

一株溶磷解钾菌的分离筛选与鉴定

王勇^{1,2}, 陈燕琼^{1,2}, 温书恒^{1,2}, 陈希唐^{1,2}, 李晓蕾^{1,2}

(1. 广东植物龙生物技术股份有限公司, 广东珠海 519090; 2. 国家农产品保鲜工程技术研究中心, 广东珠海 519000)

摘要 为获得具有高效溶磷解钾能力的菌株, 采用选择性培养基从柑橘根部土壤中分离筛选具有溶磷解钾作用的菌株, 通过液体培养法进一步比较筛选菌株的溶磷解钾能力, 选择溶磷解钾能力强的菌株进行形态特征、生理生化特征、16S rDNA 及 *gyrB* 基因同源性分析。结果表明, LW-1、LW-2、LW-3 和 LW-4 这 4 株菌株具有解磷解钾作用; 其中, LW-3 的解磷解钾能力最强, 其溶解无机磷量为 19.06 μg/mL, 相对增加 38.64%, 溶解有机磷量为 17.06 μg/mL, 相对增加 28.57%, 溶解钾量为 33.59 μg/mL, 相对增加 15.96%; 经鉴定确定菌株 LW-3 为纺锤形赖氨酸芽孢杆菌 LW-3, 是理想的菌肥生产用菌株。

关键词 纺锤形赖氨酸芽孢杆菌; 解磷; 解钾; 筛选; 鉴定

中图分类号 S 182 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)10-0005-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.10.002



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Isolation, Screening and Identification of a Strain of Bacteria with Ability of Phosphate-solubilizing and Potassium-solubilizing
WANG Yong^{1,2}, CHEN Yan-qiong^{1,2}, WEN Shu-heng^{1,2} et al (1. Guangdong Plant Dragon Biotechnology Co., Ltd., Zhuhai, Guangdong 519090; 2. National Agricultural Products Preservation Engineering Technology Research Center, Zhuhai, Guangdong 519000)

Abstract In order to obtain a strain of bacteria with efficient activity on solubilizing phosphate and potassium, strains were isolated by using selective medium in the root soil of citrus. The solubilization activity of strains were further compared by liquid culture method, then the strain with the strongest ability to dissolve phosphorus and potassium will be identified by the characteristics of morphological, physiological and biochemical tests and the homology analysis of 16S rDNA and *gyrB* genes. The results showed that there were four strains of LW-1, LW-2, LW-3 and LW-4 having the activity on solubilizing phosphorus and potassium on which the LW-3 had the best performance. The strain of LW-3 had inorganic phosphate-solubilizing content of 19.06 μg/mL, organic phosphate-solubilizing content of 17.06 μg/mL and potassium-solubilizing content of 33.59 μg/mL, which relatively increased by 38.64%, 28.57% and 15.96% respectively. The strain of LW-3 was identified as *Lysinibacillus fusiformis* LW-3 after a series of tests, which had most potentiality as fertilizer-producing bacteria.

Key words *Lysinibacillus fusiformis*; Phosphorus removal; Potassium removal; Screening; Identification

磷和钾是植物生长发育必需的营养元素, 土壤磷、钾的供应直接影响作物的产量和品质。我国土壤中磷、钾的形态主要是不易被作物吸收利用的难溶性磷及矿物态钾, 能供植物直接吸收利用的磷、钾资源极其有限^[1]。为实现作物的增产增收, 农业生产中长期大量施用磷肥、钾肥, 造成土壤板结、环境污染、农药残留等一系列的生态环境问题和农产品质量安全问题^[2]。由于水溶态磷进入土壤后易发生化学固定或吸附固定, 使得磷肥当季利用率极低, 仅为 10%~25%^[3], 大大降低了磷肥肥效。因此, 寻找一种既能增加土壤磷、钾有效性, 提高土壤肥力及磷钾肥利用效率又能减少环境污染的方法成为当前研究的热点。研究表明, 将解磷菌、解钾菌制成相应的菌剂施入到土壤中, 可以将土壤中难溶性磷和矿物钾释解为速效态磷、钾, 提高磷、钾的有效化利用, 减少化肥的施用量, 促进植物生长, 提高作物产量和改善品质^[4-7], 同时微生物菌剂具有无毒、无污染的特点, 既有化肥的效果, 又能避免化肥的缺点, 具有广泛的开发应用前景。为获得具有高效解磷解钾能力的菌株, 笔者从柑橘根际土壤中分离筛选溶磷解钾菌, 研究其溶磷解钾能力并进行菌种鉴定, 以期为生物菌肥的研制提供理论依据和菌种资源。

