

一个降解染料的希瓦氏菌新种——中国希瓦氏菌

许玫英^{1 2 3 4} 郭俊^{1 2} 钟小燕^{1 2} 曹渭^{1 2} 孙国萍^{1 2 *}

(¹广东省微生物研究所 广州 510070) (²广东省菌种保藏与应用重点实验室 广州 510070)

(³中国科学院华南植物园 广州 510650) (⁴中国科学院研究生院 北京 100039)

摘 要 从细胞形态、生理生化特性和 16S rRNA 基因和 *gyrB* 基因序列同源性分析等方面对一株广谱高效染料降解菌 D14 进行了鉴定。菌株 D14 的细胞壁革兰氏染色为阴性,细胞为杆状,大小为 $0.6\mu\text{m} \sim 1.0\mu\text{m} \times 1.0\mu\text{m} \sim 4.0\mu\text{m}$, 周身纤毛,极生单鞭毛,其生长 pH 范围为 pH 7.0~10.0,最适生长 pH 为 8.0,生长温度范围为 $4^\circ\text{C} \sim 40^\circ\text{C}$,最适生长温度为 $20^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$ 。该菌株具有还原三价铁、液化明胶、Tween 40 和 Tween 80,产生 H_2S 的能力。在乳酸钠存在的条件下,能还原硝酸盐、亚硝酸盐、铁氧化物和硫代硫酸钠。可利用 D-半乳糖、D-葡萄糖、蔗糖、丙酸钠、L-亮氨酸等多种有机物为碳源。BIOLÓG 细菌自动鉴定系统鉴定结果表明该菌株应归属于希瓦氏菌属。16S rDNA 和 *gyrB* 基因序列分析结果表明,菌株 D14 与其亲缘关系最近的菌株 *Shewanella putrefaciens* ATCC8071^T 的 16S rDNA 序列相似值为 97%(小于 97.7%),*gyrB* 基因序列相似值为 87%(小于 90%)。菌体所含有的主要脂肪酸为 iso-15:0, 16:1 ω 7c, 15:0 和 16:0, DNA 中(G+C)mol% 含量为 49.3。结合菌株 D14 的生理生化特征和分子生物学特性,将菌株定为希瓦氏菌属的一个新种,命名为中国希瓦氏菌(*Shewanella sinica*)D14^T。

关键词 希瓦氏菌属,中国希瓦氏菌,16S rDNA,*gyrB* 基因

中图分类号:Q939.11 文献标识码:A 文章编号:0001-6209(2004)05-0561-06

偶氮染料和蒽醌染料是目前印染行业应用较广的两大类染料,这些染料均难以被生物降解,对环境造成极大的污染^[1,2]。近年来,人们已分离选育出许多对染料具有较好降解脱色能力的高效菌株,主要包括气单胞菌属(*Aeromonas* sp.)^[2]、光合细菌(*Photosynthetic bacteria*)^[3]、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)^[4]等。希瓦氏菌属(*Shewanella* sp.)是 1985 年 Macdonell 和 Colwell 根据 5S rRNA 序列从交替单胞菌属中另立的新属。近年来国际有关该菌属的新菌种不断被发现,这些菌种大多具有耐盐、耐低温、降解卤代有机化合物和还原金属的能力^[5-7],但至今仍未报道具有染料脱色功能的希瓦氏菌菌株。本实验室从广州某丝绸印染厂废水处理系统的活性污泥中分离纯化到一株染料脱色菌株 D14,该菌株对偶氮染料和蒽醌染料均具有高效的降解能力。16S rDNA 已经被广泛地应用于研究细菌的系统发育地位,但大量的研究表明,对于亲缘关系较近的菌株,单纯依靠菌株间的 16S rDNA 同源性来定种是不

足够的^[5,8,9]。*gyrB* 基因是编码 DNA 促旋酶(*gyrase*) B 亚基的基因,该基因具有比 16S rDNA 高得多的碱基替换频率。在气单胞菌属、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)和希瓦氏菌属等的系统分类鉴定中已证明,对于亲缘关系更接近的属内各菌种之间的鉴定方面,*gyrB* 基因序列这一分子分类指标具有较强的可行性^[5,8,10]。因此,为了更精确地了解菌株的系统分类地位,本研究不仅采用了传统的生理生化鉴定法对菌株进行鉴定,还采用 16S rRNA 基因序列和 *gyrB* 基因序列相结合的分子指标研究菌株 D14 与希瓦氏菌属中各菌种的系统发育关系。

1 材料和方法

1.1 菌种

从广州某丝绸印染厂废水处理系统的活性污泥中分离纯化而得。菌株的分离纯化方法见文献 [11]。

1.2 菌株脱色率的测定

每升 M9 培养基中分别添加酸性大红 GR(C.I.

