

河北承德地区两个温泉中细菌的多样性分析

张丽娜 郝春博* 李思远 周训 冯传平

(中国地质大学(北京)水资源与环境学院 北京 100083)

摘要: 通过构建 16S rDNA 克隆文库, 对承德地区两温泉中的细菌多样性水平及系统发育关系进行了初步研究。研究表明: 68 °C 的 A11 文库中阳性克隆的 16S rDNA 序列分属 5 个细菌类群, 分别为 Firmicutes (6.25%)、Deinococcus-Thermus (25.0%)、Gammaproteobacteria (12.5%)、Betaproteobacteria (50.0%)、Alphaproteobacteria (6.25%); 而 74.5 °C 的 A12 文库仅属于一个细菌类群: 厚壁菌门(Firmicutes)。两温泉中细菌多样性的差异表明, 温度是影响温泉中细菌多样性水平的重要因素。此外, A11 文库中克隆的 16S rDNA 序列与许多已知的可产色素的好氧菌相似性很高, 而 A12 文库中的细菌多数为专性厌氧或兼性厌氧型, 其中厌氧芽孢杆菌属(*Anoxybacillus*)中的 *Anoxybacillus flavithermus* 可以作为研究泉华形成的理想材料。

关键词: 温泉, 16S rDNA, 克隆文库, 细菌多样性

Bacterial diversity analysis of two hot springs in Chengde, Hebei

ZHANG Li-Na HAO Chun-Bo* LI Si-Yuan ZHOU Xun FENG Chuan-Ping

(School of Water Resources and Environment, China University of Geosciences, Beijing 100083, China)

Abstract: The bacterial diversity and phylogenetic analysis of two hot springs in Chengde were investigated and analyzed by construction of 16S rDNA gene clone libraries. The results showed that bacteria in sample A11 (68 °C) could be divided into 5 groups, which were as follows: Firmicutes (6.25%), Deinococcus-Thermus (25.0%), Gammaproteobacteria (12.5%), Betaproteobacteria (50.0%), Alphaproteobacteria (6.25%). But sample A12 (74.5 °C) contains only one group, Firmicutes. The difference between the two samples revealed that the temperature was an important factor to affect the level of bacterial diversity in hot springs. Furthermore, a lot of 16S rDNA sequences in A11 clone library had high similarity to the aerobic bacteria that can produce pigment, while most bacteria in A12 clone library belonged to obligate or facultative anaerobe, in which, *Anoxybacillus flavithermus* can be used as ideal material to research the formation of sinter.

Keywords: Hot spring, 16S rDNA, Clone library, Bacterial diversity

我国的高温热泉资源非常丰富,近年来最新统计总数达2 800个左右,其中西藏、云南、广东、四川、重庆、福建以及东部的台湾省等地分布最为广泛^[1]。由于地理位置不同,导致了温泉间的基本特点(如温度、pH以及水化学成分等)差异较大,这也为我们研究该环境中微生物群落特征提供了丰富和宝贵的资源。

高温热泉的自然环境与早期的地球环境比较接近,而且其中的微生物不仅具有特殊的生理机制和独特的基因,其生态系统还比较简单、稳定,对其进行生态学研究对进一步认识微生物生态系统结构、功能和相关研究方法的建立具有重要的意义^[2-3]。因此,研究高温热泉中微生物的多样性水平有助于高温环境中微生物生态学的发展。

目前自然环境中已知的可培养微生物仅占0.1%~10%,即便是得到了纯培养,在不同培养条件下其形态和生理也可能发生很多变化^[4]。因此,分子生物学技术成为全面客观认识自然环境中微生物群落的有效途径。由于高温细菌独特的生存环境和生理需求,非培养技术成为研究高温细菌多样性的主要手段之一。目前国际上对美国黄石国家公园热泉^[3,5]、冰岛和日本一些高温热泉^[6-8]中的高温细菌进行了比较深入的研究,而国内对云南腾冲热泉的研究开展较早并进行了系统研究,但对华北地区热泉的研究甚少。此外,目前学者们对热泉微生物生态学的研究主要集中在高温和超高温环境,而对于中低温环境系统的研究还相对较少。

本研究通过构建16S rDNA克隆文库,对我国华北地区两个不同温度的中低温热泉(68 °C和74.5 °C)中的细菌多样性及其系统发育关系进行了分析比较,研究结果可为该地区温泉生态系统的进一步深入研究提供可靠的依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

