



主持人: 葛成军

Open Access



慢生根瘤菌塑料降解基因 *CYP450* 羟化酶的进化分析

陆镇樟[#], 马佳月, 李娟娟, 迟雪, 马香, 唐燕琼, 李宏^{*}

(海南大学 生命健康学院, 海南 海口 570228 中国)

摘要: 为了探讨慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)及其塑料降解相关基因 *CYP450* 羟化酶基因的进化历程, 揭示该菌属获得塑料降解潜力的机制, 本研究收集了 28 株完全组装的慢生根瘤菌基因组, 通过比较基因组学和系统发育分析, 研究了该菌属及其 *CYP450* 基因的进化和流动情况。结果表明, 与核心基因组相比, 慢生根瘤菌属的特有基因和附属基因在膜运输、异源生物降解、代谢、脂质代谢和信号转导等与塑料降解相关的功能上有所增加。慢生根瘤菌属具备开放的泛基因组结构, 进化过程中倾向于通过获取外源基因适应新的环境并发展出新功能。通过分析细菌和古菌中 *CYP450* 羟化酶基因的流动, 发现慢生根瘤菌属可能通过水平基因转移从放线菌门获得了 *CYP450* 羟化酶基因, 从而具备了塑料降解的潜力。

关键词: 慢生根瘤菌属; *CYP450* 羟化酶基因; 塑料降解; 比较基因组; 系统发育分析

中图分类号: Q939.96

文献标志码: A

文章编号: 1674-7054(2025)05-0654-09

陆镇樟, 马佳月, 李娟娟, 等. 慢生根瘤菌塑料降解基因 *CYP450* 羟化酶的进化分析 [J]. 热带生物学报, 2025, 16(5): 654-662. doi: 10.15886/j.cnki.rdswwb.20240175

塑料由于具有耐久性、延展性和低成本等优点, 已被广泛应用于各个领域^[1]。同时, 塑料的产量也呈现爆炸性增长。据统计, 1950 年全球塑料年产量仅为 150 万 t, 而到 2023 年已增至 4.3 亿 t^[2], 预计到 2050 年, 全球塑料年产量将再次翻倍^[3]。目前, 只有约 10% 的塑料废弃物得到有效回收利用, 大量的塑料废弃物被填埋或进入环境中^[4]。由于塑料的非生物降解性, 它们在自然环境中很难分解, 大量塑料废弃物在陆地和海洋中积累, 造成严重的环境污染。在众多塑料降解方法中, 生物降解技术由于生态友好性和高效性而备受关注。该技术利用微生物或其代谢产物将塑料分解为无害物质, 实现了塑料废弃物的绿色处理^[5]。近年来, 许多学者开始探索自然界中具有塑料降解潜力的微生物, 并获得了显著进展。Sivan 等^[6]在聚乙烯(PE)薄膜中分离出 1 株细菌(*Rhodococcus ruber* C208), 其通过分泌漆酶降解多种塑料。有人从堆肥中分离出 2 株细菌(*Bacillus pacificus*, *Pseudomonas*

mucidolens), 它们通过产生纤维素酶, 有效降解低密度聚乙烯^[7]。随着研究的不断深入, 慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)逐渐引起了学者的关注。作为 α -变形菌门(Alphaproteobacteria)的一类固氮菌属, 其广泛存在于全球各地的土壤中。罗功文等^[8]通过对 55 个覆盖塑料薄膜的农田进行研究, 发现慢生根瘤菌属是塑料圈群落的关键枢纽物种之一。Tanunchai 等^[9]研究发现, PE 微塑料处理后, 慢生根瘤菌属在土壤中的丰度显著增加。本实验室前期宏基因组分析也得出了类似的结果, 受 PE 污染的土壤中 *Bradyrhizobium* ORS_375 丰度较无 PE 污染的土壤更高。同时, *B. ORS_375* 丰度和已知的塑料降解相关基因丰度呈现显著正相关。这些结果表明, 慢生根瘤菌属具有塑料降解潜力, 但还需后续进行验证实验。细胞色素 P450 (*CYP450*)因能够在聚合物长链各个位置进行氧化, 将聚合物裂解为短链碳而备受关注, 被认为是塑料降解过程中的关键酶, 然而并非所有 *CYP450*

收稿日期: 2024-11-24

修回日期: 2025-01-15

基金项目: 海南省自然科学基金项目(322RC589)

[#]第一作者: 陆镇樟(1999—), 男, 海南大学生命健康学院 2022 级硕士研究生。E-mail: 15976363976@163.com

^{*}通信作者: 李宏(1989—), 女, 副教授, 研究方向: 生物信息。E-mail: lihongbio@163.com

都有降解塑料能力^[10-13]。CYP450 属于血红素-硫代酸盐蛋白的超家族, 包含多个羟化酶亚家族, 广泛分布在从古细菌到人类的大多数物种中, 其中 30% 的细菌含有 CYP450, 比如慢生根瘤菌属中的物种^[14-17], 推测 CYP450 羟化酶在这些物种中可能发挥微塑料降解功能, 但仍需要实验验证。因此, 探寻慢生根瘤菌属中 CYP450 羟化酶的来源, 对于了解慢生根瘤菌在塑料降解中所发挥的深层作用机制具有重要意义。

本研究对 28 株慢生根瘤菌开展比较基因组学分析, 了解其基因组结构与功能, 探究核心、附属及特有基因组的生物学功能。通过系统发育分析, 揭示 CYP450 羟化酶在细菌和古菌中的进化历程, 探讨慢生根瘤菌属获取其编码基因的路径, 旨在为慢生根瘤菌降解塑料的机制提供新见解。

