

基于 ^{13}C 脉冲标记的 C_3 和 C_4 作物碳富集差异效率

秦富林^{1,2}, 朱鹏宇^{1,2}, 李长江^{1,2}, 李昌珍^{1,2*}

1. 海南大学热带农林学院, 海南海口 570228; 2. 海南大学三亚南繁研究院, 海南三亚 572025

摘要: 为研究 C_3 和 C_4 作物对碳同位素脉冲标记的响应差异及其标记效率。本研究选取 C_3 作物（水稻和花生）和 C_4 作物（玉米和甘蔗）为试验对象，通过盆栽试验进行 5 轮 ^{13}C 脉冲标记，分析植株 ^{13}C 富集丰度、固定量及标记效率，以揭示 C_3 、 C_4 作物固碳及脉冲标记效率差异。结果表明：标记处理下， C_3 与 C_4 作物植株的 $\delta^{13}\text{C}$ 值和同位素丰度（ F 值）之间均存在显著差异，且规律呈现一致现象，均为 C_3 作物高于 C_4 作物，4 种作物类型的 $\delta^{13}\text{C}$ 值表现为：水稻（396.90‰~410.05‰）>花生（269.51‰~364.66‰）>玉米（148.15‰~182.47‰）>甘蔗（152.50‰~153.91‰）；未标记处理下， $\delta^{13}\text{C}$ 值表现为甘蔗（-15.63‰~-15.16‰）>玉米（-18.25‰~-16.52‰）>水稻（-34.53‰~-33.82‰）=花生（-35.41‰~-33.37‰）。 ^{13}C 固定量和标记效率表现一致， C_3 与 C_4 作物间均无显著差异，4 种作物表现为花生和甘蔗处理显著高于水稻和玉米，花生显著高于水稻处理；花生标记效率最高，为 46.02%，其次是甘蔗，为 33.27%，水稻标记效率最低，为 24.55%。本研究揭示了 C_3 与 C_4 作物对 ^{13}C 脉冲标记的响应差异，为稳定性同位素技术在作物碳标记中的应用提供重要数据支持。

关键词: ^{13}C 脉冲标记； C_3 作物； C_4 作物； $\delta^{13}\text{C}$ 值；碳富集；标记效率

中图分类号: S714.8

文献标志码: A

Differences in Carbon Enrichment Efficiency Between C_3 and C_4 Crops Based on ^{13}C Pulse Labeling

QIN Fulin^{1,2}, ZHU Pengyu^{1,2}, LI Changjiang^{1,2}, LI Changzhen^{1,2*}

1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Sanya Institute of Breeding and Multiplication, Hainan University, Sanya, Hainan 572025, China

Abstract: To investigate the differences in response and labeling efficiency of C_3 and C_4 crops to carbon isotope pulse labeling, this experiment selected C_3 crops (rice and peanut) and C_4 crops (maize and sugarcane) as research subjects. A total of five rounds of ^{13}C pulse labeling were conducted in pot experiments to analyze the ^{13}C enrichment abundance, fixation amount, and labeling efficiency of the crops, aiming to reveal the differences in carbon fixation and pulse labeling efficiency between C_3 and C_4 crops. The results showed that under labeling treatment, the $\delta^{13}\text{C}$ values and isotope abundance F values of C_3 and C_4 crops showed significant differences, following a consistent pattern: C_3 crops > C_4 crops. The $\delta^{13}\text{C}$ values of the four crop types were as follows: rice (396.90‰~410.05‰)>peanut (269.51‰~364.66‰)>maize (148.15‰~182.47‰)>sugarcane (152.50‰~153.91‰). Under non-labeled treatment, $\delta^{13}\text{C}$ values were as follows: sugarcane (-15.63‰ to -15.16‰)>maize (-18.25‰ to -16.52‰)>rice (-34.53‰ to -33.82‰)=peanut (-35.41‰ to -33.37‰). The ^{13}C fixation amount and labeling efficiency showed consistent trends, with no significant differences between C_3 and C_4 crops. Among the four crops, peanut and sugarcane treatments were significantly higher than rice and maize, and peanut was significantly higher than rice. Peanut had the highest labeling efficiency at 46.02%, followed by sugarcane at 33.27%, and rice had the lowest at 24.55%. This study reveals the response differences of C_3 and C_4 crops to ^{13}C pulse labeling and provides important data support for the application of stable isotope techniques in crop carbon labeling.

收稿日期 2025-10-13; 接受日期 2025-11-18

基金项目 国家自然科学基金地区基金项目 (No. 32160307)。

作者简介 秦富林 (2001—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 热带土壤固碳。*通信作者 (Corresponding author): 李昌珍 (LI Changzhen), E-mail: lichangzhen@hainanu.edu.cn。

Keywords: ^{13}C pulse labeling; C_3 crops; C_4 crops; $\delta^{13}\text{C}$ values; carbon enrichment; labeling efficiency

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2026.02.017

稳定性同位素($\delta^{13}\text{C}$)标记技术自 BALESDENT 等^[1]首次应用于土壤有机质周转研究以来,已成为解析生态系统碳循环过程的关键手段。该技术通过示踪光合碳在植物-土壤系统中的迁移与转化,为碳源区分、土壤有机碳周转及植物-土壤系统碳分配研究提供了可靠方法^[2-3]。目前,碳同位素示踪技术主要分为自然丰度法和脉冲标记法两类^[4]。自然丰度法依赖自然环境中的同位素分馏效应,但受限于 C_3 和 C_4 植物丰度 $\delta^{13}\text{C}$ 本底值变化范围较窄(通常 $<2\%$),难以解析短时间尺度的碳动态^[5];脉冲标记法通过人工富集 $^{13}\text{CO}_2$,显著增强示踪信号强度,实现了对光合碳固定与分配过程的准确定量^[6]。

在脉冲标记研究中,标记效率(labeling efficiency, E_m)是评估 ^{13}C 同化与固碳效果的核心指标,直接关系到后续碳迁移与转化过程分析的准确性^[7]。已有的研究表明,植物光合作用类型、生长发育阶段及环境因子均可能对标记效率产生显著影响^[8-9]。孙昭安等^[7]采用 $^{13}\text{CO}_2$ 脉冲标记发现,冬小麦在不同生育时期对 $^{13}\text{CO}_2$ 的同化效率存在显著差异,拔节期的碳同化量较抽穗期高 25%; WERTH 等^[10]的研究表明, C_4 植物因其特有的 CO_2 浓缩机制,可能具有更高的碳同化效率,但由于缺乏系统的对照试验, C_3 和 C_4 植物在 ^{13}C 富集程度上的差异规律与机制尚不明确。此外,当前研究多集中于单一物种或单一生长发育阶段^[11-12],如何敏毅等^[6]专注于水稻光合碳分配研究,安婷婷等^[12]则研究了玉米光合碳周转,但对不同光合途径植物在相同标记条件下的 ^{13}C 固定能力及标记效率缺乏系统比较,这制约了跨物种碳循环研究的可比性。

从光合作用机理来看, C_3 植物(calvin 循环)和 C_4 植物(hatch-slack 途径)因其关键羧化酶(rubisco 与 PEP 羧化酶)的亲合力与催化机制存在差异^[13],导致其自然丰度 $\delta^{13}\text{C}$ 值存在显著分馏(C_3 植物: -35% ~ -22% ; C_4 植物: -19% ~ -9%)^[14-16]。朱国栋^[17]对内蒙古荒漠草原植物的研究证实了这种差异的普遍性。这种差异为利用自然丰度法区分碳源提供了基础,但在人工脉冲标记条件下,两类植物对 ^{13}C 的富集能力与碳固定效率是否存在系统差异,尚缺乏充分