样品采集于2010年6月,河北承德地区不同温度的两个温泉:隆化县北温泉(A11)和围场县山湾子温泉(A12)。水样采集后装于无菌瓶中,储存于4 °C保温箱中,尽快返回实验室进行操作。温度、pH、

电导率等参数现场测定,并对样品所处的经纬度进行了GPS定位。

1.2 温泉样品中基因组DNA的提取

取1 L水样于0.22 μm细菌滤膜上进行真空抽滤,将滤膜浸泡于10 mL无菌生理盐水中,超声波振荡10 min,然后用移液枪反复吹打使膜上细胞完全进入溶液中。10 000 r/min离心3 min收集菌体。利用土壤基因组DNA提取试剂盒提取水样中的总DNA(参照MP bio试剂盒生产商建议的步骤)。最后将提取的总DNA于-20 °C下保存。

1.3 16S rDNA 基因片段的PCR扩增

以提取的基因组DNA为模板,使用细菌16S rDNA通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCM TGGCTCAG-3')和1492R(5'-TACGGYTACCTT GTTACGACTT-3'),PCR扩增样品中的相应基因。PCR反应条件为:95 °C 5 min;94 °C 30 s,52 °C 30 s,72 °C 2 min,35个循环;72 °C 7 min。PCR反应的产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 16S rDNA 克隆文库的构建

利用pEASY-T1 Cloning试剂盒,将PCR产物连接到pEASY-T1克隆载体上,并热激转化到Trans1-T1感受态细胞中,然后涂布在含有Amp/X-Gal/IPTG的LB平板上,于37 °C下静置培养16 h。最后于4 °C静置显色1 h左右后,随机挑取白色克隆,重新纯化培养。用特异性引物对M13-RV和M13-M4进行PCR扩增筛选插入片段。将筛选出的阳性克隆进行测序,测序由上海生工完成。

1.5 序列分析与系统发育树的建立

将所测得的16S rDNA序列,运用RDP(Ribosomal database project)网站的Chimera Detection程序进行嵌合体的检验。然后用Dotur软件对所得序列进行分类。最后运用BLAST程序将所得序列在GenBank数据库中进行相似性搜索,并下载相似性最高的序列和相似性较高的已知种的序列做参考。将所有序列用BioEdit中的ClustalW程序进行比对,并用MEGA 4.0软件构建系统发育树。

本研究所得序列均已提交GenBank,序列登录号为JF830120-JF830131。

2 结果与讨论

2.1 样品的水质参数

根据《饮用天然矿泉水检验方法》(GB/T 8538-2008), 对隆化县北温泉(A11)和围场县山湾子温泉(A12)两个热泉中的钾、钠、钙、镁等 34 个项目进行了分析(表 1 为部分数据)。

表 1 两热泉水样水质检验结果 Table 1 Physico-chemical characteristics of two hot spring samples		
参数 Parameter	A11	A12
GPS	N: 41°42'41.0" E: 117°02'08.0"	N: 42°23'53.9" E: 117°46'03.4"
高程 Elevation (m)	967	1 077
水温 Water temperature (°C)	68.0	74.5
pH	8.08	8.13
K ⁺ [ρ(B)/(mg/L)]	6.200	6.060
Na ⁺ [ρ(B)/(mg/L)]	234.000	214.000
Ca ²⁺ [ρ(B)/(mg/L)]	5.000	5.000
Mg ²⁺ [ρ(B)/(mg/L)]	0.600	0.600
CO ₃ ²⁻ [ρ(B)/(mg/L)]	6.000	6.000
NO ₃ ⁻ [ρ(B)/(mg/L)]	0.530	<0.050
SO ₄ ²⁻ [ρ(B)/(mg/L)]	134.000	33.600
亚硝酸盐 Nitrate [ρ(B)/(mg/L)]	0.003	<0.001
偏硅酸 Metasilicicacid [ρ(B)/(mg/L)]	44.300	61.400
矿化度 Mineralization [ρ(B)/(mg/L)]	832.000	797.000