基金项目:国家“863 计划”(2001AA214111);广东省自然科学基金团队项目(015017)

* 通讯作者。Tel: 86-20-87782471; Fax: 86-20-87601587; E-mail: gpsun@gis.sti.gd.cn

作者简介:许玫英(1974-),女,广东省饶平县人,硕士,主要从事环境微生物学研究,现为中国科学院华南植物园博士研究生。E-mail: meiying_xu@yahoo.com.cn

其他作者:岑英华^{1 2}

收稿日期:2004-01-16,修回日期:2004-04-08

27290)和活性艳蓝(C. I. 612051)各一种作为染料培养基,使培养基中的染料浓度为50mg/L。以10%的接种量,将在营养肉汤培养基中培养过夜的菌液接种于染料培养基中,30℃静置培养,每隔一段时间取出培养液于6000r/min离心去菌体,于相应染料的吸收峰处测定吸光值,并以不加菌的染料培养基为对照,计算脱色率。

1.3 生化试验

淀粉水解、明胶液化、氧化酶、催化酶、硝酸盐还原、亚硝酸盐还原及反硝化反应等生化试验参照文献[12],其它生化指标采用 BIOLOG 细菌自动鉴定系统进行鉴定。

1.4 电镜观察

取对数生长期新鲜菌液,6000r/min离心收集菌体,用透射电子显微镜观察细胞,并测定其大小。

1.5 DNA的(G+C)mol%含量测定

采用熔点法(T_m 值法)测定(G+C)mol%^[12],对照菌株为 *Escherichia coli* K₁₂。

1.6 菌体脂肪酸成分分析

依据微生物流行病学研究所技术标准(WJA07-2002)细菌鉴定—细菌脂肪酸分析鉴定法。采用 HP 6890 气相色谱仪,氢火焰离子化检测器(FID)及 HP 气相色谱化学工作站(HP CHEMSTATION ver A 5.01)进行检测,色谱柱为 Ultra-2 柱。

1.7 16S rRNA 基因和 gyrB 基因序列分析

取对数生长期新鲜菌液,离心收集菌体,按文献[13]的方法提取基因组DNA。采用细菌16S rDNA通用引物 F27 和 R1522 进行 PCR 扩增菌株的16S rDNA。长度为1.2kb的 *gyrB* 基因的扩增采用通用引物对 UP-1 和 UP-2r,PCR 反应条件如 Yamamoto 和 Harayama^[8]所述。PCR 反应产物进行直接测序。利用 BLAST 将所测得的序列与 GenBank/EMBL/DBJ 等数据库中已登录的序列进行同源性比较,采用 ClustelW version 1.8^[14]进行比对,采用邻接(Neighbour Joining, 简称 NJ)法构建系统发育树(PHYLIP, version 3.5)。

2 结果

2.1 形态和培养特征

菌株 D14 的细胞为革兰氏阴性,直短杆状,极生单鞭毛,大小为 $0.6\mu\text{m} \sim 1.0\mu\text{m} \times 1.0\mu\text{m} \sim 4.0\mu\text{m}$ (图1),在液体培养基中摇床培养24h后,个别菌体长达 $7\mu\text{m}$ 。在营养琼脂固体培养基平板上培养24h后,菌落形态为圆形,表面光滑扁平,边缘整齐,无色

至淡肉红色,透明,菌落大小为 $2\text{mm} \sim 3\text{mm}$ 。

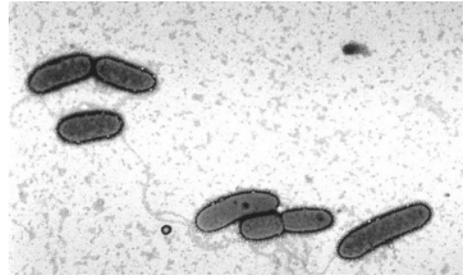


图1 菌株 D14 的电镜照片(15000 ×)

