



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105602869 B

(45)授权公告日 2019.04.09

(21)申请号 201610070984.X

(22)申请日 2016.02.01

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105602869 A

(43)申请公布日 2016.05.25

(83)生物保藏信息
CCTCC M 2015705 2015.11.26

(73)专利权人 中国科学院沈阳应用生态研究所
地址 110164 辽宁省沈阳市沈北新区蒲河
新城裕农路72号

(72)发明人 郭书海 王卅 李凤梅 杨雪莲
王加宁 张玲妍 滕菲

(74)专利代理机构 沈阳科苑专利商标代理有限
公司 21002
代理人 李颖 周秀梅

(51)Int.Cl.
C12N 1/20(2006.01)
B09C 1/10(2006.01)
C09K 17/14(2006.01)
C12R 1/085(2006.01)

(56)对比文件
CN 101173233 A,2008.05.07,
CN 102399722 A,2012.04.04,
CN 104762210 A,2015.07.08,
CN 105002124 A,2015.10.28,
CN 104588405 A,2015.05.06,

Amedea Perfumo et al..Thermally
enhanced approaches for bioremediation of
hydrocarbon-contaminated soils.
《Chemosphere》.2006,第66卷第179-184页.

Guo,S..Bacillus cereus strain W1 16S
ribosomal RNA gene, partial sequence,
Accession NO: KT970711.1.《GenBank》.2015,
第1页.

Guo,S..Bacillus cereus strain W1 16S
ribosomal RNA gene, partial sequence,
Accession NO: KT970711.1.《GenBank》.2015,
第1页.

Chunli Wan et al..Electrokinetic
remediation and microbial community shift
of β -cyclodextrin-dissolved petroleum
hydrocarbon-contaminated soil.《Appl
Microbiol Biotechnol》.2010,第89卷第2019-
2025页.

刘广容等.电动生物修复湖泊底泥中直链烷
基苯磺酸钠.《环境科学与技术》.2011,第34卷
(第9期),第59-62页.

Fei Huang et al..Biosorption of Cd
(II) by live and dead cells of Bacillus
cereus RC-1 isolated from cadmium-
contaminated soil.《Colloids and Surfaces
B: Biointerfaces》.2013,第107卷第11-18页.

审查员 唐亚丽

权利要求书1页 说明书5页
序列表2页 附图3页

(54)发明名称
一种适合于电动修复长链烷烃污染土壤的
中间底物降解菌及其应用

(57)摘要
本发明属于环境有机污染物电动修复技术
领域,具体涉及一种适合于电动修复长链烷烃污
染土壤的中间底物降解菌及其应用。中间底物降
解菌为蜡样芽胞杆菌(Bacillus cereus)W1,已
于2015年11月26日保藏于中国典型培养物保藏

中心,其保藏登记号为CCTCC M2015705。采用本
发明菌株在电动修复过程中,原始污染底物降解
效率下降时施用筛选得到的蜡样芽胞杆菌
(Bacillus cereus)W1,可有效提高污染物降解
速率,恢复并延续高效的长链烷烃及其降解中间
产物的降解过程。

CN 105602869 B

1. 一种适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌的应用,其特征在于:中间底物降解菌蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)W1用于修复降解经长链烷烃污染的土壤;

所述中间底物降解菌为蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)W1,已于2015年11月26日保藏于中国典型培养物保藏中心,其保藏登记号为CCTCC NO:M 2015705。

2. 按权利要求1所述的适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌的应用,其特征在于:中间底物降解菌蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)W1用于电动修复降解经长链烷烃污染的土壤。

3. 按权利要求1所述的适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌的应用,其特征在于:所述中间底物降解菌蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)W1用于电动修复降解经长链烷烃污染的土壤的中间底物。

4. 按权利要求1、2或3所述的适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌的应用,其特征在于:所述长链烷烃为正十六烷和正十四烷;所述的中间底物为正十六烷、正十四烷原始污染物及其降解的中间产物的混合物。

一种适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于环境有机污染物电动修复技术领域,具体涉及一种适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌及其应用。

