



水土保持学报
Journal of Soil and Water Conservation
ISSN 1009-2242, CN 61-1362/TV

《水土保持学报》网络首发论文

题目：东北黑土区农田土壤固氮微生物特征研究进展
作者：张爽，刘涛，郝紫玉，乔晟，郑艳宁，晏磊
DOI：10.13870/j.cnki.stbcxb.2025.06.015
收稿日期：2025-04-26
网络首发日期：2025-08-04
引用格式：张爽，刘涛，郝紫玉，乔晟，郑艳宁，晏磊. 东北黑土区农田土壤固氮微生物特征研究进展[J/OL]. 水土保持学报.
<https://doi.org/10.13870/j.cnki.stbcxb.2025.06.015>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

DOI:10.13870/j.cnki.stbxb.2025.06.015 CSTR:32310.14.stbxb.2025.06.015

张爽,刘涛,郝紫玉,等.东北黑土区农田土壤固氮微生物特征研究进展[J].水土保持学报,2025,39(6)

ZHANG Shuang, LIU Tao, HAO Ziyu, et al. Research progress on characteristics of nitrogen-fixing microorganisms in farmland soil of black soil region in Northeast China[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2025, 39(6)

东北黑土区农田土壤固氮微生物特征研究进展

张爽^{1,2}, 刘涛^{1,2}, 郝紫玉^{1,2}, 乔晟^{1,2}, 郑艳宁³, 晏磊^{1,2}

(1.黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院黑龙江省寒区环境微生物与农业废弃物资源化利用重点实验室,黑龙江大庆163319; 2.黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院农业农村部东北平原农业绿色低碳重点实验室,黑龙江大庆163319; 3.中国科学院微生物研究所微生物资源前期开发国家重点实验室,北京100101)

摘要: [目的] 针对东北黑土肥力下降及生物多样性锐减等问题,总结分析东北黑土关键固氮功能微生物的研究进展,为黑土可持续保护与利用研究提供科学基础。[方法] 综述黑土微生物的固氮过程和固氮微生物群落特征,固氮微生物通过固氮酶的催化作用实现固氮功能,其保守固氮功能基因 *nifH* 作为标识物已在黑土固氮微生物鉴定中广泛应用。[结果] 目前黑土中发现的固氮微生物主要包括 *Bradyrhizobium*、*Microbacterium*、*Streptomyces*、*Micromonospora* 和 *Desulfovibrio* 等类群。微生物的固氮作用会受到施肥、耕作制度以及土壤养分条件等因素的影响,长期单施化肥会降低固氮菌多样性;保护性耕作能改善土壤结构,促进固氮菌定殖与活性提升;温度显著影响固氮效率,极端干旱或低温会使固氮活性大幅下降;土壤酸碱度、有机质含量等因素与固氮菌群落组成及活性密切相关。此外,固氮微生物在提高作物产量的同时也参与温室气体的排放,对生态系统氮素循环平衡起重要作用。[结论] 通过系统综述东北黑土区农田土壤固氮微生物的群落结构、功能特性及生态驱动机制,可为黑土地的可持续保护与农业资源高效利用提供理论基础。

关键词: 固氮微生物; *nif* 基因簇; 固氮酶; 黑土地保护; 环境贡献

中图分类号: S154.3 文献标识码: A

Research Progress on Characteristics of Nitrogen-Fixing Microorganisms in Farmland Soil of Black Soil Region in Northeast China

ZHANG Shuang^{1,2}, LIU Tao^{1,2}, HAO Ziyu^{1,2}, QIAO Sheng^{1,2}, ZHENG Yanning³, YAN Lei^{1,2}

(1. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Environmental Microbiology and Recycling of Agro-Waste in Cold Region, College of Life Science and Biotechnology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China; 2. Key Laboratory of Low-Carbon Green Agriculture in Northeastern China of Ministry of Agriculture and Rural Affairs P. R. China, College of Life Science and Biotechnology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China; 3. State Key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: [Objective] To address issues such as the decline in fertility and sharp reduction in biodiversity observed in the black soil of Northeast China, this study summarizes and analyzes the research progress on key nitrogen-fixing functional microorganisms in this region, thereby providing a scientific basis for the sustainable conservation and utilization of black soil. [Methods] The nitrogen-fixing processes of microorganisms and the characteristics of nitrogen-fixing microbial communities in black soil are reviewed. Nitrogen-fixing microorganisms achieve nitrogen fixation through the catalytic action of nitrogenase, and the conserved nitrogen-fixing functional gene *nifH* has been widely used as a marker to identify nitrogen-fixing microorganisms in black soil. [Results] The nitrogen-fixing microorganisms currently identified in black soil mainly include *Bradyrhizobium*, *Microbacterium*,

收稿日期: 2025-04-26 修回日期: 2025-06-01 录用日期: 2025-06-18

资助项目: 中国龙江森林工业集团有限公司科技计划项目(KJXMSQ2025-00042); 国家自然科学基金项目(U22A20444); 农业农村部东北平原农业绿色低碳重点实验室开放基金项目(LCGANE03); 黑龙江八一农垦大学“揭榜挂帅”科技攻关项目(JB20220001)

第一作者: 张爽(1981—), 女, 博士, 副教授, 主要从事环境微生物研究。E-mail: zhangshuang2545@163.com

通信作者: 晏磊(1981—), 男, 博士, 教授, 主要从事环境微生物研究。E-mail: hekouyanlei@gmail.com

http://stbxb.alljournal.com.cn

Streptomyces, *Micromonospora*, and *Desulfovibrio*. The nitrogen-fixing function of microorganisms is influenced by factors such as fertilization, tillage systems, and soil nutrient conditions. Long-term application of chemical fertilizers alone reduces the diversity of nitrogen-fixing bacteria, while conservation tillage enhances soil structure, fostering colonization and activity of these bacteria. Temperature significantly affects nitrogen fixation efficiency, with extreme drought or low temperatures leading to a sharp decline in nitrogenase activity. Soil pH and organic matter content are closely correlated with the composition and activity of nitrogen-fixing microbial communities. Furthermore, these microorganisms not only contribute to increasing crop yields but also participate in greenhouse gas emissions, playing an important role in maintaining the nitrogen cycle balance within ecosystems. [Conclusion] By systematically reviewing the community structure, functional characteristics, and ecological driving mechanisms of nitrogen-fixing microorganisms in farmland soil of the black soil region in Northeast China, this study can provide a theoretical basis for the sustainable conservation of black soil and the efficient utilization of agricultural resources.

Keywords: nitrogen-fixing microorganisms; *nif* gene cluster; nitrogenase; black soil conservation; environmental contribution

Received: 2025-04-26

Revised: 2025-06-01

Accepted: 2025-06-18

东北黑土是我国珍贵的土壤资源,其高肥力特性源于深厚腐殖质层中丰富的有机质与氮素储备^[1]。然而,过度垦殖导致黑土腐殖质厚度从开垦初期的 60 cm 减少到 30 cm 左右,有些地区甚至出现了“破皮黄”的现象^[1]。然而,长期高强度农业开发导致黑土退化问题日益突出^[2],土壤有机质含量较开垦初期下降 30%~50%,氮素循环失衡成为黑土退化的核心表征之一。氮素循环失衡加剧了化肥依赖与环境风险,还进一步削弱土壤微生物活性,导致黑土生态功能持续衰退。近年来,国家相继出台了《东北黑土地保护规划纲要(2017—2030年)》、《中华人民共和国黑土地保护法》等法律法规,黑土地保护已经上升为国家战略^[3]。

东北是大豆生产的核心区域,其中黑龙江大豆产量约占全国的 40%~50%,被誉为“中国大豆之乡”。大豆作为典型的豆科作物,其生长与土壤固氮过程存在密切的生物学和生态学联系。氮素作为植物生长的必需元素,其循环效率直接决定黑土生产力可持续性。土壤中氮素循环影响着土壤生态系统的生产力和可持续性。尽管大气中氮气占比为 78%,但可供植物直接利用的离子态氮并不多。除了豆科植物的固氮作用,还有自生固氮和联合固氮作用,均依靠微生物的参与。地球上超过 60% 的固定氮来自生物固氮^[4]。尽管合成氮肥在现代农业中发挥着关键支撑作用,但全球粮食需求的持续增长引发氮素需求激增,同时农用化学品过量施用导致的土壤退化^[4],使生物固氮等自然氮转化在维护农田生态系统可持续性方面展现出不可替代的优势。生

物固氮可有效减少化学氮肥的施用,固氮微生物能够将大气中的氮气转变为植物可直接吸收的离子态氮,在土壤氮循环中发挥重要的作用。本文综述了固氮微生物种类、农田黑土中微生物参与固氮的过程和对作物产量和温室气体排放的贡献,同时总结了影响微生物固氮的主要因素,以为生物固氮在黑土农业生产以及黑土保护提供理论基础。

1 微生物固氮过程

土壤中氮素的主要来源包括生物固氮、大气沉降、有机残体分解(动植物残体分解及秸秆还田)和化学氮肥施用等途径^[5-6]。在自然生态系统的氮循环过程中,主要涉及同化、氨化、硝化、反硝化、氨氧化和固氮这六个不同的氮转化环节^[7-8]。这些过程通过微生物的代谢活动紧密耦合,形成氮素在大气、生物、土壤和水体间的动态循环,维持生态系统的氮素平衡与生产力(图 1)。固氮微生物作为黑土氮循环过程的驱动者,是最具潜力的氮素来源方式^[9],每年可固定来自全球大气中的氮高达 100 Tg^[10]。

