

裘纪莹,陈相艳,吴发萍,等. 解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 菌株高产抗菌物质的发酵条件优化[J]. 江苏农业科学,2016,44(1):311-315.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.01.092

# 解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 菌株 高产抗菌物质的发酵条件优化

裘纪莹, 陈相艳, 吴发萍, 刘孝永, 周庆新, 王军华, 王未名, 陈蕾蕾  
(山东省农业科学院农产品研究所/山东省农产品精深加工技术重点实验室, 山东济南 250100)

**摘要:** 研究了解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 发酵产胞外抗菌物质的发酵条件, 以无菌发酵液对西瓜枯萎病菌的抑菌圈直径为指标, 探讨了发酵温度、装液量、接种量、摇床转速和发酵时间对发酵液抑菌活性的影响。通过单因素试验、Plackett - Burman 设计及 Box - Behnken 响应面法优化并确定了最佳发酵条件为发酵温度为 33.82 ℃, 接种量为 4.06%, 摇床转速为 152.46 r/min, 装液量为 100 mL/250 mL 三角瓶, 发酵时间为 6 d。在最适发酵条件下预测无菌发酵液的抑菌圈直径为 25.65 mm, 优化后的发酵条件大大提高了发酵液的抑菌活性。

**关键词:** 解淀粉芽孢杆菌; 抗菌物质; Plackett - Burman 设计; 响应面法; 发酵条件优化; 抑菌活性

**中图分类号:** TQ920.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002 - 1302 (2016) 01 - 0311 - 04

解淀粉芽孢杆菌是一类重要的生防菌, 能够分泌脂肽、抗菌蛋白及类细菌素等抗菌物质<sup>[1-4]</sup>。目前关于解淀粉芽孢杆菌抗菌活性的研究比较热门, 如张宝研究了解淀粉芽孢杆菌 K103 所产脂肽的分子结构、生化特性、抗菌机理及植物生防作用<sup>[5]</sup>; 赵东洋研究了解淀粉芽孢杆菌 SWB16 菌株脂肽类代谢产物对球孢白僵菌的拮抗作用<sup>[6]</sup>; 安俊莹等采用响应面法优化了解淀粉芽孢杆菌 ZJHD - 06 产类细菌素的发酵培养基<sup>[7]</sup>; 陈召亮等研究了解淀粉芽孢杆菌 RY3 产抗菌粗蛋白的理化性质及其对柑橘绿霉病菌的抑菌活性<sup>[8]</sup>; 蔡文韬等研究了解淀粉芽孢杆菌发酵液对提高辣椒采后品质的影响<sup>[9]</sup>。

解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 是笔者所在实验室自行筛选的 1 株广谱拮抗菌株, 对包括西瓜枯萎病菌、枣炭疽病菌、苹果斑点落叶病菌和轮纹病菌、梨黑斑病菌、青霉病菌等典型果蔬病原真菌以及金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌等病原细菌有很好的抑制作用<sup>[10]</sup>。同时, 有研究表明, 该菌产胞外抗菌物质对采后苹果轮纹病具有良好的防治作用, 防治效果与纳他霉素相当, 对梨采后青霉病的防治也有明显效果<sup>[11-12]</sup>, 因此具有比较好的开发应用价值。在此基础上, 本研究采用单因素试验、Plackett - Burman 设计和响应面法对该菌产胞外抗菌物质的发酵条件进行了优化, 从而提高了发酵液的抑菌活性。

## 1 材料与与方法

### 1.1 菌种

解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7, 由笔者所在实验室分离; 西瓜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporium* f. sp. *niveum*), 由山东大学微生物技术国家重点实验室惠赠。

### 1.2 材料与试剂

牛肉膏蛋白胨培养基<sup>[13]</sup>用于 NCPSJ7 菌株的培养和保存; PDA 培养基<sup>[13]</sup>用于病原菌的培养、保存和牛津杯法测定抑菌活性; 发酵培养基<sup>[14]</sup>用于拮抗菌胞外抗菌物质的发酵, 具体配方为葡萄糖 5 g, 酵母浸膏 7.5 g, 蛋白胨 7.5 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 g, NaCl 5 g, 水 1 000 mL, pH 值 7.0。其他试剂均为分析纯。

