

# 紫色非硫细菌 *Rhodocista* 属一新分离株的鉴定 及其系统学研究

张德民 黄志勇 杨惠芳

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

**提 要:**从污水处理厂分离到一株紫色非硫细菌 3-p, 该菌株具避光性, 能形成孢囊, 具片层状光合内膜, 在波长 798 nm 处的吸收峰很低, 需硫胺素和维生素 B<sub>12</sub> 作生长因子。该菌株可以琥珀酸为碳源, 最佳生长温度为 34℃~41℃, 体内未发现 R 体结构, 醌类的主要成分是 Q-9。对菌株 3-p 的 16S rRNA 基因的分子系统学分析结果表明, 菌株 3-p 与世纪红菱菌 (*Rhodocista centenaria*) 关系最近, 相似性为 95%, 二者可归为同一属; 与 *Rc. centenaria* 的杂交结果表明, 二者的 DNA 相关性为 56%, 故可把 3-p 定为一个新种: 北京红菱菌 (*Rhodocista pekinense* sp. nov.)。

**关键词:**紫色非硫细菌, 北京红菱菌, 世纪红菱菌, 16S rDNA

**中图分类号:**Q939 **文献标识码:**A **文章编号:**0001-6209 (2000) 01-0014-20

光合细菌是一群非常重要的细菌, 是研究光合作用机理和光合作用进化起源的重要材料, 也可用作饵料、饲料、菌肥, 还可生产氢气、生物降解塑料和杀虫剂等, 并且在处理高浓度有机废水中起重要作用<sup>[1,2]</sup>。因此, 有关光合细菌的研究受到重视。但我国有关光合细菌资源的研究较少, 且都以表型特征的研究为主<sup>[3]</sup>。我们从北京市污水处理厂分离到一株光合菌, 对其进行了常规鉴定, 发现其与已发表的菌种有差异, 测定了其 16S rDNA 序列, 并作了系统学分析。结果表明该菌株应为 *Rhodocista* 属的一个新种。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株及其培养

菌株 3-p 来自北京市高碑店污水处理厂, 菌株 *Rhodospirillum centenum* (*Rhodocista centenaria*) WTSW strain ATCC 43720 由美国 Indiana 大学的 Carl Bauer 教授提供。AT 培养基参照文献[4], 但不加碳酸氢钠; ATY 培养基; AT 添加酵母膏; ATYP 培养基: AT 添加酵母膏和蛋白胨; ATB 培养基; AT 以丁酸盐为唯一碳源。厌氧光照培养条件为 33℃~38℃, 1000~2000lux; 黑暗生长温度试验使用温度梯度摇床。

### 1.2 形态结构观察及生理生化试验

光镜与电镜结合观察个体形态、鞭毛及光合内膜结构。活细胞吸收光谱测定参考 Hiraishi<sup>[5]</sup>用 HEWLETT PACKARD 1074 和 HITACHI 色谱仪分别测定 300~820nm 和 800~1200nm 的吸收光谱。生长因子、碳源、氮源及电子供体利用试验参考 Hiraishi [5],

**作者简介:**张德民(1964-)男, 河南省人, 辽宁师范大学生物系, 博士, 1999 年赴日本读博士后, 主要从事环境微生物学研究

**收稿日期:**1998-05-04, **修回日期:**1998-06-15

如无特殊说明均用 ATY 培养基。

### 1.3 DNA 提取、G+C mol%测定及 DNA 杂交

DNA 提取参照 Marmur<sup>[6]</sup>和林万明<sup>[7]</sup>所述方法并加以改进:菌株培养至对数生长期,用青霉素处理(500 $\mu$ /mL),5000r/min 离心收菌体,用溶菌酶裂解液(蔗糖 0.3mol/L, Tris-HCl 25mmol/L, EDTA 25mmol/L)洗涤细胞,重悬于溶菌酶裂解液中,溶菌酶(5mg/mL)37 $^{\circ}$ C 处理 1h, SDS(终浓度为 2%)60 $^{\circ}$ C 处理 1h;酚/氯仿/异戊醇抽提,氯仿抽提两遍,乙醇沉淀,搅出 DNA 丝,溶于 0.1SSC, RNase(100  $\mu$ g/mL)37 $^{\circ}$ C 处理 1 h, 酚/氯仿/异戊醇抽提,氯仿抽两遍,异丙醇沉淀,搅出 DNA 丝,溶于 0.1SSC。

