

鞘氨醇单胞菌的研究进展

刘辉, 韦璐璐, 朱龙发, 韦豪, 白云霞, 刘小玲, 李树波*

广西大学轻工与食品工程学院, 广西 南宁 530004

刘辉, 韦璐璐, 朱龙发, 韦豪, 白云霞, 刘小玲, 李树波. 鞘氨醇单胞菌的研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2738-2752.

LIU Hui, WEI Lulu, ZHU Longfa, WEI Hao, BAI Yunxia, LIU Xiaoling, LI Shubo. Research progress of *Sphingomonas*[J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2738-2752.

摘要: 鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)不仅细胞膜含有比脂多糖更疏水的鞘糖脂, 而且具有高效的代谢调控机制和基因调控能力, 使其在威兰胶合成、环境修复和促进植物生长等方面具有巨大的应用潜力。目前国内在鞘氨醇单胞菌代谢机制方面的研究尚无新突破。本文主要综述了鞘氨醇单胞菌的系统分类、基因组学、基因调控机制及其应用等方面的研究, 从基因层面分析鞘氨醇单胞菌产威兰胶的合成机制, 为后续鞘氨醇单胞菌高密度发酵、工业化生产等研究提供理论基础, 以便进一步发掘其在生物技术上的应用潜力。

关键词: 鞘氨醇单胞菌; 威兰胶; 鞘氨醇单胞菌代谢途径; 生物降解; 辅助植物修复

Research progress of *Sphingomonas*

LIU Hui, WEI Lulu, ZHU Longfa, WEI Hao, BAI Yunxia, LIU Xiaoling, LI Shubo*

College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, Guangxi, China

Abstract: The cell membrane of *Sphingomonas* contains glycosphingolipids, which is more hydrophobic than lipopolysaccharide. In addition, since *Sphingomonas* has efficient metabolic regulation mechanism and gene regulation ability, it has significant application potential in welan gum synthesis, environmental remediation, and promotion of plant growth. However, research on genomics in China has not been paid enough attention, resulting in no breakthrough in the research on the metabolic mechanism of *Sphingomonas*. Therefore, this paper reviewed the systematic classification, genomics, metabolic regulation mechanism, and application of *Sphingomonas* and analyzed the metabolic mechanism of welan gum produced by *Sphingomonas* from the genetic level, providing a theoretical basis for the subsequent studies on high-density

资助项目: 广东省自然科学基金(2020A1515410010); 广西壮族自治区重点项目(2019GXNSFDA245008)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2020A1515410010) and the Major Project of Guangxi Zhuang Autonomous Region (2019GXNSFDA245008).

*Corresponding author. E-mail: shubo1207@gxu.edu.cn

Received: 2022-09-16; Accepted: 2022-11-10; Published online: 2023-02-23

fermentation and industrial production of *Sphingomonas*, and thereby further developing its potential application in biotechnology.

Keywords: *Sphingomonas*; welan gum; metabolic pathway of *Sphingomonas*; biodegradation; assisted phytoremediation

鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)属于变形细菌中的 α -4 亚类,是异养、好氧型革兰氏阴性细菌,能利用多种碳氮底物发酵生产一种新型胞外多糖威兰胶。威兰胶具有良好的特性且无毒性,目前作为稳定剂、乳化剂和增稠剂等被广泛应用于食品、生物医药和石油开采等领域。此外,鞘氨醇单胞菌在环境修复和农业发展方面也具有极高的应用价值:(1) 在环境修复方面,它对芳香族化合物、重金属(或 α 重金属化合物)等表现出优越的生物降解能力;(2) 在农业发展方面,某些鞘氨醇单胞菌具有促进植物生长和提高植物抗逆性的作用,是潜在的农作物生长促进剂,在降低化肥需求、农药使用量和不良土壤对贫困国家或地区的农业压力等方面具有极大的应用潜力。因此,鞘氨醇单胞菌被认为是最重要的微生物资源之一。

1 鞘氨醇单胞菌的基本特征及分类鉴定

在早期研究中,Yabuuchi 等^[1]结合 16S rRNA 基因的部分核苷酸序列、细胞膜独特的糖脂成分和醌体系等分析结果,发现 *Pseudomonas paucimobilis* 是一种新的菌种,不应归入假单胞菌属(*Pseudomonas*)中,因此提出了一类新的细菌属——鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*),并将 *Pseudomonas paucimobilis* 更名为 *Sphingomonas paucimobilis*。因此,该属菌株被重新订正和描述为^[2-3]:菌落呈黄色,圆形,边缘整齐,表面光滑有光泽,质地湿润黏稠,中间凸起;细胞透射电镜下一一般为短杆状,无孢子,单侧生极

性鞭毛;细胞质膜中存在的主要呼吸醌为辅酶 Q10;细胞膜存在的唯一糖脂是鞘糖脂;脂肪酸组成含有 2-羟基脂肪酸而缺乏 3-羟基脂肪酸;基因组 GC 含量约为 61.7%–67.2%。

鞘氨醇单胞菌属的分类鉴定经历了 4 个阶段后才逐渐系统化。第 1 阶段,由于表型特征判断不能分类鉴定具有相似形态学特征、培养特征、生理生化特征等的菌株,导致该属的某些菌株被归入假单胞菌属(*Pseudomonas*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)和拜叶林克氏菌属(*Beijerinckia*)中^[4-6]。第 2 阶段,在表型特征的基础上又结合了脂肪酸组成和多胺模式进行分类鉴定,虽然能将鞘氨醇单胞菌属与其他 α -变形杆菌区分开,并能分为两个属,即以对称高亚精胺或以亚精胺为主要多胺,但随着越来越多的新菌株被分离出来,此法被认为仅适用于初步的分类鉴定^[7]。第 3 阶段,Takeuchi 等^[8]基于前 2 个阶段的研究,结合特异性碱基序列、基因指纹、DNA-DNA 杂交测试等研究,在属水平和种水平上获得更可靠的分类,最终划分为 4 个属,即 *Sphingomonas* (*Sensu stricto*)、*Sphingobium*、*Novosphingobium* 和 *Sphingopyxis*。此分类提出后受到广泛认同,但 Yabuuchi 等^[9]认为 *Sphingobium*、*Novosphingobium* 和 *Sphingopyxis* 只是 *Sphingomonas* 的初级客观异名,应该保持不分裂。直至 2017 年,已发现的 *Sphingomonas* (*Sensu stricto*)有 108 种,*Sphingobium* 有 42 种,*Novosphingobium* 有 41 种,*Sphingopyxis* 有 24 种^[10]。然而,由于新菌株数量的逐渐扩大,以及在生理、生态和系统进化

上的多样性,很多菌株的序列信息难以明确定位到一个特定的物种或亚种,所以迫切需要建立通用的物种特异性标记。因此,在第4阶段,基于16S-23S rRNA基因编码区(约4.5 kb)的二代测序被认为是一种高分辨率、高准确率的鉴定方法,通过建立通用的物种特异性标记,能够更快捷、更准确地对大批量新菌种进行分类鉴定^[11]。鞘氨醇单胞菌属分类鉴定的4个阶段见表1。

2 基因组学与基因调控机制

目前已有很多株鞘氨醇单胞菌被测序,但公开的大部分都是 contigs 序列,而全基因组序列相对较少。以NCBI数据库为例,目前已进行测序的鞘氨醇单胞菌有705株,只有62株有全基因组序列,其他的分别包括479株 contigs 序列、162株 scaffolds 序列和4株染色体序列。然而,能够合成威兰胶的鞘氨醇单胞菌仅有 contigs 序列。例如,*Sphingomonas* sp. ATCC 31555 (NCBI assembly accession No.: GCA_000282895.1): 其序列草图主要由4 046 117个碱基组成,平均GC含量为65.86%,不含染色体和质粒;共预测了3 768个编码序列(coding sequences, CDSs) (55个CDSs与单糖代谢有关)、3 771个蛋白编码基因、3个rRNAs和47个tRNAs等^[12-13]。因此,关于威兰胶合成的基因组和遗传信息有必要得

