

论著 • Article

解淀粉芽孢杆菌发酵体系产 IAA 电化学快速检测
及产 IAA 条件优化

曾相妹 卢雨 叶德梅 陈燕秀 谭周莹*

(贺州学院 食品与生物工程学院 广西 贺州 542899)

摘要 本研究围绕解淀粉芽孢杆菌发酵工艺优化、发酵液中吲哚乙酸 (IAA) 的电化学检测方法建立, 以及优化发酵液对辣椒幼苗的促生效果展开。发酵工艺从接种量、种龄和碳源种类及用量等方面进行优化, 确定的最佳条件为: 接种量 2%、种龄 4 h, 在基础 LB 培养基中添加葡萄糖 8 g/L, 其余条件保持不变 (温度 37°C、转速 180 r/min、pH 6.5)。采用电化学工作站差分脉冲伏安法对发酵液中的 IAA 进行定量检测, 结果显示, 后续盆栽试验所用的优化后稀释发酵液 (T1 组) 中 IAA 浓度为 43.8 mg/L, 显著高于优化前稀释发酵液 (T2 组) 的 6.5 mg/L。辣椒幼苗灌根试验设 T1 组 (浇灌优化后稀释发酵液)、T2 组 (浇灌优化前稀释发酵液) 和 CK 组 (浇灌蒸馏水), 处理 21 天后, 三组间株高和茎粗变化无显著差异, 但 T1 组根长 (9.70 cm) 显著大于 T2 组 (8.69 cm) 和 CK 组 (7.43 cm), 鲜重 (3.69 g) 亦高于 T2 组 (3.41 g) 和 CK 组 (2.32 g), 叶绿素增长量以 T1 组最高 (25.55 SPAD)。结果表明, 优化后的解淀粉芽孢杆菌发酵液能有效促进辣椒幼苗生根和提高叶绿素含量, 且所建立的差分脉冲伏安法可用于发酵液中 IAA 含量的检测。为解淀粉芽孢杆菌产 IAA 的动态监测与高效发酵提供了可行的技术路径, 并验证了其促生效果, 具有较好的农业应用推广价值。

关键词 发酵工艺优化; 吲哚乙酸 (IAA); 电化学检测; 差分脉冲伏安法

文章编号 019-2025-3461

Rapid Electrochemical Detection of IAA Produced by *Bacillus amyloliquefaciens*
Fermentation System and Optimization of IAA Production Conditions

Xiangmei Zeng, Yu Lu, Demei Ye, Yanxiu Chen, Zhouying Tan

(College of Food and Biotechnology, Hezhou University, Hezhou 542899, China)

Abstract This study focused on the optimization of the fermentation process of *Bacillus amyloliquefaciens*, the establishment of an electrochemical method for detecting indole-3-acetic acid (IAA) in the fermentation broth, and the growth-promoting effect of the optimized fermentation broth on pepper seedlings. The fermentation process was opti-

收稿日期: 2025-11-15 录用日期: 2025-12-27

通讯作者: 谭周莹, 单位: 贺州学院 食品与生物工程学院 广西 贺州

mized in terms of inoculum size, seed age, and carbon source type and concentration. The determined optimal conditions were as follows: inoculum size of 2%, seed age of 4 h, and the addition of glucose at 8 g/L to the basal LB medium, while other conditions remained unchanged (temperature 37 °C, rotation speed 180 r/min, pH 6.5). Differential pulse voltammetry with an electrochemical workstation was used for quantitative detection of IAA in the fermentation broth. The results showed that the IAA concentration in the optimized diluted fermentation broth used in the subsequent pot experiment (T1 group) was 43.8 mg/L, which was significantly higher than the 6.5 mg/L in the pre-optimization diluted fermentation broth (T2 group). In the pepper seedling root-drenching experiment, three groups were set up: T1 (irrigated with optimized diluted fermentation broth), T2 (irrigated with pre-optimization diluted fermentation broth), and CK (irrigated with distilled water). After 21 days of treatment, there were no significant differences in plant height and stem diameter changes among the three groups. However, the root length of the T1 group (9.70 cm) was significantly greater than that of the T2 (8.69 cm) and CK (7.43 cm) groups, and the fresh weight (3.69 g) was also higher than that of T2 (3.41 g) and CK (2.32 g). The chlorophyll increment was highest in the T1 group (25.55 SPAD). The results indicate that the optimized *Bacillus amyloliquefaciens* fermentation broth can effectively promote root growth and increase chlorophyll content in pepper seedlings, and the established differential pulse voltammetry method can be used for the detection of IAA content in the fermentation broth. This provides a feasible technical pathway for the dynamic monitoring and efficient fermentation of IAA production by *Bacillus amyloliquefaciens*, validates its growth-promoting effects, and demonstrates promising value for agricultural application and extension.

Keywords Fermentation process optimization; IAA; Electrochemical detection; Differential pulse voltammetry

1 引言

随着“健康中国 2030”战略的推进和农业绿色发展的需求,减少化学投入品、开发生物友好型制剂已成为共识。植物根际促生菌(PGPR)是生物肥料的核心载体,其分泌的吲哚-3-乙酸(IAA)能够与植物内源 IAA 协同,调控细胞分裂、根系发育及逆境响应,是发挥促生功能的关键分子^[1]。解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)因生长快、抗逆性强且高产 IAA 等活性物质,同时兼具固氮、溶磷、产嗜铁素和拮抗病原菌的能力,被视为 PGPR 的代表菌株^{[2][3]}。然而,其产业化仍面临瓶颈:传统发酵优化多聚焦于提高菌体密度,对 IAA 等功能代谢产物的高效合成关注不足,导致菌剂功效单一^[4];且 IAA 定量检测高度依赖高效液相色谱等大型仪器,前处理复杂、耗时长、成本高,难以满足发酵过程的实时监控需求。电化学生物传感方法可利用 IAA 氧化酶等对 IAA 的特异性识别,将化学信号转化为电

