北京山区侧柏生态系统各组分夜间 δ^{13} C 变化特征和对环境因子的响应

朱栩辉1,余新晓1,李瀚之2,贾国栋1,郑鹏飞1,王渝淞1,孙乐乐1

(1.北京林业大学水土保持学院,水土保持与荒漠化防治教育部重点实验室,

北京 100083;2.中国林业科学研究院荒漠化研究所,北京 100091)

摘要:采用同位素光谱测定仪对北京山区侧柏人工林生长旺盛期夜间 CO₂浓度和 δ¹3 C 进行原位观测。分 析侧柏林生态系统不同组分夜间呼吸 δ^{13} C 的差异,探究其对环境因子的响应。结果表明:在使用 Keeling plot 法拟合侧柏林 7—9 月夜间呼吸作用释放的 δ¹³ C 时,利用大气稳定度作为筛选条件后,拟合精度从 0.43增大到 0.82,误差从 0.54‰~0.99‰下降到 0.50‰~0.82‰。δ¹³C 变化范围为(-28.76±0.51)‰~ $(-25.18\%\pm0.59)\%$,呈现先增大后减小的趋势;地上侧柏枝条 $\delta^{13}C_{16}$ 变化范围 $(-33.16\pm1.08)\%$ \sim $(-26.82\pm0.18)\%$,呈增加趋势,在7月底达到最大值,9月变化趋于平稳;地下土壤 δ^{13} C_{mr} 变化范围 $(-28.55\pm0.17)\%\sim(-21.39\pm0.37)\%$,呈增加趋势,7月底达到最大值,变化波动最大,9月变化趋于平 稳,各月 δ¹³C 与时间呈二次函数关系;在生长旺盛期夜间土壤呼吸通量占生态系统呼吸通量的54.77%, $\delta^{13}C_{hr}$ 比 $\delta^{13}C_{hr}$ 高 $^{2.06}$ % \sim 7.03%;逐步回归分析表明,夜间呼吸 $\delta^{13}C$ 受大气湿度影响最显著,大气湿度 对各组分碳同位素值变化的贡献率均在 60%以上。δ¹³ C_{地下}不受土壤温度的影响,δ¹³ C_{地上}除大气湿度外, 大气温度、土壤温湿度对其影响较为均衡。通过对夜间呼吸 δ¹³C 的研究,可以更全面地评估北京山区森林 生态系统碳平衡,为区域森林生态系统经营提供科学依据。

关键词:稳定同位素; Keeling plot 法; 夜间呼吸; 环境因子

中图分类号:S715

文章编号:1009-2242(2019)05-0163-08

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcxb.2019.05.024

Variation Characteristics of δ^{13} C of Different Components in Platycladus orientalis Ecosystem During Nighttime and Its Response to Environmental Factors in Beijing Mountainous Area

ZHU Xuhui¹, YU Xinxiao¹, LI Hanzhi², JIA Guodong¹,

ZHENG Pengfei¹, WANG Yusong¹, SUN Lele¹

(1.Key Laboratory of Soil and Water Conservation and Desertification Control, Ministry of Education, School of Soil and Water Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083; 2. Institute of Desertification, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091)

Abstract: In this study, the isotope spectrometer was used to observe the nighttime CO₂ concentration and δ^{13} C during the vigorous growth period of *Platycladus orientalis* plantation in Beijing mountainous area. The difference of nocturnal respiration δ^{13} C of different components of the P. orientalis ecosystem was analyzed, and its response to environmental factors was explored. The results showed that when using the Keeling plot method to fit the δ^{13} C released by the nocturnal respiration in the P. orientalis plantation from July to September, the fitting accuracy improved from 0.43 to 0.82 and the error decreased from 0.54 \sim 0.99 to $0.50 \sim 0.82$ after the atmospheric stability was used as the screening condition. The variation range of δ^{13} C was (-28.76 ± 0.51) $\%_0 \sim (-25.18\pm0.59)$ $\%_0$, which showed a trend of increasing first and then decreasing. The above-ground variation range of the aboveground arborvitae branch $\delta^{13}{
m C}$ was (-33.16 ± 1.08) % \sim $(-26.82\pm0.18)~\%$, and showed an increasing trend, reaching its maximum at the end of July, and tended to be stable in September. The underground variation of δ^{13} C in the underground soil was (-28.55 ± 0.17) % \sim $(-21.39\pm0.37)~\%$, and showed an increasing trend, reaching the maximum in July, as well as the variation

收稿日期:2019-04-09

资助项目:国家自然科学基金项目(41430747,41877152);科技创新服务能力建设一协同创新中心一林果业生态环境功能提升协同创新中心 (2011 协同创新中心)(市级)(PXM2018_014207_000024)

第一作者:朱栩辉(1995-),男,甘肃平凉人,硕士研究生,主要从事水土保持研究。E-mail:zxh25800@163.com

通信作者: 余新晓(1961-), 男, 甘肃平凉人, 博士, 教授, 主要从事森林水文, 水土保持研究。 E-mail; yuxinxiao1111@126.com

was the largest, and the change was stable in September. The relationship between δ^{13} C in each month and time was quadratic function. During the vigorous growth period, the night soil respiration flux accounted for 54.77% of the ecosystem respiratory flux, and the underground δ^{13} C was $2.06\% \sim 7.03\%$ higher than the aboveground δ^{13} C. Stepwise regression analysis showed that the nocturnal respiration δ^{13} C was significantly affected by atmospheric humidity. The contribution rate of the atmospheric humidity to the variation of carbon isotope value of each component was more than 60%. The underground δ^{13} C was not affected by the soil temperature. Except for atmospheric humidity, the atmospheric temperature and soil temperature and humidity had relatively balanced effects on the aboveground δ^{13} C. Through the study of night respiration δ^{13} C, it was possible to evaluate more comprehensively the carbon balance of forest ecosystems in Beijing mountainous area, and provide a scientific basis for regional forest ecosystem management.