背景技术

[0002] 随着石油需求量与开采量的不断增加,占石油总含量20%-50%以上的烷烃类物质成为土壤环境有机污染的主要污染物之一。其中,难挥发、低溶解性的长链烷烃因其在自然条件下难以被生物降解,故对环境造成持久性的污染危害。针对长链烷烃的理化特性,该类污染物的去除涉及物理、化学及生物等多种方法。生物方法中的微生物修复技术,通过向污染土壤中施加特异性的功能降解菌进行生物放大处理,有效刺激长链烷烃的代谢作用。随着近年来人们对石油烃类降解功能微生物的广泛研究,目前已分离得到近200余种的微生物降解菌,包括不动杆菌属(*Acinetobacter*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、分支杆菌属(*Mycobacterium*)、微球菌属(*Mirococcus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)及弧菌属(*Vibrio*)等。然而,由于污染土壤环境中微生物群落的易变性,导致功能降解菌的有效降解过程难以稳定地持续进行。同时,高浓度污染物对降解菌造成更大的环境压力,其代谢活性受到限制。

[0003] 利用初始污染土壤修复过程中的混合污染底物进行筛选得到的功能降解菌具有该时刻土壤内污染底物的高效特异性降解能力。将此降解功能菌施加入该时刻污染土壤中进行微生物修复,有效扩展微生物菌剂代谢谱,促进长链烷烃中间产物降解的同时降低其潜在毒性及二次污染风险,实现原始污染物的深度降解乃至完全矿化过程;此外,中间产物可作为所用功能菌对原始长链烷烃降解的共代谢底物,促进长链烷烃的进一步降解。

[0004] 污染土壤的组合修复模式是延续高效修复过程的有效方法,特别是针对于难降解的持久性有机污染物。通过强效的电动修复处理长链烷烃污染土壤,可以有效降低初始污染物浓度;当长链烷烃在电动修复作用下达到一定降解程度时,施加利用该时刻混合污染底物筛选得到的功能降解菌,有效加快长链烷烃的降解效率及其降解深度,获得良好的长链烷烃污染土壤的修复效果。

发明内容

[0005] 本发明目的在于提供一种适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌及其应用。

[0006] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案为:

[0007] 一种适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌,中间底物降解菌为蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1,已于2015年11月26日保藏于中国典型培养物保藏中心,其保藏登记号为CCTCC M2015705。

[0008] 蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1。所述降解菌,根据其形态、生理生化特性及

16S rRNA的分子生物学鉴定分析证实属于厚壁菌门中芽孢杆菌属中的蜡样芽孢杆菌,将其命名为蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1。

[0009] 蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1CCTCC M 2015705属革兰氏染色阳性菌,菌体细胞呈杆状,大小为 $1.0-1.2 \times 3.0-5.0 \mu\text{m}$,产芽孢,芽孢呈圆形或柱形,无荚膜,运动,菌落呈近似圆形,质地软,呈稍有光泽的白色,属好氧细菌,最适生长温度为 $30^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$,最适生长pH为7.2,能利用果糖、葡萄糖,能使明胶、淀粉水解。

[0010] 一种适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌的应用,中间底物降解菌蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1用于修复降解经长链烷烃污染的土壤。

[0011] 所述中间底物降解菌蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1用于采用电动修复降解经长链烷烃污染的土壤。

[0012] 所述中间底物降解菌蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1用于采用电动修复降解经长链烷烃污染的土壤的中间底物。

[0013] 所述长链烷烃为正十六烷和正十四烷;所述的中间底物为正十六烷、正十四烷原始污染物及其降解的中间产物的混合物。

[0014] 所述蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1用于长链烷烃污染土壤的微生物修复,经电动修复后当正十六烷残留量达到70%-75%或正十四烷残留量达到60%-65%或二者混合的残留量达到65%-70%时,向污染土壤内接入蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1,在微生物数量达 $10^8-10^9 \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,土壤湿度为25%-30%,土壤pH为7.0-8.0,培养温度为 $25-35^\circ\text{C}$ 的初始土壤环境条件下进行污染土壤的微生物修复。

[0015] 本发明所具有的优点包括:

[0016] 1) 本发明蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1CCTCC M 2015705用于电动修复长链烷烃污染土壤修复中间过程的继续深度降解,具有广泛的代谢谱。不仅可以代谢原始长链烷烃(正十六烷及正十四烷)污染物,还具有降解经电动修复后土壤中残留的中间产物的能力。该菌株可以此中间产物作为唯一的碳源和能源物质生长繁殖,有利于长链烷烃污染物的深度降解,减小因其中间产物积累所引起的二次污染的风险。本发明具有高效、环保及与电动修复技术组合使用等优点,为难降解长链烷烃污染土壤的修复提供新的微生物资源。

[0017] 2) 本发明所得蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1对于经电动修复后的正十六烷污染土壤、正十四烷污染土壤以及二者混合污染土壤均表现较好的深度降解效果。在经电动修复对正十六烷、正十四烷及二者混合物的降解率分别达到25%-30%,35%-40%及30%-35%后,接入蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1进行微生物修复,较单独持续使用电动修复或单独持续使用该蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1进行微生物修复相比,降解率均得到显著提高;同时,长链烷烃降解中间产物脂肪酸的含量比例明显减少,表明蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1的施用既加快了原始长链烷烃的代谢,又促进了其中间产物的深度降解。

附图说明

[0018] 图1为本发明实施例提供的蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) W1的16S rDNA部分序列,片段长度为1448bp。

[0019] 图2为本发明实施例提供的蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1与电动修复组合模式下对正十六烷污染土壤的修复结果。

[0020] 图3为本发明实施例提供的蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1与电动修复组合模式下对正十四烷污染土壤的修复结果。

[0021] 图4为本发明实施例提供的蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1与电动修复组合模式下对长链烷烃 (正十六烷和正十四烷混合) 污染土壤的修复结果。

[0022] 图5为本发明实施例提供的蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1与电动修复组合模式下对正十六烷污染土壤修复过程中正十六酸的含量变化。

具体实施方式

[0023] 下面结合附图及实施例对本发明做进一步的详细说明。

[0024] 本发明功能菌在电动修复长链烷烃污染土壤一定时间后对其残留的原始污染物及其降解中间产物均具有较高的代谢活性,并能提高长链烷烃污染土壤修复过程的整体效率。在电动修复过程中,原始污染底物降解效率下降时施用筛选得到的蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1,可有效提高污染物降解速率,恢复并延续高效的长链烷烃及其降解中间产物的降解过程。

[0025] 实施例1蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1的分离、筛选及鉴定

[0026] 菌源样品来自于辽河油田油井周边长期受石油污染土壤,称取5.0g土壤,加入100ml无机盐培养基,震荡30min后室温静置10min,吸取上清液至含有 $0.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 经电动修复后总降解率达到65%-70%的正十六烷和正十四烷降解混合底物(此时正十六烷和正十四烷的降解率分别达到70%-75%和60%-65%)的无机盐液体培养基中富集培养5d,在含 $0.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 上述底物的无机盐固体培养基上划线分离,挑选长势良好的菌落继续划线纯化三次,将最终纯化的单菌落在斜面培养基上保存。

[0027] 所述无机盐液体培养基的组成为: $0.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaCl}$, $0.2\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{MgSO}_4$, $1.0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{NH}_4\text{NO}_3$, $1.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{K}_2\text{HPO}_4$, $0.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{KH}_2\text{PO}_4$, $0.01\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{CaCl}_2$, $0.02\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{FeSO}_4$,1L蒸馏水,pH值7.0-7.2,121℃灭菌30min。

[0028] 所述无机盐固体培养基的组成为: $0.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaCl}$, $0.2\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{MgSO}_4$, $1.0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{NH}_4\text{NO}_3$, $1.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{K}_2\text{HPO}_4$, $0.5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{KH}_2\text{PO}_4$, $0.01\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{CaCl}_2$, $0.02\text{g}\cdot\text{L}^{-1}\text{FeSO}_4$, $15\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂,1L蒸馏水,pH值7.0-7.2,121℃灭菌30min。

[0029] 将分离所得单菌株进行长链烷烃降解功能验证:将纯菌株接种于含有 $1.25\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 正十六烷及 $1.25\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 正十四烷的液体无机盐培养基中,30℃震荡培养7天,测定烷烃残留量。结果表明,所分离的单一菌株即蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1对正十六烷及正十四烷均具有较高的降解活性。

