

# 1株黄原胶降解菌的鉴定\*

刘晗<sup>1</sup>, 刘鹏<sup>2</sup>, 崔铁军<sup>2</sup>, 白雪芳<sup>1</sup>, 杜昱光<sup>1</sup>

(1 中国科学院 大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023;

2 天津市出入境检验检疫局, 天津 300456)

[摘要] 对从野外土壤中分离得到的1株可降解黄原胶的兼性厌氧菌进行了鉴定。结果表明, 该菌株在幼龄时期为杆菌, 大小约为(0.4~0.6) μm × (1.0~2.0) μm, 呈直杆形或稍弯曲杆形, 但在1周以上的培养物中, 只存在大小约为0.5 μm × 0.5 μm的球状细胞; 该菌为革兰氏阴性, 兼性厌氧, 无运动性, 不形成芽孢, 能利用多种糖类基质。初步鉴定该菌为鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)。

[关键词] 黄原胶降解菌; 黄原胶酶; 兼性厌氧; 革兰氏阴性; 鞘氨醇单胞菌

[中图分类号] Q93-331

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)07-0081-06

黄原胶是一种由野油菜黄单孢菌分泌的中性水溶性多糖, 又称汉生胶。其结构由五糖单位重复构成, 主链与纤维素相同, 即由 $\beta$ 1, 4 糖苷键相连的葡萄糖构成, 3个相连的单糖组成其侧链: 甘露糖 葡萄糖 甘露糖<sup>[1]</sup>。黄原胶因其独特的剪切稀释性质, 良好的增稠性, 理想的乳化稳定性, 对酸、碱、热、反复冻融的高度稳定性, 以及对人体的完全无毒害等优良的特性, 而在食品、石油、医药、日用化工等十多个领域有着极其广泛的应用, 其商品化程度之高, 应用范围之广, 远远超过其他微生物多糖<sup>[2~4]</sup>。但黄原胶在应用过程中也存在一些问题, 在采油过程中, 虽然使用黄原胶可提高采油率, 但同时也增加了原油的粘度, 使后续工艺如油料运输及产品纯化的成本增高, 为降低生产成本需要一种降解黄原胶的简便方法<sup>[5]</sup>。此外, 由于寡糖具有抗病毒、抑菌、植物诱抗、提高免疫力等功能, 而植物致病菌分泌的黄原胶被降解后得到的黄原胶寡糖, 因其具有以上某些生物活性也逐渐引起了人们的重视<sup>[6~8]</sup>。

目前, 降解黄原胶的常用方法有物理法、化学法和酶解法, 其中酶解法以其降解过程容易控制、反应条件温和以及对环境无污染等优点而成为黄原胶降解的首选途径<sup>[9~11]</sup>。

本课题组从大连沙河口区野外土壤中筛选得到了1株产黄原胶降解酶的菌株, 其发酵过程中产生的黄原胶酶具有较高活性。本试验在研究该菌株的

形态特征、运动性、培养特征和生理生化特征等基础上, 结合其16S rRNA序列分析及比对结果, 对其进行了初步鉴定, 旨在为筛选出优良的黄原胶降解菌奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种来源

菌种由本课题组从大连沙河口区野外丘陵的土壤中筛选得到。

### 1.2 培养基

1.2.1 富集培养基 含2.5 mg/L 黄原胶培养基<sup>[6]</sup>。

1.2.2 选择性液体培养基 分别称取黄原胶(Xanthan)2.5 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.0 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3.0 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.2 g, FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O 16.7 mg, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.66 mg, ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.18 mg, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.16 mg, MnSO<sub>4</sub> · 4H<sub>2</sub>O 0.15 mg, CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 0.18 mg, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0.1 mg, NaNO<sub>3</sub> 2.0 g, Na<sub>2</sub>MnO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.3 mg 置于容量瓶中, 用蒸馏水定容至1 L。

1.2.3 黄原胶固体平板培养基 分别称取琼脂粉20 g, 蛋白胨1 g, 酵母浸出粉1 g, 黄原胶3 g, 葡萄糖2 g, 用蒸馏水定容至1 L。

### 1.3 分离纯化<sup>[12]</sup>

采用Hungate厌氧技术<sup>[12]</sup>, 对1.1中的菌种进

\* [收稿日期] 2005-09-12

[基金项目] 国家高技术研究发展计划(863)项目(2001AA625010, 2002AA245131)