Fig.1 Electron micrograph of strain D14(15000 ×)

2.2 生理生化特征

菌株 D14 能在 $4\text{℃} \sim 40\text{℃}$ 的温度下生长,其最适生长温度范围为 $20\text{℃} \sim 30\text{℃}$ 。其生长 pH 范围为 $\text{pH}7.0 \sim 10.0$,最适生长 pH 为 8.0。最适生长的 NaCl 浓度为 $0\% \sim 5\%$,当 NaCl 浓度大于 6% 时,生长被抑制。

菌株 D14 对偶氮类染料和蒽醌类染料均具有较强的脱色能力。在浓度为 50mg/L 的偶氮类染料酸性大红培养液中,经 4h 反应后,脱色率达到 96% 以上。对酸性大红的最高作用浓度高达 2000mg/L 。在浓度为 50mg/L 的蒽醌染料活性艳蓝培养液中,经 15h 反应后,脱色率达到 99% 。当活性艳蓝的浓度提高至 1000mg/L 时,菌株的脱色率仍高达 67% 。

菌株 D14 具有兼性厌氧生长的能力,氧化酶和接触酶为阳性,能液化明胶、Tween 40 和 Tween 80,产生 H_2S ,能以 D,L-乳酸钠为电子供体还原硝酸盐、亚硝酸盐、硫代硫酸钠和铁氧化物,不能利用硫酸铵和硝酸铵为唯一氮源生长。菌株 D14 能发酵葡萄糖,能利用大多数的碳源,如 D-半乳糖、D-葡萄糖、蔗糖、丙酸钠、L-亮氨酸等。菌株 D14 DNA 的 (G+C)mol% 的含量为 49.3% 。BIOLOG 细菌自动鉴定系统进行鉴定的结果发现,菌株 D14 与希瓦氏菌属的 *Shewanella putrefaciens* 具有较高的相似性。有关菌株 D14 与希瓦氏菌属中相关菌种的生理生化特性的比较见表 1。

在菌株 D14 中饱和脂肪酸的含量最多,其次是异式饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸。主要脂肪酸为 iso-15:0, 16:1ω7c, 15:0 和 16:0,含量分别为 22.93% , 15.82% , 15.76% 和 9.82% 。菌株 D14 和希瓦氏菌中相关菌种的主要脂肪酸组成见表 2。

2.3 以 16S rDNA 序列和 gyrB 基因序列同源性为基础的系统发育学分析

采用 BLAST 将菌株 D14 长 1448bp 的 16S rRNA 基因序列与 GenBank 中已登录的其因序列进行比

表 1 希瓦氏菌属不同种的生理生化特性

Table 1 Phenotypic characterization of various *Shewanella* species

Characteristic	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Cell shape	Straight rod	Straight rod	Straight or curved rod	Straight or curved rod	Rod	Rod	Rod	Straight rod	Straight rod
DNA G + C (mol%)	49.3	45.7 ~ 46.8	46.8 ~ 48.1	40 ~ 43	43 ~ 44	41	44	45	43 ~ 47
Optimal growth temperature(°C)	20 ~ 30	ND	20 ~ 25	20 ~ 22	20 ~ 25	ND	20 ~ 22	25 ~ 35	25 ~ 35
Optimal pH range for growth	7 ~ 10	ND	ND	ND	6.0 ~ 9.0	ND	ND	7 ~ 8	7 ~ 8
Growth at :									
4°C	+	+	+	+	-	+	+	ND	+
35°C	+	ND	-	-	+	-	-	+	+
40°C	+	-	-	-	ND	-	-	+ / -	-
Pigment	Slightly pinkish	-	-	ND	Slightly pinkish	Red-brown	Tan	Pinkish	-
Production of :									
Amylase	-	ND	+	-	+	ND	+	-	-
Galatinase	+	ND	+	ND	+	+	+	+	-
Utilization of :									
D-Galactose	-	ND	ND	-	+	+	+	+	+
D-Fructose	+ / -	ND	ND	-	+	ND	+	-	-
D-Glucose	+	ND	+	+	+	+	-	ND	-
Sucrose	+	+	ND	+	-	+	+	-	-
Citrate	-	+	ND	ND	-	ND	-	-	-
D-Mannitol	-	ND	ND	+	-	+	-	-	-
N-Acetylglucosamine	+	+	+	-	+	+	-	ND	+
Propionate	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	-
L-leucine	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	-
Succinate	+	ND	ND	+	+	+	+	+	+ / -
D,L-Lactate	+	ND	ND	+	ND	+	ND	+	+ / -
Reduction of Iron oxide	+	+	ND	+	-	+	+	+	+

