

DOI:10.19826/j.cnki.1009-3850.2022.04019

李元,孙媛媛,邓国仕,袁峰,刘俊,2022. 湖泊沉积物 C_4 植物含量重建方法的讨论——以新生代柴达木盆地大红沟剖面为例. 沉积与特提斯地质, 42(4):572-584. DOI:10.19826/j.cnki.1009-3850.2022.04019

LI Y, SUN Y Y, DENG G S, YUAN F, LIU J, 2022. Reconstruction of C_4 plant content in Cenozoic lacustrine sediments: An example from the Dahonggou section, Qaidam Basin. Sedimentary Geology and Tethyan Geology, 42(4):572-584. DOI:10.19826/j.cnki.1009-3850.2022.04019

湖泊沉积物 C_4 植物含量重建方法的讨论 ——以新生代柴达木盆地大红沟剖面为例

李元^{1,2}, 孙媛媛^{2,3}, 邓国仕², 袁峰¹, 刘俊¹

(1. 合肥工业大学资源与环境工程学院, 安徽 合肥 230009; 2. 中国地质调查局成都地质调查中心, 四川 成都 610081; 3. 自然资源部沉积盆地与油气资源重点实验室, 四川 成都 610081)

摘要:当前气候变暖是一个全球面临的重大问题,它对人类赖以生存的植被生态系统造成的影响已经在全球各地逐步显现出来。为了深入了解植物生态系统对环境和气候变化的响应机制,我们需要更好地借鉴地质历史时期气候环境和植物协同演化的重要事件。 C_4 植物作为陆地生产力较强的植物,在植物生态演化中占举足轻重的地位。目前研究表明 C_4 植物可能最晚起源于始新世—渐新世之交,但从它早期起源到随后在生态系统中的大规模扩张时间间隔长达20多个百万年。是什么因素导致了 C_4 植物的起源和扩张是一个悬而未决的重要问题,需要开展大量的调查研究来评估和重建 C_4 植物在过去生态系统中的相对生物量变化。重建 C_4 植物的含量目前主要的方法是建立在 C_3/C_4 植物碳同位素和植物内部结构形态差异基础之上。最常运用的研究材料包括(古)土壤有机质、成壤碳酸盐、陆地食草动物体组织、沉积物生物标志物、孢粉、植硅体等。这些方法在重建现代以及地质历史时期 C_4 植物相对生物量变化的研究中发挥了重要作用,但同时也存在很多无法避免的问题。本文介绍了 C_4 植物起源和扩张机制的主流观点以及不同研究材料的碳同位素所推算 C_4 植物生物量的基本原理,并以柴达木盆地大红沟剖面为例,针对新生代湖泊沉积物中陆生高等植物的长链正构烷烃特征和单体烃碳同位素的研究结果,详细讨论 C_4 植物含量重建的方法与缺点,为探讨 C_4 植物起源、演化及控制因素提供参考。我们通过分析前人研究的大红沟剖面长链正构烷烃及单体烃 $\delta^{13}C_{alk}$ 值特征,推测在30~24 Ma、20~17 Ma和13~7 Ma期间 $\delta^{13}C_{alk}$ 值显示相对正偏的原因,可能是干旱和 C_4 植物在当地生态系统中出现的双重因素叠加造成的。但这一推断还需要借助于新的研究方法,即单颗粒孢粉碳同位素的方法来提供 C_4 植物的确凿证据。

关键词: C_4 植物;碳同位素;(古)土壤;成壤碳酸盐;牙釉质;植硅体;长链正构烷烃;单颗粒孢粉碳同位素
中图分类号: P532 **文献标识码:** A

Reconstruction of C_4 plant content in Cenozoic lacustrine sediments: An example from the Dahonggou section, Qaidam Basin

LI Yuan^{1,2}, SUN Yuanyuan^{2,3}, DENG Guoshi², YUAN Feng¹, LIU Jun¹

(1. School of Resources and Environmental Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China; 2. Chengdu Center, China Geological Survey, Chengdu 610081, China; 3. Key Laboratory of Sedimentary Basin and

收稿日期: 2021-10-12; 改回日期: 2022-04-07 责任编辑: 郭秀梅 科学编辑: 万友利

作者简介: 李元(1995—),男,硕士研究生,资源与环境专业。E-mail:1173292765@qq.com

通讯作者: 孙媛媛(1980—),女,副研究员,从事生物地球化学研究。E-mail:cgssunyy@163.com

资助项目: 第二次青藏高原综合科学考察(2019QZKK0704, 2019QZKK0708);国家自然科学基金青年基金(41807333);国家自然科学基金面上项目(42172026, 41772003);中央高校基本科研业务费专项资金(PA2020GDKC0022);中国地质调查局地质调查项目(DD20190080, DD20211381)

Oil and Gas Resources, Ministry of Natural Resources, Chengdu 610081, China)

Abstract: Global climate change has posed serious effect on the vegetation of our ecosystem. In order to understand the response of plant ecosystems to environmental and climate changes, we need to learn well from the earth's past. C₄ plants play a pivotal role in the modern ecosystems. Previous studies have shown that C₄ plants originated prior to the Eocene-Oligocene transition, but the expansion of C₄ grasses had not happened until the Middle to Late Miocene. What caused the origin and expansion of C₄ plants is important in understanding the ecosystem evolution. The current method for estimating C₄ contribution is mainly based on the differences in C₃/C₄ plant carbon isotopes and their structures. The commonly used samples include (paleo-) soil organic matters, pedogenic carbonates, terrestrial herbivore tissues, biomarkers, pollen and phytolith. The application of isotopic difference in these different samples has played an important role in the reconstruction of the relative biomass of C₄ plants in modern ecosystems and geological records. This article summarizes the mainstream views related to the driving forces that triggered the origin and expansion of C₄ plants, and briefly introduces the basic principles of various materials archiving the biomass of C₄ plants evolution history. Finally, taking the Dahonggou section in the Cenozoic Qaidam Basin as an example, the methods and shortcomings of the reconstruction of C₄ plant content in lacustrine sediments are discussed in detail based on the long-chain *n*-alkanes and carbon isotope analysis of Cenozoic terrestrial higher plants. The $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ values of long-chain alkanes vary from $\sim -30\text{‰}$ to $\sim -26\text{‰}$, and the $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ values are positive. We believe that the double superposition effect of drought and C₄ plant expansion leads to the positive excursions of $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ values. The expansion of C₄ vegetation in the Cenozoic Qaidam Basin may be controlled by dry and wet conditions and climate change. But this hypothesis needs to be tested by carbon isotope analysis from single pollen grains.

Key words: C₄ plants; carbon isotopes; (fossil) soil; pedogenic carbonate; tooth enamel; phytolith; N-alkanes; carbon isotopes of the single pollen grain

0 引言

陆生高等植物主要利用 C₃ 和 C₄ 两种光合作用途径进行固碳,因各自生成的第一个可观察到的产物分别为三碳和四碳有机化合物而命名。相比于 C₃ 光合作用, C₄ 光合作用在植物的演化中是一种相对较新的机制,存在于某些被子植物属种中,包括单子叶和双子叶植物,但主要存在于单子叶植物 (Ehleringer et al., 1997),而非古老的裸子植物中 (Sage and Monson, 1998)。它能在较低的 CO₂ 浓度条件下,将 CO₂ “泵吸”到维管束鞘细胞内,然后进行光合作用,因此光合作用效率相对较高 (Lopez et al., 2017; Osborne et al., 2006; Sage et al., 2012; Tipple et al., 2007;)。然而 C₄ 植物的这种“泵吸”的过程需要消耗能量,因此 C₄ 植物可能更适合于温暖以及光照相对较强的环境中,譬如说中低纬度温暖地区的草原环境 (Osborne et al., 2006; Tipple et al., 2007)。据统计,目前大约有 8100 种植物物种 (5044 种草、1322 种莎草和 1777 种双子叶植物) 通过 C₄ 光合作用途径进行固碳 (Sage, 2017)。日常生

活中常见的农作物,如玉米、甘蔗、高粱等都属于 C₄ 植物。C₄ 植物仅占陆地植被属种大约 3% (Sage et al., 1999a),而它的生产率却占据了陆地植物生产率的 25% 左右 (Still et al., 2003),这也显示了 C₄ 植物相对于 C₃ 植物光合作用方面的优势。因此,生物学家也一直试图把 C₄ 基因引入到光合作用机制为 C₃ 的农作物中去,以提高其产量,解决人类将要面对的粮食危机 (Covshoff et al., 2012; Leegood, 2013; Sage et al., 2011b; von Caemmerer et al., 2012; Weissmann et al., 2012)。