大气中的氮气是一个巨大的惰性气体池,很难被植物直接利用,惰性氮通过固氮微生物的转化,可将游离态氮转化为含氮化合物^[11],为作物生长提供氮素营养。氮分子(N_2)被固氮微生物先转化为氨,再进一步转化为铵盐和硝酸盐被植物吸收^[12]。固氮微生物可以将有机氮分解并产生氨,在有氧条件下经硝化反应将铵盐氧化成硝酸盐($NH_4^+ \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO_3^-$),在缺氧条件下通过反硝化还原成氮分子($NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$)返回到大气中完成氮循环^[13]。固氮过程可以表示为 $N_2 + 8H^+ + 8e^- +$

$16\text{MgATP} \rightarrow 2\text{NH}_3 + \text{H}_2 + 16\text{MgADP} + 16\text{P}_i$ ^[12,14]。

黑土中微生物的固氮作用主要由固氮酶催化,固氮酶是一种在自由生物和共生嗜氮菌中高度保守的氧标记酶复合物,主要包括钼铁固氮酶、铁铁固氮酶、钒铁固氮酶及依赖于超氧化物歧化酶的固氮酶体系^[15]。其中,钼铁固氮酶是研究较为深入的固氮酶体系。钼铁固氮酶体系主要由两部分组成,*nifH*编码的铁蛋白(又称固氮还原酶)和*nifDK*编码的钼铁蛋白(又称固氮酶)^[16]。固氮酶体系中的MoFe蛋白可与还

原底物(即 N_2)结合并生成2个分子的 NH_3 ,在不破坏N-N键的条件下逐步还原,直至生成氨气,最后2个 NH_3 分子从酶中释放出来。Fe蛋白与ATP和 Mg^{2+} 相互作用,并在氧化时从铁毒素或黄酮毒素中获得电子^[13]。研究表明,固氮量主要由固氮微生物的固氮酶活性决定^[17]。不同土壤类型间的固氮酶活性存在显著差异,其范围约为0.04~9.72 nmol/g^[18]。例如,黑土土壤的平均固氮酶活性(1.48 nmol/g)高于红壤(1.33 nmol/g)。

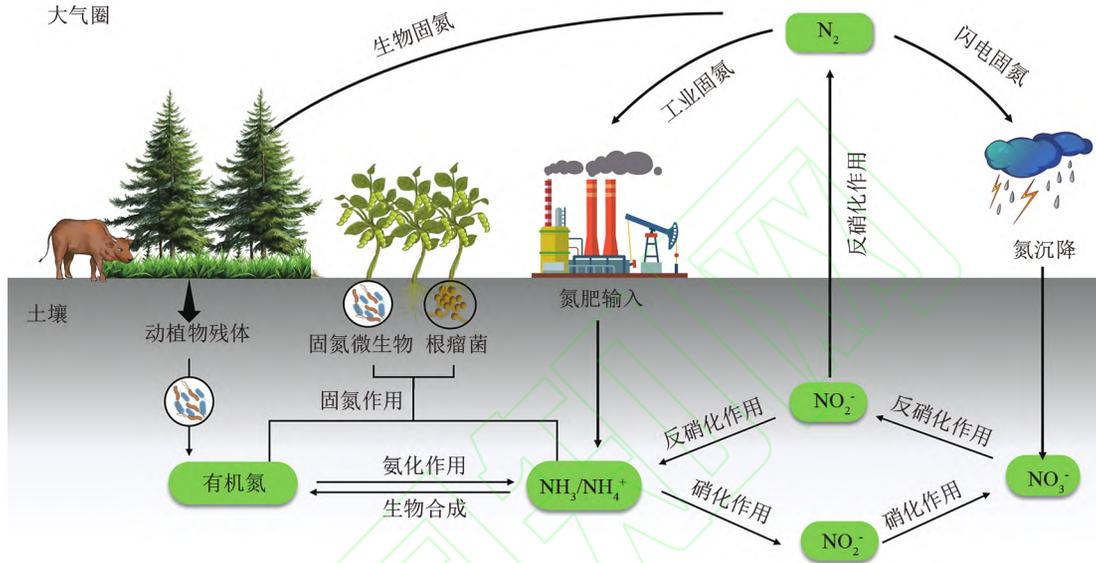


图 1 黑土氮循环示意^[8,13,19]

Fig.1 Schematic diagram of nitrogen cycle in black soil^[8,13,19]

2 固氮微生物群落及分子遗传

生物固氮是指微生物通过体内固氮酶的催化作用,将大气中化学性质稳定的游离氮气(N_2)转化为氨(NH_3)或其他含氮化合物的过程。这一过程是自然界氮循环的核心环节,可为植物生长和生态系统提供直接可利用的氮素,也是地球上天然氮素输入的主要途径之一^[13]。参与生物固氮的微生物包括共生固氮菌^[20]、自生固氮菌和联合固氮菌等^[21],它们通过不同方式与宿主植物或独立生活,将惰性氮转化为生物可利用的活性氮。

巴斯德梭菌属(*Pasteurella*)是人们分离出来的第一株自生固氮菌,此后人们陆续在土壤、植物根际、叶际和根内等发现了多种固氮菌属^[22-23]。自生固氮微生物独立于植物,可固定大气中的氮供自身使用,微氧或厌氧条件下也可将氮释放到大气中,如圆褐固氮菌、棕色固氮菌和产酸克氏杆菌等^[22,24]。共生固氮是指微生物与植物通过形成紧密的共生关系协同固氮的过程。植物为微生物提供碳源和能量,微生物则为植物提供氮素,如蓝细菌、弗兰克氏放线菌、根瘤菌等^[20]。联合固氮菌不与植物形成特异结

构,主要分布在植物根际、叶面或组织间隙,微生物可利用植物光合作用产物作为碳源进行固氮,也可利用根系分泌物生长繁殖,如固氮螺菌、雀稗固氮菌和某些假单胞菌等^[25]。

在固氮微生物的分子遗传方面,*nif*基因簇是细菌固氮的遗传基础,几乎所有的固氮微生物都能够表达*nifH*、*nifD*、*nifK*、*nifE*、*nifN*和*nifB*基因编码的固氮酶^[26]。*nifE*和*nifN*参与铁钼辅因子组装或加工,*nifB*参与铁钼辅因子的生物合成并影响固氮酶成熟。*nifA*是变形菌门重要的固氮基因正调控因子,对温度敏感,作用于*nif*系统内各操纵子的顺式作用启动子,使固氮基因转录、表达为固氮酶;*nifS*、*nifU*和*nifV*主要参与铁钼辅因子的生物合成并与固氮酶成熟相关^[27,28]。*nifH*基因是固氮微生物最为保守的功能基因,其编码的固氮还原酶和固氮酶具有极强的固氮活性,对其拷贝数定量分析可以反映出固氮微生物的数量及固定氮素水平^[29,30]。*nifH*也是检测氮固定过程中二氮酶还原酶的标识基因^[31],其基因数据已经扩增至1500多个序列,现已被作为固氮微生物的分子标识物而应用到黑土固氮微生物的分布和多样性研究中^[29]。

东北黑土区因土壤肥力高、有机质含量丰富,为固氮微生物提供了优越的生存环境,使其多样性显著高于其他土壤类型^[32]。研究显示,该区域土壤中固氮酶基因 *nifH* 的丰度可达 $(5.34\sim 15.64)\times 10^6$ copies/g^[33]。通过多组学技术与传统培养方法结合,已分离鉴定出以变形菌门(*Proteobacteria*)为主导的复杂固氮微生物类群,包括慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)等核心类群^[34-37]。这些群落结构与黑土特有的冷凉气候、高有机质含量及耕作制度形成显著的适应性关联^[38]。相比之下,红壤因酸性强、肥力低、质地黏重且保水保肥能力差,导致微生物活力下降并形成独特的群落结构。固氮微生物可通过特殊代谢途径与抗逆机制适应这些不利环境,其中放线菌、蓝藻等具备较强酸性环境适应能力的类群较

为常见^[39]。黄土质地疏松,易导致氮素等养分流失^[40],其固氮微生物多样性主要受生物结皮与当地耐旱植被相互作用的影响,群落多样性和丰富度介于黑土与红壤之间。裸地环境中固氮微生物以变形菌门为优势菌群,而在藻结皮、地衣结皮阶段,蓝藻门则成为优势类群。

针对黑土区典型作物的根际固氮微生物研究表明,田佳鑫等^[41]从东北黑土大豆种植区收集了大豆根际样品,其中70株被鉴定为属于*Bradyrhizobium*属的根瘤菌。玉米根际土壤的优势固氮菌属则为寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)^[42]。除上述已知的固氮菌外,黑土中仍存在大量未被认知的固氮微生物资源,部分类群的系统发育关系见图2,微生物主要分布在假单胞菌(*Pseudomonadota*)、放线菌(*Actinomycetota*)、蓝细菌门(*Cyanobacteriota*)及广古菌门(*Euryarchaeota*)等。