1 材料与方法

1.1 材料 28 株慢生根瘤菌 (GCF_004114955.1 *B. zhengyangense*, GCF_025200905.1 *B. yuanmingense*, GCF_900324035.1 *B. vignae*, GCF_030413175.1 *B. valentinum*, GCF_011604665.2 *B. symbiodeficiens*, GCF_002278135.3 *B. shewense*, GCF_015624505.1 *B. rifense*, GCF_017493175.3 *B. quebecense*, GCF_029714545.1 *B. pachyrhizi*, GCF_000239775.1 *B. ORS375*, GCF_000344805.1 *B. ontarionense*, GCF_021088345.1 *B. oligotrophicum*, GCF_004114915.1 *B. nanningense*, GCF_001693385.1 *B. murdochi*, GCF_001693515.2 *B. lablabi*, GCF_027594865.1 *B. japonicum*, GCF_025200885.1 *B. huanghuaihaiense*, GCF_004114935.1 *B. forestalis*, GCF_023278185.1 *B. elkanii*, GCF_001642675.1 *B. diazoefficiens*, GCF_021044685.1 *B. daqingense*, GCF_000284275.1 *B. cosmicum*, GCF_040939785.1 *B. canariense*, GCF_029714345.1 *B. brasiliense*, GCF_008932115.1 *B. betae*, GCF_011068405.5 *B. barranii*, GCF_032397745.1 *B. australafricanum*, GCF_015291705.1 *B. arachidis*)。

1.2 泛基因组分析 使用 dataset 软件从 NCBI 批量下载 28 株组装程度为 complete 的慢生根瘤菌属基因组序列。使用 BPGA 对 28 株慢生根瘤菌基因组进行泛基因组分析^[18]。使用 Diamond 将泛基因组中的核心基因组、附属基因组以及独特

基因组在 KEGG 数据库中进行功能注释^[19]。分析的结果通过 gnuplot 和 R 包 ggplot2^[20] 进行可视化。

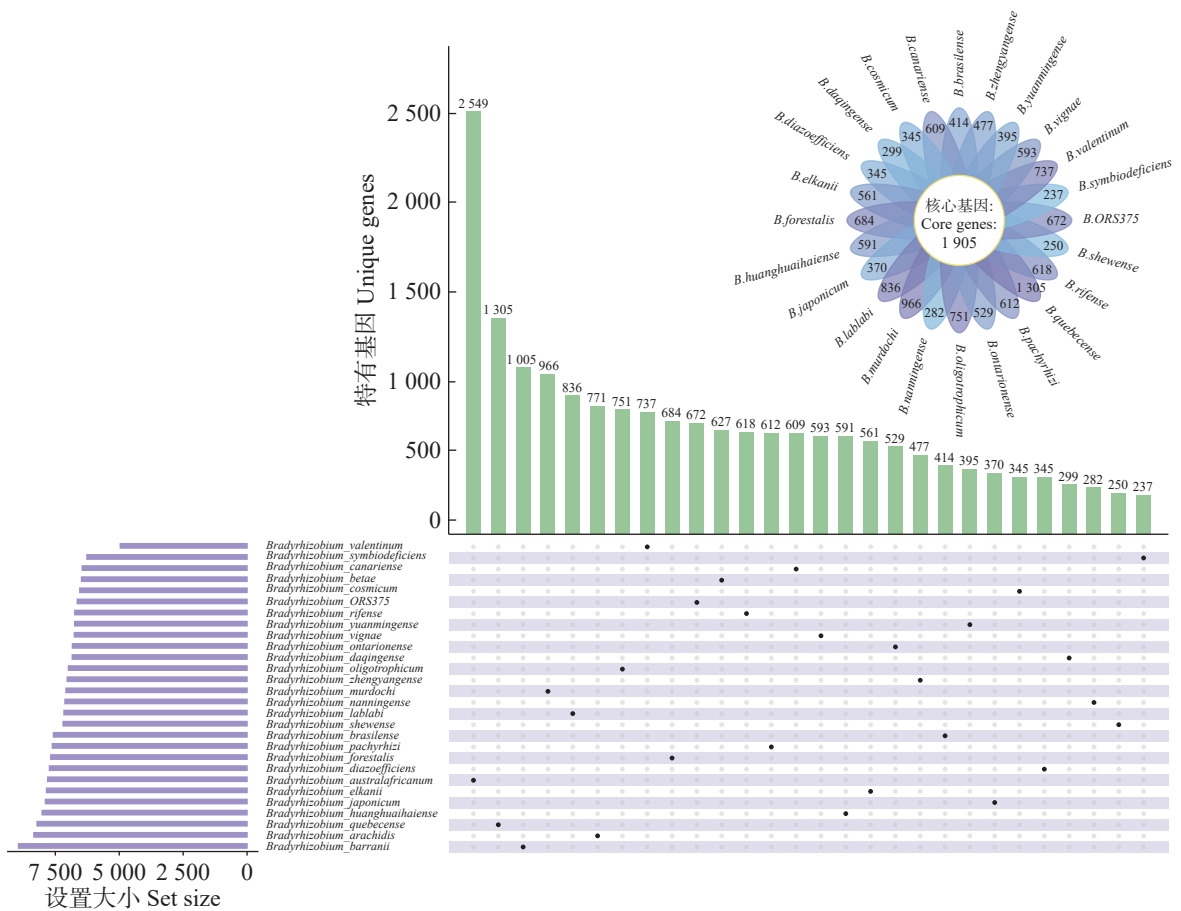
1.3 CYP450 羟化酶同源蛋白及相关物种筛选 用 dataset 软件从 NCBI 批量下载 1999—2024 年上传的细菌(5 494 株)和古菌(342 株)的完全组装基因组序列以及蛋白质序列。收集慢生根瘤菌属基因组中 CYP450 羟化酶蛋白质序列, 使用 Mafft^[21] 进行多序列比对后利用 Hmmer^[22] 的 hmmbuild 参数构建隐马尔可夫模型, 将构建的隐马尔可夫模型用于筛选细菌和古菌中的 CYP450 羟化酶同源基因并提取包含同源基因的物种。

