

喀斯特小流域石灰土硫形态和硫酸盐还原菌分布特征

张 伟^{1,2}①, 张丽丽^{2,3} (1. 贵州师范学院地理与旅游学院, 贵州 贵阳 550018; 2. 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550081; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 用土壤硫形态连续提取和微生物学方法分析了石灰土中总硫、 SO_4^{2-} 、总还原态硫 (TRIS)、有机硫含量以及硫酸盐还原菌 (SRB) 类群和数量, 目的是阐明西南酸沉降地区土壤中硫化物积累和 SRB 的分布特征。有机硫是主要的硫形态, SO_4^{2-} 是主要的无机硫形态。石灰土中检出脱硫叶菌属和脱硫弧菌属-脱硫微菌属类群。石灰土剖面中 SRB 数量与 TRIS 含量增大的深度对应 SO_4^{2-} -S 含量降低的深度, 指示石灰土中存在 SO_4^{2-} 异化还原反应。石灰土较高 pH 值和较低的黏粒含量不利于 SO_4^{2-} 吸附, 生物滞留后剩余 SO_4^{2-} 主要通过淋溶迁移出石灰土剖面。有机硫是石灰土中大气酸沉降输入 SO_4^{2-} 的主要硫滞留方式, 在硫沉降输入通量显著降低后, 石灰土中有机硫矿化在较长时期内可能导致大量 SO_4^{2-} 输入流域水体, 与 SO_4^{2-} 淋溶输出有关的流域土壤和水体物理化学组成变化应予以关注。

关键词: 喀斯特小流域; 石灰土; 硫形态; 硫酸盐还原菌

中图分类号: Q178 文献标志码: A 文章编号: 1673-4831(2017)07-0645-08

DOI: 10.11934/j.issn.1673-4831.2017.07.009

Forms of Sulfur and Distribution of Sulfate-Reducing Bacteria in Limestone Soil of Small Karst Catchment.

ZHANG Wei^{1,2}, ZHANG Li-Li^{2,3} (1. School of Geography and Tourism, Guizhou Normal College, Guiyang 550018, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Samples of limestone soil collected from a small karst catchment affected by acid deposition in Southwest China were collected for analysis of total sulfur (TS), organic S, SO_4^{2-} -S, total reduced inorganic sulfur (TRIS), and groups of sulfate-reducing bacteria (SRB) and their populations with the soil sulfur sequential extraction method and microbiological methods in an attempt to determine forms of sulfur and to characterize SRB distribution in the soil. It was found that organic sulfur was the major form of sulfur, while SO_4^{2-} was that of inorganic sulfur in the limestone soil. Bacteria of *Desulfobulbus* genus and *Desulfovibrio-Desulfomicrobium* group were detected in the limestone soil. The depth of the soil layer where SRB began to increase in population and TRIS in content corresponded well to that where SO_4^{2-} -S began to decrease in content, which indicates that dissimilatory SO_4^{2-} reduction occurs in the limestone soil. The high pH and low clay content of the soil are adverse to SO_4^{2-} adsorption; therefore the remaining SO_4^{2-} after biological S retention is easily leached out of the limestone soil. SO_4^{2-} entering the soil with atmospheric deposition is retained mostly in the form of organic sulfur, of which mineralization releases large volumes of SO_4^{2-} into rivers and groundwater for a long period of time after annual sulfur deposition rate dropped by a large margin, thus affecting physico-chemical properties of the soils and chemical composition of the surrounding waterbodies. Therefore, more attention should be paid to such environmental responses in future.

Key words: small karst catchment; limestone soil; sulfur form; sulfate-reducing bacteria

贵州省是岩溶发育强烈的典型生态脆弱区^[1-2],也是酸沉降严重的地区,有关大气酸性降水的研究早在20世纪80年代就有报道^[3]。贵州大气酸沉降主要是硫酸型^[4-5]。近年来对位于贵州省普定县境内的典型喀斯特小流域的监测显示,大气降水的雨量加权 pH 值低于 5.0,以 SO_4^{2-} 计算的硫湿沉降通量达 50~60 kg·hm⁻²·a⁻¹,等于或高于 20 世纪 90 年代西欧和北美部分地区大气酸沉降达峰

值时估算的硫沉降通量^[5-6]。长时期的大气硫沉降致使土壤溶液中积存过量的 SO_4^{2-} ,这会刺激土壤生物和植被对 SO_4^{2-} 的同化吸收,进而增大土壤有

收稿日期: 2016-07-30

基金项目: 国家自然科学基金(41463004, 41573081); 贵州省自然科学基金(黔科合 J 字[2014]2135); 中国博士后基金(2015M572502)

① 通信作者 E-mail: zhangwei8086@163.com

机硫含量^[7-8],同时土壤溶液中 SO_4^{2-} 含量增大导致 SO_4^{2-} 淋溶程度增强,这又会导致土壤中碱性阳离子库的流失^[9-10]。另一方面,酸沉降持续输入 SO_4^{2-} 进入土壤溶液,也可能刺激厌氧细菌驱动的 SO_4^{2-} 异化还原过程^[7],这一过程消耗土壤溶液中的 SO_4^{2-} (被还原形成还原态的无机硫化物),使其成为酸沉降输入土壤 SO_4^{2-} 的一个不可忽视的汇。

