

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
51(2):249-255; 4 February 2011
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

一株反硝化光合细菌的生物学特性及系统发育分析

陈慧, 张德民*, 王龙刚, 潘志崇

宁波大学, 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 宁波 315211

摘要:【目的】养殖水体中亚硝酸盐的过量积累会对养殖生物产生毒害作用, 应用脱氮细菌去除亚硝酸盐是养殖水质调控的重要手段之一, 本文意在得到一株高效去除亚硝酸盐的光合细菌。【方法】采用软琼脂稀释法分离纯化光合细菌菌株, 通过电镜观察、生理生化试验研究其生物学特性、依据 16S rDNA 和光合反应中心 M 亚基基因 (Gene coding for photosynthetic reaction center subunit M, *pufM*) 序列对其做系统发育分析。【结果】从淡水养殖塘中分离筛选到一株高效还原亚硝氮的光合细菌菌株 wps。该菌株为革兰氏阴性菌, 细胞杆状, 大小为 $0.4-0.6 \mu\text{m} \times 1.5-4.0 \mu\text{m}$, 极生丛生鞭毛, 片层状光合内膜, 兼性厌氧光照条件生长, 单菌落及液体培养物呈红色, 含细菌叶绿素 a 和类胡萝卜素。最适生长 pH 范围为 5.5-8.5, 最适生长盐度范围为 0-2‰, 最适生长温度范围为 25℃-38℃。菌株 wps 与 *Rhodopseudomonas palustris* 的 16S rDNA 序列相似性为 98.9%, 光合反应中心 M 亚基基因序列的相似性为 94.9%, 但是二者在生物学性质上有较大差异, 如菌株 wps 在 pH5.5 生长, 不能光自养生长, 不利用柠檬酸盐、甲酸盐进行光异养生长, 需盐酸硫胺素和泛酸钙做生长因子等。【结论】菌株 wps 可能为 *Rhodopseudomonas* 属的一个新种, 且在养殖水体水质调控中具有重要应用前景。

关键词: 光合细菌, 红假单胞菌, 亚硝酸盐, 反硝化

中图分类号: Q939 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2011) 02-0249-07

养殖水体的生态调控是水产养殖领域关注和研究的重点之一。随着高密度养殖技术的推广, 养殖水质的控制成为养殖成功的一个关键问题。而养殖水质恶化的指标之一就是养殖废水中存在较高的三态氮, 尤其是亚硝态氮浓度过高。亚硝酸盐的过量积累对养殖生物产生毒害作用, 高浓度亚硝酸盐可致鱼虾等死亡^[1-4], 低浓度亚硝酸盐影响鱼类的血蓝蛋白和多种代谢酶类的活性^[1-2,5], 导致鱼虾等生长缓慢^[1,3,5]。因此, 如何高效的去除亚硝酸盐是养殖水质调控的重要目标之一。

亚硝酸盐的消除途径主要有两个, 一是在亚硝酸盐氧化菌的作用下转变成对养殖动物无毒的硝态氮, 另一个途径就是经反硝化细菌的作用, 转变成氮气进入大气^[6]。由于亚硝酸盐氧化菌属于化能自养细菌, 分离培养及规模化培养都非常困难, 因此, 人们更加关注反硝化细菌的作用。反硝化细菌的种类非常多, 如光合细菌、产芽孢细菌、假单胞菌、盐单胞菌等^[7]。光合细菌由于可利用小分子有机物, 生长不消耗氧气, 自身又具有营养价值等优点被广泛应用到水产养殖中^[8-9]。本文从淡水养殖塘底泥中

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目 (208053); 教育部创新团队 (IRT0734); 国家“863 计划” (2007AA10Z409); 浙江省自然科学基金人才培养项目 (R305333); 宁波市科技创新项目 (2004A610026, 2007A31004)

* 通信作者。Tel: +86-574-87600164; E-mail: zhangdemin@nbu.edu.cn

作者简介: 陈慧 (1986-), 女, 黑龙江省哈尔滨人, 硕士研究生, 主要从事水产养殖环境的微生物修复。E-mail: chenamy1986@163.com