到很好的研究和重视。此外,与其他产胞外多糖的菌株相比较,菌株ATCC 31555中参与核苷酸前体生物合成的基因也是分散于基因组上的,其参与编码威兰胶四糖重复单元的糖基转移酶基因(*welB*、*welK*和*welL*)位于同一个位点,所形成的区域组织和序列与*Sphingomonas elodea* ATCC 31461的*gel*簇、*Sphingomonas* sp. ATCC 31554的*sps*簇和*Sphingomonas* sp. ATCC 53159的*dps*簇非常相似^[12]。值得关注的是,这3种基因簇已经被证明是合成结冷胶、S-88和diutan所必需的基因^[12]。

全基因组测序能够鉴定出决定菌株特异表型的特征基因,也可以发现其他潜在作用的相关基因(表2)。全基因组测序也可以作为鞘氨醇单胞菌菌株和其他具有相同特异表型微生物比较基因组分析的基础^[14]。

鞘氨醇单胞菌的全基因组分析可以为其生物遗传特征、代谢机制和适应性进化等研究提供重要依据,更有利于探索特定基因所采取的生态策略。例如,生存于高海拔环境的*Sphingomonas* sp. Cra20,为了对抗过度的紫外辐射、过多活性氧积累和低温等胁迫环境,其基因组会进化出特异性基因^[19]: (1) 编码冷休克蛋白的基因提高菌株对广泛温度的适应性; (2) 应激反应基因编码的多种抗氧化酶可以降低活性氧对菌株的伤害; (3) DNA修复基因有

表1 鞘氨醇单胞菌属的分类鉴定

Table 1 Classification and identification of *Sphingomonas*

Stage	Classification and identification method	Classification and identification of strains
Stage I ^[4-6]	Phenotypic characteristics	<i>Pseudomonas</i> , <i>Alcaligenes</i> and <i>Beijerinckia</i>
Stage II ^[7]	Fatty acid composition and polyamine pattern	Compare sphingomonas with others α -proteus can be distinguished and divided into two genera: symmetrical high spermidine or spermidine as the main polyamine
Stage III ^[8]	Specific base sequence, gene fingerprint, DNA-DNA hybridization test	Divided into four genera: <i>Sphingomonas</i> (<i>Sensu stricto</i>), <i>Sphingobium</i> , <i>Novosphingobium</i> and <i>Sphingopyxis</i>
Stage IV ^[11]	Second-generation sequencing based on 16S-23S rRNA coding region (about 4.5 kb)	More quickly and accurately classify a large number of new strains

表 2 鞘氨醇单胞菌属的特征基因和菌种特异表型

Table 2 Characteristic genes and species specific phenotypes of sphingomonas

Strain	Characteristic gene	Strain specific phenotype
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> AIMST S2 ^[14]	Glutathione S-transferase (<i>gst</i>)	Degradation of organic phosphate
<i>Sphingomonas</i> sp. NIC1 ^[15]	<i>vppB</i> and <i>vppD</i>	Degradation of nicotine
<i>Sphingomonas</i> sp. ATCC 55669 ^[16]	<i>idi</i> , <i>crtE</i> and <i>crtZ</i>	Astaxanthin production
<i>Sphingomonas ursincola</i> A1 ^[17]	AHL lactonase gene (<i>qsds</i>)	N-acyl homoserine lactone (AHL) degradation activity
<i>Sphingobium</i> sp. PAMC 28499 ^[18]	Carbohydrate active enzyme (CAZymes) gene	Degraded pectin

助于菌株修复紫外线辐射引起的 DNA 损伤。此外, 降解底物相同或相似的不同鞘氨醇单胞菌之间的全基因组比较分析显示, 它们具有的共同降解基因是通过水平基因转移和基因组合进化而来, 而长期处于环境压力下甚至会经历多次水平基因转移和基因组合, 以便高效调整自身去适应不同的生存环境^[20-21]。

3 主要代谢途径解析及其产物的生理功能

鞘氨醇单胞菌的主要代谢途径包括碳代谢和氮代谢(图1): 碳代谢为机体次级代谢产物合成(威兰胶、类胡萝卜素)提供关键中间产物、能量和还原力等, 氮代谢为细胞生长提供营养成分和组成成分。

3.1 碳代谢

鞘氨醇单胞菌的碳代谢包括: (1) 碳源摄取^[22]: 鞘氨醇单胞菌对碳源的摄取以胞内磷酸化为主, 但其细胞周质中存在一种可协助葡萄糖摄取的葡萄糖脱氢酶(glucose dehydrogenase, GDH), 进而在葡萄糖摄取不受限制的条件下, 周质氧化和细胞内磷酸化途径同时存在, 细胞通过主动运输摄取葡萄糖后由葡萄糖激酶直接磷酸化为 6-磷酸葡萄糖; 或者由周质氧化途径中的 GDH 联合辅助因子吡咯喹啉醌将葡萄糖转化为葡萄糖酸盐, 通过协助扩散进入细胞中

由 ATP 依赖性葡萄糖激酶转化为 6-磷酸葡萄糖酸盐, 之后参与中心碳代谢途径。(2) 中心碳代谢^[22-23]: 鞘氨醇单胞菌中心代谢途径主要为细胞生理活动和生物合成提供 ATP 和还原力(NADPH₂)等, 包括磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)、2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖酸裂解(entner-doudoroff, ED)途径和三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)途径。因此, 6-磷酸葡萄糖经由 PPP 途径和 ED 途径转化为 6-磷酸葡萄糖酸, 最终转化为 3-磷酸甘油醛; 3-磷酸甘油醛经一系列转化生成丙酮酸; 丙酮酸氧化脱羧形成乙酰辅酶 A 参与 TCA, 最终为机体提供大量的 ATP。其中, PPP 途径主要为生物合成提供大量的 NADPH₂, 产生的 NADPH₂ 还可以经电子传递链(electron transport chain, ETC)氧化产能^[24]。

综上所述, 改进中心碳代谢途径可以使机体获得更多的 ATP 和 NADPH₂: (1) Liu 等^[25]在 *Sphingomonas* sp. HT-1 中表达透明颤菌血红蛋白基因 *vgb*, 使 TCA、ETC 及威兰胶合成关键基因转录水平上调, 改善了细胞呼吸并提高 ATP 合成, 威兰胶产量从 25.3 g/L 提高至 34.6 g/L; (2) PPP 和 ED 途径的特征性关键酶分别为 6-磷酸葡萄糖脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-PGD)和 2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖酸醛缩酶(2-keto-3-deoxy-6-phospho-gluconate aldolase, KDPGA)^[26-27]。因此, 可以通过提高 6-PGD 和