[0030] 提取长链烷烃 (正十六烷和正十四烷混合物) 污染土壤经电动修复后土壤内残留的混合底物,将分离的单一菌株接种至含有的该混合底物的无机盐液体培养基中,混合底物浓度为 $1.0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,30℃震荡培养7天,混合底物得到有效降解,表明所分离的单一菌株即蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1对经电动修复后残留的正十六烷和正十四烷及其不完全降解产物具有较好的代谢活性。

[0031] 所分离的单一菌株即为蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1,已于2015年11月26

日保藏于中国典型微生物保藏中心,其保藏登录号为CCTCC M 2015705。蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1属革兰氏染色阳性菌,菌体细胞呈杆状,大小为 $1.0-1.2 \times 3.0-5.0 \mu\text{m}$,产芽孢,芽孢呈圆形或柱形,无荚膜,运动,菌落呈近似圆形,质地软,呈稍有光泽的白色,属好氧细菌,最适生长温度为 $30^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$,最适生长pH为7.2,能利用果糖、葡萄糖,能使明胶、淀粉水解。

[0032] 对所分离的上述菌株进行分子生物学鉴定:提取上述菌株蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1的总DNA,进行16S rDNA的PCR扩增,采用细菌扩增通用引物:8f:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 及1492r:5'-TACGGHTACCTGTTACGAC TT-3'。PCR反应条件为:94 $^\circ\text{C}$ 5min,94 $^\circ\text{C}$ 1min,55 $^\circ\text{C}$ 1min,72 $^\circ\text{C}$ 3min,35个循环,72 $^\circ\text{C}$ 10min。PCR产物的测序结果经与Genbank数据库blast比对分析可知,序列长度为1448bp(图1);所得菌株与蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 具有较高同源性。

[0033] 实施例2蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1联合电动修复对长链烷烃污染土壤的修复

[0034] 将蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1接种于牛肉干蛋白胨培养基中30 $^\circ\text{C}$ 、180rpm恒温振荡培养3天,5000rpm离心收集菌体,采用pH 7.0的磷酸缓冲液清洗菌体,采用无机盐培养基将菌体制成菌悬液。将蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1菌悬液接种于经电动修复后的污染土壤中,污染土壤中的长链烷烃初始含量为正十六烷1.0% (W/W) 或正十四烷1.0% (W/W) 或二者混合物1.0% (W/W) (正十六烷0.5% (W/W) 和正十四烷0.5% (W/W)),土壤中蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1的浓度为 $3.6 \times 10^8 \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,在土壤湿度为25%-30%,土壤pH为7.3,培养温度为28-32 $^\circ\text{C}$ 的初始土壤环境条件下进行微生物修复处理。

[0035] 电动修复处理在 $1.2\text{V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 电压梯度下利用倒极的处理方式完成,每2h进行一次电极切换。试验设置电动(EK)、微生物(Bio-W1)及电动联合微生物(EK+Bio-W1)等处理。具体相关参数设置见表1。

[0036] 测定结果表明:在正十六烷污染土壤中(图2),使用蜡样芽孢杆菌W1在电动修复后继续进行微生物修复的处理组在36天时的正十六烷降解率达到 $57.6\% \pm 2.0\%$,较持续进行电动(EK)及微生物(Bio-W1)处理组降解率分别提高20.4%和22.8%。同样地,在正十四烷污染土壤中(图3),电动与蜡样芽孢杆菌W1组合处理组对正十四烷的降解率达到 $66.7\% \pm 2.0\%$,较EK及Bio-W1组相比降解率分别提高15.9%和20.4%。蜡样芽孢杆菌W1在电动修复后的施用还对正十六烷与正十四烷混合污染土壤的修复表现优势(图4),处理36天时二者的总降解率达到 $61.0\% \pm 3.3\%$,较EK及Bio-W1组分别提高16.0%和17.8%。由此表明,蜡样芽孢杆菌W1在电动修复效率出现下降后的时刻接力进行微生物修复,充分利用其具有的广谱代谢能力,有效保证了长链烷烃的快速降解状态。由于电动修复后长链烷烃降解的中间产物一定程度上为蜡样芽孢杆菌W1提供了碳源及代谢酶诱导物,同时降低的长链烷烃浓度也为功能菌株提供了较低选择压力的存活环境,所以使蜡样芽孢杆菌W1对长链烷烃的降解速率较初始采用微生物修复(Bio-W1)相比平均提高 $0.3\% \cdot \text{d}^{-1}$ 。