信号,已有研究表明玻碳电极上氧化峰电流与 IAA 浓度呈线性关系,但目前多停留在定性检测,尚未应用于复杂发酵液的定量分析^{[5][6][7]}。

为此,本研究从三方面开展工作:(1)以菌体密度(OD600)和 IAA 产量为双指标,通过单因素实验优化接种量、种龄及碳源等条件,寻找兼顾菌体生长和 IAA 积累的发酵配方^[8];(2)探索基于玻碳电极的差分脉冲伏安法,建立适用于发酵液的 IAA 电化学快速定量检测方法;(3)以辣椒盆栽实验验证优化前后发酵液对幼苗生长的影响^[9]。研究旨在实现“工艺优化—快速检测—功效验证”的完整闭环,重点解决复杂发酵基质中 IAA 快速定量检测的可行性、双指标导向的工艺筛选、以及构建从工艺参数到促生功效的证据链等关键问题。创新之处在于,以电化学快速检测方法为工具高效指导发酵工艺筛选,并将优化前后理化性质明确的发酵液进行平行盆栽验证,形成检测、工艺、应用三环节的有机串联,为解淀粉芽孢杆菌菌

表 1 实验所用试剂及生产厂家

试剂	级别	生产厂家
LB 肉汤	BR	天津市众联化学试剂有限公司
葡萄糖	AR	天津市致远化学试剂有限公司
可溶性淀粉	AR	天津市华盛化学试剂有限公司
蔗糖	AR	天津市华盛化学试剂有限公司
琼脂粉	BR	北京索莱宝科技有限公司
无水乙醇	AR	天津市致远化学试剂有限公司
磷酸氢二钠	AR	天津市致远化学试剂有限公司
磷酸二氢钠	AR	天津市华盛化学试剂有限公司
氢氧化钠	AR	天津市华盛化学试剂有限公司
氯化氢	AR	天津市华盛化学试剂有限公司
氯化钾	AR	天津市华盛化学试剂有限公司

剂的开发提供一条兼顾效率与实用性的新路径。

2.1.3 实验试剂

本实验所用试剂及生产厂家如表 1 所示。

2 材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 实验菌株

解淀粉芽孢杆菌标准菌株，购自武汉科诺生物科技股份有限公司。

2.1.2 实验样品

IAA 标准品：3- 吲哚乙酸（IAA），购自罗恩生化科技（上海）有限公司。

2.1.4 电极

玻碳电极（工作电极）、Ag/AgCl 电极（参比电极）、铂丝电极（对电极）均来自天津艾达恒晟科技发展有限公司。

2.1.5 实验器材

本实验所用仪器及生产厂家如表 2 所示。

2.2 实验方法

2.2.1 发酵工艺的优化

在发酵条件进行优化前，需测量解淀粉芽

表 2 实验所用仪器及生产厂家

仪器	型号	公司
上海辰华 CHI660E 电化学工作站	CHI660E	上海辰华有限公司
振荡培养箱	ZQZY-VC	上海知楚仪器
立式高压灭菌锅	LDZX-50KBS	上海申安医疗器械厂
超净工作台	SW-CJ-2D	广州齐翔生物科技有限公司
低速离心机	SPT/MGLD5-2B	湖南可成仪器设备有限公司
植株养分速测仪	LD-YD	山东海卓尔光电科技有限公司
紫外分光光度计	UV2600	上海佑科仪器仪表有限公司
游标卡尺	500-153-30	三丰精密量仪（上海）有限公司
移液枪	TopPette	上海尔武实业有限公司
氯化氢	AR	天津市华盛化学试剂有限公司
氯化钾	AR	天津市华盛化学试剂有限公司

孢杆菌液体发酵的生长曲线。

取 16 支 18 mL 试管, 编号分别为 0、1、2、3、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 h、空白, 试管塞封口高温灭菌备用^[10]。挑取活化于 LB 固体培养基中的解淀粉芽孢杆菌单菌落于高温灭菌的 LB 液体培养基 (50 mL/250 mL 三角瓶, pH 6.5, 种子液下同) 作为种子液, 37°C、180 r/min 振荡培养 10 h, 以 2% 接种量接种至 100 mL LB 液体培养基 (100 mL/500 mL 三角瓶, pH 6.5, 下同) 中, 37°C、180 r/min 振荡培养 24 h, 按照试管编号时间间隔准时取样检测 OD₆₀₀ 值, 记录数据, 每组试验重复三次, 取平均值。

2.2.1.1 接种量的优化

将种子液分别按 1%、2%、3%、4%、5% 的接种量接种至 LB 液体培养基中, 37°C、180 r/min 振荡培养 10 h, 测 OD₆₀₀ 值, 每组试验重复三次, 取平均值^[11]。

2.2.1.2 种龄的优化

挑取活化于 LB 固体培养基中的解淀粉芽孢杆菌单菌落于高温灭菌的 LB 液体培养基作为种子液, 37°C、180 r/min 分别振荡培养 2 h、4 h、6 h、8 h, 以 2% 接种量接种至 100 mL LB 液体培养基中, 37°C、180 r/min 振荡培养 10 h (培养条件下同), 测 OD₆₀₀ 值, 每组试验重复三次, 取平均值。

