碳同位素技术在陆地土壤碳循环中的应用

年世宇,陈孝杨*,王校刚,陈 敏,张凌霄 (安徽理工大学地球与环境学院,安徽淮南 232001)

摘要 碳同位素技术,着重论述了陆生系统中碳循环过程的^{13}C、^{14}C测定的基本原理及相关方法。聚焦同位素法在土壤有机碳、作物光合碳、土壤呼吸等方面的研究进展及应用实例,在此基础上,提出了全球碳循环研究的未来重点:全球背景下光合碳的循环特征;土壤有机碳的来源、分布和周转;土壤呼吸的区分及环境响应问题;大气二氧化碳增多背景下,土壤碳转化与土壤微生物群落结构的关系;^{13}C-PLFA 技术的交叉取食风险评估。

关键词 碳同位素;土壤有机碳;土壤碳循环
中图分类号 S154 **文献标识码** A
文章编号 0517-6611(2020)05-0009-05
doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2020.05.003
开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Application of Carbon Isotope Technology in Terrestrial Soil Carbon Cycle

NIAN Shi-yu, CHEN Xiao-yang, WANG Xiao-gang et al (School of Earth and Environment, Anhui University of Science and Technology, Huainan, Anhui 232001)

Abstract Based on the technology of carbon isotope, the basic principle and related methods of ^{13}C and ^{14}C determination of carbon cycle in terrestrial system were discussed emphatically. The research progress and application examples of focused isotope method in soil organic carbon, crop photosynthetic carbon and soil respiration, etc. Based on this, the future key points of global carbon cycle research were proposed: the cyclic characteristics of photosynthetic carbon in the global background; source, distribution and turnover of soil organic carbon; soil respiration differentiation and environmental response; the relationship between soil carbon transformation and soil microbial community structure in the context of increased atmospheric carbon dioxide; cross-feeding risk assessment of ^{13}C-PLFA technology.

Key words Carbon isotope; Soil organic carbon; Soil carbon cycle

人类生存离不开能源的使用,从钻木取火到燃烧化石燃料,无一例外地会使得大气中以二氧化碳为首的温室气体的浓度增加及全球变暖的加剧,随之而来的全球环境问题中最重要、最紧迫的问题之一便是如何科学地缓解温室效应。作为生态系统中重要的生命元素,碳对陆地生态系统的影响最为直接。在全球碳循环中,土壤有机碳库一直是陆地生态系统有机碳库中最重要的组成部分。同时陆地生态系统有机碳库处于全球碳循环的中心位置,一直影响着全球碳循环[1]。全球表层土壤有机碳储量约为 1 550 Pg,占总碳储量的 62%左右。同时大气碳库占总碳储量的 1/4 ~ 1/3,陆地植被碳库约为总碳储量的 1/5[1]。土壤有机碳储量在增加 1%时,大气中的二氧化碳浓度会相应地减少 7×10^{-6} Pg[2]。

陆地生态系统碳转化及平衡由各种碳过程决定,影响最强烈的是光合作用和呼吸作用。呼吸作用囊括土壤呼吸和地表植被呼吸[3]。陆地表层植被与土壤通过碳过程进行吸收与释放 CO_2,进而影响着全球碳循环过程。基于此,在全球变化研究中,研究土壤碳循环中土壤有机碳的关键过程和控制机制变得尤为关键[4]。

自 20 世纪 80 年代以来,稳定碳同位素技术经历了理论研究(如同位素分馏机理原理),开始面向具体的生态问题[5]。作为研究土壤碳循环科学有效的方法,稳定碳同位素技术已然在国内生态研究中迅速发展及应用[6]。刘微等[7]重点进行土壤-植物系统中碳同位素技术在碳循环方面的应用总结。袁红朝等[8]综述了农田生态系统碳循环中稳定碳同位素技术的应用。笔者主要论述了陆地生态系统碳循环多个过程中碳同位素测定的基本原理和方法,聚焦同位素法在土壤有机碳、作物光合碳、土壤呼吸等方面的研究进展及应用实例,并展望了该方法在国内碳循环研究中的应用前景。

1 碳同位素的基本认识

同位素是质子数相同而中子数不同的元素,在元素研究中可分为稳定性同位素和放射性同位素。稳定同位素无放射性,可直接在自然状态下进行研究,克服放射性同位素的不足[9]。在自然界的元素循环中,同位素在质量差异影响下,经历热力学(或动力学)分馏。不同来源样品的同位素的丰度在环境影响下会有所差异。该突变携带有关环境的信息,并使用它来执行相关环境因素的时空反演。同位素可以被原位标记,常用来研究生态系统中的物质循环及周转等[10]。

碳有 15 种同位素(^{8}C、^{9}C、^{10}C、^{11}C、^{12}C、^{13}C、^{14}C、^{15}C、^{16}C、^{17}C、^{18}C、^{19}C、^{20}C、^{21}C、^{22}C),其中,稳定的同位素是^{12}C、^{13}C,二者分别占据碳素量的 98.89% 和 1.11%。上述同位素中,仅^{12}C、^{13}C 和^{14}C 三者为长期存在的同位素,且^{14}C 为放射性同位素[11]。稳定碳同位素比 $\delta^{13}C$ 通常表示为样品的同位素比与标准同位素比之间的差异:$\delta^{13}C=[(R_{sample}/R_{standard})-1]\times 1\,000‰$,其中 $R=^{13}C/^{12}C$,$R_{standard}$ 是 PDB(peedee belemnite)标准,$R_{standard}=RPDB=0.011\,237\,2$[12]。

在土壤碳动态研究中,同位素技术一直是示踪碳氮循环的有力工具[13]。土壤碳循环存在着新老碳的转化等动态过程,利用同位素技术可揭示土壤-微生物系统的循环过程,如进行新碳过程的示踪研究等。在揭示土壤碳循环干扰过程

