

贵州山区土壤微生物生物量的碳同位素组成与有机碳同位素效应*

朴河春^① 朱建明^① 余登利^② 冉景丞^②

(^① 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002;

^② 贵州茂兰国家级喀斯特森林保护区管理处, 荔波 558400)

摘要 选择贵州岩溶区 3 个不同海拔高度上的旱地作为实验点, 进行了绿肥(紫花光叶苕, C₃ 豆科植物)的输入实验, 目的是了解通过输入绿肥之后土壤微生物生物量碳(SMBC)的响应, 以及微生物生物量中碳同位素比值的变化, 来判断植物分解作用期间有机碳的同位素效应, 即微生物分解对¹³C 的分馏作用和微生物对有机质的选择性利用。实验结果表明, 在实验地里加入绿肥之后, 年平均气温较高的实验地的 SMBC 响应较快, 并且其值高于其余两个年平均气温较低实验地, 说明 SMBC 主要来源于植物残留物, 其值的大小受控于气温。在加入绿肥之后, 并未在各自的实验地和对照地之间出现 $\delta^{13}\text{C}$ 值的差异, 而是在植物残留物的分解达到一定程度后实验地的 $\delta^{13}\text{C}$ 值才高于对照地, 但在年平均气温较低实验点上始终未出现这种差异, 说明植物残留物的分解程度和质量将影响 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 这种现象也进一步说明土壤有机碳的同位素效应是微生物对¹³C 的分馏和对有机质的选择性利用并存的过程。3 个实验点上的土壤有机碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值大小的顺序与 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值大小的顺序相一致, 表明 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值能够反映相应样品中的土壤有机质 $\delta^{13}\text{C}$ 值的总的变化趋势, 并可能是控制土壤有机质的 $\delta^{13}\text{C}$ 值大小的主要的影响因素。

关键词 土壤微生物生物量碳 土壤有机碳 碳同位素效应 分馏作用 有机质的选择性利用

1 引言

稳定碳同位素技术已广泛应用于古气候环境的研究^[1,2]以及生理生态学的研究^[3]。在广泛的意义上讲, 土壤以及沉积物的有机碳的同位素组成反映了局部植被的同位素组成。然而, 因植物根系的生长过程、生物扰动以及微生物对地层中有机质的再作用, 会严重干扰同位素的气候环境信号^[4]。土壤有机碳(SOC)和土壤微生物生物量碳(SMBC)以及土壤释放的 CO₂ 的¹³C 丰度已被用来研究土壤有机质(SOM)的转换^[5], 但是人们现在对影响 SOM 和 SMBC 以及 CO₂ 中¹³C 自然丰度的因素的了解是有限的^[6]。人们还利用土壤呼吸产生的 CO₂ 的碳同位素信号来研究碳的各种来源。在 P. Ciais 等^[7]的模型中, CO₂ 的 $\delta^{13}\text{C}$

第一作者简介: 朴河春 男 62 岁 研究员 环境地质地球化学专业 E-mail: piaohc@public.gz.cn

* 国家自然科学基金项目(批准号: 40072100)和中国科学院知识创新工程项目(批准号: KZCX2-105)资助

2003-04-23 收稿, 2003-06-08 收修改稿

值的微小差异已用于大气 CO₂ 的全球源汇的探索。然而,这些努力遇到了一些麻烦。微生物在分解有机质期间对¹³C 有大的分馏作用^[8],这将严重影响对数据的解释。但也有不同的意见。加入 C₃-葡萄糖之后的培育实验表明,尽管呼吸作用增加了两倍,但并没有出现由呼吸作用产生的 CO₂ 的同位素漂移现象,说明在微生物呼吸作用期间¹³C 的分馏作用应当是很小的^[9]。这样,主要的争论焦点集中在有机质分解作用期间是否存在碳同位素的分馏作用。

在陆地生态系统中,地表上 > 90 % 净初级生产力以残留物形式返回到地面,并构成土壤 SOM 的主要来源^[10],而 SMBC 仅占 SOM 的很小部分(1%~3%)^[11]。当一个碳库转变成另一碳库时,所有植物残留物碳都要通过 SMBC 至少一次。土壤有机碳被土壤微生物生物量氧化作用所派生的能量是 SOM 转换的起动力。植物残留物分解过程中所观察到的 SOC 和 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值波动的原因之一可能是同位素效应^[12]。

本文拟通过从贵州不同海拔高度的土壤中加入绿肥的野外实验,分别对其在不同季节里的 SMBC 含量和 $\delta^{13}\text{C}$ 值进行测定和研究,了解在植物残留物分解作用期间 SMBC 含量和 $\delta^{13}\text{C}$ 值随时间的变化趋势,探讨植物残留物在分解作用期间对碳同位素组成变化的影响因素。

