

抗农作物病原真菌的 *Streptomyces* sp. IIR21 菌株分离及其克拉维烷基因簇分析

马婷婷 黄粤 皮婷 姚家成 冯喆 李晓华

中南民族大学生命科学院/生物技术国家民委重点实验室, 武汉 430074

摘要 从神农架烟草种植地土壤中分离出1株对7株农作物病原真菌具有抗性活性菌株,命名为IIR21菌株。采用琼脂块法测定,该菌株对稻瘟病菌、立枯丝核病菌、腐霉病菌、禾谷镰刀病菌和黄色镰刀病菌具有较强的抑菌活性。对该菌株的生理生化特性和16S rRNA基因序列同源性比对,初步鉴定IIR21菌株属于链霉菌属。经过有机溶剂萃取、硅胶柱层析、薄层层析和制备型高效液相色谱对IIR21菌株发酵液进行分离纯化,获得了1个纯度为90.34%的具有抗稻瘟病菌168菌株活性的化合物单体。采用高通量测序技术对IIR21菌株进行全基因组测序,通过全基因组序列分析,IIR21菌株基因组中包含克拉维烷的合成基因簇,并推测出克拉维烷的合成代谢途径。

关键词 链霉菌 IIR21 菌株; 抗真菌活性; 克拉维烷生物合成基因簇; 代谢途径

中图分类号 Q 933 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)03-0038-06

植物病原真菌导致农作物减产,目前多采用化学农药对农作物病原真菌进行防治,但化学农药的使用导致环境污染,对人畜有毒副作用^[1]。近年来,利用可合成具有抗农作物病原菌活性次级代谢产物的放线菌研发的生物农药,如聚酮类抗生素,莫能星和阿维菌素等已广泛应用在农作物病害防治中^[2]。放线菌还可合成具有抗细菌、抗真菌、抗肿瘤及抑制 β -内酰胺酶等作用的克拉维烷类抗生素^[3]。

天然产生的克拉维烷(clavam)化合物,是青霉烷的硫原子被氧置换的杂环体系,又称氧青霉烷或棒烷,包括 β -内酰胺酶抑制剂克拉维酸(clavulanic acid)以及5S-克拉维烷(5S-clavams)^[3-5]等。克拉维酸不仅具有微弱抗菌作用^[6],而且在临床多用来作为 β -内酰胺酶抑制剂^[5]。与青霉素联合使用,可恢复青霉素类抗生素对耐药菌的抑菌活性^[4]。5S-克拉维烷是克拉维酸侧链结构的变体^[5],缺乏 β -内酰胺酶抑制活性,但具有抗细菌、抗真菌或抗癌的活性^[7],包括 *S. antibioticus* 合成的 valclavam, *S. clavuligerus* 合成的 2-hydroxymethylclavam、2-

formyloxymethylclavam、clavam-2-carboxylic acid 和 alanylclavam 等^[8]。后期研究报道,*S. viridis*, *S. flavogrius* 也可合成 clavam 化合物^[9-10]。这些微生物合成克拉维酸的途径研究得比较清楚,而合成5S-clavams途径有些尚不清楚^[8]。本研究从土壤中分离并鉴定1株对7株农作物病原真菌具有抗真菌活性的菌株,采用琼脂块法测定该菌株对7株农作物病原真菌的抗真菌活性,采用高通量测序技术对菌株进行全基因组测序,并分析全基因组序列,推测抗真菌相关基因及其代谢途径。

1 材料与方法

1.1 材料

样品从神农架烟草种植地的土壤采集,装入无菌的密封塑料袋中,立即带回实验室并对微生物进行分离。

立枯丝核病菌(*Rhizoctonia solani*)、稻瘟病菌 NO-1 菌株(*Magnaporthe grisea* NO-1 菌株)、稻瘟病菌 168 菌株(*Magnaporthe grisea* 168 菌株)、棉花黄萎病菌(*Verticillium dahliaekleb*)、腐霉病

