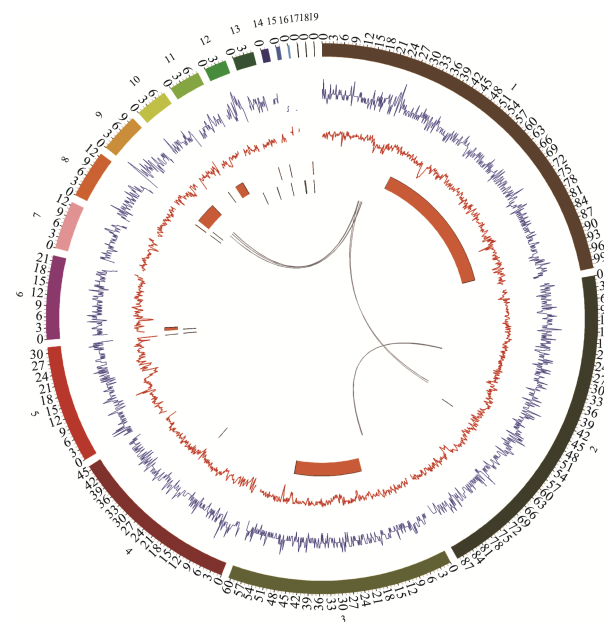
实验中的数据均平行测定 3 次, 以平均值±标准偏差表示, 基础数据统计采用 Excel 365 软件, 作图采用 Origin 8.5 软件, 显著性分析采用 SPSS 19.0 软件完成^[28]。

2 结果与分析

2.1 基因组分析及功能注释

2.1.1 基因组基本特征

采用 circos 绘制基因组圈图, 菌株 BA-DES4 基因组由一条环状染色体组成, 如图 1 所示, 总基因长度为 3696380 bp, 831.58 bp 是基因的平均长度, 最短及最长基因长度分别为 45 bp 和 7158 bp; 其环状基因组示意图如图 1 所示, 碱基数目为 4188731, 编码蛋白的基因数 4445 条, 编码蛋白的基因比率为 88.25%, 77 个 tRNA 基因和 10 个 rRNA, GC 含量占比 46.18%。由图 2 可知, 菌株 BA-DES4 的基因长度大多数在 200~1200 bp 之间, 其中 39 个基因长度大于 3000 bp, 而长度在 1600~3000 bp 之间的基因较少。



注: 由外向内包含 6 圈, 第一圈为基因组组装结果, 共获得 19 个 scaffold 序列; 第二圈为基因的分布, 绘图数据为窗口内存在的基因个数, 窗口大小为 2 kb; 第三圈为基因组 GC 分布, 绘图数据为窗口内序列的 GC 占比, 窗口大小 2 kb; 第四圈为 tRNA 基因的分布情况; 第五圈为 rRNA 的分布情况; 第六圈为同源基因的分布情况, 线条连接的两个基因具有同源序列。