基金项目 国家自然科学基金面上项目(41572333,41372369)。
作者简介 年世宇(1996—),男,安徽蚌埠人,硕士研究生,研究方向:土壤碳循环。*通信作者,教授,博士,博士生导师,从事矿山生态修复与土地复垦研究。
收稿日期 2019-09-08;**修回日期** 2019-09-20

中,同位素技术更有效。稳定碳同位素技术由于具有安全易控无污染的优势,可用来研究 1~100 年的碳循环过程,有效阐明土壤碳储量的动态变化及相关的转化过程。同时在土壤有机碳储存中,定量评估新老碳的相对贡献[14]。

2 土壤有机碳分布

2.1 表土植被的 $\delta^{13}C$ 值 植物根据其光合作用的途径不同,分为 3 类:C_3 植物、C_4 植物和景天酸代谢(crassulacean acid metabolism,CAM)植物。植物的 ^{13}C 水平受同位素分馏影响,使得植物 $\delta^{13}C$ 值存在差异。C_3 植物 $\delta^{13}C$ 值为-20‰~-35‰,C_4 植物 $\delta^{13}C$ 值为-9‰ ~ -17‰[15],CAM 植物 $\delta^{13}C$ 值为-10‰ ~ -22‰[8]。

光合途径影响着植被的光合作用(高 CO_2 浓度条件)。大多数关于 C_3 和 C_4 植物的研究表明,高浓度的 CO_2 可使 C_3 植物的净光合速率提高 10%。然而,C_4 植物的光合作用没有显著促进[16],促进效果小于 10%,甚至检测不到。这是由于 C_4 植物的光合作用机制(叶片构造、光合酶系统等)不同于 C_3 植物。光合作用机制使得 C_4 植物的光合作用在正常 CO_2 浓度下达到阈值水平。二氧化碳浓度持续上升时,C_4 植物光合作用增幅变缓[17]。光合作用时期内,植被存在 ^{13}C 分馏,不同类型的光合途径产生植被不同的分馏程度。土壤有机碳的 $\delta^{13}C$ 值与作为有机碳源的植被中的 $\delta^{13}C$ 值基本保持一致,因为在碳分解过程中,植物光合分馏效果远大于土壤有机碳分解分馏效果,它可以反映当地植被碳固存的同位素组成[6,18-20]。

植物中 $^{13}CO_2$ 分馏也受植物类型的影响。为了确定温热带阔叶林中主要树种的同位素组成情况,严昌荣等[21]通过 ^{13}C 自然丰度法进行了研究,结果表明,所选择的 6 株植物的 $\delta^{13}C$ 值存在显著差异,$\delta^{13}C$ 值最大的为山杏(-24.75‰±0.85‰),最小的为胡桃楸(-28.11‰±1.52‰),该差异现象主要因为不同类型的树种具备不同的生理生化特性。在植被-土壤系统中,An 等[22]采用 ^{13}C 同位素技术研究了光合碳的分配与动态响应;Pei 等[23]研究表明光合碳在地下部分配受作物生育时期、耕作管理方式、土壤自身养分状况及肥力水平等因素的共同制约。

2.2 土地利用变化的土壤有机碳 $\delta^{13}C$ 值 随着同位素技术的发展,稳定碳同位素技术更多地运用在生态系统更替中土壤有机碳动态变化研究。在我国西部地区,过去为了实际地解决粮食耕作等问题,常采用砍伐森林(草)的做法,但相关的科学研究成果甚少。在贵州茂兰喀斯特原始森林保护区的农林更替区,刘启明等[24]运用同位素技术研究生态系统更替下土壤有机质的影响,结果表明,土壤有机碳含量农田在 0.43%~2.22%,森林则在 1.81%~16.00%,说明森林砍伐促进降解土壤有机质;利用 C_3、C_4 植物的 $\delta^{13}C$ 值差异,比较森林点和农田点的 $\delta^{13}C$ 值(森林-23.86‰~-27.12‰,农田-19.66‰~-23.26‰),计算表明,砍伐森林降低了土壤有机质中有效成分的比例,降低了土壤肥力。林转农变化条件下,土壤有机碳含量的变化可能是由以下原因引起的:①无机肥(Ca、N、P 等)通常用于农田,从而加速土壤有机质的降解;②森林土壤中存在大量环节动物(如蚯蚓),可以保护土壤有机质;③农田由于人工耕种,造成其土壤团聚结构受到较为严重的破坏,团聚结构对土壤的物理保护作用也随之减弱[25]。

在农业生态系统中,土壤类型和肥力水平一直影响着土壤有机碳。同时,作物残余碳的输入对土壤源性有机碳的分解和积累产生影响。Pei 等[23]研究发现,玉米秸秆的添加在前 2 个月对土壤源性有机碳存在正向启动效应,之后的 2~6 个月启动效应相对减弱;C/N 比较低时,碳限制了微生物消耗玉米或玉米-土壤系统中的原生土壤碳,这导致玉米秸秆在不同土壤类型和肥力水平下的分解差异;同时,玉米碳的添加在前期会显著降低黑土中残留的土壤源性有机碳;2 个月后,有无玉米秸秆添加的 2 种土壤中有机碳差异增加。这表明玉米源生碳包含在土壤源生有机碳中,这可以抵消土壤源生有机碳的损失。黑土和高肥力水平的土壤会固定更多的玉米碳,更有利于保护土壤源性有机碳免受玉米碳分解[23]。