硫酸盐还原菌 (sulfate-reducing bacteria, SRB) 是一大类厌氧菌,包含很多不同的类群,广泛分布于地表厌氧和缺氧的水陆生境^[11]。SRB 在其代谢活动中可以在有机碳源供给的厌氧微生境中还原 SO_4^{2-} ,形成各种还原态的无机硫化物 (total reduced inorganic sulfur, TRIS)^[12-13]。地表环境中 ($\leq 50^\circ\text{C}$) SRB 驱动的 SO_4^{2-} 异化还原过程导致大规模的 SO_4^{2-} 被还原以及有机质被厌氧矿化^[14-15],是联系碳硫耦合循环过程的重要纽带^[16]。研究表明, SO_4^{2-} 含量、有机碳源类型和数量以及小生境微生物群落组成是影响 SRB 分布的主要环境因素^[17]。石灰土是西南喀斯特山区碳酸盐岩基岩风化形成的主要土壤类型。从检索到的文献来看,目前对受酸沉降影响的石灰土中 SRB 驱动的硫的微生物地球化学循环过程及其环境效应的关注较少。笔者以贵州省安顺市普定县境内陈旗和后寨河典型喀斯特小流域石灰土为代表,通过分析石灰土硫形态和 SRB 类群及数量分布特征,结合石灰土基本理化参数分析,阐明酸沉降下石灰土中不同形态硫的迁移转化过程,深化对喀斯特地区土壤硫的微生物地球化学循环过程的认识,以期对西南喀斯特流域土壤石漠化生态环境修复提供基础科学参考。

1 材料与试验

1.1 研究区与样品采集

研究区位于贵州省安顺市普定县境内陈旗 ($26^\circ 15' 33.90'' \text{N}$, $105^\circ 46' 38.41'' \text{E}$, 海拔 1 324 m) 和后寨河 ($26^\circ 16' 59.56'' \text{N}$, $105^\circ 40' 47.36'' \text{E}$, 海拔 1 159 m) 小流域。普定县多年平均气温为 15.1°C , 平均降水量为 1 378 mm。2 个小流域内自然坡地坡度多大于 25° 。坡地土壤以黄色石灰土为主,土壤黏着性差且浅薄,坡地土壤深度一般小于 60 cm。选择小流域内未受人类活动影响的自然坡地,于 2013 年 6 月采集土壤样品。采样时分别在上坡、中坡和下坡选取微地形和植被类型相对比较均一的位置挖取石灰土剖面样品,从剖面表层向下以 10 cm 间隔分层取样,在每个土层中部即 5、15、25、35 和 45 cm

深度处取样,每个剖面采集 5 个样品。所有样品经自然风干后分别研磨过 2 和 0.15 mm 孔径筛,供后续试验分析。采样具体情况见表 1。

表 1 普定县石灰土剖面采样情况

Table 1 Field description of limestone soil profiles and sampling in Puding County

小流域	位置	坡度/(°)	土壤剖面编号
陈旗	上坡	33.1	CL-1
	中坡	31.4	CL-2
	下坡	28.2	CL-3
后寨河	上坡	33.5	HL-1
	下坡	31.5	HL-2

2 个小流域土壤类型为黄色石灰土,植被类型为灌草丛,母质(母岩)为石灰岩。

1.2 石灰土 pH 值、有机碳和黏粒含量和含水量测定

土壤样品经 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸处理去除无机碳酸盐后,用元素分析仪 (Elementar Vario Macro, 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室) 测定有机碳含量^[18],测试精度 $\leq 0.1\%$ 。石灰土黏粒 (粒径 $< 2 \mu\text{m}$) 含量比例利用筛分结合静水沉降的方法进行分析测定^[19]。土壤 pH 值测定采用无 CO_2 去离子水作浸提剂,浸提剂与石灰土样品的质量比为 2.5:1。石灰土样品在 105°C 烘箱中烘至恒定质量,根据样品损失的质量测定含水量^[8]。

1.3 石灰土各形态硫含量的测定

总硫用艾氏卡熔融法提取,根据生成的 BaSO_4 沉淀重量测定总硫含量^[7]。土壤 SO_4^{2-} 用 KH_2PO_4 溶液提取^[20],提取液经 $0.45 \mu\text{m}$ 孔径醋酸纤维滤膜过滤后用离子色谱仪 (DIONEX ICS-90, 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室) 测定 SO_4^{2-} 含量,测试精度 $\leq 1\%$ 。总还原态硫 (total reducing inorganic sulfur, TRIS) 用 HCl-CrCl_2 混合溶液浸提^[21],随后用重量法分析 TRIS 含量^[22-23]。有机硫含量通过总硫含量减去硫酸盐态硫 ($\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$) 和 TRIS 含量得到。

1.4 聚合酶链式反应 (PCR) 分析石灰土中 SRB 类群

1.4.1 DNA 提取与纯化

根据土壤 DNA 提取和纯化试剂盒 (Ultra Clean™ Soil DNA Isolation Kit) 的操作说明,对石灰土样品 DNA 进行提取和后续的纯化操作。依据张伟等^[24]的方法进行 DNA 含量和纯度分析。最后将检测合格的土壤 DNA 稀释至 $50 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 供后续分

析。

1.4.2 PCR 扩增分析 SRB 类群

根据 DALY 等^[11]的研究,地表水陆生境中常见的 SRB 可分为 6 大类群,分别为脱硫肠菌属(*Desulfotomaculum*,DFM)、脱硫叶菌属(*Desulfobulbus*,DBB)、脱硫杆菌属(*Desulfobacterium*,DBM)、脱硫细菌属(*Desulfobacter*,DSB)、脱硫球菌属-脱硫线菌属-脱硫八叠菌属(*Desulfococcus-Desulfonema-Desulfosarcina*,DCC-DNM-DSS)和脱硫弧菌属-脱硫微菌属(*Desulfovibrio-Desulfomicrobium*,DSV-DMB)。SRB 的 6 大类群的 PCR 扩增步骤依据 WANG 等^[25]的方法进行。