Species are listed as : 1, *S. cincia* strain D14^T sp. nov. ; 2, *S. baltica* NCTC 10735^T(Zienke *et al.*, 1998); 3, *S. denitrificans* OS217^T(Brettar *et al.*, 2002); 4, *S. frigidimarina* ACAM591^T(Venkateswaran *et al.*, 1999, and Bowman *et al.*, 1997); 5, *S. japonica* KMM 3299^T(Ivanova *et al.*, 2001); 6, *S. livingstonensis* LMG 19866^T(Bozal *et al.*, 2002); 7, *S. olleyana* ACEM 9^T(Skerratt *et al.*, 2002); 8, *S. oneidensis* ATCC 700550^T(Venkateswaran *et al.*, 1999); 9, *S. putrefaciens* ATCC 8071^T(Nozue *et al.*, 1992, Venkateswaran *et al.*, 1999, and Satomi *et al.*, 2003); ND, No data.

对结果发现与菌株 D14 的 16S rDNA 同源性最高的是希瓦氏菌属的模式菌株 *Shewanella putrefaciens* ATCC 8071^T, 其同源性为 97%。根据菌株 D14 的 16S rDNA 序列与希瓦氏菌属的 20 个菌种的模式菌株的 16S rDNA 序列做出系统进化树(图 2), 结果可见, 所选菌株在系统进化树中基本分为 3 大类群, 菌株 D14 处于 *S. putrefaciens*/*S. japonica* 这一类群之中, 且位置相对较独立。

根据菌株 D14 的 *gyrB* 基因序列与希瓦氏菌属的 12 个菌种的模式菌株的 *gyrB* 基因序列所做的系统进化树如图 3 所示。菌株 D14 处在 *S. putrefaciens*/*S. oneidensis* 这一类群中, 其中与 *S. putrefaciens* ATCC 8071^T 的序列同源性为 87%。这一数值明显低于希瓦氏菌属内定种的界限(90%)⁵¹, 表明菌株 D14 应归属于希瓦氏菌属, 但并不归属于 *S. putrefaciens*, 应该可作为该属的一个独立的种。

3 讨论

由于希瓦氏菌具有共代谢降解卤代有机化合物、原油, 以及在厌氧条件下还原铁、锰、铀等重金属、还原硫代硫酸钠、亚硝酸盐和硝酸盐等特性, 因此得到广泛的研究。目前发现的菌种已达 20 多种, *Shewanella putrefaciens* ATCC 8071^T 是其模式菌株。菌株 D14 在菌体形态、生理生化特性、化学分类特征和 16S rDNA 序列等方面均与 *Shewanella putrefaciens* 具有较高的相似性, 如: 细胞均为革兰氏阴性、直短杆状、极生单鞭毛; 氧化酶和接触酶为阳性; 能还原硫代硫酸钠产生 H₂S, 还原硝酸盐为亚硝酸盐, 还原铁氧化物, 利用 N-乙酰基葡萄糖胺为唯一碳源; 不能分解淀粉, 不能利用柠檬酸盐和 D-甘露醇。菌株 D14 的主要脂肪酸分别为 iso-15:0, 16:1 ω 7c, 15:0 和 16:0, 不饱和脂肪酸所占的比例为 18.67%, 这一结果与文献报道的大部分希瓦氏菌含有高不饱和脂

表 2 希瓦氏菌属不同种的脂肪酸组成(%)