1 材料与方

1.1 试验材料

1.1.1 仪器与试剂。主要仪器是隔水培养箱(天津市泰斯特

仪器有限公司), 摇床培养箱(天津市泰斯特仪器有限公司), 恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器有限公司), 高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司), 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司), 原子吸收分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司)等; 主要试剂是过氧化氢溶液、氢氧化钠溶液、硝酸溶液、钼锑贮存溶液、钼锑抗显色剂、二硝基酚指示剂、磷标准溶液、钾标准溶液等。

1.1.2 培养基。活化培养基: 营养琼脂(NA)或 LB 培养基。种子培养基: 玉米淀粉 3.00 g, 蔗糖 1.20 g, 硫酸铵 0.48 g, 硫酸镁 1.20 g, 磷酸氢二钾 1.20 g, 氯化铁 0.12 g, 碳酸钙 1.20 g, 酵母粉 0.60 g, 加蒸馏水定容至 1 000 mL, pH 7.0~7.5。解磷固体培养基: ①解无机磷固体培养基为葡萄糖 10.00 g, 硫酸铵 0.50 g, 氯化钠 0.30 g, 硫酸镁 0.30 g, 硫酸亚铁 0.03 g, 硫酸锰 0.03 g, 碳酸钙 5.00 g, 氯化钾 0.30 g, 磷酸三钙 5.00 g, 琼脂粉 15.00 g, 加蒸馏水定容至 1 000 mL, pH 7.0~7.5; ②解有机磷固体培养基同无机磷固体培养基, 但将磷酸三钙 5.00 g 替换为卵磷脂 0.30 g。解钾固体培养基: 蔗糖 10.00 g, 磷酸氢二钠 1.00 g, 硫酸铵 0.50 g, 硫酸镁 1.00 g, 酵母膏 0.20 g, 硫酸亚铁 0.03 g, 碳酸钙 2.50 g, 钾长石粉 10.00 g, 琼脂粉 15.00 g, 加蒸馏水定容至 1 000 mL, pH 7.0~7.5。解磷液体培养基: ①解无机磷液体培养基为葡萄糖 10.00 g, 磷酸三钙 5.00 g, 硫酸铵 0.50 g, 氯化钠 0.20 g, 氯化钾 0.20 g, 七水硫酸镁 0.30 g, 硫酸锰 0.03 g, 七水硫酸亚铁 0.03 g, 酵母粉 0.50 g, 加蒸馏水定容至 1 000 mL, pH 7.0~7.5; ②解有机磷液体培养基同无机磷液体培养基, 但将磷酸三钙 5.00 g 替换为卵磷脂 0.30 g, 并加碳

基金项目 广东省科技厅应用型科技研发项目(2017B020233002)。

作者简介 王勇(1982—), 男, 四川内江人, 农艺师, 硕士, 从事微生物应用研究。

收稿日期 2019-01-06

酸钙 5.00 g。解钾液体培养基为蔗糖 10.00 g,七水硫酸镁 0.50 g,硫酸铵 0.20 g,氯化钠 0.10 g,碳酸钙 0.10 g,钾长石粉 5.00 g,加蒸馏水定容至 1 000 mL,pH 7.0~7.5。培养基于高压蒸汽灭菌锅中 121 °C 灭菌 20 min。

1.2 试验方法

1.2.1 溶磷解钾菌株的分离筛选。从广东江门古井采集柑橘根部土壤,将土壤自然风干并研磨成粉得土壤样品。称取 5.0 g 土壤样品溶于装有 45 mL 无菌水和玻璃珠的三角瓶中,150 r/min,30 °C 振荡 20 min,得到 10^{-1} 的土壤悬液,将土壤悬液置于 80 °C 水浴锅中水浴 30 min,然后用移液枪吸取 1 mL 至装有 9 mL 无菌水试管中,充分振荡成 10^{-2} 稀释液,按无菌操作依次稀释成 10^{-5} 稀释液。吸取 100 μ L 稀释液分别涂布于解无机磷、解有机磷和解钾固体培养基上,于 35 °C 培养箱培养,观察产生溶磷圈、溶钾圈的菌株,并挑取于 NA 培养基上进一步纯化,将各菌株重复平板溶磷解钾试验。最后将各纯培养菌株转入 25% 甘油管并保存于 4 °C 冰箱中。

