

刘渝港, 贺秋芳, 沈立成, 等. 洞穴溶解有机质组分和循环过程的季节变化特征[J]. 中国岩溶, 2023, 42(3): 456-471.

DOI: 10.11932/karst2023y23

# 洞穴溶解有机质组分和循环过程的季节变化特征

刘渝港, 贺秋芳, 沈立成, 范佳鑫

(西南大学地理科学学院, 岩溶环境重庆市重点实验室, 重庆 400715)

**摘要:** 溶解有机质(DOM)是岩溶碳汇的关键部分和重要的碳源, 但是对于DOM在岩溶含水层中的性质和代谢过程的研究仍然有限。本研究以重庆雪玉洞地下河为例, 对洞穴有机碳的来源、组成以及微生物作用对季节补给源变化的响应进行探讨, 为进一步了解微生物介导的有机碳转化过程提供研究基础。运用三维荧光EEM研究水体有色溶解有机质(CDOM)的性质和组分并反演地下河水中有机质的来源和组成, 结合地下河水水化学特征和16S rDNA细菌群落及功能多样性的季节变化特征, 以了解季节性补给源的变化对洞穴地下水DOM输入和性质的影响。结果发现, 雪玉洞地下水以微生物内源有机质为主(61%~77%), 降雨是引起岩溶给地下河水中CDOM光谱特征变化的最重要因素, 雨季外源有机质输入增加, 地下河水中外源有机碳组分含量和芳香性、腐殖酸类物质增加, 细菌群落多样性和代谢功能基因随之变化, 洞穴中向外输出的外源有机碳增加; 旱季地下水滞留时间和蒸发作用增强, 因而微生物对有机质的代谢降解过程更加充分, 向外输出的有机碳以内源为主。本研究有助于增加对岩溶洞穴地下水系统中微生物对有机碳转化过程的理解。

**关键词:** 有色溶解有机质; 三维荧光光谱; 微生物; 岩溶洞穴; 地下水

**中图分类号:** X143; Q938.8 **文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-4810(2023)03-0456-16

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## 0 引言

溶解有机质(DOM, Dissolved organic matter)是水体中可溶解的有机物质, 主要由腐殖质、蛋白质等物质组成具有化学结构复杂的有机物混合物<sup>[1]</sup>。DOM是水环境中有机质的主要赋存形式, 700×10<sup>9</sup> t碳的DOM储存于海洋中, 陆地河流向海洋输送的DOM为0.2×10<sup>9</sup> t<sup>[1]</sup>。岩溶洞穴中, 由于缺乏阳光和植物光合作用, 有机碳来源少而且含量很低, 随水流输入的DOM是维持洞穴生态系统稳定的重要碳源<sup>[2-3]</sup>。洞穴中异养微生物将水体中可降解可溶解有机质(BODC, Biodegradable dissolved organic matter)

消耗殆尽, 引起有机质的降解重构和转化, 向难降解和腐殖化方向转变<sup>[4]</sup>。因而, 洞穴中微生物对有机质的重构作用是影响洞穴碳循环和惰性碳汇形成的关键因素。目前, 对洞穴微生物的研究大部分集中于细菌、真菌的多样性构成和分布, 以及微环境中微生物对环境因子的响应, 对整个洞穴中有机碳循环过程以及微生物群落的响应研究尚少。但是, 了解洞穴微生物群落和代谢对外源有机质的响应, 以及有机质成分变化引起的碳汇过程和效应是了解碳酸盐岩洞穴生态系统和碳循环过程的重要前提。

有色溶解有机质(CDOM, Colored dissolved organic matter)是DOM中可以发色的有机质基团,

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC0502306); 国家自然科学基金项目(41472321)

第一作者简介: 刘渝港(1997-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为岩溶作用与碳循环。E-mail: 1308782888@qq.com。

通信作者: 贺秋芳(1983-), 女, 高级实验师。E-mail: hqfeddy@swu.edu.cn。

收稿日期: 2021-12-11

大约占淡水水体 DOM 含量的 40%~60%<sup>[5-7]</sup>。降雨事件对岩溶碳汇具有激发效应, 是岩溶碳循环的重要影响因子<sup>[1, 8-13]</sup>。CDOM EEM 光谱特征变化是表征水体 DOM 组分、来源以及运移特征的重要方法<sup>[13-15]</sup>。目前对洞穴地下水的研究表明, 地下水中 CDOM 以类色氨酸和类酪氨酸为主, 其微生物源特征强烈<sup>[16-17]</sup>; 大部分的洞穴地下河系统都受到外源输入有机质的影响<sup>[9-11, 13, 18]</sup>。16S rDNA 高通量测序是目前常用的非培养性微生物检测方法, 可以比较全面的分析环境样品中的细菌群落多样性。Thompson 等在阿巴拉契亚岩溶洞穴与 Zhu 等在中国西南岩溶洞穴的研究表明中空气、地下水样本与岩石、沉积物样本的细菌分布存在明显的差异, 变形菌在地下水和空气样本中占主导地位, 而放线菌在岩石和沉积物样本中占主导地位<sup>[19-20]</sup>。细菌功能预测表明, 洞穴中存在参与碳循环的各种酶, 如核糖—双磷酸羧化酶、4-羟基丁基辅酶—A 脱水酶等<sup>[21-22]</sup>。但是, 外源有机质含量或成分变化引起的洞穴细菌多样性以及代谢过程变化尚未可知。

雪玉洞位于重庆市丰都县龙江峡谷中。CDOM 光谱特征反映出旱季雪玉洞中有机质组分主要为类蛋白质色氨酸和酪氨酸组分为主, 且存在十分显著的微生物作用<sup>[16]</sup>。但是, 雨季有机质输入和水—岩—气作用过程发生变化时, 微生物活动和有机质循环如何响应还需要进一步研究。本研究按季度采集雪玉洞最深处和洞口处的水样, 分析 CDOM EEM 光谱特征和有机质含量变化, 了解外源有机质的输入变化; 结合洞中 16S rDNA 高通量测序结果, 研究细菌群落多样性变化和代谢功能对外源有机质输入变化的响应。本研究结果对了解岩溶洞穴中碳循环的代谢过程以及有机碳汇的形成机制具有重要意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究点概况

雪玉洞 (29°43'20"-29°47'00"N, 107°43'0"-107°47'13"E) 位于重庆市丰都县龙河下游峡谷, 全长 1 643.97 m, 洞口海拔 233 m, 发育在川东平行岭谷方斗山背斜北西翼的下三叠系飞仙关组 (T<sub>3</sub>f) 薄至中厚层灰岩中, 岩层产状为 310°∠43°。洞穴顶板岩层厚 150~250 m, 上覆植被以常绿阔叶林和灌丛为主, 土壤厚度 0~50 cm<sup>[23]</sup>。采样点所处的雪玉洞地下河

长 1 294.05 m, 宽 3~6 m。

雪玉洞年均温 16.5 °C, 年均降水量 1 072 mm, 为典型亚热带湿润季风气候<sup>[16]</sup>。大气降水为洞内地下河唯一补给源, 受西南季风和东南季风的双重影响, 降水主要集中在每年的 4-10 月, 雪玉洞 4-9 月降雨量占全年的比例为 85%, 旱季降雨较少<sup>[16, 23]</sup>。

