

研究报告

一株植物根际促生真菌浅囊状栓菌 SICAU-T41 的筛选及全基因组分析

宋景琦, 陈玉蓝, 赵珂, 向泉桔, 余秀梅, 张凌子, 陈强, 辜运富*

四川农业大学 资源学院, 四川 成都 611130

宋景琦, 陈玉蓝, 赵珂, 向泉桔, 余秀梅, 张凌子, 陈强, 辜运富. 一株植物根际促生真菌浅囊状栓菌 SICAU-T41 的筛选及全基因组分析[J]. 微生物学通报, 2026, 53(1): 479-498.

SONG Jingqi, CHEN Yulan, ZHAO Ke, XIANG Quanju, YU Xiumei, ZHANG Lingzi, CHEN Qiang, GU Yunfu. Screening and whole-genome analysis of a plant growth-promoting fungus, *Trametes gibbosa* SICAU-T41[J]. Microbiology China, 2026, 53(1): 479-498.

摘要: 【背景】多孔菌科(*Polyporaceae*)的种类较多, 形态特征差异较大, 至今尚未形成十分完善的分类系统, 其中栓菌属是多孔菌科内分类最为混乱的一个类群。【目的】扩充植物根际促生真菌的资源库, 从四川省凉山彝族自治州会理市烤烟根际土壤中分离出 1 株具有植物促生效果的多孔真菌浅囊状栓菌(*Trametes gibbosa*) SICAU-T41。旨在通过对菌株 SICAU-T41 进行全基因组测序, 解析其全基因组的结构、功能及其在种属进化关系中的位置, 深入挖掘其次级代谢产物基因资源。【方法】采用传统定向筛选培养基培养、摇瓶培养的方法筛选植物促生真菌, 测定其促生特性, 并通过盆栽试验和 qPCR 试验验证其促生能力和定殖能力。利用 Illumina 和 PacBio 平台相结合的测序技术对菌株 SICAU-T41 进行全基因组测序, 并进行基因预测、功能注释、次级代谢产物合成基因簇预测、比较基因组学分析。【结果】从烤烟根际土壤中共分离纯化得到 78 株不同菌落形态的真菌菌株, 并测定其溶解无机磷的能力、产 IAA 能力、纤维素降解能力、产铁载体能力和拮抗病原菌的能力。筛选得到 1 株促生能力最强的菌株 SICAU-T41, 其溶磷量为 30.40 mg/L, IAA 产量为 48.10 mg/L, 纤维素降解圈直径为 2.03 cm, 铁载体晕圈直径(halation diameter, HD)及菌落直径(colony diameter, CD)比值 HD/CD 为 2.00。盆栽试验结果表明, 菌株 SICAU-T41 能显著促进烟苗的生长, 烟苗的株高与 CK 相比增加了 74.7%, 根长增加了 14.4%, 叶片数增加了 16.7%, 叶面积增加了 48.4%, 根数增加了 52.1%, 地上部鲜重增加了 36.7%, 地下部鲜重增加了 82.6%。相较于 CK, 添加菌株 SICAU-T41 能显著提高其在烤烟根际土壤中的定殖量, 定殖量为 29.93×10^3 copies/ μ L, 较 CK 提高了 123.36%。对菌株 SICAU-T41 进行全基因组测序, 其基因组大小为 33.93 Mb, 预测的总基因数

资助项目: 2023 年四川省食用菌育种联合攻关项目(2322229006)

This work was supported by the 2023 Joint Research Initiative on Edible Fungus Breeding in Sichuan Province (2322229006).

*Corresponding author. E-mail: guyf@sicau.edu.cn

Received: 2025-04-27; Accepted: 2025-07-22; Published online: 2025-08-11

为 10 142 个, 蛋白质编码基因数为 9 843 个, G+C 含量为 56.89%; 在 eggNOG、KEGG、GO、CAZy 数据库中分别注释到 7 875、3 444、5 793、448 个基因; 转运蛋白分类数据库分析(transporter classification database analysis, TCDB)预测到 1 129 个与多种分泌系统相关的转运蛋白; 同时预测到菌株 SICAU-T41 中存在 22 个次级代谢产物合成基因簇, 涉及萜类、非核糖体肽类、 β -内酰胺类、核糖体合成并经翻译后修饰的肽类天然产物(ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide secondary metabolites, RiPPs)等多种天然产物的合成。基于比较基因组学分析, 菌株 SICAU-T41 与浅囊状栓菌(*Trametes gibbosa*)的平均核苷酸一致性(average nucleotide identity, ANI)值达 98.5%, 说明菌株 SICAU-T41 是一株浅囊状栓菌。【结论】从烤烟根际土壤中分离到的植物促生真菌 SICAU-T41 具有多种植物促生特性, 能显著促进烟苗的生长。通过对菌株 SICAU-T41 全基因组序列的测定与分析, 在基因层面揭示了该菌的植物促生机制, 同时丰富了浅囊状栓菌的基因组数据库。

关键词: 植物根际促生真菌; 浅囊状栓菌; 全基因组测序; 比较基因组; 次级代谢产物合成基因簇

Screening and whole-genome analysis of a plant growth-promoting fungus, *Trametes gibbosa* SICAU-T41

SONG Jingqi, CHEN Yulan, ZHAO Ke, XIANG Quanju, YU Xiumei, ZHANG Lingzi, CHEN Qiang, GU Yunfu*

College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China

Abstract: [Background] The Polyporaceae encompasses numerous species that exhibit highly diverse morphological traits; consequently, no fully satisfactory classification system has yet been established. Among its constituent genera, *Trametes* is the most taxonomically chaotic group within the family. **[Objective]** To expand the resource library of plant growth-promoting fungi, we isolated *Trametes gibbosa* SICAU-T41, a strain of poroid fungus, with plant growth-promoting effects from the rhizosphere soil of flue-cured tobacco in Huili County, Liangshan Prefecture, Sichuan Province. This study aimed to conduct whole-genome sequencing of strain SICAU-T41 to analyze its genomic structure, function, and phylogenetic position and mine its secondary metabolite gene resources. **[Methods]** Directed screening media and shake-flask culture were employed to isolate plant growth-promoting fungi, the plant growth-promoting characteristics of which were determined. Pot experiments and qPCR were then employed to evaluate the plant growth-promoting effects and colonization of the isolates. Whole-genome sequencing of strain SICAU-T41 was performed by Illumina and PacBio platforms. Gene prediction, functional annotation, prediction of secondary metabolite biosynthetic gene clusters (BGCs), and comparative genomic analysis were then conducted. **[Results]** A total of 78 fungal strains with distinct colony morphology were isolated and purified from the rhizosphere soil of flue-cured tobacco. Their abilities to solubilize inorganic phosphorus, produce indole-3-acetic acid (IAA), degrade cellulose, produce siderophores, and antagonize pathogens were measured. Strain SICAU-T41, exhibiting the strongest plant

growth-promoting potential, was selected. This strain demonstrated the phosphorus-solubilizing capacity of 30.40 mg/L, IAA production of 48.10 mg/L, cellulose degradation zone diameter of 2.03 cm, and siderophore production (HD/CD ratio) of 2.00. Pot experiment results demonstrated that strain SICAU-T41 significantly promoted the growth of tobacco seedlings. Compared with the control (CK), inoculation of this strain increased the seedling height by 74.7%, root length by 14.4%, leaf number by 16.7%, leaf area by 48.4%, root number by 52.1%, aboveground fresh weight by 36.7%, and underground fresh weight by 82.6%. Compared with CK, the addition of SICAU-T41 significantly increased its colonization density in the rhizosphere soil of flue-cured tobacco, which reached 29.93×10^3 copies/ μL , a 123.36% increase over CK. Whole-genome sequencing revealed that the genome of strain SICAU-T41 had a length of 33.93 Mb, containing 10 142 predicted genes, including 9 843 protein-coding genes, with the G+C content of 56.89%. A total of 7 875, 3 444, 5 793, and 448 genes were annotated in the eggNOG, KEGG, GO, and CAZy databases, respectively. TCDB analysis predicted 1 129 transporters associated with various secretion systems. Furthermore, 22 secondary metabolite BGCs were predicted in the genome of strain SICAU-T41, involved in the synthesis of various natural products such as terpenoids, non-ribosomal peptides (NRPs), β -lactams, and ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides (RiPPs). Comparative genomic analysis showed that the average nucleotide identity between strain SICAU-T41 and *T. gibbosa* reached 98.5%, confirming that SICAU-T41 was a strain of *T. gibbosa*. **[Conclusion]** The plant growth-promoting fungus *T. gibbosa* SICAU-T41, isolated from the rhizosphere soil of flue-cured tobacco, possesses multiple plant growth-promoting properties and significantly enhances tobacco seedling growth. Whole-genome sequencing and analysis of strain SICAU-T41 revealed the genetic basis underlying its plant growth-promoting mechanisms at the genomic level, while also enriching the genomic database of *T. gibbosa*.

Keywords: plant growth-promoting fungi; *Trametes gibbosa*; whole-genome sequencing; comparative genomics; secondary metabolite biosynthetic gene clusters

多孔菌科 (*Polyporaceae*) 是一类能分解木质素和纤维素的真菌, 属于担子菌纲 (*Basidiomycota*), 包括栓菌属 (*Trametes*)、侧耳属 (*Pleurotus*) 等^[1]。目前关于多孔菌的研究多集中在降解木质素、食用及药用方面。研究表明多孔菌能降解木材中的复杂有机物, 促进木材的分解和养分循环, 在生态系统中发挥重要作用^[2]。部分多孔菌具有药用和食用价值, 孙勇等^[3]筛选到 3 株具有抗肿瘤活性的多孔真菌, 包海鹰等^[4]发现多孔真菌分泌的羊毛甾烷型三萜具有抗肿瘤、抗炎、抗菌等药理活性, 并且茯苓、灵芝等可食用的多孔菌具有较高的营养和药用价值^[5-7]。多孔菌的种类较多, 形态特征差

异较大, 至今尚未形成十分完善的分类系统, 其中栓菌属被认为是多孔菌科内分类最为混乱的一个类群^[1]。

植物根际存在一类被称为植物根际促生真菌 (plant growth-promoting fungi, PGPF) 的有益菌类, 为自由生活在根际土壤的一组与植物相关的非致病性丝状真菌, 能促进植物生长^[8]。研究表明, PGPF 和植物根际促生细菌 (plant growth promoting bacteria, PGPB) 具有相同的植物促生作用和相似的作用机制^[8]。相较于土壤细菌, 土壤真菌因具有特殊的菌丝结构, 在土壤环境中的抗逆性更强, 因此筛选具有植物促生能力的真菌非常重要^[9]。但是 PGPF 受到的关

注比 PGPB 少。目前研究较多的 PGPF 包括黑曲霉(*Aspergillus niger*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、木霉菌(*Trichoderma*)，而多孔菌在植物促生方面的研究还较少。