2.2.1.3 碳源的种类优化

在基础 LB 培养基的基础上, 分别加入葡萄糖 10 g/L、可溶性淀粉 10 g/L、蔗糖 10 g/L, 以初始 LB 液体培养基为对照, 分别比较这三种碳源对解淀粉芽孢杆菌液体发酵 OD₆₀₀ 值的影响, 每组试验重复三次, 取平均值。

2.2.1.4 碳源用量的优化

第一组: 分别配制含有 2、4、6、8、10 g/L 葡萄糖的 LB 液体培养基, 以 2% 接种量

接入种龄 4 h 的种子液, 以同样的发酵条件进行发酵培养, 以初始 LB 培养基为对照, 测 OD₆₀₀ 值, 每组试验重复三次, 取平均值。

第二组: 分别配制含有 2、4、6、8、10 g/L 可溶性淀粉的 LB 液体培养基, 以 2% 接种量接入种龄 4 h 的种子液, 以同样的发酵条件进行发酵培养, 以初始 LB 培养基为对照, 测 OD₆₀₀ 值, 每组试验重复三次, 取平均值。

2.2.2 用电化学法对发酵液中 IAA 进行定量检测

2.2.2.1 建立 IAA 含量标准曲线

(1) 准备电解池: 取一个干净的 50 mL 小烧杯, 用量筒加入 50 mL 的 0.1 mM PBS 作为电解池。

(2) 安装电极: 将玻碳电极、Ag/AgCl 电极和铂丝电极浸入 PBS 溶液中, 并连接到电化学工作站。

(3) 运行空白扫描: 设置好 DPV (差分脉冲伏安法) 参数, 扫描范围 +0.2 V 到 +0.7 V, 脉冲振幅 50 mV。运行一次扫描, 记录空白 PBS 的基线曲线。这条曲线应该比较平坦, 没有明显的氧化还原峰。

(4) 第一次加入标准品: 用移液枪精确吸取 10 μL 的 1 mM IAA 标准品储备液, 加入到电解池中, 用移液枪反复吹打混匀溶液。

(5) 运行 DPV 扫描: 待溶液静止 10 秒后, 开始 DPV 扫描, 此时可在约 +0.5 V 处看到一个明显的氧化峰。

(6) 记录数据: 在数据表格中记录累计加入的 IAA 体积、峰电流值 (I_p)、计算当前浓度。

(7) 重复添加: 重复步骤, 依次加入 20, 30, 50, 80, 120 μL 的 IAA 储备液。每次加入后, 都要混匀、扫描并记录数据, 所有浓度需重复三次检测, 取平均值。

计算浓度方法:

每次加入后, 电解池中 IAA 的累计浓度可以用以下公式计算:

$$C_n = (C_{\text{stock}} \times V_{\text{added}}) / V_{\text{solution}} \quad (1)$$

式中

C_n —— 第 n 次加入后, 电解池中的 IAA 浓度 (单位 M 或 mol/L)

C_{stock} —— IAA 储备液浓度 (此处为 1 mM=1×10⁻³M)

V_{added} —— 累计加入的 IAA 储备液体积 (单位: L。注意: 10 μL=10×10⁻⁶ L=1×10⁻⁵ L)

V_{solution} —— 电解池中 PBS 的体积 (此处为 0.050 L)

(8) 完整步骤: 根据实验方案, 将得到浓度点: 0.2, 0.6, 1.2, 2.2, 3.8, 6.8 μM, 这个范围覆盖了微生物发酵液中 IAA 的常见浓度。且因玻碳电极原因, 浓度过高将对工作电极造成污染, 影响测量数值, 所以后续浓度过高的待测液将通过稀释步骤让 IAA 浓度范围在 IAA 标准曲线内。IAA 的标准曲线数据如表 3 所示。

以浓度 (μM) 为 X 轴, 以峰电流 (μA)

为 Y 轴, 绘制散点图得到 IAA 标准曲线, 如图 1 所示。

因为 1.2、2.2 μM 两个浓度点偏离拟合线较远, 可能受操作误差影响, 导致拟合曲线的 $R^2=0.948$, 线性较不好, 所以选择剔除这两个浓度点的数据。剔除后重新对散点数据进行线性回归分析, 得到拟合的直线方程公式:

$$Y = (1 \times 10^{-7})X - (2 \times 10^{-6}) \quad (2)$$

$R^2=0.9907$ ($R > 0.98$, 线性关系比较好, 说明测量结果较可靠)。

则推断发酵液中 IAA 浓度可由公式 (2)

表 3 IAA 标准曲线测定结果

累计加入体积 (uL)	浓度 (uM)	峰电流 (A)
0	0.0	-0.00000215
10	0.2	-0.00000213
30	0.6	-0.00000201
60	1.2	-0.00000185
110	2.2	-0.00000173
190	3.8	-0.00000164
310	6.2	-0.00000139