Keywords: stable isotope; Keeling plot method; nocturnal respiration; environmental factors

森林是陆地生态系统的重要分支,每年森林固碳 量大约占整个陆地生态系统的 76%~98%[1],在全 球碳循环中发挥着重要作用。近年来,随着 CO2浓 度升高引起的全球气候变暖现象成为了研究的热点 问题,关于陆地生态系统与大气之间碳循环过程进行 了大量研究[2]。稳定同位素技术现已成为探究不同 时空尺度上碳循环过程的一个重要方法,对碳同位 素值(δ¹³C)的拆分可以探究生态系统各组分碳物质 的动态变化过程,以及对环境因子变化的响应[3]。 Kodama 等[4]通过对樟子松树皮、树干、土壤 δ13 C 的 研究来反映短时期樟子松不同器官对 CO2呼吸通量 的影响;Cambaliza[5]利用傅里叶变换红外光谱技术 对杨树林 &¹³ C 的观测,区分了杨树生态系统和土壤 的 CO2通量,并估算了光合通量;Bowling 等[6] 对针 叶林多个空间尺度上 δ^{13} C的观测,分析了叶片、土壤 两者呼吸之间的差异和不同空间尺度上环境因子变 化对 δ^{13} C 的影响; Kuptz 等 $^{[7]}$ 根据不同季节的 δ^{13} C 变化特征,分析了落叶阔叶林和常绿针叶林树干和粗 根的呼吸通量变化,以及各组分在不同季节时对环境 因子的响应;孙伟等[8]对河岸草地生态系统 δ^{13} C 的 观测,区分了夜间草地、土壤的呼吸通量和对生态系 统碳通量的贡献。通过对 δ¹3 C 拆分的研究,进一步 阐明了森林生态系统各组分的碳循环过程,对大气 CO2浓度的影响和对环境变化的响应,为更深入研究 各组分碳循环机制提供基础。

森林生态系统呼吸作用包括植物呼吸和土壤呼吸。植物呼吸释放的 δ^{13} C 受到环境变化的影响后与大气中的碳同位素存在显著的差异,利用 δ^{13} C 反映出植物的生理变化过程和对环境变化的适应机制 [9];对于土壤呼吸,主要用脉冲标记法和持续标记法对土壤各组分 δ^{13} C 变化进行观测 [10]。已有研究 [4-8] 通过对不同时空尺度上植物和土壤的 δ^{13} C 进行拆分,得到森林态系统各组分 CO_2 通量贡献率和环境改变对 δ^{13} C 的影响。但是观测时间尺度大、精度较低,并且对森林生态系统夜间呼吸 δ^{13} C 变化的研究较少。因此,本文利用稳定同位素的方法在小时尺度上对侧柏林生态系统各组分夜间呼吸 δ^{13} C 变化进行连续定点

观测,所得结果精度更高,有助于更深入的了解森林生态系统碳循环过程,对森林一大气的通量反演具有重要意义。侧柏是北京山区的主要人工造林树种,也是组成首都绿色生态屏障的主要树种,因此,侧柏对评估北京山区森林生态系统碳平衡具有重要意义。本文利用稳定同位素技术,对侧柏人工纯林在生长旺盛期(7—9月)夜间的呼吸 δ^{13} C 和 CO_2 浓度进行连续的原位观测,拆分侧柏林地上侧柏枝条和地下土壤的 δ^{13} C,结合环境因子进行分析,探讨:(1)利用 Keeling plot 法分析生长旺盛期内侧柏林生态系统 δ^{13} C 变化特征;(2)分析侧柏枝条和土壤部分的 δ^{13} C 变化特征以及对生态系统碳通量的贡献;(3)确定不同部位 δ^{13} C 对环境因子的响应,为进一步研究北京山区人工林生态系统的服务功能提供基础,区域森林生态系统经营提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

首都圈定位观测站地理坐标为 40°19′51″— 41°31′29″N,115°25′14″-117°33′02″E,距离北京市区 约 30 km,面积为 833.04 km²。最高海拔 1 153 m,主 要土壤类型为淋溶褐土、棕壤土。该区域属于华北 暖温带半湿润半干旱大陆性季风气候,年均气温为 11.6 ℃,最高气温 41.6 ℃,最低气温-19.6 ℃。夏季 高温多雨,冬季寒冷干燥。年均降水量为 630 mm, 降水量多集中于6-9月,占全年的70%~80%。属 于暖温带落叶阔叶林区域山地栎类和油松林带。主 要树种有侧柏(Platycladus orientalis)、油松(Pinus tabuliformis)、栓皮栎(Quercus variabilis);灌草主 要有荆条(Vitex negundo)、胡枝子(Lespedeza bicolor)、短尾铁线莲(Clematis brevicaudata)。侧柏林 为 1965 年种植的人工林,密度 1 176 株/hm²,平均胸 径(20.9±0.8)cm,平均树高(10.7±1.5)m,郁闭度为 80%,叶面积指数(LAI)为 3.25±0.2。

1.2 研究方法

1.2.1 Keeliing plot 法 Keeling 在 1958 年提出用 线性回归的方法来计算夜间生态系统呼吸释放 CO_2

中的碳同位素值[11],基本原理是基于质量守恒:

$$c_z = c_x + c_v \tag{1}$$

式中: c_z 、 c_x 、 c_v 分别为测得的大气浓度、大气本底浓度和 CO_2 浓度(μ mol/mol)。

$$\delta^{13} C_z c_z = \delta^{13} C_x c_x + \delta^{13} C_v c_v$$
 (2)

式中: δ^{13} C 为各部分的碳同位素值(‰),主要是通过结合 CO_2 同位素,构建的质量守恒方程。并对公式(1)和(2)变形:

$$\delta^{13} C_z = c_x (\delta^{13} C_x - \delta^{13} C_v) \times (\frac{1}{c_x}) + \delta^{13} C_v$$
 (3)

构建出大气 δ^{13} C 与 CO₂ 浓度倒数的关系式,截距为源添加同位素值。本研究中使用 δ^{13} C 同位素,可以拆分出 2 种来源。在应用 Keeling plot 法时,10 天进行 1 次求解,相较于月尺度研究,时间频率更高,计算精度也进一步加强。

1.2.2 夜间呼吸组分拆分 夜间森林碳循环过程呼吸作用占主导地位,因此,本研究认为夜间碳通量均由呼吸作用产生,夜间侧柏人工林生态呼吸系统碳通量一般拆分为地上部分(侧柏)和地下部分(土壤呼吸),根据质量守恒定理,计算公式为:

$$W_e = W_{\pm \pm} + W_{\pm \mp} \tag{4}$$

根据同位素守恒原理,两边乘上对应的碳同位素:

$$\delta^{13} C_e W_e = \delta^{13} C_{\pm} W_{\pm} + \delta^{13} C_{\pm} W_{\pm}$$
 (5)
式中: $\delta^{13} C$ 为各部分¹³ C 同位素值,公式(4)和(5)变

式中:δ¹³C 为各部分¹³C 同位素值,公式(4)和(5)变 形得:

$$R_{\pm \bar{\tau}} = \frac{W_{\pm \bar{\tau}}}{W_e} = \frac{\delta^{13} C_e - \delta^{13} C_{\pm \pm}}{\delta^{13} C_{\pm \bar{\tau}} - \delta^{13} C_{\pm \pm}}$$
(6)

