

DOI: 10.5846/stxb201412202533

祝贞科, 沈冰洁, 葛体达, 王久荣, 袁红朝, 吴金水. 农田作物同化碳输入与周转的生物地球化学过程. 生态学报, 2016, 36(19): 5987-5997.

Zhu Z K, Shen B J, Ge T D, Wang J R, Yuan H Z, Wu J S. Biogeochemical processes underlying the input and turnover of crop assimilative carbon in farmland ecosystems. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(19): 5987-5997.

## 农田作物同化碳输入与周转的生物地球化学过程

祝贞科<sup>1,2</sup>, 沈冰洁<sup>3</sup>, 葛体达<sup>1,2</sup>, 王久荣<sup>2</sup>, 袁红朝<sup>2,\*</sup>, 吴金水<sup>2</sup>

1 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 农业部农业环境重点实验室, 北京 100081

2 中国科学院亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125

3 中南林业科技大学林学院, 长沙 410004

**摘要:**作物同化碳在“大气-植物-土壤”系统中流通的生物地球化学过程, 显著影响全球陆地生态系统碳循环过程。作物同化碳是土壤有机碳的重要来源, 与根际环境及作物生长发育有密切联系, 但由于其复杂性和多变性, 作物生长期同化碳在土壤中的分配、转化与稳定的机理尚不十分清楚。因此, 综述了作物同化碳向土壤碳库输入及其对土壤有机碳库的贡献, 在土壤碳库中的分配与转化特征, 在土壤中流通的微生物机制以及同化碳在土壤-微生物系统分配、稳定的微观机制。探讨同化碳在地上部-根际-土壤系统中的分配及调节机制, 土壤界面同化碳流动过程与土壤微生物多样性形成的关系; 提出了在不同生态系统尺度上加强作物同化碳在土壤-作物系统中分配过程的定量研究对于明确陆地生态碳循环过程的重要意义; 指出了研究作物同化碳向土壤碳库迁移、分配定量过程与机制的重要性, 以及应用显微镜成像技术与同位素示踪技术相结合的纳米二次离子质谱技术、和微生物分子与群落生态相偶联的技术是未来研究作物同化碳生物地球化学特性的有效手段。

**关键词:**同化碳; 根际沉积; 土壤有机碳; 转化与稳定机制; 微生物; 同位素技术

## Biogeochemical processes underlying the input and turnover of crop assimilative carbon in farmland ecosystems

ZHU Zhenke<sup>1,2</sup>, SHEN Bingjie<sup>3</sup>, GE Tida<sup>1,2</sup>, WANG Jiurong<sup>2</sup>, YUAN Hongzhao<sup>2,\*</sup>, WU Jinshui<sup>2</sup>

1 Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences; Key Laboratory for Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China

2 Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China

3 College of Forestry, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

**Abstract:** Crop assimilative carbon, which is an important part of the carbon cycle of the “atmosphere-plant-soil” system and also an important source of soil organic carbon, is closely linked to the rhizosphere environment and crop growth. However, because crop assimilative carbon is both complex and variable, the fate of this part of the carbon cycle is still poorly understood. The biogeochemical processes involved in the distribution, transformation, and stability of assimilative carbon significantly affect the carbon cycle in terrestrial ecosystems globally. In this study, we accordingly summarize the distribution, transformation, and stabilization mechanisms of crop assimilative carbon and its contribution to soil organic carbon; discuss the distribution and adjustment system of assimilative carbon in the rhizosphere-aboveground soil system; analyze the characteristics of microbe-assimilative carbon interactions; and explain the relationship between assimilative carbon and the establishment of soil microbial diversity. We propose focusing on the quantitative study of crop assimilative

基金项目: 国家自然科学基金项目(41301275, 41090283); 农业部农业环境重点实验室开放基金资助项目

收稿日期: 2014-12-20; 网络出版日期: 2016-01-15

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: mailxz@163.com

carbon, including its distribution within the soil-crop system in different ecosystems and on improving the understanding of carbon cycling processes in terrestrial ecosystems. We also highlight the importance of the mechanism of assimilative carbon transfer and distribution to the soil carbon pool. Finally, we describe how nanometer secondary ion mass spectrometry technology, combined with microscope imaging and isotope tracer technology, and a combination of molecular microbiology and community ecology techniques, can be effective means for studying the biogeochemical characteristics of crop assimilative carbon.

**Key Words:** assimilative carbon; rhizodeposition; soil organic carbon; the mechanism of transformation and stability; microbe; isotope technique

陆地生态系统碳循环处于全球碳循环的中心位置<sup>[1]</sup>,陆地生态系统碳库中土壤有机碳库为 1550 Pg,大约是陆地植被碳库(560 Pg)的 3 倍和大气碳库(780 Pg)的 2 倍。每年土壤呼吸排放的 CO<sub>2</sub>达到 58 Pg,土壤有机碳储量减少或增加 1%,大气 CO<sub>2</sub>浓度将增加或减少  $7 \times 10^{-6}$ <sup>[2]</sup>,促进土壤碳固定已成为国际社会广泛认可的减缓全球变暖的主要途径之一<sup>[3]</sup>。而土壤有机碳变化关键过程与控制机制的研究已成为全球变化研究中的关键科学问题。

利用陆地生态系统的植物光合同化大气 CO<sub>2</sub>增加碳固定,是目前应对气候变化最经济、有效的途径<sup>[4]</sup>。植物同化碳作为土壤有机质的主要来源,是“大气-植物-土壤”连续体碳循环的重要组成部分,与大气环境及土壤质量的变化关系密切<sup>[5-8]</sup>。植物同化碳向土壤碳库输入、转化的生物地球化学过程(图 1)包括:1)植物同化碳经韧皮部运输分配到地下部,以根系分泌物(脱落物和分泌物)的形式向根际土壤环境中输入碳<sup>[9]</sup>,2)经过土壤根际微生物作用,成为微生物量碳的一部分,或进一步转化成土壤有机质而贮存于土壤碳库中;3)储存于作物体内的同化碳,会随着植物残体进入土壤,在土壤微生物的作用下被分解转化而释放或是成为土壤有机碳的一部分;4)通过植物自身呼吸及根际微生物呼吸作用返回到大气中<sup>[10]</sup>。目前农田生态系统是受人为干扰最大、最活跃的碳库之一<sup>[11]</sup>。探明作物同化碳在农田土壤中的分配、转化及其生物地球化学过程,全面认识土壤-作物-微生物间的互作关系与机制,系统科学的管理调节作物同化碳向土壤有机碳库的输入与转化,降低土壤呼吸作用损耗,对于实现土壤可持续利用,提高生态系统的碳吸收和储存能力有着重要意义<sup>[5]</sup>。