图 1 基因组圈图

Fig.1 Genome circle mapping

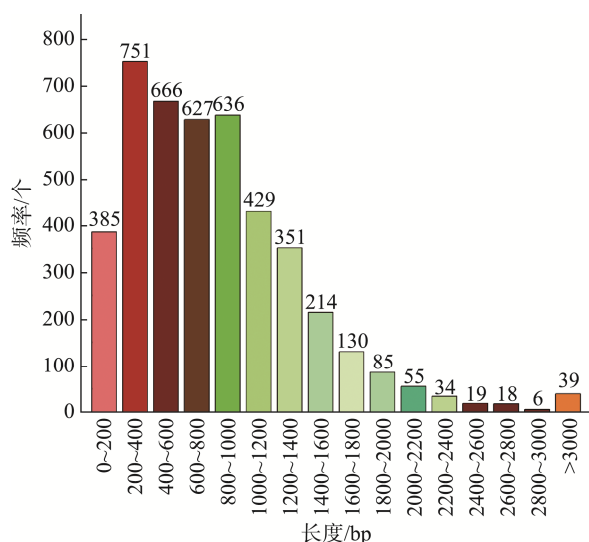
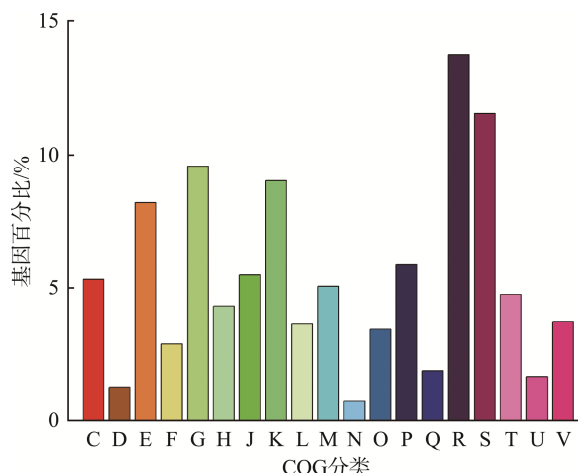


图2 预测的基因长度分布图

Fig.2 Gene length distribution of predicted genome

2.1.2 COG 数据库功能注释

图3为在BA-DES4基因组中COG的功能分类图。COG注释基因数3111条,占编码蛋白基因的72.96%。由图3可知,与代谢编码的蛋白相关基因数共1231条,占比为39.57%。COG注释基因中代谢途径占比最高的功能为G(碳水化合物的转运和代谢)达到9.58%,相关基因数为298条,其次为K(转录)相关的基因数为281条,占比为9.03%。之后E(氨基酸转运和代谢)相关的基因数为255条,占比为8.20%。这3大类功能说明COG数据库编码的蛋白基因主要参与细胞的基本功能,这些相关的功能基因在保障微生物正常生长活动的同时,还可以促进它们对外部环境的适应。



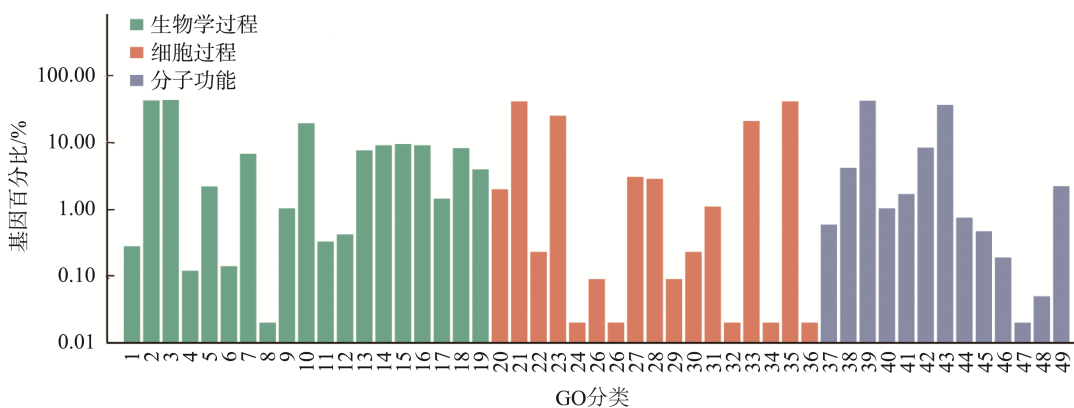
注: C. 能量产生与转换; D. 细胞周期控制, 细胞分裂和染色体分裂; E. 氨基酸转运与代谢; F. 核酸转运与代谢; G. 碳水化合物转运与代谢; H. 辅转运与代谢; I. 脂质转运与代谢; J. 翻译, 核糖体结构和生物合成; K. 转录; L. 复制, 重组与修复; M. 细胞壁/膜/包膜的生物合成; N. 细胞活性; O. 翻译后修饰, 蛋白质转化与分子伴侣; P. 无机离子的转运与代谢; Q. 次级代谢产物的生物合成, 运输与分解代谢; R. 一般功能预测; S. 未知功能; T. 信号传导机制; U. 细胞内运输, 分泌和囊泡; V. 防御机制。