Table 2 Fatty acid composition (%) of various *Shewanella* species

Fatty acid	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Straight chain saturated fatty acids :											
14:0	2.99	1.4	2.2	3.9	3.7	4.2	3.1	3.2	2.6	1.3	6.7
15:0	15.76	9.2	7.8	4.4	2.5	1.1	5.5	3.7	4.7	6.3	5.2
16:0	9.82	6.1	4.3	13.3	11.8	16.6	10.3	15.2	14.8	9.1	27.5
17:0	ND	3.9	TR	TR	1.2	TR	2.1	2.0	2.8	2.7	1.6
18:0	ND	TR	ND	TR	TR	TR	TR	1.5	1.1	TR	ND
Terminally branched fatty acids											
13:0 - iso	4.03	4.7	12.4	9.3	6.3	7.5	9.4	8.0	2.5	1.6	12.4
14:0 - iso	TR	1.5	1.6	TR	TR	TR	TR	2.5	2.3	ND	TR
15:0 - iso	22.93	26.7	14.3	11.3	9.0	19.6	8.5	17.8	25.4	14.0	20.1
16:0 - iso	TR	1.4	TR	ND	ND	TR	ND	TR	1.4	ND	ND
17:0 - iso	TR	1.8	TR	TR	TR	1.6	TR	1.9	1.7	ND	1.4
Monounsaturated fatty acids											
15:1 ω 6c	1.54	TR	2.2	1.0	1.2	TR	TR	ND	TR	ND	ND
16:1 ω 7c	15.82	14.7	24.1	31.3	51.1	23.4	24.1	ND	23.3	36.9	19.9
16:1 ω 9c	1.31	TR	1.6	1.7	2.2	ND	TR	ND	2.1	2.1	1.4
17:1 ω 6c	ND	2.4	1.4	ND	ND	1.4	1.2	ND	1.5	ND	ND
17:1 ω 8c	ND	23.4	11.0	4.8	3.0	TR	7.6	ND	8.0	ND	2.3
18:1 ω 7c	ND	4.5	TR	1.7	5.3	5.8	ND	ND	5.7	5.3	1.2
18:1 ω 9c	ND	1.4	TR	1.0	1.7	1.6	1.5	ND	2.9	3.2	ND

Species are listed as : 1. *S. cinica* sp. nov. D14^T; 2. *S. amazonensis* ATCC 700329^T(Venkateswaran *et al* , 1999); 3. *S. baltica* OS155(Ziemke *et al* , 1998); 4. *S. denitrificans* OS217^T(Brettar *et al* , 2002); 5. *S. frigidimarina* ACAM591^T(Venkateswaran *et al* , 1999 , and Bowman *et al* , 1997); 6. *S. japonica* KMM 3299^T(Ivanova *et al* , 2001); 7. *S. livingstonensis* LMG 19866^T(Bozal *et al* , 2002); 8. *S.olleyana* ACEM 9^T(Skerratt *et al* , 2002); 9. *S. oneidensis* ATCC 700550^T(Venkateswaran *et al* , 1999); 10. *S. putrefaciens* ATCC 8071^T(Nozue *et al* , 1992 , Venkateswaran *et al* , 1999 , and Satomi *et al* , 2003); 11. *S. woodyi* MS32^T(data from Venkateswaran *et al* , 1999). TR. Trace(< 1%), ND : No date.