的实验证据。

基于此,本研究选取典型 C_3 作物(花生、水稻)和 C_4 作物(甘蔗、玉米),通过 5 轮次 $^{13}\text{CO}_2$ 脉冲标记实验,系统比较:(1)不同作物植株有机碳含量和 pH 的差异;(2)不同类型作物植株丰度 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 F 的差异;(3)脉冲标记 ^{13}C 同化绝对量和标记效率的差异。本研究旨在阐明光合途径对 ^{13}C 脉冲标记效率的影响,为优化不同植物类型的碳标记实验方案提供依据,并为理解 C_3 和 C_4 植物碳固定策略差异提供同位素层面的实验证据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试土壤采集于海南省海口市美兰区海南大学海甸校区热带农林学院农学基地($20^{\circ}05'\text{N}$, $110^{\circ}32'\text{E}$),土壤类型为砖红壤土。取回土壤后自然风干,去除砾石及植物残体,过 8 mm 筛备用。测定土壤基础理化性质旨在确保所有盆栽试验的土壤起始条件一致,以排除土壤异质性对作物生长和碳固定效率的潜在影响,从而保证后续观测到的作物间差异主要源于其自身生物学特性差异。土壤基本理化性质:pH 为 6.30, $\delta^{13}\text{C}$ 值为 -24.49% ,有机质含量为 20.87 g/kg,速效氮含量为 3.68 mg/kg,速效磷含量为 6.30 mg/kg,速效钾含量为 53.61 mg/kg。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验以盆栽方式进行,试验地点位于海南大学海甸校区热带农林学院农学基地大棚内,生长期间平均气温为 28°C ,平均相对湿度为 75%。种植时间为 2024 年 4—7 月。选取玉米(白玉糯 320)、甘蔗(黑皮桂二)、花生(鲁花 11 号)和水稻(连梗 15 号)4 种作物,每种作物设 16 盆,其中 8 盆进行脉冲标记,另 8 盆作为对照,共计 64 盆,标记组与对照组间距保持在 20 m 以上,以避免标记组对对照组 $\delta^{13}\text{C}$ 值产生影响。试验采用统一规格的聚乙烯塑料盆(上口径 $\times$ 底部直径 $\times$ 高=27 cm $\times$ 22 cm $\times$ 29.5 cm),每盆装入过 8 mm 筛的均质化土壤 16 kg。播种前对种子进行如下处理:水稻种子采用温汤浸种法(50°C 温水浸泡 30 min,随后转入常温水中浸泡 24 h)以

打破休眠并消毒；玉米、花生种子用 0.5% 次氯酸钠溶液表面消毒 10 min，随后用去离子水反复冲洗干净；甘蔗采用健康种茎，每段含 2~3 个饱满腋芽。除水稻、甘蔗外，其余作物均采用直接穴播，每盆播种 6 粒种子，播种深度约 3 cm，待幼苗长出 3 片真叶后，间苗至每盆保留 4 株长势一致的健壮幼苗。水稻则先在育苗盘中育苗，至三叶一心期时，选择长势一致的秧苗移栽入盆，种植于盆中央；甘蔗每盆放置 2 根种茎（约含 4~6 个腋芽），待破土后保留 4 株健壮苗。肥料均在装盆时与土壤混施，每盆施用尿素 30 g 和 N-P-K 复合肥（15-15-20）50 g，以确保养分供应充足且均匀。于作物生长的第 15、30、45、60 天分别进行追肥，每次每盆追施尿素 5 g 和复合肥 5 g，施肥后立即浇适量水，以促进肥料溶解和吸收。每 3 d 左右灌水 1 次，使土壤含水量保持在田间持水量的 70% 左右。水稻在分蘖前期保持 3~5 cm 浅水层，分蘖后期开始采用间歇灌溉，以协调土壤水气矛盾。在进行 ^{13}C 脉冲标记前 24 h，排干水层，使土壤处于湿润但不积水状态，标记结束后立即恢复间歇灌溉。旱作作物（玉米、花生、甘蔗）全生育期遵循上述 70% 田间持水量的原则，采用常规灌溉。定期人工拔除盆内杂草，以确保作物无竞争生长。整个试验期间未发生严重病虫害，故未施用农药，仅通过安装防虫网等措施进行物理预防。培养试验共计 90 d。试验结束后，对未标记与标记处理的植株进行破坏性取样，收集全部植株，风干后称重、粉碎，过 2 mm 筛备用。取部分植株样品测定 pH 和有机碳含量，另将植株样品过 60 目筛，用于测定 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

1.2.2 脉冲标记 植株幼苗于 2024 年 5 月初（播种后约 20 d，水稻、花生株高约 30 cm，甘蔗与玉米株高约 60 cm）开始进行脉冲标记，每隔 15~20 d 进行 1 轮 ^{13}C 同位素脉冲标记，共标记 5 轮。仅标记组进行脉冲标记，对照组按常规管理，不进行标记。为确保标记条件一致且可控，所有作物在标记期间均置于非淹水条件下。标记方法参照尹云峰等^[18]的方法。标记在定制的亚克力箱内进行。标记箱规格为长×宽×高=150 cm×80 cm×120 cm，为无底长方体，配有 2 个不同大小的底座（以便标记箱底部置于其间）。箱顶两侧安装小型风扇以保证箱内空气流通；箱内放置温度计及冰块以维持温度在 28~37 °C；预留 4 个小孔供橡胶管穿过用于加酸；标记于晴朗天气的 08:00—

11:00 和 13:00—17:00 进行，标记装置如图 1 所示。标记过程如下：（1）将底座置于空旷处，放入 8 盆标记组植株及若干冰块，并放置 4 个 500 mL 烧杯，其中 2 个烧杯各加入 2 g $\text{Na}_2^{13}\text{CO}_3$ （ ^{13}C 丰度为 99%），另 2 个烧杯各加入 5 g $\text{Na}_2^{12}\text{CO}_3$ ；（2）将标记箱置于底座上，于底槽内加水密封，启动风扇，让植株在箱内正常光合作用 15 min，以提高对 $^{13}\text{CO}_2$ 的吸收；（3）标记开始时，用黑布遮盖整个标记箱，通过橡胶管向一个盛有 $\text{Na}_2^{13}\text{CO}_3$ 的烧杯注入 200 mL 2 mol/L HCl 溶液，反应 5 min 后撤去黑布，让植株在箱内进行光合作用；（4）标记 1 h 后重复步骤（3），向另一个盛有 $\text{Na}_2^{13}\text{CO}_3$ 的烧杯注入 HCl；最后向 2 个盛有 $\text{Na}_2^{12}\text{CO}_3$ 的烧杯中注入 HCl 以产生 $^{12}\text{CO}_2$ ，避免作物在标记过程中因 CO_2 不足而影响光合作用；（5）标记过程历时 4.5 h。标记结束后，取下标记箱，通风后将植株放回原位。

