

DOI:10.13870/j.cnki.stbcb.2025.06.006 CSTR:32310.14.stbcb.2025.06.006

武艳秋,葛云晓,张琪,等.土壤有机氮解聚作用及其调控进展[J].水土保持学报,2025,39(6):1-12.

WU Yanqiu, GE Yunxiao, ZHANG Qi, et al. Progress in soil organic nitrogen depolymerization and its regulation[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2025, 39(6):1-12.

土壤有机氮解聚作用及其调控进展

武艳秋,葛云晓,张琪,胡国庆

(山东农业大学资源与环境学院,土肥高效利用国家工程研究中心,山东泰安271018)

摘要: [目的] 解析土壤有机氮解聚过程的关键生物地球化学机制及其调控途径,对提升土壤氮素有效性、减少化学氮肥依赖具有重要科学意义。[方法] 系统综述国内外有机氮解聚相关研究进展,明确解聚底物的来源特征与化学组成,总结归纳解聚作用的量化方法,分析解聚过程的主要影响因素及调控途径。[结果] 主要源于微生物的蛋白质类物质(包括蛋白质和多肽)构成土壤中最大的有机氮库,通过氨基酸-¹⁵N同位素稀释法测定土壤总蛋白解聚过程中新产生的游离氨基酸通量,可量化土壤有机氮解聚动态。有机氮解聚酶活性及其分泌量是调控解聚过程的关键因素,土壤母质、土地利用方式(如施肥、耕作等)及环境条件(如温度、湿度、pH等)则通过影响微生物群落结构与功能来间接调控解聚过程。[结论] 未来研究应重点关注农田生态系统中土壤有机氮解聚的动态过程及其调控机制,探索通过优化农业管理措施(如轮作、间作、有机肥施用等)提升解聚效率,可为实现农业生态系统的氮素高效利用与可持续发展提供理论依据和技术支撑。

关键词: 土壤有机氮解聚; 有机氮组成; 解聚酶; 稳定同位素

中图分类号: S153.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-2242(2025)06-0001-12

Progress in Soil Organic Nitrogen Depolymerization and Its Regulation

WU Yanqiu, GE Yunxiao, ZHANG Qi, HU Guoqing

(National Engineering Research Center for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources, College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China)

Abstract: [Objective] Analyzing the key biogeochemical mechanisms and regulatory pathways of soil organic nitrogen depolymerization is of great scientific significance for improving soil nitrogen availability and reducing dependence on chemical nitrogen fertilizers. [Methods] This study systematically reviews the research progress on organic nitrogen depolymerization both domestically and internationally, clarifies the source characteristics and chemical composition of depolymerization substrates, summarizes the quantitative methods of depolymerization, and analyzes the main influencing factors and regulatory pathways of the depolymerization process. [Results] Proteinaceous substances mainly derived from microorganisms (including proteins and polypeptides) constitute the largest organic nitrogen pool in soil. The flux of newly generated free amino acids during the depolymerization process of total soil protein can be quantified using the amino acid-¹⁵N isotope dilution method, enabling the quantification of soil organic nitrogen depolymerization dynamics. The activity and secretion levels of depolymerizing enzymes are key factors directly regulating the depolymerization process, while soil parent material, land use practices (such as fertilization and tillage), and environmental conditions (such as temperature, moisture, and pH) indirectly regulate the process by affecting microbial community structure and function. [Conclusion] Future research should focus on the dynamic processes and regulatory mechanisms of soil organic nitrogen depolymerization in agricultural ecosystems, and explore ways to enhance depolymerization efficiency through optimized agricultural

收稿日期:2025-03-10 修回日期:2025-04-25 录用日期:2025-05-28 网络首发日期(www.cnki.net):2025-07-25

资助项目:国家自然科学基金项目(42377313);山东省自然科学基金项目(ZR2022MD093)

第一作者:武艳秋(2001—),女,硕士研究生,主要从事土壤碳氮循环转化过程研究。E-mail:Wuyanqiup@163.com

通信作者:胡国庆(1985—),男,博士,副教授,主要从事土壤碳氮循环及其环境效应研究。E-mail:huguoqing536@163.com

http://stbcb.alljournal.com.cn

management practices (such as crop rotation, intercropping, and organic fertilizer application), thereby providing a theoretical basis and technical support for efficient nitrogen utilization and the sustainable development of agricultural ecosystems.

Keywords: soil organic nitrogen depolymerization; organic nitrogen composition; depolymerizing enzyme; stable isotope

Received: 2025-03-10

Revised: 2025-04-25

Accepted: 2025-05-28

Online(www.cnki.net): 2025-07-25

氮(N)是作物生长发育所必需的大量营养元素^[1],在土壤-植物系统中主要以铵态氮(NH_4^+)和硝态氮(NO_3^-)的形式被植物吸收利用。然而,土壤中90%以上的氮素以有机态形式存在^[2-3],这些有机氮通过矿化作用转化为植物可直接吸收的无机氮(NH_4^+ 、 NO_3^-)或小分子单体(如氨基酸、氨基糖等),成为土壤无机氮的重要来源和库^[4-5]。已有研究^[6]表明,在农田生态系统中,即使施用化学氮肥,作物生长所需氮素的1/2以上仍依赖于土壤有机氮的供应。因此,土壤有机氮的转化过程与土壤氮素的形态、含量及动态变化密切相关,直接影响作物对氮素的吸收和利用效率,进而影响农业生产的可持续性。

土壤氮素循环过程主要包括有机氮循环和无机氮循环两个过程^[7]。目前,农田生态系统的研究多集中于无机氮循环,重点关注施肥、耕作方式、有机物料归还及增效剂添加等对硝化作用、反硝化作用、硝化微生物反硝化作用及氨化作用等“专性”转化过程的影响^[8]。相比之下,有机氮循环的研究相对较少,其核心过程是矿化作用,即土壤生物通过分解有机氮形成植物可利用的无机氮。然而,矿化过程涉及多种复杂的调控机制^[9],其中有机氮解聚

是关键限速步骤。自SCHIMEL等^[10]于2004年提出有机氮解聚是生态系统氮素循环的限速步骤以来,相关研究虽有所进展,但仍缺乏系统性和深入性。因此,系统梳理国内外土壤有机氮解聚的研究进展,不仅有助于深化对土壤有机氮循环过程的理解,还可为优化土壤有机氮库管理、减少作物对化肥的依赖、提高氮素利用效率及推动农业绿色可持续发展提供科学依据。

1 土壤有机氮的组成与解聚分析方法

1.1 土壤有机氮的组成

土壤氮库主要由有机氮组成,作为解聚作用的底物,有机氮在全球氮循环中扮演着至关重要的角色,是最大的活性氮库之一^[11]。大多数土壤有机氮都以含氮聚合物的形式存在,具有高度的复杂性和多样性,需经过矿化作用才能被作物吸收利用。土壤有机氮解聚是指将复杂有机氮化合物在土壤中分解为简单形式的过程^[12]。有机氮解聚主要通过微生物分泌的蛋白酶、几丁质酶等解聚酶将蛋白质、几丁质等大分子有机氮降解为氨基酸、氨基糖等小分子单体,这些小分子单体既可被植物直接吸收,也可被微生物进一步矿化(图1)^[13]。

