

强酸环境下产胞外多糖菌株筛选及其酸土改良效应

郭蕊婷, 马征, 邓昊, 李振轮*, 杨璐瑶

西南大学 资源环境学院, 重庆市界面过程与土壤健康重点实验室, 重庆

郭蕊婷, 马征, 邓昊, 李振轮, 杨璐瑶. 强酸环境下产胞外多糖菌株筛选及其酸土改良效应[J]. 微生物学报, 2026, 66(4): 1691-1703.

GUO Ruiting, MA Zheng, DENG Hao, LI Zhenlun, YANG Luyao. Screening of exopolysaccharide-producing strains in a strongly acidic environment and evaluation of their amelioration effects on acidic soils[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(4): 1691-1703.

摘要: 【目的】为改善强酸性土壤结构不良、肥力衰退等问题, 分离具有耐酸产胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)特性的多种微生物, 构建复合菌剂, 并评估其对酸性土壤结构与综合肥力的改良效应。【方法】从重庆南川、云南曲靖的强酸性土壤(pH<4.5)中经初筛、复筛获得目标菌株, 鉴定其拮抗性、促生性等并构建复合菌剂; 采用室内土培实验探究不同菌剂处理的强酸性土壤中养分含量及团聚体组成的变化, 综合评价肥力改良效果, 明确团聚体形成与EPS含量的相关关系。【结果】筛选获得3株具有耐酸、产EPS特性的菌株: 副伯克霍尔德菌(*Paraburkholderia fungorum*) C3、洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*) A13以及小囊担子菌(*Cystobasidium minutum*) B14。这些菌株兼具分泌吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、合成铁载体以及溶磷能力。进一步将它们单独或构建成复合菌剂分别施入土壤, 发现复合菌剂对土壤养分提升效果最佳, 有机质、碱解氮、有效磷、速效钾含量分别提升4.51%、13.92%、4.92%、3.71%。施用各菌剂均可有效促进大团聚体形成, 其中单一菌剂C3的促团作用最显著, 土壤平均质量直径(mean weight diameter, MWD)提升19.39%; 经复合菌剂处理后的土壤肥力综合指数(integrated fertility index, IFI)达0.61, 综合改良效果最佳; 单一菌剂C3与复合菌剂分别使土壤EPS含量显著提高53.17%、35.79%。相关性分析结果表明, 土壤EPS含量与大团聚体含量、MWD呈显著正相关, 其可显著促进土壤大团聚体形成并增强其稳定性。【结论】本研究筛选出的由3株耐酸产EPS微生物组成的复合菌剂可有效改良土壤结构, 提升土壤综合肥力, 为改良酸性土壤的生物制剂研发奠定了必要的理论基础。

关键词: 强酸性土壤; 耐酸产EPS微生物; 土壤结构; 土壤综合肥力

资助项目: 农业科技重大项目

This work was supported by the Agricultural Science and Technology Major Project.

*Corresponding author. E-mail: lizhlun4740@sina.com

Received: 2025-11-01; Accepted: 2025-11-25; Published online: 2025-12-19

Screening of exopolysaccharide-producing strains in a strongly acidic environment and evaluation of their amelioration effects on acidic soils

GUO Ruiting, MA Zheng, DENG Hao, LI Zhenlun*, YANG Luyao

Chongqing Key Laboratory of Interface Process and Soil Health, College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing, China

Abstract: [Objective] To address problems such as the poor structure and fertility degradation in strongly acidic soils, we isolated acid-tolerant exopolysaccharide (EPS) -producing microorganisms, constructed a composite microbial inoculant, and evaluated its improvement effects on the structure and comprehensive fertility of acidic soils. [Methods] Target strains were obtained through primary and secondary screening from strongly acidic soils (pH<4.5) in Nanchuan, Chongqing and Qujing, Yunnan. After their antagonistic activity and plant growth-promoting traits were assessed, a composite microbial inoculant was constructed. A laboratory soil culture experiment was conducted to investigate changes in nutrient contents and aggregate composition in strongly acidic soils treated with different inoculants, comprehensively evaluate the fertility-improving effects of the inoculants, and clarify the correlation between aggregate formation and EPS content. [Results] Three strains—*Paraburkholderia fungorum* C3, *Burkholderia cepacia* A13, and *Cystobasidium minutum* B14—with acid tolerance and high EPS-producing capabilities were successfully isolated and screened out. All the strains exhibited the capabilities of secreting indole-3-acetic acid (IAA), synthesizing siderophores, and solubilizing phosphorus. When these strains were applied individually or as a composite inoculant to soils, the composite inoculant showed the best effect of improving soil nutrients, increasing the content of soil organic matter, alkaline-hydrolyzable nitrogen, available phosphorus, and available potassium by 4.51%, 13.92%, 4.92%, and 3.71%, respectively. Application of all the inoculants effectively promoted the formation of soil macro-aggregates, among which the single-strain inoculant C3 had the most significant effect in promoting aggregate formation, increasing the soil mean weight diameter (MWD) by 19.39%. The integrated fertility index of the soil treated with the composite inoculant reached 0.61, indicating the optimal comprehensive improvement effect. The single-strain inoculant C3 and the composite inoculant significantly increased the soil EPS content by 53.17% and 35.79%, respectively. Correlation analysis results showed that soil EPS had significantly positive correlations with macro-aggregate content and MWD, significantly promoting the formation and enhancing the stability of soil macro-aggregates. [Conclusion] The composite inoculant composed of the three acid-tolerant EPS-producing strains screened in this study effectively improved the soil structure and enhanced the integrated soil fertility. These findings lay a theoretical foundation for the development of biological agents for acidic soil remediation.

Keywords: strongly acidic soil; acid-tolerant EPS-producing microorganism; soil structure; integrated soil fertility

土壤酸化是制约农业生产的重要因素。相关数据显示, 全球约 50% 的耕地正面临土壤酸化问题^[1]。其中, 我国 pH<6.5 的酸性土壤面积已达 3.11×10^6 km², 占国土总面积的 32.4%, 且酸化范围呈逐年扩增趋势^[2]。土壤团聚体作为土壤结构的基本单元和养分载体, 是影响土壤肥力及作物生长的关键因素^[3]。研究表明酸化会导致土壤中的盐基离子大量淋失, 大团聚体结构被破坏, 小粒径团聚体增加, 土壤稳定性变差, 进而引发养分流失, 最终造成土壤结构变异、肥力衰退, 抑制作物生长, 严重阻碍农业的可持续发展^[4-5]。因此, 如何改良酸性土壤结构、快速提升土壤肥力是当前亟待解决的问题。

胞外多糖(exopolysaccharides, EPS)是微生物分泌的胞外大分子物质, 富含负电荷官能团, 可通过各种物理作用力(如静电、氢键和范德华力等)以及胶结作用促进大团聚体的形成, 改良土壤结构, 提高土壤抗侵蚀能力; 还可涵养水分、提高养分含量, 促进作物生长, 丰富生物多样性^[6-8]。目前, 农业土壤研究中常用的产 EPS 微生物主要包括芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、剑菌属(*Ensifer*)、固氮菌属(*Azotobacter*)、根瘤菌属(*Rhizobium*)等^[9]。近年来, 将产 EPS 微生物应用于土壤结构改良、养分调控等方面的研究逐渐增多。刘丙花等^[10]从盐碱土中筛分得到一株高产 EPS 的巨大普里斯特氏菌(*Priestia megaterium*) F1, 将其施入土壤后发现水稳性大团聚体含量显著提高, 可有效改良土壤结构。李慧芬等^[11]发现, 具有高 EPS 合成功能的菌株 GBW HF-98 在中度盐碱土中能显著促进番茄生长, 同时可有效提升土壤速效养分含量。常海霞等^[12]提取菌株 MQ A0 的粗多糖发酵液能有效提高盐碱土壤团聚体水稳性。Deka 等^[13]筛选获得具有耐酸性的细菌 p16, 发现其所产生的 EPS 有助于土壤团聚。以上研究均表明, 产 EPS 微生物在土壤养分及结构改良方面具有良好的应用成效和前景。