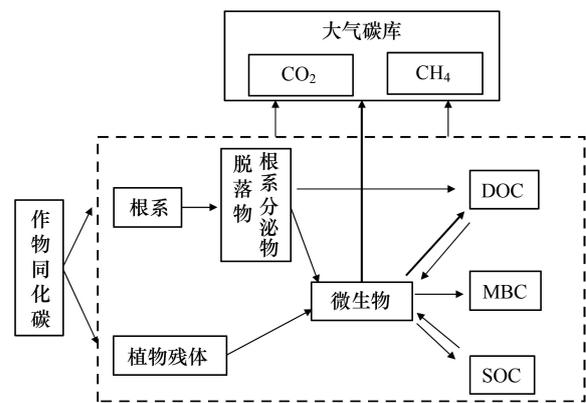


图 1 作物同化碳在土壤中的分配与去向

Fig.1 Distribution and fate of crop assimilative carbon in soil

## 1 作物同化碳向土壤碳库的输入及其对土壤有机碳库的贡献

作物同化碳向土壤碳库输入的主要形式为根系沉积和作物残体,其中根系沉积是农田土壤有机碳的重要来源,在维持农田土壤碳平衡过程中发挥着重要的作用<sup>[12]</sup>。植物根系通过各种形式将输入到根部的有机、无机化合物,包括根系分泌物和进入土壤的根毛、根细胞脱落物等,释放到周围土壤形成根际沉积,这是植物与土壤间界面交换的一种重要过程<sup>[13-15]</sup>。根际沉积如根系分泌物,包括高分子多聚糖(黏胶物质)、各种蛋白酶、低分子有机酸及糖、酚类、维生素等<sup>[16]</sup>。其中高分子多聚糖不仅是形成稳定性团聚体的胶结物质之一,而且这种多糖类物质还易被微生物利用而代谢为更为稳定的土壤腐殖物质(复合物),这种复合物不仅促进土壤团聚体形成,也是主要的固碳物质,对土壤有机碳库的稳定与平衡十分重要<sup>[17]</sup>。根际碳的沉积不仅会引起

土壤化学、物理和生物特性的改变,而且直接关系到土壤呼吸及  $\text{CH}_4$ 、 $\text{N}_2\text{O}$  排放等过程<sup>[18-19]</sup>。根际释放的有机物质影响着植物的根际环境,并通过根际微生物的利用转化,影响着植物-(根际/非根际)土壤间的碳循环过程,形成了联系植物-土壤-微生物的桥梁。

根际沉积碳是土壤有机质的重要来源,但是由于根际沉积碳代谢周转快、结构性碳尚未及时形成有机质等,其固定、周转及其迁移过程的复杂性和多变性加剧了该方面研究的不确定性,对于作物同化碳对土壤有机碳库的贡献也不明确。20 世纪 80 年代以来,随着同位素技术的发展,应用自然丰度法(利用  $\text{C}_3$  和  $\text{C}_4$  植物  $\delta^{13}\text{C}$  值的明显差异性)和同位素脉冲标记和连续标记技术(利用  $^{13}\text{CO}_2$  或  $^{14}\text{CO}_2$  作为示踪物供植物光合作用吸收)<sup>[20]</sup>,能够有效地阐明碳在植物和土壤之间的流通,定量评价根际沉积对土壤碳储量的相对贡献<sup>[6, 21-24]</sup>。研究发现,植物净光合固定的 50% 的光合产物会被转移到地下部,用于维持根系生长和构建,根际呼吸或保存在土壤中<sup>[25-26]</sup>。Lu 等应用  $^{13}\text{C}$  脉冲标记法对水稻生长期结束后光合碳在腐殖质中的分配进行了研究,结果表明,光合碳在腐殖质 3 种组分富啡酸、胡敏酸、胡敏素中的分配不受标记时期的影响;新输入的作物同化碳 ( $^{13}\text{C}$ ) 主要存在于腐殖质中(67.4%),其中富啡酸含有 16.7%;水稻生长期内的光合碳在水稻成熟期以胡敏酸类的物质存在,且在不同组分的胡敏素类物质中分配比例不同<sup>[27]</sup>。而通过对 95 个  $^{14}\text{C}$  标记试验进行总结分析发现大约 5%—10% 的净光合固定的 C 会进入到土壤而累积成为 SOC<sup>[28]</sup>。在一个生长期内,禾谷类作物向地下部输送的同化碳量可达  $1500 \text{ kg}/\text{hm}^2$ <sup>[29]</sup>,其中研究还发现禾谷类作物大约 30% 的光合同化碳被转移到地下,而这些碳有一半储藏在根系,1/3 以根际呼吸形式损失掉,其余的转化为 SOC<sup>[18, 30]</sup>,且同化碳将在 1 h 内转运至根部,排出体外到达根际环境中<sup>[31]</sup>。

根际碳的输入因植物种类、生育期和外界环境的不同而不同。Swinnen 等<sup>[32]</sup>报道大麦和小麦光合碳向地下的分配在不同生育期差异最高达 40%,分蘖期、拔节期向地下分配的碳量多于成熟期,其中小麦拔节期向地下部分配 30%—40% 的净光合碳,而成熟期仅有 5%—20%。Cheng 等<sup>[33]</sup>对试验室栽培冬小麦、酥油草和水葫芦 3 种植物进行 C 脉冲标记后 8 h 取样,发现这 3 种植物通过根系分泌转移进入土壤中的碳分别占光合固定碳总量的 2.7%、2.5% 和 3.7%。植物不同生长发育阶段不但影响光合产物在植物体内的分配,而且显著影响植物-土壤间碳同化物的分配,植物越老,则根际淀积量越少<sup>[31]</sup>。Ge 等<sup>[14]</sup>通过碳同位素连续标记技术发现,在水稻拔节灌浆期内,通过根际沉积作用,有 4%—6% 的光合碳进入土壤有机碳库,这部分新碳对土壤可溶性有机碳的贡献为 2%—4%,对土壤微生物生物量碳的贡献为 9%—18%。Lu 等<sup>[34]</sup>通过对水稻进行标记,发现在整个水稻的生长期内,约有  $200 \text{ kg}/\text{hm}^2$  的光合碳进入土壤,并在水稻成熟期后以胡敏酸类的物质存在,且在不同组分的胡敏素类物质中分配比例不同;约有  $865 \text{ kg C}/\text{hm}^2$  的光合碳以根系残体形式存于土壤中,所以共有  $1065 \text{ kg C}/\text{hm}^2$  的碳经光合作用固定到土壤中。水稻生育期的不同显著影响了光合碳的分配:分蘖期地上部分配到的光合 C 量为 45%—52%,成熟期增加到 78%—90%,同时地下部根系所分配的碳量则从 28% 下降到 2%<sup>[35]</sup>。就水稻而言,上述作物同化碳及其根际沉积作用向土壤碳库的输入对维持土壤碳库平衡和减缓温室气体排放发挥着重要的作用<sup>[4]</sup>。在未来的研究中,要加强生态系统碳通量-光合效率-同化产物向土壤传输过程,以及有机质积累对作物生产力、耕种与施肥方式和碳氮通量变化等外部影响因子的响应机制等方面的研究。

## 2 作物同化碳在土壤碳库中的分配与转化特征

作物同化碳输入土壤后,在根际几个微米到几个毫米范围内,植物、土壤、微生物及其环境因子通过能量流、物质流和信息流的相互作用、相互制约而形成一个具有高度组织性的复杂整体—根际微生态系统<sup>[36]</sup>(图 2)。一般认为,作物同化碳输入首先将改变土壤活性碳库<sup>[37]</sup>,从而引起土壤碳库的物理、化学组分的分配动态变化。Liang 等<sup>[38]</sup>研究发现,玉米根际碳输入显著改变土壤可溶性有机碳(DOC)的含量;聂三安等<sup>[39]</sup>对亚热带四种典型水稻土壤通过  $^{14}\text{C}$  连续标记技术标记水稻 80d 后发现,土壤可溶性有机碳的更新率为 6.72%—14.64%,而光合同化碳对土壤 MBC 周转的相对贡献较小。Lu 等<sup>[34, 40]</sup>也发现,种植水稻的土壤中 DOC 含量比