### 1.3 仪器与设备

CR22G III 高速冷冻离心机 (日本日立公司); 霉菌培养箱 LRH - 150 - MS (广东省韶关市泰宏医疗器械有限公司); 生化培养箱 SHP - 150 (上海精宏试验设备有限公司); ZWY - 2102 恒温摇床 (上海智诚分析仪器制造有限公司)。

### 1.4 试验方法

**1.4.1 无菌发酵液的制备 菌种活化及种子液的制备<sup>[11]</sup>:** 将解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 接种于牛肉膏蛋白胨平板, 37 ℃ 培养 24 h。挑取单菌落于牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 37 ℃、180 r/min 摇床培养 24 h, 得种子液。发酵: 将种子液按一定比例接种于发酵培养基, 在一定的装液量、摇床转速和发酵温度条件下摇床培养一定时间, 既得 NCPSJ7 发酵液。无菌发酵液的制备: 将发酵液于 4 ℃、10 000 r/min 离心 20 min, 弃菌体保留上清液, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 即得无菌发酵液。

**1.4.2 抑菌活性检测<sup>[11]</sup>** 按文献报道的方法, 略有改动。病原指示菌菌悬液制备: 将西瓜枯萎病菌活化后接种于 PDA 平板, 按文献报道的方法制成孢子菌悬液, 4 ℃ 保存, 备用。抑菌活性的检测: 取 50 μL 的病原指示菌菌悬液均匀涂布于

收稿日期: 2014 - 12 - 09

基金项目: 国家科技支撑计划 (编号: 2015BAD16B02); 山东省农业科学院青年英才培养计划; 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金 (编号: BS2013SW039); 国家 (中日) 国际科技合作专项 (编号: 2013DFG32760); 山东省农业重大应用技术创新课题 (编号: 鲁财农指 [2012] 79 号、鲁财农指 [2015] 16 号)。

作者简介: 裘纪莹 (1981—), 女, 浙江嵊州人, 硕士, 助理研究员, 主要从事食品生物技术与农产品加工方面的研究。E - mail: qjyfood@163.com。

通信作者: 陈蕾蕾, 博士, 副研究员, 主要从事微生物源生物活性物质的研究。E - mail: chenleilei8210@163.com。

PDA 平板培养基上,待干后在平板中央放置 1 个无菌牛津杯,向杯中加入 200  $\mu\text{L}$  无菌发酵液,于 28  $^{\circ}\text{C}$  培养 3 d,测定抑菌圈直径。

1.4.3 单因素试验 以无菌发酵液对西瓜枯萎病菌的抑菌圈直径为指标,分别考察培养温度、装液量、接种量、摇床转速和发酵时间对无菌发酵液抑菌活性的影响,每组 3 个平行。

1.4.4 Plackett - Burman 设计 在单因素试验的基础上,利用 minitab 软件创建一个 Factors = 5、Runs = 12 的 Plackett - Burman 设计表<sup>[15]</sup>,每个因素选取 2 个水平,低水平为单因素最佳培养条件,高水平为低水平的 1.09 ~ 1.25 倍,然后按设计开展试验,考察各试验因素的重要性。

1.4.5 响应面法优化 采用 Box - Behnken 法<sup>[16-17]</sup>,对 Plackett - Burman 试验筛选出的较显著因素进行进一步优化,每个因素选取 3 个水平,利用 Design Expert 8.0 软件进行响应面及方差分析,并对数据进行二次回归拟合,得到多元回归

方程,在一定水平范围内求取最佳值,对发酵条件进行优化。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 发酵温度对无菌发酵液抑菌效果的影响 在 31 ~ 43  $^{\circ}\text{C}$  之间选取 5 个不同水平的发酵温度进行试验,结果如图 1 所示。发酵温度 34  $^{\circ}\text{C}$  时,无菌发酵液的抑菌圈直径最大,即抑菌活性最强。