本研究以四川省凉山彝族自治州会理市的烤烟根际土壤为分离样品，分离具有植物根际促生能力的真菌菌株，并利用第三代测序平台 PacBio RS 的单分子实时测序技术(single-molecule real-time sequencing technology, SMRT)对植物根际促生能力最强的真菌进行全基因组测序、功能注释和次级代谢基因簇分析。通过比较基因组学分析该菌株与近缘种间的遗传差异，以明确其系统发育地位，并为挖掘其天然产物及作用机制奠定理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 样品

土壤样品采自四川省凉山彝族自治州会理市烤烟根际土，土壤类型为酸性紫色土，pH 5.72，含水率 6.67%，有机质 1.81%，碱解氮 90.73 mg/kg，有效磷 8.57 mg/kg，速效钾 116.00 mg/kg。

茄链格孢菌[*Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout]、西瓜尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)，北纳生物-河南省工业微生物菌种工程技术研究中心；大肠杆菌(*Escherichia coli*)，北京百欧博伟生物技术有限公司；金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)，北京三药科技开发公司。

烤烟植株云烟 87，云南省烟草农业科学研究院。

1.2 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基参考文献[8]配制，蒙金娜无机磷(Pikovskaya, PVK)培养基参考文献[10]配制，金氏培养基参考文献[11]配制，羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose Na, CMC-Na)培养基参考文献[12]配制，铭天青 S 检测平板参考文献[13]配制。

1.3 主要试剂和仪器

S2 (Salkowski 试剂)比色液：4.5 g FeCl₃ 溶于 300 mL 水，加 1 mL 98% H₂SO₄，冷却后定容至 1 L，IAA 检测范围 5–200 μg/mL^[11]。

MUB 缓冲液：将 12.1 g 三羟基甲基氨基甲烷[tris(hydroxymethyl)aminomethane, THAM]、11.6 g 马来酸、14.0 g 柠檬酸和 6.3 g H₃BO₃ 溶于 488 mL 1 mol/L NaOH，定容至 1 L，4 °C 保存^[14]。

0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 5.5)：将 KH₂PO₄ 13.609 g、Na₂HPO₄ 14.198 g 溶解于 800 mL 去离子水中，用 0.1 mol/L 的 HCl 和 0.1 mol/L 的 NaOH 调节缓冲液 pH 值至 5.5，定容至 1 L^[14]。

0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 11.0)：将 Na₂HPO₄ 14.198 g 溶解于 800 mL 去离子水中，用 0.1 mol/L 的 HCl 和 0.1 mol/L 的 NaOH 调节缓冲液 pH 值至 11.0，定容至 1 L^[14]。

多功能酶标仪，赛默飞世尔科技(中国)有限公司；冷冻离心机，上海卢湘仪离心机仪器有限公司；真空冷冻干燥机，青岛永合创信电子科技有限公司。

1.4 土壤真菌的分离纯化

取 10 g 土壤样品加入 90 mL 无菌水，30 °C、160 r/min 振荡 30 min，静置 5 min 后取上清，梯度稀释至 10⁻⁵–10⁻⁷，各取 100 μL 涂布 PDA，28 °C 倒置培养，及时挑取单菌落纯化。

1.5 无机磷降解能力的测定

土壤真菌经纯化后接种于 PVK 液体培养基，28 °C、160 r/min 培养 7 d，4 °C、10 000 r/min 离心 15 min 取上清，用钼锑抗比色法测溶磷量^[10]。

1.6 产 IAA 能力测定

将土壤真菌接种到金氏培养基中，28 °C、140 r/min 培养 3 d 后将菌液与 S2 比色液等比混合，在黑暗中反应 30 min 后，4 °C、8 000 r/min 离心 10 min 取上清液，530 nm 测吸光度。参照李培根等^[11]的方法，以 IAA 浓度为横坐标、OD₅₃₀ 为纵坐标制作标准曲线，对照标准曲线计算菌株发酵液中 IAA 含量。

1.7 纤维素降解能力测定

将直径 5 mm 的菌块接种于羧甲基纤维素钠平板, 28 °C 避光培养 3 d, 测定纤维素溶解圈大小^[12]。

1.8 产铁载体能力测定

将直径 5 mm 的菌块接种于铬天青 S 检测平板, 28 °C 培养 3 d; 若出现橙黄色晕圈, 即产铁载体, 测定并记录晕圈直径(halation diameter, HD)及菌落直径(colony diameter, CD), 计算二者比值(HD/CD)^[13]。

1.9 拮抗病原菌能力测定

分别取 200 μ L 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的菌悬液接种到将要凝固的平板中混匀, 培养基凝固后, 中央接入 5 mm 菌块, 28 °C 培养 3–5 d, 测透明圈直径。将供试真菌菌株和茄链格孢菌、西瓜尖孢镰刀菌于 26 °C 培养 2 周, 菌丝长满培养皿后备用。用打孔器取 0.5 cm 菌块, 将病原菌块置 PDA 中央, 四点法在距其 2–3 cm 处接种供试菌, 培养 7 d 测抑菌距离^[15]。

1.10 磷酸酶活性测定

将真菌孢子悬液接种至 PVK 液体培养基, 28 °C、160 r/min 培养 5 d。取 1 mL 菌液加 4 mL MUB 缓冲液, 再分别加入 pH 5.5 和 pH 11.0 的 0.025 mol/L 对硝基苯磷酸二钠各 1 mL, 37 °C 水浴 1 h。随后依次加入 1 mL 0.5 mol/L CaCl₂ 和 4 mL NaOH, 混匀后测 420 nm 吸光度。分别吸取 1 g/L 对硝基酚标准溶液 0、1、2、3、4、5 mL, 加入无菌水将试管中液体体积补足 5 mL, 然后按上述方法进行试验, 测定吸光度, 绘制标准曲线^[14]。

1.11 促生菌株对烤烟的促生效应验证

对上述实验中筛选获得的综合植物根际促生效果最佳的真菌菌株的促生效应进行验证。供试植株为烤烟植株云烟 87。供试土壤为紫色土, 采自四川省凉山彝族自治州会理市烤烟示范基地。以接种 SICAU-T41 菌剂为处理组, 以 PDB 液体培养基为对照组, 每个处理设置 3 次重

复。盆栽试验于 2021 年 4 月在四川农业大学第三教学楼光照培养室进行, 温度 25 °C, 光照强度 2 000–3 000 lx, 每天光照时长 14 h, 室内空气相对湿度 70%–80%。每个花盆中装入 2.5 kg 供试土壤, 每个盆中种植 1 株烟苗, 三叶期时添加 20 mL 菌剂和 PDB 培养基。

1.12 实时荧光定量 PCR

基于综合植物根际促生效果最佳的真菌菌株的全基因组测序, 通过 Prokka (v1.11) 和 Roary (v3.6.1) 软件筛选菌株特异性核酸片段。经 BLAST 比对筛选后设计特异性引物 4-F (5'-ATGGGTTGTAGCTGGCCTTC-3') 与 4-R (5'-ATCGATGCGAGAGCCAAGAG-3')。采用 SYBR Green I 荧光定量 PCR 方法, 以梯度稀释的阳性质粒标准品 (10^2 – 10^8 copies/ μ L) 建立标准曲线。将盆栽土壤样品 DNA 浓度稀释到 10^{-2} ng/ μ L, 反应体系: DNA 模板 (10^{-2} ng/ μ L) 2 μ L, 上、下游引物 (0.5 μ mol/L) 各 0.5 μ L, SYBR Green I 10 μ L, ddH₂O 12 μ L。反应条件: 95 °C 30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 20 s, 并采集荧光信号, 45 次循环。用 Excel 绘制标准曲线并计算烤烟根际土壤真菌的含量 (copies/ μ L)^[16]。

1.13 基因组测序、组装和功能注释

将本研究获得的综合植物根际促生效果最佳的真菌菌株的菌丝体送上海派森诺生物科技股份有限公司进行全基因组测序。使用 Nanopore Sequel 平台和 Illumina NovaSeq PE150 进行测序。对接头、低质量和短片段 reads (长度 < 2 000 bp) 进行过滤后, 使用 Falcon 和 CANU 对测序数据进行组装。使用 Augustus 3.0.3、GlimmerHMM 3.0.1 和 GeneMark-ES 4.3.5 对基因模型进行从头预测, 用 EVIDENCEModeler (version r2012-06-25) 将预测结果和同源预测结果进行整合。用 NCBI 和 HMMER (HMMER *E*-value < $1e^{-15}$, HMMER coverage > 0.35)、UniProt 软件分别进行注释和功能预测^[17]。

1.14 次级代谢产物生物合成基因簇预测

运用 antiSMASH v7.0 软件对综合植物根际

促生效果最佳的真菌菌株的次级代谢产物合成基因簇进行深入分析,并预测该菌株潜在的生物合成代谢物^[18]。

1.15 比较基因组分析

使用 FastANI 软件分析基因组之间的成对平均核苷酸一致性(average nucleotide identity, ANI)值,采用 OrthoFinder v2.5.4 软件分析基因家族和单拷贝正交基因。物种树使用单拷贝直向同源基因连接构建,并用 FastTree 软件进行可视化^[19]。

1.16 数据分析

用 Microsoft Excel 2021 整理基础数据,采用 IBM SPSS Statistics 26 进行方差分析(*P* 值),用 Origin 2021 软件进行绘图,用平均值±标准误差表示测定结果。

2 结果与分析

2.1 根际促生真菌的分离与筛选结果

对烤烟根际土壤样品进行系列稀释并涂布

PDA 平板,共分离纯化得到 78 株不同菌落形态的真菌菌株。不同菌株的溶磷能力、产 IAA 能力、降解纤维素能力及产铁载体能力如表 1 所示,拮抗病原菌能力如表 2 所示。能够溶解无机磷的菌株有 26 株,其中 6 株溶磷量大于 25 mg/L;具产 IAA 能力的菌株共有 50 株,其中 IAA 产量高于 30 mg/L 的有 5 株;具纤维素降解能力的有 14 株,其中纤维素降解圈直径大于 2 cm 的菌株共有 5 株;具产铁载体能力的仅有 3 株。能拮抗茄链格孢菌的有 15 株,能拮抗西瓜尖孢镰刀菌的有 13 株,能拮抗金黄色葡萄球菌的有 13 株,能拮抗大肠杆菌的有 11 株,能同时抑制 2 种及以上病原菌的有 10 株。最终筛选出一株植物根际促生效果最佳的真菌菌株 SICAU-T41,其溶磷量为 30.40 mg/L,IAA 产量为 48.10 mg/L,纤维素降解圈直径为 2.03 cm,铁载体 HD/CD 为 2.00。

