

碳同位素在草地生态系统碳循环中的应用与展望

罗光强^{1,2} 耿元波¹ 袁国富¹

(1.中国科学院地理科学与资源研究所,北京 100101;2.中国科学院研究生院,北京 100049)

摘要:草地生态系统在全球碳循环研究中占有重要地位,目前,碳同位素技术已经被广泛地应用于草地生态系统碳循环研究中。本文阐述了碳同位素在草地土壤有机碳的来源、光合作用产物碳在草地生态系统中的分配、草地土壤有机质的周转及草地土壤呼吸研究方面的应用,重点论述了碳同位素在土壤呼吸方面的应用。应用碳同位素对土壤呼吸进行区分的方法主要包括¹³C自然丰度法、脉冲标记法、同位素稀释法、模拟根际沉积物法、¹⁴CO₂动态模型法、根系分泌物洗涤法等。碳同位素技术对草地土壤和根干扰很小,方法相对成熟,为深入研究草地生态系统碳循环提供了巨大潜力。在我国,应用碳同位素方法研究草地生态系统碳循环在土壤有机碳的来源、分配及周转和土壤呼吸区分等方面有进一步研究的必要,也有进一步研究的发展空间。

关键词:碳同位素;草地生态系统;碳循环;土壤呼吸

1 引言

草地约占全球陆地面积的1/5^[1],草地也是目前人类活动影响最为严重的区域,并且具有相当大的碳蓄积能力,这些潜在的碳汇在全球碳循环中起着非常巨大的作用^[2]。因此,对全球碳库的分布和碳循环进行全面的了解,草原生态系统的研究是必不可少的^[3]。

碳有15种同位素(⁸C、⁹C、¹⁰C、¹¹C、¹²C、¹³C、¹⁴C、¹⁵C、¹⁶C、¹⁷C、¹⁸C、¹⁹C、²⁰C、²¹C、²²C),其中¹²C、¹³C为稳定碳同位素,¹⁴C为放射性碳同位素(半衰期约5700a),是自然界长期存在的同位素,其余的碳同位素半衰期很短(¹¹C约为20min,其他均小于20s),不能稳定存在^[4-5]。同位素方法比普通方法可以更敏感地揭示土壤碳循环的干扰和恢复过程^[6]。其中,稳定碳同位素示踪技术适合研究从年到百年尺度的土壤碳循环过程,能有效地阐明地下碳动态变化和土壤碳储量的微小迁移与转换,以及定量化评价新老土壤有机碳对碳储量的相对贡献^[7]。同时,放射性碳同位素数据可用来确定碳动态变化以及全球变化对土壤碳的影响,并能用于检验土壤碳动力学模型的预测效果。

目前,碳同位素方法已经被广泛地应用于草地生态系统碳循环研究中,集中起来,主要有以下几

方面:草地土壤有机碳的来源研究,光合作用产物碳在草地生态系统中的分配,草地土壤有机质的周转及土壤呼吸研究等。

2 草地土壤有机碳的来源

植物光合作用是自然界产生碳同位素分馏的最重要过程,也是碳同位素技术在生态学研究中的应用的基础。 $\delta^{13}\text{C}$ 值用相对量表示物质的稳定碳同位素组成,也就是稳定碳同位素的比率。其关系式为:

$$\delta^{13}\text{C}=(R_p/R_s-1)\times 1000\text{‰} \quad (1)$$

式中: R_p 是样品碳元素的重轻同位素丰度之比, R_s 是国际通用标准物的重轻碳同位素丰度之比。由于光合过程中羧化酶对同位素的分馏效应以及气孔的扩散分馏效应不同, C_3 和 C_4 植物(根据 CO_2 同化过程的最初产物及碳代谢特点,植物可被分为 C_3 植物、 C_4 植物和CAM植物^[8])的 $\delta^{13}\text{C}$ 值有明显区别,其中 C_3 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值处于 $-35\text{‰} \sim -20\text{‰}$ 之间, C_4 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值较高,处于 $-19\text{‰} \sim -9\text{‰}$ 之间, C_3 和 C_4 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 平均值分别在 -27‰ 和 -13‰ 左右^[9]。由于草地土壤有机质大多数来自草地植物残留物,植物残留物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值对土壤有机质有直接的影响^[10-11]。当在具有 C_3 植物种植历史的土壤上种植 C_4 植物后,土壤有机质的 $\delta^{13}\text{C}$ 值上升,这是因为 C_4 植物的

收稿日期:2008-12;修订日期:2009-04。

基金项目:国家“十一五”支撑计划(No.2006BAJ10B04);中国科学院地理科学与资源研究所三期创新项目(066U0605SZ)。

作者简介:罗光强(1984-),男,硕士研究生,主要从事生物地球化学循环方面的研究。E-mail:gqluobnu@hotmail.com

通讯作者:耿元波(1969-),男,博士,副研究员,gyb0741@sina.com

残留物进入土壤。根据质量平衡理论得到式(2)^[12]:

$$\delta_{C_4} = \delta_{vegetation} \cdot f + (1-f) \cdot \delta_{C_3} \quad (2)$$