G+C mol%测定采用热变性法<sup>[7,8]</sup>,以 *E. coli* K12 作对照。

DNA 杂交采用复性速率法<sup>[9]</sup>。

### 1.4 16S rRNA 基因的 PCR 扩增及测序

两个 PCR 引物分别是 27f:5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'和 1521r:5'-AAG-GAGGTGATCCAGCC-3',对应于 *E. coli* 16S rRNA 基因的第 7~27 个碱基和第 1525~1542 个碱基。PCR 产物纯化试剂盒来自 Promega 公司。PCR 产物的克隆用 pGEM-T Easy Vector System。质粒提取用 QIAGEN midi-prep columns 试剂盒,测序用 genomyxGL<sup>TM</sup>测序仪,并用 ABI373 荧光自动测序仪补测可疑碱基。

### 1.5 数据分析

序列排队用 CLUSTAL W program,进化距离的计算按照 PHYLIP program package 中的 DNADIST program,分支模式的重复性用 PHYLIP 的 SEQBOOT、DNADIST、Neighbor-Join、CONSENSE 分析,重复数为 100,进化树用 PHYLIP program package 中的 fitch 方法绘制。

### 1.6 醌类测定

根据阮继生等方法<sup>[10]</sup>,菌体冷冻干燥,氯仿-甲醇(2:1)抽提;以正己烷-乙醚(85:15)为展层剂,用 GF252 硅胶板薄层层析分离;在 252nm 的紫外灯下,将呈蓝色的条带刮下,溶于氯仿中,用 HEWLETT PACKARD 1074 高压液相色谱(HPLC)分析泛醌和单甲基萘醌,流动相为乙腈-丙二醇(75:25);用 Q10 试剂和标准菌株 *Rc. centenaria* 作标准。

## 2 结果

### 2.1 形态结构特征

菌株 3-p 革兰氏染色阴性;在 ATYP 培养基上,从杆形到弧形、S 形,在 AT 培养基上则呈大小一致的弧状,大小为 0.6~0.8 $\mu$ m $\times$ 0.8~1.5 $\mu$ m;出芽生殖,无荚膜,光合内膜片层状,位于细胞膜下,且平行于细胞膜(如图 1-a),运动非常活跃,有一很长的极生单鞭毛(图 1-b),在只有丁酸盐做碳源的情况下,黑暗好氧生长的细胞易形成孢囊(图 1-c),与 *Rc. centenaria* 相似,但没有发现 R 体结构。

### 2.2 色素

菌株 3-p 光照厌氧液体培养物为粉红色,菌体对直射光具避光性,可以在黑暗好氧条件下生长,黑暗好氧液体培养物近无色,光照厌氧及黑暗好氧生长的菌落均为粉红色。活细胞在 378、516、548、594、660、798 和 885nm 处有吸收峰(图略),表明该菌株含有细菌叶

绿素 a 和螺菌黄素。菌株 3-p 在 798nm 处的吸收峰很小,与 *Rhodospirillum rubrum* 和 *Rc. centenaria*<sup>[11]</sup> 相似。