1.4 物种树与基因树构建 用 Orthofinder^[23] 筛选物种中的单拷贝核心基因, 使用 muscle^[24] 对核心基因进行多序列比对, 比对结果输入到 trimal^[25] 提取保守序列, 串联后输入到 IQ-TREE^[26], 基于最大似然法构建物种树。同样使用 muscle^[24] 对同源基因进行多序列比对, 而后输入到 IQ-TREE^[26], 基于最大似然法构建基因树。物种树和基因树均使用 IQ-TREE 的 -bb 参数 (UFboot) 进行 1 000 次重复抽样检验, 取距离最远两物种的中点确定树根。用 TaxonKit^[27] 对物种树上所有物种进行谱系注释, 将物种分类至门水平, 用不同颜色表示。所有的系统发育树使用 ITOL^[28] 进行可视化。

1.5 基因溯源分析 在 Count^[29] 中使用基因丢失倾向法 (Propensity for Gene Loss) 推断慢生根瘤菌属基因组获得丢失频率以及 CYP450 羟化酶的获得丢失情况。为了分析 CYP450 羟化酶在慢生根瘤菌属以及细菌和古菌中的进化历程, 使用 Ranger-DTL^[30] 对物种树以及 CYP450 羟化酶基因树进行 1 000 次循环随机分析, AggregateRanger 对结果进行汇总, 筛选结果中出现超过 400 次的水平转移事件。

2 结果与分析

2.1 慢生根瘤菌属泛基因组分析 为了探究慢生根瘤菌属的基因组多样性, 从 NCBI 中共获得慢生根瘤菌属中 28 个完全组装的物种参考基因组进行泛基因组分析。结果显示, 慢生根瘤菌属泛基因组中共包含 36 731 个基因, 其中, 核心基因(所有菌株共有基因)1 905 个, 仅占 5.2%; 附属基因(2 个或多个菌株共有的基因)16 396 个, 占 44.6%; 特有基因(菌株特有基因)18 430 个, 占 50.2%(图 1)。



紫色柱状图表示每个菌株中的基因家族数量;绿色柱状图表示每个菌株中独特基因的数量;花瓣图表示各个菌株之间基因交集的数目。

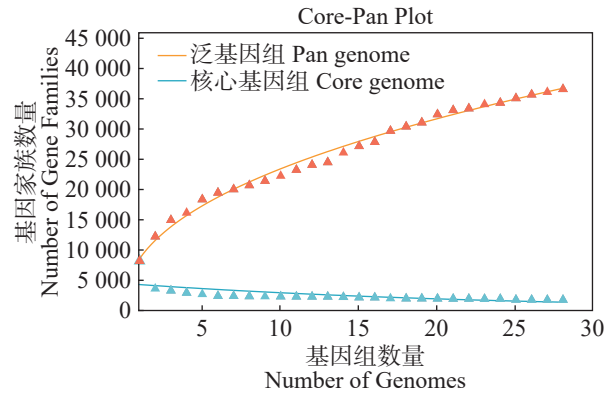
Purple bars represent the number of gene families in each strain. Green bars indicate the number of unique genes in each strain. Venn diagram shows the number of shared genes among the different strains.

图 1 28 个慢生根瘤菌属菌株的比较基因组分析
Fig. 1 Comparative genomic analysis of 28 *Bradyrhizobium* strains

28 个物种的特有基因数目 237~2 549 个(图 1)。这些结果说明,慢生根瘤菌属的基因组具有明显的多样性,在进化过程中能够适应不同的环境。随着基因组数目的增加,慢生根瘤菌属泛基因组的大小也随之增加,没有趋于饱和,而核心基因组却逐渐减小(图 2)。说明慢生根瘤菌属具有开放的泛基因组,能够从外界获取更多基因,如微塑料降解基因。

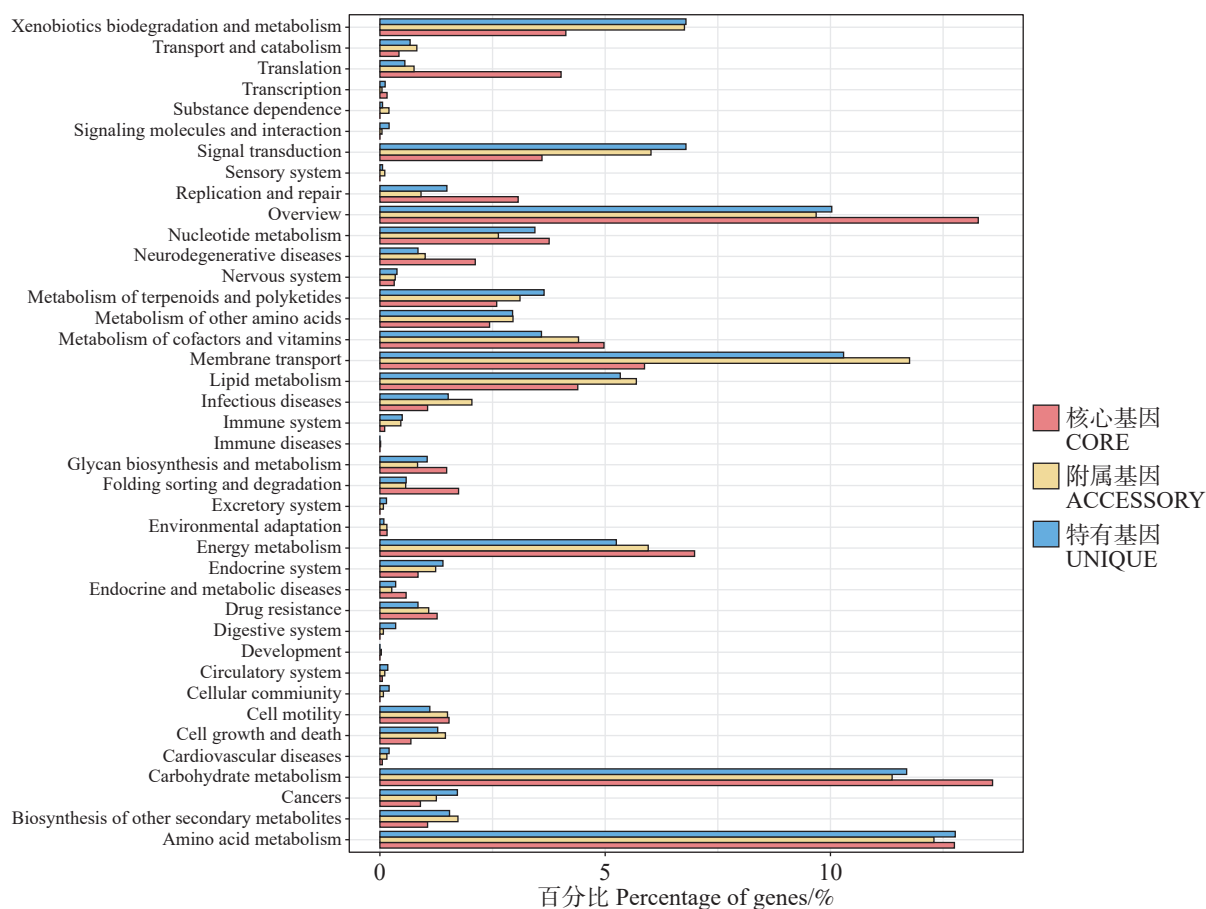
为了揭示慢生根瘤菌属泛基因组的功能特征,本研究使用 KEGG 数据库对核心基因、附属基因以及特有基因进行功能注释(图 3)。核心基因组大部分的功能与维持各种基础生命活动相关,比如碳水化合物代谢(13.59%)、氨基酸代谢(12.75%)、能量代谢(6.98%)、膜运输(5.87%),辅因子和维生素的代谢(4.97%)。附属基因的功能是氨基酸代谢(12.29%)、膜运输(11.75%)、碳

