植物营养与肥料学报 2000,6(1):98～105
Plant Nutrition and Fertilizer Science

^{13}C 标记技术在土壤和植物营养研究中的应用①

沈其荣　殷士学　杨超光　陈　巍
(南京农业大学资源与环境科学学院、农业部作物生长调控重点开放实验室,江苏南京 210095)

摘要:过去研究有机物在土壤中的周转通常采用^{14}C标记技术,但由于人们对其放射性的关注,进入80年代以来研究者趋于使用稳定性同位素^{13}C标记技术。虽然^{13}C标记技术相对来说还较年轻,但从已有有限的研究资料来看其优越性已经显示出来。一是在一定的条件下可以利用自然丰度分异较大的天然材料作为标记材料,既可以省去标记的时间和费用,又可以做到真正的"原位"研究;二是利用^{13}C和^{15}N加富标记技术,结合核磁共振测定,不仅可以研究有机物分解的动态变化,还可以追踪有机物在周转过程中C、N组分化学结构的变化,能为揭示土壤养分循环和腐殖质形成机理提供更多的信息。本文根据已收集到的部分资料,对^{13}C标记技术在土壤和植物营养中的应用情况作一简要综述,并在此基础上讨论了^{13}C加富标记技术在研究植物光合作用、光合产物的去向以及标记秸秆在土壤中的分解等方面的应用及其注意点,旨在能为国内开展这方面的工作提供十分有用的参考。

关键词:^{13}C标记技术;土壤;植物营养
中图分类号:O613.71

1　^{13}C自然丰度分异

陆生C_3和C_4植物在固定CO_2时对^{12}C和^{13}C有明显的选择性。大气CO_2中^{13}C丰度($\delta^{13}C$)在-0.7%左右(以美国南卡Pee Dee白垩纪地层的碳酸盐为标准样,简写成PDB),C_3植物植株的平均$\delta^{13}C$为-2.6%,C_4植物为-1.2%[1~3]。两类植物有如此大的差异,其原因尚不清楚。同一植株的不同器官或不同化学组分$\delta^{13}C$值会略有不同。叶片与其它组织相比$\delta^{13}C$值常偏低0.1%～0.2%[4];纤维素、半纤维素和大多数糖的$\delta^{13}C$值通常与植物整株的$\delta^{13}C$值比较接近,木质素和脂类偏低,果胶、蛋白质则偏高,彼此相差几个单位,似乎表明$\delta^{13}C$值的变化与植株的生理活动有关[5]。

微生物在分解有机物时会选择性地利用^{12}C。Vitorello等[6]发现,种植12年甘蔗的10个表层土样中其$\delta^{13}C$值与有机质含量呈负相关;Natelhoffer等获得相似的结果,好气培养600天的土样$\delta^{13}C$值随有机质含量下降而上升[7]。Nakamura等[8]测定土壤在培养过程中释放的CO_2的$\delta^{13}C$值,发现在培养5天后CO_2的$\delta^{13}C$值迅速下降;培养11天时从原来的-0.8%下降到-2.7%,从另一方面证明微生物优先利用"轻"C(^{12}C)而保留"重"C(^{13}C)。

---

① 国家自然科学基金项目(39830220)资助。
作者简介:沈其荣(1957—　),男,江苏无锡人,博士,南京农业大学资环学院院长、教授、博士生导师,主要从事土壤—植物系统中C、N循环与转化研究。
收稿日期:1999-05-06

土壤剖面不同发生层次的$\delta^{13}C$值也有分异。对于以积累有机质为主的泥碳土来说，其$\delta^{13}C$主要反应以前植被组成的演替以及有机质的降解特征，但对矿质土壤而言，$\delta^{13}C$值一般都随深度加深而增加[9]。热带灰化土0～60cm土层$\delta^{13}C$值从－3.0%增加到－2.7%，森林红壤1米深土层$\delta^{13}C$从－2.8%增加到－2.5%，巴西森林红壤的$\delta^{13}C$变幅更大，可从－2.6%增加到－1.7%[10]。不同土层$\delta^{13}C$分异如果与土壤发生学相结合，可协助判断土壤植被演替的历史，对于冲积物、沉积物形成的土壤可协助分析沉积物的来源。