1.4.3 参考菌株

该研究中 SRB 的 6 大类群 PCR 扩增的阳性控制菌株和阴性控制菌株参照张伟等^[24]的研究。

1.5 荧光原位杂交反应(FISH)分析石灰土中 SRB 数量

1.5.1 寡核苷酸探针

该研究中检测 SRB 的探针为 SRB385^[26],阴性对照探针为 NON338^[27]。

1.5.2 土壤样品预处理与 FISH 镜检计数

按照张伟等^[24]的操作方法进行土壤样品预处理和 FISH 镜检计数。

1.5.3 参考菌株

SRB FISH 试验操作的阳性控制菌株和阴性控制菌株参照张伟等^[24]的研究。

2 结果与讨论

2.1 石灰土 pH 值、C/S 比、有机碳和黏粒含量、含水量

图 1 给出了石灰土 pH 值、C/S 比、有机碳和黏粒含量、含水量的深度分布特征。不同深度石灰土 pH 值为 7.0~7.3,后寨河剖面 pH 值略高于陈旗剖面,沿剖面深度增加 pH 值变化不大。石灰土剖面不同深度 w (有机碳)为 2.6%~7.1%,陈旗和后寨河 2 个小流域石灰土剖面相同深度有机碳含量变化不大,并且均随剖面深度增加而急剧减小。石灰土剖面不同深度 C/S 比为 83.7~123.7,2 个小流域石灰土剖面相同深度 C/S 比变化不大,并且均随剖面深度增加而降低。不同深度石灰土 w (黏粒)为 29.2%~33.4%,2 个小流域剖面相同深度黏粒含量变化不大,并且均随剖面深度增加变化不大。石灰土剖面不同深度含水量 w 为 28.7%~38.3%,2 个小流域石灰土剖面相同深度含水量变化不大,从深度分布来看,剖面表层至次表层含水量增大,次表层以下随深度增加含水量有降低趋势。

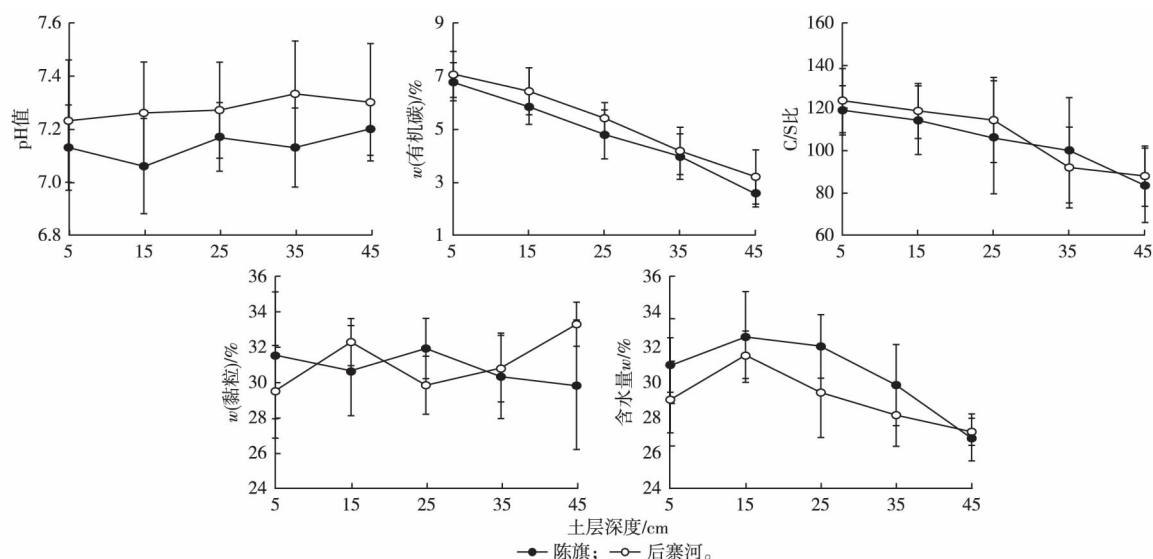


图 1 石灰土剖面 pH 值、C/S 比、有机碳和黏粒含量、含水量的深度分布特征

Fig. 1 Variation of soil pH, organic carbon content, C/S ratios, clay content, and soil water content in the limestone soil profiles with depth

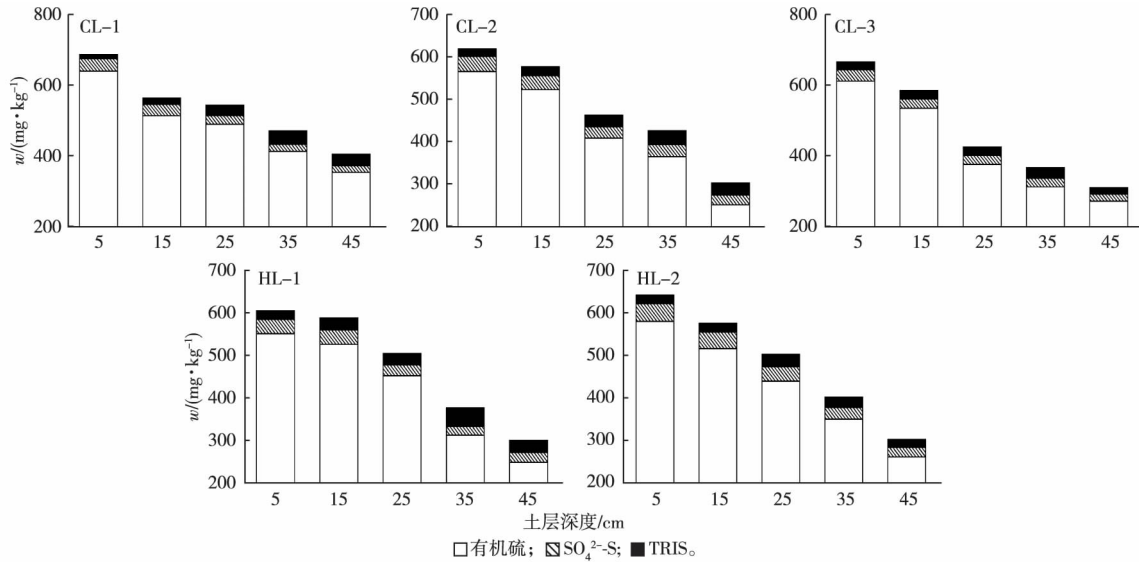
2.2 石灰土各形态硫含量

陈旗和后寨河小流域石灰土剖面总硫、 SO_4^{2-} -S、TRIS 和有机硫含量的深度分布特征见图 2。

经对比发现,长期大气酸沉降致使西南喀斯特流域石灰土总硫和 SO_4^{2-} -S 含量显著高于未受大气酸沉降影响流域土壤总硫和 SO_4^{2-} -S 含量^[4,28]。有