1.2.2 液体培养试验。将保存的菌株于营养琼脂(NA)或 LB 培养基上活化培养 24 h,挑取一环活化的各菌株分别接入 50 mL 种子培养基中,150 r/min、30 °C 摇床培养至稳定期,测定各培养液的 OD₆₀₀,并用无菌水将各培养液 OD₆₀₀ 稀释至相同后作为种子液;按 5% 接种量将种子液分别接种至 100 mL 已灭菌的解无机/有机磷/钾液体培养基中,以不接种任何菌液的解无机/有机磷/钾液体培养基为对照(CK),3 个重复,于 30 °C、150 r/min 条件下培养 7 d,制得解无机磷、解有机磷和解钾的摇瓶发酵液供解磷解钾能力测定。

1.2.3 解磷能力测定。将解无机磷和解有机磷的摇瓶发酵液分别转入蒸发皿中,在水浴锅中浓缩至 10 mL 左右,加入 2.0 mL 20% H₂O₂ 溶液,继续蒸发并不断搅动,直至黏性物质完全消化。将溶液转移至离心管中 3 500 r/min 离心 10 min,将上清液收集至 50 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容,以磷酸二氢钾为标准物质,按钼锑抗比色法^[8]测定溶液中的磷含量,根据速效磷相对增加量衡量菌株的解无机磷和解有机磷能力。

解磷量(mg/L)= 试验组速效磷的含量(mg/L)-对照组速效磷的含量(mg/L)

速效磷相对增加量=[试验组速效磷的含量(mg/L)-对照组速效磷的含量(mg/L)]/ 试验组速效磷的含量(mg/L)×100%

1.2.4 解钾能力测定。将解钾的摇瓶发酵液转入蒸发皿中,在水浴锅中浓缩至 10 mL 左右,加入 2.0 mL 20% H₂O₂ 溶液,继续蒸发并不断搅动,如此反复至黏性物质完全消化。将溶液转移至离心管中 3 500 r/min 离心 10 min,将上清液收集至 50 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容,以 KCl 为标准物质,用原子吸收分光光度计测定溶液中速效钾含量。根据速效钾相对增加量衡量菌株的解钾能力。

解钾量(mg/L)= 试验组速效钾的含量(mg/L)-对照组速效钾的含量(mg/L)

速效钾相对增加量=[试验组速效钾的含量(mg/L)-对照组速效钾的含量(mg/L)]/ 试验组速效钾的含量(mg/L)×100%

1.2.5 菌株的鉴定。选择解磷解钾能力最强的菌株进行鉴定。菌株培养性状的观察:按《细菌分类学》的细菌培养性状方法对菌株进行培养性状的观察。常规生理生化特征的测定:对菌株进行氧化酶试验、VP 试验、明胶水解试验、产 H₂S 试验、柠檬酸生长等试验。分子生物学特性测定:将纯化的菌株 LW-3 送至中国科学院微生物研究所进行 16S rDNA 及 *gyrB* 基因测序,获得测序结果后登陆美国国家生物技术信息所(national center for biotechnology information,NCBI)页面,使用 Blast 程序进行同源性比对分析,并通过 MEGA 5.0 软件采用邻接法建立菌株系统发育树。综合菌种的细胞形态、生理生化特征、16S rDNA 序列及 *gyrB* 序列分析,确定菌株的属种。

2 结果与分析

2.1 溶磷解钾菌株的分离筛选结果 用解无机磷、解有机磷和解钾固体培养基共分离出 4 株溶磷解钾菌。对 4 株菌株编号为 LW-1~LW-4,并重复平板溶磷解钾试验,测定溶磷透明圈(D)、解钾透明圈(D)及菌落直径(d),以 D/d 的大小初步判断菌株的解磷解钾能力^[9],结果见表 1。由表 1 可知,LW-3 和 LW-4 在解无机磷、有机磷和钾培养基上均产生透明圈,LW-1 和 LW-2 分别在解无机磷和解钾平板上无明显透明圈产生。LW-3 在解无机磷、有机磷和解钾平板上的 D/d 均比其他 3 株菌株的 D/d 大,初步断定 LW-3 的解磷和解钾能力最强。

