南京农业大学学报 2026,49(5):990-1007
Journal of Nanjing Agricultural University
http://nauxb.njau.edu.cn
DOI:10.7685/jnau.202604042

韦革宏,焦硕,陈春,等.固氮菌剂:从机理研究到田间应用的进展与展望[J]. 南京农业大学学报,2026,49(5):990-1007.
Wei G H,Jiao S ,Chen C,et al. Nitrogen-fixing bacterial inoculants:progress and prospects from mechanistic research to field application[J]. Journal of Nanjing Agricultural University,2026,49(5):990-1007.

特约综述

固氮菌剂:从机理研究到田间应用的进展与展望

韦革宏[1*],焦硕[1*],陈春[1],陈卫民[1],李哲斐[1],王红雷[1],魏晓梦[1],宋莉[1],
史鹏[1],舒敦涛[1],丑敏霞[1],陈娟[1],陈实[1],张城伟[1],张瑞福[2]

(1.西北农林科技大学作物抗逆与高效生产全国重点实验室,陕西 杨凌 712100;
2.南京农业大学资源与环境科学学院,江苏 南京 211800)

摘要:固氮菌剂是推动化肥减量增效、提升耕地质量并促进农业绿色转型的核心要素,在农业可持续发展中具有重要战略地位。本文系统梳理了固氮菌的研究体系,涵盖固氮微生物多样性及其固氮机制、高效菌种资源挖掘与选育技术、制剂生产工艺及田间应用技术,深入分析了制约其产业化应用的关键问题。研究表明,菌剂改良效果的不稳定性,主要源于接种菌株与土著微生物群落互作机制不清、传统筛选与评价方法效率低且可重复性差、生产工艺与施用技术尚不完善等方面。针对上述问题,本文提出深化原位微生态系统互作机制研究、推动合成菌群理性设计、建立智能化筛选与标准化评价体系、创新绿色高效生产工艺、推进精准施用与场景拓展等应对策略,并对未来研究方向进行了展望。固氮菌剂研究将向"机制深化、功能协同、智能精准、绿色高效"方向深入发展,为保障国家粮食安全、推动农业绿色转型提供重要科技支撑。

关键词:固氮菌剂;生物固氮;合成菌群;菌种选育;绿色农业
中图分类号:S144.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1000-2030(2026)05-0990-18

Nitrogen-fixing bacterial inoculants:progress and prospects from mechanistic research to field application

WEI Gehong[1*],JIAO Shuo[1*],CHEN Chun[1],CHEN Weimin[1],LI Zhefei[1],WANG Honglei[1],
WEI Xiaomeng[1],SONG Li[1],SHI Peng[1],SHU Duntao[1],CHOU Minxia[1],
CHEN Juan[1],CHEN Shi[1],ZHANG Chengwei[1],ZHANG Ruifu[2]

(1.State Key Laboratory for Crop Stress Resistance and High-Efficiency Production,Northwest A&F University,
Yangling 712100,China;2.College of Resources and Environmental Sciences,
Nanjing Agricultural University,Nanjing 211800,China)

Abstract:Nitrogen-fixing bacterial inoculants are key components for promoting fertilizer reduction and efficiency enhancement, improving arable land quality,and facilitating the green transformation of agriculture,and they hold a significant strategic position in sustainable agricultural development. This paper systematically reviews the research aspects of nitrogen-fixing bacterial inoculants, covering the diversity and nitrogen-fixing mechanisms of nitrogen-fixing microorganisms, technologies for mining and selecting efficient strains,formulation production processes,and field application techniques. It further analyzes key issues restricting their industrial application. Research indicates that the instability of inoculant efficacy primarily stems from unclear mechanisms of interaction between inoculated strains and native microbial communities, low efficiency and poor reproducibility of traditional screening and evaluation methods,and deficiencies in production processes and application techniques. To address these challenges, this paper proposes future strategies and prospects,including deepening research on in situ micro-ecosystem interaction mechanisms, promoting the rational design of synthetic microbial consortia,establishing intelligent screening and standardized evaluation systems, innovating green and efficient production processes,and advancing precision application and expansion of application scenarios. Research on nitrogen-fixing bacterial inoculants will progress toward deeper mechanistic understanding,functional synergy,intelligent and precision application,and green and efficiency processes,providing crucial scientific and technological support for ensuring

收稿日期:2026-04-30
基金项目:教育部基础学科和交叉学科突破计划项目(JYB2025XDXM703)
作者简介:韦革宏,教授,博士,主要从事土壤微生物生态研究,E-mail:weigehong@ nwafu.edu.cn;焦硕,教授,博士,主要从事土壤微生物生态研究,E-mail: shuojiao@ nwsuaf.edu.cn。*通信作者。

national food security and promoting the green transformation of agriculture.

Keywords: nitrogen-fixing bacterial inoculants; biological nitrogen fixation; synthetic microbial consortia; strain improvement; green agriculture

生物固氮作为陆地生态系统新氮输入的最大自然来源,支撑全球 11%的植物氮素需求和 16%的陆地净初级生产力,是驱动地球圈层氮素循环的关键引擎[1-2]。当前,全球陆地生物固氮输入约为 65 $Tg \cdot a^{-1}$,其中农业生态系统固氮量高达 56 $Tg \cdot a^{-1}$,对维持全球氮素平衡至关重要[2-3]。固氮微生物作为该过程的关键功能类群,介导“大气惰性氮”向“生物可利用氮”的定向转化,是维系农业生态系统氮素循环的核心枢纽[4]。农业生态系统中不同类型的固氮微生物通过功能耦合和生态位互补,形成了多层次的农田生物供氮体系[5]。其中,以豆科作物根瘤菌为核心的共生固氮体系,是农田高效氮输入的重要途径[6];以伯克霍尔德菌(*Burkholderia*)等为代表的联合固氮菌广泛定殖于作物根际及根内组织,在部分作物体系中可显著促进植物氮素获取,是农业生态系统中重要的潜在氮源[7];以固氮菌属(*Azotobacter*)为代表的自生固氮菌广泛分布于作物叶际、根际及土壤环境中,能够通过自身代谢活动贡献生态系统氮素输入,是农田土壤氮循环和基础氮素供给的重要微生物类群[8]。三类固氮体系协同作用,共同驱动农业生态系统氮素循环,对维持土壤肥力和保障作物生产至关重要。

随着全球人口持续增长和气候变化加剧以及区域水土资源禀赋与农业发展需求不匹配,全球农业生产和粮食供给面临严峻挑战[9-10]。过去 60 年全球化学肥料总施用量由 0.3 亿吨增长至 1.95 亿吨,增幅超过 500%。持续增加的化学肥料用量对粮食作物增产贡献超过 50%,在保障全球粮食安全和缓解人口饥饿中发挥重要作用[11]。然而,长期以来以化学氮肥为主的高投入方式在提升作物产量的同时,也带来了突出的资源和环境代价,并在一定程度上重塑了农业生态系统氮素循环格局。纵观氮肥生产、管理和施用环节,化学氮肥环境负效应日益凸显。化学氮肥生产过程消耗了农业系统超过 50%的能源,并贡献了约 2.4%的全球温室气体排放;同时,化学氮肥施用也是全球农业土壤 N_2O 以及 NH_3 排放的重要来源[12]。由于过量施用和不合理的管理措施,全球作物氮素利用率仅为 30%~50%,大量的活性氮通过挥发、径流和淋溶等途径进入土壤和水体,导致水体富营养化和地下水污染,对生态环境和人类健康构成持续风险[13-14]。在此背景下,如何构建兼顾作物高产稳产和环境生态效益改善的氮素管理策略,已成为全球农业可持续转型中最具挑战性的重大科学命题。当今世界百年变局加速演进,农业绿色转型、污染减排增效以及耕地地力提升面临更加严峻挑战,单纯依赖化学氮肥驱动的农业发展模式已触及生态红线,难以为继。鉴于生物固氮在农业生态系统氮素循环中的关键作用,强化生物固氮功能并推动其在农业生态系统中的应用,是化解氮肥依赖僵局、实现氮素可持续管理和农业绿色高质量发展的重要途径。

在农业绿色转型和化肥减量增效需求推动下,生物固氮因其能够减少外源氮肥投入、促进农业生态系统氮循环优化而受到广泛关注。作为连接大气氮与植物氮素营养的重要生物过程,强化固氮功能并提升其农业应用效率,是实现农业可持续发展的重要技术路径[15]。在此背景下,固氮菌剂作为生物固氮功能的工程化载体,不仅是化肥减量增效的关键技术支撑,更是推动农业生态系统氮素管理由外源投入驱动向生物调控驱动转变的重要抓手[16]。这一过程中,固氮菌剂通过调控氮素输入、转化和利用过程,为优化农田生态系统氮循环提供了新的技术路径。随着农业生产向资源高效利用和绿色低碳方向转型,固氮菌剂的功能内涵不断拓展,逐步由单一增产手段转变为兼具资源利用效率提升、土壤微生态调控与生产效益优化的综合性绿色投入品。

目前,固氮菌剂仍面临实验室条件下功能表现良好而田间应用效果不稳定的关键瓶颈,即“实验室有效、田间失效”的现象仍广泛存在。造成这一差异的原因并非单一因素限制,而是由菌株自身功能表达、遗传背景、环境适应性以及根际生态互作等多重因素共同决定。一方面,外源固氮菌在复杂土壤环境中面临土著微生物竞争、生态位占据和环境胁迫等挑战,其定殖能力和功能稳定性直接影响田间应用效果;另一方面,非豆科作物缺乏高效共生固氮体系,如何通过合成生物学手段改造固氮微生物,突破固氮酶耐氧性、耐铵性以及氮素释放效率等限制,实现高效稳定的生物固氮,仍是当前固氮微生物研究亟需解决的重要科学问题。此外,土壤水分、养分状态、pH 值等非生物环境因素以及微生物群落互作关系,也共同影响固氮菌剂的生态适应性和应用效果。因此,系统解析固氮菌剂作用机制、优化菌株设计策略并阐明环境适配规律,是推动固氮菌剂由实验研究走向农业应用的关键。

基于上述科学问题与应用瓶颈,本文围绕固氮菌剂从机制解析、菌株设计到应用转化的关键技术体系开展系统梳理。从根际微生态视角,重点梳理固氮微生物多样性形成及其固氮机制,重点关注固氮类群多样性、固氮酶转录调控机制、共生与联合固氮体系的信号交流机制以及作物-固氮系统的环境胁迫响应规律;从菌种资源挖掘层面,总结高效固氮菌种资源挖掘技术、功能菌株筛选以及合成固氮多功能菌群的构建策略;从固氮菌剂的创制与应用角度,重点探讨其在不同作物和生态条件下的应用模式与效果评价。在此基础上,深度剖析当前固氮菌剂相关科研成果转化和产业化过程中面临的"卡脖子"问题,探讨强化生物固氮效率和提升固氮菌剂应用稳定性的技术路径,并对未来发展方向进行展望,有望为推动我国固氮技术向高效化、稳定化和智能化方向发展提供重要农业科技支撑。

1 固氮菌多样性及与植物共生机制

1.1 固氮微生物类群

空气中78%为氮气,因其化学惰性而无法被高等生物直接利用。固氮微生物具有将氮气转化为能被植物同化氨的能力,此即为生物固氮(biological nitrogen fixation,BNF)。一般认为,固氮生物都是原核微生物,它们好氧、厌氧或兼性厌氧,营自生或共生生活,还有些类群能进行光合作用。然而,Coale等[17]报道,一种特殊的蓝细菌UCYN-A在与其真核宿主贝氏布拉藻(*Braarudosphaera bigelowii*)经过1亿年的共进化后,已经从内共生体进化成了一种专门固氮的真核细胞器——硝质体(nitroplast),从而将只能由原核细胞执行的固氮功能扩展到真核生物。

目前,科学家已在80 000个以上测序的原核生物基因组中,鉴定出超过3 700种明确携带核心固氮基因(如*nifH*、*nifD*、*nifK*和*nifB*)的微生物[18]。这些固氮微生物来自细菌界和古菌界,广泛分布于陆地和海洋生境中。固氮细菌主要来自变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和蓝细菌门(Cyanobacteria)[5,18-19]。固氮的古菌仅限于广古菌门(Euryarchaeota)中的产甲烷谱系,包括甲烷球菌目(Methanococcales)、甲烷杆菌目(Methanobacteriales)、甲烷微菌目(Methanomicrobiales)和甲烷八叠球菌目(Methanosarcinales),如*Methanosarcina barkeri*、*Methanosarcina acetivorans*等[20-21]。根据固氮微生物与其他生物之间的关系,可以将其分为三大类:自生固氮菌、联合固氮菌以及共生固氮菌,前两者又统称为非共生固氮菌。