式中: R_{mr} 为侧柏人工林生态系统夜间土壤部分呼吸通量占比,同理可求得 R_{mh} 。

本研究中,根据侧柏高度建造侧柏林廓线系统,分别在0,5,8,12.5,18 m 布设观测点对 CO_2 浓度和 δ^{13} C 进行测定,利用廓线系统和 Keeling 曲线,求得 侧柏林生态系统夜间总呼吸 δ^{13} C。

1.2.3 各组分碳同位素与环境因子的测定 试验开始于 2017 年 7 月 1 日至 9 月 19 日在首都圈定位观测站进行。地上部分侧柏呼吸同位素的获得主要通过枝条气室。有研究[12]指出,单株乔木枝条和叶片的呼吸通量占总呼吸通量的 $73\% \sim 82\%$,同时由于测定时用 δ^{13} C 1 种同位素,只能拆分出 2 种来源的限制,本研究认为,气室所测得的侧柏枝条和叶片同位素代表地上部分侧柏呼吸同位素。使用由美国LGR(Los Gatos Research Inc.,USA)公司生产的同位素光谱分析仪(CCIA—36d—EP)进行测量,可以实现对野外大气环境的 CO_2 浓度和 δ^{13} C 的连续观测,分辨率高、测量 CO_2 浓度范围大, δ^{13} C 测量精度可达0.1‰。采用 Bowling 等[13]提出的标定法,进行校准。枝条气室是 1 个长方体的结构,选择 3 株不同侧柏布设,每株布设 1 个气室。分别选取侧柏健康枝条

密封,气室两侧连接管路系统,2个气孔一个通过 CO_2 过滤装置连接到外界的大气,另一个过水汽干燥装置后接到同位素光谱分析仪,对侧柏枝条 CO_2 浓度和 δ^{13} C 进行连续观测。同时配合同位素光谱分析仪的管道系统对侧柏林廓线系统各高度处大气 CO_2 浓度和 δ^{13} C 进行测定。测量时间为每天晚上的 00:00-6:00 和 19:00-23:00,20 min 可获得 6 次观测数据,每个测定周期为 1 h,在取样时,舍去前 2 min 测量结果,并对剩余时间测量数值取平均值,作为本次测量值。

地下部分土壤呼吸同位素值(δ^{13} C_{地下})由土壤呼吸气室测定,本研究中将土壤的自养呼吸和异养呼吸视为一个整体未做拆分。土壤呼吸气室密封插入地下 15 cm,林内随机选择 3 处布设,测得 δ^{13} C_{地下}包括自养呼吸与异养呼吸。两侧分别连接 CO₂ 过滤装置连接外界大气和通过水汽干燥装置连接同位素光谱分析仪,数据测量频率和处理方式与枝条气室相同。土壤呼吸通量的测定通过使用 LI-8150 土壤呼吸观测系统,林内均匀布设 4 个 8100 土壤呼吸通量测定仪器,使用 LI-8500 控制,数据获取频率为 3 min,其平均值为土壤呼吸通量。

环境因子的测量主要是通过美国 AVALON 公司生产的林内气象站,包括温湿度传感器、风速传感器、土壤湿度传感器、太阳辐射等。土壤温度和湿度获取通过使用美国 METER 公司生产的 EM50 数据采集器,观测频率为 10 min/次。

1.2.4 数据处理 大气稳定度是测定植物一土壤碳 通量变化的一个重要影响因素,在应用 Keeling plot 法时,大气处于稳定层结状态时可以提高拟合精度,有助于提高侧柏人工林生态系统碳同位素观测的准确性。因此,本文选用理查逊数作为大气稳定度的参照因子,计算公式为:

$$R_{i} = \frac{g \times \sqrt{c_{1} \times c_{2}}}{T} \times \frac{\Delta \theta}{\Delta \mu} \times \ln \frac{c_{2}}{c_{1}}$$
 (7)

式中: R_i 为理查逊数;g 为重力加速度 9.8 m/s²; $\Delta\theta$ = $\theta_1 - \theta_2$, $\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2$,其中 θ_1 , θ_2 , μ_1 , μ_2 分别为对应 高度 c_1 = 2 m, c_2 = 11 m 的位温(K)和风速(m/s);T 为 2 层空气绝对温度的平均值(K)。 R_i < -10 表示 大气不稳定;-10 < R_i < 0.1 表示大气稳定为中性状态;0.1 < R_i 表示大气稳定。

研究采用 Excel 2013 和 SPSS 25 软件对数据进行统计分析,用逐步回归分析法分析 δ^{13} C 与环境因子之间的相关性(p < 0.05),图中数据为平均值士标准差。

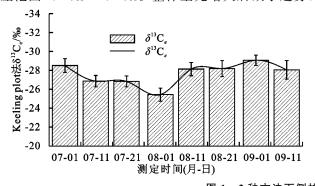
2 结果与分析

2.1 生态系统夜间呼吸同位素值变化特征

运用 Keeling plot 方法获得侧柏人工林生态系统从 7月1日至9月20日期间夜间呼吸同位素值($\delta^{13}C_{\epsilon}$),由于 Keeling曲线计算精度受到所观测的 CO₂浓度

范围(40 μ mol/mol 以上)和样本数量的影响,通过每10 天构建 1 次来提高拟合精度,反映 10 天侧柏林生态系统呼吸平均同位素值(图 1)。观测时段内 δ^{13} C_e变化围为(-29.07 ± 0.54)‰~(-25.44 ± 0.70)‰,最大值出现在 8 月 1—10 日,最小值出现在 9 月 1—10 日,最大差异为 3.63‰,误差范围为 0.54‰~0.99‰。整体呈先增大后减小趋势,从 7 月到 9 月中下旬减少了 0.65‰。

在筛选大气稳定度高的时间段后,构建每 10 天的 Keeling 曲线拟合方程(表 1)。8月1日至9月 20日 δ^{13} C。变化围为 $(-28.76\pm0.51)\%\sim(-25.18\pm0.59)\%$,8月初达到最大值,最大差异为 3.58%,误差范围 $0.50\%\sim0.82\%$ 。整体呈先增大后减小趋势,



减小了 1.93%。通过对比 Keeling 曲线和大气稳定度下 Keeling 曲线拟合方程,后者构建 Keeling 曲线提高了拟合精度,决定系数 R^2 从 0.43 增大到 0.82,误差范围从 $0.54\%\sim0.99\%$ 下降到 $0.50\%\sim0.82\%$ 。对 2 种方法获得的数据进行分析(图 2)。发现两者之间存在良好的线性关系 y=1.2735x+7.6997, $R^2=0.69$ 。因为在观测过程中由于测量 CO_2 浓度, δ^{13} C 会存在误差。因此利用大气稳定度作为筛选条件,剔除误差较大的数据后可以提高 Keeling 曲线拟合的精度,更好地反映出 δ^{13} C。变化情况。虽然使用大气稳定度会后减少 20%的样本数量, CO_2 浓度变化范围从 $163.13~\mu$ mol/mol 减小到 $150.63~\mu$ mol/mol,但是仍能保证拟合方程精度,反映 δ^{13} C。的变化特征。