机硫是石灰土剖面不同深度硫的主要形态,有机硫占总硫含量的比例为 83.3%~93.1% 这个结果与其他流域土壤硫含量的研究结果相似^[29-30]。石灰土剖面表层有机硫占总硫比例较高,随剖面加深总硫和有机硫含量逐渐降低,这主要是有机硫矿化的结果^[31-32]。SO₄²⁻ 是石灰土主要的无机硫形态。

SO₄²⁻-S 和 TRIS 含量占总硫含量的比例较小,分别为 4.2%~7.3% 和 1.9%~8.2%。SO₄²⁻-S 含量在剖面表层最高,随剖面加深,SO₄²⁻-S 含量逐渐降低,而 TRIS 含量有增大的趋势,这可能与 SO₄²⁻ 异化还原和淋溶迁移有关^[33-34]。



CL-1、CL-2 和 CL-3 为陈旗小流域土样; HL-1 和 HL-2 为后寨河小流域土样。

图2 石灰土剖面硫含量的深度分布特征

Fig. 2 Distributions of sulfur contents along the limestone soil profiles

2.3 SRB 类群和数量在石灰土中的分布

SRB 类群在石灰土剖面中的分布见表 2。SRB 的 6 大类群的 PCR 扩增结果显示,石灰土剖面中检出脱硫叶菌属和脱硫弧菌属-脱硫微菌属。脱硫弧菌属-脱硫微菌属在陈旗和后寨河小流域石灰土剖面的不同深度均有检出,说明脱硫弧菌属-脱硫微菌属是石灰土中 SRB 的优势类群。有研究表明,在水稻土和不同类型湖泊(湿地)沉积环境中,脱硫弧菌属-脱硫微菌属也是 SRB 的优势类群^[35-37]。这些研究结果指示,在不同生境条件下脱硫弧菌属-脱硫微菌属相比其他 SRB 类群具有更强的适应能力,这可能与脱硫弧菌属-脱硫微菌属具有更复杂多样的系统进化有关^[38-39]。

FISH 是一种无需室内纯培养即可检测具有特定生态环境功能细菌的微生物学技术,由于 SRB 在地表环境硫循环过程中的重要性,FISH 广泛应用于地表各类型生境中的 SRB 数量分析^[39-40]。该研究中 FISH 结果显示,石灰土剖面中 SRB 数量(以湿土计)为 0.87 × 10⁴ ~ 4.57 × 10⁴ g⁻¹ (图 3)。SRB 数量的深度分布在 2 个小流域石灰土剖面中具有相似性,表现为 SRB 数量最大值均出现在剖面次底层

(HL-1 剖面除外) 指示石灰土剖面次底层最适于 SRB 发育。结合图 1~2 可以看出,SO₄²⁻-S 含量和有机碳含量在剖面次底层均较高,并且相比剖面表层和 中 层,剖面次底层具有更好的厌氧环境,这些环境因素可能导致 SRB 数量在剖面次底层达最大值^[41]。

2.4 异化硫酸盐还原与 TRIS 形成

在没有采矿活动的土壤生境,SRB 驱动的 SO₄²⁻ 异化还原反应是土壤中 TRIS 的主要来源^[21,33]。石灰土剖面 SRB 数量、SO₄²⁻-S 含量和 TRIS 含量的深度分布如图 4 所示。石灰土剖面中 TRIS 含量与 SRB 数量呈现基本一致的分布特征(在次底层达最大值)并且总体上 TRIS 含量与 SRB 数量增大的土层深度对应 SO₄²⁻-S 含量降低的土层深度。这些分布特征指示,随剖面加深 SRB 驱动的 SO₄²⁻ 异化还原反应过程中,TRIS 是反应的主要产物。

如前所述,驱动 SO₄²⁻ 异化还原反应的 SRB 是厌氧细菌。石灰土剖面中存在厌氧微生境并发生 SO₄²⁻ 异化还原反应可能与以下因素有关。第一,该研究于 2013 年 6 月末采集石灰土样品,6 月正值

当地雨季,多阴雨天气,空气潮湿。石灰土剖面表层样品采样深度为表土向下 5 cm,土壤含水量相对较高(图 1)。石灰土剖面表层以下深度在多雨潮湿的天气条件下可能存在厌氧的生境条件,致使剖面中存在厌氧的 SRB 驱动的 SO_4^{2-} 异化还原反应。第二,有研究表明,某些 SRB 类群(如脱硫微菌属)不是严格的厌氧菌^[42-43],这可能导致石灰土中不是厌氧状况的微生物发生 SO_4^{2-} 异化还原过程。最后,某些 SRB 类群可用不同方式在其生存环境周围形成缺氧乃至厌氧的微生物,例如利用金属硫化物形成局部厌氧的聚合物颗粒^[44],这些聚合物颗粒通常形成于有机质氧化分解产生的络合物附近,由于有机质氧化分解导致土壤溶液中的溶解氧被快速消耗而形成局部厌氧的微生物^[35]。在喀斯特地区潮湿的石灰土中,腐烂的枯枝落叶和植被根系的分解残体可以提供快速氧化分解的有机质,形成局部厌氧的微生物,在这个微生物内可能发生 SO_4^{2-} 异化还原反应。