2.3 植被类型转化对有机碳 $\delta^{13}C$ 值的影响 草地、森林和农田生态系统 C_3、C_4 类型的转变,持续影响着土壤有机碳及土壤呼吸的 $\delta^{13}C$ 值[26],因此,SOC-$\delta^{13}C$ 值的动态变化显示了 C_3、C_4 生态系统类型的变化历程。由此,$\delta^{13}C$ 值可用于定量描述千年等时间尺度上 C_3、C_4 生态系统的历史变化过程,确定土壤有机碳的来源,揭示 C_3、C_4 植物光合作用对表土有机碳的贡献,探索土地利用-气候耦联变化对生态系统演替的影响,重建生态系统变化的历史环境。Dignac 等[27]通过 C_3-C_4 植物类型变迁定点试验,采用气相色谱(GC)-铜氧化联合分析技术,对小麦-玉米转化土壤中木质素衍生单体同位素组成的变化进行了跟踪,结果表明,土壤总有机碳量与生物降解程度未受连续 9 年的玉米(C_4 植物)种植所影响,但玉米的碳同位素组成发生显著变化,玉米对土壤总有机质和木质素的贡献分别为 9%和 47%,表现出木质素的周转速率比总有机质更快,也反映出木质素在土壤中的不稳定性。

耕作形式变化下土壤有机碳变化研究是土地利用变化下土地碳循环变化研究的重要方面,也是全球变化效应的重要研究方面。李志鹏等[28]研究表明,经过 3 年的重新种植,0~20 cm 耕作层的总有机碳(TOC)显著下降,20 cm 以下几乎没有变化。这与 Puget 等[29]得出的结论一致,表明 0~20 cm 深度的表土是稻田土壤有机碳的富集层。

3 作物光合碳的分配

3.1 光合碳的运输过程 植物同化碳作为土壤有机质的主要来源,其与土壤质量和大气环境的变化联系紧密。将植物同化碳输入和转化为土壤碳库的生物地球化学过程包括[30]:①植物同化碳运输到地下部并通过植物韧皮部运输到根部。在根际周围形成根沉积物(分泌物和脱落物形式)运输碳至根际部。②转化为微生物量碳(土壤微生物作用)或作为土壤碳库中的有机物储存;③同化在植被体内的碳由植被呼吸与根际微生物呼吸运回大气;④部分以植物残体形式进入土壤,通过土壤微生物作用转化释放或成为土壤有机

碳的一部分。

3.2　土壤中光合碳的运移规律　光合碳主要以根沉积物、作物残渣这 2 种形式进入土壤碳库。根际沉积物作为农田土壤的主要来源之一,在农田土壤碳循环中,对维持碳平衡尤为重要[31]。在光合碳的分配转化研究中,碳同位素技术是重要手段,主要包括天然丰度法、同位素脉冲标记和连续标记技术;天然丰度法利用 C_3 和 C_4 植物之间 $\delta^{13}C$ 值的差异,后两者利用植物光合作用完成标记。标记技术可以量化植物土壤系统中光合碳的分布和固定,从而有效地澄清植物和土壤之间碳的循环。

研究显示,植物光合作用下,近一半的光合产物运输至地下部,贡献给根际呼吸或成为土壤有机碳的一部分[32-33]。Lu 等[34]应用^{13}C 脉冲标记法结合盆栽试验,对不同生育期水稻土壤中的微生物量碳(MBC)和溶解有机碳进行了含量测定,结果表明,光合碳通过可溶性根系分泌物形式进入土壤,并在水稻最大分蘖期和抽穗期 MBC 呈先降后升趋势;同时^{13}C 在 MBC 的变化显示其最大值在第 3 天后大幅降低至第 7 天,随后逐渐降低。造成大幅降低现象可能是由于微生物呼吸导致^{13}C 的初始损失,随后的缓慢降低现象则因为微生物细胞的结构成分导致了^{13}C 的周转。该研究还发现,谷类作物中约有 30%的碳作物收缩到地面,一半的碳储存在根部。谭立敏等[35]研究发现,植物光合碳对稻田土壤的碳汇功能具有重要作用。在 100 d 的培养期内,13.5%~20.2%的新碳被矿化分解,仅有 2.2%~3.7%的土壤原生有机碳被分解,光合碳的输入促进稻田土壤碳的积累和固定。

植物类型、生长时期及周边环境因素共同决定着根际碳的地下输入情况。Swinnen 等[36]通过脉冲标记试验对冬小麦和春大麦光合碳的地下分配进行了研究,在分蘖期同化物的总根结位置中,87%的同化物在冬小麦生长季结束时被微生物吸收,69%的同化物由大麦直接吸收。于鹏等[37]通过^{13}C 脉冲标记和稳定同位素质谱联用研究了不同生长阶段对水稻光合碳分布的影响,结果表明,返春期、分蘖期和抽穗期的总同化率分别为 75.92%~39.53%、70.01%~52.02%、86.38%~69.60%,3 个时期的总同化率均随标记后时间推移而呈现下降趋势,其被同化光合碳的损失率分别为 47.93%、25.70%和 19.43%,显示出不同时期的同化率差异较为显著;同时地下部根系所分配到的碳量分别为 21.93%~37.91%、10.89%~19.61%、4.68%~8.61%,反映出不同时期大部分的光合碳在被同化后向地上部运转,少量会运移至根部和土壤中,该规律在水稻生长的抽穗期使得其根部获得更多的光合碳,有助于稻穗发育和籽实的饱满。3 个生育期在标记后,光合碳在植物-土壤系统中的固定量随时间推移而呈减少趋势。显示出在水稻植株的生命周期里,光合碳的迁移与分配是动态变化过程。

对于水稻,光合碳、根沉积物等进入土壤碳库的行为方式,在减少温室气体排放维持、土壤碳收支稳态等方面发挥正向作用[38]。该方面的展望中,加强同化产物向土壤运输-生态系统碳通量的响应研究,及研究有机物质对外部影响因素的响应机制,如碳氮通量的变化、作物生产力、栽培和施肥方法等。

3.3　土壤光合碳循环的微生物机制　光合碳(也称作物同化碳)由地上部向地下部运转,在运输到根系时,由活性根系转化为根际沉积物而释放进入土壤中。长期以来作为植被-土壤-微生物的连接纽带,根际沉积物同时为土壤微生物提供大量能源和碳源。根际沉积物中微生物偏好的组分促进了微生物活性,此部分活性与土壤中的碳行为(积累与分解)密切相关[39]。根际碳被证实是根际微生物群落结构和微生物行为的重要影响因素[40]。土壤微生物是土壤有机质转化的执行者,为土壤养分转化和循环利用提供动力。