未种植水稻的土壤高 3 倍左右,且随着水稻的生长,土壤 DOC 的含量逐渐增大,且与根系生物量和根系分泌物呈显著的正相关。Yevdokimov 等<sup>[41]</sup>的研究表明,燕麦根际沉积碳(光合碳)主要转化为微生物量碳(MBC)。因而,作物同化碳输入土壤后其固定、周转、再分配比例因作物生长发育、根系环境的不同存在差异。

作物同化碳输入土壤后,其矿化与分解受土壤性质的影响,作物同化碳分解与矿化表现出的不同响应机制,可能与它们不同结合与保护状态具有很高的相关性<sup>[42]</sup>。近年来对于团聚体尺度的物理、化学和生物学的研究,逐渐认识到土壤中碳库的保护与稳定化机制的差异性<sup>[43]</sup>。Garten 等<sup>[44]</sup>对森林下矿质土壤的有机质密度分组和团聚体颗粒分组研究表明,矿质土壤 70%以上的有机碳是存在于粉砂和黏粒级的团聚体颗粒组中,显示了团聚体物理保护对有机碳固定的重要作用。目前的研究认为<sup>[45]</sup>,植物、微生物的碎屑形成微团聚体的核,高碳的新有机物质形成和稳定粗团聚体,而老有机碳封闭于细团聚体中。团聚体中保护的和未保护的有机碳具有不同的更新速率,因而团聚体保护能力或容量是土壤固碳自然潜力的物理基础<sup>[45]</sup>。然而对于团聚体内部的有机碳的存在状态、结合形态及相关的固定机制研究还不够深入(图 2)。

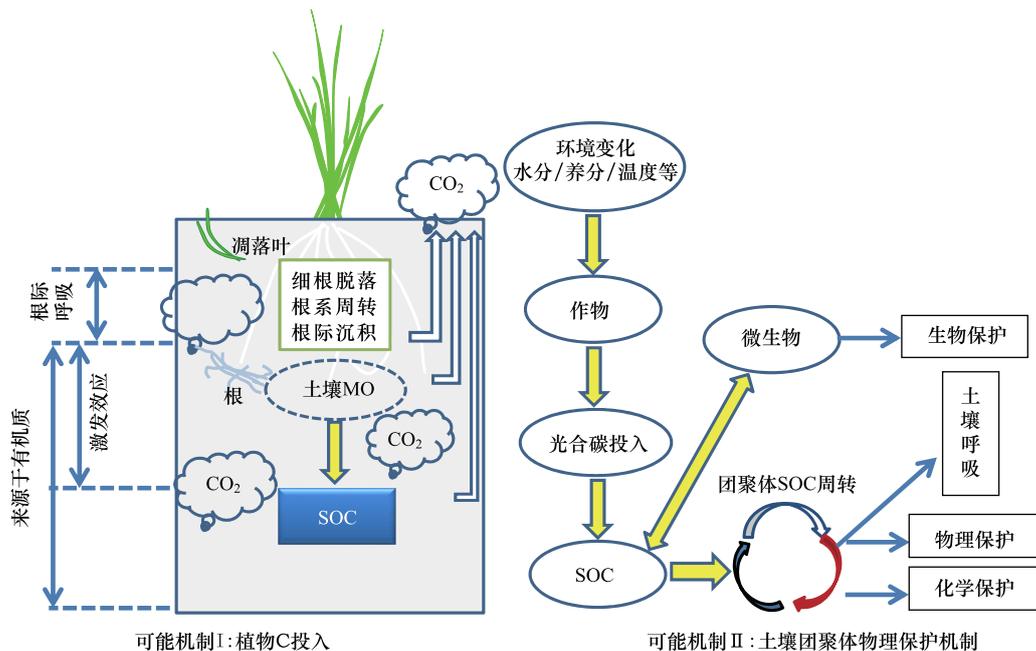


图 2 作物同化碳的土壤生物地球化学(物理-化学-生物)保护机制

Fig. 2 Biogeochemistry protection mechanism of crop assimilative carbon in farmland ecosystems

土壤呼吸是土壤碳输出的主要方式,据估计每年因土壤呼吸而排放约 50—75 Pg C,土壤呼吸是全球碳收支的重要环节<sup>[46]</sup>,因此了解土壤呼吸强度及其主要影响因素是碳循环中重要的科学问题。土壤呼吸主要有来源于植物产生的呼吸和微生物降解有机质产生的呼吸<sup>[47]</sup>。其中来源于植物产生的呼吸包括根系呼吸,微生物降解植物残体产生的呼吸以及微生物降解根系碳沉积物产生的呼吸。而根系呼吸和微生物降解根系碳沉积物产生的呼吸合称根际呼吸。微生物降解有机质产生的呼吸包括土壤基础呼吸和土壤激发作用额外产生的土壤呼吸。有研究发现,冬小麦和春小麦同化碳输入土壤后,整个生长期内 66%作为根和微生物的呼吸产物(CO<sub>2</sub>)消耗掉了,其余部分则存在于土壤和土壤微生物体中,对维持土壤的碳汇功能具有十分重要的作用<sup>[27]</sup>。通过对黑麦草进行标记,发现根系呼吸占植物光合固定碳的 10%—15%<sup>[48]</sup>。Kuzyakov 等<sup>[49]</sup>报道黑麦草根呼吸占根际呼吸的 41%。不同的根际沉积数量和组成或者外界环境条件(如 CO<sub>2</sub>浓度、温度、N 肥、pH 等)会影响到根际呼吸的强度,进而可以影响到土壤总呼吸强度。

尽管上述研究充分认识到了作物同化碳在碳循环中的重要性,由于研究方法和技术的局限性,目前关于

根际沉积碳的固定、分配和周转的研究主要集中于表层土壤<sup>[50-51]</sup>,并没有涉及根际沉积碳在水平和垂直方向的迁移过程及其生态意义,而根际沉积碳的迁移过程尤其是对底层土壤碳固定和养分转化作用的研究日益受到重视<sup>[52-53]</sup>。根据稻田土壤剖面分析结果来看,土壤有机碳积累有向土壤深层扩展的趋势<sup>[54]</sup>,意味着稻田土壤有机碳有向犁底层下移的现象,由于底层土壤微生物具有较低的活性,降低土壤有机质的矿化速率,使得土壤深层储存的碳更加稳定<sup>[55]</sup>。而根际沉积碳作为稻田土壤有机碳的重要来源<sup>[14,56]</sup>,其迁移和微生物作用过程可能对稻田土壤的固碳能力与潜力的提升具有非常重要的作用。过去的研究远远低估了根际沉积碳迁移及其关键功能微生物对底层土壤固碳的重要性<sup>[57]</sup>。根际沉积碳的迁移过程对稻田(底层)土壤-微生物系统分配、周转动态方面的研究还非常有限,特别是根际沉积碳迁移过程的关键功能微生物作用机理研究还尚不明确,因此有必要开展水稻根际沉积碳在不同空间尺度(垂直、水平)下的迁移、转化动态及调节分配机制、根际沉积碳与关键功能微生物作用及其与环境因子的相互耦合机制等方面进行深入、系统的研究。