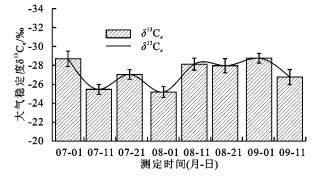


图 1 2 种方法下侧柏林生态系统呼吸同位素值

表 1 夜间 Keeling 曲线拟合方程

观测时间	Keeling 曲线拟 合方程	误差	R^{2}	CO ₂ 浓度范围/ (μmol·mol ⁻¹)	大气稳定度下 Keeling 曲线拟合方程	误差	R^2	CO ₂ 浓度范围/ (μmol·mol ⁻¹)
7月1—10日	y = 7710.8x - 28.51	0.73	0.55	390.35~549.00	y = 8105.7x - 28.69	0.61	0.76	393.22~515.42
7月11—20日	y = 7974.0x - 26.86	0.60	0.75	$396.05\sim627.40$	y = 7659.6x - 25.41	0.39	0.89	$399.42 \sim 627.40$
7月21—31日	y = 7936.7x - 26.83	0.57	0.66	$375.87 \sim 524.30$	y = 7844.6x - 27.03	0.38	0.78	$385.48 \sim 524.30$
8月1—10日	y = 8183.7x - 25.44	0.70	0.62	$378.72\sim505.84$	y = 8028.6x - 25.18	0.44	0.80	$382.25 \sim 505.84$
8月11-20日	y = 7931.4x - 28.13	0.70	0.61	$385.60 \sim 518.33$	y = 7528.4x - 28.12	0.47	0.82	$388.19 \sim 512.13$
8月21-31日	y = 7564.1x - 28.19	0.84	0.62	$392.14 \sim 565.86$	y = 7472.8x - 27.96	0.56	0.77	$397.26 \sim 565.86$
9月1—10日	y = 7936.4x - 29.07	0.54	0.64	$397.35 \sim 637.08$	y = 7801.8x - 28.75	0.38	0.77	$403.18 \sim 611.11$
9月11—19日	y = 7497.2x - 28.05	0.99	0.43	403.53~496.85	y = 6948.1x - 26.76	0.60	0.55	404.84~496.85

注:y 为 δ^{13} C_e值;x 为 CO_2 浓度倒数;误差为截距误差。

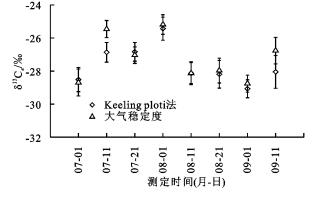


图 2 2 种方法 δ^{13} C_e 的相关性分析

2.2 各组分夜间呼吸碳同位素变化特征

由图 3 可知,观测时段内侧柏人工林土壤夜间呼吸稳定同位素值($\delta^{13}C_{地下}$)变化范围为(-28.55 ± 0.17)%~ (-21.39 ± 0.37)%,平均 $\delta^{13}C_{地下}$ 为(-25.66 ± 1.39)%,整

体呈增加趋势。7,8,9 月其变化幅度分别是(-28.55 ± 0.17)‰~(-21.39 ± 0.37)‰,(-27.26 ± 1.53)‰~(-23.26 ± 0.48)‰,(-25.46 ± 0.12)‰~(-27.24 ± 0.23)‰,差异值为7.16‰,4.00‰,1.78‰。7月 δ^{13} С_{地下}和时间进行拟合,与二次函数拟合效果最好为y=0.0075 $x^2-2.8371x+242.04$, $R^2=0.410$ 5, δ^{13} С_{地下}呈增大趋势,变化幅度最大;8月 δ^{13} С_{地下}与时间拟合,拟合方程为 $y=0.0009x^2-0.5174x+44.232$, $R^2=0.530$ 0,8月 δ^{13} С_{地下}呈减小趋势;9月 δ^{13} С_{地下}与时间进行拟合,拟合方程为 $y=-0.0096x^2+4.7828x-620.61$, $R^2=0.63$,但是9月 δ^{13} С_{地下}变化幅度最大是因为发生较多的降雨,土壤蓄水量增大导致储存在土壤中大量的空气被排出,对 δ^{13} С_{地下}观测造成较大影响,波动幅度大 $^{[2]}$ 。

侧柏枝条夜间呼吸稳定同位素值(δ¹³ C_{tu上})变化

范围为(-33.16 ± 1.08)%。 \sim (-26.82 ± 0.18)%,平均 $\delta^{13}C_{\pm}$ 为(-29.77 ± 1.33)%,整体呈增加趋势。每月 变化范围为(-26.82 ± 0.18)%。 \sim (-31.92 ± 0.02)%,(-28.10 ± 0.11)%。 \sim (-33.16 ± 1.08)%,(-29.54 ± 0.08)%。(-32.92 ± 0.77)%,差异值为 5.10%,5.06%,3.38%。 7月 $\delta^{13}C_{\pm}$ 与时间进行拟合,与 $\delta^{13}C_{\pm}$ 和时间拟合相似,二次函数拟合效果最好 $y=-0.0001x^2+0.1471x-53.795$, $R^2=0.51$, $\delta^{13}C_{\pm}$ 呈增大趋势;8月 $\delta^{13}C_{\pm}$ 与时间拟合方