2.2 菌株 SICAU-T41 的磷酸酶活性

菌株 SICAU-T41 保存于中国模式培养物保

表 1 部分分离真菌菌株的溶磷能力、产 IAA 能力、降解纤维素能力及产铁载体能力结果

Table 1 Results of phosphate-solubilizing capacity, IAA production capacity, cellulose-degrading capacity, and siderophore-producing capacity for some isolated fungal strains

Strain code	Phosphate solubilization capacity (mg/L)	Indole-3-acetic acid (IAA) production (mg/L)	Cellulose hydrolysis zone (cm)	Iron production carrier capacity (HD/CD)
SICAU-T1	30.20±2.31b	20.80±0.34d	1.50±1.15b	nd
SICAU-T10	32.40±2.01b	23.40±1.12d	nd	nd
SICAU-T15	nd	36.30±1.94c	nd	1.77±0.23b
SICAU-T17	17.30±1.57c	27.30±3.65cd	nd	1.58±0.20c
SICAU-T32	38.80±1.77a	10.60±0.54e	1.50±0.91b	nd
SICAU-T35	nd	26.10±1.28cd	2.22±0.57a	nd
SICAU-T40	16.20±0.85c	40.60±1.94b	2.20±0.43a	nd
SICAU-T41	30.40±3.02b	48.10±0.25a	2.03±0.86a	2.00±0.12a
SICAU-T55	20.10±2.11c	nd	2.10±1.12a	nd
SICAU-T62	nd	2.40±0.41h	2.16±0.42a	nd
SICAU-T63	31.20±2.05b	11.60±0.38e	nd	nd
SICAU-T66	nd	31.20±1.05c	1.30±0.71c	nd
SICAU-T72	nd	31.30±5.25c	nd	nd
SICAU-T74	29.70±2.13b	26.00±2.78cd	nd	nd

不同小写字母表示同一指标在不同处理间差异显著(*P*<0.05); nd: 未检出。

Different lowercase letters after the numbers indicate significant differences in the same indicator between different treatments (*P*<0.05); nd: Not detected.

表 2 部分分离真菌菌株拮抗病原菌的能力

Table 2 Antagonistic ability against phytopathogens of some isolated fungal strains

Strain code	Zone of inhibition (ZOI)			
	<i>Alternaria solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
SICAU-T1	++	+	-	-
SICAU-T6	++	+	+	-
SICAU-T29	++	-	+	-
SICAU-T32	++	+	-	-
SICAU-T38	+	-	-	+
SICAU-T40	-	+	+	-
SICAU-T41	++	+	+	-
SICAU-T42	+	+	-	-
SICAU-T49	+	++	-	-
SICAU-T59	+	+	-	-

++: 拮抗菌圈明显; +: 拮抗菌圈较明显; -: 无拮抗菌圈。

++: Antagonistic circles were extremely obvious; +: Antagonistic circles were obvious; -: No antagonistic ring.

藏中心(保藏编号为 CCTCC No: M2022701)和四川农业大学应用微生物学系实验室^[20]。将菌株 SICAU-T41 转接于 PVK 液体培养基中进行培养, 磷酸酶活测定结果如图 1 所示, 菌株 SICAU-T41 的碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性均呈现出先升高后降低的趋势。具体而言, 菌株 SICAU-T41 产生的酸性磷酸酶在 60 h 时达到最高值, 为 82.7 $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{h})$, 而碱性磷酸酶则在 36 h 时达到峰值, 为 58.2 $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。

2.3 菌株 SICAU-T41 对烤烟的促生效应

相较于未接种菌剂的 CK, 菌株 SICAU-T41 能显著促进烟苗的生长。菌株 SICAU-T41 处理下烟苗的株高与 CK 相比增加了 74.7%, 根长增加了 14.4%, 叶片数增加了 16.7%, 叶面积增加了 48.4%, 根数增加了 52.1%, 地上部鲜重增加了 36.7%, 地下部鲜重增加了 82.6% (图 2, 表 3)。

2.4 菌株 SICAU-T41 在烤烟根际土壤的定殖能力

对盆栽烤烟根际土壤进行 RT-qPCR 测定, 得到标准曲线(图 3A)及菌株 SICAU-T4 的定殖量(图 3B)。相较于 CK, 添加菌株 SICAU-T41 能显著提高其在烤烟根际土壤中的定殖量, 定殖

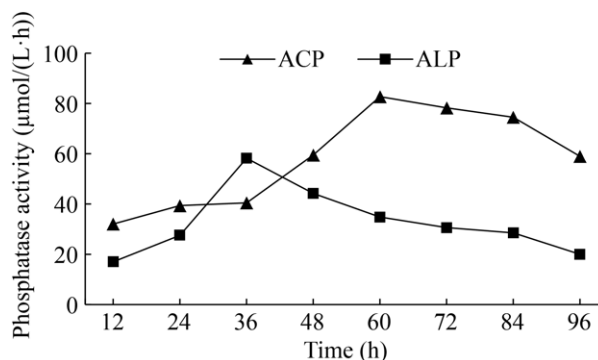


图 1 菌株 SICAU-T41 的酸碱磷酸酶活性 ACP: 酸性磷酸酶; ALP: 碱性磷酸酶。

Figure 1 Phosphatase activity of strain SICAU-T41. ACP: Acid phosphatase; ALP: Alkaline phosphatase.

量为 29.93×10^3 copies/ μL , 较 CK 提高了 123.36% (图 3B)。

2.5 菌株 SICAU-T41 的基因组序列组装及基本信息

菌株 SICAU-T41 的全基因组测序数据(基因登录号: JBPAFL000000000)结果如图 4 所示。基因组大小为 33.93 Mb, 组装 scaffolds 为 31 条, 平均组装长度为 1 094 508 bp, G+C 含量为 56.89%, 使用 BUSCO 软件评估基因组完



图 2 接种 SICAU-T41 菌剂烟苗盆栽效果 A: 烟苗盆栽试验表型图; B: 烟苗完整植株形态图。

Figure 2 Effects of SICAU-T41 inoculation on tobacco seedlings in pot experiments. A: Phenotypic characteristics of tobacco seedlings under pot experiment; B: Whole-plant morphology of tobacco seedlings.

表 3 接种 SICAU-T41 菌剂烟苗盆栽各项指标结果

Table 3 Results of growth parameters for tobacco seedlings inoculated with SICAU-T41 in pot experiments

Treatment	CK	Strain SICAU-T41
Plant height (cm)	22.90±1.11b	40.00±3.40a
Root length (cm)	13.90±2.86b	15.90±2.03a
Leaf number	9.00±0.40b	10.50±0.60a
Leaf area (cm ²)	73.30±1.33b	108.80±2.32a
Root number	36.50±4.05b	55.50±3.24a
Shoot fresh weight (g)	13.90±0.65b	19.00±1.40a
Root fresh weight (g)	2.30±0.74b	4.20±2.88a

不同小写字母表示同一指标在不同处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters after the numbers indicate significant differences in the same indicator between different treatments ($P<0.05$).

整度为 98.3%，说明基因组组装的完整性良好。由各类 ncRNA 预测结果可知，非编码 RNA 的总数为 299 个，转运 RNA 预测到 235 个，核糖体 RNA 预测到 40 个，其他 RNA 预测到 24 个。编码基因预测结果显示，预测的总基因数为 10 142 个，蛋白质编码基因数为 9 843 个，总外显子数为 61 630 个，总内含子数为 51 787 个。

2.6 蛋白质编码基因的功能注释

2.6.1 eggNOG 注释

eggNOG 分类系统将基因共分为 25 个 group，共注释到 7 875 个基因(图 5)。检测到的功能基因中，复制、重组与修复(replication, recombination and repair)有关的基因最多，其次为翻译后修饰、蛋白质周转与分子伴侣(posttranslational modification, protein turnover, chaperones)和糖类转运与代谢(carbohydrate transport and metabolism)等基因分类(图 5)。

2.6.2 KEGG 注释

通过 KEGG 数据库注释得到 3 444 个基因，分为 8 个主要代谢类别(图 6)。其中遗传信息处理(genetic information processing)类别的基因数量最多，有 2 257 个基因(图 6)。碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)和氨基酸代谢(amino acid metabolism)在细胞代谢类别中基因数量较多，分别为 408 个和 346 个基因。信号转导(signal transduction)在环境信息处理类别中基因数量最多，有 575 个基因(图 6)。

2.6.3 GO 注释

通过 GO 数据库注释得到 5 793 个基因(图 7)。注释到的基因总共可分为三大类。生物过程中主要是细胞氮化合物代谢过程(cellular

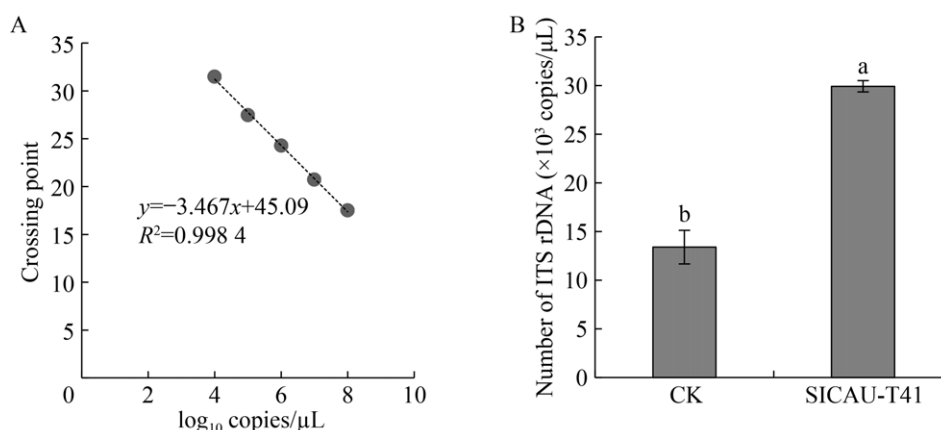


图3 盆栽烤烟根际土壤 RT-qPCR 标准曲线(A)及菌株 SICAU-T41 在盆栽土壤中的定殖量(B) 图 B 中数据已由 \log_{10} 转换为线性浓度, 图中不同小写字母表示同一指标在不同处理间差异显著($P<0.05$)。 Figure 3 Standard curve for RT-qPCR analysis (A) and colonization density (B) of strain SICAU-T41 in the rhizosphere soil of potted flue-cured tobacco. In Figure B, the data were converted from \log_{10} to linear concentration values. Different lowercase letters above the bars indicate statistically significant differences ($P<0.05$) among treatments for the same metric.