当前, 有关产 EPS 微生物的分离筛选与应

用研究大多集中于盐碱土^[14]或中性土壤^[15]上, 而针对酸性土壤的相关研究较少, 且对于应用于 pH<4.5 的强酸性土壤的结构与养分改良效果尚不清楚。pH 是影响微生物生长与功能表达的关键因素, 在常规条件下可产 EPS 的菌株在强酸性环境中通常难以正常生长, 其生物量将显著降低, 因此多数已报道的产 EPS 微生物无法在强酸性土壤中实现有效改良^[16-17]。此外, 在实际复杂的土壤环境中单一菌株易受本土菌群及其他环境因素的制约, 导致其生命活动受限。通过利用菌株间的功能互补, 构建兼具耐酸、产 EPS 功能的多种微生物复合菌剂, 施入土壤后有望协同增效, 共同改良酸性土壤。因此, 本研究从强酸环境中筛选出具有耐酸产 EPS 功能的多种微生物, 并基于微生物间的拮抗关系选出合适菌株构建复合菌剂, 探究其对酸性土壤的改良效果, 为寻求一种兼具环保性、可持续性的酸性土壤生物改良产品提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

菌株筛分所用土壤采自重庆南川(pH 4.41)以及云南曲靖(pH 4.32)的耕层土壤; 土培试验用土壤取自重庆南川(pH 4.42), 为沙溪庙组泥页岩与砂岩发育的紫色土类灰棕紫泥土属, 土壤质地为黏壤土。土培实验用土壤采集时先去除表层 0-2 cm 的土壤及石块、作物残体等杂质, 再采集其下至 20 cm 的耕层土壤, 带回实验室自然风干后过 2 mm 筛, 备用。

1.2 菌株筛选

参考刘丙花等^[10]、贺湘睿等^[18]的方法及所用培养基进行初筛、复筛, 分离出具有耐酸产 EPS 特性的菌株。其中, 培养基 pH 均调整为 4.5。

1.2.1 初筛

利用 pH 4.5 的固体培养基于 37 °C 下对各菌株富集培养 48 h 后, 挑取单菌落进行纯化, 获

得具有耐酸特性的微生物。然后转接至 pH 4.5 且含苯胺蓝的固体培养基中, 于 37 °C 培养 48 h 后进行初筛。认定菌落呈黏稠状且被浸染为蓝色的菌株具备产 EPS 功能, 并对以上菌株进行复筛。其中, 丝状真菌因菌丝覆盖而不便观察颜色, 因此直接进行复筛。

1.2.2 复筛

将初筛所得菌株接种至 pH 4.5 的 LB 液体培养基中, 每株菌设置 3 个重复, 于 37 °C、160 r/min 发酵培养 48 h 后测定 EPS 产量。

采用低温乙醇沉淀法提取 EPS。吸取 10 mL 发酵液于 4 °C、10 000 r/min 离心 15 min。弃沉淀, 加入 30 mL 预冷乙醇, 于 4 °C 下静置过夜。12 h 后取出, 于 4 °C、10 000 r/min 离心 10 min, 去除上清液即得 EPS 沉淀。放入 50 °C 烘箱, 干燥待测。

采用苯酚-硫酸法测定 EPS。将提取出的 EPS 沉淀溶解于 20 mL 纯水中, 吸取 1 mL 于试管中, 加入 1 mL 纯水、2 mL 6% 苯酚溶液后再迅速加入 10 mL 浓硫酸, 静置至冷却。于 490 nm 测定吸光度并代入标准曲线, 获得 EPS 产量。

1.3 菌株鉴定

1.3.1 拮抗鉴定

采用“十字划线法”进行菌株间拮抗鉴定。将两菌株在无菌平板上交叉划线后恒温培养 48 h, 观察交叉处是否出现明显的抑菌带。若存在无菌株生长的透明区域(即抑菌带), 则表明两菌株间存在拮抗作用; 反之则无。

1.3.2 分子鉴定

将所筛菌株送北京擎科生物科技股份有限公司测序鉴定, 其中基因组 DNA 模板提取及 PCR 反应均由该公司完成。细菌用 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'); 真菌采用 rDNA ITS 区域通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')。测

序结果在 NCBI 上进行比对分析并利用 MEGA 7.0 构建系统发育树。

1.3.3 形态学鉴定

采用“划线法”获得单菌落, 对细菌进行革兰氏染色, 对各菌株的菌落形态、颜色、质地等进行观察记录。

1.3.4 促生性能鉴定

对各菌株是否具备产 IAA、固氮、溶磷、解钾、产铁载体等促生性能进行鉴定。IAA 分泌能力采用直接测定法进行评估; 其余促生性能通过观察在相应鉴别培养基上是否有透明圈出现进行判定^[19-20]。

1.4 酸性土壤培养实验

1.4.1 单一菌剂制备及复合菌剂构建

将各菌株分别接种至 LB 液体培养基中扩繁 2 代后于 5 000 r/min 离心 5 min, 弃上清并用无菌水洗涤 3-5 次后, 利用无菌水重悬并调整至 $OD_{600}=1$ 得到单一菌剂。将各单一菌剂等比例混合得到复合菌剂, 施用前也需将 OD_{600} 值调整为 1.0。

1.4.2 处理设置

共设置 5 个处理组别, 每组 3 个重复, 进行为期 60 d 的室内土培实验, 其间以田间持水量的 70% 为标准定时浇灌清水, 保持土壤始终处于湿润状态。每盆土 250 g, 以 2% 的接种量施加菌剂(CK 以等量无菌水代替), 施入前与 20 mL 已灭菌的 LB 液体培养基混合后施用, 以保证菌体在土壤中均匀分布并更好定殖。后续土壤补水均使用清水, 不再添加 LB。具体设置如下: (1) CK: 5 mL 无菌水+20 mL LB; (2) D1: 5 mL 单一菌剂 C3+20 mL LB; (3) D2: 5 mL 单一菌剂 A13+20 mL LB; (4) D3: 5 mL 单一菌剂 B14+20 mL LB; (5) F1: 5 mL 复合菌剂+20 mL LB。相关土壤理化性质及养分测定方法参考《土壤农化分析与环境监测》^[21], 并测定菌体中氮磷钾及有机质含量以排除其对土壤养分的影响。土壤 pH 采用 pH 计直接测定, 土水比为

