

一株高含玫红品的红树林海洋紫色硫细菌分离鉴定及特性

赵江艳¹, 傅英楠³, 赵春贵¹, 杨素萍^{1*}, 曲音波², 焦念志³

¹ 华侨大学生物工程与技术系, 厦门 361021

² 山东大学微生物技术国家重点实验室, 济南 250100

³ 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361005

摘要: 【目的】挖掘我国海洋紫色硫细菌物种资源、深入理解紫色硫细菌在红树林生态系统中的作用。【方法】采用琼脂振荡稀释法、显微技术、紫外可见吸收光谱法、TLC、HPLC 和 MS 法。【结果】从福建泉州洛阳桥红树林潮间带泥水样分离获得一株细胞内含多个硫粒的细菌菌株, 光合内膜呈囊状、含细菌叶绿素 a 和螺菌黄质素类胡萝卜素, 结合 16S rRNA 基因序列分析和系统发育分析, 表明该菌株属于海洋着色菌属 (*Marichromatium*)。该菌株细胞球杆状; 最适 pH 范围 5.7-6.7; 最适盐度范围 2%-3.5%; 温度范围 20℃-35℃; 能耐受 3.6 mmol/L 硫化物; 主要积累玫红品类胡萝卜素, 而不是螺菌黄质; 3 种细菌叶绿素组分中, 一种为 BChl aP, 另 2 种未见报道; 不需要生长因子; 可光同化固定 CO₂、能很好利用多种有机酸盐、多价态氮化物和硫化物, 尤其能利用柠檬酸、葡萄糖、蔗糖、果糖和丙醇; 对氯霉素、头孢唑林、苯、对羟基联苯、恩诺沙星、吡虫啉、HgCl₂ 和 CdCl₂ 的 IC₅₀ 值分别为 70、100、20、20、3、170、5 mg/L 和 25 mg/L。【结论】该菌株是一株轻度耐酸、高含玫红品类胡萝卜素的紫色硫细菌, 被鉴定为 *Marichromatium gracile* 新菌株, 编号 YL28。该菌株具有广泛利用多种碳源、氮源和硫源物质的能力, 对抗生素氯霉素和头孢唑林、农药吡虫啉、重金属汞和镉具有较强耐受性, 对抗生素恩诺沙星较敏感。

关键词: 紫色硫细菌, *Marichromatium gracile*, 玫红品, 红树林

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2011) 10-1318-08

紫色硫细菌大约出现在 3.5Ga 年前, 在生命起源和地球进化、自然界水生态系统碳氮硫物质循环和能量转化以及维持生态系统平衡中扮演重要角色。近年研究发现, 紫色硫细菌在开放的海洋系统中普遍存在, 寡营养和富营养海洋含氧水体中都有其踪迹, 显示出在海洋碳循环中的重要作用^[1]; 2007 年 *Science* 杂志报道了紫色硫细菌新的氮代谢途

径^[2], 这些研究成果对深入理解紫色硫细菌在海洋碳氮硫物质循环中的作用和环境适应性机制奠定了基础。但大多紫色硫细菌较难获得纯培养物, 纯培养过程中菌种易于丢失或生长不良, 保藏的菌种也较难活化或丢失, 对其研究远不如紫色非硫细菌广泛和深入, 因而挖掘紫色硫细菌资源、开展其理论和应用研究将具有重要意义。

基金项目: 国家自然科学基金 (31070054); 福建省自然科学基金 (2010J01209); 中国科学院城市环境与健康重点实验室基金 (KLUEH201005)