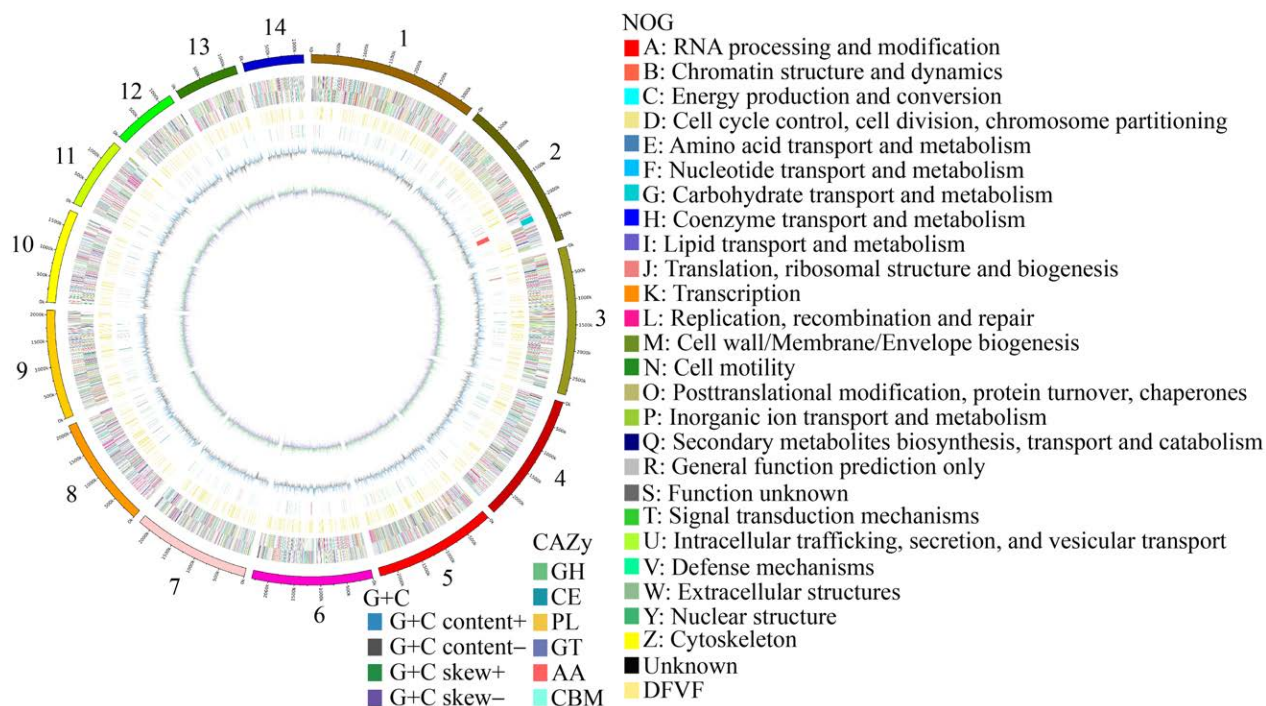


图4 菌株 SICAU-T41 的全基因组注释圈图 圈图包括 14 个序列长度大于 5 000 bp 的 scaffolds, 包含 7 个圆圈。标记信息从外圈到最内圈显示, 如下所示: 基因组大小、前支架上的 CDS、后支架上的 CDS、rRNA 和 tRNA、G+C 含量和 G+C skew。

Figure 4 Circular maps of the complete genome of strain SICAU-T41. The circular diagram includes 14 scaffolds with sequence lengths greater than 5 000 bp, organized into seven concentric circles. The information marked on the map is displayed from the outermost circle to the innermost circle as follows: genome size, CDS on the forward scaffold, CDS on the reverse scaffold, rRNA and tRNA, G+C content, and G+C skew.

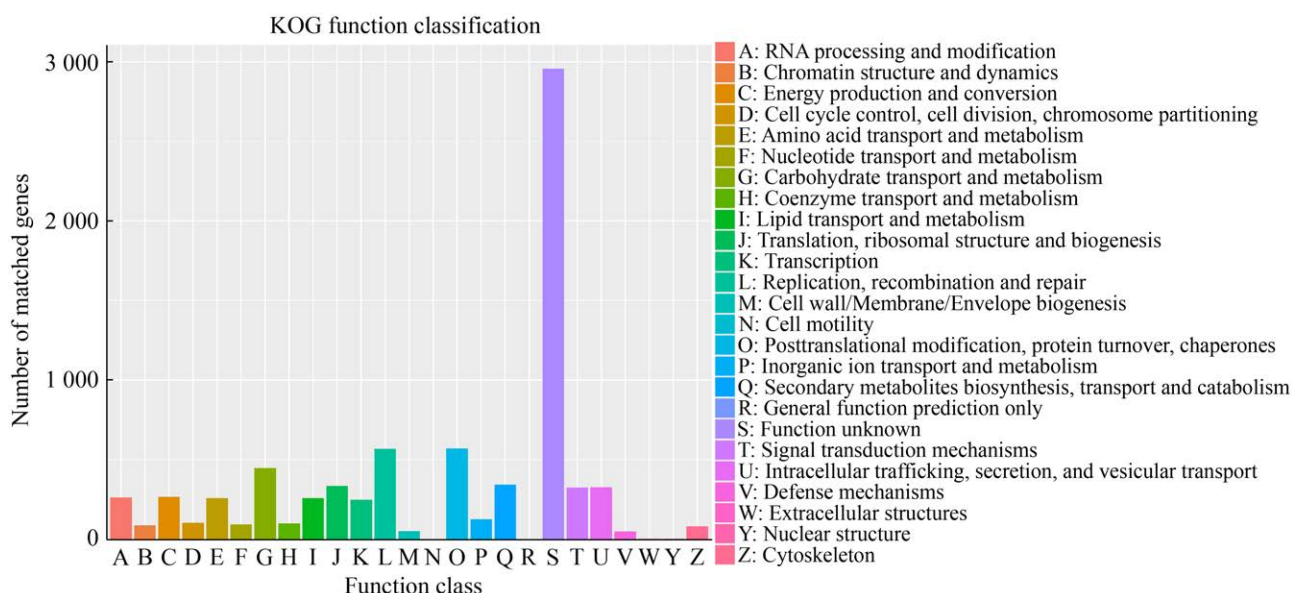


图5 菌株 SICAU-T41 的 eggNOG 功能注释分类统计

Figure 5 eggNOG Functional annotation classification statistics of strain SICAU-T41.

nitrogen compound metabolic process)和生物合成过程(biosynthetic process), 分别注释到 1 650 个和 1 439 个基因; 细胞组分中主要是细胞(cell)和细胞内(intracellular)相关的基因最多, 分别为 2 493 个和 2 394 个; 分子功能中主要是离子结合(ion binding)与氧化还原酶活性(oxidoreductase activity)相关的基因最多, 分别为 2 225 个和 775 个。

2.6.4 转运蛋白分类数据库分析(transporter classification database analysis, TCDB)注释

TCDB 注释显示, 菌株 SICAU-T41 基因组含 1 129 个转运蛋白(图 8)。其中电化学势驱动转运蛋白(electrochemical potential-driven transporters)的数量最多, 共计 299 个。其次注释到原发性转运蛋白(primary active transporters)的数量为 260 个, 通道蛋白(channels/pores)的数量为 224 个。注释到转运辅助因子(accessory factor involved in transport) 163 个, 不完全特征转运系统(incompletely characterized transport systems) 149 个, 转运蛋白群(group transporters) 28 个, 跨膜电子载体蛋白(transmembrane electron carriers) 6 个。

2.6.5 碳水化合物酶注释(CAZy)

通过 CAZy 数据库注释到的碳水化合物酶相关基因共计 448 个, 如图 9 所示。其中糖苷水解酶(glycoside hydrolases, GH)的基因最多, 为 202 个, 其次为糖基转移酶(glycosyl transferases, GT), 有 77 个, 碳水化合物酯酶(carbohydrate esterase, CE)的数量有 70 个, 辅助氧化还原酶(auxiliary activities, AA)的数量有 69 个, 碳水化合物结合模块(carbohydrate-binding modules, CBM)有 21 个, 多糖裂解酶(polysaccharide lyases, PL)有 9 个。

2.7 菌株 SICAU-T41 的次级代谢产物生物合成基因簇的预测分析

运用 antiSMASH v7.0 软件对菌株 SICAU-T41 的基因组进行预测分析, 结果如表 4 所示。

从菌株 T41 的基因组中鉴定出了 22 个与次级代谢产物相关的基因簇, 涵盖了多种功能类别。其中鉴定得到的 terpene 基因簇数量最多, 共有 13 个, 其次为 fungal-RiPP-like 基因簇和 NRPS-like 基因簇, 各有 4 个, 非核糖体肽类(non-ribosomal peptide synthetase, NRPS)基因簇有 1 个。其中部分基因簇与已知化合物的生物合