式中: δ_{C_4} 为 C_4 植物所在土壤 C 的 $\delta^{13}C$ 值, $\delta_{vegetation}$ 为 C_4 植物残留物的 $\delta^{13}C$ 值, f 为来源于 C_4 植物的土壤有机质比例, δ_{C_3} 为 C_3 植物所在土壤 C 的 $\delta^{13}C$ 值。则来源于 C_4 植物的土壤有机质比例计算公式为:

$$f = \frac{\delta_{C_4} - \delta_{C_3}}{\delta_{vegetation} - \delta_{C_3}} \quad (3)$$

$\delta_{vegetation}$ 的值在不同深度要取不同修正值,因为植物各部分进入不同深度土壤的比例不同^[13]。在 C_4 土壤上种植 C_3 植物进行有机质来源的研究也是相同的原理。

根据上述原理,Schwendenmann 和 Pendall^[14]将土壤分级法和 ^{13}C 自然丰度结合起来发现植被由潮湿热带林转化为优势物种为甜根子草(*Saccharum spontaneum* L., C_4 植物)的草地 90 年后,草地土壤表层 60% 的碳来源于草地,随着深度的增加比例明显下降。同样,Flessa 等^[15]利用 ^{13}C 自然丰度法分析了在德国哈雷进行的长期实验中土壤有机碳、溶解态有机碳及土壤呼吸的碳来源。实验样地从 1878 年开始种植黑麦草(*Secale cereale* L., C_3 植物)到 1961 年改为种植玉米(*Zea mays* L., C_4 植物),持续种植玉米 37 年后,土壤有机质的 $\delta^{13}C$ 值明显增加,土壤表层总有机碳的 15% 来源于玉米,耕作层以下部分只占 5%~3%。通过实验室培育实验并分析溶解态有机碳及土壤呼吸所释放 CO_2 的同位素比率,他们得出单位质量的来源于玉米的土壤有机碳中溶解态有机碳的量是来源于黑麦草的土壤有机碳的 2.5 倍,但来源于黑麦草的土壤有机碳仍是溶解态有机碳的主要来源。来源于玉米的土壤有机碳分解释放 CO_2 的速率是来源于黑麦草的土壤有机碳的 8 倍,58% 以上的 CO_2 来源于玉米有机碳。自然丰度法的优缺点将在土壤呼吸区分部分进行详细说明。

3 光合产物碳在草地生态系统的分配

近期光合碳是“大气—植物—土壤”系统碳循环的重要组成部分;定量近期光合碳在植物组织、土壤和呼吸损失的分配,对于理解全球碳循环是必不可少的^[16]。Wang 等^[17]使用单次脉冲标记技术(^{13}C)研究了内蒙古温带草原近期光合碳的动态和分配情况,标记后植物地上部分 ^{13}C 标记迅速上升,随后

下降,根中一直上升。Yevdokimov 等^[18]在持续 $^{13}CO_2$ 标记的环境下进行了一次燕麦 (*Avena sativa* L.) 种植温室实验,生长季期间燕麦地上部分碳的分配越来越多,而地下部分光和产物碳的比率在下降。光合产物碳在土壤中主要集中在土壤有机质中,微生物会迅速矿化大部分的根际沉积物。

刈割、放牧及施肥等人为干扰对光合产物碳的分配有明显的影响。Ostle 等^[19]对自然环境条件下的高地草原做了三个处理,分别是添加 ^{13}C 标记后刈割(地上部分余 7cm)、添加 ^{13}C 标记和不添加 ^{13}C 标记。研究表明 ^{13}C 标记后所有土壤动物组织里都含有 ^{13}C 示踪剂,刈割处理明显增加了 ^{13}C 进入动物组织的量。在生长季,近期光合碳迅速进入了中型动物区系。Stewart 等^[20]利用 $^{13}CO_2$ 脉冲标记技术研究灌溉、施用磷肥以及不同的放牧方式对碳的吸收及分配的影响,结果表明在低土壤养分、高放牧强度、持续放牧以及秋天时植物会向根中分配更多的碳,灌溉对于碳在根中的分配没有明显影响。在 Wang^[17]的研究中,放牧使更多的新近光合碳分配到根部,而施用氮肥则使更多的光合碳分配到地上部分,与上述结果基本相同。利用碳同位素作为示踪剂阐明光合产物碳的分配机理对于实现草地生态系统科学管理和可持续发展具有重要意义。

4 草地土壤有机质的周转

土壤有机质及其组分周转与分解动力学研究中,田间实验所用方法可分为非示踪法(塑料袋法、砂滤管法和尼龙袋法)和示踪法(稳定同位素示踪法和放射性同位素标记示踪法)^[21]。稳定同位素示踪法主要包括两种,一种是 ^{13}C 自然丰度法,另一种是人为添加 ^{13}C 标记。Schwendenmann 等^[14]在研究土壤植被由森林转化为草地时,基于 ^{13}C 自然丰度和将土壤作为单一同质碳库处理,估算出土壤表层碳库的平均周转时间为 69 年,20cm 以下部分为 120 年,周转时间随有机质组分和深度变化而变化。撒石灰对于英国等地区的农业生产具有重要意义,Foereid 等^[22]通过 $^{13}CO_2$ 脉冲标记法研究了撒石灰对酸化草地土壤有机质周转的影响,发现不撒石灰的土壤中残留了更多的 ^{13}C ,撒石灰加速了土壤有机质的周转。Pendall 等^[23]通过长期培育实验发现提高 CO_2 浓度(所用 CO_2 的 $\delta^{13}C$ 值与背景值不同)后矮草草原土壤表层活性碳库 (active pool) 和缓性碳库

