Два штамма, окрашенных по Граму, мезофильные, строго аэробные, не образующие спор и желтопигментированные штаммы с палочковидными клетками, обозначенные H21R20T и H23M41T, были выделены из фекалий восточного аиста (Ciconia boyciana). На основе последовательностей генов 16S рРНК оба штамма показали наибольшее сходство (98,3−98,4%) с типовым штаммом Lysobacter concretionis. Филогенетический анализ на основе генов 16S рРНК и 92 основных генов бактерий показал, что штаммы H21R20T и H23M41T были прочно кластеризованы с L. concretionis Ko07T. Полное секвенирование генома показало, что геномы обоих штаммов имели размер приблизительно 2,9 Мб. Содержание ДНК G + C штаммов H21R20T и H23M41T составило 67,3 и 66,6% соответственно. Оба штамма показали 80,1−81,7% средней идентичности нуклеотидов с L. concretionis Ko07T. Штамм H21R20T рос оптимально при 30°C и pH 8,0 и в присутствии 0,5–3% (вес/объем) NaCl, в то время как штамм H23M41T рос оптимально при 30°C и pH 7,0–8,0 и в присутствии 0–3% (вес/объем) NaCl. Оба штамма обладали изо-C15:0, изо-C16:0 и суммарной характеристикой 9 (изо-C17:1 ω9c и/или C16:0 10-метил) в качестве основных клеточных жирных кислот, убихинон Q-8 в качестве преобладающего хинона и дифосфатидилглицерин, фосфатидилглицерин и фосфатидилэтаноламин в качестве основных полярных липидов. Многогранное исследование показало, что штаммы H21R20T и H23M41T представляют собой новые виды рода Lysobacter, для которых мы предлагаем названия Lysobacter ciconiae sp. nov. и Lysobacter avium sp. nov. для штаммов H21R20T

(= KCTC 82316T = JCM 34832T) и H23M41T (= KCTC 62676T = JCM 33223T) соответственно.

Введение

Род Lysobacter принадлежит к семейству Lysobacteraceae, порядку Lysobacterales, классу Gammaproteobacteria и типу Pseudomonadota (Christensen and Cook, 1978). В настоящее время этот род содержит 65 действительных опубликованных названий видов (https://lpsn.dsmz.de/genus/lysobacter) (Parte et al., 2020), с Lysobacter enzymogenes в качестве типового вида (Christensen and Cook, 1978). Члены этого рода являются грам-отрицательными и аэробными палочками с преобладанием изоразветвленных жирных кислот. Они содержат убихинон Q-8 в качестве основного дыхательного хинона и дифосфатидилглицерин (DPG), фосфатидилглицерин (PG) и фосфатидилэтаноламин (PE) в качестве основных полярных липидов. Размер их генома и содержание ДНК G + C варьируются от 2,5 до 6,7 Мб и от 61,6 до 71,6% соответственно (Christensen и Cook, 1978; Ten et al., 2008; Du et al., 2015; Choi et al., 2018; Huo et al., 2018; Jang et al., 2018; Margesin et al., 2018; Xiao et al., 2019; Kim et al., 2021). Большинство представителей этого рода были выделены из различных наземных образцов, включая парковые, полевые, сельскохозяйственные, лесные, горные, луговые, почвенные почвы растений и теплиц, а также ризосферу растений (Чжан и др., 2011, 2019; Ду и др., 2015; Сингх и др., 2015a, 2015b; Ким и др., 2016, 2017, 2019, 2021; Ли и др., 2017; Хуо и др., 2018; Джанг и др., 2018; Маргесин и др., 2018; Луо и др., 2019; Сяо и др., 2019; Фан и др., 2020; Ли и др., 2020; Тен и др., 2020) и водных образцов, включая активированный ил, пресную воду, озерные, речные и эстуарные отложения, морскую воду и губку (Ten et al., 2008; Ye et al., 2015; Jeong et al., 2016; Siddiqi and Im, 2016; Choi et al., 2018; Chhetri et al., 2019; Im et al., 2020; Xu et al., 2021). Однако, в отличие от предыдущих случаев, в этом исследовании мы выделили два предполагаемых новых штамма, принадлежащих к роду Lysobacter, обозначенных H21R20T и H23M41T, из фекалий дальневосточного аиста. Мы проанализировали их таксономическое положение и полифазные характеристики

Материалы и методы

Бактериальная изоляция и осаждение

Мы получили образец фекалий дальневосточного аиста из зоопарка Seoul Grand Park Zoo и разбавили этот образец (10-2) с использованием стерильного фосфатно-солевого буфера. Разбавленную суспензию распределили по чашкам, содержащим триптический соевый бульон (TSB, Bacto) и морской бульон (MB, Difco) с 1,5% агара (TSA и MA) и агаром Ризонера 2A (R2A, Difco). Колонии собирали с чашек агара, инкубированных при 10°C и 30°C, а чистые колонии хранили при -80°C в 40% (об./об.) глицериновых запасах.

Представительные изоляты были депонированы в Корейской коллекции типовых культур (KCTC) и Японской коллекции 470 Lee et al. микроорганизмов (JCM). Номера доступа: KCTC 82316 и JCM 34832 для штамма H21R20T и KCTC 62676 и JCM 33223 для штамма H23M41T.

