

土壤无机碳含量及其碳同位素比值快速同步测定方法研究

贺珍, 袁红朝, 张丽萍, 耿梅梅, 许丽卫, 李春勇, 彭灿, 陈闻, 唐思宇, 钟欢, 王久荣

(中国科学院亚热带农业生态研究所, 湖南长沙 410125)

摘要: 土壤无机碳的累积、淋失在全球碳平衡中起着重要作用, 是陆地生态系统碳循环与全球变化研究的热点问题之一。准确量化土壤无机碳含量及其碳稳定同位素比值, 对于解释当前“失踪”碳汇, 探明无机碳成因等方面具有重要意义。本研究基于光腔衰荡光谱技术, 结合小样品量气体自动进样器开发了一种快速高通量的土壤无机碳含量及其碳同位素比值同步测定方法。通过分析不同类型、不同无机碳含量的有证标准物质建立了碱性土壤无机碳含量及碳同位素比值同步分析方法。结果表明, 方法的测量范围为 0.050~0.500 mg(碳酸盐), 相关系数 ≥ 0.999 , 无机碳含量分析精度 $>1 \text{ g/kg}$, 碳同位素分析精度 $>0.5\text{\textperthousand}$, 无同位素分馏。将该方法应用于不同粒径土壤无机碳含量及其碳同位素比值测定, 均可获得较好的重复性, 与传统方法测定结果基本一致, 且 100 目粒径土壤的无机碳含量及其碳同位素比值测定精度优于 60 目粒径土壤。优化后的前处理方法操作简单, 检测限低, 耗时短, 重复性好, 适用于土壤无机碳含量及其碳稳定同位素比值的快速、批量前处理和检测。

关键词: 土壤; 无机碳; 碳循环; 稳定碳同位素; 同位素光谱仪

中图分类号: TL99 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-7512(2025)04-0324-06

doi: [10.7538/tws.2024.youxian.090](https://doi.org/10.7538/tws.2024.youxian.090)

A Rapid Synchronous Determination Method for Soil Inorganic Carbon Content and its Carbon Isotope Ratio

HE Zhen, YUAN Hongzhao, ZHANG Liping, GENG Meimei, XU Liwei, LI Chunyong,

PENG Can, CHEN Wen, TANG Siyu, ZHONG Huan, WANG Jiurong

(Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China)

Abstract: The accumulation and leaching of soil inorganic carbon (SIC) play crucial roles in the global carbon balance and represent a key research focus in carbon cycling studies. Accurate quantification of SIC content and its stable isotope ratio is critical for identifying the current "missing" carbon sink in terrestrial ecosystems. This study developed a rapid, high-throughput method for synchronous measurement of soil inorganic carbon (IC) content and its carbon isotope ratios using cavity ring-down spectroscopy(CRDS) combined with an automated small-volume gas sampler. A synchronous analysis method for inorganic carbon content and isotope ratios in different types of soils was established by analyzing certified reference materials. Results demonstrated that

收稿日期: 2024-09-18; 修回日期: 2025-06-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(42177330); 中国科学院技术支撑人才项目; 中国科学院仪器功能开发项目资助

通信作者: 袁红朝

this method has a measurement range of 0.050–0.500 mg (as carbonate), with a correlation coefficient ≥ 0.999 . The accuracy of SIC analysis was better than 1 g/kg, and the accuracy of carbon isotope analysis was better than 0.5 ‰, with no observed isotope fractionation. The newly developed method was applied to determine inorganic carbon content and isotope ratios in soils with different types and SIC contents. The results showed that all samples achieved good repeatability, and the results were consistent with those measured using the original method. Moreover, the accuracy of SIC content and isotope ratios in soils of 100 mesh is better than that in soils of 60 mesh. The optimized method is simple to operate, offers a low detection limit, requires minimal processing time, and exhibits excellent repeatability, making it highly suitable for rapid and batch analysis of SIC content and its stable carbon isotope ratio.