收稿日期: 2010-07-06; **修回日期:** 2010-10-25

分离筛选出一株具有高效亚硝酸盐去除能力的光合细菌菌株,对其进行了表型特征、生理生化特性研究和系统发育分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源:用于菌株分离的底泥采自浙江宁波奉化某未使用微生物制剂的对虾养殖塘。

1.1.2 主要试剂和仪器:碳源、氮源、无机电子供体等为分析纯试剂,购自宁波奥博生化试剂公司;DNA提取试剂、PCR试剂购自上海生工生物工程技术有限公司。UV-3100PC型紫外可见分光光度计(Apada);CX31RTSF系统生物显微镜(Olympus);PIC-0100 PCR扩增仪(Bio-rad);日立S-3400N扫描电镜;日立H-7650透射电镜。

1.2 培养基及培养条件

除特别说明,光合细菌富集、分离及生物学性质研究均采用ATY培养基,即在Imhoff的AT培养基^[10]基础上做了一些调整,具体组成:乙酸钠、丁二酸钠、氯化铵和氯化钠各1g,氯化镁0.25g,氯化钙0.05g,酵母膏0.2g,微量元素母液1mL(每升母液含氯化铁1.8g;氯化铜0.01g;硼酸0.5g;氯化钴0.25g;氯化锰0.07g;钼酸钠0.03g;氯化镍0.01g;氯化锌0.1g)和维生素母液1mL(每升母液含生物素10mg、对氨基苯甲酸20mg、维生素B₁₂5mg、烟酸35mg、盐酸吡哆辛10mg、盐酸硫胺素30mg、泛酸钙10mg),加水至1L,pH7.0。在30℃、光照为2000-3000lux的条件下培养。

1.3 菌株的富集和分离

取1g底泥于装满液体培养基的厌氧管中,光照培养约7d,直至出现红色培养物。富集样品采用半固体培养基深层逐级稀释法获得单菌落^[11],将单菌落转接到液体培养基中培养,待生长至对数后期,再重复该稀释法分离纯化单菌落,直到培养基中没有其他杂菌菌落出现且镜检无杂菌为止。

1.4 细胞形态观察

扫描电子显微镜观察菌体形态及鞭毛,透射电子显微镜观察光合内膜结构。

1.5 活细胞吸收光谱测定

离心收集处于对数生长期的菌体,用生理盐水洗涤2-3次后,将菌体悬浮于60%蔗糖溶液,以

60%蔗糖溶液做参比,用紫外可见分光光度计检测活细胞吸收光谱^[12]。波长范围为300nm-900nm。

1.6 光合细菌生理生化特性

以ATY培养基为基础,分别设置初始pH为5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5和9.0的实验组,观察不同起始pH对菌株wps生长的影响;调整ATY中的NaCl浓度分别为0%、0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%和3%,检测该菌株的盐度耐受范围;分别设置培养温度为20℃、25℃、28℃、32℃、35℃、38℃、41℃、44℃,测定其生长温度范围。碳源利用试验是在ATY培养基中,去除乙酸钠和丁二酸钠,分别添加不同种类和浓度的待试碳源^[13](丁二酸钠、酵母膏、乳酸钠、乙醇、丙三醇、谷氨酸钠、葡萄糖酸钠、柠檬酸钠、甲酸钠、酒石酸钠、松二糖、葡萄糖、肌醇、海藻糖、半乳糖、甘露醇、山梨糖醇或苹果酸钠),以ATY为阳性对照,以不加任何碳源的ATY为阴性对照,观察其生长情况。氮源测定是以终浓度为0.1%(W/V)的谷氨酸钠、尿素、亚硝酸钠和硝酸钠取代ATY培养基中的氯化铵。含硫化合物无机电子供体利用测定是把ATY培养基中的碳源替代为碳酸氢钠,含硫化合物的终浓度分别为0.1%(W/V)硫、0.5mmol/L硫代硫酸钠、0.5mmol/L亚硫酸钠或0.5mmol/L硫化钠^[12,14]。必需生长因子试验是去除ATY中的酵母膏和维生素母液中某一生长因子(生物素、对氨基苯甲酸、维生素B₁₂、烟酸、盐酸吡哆辛、盐酸硫胺素、泛酸钙)以检查该生长因子对菌株生长的影响。接种量均为5%,生长因子试验是培养120h后,其他试验均是培养60h后,测定菌悬液660nm处OD值。