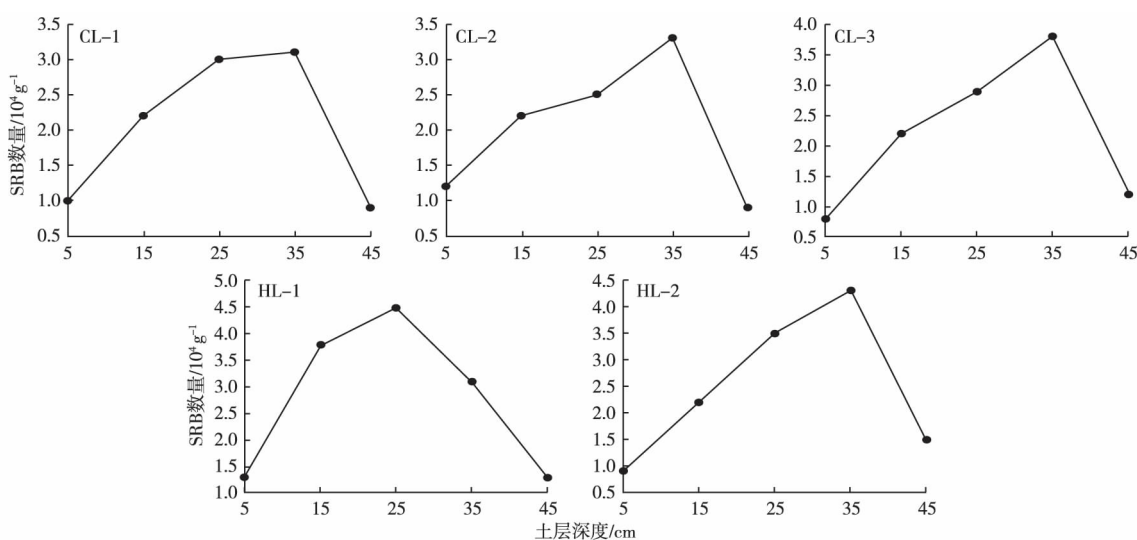
土壤 TRIS 也可能来自基岩风化,但 SRB 数量和 TRIS 含量增大的土层深度与 SO_4^{2-} -S 含量降低的土层深度基本一致,结合对石灰土存在厌氧微生物的分析,说明石灰土剖面中发生 SRB 驱动的 SO_4^{2-} 异化还原反应,并且反应的主要产物是 TRIS。石灰土剖面中 SRB 数量与 TRIS 含量均在次底层达最大值,而次底层 SO_4^{2-} -S 含量较中层和表层明显降低,指示石灰土剖面次底层 SRB 驱动 SO_4^{2-} 异化还原反应的活性最大,在这个深度大量 SO_4^{2-} 被异化还原形成 TRIS。

表 2 SRB 类群在石灰土剖面中的分布

Table 2 Distributions of SRB groups along the limestone soil profiles

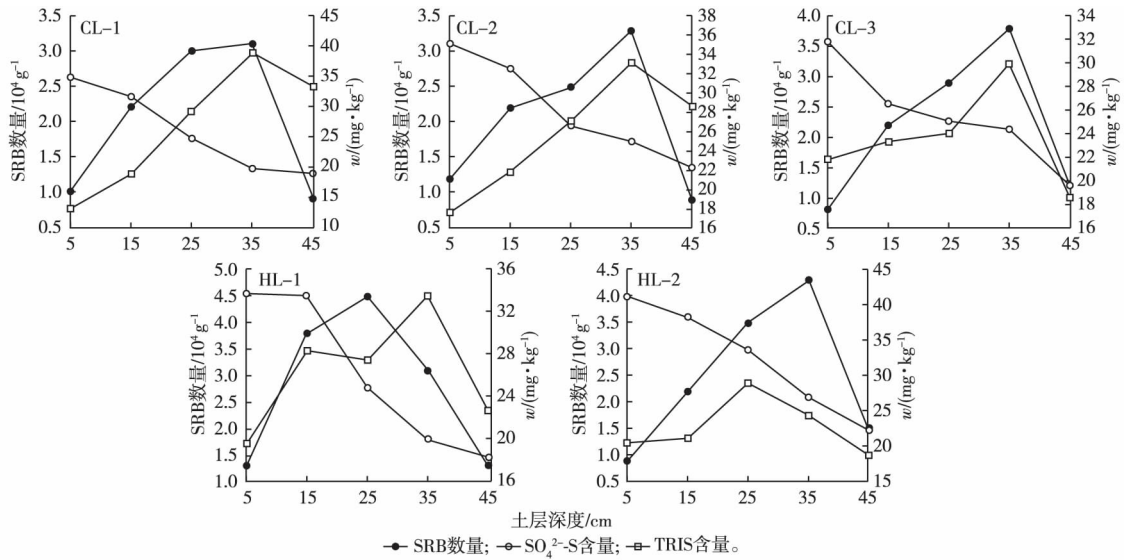
剖面编号	土层深度/cm	DBB	DSV-DMB
CL-1	0~10		+
	>10~20		+
	>20~30	+	+
	>30~40	+	+
	>40~50		+
CL-2	0~10		+
	>10~20	+	+
	>20~30	+	+
	>30~40	+	+
	>40~50		+
CL-3	0~10		+
	>10~20	+	+
	>20~30	+	+
	>30~40		+
	>40~50		+
HL-1	0~10	+	+
	>10~20	+	+
	>20~30		+
	>30~40		+
	>40~50		+
HL-2	0~10		+
	>10~20		+
	>20~30	+	+
	>30~40	+	+
	>40~50		+

DBB 为脱硫叶菌属; DSV-DMB 为脱硫弧菌属-脱硫微菌属。CL-1、CL-2 和 CL-3 为陈旗小流域土样; HL-1 和 HL-2 为后寨河小流域土样。+ 表示检出。脱硫肠菌属(DFM)、脱硫杆菌属(DBM)、脱硫细菌属(DSB)和脱硫球菌属-脱硫线菌属-脱硫八叠菌属(DCC-DNM-DSS)均未检出。



CL-1、CL-2 和 CL-3 为陈旗小流域土样; HL-1 和 HL-2 为后寨河小流域土样。SRB 数量以湿土计。

图 3 石灰土剖面硫酸盐还原菌(SRB)数量的深度分布特征
Fig. 3 Distributions of SRB population in the limestone soil profiles with depth



