

喀斯特小流域黄壤硫形态和硫酸盐还原菌分布特征

张 伟^{1,2*} 张丽丽^{2,3}

(¹贵州师范学院地理与旅游学院, 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, 贵阳 550081;

³中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要 本文分析了黄壤中总硫、 SO_4^{2-} 、总还原态无机硫(TRIS) 和有机硫的含量, 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形态和 SRB 的分布特征。结果表明: 有机硫是主要的硫形态, SO_4^{2-} 是主要的无机硫形态; 黄壤剖面不同深度均检出脱硫弧菌属-脱硫微菌属, 指示脱硫弧菌属-脱硫微菌属是黄壤中 SRB 的优势类群; 黄壤剖面中 SRB 数量与 TRIS 含量增加的深度与 SO_4^{2-} -S 含量降低的深度基本一致, 指示黄壤中存在 SO_4^{2-} 异化还原反应, 并且 TRIS 是主要产物; 生物滞留后剩余 SO_4^{2-} 的吸附、解吸、淋溶迁移及深层吸附与累积导致剖面底层 SO_4^{2-} -S 含量增加; 酸沉降输入的 SO_4^{2-} 主要以有机硫和吸附态 SO_4^{2-} 滞留在黄壤中, 在硫的年沉降速率大幅降低后, 在较长时期内, 黄壤中有机硫矿化和吸附态 SO_4^{2-} 解吸可能释放大量的 SO_4^{2-} 进入地表和地下水, 与之相关的土壤理化性质变化和水质化学组成改变等方面的环境效应值得关注。

关键词 喀斯特小流域; 黄壤; 硫形态; 硫酸盐还原菌

Distributions of sulfur forms and sulfate-reducing bacteria in yellow 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: We analyzed the contents of total sulfur (S), SO_4^{2-} -S, total reduced inorganic sulfur (TRIS), organic S, and sulfate-reducing bacteria (SRB) groups and quantities in yellow soil to examine the distribution patterns of sulfur forms and SRBs in soils under acid deposition in the karst areas of Southwest China. The results showed that organic sulfur was the major sulfur form, and SO_4^{2-} was the major inorganic sulfur form in yellow soil. *Desulfovibrio-Desulfomicrobium* was detected at different soil depths, indicating that *Desulfovibrio-Desulfomicrobium* is the dominant SRB group in yellow soil. The soil depths of increasing SRB quantity and TRIS contents corresponded well to the depths of decreasing SO_4^{2-} -S contents, indicating that dissimilatory SO_4^{2-} reduction occurred in yellow soil with TRIS as the main product. The residual SO_4^{2-} after biological S retention was firstly adsorbed and then desorbed; desorbed SO_4^{2-} could transport downward and was subsequently re-adsorbed and accumulated in deep soil layers. This explained the increasing SO_4^{2-} -S contents in bottom layers of yellow soil profiles. The deposited SO_4^{2-} was retained as organic sulfur and adsorbed SO_4^{2-} in yellow soil, then yellow soil may release more S into rivers by organic sulfur mineralization and desorption of the adsorbed SO_4^{2-} in a long period after a large decrease in annual sulfur deposition rate. Therefore, the environmental implications such as changes of soil properties and chemical compositions of river water in southwest China should be investigated in the future.

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

国家自然科学基金项目(41463004 和 41573081)、贵州省自然科学基金项目(黔科合 J 字[2014]2135) 和中国博士后基金项目(2015M572502) 资助。

收稿日期: 2016-01-27 接受日期: 2016-06-00

* 通讯作者 E-mail: zhangwei8086@163.com

贵州省位于西南亚岩溶集中连片区的中心,早在20世纪70年代就有大气酸性降水的报道(Zhao *et al.*, 1988)。大量高硫煤燃烧释放的 SO_2 氧化形成的硫酸是大气降水中主要的酸性物质(Wang *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2014)。近年来贵州省普定县境内的监测显示,以 SO_4^{2-} 计算的硫湿沉降通量为 $50\sim 60 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$,这与西欧和北美20世纪90年代酸沉降达到峰值时的硫沉降通量相当(Larssen *et al.*, 2006)。长期硫沉降导致土壤积累过量的硫酸盐,这可能刺激植被和土壤生物对 SO_4^{2-} 的同化还原而增加土壤有机硫含量(Alewell *et al.*, 2001; Likens *et al.*, 2002),同时酸沉降下 SO_4^{2-} 淋溶程度会加大, SO_4^{2-} 淋溶伴随着土壤中碱性阳离子(Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+ 和 Na^+ 等)的流失(Kirchner *et al.*, 1995; Driscoll *et al.*, 2003)。另一方面,土壤溶液中 SO_4^{2-} 含量的增大也可能刺激微生物驱动的 SO_4^{2-} 的异化还原反应(Alewell *et al.*, 2001),使得 SO_4^{2-} 异化还原反应成为酸沉降输入 SO_4^{2-} 的一个不可忽视的汇(SO_4^{2-} 被还原形成各种还原态的硫化物)。

硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)是包含很多类群的一大类厌氧菌,广泛分布于由于微生物分解作用而造成缺氧的水陆生境中,其共同特点是在代谢活动中可以利用有机质作为电子供体, SO_4^{2-} 作为电子受体,还原 SO_4^{2-} 形成还原态的硫化物(包括单质硫、二硫化物和黄铁矿)(Castro *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2012)。这个过程包括大规模的 SO_4^{2-} 被还原和有机质的厌氧矿化(Hao *et al.*, 1996; Kleikemper *et al.*, 2002),因此,SRB是地表环境中 SO_4^{2-} 的主要消费者以及硫形态转化的主要驱动者,在硫碳耦合循环过程中具有特别的重要性(Baldwin *et al.*, 2012)。然而,SRB的分布受环境因子(如厌氧条件、 SO_4^{2-} 含量、有机质类型和含量等)和其所在小生境微生物群落组成的影响(Bahr *et al.*, 2005)。黄壤是西南地区的地带性土壤,其分布面积占贵州全省土壤面积46.5%(刘世全等, 1997)。已有研究多关注西南地区黄壤对酸沉降的环境响应,如土壤pH值和有机质储库及形态的变化(Larssen *et al.*, 1998; Liao *et al.*, 1998; Guo *et al.*, 2006),目前对酸沉降下黄壤中SRB驱动的生物地球化学硫循环过程及其环境效应的关注是不足的。本研究选择贵州普定后寨河和陈旗典型喀斯特小流域黄壤为代表,通过对黄壤硫形态、SRB类群和数量深度分

布特征的分析,阐明黄壤硫的迁移转化过程及其对酸沉降的响应,以期加深对喀斯特地区土壤硫循环的认识,为喀斯特石漠化生境恢复和治理提供基础科学依据。

1 研究地区与研究方法

1.1 研究区概况与样品采集

研究区位于贵州省普定县后寨河($26^{\circ}17'05.30''\text{N}$, $105^{\circ}39'21.44''\text{E}$, 海拔1370 m)和陈旗($26^{\circ}15'36.48''\text{N}$, $105^{\circ}45'42.53''\text{E}$, 海拔1324 m)小流域境内。普定县多年平均气温 15.1°C ,多年平均降水量1378 mm。研究区内具有典型的喀斯特峰丛洼地地貌特征,自然坡地坡度多在 25° 以上,坡地发育有地带性黄壤,土层厚度一般不超过60 cm,具备良好的区域代表性。样品采集时间为2013年6月,选择研究区内自然坡地,并选取坡地上小地形和植被类型相对均一的位置挖取黄壤剖面,剖面以10 cm间隔取样,每个剖面从下至上采集样品,以减少样品间的交叉污染。每个剖面采集5个样品。样品采集后立即放入便携式冰箱 4°C 保存,所有样品经冷冻干燥处理,并分别研磨过10目筛和100目筛供后续实验分析。采样具体情况见图1和表1。

