



箱式通量观测技术和方法的理论假设及其应用进展

魏杰¹ 陈昌华¹ 王晶苑¹ 温学发^{1,2*}

¹中国科学院地理科学与资源研究所生态系统网络观测与模拟重点实验室, 北京 100101; ²中国科学院大学资源与环境学院, 北京 100190

摘要 碳(CO₂、CH₄)、氮(N₂O)和水汽(H₂O)等温室气体的交换通量是生态系统物质循环的核心, 是地圈-生物圈-大气圈相互作用的纽带。稳定同位素光谱和质谱技术和方法的进步使碳稳定同位素比值($\delta^{13}\text{C}$)和氧稳定同位素比值($\delta^{18}\text{O}$)(CO₂)、 $\delta^{13}\text{C}$ (CH₄)、氮稳定同位素比值($\delta^{15}\text{N}$)和 $\delta^{18}\text{O}$ (N₂O)、氢稳定同位素比值(δD)和 $\delta^{18}\text{O}$ (H₂O)的观测成为可能, 与箱式通量观测技术和方法结合可以实现土壤、植物乃至生态系统尺度温室气体及其同位素通量观测研究。该综述以CO₂及其 $\delta^{13}\text{C}$ 通量的箱式观测技术和方法为例, 概述了箱式通量观测系统的基本原理及分类, 阐述了系统设计的理论要求和假设, 综述了从野外到室内土壤、植物叶-茎-根以及生态系统尺度箱式通量观测研究的应用进展及问题, 展望了气体分析精度和准确度、观测数据精度和准确度以及观测数据的代表性评价在箱式通量观测研究中的重要性。

关键词 温室气体; 稳定同位素; 精度; 准确度; 代表性

魏杰, 陈昌华, 王晶苑, 温学发 (2020). 箱式通量观测技术和方法的理论假设及其应用进展. 植物生态学报, 44, 318–329. DOI: 10.17521/cjpe.2019.0201

Theory, hypothesis and application advance in chamber-based technology and methods for flux measurement

WEI Jie¹, CHEN Chang-Hua¹, WANG Jing-Yuan¹, and WEN Xue-Fa^{1,2*}

¹Key Laboratory of Ecosystem Network Observation and Modeling, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; and ²College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Abstract

The exchange flux of greenhouse gases, such as carbon (CO₂, CH₄), nitrogen (N₂O) and water vapour (H₂O), is the core of material cycle in the ecosystem and the bond of interaction among geosphere, biosphere and atmosphere. The development of stable isotope infrared spectroscopy and mass spectrometry technology and methods makes it possible to measure carbon stable isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) and oxygen stable isotopic composition ($\delta^{18}\text{O}$)(CO₂), $\delta^{13}\text{C}$ (CH₄), nitrogen stable isotope composition ($\delta^{15}\text{N}$) and $\delta^{18}\text{O}$ (N₂O), hydrogen stable isotopic composition (δD) and $\delta^{18}\text{O}$ (H₂O), which realizes the observation of greenhouse gas and its isotope flux at the soil, plant and ecosystem scales in combined with chamber-based technology and methods for flux measurement. Taking the chamber-based technology and methods for CO₂ and its $\delta^{13}\text{C}$ flux measurement as an example, this review which summarizes the basic principle and classification of the flux measurement system, expounds the theory requirements and assumptions of system design, summarizes the application advance and problems of chamber-based technology and methods for flux measurement in soil, plants (leaf, stem, and root) and ecosystem scales from the field to indoor, and prospects the importance of precision and accuracy of gas analysis and measurement data and the representativeness of measurement data in chamber-based flux measurement.

Key words greenhouse gas; stable isotope; precision; accuracy; representative

Wei J, Chen CH, Wang JY, Wen XF (2020). Theory, hypothesis and application advance in chamber-based technology and methods for flux measurement. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 44, 318–329. DOI: 10.17521/cjpe.2019.0201

生态系统各种生源元素在土壤、植物、动物、微生物和大气间迁移和转化的物质循环过程研究是生态系统生态学的前沿性科学问题(于贵瑞, 2009; 于振良, 2017)。碳循环、氮循环和水循环是最重要

的物质循环, 碳(CO₂、CH₄)、氮(N₂O)和水汽(H₂O)等温室气体的交换通量是生态系统物质循环的核心, 是地圈-生物圈-大气圈相互作用的纽带(于贵瑞和孙晓敏, 2017)。同位素技术具有指示、示踪和整合功

收稿日期Received: 2019-08-05 接受日期Accepted: 2019-11-14

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC0503904)和国家自然科学基金(41830860和41671257)。Supported by the National Key R&D Program of China (2017YFC0503904), and the National Natural Science Foundation of China (41830860 and 41671257).

* 通信作者Corresponding author (wenxf@igsrr.ac.cn)

能,可以辅助解析生态系统碳氮水的生物地球化学循环过程与机制(温学发等, 2019)。稳定同位素红外光谱技术和方法的进步使碳稳定同位素比值($\delta^{13}\text{C}$)和氧稳定同位素比值($\delta^{18}\text{O}$)(CO_2)、 $\delta^{13}\text{C}$ (CH_4)、氮稳定同位素比值($\delta^{15}\text{N}$)和 $\delta^{18}\text{O}$ (N_2O)、氢稳定同位素比值(δD)和 $\delta^{18}\text{O}$ (H_2O)等温室气体同位素组成的连续观测成为可能(Wen *et al.*, 2008, 2013), 与箱式通量观测技术和方法结合可以实现温室气体及其同位素通量观测研究, 有助于揭示温室气体在土壤-植物-大气连续体的产生、传输和转化的相关过程与机制等(Wingate *et al.*, 2010; Bowling *et al.*, 2015; Epron *et al.*, 2016)。

由于原理简单且操作方便, 箱式通量观测技术和方法在自然或控制条件下的土壤、植物乃至生态系统尺度温室气体通量观测研究中得到广泛应用(Kuptz *et al.*, 2011a, 2011b; He *et al.*, 2013; Merbold *et al.*, 2013; Savage *et al.*, 2014)。从早期的静态箱-碱液吸收滴定(Lundegardh, 1927)和静态箱-气相色谱测定(Midwood & Millard, 2011; Imer *et al.*, 2013)等人工离线测定模式, 发展到目前通常采用的自动箱-红外光谱测定(Plain *et al.*, 2009; Dubbert *et al.*, 2014; Savage *et al.*, 2014)等自动在线测定模式。但是, 通常缺乏对观测系统设计的理论要求和假设等问题的综合考虑和评价。首先, 如何保证系统测定数据的精度和准确度, 即保证系统气密性及气体混合、箱体内外气体浓度和压力保持一致等(Xu *et al.*, 2006; Midwood *et al.*, 2008); 其次, 如何保证系统测定数据的代表性, 即待测气体的产生和传输不受影响等(Midwood *et al.*, 2008; Weiss *et al.*, 2009; Snell *et al.*, 2014)。

本文以 CO_2 及其 $\delta^{13}\text{C}$ 通量为例论述, 通常红外光谱技术仅测定总 CO_2 浓度, 而稳定同位素红外光谱技术可以分别测定 $^{12}\text{CO}_2$ 和 $^{13}\text{CO}_2$ 的浓度, 总 CO_2 浓度可通过 $[\text{CO}_2] = ([^{12}\text{CO}_2] + [^{13}\text{CO}_2]) / (1 - f_{\text{other}})$ 计算获得, 其中 f_{other} 表示除 $^{12}\text{CO}_2$ 和 $^{13}\text{CO}_2$ 之外的其他 CO_2 组分的比例, 其值为0.004 74 (Griffis *et al.*, 2004)。同时, CO_2 $\delta^{13}\text{C}$ 可通过 $\delta^{13}\text{C} = ([^{12}\text{CO}_2] / [^{13}\text{CO}_2]) / R_{\text{standard}} - 1) \times 10^3$ 计算获得, 式中 R_{standard} 是碳同位素标准物(VPDB)的同位素比值, 为0.0111 797。本文将归纳总结箱式通量观测系统的基本原理及分类、系统设计的理论要求和假设, 概述其在土壤、植物和生态系统的应用进展及存在问题,

总结并展望应用箱式通量观测系统的注意事项。

1 系统组成、分类及原理

1.1 系统组成及分类

箱式通量观测系统通常由气室箱体、采样气路、气体分析仪、系统控制等部分构成, 如图1A和1C所示。箱式通量观测系统是根据物质守恒的基本原理, 将气室箱体罩于 CO_2 源表面, 或将 CO_2 源置于气室箱体内, 利用采样气路离散或连续采集 CO_2 气体, 通过气体分析仪准确测定一定时间内箱体中 CO_2 浓度变化速率或箱体进气口和出气口 CO_2 浓度差, 进而计算得到 CO_2 及其 $\delta^{13}\text{C}$ 通量, 上述过程可以通过人工或自动系统控制装置实现。