不同粒级的土壤有明显分异。一般来说，细粒级的较接近于全土壤的$\delta^{13}C$，而粗粒级的则较接近植物的$\delta^{13}C$[10]。这一趋势反应了有机物遭受微生物降解而逐步进入细小颗粒中。有机质不同组分中也稍有差异。酸溶性富啡酸略高于酸不溶的胡敏酸，已知富啡酸在土壤剖面中移动性较强，它的迁移淀积有可能导致不同发生层分异。水体中可溶性腐殖物质$\delta^{13}C$相对稳定。来自欧洲和美国8个河流、湖泊水样测定表明，富啡酸$\delta^{13}C$值比胡敏酸仅高出0.01%～0.02%，两者都非常接近－2.8%[11]。

2　利用$\delta^{13}C$变异原位示踪土壤有机质周转动态

要想利用天然材料来示踪土壤有机质周转动态，必须具备如下几个方面的条件：1)$\delta^{13}C$分异较大；2)土壤植被历史简单、均匀且为已知；3)测定的精密度、准确性、重现性好。如前所述，C_3和C_4植物在固定CO_2时对^{13}C有明显分异，导致$\delta^{13}C$值相差一倍左右，因而条件1)是具备的。关于条件2)，一般要求土壤植被过去长时期均为C_3或C_4植物，这样才能保证土壤$\delta^{13}C$背景值与天然标记材料有尽可能大的差异。这一点在我国不难做到，但并不是任意一块田都合适，研究者要特别注意选择。对于条件3)，如果用自动C-N-分析质谱仪其精密度可以达±0.01%(SD)$\delta^{13}C$(＞100μg C)，但±0.02%(SD)$\delta^{13}C$就足以用于自然丰度的测定了[12]。在土壤测定方面，目前尚未收集到专门研究报告。现引用一份列有统计结果的数据以供参考。这是在原来只有C_3植物的土壤上种植一季玉米当季采样测定的结果。

从表1可看出，在原来只种植C_3植物的土壤上，一季玉米种植期间，其$\delta^{13}C$在＞2000μm的非残根、200～2000μm以及20～50μm这三个土壤粒级中与没种植一季C_4植物的土壤相比就达到显著差异，而这种差异主要来源于一季玉米生长季节内植株本身向土壤中分泌的碳水化合物、根系脱落物以及残留根系，这说明如果用C_4植物秸秆在长期种植C_3植物的土壤上分解，或用C_3植物秸秆在长期种植C_4植物的土壤上分解进行秸秆C周转研究是完全可行的。已有成功利用天然材料来示踪土壤有机质周转动态的报告。Balesdent and Mariotti[4]在原先从未种过玉米的土壤上开始种玉米，收获后玉米秆还田，每隔2年采一次土样测定，13年后土壤$\delta^{13}C$由原来的－2.62%增加到－2.30%，由此计算得起始土壤有机质的22%在13年内得到更新，周转期为36年。同时发现来自玉米的新有机质主要分布在＞50μm和＜2μm的粒级中，位于中间粒级中的有机质周转速度很慢。Martin等[14]在象牙海岸的热带稀树草原上利用C_4草本植被自然逐渐演替成C_3木本植被已有25年的保护区进行了类似的研究，结果表明52%～70%的原有有机质在16年中得到更新，周转期为19年，＞250μm粒级中有机物周转速率远比＜20μm来得快。Ryan等[15]在原先以烟草-黑麦(C_3)轮作的土壤上利用天然^{13}C示踪材料研究了土壤微生物生物量C的周转，结果表明，源于原有有机质的生物量碳(C_4)半衰期为6～9年，而源于新添入的有机物的生物量碳(C_3)

半衰期仅为0.5年。常规耕作条件下有机碳周转速度比免耕条件来得快[15,16]。

表1 不同粒级土壤 $\delta^{13}C$(%)[13]

