

螺原体的分类及其生物多样性研究进展

于汉寿, 刘淑园, 阮康勤, 陈永萱, 王志伟

(南京农业大学, 农业部农业环境微生物工程重点开放实验室, 南京 210095)

摘要:螺原体(spiroplasma)是基本形态为螺旋形,无细胞壁,具有滤过性,能独立生活的一类原核微生物,是研究生物的运动、代谢及性比生物作用机理的重要模式生物。自从1973年建立了螺原体属(*Spiroplasma*)以来,已从许多昆虫等节肢动物、植物中分离到大量的螺原体,根据血清学特性目前发现的螺原体被分为34个血清组(包括15个血清亚组),并已确立了37个螺原体种。目前螺原体的分类采用的是多相分类法,主要根据形态学、生理生化、血清学以及系统发育学特性进行分析。螺原体具有丰富的生物多样性,它们与宿主的相互关系包括共生、互生和致病3种。在我国开展螺原体的资源调查和生物多样性研究将有助于充分认识和利用这类重要的生物资源。

关键词:螺原体;分类;生物多样性

中图分类号:Q939.34 **文献标识码:**A **文章编号:**0001-6209(2009)05-0567-06

螺原体(spiroplasma)是一类基本形态为螺旋形的无细胞壁的原核微生物,也是能独立生活和自我复制的最小及最简单的生命形式之一。螺原体直径一般为100 nm~250 nm,菌体长度约2~5 μ m,没有鞭毛,在液体培养基中能以旋转、波动和屈伸的方式运动。螺原体在适当的固体培养基上可形成煎蛋形或颗粒状菌落。目前绝大多数螺原体分离自昆虫和植物,有些螺原体是动物、植物的病原菌,如螺原体可导致蜜蜂爬蜂病和“五月病”(May disease)、虾蟹颤抖病(tremor disease)、柑桔僵化病(citrus stubborn)、玉米矮缩病(corn stunt)等,对养蜂业、水产养殖业和农业生产造成严重影响^[1-3]。本文就螺原体的分类和生物多样性方面的研究进行简要概述。

1 螺原体的分类

1.1 螺原体的分类现状

螺原体的分类地位为:细菌域(Bacteria)—厚壁菌门(Firmicutes)—柔膜菌纲(Mollicutes)—虫原体目

(Entomoplasmatales)—螺原体科(Spiroplasmataceae)—螺原体属(*Spiroplasma*)。1967年,国际细菌学分类委员会(the International Committee on Systematic Bacteriology, ICSB)提出了支原体目分类的最低标准(the minimal standard),随后该标准在1972年和1979年得到修订;1995年,ICSB提出新的螺原体分类的最低标准^[4],但该标准目前也正在进一步修订中。

根据最低标准,一个3次纯化后的分离物如果抗青霉素(500 U/mL)且仅靠单层膜包裹整个细胞,则属于细菌域厚壁菌门中的柔膜菌纲;如果它还具有螺旋性和运动性,则属于虫原体目中的螺原体科;而分离物在螺原体属内地位的确定则取决它与其它标准菌株之间的血清学反应,如代谢抑制(metabolism inhibition, MI)试验、菌体变形(deformation, DF)试验、生长抑制(growth inhibition, GI)试验等。

在2004年召开的国际原核生物分类委员会上提出螺原体多相分类(polyphasic taxonomy)的概念,

基金项目:国家自然科学基金(30870002)

作者简介:于汉寿(1964-),男,江苏人,副教授,博士,研究方向为微生物资源与分子生态。Tel/Fax: +86-25-84395531; E-mail: yuhans@njau.edu.cn

收稿日期:2008-10-27;修回日期:2008-12-16

螺原体的多相分类主要利用表型(如形态特征、生理学特征、生物化学特性)、基因型(如 G+C 含量、rDNA 序列同源性、DNA-DNA 杂交、相关质粒分析、DNA 指纹图谱分析等)及系统发育学信息,从而准确描述分离物和已鉴定菌株之间的关系,有效区分亲缘关系较近的菌株^[5]。