根据箱体内 CO_2 浓度变化特征, 通常可以分为非稳态(也称为闭路)箱式通量观测系统(图1A、1B)和稳态(也称为开路)箱式通量观测系统(图1C、1D)(Midwood & Millard, 2011)。同时, 根据箱体内气体是否持续流动分为静态或动态系统, 根据箱体内气体浓度测定方式分为离线或在线系统, 根据箱体开闭方式可以分为人工或自动系统, 根据箱体是否透光分为明箱或暗箱系统等(Midwood & Millard, 2011; Epron *et al.*, 2016)。目前, 根据上述不同方式的组合形成了各具特色的商业化及研究者自制的箱式通量观测系统。根据研究目的不同, 气室箱体通常设计为底部开放, 将箱体罩于 CO_2 源表面, 例如, 土壤或茎干呼吸的气室箱体等; 或者, 气室箱体设计为全封闭系统, 将 CO_2 源置于箱体内, 例如, 叶片气体交换的气室箱体或生长箱等(Rey, 2015)。

1.2 非稳态系统特征及通量计算原理

非稳态箱式通量观测系统是通过使箱体内气体形成闭路循环, 允许箱体内 CO_2 浓度持续上升, 通过一定时间内箱体内 CO_2 浓度的变化速率计算通量, 如图1A和1B所示。测定过程中, 箱体内总 CO_2 浓度逐渐升高, 同时 $^{12}\text{CO}_2$ 和 $^{13}\text{CO}_2$ 浓度均逐渐升高。随着气室内 CO_2 浓度增加, 由于 CO_2 扩散梯度的逐渐减小而对 CO_2 释放的抑制程度增加, 导致 CO_2 通量被低估(Livingston *et al.*, 2006)。选择适宜的观测时间可以最大程度避免 CO_2 抑制效应。与大气 CO_2 $\delta^{13}\text{C}$ 相比, 植物或土壤呼吸释放 CO_2 $\delta^{13}\text{C}$ 贫化(即偏负)。由于动力学分馏效应导致较轻的 $^{12}\text{CO}_2$ 比 $^{13}\text{CO}_2$ 更利于扩散进入气室箱体, 进而导致测定过程中箱体内 CO_2 $\delta^{13}\text{C}$ 值逐渐降低。如果存在由于扩散梯度变化

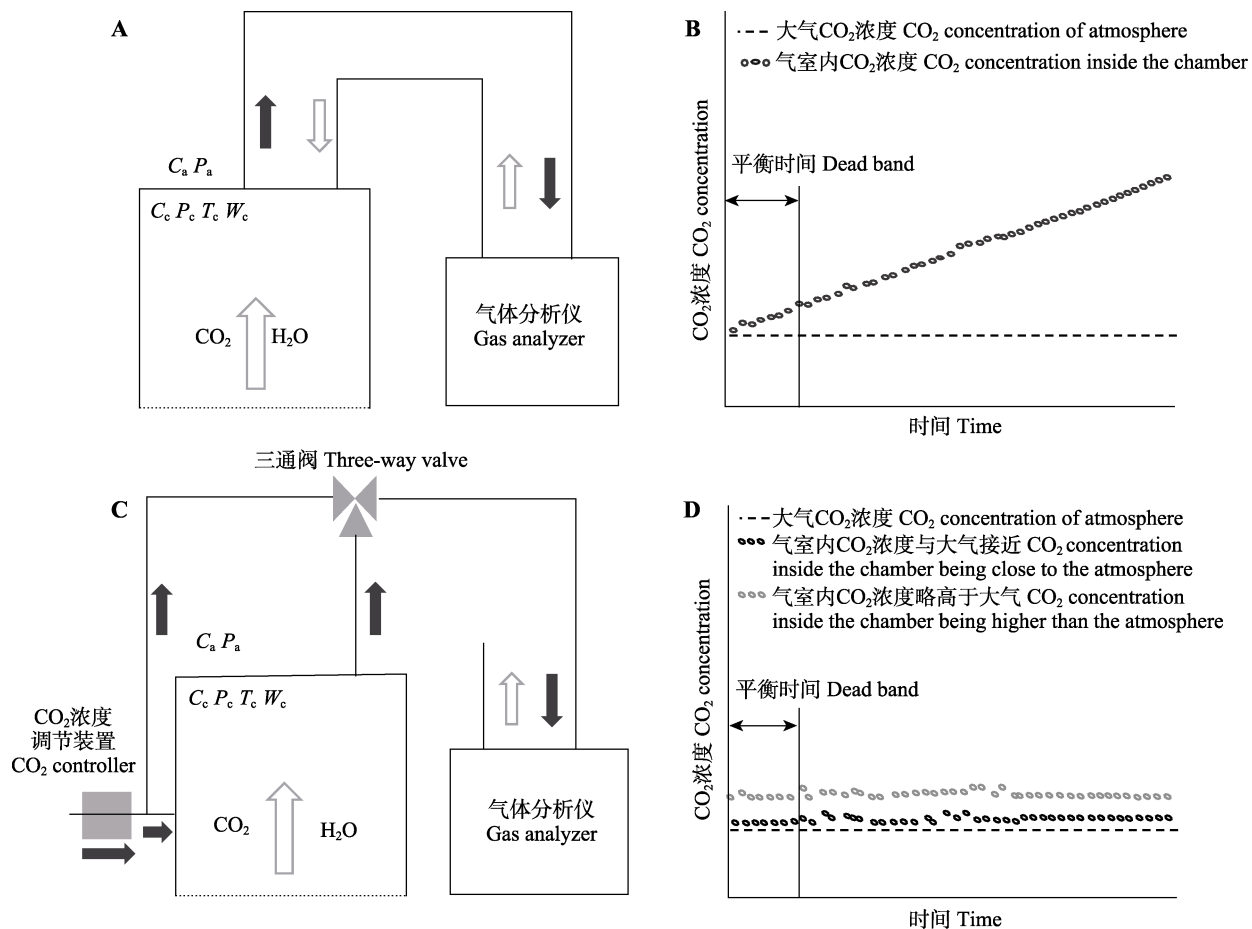


图1 非稳态系统(A、B)和稳态系统(C、D)及其气室箱体内CO₂浓度变化特征示意图。C_c、C_a分别表示气室内和气室外CO₂浓度; P_c、P_a分别表示气室内和气室外大气压; T_c、W_c表示气室内温度和湿度。

Fig. 1 System characteristics and CO₂ concentration change inside of chamber at non-steady-state (A, B) and steady-state (C, D). C_c and C_a represent the CO₂ concentration inside and outside of the chamber, respectively; P_c and P_a represent the atmosphere pressure inside and outside of the chamber, respectively; T_c and W_c represent the air temperature and moisture inside the chamber, respectively.

而产生的同位素分馏效应, 则导致箱体内CO₂ δ¹³C值逐渐降低, 特别是低CO₂排放通量条件下, 导致δ¹³C通量被高估。以土壤呼吸为例, 由于扩散梯度改变, 地表排出的CO₂ δ¹³C比土壤中储存的CO₂ δ¹³C显著偏负, 幅度最高可达4.4% (Livingston *et al.*, 2006)。

由于气体分析仪只能测定单位体积湿空气的CO₂物质的量, 而不能直接测定单位体积干空气的CO₂物质的量, 这里湿空气密度等于干空气密度、水汽密度和CO₂密度的和。因此, 需要校正水汽密度变化对CO₂密度的影响。非稳态系统CO₂通量计算是根据箱体内CO₂、水汽和空气的3个质量守恒方程联立推导获得。非稳态系统CO₂ δ¹³C通量计算是根据同位素物质守恒原理, 利用Keeling Plot曲线(KP) (Keeling, 1958), Miller-Tans曲线(MT) (Miller & Tans, 2003)等同位素混合模型以及同位素通量比值(FR)

模型(Griffis *et al.*, 2004)计算。上述模型的估算偏差和不确定性受到CO₂跨度(KP和MT)和d¹³CO₂/dz (FR)降低的影响(Chen *et al.*, 2017)。高斯噪声模拟表明不同模型估算结果的不确定性主要来源于δ¹³C观测误差, 而非CO₂观测误差。确定低CO₂跨度或FR阈值是保证不同模型计算精度的有效途径(Chen *et al.*, 2017)。