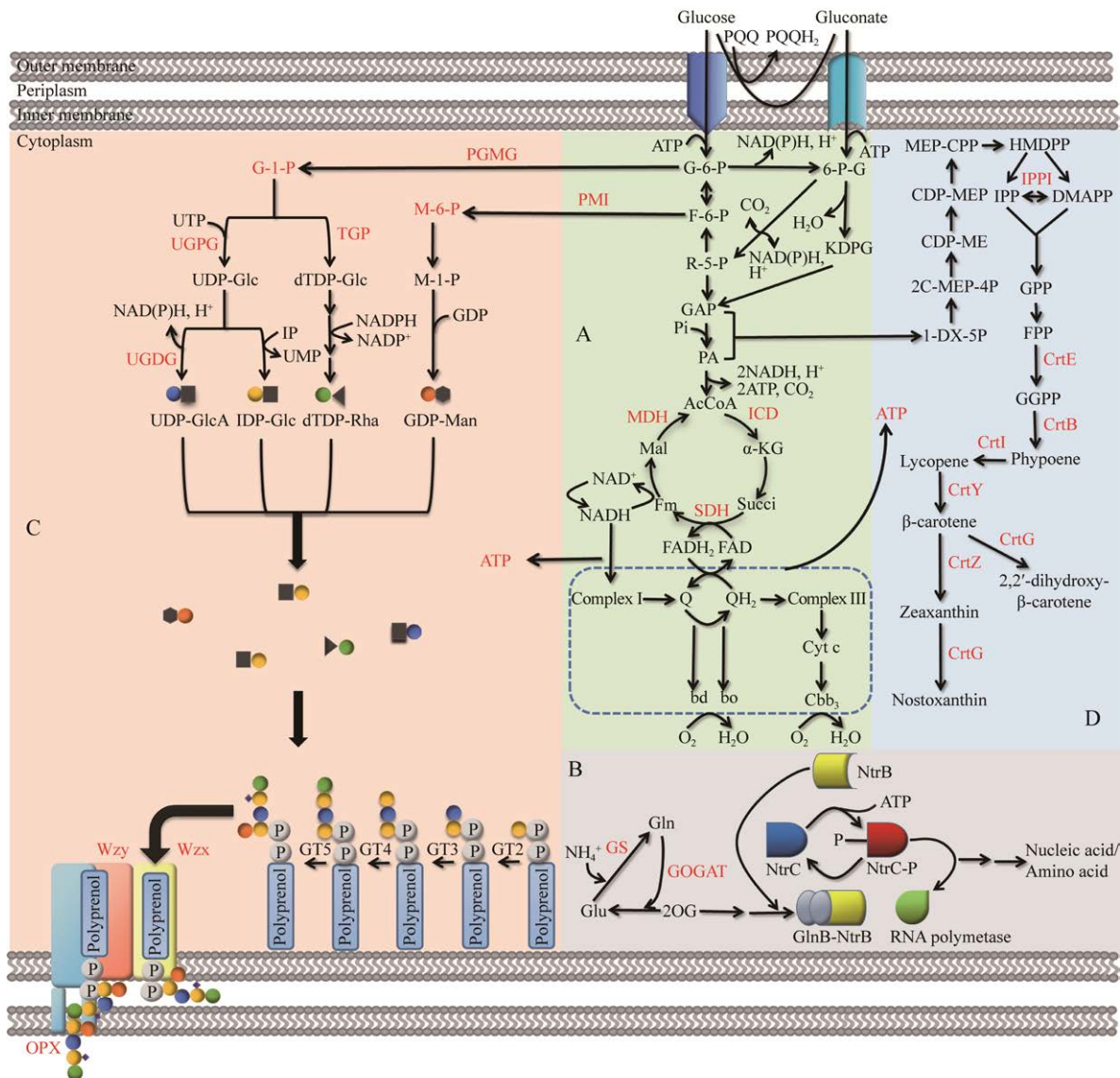


图1 鞘氨醇单胞菌的代谢途径 A: 碳代谢. B: 氮代谢. C: 威兰胶合成途径. D: 类胡萝卜素合成途径. G-6-P: 6 磷酸葡萄糖; F-6-P: 果糖-6-磷酸; 6-P-G: 6-磷酸葡萄糖酸; M-6-P: 甘露糖-6-磷酸; KDPG: 2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖酸盐; M-1-P: 甘露糖-1-磷酸; GAP: 3-磷酸甘油醛; PA: 丙酮酸; AcCoA: 乙酰辅酶 A; UDP-GlcA: 尿苷二磷酸葡萄糖酸; IDP-Glc: 脱氧胸苷二磷酸葡萄糖; dTDP-Rha: 脱氧胸苷二磷酸鼠李糖; GDP-Man: 鸟苷二磷酸甘露糖; IPP: 异戊二烯焦磷酸; DMAPP: 二甲基烯丙基焦磷酸; 2OG: α -酮戊二酸; GS: 谷氨酰胺合成酶; GOGAT: 谷氨酸合成酶

Figure 1 The metabolic pathway of *Sphingomonas*. A: Carbon metabolism. B: Nitrogen metabolism. C: The synthetic pathway of welan gum. D: Carotenoid synthesis pathway. G-6-P: 6-phosphate glucose; F-6-P: Fructose-6-phosphate; 6-P-G: 6-phosphate gluconic acid; M-6-P: Mannose 6-phosphate; KDPG: 2-keto-3-deoxy-6-phosphate gluconate; M-1-P: Mannose-1-phosphate; GAP: Glyceraldehyde 3-phosphate; PA: Pyruvic acid; AcCoA: Acetyl coenzyme A; UDP-GlcA: Uridine diphosphate gluconic acid; IDP-Glc: Deoxythymidine diphosphate glucose; dTDP-Rha: Deoxythymidine diphosphate rhamnose; GDP-Man: Guanosine diphosphate mannose; IPP: Isoprene pyrophosphate; Dimethylallyl pyrophosphate: DMAPP; 2OG: α -ketoglutaric acid; GS: Glutamine synthetase; GOGAT: Glutamate synthetase.

KDPGA 的酶活来提升 6-磷酸葡萄糖的转化量, 进而达到提高碳源转化率的目的, 而且 6-PGD 酶活的提高也促使机体产生更多的 NADPH_2 。

3.2 氮代谢

微生物的氮源代谢包括^[28]: (1) 氮源摄取: 通过谷氨酰胺合成酶-谷氨酸合成酶(GS-GOGAT)途径来摄取胞外氮源, 胞内的谷氨酰胺(glutamine, Gln)和 α -酮戊二酸(2OG)呈动态分配, 保障细胞对氮源的需求; (2) 氮源代谢: 主要由尿苷基转化酶/尿苷基脱去酶(uridyl convertase/uridine deminerase, UTase/UR)、PII 蛋白、组氨酸激酶(NtrB)和应答调控蛋白(NtrC)这 4 种蛋白调控, 其中, NtrB-NtrC (Nitrogen regulation, ntr)氮代谢双组分系统主要参与细菌和古生菌的氮代谢调控。

目前对鞘氨醇单胞菌氮源的研究还只是从发酵层面考虑, 仅证明不同氮源的浓度和种类对其代谢存在影响, 缺少利用氮源调控机理的深入解析研究。Xu 等^[29]通过分析 *Sphingomonas* sp. ATCC 31555 在不同氮源条件下的转录组学, 发现了 NtrB 和 NtrC 序列, 说明菌株 ATCC 31555 主要依赖 NtrB-NtrC 氮代谢双组分系统进行调控。值得注意的是, NtrB-NtrC 氮代谢双组分系统对微生物胞外多糖的合成具有调控作用, 而 NtrB 和 NtrC 的合成和活性受到氮源的浓度和种类的调控^[28]: 当细胞内 2OG 含量大于 Gln 时, 菌体感应到外界氮源不足, 通过 NtrB 催化 NtrC 磷酸化并激活, 从而提高固氮酶等相关基因的表达, 同时激活谷氨酰胺合成酶向外界摄取氮源; 而氮源种类产生影响的原因是, 不同氮源的氨基酸、蛋白质、无机离子等的含量和种类都存在差异。因此, 通过对氮代谢调控机理的解析, 可以有效地调控细胞内相关基因表达和相关酶活性, 从而提高目标代谢物的合成效率。