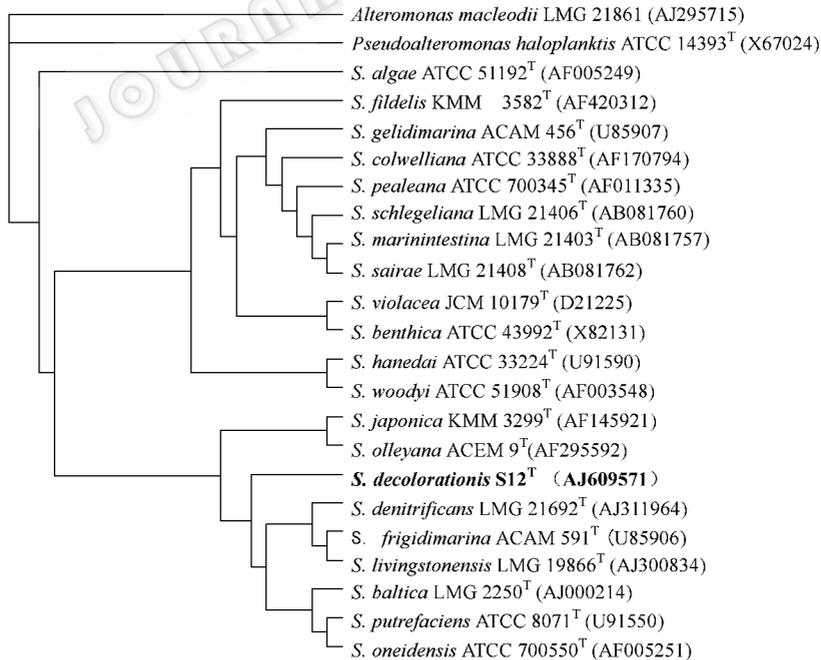


图 2 希瓦氏菌 16S rDNA 序列的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree including type strains of *Shewanella* based on 16S rDNA sequence

脂肪酸相比存在一定的差异,但分析菌株总的脂肪酸组成,与其它希瓦氏菌的菌株基本一致(表 2),这可能与细菌的脂肪酸组成和含量会随着培养条件和培

养时间而改变有关^[5]。DNA 的(G + C) mol% 为 49.3% 这一特性也与希瓦氏菌属相一致^[5]。菌株 D14 的 16S rDNA 序列与 *Shewanella putrefaciens* ATCC

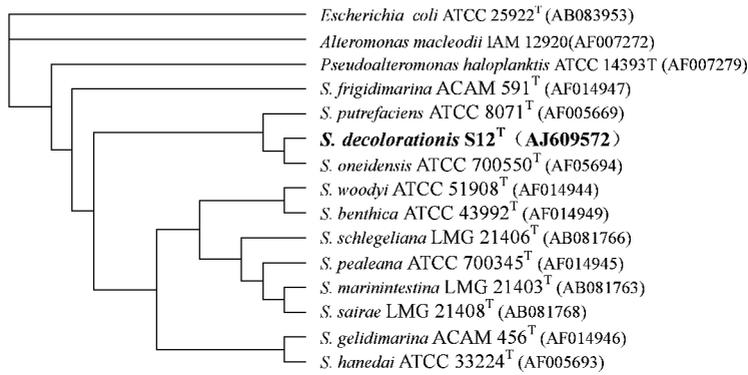


图 3 希瓦氏菌的 *gyrB* 基因序列系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree including type strains of *Shewanella* based on *gyrB* gene sequence

8071^T的 16S rDNA 序列同源性为 97%。由此可见, 菌株 D14 应归属于希瓦氏菌属。

但菌株 D14 与 *Shewanella putrefaciens* 仍存在明显的差异, 主要表现在系统发育特征、生长特征及碳源利用等方面。从系统发育地位分析, 虽然菌株 D14 的 16S rDNA 序列与 *Shewanella putrefaciens* ATCC 8071^T的 16S rDNA 序列同源性高达 97%, 但 Venkateswaran 等认为在希瓦氏菌属中 16S rDNA 序列同源性必须高于 97.7% 才可认为是归属于同一个菌种^[5]。而且, 目前大部分科学家认为单纯依靠 16S rDNA 序列同源性这一指标不足以将菌株鉴定到种^[5, 8-10]。从两者的 *gyrB* 基因序列同源性分析发现, 菌株 D14 与 *S. putrefaciens* ATCC 8071^T在系统进化上的确存在一定的距离, 不能归属于同一菌种。从生长特征及碳源利用方面分析, 菌株 D14 的最适生长温度范围为 20℃ ~ 30℃, 且可在 40℃ 条件下生长, 而 *S. putrefaciens* 的最适生长温度范围为 25℃ ~ 35℃, 在 40℃ 不能生长^[5]。*S. putrefaciens* 能在 NaCl 浓度为 6% 的条件下生长, 而菌株 D14 能耐受的 NaCl 浓度仅为 0% ~ 5%。已报道的希瓦氏菌大多数不具有发酵葡萄糖的能力, *Shewanella putrefaciens* 也不能发酵葡萄糖, 而菌株 D14 具有这一能力, 这一特性与希瓦氏菌属中的 *S. benthica*, *S. frigidimarina*, *S. japonica* 和 *S. livingstonensis* 相同^[5]。在利用 D-半乳糖、D-葡萄糖、蔗糖、丙酸钠、L-亮氨酸等碳源的能力方面, 菌株 D14 与 *S. putrefaciens* 也存在很大的差异(表 1)。因此把菌株 D14 定为希瓦氏菌属中的一个独立的新种, 命名为中国希瓦氏菌(*Shewanella cinica* sp. nov.) 模式菌株为 D14^T。