Table 1 $\delta^{13}C$ in different soil particle fractions

粒级 Particle fraction (μm)	一季玉米种植前的土壤 Soil before one season of corn growth			一季玉米种植期间的土壤 Soil during one season of corn growth					
	4月取样 Sampled in April			8月取样 Sampled in August			10月取样 Sampled in October		
	样本数 Number of samples(n)	平均数±SE Average ±SE (X±SE)		样本数 Number of samples(n)	平均数±SE Average ±SE (X±SE)		样本数 Number of samples(n)	平均数±SE Average ±SE (X±SE)	
>2000,残根 Root remnants				2	-1.255	0.005	2	-1.257	0.005
>2000,其它 Others	1	-2.760		2	-2.645	0.045	2	-2.505*	0.115
200~2000	6	-2.764	0.010	2	-2.630*	0.020	5	-2.566*	0.036
50~200	5	-2.762	0.006	1	-2.700		5	-2.735	0.011
20~50	4	-2.662	0.009	2	-2.670	0.009	3	-2.623*	0.004
2~20	5	-2.685	0.002	2	-2.671	0.011	3	-2.693	0.004
0.2~2	5	-2.629	0.011	2	-2.621	0.001	3	-2.630	0.004
0~0.2	4	-2.573	0.007	2	-2.561	0.001	3	-2.558	0.002

带*号的表示该数据与种植玉米前相应的粒级土样 $\delta^{13}C$值相比达0.05水平显著差异。

Numbers with * represent that there is a significant difference between the data obtained before and during the growth of corn.

3 利用^{13}C、^{15}N核磁共振法研究有机物化学结构

过去借助于化学分析方法、紫外和红外光谱法等,人们也可以了解有机物的一些化学结构状况。但这些方法很难把化学结构与有机质的生物稳定性相联系,而且常涉及化学提取步骤。核磁共振法可以通过对原状土直接测定来获得化学结构状态,因而有明显的优越性。

3.1 核磁共振原理简介

具有奇数核子的原子核(如^{1}H、^{13}C、^{15}N、^{19}F、^{31}P等)能产生自旋磁场,相同原子不同原子核所产生的自旋磁场在自然条件下无序排列,宏观上不呈磁性。若将样品置于一个强大的外加静磁场中,受其影响自旋磁场定向排列,宏观上呈磁性(即磁化)。如果此时外加一个射频脉冲磁场,只要其频率等于某一个数值(该频率由原子核本身性质所决定)射频脉冲就会被原子核大量吸收使原子核从低能态跃迁到高能态(核磁共振),产生磁共振波峰。对每一个受检原子核来说,所感受到的磁场除了自旋磁场、外加静磁场外,还受到自身周围的电子以及相邻原子核周围影响,外加静电场与电子相互作用会改变原子核局部部位的磁场强度,因此同一样品中处于不同化学状态(与化学结构有关)的受检核会以略有差异的频率发生共振(化学位移),形成一系列共振波峰。波峰的高度与受检原子核数量相关。记录不同共振频率(横座标)下形成的波峰,可以计算处于某一化学状态的受检原子核数量和浓度等。由于不同化学状态的受检原子核其共振频率彼此相差很小,因此,常将总共振频率划分成更为细

小的单位(百万分之一，mg/kg)，以便区别原子核的化学位移。某一共振频率下出现的共振波峰代表受检原子核的化学状态。不同共振波峰代表受检原子核的化学状态所反映的化学状态是固定的(以四甲基硅烷作为^{13}C、硝基甲烷为^{15}N基准物质逐步确定不同化学位移与化学状态的对应关系)，如表 2 所示。这些对应关系在化学和生物化学领域已广泛应用。

表 2　^{13}C 和 ^{15}N 核磁共振波谱所对应的化学基团[17]