2.2 基因组 DNA 的提取

本研究中 2 个环境样品(A11 和 A12)的细菌总 DNA 提取结果如图 1 所示, 其中, 1 为 A11, 2 为 A12。所提的 DNA 片段大小均约为 23 kb, 表明已获得较为完整的细菌基因组 DNA。并且所提取的总 DNA 的 A_{260}/A_{280} 比值在 1.83 左右, 说明 DNA 的纯度较高可以直接用于 PCR。

2.3 16S rDNA 全长的 PCR 扩增结果

提取的总 DNA 经 PCR 扩增后, 用 1%的琼脂糖进行凝胶电泳, 结果如图 2 所示, 其中 1-1 和 1-2 为 A11 的平行样, 2-1 和 2-2 为 A12 的平行样, C 为阴性对照。由图可以看出, 用 16S rDNA 全长通用引物对(27F/1492R)对两个环境样品中的细菌总 DNA 进行扩增均可以获得单一目的条带, 片段长度约 1 500 bp。

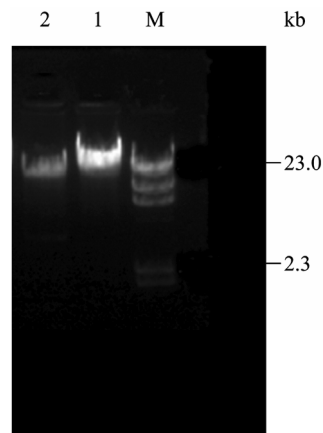


图 1 总 DNA 提取结果

Fig. 1 Extracted genome DNA of bacteria

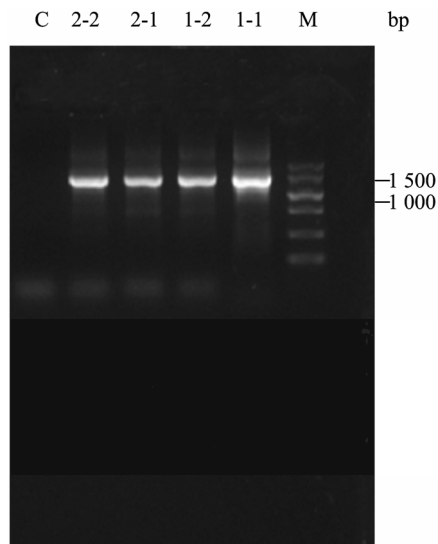


图 2 16S rDNA 全长扩增

Fig. 2 Amplified full-length 16S rDNA

2.4 16S rDNA 基因文库的构建

两个样品各随机挑取了 150 个白色克隆建立克隆文库。以 M13RV 和 M13M4 为特异性引物, 少量菌体为模板, PCR 扩增筛选阳性克隆。

将两温泉中的阳性克隆进行测序, 并将所得序列用 Dotur 软件进行分析, 2 个样品共得到 12 个基因型, 其中 A11 为 9 个, A12 为 3 个。

2.5 两温泉样品中细菌多样性及系统发育学分析

将每种基因型的代表序列输入 RDP 网站, 利用 Classifier 程序确定其系统发育类群。结果表明: A11

文库中细菌克隆的 16S rDNA 序列分属 5 个细菌类群(图 3), 分别为 Alphaproteobacteria (6.25%)、Betaproteobacteria (50.00%)、Gammaproteobacteria (12.50%)、Deinococcus-Thermus (25.00%)、Firmicutes (6.25%)。而 A12 文库中细菌克隆的 16S rDNA 序列仅属于一个细菌类群: 厚壁菌门(Firmicutes)。

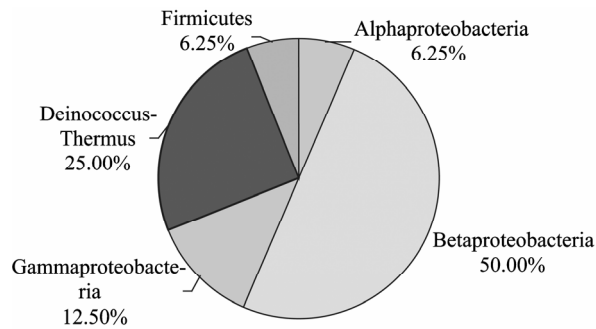


图 3 A11 文库中各类细菌所占的比例

Fig. 3 Proportion of each phylotype in A11 clone library

将每种基因型的序列输入 NCBI 网站, 用 BLAST 程序与数据库中已有的序列进行比对分析, 主要比对结果如表 2 所示。

从表 2 中可以看出, A11 (68 °C)文库中细菌多样性水平明显地比 A12 (74.5 °C)文库中的高, 即温度越高的温泉, 其中的细菌多样性水平相对较低, 这表明温度是影响温泉中细菌多样性水平的重要因素。此外, 两温泉的优势种群也不同, 其中 A12 的优势种群为厚壁菌门, 所占比例为 100%; A11 的优势种群为 β -变形菌门, 所占比例为 50.0%, 而厚壁菌门在 A11 文库中仅占 6.25%。这可能是由于两温泉样品中不同的理化因素所导致的差异。