收稿日期: 2016-11-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31070087; 30570046); 湖北省自然科学基金重点项目(2011CDA079; 2008CDB076); 中央科研基本业务费专项(CZW16005; YCZW15104); 大学生创新创业训练项目(XCX16094)

马婷婷, 硕士研究生, 研究方向: 生物制药与分子微生物. E-mail: mttminda@163.com

通信作者: 李晓华, 博士, 教授, 研究方向: 微生物学. E-mail: lixiaohua@mail.scuec.edu.cn

菌 (*Botrytis cinerea*)、黄色镰刀病菌 (*Fusarium culmorum*)、禾谷镰刀病菌 (*Fusarium aminearum*)。以上 7 株指示菌均由中南民族大学生命科学学院分子微生物实验室保存。

PDA 培养基用于病原真菌培养, IIR21 菌株固体培养采用高氏 I 号培养基, IIR21 菌株发酵培养采用菌丝体培养基^[11]。

1.2 抗农作物病原真菌微生物的分离及抑菌活性的测定

参照文献[11]对抗农作物病原真菌微生物进行分离; 参照文献[12]进行抑菌活性测定。

1.3 菌种鉴定

对菌种进行形态结构观察和生理生化鉴定^[13]。参照文献[14]提取细菌总 DNA, 扩增 16S rRNA 基因序列。1 对引物分别为: F1 (5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3') 和 F2 (5'-AAGGAGGT-GATCCAGCC-3')。PCR 反应体系: 模板 DNA 1.0 μ L, 1 对引物各 1.0 μ L, 10 \times PCR 缓冲液 1.5 μ L, dNTP 1.0 μ L, Taq 酶 0.5 μ L, 用超纯水定容至 15.0 μ L。扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 55 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1.5 min, 循环 30 次, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。测序结果利用 BLAST 在 GenBank 基因库中进行同源性比对。利用 MEGA6.0 进行 16S rRNA 基因序列的比对与系统发育树的构建(采取 N-J 法, Bootstrap 值为 1 000)。

1.4 抗真菌活性物质的分离

1) 抗菌粗提物的制备。IIR21 菌株活化后, 种子液以 5% 的接种量接种到 50 mL/250 mL 三角瓶中, 180 r/min, 30 $^{\circ}$ C 振荡培养 7 d。向发酵液中加入等量石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取后, 用旋转蒸发器进行浓缩, 获得粗提物进行抑菌活性测定。

2) 硅胶柱层析纯化。乙酸乙酯粗提物用 GF 硅胶柱(青岛海洋化工厂生产)层析法纯化, 采用干法上样, 样品与硅胶质量比为 1:1。流动相为石油醚: 氯仿(100:0.7:3.5:5.2:8.0:100), 氯仿: 甲醇(100:1.50:1.25:1.10:1.9:1.8:2.5:5.0:100), 流速为 10 mL/min, 收集洗脱液, 每组分为 50 mL。

3) 抗菌物质薄层层析。硅胶柱层析纯化的各个组分采用 20 cm \times 10 cm 硅胶板(Silica Gel 60), 以不同比例的氯仿、甲醇为层析试剂, 将样品点样于 2 块硅胶板上。用碘粉显色法和紫外分析仪 254 nm 下显色。对各个组分进行薄层层析后合并相同组

分, 进行抑菌活性测定。

4) 抗菌物质 HPLC 分析。硅胶柱得到的活性样品经 0.22 μ m 的有机膜过滤后, 在液相色谱仪(Waters 公司)上采用 Agilent ZORBAX 300SB-C18 制备柱进行纯化, 上样量为 5 mL, 流动相为甲醇和水, 流速为 10 mL/min, 检测波长 254 nm。