3.3 威兰胶生物合成途径解析

威兰胶(welangum, S-130)作为鞘氨醇单胞

菌发酵合成的胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)。威兰胶的四糖骨架主要由 D-葡萄糖(D-glucose, D-Glc)-D-葡萄糖醛酸(D-glucuronic acid, D-GlcA)-D-葡萄糖-L-鼠李糖(L-rhamnose, L-Rha)的单元组成: $[\rightarrow 3]-\beta\text{-D-Glc}-(1\rightarrow 4)-\beta\text{-D-GlcA}-(1\rightarrow 4)-\beta\text{-D-Glc}-(1\rightarrow 4)-\alpha\text{-L-Rha}-(\rightarrow 1)$ ^[30], 其侧链连接在与 L-Rha 相邻的 D-Glc 分子上, 一般为 L-Rha 或 L-甘露糖(L-mannose, L-Man), 两者出现的概率为 2:1 (图 2)^[31]。与结冷胶的结构相似, 威兰胶糖链上含有 2.8%–7.5% 的乙酰基和 11.6%–14.9% 的甘油基^[32-33]。威兰胶的生物合成由多种基因和多种关键酶共同调控, 主要包括糖核苷酸前体的合成、重复单元的组装、聚合和分泌 4 个过程(图 1)。通过对关键基因、关键酶和关键前体物质的解析, 采取代谢工程、基因工程等手段增强重要合成途径, 阻断低效或副产物合成途径, 提高关键酶活, 有利于提高威兰胶的产量。

3.3.1 糖核苷酸前体的合成

糖核苷酸前体主要用于组装威兰胶的侧链和重复单元, 是威兰胶生物合成的重要基础, 其合成步骤主要包括^[34-38]: (1) 6-磷酸葡萄糖经磷酸葡萄糖变位酶 PGMG (*pgmG* 编码)催化合成关键产物葡萄糖-1-磷酸, 衍生出 2 条通路, 一条由 UDP-葡萄糖焦磷酸化酶 UGPG (*ugpG* 编码)、UDP-葡萄糖脱氢酶 UGDG (*ugdG* 编码)催化合成 UDP-Glc 和 UDP-GlcA; 另一条首先由 dTDP-葡萄糖焦磷酸化酶 TGP (*rmlA* 编码)将葡萄糖-1-磷酸转化为 dTDP-Glc, 经 dTDP-葡萄糖-4,6-脱水酶(*rmlB* 编码)代谢转化为 dTPD-4-酮-6-脱氧-D-葡萄糖, 最后由 dTDP-4-脱氢鼠李糖-3,5-差向异构酶(*rmlC* 编码)催化异构化反应转化为 dTDP-4-酮-L-鼠李糖, 再通过 dTDP-6-脱水-L-鼠李糖还原酶(*rmlD* 编码)还原为 dTDP-Rha。

(2) GDP-Man 的合成方式与 UDP-Glc 相似。6-磷

3.4 次级代谢产物的生理功能

鞘氨醇单胞菌的主要次级代谢产物为威兰胶和类胡萝卜素, 两者的生物合成已被证明是鞘氨醇单胞菌的一种自我保护机制: (1) 当鞘氨醇单胞菌感知到外界压力时会大量分泌威兰胶, 黏性的威兰胶能包裹在细胞周围充当物理屏障, 为细胞提供生物保护^[43]。此外, 威兰胶的线性重复四糖骨架中的 L-Rha 和 D-GlcA 都属于稀有糖, 具有抗炎、抗氧化等生物活性^[30,43]。(2) 类胡萝卜素具有截然不同的生理功能, 它是细胞防御系统的组成部分, 主要作为细胞抗氧化剂来保护细胞免受活性氧(reactive oxygen species, ROS)的伤害, 同时能改变细胞膜的流动性和质子通透性来促进杂环化合物的降解^[44]。然而, 类胡萝卜素与威兰胶在合成时共同竞争碳源和 ATP, 并且增加了威兰胶的纯化难度^[45]。Zhang 等^[46]将 *vgb* 插入染色体上的八氢番茄红素合成酶基因 *crtB* 区域, 获得不产类胡萝卜素的菌株, 威兰胶产量提高了 16.19%且降低了纯化成本。因此, 研究类胡萝卜素的生物合成途径、采取阻断或弱化等方式对提高目标产物产量和降低纯化成本尤为重要。

4 鞘氨醇单胞菌的应用

由于鞘氨醇单胞菌具有高效的代谢调控机制和基因调控能力, 其在自然界中的分布非常广泛, 囊括了空气、土壤、水体和植物, 甚至包括一些不利环境, 如化学污染、高盐度、重金属、贫营养等。长期处于环境压力下的鞘氨醇单胞菌, 其染色体或大质粒上逐渐形成丰富的分解代谢基因、重金属抗性基因、盐碱耐受性基因、化合物转运蛋白基因等, 这些基因参与编码大量的相关加氧酶和合成相关物质, 因此, 除了作为发酵生产威兰胶的主力军外, 鞘氨醇单胞菌在生物降解、辅助植物修复、促进植物生

长等方面也具有巨大的应用潜力(图 2)。

4.1 威兰胶的应用

威兰胶主要由鞘氨醇单胞菌发酵合成, 由于其具有优越的流变特性、生物黏附性、生物相容性和生物降解性而被广泛应用于食品、医药、石油开采等领域。

4.1.1 食品添加剂

威兰胶是天然的微生物多糖, 美国、日本等已经证明其安全无毒、可降解, 并作为食品添加剂进行应用^[47]。威兰胶溶液是一种具有屈服应力的假塑性流体, 溶液表观黏度随剪切应力的增大而减小, 停止施加剪切应力即可恢复, 而且 1%威兰胶溶液的黏度即可达到 3 300 mPa·s, 不仅可以提高饮料、糖浆的灌注性, 也能起到增稠的作用, 其增稠作用还能增强油、水相的相互溶解以乳化, 从而提高奶制品的细腻口感^[48]。此外, 威兰胶溶液被证明具有在高温(高达 150 °C)与广泛酸碱度(pH 2.0–12.0)中黏度稳定的特性, 比黄原胶具有更优越的稳定性且水溶性强, 在需要高温杀菌、调控不同 pH 和保持均相体系的食品中作为添加剂时, 可以保证其增稠、乳化和悬浮作用不受影响^[49]。

4.1.2 医药行业

威兰胶溶液的乳化、悬浮作用也被应用于乳液、悬浮液体系药物的生产。目前, 威兰胶被作为百里香精油的流变性改进剂, 有益于获得稳定且天然的抗菌剂给药系统^[50]。此外, 威兰胶溶液具有优良的黏附性, 可以作为药片的被膜来减缓药效的释放, 只有在一定生理条件时, 胶体和胃酸形成水合物, 药品才能释放出来发挥作用^[51]。

4.1.3 其他领域

目前, 我国油田已处于二次采油晚期, 开采的原油含水量较高, 采收率仅为 30%–50%^[48]。为了提高开采率, 迫切需要开发高效且经济的驱

油剂。在石油开采中, 威兰胶可以为固体输送和固体悬浮提供有效的黏度, 而其剪切稀释性在低固含量和高密度体系中都能达良好的流变学控制^[48]。此外, 随着开采深度的增加, 环境条件更加苛刻, 而同时具有耐高温、耐酸碱、耐高盐等特性的威兰胶成为首选^[49]。在建筑行业, 由于威兰胶结构中具有较强的电荷密度, 因此对硅酸盐水泥浆体的凝结时间和氢氧化钙的形成具有显著的影响, 可以产生更好的可加工性和砂浆强度^[52]。在日用化妆品行业中, 威兰胶则可以作为乳化剂添加到产品中, 使各成分能均匀混合在一起, 提高其流动性^[51]。