在土壤-微生物系统中,光合碳在分布时受诸多因素影响。通过在黑麦草的拔节期进行^{13}C 脉冲标记,发现 1 d 内大约 10%的光合碳固定在土壤中,且大部分转化为微生物量碳;标记后 1~8 d,随着微生物的生长,根际土壤中^{13}C 的比例从 90%降至 35%,土壤比例从 80%下降至 30%,表明根际微生物中^{13}C 的周转率比土壤快[41]。Pausch 等[39]通过^{14}C 脉冲标记与优化根结位置算法联合的方式,研究了田间根生物量碳,结果表明,标记后 16 d 内根际沉积物存在于土壤有机碳(SOC)、可溶有机碳(DOC)和微生物量碳(MBC)的比例分别为 31%、0.3%、7%。杀虫剂对种植 Bt 转基因玉米的农田的土壤微生物生物量有影响[42]。总而言之,根际沉积物在土壤-微生物间的分配受到植物生育期、耕作管理方式和土地利用方式等的制约。地膜覆盖和施肥是旱地产量的主要方法,其在土壤-微生物系统中的光合碳分配机制还有待进一步研究。

土壤微生物多样性对光合碳的响应机制逐渐成为土壤科学的研究热点之一。在环境微生物生态学领域,碳转化相关的微生物特征方面中,识别并联系微生物功能与来源一直是关键问题。随着稳定性同位素探针技术(stable isotope probing,SIP)的发展,联系特定微生物与其功能的问题得到了有效的解决,SIP 技术得出的结果可以提供微生物与代谢功能的直接信息,直接揭示微生物相关机制,丰富微生物遗传多样性研究领域。SIP 技术原理即用^{13}C 标记过的底物培养微生物,^{13}C 通过代谢合成在磷脂脂肪酸和核酸中,利用 GC/MS/IRMS 等相关技术测定磷脂脂肪酸(PLFA)中^{13}C 的相对丰度,通过测得的数据反映^{13}C 在微生物的分配情况[43]。SIP 同时可以结合高通量测序技术,客观识别出土壤中的关键微生物,同时揭示特定微生物在土壤-植被-微生物系统中的作用机制。

4　土壤呼吸

土壤呼吸指原始土壤(未受扰动)中所有可以产生二氧化碳的代谢过程,由根呼吸、土壤动物和土壤微生物的异养呼吸组成,根呼吸是自养呼吸的一部分[17]。碳同位素技术具备成熟的试验条件,避免了对土壤与根系的较大扰动。

4.1　土壤呼吸的区分　土壤作为庞大的碳库体,其全球碳循环会随着微小的参数变化发生响应。对全球碳循环而言,准确区分土壤呼吸的结构组成尤为重要。土壤呼吸一般由

纯根呼吸、土壤微生物呼吸和根际微生物呼吸组成[44],其中,根源呼吸包括纯根呼吸和根际微生物呼吸。

4.1.1 根源呼吸与土壤微生物呼吸的区分。

4.1.1.1 ^{13}C 自然丰度法。土壤微生物呼吸中的有机质来源于土壤中旧的有机质,根源呼吸则来源于土壤中新种植被体内的新有机质,两者在土壤呼吸中的比例可以从质量平衡得出。宋文琛等[45]通过^{13}C 自然丰度法研究发现,在植物生长旺盛季(7、8 和 9 月),土壤微生物呼吸和纯根呼吸占根源呼吸的比例分别为 57%、43%;48%、52%;73%、27%。土壤呼吸中根源呼吸的贡献率受土壤温度影响。Rochette 等[46]在 C_3 土壤上种植玉米,结合动态密闭箱法得到在土壤呼吸中根源呼吸的最大贡献率高达 45%;在多次试验后,表明该方法在实践上具有区分土壤微生物呼吸和根源呼吸的可能性。Robinson 等[47]研究百慕大草地表明,根源呼吸在植物全生长季内占土壤呼吸的比例是 40%~100%。

^{13}C 自然丰度法存在假定条件,即土壤释放的二氧化碳的 $\delta^{13}C$ 值仅受土壤微生物呼吸与根源呼吸的影响,实际上该值受到诸多因素影响,如湿度、海拔和施肥等,但这些影响远小于 C_3、C_4 植被类型造成的影响[48]。^{13}C 相对脉冲标记法也具有一些有利因素:植物和土壤均已完成自然标记;无放射性安全问题;省略标记程序,操作更简洁。

4.1.1.2 脉冲标记法。脉冲标记方法包括单脉冲标记、重复脉冲标记和连续脉冲标记。单次脉冲标记适用于小型植物(封闭实验室内)对标记二氧化碳的吸收。添加到系统中的标记碳可以在实验箱中计量出总量[49]。连续标记是在时间超过植物生长期后,在实验室或田间条件下连续标记植物一段时间的方法。实验箱对于运用^{14}C 连续标记小型植物已有多次报道,但在大型植物的应用中存在局限。在该领域有 2 种主要的连续标记方法:①利用核爆炸产生的^{14}C 标记;②FACE 试验,即将植物放置于特定的稳定同位素信号环境内。

4.1.2 根系呼吸与根际微生物呼吸的区分。在根源呼吸中,区分根系呼吸与根际微生物呼吸的主要方法在学术界有下列几种[50]:①将离体根方法与根去除方法相结合;②将组成综合方法与根除去法相结合;③通过嵌入不同规格的 PVC 管分离 3 种土壤呼吸成分;④碳同位素法。