### 1.2 野外采样

按照降水量划分旱雨季, 每年的 10 月至次年 4 月为雪玉洞地区的旱季, 5 月至 9 月为雨季。于 2018 全年每月采集雪玉洞地下河水样, 从地下河最上游处至洞口水池分布有四个采样点, 分别为 R1, 以及 R2, R3 和 R4, 采样点分布见图 1。

用酸洗聚乙烯瓶采集水样各 100 mL 用于测试阴、阳离子, 其中阳离子样品采集后立即加入 1:1 HNO<sub>3</sub> 酸化以防止阳离子吸附。用密封塑料离心管采集水样 10 mL 用于检测稳定同位素, 采样中排除气泡。用在 300 °C 灼烧 3 h 的棕色玻璃瓶采集水样 50 mL 用于测试 TOC, 另外采集使用 0.22 μm 醋酸纤维膜过滤过的水样各 50 mL 用于测试 DOC 和 CDOM 光谱特征。使用 0.45 μm 无菌滤膜过滤地下水 2 L, 收集滤膜用于 16S rDNA 高通量测序。滤膜冷藏转移至 -20 °C 冰箱, 并于一周内送样测序。

### 1.3 野外和实验室分析检测

水体的 pH、水温 (T)、溶解氧 (DO)、电导率 (SPC)、溶解性固体总量 (TDS) 使用德国的多参数水质分析仪 (WTW3430) 现场测定, 精度为 0.01、0.01 °C、0.01 mg·L<sup>-1</sup>、0.1 μS·cm<sup>-1</sup>、0.1。HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 和 Ca<sup>2+</sup> 使用德国 Merck 公司试剂盒现场测定, 精度 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> 和 2 mg·L<sup>-1</sup>, 重复滴定 2~3 次, 平均误差 <5%。

Mg<sup>2+</sup>、Na<sup>2+</sup>、K<sup>+</sup> 等阳离子使用 ICP-OES (Optima 2100DV, Perkin-Elmer, 美国) 测定; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Cl<sup>-</sup> 等阴离子使用 Aquion 离子色谱仪测定, 精度为 0.01 mg·L<sup>-1</sup>, 分析误差 <5%; 总有机碳 (TOC)、溶解性有机碳 (DOC) 使用碳氮分析仪测定 (MultiN/C3100, Analytik Jena AG, 德国, 精度为 0.001 mg·L<sup>-1</sup>)。以上测试工作均在西南大学地球化学与同位素实验室完成。<sup>13</sup>C<sub>DIC</sub> 送样至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使用元素分析仪结合同位素质谱仪 (EAIRMS), 气体用 Gas Bench II 连接 Delta V Plus 气体稳定同位素质谱仪 (Gas bench-IRMS) 测试

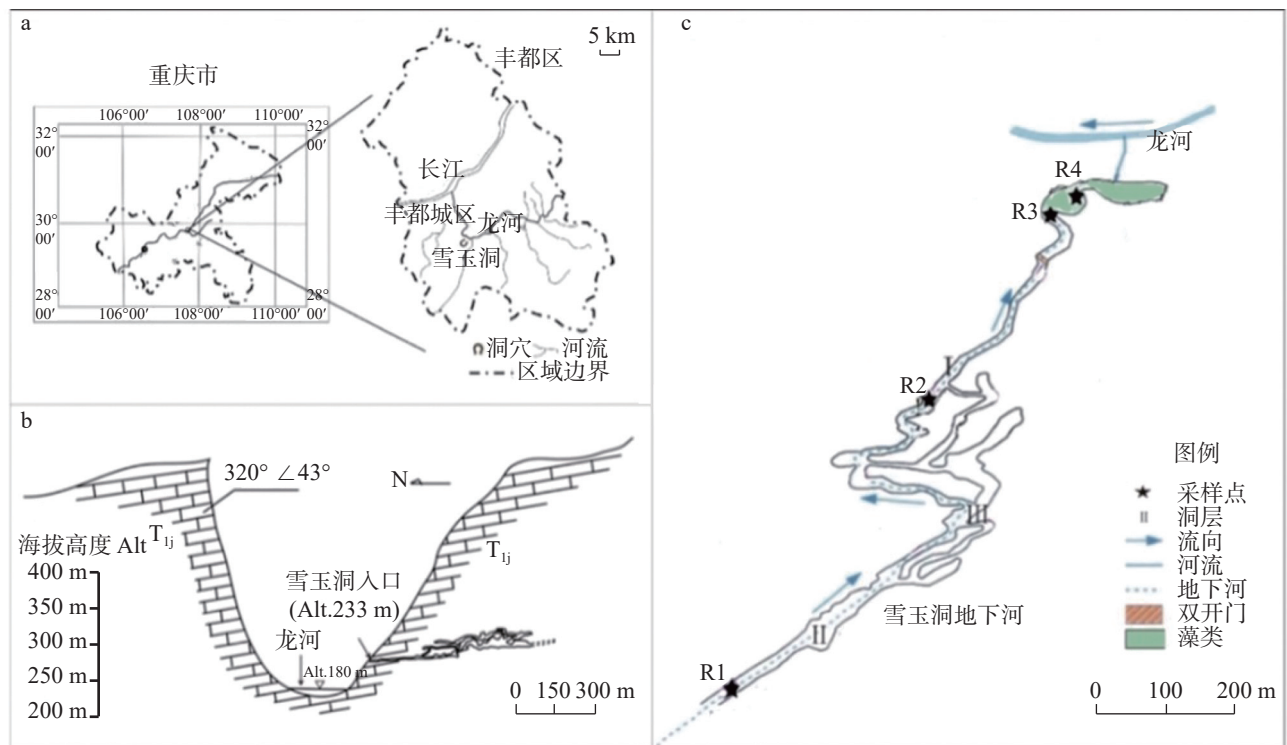


图 1 雪玉洞剖面 and 区位图及采样点分布图

Fig. 1 Profile and location of Xueyu Cave and the distribution of sampling sites

(分析误差小于 0.15‰)。 $\delta^2\text{H}$  和  $\delta^{18}\text{O}$  送样至西南大学资源与环境学院国家紫色土肥力与肥料效益检测基地, 采用液态水同位素分析仪(LWIA; GLA431-TLWIA (912-0052); Los Gatos Reseach, USA)分析, (VSMOW,  $\delta^2\text{H}$  和  $\delta^{18}\text{O}$  的精度分别为 $\pm 0.5\text{‰}$ 和 $\pm 0.2\text{‰}$ )<sup>[24-26]</sup>。

紫外-可见光吸收光谱使用紫外可见分光光度计(UV-2450, 岛津, 日本), 200~800 nm 波长区间内扫描, 扫描间隔 0.5 nm。三维荧光光谱采用荧光分光光度计(RF-5301PC, 岛津, 日本), Mill-Q 超纯水为空白, 室温下荧光扫描。扫描速度设置为 Fast, 激发波长(Ex)范围 220~500 nm, 间隔 5 nm; 发射波长(Em) 220~600 nm, 间隔 1 nm, 激发及发射波长的带宽为 5 nm。以上测试分析工作均在西南大学岩溶环境重庆市重点实验室完成。