Key words: soil; inorganic carbon; carbon cycle; stable carbon isotopes; isotope spectrometer

陆地生态系统中,土壤是最大的碳库载体,其含碳量约为生物碳库的4.5倍^[1]。土壤碳库包括土壤有机碳库(SOC)和土壤无机碳库(SIC)这两个关键组成部分。SOC中碳的储存、分解、释放过程以及SIC中碳的累积、淋失现象,在全球碳循环与气候变化方面有着重要意义^[2-3]。但以往的研究主要集中在SOC,关于SIC的研究相对较少。近年来,随着SIC研究在全球范围内的迅速发展,越来越多的研究表明,SIC对陆地碳储量的贡献不可忽视,在干旱和半干旱环境中尤为显著^[4-5]。SIC主要包括原生碳酸盐(lithogenic carbonates, LC)和次生碳酸盐(pedogenic carbonates, PC)在内的土壤碳酸盐。LC是指未与成土环境发生交换作用的碳酸盐,其来源于成土母质或母岩,而PC是指土壤风化过程中形成的碳酸盐。对SIC的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在深度上的变化进行探究,能够区分LC和PC,这有助于实现对SOC向SIC转移量的定量研究^[6-8],在维持脆弱生态系统稳定性、缓解全球气候变化方面有着重要意义。目前, SIC含量和 $\delta^{13}\text{C}$ 值的测定分别采用气量法和磷酸-质谱法^[9]。气量法的基本原理是土壤中无机碳(碳酸盐)与酸发生反应,产生二氧化碳气体(CO_2),在特定的温度和气压下, CO_2 具有固定的密度,通过计算二氧化碳的质量,能换算为土壤碳酸盐的含量。磷酸-质谱法的基本原理也是将土壤中的无机碳(碳酸盐)通过与100%浓磷酸(在50 °C或90 °C条件下)反应产生 CO_2 气体,经过收集纯化后进入同位素比率质谱仪测量 $\delta^{13}\text{C}$ 值^[10]。磷酸-质谱法测定过程步骤繁琐,且方法测定需要的质谱仪器价格昂贵、仪器维护也十分繁琐,

测试分析成本高。

碳稳定同位素光谱仪采用光腔衰荡光谱和离轴积分腔输出光谱检测技术,能够以 10^{-9} 数量级的超高灵敏度对大气 CO_2 中碳同位素比率、 CO_2 浓度及 H_2O 浓度进行同步测量^[11],具备不受目标气体温度、压力变化及水汽影响,灵敏度高、抗干扰能力强等优点^[12-13]。目前,光谱法在气体稳定同位素比值的分析精度方面可以与质谱法相媲美,在生物、化学、物理及地球和环境科学领域得到广泛应用^[14-17]。基于此,本研究利用气体稳定同位素光谱仪(Picarro G2201-i)结合自主研发的自动化无机碳前处理装置,建立对土壤无机碳一次前处理进样,同时实现无机碳含量和碳稳定同位素比值分析的方法,提高SIC样品前处理效率和检测数据质量,为有关土壤SOC-SIC转化与累积机制研究提供技术支持。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

高精度碳同位素及气体浓度分析仪(Picarro G2201-i):美国Picarro公司,采用近红外CRDS技术,检测范围100~4000 ppm,浓度精度200 ppb+0.05%读数; $\delta^{13}\text{C}$ 精度<0.12 ‰,最大漂移(GT 24 h; 1 h平均值)<0.6‰($\delta^{13}\text{C}$)。

自动化无机碳前处理装置(202410043964.):主要由PLC控制模块、多个独立电磁阀、多个二通采气阀组和液体进样阀等部件构成。利用自动控制软件控制各种阀的启动及切换,实现在线抽真空、清洗、加磷酸、超声加热、气体采集等前处理操作全过程的自动控制。百万分之一