1.5 基因组 DNA 的提取、测序及分析

基因组 DNA 的提取采用 TaKaRa 基因组 DNA 提取试剂盒。基因组的测序由上海人类基因组研究中心基因组测序部完成, 采用 Velevt1.2.03^[15] 拼接软件进行序列组装, 通过结合软件 Glimmer 3.02^[16] 进行基因预测。将基因与 NCBI 的 SEED 数据库、KEGG 数据库以及 nr 库 BLASTp 进行比对和基因功能注释, 利用 antiSMASH^[17-18] 软件对 IIR21 菌株次级代谢产物生物合成基因簇进行分析。

2 结果与分析

2.1 具有抗农作物病原真菌活性菌株的分离

以棉花黄萎病菌、立枯丝核病菌、稻瘟病菌 NO-1 菌株、黄色镰刀病菌、稻瘟病菌 168 菌株、禾谷镰刀病菌和腐霉病菌 7 株农作物病原真菌为指示菌, 采用琼脂块法分离出 1 株具有抗农作物病原真菌活性菌株, 命名为 IIR21 菌株, 如表 1 所示, IIR21 菌株对 7 株农作物病原真菌均有不同程度的抑菌活性, 对立枯丝核病菌、稻瘟病菌 NO-1 菌株、黄色镰刀病菌、稻瘟病菌 168 菌株、禾谷镰刀病菌和腐霉病菌的抑菌圈直径大于 34 mm, 表明 IIR21 菌株对立枯丝核病菌、稻瘟病菌 NO-1 菌株、黄色镰刀病菌、稻瘟病菌 168 菌株、禾谷镰刀病菌和腐霉病菌有较强的抑菌活性。

表 1 IIR21 菌株对 7 株抗农作物病原真菌抑菌活性的测定

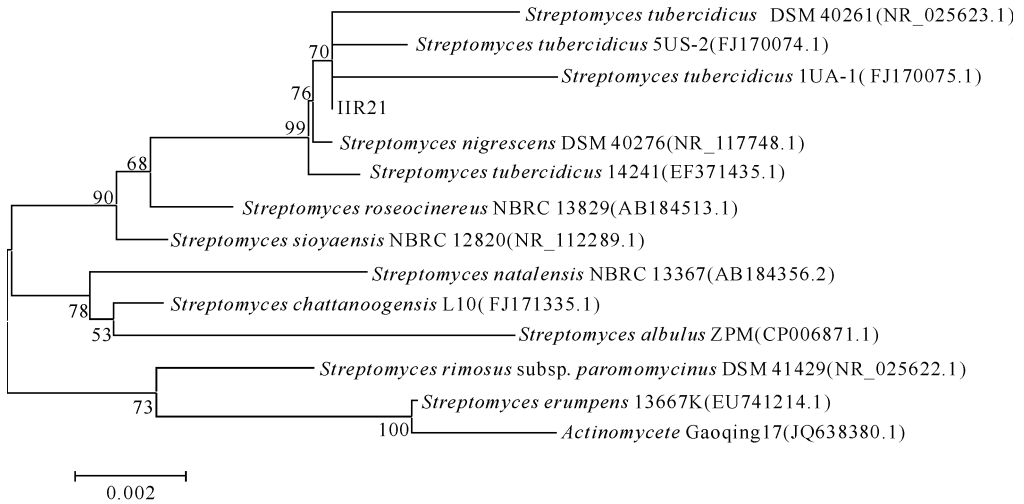
Table 1 Antifungal activity of IIR21 strain against crop pathogenic fungi

农作物病原真菌 Crop pathogenic fungi	抑菌圈直径/mm Inhibition diameter
立枯丝核病菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	55.03 \pm 0.81
稻瘟病菌 168 菌株 <i>Magnaporthe grisea</i> 168 strain	40.92 \pm 0.47
稻瘟病菌 NO-1 菌株 <i>Magnaporthe grisea</i> NO-1 strain	47.39 \pm 0.42
腐霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	34.25 \pm 0.84
禾谷镰刀病菌 <i>Fusarium aminearum</i>	36.73 \pm 0.60
黄色镰刀病菌 <i>Fusarium culmorum</i>	44.55 \pm 0.91
棉花黄萎病菌 <i>Verticillium dahliae</i> kleb	17.45 \pm 1.06

