(19) 国家知识产权局



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 115656467 A (43) 申请公布日 2023. 01. 31

- (21)申请号 202211106006.8
- (22)申请日 2022.09.09
- (71) 申请人 中国科学院地球化学研究所 地址 550081 贵州省贵阳市观山湖区林城 西路99号
- (72) 发明人 程建中 江明华 李心清 章同坤 李欢 胡维
- (74) 专利代理机构 北京高沃律师事务所 11569 专利代理师 黄明光
- (51) Int.CI.

 GO1N 33/24 (2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54) 发明名称

一种获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献 份额的方法

(57) 摘要

本发明属于农作物信息检测技术以及生态环境治理技术领域,具体涉及一种获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献份额的方法。本发明在两端元混合模型的基础上,在完全相同的条件下对¹³C不同丰度的标记外源碳的土壤进行培养,额外引入一个同位素¹³C标记的处理步骤,从而区分三端元(有机碳、无机碳和外源碳)对土壤呼吸作用的贡献份额,解决现有技术中两端元混合模型无法计算三个端元贡献份额的困境。

1.一种获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献份额的方法,包括以下步骤:

分别检测原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度;

将原土壤和高丰度标记物第一混合,得到高标记外源碳的土壤;

将原土壤和低丰度标记物第二混合,得到低标记外源碳的土壤;所述高丰度标记物和低丰度标记物中¹³C丰度的差值为10~100‰;

将所述高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤分别在相同条件下进行微宇宙培养:

分别检测高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C 丰度:

根据原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度、高丰度标记物和低丰度标记物中¹³C丰度、高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度,计算得到有机碳、无机碳和外源碳对土壤呼吸作用排放的二氧化碳的贡献份额。

- 2.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述高丰度标记物中¹³C的丰度为100~500‰。
- 3.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述微宇宙培养的环境温度为10~30℃; 所述微宇宙培养的环境相对湿度为10~50%。
 - 4.根据权利要求1或3所述方法,其特征在于,所述微宇宙培养的时间为1~110天。
- 5.根据权利要求1所述方法,其特征在于,所述外源碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的 贡献份额由公式1计算得到:

$$fc = \frac{\delta^{13}CO_{2Total-1} - \delta^{13}CO_{2Total-2}}{\delta^{13}C_1 - \delta^{13}C_2}$$
 \triangle $\stackrel{\checkmark}{\text{1}}$ 1:

其中, δ^{13} C₁为高丰度标记物中¹³C的丰度, δ^{13} C₂为低丰度标记物中¹³C的丰度, δ^{13} CO_{2Total-1}为高标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度, δ^{13} CO_{2Total-2}为低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度, f_c 为外源碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额。

6.根据权利要求1或5所述的方法,其特征在于,所述有机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额由公式2计算得到:

$$fsoc = \frac{\delta^{13}CO_{2Total-1} - \delta^{13}C_{SIC} + fc(\delta^{13}C_{SIC} - \delta^{13}C_{1})}{\delta^{13}C_{SOC} - \delta^{13}C_{SIC}}$$

$$\implies \pm 2:$$

其中, δ^{13} C_{SOC}为原土壤中有机碳中¹³C的丰度, δ^{13} C_{SIC}为原土壤中无机碳中¹³C的丰度, f_{SOC} 为有机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额。

7.根据权利要求6所述的方法,其特征在于,所述无机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额由公式3计算得到:

其中,f_{SIC}为无机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额。

8.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,检测原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度前还包括:对原土壤进行除杂处理,所述除杂处理的杂物包括细根、杂草和虫子。

- 9.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述原土壤包括灰钙土、棕钙土、火山灰土、紫色土、石质土或石灰土。
 - 10.根据权利要求9所述的方法,其特征在于,所述石灰土为喀斯特石灰土。

一种获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献份额的方法

技术领域

[0001] 本发明属于农作物信息检测技术以及生态环境治理技术领域,具体涉及一种获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献份额的方法。

背景技术

[0002] 探讨不同碳源在土壤呼吸作用中提供二氧化碳的份额是准确估算土壤系统固碳量和碳汇潜力的基础。目前主要利用两端元混合模型(Two-Pool Mixing Model)计算土壤中碳源对土壤呼吸作用排放的二氧化碳的贡献份额。然而两端元混合模型只能区分土壤中外源碳和有机碳或者有机碳和无机碳对土壤呼吸作用二氧化碳排放的相对贡献,定量识别土壤呼吸作用排放二氧化碳中两端元的贡献份额。