2.1.2 装液量对无菌发酵液抑菌效果的影响 5 个水平装液量对抑菌效果的影响结果如图 2 所示。发酵培养基的装液量为 100 mL/250 mL 三角瓶时,无菌发酵液的抑菌圈直径最大,即抑菌活性最强。

2.1.3 摇床转速对无菌发酵液抑菌效果的影响 5 个不同水平的摇床转速对抑菌效果的影响如图 3 所示。摇床转速为 150 r/min 时,无菌发酵液的抑菌圈直径最大,即抑菌活性最强。

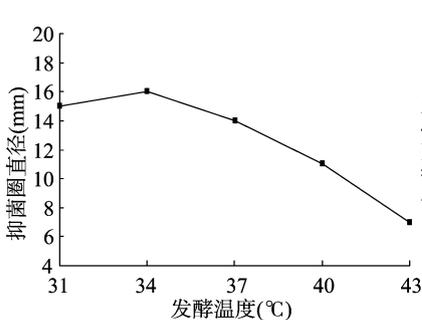


图1 发酵温度对抑菌效果的影响

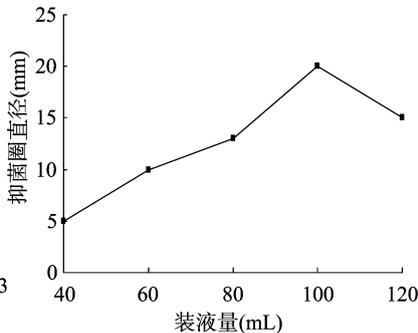


图2 装液量对抑菌效果的影响

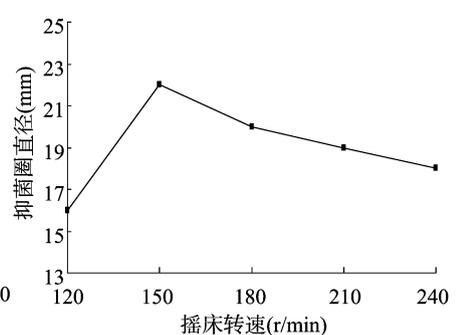


图3 摇床转速对抑菌效果的影响

2.1.4 接种量对无菌发酵液抑菌效果的影响 不同的接种量对抑菌效果的影响结果如图 4 所示。接种量为 3.0% 时,无菌发酵液的抑菌圈直径最大,即抑菌活性最强。

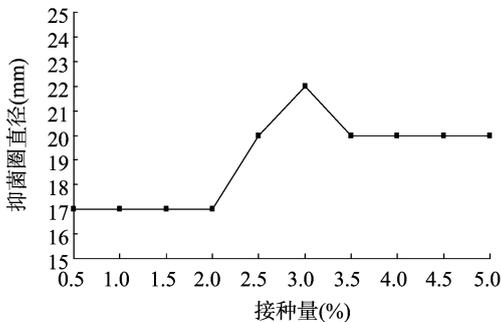


图4 接种量对抑菌效果的影响

2.1.5 发酵时间对无菌发酵液抑菌效果的影响 不同发酵时间对抑菌效果的影响结果如图 5 所示。随着发酵时间的延长,无菌发酵液的抑菌效果也随之增强,当发酵 6 d 时,无菌发酵液的抑菌效果最好,之后抑菌效果呈下降趋势。