1.3 稳态系统特征及通量计算原理

稳态箱式通量观测系统是通过使箱体内气体形成开放气路, 保持箱体内外CO₂浓度一致或仅略高于大气, 通过测定箱体进气口和出气口CO₂浓度差计算通量, 如图1C和1D所示。根据是否增加CO₂浓度调节装置, 通常可以分为两类: (1)不增加CO₂浓度调节装置, 仅通过将气泵和电磁阀切换实现利用气体分析仪测定进气口(参考气)和出气口(样品气)CO₂浓度并计算差值。在测定过程中, 箱体内总CO₂

浓度略高于大气, 同时 $^{12}\text{CO}_2$ 和 $^{13}\text{CO}_2$ 浓度均略高于大气(Bahn *et al.*, 2009; Plain *et al.*, 2009; Subke *et al.*, 2009)。(2)增加 CO_2 浓度调节装置, 通过向箱体注入无 CO_2 的空气, 保持箱体进气口和出气口气体流速相同, 使箱体内总 CO_2 浓度始终与箱体外总 CO_2 浓度基本保持一致, 仅略高于大气, 但设计和操作较难(Midwood *et al.*, 2006; Marron *et al.*, 2009)。稳态系统通常没有明显的 CO_2 累积(一般低于 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)(Midwood & Millard, 2011), 因此, 测定过程中通常不会对 CO_2 扩散产生明显影响, 这使得稳态系统在测定 $\delta^{13}\text{C}$ 时比非稳态系统更有优势(Bahn *et al.*, 2009; Plain *et al.*, 2009; Subke *et al.*, 2009)。

与非稳态系统类似, 稳态系统 CO_2 通量计算同样基于质量守恒方程的基本原理, 测定箱体进气口和出气口的 CO_2 浓度、气体流速及箱体的底面积和高度(Marron *et al.*, 2009; Powers *et al.*, 2010)。稳态系统 CO_2 $\delta^{13}\text{C}$ 通量计算也是根据同位素质量守恒的基本原理, 需要精确测定进气口和出气口的 CO_2 浓度及 $\delta^{13}\text{C}$ 值(Marron *et al.*, 2009; Powers *et al.*, 2010)。稳态系统比非稳态系统更复杂, 特别在排放通量低的情况下, 进气口和出气口的差异明显减小, 进气口和出气口 CO_2 浓度和 $\delta^{13}\text{C}$ 的测定误差最终都会影响稳态系统 CO_2 $\delta^{13}\text{C}$ 通量的精度(Midwood *et al.*, 2008)。

2 系统设计的理论要求与假设

非稳态和稳态箱式通量观测系统设计均需要保证系统气密性及气体混合良好、箱体内外气体浓度和压力保持一致、测定过程中均需要保证待测气体的产生和传输不受影响等。

2.1 系统气密性及气体混合程度

箱式通量观测系统需要保证气体分析仪以及系统气路的气密性, 即不存在与外界大气的气体交换过程。测定过程中, 需要箱体内以及系统内气体充分混合才能代表待测气体。通常采取在气室箱体顶端安装风扇方式进行气体混匀(Midwood *et al.*, 2008)。但是由于风扇可能导致气室内压力波动, 影响 CO_2 扩散梯度, 进而导致 CO_2 排放通量的高估或低估(Midwood *et al.*, 2008)。通常仅通过气室箱体与气体分析仪间的气体循环过程实现系统内气体充分混合(Pumpanen *et al.*, 2004; Kammer *et al.*, 2011)。需

要注意的是, 开始测量时, 系统内均会残留上一个测定的气体, 需要短暂的系统平衡时间(图1B、1D), 才能实现系统内的气体充分混合。需要保证不同气室箱体间的有效切换才能代表待测气体, 即需要剔除气路切换后的无效数据后保证足够的有效数据量。无效数据量所对应的时间越短代表切换效率越高。同时, 对于 CO_2 $\delta^{13}\text{C}$ 通量测定, 需要选用不会造成同位素分馏效应的材料构建系统。

对气体分析仪以及观测系统的气密性进行漏率测试, 是保障系统观测精度和准度的前提。通常对于非稳态系统利用气密性良好的气泵和气路将气体分析仪或整个观测系统连接成密闭循环气路进行漏率测试。通过对气体分析仪或观测系统内分别注入涵盖待测 CO_2 浓度范围的一组 CO_2 标准气体, 测定单位时间内分析仪或系统内 CO_2 浓度变化并计算系统漏率, 并通过漏率计算 CO_2 通量(高峻等, 2011; 于贵瑞等, 2015), 即漏率造成的系统误差。而对于稳态系统, 除了通过上述方式进行漏率测试外, 还可以利用同一已知 CO_2 标准气体作为参考气和样品气参照通量梯度法进行系统测试(赵佳玉等, 2019)。

2.2 保证箱体内外气体浓度一致

箱式通量观测系统需要保证箱体内外待测气体浓度一致, 即与自然条件下待测气体扩散条件一致。非稳态系统通常采用两种方法满足上述假设。首先, 线性回归方法是估算箱体内 CO_2 浓度随时间变化速率($\partial c/\partial t$)的基本方法, 而指数回归方法则可以准确地估算外界 CO_2 浓度条件下的 $\partial c/\partial t$ 。虽然线性回归与指数回归方法估算的结果具有很好的线性关系, 但是在低 CO_2 通量条件下, 线性回归获得的 $\partial c/\partial t$ 显著低于指数回归估算的 $\partial c/\partial t$ (温学发等, 2007)。其次, 通过 CO_2 浓度预降低装置, 使箱体内 CO_2 浓度低于大气 CO_2 浓度, 进而允许箱体内 CO_2 浓度缓慢上升至高于大气 CO_2 浓度, 计算外界大气 CO_2 浓度条件下的 $\partial c/\partial t$ (Buchmann & Ehleringer, 1998; Ohlsson *et al.*, 2005)。

稳态系统满足上述假设的方法通常也包括两种。首先, 通过增加 CO_2 浓度调节装置向箱体注入无 CO_2 的空气, 保持箱体进气口和出气口气体流速相同, 使箱体内总 CO_2 浓度始终与箱体外总 CO_2 浓度保持动态平衡(Midwood *et al.*, 2008; Marron *et al.*, 2009; Powers *et al.*, 2010)。其次, 通过参考室与双层气室系统设计达到箱体内总 CO_2 浓度始终与箱体外

总CO₂浓度保持动态平衡(Albanito *et al.*, 2012), 其中参考气室上表面为CO₂自由渗透膜, 双层气室的上层气室相当于上述第一种途径的稳态气室, 中间利用CO₂渗透膜隔开, 下层气室为非稳态气室; 参考气室和上层气室利用红外光谱技术测定, 当二者CO₂浓度一致时, 利用稳定同位素红外光谱技术测定下层气室CO₂ $\delta^{13}\text{C}$ 值。

2.3 保证箱体内外气体压力一致

箱式通量观测系统气室箱体内压力增加, 会抑制排放源CO₂释放, 反之, 则会促进排放源CO₂释放或周围大气进入气室。系统设计中可以通过压力平衡装置保持气室内与气室外周围空气的压力平衡(Midwood & Millard, 2011)。传统的压力平衡装置多采用简单的通风管维持气室内外压力平衡, 但是这种方法仅在静风条件下适合; 在有风的条件下, 气室内会形成负压(文丘里效应), 导致土壤空气CO₂进入气室, 进而高估CO₂排放通量。Xu等(2006)对通风装置进行了改进, 新设计的通风装置位于气室顶端的中间位置, 其截面形状为锥形, 外侧开口高度与中间部分高度之比约为1:5。通过对以土壤为基底的土壤环和以底部密封的土壤环进行不同风速条件下气室内外压力变化试验发现, 新设通风装置在风速高达7 m·s⁻¹时, 气室内外气压基本保持一致。

如果气室箱体迅速关闭, 可以使周围大气随着气室压向地表, 降低CO₂扩散梯度。这种扰动对土壤CO₂扩散的影响, 可能需要较长时间才能重新平衡(Hutchinson & Livingston, 2001), 而合适的压力平衡装置可以有效消除气室关闭导致的压力变化(Davidson *et al.*, 2002)。稳态系统比非稳态系统更复杂, 关键的技术难点是如何避免由于气体流动引起的压力变化(Midwood & Millard, 2011)。

2.4 待测气体的产生与传输不受影响

测定过程中, 不能改变待测气体源汇的底物特征及环境条件, 影响待测气体的产生。土壤呼吸依赖于温度和湿度等环境因素, 人为的环境条件改变影响CO₂通量(Davidson *et al.*, 2002)。测定过程应尽量减少对气室内温度和湿度等条件的影响。土壤环插入土壤的过程会切断土壤中的根系。通常在测定前尽量长的时间将土壤环安装到样地, 使得生态系统能够得到有效恢复; 在不影响系统整体性的前提下, 土壤环插入深度都尽量浅(Midwood & Millard, 2011; 李建军等, 2019), 但存在表层土壤空气流动