4.2 生物降解

降解细菌对各种芳香化合物的生物降解是通过矿化、共代谢、非特异性氧化(好氧化)等方式, 可能涉及的途径有: 3 种中心降解途径(β -酮己二酸、尿黑酸和龙胆酸途径)和 4 种外

周降解途径(原儿茶酸、烟酸盐、苯乙酰辅酶 A 和对苯二酚途径)等^[53-54]。由于鞘氨醇单胞菌具有非常丰富的降解相关基因, 能够将多种降解途径相协调共同发挥作用, 因此, 在降解农药类、二噁英类、多环芳烃类和杂环芳烃类等芳香族化合物方面具有明显的优势(表 3)。鞘氨醇单胞菌在芳香族化合物中的降解机制包括^[10,60-61]:

(1) 以低分子量底物作为唯一碳源时, 可以通过矿化机制获得能量, 底物首先进入中心降解途径, 最后完全分解为 CO_2 和 H_2O ; (2) 对混合底物的降解可以通过共代谢机制, 利用低分子量底物作为生长支持底物来促进高分子量底物的分解; (3) 非特异性氧化机制是鞘氨醇单胞菌的优势机制, 以元素氧来激活, 利用多组分双加氧酶、单加氧酶等催化相关途径的进行; (4) 与其他细菌组成的联合体协同代谢包括代谢缺陷和联合代谢这两种机制, 前者是主要降解菌

表 3 鞘氨醇单胞菌的降解底物

Table 3 Degradation substrate of *Sphingomonas*

Strain	Degradation substrate	Degrading enzyme/gene
<i>Sphingomonas wittichii</i> RW1 ^[55]	Dioxin, dibenzofuran	2,2',3-trihydroxybiphenyl dioxygenase (<i>dbfB</i>); dioxin dioxygenase: alpha subunit (<i>dxnA1</i>), beta subunit (<i>dxnA2</i>)
<i>Sphingomonas wittichii</i> DC-6 ^[19]	Chloroacetanilide herbicides (CH)	Degradation genes responsible for the upstream and downstream pathway: <i>cndA</i> , <i>cmeH</i> , <i>meaXY</i> and <i>meaAB</i>
<i>Sphingomonas</i> sp. NP5 ^[56]	Bisphenolic compounds: bisphenol F, bisphenol S, 4,4'-dihydroxybenzophenone, 4,4'-dihydroxydiphenylether, and 4,4'-thiodiphenol	Nonylphenol monooxygenase (<i>nmoA</i>)
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> 20006FA ^[57]	Anthracene, dibenzothiophene, fluoranthene and phenanthrene	2,3-dihydroxybiphenyl 1,2-dioxygenase; biphenyl 2,3-dioxygenase; benzoate 1,2-dioxygenase; catechol dioxygenase; homogentisate 1,2-dioxygenase
<i>Sphingomonas trueperi</i> CW3 ^[58]	Allethrin	Cyclolytic enzyme
<i>Sphingomonas</i> sp. LH128, EPA505, BHC-A, MM-1 ^[21]	Biphenyl, naphthalene, carbazole, dioxins, anthracene, phenanthrene and chrysene	Catechol dioxygenase
<i>Sphingomonas</i> sp. CDS-1 ^[59]	Carbofuran	Carbofuran catabolism related genes (<i>cehA</i> , <i>cfuC</i>)

株依赖次要菌株提供各种生长因子以促进降解, 后者是降解途径中的代谢产物在联合体的各个菌株内进行交叉输送。有研究比较了不同种鞘氨醇单胞菌对芳香族化合物的降解, 证实 β -酮己二酸途径是主要降解途径, 大部分芳香族化合物都可以经此途径转化为关键中间体邻苯二酚后再进一步降解, 而有些芳香族化合物甚至需要更多更复杂的降解途径共同参与^[21,61]。

相较于具有相似运输系统的其他细菌, 鞘氨醇单胞菌的运输系统具有两方面的优势: (1) 可以运输平均分子量为 26 kDa 的大分子底物, 而其他细菌只能运输分子量小于 2 kDa 的底物^[62]; (2) 运输系统由多种相关基因调控, 如钴锌镉外排基因簇、铬酸盐转运蛋白基因、铜抗性基因簇等, 可以将高毒底物转化为低毒底物, 再通过外排转运体泵出^[63]。此外, *Sphingomonas* sp. A1 也具有特殊的细胞运输系统, 该运输系统对海藻酸盐表现出开关动态变化^[64]: 海藻酸盐存在时, 海藻酸盐与菌株 A1 细胞表面蛋白结合会激活细胞运输系统, 促使菌株 A1 细胞表面形成一种特殊的坑状结构, 与周质内溶质结合蛋白(AlgQ2)和内膜上 ATP 结合盒转运蛋白

(AlgM1M2SS)偶联的晶体结构组成“超级通道”, 协助海藻酸盐运输至细胞质中被裂解; 反之, 则不会激活该“超级通道”。另外, 将菌株 A1 形成这种“超级通道”的能力转移到降解芳香族化合物的鞘氨醇单胞菌中, 可以提高改造菌株的生物降解能力^[65]。

4.3 辅助植物修复

微生物辅助植物修复被认为是修复受污染土壤的一种低成本且有效的方法, 在提高农业土壤安全方面具有极大的潜力。鞘氨醇单胞菌在辅助植物修复方面具有多种作用机制, 如促进生物吸附、促进主动外排运输和降低毒性等^[10]。另外, 鞘氨醇单胞菌在辅助植物修复方面还能与真菌或其他细菌联合作用。例如, *Sphingomonas* sp. LK11 可以与真菌 *Paecilomyces formosus* LHL10 协同作用, 辅助植物修复受重金属污染的土壤^[66]。

4.4 植物生长促进剂

目前, 许多鞘氨醇单胞菌已被证明具有促植物生长和提高植物抗逆性的作用, 这些作用被认为是由于它们具有固氮、溶解磷酸盐、产生植物生长激素等功能^[67-68](表 4)。值得注意的是, 一些鞘氨醇单胞菌还具有作为植物内生

表 4 鞘氨醇单胞菌促植物生长的作用机制

Table 4 Mechanism of *Sphingomonas* promoting plant growth

Strain	Plant growth promotion mechanism
<i>Sphingomonas</i> sp. LK11 ^[13]	a. Phytohormone: gibberellins b. Stress protectant: trehalose, Na ⁺ /H ⁺ antiporter, glycine betaine, cold shock protein, heat shock protein c. Phosphorus dissolving capacity d. Reduce oxygen damage: catalase, superoxide dismutase and reduced glutathione
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> ZJSH1 ^[69]	a. Phytohormone: salicylic acid, indole-3-acetic acid, zeatin, abscisic acid b. Nitrogen fixation
<i>Sphingomonas</i> sp. CL01 ^[70]	a. Phytohormone: indole-3-acetic acid b. Phosphorus dissolving capacity
<i>Sphingomonas</i> sp. Cra20 ^[19]	a. Volatile organic compound b. Nitrogen fixation c. Siderophore d. Stress protectant: spermidine, trehalose, cold shock protein