螺原体多相分类的核心是系统发育学分析。Gasparish 等利用 16S rDNA 对 34 个血清组的螺原体构建系统发育树,发现其结果与早期的血清学结果一致,为利用 16S rDNA 序列分析取代经典的血清学方法奠定了基础^[5-6]。然而,16S rDNA 非常保守,如组 和组 16S rDNA 的同源性大于 99%,这就给区分不同的亚组带来了很大的困难。Regassa 等人对 16S-23S rDNA 间隔区(intergenic space, ITS)序列进行分析,发现利用 ITS 序列构建的系统发育树能较好地地区分不同亚组,而且其结果也与血清学的结果一致,因此在 16S rDNA 不能较好地地区分不同亚组的情况下,利用 ITS 序列进行分析无疑是一个较好的选择^[6]。但如何建立一个能反应螺原体相互之间的亲缘关系并且方便实用的分类系统仍是当前迫切需要解决的问题。

1.2 以血清学分析为基础的螺原体分类中存在的问题

由于螺原体菌体小、结构简单、形态多变,1979 年 Davis 等根据血清学研究结果将几个植物和昆虫螺原体分成血清组(serological group)。主要套用其它支原体的血清学方法,将没有血清学交叉反应的菌系分成不同组,同组中又据血清学交叉程度分成亚组,确定了血清学分组的基本原则,其后多次对螺原体种的划分标准进行了修订^[7]。目前,根据血清学分组原则,将螺原体分为 34 个血清组(包括 15 个血清亚组)。尽管一些血清组和血清亚组的菌株在血清学试验的基础上借助形态观察、DNA-DNA 杂交、(G+C) mol%, 16S rDNA 序列及 ITS 序列特征等结果被定名为种,但很多血清组内螺原体的分类地位仍未确定。血清组、血清亚组的分类系统与国际通用的“界门纲目科属种”分类框架也不统一,容易造成混淆,各血清组间亲缘关系远近变幅很大,有时不稳定,而且在实际应用中需要将目标菌株与已有的螺原体不同血清组及亚组典型成员进行血清学特性比较。由于没有螺原体属内全部血清组的标准菌株或其抗血清,很多实验室难以实施,且比较烦琐复杂,以至于从 1999 年到现在,虽然在不同生境中分离得到 1000 多个螺原体菌系^[8],但只在 2005 年发

表了 3 个新种,多数菌系的分类地位尚未确定。而且由于试验和描述不完全符合现有螺原体新种确定的最低标准,其中 2 个新种(*S. atrichopogonis* 和 *S. leucomae*)最近还遭到质疑^[9]。

2 螺原体的生物多样性

2.1 螺原体的宿主多样性和宿主特异性

绝大多数螺原体分离自昆虫和扁虱,其中包括鞘翅目、双翅目、半翅目、同翅目、膜翅目、鳞翅目、蜻蜓目及蜱螨类。除此之外,植物和高等的无脊椎动物也是螺原体的宿主,但是分离率较低^[1]。在螺原体与宿主(特别是节肢动物)长期共进化过程中由于营养、微生境以及其它生态因子的共同作用决定了螺原体的生物多样性。

无论是寄生、互生还是共生,螺原体属内的所有成员与它们宿主之间的关系都表现较强的专化性^[5]。由于复杂的传播循环,寄生于植物筛管/昆虫介体内的螺原体比单纯寄生于昆虫体内或植物表面的螺原体具有更严格的宿主特异性。同样,性比螺原体的宿主特异性也较其它螺原体强。螺原体如何附着并穿过宿主昆虫的组织目前还不清楚,通过对螺原体特殊形态的观察,发现它具有尖端结构和纤毛状结构,这可能与螺原体在宿主细胞中的定位相关^[10-11]。另外,螺原体 SARP1 蛋白也与侵入宿主昆虫的中肠细胞相关^[12-13]。

2.2 螺原体对宿主的影响

目前分离到螺原体的宿主主要是节肢动物昆虫和植物,螺原体和宿主之间的关系可分为共生(mutualism)、互生(commensalism)和致病(pathogenicity)3 种^[1]。

2.2.1 螺原体与宿主共生或互生:除部分致病螺原体外,大多数螺原体与宿主的关系为互生或共生。在昆虫宿主体内,螺原体通常接触中肠上皮细胞,对宿主并没有明显的不利作用。导致玉米矮化病的螺原体 *S. kunkelli* 和传播介体叶蝉 *Dalbulus maidis* 的关系是螺原体和宿主互利关系的典型例子,*S. kunkelli* 能够增强叶蝉抗低温的能力;反之,在缺乏玉米的冬天,叶蝉能够为 *S. kunkelli* 提供营养^[14]。