2.2 解磷解钾能力 由表 2 可知,在解无机磷方面,LW-2、LW-3 与 LW-4 菌株发酵液的速效磷含量相比 CK 显著增加,LW-1 菌株发酵液的速效磷含量与 CK 无显著差异,其

表 1 菌株平板解磷解钾试验结果

Table 1 Phosphate-solubilizing and potassium-solubilizing test of strain in the plate

菌株编号 Strain number	无机磷 Inorganic phosphorus			有机磷 Organic phosphorus			钾 Potassium		
	D//mm	d//mm	D/d	D//mm	d//mm	D/d	D//mm	d//mm	D/d
LW-1	—	—	—	10.57	4.85	2.18	8.29	4.69	1.77
LW-2	11.25	6.28	1.79	12.62	6.17	2.05	—	—	—
LW-3	15.49	3.11	4.98	20.56	4.38	4.69	21.25	7.64	2.78
LW-4	14.52	5.78	2.51	12.37	8.02	1.54	15.32	6.75	2.27

中,LW-3 菌株发酵液速效磷含量高达 49.33 μ g/mL,解无机磷量为 19.06 μ g/mL,相对增加量最大,说明 4 株菌株中,LW-3 的解无机磷能力最强,与平板解无机磷试验结果一

致。在解有机磷方面,各菌株均具有明显的解有机磷效果,其中,LW-1 与 LW-2 解有机磷能力无显著差异,LW-3 菌株发酵液速效磷含量及相对增加量最大,分别为

59.71 $\mu\text{g/mL}$ 和28.57%,解有机磷量为 17.06 $\mu\text{g/mL}$,其解有机磷能力也最强,与平板解有机磷试验结果一致。在解钾方面,4株菌株的发酵液速效钾含量存在显著差异且高于CK的速效钾含量,但LW-2在解钾平板上无明显透明圈产生,原因可能是平板中钾浓度太大,使得LW-2的解钾效果无法

显现;4个菌株发酵液中,速效钾含量最高的是LW-3菌株发酵液,达210.41 $\mu\text{g/mL}$,解钾能力最强。综合可知,4株菌株中,LW-3在解磷和解钾方面均表现最显著效果,解磷解钾能力最强,是生物菌肥研制理想的菌种资源。

表2 菌株摇瓶解磷解钾能力

Table 2 Capacity of flask shaking strain with ability of phosphate-solubilizing and potassium-solubilizing ability of strain in the shake flask

菌株编号 Strain number	无机磷 Inorganic phosphorus		有机磷 Organophosphorus		钾 Potassium	
	速效磷含量 Available phosphorus content// $\mu\text{g/mL}$	相对增加量 Relative increment %	速效磷含量 Available phosphorus content// $\mu\text{g/mL}$	相对增加量 Relative increment %	速效磷含量 Available phosphorus content// $\mu\text{g/mL}$	相对增加量 Relative increment %
LW-1	32.06 \pm 0.84 d	4.60	52.03 \pm 0.27 b	18.03	197.25 \pm 0.72 c	10.36
LW-2	37.69 \pm 0.69 c	19.69	50.92 \pm 0.97 b	16.24	183.26 \pm 1.66 d	3.51
LW-3	49.33 \pm 0.83 a	38.64	59.71 \pm 0.55 a	28.57	210.41 \pm 1.35 a	15.96
LW-4	40.12 \pm 0.45 b	24.55	48.57 \pm 0.91 c	12.19	202.32 \pm 0.80 b	12.60
CK	30.27 \pm 0.18 d	—	42.65 \pm 0.38 d	—	176.82 \pm 1.34 e	—

注:同列不同小写字母表示菌株间差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between strains at 0.05 level

