

红球菌属的分类及应用研究进展*

华苟根 郭坚华

(中国南京农业大学植物保护学院 南京 210095)

摘要: 从 Zopf 于 1891 年建立红球菌属至今, 红球菌属各种菌的分类地位一直处于不断的变化之中。近年来, 随着一些种的重新分类以及新种的发现, 红球菌属的分类发生了很大变化。这主要是由于分类手段已由传统的形态学分类方法向现代的多相分类法过渡。此外, 由于红球菌能降解一些环境污染物, 合成或转化形成一些有用的化合物, 同时它的一些种对人、动物或植物都有影响。因此, 红球菌也越来越为人们所关注。

关键词: 红球菌属, 分类, 应用

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 04-0107-05

THE TAXONOMY AND APPLICATION OF *RHODOCOCCUS*

HUA Gou-Gen GUO Jian-Hua

(College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: Taxonomy of genus *Rhodococcus* has been changing since it was set up by Zopf in 1891. The classification of the genus has been changed dramatically in recent years, with the species being reclassified and new species described. The changing of taxonomy is mainly on the methods' altering from old morphological to modern polyphasic taxonomy. Additionally, there has been increased interest in rhodococcus for its abilities to degrade a range of environmental pollutants and to transform or synthesize compounds with possible useful application.

Key words: *Rhodococcus*, Taxonomy, Application

1 红球菌属 (*Rhodococcus*) 的分类简史

红球菌属是 1891 年由 Zopf 建立的, 在很长一段时间里该属曾被取消。1977 年, Goodfellow 根据自己及许多学者对一些细菌表型、化学、遗传学性状的研究, 提出恢复

* 国家自然科学基金资助项目。(No. 39570476)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. 39570476)

收稿日期: 2002-05-09, 修回日期: 2002-07-20

红球菌属, 并将该属的定义作了很大程度的修改, 包括 10 个种。1984 年, Goodfellow 根据生理生化形态特征, 提出将 *Corynebacterium fascians* 重新命名为 *Rhodococcus fascians*, 依据是它含有磷脂酰乙醇胺和结核硬脂酸, DNA 的 G + C mol% 为 61 ~ 67.6 mol% (棒杆菌属的为 51 ~ 59 mol%), 表型数值分类结果也与红球菌属聚类在同一分支。1989 年, 在 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 中, 红球菌属已有 20 个种。随后, M.A. Stoecker (1994)、M. Briglia (1996) 和 Jung-Hoon Yoon (1997, 2000) 等人又先后分离出一些新菌株, 并依据它们各自的化学特征分类为红球菌属的新菌种^[2-5]。近年来, 随着分子生物学和遗传学研究的深入, 通过应用 DNA G + C mol%、DNA-DNA 体外分子杂交和 16S rRNA 序列分析等多种分类手段, 红球菌属细菌种类又有了新的变化^[1] (表 1)。目前, 红球菌属包括 14 个种: 即 *R. coprophilus*, *R. equi*, *R. fascians*, *R. erythropolis*, *R. globerulus*, *R. rhodnii*, *R. marinonascens*, *R. opacus*, *R. percolatus*, *R. rhodochrous*, *R. ruber*, *R. zopfii*, *R. pyridinivorans* 和 *R. koreensis*。

2 红球菌的鉴定

表 1 1994 年 ~ 2001 年红球菌属的分类地位变动

原分类地位和命名	重新分类后命名
<i>Nocardioides simplex</i> ATCC13260	<i>Rhodococcus erythropolis</i>
ATCC19565	
ATCC19566	
<i>Rhodococcus obuensis</i>	<i>Gordona spui</i>
<i>Rhodococcus spui</i> ^[5]	
<i>Rhodococcus terrae</i>	<i>Gordona terrae</i>
<i>Rhodococcus rubropertinctus</i>	<i>Gordona rubropertinctus</i>
<i>Rhodococcus branchialis</i>	<i>Gordona branchialis</i>
<i>Rhodococcus aichiensis</i>	<i>Gordona aichiensis</i> comb. nov.
<i>Rhodococcus chubuensis</i>	<i>Gordona chubuensis</i>
<i>Rhodococcus maris</i> ^[7]	<i>Dietzia maris</i> comb. nov.
<i>Rhodococcus chlorophenolicus</i>	<i>Mycobacterium chlorophenolicum</i>
<i>Rhodococcus auranticus</i>	<i>Tsukamurella auranticus</i>