1.1.1 自生固氮菌 自生固氮菌是一类不依赖于其他生物而能独立固氮的微生物,固定的氮供给自身所需,并随着菌体死亡分解而释放进入环境氮库。这些微生物广泛分布于农田、湿地等环境中,典型代表包括好氧的固氮菌属(*Azotobacter*),兼性厌氧的克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、红螺菌属(*Rhodospirillum*)、芽胞杆菌属(*Bacillus*),厌氧的梭菌属(*Clostridium*)、着色菌属(*Chromatium*)等类群,以及自生固氮蓝细菌如类颤鱼腥藻(*Anabaena oscillarioides*)、发状念珠藻(*Nostoc flagelliforme*)等,它们可通过光合作用或异养代谢获得生存及固氮所需的能量与还原力[22-23]。

三大类固氮菌中,自生固氮菌固氮效率最低。农田系统中,由于其固定的氮素要在死亡裂解后才能释放至土壤氮库,并在经历周转和矿化后才能被植物利用,从而可能错过作物的需氮高峰期。并且,分布分散,在作物根际的固氮强度有限,难以像共生根瘤那样向作物高效定向供氮,因此对作物的直接氮素获取贡献较低。尽管如此,从整个生态系统来看,自生固氮是很多自然生态系统特别是陆地系统的重要新氮来源之一,维持了全球基础氮平衡和生物多样性[24]。

1.1.2 联合固氮菌 联合固氮菌必须生活在植物根际、根表、根内圈或叶面等处才能进行固氮,依赖宿主提供的碳源生存。代表性菌属包括固氮螺菌属(*Azospirillum*)、假单胞菌属和伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)等。联合固氮菌的固氮量通常远低于与豆科植物共生的根瘤菌。这是因为固氮酶对氧十分敏感,而植物根系附近通常氧气充足。此外,它们必须在复杂的土壤微生物群落中竞争植物分泌的碳源。联合固氮菌对植物的促进作用不仅来源于氮素固定,还与其产生植物激素、改善根际环境以及抑制病原菌等多种功能密切相关[25-26]。例如:部分联合固氮菌能够产生生长素促进根系发育,提高植物养分吸收能力;部分菌株可分泌抗菌物质,增强植物抵抗病原微生物的能力。

联合固氮菌(如固氮螺菌)在农业应用中具有重要潜力,但其天然固氮能力受到环境条件和自身代谢调控限制。固氮过程需要大量能量,因此当环境中氮素充足时,微生物通常会降低固氮系统活性以节约能量。此外,固定的氮素通常会被细菌自身同化[27],而非直接释放至胞外,这限制了其向植物持续提供氮源

的能力。因此,如何通过工程化调控增强联合固氮菌的氮释放能力和环境适应性[28-30],成为提高其农业应用效率的重要研究方向。

1.1.3　共生固氮菌　共生固氮菌是与他种生物共生才能进行固氮的微生物,显著特征是有根瘤等共生器官。其中,宿主为根瘤菌提供微氧、富碳的专门生态位,保证其固氮反应的顺利进行;固氮菌则将氮固定为氨回馈给植物,双方互利共生,相互依存。共生固氮体系是目前固氮效率最高、研究最为深入的固氮系统,该系统主要包括根瘤菌与豆科植物、弗兰克氏菌与非豆科植物及蓝细菌与满江红、苏铁等的共生。近年来研究还发现,海草(*Posidonia oceanica*)等海洋植物也可通过与固氮微生物建立共生关系参与氮素输入[31]。

目前已鉴定的蓝细菌有 5 000 多种,涵盖了聚球藻目(Synechococcales)、螺旋藻目(Spirulinales)、颤藻目(Oscillatoriales)、色球藻目(Chroococcales)、宽球藻目(Pleurocapsales)、念珠藻目(Nostocales)及真枝藻目(Stigonematales)等类群。其中,共生蓝细菌主要归属于念珠藻属(*Nostoc*),此外还涉及毛鞘藻属(*Trichormus*)、拟绿胶藻属(*Chlorogloeopsis*)及眉藻属(*Calothrix*)等。这些蓝细菌能与真菌(形成地衣)以及苔藓(角苔)、蕨类(满江红)、裸子植物(苏铁)和被子植物(大叶草/根乃拉草)等多层次宿主建立共生关系。在植物共生体中,蓝细菌定殖于特定的结构内,如角苔的菌体腔、满江红的叶腔、苏铁的珊瑚状根及大叶草的茎腺。除大叶草共生体表现为胞内共生外,其余多为胞间共生。值得注意的是,与满江红共生的蓝细菌已丧失独立生存能力,基于系统发育学研究,其分类地位已由鱼腥藻属重划归为毛鞘藻属(*Coleochaete*)[32-33]。

弗兰克氏菌(*Frankia*)是一类多细胞、丝状的革兰氏阳性菌,其典型生命周期包含营养菌丝、孢子囊及固氮囊泡(Diazovesicle)3 种细胞形态。与根瘤菌不同,*Frankia* 在自由生活状态下即可通过形成特化的固氮小泡固定大气氮。该小泡包被有由多层霍烷类脂质(hopanoid lipid)组成的厚壁,能有效屏障氧气以保护固氮酶活性。在系统发育上,*Frankia* 可分为 4 个支系,均具结瘤固氮能力。其中,从放线菌根瘤中分离出的谱系Ⅳ菌株在回接试验中往往无法侵染或触发原始寄主形成有效根瘤,暗示其共生关联可能依赖于特定的环境因子或辅助微生物。目前已知放线菌结瘤植物约 230 种,分布于壳斗目(Fagales)、葫芦目(Cucurbitales)和蔷薇目(Rosales)的 8 科 24 属,除假升麻属(*Datisca*)为草本外,其余均为乔木或灌木[34-35]。尽管 *Frankia* 具有极强的生境适应性且固氮效率高、持续性强,但因其离体生长极慢、分离培养难度大,严重限制了其商业化菌剂的大规模开发与应用。

根瘤菌是一类革兰氏阴性、好氧且营化能异养生活的杆状细菌。它们既能在土壤中营腐生生活,也能在进入豆科植物根瘤后发育为类菌体,执行高效的共生固氮功能。目前,已鉴定的具共生固氮能力的根瘤菌超过 270 种,包括核心经典类群根瘤菌属(*Rhizobium*)、中生根瘤菌属(*Mesorhizobium*)、中华根瘤菌属/剑菌属(*Sinorhizobium/Ensifer*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)和固氮根瘤菌属(*Azorhizobium*),以及叶杆菌属(*Phyllobacterium*)、微枝形杆菌属(*Microvirga*)、甲基杆菌属(*Methylobacterium*)、伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*)、贪铜菌属(*Cupriavidus*)等非经典类群[36]。豆科植物约 19 700 种,其中已知可以与根瘤菌结瘤固氮的有 17 300 多种,主要为蝶形花亚科和苏木亚科[37]。除豆科外,目前确证能与根瘤菌建立共生结瘤关系的非豆科植物仅限于蔷薇目植物 *Parasponia andersonii*[38]。

上述共生体系中,以根瘤菌-豆科植物及弗兰克氏菌-放线菌结瘤植物所形成的根瘤共生(root nodule symbiosis,RNS)最为典型。RNS 通常表现出严苛的宿主特异性,即特定的固氮菌种仅能侵染单一或极少数宿主植物。其中,根瘤菌-豆科共生体系凭借卓越的单位固氮能力和氮转移效率,成为农业生态系统中最具代表性的模式体系。随着对共同共生信号通路(common symbiotic pathway,CSP)解析的不断深入,研究者正致力于在小麦、水稻及玉米等禾本科作物中构建可持续的生物供氮系统。目前的主流策略有 3 种:通过合成生物学手段,在作物细胞(如叶绿体或线粒体)内异源构建原核固氮酶体系,实现作物的自主固氮;利用固氮支系植物间高度保守的信号转导机制,改造非豆科作物的共生感知系统,使其能够识别并诱导固氮菌结瘤;经工程化改造,提升固氮菌在根际或根表的定殖竞争力,并提高其向宿主根系的铵输出效率[39-40]。

1.2　固氮菌-植物互作机制

1.2.1　共生固氮体系　1)根瘤菌与植物共生　豆科植物与根瘤菌的共生结瘤过程由精细的分子网络调控。在共生起始时期,由根瘤菌 *nod* 基因簇合成的结瘤因子(NF)作为首要微生物信号,被宿主根毛 LysM 型受体激酶,如 NFR1/NFR5、LjNFR5、MtNFP 特异性识别,引起 Ca^{2+} 振荡并激活共生信号转导通路,进而

驱动早期结瘤基因表达[41]。相比于NF,T3SS效应蛋白则体现出显著的宿主依赖性。NopL通过干扰MAPK级联反应缓解宿主免疫促进共生固氮[42]。NopP则与大豆GmNNL1HT1互作阻断根毛侵染调节结瘤数量[43]。这表明Nops蛋白可能兼具结瘤正负调控双重功能,并证实了宿主在共生选择中的关键作用。在共生关系的建立中,胞外多糖(EPS)既为菌体提供结构保护,亦可被EPR3受体特异识别并决定侵染线(IT)延伸[44]。脂多糖(LPS)则通过修饰宿主识别模式,避免触发过强的免疫防御反应[45]。除经典因子外,近年来小分子信号与代谢物的作用逐渐受到重视。根瘤菌群体感应系统通过分泌N-酰基高丝氨酸内酯(AHL)来调节群体行为[46]。部分根瘤菌能合成植物激素类物质如生长素(IAA)、细胞分裂素(CK)等,这些分子能局部调节宿主根系生长模式和结瘤数量[47]。前期研究发现,根瘤菌3-巯基丙酮酸转移酶(3MST)通过"跨界互作"修饰宿主NADPH氧化酶RbohB的Cys791位点并抑制其活性,从而避免ROS积累,促进大豆共生结瘤[48]。此外,根瘤菌血红素降解蛋白HmuSpSym的缺失改变ROS稳态,抑制类菌体的存活与根瘤形成[49]。上述研究揭示了根瘤菌通过翻译后修饰直接调控宿主免疫-共生平衡,这一跨界互作机制为评估根瘤菌田间结瘤效率提供了新的功能标志物,也为通过工程化手段优化菌株-宿主互作界面、提升根瘤菌剂应用稳定性提供了潜在靶点。可见,经典大分子信号的精确识别与小分子代谢物介导的ROS稳态调控,是根瘤菌与宿主豆科植物共生关系建立的重要因素。深入理解这种宿主特异性识别机制,可为根瘤菌剂开发中筛选与地方品种亲和性高、结瘤竞争力强的菌株提供重要的理论依据和分子靶标。

在侵染阶段,根瘤菌诱导根毛卷曲形成IT进入根皮层[50]。共生信号激活下游NIN转录因子,驱动皮层细胞骨架重排与细胞壁局部修饰[51]。皮层细胞依赖*LSH1*/*LSH2*等遗传通路启动根瘤发育,关键转录因子NF-YA1在共生信号诱导下维持IT在皮层中的延伸[51]。EPS受体EPR3在表皮和皮层组织中调控侵染进程[44]。此外,IT的形成与延伸依赖外部信号识别、Ca^{2+}动态与共生通路激活、侵染复合体驱动及多糖识别等多层级过程的协同调控[52]。随着共生关系的建立,皮层细胞在CK诱导下启动分裂形成根瘤原基,该过程依赖于豆科植物中保守的SHR-SCR干细胞模块[53]。NIN作为Nod因子信号的主要下游效应因子,通过调节靶基因协调根瘤原基建立与发育[54]。长链非编码RNA(lncRNA)*ENOD*40通过缓解miR169对NF-YA1的抑制,促进皮层细胞的分裂与结瘤[55]。前期研究发现,信号分子H_2S可以通过硫巯基化修饰宿主生长素酰胺合成酶GH3.1的Cys304位点,改变其催化活性,在根瘤菌早期侵染时期维持适度游离IAA浓度,诱导根瘤原基发生[48]。此外,光信号与能量感知系统在结瘤中发挥重要调控作用。光诱导GmFTs和GmSTF3/4转移至地下部,经CCaMK磷酸化后促进二者互作,启动结瘤程序[56]。近期鉴定的GmUVR8-GmSTF3和GmCRY1s-STF1/2分别响应UV-B光和蓝光,进一步解析了光信号介导结瘤的分子过程[46,57]。在能量供应方面,大豆能量感受器蛋白GmNAS1和GmNAP1感知碳源增加,调控糖酵解中间产物磷酸烯醇式丙酮酸向苹果酸转化,从而为根瘤供能,最终提升根瘤共生体的固氮能力[58]。综上所述,高效的结瘤固氮高度依赖于早期分子互作、皮层细胞分裂、根瘤形成与系统性能量代谢的协同调控。