2.3 菌株 LW-3 的鉴定结果

2.3.1 菌株 LW-3 培养形状。菌株 LW-3 在 NA 培养基上菌落呈淡黄色,近圆形,不透明,表面光滑、扁平;菌体杆状,革兰氏染色阳性,可形成芽孢,芽孢端生、纺锤状。菌落形态及菌体显微形态见图 1~3。

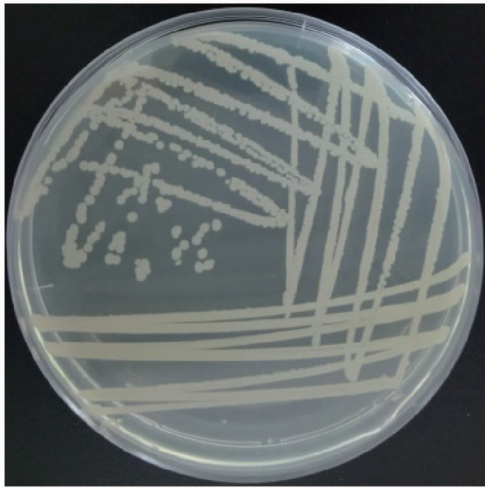


图1 菌株 LW-3 菌落形态

Fig.1 Colony morphology of LW-3 strain

2.3.2 菌株 LW-3 生理生化特征。菌株 LW-3 的接触酶、氧化酶、VP 反应、柠檬酸生长、明胶水解试验呈阳性,吡啶试验和产 H_2S 试验呈阴性(表 3)。

2.3.3 菌株 LW-3 分子生物学特性。

2.3.3.1 16S rDNA 序列分析。菌株 LW-3 的 16S rDNA 系统发育树见图 4。由图 4 可知,菌株 LW-3 和系统发育树上与其相邻的赖氨酸芽孢杆菌及嗜根寡养单胞菌的 16S rDNA 的同源性达 80%以上,一般认为,2 个单位间的 16S rDNA 的同源性高于 97.5%,则将 2 个分类单位归于同一种^[10]。根据菌株 LW-3 的 16S rDNA 序列、形态特征、生理生化特征分析,参考《伯杰氏系统细菌学手册》,可初步将菌株 LW-3 归类为