从一些植物的花表也能分离到螺原体^[15-16],这些螺原体对植物似乎没有不良影响。目前一般观点认为,花上螺原体可能是携带螺原体的昆虫在取食花蜜或花粉时留下的,花仅是作为定居场所在昆虫传播中起作用。但这些螺原体从哪里来?在自然界中如何传播以及与一些昆虫的关系如何?螺原体是

否在植物花上增殖?是否进入植物体内?对植物到底产生什么作用?这些问题目前尚不很清楚。

2.2.2 螺原体的致病性:部分螺原体是动物和植物的病原菌,如与节肢动物(主要为昆虫)、甲壳类动物,甚至与脊椎动物的一些疾病有关。

蜜蜂螺原体 *S. melliferum* 能引起春季蜜蜂大量死亡,在法国 *S. apis* 引起蜜蜂“五月病”(May disease)。螺原体能穿过蜜蜂的中肠屏障到达淋巴组织,并在淋巴组织内大量繁殖从而使蜜蜂死亡。除蜜蜂外,在其它多种昆虫上也分离到螺原体,但是大多数昆虫螺原体对宿主影响的研究不多或很不深入^[1]。

在植物螺原体中发现 3 种螺原体对植物致病,分别是 *S. citri*, *S. kunkelii* 和 *S. phoeniceum*。它们主要存在于植物筛管部和吸食植物汁液的昆虫体内,这些昆虫只是螺原体传播的媒介,绝大多数植物病原性的螺原体对介体昆虫并不致病。目前,螺原体对宿主植物致病的分子机制已成为螺原体学研究的热点。*S. kunkelii* 和 *S. citri* 的基因组计划正在进行中^[17],已发现几个与螺原体致病性相关的基因,如螺原体 Sc76 基因、螺旋蛋白基因、螺原体吸附相关蛋白基因、果糖利用基因等^[12,18]。

S. mirum 能引起新生乳鼠的白内障(suckling mouse cataract, SMC),对神经系统有一定的损害。还有报道在患白内障婴儿的晶状体组织中发现有螺原体存在^[19]。Bastian 等报道螺原体还与人和动物的海绵状脑病有关^[20],然而在患瘙痒症的仓鼠中却未能扩增出螺原体的 16S rDNA^[21]。

2.2.3 螺原体对昆虫的杀雄作用:螺原体对昆虫致病的另一种模式是导致宿主性别失调,是一种性比生物(sex ratio organism, SRO)。SRO 螺原体能引起被侵染雌性果蝇个体后代中雄性个体的死亡,这种螺原体能经过母体传播。其中研究较多是 *S. poulsonii*,该螺原体可导致热带果蝇 *Drosophila willistoni* 的性比失调^[22]。最近, Montenegro 等从 *D. melanogaster* 体内也分离到造成其性比失调的螺原体^[23],由于 *D. melanogaster* 是基因组研究的模式生物,从而有助于从分子角度研究螺原体导致宿主性别失调的机制。螺原体还与另外一种微生物立克次体(Rickettsia)——沃尔巴克氏体(Wolbachia)一起共生在节肢动物体内,调控宿主的生殖行为^[24]。另外,螺原体还能造成甲虫 *Adalia bipunctata*^[25]、*Harmonia coccinellid*、蝴蝶 *Danaus chrysippus*^[26] 性比失调。所以研究昆虫螺原体,对人们进一步认识自然

界中生物的生殖规律、遗传多样性乃至新型生物防治方法都有重要的理论和实践意义。

2.3 螺原体的物种多样性

自 1973 年第一个螺原体种 *Spiroplasma citri* 被发现并定名后,目前已命名 37 个螺原体种(表 1),更多的螺原体菌系(包括已确定的其它血清组或亚组中的螺原体)正在详细研究中。调查还表明螺原体存在明显的地理分布特征,如在北美洲,随着纬度的降低,螺原体的生物多样性越加丰富^[8]。我国地域辽阔,自然生态复杂,有着多种多样的微生物赖以生存的条件,是世界上微生物资源最丰富的国家之一。目前本课题组已经从蜂、蝇、蚊中分离到多株螺原体,因此只要进行广泛的调查,一定能得到丰富的原产于我国的螺原体资源。