水化合物代谢(11.36%)、异源生物降解和代谢(6.75%)、信号转导(6.01%)。特有基因功能与附属基因相似,主要为氨基酸代谢(12.76%)、碳水化



橙色和蓝色线为泛基因组和核心基因组拟合后的曲线。Orange and blue lines represent the fitted curves of the pangenome and core genome, respectively.

图 2 泛基因组和核心基因组
Fig. 2 Pan genome and core genome



红色表示核心基因功能, 黄色表示附属基因功能, 蓝色表示特有基因功能。

The red indicates core gene function, the yellow indicates accessory gene function, and the blue indicates unique gene function.

图3 泛基因组 KEGG 功能注释

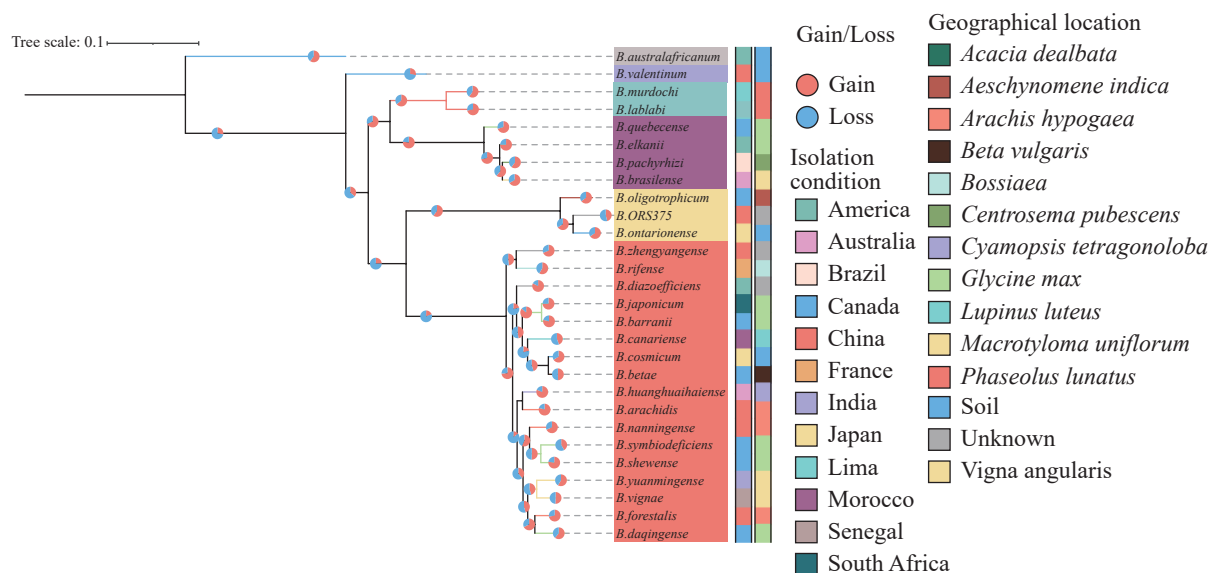
Fig. 3 Pan-genomic KEGG functional annotation

合物代谢(11.69%)、膜运输(10.29%)、异源生物降解和代谢(6.79%)、信号转导(6.79%)及脂代谢(5.33%)。相比于核心基因,在附属基因及特有基因中膜运输、异源生物降解和代谢、脂质代谢、信号转导等相关功能比例升高。研究表明,塑料降解过程需要多种功能基因的协同作用。这些基因涉及异源生物降解和代谢、膜运输、脂质代谢及其他关键信号通路^[31-34]。

2.2 慢生根瘤菌属进化分析 为了分析慢生根瘤菌属在进化过程中的基因流动,研究基于1 052个单拷贝核心基因构建了慢生根瘤菌的系统发育树。基于拓扑结构和物种的进化距离,慢生根瘤菌属的系统发育树可以分为6个主要进化支(图4)。其中, *B. australafricanum* 与其他慢生根瘤菌属成员在进化上具有显著的分歧。本研究收集了28个物种的分离地点和分离来源。

尽管某些物种有相同的分离地点或来源,但它们在系统发育树中的进化距离却较远(图4),显示出遗传多样性,这与慢生根瘤菌属具有开放的泛基因组,容易与其他物种进行遗传物质的交换有关。