### 3 作物同化碳在土壤中流通的微生物机制

土壤有机碳转化(输入、分配、稳定等过程)是由微生物主导的生物化学过程所驱动,是土壤碳循环过程研究的核心<sup>[58]</sup>,控制着土壤碳的输入-输出平衡,截获与更新,其程度与限度决定并影响土壤肥力<sup>[59]</sup>。由于植物向土壤中释放的根际沉积碳中含有很多小分子物质,如碳水化合物和氨基酸等,这些物质是微生物有效的碳源和能源<sup>[60]</sup>,因此根际沉积碳是连结植物、土壤和微生物的纽带,在植物-土壤-微生物构成的根际微生态系统中,对土壤碳固定和根际微生物的生长代谢具有十分重要的作用。根际沉积碳可通过影响微生物而引起土壤碳固定或消耗<sup>[61]</sup>。大量研究也证实根际碳是影响根际微生物群落结构和活性的重要因素<sup>[62-63]</sup>,同时,土壤微生物是土壤有机质和土壤养分转化和循环的动力,是土壤有机质转化的执行者,作物根际沉积在土壤有机碳库中的分配及转化去向也是由微生物介导的生物地球化学过程<sup>[64]</sup>。尽管土壤中大多数微生物都可以参与土壤有机碳转化的主要过程,但微生物如何参与,哪些微生物优先参与仍不清楚;在复杂的微生物环境中,各种微生物之间是竞争机制还是条件控制机制是有待揭示的科学问题<sup>[57-58]</sup>。

作物同化碳在土壤中的流通对土壤微生物多样性形成的影响机制研究日益受到重视。Radajewski 等<sup>[65]</sup>首次报道稳定性同位素探针(Stable isotope probing, SIP)在环境微生物生态中的应用,此技术为测定微生物底物利用和功能研究提供了强有力的手段,经过 C、N 标记的 PLFA、DNA、RNA 等标记物为研究这个黑箱提供了一条有效途径。<sup>13</sup>C 可用于追踪碳在植物-微生物-土壤体系中的流动,确定此过程中的关键微生物的功能种群,Butler 等<sup>[66]</sup>分别在黑麦草根活跃生长和快速生长的转换期间以及根的快速生长期后九天时采用<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>脉冲标记,测定根际和非根际土壤中微生物的 PLFA 和<sup>13</sup>C-PLFA,研究发现微生物群落结构时间性差异大于空间上的差异。Lu 等用<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>对水稻进行脉冲标记,通过“<sup>13</sup>C-PLFA 图谱分析”发现不同根际微生物对植物光合作用产物有不同的吸收特征,证明了水稻根际微生物种群与植物光合作用密切相关<sup>[67-68]</sup>。他们进一步对土壤<sup>13</sup>C-DNA 测序,发现水稻 Cluster I *Archaea* 类群的核糖体 RNA 中含有<sup>13</sup>C,表明此类古菌可能在植物碳源产生甲烷的过程中起重要作用,对全球气候变化具有重要影响。Tavi 等<sup>[24]</sup>的研究还发现石灰处理会影响植物根际碳利用的微生物种群结构,而且这些参与植物根际沉积转化的微生物群落结构受植物生育期及季节变化的影响。SIP 作为一种能够将功能和种群分类联系起来的技术,它在微生物生态学研究中有巨大的应用潜力,而且随着可用底物种类的增加(N、H),SIP 技术将有可能鉴定出更多在碳、氮及其它元素循环中发挥重要作用的微生物<sup>[68-69]</sup>。然而,目前需要在土壤微生物种群结构和功能层次上对作物同化碳的微生物作用机理开展深入研究,为提高农田土壤中碳循环与积累提供科学依据与关键技术。而新的分子生物学技术(如 DNA 芯片技术、DNA/RNA-SIP,高通量测序等)的应用为该项研究提供了重要的手段<sup>[70-73]</sup>。

### 4 同化碳在土壤-微生物系统分配、稳定的微观机制

同化碳的输入土壤后,所包含的有机碳组分因化学组成、分解转化程度、植物与微生物来源的相对贡献不

同而具有独特的分子特征,导致土壤有机碳具有高度异质性,精确区分碳源并检测其在土壤-微生物系统的动态分配过程与稳定机制成为土壤碳循环研究的最大难点<sup>[74]</sup>。同时,有机碳的输入影响土壤微结构的形成,后者又会改变土壤微环境,诱导土壤微生物群落结构发生演替,微生物可否接近有机质决定了其分解速率和稳定性,土壤有机碳周转速率受控于微生物种类及与底物的可接触性<sup>[74]</sup>。而传统的均一化、均质化研究忽略了有机碳与微生物的微观高度异质性,有机碳与微结构中的微生物群落结构和代谢过程及其相互作用被这种均一化、均质化的研究所忽略了<sup>[75]</sup>。另一方面,土壤微生物个体尺度在  $\mu\text{m}$  级别,微生物群落作用的范围同样在亚毫米、微米尺度,微生物在土壤微环境中的趋化性,吸附,生长,成膜过程都伴随着对周围环境的强烈的依赖、选择和改造,微观尺度上的土壤有机碳的周转过程需要重点关注,而长期以来由于土壤的不透明性,土壤生物学以黑(灰)箱理论为基础,往往只关注宏观结果而忽略了微观动态过程。因此,将土壤有机碳的异质性与其对微生物过程的影响联系起来是当今土壤微生物生态学的研究前沿之一。近年来开发的土壤有机质波谱和光谱分析(核磁共振 NMR,近边 X 射线吸收精细结构光谱 Near-edge X-ray spectroscopy)以及超高分辨率显微镜成像技术与同位素示踪技术相结合的纳米二次离子质谱技术(NanoSIMS)突破了这一难点,在微观尺度上(单细胞、毫米、纳米)阐明土壤有机碳在土壤-微生物系统的分配与稳定机制上取得了重大进展,显示出了较好的优越性和发展前景<sup>[76-79]</sup>。

其中 NanoSIMS 技术具有较高的灵敏度和离子传输效率、极高的质量分辨率和空间分辨率( $< 50 \text{ nm}$ )。通常情况下,NanoSIMS 需要与透射电子显微镜(TEM)、扫描电子显微镜(SEM)、荧光原位杂交(FISH)、催化报告沉积荧光原位杂交(CARD-FISH)、卤素原位杂交(HISH)、X 射线能谱仪(EDS X-ray)等联合使用来识别参与元素代谢的微生物的种类和功能<sup>[80]</sup>。因此,通过 NanoSIMS 成像分析,不仅能够单细胞水平上提供微生物的生理生态特征信息,而且能够准确识别复杂环境样品中的代谢活跃的微生物细胞及其系统分类信息,这一方法对于从微观尺度上认识微生物介导的元素生物地球化学循环机制提供了全新的视角<sup>[76,80]</sup>。