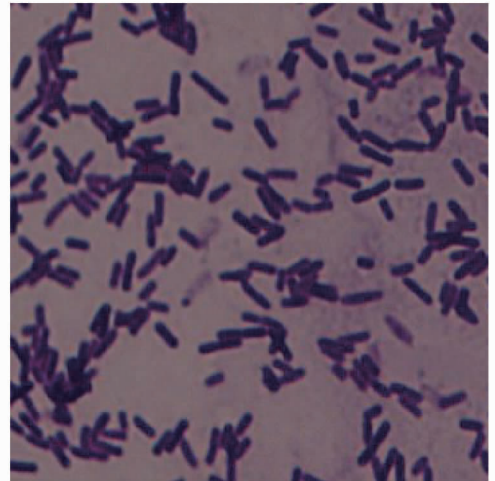


图2 LW-3 菌体形态

Fig.2 Bacterial morphology of LW-3

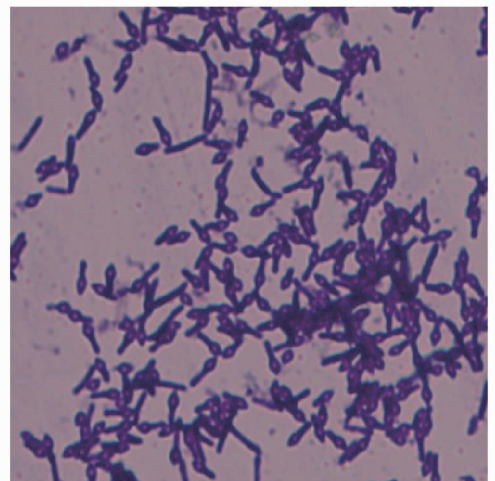


图3 LW-3 芽孢形态

Fig.3 Spore morphology of LW-3

赖氨酸芽孢杆菌属,但无法确定具体属于哪一种菌。

表3 菌株 LW-3 生理生化特征

Table 3 Physiological and biochemical characteristics of LW-3 strain

编号 No.	特征 Trait	结果 Result	编号 No.	特征 Trait	结果 Result	编号 No.	特征 Trait	结果 Result	编号 No.	特征 Trait	结果 Result
1	接触酶	+	9	β -半乳糖苷酶	-	17	氧化酶	+	25	脲酶	+
2	VP 反应	+	10	赖氨酸脱羧酶	-	18	柠檬酸生长	+	26	明胶水解	+
3	产生吡啶	-	11	产生 H ₂ S	-	19	鸟氨酸脱羧酶	-	27	精氨酸双水解酶	+
4	a-D-葡萄糖	-	12	明胶	+	20	p-羟基苯乙酸	-	28	糊精	w
5	D-甘露糖	-	13	甘氨酸-L-脯氨酸	+	21	丙酮酸甲酯	+	29	D-麦芽糖	-
6	D-果糖	-	14	L-丙氨酸	+	22	D-乳酸甲酯	-	30	D-海藻糖	-
7	D-半乳糖	-	15	L-精氨酸	+	23	L-乳酸	+	31	D-纤维二糖	-
8	3-甲基-D-葡萄糖	-	16	L-天冬氨酸	+	24	柠檬酸	-	32	龙胆二糖	-

注：“+”为阳性；“-”为阴性

Note：“+” is positive；“-” is negative

2.3.3.2 *gyrB* 基因序列分析。结合 *gyrB* 基因序列分析对菌株 LW-3 进一步确认,其 *gyrB* 基因系统发育树见图 5。由图 5 可知,菌株 LW-3 与纺锤形赖氨酸芽孢杆菌 (*Lysinibacillus fusiformis* RB-21, 检索号:CP010820.1) 的同源性达 99%,因

此,综合菌株的菌落及细胞形态、生理生化特征、16S rRNA 基因序列、*gyrB* 基因序列等分析,确定菌株 LW-3 为纺锤形赖氨酸芽孢杆菌 LW-3。

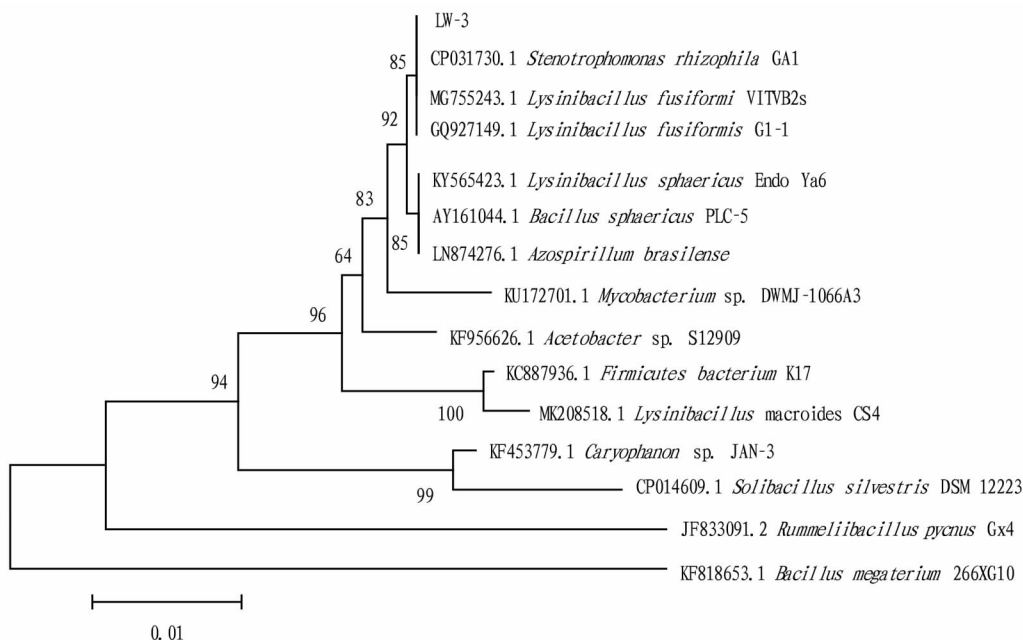
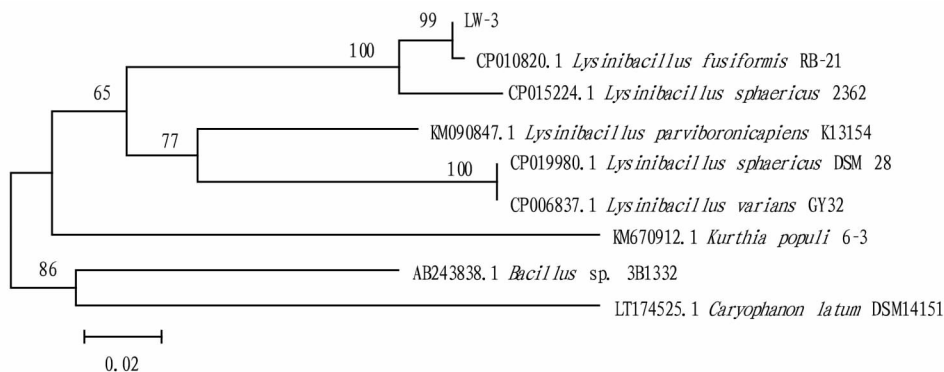