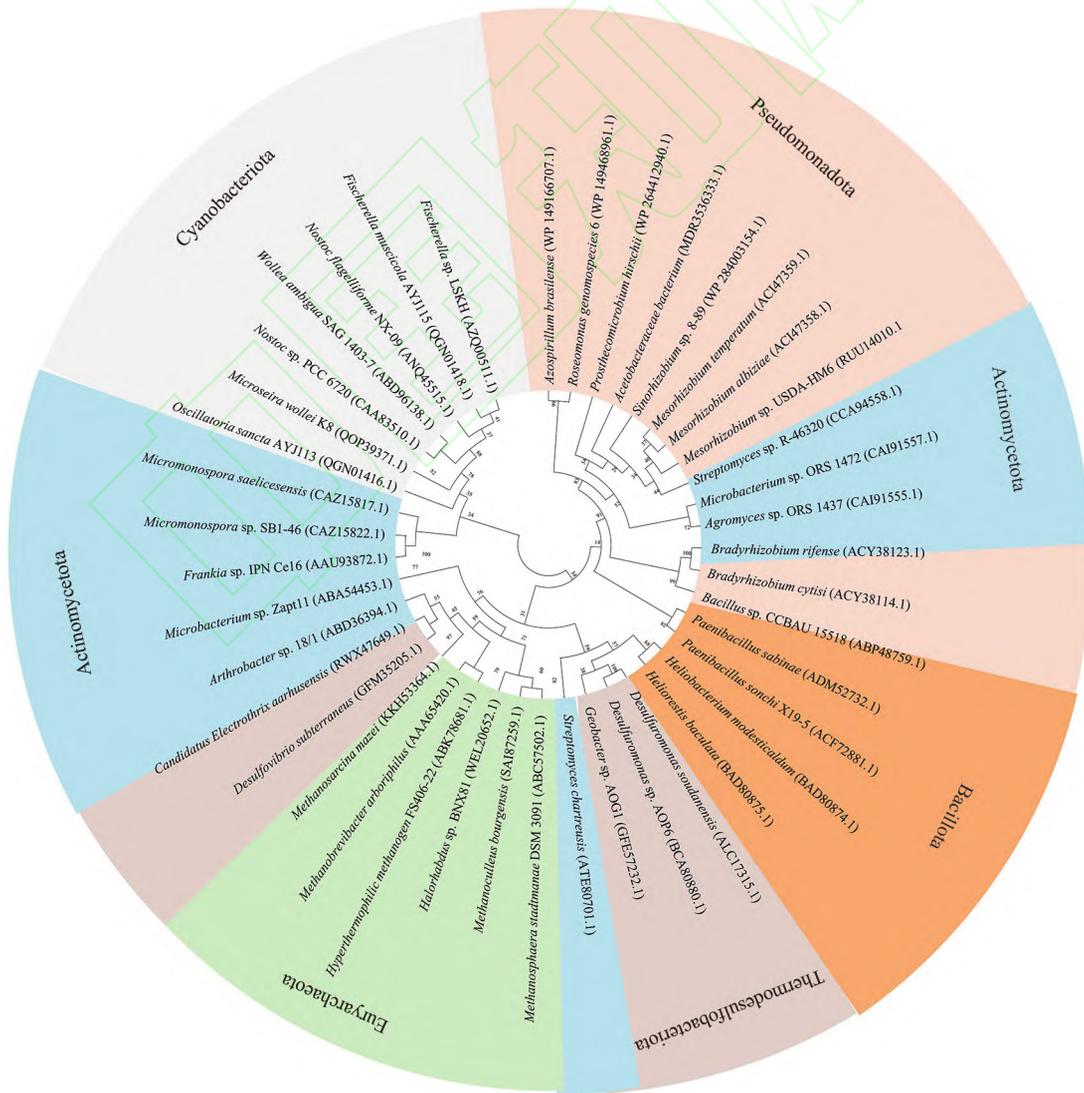


图2 黑土区固氮微生物系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of nitrogen-fixing microorganisms in black soil region

在研究固氮微生物群落的生态功能时,生物固氮的测定是评估微生物将大气氮气(N_2)转化为氨(NH_3)能力的关键技术。乙炔还原法是较早使用的氮测定方法^[43]。根据固氮酶具有还原分子氮或利用其他底物的能力,使乙炔还原为乙烯从而间接测定固氮量^[44]。例如,黄丹丹等^[33]的研究利用该方法测得土壤非共生固氮速率为 C_2H_4 0.26~0.63 nmol/(g·d)。随着固氮研究的不断深入,许多学者采用同位素标记技术来量化生物固氮活性。谢志煌^[45]利用 ^{15}N 标记玉米秸秆,结果表明秸秆添加处理改变了固氮菌群结构,显著提高了碳降解和氮矿化功能基因的丰度。张森^[46]通过 ^{15}N 含量表征土壤-大豆连续体内的氮素变化,发现深耕处理下大豆氮素利用效率可达22.4%。张俪予^[47]通过 ^{15}N 同位素稀释法证实高效固氮合成群落的定殖过程和固氮潜力,通过生物固氮在玉米茎中贡献11.8%的总氮。苗贺等^[48]采用 ^{15}N 示踪田间肥料氮素转化,发现土壤是作物氮素供应的主体,植株各部位对氮肥的吸收比例均接近40%。除上述应用外, $^{15}N_2$ 同位素稀释法、氮素平衡法、非同位素法、酰脲估测法等也可用于生物固氮的测定^[49]。

3 固氮微生物对作物生产和 N_2O 排放的影响

3.1 微生物氮转化驱动农业生产力提升

氮是植物生长发育的关键营养素,在农业生产和生态系统中占据重要地位。研究显示,全球生态系统中固氮微生物每年固定的氮量高达100 Tg^[50]。自生固氮微生物的年固氮量约为2 Tg,能够使土壤氮含量每年增加30~50 kg/hm²^[51]。在众多固氮体系中,豆科植物与根瘤菌形成的共生固氮作用尤为突出,以大豆为代表的豆科作物,其共生体系年固氮量约达5.5 Tg,占陆地生态系统年生物固氮总量的55%左右^[52]。然而,在现代农业高强度生产需求下,单纯依赖生物固氮已难以满足作物对氮素的需求。通过单施化学肥料或有机肥与化学肥料配施的方式补充农田氮元素,成为提升土壤生产力和保障作物产量的重要举措。

我国农田亩均施用化学肥料量约为21.9 kg,比世界平均水平高出约14 kg,是美国化学肥料施用量的2.6倍,欧盟的2.5倍^[53]。在东北黑土区,玉米的施氮量已经远高于推荐剂量168 kg/hm²,目前最高已达270 kg/hm²^[35]。过量氮肥的施入改变了微生物生态环境,对玉米早期生长产生了显著抑制^[54],同时造成了土壤的酸化和盐渍化^[55],降低了固氮微生物多样性,导致土壤固氮能力下降。微生物的固氮作用可

增加土壤的氮含量,促进作物生长,增强抗病性,最终实现产量增加^[56-57]。固氮微生物或可减少或部分替代化学氮肥在农业生产中应用^[21,58]。

近年来,全球微生物肥料市场规模正在逐步增长。数据表明,目前农田中微生物肥料以固氮菌为主(占比75%),其次为溶磷菌(占比15%)^[59],固氮菌在生态系统中提供的固氮潜力正日益在农业实践中得到利用^[60-61]。将含有固氮菌的菌肥施用于土壤中,固氮菌在土壤中生长繁殖并进行固氮作用。张俪予的研究通过高效固氮合成群落在玉米茎中贡献了11.8%的总氮^[47]。对于豆科作物,可以接种相应的根瘤菌剂,形成有效的根瘤,从而实现生物固氮。田佳鑫等^[41]研究表明,根瘤菌菌剂的应用使大豆产量增加17.9%。魏万玲等^[62]的研究中根瘤菌与磷钾肥配施使大豆增产32.25%。不过,当前仍面临固氮效率不足、微生物受环境制约、作用机制复杂等挑战,需进一步研究探索以提升应用效果。

3.2 微生物氮转化影响土壤 N_2O 的排放

微生物驱动的氮转化过程是一个复杂的生物化学过程,其中涉及多种微生物类群和酶的参与,对 N_2O 的产生有着重要影响^[63]。 N_2O 排放到空气中被认为是土壤中的氮损失^[61,64],更是一种强效温室气体,其全球增温潜势是二氧化碳(CO_2)的300倍左右^[65],对气候变化具有显著贡献。据统计,自2007—2016年,全球 N_2O 排放量约为17.0 Tg/hm²^[65-67]。微生物固氮不引起直接的负面影响,但其影响取决于固氮后产生的氮的去向和利用情况。在农业土壤中, N_2O 的产生主要源于微生物介导的氮转化过程,包括硝化作用、反硝化作用、硝化细菌反硝化及硝态氮异化还原等^[68]。温室气体 N_2O 是不同土壤微生物介导的硝化作用在土壤内部进行氮循环过程产生的重要产物,其中氨氧化细菌(AOB)和氨氧化古菌(AOA)是硝化作用的主要参与者。微生物活性对 N_2O 排放具有显著调控作用,当微生物活性较低时, N_2O 几乎不排放;微生物反硝化作用增强时, N_2O 排放增加^[69]。

在对植物排放 N_2O 研究时发现,植物对土壤 N_2O 的产生与排放具有直接或间接影响,作物可直接通过自身运输通道传输土壤产生的 N_2O ,也可通过改变含水量等影响土壤理化性质,间接影响微生物活性^[68]。东北黑土区是大豆主产区,大豆根瘤固氮酶活性与固氮量是衡量大豆固氮能力的重要指标^[70],在作物(如大豆)中接种高效固氮慢生根瘤不仅可以提高固氮效率,还可以通过影响反硝化过程减轻 N_2O 的排放^[71]。合理管理和利用固氮过程中产生的氮

素,能最大限度地发挥氮素对植物生长和生态系统的益处,面对温室气体排放不断加剧的挑战,通过提高土壤氮固定水平对于缓解大气温室气体(N_2O 等)和气候变化有重大贡献。因此,通过提高土壤氮固定水平,不仅有助于保障作物养分供给,还能缓解大气 N_2O 浓度上升,实现农业生产与生态保护的协同发展^[72]。