Table 2　Chemical composition group responding to ^{13}C and ^{15}N NMR

	化学位移 Chemical shift/ $\times 10^{-6}$	化　学　基　团 Chemical composition group
^{13}C	0～45	脂肪环或脂肪链中的亚甲基，末端甲基 Methylene groups in aliphatic rings and chains, terminal methyl groups
	45～60	甲氧基，碳水化合物中的 C-6，大多数氨基酸中的 α-C Methoxyl groups and C-6 of carbonhydrates and sugars, Cα of most amino acids
	60～90	碳水化合物衍生结构中与六碳糖 2～5 位的 C，某些氨基酸中的 α-C，高醇-C Carbonhydrate derived structures (C-2 to C-5) in hexoses, Cα of some amino acids, higher alcohols
	90～110	碳水化合物中的异头-C，丁香类化合物的 C-2，C-6 Anomeric carbon of carbonhydrates, C-2, C-6 of syringyl units
	110～140	芳环-CH，烯烃-C Aromatic C-H carbons, alkene carbons
	140～160	芳环-C=O 或芳环-C=N 基团中的 C Aromatic COR or CNR groups
	160～220	羧基-C/羰基-C/酰胺-C Carboxyl/carbonly/amide carbons
^{15}N	25～－25	硝态-N，亚硝态-N，硝基-N Nitrate, nitrite, nitro groups
	－25～－90	亚胺，氮杂苯，吡啶，希夫氏碱 Imine, phenazine, pyridine, Schiff-bases
	－90～－145	嘌呤 Purine (N-7)
	－145～－220	叶绿素，嘌呤/嘧啶，吲哚，咪唑，吡咯 Chlorophyll, purine/Pyrimidine, indole, imidazole, pyrrole
	－220～－285	酰胺/肽，氨基糖中 N-乙酰衍生物，色氨酸，脯氨酸 Amide/peptide, N-acetyl derivatives of aminosugars, tryptphane, proline
	－285～－325	胍-NH NH in guanidine
	－294	δ-N 精氨酸和 α-N 瓜氨酸 N_δ-arginine and N_α-citrulline
	－307	ε-N 精氨酸，ω-瓜氨酸，尿素，核酸 N_ε-arginine, N_ω-citrulline, urea, nucleic acids
	－325～－375	NH_4^+，$-NH_3^+$，$-NH_2$，－NHR，$-NR_2$，氨基酸和氨基糖中的游离氨基 NH_4^+，$-NH_3^+$，$-NH_2$，－NHR，$-NR_2$ groups, free amino groups in amino acids and amino sugars

用于^{13}C核磁共振波谱分析的样品最好是人工加富标记的样品，以便波谱信号较强，等待时间短。非加富标记^{13}C样品同样也可以测定，但是^{15}N波谱分析必须加富标记。

3.2 ^{13}C、^{15}N核磁共振波谱分析在土壤学中的应用

腐殖质形成途径假说之一是碳水化合物与氨基酸缩合形成黑色素，进而形成腐殖质(即Maillard假说)。最近Benzing-Purdie等[18]用^{13}C核磁共振波谱分析手段对这一假说进行考证，发现木糖-甘氨酸、木糖-硫酸铵、葡萄糖-甘氨酸按Maillard反应合成的黑色素在结构上与土壤腐殖质极为相似：C的脂肪化程度很高，C类型包括脂肪-C、C-O、芳环-C、羧基-C、羰基-C；水解黑色素发现其中没有或仅含有极少量的原初反应物，说明黑色素并非两种原料的简单聚合。该结果不仅进一步证实了Maillard假说，而且还说明一部分“未知态氮”可能是通过糖-氨基酸缩合形成的。Hopkins等[19]将^{13}C、^{15}N双标记的黑麦草与土壤混合培养224天，结果表明碳水化合物-C由原来的60%下降至20%，可能源于微生物的烷基-C、甲基-C在培养14天时由原来的5%增加到14%；在整个腐解过程中只有100mg/kg附近有一个^{15}N峰，对应的是肽和酰胺态N，说明尽管微生物转化N素是一个复杂过程，但N素形态并不发生太大的变化。关于这一点，Knicker等得到相似的结论[17]。Clinton等[20]研究无机^{15}N与山毛榉林地枯枝落叶层有机质之间的相互作用，表明80%的无机^{15}N经过135天已成为次生酰胺-肽化合物，无机^{15}N进入腐殖化有机物中而不是半腐解的有机物中。