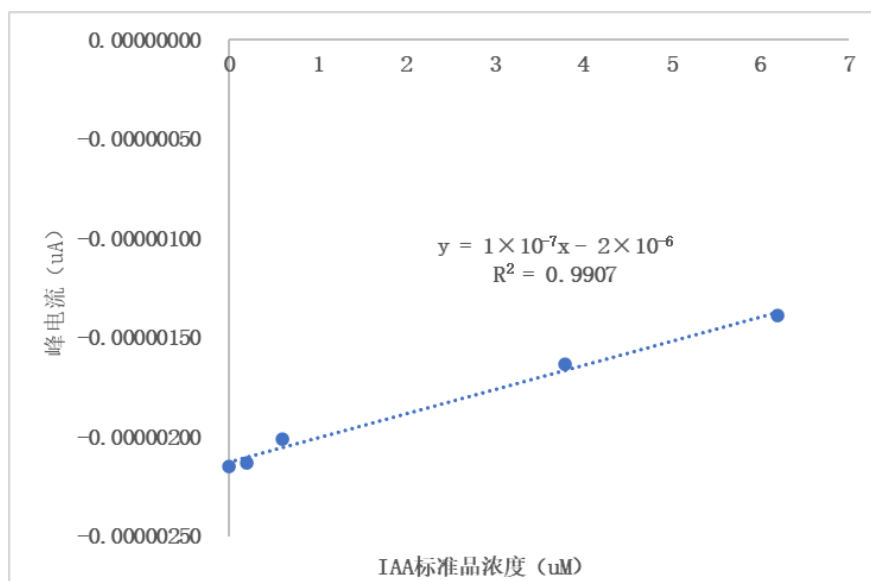


图 1 IAA 浓度与峰电流的线性关系标准曲线

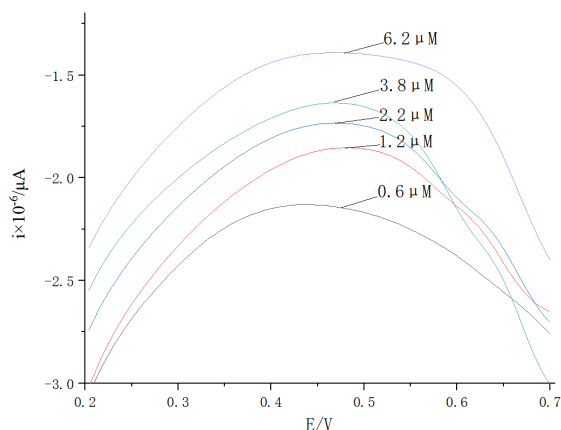


图2 不同 IAA 浓度下的差分脉冲伏安 (DPV) 响应曲线

计算, 即

$$X = (Y + 2 \times 10^{-6}) / (1 \times 10^{-7}) \quad (3)$$

式中

X——IAA 浓度 (单位: μM);

Y——峰电流 (单位: A)。

使用差分脉冲伏安法 (DPV) 检测的各浓度点峰值图如图 2 所示。

关键注意事项

清洁: 每次更换溶液或测试不同样品时, 务必用蒸馏水超声清洗电极 (10-30 秒);

稳定性: 确保整个测试过程中, 电极性能和 DPV 参数保持稳定;

复孔: 每个浓度点做 2-3 个复孔, 取平均值, 提高数据的可信度。

2.2.2.2 检测发酵液中 IAA 含量

取待测发酵液在离心管中, 转速 4200 r/min 离心 30 min。离心结束后, 取出上清液。检测发酵液中 IAA 含量步骤与检测 IAA 标准曲线时一样, 取 10 μL 上清液加入准备好的电解池中, 混匀静置后运行 DPV 扫描, 判断峰电流是否在标准曲线范围内, 若小于标准曲线最低值, 则添加上清液体积 (如再加 20 μL), 重新运行 DPV 扫描, 直至检测出峰电流在标

准曲线范围内, 后续计算再除取相应的体积倍数即可; 若超出标准曲线最高值, 则使用 PBS 溶液稀释至扫描的峰电流在曲线范围内记录稀释倍数, 每次重新稀释的上清液测量时应重新更换电解池中的 PBS。所有数值重复检测三次, 取平均值。

2.2.2.3 确定 IAA 含量计算公式

IAA 摩尔质量: 175.18 g/mol

稀释液中 IAA 浓度 (μM) 由公式 (1) 计算。此时可计算原始发酵液中菌液 IAA 浓度 (以下简称原始浓度)。

即

$$\text{原始浓度} = \text{稀释液中 IAA 浓度} (\mu\text{M}) \times \text{稀释倍数} \quad (4)$$

$$\text{IAA 质量浓度} = \text{原始浓度} (\text{mol/L}) \times \text{IAA 摩尔质量} \quad (5)$$

2.2.3 发酵液对辣椒幼苗生长影响研究

步骤 1: 试验设计

准备 30 株生长了一个月的辣椒幼苗, 选择大小相同、健康的幼苗。设置三个处理组, 每组 10 株辣椒幼苗^[12]。

T1 组 (优化发酵液组): 浇灌经优化工艺制备的解淀粉芽孢杆菌发酵液 (适当稀释后的)。

T2 组 (未优化发酵液组): 浇灌未经优化的基础培养基发酵液作为对照。

CK 组 (空白对照组): 浇灌等量蒸馏水。

步骤 2: 发酵液稀释处理

制备基础 LB 培养基以及含有 8 g/L 葡萄糖的基础 LB 培养基, 均使用优化后的条件: 种子液种龄 4 h、接种量 2%, 温度 37°C, 摇床转速 180 r/min, 培养 10 h。

发酵液用紫外分光光度计测量 OD_{600} 值, 发酵液离心后取上清液用电化学工作站测量 IAA 含量。测得基础 LB 培养基组 (后简称为优化前) OD_{600} 为 1.51, IAA 浓度为 0.0065

mg/mL; 含有葡萄糖 8 g/L 的基础 LB 培养基组 (后简称为优化后) 的 OD_{600} 为 2.12, IAA 浓度为 0.0438 mg/mL。

根据查找文献, 多数研究中辣椒生长调节的 IAA 浓度上限在 0.1-2 mg/L 之间^[13]。而优化前发酵液中 IAA 浓度为 6.5 mg/L, 优化后发酵液中 IAA 浓度为 43.8 mg/L。虽然用于灌根的直接研究较少, 但直接使用该浓度风险较高。且本文不只是研究解淀粉芽孢杆菌发酵液中 IAA 浓度对辣椒生长的影响, 同时研究菌体密度对辣椒生长是否有一定影响, 所以决定将两组发酵液稀释至 IAA 浓度处于同一水平。