4 农田微生物固氮影响因素

黑土是一个复杂且不断变化的动态系统,土壤微生物固氮过程中会受到多种因素的影响(图3),农田黑土耕作过程中施肥、耕作制度以及土壤环境等都会对土壤微生物的群落组成以及固氮酶活性产生影响^[73]。

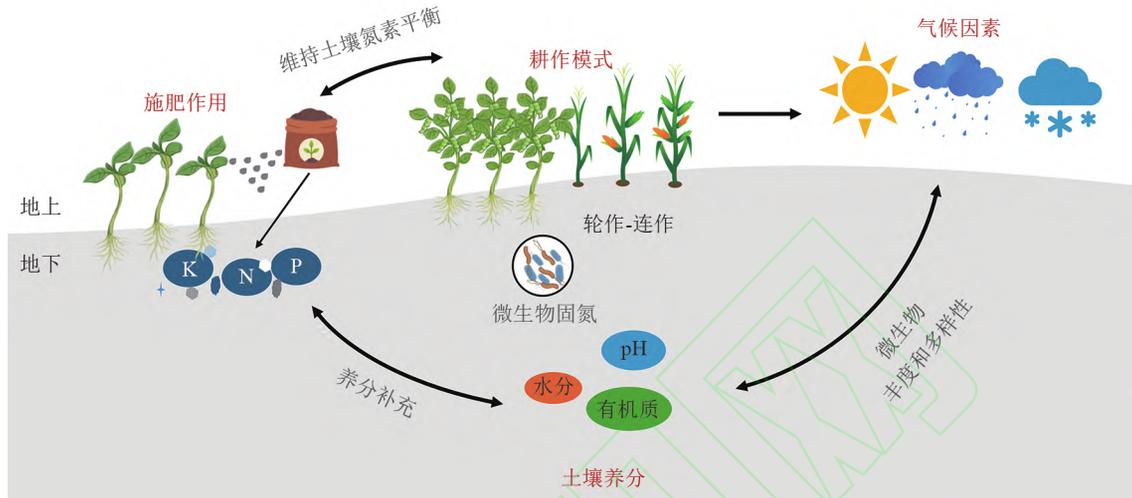


图3 微生物固氮影响因素

Fig.3 Influencing factors of microbial nitrogen fixation

4.1 施肥措施

随着膳食结构升级与粮食需求增长,施用氮肥以提升土壤全氮含量,成为保障东北农田黑土区农作物产量、维持土壤肥力的重要措施。然而,长期高强度单一化施肥对黑土生态系统产生显著影响。氮肥的施用提高了 NH_4^+-N 和 $NO_3^- -N$ 在土壤全氮中的含量,抑制了氮降解、硝化作用和异化硝酸盐还原途径,促进了反硝化作用和同化硝酸盐还原途径,降低了土壤微生物多样性及土壤固氮微生物基因丰度^[74]。长期依赖化肥的高强度单一化种植,加速了土壤生物功能退化,严重破坏耕地土壤健康培育。含氮化肥的施加也是驱动东北农田黑土细菌和固氮菌群落结构分异的主导因素^[75]。已有研究^[42]表明,短期施肥可使固氮基因丰度短暂升高,微生物将外源氮素作为营养底物促进自身增殖。但长期施肥(尤其过量施用)会显著改变固氮微生物群落组成,造成根际与非根际土壤固氮活性下降达50%^[76-77]。放线菌、变形杆菌、壳菌和散囊菌等可利用氮肥中的氮元素生长和繁殖的微生物丰度显著提高,而酸杆菌、疣微菌、硝化螺旋菌和粪囊菌等对氮肥过量敏感,导致丰度下降^[78]。过量氮肥还会对土壤动物多样性以及地上部的植物多样性造成消极影响,从而影响土壤生态系统平衡。

东北黑土农田中,有机肥作为绿色无公害的优质肥料已经广泛被用于农田耕作。有机肥料可促进

碳、氮转化,改变土壤的理化性质、养分、酶活性,改善微生物群落结构,提高土壤有机碳、氮含量^[75,79]。长期施肥显著刺激功能菌生长,改变土壤微生物区系,提升土壤肥力,有机-无机肥配施土壤微生物呼吸增幅高达22.4%^[80]。长期施肥刺激了氨氧化细菌(*Nitrosospira*)生长,NPK处理氨氧化细菌丰度增加3.61倍。秸秆还田通过对土壤微生态环境的改变影响微生物固氮。研究表明,秸秆还田显著增加了土壤微生物呼吸活性和生物固氮活性,还田量与生物呼吸活性和固氮活性呈正相关^[81],秸秆还田强化了土壤固氮微生物关联网的紧密性,显著提高*Burkholderia*、*Desulfovibrionaceae*、*Azospirillum*、*Amorphomonas*和*Paenibacillus*等固氮微生物的相对丰度和活性,还田后的变形菌门占比达70%^[82]。

4.2 耕作制度

固氮菌群落丰度和结构受种植作物影响显著。东北黑土区是大豆的主产区,大豆是一种典型的共生固氮作物,固氮微生物通过共生作用为大豆生长提供氮素^[83]。冯雪婉等^[84]研究发现,固氮菌在大豆连作时丰度最高,在玉米连作时最低,推测其原因为微生物固氮作用。豆科植物与根瘤菌形成了共生体为根瘤菌提供了独特的生态位,固氮菌吸收大气中的氮气转化为植物可利用的氮肥,大豆则提供生长环境和有机物质供根瘤菌生长繁殖。也有研究指出,大豆连作会导致残茬中难分解物质增多,从而限

制固氮菌的繁殖,导致固氮能力的下降^[85]。张森等^[86]研究表明,种植大豆的土壤 *nifH* 基因丰度显著高于种植玉米的土壤样本(分别高于60%和83%)。同时,谷类作物和绿肥牧草的茎叶、根茬等也可作为有机物质,增加土壤有机质,增强土壤肥力^[87]。

保护性耕作(如免耕、减少翻耕)是缓解土壤侵蚀退化的有效措施,能够显著改善土壤微生物群落的丰富度与多样性,其中对固氮菌群落结构的影响尤为突出^[88]。长期定位研究表明,与传统耕作相比,实施10~15 a的免耕处理可显著提高细菌、真菌及氮功能微生物(除氨氧化细菌外)的丰富度^[89];在固氮菌组成上,门水平以变形菌门相对丰度最高,属水平则以与豆科植物共生的慢生根瘤菌属占比最大^[90]。不同保护性耕作措施对土壤氮素循环的调控效应存在差异。研究表明,深耕配合生物炭施用,可使土壤总氮含量增加42%,大豆氮素利用效率提升0.62%~3.45%^[91-92]。而东北黑土区的长期免耕实践显示,该措施能提升表层土壤有机碳与全氮质量分数^[93]。同时通过增加水稳定性宏团聚体(>2 mm)和大团聚体(0.25~2 mm)的比例,改善土壤保水性与机械稳定性。另外,这种土壤结构的优化还通过促进固氮菌等功能微生物的生长,对土壤氮素循环效率及生物固氮能力产生正向调控作用^[94]。因此,优化耕作制度是改善农田微生境、促进微生物固氮的有效途径,它通过人为可控的管理措施改变土壤微环境来影响固氮,但最终这些微环境的状态和固氮效果也受到气候条件的制约。

4.3 气候条件

气候条件通过塑造土壤的水热状态与物化性质,间接调控微生物的生存环境。其中,温度对微生物固氮的影响尤为显著^[95]。其核心机制在于固氮酶对温度变化的高度敏感性,这种敏感性直接影响固氮微生物的活性,进而作用于其生长与代谢过程^[96-97]。有研究^[98]表明,根瘤固氮酶活性都随温度的升高呈单峰曲线。温度在10~20 °C区间,升温显著促进固氮速率^[96],以及土壤微生物量氮和 NH_4^+ -N含量,影响 *nifH* 基因丰度^[99];而 ≤ 10 °C或 ≥ 20 °C则产生抑制作用,极端温度可致微生物死亡。同时,升温重构微生物群落结构,导致微生物总数量增加40%~150%。然而,极端高温协同水分流失产生的协同胁迫效应,则可造成植物与微生物生物量骤降50%~80%^[100]。

温度还通过改变土壤生物化学过程形成连锁反应,间接影响微生物固氮。不同温度对土壤微生物固氮影响不同且存在阈值,低温会使土壤中有物

质的分解速度减慢,使释放出的氮、磷、钾等养分减少,导致可供固氮微生物利用的营养物质不足,间接影响生物固氮过程;温度升高,有机质分解加速,氧气可利用性含量降低,为固氮过程提供厌氧环境^[96]。温度的变化对土壤酶的活性以及植物的生长发育等也有影响,土壤酶活性变化及植物生长等因素也会对微生物固氮产生影响。另外,充足的光照可以促进植物生长^[101],使其根系分泌更多碳水化合物和有机酸,为固氮微生物提供碳源与能源,形成“植物-微生物”协同固氮效应。因此,在农田生态系统管理中,需结合区域气候特征优化耕作措施,进而提升生物固氮效率。综上所述,温度等气候因子不仅直接影响微生物的生理活性和固氮酶活性,更重要的是,它们作为强大的环境驱动力,深刻地塑造着农田土壤的物理、化学和生物性质。