2)放线菌与植物共生　放线菌结瘤植物由弗兰克氏菌诱导形成根瘤[32]。放线菌结瘤植物多为生长周期长的灌木和乔木,由于基因组信息匮乏,其共生固氮研究远滞后于豆科植物。然而,这类植物在生态系统早期演替中具有重要生态作用,其固氮潜力不容忽视。例如,桤木属和沙棘属的固氮量可与豆科植物相当甚至更高,据报道红桤木(*Alnus rubra* Bong.)根瘤在生长季的年固氮量可达300 kg·hm^{-2},远超三叶草与大豆[59]。在进化史上,放线菌结瘤植物为理解豆科共生进化提供了重要参考。反之,豆科植物较为成熟的研究体系也为推进放线菌共生固氮研究提供了理论支撑。目前,该领域仍有诸多基本问题值得深入探索。与豆科植物-根瘤菌共生关系类似,参与黄酮类化合物生物合成的基因在放线菌结瘤早期阶段表达上调。例如,在木麻黄(*Casuarina glauca*)和头序野麻(*Datisca glomerata*)中,敲除编码查耳酮合成酶的基因对结瘤过程产生显著负面影响,表明黄酮类化合物对放线根瘤菌共生结瘤至关重要[32]。

此外,生长素作为信号分子参与调控*Frankia*与宿主植物之间的"早期对话"。基因组分析发现,*Frankia*中经典*nod*基因普遍缺失。接种*C. glauca*和英国桤木(*Alnus glutinosa*)时,外源施加纯化的根瘤菌Nod因子未能触发早期共生基因表达[60]。在*C. glauca*中触发共生反应的弗兰克氏菌因子,是一种亲水、耐热且抗几丁质酶消化的小分子物质,这表明放线菌共生信号因子与经典的根瘤菌Nod因子存在显著差异[61]。除了特化的结瘤共生,部分放线菌也可在非结瘤植物根际定殖,通过分泌植物IAA和次生代谢物质,促进宿主生长发育。放线菌合成的IAA能够调节植物组织细胞的渗透活性及养分转运。接种放线菌后产生的激素促进了大豆植株吸收和运转养分,并有利于番茄种子萌发和根系发育以及改善柑橘幼

苗的生长。共生放线菌产生的吲哚丙酮酸和异戊烯腺嘌呤,不仅能促进植物生长,还可修复致病菌造成的组织损伤。

3)蓝细菌与植物共生　蓝藻(Cyanobacteria)是一类具有遗传多样性的产氧光合原核生物,广泛分布于全球海洋及陆地环境中。部分蓝藻物种具备与多种植物建立共生关系的能力[62]。共生蓝藻主要属于丝状菌属念珠藻(*Nostoc*),此外也包括鱼腥藻(*Anabaena*)及毛藻属(*Tolypothrix*)等。在蓝藻共生体系中,宿主植物通过以下途径精细调控蓝藻的分化、发育及代谢过程:释放藻殖段诱导因子(hormogonium-inducing factors, HIF)促进藻殖段形成,分泌化学引诱剂增强蓝藻趋化性,释放藻殖段抑制因子(hormogonium-repressing factors,HRF)抑制藻殖段过度生长,并在细菌定殖后诱导其异形胞(heterocyst)的增殖与分化[62]。此外,植物分泌的黄酮类化合物能够诱导蓝藻中异形胞发育相关基因的表达[63]。

1.2.2　联合固氮体系　相较于根瘤菌与豆科植物形成的紧密共生体系,联合固氮菌与宿主植物之间的互作关联相对较弱。这些固氮菌主要定殖于植物根表或根际土壤,部分菌株可侵染根皮层组织或维管系统,并依赖根系分泌物生存繁殖。尽管联合固氮菌与宿主根系关系密切,但并不形成特化的固氮器官[64]。这类固氮菌广泛分布于多种植物根际如玉米、水稻及小麦,其固氮潜力尤为突出。例如,部分玉米品种的气生根黏液中富集了伯克氏菌、假单胞菌和固氮螺菌,其生物固氮贡献可达植株总氮吸收量的 80%以上[25]。

宿主植物通过调控基因表达并释放氨基酸、香豆素、有机酸和类黄酮等代谢产物,与联合固氮微生物建立化学信号互作[65]。例如,在小麦中,大豆苷和黄酮类柚皮素可促进内生固氮菌(茎瘤固氮根瘤菌,*Azorhizobium caulinodans*)定殖,从而通过提供固定氮源缓解宿主氮胁迫[66]。此外,巴西固氮螺菌(*Azospirillum brasilense*)促生效应通过多维协同机制实现,其核心调控因子 NifA 与 PII 蛋白的铵敏感性互作实现精准固氮调控,为耐铵工程菌构建奠定基础[67]。FlbD 蛋白调控极生与侧生鞭毛的运动,并结合 CheQ 与 Org35 等蛋白介导的趋化反应,驱动菌体向根系分泌物定向迁移[68-70]。铁载体受体 FhuE 通过摄取环境铁元素,发挥抑制病原菌生长及为宿主植物供给铁营养的作用[71]。色氨酸依赖途径(*trpE*、*atrC* 等)介导的 IAA 合成直接诱导植物根系发育[72]。除固氮螺旋菌外,固氮类芽胞杆菌(*Paenibacillus*)则通过合成铁载体发挥促生功能。例如,从 *P. triticisoli* 中首次分离到 fusarinines 型嗜铁素及吲哚酸类促生物质。而 *P. polymyxa* 中 bacillibactin 型铁载体合成基因簇受铁响应因子 Fur 与 H_2O_2 响应蛋白 PerR 的调控,其缺失会导致铁吸收障碍、生长延缓及固氮酶活性降低[73]。解析联合固氮菌的根际趋化、定殖及铁营养获取机制,对于设计具有强根际定殖能力和环境适应性的非共生固氮菌剂具有直接的指导意义。因此,提高固氮菌剂的宿主适应性是增强其定殖与固氮效率的关键。未来可通过调控宿主根系信号和代谢物定向募集固氮菌,并结合菌株定殖及固氮相关性状改造,增强其在豆科和非豆科作物中的适配能力。

2　高效固氮菌种资源挖掘与选育技术

2.1　固氮菌的挖掘技术

挖掘固氮生物和获得优良固氮菌菌种资源,是支撑生物固氮技术应用的重要基础。随着生物固氮研究从传统的纯培养走向多组学整合时代,固氮微生物资源的挖掘策略与分离技术也经历了从培养依赖到培养非依赖,再到培养组学与功能导向精准分选的 3 次跃迁。研究对象也由早期以豆科作物共生根瘤菌为主,逐步拓展至非豆科作物联合和内生固氮微生物,并延伸到盐碱、酸性、低温、干旱和重金属污染等逆境生境中的特殊适应类群[40,74]。菌株筛选也从能在无氮培养基上生长的菌株,转向精准挖掘兼具真实固氮活性、宿主适配性、环境适应性和产业应用潜力的优良菌株[75-76]。固氮菌资源挖掘技术体系已由依赖培养分离与表型观察的经验型模式,发展为集生态位定向采样、功能基因筛查、原位活性验证、高通量分选获取和应用评价于一体的综合体系[23,76]。

经典固氮微生物分离筛选方法是宿主诱捕法,即通过将目标土样接种于无菌宿主,然后取根瘤匀浆接种 YMA 培养基,从而实现菌株分离,最后再进行回接试验验证。这种方法能有效保留宿主选择效应,获得竞争结瘤力强、适配性高的菌株。根瘤菌分布受土壤理化性质显著影响,例如,能与大豆共生的根瘤菌 *Sinorhizobium* 更适于碱性土壤,*Bradyrhizobium* 常见于酸性土壤[77]。因此,在根瘤菌资源挖掘策略上,研究者日益重视区域生态适应性与宿主需求的匹配,直接采集不同生态区环境中豆科作物根瘤,结合分离培养方法进行筛选。例如:在东北黑土区聚焦耐低温、定殖能力强、固氮效率高等特性[78];在南方红壤区强调耐酸和促生潜力[79];在盐碱地则侧重耐盐和耐渗透胁迫的菌株[80]。这种作物、生态区、优势菌株的定向筛

选模式已成为资源挖掘的重要途径[81]。非共生固氮菌分布广泛,涵盖自生、联合和内生固氮菌,因不能形成可见根瘤结构,长期面临识别难、验证难等瓶颈。传统依赖 Ashby、NFB、JNFb、Brown、CCM 等无氮培养基的富集培养策略,在 *Azotobacter*、*Azospirillum* 等类群中取得一定成效,但存在低丰度类群难分离等不足[82-83]。

为了克服传统固氮菌筛选过程中纯培养的限制,单细胞技术与稳定同位素标记相结合为从微生物群落中挖掘高固氮活性菌株开辟了新途径[84-85]。单细胞稳定同位素标记筛选固氮菌技术主要包括拉曼光谱-$^{15}N_2$ 标记联用(Raman-$^{15}N_2$SIP)和纳米二次离子质谱(NanoSIMS)[85]。在拉曼光谱-$^{15}N_2$ 标记联用技术中,先将微生物在含$^{15}N_2$ 同位素的空气中培养,微生物通过固氮作用将^{15}N 掺入胞内蛋白质、核苷酸等含氮生物分子中,通过检测同位素替代引起的拉曼特征峰变化量化微生物对氮的转化效率,随后通过单细胞分选对检测到的高效固氮菌进行分离培养[86]。例如,Cui 等[86]通过将拉曼光谱-$^{15}N_2$ 标记联用解析了土壤环境中固氮菌的组成。NanoSIMS 技术将微生物以^{15}N 进行标记后制备 NanoSIMS 分析片,通过对^{15}N 元素进行成像后分析微生物对氮素的利用效率,进而结合荧光原位杂交技术对固氮菌进行鉴别和分离。单细胞稳定同位素标记技术不仅实现了从大量未培养微生物中筛选出固氮菌,还能在原生环境中直接评估固氮活性,为挖掘新型高效固氮微生物资源提供了可能。

2.2 固氮菌的高效筛选技术

2.2.1 传统固氮菌筛选方法 传统筛选主要利用特定培养基从土壤或植物组织中分离得到潜在固氮菌纯培养,并结合乙炔还原法(ARA)测定乙烯生成量,进而转换为 N_2 还原量来评估固氮酶活性[87]。然而,在实际测定过程中,菌株培养条件与实际土壤环境不同,导致测定的结果难以反映出菌株在实际环境中的定殖和固氮能力。此外,环境中绝大部分固氮微生物难以通过常规方法获得纯培养,因此利用乙炔还原法无法精准捕获环境中固氮效率高的优良菌株。为了弥补上述方法的不足,研究者在密闭体系中加入$^{15}N_2$,对土壤进行孵育或种植目标植物,然后通过质谱仪检测掺入细胞中的^{15}N 标记有机物来定量微生物固氮能力,目前该方法已经成功用于高粱、甘蔗、玉米等作物根际微生物固氮效率的测定[88-89]。然而,基于稳定同位素示踪的检测方法只能表征微生物群落水平的固氮酶活性,无法从个体水平分辨出微生物固氮速率差异,难以准确筛选到高效固氮菌株。

2.2.2 基于固氮基因的分子筛选技术 生物固氮中电子传递和 N_2 还原是在固氮酶催化下完成的,固氮基因(*nif*)是编码和调节固氮酶合成的关键基因,因此含有 *nif* 基因的菌株就具备了固氮潜力。此外,根瘤菌通过 *nod* 基因调控结瘤因子合成,从而实现了根瘤菌与豆科植物之间的“分子对话”,与宿主植物形成共生固氮体系。因此,将 *nifH*、*nifD*、*nifK* 和 *nodD* 等关键基因作为分子筛选标记,通过 PCR 扩增技术可快速地选育具有固氮潜力的菌株。例如,Wu 等[90]通过扩增 *nifH* 基因从泸苔中鉴定了 3 株固氮菌。随着多组学技术的发展,已有研究结合宏基因组、宏转录组和宏蛋白组学技术解析土壤、作物根际和叶际固氮微生物群落的结构特征,鉴定出群落中能够高效表达 *nifH*、*nifD*、*nifK* 和 *nodD* 基因的潜在固氮菌株,进而通过高通量分离培养技术和微流控芯片筛选出目标菌株[91-92]。相对于传统的植物培养体系测定固氮酶活性,这种通过分子标记的策略明显提高了固氮菌的筛选效率。例如,Hara 等[93]通过宏基因组和宏蛋白组技术从高粱根际筛选了 2 株高效固氮的细菌。然而,微生物固氮效率不仅受到固氮酶活性的调节,还受到其他多种因素的影响。因此,基因组中含有 *nif* 或 *nod* 基因只表示该菌株具有固定或共生结瘤的可能,并不能代表菌株一定能够固氮。西北农林科技大学联合中国农业大学等单位建立了大规模固氮微生物种质资源库,并基于库存资源构建了固氮菌基因组与进化分析数据库[94],为建立固氮菌高通量评价技术体系提供了科学依据和技术支持。