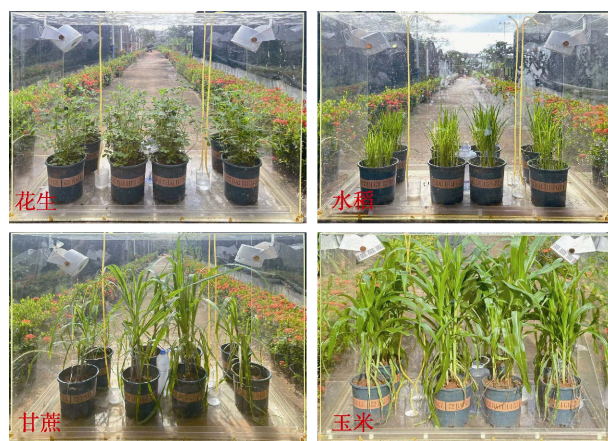


图 1 不同种类作物植株 ^{13}C 脉冲标记图

Fig. 1 Pulse labeling of ^{13}C in plants of different crop species

1.2.3 测定方法 土壤 pH 采用电位法测定（水土比 2.5 : 1），使用校准后的 pH 计（Mettler Toledo FE20）测量上清液。土壤有机质用重铬酸钾氧化—外加热法测定，用硫酸亚铁滴定，乘以系数 1.724 计算。速效氮采用碱解扩散法，用盐酸滴定吸收液；速效磷用碳酸氢钠浸提—钼锑抗比色法测定；速效钾用乙酸铵浸提—火焰光度法测定。植株 pH 的测定采用水浸提—电位法（水料比 25 : 1）。植株有机碳含量使用元素分析—稳定同位素比率质谱联用系统（Elementar / precisION）测定，通过燃烧氧化生成 CO_2 并进行质谱测定，以 VPDB 标准为参比。所有测定均设 3 次重复，并使用标准

物质进行质量控制。

土壤和植株样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值通过元素分析-稳定同位素比率质谱联用系统 (NexION 5000G, Elementar / precisiON, PerkinElmer, USA) 测定, 测定步骤如下: (1) 样品前处理: 植株样品: 洗净, 于 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 杀青 30 min , $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重, 研磨过 60 目筛, 称取 0.5 mg 均匀装于锡杯 (tin capsule) 中, 土壤样品: 风干, 剔除杂质, 研磨过 100 目筛, 采用 1 mol/L 盐酸处理以去除无机碳, 用去离子水洗涤至中性, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干后称取 0.5 mg 装于锡杯; (2) 高温氧化与气体纯化: 将封装好的样品置于元素分析仪 (EA) 自动进样器。样品在高温燃烧管 ($\geq 1000\text{ }^{\circ}\text{C}$) 中通入高纯氧气完全氧化, 生成 CO_2 气体。气体混合物经还原管和吸附柱分离纯化, 获得高纯度 CO_2 。(3) 同位素比值测定: 纯化 CO_2 气体通过接口导入稳定同位素比率质谱仪 (IRMS)。在离子源中, CO_2 分子被电离成离子束, 经磁场分离后, 同时检测质量数为 44 ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$)、 45 ($^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$) 和 46 ($^{12}\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}$) 的离子流强度, 计算 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 比值。(4) $\delta^{13}\text{C}$ 计算与标准校准: 测定结果以 $\delta^{13}\text{C}$ 值 (‰) 表示, 计算公式见 (1), 每 10 个样品插入一组标准参考物质 (如 USGS40、IAEA-C6) 进行校准与质量监控。(5) 质量控制: 每个样品重复测定 3 次, 相对标准偏差 (RSD) 控制在 $\pm 0.3\%$ 以内。无机碳去除效率通过碳酸盐标准品验证。

1.2.4 数据计算 植物或土壤的自然丰度用 $\delta^{13}\text{C}$ (‰) 值表示, 其计算公式如下^[19-20]:

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{R_s - R_{\text{PDB}}}{R_{\text{PDB}}} \times 1000\text{‰} \quad (1)$$

式中, R_s 为样品的 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 值; $R_{\text{PDB}} = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{PDB}}$, 为 $0.011\,237\,2$ 。

脉冲标记作物的同位素丰度用 F (%) 表示, F (%) 与 $\delta^{13}\text{C}$ (‰) 的转化如下^[12]:

$$F = \frac{(\delta^{13}\text{C} + 1000) \times R_{\text{PDB}}}{(\delta^{13}\text{C} + 1000) \times R_{\text{PDB}} + 1000} \times 100\% \quad (2)$$

作物固定的 ^{13}C 量计算公式如下^[21]:

$$^{13}\text{C} = C \times \frac{(F - F_{\text{ck}})}{100} \times 1000 \quad (3)$$

$$C = m \times C_p \quad (4)$$

式中, ^{13}C 为植株的 ^{13}C 量 (mg); C 为植株全碳含量 (g); F 为标记组 ^{13}C 丰度; F_{ck} 为未标记组 ^{13}C 丰度; m 为植株的干样质量 (g), C_p 为植株

的有机碳含量 (%)。

评价作物的脉冲标记效果常用标记效率 (E_m) 表示, 计算公式如下:

$$E_m = \frac{^{13}\text{C}}{C_{\text{at}}} \times 100\% \quad (5)$$

式中, C_{at} 为添加到标记箱内的 ^{13}C 量, $1\text{ g Na}_2^{13}\text{CO}_3$ (^{13}C 丰度为 99%) 中含 ^{13}C 量为 0.12 g , 本试验每种作物共使用了 $10\text{ g Na}_2^{13}\text{CO}_3$ (^{13}C 丰度为 99%), 因此 C_{at} 在此为 1.2 g 。

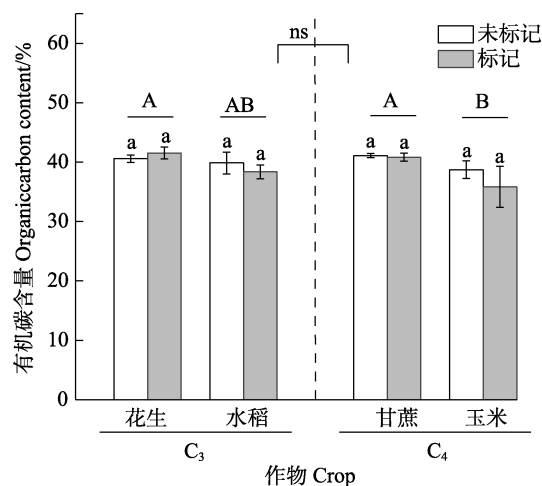
1.3 数据处理

使用 Microsoft Excel 和 IBM SPSS Statistics 27 软件进行数据统计与分析, 采用 Origin 2021 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 脉冲标记下不同类型作物植株有机碳含量

4 种作物植株有机碳含量如图 2 所示, 未标记与标记处理间, 4 种作物的有机碳含量均无显著差异; 4 种作物中, 花生和甘蔗与玉米的有机碳含量存在显著差异, 其他植株间则无显著差异; 未标记处理下, 甘蔗有机碳含量最高 (41.10%), 玉米最低 (38.71%); 标记处理下, 花生有机碳含量最高 (41.52%), 玉米最低 (35.84%); C_3 与 C_4 作物植株的有机碳含量差异不显著。



不同小写字母表示同一作物不同处理间差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示不同作物间差异显著 ($P < 0.05$), ns 表示 C_3 、 C_4 作物间差异不显著。

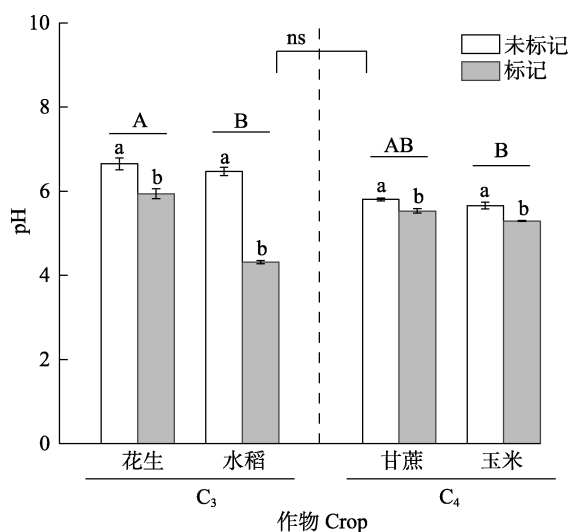
Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same crop ($P < 0.05$), different capital letters indicate significant difference between different crops ($P < 0.05$), ns indicates no significant difference between C_3 and C_4 crops.