在农田开垦初期土壤有机质从粗粒级向细粒级转移，这是早为人知的事实，但这种变化与化学结构有何关系并不很清楚。利用磁共振波谱分析可以对此得到进一步认识。Guggenberger等研究表明[21]，土壤颗粒愈细，碳水化合物和木质素的^{13}C信号强度愈低，相反烷基-C、含有取代基的芳环-C信号强度愈高，表明粗粒中C主要是原生的(未经微生物合成的)而细粒中的C主要是次生的(经微生物合成的)。从吸附角度来看，土壤优先选择吸附那些富含羧基-C、芳环-C的可溶性有机质，烷基-C则趋于持留在溶液中；与矿物质表面金属元素相结合的有机质也富含羧基-C，表明有机-无机复合体的形成可能与羧基、芳环有关[22]。

如果是简单的葡萄糖施入土壤[23]，磁共振波谱分析表明残留于土壤的C中有66%是环烷基-C(O-alkyl-C)，26%为烷基-C，8%为羧基-C，表明这些基团的确是由微生物合成的。但是样品中几乎未发现有芳环-C的合成，一种可能是芳环-C的量很少但可缓慢积累达到可检量；二是原土壤中检测到的芳环-C来自于植物残体中木质素。

通过对洛桑试验站(长期定位点)处理相差较大的一系列样品研究，Kinchesh等[24]指出碳水化合物-C、甲氧基-C、烷基-C都比芳环-C变动大；碳水化合物-C既可以增加也可以减少，而甲氧基-C和烷基-C则不容易减少。许多磁共振波谱分析研究都得到类似结果。耕作[16]和使用无机肥料[22]对土壤有机质的化学结构几乎没有影响。

要特别指出的是，磁共振波谱分析用于土壤样品时尚难做到定量，因为有一系列因素影响波峰的面积(理论上讲波峰的面积反映所对应基团的绝对量)[24]，但是可以对相同土壤有机质含量的不同样品进行比较。

4 利用^{13}C加富标记技术研究植物光合作用、光合产物的去向以及标记秸秆在土壤中的分解

国外已有^{13}C纯度为99%的^{13}C富集二氧化碳气体销售(钢瓶内^{13}C气压为10个大气

压)，且价格适中，国内一般性资助强度的科研项目完全能承受，下面略举几例以阐明可借助于^{13}C加富标记技术开展的研究工作。

4.1　CO_2 浓度倍增对作物生长发育的影响

以往国内在这方面的研究主要采用非标记 CO_2，仅增加其浓度，然而有了^{13}C标记的 CO_2 气体，不仅能研究 CO_2 浓度倍增对植物的总效应，而且能研究不同时期 CO_2 倍增时其同化产物在作物不同部位的分布，从而可揭示植物生育期内 CO_2 浓度倍增对作物产量或品质影响的最关键时刻，为调控植物光合作用或植物产量与品质提出有效措施。

4.2　不同时期植物光合产物的去向

有了^{13}C加富标记技术，就可以进行不同时期植物光合产物去向的研究。其方法步骤可概括如下：先同时培养(种植)很多植株幼苗，让它们在完全相等的条件下生长，在每一个预先设置的时期(如分蘖期，孕穗期等)取一定数量的植株(如三钵为一组)进行^{13}C标记的 CO_2 饲喂一定时间，然后放回原来生长的环境，让其与其它植株一样继续生长，到一定时期(如收获)时取样分析植株体内^{13}C的分布情况，就可知道植株某一生育期同化的 CO_2 分布状况，也可绘成分布图。再如，如果要研究不同时期植物根系的分泌物强度或植株遭受某一胁迫时根系分泌物的变化等均可采用这一方法。

4.3　秸秆在土壤中的分解动态变化

如果用^{13}C标记秸秆来研究作物秸秆、作物残茬或作物根系在土壤中的分解动态或在土壤有机质中的分布，这将对阐明土壤 C、N 转化过程及土壤肥力演变过程带来新的技术革命。过去在这方面的研究多半是将土壤作为黑箱，只注重结果(输入与输出)，而今后更需要对发生在土壤中的转化过程作更深入的探讨，虽然可以借助研究成本不高的^{13}C自然丰度分异技术来从事上述问题的研究，但其灵敏度以及结果的重现性等远比不上^{13}C加富标记技术。