和根际细菌的培养性,与植物具有相互作用的模式。

5 讨论与展望

鞘氨醇单胞菌除作为发酵生产威兰胶的重要菌种外,在生物降解、辅助植物修复、增强植物抗逆性等方面也具有巨大的应用潜力。本文详细介绍了鞘氨醇单胞菌的基本特征和分类鉴定,提出鞘氨醇单胞菌的全基因组测序较少,并且能合成威兰胶的鞘氨醇单胞菌仅有 contigs 序列,而全基因组分析可以为其生物遗传特征、代谢机制和适应性进化等研究提供重要依据,更有利于探索特定基因所采取的生态策略。通过解析鞘氨醇单胞菌代谢机制,从代谢途径分析发酵生产中的限制因素,如发酵中后期发酵液中含有大量威兰胶,使得发酵液黏度过高、溶氧低、氧传递效率差,所以提高相关基因表达水平,改善细胞呼吸并提高 ATP 合成,或是提高代谢途径中关键酶的酶活,从而提高碳源转化率,使机体产生更多的 NADPH_2 , 提高产量。

鞘氨醇单胞菌作为威兰胶的重要产生菌,通过优化培养条件,如筛选最优碳氮源^[71]、增大溶氧量(调控搅拌速率或添加氧载体)^[72]、调控发酵 pH、添加外源添加剂等^[73]手段,已经可以进一步提高威兰胶的产量。但生产过程中碳源转化率低、生产成本低、传氧速率低和纯化成本过高等局限性问题仍然存在。因此,如何经济有效地提高威兰胶产量仍然是研究的重点,仍有必要对鞘氨醇单胞菌代谢途径进行更细致的解析,以便能够针对性地通过诱变技术、代谢工程和基因工程等手段进行有目的的改造,从而开发一种高效率、经济的威兰胶生产策略。结合目前的研究,提出以下几点展望:

(1) 开发廉价易得的碳氮源,降低威兰胶生产成本;(2) 从分子水平阐明鞘氨醇单胞菌的代谢途

径,提高碳氮源转化效率;(3) 通过基因水平控制或化学修饰来生产不同性质的威兰胶,进一步扩展威兰胶的功能;(4) 稀有糖属于自然界中不常见的单糖,具有多种生物活性,可以作为合成高价值分子的前体物质。因此,威兰胶作为富含稀有糖的微生物胞外多糖,需重视其作为稀有糖源开发的应用潜力。

REFERENCES

- [1] YABUUCHI E, YANO I, OYAIZU H, HASHIMOTO Y, EZAKI T, YAMAMOTO H. Proposals of *Sphingomonas paucimobilis* gen. nov. and comb. nov., *Sphingomonas parapaucimobilis* sp. nov., *Sphingomonas yanoikuyae* sp. nov., *Sphingomonas adhaesiva* sp. nov., *Sphingomonas capsulata* comb. nov., and two genospecies of the genus *Sphingomonas*[J]. Microbiology and Immunology, 1990, 34(2): 99-119.
- [2] WHITE DC, SUTTON SD, RINGELBERG DB. The genus *Sphingomonas*: physiology and ecology[J]. Current Opinion in Biotechnology, 1996, 7(3): 301-306.
- [3] WANG ZY, ZENG QL, FANG ZW, ZHU DH, XU D, WANG GJ, ZHENG SX. *Sphingomonas aracearum* sp. nov., isolated from rhizospheric soil of *Araceae* plants[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2019, 69(10): 2972-2978.
- [4] HAGIWARA A, IMAI N, DOI Y, SANO M, TAMANO S, OMOTO T, ASAI I, YASUHARA K, HAYASHI SM. Ninety-day oral toxicity study of rhamosan gum, a natural food thickener produced from *Sphingomonas* ATCC 31961, in Crl: CD(SD)IGS rats[J]. The Journal of Toxicological Sciences, 2010, 35(4): 493-501.
- [5] KHAN AA, WANG RF, CAO WW, FRANKLIN W, CERNIGLIA CE. Reclassification of a polycyclic aromatic hydrocarbon-metabolizing bacterium, *Beijerinckia* sp. strain B1, as *Sphingomonas yanoikuyae* by fatty acid analysis, protein pattern analysis, DNA-DNA hybridization, and 16S ribosomal DNA sequencing[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1996, 46(2): 466-469.
- [6] NOHYNEK LJ, NURMIAHO-LASSILA EL, SUHONEN EL, BUSSE HJ, MOHAMMADI M, HANTULA J, RAINEY F, SALKINOJA-SALONEN

- MS. Description of chlorophenol-degrading *Pseudomonas* sp. strains KF1^T, KF3, and NK1 as a new species of the genus *Sphingomonas*, *Sphingomonas subarctica* sp. nov[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1996, 46(4): 1042-1055.
- [7] BUSSE HJ, KÄMPFER P, DENNER EBM. Chemotaxonomic characterisation of *Sphingomonas*[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 1999, 23(4-5): 242-251.
- [8] TAKEUCHI M, HAMANA K, HIRAISHI A. Proposal of the genus *Sphingomonas* sensu stricto and three new genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, on the basis of phylogenetic and chemotaxonomic analyses[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2001, 51(4): 1405-1417.
- [9] YABUUCHI E, KOSAKO Y, FUJIWARA N, NAKA T, MATSUNAGA I, OGURA H, KOBAYASHI K. Emendation of the genus *Sphingomonas* Yabuuchi et al. 1990 and junior objective synonymy of the species of three genera, *Sphingobium*, *Novosphingobium* and *Sphingopyxis*, in conjunction with *Blastomonas ursincola*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52(5): 1485-1496.
- [10] WAIGI MG, SUN K, GAO YZ. Sphingomonads in microbe-assisted phytoremediation: tackling soil pollution[J]. Trends in Biotechnology, 2017, 35(9): 883-899.
- [11] KERKHOF LJ, DILLON KP, HÄGGBLOM MM, McGUINNESS LR. Profiling bacterial communities by MinION sequencing of ribosomal operons[J]. Microbiome, 2017, 5(1): 116.
- [12] WANG XY, TAO F, GAI ZH, TANG HZ, XU P. Genome sequence of the welan gum-producing strain *Sphingomonas* sp. ATCC 31555[J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(21): 5989-5990.
- [13] ASAF S, KHAN AL, KHAN MA, HARRASI AA, LEE IJ. Complete genome sequencing and analysis of endophytic *Sphingomonas* sp. LK11 and its potential in plant growth[J]. 3 Biotech, 2018, 8(9): 389.
- [14] RAVINTHERAN SK, SIVAPRAKASAM S, LOKE S, LEE SY, MANICKAM R, YAHYA A, CROFT L, MILLARD A, PARIMANNAN S, RAJANDAS H. Complete genome sequence of *Sphingomonas paucimobilis* AIMST S2, a xenobiotic-degrading bacterium[J]. Scientific Data, 2019, 6: 280.
- [15] ZHU XY, WANG WW, XU P, TANG HZ. Complete genome sequence of *Sphingomonas* sp. strain NIC1, an efficient nicotine-degrading bacterium[J]. Genome Announcements, 2016, 4(4): e00666-e00616.
- [16] MA T, ZHOU YJ, LI XW, ZHU FY, CHENG YB, LIU Y, DENG ZX, LIU TG. Genome mining of astaxanthin biosynthetic genes from *Sphingomonas* sp. ATCC 55669 for heterologous overproduction in *Escherichia coli*[J]. Biotechnology Journal, 2016, 11(2): 228-237.
- [17] MOROHOSHI T, KAMIMURA Y, SATO N, LIZUMI T. Distribution and characterization of *N*-acylhomoserine lactone (AHL)-degrading activity and AHL lactonase gene (*qsds*) in *Sphingopyxis*[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2019, 127(4): 411-417.
- [18] HAN SR, JANG SM, CHI YM, KIM B, JUNG SH, LEE YM, UETAKE J, LEE JH, PARK H, OH TJ. Complete genome sequence of *Sphingobium* sp. strain PAMC 28499 reveals a potential for degrading pectin with comparative genomics approach[J]. Genes & Genomics, 2020, 42(9): 1087-1096.
- [19] LUO Y, ZHOU M, ZHAO Q, WANG F, GAO JL, SHENG HM, AN LZ. Complete genome sequence of *Sphingomonas* sp. Cra20, a drought resistant and plant growth promoting rhizobacteria[J]. Genomics, 2020, 112(5): 3648-3657.
- [20] CHENG MG, YAN X, HE J, QIU JG, CHEN Q. Comparative genome analysis reveals the evolution of chloroacetanilide herbicide mineralization in *Sphingomonas wittichii* DC-6[J]. Archives of Microbiology, 2019, 201(7): 907-918.
- [21] ZHAO Q, YUE SJ, BILAL M, HU HB, WANG W, ZHANG XH. Comparative genomic analysis of 26 *Sphingomonas* and *Sphingobium* strains: dissemination of bioremediation capabilities, biodegradation potential and horizontal gene transfer[J]. Science of the Total Environment, 2017, 609: 1238-1247.
- [22] LI H, XU H, XU H, LI S, OUYANG PK. Biosynthetic pathway of sugar nucleotides essential for welan gum production in *Alcaligenes* sp. CGMCC2428[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86(1): 295-303.
- [23] 许晓鹏. 氮源对 *Sphingomonas* sp. 发酵产威兰胶结构与特性及转录组水平研究[D]. 无锡: 江南大学博士学位论文, 2017.
- XU XP. Structure and characteristics of welan gum fermented by *Sphingomonas* sp. from nitrogen sources and transcriptomic analysis[D]. Wuxi: Doctoral Dissertation of Jiangnan University, 2017 (in Chinese).
- [24] 谭旂宁. 野油菜黄单胞菌 ED 途径相关基因研究[D]. 南宁: 广西大学硕士学位论文, 2006.