除了 C₄ 植物的实际应用价值之外,它的出现和演化也影响了地质历史时期的大气组成、气候以及生态系统的变化 (Cerling et al., 1997; Osborne, 2008, 2011; Pagani et al., 2005; Royer et al., 2001a, b),甚至影响了哺乳动物和人类的演化 (Cerling et al., 2013a, b; Sage and Stata, 2015; Royer et al., 2016),因此,引起了地质学家的广泛关注,也激起了动物学家和古人类学家的对它的研究兴趣,成为近几年来国际上很多不同领域的研究热点 (Edwards et al., 2010a; Osborne et al., 2006; Rao

et al., 2017; Sage et al., 2012; Tipple et al., 2007)。自从工业革命以来,由于人类活动导致了全球环境和气候的剧烈变化。例如大气 CO_2 含量升高,气候变暖,人类对地表地貌的直接改变,外来物种入侵对原有生态系统的破坏等(Edwards et al., 2010a; Osborne et al., 2006; Rao et al., 2017; Sage et al., 2012; Tipple et al., 2007),都可能会对以 C_4 光合作用为主体的草原在生态系统中的扩张和消退产生巨大影响(Ma et al., 2021; Sage et al., 2003)。同时, C_4 光合作用在植物中独立演化很多次,这使得 C_4 植物成为研究环境变化和性状改变的模式植物(Christin et al., 2013a, b)。因此,通过研究 C_4 植物光合作用的起源与后期演化机制,以及全面了解那些在它演化过程中起到至关重要作用的各种环境和气候因素,才能了解并有效应对未来环境和气候变化对植被造成的影响(Edwards et al., 2010a; Ma et al., 2021; Osborne et al., 2006; Rao et al., 2017; Sage et al., 2012; Tipple et al., 2007)。

1 C_4 植物起源与扩张机制

在 C_4 植物的研究中,“为什么从其早期的起源到随后在生态系统中的大规模扩张之间的时间间隔长达 20 多个百万年”是一个悬而未决的重要问题(Edwards et al., 2010a; Osborne, 2011; Sage et al., 2012; Strömberg, 2011)。目前地质学界广为接受的观点,认为 C_4 植物起源于始新世—渐新世之交(Orbigny, 2011; Kadereit et al., 2012; Sage et al., 2012; Strömberg, 2011; Urban et al., 2010),还有学者研究认为 C_4 光合作用也许在始新世(Prasad et al., 2011; Zucol et al., 2010),甚至在更早的白垩纪(Ehleringer et al., 1991; Kuypers et al., 1999)就已经在植物中演化出来了。根据现代植物研究,Cerling et al. (1997)以及 Ehleringer et al. (1997)提出了植物光合作用量子产率模型,认为在 CO_2 浓度较低、生长季节温度高的情况下, C_4 光合作途径极大地优于 C_3 光合作途径。因为在温暖的气候中,低 CO_2 浓度导致了高速率的光呼吸,从而降低了 C_3 植物群的光合效率(Ehleringer et al., 1991)。而低 CO_2 浓度机制让 C_4 植物在一定的光合速率下保持较低的气孔导度,同时减少了高温下的蒸腾失水(Edwards et al., 2010b),从而极大地促进了光合作用效率和水利用率。因此,他们认为 CO_2 浓度降低是 C_4 植物起源的原因。后来有研究将 C_4 植物

扩张时间与重大地质事件发生的时间进行比较。结果表明, C_4 植物的扩张确实与大气低 CO_2 浓度有很强的相关性(Bouchenak-Khelladi et al., 2009; Christin et al., 2008), CO_2 浓度的降低可能是 C_4 光合作用进化的主要触发因素(Lu et al., 2020; Sage et al., 2012),尤其是全球 CO_2 浓度快速下降之后的渐新世早期阶段。

如果这一理论正确,当早渐新世时期 CO_2 浓度出现大幅度降低(Beerling et al., 2011; Pagani et al., 2011),陆表温度也比现在高出不少(De Boer et al., 2010), C_4 植物较 C_3 植物会显现出优势,应该出现规模性扩张。然而这个理论推测的扩张却与 C_4 植物在地质记录中的大规模扩张并不相符(Basu et al., 2015; Cerling et al., 1997; Edwards et al., 2010a; Osborne, 2011; Sage et al., 2012; Strömberg, 2011; Sun et al., 2013)。大量的化石和同位素研究表明, C_4 主导的生态系统在大约 10 Ma 开始广泛扩张,到 5~7 Ma 时期, C_3 和 C_4 混合型草原已经在非洲、亚洲和美洲地区广泛存在,到 2~3 Ma 时期,在低纬度地区大规模扩张,从而达到顶峰(Sage et al., 2012)。具体是什么原因导致了 C_4 植物起源以及从起源到扩张存在的巨大时间差呢?很多学者推测可能是 C_4 植物的起源所需要的环境因素和响应机制与其在生态系统中各时间段及演化阶段的扩张所需要的环境因素和响应机制不相同(Basu et al., 2015; Edwards et al., 2010a, b; Osborne, 2011; Rao et al., 2017; Sage et al., 2012; Strömberg, 2011; Sun et al., 2013)。

关于 C_4 植物的起源研究表明(Ehleringer et al., 1991; Pagani et al., 2005; Sage et al., 2012),在渐新世大气 CO_2 浓度降低之后的 3000 万年以来,低 CO_2 浓度并不是一个触发器,而是 C_4 植物进化的先决条件,因此,推测是其他因素发挥了关键作用。现代植物研究表明, C_4 植物的生长条件不仅与 CO_2 浓度和生长季节温度有关,并且还与光照强度、气候干湿程度、盐度和生态干扰等都有密切关系(Cerling et al., 1997; Collatz et al., 1998; Ehleringer et al., 1997; Edwards et al., 2010a, b; Keeley et al., 2005; Long, 1999; Rao et al., 2017; Sage et al., 1999b, 2012; Thomas et al., 2014)。因此,在多种因素共同制约下, C_4 植物扩张的模式显得更为复杂。其中,晚中新世时期 C_4 植物草原的扩张被认为是高温、干旱、季节性和火灾频率增加,以及 CO_2 浓

度降低(从 400 $\mu\text{g/g}$ 以上降低至 300 $\mu\text{g/g}$)等因素造成的,但这些因素的重要程度在各研究中显示并不相同(Sage et al., 2012)。另外,这些因素对于 C₄植物在上新世时期扩张中所发挥的作用存在更大的争议。

有些研究通过观测现有物种的野外栖息地和小气候环境条件来探讨促进 C₄植物进化的环境因素以及根本作用机制(Sage et al., 2012)。这些物种属于从 C₃光合作用过渡到 C₄光合作用系统发育节点的物种,它们的生存环境特征一定程度上反映了促进 C₄光合作用进化的环境因素(Sage et al., 2012)。利用这种方法,研究人员确定了 32 个谱系中的 C₄光合作用最有可能出现在暖温带至热带受季风气候影响的地区(Sage et al., 2011a)。这些地区的条件,如夏季炎热、干旱(但会定期接受季风降雨以保证夏季的生长)、太阳照射强、贫瘠的土地反射更强的红外线以及高盐度等会导致 C₃植物气孔导度降低引起散热差,因此这里生长的 C₃植物叶片白天温度升高、细胞间 CO₂浓度降低从而导致了高速率的光呼吸,最终降低了它们的生产力和适应性(Sage et al., 2012)。此外,这些地区生长环境极端恶劣,对它们的生长来说更是雪上加霜。因此,多种因素(包括低 CO₂浓度、高温、强光、低湿度、干旱和高盐度等因素)共同作用导致的高光呼吸作用是导致 C₃光合作用向 C₄光合作用进化的主要驱动力,极大促进了 C₄植物的扩张(Sage et al., 2012)。

通过来自古土壤的植物研究和火灾事件频率的对比,Keeley et al. (2005)认为晚中新世时期导致 C₄植物扩张的因素是火灾作用,当时气候的季节性变化提供了 C₄草原取代林地的火灾条件。即一年中的部分时间里生产高生物量,随后的旱季大大降低了燃料的水分,再加上季风气候产生的大量的闪电增加了引燃植物的几率,随之林地因燃烧而变得更加开阔。相比 C₃草,高光条件更有利于 C₄草的生长。并且在反馈过程中,C₄草的生产力提高更增加了高度可燃的燃料,从而进一步增加火灾活动的频率,C₄草原也因此维持下去。在之后的研究中,Hoetzel et al. (2013)利用来自纳米比亚海岸海洋沉积物中的孢粉、微木炭和植物叶蜡的稳定碳同位素组成分析发现非洲西南部的 C₄植被扩张也伴随着干旱和火灾活动的发生,从而再次强调了火灾活动造成的生态干扰作用,指出它可能不仅是导致中新世 C₄植被扩张的原因,而且是上新世 C₄植被系统建

立的重要反馈机制。火灾活动的关键作用也得到了最近在青藏高原东北缘开展的晚中新世相关研究的支持(Hui et al., 2021)。同样系统发育学有关 C₄物种栖息地植物冠层打开与火灾联系的研究也支持这种观点(Sage et al., 2012)。然而,近几年来火灾对 C₄植物扩张的促进作用受到了挑战。澳大利亚和东非高海拔地区全新世 C₄植物分布规律的相关研究(Nelson et al., 2016)以及上新世 C₄植物全球扩张的相关研究(Lu et al., 2020),显示火灾在 C₄植物的扩张中并没有扮演特别重要的作用(Hui et al., 2021)。

Lu et al. (2020)对全球 C₄植物研究显示,导致晚中新世时期 C₄植物全球扩张可能因素之一的干旱,在上新世 C₄植物扩张环境中并没有扮演明显的作用。但此研究却发现 CO₂浓度的降低与这次事件吻合,进一步支持了 Cerling 等人提出的植物光合作用量子产率模型(Cerling et al., 1997; Ehleringer et al., 1997)。全新世 C₄植物在澳大利亚和东非高海拔地区的分布规律再次肯定了 CO₂浓度降低对促进 C₄植物扩张的作用(Nelson et al., 2016)。但在北美平原,末次冰期以来 C₄植物扩张却伴随着 CO₂浓度的升高和生长季节的降雨,体现出生长季节的降雨比大气 CO₂具有更重要的影响力(Cotton et al., 2016)。

