

假单胞菌属的一个新种

邹国和 李文灵 甘启芦 邹乐之 徐俊华

(南昌市卫生防疫站 南昌 330006)

蔡妙英 卫军

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

雷静江 代洪

(江西大学实验中心 南昌 330006)

摘要 从桔汁矿化水饮料中分离到一株编号为 9191 的革兰氏阴性短杆菌,其形态、生理生化特性与假单胞菌属已报道的种均不相同。该菌株具极生单鞭毛,氧化酶和触酶均阳性;O-F 葡萄糖为非发酵型,不产生荧光色素,不产生脓菌素,不产生类胡萝卜素,对葡萄糖呈碱反应。经类脂粒染色后细胞内可见 PHB 颗粒积聚。脲酶阳性,硝酸盐还原阳性,反硝化阴性;不水解淀粉和明胶,精氨酸双水解酶阴性;41℃下不生长,在麦康凯和 SS 平板上不生长。在 0.85% CaCl₂ 的牛肉汤中不生长,利用 β-羟基丁酸作为唯一碳源,DNA 中 G+C 含量为 65.15mol%。因此定为假单胞菌属中的一个新种。根据其生理盐水敏感的特性,命名为盐敏假单胞菌(*Pseudomonas halosensibilis* Zou & Cai nov. sp.)。

关键词 假单胞菌属,盐敏假单胞菌

假单胞菌属是氧化分解碳水化合物或不分解碳水化合物的革兰氏阴性杆菌,常存在于生奶、水产品、肉肉制品、冷冻食品和清凉饮料等食品中。能引起食品腐败变质。人食用被某些假单胞菌污染的食品,可引起呕吐、腹泻、肠道出血等食物中毒症状。作者于 1987—1990 年在对清凉饮料的卫生监测中,发现南昌市某厂生产的桔汁矿化水在作菌落总数测定(平板法)^[1]时,其原液和经生理盐水作 10 倍递增稀释后的菌落总数相差很大,将其优势菌进行分离,现将鉴定结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 菌株来源

从南昌市某饮料厂生产的桔汁矿化水饮料中分离,编号为 9191。

1.2 分离方法

用生理盐水作稀释液,凡经稀释后再培养而不生长者,改用 0.1% 蛋白胨水作 10 倍递增稀释液,经培养后从营养琼脂表面挑取无色或灰白色、针尖大小的单个菌落,分纯鉴定。

1.3 形态特征

用革兰氏染色、类脂粒染色、鞭毛染色和透射电镜观察菌体形态特征。

1.4 生理生化特性

按文献[2—6]进行。

1.5 DNA 中 G+C mol% 含量测定

根据 Marmuar 的方法^[7]提取 DNA, 采用溶解温度法(T_m)^[8]测定 G+C mol%, 用大肠杆菌 K₁₂ 作为对照菌株。

2 结果

2.1 形态特征

9191 菌株呈短杆状, 单个或成对排列, 大小 0.5—0.6×3—4.5μm, 无芽孢, 无荚膜, 革兰氏染色阴性, 鞭毛染色和电镜观察均见有极生单鞭毛(图 1)。细胞内有 PHB 颗粒。



图 1 透射电镜下的 9191 菌株的鞭毛(20 000×)

Fig. 1 Electron micrograph of a metal-shadowed whole cell of strain 9191, showing a single polar flagellum

2.2 培养特征

培养 24 小时的菌落直径为 0.5mm, 72 小时为 1mm, 圆形, 边缘整齐, 表面光滑, 低凸状隆起, 半透明, 湿润, 无色或灰白色; 在液体培养基中呈均匀混浊, 表面形成菌膜, 并有附着于管壁的菌环等; 无沉淀, 无色素。在微氧和厌氧条件下均不生长, 在 20—37℃ 均可生长, 最适温度为 30℃; 在 pH4.5 肉汁培养基上不生长, 在 pH5.6—8.4 范围内均可生长; 对 NaCl 的耐受性为 0—0.5%, 60℃ 30 分钟耐热试验呈阴性。

2.3 生理生化特性

结果见表 1。

2.4 DNA 中 G+C mol% 含量

9191 菌株 DNA 的 G+C 含量为 65.15mol%。

表 1 菌株 9191 与假单胞菌属近似种鉴别特征的比较

Table 1 Differential characteristics of strain 9191 and related species of *Pseudomonas*