革兰氏阳性。菌落可以是

粗糙的、光滑的或粘质的, 色素为淡黄色、乳酪色、黄色、橙黄或红色, 也可产生无色的变异菌株。

2.2 生理生化特征 化能营养型, 过氧化氢酶阳性, 有些种需要硫胺素作为生长因子, 但多数菌株在一般培养基上生长良好 (37℃)。芳香基硫酸酯酶阴性, 对溶菌酶敏感, 不能降解酪蛋白、纤维糖、几丁质、弹性蛋白或木聚糖, 可利用许多有机化合物作为唯一碳源。红球菌属分类的修改最初是根据放线菌的 92 种形态特征和生理生化特征的相似程度而作出的。

2.3 化学分类 胞壁肽聚糖属 A₁ 型, 含有大量内消旋二氨基庚二酸、阿拉伯糖和半乳糖。细胞磷酸类脂有双磷脂酰甘油 (DPG)、磷脂酰乙醇胺 (PE) 和磷脂酰肌醇甘露糖苷 (PIM)。主要甲基萘酰异戊二烯单位是 MK-9 (H₂)、MK-8 (H₂), 细胞含大量的直链非饱和脂肪酸和 10-甲基硬脂酸以及枝菌酸 (C₂₉ ~ C₆₄)。菌株的 DNA G + C mol% 为 59 ~ 69 mol% (Tm)^[8,9]。

2.4 分子分类 近年来, 用于分析和修正红球菌属分类的最有力工具是 16S rRNA 的序

列分析。根据序列间的相似程度，可推测出两个菌株间的关系。当 16S rDNA 序列有 97% 以上的相似性时，两个菌体可能为同种菌。目前，16S rDNA 序列分析适用红球菌属的所有种。对红球菌属的序列分析表明，各菌分散在 5 个不同类群中：其中一类群包括 *R. erythropolis*、*R. globerulus*、*R. marinonascens* 以及 *R. opacus*；另一类则包括 *R. rhodochrous*、*R. ruber* 和 *R. coprophilus*；而 *R. rhodnii*、*R. fascians*、*R. equi* 则分属于其他 3 个类群^[1]。红球菌的鉴定特征见表 2

表 2 红球菌属与其他棒形细菌属的鉴别特征^[10]

各属特征	红球菌属 <i>Rhodococcus</i>	棒形杆菌属 <i>Clavibacter</i>	短小杆菌属 <i>Curtobacterium</i>	节杆菌属 <i>Arthrobacter</i>	拉氏菌属 <i>Rathayibacter</i>
菌体形态	杆状至大量的分枝基内菌丝	不规则杆状	不规则杆状	典型的杆/球循环	不规则短杆状
运动性	-	-	+	+	-
在 NA 培养基上的生长速度	正常	特别缓慢	正常	正常	正常
胞壁肽聚糖类型	A ₁₇	B ₂₇	B ₂₃	A ₃₂	B ₂₇
特征性肽聚糖双碱基氨基酸 ^b	D-Om	DAB	meso-DAP	L-Lys	DAB
胞壁阿拉伯糖	+	-	-	-	-
枝菌酸	30-60 碳原子	-	-	-	-
脂肪酸 ^c	S,U,T	S,A,I	S,A,I	S,A,I	S,A,T
主要甲基萘醌	MK-9(H ₂)	MK-9, MK-10	MK-9	MK-9	MK-10
极性脂 ^d	DPG, PE, PI, PIM, G	DPG, PG, G	DPG, PG, G	DPG, PG, PI, DMDG, DGDG, MGDG	PG, DPG
DNA G + C (mol%)	60 - 69	67 - 78	67 - 75	67 - 75	63 - 72

a *Arthrobacter ilicis* 可运动，但此属多不运动；b DAB，二氨基丁酸；meso-DAP，内消旋二氨基庚二酸；L-Lys，L-赖氨酸；D-Om，D-鸟氨酸；c S，直链饱和；A，反异（anteiso）-甲基分枝；I，异（iso）-甲基分枝；U，单键不饱和；T，10-甲基分枝酸。d DPG，双磷脂酰甘油；PG，磷脂酰甘油；G，未知结构的糖基甘油二酯；PI，磷脂酰肌醇；DMDG，双甘露糖基甘油二酯；DGDG，双半乳糖基甘油二酯；MGDG，单半乳糖基甘油二酯；PIM，磷脂酰肌醇甘露糖苷；PE，磷脂酰乙醇胺