1.2 黄壤有机碳、粘粒、pH值和含水量测定

样品经 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸处理后用Elementar vario Macro元素分析仪测定有机碳含量(Midwood *et al.*, 1998),测试精度 $\leq 0.1\%$ 。利用筛分和静水沉降相结合的方法对黄壤颗粒组成进行分级,确定粘粒($< 2 \mu\text{m}$)含量百分比比例(Zhu *et al.*, 2006)。用无 CO_2 去离子水作浸提剂测定pH值,浸提剂与黄壤样品的比例为2.5:1。黄壤样品经 105°C 烘干恒重后测定含水量(Likens *et al.*, 2002)。

1.3 黄壤各形态硫含量的测定

总硫含量用艾氏卡熔融 BaSO_4 重量法测定(Alewell *et al.*, 2001)。 SO_4^{2-} 用 $0.016 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KH_2PO_4 溶液浸提(Prietzl *et al.*, 1995),过滤后用

表1 普定县黄壤剖面采样情况

Table 1 Field descriptions of the yellow soil profiles collected in Puding County

采样点	土壤类型	植被类型	母质(母岩)	位置	坡度($^{\circ}$)	土壤剖面
后寨河小流域	黄壤	低矮森林	碳酸盐岩	上坡	32.8	HY-1
			碳酸盐岩	中坡	31.4	HY-2
			碳酸盐岩	下坡	25.2	HY-3
陈旗小流域	黄壤	低矮森林	碳酸盐岩	上坡	29.5	CY-1
			碳酸盐岩	下坡	31.2	CY-2

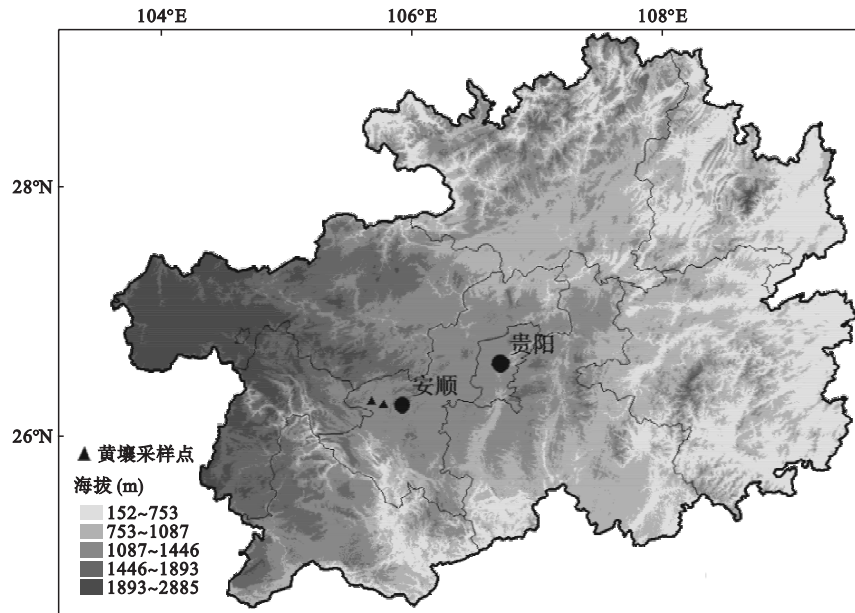


图1 贵州省安顺市普定县黄壤采样点位置示意图

Fig.1 The soil sampling sites in Puding County, Anshun City of Guizhou Province

离子色谱(DIONEX ICS-90) 测定 SO_4^{2-} 含量, 测试精度 $\leq 1\%$ 。总还原态无机硫(TRIS) 用一步提取法浸提(Fossing *et al.*, 1989)。 SO_4^{2-} 提取之后的土壤样品在三口烧瓶中用 HCl-CrCl_2 溶液处理, 在氮气连续吹扫条件下, 土样中的还原态无机硫 [主要是黄铁矿硫(FeS_2 -S)] 转化成 Ag_2S 沉淀(Hall *et al.*, 1988), TRIS 含量用重量法分析(Backlund *et al.*, 2005)。总硫含量减去硫酸盐态硫含量(SO_4^{2-} -S) 和 TRIS 含量得到有机硫含量。

1.4 黄壤中 SRB 类群的 PCR 扩增

1.4.1 DNA 提取与纯化 称取约 0.5 g 新鲜土壤样品, 按照 DNA 提取和纯化试剂盒(UltraClean™ Soil DNA Isolation Kit) 的使用说明, 进行土壤样品 DNA 的提取和纯化步骤。提取出来的 DNA 进行含量和纯度分析。将 DNA 用 TE 稀释 100 倍, 以 TE 缓冲液作为空白调零, 利用紫外-可见分光光度仪测定样本的 OD_{260} 和 OD_{280} 。根据 1 OD_{260} 相当于 50 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ DNA 计算出各个样品 DNA 含量, 并将其稀释至 50 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。同时计算出 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 比值介入 1.8~2.0 为合格。

1.4.2 PCR 扩增分析 SRB 类群 利用分子生物学方法对 SRB 16S rDNA 特异性序列进行分析, 可将 SRB 分为六大类群(Daly *et al.*, 2000)。脱硫肠菌属(类群 1) (*Desulfotomaculum*, DFM)、脱硫叶菌属(类群 2) (*Desulfobulbus*, DBB)、脱硫杆菌属(类群

3) (*Desulfobacterium*, DBM)、脱硫细菌属(类群 4) (*Desulfobacter*, DSB)、脱硫球菌属-脱硫线菌属-脱硫八叠菌属(类群 5) (*Desulfococcus-Desulfonema-Desulfosarcina*, DCC-DNM-DSS) 和脱硫弧菌属-脱硫微菌属(类群 6) (*Desulfovibrio-Desulfomicrobium*, DSV-DMB)。按照 Wang 等(2008) 的方法进行 SRB 六大类群的 PCR 扩增。

1.4.3 参考菌株 本研究中将以下菌株作为六大 SRB 类群的阳性控制菌株, 分别为: *Desulfotomaculum nigrificans* NCIMB 8395(类群 1); *Desulfobulbus propionicus* DSM 2032(类群 2); *Desulfobacterium autotrophicum* DSM 3382(类群 3); *Desulfobacter curvatus* DSM 3379(类群 4); *Desulfovibrio desulfuricans* DSM 642(类群 5); *Desulfosarcina variabilis* DSM 2060(类群 6)。大肠杆菌 *E. coli* ATCC 8099 作为阴性控制菌株(Wang *et al.*, 2008)。

1.5 FISH 分析黄壤中 SRB 的数量

1.5.1 寡核苷酸探针 检测 SRB 的通用探针为 SRB385(序列为: 5' CGG CGT CGC TGC GTC AGG 3') (Amann *et al.*, 1995), 阴性对照探针为 NON338(序列为: 5' ACT CCT ACG GGA GGC AGC 3') (Christensen *et al.*, 1999), 同一样品杂交细胞计数结果由 SRB385 探针计数的信号减去 NON338 探针计数的信号为最终结果。上述探针由上海生工生物工程技术有限公司合成, 采用 5'端 Cy3 标记。

1.5.2 参考菌株 阳性控制菌株为 *Desulfobulbus propionicus* DSM 2032, 阴性控制菌株为 *E. coli* ATCC 8099。