为了进一步了解这些细菌的系统发育地位, 除了数据库中同源性最高的序列之外, 本研究还下载了一些同源性较高的已知菌种的序列, 与所得序列构建了 A11 和 A12 两个温泉样品中细菌类群的系统发育树(图 4)。

表 2 两温泉样品中细菌 16S rDNA 序列的 Blast 分析结果
Table 2 BLAST analysis of 16S rDNA sequences of bacteria in two hot springs

克隆号 Clone ID	基因频率 Gene frequency (%)	系统类群 Phylogenetic classification	数据库中最接近种或克隆 The closed specie or clone in datebase	同源性 Homology (%)
A11-71	6.25	Alphaproteobacteria	Uncultured bacterium clone JSC8-A8 in Johnson Space Center (DQ532218)	99
A11-3	37.50	Betaproteobacteria	<i>Tepidimonas ignava</i> strain SPS-1037(NR_025041)	99
A11-11	9.38	Betaproteobacteria	<i>Tepidimonas taiwanensis</i> strain II-1 in a hot spring (AY845054)	99
A11-70	3.13	Betaproteobacteria	<i>Massilia</i> sp. PmeaMuc24 in mucus secreted by a <i>Pacillopora meandrina</i> coral colony at Palmyra Atoll (EU249991)	96
A11-7	6.25	Gammaproteobacteria	Uncultured bacterium clone nbw120g07c1 (GQ008794)	99
A11-10	3.13	Gammaproteobacteria	<i>Lysobacter taiwanensis</i> strain SEK-1197 in hot springs (DQ323664)	99
A11-16	3.13	Gammaproteobacteria	Uncultured bacterium clone ncd190g09c1 (HM265686)	100
A11-9	25.00	Deinococcus-Thermus	<i>Thermus</i> sp. NMX2 A.1 (L09661)	99
A11-72	6.25	Firmicutes	<i>Crocino bacterium jejui</i> strain SW2G-14T in dried seaweed (AM295339)	99
A12-1	93.50	Firmicutes	<i>Anoxybacillus</i> sp. X2 in a hot spring in Guangdong (HM032715)	99
A12-12	3.23	Firmicutes	Anaerobic bacterium Glu3 in biofilms on metal surface in alkaline district heating system (AY756145)	95
A12-23	3.23	Firmicutes	Anaerobic bacterium Glu3 in biofilms on metal surface in alkaline district heating system (AY756145)	97