1.7 反硝化能力测定

用硝酸钠代替ATY培养基中的氨盐初步筛选高效脱氮光合细菌,以检测亚硝酸盐的生成和观察杜氏小管中气体的生成判定反硝化的有无及强弱;筛选亚硝氮反硝化光合细菌则是在ATY培养基中加入亚硝酸钠至10mg/L终浓度。定量分析菌株wps的反硝化作用,则是调整亚硝态氮终浓度分别为1、10、50和100mg/L,每个浓度做3个重复,接种量为5%(菌体数量大约为 5×10^6 个/mL)。每隔12h检测一次亚硝酸氮剩余量,计算出亚硝酸氮的残存量,亚硝酸氮的测定方法采用重氮-偶氮法(GB12763.4-91)。

1.8 16S rDNA 与 *pufM* 基因的扩增、测序、系统发育

提取菌株基因组 DNA, 分别用 16S rDNA 的引物对 27f-1491r 和 光合反应中心 M 亚基基因 (Photosynthetic reaction center subunit M, *pufM*) 的引物对 557f-750r, 进行 PCR 扩增, PCR 反应体系和反应条件分别参照钱丽君等^[15] 和 Achenbach 等^[16], PCR 产物纯化后送去上海生工测序。获得的序列在 GenBank 登录, 得到 16S rDNA 基因登录号为 GU226427。在 NCBI 上 Blast 比对, 下载相关序列, 用 MEGA 4 软件中的 Neighbor-Joining (NJ) 法构建系统发育树。

2 结果

2.1 菌株 wps 的形态学特征

利用软琼脂深层逐级稀释法, 从样品中分离、纯

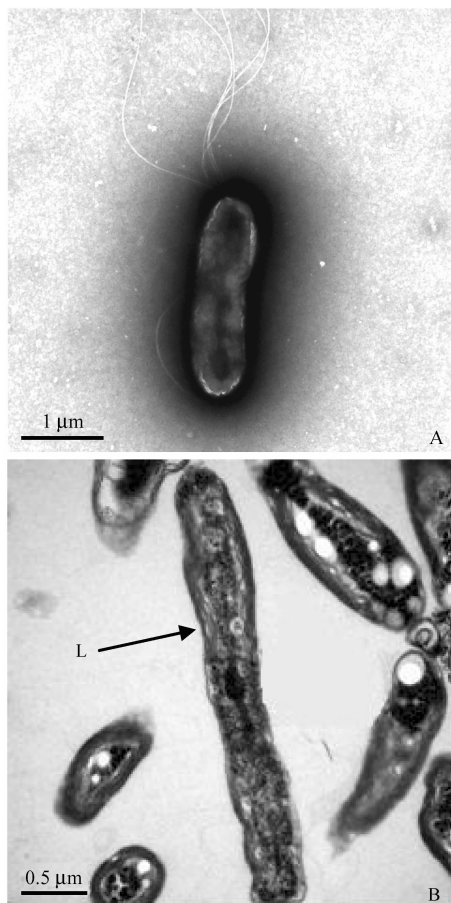


图 1 菌株 wps 的细胞形态结构

Fig. 1 Morphology and structure of cells of strain wps. A: Scanning electron micrograph showing cell shape and polar multiple flagella (5000 ×); B: Transmission electron micrograph of ultra-thin sections, with arrow indicating the lamellar intracytoplasmic membrane (10000 ×).