Филогенетический и геномный анализ

Мы извлекли геномную ДНК с помощью набора QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen) и секвенировали образцы ДНК с помощью праймеров 27F, 785F, 800R и 1492R (Lane, 1991). Мы собрали фрагменты последовательности с помощью программы SeqMan 5.0 (DNASTAR) и выровняли последовательности с последовательностями генов 16S рРНК близкородственных видов с помощью программы CLUSTAL W (Thompson et al., 1994).

Мы построили филогенетическое консенсусное дерево с использованием программы MEGA (версия 7.0.26) (Kumar et al., 2016) с 1000 повторений бутстрепа. Для выяснения филогенетического положения двух штаммов филогенетическое дерево было построено с использованием алгоритмов объединения соседей (NJ), максимального правдоподобия (ML) и максимальной экономии (MP) (Kluge and Farris, 1969; Felsenstein, 1981; Saitou and Nei, 1987) в отношении близкородственных штаммов в роде Lysobacter. Rhodanobacter lindaniclasticus RP5557T использовался в качестве внешней группы. Полные последовательности генома были получены с помощью секвенирования PacBio RS II (DNA link Inc.) и собраны de novo с использованием процесса иерархической сборки генома (Hierarchical Genome Assembly Process, HGAP, версия 3.0) (Chin et al., 2013). Для дальнейшего подтверждения филогеномного положения изолятов в роде Lysobacter мы построили современное дерево генов ядра бактерий (UBCG) (Na et al., 2018) с близкородственными штаммами с помощью программы FastTree (Price et al., 2009). Также были рассчитаны общие индексы, связанные с геномом (OGRI) (Chun et al., 2018). Исходные средние значения нуклеотидной идентичности (ANI) и ортологичные значения ANI (OrthoANI) были рассчитаны с использованием программы OAT на сервере EzBioCloud (https://www.ezbiocloud.net/) (Lee et al., 2016), а значения цифровой ДНК-ДНК гибридизации (dDDH) были рассчитаны с использованием калькулятора расстояний геном-геном (GGDC) 2.1 (http://ggdc.dsmz.de/) (Meier-Kolthoff et al., 2013). Пангеномный анализ был выполнен с использованием приложения под названием Build Pangenome with OrthoMCL (версия 2.0) (Li et al., 2003) на сервере KBase (https://www.kbase.us/) (Arkin et al., 2018). Гены, обнаруженные во всех входных геномах, были классифицированы как «основные» гены, отдельные гены, обнаруженные только в одном геноме, были классифицированы как «синглтонные» гены, а другие гены были классифицированы как «вспомогательные» гены. Гены были сгруппированы в подсистемы и кластеры ортологичных групп (COG) с использованием сервера быстрой аннотации с использованием технологии подсистем (RAST) (https://rast.nmpdr.org/) и платформы IMG-Expert Review (IMG-ER) (https://img.jgi.doe.gov/) соответственно (Brettin et al., 2015; Chen et al., 2019). Гены фактора вирулентности (VF), кодирующие токсины, были найдены с помощью сервиса TrueBac ID (https://www.truebacid.com/) (Ha et al., 2019). Идентификаторы базы данных VF (VFDB) получены из базы данных факторов вирулентности (http://www.mgc.ac.cn/VFs/main.htm). Углевод-активные ферменты (CAZymes) были аннотированы с использованием HMMER, DIAMOND, Hotpep и кластера генов CAZyme (CGC) Finder в базе данных для метасервера автоматизированной аннотации CAZyme (dbCAN) http://bcb.unl.edu/dbCAN2/index.php) (Чжан и др., 2018). Геномные области, включающие по крайней мере один ген CAZyme, один ген транспортера (TC) и один ген фактора транскрипции (TF), были определены как CGC. Фенотипическая характеристика

Чтобы обнаружить оптимальные условия для роста штаммов, мы культивировали штаммы при различных температурах (4, 10, 15, 20, 25, 30, 37, 45, 55 и 65 °C), концентрациях NaCl (0, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 и 12%, вес/объем) и pH (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 pH) в TSB и измеряли мутность культур при 600 нм с помощью спектрофотометра Synergy Mx (BioTek) через 1, 2 и 7 дней инкубации (Lee et al., 2020). Мы также проверили зависимость штаммов от кислорода, культивируя их в анаэробной камере в атмосфере N2 (90%), H2 (5%) и CO2 (5%) в течение 7 дней. Мы провели окрашивание по Граму и анализ спорообразования с использованием набора для окрашивания по Граму (bioMérieux) и метода окрашивания малахитовым зеленым соответственно, и наблюдали с помощью светового микроскопа (Eclipse 50i; Nikon) (Schaeffer and Fulton, 1933). Морфологические особенности наблюдались под энергетическим фильтрующим электронным микроскопом (LIBRA 120; Zeiss) после двух дней инкубации. Подвижность клеток проверялась с использованием полутвердого TSB с 0,4% агара (Lee et al., 2019). Полоски API 20NE и API ZYM (bioMérieux) и GEN III MicroPlate (Biolog) использовались для тестирования активности ферментов и использования источников углерода. Мы также проверили активность каталазы и оксидазы, наблюдая за образованием пузырьков в присутствии 3% (об./об.) раствора перекиси водорода и индофенолового синего после добавления 1% (мас./об.) раствора тетраметил-п-фенилендиамина (bioMérieux) соответственно (Hyun et al., 2021). Была проверена восприимчивость штаммов к 28 различным типам антибиотиков. Использовались диски (Bio-Rad), содержащие следующие антибиотики: 2 мкг (клиндамицин), 5 мкг (ципрофлоксацин, моксифлоксацин, левофлоксацин, рифампицин и триметоприм), 10 мкг (ампициллин, колистин, эртапенем, гентамицин, имипенем, норфлоксацин и стрептомицин), 15 мкг (азитромицин, кларитромицин, эритромицин и тигециклин), 30 мкг (азтреонам, цефепим, цефокситин, цефтриаксон, цефалотин, хлорамфеникол, канамицин, тетрациклин и ванкомицин), 100 мкг (карбенициллин) и 300 мкг (полимиксин). Мы распределили клеточные суспензии и поместили диски на пластины TSA. Пластины инкубировали при 30°C в течение двух дней, и измеряли радиус зон ингибирования роста. Чувствительность оценивали следующим образом: резистентный, умеренно восприимчивый, восприимчивый и гипервосприимчивый, если радиус был меньше 1 мм, 1–5 мм, больше 5 мм и больше 2 см соответственно.