CL-1、CL-2 和 CL-3 为陈旗小流域土样；HL-1 和 HL-2 为后寨河小流域土样。SRB 数量以湿土计。

图4 石灰土剖面 SRB 数量、SO₄²⁻-S 含量和 TRIS 含量的深度分布特征

Fig. 4 Distributions of SRB population, SO₄²⁻-S content and TRIS content in the limestone soil profiles with depth

有机碳含量在石灰土剖面中随剖面加深而急剧降低(图1),这可能限制了剖面底层 SO₄²⁻ 异化还原反应所需的有机碳源的供给,进而导致底层反应速率和 TRIS 含量降低^[41]。

2.5 有机硫矿化

有机硫形态是石灰土剖面中硫的主要形态。石灰土剖面表层至底层总硫和有机硫含量逐渐降低(图2)这与欧洲一些地区土壤剖面中总硫和有机硫的深度分布相似,主要与有机硫在剖面中的矿化有关^[31-32]。有机硫矿化是土壤硫循环的重要过程^[31-32]。NORMAN 等^[45]开展的室内土壤淋滤试验显示,土壤中有机硫化物矿化分解涉及2步反应。第1步是慢速反应,即碳键形态硫转化形成有机硫酸盐;第2步是快速反应,即有机硫酸盐水解转化形成次生 SO₄²⁻。有机硫酸盐和次生 SO₄²⁻ 均可通过淋溶而向下迁移。根据以上分析,石灰土剖面有机硫含量随剖面加深而逐渐降低,指示了石灰土剖面中持续进行的有机硫矿化过程,以及矿化产物有机硫酸盐水解和次生 SO₄²⁻ 的淋溶迁移过程。因为有机硫是石灰土硫的主要存在形态,致使总硫含量随剖面加深而逐渐降低(图2)。

2.6 SO₄²⁻ 的生物滞留与迁移

地表土壤和植物同化吸收硫元素的主要形态是 SO₄²⁻。SO₄²⁻ 被生物同化吸收后形成有机硫化物。除了形成有机硫化物,酸沉降输入石灰土剖面中的 SO₄²⁻ 可在 SRB 作用下经异化还原反应形成 TRIS^[21,33]。生物滞留(SO₄²⁻ 同化还原形成有机硫化

物和异化还原形成 TRIS)后 SO₄²⁻ 的吸附、解吸和淋溶迁移过程是影响剖面中 SO₄²⁻-S 垂直分布的主要因素。土壤 pH 值是影响 SO₄²⁻ 吸附和解吸过程的重要因素^[29,46]。石灰土剖面 pH 值变化范围为 7.0 ~ 7.3,同时石灰土黏粒含量比黄壤低^[5],因此石灰土对 SO₄²⁻ 的吸附基本可以忽略^[46]。石灰土中 SO₄²⁻ 经生物滞留后剩余的部分通过淋溶迁移进入地下水,或者短暂滞留在剖面中的 SO₄²⁻ 被解吸下来的先前吸附的 SO₄²⁻ 所替代,导致 SO₄²⁻ 在石灰土剖面中形成一个稳定的向下迁移的通量。因此,SO₄²⁻ 的生物滞留和淋溶迁移导致石灰土剖面中 SO₄²⁻-S 含量随剖面加深而逐渐降低(图2、4)。有机硫酸盐快速水解产生的次生 SO₄²⁻ 也伴随解吸的 SO₄²⁻ 向下迁移。SO₄²⁻ 在石灰土剖面中的淋溶迁移会导致等当量的碱性阳离子迁移出土壤剖面^[9-10],但目前来看,由于石灰土钙镁含量丰富,SO₄²⁻ 的迁移并没有导致石灰土 pH 值明显降低^[34],石灰土没有酸化。

3 结论

石灰土剖面主要的硫形态是有机硫。总硫和有机硫含量在石灰土剖面表层至底层降低与有机硫持续矿化有关。石灰土剖面中检出脱硫叶菌属和脱硫弧菌属-脱硫微菌属类群。剖面中 SRB 数量与 TRIS 含量增大的土层深度与 SO₄²⁻-S 含量降低的土层深度基本一致,指示剖面中发生了以 TRIS 为主要产物的 SO₄²⁻ 异化还原反应。石灰土较高的

pH值和较低的黏粒含量不利于 SO_4^{2-} 吸附, SO_4^{2-} 经生物滞留(同化还原形成有机硫和异化还原形成TRIS)后剩余的部分主要通过淋溶而迁移出石灰土剖面。目前来看,由于石灰土钙镁含量丰富,酸沉降下伴随 SO_4^{2-} 淋溶迁移的碱性阳离子的淋失并没有引起土壤pH值的显著降低。但值得关注的是,酸沉降输入的 SO_4^{2-} 主要以有机硫形态滞留在石灰土中, SO_4^{2-} 吸附不是主要的硫滞留方式,则在硫的年沉降通量显著降低后,石灰土中有机硫矿化在较长时期内可能导致大量 SO_4^{2-} 进入流域水体,与之相关的流域土壤理化性质和水体化学组成变化等相关的环境效应应予以关注。

参考文献:

- [1] 刘丛强,蒋颖魁,陶发祥等.西南喀斯特流域碳酸盐岩的硫酸侵蚀与碳循环[J].地球化学,2008,37(4):404-414. [LIU Cong-qiang,JIANG Ying-kui,TAO Fa-xiang,et al. Chemical Weathering of Carbonate Rocks by Sulfuric acid and the Carbon Cycling in Southwest China [J]. Geochimica,2008,37(4):404-414.]
- [2] 苏维词.中国西南岩溶山区石漠化的现状成因及治理的优化模式[J].水土保持学报,2002,16(2):29-32. [SU Wei-ci. Controlling Model for Rocky Desertification of Karst Mountainous Region and Its Preventing Strategy in Southwest China [J]. Journal of Soil and Water Conservation 2002,16(2):29-32.]
- [3] ZHAO D,XIONG J,XU Y et al. Acid Rain in Southwestern China [J]. Atmospheric Environment,1988,22(2):349-358.
- [4] WANG Z Y,ZHANG X S,ZHANG Y et al. Accumulation of Different Sulfur Fractions in Chinese Forest Soil Under Acid Deposition [J]. Journal of Environmental Monitoring,2011,13(9):2463-2470.
- [5] ZHANG W,LIU C Q,WANG Z L,et al. Speciation and Isotopic Composition of Sulfur in Limestone Soil and Limestone Soil in Karst Areas, Southwest China: Implications for Different Responses to Acid Deposition [J]. Journal of Environmental Quality,2014,43(3):809-819.
- [6] LARSEN T,LYDERSEN E,TANG D,et al. Acid Rain in China [J]. Environmental Science & Technology,2006,40(2):418-425.
- [7] ALEWELL C,NOVÁK M. Spotting Zones of Dissimilatory Sulfate Reduction in a Forested Catchment: The ^{34}S - ^{35}S Approach [J]. Environmental Pollution,2001,112(3):369-377.
- [8] LIKENS G E,DRISCOLL C T,BUSO D C,et al. The Biogeochemistry of Sulfur at Hubbard Brook [J]. Biogeochemistry,2002,60(3):235-316.
- [9] KIRCHNER J W,LYDERSEN E. Base Cation Depletion and Potential Long-Term Acidification of Norwegian Catchments [J]. Environmental Science & Technology,1995,29(8):1953-1960.
- [10] DRISCOLL C T,DRISCOLL K M,MITCHELL M J,et al. Effects of Acidic Deposition on Forest and Aquatic Ecosystems in New York State [J]. Environmental Pollution,2003,123(3):327-336.
- [11] DALY K,SHARP R J,MCCARTHY A J. Development of Oligonucleotide Probes and PCR Primers for Detecting Phylogenetic Subgroups of Sulfate-Reducing Bacteria [J]. Microbiology,2000,146(2):1693-1705.
- [12] CASTRO H F,WILLIAMS N H,OGRAM A. Phylogeny of Sulfate-Reducing Bacteria [J]. FEMS Microbiology Ecology,2000,31:1-9.
- [13] ZHANG W,WANG Z L,WANG M Y. Analyses of the Vertical and Temporal Distributions of Sulfate-Reducing Bacteria in Lake Erhai, Southwest China [J]. Research Journal of Chemistry and Environment,2012,16(3):44-51.
- [14] HAO O J,CHEN J M,HUANG L,et al. Sulfate-Reducing Bacteria [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology,1996,26(2):155-187.
- [15] KLEIKEMPER J,PELZ O,SCHROTH M H,et al. Sulfate Reducing Bacterial Community Response to Carbon Source Amendments in Contaminated Aquifer Microcosms [J]. FEMS Microbiology Ecology,2002,42(1):109-118.
- [16] BALDWIN D S,MITCHELL A. Impact of Sulfate Pollution on Anaerobic Biogeochemical Cycles in a Wetland Sediment [J]. Water Research,2012,46(4):965-974.
- [17] BAHR M,CRUMP B C,KLEPAC-CERAJ V,et al. Molecular Characterization of Sulfate-Reducing Bacteria in a New England Salt Marsh [J]. Environmental Microbiology,2005,7(8):1175-1185.
- [18] MIDWOOD A J,BOUTTON T W. Soil Carbonate Decomposition by Acid Has Little Effect on $\delta^{13}\text{C}$ of Organic Matter [J]. Soil Biology & Biochemistry,1998,30(10):1301-1307.
- [19] ZHU S F,LIU C Q. Vertical Patterns of Stable Carbon Isotope in Soils and Particle-Size Fractions of Karst Areas, Southwest China [J]. Environmental Earth Sciences,2006,50(8):1119-1127.
- [20] PRIETZEL J,MAYER B,KROUSE H R,et al. Transformation of Simulated Wet Sulfate Deposition in Forest Soils Assessed by a Core Experiment Using Stable Sulfur Isotopes [J]. Water Air and Soil Pollution,1995,79(1):243-260.
- [21] FOSSING H,JØRENSEN B B. Measurement of Bacterial Sulfate Reduction in Sediments: Evaluation of a Single-Step Chromium Reduction Method [J]. Biogeochemistry,1989,8(3):205-222.
- [22] HALL G E M,PELCHAT J C,LOOP J. Separation and Recovery of Various Sulphur Species in Sedimentary Rocks for Stable Sulphur Isotopic Determination [J]. Chemical Geology,1988,67(1/2):35-45.
- [23] BACKLUND K,BOMAN A,FRÖJDÖS,et al. An Analytical Procedure for Determination of Sulfur Species and Isotopes in Boreal Acid Sulfate Soils and Sediments [J]. Agricultural and Food Science,2005,14(1):70-82.
- [24] 张伟,张丽丽.喀斯特小流域黄壤硫形态和硫酸盐还原菌分布特征[J].生态学杂志,2016,35(10):2793-2803. [ZHANG Wei,ZHANG Li-li. Distributions of Sulfur Forms and Sulfate-Reducing Bacteria in Yellow Soil of Small Karst Catchment [J]. Chinese Journal of Ecology,2016,35(10):2793-2803.]
- [25] WANG M Y,JIANG X B,YUAN X Y,et al. Analyses of the Vertical and Temporal Distribution of Sulfate-Reducing Bacteria in Lake Aha (China) [J]. Environmental Earth Sciences,2008,54(1):1-6.
- [26] AMANN R I,LUDWIG W,SCHLEIFER K H. Phylogenetic Identifi-