化到 1 株光合细菌, 命名为 wps。该菌株在光照厌氧或微好氧条件下的液体培养物呈红色; 不能在黑暗好氧或厌氧条件下生长。光照厌氧或微好氧条件下的单菌落为红色、球状; 细胞革兰氏阴性, 呈杆状, 稍弯曲, 大小为 $0.4 - 0.6 \times 1.5 - 4.0 \mu\text{m}$, 极生丛生鞭毛 (图 1-A), 细胞内有片层状光合内膜 (图 1-B), 生长晚期有玫瑰结结构。

2.2 吸收光谱

菌株 wps 的活细胞吸收光谱如图 2 所示, 在 805、863 nm 处都出现吸收峰, 表明菌株含有细菌叶绿素 a; 在 490、500、520 - 534 nm 附近出现特征吸收峰, 表明有螺菌红质系的类胡萝卜素存在^[10,12]。

2.3 菌株 wps 的生理生化特性

菌株 wps 的生长最适初始 pH 范围为 5.5 - 8.0。该菌株在 0 - 3% 的盐度范围内均能生长, 0 - 2% 盐度内均能最佳生长。菌株 wps 的生长温度范围为 20 - 41℃, 最佳生长温度为 25 - 38℃。菌株 wps 不能利用碳酸氢钠进行光合自养生长, 对乙酸钠、丁二酸钠和酵母膏利用较好, 其次是乳酸钠、乙醇、丙三醇、谷氨酸钠和葡萄糖酸钠。不利用下列碳源: 柠檬酸钠、甲酸钠、酒石酸钠、松二糖、葡萄糖、肌醇、海藻糖、半乳糖、甘露醇、山梨糖醇、苹果酸钠。除铵盐外, 该菌株也能以谷氨酸盐和硝酸盐作为唯一氮源生长, 但不利用尿素。不利用单质硫、硫代硫酸盐、亚硫酸盐以及硫化物为无机电子供体。生长因子试验结果显示, 菌株 wps 对泛酸钙和盐酸硫胺素缺乏相对敏感, 其他生长因子对菌株生长无影响。

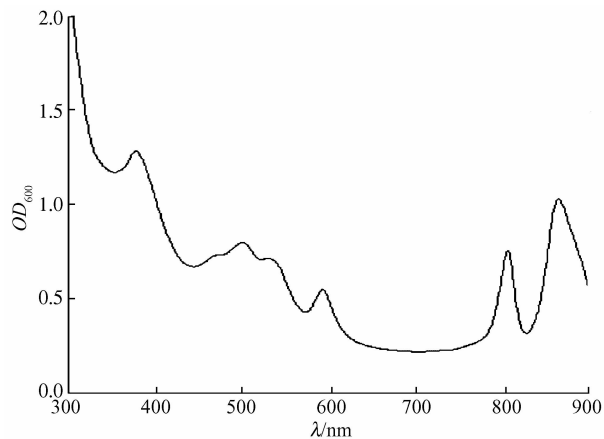


图 2 菌株 wps 的活细胞吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectra of living cells of strain wps.

2.4 高效亚硝氮反硝化菌的筛选

我们首先以硝酸盐为唯一氮源代替 ATY 中的铵盐,筛选具高效反硝化作用的光合细菌,发现 10 株光合细菌中除菌株 ZC 和菌株 T 外都有亚硝酸盐和气体的产生,表明这 8 株菌均具有呼吸性还原硝酸盐及亚硝酸盐的能力;我们在 ATY 中再加入 10 mg/L 亚硝氮,筛选亚硝氮反硝化菌,发现菌株 T 和 ZC 也不具备亚硝酸盐反硝化活性,而其余 8 株光合细菌的亚硝氮反硝化能力则得到了证实,其中菌株 wps 的反硝化活性最高(表 1)。

表 1 十株光合细菌菌株亚硝酸盐反硝化作用

Table 1 The denitrification of nitrite by ten stains of photosynthetic bacteria*

Strain	Identification	Denitrification
wps	<i>Rhodospseudomonas</i> sp.	++
pu	<i>Rhodospseudomonas</i> sp.	+
T	<i>Rhodospseudomonas palustris</i>	-
ps	<i>Rhodobacter</i> sp.	+
ZC	<i>Rhodobacter spheroides</i>	-
dc	Most related to <i>Proteus</i>	+
cp1	Most related to <i>Comamonas</i>	+
sd	Most related to <i>Comamonas</i>	+
su-a	not determined	+
su-g	not determined	+