Хемотаксономические анализы

Мы извлекли клеточные жирные кислоты, следуя протоколу, описанному в руководстве по эксплуатации системы идентификации микроорганизмов Sherlock (MIDI) (версия 4.5), и разделили их с помощью газовой хроматографии (система ГХ 6890; Agilent). Для идентификации жирных кислот использовался программный пакет идентификации микроорганизмов (Sherlock версии 6.3) на основе библиотеки TSBA6 (Sasser, 1990). Полярные липиды также извлекали из лиофилизированных клеточных урожаев в соответствии с ранее описанными методами (Minnikin et al., 1984). Для анализа двумерной тонкослойной хроматографии (ТСХ) для разделения использовались два типа растворителей, а для обнаружения — четыре типа распыляемых реагентов. Смесь хлороформа:метанола:дистиллированной воды (DW) (65:25:4, об./об./об.) и смесь хлороформа:уксусной кислоты:метанола:DW Два новых штамма Lysobacter, выделенных из фекалий восточного аиста 471 (80:15:12:4, об./об./об./об.), использовались для первого и второго измерения соответственно. Затем для обнаружения общих липидов и аминолипидов (AL) использовались 5% (мас./об.) этанольная молибдатофосфорная кислота и распыляемый реагент нингидрин (Sigma-Aldrich), в то время как распыляемый реагент молибденовый синий (Sigma-Aldrich) и реагент α-нафтол-серной кислоты использовались для обнаружения фосфолипидов (PL) и гликолипидов (GL) соответственно (Lee et al., 2021). Для анализа хинонов сбор клеток и экстракция проводились в отсутствие света, а для процесса экстракции использовалась смесь хлороформа/метанола (2:1, об./об.) (Collins and Jones, 1981). Извлеченные хиноны были идентифицированы с помощью прибора обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (RP-HPLC) (Younglin) (Hiraishi et al., 1996).

Сравнительный анализ

Мы получили L. concretionis Ko07T из KCTC и сравнили различные фенотипические характеристики этого штамма с характеристиками штаммов H21R20T и H23M41T. Мы также получили данные API и клеточные профили жирных кислот L. enzymogenes 495T, типового штамма Lysobacter, для сравнительного анализа (Srinivasan et al., 2010). Последовательности генома L. concretionis Ko07T и L. enzymogenes 495T были получены из базы данных NCBI.

Номера доступа

Номера доступа DDBJ/ENA/GenBank для последовательностей гена 16S рРНК штаммов H21R20T и H23M41T — MT764981 и MT764977 соответственно. Номера доступа DDBJ/ENA/GenBank для последовательностей всего генома штаммов H21R20T и H23M41T — CP063656 и CP063657 соответственно.

Результаты и обсуждение

Филогенетический и геномный анализ

На основании последовательностей гена 16S рРНК штаммы H21R20T и H23M41T были идентифицированы как принадлежащие к роду Lysobacter, семейству Lysobacteraceae, порядку Lysobacterales, классу Gammaproteobacteria, типу Pseudomonadota. В филогенетическом дереве, построенном с использованием последовательностей генов 16S рРНК, два штамма образовали монофилетическую кладу с L. concretionis Ko07T, с которым они показали наибольшее сходство последовательностей (98,3−98,4%) (рис. 1). Аналогично, в дереве UBCG, построенном с использованием последовательностей генома, два штамма были снова сгруппированы с L. concretionis Ko07T (рис. 2), что предполагает, что штаммы H21R20T и H23M41T были связаны с родом Lysobacter. Чтобы подтвердить, что два штамма являются новыми членами рода Lysobacter, мы сравнили три типа индексов OGRI. Штамм

H21R20T и штамм H23M41T показали 81,1% и 80,1% исходных значений ANI, соответственно, 81,7% и 80,7% значений OrthoANI, соответственно, и 24,9% и 24,0% значений dDDH, соответственно, по сравнению с L. concretionis Ko07T (Дополнительные данные, таблица S1). Эти значения были значительно ниже порогов классификации видов (95–96% для значений ANI и 70% для значений dDDH) (Chun et al., 2018), что позволяет предположить, что штаммы