近些年发展起来的扫描电子显微镜(SEM)、卤素原位杂交(HISH)、微生物标识物技术( $^{13}\text{C}$ -PLFA-SIP、DNA/RNA-SIP)等与 NanoSIMS 联用的技术在碳循环机制和微生物参与机制方面提供了强有力的方法和启示<sup>[75-76,81-83]</sup>。这些技术耦联技术耦联是研究微观尺度上土壤有机碳、微生物相互作用的强有力的工具,能全面解析微观尺度(纳米)上土壤微生物过程,实现土壤微观尺度微生物过程的可视化,及其有机碳转化过程中微生物代谢的原位监测。Herrmann 等<sup>[81]</sup>等创新地将 NanoSIMS(与 FISH 联用)运用于土壤微生物的活性与空间分布的研究,并同时观察了土壤物理微环境对于微生物的影响;Rumpel 等<sup>[78]</sup>采用 $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$  双标记技术,结合 NanoSIMS 与 SEM 表征手段,通过物理分离全土、根际土与根表土研究了 $^{13}\text{C}$  和 $^{15}\text{N}$  标记的根系物质在 30 和 90 cm 两个深度位置的分配以及与铁铝氧化物结合的稳定机制。这种原位研究元素流动的高分辨率成像方法显示了 NanoSIMS 分析复杂土壤环境中微生物过程的优越性,以往的此类研究只能主要依靠简单的数学模型分析。Vogel 等<sup>[75]</sup>采用 NanoSIMS(与 SEM 联用)和同位素探针技术发现微团聚体少量粗糙的微界面上是固碳的热区(hotspots),这为微观尺度的碳循环机制研究提供了重要线索。在作物光合碳的传输方面,Kaiser 等<sup>[76]</sup>利用 $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$  双标记技术,将 NanoSIMS 与 $^{13}\text{C}$ -PLFA-SIP 技术结合,原位研究了小麦光合碳在土壤-根系-微生物(AM 菌根)微观尺度上的分配与调节机制,并将光合碳的动态传输过程可视化。此外,NanoSIMS 还可以在促进作物同化碳在土壤中稳定化过程的微生物类群、土壤中目标微生物活跃类群的空间分布以及影响微生物水平基因转移的微观尺度因素等方面的研究发挥出其特有的优势<sup>[82]</sup>。总之,以 NanoSIMS 为代表的分析技术的兴起为研究作物同化碳循环与微生物生态学的耦合研究提供了崭新的机遇,对于从微观尺度上原位识别不同微生物群落与碳循环的互作机制研究中显示出巨大的优势和重要的应用前景(图 3)。

## 5 总结与研究展望

综上所述,作物同化碳是“大气-植物-土壤”系统碳循环的重要组成部分,定量作物同化碳在土壤-作物系统中的分配及转化,对于理解全球碳循环是必不可少的。土壤有机碳绝大部分来自光合同化碳的输入与转

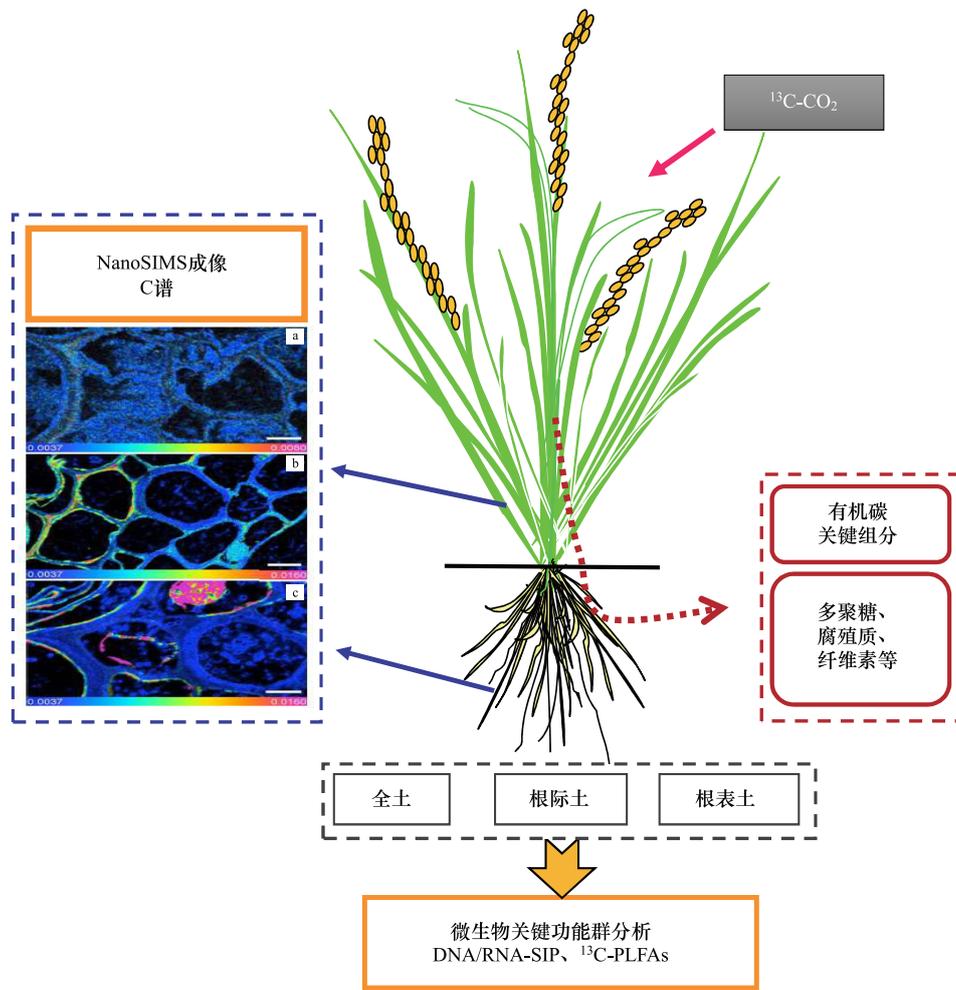


图 3 作物同化碳在作物-土壤-微生物系统分配、稳定的微观机制分析方法

Fig.3 Analysis methods of the distribution and stability mechanisms of assimilated carbon in crop-soil-microorganism ecosystem

化,光合碳通过根系周转与根系分泌物等进入土壤碳库。土壤微生物主导着土壤碳循环过程,调控着土壤碳的输入-输出平衡。利用微生物标识物(磷脂脂肪酸(PLFA)、核酸物质(DNA/RNA)等)与同位素标记技术相结合,可以明确微生物在土壤有机碳循环过程中的功能与贡献,从而揭示关键功能微生物数量、群落结构等与沉积碳转化动态过程的关联性;同时,土壤微结构、团聚体及其与之相关的物理化学性状在土壤有机碳在土壤-微生物系统中的分配过程也发挥着极其关键的作用,因此,研究作物同化碳向深层土壤迁移、转化与分配的过程机制,尤其是微观(团聚体)尺度上的光合碳、微生物同化碳在土壤-微生物系统的分配、截获及其稳定机制将是农田生态系统碳循环过程研究的重要科学问题。而近年来开发的土壤有机质波谱和光谱分析(核磁共振 NMR,近边 X 射线吸收精细结构光谱 Near-edge X-ray spectroscopy)、荧光原位杂交(FISH)以及超高分辨率显微镜成像技术与同位素示踪技术相结合的纳米二次离子质谱技术(NanoSIMS),为在微观尺度上(单细胞、毫米、纳米)阐明作物同化碳在土壤-微生物系统的分配与稳定机制及其土壤有机碳的异质性与微生物过程的偶联机制等方面的研究提供了广阔的空间。因此,在未来的研究中建议开展下述几方面的研究(图 4):

1)开展不同来源同化碳在土壤-作物系统中的分配及其输入、转化、保护与稳定等几个碳转化环节的定量关系研究,明确作物根际沉积作用输入土壤的同化碳的组分、结构及其与氧化和矿化稳定性的关系,以揭示其对不同土壤有机碳成分的贡献,以及作物同化碳向深层土壤迁移传输的机制,这对维持土壤有机碳稳定与平衡有着重要的意义。