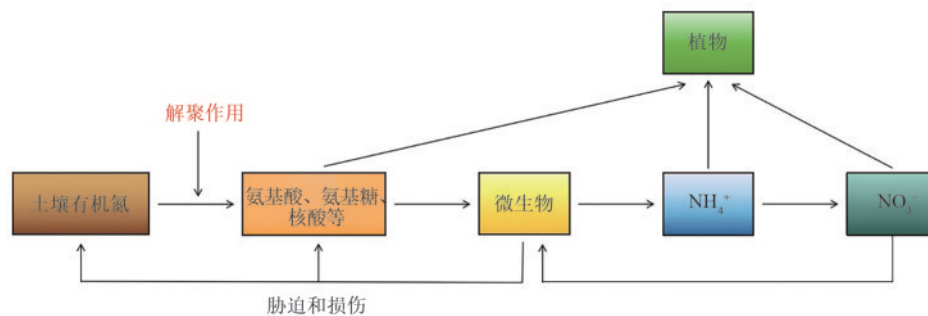


图1 土壤有机氮循环

Fig. 1 Soil organic nitrogen cycle

Brenner(1965)将有机氮分为酸解氮和非酸解氮两大类,酸解氮主要包括氨基酸氮、铵态氮、氨基糖氮和酸解未知氮,其中低分子量形式的有机氮分子(如氨基酸、短肽等)已被证实可作为重要的潜在氮源^[12]。

1)酸解氨基酸氮是土壤中最丰富的有机氮形式,占土壤总氮的30%~50%,主要来源于土壤微生物、动植物残体中的蛋白质和肽^[2]。作为植物吸收的主要有效氮源,氨基酸在自然界中多以手性分子形式存在,具有D-型和L-型对映体,其中植物和微生物表现出对L-型氨基酸的显著偏好^[13]。值得注意的是,土壤溶液中的氨基酸组成和含量具有显著的空间异质性,其分布特征与土壤类型密切相关^[14]。

2)酸解铵态氮占土壤全氮的20%~35%,包括

2)酸解铵态氮占土壤全氮的20%~35%,包括

固定态和吸附态2种形态。该部分氮主要来源于土壤中最新固持的无机氮,具有较高的生物有效性。已有研究^[15]表明,其含量与总氮和无机氮含量呈显著正相关,此关系已在多个研究中得到验证。

3) 酸解氨基糖氮作为有机氮组分中含量最低的部分(5%~12%),主要包括氨基葡萄糖、氨基半乳糖和胞壁酸等组分。这些物质主要来源于土壤微生物细胞壁中的残留物,具有较高的化学稳定性^[16]。近年来,氨基糖已被广泛用作土壤微生物生物量的重要指标,为区分细菌和真菌在土壤氮循环中的作用提供了有力依据^[17]。

4) 酸解未知氮占土壤全氮的10%~20%,是尚未完全鉴别的有机氮组分,主要包括核酸、杂环态氮等物质。已有研究^[18]表明,这部分氮是土壤活性氮的主要贡献因子,其转化过程对土壤氮素的有效性具有重要影响。

5) 非酸解态氮占土壤总氮的41%~48%,因其难以矿化的特性,被视为稳定土壤氮库的重要组成部分。这一组分在维持土壤氮素平衡和调控氮素供应过程中发挥着关键作用^[19-20]。

在农田生态系统中,不同施肥阶段的¹⁵N标记试验^[21-22]表明,土壤酸解铵态氮含量受施肥调控更为明显,而酸解氨基糖氮库表现出动态平衡特征。外源氮肥在施入初期主要赋存于酸解氨基酸态氮库中,其次为酸解铵态氮库。追肥阶段氮素转化规律发生转变,追施的氮肥大部分转化进入酸解铵态氮库,并在作物生育后期呈现快速矿化释放特征,生物有效性显著提升。可见,土壤中各有机氮组分对氮肥输入响应存在显著差异^[23-24]。然而,目前国内对有机氮循环,尤其是解聚作用这一矿化关键步骤的研究较为匮乏,其复杂机制尚待深入解析。

1.2 解聚作用分析方法

有机氮主要以大分子聚合物的形式存在于土壤中,准确测定解聚作用底物或产物的数量是定量研究解聚作用的前提。蛋白质类物质(包括蛋白质和多肽等)构成了土壤中最大的有机氮库。已有研究^[25]表明,土壤腐殖质中约40%为蛋白质类物质,约35%为杂环氮化合物。因此,蛋白质类物质的合成与分解在土壤有机氮库转化过程中发挥着核心作用^[26]。

在农田生态系统中,土壤蛋白质类物质主要来源于微生物的贡献。然而,由于技术限制,目前尚无法直接测定土壤中蛋白质类物质的含量^[27]。鉴于蛋白质和多肽是由多种氨基酸单体组成的聚合物,通过测定水解后各种氨基酸单体的总和可以间接表征土壤中蛋白质类物质的数量^[28]。值得注意的是,土

壤氨基酸具有高度动态特性,因此快速测定土壤提取物中游离氨基酸总量可在一定程度上量化有机氮的解聚作用。此方法为研究土壤有机氮转化过程提供了重要的技术支撑。

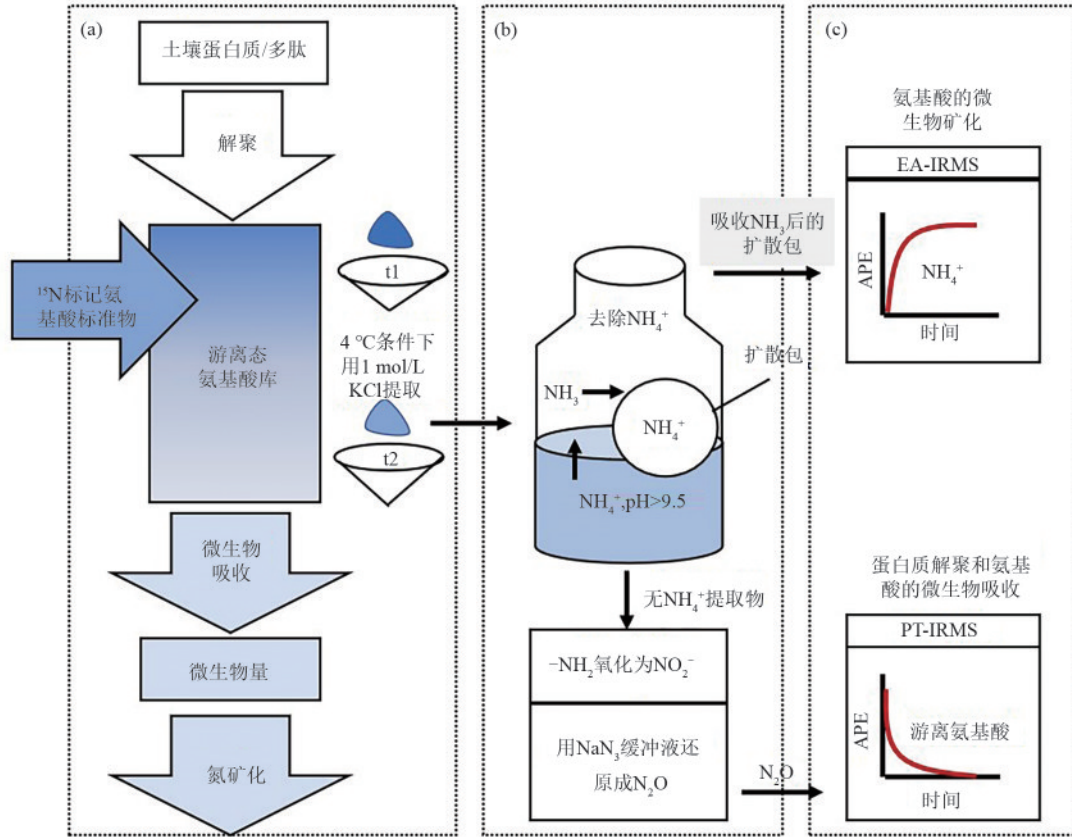
1.2.1 氨基酸-¹⁵N同位素稀释法 基于同位素稀释技术理论,NOLL等^[25]开发了一种利用稳定同位素技术测定土壤中有机氮化合物总通量的方法,即氨基酸-¹⁵N同位素稀释法。该方法的核心原理:通过向土壤中添加¹⁵N标记的氨基酸混合溶液,使土壤游离氨基酸(FAA)库富集¹⁵N标记氨基酸。随着培养时间的推移,添加的¹⁵N标记氨基酸会被来自土壤蛋白质解聚的未标记FAA稀释,微生物摄取导致FAA从标记的FAA库中流出。过量吸收的FAA-N被矿化并以NH₄⁺(氮矿化)的形式释放(图2a)。为了测定土壤中FAA和NH₄⁺的组成及浓度动态变化,试验在连续时间点(t1、t2等)采集土壤样品,经提取后利用微扩散法去除提取液中的NH₄⁺,获得不含NH₄⁺的提取物,随后该组分中的FAA通过 α -氨基氧化作用转化为NO₂⁻,并进一步还原为N₂O,最后采用吹扫-捕集同位素质谱(PT-IRMS)测定N₂O的同位素组成及浓度以反推FAA的动态变化;同时,分离出的NH₄⁺组分通过元素分析仪(EA)与同位素质谱(EA-IRMS)联用技术直接转化为N₂并测定其同位素特征及浓度,从而实现FAA与NH₄⁺的高精度分步追踪(图2b)。由于示踪剂随时间的稀释,FAA库的原子百分超(APE)下降,而由于FAA矿化,NH₄⁺库的APE随时间增加(图2c)。通过测定标记氨基酸库中¹⁵N丰度的变化,可以推断出总蛋白解聚过程中新产生的游离氨基酸通量,从而量化土壤有机氮的解聚作用。