总而言之,基于目前的认识来说,C₄植物的起源和扩张机制可能是不完全相同的,有些关键因素在起源中发挥了重要作用,而在后来的扩张中可能成为了前提条件(Ehleringer et al., 1991; Osborne, 2008; Pagani et al., 2005)。另外 C₄植物扩张的原因可能因地域不同而不同,也可能是多因素叠加造成的,这也许与 C₄光合作用在植物中的多次独立演化有某些关联。随着植物(包括 C₃植物和 C₄植物)的演化,各种外在因素在不同演化阶段发挥了不同的作用。因此,还需要通过多方法的研究进行现代以及地史时期全球范围的植物研究,尤其是更加深入地针对各独立演化类群的研究(目前未达到这种研究精度),集合大数据再重新分析其中的规律性也许能更清楚地勾画出 C₄植物的起源与扩张机制,以及各因素在其中发挥的具体作用。

2 现代及地质记录中 C₄植物含量的研究方法

因为 C₃和 C₄植物固碳途径不同,所以碳同位素

分馏过程也不同,导致两种植物有机碳稳定同位素($\delta^{13}\text{C}$)存在显著差异(O'Leary, 1981, 1988),即 C_3 植物的碳同位素值分布在 $-35\text{‰} \sim -20\text{‰}$ 之间,平均为 $-27\text{‰} \pm 5\text{‰}$,而 C_4 植物的碳同位素值则分布在 $-14\text{‰} \sim -10\text{‰}$ 之间,平均为 $-12\text{‰} \pm 2\text{‰}$ (Kohn, 2010; O'Leary, 1981, 1988; Rao et al., 2017)。 C_3 植物和 C_4 植物的这种同位素差异不仅可以用于现代植物光合作用类型的判别(Basu et al., 2015; Nelson et al., 2006; Rao et al., 2017; 旺罗等, 2004),还可以用来重建两者在陆地植物生物量中所占的相对贡献量(Huang et al., 2006; Jia et al., 2012; Nelson et al., 2006)。随着大量研究的开展,同位素方法在 C_4 植物研究中的应用也日渐成熟,目前主要使用的研究材料包括(古)土壤有机质(Basu et al., 2015; Boutton et al., 1998; Rao et al., 2017)、成壤碳酸盐(Cerling et al., 1989, 1993a)、陆地食草哺乳动物体组织(Cerling et al., 1999; Koch, 1998)、沉积物生物标志物(Huang et al., 2001; Jia et al., 2012; Schefuß et al., 2003a)、孢粉(Nelson et al., 2006, 2007, 2008; Urban et al., 2010)、植硅体(Strömberg, 2005)等。

土壤有机质的来源主要是陆生高等植物,因此通过获得土壤有机质的碳同位素信息并运用 C_3/C_4 植物 $\delta^{13}\text{C}$ 值差异的特性,可以计算出各自在生态系统中贡献的相对生物量。针对现代沉积物重建 C_4 植物生物量的贡献主要通过运用现代 C_3 、 C_4 植物的有机碳同位素建立的 C_3/C_4 植物含量二元混合模型来实现,经验公式如下:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{sample}} = (\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_3} \times \% \text{C}_3 + \delta^{13}\text{C}_{\text{C}_4} \times \% \text{C}_4) / 100 \quad (1)$$

$$\% \text{C}_3 + \% \text{C}_4 = 100\% \quad (2)$$

其中, $\delta^{13}\text{C}_{\text{sample}}$ 为样品的有机碳同位素; $\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_3}$ 和 $\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_4}$ 分别为当前大气 CO_2 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 组成条件下全球范围内统计的 C_3 、 C_4 植物的有机碳同位素平均值; $\% \text{C}_3$ 、 $\% \text{C}_4$ 分别为 C_3 、 C_4 植物的百分含量。

这个 C_3 、 C_4 植物组成二元混合模型不仅适用于研究对象为土壤有机质的植被类型重建,还适用于针对分子级别有机质的碳同位素以及成土碳酸盐等的相关研究。它在各种研究材料上的广泛运用都是基于如上所述 C_3 、 C_4 植物碳同位素分馏导致的同位素差异之上,但公式中两个端元值($\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_3}/\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_4}$)是需要依据各种现代/近代研究材料的大量数据统计所设定,如果将二元模型应用于地质历史

时期的植物类型研究,则必须考虑对应的地史时期的大气 CO_2 同位素,并尽可能将其带来的影响排除在外(Tipple et al., 2010a, b)。同时,因为环境因素也给碳同位素带来相应影响(Basu et al., 2015; Biasatti et al., 2012; Bowman et al., 2017),在设定端元值的时候还需要将这些因素考虑在内。

成壤碳酸盐 $\delta^{13}\text{C}$ 值基本代表了自生碳酸盐的同位素组成,主要由土壤中 CO_2 的同位素组成所决定。而土壤中 CO_2 的同位素组成又受地表 C_3/C_4 植物的生物量控制,因此成壤碳酸盐 $\delta^{13}\text{C}$ 的变化可以用来反映 C_3/C_4 植物生物量的变化(Cerling, 1984; Cerling et al., 1993a)。一般情况下,对于在中等—高等呼吸速率的土壤中(深度约为 30cm)形成的碳酸盐,由于 CaCO_3 和 CO_2 之间的平衡以及气体扩散导致的同位素分馏,其碳同位素组成相对于共存有机质更富集 ^{13}C ,因此土壤碳酸盐 $\delta^{13}\text{C}$ 值比有机质 $\delta^{13}\text{C}$ 值一般偏重 14‰ (25°C) $\sim 17\text{‰}$ (0°C) (Cerling et al., 1989, 1993a)。在利用二元混合模型重建 C_3 、 C_4 植物生物量时,可能需要选用当前所能获得的全球统计平均值作为端元同位素值。

利用食草动物体组织(如毛发、骨胶原、牙釉质等)的碳同位素来研究动物食谱中的植物类型是建立在现/近代动物体组织的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与当地的 C_3 、 C_4 植物组成具有相关性的结论基础上的(Koch, 1998)。根据现代食草动物体组织同位素的统计结果表明(Cerling et al., 1999),不同动物体组织部分在形成的时候 ^{13}C 的富集程度是不同的,一般植食动物犄角比食物的 $\delta^{13}\text{C}$ 偏正 3‰ ,牙釉质偏正 $11\text{‰} \sim 14\text{‰}$ 。牙釉质因为其结构更致密和保存原始同位素特征的优越性而被大多数针对地质年代更加久远的材料的研究所采用。在这些研究中大多数采用小于 -8‰ 的值作为纯食 C_3 植物的牙釉质 $\delta^{13}\text{C}$ 值,而采用大于 -3‰ 值则作为纯食 C_4 植物的牙釉质 $\delta^{13}\text{C}$ 值(Cerling et al., 1999; Koch, 1998; Wang et al., 2005)。在某些特殊环境下(如干旱/半干旱、封闭森林等),这些同位素值可能都要根据实际情况(如植物缺水造成的正偏、土壤呼吸和低辐照度造成的负偏等)做相应调整(Basu et al., 2015; Biasatti et al., 2012; Bowman et al., 2017)。

在实体化石缺乏的情况下,植物有机质分子级别的同位素为 C_4 植物研究提供了更多的选择。长链正构烷烃中的碳同位素不容易被成岩作用改造,所以它能很好的记录保存在有机质中的信息

(Huang et al., 2001; Schefuß et al., 2003a)。利用 C_3 、 C_4 植物的长链正构烷烃 (C_{27-31}) 的单体烃碳同位素同样可以建立二元混合模型计算两者各自的相对含量 (Castañeda et al., 2009; Schefuß et al., 2003a; Tipple et al., 2010b)。相对于混合有机质, 长链正构烷烃的来源相对比较明确, 即 $n-C_{27-35}$ 主要来源于高等陆生植物, 因此计算的 C_4 植物的生物量也更可靠, 尤其是利用 $n-C_{31}$ 或更长碳链的 $\delta^{13}C$ 来重建 C_4 植物的生物量。有时因为相同光合作用类型内不同属种间存在的单体烃碳同位素差异, C_4 植物的重建可能需要对应的孢粉含量来辅助建立更精确的三元模型来完成 (Huang et al., 2006)。一般单体同位素要比植物组织整体更偏负 $6‰ \sim 8‰$, 因此前人在利用二元模型时采用 $-34‰$ 作为 C_3 植物单体烃碳同位素端元值, $-19‰$ 作为 C_4 植物单体烃碳同位素端元值 (Huang et al., 2001; Rieley et al., 1993)。需要注意的是, 来自湖泊沉积物中单体烃碳同位素的解释不仅需要考虑环境因素, 还需要考虑大型水生植物相对含量变化对碳同位素产生的影响 (Diefendorf et al., 2010; Kohn, 2010; Mead et al., 2005), 可以利用孢粉含量、有机指标或者利用碳链更长的单体烃碳的同位素来减少重建植物组成的偏差。