图3 COG功能注释分类图

Fig.3 Annotated classification chart of COG functions

2.1.3 GO 数据库功能注释

GO注释基因的总数为3242条,占编码蛋白基因的76.03%。由图4可知,基因种类和数目最多的为生物学过程,基因种类达到19种,其中细胞内过程、代谢过程占主导地位;17种与细胞过程相关的基因,占主要组分的为细胞部位、细胞;13种与分子功能相关的基因,催化活性和蛋白结合这两部分在其过程中起着关键的作用。



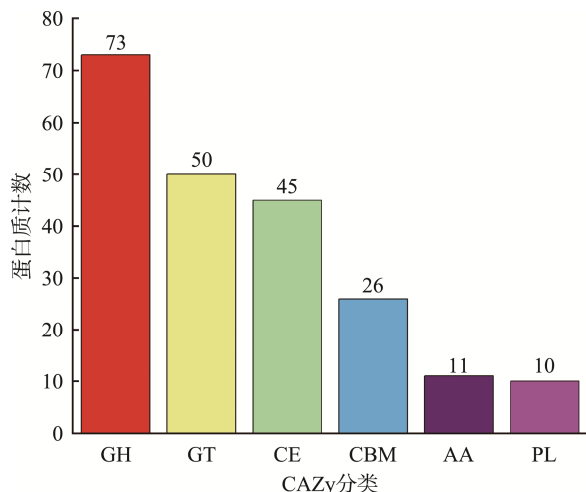
注: 1. 繁殖; 2. 代谢过程; 3. 细胞过程; 4. 生物黏附; 5. 信号传递; 6. 多细胞机体过程; 7. 发育过程; 8. 生长; 9. 运动; 10. 单一机体过程; 11. 生物过程的正向调节; 12. 生物过程的反向调节; 13. 生物过程的调控; 14. 对刺激的反应; 15. 定位; 16. 定位的建立; 17. 多生物过程; 18. 生物调控; 19. 细胞成分组织或生物生成部分; 20. 细胞外区域; 21. 细胞; 22. 核仁; 23. 膜; 24. 病毒; 25. 细胞外矩阵; 26. 膜-封闭的腔体; 27. 大分子复合体; 28. 细胞器; 29. 细胞外基质部分; 30. 细胞外区域部分; 31. 细胞器部分; 32. 病毒部分; 33. 膜部分; 34. 突触部分; 35. 细胞部分; 36. 突触; 37. 蛋白结合转录因子活性; 38. 核酸结合转录因子活性; 39. 催化活性; 40. 受体活性; 41. 结构分子活性; 42. 转运体活性; 43. 蛋白结合; 44. 电子载体活性; 45. 抗氧化剂活性; 46. 酶调节剂活性; 47. D-丙氨酰载体活性; 48. 营养库活性; 49. 分子转导剂活性。

图4 GO功能注释分类图

Fig.4 Annotated classification chart of GO functions

2.1.4 碳水化合物活性酶注释

如图 5 所示, 采用比对 CAZy 数据库的方式, 获得菌株 BA-DES4 的碳水化合物活性酶基因注释并进行统计, GH 占比最高达到 33.95%, 其次为 GT, 占比达到 23.26%。



注: 糖苷水解酶基因(glycoside hydrolases, GH); 糖基转变酶基因(glycosyl transferases, GT); 糖脂酶基因(carbohydrate esterases, CE); 糖基聚集模块基(carbohydrate-binding modules, CBM); 辅助功能的酶基因(auxiliary activities, AA); 多糖裂合酶(polysaccharide lyases, PL)。