* The identification is based on the sequence of 16S rDNA gene

定量测定了菌株 wps 去除亚硝酸盐性能,如图 3。在亚硝态氮浓度为 1 mg/L 和 10 mg/L 时,菌株 wps 分别在 12 h 内和 24 h 内完全去除亚硝酸盐;但起始亚硝态氮浓度为 50 mg/L 时,菌株 wps 在前 48 h 内亚硝态氮去除效率很低,之后亚硝酸盐反硝

化活性迅速提高,至 60 h 时,50 mg/L 的亚硝态氮也全部去除;起始亚硝态氮浓度为 100 mg/L 的试验组,一周内培养液内亚硝态氮浓度仍无大的变化,菌体生长也一直处于抑制状态。

2.5 基于 16S rDNA 和 *pufM* 基因的系统发育学分析

菌株 wps 的 16S rDNA 序列比对结果表明:菌株 wps 与 *Rhodospseudomonas palustris* 的模式菌株(ATCC17001^T) 的相似性为 98.9%, 与 *Rhodospseudomonas faecalis* (g-c^T) 和 *Rhodospseudomonas rhenobacensis* (Rb^T) 的相似性分别为 98.4% 和 97.5%。*R. palustris* 与 *R. faecalis* 和 *R. rhenobacensis* (Rb^T) 的相似性分别为 98.5% 和 97.6%, *R. rhenobacensis* 与 *R. faecalis* 的相似性为 98.6%。以 16S rDNA 序列构建的系统发育树也显示菌株 wps 与所有 *Rhodospseudomonas* 属的种聚成一簇(图 4-A)。光合作用功能基因 *pufM* 序列比对结果表明,菌株 wps 与 *R. palustris* (ATCC17001^T) 相似性最高,达 94.9%, 但与该属另两个种 *R. faecalis* (g-c^T) 和 *R. rhenobacensis* (Rb^T) 的相似性只有 88.3% 和 85.8%, *R. palustris* 与 *R. faecalis* (g-c^T) 和 *R. rhenobacensis* (Rb^T) 的相似性分别为 88.8% 和 87.6%。基于 *pufM* 基因序列的系统发育树也显示,菌株 wps 与 *R. palustris* (ATCC17001^T) 聚成一簇(图 4-B)。

3 讨论

从淡水养殖塘中分离出具有高效去除亚硝酸盐能力的光合细菌菌株 wps,该菌株的 16S rDNA 序列与 *R. palustris* 的模式菌株(ATCC17001^T) 相似度为 98.9%, 二者的 *pufM* 基因序列的相似性也高达 94.9%, 似乎可以定名菌株 wps 为 *R. palustris*。但是从 16S rDNA 构建的系统发育树上可以看到菌株 wps 与另外 3 个种 *R. palustris*、*R. faecalis* 和 *R. rhenobacensis* 呈平行关系,各种代表菌株之间的 16S rDNA 相似性也多在 98% 以上;Okamura^[17] 等以 99.0% 的 16S rDNA 相似性为限,将红假单胞菌属的 33 个菌株分为 8 个分类操作单元(Operational taxonomic unit, OTU), DNA-DNA 杂交试验表明,至少有 7 个 OTU 代表不同的种;同时,又考虑到菌株 wps 与 *R. palustris* 在生物学特性上有明显不同。比如,菌株 wps 具有丛生端生鞭毛, pH 5.5 可以生长,

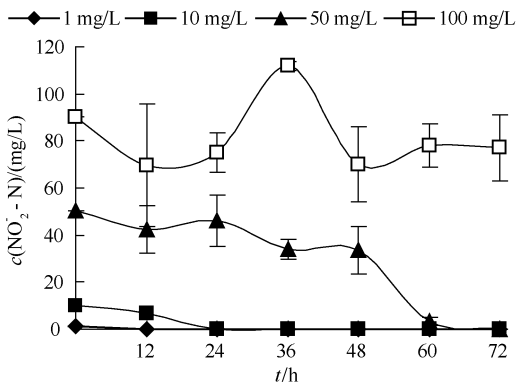


图 3 菌株 wps 对不同起始浓度的 NO₂⁻ - N 的去除

Fig. 3 Removal of different initial concentration of NO₂⁻ - N by strain wps.