该方法中所用的土样需要在60%含水量的条件下室温预培养1周,用OPAME荧光测序^[29]测量最初的游离氨基酸的浓度,取适量土壤装入离心管中,加入¹⁵N并用力摇晃使其混合均匀,土壤中的蛋白质开始进行解聚反应,在15、30、60、180 min时取样,4℃终止反应,并用KCl萃取样品,微生物氨基酸矿化测定,首先微扩散除去土壤中的NH₄⁺,然后在装有MgO催化剂和酸捕器(扩散包)的高密封性的玻璃瓶中反应2 d后取出扩散包,通过元素分析仪-稳定同位素质谱仪(EA-IRMS)进行分析^[30]。

蛋白质解聚作用微生物氨基酸吸收的测定,是各时间段的样品加入具有隔膜的玻璃除菌器中,先除去大气中的N₂O,然后调节pH,用气密枪加入KBr和NaClO,在碱和催化剂Br⁻的作用下,ClO⁻对氨基酸进行降解,末端的 α -NH₂基团被裂解为

NH_4^+ , 随后被氧化为 NO_2^- , 该过程被称为 Strecker 降解^[31]。然后水浴 30 min, 用 NaAsO_2 除去多余的 ClO^- 并冷却至室温, 之后用 NaN_3 将 NO_2^- 氧化为 N_2O , 并使用 PT-IRMS 进行分析^[32]。示踪剂随时

间稀释, 游离氨基酸库的 APE 逐渐下降, 而 NH_4^+ 库的 APE 随时间不断增加, 最终趋于平衡^[33]。土壤总蛋白解聚率 (GD) 和总氨基酸摄取率 (GU) 可由相应公式计算得出^[34]。



注: 图 a 为同位素库稀释试验; 图 b 为样品处理; 图 c 为总蛋白质解聚和总微生物氨基酸摄取及氨基酸矿化率测量示意。

图 2 同位素库稀释技术示意

Fig. 2 Schematic diagram of isotope pool dilution technique

由于 IRMS 方法可以直接处理 1 mol/L KCl 土壤提取物, 因此可以回收更大比例的土壤总游离氨基酸库, 从而在少量样品或较低的土壤 FAA 浓度条件下进行精确测量。相对于 LC-MS 和 GC-MS 方法, PT-IRMS 方法可以有效减少测样时间, 且随着样品的增加, 减少的时间越多, PT-IRMS 方法为分析大量高精度样本提供了一种合适的替代方案。新方法在时间要求和精度方面优于其他现有方法, 兼具高样本量和低 ^{15}N -FAA 示踪剂添加。该方法存在的缺点是数据分析比较繁琐、操作复杂, 需要对操作人员进行大量培训, 且需要用到专用仪器设备和毒性较高的 NaN_3 , 存在一定危险。

1.2.2 PreCon-IRMS 测定土壤游离氨基酸态氮与单个氨基酸的氮同位素分析法相比较, NOLL 等^[29]提出的氨基酸- ^{15}N 同位素稀释法将扩散法和 N_2O 产生法相结合, 在一定程度上简化试验步骤, 但存在的缺点也比较突出。贺珍等^[31]对该方法进行了

优化, 利用实验室开发的自动化装置^[35]将快速蒸馏与化学转化 N_2O 相结合, 用带自动预浓缩装置的稳定同位素质谱仪测定土壤中游离氨基酸 ^{15}N 丰度。

首先取土壤浸提液于装有 MgO 的顶空反应瓶中, 120°C 恒温加热至微干, 取出反应瓶冷却后密封, 并转移到全自动微量氮转化- N_2O 发生装置中进行抽真空, 连接好自动加液系统, 加入 NaBrO , 并注入适量的氦气, 用带自动预浓缩装置的稳定同位素质谱仪测定反应生成的 N_2O 气体浓度和 ^{15}N 丰度。该方法可降低试验周期, 避免使用剧毒化学药品 NaN_3 , 创建一种更简单有效的土壤游离氨基酸的测试分析方法。

PreCon-IRMS 法采用快速蒸馏法替代传统微扩散法去除土壤浸提液中的 NH_4^+ , 结合浓缩处理技术, 将批量样品前处理时间从原来的 2~3 d 大幅缩短至 1 h 内完成; 同时通过全自动微量氮转化- N_2O 发生装置取代 NOLL 等^[29]方法中的手工扩散操作^[25], 显著提高分析效率并降低对操作人员熟练程度的依

赖。在氨基酸化学转化过程中,本研究改进反应体系,避免使用剧毒化学品和外源氨,从而消除了同位素分馏问题。该方法在1 mL反应体系中的最低检测限可达0.5 μmol 氨基酸,实现了高效、可靠的分析测试。但该试验所用自动装置为贺珍实验室研制开发^[31],使用依赖度较高。

1.2.3 经典酶测法 经典酶测法^[36]也可用来测定土壤蛋白质的解聚作用。土壤中的酶和底物存在异质性,但底物酪蛋白简单普遍,是用于蛋白酶活性测定的主要蛋白质底物。酪蛋白解聚使用德尔加多-巴奎里佐和加拉多的改进方法进行估算^[37]。FUJII等^[36]在测定酸性森林土壤氮素矿化中蛋白质解聚和氨化的解耦试验中,使用酪蛋白作为解聚分析的底物,将酪蛋白降解率作为土壤中解聚的微生物潜力指标。

土壤中添加的酪蛋白最终转化为微生物量氮、铵和硝酸盐。而酪蛋白解聚率主要有2种方式:一是产生的总溶解氮(TDN)(包括氨基酸、铵和硝酸盐)的总和,以及酪蛋白衍生氮的微生物吸收;二是单独的总溶解氮(TDN)。前者通过包括酪蛋白输入促进天然氮的净矿化来高估酪蛋白解聚,而后者通过忽略微生物对酪蛋白来源的氮的吸收来保守地估计酪蛋白解聚。