图 2 不同种类作物植株有机碳含量

Fig. 2 Organic carbon content of different crop plants

2.2 脉冲标记下不同作物植株的 pH

4 种作物植株 pH 如图 3 所示, 水稻、花生、玉米和甘蔗在标记处理组 pH 显著低于对应未标记处理组植株, 分别降低 33.23%、10.67%、6.48% 和 4.76%。在未标记处理组下, 花生 pH 最高, 为 6.65; 玉米最低, 为 5.66。在标记处理组下, 花生最高, 为 5.94, 水稻最低, 为 4.32。4 种作物植株之间 pH 存在显著差异, 花生显著高于水稻和玉米处理; C_3 和 C_4 作物植株间 pH 差异不显著。



不同小写字母表示同一作物不同处理间差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示不同作物间差异显著 ($P < 0.05$), ns 表示 C_3 、 C_4 作物间差异不显著。

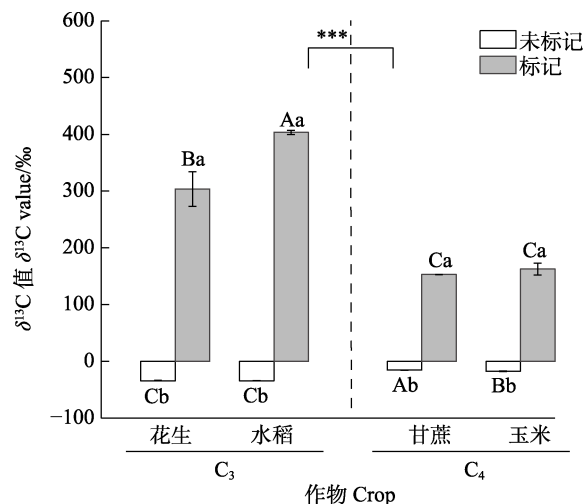
Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same crop ($P < 0.05$), different capital letters indicate significant difference between different crops ($P < 0.05$), ns indicates no significant difference between C_3 and C_4 crops.

图 3 不同种类作物植株 pH

Fig. 3 pH values of different types of crop plants

2.3 脉冲标记下不同类型作物植株的 $\delta^{13}\text{C}$ 值

4 种作物植株的 $\delta^{13}\text{C}$ 值如图 4 所示, 花生、水稻、甘蔗和玉米标记植株的 $\delta^{13}\text{C}$ 值显著高于未标记植株, 分别增加 987.84%、1280.67%、1095.15% 和 1032.31%。未标记处理下, 甘蔗的 $\delta^{13}\text{C}$ 值最高, 为 -15.40‰, 其次是玉米, 为 -17.43‰, 花生最低, 为 -34.19‰, 4 种作物植株 $\delta^{13}\text{C}$ 值存在显著差异。标记处理下, 水稻 $\delta^{13}\text{C}$ 值最高, 为 403.47‰, 显著高于其他作物植株; 其次是花生, 为 303.55‰; 甘蔗和玉米最低, 分别为 162.53‰ 和 153.22‰, 显著低于花生和水稻。 C_3 作物植株的 $\delta^{13}\text{C}$ 值极显著高于 C_4 作物 ($P < 0.001$)。



不同小写字母表示同一作物不同处理间差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示不同作物间差异显著 ($P < 0.05$); ***表示 C_3 、 C_4 作物间差异极显著 ($P < 0.001$)。

Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same crop ($P < 0.05$), different capital letters indicate significant difference between different crops ($P < 0.05$). *** indicates extremely significant difference between C_3 and C_4 crops ($P < 0.001$).

图 4 不同种类作物植株 $\delta^{13}\text{C}$ 值

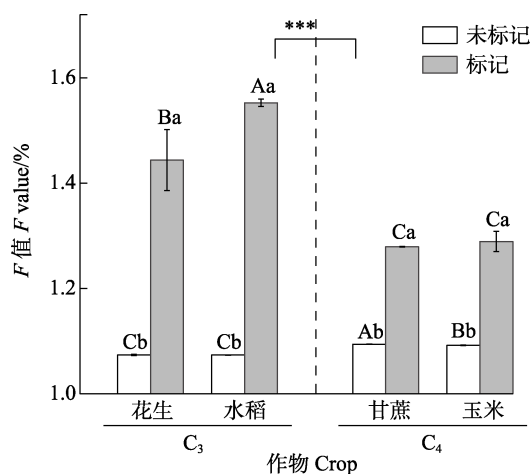
Fig. 4 $\delta^{13}\text{C}$ values of different types of crop plants

2.4 脉冲标记下不同类型作物的同位素丰度 (F)

4 种作物植株的同位素丰度 $F[F = ^{13}\text{C}/(^{13}\text{C} + ^{12}\text{C})]$ 如图 5 所示, 花生、水稻、甘蔗和玉米标记植株的同位素丰度显著高于对应未标记植株, 分别增加 34.46%、44.61%、16.91% 和 18.08%; 未标记处理下, 甘蔗的同位素丰度最高, 为 1.0943%; 其次是玉米, 为 1.0921%; 花生和水稻最低, 为 1.0736%。4 种作物植株同位素丰度存在显著差异。标记处理下, 水稻植株的同位素丰度最高, 为 1.5526%, 显著高于其他作物植株; 其次是花生, 为 1.4436%, 玉米和甘蔗最低, 分别为 1.2895% 和 1.2793%, 均显著低于花生和水稻。 C_3 作物植株的同位素丰度极显著高于 C_4 作物 ($P < 0.001$)。

2.5 脉冲标记下不同类型作物植株固定的 ^{13}C 量

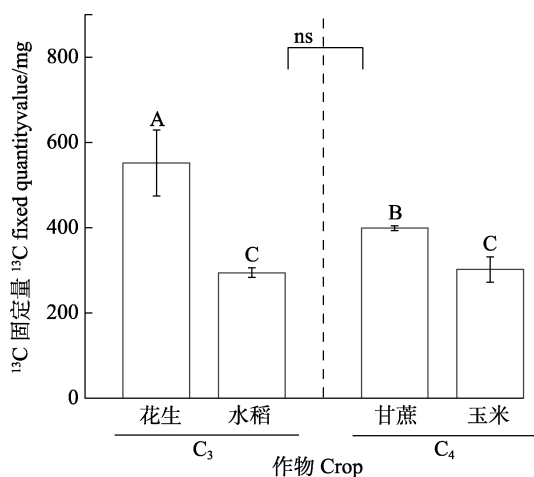
植株通过呼吸作用将标记箱内的 $^{13}\text{CO}_2$ 转化为有机物质固定于植株内, 固定量以 ^{13}C 表示。4 种作物植株的 ^{13}C 固定如图 6 所示, 4 种作物植株中, 花生固定的 ^{13}C 量最多, 为 552.18 mg, 显著高于其他植株 ($P < 0.05$); 其次是甘蔗, 固定量为 399.19 mg, 显著高于水稻和玉米; 水稻和玉米固定 ^{13}C 量最少, 分别为 294.60 mg 和 301.86 mg。 C_3 与 C_4 作物间的 ^{13}C 固定量无显著差异。



不同小写字母表示同一作物不同处理间差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示不同作物间差异显著 ($P < 0.05$), ***表示 C_3 、 C_4 作物间差异极显著 ($P < 0.001$). Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same crop ($P < 0.05$), different capital letters indicate significant difference between different crops ($P < 0.05$). *** indicates extremely significant difference between C_3 and C_4 crops ($P < 0.001$).