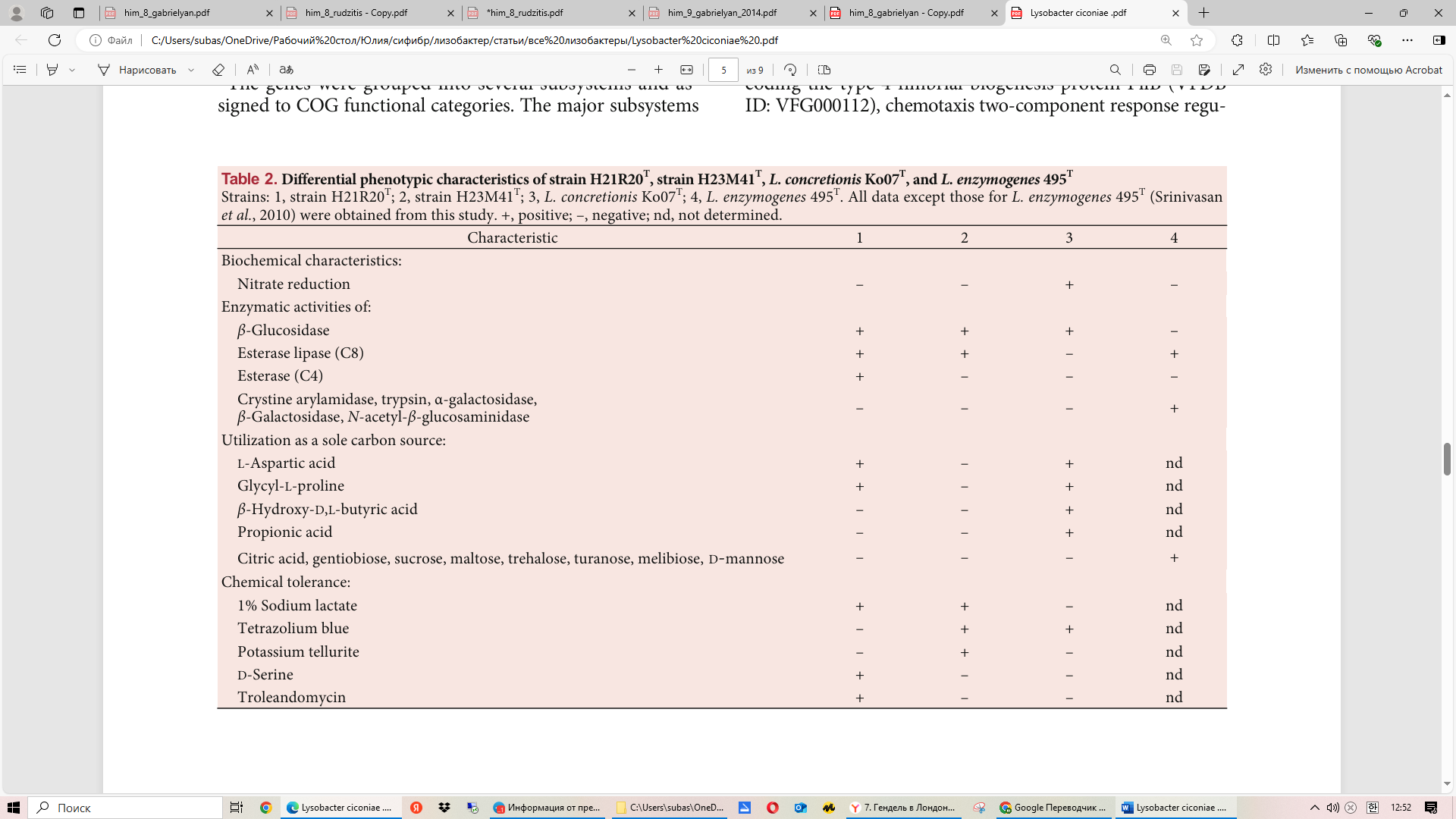
H21R20T и H23M41T можно рассматривать как два новых вида рода Lysobacter.

Геном штаммов H21R20T и H23M41T содержал 2 914 291 п.н. с содержанием ДНК G + C 67,3% и 2 854 808 п.н. с содержанием ДНК G + C 66,6% соответственно. Геномы обоих штаммов имели относительно небольшой размер, учитывая, что размеры геномов других членов рода Lysobacter варьируются от 2,5 до 6,7 Мб. Штаммы H21R20T и H23M41T содержали в общей сложности 2 647 и 2 591 генов соответственно и 50 и 49 генов тРНК соответственно. Оба этих штамма содержали два гена 5S, два гена 16S и два гена 23S рРНК

(Таблица 1).

Гены, кодирующие белок, были классифицированы как основные, вспомогательные и гены Инглтона с помощью пангеномного анализа. Штамм H21R20T, штамм H23M41T и L. concretionis Ko07T имели 1908 общих семейств гомологичных генов. Штаммы H21R20T и H23M41T имели 2070 и 1967 общих семейств гомологичных генов с L. concretionis Ko07T соответственно. Штамм H21R20T, штамм H23M41T и L. concretionis Ko07T содержали 1923 (75,9%), 1926 (81,8%) и 1933 (71,2%) основных гена соответственно. Штамм H21R20T, штамм H23M41T и L. concretionis Ko07T содержали 142 (5,6%), 174 (7,4%) и 409 (15,1%) одиночных генов соответственно (Дополнительные данные, таблица S2 и рис. S1). Штамм H21R20T и штамм H23M41T разделяли наибольшее количество семейств гомологичных генов, за ними следовали штамм H21R20T и L. concretionis Ko07T. Штамм 23M41T и L. concretionis Ko07T разделяли наименьшее количество семейств гомологичных генов, а L. concretionis Ko07T содержал наибольшее количество одиночных генов среди трех штаммов (Дополнительные данные, таблица S2 и рис. S1). Эти результаты соответствуют сравнениям индексов OGRI (таблица дополнительных данных S1), предполагая, что штамм H21R20T и штамм H23M41T имеют относительно схожие геномные характеристики по сравнению с L. concretionis Ko07T. Штамм H21R20T был более геномно связан с L. concretionis Ko07T, чем штамм H23M41T был с L. concretionis Ko07T.