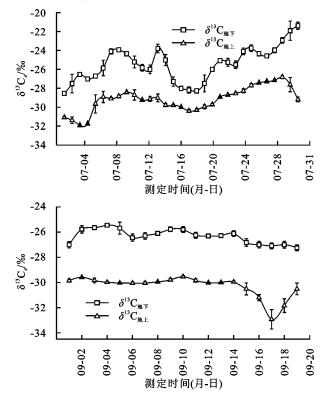


图 3 各月侧柏枝条和土壤 **δ**13 C 的变化

2.3 各组分呼吸通量比例关系

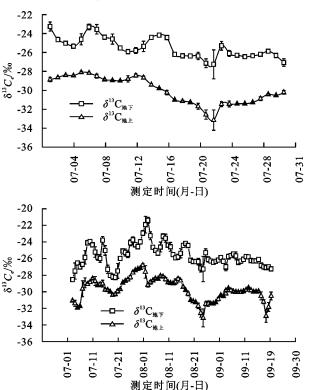
根据观测各组分 δ^{13} C,构建夜间各组分呼吸通量比例关系(图 4)。Keeling plot 法和在大气稳定度下侧柏枝条呼吸通量占侧柏生态系统呼吸通量的 $21.87\%\sim79.20\%$, $2.71\%\sim77.24\%$, 均值分别为 45.23%, 33.81%。土壤呼吸通量占比为 $20.80\%\sim78.13\%$, $22.76\%\sim97.29\%$, 均值分别为 54.77%, 66.19%,说明侧柏林在生长旺盛期,土壤呼吸占主要部分。出现异常值主要是因为观测数据和拟合方程的误差太大造成。比较 2 种方法可以看出,Keeling plot 法可以更好地反映侧柏林生态系统各部分呼吸通量比例。结合大气稳定度后,Keeling plot 法误差较大可能是因为样本容量大幅度减小和 δ^{13} C 观测误差大造成。因此提高仪器准确度,缩小构建 Keeling 曲线的时间尺度,在精确数据观测下分析大气稳定度对 Keeling 曲线 拟合的影响也是今后研究的重点。

2.4 环境因子变化特征及对 δ^{13} C 的影响

图 5 为 7 月 1 日至 9 月 19 日夜间每隔 1 h 的测

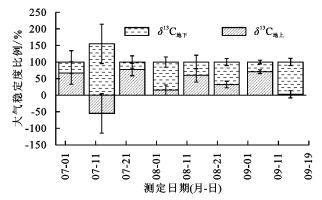
程为 $y=0.0046x^2-2.2168x+236.26$, $R^2=0.66$, δ^{13} C_{地上}呈减小趋势;9月 δ^{13} C_{地上}与时间拟合方程为 $y=-0.0109x^2+5.405x-698.86$, $R^2=0.54$, δ^{13} C_{地上}变化趋于稳定。

通过对 $\delta^{13}C_{\mathrm{hr}}$ 和 $\delta^{13}C_{\mathrm{hL}}$ 的观察,在生长旺盛期 $\delta^{13}C_{\mathrm{hr}}$ 比 $\delta^{13}C_{\mathrm{hL}}$ 大,差值约为 $2.06\%\sim7.03\%$,说明 在观测期内侧柏林生态系统碳同位素增大的原因是由于土壤呼吸的增加造成的,特别是在 7 月底 8 月初时 $\delta^{13}C_{\mathrm{e}}$ 随 $\delta^{13}C_{\mathrm{hr}}$ 增加的幅度最大。



量数值,大气温度最高出现在7月26日19:00,达到 40.4 ℃,最低温度出现在 7 月 12 日 5:00,达到 13.6 ℃。 观测期间内大气温度变化剧烈,最大温差为 26.8 ℃, 平均温度为 25.2 ℃。土壤温度最高出现在 9 月 15 日 23:00,达到 23.29 ℃,最低温度出现在 7 月 21 日 5:00, 达到 16.26 ℃。土壤温度波动较大, 温差达 7.03 ℃,平均土壤温度为 16.26 ℃。大气湿度在观测 期间内波动剧烈,有11天大气湿度达到100%,其中 7月有4天,8月有6天,9月有1天。大气湿度最低出 现在 7 月 26 日 4:00, 仅有 7.93%, 平均大气湿度为 52.60%。土壤湿度变化明显,8月23日之前变化平稳, 其范围为 5.14%~7.55%,平均值土壤湿度为 6.17%。 在8月23日22:00 突变式增长,增加到10.40%,在8月 25日2:00达到最大值27.86%,随后又逐渐减小,突变 后平均土壤湿度为 18.81%,前后平均土壤湿度差值 为12.64%。在观测期间内突增后的土壤湿度并未减 小到突变之前的程度,原因是22日发生降雨,平均降 雨量为 53.6 mm,23 日夜间大气湿度达到 100%,这

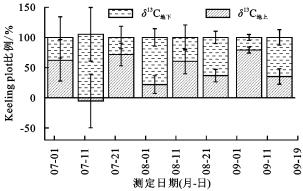
些因素导致了土壤湿度的突变式增长;23 日之后大气湿度仍然保持一个较高的水平,空气湿度大,土壤湿度开始缓慢下降。总体来说,观测期间内,各环境



 \mathbf{I} 4 不同方法下各组分 δ^{13} C 所占比例

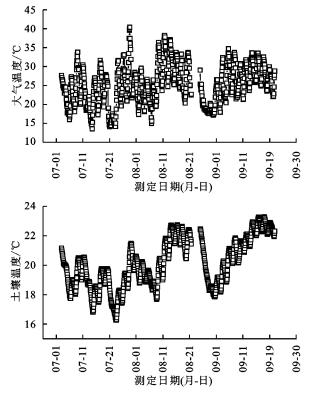
 $\begin{array}{c} 110 \\ 100 \end{array}$

因子的变化相对平稳且变化特征明显,夜间大气稳定度较高,凌晨大气稳定度频率基本在55%以上,这些因素都为观测侧柏人工林δ¹³C提供了基础。



选择大气温度 x_1 、土壤温度 x_2 、大气湿度 x_3 、土壤湿度 x_4 及土壤呼吸同位素 y_1 、侧柏枝条呼吸同位素 y_2 ,采用逐步回归分析的方法建立回归模型(表2)。 δ^{13} C_{mr} 与大气温度、大气湿度和土壤湿度呈负相关关系,这 3 个环境因子可以解释 δ^{13} C_{mr} 变化的24.4%。各因子贡献率分别为26.77%,63.78%,9.55%。主要受到大气湿度的影响,与大气湿度、大气温度呈显著负相关(p<0.05),土壤湿度对其影响较小,土壤温度不造成影响。 δ^{13} C_{mr} 与这 4 个环境

因子均呈显著负相关(p<0.05),可以解释 δ^{13} $C_{\text{地}\perp}$ 变化的 43.4%。各因子贡献率分别为 14.07%,10.48%,60.98%,14.47%。 δ^{13} $C_{\text{地}\perp}$ 主要受到大气湿度的影响,其他因子影响相似。植物和土壤的夜间呼吸碳同位素值主要受湿度和温度影响,随着温度升高,侧柏枝条和土壤呼吸作用越强, CO_2 浓度增加,导致 δ^{13} C减小。湿度主要对侧柏气孔闭合程度和长时间水分利用效率产生影响,进而作用于植物呼吸,对土壤微生物活性造成影响,作用于土壤呼吸。