* 通信作者。Tel: +86-592-6166178; E-mail: yangsuping@hqu.edu.cn

作者简介: 赵江艳 (1985-), 女, 云南大理, 硕士研究生, 研究方向为资源与环境微生物。

收稿日期: 2011-04-01; 修回日期: 2011-06-05

红树林独特的生态环境,已引起国内外学者的广泛关注,现成为很多学科的研究热点。该系统具有丰富的微生物资源和生态多样性,蕴藏着独特的酶资源和基因资源^[3],对于推动红树林生态系统物质循环和能量流动具有重要的作用^[4]。目前,红树林微生物学研究主要集中在土壤、水体和沉积物中微生物种群结构和多样性分析;微生物与其它生物相互作用;抗菌、抗癌、抗氧化等代谢产物及其多样性;重金属的吸附和固定;氮磷和多种有机物的去除及水质净化;菲等多环芳烃和石油污染物降解以及农药污染的生物修复等方面。与红树林植物和动物群落研究相比,微生物学研究还不够深入和系统,在细菌多样性研究中发现很多未培养微生物^[3-4],所鉴别的微生物种类还极其有限^[4],紫色硫细菌也鲜有报道^[5-7]。因此,我们采用选择性富集方法对福建泉州洛阳桥红树林环境中的紫色硫细菌进行了筛选研究,从中分离获得一株胞内含有多个硫粒的纯菌株,在对其形态学、光合内膜超微结构、16S rRNA 基因序列分析及系统发育分析基础上,较为详细的研究了光合色素组成、不同碳氮硫源利用能力以及对盐、硫化物和酸碱度的耐受能力等,并初步探索了该菌株对一些污染物的耐受性,对于深入了解紫色硫细菌红树林生态环境的适应性机制以及在环境中的作用具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源:采集于福建泉州洛阳桥红树林潮间带泥水样。

1.1.2 主要试剂和仪器:TIANamp Bacteria DNA Kit(TIANGEN, Beijing)。碳源、氮源和无机电子供体为分析纯试剂。OLYMPUS 生物显微镜(BX51)。Biometra(TGRADIRT)。UV-3200PCS 紫外可见分光光度计(MAPADA)。JEOL100 电子显微镜。智能人工气候培养箱(ZRX-300E 型)。LC/MS(Agilent Technology 1200 series, 6310 Ion Trap)。

1.2 富集和分离

采用改良的 Pfennig 1988 年紫色硫细菌无机选择性培养基^[8],以 10 mmol/L 无水乙酸钠为碳源,1.5 mmol/L $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 为电子供体,含 3% NaCl, pH 6.8。泥水样放入盛有选择性培养基的螺口试管

中于 25℃、500-1000 lux 静置光照厌氧培养。富集培养物颜色发生变化后,用琼脂振荡稀释法(Agar Shake Dilution Method)进行分离纯化。按同样方法分离纯化 3 次后挑取单菌落接入液体培养基光照厌氧培养,显微镜镜检和厌氧载片法检查是否为纯培养物。

1.3 细胞形态和光合内膜观察

革兰氏染色,光学显微镜观察细胞形态和染色情况,透射电镜观察细胞形态和光合内膜。

1.4 生理生化特性

最适盐度测定,调整 NaCl 浓度(% w/v)分别为 0、0.5、1、2、3、3.5、4.0、5.0、6.0。在选择盐度的条件下,进行碳源、氮源、无机电子供体利用能力的测定。pH 分别设定 5.0、5.5、5.7、5.9、6.2、6.5、6.7、7.2、8.2、8.4 和 9.0。碳源测试设定不同碳源的 C 元素浓度为 10 mmol/L。氮源测试设定 N 元素为 5 mmol/L。硫化钠耐受能力设定浓度(mmol/L)分别为 0、0.6、1.2、1.8、2.4、3、3.6、5.0。硫源测试设定 S 元素均为 1.5 mmol/L。于 30℃和 1500 lux-2000 lux 光照厌氧培养 5 d,取样测定 660 nm 处 OD 值。

1.5 活细胞吸收光谱测定

离心收集菌体,于 pH 7.5 10 mmol/L Tris-HCl 缓冲液洗涤 2 次,悬浮于 60% 蔗糖溶液,用光程为 1 cm 石英比色杯,在紫外-可见分光光度计上进行光谱扫描。

1.6 16S rRNA 基因的扩增、序列测定和系统发育分析

DNA 提取和纯化用 TIANamp Bacteria DNA Kit(TIANGEN, Beijing),16S rRNA 基因的扩增按文献进行^[9]。用 BS363 EZ spin column PCR Product Purification Kit(Bio. Basic. Inc.)纯化 PCR 产物并送上海美季生物技术公司测序。Chromas 编辑序列并与 NCBI 数据库比较,Blast 搜索 GenBank 数据库中与该序列相似性较高的典型菌株的序列,Clustal 1.83X 多序列比对,用 MEGA 4.1 中的 Neighbor-Joining(NJ)方法构建系统发育树,用 Bootstrap 对系统树进行统计检验。序列上传至 GenBank,获取登录号。