1.5.3 土壤样品预处理与固定 取0.1 g 新鲜土壤样品加入适量 PBS(0.13 mol · L⁻¹ NaCl, 7 mmol · L⁻¹ Na₂HPO₄, 3 mmol · L⁻¹ NaH₂PO₄, pH 7.2) 中, 漩涡震荡混匀, 10000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 弃上清, 重复 3 次; 随后加入适量 PBS(pH 7.2) 稀释。样品混匀后, 取 0.1 g 均匀涂布于多聚赖氨酸包被的玻璃片上, 空气干燥 30 min; 在 4% 多聚甲醛磷酸盐缓冲液中室温固定 20 min, PBS(pH 7.2) 洗涤 5 min, Milli-Q 超纯水洗涤 5 min, 空气干燥; 湿盒中用 2 mg · mL⁻¹ 溶菌酶 32 °C 处理 10 min, PBS(pH 7.2) 洗涤 5 min, Milli-Q 超纯水洗涤 5 min, 空气干燥; 分别用 50%、80% 和 96% 乙醇固定 3 min, 空气干燥。

1.5.4 荧光原位杂交反应与镜检 取 27 μL 荧光

原位杂交缓冲液(0.9 mol · L⁻¹ NaCl, 20 mmol · L⁻¹ Tris-HCl, 5 mmol · L⁻¹ EDTA, 0.01% SDS, 25% 甲酰胺, pH 7.2) 和 3 μL 探针(25 ng · μL⁻¹) 混匀, 并点到样品上, 湿盒中 46 °C 杂交 2 h; 洗涤缓冲液(54 mmol · L⁻¹ NaCl, 20 mmol · L⁻¹ Tris-HCl, 0.01% SDS, 5 mmol · L⁻¹ EDTA, pH 7.2) 50 °C 洗涤 30 min, Milli-Q 超纯水中漂洗, 空气干燥, 封片。用 Nikon Eclipse 80i 落射荧光显微镜进行 SRB 镜检, 计数发红色荧光的菌体为 SRB。采用 Nikon NIS Elements AR 荧光成像分析软件进行拍照和计数。

2 结果与分析

2.1 黄壤 pH 值、有机碳、C/S 比、粘粒和水分含量

黄壤 pH 值、有机碳、C/S 比、粘粒和水分含量的深度分布如图 2 所示。黄壤不同深度 pH 值介于 4.8~5.5, 2 个小流域黄壤剖面同一深度 pH 值相差

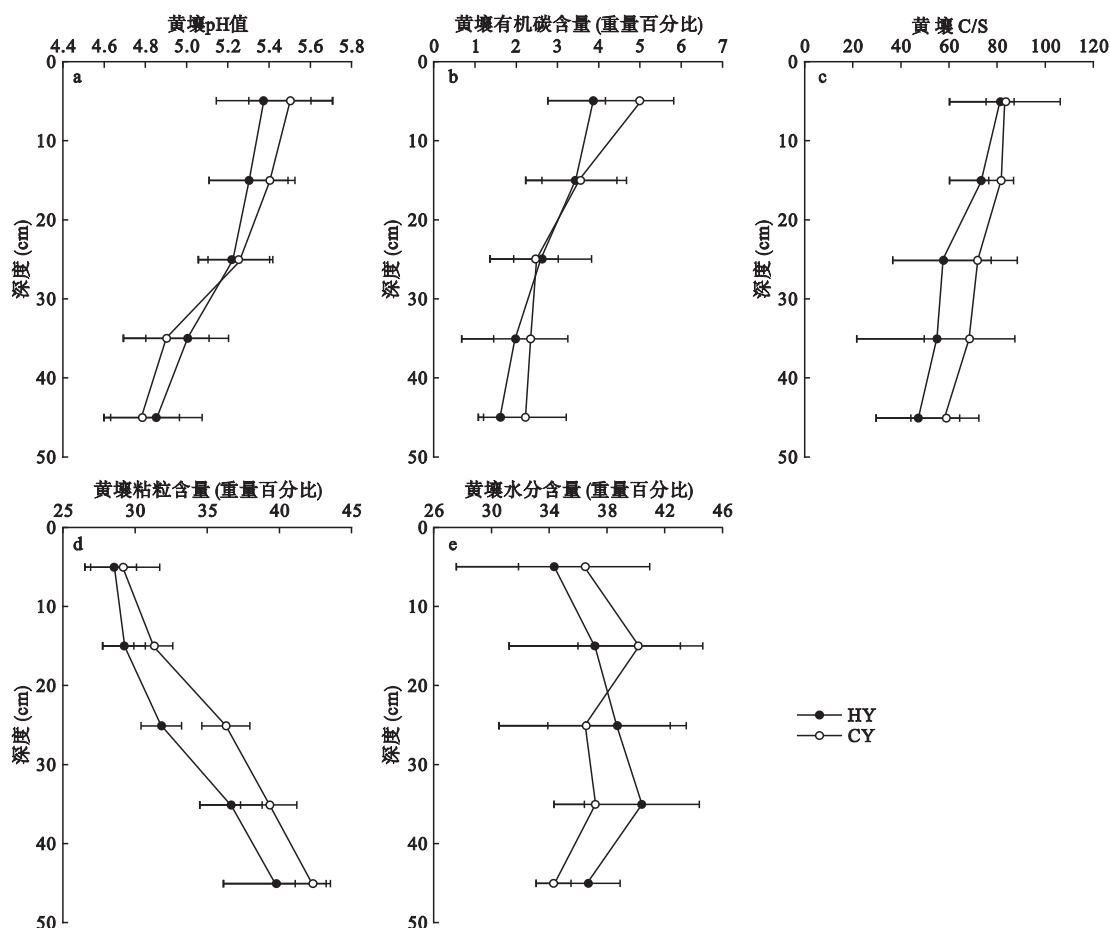


图2 黄壤剖面 pH 值、有机碳、C/S 比、粘粒和水分含量的深度分布

Fig.2 Changes in soil pH values, organic carbon content, C/S ratios, clay content, and soil water content with depth increments in yellow soil profiles

数据点代表同一小流域采样的剖面所有相同深度样品的平均值; HY 表示后寨河小流域黄壤, CY 表示陈旗小流域黄壤; 误差表示数据平均值的标准。

不大,且均随剖面深度加深逐渐降低。黄壤不同深度有机碳含量(重量百分比)介于1.7~4.9,2个小流域剖面同一深度有机碳含量比例相差不大,且均随着剖面深度加深而降低。黄壤不同深度C/S介于44.5~82.3,陈旗小流域黄壤剖面C/S略高于后寨河小流域黄壤剖面同一深度的C/S,2个小流域黄壤剖面中C/S均随着剖面深度加深逐渐降低。黄壤不同深度粘粒含量(重量百分比)介于28.3~43.6,陈旗小流域黄壤剖面粘粒含量略高于后寨河小流域黄壤剖面同一深度的粘粒含量,2个小流域黄壤剖面中粘粒含量均随着剖面深度加深而有增大的趋势。黄壤不同深度水分含量(重量百分比)介于33.9~41.1,2个小流域剖面同一深度水分含量比例相差不大,且均随着剖面深度加深呈现先增大后降低的趋势。