利用单颗粒孢粉的同位素值分析 (SPIRAL) 比较直接地进行 C_3 和 C_4 植物判别是目前比较前沿的方法 (Nelson et al., 2006, 2007, 2008, 2016; Urban et al., 2010)。基本原理是通过对样品进行物理和化学方法处理, 提取保存下来的孢粉化石, 再将样品中鉴定为草的孢粉利用绕线微燃烧装置与同位素质谱仪 (SWiM-IRMS) 的联用对单颗粒孢粉进行同位素测试 (Nelson et al., 2006, 2007, 2008, 2016; Urban et al., 2010), 最后利用 C_3 和 C_4 植物的孢粉 $\delta^{13}C$ 阈值进行单颗粒判断 (是否为 C_4 植物), 并计算 C_4 植物孢粉统计意义上的含量 (Nelson et al., 2006, 2007, 2008; Urban et al., 2010)。Urban et al. (2010) 的研究将 $-19‰$ 作为现代植物判断单颗粒孢粉属于 C_3 还是 C_4 植物的基本阈值, 但在不同地质时期的应用中同样需要根据当时大气 CO_2 的 $\delta^{13}C$ 值进行相应矫正。

对于 C_4 植物在生态系统中分布情况的研究除了通过同位素方法之外还可以通过形态学研究来实现, 譬如植硅体 (Strömberg, 2005) 的研究。植硅体因其稳定的理化性质, 具有耐高温、腐蚀等优良

的特征, 能长期稳定地保存在沉积物中。植硅体的形态组合记录了大量的信息, 能充分反映环境的演变过程, 是研究古环境、古地理演化的可靠材料 (Strömberg, 2005)。植硅体的形成不仅受植物自身生理机制的影响, 也会受到如温度、湿度、土壤等环境因子的影响。沉积物中的植硅体经过清洗、氧化、离心清洗、制片、鉴定分析等步骤后, 可对其形态参数进行统计分析。了解不同形态植硅体的分布与组合情况, 可以确定植被整体组成结构, 重建 C_4 植物的含量与分布, 恢复古环境、古气候的变化。

以上这些同位素和形态学方法在关于新生代以来 C_4 植物起源与扩张的各种研究中发挥了举足轻重的作用, 为探讨其内在的影响因素以及驱动机制提供了大量的数据。例如, 植物和土壤有机质碳同位素的方法在全新世以来的全球及特定区域的应用中建立了 C_3/C_4 植物 $\delta^{13}C$ 值变化和 C_3/C_4 植物生物量与气候因素 (年均温和年均降水量) 的关系 (Jiang et al., 2019; Liu et al., 2005; Ma et al., 2021; Rao et al., 2017), 在中国北方平原的应用中探讨了早上新世 C_4 植物的扩张机制 (Lu et al., 2020); 成壤碳酸盐 $\delta^{13}C$ 以及食草动物牙釉质 $\delta^{13}C$ 在巴基斯坦沉积物的应用中探讨了晚中新世 C_4 植物扩张的控制因素 (Cerling et al., 1993b); 长链正构烷烃 $\delta^{13}C$ 在美洲湖泊、中国黄土高原的应用重建了末次冰期—间冰期以来 C_4 植物的扩张历史, 并探讨了各植物类型生物量与环境的关系 (Huang et al., 2001; Liu et al., 2005); 单颗粒孢粉的有机碳同位素方法在某些孢粉属种或湖泊表层沉积物中的应用, 评估了该方法的有效性 (Nelson et al., 2006, 2007, 2008), 并进一步应用在 C_4 植物起源早期 (Nelson et al., 2014) 的时空分布和全新世扩张的驱动因素 (气候、 pCO_2 和火灾) 讨论中 (Nelson et al., 2016); 植硅体的形态学分类在北美内陆地区沉积物的应用中展示了始新世到中新世植硅体组合特征, 为分析 C_4 植被生态变化和追踪进化模式等提供了重要信息 (Strömberg, 2005)。

3 C_4 植物研究方法的应用及存在的问题——以柴达木盆地大红沟剖面的研究为例

虽然前文讨论的同位素方法在 C_4 植物起源与扩张研究中提供了大量的基础数据, 但数据的有效

性是值得商榷的。因为这些方法大多基于同位素的二元混合模型,还存在一些不可规避的问题。主要原因在于环境因素对同位素的影响以及方法本身存在的一些偏差(不确定性)等。下面我们以目前在柴达木盆地大红沟剖面获得的新生代长链正构烷烃单体碳同位素变化(Sun et al., 2020)的初步结果来尝试分析 C_4 植物含量变化(图1)。

大红沟剖面的碳优指数(CPI)在30 Ma之前相对较低,而 P_{aq} 相对较高。结合对应地层的岩性及沉积特征,Liu et al. (2014)认为有机质正构烷烃CPI的波动主要反映了沉积环境的变化而非热演化程度,即较低的CPI值在大红沟剖面代表了较低的水位。因此,不能以CPI值的大小来判断高等植物单体烃碳同位素受后期成岩作用的影响(杨柳, 2020)。通过 $\delta^{13}C_{alk}$ 值与CPI(<2)和 P_{aq} (>0.3)值相关性研究显示它们之间的关系很弱,表明单体烃碳同位素受成岩作用影响很小,尤其是那些对应高CPI和低 P_{aq} 值的 $\delta^{13}C_{alk}$ (Sun et al., 2020)。为了进一步排除潜在的成岩作用影响,以下 C_4 植物含量变化的分析仅限于对应高CPI和低 P_{aq} 值的 $\delta^{13}C_{alk}$ 数据。

虽然长链正构烷烃($n-C_{27}$, $n-C_{29}$ 和 $n-C_{31}$)一般认为来源于陆生高等植物(Huang et al., 2001; Schefuß et al., 2003b),但是有研究显示在湖泊沉积物中,大型水生植物也可能是来源之一(Aichner et al., 2010; Liu et al., 2015),因此将其干扰排除是有必要的。通常可以利用此类植物孢粉的相对含量辅助判断受影响程度,还可以利用有机质中不同链长的正构烷烃的比例经验值将这些受影响的样品排除掉(即排除 $P_{aq} > 0.3$ 的对应数据;Liu et al., 2014; Sun et al., 2020)。在大红沟剖面的孢粉中确实存在水生植物的贡献,但含量并不高(路晶芳等, 2010),通过利用有机指标($P_{aq} > 0.3$)并通过利用陆生植物孢粉的含量来辅助建立二元模型来尽量将它的影响降到最低(Liu et al., 2014; Sun et al., 2020)。

通过有机质的指标的辅助排除挺水植物贡献后,长链烷烃 $n-C_{27}$ 、 $n-C_{29}$ 和 $n-C_{31}$ 的 $\delta^{13}C_{alk}$ 值基本相似,平均 $\delta^{13}C_{alk}$ 值变化范围分布在 $-30‰ \sim -26‰$ 之间(图2C)。相对正长的长链烷烃 $\delta^{13}C_{alk}$ 值出现在30~24 Ma, 20~17 Ma 和 13~7 Ma 区间($\delta^{13}C_{alk} = -27.43 \pm 0.52‰$ 、 $-28.28 \pm 0.52‰$ 、 $-28.34 \pm 0.77‰$, $n = 12, 10, 8$),而负值出现在50~34 Ma

(数据点有限),24~20 Ma 和 17~13 Ma 的区间($\delta^{13}C_{alk} = -28.80 \pm 0.70‰$ 、 $-28.73 \pm 0.57‰$ 、 $-28.90 \pm 0.79‰$, $n = 3, 21, 15$)。导致 $\delta^{13}C_{alk}$ 偏正的原因是什么呢?尤其是在30~24 Ma这个时期, $\delta^{13}C_{alk}$ 相对于其它时期的正偏幅度更大。在这个时间段,孢粉记录显示出树木和草之间的交替变化(路晶芳等, 2010)。植物群落变化可能会导致 $\delta^{13}C_{alk}$ 的变化,尤其是涉及 C_4 植物的输入,即使来自 C_4 植物的微小贡献也很容易导致 $\delta^{13}C_{alk}$ 值的正偏。然而,如果要将渐新世的同位素变化归咎于 C_4 植物的出现,可能需要更有说服力的理由和证据(Royer et al., 2016; Urban et al., 2010),因为还有几个本地因素会对单体碳同位素产生正偏的直接影响,包括干旱气候、纬度变化、高程变化和二氧化碳等因素的影响。新生代以来主要受控于西风带的柴达木盆地气候变化、纬度和高程变化对碳同位素的直接影响主要是通过温度的改变而实现。温度的升高/降低会导致同位素一定程度的升高/降低。温度每变化 $1^\circ C$,对碳同位素的影响约 $0.013‰$ (Diefendorf et al., 2010; Kohn, 2010; Troughton et al., 1975)。由此推断,即使温度有 $10^\circ C$ 的变化量,可能也不会对重建 C_4 植物的生物量有太大的影响。整个新生代大气 CO_2 的 $\delta^{13}C$ 值是随时间而变化的(Tipple et al., 2010a),这也会直接影响到植物中的碳同位素值。进行 C_4 植物重建的时候需要利用前人(Jia et al., 2012; Tipple et al., 2010b)的经验公式(公式3)计算植物碳同位素的真值将其影响排除。

$$\varepsilon_{C_{27/29/31}-CO_2} = (\delta^{13}C_{27/29/31} - \delta^{13}C_{CO_2}) / (\delta^{13}C_{CO_2} + 1) \times 1000 \quad (3)$$