[作者简介] 刘晗(1981-), 男, 辽宁沈阳人, 在读硕士, 主要从事黄原胶寡糖生物活性研究

[通讯作者] 杜昱光(1963-), 男, 山西太原人, 研究员, 主要从事寡糖的产业化开发研究。E-mail: duyg@dicp.ac.cn



行分离纯化。具体方法为: 将1.1中的菌种接种于添加有黄原胶的富集培养基中, 于37℃条件下培养3~4 d后, 选取培养基粘度明显变稀者, 用灭菌后的5 mg/L生理盐水进行梯度系列稀释, 然后按常规方法将其涂布于黄原胶固体平板培养基上, 于30℃恒温培养箱中培养12 h。从黄原胶固体平板培养基上, 挑取能使选择性液体培养基粘度明显变稀的菌落, 在新鲜黄原胶固体平板培养基上划线培养, 选择单菌落, 用选择性液体培养基进行复筛, 通过对培养过程中培养液粘度下降程度和速度进行比较, 筛选出1株对黄原胶降解力最强的菌株XT-11进行鉴定。

#### 1.4 鉴定方法<sup>[13~18]</sup>

1.4.1 菌株XT-11的形态特征 将菌株XT-11接种于黄原胶选择性液体培养基中, 于30℃恒温培养箱中培养12~36 h后, 采用革兰氏染色, 分别在光学显微镜和电子显微镜下观察个体形态, 并测定菌体大小; 将菌株XT-11接种于黄原胶固体平板培养基上, 于30℃恒温培养箱中培养48 h, 观察菌落形态并测定菌落大小。

1.4.2 菌株XT-11的厌氧性和运动性试验 采用葡萄糖氧化发酵试验<sup>[15]</sup>检验菌株XT-11的厌氧性。菌株XT-11是否具运动性采用以下2种方法进行检验<sup>[15]</sup>: 一种方法是在进行葡萄糖氧化发酵试验时, 通过半固体穿刺培养进行检验; 另一种方法通过水浸片法检验。水浸片法具体操作步骤为: 将菌株XT-11接种于LB液体培养基中, 于30℃条件下振荡(150 r/m in)培养24 h后, 取1滴菌悬液置于载玻片上, 加盖盖玻片后直接在高倍镜下观察, 如果观察到快速移动的菌株, 则表明菌株XT-11具有运动能力; 反之, 则表明菌株XT-11无运动能力。

1.4.3 菌株XT-11的芽孢试验 将菌株XT-11培养液置于80℃水浴中保温10 m in; 或将菌株XT-11培养液与体积分数95%乙醇等体积混匀后, 于20℃水浴中保温45 m in后, 检验菌株XT-11培养液中是否有芽孢存在。

1.4.4 菌株XT-11的碳源利用 在含有2 mg/L硫酸铵、5 mg/L磷酸二氢钠、0.5 mg/L磷酸氢二钾、0.2 mg/L七水合硫酸镁、1 mg/L氯化钙培养液中, 分别添加葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、D-半乳糖、D-木糖、D-阿拉伯糖、山梨糖、甘露糖、鼠李糖、果糖、D-棉子糖、菊糖、纤维二糖、D-岩藻糖, 并使其终浓度均为20 mg/L, 将菌株XT-11分别接种于以上含有各种碳源的培养液中, 观察菌株XT-11是否

生长。

1.4.5 菌株XT-11常规生理生化特征 将菌株XT-11接种于营养琼脂培养基上, 于30℃条件下活化培养24 h后, 参照文献[10~11]的方法, 对该培养物分别进行氧化酶、过氧化氢酶反应试验, 脲酶、卵磷脂酶水解试验, 淀粉、纤维素、七叶苷、酪素、油脂、明胶和果胶水解试验, 甲基红、石蕊牛奶反应试验, 产吲哚和H<sub>2</sub>S试验, 硝酸盐还原反应试验, 半乳糖、乳糖、蔗糖和葡萄糖的氧化发酵试验, 柠檬酸盐利用试验。

1.4.6 菌株XT-11的B DLOG-GP鉴定<sup>[19]</sup> 在B iolog 96孔平板上, 除1个对照孔不含碳源外, 其余每孔均含有tetrazolium violet缓冲营养培养基<sup>[20]</sup>和不同碳源, 将菌株XT-11细胞悬浮在微孔中培养24 h后, 用B iolog细菌自动鉴定仪检测供试菌株XT-11的代谢指数。