4.4 土壤性质

微生物对土壤外源养分极为敏感,其群落结构会因生态系统环境的差异而发生改变。研究表明,编码固氮酶铁蛋白的 *nifH* 基因群落结构与土壤pH及 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、有机碳、全氮、有效磷、速效钾含量呈显著相关^[33]。pH可直接影响固氮酶的活性,含水量通过调节土壤厌氧条件间接影响固氮微生物活性;硝态氮、氨态氮等不同氮源形式对固氮酶活性影响不同,硝态氮、氨态氮均可抑制根瘤的固氮酶活性,有机氮和化学肥料同时施用可影响土壤中固氮菌的多样性^[102]。此外,盐度是影响土壤固氮菌生长的重要环境因子。已有研究^[103]表明, *nifH* 基因群落结构与土壤盐度显著相关,大部分低盐固氮菌无法耐受高盐胁迫。

固氮酶是微生物进行固氮作用的关键酶,其对氧气非常敏感,氧环境可致大多数固氮菌的固氮酶不可逆失活。当环境中的氧气浓度过高时,高浓度的氧气会使固氮酶的结构和功能受到破坏,从而抑制固氮反应的进行。自生固氮菌的固氮酶的活性迅速降低,固氮效率也显著降低^[104]。

适宜的碳氮比能为固氮微生物提供良好的生长环境,促进固氮菌菌体合成胞外多糖和生物固氮^[105]。碳氮比高时,植物会向根系分泌更多的碳源物质,刺激根瘤菌的生长和根瘤的形成;反之,碳氮比过低可能会导致植物生长不良,影响根瘤的形成和固氮效率。土壤中有机碳含量的增加可提升固氮菌的数量、多样性及活性^[106]。氮沉降以及有机氮含量可改变微生物群体的总量,如细菌和真菌的比例,进而调整土壤微生物群落结构^[107]。

磷在陆地生态系统中是制约生物固氮的常见因

素。土壤中可供自生固氮菌代谢的磷主要集中在腐殖质层,且随深度增加而减少。用含有内生固氮菌的菌剂处理稻田土壤可促进土壤氮、磷转换,提高土壤肥力^[108]。磷不仅影响植物生长,土壤中的N/P也可用于评估生物固氮能力^[109],N/P与固氮速率呈负相关,调控磷的可用性即可调节固氮速率,进而改变土壤中可利用氮的含量^[110]。

5 结论与展望

固氮微生物在黑土地养分提升和作物增产等方面具有重要作用,固氮微生物通过固氮酶的催化作用产生固氮功能,其中,具有固氮作用的关键酶是钼铁固氮酶,其中,编码铁蛋白的*niF*基因具有高度保守性,常被用来证明固氮菌的存在和揭示固氮微生物群落组成及其与环境的关系。目前,东北黑土中固氮微生物主要包括慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、伯克氏菌属(*Burkholderia*)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)等。这些固氮微生物参与黑土氮素周转,不仅能提高土壤地力,减少化学肥料的施用,还可减缓N₂O等温室气体排放,改善土壤生态环境。固氮微生物群落组成及其固氮作用受施肥、耕作制度、气候及土壤性质等多因素影响。长期单施化肥会降低固氮菌多样性;保护性耕作能改善土壤结构,促进固氮菌定殖与活性提升;温度显著影响固氮效率,极端干旱或低温会使固氮活性大幅下降;土壤酸碱度、有机质含量等因素与固氮菌群落组成及活性密切相关。本文可为黑土固氮研究及土壤管理模式提供参考,生物固氮在农业生产中既可为作物生长提供氮素营养,同时节约化学肥料投入、改善土壤结构,对黑土农田的可持续发展具有至关重要的意义。

现阶段对于黑土固氮微生物的探究多基于微生物的分离培养、功能基因标识及固氮微生物结构组成和多样性,对黑土中固氮微生物的固氮潜力等的研究还不够全面和深入,利用微生物进行黑土固氮是环境友好的黑土氮素补充形式。未来的研究可在以下几个方面深入开展:

1)黑土固氮微生物资源的深度挖掘。东北地区冬季寒冷、漫长,年平均气温-2~8℃,低温环境导致微生物活性下降。土著微生物具有独特的地域定殖能力,是宝贵的微生物资源,进一步挖掘黑土中固氮微生物,深入研究黑土固氮微生物的固氮机制,为黑土保护和利用提供微生物种质资源,从而实现固氮微生物的最大资源化利用。

2)高效固氮微生物菌剂及肥料的开发。生物固氮是一种环境友好的黑土氮素补充方式,微生物固

氮是大自然生物氮肥制造工厂,最大程度的开发基于固氮微生物的生物肥料,合理降低化学肥料的施用量,有利于绿色农业的可持续发展。目前已有关于固氮微生物肥料的研究报道,但是其生产种类以及应用效果仍有待提高。加强固氮微生物肥料的开发利用,对农田作物氮素供应、培肥土壤地力等具有重要意义。

3)农用高效固氮底盘微生物构建。将生物固氮引入农作物生产体系,在豆科、非豆科植物体内建立高效共生固氮体系。利用固氮微生物在植物根系的定殖作用,工程菌株可以在农作物根际实现生物固氮,通过构建定殖能力强的底盘菌株,模块优化以及替换人工重构设计多种预期生物活性功能。

4)系统研究黑土微生物固氮过程。利用组学、系统生物学与计算生物学等前沿学科交叉融合,深入挖掘并改造固氮功能菌株,利用GIS(地理信息系统)等检测黑土呼吸动态及碳氮循环过程,监测其固氮效果,深入研究黑土微生物固氮过程及其固氮潜力,为黑土地保护提供理论和技术支撑。

参考文献:

- [1] 梁爱珍,张延,陈学文,等.东北黑土区保护性耕作的发展现状与成效研究[J].地理科学,2022,42(8):1325-1335.
LIANG A Z, ZHANG Y, CHEN X W, et al. Development and effects of conservation tillage in the black soil region of northeast china[J].Scientia Geographica Sinica, 2022,42(8):1325-1335.
- [2] 韩晓增,李娜.中国东北黑土地研究进展与展望[J].地理科学,2018,38(7):1032-1041.
HAN X Z, LI N. Research progress of black soil in NorthEast China[J].Scientia Geographica Sinica, 2018, 38(7):1032-1041.
- [3] 王寅,李晓宇,王缘怡,等.东北黑土区农业绿色发展现状与优化策略[J].吉林农业大学学报,2022,44(6):647-656.
WANG Y, LI X Y, WANG Y Y, et al. Current status and optimizing strategy of agricultural green development for black soil region in NorthEast China[J].Journal of Jilin Agricultural University,2022,44(6):647-656.
- [4] SOUMARE A, DIEDHIOU A G, THUITA M, et al. Exploiting biological nitrogen fixation: A route towards a sustainable agriculture[J].Plants,2020,9(8):e1011.
- [5] CUI X H, GUO L Y, LI C H, et al. The total biomass nitrogen reservoir and its potential of replacing chemical fertilizers in China[J].Renewable and Sustainable Energy Reviews,2021,135:e110215.
- [6] NINKUU V, LIU Z X, QIN A Z, et al. Impact of straw