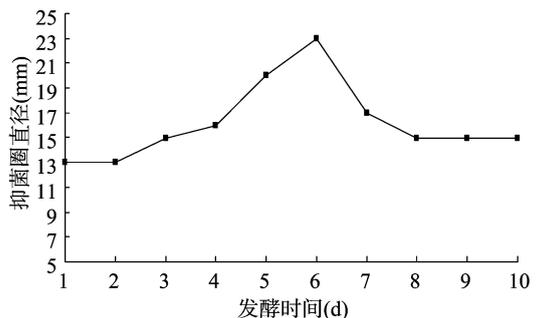


图5 发酵时间对抑菌效果的影响

表1 Plackett - Burman 设计的因素和水平

编号	因素	水平	
		-1	1
$X_1$	发酵时间(d)	6.0	7.5
$X_2$	装液量(mL/250mL)	100	120
$X_3$	接种量(%)	3.00	3.75
$X_4$	摇床转速(r/min)	150.0	187.5
$X_5$	发酵温度( $^{\circ}\text{C}$ )	34	37

量。发酵温度和接种量对无菌发酵液的抑菌活性具有显著影响,摇床转速的影响虽不显著,但影响也较大,作为进一步优化的因素。装液量和发酵时间对结果的影响较小,选取单因素试验中的最适值:装液量 100 mL/250 mL 三角瓶,发酵时间 6 d。

### 2.3 响应面分析法优化发酵条件

选取对无菌发酵液抑菌活性影响较大的 3 个因素(发酵

对上述结果进行  $t$  检验和方差分析,结果(表 3)表明,置信度大于 95% 的因素被认为是显著因素。可见,5 种因素影响的显著性顺序为发酵温度 > 接种量 > 摇床转速 > 发酵时间 > 装液

表2 Plackett - Burman 试验设计与结果

试验号	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	抑菌圈直径 $Y$ (mm)
1	1	-1	1	-1	-1	19.7
2	1	1	-1	1	-1	17.3
3	-1	1	1	-1	1	18.5
4	1	-1	1	1	-1	18.3
5	1	1	-1	1	1	13.0
6	1	1	1	-1	1	16.0
7	-1	1	1	1	-1	19.8
8	-1	-1	1	1	1	15.5
9	-1	-1	-1	1	1	11.3
10	1	-1	-1	-1	1	16.5
11	-1	1	-1	-1	-1	15.8
12	-1	-1	-1	-1	-1	18.8

表3 Plackett - Burman 设计的统计分析

项目	系数	$t$ 值	$P$ 值	置信度 (%)
intercept	1.670 8	33.96	0.000	100.0
$X_1$	0.009 2	0.19	0.858	14.2
$X_2$	0.002 5	0.05	0.861	3.9
$X_3$	0.125 8	2.56	0.043	95.7
$X_4$	-0.074 2	-1.71	0.138	86.2
$X_5$	-0.157 5	-3.20	0.019	98.1

温度、接种量和摇床转速)进行 Box - Behnken 响应面法优化,其编码水平见表4,试验设计与测定结果见表5。

表4 响应面分析的因素和水平

因素	编码	编码水平		
		-1	0	1
发酵温度(°C)	A	31	34	37
接种量(%)	B	3	4	5
摇床转速(r/min)	C	120	150	180

表5 Box - Behnken 设计与结果

试验号	A	B	C	抑菌圈直径 $Y$ (mm)
1	0	0	0	26
2	0	-1	1	18
3	-1	-1	0	17
4	0	1	1	20
5	0	-1	-1	19
6	0	0	0	25
7	0	0	0	24
8	1	0	1	18
9	-1	1	0	18
10	1	-1	0	17
11	1	1	0	16
12	-1	0	1	19
13	0	1	-1	20
14	1	0	-1	15
15	-1	0	-1	17
16	0	0	0	25
17	0	0	0	28

根据表5的试验结果,通过 Design Expert 8.0.5.0 软件处理确定回归方程。该试验的回归方程为:

$$Y = -784.62 + 40.09A + 31.19B + 0.91C - 166.67 \times 10^{-3}AB + 2.78 \times 10^{-3}AC + 8.33 \times 10^{-3}BC - 588.89 \times 10^{-3}A^2 - 3.30B^2 - 3.39 \times 10^{-3}C^2。$$