优化前发酵液加入蒸馏水稀释 10 倍, 此时稀释液中 IAA 浓度为 0.65 mg/L; 优化后发酵液加入蒸馏水稀释 50 倍, 此时稀释液中 IAA 浓度为 0.88 mg/L。

取 90 mL 优化前发酵液, 加入 810 mL 蒸馏水, 达到稀释 10 倍的目的, 此时稀释发酵液中 IAA 浓度为 0.65 mg/L; 取 90 mL 优化后发酵液加入 810 mL 蒸馏水稀释 10 倍后, 再取 200 mL 10 倍稀释液加入 800 mL 蒸馏水稀释 5 倍, 一共稀释 50 倍, 此时稀释液中 IAA 含量为 0.88 mg/L。将稀释液装入玻璃瓶中密封避光在 4℃ 冰箱中保存, 每周取出对辣椒苗进行灌根处理, 每株辣椒苗浇灌 30 mL 稀释液。将发酵液分装够两次浇灌的用量 (一瓶 300 mL, 每株幼苗浇灌 30 mL 可保证灌根彻底)。

步骤 3: 施用方法

在辣椒幼苗有 3-4 片真叶时开始处理, 每隔 7 天进行一次灌根处理, 共处理 3 次。第一次直接浇灌, 第二、三次取出冰箱中的稀释液放置到室温后再进行浇灌。所有组别除处理液不同外, 水分和养分管理完全一致。

步骤 4: 生长指标测定

在最后一次处理后 7 天, 进行各项指标

检测。

(1) 形态指标

株高: 用直尺测量从基质表面到生长点的高度^[14]。

茎粗: 用游标卡尺测量叶节下方的茎秆直径。

根系形态: 小心挖出根系, 冲洗干净后分析根长^[15]。

(2) 生物量指标

直接测量整株植株的鲜重, 记录数值^[16]。

(3) 生理指标

叶绿素含量: 使用植株养分速测仪测定同一位置功能叶片的叶绿素含量。

3 结果与分析

解淀粉芽孢杆菌生长曲线如图 3。根据图中可看出 10 h 时 OD_{600} 值是 1.95, 为最高, 再往后 OD_{600} 值开始降低, 因此后续实验均取培养 10 h 的发酵液来测量数据。

3.1 解淀粉芽孢杆菌发酵条件的优化

3.1.1 接种量对解淀粉芽孢杆菌液体发酵生长的影响

不同接种量对解淀粉芽孢杆菌菌体密度生长数据见表 4。接种量的多少对发酵菌体密度产生显著影响。种龄时间过长, 后续发酵液中

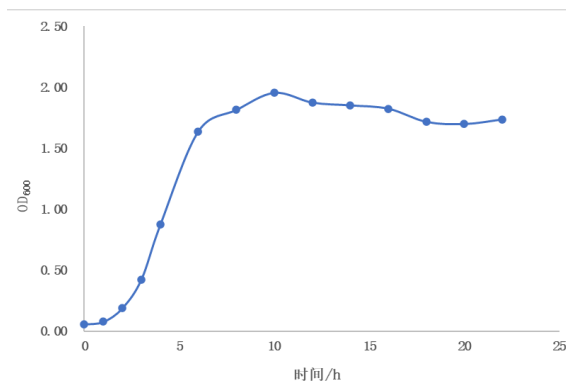
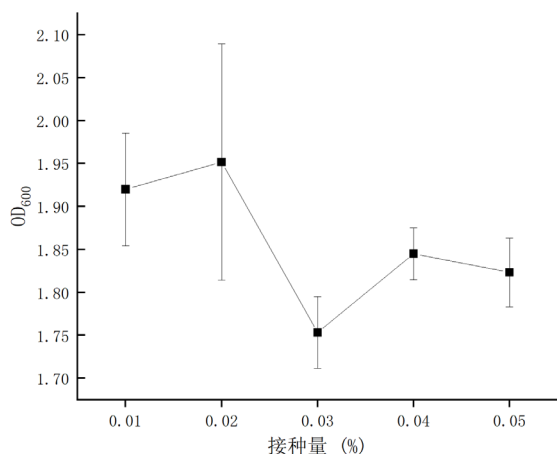
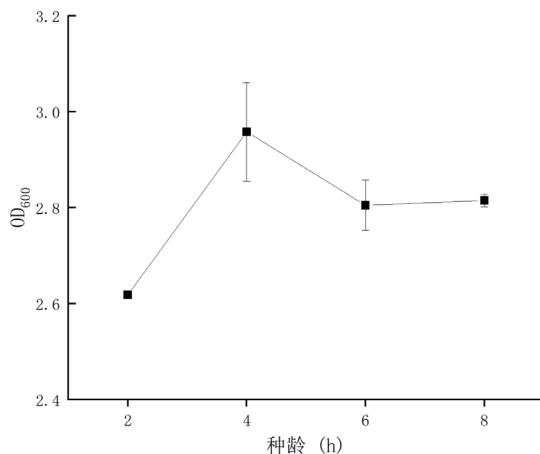