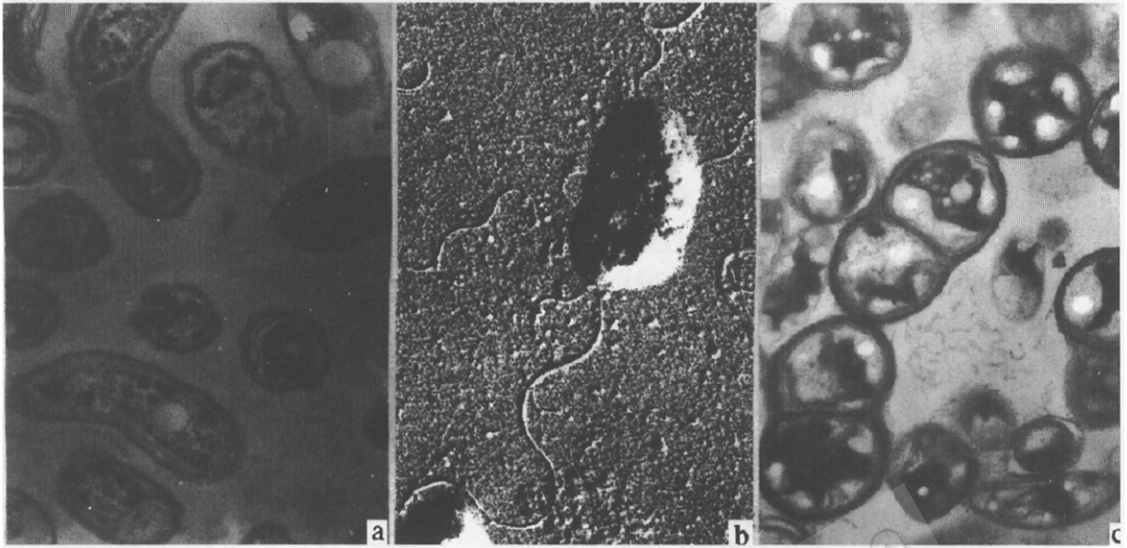


图 1 菌株 3-p 的电镜照片

Fig. 1 The electron micrograph of strain 3-p( $\times 40000$ )

a. The lamellar internal phototrophic membrane and the bud division;

b. The single polar flagellum strain 3-p; c. The cyst formed by strain 3-p.

### 2.3 生理生化特性

菌株 3-p 是兼性厌氧异养微生物,即可在光照厌氧条件下生长,也可在黑暗好氧条件下生长。

菌株 3-p 的最佳碳源为丙酮酸钠和乳酸钠,其次为乙酸钠、谷氨酸钠、天冬酸钠和琥珀酸钠,不能利用的碳源为苹果酸钠、柠檬酸钠、酒石酸钠、葡萄糖酸钠、苯甲酸钠、精氨酸钠、甲酸钠、葡萄糖、蔗糖、乙醇、丙三醇和甘露醇;能利用氢作电子供体,不能利用硫化钠和硫代硫酸钠作电子供体。

该菌的最佳光照厌氧和黑暗好氧条件下的最适生长温度均为 34℃~41℃,生长温度范围的 25℃~44℃。较高温度下,细胞呈细长弧状,较低温度下易形成极短的球杆菌。*Rc. centenaria* 的最佳光照厌氧生长温度为 40℃~42℃,最高温度为 47℃。

菌株 3-p 需要盐酸硫胺素和 B<sub>12</sub> 作生长因子,最适 pH 为 6.5~8.0,酵母膏对其生长有明显的刺激作用,在 3% NaCl 中不生长。

### 2.4 醌类及 DNA 相关性

菌株 3-p 含有的泛醌也与 *Rc. centenaria* 相似,以 Q-9 为主,含少量 Q-10,不含单甲基萘醌(图略)。菌株 3-p 基因组 DNA 的 G+Cmol% 含量为 68.8%,与 *Rc. centenaria* (68.6%~69.9%)<sup>[11]</sup> 一致。与标准菌株 *Rc. centenaria* ATCC 43720 的 DNA 杂交,根据复性率计算出杂交率为 56%。据此可把二者区分为不同的种。

### 2.5 系统学分析

用引物 27f 和 1525r 扩增菌株 3-p 的 16S rRNA 基因,与 *E. coli* 的 27~1524 的片段对应,其序列如图 2 所示。共 1436 个碱基,约占全基因的 97%,将该序列送入 RDP 数据

库<sup>[11]</sup>进行相似性分析,结果发现,在最相近的 30 个序列中,只有前 4 个为光合细菌,属于 *Rhodocista*,其余的 26 个序列都不是光合细菌的,分别属于 *Azospirillum*、*Caulobacter*、*Rhizobium*、*Bartomela*、*Magnetospirillum* 和 *Thiobacillus* 等属及 *Octopus spring microbial mat DNA type*。与 *Rhodocista* 属的相似性最高,在 1280 个左右的可比碱基中各序列间的碱基差别

如表 1 所示,3-p 与 *Rhodocista* 属四个序列的碱基差别在 19~27 个之间,而两个 *Rc. centenaria* 之间碱基数差别只有 7 个,*Rc. sp.* 和 *Rc. sp2* 之间则没有差别。从这 30 个序列中选取 *Rc. centenaria*、*Az. irakense*、*Az. sp. str. 4AZ*、*Az. amazonense* 的 4 个序列与 11 个紫

表 1 菌株 3-p 与 *Rhodocista* 属其他菌株的差别碱基数\*

Table 1 The number of different bases between 3-p and other strains of *Rhodocista*

	Rc. cen2	Rc. cen	Rc. sp.	Rc. sp2
3-p	25	27	19	21
Rc. cen2		7	19	20
Rc. sp.				0

\* Rh. *Rhodocista*; cen2, cen, *centenaria*; sp. sp2 undertermined species.