2 材料与方法

2.1 实验地点和样品采集

在贵州省内选择了 3 个位于不同海拔高度(八开、金竹和小海)山坡的梯田作为采样点。在实验期间作为休闲地,定期拔掉杂草。采样点的基本情况列于表 1。实验用绿肥为紫花光叶苕(*Vicia villosa* var.),是 C₃ 豆科植物。每块实验地分成两部分,其中一块的面积约为 100 m²,把绿肥切成约 5cm 的小块(5 kg 新鲜重/m²),埋入地表 5 cm 以下,埋入的时间分别为:八开为 2001 年 4 月 12 日,金竹为 2001 年 4 月 9 日,小海为 2001 年 4 月 6 日。另一块面积约为 100 m² 的是对照地。每次采样,分别在每块梯田的实验地和对照地上采集 3 份表层土壤(直径 5 cm,深度 10 cm)样品,混合拌匀,并拣出植物根系和岩屑,尽快在实验室对保持原来水份状态下的土壤样品进行微生物生物量碳和可溶性有机碳的测定。在每块实验地和对照地上都采集了土壤样品和植物样品。土壤样品风干后研细至 100 目,植物样品洗净后风干并磨碎,供测定。

表 1 贵州省西南部 3 个采样点的基本情况^[13]

Table 1 The description of three experiment sites in Guizhou Province of southwest China

地点 县(市),镇	土壤类型	海拔 /m	年平均气温 /°C	降雨量 /mm	水的 pH 值	有机碳 /%	总 N /%	SOC 的 $\delta^{13}\text{C}$ /‰
威宁,小海	黄棕壤	2 210	10.4	1 028	6.59	2.15	0.24	-23.9
贵阳,金竹	黄壤	1 140	14.3	1 122	7.24	1.70	0.17	-22.5
榕江,八开	黄红壤	280	18.1	1 200	6.13	1.35	0.23	-24.0

2.2 化学分析

研细的土壤样品,用 0.1 mol/L 的 HCl 去除其碳酸盐后,用蒸馏水洗掉残留在土壤样品中的 HCl,在 60℃ 下烘干并研磨。SMBC 的测定用氯仿-烟熏萃取技术^[14]。称取 25g 土壤样品,在 25℃ 和真空条件下用不含酒精的氯仿烟熏 24 小时后,抽去土壤中留下的氯仿,再用 100 ml 的 0.5 mol/L 的 K₂SO₄ 溶液萃取 1 小时。未烟熏过的对照样品用同样的方法萃取。萃取液中的有机碳用重铬酸钾氧化法测定,最后用 Voroney 法^[14] 计算出 SMBC 的含量。剩余的萃取液在 60℃ 下烘干。称取一定数量的蒸干的 K₂SO₄ 萃取物 (2 mg 的碳) 与 CuO(1:50) 置于玻璃管中。在真空条件和 550℃ 温度下燃烧 12 小时 (SOC 用石英管,并在 850℃ 温度下燃烧 2 小时),在玻璃燃烧管中所产生的 CO₂ 气体经纯化后收集在可破碎的熔封管中。在 MAT252 型质谱仪上测定稳定碳同位素比值。SMBC 的 δ¹³C 值用下列公式来计算:

$$\delta^{13}C_{SMBC} = (\delta^{13}C_{FUM} \times C_{FUM} - \delta^{13}C_{CONT} \times C_{CONT}) / (C_{FUM} - C_{CONT}) \quad (1)$$

式中 C_{FUM} 和 C_{CONT} —— 分别为从烟熏和未烟熏样品中萃取的碳的浓度

δ¹³C_{FUM} 和 δ¹³C_{CONT} —— 分别代表了烟熏和未烟熏样品的萃取物中的¹³C 的组成,其测量的平均值在 5% 的概率下用线性回归和 t 检验来确定显著性差异

粒度分析采用过筛和重量沉降法相结合的方法进行,C 和 N 的含量用元素分析仪测定。

3 结果

3.1 土壤性质

3 个实验点的土壤,因海拔高度相差大而具有截然不同的性质,其土壤有机碳的含量随海拔高度的上升而增加(见表 1),位于海拔较高的小海实验点土壤的有机碳含量高于其他两个实验点的土壤。土壤有机碳的 δ¹³C 值并无随海拔高度的变化而变化的规律:小海为 -23.9‰;金竹为 -22.5‰;八开为 -24.0‰(见表 1)。实验用绿肥的 δ¹³C 值随海拔高度的上升而增加:小海的为 -27.5‰;金竹的为 -27.8‰;八开的为 -30.4‰,这与在 3 个实验点上生长的 C₃ 作物和一些杂草的 δ¹³C 值的趋势相一致(表 2)。显然,在低海拔的八开土壤上生长的 C₃ 作物和杂草的 δ¹³C 值均低于海拔最高的小海,与土壤的 δ¹³C 值的趋势相一致。但是,中等海拔的金竹土壤的 δ¹³C 值与 C₃ 作物和杂草的 δ¹³C 值的趋势不大一致,这可能与 C₄ 作物玉米的残留物的输入量不同有关。因为金竹的玉米产量要高于其他两个地区,输入到土壤中的 C₄ 作物残留物的数量要高于小海的土壤,于是金竹土壤有机碳的 δ¹³C 值要高于小海,这样土壤有机碳的 δ¹³C 值大小的顺序为金竹 > 小海 > 八开(见表 1)。土壤粒度的一些参数见表 3 中:随着粒径的减少,总的来说碳的含量有下降趋势,而在粗粉沙中最高,δ¹³C 值在增加;小海土壤的粘土含量最低,金竹的最高。