图 5 不同种类作物植株 F 值

Fig. 5 F -values of different types of crop plants



不同小写字母表示同一作物不同处理间差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示不同作物间差异显著 ($P < 0.05$), ns 表示 C_3 、 C_4 作物间差异不显著。Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same crop ($P < 0.05$), different capital letters indicate significant difference between different crops ($P < 0.05$), ns indicates no significant difference between C_3 and C_4 crops.

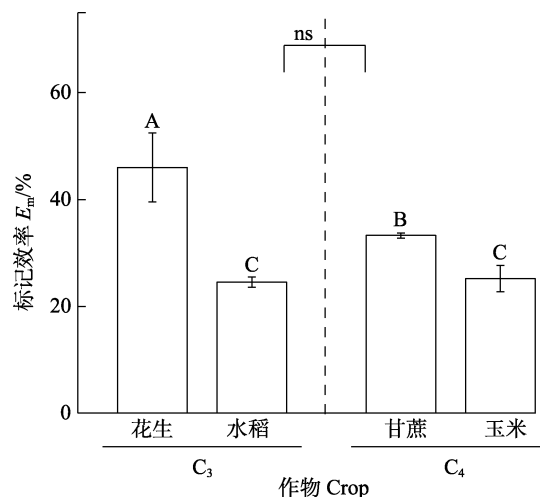
图 6 不同种类作物植株固定 ^{13}C

Fig. 6 Fixed ^{13}C in different types of crop plants

2.6 脉冲标记下不同类型作物植株的标记效率 (E_m)

标记到作物的 ^{13}C 量与整个标记时期输入到标记箱内的 ^{13}C 总量的比值称为标记效率, 标记时期输入到标记箱内 ^{13}C 量为 $10\text{ g Na}_2^{13}\text{CO}_3$ (^{13}C

丰度为 99%), 因此 ^{13}C 总量为 1.2 g 。4 种作物植株的标记效率如图 7 所示, 4 种作物植株中花生标记效率最高, 为 46.02%, 显著高于其他植株; 其次是甘蔗植株, 标记效率为 33.27%, 显著高于水稻和玉米植株 ($P < 0.05$); 水稻和玉米的标记效率最低, 分别为 24.55% 和 25.16%。 C_3 与 C_4 作物的标记效率差异不显著。



不同小写字母表示同一作物不同处理间差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示不同作物间差异显著 ($P < 0.05$), ns 表示 C_3 、 C_4 作物间差异不显著。

Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments of the same crop ($P < 0.05$), different capital letters indicate significant difference between different crops ($P < 0.05$), ns indicates no significant difference between C_3 and C_4 crops.

图 7 不同种类作物植株标记效率

Fig. 7 Labeling efficiency of different types of crop plants

3 讨论

3.1 不同类型作物的化学特性及同位素富集程度

本研究中标记处理后植株有机碳含量及植株 pH 出现不同程度下降, 这与 BADECK 等^[4]和 GESSLER 等^[22]的研究结果一致。这一现象可能与植株碳同化过程受到干扰, 光合碳固定受到短期抑制, 以及植株体内代谢平衡发生改变密切相关。已有研究表明, 高浓度 CO_2 ($^{13}\text{CO}_2$ 或者 $^{12}\text{CO}_2$) 的引入会改变细胞内 CO_2 浓度梯度, 通过反馈调节机制抑制光合碳同化^[23]。此外, 为维持生长代谢的能量供应, 植株可能加速降解淀粉等非结构性碳水化合物, 从而造成有机碳库消耗^[23]。植株组织 pH 下降很可能与有机酸代谢增强与质子外排机制激活有关。在碳供应受限条件下, 三羧酸循环 (TCA) 其中间产物积累, 导致苹果酸、柠

柠檬酸等有机酸含量升高^[24]。同时, 为维持细胞离子稳态, 质膜 H^+ -ATP 酶活性增强, 促进质子外排, 导致组织 pH 降低^[25]。此外, 标记处理也可能影响根系分泌物的组成, 导致有机酸释放增加, 进而加剧根际酸化^[26]。

本研究通过严格控制试验条件, 发现采用相同的脉冲标记方案时, C_4 作物 (玉米、甘蔗) 的 ^{13}C 富集度 ($\delta^{13}\text{C}$) 显著低于 C_3 作物 (水稻与花生), 这一差异主要源于二者光合碳同化途径及其对短期高浓度 CO_2 响应机制的差异。 C_3 植物通过 rubisco 酶直接催化 CO_2 的固定, 该酶对 CO_2 的亲合力较低, 且易受光呼吸抑制^[27]。在 $^{13}\text{CO}_2$ 高通量脉冲标记中, 胞间 CO_2 浓度骤升, 有效缓解了 rubisco 的羧化限制, 促进 ^{13}C 的大量同化, 从而使 $\delta^{13}\text{C}$ 显著上升^[28]。这种短期的光合抑制或促进效应, 主要是由高浓度 CO_2 (包括 $^{13}\text{CO}_2$ 或者 $^{12}\text{CO}_2$) 本身所引发, 而非 ^{13}C 的特有效应, 它通过反馈调节机制影响了碳同化效率。相比之下, C_4 植物具有 CO_2 浓缩机制 (CCM): PEP 羧化酶在叶肉细胞中初步固定 CO_2 生成 C_4 酸, 其后 C_4 酸在维管束鞘细胞中分解释放 CO_2 , 再由 rubisco 完成固碳^[29]。这一分室化结构在常态下虽有利于提高光合效率, 但在短暂脉冲标记中, 可能延缓 ^{13}C 向 rubisco 活性位点的传输, 限制其富集效率^[30]。同时, C_4 途径的多步生化反应可能无法匹配脉冲标记中的碳输入速率, 导致部分 $^{13}\text{CO}_2$ 未被固定即从系统中流失^[4]。因此, C_4 植物的 CCM 在脉冲标记环境下可能演变为一种“扩散屏障”, 致使表观 $\delta^{13}\text{C}$ 值低于 C_3 植物。本研究中, 同为 C_3 作物的水稻和花生, 其 $\delta^{13}\text{C}$ 值与标记效率存在显著差异。花生表现出最高的标记效率, 这可能与作为豆科作物的碳分配策略密切相关。豆科作物将大量光合产物分配给籽粒发育和根瘤固氮, 形成了强大的“碳汇”^[31-32], 这种高效的碳固定与稳定储存策略, 可能减少了光合碳的呼吸损失, 从而提高了对标记 ^{13}C 的净截留效率。反之, 水稻作为湿地作物, 即便在非淹水标记条件下, 其固有的代谢特性可能导致较多的根系分泌物和碳损失^[33], 这或许是造成其标记效率最低的重要原因。由此可见, 物种特定的碳“投资”策略对瞬时碳固定的调控, 可能与光合途径具有同等甚至更强的影响力。