1.7 细菌叶绿素和类胡萝卜素组成分析和定性

采用紫外可见光谱法、薄板层析法^[10]、HPLC 和 MS 方法对光合色素进行组成分析和分子量测定。

HPLC 测定采用反向 C18 柱 (Shim-Pack VP-ODS, 150 mm × 4.6 mm I. D, Shimadzu), 柱温 30℃, 流动相为甲醇:乙腈 (95:5, v/v), 流速 0.7 ml/min, DAD 检测器波长范围为 190 nm – 800 nm。MS 采用正离子模式, 毛细管电压 5500 eV, 干燥气流速 12 L/min, 干燥气温度 350℃, 雾化器压力 30Psi, 扫描范围 200 m/z – 1200 m/z。

2 结果

2.1 分离纯化

泥水样接种于 Pfennig 紫色硫细菌选择培养基光照厌氧培养一周, 培养液颜色变为红色, 镜检有含硫粒细菌的存在, 对此培养液进行琼脂稀释振荡法分离。挑取红色透镜形单菌落进行液体培养, 镜检确证为纯培养物, 编号 YL28。

2.2 菌体形态

菌株 YL28 革兰氏阴性。光学显微镜显示细胞球杆状, 0.5 μm – 1.0 μm × 2.0 μm – 3.0 μm, 细胞内储藏有 1–3 个硫粒 (图 1-A), 滑行运动, 透射电镜显示细胞内光合内膜类型为囊状 (ICM, 图 1-B)。

2.3 生理生化特性

盐度测试结果表明, 菌株 YL28 能在 0.5% – 5.0% 盐度范围内生长, 最适盐度范围为 2% – 3.5%。生长 pH 范围 5.5 – 7.2, 最适 pH 范围 5.7 – 6.7。硫化钠耐受浓度为 3.6 mmol/L, 最适浓度范围 0.6 mmol/L – 1.8 mmol/L。该菌株可很好利用 CO₂ 和 H₂S 进行光自养生长; 能很好利用乙酸钠、丙酮酸钠、苹果酸钠、琥珀酸钠、延胡索酸钠、丙酸钠、丁酸钠、乳酸钠、乳酸锂、柠檬酸钠、葡萄糖、蔗糖, 二甲基甲酰胺 (DMF) 和葡萄糖、L-亮氨酸行光异养和化能异养生长, 也能光同化丙醇和果糖; 还能利用 CO₂ 和 H₂ 行化能自养生长。氮源利用能力测定表明, 该菌株可利用酵母、蛋白胨、尿素、谷氨酸钠、NH₄Cl、(NH₄)₂SO₄、NaNO₃ 和 N₂, 微弱利用 NaNO₂。硫源利用能力测定表明, 该菌株能很好的利用 Na₂S₂O₃、Na₂S 和 S, Na₂SO₄ 和 Na₂SO₃ 次之。

2.4 16S rRNA 基因系统发育学分析

YL28 菌株 16S rRNA 基因序列长度为 1382 bp, GenBank 登录号为 JF719917。与 GenBank 数据库

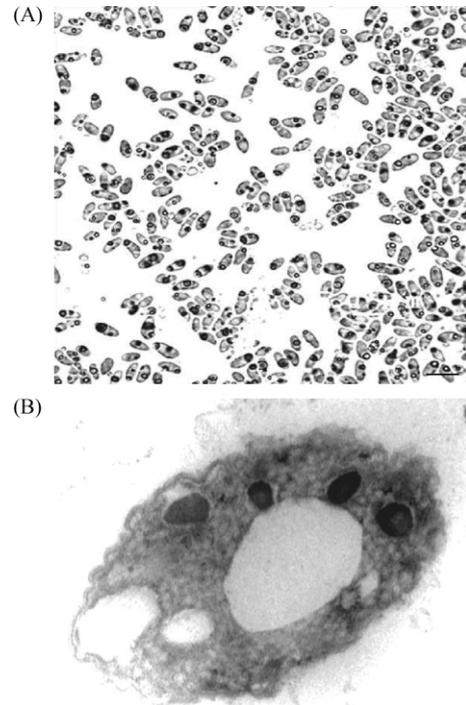


图 1 菌株 YL28 细胞形态和内部硫粒 (A, bar 5 μm) 和囊状光合内膜 (B, bar 0.5 μm)

Fig. 1 Photos of strain YL28 showing cell shape and intracellular sulfur globules (A, bar 5 μm) and intracytoplasmic membrane structure (B, bar 0.5 μm).