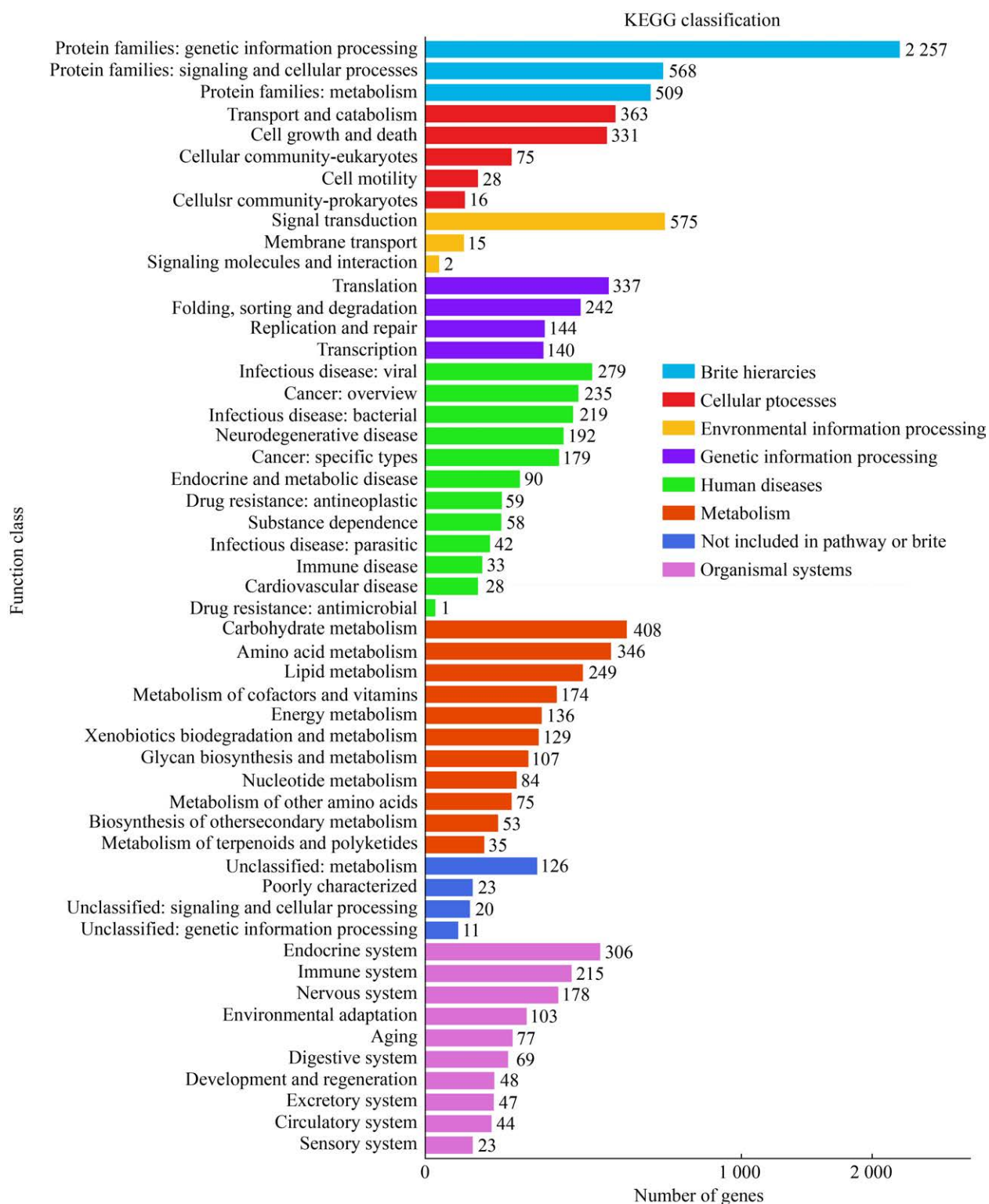


图 6 菌株 SICAU-T41 的 KEGG 功能注释分类统计 横坐标表示基因数目，纵坐标表示分类内容。
 Figure 6 KEGG functional annotation classification statistics of strain SICAU-T41. The x-axis indicates the number of genes, while the y-axis represents the classification content of KEGG.

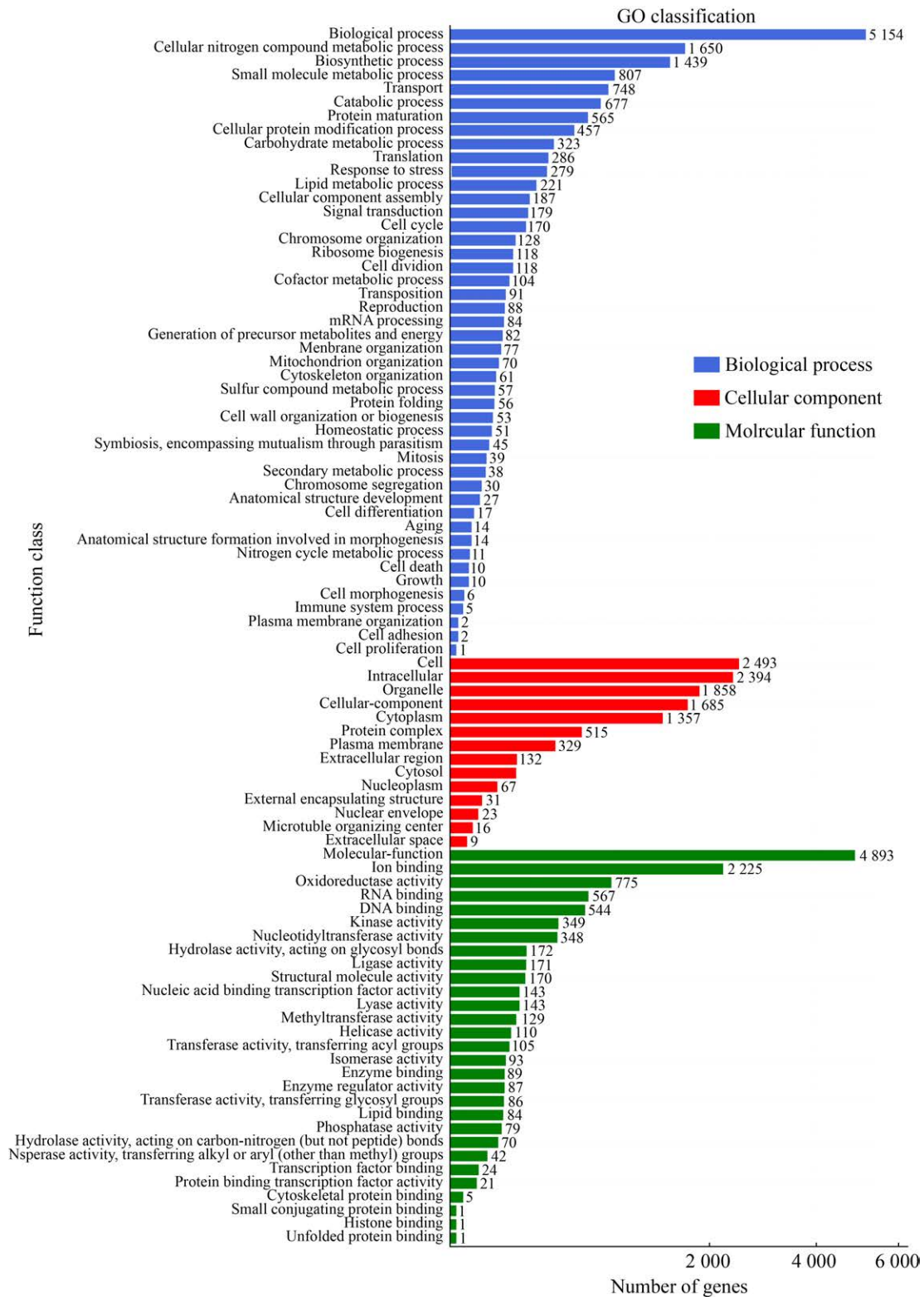


图7 菌株 SICAU-T41 的 GO 功能注释分类统计 横坐标表示基因数目, 纵坐标表示 GO 的分类内容。
Figure 7 Classification statistics of GO function annotations of strain SICAU-T41. The x-axis indicates the number of genes, while the y-axis represents the classification content of GO.

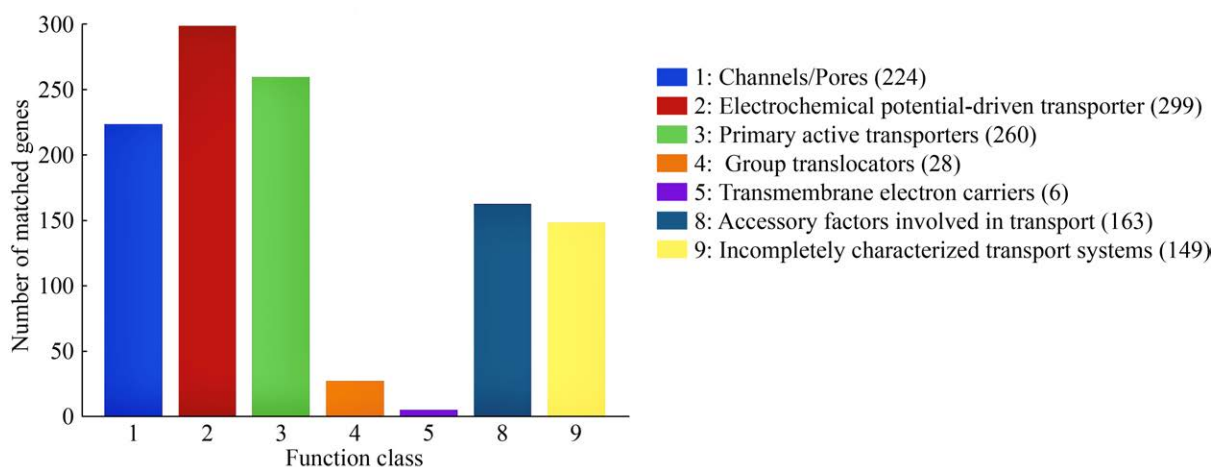


图 8 菌株 SICAU-T41 的 TCDB 功能注释分类统计

Figure 8 TCDB functional annotation categorization statistics of strain SICAU-T41.

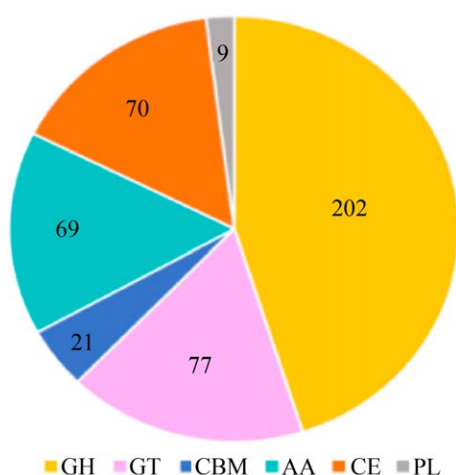


图 9 菌株 SICAU-T41 的碳水化合物活性酶分布

图 GT: 糖基转移酶; GH: 糖苷水解酶; PL: 多糖裂解酶; CBM: 碳水化合物结合模块; CE: 碳水化合物酯酶; AA: 辅助氧化还原酶。

Figure 9 Carbohydrate-active enzymes of strain SICAU-T41. GT: Glycosyl transferases; GH: Glycoside hydrolases; PL: Polysaccharide lyases; CBM: Carbohydrate-binding modules; CE: Carbohydrate esterase; AA: Auxiliary activities.

成密切相关,相似性为 100%。这些基因簇参与合成多种已知的次生代谢产物,如克拉瓦酸、萜酚、(+)- δ -萜品醇和侧孢铁载体等。此外,还有部分基因簇可能属于其他未明确分类的次生代谢产物合成基因簇,这些产物可能具有新颖

的结构和生物活性。

2.8 菌株 SICAU-T41 的比较基因组分析

ANI 值分析结果如图 10A 所示。菌株 SICAU-T41 与变色栓菌(*Trametes versicolor*)、血红栓菌(*Trametes sanguinea*)、巨大栓菌(*Trametes maxima*)、褐带栓菌(*Trametes meyenii*)、雅致栓菌(*Trametes elegans*)、多带栓菌(*Trametes polyzona*)、朱红栓菌(*Trametes cinnabarina*)和绒毛栓菌(*Trametes pubescens*)之间的 ANI 值为 70.0%–73.5%,均低于种间鉴定的临界值(95%)。而菌株 SICAU-T41 与浅囊状栓菌(*Trametes gibbosa*)之间的 ANI 值达 98.5%,基因组的相似性较高,说明菌株 SICAU-T41 是一株浅囊状栓菌。单拷贝基因分析的结果如图 10B 所示,菌株 SICAU-T41 与浅囊状栓菌(*Trametes gibbosa*)在同一个分枝,并且 2 个物种树枝长度较短,表明物种间差异程度很小,进化关系更为密切。

3 讨论

多孔菌科(*Polyporaceae*)是高等真菌的一个类群,在生态系统中发挥着重要功能,其中栓菌属(*Trametes*)广泛应用于造纸工业和环境修复工程^[21-22]。然而目前对多孔菌的研究大多是关于降解木质素、食用及药用方面,尚无多孔