表 2 3 个实验点上生长的绿肥、作物和杂草的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(‰)Table 2 The $\delta^{13}\text{C}$ values of some crop and weeds growing on experimental sites

地点	绿肥	玉米	杂草	土豆	红薯	油菜	白菜	萝卜
小海	-27.5	-11.4	-26.3	-27.0				
金竹	-27.8	-11.4	-28.9		-27.4			
八开	-30.4	-11.4				-30.4	-30.8	-30.6

表 3 土壤分级样品的粒度分布及其有机碳含量和 $\delta^{13}\text{C}$ 值Table 3 Organic carbon concentrations and $\delta^{13}\text{C}$ values in soil size-fractions

地点		土壤分级				
		200 ~ 2 000 μm	50 ~ 200 μm	20 ~ 50 μm	2 ~ 20 μm	< 2 μm
小海	C/%	2.4	7.8	2.4	3.0	2.1
	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$	-24.1	-23.6	-23.7	-24.2	-23.2
	粒级/%	45.8	13.4	12.1	0.7	28.0
金竹	C/%	5.8	10.0	1.5	1.3	1.0
	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$	-23.7	-23.0	-22.4	-22.4	-21.9
	粒级/%	3.7	3.2	29.6	2.4	61.0
八开	C/%	1.6	2.2	1.0	1.1	1.6
	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$	-24.7	-25.2	-23.9	-23.0	-22.7
	粒级/%	6.5	7.2	41.0	3.5	41.9

3.2 实验地和对照地 SMBC 含量的差异

3 个实验点的对照地的 SMBC 和水分含量并无统一的规律(表 4)。除了金竹点之外,其余两个点并无密切关系,但在整体上 SMBC 的浓度随水分含量的增加而增大($r = 0.412$, $P < 0.01$, $n = 38$)。

表 4 土壤微生物生物量碳(SMBC)与水份含量的关系(平均值)*

Table 4 The relationships between soil microbial biomass carbon (SMBC) and soil moisture

	小海 n = 11	金竹 n = 14	八开 n = 13
SMBC 含量平均值(标准偏差)/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	180.9(46.3)	400.2(52.7)	430.8(56.4)
水份含量平均值(标准偏差)/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	27.08(4.14)	27.22(3.36)	33.30(3.43)
相关性	$r = 0.593$	$r = 0.343$	$r = -0.261$
t-检验	$P < 0.25$	$P < 0.05$	$P < 0.50$

* n 为采样次数; r 为相关系数; P 为显著性水平, 规定置信度为 95% 的最小显著差数。表 5 同

从表 4 可以看出, SMBC 的含量平均值在八开最高, 其次为金竹, 小海最低, 这与土壤有机碳含量的高低正好相反(见表 1)。3 个实验点的实验地和相应的对照地的 SMBC 的含量随季节的变化(图 1)表明, 在实验地加入绿肥之后, SMBC 含量的响应情况不大相同: 年平均气温较高的八开实验点, 响应较快(见图 1), 其值在实验地与对照地之间差异

的最大值出现在 2001 年 5 月 28 日,加入绿肥之后相隔 47 天;金竹为 5 月 30 日,相隔 51 天;年平均气温较低的小海为 7 月 12 日,相隔 96 天。一年实验期间数据的统计结果表明,每个实验点的实验地与对照地的 SMBC 的含量平均值在统计学上并无显著的差异(表 5),说明 5 kg/m² 的绿肥的加入并不明显影响全年的 SMBC 含量值。但是在实验地里加入绿肥之后,在该含量值出现最大差异的时间前后 3 个采样点的实验数据的统计结果(见表 5)表明,SMBC 的含量除年平均气温较低的小海仍无显著的差异外,其余两个实验点均有显著的差异,说明气温高有利于植物残留物的分解,从而对 SMBC 含量的增高起关键作用。