- returning on soil ecology and crop yield: A review[J]. *Heliyon*, 2025, 11(2): ee41651.
- [7] RAMOND J B, JORDAAN K, DÍEZ B, et al. Microbial biogeochemical cycling of nitrogen in arid ecosystems[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2022, 86(2): e00109-21.
- [8] 林伟, 李玉中, 李昱佳, 等. 氮循环过程的微生物驱动机制研究进展[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(6): 1146-1155.
- LIN W, LI Y Z, LI Y J, et al. Advances in the mechanism of microbe-driven nitrogen cycling[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(6): 1146-1155.
- [9] 荆晓姝, 丁燕, 韩晓梅, 等. 联合固氮菌的合成生物学研究进展[J]. *微生物学报*, 2021, 61(10): 3026-3034.
- JING X S, DING Y, HAN X M, et al. Advances in synthetic biology of associated nitrogen-fixation bacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(10): 3026-3034.
- [10] GROß C, HOSSEN S, HARTMANN H, et al. Biological nitrogen fixation and *nifH* gene abundance in deadwood of 13 different tree species[J]. *Biogeochemistry*, 2022, 161(3): 353-371.
- [11] 张锦源, 李彦生, 于镇华, 等. 作物-土壤氮循环对大气CO₂浓度和温度升高响应的研究进展[J]. *中国农业科学*, 2021, 54(8): 1684-1701.
- ZHANG J Y, LI Y S, YU Z H, et al. Nitrogen cycling in the crop-soil continuum in response to elevated atmospheric CO₂ concentration and temperature—a review[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2021, 54(8): 1684-1701.
- [12] BENNETT E M, MURRAY J W, ISALAN M. Engineering nitrogenases for synthetic nitrogen fixation: From pathway engineering to directed evolution[J]. *Biodesign Research*, 2023, 5: e0005.
- [13] LEHNERT N, DONG H T, HARLAND J B, et al. Reversing nitrogen fixation[J]. *Nature Reviews Chemistry*, 2018, 2(10): 278-289.
- [14] CHEN S T, LIU D, PENG T Y. Fundamentals and recent progress of photocatalytic nitrogen-fixation reaction over semiconductors[J]. *Solar RRL*, 2021, 5(2): e2000487.
- [15] EINSLE O. Catalysis and structure of nitrogenases[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2023, 83: e102719.
- [16] 周彤, 董思奇, 冯国忠, 等. 新型氮肥施用对东北黑土区玉米根际土壤固氮菌 *nifH* 基因多样性的影响[J]. *吉林农业大学学报*, DOI 10.13327/j.jjlau.2023.20235(2023) 1-10.
- ZHOU T, DONG S Q, FENG G Z, et al. Effect of novel nitrogen fertilizer application on *nifH* gene community of nitrogen-fixing bacteria in rhizosphere soil of maize in the black soil area of Northeast China[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, DOI 10.13327/j.jjlau.2023.20235(2023) 1-10.
- [17] LIU D, BANDYOPADHYAY A, LIBERTON M, et al. Investigation of the *Cyanothece* nitrogenase cluster in *Synechocystis*: A blueprint for engineering nitrogen-fixing photoautotrophs[J]. *mBio*, 2025, 16(4): e04052-24.
- [18] HAN L L, WANG Q, SHEN J P, et al. Multiple factors drive the abundance and diversity of the diazotrophic community in typical farmland soils of China[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2019, 95(8): efi2113.
- [19] LI Y M, XIONG L L, YU H, et al. Function and distribution of nitrogen-cycling microbial communities in the Napahai plateau wetland[J]. *Archives of Microbiology*, 2023, 205(11): e357.
- [20] KAWAKA F. Characterization of symbiotic and nitrogen fixing bacteria[J]. *AMB Express*, 2022, 12(1): e99.
- [21] GUO K Y, YANG J, YU N, et al. Biological nitrogen fixation in cereal crops: Progress, strategies, and perspectives[J]. *Plant Communications*, 2023, 4(2): e100499.
- [22] 廖洪凯. 农业生态系统非共生固氮研究进展[J]. *贵州师范大学学报(自然科学版)*, 2022, 40(1): 17-23.
- LIAO H K. Research progress of non-symbiotic nitrogen fixation in agroecosystem[J]. *Journal of Guizhou Normal University(Natural Sciences)*, 2022, 40(1): 17-23.
- [23] VAN CHUONG N, LE KIM TRI T. Isolation and characterization identification of edaphytic nitrogen-fixing bacteria from peanut nodules[J]. *International Journal of Microbiology*, 2024, 2024(1): e8973718.
- [24] 王加龙, 刘驰, 雷丽, 等. 非共生固氮菌及其固氮作用[J]. *微生物学报*, 2022, 62(8): 2861-2878.
- WANG J L, LIU C, LEI L, et al. Asymbiotic nitrogen-fixing bacteria and their nitrogen fixation potential[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(8): 2861-2878.
- [25] 胡应平, 林冬梅, 胡弘正, 等. 早稻联合固氮菌的分离、鉴定及功能特性[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2024, 53(6): 797-807.
- HU Y P, LIN D M, HU H Z, et al. Isolation, identification and functional characteristics of associative nitrogen-fixing bacteria in upland rice[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University(Natural Science Edition)*, 2024, 53(6): 797-807.
- [26] 邱雪萌, 郑娟, 薛威, 等. 固氮模块在耐辐射异常球菌底盘中的表达特性分析[J]. *中国农业科技导报*, 2023, 25(5): 77-86.
- QIU X M, ZHENG J, XUE W, et al. Analyses of *deinococcus radiodurans* chassis expressing a nitrogen-fixing module[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2023, 25(5): 77-86.
- [27] SHANG Y M, SHI H W, LIU M Z, et al. Using synthetic biology to express nitrogenase biosynthesis pathway in rice and to overcome barriers of nitrogenase insta-

- bility in plant cytosol[J]. Trends in Biotechnology, 2025, 43(4):946-968.
- [28] ITO Y, YOSHIDOME D, HIDAKA M, et al. Improvement of the nitrogenase activity in *Escherichia coli* that expresses the nitrogen fixation-related genes from *Azotobacter vinelandii* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2024, 728: e150345.
- [29] SEPP S K, VASAR M, DAVISON J, et al. Global diversity and distribution of nitrogen-fixing bacteria in the soil[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: e1100235.
- [30] 代金霞, 姚佳妮, 刘爽, 等. 荒漠灌木林土壤 nifH 基因丰度及固氮微生物群落组成特征[J]. 北京林业大学学报, 2024, 46(11):43-52.
- DAI J X, YAO J N, LIU S, et al. Abundance of nifH gene and nitrogen-fixing microbial community composition characteristics in desert scrubland soil[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(11):43-52.
- [31] 盛阳阳, 徐秀美, 张巧红, 等. 光合作用碳同化的合成生物学研究进展[J]. 合成生物学, 2022(5):870-883.
- SHENG Y Y, XU X M, ZHANG Q H, et al. Advances in synthetic biology for photosynthetic carbon assimilation [J]. Synthetic Biology Journal, 2022(5):870-883.
- [32] 王光华, 胡晓婧, 于镇华, 等. 施肥对我国黑土农田土壤微生物群落多样性影响的研究及展望[J]. 土壤与作物, 2024, 13(2):127-139.
- WANG G H, HU X J, YU Z H, et al. Effects of fertilization on soil microbial community diversity in Chinese arable black soils: Research progress and prospects[J]. Soils and Crops, 2024, 13(2):127-139.
- [33] 黄丹丹, 高越, 陈文博, 等. 适宜施氮量提高东北黑土非共生固氮速率和固氮菌丰度[J]. 植物营养与肥料学报, 2024, 30(12):2258-2266.
- HUANG D D, GAO Y, CHEN W B, et al. Optimal nitrogen application rate enhances the asymbiotic nitrogen fixation rate and nitrogen-fixing bacteria abundance in black soil of NorthEast China[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2024, 30(12):2258-2266.
- [34] 姜夺. 阿特拉津对根瘤菌-大豆共生体固氮作用的影响规律与机制[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2023.
- JIANG D. Effect of atrazine on nitrogen fixation of rhizobia-soybean symbiont and its mechanism[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2023.
- [35] CHEN L, LI K K, SHI W J, et al. Negative impacts of excessive nitrogen fertilization on the abundance and diversity of diazotrophs in black soil under maize monocropping[J]. Geoderma, 2021, 393: e114999.
- [36] GOU Z C, ZHENG H Y, HE Z Q, et al. The combined action of biochar and nitrogen-fixing bacteria on microbial and enzymatic activities of soil N cycling[J]. Environmental Pollution, 2023, 317: e120790.
- [37] 刘克寒, 杨升辉, 黄巧云, 等. 黑龙江大豆根瘤菌及根际促共生菌株的筛选及应用[J]. 生物技术通报, 2025, 41(1):252-262.
- LIU K H, YANG S H, HUANG Q Y, et al. Isolation and application of soybean rhizobia and symbiosis-promoting rhizobacteria from heilongjiang province [J]. Biotechnology bulletin, 2025, 41(1):252-262.
- [38] 侯萌, 陈一民, 焦晓光, 等. 两种气候条件下不同有机质含量农田黑土真菌群落结构特征[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9):2822-2832.
- HOU M, CHEN Y M, JIAO X G, et al. Characteristics of fungal community structure in arable mollisols with different organic matter content under two climatic conditions[J]. Microbiology China, 2020, 47(9):2822-2832.
- [39] 王超, 陈娟, 沈仁芳. 酸性红壤上玉米不同部位固氮微生物群落丰度和组成特征[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(5):741-750.
- WANG C, CHEN J, SHEN R F. Diazotroph abundance and community composition in different parts of maize (*Zea mays* L.) cultivated in acid red soil [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2021, 27(5):741-750.
- [40] 焦冰洁, 徐琳, 李香真, 等. 黄土高原水蚀风蚀交错区固氮微生物群落多样性在生物结皮中的演变规律[J]. 生态学报, 2023, 43(23):9662-9673.
- JIAO B J, XU L, LI X Z, et al. Diazotrophic community diversity in the succession development of biological soil crusts in water-wind erosion crisscross region of the Loess Plateau [J]. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(23):9662-9673.
- [41] 田佳鑫, 刘四义, 王文富, 等. 东北地区大豆根瘤菌的多样性及应用[J]. 应用生态学报, 2024, 35(7):1850-1858.
- TIAN J X, LIU S Y, WANG W F, et al. Diversity of soybean rhizobia in NorthEast China and their application [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2024, 35(7):1850-1858.
- [42] 周彤. 新型氮肥长期施用对玉米氮素利用及固氮菌 nifH 基因群落的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2023.
- ZHOU T. Effects of long-term application of new nitrogen fertilizer on nitrogen utilization and nifH gene community of nitrogen fixing bacteria in maize [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2023.
- [43] MONTES-LUZ B, CONRADO A C, ELLINGSEN J K, et al. Acetylene reduction assay: A measure of nitrogenase activity in plants and bacteria [J]. Current Protocols, 2023, 3(5):ee766.
- [44] PAYÁ-TORMO L, COROIAN D, MARTÍN-MUÑOZ S, et al. A colorimetric method to measure *in vitro* nitrogenase functionality for engineering nitrogen fixation [J]. Scientific Reports, 2022, 12: e10367.
- [45] 谢志煌. 作物秸秆氮在黑土中的转化及微生物生态特