2.2 黄壤各形态硫含量

黄壤总硫、SO₄²⁻-S、TRIS 和有机硫含量深度分

布见图3。西南喀斯特地区长期酸沉降导致黄壤总硫和SO₄²⁻-S含量明显高于未受酸沉降影响地区土壤的总硫和SO₄²⁻-S含量(Zhou et al., 1999; Wang et al., 2011)。在所采样剖面的各个深度,有机硫都是黄壤硫的主要形态,有机硫含量占总硫含量的比例为77.4%~87.2%,这与其他地区土壤硫形态的研究结果基本一致(Stanko-Golden et al., 1994; Novák et al., 2003)。总体来看,剖面表层有机硫占总硫比例较高,表层向下至中层,有机硫含量逐渐降低,但剖面底层有机硫含量较上一层明显增大。SO₄²⁻-S是黄壤主要的无机硫形态,占总硫的比例介于5.3%~15.3%。剖面表层SO₄²⁻-S含量较高,表层至中层逐渐降低,中层以下至底层SO₄²⁻-S含量又明显增大。TRIS含量占总硫含量的比例较小,介于3.9%~13.6%。2个小流域黄壤TRIS含量均在剖面次表层深度达到峰值。

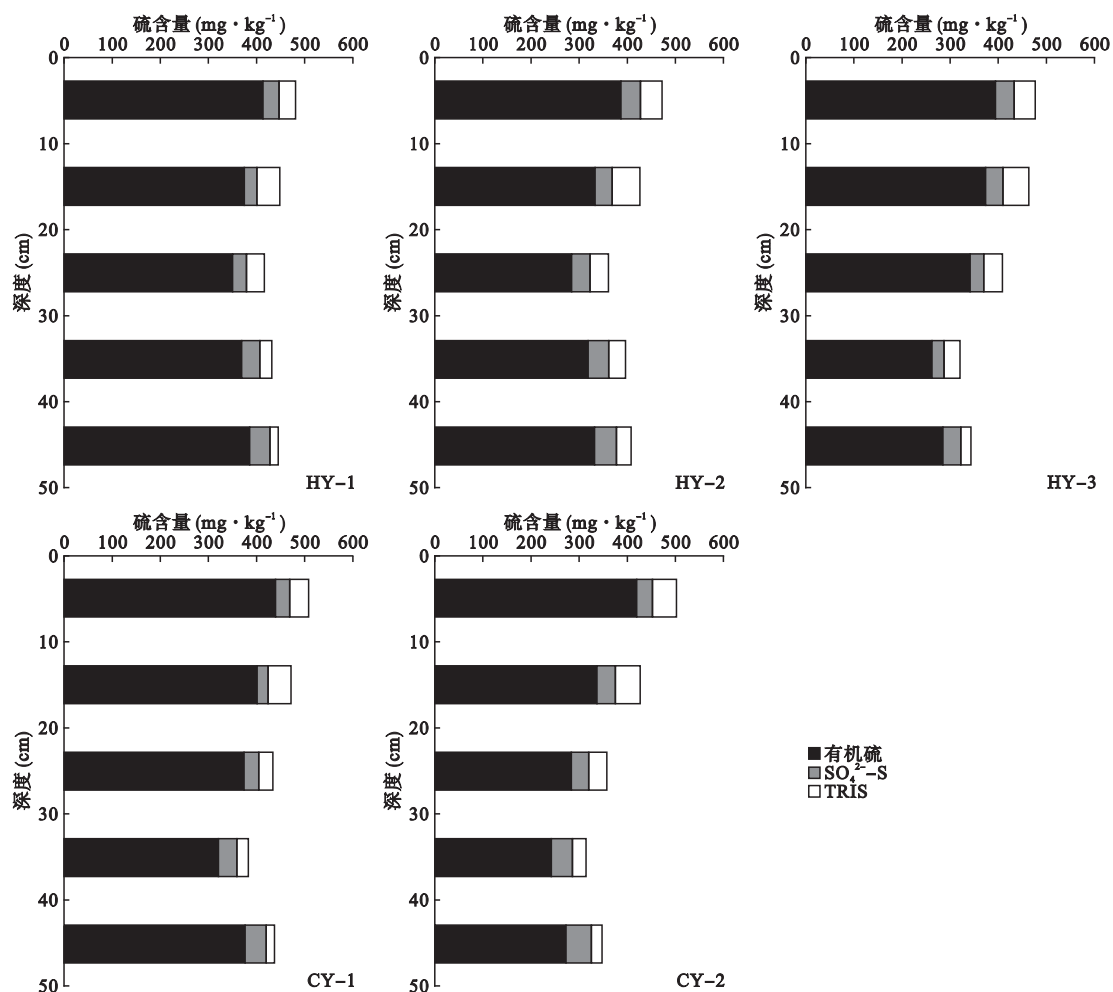


图3 黄壤硫含量的深度分布特征
Fig.3 Depth distributions of sulfur contents in yellow soil profiles
总硫=有机硫+SO₄²⁻-S+TRIS。

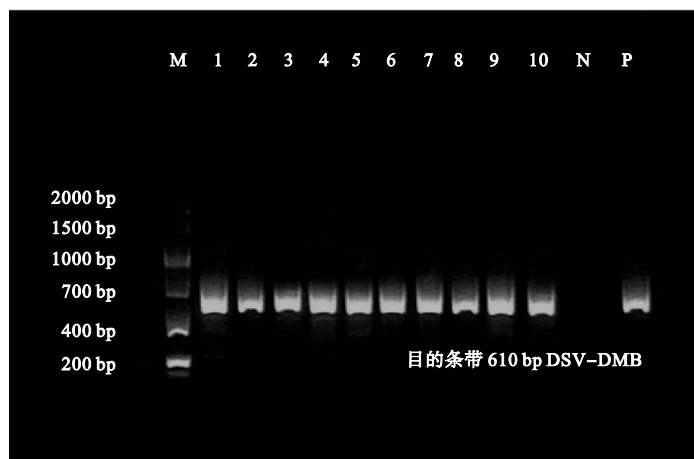


图4 普定县后寨河小流域黄壤样品中脱硫弧菌属-脱硫微菌属的 PCR 扩增代表图

Fig.4 Representative PCR amplifications of *Desulfovibrio-Desulfomicrobium* in yellow soil samples of Houzaihe small catchment of Puding County

目的条带为 610bp, M 为 DNA 标志物, 1~10 代表不同深度黄壤样品, N 代表阴性控制, P 代表阳性控制。

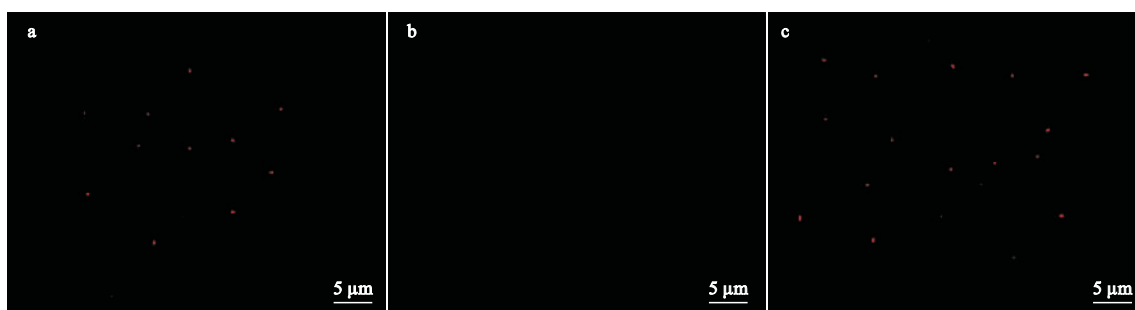


图5 普定县后寨河小流域黄壤样品与 SRB385 探针杂交细胞的荧光原位杂交代表图

Fig.5 Representative FISH analyses conducted using probe SRB 385 in yellow soil samples of Houzaihe small catchment of Puding County

a. 阳性控制菌株, b. 阴性控制菌株, c. 黄壤样品。

2.3 SRB 类群和数量在黄壤中的分布

利用 PCR 方法扩增 SRB 六大类群,结果显示,黄壤中只检出类群 6,即脱硫弧菌属-脱硫微菌属(图 4)。脱硫肠菌属、脱硫叶菌属、脱硫球菌属-脱硫线菌属-脱硫八叠菌属、脱硫杆菌属和脱硫细菌属均没有检出。后寨河和陈旗小流域黄壤剖面的各个深度均检出了脱硫弧菌属-脱硫微菌属。