图 5 碳水化合物活性酶基因注释

Fig.5 Carbohydrate-active enzyme gene annotation

2.1.5 KEGG 代谢通路分类

经 KEGG 注释基因数共 1845 条, 占编码蛋白基因的 43.27%。从图 6 中可知, 菌株 BA-DES4 代谢途径中, 碳水化合物代谢相关的基因数最多为 491 条, 氨基酸代谢相关的基因数 350 条。表明碳水化合物代谢和氨基酸代谢在代谢途径中占主要优势。在环境信息中, 信息转导占比最多, 相关基因数为 231 条。

2.2 纤维素降解相关基因预测

如图 7 所示为基因韦恩图, 菌株 BA-DES4 被 3 个数据库同时注释的基因数为 1559 条。此外, COG 和 GO 数据库共同注释基因数为 1288 条, GO 和 KEGG 数据库共同注释基因数 23 条, COG 和 KEGG 数据库共同注释基因数 20 条。

2.2.1 COG 注释中的纤维素酶基因

参与碳水化合物运输与代谢通过 COG 注释基因数为 298 条。分析表 1 可知, COG 注释结果, 进行比对后获得 6 条纤维素酶相关基因, 包括表示纤维素酶和参与纤维素酶促反应的相关蛋白的 COG1363, 以及表示内切葡聚糖酶的 COG2730 和 COG4305, 表明菌株 BA-DES4 含有纤维素酶相关蛋白并且能够分泌内切葡聚糖酶。

2.2.2 GO 注释中的纤维素酶基因

如表 2 所示, GO 注释结果中搜索到 7 条纤维素酶相关基因。表示纤维素酶活性的 GO:0008810, 其作用为将纤维素中的 β -1,4-糖苷键进行催化水解处理; 表示葡萄糖苷酶活性的 GO:0015926, 其作用为催化葡萄糖基复合物的水解反应。