1:2.5; 有机质测定采用重铬酸钾容量-外加加热法; 有效态氮、磷、钾含量分别采用 NaOH 碱解扩散法、Olsen 法及 NH_4Ac -火焰光度法测定。苯酚-硫酸法测定土壤 EPS 含量^[22]; 土壤水稳性团聚体采用湿筛法测定, 按粒径分为大团聚体 (>2.00 mm)、中团聚体(0.25–2.00 mm)、小团聚体(0.053–0.25 mm)、微团聚体(<0.053 mm); 并选取平均质量直径(mean weight diameter, MWD) 作为其稳定性评价指标, 计算如公式(1)所示^[23]。

$$\text{MWD} = \sum_{i=1}^n D_i W_i \quad (1)$$

式中: D_i 代表第 i 级团聚体平均直径(mm); W_i 代表第 i 级团聚体的质量分数(%)。

1.4.3 土壤肥力综合评价

参照林小丁^[24]的方法, 以土壤肥力综合指数(integrated fertility index, IFI)为标准对土壤肥力进行评估。采用主成分分析法计算各指标权重, 相关函数计算方法如下。除 pH 外, 其余指标均采用 S 型函数计算。隶属度函数计算如公式(2)、(3)所示。

抛物线型:

$$F(x) = \begin{cases} 0.1, & x < x_1 \text{ 或 } x \geq x_4 \\ 0.1 + 0.9(x - x_1)/(x_2 - x_1), & x_1 \leq x < x_2 \\ 1.0 + 0.9(x - x_3)/(x_4 - x_3), & x_3 \leq x < x_4 \\ 1.0, & x_2 \leq x < x_3 \end{cases} \quad (2)$$

S 型:

$$F(x) = \begin{cases} 0.1, & x < x_1 \\ 0.1 + 0.9(x - x_1)/(x_2 - x_1), & x_1 \leq x < x_2 \\ 1.0, & x \geq x_2 \end{cases} \quad (3)$$

式中: x 为测定值; 各指标转折点阈值见表 1。

土壤肥力综合指数(IFI)计算如公式(4)所示。

$$\text{IFI} = \sum_{i=1}^n F_i W_i \quad (4)$$

式中: n 为测定指标总数, F_i 、 W_i 分别为第 i 个指标的隶属度与权重值。

1.5 数据处理与分析

采用 Excel 2019、IBM SPSS Statistics 25 进行数据处理与统计分析, 通过单因素方差分析

表1 各指标转折点阈值

Table 1 Turning point thresholds of each indicator

Indicator	x_1	x_2	x_3	x_4
pH	4.5	6.5	7.5	8.5
SOM (g/kg)	20	40		
AHN (mg/kg)	90	150		
AP (mg/kg)	10	40		
AK (mg/kg)	100	200		
MWD (mm)	2.6	3.3		

(ANOVA)结合邓肯氏新复极差法(Duncan 法)进行显著性检验($P < 0.05$); Origin 2021 绘制图片。

2 结果与分析

2.1 筛选耐酸产 EPS 菌株

本研究分别从重庆南川、云南曲靖的强酸性土壤中富集获得 106 株具有耐强酸特性的细菌及 30 株真菌。初筛共得到 77 株具有产 EPS 功能的微生物, 由于丝状真菌不便观察其颜色, 因此与初筛所得菌株一同复筛。通过比较 EPS 产量, 复筛出 EPS 合成能力较强的 14 株细菌与 12 株真菌作为候选菌株并进行拮抗测试。依据各菌株的 EPS 产量与拮抗关系, 最终选定 C3、A13、B14 作为目标菌株, 其 EPS 产量分别为 246.08、202.75、176.88 mg/L, 且菌株间互不拮抗(图 1、图 2)。相较于已有报道^[13]中同等酸度条件下其他菌株 EPS 产量(约 20–90 mg/L), 本研究筛选菌株的 EPS 合成能力更强。

2.2 菌株分子鉴定及形态学特征

利用 NCBI 数据库进行 BLAST 序列比对并采用邻接(neighbor-joining)法对 3 株目标菌株构建系统发育树, 结果如图 3 所示。菌株 C3、A13 分别与 *Paraburkholderia fungorum* NBRC 102489、*Burkholderia cepacia* TY5-SH 的 16S rRNA 基因序列具有高度一致性, 相似度分别达 99.86%、99.93%; 菌株 B14 与 *Cystobasidium minutum* LH227 的相似度达 100.00%。因此, 本研究筛选获得的 3 株菌株经鉴定分别为 2 个细

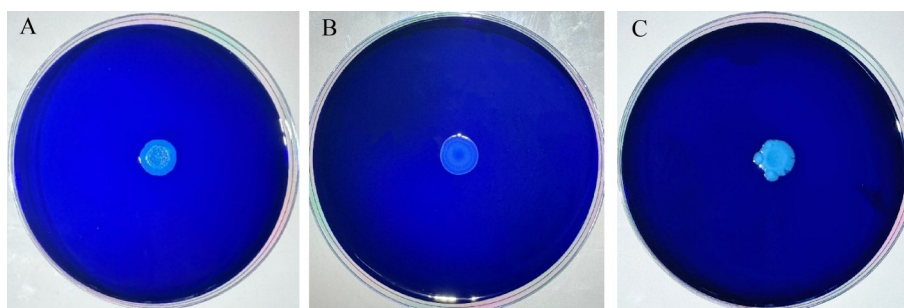


图1 目标菌株在初筛平板上的菌落形态

Figure 1 Colony morphology of the target strain on the primary screening plate. A: Strain C3; B: Strain A13; C: Strain B14.

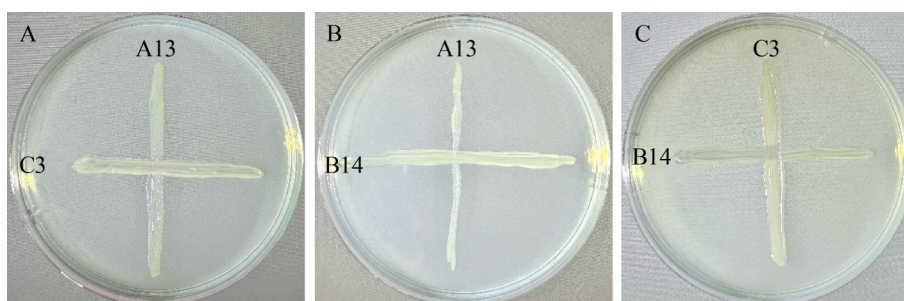


图2 菌株间拮抗测试

Figure 2 Antagonism test between strains. A: Confrontation results of C3 and A13; B: Confrontation results of A13 and B14; C: Confrontation results of B14 and C3.

菌和1个酵母菌。经形态学鉴定发现，各菌落形态均呈圆形，质地黏稠湿润且不透明。其中，C3为革兰氏阳性菌，菌落为乳白色，表面呈褶皱状；A13为革兰氏阴性菌，菌落呈乳黄色，表面平整，边缘整齐，具芳香气味；B14菌落呈乳白色，表面凹陷，边缘呈锯齿状。

通过菌株分子鉴定与形态学鉴定结果综合评判，初步确定菌株C3、A13与B14分别属于副伯克霍尔德菌(*Paraburkholderia fungorum*)、洋葱伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*)以及小囊担子菌(*Cystobasidium minutum*)。以上菌株不同于前人常用于土壤研究的产EPS微生物，且目前尚未有关于其应用于土壤结构改良的报道。

2.3 菌株促生性能

表2结果表明，3株目标菌株均具备较为多

样的促生性能，兼具分泌IAA、合成铁载体以及溶磷的能力。此外，菌株C3、A13还表现出一定的解钾能力。

2.4 各菌剂施用下土壤相关指标变化

2.4.1 土壤基础理化性质及养分含量

经菌剂处理后的土壤pH处于4.17–4.29之间，与CK相比无显著差异。图4展示了不同菌剂处理对土壤有机质及速效养分含量的影响，各数据均已扣除菌体中相关物质含量。数据表明，不同处理下的各指标变化呈现异质性；整体而言，复合菌剂处理F1的施用效果最优，可有效提升土壤相关养分含量。