2)全球变化已成为一个不可争议的事实,而且人类活动引起的土地利用、N 沉降、气候变化等对同化碳的

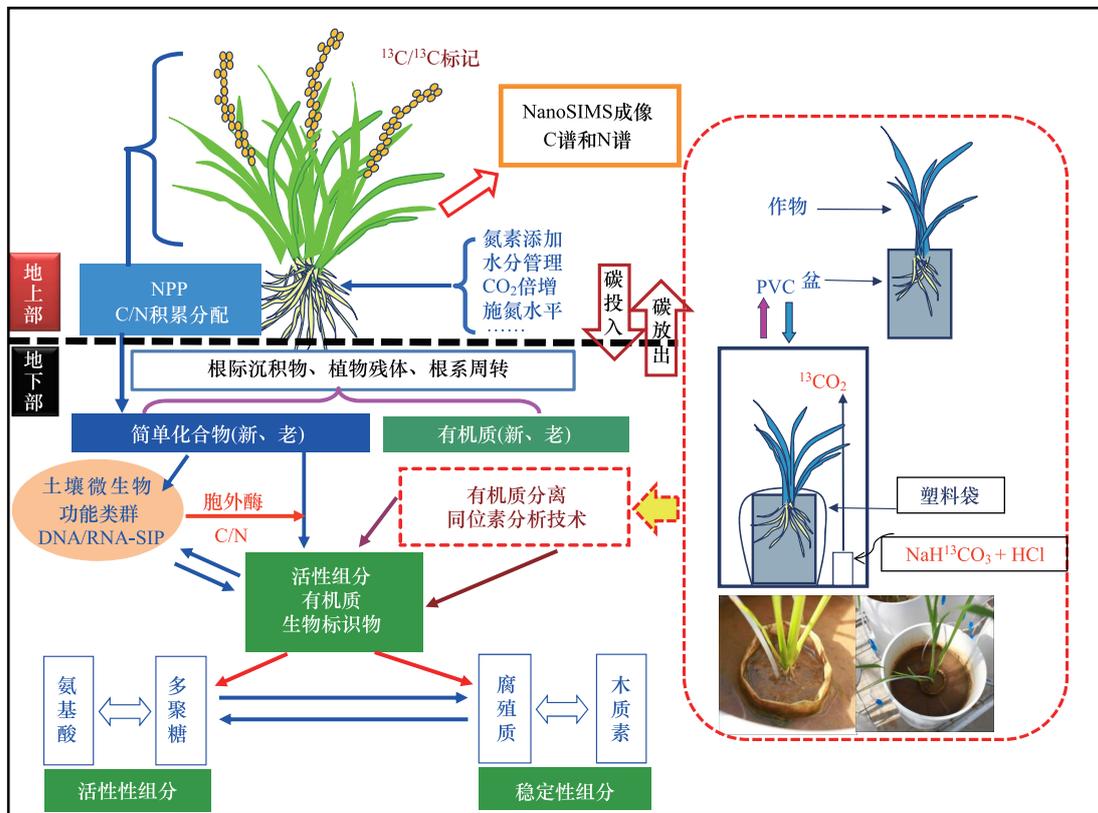


图 4 作物同化碳的土壤生物地球化学过程研究建议框架图

Fig.4 Biogeochemistry process of crop assimilative carbon in farmland ecosystems (Suggested research frame)

生物地球化学过程会产生深刻的影响,各种自然和人为因素的相互作用对作物同化碳循环的影响还缺乏系统的认识。因此,研究全球变化背景下的作物同化碳循环特征是未来工作的重要内容。

3)将碳 (<sup>13</sup>C/<sup>14</sup>C)同位素技术与微生物分子生物学技术结合起来,探索土壤中参与同化碳输入、转化的土壤微生物种群结构和数量特征,剖析作物同化碳在土壤碳库中的转化及其与土壤微生物之间的相互关系及其多样性的形成机制,探讨同化碳在根际-地上部-土壤系统中的分配及调节机制,剖析微生物-同化碳相互作用特点,从而阐明土壤界面碳流动过程及其微生物机制。

4)应用显微镜成像技术与同位素示踪技术相结合的纳米二次离子质谱技术等现代表征分析技术,研究作物同化碳循环的土壤微结构、团聚体及微界面过程,从纳米、单细胞等微观尺度上多角度、原位解析不同微生物群落与碳循环的互作机制,为研究同化碳与微生物生态学的耦合研究提供了崭新的机遇。

本研究的深入将进一步推进对微生物介导的土壤碳循环过程及陆地生态碳循环机制的认识,探明农田土壤有机碳循环的过程和特征,完善土壤碳循环理论,为农田土壤有机碳的调控提供理论依据。

参考文献 (References) :

[ 1 ] Lal R. Carbon sequestration. Philosophical Transactions of the Royal Society B- Biological Sciences, 2008, 363(1492) : 815-830.

[ 2 ] Kumar R, Pandey S, Pandey A. Plant roots and carbon sequestration. Current Science, 2006, 91(7) : 885-890.

[ 3 ] 潘根兴, 赵其国. 我国农田土壤碳库演变研究: 全球变化和国家安全. 地球科学进展, 2005, 20(4) : 384-393.

[ 4 ] IPCC. Contribution of Working Group II to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change // Parry M L, Canziani O F, Palutikof J P, van der Linden P J, Hanson C E, eds. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

[ 5 ] Boyle N R, Morgan J A. Computation of metabolic fluxes and efficiencies for biological carbon dioxide fixation. Metabolic Engineering, 2011, 13 (2) : 150-158.