天平: XP6, 瑞士梅特勒-托利多公司, 感量 0.001 mg。

1.2 主要材料与试剂

1.2.1 主要试剂 碳酸盐(无机碳同位素)标准品: GBW-04416 标准品($\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}/\text{\textperthousand}=1.61$), GBW-04417 标准品($\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}/\text{\textperthousand}=-6.06$), 用于碳稳定同位素值校准(两点标准化); CO₂ 标准气: 浓度分别为 300、1 500 和 3 000 μmol/mol, 委托中国计量科学研究院国家标准物质研究中心配制, 中国科学院亚热带农业生态研究所同位素实验室标定; 浓磷酸: Acros Organics 货号 38902500, 优

级纯, 由美国赛默飞世尔科技公司提供(经 80 ℃ 条件下加热烘烤 1 h, 熔化并 100% 脱水)。

1.2.2 待检测土壤样品 土壤无机碳标准品 GBW07983(GSS-41)、GBW07985(GSS-43) 土壤成分分析国家标准物质。同时, 采集湖南石门县、澧县和安乡耕地表层土壤(0~20 cm), 成土母质主要为石灰岩, 具体土壤理化性质列于表 1。样品采集后风干制备分别过 0.149 mm(100 目) 和 0.25 mm(60 目) 孔径筛, 密封保存于 50 mL 聚四氟乙烯瓶, 待测。

表 1 土壤理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the soil samples

土壤编号	土地利用类型	pH	有机质/(g·kg ⁻¹)	氮/(g·kg ⁻¹)	钾/(g·kg ⁻¹)	磷/(g·kg ⁻¹)
SM-1	水田	8.14	32.8	2.18	17.5	0.763
SM-2	旱地	7.32	19.0	1.16	26.1	0.585
AX-1	水田	8.06	25.7	1.66	20.4	1.03
AX-2	水田	7.97	35.8	2.29	20.4	1.47
LX-1	水田	8.25	21.3	1.45	15.1	0.635
LX-2	旱地	8.14	17.3	1.22	23.6	0.967

1.3 实验方法

1.3.1 方法原理 样品中的碳酸盐与 100% 浓磷酸在恒温下反应, 生成 CO₂ 和水。涉及到的反应式如下: CO₃²⁻+2H⁺→CO₂↑+H₂O

1.3.2 标准碳酸盐及土壤样品中 SIC-CO₂ 转化 标准样品制备。准确称取标准碳酸盐 0.010~1.000 mg 于样品处理瓶(12 mL 顶空瓶)中, 密封后的顶空瓶置于样品盘上, 使用自动化无机碳前处理装置先进行清洗(抽真空/注气, 循环 2 次), 再准确加入 0.20 mL 浓磷酸后于 50 ℃ 下超声(功率 200 W)反应 10 min。反应完成后注入高纯氦气 25 mL, 上机待测。

准确称取土壤样品 1.000~10.000 mg(含 1~10 μg IC)于 12 mL 顶空瓶, 密封后的顶空瓶置于样品盘上, 同标准样品制备方法, 6 次重复处理, 同时做 2 个空白样品。

1.3.3 Picarro G2201-i 分析仪测定 CO₂ 气体浓度和碳稳定同位素比值操作流程 碳稳定同位素光谱仪采用光腔衰荡光谱和离轴积分腔输出光谱检测技术工作原理示于图 1, 将 Picarro G2201-i 分析仪的进样口(流速 20 mL/min)与装置(前端)连接, 设置前端的样品进样参数(样品采集时间

为 2 min; 旁路 3 min), 新建数据库和数据处理参数, 开始运行数据采集软件。将样品放置于自动进样器上, 待仪器稳定后, 启动进样程序, 依次顺序进样。每 5 个样品, 进行 1 次标准气校准(CO₂ 工作标准气)。