表 4 菌株 SICAU-T41 基因组中的次级代谢产物生物合成基因簇

Table 4 The gene clusters for the biosynthesis of secondary metabolites in the genome of strain SICAU-T41

Region number	Gene cluster type	Start	End	Predicted product	Similarity (%)
1	Terpene	69 669	91 402	–	–
2	NRPS-like	102 289	102 289	Basidioferrin	–
3	Terpene	271 894	293 009	–	–
4	Terpene	410 655	433 632	Clavatic acid	100
5	Terpene	444 842	465 955	–	–
6	Fungal-RiPP-like	467 079	467 079	–	–
7	NRPS-like	697 794	741 963	Basidioferrin	–
8	Fungal-RiPP-like	724 257	801 022	(–)-(R)-nephtenol	–
9	Terpene	733 459	754 795	(+)- δ -cadinol	100
10	Terpene	808 317	830 360	–	–
11	Fungal-RiPP-like	823 741	823 741	–	–
12	Fungal-RiPP-like	974 594	1 017 650	–	–
13	Terpene	1 070 360	1 094 046	–	–
14	Terpene	1 214 598	1 251 105	(+)- δ -cadinol	–
15	Terpene	1 300 958	1 327 385	–	–
16	NRPS	1 306 759	1 354 642	Basidioferrin	100
17	Terpene	1 334 320	1 373 887	–	–
18	Terpene	1 528 329	1 554 272	–	–
19	NRPS-like, betalactone	1 570 757	1 615 901	Basidioferrin	–
20	NRPS-like	1 606 685	1 651 261	Basidioferrin	–
21	Terpene	2 598 841	2 623 652	(+)- δ -cadinol	100
22	Terpene	2 624 522	2 645 906	(+)- δ -cadinol	100

–: 未预测到产物。

–: No product was predicted.

菌对植物具有促生效应的报道。本研究从烤烟根际土壤中筛选出一株具有植物根际促生效应的浅囊状栓菌 SICAU-T41, 其 IAA 产量为 48.10 mg/L、纤维素降解圈直径为 2.03 cm、铁载体 HD/CD 为 2.00, 能拮抗茄链格孢菌、西瓜尖孢镰刀菌、金黄色葡萄球菌。此外, 测得菌株 SICAU-T41 的酸性磷酸酶活性最高为 82.7 $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{h})$, 碱性磷酸酶活性最高为 58.2 $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。为验证这株菌的植物根际促生效应及定殖效果, 本研究对这株菌进行了盆栽试验和 RT-qPCR 验证, 结果表明, 菌株 SICAU-T41 能显著促进烟苗的生长, 并且能稳定定殖于烟苗根际土壤。

目前关于浅囊状栓菌(*Trametes gibbosa*)的

基因组研究非常少, 在 NCBI 数据库中仅检索到 1 株浅囊状栓菌的基因组数据。本研究在验证浅囊状栓菌 SICAU-T41 促生能力的基础上, 对其全基因组进行了测定和分析。结果表明, 浅囊状栓菌 SICAU-T41 基因组大小为 33.93 Mb, 预测的总基因数为 10 142 个, 蛋白质编码基因数为 9 843 个。eggNOG、KEGG 和 GO 数据库注释结果显示, 菌株 SICAU-T41 在信号转导、蛋白质合成、生物代谢、生物合成、信息处理、物质运输等方面具有丰富的基因, 表明菌株 SICAU-T41 在多种生境中具有广泛的适应性和代谢能力^[23]。TCDB 数据库注释了菌株 SICAU-T41 基因组中 1 129 种不同类型的转运蛋白, 这些蛋白参与能量转换和物

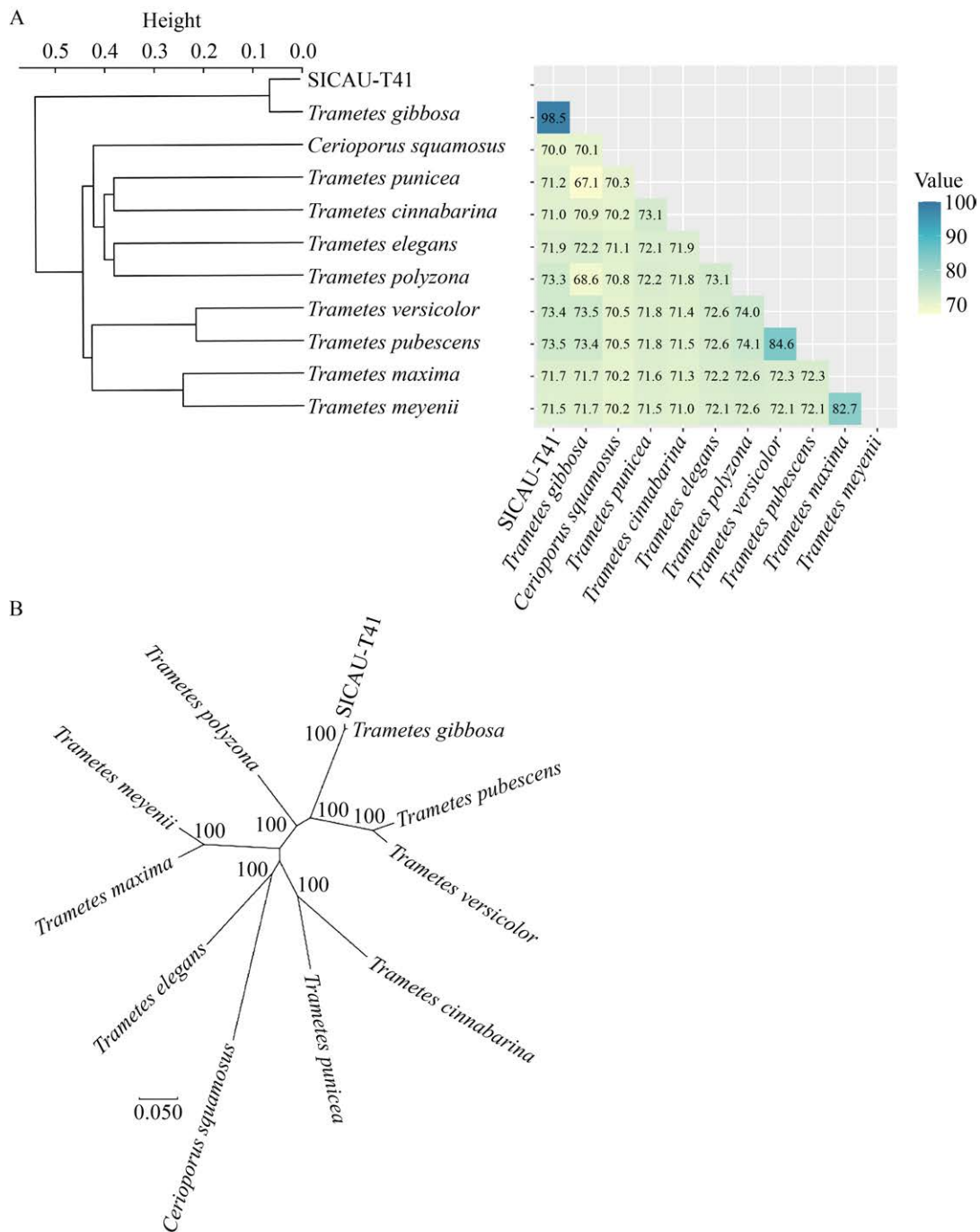


图 10 菌株 SICAU-T41 与栓菌属的平均核苷酸一致性值(A)及单拷贝基因分支树(B) A: 数据矩阵以物种作为自变量, 以两物种间的 ANI 值作为因变量构建, 采用组平均法并以欧氏距离作为标度; B: 每条分支为一个物种, 分支长度代表种间进化距离。

Figure 10 The average nucleotide identity (ANI) value (A) and single-copy gene phylogenetic tree (B) of strain SICAU-T41 and the genus *Trametes*. A: The data matrix was constructed with species as the independent variable and the ANI values between species pairs as the dependent variable, using the group average method and Euclidean distance as the scale; B: Each branch represents a species, and branch length indicates the evolutionary distance between species.

质转运过程,在细胞生理活动中发挥着重要的作用^[24]。

微生物对无机磷的矿化作用主要依赖有机酸的分泌,该过程涉及葡萄糖酸、柠檬酸等多种有机酸的生成^[25]。柠檬酸可与 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 产生络合反应使难溶性无机磷活化为可溶性正磷酸盐,而柠檬酸合成酶(citrate synthase)是催化草酰乙酸(oxaloacetic acid)和乙酰辅酶 A (acetyl-CoA)生成柠檬酸的关键酶^[26]。本研究通过 KEGG 注释库发现,菌株 SICAU-T41 基因组中含有柠檬酸合成酶基因 *gltA*,说明菌株可能通过合成柠檬酸来溶解无机磷。土壤中有有机磷的转化主要依赖胞外磷酸酶的催化水解作用^[27]。通过 GO 注释到的磷酸酶活性基因有 79 个,GO 数据库显示这些基因主要负责编码酸性磷酸酶(acid phosphatase, EC 3.1.3.2),表明菌株 SICAU-T41 可能主要通过分泌酸性磷酸酶来溶解有机磷。

IAA 是最主要的天然生长素,其合成与分泌是 PGPF 重要的促生特性之一。研究证明 IAA 的合成途径既可通过色氨酸依赖途径由色氨酸转化而来,也可通过色氨酸非依赖途径直接由色氨酸前体合成^[28]。近期生物化学与遗传学实验揭示,吲哚-3-乙醛肟(indole-3-acetaldoxime, IAOx)途径是第 2 条色氨酸依赖途径,细胞色素 P450 (CyP450)催化色氨酸转化为 IAOx, IAOx 进一步转化为吲哚-3-乙腈(indole-3-acetonitrile, IAN),然后通过腈水合酶(nitrile hydratase, NIT)酶解最终形成 IAA^[29]。Wang 等^[30]的研究揭示了吲哚合成酶(indole synthase, INS)在色氨酸非依赖途径的 IAA 合成中起重要作用,而 amidase 1 与 INS 呈现强共表达关系,与 INS 的表达呈显著正相关,amidase 可将吲哚-3-乙酰胺(indole-3-acetamide, IAM)转化为 IAA^[31]。本研究通过 NCBI 比对发现,菌株 SICAU-T41 的基因组中含有大量的 CyP450 和 amidase,说明菌株 SICAU-T41 可能通过第 2 条色氨酸依赖途径,即 IAOx 途径和色氨酸非依赖途径