Гены были сгруппированы в несколько подсистем и отнесены к функциональным категориям COG. Основными подсистемами, связанными с тремя штаммами, были «кофакторы, витамины, простетические группы, пигменты», «мембранный транспорт», «белковый метаболизм», «метаболизм ДНК», «дыхание», «аминокислоты и производные» и «углеводы». Штамм H21R20T содержал меньшую долю подсистем, связанных с «жирными кислотами, липидами и изопреноидами», чем другие штаммы. Lysobacter concretionis Ko07T содержал меньшую долю подсистем, связанных с «метаболизмом азота», чем другие штаммы (таблица дополнительных данных S3). Основными COG были транспорт и метаболизм аминокислот (код E), биогенез клеточной стенки/мембраны/оболочки (M) и производство и преобразование энергии (C). Штамм H23M41T содержал наименьшее количество генов, связанных с подвижностью клеток (N). Lysobacter concretionis Ko07T содержал меньшую долю генов, связанных с транспортом и метаболизмом аминокислот (E), транспортом и метаболизмом углеводов (G), биогенезом клеточной стенки/мембраны/оболочки (M), транспортом и метаболизмом неорганических ионов (P), посттрансляционной модификацией, оборотом белка, шаперонами (O) и транскрипцией (K), чем другие штаммы (таблица дополнительных данных S4). Тридцать генов, подобных VF, были общими для всех сравниваемых штаммов. Штаммы H21R20T и H23M41T содержали 77 и 38 генов, подобных VF, соответственно. Гены, подобные VF, кодирующие белок биогенеза фимбрий типа 4 PilB (идентификатор VFDB: VFG000112), оксидоредуктазу семейства двухкомпонентных хемотаксических регуредуктаз (VFG038839), были обнаружены только в штамме H21R20T, а ген, кодирующий циклическую бета-1-2-глюкансинтетазу (VFG002219), был обнаружен только в штамме H23M41T (таблица дополнительных данных S5). Было 58 и 61 кластеров генов, аннотированных как CAZymes в штаммах H21R20T и H23M41T, соответственно. Все сравниваемые штаммы Lysobacter имели больше генов, связанных с гликозидгидролазами и гликозилтрансферазами, чем генов, связанных с углеводсвязывающими модулями и углеводсвязывающими эстеразами (таблица дополнительных данных S6)