2.2 抗农作物病原真菌 IIR21 菌株的鉴定

在显微镜下观察 IIR21 菌株的形态特征,基内菌丝无横隔,多分枝并交织成网状;气生菌丝孢子丝圈卷且分枝多;菌落特征为不产色素,表面光滑,有凸起。生理生化实验表明,甲基红实验、硫化氢实验、吡啶实验、明胶液化实验结果为阴性,淀粉水解为阳性,革兰氏染色呈阳性。

PCR 扩增得到 IIR21 菌株的 16S rRNA 基因序列长度为 1 517 bp,从 GenBank 中选取与 IIR21 菌株的 16S rRNA 基因序列同源性高且已定名的菌株的序列,采用 MEGA6.0 中的 Neighbor-Joining 法构建系统发育树,Bootstrap 值为 1 000。如图 1 所示,IIR21 菌株的序列与 *Streptomyces tubercidicus* 的序列相似性较高。结合生理生化特性,初步鉴定



括号中为 GenBank 收录号。分支点上的数值为自展值的百分比。底部的 0.002 标尺为序列分歧度。The GenBank accession numbers are given in parentheses. The number at each branch points is the percentage supported by bootstrap. Bar 0.002 at the bottom is the sequence divergence.

图 1 IIR21 菌株的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of IIR21 strain

IIR21 菌株属于链霉菌属。

2.3 链霉菌 IIR21 菌株中抗真菌活性物质的分离

对链霉菌 IIR21 菌株进行发酵培养,通过萃取、硅胶柱层析、薄层层析及 HPLC 对抗真菌活性成分进行分离。抑菌活性测定结果表明抗真菌活性物质主要存在于乙酸乙酯中。粗提物经硅胶柱层析,结

合薄层层析检测,合并各个组分。通过制备型 HPLC 分析具有抗真菌活性成分的组分,如图 2 所示,在检测波长为 254 nm 的条件下,得到一个保留时间为 3.05 min 的洗脱峰,纯度为 90.34%,抑菌活性测定结果显示其对稻瘟病菌 168 菌株有较强的抑制作用。

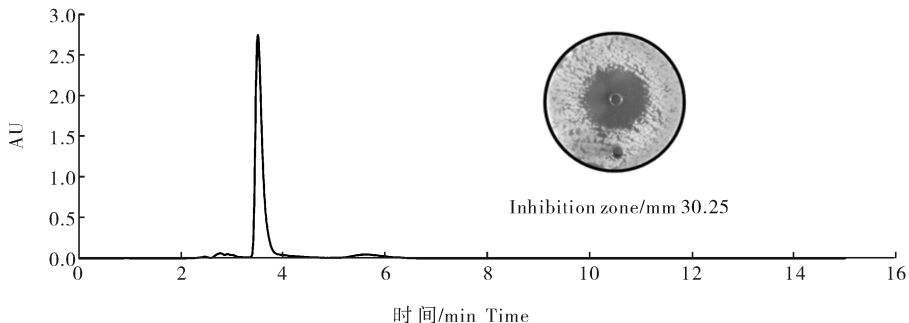


图 2 链霉菌 IIR21 菌株抗真菌活性物质的 HPLC 分析(UV,254 nm)

Fig.2 HPLC analysis of the antimicrobial substance from *Streptomyces* sp. IIR21 strain(UV,254 nm)