该研究主要介绍了碳同位素方法,包括^{14}C 脉冲标记法和^{13}C 天然丰度法。^{14}C 脉冲标记方法通过研究^{14}C 标记物作用于植物,形成标记来追踪^{14}C 行为,通过研究^{14}C 在植物-土壤系统的动态变化,区分根际微生物呼吸和根系呼吸。^{13}C 天然丰度法使用不同的^{13}C 丰度值(植物根系、土壤和凋落物内)来估算土壤呼吸所有成分的来源贡献。根际土壤碳转移过程主要是根据根-微生物-土壤界面^{13}C 含量的差异进行研究[51]。在进行根际微生物呼吸与根系呼吸对根源呼吸贡献率的研究中,研究方法不同所得的比例也有很大差异[52]。其中,根际微生物呼吸贡献率为 17%~77%,纯根呼吸为 23%~81%[52]。一些学者分析了前人的结果,指出实验室条件下,50%的草本根呼吸是由根源呼吸提供[52]。

目前,同位素标记是区分根际微生物呼吸和根系呼吸效果最好、最准确的方法。然而,这种方法需要大量人力进行同位素手动标记,这种方法昂贵且研究时间和空间规模小。同时不适合分离森林生态系统的土壤呼吸组分[53]。根排除法虽然存在根与根际微生物贡献的不可分离缺点,且由于样品扰动等,CO_2 排放会出现初始峰值。然而,它通常用于野外试验中确定根呼吸和根际微生物呼吸在土壤表面碳排放中的总贡献[54]。为了适应不同生态系统类型的研究,应该更加注重各种研究方法的综合应用,以探索更准确合理的土壤呼吸成分分离技术。

4.2 土壤呼吸对土壤温湿度的响应 随着全球变暖,土壤呼吸过程受到越来越多的环境因素的影响,如温度、土壤温度、土壤湿度、pH 等,也受到植被、土壤动物和人为因素的干扰。其中土壤温湿度是土壤呼吸速率的主要影响因素[50]。

土壤温度在温室效应下会升高,进而引起土壤呼吸速率增加。土壤异养呼吸对增温的响应有如下方式:①改善土壤微生物群落结构和代谢活动,直接促进土壤异养呼吸速率[55];②通过改变土壤含水量来调整呼吸基质的有效性和呼吸基质对微生物的暴露,从而间接影响土壤异养呼吸速率[56];③土壤酶是微生物呼吸的必需物质,土壤升温通常促进土壤酶活性。因此,一般情况下的增温促进土壤异养呼吸。在欧洲不同气候区的土壤上,Dalias 等[57]开展了增温对土壤碳矿化速率的影响研究,发现土壤微生物在早期升温与晚期增温的行为有所不同。在高寒生态系统(高寒森林、北极等)中,土壤异养呼吸显示出对升温的显著适应[58]。这些结果表明,长期变暖可能削弱陆地生态系统碳循环与全球变暖之间的正反馈。变暖环境中的土壤微生物将改变身体的使用方式,从而影响土壤呼吸,如升温增加土壤微生物对土壤稳定碳的使用[59]。

在自然生态系统中,土壤水分和温度总保持同时变化特征。孙伟等[60]利用 Keeling 曲线结合^{13}C 同位素,研究了河岸 C_4 草地生态系统的夜间碳通量,结果显示,生态系统呼吸的 $\delta^{13}C$ 值与土壤含水量呈正相关,与空气饱和差呈负相关。然而,在调节升温对土壤呼吸的影响方面,土壤水分可能存在阈值。

5 总结与展望

在陆地生态系统碳循环研究中,碳同位素技术发挥着重要作用。该方法可以为碳循环和转化研究提供了科学可靠基础。但在土壤碳循环研究中,^{13}C 同位素技术的应用存在许多问题和不足:①^{13}C 同位素使用成本高;②获取^{13}C 标记的有机物料操作难度不低;③同位素比例质谱的检测成本高,且价格昂贵,甚至有时难以达到精度要求,一定条件下同位素技术的推广应用受限。同时,全球变暖已是不争的事实,陆地生态系统在全球变暖条件下其土壤碳循环会发生响应。

在未来研究中,建议进行以下方面的研究:①研究全球背景下作物光合碳的循环特征,研究不同自然因素和人为因素对光合碳循环的影响。形成系统的认识,为光合碳循环的特征提供科学依据。②土壤有机碳的来源、分布和周转。应

用碳同位素技术来增强对不同生态类型、不同植物类型和不同利用模式的响应的全球碳循环过程。③土壤呼吸的区分及环境响应问题。目前,使用同位素方法区分木本植物根系呼吸的田间试验很少涉及。基于现有方法的各种同位素方法的进一步改进及其与非均匀方法的组合将有助于深入研究该问题。同时,在大气 CO_2 浓度增加的条件下,进行土壤呼吸组分占比对 CO_2 浓度和土壤温湿度的响应研究,为改进全球碳排放理论体系提供了参考。④土壤微生物群落结构和土壤碳转化对大气 CO_2 的响应研究较少。下一步运用稳定碳同位素技术展开大气 CO_2 浓度升高与肥料施用量的计量研究,CO_2 浓度升高与土地管理利用方式等人为因素的影响,从而为提高土壤质量提供参考依据。⑤^{13}C-PLFA 技术为生物地球化学过程提供分析信息,但在操作过程中极易存在交叉取食问题。因此,对于该技术的下一步,应在不同时间点分析土壤样品,比较初级同化率和次生异样捕食速率,为交叉取食风险评估提供有力依据。

参考文献

[1] 潘根兴,赵其国. 我国农田土壤碳库演变研究:全球变化和国家粮食安全[J]. 地球科学进展,2005,20(4):384-393.

[2] KUMAR R,PANDEY S,PANDEY A. Plant roots and carbon sequestration [J]. Current science,2006,91(7):885-890.

[3] LUO Y Q. Terrestrial carbon-cycle feedback to climate warming[J]. Annual review of ecology,evolution,and systematics,2007,38(1):683-712.