与CK相比，处理组D1、D2、F1的加入可分别使土壤有机质含量提高9.69%、7.01%、4.51%，且三者效果相当；而处理组D3使有机质含量下降2.65%。对于土壤碱解氮，单一

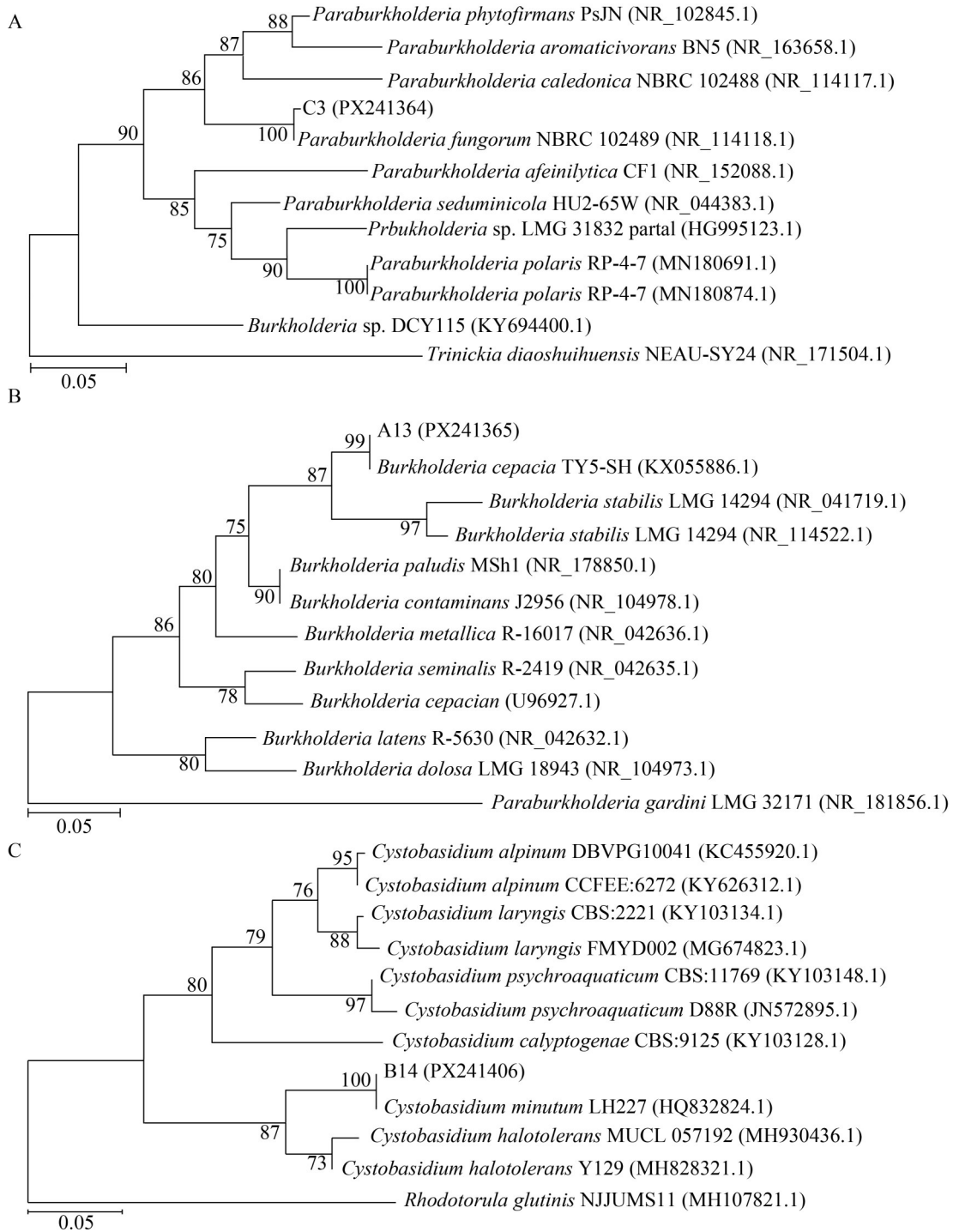


图3 菌株系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree of strains. A: C3; B: A13; C: B14. The phylogenetic tree was constructed via the neighbor-joining method; The numbers at branch nodes represent bootstrap values, corresponding to 1 000 replicates; The characters following each strain name are the GenBank accession numbers of the respective strain sequences; The value at the scale bar below the figure denotes the evolutionary distance between sequences.

表2 菌株C3、A13、B14促生性能鉴定

Table 2 Identification of the proliferation performance of strains C3, A13, and B14

Strains	IAA-producing (mg/L)	Nitrogen fixation (<i>D/d</i>)	Siderophore-producing (<i>D/d</i>)	Inorganic phosphorus solubilization (<i>D/d</i>)	Organic phosphorus solubilization (<i>D/d</i>)	Potassium release (<i>D/d</i>)
C3	3.34	–	1.36	2.43	3.76	2.04
A13	5.55	–	1.13	1.76	3.14	2.62
B14	7.51	–	5.00	–	1.15	–

D: Diameter of the transparent zone; *d*: The diameter of the colony; –: The absence of the growth-promoting trait.