3 红球菌的致病性

红球菌属分布范围广，在土壤、岩石、地下水、海底沉积物、昆虫内脏及动物的粪便中都能存活。有些菌种是人和动物的致病菌。如 *R. equi* 可侵染马及其它动物，引起动物发烧、乏力等症状，同时它也是引起肺脓肿的病因之一。近年来，红球菌作为一种人体病菌已越来越为人们所关注。在免疫缺陷的人体特别是被 HIV 病毒侵染后，红球菌引起的发病率有所增加。McNeil 和 Brown1994 年报道了 1986 年的艾滋病例中有 100 多例是发生在这种人体上，同时他们认为红球菌侵染可看成是一个 HIV 阳性的人体感染艾滋病的开始^[1]。

在红球菌属中，目前只有 *Rhodococcus fascians*（带化红球菌）是植物病原菌，其模式菌株为 ATCC12974。*R. fascians* 的寄主植物很多，可侵染天竺葵属、草莓属、大丽花属、百合属及茼蒿属等多种植物。侵染双子叶植物时，可造成植物分生组织的局部增生，导致植物小叶都被菌瘿覆盖，即出现叶菌瘿症状。侵染单子叶植物如百合后，可使其失去顶端优势，引起鳞茎的变形，形成很长的侧生根枝，并伴有带化现象出现，最终使百合失去商业价值。侵染烟草幼苗时，可强烈抑制幼苗的生长，对根的发育也

有抑制作用,使下胚轴加厚并矮化,阻碍叶片的形成^[11,12]。关于 *R. fascians* 的致病机理, Thimann (1966) 认为菌体的细胞分裂素是影响菌株致病性的主要因素^[13]。Wim. T (2000) 进一步指出,一种存在于线性质粒上的致病基因 *fas* 是细胞分裂素操纵子的组成部分,对保持菌体的致病性是必不可少的,而这种基因的表达在转录和翻译水平可通过调节 pH、碳素来源、磷酸盐和氧的含量以及细胞密度等环境因素来加以控制^[14,15]。

4 红球菌的应用研究^[1]

4.1 工业合成与转化 在工业上,红球菌属是一个非常具有商业价值的细菌类群,许多菌株参与了氨基酸如 L-亮氨酸和 L-苯丙氨酸的生产以及固醇类的转化。日本的 Nitto Chemistry Industry 公司利用 *R. rhodococcus* J1 每年可生产 30000 多吨丙烯酰胺。这是利用微生物细胞生产化学试剂的第一例成功事件。此外,红球菌也可用来进行腈水解酶的生产,目前的研究主要集中在腈水解酶应用上。利用腈水解酶也可生产一系列的其它化合物,如丙烯酰胺及其他各种酰胺,具有高产性和较高的专一性,在工业上可广泛应用。

4.2 生物表面活性剂和生物絮凝剂 红球菌属的细菌对许多化合物有转化及降解作用,利用这一特性,可利用它来生产生物表面活性剂及生物絮凝剂。表面活性分子中有亲水性和疏水性两种基团,因此可在油相与水相间移动。表面活性剂与生物降解的关系主要有 3 点: a. 细胞表面活性物如枝菌酸,可使红球菌粘附在亲水界面; b. 活性物质可降低界面的表面张力,从而使亲水性化合物更易进入菌体细胞; c. 胞外活性物可驱散亲水性化合物,这就增加了菌体的侵入面。据报道,红球菌产生的表面活性物,与现有的人工合成活性物相比,其效率更高,降解力也更强,而毒性则更低。

R. erythropolis 能产生絮凝物质,对许多悬浮物产生絮凝作用。这些絮凝物由多肽和脂类聚集而成,包括含枝菌酸的糖脂,有助于废水或废物处理中悬浮物的清除。

4.3 生物去污 从生物去污的角度来看,红球菌属也是非常重要的一个属。在自然条件下,红球菌可在污染的环境中存活,因此可作为生物去污的接种介体。Sorkhoh (1995)、Koronelli (1996) 和 Christofi (1998) 利用红球菌降解油污染物均获得了很好的效果。

生物反应器可用于降解废水中的有毒化合物,近年来已有了很大发展,而红球菌在这一方面有着重要作用。可被红球菌降解的污染物包括烃类化合物、氯化烃、芳香烃、硝基芳香化合物以及氯化多环芳香烃(如聚氯联苯)。如 2,4-二硝基苯酚,它对细胞线粒体中的氧化磷酸化能产生解偶联作用,因此对暴露在污染环境的人会产生二硝基苯酚毒害。而 *R. koreensis* 能利用二硝基苯酚作为碳氮源,从而达到降解目的。另外,吡啉是工业和实验中常用的一种溶剂,也是一种对人体有致癌作用的化合物,由于它在水中有很高的溶解度,且在自然环境中的流动性很强,因此对人体健康危害很大。*R. pyrinivorans* 对吡啉有很强的降解作用。其它如重氮基噻吩(DBT),是燃料中的主要的含硫化合物,对酸雨的形成有很大影响,菌株 IGTS8 可将 DBT 脱硫转变成 2-羟基基苯,从而减少了燃烧放出的硫量。