#### 1.4 微生物 16S rDNA 测序分析

16S rDNA 测序送样至上海美吉生物医药科技有限公司使用 illuminaMiseq 平台完成, 引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 测定 V3-V4 区域, 测序数据分析使用美吉生信云完成。最终 12 个样品获得了 578 784 条序列, 最大序列数为 537, 最小序列数为 241, 平均序列数为 440。16S rDNA 高通量

测序数据在上海美吉公司美吉生信云平台完成 (<https://cloud.majorbio.com>)。使用 Pecerust2 预测 16S rDNA 高通量测序数据显示的微生物功能基因分析。单因素方差分析用于对比存在显著差异的 KEGG 功能丰度通路( $P < 0.05$ , Turkey 'b')。

#### 1.5 统计分析方法

水化学和光谱数据分析使用 Matlab DOMFluor 工具栏、SPSS22 和 Origin 2018 完成分析和绘图。紫外-可见吸收光谱数据的计算和矫正参照 Bricaud 等的研究进行<sup>[27]</sup>。三维荧光光谱数据运用 MATLAB 软件进行平行因子分析, 把测得的荧光矩阵组合导入 MATLAB 软件中, 参考 Stedmon 等教程, 运用 DOMFluor 工具箱对矩阵组进行平行因子分析并结合折半分析来保证分析结果的可信度<sup>[3, 28]</sup>。

紫外和荧光光谱的特征参数即含义见表 1。

## 2 结果分析

### 2.1 雪玉洞岩溶地下河氢氧稳定同位素和水化学变化特征

氢氧稳定同位素检测结果表明, 旱季地下河  $\delta^{18}\text{O}$  加权平均值为 $-5.93\text{‰}$ ; 雨季地下河  $\delta^{18}\text{O}$  加权平

表 1 紫外-可见光吸收谱和三维荧光光谱参数的指示含义

Table 1 Indicators calculated from ultraviolet-visible absorption spectrum and 3D fluorescence EEMs of DOM

指标	描述	意义
$a_{355}$	355 nm处的吸光值	CDOM的浓度 <sup>[29]</sup>
$S_{250-290}$	250 nm和290 nm之间的吸光度斜率	表征CDOM的分子量和光化学反应能力 <sup>[30]</sup>
$E_{253}/E_{203}$	253 nm和203 nm处吸光值的比值	表征DOM苯环结构上官能团的构成特征 <sup>[31]</sup>
$M$	250 nm和265 nm处吸光值的比值 <sup>[32]</sup>	DOM的分子量 <sup>[33]</sup>
FI	激发波长为370 nm时, 发射波长为470 nm和520 nm荧光强度的比值	表征类腐殖酸物质和微生物对DOM的降解程度 <sup>[34]</sup>
HIX	激发波长为254 nm时, 发射波长为534~480 nm和300~346 nm荧光强度的比值	表征腐殖化程度 <sup>[35]</sup>
BIX	激发波长为310 nm时, 发射波长为380 nm和430 nm荧光强度的比值	表征内源DOM的贡献 <sup>[36]</sup>

均值为-7.45%。旱季地下河  $\delta D$  加权平均值为-39.98%; 雨季地下河  $\delta D$  加权平均值为-49.10%。图 2 中全部地下河  $\delta^{18}O$ 、 $\delta D$  值所形成的线性方程 (SS), 均沿大气降水线分布, 表明地下河水来源于大气降水补给。

雪玉洞地下水化学类型为典型的  $HCO_3^-$ -Ca 型, 具有高 pH、高 DIC、高 Ca 的特征。实验结果表明, 雪玉洞岩溶水的 pH 值平均值为 7.87,  $HCO_3^-$  占溶解无机碳 (DIC) 质量浓度的 90% 以上, 阳离子中  $Ca^{2+}$  含量最高。

对每个月 4 个采样点的水化学数据取均值以探究季节变化特征, 如图 3 所示, 降雨量的季节变化控制水岩过程, 进而引起地下水水化学特征变化。pH、 $\delta^{13}C_{DIC}$  值雨季低旱季高, SPC、 $HCO_3^-$  (DIC)、 $Ca^{2+}$  也都呈现出雨季升高、旱季降低, 主要体现岩溶动力系统中水-气-岩-土-生耦合作用的碳酸盐岩风化过程<sup>[37]</sup>。但是, 雪玉洞水体中有机碳的含量雨季和旱季各有一个峰值, 与水化学的单峰动态不同。雪玉洞地下河 TOC 质量浓度介于 1.50~3.67  $mg \cdot L^{-1}$  之间, DOC 质量浓度介于 1.41~3.46  $mg \cdot L^{-1}$  之间, DOC 质量浓度占到 TOC 质量浓度的约 89%。其中旱季 DOC 浓度为 1.41~3.46  $mg \cdot L^{-1}$  均值为 2.23  $mg \cdot L^{-1}$ , 雨季浓度 1.42~2.90  $mg \cdot L^{-1}$  均值为 2.37  $mg \cdot L^{-1}$ 。

## 2.2 雪玉洞地下水 CDOM 光谱指数特征

本研究采用 355 nm 处的吸收系数 ( $a(355)$ ) 来表示 CDOM 的浓度,  $a(355)$  与 DOC 含量存在显著正相关关系 (图 4) ( $R^2=0.29$ ,  $P<0.01$ ), 说明可以利用 CDOM 对 DOC 来源和分子组成特征进行反演。

吸光参数与荧光参数都表明雪玉洞地下河水中

DOM 存在内源新生有机质和外源陆生有机质混合的特征, 总体以小分子内源有机质为主; 雨季时陆源大分子腐殖酸类物质特征增加, CDOM 芳香性和疏水基团特征更明显 (图 5)。 $S_{250-290}$  常用于表征 CDOM 的腐殖化特征, 数值与腐殖化特征呈反相关。雪玉洞地下河水中,  $S_{250-290}$  均值为旱季 0.036、雨季 0.016, 可见雨季地下河水腐殖化程度较高<sup>[39]</sup>。 $M$  值常用于表征 CDOM 分子量, 数值越小分子量相对越大<sup>[33]</sup>。雪玉洞地下河水  $M$  值均值为雨季 2.35、旱季 2.85, 雨季 CDOM 分子量大于旱季。 $E_{253}/E_{203}$  值常用于指示 CDOM 含有较多的苯环上脂肪族等非极性官能团, 数值越大, 疏水性越弱<sup>[31]</sup>。雨季雪玉洞地下河水  $E_{253}/E_{203}$  均值为 0.032, 明显高于旱季 0.020, 可见雨季水体 DOM 苯环结构取代基上羧基、羰基、氨基等极性官能团的含量增高, 雨季水体有机质的疏水性有所减弱。SUVA<sub>254</sub> 值常用于指示 CDOM 的芳香性, 数值越大芳香性越强<sup>[39]</sup>。雨季 SUVA<sub>254</sub> 值 2.24 明显高于旱季 1.56, 表明雨季水体 DOM 的芳香性上升。