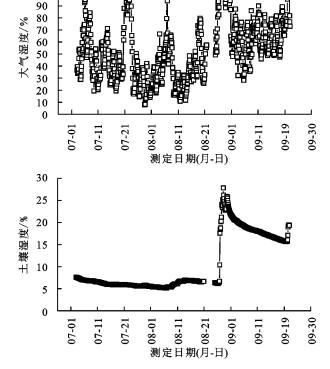


图 5 观测期间内大气温度、大气湿度、土壤温度、土壤湿度变化 表 2 不同组分 δ^{13} C 与环境因子的逐步回归分析

指标	逐步回归方程	R	$R^{ \scriptscriptstyle 2}$	P
土壤呼吸同位素 δ ¹³ C _{地下}	$y_1 = -22.041 - 0.65x_1 - 0.33x_3 - 0.19x_4$	0.497	0.244	0
侧柏枝条呼吸同位素 $\delta^{\scriptscriptstyle 13}$ $\mathrm{C}_{\scriptscriptstyle \mathtt{b}\mathtt{L}}$	$y_2 = -25.072 - 0.35x_1 - 0.83x_2 - 0.32x_3 - 0.29x_4$	0.661	0.434	0

3 讨论

森林中的大气 CO₂浓度和 δ¹³C 变化除了可以作 为探究植物功能的一个指标,更是阐明植物与生态系 统间关系以及全球碳平衡一个重要途径[14]。本研究中, 侧柏人工林生态系统夜间呼吸稳定同位素值主要使用 Keeling plot 法进行计算,其拟合精度受到 CO。浓度变化 范围影响[15],选用 10 天的数据构建 Keeling 曲线拟合方 程,发现δ¹³C,呈现先增大后减小的趋势。而在选大气 稳定度作为筛选条件后,构建 Keeling 曲线拟合方程精 确度增加[8],截距误差减小,决定系数 R^2 增大。已有研 究[16] 指出, 温带阔叶林与热带雨林夜间呼吸同位素值介 于-19.0%~-32.6%,本研究显示侧柏人工林 δ^{13} C。介 于 (-25.18 ± 0.59) %~ (-28.76 ± 0.51) %,产生误差的 主要来源为呼吸底物发生变化,但植物呼吸释放的 CO。 同位素与呼吸底物同位素组成的相关性还没有统一的 结论,呼吸底物的变化会对植物碳同位素值产生怎样的 影响仍是我们急需解决的问题[17];同位素分馏和同位素 判别过程改变,同位素的分配比例发生变化,空气中 重同位素(13C)减少[18],计算结果产生误差;侧柏人 工林生长环境变化、遗传特性和夜间呼吸过程中的同 位素效应等因素共同影响导致产生误差[19]。

观测期间 δ^{13} C_{th} 变化范围为(-21.39±0.37)%~ (-28.55±0.17)‰,与 Werner 等[20] 研究得到植物枝条夜 间呼吸同位素值变化范围 (-21.2 ± 0.3) % $\sim (-32.1\pm$ 0.8)%这一结果相似,产生差异的原因主要是同位素 分馏。Mortazavi 等[9]指出植物暗呼吸过程中,同位 素分馏作用会对碳同位素值观测产生较大影响,因为 糖类在运输过程中的分馏作用导致呼吸底物 δ¹³ C 发 生变化,进而影响到植物枝条和根呼吸产生的δ¹³C。 Bayle 等[21] 指出,在植物呼吸过程中,碳同位素分馏 的产生是由于植物细胞糖类¹³C分布不均,代谢过程 中产生分馏作用,影响呼吸释放 CO₂的¹³C 丰度。土 壤呼吸是根系代谢(自养呼吸)和有机质分解(异养呼 吸)的结合。由于自养呼吸与异养呼吸利用¹³C区分 困难,因此本研究将其视为一个整体。 δ^{13} C_{ur} 变化 幅度是 7.16 ‰,与曹建华等[22] 对柏树林土壤呼吸碳 同位素值变化幅度测定为 4.76% 相比,变化幅度相 近。这可能与土壤同时发生自养呼吸和异养呼吸有 关,异养呼吸主要通过微生物的分解作用,分解底物 的变化,造成 δ¹³ C 的贫化与富集^[23]。自养呼吸包括 植物根系呼吸作用与植物根微生物呼吸作用,研 究[23] 指出根的自养呼吸中存在同位素分馏效应,这 都会对观测结果造成影响,引起误差。

在整个生态系统呼吸中,土壤呼吸通量最高可占 80%[8]。本研究发现,在生长旺盛期夜间土壤呼吸通量 占比在 8 月初达到峰值 78.13%,研究结果相一致。观测期间 δ^{13} C_{thr} 与大气湿度呈显著负相关关系,说明侧柏林夜间土壤呼吸通量在湿度较低时贡献率最大。孙伟等^[8] 在对草地生态系统夜间呼吸通量进行研究时发现,雨季时只有 40%,在旱季时可达 80%。这主要是由于随着湿度增加,土壤中大量的空气被排出,导致空气中 CO_2 浓度增加 δ^{13} C_{thr} 减小^[2]。土壤呼吸通量存在明显季节变化规律,夏天和春末较高,而秋冬土壤呼吸通量较低^[24];植物呼吸通量则在生长旺季(7—9 月)达到最大。土壤呼吸和植物呼吸的 δ^{13} C 受到外界环境的显著影响,并存在一定的滞后效应^[8]。因此,在各组分在不同的时间内呼吸通量有着很大的差别。总体上土壤呼吸通量占绝大部分,对生态系统呼吸通量影响显著。

光合作用与呼吸作用改变了森林中 CO。浓度和 δ^{13} C,因此环境因子可以作用于植物本身对其产生影 响。本研究中, 8¹³ C_w 与温度和湿度呈显著负相关, 与王玉涛等[25]研究指出植物 δ13 C 与温度呈显著负 相关,原因是由于呼吸作用与气孔所需的最适温度有 关结果一致;钟海秀等[26]发现,随着气温升高 CO。浓 度升高,δ¹³C_{地上}显著降低,是由于呼吸作用过程需要 酶的参与来完成,因此温度是影响呼吸作用的一个重 要因素。除受到温度影响外,湿度主要是对气孔闭合 程度和长时间水分利用效率产生影响[27],作用于植物 呼吸,进而影响δ¹³C。土壤呼吸δ¹³C与温度和降水相关 性最高,本研究中 $\delta^{13}C_{mr}$ 与大气湿度的相关性最高,是 因为土壤微生物活性与湿度显著正相关[28],湿度通过 影响微生物活性作用于呼吸产生的碳同位素值;并且 随着夜间呼吸 CO₂浓度升高,δ¹³C_{地下}显著降低。汤 红官等^[29]对圆柏叶片研究发现,δ¹³C随着降雨量的 增加而增加,这可能是因为不同物种 δ^{13} C 对降水的 依赖性不同,并且物种构造存在很大的差别。本研究 观测时间为侧柏生长旺盛期,降雨丰富,温度和湿度 高,这也解释了研究中 δ¹³C 变化现象,与温度和湿度 呈显著负相关关系。研究中δ¹³C与环境因子拟合方 程精度较低,这与学者[30]在同一地区所做研究结果 相似。除对温湿度与 δ^{13} C 相关性进行分析外,还对 饱和水汽压亏缺(VPD)和冠层气孔导度进行了分析 (文中未列出),研究发现 δ¹³ C 与 VPD、冠层气孔导 度相关性并不显著,可能是温湿度变化最为明显,这 2个因子变化规律不明显,相关性需要在更高的时间 尺度上才能表现出来。本文未对土壤导电率对 δ¹³ C 的影响进行研究,但已有研究[30]指出,土壤导电率对 碳同位素值存在显著影响。这也说明植物对环境的 响应十分复杂,应多学科融合探究不同因子对生态系