1.4.7 菌株XT-11 16S rRNA的PCR扩增和序列分析 取少量在LB培养基上培养24 h的菌株XT-11, 将其加入装有200 μL无菌重蒸水的Eppendorf管中, 旋涡混匀后, 沸水浴3 m in, 于12 000 r/m in离心5 m in, 取上清液作为模板DNA直接用于PCR扩增。

用于16S rRNA PCR反应的引物为一对通用引物<sup>[12]</sup>:

正向引物的序列为: 5'-A GA GTT TGA TCC TGG CTC A G-3';

反向引物的序列为: 5'-A A G G A G G T G A T C C A G C C G C A -3'。

PCR反应体系(50 μL)为: 10×PCR缓冲液(含Mg<sup>2+</sup>)5 μL, 5 mmol/L dNTP 0.5 μL, 正反向引物各0.5 μL, 模板DNA 1.5 μL, 2.5 U Taq酶1.5 μL, 重蒸水40 μL。PCR反应程序为: 94℃5 m in; 94℃1 m in, 50℃1 m in, 72℃1 m in, 循环29次; 72℃10 m in。PCR产物的纯化和测序均由上海英骏生物技术有限责任公司完成。

1.4.8 菌株XT-11的系统发育分析 将菌株XT-11 16S rRNA的测序结果与GenBank中的核酸数据进行BLAST分析和Clustal X 1.8.1<sup>[21]</sup>比对, 并通过TreeView软件构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株XT-11的形态特征

在光学显微镜下对菌株XT-11观察发现, 该菌株在幼龄时期为杆菌, 大小约为(0.4~0.6) μm ×

(1.0~2.0)  $\mu\text{m}$ , 呈直杆形或稍弯曲杆形, 但在培养1周以上的黄原胶选择性液体培养基中, 只存在大小约为0.5  $\mu\text{m} \times 0.5 \mu\text{m}$  的类球状细胞(图1)。

在电子显微镜下观察发现, 菌株XT-11有鞭毛(图2)。菌株XT-11革兰氏染色和抗酸性染色均呈

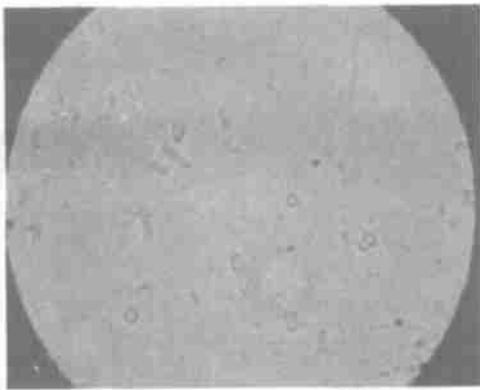


图1 菌株XT-11的显微观察( $\times 40$ )

Fig. 1 Micro examination of strain XT-11

阴性。

将菌株XT-11接种于黄原胶固体平板培养基上, 于30℃恒温培养箱中培养48 h后, 观察发现, 菌落呈圆形, 凸起, 较光滑, 乳白色, 湿润, 不透明, 边缘完整。



图2 菌株XT-11的电镜扫描图( $\times 40\,000$ )

Fig. 2 Electron micrograph of negative-stained XT-11 cell ( $\times 40\,000$ )

## 2.2 菌株XT-11的厌氧性与运动性

在厌氧性试验中可观察到, 菌株XT-11在琼脂培养基试管中生长基本均匀, 表明其属于兼性厌氧菌。半固体穿刺培养和水浸片法的悬滴镜检结果均表明, 菌株XT-11无运动性。

## 2.3 菌株XT-11的芽孢试验结果

在80℃水浴锅保温10 min后或经乙醇处理后观察发现, 菌株XT-11不能生长, 说明其无芽孢生成。

## 2.4 菌株XT-11对碳源的利用情况

碳源利用试验表明, XT-11菌株可以利用葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、D-半乳糖、D-木糖、D-阿拉伯糖、山梨糖、甘露糖、鼠李糖、果糖、D-棉子糖、菊糖、纤维二糖、D-岩藻糖, 但是其既不产酸也不产气。