(slow pool)均增加了,但周转速率并没有提高。 ^{14}C 示踪技术在土壤腐殖质的形成与分解过程、有机底物在土壤中的分解和转化及其对原有土壤有机质分解的影响、土壤微生物生物量碳的周转等方面研究中也应用^[24]。

5 草地土壤呼吸的影响因素及土壤呼吸的区分

土壤呼吸是指未经扰动的土壤中产生 CO_2 的所有代谢作用,主要包括根系呼吸(自养呼吸的一部分)及土壤微生物和土壤动物的异养呼吸等^[25]。碳同位素技术对土壤和根的干扰极小,而且实验方法成熟,因此目前已经被广泛地应用于土壤呼吸影响因素及土壤呼吸区分研究。

5.1 土壤呼吸的影响因素

土壤呼吸过程既是非生物学氧化过程,又是一个复杂的生物学过程。它不仅受到气温、土壤温度、湿度、pH 值和风速等环境条件的影响,还受到植被、土壤动物、土壤生物学属性等生物因素,以及人为因素如土地利用、环境污染等因素的影响^[26]。这里综述了碳同位素在土壤呼吸速率主要的影响因素即土壤温度和湿度研究方面的应用。

5.1.1 土壤温度

土壤呼吸过程以土壤微生物和植物根系呼吸为主,而这都是依赖于温度和湿度的生物学过程,在一定范围内表现为随温度和水分增加而增加的趋势,在极端的温度和水分条件下,则受到抑制^[27]。众多研究表明^[28-31],土壤呼吸速率随着温度的上升而呈指数函数上升。Andrews 等^[32]在分别为 4、22、40°C 的条件下测量了去除根部土壤(来自杜克森林 FACE(Free-Air CO_2 Enrichment)实验点)的呼吸速率、土壤呼吸释放 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值及微生物群落成分,发现从 4°C 到 22、40°C 微生物群落结构和数量的变化导致了可矿化碳库的变化,从而使低温条件下呼吸产生 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值变大,他们得到的 Q_{10} 值为 1.9。而 Dudziak 等^[33]在研究不同生态系统土壤 CO_2 碳同位素比率的日循环时发现,在夏季最炎热的时期,尽管土壤的温度变化达到了 5°C,未经耕作的草地中 CO_2 浓度仍没有明显的变化。这可能是因为此时土壤温度超过了 20°C,占主导作用的微生物呼吸变化较小。 Q_{10} 值是一个经验拟合常数,表示温度每

升高 10°C 土壤呼吸速率相应增加的倍数。在以往的大多数指数模型中都认为 Q_{10} 为接近 2.0 的常数,但近期研究发现 Q_{10} 值随时间、空间、地理位置以及生态系统类型变化较大^[34],因此需要进一步研究。

5.1.2 土壤湿度

生态系统土壤中的水分状况可以影响空气的水汽压,对土壤中微生物的活性也有影响,这些将对生态系统呼吸产生影响。森林生态系统土壤呼吸 $\delta^{13}\text{C}$ 值的变化与土壤水分状况是相关的^[35-37]。孙伟等^[38]利用稳定碳同位素和 Keeling 曲线法研究了河岸 C_4 草地生态系统的夜晚碳通量,结果表明生态系统呼吸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与土壤含水量之间存在正相关关系,而与空气饱和差之间存在负相关关系。

5.2 草地土壤呼吸来源区分

土壤是一个巨大的碳库,稍微有变化都会对全球碳循环和碳平衡产生重大影响,因此,精确区分土壤呼吸各组分是全球变化研究中的重要内容。据估计即使是高产农田,土壤动物呼吸和化学氧化量也只占总呼吸量的 5%^[39],因此一般将土壤呼吸分为三部分:纯根呼吸、根际微生物呼吸和土壤微生物呼吸,其中,纯根呼吸和根际微生物呼吸合称为根源呼吸。

5.2.1 根源呼吸和土壤微生物呼吸的区分

(1) ^{13}C 自然丰度法

^{13}C 自然丰度法原理与上面提到的区分土壤有机质来源是相同的,即认为土壤微生物呼吸中的土壤有机质是旧有机质,而根源呼吸是来源于新种植植物的新有机质,应用质量平衡原理就可以得到两者占土壤呼吸的比例。

Cheng^[40]应用自然丰度法研究发现,短期生长箱实验中种草情况下根源呼吸对土壤呼吸的贡献是 89%,土壤微生物呼吸比不种草的情况下下降了 37.3%。在 Robinson 等^[41]对百慕大草地的研究中,他们假定可以忽略 C_4 植物呼吸和源于 C_3 植物土壤有机质的微生物呼吸两个过程的同位素分馏作用,得到在整个生长季根源呼吸占土壤呼吸的比例介于 40%~100% 之间。Rochette 等^[42]在 C_3 土壤上种植玉米,结合动态密闭箱法及土壤 CO_2 和有机质样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值得到根源呼吸对土壤呼吸的最大贡献比例是 45%,并与根去除法所得结果进行了比较。他们的多次实验表明该方法有可能实现根源呼吸和土壤微生物呼吸的区分。首先,得到的根源呼吸季节模式与植物生长及生理活动是一致的。其次,整个