AACGAA CGCTGGCGGC AGGCCTAACA CATGCAAGTC GAACGAAGGC TTGGGCCTTA  
GTGGCGGACG GGTGAGTAAC ACGTGGGAAC GTGCCCTTGG GTTCGGGATA ACGTCTGGAA  
ACGGACGCTA ATACCGGATG CCCCTGCGG GGAAAGATTT ATGGCCTGAG GAGCGGCCCG  
CGTCGATTAG GTAGTTGGTG GGGTAATGGC CTACCAAGCC GACGATCAGT AGCTGGGCTG  
AGAGGATGAT CAGCCACACT GGGACTGAGA CACGGCCCAG ACTACTACGG GAGGCAGCAG  
TGGGGAATAT TGGACAATGG GCGGAACCTT GATCCAGCCA GGCCGCGTGA ATGATGAAGG  
CCTTCGGGTT GTAAAGCTCA TTCGCACGCG ACGATGATGA CGGTAGCGTG AGAAGAAGCC  
CCGGCTAAAT TCGTGCCAGC AGCCGCGGTA ATACGAAGGG GGCTAGCGTT GTTCGGACTT  
ACTGGGCGTA AAGGGCGCGT AGGCGGCCTT TCAAGTCAGG CGTGAAAGCC CCGGGCTCAA  
CCTGGGAAGT GCGCTTGAGA CTGTGAGGCT TGAGGTCCGG AGAGGTGGGT GGAATTCCCA  
GTGTAGAGGT GAAATTCGTA GATATTGGGA AGAACACCGG TGGCGAAGGC GGCCCACTGG  
ACGGATACTG ACGCTGAGGC GCGAAAGCGT GGGGAGCAA CAGGATTAGA TACCCTGGTA  
GTCCACGCCG TAAACGATGT CGGCTAGACG TTGGGGCTCT TAGAGCTTCG GTGTGCGCAGC  
TAACGCATTA AGCCGACCGC CTGGGGAGTA CGGCCGCAAG GTTGAAACTC AAAGGAATTG  
ACGGGGGCCC GCACAAGCGG TGGAGCATGT GGTTTAATTC GAAGCAACGC GCAGAACCTT  
ACCAACCCTT GACATGCCCT GGCCGCCCCA GAGATGGGGT TTTCTTTTCG GGGACAGGGA  
CACAGGTGCT GCATGGCTGT CGTCAGCTCG TGTCGTGAGA TGTGGGTTA AGTCCCGCAA  
CGAGCGCAAC CCCCCTGTC AGTTGCCATC ATTAAGTTGG GCACTCTGGC AGAACTGCCG  
GTGACAAGCC GGAGGAAGGC GGGGATGACG TCAAGTCCTC ATGGCCCTTA CGGGTGAGGC  
TACACACGTG CTACAATGGT GGTGACAGTG GGCAGCGACC ACGCGAGTGG AAGCGAATCT  
CCAAAAGCCA TCTCAGTTCG GATTGCACTC TGCAACTCGG GTGCATGAAG TTGGAATCGC  
TAGTAATCGC GGATCAGCAC GCCGCGGTGA ATACGTTCCC GGGCCTTGTA CACACGCCCC  
GTCACACCAT GGGAGTTGGC TTTACCCGAA GCCGGTGCGC TAACCGCAAG GAGGCAGCCG  
ACCACGGTAC GGTCAGCGAC TGGGGTGAAG TCGTAACAAG GTAGCCGTAG GGGAACTGCG