## 2.5 菌株XT-11的常规生理生化特性

常规生理生化特性试验表明, 菌株XT-11的氧化酶反应呈阴性, 而过氧化氢酶反应呈阳性; 未呈现卵磷脂酶和脲酶活性; 不能水解淀粉、纤维素、七叶苷、酪素、明胶和油脂, 但能够分解果胶; 甲基红试验呈阳性, 石蕊牛奶反应呈暗红色且产酸; 能够由色氨酸生成吲哚并且能够产生硫化氢; 硝酸盐还原反应呈阴性; 对半乳糖、乳糖、蔗糖和葡萄糖氧化发酵均

属发酵型代谢, 在以葡萄糖为惟一碳源和氮源的培养基上不能生长; 不能利用柠檬酸盐。

## 2.6 菌株XT-11的B DLOG-GP 鉴定

B DLOG-GP 鉴定结果表明, Biolog 4 2 细菌自动鉴定分析系统库中不存在与菌株XT-11类似的菌株。

## 2.7 菌株XT-11的16S rRNA全序列分析

菌株XT-11的16S rRNA序列的扩增长度为1 362 bp(图3), 将其与GenBank中相关菌株的16S rRNA序列进行比较, 相似性高于99%的菌株见表1。从表1可以看出, 在相似性高于99%的菌株中, 大部分菌株为鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*), 其中菌株XT-11的16S rRNA序列与菌株*Sphingomonas* sp. J05的16S rRNA序列相似性最高, 达99.78%。菌株XT-11的16S rRNA序列已存放在GenBank核苷酸序列数据库中, 存取号为DQ115797。

## 2.8 菌株XT-11的系统发育分析

对16S rRNA序列同源性较高的菌株XT-11和11株细菌进行遗传距离计算, 并根据遗传距离构建的系统发育树见图4。从图4可以看出, 菌株XT-11与鞘氨醇单胞菌属的几株细菌聚于一类, 且与菌株*Sphingomonas* sp. eh2的遗传关系最接近。

|                |               |               |                |     |
|----------------|---------------|---------------|----------------|-----|
| CA TGCAA GTC   | GA ACGAA GGC  | TTCGGCCTTA    | GTGGCGCA CG    | 40  |
| GGT GCGTAAC    | GCGTGGGA T    | CTGCCCCTTG    | GTTCGGAA TA    | 80  |
| ACA GTTGGAA    | ACGACTGCTA    | A TA CCGGA TG | A TGA CGTAA G  | 120 |
| TCCAAA GA TT   | TA TCGCCGA G  | GGA TGA GCCC  | GCGTA GGA TT   | 160 |
| A GGTG GTTGG   | TGTGGTAAAG    | GCGCA CCAAG   | CCGACGA TCC    | 200 |
| TTA GCTGGTC    | TGA GA GGA TG | ATCA GCCAAC   | CTGGGA CTGA    | 240 |
| GACACGGGCC     | AGA CTCCCTAC  | GGGA GGCA GC  | A GTGGGAA AT   | 280 |
| A TTGGGA CAA T | GGGCGAAA GC   | CTGA TCCA GC  | AATGCGCGT      | 320 |
| GA GTGA TGA A  | GGCCTTA GGG   | TTGTAAA GCT   | CTTTAACCCG     | 360 |
| GGA TGA TAA T  | GA CA GTACCG  | GGA GAA TAA G | CTCCGGCTAA     | 400 |
| CTCCGTGCCA     | GCA GCCGCGG   | TAATACCGGA G  | GGA GCTA GCG   | 440 |
| TTA TTCCGAA    | TTA CTGGGCG   | TAAGCGCAC     | GTA GGCGCT     | 480 |
| TTGTAA GTAA    | GA GGTGAAA G  | CCCA GA GCTC  | AACTCTGGAA     | 520 |
| TTGCCTTTA      | GA CTGCA TCG  | CTTGAA TCA T  | GGA GA GGTCA   | 560 |
| GTGGAA TTCC    | GA GTGTA GA G | GTGAAATTGCG   | TA GA TA TTGCG | 600 |
| GAA GAA CA CC  | A GTGGCAGA G  | GGGGCTGACT    | GGA CA TGTA T  | 640 |
| TGACGCTGA G    | GTGCGAAA GC   | GTGGGGA GCA   | AACA GGA TTA   | 680 |
| GA TA CCCTGG   | TA GTCCA CGC  | CGTAAACGAT    | GA TAACTA GC   | 720 |
| TGTCCGGACA     | CTTGGTGT      | GGGTGGCGCA    | GCTAACGCA T    | 760 |
| TAAGTTA TCC    | GCCTGGGGA G   | TACGGCCGCA    | AGGTTAAAAC     | 800 |
| TCAAA TGAA T   | TGA CGGGGGC   | CTGCA CAA GC  | GGTGGAGCA T    | 840 |
| GTGGTTAA T     | TCGAA GCAAC   | GCGCA GAA CC  | TTACCA GCGT    | 880 |
| TTGACA TGGC    | A GGA CGA CTT | CCA GA GA TGG | ATTTCTTCCC     | 920 |
| TTCGGGGACC     | TGCA CA CA GG | TGCTGCA TGG   | CTGTCGTCA G    | 960 |
| CTCGTGTGCGT    | GA GA TGTTGG  | GTTAA GTCCC   | GCAACGAGCG     | 000 |
| CAACCTCGC      | CTTTA GTTGC   | CA TCA TTTA G | TTGGGCA CTT    | 040 |
| TAAA GGA ACC   | GCCGGTGA TA   | AGCCGGA GGA   | AGTGGGGA T     | 080 |
| GACGTCAA GT    | CCTCA TGGCC   | CTTA CGCGCT   | GGGCTAACACA    | 120 |
| CGT GCT ACAA   | TGGCGGTGAC    | AGTGGGCA GC   | AA GCA CGCGA   | 160 |
| GTGTGA GCTA    | A TCTCCAAA    | GGCGTCTCA G   | TTCGGA TTGT    | 200 |
| TCTCTGCAAC     | TCGA GA GCA T | GAA GGCGGAA   | TCGCTA GTAA    | 240 |
| TCGCGGA TCA    | GCA TGCCGCG   | GTGAA TACGT   | TCCCA GGCCT    | 280 |
| TGTA CA CACC   | GCCCCGTCA CA  | CCA TGGGA GT  | TGGA TTCAC     | 320 |
| CGAA GGCGTT    | GCGCTAACTC    | GCAA GA GA GG | CA GGCGAACCA   | 360 |
| CG             |               |               |                |     |