因此,由温度、纬度、高程和二氧化碳碳同位素变化导致的同位素偏差影响在这个地区的 $\delta^{13}C_{alk}$ 变化中并不显著。但是柴达木盆地目前作为亚洲内陆干旱区域的重要组成部分,以年降水量低至100mm为主要特征的干旱气候条件已成为主导它广阔的沙漠、半沙漠、灌丛、高山草甸和稀树草原的景观类型的最主要因素。根据前人在柴达木盆地开展的古地理、古气候等方面的研究表明(Jia et al., 2021; Miao et al., 2012; 李颖莉等, 2012),干旱可能在新生代大部分时间段都对其具有比较重要的影响。因此,干旱对碳同位素的影响可能比上述这些因素都要显著,是最不可忽视的因素(Sun et al., 2020)。较早的研究表明干旱条件下植物的碳同位素偏重(Diefendorf et al., 2010; Kohn, 2010),并未

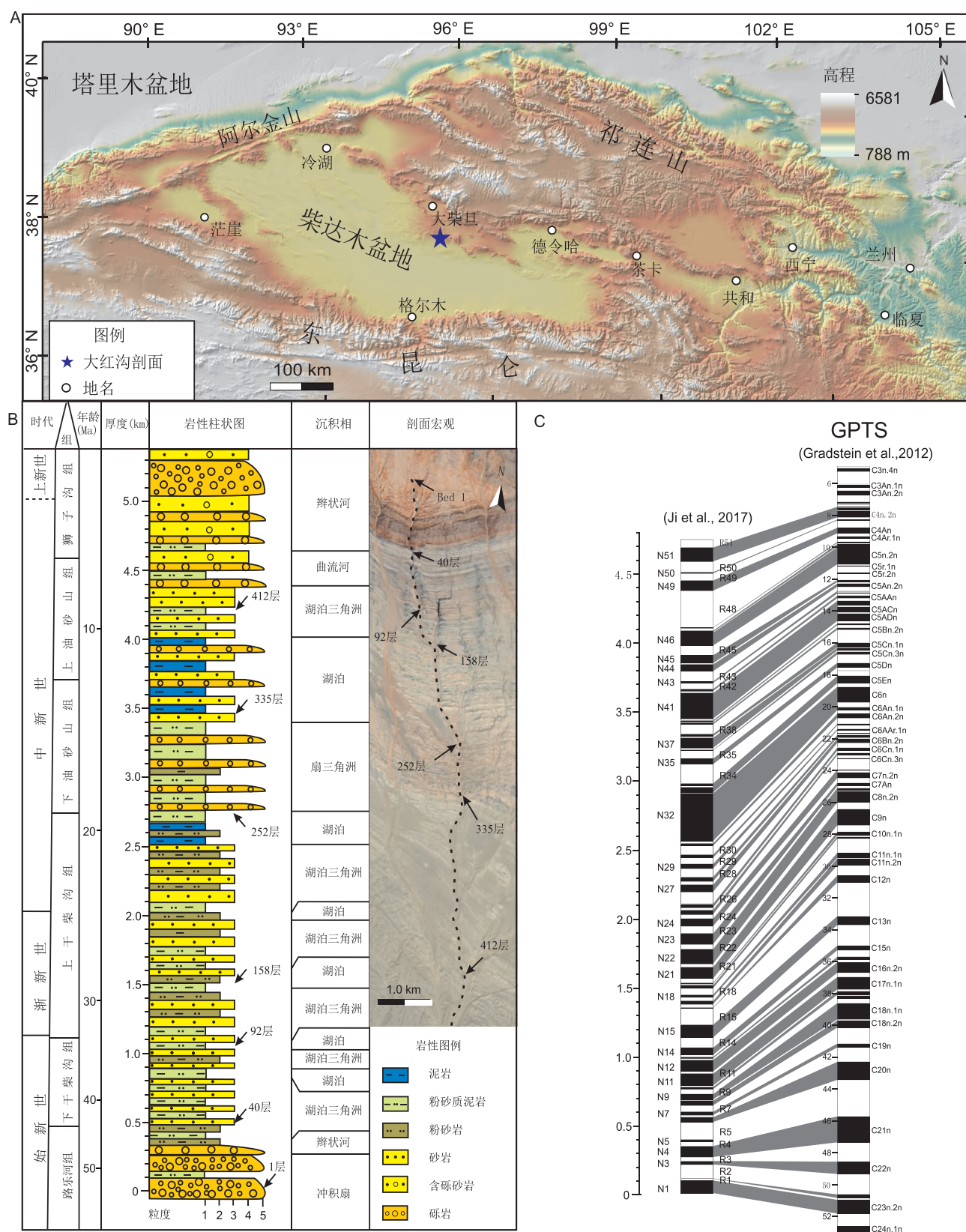


图1 青藏高原东北缘柴达木盆地大红沟剖面位置及岩性综合柱状图(修改自 Gradstein et al., 2012; Ji et al., 2017; Sun et al., 2020; 宋博文等, 2010)

Fig. 1 Location and lithological column with paleomagnetic correlations of Dahonggou Section in the Qaidam Basin, Northeastern Tibetan Plateau

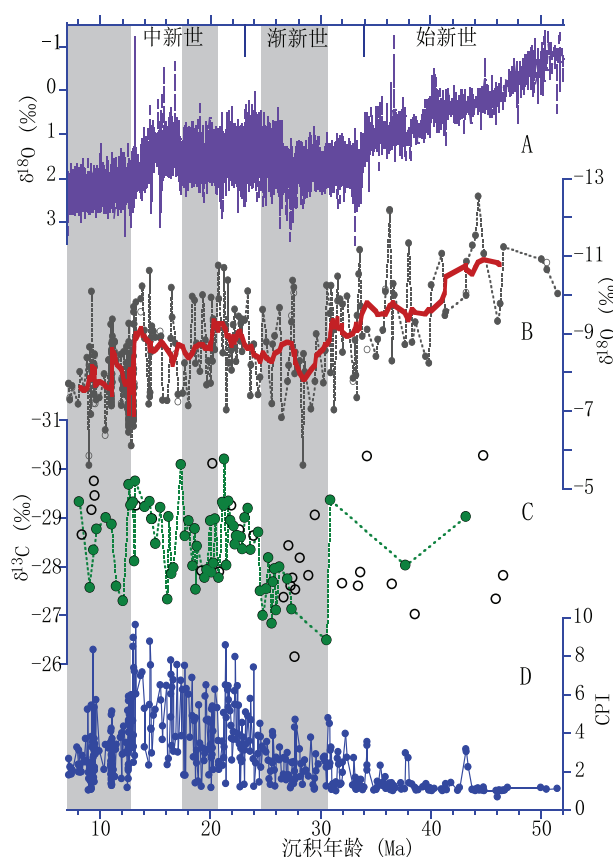


图2 大红沟剖面碳酸盐氧同位素(B)、高等植物叶蜡单体碳同位素(C)、有机质碳优指数(CPI, D)与全球底栖有孔虫氧同位素变化(A)对比图(修改自 Sun et al., 2020)

Fig. 2 Carbonate $\delta^{18}\text{O}$ (B), long-chain n -alkane $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ records (C) and carbon preferential index (CPI, D) from the Dahonggou section, compared with global benthic foraminiferal $\delta^{18}\text{O}$

区分 C_3 、 C_4 植物类型之间的差异,但最近更详细的研究显示现代 C_3 植物和纯 C_3 植被下表层土壤的 $\delta^{13}\text{C}$ 值均与年平均降水量(MAP)显示负相关,而 C_4 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与 MAP 显示正相关(Basu et al., 2015; Rao et al., 2017)。这无疑让 C_3 、 C_4 植物生物量变化的研究更加复杂。

大红沟剖面的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 变化还显示出与气候变化相关的特征,即 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 与气候代用指标 $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ 具有相关性。碳酸盐 $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ 与气候条件相关,可以反映区域干旱化的历史(Sun et al., 2020), $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ 值相对负值出现在约 52 ~ 34 Ma、24 ~ 20 Ma 和 17 ~ 13 Ma 区间 ($\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}} = -9.67 \pm 1.20\text{‰}$ 、 $-8.99 \pm 0.87\text{‰}$ 、 $-8.76 \pm 0.95\text{‰}$, $n = 54, 31, 28$),而相对正值出现在 30 ~ 24 Ma、20 ~ 17 Ma 和 13 ~ 7 Ma 的区间内(Sun et al., 2020),与全球底栖有孔虫 $\delta^{18}\text{O}$

所指示(Cramer et al., 2009)的全球气候条件相对应(图 2A, B)。从 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 和 $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ 值的对比来看(图 2B, C),两者显示很好的一致性,这种一致性可能代表了两者的主要受干湿条件变化的主要影响,同时也可能叠加了气候(温度和干旱)对 C_3/C_4 植物生物量的控制。

如果不考虑干旱对 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 的影响,仅考虑植被类型的同位素影响, C_4 植物在渐新世时期的生物量贡献则较为显著(见以下计算过程)。我们将全球的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 做统计之后可以看到裸子植物的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 平均值(约 -31‰)分布在 C_3 植物较高值区,而其它 C_3 植物的平均值(约 -35‰)则分布在较低值区, C_4 植物 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 平均值为约 -22‰ (图 3)。