[0003] 然而,喀斯特地区土壤通常发育于碳酸盐岩母质,其呼吸作用排放的二氧化碳来源包括土壤有机碳矿化和无机碳的分解外,还包括外源碳的降解。因此,继续采用两端元混合模型将无法区分喀斯特地区土壤中各组分对二氧化碳释放贡献份额,更不能深入认识外源碳对土壤有机和无机碳库的激发效应。

发明内容

[0004] 有鉴于此,本发明提供了一种获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献份额的方法,利用本发明提供的方法能够得到外源碳、有机碳和无机碳对土壤呼吸作用释放二氧化碳的贡献份额。

[0005] 为了解决上述技术问题,本发明提供了一种获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献份额的方法,包括以下步骤:

[0006] 分别检测原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度:

[0007] 将原土壤和高丰度标记物第一混合,得到高标记外源碳的土壤;

[0008] 将原土壤和低丰度标记物第二混合,得到低标记外源碳的土壤;所述高丰度标记物和低丰度标记物中 13 C丰度的差值为 $10\sim100\%$;

[0009] 将所述高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤分别在相同条件下进行微宇宙培养:

[0010] 分别检测高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度:

[0011] 根据原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度、高丰度标记物和低丰度标记物中¹³C 丰度、高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度,计算得到有机碳、无机碳和外源碳对土壤呼吸作用排放的二氧化碳的贡献份额。

[0012] 优选的,所述高丰度标记物中¹³C的丰度为100~500‰。

[0013] 优选的,所述微宇宙培养的环境温度为10~30℃;所述微宇宙培养的环境相对湿度为10~50%。

[0014] 优选的,所述微字宙培养的时间为1~110天。

[0015] 优选的,所述外源碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额由公式1计算得到:

[0016]
$$fc = \frac{\delta^{13}CO_{2Total-1} - \delta^{13}CO_{2Total-2}}{\delta^{13}C_1 - \delta^{13}C_2}$$

$$\Leftrightarrow \stackrel{?}{\lesssim} 1:$$

[0017] 其中, δ^{13} C₁为高丰度标记物中¹³C的丰度, δ^{13} C₂为低丰度标记物中¹³C的丰度, δ^{13} CO_{2Total-1}为高标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度, δ^{13} CO_{2Total-2}为低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度, $f_{\rm C}$ 为外源碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额。

[0018] 优选的,所述有机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额由公式2计算得到:

[0019]
$$fsoc = \frac{\delta^{13}CO_{2Total-1} - \delta^{13}C_{SIC} + fc(\delta^{13}C_{SIC} - \delta^{13}C_{1})}{\delta^{13}C_{SOC} - \delta^{13}C_{SIC}}$$

[0020] 其中, δ^{13} C_{SOC}为原土壤中有机碳中¹³C的丰度, δ^{13} C_{SIC}为原土壤中无机碳中¹³C的丰度, f_{SOC} 为有机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额。

[0021] 优选的,所述无机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额由公式3计算得到:

[0022]
$$f_{SIC} = 1 - f_{SOC} - f_{C}$$
 公式3;

[0023] 其中,f_{SIC}为无机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额。

[0024] 优选的,检测原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度前还包括:对原土壤进行除杂处理,所述除杂处理的杂物包括细根、杂草和虫子。

[0025] 优选的,所述原土壤包括灰钙土、棕钙土、火山灰土、紫色土、石质土或石灰土。

[0026] 优选的,所述石灰土为喀斯特石灰土。

[0027] 本发明提供了一种获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献份额的方法,包括以下步骤:分别检测原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度;将原土壤和高丰度标记物第一混合,得到高标记外源碳的土壤;将原土壤和低丰度标记物第二混合,得到低标记外源碳的土壤;所述高丰度标记物和低丰度标记物中¹³C丰度的差值为10~100%;将所述高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤分别在相同条件下进行微宇宙培养;分别检测高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度;计算有机碳、无机碳和外源碳对土壤呼吸作用排放的二氧化碳的贡献份额。本发明在两端元混合模型的基础上,在完全相同的条件下对¹³C不同丰度的标记外源碳的土壤进行微宇宙培养,额外引入一个同位素¹³C标记的处理步骤,从而区分三端元(有机碳、无机碳和外源碳)对土壤呼吸作用的贡献份额,解决现有技术中两端元混合模型无法计算三个端元贡献份额的困境;从而深入认识外源碳对土壤有机和无机碳库的激发效应。