雪玉洞荧光参数特征也表现出相同的时间变化特征。FI 为荧光参数, 主要表征水体 CDOM 的来源<sup>[34]</sup>。雪玉洞地下河的 FI 值介于 1.58~1.95 之间, 均值为 1.73, 受陆源和内源共同影响。雨季的 FI 值均值为 1.66 略低于而旱季均值 1.80, 说明旱季内源 CDOM 成分增多。HIX 为腐殖化参数, 表征水体 CDOM 的腐殖化程度<sup>[35]</sup>。雪玉洞地下河 HIX 值介于 1.79~2.37 之间, 均值为 2.00, 处于弱腐殖化程度区间, 具有明显的近期内源有机质的特征。而雨季 HIX 值均值为 2.10 略高于旱季均值 1.89, 说明雨季水体 DOM 的腐殖化程度增强, 陆源物质输入增多。BIX

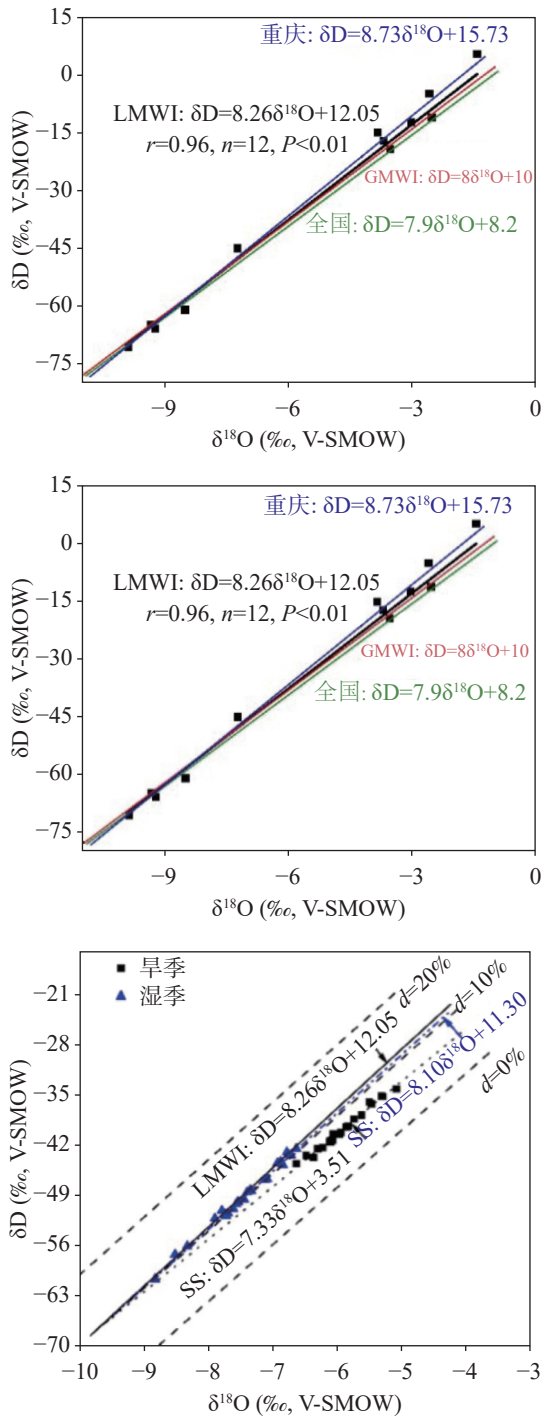


图2 丰都县当地大气降水线(LMWL)与雪玉洞干湿季地下水  $\delta^{18}\text{O}/\delta\text{D}$  的相关性<sup>[37-38]</sup>

Fig. 2 Local Meteoric Water Level (LMWL) of Fengdu county and  $\delta^{18}\text{O}/\delta\text{D}$  correlation of the Xueyu Cave underground river in the dry and wet seasons<sup>[37-38]</sup>

值为自生源参数,反映水体 CDOM 中的自生源贡献比例<sup>[36]</sup>。雪玉洞地下水 BIX 值介于 0.78~0.99 之间,均值为 0.84,大多分布在大于 0.8 的范围内,说明地下水 CDOM 新生内源较高。而雨季的 BIX 均值

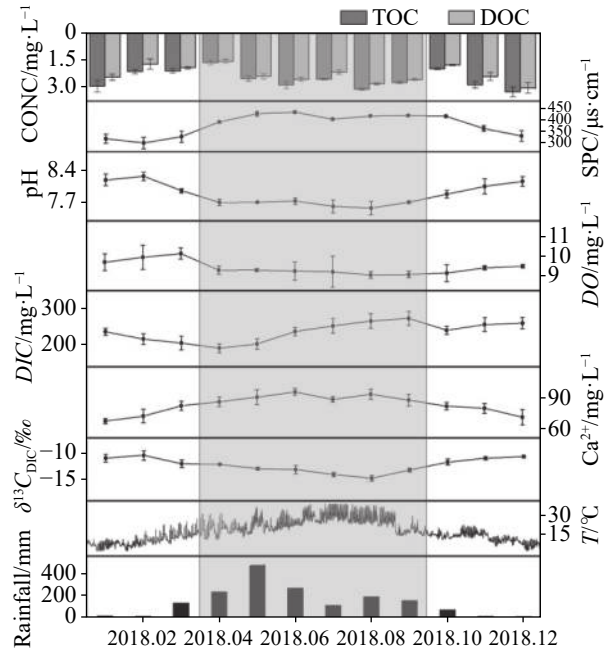


图3 雪玉洞岩溶水水化学指标的变化

Fig. 3 Temporal variation of hydrochemical parameters in the karst water of Xueyu Cave

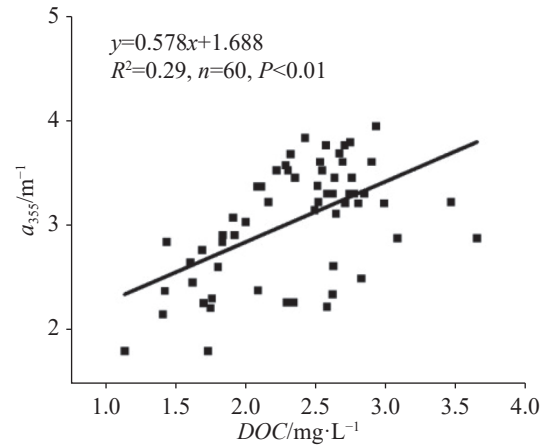


图4 DOC 与  $a_{355}$  相关性分析

Fig. 4 Correlation analysis between DOC and  $a_{355}$

为 0.81 略低于旱季均值 0.88,说明雨季自生源特征减弱。

### 2.3 雪玉洞地下河 CDOM 组分特征变化

通过 PARAFAC 平行因子分析发现,三个 CDOM 组分能代表 99.8% 以上的 EEM 光谱数据变化(图 6,表 2),分别对应 C1( $\leq 250, 300/360\text{ nm}$ )、C2( $280/446\text{ nm}$ )、C3( $\leq 250/450\text{ nm}$ )。根据文献报道,C1 组分代表来自于微生物成因的内源类色氨酸物质<sup>[40-43]</sup>;C2 组分代表存在微生物降解过程的类腐殖酸组分或者小分子量的富里酸物质<sup>[43]</sup>;C3 组分代