对响应面试验结果进行方差分析,结果如表6所示。模型在0.05水平上回归显著( $P < 0.05$ ),在0.05水平上失拟不显著( $P > 0.05$ ),因而模型的选择是正确的。模型的决定系数  $R^2 = 0.9397$ ,表明预测值能与试验值有较高的相关度,方程拟合良好。同时回归方程二次项  $A^2$  对无菌发酵液的抑菌活性有极显著影响( $P < 0.01$ ),  $B^2$  和  $C^2$  对无菌发酵液的抑菌活性有显著影响( $P < 0.05$ )。

表6 Box - Behnken 试验结果方差分析

方差来源	调整配方和	自由度	调整均方差	$F$ 值	$P$ 值
模型	232.81	9	25.87	12.11	0.001 7
A	3.13	1	3.13	1.46	0.265 7
B	1.13	1	1.13	0.53	0.491 5
C	2.00	1	2.00	0.94	0.365 4
AB	1.00	1	1.00	0.47	0.515 8
AC	0.25	1	0.25	0.12	0.742 3
BC	0.25	1	0.25	0.12	0.742 3
$A^2$	118.27	1	118.27	55.38	0.000 1
$B^2$	45.85	1	45.85	21.47	0.002 4
$C^2$	39.17	1	39.17	18.34	0.003 6
残项	14.95	7	2.14		
失拟项	5.75	3	1.92	0.83	0.541 3
误差	9.20	4	2.30		
总离差	247.76	16			

注: $R^2 = 0.9397$ , 变异系数  $CV = 7.26\%$ ,  $Adj R^2 = 0.8621$ ,  $Pred R^2 = 0.5707$ 。

通过上述多元回归方程作3组响应面和等高线图,结果见图6。由图6-a可以看出,当发酵温度由低到高逐渐变化,接种量也由低到高逐渐变化时,抑菌圈直径呈现先上升后下降的趋势;由图中等高线形状接近圆形可知,发酵温度和接种量对抑菌圈直径影响的交互作用不显著。由图6-b可以看出,当发酵温度由低到高逐渐变化,摇床转速也由低到高逐渐变化时,抑菌圈直径呈现先上升后下降的趋势;由图中等高线形状接近圆形可知,发酵温度和摇床转速对抑菌圈直径影响的交互作用不显著。由图6-c可以看出,当接种量由低到高逐渐变化,摇床转速也由低到高逐渐变化时,抑菌圈直径呈现先上升后下降的趋势;由图中等高线形状接近圆形可知,接种量和摇床转速对抑菌圈直径影响的交互作用不显著。