图 3 解淀粉芽孢杆菌在 LB 培养基中的生长曲线

表 4 不同接种量对解淀粉芽孢杆菌发酵液 OD₆₀₀ 值的影响

接种量 /%	1%	2%	3%	4%	5%
OD ₆₀₀	1.92±0.06	1.95±0.14	1.76±0.04	1.85±0.03	1.83±0.04

注：表中数据呈现为平均值 ± 标准差。

图 4 不同接种量对解淀粉芽孢杆菌 OD₆₀₀ 值的影响图 5 不同种龄对解淀粉芽孢杆菌 OD₆₀₀ 值的影响

菌体生长过于迅速，使细菌菌体发生自溶、变异等现象，开始抑制菌体的生长速度。

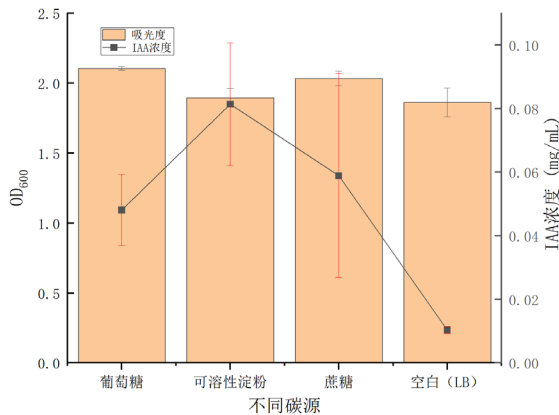
接种量为 2% 时，OD₆₀₀ 值为 1.95，是最高值，如图 4 所示。处理数据组间呈边缘显著， $p=0.052>0.05$ ，所以实验中应适当增加实验的组数。

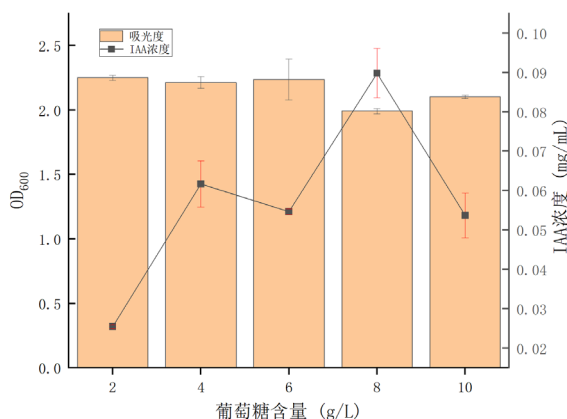
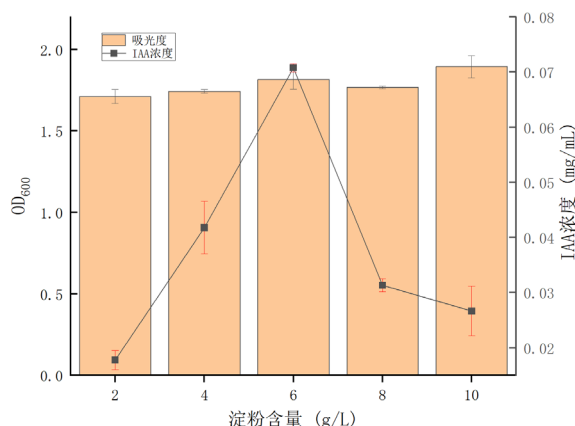
3.1.2 种龄对解淀粉芽孢杆菌液体发酵生长的影响

接种不同种龄的种子液对解淀粉芽孢杆菌菌体密度生长影响如图 5 所示。实验结果显示，种龄为 4 h 接种的发酵液菌体密度最高，OD₆₀₀ 为 2.96， $p<0.01$ 。种子液的种龄为 2 h 时，OD₆₀₀ 值较低，所以不选择 2 h 种龄，而 6 h 种龄和 8 h 种龄接种的种子液 OD₆₀₀ 值开始降低，因此选择 4 h 种龄为优化后的条件，后续实验均使用培养 4 h 种龄的种子液来接种。

3.1.3 不同碳源对解淀粉芽孢杆菌液体发酵生长的影响

基础 LB 培养基中添加三种糖类对解淀粉芽孢杆菌发酵液的菌体密度影响如图 6 所示。当 LB 培养基中额外各自添加 10 g/L 葡萄糖、可溶性淀粉、蔗糖时，发酵液中的菌体浓

图 6 不同碳源对解淀粉芽孢杆菌 OD₆₀₀ 值及 IAA 产量的影响

图 7 不同葡萄糖添加量对 OD₆₀₀ 值及 IAA 产量的影响图 8 不同可溶性淀粉添加量对 OD₆₀₀ 值及 IAA 产量的影响

度与 IAA 浓度均比空白组（基础 LB 培养基未添加糖类）高。但是在添加同等含量的糖类浓度下，添加葡萄糖的 LB 培养基培养的解淀粉芽孢杆菌发酵液 OD₆₀₀ 为 2.1025，是同组数据中最高值，产 IAA 浓度为 0.04835 mg/mL；添加可溶性淀粉的 LB 培养基培养的解淀粉芽孢杆菌发酵液 OD₆₀₀ 为 1.8925，产 IAA 浓度为 0.0805 mg/mL，是同组实验中的最高值。OD₆₀₀ 值具有极显著差异， $p < 0.01$ ；产 IAA 浓度具有显著性差异， $p < 0.05$ 。因此对葡萄糖以及可溶性淀粉均进行了不同含量的实验。最终选出葡萄糖为本实验优化后的最优碳源。

3.1.4 不同碳源含量对解淀粉芽孢杆菌液体发酵生长的影响

在葡萄糖与可溶性淀粉的两组不同浓度数据对比中，葡萄糖 8 g/L 时，OD₆₀₀ 为 1.99，产 IAA 浓度为 0.08975 mg/mL 为同组数值中最高，如图 7 所示；可溶性淀粉 6 g/L 时，OD₆₀₀ 为 1.815，产 IAA 浓度为 0.07075 mg/mL 为同组数值中最高，如图 8 所示。在基础 LB 培养基中，添加葡萄糖与添加可溶性淀粉对解淀粉芽孢杆菌发酵液的 OD₆₀₀ 值变化有极显著差异， $p < 0.01$ 。添加葡萄糖与可溶性