预处理的土壤加入1 mL的酪蛋白溶液,加离子水用作对照,孵化一段时间后,将酪蛋白的氮添加量调整为导致最大的微生物活性的140 mg/kg(以N计),培养0、6、24、48、96、192、384 h,用 K_2SO_4 提取熏蒸和未熏蒸土壤样品的可溶性氮,用总有机氮分析仪测定得到微生物量氮和总溶解氮的浓度。根据酪蛋白改良土壤中微生物量氮的净增加量与对照土壤中微生物量氮净增加量之间的差异,估计在不同时间点微生物对酪蛋白衍生的氮的吸收量。假设酪蛋白衍生氮的减少等于TDN的产生和微生物对酪蛋白衍生氮吸收的总和,则根据土壤初始酪蛋白输入[140 mg/kg(以N计)]与TDN产生和微生物吸收酪蛋白衍生氮之和之间的差异来估计土壤溶液中残留的酪蛋白衍生氮量。潜在的净解聚估计为初始和最终可溶性有机氮浓度之间的差异,这些速率的总和定义为氮转化速率。

2 土壤有机氮解聚作用的影响因素

作为无机氮来源的关键控制步骤,有机氮解聚的研究长期滞后^[38-39]。近年来,随着有机氮解聚测定方法的突破,有机氮解聚作用重新引起高度重视。已有研究^[40]表明,有机氮的解聚过程可能受多种因素调控(图3),包括解聚酶活性、土壤母质、温度、湿度、土地利用方式与管理措施等。

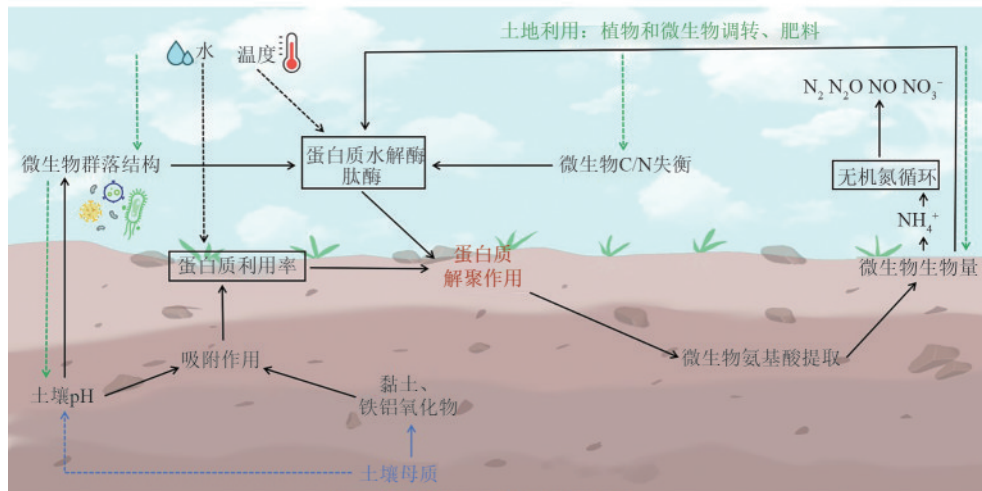


图3 土壤有机氮解聚作用的影响因素

Fig. 3 Influencing factors of soil organic nitrogen depolymerization

2.1 解聚酶

土壤有机氮主要来源于植物残体和微生物代谢产物,其中蛋白质、甲壳素和肽聚糖是主要的含氮组分。土壤微生物通过分泌多种解聚酶(如蛋白酶、几丁质酶、漆酶和氨肽酶等,见表1),将大分子有机氮分解为小分子单体^[40-41]。这些单体不仅可直接被植物吸收利用,还可作为微生物的氮源,进一步参与土

壤氮素的循环转化^[42-43]。

蛋白质是土壤含量最丰富的有机氮形式之一^[44],其降解主要依赖于蛋白酶的作用。蛋白酶能够将蛋白质分解为更小的肽链或氨基酸,这些产物可直接被植物吸收或进一步降解^[45]。自然界中广泛存在能够分泌细胞外蛋白酶的细菌和真菌,这些蛋白酶通常具有广泛的底物特异性,能够降解大多数

非结构蛋白^[46]。根据其作用方式,蛋白酶可分为外肽酶和内肽酶两类:外肽酶从多肽链的末端(氨基或羧基端)逐步裂解氨基酸,而内肽酶则从多肽链的内部区域裂解肽键^[47]。

表 1 土壤有机氮解聚酶的种类、缩写、相应底物和特征吸收峰

Table 1 Types, abbreviations, substrates, and characteristic absorption peaks of soil organic nitrogen depolymerizing enzymes

酶	缩写	底物	特征吸收峰/nm
碱性蛋白酶	ALPT	酪蛋白	680
中性蛋白酶	ACPT	酪蛋白	680
酸性蛋白酶	NPT	酪蛋白	680
几丁质酶	Chi	乙酰氨基葡萄糖	585
漆酶	Lac	2, 2-联氨-双-乙基苯丙噻唑啉-6-磺酸	420
锰过氧化物酶	Mnp	锰离子和愈创木酚	465
谷氨酰胺酶	CLS	谷氨酰胺	420
亮氨酸氨基肽酶	LAP	亮氨酸对硝基苯胺	405

几丁质是自然界中第 2 丰富的多糖,主要存在于真菌和某些藻类的细胞壁中^[48]。几丁质酶广泛分布于病毒、细菌、真菌、昆虫和高等植物中,能够将不溶性的几丁质水解为低聚糖或单体成分^[49]。此外,氨肽酶作为另一种重要的细胞外酶,广泛存在于细胞内和细胞外环境中^[50]。土壤微生物通过分泌多种胞外酶(如氨肽酶)降解高分子量有机氮,将蛋白质降解为氨基酸单体。氨肽酶能够催化肽链氮端氨基酸的酰胺键水解,从而显著增加土壤中游离氨基酸的含量^[51-52]。

以往研究^[53]表明,土壤酶活性与土壤微生物生物量呈正相关,土壤微生物与参与有机氮解聚的土壤酶之间存在密切关系,土壤微生物作为关键生物活性组分,其数量分布和酶促反应强度直接调控有机氮解聚过程^[54]。土壤微生物可以产生多种酶,能够分解复杂的有机氮化合物,包括蛋白酶和肽酶等^[55],使大分子有机氮向植物可用形式和容易矿化的单体或低分子量有机氮转化。微生物通过营养竞争或饥饿响应分泌解聚酶,将高分子有机氮解聚为小分子如氨基酸、氨基糖等供自身吸收^[56]。而且微生物死亡将富含蛋白质的细胞内容物释放到土壤中,增加大分子有机氮解聚的利用率刺激蛋白酶和肽酶等解聚酶的活性从而增加有机氮解聚速率^[57]。当系统中植物氮吸收或根沉积启动过程占主导地位时,微生物的氮限制会促使资源更多地分配给土壤有机氮的开采,从而导致蛋白质解聚^[7]。高分子有机氮如蛋白质、甲壳素作为诱导物,激活微生物的酶分泌系统,虽然合成酶消耗能量,但降解高分子有机氮获得的氮收益远高于消耗^[58],土壤微生物通过产生各种胞外酶来调节土壤肥力、植物生长和植物群落的演替,这些胞外酶通过营养循环将死去的有机物和其他大型有机聚合物分解为可用的组成元素供微生物生存和繁殖^[54]。

综上所述,解聚酶在土壤有机氮转化过程中发挥着不可替代的作用,其活性和多样性直接影响土壤氮素的有效性和生物可利用性。深入研究解聚酶的作用机制及其调控因素,对于揭示土壤有机氮循环规律具有重要意义。