2.3 固氮菌的定向改造与功能提升

虽然生物固氮为化肥减量提供了解决方案,但是许多天然固氮菌仍存在环境适应性不足、宿主定殖能力有限以及高氮环境下固氮活性受抑制等问题。因此,基于对天然固氮调控机制的认识,研究者进一步利用合成生物学和分子生物学技术对固氮菌进行定向改造,以优化固氮基因表达模式、增强环境适应性,并提高其农业应用潜力。由于固氮过程受到复杂的氮代谢调控网络控制,目前工程化改造主要围绕解除氮代谢反馈抑制、增强固氮基因表达以及促进固定氮素向胞外释放等方向展开。全局氮代谢调控系统(nitrogen regulation,Ntr)、固氮特异性调控系统(NifL-NifA)以及谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase,GS)共同构成了固氮菌氮代谢调控的重要网络[27],是工程优化的重要靶点。通过将关键固氮基因模块导入非

固氮宿主,可以赋予原本缺乏固氮能力的微生物固氮功能。例如,陈三凤团队从类芽胞杆菌中鉴定出了由 9 个基因构成的最小固氮基因簇,将其导入大肠杆菌后使后者也获得了固氮能力[95]。该研究证明固氮功能模块在异源微生物底盘中的可重构性,拓展了固氮体系跨物种功能移植的理论基础。这一最小固氮基因单元为向具有优良根际定殖能力、生防功能或环境适应性的非固氮菌株中导入固氮性状提供了关键遗传元件,为构建集固氮、促生和环境适应于一体的新型工程菌剂提供了新的思路。

针对联合固氮菌固定氮素易被自身同化、难以向植物释放的问题,研究者通过调控氮代谢关键节点增强菌株泌铵能力。例如,降低谷氨酰胺合成酶(GS)活性可减少铵同化,使胞内积累的铵通过细胞膜转运蛋白(如 AmtB)或扩散途径释放至胞外,提高了植物可利用氮源供应能力[26,28]。通过基因编辑敲除 *Klebsiella oxytoca* 中负调控转录因子 *nifL* 以及在 *nifA* 基因前插入强启动子,构建的工程菌向胞外分泌铵的能力增强,即使在高铵环境中菌株的固氮效率也大幅度增加[96]。该研究证明了通过解除 NifL-NifA 拮抗调控可实现固氮与泌铵的解耦,为开发可在富氮土壤环境中维持固氮活性的耐铵型联合固氮菌剂提供了重要的设计原则和候选调控模块。此外,联合固氮菌的氮释放行为还受植物根系信号分子的调控。研究发现,苹果酸、柠檬酸等根系分泌物不仅可作为碳源促进微生物生长,还可能通过调节固氮相关调控模块或氮同化途径影响工程菌的氮释放过程,促进了固定氮素向植物转移[29-30]。

除调控氮代谢网络外,提高固氮菌对环境胁迫的适应能力也是工程优化的重要方向。固氮酶对氧气极度敏感,这限制了固氮菌在好氧环境中的应用。最新研究发现 FeSII 蛋白在保护固氮酶免受氧毒害中发挥了重要作用。当氧气浓度升高时,FeSII 与固氮酶结合形成保护性结构,从而阻止氧气进入酶活性位点[97]。因此,通过增强 *FeSII* 基因表达或优化其调控元件,提升固氮酶对氧的耐受程度,是改良固氮菌并提高其固氮效率的另一策略。除直接调控固氮相关基因和代谢网络外,优化固氮菌与宿主植物之间的互作过程,也是提高固氮效率的重要方向。例如,韦革宏团队发现在 *Sinorhizobium fredii* 中表达 *3MST* 基因,通过特异性硫巯基化修饰宿主大豆 NADPH 氧化酶 RbohB 的 Cys791 位点,抑制其酶活性并减少 ROS 积累,从而促进根瘤发育和高效固氮[98]。该研究揭示了根瘤菌可通过翻译后修饰调控宿主免疫与共生平衡的新机制,丰富了共生固氮过程中微生物–植物互作调控网络的理论认识。在应用层面,该机制为解析根瘤菌与宿主互作效率差异提供了新分子指标,并为筛选具有高结瘤竞争力和稳定固氮能力的菌株、优化高效根瘤菌剂设计提供了潜在调控靶点。

然而,仅依靠单菌株性能优化仍难以突破复杂环境中的应用限制。固氮菌在田间环境中的功能表现不仅取决于固氮酶活性,还受到环境适应性、根际竞争能力以及与其他微生物互作关系的共同影响。因此,近年来固氮微生物工程逐渐由单一“超级菌株”筛选向菌群水平的生态设计拓展。传统固氮菌研究体系倾向于筛选“超级菌株”,如:共生固氮菌的代表性菌株是由美国农业部筛选的根瘤菌 *B. japonicum* USDA110,在科研和生产中应用广泛;我国科研团队亦筛选出了功能更强的菌株 *B. japonicum* CGMCC No.4346,其结瘤数量较 USDA110 增加 41.2%[99];其他代表性非共生固氮菌菌株还包括中国农业大学筛选的联合固氮菌 *Paenibacillus* sp. 23[100],巴西国家生物产业促进与创新协会(ANPIIBio)筛选的 *A. brasilense* HM053 等[101]。

自然生态系统中微生物间的协同作用是维持功能稳定性的关键。因此,研究者开始关注菌群水平上的微生物互作对固氮功能的调节作用,并尝试筛选能够与核心固氮菌协同作用的辅助菌,通过合成菌群等策略构建功能稳定、环境适应性更强的固氮菌系[102]。

在共生固氮体系中,“核心根瘤菌+非固氮辅助菌”已成为一种重要的研究与应用范式,并已被证实较单一菌株具有更强的结瘤固氮和促进作物生长能力。辅助菌种类丰富多样,如:*Pantoea* 属菌株可显著促进根瘤菌生物膜形成,增强其在大豆根系的定殖能力[103];*Enterobacter* 属和 *Klebsiella* 属菌株则可通过释放吲哚乙酸和水杨酸激活类黄酮合成基因的表达,促进根瘤菌 USDA110 的结瘤共生[104];土壤中普遍存在的 *Pseudomonas* 和 *Bacillus* 属细菌,可通过释放群体感应信号分子 AI-2 促进菌群生物膜形成[105],从而强化菌株间协同作用,增强菌群对土著微生物的竞争力[106],提升根瘤菌的共生固氮能力。在其他非共生固氮体系中,非固氮菌对固氮菌功能的促进作用亦屡见报道。例如:*Acinetobacter* 属和 *Rosenbergiella* 属非固氮菌在玉米木质部中可通过较强的呼吸代谢创造微氧环境,提升固氮活性[107];经基因工程改造的 *E. coli* 合成菌株 EcCMC 可作为“分子桥梁”,提升固氮菌在植物根系的定殖效率[108];在以 *Paenibacillus* 为核心、以 *Bacillus subtilis* 为配伍的联合固氮菌群中,*Bacillus subtilis* 可通过产生表面活性素和脂肽类次生代谢物

影响菌群组装过程,提高合成菌群的稳定性和环境适应能力[109]。研究表明,辅助菌产生的次生代谢物不仅参与菌群内部互作调控,也可能影响微生物空间定殖和群落稳定维持过程。在应用层面,该发现提示固氮菌剂设计不应局限于单一高效菌株筛选,而应综合考虑辅助菌的互作功能和生态调控能力,构建具有稳定定殖能力和环境适应性的复合型固氮菌剂。

从实验室筛选获得的高效固氮菌株到实际农业应用中的稳定菌剂,仍需经历菌株功能保持、制剂化保护以及田间环境适配等多个环节。单一菌株的固氮能力并不能完全决定菌剂应用效果,菌剂在储存过程中的活性维持、施用后的存活定殖以及与作物-土壤生态系统的适配能力,均是影响其产业化应用的关键因素。因此,现代固氮菌剂研发已由早期关注“高效菌株筛选”逐渐转向涵盖菌株设计、制剂优化和生态应用评价的系统工程。

3 固氮菌剂的产业化进程、应用现状与制约因素

3.1 固氮菌剂的产业化进程

固氮菌剂是农用微生物制剂中最早实现农业应用与商品化开发的重要类型之一,其产业化过程经历了经验性土壤接种、根瘤菌剂商品化、非共生固氮菌剂扩展应用以及复合化和载体化升级等阶段[64,110-111]。从发展历程看,现代生物固氮研究始于 19 世纪 80 年代。早期研究证实根瘤菌纯培养物能够诱导豆科植物形成固氮根瘤,标志着经验性利用开始转向微生物学意义上的可验证应用。1895 年,美国推出根瘤菌剂 Nitragin,这是国际上最早商业化的生物肥料之一。19 世纪末至 20 世纪初,豆科根瘤菌和部分自生固氮微生物被陆续分离鉴定。20 世纪 40 年代,^{15}N 同位素示踪技术逐步建立了生物固氮活性的定量评价体系。20 世纪 80 年代以后,联合固氮微生物如固氮螺菌等被系统分离和评价,并在非豆科粮食作物上显示出节肥增产潜力。20 世纪末和 21 世纪初,基因工程固氮菌及人工高效固氮体系研究开始进入应用探索阶段,固氮菌剂研发逐步从传统经验筛选迈向定向改造和产品工程化[64,111]。

早期固氮菌剂的产业基础主要建立在豆科作物根瘤菌接种上。这是因为根瘤菌与宿主植物之间具有较强的专一性,共生关系明确,固氮效率较高,田间响应也易观察。因此,第一阶段的产业化重点是将根瘤菌由土壤接种经验转变为标准化接种剂。此后,随着水稻、玉米、小麦和甘蔗等非豆科作物减氮需求不断增加,联合固氮菌、自生固氮菌和部分共生固氮菌的重要性显著上升。近年来,部分非豆科作物固氮菌剂已进入商业化应用阶段。例如,*Klebsiella variicola* 已作为核心菌株用于美国玉米等禾本科作物的 PROVEN 系列产品;*Gluconacetobacter diazotrophicu* 则被开发为 Enviata®/Encera™ 等产品,已在北美及欧洲市场应用。联合固氮研究表明,该类菌群主要定殖于植物根表、根际土壤、根皮层或维管系统,虽然不形成特化共生结构,但能够通过固氮、分泌促生物质、改善养分活化和增强抗逆性等途径发挥综合作用。因此,固氮菌剂的应用模式已由单纯补充氮素,转向开发提高养分利用效率和优化根际微生态的综合型投入品。

固氮菌剂产品形态与功能结构大体可分为 3 代(表 1)。第 1 代产品为单一菌株剂,主要包括单一根瘤菌剂和单一自生固氮菌剂。该类产品以单个优势菌株为核心,工艺较简单,便于工业化生产和质量控制。但也具有较明显的局限:根瘤菌剂受宿主专一性限制,适用范围较窄;自生固氮菌剂则易受土壤条件、土著菌竞争及环境胁迫影响,田间效果稳定性不足。因此,单一菌株剂虽然是固氮菌剂产业化的起点,但难以满足复杂农田生态系统中持续稳定的应用需求[64,110,112]。第 2 代产品主要为复合菌剂或多功能菌剂。该类产品通过复配 2 种及以上功能互补菌株,如固氮菌与解磷菌、解钾菌或促生菌联合,增强根际定殖、养分转化和促生效果。与第 1 代相比,第 2 代产品在适应性和田间稳定性方面有所提升,但也面临菌株

表 1 固氮菌剂不同代际产品的类型与特征

Table 1 Types and characteristics of different generations of nitrogen-fixing bacterial inoculants

产品类型 Product type	主要特点 Main characteristics	优势 Advantages	局限 Limitations
单一菌剂 Single-strain inoculant	以单个优势菌株为核心,包括单一根瘤菌剂和单一自生固氮菌剂	工艺简单,菌种组成清晰,质量控制较容易	宿主专一性强,适用范围有限;易受土壤条件、土著菌竞争和环境胁迫影响,田间稳定性不足
复合菌剂 Multi-strain inoculant	由 2 种及以上功能互补菌株复配而成,如固氮菌与解磷菌、解钾菌或促生菌联合	功能更丰富,根际定殖和促生效果增强,适应性和田间稳定性有所提高	菌株配伍要求高,存在竞争抑制风险;活菌保持和贮藏稳定性控制较难
功能菌肥 Functional biofertilizer	固氮菌嵌入有机质基体或多孔载体中,兼具活菌、养分供给和土壤调理功能	改善土壤结构,提供稳定碳源和微环境,延长活菌存活时间,提高功能持续性	产品体系更复杂,对原料、工艺和质量稳定性要求更高

配伍、活菌保持和贮藏稳定性等问题。第 3 代产品主要为固氮菌复合有机肥和生物有机肥等功能菌肥。这类产品将固氮菌嵌入有机质基体或多孔载体中,使其兼具活菌、养分供给和土壤改良功能。有机质不仅可改善土壤结构、提升保水保肥能力,还能为固氮菌提供较稳定的碳源和微环境,从而提高活菌存活率及功能持续性。总体来看,第 3 代产品已由单一接种剂发展为兼顾菌效、肥效和土壤生态调理作用的综合性投入品。