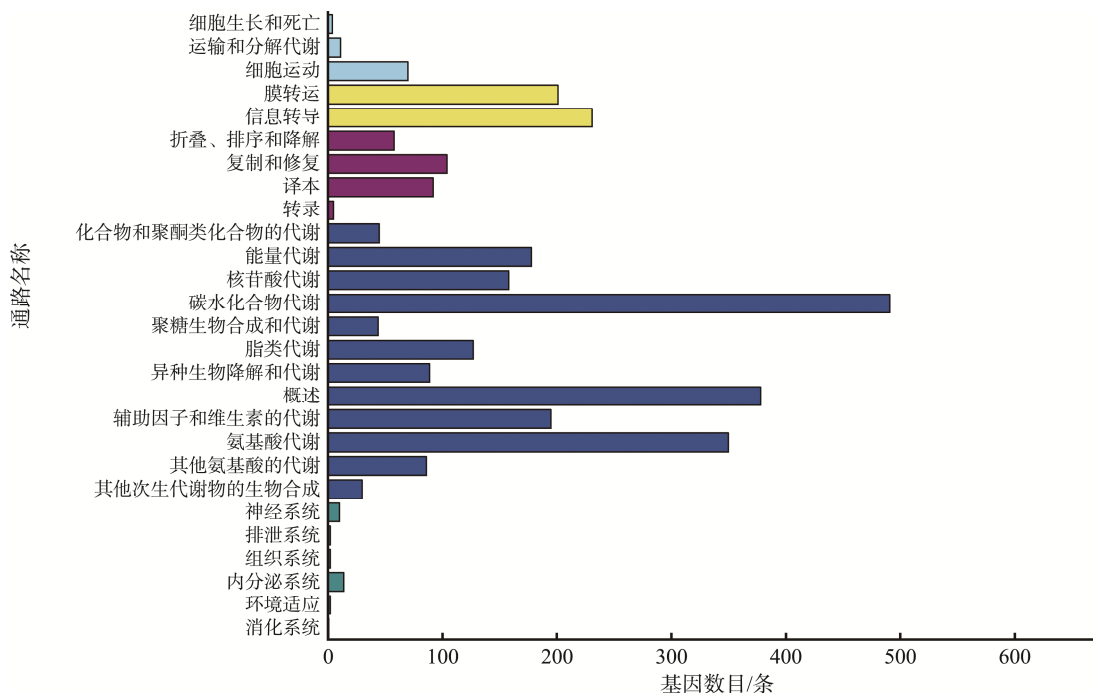


图 6 KEGG 代谢通路注释分类图

Fig.6 Annotated classification chart of the KEGG metabolic pathway

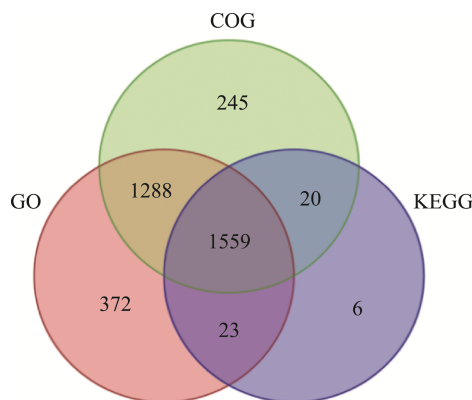


图 7 基因韦恩图
Fig.7 Venn diagram of gene

表 1 COG 注释中纤维素酶基因

Table 1 COG annotation of the cellulase gene

基因编码	COG 编码	COG 名称	路径名称
PROKKA_02186	COG1363	纤维素酶和 相关蛋白	碳水化合物 运输
PROKKA_02914	COG1363		
PROKKA_04172	COG1363	内切葡聚 糖酶	
PROKKA_01487	COG2730		
PROKKA_03102	COG2730		
PROKKA_03292	COG4305		

表 2 GO 注释中纤维素酶基因

Table 2 GO annotation of the cellulase gene

基因编码	GO 编码	GO 名称	注释
PROKKA_01074	GO:0008810	纤维素 酶活性	纤维素通过 β -1,4-糖苷键进 行催化水解处理
PROKKA_01487			
PROKKA_01488			
PROKKA_01489			
PROKKA_03102			
PROKKA_03661	GO:0015926	葡聚糖苷 酶活性	葡萄糖基化合物 水解的催化, 葡 萄糖基化合物含 有源自葡萄糖的 环状形式或葡萄 糖衍生物的物质
PROKKA_00936			

2.2.3 KEGG 注释中的纤维素酶基因

KEGG 注释结果中分析共有 328 种代谢通路, 分析表 3 可知, 淀粉与蔗糖代谢途径中与纤维素酶解相关的基因共 5 条, 其产酶为内切葡聚糖酶, 对应酶编号为 EC:3.2.1.4。

表 3 KEGG 注释中纤维素酶基因

Table 3 KEGG annotation of the cellulase gene

基因编码	KO 编号	名称	酶编号	路径名称
PROKKA_01487	K01179	内切葡 聚糖酶	EC:3.2.1.4	ko00500: 淀粉与蔗糖 代谢
PROKKA_01489	K01179			
PROKKA_02914	K01179			
PROKKA_03102	K01179			
PROKKA_04172	K01179			

2.2.4 COG、GO、KEGG 共同注释的纤维素酶基因

将共同注释的基因去除掉后, 共 11 条纤维素酶基因被 3 个数据库注释到, β -葡萄糖苷酶和内切葡聚糖酶为基因编码的酶。分析上述数据库注释基因可知, 其中 3 个数据库均注释到的基因有 2 条, 分别为 PROKKA_01487 和 PROKKA_03102。