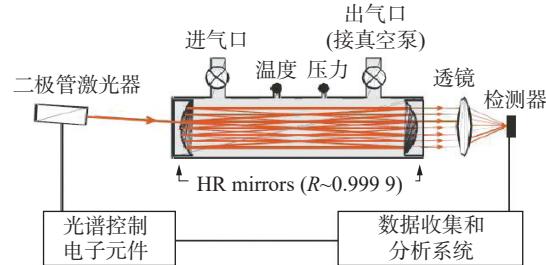


图 1 气体稳定同位素光谱仪检测光路图及工作原理

Fig.1 Structure and working principle of Picarro CRDS G2201-i

样品通过小样品量气体自动进样器进入 Picarro G2201-i 主机, 仪器配备的远红外检测器将同时对气体中的 CO₂ 浓度和 δ¹³C 同位素比值进行检测, 仪器自带的软件输出测试数据, 自主研发的数据处理软件将测试数据自动匹配到对应测试样品。选取进样后 1.5 min 测定值的平均值作为样品的检测结果。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线绘制及适用范围

将6个质量梯度的碳酸盐GBW-04417标准样品经过前处理转化生成CO₂气体,再结合自动进样前端-Picarro G2201-i分析仪联用系统测定其CO₂气体浓度和碳稳定同位素比值。根据测定的结果,以碳酸盐质量为横坐标,CO₂浓度值和δ¹³C同位素比值为纵坐标,绘制校准曲线,示于图2。碳酸盐含量在0.050~1 mg范围内,测定的CO₂气体浓度结果线性相关性好($R^2>0.999$),碳酸盐含量在0.050~0.500 mg范围测定的碳稳定同位素比值均与标准值一致,且δ¹³C同位素比值不受样品质量影响。

2.2 方法的精确度和准确度

利用两种不同检测方法得到的标准土壤样品无机碳含量均与标准值一致,自动光谱法处理的样品无机碳含量测试精度为1 g/kg(绝对标准偏差),优于传统气量方法(精度为2~3 g/kg),光谱法同位素检测精度在0.1‰~0.2‰范围内,与质谱法可比,满足标准方法要求。具体检测结果列于表2和表3。陈锦芳等^[18]采用优化的吹扫-EA-IRMS联用法测定了水体中溶解CO₂含量及其稳定同位素,其中DIC(CO₂)含量测试精度3%~3.7%(相对标准偏差),碳稳定同位素精度在0.15‰~0.3‰。该方法涉及的前处理过程较为繁琐,未实现自动化操作。本研究建

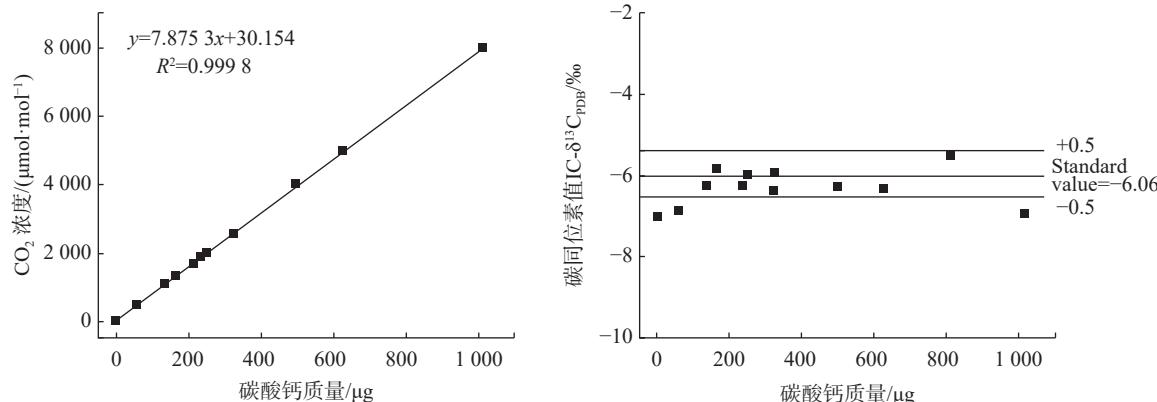


图2 碳酸盐转化-CO₂光谱检测CO₂浓度和δ¹³C同位素比值标准曲线

Fig.2 Standard curve of CaCO₃-CO₂ concentration and δ¹³C isotope ratio determined by laser spectroscopy