3 我国螺原体的研究概况

我国有关螺原体的研究主要集中在 20 世纪 80 年代和 90 年代初。1988 年陈永萱教授等首次从患“爬蜂病”的蜜蜂体内分离到螺原体 CH1,对其基本生物学性状、致病性和血清学特性进行了较为详细的研究,并将该分离菌株鉴定为 *S. melliferum*^[27],从此揭开了国内螺原体研究的序幕。此后还从油菜、紫云英、小旋花和白三叶草的花表分离到 18 个分离物,其中从小旋花(*Calystegia hederacea*)分离物 CCH 被鉴定为新种(*Spiroplasma chinense* Guo),属于血清组^[15]。此外,陈永萱等人还利用淋巴细胞杂交瘤单抗技术获得蜜蜂螺原体单克隆抗体,提高了 ELISA 法检测螺原体的灵敏度和特异性。

最近,我们从患“爬蜂病”的蜜蜂、其它昆虫(如蚊、蝇等)以及 80 多种植物花中分离得到 10 多株螺原体,根据这些螺原体菌株的形态学、运动性、生物学特性及系统发育学特征,推断分离自红花酢浆草(*Oxalis corymbosa*)的螺原体 CRW-1 极有可能是一个新种^[19,28]。

2005 年王文教授等首次从患“颤抖病”的中华绒螯蟹和虾体内发现一种新型致病螺原体^[3,29]。这是国际上首次从植物和昆虫以外的水生生物中发现螺原体,引起了国内外同行的广泛关注和重视,对螺原体的宿主范围和生态学研究都具有重要意义。

我国在动物支原体(mycoplasma)和植原体(phytoplasma)方面的研究分别开始于 20 世纪 30 年代和 50 年代,虽然起步较晚,但发展速度令人瞩目,在某些领域已达到当今国际水平,特别是在猪、禽及人支原体病的快速诊断,疫苗创制与生产等方面取

表 1 已命名的螺原体种类及模式菌株(按所属血清组排列)