的问题(Parkin *et al.*, 2005)。风不仅能引起气室内压力变化, 也会促进大气CO₂与表层土壤CO₂的混合(Susfalk *et al.*, 2002; Millard *et al.*, 2008)。土壤环插入土壤深度过浅可能会存在大气CO₂与表层土壤CO₂的混合, 特别是对于干燥、多空隙的土壤来说, 会引入CO₂浓度测定误差, 并显著改变测定的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(Susfalk *et al.*, 2002; Millard *et al.*, 2008)。Hutchinson和Livingston (2001)的研究表明, 干燥、多气孔或者粗颗粒的土壤需将土壤环插入土壤超过10 cm; 而细颗粒、湿润或紧实的土壤只需将土壤环插入土壤不超过5 cm。Nickerson和Risk (2009)利用同位素模型模拟了正确的土壤环插入深度对于阻止空气进入气室的重要性, 最差的情况下, 气室内CO₂的 $\delta^{13}\text{C}$ 富集可达到4‰。

测定过程中, 需要保证待测气体传输只受扩散过程影响, 且全部扩散至气室箱体内, 同时箱体内没有其他源汇项干扰。土壤呼吸产生的CO₂通过物理扩散向地上、地下或侧向迁移, 主要受控于土壤CO₂产生的深度以及土壤孔隙度(Mencuccini & Hölttä, 2010)。土壤含水量适当增加, 也会显著降低CO₂扩散速率, 同时增加CO₂到达地表的时间。除物理扩散外, CO₂会溶解在水中(降水)随着地表径流、壤中流或地下径流进入水体或湖泊, 进而导致CO₂通量被低估。在干旱和半干旱区普遍存在的碳酸盐溶解(吸收CO₂)-再沉淀(释放CO₂)过程同样影响CO₂通量及其 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 需要考虑化学风化产生的CO₂, 以正确计算生物过程产生的CO₂的量(Rey, 2015)。非碳酸盐矿物与CO₂反应生成稳定的碳酸盐矿物, 这一过程也可能影响土壤CO₂释放量(Matter & Kelemen, 2009)。

3 在土壤和植物CO₂及其 $\delta^{13}\text{C}$ 通量观测中的应用

目前, 非稳态和稳态箱式通量观测系统在自然条件以及控制条件下土壤和植物根-茎-叶乃至生态系统尺度CO₂及其 $\delta^{13}\text{C}$ 通量观测中均得到应用(Griffis, 2013; Bowling *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2018)。商业化及研究者自制了土壤和植物CO₂及其 $\delta^{13}\text{C}$ 通量协同观测系统(图2A)和生态系统或冠层CO₂及其 $\delta^{13}\text{C}$ 通量观测系统(图2B), 通常将分析仪及箱式装置有效整合为一套全自动在线连续观测系统。值得注意的是, 如图2所示, 如果观测系统形成

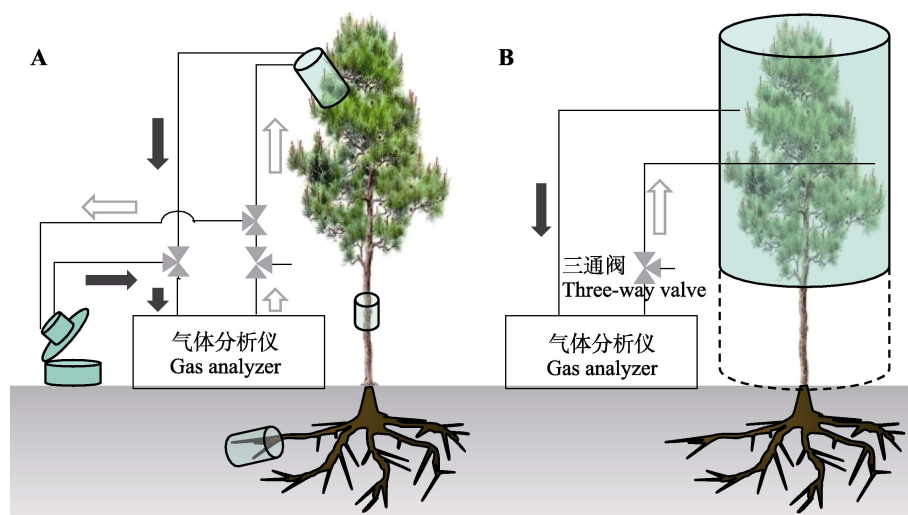


图2 土壤和植物CO₂碳稳定同位素比值(δ¹³C)通量协同观测系统(A)及冠层和生态系统CO₂ δ¹³C通量观测系统(B)示意图。A中植物呼吸箱仅以叶片和土壤呼吸箱为例展示气路图(茎干和根呼吸箱气路图与叶片相同)。

Fig. 2 Diagram on cooperative observation system of the CO₂ carbon stable isotope composition (δ¹³C) flux of soil and plant (A) and observation system of the CO₂ δ¹³C flux of canopy and ecosystem (B). In A, we only take leaf and soil chambers as an example to show the flow diagram of gas system (stem and root chambers same as leaf chamber).

闭路循环气路则为非稳态系统,而形成开路循环气路则为稳态系统。

3.1 土壤CO₂及其δ¹³C通量观测系统

相对于稳态箱式通量观测系统,非稳态箱式通量观测系统应用更加广泛。商业化土壤CO₂箱式通量观测系统包括LI-COR LI-6400-09和LI-COR LI-8100/8150等,均为非稳态系统。其中,LI-COR LI-6400-09系统,首先通过CO₂浓度预降低系统使气室内CO₂浓度下降至低于大气CO₂浓度,再允许气室箱体内CO₂浓度逐渐升高并高于大气CO₂浓度,进而计算大气CO₂浓度条件下CO₂通量。但是,Ohlsson等(2005)认为闭路气室如果从较低的CO₂浓度开始测定,会促进周围大气进入气室,改变扩散平衡。而LI-COR LI-8100/8150采用专利设计的压力平衡装置与气体混合技术,通过指数回归方法获得外界大气CO₂浓度条件下的土壤CO₂通量。目前,土壤CO₂ δ¹³C箱式通量连续观测系统相对较少,且多为研究者自制。无论稳态还是非稳态系统均主要基于商业化的稳定同位素质谱分析仪,包括调制式半导体激光吸收光谱(TDLAS)、波长扫描光腔衰荡光谱(WC-CRDS)、离轴综合腔输出光谱(OA-ICOS)、量子级联激光吸收光谱(QCLAS)和差频激光光谱(DFG)等(Griffis, 2013; Wen *et al.*, 2013)。

土壤CO₂及其δ¹³C通量的原位长期连续观测,有助于解析土壤呼吸随植物生理和环境等因素变化

过程中的微小波动(Midwood *et al.*, 2008; Bowling *et al.*, 2015)。土壤呼吸包括自养呼吸和异养呼吸,而δ¹³C已经被证明可以用于拆分这两种组分(Midwood *et al.*, 2008; Albanito *et al.*, 2012)。Midwood等(2008)利用土壤CO₂稳态系统与稳定同位素质谱仪(Isotope Ratio Mass Spectrometry, IRMS)连用测定,通过两元混合模型计算表明大麦(*Hordeum vulgare*)幼苗根中50%的碳可能来自于光合作用新合成的碳水化合物。Albanito等(2012)通过设计的参考室和双气室的稳态系统,利用三元混合模型计算出土壤有机质、凋落物和根对土壤呼吸的相对贡献比例分别为37%、33%和30%。Liu等(2018)利用非稳态系统进行周期性升温 and 降温(5–30 °C)培养试验,结果表明土壤微生物呼吸对升温 and 降温具有明显的非对称响应,升温阶段土壤微生物呼吸的增长速度更快。

3.2 植物CO₂及其δ¹³C通量观测系统

3.2.1 叶片CO₂及其δ¹³C通量观测系统

相对于非稳态箱式通量观测系统,稳态箱式通量观测系统应用更加广泛,可以采用明箱或暗箱测定。商业化叶片CO₂箱式通量观测系统包括LI-6400/6800等,为稳态系统。通过红外光谱技术对气室内样品气和参考气进行差分测量,计算CO₂通量(Barbour *et al.*, 2007; Douthe *et al.*, 2011)。叶片与大气之间的CO₂平衡和水汽交换受到气孔导度的控制。随着研究的深入,发现叶片内部传输过程对碳

水交换的影响也非常重要(Moreno-Gutiérrez *et al.*, 2012)。叶片CO₂ δ¹³C通量连续观测系统可通过从LI-6400/6800气室进气口和出气口分别抽取部分气体进入稳定同位素红外光谱仪,即可同步测定叶片CO₂及其δ¹³C通量(Douthe *et al.*, 2011; Barbour *et al.*, 2016), 这为理解CO₂在叶片内部传输的动态过程提供了技术支撑,可揭示叶肉导度对CO₂导度和水汽导度之间存在的权衡关系(Moreno-Gutiérrez *et al.*, 2012)。