表2 不同检测方法土壤无机碳含量测试精密度及准确度

Table 2 Precision and accuracy of SIC content testing with different methods

样品名称	检测方法	测定值SIC/(g·kg ⁻¹)			
		平均值	绝对标准偏差	相对标准偏差/%	参考值
GSS-41	气量法	159.2	1.7	1.06	156.6±3.0
	自动光谱法	156.7	0.8	0.51	
GSS-43	气量法	82.5	2.5	3.03	84.1±2.3
	自动光谱法	82.1	0.8	0.97	

表3 不同检测方法土壤无机碳同位素测试精密度

Table 3 Precision of SIC carbon isotope testing with different methods

样品名称	检测方法	测定值δ ¹³ C _{PDB} /‰			
		平均值	绝对标准偏差	参考值	绝对误差
GSS-41	质谱法	-1.49	0.2	-1.48±0.2	-0.01
	光谱法	-1.48	0.2		0.00
GSS-43	质谱法	-1.54	0.3	-1.42±0.3	0.12
	光谱法	-1.34	0.1		0.08

立的光谱法测定 SIC 含量测试精度小于 1% (相对标准偏差), 且实现了自动化前处理, 克服了传统前处理方法耗时费力、质谱法测定成本较高的缺点。

2.3 不同粒径土壤样品测定精密度考察

本研究利用自动光谱法处理了 6 种不同类型土壤样品检测其无机碳含量及其碳同位素比值, 结果列于表 4 和表 5。6 种土壤无机碳含量范围为 6.6~89.6 g/kg, 相应的碳同位素比值范围为 $-10.98\text{\textperthousand} \sim -3.27\text{\textperthousand}$, 两者之间存在正相关关系 ($r=0.944$)。此外, 不同粒径的同一土壤无机碳含量及其碳同位素比值测试结果无显著差异, 但 100 目粒径样品的测试精密度 (0.1~0.9 g/kg 和 $0.21\text{\textperthousand} \sim 0.41\text{\textperthousand}$) 一般优于 60 目粒径样品 (0.6~2.8 g/kg 和 $0.37\text{\textperthousand} \sim 0.95\text{\textperthousand}$), 在较小样品需求量条件下 (<10.0 mg), 相比于 60 目粒径, 使用 100 目粒径或者更小粒径的样品可获得理想的检测精密度。稳定同位素光谱法可实现高精度的大气 CO_2 浓度和碳同位素组成测定, 但大多数研究集中在原位连续/检

表 4 不同粒径土壤无机碳含量测试精密度
Table 4 Precision of SIC content testing with different grain sizes

样品名称	测定值 $\text{SIC}/(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$			
	60目		100目	
	平均值	绝对相差	平均值	绝对相差
SM-1	58.3	2.1	60.3	0.8
SM-2	6.6	0.6	6.9	0.1
AX-1	73.3	1.3	77.8	0.9
AX-2	89.2	2.8	89.6	0.7
LX-1	21.1	1.2	20.8	0.7
LX-2	62.8	2.5	62.6	0.5

表 5 不同粒径土壤无机碳同位素测试精密度
Table 5 Precision of SIC carbon isotope testing with different grain sizes

样品名称	测定值 $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}/\text{\textperthousand}$			
	60目		100目	
	平均值	绝对相差	平均值	绝对相差
SM-1	-7.18	0.78	-7.10	0.22
SM-2	-10.98	0.91	-10.89	0.30
AX-1	-3.85	0.38	-4.03	0.18
AX-2	-3.37	0.37	-3.27	0.21
LX-1	-8.17	0.95	-8.29	0.24
LX-2	-3.69	0.28	-4.14	0.41