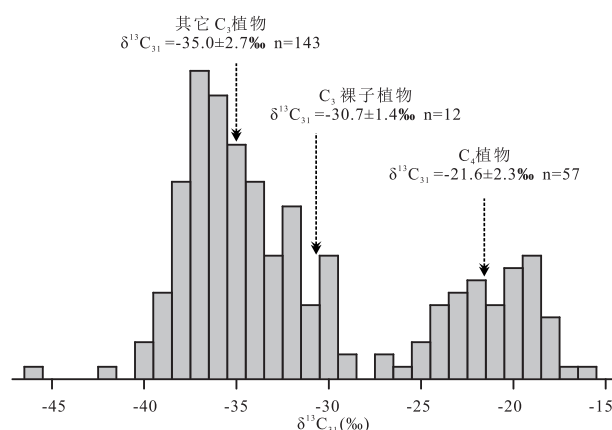


图3 C_3 (包括裸子植物在内)植物及 C_4 植物中长链正构烷烃 C_{31} 同位素值($\delta^{13}\text{C}_{31}$)统计[数据来源于(Bi et al., 2005; Chikaraishi et al., 2003; Collister et al., 1994; Diefendorf et al., 2010; Duan et al., 2011; Huang et al., 2006; Krull et al., 2006; Mead et al., 2005; Pedentchouk et al., 2008; Rieley et al., 1991; Rommerskirchen et al., 2006; Vogts et al., 2009)]

考虑 C_3 裸子植物的高 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 原因,可借助孢粉的结果将其单独作为一个端元来建立混合三元模型(Huang et al., 2006):

$$\varepsilon_{\text{C31-CO2-sample}} = \varepsilon_a \times f_a + \varepsilon_b \times f_b + \varepsilon_c \times f_c \quad (4);$$

$$f_a + f_b + f_c = 1 \quad (5);$$

f_a 为裸子植物孢粉含量; f_b 为 C_3 植物孢粉含量; f_c 为 C_4 植物孢粉含量; ε_a 为采用当前 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO2}}$ (-7.8‰) (Tippie et al., 2010a) 计算 C_3 裸子植物的 $\varepsilon_{n-\text{C31}}$ ($-23.1 \pm 1.4\text{‰}$); ε_b 为采用当前 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO2}}$ (-7.8‰) (Tippie et al., 2010a) 计算其它 C_3 植物的 $\varepsilon_{n-\text{C31}}$ ($-27.4 \pm 2.7\text{‰}$); ε_c 为采用当前 $\delta^{13}\text{C}_{\text{CO2}}$

(-7.8‰) (Tippie et al., 2010a) 计算 C₄ 植物的 ε_{n-C31} (-13.9 ± 2.3‰)。

因此,计算所得 C₄植物含量在同位素正偏幅度比较大的 30 ~ 24 Ma 时期较高,最高可达 60%,在 20 ~ 17 Ma 时期高达 40%。然而,如前所述,如果考虑气候原因导致的同位素正偏,这个重建的 C₄植物含量显然是高估的。而且大量的研究显示 C₄植物的规模性扩张发生在晚中新世,贸然将这个同位素正偏归咎于 C₄植物的贡献会导致 C₄植物扩张机制的错误解释。因此,正如 Urban et al. (2010) 的研究所建议,C₄植物含量的重建需要更加可信的直接证据。但要将大红沟剖面的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 正偏完全归咎于气候因素的影响,也没有很强的说服力。因为正如图 2 所示, $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 和 $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ 值协同变化,但是在渐新世、早中新世却存在 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 值比 $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ 值正偏幅度明显偏大的现象,显示出不仅一种因素控制了 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 的变化。另外,近来的现代植物研究不仅显示出 C₃、C₄植物 $\delta^{13}\text{C}$ 之间与降水量相反的相关性,而且存在着 C₃、C₄植物生物量变化与温度的相关性 (Rao et al., 2017),进而使得“气候因素造成同位素直接变化”还是“气候因素造成植物类型交替形成同位素变化”难以分辨。基于大红沟剖面 $\delta^{18}\text{O}_{\text{carb}}$ 所反映的气候变化信息,我们倾向于将 $\delta^{13}\text{C}_{\text{alk}}$ 值在渐新世、早中新世的大幅度正偏现象解释为干旱和 C₄植物的双重叠加效果。

因此,在柴达木盆地大红沟剖面利用叶蜡单体碳同位素变化估算 C₃/C₄含量的混合模型尽管有孢粉含量和有机质指标的辅助,还是很难将 C₄植物的贡献从气候影响中孤立出来,故而需要借助新的方法来寻求突破。这使得利用上文所介绍的比较前沿的方法,即单颗粒孢粉碳同位素方法,直接进行 C₃/C₄植物判别再计算相对含量显示出较大的优越性。因此,这种方法值得进一步应用在大红沟剖面的 C₄植物扩张的研究中,与二元/三元混合模型形成互补。值得说明的是,单颗粒孢粉碳同位素方法也存在一定的局限性。一方面来自实验过程,这种方法对仪器精度和实验过程中对单颗粒孢粉的手动操作要求很高,孢粉转移过程中的人为失误会造成孢粉颗粒的损失。另一方面来自孢粉研究自身存在的缺陷,即孢粉产率问题和后期迁移保存等方面的问题。因此,单颗粒孢粉碳同位素方法的运用也需要与其他方法同时进行,进而形成相互印证和补充。

同理,这种同位素二元/三元模型方法在以往的应用中是否存在如大红沟剖面的研究所涉及的不确定性,还需要重新审视。而且在未来利用这些数据进行 C₄植物起源和扩张因素讨论的时候务必要保持审慎的态度,尽可能把“气候因素造成同位素直接变化”和“气候因素造成植物类型交替形成同位素变化”两者区别开来。总而言之,C₄植物的起源和扩张以及内在驱动因素的研究是一个非常复杂,却对未来全球气候变化背景下的植被生态演化有着重大意义的课题,需要我们未来付出更大的努力去探索,并且将理论转化为有效地应对策略。

参考文献 (References):

- Aichner B, Herzsuh U, Wilkes H, 2010. Influence of aquatic macrophytes on the stable carbon isotopic signatures of sedimentary organic matter in lakes on the Tibetan Plateau [J]. *Organic Geochemistry*, 41(7): 706–718.
- Basu S, Agrawal S, Sanyal P, et al., 2015. Carbon isotopic ratios of modern C₃-C₄ plants from the Gangetic Plain, India and its implications to paleovegetational reconstruction [J]. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 440: 22–32.
- Beerling D J, Royer D L, 2011. Convergent Cenozoic CO₂ history [J]. *Nature Geoscience*, 4(7): 418–420.
- Bi X H, Sheng G Y, Liu X H, et al., 2005. Molecular and carbon and hydrogen isotopic composition of *n*-alkanes in plant leaf waxes [J]. *Organic Geochemistry*, 36(10): 1405–1417.
- Biasatti D, Wang Y, Gao F, et al., 2012. Paleoclimates and paleoclimates of late Cenozoic mammals from Southwest China: Evidence from stable carbon and oxygen isotopes [J]. *Journal of Asian Earth Sciences*, 44: 48–61.
- Bouchenak-Khelladi Y, Verboom G, Hodgkinson T, et al., 2009. The origins and diversification of C₄ grasses and savanna - adapted ungulates [J]. *Global Change Biology*, 15(10): 2397–2417.
- Boutton T W, Archer S R, Midwood A J, et al., 1998. $\delta^{13}\text{C}$ values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem [J]. *Geoderma*, 82(1–3): 5–41.
- Bowman C N, Wang Y, Wang X M, et al., 2017. Pieces of the puzzle: Lack of significant C₄ in the late Miocene of southern California [J]. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 475: 70–79.
- Castañeda I S, Mulitza S, Schefuß E, et al., 2009. Wet phases in the Sahara/Sahel region and human migration patterns in North Africa [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(48): 20159–20163.
- Cerling T E, 1984. The stable isotopic composition of modern soil carbonate and its relationship to climate [J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 71(2): 229–240.
- Cerling T E, Quade J, Wang Y, et al., 1989. Carbon isotopes in soils and palaeosols as ecology and palaeoecology indicators [J]. *Nature*, 341(6238): 138–139.
- Cerling T E, Quade J, 1993a. Stable Carbon and Oxygen Isotopes in Soil