在产品迭代过程中,剂型工艺是决定固氮菌剂能否稳定产业化的核心环节之一。液体剂是较早应用且目前仍较常见的剂型。其基本工艺为菌株扩大培养、液体深层发酵、加入保护剂和稳定剂后直接包装。液体剂的优点在于生产流程简便、活菌数高、施用均匀,适合拌种、蘸根和灌根等方式。但该剂型对温度波动、光照和运输条件较为敏感,货架期内活菌数下降较快,施入土壤后又易受到失水、氧胁迫和土著菌竞争影响,从而导致有效菌数量迅速衰减[110,113]。草炭及其他固体载体剂型是根瘤菌剂早期商品化的重要形式。泥炭、草炭、木屑、秸秆、家禽粪便和生物炭等有机载体通常具有较好的孔隙结构、吸附能力和一定保水性能,可为菌体提供附着位点和缓冲微环境。其中,泥炭类载体因有机质和腐殖酸含量较高、疏松多孔、通气及透水性较好,被广泛用于微生物肥料制备[113]。但不同载体在保活性能、养分供给、机械强度和环境安全性等方面存在明显差异。无机载体稳定性好,但与微生物结合能力弱;有机载体生物相容性高,但易被降解而影响结构稳定;聚合物载体机械性能好,但成本较高且制备过程复杂[110,113]。因此,固体载体剂型的性能取决于载体理化特性与菌体生理特性的匹配程度。

可湿性粉剂和粉状菌剂是在稳定性与施用便利性之间取得平衡的重要剂型。其工艺一般为将发酵液与保护剂、填料和载体充分混合,再经低温干燥或其他脱水工艺制得粉体。该类剂型便于包装运输和二次稀释后施用,也适于拌种和穴施。其关键在于干燥过程中对细胞膜、酶活性和代谢平衡的保护。保护剂体系、干燥温度和终水分含量是影响成品活菌数和货架期的关键因素。若脱水速度过快或温度过高,易引起细胞结构损伤和活性迅速丧失;若干燥不足,则可能导致产品储存稳定性下降。因此,粉剂制备本质上是细胞耐受性调控与工艺窗口优化的问题。颗粒剂更强调局部施用、缓释和根际定点递送。通过造粒工艺可使菌体集中分布于一定粒径范围内,便于沟施、穴施或与基肥配施,从而提高根际区域有效菌浓度,降低菌体在土壤中的扩散和流失。包衣剂则将固氮菌直接附着或包埋于种子表面,使微生物在种子萌发初期即可与新生根系接触,有利于提高早期侵染和定殖效率。对大豆接种根瘤菌的研究表明,接种处理可提高根瘤数量和质量,并增加土壤中华根瘤菌属相对丰度,说明通过近根际递送方式提高接种成功率具有明确农艺意义[113]。因此,颗粒剂和包衣剂在轻简化施用和定殖效率提升方面具有较高产业潜力。

固定化和微胶囊技术代表了固氮菌剂剂型升级的重要方向。固定化技术通过包埋、吸附、交联等方法将游离微生物限定在特定载体内部,使其高浓度富集并形成一定的物理保护层[110]。研究表明,固定化菌剂施入土壤后不易随水流失,能够持续从根系分泌物中获得营养,定殖效果优于液体制剂;同时,包埋结构还可提高菌体对温度、pH、光照和盐碱等不良环境的耐受性,并增强与土著菌的生态竞争力[110]。在海藻酸钠与 $CaCl_2$ 构建的包埋体系中,海藻酸钠浓度过高会使颗粒结构过于致密,影响传质与菌体生长;$CaCl_2$ 浓度过高也会减少颗粒孔隙,不利于菌体增殖。聚乙烯醇水凝胶具有较高机械强度,但成球困难,且交联体系偏酸,对部分菌株生长不利,因此常与海藻酸钠复配使用,以兼顾成型性、机械强度和活菌保持率[110]。这表明固定化技术的实质在于机械稳定性、传质效率和细胞生理适宜性的综合平衡。从菌体存活与施后定殖机制看,不同剂型对固氮菌剂产业化效果的影响主要体现在 2 个方面。一方面是储存和运输阶段的活菌保持。液体剂依赖保护剂和悬浮体系维持短期活性,固体载体剂依赖低水分和多孔附着结构减缓细胞衰亡,包埋与微胶囊剂则借助高分子网络屏蔽外界胁迫。另一方面是施入土壤后的根际建立过程。只有在根系附近维持足够的有效菌密度,并实现对根表、根毛或根际微区的成功定殖,固氮菌剂才可能转化为持续的生物学效应。由此可见,固氮菌剂的真正技术难点并不只是制成活菌产品,而是实现产品保活、递送、释放和定殖的连续技术链整合[110,112]。

综合来看,固氮菌剂的产业化进程表现出明显的阶段性特征,即由单一菌剂向复合菌剂发展,由传统接种剂向菌肥复合产品发展,由普通液体和草炭载体向颗粒化、包衣化和固定化方向发展。其驱动力在于农业生产对减氮增效、稳产提质和生态友好型投入品的持续需求。未来固氮菌剂产品升级的重点应放在高效菌株与宿主适配关系解析、多菌协同机制阐明、载体与制剂工艺优化、货架期质量控制以及根际精准递送技术构建等方面,以提高其在复杂田间环境中的稳定表达能力和产业化可复制性。

除传统筛选型菌剂外,基于合成生物学的工程化固氮菌剂逐渐成为未来菌剂研发的重要方向。近年来,研究者通过调控固氮基因表达网络、增强固氮菌耐氧耐铵能力以及优化氮素释放效率,构建了一系列具有增强固氮性能的工程菌株。这些研究突破了传统依赖天然菌株筛选的限制,为开发具有特定功能和环境适应性的下一代固氮菌剂提供了新的技术路径。然而,目前工程化固氮菌剂仍主要处于实验室验证和小规模试验阶段,其产业化应用受到环境释放风险、生物安全评价体系以及田间遗传稳定性等因素限制。因此,如何在提升菌株功能性能的同时保障生态安全和长期稳定表达,是未来工程化固氮菌剂实现产业化应用需要解决的重要问题。

3.2 固氮菌剂产业化与应用的主要制约因素

固氮菌剂的产业化正处于从实验室走向田间应用的关键阶段,虽然市场潜力巨大,但要在实际生产中稳定、高效地发挥作用,仍面临从菌种到田间、从生产到市场的系统性挑战。

固氮菌剂的发酵生产是连接优良菌株与规模化应用的枢纽,其核心在于以低成本、高效率获取高活菌数、高功能活性的菌体原料。然而,固氮菌独特的生理代谢特性与工程放大过程之间存在矛盾,使这一环节面临诸多技术挑战。首先,固氮菌多为好氧或微好氧菌,其固氮酶对氧气高度敏感,而菌体增殖又需充足的氧气供给能量代谢[114]。在发酵罐放大中,提高通气量与搅拌转速可保证氧传质效率,但也易造成局部溶氧过高,抑制固氮酶活性甚至引发氧化应激。其次,固氮菌通常需要大量的碳源,若选用纯品糖则成本过高,若采用糖蜜等工业副产物,其复杂成分又可能抑制菌体生长或导致起泡失控;添加酵母粉、蛋白胨等有机氮源以获得高生物量,但过量铵盐或氨基酸态氮可能导致传代菌株固氮能力退化[115]。此外,噬菌体污染是发酵过程中极具破坏性的风险因素[116]。固氮菌生长缓慢,一旦发生噬菌体侵染,往往在 2~3 h 内即可导致菌体大量裂解、发酵失败,且噬菌体在车间环境中极难根除,可造成持续性生产事故。

发酵过程的生理稳定性控制与后处理工艺中的活性衰减,构成了生产环节的另一个核心难题。在发酵后期,固氮菌易发生菌体自溶,碳源耗尽、溶解氧波动或代谢副产物积累均可触发细胞裂解,导致活菌数急剧下降,同时释放胞内核酸与蛋白酶,使发酵液黏度升高、流动性变差,对后续分离干燥带来极大困难[117]。进入后处理阶段,由于固氮菌多为无芽胞革兰氏阴性菌,细胞壁脆弱,对机械力、温度及渗透压变化敏感,浓缩时高速离心或膜过滤产生的剪切力易造成细胞膜破损。干燥环节中,喷雾高温易导致菌体热失活;冷冻干燥虽热损伤较小,但成本高昂,且冰晶形成仍会造成机械损伤;吸附干燥条件温和却存在吸附不均匀、水分活度难以精确控制等问题[118]。此外,菌剂产品在生产、运输和储存过程中的活菌稳定性也是影响产业化推广的重要因素。不同于化学肥料,微生物菌剂依赖活菌维持其功能,因此温度、水分活度、氧化压力以及包装环境均会影响菌体长期存活。尤其对于多数缺乏耐受能力的固氮菌而言,储存过程中活菌数量下降可能导致产品有效功能降低。目前,提高菌剂货架期稳定性的主要策略包括优化保护剂体系、改良载体材料以及开发新型包埋递送技术等。然而,不同固氮菌株对储存环境的耐受性存在显著差异,如何实现菌株特性与制剂体系的精准匹配,仍是固氮菌剂产业化过程中亟需突破的关键技术问题。

固氮菌剂施入土壤后,其存活、定殖与功能表达受土壤环境、气候条件及农业管理措施的多重影响,导致田间效果呈现显著的不稳定性,这是制约其大面积推广的核心障碍[119]。土著微生物的竞争与排斥是影响固氮菌田间应用效果最核心、最复杂的生态学制约因素之一。根际是固氮菌发挥促生作用的核心区域。土著微生物长期适应特定土壤-作物系统,形成了结构稳定、功能冗余的根际微生物群落,对根际物理空间形成饱和性占据[120]。外源根瘤菌和联合固氮菌在趋化响应速率、根表附着效率等方面均不及土著微生物,在根际竞争、根表定殖以及建立稳定互作关系中面临较大阻力。自生固氮菌不依赖根表附着,但其在根际土壤中的活动受到土著微生物的排挤,难以形成高密度的功能种群。土壤是碳限制环境,经过长期适应的土著微生物形成了对根系分泌物的高效利用体系,其碳谱更宽、底物亲和力更强、转运速率更快,能够优先消耗根际沉积碳,使外源固氮菌陷入“碳饥饿”[121]。此外,铁是固氮酶活性中心的核心组分,也是土壤中最稀缺的元素,土著优势菌群的铁载体与外源固氮菌相比更加高效,缺铁可直接制约固氮酶的合成与活性。同时,土著微生物分泌的抗生素、细胞壁裂解酶及群体淬灭因子等在亚抑菌浓度下即可破坏固氮菌的细胞结构,干扰其代谢活性与群体感应协同,形成直接的拮抗压制;其代谢产生的化感物质及对根系分泌信号的修饰作用,可进一步抑制固氮基因表达,干扰固氮菌的趋化响应[120]。因此,改善固氮菌剂与土著微生物的互作关系,有助于提高其在根际环境中的定殖与固氮效率。未来可通过筛选具有促进定殖、资源互补和环境协调功能的辅助菌,并优化菌株间协同关系,构建稳定高效的固氮菌群,增强其与土

著微生物竞争中的生态适应能力。

土壤理化性质是制约固氮菌田间应用效果的另一个关键因素。pH 值对固氮菌活性具有基础性调控作用,中性至微酸性环境最适宜,过酸或过碱均会产生不良影响,对根瘤菌结瘤的抑制效应尤为显著。在南方酸性红壤区,长期单施化肥而不配合石灰调理导致大豆、花生结瘤量减少 50%以上,即使接种高效根瘤菌也无法有效改善[122]。我国农田长期偏施生理酸性肥料,土壤酸化近年来愈发严重,酸化区域从南方红壤区逐渐蔓延至华北平原和北方黑土区,给固氮菌的田间应用带来了新的挑战。土壤有机质是固氮菌的关键碳源与能源,胡敏酸等腐殖化组分还可促进固氮菌趋化与根际定殖,但未充分腐熟的有机质易引发土著微生物的激烈竞争及原生动物捕食,劣质、过量的有机物料投入也是导致固氮菌剂田间应用效果不佳的重要原因[123]。土壤氮素水平是调控生物固氮的重要负反馈因子,在 NO_3^--N 含量过高的土壤中,固氮菌施用效果往往不佳。合理的氮肥运筹是固氮菌剂高效发挥作用的重要前提,基肥过量、豆科植物花荚期大量追肥等不当措施不仅会直接导致固氮菌的定殖失败与固氮活性受抑制,还会加剧土壤酸化,形成环境负效应[124]。水分与通气状况通过影响氧气供应与根际环境稳定性,制约以好氧代谢为主的固氮过程。大水漫灌、频繁旋耕等不合理的田间管理会破坏土壤结构,使土壤的持水能力和透气性受损,抑制固氮菌的生长代谢。杀菌剂及部分农药对固氮菌有毒性,种子包衣或土壤处理时若忽视菌药相容性,可能导致接种菌大量死亡,从而降低应用效果[125]。菌株与作物的匹配性同样关键,根瘤菌与豆科植物的共生关系具有很强的专一性,产品开发的复杂性和推广难度更大,盲目引进与当地品种亲和性差的菌株是当前根瘤菌应用中经常出现的问题。