2.4 链霉菌 IIR21 菌株中克拉维烷相关基因和生物合成途径的分析

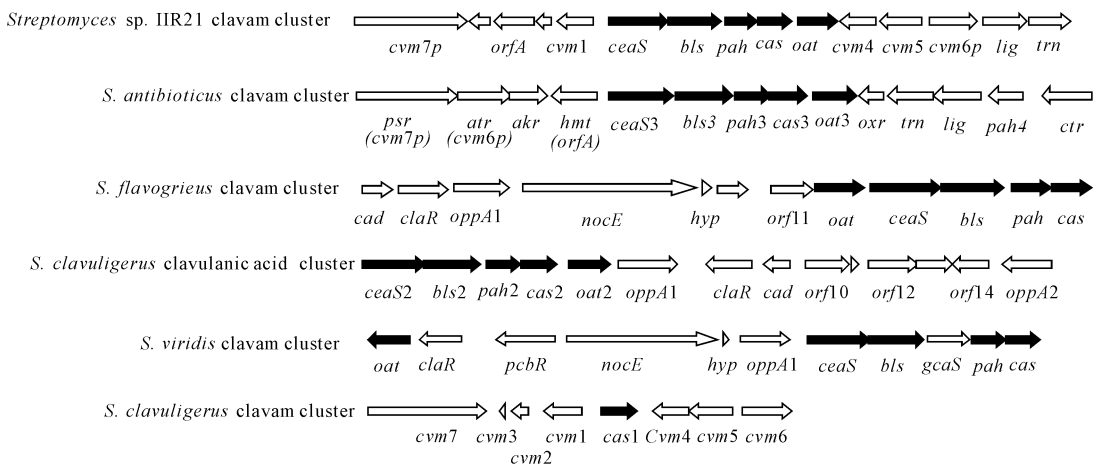
链霉菌 IIR21 菌株全基因组测序结果表明, 基因组组装获得 580 个 contigs, 整个基因组大小约 8.97 Mb, 编码区 GC 含量为 71.1%, CDS 数为 8 076, 平均 CDS 长度为 888 bp, tRNA 数量为 61。

采用 antiSMASH 软件对 IIR21 菌株中次级代谢产物合成基因簇进行分析, 预测得到 60 个基因簇, 其中 PKS/NRPS 类型基因簇有 34 个, 约占总

基因簇数量的 1/2。与已知序列比对分析发现, 链霉菌 IIR21 菌株包含 β -内酰胺酶抑制剂克拉维酸和抗真菌、抗肿瘤活性的 5S-clavams (clavam-2-carboxylic acid、valclavam) 的合成基因簇, 相关基因位于 contig51 中, 根据 contig51 的蛋白预测结果 (表 2) 和已报道的克拉维烷 (clavam) 基因簇, 推测链霉菌 IIR21 菌株中克拉维烷 (clavam) 合成相关基因簇 (图 3), 并预测该菌株的克拉维烷 (clavam) 合成途径 (图 4)。

表 2 链霉菌 IIR21 菌株中 clavam 生物合成相关基因预测
Table 2 Genes involved in clavam biosynthesis in *Streptomyces* sp. IIR21