测, 如李相贤^[19] 和庞家平^[20] 等探讨了温度和压力等条件对光谱法测定 CO_2 浓度值和碳同位素比值的影响, 但还未见在碳酸盐含量和碳同位素比值检测中的应用研究。本研究将光谱法应用于 SIC 含量及其碳同位素比值检测中, 实现了一次前处理进样, 同步检测 SIC 含量和碳稳定同位素比值, 提高了 SIC 样品前处理效率和检测数据质量, 为荒漠、干旱、半干旱等生态脆弱区域的 SIC 库累积与周转研究提供技术支持。

3 结论

本研究采用一系列方法试验验证, 通过自动进样前端-激光光谱仪联用系统, 建立了土壤无机碳含量及其碳稳定同位素比值测定方法。利用所建立的土壤无机碳含量及其碳稳定同位素比值测定方法, 对不同来源的土壤样品, 进行了无机碳含量及其碳稳定同位素比值的测试, 并与传统方法测定结果进行了对比。本方法对土壤样品 (100 目) 无机碳含量的检测精度为 1 g/kg, 优于传统方法, 碳同位素检测精度小于 $0.5\text{\textperthousand}$, 与质谱法相比无明显差异。建立的整个测定方法包括了前处理技术和光谱分析技术, 实现了土壤无机碳含量及其碳稳定同位素比值的同步准确测定, 可广泛应用于土壤 SOC/SIC 库累积与周转关键过程的影响因素及其调控机理的研究。

参考文献:

- Ahirwal J, Maiti S K, Singh A K. Changes in ecosystem carbon pool and soil CO_2 flux following post-mine reclamation in dry tropical environment, India[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 583: 153-162.
- Basher L, Betts H, Lynn I, et al. A preliminary assessment of the impact of landslide, earthflow, and gully erosion on soil carbon stocks in New Zealand[J]. *Geomorphology*, 2018, 307: 93-106.
- Sreenivas K, Dadhwala V K, Kumar S, et al. Digital mapping of soil organic and inorganic carbon status in India[J]. *Geoderma*, 2016, 269: 160-173.
- Sharififar A, Minasny B, Arrouays D, et al. Soil inorganic carbon, the other and equally important soil carbon pool: distribution, controlling factors, and the impact of climate change[M]//Advances in Agronomy. Amsterdam: Elsevier, 2023: 165-231.