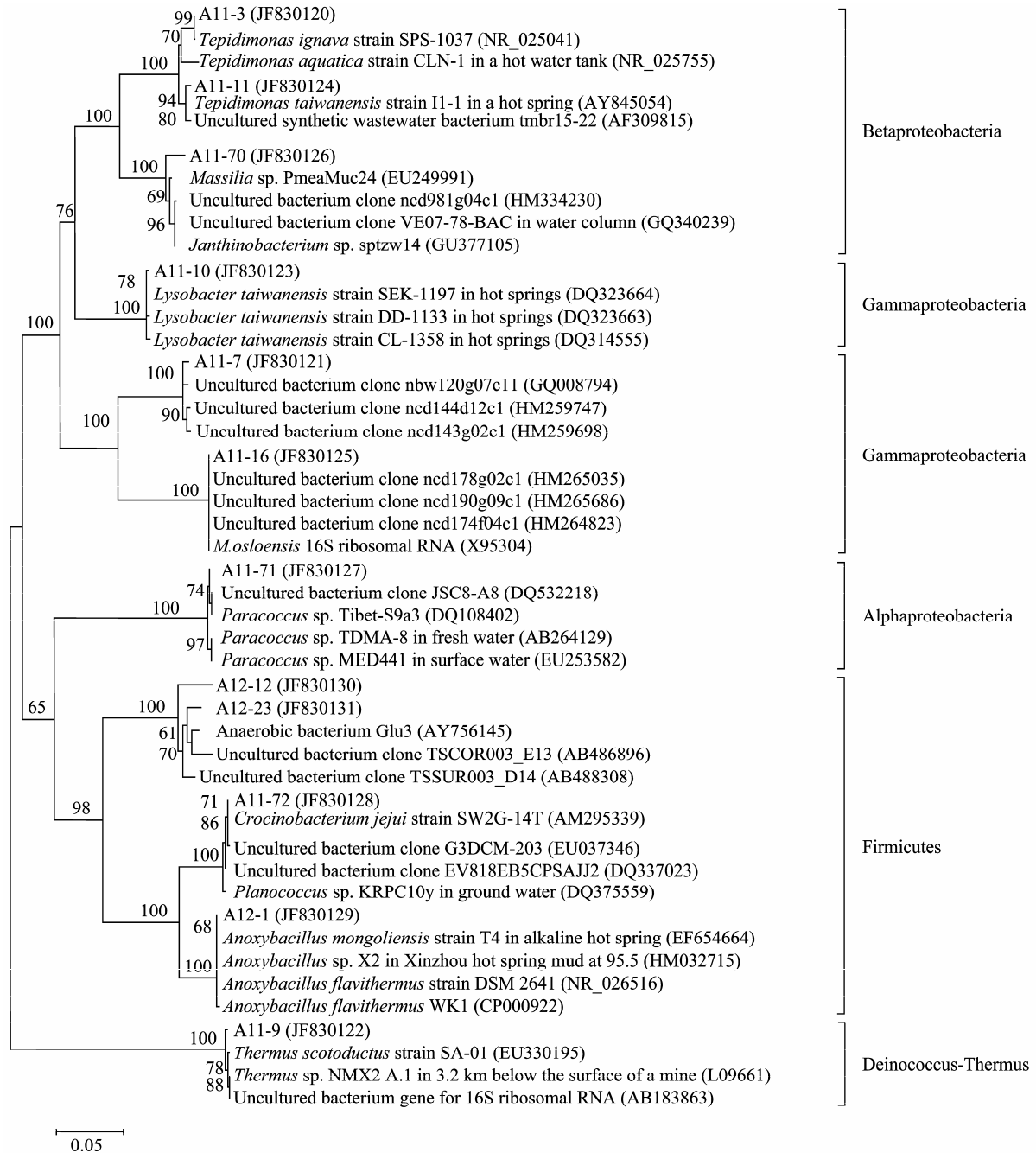


图 4 基于 16S rDNA 序列的 A11 和 A12 文库细菌系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of bacteria in A11 and A12 libraries based on 16S rDNA sequences data in parentheses are the GenBank accession numbers

Note: The numbers at the nodes indicate the levels of bootstrap support based on Neighbour-Joining analysis of 1 000 resampled datasets.

下面分别描述主要类群代表克隆的系统发育关系。

(1) Alphaproteobacteria, α -变形杆菌纲的细菌绝大多数是寡营养类型, 即能在相对贫瘠的营养环境中生活。该类群细菌在 A11 文库中占 6.25%。只有

A11-71 一种基因型。A11-71 属于 *Paracoccus* (副球菌属), 在系统发育树上与 *Paracoccus* sp. TDMA-8 聚为一类, 二者相似性达 99%。*Paracoccus* sp. TDMA-8 是 Dalal Asker^[9]等人从日本一个放射性物质高含量的天然水体中分离出的, 可以生产虾青素

和角黄素等类胡萝卜素。其中, 虾青素可以抗氧化、防止紫外辐射、增强免疫力、缓解疲劳等保健功效。副球菌属微生物可以形成聚- β -羟基丁酸盐颗粒, 好氧, 呼吸代谢, 主要生活在土壤、天然和人工的盐水中。多数菌种可以在厌氧条件下, 以硝酸盐作为替代电子受体进行生长, 因此, 副球菌属的微生物可以用于生物修复系统^[10]。

(2) Betaproteobacteria, 在 A11 文库中占 50.0%, 是 A11 文库中的第一大类群。包括 3 中基因型, 即 A11-3, A11-11 和 A11-70。