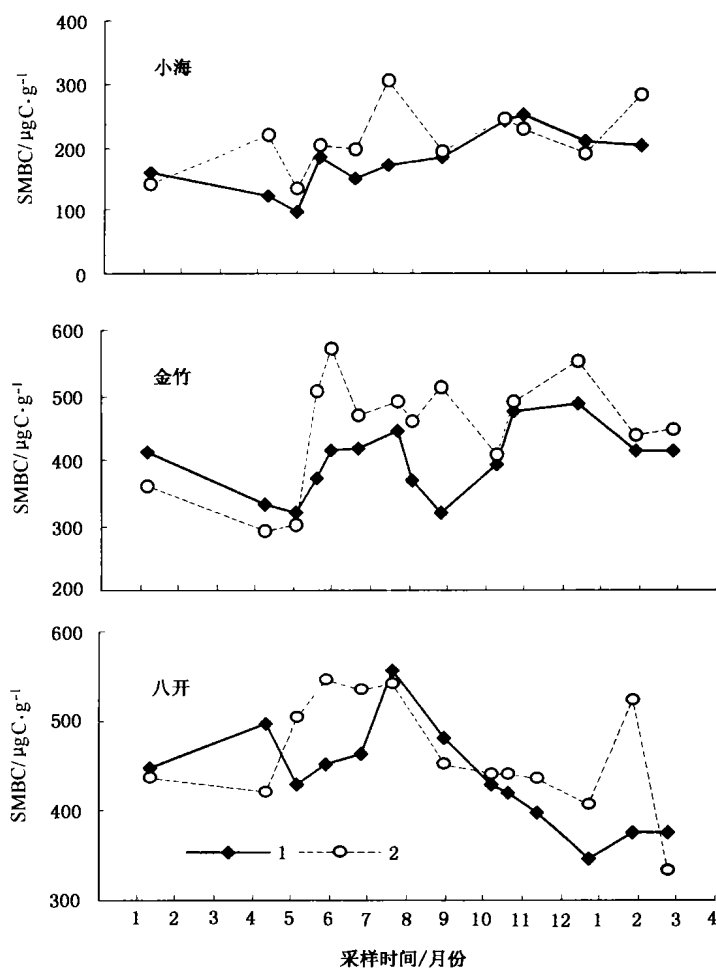


图 1 2001 年 1 月~ 2002 年 2 月 3 个实验点实验地和对照地的土壤微生物生物量碳 (SMBC) 含量随采样时间的变化
1. 对照地 2. 实验地

Fig.1 The changes of soil microbial biomass carbon (SMBC) concentrations in treatment with green-manure and control plots during experiment from January in 2001 to February in 2002

表 5 整个实验期间(2001 年 1 月 5 日至 2002 年 2 月 25 日)和加入绿肥之后出现 SMBC 含量高峰的 3 个时间段的 SMBC 的含量平均值($\mu\text{g/g}$)

Table 5 The average SMBC concentrations during whole experiment period (from 5 January in 2001 to 25 February in 2002), and that at the three times when SMBC reaches high concentration after adding of green-manure

	实验期间			加入绿肥后		
	小海 n = 11	金竹 n = 14	八开 n = 13	小海 n* = 3	金竹 n** = 3	八开 n*** = 3
实验地(标准偏差)	213.7(52.1)	451.3(85.1)	462.8(62.9)	233.1(51.5)	516.5(43.1)	528.3(18.6)
对照地(标准偏差)	180.9(46.3)	400.2(52.7)	436.8(56.5)	170.1(13.5)	401.8(20.6)	448.4(14.0)
t - 检验	P < 0.2	P < 0.10	P < 0.50	P < 0.20	P < 0.05	P < 0.01

* 2001 年 6 月 15 日, 7 月 12 日和 8 月 24 日采样

** 2001 年 5 月 19 日, 5 月 30 日和 6 月 20 日采样

*** 2001 年 5 月 5 日, 5 月 28 日和 6 月 25 日采样

3.3 实验地和对照地 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值差异

无论是整个实验的统计结果(表 6), 还是每个实验地加入绿肥之后出现 SMBC 含量最大差异的时间前后共 3 个采样点的实验数据的统计结果(表 7), 都表明其 $\delta^{13}\text{C}$ 值在实验地和对照地之间没有显著的波动。但是在年平均气温较高的八开和金竹两地, 绿肥分解达到一定程度之后实验地的 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值显著高于对照地(见表 7)。每个实验地加入绿肥之后, 虽然在金竹和八开实验地的 SMBC 含量有显著的反应, 但其微生物生物量中碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值并无显著的反应(图 2)。3 个实验点微生物生物量中碳的平均 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 无论在

表 6 实验期间(2001 年 1 月 5 日至 2002 年 2 月 25 日) SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(平均值/‰)

Table 6 The average $\delta^{13}\text{C}$ values of SMBC during experiment (from 5 January in 2001 to 25 February in 2002)

地点	小海/‰	金竹/‰	八开/‰
对照地(标准偏差)	-23.1 (0.5)	-22.8 (0.5)	-24.0 (0.4)
实验地(标准偏差)	-23.0 (0.5)	-22.5 (0.5)	-23.9 (0.4)
t - 检验	P < 0.50	P < 0.20	P < 0.20

表 7 加入绿肥之后出现 SMBC 浓度高峰的 3 个时间段, 以及随后出现的 3 个时间段 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(平均值/‰)的分别统计结果