[4] 祝贞科,沈冰洁,葛体达,等. 农田作物同化碳输入与周转的生物地球化学过程[J]. 生态学报,2016,36(19):5987-5997.

[5] CHAPIN F S III,MASTON P A,MOONEY H A,et al. Principles of terrestrial ecosystem ecology[M]. Berlin:Springer Verlag,2011.

[6] 于贵瑞,王绍强,陈泮勤,等. 碳同位素技术在土壤碳循环研究中的应用[J]. 地球科学进展,2005,20(5):568-577.

[7] 刘微,吕豪豪,陈英旭,等. 稳定碳同位素技术在土壤-植物系统碳循环中的应用[J]. 应用生态学报,2008,19(3):674-680.

[8] 袁红朝,李春勇,简燕,等. 稳定同位素分析技术在农田生态系统土壤碳循环中的应用[J]. 同位素,2014,27(3):170-178.

[9] 陈英华,胡俊,李裕红,等. 碳稳定同位素技术在植物水分胁迫研究中的应用[J]. 生态学报,2004,24(5):1027-1033.

[10] 李玉平,江小清,刘苑秋. 碳,氮同位素示踪法在农林业中的应用[J]. 江西科学,2007(5):582-587.

[11] 陈岳龙,杨忠芳,赵志丹. 同位素地质年代学与地球化学[M]. 北京:地质出版社,2005:183-185.

[12] 朱书法,刘丛强,陶发祥. $\delta^{13}C$ 方法在土壤有机质研究中的应用[J]. 土壤学报,2005,42(3):495-503.

[13] 葛源,贺纪正,郑袁明,等. 稳定性同位素探测技术在微生物生态学研究中的应用[J]. 生态学报,2006,26(5):1574-1582.

[14] DEL GALDO I,SIX J,PERESSLTTI A,et al. Assessing the impact of land-use change on soil C sequestration in agricultural soils by means of organic matter fractionation and stable C isotopes[J]. Global change biology,2003,9(8):1204-1213.

[15] 许文强,陈曦,罗格平,等. 基于稳定同位素技术的土壤碳循环研究进展[J]. 干旱区地理,2014,37(5):980-987.

[16] KIMBALL B A. Carbon dioxide and agricultural yield:An assemblage and analysis of 430 prior observations[J]. Agronomy journal,1983,75(5):779-788.

[17] CURE J D,ACOCK B. Crop responses to carbon dioxide doubling:A literature survey[J]. Agricultural and forest meteorology,1986,38(1/2/3):127-145.

[18] 王国安. 稳定碳同位素在第四纪古环境研究中的应用[J]. 第四纪研究,2003,23(5):471-484.

[19] JAGADAMMA S,LAL R. Integrating physical and chemical methods for isolating stable soil organic carbon[J]. Geoderma,2010,158:322-330.

[20] YAO Z Q,XIAO G Q,WU H B,et al. Plio-Pleistocene vegetation changes in the North China Plain:Magnetostratigraphy,oxygen and carbon isotopic composition of pedogenic carbonates[J]. Palaeogeography palaeoclimatology palaeoecology,2010,297(2):502-510.

[21] 严昌荣,韩兴国,陈灵芝,等. 暖温带落叶阔叶林主要植物叶片中 $\delta^{13}C$ 值的种间差异及时空变化[J]. 植物学报,1998,40(9):853-859.

[22] AN T T,SCHAEFFER S,ZHUANG J,et al. Dynamics and distribution of ^{13}C-labeled straw carbon by microorganisms as affected by soil fertility levels in the Black Soil region of Northeast China[J]. Biology and fertility of soils,2015,51(5):605-613.

[23] PEI J B,LI H,LI S Y,et al. Dynamics of maize carbon contribution to soil organic carbon in association with soil type and fertility level[J]. PLoS One,2015,10(3):1-15.

[24] 刘启明,王世杰,朴河春,等. 稳定碳同位素示踪农林生态转换系统中土壤有机质的含量变化[J]. 环境科学,2002,23(3):75-78.

[25] BOUDOT J P,BEL HADJ BRAHIM A,STEIMEN R,et al. Biodegradation of synthetic organo-metallic complexes of iron and aluminium with selected metal to carbon ratio[J]. Soil biology and biochemistry,1989,21(7):561-966.

[26] BUCHMANN N,EHLERINGER J R. CO_2 concentration profiles and carbon and oxygen isotopes in C_3 and C_4 crop canopies[J]. Agricultural and forest meteorology,1998,89(1):45-58.

[27] DIGNAC M F,BAHRI H,RUMPEL C,et al. Carbon-13 natural abundance as a tool to study the dynamics of lignin monomers in soil:An appraisal at the Closeaux experimental field(France)[J]. Geoderma,2005,128(1):3-17.

[28] 李志鹏,潘根兴,张旭辉. 改种玉米连续 3 年后稻田土壤有机碳分布和 ^{13}C 自然丰度变化[J]. 土壤学报,2007,44(2):244-251.

[29] PUGET P,LAL R,IZAURRALDE C,et a1. Stock and distribution of total and corn-derived soil organic carbon in aggregate and primary particle fractions for different land use and soil management practices[J]. Soil science,2005,170(4):256-279.

[30] 祝贞科,沈冰洁,葛体达,等. 农田作物同化碳输入与周转的生物地球化学过程[J]. 生态学报,2016,36(19):5987-5997.

[31] SIX J,CONANT R T,PAUL E A,et al. Stabilization mechanisms of soil organic matter:Implications for C-saturation of soils[J]. Plant and soil,2002,241(2):155-176.

[32] NGUYEN C. Rhizodeposition of organic C by plants:Mechanisms and controls[J]. Agronomie,2003,23:375-396.

[33] REES R M,BINGHAM I J,BADDELEY J A,et al. The role of plants and land management in sequestering soil carbon in temperate arable and grassland ecosystems[J]. Geoderma,2005,128(1/2):130-154.