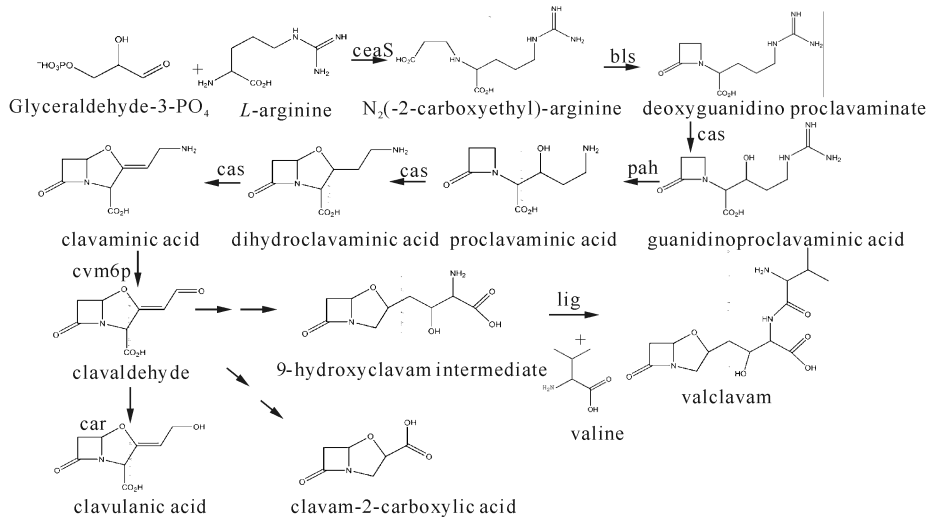
基因 Gene	氨基酸长度 Deduced amino acid length	同源蛋白 Protein homologue	同源蛋白登录号 Protein homologue accession No.	相似度/% Similarity	功能预测 Proposed function
<i>cvm7</i>	1 059	<i>cvm7</i>	WP_003961118.1	81	转录调节子 Transcriptional regulator
<i>orfA</i>	399	<i>orfA</i>	WP_003953013.1	88	丝氨酸羟甲基转移酶 Serine hydroxymethyltransferase
<i>cvm1</i>	331	<i>cvm1</i>	WP_003961115.1	87	醛酮还原酶 Aldo/keto reductase
<i>ceaS</i>	571	<i>ceaS3</i>	AFH74297.1	93	CEA 合成酶 3 Carboxyethylarginine synthase 3
<i>bls</i>	508	<i>bls3</i>	AFH74298.1	81	β -内酰胺合成酶 3 Beta-lactam synthetase 3
<i>pah</i>	314	<i>pah3</i>	AFH74299.1	95	肌基前克拉维胺酰胺基水解酶 3 Proclavaminic amidinohydrolase 3
<i>cas</i>	324	<i>cas</i>	WP_026169831.1	98	克拉维胺合成酶 Clavaminic synthase
<i>oat</i>	380	<i>oat3</i>	AFH74301.1	88	鸟氨酸乙酰转移酶 Ornithine acetyltransferase 3
<i>cvm4</i>	334	<i>cvm4</i>	WP_003961113.1	88	α/β 水解酶 Alpha/beta hydrolase
<i>cvm5</i>	394	<i>cvm5</i>	WP_003961112.1	96	CVM5 还原酶 Methylene-tetrahydromethanopterin reductase
<i>cvm6p</i>	454	<i>cvm6p</i>	WP_029183268.1	80	天冬氨酸转氨酶 Aspartate aminotransferase
<i>lig</i>	422	<i>lig</i>	AFH74304.1	80	连接酶 Ligase
<i>trn</i>	395	<i>trn</i>	AFH74303.1	78	MFS 超家族 MFS_1 蛋白 Major facilitator superfamily MFS_1 protein



编码合成 clavam 早期步骤的基因为黑色, 所有 5S-clavams 合成所必需的基因为灰色。Genes encoding early steps of clavam biosynthesis are shaded black. Genes essential for synthesis of all 5S-clavams are shaded dark grey.

图 3 链霉菌 IIR21 菌株中 clavam 生物合成基因簇的预测和已报道的 clavam 生物合成基因簇的比较

Fig.3 Gene cluster of clavam biosynthesis have been reported and proposed gene cluster of clavam biosynthesis in *Streptomyces* sp. IIR21



3-磷酸甘油醛 Glyceraldehyde-3-PO₄; L-型精氨酸 L-arginine; N₂-2-羧乙基-精氨酸 N₂-(2-carboxyethyl)-arginine; 脱氧胍基前克拉维胺酸 Deoxyguanidino proclavamate; 前克拉维胺酸 Proclavaminic acid; 二氢前克拉维胺酸 Dihydroclavaminic acid; 克拉维胺酸 Clavaminic acid; 克拉维醛 Clavuldehyde; 克拉维酸 Clavulanic acid; 缬氨酸 Valine; CEA 合成酶 ceaS; β-内酰胺合成酶 bls; 克拉维胺酸合成酶 cas; 胍基前克拉维胺酸胺基水解酶 pah; 依赖 NADP 克拉维醛还原酶 car.