- fication and *in situ* Detection of Individual Microbial Cells Without Cultivation[J]. *Microbiological Reviews* ,1995 ,59(1) :143 - 169.
- [27] CHRISTENSEN H ,HANSEN M ,SØRENSEN J. Counting and Size Classification of Active Soil Bacteria by Fluorescence *in situ* Hybridization With an rRNA Oligonucleotide Probe[J]. *Applied and Environmental Microbiology* ,1999 ,65(4) :1753 - 1761.
- [28] ZHOU W ,LI S T ,WANG H *et al.* Mineralization of Organic Sulfur and Its Importance as a Reservoir Plant-available Sulfur in Upland Soils of North China [J]. *Biology and Fertility of Soils* ,1999 ,30(3) :245 - 250.
- [29] STANKO-GOLDEN K M ,SWANK W T ,FITZGERALD J W. Factors Affecting Sulfate Adsorption ,Organic Sulfur Formation ,and Mobilization in Forest and Grassland Spodosols [J]. *Biology and Fertility of Soils* ,1994 ,17(4) :289 - 296.
- [30] NOVÁK M ,BUZEK F ,HARRISON A F *et al.* Similarity Between C ,N and S Stable Isotope Profiles in European Spruce Forest Soils : Implications for the Use of $\delta^{34}\text{S}$ as a Tracer [J]. *Applied Geochemistry* 2003 ,18(5) :765 - 779.
- [31] MÖRTH C M ,TORSSANDER P ,KJØNNAS O J *et al.* Mineralization of Organic Sulfur Delays Recovery From Anthropogenic Acidification [J]. *Environmental Science & Technology* 2005 ,39(14) :5234 - 5240.
- [32] NOVÁK M ,KIRCHNER J W ,FOTTOVA D ,*et al.* Isotopic Evidence for Processes of Sulfur Retention/Release in 13 Forested Catchments Spanning a Strong Pollution Gradient (Czech Republic ,Central Europe) [J]. *Global Biogeochemical Cycles* ,2005 ,19(4) :1619 - 1632.
- [33] KROUSE H R ,GRINENKO V A. Stable Isotopes :Natural and Anthropogenic Sulphur in the Environment [M]. Chichester ,UK :John Wiley & Sons ,1991 :1 - 440.
- [34] LARSEN T ,DUAN L ,MULDER J. Deposition and Leaching of Sulfur ,Nitrogen and Calcium in Four Forested Catchments in China :Implications for Acidification [J]. *Environmental Science & Technology* 2011 ,45(4) :1192 - 1198.
- [35] WIND T ,CONRAD R. Sulfur Compounds ,Potential Turnover of Sulfate and Thiosulfate ,and Numbers of Sulfate-Reducing Bacteria in Planted and Unplanted Paddy Soil [J]. *FEMS Microbiology Ecology* ,1995 ,18(4) :257 - 266.
- [36] HINES M E ,EVANS R S ,SHARAK-GENTHNER B R *et al.* Molecular Phylogenetic and Biogeochemical Studies of Sulfate-Reducing Bacteria in the Rhizosphere of *Spartina alterniflora* [J]. *Applied and Environmental Microbiology* ,1999 ,65(5) :2209 - 2216.
- [37] STUBNER S. Quantification of Gram-Negative Sulphatereducing Bacteria in Rice Field Soil by 16S rRNA Genetargeted Real-Time PCR [J]. *Journal of Microbiological Methods* ,2004 ,57(2) :219 - 230.
- [38] DEVERUX R ,DELANEY M ,WIDDEL F *et al.* Natural Relationships Among Sulfate-Reducing Eubacteria [J]. *Journal of Bacteriology* ,1989 ,171(12) :6689 - 6695.
- [39] ICGEN B ,HARRISON S. Identification of Population Dynamics in Sulfate-Reducing Consortia on Exposure to Sulfate [J]. *Research in Microbiology* 2006 ,157(10) :922 - 927.
- [40] PURDY K J ,NEDWELL D B ,EMBLEY T M *et al.* Use of 16S rRNA-Targeted Oligonucleotide Probes to Investigate the Occurrence and Selection of Sulfate-Reducing Bacteria in Response to Nutrient Addition to Sediment Slurry Microcosms From a Japanese Estuary [J]. *FEMS Microbiology Ecology* ,1997 ,24(3) :221 - 234.
- [41] TKEBUCHAVA L F ,KOMAROVA T I ,ILINSKII V V *et al.* Carbon-Oxidizing and Sulfate-Reducing Bacteria in Mozhaik Reservoir Soils [J]. *Water Resources* 2004 ,31(5) :560 - 564.
- [42] MINZ D ,FLAX J ,GREEN S J *et al.* Diversity of Sulfate-Reducing Bacteria in Oxidic and Anoxic Regions of a Microbial Mat Characterized by Comparative Analysis of Dissimilatory Sulfide Reductase Genes [J]. *Applied and Environmental Microbiology* ,1999 ,65(10) :4666 - 4671.
- [43] JONKERS H M ,KOH I O ,BEHREND P. *et al.* Aerobic Organic Carbon Mineralization by Sulfate-Reducing Bacteria in the Oxygen-saturated Photic Zone of a Hypersaline Microbial Mat [J]. *Microbial Ecology* 2005 ,49(2) :291 - 300.
- [44] FUKUI M ,TAKII S. Survival of Sulfate-Reducing Bacteria in Oxidic Surface Sediment of a Seawater Lake [J]. *FEMS Microbiology Letters* ,1990 ,73(4) :317 - 322.
- [45] NORMAN A L ,GIESEMANN A ,KROUSE H R *et al.* Sulphur Isotope Fractionation During Sulphur Mineralization :Results of an Incubation-Extraction Experiment With a Black Forest Soil [J]. *Soil Biology & Biochemistry* 2002 ,34(34) :1425 - 1438.
- [46] PRIETZEL J ,MAYER B ,LEGG E A H. Cumulative Impact of 40 Years of Industrial Sulfur Emissions on a Forest Soil in West-Central Alberta (Canada) [J]. *Environmental Pollution* 2004 ,132(1) :129 - 144.

作者简介: 张伟(1980—) 男,贵州贵阳人,副教授,博士,主要研究方向为水土环境硫循环及其相关的重金属和营养盐迁移转化的环境效应。E-mail: zhangwei8086@163.com

(责任编辑: 许 素)