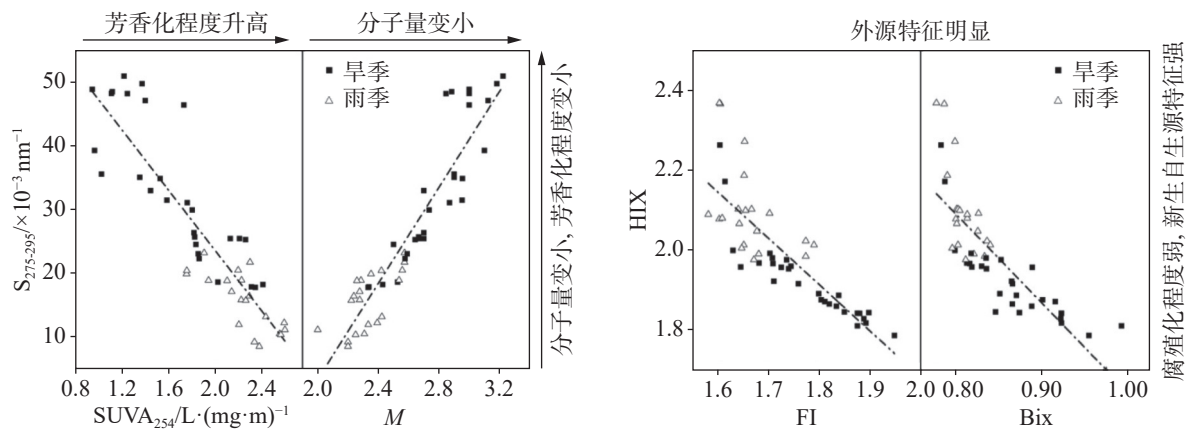


图 5 雪玉洞吸光参数与荧光参数的旱雨季变化特征

Fig. 5 Variation characteristics of light absorption parameters and fluorescence parameters of Xueyu Cave in the dry and rainy seasons

表来自陆源输入的一类腐殖酸组分<sup>[14, 43-44]</sup>。

三个组分总荧光强度为 12.42-38.81 QSU, 雨季高于旱季, 但是 C3 组分的荧光强度随降雨变化更为显著(图 7a)。而三个组分的相对贡献在不同的时间也呈现出与荧光强度完全不同的模式(图 7b)。C1 旱季的相对贡献明显高于雨季( $P < 0.01$ ), C3 与其相反, 雨季的相对贡献高于旱季( $P < 0.01$ ), C2 的相对贡献没有明显的旱雨区别。

## 2.4 微生物群落结构特征

8 个雪玉洞地下水样品中, 8 个主要细菌门的丰度占 DNA 序列的 71%~84%。对丰度含量前 50 的细菌属聚类分析发现, 旱季样品和雨季样品细菌群落结构具有较大的差别。如图 8 所示, R1 和 R2 处采集样品中相同月份的样本微生物群落结构相似度最高(R1 处 12 月样本中例外); 旱季即 3 月和 12 月两个采样点的微生物群落结构相似性较高。雨季样品中属于变形菌门 (Proteobacteria) 的 *unclassified\_f\_Comamonadaceae Hydrogenophaga*、*Acidovorax*、*Cavicella*、*Pelomonas*、*Duganella*、*Malikia*、*Polaromonas*、*Brevundimonas*、*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*、*Delftia*、*TM7a*、*unclassified\_o\_Saccharimonadales*、*norank\_f\_LWQ8*、*norank\_f\_norank\_o\_0319-6G20*、*Comamonas*、*Sphingomonas*、*norank\_f\_norank\_o\_Saccharimonadale*, 属于佩斯菌门 (Pacebacteria) 的 *norank\_f\_norank\_o\_Candidatus\_Kaiserbacteria*、*norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_Parcubacteria*, 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的 *norank\_f\_NS11-12\_marine\_group*, 纤细菌门 (Gracilibacteria) 的 *norank\_f\_norank\_o\_Candidatus*

*Peribacteria* 属等细菌属相对丰度较高。

使用 Pectrust2 对洞穴细菌群落 DNA 功能进行预测(图 9), 发现 365 条 KEGG 通路, 69 条与碳代谢相关通路含量高于 0.01%, 其中 20 条碳相关代谢通路的丰度存在显著的季节差异。雨季样品中, 与水化合物代谢、磷脂酸代谢和外源毒性物质代谢的 KEGG 通路丰度显著高于旱季样品; 氯环己烷和氯苯、萘、甲苯、阿特拉津、硝基甲苯等芳香类物质的降解代谢通路在雨季样品中的丰度升高了 30%~57%。

## 3 讨论

### 3.1 雪玉洞地下河水的来源季节变化及其水化学响应

雨季 SS 线性方程 ( $\delta D = 8.10\delta^{18}O + 11.30$ ) 的斜率和截距与重庆大气降水 LMWL 方程(图 2), 可知雨季雪玉洞地下水直接接受降水的快速补给<sup>[49-50]</sup>, 未发生明显的蒸发或蒸发作用强度较低<sup>[51]</sup>。旱季 SS 线性方程 ( $\delta D = 7.33\delta^{18}O + 3.51$ ) 的斜率和截距同 LMWL 方程的截距和斜率存在差异(图 2), 可知旱季雪玉洞地下水存在一定的蒸发滞留作用, 地下水在岩溶含水层中的运动相对较慢, 因而回归方程斜率和截距偏离大气降水的初始值。

PCA 分析表明(图 10), 雪玉洞地下河水中 pH、电导率、溶解氧、 $Ca^{2+}$  和 DIC 浓度以及降雨量在 PC1 上具有较高载荷; TOC 和 DOC 浓度在 PC2 上具有较高载荷。PC1 指示降雨量引起的水岩过程变化, 是控制地下河水中  $Ca^{2+}$  和 DIC 浓度、电导率变化的主要原因; PC2 指示有机质来源变化, 这种变化并不完全受降雨量变化控制<sup>[52]</sup>。雨季外源水快速大量补