统各部分生理过程的影响。

4 结论

- (1)使用 Keeling plot 法对侧柏人工林生态系统 夜间呼吸碳同位素值变化进行拟合,发现筛选大气 稳定度高的时间段以后,拟合方程 R^2 从 0.43 增大到 0.82,误差范围从 $0.54\% \sim 0.99\%$ 下降到 $0.50\% \sim 0.82\%$,拟合精度显著提高。
- (2)对侧柏林夜间生态系统进行拆分,观测期内 δ^{13} $C_{地下}$ 与 δ^{13} $C_{地上}$ 变化特征明显。 δ^{13} $C_{地下}$ 的变化范围为(-28.55 ± 0.17)%~(-21.39 ± 0.37)%,平均 δ^{13} $C_{地下}$ 为(-25.66 ± 1.39)%,整体呈增加趋势, δ^{13} $C_{地下}$ 7月变化幅度大,8—9月变化幅度较小,9月趋于平稳; δ^{13} $C_{地上}$ 的变化范围为(-33.16 ± 1.08)%~(-26.82 ± 0.18)%,平均 δ^{13} $C_{地上}$ 为(-29.77 ± 1.33)%,整体呈增加趋势, δ^{13} $C_{地上}$ 7,8月变化幅度相近,9月变化趋于平稳。
- (3)土壤呼吸通量占生态系统呼吸通量的 54,77%,侧柏枝条呼吸通量占 45.23%,在生长旺盛期夜间侧柏林土壤呼吸占生态系统夜间呼吸的大部分。
- $(4)\delta^{13}C_{\text{地F}}$ 与 $\delta^{13}C_{\text{地}\pm}$ 变化与大气温度和大气湿度 呈显著负相关,大气湿度贡献率最高,分别为 63.78%, 60.98%,大气温度的贡献率分别为 26.77%,14.07%。各 环境因子作用于土壤微生物活性、植物叶片气孔闭合 程度和水分利用效率等方面,调控呼吸作用,从而影 响到 $\delta^{13}C$ 值。

参考文献:

- [1] 马长明,赵辉,牟洪香,等.燕山山地华北落叶松人工林碳密度及分配特征[J].水土保持学报,2017,31(5):208-214.
- [2] 周剑芬,管东生.森林土地利用变化及其对碳循环的影响[J].生态环境学报,2004,13(4):674-676.
- [3] 陈新,贡璐,李杨梅,等.典型绿洲不同土壤类型有机碳含量及其稳定碳同位素分布特征[J].环境科学,2018,39 (10):345-353.
- [4] Kodama N, Barnard R L, Salmon Y, et al. Temporal dynamics of the carbon isotope composition in a Pinus sylvestris stand: From newly assimilated organic carbon to respired carbon dioxide [J]. Oecologia, 2009, 7(4): 639-654.
- [5] Cambaliza M O L. Measurement of forest ecosystem atmosphere exchange of delta-carbon-13 carbon dioxide using Fourier transform infrared spectroscopy and disjunct eddy covariance [J]. 2010,7(1):34-54.
- [6] Bowling D R, Burns S P, Conway T J, et al. Extensive observations of CO₂ carbon isotope content in and above a high-elevation subalpine forest [J]. Global Biogeochemical Cycles, 2005,19(3):363-373.
- [7] Kuptz D , Matyssek R, Grams T E E. Seasonal dynamics in the stable carbon isotope composition (δ^{13} C) from

- non-leafy branch, trunk and coarse root CO₂ efflux of adult deciduous (*Fagus sylvatica*) and evergreen (*Picea abies*) trees [J]. Plant Cell & Environment, 2011, 34 (3):363-373.
- [8] 孙伟, Williams D.利用稳定性同位素区分河岸 C4 草地生态系统夜晚碳通量 [J]. 湿地科学, 2008,6(2):271-277.
- [9] Mortazavi B, Chanton J P, Smith M C. Influence of ¹³ C-enriched foliage respired CO₂ on δ¹³ C of ecosystem-respired CO₂ [J]. Global Biogeochemical Cycles, 2006, 20 (3):3029-3083.
- [10] 耿元,史晶晶.¹³C在草原土壤呼吸区分中的应用[J].自 然资源学报,2012,27(6):1044-1052.
- [11] Nickerson N, Risk D. Keeling plots are non-linear in non-steady state diffusive environments [J]. Geophysical Research Letters, 2009, 36(8):273-81.
- [12] 王文杰.林木非同化器官 CO_2 通量的测定方法及对结果的影响[J].生态学报,2004,24(9):2056-2067.
- [13] Bowling, David R, Pataki, et al. Critical evaluation of micrometeorological methods for measuring ecosystem-atmosphere isotopic exchange of CO₂[J]. Agricultural & Forest Meteorology, 2003, 116(3):159-179.
- [14] 柴华,钟尚志,崔海莹,等.植物呼吸释放 CO₂碳同位素变化研究进展[J].生态学报,2018,38(8):2616-2624.
- [15] 孙伟,林光辉,陈世苹,等.稳定性同位素技术与 Keeling 曲线法在陆地生态系统碳/水交换研究中的应用[J].植物生态学报,2005,29(5);851-862.
- [16] Pataki D E, Ehleringer J R, Flanagan L B, et al. The application and interpretation of Keeling plots in terrestrial carbon cycle research [J]. Global Biogeochemical Cycles, 2003, 17(1):1-14.
- [17] Gessler A, Tcherkez G, Peuke A D, et al. Experimental evidence for diel variations of the carbon isotope composition in leaf, stem and phloem sap organic matter in Ricinus communis [J]. Plant Cell & Environment, 2010,31(7):941-953.
- [18] 潘璐,刘杰才,李晓静,等.高温和加富 CO₂ 温室中黄瓜 Rubisoco 活化酶与光合作用的关系[J].园艺学报,2014,41 (8):1591-1600.
- [19] Priault P, Wegener F, Werner C. Pronounced differences in diurnal variation of carbon isotope composition of leaf respired CO₂ among functional groups [J]. The New Phytologist, 2009, 181(2): 400-412.
- [20] Werner C, Gessler A. Diel variations in the carbon isotope composition of respired CO₂ and associated carbon sources: A review of dynamics and mechanisms [J]. Biogeosciences, 2011,8(9);2437-2459.
- [21] Bayle K, Akoka S, Remaud G S, et al. Nonstatistical ¹³C distribution during carbon transfer from glucose to ethanol during fermentation is determined by the catabolic pathway exploited [J]. Journal of Biological Chemistry, 2015, 290(7):4118-4128.