序列进行 BLAST 比对, 并调集与该菌株同源性高的典型菌株序列, 采用 Clustal 1.83X 进行序列匹配比对, 通过 MEGA 4.1 软件进行系统进化树的构建 (图 2)。结果表明: 菌株 YL28 与 *Marichromatium* 属的 5 个典型菌株 *M. gracile* BN5210^T (X93473)、*M. purpuratum* DSM1591^T (EU850807)、*M. indium* JA100^T (AJ543328)、*M. bheemicum* JA124^T (AM180952)、*M. flminus* JA418^T (FM210274) 系统发育关系密切, 同源性分别为 99%, 99%, 99%, 97%, 96%, 与 *M. gracile* BN5210^T (X93473) 位于同一进化分支上。

2.5 光合色素

菌株 YL28 光照厌氧液体培养物呈红色。图 3-A 活细胞吸收光谱显示, 该菌株在 378 nm、455 nm、490 nm、524 nm、590 nm、797 nm、853 nm 处有吸收峰, 其中 378 nm、590 nm、797 nm 和 853 nm 处特征性吸收峰表明含有细菌叶绿素 a 系列, 455 nm、490 nm 和 524 nm 特征性吸收峰表明含有螺菌黄质

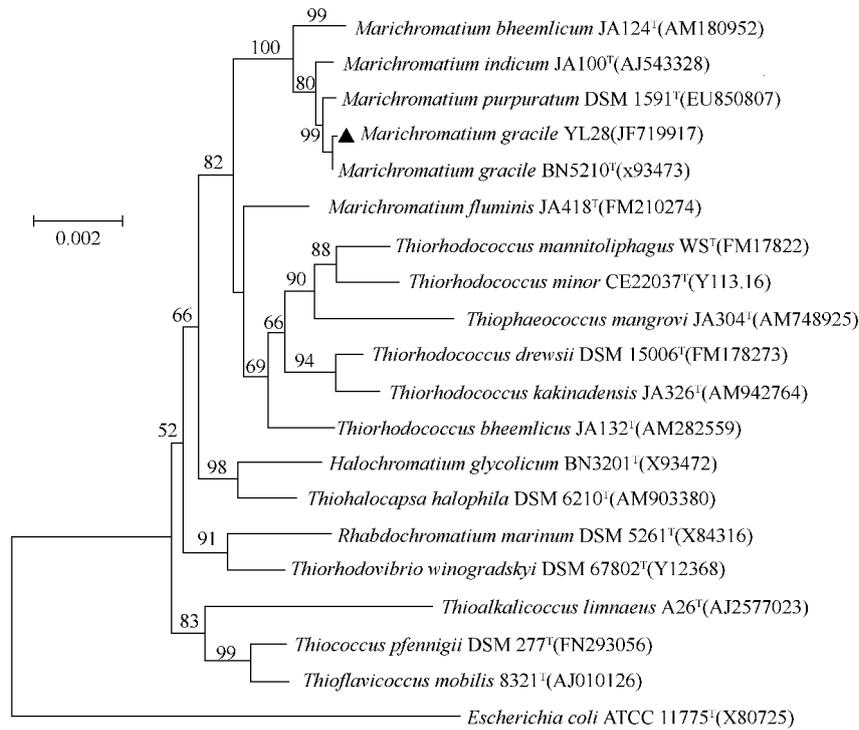


图 2 YL28 菌株 16S rRNA 基因系统发育分析

Fig.2 Phylogenetic tree derived from 16S rRNA gene sequences of strain YL28. Numbers in parentheses represent the sequences accession number in GenBank. Numbers at the nodes indicates the bootstrap values on neighbor-joining analysis of 1000 resampled data sets. Bar 0.02 represent sequence divergence.