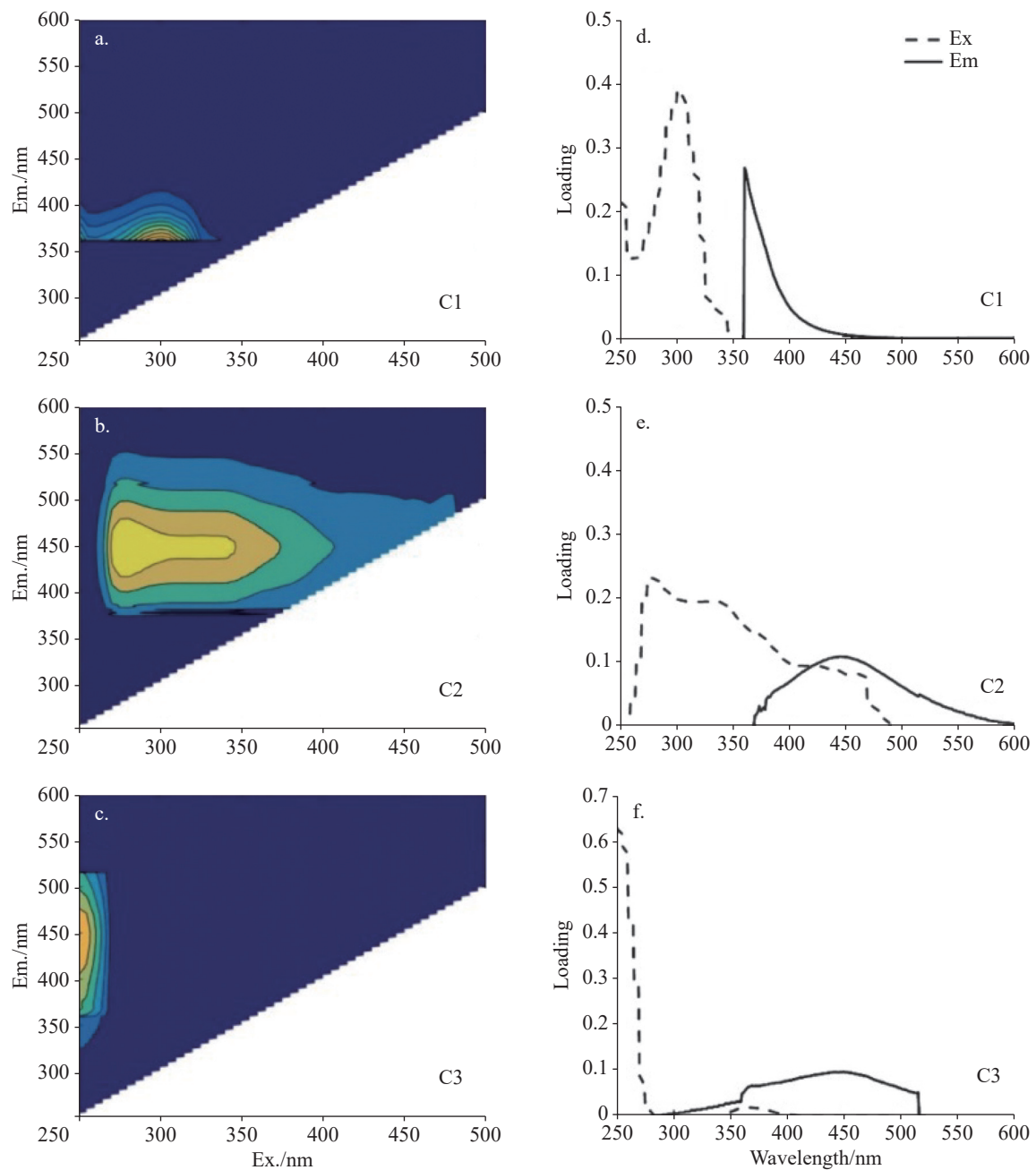


图6 雪玉洞地下水 CDOM 荧光组分三维荧光图及折半检验

Fig. 6 CDOM fluorescence components and split-half test in the Xueyu Cave underground river

给地下河水的过程中,大量外源有机碳随之输入,引起了地下河水中 DOC 和 TOC 浓度的快速升高<sup>[53-55]</sup>。旱季地下河中 DOC 和 TOC 也有升高(图 3),此时 DIC、Ca<sup>2+</sup>和 DIC 浓度等没有响应的变化,可见旱季地下河水中 DOC 和 TOC 浓度的升高可能受其他因素控制。

### 3.2 雪玉洞地下水溶解有机质来源和性质的季节变化

雪玉洞地下河水的荧光参数分布与先前报道的

岩溶洞穴水体<sup>[56]</sup>相似,地下水有机质为内源和外源混合输入,以内源性小分子物质为主,其腐殖化程度较低( $HIX < 2.9$ ) (图 5),内源性和新生程度较高( $1.2 < FI < 2.0$ ,  $0.7 < BIX < 1.0$ )<sup>[57-63]</sup>。吸光度指标表明雪玉洞地下河水中 DOM 主要以芳香化程度较低,分子量较小 ( $2.0 < M < 3.2$ ,  $0.9 < SUVA_{254} < 2.5$ ,  $0.011 < E_{253/203} < 0.045$ )<sup>[61-64]</sup>。三个荧光组分中有,两个内源有机质组分 C1 和 C2 的占总荧光强度的比例为 61%~71%,而外源组分 C3 占总荧光强度的比例为 29%~39%。

表 2 PARAFAC 归纳的三个荧光组分特征<sup>a</sup>

Table 2 Characteristics of three fluorescent components summarized by PARAFAC

组分	Exmax/Emmax <sup>b</sup>	峰值	备注
C1	≤250,300/360	Peak T: 275/340[82] C1:240(300)/338[83] C4: ≤230 (280)/340[84]	类蛋白类色氨酸组分, 内源 <sup>[45]</sup>
C2	280/446	Peak M: 290~310/370~420[82] peak 3: 310-330/420-455[85] C1:≤230(305)/ 400[86] C1: <250 (310)/ 422[87]	微生物源或海洋中的腐殖酸类组分 <sup>[46]</sup>
C3	≤250/450	Peak A: 230~260/380~460 [82] C1: 250/452[88] C1: <250/448[81] C1: <250(345)/460[89]	普遍存在的腐殖酸/富里酸类组分 <sup>[47-48]</sup>

注: a 括号里为第二峰值的最大强度位置;b Exmax/Emmax表示最大发射波长 (nm)/最大激发波长 (nm)。

Note: (a) numeric value in brackets indicates the maximum intensity position of the second peak; (b) Exmax/Emmax indicates maximum emission wavelength (nm)/maximum excitation wavelength (nm).