2.2 土壤理化性质

土壤有机氮的含量及其解聚过程受土壤固相吸附作用的影响。已有研究^[59]表明,有机氮解聚酶的产生及其潜在活性主要由底物供应驱动,而土壤黏土含量是影响有机氮吸附能力的关键因素。黏土含量越高,土壤对有机氮的吸附能力越强,这为微生物提供了充足的底物和能量来源。不同质地的土壤中黏土矿物含量存在显著差异,这些矿物通过静电吸引、配体交换、离子交换和氢键等多种作用力吸附有机氮。其中,铁铝氧化物和层状硅铝酸盐是土壤有机氮的主要吸附位点^[60]。已有研究^[60-61]发现,土壤矿物成分对有机氮的总解聚速率和氨基酸循环速率具有显著影响。此外,土壤 pH 通过调控微生物酶活性、功能及群落组成,间接影响土壤有机氮的解聚过程^[62]。值得注意的是,土壤 pH 还决定矿物及其吸附蛋白质的净电荷特性,从而进一步影响有机氮的吸附与解聚行为。因此,土壤理化性质(土壤母质、黏土矿物、pH 等)对有机氮解聚过程具有重要影响^[60],其机制涉及物理吸附、化学作用及微生物活动的协同效应。深入研究这些理化性质的作用机制,对于揭示土壤有机氮转化规律具有重要意义。

2.3 温度和湿度

土壤氮素循环对降雨量和土壤温度的变化表现出较高敏感性^[63]。已有研究^[64]表明,在一定湿度范围内,土壤可提取有机氮的浓度会随土壤干燥程度的增加而升高,主要是由于持续的细胞外酶活性与微生物吸收减少的共同作用,导致可溶性有机物积累。尽管在干旱条件下,部分细胞外酶活性受到抑

制,但氧化酶和解聚酶仍保持较高活性^[65]。相比之下,在湿润条件下,微生物迅速生长并分泌大量胞外酶,促进土壤有机氮解聚为小分子氨基酸,从而显著提高氮素的有效性^[63]。

温度是调控土壤有机氮解聚过程的关键环境因子。微生物驱动的有机氮解聚过程依赖于具有温度敏感性的胞外酶活性^[66]。已有研究^[67]表明,温度能够显著影响土壤有机质分解和养分释放相关的胞外酶活性。BRZOSTEK等^[68-69]研究表明,不同温度环境下的胞外酶对温度的敏感性存在差异:寒冷土壤中的胞外酶通常比温暖土壤中的胞外酶表现出更高的温度敏感性,但这种差异并不改变温度对酶活性影响的总体趋势。在一定温度范围内,随着温度的升高,酶与底物的碰撞频率和分解速度加快,从而促进有机氮的解聚作用。

然而,高温往往伴随着土壤含水量的降低,这对有机氮解聚过程会产生双重影响。一方面,微生物需要分泌胞外酶以水解土壤中的高分子量有机氮化合物,为后续代谢提供底物;另一方面,在适宜的水分条件下(如雨后或土壤湿润时),微生物群落结构得以优化发展,酶活性显著增强^[70]。相比之下,干旱或水分匮乏条件会限制微生物群落的生存和活动,导致催化解聚酶活性发生显著变化,从而降低有机氮解聚效率^[71]。

SIERRA^[72]研究表明,影响氮矿化的主要环境因素是土壤温度和湿度。温度和降水会影响土壤微生物群落组成,改变土壤酶活性和有机质降解,从而影响土壤有机氮解聚^[73]。降水减少增加植被根系的产量和周转,促进氮矿化^[74]。分解过程中发生的化学和酶反应取决于温度。CURTIN等^[75]研究发现,在5~25℃氮矿化解聚作用对温度升高呈曲线响应,最高值约为25℃,其与土壤湿度之间同样也存在线性关系,最佳值在田间持水量的80%~100%,充足的土壤湿度有助于实现最佳的微生物活性,当土壤湿度接近田间持水量时,观察到的氮矿化解聚率最高。较高湿度下氧气扩散缓慢,氧气供应受到限制,微生物活性等受到抑制。在氧气供应充足的情况下,氮矿化与重量含水量呈线性关系^[76]。

综上所述,温度和湿度通过调控微生物活性及胞外酶的产生与功能,共同影响土壤有机氮的解聚过程。深入理解这些环境因子的作用机制,对于预测气候变化背景下土壤氮循环的响应具有重要意义。

2.4 土地利用方式

2.4.1 施肥方式对有机氮解聚的影响 施肥方式

(如化肥施用、有机肥施用、秸秆还田等)是调控土壤有机氮解聚过程的关键因素之一。长期施用化肥(尤其是尿素)可能导致土壤酸化,抑制解聚酶的活性,从而减缓有机氮的解聚速率。此外,化肥的过量施用不仅会加剧氮素流失,还可能造成环境污染^[62]。相比之下,有机肥施用和秸秆还田能够为土壤提供丰富的有机质和氮源,显著促进微生物活性和解聚酶的分泌。有机肥中的有机氮经过微生物分解后,可转化为小分子单体,为植物提供可直接利用的氮源。秸秆还田不仅能够增加土壤有机质含量,还能改善土壤结构,增强微生物的分解能力。已有研究^[60]表明,秸秆还田能够显著提高土壤中蛋白酶和几丁质酶的活性,从而促进有机氮的解聚。

2.4.2 农田耕作方式对有机氮解聚的影响 农田耕作方式(如翻耕、免耕、轮作等)通过改变土壤结构、有机质分布和微生物活性,显著影响有机氮的解聚过程。翻耕能够促进土壤通气性和有机质的混合,短期内提高微生物活性,从而加速有机氮的解聚。然而,长期翻耕可能导致土壤有机质快速分解,降低土壤肥力^[77]。相比之下,免耕和少耕措施能够减少土壤扰动,保护土壤有机质,促进有机氮的稳定积累和缓慢解聚。轮作作为一种重要的农田管理措施,通过引入不同作物(如豆科作物)改善土壤微生物群落结构,增加解聚酶的多样性。豆科作物通过固氮作用增加土壤氮素输入,同时其根系分泌物也能够刺激微生物活动,促进有机氮的解聚^[78]。此外,轮作还能够减少单一作物对土壤养分的过度消耗,维持土壤肥力,从而间接影响有机氮的解聚效率。

2.4.3 土地利用类型对有机氮解聚的影响 不同土地利用类型(如农田、草地、林地等)对土壤有机氮解聚的影响存在显著差异。农田土壤由于频繁地耕作和施肥,有机氮的解聚速率通常较高,但长期高强度利用可能导致土壤有机质耗竭,降低解聚效率。草地和林地土壤由于较少受到人为干扰,有机质积累较为稳定,解聚过程相对缓慢,但能够维持较高的土壤肥力^[79]。草地土壤中的有机氮主要来源于植物残体和根系分泌物,其解聚过程受微生物群落结构和环境条件的共同调控。林地土壤中的有机氮则主要来源于凋落物和根系分解,其解聚过程受木质素和纤维素含量的影响较大。已有研究^[80]表明,林地土壤中木质素分解酶的活性显著高于农田土壤,这与其较高的有机质含量和稳定的微生物群落结构密切相关。

3 土壤有机氮解聚调控途径

在农业生态系统中,全球肥料氮利用效率持续

维持在约 40% 的低水平,亟须在 2050 年前提升近 1 倍,以应对日益增长的粮食需求和环境压力^[47,81]。现有肥料管理技术的有限成效表明,单一依赖无机氮调控存在明显局限性^[82]。通过建立和优化土壤有机氮库,增强其内部循环,同时减少合成氮肥的输入,可能为提高氮素利用效率提供新的途径^[83]。因此,深入研究土壤有机氮解聚的调控途径,对于优化土壤氮素管理、提升农业可持续性具有重要意义。