图 4 链霉菌 IIR21 菌株 clavam 生物合成途径的推测

Fig.4 Proposed biosynthesis pathway of clavam metabolites in *Streptomyces* sp. IIR21

3 讨论

近年来,抗生素的大量使用,导致了大部分细菌产生了耐药性,故对新型的抗生素的研究显得日益迫切。据统计,自然界中 66% 的抗生素来自放线菌,而链霉菌属所产生的抗生素就占其中的 80%,这些抗生素也已经在农业和医学领域得到了使用^[19]。

本研究分离得到 1 株具有抗农作物病原真菌活性链霉菌 IIR21 菌株。利用萃取、硅胶柱层析、薄层层析和 HPLC 分离到 1 个纯度为 90.34% 的具有抗真菌活性的化合物单体。对 IIR21 菌株进行全基因组测序,并分析该菌株的抗真菌活性的相关基因,结果表明该菌株具有 clavam 代谢途径中重要酶类的编码基因,如 CEA 合成酶、β-内酰胺合成酶、克拉维胺酸合成酶、克拉维胺酸合成酶同功酶、胍基前克拉维胺酸胺基水解酶、NADP 克拉维醛还原酶等,推测 IIR21 菌株可能合成克拉维酸、clavam-2-carboxylic acid 和 valclavam。通过基因工程的方法^[20-21]对该菌株中 clavam 关键基因进行敲除或强化操作,以筛选出突变株^[22],制造新型具有合成新结构和功能的抗生素的工程菌^[23]。本研究的相关结果将为链霉菌 IIR21 菌株的功能基因组学研究及相关次级代谢产物合成途径研究提供帮助。

参 考 文 献

[1] 崔星明,吴畏,杨竹平.植物抗真菌和细菌病害基因工程育种策

略[J].上海农业学报,1999,15(2):90-96.

- [2] LI X H,ZHOU X F,DENG Z X,et al.Vector systems allowing efficient autonomous or integrative gene cloning in *Micromonospora* sp.strain 40027[J].Applied and environmental microbiology,2003,69(6):3144-3151.
- [3] 都燕霞,蒋湘君,张致平.氧青霉烷类抗生素的合成研究[J].中国抗生素杂志,1988,13(1):15-18.
- [4] 孟勇,张国华,王忠彦,等.β-内酰胺酶抑制剂克拉维酸研究进展[J].中国抗生素杂志,2003,28(1):60-64.
- [5] JENSEN S E.Biosynthesis of clavam metabolites[J].Journal of industrial microbiology and biotechnology,2012,39(10):1407-1419.
- [6] 程元荣,陈晓民,陈澄波,等.链霉菌 FM41 产生的克拉维烷类新化合物——β-内酰胺酶抑制剂 FM41[J].中国抗生素杂志,1994,19(3):183-188.
- [7] 朱碧银(译).棒状链霉菌控制抗生素合成的调节机制[J].国外医药抗生素分册,2010,31(6):271-277.
- [8] NOBARY S G,JENSEN S E.A comparison of the clavam biosynthetic gene clusters in *Streptomyces antibioticus* Tu1718 and *Streptomyces clavuligerus*[J].Canadian journal of microbiology,2012,58(4):413-425.
- [9] ALVAREZ-ALVAREZ R,MARTINEZ-BURGO Y,PEREZ-REDONDO R,et al.Expression of the endogenous and heterologous clavulanic acid cluster in *Streptomyces flavogriseus*: why a silent cluster is sleeping[J].Applied microbiology and biotechnology,2013,97(21):9451-9463.
- [10] PATI A,SIKORSKI J,NOLAN M,et al.Complete genome sequence of *Saccharomonospora viridis* type strain (P101) [J].Standards in genomic sciences,2009,1(2):141-149.
- [11] 谭晖,李汇龙,李文鑫,等.抗真菌土壤放线菌的筛选鉴定、发酵