Table 7 The average $\delta^{13}\text{C}$ of SMBC on the three sampling date when SMBC reaches high concentrations and on the following three sampling date

	加入绿肥的 3 个时间			随后出现的 3 个时间		
	小海	金竹	八开	小海	金竹	八开
时间/月·日	6·15, 7·12, 8·24	5·19, 5·30, 6·20	5·5, 5·28, 6·25	10·12, 10·28, 12·15	7·21, 8·2, 8·26	7·19, 8·29, 10·16
对照地 (标准偏差)	-22.7(0.3)	-22.6(0.2)	-24.4(0.4)	-23.0(0.6)	-23.7 (0.1)	-24.2(0.2)
实验地 (标准偏差)	-22.9(0.3)	-22.5(0.2)	-24.3(0.3)	-22.5(0.2)	-22.3(0.2)	-23.7(0.1)
t - 检验	P < 0.50	P < 0.50	P < 0.50	P < 0.50	P < 0.05	P < 0.05

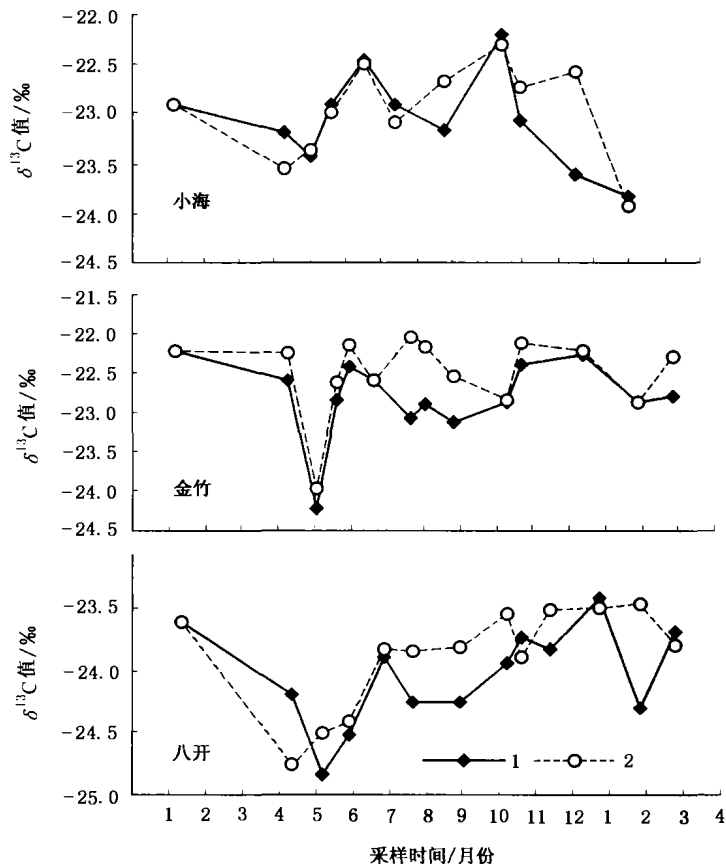


图2 2001年1月~2002年2月3个实验点的实验地和对照地的土壤微生物生物量碳(SMBC)的 $\delta^{13}\text{C}$ 值随采样时间的变化
1. 对照地 2. 实验地

Fig. 2 The changes of $\delta^{13}\text{C}$ values of soil microbial biomass carbon (SMBC) in treatment with green-manure and control plots during experiment from January in 2001 to February in 2002

实验地还是对照地,其值大小的顺序均为金竹>小海>八开(见表6),这与土壤有机碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值大小(见表1)的顺序一致。

4 讨论

SMBC含量随海拔高度的升高而降低(见图1),与土壤有机碳含量随海拔高度的升高而增加(见表1)的变化规律相反。我们在不同海拔高度的实验地里加入等量的绿肥后发现年平均气温较高的八开,其SMBC响应较快,其次为中等年平均气温的金竹,位于高海拔的小海的响应最慢,这显然与气温密切相关,这与我们较前的结果相一致^[15]。微生物生物量所占的比例在热带土壤高于温带土壤,因此,有机质的转换速度在热带土壤中较快。与温带草地土壤相比,热带草地土壤中的有机质含量的变化将会更迅速地响应碳输

入速度的变化^[16]。虽然在统计学上无显著的差异,但加入绿肥后实验地的 SMBC 在实验期间的(2001 年 1 月~2002 年 2 月)平均值要高于对照地(见图 1 和表 5),说明该值受植物碳输入的影响。

此外,影响 SMBC 含量的因素还有土壤水分含量^[17]。但在本次实验里,其影响程度并不明显(见表 4),这可能与每一个点采样时土壤的水分含量的波动较小有关。另一可能的影响因素是土壤质地,但我们的实验结果(见表 3)表明土壤质地并不影响 SMBC 含量。