[0037] 表1

[0038]

处理设置	处理时间 (d)		电压梯度 (V·cm ⁻¹)	切换时长 (h)	微生物接种量 (cfu·g ⁻¹)
	电动	微生物			
EK	36	--	1.2	2	--
Bio-W1	--	36	--	--	3.6×10 ⁸
EK+Bio-W1	18	18	1.2	2	3.6×10 ⁸

[0039] 实施例3蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1联合电动修复对正十六烷的深度降解作用

[0040] 试验布置如实施例2,将所制备的蜡样芽孢杆菌W1菌悬液接种于经电动修复后的污染土壤中,污染土壤中的长链烷烃初始含量为1.0% (W/W) 正十六烷。土壤中蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) W1的浓度为 $3.6 \times 10^8 \text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,在土壤湿度为25%-30%,土壤pH为7.3,培养温度为28-32℃的初始土壤环境条件下进行微生物修复处理。电动处理同实施例2所述。

[0041] 试验测定结果如图5所示,根据链烷烃降解代谢原理,正十六烷经氧化脱氢过程产生正十六酸,随后经β氧化过程进入三羧酸循环进而被完全矿化。通过测定EK及EK+Bio-W1处理组中的正十六烷及正十六酸含量可知:在处理36天时,EK+Bio-W1组中正十六酸含量占正十六烷降解含量的53.8%,较EK组中该比例减小9.3%,而EK+Bio-W1组中正十六烷的降解率却较EK组高出20.4%,表明更多的正十六酸被代谢进入后期降解过程,这说明蜡样芽孢杆菌W1对于正十六烷污染土壤的修复不只是有利于原始污染底物正十六烷的降解,更有助于对正十六烷代谢中间产物的深入降解,从而达到深层净化修复长链烷烃污染土壤的效果。

[0001]

SEQUENCE LISTING

<110> 一种适合于电动修复长链烷烃污染土壤的中间底物降解菌及其应用

<120> 中国科学院沈阳应用生态研究所

<130>

<160> 1

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1448

<212> DNA

<213> 蜡样芽胞杆菌 (Bacillus cereus) W1

<220>

<221> gene

<222> (1)..(1448)

<223>

<400> 1

```

atgacggtgc tataatgcaa gtcgagcgaa tggattaaga gcttgctctt atgaagttag   60
cggcggacgg gtgagtaaca cgtgggtaac ctgcccataa gactgggata actccgggaa   120
accggggcta ataccgata acattttgaa cgcgatggtt cgaaattgaa agcgggcttc   180
ggctgtcact tatggatgga cccgcgtcgc attagctagt tggtgaggta acggctcacc   240
aaggcaacga tgcgtagccg acctgagagg gtgatcggcc aactggggac tgagacacgg   300
cccagactcc tacgggaggc agcagtaggg aatcttccgc aatggacgaa agtctgacgg   360
agcaacgccg cgtgagtgat gaaggcttc gggtcgtaaa actctgttgt tagggaagaa   420
caagtgctag ttgaataagc tggcaccttg acggtaccta accagaaagc cacggctaac   480
tacgtgccag cagccgcggt aatacgtagg tggcaagcgt tatccggaat tattgggcgt   540
aaagcgcgcg caggtggttt ctaagtctg atgtgaaagc ccacggctca accgtggagg   600