系类胡萝卜素。图 3-B 薄层层析 (TLC) 结果表明菌株 YL28 含有 8 种光合色素, HPLC 和 MS 进一步表明第 1 至第 4 条带分别为番茄红素 (lycopene)、脱水玫红品 (anhydrorhodovibrin)、螺菌黄质素 (spirilloxanthin) 和玫红品 (rhodopin) 类胡萝卜素, 其吸收光谱见图 3-C, 分子量分别为 536、566.4、596.8 和 554.89 (表 1), 其中玫红品是主要积累产物, 含量达总类胡萝卜素的 68%, 脱水玫红品、螺菌黄质和番茄红素次之。依据上述结果和文献报道分析^[11], 菌株 YL28 的类胡萝卜素合成途径为

lycopene → rhodopin → anhydrorhodovibrin → spirilloxanthin。第 5 条带属于脱镁叶绿素 (bacteriopheophytins, 图 3-D) 分子量为 889。第 6-8 条带属于细菌叶绿素 a 衍生物 (bacteriochlorophylla a, BChl a, 图 3-E), 分子量分别为 911、927 和 956, 其中分子量为 911 的细菌叶绿素为 phytylated BChl a (BChl a_p), 另外两种与文献报道的 geranylgeranylated BChl a (BChl a_{GG})、dihydrogeranylgeranylated BChl a (BChl a_{DHGG}) 和 tetrahydrogeranylgeranylated BChl a (BChl a_{THGG}) 不同^[12]。

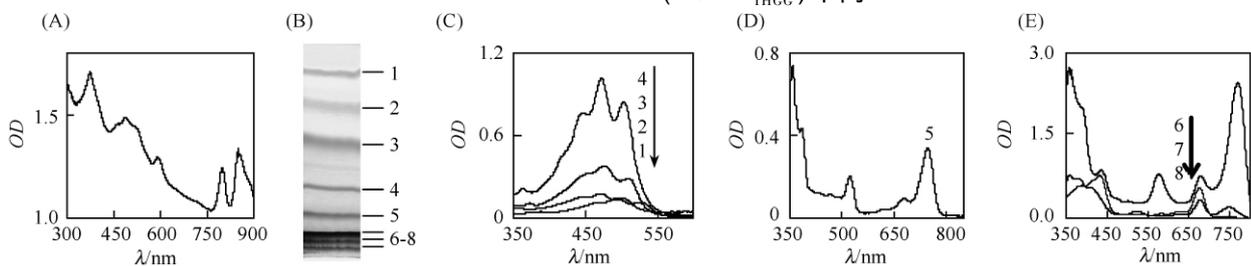


图 3 菌株 YL28 活细胞吸收光谱 (A)、色素组成 (B) 和各纯化色素吸收光谱 (C-E)

Fig.3 Absorption spectra of living cells, compositions and absorption spectra of purified pigments dissolved in acetone from strain YL28.

表 1 菌株 YL28 光合色素组成分析

Table 1 Absorption maxima and identification properties of various photopigments from strain YL28

Spot	λ_{max} /nm (in acetone)	MW	Compound names
1	449 470 503	536	lycopene
2	457 485 516	566.4	anhydrorhodovibrin
3	464 494 527	596.8	spirilloxanthin
4	447 472 503	554.89	rhodopin
5	358 385 525 680 747	889	bacteriopheophytins
6	360 385 436 578 680 771	911	bacteriochlorophylla a
7	358 383 411 523 680 747	927	bacteriochlorophylla a
8	390 432 676	956	bacteriochlorophylla a

2.6 耐受能力测定

菌株 YL28 对氯霉素、头孢唑啉、苯、对羟基联苯、恩诺沙星、吡虫脒、 $HgCl_2$ 和 $CdCl_2$ 的 IC50 值分别为 70、100、20、20、3、170、5 mg / L 和 25 mg / L，表明该菌株对不同污染物耐受能力存在差异，其中对抗生素氯霉素和头孢唑啉、农药吡虫脒、重金属汞和镉具有较强的耐受性，对恩诺沙星较敏感。

3 讨论

菌株 YL28 能在光照厌氧条件下利用还原态硫化物产生胞内硫粒、光合内膜为囊状、含有细菌叶绿素和螺菌黄质系类胡萝卜素的特性，表明属于 γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*)、着色菌目 (*Chromatiales*)、着色菌科 (*Chromatiaceae*)。依据盐度需求的不同，着色菌科分为需盐和淡水 2 个类群。依据需盐特性和 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树分析 (图 2)，菌株 YL28 应归于着色菌科海洋着色菌属 (*Marichromatium*)。该属目前报道有 5 个