新种中国希瓦氏菌(*Shewanella cinica* sp. nov.) 的特征如下: 革兰氏阴性, 极生单鞭毛, 细胞为直短杆菌, 大小为 0.6μm ~ 1.0μm × 1.0μm ~ 4.0μm, 在液

体培养基中培养 24h 后, 个别细胞长达 7μm。在营养琼脂固体培养基平板上培养 24h 后, 菌落形态为圆形, 表面光滑扁平, 边缘整齐, 无色至淡肉红色, 透明, 菌落大小为 2mm ~ 3mm。其生长 pH 范围为 pH7.0 ~ 10.0, 最适 pH 为 8.0, 生长温度范围为 4℃ ~ 40℃, 最适生长温度范围为 20℃ ~ 30℃。可在 NaCl 浓度为 0 ~ 5% 的条件下生长。氧化酶和接触酶为阳性。能液化明胶、Tween 40 和 Tween 80。能以 D,L-乳酸钠为电子供体还原硝酸盐、亚硝酸盐、硫代硫酸钠和铁氧化物, 不能利用硫酸铵和硝酸铵为唯一氮源生长。能还原硫代硫酸钠产生 H₂S。能发酵葡萄糖。能以 D-半乳糖、D-葡萄糖、蔗糖、纤维二糖、N-乙酰基葡萄糖胺、丙酸、L-亮氨酸、甲基丙酮酸、琥珀酸、甲酸、D,L-半乳糖、溴丁二酸、甘氨酸-L-天门冬氨酸、甘氨酸-L-谷氨酸为唯一碳源生长, 但不能分解淀粉, 不能利用阿拉伯糖、赤藻糖醇、果糖、棉子糖、山梨醇、肌醇、丙二酸、奎尼酸、D-葡糖二酸、癸二酸、D-甘露醇、柠檬酸、组氨酸、羟基-L-脯氨酸、L-鸟氨酸、D-丝氨酸、γ-氨基丁酸、苯乙胺、丙三醇等。细胞主要脂肪酸为 iso-15:0, 16:1ω7c, 15:0 和 16:0。DNA 中的(G + C) mol% 为 49.3%。

参 考 文 献

- [1] 郑金来, 李群文, 晁福襄. 生物降解常见染料的研究进展. 环境污染治理技术与设备, 2000, (3): 39-42.
- [2] Jian H, Tso W, Tso M, et al. Broad spectrum decolorizing bacterial strains and their functional plasmids. In Michael Healy, et al. ed. Environmental Monitoring and Biodegradation of Hazardous Contaminants. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000, 97-104.
- [3] 张波, 张素蓉. 光合细菌球形红杆菌对活性艳红 X-3B 的脱色作用及其与质粒的关系. 城市环境与城市生态, 1999, (1): 13-15.
- [4] 韩树琴, 杨惠芬. 蜡状芽孢杆菌 45 号固定化细胞脱除酸性红 B 的研究. 环境科学学报, 2000, (1): 1-6. © 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