- TAN YN. Characterization of the genes involved in the ED pathway of *Xanthomonas campestris* PV. *campestris*[D]. Nanning: Master's Thesis of Guangxi University, 2006 (in Chinese).
- [25] LIU XL, ZHU P, JIANG RF, WU LT, FENG XH, LI S, XU H. Enhancement of welan gum production in *Sphingomonas* sp. HT-1 via heterologous expression of *Vitreoscilla* hemoglobin gene[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 156: 135-142.
- [26] SHUSTER CW, DOUDOROFF M. Purification of 2-keto-3-deoxy-6-phosphohexonate aldolases of *Pseudomonas saccharophila*[J]. Archiv für Mikrobiologie, 1967, 59(1): 279-286.
- [27] NISHIOKA T, MATSUDA K, FUJITA Y. Combined analysis of metabolome and transcriptome: catabolism in *Bacillus subtilis*[M]//Metabolomics. Tokyo: Springer-Verlag, 2006: 127-140.
- [28] 刘佳. 产热凝胶粪产碱杆菌的生理代谢研究[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2010.
- LIU J. The physiological metabolism of the curdlan-producing *Alcaligenes faecalis*[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2010 (in Chinese).
- [29] XU XP, NIE ZM, ZHENG ZY, ZHU L, ZHANG HT, ZHAN XB. Different nitrogen sources change the transcriptome of welan gum-producing strain *Sphingomonas* sp. ATCC 31555[J]. Archives of Microbiology, 2017, 199(7): 1055-1064.
- [30] KAUR V, BERA MB, PANESAR PS, KUMAR H, KENNEDY IF. Welan gum: microbial production, characterization, and applications[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65: 454-461.
- [31] 周浩然. 微生物多糖威兰胶生产工艺的研究[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2009.
- ZHOU HR. Study on the production of welan gum by *Alcaligenes* sp.[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2009 (in Chinese).
- [32] LI H, LI J, ZHOU WL, JIAO X, SUN YJ, SHEN YL, QIAN J, WANG JQ, ZHU H. An efficient production of a novel carbohydrate polymer sphing WL[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2018, 93(12): 3472-3482.
- [33] STANKOWSKI JD, ZELLER SG. Location of the O-acetyl group in welan by the reductive-cleavage method[J]. Carbohydrate Research, 1992, 224: 337-341.
- [34] VIDEIRA PA, CORTES LL, FIALHO AM, SÁ-CORREIA I. Identification of the *pgmG* gene, encoding a bifunctional protein with phosphoglucomutase and phosphomannomutase activities, in the gellan gum-producing strain *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(5): 2252-2258.
- [35] MARQUES AR, FERREIRA PB, SÁ-CORREIA I, FIALHO AM. Characterization of the *ugpG* gene encoding a UDP-glucose pyrophosphorylase from the gellan gum producer *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2003, 268(6): 816-824.
- [36] SILVA E, MARQUES AR, FIALHO AM, GRANJA AT, SÁ-CORREIA I. Proteins encoded by *Sphingomonas elodea* ATCC 31461 *rmlA* and *ugpG* genes, involved in gellan gum biosynthesis, exhibit both dTDP- and UDP-glucose pyrophosphorylase activities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(8): 4703-4712.
- [37] SÁ-CORREIA I, FIALHO AM, VIDEIRA P, MOREIRA LM, MARQUES AR, ALBANO H. Gellan gum biosynthesis in *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461: genes, enzymes and exopolysaccharide production engineering[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2002, 29(4): 170-176.
- [38] MARTINS L, SA-CORREIA I. Gellan gum biosynthetic enzymes in producing and nonproducing variants of *Pseudomonas elodea*[J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 1991, 14(3): 357-364.
- [39] SCHMID J. Recent insights in microbial exopolysaccharide biosynthesis and engineering strategies[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2018, 53: 130-136.
- [40] BAKER P, WHITFIELD GB, HILL PJ, LITTLE DJ, PESTRAK MJ, ROBINSON H, WOZNIAK DJ, HOWELL PL. Characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* glycoside hydrolase PslG reveals that its levels are critical for Psl polysaccharide biosynthesis and biofilm formation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2015, 290(47): 28374-28387.
- [41] SCHMID J, SIEBER V. Enzymatic transformations involved in the biosynthesis of microbial exo-polysaccharides based on the assembly of repeat units[J]. ChemBioChem, 2015, 16(8): 1141-1147.
- [42] ISLAM ST, LAM JS. Synthesis of bacterial polysaccharides via the Wzx/Wzy-dependent pathway[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2014,