种，分别为 *M. purpuratum*、*M. fluminis*、*M. bheemlicum*、*M. indium*、*M. gracile* 及其 *M. gracile* biotype *thermoulfidiphilum* (表 2)。从表 2 可知，*M. purpuratum* 含有独特的奥氏酮类胡萝卜素，*M. gracile* biotype *thermoulfidiphilum* 中度嗜热和耐受 16 mmol/L 高浓度硫化物，*M. fluminis* 轻度嗜碱且与菌株 YL28 同源性只有 96%，*M. bheemlicum* 盐度范围 1.5% - 8.5%、pH 范围 6.5 - 8.5、温度范围 30°C - 35°C 并利用醇类物质，*M. indicum* 碳源、氮源和硫源利用能力范围有限，菌株 YL28 与上述这 4 个种存在较大差异。与 *M. gracile* 相比，菌株 YL28 在形态、光合内膜结构类型、最适盐度和温度范围、硫源和大多数碳氮源利用能力等特性方面与 *M. gracile* 非常相似，尽管二者在葡萄糖、果糖、柠檬酸和丙醇利用能力以及 pH 范围方面存在一些差异，但二者 16S rRNA 基因序列同源性达 99%，系统进化树中二者也位于同一进化分支上，因而将菌株 YL28 鉴定为 *M. gracile* 一个新菌株。另外，菌株 YL28 类胡萝卜素虽属螺菌黄质系，但主要积累玫红品而不是螺菌黄质；还合成 2 种未见报道的细菌叶绿素 a 衍生物；对抗生素氯霉素和头孢唑啉、农药吡虫脒、重金属汞和镉具有较强耐受性，对抗生素恩诺沙星较敏感，*M. gracile* 文献未提供此方面的数据信息。对上述特性综合分析发现，它们与红树林的还原性、酸性、高含盐量、缺氧、营养丰富等特征^[3]相一致，这些特性是否与适应红树林特殊生境相关联，值得进一步深入研究，研究结果可为深入理解其环境适应性机制、保护和恢复红树林生态提供有价值的信息。

表 2 *Marichromatium* 属各种类主要特征比较Table 2 Differential characteristics of the species of the genus *Marichromatium*

Characteristics	YL28	1 ^[13]	2 ^[14]	3 ^[15]	4 ^[16]	5 ^[17]	6 ^[13,18]
Cell shape	ovoid-rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod
Motility	+	+	+	+	+	+	+
Cell size (μm)	0.8 - 1.0	1.0 - 1.3	1 - 1.2	0.8 - 1	0.8 - 1	0.6 - 1	1.2 - 1.7
Width length	2 - 3	2 - 6	2.5 - 4	2 - 7	2 - 4	3 - 6	3 - 4
Sulfur granules per cell	1 - 3	two or more	three or more	single	two or more	1 - 3	two or more
Color of cell suspensions	rb	rb	rp	rb	rb	rb	pr
Carotenoid series (predominant component)	sp (rhodopin)	sp	sp	sp	sp	sp (rhodopin)	ok
B ₁₂ requirement	-	-	-	-	-	-	-
NaCl range (%)	0.5 - 5.5	0.5 - 8.0	0.5 - 10	0.05 - 13	1.5 - 11	0.5 - 6.5	2 - 7
Optimum NaCl (%)	2 - 3.5	2 - 3	3	1 - 4	1.5 - 8.5	1.5 - 3	5