- 征[D].哈尔滨:中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所),2022.
- XIE Z H. Transformation of crop straw nitrogen in black soil and microbial ecological characteristics[D].Harbin: Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences,2022.
- [46] 张森.黑土区农田土壤-大豆系统碳氮循环及传输过程研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2023.
- ZHANG M. Study on carbon and nitrogen cycle and transport process of farmland soil-soybean system in black soil area[D].Harbin:Northeast Agricultural University,2023.
- [47] 张俪予.长期施肥下玉米微生物组装配机制与固氮潜力研究[D].北京:中国农业科学院,2023.
- ZHANG L Y. Study on assembly mechanism and nitrogen fixation potential of maize microbe under long-term fertilization [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences,2023.
- [48] 苗贺,袁磊,杨森茵,等.基于¹⁵N示踪的东北黑土地保护性耕作农田减氮增产调控机制[J].应用生态学报,2023,34(4):876-882.
- MIAO H, YUAN L, YANG M Y, et al. Mechanisms of conservation tillage on nitrogen-fertilizer reduction and maize grain improvement in Mollisols of NorthEast China: Insights from a ¹⁵N tracing study[J].Chinese Journal of Applied Ecology,2023,34(4):876-882.
- [49] ZHANG H Y, PLETT J M, CATUNDA K L M, et al. Rapid quantification of biological nitrogen fixation using optical spectroscopy [J]. Journal of Experimental Botany,2024,75(3):760-771.
- [50] 孙向平.南方经济作物固氮微生物研究进展[J].农业科学,2022(7):524-527.
- SUN X P. Research progress on nitrogen fixing microorganisms of southern economic crops[J].Hans Journal of Agricultural Sciences,2022(7):524-527.
- [51] GRZYB A, WOLNA-MARUWKA A, NIEWIADOMSKA A. The significance of microbial transformation of nitrogen compounds in the light of integrated crop management[J].Agronomy,2021,11(7):e1415.
- [52] 杨军,刘承武,李霞,等.豆科植物-微生物共生固氮研究进展[J].植物生理学报,2023,59(8):1407-1435.
- YANG J, LIU C W, LI X, et al. Advances in the legume - rhizobia symbiosis[J].Plant Physiology Journal,2023,59(8):1407-1435.
- [53] 华智超,汪甜,贾晟楠,等.基于有机肥/生物有机肥和菌剂的化学氮肥减施技术在大蒜上的应用[J].中国土壤与肥料,2022(4):178-183.
- HUA Z C, WANG T, JIA S N, et al. Application of chemical nitrogen fertilizer reduction technology based on organic fertilizer/bio-organic fertilizer and 1, 2 [J]. Soil and Fertilizer Sciences in China,2022(4):178-183.
- [54] WANG L, ZHANG H, WANG J, et al. Long-term fertilization with high nitrogen rates decreased diversity and stability of diazotroph communities in soils of sweet potato[J].Applied Soil Ecology,2022,170:e104266.
- [55] WEI Q R, YIN Y B, TONG Q S, et al. Multi-omics analysis of excessive nitrogen fertilizer application: Assessing environmental damage and solutions in potato farming [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety,2024,284:e116916.
- [56] TIMOFEEVA A M, GALYAMOVA M R, SEDYKH S E. Plant growth-promoting soil bacteria: Nitrogen fixation, phosphate solubilization, siderophore production, and other biological activities[J].Plants,2023,12(24):e4074.
- [57] ZHONG X B, WANG J, SHI X L, et al. Genetically optimizing soybean nodulation improves yield and protein content[J].Nature Plants,2024,10(5):736-742.
- [58] AYILARA M S, ADELEKE B S, BABALOLA O O. Bioprospecting and challenges of plant microbiome research for sustainable agriculture, a review on soybean endophytic bacteria[J].Microbial Ecology,2023,85(3):1113-1135.
- [59] 周萌,张嘉俊,罗洋.微生物肥料的作用机理、现状及展望[J].中国农学通报,2023,39(33):68-75.
- ZHOU M, ZHANG J J, LUO Y. The mechanism, current status and prospects of microbial fertilizers [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2023,39(33):68-75.
- [60] KAUSHAL P, ALI N, SAINI S, et al. Physiological and molecular insight of microbial biostimulants for sustainable agriculture [J].Frontiers in Plant Science,2023,14:e1041413.
- [61] GIORDANO M, PETROPOULOS S, ROUPHAEL Y. The fate of nitrogen from soil to plants: Influence of agricultural practices in modern agriculture [J]. Agriculture,2021,11(10):e944.
- [62] 魏万玲.施肥与根瘤菌对黑土大豆根际微生物组的影响及固氮溶磷菌群构建[D].北京:中国农业科学院,2024.
- WEI W L. Effects of fertilization and rhizobia on rhizosphere microflora of soybean in black soil and construction of nitrogen fixing and phosphorus dissolving flora [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences,2024.
- [63] 田伟,程梓伦,周琪,等.生物有机肥减少菜地土壤N₂O排放的潜力与机制[J].农业资源与环境学报,2025,42(2):369-379.
- TIAN W, CHENG Z L, ZHOU Q, et al. Potential and mechanisms of bio-organic fertilizer in reducing N₂O emission from vegetable soil [J]. Journal of Agricultural Resources and Environment,2025,42(2):369-379.
- [64] HOU D M, MENG X C, QIN M T, et al. Nitrous oxide (N₂O) emission characteristics of farmland (rice,

- wheat, and maize) based on different fertilization strategies[J].PLoS One, 2024, 19(7):ee0305385.
- [65] K. Zhang, Y. Qiu, Y. Zhao, et al., Moderate precipitation reduction enhances nitrogen cycling and soil nitrous oxide emissions in a semi-arid grassland, *Global change biology*, 29 (2023) 3114-3129.
- [66] TIAN H Q, XU R T, CANADELL J G, et al. A comprehensive quantification of global nitrous oxide sources and sinks[J].*Nature*, 2020, 586(7828):248-256.
- [67] CARLOS M R, LI C L, JEN O, et al. Nutrient cycling and greenhouse gas emissions from soil amended with biochar-manure mixtures[J].*Pedosphere*, 2021, 31(2):289-302.
- [68] 胡慧娟,袁丹,曾佳瑞,等.植物排放 N₂O 研究进展[J].*中国生态农业学报(中英文)*, 2021, 29(2):345-354.
- HU H X, YUAN D, ZENG J R, et al. Advances in plant nitrous oxide (N₂O) emissions[J].*Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2021, 29(2):345-354.
- [69] 朱义族,李雅颖,韩继刚,等.水分条件变化对土壤微生物的影响及其响应机制研究进展[J].*应用生态学报*, 2019, 30(12):4323-4332.
- ZHU Y Z, LI Y Y, HAN J G, et al. Effects of changes in water status on soil microbes and their response mechanism: A review[J].*Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(12):4323-4332.
- [70] ZHANG B, WANG M D, SUN Y F, et al. Glycine max NNL1 restricts symbiotic compatibility with widely distributed bradyrhizobia via root hair infection[J].*Nature Plants*, 2021, 7(1):73-86.
- [71] SIQUEIRA A F, SUGAWARA M, ARASHIDA H, et al. Levels of periplasmic nitrate reductase during denitrification are lower in *Bradyrhizobium japonicum* than in *Bradyrhizobium diazoefficiens* [J].*Microbes and Environments*, 2020, 35(3):ME19129.
- [72] WANG S S, YE H H, YANG C F, et al. OsNLP3 and OsPHR2 orchestrate direct and mycorrhizal pathways for nitrate uptake by regulating NAR2.1-NRT2s complexes in rice[J].*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2025, 122(8):e2416345122.
- [73] LI Z L, ZENG Z Q, SONG Z P, et al. Vital roles of soil microbes in driving terrestrial nitrogen immobilization[J].*Global Change Biology*, 2021, 27(9):1848-1858.
- [74] 李亚男.长期施肥对黑土碳、氮循环的影响及微生物调控作用[D].长春:吉林农业大学, 2023.
- LI Y N. Effects of long-term fertilization on carbon and nitrogen cycle in black soil and microbial regulation[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2023.
- [75] HU X J, LIU J J, WEI D, et al. Long-term application of nitrogen, not phosphate or potassium, significantly alters the diazotrophic community compositions and structures in a Mollisol in NorthEast China [J].*Research in Microbiology*, 2019, 170(3):147-155.
- [76] FAN K K, DELGADO-BAQUERIZO M, GUO X S, et al. Suppressed N fixation and diazotrophs after four decades of fertilization[J].*Microbiome*, 2019, 7(1):e143.
- [77] CHEN H, ZHENG C Y, QIAO Y Q, et al. Long-term organic and inorganic fertilization alters the diazotrophic abundance, community structure, and co-occurrence patterns in a vertisol[J].*Science of the Total Environment*, 2021, 766:e142441.
- [78] 周晶.长期施氮对东北黑土微生物及主要氮循环菌群的影响[D].北京:中国农业大学, 2017.
- ZHOU J. Effects of long-term nitrogen application on microbes and main nitrogen circulating flora in black soil of NorthEast China[D]. Beijing: China Agricultural University, 2017.
- [79] 丁建莉,姜昕,关大伟,等.东北黑土微生物群落对长期施肥及作物的响应[J].*中国农业科学*, 2016, 49(22):4408-4418.
- DING J L, JIANG X, GUAN D W, et al. Responses of micropopulation in black soil of northeast china to long-term fertilization and crops[J].*Scientia agricultura sinica*, 2016, 49(22):4408-4418.
- [80] 高威,王连峰,贾仲君.长期不同施肥模式对农田黑土微生物群落构建的影响[J].*生态与农村环境学报*, 2021, 37(11):1437-1448.
- GAO W, WANG L F, JIA Z J. Changes in community assembly of microbiomes in black soil under distinct scenarios of long-term field fertilization[J].*Journal of Ecology and Rural Environment*, 2021, 37(11):1437-1448.
- [81] 马馨怡.秸秆还田对稻田土壤生物固氮活性及固氮微生物群落的影响[D].大连:大连交通大学, 2024.
- MA X Y. Effects of straw returning on biological nitrogen fixation activity and nitrogen fixing microbial community in paddy soil[D]. Dalian: Dalian Jiaotong University, 2024.
- [82] 李旭.秸秆添加对农田土壤固氮速率及固氮微生物群落特征的影响[D].北京:中国农业科学院, 2021.
- LI X. Effects of straw addition on nitrogen fixation rate and characteristics of nitrogen fixation microbial community in farmland soil [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021.
- [83] 鲁伟,王凤杰,汪小岳.不同大豆-根瘤菌共生组合的根系构型及共生固氮能力[J].*农业工程学报*, 2025, 41(7):121-128.
- LU W, WANG F J, WANG X C. Root architecture and symbiotic nitrogen fixation potential of different soybean-rhizobia symbiotic combinations [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2025,