- 分及物理性质的影响[J].应用生态学报,2011,22(1):
- [4] Spargo J T, Cavigelli M A, Alley M M, et al. Changes in soil organic carbon and nitrogen fractions with duration of no-tillage management [J]. Soil Science Society of America Journal, 2012, 76(5): 1624-1633.
- [5] Du Z L, Ren T S, Hu C S, Tillage and residue removal effects on soil carbon and nitrogen storage in the north China plain [J]. Soil Science Society of America Journal,2010,74(1):196-202.
- 「6] 张锡洲,李廷轩,余海英,等.水旱轮作条件下长期自然 免耕对土壤理化性质的影响[J].水土保持学报,2006,20 (6):145-147.
- [7] 翟振,李玉义,逄焕成,等.黄淮海北部农田犁底层现状 及其特征[J].中国农业科学,2016,49(12):2322-2332.
- Sharma R, Basnet K B, Marahattha S, et al. Perform-[8] ance of maize hybrids under different tillage methods and nitrogen levels [J]. African Journal of Agricultural Research, 2018, 13(2): 36-40.
- [9] Ohwaki A. Ground arthropod communities in paddy fields during the dry period: Comparison between different farming methods [J]. Journal of Asia-pacific Entomology, 2015, 18(3): 413-419.
- [10] 郑洪兵,刘武仁,罗洋,等.耕作方式对农田土壤水分变 化特征及水分利用效率的影响[J].水土保持学报, 2018,32(3):264-270.
- [11] 张丽光,李丹,刘磊,等.不同施肥种植模式对玉米光合 特性、养分效率及产量性状的影响[J].水土保持学报, 2013,27(2):115-119,125.
- [12] Peng Z P, Ma S Y, Wang Y Q, et al. Plant and soil fertility characteristics of different winter wheat fields in the Huang-huai-hai plain of China [J]. Acta Agricul-

(上接第 170 页)

- [22] 曹建华,宋林华,姜光辉,等.路南石林地区土壤呼吸及 碳稳定同位素日动态特征[J].中国岩溶,2005,24(1): 25-29,42.
- [23] Klumpp K, Schäufele R, Lötscher M, et al. C-isotope composition of CO2 respired by shoots and roots: Fractionation during dark respiration[J]. Plant Cell & Environment, 2010, 28(2): 241-250.
- [24] 董云社,齐玉春,刘纪远,等.不同降水强度4种草地群 落土壤呼吸通量变化特征[J].科学通报,2005,50(5): 473-480.
- [25] 王玉涛,李吉跃,程炜,等.北京城市绿化树种叶片碳同 位素组成的季节变化及与土壤温湿度和气象因子的关 系「J7.生态学报,2008,28(7):3143-3151.
- [26] 钟海秀,伍一宁,许楠,等.大气 CO。浓度升高对三江平 原湿地小叶章叶片稳定碳同位素组成的影响[J].国土

- turae Scandinavica, Section B-soil and Plant Science, 2016,66(7):1-10.
- 「13〕 濮超,刘鹏,阚正荣,等,耕作方式及秸秆还田对华北平 原土壤全氮及其组分的影响「」了.农业工程学报,2018, 34(9):160-166.
- [14] 冯倩倩,韩惠芳,张亚运,等.耕作方式对麦-玉轮作农 田固碳、保水性能及产量的影响[J].植物营养与肥料 学报,2018,24(4):869-879.
- [15] 鲍士旦.土壤农化分析[M].3版,北京:中国农业出版 社,2000.
- [16] 杨旸,张树兰,杨学云,等.长期定位施肥对旱作塿土小 麦产量、养分效率及养分平衡的影响[J].土壤通报, 2017,48(5):1162-1168.
- [17] 张哲元,张玉龙,黄毅,等.覆膜及深松配合措施对玉米 生长发育及产量的影响[J].土壤通报,2009,40(5): 1156-1159.
- [18] 赵秉强,李凤超,薛坚,等.不同耕法对冬小麦根系生长 发育的影响[J].作物学报,1997,23(5):587-596.
- [19] 王新兵,侯海鹏,周宝元,等.条带深松对不同密度玉米 群体根系空间分布的调节效应[J].作物学报,2014,40 (12):2136-2148.
- [20] 马阳,吴敏,郭献彬,等.新型耕作施肥方式下夏玉米田 土壤水分分布和磷素利用研究[J].水土保持学报, 2019,33(2):98-102.
- [21] 宋日,吴春胜,牟今明,等.深松土对玉米根系生长发育 的影响[J].吉林农业大学学报,2000,22(4):73-75.
- [22] 尹彩侠,李前,孔丽丽,等. 控释氮肥减施对春玉米产 量、氮素吸收及转运的影响[J].中国农业科学,2018,51 (20):3941-3950.
- [23] 邵国庆,李增嘉,宁堂原,等.灌溉与尿素类型对玉米花 后穗位叶衰老、产量和效益的影响[J].作物学报,2009, 35(1):118-123.

与自然资源研究,2018(1):88-90.

- [27] Senbayram M, Dixon L, Goulding K W T, et al. Long-term influence of manure and mineral nitrogen applications on plant and soil ¹⁵N and ¹³C values from the Broadbalk Wheat Experiment [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM, 2008, 22(11): 1735-1740.
- 艾丽,吴建国.祁连山3种典型生态系统土壤微生物活 [28] 性和生物量碳氮含量[J].植物生态学报,2008,32(2): 465-476.
- 汤红官,陈拓,文陇英,等.两种圆柏属常绿植物叶片稳 [29] 定碳同位素的季节变化及其指示意义[J].冰川冻土, 2010,32(5):1030-1034.
- 「30〕 李瀚之,余新晓,贾国栋,等.北京山区侧柏人工林内 CO₂浓度及其 δ¹³ C 值变化特征和影响因子[J].应用生 态学报,2017,28(7):2164-2170.