具体实施方式

[0028] 本发明提供了一种获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献份额的方法,包括以下步骤:

[0029] 分别检测原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度;

[0030] 将原土壤和高丰度标记物第一混合,得到高标记外源碳的土壤;

[0031] 将原土壤和低丰度标记物第二混合,得到低标记外源碳的土壤;所述高丰度标记

物和低丰度标记物中¹³C丰度的差值为10~100‰;

[0032] 将所述高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤分别在相同条件下进行微宇宙培养:

[0033] 分别检测高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度:

[0034] 根据原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度、高丰度标记物和低丰度标记物中¹³C丰度、高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度,计算得到有机碳、无机碳和外源碳对土壤呼吸作用排放的二氧化碳的贡献份额。

[0035] 本发明分别检测原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度。本发明提供的方法优选适用于灰钙土、棕钙土、火山灰土、紫色土、石质土或石灰土,更优选适用于石灰土。在本发明的实施例中,所述原土壤为喀斯特石灰土。在本发明中,所述检测原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度前还优选包括:对原土壤进行除杂处理。在本发明中,所述除杂处理能够除去原土壤中细根、杂草和虫子等杂物。本发明对所述除杂的方式无特殊要求,只要能够除去原土壤中杂物即可。

[0036] 在本发明中,所述检测的装置优选为气体同位素质谱仪,所述气体同位素质谱仪 优选为MAT252。

[0037] 本发明将原土壤和高丰度标记物第一混合,得到高标记外源碳的土壤。在本发明中,所述高丰度标记物中¹³C的丰度优选为100~500‰,更优选为140~200‰。在本发明中,所述高丰度标记物优选包括高丰度烟草生物质标记物或高丰度玉米生物质标记物,更优选为高丰度烟草生物质标记物。本发明对高丰度标记物的来源无特殊要求,只要能够满足所需的丰度即可。在本发明中,所述高丰度烟草生物质标记物优选按照以下方法制备得到:

[0038] 将烟草幼苗移植于霍格兰(Hoagland's)营养液中,然后将其置于一个长为50cm, 宽为30cm,高为40cm的透明玻璃密箱中,利用真空泵由排气口抽取透明密封箱中空气使透明密封箱中真空度为-0.02Mpa形成真空条件;将烟草幼苗在真空条件下进行30min饥饿光合作用;饥饿光合作用后由进气口向透明密封箱中通入500mL¹³CO₂气体进行2天标记光合作用;将标记光合作用后的植株从透明密封箱中取出置于空气中进行2.5天自然光合作用;重复饥饿光合作用、标记光合作用和自然光合作用的步骤5次,得到¹³C丰度为10526.35‰的碳同位素标记物;将¹³C丰度为10526.35‰的碳同位素标记物50℃干燥40h,得到干燥未标记烟草(¹³C丰度为-23.78‰);将干燥¹³C标记烟草和干燥未标记烟草混合、研磨后过60目筛,得到所述高丰度烟草生物质标记物。在本发明中,所述干燥¹³C标记烟草和干燥未标记烟草的质量比优选为1:40~80。

[0039] 在本发明中,所述高标记外源碳的土壤中外源碳中¹³C的丰度与高丰度标记物中 ¹³C的丰度一致。在本发明中,所述高丰度标记物和原土壤质量比优选为1:20~100,更优选为1:30~60,更进一步优选为1:40~50。本发明对所述第一混合无特殊限定,只要能够混合均匀即可。

[0040] 本发明将原土壤和低丰度标记物第二混合,得到低标记外源碳的土壤。在本发明中,所述高丰度标记物和低丰度标记物中¹³C丰度的差值为10~100‰,优选为30~80‰。在本发明中,所述低丰度标记物优选包括低丰度烟草生物质标记物或低丰度玉米生物质标记

物,更优选为低丰度烟草生物质标记物。本发明对低丰度标记物的来源无特殊要求,只要能够满足所需的丰度即可。在本发明中,所述低丰度烟草生物质标记物优选按照制备高丰度烟草生物质标记物的方法制备得到,不同之处在于,干燥¹³C标记烟草和干燥未标记烟草的质量比优选为1:100~140。