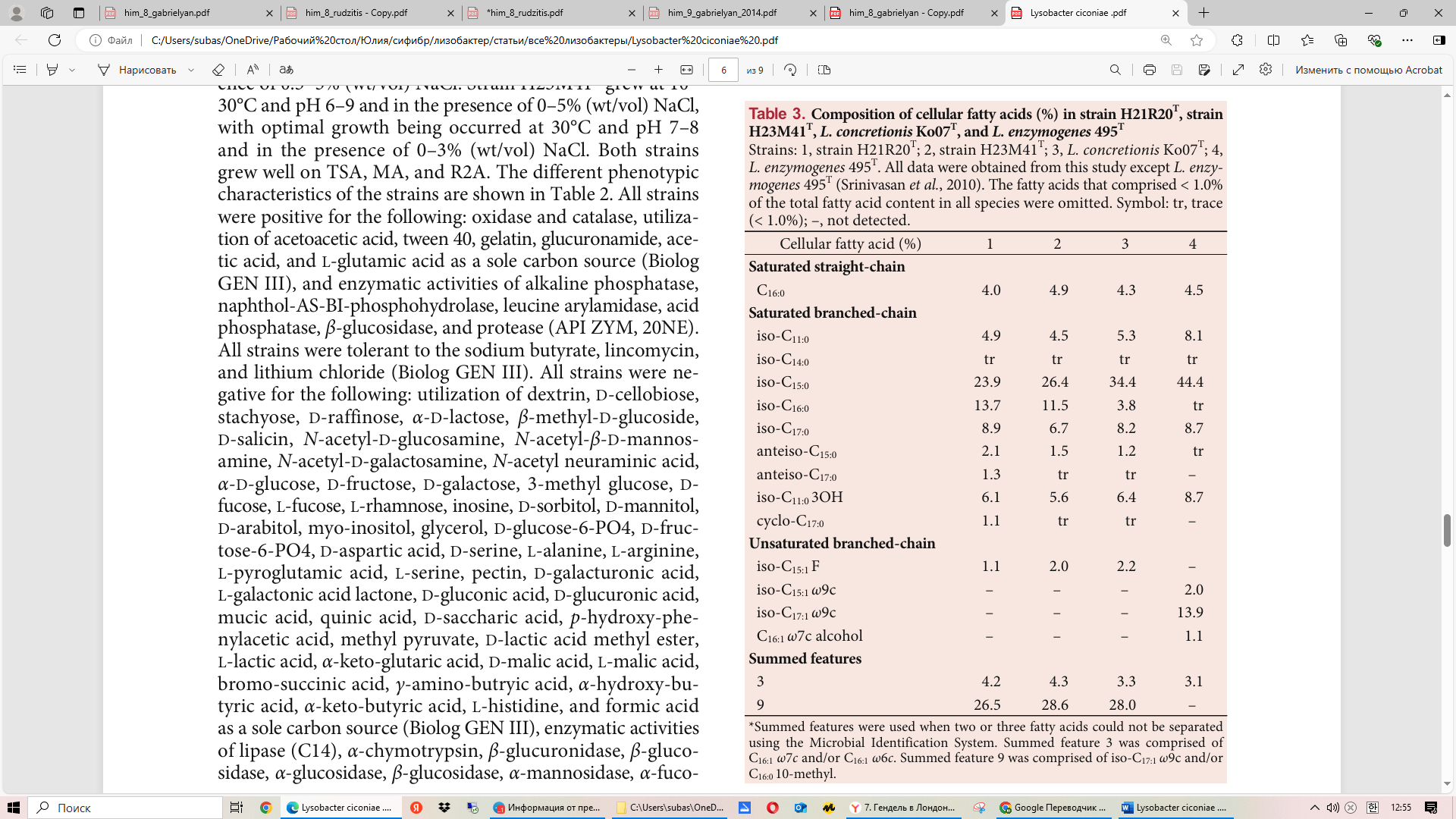


Физиологические, морфологические и биохимические характеристики

Клетки обоих штаммов были грам-отрицательными, неспорообразующими, строго аэробными и палочковидными. Подробные размеры клеток представлены в разделе описания ниже. Оба штамма показали подвижность, в то время как штамм H23M41T был гораздо менее подвижным, чем штамм H21R20T. Это различие соответствует каждой морфологической особенности и аннотации COG. Штамм H21R20T имел жгутик, в то время как штамм H23M41T не содержал никаких жгутиков. Штамм H23M41T также имел самую низкую долю COG с генами, связанными с подвижностью клеток (код N) (таблица дополнительных данных S4). Колонии обоих штаммов были непрозрачными желтыми, гладкими и круглыми с неповрежденным краем. Штамм H21R20T рос на TSB при 10–30°C и pH 6–9 и в присутствии 0–8% (вес/объем) NaCl, при этом оптимальный рост наблюдался при 30°C и pH 8 и в присутствии 0,5–3% (вес/объем) NaCl. Штамм H23M41T рос при 10–30°C и pH 6–9 и в присутствии 0–5% (вес/объем) NaCl, при этом оптимальный рост наблюдался при 30°C и pH 7–8 и в присутствии 0–3% (вес/объем) NaCl. Оба штамма хорошо росли на TSA, MA и R2A. Различные фенотипические характеристики штаммов показаны в таблице 2. Все штаммы были положительными по следующим показателям: оксидаза и каталаза, использование ацетоуксусной кислоты, твина 40, желатина, глюкуронамида, уксусной кислоты и L-глутаминовой кислоты в качестве единственного источника углерода (Biolog GEN III), а также ферментативная активность щелочной фосфатазы, нафтол-AS-BI-фосфогидролазы, лейцинариламидазы, кислой фосфатазы, β-глюкозидазы и протеазы (API ZYM, 20NE).

Все штаммы были толерантны к бутирату натрия, линкомицину и хлориду лития (Biolog GEN III). Все штаммы были отрицательными по следующим показателям: утилизация декстрина, D-целлобиозы, стахиозы, D-раффинозы, α-D-лактозы, β-метил-D-глюкозида, D-салицина, N-ацетил-D-глюкозамина, N-ацетил-β-D-маннозамина, N-ацетил-D-галактозамина, N-ацетилнейраминовой кислоты, α-D-глюкозы, D-фруктозы, D-галактозы, 3-метилглюкозы, D-фукозы, L-фукозы, L-рамнозы, инозина, D-сорбита, D-маннита, D-арабита, мио-инозитола, глицерина, D-глюкозы-6-PO4, D-фруктозы-6-PO4, D-аспарагиновой кислоты, D-серина, L-аланина, L-аргинина, L-пироглутаминовая кислота, L-серин, пектин, D-галактуроновая кислота, лактон L-галактоновой кислоты, D-глюконовая кислота, D-глюкуроновая кислота, слизевая кислота, хинная кислота, D-сахарная кислота, п-гидроксифенилуксусная кислота, метилпируват, метиловый эфир D-молочной кислоты, L-молочная кислота, α-кетоглутаровая кислота, D-яблочная кислота, L-яблочная кислота, бромянтарная кислота, γ-аминомасляная кислота, α-гидроксимасляная кислота, α-кетомасляная кислота, L-гистидин и муравьиная кислота как единственный источник углерода (Biolog GEN III), ферментативная активность липазы (C14), α-химотрипсина, β-глюкуронидазы, β-глюкозидазы, α-глюкозидаза, β-глюкозидаза, α-маннозидаза, α-фукозидаза, валин-ариламидаза, аргинин-дигидролаза и уреаза (API ZYM, 20NE), продукция индола и ферментация глюкозы (API 20NE). Все штаммы не были устойчивы к фузидиевой кислоте, рифамицину SV, миноциклину, гуанидину HCl, ниапруфу 4, тетразолию фиолетовому и бромату натрия (Biolog GEN III). Мы проверили восприимчивость штаммов к 28 различным типам антибиотиков, и эти результаты показаны в Таблице дополнительных данных S7. Из трех штаммов только штамм H21R20T показал устойчивость к тетрациклину и тигециклину, тогда как только штамм H23M41T показал устойчивость к карбенициллину, азитромицину и рифампицину. Штаммы H21R20T и H23M41T показали сравнительно слабую восприимчивость к антибиотикам, чем L. concretionis Ko07T. Хемотаксономические признаки