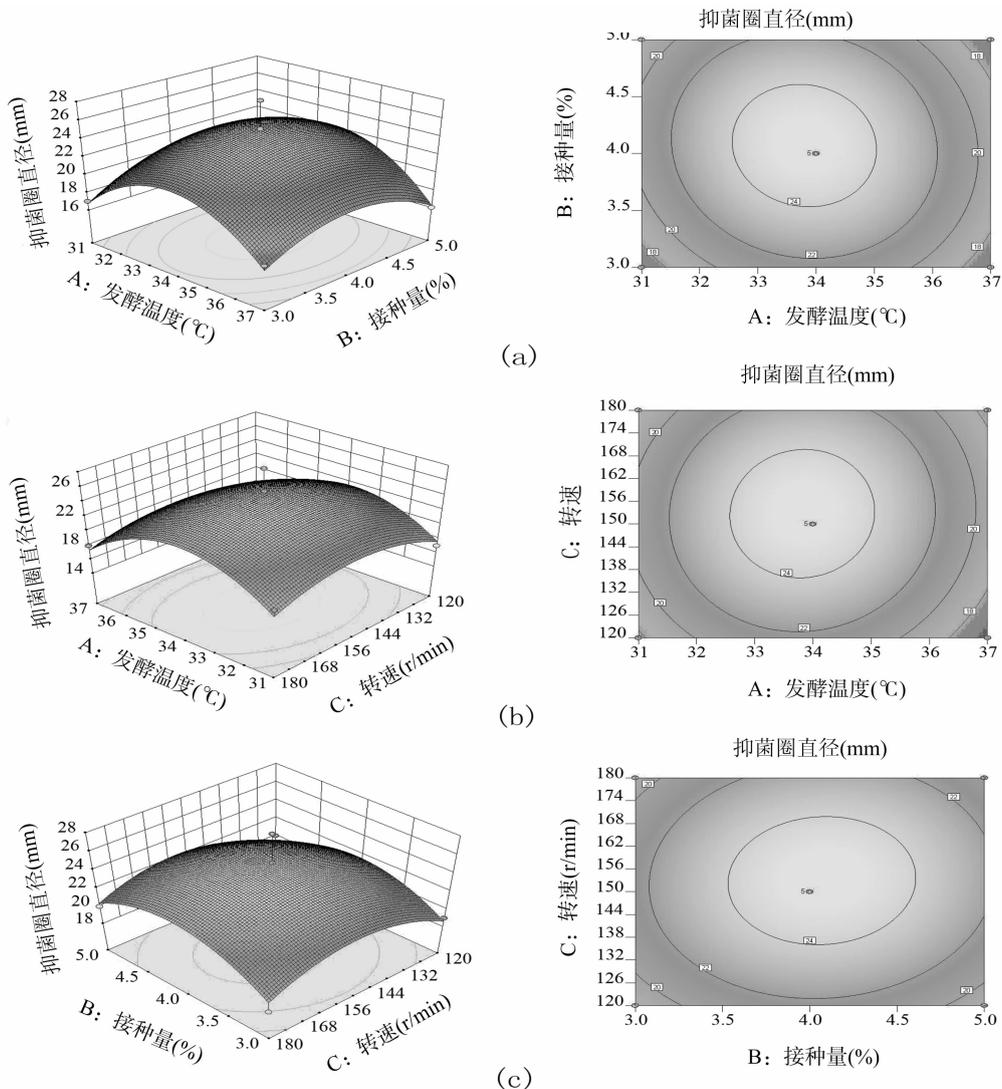
#### 2.4 模型验证试验

根据响应面优化回归方程求得解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 发酵产胞外抗菌物质的最适发酵条件为发酵温度 33.82 °C, 接种量 4.06%, 摇床转速 152.46 r/min, 装液量 100 mL/250 mL三角瓶,发酵时间 6 d,预测的最大抑菌圈直径为 25.65 mm。

为了方便试验,选取发酵温度 34 °C、接种量 4.06%、转速 155 r/min、装液量 100 mL/250 mL三角瓶、发酵时间 6 d,作3组平行,进行验证试验。结果抑菌圈直径的平均值为 25.30 mm,接近预测值,说明该模型能够较好地预测发酵液抑菌活性情况。

### 3 讨论与结论

本试验对解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 产胞外抗菌物质的发酵条件进行了优化。首先采用单因素试验优化了发酵温度、装液量、接种量、摇床转速和发酵时间这5个因素,在此基础



a—发酵温度和接种量交互影响抑菌圈直径的响应面曲线和等高线图；b—发酵温度和摇床转速交互影响抑菌圈直径的响应面曲线和等高线图；c—接种量和摇床转速交互影响抑菌圈直径的响应面曲线和等高线图

图6 发酵温度、接种量和摇床转速交互作用对抑菌圈直径的影响

上采用 Plackett - Burman 设计筛选出发酵温度、接种量和摇床转速这 3 个较显著因素,然后通过响应面法研究了各显著因素及其交互作用对发酵产抗菌物质的影响。通过对试验结果进行分析,建立了解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 无菌发酵液的抑菌圈直径与发酵温度、接种量和摇床转速这 3 个较显著因素的多项式模型,并确定了最适发酵条件:发酵温度 33.82 °C,接种量 4.06%,摇床转速 152.46 r/min,装液量 100 mL/250 mL三角瓶,发酵时间 6 d,预测的最大抑菌圈直径为 25.65 mm。同时验证试验结果表明试验值与预测值接近,说明该模型能够较好地反映实际发酵情况,可用于预测发酵液抑菌圈直径与发酵条件的关系。