3.1 优化农业管理措施

通过优化农业管理措施,可以有效改善土壤环境,促进有机氮的解聚^[83-84]。具体措施包括:

1)合理轮作与间作:增加土壤有机质输入,改善土壤微生物群落结构,促进有机氮解聚。例如,豆科作物与禾本科作物轮作可通过生物固氮增加土壤氮素含量。

2)种植覆盖作物或翻压绿肥:如紫云英、苜蓿等覆盖作物可增加易降解有机质的输入,刺激微生物活性,加速有机氮解聚。

3)减少耕作频率和强度:保护土壤团聚体结构,降低有机氮的物理保护作用,促进其解聚。

4)优化灌溉管理:保持适宜的土壤水分条件,避免过干或过湿,以维持微生物活性和酶活性。

3.2 有机物料添加

添加外源有机物料是调控有机氮解聚的有效措施之一。具体方法包括:

1)秸秆还田:增加土壤有机质含量,提供微生物碳源,促进有机氮解聚。但需注意调节秸秆的碳氮比,避免因碳源过多导致微生物与植物竞争氮素。

2)施用堆肥或厩肥:显著提高土壤微生物活性,加速有机氮解聚。

3)添加生物炭:通过改善土壤结构、增加微生物活性和吸附有机氮化合物,间接调控有机氮解聚。

综上所述,通过优化农业管理措施和添加有机物料,可以有效调控土壤有机氮的解聚过程,从而提高氮素利用效率,促进农业可持续发展。未来研究应进一步探索不同调控措施的协同效应及其在田间尺度上的应用潜力。

4 总结与展望

土壤有机氮库作为陆地生态系统中最大的氮库,但其研究长期处于相对滞后的状态。随着研究深入,有机氮解聚作为土壤氮素矿化的限速步骤已获广泛认可。生物分泌的解聚酶(如蛋白酶、几丁质酶等)驱动有机氮解聚过程,将大分子有机氮转化为可直接利用的小分子形态(氨基酸、氨基糖等)。该过程通过环境因子(土壤母质、温度、湿度、pH)和管

理措施调控微生物群落间接影响解聚过程。在研究方法方面,氨基酸⁻¹⁵N 同位素稀释法和 PreCon-IRMS 等技术的应用显著提升了有机氮解聚研究的精度和可靠性。

展望未来,有机氮解聚研究仍需在几个方向取得突破:1)需要深入解析不同土地利用方式下有机氮解聚的动态过程及其微生物-酶-底物互作网络的时空调控机制;2)应加强对解聚酶系的功能基因组学研究,明确关键酶类的分子特征和催化机制;3)需要建立有机氮解聚过程的定量模型,为预测和调控氮素转化提供理论支撑;4)应通过优化轮作、间套作和有机肥管理等农业措施提升有机氮解聚效率,以减少化肥依赖并促进农业可持续发展。

参考文献:

- [1] WANG Y Y, ZHAI D P, CHENG X L. Soil nitrogen and phosphorus dynamics respond divergently to afforestation [J]. *Forest Ecology and Management*, 2024, 555: e121705.
- [2] XU L, CHEN H, ZHOU Y, et al. Long-term straw returning improved soil nitrogen sequestration by accelerating the accumulation of amino acid nitrogen [J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2024, 362: e108846.
- [3] 王乐云,田飞飞,能惠,等.不同施肥处理对农田土壤有机氮组分及其矿化的影响[J].*中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2019, 49(4): 117-127.
WANG L Y, TIAN F F, NAI H, et al. Effects of different fertilizers on organic nitrogen fractions and their mineralization in agricultural soils [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2019, 49(4): 117-127.
- [4] SUN R, ZHU X D, WANG C, et al. Effect of NH_4^+ and NO_3^- cooperatively regulated carbon to nitrogen ratio on organic nitrogen fractions during rice straw composting [J]. *Bioresource Technology*, 2024, 395: e130316.
- [5] 高鹏,雷星宇,鲁耀雄,等.有机氮部分替代化学氮肥对土壤有机氮组分的影响[J].*中国土壤与肥料*, 2023 (10): 11-18.
GAO P, LEI X Y, LU Y X, et al. Effects of partial substitution of chemical fertilizer with organic fertilizer on soil organic nitrogen and active nitrogen [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2023(10): 11-18.
- [6] WANG C, GUO L, CAI Z J, et al. Different contributions of rare microbes to driving soil nitrogen cycles in acidic soils under manure fertilization [J]. *Applied Soil Ecology*, 2024, 196: e105281.
- [7] SUOLANG Y Z, LUO W X, MA J W, et al. Extreme precipitation alters soil nitrogen cycling related microbial

- community in karst abandoned farmland [J]. *Applied Soil Ecology*, 2024, 197: e105345.
- [8] LIU L H, ZHENG N G, YU Y X, et al. Soil carbon and nitrogen cycles driven by iron redox: A review [J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 918: e170660.
- [9] KATO R, RITZ K, TOYOTA K. Enchytraeid-stimulation of nitrogen mineralization from green plant residues in an organic soil [J]. *Pedobiologia*, 2024, 104: e150957.
- [10] SCHIMEL J P, BENNETT J. Nitrogen mineralization: Challenges of a changing paradigm [J]. *Ecology*, 2004, 85(3): 591-602.
- [11] PAN J H, WANG J, ZHUANG S Y. Amino acid nitrogen trends in paddy soils under long-term rice cultivation in southeast coast of China [J]. *Catena*, 2022, 212: e106044.
- [12] WANG D, LAN Y, CHEN W F, et al. The six-year biochar retention interacted with fertilizer addition alters the soil organic nitrogen supply capacity in bulk and rhizosphere soil [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 338: e117757.
- [13] LI Q, WANG J, YUAN H Z, et al. Climatic effects on soil organic nitrogen fractions and amino acid chirality in paddy soils [J]. *Pedosphere*, 2023, 33(4): 579-588.
- [14] 马庆旭, 朱双双, 泮莞坤, 等. 土壤氨基酸生物有效性及其环境调控研究进展 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(10): 1899-1908.
- MA Q X, ZHU S S, PAN W K, et al. The bioavailability of soil amino acids and the regulation mechanism by environmental factors: A review [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(10): 1899-1908.
- [15] 陈天, 程瑞梅, 沈雅飞, 等. 氮添加对三峡库区马尾松人工林土壤团聚体有机氮组分和氮矿化的影响 [J]. *应用生态学报*, 2023, 34(10): 2601-2609.
- CHEN T, CHENG R M, SHEN Y F, et al. Effects of nitrogen addition on acidolizable organic nitrogen components and nitrogen mineralization in aggregates of *Pinus massoniana* plantations in the Three Gorges Reservoir area, China [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2023, 34(10): 2601-2609.
- [16] REAY M K, CHARTERIS A F, JONES D L, et al. ¹⁵N-amino sugar stable isotope probing (¹⁵N-SIP) to trace the assimilation of fertilizer-N by soil bacterial and fungal communities [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 138: e107599.
- [17] 董姝含, 贺章咪, 王婉琦, 等. 土壤有机氮组分的年际变化及其对秸秆还田的响应 [J]. *应用生态学报*, 2022, 33(11): 2963-2970.
- DONG S H, HE Z M, WANG W Q, et al. Interannual variation of soil organic nitrogen fractions and its response to straw returning [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2022, 33(11): 2963-2970.
- [18] 吴汉卿, 张玉龙, 张玉玲, 等. 土壤有机氮组分研究进展 [J]. *土壤通报*, 2018, 49(5): 1240-1246.
- WU H Q, ZHANG Y L, ZHANG Y L, et al. Soil organic nitrogen fractions: A review [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2018, 49(5): 1240-1246.
- [19] 董姝含, 吕慧捷, 周锋, 等. 玉米土壤有机氮组分的生长季动态变化及其对当季和长期秸秆还田的响应 [J]. *生态学杂志*, 2022, 41(1): 73-80.
- DONG S H, LYU H J, ZHOU F, et al. Variation of soil organic nitrogen fractions in maize field during growing season and its response to current year and long-term straw returning [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2022, 41(1): 73-80.
- [20] 李瑞, 张巡, 杨阳, 等. 沼液替代化学氮肥对滨海稻田土壤有机氮和细菌群落的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2022, 28(8): 1364-1375.
- LI R, ZHANG X, YANG Y, et al. Effects of substituting biogas slurry for chemical nitrogen fertilizer on soil organic nitrogen and bacterial communities in coastal paddy fields [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2022, 28(8): 1364-1375.
- [21] 吕慧捷. 肥料氮向土壤有机组分的转化动态及稳定机制 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2012.
- LÜ H J. Transformation dynamics of fertilizer nitrogen into organic constituents and stabilization in different soil organic N fractions [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2012.
- [22] LÜ H J, HE H B, ZHAO J S, et al. Dynamics of fertilizer-derived organic nitrogen fractions in an arable soil during a growing season [J]. *Plant Soil*, 2013, 373: 595-607.
- [23] ZHANG W, LIANG C, KAO-KNIFFIN J, et al. Differentiating the mineralization dynamics of the originally present and newly synthesized amino acids in soil amended with available carbon and nitrogen substrates [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 85: 162-169.
- [24] 崔宏卓, 廖世鹏, 张洋洋, 等. 干湿交替下氮肥施用对土壤有机氮库转化的影响 [J]. *中国土壤与肥料*, 2022(6): 39-47.
- CUI H Z, LIAO S P, ZHANG Y Y, et al. Effects of nitrogen fertilizer application on the transformation of soil organic nitrogen pool under alternating wet and dry conditions [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2022(6): 39-47.
- [25] NOLL L, ZHANG S S, WANER W. Novel high-

