Два штамма бактерий, обозначенные GH34-4T и GH41-7T, были выделены из тепличной почвы,выращенной с огурцом. Бактерии были строго аэробными, грамотрицательными, алочковидными иположительными по оксидазе и каталазе. Анализ последовательности генов 16SrRNA показал, что эти штаммыпринадлежат к роду Lysobacter в пределах гамма-протеобактерий. Штамм GH34-4T показал наивысшеесходство последовательности с LysobacteryangpyeongensisGH19-3T (97,5%) и LysobacterkoreensisDae16T (96,4%), а штамм GH41-7T показал наивысшеесходство последовательности с LysobacterantibioticusDSM2044T(97,5%), LysobacterenzymogenesDSM2043T(97,5%) и LysobactergummosusATCC29489T(97,4%). Уровни ДНК–ДНК-родственности указали, что штаммыGH34-4T и GH41-7Tпредставляливиды, явно отличныеот L.yangpyeongensis,L.antibioticus, L.enzymogenes и L.gummosus. Основные клеточные жирные кислоты штаммов GH34-4Tи GH41-7Tбылиизо-C16:0, изо-C15:0 и изо-C17:1v9c, а основной изопреноидхинонбыл Q-8. Содержание ДНК+С в GH34-4T и GH41-7T составило 62,5 и 66,6 моль%,соответственно. На основании представленных полифазных таксономических данных очевидно, что каждый изэтих штаммов представляет собой новый вид рода Lysobacter, для которого предложены названия Lysobacterniabensis sp.nov. (типовой штамм GH34-4T = KACC11587T = DSM18244T) и Lysobacterniastensis sp.nov. (типовой штамм GH41-7T = KACC11588T = DSM18481T)

Род Lysobacter был впервые предложен Кристенсеном и Куком (1978) для размещения неплодоносящих, скользящих бактерий с высоким содержанием G+C. Недавно были описаны три новых вида рода, Lysobacter koreensis (Leeetal.,2006), Lysobacter daejeonensis и Lysobacter yangpyeongensis (Weonetal.,2006), выделенные из почв. На момент написания статьи род Lysobacter включает восемь видов с валидно опубликованными названиями, Lysobacter enzymogenes, L. antibioticus, L. brunescens, L. concretionis, L. daejeonensis, L.gummosus, L.koreensis и L.yangpyeongensis.

В 2005 году были собраны образцы почвы из тепличной почвы, где выращивали огурцы (Cucumis sativus L.) в регионах Йонъин и Санджу, Корея. Образцы были серийно разбавлены 0,85% NaCl (мас./об.), и подходящие 10-кратные разбавления были высеяны на R2Aagar (Difco). Чашки инкубировались при 28uC в течение 4 дней, и штаммы GH34-4T и GH41-7T были впоследствии изолированы.

Для штаммов GH34-4T и GH41-7T морфология клеток определялась с помощью фазово-контрастной микроскопии-дневных культур. Скользящая подвижность наблюдалась с помощью масляно-иммерсионной фазово-контрастной микроскопии края колоний в экспоненциальной фазе роста. Диапазон температур (5–50uC), диапазон pH (pH4–10 с интервалом1pHединица) и потребность в 0,1,2,3,5 или 7% NaCl (w/v) определялись с использованием среды R2A. Тесты на окрашивание по Граму, каталазу, оксидазу и гидролиз казеина, ДНК и крахмала проводились в соответствии с методами Смиберта и Крига (1994). Также проводились тесты на гидролиз CM-целлюлозы (0,1%, w/v), хитина из панцирей крабов (1%, w/v) и тирозина (0,5%, w/v). Коммерчески доступные системы API 20NE и API ID 32 GN (bioMe ´rieux) использовались для определения биохимических свойств, использования углеводов и активности ферментов в соответствии с инструкциями производителя. Тесты API ZYM были считаны после 4 ч инкубации при 37uC, а другие тесты API - после 72 ч при 28uC.Изопреноидные хиноны были проанализированы с помощью ВЭЖХ, как описаноGroth et al. (1996). Гибридизация ДНК-ДНК была проведена, как описано Seldin & Dubnau (1985). Маркировка зондов проводилась с использованием нерадиоактивной системы DIG-High prime (Roche). Реассоциация проводилась при 60uC. Гибридизированные ДНК визуализировались с использованием набора для люминесцентного обнаружения DIG (Roche). Уровни родства ДНК-ДНК количественно определялись с помощью денситометра (BioRad). Для анализа метилового эфира жирных кислот клеточную массу собирали с агара R2A после культивирования в течение 48 ч при 28uC. Метиловые эфиры жирных кислот были извлечены и подготовлены в соответствии со стандартным протоколом системы идентификации микроорганизмов MIDI/Hewlett Packard (Sasser, 1990). Определение содержания ДНК G+C было выполнено в соответствии с Mesbah et al. (1989) с использованием колонки с обращенной фазой (Supelcosil LC-18-S; Supelco).