不能光自养生长,不利用柠檬酸盐、甲酸盐,需盐酸硫胺素和泛酸钙做生长因子等(表2)。因此,菌株

wps 很可能是一个新种,但还有待基因组间杂交试验判定。

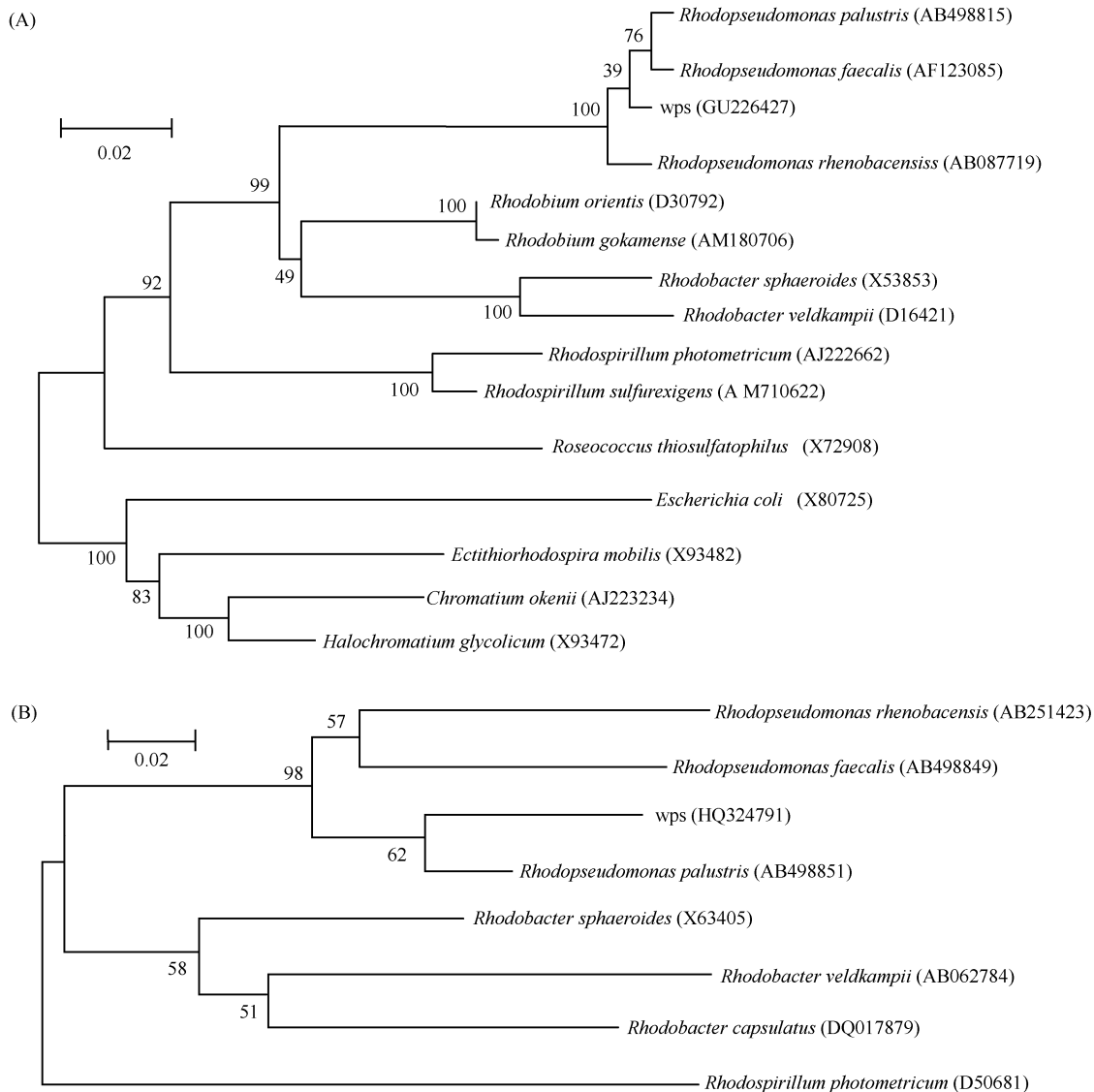


图4 菌株 wps 的 16S rDNA (A) 和 *pufM* (B) 基因系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree derived from 16S rDNA (A) and *pufM* (B) sequences showing the position of strain wps. Numbers in parentheses are the sequences' accession number in GeneBank. Numbers at the nodes indicate the bootstrap values on neighbor-joining analysis. Bars represents 0.02% sequence divergence.