合成 IAA。

真菌能从植物初生组织、分泌物或韧皮部汁液中获取营养,但只有少数几种真菌能有效分解木材^[32]。Okal 等^[33]的研究表明,纤维素酶、内切葡聚糖酶(EC 3.2.1.4)、外切葡聚糖酶(EC 3.2.1.91)和 β -葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.21)是腐生真菌降解纤维素过程中最关键的酶类。碳水化合物酶注释(CAZY)结果表明,在菌株 SICAU-T41 的基因组中发现了 202 个 GH 基因,这些酶负责水解纤维素和半纤维素中的糖苷键,是纤维素降解过程中最关键的酶类,内切葡聚糖酶(EC 3.2.1.4)、外切葡聚糖酶(EC 3.2.1.91)和 β -葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.21)都是 GH 家族的成员^[34]。漆酶(EC 1.10.3.2)和木质素过氧化物酶是白腐真菌降解木质素的关键酶,并且都是 AA 家族的成员^[35]。本研究通过 CAZy 得到的 AA 基因有 69 个,经 UniProt 比对得到菌株 SICAU-T41 中含大量漆酶(EC 1.10.3.2)和过氧化物酶(EC 1.11.1.-)。此外,通过 KEGG 数据库注释到与降解纤维素有关的代谢途径,如碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)、氨基酸代谢(amino acid metabolism)及脂质代谢(lipid metabolism)等,表明菌株 SICAU-T41 具有强大的降解木质素的潜力。

铁载体是微生物在缺铁条件下分泌的小分子有机化合物,能够螯合环境中的铁离子,形成可溶性铁-铁载体复合物来增加铁的生物可利用性。微生物主要通过 NRPS 途径和非 NRPS 途径合成铁载体,其中 NRPS 途径负责约 70% 已知铁载体的合成^[36]。NRPS 通过模块化的装配线机制,将氨基酸(包括非蛋白质原性氨基酸)连接到正在延伸的肽链上,从而合成铁载体。NRPS 的结构域通常包括腺苷化(A)、缩合(C)、肽基载体蛋白(P)和硫酯酶(T)等模块,这些模块协同作用,共同完成铁载体的合成^[37]。通过 antiSMASH v7.0 分析预测到菌株 SICAU-T41 基因组中含 NRPS 和 NRPS-like 基因簇,能合成与 Fe^{3+} 有高亲和力的,由 L-鸟氨酸(L-ornithine)

和羟基羧酸(hydroxycarboxylate)组成的羟基羧酸型铁载体(hydroxamate siderophore) basidioferrin^[37]。

研究表明多种次级代谢产物能够直接抑制病原菌的生长^[38]。萜类化合物(terpene)和 NRPS 能破坏细胞壁,改变细胞膜的通透性,导致细胞死亡;还能与核糖体结合,干扰蛋白质的合成过程,阻止氨基酸的正确折叠和转运,从而抑制细菌生长^[39]。核糖体合成并经翻译后修饰的肽类天然产物(ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide secondary metabolites, RiPPs)能够破坏细菌细胞膜的完整性,导致细胞内容物泄漏,从而抑制细菌生长,某些 RiPPs 能够激活 caspase-3/7,通过 G2/M 细胞周期阻滞和 c-Jun N-terminal kinase (JNK)介导的途径诱导细胞凋亡^[40-41]。本研究运用 antiSMASH v7.0 在菌株 SICAU-T41 基因组中鉴定出 15 个 terpene 基因簇、4 个 NRPS-like 基因簇、1 个 NRPS 基因簇和 4 个 fungal-RiPP-like 基因簇,表明菌株 SICAU-T41 具有强大的抗菌能力,其次级代谢产物在植物的防御机制和生理功能中发挥重要作用。此外,过氧化物酶能将卤素或拟卤素等底物催化为抗菌效果高的底物,并催化 H₂O₂ 分解成羟基自由基和超氧阴离子,这些活性氧(reactive oxygen species, ROS)能够氧化细菌细胞内的生物分子,导致细胞损伤和死亡^[42]。漆酶可以催化酚类底物单电子氧化,生成苯氧自由基,苯氧自由基被氧化生成醌类化合物后会进一步发生聚合反应形成复杂的高分子化合物,而中间产物醌类化合物能通过产生氧化应激使细菌损伤和死亡,从而产生抑菌作用^[43]。在菌株 SICAU-T41 的基因组中发现了大量的漆酶和过氧化物酶。这些基因簇和酶的发现为药物开发、生物材料制备提供了丰富的资源。

在系统发育和分类方面,栓菌属(*Trametes* Fr.)由 Fries^[44] 建立于 1836 年,是多孔菌科(*Polyporaceae*)内分类最为混乱的一个类群。传

统的基于形态、生理和生化特征的系统发育分析是 *Trametes* 系统发育的主干。尽管如此,表型特征的一些固有缺陷,如对趋同进化、减少或消失的易感性,使系统发育分析更加复杂^[45]。因此,李海蛟^[46] 基于 ITS 和 nLSU 序列,对 *Trametes* 进行了综合形态学特征和分子系统发育的全面系统发育分析,结果表明栓菌及其相关属种在系统发育中聚类于 core polyprotid clade 中。在本研究中,基于保守的单拷贝基因和来自全基因组组装的 ANI 系统发育分析表明,菌株 SICAU-T41 与 *Trametes versicolor*、*Trametes punicea*、*Trametes maxima*、*Trametes meyenii* 等多个菌株的相似性为 70.0%–73.5%,而与 *Trametes gibbosa* 的相似性为 98.5%,高于种间鉴定的临界值(95%),说明菌株 SICAU-T41 是一株浅囊状栓菌。通过遗传信息的同源性分析得出栓菌属的系统发育关系,有助于对其多样性的认识,为生物多样性保护提供了新的视角。

4 结论

本研究分离出一株具有促生能力的真菌菌株 SICAU-T41,其溶磷量为 30.40 mg/L, IAA 产量为 48.10 mg/L,纤维素降解圈直径为 2.03 cm,铁载体 HD/CD 为 2.00,并且能拮抗多种病原菌。盆栽试验和 RT-qPCR 验证结果表明,菌株 SICAU-T41 能显著促进烟苗生长,并能稳定定殖于烟苗根际土壤。对菌株 SICAU-T41 进行了全基因组测定和注释,解析了菌株 SICAU-T41 基因组的结构、功能及进化关系。分析显示菌株 SICAU-T41 在遗传上隶属于浅囊状栓菌(*Trametes gibbosa*),基因组大小为 33.93 Mb,预测的总基因数为 10 142 个,蛋白质编码基因数为 9 843 个。此外,菌株 SICAU-T41 的基因组中包含多种植物促生相关的酶和基因,对进一步揭示该菌的植物促生机制有重要意义。对菌株 SICAU-T41 的全基因组研究丰富了多孔菌目真菌的基因库,为造纸工业、环境修复工程和药物开发提供了后备资源。

作者贡献声明

宋景琦：方案设计，数据收集与监管，验证，数据管理，数据分析，实验结果可视化，撰写文章；陈玉蓝：项目管理；赵珂：监督指导，审阅；向泉桔：监督指导；余秀梅：软件程序；张凌子：数据分析；陈强：修改文章；辜运富：提出概念，获取基金，审阅。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] 冀星. 中国多孔菌科的分类与系统发育研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2022.
JI X. Taxonomy and phylogeny of *Polyporaceae* in China[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2022 (in Chinese).
- [2] SÖYLEMEZ T, BERGER RG, KRINGS U, YAMAÇ M. Aflatoxin B1 (AFB1) biodegradation by a lignolytic phenoloxidase of *Trametes hirsuta*[J]. Scientific Reports, 2025, 15: 6330.
- [3] 孙勇, 蒋继宏, 陈玉芹, 高甜惠, 陈凤美. 10 种多孔类真菌体外抗肿瘤活性的筛选[J]. 微生物学通报, 2007, 34(1): 112-115.
SUN Y, JIANG JH, CHEN YQ, GAO TH, CHEN FM. Screening of anti-tumor activity from ten polypores fungi *in vitro*[J]. Microbiology China, 2007, 34(1): 112-115 (in Chinese).
- [4] 包海鹰, 史帧婷, 冯爽. 多孔菌科真菌中羊毛甾烷型三萜类成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(9): 2172-2187.
BAO HY, SHI ZT, FENG S. Research progress on lanostane-type triterpenoids in fungi of *Polyporaceae* and their pharmacological activities[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(9): 2172-2187 (in Chinese).
- [5] 戴玉成, 杨祝良. 中国药用真菌名录及部分名称的修订[J]. 菌物学报, 2008, 27(6): 801-824.
DAI YC, YANG ZL. A revised checklist of medicinal fungi in China[J]. Mycosystema, 2008, 27(6): 801-824 (in Chinese).
- [6] DAI YC, YANG ZL, CUI BK, YU CJ, ZHOU LW. Species diversity and utilization of medicinal mushrooms and fungi in China[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2009, 11(3): 287-302.
- [7] 戴玉成, 周丽伟, 杨祝良, 文华安, 图力古尔, 李泰辉. 中国食用菌名录[J]. 菌物学报, 2010, 29(1): 1-21.
DAI YC, ZHOU LW, YANG ZL, WEN HA, BAU Tolgor, LI TH. A revised checklist of edible fungi in China[J]. Mycosystema, 2010, 29(1): 1-21 (in Chinese).
- [8] MORALES-VARGAS AT, LÓPEZ-RAMÍREZ V, ÁLVAREZ-MEJÍA C, VÁZQUEZ-MARTÍNEZ J. Endophytic fungi for crops adaptation to abiotic stresses[J]. Microorganisms, 2024, 12(7): 1357.
- [9] De VFT, GRIFFITHS RI, MARK B, HAYLEY C, MARIANGELA G, SOON GH, SARA H, AURORE K, KEITH AM, MARINA K. Soil bacterial networks are less stable under drought than fungal networks[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 1-12.
- [10] 李雪涛, 许永利. 解磷菌的筛选鉴定及其促生效果研究[J]. 农业与技术, 2024, 44(24): 108-112.
LI XT, XU YL. Screening, identification, and promotional effect study of phosphate-solubilizing bacteria[J]. Agriculture and Technology, 2024, 44(24): 108-112 (in Chinese).
- [11] 李培根, 要雅倩, 宋吉祥, 王天琪, 周波, 王冰, 林榕姗. 马铃薯根际产 IAA 芽孢杆菌的分离鉴定及促生效果研究[J]. 生物技术通报, 2020, 36(9): 109-116.
LI PG, YAO YQ, SONG JX, WANG TQ, ZHOU B, WANG B, LIN RS. Isolation and identification of IAA-producing *Bacillus* sp. on potato rhizosphere and its growth-promoting effect[J]. Biotechnology Bulletin, 2020, 36(9): 109-116 (in Chinese).
- [12] 刘明月, 王爱萍, 赵瑞琳. 能低温降解木质纤维素的大型真菌菌株的筛选[J]. 微生物学报, 2025, 65(4): 1529-1541.
LIU MY, WANG AP, ZHAO RL. Screening of macrofungal strains capable of degrading lignocellulose at low temperatures[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(4): 1529-1541 (in Chinese).
- [13] 张婷, 万雨欣, 徐伟慧, 王志刚, 陈文晶, 胡云龙. 一株玉米根际促生菌 *Leclercia adecarboxylata* LN01 促生效果研究及其基因组分析[J]. 生物技术通报, 2025, 41(1): 263-275.
ZHANG T, WAN YX, XU WH, WANG ZG, CHEN WJ, HU YL. Growth-promoting effects of a rhizosphere growth-promoting bacterium *Leclercia adecarboxylata* LN01 in maize plants and its whole-genome analysis[J]. Biotechnology Bulletin, 2025, 41(1): 263-275 (in Chinese).
- [14] 潘忠飞, 熊欢, 尹倩, 马容, 董文统, 邹锋. 油茶根际溶磷细菌对不同红壤质地磷组分及磷素转化的影响[J]. 微生物学报, 2025, 65(5): 2014-2033.
PAN ZF, XIONG H, YIN Q, MA R, DONG WT, ZOU F. Effects of phosphate-solubilizing bacteria in the rhizosphere of *Camellia oleifera* on phosphorus fractions and phosphorus transformation in red soil with different textures[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(5): 2014-2033 (in Chinese).
- [15] 吴旭艳, 李行善, 崔传斌, 王平平, 黄丽丽, 王娜娜. 烟草赤星病多功能生防菌株的筛选及菌群构建优化[J]. 农业生物技术学报, 2025, 33(3): 628-641.
WU XY, LI XS, CUI CB, WANG PP, HUANG LL, WANG NN. Screening, construction and optimization of microbial communities for multifunctional biocontrol of tobacco brown spot[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2025, 33(3): 628-641 (in Chinese).
- [16] 魏佳美, 王强, 黄卫利, 黄丽丽, 胡小平, 商文静. 苹果园 3 种病原真菌孢子数量的时空动态研究[J]. 西北农业学报, 2025, 34(4): 754-760.
WEI JM, WANG Q, HUANG WL, HUANG LL, HU XP, SHANG WJ. Spore dynamics of three apple fungal pathogens in orchards[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2025, 34(4): 754-760 (in Chinese).