荧光原位杂交(FISH)是一种免培养的检测具有特定环境功能细菌的技术,被广泛用于分析自然生境中的 SRB 数量(Purdy *et al.*, 1997; Icggen *et al.*, 2006)。本研究 SRB 的 FISH 检测结果如图 5 所示。FISH 分析 SRB 数量结果显示,黄壤剖面中 SRB 数量介于 $0.35 \times 10^4 \sim 3.37 \times 10^4$ 个 $\cdot g^{-1}$ 湿土(图 6)。在 2 个小流域黄壤剖面中,SRB 数量的分布具有相似性,除了 HY-2,其余所有剖面 SRB 数量均在次表层出现最大值。从剖面次表层至底层 SRB 数量急剧

降低,在剖面底层 SRB 数量最低(相比次表层 SRB 数量最大值低了一个数量级)。

3 讨论

3.1 异化硫酸盐还原与 TRIS 形成

在没有被人类采矿行为影响的土壤环境,TRIS 的主要来源是 SRB 驱动的 SO_4^{2-} 异化还原反应(Fossing *et al.*, 1989; Krouse *et al.*, 1991)。2 个小流域黄壤剖面不同深度只检出了脱硫弧菌属-脱硫微菌属,这指示脱硫弧菌属-脱硫微菌属是黄壤中 SRB 的优势类群。已有研究表明,脱硫弧菌属-脱硫微菌属也是水稻土和不同类型湖泊(湿地)沉积物中 SRB 的主要类群(Wind *et al.*, 1995; Hines *et al.*, 1999; Stubner, 2004)。这些研究表明,脱硫弧菌属-脱硫微菌属相比其他 SRB 类群具有更强的适应环境条件的能力,这可能与其具有更复杂多样的系统

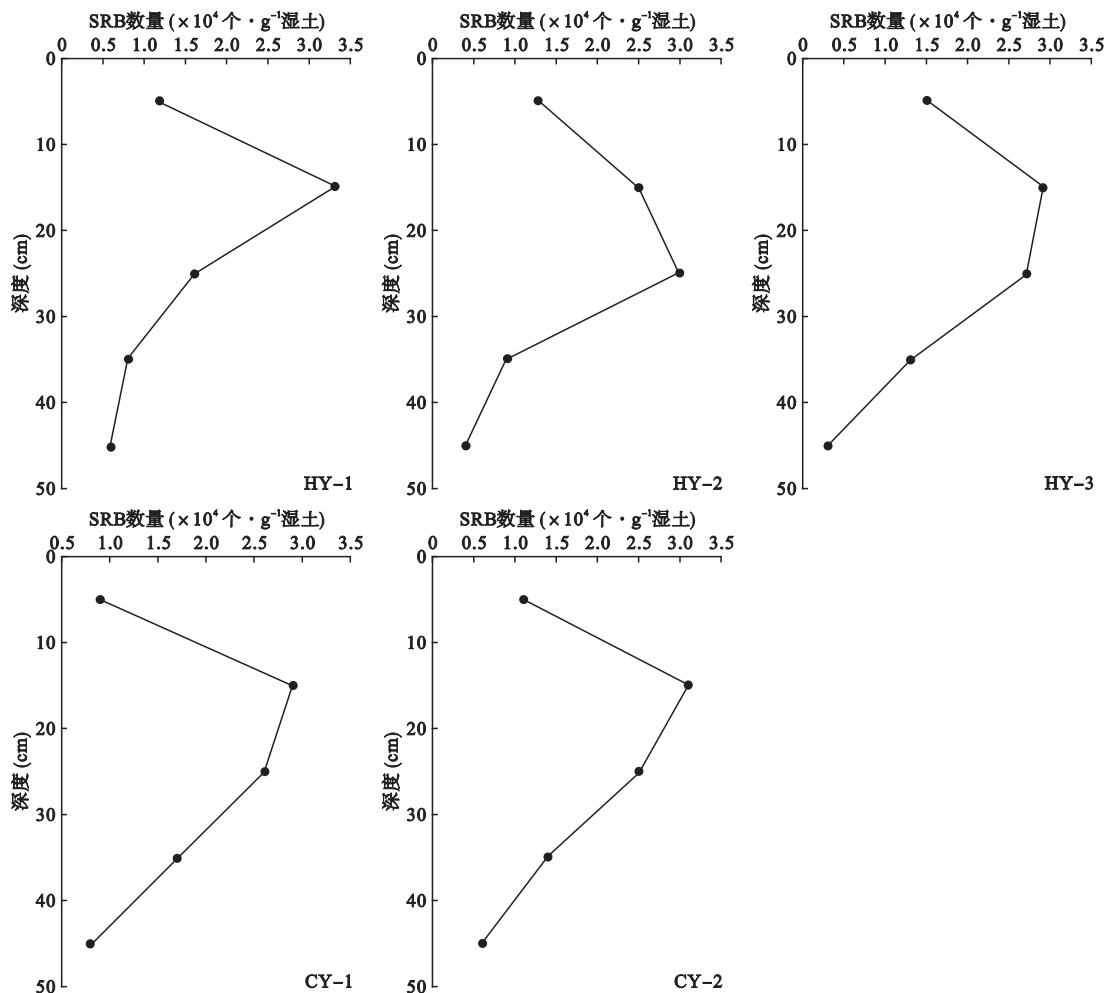


图 6 黄壤剖面 SRB 数量的深度分布特征
Fig.6 Depth distributions of SRB quantity in yellow soil profiles

进化途径有关 (Devereux *et al.*, 1989; Içgen *et al.*, 2006)。SRB 数量在次表层 (HY-1、HY-3、CY-1 和 CY-2 剖面) 和中间层 (HY-2 剖面) 中达到最大值 (图 6)。SRB 数量的深度分布指示剖面次表层最适于 SRB 发育。从图 2 和图 3 可以看出, 剖面次表层 $SO_4^{2-}-S$ 含量和有机碳含量均较高, 并且次表层较表层具有更好的厌氧环境, 这些环境条件可能导致剖面次表层出现 SRB 数量最大值 (Tkebuchava *et al.*, 2004)。图 7 显示了黄壤剖面中 SRB 数量、 $SO_4^{2-}-S$ 含量和 TRIS 含量的深度分布特征。黄壤不同剖面中 TRIS 含量均在次表层达到最大值, 并且总体上次表层和中间层 TRIS 含量与 SRB 数量增大的深度对应 $SO_4^{2-}-S$ 含量降低的深度。这些分布特征指示随剖面深度加深而持续进行的 SO_4^{2-} 异化还原反应, 并且 TRIS 是主要产物。