图4 菌株 LW-3 的 16S rDNA 系统发育树

Fig.4 Phylogenetic tree of strain LW-3 16S rDNA

图5 菌株 LW-3 的 *gyrB* 基因系统发育树Fig.5 Phylogenetic tree of strain LW-3 *gyrB* gene

3 结论与讨论

从土壤中共分离得到 4 株溶磷解钾菌,液体培养试验结果显示,4 株菌株中,菌株 LW-3 的解磷和解钾能力最强,溶解无机磷量为 19.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$,相对增加 38.64%,溶解有机磷量为 17.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$,相对增加 28.57%,溶解钾量为 33.59 $\mu\text{g}/\text{mL}$,相对增加 15.96%,是理想的菌肥生产用菌株,经鉴定确定该菌株为纺锤形赖氨酸芽孢杆菌 LW-3 (*Lysinibacillus fusiformis* LW-3)。

除具有溶磷解钾作用外,研究表明,纺锤形赖氨酸芽孢杆菌可产大量胞外多糖、氨基甲酸酯水解酶、植酸酶等有益物质,具有溶藻、降解原油、除铅、防治水稻纹枯病等特性^[11-18],对研究开发生物菌肥、生物农药、动物饲料添加剂、水体净化剂、土壤修复剂等具有重要意义,开发应用前景极其广阔。

参考文献

[1] 尹逊霄,华路,张振贤,等.土壤中磷素的有效性及其循环转化机制研究[J].首都师范大学学报(自然科学版),2005,26(3):95-101.

[2] ADESEMOYE A O, KLOEPPER J W. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2009, 85(1):1-12.

[3] 鲁如坤,时正元,顾益初.土壤积累态磷研究II.磷肥的表现积累利用率[J].土壤,1995,27(6):286-289.

[4] 周鑫斌,洪坚平,谢英荷.溶磷细菌肥对石灰性土壤磷素转化的影响[J].水土保持学报,2005,19(6):70-73.

[5] 罗娜,周德明,徐睿,等.降香黄檀、檀香根际解钾菌的筛选与活性研究[J].热带作物学报,2016,37(5):964-970.

[6] 郝晶,洪坚平,刘冰,等.不同解磷菌群对豌豆生长和产量影响的研究[J].作物杂志,2006(1):73-76.

[7] 郝春花,张强,卢朝东,等.选用解磷菌剂改善缺磷土壤磷素的有效性[J].农业工程学报,2005,21(5):56-59.

[8] 中国土壤学会.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业出版社,1999.

[9] 万璐,康丽华,廖宝文,等.红树林根际解磷菌分离、培养及解磷能力的研究[J].林业科学研究,2004,17(1):89-94.

[10] 张洁,徐桂花,尤丽琴.16S rDNA 序列分析法鉴定乳酸菌[J].农产品加工(创新版),2009(4):47-49,69.

[11] 刘阳,陈敏,庞昕,等.一株产胞外多糖的山药内生细菌 *Lysinibacillus fusiformis* S-1 的分离和鉴定[J].应用与环境生物学报,2014,20(3):382-388.

[12] MAHENDRAN S, VIJAYABASKAR P, SARAVANAN S, et al. Structural characterization and biological activity of exopolysaccharide from *Lysinibacillus fusiformis*[J]. African journal of microbiology research, 2013, 7(37):4629-4639.