- [17] ZHANG H, YOHE T, HUANG L, ENTWISTLE S, WU PZ, YANG ZL, BUSK PK, XU Y, YIN YB. dbCAN2: a meta server for automated carbohydrate-active enzyme annotation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(W1): W95-W101.
- [18] 阮文伟, 付建红, 崔凤真, 铁瑞岚, 徐国燕, 阿依卡买尔·艾克拜尔. 环圈链霉菌(*Streptomyces anulatus*) 89-2-2 全基因组测序及序列分析[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(8): 3085-3102.
RUAN WW, FU JH, CUI FZ, TIE RL, XU GY, Ayekabayr Ekbayr. Whole-genome sequencing and sequence analysis of *Streptomyces anulatus* 89-2-2[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(8): 3085-3102 (in Chinese).
- [19] JAIN C, RODRIGUEZ-R LM, PHILLIPPY AM, KONSTANTINIDIS KT, ALURU S. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 5114.
- [20] CHEN YL, FAROOQ A, WEI X, QIN LT, WANG Y, ZHANG LZ, XIANG QJ, ZHAO K, YU XM, CHEN Q, GAO X, NYIMA T, PENTTINEN P, GU YF. Transcriptomic and metabolomic analysis of recalcitrant phosphorus solubilization mechanisms in *Trametes gibbosa*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2025, 16: 1520459.
- [21] SI J, YUAN TQ, CUI BK. Exploring strategies for adsorption of azo dye Congo Red using free and immobilized biomasses of *Trametes pubescens*[J]. *Annals of Microbiology*, 2015, 65(1): 411-421.
- [22] RODRÍGUEZ-COUTO S. Solid-state fermentation for laccases production and their applications[M]//*Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Amsterdam: Elsevier, 2018: 211-234.
- [23] GÓMEZ C, HORNA DH, OLANO C, MÉNDEZ C, SALAS JA. Participation of putative glycoside hydrolases SlgC1 and SlgC2 in the biosynthesis of streptolydigin in *Streptomyces lydicus*[J]. *Microbial Biotechnology*, 2012, 5(5): 663-667.
- [24] ALBUQUERQUE-WENDT A, McCOY C, NEISH R, DOBRAMYSŁ U, ALAGÖZ Ç, BENEKE T, COWLEY SA, CROUCH K, WHEELER RJ, MOTTRAM JC, GLUENZ E. TransLeish: identification of membrane transporters essential for survival of intracellular *Leishmania* parasites in a systematic gene deletion screen[J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 299.
- [25] PAN L, CAI BY. Phosphate-solubilizing bacteria: advances in their physiology, molecular mechanisms and microbial community effects[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(12): 2904.
- [26] D'AMICO M, ALMEIDA JP, BARBIERI S, CASTELLI F, SGURA E, SINEO G, MARTIN M, BONIFACIO E, WALLANDER H, CELI L. Ectomycorrhizal utilization of different phosphorus sources in a glacier forefront in the Italian Alps[J]. *Plant and Soil*, 2020, 446(1): 81-95.
- [27] MUDRYK ZJ. Decomposition of organic and solubilisation of inorganic phosphorus compounds by bacteria isolated from a marine sandy beach[J]. *Marine Biology*, 2004, 145(6): 1227-1234.
- [28] MANO Y, NEMOTO K. The pathway of auxin biosynthesis in plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(8): 2853-2872.
- [29] ZHAO YD, HULL AK, GUPTA NR, GOSS KA, ALONSO J, ECKER JR, NORMANLY J, CHORY J, CELENZA JL. Trp-dependent auxin biosynthesis in *Arabidopsis*: involvement of cytochrome P450s CYP79B2 and CYP79B3[J]. *Genes & Development*, 2002, 16(23): 3100-3112.
- [30] WANG B, CHU JF, YU TY, XU Q, SUN XH, YUAN J, XIONG GS, WANG GD, WANG YH, LI JY. Tryptophan-independent auxin biosynthesis contributes to early embryogenesis in *Arabidopsis*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(15): 4821-4826.
- [31] ABU-ZAITOON YM, ABU-ZAITON A, AL TAWAHA AR, FANDI KG, ALNAIMAT SM, PATI S, ALMOMANI FA. Evidence from co-expression analysis for the involvement of amidase and INS in the tryptophan-independent pathway of IAA synthesis in *Arabidopsis*[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2022, 194(10): 4673-4682.
- [32] ABDEL-HAMID AM, SOLBIATI JO, CANN IKO. Insights into lignin degradation and its potential industrial applications[M]//*Advances in Applied Microbiology*. Amsterdam: Elsevier, 2013: 1-28.
- [33] OKAL EJ, ASLAM MM, KARANJA JK, NYIMBO WJ. Mini review: advances in understanding regulation of cellulase enzyme in white-rot basidiomycetes[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2020, 147: 104410.
- [34] 杨俊钊, 张新蕊, 赵国柱, 郑菲. 新型 GH5 家族多结构域纤维素酶的结构与功能研究[J]. *生物技术通报*, 2023, 39(4): 71-80.
YANG JZ, ZHANG XR, ZHAO GZ, ZHENG F. Structure and function analysis of novel GH5 multi-domain cellulase[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(4): 71-80 (in Chinese).
- [35] MAO ZT, YANG P, LIU HH, MAO YF, LEI Y, HOU DW, MA HW, LIAO XP, JIANG WX. Whole-genome sequencing and analysis of the white-rot fungus *Ceriporia lacerata* reveals its phylogenetic status and the genetic basis of lignocellulose degradation and terpenoid synthesis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 880946.
- [36] GU SH, SHAO JQ, HE RL, XIONG GY, QU ZY, SHAO YZ, YU LL, ZHANG D, WANG FH, XU RC, GUO P, XI NB, LI YX, WU YZ, WEI Z, LI ZY. Forging the iron-net: towards a quantitative understanding of microbial communities via siderophore-mediated interactions[J]. *Quantitative Biology*, 2025, 13(2): e84.
- [37] TIMOFEEVA AM, GALYAMOVA MR, SEDYKH SE. Bacterial siderophores: classification, biosynthesis, perspectives of use in agriculture[J]. *Plants*, 2022, 11(22): 3065.
- [38] 王静, 赵浩军, 刘梦龙, 丁海燕. 地茶属地衣内生真

- 菌次级代谢产物抑菌、抗氧化活性研究[J]. 中成药, 2024, 46(7): 2429-2433.
- WANG J, ZHAO HJ, LIU ML, DING HY. Study on the antimicrobial and antioxidant activities of secondary metabolites from endophytic fungi of *Lecanora*[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2024, 46(7): 2429-2433 (in Chinese).
- [39] DROR B, WANG ZQ, BRADY SF, JURKEVITCH E, CYTRYN E. Elucidating the diversity and potential function of nonribosomal peptide and polyketide biosynthetic gene clusters in the root microbiome[J]. mSystems, 2020, 5(6): e00866-20.
- [40] AYIKPOE RS, SHI CY, BATTISTE AJ, ESLAMI SM, RAMESH S, SIMON MA, BOTHWELL IR, LEE H, RICE AJ, REN HQ, TIAN QQ, HARRIS LA, SARKSIAN R, ZHU LY, FRERK AM, PRECORD TW, van der DONK WA, MITCHELL DA, ZHAO HM. A scalable platform to discover antimicrobials of ribosomal origin[J]. Nature Communications, 2022, 13: 6135.
- [41] ZHANG J, ZHANG DW, XU Y, ZHANG JL, LIU RZ, GAO Y, SHI YQ, CAI PY, ZHONG Z, HE BB, LI XC, ZHOU HW, CHEN MX, LI YX. Large-scale biosynthetic analysis of human microbiomes reveals diverse protective ribosomal peptides[J]. Nature Communications, 2025, 16: 3054.
- [42] TONROYAN L, FLEMING GTA, MC CAY PH, FRIEL R, O'FLAHERTY V. Antibacterial potential of an antimicrobial agent inspired by peroxidase-catalyzed systems[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 680.
- [43] WANG H, JIN C, LI X, MA JX, YE YF, TANG LX, SI J, CUI BK. A green biocatalyst fabricated by fungal laccase immobilized onto Fe₃O₄@polyaniline-chitosan nanofibrous composites for the removal of phenolic compounds[J]. Chemical Engineering Journal, 2025, 507: 160486.
- [44] FRIES EM. Corpus florarum provincialium Sueciae[M]. I. Floram scanicam. XXIV, Upsala: Sebell&C, 1983.
- [45] SEIFRIED B, TEMELLI F. Density of marine lipids in equilibrium with carbon dioxide[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2009, 50(2): 97-104.
- [46] 李海蛟. 中国栓孔菌属及近缘属的分类与系统发育研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2013.
- LI HJ. Taxonomic and phylogenetic study of *Trametes* and allied genera in China[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2013 (in Chinese).