重金属离子,包括放射性金属的积累是环境污染的另一污染源。红球菌在除去废物尤其是聚合物中重金属方面起着重要作用。Tomiooka 发现两种红球菌株可积累铯离子,从而减少了污染。

4.4 其他应用 此外,红球菌的生活环境中常含有碳氢化合物。由于红球菌可氧化土壤及地下水中的气态烷烃,因而可作为碳氢化合物沉积的指示物应用于原油勘探。还有人提出在食品工业中应用红球菌。除了红球菌的胆固醇氧化酶,*R. fascians* 也成为了研究对象,因为它能降解柠檬苦素(果汁中的一种苦味化合物)。Iborra 等人(1994)发现,利用 *R. fascians* 可以增加苦味果汁的香味。

5 红球菌属研究中存在的问题及未来研究趋势

红球菌的研究在很多领域都是非常有意义的。尽管与红球菌有关的许多微生物过程尚未转化成成型的工业生物技术,但利用红球菌进行丙烯酰胺生产成功显示了它的应用前景。红球菌的生物降解去污能力在环境污染的预防与治理生物技术上也将会有很大的应用前景。此外在医药方面,随着免疫缺陷个体数量的增加,*R. equi* (可能还有其他菌株)在医学上的重要性也将会上升。

然而,要想获得更多关于红球菌在环境和医学上的信息,就必须改进红球菌属的鉴定方法,这也有助于从菌株获取更多具商业价值的特征。对细菌的分类研究,20世纪60年代从表观水平深入到了细胞水平,70年代又进入了化学分类时期。80年代以来,随着分子生物学和遗传学研究的深入开展,诸如 DNA G+C mol%、DNA-DNA 体外分子杂交、16S rRNA 序列分析等分子生物学分类的内容也逐渐成为革兰氏阳性细菌分类学中的重要特征。由于形态和化学特征的相似性,植物病原细菌包括红球菌属细菌在分类上一直都有很大争议。传统的形态和生理生化方法得出的分类结果可能在基因水平上不能得到证实,而植物病原细菌的现行分类体系仍有相当一部分是沿用过去的名称。因此,改进分类方法,对红球菌进行更科学的分类,同时获取和利用一些特征,有待于科学工作者的进一步研究。

参考文献

- [1] Bell K S, Philp J C, Aw D W J, *et al.* Journal of Applied Microbiology, 1998, **85**: 195 ~ 210.
- [2] Briglia M, Rainey F A, Stackebrandt E, *et al.* International Journal of Systematic Bacteriology, 1996, **46** (1): 23 ~ 30.
- [3] Yoon J H, Lee J S, Shin Y K, *et al.* International Journal of Systematic Bacteriology, 1997, **47** (3): 904 ~ 907.
- [4] Yoon J H, Kang S S, Cho Y G, *et al.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, **50**: 2173 ~ 2180.
- [5] Yoon J H, Cho Y G, Kang S S, *et al.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, **50**: 1193 ~ 1201.
- [6] Tindall B J, Euzéby J P. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2001, **51**: 255 ~ 256.
- [7] Rainey F A, Klatte S, Kroppenstedt R M, *et al.* International Journal of Systematic Bacteriology, 1995, **45** (1): 32 ~ 36.
- [8] 任欣正主编. 植物病原细菌的分类和鉴定. 北京: 农业出版社, 1994. 210 ~ 211.
- [9] Rahiman H, Zarei A. Iranian Journal of Plant Pathology, 1998, **34** (3/4): 197 ~ 212.
- [10] 郭坚华, 蔡永健, 陈永芳, 等. 微生物学通报, 2002, **29** (1): 74 ~ 80.
- [11] Temmerman W, Vereecke D, Dreesen R, *et al.* Journal of bacteriology, 2000, 5832 ~ 5840.
- [12] Eason J R, Jameson P E, Bannister P. Plant Pathology, 1995, **44** (1): 141 ~ 147.
- [13] Eason J R, Morris R O, Jameson P E. Plant Pathology, 1996, **45** (2): 323 ~ 331.
- [14] Crespi M, Vereecke D, Temmerman W, *et al.* Journal of Bacteriology, 1994, **176** (9): 2492 ~ 2507.
- [15] Stange R R J R, Jeffares D, Young C, *et al.* Plant Pathology, 1996, **45** (3): 407 ~ 417.