Table 1 Spiroplasma species and representative strains by serogroup ¹				
Serogroup ²	Binomial name	Type strain ³	Host (s)	Disease
F1	<i>Spiroplasma citri</i>	Maroc- R8A2 (27556)	Dicots ,leafhoppers	Citrus stubborn
-2	<i>S. melliferum</i>	BC-3 (33219)	Honey bees	Honeybee spiroplasmosis
-3	<i>S. kunkelii</i>	E275 (29320)	Maize ,leafhoppers	Corn stunt
-6	<i>S. insolitum</i>	M55 (33502)	<i>Eristalis flies</i> ,flowers	NK ⁴
-8	<i>S. phoeniceum</i>	P40 (43115)	<i>Catharanthus roseus</i>	Periwinkle disease
-9	<i>S. penaei</i>	SHRIMP (BAA-1082)	<i>Penaeus vannamei shrimp</i>	Shrimp disease
	<i>S. poulsonii</i>	DW-1 (43153)	<i>Drosophila</i>	Sex ratio trait
	<i>S. floricola</i>	23-6 (29989)	Insects ,flowers	Beetle “ lethargy ”
	<i>S. apis</i>	B 31 (33834)	Bees ,flowers	May disease
	<i>S. mirum</i>	SMCA (29335)	Rabbit ticks	SMC
	<i>S. ixodetis</i>	Y32 (33835)	<i>Ixodes pacificus</i> ticks	NK
	<i>S. monobiae</i>	MQ-1 (33825)	<i>Monobia</i> wasps	NK
-1	<i>S. syrophidicola</i>	EA-1 (33826)	<i>Eristalis arbustorum</i> flies	NK
-2	<i>S. chrysopicola</i>	DF-1 (43209)	<i>Crysops</i> sp. flies	NK
	<i>S. clarkii</i>	CN-5 (33827)	<i>Cotinus</i> beetles	NK
	<i>S. culicicola</i>	AES-1 (35112)	<i>Aedes</i> mosquitoes	NK
	<i>S. velocicrescens</i>	MQ-4 (35262)	<i>Monobia</i> wasps	NK
	<i>S. diabroticae</i>	DU-1 (43210)	<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	NK
XIII	<i>S. sabaudiense</i>	Ar 1343 (43303)	<i>Aedes</i> mosquitoes	NK
XIV	<i>S. corruscae</i>	EC-1 (43212)	<i>Ellychnia corrusca</i> ,horse flies	NK
-1	<i>S. cantharicola</i>	CC-1 (43207)	Cantharid beetle	NK
	<i>S. turonicum</i>	Tab4c (700271)	Horse fly	NK
	<i>S. litorale</i>	TN-1 (43211)	<i>Tabanus nigrovittatus</i>	NK
	<i>S. lampyridicola</i>	PUP-1 (43206)	<i>Photuris pennsylvanicus</i>	NK
	<i>S. leptinotarsae</i>	LD-1 (43213)	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	NK
	<i>S. taiwanense</i>	CT-1 (43302)	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	NK
XIII	<i>S. gladiatoris</i>	TG-1 (43525)	<i>Tabanus gladiator</i>	NK
XV	<i>S. chinense</i>	CCH (43960)	<i>Calystegia hederaceae</i>	NK
	<i>S. diminutum</i>	CUAS-1 (49235)	<i>Culex mosquito</i>	NK
	<i>S. alleghenense</i>	PHLS-1 (51752)	Scorpionfly	NK
	<i>S. lineolae</i>	TALS-2 (51749)	Horse fly	NK
	<i>S. platyhelix</i>	PALS-1 (51748)	Dragonfly	NK
	<i>S. montanense</i>	HYOS-1 (51745)	Horse fly	NK
	<i>S. helicoides</i>	TABS-2 (51746)	Horse fly	NK
XIII	<i>S. tabanidicola</i>	TAUS-1 (51747)	Horse fly	NK
Ungrouped ⁵	<i>S. atrichopogonis</i>	CNAT3597 (BAA-520)	Biting midge	NK
Ungrouped	<i>S. leucomae</i>	SMA(BAA-521)	<i>Leucoma salicis</i>	NK

¹ Table modified from Regassa *et al.* (1). ² Serogroups are designated by Roman numerals; subgroups are indicated by hyphenated numbers. ³ Common strain name (American Type Culture Collection (ATCC) strain reference number). ⁴ NK, none known. ⁵ No group number yet assigned to this serologically distinct species.

得了突破性进展^[2,30]。但是对于同样属于柔膜菌纲的螺原体 (spiroplasma) 的研究很少,研究力量十分薄弱,除王文教授等研究虾蟹新型致病螺原体取得重大突破以及本实验室进行蜜蜂等昆虫和植物花螺原体的研究外,其它几乎很少有人涉及。然而仅从已有的工作(在蜂、蚊、蝇等昆虫、植物花、虾蟹等水生动物都分离到螺原体)就可以看出,我国具有丰富的螺原体资源,而且有些资源是我国所特有的^[15,27,29]。

4 展望

螺原体由于缺乏细胞壁,基因组小,结构简单,

形态具有多样性,生物合成和代谢能力有限等特点,非常适宜作生物膜和细胞运动、骨架等细胞生物学基础问题的研究模型^[31-32]。调查螺原体在自然界中的分布、螺原体的宿主类型,研究螺原体与其它生物的相互关系将有助于人们充分认识和利用这类重要的生物资源。在螺原体的分类学研究中,目前研究者们已经试图选用 16S rDNA 和 ITS 以外的其它基因或序列来进行螺原体的系统发育学研究^[29]。随着生物基因组学和分子遗传学方面的研究进展,螺原体的分类系统将更加完善。

螺原体的存在与其宿主有着密切关系,特别是

昆虫等节肢动物。我国地域广阔,环境复杂多样,跨寒温带、温带、暖温带、亚热带、热带,同时我国地理环境复杂多样,长期的适应和隔离进化形成许多地方特有的节肢动物种类,螺原体与昆虫在漫长的进化过程中形成了一种协作关系,调查、研究这类动物中的螺原体,能更好地了解螺原体的起源。研究昆虫螺原体也可对一些有害昆虫的生物控制提供新的思路。而在我国昆虫螺原体的研究中,除蜜蜂外其它昆虫螺原体的研究还是空白,应尽快进行我国螺原体资源的调查和收集。