图3 菌株XT-11 16S rRNA 序列的测定结果

Fig. 3 16S rRNA sequences of strain XT-11

表1 菌株XT-11 16S rRNA 序列与其他菌株 16S rRNA 序列的同源性比较

Table 1 Similarity comparison of strain XT-11 and related bacteria based on 16S rRNA sequences

| 数据库<br>Database | 序列号<br>Series | 菌 株<br>Strain                                 | 相同碱基数/<br>比对碱基数<br>Same/Total | 相似性/%<br>Similarity |
|-----------------|---------------|---|-------------------------------|---------------------|
| GeneBank        | A Y571827. 1  | <i>Uncultured sphingomonas</i> sp. Clone 473D | 1 359/1 364                   | 99.63               |
| EMBL            | AJ429239. 1   | <i>Sphingomonas faenia</i>                    | 1 353/1 363                   | 99.27               |
| EMBL            | AJ583164. 1   | <i>Uncultured alphaproteobacterium</i>        | 1 355/1 362                   | 99.49               |
| EMBL            | AJ864842. 1   | <i>Sphingomonas</i> sp. J05                   | 1 334/1 337                   | 99.78               |
| EMBL            | AJ429237. 1   | <i>Sphingomonas aurantiaca</i>                | 1 349/1 362                   | 99.05               |
| GeneBank        | A F548567. 1  | <i>Sphingomonas</i> sp. eh2                   | 1 330/1 335                   | 99.63               |

根据菌株XT-11的形态特征、生理生化特征，对照《Bergery's Manual of Determinative Bacteriology》<sup>[14]</sup>和《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[16]</sup>，初步确定菌株XT-11属于鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)。本试验中的菌株XT-11 16S rRNA 序列测定结果也支持这一结论。通过与GenBank 数据库中几种菌株 16S rRNA 序列进行比对后可知，与菌株 XT-11

16S rRNA 序列同源性大于 99 % 的菌株多为鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)，只有 *Uncultured alphaproteobacterium* 例外，其 16S rRNA 序列与菌株 XT-11 16S rRNA 序列同源性虽然也高达 99 % 以上，但由于只是部分序列具有较高相似性，且根据多相分类原则，结合形态特征和生理生化特征，作者将 XT-11 菌确定为鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)。