生长季累积的根源呼吸值与使用 ^{14}C 标记技术获得的数据是一致的。再次,在玉米样点,土壤呼吸变化与土壤温度的变化是一致的。最后,同位素方法和根去除法得到的结果是相同的。可见,利用光合途径不同植物的 ^{13}C 自然丰度进行土壤呼吸的初步区分是可行的。

^{13}C 自然丰度法假设土壤释放 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值只受来自根源呼吸和土壤微生物呼吸两部分的影响,但实际上还受到湿度、海拔以及施肥的影响,不过这种影响远小于 C_3 及 C_4 植物之间的差异^[12]。 CO_2 在土壤中扩散也存在分馏现象^[43],最重要的一点是 C_3/C_4 转换这样特殊的环境很难找,限制了它在野外的应用。

尽管灵敏度和分辨率较低,而且实验发现在生长季后期该方法可靠性下降^[42],但 ^{13}C 自然丰度法相对脉冲标记法也有一定的有利因素:(1)植物和土壤都一律自然标记;(2)没有放射性安全问题;(3)因 ^{13}C 示踪剂自然产生所以不需要标记程序。

(2) 脉冲标记法

脉冲标记法包括单次脉冲标记、重复脉冲标记和持续脉冲标记。单次脉冲标记适用于测定密闭的实验箱中生长的小植物对标记 CO_2 的吸收,在实验箱中可计量被添加到系统中的所有标记碳的量^[44]。持续标记法是指在超过植物生长期限的时间内,在实验室或野外条件下,对植物进行不间断标记的一种方法。实验箱已经被用于小型植物的 ^{14}C 的持续标记,而在大型植物的应用方面却存在一定的限制。野外持续标记主要有两种方法:(1)利用核爆炸产生的 ^{14}C 标记。(2)让植物暴露于专一的稳定同位素信号下(FACE 实验)。

20 世纪 50 年代和 60 年代早期进行的核武器实验提高了空气中 CO_2 的 ^{14}C 含量,事实上产生了一个全球范围的长期标记实验,这产生了比短时间脉冲标记研究更为统一的对植物和土壤碳库的标记。通过建模和质量平衡理论可以估算根源呼吸占土壤呼吸的比例^[45],但过程中涉及过多的假设,而且由于加速器质谱仪价格昂贵,因此这项技术应用较少。

FACE 即自由大气富集实验,是通过人为添加的方式提高研究区域 CO_2 的浓度,其中所添加的 CO_2 一般是 ^{13}C 贫化的。植物通过光合作用固定 ^{13}C 贫化的 CO_2 ,光合产物碳分配到根及根际沉积物中并通过呼吸作用释放,而土壤有机质由于周转时间

较长其 $\delta^{13}\text{C}$ 值变化相对较小,通过这种差别就可以将根源呼吸与土壤微生物呼吸区分开来。Søe 等^[46] 2001 年在德国联邦农业研究中心甜菜地通过 FACE 实验测定了不同 CO_2 浓度条件下的土壤呼吸,他们使用 ^{13}C 贫化的示踪剂提高大气 CO_2 浓度,得到根源呼吸对土壤呼吸的贡献约为 $(70\pm 4)\%$ 。FACE 圈四周没有遮拦物,这样便可测定能量平衡、冠层温度和水分蒸发、蒸腾量^[47],对微环境影响很小,但昂贵的运行和控制费用不利于其广泛应用。

5.2.2 纯根呼吸与根际微生物呼吸的区分

区分根呼吸放出的 CO_2 与土壤碳矿化产生的 CO_2 是非常困难的,并且已成为定量根际碳通量的最大挑战之一^[48]。目前用于纯根呼吸和根际微生物呼吸区分的方法主要有根源呼吸和根际微生物呼吸差值法、同位素稀释法、模拟根际沉积物法、 $^{14}\text{CO}_2$ 动态模型法以及根系分泌物洗涤法。根源呼吸和根际微生物呼吸差值法国内介绍较少,这里作较为详细的介绍。

(1) 根源呼吸与根际微生物呼吸差值法

根源呼吸与根际微生物呼吸差值法是指对植物进行持续 $^{14}\text{CO}_2$ 标记,得到根源呼吸;经过一个生长季后测定剩余的根际沉积物未分解物的量,以损失量代表根际微生物呼吸量,两者差值即为纯根呼吸^[49]。这个方法看起来简单,但实际应用却很复杂,最大的困难是要准确得到根最初释放到土壤中的根际沉积物的量。Johansson 给出了一个假设,即根际沉积物的稳定度与其中不能水解组分与水解组分之比成比例。在培育实验结束后将根际沉积物和参照物质(^{14}C 统一标记并磨细后进行培育实验的葡萄糖、根和地上部分)水解,得到不可水解的 ^{14}C 残留物的量,进一步将不可水解 ^{14}C 残留物与水解前总 ^{14}C 残留物进行线性回归,记斜率为 K 。稳定度 S 计算公式为: $S=K \cdot \text{水解后 } ^{14}\text{C}/\text{水解前 } ^{14}\text{C}$, 根际沉积物的起始量=残留量/稳定度。Johansson 利用该方法得到牛尾草在发芽 7 周后根际微生物呼吸占根源呼吸的 32%,纯根呼吸占 68%,该法目前应用较少。