研究通过系统发育树和慢生根瘤菌属直系同源基因表达矩阵,推断出慢生根瘤菌属的祖先基因组。结果显示,祖先基因组中包含6 570个基因家族,其在进化过程中经历了复杂的动态变化,包括频繁的基因获得和丢失(图4)。在大多数末端节点中,基因获得的比例高于基因丢失,相反,在慢生根瘤菌属祖先的基因组中,大部分基因发生了丢失。进化距离相近的物种间,基因的获得和丢失趋势并不完全一致。这些结果表明,基因的获得和丢失推动了慢生根瘤菌属多样性的形成,帮助它们适应日益复杂的生存环境,并在进化出



饼图表示基因获得和缺失所占比例。第 1 列和第 2 列热图分别表示物种的分离地点和条件。

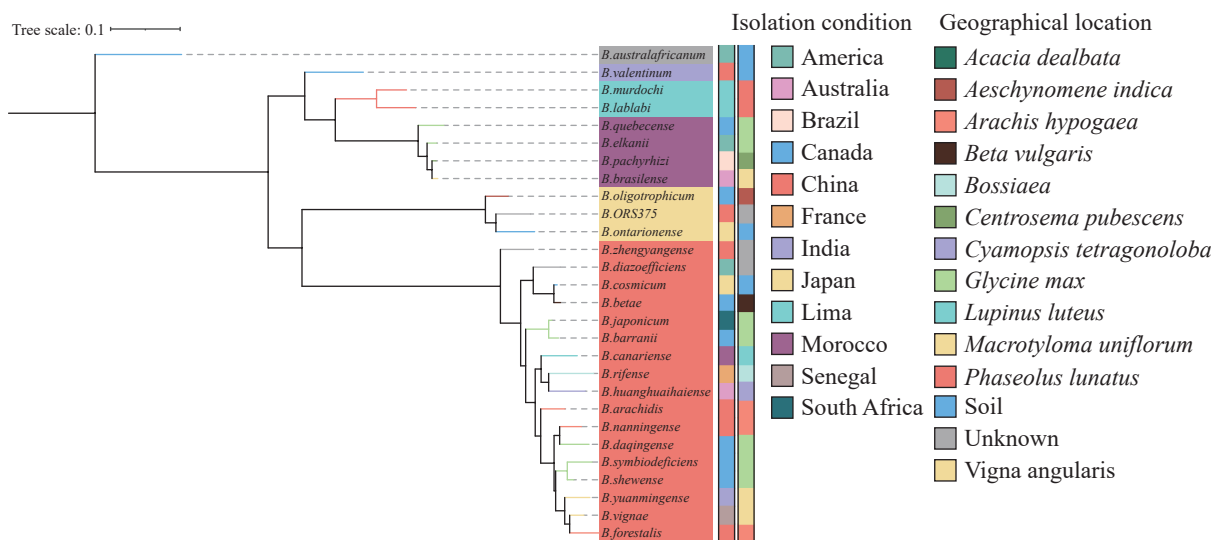
Pie chart shows the proportion of gene acquisition and loss. First and second columns of the heatmap represent the species' geographical locations and isolation conditions, respectively.

图 4 慢生根瘤菌属物种树
Fig. 4 Species tree of *Bradyrhizobium*

塑料降解相关功能中发挥了重要作用。

2.3 CYP450 羟化酶基因的进化历程 收集的慢生根瘤菌属 28 个物种中每一个物种都含有 CYP450 羟化酶同源基因, 本研究基于这些同源基因构建了 CYP450 羟化酶基因的系统发育树(图 5)。该系统发育树的拓扑结构与慢生根瘤菌属的系统发育树拓扑结构相似, 说明慢生根瘤菌属中的 CYP450 羟化酶基因主要以垂直传递方式进化,

仅在个别物种之间存在水平基因转移。为了进一步探究 CYP450 羟化酶基因的进化历程, 本研究在细菌和古菌中搜索了慢生根瘤菌属 CYP450 羟化酶的同源基因。在细菌中发现 456 个同源基因, 在古菌中发现 69 个同源基因, 共涉及 312 个物种。基于这些同源基因构建 CYP450 羟化酶在细菌和古菌中的基因树, 并使用 TaxonKit 对物种进行谱系注释(图 6)。在基因树中, 56%



基于 CYP450 羟化酶同源基因构建的系统发育树。第一列和第二列热图分别表示物种的分离地点和条件。

Phylogenetic tree was constructed based on homologous genes of CYP450 hydroxylase. First and second columns of the heatmap represent the species' geographical locations and isolation conditions, respectively.

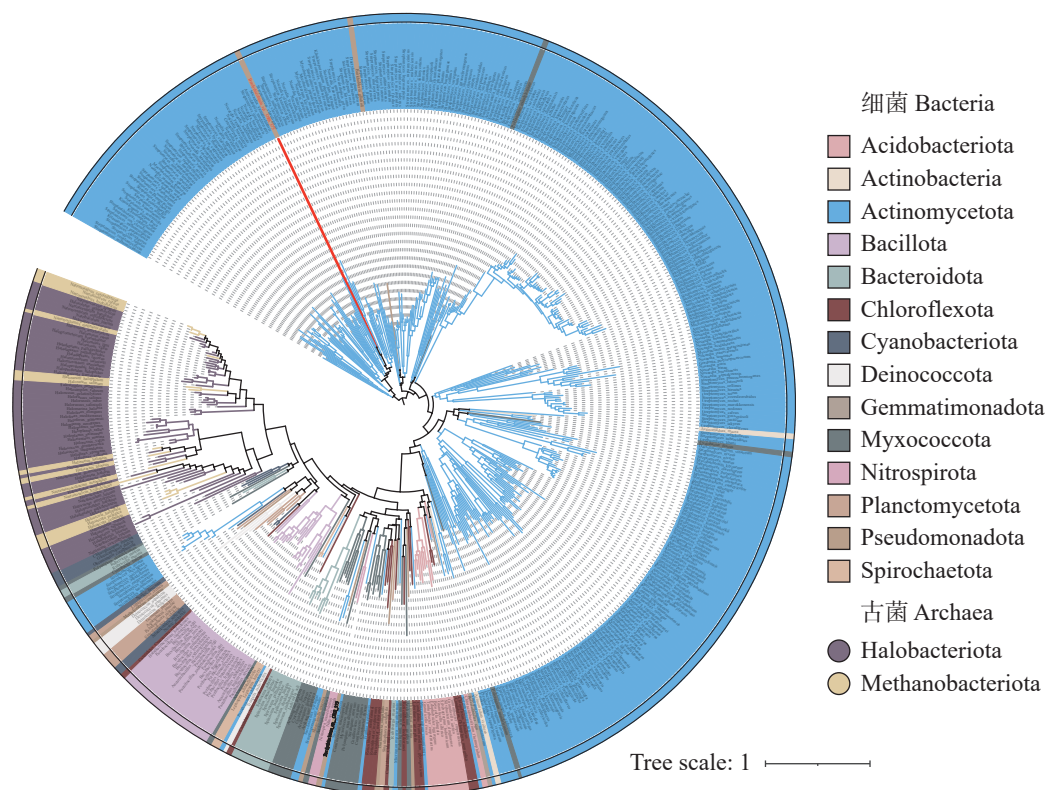
图 5 慢生根瘤菌属 CYP450 羟化酶基因树
Fig. 5 Gene tree for CYP450 hydroxylase in *Bradyrhizobium*