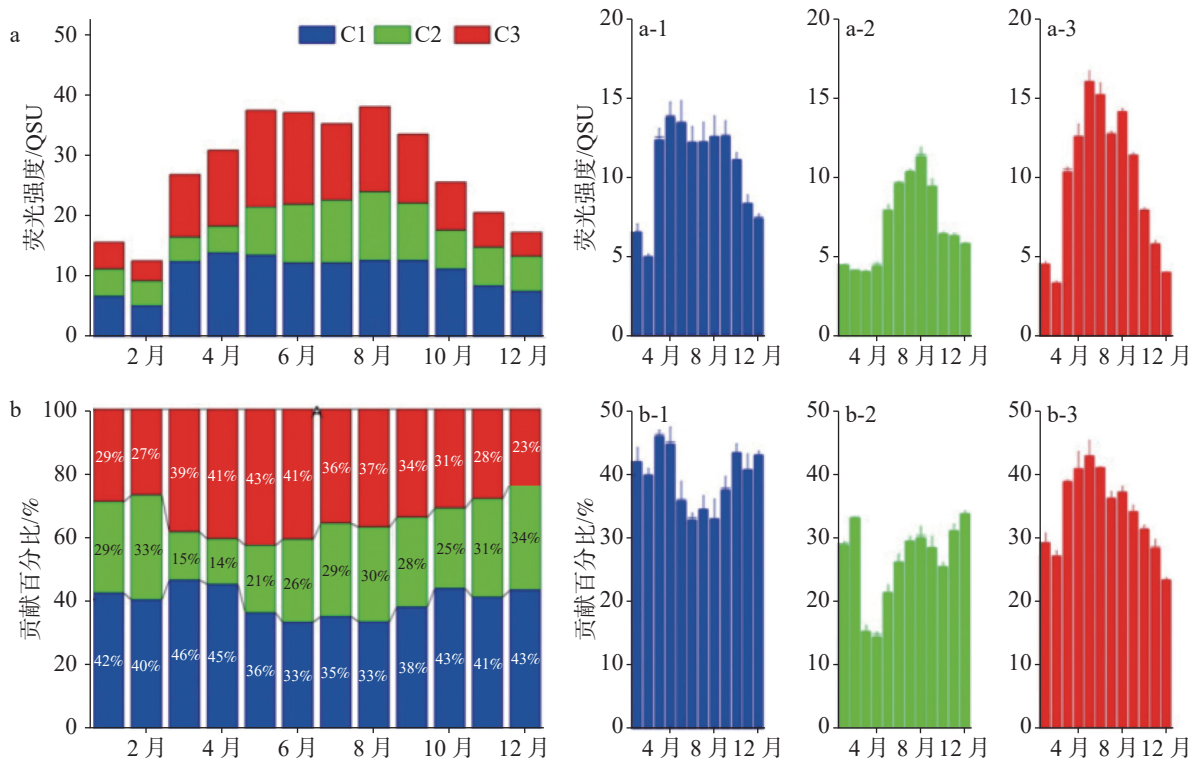


图 7 雪玉洞地下水 CDOM 荧光组分的荧光强度的季节变化

Fig. 7 Seasonal variation of fluorescence intensity of CDOM component in the Xueyu Cave underground river

从季节变化来看,雨季地下河水中外源有机碳组分含量 (34%~43%) 高于旱季 (23%~39%), FI、BIX 等荧光指标也表明地下河水中内源程度和新生有机质含量比旱季低,芳香化程度和分子量 (SUVA<sub>254</sub>、M) 也高于旱季,腐殖化程度 (HIX) 较高 (图 5, 图 7)。而且,雨季期间地下河水中 C3 组分 (即类腐殖酸和类富里酸等大分子有机物质),总荧光强度远高于旱季 (图 7)。雨季雪玉洞地下河

水有机碳的组分和性质证明,降雨带来的有机质输入以外源大分子的类腐殖质物质为主,导致地下河水中腐殖化程度的增加。与之相对的,旱季降雨量减少至雨季的十分之一,地下河水紊流较少,地表水土流失量减少,外源有机质的直接快速输入减少,因而外源组分 C3 的荧光强度明显降低 (图 7)。同时,地下河水滞留时间和蒸发作用增加,增加了洞穴地下河水中微生物与有机质的接触和



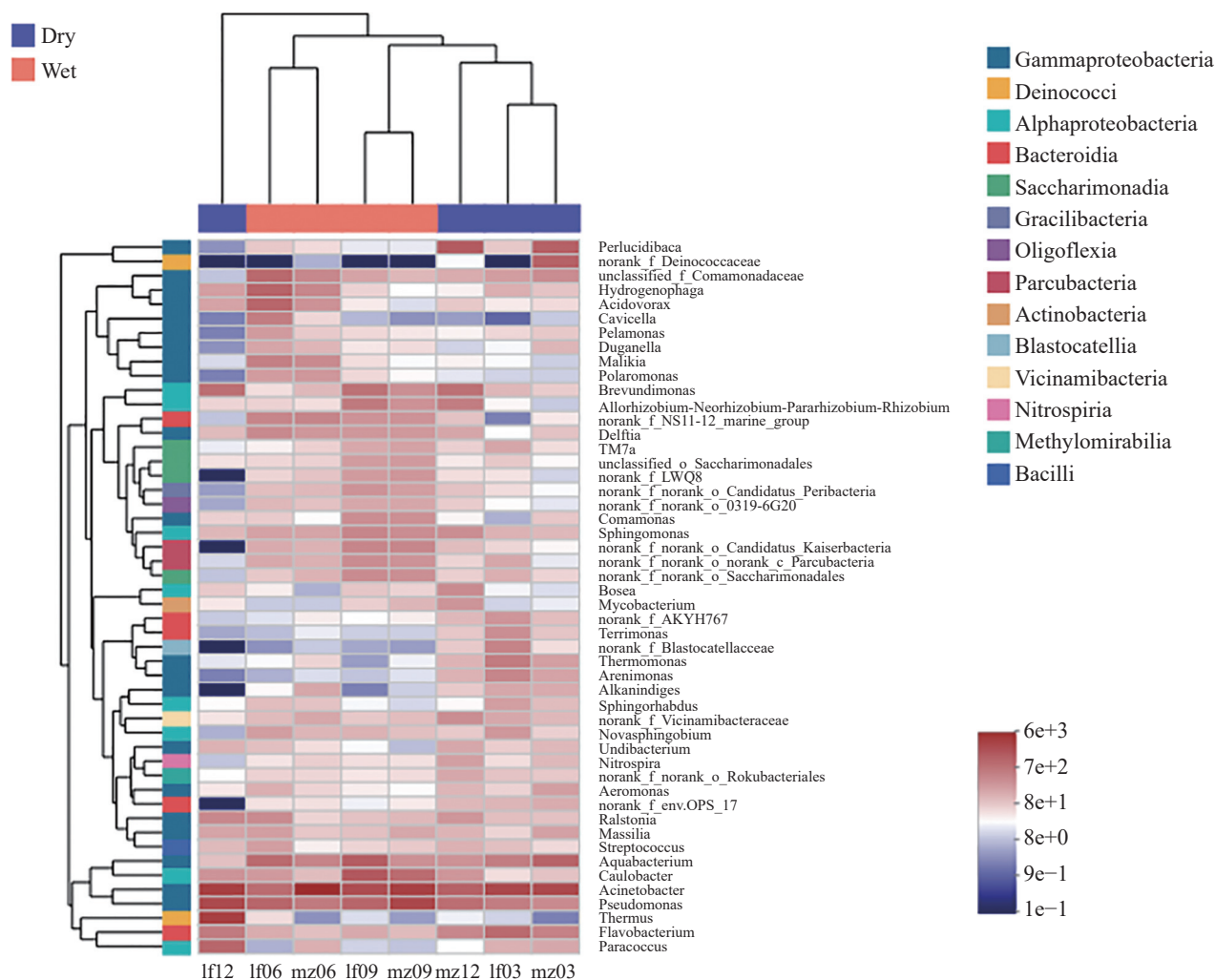


图 8 雪玉洞地下河水中属水平的细菌群落的 heatmap 图

Fig. 8 Bacteria abundance heatmap on genus level in the Xueyu Cave underground river