淀粉的解淀粉芽孢杆菌发酵液与基础 LB 培养基的解淀粉芽孢杆菌发酵液相比，添加葡萄糖与添加可溶性淀粉的发酵液中产 IAA 浓度较高，均具有极显著差异， $p < 0.01$ 。但是明显看出可溶性淀粉组的数值明显没有葡萄糖组的数值优异，且可溶性淀粉在培养基中的溶解性并不是特别好，数值没有葡萄糖组的数值稳定，所以选择在基础 LB 培养基中添加 8 g/L 葡萄糖为本实验优化后的最优碳源含量。

3.2 电化学法检测解淀粉芽孢杆菌发酵液中 IAA 含量的可行性

根据多组数值的测量，数据的可重现性很高，所以基本可以确定用差分脉冲伏安法可以检测解淀粉芽孢杆菌中的 IAA 浓度。通过使用不同 IAA 浓度发酵液对辣椒幼苗进行灌根后观察植株生长情况也可验证此方法检测 IAA 浓度数值的准确度和可行性。

3.3 解淀粉芽孢杆菌发酵液对辣椒幼苗生长的影响

3.3.1 株高

给辣椒幼苗浇灌优化前和优化后的解淀粉芽孢杆菌发酵液处理 21 天后，辣椒苗的长势如图 9、图 10 所示。虽然株高数据未能反映优



图 9 灌根处理前辣椒幼苗生长状态



图 10 灌根处理 21 天后辣椒幼苗生长状态对比

表 5 不同处理对辣椒幼苗茎粗的影响

实验组	CK 组 (mm)	T2 组 (mm)	T1 组 (mm)
灌根前	2.84±0.42	2.95±0.28	3.09±0.22
灌根后	2.73±0.30	3.05±0.33	3.10±0.25
增长量	-0.11±0.29	0.10±0.25	0.01±0.23

注：表中数据呈现为平均值 ± 标准差， $p>0.05$ 。

化后发酵液对辣椒苗的株高有明显促进作用，但根据图片可以看出，用解淀粉芽孢杆菌灌根后的辣椒苗长势更好，比 CK 组的植株粗壮，且浇灌优化后发酵液的 T1 组辣椒苗长势优于 T2 组辣椒苗。

3.3.2 茎粗

后续数据均使用 SPSS 软件对数据进行单因素方差分析。方差分析表明，三组不同处理对辣椒苗的茎粗增长无显著影响。部分辣椒苗的茎粗出现负增长，可能与测量误差或个体差异有关。数据如表 5 所示。

3.3.3 根长

如表 6 和图 11 所示，辣椒苗的平均根长长度排序为 T1 组 > T2 组 > CK 组，浇灌蒸馏水与浇灌解淀粉芽孢杆菌发酵液处理对促进辣椒苗根部的伸长影响极显著差异， $p < 0.01$ ，且优化后的发酵液对辣椒苗根长促进效果显著优于优化前发酵液。

只浇灌蒸馏水的 CK 组辣椒苗的根长很短，

表 6 不同处理对辣椒幼苗根长的影响

实验组	CK 组 (cm)	T2 组 (cm)	T1 组 (cm)
1	7.80	7.80	9.80
2	6.60	9.20	9.60
3	7.20	8.30	10.10
4	7.10	9.40	9.80
5	8.00	8.00	10.30
6	7.10	6.20	10.20
7	7.40	8.80	7.80
8	8.80	9.10	10.50
9	6.10	9.50	9.10
10	8.20	10.60	9.80
平均值	7.43±0.79 ^a	8.69±1.20 ^b	9.70±0.78 ^a

注：表中数据呈现为平均值 ± 标准差，不同小写字母表示组间差异显著， $p<0.05$ 。



图 11 不同处理对辣椒幼苗根长的影响

且根须稀疏，吸收养分不足，植株生长情况明显比 T2 组和 T1 组的辣椒苗差。用优化前解淀粉芽孢杆菌发酵液灌根的 T2 组辣椒苗的根茎没有用优化后解淀粉芽孢杆菌发酵液灌根的 T1 组的根茎长，T1 组的辣椒苗根茎最长且根系浓密，植株长势最好，所以优化后的解淀粉芽孢杆菌发酵液对辣椒苗根长促进作用明显，

3.3.4 植株鲜重

如表 7 所示，与 CK 组相比，T1 和 T2 组的幼苗鲜重均显著提高， $p<0.05$ 。所以解淀粉芽孢杆菌发酵液对辣椒苗有促生长作用，但 T1 组与 T2 组之间无显著差异。

表 7 不同处理对辣椒幼苗鲜重的影响

实验组	CK 组 (g)	T2 组 (g)	T1 组 (g)
1	2.59	3.13	3.29
2	2.02	3.94	4.06
3	2.99	2.56	3.74
4	2.14	3.20	3.69
5	2.93	3.81	4.29
6	2.51	3.33	3.80
7	1.87	3.43	3.30
8	2.03	3.53	3.46
9	1.50	3.35	2.89
10	2.65	3.79	4.42
平均值	2.32±0.49 ^b	3.41±0.40 ^a	3.69±0.48 ^a

注：表中数据呈现为平均值 ± 标准差，不同小写字母表示组间差异显著， $p < 0.05$ 。

表 8 不同处理对辣椒幼苗叶绿素相对含量 (SPAD) 的影响

实验组	CK 组 (SPAD)	T2 组 (SPAD)	T1 组 (SPAD)
灌根前	1.18±0.75	1.23±1.17	0.70±0.43
灌根后	25.54±1.18	26.18±0.85	26.24±0.79
增长量	24.36±0.82 ^a	24.95±0.90 ^a	25.55±0.79 ^a