土壤中 SO_4^{2-} 异化还原反应的发生主要是厌氧 SRB 驱动的。黄壤中存在厌氧的生境可能与以下因

素有关。首先, 黄壤样品采集时间为 2013 年 6 月末, 时值当地雨季, 以潮湿阴雨的天气为主。剖面表层样品的采集深度为从土壤表层向下约 5 cm 深度, 样品相对湿度较大 (图 2e)。雨季潮湿阴雨的天气条件可能导致黄壤剖面表层以下深度形成厌氧的生境条件, 使得厌氧的硫酸盐还原菌驱动的 SO_4^{2-} 异化还原反应得以发生。其次, 研究表明, 某些硫酸盐还原菌 (如脱硫微菌属) 不是严格厌氧的细菌 (Minz *et al.*, 1999; Jonkers *et al.*, 2005), 这可能导致黄壤中不具备严格厌氧条件的生境中发生 SO_4^{2-} 的异化还原反应, 尽管反应进行的速率不大。最后, 一些硫酸盐还原菌可以通过不同的方式制造缺氧甚至厌氧的小生境, 例如形成金属硫化物的聚合物颗粒 (Fukui *et al.*, 1990), 这些颗粒通常形成于有机物颗粒附近, 在这个小生境内由于有机质的氧化分解而导致溶解氧被快速利用消耗掉 (Wind *et al.*, 1995)。在喀斯特小流域相对潮湿的黄壤中, 腐烂的植被根系和枯

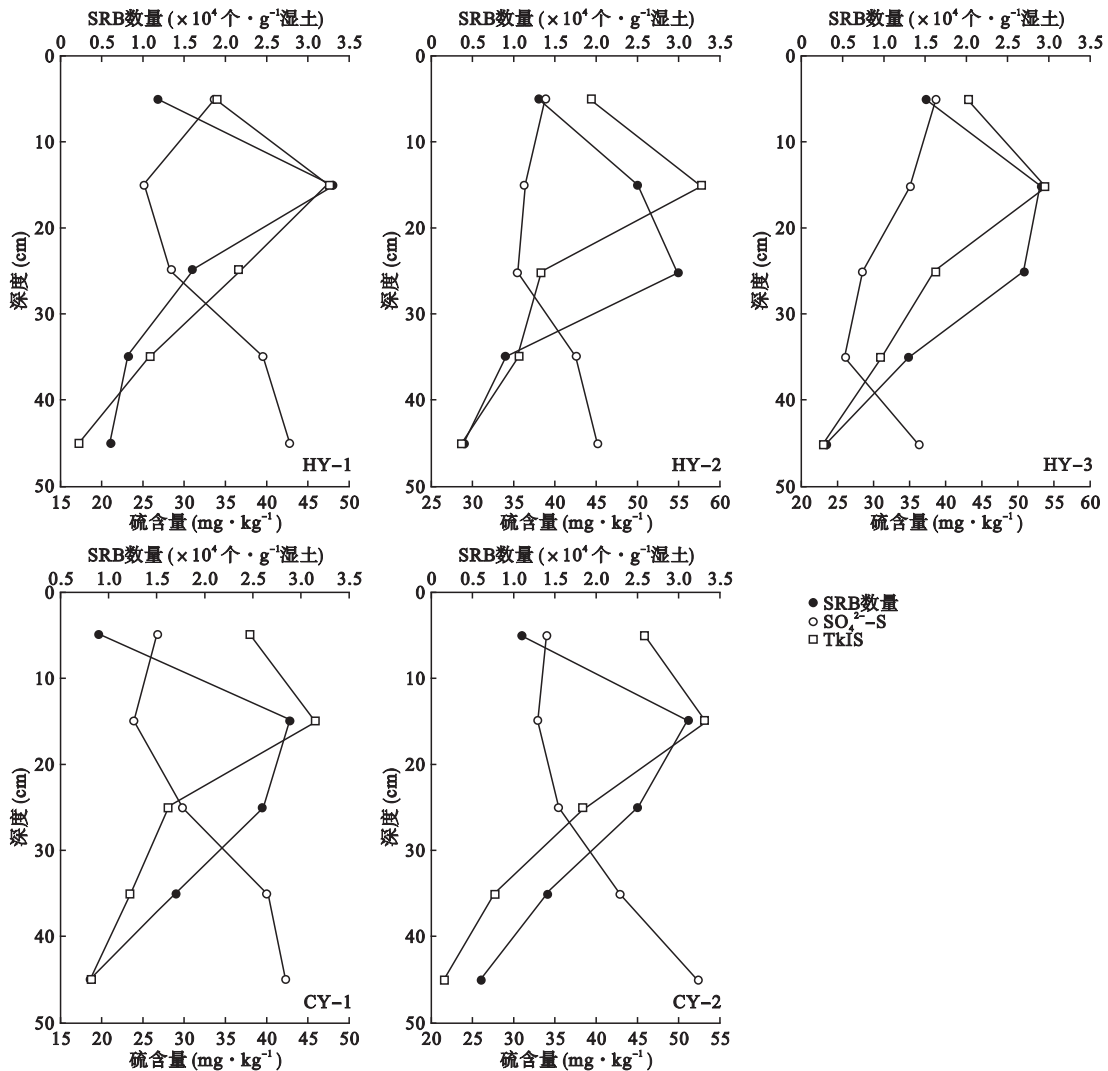


图7 黄壤剖面 SRB 数量、 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 含量和 TRIS 含量的深度分布特征

Fig.7 Depth distributions of SRB quantity, $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ contents and TRIS contents in yellow soil profiles

枝落叶残体可以提供有机质氧化分解的生境条件, 则可能在有机质快速分解的局部小生境内存在 SO_4^{2-} 异化还原反应。

土壤基岩风化也是 TRIS 的可能来源之一。但 SRB 类群和数量的深度分布, 以及 TRIS 含量与 SRB 数量增大的深度总体上对应 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 含量降低的深度, 这些分布特征指示黄壤剖面中存在 SRB 驱动的 SO_4^{2-} 异化还原反应, 并且 TRIS 是 SO_4^{2-} 异化还原反应的主要产物。黄壤剖面中 TRIS 含量与 SRB 数量在次表层和中间层达到最大值, 而从表层至中间层 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 含量有降低的趋势, 指示黄壤剖面次表层和中间层深度 SRB 活性最大, 导致 SO_4^{2-} 被大量还原形成 TRIS。黄壤剖面中有机碳含量随剖面加深而逐渐降低 (图 2b), 这可能导致剖面深层较低的 SO_4^{2-} 异化还原反应速率 (Tkebuchava *et al.*, 2004),

进而导致深层 TRIS 含量降低。

3.2 有机硫矿化与迁移

黄壤剖面中有机硫是土壤硫的主要形态。从黄壤剖面表层至中层, 总硫和有机硫含量逐渐降低 (图 3), 类似的现象在中欧一些地区土壤中也有发现, 这主要与有机硫的持续矿化有关 (Mörth *et al.*, 2005; Novák *et al.*, 2005)。Norman 等 (2002) 对森林土壤的孵育-提取实验表明, 土壤有机硫的矿化包含两步反应。第一步反应是碳键硫转化为有机硫酸盐 (又称酯键硫), 有机硫酸盐不稳定, 易随土壤渗流水淋溶迁移。第二步反应是有机硫酸盐的快速水解形成次生的无机 SO_4^{2-} , 这些 SO_4^{2-} 可以通过淋溶而向下迁移。从图 3 可以看出, 有机硫含量从黄壤剖面中层至底层有增加的趋势, 这可能与有机硫硫酸盐在黄壤剖面中的迁移有关。酸沉降条件下酸性黄

壤剖面 (pH 值 < 5.6) 中有机硫酸盐及其水解产物 SO_4^{2-} 的淋溶强烈,这就可能导致有机硫酸盐在黄壤剖面中存在明显的迁移过程 (Tan *et al.*, 1994; Prietzel *et al.*, 2004)。基于上述分析,黄壤剖面底层有机硫含量较上一层明显增大,指示了黄壤强烈淋溶作用下未完全水解的有机硫酸盐迁移的过程。因为有机硫是黄壤硫存在的主要形态,这也导致了剖面底层总硫含量较上一层有所增大 (图 3)。