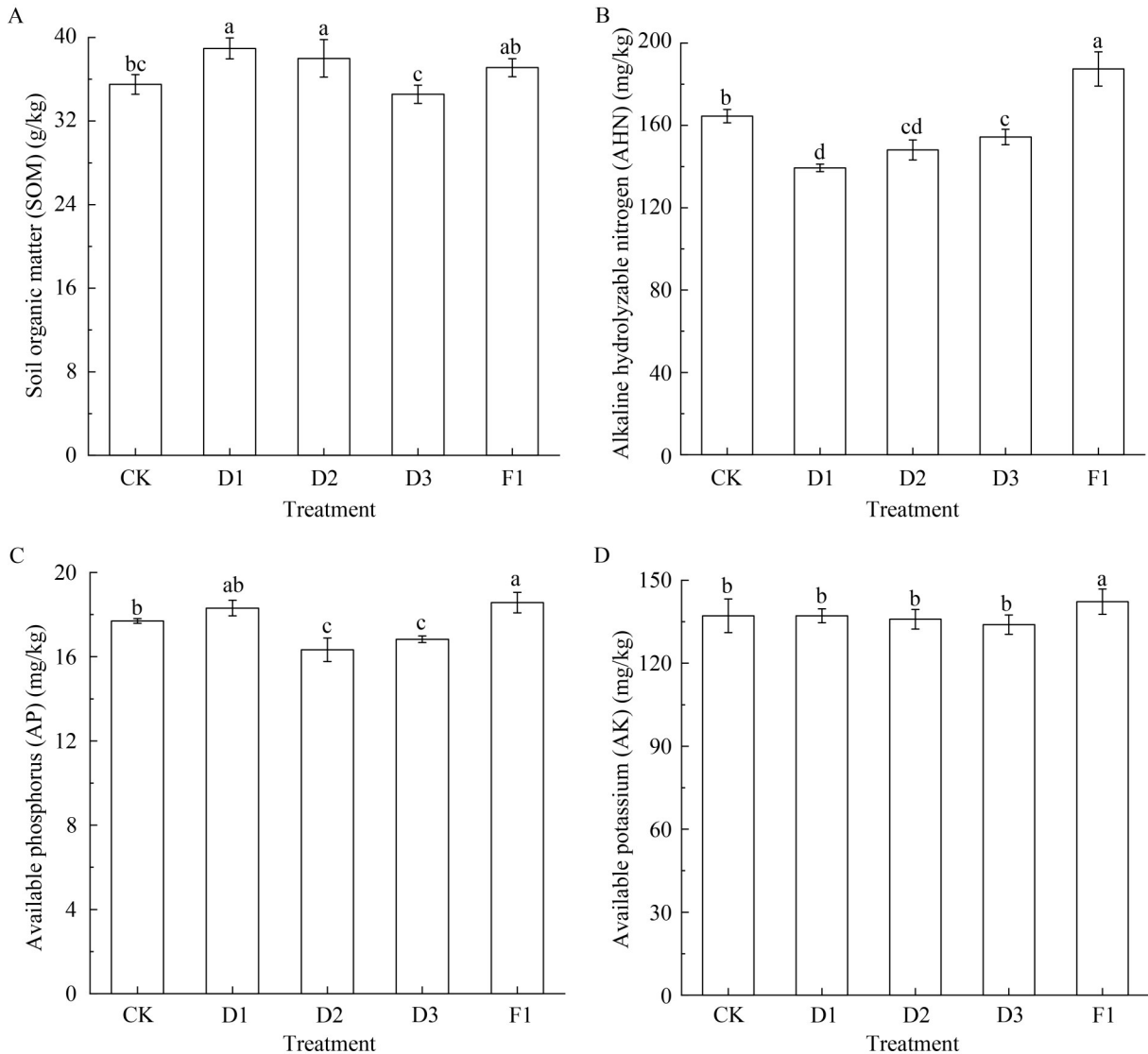


图4 不同菌剂处理对土壤有机质及速效养分含量的影响

Figure 4 Effects of different microbial inoculant treatments on soil organic matter and available nutrient content. A: SOM; B: AHN; C: AP; D: AK. Different lowercase letters represent significant differences at $P < 0.05$, the same below.

菌剂组施用后均呈现含量削减态势, 而复合菌剂组 F1 则表现出显著的提升效应, 含量有效增加 13.92%, 效果显著优于单一菌剂组。不同菌剂处理下, 土壤有效磷含量呈现不同差异, 其含量由高到低依次为 F1>D1>CK>D3>D2。其中, 复合菌剂组 F1 溶磷能力最强, 使土壤有效磷含量提升 4.92%; 而在单一菌剂组 D2、D3 的处理下, 土壤有效磷含量显著下降。土壤速效钾含量依次为 F1>D1>CK>D2>D3, 复合菌剂 F1 的施用效果最优, 含量显著提升 3.71%。

2.4.2 土壤团聚体

不同菌剂处理对土壤水稳性团聚体粒径分级占比和 MWD 的影响如图 5 所示。结果表明, 菌剂的加入对土壤大团聚体的形成均有促进作用, 有效提高了土壤 MWD 值, 且土壤中大团聚体与中团聚体含量变化最为明显。

与 CK 相比, 处理组 D1、D3、F1 分别使大团聚体含量显著增加 24.15%、14.70%、13.87%; 处理 D2 提升 3.28%, 无显著效果。除处理组 D2 使中团聚体含量上升 8.20% 外, 其余

组别均分别减少了 13.45%、22.43%、27.88%。随着大团聚体含量的提高, 土壤 MWD 值也相应增长: D1>D3>F1>D2>CK, 其增量分别达 19.39%、10.20%、8.84%、3.74%。上述结果表明, 菌剂的添加均对土壤大团聚体的形成与稳定有促进作用, 其中处理组 D1 促团效果最优, 其次为 D3 和 F1。

2.5 土壤肥力综合评价

如图 6 所示, 各指标对土壤肥力的贡献度可由隶属度值表征, 土壤肥力状况则可通过土壤肥力综合指数 (IFI) 直观评价。在本研究中 pH 贡献率最低, 其隶属度值为 0.1, 是土壤肥力最主要的限制因素; 其次, 有效磷与速效钾含量对土壤综合肥力提升也有一定的制约作用。与 CK 相比, 所有处理组均使 IFI 值得到提升。其中, 经 F1 处理后的 IFI 值显著提高 15.08%, 效果最佳; 单一菌剂对土壤综合肥力也表现出显著提升效果, 依次为 D1>D3>D2。

2.6 土壤 EPS 含量及其与团聚体形成的相关性分析

经不同菌剂处理后的土壤 EPS 含量及其与

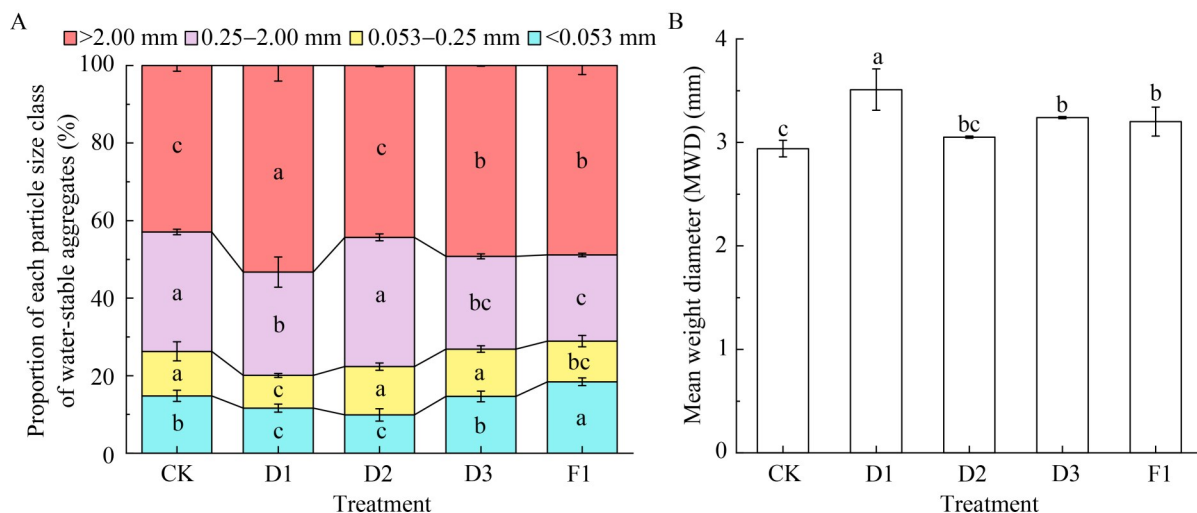


图5 不同菌剂处理对土壤水稳性团聚体粒径分级和平均质量直径的影响

Figure 5 Effects of different microbial inoculant treatments on particle size classification and average mass diameter of soil water-stable aggregates. A: Particle size classification of soil water-stable aggregates; B: Mean weight diameter.