- [ 6 ] 肖和艾, 吴金水, 李玲, 唐国勇, 刘畅. 采用 $^{14}\text{C}$  同位素标记植物的装置与方法. 核农学报, 2007, 21(6): 630-632.
- [ 7 ] 谭立敏, 吴昊, 李卉, 周萍, 李科林, 王久荣, 葛体达, 袁红朝, 吴金水. 不同施氮量下水稻分蘖期光合碳向土壤碳库的输入及其分配的量化研究- $^{13}\text{C}$  连续标记法. 环境科学, 2014, 35(5): 312-317.
- [ 8 ] 周广胜, 王玉辉, 许振柱, 周莉, 蒋延玲. 中国东北样带碳循环研究进展. 自然科学进展, 2003, 13(9): 917-922.
- [ 9 ] 申建波, 张福锁, 毛达如. 根际微生态系统中的碳循环. 植物营养与肥料学报, 2001, 7(2): 232-240.
- [ 10 ] 金剑, 王光华, 刘晓冰, 张磊, 米亮, 刘俊杰, Herbert S J. 作物生育期内光合碳在地下部的分配及转化. 生态学杂志, 2008, 27(8): 1393-1399.
- [ 11 ] Nie S A, Ge T D, Liu C, Xiao H A. Crop-assimilative carbon in the farmland ecosystem-an important source for carbon turnover in soil. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil Plant Science*, 2011, 61(2): 105-111.
- [ 12 ] Six J, Conant R T, Paul E A, Paustian K. Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for C-saturation of soils. *Plant and Soil*, 2002, 241(2): 155-176.
- [ 13 ] An T T, Schaeffer S, Li S Y, Fu S F, Pei J B, Li H, Zhuang J, Radosevich M, Wang J K. Carbon fluxes from plants to soil and dynamics of microbial immobilization under plastic film mulching and fertilizer application using  $^{13}\text{C}$  pulse-labeling. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 80: 53-61.
- [ 14 ] Ge T D, Yuan H Z, Zhu H H, Wu X H, Nie S A, Liu C, Tong C L, Wu J S, Brookes P. Biological carbon assimilation and dynamics in a flooded rice-soil system. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 48: 39-46.
- [ 15 ] Lu Y H, Watanabe A, Kimura M. Carbon dynamics of rhizodeposits, root- and shoot-residues in a rice soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(9): 1223-1230.
- [ 16 ] 潘根兴, 周萍, 李恋卿, 张旭辉. 固碳土壤学的核心科学问题与研究进展. 土壤学报, 2007, 44(2): 327-337.
- [ 17 ] Ponge J F. Plant-soil feedbacks mediated by humus forms: A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 1048-1060.
- [ 18 ] Nie S A, Li H, Yang X R, Zhang Z J, Weng B S, Huang F Y, Zhu G B, Zhu Y G. Nitrogen loss by anaerobic oxidation of ammonium in rice rhizosphere. *The ISME Journal*, 2015, doi: 10.1038/ismej.2015.25.
- [ 19 ] Wichern F, Mayer J, Joergensen R G, Müller T. Rhizodeposition of C and N in peas and oats after  $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$  double labelling under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(10): 2527-2537.
- [ 20 ] Kuzyakov Y, Schneckenberger K. Review of estimation of plant rhizodeposition and their contribution to soil organic matter formation. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2004, 50(1): 115-132.
- [ 21 ] Kuzyakov Y, Subbotina I, Chen H Q, Bogomolova I, Xu X L. Black carbon decomposition and incorporation into soil microbial biomass estimated by  $^{14}\text{C}$  labeling. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(2): 210-219.
- [ 22 ] Werth M, Kuzyakov Y.  $^{13}\text{C}$  fractionation at the root-microorganisms-soil interface: A review and outlook for partitioning studies. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(9): 1372-1384.
- [ 23 ] Kuzyakov Y, Gavrichkova O. Review: Time lag between photosynthesis and carbon dioxide efflux from soil: a review of mechanisms and controls. *Global Change Biology*, 2010, 16(12): 3386-3406.
- [ 24 ] Tavi N M, Martikainen P J, Lokko K, Kontro M, Wild B, Richter A, Biasi C. Linking microbial community structure and allocation of plant-derived carbon in an organic agricultural soil using  $^{13}\text{CO}_2$  pulse-chase labelling combined with  $^{13}\text{C}$ -PLFA profiling. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 58: 207-215.
- [ 25 ] Nguyen C. Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. *Agronomie*, 2003, 23: 375-396.
- [ 26 ] Rees R M, Bingham I J, Baddeley J A, Watson C A. The role of plants and land management in sequestering soil carbon in temperate arable and grassland ecosystems. *Geoderma*, 2005, 128(1/2): 130-154.
- [ 27 ] Lu Y H, Watanabe A, Kimura M. Contribution of plant-derived carbon to soil microbial biomass dynamics in a paddy rice microcosm. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 36(2): 136-142.
- [ 28 ] Farrar J, Hawes M, Jones D, Lindow S. How roots control the flux of carbon to the rhizosphere. *Ecology*, 2003, 84(4): 827-837.
- [ 29 ] Gregory P J, Atwell B J. The fate of carbon in pulse labeled crops of barley and wheat. *Plant and Soil*, 1991, 136(2): 205-213.
- [ 30 ] Kuzyakov Y., Ehrensberger H., Stahr K. Carbon partitioning and below-ground translocation by *Lolium perenne*. *Soil Biology and Biochemistry*. 2001, 33(1): 61-74.
- [ 31 ] Kuzyakov Y, Domanski G. Carbon input by plants into the soil. Review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2000, 163(4): 421-431.
- [ 32 ] Swinnen J, Van Veen J A, Merckx R. Root decay and turnover of rhizodeposits in field-grown winter wheat and spring barley estimated by  $^{14}\text{C}$  pulse-labelling. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(2): 211-217.
- [ 33 ] Cheng W X, Coleman D C, Carroll C R, Hoffman C A. Investigating short-term carbon flows in the rhizosphere of different plant species, using isotopic trapping. *Agronomy Journal*, 1994, 86(5): 782-788.

- [34] Lu Y H, Watanabe A, Kimura M. Input and distribution of photosynthesized carbon in a flooded rice soil. *Global Biogeochemical Cycles*, 2002, 16(4): 32-1-32-8.
- [35] Schimel J P, Schaeffer S M. Microbial control over carbon cycling in soil. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3: 348-358.
- [36] Fan F L, Zhang F S, Qu Z, Lu Y H. Plant carbon partitioning below ground in the presence of different neighboring species. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2266-2272.
- [37] Gavrichkova O, Kuzyakov Y. Ammonium versus nitrate nutrition of *Zea mays* and *Lupinus albus*: Effect on root-derived CO<sub>2</sub> efflux. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(11): 2835-2842.
- [38] Liang B C, Wang X L, Ma B L. Maize root-induced change in soil organic carbon pools. *Soil Science Society of America Journal*, 2002, 66(3): 845-847.
- [39] 聂三安, 周萍, 葛体达, 童成立, 肖和艾, 吴金水, 张杨珠. 水稻光合同化碳向土壤有机碳库输入的定量研究: <sup>14</sup>C 连续标记法. *环境科学*, 2012, 33(4): 1346-1351.
- [40] Lu Y H, Wassmann R, Neue H U, Huang C Y. Dynamics of dissolved organic and methane emission in a flooded rice soil. *Soil Science Society of America Journal*, 2000, 64(6): 2011-2017.
- [41] Yevdokimov I, Ruser R, Buegger F, Marx M, Munch J C. Microbial immobilisation of <sup>13</sup>C rhizodeposits in rhizosphere and root-free soil under continuous <sup>13</sup>C labelling of oats. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(6): 1202-1211.
- [42] Paul E A, Collins H P, Leavitt S W. Dynamics of resistant soil carbon of Midwestern agricultural soils measured by naturally occurring <sup>14</sup>C abundance. *Geoderma*, 2001, 104(3/4): 239-256.
- [43] Six J, Elliott E T, Paustian K. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: A mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(14): 2099-2103.
- [44] Garten Jr. C T, Post W M, Hanson P J, Cooper L W. Forest soil carbon inventories and dynamics along an elevation gradient in the southern Appalachian Mountains. *Biogeochemistry*, 1999, 45(2): 115-145.
- [45] Blanco-Canqui H, Lal R. Mechanisms of carbon sequestration in soil aggregates. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2004, 23(6): 481-504.
- [46] Schlesinger W H, Andrews J A. Soil respiration and the global carbon cycle. *Biogeochemistry*, 2000, 48(1): 7-20.
- [47] Kuzyakov Y. Sources of CO<sub>2</sub> efflux from soil and review of partitioning methods. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(3): 425-448.
- [48] Domanski G, Kuzyakov Y, Siniakina S V, Stahr K. Carbon flows in the rhizosphere of ryegrass (*Lolium perenne*). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2001, 164(4): 381-387.
- [49] Kuzyakov Y, Kretschmar A, Stahr K. Contribution of *Lolium perenne* rhizodeposition to carbon turnover of pasture soil. *Plant and Soil*, 1999, 213(1/2): 127-136.
- [50] Kuzyakov Y., Domanski G. Carbon input by plants into the soil. Review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2000, 163(4): 421-431.
- [51] Tian J, Pausch J, Fan M S, Li X L, Tang Q Y, Kuzyakov Y. Allocation and dynamics of assimilated carbon in rice-soil system depending on water management. *Plant and Soil*, 2013, 363(1/2): 273-285.
- [52] Pausch J, Tian J, Riederer M, Kuzyakov Y. Estimation of rhizodeposition at field scale: upscaling of a <sup>14</sup>C labeling study. *Plant and Soil*, 2013, 364(1/2): 273-285.
- [53] Hafner S, Wiesenberger G L B, Stolnikova E, Merz K, Kuzyakov Y. Spatial distribution and turnover of root-derived carbon in alfalfa rhizosphere depending on top- and subsoil properties and mycorrhization. *Plant and Soil*, 2014, 380(1/2): 101-115.
- [54] 罗璐, 周萍, 童成立, 石辉, 吴金水, 黄铁平. 长期施肥措施下稻田土壤有机质稳定性研究. *环境科学*, 2013, 34(2): 692-697.
- [55] Fontaine S, Barot S, Barré P, Bdioui N, Mary B, Rumpel C. Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature*, 2007, 450(7167): 277-281.
- [56] Ge T D, Liu C, Yuan H Z, Zhao Z W, Wu X H, Zhu Z K, Brookes P, Wu J S. Tracking the photosynthesized carbon input into soil organic carbon pools in a rice soil fertilized with nitrogen. *Plant and Soil*, 2014, doi: 10.1007/s11104-014-2265-8.
- [57] Kuzyakov Y, Blagodatskaya E. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept and review. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 83: 184-199, doi: 10.1016/j.soilbio.2015.01.025.
- [58] Trivedi P, Anderson I C, Singh B K. Microbial modulators of soil carbon storage: integrating genomic and metabolic knowledge for global prediction. *Trends in Microbiology*, 2013, 21(12): 651-651.
- [59] Brookes P C, Landman A, Pruden G, Jenkinson D S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17(6): 837-842.
- [60] Hütsch B W, Augustin J, Merbach W. Plant rhizodeposition- an important source for carbon turnover in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2002, 165(4): 397-407.
- [61] Kuzyakov Y, Cheng W. Photosynthesis controls of rhizosphere respiration and organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001,