4.4　标记技术应用中应注意的问题

^{13}C标记的 CO_2 气体不是很贵，然而标记技术却是关键问题。

首先要准备好百分之一百密封的植物生长箱，箱子的大小取决于所要求的作物生长的大小。我们的经验是做一个有机玻璃罩子，将有植株生长的钵子放入一个较大的容器内(如周转箱即可)，该容器内存有一定量的水，然后用有机玻璃罩子罩在植株生长的钵子上空，下面与容器内的水连接组成一个完全密封的空间，有机玻璃罩子左下边有一个气体进口，右上边有一个气体出口，当植株生长到所要标记的时候就进行上述过程的安置。通入$^{13}CO_2$前最好先通入无 CO_2 气体的空气(先用碱溶液吸收空气中的 CO_2)让植株先饥饿一段时间，然后再通$^{13}CO_2$气体以便提高$^{13}CO_2$的吸收同化率。通$^{13}CO_2$时必须是晴天，标记时间(饲喂$^{13}CO_2$的时间)不能太长，因为生长箱较小，太阳幅射较强，箱内温度较高，每次通$^{13}CO_2$气体只需 30 秒到 1 分钟左右；通完后立即夹紧进出口，让作物在密封的容器内进行同化$^{13}CO_2$。如果密封箱内温度太高，在通入$^{13}CO_2$ 8 小时后就可放开进出口，由于$^{13}CO_2$较重而沉在箱子的中下部，使作物能基本完全利用所通入的$^{13}CO_2$气体。如果能采用有机玻璃箱上面通自来水来冷却则效果会更好。所标记的^{13}C样品(植株或土壤)必须全部通过超细筛才能取得比较均匀的标记样品，测定时只需称取 0.1mg 干样即可在质谱仪上分析。

参考文献

1 Smith BN and Epstein S. Two categories of $^{13}C/^{12}C$ ratio for higher plants. Plant Physiology, 1971, 47:380～384.

2 Benner R, Forgel ML, Sprague EK and Hodson RE. Depletion of ^{13}C in lignin and its implication for stable carbon isotope studies. Nature, 1987, 329:708～710.

3 Bender MM. Variations in the $^{13}C/^{12}C$ ratio of plants in relation to the pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation. Phytochemistry, 1971, 10:1239～1244.

4 Balestent J and Mariotti A. Natural ^{13}C abundance as a tracer for studies of soil organic matter dynamics. Soil Biology & Biochemistry, 1987, 19:25～30.

5 Deines P. The isotope composition of reduced organic carbon. *In*:Fritz P and Fontes JC(eds). Handbook of Environmental Isotope Geochemistry. Amsterdam: Elsiever., 1980,,239～406.

6 Vitorello VA. Soil Sci. Soc. Am. J., 1989, 53:773～

7 Natelhoffer K J and Fry B. Control on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundance in forest soil organic matter. Soil Sci. Soc. Am. J., 1988, 52:1633～1640.

8 Nakamura K, Kakai Y and Wada E. Carbon isotope of soil gases and related organic matter in an agroecosystem with special reference to paddy field. In: Durance EM et al. (eds.). Geochemistry of gaseous elements and compounds. Theophrasus Publications, Athens, 1990, 455～484.

9 O'Brien B J and Stout JD. Movement and turnover of soil organic matter as indicated by carbon isotope measurements. Soil Biology and Biochemistry, 1978, 10:309～317.

10 Andreux F, Cerri C, Vose PB and Vitorello VA. Potential of stable isotope, ^{15}N and ^{13}C, methods for determining input and turnover in soils. In:Harrison AF et al. (eds.). Nutrient Cycling in Terrestrial Ecosystems: field methods, application and interpretation. Elsevier Applied Science Publishers Ltd, Barking, UK, 1990, 259～275.

11 Liu R, Clapp CE and Cheng HH. Usefulness of the carbon-13 tracer technique for characerizing terrestrial carbon pools. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 1997, 49:261～266.

12 Barrie A, Brookes ST, Prosser SJ and Debney S. High productivity analysis of ^{15}N and ^{13}C in soil/plant research. Fertilizer Res., 1995, 42:43～59.