3 结 论

在实际应用中, 纤维素降解菌的应用范围广泛, 包括农业废弃物处理、堆肥过程、生物燃料生产等领域。例如, 在牛粪堆肥中添加纤维素降解菌可以显著提高堆肥的腐熟度和肥效。此外, 纤维素酶在食品加工、造纸、纺织等行业也有广泛应用^[29]。纤维素降解菌的筛选和应用对于提高纤维素的转化效率和农业废弃物处理具有重要意义。传统工业上利用的真菌类纤维素降解菌有一定的局限性, 而细菌类纤维素降解菌株因其生长速度快、酶产量高、对环境条件适应性强等优点, 成为理想的菌株来源。通过诱变等手段获得耐高温、高产纤维素酶的细菌菌株, 结合优化产酶条件和微生物协同降解的优势, 可以有效提高纤维素的转化效率, 推动可持续发展和绿色经济的发展^[30]。内切葡聚糖酶是纤维素酶系统最主要部分, 对纤维素降解有至关重要的作用, 但天然微生物中产生的内切葡聚糖酶活性低、稳定性差, 难以满足工业生产中的要求。本研究实验菌株为经诱变后获得的耐高温产纤维素酶菌株, 菌株为解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens* BA-DES4), 该菌株具有耐高温、兼性厌氧等生物性状, 为其工业的发展, 满足其工业生产上的需求。

本研究通过基因组测序, 分析其参与纤维素降解的基因, 并对纤维素酶的功能进行验证。结果表明, 将预测得到基因的蛋白序列与 COG、KEGG 和 GO 数据库进行 BLASTP 比对分析, 结果表明, COG 注释基因中占比最高的功能为 G(碳水化合物的转运和代谢), 其次为 K(转录)。GO 注释中, 基因种类和数目最多的为生物学过程。CAZy 注释中, 水解酶占比最高。KEGG 注释中, 碳水化合物代谢数目最多, 在环境信息中, 信息转导占比最多, 与上述结果相符, 本研究结果有一定理论依据^[31]。但目前对于解淀粉芽孢杆菌产纤维素酶的酶学性质仍需要进一步的研究, 将解淀粉芽孢杆菌开发成为工业化生产纤维素酶的微生物潜力等技术仍需要完善, 为实现基因组重组技术筛选优良性状菌株提供试验基础。后续研究可以通过基因工程技术, 将内切葡聚糖酶的基因插入到高效的宿主细胞中, 从而大规模生产内切葡聚糖酶, 显著提高酶的产量。

参考文献

[1] 张亚青, 张羨, 付佳伟, 等. 原生质体紫外诱变法选育高产 γ -氨基丁酸秀珍菇菌株[J]. 浙江科技学院学报, 2019, 31(3): 198-205.
ZHANG YQ, ZHANG X, FU JW, et al. Breeding of GABA-rich *Pleurotus geesteranus* strains through an ultraviolet ray-mediated protoplast