综上,固氮菌剂的产业化应用涉及微生物学、发酵工程与农学管理等领域,其大规模推广应用受限于菌种特性、生产工艺、农田生态、耕作习惯等多因素共同作用。未来研究需聚焦关键环节开展定向突破。在生产端,选育高效菌株,优化发酵和后处理工艺,提高菌剂功能活性;在应用端,结合土壤调理与农艺管理措施,改善外源固氮菌的定殖条件与功能表达环境。同时,加强菌剂标准化评价与精准施用技术研究,提升菌剂与作物–土壤体系的适配性。通过以上协同改进,有望逐步提升固氮菌剂在农业生产中的应用稳定性与实际效益。

4　固氮菌剂研究的未来展望

在“双碳”目标与绿色农业转型的战略背景下,发展高效、稳定、广谱的固氮菌剂,已成为保障国家粮食安全与生态安全的重大战略需求。固氮菌剂作为实现化肥减量增效与耕地质量提升的关键生物投入品,正迎来从基础研究到产业化应用的关键机遇期。然而,固氮菌剂在田间应用效果的不稳定性是阻碍其大规模推广的主要因素。推动固氮菌剂从“可用”到“高效、稳定、广谱”跨越,已成为当前研究的关键任务(图 1)。

1)深化原位微生态系统互作机制研究,揭示接种菌剂定殖的内在机制。未来应综合利用高通量测序、宏基因组学、宏转录组学、单细胞拉曼光谱及高分辨率成像等先进技术,系统解析接种菌株在自然土壤(特别是干旱、盐碱和酸化等逆境土壤)中与土著微生物群落及作物根系的动态互作网络,阐明影响接种成功率的关键生态过程与深层机制,为固氮菌剂的理性构建与定向应用提供理论依据。

2)推动合成菌群(SynComs)的理性设计与构建,实现功能协同增效。基于生态位互补与功能协同原理,采用“自上而下”(从复杂群落中筛选稳定共存的功能组合)与“自下而上”(基于已知功能菌株的理性组合)相结合的构建策略,探索不同固氮菌、辅助菌的协同固氮机制,解析不同功能菌株在生态位空间上的互补关系、菌群成员间的代谢互养模式与信号互作网络。整合人工智能算法,开发菌群组合的智能预测模型,辅助构建高效联合的稳定固氮系统,为开发功能强化、效果稳定的固氮菌剂提供科学依据。

3)建立智能化筛选与标准化评价体系,提升研发效率与结果可重复性。整合分子标记与基因组辅助选育技术,利用关键基因为分子标记,实现对高效固氮菌株的快速筛选;通过全基因组测序系统解析菌株的固氮基因簇、定殖相关基因等,预测其应用潜力。在此基础上,开发基于机器学习的固氮能力与定殖潜力预测模型,融合菌株基因组信息、代谢特征与环境适应性参数,实现对高效候选菌株的精准识别与综合评价。建立涵盖菌株特性、剂型参数、施用方式等多维度指标的田间效果评价标准化框架,推动构建面向区域适应性的菌剂应用效果数据库,为固氮菌剂的科学筛选与精准推广提供系统支撑。

4)创新绿色高效生产工艺,降低生产成本并提升菌体存活率。研发低成本微生物高密度发酵技术、

新型保护剂与稳定化剂,提高菌体在生产与储存过程中的存活率。开发生物可降解的剂型包材,结合颗粒包衣、微胶囊共包埋等先进制剂技术,降低对环境的影响,并通过空间组织与比例控制增强功能菌群在储存与土壤定殖过程中协同稳定性,实现规模化生产的降本增效。

5)推进精准施用与场景拓展,实现固氮菌剂的按需匹配并充分发挥其应用潜力。综合考虑土壤速效氮含量、有机质含量等关键肥力指标,建立作物需求与土壤供肥能力协同的变量推荐施用技术,明确不同区域、不同作物的适宜菌剂类型、施用剂量与施用时期;结合土壤数据与遥感技术,实现菌株施用的空间差异化精准管理。在应用场景拓展方面,在豆科作物成熟应用的基础上,进一步向玉米、小麦等主粮作物延伸,推广“减氮+固氮菌”集成技术;同时拓展在西北盐碱地、南方酸化土等障碍性土壤的改良应用,并进一步探索在草原修复、矿山生态恢复等非农业领域的应用潜力。

总体而言,固氮菌剂的未来发展需满足“机制深化、功能协同、智能精准、绿色高效”的总体需求。立足国家粮食安全与“双碳”目标的战略需求,构建具有自主知识产权的固氮菌剂研发体系与应用模式,既是农业微生物学科发展的时代使命,也是推动农业绿色转型、保障生态安全的重要科技支撑。

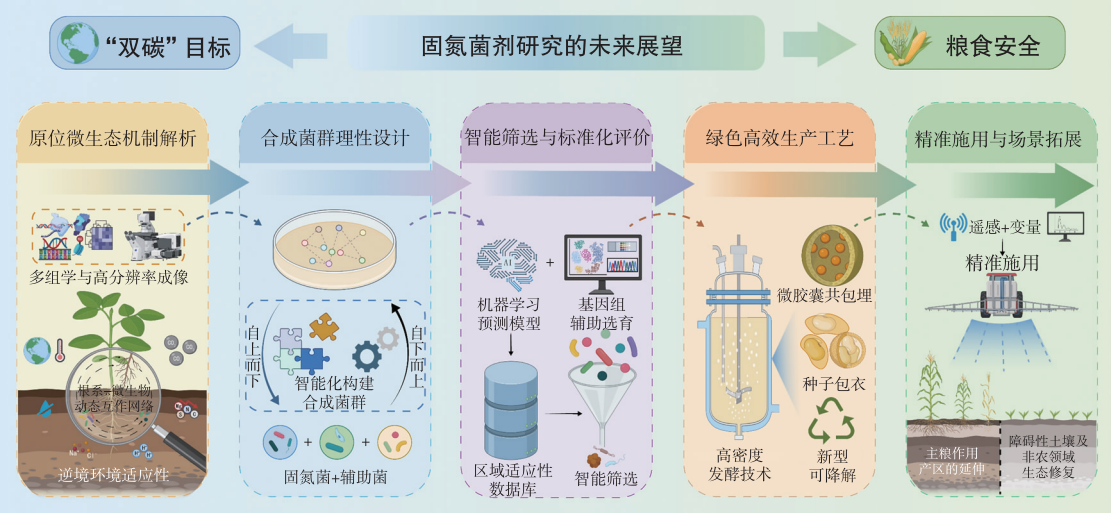

图 1 “双碳”目标与粮食安全驱动下固氮菌剂研究的未来展望

Fig. 1 Future prospects of nitrogen-fixing bacterial inoculants driven by the dual carbon goals and food security

5 结论

固氮菌剂作为连接微生物固氮功能与农业生产需求的重要生物投入品,在减少化肥投入、优化农田氮循环和推动农业绿色发展方面具有重要潜力。本文系统总结了固氮微生物多样性及其作用机制、高效菌株挖掘与定向改造技术、菌剂生产工艺及产业化应用进展,指出固氮菌剂由实验室研究走向规模化应用仍面临田间功能稳定性不足这一核心挑战。

当前,固氮菌剂应用效果的不确定性并非单一菌株性能不足所导致,而是源于接种菌株、宿主植物、土壤环境及土著微生物群落之间复杂的互作关系尚未被充分解析。因此,未来固氮菌剂的发展需要突破传统“筛选高效菌株”的单一模式,逐步向基于生态机制解析、多组分功能协同和精准应用管理的系统化设计模式转变。随着多组学技术、合成生物学、人工智能和先进制剂工程的发展,固氮菌剂研究将由经验驱动逐渐迈向机制驱动和精准设计,为构建稳定、高效、环境适配性强的新型农业微生物投入品提供理论基础和技术支撑。

参考文献 References:

[1] Lehnert N, Dong H T, Harland J B, et al. Reversing nitrogen fixation[J]. Nature Reviews Chemistry, 2018, 2(10): 278-289.

[2] Reis Ely C R, Perakis S S, Cleveland C C, et al. Global terrestrial nitrogen fixation and its modification by agriculture[J]. Nature, 2025, 643(8072): 705-711.

[3] Fulweiler R W, Rinehart S, Taylor J, et al. Global importance of nitrogen fixation across inland and coastal waters[J]. Science, 2025, 388(6752): 1205-1209.

[4] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(5): 263-276.
[5] Zhu Y G, Peng J J, Chen C, et al. Harnessing biological nitrogen fixation in plant leaves[J]. Trends in Plant Science, 2023, 28(12): 1391-1405.
[6] Schulte C C M, Borah K, Wheatley R M, et al. Metabolic control of nitrogen fixation in *Rhizobium*-legume symbioses[J]. Science Advances, 2021, 7(31): eabh2433.
[7] Liu R, Li R R, Li Y J, et al. Benzoic acid facilitates ANF in monocot crops by recruiting nitrogen-fixing *Paraburkholderia*[J]. The ISME Journal, 2024, 18: wrae210.
[8] Inomura K, Bragg J, Follows M J. A quantitative analysis of the direct and indirect costs of nitrogen fixation: a model based on *Azotobacter vinelandii*[J]. The ISME Journal, 2017, 11(1): 166-175.
[9] Duan J K, Liu H B, Zhang X M, et al. Agricultural management practices in China enhance nitrogen sustainability and benefit human health[J]. Nature Food, 2024, 5(5): 378-389.
[10] Lam S K, Wille U, Hu H W, et al. Next-generation enhanced-efficiency fertilizers for sustained food security[J]. Nature Food, 2022, 3(8): 575-580.
[11] Gennari P, Rosero-Moncayo J, Tubiello F N. The FAO contribution to monitoring SDGs for food and agriculture[J]. Nature Plants, 2019, 5(12): 1196-1197.
[12] Gao Y H, Cabrera Serrenho A. Greenhouse gas emissions from nitrogen fertilizers could be reduced by up to one-fifth of current levels by 2050 with combined interventions[J]. Nature Food, 2023, 4(2): 170-178.
[13] Guo Y X, Chen Y F, Searchinger T D, et al. Air quality, nitrogen use efficiency and food security in China are improved by cost-effective agricultural nitrogen management[J]. Nature Food, 2020, 1(10): 648-658.
[14] 颜晓元,夏龙龙,逄超普. 面向作物产量和环境双赢的氮肥施用策略[J]. 中国科学院院刊,2018,33(2):177-183.
Yan X Y, Xia L L, Ti C P. Win-win nitrogen management practices for improving crop yield and environmental sustainability[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2018, 33(2): 177-183(in Chinese with English abstract).
[15] 周卫,丁文成. 新阶段化肥减量增效战略研究[J]. 植物营养与肥料学报,2023,29(1):1-7.
Zhou W, Ding W C. Strategic researches of reducing fertilizer use and increasing use efficiency in China in the new era[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2023, 29(1): 1-7(in Chinese with English abstract).
[16] 张瑞福,陈玉,孙新丽,等. 中国生物肥料与有机肥料研究三十年:回顾与展望[J]. 植物营养与肥料学报,2024,30(7):1262-1273.
Zhang R F, Chen Y, Sun X L, et al. Biofertilizer and organic fertilizer research over thirty years in China: retrospect and prospect[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2024, 30(7): 1262-1273(in Chinese with English abstract).
[17] Coale T H, Loconte V, Turk-Kubo K A, et al. Nitrogen-fixing organelle in a marine *Alga*[J]. Science, 2024, 384(6692): 217-222.
[18] Pi H W, Yu C P, Chen Y F, et al. Nitrogen-fixing microbes gain genes in diverse types of living environments[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2025, 122(48): e2523106122.
[19] Gaby J C, Buckley D H. A global census of nitrogenase diversity[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(7): 1790-1799.
[20] Riyaz Z, Khan S T. Nitrogen fixation by methanogenic Archaea, literature review and DNA database-based analysis; significance in face of climate change[J]. Archives of Microbiology, 2024, 207(1): 6.
[21] Liu X Y, Ma J Y, Liu M Y, et al. Light-independent Fe_3O_4-*Methanosarcina acetivorans* biohybrid enhances nitrogen fixation and methanogenesis [J]. Journal of the American Chemical Society, 2025, 147(9): 7694-7702.
[22] Pankievicz V C S, Irving T B, Maia L G S, et al. Are we there yet? The long walk towards the development of efficient symbiotic associations between nitrogen-fixing bacteria and non-leguminous crops[J]. BMC Biology, 2019, 17(1): 99.
[23] Smercina D N, Evans S E, Friesen M L, et al. To fix or not to fix: controls on free-living nitrogen fixation in the rhizosphere[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2019, 85(6): e02546-e02518.
[24] Reed S C, Cleveland C C, Townsend A R. Functional ecology of free-living nitrogen fixation: a contemporary perspective[J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2011, 42: 489-512.
[25] van Deynze A, Zamora P, Delaux P M, et al. Nitrogen fixation in a landrace of maize is supported by a mucilage-associated diazotrophic microbiota[J]. PLoS Biology, 2018, 16(8): e2006352.
[26] Bloch S E, Clark R, Gottlieb S S, et al. Biological nitrogen fixation in maize: optimizing nitrogenase expression in a root-associated diazotroph[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(15): 4591-4603.
[27] Bueno Batista M, Dixon R. Manipulating nitrogen regulation in diazotrophic bacteria for agronomic benefit[J]. Biochemical Society Transactions, 2019, 47(2): 603-614.
[28] Tang Y Q, Qin D B, Tian Z X, et al. Diurnal switches in diazotrophic lifestyle increase nitrogen contribution to cereals[J]. Nature Communications, 2023, 14: 7516.
[29] Haskett T L, Paramasivan P, Mendes M D, et al. Engineered plant control of associative nitrogen fixation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2022, 119(16): e2117465119.
[30] Ryu M H, Zhang J, Toth T, et al. Control of nitrogen fixation in bacteria that associate with cereals[J]. Nature Microbiology, 2020, 5(2): 314-330.
[31] Mohr W, Lehnen N, Ahmerkamp S, et al. Terrestrial-type nitrogen-fixing symbiosis between seagrass and a marine bacterium[J]. Nature, 2021, 600(7887): 105-109.
[32] Xu P, Wang E T. Diversity and regulation of symbiotic nitrogen fixation in plants[J]. Current Biology, 2023, 33(11): R543-R559.