这个方法主要的缺点有以下几点:①根际沉积物起始量未知,需要间接估计;②培育时间较长(61 周);③工作量大,至少需要培育三种参照物质;(4)培育结束后残留 ^{14}C 量与不能水解组分和水解组分之比成比例的假定没有其他人证明。

(2) 同位素稀释法

同位素稀释法即把未标记的葡萄糖注入到生

长 ^{14}C 标记植物的土壤中,从而稀释标记的 ^{14}C 根际分泌物。未标记葡萄糖进入根际土壤后,分散了根际微生物对 ^{14}C 标记的根系分泌物的专一分解作用,从而降低 $^{14}\text{CO}_2$ 的释放量。Cheng^[50]基于这个方法得到纯根呼吸和根际微生物呼吸分别占根源呼吸的 41%和 59%。

(3) 模拟根际沉积物法

模拟根际沉积物法有 2 个步骤:(1) 用 ^{14}C 标记植物而不加模拟根际沉积物得到根源呼吸;(2) 不标记植物,向土壤中加入 ^{14}C 模拟根际沉积物,得到根际微生物呼吸。这样就可以将纯根呼吸和根际微生物呼吸分开来。Swinen^[51]应用该方法得到大麦和小麦在培育 30 天后纯根呼吸占根源呼吸的 89%~95%,根际微生物呼吸占 5%~11%。

(4) $^{14}\text{CO}_2$ 动态模型法

Kuzyakov 等^[52]提出了 $^{14}\text{CO}_2$ 动态模型,该模型假定植物生物量从开始 ^{14}C 标记到分配完毕不会发生大的变化,不考虑碳吸收、转移和呼吸的日变化。原理是添加 ^{14}C 标记物后根际微生物呼吸相对纯根呼吸有一定的延迟,这种延迟可能是由于根际沉积物从产生到被微生物分解利用放出 CO_2 需要一定的时间。他们利用该方法得到黑麦草纯根呼吸和根际微生物呼吸分别占根源呼吸的 56%和 44%。

(5) 根系分泌物洗涤法

根系分泌物洗涤法也称为虹吸法,实质上是利用物理的方法对纯根呼吸和根际微生物呼吸进行分离,具体做法是在对植物进行 ^{14}C 标记后,利用气流将纯根呼吸放出的 CO_2 吹出来并进行收集,而同时利用水流将根表面的分泌物及微生物作用过的混合物冲洗出来并进行收集分析。Kuzyakov 等^[53]认为这个方法存在以下缺点:①冲洗出的分泌物只是水溶性的,并没有将所有微生物可能利用的根系分泌物分离出来;②分泌物在从土壤中渗漏出来的过程中可能已经被微生物分解,这将增加纯根呼吸的比重;③在土壤中水会优先流动;④水和营养物质的流动可能会影响根放出碳的量和组成,这实际上是产生了扰动。另外,土壤质地状况也会影响这个方法的有效性。他们利用该方法得到 ^{14}C 标记后黑麦草根际微生物呼吸占根源呼吸的 19%,因上述原因根际微生物呼吸明显被低估了。

5.2.3 土壤呼吸的完全区分

尽管有人将土壤呼吸详细地分为 5 部分^[54],但大多数研究者目前仍是着重于将土壤呼吸分为纯根呼吸、根际微生物呼吸和土壤微生物呼吸 3 部

分,本文所说的完全区分即分为这 3 部分。Kuzyakov 等^[55]对 C_3 草地土壤添加 C_3/C_4 泥浆或 C_3/C_4 糖,利用 ^{13}C 自然丰度来研究 3 个不同的碳源对 CO_2 通量的贡献,这三个碳源分别为糖、调制泥浆和原有土壤有机质。这是第一次应用自然丰度法来区分 3 个以上来源的土壤呼吸,但仍存在一些不足。Kuzyakov^[56]基于 ^{13}C 自然丰度法提出了一种实现土壤呼吸完全区分的新方法,其计算步骤如下:

$$c\text{C}_3^{\text{CO}_2} = \frac{\delta^{\text{CO}_2} - \delta_4^{\text{Rhiz}}}{\delta_3^{\text{SOM}} - \delta_4^{\text{Rhiz}}} \quad (4)$$