各团聚体指标的相关性分析如图 7 所示。结果表明，菌剂的施用均可使土壤 EPS 含量有不同

程度的增加：D1>F1>D3>D2>CK。其中，D1 和 F1 处理下的增量最为显著，分别提高 53.17% 和

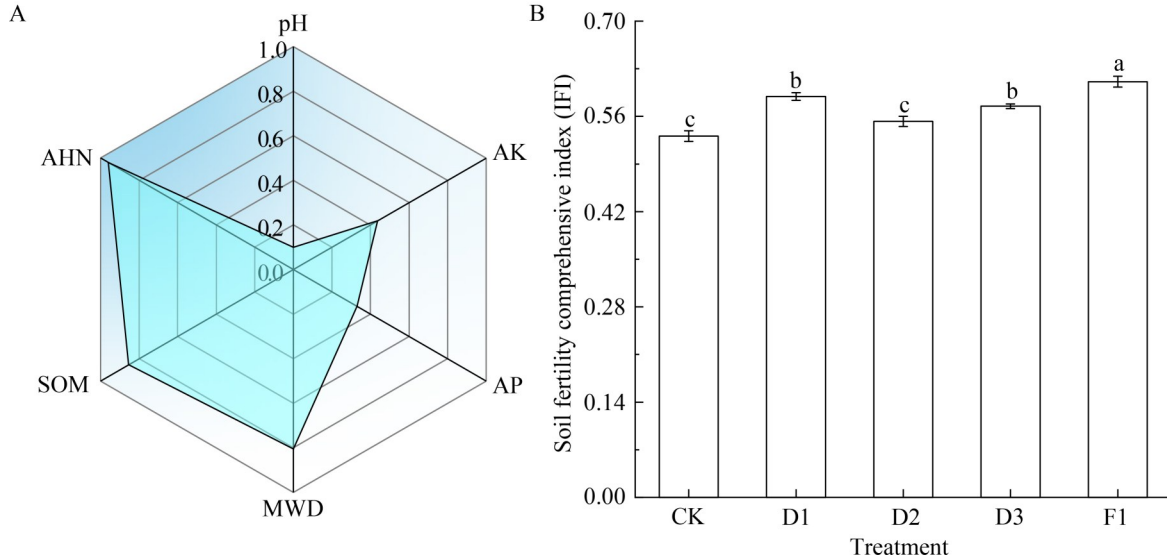


图6 各肥力指标隶属值雷达图及不同菌剂处理下的土壤肥力综合指数

Figure 6 Radar diagram of the affiliation value of each fertility index and the comprehensive index of soil fertility under different microbial inoculant treatments. A: Affiliation value of fertility index; B: Comprehensive index of soil fertility.

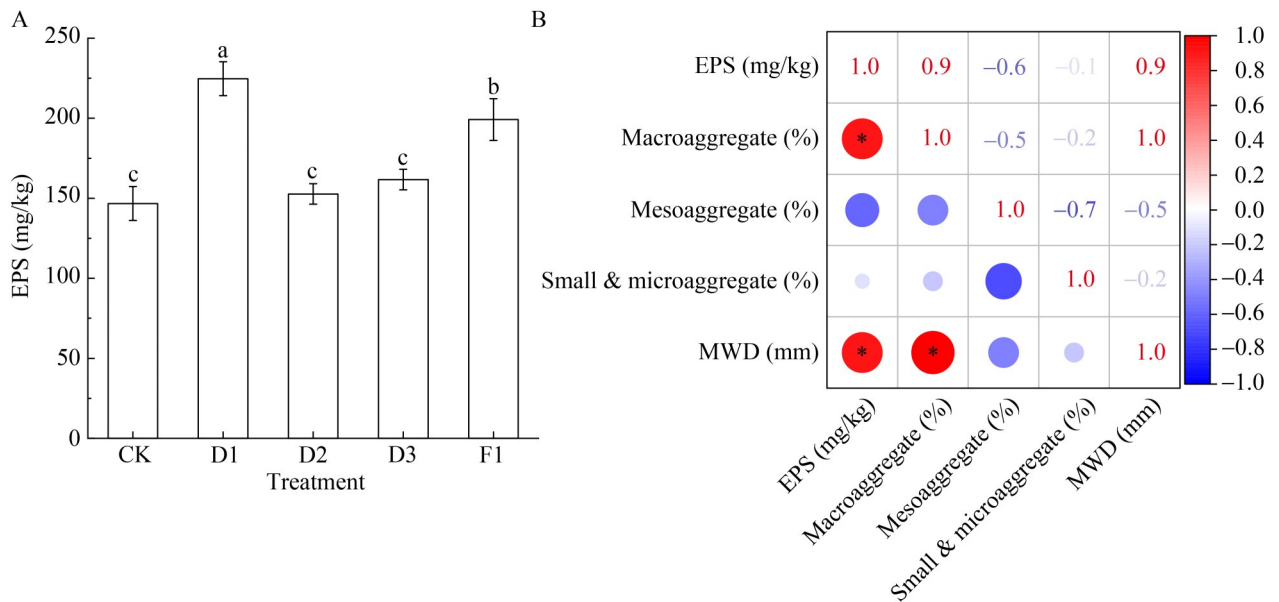


图7 土壤EPS含量及其与团聚体相关性分析热图

Figure 7 Soil EPS content and heatmap of correlation analysis between EPS and soil aggregate indices. A: Soil EPS content; B: Correlation analysis between soil EPS and aggregates. *: The correlation is statistically significant at $P \leq 0.05$.

35.79%。

土壤 EPS 与大团聚体含量、MWD 呈显著正相关, 而与粒径 <2.00 mm 的团聚体含量呈负相关。由此表明, 大团聚体的形成与 EPS 的胶结作用密切相关, EPS 可促进小粒径团粒转化为大团聚体, 且 EPS 含量越高则大团聚体越多, 土壤团聚体稳定性越强。

3 讨论

本研究从强酸土壤环境中分离获得 3 株与前人研究不同、可在强酸条件下产 EPS 的菌株, 并将三者复合构建出细菌-真菌复合菌剂, 开展土壤实验, 分析其对酸性土壤的改良效应。

土壤有机质与氮磷钾含量是衡量土壤肥力的核心指标, 同时也是影响土壤结构、作物生长的重要因素^[25-26]。前人研究表明^[27], EPS 可凭借其特殊结构参与矿质养分的分解转化, 提高相关养分的有效性, 促进养分循环, 提升土壤肥力。本研究中施用复合菌剂后的土壤有机质及速效养分含量均高于对照组; 而单一菌剂在不同养分指标中呈现出不同的变化趋势, 对部分养分含量的提升无明显作用。Karmakar 等^[28]的研究也有相似发现, 将 2 株产 EPS 菌株复合后与土壤混合处理, 可有效提高土壤保肥能力。这可能是由于多菌株的复合施用促进了菌株间的生长及生物活性^[22], 进而协同互作展现出优于单一菌剂的养分提升效应。

土壤团聚体是优质土壤的结构基础, 对维持土壤生态健康与稳定具有重要意义^[29]。在土壤酸化过程中, 大团聚体会逐步破碎为小团聚体, 稳定性变差^[30]。土壤微生物是驱动团聚体形成和稳定的首要生物因素, 其产生的 EPS 作为重要的“胶结剂”, 可通过其表面存在的不同种电荷与多样的官能团吸附土壤黏粒, 胶联形成团聚体^[28,31]。本研究表明, 土壤 EPS 含量与大团聚体占比及 MWD 间呈现显著的正相关效应。因此, EPS 的增加是促进大团聚体形成、提高其稳定性的重要原因——产 EPS 微生物可