图 2 菌株 3-p 的 16S rRNA 基因序列

Fig. 2 The gene of 16S rRNA of strain 3-p

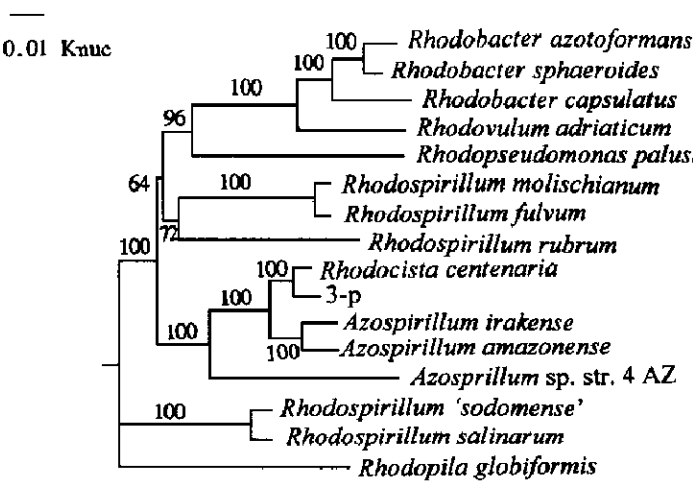


图 3 菌株 3-p 在原细菌门  $\alpha$  亚门中的系统学位置  
Fig.3 The phylogenetic position of strain 3-p in  $\alpha$ -subdivision of proteobacteria

色非硫细菌的 16S rDNA 序列进行系统学分析, 结果如表 2 和图 3 所示。菌株 3-p 与 *Rc. centenaria* 聚为一群, 二者的相似性为 95%, 遗传距离为 0.0154。据此, 可把 3-p 归于 *Rhodocista* 属。3-p 与其他紫色非硫细菌的相似性最近的也只有 83.7%, 而非光合细菌 *Az. irakense*, *Az. sp. str. 4AZ* 的相似性则分别为 92.4% 和 93%。从系统树上(图 3)也明显地看到, 3-p、*Rc. centenaria* 与 *Az. irakense*, *Az. sp. str. 4AZ*、*Az. amazonense* 聚成一个

大分支, 且重复性均为 100%, 而与其他光合菌则属于不同的分支。这也是伯杰氏手册第九版中紫色非硫细菌不再有科及目的分类单元的依据。

表 2 菌株 3-p 与 proteobacteria 的  $\alpha$  亚门中其他光合细菌及相关的非光合细菌的 16S rRNA 序列相似性进化距离\*

Table 2 The relatedness and the distance of strain 3-p and the other anoxygenic synthetic and non anoxygenic synthetic bacteria (including *Az. irakense*, *Az. sp. str. 4AZ*, *Az. amazonense*, ) in the  $\alpha$ -subdivision of proteobacteria

	3-p	Rc.cen	Rp.pal	Rb.azo	Rb.cap	Rb.sph	Rv.adr	Rs.ful	Rs.mol	Rs.rub	Rs.sai	Rs.sod	Az.ira	Az.sp4	Az.ama	Rp.glo
3-p		95.6	79.6	80.5	79.7	80.2	79.6	82.9	82.1	83.7	78.7	77.1	92.4	93.0	80.6	73.3
Rc.cen	0.0154		80.8	82.2	81.4	82.0	80.6	85.2	84.5	85.4	82.5	81.5	93.5	93.6	75.3	80.3
Rp.pal	0.1636	0.1593		81.7	81.1	81.9	80.2	82.7	81.7	81.3	80.9	78.6	82.0	82.1	69.5	77.5
Rb.azo	0.1471	0.1435	0.1546		92.3	97.8	90.9	83.6	82.4	82.8	80.9	78.8	79.9	79.7	68.5	72.6
Rb.cap	0.1525	0.1490	0.1572	0.0882		93.6	90.3	81.8	81.4	82.1	80.8	78.8	70.0	79.4	69.0	71.1
Rb.sph	0.1532	0.1467	0.1511	0.0176	0.0463		91.6	83.2	82.1	82.9	80.7	78.4	80.4	80.3	68.2	72.4
Rv.adr	0.1545	0.1532	0.1616	0.0756	0.0674	0.0688		81.9	81.2	82.0	79.6	77.5	69.2	78.8	68.1	70.7
Rs.ful	0.1295	0.1166	0.1470	0.1484	0.1616	0.1497	0.1544		97.1	86.2	82.9	80.4	84.2	85.2	72.8	80.2
Rs.mol	0.1322	0.1199	0.1496	0.1903	0.1588	0.1506	0.1556	0.0088		85.1	81.8	79.7	83.4	84.1	72.2	79.5
Rs.rub	0.1359	0.1298	0.1647	0.1608	0.1637	0.1618	0.1557	0.1202	0.1227		81.3	79.8	85.7	85.0	71.6	79.1
Rs.sai	0.1374	0.1300	0.1661	0.1489	0.1662	0.1506	0.1579	0.1429	0.1444	0.1543		95.0	82.4	82.6	70.2	81.1
Rs.sod	0.1369	0.1299	0.1755	0.1526	0.1661	0.1560	0.1573	0.1433	0.1456	0.1539	0.0133		80.3	81.1	69.0	80.0
Az.ira	0.0424	0.0420	0.1539	0.1633	0.1623	0.1588	0.1639	0.1327	0.1367	0.1366	0.1418	0.1416		95.9	76.0	76.6
Az.sp4	0.0446	0.0418	0.1491	0.1667	0.1685	0.1630	0.1682	0.1274	0.1322	0.1376	0.1381	0.1374	0.0253		76.1	76.4
Az.ama2	0.1121	0.1086	0.1831	0.1854	0.1852	0.1853	0.1814	0.1497	0.1500	0.1675	0.1695	0.1654	0.1221	0.1185		72.8
Rp.glo	0.1644	0.1556	0.1952	0.1977	0.2036	0.2004	0.2173	0.1593	0.1569	0.1782	0.1465	0.1415	0.1664	0.1646	0.1948	