3.2.2 茎干CO₂及其δ¹³C通量观测系统

茎干箱式通量观测系统通常可以直接使用或借鉴土壤箱式通量观测系统。根据胸径大小制作特定直径的PVC环,密封固定在树干上直接利用土壤箱式通量观测系统进行观测(Yang *et al.*, 2012; Hilman & Angert, 2016; Salomón *et al.*, 2016), 或者制作适合茎干的特定箱体并与气体分析仪相连构成茎干箱式通量观测系统(Wang *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2019)。茎干CO₂通量是森林生态系统碳循环中的重要组成部分, 占全球森林生态系统净初级生产力的20% (Yang *et al.*, 2016, 2019; Zhao *et al.*, 2018)。研究表明, 茎干呼吸的日变化趋势呈现单峰曲线、双峰曲线和S型曲线3种模式(石新立等, 2010)。其中, 气候和植被类型等可能是不同变化趋势的决定因素。Yang等(2016)通过收集全球121篇已发表文章的数据, 研究了茎干呼吸与叶面积指数、年平均气温及年平均降水量的相关关系, 发现茎干呼吸与叶面积指数呈正相关关系, 叶面积指数、年平均气温及降水量可以解释茎干呼吸变异的74%。

3.2.3 根系CO₂及其δ¹³C通量观测系统

相对于土壤、植物叶片和茎干箱式通量观测系统, 根系箱式通量观测系统的难点在于适合于根系的气室箱体设计和实现(Marsden *et al.*, 2008; Jia *et al.*, 2013; Lai *et al.*, 2015, 2016)。传统根CO₂通量观测通常将根系切断, 然后放到根呼吸气室箱体内, 但被切除的根系呼吸速率明显高于未被切除的根系(Makita *et al.*, 2009, 2013; Sun *et al.*, 2017)。而通过原位根呼吸气室箱体设计可以很好地解决这一问题, 根呼吸箱通常使用PVC材料, 由两个半圆环或者一个封闭圆环(一端开口)构成, 将不同直径的根系放进根呼吸箱后, 形成封闭系统用于观测根呼吸CO₂通量(Marsden *et al.*, 2008; Kuptz *et al.*, 2011a, 2011b)。根系呼吸是森林土壤碳排放的重要来源,

其对土壤呼吸的贡献比例介于1/3到50%多之间(Marsden *et al.*, 2008; Makita *et al.*, 2009, 2012; Sun *et al.*, 2017)。结合新的高时间分辨率土壤呼吸数据集, 可以为土壤和根系呼吸的生物和环境控制机制提供新的见解(Hopkins *et al.*, 2013)。植物根系具有不同直径(粗根和细根)和不同生理性状, 其呼吸速率模式及其对环境因子的响应具有明显差异。根系呼吸与根系直径、组织组成和特定根长等形态特征密切相关(Sun & Mao, 2011)。通过根系呼吸与形态性状之间的相关关系, 可以建立区分粗根和细根呼吸的定量关系。细根对于植物生长、营养元素获取等生理功能具有重要作用, 其呼吸速率通常高于粗根, 且变异较大。在野外原位观测的结果发现, 根系直径与呼吸速率显著相关, 直径小于0.4 mm的根系呼吸速率显著高于其他根系, 且变异较大; 同时, 根系呼吸速率与根长和根的含氮量呈正相关关系(Makita *et al.*, 2009)。

3.3 土壤和植物CO₂及其δ¹³C通量协同观测

根据研究需要, 研究者通常将上述土壤、植物叶片、茎干和根CO₂及其δ¹³C通量观测箱体进行组合, 即可实现土壤和植物CO₂及其δ¹³C通量的协同观测(Wingate *et al.*, 2010; Kuptz *et al.*, 2011a, 2011b)。叶片(小枝)、茎干和土壤呼吸CO₂及其δ¹³C协同观测系统可用于植物光合作用新合成碳水化合物的迁移转化过程研究(Bowling *et al.*, 2008; Wingate *et al.*, 2010; Kuptz *et al.*, 2011a, 2011b)。叶片(小枝)、茎干和土壤呼吸CO₂及其δ¹³C间具有明显的时间滞后效应(Wingate *et al.*, 2010; Bowling *et al.*, 2015)。对20–25 m高的大树研究发现, 土壤CO₂ δ¹³C与冠层光合产物δ¹³C之间存在1–4天的滞后效应, 并且显著受控于空气相对湿度的变化(Ekblad & Höglberg, 2001)。Wingate等(2010)研究发现, 与光合判别相比, 叶片呼吸释放CO₂ δ¹³C的短期变异更小, 并且存在2–10天的延迟效应, 这可能是由于后光合分馏效应和新老碳的混合作用共同导致的。

3.4 生态系统CO₂及其δ¹³C通量观测

生态系统箱式通量观测系统主要分为两种: 冠层通量测定(不包括土壤)和生态系统通量测定(包括土壤), 可以采用明箱或暗箱测定。生态系统通量观测多应用于草本或小灌木生态系统通量观测研究(Wu *et al.*, 2010; Hafner *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2016)。高大乔木根据研究目标可以选择进行冠层或

生态系统CO₂及其 $\delta^{13}\text{C}$ 通量观测。但由于难度较高而选择进行¹³CO₂脉冲标记研究(Plain *et al.*, 2009; Epron *et al.*, 2016)。通常利用不同高度的钢制脚手架环绕树的冠层, 利用高透光率的聚合物膜或有机玻璃等制作冠层箱(明箱或暗箱), 箱体的底座由两个半圆形不锈钢板制成, 钢板中间开口, 以便容纳茎干, 并固定在脚手架上(Plain *et al.*, 2009; Epron *et al.*, 2016)。为了维持箱体内部的温湿度条件, 通常配套安装空调, 利用风扇混匀冠层箱内的气体(Epron *et al.*, 2016)。Epron等(2016)利用27或38 m³的高透光率膜罩住整个桉树(*Eucalyptus robusta*)冠层进行脉冲标记, 利用茎干和根CO₂及其 $\delta^{13}\text{C}$ 通量观测箱实时观测, 结果表明, 叶片中标记的碳的储存时间非常短(21–31 h), 其在茎干中的迁移速率为0.20–0.82 m·h⁻¹。

4 应用建议与展望

红外光谱或稳定同位素红外光谱技术与箱式通量观测技术和方法相结合可以实现土壤、植物(叶-茎-根)乃至生态系统尺度碳(CO₂、CH₄)、氮(N₂O)和水汽(H₂O)等温室气体及其同位素通量的原位连续观测, 如何保证观测数据质量是所有技术和方法应用的前提和限制因素。

4.1 气体分析仪精度和准确度的校正

所有箱式通量观测系统均需要对气体分析仪进行定期标定。目前常用的CO₂及其 $\delta^{13}\text{C}$ 气体分析仪主要基于稳定同位素红外光谱技术(Midwood & Millard, 2011; Griffis, 2013; Wen *et al.*, 2013; Pang *et al.*, 2016a), 但该技术自身也存在缺点, 主要表现为 $\delta^{13}\text{C}$ 测量值对CO₂浓度变化的非线性响应(浓度依赖性)以及对环境条件变化的敏感性导致的漂移(时间漂移)。二者均对气体分析仪的精度和准确度产生影响, 需要进行适当校正和数据溯源以保证数据的可靠性(Kammer *et al.*, 2011; Pang *et al.*, 2016b; Chen *et al.*, 2017, 2019)。庞家平和温学发(2018)推荐利用3个或3个以上已知CO₂浓度和 $\delta^{13}\text{C}$ 真值的CO₂标准气体涵盖待测气体CO₂浓度, 进行气体分析仪的浓度依赖性校正, 同时通过设置适当的校正频率, 校正时间漂移并进行数据溯源。

4.2 系统测定数据精度和准确度的评价

所有箱式通量观测系统均需要对系统测定数据的精度和准确度进行评价。可以通过零通量和模拟

通量测试对箱式通量观测系统测定数据的精度和准确度进行评价(Midwood *et al.*, 2008; Powers *et al.*, 2010; 高峻等, 2011; 于贵瑞等, 2015)。零通量测试与系统漏率测试类似, 但不需要使用标气, 只要将气室箱体密封进行正常测定即可, 然后计算CO₂通量评价系统是否满足气密性的基本需求。模拟通量测试需要利用注射泵向模拟装置中匀速地注入标准气体来模拟土壤气体的排放过程, 将实际测定排放速率与模拟通量的设定值对比分析, 即可验证观测系统的准确度和精度。