续表 2

Characteristics	YL28	1 ^[13]	2 ^[14]	3 ^[15]	4 ^[16]	5 ^[17]	6 ^[13,18]
Temp. range (°C)	20 – 35	25 – 35	25 – 44	30 – 35	30 – 35	30 – 35	30 – 35
Optimum pH	5.7 – 6.7	7.2 – 7.4	6.5 – 7.8	6.0 – 7.5	6.5 – 8.5	8 – 8.5	7.2 – 7.6
Sulfide tolerance (mM)	3.6	4	16	4	8	4	4
NH ₄ Cl	+	+	+	+	+	+	+
(NH ₄) ₂ SO ₄	+	+	nd	+	nd	+	+
Urea	+	nd	+	+	–	+	nd
N ₂	+	+	+	+	–	–	nd
Glutamate	+	nd	–	nd	+	+	–
NaNO ₃	+	nd	nd	nd	–	–	nd
NaNO ₂	+	nd	nd	nd	–	–	–
Yeast extract	+	nd	nd	+	+	+	nd
Casamino acids	+	+	nd	nd	nd	nd	–
Sulfide	+	+	+	+	+	+	+
Sulfur	+	+	+	+	+	+	+
Thiosulfate	+	+	+	–	+	+	+
Sulfite	+	+	nd	–	+	+	nd
Formate	–	–	nd	nd	nd	nd	–
Acetate	+	+	+	+	+	+	+
Propionate	+	+	+	+	–	+	+
Butyrate	+	+	–	+	–	+	+
Pyruvate	+	+	+	+	+	+	+
Lactate	+	+	+	+	–	–	+
Lithium lactate	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Citrate	+	–	–	–	–	+	–
Succinate	+	+	+	–	+	+	+
Fumarate	+	+	+	–	+	+	+
Malate	+	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	–	+	–	–	–	–
Fructose	+	–	+	+	–	+	–
Sucrose	+	nd	+	nd	nd	–	–
Dimethylformamide and glucose	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Methanol	–	–	–	–	+	+	–
Ethanol	–	–	–	–	+	–	–
Propanol	+	nd	nd	nd	nd	nd	–
Glycerol	–	–	–	–	+	–	–
Leucine	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Strain No. : 1 – 6 represent *M. gracile*, *M. gracile thermoulfidiphilum*, *M. indicum*, *M. bheemicum*, *M. fluminis* and *M. purpuratum*, respectively. Symbols: rb, reddish-brown. rp, reddish-pink. sp, spirilloxanthin. pr, purple-red. ok, okenone. +, substrate utilized. –, substrate not utilized. nd: not determined.

参考文献

- [1] Hu YH , Du HL , Jiao NZ , Zeng YH. Abundant presence of the gamma-like Proteobacterial pufM gene in oxic seawater. *FEMS Microbiology Letter* , 2006 , 263 (2) : 200-206.
- [2] Griffin BM , Schott J , Schink B. Nitrite , an electron donor for anoxygenic photosynthesis. *Science* , 2007 , 316 (5833) : 1870.
- [3] 刘慧杰 , 杨彩云 , 田蕴 , 林光辉 , 郑天凌. 基于 PCR-DGGE 技术的红树林区微生物群落结构. *微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica)* , 2010 , 50 (7) : 923-930.
- [4] 曹启民 , 郑康振 , 陈耿 , 陈桂珠. 红树林生态系统微生物学研究进展. *生态环境 (Ecology and Environment)* , 2008 , 17 (2) : 839-845.
- [5] Chandrika V , Nair PVR , Khambhadkar LR. Distribution of phototrophic thionic bacteria in the anaerobic and microaerophilic strata of mangrove ecosystem of Cochin. *Journal of the Marine Biological Association of India* , 1990 , 32 (1-2) : 77-84.
- [6] Vethanayagam RR. Purple photosynthetic bacteria from a tropical mangrove environment. *Marine Biology* , 1991 , 110 : 161-163.
- [7] Arunasri K , Sasikala C , Ramana CV , Suling J and Imhoff JF. *Marichromatium indicum* sp. nov. , a novel purple sulfur gammaproteobacterium from mangrove soil of Goa , India. *International of Systematic and Evolutionary Microbiology* , 2005 (55) : 673-679.
- [8] Pfennig N , Trüper HG. *The Prokaryotes* , Edition 2. New York : Springer , 1992 , 3203-3205.
- [9] Embley TM. The linear PCR reaction: a simple and robust method for sequencing amplified rRNA genes. *Letters in Applied Microbiology* , 1991 , 13 (3) : 171-174.
- [10] 岳慧英 , 黄潇 , 赵春贵 , 杨素萍 , 曲音波. 不产氧光合细菌光合色素的光氧调控机制. *微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica)* , 2009 , 49 (3) : 331-336.
- [11] Heinemeyer EA , Schmidt K. Changes in carotenoid biosynthesis caused by variations of growth conditions in cultures of *Rhodospseudomonas acidophila* strain 7050. *Archives of Microbiology* , 1983 , 134 (3) : 217-221.
- [12] Harada J , Mizoguchi T , Yoshida S , Isaji M , Oh-oka H , Tamiaki H. Composition and localization of bacteriochlorophyll a intermediates in the purple photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas* sp. Rits. *Photosynthesis Research* , 2008 , 95 : 213-221.
- [13] Imhoff JF. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Edition 2 , Volume 2 , Part B. The Gammaproteobacteria. New York : Springer , 2001 , 8 , 20-21.
- [14] Serrano W , Amann R , Fischer U. A new moderately thermophilic and high sulfide tolerant biotype of *Marichromatium gracile* , isolated from tidal sediments of the German Wadden Sea: *Marichromatium gracile* biotype *thermosulfidiphilum*. *Systematic and Applied Microbiology* , 2009 , 32 (1) : 1-7.
- [15] Arunasri K , Sasikala C , Ramana CV , Suling J , Imhoff JF. *Marichromatium indicum* sp. nov. , a novel purple sulfur gammaproteobacterium from mangrove soil of Goa , India. *International of Systematic and Evolutionary Microbiology* , 2005 , 55 : 673-679.
- [16] Kumar PA , Jyothsna TSS , Srinivas TNR , Sasikala C , Ramana CV , Imhoff JF. *Marichromatium bheemicum* sp. nov. , a non-diazotrophic , photosynthetic gammaproteobacterium from a marine aquaculture pond. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , 2007 , 57 : 1261-1265.
- [17] Sucharita K , Kumar ES , Sasikala C , Panda BB , Takaichi S , Ramana CV. *Marichromatium fluminis* sp. nov. , a slightly alkaliphilic , phototrophic gammaproteobacterium isolated from river sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , 2010 , 60 : 1103-1107.
- [18] Imhoff JF , Truper HG. *Chromatium purpuratum* , sp. nov. , a new species of the Chromatiaceae. *Zentralblatt für Bakteriologie , I. Abteilung Originale C* , 1980 , 61-69.