3 个实验点 SOC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值大小的顺序(见表 1)与其 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值大小的顺序(见表 6)相一致,表明 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值能够反映相应样品中的 SOC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的总的变化趋势,这与别人的研究结果相一致,即 SOC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值之间存在很强的相关性($r=0.959, n=21, P<0.001$)^[16]。在 3 个实验地里所输入的绿肥的 $\delta^{13}\text{C}$ 值分别与各点上的作物和杂草的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(见表 2)比较接近,因此实验地和对照地的差异在于绿肥的输入量。根据质量平衡原理,如果微生物的降解作用是对¹³C 的分馏作用,或选择性利用所造成的话,实验地加入绿肥之后,与其对照地相比,不管其是否出现 SMBC 含量的响应,实验地和对照地的 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的变化趋势应当是一致的。然而,实验结果表明,实验地和对照地 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的显著差异出现在年平均气温较高的八开和金竹两地,是在绿肥输入 3 个多月时间(见图 2 和表 7),表明 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的波动受植物残留物的分解程度和质量的影响。

用 C_3 -葡萄糖(-23.4‰)和 C_4 -蔗糖(-10.8‰)以及用¹³C 来标记的葡萄糖(103.7‰)的培育实验表明,呼吸产生的 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,在有 C_3 -葡萄糖时其 $\delta^{13}\text{C}$ 值没有什么变化,在有 C_4 -蔗糖时其 $\delta^{13}\text{C}$ 值增加 4.5‰,而在有用¹³C 来标记的葡萄糖时其 $\delta^{13}\text{C}$ 值增加 30.3‰,证明了呼吸作用期间微生物对¹³C 的分馏作用是很小的^[9]。SMBC 组成的多样性以及微生物以不同的速度利用各种化学组分的事实说明,植物材料、SOC 和 SMBC 之间的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的差异,有可能大于由很多异养生物所建立的 1‰~2‰^[18]。如果微生物降解作用同位素效应是由选择性利用所诱导的话,那么所消耗的有机碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值应等于微生物生物量和呼吸产生的 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,如果在新陈代谢期间对¹³C 的分馏作用主导的话,所消耗的有机碳的 $\delta^{13}\text{C}$ 值应小于微生物生物量的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,而大于呼吸产生的 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值^[16]。在新陈代谢过程中,分解代谢反应所选择的是具有较小 $\delta^{13}\text{C}$ 值的分子,而具有较大 $\delta^{13}\text{C}$ 值的分子则被包含在生物量的产物中^[19]。

在微生物选择性利用方面也有不同观点。被微生物生物量所消耗的有机碳,大多数情况下,相对于 SOC 来说富含¹³C,说明富含¹³C 的化合物优先地被 SMBC 所利用。如此的选择性利用,在植物残留物的分解作用期间,¹³C 会比¹²C 丢失得更快^[20]。比如,随着植物残留物分解作用的加强而木质素的含量相对增加,木质素的 $\delta^{13}\text{C}$ 值相对于非木质素低得多^[21],然而,随着土壤有机质分解作用的加强,SOC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在增大,这种现象长期困扰着学者,为此提出许多假设,最近出现的引人注目的假设是 SOM 的很大部分来自于微生物生物量的化合物,随着时间的推移这种化合物越来越多,形成难分解的化合物,其结果是 SOM 中¹³C 的富集^[22]。我们的实验结果支持这种观点,也就是说 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值是控制 SOC $\delta^{13}\text{C}$ 值的关键因素之一。能够解释上述现象的另外依据为:新陈代谢的同位素分

馏作用取决于土壤微生物群落所处生长阶段的不同,在培育实验的初期阶段,当微生物正在生长及微生物活性较高时,SMBC 富含 ^{13}C ,说明富含 ^{13}C 的蛋白质的物质的形成。然而,随着培育实验的进行,SMBC 响应和呼吸作用速度降低,与培育实验初期相反,SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在减少^[16]。

微生物新陈代谢期间存在明显的对 ^{13}C 的分馏作用的不同响应的证据是,SOC 和土壤 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值之间的差异从 -3.2% 至 $+2.1\%$ 之间变化,这种大范围的 $\delta^{13}\text{C}$ 值波动与平常所持有的观点,即土壤微生物的异养新陈代谢仅伴随小的分馏作用,SOC 的同位素组成等于植物输入的同位素,很难吻合。相对于微生物所消耗的材料来说,SMBC 是 ^{13}C 的富集体,说明在新的生物量的生物合成期间存在着同位素的分馏作用。在微生物新陈代谢期间对 ^{13}C 的分馏作用显著的主要依据为,相对于基质来说,呼吸产生的 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值通常偏负^[8,19],这就说明新陈代谢的产物 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值要偏正。我们在 SMBC 响应较快的金竹和八开两个实验地的响应高潮过后,分别从 7 月 21 日(金竹)和 7 月 19 日(八开)开始(见图 2)进行了持续观测,并进行了持续的 3 个测定点的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的统计(见表 7),结果表明,虽然这段时间里 SMBC 含量无显著的差异,但实验地的 $\delta^{13}\text{C}$ 值要明显高于对照地。然而,所出现的差异表明,可能伴随着对 ^{13}C 的分馏作用,这种现象也支持了某些学者的观点^[8,19]。