其中, 克隆 A11-3, 在文库中所占比例为 37.5%, 为第一丰富的序列类型。该克隆序列与 A11-11 序列在系统发育树上均聚在 *Tepidimonas* 属一簇, 但二者分别聚在 2 个不同的亚簇。克隆 A11-3 与 *Tepidimonas ignava* strain SPS-1037 最接近, 相似性高达 99%。*Tepidimonas ignava* strain SPS-1037 是 Claudia Moreira^[11]等人 2000 年从葡萄牙中部的一个温泉人工出水口中分离得到的, 革兰氏阴性杆菌, 严格好氧, 兼性能异养, 能氧化还原性硫化物形成硫酸盐, 最适生长温度为 50–55 °C, 最适生长 pH 为 7.5–8.5。这一结果恰也体现了水质检测分析所显示的 A11 中的硫酸根浓度比 A12 中高。而与 A11-11 最接近的是 *Tepidimonas taiwanensis* strain II-1, 他们之间的差异仅为 1%。该菌株是从台湾东屏的一个温泉中分离到的^[12], 能很好地在寡营养环境中生长, 能产兼性蛋白酶, 最适生长温度为 55 °C, 最适生长 pH 为 7.0。

(3) Gammaproteobacteria, 在 A11 文库中占 12.5%, 包括 3 种基因型, 即 A11-7, A11-16 和 A11-10。

其中, *Lysobacter taiwanensis* strain SEK-1197 和 DD-1133 是用 BLAST 软件在 GenBank 数据库中比对出来的与 A11-10 克隆同源性最高的序列, 同源性均为 99%。*Lysobacter* 属的微生物为化能异养革兰氏阴性杆菌, 好氧, 生长 pH 范围为 5–10, 能产水溶性的棕色色素, 可降解几丁质及其它多糖^[13]。

(4) Deinococcus-Thermus, 在 A11 库中占 25.0%, 是除变形杆菌外最大的一个门。仅包括一种基因型, 即 A11-9。

从图 4 中可以看出, 克隆 A11-9 聚在栖热菌属 (*Thermus*) 簇上, 与 *Thermus* sp. NMX2 A.1 和 *Thermus scotoductus* strain SA-01 密切相关。*T. scotoductus* strain SA-01 (Kieft 等人于 1999 年从南非金矿地下水水中分离出来的兼性厌氧菌) 与 *Thermus* sp. NMX2 A.1 (Hudson 等人于 1989 年从新墨西哥一温泉中分离出来的) 都可以利用硝酸盐、Fe(III)、Mn(IV) 和 S⁰ 作为末端电子受体, 并还原 Cr(VI)、U(VI)、Co(III) 及含醌复合物葱醌-2,6-二磺酸盐^[14–15], 但不能产生 *T. scotoductus* strains X-1 和 SE-1^T 可产的水溶性黑色素^[15–16]。此外, Skirnisdottir^[17]等人从冰岛一个富含硫的温泉分离出的 *Thermus scotoductus* strain IT-7254 也具有类似的性质, 可以利用 S⁰ 和硫代硫酸盐作为能源进行生长。这也表明了 *T. scotoductus* 主要分布在地下热水中^[15]。

(5) Firmicutes, 厚壁菌门的细菌多数为低 G+C 含量的革兰氏阳性菌。很多厚壁菌可以产生内生孢子, 抵抗脱水 and 极端环境。该类群细菌在 A12 文库中为主要类群, 占 100%, 而在 A11 文库中仅占 6.25%。包括 4 种基因型, 即 A11-72、A12-1、A12-12 和 A12-23。

其中, 克隆 A12-1 属于厌氧芽胞杆菌属 (*Anoxybacillus*), 在 A12 文库中所占比例高达 93.5%, 是 A12 文库中最丰富的序列类群。该克隆与 *Anoxybacillus* sp. X2、*Anoxybacillus flavithermus* WK1 以及 *Anoxybacillus mongoliensis* strain T4 等菌株亲缘关系较近, 同源性均达 99%。*Anoxybacillus* 是一类革兰氏阳性杆菌, 化能异养生长, 专性厌氧或兼性厌氧, 嗜碱或者耐碱, 最适生长温度常在 60 °C 以上, 分布在各种中高温环境中, 如温泉、地热区域、堆肥体^[18–20]。其中, 该属细菌 *Anoxybacillus flavithermus* 可以生活在饱和的二氧化硅溶液和乳白色的硅华中, 因此该微生物可以作为研究泉华形成的理想材料。菌株 *Anoxybacillus flavithermus* WK1 是从新西兰 Wairakei 地热电站的污水渠里分离得到的。经研究发现, 菌株 *Anoxybacillus flavithermus* WK1 可以通过多种途径影响泉华的形成, 例如它可以通过形成凝结核和增大沉淀的表面积来促进泉华的形成。此外, 它还可以通过生成生物膜和长链的