特 征 Characteristics	9191	施氏假 单胞菌 <i>P. stutzeri</i>	产碱假 单胞菌 <i>P. alcaligenes</i>	类产碱 假单胞菌 <i>P. pseudoalcaligenes</i>
鞭毛数(No. of flagella)	1	1	1	1
荧光色素(Fluorescent pigments)	—	—	—	—
绿脓素(Pyocyanin)	—	—	—	—
类胡萝卜素(Carotenoids)	—	—	d	—
41℃生长(Growth at 41℃)	—	d	+	+
精氨酸双水解酶(Arginine dihydrolase)	—	—	+	d
氧化酶(Oxidase reaction)	+	+	+	+
接触酶(Catalase)	+	+	+	+
硝酸盐还原(Nitrate reduction)	+	+	+	d
反硝化作用(Denitrification)	—	+	—	—
明胶水解(Gelatin hydrolysis)	—	—	d	d
淀粉水解(Starch hydrolysis)	—	+	—	—
O/F 试验(O/F test)	K	0	K	0
脲酶(Urease)	+	d	d	—
麦康凯平板(Growth on MacConkey agar)	—	+	+	+
S. S 平板(Growth on S. S agar)	—	+	+	+
pH4.5 生长(Growth at pH4.5)	—	—	—	—
耐 6.5%NaCl (Tolerance to 6.5%NaCl)	—	+	d	—
耐 2.5%NaCl (Tolerance to 2.5%NaCl)	—	+	+	+
耐 0.85%NaCl (Tolerance to 0.85%NaCl)	—	N	N	N
耐 0.5%NaCl (Tolerance to 0.5%NaCl)	—	N	N	N
碳源利用(Carbon utilization):				
葡萄糖(Glucose)	—	+	—	—
L-缬氨酸(L-Valine)	—	+	—	—
丙氨酸(Alanine)	—	—	d	d
羟丁酸(Hydroxybutyrate)	+	—	—	+
果糖(Fructose)	—	d	—	+
甜菜碱(Betaine)	—	—	—	+
DL-精氨酸(DL-Arginine)	—	—	+	+
(G+C)mol%	65.15	60.6—66.3	64—68	62—64

3 讨论

根据 9191 菌株细胞为革兰氏阴性杆状,具单极毛运动;氧化酶和接触酶均阳性,对葡萄糖不发酵和在 pH4.5 肉汁培养基上不能生长等特征,可归为假单胞菌属。该菌株对葡萄糖产碱;经类脂粒染色,胞内有 PHB 颗粒积聚;精氨酸双水解酶阴性;反硝化试验阴性;不产生荧光色素;41℃ 不生长;在麦康凯和 SS 平板上不生长;可利用 β -羟基丁酸作为唯一碳源;不利用果糖、甜菜碱、葡萄糖、L-缬氨酸、 β -丙氨酸或 DL-精氨酸等。该菌株的性状不仅不同于施氏假单胞菌和产碱假单胞菌,又不同于类产碱假单胞菌(表 1)。与目前文献报道的其他假单胞菌的性状均不相同,并独具对生理盐水敏感的特性。因此,认为该菌株为假单胞菌属中的一个新种,命名为盐敏假单胞菌(*Pseudomonas halosensibilis* Zou & Cai nov. sp.)。菌种保藏于中国科学院微生物研究所。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 食品卫生检验方法(微生物学部分). 北京:标准出版社,1986.
- [2] Krieg N R et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 1. Baltimore: Williams and Wilkins Co, 1984.
- [3] 何晓青,等. 卫生防疫细菌检验. 南昌:新华出版社,1989.
- [4] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京:科学出版社,1978.
- [5] Oberhofer T R. Manual of Nonfermenting Gram-negative Bacteria. New York: John Wiley & Sons, 1985.
- [6] Ralston B E et al. *Int J Syst Bacteriol*, 1976, **26**:421—426.
- [7] Murmar J et al. *Mol Biol*, 1961, **3**:208.
- [8] 林万明,等. 微生物学通报,1981, **8**(5):245.

A NEW SPECIES OF *PSEUDOMONAS*

Zou Guohe Li Wenling Gan Qilu Zou Lezhi Xu Junhua

(Nanchang Sanitary & Anti-epidemic Station, Nanchang 330006)

Cai Miaoying Wei Jun

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080)

Lei Jingjiang Dai Hong

(Experimental Center of Jiangxi University, Nanchang 330006)

Abstract A strain No. 9191 isolated from fruit juice mineral drink is gram-negative short-rod. It differs from reported species of *Pseudomonas* in morphological, physiological and biochemical characteristics. Main characteristics of No. 9191 are single polar flagellated, oxidase and catalase positive, no acid from glucose but producing alkali, nitrate reduced to nitrite, inability to hydrolyze gelatin and starch, arginine dihydrolase absent, no growth in presence of 0.85% NaCl. The G+C mol% of DNA is 65.15. It is named *Pseudomonas halosensibilis* Zou & Cai nov. sp. by the sensibility property for salt.

Key words *Pseudomonas*, *Pseudomonas halosensibilis*