土壤中植物残留物的质量(其反映指标较多,其中主要的是 C/N 比值)通过微生物的响应来控制分解作用和矿化作用^[23],碳的可利用性决定土壤微生物生物量的生长,反过来,这些生物量控制矿物氮的释放和固定作用^[24](immobilization)。大量的可利用的碳的存在^[25]以及低温^[26]都将有利于氮的固定,这可能是位于较高海拔且年平均气温较低的小海实验地和对照地的 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值无差异(见表 7)的主要原因。而在年平均气温较高的八开和金竹,由于实验初期在绿肥中所含有的高含量的氮(本文未列出数据)可能处于氮的固定阶段,SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在实验地和对照地之间显示无差异(见表 7 和图 2)。随着绿肥的分解作用的加强有利于氮的矿化作用,而矿化作用产生的 NO_3^- 对 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值产生重要影响。当微生物在甘氨酸和 NO_3^- 上生长时,其细胞的 $\delta^{13}\text{C}$ 值比其原始材料重 6% 到 9% ^[18]。这可能是绿肥输入实验持续一段时间之后在实验地的 SMBC 的 $\delta^{13}\text{C}$ 比其对照地显著增加(见表 7)的主要原因。

总的来说,在土壤微生物的降解作用过程中同位素效应是重要的,是在新陈代谢过程中微生物对 ^{13}C 的分馏作用和 SOC 的选择性使用所引起的,是一个混合的同位素效应。然而,在有机质分解过程中微生物选择性地吸收富含 ^{13}C 的化合物可能是主要的。

参 考 文 献

- 1 林本海,安芷生,刘荣谟.最近 60 万年中国黄土高原季风变迁的稳定同位素证据.见:刘东生主编.黄土·第四纪地质·全球变化(第三集).北京:科学出版社,1991.51~54
- 2 韩家麒,姜文英,刘东生等.黄土碳酸盐中古气候变化的同位素记录.中国科学(D辑),1996,26(5):399~404
- 3 苏波,韩兴国,李凌浩等.中国东北样带草原区植物 $\delta^{13}\text{C}$ 值及水分利用效率对环境梯度的响应.植物生态学报,2000,24(6):648~655
- 4 陈铁梅.第四纪测年的进展与问题.第四纪研究,1995,(2):182~191
- 5 朴河春,刘启明,余登利等.用天然 ^{13}C 丰度法评估贵州茂兰喀斯特森林区玉米地土壤中有机碳的来源.生态学报,2001,21(3):433~439

- 6 Buchmann N, Brooks J R, Flanagan L B *et al.* Carbon isotope discrimination of terrestrial ecosystems. In: Griffiths H ed. *Stable Isotopes, Integration of Biological, Ecological and Geochemical Processes*. Oxford: BIOS Scientific Publishers Ltd., 1998. 203 ~ 222
- 7 Ciais P, Tans P P, Trolier M *et al.* A large northern hemisphere terrestrial CO₂ sink indicated by the ¹³C/¹²C ratio of atmospheric CO₂. *Science*, 1995, **269**: 1 098 ~ 1 102
- 8 Mary B, Mariotti A, Morel J L. Use of ¹³C variations at natural abundance for studying the biodegradation of root mucilage, roots and glucose in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 1992, **24**: 1 065 ~ 1 072
- 9 Ekblad A, Nyberg G, Högberg P. ¹³C-discrimination during microbial respiration of added C₃-, C₄- and ¹³C-labelled sugars to a C₃-forest soil. *Oecologia*, 2002, **131**: 245 ~ 249
- 10 Swift M J, Heal O W, Anderson J M. *Decomposition in Terrestrial Ecosystems*. Oxford: Blackwell Scientific, 1979. 1 ~ 20
- 11 Piao H C, Hong Y T, Yuan Z Y. Seasonal changes of microbial biomass carbon related to climatic factors in soils from karst areas of southwest China. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, **30**: 294 ~ 297
- 12 Ågren G J, Bosatta E, Balesdent J. Isotope discrimination during decomposition of organic carbon: A theoretical analysis. *Soil Science Society of America Journal*, 1996, **60**: 1 121 ~ 1 126
- 13 朴河春, 洪业汤, 袁芷云. 贵州山区土壤中微生物生物量是能源物质碳流动的源与汇. *生态学杂志*, 2001, **20**(1): 33 ~ 37
- 14 Voroney R P, Winter J P, Beyaert R P. Soil microbial biomass C and N. In: Carter M R ed. *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Lewis, Boca Raton, FL: Canadian Society of Scientists, 1993. 277 ~ 286
- 15 Piao H C, Liu G S, Wu Y Y *et al.* Relationships of soil microbial biomass carbon and organic carbon with environmental parameters in mountainous soils of southwest China. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, **33**: 347 ~ 350
- 16 Šantrůčková H, Bird M I, Lloyd J. Microbial processes and carbon-isotope fractionation in tropical and temperate grassland soils. *Functional Ecology*, 2000, **14**: 108 ~ 114
- 17 Piao H C, Wu Y Y, Hong Y T *et al.* Soil-released carbon dioxide from microbial biomass carbon in the cultivated soils of karst areas of southwest China. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, **31**: 422 ~ 426
- 18 Hullar M A J, Fry B, Peterson B J *et al.* Microbial utilization of etuarine dissolved organic carbon: A stable isotope tracer approach tested by mass balance. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, **62**: 2 489 ~ 2 493
- 19 Blair N, Leu A, Munoz E *et al.* Carbon isotope fractionation in heterotrophic microbial metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 1985, **50**: 996 ~ 1 001
- 20 Benner R, Fogel M L, Sprague E K *et al.* Depletion of ¹³C in lignin and its implications for stable isotope studies. *Nature*, 1987, **329**: 708 ~ 710
- 21 Wedin D A, Tieszen L L, Dewey B *et al.* Carbon isotope dynamics during grass decomposition and soil organic matter formation. *Ecology*, 1995, **76**: 1 383 ~ 1 392
- 22 Henn M R, Chapela I H. Differential C isotope discrimination by fungi during decomposition of C₃- and C₄-derived sucrose. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**: 4 180 ~ 4 186
- 23 Bending G D, Turner M K, Burns I G. Fate of nitrogen from crop residues as affected by biochemical quality and the microbial biomass. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, **30**: 2 055 ~ 2 065
- 24 van Veen J A, Ladd J N, Frissel M J. Modelling C and N turnover through the microbial biomass in soil. *Plant and Soil*, 1984, **76**: 257 ~ 274
- 25 Aber J D. Nitrogen cycling and nitrogen saturation in temperate forest ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution*, 1992, **7**: 220 ~ 223
- 26 Andersen M K, Jensen L S. Low temperature effects on short-term gross N mineralization-immobilisation turnover after incorporation of a green manure. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, **33**: 511 ~ 521