通过提高土壤中 EPS 的含量实现对土壤黏粒的胶结促团作用。本研究中大团聚体的形成主要来源于中团聚体的转化, 而中团聚体则主要由微、小粒径黏粒团聚而来。由此, 各粒径间团聚体的层层转化最终推动了大团聚体的形成, 使其含量及稳定性显著提升。此外, 单一施用菌株 C3 对土壤团聚体的形成效果最优。其产生的团聚差异可能由各菌株合成 EPS 的能力不同所致: 菌株 C3 的 EPS 产量最高, 因此团聚能力最强; 而将其与其他菌株复合后可能导致 EPS 产量整体降低, 促团效果相对减弱。Vardharajula 等^[32]的研究也印证了这一观点, 即土壤团聚体的稳定性主要与 EPS 含量有关。因此, 提高菌剂活性、促进产 EPS 是后续利用菌剂改良土壤结构的关键。

土壤肥力是决定土壤质量的核心因素, 也是影响农田生产力的关键要素^[33]。土壤肥力综合指数 (IFI) 越大则土壤综合肥力越高。通过对各指标隶属度值分析发现, 土壤 pH 仍是最主要的障碍因子, 后续可采用配施碱性土壤改良剂的方式进行优化提升。复合菌剂的施用使土壤综合肥力得到大幅提升, 其效果显著优于单一菌剂组。这表明产 EPS 微生物的施入可有效提高土壤肥力, 而复合菌剂的构建更利于各菌株在功能上形成协同互补, 进而展现出优于单一菌剂的培肥效果。

4 结论

本研究从强酸性土壤中筛选分离得到 3 株具有耐酸产 EPS 特性的微生物并将其构建为复合菌剂进行强酸性土壤培养实验。结果表明, 该复合菌剂在改良强酸性土壤结构及提升综合肥力方面成效显著, 且其肥力优化效果显著优于单一菌剂。

作者贡献声明

郭蕊婷: 设计并完成实验, 数据统计与分析, 撰写、修改论文; 马征: 指导实验设计, 修改论文; 邓

昊：协助实验操作；李振轮：指导实验设计与文章选题，修改论文；杨璐瑶：协助实验操作与校稿。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] Dai ZM, Zhang XJ, Tang C, Muhammad N, Wu JJ, Brookes PC, Xu JM. Potential role of biochars in decreasing soil acidification—a critical review[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 581/582: 601-611.
- [2] 赵学强, 潘贤章, 马海艺, 董晓英, 车景, 王超, 时玉, 柳开楼, 沈仁芳. 中国酸性土壤利用的科学问题与策略[J]. *土壤学报*, 2023, 60(5): 1248-1263.
Zhao XQ, Pan XZ, Ma HY, Dong XY, Che J, Wang C, Shi Y, Liu KL, Shen RF. Scientific issues and strategies of acid soil use in China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60(5): 1248-1263 (in Chinese).
- [3] Feng M, Xiang J, Ji XF, Jiang J. Larger soil water-stable aggregate may exert a negative effect on nutrient availability: results from red soil (ultisol), in South China[J]. *Forests*, 2023, 14(5): 975.
- [4] Zhu XX, Zhao SC, Lin SQ, Wang JH, Leng S. The impact of soil acidification on cementing substances and aggregate stability[J]. *PLoS One*, 2025, 20(4): e0318417.
- [5] 肖盛柏, 徐焰, 唐舒庭, 崔浩, 魏世强. 土壤酸化对砷在团聚体中的分配及其有效性的影响[J]. *环境科学*, 2025, 46(3): 1762-1773.
Xiao SB, Xu Y, Tang ST, Cui H, Wei SQ. Effects of soil acidification on the distribution and availability of arsenic in aggregates[J]. *Environmental Science*, 2025, 46(3): 1762-1773 (in Chinese).
- [6] 童宁, 张永梅, 景佳, 屈文慧, 高崧, 王子奇. 胞外聚合物和微量元素对产酸发酵的协同作用[J]. *环境科学与技术*, 2025, 48(7): 219-227.
Tong N, Zhang YM, Jing J, Qu WH, Gao Z, Wang ZQ. Synergistic effect of extracellular polymers substances and trace elements in acidogenesis fermentation system[J]. *Environmental Science & Technology*, 2025, 48(7): 219-227 (in Chinese).
- [7] 张铭, 蔡鹏, 吴一超, 高春辉, 刘俊, 黄巧云. 细菌胞外聚合物: 基于土壤生态功能的视角[J]. *土壤学报*, 2022, 59(2): 308-323.
Zhang M, Cai P, Wu YC, Gao CH, Liu J, Huang QY. Bacterial extracellular polymeric substances: from the perspective of soil ecological functions[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(2): 308-323 (in Chinese).
- [8] 阿拉萨, 高广磊, 丁国栋, 张英, 曹红雨, 杜宇佳. 土壤微生物膜生理生态功能研究进展[J]. *应用生态学报*, 2022, 33(7): 1885-1892.
A LS, Gao GL, Ding GD, Zhang Y, Cao HY, Du YJ. Eco-physiological functions of soil microbial biofilms: a review[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2022, 33(7): 1885-1892 (in Chinese).
- [9] Saha I, Datta S, Biswas D. Exploring the role of bacterial extracellular polymeric substances for sustainable development in agriculture[J]. *Current Microbiology*, 2020, 77(11): 3224-3239.
- [10] 刘丙花, 丁延芹, 刘方春, 刘幸红, 马胜国, 彭琳, 孙铭婕, 于连家, 马海林. 一株高产胞外多糖巨大芽孢杆菌的筛选鉴定、发酵条件优化及其对土壤团聚体的影响[J]. *微生物学报*, 2024, 64(10): 3968-3979.
Liu BH, Ding YQ, Liu FC, Liu XH, Ma SG, Peng L, Sun MJ, Yu LJ, Ma HL. Screening, identification, fermentation condition optimization of an exopolysaccharide-producing strain and the influence on soil macro-aggregate formation[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(10): 3968-3979 (in Chinese).
- [11] 李慧芬, 方安然, 冯海霞, 黄剑, 赵明珠, 周波. 胞外多糖产生菌的筛选鉴定及其促生改土作用[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(5): 1941-1957.
Li HF, Fang AR, Feng HX, Huang J, Zhao MZ, Zhou B. Screening and identification of extracellular polysaccharide-producing strain and the influence on soil quality and crop growth[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(5): 1941-1957 (in Chinese).
- [12] 常海霞, 李明源, 麦日艳古·亚生, 周茜, 王继莲. 产胞外多糖多功能促生菌的筛选鉴定及促生评价[J]. *生物技术通报*, 2024, 40(3): 273-285.
Chang HX, Li MY, Mairiyangu-YS, Zhou Q, Wang JL. Screening and growth-promoting characteristics of multifunctional exopolysaccharides-producing bacteria[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(3): 273-285 (in Chinese).
- [13] Deka P, Goswami G, Das P, Gautom T, Chowdhury N, Boro RC, Barooah M. Bacterial exopolysaccharide promotes acid tolerance in *Bacillus amyloliquefaciens* and improves soil aggregation[J]. *Molecular Biology Reports*, 2019, 46(1): 1079-1091.
- [14] 郭彦钊, 巨秦伟, 于烽, 黄敏刚, 齐飞. 枯草芽孢杆菌 hs032 对盐碱土理化性质及弥散能力的影响[J]. *土壤*, 2024, 56(4): 807-816.
Guo YZ, Ju QW, Yu F, Huang MG, Qi F. Effect of *Bacillus subtilis* Hs032 on physicochemical properties and dispersal capacity of saline soil[J]. *Soils*, 2024, 56(4): 807-816 (in Chinese).
- [15] 吴瑜健, 马海林, 孙姗姗, 成龙, 杨新宇, 张明泽, 丁延芹. 巨大芽孢杆菌 F1 配施有机物料对土壤理化性质的影响[J]. *山东农业大学学报(自然科学版)*, 2025, 56(2): 353-361.
Wu YJ, Ma HL, Sun SS, Cheng L, Yang XY, Zhang MZ, Ding YQ. *Bacillus megaterium* F1 combined with organic materials on soil physical and chemical properties[J]. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2025, 56(2): 353-361 (in Chinese).
- [16] Liang JP, Chen YL, Li SS, Liu DY, Tian H, Xiang QJ, Zhao K, Yu XM, Chen Q, Fan HZ, Zhang LZ, Penttinen P, Gu YF. Transcriptomic analysis and carbohydrate metabolism-related enzyme expression across different pH values in *Rhizopus delemar*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1359830.
- [17] Chauhan N, Rickaby REM. Differential impacts of pH on growth, physiology, and elemental stoichiometry across three coccolithophore species[J]. *Limnology and*