亚硝酸盐是水产养殖过程中产生的有毒物质,是水产养殖的重要致病根源之一,常使养殖动物体抵抗力下降,易患各种疾病^[1-5]。因此,亚硝态氮是养殖管理中重点关注的一个指标^[18]。菌株 wps 可在 12 h 内完全去除 1 mg/L 的亚硝氮,即使 10 mg/L 的浓度,也能在 24 h 内去除,且在 100 倍稀释的培养基中添加 0.1 ppm 的 wps,菌体数约为 10 个/mL 时,仍有明显效果(将另文发表)。因此,菌株 wps 可用来高效净化

养殖水体的亚硝酸盐。从该菌株的生物学特性看,该菌株也具有很好的生境适应性。如具有生长速度快,pH 适应范围宽,耐氧性高等特点,虽然分离自淡水养殖塘,但是却有较宽的盐度适应范围,可以同时淡水海水养殖环境中生长。此外,光合细菌可以吸收利用环境中的有机物,菌体自身又具有较高的营养价值可以作为养殖生物的饵料^[18]。因此,菌株 wps 在养殖水体中具有重要的应用潜力。

表 2 菌株 wps 与 *Rhodopseudomonas paslastris* 的部分生物学性质的区别

Table 2 The differences in biological characteristics between the strain wps and *Rhodopseudomonas paslastris*

Characteristics	wps	<i>R. paslastris</i>
Cell shape	Curved rod	rod
Cell size (μm)	0.4 - 0.6 × 1.5 - 4.0	0.6 - 0.9 × 1.2 - 2.0
Flagella	Polar multiple	Single
Growth factors	Thiamine hydrochloride; Calcium pantothenate	Aminobenzoic acid; Biotin
pH 5.5	+	-
Photoheterotrophically	-	+
Citrate	-	+
Formate	-	+
Nitrite	+	-
Urea	-	+
Sulfide	-	+
Thiosulfate	-	+

参考文献

- [1] William ML, Donald PM. Toxicity of nitrite to fish; a review. *Transactions of American Fisheries Society*, 1986, 115:183-195.
- [2] Alonso A, Camargo JA. Toxicity of nitrite to three species of freshwater invertebrates. *Environmental Toxicology*, 2006, 21(1):90-94.
- [3] Alcaraz G, Chiappa-Carrara X, Espinoza V, Vanegas C. Acute toxicity of ammonia and nitrite to white shrimp *Penaeus setiferus* postlarvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1999, 30:90-97.
- [4] Gross A, Abutbul S, Zilberg D. Acute and chronic effects of nitrite on white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, cultured in low-salinity brackish water. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2004, 35(3):315-321.
- [5] Das PC, Ayyappan S, Das BK, Jena JK. Nitrite toxicity in indian major carps; sublethal effect on selected enzymes in fingerling of *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala*. *Comparative Biochemistry and Physiology—C Toxicology and Pharmacology*, 2004, 138(1):3-10.
- [6] 沈萍. 微生物学. 第一版. 北京: 高等教育出版社, 2000:289-291.
- [7] Zumpt WG. Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1997, 61(4):533-616.
- [8] 朱励华, 韩茵, 陈勃, 吴雄飞. 光合细菌的培养及其在水产养殖中的应用. 水产养殖 (*Journal of Aquaculture*), 1997, 2:25-27.
- [9] 田维熙, 陈俊芹, 黄莉莉, 张华北, 张树杰. 光合细菌在对虾养殖中应用的效果实验. 饲料研究 (*Feed Research*), 1995, 8:4-6.
- [10] Imhoff JF, Truper HG. The genus *Rhodospirillum* and related genera//Trüper A, Dworkin HG, Harder M. The Prokaryotes. 2nd eds. Heidelberg: Springer-verlag, 1992: 1245-2155.
- [11] 张德民. 紫色非硫细菌多相分类及分子生态学研究. 中国科学院微生物研究所博士学位论文, 1999.
- [12] Hiraishi A, Muramatsu K, Urata K. Characterization of new denitrifying *Rhodobacter* strains isolated from photosynthetic sludge for wastewater treatment. *Ferment and biotechnology*, 1995, 79(1):39-44.
- [13] Imhoff JF, Caumette P. Recommended standards for the description of new species of anoxygenic phototrophic bacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54:1415-1421.
- [14] 杨素萍, 连建科, 赵春贵, 马文丽, 曲音波. 含奥氏酮嗜盐紫色硫细菌的分离鉴定及系统发育分析. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2008, 48(5):571-576.
- [15] 钱丽君, 张德民, 徐小红. 应用 DGGE 分析三疣梭子蟹养殖环境中异养细菌多样性的研究. 水产学报 (*Journal of Fisheries of China*), 2007, 31(2):204-210.
- [16] Achenbach LA, Carey J, Madigan MT. Photosynthetic and phylogenetic primers for detection of anoxygenic phototrophs in natural environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(7):2922-2926.
- [17] Okamura K, Takata K, Hirashima A. Intrageneric relationships of members of the genus *Rhodopseudomonas*. *The Journal of general and applied microbiology*, 2009, 55:469-478.
- [18] 李彦才, 王金成. 光合细菌添加剂在饲料中的应用. 饲料博览 (*Feed Review*), 1996, 8(3):30-31.