CARBON ISOTOPE COMPOSITION IN SOIL MICROBIAL BIOMASS AND ORGANIC CARBON ISOTOPE EFFECT

Piao Hechun^① Zhu Jianming^① Yu Dengli^② Ran Jingcheng^②

(^① State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002; ^② The Management of Maolan National Nature Reserve in Guizhou, Libo 558400)

Abstract

We tested whether the shift in isotopic composition of plant litter during microbial decomposition can be induced by isotope effect: microbial against ^{13}C -discrimination or selective utilization of organic compounds. The decomposition experiment with green manure was conducted in three soils, located different elevation in southwest China, which lasted from 5 January in 2001 to 25 February, 2002. The concentrations and $\delta^{13}\text{C}$ values of soil microbial biomass carbon (SMBC) were measured in both control and treatment plots with green manure (*Vicia villosa* var.). The objective of this study was to investigate the factors affecting on the shift of carbon isotope composition in microbial biomass during decomposition. The manure-induced increase in SMBC was higher and emerged earlier in the low elevation with high average annual temperature than that in high elevation, indicating that SMBC came mainly from plant litter and controlled by air temperature during decomposition. Because the $\delta^{13}\text{C}$ value of green-manure and that of crop and weeds were similar at each experiment site, the difference between treatment and control plots was only quantity and quality of plant litter incorporated into soils. By mass balance, if the shift of carbon isotope composition in microbial biomass only induced by microbial ^{13}C -discrimination, or only by selective utilization of organic compounds, the $\delta^{13}\text{C}$ values of SMBC in the treated and control plots at each experiment site would be equal. The experimental results showed that there were no differences of $\delta^{13}\text{C}$ values of SMBC between treated and control plots when corresponding increasing of carbon concentrations in microbial biomass. However, those differences occurred following sampling date at both Xiaohai and Bakai sites with relatively higher annual average temperature, and the $\delta^{13}\text{C}$ value of SMBC in treated plot was higher than that in control plot, indicating that the degree of microbial decomposition and quality of plant litter will effect on the shift of $\delta^{13}\text{C}$ value of SMBC, and that isotope effect of microbial decomposition was complex, selective utilization of organic compounds was accompanied by microbial ^{13}C -discrimination. The sequence of magnitude of $\delta^{13}\text{C}$ value of SMBC was consistent with that of soil organic carbon (SOC) among three experiment sites, indicating that the $\delta^{13}\text{C}$ value of SMBC reflects gross changes in the $\delta^{13}\text{C}$ value of SOC in the corresponding samples, and may be the main factor to control magnitude of the $\delta^{13}\text{C}$ values of SOC.

Key words soil microbial biomass carbon (SMBC), soil organic carbon (SOC), carbon isotope effect, fractionation, selective utilization of organic compound