- Oceanography, 2025, 70(1): 68-83.
- [18] 贺湘睿, 裴向军, 李强, 陆建国, 候谦儒, 张晓超. 高产 EPS 菌株的筛选鉴定及其在渣土改良中的应用研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2024, 55(6): 677-688.
He XR, Pei XJ, Li Q, Lu JG, Hou QR, Zhang XC. Isolation and identification of higher yield EPS and its application in the improvement of arid region residue[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2024, 55(6): 677-688 (in Chinese).
- [19] 吴晓东, 范存忠, 张志斌, 颜日明, 朱笃, 杨慧林. 蛇足石杉内生细菌的分离鉴定及其促生特性[J]. 微生物学通报, 2025, 52(6): 2570-2587.
Wu XD, Fan CZ, Zhang ZB, Yan RM, Zhu D, Yang HL. Isolation, identification, and plant growth-promoting effect characterization of endophytic bacteria from *Huperzia serrata*[J]. Microbiology China, 2025, 52(6): 2570-2587 (in Chinese).
- [20] 王逾涵, 郎佳琪, 任雪杨, 刘振宇, 王盼盼, 罗倩倩, 郭冬琴, 周浓. 不同产地太白贝母根际解钾菌的筛选、鉴定及其促生特性研究[J]. 中国土壤与肥料, 2025(6): 213-224.
Wang YH, Lang JQ, Ren XY, Liu ZY, Wang PP, Luo QQ, Guo DQ, Zhou N. Screening and identification of inter-root potassium-solubilising bacteria of *Fritillaria taipaiensis* P.Y.Li from different origins and their growth-promoting characteristics[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2025(6): 213-224 (in Chinese).
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-107.
Bao SD. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. 3rd edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 30-107 (in Chinese).
- [22] 舒雪, 赵晨宇, 施军琼, 吴忠兴. 耐盐藻菌的筛选及其联合体在盐渍化土壤改良中的作用研究[J/OL]. 土壤学报, 2025: 1-11.
Shu X, Zhao CY, Shi JQ, Wu ZX. Screening of salt-tolerant algae and bacteria and the role of their consortium in salinized soil improvement[J/OL]. Acta Pedologica Sinica, 2025: 1-11 (in Chinese).
- [23] 杨驰浩, 王秀萍, 姚荣江, 刘广明. 生物质物料对重黏土水稳性团聚体的影响及其机制[J]. 土壤, 2025, 57(3): 649-656.
Yang CH, Wang XP, Yao RJ, Liu GM. Effects and mechanisms of biomass materials on water-stable aggregates of heavy clay soil[J]. Soils, 2025, 57(3): 649-656 (in Chinese).
- [24] 林小丁. 陕西省关中地区农田土壤肥力现状评价及土壤肥力演变趋势研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2024.
Lin XD. Soil fertility assessment and its evolution trends of Guanzhong arable land in Shaanxi province[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2024 (in Chinese).
- [25] 李丹, 曹云, 汪吉东, 张晶, 孙倩, 龙玉娇, 黄红英, 徐跃定, 靳红梅. 土壤调理剂对酸性土壤的改良及夏玉米增产效果[J]. 中国土壤与肥料, 2025(1): 170-177.
Li D, Cao Y, Wang JD, Zhang J, Sun Q, Long YJ, Huang HY, Xu YD, Jin HM. Effect of soil conditioners on the improvement of acid soil characteristics and maize yield[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2025(1): 170-177 (in Chinese).
- [26] 刘浩楠, 杨娟, 焦蒙. 模拟施肥对赤水河上游地区土壤氮磷钾养分释放的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2025(5): 36-42.
Liu HN, Yang J, Jiao M. Effects of simulated fertilization on soil nitrogen, phosphorus and potassium nutrient release in the upper Chishui River area[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2025(5): 36-42 (in Chinese).
- [27] Liu XT, Yao T. Types, synthesis pathways, purification, characterization, and agroecological physiological functions of microbial exopolysaccharides: a review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 281: 136317.
- [28] Karmakar K, Roy D, Pal S, Chowdhury B, Choudhury A. EPS-producing bacteria promote aggregation in soil preventing the leaching loss of nutrient[J]. Current Microbiology, 2025, 82(7): 307.
- [29] 石静琴, 张诗琴, 许静本, 杨岚惠, 谭咏诗, 杨源峰, 邓羽松. 喀斯特区苔藓结皮对不同岩性发育土壤团聚体稳定性的影响[J/OL]. 中国水土保持科学(中英文), 2025, 23(6): 156-166.
Shi JQ, Zhang SQ, Xu JB, Yang LH, Tan YS, Yang YF, Deng YS. Influence of moss crust on the stability of soil aggregates developed in different lithologies in Karst area[J/OL]. Science of Soil and Water Conservation, 2025, 23(6): 156-166 (in Chinese).
- [30] Wu JP, Xiong X, Hui DF, Zhang HL, Li JL, Chang ZB, Zhang S, Su YX, Li XY, Zhang DQ, Deng Q. Soil aggregate size distribution mediates microbial responses to prolonged acid deposition in a subtropical forest in South China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2024, 198: 109544.
- [31] 张杰, 周佳, 王永敏, 石孝均, 王帅, 余海燕, 许庆伟, 常霞, 王泽宇, 叶思丽, 黄海洋, 张宇亭. 不同有机肥对酸性土壤团聚体形成稳定及周转的影响[J/OL]. 土壤学报, 2025: 1-17. Doi: 10.11766/trxb202407230298.
Zhang J, Zhou J, Wang YM, Shi XJ, Wang S, Yu HY, Xu QW, Chang X, Wang ZY, Ye SL, Huang HY, Zhang YT. Effects of different organic fertilizers on the formation, stabilization, and turnover of aggregates in acidic soil[J/OL]. Acta Pedologica Sinica, 2025: 1-17. Doi: 10.11766/trxb202407230298 (in Chinese).
- [32] Vardharajula S, Sk. Z. A. Exopolysaccharide production by drought tolerant *Bacillus* spp. and effect on soil aggregation under drought stress[J]. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2014, 4(1): 51-57.
- [33] Liu C, Chen F, Li ZG, Le Cocq K, Liu Y, Wu LH. Impacts of nitrogen practices on yield, grain quality, and nitrogen-use efficiency of crops and soil fertility in three paddy-upland cropping systems[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(6): 2218-2226.