[33] Ran L, Larsson J, Vigil-Stenman T, et al. Genome erosion in a nitrogen-fixing vertically transmitted endosymbiotic multicellular *Cyanobacterium* [J]. PLoS One, 2010, 5(7): e11486.

[34] Sellstedt A, Richau K H. Aspects of nitrogen-fixing *Actinobacteria*, in particular free-living and symbiotic *Frankia* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2013, 342(2): 179-186.

[35] Bhattacharyya P N, Islam N F, Sarma B, et al. *Frankia*-actinorhizal symbiosis: a non-chemical biological assemblage for enhanced plant growth, nodulation and reclamation of degraded soils[J]. Symbiosis, 2024, 92(1): 1-26.

[36] de Lajudie P M, Andrews M, Ardley J, et al. Minimal standards for the description of new genera and species of rhizobia and agrobacteria[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2019, 69(7): 1852-1863.

[37] Ardley J, Sprent J. Evolution and biogeography of actinorhizal plants and legumes: a comparison[J]. Journal of Ecology, 2021, 109(3): 1098-1121.

[38] Webster G, Poulton P R, Cocking E C, et al. The nodulation of micro-propagated plants of *Parasponia andersonii* by tropical legume rhizobia[J]. Journal of Experimental Botany, 1995, 46(9): 1131-1137.

[39] Burén S, Rubio L M. State of the art in eukaryotic nitrogenase engineering[J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(2): fnx274.

[40] 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): 100499.

[41] Gao J P, Xu P, Wang M X, et al. Nod factor receptor complex phosphorylates GmGEF2 to stimulate ROP signaling during nodulation[J]. Current Biology, 2021, 31(16): 3538-3550.e5.

[42] Ma C, Wang J H, Gao Y K, et al. The type Ⅲ effector NopL interacts with GmREM1a and GmNFR5 to promote symbiosis in soybean[J]. Nature Communications, 2024, 15: 5852.

[43] 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.

[44] Kawaharada Y, Kelly S, Nielsen M W, et al. Receptor-mediated exopolysaccharide perception controls bacterial infection[J]. Nature, 2015, 523(7560): 308-312.

[45] Zipfel C, Oldroyd G E D. Plant signalling in symbiosis and immunity[J]. Nature, 2017, 543(7645): 328-336.

[46] Ji H T, Xiao R H, Lyu X G, et al. Differential light-dependent regulation of soybean nodulation by papilionoid-specific HY5 homologs[J]. Current Biology, 2022, 32(4): 783-795.

[47] Velandia K, Reid J B, Foo E. Right time, right place: the dynamic role of hormones in rhizobial infection and nodulation of legumes[J]. Plant Communications, 2022, 3(5): 100327.

[48] Zhang W Q, Cheng H P, Yan X W, et al. H_2 S-mediated GH3.1 persulfidation regulates IAA homeostasis to enhance nodulation formation and nitrogen fixation in *Robinia pseudoacacia*[J]. Molecular Plant Pathology, 2025, 26(10): e70145.

[49] Huo H B, Zong L, Liu Y, et al. Rhizobial $HmuS_{pSym}$ as a heme-binding factor is required for optimal symbiosis between *Mesorhizobium amorphae* CCNWGS0123 and *Robinia pseudoacacia*[J]. Plant, Cell & Environment, 2022, 45(7): 2191-2210.

[50] Zhou N, Li X L, Zheng Z Q, et al. RinRK1 enhances NF receptors accumulation in nanodomain-like structures at root-hair tip[J]. Nature Communications, 2024, 15: 3568.

[51] Lee T, Orvosova M, Batzenschlager M, et al. Light-sensitive short hypocotyl genes confer symbiotic nodule identity in the legume *Medicago truncatula*[J]. Current Biology, 2024, 34(4): 825-840.

[52] Jones K M, Kobayashi H, Davies B W, et al. How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium-Medicago* model[J]. Nature Reviews Microbiology, 2007, 5(8): 619-633.

[53] Dong W T, Zhu Y Y, Chang H Z, et al. An SHR-SCR module specifies legume cortical cell fate to enable nodulation[J]. Nature, 2021, 589(7843): 586-590.

[54] Vernié T, Kim J, Frances L, et al. The NIN transcription factor coordinates diverse nodulation programs in different tissues of the *Medicago truncatula* root[J]. The Plant Cell, 2015, 27(12): 3410-3424.

[55] Wijsman T, Mohd-Radzman N A, Liu J Y, et al. The *Medicago truncatula* lncRNA *ENOD40* is a mediator of *microRNA169*-controlled *NF-YA* activity in nodule initiation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2025, 122(34): e2424231122.

[56] Wang T, Guo J, Peng Y Q, et al. Light-induced mobile factors from shoots regulate *Rhizobium*-triggered soybean root nodulation[J]. Science, 2021, 374(6563): 65-71.

[57] Chen J S, Xu H F, Liu Q L, et al. Shoot-to-root communication via GmUVR8-GmSTF3 photosignaling and flavonoid biosynthesis fine-tunes soybean nodulation under UV-B light[J]. The New Phytologist, 2024, 241(1): 209-226.

[58] Ke X L, Xiao H, Peng Y Q, et al. Phosphoenolpyruvate reallocation links nitrogen fixation rates to root nodule energy state[J]. Science, 2022, 378(6623): 971-977.

[59] Hu B, Flemetakis E, Liu Z S, et al. Significance of nitrogen-fixing actinorhizal symbioses for restoration of depleted, degraded, and contaminated soil[J]. Trends in Plant Science, 2023, 28(7): 752-764.

[60] Svistoonoff S, Sy M O, Diagne N, et al. Infection-specific activation of the *Medicago truncatula* Enod11 early nodulin gene promoter during actinorhizal root nodulation[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2010, 23(6): 740-747.

[61] Chabaud M, Gherbi H, Pirolles E, et al. Chitinase-resistant hydrophilic symbiotic factors secreted by *Frankia* activate both Ca^{2+} spiking and NIN

gene expression in the actinorhizal plant *Casuarina glauca*[J]. New Phytologist,2016,209(1):86-93.

[62] Rai A N,Söderbäck E,Bergman B. Tansley review No. 116:Cyanobacterium-plant symbioses[J]. New Phytologist,2000,147(3):449-481.

[63] Cohen M F,Yamasaki H. Flavonoid-induced expression of a symbiosis-related gene in the *Cyanobacterium Nostoc punctiforme*[J]. Journal of Bacteriology,2000,182(16):4644-4646.

[64] 李琴,韩宇星,杜灵杉,等. 联合固氮 40 年:从发现到应用[J]. 科学通报,2025,70(25):4370-4386.
Li Q,Han Y X,Du L S,et al. 40 Years of associative nitrogen fixation:from discovery to applications[J]. Chinese Science Bulletin,2025,70(25):4370-4386(in Chinese with English abstract).

[65] Chen L,Liu Y P. The function of root exudates in the root colonization by beneficial soil rhizobacteria[J]. Biology,2024,13(2):95.

[66] Gough C,Galera C,Vasse J,et al. Specific flavonoids promote intercellular root colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Azorhizobium caulinodans* ORS571[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions,1997,10(5):560-570.

[67] 陈三凤,管乐,应娇妍,等. 巴西固氮螺菌中 $P_{Ⅱ}$ 和 P_Z 在固氮调节中的不同作用[J]. 微生物学报,2001,41(5):523-529.
Chen S F,Guan Y,Ying J Y,et al. The different functions of *glnB* and *glnZ* from *Azospirillum brasilense* YU62 in the control of nitrogen fixation[J]. Acta Microbiologica Sinica,2001,41(5):523-529(in Chinese with English abstract).

[68] 崔艳华,伍丽娴,洪媛媛,等. 巴西固氮螺菌中杂合双组分蛋白 Org35 与 NifA 的相互作用[J]. 农业生物技术学报,2010,18(3):580-585.
Cui Y H,Wu L X,Hong Y Y,et al. Interaction between hybrid two-component protein Org35 and NifA in *Azotobacter brasiliensis*[J]. Journal of Agricultural Biotechnology,2010,18(3):580-585(in Chinese with English abstract).

[69] 王娟,阎大来,李季伦. 巴西固氮螺菌鞭毛调节基因 *flbD* 鉴定[J]. 科学通报,2001,46(15):1284-1288.
Wang J,Yan D L,Li J L. Identification of flagella regulatory gene *flbD* from *Azospira brasiliensis*[J]. Chinese Science Bulletin,2001,46(15):1284-1288(in Chinese with English abstract).

[70] Wu L X,Cui Y H,Hong Y Y,et al. A CheR/CheB fusion protein is involved in cyst cell development and chemotaxis in *Azospirillum brasilense* Sp7[J]. Microbiological Research,2011,166(8):606-617.

[71] Cui Y H,Tu R,Guan Y,et al. Cloning,sequencing,and characterization of the *Azospirillum brasilense fhuE* gene[J]. Current Microbiology,2006,52(3):169-177.

[72] Xie B E,Chen S F. Tn5-mutagenesis and indentification of atr operon and *trpE* gene responsible for indole-3-acetic acid synthesis in *Azospirillum brasilense* Yu62[J]. Progress in Natural Science,2006,16(4):366-372.

[73] Zhang Y Z,Ren J W,Wang W Z,et al. Siderophore and indolic acid production by *Paenibacillus triticisoli* BJ-18 and their plant growth-promoting and antimicrobe abilities[J]. PeerJ,2020,8:e9403.

[74] Baldani J,Caruso L,Baldani V L D,et al. Recent advances in BNF with non-legume plants[J]. Soil Biology and Biochemistry,1997,29(5/6):911-922.

[75] Mus F,Crook M B,Garcia K,et al. Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes[J]. Applied and Environmental Microbiology,2016,82(13):3698-3710.

[76] Chakraborty S,Venkataraman M,Infante V,et al. Scripting a new dialogue between diazotrophs and crops[J]. Trends in Microbiology,2024,32(6):577-589.

[77] Tian C F,Zhou Y J,Zhang Y M,et al. Comparative genomics of rhizobia nodulating soybean suggests extensive recruitment of lineage-specific genes in adaptations[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2012,109(22):8629-8634.

[78] Zhang F,Lynch D H,Smith D L. Impact of low root temperatures in soybean[*Glycine max*.(L.)Merr.]on nodulation and nitrogen fixation[J]. Environmental and Experimental Botany,1995,35(3):279-285.

[79] 刘鹏,田颖哲,钟永嘉,等. 酸性土壤上花生高效根瘤菌的分离及应用[J]. 中国农业科学,2019,52(19):3393-3403.
Liu P,Tian Y Z,Zhong Y J,et al. Isolation and application of effective *Rhizobium strains* in peanut on acidic soils[J]. Scientia Agricultura Sinica,2019,52(19):3393-3403(in Chinese with English abstract).

[80] Zahran H H. *Rhizobium*-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews,1999,63(4):968-989.