式 (4) 中, $c\text{C}_3^{\text{CO}_2}$ 为土壤微生物呼吸占土壤呼吸的比例, δ^{CO_2} 、 δ_4^{Rhiz} 、 δ_3^{SOM} 分别为土壤呼吸所放出 CO_2 、根际沉积物和土壤有机质的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。根源呼吸所占比例 ($c\text{C}_4^{\text{CO}_2}$) 用下式计算: $c\text{C}_4^{\text{CO}_2} = 1 - c\text{C}_3^{\text{CO}_2}$ 。应用式 (5) 和式 (6) 将根源呼吸进一步分为纯根呼吸 (比例为 $c\text{RR}^{\text{RdCO}_2}$) 和根际微生物呼吸 (比例为 $c\text{RMR}^{\text{RdCO}_2}$) 两部分:

$$c\text{RR}^{\text{RdCO}_2} = \frac{(\delta^{\text{CO}_2} - \delta^{M_0}) \cdot (\delta_3^{\text{SOM}} - \delta_4^{\text{Rhiz}})}{(\delta_4^{\text{Rhiz}} - \delta^{M_0}) \cdot (\delta_3^{\text{SOM}} - \delta^{\text{CO}_2})} \quad (5)$$

$$c\text{RMR}^{\text{RdCO}_2} = \frac{(\delta_3^{\text{SOM}} - \delta^{M_0}) \cdot (\delta_4^{\text{Rhiz}} - \delta^{\text{CO}_2})}{(\delta_4^{\text{Rhiz}} - \delta^{M_0}) \cdot (\delta_3^{\text{SOM}} - \delta^{\text{CO}_2})} \quad (6)$$

式中: δ^{M_0} 为土壤微生物生物量的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,其余与上面相同。该方法有两个重要假设: 纯根呼吸 CO_2 及根际沉积物碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与根的不同; 微生物呼吸 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与微生物生物量的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相同。对于假设 1, Cheng^[40] 虽然在实验中发现根的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与根源呼吸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值是一样的,但并没有排除纯根呼吸与根际沉积物碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值不同而其混合物 $\delta^{13}\text{C}$ 值恰好与根的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相同的情况。对于假设 2, Werth 等^[57]在试图验证这一方法时失败,原因就是这一假设不成立,熏蒸提取法得到的是所有微生物的量,其中活跃微生物是 $^{13}\text{CO}_2$ 的主要来源,如果活跃微生物量较少,那用熏蒸提取法得到的微生物生物量的 $\delta^{13}\text{C}$ 值来等同于微生物呼吸 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值就会产生偏差。Santruckova^[58]发现微生物呼吸产生的 CO_2 相对于微生物生物量的 $\delta^{13}\text{C}$ 值要低 2.2‰。Yevdokimov 等^[18]利用上述方法得到根源呼吸占土壤呼吸的 61%~92%,土壤微生物呼吸占 8%~39%,其中根际微生物呼吸占总土壤呼吸的 4%~23%,但缺乏对上述两个假设的检验。

6 问题及展望

碳同位素方法在草地生态系统碳循环研究中相对其他方法有明显优势,为深入研究草地生态系统碳循环提供了巨大潜力。在我国,由于分析费用较高等原因,碳同位素技术在草地生态系统碳循环研究中应用仍相对较少,以下几个方面需要进一步研究:

(1) 土壤有机碳的来源、分配及周转问题。在今后的研究中,应利用碳同位素技术加强土壤有机碳动态变化机理的研究,加强草地不同发展阶段(自然、退化)、不同利用方式及其对全球变化响应的碳循环过程的研究,土壤有机碳的动态平衡对于解决全球碳循环研究中“未知汇”问题具有重要意义。

(2) 土壤呼吸区分问题。目前,土壤呼吸的区分并没有形成统一的方法和技术规范,特别是纯根呼吸和根际微生物呼吸的区分仍是一大难题。在现有的基础上进一步完善各种同位素方法并同非同位素方法结合起来将有助于这一问题的深入研究。

(3) 土壤呼吸的温度敏感性问题。许多大尺度碳循环模型中都涉及到土壤呼吸的温度敏感性问题,土壤呼吸速率对温度变化的敏感性是陆地生态系统碳循环过程中的一个重要问题,近年来很多研究表明 Q_{10} 不是一个常数而是一个变量,因此土壤呼吸的温度敏感性是未来的重要研究方向。

参考文献

[1] Scurlock J, Hall D. The global carbon sink: A grassland perspective. *Global Change Biology*, 1998,4(2):229-233.

[2] 于贵瑞,李海涛,王绍强. 全球变化与陆地生态系统碳循环和碳蓄积. 北京:气象出版社,2003,182-183.

[3] 陈世苹,白永飞,韩兴国. 稳定性碳同位素技术在生态学中的应用. *植物生态学报*, 2002,26(5):549-560.

[4] 赵志祥,格拉希维里,帕塔尔肯,等. 核素数据手册.3 版. 北京:原子能出版社,2004,6-7.

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

[6] De Camargo P, Trumbore S, Martinelli L, et al. Soil carbon dynamics in regrowing forest of eastern Amazonia. *Global Change Biology*, 1999,5(6):693-702.

[7] Del Galdo I, Six J, Peressliti 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. *Global Change Biology*, 2003,9(8):1204-1213.

[8] 武维华,张蜀秋,袁明,等. 植物生理学. 北京:科学出版

社,2003,150-161.

[9] Bernoux M, Cerri C C, Neil C, et al. The use of stable carbon isotopes for estimating soil organic matter turnover rates. *Geoderma*, 1998,82:43-58.

[10] Dzirec R S, Boutton T W, Caldwell M M, et al. Carbon isotope ratios of soil organic matter and their use in assessing community composition changes in Curlew Valley, Utah. *Oecologia*, 1985,66:17-24.