[13] 刘晓慧,方芳,夏小乐,等.定点突变改造提高纺锤形赖氨酸芽孢杆菌氨基甲酸酯水解酶稳定性[J].生物工程学报,2016,32(9):1233-1242.

[14] 孔志园,丁轲,余祖华,等.一株土壤源高产植酸酶芽孢杆菌的分离与鉴定[J].河南科技大学学报(自然科学版),2012,33(4):65-68,73.

[15] 张菊,韦坤逢,李灿灿,等.小麦内生溶藻细菌 ZB1 的分离鉴定及其溶藻特性[J].西南农业学报,2017,30(5):1068-1073.

[16] 李国丽,曾小英,翟立翔,等.一株石油降解菌 *Lysinibacillus fusiformis* 23-1 的筛选鉴定及原油降解特性[J].浙江农业学报,2018,30(7):1229-1236.

[17] ADEBO O A, NJOBEH P B, MAVUMENGWANA V. Degradation and detoxification of AFB1 by *Staphylococcus warneri*, *Sporosarcina* sp. and *Lysinibacillus fusiformis*[J]. Food control, 2016, 68:92-96.

[18] 罗文芳,魏松红,王海宁,等.水稻纹枯病生防菌的筛选与鉴定[J].沈阳农业大学学报,2017,48(6):660-665.

(上接第 4 页)

[6] TANG X Y, GERMAIN B S, LEE W L. A novel patch assembly domain in Num1 mediates dynein anchoring at the cortex during spindle positioning[J]. The journal of cell biology, 2012, 196(6):743-756.

[7] LACKNER L L, PING H, GRAEF M, et al. Endoplasmic reticulum-associated mitochondria-cortex tether functions in the distribution and inheritance of mitochondria[J]. Proceedings of the national academy of sciences, 2013, 110(6):458-467.

[8] PING H A, KRAFT L M, CHEN W T, et al. Num1 anchors mitochondria to the plasma membrane via two domains with different lipid binding specificities[J]. The journal of cell biology, 2016, 213(5):513-524.

[9] TANG X Y, PUNCH J J, LEE W L. A CAAX motif can compensate for the PH domain of Num1 for cortical dynein attachment[J]. Cell cycle, 2009, 8(19):3182-3190.

[10] STEGMEIER F, RAPE M, DRAVIAM V M, et al. Anaphase initiation is regulated by antagonistic ubiquitination and deubiquitination activities[J]. Nature, 2007, 446(7138):876-881.

[11] STEVERMANN L, LIAKOPOULOS D. Molecular mechanisms in spindle positioning: Structures and new concepts[J]. Current opinion in cell biology, 2012, 24(6):816-824.

[12] BOCHIS O V, FETICA B, VLAD C, et al. The importance of ubiquitin E3

ligases, SCF and APC/C, in human cancers[J]. Clujul medical, 2015, 88(1):9-14.

[13] PESIN J A, ORR-WEAVER T L. Regulation of APC/C activators in mitosis and meiosis[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2008, 24:475-499.

[14] ZACHARIAE W, NASMYTH K. Whose end is destruction: Cell division and the anaphase-promoting complex[J]. Genes Dev, 1999, 13(16):2039-2058.

[15] PFLEGER C M, KIRSCHNER M W. The KEN box: An APC recognition signal distinct from the D box targeted by Cdh1[J]. Genes & development, 2000, 14(6):655-665.

[16] HUANG J N, PARK I, ELLINGSON E, et al. Activity of the APC^{Cdh1} form of the anaphase-promoting complex persists until S phase and prevents the premature expression of Cdc20p[J]. The journal of cell biology, 2001, 154(1):85-94.

[17] SETHI N, MONTEAGUDO M C, KOSHLAND D, et al. The CDC20 gene product of *Saccharomyces cerevisiae*, a beta-transducin homolog, is required for a subset of microtubule-dependent cellular processes[J]. Molecular & cellular biology, 1991, 11(11):5592-5602.

[18] QIN L, GUIMARÃES D S, MELESSE M, et al. Substrate recognition by the Cdh1 destruction box receptor is a general requirement for APC/CCdh1-mediated proteolysis[J]. Journal of biological chemistry, 2016, 291(30):15564-15574.