3.3 SO_4^{2-} 的生物滞留、迁移与累积

SO_4^{2-} 是植物和土壤生物吸收利用硫元素的主要形态, SO_4^{2-} 经同化还原后形成有机硫化物。黄壤剖面中生物同化吸收后剩余的 SO_4^{2-} 可在 SRB 作用下发生异化还原反应生成 TRIS (Fossing *et al.*, 1989; Krouse *et al.*, 1991)。除了 SO_4^{2-} 的生物滞留, SO_4^{2-} 的吸附/解吸和淋溶迁移也是影响 SO_4^{2-} -S 含量深度分布的主要过程。土壤环境中 SO_4^{2-} 的吸附/解吸主要受 pH 值的影响 (Stanko-Golden *et al.*, 1994; Prietzel *et al.*, 2004)。黄壤剖面不同深度 pH 值介于 4.8~5.5, 同时, 相比石灰土, 黄壤中粘粒含量较高 (Zhang *et al.*, 2014) 在黄壤剖面表层至中层深度, SO_4^{2-} 经生物滞留 (同化吸收形成有机硫和异化还原形成 TRIS) 后剩余的部分被粘土矿物或者铁铝的氢氧化物吸附, 这会导致等当量的先前吸附的 SO_4^{2-} 被解吸下来, 这部分 SO_4^{2-} 经淋溶向下迁移 (Prietzel *et al.*, 2004; Larssen *et al.*, 2011)。有机硫矿化产生的次生 SO_4^{2-} 也可伴随解吸下来的 SO_4^{2-} 一起迁移。 SO_4^{2-} 的迁移伴随着等当量的碱性阳离子的流失 (Kirchner *et al.*, 1995; Driscoll *et al.*, 2003), 导致土壤 pH 值逐渐降低 (图 2a)。 SO_4^{2-} 的生物滞留和迁移导致剖面表层至中层 SO_4^{2-} -S 含量逐渐降低 (图 3)。在酸沉降条件下, 黄壤剖面中 SO_4^{2-} 的淋溶迁移进一步降低了土壤 pH 值 (图 2a), 同时粘粒含量随剖面加深逐渐增大 (图 2d) 这导致深层土壤吸附 SO_4^{2-} 的能力增大 (Stanko-Golden *et al.*, 1994; Prietzel *et al.*, 2004) 因此, 大部分迁移的 SO_4^{2-} 被吸附并累积在深层土壤, 这导致黄壤剖面中层至底层 SO_4^{2-} -S 含量明显增大 (除了 HY-3 剖面, 其余黄壤剖面底层 SO_4^{2-} -S 含量达大了最大值)。黄壤剖面底层 SO_4^{2-} 的吸附和累积减少了 SO_4^{2-} 和碱性阳离子向下迁移的通量, 也延缓了土壤 pH 值的降低和土壤酸化进程。

4 结 论

有机硫是黄壤主要的硫形态。黄壤剖面表层至中层总硫和有机硫含量降低与有机硫矿化有关, 剖面中层至底层总硫和有机硫含量增大与有机硫组分的迁移有关。黄壤中检出脱硫弧菌属-脱硫微菌属类群。黄壤剖面中 TRIS 含量与 SRB 数量增大的深度对应 SO_4^{2-} -S 含量降低的深度, 指示随剖面深度加深而持续进行的 SO_4^{2-} 异化还原反应, 并且 TRIS 是主要产物。 SO_4^{2-} 是黄壤主要的无机硫形态。剖面表层至中层生物滞留 (同化吸收形成有机硫和异化还原形成 TRIS) 后剩余 SO_4^{2-} 的吸附导致先前吸附 SO_4^{2-} 的解吸而向下迁移。 SO_4^{2-} 异化还原和淋溶迁移导致剖面表层至中层 SO_4^{2-} -S 含量降低。酸沉降条件下剖面中层至底层 SO_4^{2-} 的迁移降低土壤 pH 值, 同时粘粒含量的增大也有利于 SO_4^{2-} 吸附, 致使深层土壤吸附 SO_4^{2-} 的能力增大, 因此, 剖面中向下迁移的 SO_4^{2-} 被重新吸附并累积在底层, 导致底层 SO_4^{2-} -S 含量增大。除了 SO_4^{2-} 的生物滞留, SO_4^{2-} 吸附也是黄壤主要的硫滞留机制。酸沉降下 SO_4^{2-} 在黄壤剖面中的吸附、解吸和淋溶迁移可引起土壤酸化。值得关注的是, 酸沉降输入的 SO_4^{2-} 以有机硫和吸附态 SO_4^{2-} 滞留在黄壤中, 则在硫的年沉降速率大幅降低后, 在较长时期内, 黄壤中有机硫的矿化和吸附态 SO_4^{2-} 的解吸可能释放大量的 SO_4^{2-} 进入地表和地下水体, 由此引发的诸如土壤理化性质变化和水体化学组成改变等相关的环境效应值得关注。

参考文献

- 刘世全, 张 明. 1997. 区域土壤地理. 成都: 四川大学出版社.
- Alewel C, Novák M. 2001. Spotting zones of dissimilatory sulfate reduction in a forested catchment: The ^{34}S - ^{35}S approach. *Environmental Pollution*, **112**: 369-377.
- Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. 1995. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, **59**: 143-169.
- Backlund K, Boman A, Fröjdö S, *et al.* 2005. An analytical procedure for determination of sulfur species and isotopes in boreal acid sulfate soils and sediments. *Agricultural and Food Science*, **14**: 70-82.
- Bahr M, Crump BC, Klepac-Ceraj V, *et al.* 2005. Molecular-characterization of sulfate-reducing bacteria in a New England salt marsh. *Environmental Microbiology*, **7**: 1175-