Основными жирными кислотами клеток (> 10%) в обоих штаммах были изо-C15:0 (23,9% для штамма H21R20T и 26,4% для штамма H23M41T), изо-C16:0 (13,7% и 11,5%) и суммарный признак 9 (изо-C17:1 ω9c и/или C16:0 10-метил) (26,5% и 28,6%), в то время как в L. concretionis Ko07T были изо-C15:0 (34,4%) и суммарный признак 9 (28,0%), а в L. enzymogenes 495T были изо-C15:0 (44,4%) и изо-C17:1 ω9c (13,9%) (таблица 3). Штаммы H21R20T и H23M41T получили DPG, PG, PE и неидентифицированный фосфолипид (Дополнительные данные, рис. S2). Оба штамма содержали убихинон Q-8 в качестве основного хинона (Дополнительные данные, рис. S3). Взятые вместе, штаммы H21R20T и H23M41T были оба окрашенными по Граму и аэробными палочками, и оба штамма содержали различные изоразветвленные жирные кислоты, убихинон Q-8, DPG, PG и PE, как и у других видов Lysobacter. Однако два штамма показали четкие различия в OGRI и некоторые различия в фенотипических и геномных признаках по сравнению с L. concretionis Ko07T или L. enzymogenes 495T. Поэтому мы предлагаем два новых штамма, H21R20T и H23M41T, в качестве новых членов рода Lysobacter. Мы предлагаем название L. ciconiae sp. nov. для штамма H21R20T и L. avium sp. nov. для штамма H23M41T.



Описание Lysobacter ciconiae sp. nov.

Lysobacter ciconiae (ci.co'ni.ae. N.L. gen. fem. n. ciconiae

белого аиста).

Клетки окрашены по Граму отрицательно, не образуют спор, строго аэробны, мезофильны, подвижны и имеют форму палочки (0,5–0,8 мкм × 0,9–2,1 мкм) со жгутиком. Колонии, культивируемые в течение 48 ч на TSA при 30 °C, желтые, непрозрачные, круглые, гладкие и выпуклые, с неповрежденным краем. Клетки растут при 10–30 °C и pH 6–9 и в присутствии 0–8% (вес/объем) NaCl. Оптимальный рост происходит при 30 °C и pH 8 и в присутствии

0,5–3% (вес/объем) NaCl. Клетки положительны для оксидазной и каталазной активности и используют уксусную кислоту, твин 40, L-аспарагиновую кислоту, глюкуронамид, глицил-L-пролин, желатин и L-глутаминовую кислоту в качестве единственного источника углерода (Biolog GEN III). Клетки толерантны к хлориду лития (Biolog GEN III) и положительны для эстеразы, липазы (C8), эстеразы (C4), щелочной фосфатазы, нафтол-AS-BI-фосфогидролазы, лейцинариламидазы, кислой фосфатазы, β-глюкозидазы и протеазной активности (API ZYM, 20NE). Клетки не способны использовать ацетоуксусную кислоту, β-гидрокси-D,L-масляную кислоту, пропионовую кислоту, L-гистидин, декстрин, D-мальтозу, D-трегалозу, D-целлобиозу, гентиобиозу, сахарозу, D-туранозу, стахиозу, D-раффинозу, α-D-лактозу, D-мелибиозу, β-метил-D-глюкозид, D-салицин, N-ацетил-D-глюкозамин, N-ацетил-β-D-маннозамин, N-ацетил-D-галактозамин, N-ацетилнейраминовую кислоту, α-D-глюкозу, D-маннозу,

D-фруктозу, D-галактозу, 3-метилглюкозу, D-фукозу, L-фукозу, L-рамнозу, инозин, D-сорбит, D-маннит, D-арабит, мио-инозитол, глицерин, D-глюкоза-6-PO4, D-фруктоза-6-PO4, D-аспарагиновая кислота, D-серин, L-аланин, L-аргинин, L-пироглутаминовая кислота, L-серин, пектин, D-галактуроновая кислота, лактон L-галактоновой кислоты, D-глюконовая кислота, D-глюкуроновая кислота, слизевая кислота, хинная кислота, D-сахарная кислота, п-гидроксифенилуксусная кислота, метилпируват, метиловый эфир D-молочной кислоты, L-молочная кислота, лимонная кислота, α-кетоглутаровая кислота, D-яблочная кислота, L-яблочная кислота, бромянтарная кислота, γ-аминомасляная кислота, α-гидроксимасляная кислота, α-кетомасляная кислота кислота и муравьиная кислота в качестве единственного источника углерода (Biolog GEN III). Клетки не толерантны к тетразолию синему, теллуриту калия, бутирату натрия, линкомицину, 1% лактату натрия, D-серину, тролеандомицину, фузидиевой кислоте, рифамицину SV, миноциклину, гуанидину HCl, ниапропу 4, тетразолию фиолетовому и бромату натрия (Biolog GEN III). Клетки также отрицательны по активности липазы (C14), кристина ариламидазы, α-химотрипсина, α-галактозидазы, β-глюкуронидазы, α-глюкозидазы, N-ацетил-β-глюкозаминидазы, α-маннозидазы, α-фукозидазы, трипсина, валина ариламидазы, аргининдигидролазы, уреазы и β-галактозидазы (API ZYM, 20NE), нитратредукции, продукции индола и ферментации глюкозы (API 20NE). Основными жирными кислотами клеток являются изо-C15:0, изо-C16:0 и суммарный признак 9 (изо-C17:1 ω9c и/или C16:0 10-метил), а основным хиноном является убихинон Q-8. Основными полярными липидами являются DPG, PG и PE.