[34] LU Y H,WATANABE A,KIMURA M. Contribution of plant-derived carbon to soil microbial biomass dynamics in a paddy rice microcosm[J]. Biology and fertility of soils,2002,36(2):136-142.

[35] 谭立敏,彭佩钦,李科林,等. 水稻光合同化碳在土壤中的矿化和转化动态[J]. 环境科学,2014,35(1):233-239.

[36] SWINNEN J,VAN VEEN J A,MERCKX R. Root decay and turnover of rhizodeposits in field-grown winter wheat and spring barley estimated by ^{14}C pulse-labelling[J]. Soil biology and biochemistry,1995,27(2):211-217.

[37] 于鹏,张玉玲,王春新,等. 不同生育期光合碳在水稻-土壤系统中的分配[J]. 土壤学报,2017,54(5):1218-1229.

[38] IPCC. Contribution of working group II to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change[M]//PARRY M L,CANZINA O F,PALUTIKOF J P,et al. Climate change 2007:Impacts,adaptation and vulnerability. Cambridge:Cambridge University Press,2007.

[39] PAUSCH J,TIAN J,RIEDERER M,et al. Estimation of rhizodeposition at field scale:Upscaling of a ^{14}C labeling study[J]. Plant and soil,2012,364(1/2):273-285.

[40] JIN V L,EVANS R D. Microbial ^{13}C utilization patterns via stable isotope probing of phospholipid biomarkers in Mojave Desert soils exposed to ambient and elevated atmospheric CO_2[J]. Global change biology,2010,16(8):2334-2344.

[41] BUTLER J L,BOTTOMLEY P J,GRIFFITH S M,et al. Distribution and turnover of recently fixed photosynthate in ryegrass rhizospheres[J]. Soil biology and biochemistry,2004,36(2):371-382.

[42] DEVARE M,LONDOÑO-R L M,THIES J E. Neither transgenic Bt maize (MON863)nor tefluthrin insecticide adversely affect soil microbial activity or biomass:A 3-year field analysis[J]. Soil biology and biochemistry,2007,39(8):2038-2047.

[43] 连腾祥,王光华,于镇华,等. 植物光合碳在根际土壤中的微生物转化与 SIP 技术[J]. 土壤与作物,2013,2(2):77-83.

(下转第 17 页)

[27] 姜远茂,葛顺峰,毛志泉,等. 我国苹果产业节本增效关键技术Ⅳ:苹果高效平衡施肥技术[J]. 中国果树,2017(4):1-4,13.
[28] 刘思汝,石伟琦,马海洋,等. 果树水肥一体化高效利用技术研究进展[J]. 果树学报,2019,36(3):366-384.
[29] 丁邦新,刘雪艳,何雪菲,等. '库尔勒香梨'园测土配方推荐施肥研究[J]. 果树学报,2019,36(8):1020-1028.
[30] 叶国军. 广东连州水晶梨测土配方施肥的田间调研与应用[J]. 农业工程技术,2017,37(14):28-30.
[31] 冯锁牢,宋宽平,雷亚青,等. 富平尖柿全营养平衡施肥技术初步研究[J]. 陕西农业科学,2018,64(10):53-55.
[32] PATEL N,RAJPUT T B S. Effect of drip tape placement depth and irrigation level on yield of potato [J]. Agricultural water management,2007,88(1/2/3):209-223.
[33] 李加念,洪添胜,冯瑞珏,等. 柑橘园水肥一体化滴灌自动控制装置的研制[J]. 农业工程学报,2012,28(10):91-97.
[34] 侯延杰,薛进军,张鹤华,等. 灌溉施肥模式对龙眼生长、果实形成过程及产量的影响[J]. 灌溉排水学报,2016,35(3):100-104.
[35] 路永莉,白凤华,杨宪龙,等. 水肥一体化技术对不同生态区果园苹果生产的影响[J]. 中国生态农业学报,2014,22(11):1281-1288.
[36] 许乃霞,杨益花,单建明,等. 水肥一体化施肥对草莓产量的影响[J]. 安徽农业科学,2015,43(3):62-63,69.
[37] 何小卫,李贤胜,杨平,等. 葡萄水肥一体化技术试验研究[J]. 中国农技推广,2011(5):42-44.
[38] 黄丽. 陕北山地苹果水肥一体化灌溉制度与施肥技术研究[D]. 杨凌:中国科学院大学(中国科学院教育部水土保持与生态环境研究中心),2018:65-67.
[39] 林鸾芳. 膜下滴灌水肥一体化技术对水蜜桃产质量及经济效益的影响[J]. 农业科技通讯,2018(11):152-154.
[40] 杨素苗,李保国,齐国辉,等. 灌溉方式对红富士苹果根系活力和新梢生长及果实产量质量的影响[J]. 干旱地区农业研究,2010,28(5):181-184.
[41] 潘越,王明,马合木提·阿不来提,等. 不同配方叶面肥对苹果光合特性日变化规律的影响 [J]. 经济林研究,2019,37(1):87-93,116.
[42] 唐岩,宋来庆,孙燕霞,等. 叶面喷施硅酸钾对富士苹果品质的影响[J]. 落叶果树, 2014,46(4):11-13.
[43] 唐岩,宋来庆,孙燕霞,等. 叶面喷施磷酸二氢钾对红将军苹果叶片性状、果实品质和香气成分的影响[J]. 山东农业科学, 2017,49(5):82-85.
[44] 王玉霞,李芳东,李延菊,等. 三种叶面肥对晚熟油桃'福秀'果实品质的影响[J]. 东北农业科学,2018,43(4):41-43.
[45] 王玉霞,李芳东,李延菊,等. 不同类型叶面肥对晚熟油桃'福美'果实品质的影响[J]. 山东农业科学,2018,50(9):48-50.
[46] 赵林,姜远茂,彭福田,等. 控释肥对红将军和嘎拉苹果品质及产量的影响[J]. 落叶果树,2010(3):1-4.
[47] 宋立芬,孙治军,丁强. 控释氮肥对苹果幼树生长的影响[J]. 山东农业科学,2009(1):78-81.
[48] 俞巧钢,朱本岳,叶雪珠. 控释肥在柑桔上的应用研究[J]. 浙江农业学报,2001,13(4):210-213.
[49] 吴凌云,李志忠,丁文. 缓控释肥在蜜柚上的施用效果研究[J]. 福建农业科技,2011(4):77-78,82.
[50] 陈宝成,马丽,张民,等. 控释肥对草莓生长及土壤养分的影响[J]. 北方园艺,2010(1):7-10.
[51] 张民,史衍玺,杨守祥,等. 控释和缓释肥的研究现状与进展[J]. 化肥工业,2001,28(5):27-30,63.
[52] 张民,杨越超,宋付朋,等. 包膜控释肥料研究与产业化开发[J]. 化肥工业,2005,32(2):7-13.
[53] 张守仕, 彭福田,姜远茂,等. 肥料袋控缓释对桃氮素利用率及生长和结果的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2008,14(2):379-386.
[54] 张亚飞,罗静静,彭福田,等. 肥料袋控缓释对桃树根系生长、氮素吸收利用及产量品质的影响[J]. 中国农业科学,2017,50(24):4769-4778.
[55] 张青,彭福田,卢革新,等. 肥料袋控缓释对草莓 N 素利用率及其产量的影响[J]. 果树学报,2005,22(4):409-411.
[56] 彭福田,彭勇,周鹏,等. 肥料袋控缓释肥对沾化冬枣氮素利用率与生长结果的影响[J]. 园艺学报,2006,33(2):223-228.
[57] 邓伯勋,张建成,周功林. 生物有机复合肥在柑桔上的应用效果[J]. 湖北农业科学,1993(8):16-19.
[58] 周光萍. EM 微生物菌剂在猕猴桃上的应用试验[J]. 落叶果树,1999(3):43.
[59] 陈德芬,赵国防,杨焕婷,等. 苹果增产菌对桃果实的影响[J]. 落叶果树,1996(4):4-6.
[60] 周游,李海梅,赵金山,等. 乳酸菌对草莓生长和品质性状的影响[J]. 江苏农业学报,2017,33(5):1124-1128.
[61] 张杰,马亚君,贺志斌,等. 微生物肥料替代化肥在苹果种植中的应用效果研究[J]. 中国农业科技导报,2019,21(7):128-135.