的 *CYP450* 羟化酶基因来源于放线菌门, 且倾向于聚集在同一个进化枝; 13% 来源于古菌, 同样倾向于聚集在同一个进化枝; 而其余 31% 并没有按照预期, 以门为单位进行聚集, 而是分散在各个进化枝。基因树中最先发生分化的基因来源于放线菌门, 而古菌的 2 个门则分化最晚。这一发现表明, 古菌中出现 *CYP450* 羟化酶的时间可能晚于细菌。本研究所关注的慢生根瘤菌属于假单胞菌门(*Pseudomonadota*), 在基因树中的占比较小, 只有不到 2%, 散乱分布于不同进化枝。其中本研究关注的物种 *B. ORS375*, 其 *CYP450* 羟化酶基因与放线菌门(*Actinobacteria*), 而非假单胞菌门聚在一起, 并且分支枝长较长。

2.4 慢生根瘤菌属 *CYP450* 羟化酶基因的进化与水平转移分析 本研究对上述含有慢生根瘤菌属 *CYP450* 羟化酶同源基因的细菌和古菌进行比较基因组学分析。在 312 个物种中找到 11 个单拷贝核心基因, 基于这些核心基因使用最大似然法构建物种树。与基因树的散乱分布不同, 物种树中来自同一门的物种几乎都聚集在

同一个进化枝(图 7)。其中, 甲基杆菌属与慢生根瘤菌属进化距离最近, 这 2 个属在分类学上都属于 α -变形菌纲(*Alpha-Proteobacteria*), 它们有着共同的祖先, 并在进化过程中逐渐分化, 形成了不同的属。

为了探究 *CYP450* 羟化酶基因如何流向慢生根瘤菌属, 研究利用 RANGER-DTL 对基因树和物种树进行了比较, 挖掘 *CYP450* 羟化酶基因在进化过程中的复制、水平转移和丢失事件。结果显示, *CYP450* 羟化酶基因频繁发生水平转移, 仅有少量的复制, 在 456 个同源蛋白基因中, 共发生了 1 002 次水平转移和 71 次基因复制。水平转移不仅限于同一门之间, 还发生在不同门水平, 甚至是细菌和古菌界之间。研究提取与慢生根瘤菌属相关的水平转移事件, 结果表明, 慢生根瘤菌属与其相邻进化枝的多囊菌属(*Polyangium*)的假定祖先发生了水平转移。放线菌门中的诺卡氏菌属(*Nocardia*)和链霉菌属(*Streptomyces*)是慢生根瘤菌属及其假定祖先获得 *CYP450* 羟化酶基因的供体。

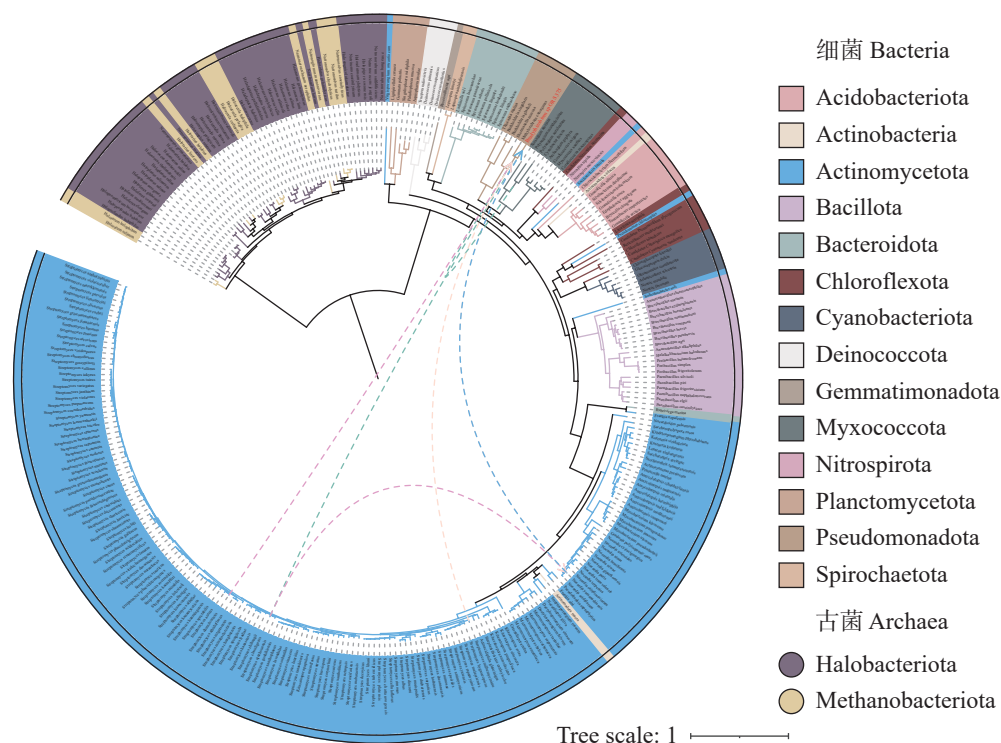


不同门的物种被标记为不同颜色。

Species from different phyla are labeled with different colors.