4.3 系统测定数据代表性的评价

根据物质守恒方程, 要求待测气体传输只受扩散过程影响, 且全部扩散至气室箱体内, 同时测定过程不能影响CO₂产生和传输过程, 否则测定的CO₂释放量并不能代表呼吸通量(Midwood *et al.*, 2008; Powers *et al.*, 2010; Kammer *et al.*, 2011; Midwood & Millard, 2011; Sturm *et al.*, 2013; Savage *et al.*, 2014)。首先, 应该保证测定过程不影响待测气体的产生和传输, 即不改变温湿度等环境条件以及待测气体源汇底物特征, 并且有效消除气室箱体的边缘效应, 以及不影响气体的扩散和非扩散过程。其次, 客观验证和讨论待测气体传输只受扩散过程影响且全部扩散至气室箱体内部的科学假设是否成立。例如, 土壤呼吸产生的CO₂主要包括地表释放的CO₂和土壤中储存的CO₂两部分(Hanson & Gunderson, 2009; Midwood & Millard, 2011)。通常假设土壤中储存的CO₂通量可以忽略不计, 则箱式通量观测技术和方法(箱式法)直接测定的“土壤CO₂释放量”等于“土壤呼吸”(Maier & Schack-Kirchner, 2014)。如果土壤CO₂在土壤中发生明显的储存(在某些情况下浓度高达数万 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$), 那么就会显著影响箱式法的观测结果, 导致数据不具有代表性(Wang *et al.*, 2018a, 2018b)。土壤箱式通量法可与土壤通量梯度法相结合, 实现土壤CO₂释放量的相互验证以及土壤CO₂储存通量的估算(Maier *et al.*, 2011; Maier & Schack-Kirchner, 2014)。

参考文献

- Albanito F, McAllister JL, Cescatti A, Smith P, Robinson D (2012). Dual-chamber measurements of $\delta^{13}\text{C}$ of soil-respired CO₂ partitioned using a field-based three end-member model. *Soil Biology & Biochemistry*, 47, 106–115.
- Bahn M, Schmitt M, Siegwolf R, Richter A, Brüggemann N

- (2009). Does photosynthesis affect grassland soil-respired CO₂ and its carbon isotope composition on a diurnal time-scale? *New Phytologist*, 182, 451–460.
- Barbour MM, Evans JR, Simonin KA, von Caemmerer S (2016). Online CO₂ and H₂O oxygen isotope fractionation allows estimation of mesophyll conductance in C₄ plants, and reveals that mesophyll conductance decreases as leaves age in both C₄ and C₃ plants. *New Phytologist*, 210, 875–889.
- Barbour MM, McDowell NG, Tcherkez G, Bickford CP, Hanson DT (2007). A new measurement technique reveals rapid post-illumination changes in the carbon isotope composition of leaf-respired CO₂. *Plant, Cell & Environment*, 30, 469–482.
- Bowling DR, Egan JE, Hall SJ, Risk DA (2015). Environmental forcing does not induce diel or synoptic variation in carbon isotope content of forest soil respiration. *Biogeochemistry*, 12, 5143–5160.
- Bowling DR, Pataki DE, Randerson JT (2008). Carbon isotopes in terrestrial ecosystem pools and CO₂ fluxes. *New Phytologist*, 178, 24–40.
- Buchmann N, Ehleringer JR (1998). CO₂ concentration profiles, and carbon and oxygen isotopes in C₃ and C₄ crop canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 89, 45–58.
- Chen CH, Pang JP, Wei J, Wen XF, Sun XM (2017). Inter-comparison of three models for $\delta^{13}\text{C}$ of respiration with four regression approaches. *Agricultural and Forest Meteorology*, 247, 229–239.
- Chen CH, Wei J, Wen XF, Sun XM, Guo QJ (2019). Photosynthetic carbon isotope discrimination and effects on daytime NEE partitioning in a subtropical mixed conifer plantation. *Agricultural and Forest Meteorology*, 272–273, 143–155.
- Davidson EA, Savage K, Verchot LV, Navarro R (2002). Minimizing artifacts and biases in chamber-based measurements of soil respiration. *Agricultural and Forest Meteorology*, 113, 21–37.
- Douthe C, Dreyer E, Epron D, Warren CR (2011). Mesophyll conductance to CO₂, assessed from online TDL-AS records of ¹³CO₂ discrimination, displays small but significant short-term responses to CO₂ and irradiance in *Eucalyptus* seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 62, 5335–5346.
- Dubbert M, Cuntz M, Piayda A, Werner C (2014). Oxygen isotope signatures of transpired water vapor: the role of isotopic non-steady-state transpiration under natural conditions. *New Phytologist*, 203, 1242–1252.
- Ekblad A, Höglberg P (2001). Natural abundance of ¹³C in CO₂ respired from forest soils reveals speed of link between tree photosynthesis and root respiration. *Oecologia*, 127, 305–308.
- Epron D, Cabral OMR, Laclau JP, Dannoura M, Packer AP, Plain C, Battie-Laclau P, Moreira MZ, Trivelin PCO, Bouillet JP, Gérant D, Nouvellon Y (2016). *In situ* ¹³CO₂ pulse labelling of field-grown eucalypt trees revealed the effects of potassium nutrition and throughfall exclusion on phloem transport of photosynthetic carbon. *Tree Physiology*, 36, 6–21.
- Gao J, Han GL, Huang BX, Shi SJ, Jia CR, Ren YF (2011). Integration and performance test of an automatic multi-channel long-term soil respiration measurement system. *Scientia Silvae Sinicae*, 47(9), 153–157. [高峻, 韩光鲁, 黄彬香, 施生锦, 贾长荣, 任迎丰 (2011). 多通道土壤呼吸长期自动测量系统的集成与性能测试. 林业科学, 47(9), 153–157.]
- Griffis TJ (2013). Tracing the flow of carbon dioxide and water vapor between the biosphere and atmosphere: a review of optical isotope techniques and their application. *Agricultural and Forest Meteorology*, 174–175, 85–109.
- Griffis TJ, Baker JM, Sargent SD, Tanner BD, Zhang J (2004). Measuring field-scale isotopic CO₂ fluxes with tunable diode laser absorption spectroscopy and micrometeorological techniques. *Agricultural and Forest Meteorology*, 124, 15–29.
- Hafner S, Unteregelsbacher S, Seeber E, Lena B, Xu XL, Li XG, Guggenberger G, Miehe G, Kuzyakov Y (2012). Effect of grazing on carbon stocks and assimilate partitioning in a Tibetan montane pasture revealed by ¹³CO₂ pulse labeling. *Global Change Biology*, 18, 528–538.
- Hanson PJ, Gunderson CA (2009). Root carbon flux: measurements versus mechanisms. *New Phytologist*, 184, 4–6.
- He NP, Wang RM, Gao Y, Dai JZ, Wen XF, Yu GR (2013). Changes in the temperature sensitivity of SOM decomposition with grassland succession: implications for soil C sequestration. *Ecology and Evolution*, 3, 5045–5054.
- Hilman B, Angert A (2016). Measuring the ratio of CO₂ efflux to O₂ influx in tree stem respiration. *Tree Physiology*, 36, 1422–1431.
- Hopkins F, Gonzalez-Meler MA, Flower CE, Lynch DJ, Czimczik C, Tang JW, Subke JA (2013). Ecosystem-level controls on root-rhizosphere respiration. *New Phytologist*, 199, 339–351.
- Hutchinson GL, Livingston GP (2001). Vents and seals in non-steady-state chambers used for measuring gas exchange between soil and the atmosphere. *European Journal of Soil Science*, 52, 675–682.
- Imer D, Merbold L, Eugster W, Buchmann N (2013). Temporal and spatial variations of soil CO₂, CH₄ and N₂O fluxes at three differently managed grasslands. *Biogeochemistry*, 10, 5931–5945.
- Jia SX, McLaughlin NB, Gu JC, Li XP, Wang ZQ (2013). Relationships between root respiration rate and root morphology, chemistry and anatomy in *Larix gmelinii* and *Fraxinus mandshurica*. *Tree Physiology*, 33, 579–589.