- [5] Dina Ebouel F J, Betsi T B, Eze P N. Soil inorganic carbon: a review of global research trends, analytical techniques, ecosystem functions and critical knowledge gaps[J]. *Catena*, 2024, 242: 108112.
- [6] Zamanian K, Pustovoytov K, Kuzyakov Y. Pedogenic carbonates: Forms and formation processes[J]. *Earth-Science Reviews*, 2016, 157: 1-17.
- [7] 卢伟伟, 杨佳. 苏北滨海土壤无机碳组成和储量及其控制因子[J]. 应用生态学报, 2024, 35(8): 2131-2140.
Lu Weiwei, Yang Jia. Composition and storage of soil inorganic carbon as well as the controlling factors in coastal area of the northern Jiangsu, China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2024, 35(8): 2131-2140 (in Chinese).
- [8] 李畅, 杨忠芳, 余涛, 等. 干旱区土壤无机碳碳汇作用及其对固碳减排贡献研究进展[J]. *中国地质*, 2024, 51(4): 1210-1242.
Li Chang, Yang Zhongfang, Yu Tao, et al. Carbon sink of soil inorganic carbon in arid regions and its contribution to carbon sequestration and emission reduction: a review[J]. *Geology in China*, 2024, 51(4): 1210-1242 (in Chinese).
- [9] Nyachoti S, Jin L, Tweedie C E, et al. Insight into factors controlling formation rates of pedogenic carbonates: A combined geochemical and isotopic approach in dryland soils of the US Southwest[J]. *Chemical Geology*, 2019, 527: 118503.
- [10] Revesz K M, Landwehr J M, Keybl J. Measurement of delta¹³C and delta¹⁸O isotopic ratios of CaCO₃ using a thermoquest finnigan GasBench II delta plus XL continuous flow isotope ratio mass spectrometer with application to Devils hole core DH-11 calcite[R]. Reston: Geological Survey, 2001.
- [11] Zhang D, Beverly E J, Levin N E, et al. Carbon isotopic composition of plant waxes, bulk organics and carbonates from soils of the Serengeti grasslands[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2021, 311: 316-331.
- [12] Krevor S, Perrin J C, Esposito A, et al. Rapid detection and characterization of surface CO₂ leakage through the real-time measurement of delta 13 C signatures in CO₂ flux from the ground[J]. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 2010, 4(5): 811-815.
- [13] Pradopérez A J, Patón M C, Rodríguez Arévalo J, et al. Tips and tricks to perform reliable stable isotope analysis with a Picarro CRDS[C]. EGU General Assembly, 2012: 523.
- [14] Baer D, Gupta M, Leen J B, et al. Environmental and atmospheric monitoring using off-axis integrated cavity output spectroscopy (OA-ICOS)[J]. *American Laboratory*, 2012, 44(10): 20-23.
- [15] 袁红朝, 贺珍, 张丽萍, 等. 基于激光光谱分析的一种水中硝酸盐氮同位素比值测定新方法[J]. *同位素*, 2022, 35(6): 543-549.
Yuan Hongzhao, He Zhen, Zhang Liping, et al. A new method for nitrogen isotopic analysis of nitrate in water by using laser spectrum[J]. *Journal of Isotopes*, 2022, 35(6): 543-549 (in Chinese).
- [16] Mahesh P, Sreenivas G, Rao P V N, et al. High-precision surface-level CO₂ and CH₄ using off-axis integrated cavity output spectroscopy (OA-ICOS) over Shadnagar, India[J]. *International Journal of Remote Sensing*, 2015, 36(22): 5754-5765.
- [17] Parent F, Plain C, Epron D, et al. A new method for continuously measuring the delta¹³C of soil CO₂ concentrations at different depths by laser spectrometry[J]. *European Journal of Soil Science*, 2013, 64(4): 516-525.
- [18] 陈锦芳, 曹建平, 纪丽红. 河口水体中溶解CO₂及其稳定同位素在线同时测定的技术研究——吹扫-EA-IRMS联用法[J]. 地球与环境, 2012, 40(4): 611-617.
Chen Jinfang, Cao Jianping, Ji Lihong. Simultaneous analysis of dissolved CO₂ and ¹³C/¹²C ratios in estuarine water using a modification on-line pretreatment system connected to EA-IRMS[J]. *Earth and Environment*, 2012, 40(4): 611-617 (in Chinese).
- [19] 李相贤, 徐亮, 高闽光, 等. 分析温室气体及CO₂碳同位素比值的傅里叶变换红外光谱仪[J]. *光学精密工程*, 2014, 22(9): 2359-2368.
Li Xiangxian, Xu Liang, Gao Minguang, et al. Fourier transform infrared greenhouse analyzer for gases and carbon isotope ratio[J]. *Optics and Precision Engineering*, 2014, 22(9): 2359-2368 (in Chinese).
- [20] 庞家平, 温学发. 稳定同位素红外光谱技术测定CO₂同位素校正方法的研究进展[J]. *植物生态学报*, 2018, 42(2): 143-152.
Pang Jiaping, Wen Xuefa. A review of the calibration methods for measuring the carbon and oxygen isotopes in CO₂ based on isotope ratio infrared spectroscopy[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2018, 42(2): 143-152 (in Chinese).