对于拮抗菌 NCPSJ7,本试验只是从发酵条件方面进行了优化,培养基的组成、发酵液中主要抗菌物质的组成、分子结构等均未进行研究。同时如果能够对发酵过程中产生抗菌活性物质的中间代谢产物、关键酶等进行调控,或者将菌种进行基因改造,将有望获得更高的抑菌活性,这对拮抗菌剂的产业化生产和应用具有重大意义。

#### 参考文献:

- [1]Chen L,Wang N,Wang X,et al. Characterization of two anti - fungal lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* SH - B10 [ J ]. *Bioresource Technology*,2010,101(22):8822 - 8827.
- [2]Song B,Rong Y J,Zhao M X,et al. Antifungal activity of the lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* anti - CA against *Candida albicans* isolated from clinic [ J ]. *Applied Microbiology and Biotechnology*,2013,97(16):7141 - 7150.
- [3]Zhao J,Li Y,Zhang C,et al. Genome shuffling of *Bacillus amyloliquefaciens* for improving antimicrobial lipopeptide production and an analysis of relative gene expression using FQ RT - PCR [ J ]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*,2012,39(6):889 - 896.
- [4]He S,Wang H,Yan X,et al. Preparative isolation and purification of macrolactin antibiotics from marine bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* using high - speed counter - current chromatography in stepwise elution mode [ J ]. *Journal of Chromatography a*,2013,1272:15 - 19.

杨琳,高苹,居为民. 基于MODIS NDVI数据的江苏省冬小麦物候期提取[J]. 江苏农业科学,2016,44(1):315-320.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.01.093

# 基于 MODIS NDVI 数据的江苏省冬小麦物候期提取

杨琳<sup>1</sup>,高苹<sup>2</sup>,居为民<sup>1</sup>

(1. 南京大学国际地球系统科学研究所,江苏南京 210023;2. 江苏省气象服务中心,江苏南京 210008)

**摘要:**农作物物候期是作物对气候变化响应的重要指标,也是提高区域农业管理水平的重要参数;遥感技术的发展为大面积提取农作物物候期提供了有效的技术途径。利用2010年MODIS NDVI序列提取江苏省冬小麦关键物候期的方法,首先采用非对称高斯函数、双Logistic函数对NDVI时序曲线进行拟合,进而采用动态阈值法确定冬小麦物候期,并利用观测数据对提取结果进行验证。结果表明,就冬小麦返青期、抽穗期、成熟期的提取而言,双Logistic函数拟合方法略优于非对称高斯函数拟合方法,利用前一种拟合方法提取的返青期、抽穗期、成熟期与观测数据比较的均方根误差分别为5.5、9.4、7.5 d,而利用后一种拟合方法提取的返青期、抽穗期、成熟期均方根误差分别为6.1、9.5、7.8 d;2010年全省的冬小麦普遍于第49天之前开始返青,抽穗期普遍开始于第105天至第113天,成熟期普遍开始于第145天至第161天,抽穗期、成熟期大体上表现出从南到北逐渐延迟的趋势,但是返青期的空间差异并不明显。

**关键词:**江苏省;冬小麦;物候期;生育期;MODIS NDVI;时间序列

**中图分类号:**S127 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)01-0315-06

物候是指自然界中的生物受气候和其他环境因素的影响而出现的以年为准周期的自然现象<sup>[1]</sup>,农作物的物候期则是指农作物达到关键生育期所对应的日期<sup>[2]</sup>。农作物物候的变化反映了气候变化对农作物生长发育的影响,是气候变化对农业生态系统影响的指标之一<sup>[3-8]</sup>,因此成为全球气候变化研究的热点问题之一<sup>[9]</sup>。