- Carbonates[M]. American Geophysical Union (AGU).
- Cerling T E, Wang Y, Quade J, 1993b. Expansion of C_4 ecosystems as an indicator of global ecological change in the late Miocene[J]. *Nature*, 361(6410): 344–345.
- Cerling T E, Harris J M, MacFadden B J, et al., 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary [J]. *Nature*, 389(6647): 153–158.
- Cerling T E, Harris J M, 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies[J]. *Oecologia*, 120(3): 347–363.
- Cerling T E, Chritz K L, Jablonski N G, et al., 2013a. Diet of *Theropithecus* from 4 to 1 Ma in Kenya[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(26): 10507–10512.
- Cerling T E, Manthi F K, Mbua E N, et al., 2013b. Stable isotope-based diet reconstructions of Turkana Basin hominins [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(26): 10501–10506.
- Chikaraishi Y, Naraoka H, 2003. Compound-specific δD - $\delta^{13}C$ analyses of *n*-alkanes extracted from terrestrial and aquatic plants [J]. *Phytochemistry*, 63(3): 361–371.
- Christin P-A, Besnard G, Samaritani E, et al., 2008. Oligocene CO_2 Decline Promoted C_4 Photosynthesis in Grasses [J]. *Current Biology*, 18(1): 37–43.
- Christin P-A, Boxall S F, Gregory R, et al., 2013a. Parallel recruitment of multiple genes into C_4 photosynthesis [J]. *Genome biology and evolution*, 5(11): 2174–2187.
- Christin P-A, Osborne C P, Chatelet D S, et al., 2013b. Anatomical enablers and the evolution of C_4 photosynthesis in grasses [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(4): 1381–1386.
- Collatz G J, Berry J A, Clark J S, 1998. Effects of climate and atmospheric CO_2 partial pressure on the global distribution of C_4 grasses: present, past, and future[J]. *Oecologia*, 114(4): 441–454.
- Collister J W, Rieley G, Stern B, et al., 1994. Compound-specific $\delta^{13}C$ analyses of leaf lipids from plants with differing carbon dioxide metabolisms[J]. *Organic Geochemistry*, 21(6): 619–627.
- Cotton J M, Cerling T E, Hoppe K A, et al., 2016. Climate, CO_2 , and the history of North American grasses since the Last Glacial Maximum[J]. *Science Advances*, 2(3): e1501346.
- Covshoff S, Hibberd J M, 2012. Integrating C_4 photosynthesis into C_3 crops to increase yield potential [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2): 209–214.
- Cramer B S, Toggweiler J R, Wright J D, et al., 2009. Ocean overturning since the Late Cretaceous: Inferences from a new benthic foraminiferal isotope compilation [J]. *Paleoceanography*, 24(4): PA4216.
- De Boer B, Bintanja R, Lourens L, et al., 2010. Cenozoic global ice-volume and temperature simulations with 1-D ice-sheet models forced by benthic $\delta^{18}O$ records[J]. *Annals of Glaciology*, 51(55): 23–33.
- Diefendorf A F, Mueller K E, Wing S L, et al., 2010. Global patterns in leaf ^{13}C discrimination and implications for studies of past and future climate [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(13): 5738–5743.
- Duan Y, He J X, 2011. Distribution and isotopic composition of *n*-alkanes from grass, reed and tree leaves along a latitudinal gradient in China[J]. *Geochemical journal*, 45(3): 199–207.
- Edwards E J, Osborne C P, Strömberg C A E, et al., 2010a. The Origins of C_4 Grasslands: Integrating Evolutionary and Ecosystem Science [J]. *Science*, 328(5978): 587–591.
- Edwards E J, Smith S A, Donoghue M J, 2010b. Phylogenetic Analyses Reveal the Shady History of C_4 Grasses [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(6): 2532–2537.
- Ehleringer J R, Sage R F, Flanagan L B, et al., 1991. Climate change and the evolution of C_4 photosynthesis [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 6(3): 95–99.
- Ehleringer J R, Cerling T E, Helliker B R, 1997. C_4 photosynthesis, atmospheric CO_2 , and climate [J]. *Oecologia*, 112(3): 285–299.
- Gradstein F M, Ogg J G, 2012. Chapter 2 - The Chronostratigraphic Scale [M]. Boston: Elsevier.
- Hoetzel S, Dupont L, Schefuß E, et al., 2013. The role of fire in Miocene to Pliocene C_4 grassland and ecosystem evolution [J]. *Nature Geoscience*, 6(12): 1027–1030.
- Huang Y S, Shuman B, Wang Y, et al., 2006. Climatic and environmental controls on the variation of C_3 and C_4 plant abundances in central Florida for the past 62,000 years [J]. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 237(2): 428–435.
- Huang Y, Street-Perrott F A, Metcalfe S E, et al., 2001. Climate Change as the Dominant Control on Glacial-Interglacial Variations in C_3 and C_4 Plant Abundance [J]. *Science*, 293(5535): 1647–1651.
- Hui Z C, Gowan E J, Hou Z F, et al., 2021. Intensified fire activity induced by aridification facilitated Late Miocene C_4 plant expansion in the northeastern Tibetan Plateau, China[J]. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 573: 110437.
- Ji J L, Zhang K X, Clift P D, et al., 2017. High-resolution magnetostratigraphic study of the Paleogene-Neogene strata in the Northern Qaidam Basin: Implications for the growth of the Northeastern Tibetan Plateau [J]. *Gondwana Research*, 46: 141–155.
- Jia G D, Li Z Y, Peng P A, et al., 2012. Aeolian *n*-alkane isotopic evidence from North Pacific for a Late Miocene decline of C_4 plant in the arid Asian interior [J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 321–322: 32–40.
- Jia Y X, Wu H B, Zhang W C, et al., 2021. Quantitative Cenozoic climatic reconstruction and its implications for aridification of the northeastern Tibetan Plateau [J]. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 567: 110244.
- Jiang W Q, Wu J Y, Wu H B, et al., 2019. Evolution of the relative abundance of C_4 plants on the Chinese Loess Plateau since the Last Glacial Maximum and its implications [J]. *Journal of Quaternary Science*, 34(2): 101–111.
- Kadereit G, Ackerly D, Pirie M, 2012. A broader model for C_4

- photosynthesis evolution in plants inferred from the goosefoot family (Chenopodiaceae s. s.) [J]. *Proceedings Biological sciences / The Royal Society*, 279(1741): 3304–3311.
- Keeley J E, Rundel P W, 2005. Fire and the Miocene expansion of C₄ grasslands[J]. *Ecology Letters*, 8(7): 683–690.
- Koch P L, 1998. Isotopic reconstruction of past continental environments [J]. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 26(1): 573–613.
- Kohn M J, 2010. Carbon isotope compositions of terrestrial C₃ plants as indicators of (paleo)ecology and (paleo)climate[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(46): 19691–19695.
- Krull E, Sachse D, Mugler I, et al., 2006. Compound-specific delta ¹³C and delta ²H analyses of plant and soil organic matter: A preliminary assessment of the effects of vegetation change on ecosystem hydrology [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 38(11): 3211–3221.
- Kuyppers M M M, Pancost R D, Damsté J S S, 1999. A large and abrupt fall in atmospheric CO₂ concentration during Cretaceous times[J]. *Nature*, 399(6734): 342–345.
- Leegood R C, 2013. Strategies for engineering C₄ photosynthesis[J]. *Journal of Plant Physiology*, 170(4): 378–388.
- Liu W G, Huang Y S, An Z S, et al., 2005. Summer monsoon intensity controls C₄/C₃ plant abundance during the last 35 ka in the Chinese Loess Plateau: Carbon isotope evidence from bulk organic matter and individual leaf waxes [J]. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 220(3): 243–254.
- Liu W G, Yang H, Wang H Y, et al., 2015. Carbon isotope composition of long chain leaf wax n-alkanes in lake sediments: A dual indicator of paleoenvironment in the Qinghai-Tibet Plateau [J]. *Organic Geochemistry*, 83–84: 190–201.
- Liu Z H, Zhang K X, Sun Y Y, et al., 2014. Cenozoic Environmental Changes in the Northern Qaidam Basin Inferred from n-alkane Records[J]. *Acta Geologica Sinica*, 88(5): 1547–1555.
- Long S P, 1999. *Environmental responses* [M]. San Diego: Academic Press.
- Lopez F B, Barclay G F, 2017. Chapter 4 - Plant Anatomy and Physiology[M]. Boston: Academic Press.
- Lu J Y, Algeo T J, Zhuang G S, et al., 2020. The Early Pliocene global expansion of C₄ grasslands: A new organic carbon-isotopic dataset from the north China plain [J]. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 538: 109454.
- Ma X Y, Wei Z F, Wang Y L, et al., 2021. Speculation for quantifying increased C₄ plants under future climate conditions: Inner Mongolia, China case study[J]. *Quaternary International*, 592: 97–110.
- Mead R, Xu Y P, Chong J, et al., 2005. Sediment and soil organic matter source assessment as revealed by the molecular distribution and carbon isotopic composition of n-alkanes [J]. *Organic Geochemistry*, 36(3): 363–370.
- Miao Y F, Herrmann M, Wu F L, et al., 2012. What controlled Mid-Late Miocene long-term aridification in Central Asia? — Global cooling or Tibetan Plateau uplift: A review [J]. *Earth-Science Reviews*, 112(3): 155–172.
- Nelson D M, Hu F S, Michener R H, 2006. Stable-carbon isotope composition of Poaceae pollen: an assessment for reconstructing C₃ and C₄ grass abundance[J]. *The Holocene*, 16(6): 819–825.
- Nelson D M, Hu F S, Mikucki J A, et al., 2007. Carbon-isotopic analysis of individual pollen grains from C₃ and C₄ grasses using a spooling-wire microcombustion interface [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(16): 4005–4014.
- Nelson D M, Hu F S, Scholes D R, et al., 2008. Using SPIRAL (Single Pollen Isotope Ratio Analysis) to estimate C₃- and C₄-grass abundance in the paleorecord [J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 269(1): 11–16.
- Nelson D M, Urban M A, Hu F S, 2014. Spatiotemporal variation in the origin of C₄ grasses: $\delta^{13}\text{C}$ analysis of grass pollen from the southeastern United States [J]. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 396: 227–231.
- Nelson D M, Urban M A, Kershaw A P, et al., 2016. Late-Quaternary variation in C₃ and C₄ grass abundance in southeastern Australia as inferred from $\delta^{13}\text{C}$ analysis: Assessing the roles of climate, pCO₂, and fire[J]. *Quaternary Science Reviews*, 139: 67–76.
- O'Leary M H, 1981. Carbon isotope fractionation in plants [J]. *Phytochemistry*, 20(4): 553–567.
- O'Leary M H, 1988. Carbon Isotopes in Photosynthesis: Fractionation techniques may reveal new aspects of carbon dynamics in plants[J]. *BioScience*, 38(5): 328–336.
- Osborne C P, Beerling D J, 2006. Nature's green revolution: the remarkable evolutionary rise of C₄ plants [J]. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 361(1465): 173–194.
- Osborne C P, 2008. Atmosphere, ecology and evolution: what drove the Miocene expansion of C₄ grasslands? [J]. *The Journal of ecology*, 96(1): 35–45.
- Osborne C P, 2011. Chapter 17 The Geologic History of C₄ Plants[M]. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Pagani M, Zachos J C, Freeman K H, et al., 2005. Marked decline in atmospheric carbon dioxide concentrations during the Paleogene[J]. *Science*, 309(5734): 600–603.
- Pagani M, Huber M, Liu Z H, et al., 2011. The Role of Carbon Dioxide During the Onset of Antarctic Glaciation[J]. *Science*, 334(6060): 1261–1264.
- Pedentchouk N, Sumner W, Tipple B, et al., 2008. $\delta^{13}\text{C}$ and δD compositions of n-alkanes from modern angiosperms and conifers: An experimental set up in central Washington State, USA [J]. *Organic Geochemistry*, 39(8): 1066–1071.
- Prasad V, Strömberg C A E, Leaché A D, et al., 2011. Late Cretaceous origin of the rice tribe provides evidence for early diversification in Poaceae[J]. *Nature Communications*, 2(1): 480.
- Rao Z G, Guo W K, Cao J T, et al., 2017. Relationship between the stable carbon isotopic composition of modern plants and surface soils and climate: A global review [J]. *Earth-Science Reviews*, 165: 110–119.
- Rieley G, Collier R J, Jones D M, et al., 1991. Sources of sedimentary lipids deduced from stable carbon-isotope analyses of individual compounds[J]. *Nature*, 352(6334): 425–427.
- Rieley G, Collister J, Stern B, et al., 1993. Gas chromatography/isotope ratio mass spectrometry of leaf wax n-alkanes from plants of differing carbon dioxide metabolisms[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 7: 488–491.