[81] Bellabarba A,Fagorzi C,Bacci G,et al. Genomic and phenotypic bases of salt tolerance in *Sinorhizobium meliloti*:candidate traits for bioinoculant development addressing saline soils[J]. Microbial Biotechnology,2026,19(1):e70304.

[82] Bashan Y,de Bashan L E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth:a critical assessment[M]//Advances in agronomy. Amsterdam:Elsevier,2010:77-136.

[83] Baldani J I,Reis V M,Videira S S,et al. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media:a practical guide for microbiologists[J]. Plant and Soil,2014,384(1):413-431.

[84] Buckley D H,Huangyutitham V,Hsu S F,et al. Stable isotope probing with $^{15}N_2$ reveals novel noncultivated diazotrophs in soil[J]. Applied and Environmental Microbiology,2007,73(10):3196-3204.

[85] Wang X J,Bei Q C,Yang W,et al. Unveiling of active diazotrophs in a flooded rice soil by combination of NanoSIMS and $^{15}N_2$-DNA-stable isotope probing[J]. Biology and Fertility of Soils,2020,56(8):1189-1199.

[86] Cui L,Yang K,Li H Z,et al. Functional single-cell approach to probing nitrogen-fixing bacteria in soil communities by resonance Raman spectroscopy with $^{15}N_2$ labeling[J]. Analytical Chemistry,2018,90(8):5082-5089.

[87] 杨进薇,马宇森,周珺柔,等. 铁钼掺杂金属有机框架在不同营养条件下对自生固氮菌的生物效应研究[J]. 西南民族大学学报(自然

科学版),2026,52(1):20-27.
Yang J W,Ma Y S,Zhou J R,et al. Study on the biological effects of iron-molybdenum doped metal-organic frameworks on diazotrophs under different nutritional conditions[J]. Journal of Southwest Minzu University(Natural Science Edition),2026,52(1):20-27(in Chinese with English abstract).

[88] 陈美凤,高英志. ^{15}N 稳定同位素技术在陆地生态系统生物固氮研究中的应用[J]. 应用生态学报,2025,36(7):1952-1960.
Chen M F,Gao Y Z. Application of ^{15}N stable isotope techniques to biological nitrogen fixation in terrestrial ecosystems[J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2025,36(7):1952-1960(in Chinese with English abstract).

[89] Chalk P M,He J Z,Peoples M B,et al. $^{15}N_2$ as a tracer of biological N_2 fixation:a 75-year retrospective[J]. Soil Biology and Biochemistry,2017,106:36-50.

[90] Wu T T,Bi F L,Liu H T,et al. Identification of nitrogen-fixing bacteria on green tide-causing species and evaluation of their nitrogen-fixing capacity[J]. Bioresource Technology,2025,428:132450.

[91] 郭建江,张荣标,杨宁,等. 基于微流控芯片的圆褐固氮菌浓度快速检测方法[J]. 农业机械学报,2015,46(1):155-159.
Guo J J,Zhang R B,Yang N,et al. Rapid detection of *Azotobacter chroococcum* concentration based on microfluidic chip[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery,2015,46(1):155-159(in Chinese with English abstract).

[92] Dai J,Ouyang Y,Gupte R,et al. Microfluidic droplets with amended culture media cultivate a greater diversity of soil microorganisms[J]. Applied and Environmental Microbiology,2025,91(3):e0179424.

[93] Hara S,Morikawa T,Wasai S,et al. Identification of nitrogen-fixing *Bradyrhizobium* associated with roots of field-grown sorghum by metagenome and proteome analyses[J]. Frontiers in Microbiology,2019,10:407.

[94] 国家肥料微生物种质资源库(陕西)[EB/OL]. [2026-07-20]. https://waecc.nwafu.edu.cn.
National fertilizer microbial germplasm resource bank(Shaanxi)[EB/OL]. [2026-07-20]. https://waecc.nwafu.edu.cn(in Chinese).

[95] Wang L Y,Zhang L H,Liu Z Z,et al. A minimal nitrogen fixation gene cluster from *Paenibacillus* sp. WLY78 enables expression of active nitrogenase in *Escherichia coli*[J]. PLoS Genetics,2013,9(10):e1003865.

[96] Lan P C,Shang Y M,Jiao S,et al. Modification of NifL-NifA operon of *Klebsiella oxytoca* improves N_2-fixation efficiency,ammonium-excretion and plant-growth promotion ability[J]. Archives of Microbiology,2025,207(10):253.

[97] Narehood S M,Cook B D,Srisantitham S,et al. Structural basis for the conformational protection of nitrogenase from O_2[J]. Nature,2025,637(8047):991-997.

[98] Zhang W Q,Liu W Y,Wang K,et al. Persulfidation of host NADPH oxidase RbohB by rhizobial 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase maintains redox homeostasis and promotes symbiotic nodulation in soybean[J]. Molecular Plant,2025,18(11):1843-1863.

[99] 杜迎辉,苏海榆,高玉爽,等. 一株高效固氮的大豆慢生根瘤菌及其培养方法与它的用途:CN201110024851.6[P]. 2011-09-07.
Du Y H,Su H Y,Gao Y S,et al. A highly efficient nitrogen-fixing soybean slow-growing rhizobium and its cultivation method and its use:CN201110024851.6[P]. 2011-09-07(in Chinese).

[100] 陈三凤,李琴. 一株天然耐铵固氮微生物 LQ3 及其应用:CN201911102353.1[P]. 2020-02-04.
Chen S F,Li Q. A natural ammonium-tolerant nitrogen-fixing microorganism LQ3 and its application:CN201911102353.1[P]. 2020-02-04(in Chinese).

[101] Pedrosa F O,Oliveira A L M,Guimarães V F,et al. The ammonium excreting *Azospirillum brasilense* strain HM053:a new alternative inoculant for maize[J]. Plant and Soil,2020,451(1/2):45-56.

[102] French E,Kaplan I,Iyer-Pascuzzi A,et al. Emerging strategies for precision microbiome management in diverse agroecosystems[J]. Nature Plants,2021,7(3):256-267.

[103] Li Y J,Li R R,Liu R,et al. A simplified SynCom based on core-helper strain interactions enhances symbiotic nitrogen fixation in soybean[J]. Journal of Integrative Plant Biology,2025,67(6):1582-1598.

[104] Zhang Y X,Xu Q,Wang G J,et al. Mixed *Enterobacter* and *Klebsiella* bacteria enhance soybean biological nitrogen fixation ability when combined with rhizobia inoculation[J]. Soil Biology and Biochemistry,2023,184:109100.

[105] Zhang L,Li S Y,Liu X Z,et al. Sensing of autoinducer-2 by functionally distinct receptors in prokaryotes[J]. Nature Communications,2020,11:5371.

[106] Peng Z H,van der Heijden M G A,Liu Y,et al. Agricultural subsoil microbiomes and functions exhibit lower resistance to global change than topsoils in Chinese agroecosystems[J]. Nature Food,2025,6(4):375-388.

[107] Zhang L Y,Zhang M L,Huang S Y,et al. A highly conserved core bacterial microbiota with nitrogen-fixation capacity inhabits the xylem sap in maize plants[J]. Nature Communications,2022,13:3361.

[108] Liu S,Zhao Z R,Ji Y X,et al. Synthetic bacterium-facilitated colonization of nitrogen-fixing bacteria for remodeling the rhizosphere microbiome and improving plant yield[J]. Microbiome,2025,14(1):7.

[109] Lozano-Andrade C N,Dinesen C,Wibowo M,et al. Surfactin facilitates establishment of *Bacillus subtilis* in synthetic communities[J]. The ISME Journal,2025,19(1):wraf013.

[110] 李琦,杨晓玫,张建贵,等. 农用微生物菌剂固定化技术研究进展[J]. 农业生物技术学报,2019,27(10):1849-1857.
Li Q,Yang X M,Zhang J G,et al. Research progress on immobilization technology of agricultural microbial agents[J]. Journal of Agricultural Biotechnology,2019,27(10):1849-1857(in Chinese with English abstract).

[111]燕永亮,田长富,杨建国,等. 人工高效生物固氮体系创建及其农业应用[J]. 生命科学,2021,33(12):1532-1543.
Yan Y L,Tian C F,Yang J G,et al. Establishment of artificial efficiency biological nitrogen fixation system and its agricultural application[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences,2021,33(12):1532-1543(in Chinese with English abstract).
[112]魏志敏,孙斌,方成,等. 根瘤菌与固氮菌联合对毛叶苕子的促生效果[J]. 草业学报,2021,30(5):94-102.
Wei Z M,Sun B,Fang C,et al. Co-inoculation with rhizobia and *Azotobacter* affects the growth of *Vicia villosa*[J]. Acta Prataculturae Sinica,2021,30(5):94-102(in Chinese with English abstract).
[113]吕继龙,赵士诚. 不同施肥处理及接种根瘤菌对大豆养分吸收、产量及土壤细菌组成的影响[J]. 中国土壤与肥料,2024(11):107-113.
Lü J L,Zhao S C. Effects of different fertilization treatments and rhizobial inoculation on soybean nutrient uptake,yield and soil bacterial community[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China,2024(11):107-113(in Chinese with English abstract).
[114]Dixon R,Kahn D. Genetic regulation of biological nitrogen fixation[J]. Nature Reviews Microbiology,2004,2(8):621-631.
[115]Vassileva M,Malusà E,Sas-Paszt L,et al. Fermentation strategies to improve soil bio-inoculant production and quality[J]. Microorganisms,2021,9(6):1254.
[116]Zou X,Mo Z R,Wang L R,et al. Overcoming bacteriophage contamination in bioprocessing:strategies and applications[J]. Small Methods,2025,9(3):2400932.
[117]Ren K X,Wang Q,Hu M K,et al. Research progress on the effect of autolysis to *Bacillus subtilis* fermentation bioprocess[J]. Fermentation,2022,8(12):685.
[118]Bauer S A W,Kulozik U,Foerst P. Drying kinetics and survival of bacteria suspensions of *L. paracasei* F19 in low-temperature vacuum drying[J]. Drying Technology,2013,31(13/14):1497-1503.
[119]Singh V,Kumar B. A review of agricultural microbial inoculants and their carriers in bioformulation[J]. Rhizosphere,2024,29:100843.
[120]Mendoza-Suárez M,Andersen S U,Poole P S,et al. Competition,nodule occupancy,and persistence of inoculant strains:key factors in the *Rhizobium*-legume symbioses[J]. Frontiers in Plant Science,2021,12:690567.
[121]Pang Z Q,Xu P. Probiotic model for studying rhizosphere interactions of root exudates and the functional microbiome[J]. The ISME Journal,2024,18:wrae223.
[122]Guo L,Wang C,Zheng M M,et al. Fertilization practices affect biological nitrogen fixation by modulating diazotrophic communities in an acidic soil in Southern China[J]. Pedosphere,2023,33(2):301-311.
[123]Canellas L P,Olivares F L,Aguiar N O,et al. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture[J]. Scientia Horticulturae,2015,196:15-27.
[124]Ma Y L,Xiao C B,Liu J Q,et al. Nutrient-dependent regulation of symbiotic nitrogen fixation in legumes[J]. Horticulture Research,2025,12(3):uhae321.
[125]Fox J E,Gulledge J,Engelhaupt E,et al. Pesticides reduce symbiotic efficiency of nitrogen-fixing rhizobia and host plants[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2007,104(24):10282-10287.

责任编辑:刘怡辰

韦革宏,西北农林科技大学教授,博导,长江学者特聘教授,国家杰出青年科学基金和全国百篇优秀博士学位论文获得者。中组部万人计划科技创新领军人才、神农领军英才、国家“863”计划项目首席专家。兼任国际根瘤菌与土壤杆菌多样性及分类分委员会委员、中国微生物学会农业微生物专业委员会副主任、中国土壤学会土壤生物与生物化学专业委员会副主任。先后主持国家重点研发计划项目、国家自然科学基金重点项目、国家自然科学基金区域联合基金重点项目、国家“863”计划项目等课题30余项。以通信作者在 *Cell Host Microbe*、*Nat Food*、*PNAS*、*One Earth*、*Nat Commun*、*ISME J*、*Global Change Biol* 等国际权威刊物发表SCI论文100余篇,出版专著1本,授权发明专利20余件。

焦硕,西北农林科技大学教授,博导。主要从事土壤微生物生态研究,围绕农田土壤微生物群落形成和稳定机制的科学问题,探究农田土壤微生物群落形成模式,阐明和揭示了土壤微生物环境适应性规律及群落稳定机制,为农田土壤微生物群落构建与功能调控提供理论依据与应用途径。以第一或通信作者在 *Cell Host Microbe*、*Nat Food*、*One Earth*、*Nat Commun*、*Ecol Lett*、*ISME J*、*Global Change Biol* 等国际权威刊物上发表SCI论文50余篇,获国家自然科学基金优秀青年基金、国家重点研发计划青年科学家项目和全国博士后创新人才计划等项目资助。