\* Rc. cen, *Rhodocista centenaria* [13]; Rp. pal, *Rhodopseudomonas palustris* (D25312); Rb. azo, *Rhodobacter azotoformans* (D70846); Rb. cap, *Rb. capsulatus* (D16428); Rb. sph, *Rh. sphaeroides* (D16425); Rv. adr, *Rhodovulum adriaticum* (DD13476); Rs. ful, *Rhodospirillum fulvum* (M59065); Rs. mol, *Rs. molischianum* (M59067); Rs. rub, *Rs. rubrum* (D30778); Rs. sai, *Rsp. salinarum* (D14432); Rs. sod, *Rhodospirillum 'sodomense'* (M59072); Az. ira, *Azospirillum irakense* (X79737); Az. sp4, *Azospirillum sp. str. 4AZ* [13]; Az. ama, *Azospirillum amazonense* (X79742); Rp. glo, *Rhodopila globiformis* (59066).

### 3 讨论

*Rhodocista* 属已描述的种只有一个:即 *Rc. centenaria*。它是由 Favinger<sup>[11]</sup> 等人于 1989 年发现的,当时归为 *Rhodospirillum*。1991 年 Kawasaki<sup>[12]</sup> 等对其 16S rRNA 作了系统学分析,将其从 *Rhodospirillum* 属独立出来,变为一个新属。菌株 3-p 的表型特征及遗传特征将符合 *Rhodocista* 属特征:细胞弧形到螺旋型;具长的极生单鞭毛;革兰氏染色阴性;光合内膜片层状,且平行于细胞内膜;可光照微好氧生长或黑暗好氧生长;能形成抗逆性孢囊;含有叶绿素  $\alpha$  及螺菌黄素,在波长为 798 nm 处的吸收峰很低;醌类组成以 Q-9 为主。但菌株 3-p 又与 *Rc. centenaria* 有区别:前者可利用琥珀酸为碳源,最佳生长温度为 34℃~41℃,需硫胺素而不需生物素为生长因子;后者不能利用琥珀酸为碳源,最佳生长温度为 41℃~43℃,需生物素而非需硫胺素为生长因子;酵母膏对前者生长有明显的刺激作用,对后者作用则不明显;*Rc. centenaria* 菌体内有十分明显的 R-体结构,而 3-p 菌株中则找不到这种结构;*Rc. centenaria* 是从 55℃ 温泉中分离到的,而后者则是从污水处理厂回流池废水(水温约 20℃ 左右)中分离得到的。二者总 DNA 杂交只有 56% 的相关性及 16S rRNA 有 95% 的相似性更说明它们应是不同的种。故把 3-p 定为 *Rhodocista* 的一个新种,即北京红菱菌(*Rhodocista pekinense* sp. nov.)。