- Kammer A, Tuzson B, Emmenegger L, Knohl A, Mohn J, Hagedorn F (2011). Application of a quantum cascade laser-based spectrometer in a closed chamber system for real-time $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ measurements of soil-respired CO_2 . *Agricultural and Forest Meteorology*, 151, 39–48.
- Keeling CD (1958). The concentration and isotopic abundances of atmospheric carbon dioxide in rural areas. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 13, 322–334.
- Kuptz D, Fleischmann F, Matyssek R, Grams TEE (2011a). Seasonal patterns of carbon allocation to respiratory pools in 60-yr-old deciduous (*Fagus sylvatica*) and evergreen (*Picea abies*) trees assessed via whole-tree stable carbon isotope labeling. *New Phytologist*, 191, 160–172.
- Kuptz D, Matyssek R, Grams TEE (2011b). Seasonal dynamics in the stable carbon isotope composition $\delta^{13}\text{C}$ from non-leafy branch, trunk and coarse root CO_2 efflux of adult deciduous (*Fagus sylvatica*) and evergreen (*Picea abies*) trees. *Plant, Cell & Environment*, 34, 363–373.
- Lai ZR, Lu S, Zhang YQ, Wu B, Qin SG, Feng W, Liu JB, Fa KY (2016). Diel patterns of fine root respiration in a dry-land shrub, measured *in situ* over different phenological stages. *Journal of Forest Research*, 21, 31–42.
- Lai ZR, Zhang YQ, Wu B, Qin SG, Feng W, Liu JB (2015). Impacts of morphological traits and temperature on fine root respiration during dormancy of *Caragana korshinskii*. *Ecological Research*, 30, 337–345.
- Li JJ, Liu L, Chen DM, Xu FW, Cheng JH, Bai YF (2019). Effects of collar size and buried depth on the measurement of soil respiration in a typical steppe. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 43, 152–164. [李建军, 刘恋, 陈迪马, 许丰伟, 程军回, 白永飞 (2019). 底座入土深度和面积对典型草原土壤呼吸测定结果的影响. *植物生态学报*, 43, 152–164.]
- Liu Y, Wen XF, Zhang YH, Tian J, Gao Y, Ostle NJ, Niu SL, Chen SP, Sun XM, He NP (2018). Widespread asymmetric response of soil heterotrophic respiration to warming and cooling. *Science of the Total Environment*, 635, 423–431.
- Livingston GP, Hutchinson GL, Spartalian K (2006). Trace gas emission in chambers: a non-steady-state diffusion model. *Soil Science Society of America Journal*, 70, 1459–1469.
- Lundegårdh H (1927). Carbon dioxide evolution of soil and crop growth. *Soil Science*, 23, 417–453.
- Maier M, Schack-Kirchner H (2014). Using the gradient method to determine soil gas flux: a review. *Agricultural and Forest Meteorology*, 192–193, 78–95.
- Maier M, Schack-Kirchner H, Hildebrand EE, Schindler D (2011). Soil CO_2 efflux vs. soil respiration: implications for flux models. *Agricultural and Forest Meteorology*, 151, 1723–1730.
- Makita N, Hirano Y, Dannoura M, Kominami Y, Mizoguchi T, Ishii H, Kanazawa Y (2009). Fine root morphological traits determine variation in root respiration of *Quercus serrata*. *Tree Physiology*, 29, 579–585.
- Makita N, Kosugi Y, Dannoura M, Takanashi S, Niiyama K, Kassim AR, Nik AR (2012). Patterns of root respiration rates and morphological traits in 13 tree species in a tropical forest. *Tree Physiology*, 32, 303–312.
- Makita N, Yaku R, Ohashi M, Fukuda K, Ikeno H, Hirano Y (2013). Effects of excising and washing treatments on the root respiration rates of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) seedlings. *Journal of Forest Research*, 18, 379–383.
- Marron N, Plain C, Longdoz B, Epron D (2009). Seasonal and daily time course of the ^{13}C composition in soil CO_2 efflux recorded with a tunable diode laser spectrophotometer (TDLS). *Plant and Soil*, 318, 137–151.
- Marsden C, Nouvellon Y, M'Bou AT, Saint-Andre L, Jourdan C, Kinana A, Epron D (2008). Two independent estimations of stand-level root respiration on clonal *Eucalyptus* stands in Congo: up scaling of direct measurements on roots versus the trenched-plot technique. *New Phytologist*, 177, 676–687.
- Matter JM, Kelemen PB (2009). Permanent storage of carbon dioxide in geological reservoirs by mineral carbonation. *Nature Geoscience*, 2, 837–841.
- Mencuccini M, Hölttä T (2010). The significance of phloem transport for the speed with which canopy photosynthesis and belowground respiration are linked. *New Phytologist*, 185, 189–203.
- Merbold L, Steinlin C, Hagedorn F (2013). Winter greenhouse gas emissions (CO_2 , CH_4 and N_2O) from a sub-alpine grassland. *Biogeosciences*, 10, 3185–3203.
- Midwood AJ, Gebbing T, Wendler R, Sommerkorn M, Hunt JE, Millard P (2006). Collection and storage of CO_2 for ^{13}C analysis: an application to separate soil CO_2 efflux into root- and soil-derived components. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 20, 3379–3384.
- Midwood AJ, Millard P (2011). Challenges in measuring the $\delta^{13}\text{C}$ of the soil surface CO_2 efflux. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25, 232–242.
- Midwood AJ, Thornton B, Millard P (2008). Measuring the ^{13}C content of soil-respired CO_2 using a novel open chamber system. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 22, 2073–2081.
- Millard P, Midwood AJ, Hunt JE, Whitehead D, Boutton TW (2008). Partitioning soil surface CO_2 efflux into autotrophic and heterotrophic components, using natural gradients in soil $\delta^{13}\text{C}$ in an undisturbed savannah soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 40, 1575–1582.
- Miller JB, Tans PP (2003). Calculating isotopic fractionation from atmospheric measurements at various scales. *Tellus B: Chemical and Physical Meteorology*, 55, 207–214.
- Moreno-Gutiérrez C, Dawson TE, Nicolás E, Querejeta JI

- (2012). Isotopes reveal contrasting water use strategies among coexisting plant species in a Mediterranean ecosystem. *New Phytologist*, 196, 489–496.
- Nickerson N, Risk D (2009). A numerical evaluation of chamber methodologies used in measuring the $\delta^{13}\text{C}$ of soil respiration. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23, 2802–2810.
- Ohlsson KEA, Singh B, Holm S, Nordgren A, Lövdahl L, Högborg P (2005). Uncertainties in static closed chamber measurements of the carbon isotopic ratio of soil-respired CO_2 . *Soil Biology & Biochemistry*, 37, 2273–2276.
- Pang JP, Wen XF (2018). A review of the calibration methods for measuring the carbon and oxygen isotopes in CO_2 based on isotope ratio infrared spectroscopy. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 42, 143–152. [庞家平, 温学发 (2018). 稳定同位素红外光谱技术测定 CO_2 同位素校正方法的研究进展. 植物生态学报, 42, 143–152.]
- Pang JP, Wen XF, Sun XM (2016a). Mixing ratio and carbon isotopic composition investigation of atmospheric CO_2 in Beijing, China. *Science of the Total Environment*, 539, 322–330.
- Pang JP, Wen XF, Sun XM, Huang K (2016b). Intercomparison of two cavity ring-down spectroscopy analyzers for atmospheric $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ measurement. *Atmospheric Measurement Techniques*, 9, 3879–3891.
- Parkin TB, Kaspar TC, Senwo Z, Prueger JH, Hatfield JL (2005). Relationship of soil respiration to crop and landscape in the walnut creek watershed. *Journal of Hydrometeorology*, 6, 812–824.
- Plain C, Gerant D, Maillard P, Dannoura M, Dong Y, Zeller B, Priault P, Parent F, Epron D (2009). Tracing of recently assimilated carbon in respiration at high temporal resolution in the field with a tuneable diode laser absorption spectrometer after *in situ* $^{13}\text{CO}_2$ pulse labelling of 20-year-old beech trees. *Tree Physiology*, 29, 1433–1445.
- Powers HH, Hunt JE, Hanson DT, McDowell NG (2010). A dynamic soil chamber system coupled with a tunable diode laser for online measurements of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$, and efflux rate of soil-respired CO_2 . *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24, 243–253.
- Pumpanen J, Kolari P, Ilvesniemi H, Minkinen K, Vesala T, Niinistö S, Lohila A, Larmola T, Morero M, Pihlatie M, Janssens I, Yuste JC, Grünzweig JM, Reth S, Subke JA, Savage K, Kutsch W, Østreng G, Ziegler W, Anthoni P, Lindroth A, Hari P (2004). Comparison of different chamber techniques for measuring soil CO_2 efflux. *Agricultural and Forest Meteorology*, 123, 159–176.
- Rey A (2015). Mind the gap: non-biological processes contributing to soil CO_2 efflux. *Global Change Biology*, 21, 1752–1761.
- Salomón RL, Valbuena-Carabaña M, Gil L, McGuire MA, Teskey RO, Aubrey DP, González-Doncel I, Rodríguez Calcerrada J (2016). Temporal and spatial patterns of internal and external stem CO_2 fluxes in a sub-Mediterranean oak. *Tree Physiology*, 36, 1409–1421.
- Savage K, Phillips R, Davidson E (2014). High temporal frequency measurements of greenhouse gas emissions from soils. *Biogeosciences*, 11, 2709–2720.
- Shi XL, Wang CK, Xu F, Wang XC (2010). Temporal dynamics and influencing factors of stem respiration for four temperate tree species. *Acta Ecologica Sinica*, 30, 3994–4003. [石新立, 王传宽, 许飞, 王兴昌 (2010). 四个温带树种树干呼吸的时间动态及其影响因子. 生态学报, 30, 3994–4003.]
- Snell HSK, Robinson D, Midwood AJ (2014). Minimising methodological biases to improve the accuracy of partitioning soil respiration using natural abundance ^{13}C . *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 28, 2341–2351.
- Sturm P, Tuzson B, Henne S, Emmenegger L (2013). Tracking isotopic signatures of CO_2 at the high altitude site Jungfraujoch with laser spectroscopy: analytical improvements and representative results. *Atmospheric Measurement Techniques*, 6, 1659–1671.
- Subke JA, Vallack HW, Magnusson T, Keel SG, Metcalfe DB, Högborg P, Ineson P (2009). Short-term dynamics of abiotic and biotic soil $^{13}\text{CO}_2$ effluxes after *in situ* $^{13}\text{CO}_2$ pulse labelling of a boreal pine forest. *New Phytologist*, 183, 349–357.
- Sun LJ, Ataka M, Kominami Y, Yoshimura K (2017). Relationship between fine-root exudation and respiration of two *Quercus* species in a Japanese temperate forest. *Tree Physiology*, 37, 1011–1020.
- Sun T, Mao ZJ (2011). Functional relationships between morphology and respiration of fine roots in two Chinese temperate tree species. *Plant and Soil*, 346, 375–384.
- Susfalk RB, Cheng WX, Johnson DW, Walker RF, Verburg P, Fu S (2002). Lateral diffusion and atmospheric CO_2 mixing compromise estimates of rhizosphere respiration in a forest soil. *Canadian Journal of Forest Research*, 32, 1005–1015.
- Wang JY, Wang XJ, Wang JP (2018a). Profile distribution of CO_2 in an arid saline-alkali soil with gypsum and wheat straw amendments: a two-year incubation experiment. *Scientific Reports*, 8, 11939. DOI: 10.038/s41598-018-30312-0.
- Wang XW, Mao ZJ, McGuire MA, Teskey RO (2019). Stem radial CO_2 conductance affects stem respiratory CO_2 fluxes in ash and birch trees. *Journal of Forestry Research*, 30, 21–29.
- Wang YY, Li XX, Dong WX, Wu DM, Hu CS, Zhang YM, Luo YQ (2018b). Depth-dependent greenhouse gas production and consumption in an upland cropping system in northern China. *Geoderma*, 319, 100–112.
- Wei J, Liu WG, Wan H, Cheng JM, Li WJ (2016). Differential