Identification and characterization of a purple sulfur bacterium from mangrove with rhodopin as predominant carotenoid

Jiangyan Zhao¹, Yingnan Fu³, Chungui Zhao¹, Suping Yang^{1*}, Yinbo Qu²,
Nianzhi Jiao³

¹Department of Bioengineering and Biotechnology, Huaqiao University, Xiamen 361021, China

²State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, China

³State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Abstract: [Objective] To exploit resources of purple sulfur bacteria in China and further investigate its response mechanism to ecological environment of mangrove. [Methods] Repeated agar shake dilution method, microscope techniques, UV-Vis absorption spectra, thin layer chromatography, HPLC and MS were used. [Results] We isolated a purple sulfur bacterium, designated as strain YL28, from a intertidal sediment sample collected from inshore mangrove near Luoyang Bridge of Quanzhou city, Fujian Province of China. Cells were ovoid to rod shaped, 0.5 μm – 1 μm \times 2 μm – 3 μm . Color of cell suspensions was reddish-brown. It possessed vesicular intracytoplasmic membrane structures, contained rhodopin and phytylated bacteriochlorophyll a as well as the other two novel bacteriochlorophyll a intermediates. The optimum growth was at 2% – 3.5% NaCl, pH 5.7 – 6.7 and 20°C – 35°C. Photoautotrophically growth anaerobically in the light with sulphide, sulphur, thiosulfate, sulfite as electron donor. Globules of S⁰ distributed inside the cells. Photoheterotrophic growth with various organic substrates, especially citrate, glucose, sucrose, fructose and propanol in the presence of sulfide. Nitrogen sources: ammonium salts, N₂, urea, glutamate, nitrate and nitrite. Vitamins were not required. Qualitative assessment of IC50 values of chloromycetin, cefazolin, benzene, hydroxy biphenyl, enrofloxacin, acetamiprid, mercuric chloride and cadmium chloride were 70, 100, 20, 20, 3, 170, 5 mg/L and 25 mg/L, respectively. [Conclusion] Based on phenotype characteristics and 16S rRNA gene sequence similarity of 99% to *M. gracile*, strain YL28 was identified as novel isolate of *M. gracile* despite its different physiological characteristics with respect to the species of *M. gracile*. The organism is possessed of slightly acid tolerance, higher amount of carotenoid of rhodopin and tolerance towards certain antibiotics, pesticide as well as heavy metals.

Keywords: purple sulfur bacterium, *Marichromatium gracile*, rhodopin, mangrove

(本文责编：张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31070054), by the Natural Science Foundation of Fujian Province (2010J01209) and by the Foundation of Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment of Chinese Academy of Sciences (KLUEH201005)

* Corresponding author. Tel: +86-592-6166178; E-mail: yangsuping@hqu.edu.cn

Received: 1 April 2011 / Accepted: 5 June 2011