参考文献

- [1] Regassa LB, Gasparich GE. Spiroplasmas: evolutionary relationships and biodiversity. *Frontiers in Bioscience*, 2006, 11:2983 - 3002.
- [2] 曹玉璞,叶元康. 支原体与支原体病. 北京:人民卫生出版社,2000.
- [3] Wang W, Gu W, Ding ZF, et al. A novel spiroplasma pathogen causing systemic infection in the crayfish *Procambarus clarkii* (Crustacea: Decapod), in China. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, 249(1):131 - 137.
- [4] ICSB (International Committee on Systematic Bacteriology). Subcommittee on the Taxonomy of Mollicutes: Revised minimal standards for descriptions of new species of the class Mollicutes (Division Tenericutes). *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1995, 45:605 - 612.
- [5] Regassa LB, Stewart KM, Murphy AC. Differentiation of group spiroplasma strains with sequences of the 16S-23S rDNA intergenic spacer region. *Canadian Journal of Microbiology*, 2004, 500:1061 - 1067.
- [6] Gasparich GE. Spiroplasmas: evolution, adaptation and diversity. *Frontiers in bioscience*, 2002, 7:619 - 640.
- [7] Brown DR, Bradbury JM. International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the Taxonomy of Mollicutes (Minutes of the meetings, 8, 9 and 14 July 2006, Cambridge, United Kingdom). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57:192 - 196.
- [8] Whitcomb RF, Tully JG, Gasparich GE, et al. Spiroplasma species in the Costa Rican highlands: implications for biogeography and biodiversity. *Biodiversity and Conservation*, 2007, 16:3877 - 3894.
- [9] Whitcomb RF. Evolution and devolution of minimal standards for descriptions of species of the class Mollicutes: analysis of two Spiroplasma descriptions. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57:201 - 206.
- [10] Ozbek E, Miller SA, Meulia T, et al. Infection and replication sites of *Spiroplasma kunkelii* (Class: Mollicutes) in midgut and Malpighian tubules of the leafhopper *Dalbulus maidis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2003, 82:67 - 75.
- [11] Ammar el-D, Fulton D, Bai X, et al. An attachment tip and pili-like structures in insect- and plant-pathogenic spiroplasmas of the class Mollicutes. *Archives of Microbiology*, 2004, 18:97 - 105.
- [12] Yu J, Wayadande AC, Fletcher J. Spiroplasma citri surface protein P89 implicated in adhesion to cells of the vector *Circulifer tenellus*. *Phytopathology*, 2000, 90:716 - 722.
- [13] Berg M, Melcher U, Fletcher J. Characterization of *Spiroplasma citri* adhesion related protein SARPI, which contains a domain of a novel family designated sarpin. *Gene*, 2001, 275:57 - 64.
- [14] Ebbert MA, Nault LR. Improved overwintering ability in *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae) vectors infected with *Spiroplasma kunkelii* (Mycoplasmatales: Spiroplasmataceae). *Environmental Entomology*, 1994, 23:634 - 644.
- [15] Guo YH, Chen TA, Whitcomb RF, et al. *Spiroplasma chinense* sp. nov., from flowers of *Calystegia hederacea* in China. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1990, 40:421 - 425.
- [16] 于汉寿,阮康勤,纪燕玲,等. 3种植物花螺原体的分离及其基本特性. *微生物学报* (Acta Microbiologica Sinica), 2008, 48(9):1141 - 1146.
- [17] Bai X, Jianhua Z, Holford IR, et al. Comparative genomics identifies genes shared by distantly related insect-transmitted plant pathogenic mollicutes. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, 235:249 - 258.
- [18] Andre A, Maucourt M, Moing A, et al. Sugar import and phytopathogenicity of *Spiroplasma citri*: glucose and fructose play distinct roles. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2005, 18:33 - 42.
- [19] Lorenz B, Schroeder J, Reischl U. First evidence of an endogenous *Spiroplasma* sp. infection in humans manifesting as unilateral cataract associated with anterior uveitis in a premature baby. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2002, 240:348 - 353.
- [20] Bastian FO, Sanders DE, Forbes WA, et al. *Spiroplasma* spp. from transmissible spongiform encephalopathy brains or ticks induce spongiform encephalopathy in ruminants. *Journal of Medical Microbiology*, 2007, 56:1235 - 1242.
- [21] Alexeva I, Elliott EJ, Rollins S, et al. Absence of spiroplasma or other bacterial 16S rRNA genes in brain tissue of hamsters with scrapie. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, 44(1):91 - 97.