[11] Kingston J D, Marino B D, Hill A. Isotopic evidence for neogene hominid paleoenvironments in the Kenya Rift Valley. *Science*, 1984,264:955-959.

[12] 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. *生态学杂志*, 2002,21(2):58-60.

[13] Bashkin M A, Binkley D. Changes in soil carbon following afforestation in Hawaii. *Ecology*, 1998,79(3):828-833.

[14] Schwendenmann L, Pendall E. Effects of forest conversion into grassland on soil aggregate structure and carbon storage in Panama: evidence from soil carbon fractionation and stable isotopes. *Plant and Soil*, 2006,288(1):217-232.

[15] Flessa H, Ludwig B, Heil B, et al. The origin of soil organic C, dissolved organic C and respiration in a long-term maize experiment in Halle, Germany, determined by ^{13}C natural abundance. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2000,163(2):157-163.

[16] 王智平,陈全胜. 植物近期光合碳分配及转化. *植物生态学报*, 2005,29(5):845-850.

[17] Wang Z P, Li L H, Han X G, et al. Dynamics and allocation of recently photo-assimilated carbon in an Inner Mongolia temperate steppe. *Environmental and Experimental Botany*, 2007,59:1-10.

[18] Yevdokimov I, Ruser R, Buegger F, et al. Microbial immobilisation of ^{13}C rhizodeposits in rhizosphere and root-free soil under continuous ^{13}C labelling of oats. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006,38(6):1202-1211.

[19] Ostle N, Briones M J I, Ineson P, et al. Isotopic detection of recent photosynthate carbon flow into grassland rhizosphere fauna. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007,39(3):768-777.

[20] Stewart D P C, Metherell A K. Carbon (^{13}C) uptake and allocation in pasture plants following field pulse-labelling. *Plant and Soil*, 1999,210(1):61-73.

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

[22] Foereid B, Dawson L, Johnson D, et al. Fate of carbon in upland grassland subjected to liming using in situ $^{13}\text{CO}_2$ pulse-labelling. *Plant and Soil*, 2006,287(1):301-311.

[23] Pendall E, King JY. Soil organic matter dynamics in grassland soils under elevated CO_2 : Insights from long-term incubations and stable isotopes. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007,39(10):2628-2639.

- [24] 李玲, 肖和艾, 黄道友, 等. ^{14}C 示踪技术在土壤有机质周转研究中的应用. 生态学杂志, 2005,24(6):685-690.
- [25] 方精云, 王妮. 作为地下过程的土壤呼吸: 我们理解了多少? 植物生态学报, 2007,31(3):345-347.
- [26] 刘绍辉, 方精云, 清田信. 北京山地温带森林的土壤呼吸. 植物生态学报, 1998,22(2):119-126.
- [27] Oomes M J M, Kuikman P J, Jacobs F H H. Nitrogen availability and uptake by grassland in mesocosms at two water levels and two water qualities. Plant and Soil, 1997,192(2):249-259.
- [28] Kucera C, Kirkham D. Soil respiration studies in tallgrass prairie in Missouri. Ecology, 1971,52(5):912-915.
- [29] Singh J, Gupta S. Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems. The Botanical Review, 1977,43(4):449-528.
- [30] 常宗强, 史作民, 冯起, 等. 黑河流域山区牧坡草地土壤呼吸的时间变化及水热因子影响. 应用生态学报, 2005,16(9):1603-1606.
- [31] 陈全胜, 李凌浩, 韩兴国, 等. 水热条件对锡林河流域典型草原退化群落土壤呼吸的影响. 植物生态学报, 2003,27(2):202-209.
- [32] Andrews J A, Matamala R, Westover K M, et al. Temperature effects on the diversity of soil heterotrophs and the $\delta^{13}\text{C}$ of soil-respired CO_2 . Soil Biology and Biochemistry, 2000,32(5):699-706.
- [33] Dudziak A, Halas S. Diurnal cycle of carbon isotope ratio in soil CO_2 in various ecosystems. Plant and Soil, 1996,183(2):291-299.
- [34] 刘洪升, 刘华杰, 王智平, 等. 土壤呼吸的温度敏感性. 地理科学进展, 2008,27(4):51-60.
- [35] Bowling D R, McDowell N G, Bond B J, et al. ^{13}C content of ecosystem respiration is linked to precipitation and vapor pressure deficit. Oecologia, 2002,131(1):113-124.
- [36] Fessenden J E, Ehleringer J R. Temporal variation in $\delta^{13}\text{C}$ of ecosystem respiration in the Pacific Northwest: Links to moisture stress. Oecologia, 2003,136(1):129-136.
- [37] Wang Y, Amundson R, Niu XF. Seasonal and altitudinal variation in decomposition of soil organic matter inferred from radiocarbon measurements of soil CO_2 flux. Global Biogeochemical Cycles, 2000,14:199-211.
- [38] 孙伟, David W. 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. 湿地科学, 2008,6(2):271-277.
- [39] 崔玉亭, 卢进登. 集约高产农业生态系统有机物分解及土壤呼吸动态研究. 应用生态学报, 1997,8(1):59-64.
- [40] Cheng W X. Measurement of rhizosphere respiration and organic matter decomposition using natural ^{13}C . Plant and Soil, 1996,183(2):263-268.
- [41] Robinson D, Scrimgeour C M. The contribution of plant C to soil CO_2 measured using $\delta^{13}\text{C}$. Soil Biology and Biochemistry, 1995,27(12):1653-1656.
- [42] 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. Soil Science Society of America Journal, 1999,63(5):1207-1213.
- [43] Cerling T, Solomon D, Quade J, et al. On the isotopic composition of carbon in soil carbon dioxide. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1991,55(11):3403-3405.
- [44] 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. Biogeochemistry, 2000,48:115-146.
- [45] Gaudinski J B, Trumbore S E, Davidson E A, et al. Soil carbon cycling in a temperate forest: radiocarbon-based estimates of residence times, sequestration rates and partitioning of fluxes. Biogeochemistry, 2000,51(1):33-69.
- [46] S e A R B, Giesemann A, Anderson T-H, et al. Soil respiration under elevated CO_2 and its partitioning into recently assimilated and older carbon sources. Plant and Soil, 2004,262(1):85-94.
- [47] 崔向慧, 李昊, 卢琦, 等. 全球 FACE 实验的进展与展望. 世界林业研究, 2007,20(5):1-6.
- [48] Killham K, Yeomans C. Rhizosphere carbon flow measurement and implications: from isotopes to reporter genes. Plant and Soil, 2001,232(1):91-96.
- [49] Johansson G. Release of organic C from growing roots of meadow fescue (*Festuca pratensis* L.). Soil Biology and Biochemistry, 1992,24(5):427-433.
- [50] Cheng W, Coleman D, Carroll C, et al. In situ measurement of root respiration and soluble C concentrations in the rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry, 1993,25(9):1189-1196.
- [51] Swinnen J. Evaluation of the use of a model rhizodeposition technique to separate root and microbial respiration in soil. Plant and Soil, 1994,165(1):89-101.
- [52] Kuzyakov Y, Domanski G. Model for rhizodeposition and CO_2 efflux from planted soil and its validation by ^{14}C pulse labelling of ryegrass. Plant and Soil, 2002,239(1):87-102.
- [53] Yakov Kuzyakov, Siniakina S V. A novel method for separating root-derived organic compounds from root respiration in non-sterilized soils. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2001,164:511-517.
- [54] Kuzyakov Y. Sources of CO_2 efflux from soil and review of partitioning methods. Soil Biology and Biochemistry, 2006,38(3):425-448.
- [55] Kuzyakov Y, Bol R. Using natural ^{13}C abundances to differentiate between three CO_2 sources during incubation of a grassland soil amended with slurry and sugar. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2004,167(6):669-677.
- [56] Kuzyakov Y. Theoretical background for partitioning of root and rhizomicrobial respiration by $\delta^{13}\text{C}$ of microbial biomass. European Journal of Soil Biology, 2005,41(1-2):1-9.