```


[0002]

gt cattggaa actgggagac ttgagtgcag aagaggaaag tggaattcca tgtgtagcgg 660
 tgaaatgcgt agagatatgg aggaacacca gtggcgaagg cgactttctg gtctgtaact 720
 gacactgagg cgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag atacctggt agtccacgcc 780
 gtaaacgatg agtgctaagt gttagagggt ttccgccctt tagtgctgaa gttaacgcat 840
 taagcactcc gcctggggag tacggccgca aggctgaaac tcaaaggaat tgacggggggc 900
 ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgaagcaac gcgaagaacc ttaccaggtc 960
 ttgacatcct ctgacaacc tagagatagg gcttctcctt cgggagcaga gtgacaggtg 1020
 gtgcatgggt gtcgtcagct cgtgtcgtga gatgttggt taagtcccgc aacgagcgca 1080
 accctgatc ttagtgcca tcatttagtt gggcactcta aggtgactgc cggtgacaaa 1140
 ccggaggaag gtggggatga cgtcaaatca tcatgccctt tatgacctgg gctacacacg 1200
 tgctacaatg gacggtacaa agagctgcaa gaccgagagg tggagctaata ctataaaac 1260
 cgttctcagt tcggattgta ggctgcaact cgctacatg aagctggaat cgctagtaata 1320
 cgcggatcag catgccgagg tgaatacgtt cccgggcctt gtacacaccg cccgtcacac 1380
 cacgagagtt tgtaacaccc gaagtcggtg gggtaacctt ttggagccag ctctagagtt 1440
 tgcctca 1448

>*Bacillus cereus* strain W1 16S ribosomal DNA gene

ATGACGGTGCTATAATGCAAGTCGAGCGAATGGATTAAGAGCTTGCTCTTATGAA
GTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCATAAGACTGGGAT
AACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAACATTTTGAACCGCATGGTTCGAA
ATTGAAAGGCGGCTTCGGCTGTCACCTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAG
TTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTG
ATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA
GGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATG
AAGGCTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAAT
AAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAG
CAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGC
GCCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAG
GGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTT
CTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGA
TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGC
CCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAA
GGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGG
TTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACC
CTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTC
GTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCTTG
ATCTTAGTTGCCATCATTTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACC
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACAC
ACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGAGCTGCAAGACCGCGAGGTGGAGCTAATC
TCATAAAACCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCGGTGGGGTA
ACCTTTTGGAGCCAGCTCCTAGAGTTGCCCTCA