除光合类型外, $\delta^{13}\text{C}$ 富集水平还受到标记方

案和样品处理方法的显著影响。本研究中, 水稻植株整体 $\delta^{13}\text{C}$ 值低于刘萍等^[34]所报告的地上部值 (927‰~1216‰), 主要原因在于本研究采用全植株混合取样法, 而根系及衰老叶片等同化活性较低组织的 ^{13}C 富集程度通常远低于光合活跃叶片^[35]。这一差异表明在比较不同研究中的富集效果时, 需审慎考虑样品器官的碳分配模式。标记参数 (如轮次、单次时长^[5, 36]) 需根据研究目标与作物类型进行优化。本研究实施 5 轮标记, 获得了良好的富集效果。值得注意的是, 增加标记轮数并不必然导致 $\delta^{13}\text{C}$ 值的线性增加。例如, 桂意云等^[19]对甘蔗进行 6 轮标记后, 叶片 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 378.71‰, 仍低于邓扬悟等^[5]对水稻 5 轮标记的结果 (1224.1‰), 这再次凸显光合类型的主导作用, 而 BROMAND 等^[37]对小麦实施 13 轮标记后 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 2140‰~2370‰, 表明针对 C_3 作物, 延长标记周期仍是提升富集程度的有效策略。本研究还发现, $^{13}\text{CO}_2$ 因其分子量较大, 在静态标记箱中易分布不均、趋于下沉, 对株高较高、冠层较稀疏的 C_4 作物 (如甘蔗和玉米) 影响尤为显著, 这可能是导致其富集效果欠佳的潜在技术局限。为提高未来研究的准确性与可重复性, 建议: (1) 改良标记装置, 如加装循环风扇促进箱内气体混合^[38]; (2) 实时监测并记录标记过程中的 CO_2 浓度^[39]、温度^[6]和湿度等关键环境参数; (3) 采用器官水平分层取样与高分辨率显微技术 (如 NanoSIMS) 相结合的方法, 在细胞乃至亚细胞水平揭示 ^{13}C 的转运与分配规律^[40]。综上所述, 本研究证实光合途径和作物的生物学特性是调控 ^{13}C 脉冲标记效率的关键内在因子, 该结论为生态研究中基于植物功能型 (C_3 或 C_4) 制定差异化标记方案提供了理论依据和参数支持, 对提升碳分配研究的准确性与可比性具有重要意义。

3.2 不同类型作物的 ^{13}C 固定量及标记效率差异

本研究通过 5 轮的 $^{13}\text{CO}_2$ 脉冲标记, 系统比较了 C_3 与 C_4 作物对 ^{13}C 的固定特征。结果显示, 作物间 ^{13}C 固定量与标记效率 (植物固定 ^{13}C /投入 ^{13}C 总量) 差异显著, 且表现为花生最高, 水稻最低, 但按光合类型比较时, C_3 与 C_4 植物组间的差异未达显著水平。该现象初看与 C_4 植物具有高光效的理论预期相左, 实则揭示了在生态系统时间尺度上, 作物碳累积能力是由光合途径、生物量形成动态及碳分配策略共同决定的综合结

果。首先, 标记效率直接表征植物将限定资源(标记箱内 $^{13}\text{CO}_2$) 转化为自身生物量的综合能力。本研究中, 花生的标记效率最高, 原因可能得益于其作为豆科作物强大的碳汇强度。其光合产物被高效地分配至富含有机物的籽粒及与固氮共生的根瘤中^[41-42]。这种分配模式不仅促进了干物质的快速积累(直接影响基于干质量的 ^{13}C 固定量计算), 还因其将碳稳定储存于生长组织中而减少了通过呼吸作用的短期损失, 从而最大化了对标记碳的净截留。反之, 水稻的低标记效率暗示其系统内存在显著的光合碳损失途径。淹水栽培条件下, 水稻根系为应对低氧环境需维持高耗能代谢, 并可能产生较多的根系分泌物^[43]。此外, 厌氧环境衍生的甲烷排放也是一条重要的光合碳损失通道^[44]。这些损失均计入投入的总碳量, 却未进入植物体, 最终降低了其标记效率。其次, C_4 植物(玉米、甘蔗)的理论优势在本实验中未能凸显, 可能与二者在标记期间的碳分配倾向有关。例如, 甘蔗同化的碳可能较多地用于形成结构性的茎秆纤维, 其周转较慢。对于玉米而言, 本研究的多轮标记覆盖了其营养生长中后期。在此阶段, 玉米的碳分配重心可能仍在营养器官的构建上, 其强大的籽粒灌浆“库”尚未完全形成^[45]。因此, 相较于碳分配目标明确且库强持续强劲的花生, 玉米对脉冲输入的 ^{13}C 的固定能力未能达到理论峰值。综上所述, 在本实验条件下, 作物固定的 ^{13}C 量及标记效率的差异是光合途径与物种特异性碳分配策略共同作用的结果。花生的高效率源于其向高价值器官的精准投资, 而水稻的低效率则反映了其在厌氧生境下的生存成本。本研究的结果强调了在未来利用脉冲标记技术时, 不仅需要考虑植物的光合类型, 更应充分考虑其物种特有的源-库关系和碳分配规律。值得注意的是, 本研究的标记集中于营养生长中后期, 未来的研究若能精确控制并对比不同生育期(如分蘖期、开花期、灌浆盛期)进行标记, 将能更清晰地揭示发育阶段对标记效率的动态影响, 从而更精准地解析作物的碳循环过程。

4 结论

本研究通过对 C_3 (花生、水稻)和 C_4 作物(甘蔗、玉米)的 5 轮 ^{13}C 脉冲标记研究发现, 不同作物之间 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 F 值均存在显著差异; 标记处理下, C_3 作物 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 F 值显著高于 C_4 作物,

其中, C_3 作物水稻 $\delta^{13}\text{C}$ 值、 F 值最高, C_4 作物甘蔗 $\delta^{13}\text{C}$ 值、 F 值最低。 ^{13}C 固定量与标记效率呈现规律一致, 均为花生最高, 其次是甘蔗, 水稻最低, 4 种作物 ^{13}C 固定量与标记效率间存在显著差异。本研究表明不同作物脉冲标记效果差异较大, 这为阐明光合途径对 ^{13}C 脉冲标记效率的调控作用奠定基础, 也为优化不同植物类型的碳标记实验方案提供依据。