- Rommerskirchen F, Plader A, Eglinton G, et al., 2006. Chemotaxonomic significance of distribution and stable carbon isotopic composition of long-chain alkanes and alkan-1-ols in C_4 grass waxes[J]. *Organic Geochemistry*, 37(10): 1303–1332.
- Royer D L, Wing S L, Beerling D J, et al., 2001a. Paleobotanical evidence for near present-day levels of atmospheric CO_2 During Part of the Tertiary[J]. *Science*, 292(5525): 2310–2313.
- Royer D L, Berner R A, Beerling D J, 2001b. Phanerozoic atmospheric CO_2 change: evaluating geochemical and paleobiological approaches [J]. *Earth-Science Reviews*, 54(4): 349–392.
- Sage R F, Monson R K, 1998. C_4 Plant Biology[M]. Elsevier.
- Sage R F, Li M, Monson, et al., 1999a. The taxonomic distribution of C_4 photosynthesis[M]. San Diego: Academic Press.
- Sage R F, Wedin D A, Li M, 1999b. C_4 Plant Biology[M]. San Diego: Academic Press.
- Sage R F, Kubien D S, 2003. Quo vadis C_4 ? An ecophysiological perspective on global change and the future of C_4 plants [J]. *Photosynthesis Research*, 77(2–3): 209–225.
- Sage R F, Christin P-A, Edwards E J, 2011a. The C_4 plant lineages of planet Earth [J]. *Journal of Experimental Botany*, 62(9): 3155–3169.
- Sage R F, Zhu X G, 2011b. Exploiting the engine of C_4 photosynthesis [J]. *Journal of Experimental Botany*, 62(9): 2989–3000.
- Sage R F, Sage T L, Kocacinar F, 2012. Photorespiration and the evolution of C_4 photosynthesis[J]. *Annual review of plant biology*, 63(1): 19–47.
- Sage R F, Stata M, 2015. Photosynthetic diversity meets biodiversity: The C_4 plant example[J]. *Journal of Plant Physiology*, 172: 104–119.
- Sage R F, 2017. A portrait of the C_4 photosynthetic family on the 50th anniversary of its discovery: species number, evolutionary lineages, and Hall of Fame [J]. *Journal of experimental botany*, 68(2): 4039–4056.
- Schefeuf E, Ratmeyer V, Stuut J-B W, et al., 2003a. Carbon isotope analyses of n-alkanes in dust from the lower atmosphere over the central eastern Atlantic[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(10): 1757–1767.
- Schefeuf E, Schouten S, Jansen J H F, et al., 2003b. African vegetation controlled by tropical sea surface temperatures in the mid-Pleistocene period[J]. *Nature*, 422(6930): 418–421.
- Still C, Berry J, Collatz G, et al., 2003. Global distribution of C_3 and C_4 vegetation: Carbon cycle implications [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 17(1): 1006.
- Strömberg C A E, 2005. Decoupled taxonomic radiation and ecological expansion of open-habitat grasses in the Cenozoic of North America [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(34): 11980–11984.
- Strömberg C A E, 2011. Evolution of Grasses and Grassland Ecosystems [J]. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 39: 517–544.
- Sun J M, Lü T Y, Gong Y Z, et al., 2013. Effect of aridification on carbon isotopic variation and ecologic evolution at 5.3 Ma in the Asian interior [J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 380: 1–11.
- Sun Y Y, Liu J, Liang Y, et al., 2020. Cenozoic moisture fluctuations on the northeastern Tibetan Plateau and association with global climatic conditions [J]. *Journal of Asian Earth Sciences*, 200: 104490.
- Thomas E K, Huang Y S, Morrill C, et al., 2014. Abundant C_4 plants on the Tibetan Plateau during the Lateglacial and early Holocene [J]. *Quaternary Science Reviews*, 87: 24–33.
- Tippel B J, Pagani M, 2007. The Early Origins of Terrestrial C_4 Photosynthesis[J]. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 35(1): 435–461.
- Tippel B J, Meyers S R, Pagani M, 2010a. Carbon isotope ratio of Cenozoic CO_2 : A comparative evaluation of available geochemical proxies[J]. *Paleoceanography*, 25(3): PA3202.
- Tippel B J, Pagani M, 2010b. A 35 Myr North American leaf-wax compound-specific carbon and hydrogen isotope record: Implications for C_4 grasslands and hydrologic cycle dynamics [J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 299(1–2): 250–262.
- Troughton J H, Card K A, 1975. Temperature effects on the carbon-isotope ratio of C_3 , C_4 and crassulacean-acid-metabolism (CAM) plants[J]. *Planta*, 123(2): 185–190.
- Uno K, Polissar P, Jackson K, et al., 2016. Neogene biomarker record of vegetation change in eastern Africa[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(23): 6355–6363.
- Urban M A, Nelson D M, Jiménez-Moreno G, et al., 2010. Isotopic evidence of C_4 grasses in southwestern Europe during the Early Oligocene-Middle Miocene[J]. *Geology*, 38(12): 1091–1094.
- Vogts A, Moossen H, Rommerskirchen F, et al., 2009. Distribution patterns and stable carbon isotopic composition of alkanes and alkan-1-ols from plant waxes of African rain forest and savanna C_3 species [J]. *Organic Geochemistry*, 40(10): 1037–1054.
- von Caemmerer S, Quick W P, Furbank R T, 2012. The development of C_4 rice: current progress and future challenges [J]. *Science*, 336(6089): 1671–1672.
- Wang Y, Deng T, 2005. A 25 m. y. isotopic record of paleodiet and environmental change from fossil mammals and paleosols from the NE margin of the Tibetan Plateau[J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 236(1–2): 322–338.
- Weissmann S, Brutnell T P, 2012. Engineering C_4 photosynthetic regulatory networks[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(3): 298–304.
- Zucol A, Brea M, Bellosi E, 2010. Phytolith analysis in Gran Barranca (central Patagonia): the middle-late Eocene [M]. Cambridge University Press.
- 李颖莉, 冯乔, 姜文娟, 等, 2012. 柴达木盆地西部新近纪岩相古地理研究[J]. *沉积与特提斯地质*, 32(2): 31–36.
- 路晶芳, 宋博文, 陈锐明, 等, 2010. 柴达木盆地大柴旦地区大红沟古近纪孢粉组合序列与地层对比[J]. *地球科学: 中国地质大学学报*, 35(5): 839–848.
- 宋博文, 张克信, 季军良, 等, 2010. 柴达木盆地北缘锡铁山–长山梁古近纪沉积演化[J]. *沉积与特提斯地质*, 30(1): 1–10.
- 旺罗, 吕厚远, 吴乃琴, 等, 2004. 青藏高原高海拔地区 C_4 植物的发现[J]. *科学通报*, 49(13): 1290–1293.
- 杨柳, 2020. 巴丹吉林沙漠塔布吉格德湖 2000 年来的正构烷烃单体碳同位素组成及气候变化[D]. 北京: 中国地质大学(北京).