图 6 *CYP450* 羟化酶基因树

Fig. 6 Gene tree for *CYP450* hydroxylase



不同门的物种被标记为不同颜色。

Species from different phyla are labeled with different colors.

图 7 CYP450 羟化酶的基因水平转移

Fig. 7 Horizontal gene transfer of CYP450 hydroxylase

3 讨论

本研究通过比较基因组学和系统发育分析,发现慢生根瘤菌属具有开放的泛基因组结构。泛基因组分析结果表明,该属的基因获得的比例高于基因丢失。这一发现表明,慢生根瘤菌属可能通过基因水平转移或其他机制获得新的基因和功能,以应对日益复杂和变化的生存环境。该推测与慢生根瘤菌在共生固氮过程中基因水平转移的研究成果一致。已有研究表明,慢生根瘤菌通过基因水平转移(如 *nod* 和 *nif* 等基因)在不同根瘤菌株之间广泛交换基因,这一过程显著增强了慢生根瘤菌的适应性和功能多样性^[35-36]。

在对 CYP450 羟化酶基因的系统发育树分析中,本研究特别关注的 B. ORS375 菌株的 CYP450 羟化酶基因表现出显著的变异特征,可能是由于突变赋予该菌株降解塑料的潜力。进一步挖掘 CYP450 羟化酶基因在细菌及古菌中的水平转移情况发现,放线菌门中的诺卡氏菌属(*Nocardia*)和链霉菌属(*Streptomyces*)是慢生根瘤菌属及其假定祖先获得 CYP450 羟化酶基因的潜在供体。目前,对于放线菌门在塑料降解领域的研究也取得了显

著的进展。NAKEI 等^[37]从坦桑尼亚受塑料污染的土壤中分离出 2 株具有高塑料降解潜力的链霉菌——*Streptomyces werreensis* 和 *S. rochei*。研究表明,锚定肽和 *Streptomyces* sp. strain K30 的融合蛋白能增强 PE 的生物降解活性^[38]。此外,诺卡氏菌属产生的酯酶对于聚乳酸和聚对苯二甲酸乙二醇酯具有降解潜力^[39]。这些发现进一步支持了通过水平转移从放线菌门获取 CYP450 羟化酶基因的慢生根瘤菌属获得了氧化长链烷烃、塑料以及其他外源性分子的潜力。通过这一基因的转移,慢生根瘤菌属不仅能够氧化复杂的有机化合物,还为进化出塑料降解能力提供分子基础。

参考文献:

- [1] EVODE N, AHMAD QAMAR S A, BILAL M, et al. Plastic waste and its management strategies for environmental sustainability[J]. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 2021, 4: 100142 – 100150.
- [2] GEYER R, JAMBECK J R, LAW K L. Production, use, and fate of all plastics ever made[J]. *Science Advances*, 2017, 3(7): e1700782.
- [3] TAN H Y, OTHMAN M H D, CHONG W T, et al. Turning plastics/microplastics into valuable resources? Current and potential research for future applications[J].

- Journal of Environmental Management*, 2024, 356: 120644.
- [4] FERNANDES, CLAYTAN PETER. Use of recycled poly lactic acid (PLA) polymer in 3D printing: a review [J]. *International Research Journal of Engineering and Technology Advances in Chemical Engineering and Science*, 2019, 6(9): 1841-1845.
- [5] GUO C, ZHANG L Q, JIANG W J. Biodegrading plastics with a synthetic non-biodegradable enzyme[J]. *Chem*, 2023, 9(2): 363 – 376.
- [6] SIVAN A, SZANTO M, PAVLOV V. Biofilm development of the polyethylene-degrading bacterium *Rhodococcus ruber*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 72(2): 346 – 352.
- [7] KRISHNASWAMY V G, SRIDHARAN R, KUMAR P S, et al. Cellulase enzyme catalyst producing bacterial strains from vermicompost and its application in low-density polyethylene degradation[J]. *Chemosphere*, 2022, 288: 132552.
- [8] LUO G W, JIN T, ZHANG H R, et al. Deciphering the diversity and functions of plastisphere bacterial communities in plastic-mulching croplands of subtropical China[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 422: 126865.
- [9] TANUNCHAI B, KALKHOF S, GULIYEV V, et al. Nitrogen fixing bacteria facilitate microbial biodegradation of a bio-based and biodegradable plastic in soils under ambient and future climatic conditions[J]. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 2022, 24(2): 233–241. doi:10.1039/d1em00426c.
- [10] 张李婷, 张博, 许维东, 等. 聚乙烯塑料生物降解研究进展[J]. *生物工程学报*, 2023, 39(5): 1949 – 1962.
- [11] ZHENG M N, LI Y W, DONG W L, et al. P450-catalyzed polyethylene oligomer degradation: a quantum mechanics/molecular mechanics study[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2023, 389: 136130.
- [12] RESTREPO-FLÓREZ J M, BASSI A, THOMPSON M R. Microbial degradation and deterioration of polyethylene: A review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, 88: 83 – 90.
- [13] REN S Y, NI H G. Biodeterioration of microplastics by bacteria isolated from mangrove sediment[J]. *Toxics*, 2023, 11(5): 432.
- [14] NELSON D R. Cytochrome P450 diversity in the tree of life[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2018, 1866(1): 141 – 154.
- [15] GLIEDER A, FARINAS E T, ARNOLD F H. Laboratory evolution of a soluble, self-sufficient, highly active alkane hydroxylase[J]. *Nature Biotechnology*, 2002, 20(11): 1135 – 1139.
- [16] HSIEH S C, WANG J H, LAI Y C, et al. Production of 1-dodecanol, 1-tetradecanol, and 1, 12-dodecanediol through whole-cell biotransformation in *Escherichia coli*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(4): e01806 – 17.
- [17] SCHEPS D, MALCA S H, HOFFMANN H, et al. Regioselective ω -hydroxylation of medium-chain n-alkanes and primary alcohols by CYP153 enzymes from *Mycobacterium marinum* and *Polaromonas* sp. strain JS666[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2011, 9(19): 6727 – 6733.
- [18] CHAUDHARI N M, GUPTA V K, DUTTA C. BPGA-an ultra-fast pan-genome analysis pipeline[J]. *Scientific ReportsSci. Rep.*, 2016, 613(8): 24366 – 24373.
- [19] BUCHFINK B, XIE C, HUSON D H. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND[J]. *Nature Methods*, 2015, 12(1): 59 – 60.
- [20] WICKHAM H. Ggplot2: elegant graphics for data analysis [M]. Dordrecht: Springer, 2009. doi:10.1007/978-3-319-24277-4.
- [21] KATO H K, STANDLEY D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability[J]. *Molecular Biology and EvolutionMol Biol Evol*, 2013, 30(4): 772 – 780.
- [22] FINN R D, CLEMENTS J, EDDY S R. HMMER web server: interactive sequence similarity searching [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(Web Server issue): 29–37. doi:10.1093/nar/gkr367.
- [23] EMMS D M, KELLY S. OrthoFinder: phylogenetic orthology inference for comparative genomics[J]. *Genome Biology*, 2019, 20(1): 238.
- [24] MADEIRA F, MADHUSOODANAN N, LEE J, et al. The EMBL-EBI Job Dispatcher sequence analysis tools framework in 2024[J]. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52(W1): 521 – 525.
- [25] CAPELLA-GUTIÉRREZ S, SILLA-MARTÍNEZ J M, GABALDÓN T. trimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(15): 1972 – 1973.
- [26] MINH B Q, SCHMIDT H A, CHERNOMOR O, et al. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2020, 37(5): 1530 – 1534.
- [27] SHEN W, REN H. TaxonKit: a practical and efficient NCBI taxonomy toolkit[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2021, 48(9): 844 – 850.
- [28] LETUNIC I, BORK P. Interactive tree of life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool[J]. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52(W1): W78 – W82.
- [29] CSÜÖSCSURÖS M. Count: evolutionary analysis of phylogenetic profiles with parsimony and likelihood[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(15): 1910 – 1912.
- [30] BANSAL M S, KELLIS M, KORDI M, et al. RANGER-DTL 2.0: rigorous reconstruction of gene-family evolution by duplication, transfer and loss[J].

