‘Lysobacter enzymogenes ssp. cookii’ был предложен Кристенсеном и Куком в 1978 году; однако, это название подвида не было указано в утвержденных списках названий бактерий, и поэтому номенклатура не была утверждена. В нашем генетическом подходе для выяснения отношений обозначенного типового штамма ‘L. enzymogenes ssp. cookii’ PAGU 1119 (номер доступа GenBank ATCC29488) в пределах рода Lysobacter было выявлено, что штамм был тесно связан с Lysobacter capsici YC5194T (99,4%), а не с L. enzymogenes DSM2043T (97,2%). Значение для родства ДНК-ДНК всего генома между штаммом PAGU 1119 и L. enzymogenes DSM 2043Tor L. capsici YC5194T составило 20,7–26,1% или 60,9–62,0% соответственно. Хотя PAGU 1119 и L. capsici YC5194T показали относительно высокие родства ДНК, профили жирных кислот и некоторые фенотипические характеристики были разными, и мы пришли к выводу, что PAGU 1119 следует отнести к новому виду. Поэтому мы предлагаем новый вид с названием Lysobacter cookii sp. nov. Типовой штамм — PAGU 1119T (ATCC29488)

Род Lysobacter был создан Кристенсеном и Куком (1978) для скользящих бактерий с высоким содержанием G1C, которые не производят плодовые тела, с Lysobacter enzymogenes в качестве типового вида. Эти авторы в основном использовали фенотипические характеристики для установления этого рода; таксономическое положение и филогенетические особенности организмов были подтверждены Бэ и др. (2005). С тех пор 11 видов были предложены в качестве новых видов в пределах Lysobacter (Бэ и др., 2005; Ли и др., 2006, Веон и др., 2006, 2007; Яссин и др., 2007; Парк и др., 2008; Романенко и др., 2008; Аслам и др., 2009; Ван и др., 2009). На сегодняшний день 15 видов признаны членами рода Lysobacter.

В 1978 году Кристенсен и Кук также предложили два подвида: «Lysobacter enzymogenes ssp. enzymogenes» и «Lysobacter enzymogenes ssp. cookii». Эти подвиды не были упомянуты в работе Скермана и др. (1980 и 1989), хотя они были перечислены в Индексе изменений номенклатуры бактерий и дрожжей (Moore & Moore, 1989), и поэтому номенклатура не была утверждена. В 2006 году Тиндалл и др. 2009 Федерация европейских микробиологических обществ Опубликовано Blackwell Publishing Ltd. Все права защищены Юзеби потребовал, чтобы Судебная комиссия постановила, что эти названия следует рассматривать как включенные в утвержденные списки, в измененном издании списков. До сих пор не было высказано ни одного мнения по этому вопросу, и номенклатурный статус этих подвидов до сих пор не установлен. В ходе нашего исследования таксономических связей штаммов L. enzymogenes мы обнаружили, что «L. enzymogenes ssp. cookii» на самом деле не были тесно связаны с L. enzymogenes и должны быть признаны как независимый вид в пределах рода Lysobacter, а именно Lysobacter cookii sp. nov.

Материалы и методы

Штаммам, использованным в этом исследовании

Мы использовали следующие типовые штаммы: L. enzymogenes (PAGU 1067T=DSM2043T), Lysobacter antibioticus (PAGU 1068T=DSM2044T), Lysobacter capsici (PAGU 1064T=YC5194T), Lysobacter gummosus (PAGU 1069T=DSM6980T), Lysobacter koreensis (PAGU 1128T=NBRC101156T), Lysobacter niastensis (PAGU 071T=DSM18481T) и Lysobacter yangpyeongensis (PAGU 1070T=DSM17635T). Все штаммы были приобретены непосредственно из каждой коллекции культур, за исключением L. capsici YC5194T, который был любезно предоставлен доктором Дж. Х. Park (Park et al., 2008). Мы также использовали штамм PAGU 1119 (ATCC29488), приобретенный напрямую в Американской коллекции типовых культур (ATCC), который был обозначен как типовой штамм «Lysobacter enzymogenes ssp. cookii». Все штаммы выращивались на чашках с агаром R2A (Wako Pure Chemical Ltd, Осака, Япония) или на 2% триптиказо-соевом агаре при температуре 301C в аэробных условиях.

Генотипическая характеристика

Сначала мы определили последовательности гена 16S рРНК штамма PAGU 1119 и исследовали генетическое положение штамма в пределах рода Lysobacter. Праймеры ПЦР, используемые для амплификации гена 16S рРНК, были такими, как описано ранее (Kawamura et al., 1999, 2003).