作物物候信息可以通过田间观测、积温预测和遥感监测

等多种途径获得。但是田间观测方法不仅费时费力,而且代表的面积有限<sup>[10]</sup>;积温预测方法需要播种日期、逐日气温以及某一生育期所需积温等信息<sup>[10]</sup>。因此,这2种方法的大面积应用受到一定的限制。遥感技术的发展为大面积监测作物物候提供了崭新的手段<sup>[11]</sup>,基于遥感信息计算的植被指数能够在较大范围内较精确地反映植被绿度、光合作用和生长的季节和年际变化,因而被广泛应用于植被监测、分类和物候分析中<sup>[12]</sup>。目前常用于物候监测的植被指数有归一化植被指数(normalized vegetation index, NDVI)、增强植被指数(enhanced vegetation index, EVI)等。有研究认为,NDVI作为指示地面生长季节开始和结束的遥感指标具有比较稳定的特点<sup>[13]</sup>,因此国内外很多学者利用NDVI时序数据对作物物候及其时空变化进行了研究。如Sehgal等利用1981—2001年NOAA-

收稿日期:2015-01-26

基金项目:国家农业科技成果转化资金(编号:2013GB24160634)。

作者简介:杨琳(1990—),女,山东招远人,硕士研究生,主要从事资源环境遥感研究。E-mail: liny\_nju@163.com。

通信作者:居为民,博士,教授,主要从事全球变化和生态遥感研究。

Tel: (025)89685670; E-mail: juweimin@nju.edu.cn。

[5]张宝. 解淀粉芽孢杆菌抗菌脂肽 Bacillomycin L 的纯化鉴定及抑菌机理研究[D]. 北京:中国农业大学,2014.

[6]赵东洋. 解淀粉芽孢杆菌 SWB16 脂肽类代谢产物对球孢白僵菌的拮抗作用及发酵条件的初步优化[D]. 重庆:西南大学,2014.

[7]安俊莹,刘颖,朱雯娟,等. 响应面法优化 *Bacillus amyloliquefaciens* ZJHD-06 产类细菌素发酵培养基[J]. 食品工业科技, 2014, 35(1):191-195.

[8]陈召亮,张辉,张娜娜,等. 拮抗菌 RY3 抗菌粗蛋白理化性质及其对柑橘绿霉病菌的抑菌活性[J]. 食品与机械,2013,29(6):187-190.

[9]蔡文韬,夏波,夏延斌,等. 解淀粉芽孢杆菌发酵液处理提高辣椒采收品质[J]. 农业工程学报,2013,29(23):253-261.

[10]彭研,陈蕾蕾,裴纪莹,等. 产广谱抗菌物质芽孢杆菌的筛选与鉴定[J]. 中国农学通报,2013,29(36):372-377.

[11]裴纪莹,黄玲玲,陈蕾蕾,等. 解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 抑制青霉病原菌及防治梨采收青霉病的效果[J]. 中国农学通报, 2014,30(21):311-315.

[12]黄玲玲,裴纪莹,唐琳,等. 解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 对采收苹果轮纹病的生物防治作用[J]. 中国食物与营养, 2015

(2):20-24.

[13]杨革. 微生物学实验教程[M]. 北京:科学出版社,2004:143-150.

[14]梁漫. 生防芽孢杆菌的筛选及其抗菌物质的研究[D]. 雅安:四川农业大学,2011.

[15]Shah S R, Parikh R H, Chavda J R, et al. Application of plackett-burman screening design for preparing glibenclamide nanoparticles for dissolution enhancement[J]. Powder Technology, 2013, 235:405-411.

[16]Jeganathan P M, Venkatachalam S, Karichappan T, et al. Model development and process optimization for solvent extraction of polyphenols from red grapes using Box-Behnken design[J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2014, 44(1):56-67.

[17]Hamedpour V, Amjadi M. Application of box-behnken design in the optimization of in situ surfactant-based solid phase extraction method for spectrophotometric determination of quinoline yellow in food and water samples[J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(5): 1123-1129.