- 41(7):121-128.
- [84] 冯雪婉,李翠兰,彭畅,等.玉米一大豆轮作体系对黑土土壤固氮菌群落结构及其质量的影响[J].自然资源学报,2022,37(9):2319-2333.
- FENG X W, LI C L, PENG C, et al. Effects of corn-soybean rotation system on soil nitrogen-fixing bacteria community structure and quality in black soil[J].Journal of Natural Resources,2022,37(9):2319-2333.
- [85] 王文慧,孟祥海,王佰成,等.长期不同种植模式对黑土区土壤结构的影响[J].中国土壤与肥料,2024(12):1-7.
- WANG W H, MENG X H, WANG B C, et al. The effects of long-term different planting patterns on soil structure in black soil areas[J].Soil and Fertilizer Sciences in China,2024(12):1-7.
- [86] 张森,刘俊杰,刘株秀,等.黑土区农田土壤氮循环关键过程微生物基因丰度的分布特征,土壤学报,2022,59(05):1258-1269.
- ZHANG M, LIU J J, LIU S X, et al. Distribution characteristics of microbial gene abundance in key processes of soil nitrogen cycling in black soil zone[J].Acta Pedologica Sinica,2022,59(05):1258-1269.
- [87] VIRK A L, LIN B J, KAN Z R, et al. Simultaneous effects of legume cultivation on carbon and nitrogen accumulation in soil[J].Advances in Agronomy.Amsterdam: Elsevier,2022:75-110.
- [88] 李猛.免耕对黑土农田土壤微生物群落结构的影响[D].哈尔滨:中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所),2021.
- LI M. Effect of no-tillage on soil microbial community structure in black soil farmland [D]. Harbin: Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences,2021.
- [89] 王威雁,沈鹏飞,张侯平,等.长期保护性耕作下土壤团聚体全氮与氮功能微生物关系研究[J].土壤学报,2024,61(6):1653-1667.
- WANG W Y, SHEN P F, ZHANG H P, et al. Study on the relationship between total nitrogen and nitrogen functional microorganisms in soil aggregates under long-term conservation tillage [J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(6):1653-1667.
- [90] 李猛,李海瑜,高明,等.保护性耕作对黑土不同土层土壤固氮菌丰度和群落结构的影响[J].土壤与作物,2022,11(3):273-281.
- LI M, LI H Y, GAO M, et al. Effect of conservation tillage on the abundance and diversities of soil diazotrophic communities in different soil layers of Mollisol [J]. Soils and Crops,2022,11(3):273-281.
- [91] ZHANG M, HOU R J, LI T X, et al. Study of soil nitrogen cycling processes based on the ¹⁵N isotope tracking technique in the black soil areas[J].Journal of Cleaner Production,2022,375:e134173.
- [92] 杨宏泽,付强,李天霄,等.耕作模式对东北黑土地大豆土壤理化特性及根系生长发育的影响[J].水土保持学报,2025,39(3):288-302.
- YANG H Y, FU Q, LI T X, et al. Effects of tillage practices on soil physicochemical properties and root growth of soybean in black soil region of Northeast China[J].Journal of Soil and Water Conservation,2025,39(3):288-302.
- [93] 朱勇,李建业,张程远,等.长期保护性耕作对坡耕地黑土有机碳组分的影响[J].农业工程学报,2023,39(10):103-111.
- ZHU Y, LI J Y, ZHANG C Y, et al. Effects of long-term conservation tillage on black soil organic carbon components in sloping farmland [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineerin, 2023, 39(10):103-111.
- [94] XIE Y N, OUYANG Y, HAN S, et al. Crop rotation stage has a greater effect than fertilisation on soil microbiome assembly and enzymatic stoichiometry[J].Science of the Total Environment,2022,815:e152956.
- [95] INOMURA K, DEUTSCH C, WILSON S T, et al. Quantifying oxygen management and temperature and light dependencies of nitrogen fixation by *Crocospaera watsonii*[J].mSphere,2019,4(6):e00531-19.
- [96] 游智湧,刘博林,刘程,等.长江口沉积物固氮过程的温度敏感性及其影响因素[J].华东师范大学学报(自然科学版),2022(3):101-108.
- YOU Z Y, LIU B L, LIU C, et al. Temperature sensitivity and controlling factors of nitrogen fixation processes in sediments of the Yangtze River Estuary [J]. Journal of East China Normal University (Natural Science), 2022 (3):101-108.
- [97] ZHENG M H, ZHOU Z H, ZHAO P, et al. Effects of human disturbance activities and environmental change factors on terrestrial nitrogen fixation [J]. Global Change Biology,2020,26(11):6203-6217.
- [98] 万涛,邸伟,马春梅,等.大豆根瘤固氮酶活性与温度关系的研究[J].作物杂志,2012,(6):56-60.
- WAN T, DI W, MA C M, et al. Study on the relationship between soybean nodule nitrogenase activity [J]. Crops,2012,(6):56-60.
- [99] HUANG W, WANG Y Y, HU Z H, et al. Warming increased the promotion of atmospheric CO₂ concentration on biological nitrogen fixation by changing the nifH gene community [J]. Science of The Total Environment, 2025,975:e179210.
- [100] DAUNORAS J, KAČERGIUS A, GUDIUKAITĖ R. Role of soil microbiota enzymes in soil health and activity changes depending on climate change and the type of soil ecosystem [J]. Biology, 2024, 13(2):e85.

- [101] NAZEMI M, EL-SAYED M A. Managing the nitrogen cycle via plasmonic (photo) electrocatalysis: Toward circular economy[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2021, 54(23):4294-4304.
- [102] 刘灵芝, 郭冰清, 王丰, 等. 长期施氮对土壤氨化细菌和氮矿化作用的影响[J]. *土壤学报*, 2025, 62(2):543-554.
LIU L Z, GUO B Q, WANG F, et al. Effects of long-term nitrogen application on the soil ammonifier and nitrogen mineralization [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2025, 62(2):543-554.
- [103] 宋延静, 马兰, 张晓黎, 等. 滨海盐度梯度土壤中固氮菌和反硝化菌的分布特征[J]. *土壤通报*, 2024, 55(2):471-482.
SONG Y J, MA L, ZHANG X L, et al. Distribution patterns of abundance and community composition of nitrogen-fixing and denitrifying bacteria along the salinity gradient in coastal soils [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2024, 55(2):471-482.
- [104] 任杰, 张晓, 梁琼月, 等. 不同培养条件对内生菌 A02、A08 固氮酶活力的影响及培养条件优化[J]. *西南农业学报*, 2019, 32(11):2571-2578.
REN J, ZHANG X, LIANG Q Y, et al. Effects of culture conditions on nitrogenase activity of endophytes A02, A08 from cassava and optimization of culture conditions [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 32(11):2571-2578.
- [105] 邓超, 杜秀娟, 黄涛, 等. 碳氮比对固氮菌株 WN-F 合成胞外多糖的影响[J]. *生物技术通报*, 2018, 34(3):194-199.
DENG C, DU X J, HUANG T, et al. The promotion of proper carbon nitrogen ratio in the synthesis of extracellular polysaccharide by nitrogen-fixing strains WN-F [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(3):194-199.
- [106] HE C, LI K K, LI J K, et al. Rice straw increases microbial nitrogen fixation, bacterial and nifH genes abundance with the change of land use types [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 14:e1283675.
- [107] 王庆贵, 张晓莹. 土壤微生物对大气氮沉降的响应研究进展[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2021, 49(6):11-18, 69.
WANG Q G, ZHANG X Y. Response of soil microorganisms to atmospheric nitrogen deposition: A review [J]. *Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition)*, 2021, 49(6):11-18, 69.
- [108] 白洁, 姚拓, 雷杨, 等. 欧李 (*Cerasus humilis*) 内生固氮细菌筛选、鉴定及特性研究[J]. *草地学报*, 2022, 30(4):859-866.
BAI J, YAO T, LEI Y, et al. Screening, identification and characteristics of endophytic nitrogen-fixing bacteria in *Cerasus humilis* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, 30(4):859-866.
- [109] 何敏, 许秋月, 夏允, 等. 植物磷获取机制及其对全球变化的响应[J]. *植物生态学报*, 2023, 47(3):291-305.
HE M, XU Q Y, XIA Y, et al. Plant phosphorus acquisition mechanisms and their response to global climate changes [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2023, 47(3):291-305.
- [110] 王玉芳, 郑棉海, 王森浩, 等. 氮磷添加对华南地区 2 种人工林土壤氮磷循环酶活性的影响[J]. *热带亚热带植物学报*, 2021, 29(3):244-250.
WANG Y F, ZHENG M H, WANG S H, et al. Effects of long-term nitrogen and phosphorus additions on soil enzyme activities related n and p cycle in two plantations in South China [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2021, 29(3):244-250.