Ген 16S рРНК был амплифицирован из колоний с помощью ПЦР с использованием праймеров fD1 и rP2 (Weisburg et al., 1991), и весь фрагмент ПЦР был напрямую секвенирован (Hiraishi, 1992). Последовательности гена 16S рРНК были выровнены с помощью программы MEGALIGN DNASTAR. Филогенетическое дерево было реконструировано с помощью метода присоединения соседей Saitou &Nei (1987) на MEGAversion 2.1 (Kumar et al., 2001). Стабильность взаимоотношений была оценена путем проведения бутстреп-анализа данных присоединения соседей на основе 1000 повторных выборок. Штаммы GH34-4T и GH41-7T были аэробными, грамотрицательными, палочковидными и каталазо- и оксидазоположительными. Они хорошо росли на R2A, триптиказо-соевом агаре (Difco) и питательном агаре (Difco), но не росли на агаре Макконки (Difco). Фенотипические характеристики штаммов GH34-4T и GH41-7T приведены в Таблице 1 и в описаниях видов ниже. Дифференциальные свойства между GH34-4T, GH41-7T и признанными видами рода Lysobacter приведены в Таблице 1. Штаммы GH34-4T и GH41-7T имели убихинон-8 (Q-8) в качестве основного изопреноидного хинона, что является характерной чертой рода Lysobacter (Bae et al., 2005). Составы жирных кислот новых штаммов и близкородственных видов Lysobacter приведены в Дополнительной таблице S1, доступной в IJSEM Online. Основные жирные кислоты, обнаруженные (проценты от общего количества жирных кислот в клетках) штаммов GH34-4T и GH41-7T, были изо-C16:0 (23,7 и 23,3% соответственно), изо-C15:0 (12,7 и 21,9%) и изо-C17:1v9c

(10,0 и 10,9%). Содержание ДНК G+C штаммов GH34-4T и GH41-7T составило 62,5 и 66,6 мол.% соответственно.

Филогенетическое дерево с использованием почти полной последовательности гена 16S рРНК (приблизительно 1450 п.н.) штаммов GH34-4T и GH41-7T ясно показало, что два штамма были расположены в пределах рода Lysobacter (рис. 1). Штамм GH34-4T был наиболее тесно связан с L. yangpyeongensis GH19-3T (97,5 % сходства последовательности гена 16S рРНК). Штамм GH41-7T был сгруппирован с несколькими видами Lysobacter, показав наибольшее сходство последовательности с L. antibioticus DSM 2044T (97,5 %), L. enzymogenes DSM 2043T (97,5 %) и L. gummosus ATCC 29489T (97,4 %). Уровень родства ДНК–ДНК между штаммом GH34-4T и L. yangpyeongensis GH19-3T составил 25 %, а уровни между штаммом GH41-7T и типовыми штаммами L. enzymogenes, L. antibioticus и L. gummosus составили 42, 39 и 32 % соответственно. На основании представленных фенотипических, хемотаксономических и генетических данных предлагается отнести штаммы GH34-4T и GH41-7T к роду Lysobacter как типовые штаммы новых видов с названиями Lysobacter niabensis sp. nov. and Lysobacter niastensis sp. nov., respectively