北京红菱菌(*Rhodocista pekinense* sp. nov.) 种的描述:细胞弧形到螺旋型,0.6~0.8  $\mu\text{m}$  × 0.8~1.5  $\mu\text{m}$ ;具长的极生单鞭毛;革兰氏染色阴性;光合内膜片层状,且平行于细胞内膜;可光照微好氧生长或黑暗好氧生长;能形成抗逆性孢囊;含有叶绿素  $\alpha$  及螺菌黄素,在 798nm 处的吸收峰很低;醌类组成以 Q-9 为主。可利用琥珀酸为碳源,其他可利用的碳源有:丙酮酸钠、乳酸钠、乙酸钠、谷氨酸钠、天冬酸钠和琥珀酸钠,不能利用的碳源为苹果酸钠、柠檬酸钠、酒石酸钠、葡萄糖酸钠、苯甲酸钠、精氨酸钠、甲酸钠、葡萄糖、蔗糖、乙醇、丙三醇和甘露醇;能利用氢气作电子供体,不能利用硫化钠和硫代硫酸钠作电子供体;最佳生长温度为 34℃~41℃;最适 pH 为 6.5~8.0;需盐酸硫胺素和 B<sub>12</sub> 作生长因子,酵母膏对其生长有明显的刺激作用,在 3% NaCl 中不生长;3-p 菌株体中则找不到 R-体结合;DNA 的 G+C% 含量为 68.8% (模式菌株 3-p 从北京市污水处理厂回流池废水(水温约 20℃ 左右)中分离得到)。

### 参 考 文 献

- [1] Sasikala C, Remana C V. *Adv Appl Microbiol*, 1996, 41: 173~226.
- [2] Sasikala C, Ramana C V. *Adv Appl Microbiol*, 1996, 41: 227~278.
- [3] 姚竹云,张肇铭.应用与环境生物学报,1996,2(1):84~89.
- [4] Imhoff J F, Truper H G. The Genus *Rhodospirillum* and related genera. In: Truper A, *et al.* eds. *The Prokaryotes*. 2nd. ed. Heidelberg: Springer-Verlag, 1992, 1: 2141~2155.
- [5] Hiraishi A, Muramatsu K, Urata K. *J Ferm Bioeng*, 1995, 79(1):39~44.
- [6] Marmur J. *J Mol Biol*, 1961, 3:208~218.
- [7] 林万明.细菌分子遗传学分类鉴定法.上海:上海科学技术出版社,1990.86~92.
- [8] Marmur J, Doty P. *J Mol Biol*, 1962, 5:109~118.
- [9] De Ley J, Cattoir H, Reynaerts A. *Int J Syst Bacteriol*, 1970, 38:89~98.
- [10] 阮继生,刘志恒,梁丽儒,等.放线菌研究及应用.北京:科学出版社,1990.

- [11] Favinger J, Stadtwald R, Gest H. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1989, **55**: 291~296.
- [12] Kawasaki H, Hosshino Y, Kuraishi H, *et al.* *J Gen Appl Microbiol*, 1992, **38**: 541~541.
- [13] Maidak B L, Olsen G J, Larsen N, *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1997, **25**: 109~111.
- [14] Stadtwald-Demchick, R, Turner F R, Gest H. *FEMS Microbiol Lett*, 1990, **67**: 139~144.

## CHARACTERIZATION AND PHYLOGENIC ANALYSIS ON A NEW ISOLATE OF GENUS *RHODOCISTA*

Zhang Demin   Huang Zhiyong   Yang Huifang

(Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

**Abstract:** A strain of purple non sulfur bacteria was isolated from waste water plant in Beijing. It is phototaxic, and can converted the vibrioid cells into thick-wall cyst. Internal synthetic membrane is present as lamellae. It has a low absorption maxima at 798 nm. and require thiamine and vitamin B<sub>12</sub> as growth factors. It can use succinate as carbon and energy source, but glucose can not be used. It can not grow in 3% NaCl and had Q-9 as major quinone. The 16S rRNA gene was amplified, cloned and sequenced. A phylogenic tree was constructed on the basis of the 16S rDNA sequences. It showed that the previously known member of the genus *Rhodocista*, *Rc. centenaria*, is the nearest neighbor to strain 3-p. The level of binary sequence similarity between *Rc. centenaria* and strain 3-p of 95%, and their phenotypic differences and genetic DNA-DNA relatedness of 56%, shows they are different species of *Rhodocista*. A new species name, *Rhodocista pekinense*, was proposed for strain 3-p.

**Key words:** Purple non sulfur bacteria, *Rhodocista pekinense*, *Rhodocista centenaria*, 16S rDNA

### 重 要 声 明

凡本刊刊出的稿件,除在本刊出版使用外,还要以《光盘版》等多种形式出版使用,作者如不同意,敬请来稿时声明。