Типовой штамм H21R20T (= KCTC 82316T = JCM 34832T) был выделен из фекалий дальневосточного аиста Ciconia boyciana. Номера доступа DDBJ/ENA/GenBank для последовательности гена 16S рРНК и последовательности генома штамма H21R20T — MT764981 и CP063656 соответственно. Содержание G + C в геномной ДНК составляет 67,3%. Описание Lysobacter avium sp. nov. Lysobacter avium (a'vi.um. N.L. gen. pl. n. avium птиц). Клетки окрашены по Граму отрицательно, не образуют спор, строго аэробны, мезофильны, слабо подвижны и имеют форму палочки (0,5–0,8 мкм × 1,0–3,5 мкм). Колонии, культивируемые в течение 48 ч на TSA при 30 °C, желтые, непрозрачные, круглые, гладкие и выпуклые, с неповрежденным краем. Клетки растут при 10–30 °C и pH 6–9 и в присутствии 0–5% (вес/объем) NaCl. Оптимальный рост происходит при 30 °C и pH 7–8 и в присутствии 0–3% (вес/объем) NaCl. Клетки положительны для оксидазы и каталазы и используют ацетоуксусную кислоту, твин 40, желатин, глюкуронамид, уксусную кислоту и L-глутаминовую кислоту в качестве единственного источника углерода (Biolog GEN III). Клетки толерантны к 1% лактату натрия, тетразолию синему, теллуриту калия, бутирату натрия, линкомицину и хлориду лития (Biolog GEN III) и положительны для эстеразы липазы (C8), щелочной фосфатазы, нафтол-AS-BI-фосфогидролазы, лейцинариламидазы, кислой фосфатазы, β-глюкозидазы и протеазной активности (API ZYM, 20NE).

Клетки не способны использовать L-аспарагиновую кислоту, глицил-L-пролин, β-гидрокси-D,L-масляную кислоту, пропионовую кислоту, декстрин, D-мальтозу, D-трегалозу, D-целлобиозу, гентиобиозу, сахарозу, D-туранозу, стахиозу, D-раффинозу, α-D-лактозу, D-мелибиозу, β-метил-D-глюкозид, D-салицин, N-ацетил-D-глюкозамин, N-ацетил-β-D-маннозамин, N-ацетил-D-галактозамин, N-ацетилнейраминовую кислоту, α-D-глюкозу, D-маннозу, D-фруктозу, D-галактозу, 3-метилглюкозу, D-фукозу, L-фукозу, L-рамнозу, инозин, D-сорбит, D-маннит, D-арабит, мио-инозитол, глицерин, D-глюкоза-6-PO4, D-фруктоза-6-PO4, D-аспарагиновая кислота, D-серин, L-аланин, L-аргинин, L-пироглутаминовая кислота, L-серин, пектин, D-галактуроновая кислота, лактон L-галактоновой кислоты, D-глюконовая кислота, D-глюкуроновая кислота, слизевая кислота, хинная кислота, D-сахарная кислота, п-гидроксифенилуксусная кислота, метилпируват, метиловый эфир D-молочной кислоты, L-молочная кислота, лимонная кислота, α-кетоглутаровая кислота, D-яблочная кислота, L-яблочная кислота, бромянтарная кислота, γ-аминомасляная кислота, α-гидроксимасляная кислота, α-кетомасляная кислота, L-гистидин и муравьиная кислота в качестве единственного источника углерода (Biolog GEN III). Клетки не толерантны к D-серину, тролеандомицину, фузидиевой кислоте, рифамицину SV, миноциклину, гуанидину HCl, ниапропу 4, тетразолию фиолетовому и бромату натрия (Biolog GEN III). Клетки отрицательны по активности липазы (C14), кристинариламидазы, α-химотрипсина, α-галактозидазы, β-глюкуронидазы, α-глюкозидазы, N-ацетил-β-глюкозаминидазы, α-маннозидазы, α-фукозидазы, трипсина, эстеразы (C4), валинариламидазы, аргининдигидролазы, уреазы и β-галактозидазы (API ZYM, 20NE), продукции индола, восстановлению нитрата и ферментации глюкозы (API 20NE). Основными клеточными жирными кислотами являются изо-C15:0, изо-C16:0 и суммарный признак 9 (изо-C17:1 ω9c и/или C16:0 10-метил), в то время как основным хиноном является убихинон Q-8. Основными полярными липидами являются DPG,

PG и PE. Типовой штамм H23M41T (= KCTC 62676T = JCM 33223T) был выделен из фекалий восточного аиста Ciconia boy

ciana. Номера доступа DDBJ/ENA/GenBank для последовательности гена 16S рРНК и последовательности генома штамма H23M41T составляют MT764977 и CP063657 соответственно. Содержание G + C в геномной ДНК составляет 66,6%