Описание Lysobacter niabensis sp. nov. Lysobacter niabensis (ni.ab.en9sis. N.L. муж. род. прил. niabensis, относящийся к NIAB, Национальному институту сельскохозяйственной биотехнологии, где проводились таксономические исследования этого таксона). Клетки представляют собой аэробные грамотрицательные палочки (0,562,0–5,0 мм). Рост происходит при 5–37uC (оптимум 28uC), pH 5–8 (оптимум pH 6–7) и 0–1% NaCl. Колонии желтые и нерегулярные после 48 ч культивирования при 28uC на среде R2A. Казеин, крахмал и тирозин гидролизуются, но

хитин, CM-целлюлоза, ДНК и мочевина — нет. Основными жирными кислотами клеток являются изо-C16:0, изо-C15:0 и изо-C17:1v9c. Подробный состав жирных кислот в клетках приведен в дополнительной таблице S1, доступной в IJSEM Online. Основным изопреноидным хиноном является Q-8. Содержание ДНК G+C в типовом штамме составляет 62,5 мол.%.

Типовой штамм GH34-4T (=KACC11587T=DSM18244T) был выделен из почвы теплицы в Республике Корея. Описание Lysobacter niastensis sp. nov. Lysobacter niastensis (ni.as.ten9sis. N.L. муж. нареч. прил. niastensis, относящийся к NIAST, Национальному институту сельскохозяйственных наук и технологий, где проводились таксономические исследования этого таксона). Клетки представляют собой аэробные грамотрицательные палочки (0,5–0,662,04,0 мм). Рост происходит при 10–40uC (оптимум 28uC), pH 4–9 (оптимум pH 6–8) и 0–1% NaCl. Подвижный за счет скольжения. Колонии светло-бежевые, выпуклые, круглые с четкими краями после 48 ч культивирования при 28uC на среде R2A. Казеин, крахмал и тирозин гидролизуются, но хитин, CMцеллюлоза, ДНК и мочевина — нет. Основные клеточные жирные кислоты

iso-C16:0, iso-C15:0 и iso-C17:1v9c. Подробный состав клеточных жирных кислот приведен в дополнительной таблице S1, доступной в IJSEM Online. Основной изопреноидный хинон — Q-8. Содержание ДНКG+C в типовом штамме составляет 66,6 мол.%. Типовой штамм GH41-7T (=KACC11588T=DSM18481T) был выделен из почвы теплицы в Республике Корея.

Дифференциальные фенотипические характеристики штаммов GH34-4T и GH41-7T и распознаваемых видов Lysobacter Штаммы: 1, штамм GH34-4T; 2, штамм GH41-7T; 3, L. antibioticus DSM2044T; 4, L. runescens DSM6979T; 5, L. concretionis DSM16239T; 6, L. daejeonensis KACC11406T; 7, L. enzymogenes DSM2043T; 8, L. gummosus DSM6980T; 9, L. koreensis KCTC12204T; 10, L. yangpyeongensis KACC11407T. Данные взяты из Swings&Christensen (1989), Bae et al. (2005), Lee et al. (2006), Weon et al. (2006) и это исследование. Согласно тест-полоскам API 20NE, все штаммы положительны по гидролизу желатина, но отрицательны по продукции индола, ферментации глюкозы, аргининдигидролазе и уреазе. Согласно данным тест-полосок API 20NE и API ID32GN, все штаммы не способны усваивать L-арабинозу, D-маннит, глюконат калия, каприновую кислоту, адипиновую кислоту, фенилуксусную кислоту, L-рамнозу, D-рибозу, инозитол, итаконовую кислоту, субериновую кислоту, малонат натрия, молочную кислоту, L-аланин, 5-кетоглюконат калия, 3-гидроксибензойную кислоту, L-фукозу, D-сорбитол, пропионовую кислоту, 2-кетоглюконат калия или 4-гидроксибензойную кислоту. + — положительный; W — слабоположительный; 2 — отрицательный; ND — нет данных.