- throughput approach to determine key processes of soil organic nitrogen cycling: Gross protein depolymerization and microbial amino acid uptake[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 130:73-81.
- [26] HURISSO T T, MOEBIUS-CLUNE D J, CULMAN S W, et al. Soil protein as a rapid soil health indicator of potentially available organic nitrogen[J]. *Agricultural and Environmental Letters*, 2018, 3(1):e180006.
- [27] GOTSMY M, ESCALONA Y, OOSTENBRINK C, et al. Exploring the structure and dynamics of proteins in soil organic matter [J]. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2021, 89(8):925-936.
- [28] HU G Q, HE H B, ZHANG W, et al. The transformation and renewal of soil amino acids induced by the availability of extraneous C and N[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 96:86-96.
- [29] JONES D L, OWEN A G, FARRAR J F. Simple method to enable the high resolution determination of total free amino acids in soil solutions and soil extracts[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(12):1893-1902.
- [30] APOSTEL C, DIPPOLD M, GLASER B, et al. Biochemical pathways of amino acids in soil: Assessment by position-specific labeling and ¹³C-PLFA analysis[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 67:31-40.
- [31] 贺珍, 王久荣, 童瑶瑶, 等. 土壤铵态氮中氮稳定同位素丰度测定的两种前处理方法比较[J]. *质谱学报*, 2019, 40(4):349-355.
- HE Z, WANG J R, TONG Y Y, et al. Comparison of pretreatment methods for nitrogen stable isotope abundance determination in soil ammonium nitrogen[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2019, 40(4):349-355.
- [32] XING H R, YAYLAYAN V. Mechanochemistry of Strecker degradation: Interaction of glyoxal with amino acids [J]. *Food Chemistry*, 2024, 439:e138071.
- [33] LACHOUANI P, FRANK A H, WANEK W. A suite of sensitive chemical methods to determine the $\delta^{15}\text{N}$ of ammonium, nitrate and total dissolved N in soil extracts [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2010, 24(24):3615-3623.
- [34] WANEK W, MOOSHAMMER M, BLÖCHL A, et al. Determination of gross rates of amino acid production and immobilization in decomposing leaf litter by a novel ¹⁵N isotope pool dilution technique[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(8):1293-1302.
- [35] 贺珍, 袁红朝, 张丽萍, 等. PreCon-IRMS测定土壤游离氨基酸态氮稳定同位素丰度[J]. *质谱学报*, 2022, 43(2):220-227.
- HE Z, YUAN H Z, ZHANG L P, et al. Nitrogen stable isotope determination in soil free amino acid-N by PreCon-IRMS system[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2022, 43(2):220-227.
- [36] FUJII K, YAMADA T, HAYAKAWA C, et al. Decoupling of protein depolymerization and ammonification in nitrogen mineralization of acidic forest soils [J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 153:e103572.
- [37] DELGADO-BAQUERIZO M, GALLARDO A. Depolymerization and mineralization rates at 12 Mediterranean sites with varying soil N availability: A test for the Schimel and Bennett model [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(3):693-696.
- [38] WILKINSON A, HILL P W, FARRAR J F, et al. Rapid microbial uptake and mineralization of amino acids and peptides along a grassland productivity gradient [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 72:75-83.
- [39] DALY A B, JILLING A, BOWLES T M, et al. A holistic framework integrating plant-microbe-mineral regulation of soil bioavailable nitrogen [J]. *Biogeochemistry*, 2021, 154(2):211-229.
- [40] NOLL L, ZHANG S S, ZHENG Q, et al. Wide-spread limitation of soil organic nitrogen transformations by substrate availability and not by extracellular enzyme content [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 133:37-49.
- [41] 林开森, 元晓春, 曾泉鑫, 等. 氮添加对戴云山黄山松林土壤有机氮解聚酶活性的影响及其调控因素[J]. *生态学报*, 2023, 43(16):6550-6559.
- LIN K M, YUAN X C, ZENG Q X, et al. Effects of nitrogen addition and associated regulatory factors of the organic nitrogen depolymerizing enzyme activity of *Pinus taiwanensis* forest soils in Daiyun Mountain [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2023, 43(16):6550-6559.
- [42] GAO L, SMITH A R, JONES D L, et al. Respiration and carbon use efficiency characteristics of soluble protein-derived carbon by soil microorganisms: A case study at afforested sites [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2024, 188:e109255.
- [43] GEISSELER D, HORWATH W R, JOERGENSEN R G, et al. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms: A review [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(12):2058-2067.
- [44] GEISSELER D, HORWATH W R, DOANE T A. Significance of organic nitrogen uptake from plant residues by soil microorganisms as affected by carbon and nitrogen availability [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(6):1281-1288.
- [45] SIMPSON J, WARREN C, ADAMS P. Potential pro-