- 60(11): 697-716.
- [43] ROCA C, ALVES VD, FREITAS F, REIS MAM. Exopolysaccharides enriched in rare sugars: bacterial sources, production, and applications[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 288.
- [44] LIU XR, GAI ZH, TAO F, TANG HZ, XU P. Carotenoids play a positive role in the degradation of heterocycles by *Sphingobium yanoikuyae*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e39522.
- [45] LI A, HU TT, LUO HQ, ALAM NU, XIN JQ, LI HW, LIN YN, HUANG JY, HUANG K, MENG Y, MENG FB, HU XF, LI O. A carotenoid- and poly- β -hydroxybutyrate-free mutant strain of *Sphingomonas elodea* ATCC 31461 for the commercial production of gellan[J]. *mSphere*, 2019, 4(5): e00668-19.
- [46] ZHANG WW, CHEN ZH, WU MM, SHI Z, ZHU F, LI GQ, MA T. Improved production of carotenoid-free welan gum in a genetic-engineered *Alcaligenes* sp. ATCC31555[J]. *Biotechnology Letters*, 2016, 38(6): 991-997.
- [47] TRUJILLO-CAYADO LA, ALFARO MC, RAYMUNDO A, SOUSA I, MUÑOZ J. Rheological behavior of aqueous dispersions containing blends of rhamnan and welan polysaccharides with an eco-friendly surfactant[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2016, 145: 430-437.
- [48] 姬彬. 威兰胶发酵及其流变性研究[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2012.
- JI B. Study on welan fermentation and its rheological properties[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2012 (in Chinese).
- [49] 李琪雯, 周娜, 柯成竹, 孟继坤, 白云霞, 刘小玲, 李树波. 微生物生产威兰胶的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(23): 337-342, 348.
- LI QW, ZHOU Y, KE CZ, MENG JK, BAI YX, LIU XL, LI SB. Research progress in microbial production of welan gum[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(23): 337-342, 348 (in Chinese).
- [50] MARTIN-PIÑERO MJ, GARCÍA MC, MUÑOZ J, ALFARO-RODRIGUEZ MC. Influence of the welan gum biopolymer concentration on the rheological properties, droplet size distribution and physical stability of thyme oil/W emulsions[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 133: 270-277.
- [51] 周万龙. 鞘氨醇单胞菌 *Sphingomonas* sp. WG 发酵产威兰胶的研究[D]. 东营: 中国石油大学(华东)硕士学位论文, 2017.
- ZHOU WL. Study on the welan gum fermentation by *Sphingomonas* sp. WG[D]. Dongying: Master's Thesis of China University of Petroleum (Huadong), 2017 (in Chinese).
- [52] ZHANG Y, ZHANG ZH, LI XR, LI WF, SHEN XD, WANG H. Effect of welan gum on the hydration and hardening of Portland cement[J]. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2018, 131(2): 1277-1286.
- [53] GAO JF, ELLIS LBM, WACKETT LP. The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation database: improving public access[J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(Database issue): D488-D491.
- [54] LU XY, ZHANG T, FANG HHP. Bacteria-mediated PAH degradation in soil and sediment[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89(5): 1357-1371.
- [55] MILLER TR, DELCHER AL, SALZBERG SL, SAUNDERS E, DETTER JC, HALDEN RU. Genome sequence of the dioxin-mineralizing bacterium *Sphingomonas wittichii* RW1[J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(22): 6101-6102.
- [56] TAKEO M, AKIZUKI J, KAWASAKI A, NEGORO S. Degradation potential of the nonylphenol monooxygenase of *Sphingomonas* sp. NP5 for bisphenols and their structural analogs[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(2): 284.
- [57] MACCHI M, MARTINEZ M, TAUILL RMN, VALACCO MP, MORELLI IS, COPPOTELLI BM. Insights into the genome and proteome of *Sphingomonas paucimobilis* strain 20006FA involved in the regulation of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2018, 34(1): 7.
- [58] BHATT P, HUANG YH, RENE ER, KUMAR AJ, CHEN SH. Mechanism of allethrin biodegradation by a newly isolated *Sphingomonas trueperi* strain CW3 from wastewater sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 305: 123074.
- [59] YAN X, JIN W, WU G, JIANG WK, YANG ZG, JI JB, QIU JG, HE J, JIANG JD, HONG Q. Hydrolase CehA and monooxygenase CfdC are responsible for carbofuran degradation in *Sphingomonas* sp. strain CDS-1[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(16): e00805-e00818.
- [60] WAIGI MG. Phenanthrene biodegradation by sphingomonads and its application in the contaminated soils and sediments: a review[J]. *International*

- Biodeterioration & Biodegradation, 2015, 104: 333-349.
- [61] YANG F, FENG H, MASSEY IY, HUANG FY, GUO J, ZHANG X. Genome-wide analysis reveals genetic potential for aromatic compounds biodegradation of *Sphingopyxis*[J]. BioMed Research International, 2020, 2020: 5849123.
- [62] MOMMA K, MISHIMA Y, HASHIMOTO W, MIKAMI B, MURATA K. Direct evidence for *Sphingomonas* sp. A1 periplasmic proteins as macromolecule-binding proteins associated with the ABC transporter: molecular insights into alginate transport in the periplasm[J]. Biochemistry, 2005, 44(13): 5053-5064.
- [63] KHAN AL, ULLAH I, HUSSAIN J, KANG SM, AL-HARRASI A, AL-RAWAHI A, LEE IJ. Regulations of essential amino acids and proteomics of bacterial endophytes *Sphingomonas* sp. Lk11 during Cadmium Uptake[J]. Environmental Toxicology, 2016, 31(7): 887-896.
- [64] MARUYAMA Y, HASHIMOTO W, MURATA K. Structural studies on bacterial system used in the recognition and uptake of the macromolecule alginate[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2019, 83(5): 794-802.
- [65] ASO Y, MIYAMOTO Y, MINE HARADA K, MOMMA K, KAWAI S, HASHIMOTO W, MIKAMI B, MURATA K. Engineered membrane superchannel improves bioremediation potential of dioxin-degrading bacteria[J]. Nature Biotechnology, 2006, 24(2): 188-189.
- [66] BILAL S, SHAHZAD R, KHAN AL, KANG SM, IMRAN QM, AL-HARRASI A, YUN BW, LEE IJ. Endophytic microbial consortia of phytohormones-producing fungus *Paecilomyces formosus* LHL10 and bacteria *Sphingomonas* sp. LK11 to *Glycine max* L. regulates physio-hormonal changes to attenuate aluminum and zinc stresses[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1273.
- [67] ASAF S, NUMAN M, KHAN AL, AL-HARRASI A. *Sphingomonas*: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2020, 40(2): 138-152.
- [68] KIM YJ, PARK JY, BALUSAMY SR, HUO Y, NONG LK, LE HT, YANG DC, KIM D. Comprehensive genome analysis on the novel species *Sphingomonas panacis* DCY99^T reveals insights into iron tolerance of ginseng[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(6): 2019.
- [69] YANG SJ, ZHANG XH, CAO ZY, ZHAO KP, WANG S, CHEN MX, HU XF. Growth-promoting *Sphingomonas paucimobilis* ZJSH1 associated with *Dendrobium officinale* through phytohormone production and nitrogen fixation[J]. Microbial Biotechnology, 2014, 7(6): 611-620.
- [70] 王志刚, 胡云龙, 徐伟慧, 胡影, 刘帅, 王春龙. 鞘氨醇单胞菌菌株 CL01 的分离鉴定及其对连作西瓜的促生效应[J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(10): 1360-1367.
- WANG ZG, HU YL, XU WH, HU Y, LIU S, WANG CL. Isolation and identification of *Sphingomonas* sp. CL01 and its promoting effects on watermelon (*Citrullus lanatus*) in continuous cropping soil[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2015, 23(10): 1360-1367 (in Chinese).
- [71] WEI LL, MAO YR, LIU H, KE CZ, LIU XL, LI SB. Effect of an inorganic nitrogen source (NH₄)₂SO₄ on the production of welan gum from *Sphingomonas* sp. mutant obtained through UV-ARTP compound mutagenesis[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 210: 630-638.
- [72] LI QW, ZHOU Y, KE CZ, BAI YX, LIU XL, LI SB. Production of welan gum from cane molasses by *Sphingomonas* sp. FM01[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 244: 116485.
- [73] KE CZ, WEI LL, WANG M, LI QW, LIU XL, GUO Y, LI SB. Effect of NaCl addition on the production of welan gum with the UV mutant of *Sphingomonas* sp.[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 265: 118110.