13 Balesdent J and Balabane M. Maize root-derived soil organic carbon estimated by natural ^{13}C abundance. Soil Biol. Biochem., 1992, 24:97～101.

14 Martin A, Mariotti A, Lavelle P and Vuattoux R. Estimate of organic matter turnover rate in a savanna soil by ^{13}C natural abundance measurements. Soil Biol. Biochem., 1990, 22:517～523.

15 Rryan MC, Aravena R and Gillham RW. The use of ^{13}C natural abundance to investigate the turnover of the microbial biomass and active fractions of soil organic matter under two tillage treatments. In: Lal R et al. (eds.). Soil and Global Change. CRC Press, FI., 1995, 351～360.

16 Balesdent J, Mariotti A and Boisgontier D. Effect of tillage on soil organic matter carbon mineralization estimated from ^{13}C abundance in maize fields. J. Soil Sci., 1990, 41:587～596.

17 Knicker H, Ludemann HD and Haider K. Incorporation studies of NH_4^+ during incubation of organic residues by ^{15}N-CP-MAS-NMR-spectrospcopy. Europ. J. Soil Sci., 1997. 48:431～441.

18 Benzing-Purdie L, and Ripmeester JA. Melaniodins and soil organic matter: evidence of strong similarities revealed by ^{13}C CP-MAS NMR. Soil Sci. Soc. Am. J., 1983, 47:56～61.

19 Hopkins DW, Chudex J A, Webster EA and Barraclough D. Following the decomposition of ryegrass labelled with ^{13}C and ^{15}N in soil by solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy. Europ J. Soil Sci., 1997, 48:623～631.

20 Clinton PW, Newman RH and Allen RB. Immobilization of ^{15}N in forest litter studied by ^{15}N CPMAS NMP spectroscopy. Europ J. Soil Sci., 1995, 6:551～556.

21 Guggenberger G, Zech W, Haumaier L and Christensen TB. Land-use effects on composition of organic matter in particle-size separates of soils: 2 CPMAS and solution ^{13}C NMR analysis. Europ. J. Soil Sci., 1995, 46:147～158.

22 Kaiser K, Guggenberger G, Haumaier L and Zech W. Dissolved organic matter sorption on subsoils and minerals studied by

^{13}C-NMR and DRIFT spectroscopy. Europ. J. Soil Sci., 1997, 48:301~310.

23 Baldock JA, Oades JM, Vassallo AM and Wilson MA. Aust. J. Soil Res., 1989, 27:725~746.

24 Kinchesh P, Powlson DS and Randall EW. ^{13}C NMR studies of organic matter in whole soils 2. A case study of some Rothamsted soils. Europ. J. Soil Sci., 1995, 46:139~146

APLICATION OF ^{13}C LABELLING TECHNIQUE TO SOIL SCIENCE AND PLANT NUTRITION

Shen Qirong, Yin Shixue, Yang Chaoguang, Chen Wei

(*College of Res. And Envi. Sci. And MOA Key Lab. Of Plant Growth Regulation, Nanjing Agri. Univ., Nanjing* 210095)

Abstract: Owing to the concern of its radioactivity by human being, radioactive ^{14}C labelling technique used to study the turnover of organic materials added to soils has gradually been replaced by stable isotope ^{13}C labelling technique since 1980's. The two advantages of stable isotope ^{13}C labelling technique have been recognized. Firstly, much time and cost spent on labelling can be saved while real in-situ study can be attained if we choose naturally labeling materials obtained with the help of discrimination of different plants between ^{13}C and ^{12}C. Secondly, enrichment of ^{13}C and ^{15}N and their combination with NMR (nuclear magnetic resonance) spectroscopy can help us study not only the dynamics of decomposition of organic materials but also the changes of their chemical structures during the turnover of the organic materials, which can provide more information in clarifying the C and N cycling and humification of the organic materials applied to soils. The paper gives a brief review on the application of ^{13}C labelling technique to soil science and plant nutrition, in which some key notes are devoted. Therefore, the paper will prove very useful in initiating the related research work in China.

Key words: ^{13}C labelling technique; soil; plant nutrition