- allocation of carbon in fenced and clipped grasslands: a ^{13}C tracer study in the semiarid Chinese Loess Plateau. *Plant and Soil*, 406, 251–263.
- Weiss I, Mizrahi Y, Raveh E (2009). Chamber response time: a neglected issue in gas exchange measurements. *Photosynthetica*, 47, 121–124.
- Wen XF, Meng Y, Zhang XY, Sun XM, Lee X (2013). Evaluating calibration strategies for isotope ratio infrared spectroscopy for atmospheric $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ measurement. *Atmospheric Measurement Techniques*, 6, 1491–1501.
- Wen XF, Sun XM, Liu YF, Li XB (2007). Effects of linear and exponential fitting on the initial rate of change in CO_2 concentration across the soil surface. *Journal of Plant Ecology (Chinese Version)*, 31, 380–385. [温学发, 孙晓敏, 刘允芬, 李晓波 (2007). 线性和指数回归方法对土壤呼吸 CO_2 扩散速率估算的影响. 植物生态学报, 31, 380–385.]
- Wen XF, Sun XM, Zhang SC, Yu GR, Sargent SD, Lee XH (2008). Continuous measurement of water vapor D/H and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ isotope ratios in the atmosphere. *Journal of Hydrology*, 349, 489–500.
- Wen XF, Zhang XY, Wei J, Lü SD, Wang J, Chen CH, Song XW, Wang JY, Dai XQ (2019). Understanding the biogeochemical process and mechanism of ecosystem carbon cycle from the perspective of the earth's critical zone. *Advances in Earth Science*, 34, 471–479. [温学发, 张心昱, 魏杰, 吕斯丹, 王静, 陈昌华, 宋贤威, 王晶苑, 戴晓琴 (2019). 地球关键带视角理解生态系统碳生物地球化学过程与机制. 地球科学进展, 34, 471–479.]
- Wingate L, Ogée J, Burlett R, Bosc A, Devaux M, Grace J, Loustau D, Gessler A (2010). Photosynthetic carbon isotope discrimination and its relationship to the carbon isotope signals of stem, soil and ecosystem respiration. *New Phytologist*, 188, 576–589.
- Wu YB, Tan HC, Deng YC, Wu J, Xu XL, Wang YF, Tang YH, Teruo H, Cui XY (2010). Partitioning pattern of carbon flux in a *Kobresia* grassland on the Qinghai-Tibetan Plateau revealed by field ^{13}C pulse-labeling. *Global Change Biology*, 16, 2322–2333.
- Xu LK, Furtaw MD, Madsen RA, Garcia RL, Anderson DJ, McDermitt DK (2006). On maintaining pressure equilibrium between a soil CO_2 flux chamber and the ambient air. *Journal of Geophysical Research*, 111, D08S10. DOI: 10.1029/2005JD006435.
- Yang JY, He YJ, Aubrey DP, Zhuang QL, Teskey RO (2016). Global patterns and predictors of stem CO_2 efflux in forest ecosystems. *Global Change Biology*, 22, 1433–1444.
- Yang QP, Xu M, Chi YG, Zheng YP, Shen RC, Li PX, Dai HT (2012). Temporal and spatial variations of stem CO_2 efflux of three species in subtropical China. *Journal of Plant Ecology*, 5, 229–237.
- Yang QP, Zhang WD, Li RS, Zheng WH, Yang JY, Xu M, Guan X, Huang K, Chen LC, Wang QK, Wang SL (2019). Effects of girdling on stem CO_2 efflux and its temperature sensitivity in Chinese fir and sweetgum trees. *Agricultural and Forest Meteorology*, 268, 116–123.
- Yu GR (2009). *Scientific Frontier on Human Activities and Ecosystem Changes*. Higher Education Press, Beijing. [于贵瑞 (2009). 人类活动与生态系统变化的前言科学问题. 高等教育出版社, 北京.]
- Yu GR, Sun XM (2017). *Principles of Flux Measurement in Terrestrial Ecosystems*. 2nd ed. Higher Education Press, Beijing. [于贵瑞, 孙晓敏 (2017). 陆地生态系统通量观测的原理与方法. 2版. 高等教育出版社, 北京.]
- Yu GR, Wen XF, Li XB, Liu YY, Xing YW, Zhu XN (2015). *Device and Method for Verifying the Flux of Soil Carbon Dioxide, Methane and Nitrous Oxide*. China, 201410527692.5. 2015-01-14. [于贵瑞, 温学发, 李晓波, 刘亚勇, 邢友武, 朱湘宁 (2015). 土壤二氧化碳、甲烷和氧化亚氮通量验证装置以及验证方法. 中国, 201410527692.5. 2015-01-14.]
- Yu ZL (2017). *Ecology: Current Knowledge and Future Challenges*. Higher Education Press, Beijing. [于振良 (2017). 生态学的现状与发展趋势. 高等教育出版社, 北京.]
- Zhao JY, Xiao W, Zhang M, Wang JY, Wen XF, Lee XH (2020). Applications and prospect of the flux-gradient method in measuring the greenhouse gases and isotope fluxes. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 44, 305–317. [赵佳玉, 肖薇, 张弥, 王晶苑, 温学发, 李旭辉 (2020). 通量梯度法在温室气体及同位素通量观测研究中的应用与展望. 植物生态学报, 44, 305–317.]
- Zhao KJ, Dong BQ, Jia ZK, Ma LY (2018). Effect of climatic factors on the temporal variation of stem respiration in *Larix principis-rupprechtii* Mayr. *Agricultural and Forest Meteorology*, 248, 441–448.
- Zhou J, Yang ZY, Wu GH, Yang YZ, Lin GH (2018). The relationship between soil CO_2 efflux and its carbon isotopic composition under non-steady-state conditions. *Agricultural and Forest Meteorology*, 256–257, 492–500.

特邀编委: 陈 槐 编辑: 赵 航