[0041] 在本发明中,所述低标记外源碳的土壤中外源碳中¹³C的丰度与低丰度标记物中 ¹³C的丰度一致。在本发明中,所述低丰度标记物和原土壤的质量比优选与高丰度标记物和原土壤的质量比一致。

[0042] 本发明对所述第二混合无特殊要求,只要能够混合均匀即可。

[0043] 得到高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤后,本发明将所述高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤分别在相同条件下进行微宇宙培养。

[0044] 在本发明中,所述微宇宙培养的环境温度优选为 $10\sim30^{\circ}$,更优选为 $15\sim25^{\circ}$;所述微宇宙培养的环境相对湿度优选为 $10\sim50\%$,更优选为 $20\sim40\%$ 。在本发明中,所述微宇宙培养的时间优选为 $1\sim110$ 天,更优选为 $6\sim85$ 天,更进一步优选为 $12\sim78$ 天,最优选为 $20\sim58$ 天。

[0045] 微宇宙培养后,本发明分别检测高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度。本发明在检测之前优选还包括:将微宇宙培养后产生的气体进行分离纯化。在本发明中,所述分离纯化的方法优选为冷阱。本发明通过分离纯化将二氧化碳从微宇宙培养后产生的气体中分离出来。在本发明中,所述检测的装置优选为气体同位素质谱仪,所述气体同位素质谱仪优选为MAT252。

[0046] 本发明根据原土壤中有机碳和无机碳中¹³C的丰度、高丰度标记物和低丰度标记物中¹³C丰度、高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度,计算得到有机碳、无机碳和外源碳对土壤呼吸作用排放的二氧化碳的贡献份额。在本发明中,所述外源碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额优选由公式1计算得到:

[0047]
$$f_{C} = \frac{\delta^{13}CO_{2Total-1} - \delta^{13}CO_{2Total-2}}{\delta^{13}C_{1} - \delta^{13}C_{2}}$$

[0048] 其中, δ^{13} C₁为高丰度标记物中¹³C的丰度, δ^{13} C₂为低丰度标记物中¹³C的丰度, δ^{13} CO_{2Total-1}为高标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度, δ^{13} CO_{2Total-2}为低标记外源碳的土壤微宇宙培养排放二氧化碳中¹³C丰度, f_c 为外源碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额。

[0049] 在本发明中,所述有机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额优选由公式2 计算得到:

[0050]
$$fsoc = \frac{\delta^{13}CO_{2Total-1} - \delta^{13}C_{SIC} + fc(\delta^{13}C_{SIC} - \delta^{13}C_{1})}{\delta^{13}C_{SOC} - \delta^{13}C_{SIC}}$$

[0051] 其中, δ^{13} C_{SOC}为原土壤中有机碳中¹³C的丰度, δ^{13} C_{SIC}为原土壤中无机碳中¹³C的丰度, f_{SOC} 为有机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额。

[0052] 在本发明中,所述无机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额优选由公式3 计算得到:

[0053] f_{SIC}=1-f_{SOC}-f_C 公式3;

[0054] 其中,f_{SIC}为无机碳对土壤呼吸作用排放二氧化碳的贡献份额。

[0055] 在本发明中,双同位素标记克服了现有技术中两端元混合模型无法求解三个参数 贡献份额的困境。本发明提供的双同位素标记方法可针对实际研究需求灵活设计处理,不 受研究对象的限制,具有简单、易操作和高准确性等特点。

[0056] 为了进一步说明本发明,下面结合实施例对本发明提供的技术方案进行详细地描述,但不能将它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0057] 实施例1

[0058] 烟草生物质标记物按照以下方法制备得到:

[0059] 将烟草幼苗移植于霍格兰 (Hoagland's) 营养液中,然后将其置于一个长为50cm,宽为30cm,高为40cm的透明玻璃密箱中,利用真空泵由排气口抽取透明密封箱中空气使透明密封箱中真空度为-0.02Mpa形成真空条件;将烟草幼苗在真空条件下进行30min饥饿光合作用;饥饿光合作用后由进气口向透明密封箱中通入500mL¹³CO₂气体进行2天标记光合作用;将标记光合作用后的植株从透明密封箱中取出置于空气中进行2.5天自然光合作用;重复饥饿光合作用、标记光合作用和自然光合作用的步骤5次,得到¹³C丰度为10526.35‰的碳同位素标记物50℃干燥40h,得到干燥¹³C标记烟草(13 C丰度为10526.35‰的碳同位素标记物50℃干燥40h,得到干燥未标记烟草(13 C丰度为-23.78‰);将干燥 13 C标记烟草和干燥未标记烟草按照1:60的配比混合、研磨后过60目筛,得到 13 C丰度为144.26‰的烟草生物质标记物;将干燥 13 C标记烟草和干燥未标记烟草按照1:120的配比混合、研磨后过60目筛,得到 13 C丰度为67.01‰的烟草生物质标记物;

[0060] 选取喀斯特石灰土为研究对象,利用气体同位素质谱仪MAT252检测喀斯特石灰土中有机碳(SOC)和无机碳(SIC)中 13 C的丰度值分别为:-23.15%和-0.07%;

[0061] 将喀斯特石灰土平均分为质量为50.00g的两份土样;向一份土样中添加1.00g ¹³C 丰度为144.26‰的烟草生物质标记物,混合均匀得到高标记外源碳的土壤;

[0062] 向另一份土样中添加 $1.00g^{13}$ C丰度为67.01‰的烟草生物质标记物,混合均匀得到低标记外源碳的土壤;

[0063] 将高标记外源碳的土壤和低标记外源碳的土壤分别在温度为25℃,相对湿度为40%的条件下进行微宇宙培养;培养6天后将培养后产生的气体进行冷阱分离,得到二氧化碳气体,利用气体同位素质谱仪MAT252检测分离得到的二氧化碳气体中¹³C的丰度,其结果列于表1中。

[0064] 重复上述检测过程,不同之处在于,检测微宇宙培养后气体中¹³C的丰度的时间分别为微宇宙培养26天、32天、52天、58天、78天、84天和104天,其结果列于表1中。

[0065] 根据公式1~3计算有机碳、无机碳和外源碳(烟草生物质标记物)在土壤呼吸作用中产生二氧化碳的贡献份额,其结果列于表1中。

[0066] 表1按照实施例1的方法微宇宙培养不同时间的检测结果

培养时间	δ ¹³ CO _{2Total-1} (‰)	δ ¹³ CO _{2Total-2} (‰)	f _{soc} (%)	f _{SIC}	f _C (%)
6天	27.67	-2.10	62.47	0.00	38.53
26 天	114.19	49.84	5.14	11.56	83.30
32 天	100.02	42.00	17.26	7.64	75.10
52 天	89.40	36.23	25.54	5.65	68.81
58 天	84.00	32.92	32.69	1.21	66.10
78 天	78.17	29.74	36.84	0.70	62.46
84 天	72.35	26.63	38.58	2.92	58.50
104 天	69.52	26.16	35.82	8.09	56.09

[0067]

[0068] 从表1中结果可以看出,微宇宙培养6天土壤呼吸作用 CO_2 排放主要来源于土壤有机碳和外源碳(烟草生物质标记物),其中有机碳的贡献份额为62.47%,外源碳的贡献份额为38.53%。随着培养时间的增加,土壤中 CO_2 来源于外源碳的份额逐渐增大,来源于有机碳的份额逐渐减少。同时,也有少量的 CO_2 排放来源于无机碳。微宇宙培养104天后有机碳、无机碳和外源碳对土壤呼吸作用 CO_2 排放的贡献份额分别为:35.82%、8.09%和56.06%,说明无机碳也是土壤呼吸作用 CO_2 排放的一个重要来源。同时,当以烟草生物质作为外源碳时,其对土壤本体有机碳表现出正的激发效应,促使土壤本体有机碳分解产生 CO_2 ,不利于固碳减排,这与两端元混合模型中烟草生物质促使了土壤本体有机碳 CO_2 排放的结论是一致的,说明本发明提供的获取土壤呼吸作用排放二氧化碳贡献份额的方法具有可靠性。

[0069] 尽管上述实施例对本发明做出了详尽的描述,但它仅仅是本发明一部分实施例, 而不是全部实施例,人们还可以根据本实施例在不经创造性前提下获得其他实施例,这些 实施例都属于本发明保护范围。