[57] Werth M, Subbotina I, Kuzyakov Y. Three-source partitioning of CO₂ efflux from soil planted with maize by ¹³C natural abundance fails due to inactive microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006,38(9):2772–2781.

[58] Santruckova H, Bird M I, Lloyd J. Microbial processes and carbon-isotope fractionation in tropical and temperate grassland soils. *Functional Ecology*, 2000,14(1):108–114.

Application and Prospect of Carbon Isotope in the Study of Carbon Cycle in Grassland Ecosystem

LUO Guangqiang^{1,2}, GENG Yuanbo¹, YUAN Guofu¹

(1. Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, CAS, Beijing 100101, China;

2. Graduate University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

Abstract: Study of grassland ecosystem is essential for understanding the allocation of global carbon pool and the global carbon cycle. In this paper, we reviewed briefly the main applications of carbon isotopes in grassland ecosystem in the following aspects: the sources of grassland soil organic carbon, the allocation of photosynthesized carbon in grassland, the turnover of soil organic matter and the study of soil respiration. The focus is on the application of carbon isotopes in the study of soil respiration. Soil respiration is a main way of carbon dioxide flux from soil to atmosphere, so its separation will contribute to the understanding of soil carbon cycle and carbon balance under the condition of global change. Several methods for separating soil respiration by the application of carbon isotopes have been reviewed including: ① ¹³C natural abundance method, ② pulse labeling methods, ③ the isotope dilution method, ④ the model rhizodeposition technique, ⑤ modeling of ¹⁴CO₂ efflux dynamics, ⑥ the exudate elution procedure and ⑦ the difference method between root-derived ¹⁴CO₂ and rhizomicrobial ¹⁴CO₂. There is no standard method and criterion for the separation of soil respiration until now. The temperature sensitivity of soil respiration is important for understanding terrestrial carbon cycling. Many studies recently showed that Q₁₀ is a variable related to temperature, moisture and some other factors. Because most of the large-scale carbon cycle models are based on the temperature sensitivity, the accurate determination of Q₁₀ value is essential in estimating carbon efflux in terrestrial ecosystems and predicting future climate change. Carbon isotope techniques involved less disturbance to the soil-plant system than other methods and had great potential in the study of carbon cycle of grassland ecosystem.

Key words: carbon isotope; grassland ecosystem; carbon cycle; soil respiration