多胺来调节泉华的形成速度进而控制所形成泉华的内部结构^[21]。

克隆 A12-12 和 A12-23 聚在醋弧菌属 (*Acetivibrio*) 一类, 但二者差异很大, 分别属于两个不同的亚簇。通过 BLAST 软件在 GenBank 中得到的与两个克隆同源性最高的前 3 个序列相同, 但二者的同源性不同, 因此, 他们可能是该属的两个不同种, 很有必要进行进一步的研究。

3 总结

综上所述, 分子生物学方法分析结果显示, 两个不同温度的温泉样品细菌多样性水平差异很大, 其中, A11 (68 °C) 分属 5 个细菌类群, 分别为: Firmicutes (6.25%)、Deinococcus-Thermus (25.0%)、Gammaproteobacteria (12.5%)、Betaproteobacteria (50.0%)、Alphaproteobacteria (6.25%)。而 A12 (74.5 °C) 仅属于一个细菌类群: 厚壁菌门 (Firmicutes)。由此证明, 温度是影响温泉中细菌多样性水平的关键因子。此外, 两温泉的优势种群也不同, 其中 A12 的优势种群为厚壁菌门, 而 A11 的优势种群为 β -变形菌门, 这可能是由于两温泉样品中不同的理化因素所导致的差异。

A11 文库中的克隆的 16S rDNA 序列与许多已知的好氧菌亲缘关系较近, 如 *Paracoccus* sp. TDMA-8、*Tepidimonas ignava*、*Lysobacter taiwanensis*、*Thermus scotoeductus* 等, 其中 *Paracoccus* sp. TDMA-8 可以生产具有保健功效的类胡萝卜素, 并且可以用于生物修复系统; *Lysobacter taiwanensis* 可产生棕色色素, 降解几丁质和其他多糖; *T. scotoeductus* 可还原重金属以及 *Tepidimonas ignava* 可以氧化还原性硫化物。而 A12 文库中的细菌多数属于专性厌氧或兼性厌氧型, 如厌氧芽孢杆菌属 (*Anoxybacillus*) 细菌, 该属中的 *Anoxybacillus flavithermus* 可以作为研究泉华形成的理想材料。由此可见, 氧气可能也是影响两个样品中细菌多样性水平的重要因素。

总之, 影响两个温泉样品微生物多样性水平和群落结构的关键因素是温度、溶解氧等温泉理化性质。本研究中两个不同温度的温泉样品与之前所研

究的热泉相比, 其微生物群落结构存在着一定的差异。这需要我们结合纯培养、原位杂交等方法作进一步深入的研究, 从而能更加清楚地理解热泉生态系统中微生物的群落特征和优势种群所发挥的作用。

参考文献

- [1] 周训, 金晓媚, 梁四海, 等. 地下水科学专论[M]. 北京: 地质出版社, 2010, 12: 57-58.
- [2] Ward DM, Ferris MJ, Nold SC, et al. A natural view of microbial biodiversity within hot spring cyanobacterial mat communities[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, 62(4): 1353-1370.
- [3] Hugenholtz P, Pitulle C, Hershberger KL, et al. Novel division level bacterial diversity in a yellowstone hot spring[J]. *J Bacteriol*, 1998, 180(2): 366-376.
- [4] Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. *Microbiol Rev*, 1995, 59(1): 143-169.
- [5] Pace NR. A molecular view of microbial diversity and the biosphere[J]. *Science*, 1997, 276(5313): 734-740.
- [6] Takai K, Horikoshi K. Molecular phylogenetic analysis of archaeal intron-containing genes coding for rRNA obtained from a deep-subsurface geothermal water pool[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(12): 5586-5589.
- [7] Marteinson TV, Kristjánsson JK, Kristmannsdóttir H, et al. Discovery and description of giant submarine smectite cones on the seafloor in Eyjafjörður, Northern Iceland, and a Novel Thermal Microbial Habitat[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(2): 827-833.
- [8] 王涛, 柴丽红, 崔晓红, 等. 免培养法对一热泉细菌多样性的初步研究[J]. *微生物学报*, 2003, 43(5): 541-546.
- [9] Asker D, Beppu T, Ueda K. Unique diversity of carotenoid-producing bacteria isolated from Misasa, a radioactive site in Japan[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 77(2): 383-392.
- [10] Bartosik D, Szymanik M, Baj J. Identification and distribution of insertion sequences of *Paracoccus solvntivorans*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(12): 7002-7008.
- [11] Moreira C, Rainey FA, Nobre MF, et al. *Tepidimonas ignava* gen. nov., sp. nov., a new chemolithoheterotrophic and slightly thermophilic member of the β -Proteobacteria[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2000, 50(2): 735-742.