图1

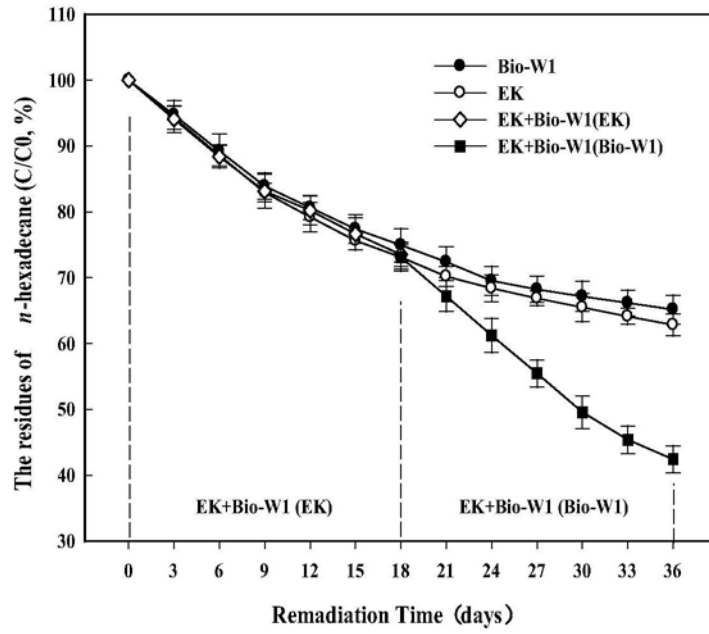


图2

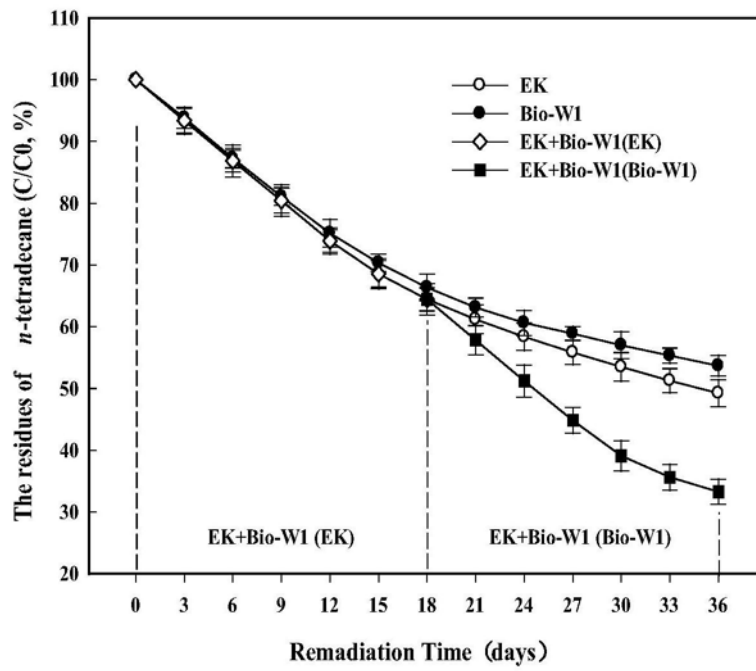


图3

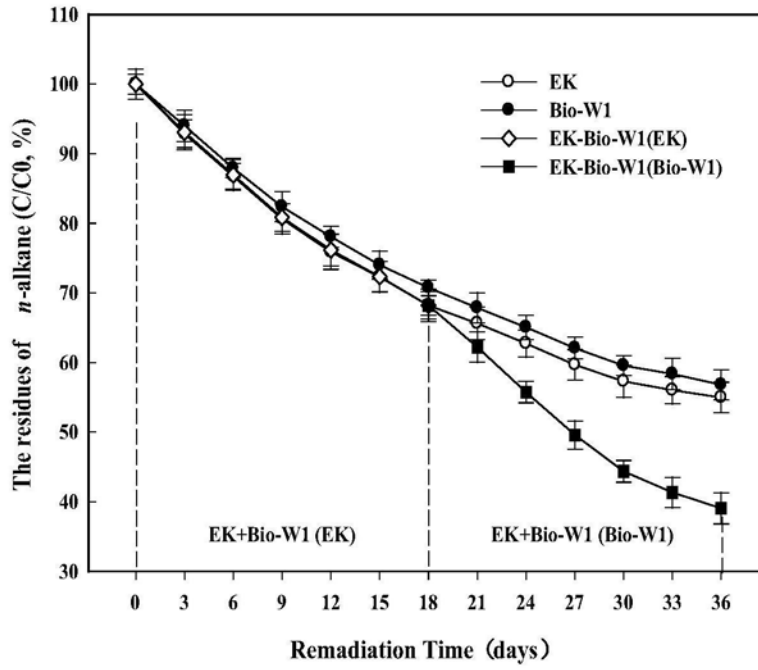


图4

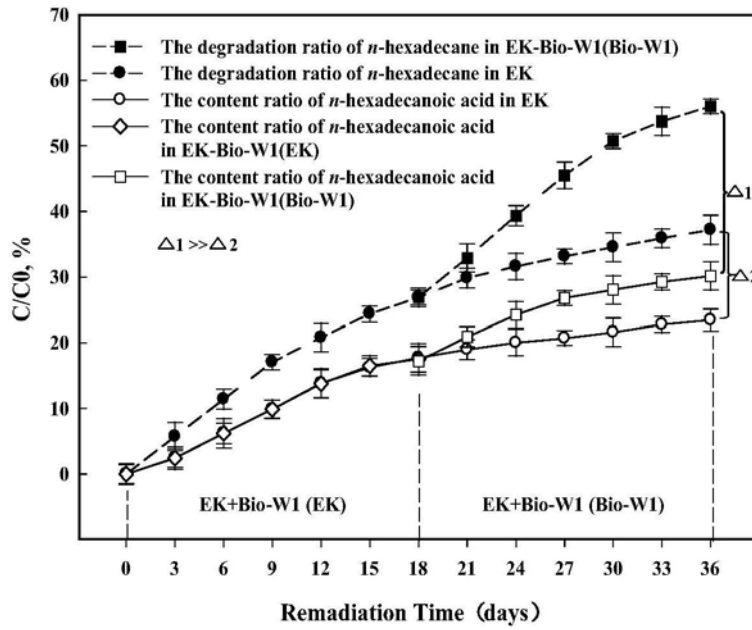


图5