参考文献

- [1] BALESDENT J, WAGNER G H, MARIOTTI A. Soil organic matter turnover in long-term field experiments as revealed by carbon13 natural abundance[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1988, 52(1): 118-124.
- [2] KUZYAKOV Y, DOMANSKI G. Carbon input by plants into the soil. Review[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2000, 163(4): 421-431.
- [3] 袁红朝, 王久荣, 刘守龙, 祝贞科, 葛体达, 陈珊, 吴金水. 稳定碳同位素技术在土壤根际激发效应研究中的应用[J]. *同位素*, 2018, 31(1): 57-63.
YUAN H Z, WANG J R, LIU S L, ZHU Z K, GE T D, CHEN S, WU J S. Application of stable carbon isotope technique in the research of soil rhizosphere priming effect[J]. *Journal of Isotopes*, 2018, 31(1): 57-63. (in Chinese)
- [4] BADECK F W, TCHERKEZ G, NOGUÉS S, PIEL C, GHASHGHAIE J. Post-photosynthetic fractionation of stable carbon isotopes between plant organs: a widespread phenomenon[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2005, 19(11): 1381-1391.
- [5] 邓扬悟, 唐纯, 袁红朝, 宁赵, 邹观发, 王久荣, 葛体达, 吴金水. ^{13}C 脉冲标记法: 不同生育期水稻光合碳在植物-土壤系统中的分配[J]. *生态学报*, 2017, 37(19): 6466-6471.
DENG Y W, TANG C, YUAN H Z, NING Z, ZOU G F, WANG J R, GE T D, WU J S. The ^{13}C - CO_2 pulsing labeling method: distribution of rice photosynthetic carbon in plant-soil systems during different rice growth stages[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(19): 6466-6471. (in Chinese)
- [6] 何敏毅, 孟凡乔, 史雅娟, 吴文良. 用 ^{13}C 脉冲标记法研究玉米光合碳分配及其向地下的输入[J]. *环境科学*, 2008, 29(2): 2446-2453.
HE M Y, MENG F Q, SHI Y J, WU W L. Estimating photosynthesized carbon distribution and inputs into belowground in a maize soil following ^{13}C pulse-labeling[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(2): 2446-2453. (in Chinese)

- [7] 孙昭安, 陈清, 韩笑, 吴文良, 孟凡乔. ^{13}C 脉冲标记法定量冬小麦光合碳分配及其向地下的输入[J]. 环境科学, 2018, 39(6): 2837-2844.
- SUN Z A, CHEN Q, HAN X, WU W L, MENG F Q. Estimation of winter wheat photosynthesized carbon distribution and allocation belowground via ^{13}C pulse-labeling[J]. Environmental Science, 2018, 39(6): 2837-2844. (in Chinese)
- [8] DU C L, LI L L, EFFAH Z, XU J, XIE J H, LUO Z Z, WANG L L, ZHANG J, KANG Y Q. Different tillage and stubble management practices affect root growth and wheat production in a semi-arid area[J]. Plant and Soil, 2024, 502: 211-225.
- [9] WERTH M, KUZYAKOV Y. ^{13}C fractionation at the root-microorganisms-soil interface: a review and outlook for partitioning studies[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(9): 1372-1384.
- [10] 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.
- [11] 王群艳. 水稻典型生育期光合碳输入的动态变化及其与土壤胞外酶对施氮的响应[D]. 青岛: 青岛农业大学, 2017.
- WANG Q Y. Dynamic changes of photosynthetic carbon input and its response to nitrogen application by soil-extracellular enzyme in typical growth period of rice[D]. Qingdao: Qingdao Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [12] 安婷婷, 汪景宽, 李双异, 付时丰, 裴久渤, 李慧. 用 ^{13}C 脉冲标记方法研究施肥与地膜覆盖对玉米光合碳分配的影响[J]. 土壤学报, 2013, 50(5): 948-955.
- AN T T, WANG J K, LI S Y, FU S F, PEI J B, LI H. Effect of fertilization and plastic film mulching on distribution of photosynthetically fixed carbon in maize: explored with ^{13}C pulse labeling technique[J]. Acta Pedologica Sinica, 2013, 50(5): 948-955. (in Chinese)
- [13] SAGE R F. Russ Monson and the evolution of C_4 photosynthesis[J]. Oecologia, 2021, 197(4): 823-840.
- [14] UBIERNA N, PHILLIPS M M H, WINGATE L, OGÉE J, BUSCH F A, FARQUHAR G D. Using carbon stable isotopes to study C_3 and C_4 photosynthesis: models and calculations[J]. Methods in Molecular Biology, 2024, 2790: 163-211.
- [15] O'LEARY M H. Carbon isotopes in photosynthesis[J]. BioScience, 1988, 38(5): 328-336.
- [16] ALONSO-CANTABRANA H, VON CAEMMERER S. Carbon isotope discrimination as a diagnostic tool for C_4 photosynthesis in C_3 - C_4 intermediate species[J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(10): 3109-3121.
- [17] 朱国栋. 内蒙古荒漠草原植物、土壤、放牧牛羊粪便及毛发的稳定性碳同位素特征[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- ZHU G D. The stable carbon isotope characteristics of plants, soil, faeces and hairs of grazing sheep and cattle in Inner Mongolia desert steppe[D]. Huhehaote: Inner Mongolia Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [18] 尹云锋, 杨玉盛, 高人, 马红亮, 卢茜. 植物富集 ^{13}C 标记技术的初步研究[J]. 土壤学报, 2010, 47(4): 790-793.
- YIN Y F, YANG Y S, GAO R, MA H L, LU Q. A Preliminary Study on phyto-enrichment ^{13}C labeling technique[J]. Acta Pedologica Sinica, 2010, 47(4): 790-793. (in Chinese)
- [19] 桂意云, 李海碧, 韦金菊, 周会, 祝开, 赵培方, 刘昔辉, 区惠平. 脉冲标记下甘蔗 ^{13}C 富集及氮磷钾含量变化[J]. 核农学报, 2023, 37(3): 586-593.
- GUI Y Y, LI H B, WEI J J, ZHOU H, ZHU K, ZHAO P F, LIU X H, OU H P. Enrichment of ^{13}C and changes of N, P, K contents in sugarcane under pulse labeling[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2023, 37(3): 586-593. (in Chinese)
- [20] 侍瑞, 苏培玺, 周紫鹃, 解婷婷. 三种不同类型草甸生态系统下鹅绒委陵菜的光合特性[J]. 生态学杂志, 2018, 37(7): 1943-1951.
- SHI R, SU P X, ZHOU Z J, XIE T T. Photosynthetic characteristics of *Potentilla anserina* in three different meadow ecosystems[J]. Chinese Journal of Ecology, 2018, 37(7): 1943-1951. (in Chinese)
- [21] 齐鑫, 王敬国. 应用 ^{13}C 脉冲标记方法研究不同施氮量对冬小麦净光合碳分配及其向地下输入的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6): 2524-2530.
- QI X, WANG J G. Distribution and translocation of assimilated C pulse-labeled with ^{13}C for winter wheat (*Triticum aestivum* L.), as affected by nitrogen supply[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2008, 27(6): 2524-2530. (in Chinese)
- [22] GESSLER A, FERRIO J P, HOMMEL R, TREYDTE K, WERNER R A, MONSON R K. Stable isotopes in tree rings: towards a mechanistic understanding of isotope fractionation and mixing processes from the leaves to the wood[J]. Tree physiology, 2014, 34(8): 796-818.
- [23] MEDEIROS D B, ISHIHARA H, GUENTHER M, DE SOUZA L R, FERNIE A R, STITT M, ARRIVAUULT S. $^{13}\text{CO}_2$ labeling kinetics in maize reveal impaired efficiency of C_4 photosynthesis under low irradiance[J]. Plant Physiology, 2022, 190(1): 280-304.