Biological characteristics and phylogenetic analysis of a denitrifying photosynthetic bacterium

Hui Chen, Demin Zhang^{*}, Longgang Wang, Zhichong Pan

Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ningbo University, Ministry of Education, Ningbo 315211, China

Abstract: [**Objective**] Nitrite accumulation in aquaculture water is toxic to reared animals. One of the solutions to this problem is to apply denitrifying bacteria. This paper is intended to get a strain of phototrophic bacteria for efficient removal of nitrite from aquaculture water. [**Methods**] We used soft agar to isolate and purify phototrophic bacteria. We investigated biological characteristics of the isolate by means of light and electronic observations, physical and chemical tests. We analyzed its phylogenetical position based on the sequences of 16S rDNA and the gene that codes for photosynthetic reaction center subunit M (*pufM*). [**Results**] A photosynthetic bacterial strain, named wps, showing high removal efficiency of nitrite, was isolated from the freshwater ponds. Cells were Gram-negative, rod-shaped, slightly curved, $0.4 - 0.6 \times 1.5 - 4.0 \mu\text{m}$, motile by means of polar multiple flagella. Intracellular membranes were of the lamellar type. It grew under facultative anaerobic conditions in the light with bacteriochlorophyll a and carotenoid of spirilloxanthin series as photosynthetic pigment. The optimum growth was obtained at pH 5.5 - 8.5, in a range of 0 - 2% salinity and at 25 - 38°C. The similarity of 16S rDNA between strain wps and *Rhodopseudomonas palustris* was 98.9% and 94.9% for *pufM* gene. However, there are significant differences between them in the morphological and physiological characteristics, i. e. grew at pH 5.5; no growth photoautotrophically with sodium hydrogen carbonate; could not utilize citrate or formate as only carbon source; required thiamine hydrochloride and calcium pantothenate as growth factors. [**Conclusion**] Strain wps may represent a novel species in genus *Rhodopseudomonas* and possibly find its application in the bioremediation of polluted aquaculture water.

Keywords: photosynthetic bacteria, *Rhodopseudomonas*, nitrite, denitrification

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Science and Technology Project of Ministry of Education (208053), by the Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (PCSIRT) (IRT0734), by the National Program for High Technology Research and Development of China (2007AA10Z409), by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (R305333) and by the Project of scientific and technological Innovation of Ningbo (2007A31004, 2004A610026)

^{*} Corresponding author. Tel: +86-574-87600164; E-mail: zhangdemin@nbu.edu.cn

Received: 6 July 2010 / Revised: 25 October 2010