(上接第 13 页)

[44] 罗光强,耿元波,袁国富. 碳同位素在草地生态系统碳循环中的应用与展望[J]. 地理科学进展,2009,28(3):441-448.
[45] 宋文琛,同小娟,张劲松,等. 用自然^{13}C 丰度法区分人工林根源呼吸的原理与应用[J]. 中国水土保持科学,2015,13(4):37-43.
[46] ROCHETTE P,FLANAGAN L B,GREGORICH E G. Separating soil respiration into plant and soil components using analyses of the natural abundance of carbon-13[J]. Soil science society of America journal,1999,63(5):1207-1213.
[47] ROBINSON D,SCRIMGEOUR C M. The contribution of plant C to soil CO_2 measured using $\delta^{13}C$[J]. Soil biology and biochemistry,1995,27(12):1653-1656.
[48] 刘启明,王世杰,朴河春,等. 生态转换系统中土壤有机质变化的稳定碳同位素示踪研究进展[J]. 生态学杂志,2002,21(2):58-60.
[49] HANSON P J,EDWARDS N T,GARTEN C T,et al. Separating root and soil microbial contributions to soil respiration:A review of methods and observations[J]. Biogeochemistry,2000,48(1):115-146.
[50] 马志良,赵文强,刘美,等. 土壤呼吸组分对气候变暖的响应研究进展[J]. 应用生态学报,2018,29(10):3477-3486.
[51] WERTH M,KUZYAKOV Y. Root-derived carbon in soil respiration and microbial biomass determined by ^{14}C and ^{13}C[J]. Soil biology and biochemistry,2008,40(3):625-637.
[52] WERTH M,KUZYAKOV Y. Three-source partitioning of CO_2 efflux from maize filed soil by ^{13}C natural abundance[J]. Journal of plant nutrition and soil science,2009,172(4):487-499.
[53] 魏书精,罗碧珍,魏书威,等. 森林生态系统土壤呼吸测定方法研究进展[J]. 生态环境学报,2014,23(3):504-514.
[54] SAPRONOV D V,KUZYAKOV Y V. Separation of root and microbial respiration:Comparison of three methods[J]. Eurasian soil science,2007,40:775-784.
[55] OSANAI Y,JANES J K,NEWTON P C D,et al. Warming and elevated CO_2 combine to increase microbial mineralisation of soil organic matter [J]. Soil biology and biochemistry,2015,85:110-118.
[56] PENG F,XU M H,YOU Q G,et al. Different responses of soil respiration and its components to experimental warming with contrasting soil water content[J]. Arctic,antarctic and alpine research,2015,47(2):359-368.
[57] DALIAS P,ANDERSON J M,BOTTNER P,et al. Temperature responses of carbon mineralization in conifer forest soils from different regional climates incubated under standard laboratory conditions[J]. Global change biology,2001,7(2):181-192.
[58] 周非飞,林波,刘庆. 青藏高原东缘亚高山针叶林人工恢复过程中的土壤呼吸特征[J]. 应用生态学报,2009,20(8):1783-1790.
[59] STREIT K,HAGEDORN F,HILTBRUNNER D,et al. Soil warming alters microbial substrate use in alpine soils[J]. Global change biology,2014,20(4):1327-1338.
[60] 孙伟,DAVID WILLIAMS. 利用稳定性同位素区分河岸 C_4 草地生态系统夜晚碳通量[J]. 湿地科学,2008,6(2):271-277.