- 33(14): 1915-1925.
- [62] Deneff K, Roobroeck D, Wadu M C W M, Lootens P, Boeckx P. Microbial community composition and rhizodeposit-carbon assimilation in differently managed temperate grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(1): 144-153.
- [63] Jin V L, Evans R D. Microbial  $^{13}\text{C}$  utilization patterns via stable isotope probing of phospholipid biomarkers in Mojave Desert soils exposed to ambient and elevated atmospheric  $\text{CO}_2$ . *Global Change Biology*, 2010, 16(8): 2334-2344.
- [64] Jones D L, Nguyen C, Finlay R D. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface. *Plant and Soil*, 2009, 321(1/2): 5-33.
- [65] Radajewski S, Ineson P, Parekh N R, Murrell J C. Stable-isotope probing as a tool in microbial ecology. *Nature*, 2000, 403(6770): 646-649.
- [66] Butler J L, Bottomley P J, Griffith S M, Myrold D D. Distribution and turnover of recently fixed photosynthate in ryegrass rhizospheres. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(2): 371-382.
- [67] Lu Y H, Murase J, Watanabe A, Sugimoto A, Kimura M. Linking microbial community dynamics to rhizosphere carbon flow in a wetland rice soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 48(2): 179-186.
- [68] Lu Y H, Conrad R. In situ stable isotope probing of methanogenic archaea in the rice rhizosphere. *Science*, 2005, 309(5737): 1088-1090.
- [69] Leake J R, Ostle N J, Rangel-Castro J I, Johnson D. Carbon fluxes from plants through soil organisms determined by field  $^{13}\text{CO}_2$  pulse-labelling in an upland grassland. *Applied Soil Ecology*, 2006, 33(2): 152-175.
- [70] Russow R, Stange C F, Neue H U. Role of nitrite and nitric oxide in the processes of nitrification and denitrification in soil: Results from  $^{15}\text{N}$  tracer experiments. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41(4): 785-795.
- [71] Davies N, Field D, the Genomic Observatories Network. Sequencing data: A genomic network to monitor Earth. *Nature*, 2012, 481(7380): 145-145.
- [72] Gupta V, Smemo K A, Yavitt J B, Basiliko N. Active methanotrophs in two contrasting North American peatland ecosystems revealed using DNA-SIP. *Microbial Ecology*, 2012, 63(2): 438-445.
- [73] Larsen P E, Field D, Gilbert J A. Predicting bacterial community assemblages using an artificial neural network approach. *Nature Methods*, 2012, 9(6): 621-625.
- [74] Schmidt M W I, Torn M S, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens I A, Kleber M, Kögel-Knabner I, Lehmann J, Manning D A C, Nannipieri P, Rasse D P, Weiner S, Trumbore S E. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 2011, 478(7367): 49-56.
- [75] Vogel C, Mueller C W, Höschen C, Buegger F, Heister K, Schulz S, Schloter M, Kögel-Knabner I. Submicron structures provide preferential spots for carbon and nitrogen sequestration in soils. *Nature Communications*, 2014, 5: 2947, doi: 10.1038/ncomms3947.
- [76] Kaiser C, Kilburn M R, Clode P L, Fuchslueger L, Koranda M, Cliff J B, Solaiman Z M, Murphy D V. Exploring the transfer of recent plant photosynthates to soil microbes: mycorrhizal pathway vs direct root exudation. *New Phytologist*, 2015, 205(4): 1537-1551.
- [77] Kleber M, Nico P S, Plante A, Filley T, Kramer M, Swanston C, Sollins P. Old and stable soil organic matter is not necessarily chemically recalcitrant; implications for modeling concepts and temperature sensitivity. *Global Change Biology*, 2011, 17(2): 1097-1107.
- [78] Rumpel C, Baumann K, Remusat L, Dignac M F, Barré P, Deldicque D, Glasser G, Lieberwirth I, Chabbi A. Nanoscale evidence of contrasted processes for root-derived organic matter stabilization by mineral interactions depending on soil depth. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 85: 82-88.
- [79] Lehmann J, Solomon D, Kinyangi J, Dathe L, Wirrick S, Jacobsen C. Spatial complexity of soil organic matter forms at nanometre scales. *Nature Geoscience*, 2008, 1(4): 238-242.
- [80] 胡行伟, 张丽梅, 贺纪正. 纳米二次离子质谱技术 (NanoSIMS) 在微生物生态学中的应用. *生态学报*, 2013, 33(2): 348-357.
- [81] Herrmann A M, Clode P L, Fletcher I R, Nunan N, Stockdale E A, O'Donnell A G, Murphy D V. A novel method for the study of the biophysical interface in soils using nano-scale secondary ion mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, 21(1): 29-34.
- [82] Herrmann A M, Ritz K, Nunan N, Clode P L, Pett-Ridge J, Kilburn M R, Murphy D V, O'Donnell A G, Stockdale E A. Nano-scale secondary ion mass spectrometry - a new analytical tool in biogeochemistry and soil ecology: a review article. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39(8): 1835-1850.
- [83] Behrens S, Kappler A, Obst M. Linking environmental processes to the *in situ* functioning of microorganisms by high-resolution secondary ion mass spectrometry (NanoSIMS) and scanning transmission X-ray microscopy (STXM). *Environmental Microbiology*, 2012, 14(11): 2851-2869.