- Bioinformatics, 2018, 34(18): 3214 – 3216.
- [31] WALKER C, MORTENSEN M, JR, POUDEL B, et al. Proteomes reveal metabolic capabilities of *Yarrowia lipolytica* for biological upcycling of polyethylene into high-value chemicals[J]. *mSystems*, 2023, 8(6): e0074123.
- [32] WU F Y, GUO Z, CUI K P, et al. Insights into characteristics of white rot fungus during environmental plastics adhesion and degradation mechanism of plastics[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 448: 130878.
- [33] WANG P Y, LIU J X, HAN S Q, et al. Polyethylene mulching film degrading bacteria within the plastisphere: co-culture of plastic degrading strains screened by bacterial community succession[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 442: 130045.
- [34] RÜTHI J, RAST B M, QI W H, et al. The plastisphere microbiome in alpine soils alters the microbial genetic potential for plastic degradation and biogeochemical cycling[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 441: 129941.
- [35] HEMME C L, GREEN S J, RISHISHWAR L, et al. Lateral gene transfer in a heavy metal-contaminated-groundwater microbial community[J]. *mBio*, 2016, 7(2): 2234 – 2248.
- [36] ABE T, AKAZAWA Y, TOYODA A, et al. Batch-learning self-organizing map identifies horizontal gene transfer candidates and their origins in entire genomes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1486.
- [37] NAKAI M D, MISINZO G, TINDWA H, et al. Degradation of polyethylene plastic bags and bottles using microorganisms isolated from soils of Morogoro, Tanzania[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1077588.
- [38] KONG D M, ZHANG H, YUAN Y, et al. Enhanced biodegradation activity toward polyethylene by fusion protein of anchor peptide and *Streptomyces* sp. strain K30 latex clearing protein[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 264: 130378.
- [39] TAMOOR M, SAMAK N A, JIA Y P, et al. Potential use of microbial enzymes for the conversion of plastic waste into value-added products: a viable solution[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 777727.

Evolutionary analysis of the plastic-degrading hydroxylase gene *CYP450* in *Bradyrhizobium*

LU Zhenzhang[#], MA Jiayue, LI Juanjuan, CHI Xue, MA Xiang, TANG Yanqiong, LI Hong^{*}

(School of Life and Health Sciences, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: To explore the evolutionary history of the *Bradyrhizobium* and its plastic degradation-related gene the hydroxylase gene *CYP450*, and to understand the mechanisms by which the genus acquires its plastic degradation potential. In this study, 28 fully assembled strains of *Bradyrhizobium* were collected to investigate the evolution and dissemination of *Bradyrhizobium* and their hydroxylase genes *CYP450* through comparative genomic and phylogenetic analyses. The results revealed that, compared to the core genes, the unique and accessory genes of *Bradyrhizobium* exhibited an increase in functions related to plastic degradation, such as membrane transport, xenobiotic biodegradation and metabolism, lipid metabolism, and signal transduction. *Bradyrhizobium* has an open pan-genome, enabling it to acquire genes from other species, adapt to new environments, and evolve new functions. Analysis of the flow of the hydroxylase gene *CYP450* in bacteria and archaea revealed that *Bradyrhizobium* likely acquired hydroxylase gene *CYP450* from the Actinobacteria phylum through horizontal gene transfer, thus gaining the potential for plastic degradation.

Keywords: *Bradyrhizobium*; hydroxylase gene *CYP450*; plastic degradation; comparative genomes; phylogenetic analysis

(责任编辑:潘学峰)