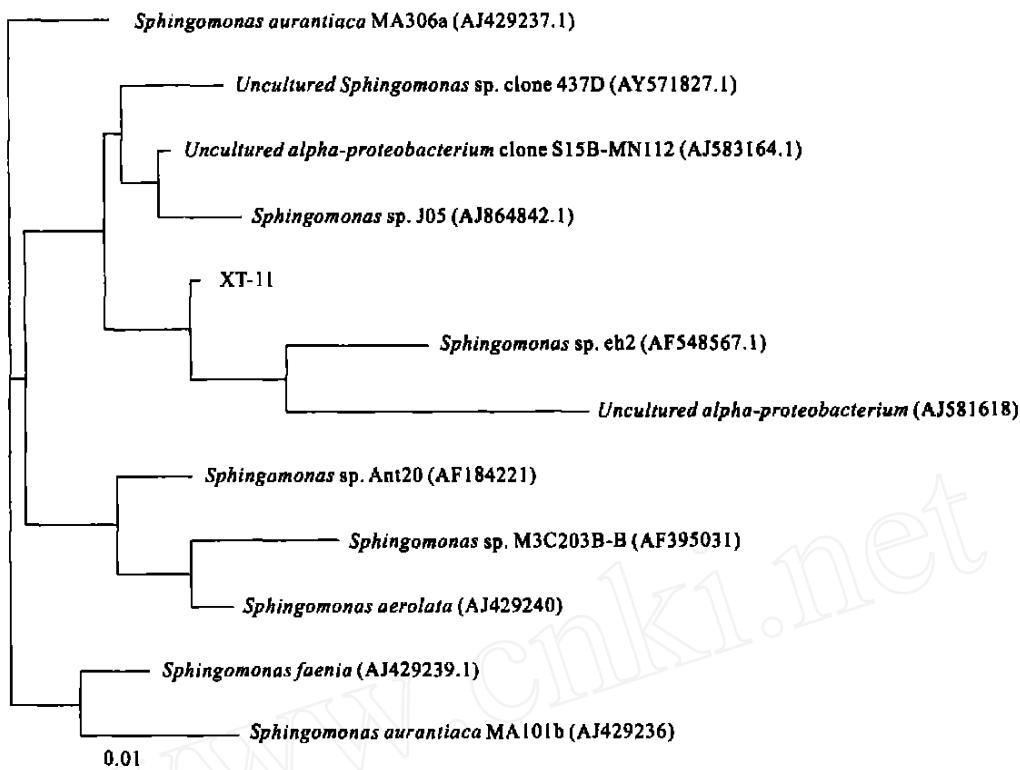


图4 菌株 XT-11 16S rRNA 序列与其他菌株 16S rRNA 序列的系统发育树图

Fig. 4 Phylogenetic tree of strain XT-11 and other strains based on 16S rRNA sequences

黄原胶是一种应用广泛的微生物多糖,但关于其降解菌的研究国内未见报道。本研究对菌株 XT-11 进行了系统的分类鉴定,确定了其分类学地位,为以后其他黄原胶降解菌的分类鉴定提供了技术资料。

致谢: 本试验得到了西北农林科技大学商鸿生教授的热忱帮助,特此致谢。

### [参考文献]

- [1] Morris E R. Extracellular microbial polysaccharides[M]. Washington DC: [s n ], 1977: 81-89.
- [2] Kang K S, Pettit D J. Industrial gums[M]. New York: Academic Press, 1993: 341-398.
- [3] Bradshaw I J, Nisbet B A, Kerr M H, et al. Modified Xanthan—Its preparation and viscosity[J]. Carbohydr Polym, 1983, 3: 23-38.
- [4] Whitcomb P T, Ek B J, Macosko C W. Extracellular microbial polysaccharides[M]. Washington D C: [s n ], 1997: 160-173.
- [5] Cripps A method to degrade xanthan gum. Europe Appl 30393[P]. [1981-02-21].
- [6] Kaname K, Hideki N, Naoki Y, et al. Synthesis of sulfated oligosaccharide glycosides having high anti-HIV activity and the relationship between activity and chemical structure[J]. Carbohydr Res, 1999, 315 (3-4): 234-242.
- [7] Ganguly A K, Ziracin A novel oligosaccharide antibiotic[J]. J Antibiot, 2000, 53(10): 1038-1044.
- [8] Kunz C, Rudloff S. Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects[J]. Annu Rev Nutr, 2000, 20: 699-722.
- [9] Ruijssemaars H J, De Bont J A M, Hartmans S. A pyruvated mannose-specific xanthan lyase involved in xanthan degradation by *Paenivibillus alginolyticus* XL-1[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65: 2446-2452.
- [10] Nankai H, Hashimoto W, Miki H, et al. Microbial system for polysaccharide depolymerisation: enzymatic route for xanthan depolymerisation by *Bacillus* sp. strain GL-1[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65: 2520-2526.
- [11] Nankai H, Hashimoto W, Miki H, et al. Xanthan lyase of *Bacillus* sp. strain GL-1 liberates pyruvylated mannose from Xanthan side chains [J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66: 3765-3768.
- [12] 黄成栋, 白雪芳, 杜昱光, 等. 黄原胶降解菌的筛选及其降解酶性质的研究[J]. 微生物学通报, 2005, 32(1): 32-37.