- [5] Venkateswaran K , Moser D P , Dollhopf M E , *et al.* Polyphasic taxonomy of the genus *Shewanella* and description of *Shewanella oneidensis* sp. nov. . *Int J Syst Bacteriol* , 1999 , **49** : 705 – 724 .
- [6] Ivanova E P , Sawabe T , Gorshkova N M , *et al.* *Shewanella japonica* sp. nov. . *Int J Syst Evol Microbiol* , 2001 , **51** : 1027 – 1033 .
- [7] Venkateswaran K , Dollhopf M E , Aller R , *et al.* *Shewanella amazonensis* sp. nov. , a novel metal-reducing facultative anaerobe from Amazonian shelf muds. *Int J Syst Bacteriol* , 1998 , **48** : 965 – 972 .
- [8] Yamamoto S , Harayama S . PCR amplification and direct sequencing of *gyrB* genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *Pseudomonas putida* strains. *Appl Environ Microbiol* , 1995 , **61** : 1104 – 1109 .
- [9] Satomi M , Oilawa H , Yano Y . *Shewanella marinintestina* sp. nov. , *Shewanella schlegeliana* sp. nov. and *Shewanella sairae* sp. nov. , novel eicosapentaenoic-acid-producing marine bacteria isolated from sea-animal intestines. *Int J Syst Evol Microbiol* , 2003 , **53** : 491 – 499 .
- [10] Yáñez M A , Catalán V , Apráiz D , *et al.* Phylogenetic analysis of members of the genus *Aeromonas* based on *gyrB* gene sequences. *Int J Syst Evol Microbiol* , 2003 , **53** : 875 – 883 .
- [11] 许玫英 , 郭俊 , 简浩然 , 等 . 九株染料脱色菌的脱色特性及其质粒与基因分析 . 城市环境与城市生态 , 2003 , **16** (4) : 71 – 73 .
- [12] 东秀珠 , 蔡妙英 , 等 . 常见细菌系统鉴定手册 . 北京 : 科学出版社 , 2001 .
- [13] Jizhong Z , Mary A B , James M T . DNA recovery from soils of diverse composition. *Appl Environ Microbiol* , 1996 , **62** : 316 – 322 .
- [14] Thompson J D , Higgins D G , Gibson T J . CLUSTAL W : improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting , position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* , 1994 , **22** : 4673 – 4680 .

A Broad Spectrum Decoloration *Shewanella* New Species——*Shewanella cinica*

XU Mei-Ying^{1,2,3,4} GUO Jun^{1,2} ZHONG Xiao-Yan^{1,2} CAO Wei^{1,2} SUN Guo-Ping^{1,2*}

(¹ Guangdong Institute of Microbiology , Guangzhou 510070 , China)

(² Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application , Guangzhou 510070 , China)

(³ South China Institute of Botany , Chinese Academy of Sciences , Guangzhou 510650 , China)

(⁴ Graduate School of Chinese Academy of Sciences , Beijing 100039 , China)

Abstract : The taxonomic position of strain D14 , which has a broad spectrum and efficiently degradation dyes bacterium , was investigated based upon the phenotypic properties , 16S rRNA gene and *gyrB* gene sequences. The cells were gram-negative rod (0.6 μ m ~ 1.0 μ m \times 1.0 μ m ~ 4.0 μ m) and motile by means of a single polar flagellum. Optimum growth occurred at 20 $^{\circ}$ C ~ 30 $^{\circ}$ C and pH8.0. Positive for hydrolysis of galatin , Tween 80 and Tween 40. Hydrogen sulfide is produced from thiosulfate. The strain utilized a variety of electron acceptors , including nitrate , nitrite , ferric compounds and thiosulphate. The physiological properties , tested by BIOLOG GN2 , were similar to the genus of *Shewanella* . The analysis of the nearly complete 16S rRNA gene sequence of the novel isolate revealed that the closest relatives was *Shewanella putrefaciens* , with 97% sequence similarity. However , the levels of *gyrB* similarity between strain D14 and *Shewanella putrefaciens* were 87% . The DNA G + C content was 49.3mol% . The dominant fatty acids were iso - 15 :0 , 16 :1 ω 7c , 15 :0 and 16 :0 , which were similar to the profiles of other *Shewanella* species. On the basis of its physiological and molecular properties , strain D14 appears to represent a novel species of the genus *Shewanella* , for which the name *Shewanella cinica* sp. nov. is proposed. The type strain of *Shewanella cinica* is D14^T.

Key words : genus *Shewanella* , *Shewanella cinica* , 16S rDNA , *gyrB* gene

Foundation item : Chinese National Programs for High Technology Research and Development (2001AA214111) ; Guangdong Provincial Natural Science Fund (015017)

* Corresponding author. Tel : 86-20-87782471 ; Fax 86-20-87601587 ; E-mail : gpsun@gis.sti.gd.cn

Other author : CEN Ying-Hua^{1,2}

Received date : 01-16-2004