注：表中数据呈现为平均值加标准差，不同小写字母表示组间差异显著， $p > 0.05$ 。

3.3.5 叶绿素值

如表 8 所示，使用解淀粉芽孢杆菌发酵液灌根处理 21 天后，叶绿素值的平均增长量 T1 组 > T2 组 > CK 组，用蒸馏水与解淀粉芽孢杆菌发酵液对辣椒苗进行灌根处理后的叶绿素增长有显著性差异， $p < 0.05$ 。但方差分析表明，用优化前发酵液与优化后发酵液灌根对辣椒苗叶绿素增长无显著影响。

4 结论

本研究通过单因素实验确定了适合解淀粉芽孢杆菌液体发酵的优化条件：在基础 LB 培养基中添加葡萄糖 8 g/L，接种种龄 4 h 的种子

液，接种量 2%，于 37℃、180 r/min 摇床培养 10 h。在此条件下，发酵液的菌体密度和 IAA 产量均明显提高，基本实现了兼顾菌体生长与 IAA 积累的双指标优化目标。采用差分脉冲伏安法建立了 IAA 标准曲线，线性方程为 $Y = (1 \times 10^{-7}) X - (2 \times 10^{-6})$ ， $R^2 = 0.9907$ ，线性关系良好，可用于快速、实时检测发酵液中的 IAA 浓度，简化了检测流程，节省了时间，便于及时调整发酵方案。辣椒幼苗灌根试验结果显示，三组间株高和茎粗差异不大，表明该发酵液对株高和茎粗无显著促进作用。在促生根方面，T1 组根系最发达，平均根长达 9.70 cm，显著高于 T2 组和 CK 组；鲜重方面，T1 组平均鲜重最高，为 3.69 g；叶绿素增长量方面，T1 组平均增长量为 25.55 SPAD，亦优于 T2 组和 CK 组。表明优化后的发酵液能有效促进辣椒幼苗根系发育、提高鲜重并增加叶绿素含量，促生效果明显优于优化前发酵液。同时，盆栽实验验证了基于差分脉冲伏安法建立的 IAA 标准曲线可用于发酵液中 IAA 浓度的定量计算，电化学法检测结果可靠，能够用于复杂发酵液体系中 IAA 含量的测定。

利益冲突声明：本文不存在任何利益冲突。

参考文献

- [1] 李艳, 王琦, 陈文峰. 植物根际促生菌的研究进展与应用前景 [J]. 微生物学报, 2018, 58 (6): 945-960.
- [2] 陈立杰, 王旭, 姜昕. 芽孢杆菌属植物促生菌的研究进展 [J]. 中国农业科学, 2021, 54 (10): 2103-2116.
- [3] 李娅娣, 王瀚祥, 胡柏耿, 等. 植物根际促生菌缓解园艺作物非生物胁迫研究进展 [J]. 园艺学报, 2024, 51 (08): 1964-1976.
- [4] 陆景倩, 郎剑锋, 杨秋侠, 等. 解淀粉芽孢杆菌对植物土传病害的作用机制 [J]. 湖北农业科学, 2021,

- 60 (12): 5-10.
- [5] 王慧, 李建科, 赵艳霞. 玻碳电极修饰技术在环境污染物检测中的应用 [J]. 分析测试学报, 2020, 39 (5): 667-676.
- [6] 蔡迪. 拟南芥不定根再生过程中生长素及其相关代谢物水平的实时检测与应用研究 [D]. 上海师范大学, 2020.
- [7] 李春香, 李劲, 萧浪涛, 等. 植物激素吲哚乙酸电化学生物传感器的研究 [J]. 分析科学学报, 2003 (03): 205-208.
- [8] Zhu YF, Huang XY, Ma Z, et al. Improvement of neutral protease activity of *Bacillus amyloliquefaciens* LX-6 by combined ribosome engineering and medium optimization and its application in soybean meal fermentation. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 2025, 26: 805-812.
- [9] 刘振宇, 张丽娜, 孙晓红. 差分脉冲伏安法检测发酵液中吲哚-3-乙酸的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2019, 45 (12): 215-220.
- [10] 徐梦霞. 一株解淀粉芽孢杆菌及抑菌活性产物的分离与鉴定 [D]. 江西农业大学, 2025.
- [11] 兰宝锋. 益生解淀粉芽孢杆菌的筛选及其抑菌产物特性的研究 [D]. 广西大学, 2022.
- [12] Okoroafor Precious Uchenna et al. Field Studies on the Effect of Bioaugmentation with *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 on Plant Accumulation of Rare Earth Elements and Selected Trace Elements [J]. *Minerals*, 2022, 12(4): 409-409.
- [13] 魏雪梅. 辣椒水培扦插繁殖技术研究 [D]. 西北农林科技大学, 2019.
- [14] 王楠, 廖永琴, 申云鑫, 等. 酸模根际解淀粉芽孢杆菌 SH-53 发酵条件优化及其生防作用 [J]. 植物保护学报, 2024 (04): 817-829.
- [15] 赵岩. 解淀粉芽孢杆菌 YP4 对辣椒疫病的生防效应及根际微生态调控研究 [D]. 山西农业大学, 2023.
- [16] A. Mary Sharmila et al. Endophytic and antagonistic *Bacillus amyloliquefaciens* 8SE-IF1-derived nanoparticles encumber phytopathogenic oomycetes, fungi, bacteria, and viruses with enhanced growth in tomato seedlings [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2025, 16: 1612335-1612335.