- [13] 中国科学院微生物研究所细菌分类组 一般细菌常用鉴定方法[M]. 北京: 科学出版社, 1978: 98-193.
- [14] Buchin R E, Gibbons N E Bergey's manual of determinative bacteriology[M]. 8th ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 1974.
- [15] 万波, 李安明, 赵海, 等. 一株厌氧嗜盐菌的鉴定[J]. 微生物学通报, 1997, 24(3): 131-134.
- [16] 东秀珠, 蔡妙英 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 349-388.
- [17] Holt J. Berger's manual of determinative bacteriology[M]. Baltimore: Williams and Wilkins, 1994.
- [18] Devereux R, Willems S G Amplification of ribosomal RNA sequences[M]//Akkermans A D L. Molecular Microbial Ecology Manual. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- [19] 李运, 盛慧, 赵荣华 Biolog微生物鉴定系统在菌种鉴定中的应用[J]. 酿酒科技, 2005(7): 84-85.
- [20] 潘克侠, 闵航, 夏颖, 等. 产顺式环氧琥珀酸水解酶的红球菌M1菌株的分离鉴定及其产酶条件优化[J]. 微生物学报, 2004, 44(3): 276-279.
- [21] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 24: 4876-4882.

## Identification of a strain of xanthan-degrading bacteria

**L IU Han<sup>1</sup>, L IU Peng<sup>2</sup>, CUI Tie-jun<sup>2</sup>, BA I Xue-fang<sup>1</sup>, DU YU-guang<sup>1</sup>**

(<sup>1</sup>Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian, Liaoning 116023, China;

<sup>2</sup>Tianjin Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Tianjin 300456, China)

**Abstract:** According to its morphology, cultural properties, physiological characteristics and 16S ribosomal RNA gene sequence, a strain of facultative anaerobe XT-11 for degrading xanthan which was screened from microorganism in the soil was analyzed. XT-11 was gram-negative, with the size of single rod cell of 0.4-0.6 μm × 1.0-2.0 μm when it was young, with the size of round cell of 0.5 μm × 0.5 μm after cultivating one week. It was of non-motile, non-spore forming and could utilize many sugars. So, this strain was identified as *Sphingomonas* sp. .

**Key words:** xanthan-degrading bacteria; xanthase; facultative anaerobe; gram-negative; *Sphingomonas*

(上接第 80 页)

**Abstract ID:** 1671-9387(2006)07-0077-EA

## Study on favorable planting regions and effect of ecological factors of peppermint (*Mentha piperita* L.)

**DOU Hong-tao**

(Xian Agricultural Science Research Institute, Xian, Shaanxi 710061, China)

**Abstract:** Peppermint was grown in different elevation areas in Shaanxi, then ecological factors (such as temperature, sunshine, and so on) affecting yield and quality of essential oil of peppermint were studied. The results showed that the regions (such as northern Shaanxi, Weihe and northern Qinling mountain ranges and so on) of lower latitude (33° 37') and higher elevation (1000-1500 m) in Shaanxi were favorable for planting peppermint, the quality of essential oil from peppermint attains international standard of good quality, and the average yield of essential oil from peppermint attains 93.3 kg/hm<sup>2</sup>. This not only breaks the foreign conclusion that peppermint has to be planted in the regions of higher latitude over north latitude 41°, but also offers foundation to plant peppermint in our country.

**Key words:** peppermint (*Mentha piperita* L.); favorable planting region; ecological factor