- mutagenesis method [J]. Journal of Zhejiang University of Science and Technology, 2019, 31(3): 198–205.
- [2] 邢翠霞, 夏雨潇, 张伟欣, 等. 里氏木霉纤维素酶基因表达与调控[J]. 微生物学通报, 2024, 51(12): 4884–4898.
XING CX, XIA YX, ZHANG WX, *et al.* Expression and regulation of the cellulase gene of *Aspergillus ricci* [J]. Microbiology China, 2024, 51(12): 4884–4898.
- [3] CUI H, FAN S, DING W, *et al.* Genomic analysis of novel sulfitebacter bacterial strains isolated from marine biofilms [J]. Marine Drugs, 2024, 22(7): 289–289.
- [4] BASTIAN I. Whole genome sequencing for the *M. tuberculosis* resistome [J]. Pathology, 2022, 54: S27–S28.
- [5] NILOUFAR T, KALATEH HR, BABAK K. Genotypic and phenotypic diversity of *Prototheca* spp. recovered from bovine mastitis in terms of antimicrobial resistance and biofilm formation ability [J]. BMC Veterinary Research, 2022, 18(1): 452.
- [6] PANPAN D, MIN W, RU Z, *et al.* Identification and bioinformatic analysis of the CaCesA/CsIs family members and the expression of the CaCslD1 in the flower buds of CMS/Rf system in pepper [J]. Functional & Integrative Genomics, 2022, 22(6): 1411–1431.
- [7] BRUZNICAN S, ECKHAUT T, VAN-HUYLENBROECK J, *et al.* An asymmetric protoplast fusion and screening method for generating celeriac cybrids [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 1–12.
- [8] 张晶. 黄酒麦曲中产阿魏酸功能菌群解析及 *Penicillium oxalicum* M1816 在黄酒中的强化应用[D]. 无锡: 江南大学, 2021.
ZHANG J. Analysis of functional microbiota for ferulic acid production in Huangjiu wheat Qu and bioaugmentation of *Penicillium oxalicum* M1816 in Huangjiu [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.
- [9] 杨美玲. 十株放线菌新物种的生物信息学分析及次级代谢产物初探[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2021.
YANG ML. Bioinformatics analysis of ten new species of actinomycetes and preliminary study on secondary metabolites [D]. Aral: Tarim University, 2021.
- [10] 杨涛. 二甲双胍经由肠道菌群缓解 CCl₄ 诱导小鼠肝纤维化的机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2023.
YANG T. Mechanism of metformin via intestinal flora to alleviate CCl₄-induced hepatic fibrosis in mice [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023.
- [11] DU JG, ZHANG HT, LI WL, *et al.* Optimization of protoplast preparation system from leaves and establishment of a transient transformation system in *Apium graveolens* [J]. Agronomy, 2023, 13(8): 2145.
- [12] 贾啸静, 马静, 胡紫薇, 等. 原生质体诱变及高通量筛选选育链霉素高产菌株[J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(9): 878–882.
JIA XJ, MA J, HU ZW, *et al.* Selection of high-yielding strains of streptomycin by protoplast mutagenesis and high-throughput screening [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2020, 45(9): 878–882.
- [13] YANG J, XIAO S, LU L, *et al.* Genomic and molecular characterization of a cyprinid herpesvirus 2 YC-01 strain isolated from gibel carp [J]. Heliyon, 2024, 10(13): e32811.
- [14] PATANKAR S, DUDHANE A, PARADH AD, *et al.* Improved bioethanol production using genome-shuffled clostridium ragsdalei (DSM 15248) strains through syngas fermentation [J]. Biofuels, 2021, 12(1): 81–89.
- [15] 邹彰毅, 邓百万. 姬松茸原生质体制备及再生条件优化[J]. 北方园艺, 2020(3): 128–137.
ZOU ZY, DENG BW. Optimization of protoplast preparation and regeneration conditions of *Agaricus blazei* [J]. Northern Horticulture, 2020(3): 128–137.
- [16] 潘旭耀. 芽孢杆菌种间原生质体融合选育高产脂肽新菌株[D]. 广州: 华南农业大学, 2019.
PAN XY. Breeding of a new strain of high-yield antibacterial lipopeptide by *Bacillus* interspecies protoplast fusion [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2019.
- [17] 邢得勋, 谭景轩, 崔金娜, 等. 基因敲除技术在多重耐药细菌中的应用研究进展[J]. 微生物学通报, 2024, 51(7): 2301–2311.
XING DX, TAN JX, CUI JN, *et al.* Advances in the application of gene knockout technology in multi-drug resistant bacteria [J]. Microbiology China, 2024, 51(7): 2301–2311.