После подтверждения отдельных продуктов амплификации на 1% агарозных гелях последовательности были определены с помощью автоматического секвенатора (модель 3130, Applied Biosystems) с использованием набора для реакции красителя-терминатора (Applied Biosystems). Программное обеспечение CLUSTALX, первоначально описанное Томпсоном и др. (1997), использовалось для выравнивания последовательностей, а филогенетические расстояния рассчитывались методом объединения соседей. Филогенетические деревья были построены с помощью программного обеспечения TREEVIEW (Page, 1996). Чтобы выяснить точные геномные связи штамма PAGU 1119, мы решили измерить скорость реассоциации всей геномной ДНК. ДНК из каждого штамма была подготовлена ​​по стандартной процедуре Marmur (1961). Мы также использовали метод очистки ДНК с использованием тиоцианата кремния-гуанидиния, описанный ранее (Boom et al., 1990). Количественная гибридизация ДНК-ДНК на микропланшетах проводилась, как описано ранее (Ezaki et al., 1989). Эксперименты по гибридизации проводились при 421C (оптимальные условия) и 521C (жесткие условия) с использованием 2 SSC и 50%

формамида. Оптимальная температура была на 551C ниже температуры термической денатурации, поскольку формамид снижал температуру гибридизации (Meinkoth & Wahl, 1984). Хемотаксономические анализы

Клеточные липиды и жирные кислоты анализировали, как описано ранее (Naka et al., 2000; Li et al., 2003). Вкратце, бактериальные клетки, выращенные на среде R2A, собирали, и клеточные липиды дважды экстрагировали хлороформом:метанолом (2:1, об./об.). Клеточные липиды анализировали с помощью двумерной ТСХ. Для жирных кислот собранные клетки гидролизовали 3,75 М NaOH в метаноле:воде (1:1, об./об.) при 1001C

в течение 30 мин. После нейтрализации 6N HCl жирные кислоты дважды экстрагировали н-гексаном. Метилэфирные производные жирных кислот получали обработкой 10% триметилсилилдиазометана в н-гексане (Nacalai Tesque Inc., Киото, Япония) и анализировали с помощью ГХ/МС.

Фенотипические характеристики

Сводка некоторых биохимических и фенотипических характеристик представлена ​​в Таблице 3. Колонии, выросшие на пластине агара R2A через 2 дня при 301C, имеют цвет от кремово-белого до светло-коричневого. Содержание ДНК G1C составляет 66,2 ± 0,4 моль%, как определено методами ВЭЖХ (Kawamura et al., 1998).

Штамм PAGU 1119 можно отличить от других представителей рода Lysobacter по многим биохимическим признакам, например, по восстановлению нитрата, гидролизу эскулина, усвоению D-глюкозы, D-маннозы, яблочной кислоты и другим. Некоторые ферментативные активности, такие как a-хемотрипсин, агалактозидаза, b-галактозидаза и N-ацетил-b-глюкозаминидаза, были полезны в качестве характеристик, отличающих PAGU

1119 от генетически близкородственных видов (L. enzym

ogenes, L. capsici и L. antibioticus).

Хотя PAGU 1119 и L. capsici YC5194T показали относительно высокие связи ДНК, профили жирных кислот и некоторые фенотипические характеристики были разными. Поэтому мы приходим к выводу, что PAGU 1119 следует отнести к новому виду, а не подвиду L. capsici. Мы предлагаем название Lysobacter cookii sp. nov. для этого нового вида. Описание Lysobacter cookii sp. nov. Lysobacter cookii (coo’ki.i. N.L. gen. n. cookii Кука; назван в честь Ф.Д. Кука, микробиолога, который первым выделил лизобактеры). Клетки аэробные, грамотрицательные, палочковидные или нитевидные, различных размеров (0,3–0,5 4–50 мм), неспорообразующие и неподвижные, но обладающие скользящей активностью. Колонии, выращенные на пластине агара R2A через 2 дня при 301C, имеют цвет от кремово-белого до светло-коричневого. На агаре Макконки роста нет. Содержание ДНК G1C составляет 66,2 0,4 мол.%, как определено с помощью ВЭЖХ. Основные данные по жирным кислотам в клетках приведены в таблице 2. Положительные по каталазе и оксидазе. Не восстанавливают нитрат. Могут гидролизовать эскулин,но не аргинин и крахмал. Разжижают желатин. Не производят индол. Не могут производить кислоту из ксилита, лактозы или маннита. Отрицательные по лизину и орнитиндекарбоксилазе. Положительный для щелочной фосфатазы, эстеразы C4 и C8 и нафтолгидразы, но отрицательный для уреазы, цистинариламидазы, b-глюкуронидазы, a-маннозидазы и a-фукозидазы. Другие фенотипические характеристики описаны в Таблице 1.

Типовой штамм — PAGU 1119 (ATCC29488), выделенный из почвы в Оттаве, Канада.