- 1185.
- Baldwin DS , Mitchell A. 2012. Impact of sulfate pollution on anaerobic biogeochemical cycles in a wetland sediment. *Water Research* , **46**: 965–974.
- Castro HF , Williams NH , Ogram A. 2000. Phylogeny of sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* , **31**: 1–9.
- Christensen H , Hansen M , Sørensen J. 1999. Counting and size classification of active soil bacteria by fluorescence *in situ* hybridization with an rRNA oligonucleotide probe. *Applied and Environmental Microbiology* , **65**: 1753–1761.
- Daly K , Sharp RJ , McCarthy AJ. 2000. Development of oligonucleotide probes and PCR primers for detecting phylogenetic subgroups of sulfate-reducing bacteria. *Microbiology* , **146**: 1693–1705.
- Devereux R , Delaney M , Widdel F , et al. 1989. Natural relationships among sulfate-reducing eubacteria. *Journal of Bacteriology* , **171**: 6689–6695.
- Driscoll CT , Driscoll KM , Mitchell MJ , et al. 2003. Effects of acidic deposition on forest and aquatic ecosystems in New York State. *Environmental Pollution* , **123**: 327–336.
- Fossing H , Jørgensen BB. 1989. Measurement of bacterial sulfate reduction in sediments: Evaluation of a single-step chromium reduction method. *Biogeochemistry* , **8**: 205–222.
- Fukui M , Takii S. 1990. Survival of sulfate-reducing bacteria in oxic surface sediment of a seawater lake. *FEMS Microbiology Letters* , **73**: 317–322.
- Guo J , Vogt RD , Zhang X , et al. 2006. Aluminum mobilization from acidic forest soils in Leigongshan area , Southwestern China: Laboratory and field study. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* , **51**: 321–328.
- Hall GEM , Pelchat JC , Loop J. 1988. Separation and recovery of various sulphur species in sedimentary rocks for stable sulphur isotopic determination. *Chemical Geology* , **67**: 35–45.
- Hao OJ , Chen JM , Huang L , et al. 1996. Sulfate-reducing bacteria. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* , **26**: 155–187.
- Hines ME , Evans RS , Sharak-Genthner BR , et al. 1999. Molecular phylogenetic and biogeochemical studies of sulfate-reducing bacteria in the rhizosphere of *Spartina alterniflora*. *Applied and Environmental Microbiology* , **65**: 2209–2216.
- Icgen B , Harrison S. 2006. Identification of population dynamics in sulfate-reducing consortia on exposure to sulfate. *Research in Microbiology* , **157**: 922–927.
- Jonkers HM , Koh IO , Behrend P , et al. 2005. Aerobic organic carbon mineralization by sulfate-reducing bacteria in the oxygen-saturated photic zone of a hypersaline microbial mat. *Microbial Ecology* , **49**: 291–300.
- Kirchner JW , Lydersen E. 1995. Base cation depletion and potential long-term acidification of Norwegian catchments. *Environmental Science & Technology* , **29**: 1953–1960.
- Kleikemper J , Pelz O , Schroth MH , et al. 2002. Sulfate reducing bacterial community response to carbon source amendments in contaminated aquifer microcosms. *FEMS Microbiology Ecology* , **42**: 109–118.
- Krouse HR , Grinenko VA. 1991. Stable Isotopes: Natural and Anthropogenic Sulphur in the Environment. England: John Wiley & Sons.
- Larssen T , Xiong JL , Vogt RD , et al. 1998. Studies of soils , soil water and stream water at a small catchment near Guiyang , China. *Water , Air , & Soil Pollution* , **101**: 137–162.
- Larssen T , Duan L , Mulder J. 2011. Deposition and leaching of sulfur , nitrogen and calcium in four forested catchments in China: Implications for acidification. *Environmental Science & Technology* , **45**: 1192–1198.
- Larssen T , Lydersen E , Tang D , et al. 2006. Acid rain in China. *Environmental Science & Technology* , **40**: 418–425.
- Likens GE , Driscoll CT , Buso DC , et al. 2002. The biogeochemistry of sulfur at Hubbard Brook. *Biogeochemistry* , **60**: 235–316.
- Liao B , Larssen T , Seip HM. 1998. Response of five Chinese forest soils to acidic inputs: Batch experiment. *Geoderma* , **86**: 295–316.
- Midwood AJ , Boutton TW. 1998. Soil carbonate decomposition by acid has little effect on $\delta^{13}\text{C}$ of organic matter. *Soil Biology & Biochemistry* , **30**: 1301–1307.
- Minz D , Flax J , Green SJ , et al. 1999. Diversity of sulfate-reducing bacteria in oxic and anoxic regions of a microbial mat characterized by comparative analysis of dissimilatory sulfide reductase genes. *Applied and Environmental Microbiology* , **65**: 4666–4671.
- Mörth CM , Torssander P , Kjønnes OJ , et al. 2005. Mineralization of organic sulfur delays recovery from anthropogenic acidification. *Environmental Science & Technology* , **39**: 5234–5240.
- Norman AL , Giesemann A , Krouse HR , et al. 2002. Sulphur isotope fractionation during sulphur mineralization: Results of an incubation-extraction experiment with a Black Forest soil. *Soil Biology & Biochemistry* , **34**: 1425–1438.
- Novák M , Buzek F , Harrison AF , et al. 2003. 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. *Applied Geochemistry* , **18**: 765–779.
- Novák M , Kirchner JW , Fottova D , et al. 2005. Isotopic evidence for processes of sulfur retention/release in 13 forested catchments spanning a strong pollution gradient (Czech Republic , central Europe) . *Global Biogeochemical Cycles* , **19** , doi: 10.1029/2004GB002396.
- Prietzl J , Mayer B , Krouse HR , et al. 1995. Transformation of simulated wet sulfate deposition in forest soils assessed by a core experiment using stable sulfur isotopes. *Water , Air , and Soil Pollution* , **79**: 243–260.
- Prietzl J , Mayer B , Legge AH. 2004. Cumulative impact of 40 years of industrial sulfur emissions on a forest soil in west-central Alberta (Canada) . *Environmental Pollution* , **132**: 129–144.
- Purdy KJ , Nedwell DB , Embley TM , et al. 1997. Use of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes to investigate the oc-

- currence and selection of sulfate-reducing bacteria in response to nutrient addition to sediment slurry microcosms from a Japanese estuary. *FEMS Microbiology Ecology*, **24**: 221–234.
- Stanko-Golden KM, Swank WT, Fitzgerald JW. 1994. Factors affecting sulfate adsorption, organic sulfur formation, and mobilization in forest and grassland spodosols. *Biology and Fertility of Soils*, **17**: 289–296.
- Stubner S. 2004. Quantification of gram-negative sulphate reducing bacteria in rice field soil by 16S rRNA gene targeted real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods*, **57**: 219–230.
- Tan Z, McLaren RG, Cameron KC. 1994. Forms of sulfur extracted from field moist, air-dried and conditional soils. *Australian Journal of Soil Research*, **32**: 823–834.
- Tkebuchava LF, Komarova TI, Irinskii VV, et al. 2004. Carbon-oxidizing and sulfate-reducing bacteria in mozhaisk reservoir soils. *Water Resources*, **31**: 560–564.
- Wang MY, Liang XB, Yuan XY, et al. 2008. Analyses of the vertical and temporal distribution of sulfate-reducing bacteria in Lake Aha (China). *Environmental Earth Sciences*, **54**: 1–6.
- Wang ZY, Zhang XS, Zhang Y, et al. 2011. Accumulation of different sulfur fractions in Chinese forest soil under acid deposition. *Journal of Environmental Monitoring*, **13**: 2463–2470.
- Wind T, Conrad R. 1995. Sulfur compounds, potential turnover of sulfate and thiosulfate, and numbers of sulfate-reducing bacteria in planted and unplanted paddy soil. *FEMS Microbiology Ecology*, **18**: 257–266.
- Zhang W, Liu CQ, Wang ZL, et al. 2014. Speciation and isotopic composition of sulfur in limestone soil and yellow soil in karst areas, southwest China: Implications for different responses to acid deposition. *Journal of Environmental Quality*, **43**: 809–819.
- Zhang W, Wang ZL, Wang MY. 2012. Analyses of the vertical and temporal distributions of sulfate-reducing bacteria in Lake Erhai, Southwest China. *Research Journal of Chemistry and Environment*, **16**: 44–51.
- Zhao D, Xiong J, Xu Y, et al. 1988. Acid rain in southwestern China. *Atmospheric Environment*, **22**: 349–358.
- Zhou W, Li ST, Wang H, et al. 1999. Mineralization of organic sulfur and its importance as a reservoir plant-available sulfur in upland soils of north China. *Biology and Fertility of Soils*, **30**: 245–250.
- Zhu SF, Liu CQ. 2006. Vertical patterns of stable carbon isotope in soils and particle-size fractions of karst areas, Southwest China. *Environmental Earth Sciences*, **50**: 1119–1127.

作者简介 张 伟,男,1980年生,博士,副教授,主要研究方向为环境与生物地球化学。E-mail: zhangwei8086@163.com
责任编辑 魏中青