- [18] 李雅华, 张启航, 王姣, 等. 产 IAA 菌株的 UV 和 DES 诱变筛选及培养条件优化[J]. 核农学报, 2020, 34(9): 1873–1880.
LI YH, ZHANG QH, WANG J, *et al.* Screening of IAA-producing strains by UV and DES mutagenesis and optimization of culture conditions [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2020, 34(9): 1873–1880.
- [19] 袁超, 袁丹丹, 赵建刚, 等. 硫酸二乙酯与紫外线复合诱变选育糖化酶高产菌株的研究[J]. 食品与药品, 2018, 20(3): 219–223.
YUAN C, YUAN DD, ZHAO JG, *et al.* Breeding of glucoamylase high-yield strains using compound mutagenesis induced by diethyl sulfate and ultraviolet rays [J]. Food and Drug, 2018, 20(3): 219–223.
- [20] 孙平平, 张磊, 魏旭, 等. 一株内蒙古自治区武川县马铃薯黑胫病菌的分离鉴定及全基因组分析[J]. 植物保护学报, 2024, 51(4): 794–803.
SUN PP, ZHANG L, WEI X, *et al.* Isolation, characterization and genome-wide analysis of a strain of potato black shin disease in Wuchuan County, Inner Mongolia Autonomous Region [J]. Journal of Plant Protection, 2024, 51(4): 794–803.
- [21] ZHANG HG, ABBAS HS, BOYAN M, *et al.* Effects of dietary forage-to-concentrate ratio on fat deposition, fatty acid composition, oxidative stability and mRNA expression of sirtuins genes of subcutaneous fat in sheep (*Ovis aries*) [J]. Journal of Applied Animal Research, 2023, 51(1): 382–387.
- [22] DELBUE S, ALESSANDRO S, SIGNORINI L, *et al.* Isolation of SARS-CoV-2 strains carrying a nucleotide mutation, leading to a stop codon in the ORF 6 protein [J]. Emerging Microbes & Infections, 2021, 10(1): 252–255.
- [23] LANDA AA, TAFAT A, MEDINA R, *et al.* Genomic profiling and novel vSaf genomic islands description of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* [J]. LWT-Food Science and Technology, 2025, 215: 117180.
- [24] SMITHAMOL S, TAMSYN C, KEN W, *et al.* Identification of reversible and druggable pathways to improve beta-cell function and survival in type 2 diabetes [J]. Islets, 2023, 15(1): 2165368.
- [25] ZAHRADKA K, ZAHRADKA D, REPAR J. Structural differences between the genomes of deinococcus radiodurans strains from different laboratories [J]. Genes, 2024, 15(7): 847.
- [26] HORINAKA A, KIM YH, KIMURA A, *et al.* Changes in the predicted function of the rumen bacterial community of Japanese Black beef cattle during the fattening stages according to Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analyses [J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2021, 83(7): 1098–1106.
- [27] VIRGEN S, HERNANDEZ T, GARRIDO A, *et al.* genotypic and phenotypic characterization of pseudomonas atacamensis EMP42 a PGPR strain obtained from the rhizosphere of echinocactus platyacanthus (Sweet Barrel) [J]. Microorganisms, 2024, 12(8): 1512.
- [28] ZHANG YH, ZENG T, CHEN L, *et al.* Determining protein–protein functional associations by functional rules based on gene ontology and KEGG pathway [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics, 2021, 1869(6): 140621.
- [29] JUNDA L, GUAN JT, XIANG TW, *et al.* Effects of short photoperiod on cashmere growth, hormone concentrations and hair follicle development-related gene expression in cashmere goats [J]. Journal of Applied Animal Research, 2023, 51(1): 52–61.
- [30] 曹然. 基于比较基因组学分析的放线菌素 D 高产机制[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2021.
CAO R. Mechanism of high production of actinomycin D based on comparative genomics analysis [D]. Aral: Tarim University, 2021.
- [31] 王春玲, 黄钰婷, 刘星, 等. 一株贝莱斯芽孢杆菌鉴定、全基因组学分析及其抗病促生特性[J]. 微生物学报, 2025, 65(2): 745–757.
WANG CL, HUANG YT, LIU X, *et al.* Identification, whole genomics analysis and disease-promoting properties of a strain of *Bacillus pelliculatus* [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(2): 745–757.

(责任编辑: 安香玉 于梦娇)