- [12] Chen TL, Chou YJ, Chen WM, et al. *Tepidimonas taiwanensis* sp. nov., a novel alkaline-protease-producing bacterium isolated from a hot spring[J]. *Extremophiles*, 2006, 10(1): 35–40.
- [13] Christensen P, Cook FD. *Lysobacter*, a new genus of non-fruiting, gliding bacteria with a high base ratio[J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1978, 28(3): 367–393.
- [14] Kieft TL, Fredrickson JK, Onstott TC, et al. Dissimilatory reduction of Fe (III) and other electron acceptors by a *Thermus* isolate[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(3): 1214–1221.
- [15] Balkwill DL, Kieft TL, Tsukuda T, et al. Identification of iron-reducing *Thermus* strains as *Thermus scotoductus*[J]. *Extremophiles*, 2004, 8(1): 37–44.
- [16] Kristjansson JK, Hjorleifsdottir S, Marteinson VT, et al. *Thermus scotoductus* sp. nov., a pigment-producing thermophilic bacterium from hot tap water in Iceland and including *Thermus* sp. X-1[J]. *Syst Appl Microbiol*, 1994, 17: 44–50.
- [17] Skirmisdottir S, Hreggvidsson GO, Holst O, et al. Isolation and characterization of a mixotrophic sulfuroxidizing *Thermus scotoductus*[J]. *Extremophiles*, 2001, 5(1): 45–51.
- [18] Pikuta E, Lysenko A, Chuvilskaya N, et al. *Anoxybacillus pushchinensis* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic, alkaliphilic, moderately thermophilic bacterium from manure, and description of *Anoxybacillus flavitherms* comb.nov[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2000, 50(6): 2109–2117.
- [19] Heinen W, Lauwers AM, Mulders JWM. *Bacillus flavothermus*, a newly isolated facultative thermophile[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1982, 48(3): 265–272.
- [20] De Clerck E, Vanhoutte T, Hebb T, et al. Isolation, characterization, and identification of bacterial contaminants in semifinal gelatin extracts[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(6): 3664–3672.
- [21] Saw JH, Mountain BW, Feng L, et al. Encapsulated in silica: genome, proteome and physiology of the thermophilic bacterium *Anoxybacillus flavithermus* WK1[J]. *Genome Biol*, 2008, 9(11): R161.



征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年,是中国微生物学会和中国科学院微生物研究所主办,国内外公开发行人,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:基础微生物学研究,农业微生物学研究,工业微生物学研究,医学微生物学研究,食品微生物学研究,环境微生物学研究,微生物功能基因组研究,微生物蛋白组学研究,微生物模式菌株研究,微生物工程与药物研究,微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国生物科学类核心期刊。曾获国家级优秀科技期刊三等奖,中国科学院优秀科技期刊三等奖,北京优秀科技期刊奖,被选入新闻出版署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自 2008 年本刊已经全新改版,由双月刊改为月刊,发表周期缩短,内容更加丰富详实。欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买,2012 年的每册定价为 58 元,全年 696 元,我们将按期免费邮寄。

另,本编辑部现存有少量过期期刊,如有需要者可直接与编辑部联系,款到即免费寄上。(请事先与编辑部联系,获悉每册售价。敬请在汇款单上注明所购刊物的年代、卷、期和数量)

邮购地址: (100101)北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: BM413