- [24] IGAMBERDIEV A U, EPRINTSEV A T. Organic acids: the pools of fixed carbon involved in redox regulation and energy balance in higher plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1042.
- [25] ZHANG J R, WEI J, LI D X, KONG X Y, RENGEL Z, CHEN L M, YANG Y, CUI X M, CHEN Q. The role of the plasma membrane H^+ -ATPase in plant responses to aluminum toxicity[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 01757.
- [26] MYROLD D D. The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface, second edition[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2008, 72(6): 339-353.
- [27] MORONEY J V, JUNGnick N, DIMARIO R J, LONGSTRETH D J. Photorespiration and carbon concentrating mechanisms: two adaptations to high O_2 , low CO_2 conditions[J]. *Photosynthesis Research*, 2013, 117(1): 121-131.
- [28] TCHERKEZ G, FARQUHAR G, BADECK F, GHASHGHAIE J. Theoretical considerations about carbon isotope distribution in glucose of C_3 plants[J]. *Functional Plant Biology*, 2004, 31(9): 857-877.
- [29] KROMDIJK J, LONG S P. One crop breeding cycle from starvation? How engineering crop photosynthesis for rising CO_2 and temperature could be one important route to alleviation[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2016, 283(1826): 20152578.
- [30] UBIERNA N, SUN W, COUSINS A B. The efficiency of C_4 photosynthesis under low light conditions: assumptions and calculations with CO_2 isotope discrimination[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(9): 3119-3134.
- [31] HE Q S, LU C Q, COWIE A, ZHAO S X, LIU D L, YI B, SHI L J, ZHANG S W, QIU T Y, SHI Y, HUETE A, SIDDIQUE K H M, YU Q, LI L C. Optimizing cover cropping application for sustainable crop production[J]. *npj Sustainable Agriculture*, 2025, 3(1): 10.
- [32] MORTENSEN E Ø, ABALOS D, RASMUSSEN J. Well-designed multi-species grassland mixtures enhance both soil carbon inputs and aboveground productivity[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2025, 385: 109578.
- [33] YUAN H, ZHU Z, LIU S, GE T, JING H, LI B, LIU Q, LYNN T M, WU J, KUZYAKOV Y. Microbial utilization of rice root exudates: ^{13}C labeling and PLFA composition[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2016, 52(5): 615-627.
- [34] 刘萍, 江春玉, 李忠佩. ^{13}C 脉冲标记定量研究施氮量对光合碳在水稻-土壤系统中分布的影响[J]. *土壤学报*, 2015, 52(3): 567-575.
- LIU P, JIANG C Y, LI Z P. Quantitative research on effects of nitrogen application rate on distribution of photosynthetic carbon in rice-soil system using ^{13}C pulse labeling technique[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2015, 52(3): 567-575. (in Chinese)
- [35] GORKA S, DIETRICH M, MAYERHOFER W, GABRIEL R, WIESENBAUER J, MARTIN V, ZHENG Q, IMAI B, PROMMER J, WEIDINGER M, SCHWEIGER P, EICHORST S A, WAGNER M, RICHTER A, SCHINTLMUSTER A, WOEBKEN D, KAISER C. Rapid transfer of plant photosynthates to soil bacteria via ectomycorrhizal hyphae and its interaction with nitrogen availability[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 168.
- [36] 冉珊珊, 时宇, 黄黄, 陈为祥, 刘金娥, 苏海蓉, 徐杰. 用 ^{13}C 脉冲标记法研究互花米草光合碳的分配[J]. *生态环境学报*, 2019, 28(2): 270-275.
- RAN S S, SHI Y, HUANG H, CHEN W X, LIU J E, SU H R, XU J. Researching photosynthesized carbon allocation of *S. alterniflora* following ^{13}C pulse-labeling[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2019, 28(2): 270-275. (in Chinese)
- [37] BROMAND S, WHALEN J K, JANZEN H H, SCHJOERRING J K, ELLERT B H. A pulse-labelling method to generate ^{13}C -enriched plant materials[J]. *Plant and Soil*, 2001, 235(2): 253-257.
- [38] TRIEBL A, WENK M R. Analytical considerations of stable isotope labelling in lipidomics[J]. *Biomolecules*, 2018, 8(4): 151.
- [39] 罗明昭, 唐婵娟, 张硕, 智慧, 汤沙, 贾冠清, 刁现民. 利用低 CO_2 浓度培养箱筛选谷子(*Setaria italica*) C_4 光合作用相关突变体[J]. *植物遗传资源学报*, 2018, 19(3): 554-560.
- LUO M Z, TANG C J, ZHANG S, ZHI H, TANG S, JIA G Q, DIAO X M. Screening of C_4 photosynthesis-related mutants in foxtail millet (*Setaria italica*) by employment of low CO_2 concentration incubator[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19(3): 554-560. (in Chinese)
- [40] PANDEY S K, CHAND N, NANDY S, MUMINOV A, SHARMA A, GHOSH S, SRINET R. High-resolution mapping of forest carbon stock using object-based image analysis (OBIA) technique[J]. *Journal of the Indian Society of Remote Sensing*, 2020, 48(6): 865-875.
- [41] 陆保福, 康文娟, 师尚礼, 关键, 南攀, 马瑞宏. 豆科植物-根瘤菌固氮系统及其碳氮互作[J]. *中国草地学报*, 2023, 45(11): 119-135, 144.
- LU B F, KANG W J, SHI S L, GUAN J, NAN P, MA R H. Nitrogen fixation system of legume-rhizobia and its carbon-nitrogen interaction[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2023, 45(11): 119-135, 144. (in Chinese)

- [42] 马慧霞, 张桥, 陈会巧, 孙丽丽, 周昌敏, 顾文杰, 卢钰升, 徐培智, 解开治. 长期有机培肥对南方红壤区稻田土壤碳循环功能基因的影响[J]. 南方农业学报, 2023, 54(5): 1405-1416.
- MA H X, ZHANG Q, CHEN H Q, SUN L L, ZHOU C M, GU W J, LU Y S, XU P Z, XIE K Z. Effects of long-term organic fertilization on the functional genes of carbon cycle in paddy soils[J]. Journal of Southern Agriculture, 2023, 54(5): 1405-1416. (in Chinese)
- [43] 吴金水, 李勇, 童成立, 肖和艾, 刘守龙, 葛体达, 周萍, 沈健林, 祝贞科, 黄习知. 亚热带水稻土碳循环的生物地球化学特点与长期固碳效应[J]. 农业现代化研究, 2018, 39(6): 895-906.
- WU J S, LI Y, TONG C L, XIAO H A, LIU S L, GE T D, ZHOU P, SHEN J L, ZHU Z K, HUANG X Z. The key geo-biochemical processes of the long-term carbon sequestration and its mechanisms in the subtropical paddy soils[J]. Research of Agricultural Modernization, 2018, 39(6): 895-906. (in Chinese)
- [44] 任三学, 周广胜, 赵花荣, 田晓丽, 耿金剑. 华北北部夏玉米适期早播的增产效果[J]. 华北农学报, 2023, 38(6): 81-93.
- REN S X, ZHOU G S, ZHAO H R, TIAN X L, GENG J J. Yield promoting effect of early sowing of summer maize at appropriate time in Northern North China[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2023, 38(6): 81-93. (in Chinese)
- [45] LIANG X G, CHEN H M, PAN Y Q, WANG Z W, HUANG C, CHEN Z Y, TANG W, CHEN X M, SHEN S, ZHOU S L. Yield more in the shadow: mitigating shading-induced yield penalty of maize via optimizing source-sink carbon partitioning[J]. European Journal of Agronomy, 2025, 162: 127421.