- 培养基优化及发酵液稳定性研究[J].湖北农业科学,2012,51(9):1771-1774.
- [12] BOUDJELLA H, BOUTI K, ZITOUNI A, et al. Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium* Sg 10 isolated from a Saharan soil[J]. Microbiological research, 2006, 161(4): 288-298.
- [13] SHIRLING E B, GOTTLIEB D. Methods for characterization of *Streptomyces*[J]. International journal of systematic bacteriology, 1966, 16(3): 313-340.
- [14] KIESER T, BIBB M J, CHATER K F, et al. Practical *Streptomyces* genetics: a laboratory manual[M]. Norwich: John Innes Foundation, 2000.
- [15] ZERBINO D R, BIRNEY E. Velvet: algorithms for de novo short read assembly using de Bruijn graphs[J]. Genome research, 2008, 18(5): 821-829.
- [16] DELCHER A L, BRATKE K A, POWERS E C, et al. Identifying bacterial genes and endosymbiont DNA with Glimmer[J]. Bioinformatics, 2007, 23(6): 673-679.
- [17] MEDEMA M H, BLIN K, CIMERMANCIC P, et al. AntiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences[J]. Nucleic acids research, 2011, 39(Suppl 2): 339-346.
- [18] BLIN K, MEDEMA M H, KAZEMPOUR D, et al. antiSMASH 2.0—a versatile platform for genome mining of secondary metabolite producers[J]. Nucleic acids research, 2013, 41(1): 204-212.
- [19] 李晓华, 吴金龙, 郭佳, 等. 具有抗农作物病原真菌活性的链霉菌 IIR21 菌株中 *attB* 位点的分析[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2016, 35(2): 19-22.
- [20] SONG J Y, JENSEN S E, LEE K J. Clavulanic acid biosynthesis and genetic manipulation for its overproduction[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2010, 188(3): 659-669.
- [21] SALCEDO R G, OLANO C, GOME C, et al. Characterization and engineering of the biosynthesis gene cluster for antitumor macrolides PM100117 and PM100118 from a marine actinobacteria: generation of a novel improved derivative[J]. Microbial cell factories, 2015, 15(1): 1-19.
- [22] 徐玲霞, 王筱兰, 杨慧林, 等. 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.
- [23] 郭佳, 吴金龙, 唐颜苹, 等. 抗农作物病原真菌微生物的筛选及其聚酮合酶基因的分析[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2014, 48(3): 399-403.

Isolation of *Streptomyces* sp. IIR21 strain resistant to crop pathogenic fungi and analysis of the clavam biosynthetic gene clusters

MA Tingting HUANG Yue PI Ting YAO Jiacheng FENG Zhe LI Xiaohua

Key Laboratory for Biotechnology of the State Ethnic Affairs Commission/College of Life Science, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China

Abstract A bacterial strain with antifungal activity against seven crop pathogenic fungi was isolated from soil and named as IIR21. The IIR21 strain was detected through agar block method and the results indicated that the IIR21 strain exhibited much stronger antifungal activity against *Magnaporthe grisea*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium aminearum* and *Fusarium culmorum*. The IIR21 strain was identified as *Streptomyces* through physiological and biochemical characteristics and alignment analysis of the 16S rRNA gene sequence. The fermentation broth of the IIR21 strain was separated and purified by extraction, silica gel column chromatography and preparative high performance liquid chromatography, and a compound with a purity of 90.34% with activity against the *Magnaporthe grisea* 168 strain was obtained. The *Streptomyces* sp. IIR21 genome was sequenced using high throughput sequencing technology, and analyzed by bioinformatics tools. The result suggested that the IIR21 strain contained the gene cluster of clavams, and the metabolic pathway for clavam biosynthesis was proposed.

Keywords *Streptomyces* sp. IIR21 strain; antifungal activity; clavam biosynthetic gene clusters; metabolic pathways