- tease activity and organic nitrogen concentration are rapid tests and accurate indicators of N-availability in Tasmanian *Eucalyptus nitens* plantations [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 115:152-160.
- [46] GUPTA R, BEG Q K, KHAN S, et al. An overview on fermentation, downstream processing and properties of microbial alkaline proteases [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, 60(4):381-395.
- [47] WARREN C. What are the products of enzymatic cleavage of organic N? [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 154:e108152.
- [48] GONFA T G, NEGESSA A K, BULTO A O. Isolation, screening, and identification of chitinase-producing bacterial strains from riverbank soils at Ambo, Western Ethiopia [J]. *Heliyon*, 2023, 9(11):e21643.
- [49] DAI Y M, YANG F, LIU X, et al. The discovery and characterization of a novel chitinase with dual catalytic domains from a Qinghai-Tibetan Plateau wetland soil metagenome [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 188:482-490.
- [50] MARGENOT A J, DAUGHTRIDGE R C. Overlooked tools for studying soil nitrogen depolymerization: Aminopeptidase assays using nitroanilide substrates [J]. *Agricultural and Environmental Letters*, 2022, 7(1):e20079.
- [51] SINGH J, ARABELY NAVAS SOTO J, ELENA IBARRA LOPEZ R, et al. Soil aminopeptidase activities under 145-year crop rotation and fertility practices in the north central US [J]. *Geoderma*, 2023, 440:e116703.
- [52] NORMAN J S, SMERCINA D N, HILEMAN J T, et al. Soil aminopeptidase induction is unaffected by inorganic nitrogen availability [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 149:e107952.
- [53] YANG X, DUAN P, WANG K, et al. Topography modulates effects of nitrogen deposition on soil nitrogen transformations by impacting soil properties in a subtropical forest [J]. *Geoderma*, 2023, 432:e116381.
- [54] GABRIEL R S, THOMAS W C, NICO E R S G, et al. Building a global database of soil microbial biomass and function: A call for collaboration [J]. *Soil Organisms*, 2020, 91(3):139-42.
- [55] ZHU M, SONG Y, LI M, et al. Ammonia nitrogen and dissolved organic carbon regulate soil microbial gene abundances and enzyme activities in wetlands under different vegetation types [J]. *Applied Soil Ecology*, 2024, 196:e105310.
- [56] YAO W, CAI D, HUANG F, et al. Promoting lignin exploitability in compost: A cooperative microbial depolymerization mechanism [J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2023, 174:856-868.
- [57] MAXWELL T L, CANARINI A, BOGDANOVIC I, et al. Contrasting drivers of belowground nitrogen cycling in a montane grassland exposed to a multifactorial global change experiment with elevated CO₂, warming, and drought [J]. *Global Change Biology*, 2022, 28(7):2425-2441.
- [58] GUAN H L, FAN J W, LU X. Soil specific enzyme stoichiometry reflects nitrogen limitation of microorganisms under different types of vegetation restoration in the karst areas [J]. *Applied Soil Ecology*, 2022, 169:e104253.
- [59] XING S H, ZHOU B Q, ZHANG L M, et al. Evaluating the mechanisms of the impacts of key factors on soil soluble organic nitrogen concentrations in subtropical mountain ecosystems [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 651:2187-2196.
- [60] WANG L Y, LI M, LIU X. Role of urea in the retention of DON in soil by clay minerals: Analysis based upon molecular weight [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2025, 150:362-372.
- [61] HU Y T, ZHENG Q, NOLL L, et al. Direct measurement of the in situ decomposition of microbial-derived soil organic matter [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 141:e107660.
- [62] GAO W J, MA T, SHI B W, et al. Effects of nitrogen and phosphorus addition on the mineralization potential of soil organic carbon and the corresponding regulations in the Tibetan alpine grassland [J]. *Applied Soil Ecology*, 2024, 196:e105314.
- [63] SCHAEFFER S M, HOMYAK P M, BOOT C M, et al. Soil carbon and nitrogen dynamics throughout the summer drought in a California annual grassland [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 115:54-62.
- [64] MANZONI S, MOYANO F, KÄTTERER T, et al. Modeling coupled enzymatic and solute transport controls on decomposition in drying soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 95:275-287.
- [65] BLANKINSHIP J C, BECERRA C A, SCHAEFFER S M, et al. Separating cellular metabolism from exoenzyme activity in soil organic matter decomposition [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 71:68-75.
- [66] ALLISON S D, ROMERO-OLIVARES A L, LU Y, et al. Temperature sensitivities of extracellular enzyme V_{max} and K_m across thermal environments [J]. *Global Change Biology*, 2018, 24(7):2884-2897.
- [67] MACHMULLER M B, MOHAN J E, MINUCCI J M, et al. Season, but not experimental warming, affects the activity and temperature sensitivity of extracellular

- enzymes[J].Biogeochemistry,2016,131(3):255-265.
- [68] BRZOSTEK E R, FINZI A C. Substrate supply, fine roots, and temperature control proteolytic enzyme activity in temperate forest soils [J]. Ecology, 2011, 92(4): 892-902.
- [69] BRZOSTEK E R, FINZI A C. Seasonal variation in the temperature sensitivity of proteolytic enzyme activity in temperate forest soils [J]. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 2012, 117(G1): eG01018.
- [70] MAXWELL T L, AUGUSTO L, BON L, et al. Effect of a tree mixture and water availability on soil nutrients and extracellular enzyme activities along the soil profile in an experimental forest [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 148: e107864.
- [71] GOMEZ E J, DELGADO J A, GONZALEZ J M. Influence of water availability and temperature on estimates of microbial extracellular enzyme activity [J]. Peer J, 2021, 9: e10994.
- [72] SIERRA J. Temperature and soil moisture dependence of N mineralization in intact soil cores [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1997, 29(9): 1557-1563.
- [73] ZHENG W, DANG P, WU J, et al. Temperature and precipitation effects on soil nitrogen availability and cycling in Chinese fir plantations across subtropical China [J]. Catena, 2025, 251: e108830.
- [74] WU L, WANG M, MAO D, et al. Temperature related to the spatial heterogeneity of wetland soil total nitrogen content in a frozen zone [J]. Soil and Tillage Research, 2024, 244: e106254.
- [75] CURTIN D, BEARE M H, HERNANDEZ-RAMIREZ G. Temperature and moisture effects on microbial biomass and soil organic matter mineralization [J]. Soil Science Society of America Journal, 2012, 76(6): 2055-2067.
- [76] CHIRIAC O P, PITTARELLO M, MORETTI B, et al. Factors influencing nitrogen derived from soil organic matter mineralisation: Results from a long-term experiment [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2025, 381: e109444.
- [77] GAO Y X, SONG X, LIU K X, et al. Mixture of controlled-release and conventional urea fertilizer application changed soil aggregate stability, humic acid molecular composition, and maize nitrogen uptake [J]. Science of the Total Environment, 2021, 789: e147778.
- [78] WANG L Y, XIN J, NAI H, et al. Effects of different fertilizer applications on nitrogen leaching losses and the response in soil microbial community structure [J]. Environmental Technology and Innovation, 2021, 23: e101608.
- [79] LADWIG L M, SINSABAUGH R L, COLLINS S L, et al. Soil enzyme responses to varying rainfall regimes in Chihuahuan Desert soils [J]. Ecosphere, 2015, 6(3): 1-10.
- [80] CHENG Y, ELRYS A S, MERWAD A M, et al. Global patterns and drivers of soil dissimilatory nitrate reduction to ammonium [J]. Environmental Science and Technology, 2022, 56(6): 3791-3800.
- [81] ZHANG X, DAVIDSON E A, MAUZERALL D L, et al. Managing nitrogen for sustainable development [J]. Nature, 2015, 528(7580): 51-59.
- [82] NORTON J, OUYANG Y. Controls and adaptive management of nitrification in agricultural soils [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: e1931.
- [83] BREZA L C, MOOSHAMMER M, BOWLES T M, et al. Complex crop rotations improve organic nitrogen cycling [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2023, 177: e108911.
- [84] XIA Y H, GAO P, LEI W S, et al. Covering green manure increases rice yields via improving nitrogen cycling between soil and crops in paddy fields [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2025, 383: e109517.