- [22] Williamson DL, Sakaguchi B, Hackett KI, et al. *Spiroplasma poulsonii* sp. nov., a new species associated with male-lethality in *Drosophila willistoni*, a neotropical species of fruit fly. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999, 49:611 - 618.
- [23] Montenegro H, Solferini VN, Kłaczko LB, et al. Male-killing *Spiroplasma* naturally infecting *Drosophila melanogaster*. *Insect Molecular Biology*, 2005, 14:281 - 287.
- [24] Enigl M, Schausberger P. Incidence of the endosymbionts *Wolbachia*, *Cardinium* and *Spiroplasma* in phytoseiid mites and associated prey. *Experimental & Applied Acarology*, 2007, 42(2):75 - 85.
- [25] Hurst GD, Graf von der Schulenburg JH, Majerus TM, et al. Invasion of one insect species, *Adalia bipunctata*, by two different male-killing bacteria. *Insect Molecular Biology*, 1999, 8:133 - 139.
- [26] Jiggins FM, Hurst GD, Jiggins CD, et al. The butterfly *Danaus chrysippus* is infected by a male-killing *Spiroplasma* bacterium. *Parasite*, 2000, 120:439 - 446.
- [27] 陈永萱, 薛宝娣, 郭永红. 蜜蜂螺原体基本性状的研
- 究. 中国科学(B 辑) (*Scientia Sinica, series B*), 1988, 31(2):149 - 154.
- [28] 阮康勤, 周秀文, 张晶, 等. 蜜蜂螺原体的分离鉴定及致病性研究. 微生物学通报 (*Microbiology*), 2007, 34(4):695 - 699.
- [29] Bi KR, Gu W, Wang W. Sensitive and rapid detection of freshwater crustacean *Spiroplasmas* by ISRs- sequence-targeted species-specific primers. *European Food Research and Technology*, 2008, 99(1):57 - 65.
- [30] 邱宏, 吴移谋, 游晓星, 等. 生殖支原体脂质相关膜蛋白激活核因子 B 诱导人单核表达前炎症细胞因子及凋亡. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2007, 47(5):899 - 904.
- [31] Shaevitz JM, Lee JY, Fletcher DA. *Spiroplasma* swim by processive change in body helicity. *Cell*, 2005, 122:941 - 945.
- [32] Trachtenberg S. Shaping and Moving a *Spiroplasma*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2004, 7:78 - 87.

Advances in classification and biodiversity of spiroplasmas- A review

Hanshou Yu^{*}, Shuyuan Liu, Kangqin Ruan, Yongxuan Chen, Zhiwei Wang

(Key Laboratory of Microbiological Engineering of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: *Spiroplasma* spp. are helical, motile bacteria that lack cell wall and flagellum, and are enclosed within a single membrane with their genomes ranging from approximately 0.78 - 2.20 Mb in size, the smallest among known self-replicating prokaryotes. So they have been used as model organisms for studying movement, metabolisms and sex ratio. Currently, 34 serological groups are recognized; three of these groups encompass 15 subgroups of inter-related strains. To date, 37 species among all serogroups and subgroups have been given binomial names. Complete characterization of a new species involves numerous phenotypic and genotypic tests as outlined in the minimal standards document, including phylogenetic data and a reevaluated set of required phenotypic and genotypic tests. *Spiroplasma* spp. are most often found in association with insects and plants flowers, and the interactions of *Spiroplasma*/host can be classified as commensal, pathogenic or mutualistic. Investigation of spiroplasma resources in China and research on their biodiversity will undoubtedly improve our understanding of these important microbial resources.

Key words: *Spiroplasma*; classification; biodiversity

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30870002)

^{*} Corresponding authors. Tel/Fax: +86-25-84395531; E-mail: yuhans@njau.edu.cn

Received:27 October 2008 / Revised:16 December 2008