降解过程,微生物对有机质的改造和重构引起微生物源组分 C1 和 C2 含量占比增加,地下河有机质的内源性指标和新生程度增加。另外,蒸发作用的增强和地下河水水量降低也可能导致有机质发生浓缩,DOC 浓度升高。综上所述,雪玉洞地下河水有机质雨季受降水带来的大量外源有机质输入控制,旱季受微生物作用控制呈现较高的内源特征。

如图 10 所示,PC1 解释 61.9% 的有机质性质变化,是影响雪玉洞地下河水有机质性质的主要因素。除 C1、C2 荧光强度和 DOC、TOC 浓度外,其他有机质指标与 PC1 均有显著的相关关系,在 PC1 方向上旱季和雨季样品基本上完全分开。由此推测,PC1 主要体现旱/雨季降雨量变化带来的有机质输入差异。PC2 的贡献率为 23.5%,DOC 和 TOC 浓度与 PC2 具有较强的正相关关系,指示了地下河水总有机质含

量的变化。C1 和 C2 组分的变化在 PC1 和 PC2 上的载荷都不高,说明微生物源有机质产物受降雨的影响不大,其含量变化不是总有机碳变化的控制因素。由此可见,雪玉洞地下河中有有机质的主要控制因素为降雨带来的外源有机质输入,但是微生物源有机质的变化不受降雨控制。

### 3.3 雪玉洞地下河水溶解有机质的影响因素和循环特征

雪玉洞地下河水中的细菌以变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroides)等异养微生物为主,占洞穴细菌总量的 71%~84% 以上,自养微生物含量较少。由此可见,雪玉洞地下河受雨水补给,微生物对外源有机质降解和同化是洞内有机碳循环的主要过程。地下河水中,雨季相对丰度较高的细菌属与组分 C2、C3 的荧光强度以及 DIC 的浓度呈显

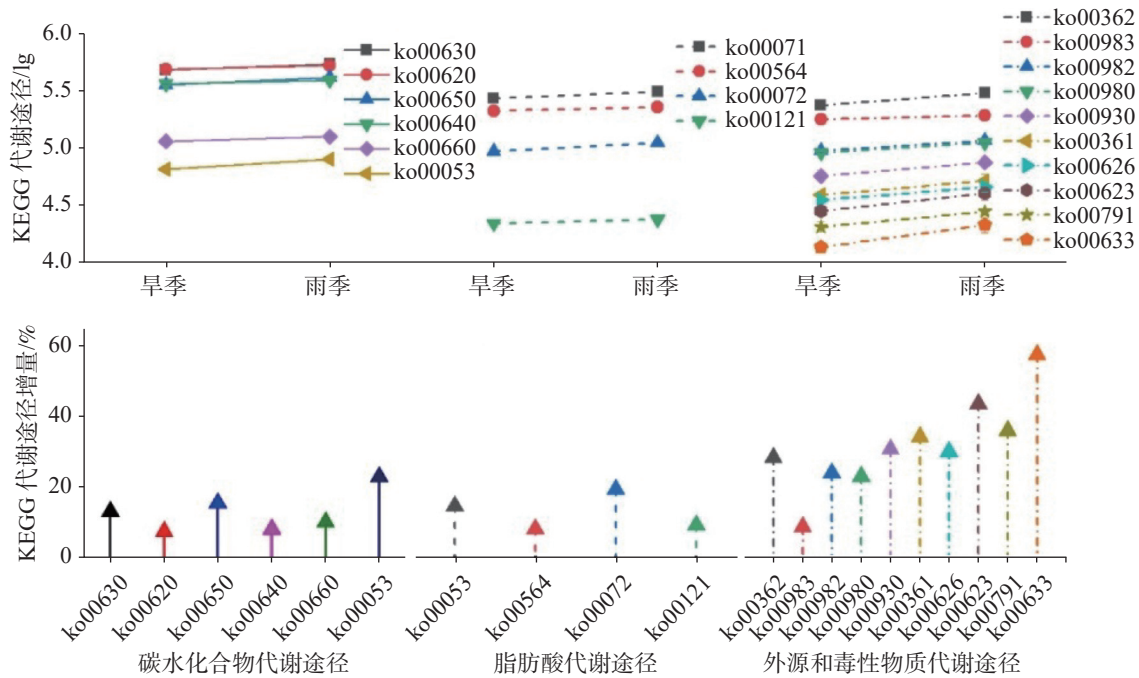


图 9 雪玉洞地下河水中旱雨季差异显著的 KEGG 代谢途径丰度对比和增量 ( $P<0.05$ )

Fig. 9 Comparison of abundance in KEGG metabolic pathways with the significant difference between the dry and wet seasons and the abundance increment in the Xueyu Cave underground river ( $P<0.05$ )

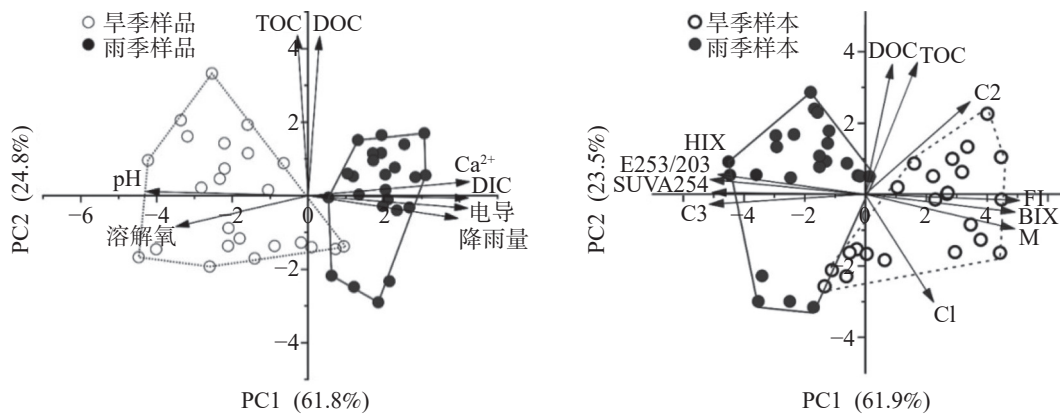


图 10 雪玉洞地下河水中地球化学指标与光谱参数的 PCA 分析

Fig. 10 PCA analysis of geochemical indexes and spectral parameters in the Xueyu Cave underground river

著正相关关系 ( $P<0.05$ ) (图 11)。雨季外源组分 C3 (类腐殖酸等) 含量增加, 引起可降解这类物质的细菌数量增加, 细菌对 C3 组分的降解同化引起 C2 组分 (类腐殖酸、类富里酸) 的增加, 雨季合成碳水化合物和脂肪酸等的代谢途径丰度也有所增加。雨季地下河有机质芳香性增加也引起了细菌功能基因改变, 降解苯、萘等芳香性物质的功能基因显著增加了 30%~56%。旱季, 地下河中外源有机质输入减少后, 微生物源有机质组分的含量和占比有所增加, C1 和 C2 组分的荧光强度与旱季样品呈弱正相关关系 (图 10), 但微生物源小分子组分 C1 与所有高丰度细

菌属都没有显著相关性。据此推测, 微生物源小分子物质的生成是所有微生物碳同化的产物, 没有特定的主要贡献物种。但是, 旱季地下河中微生物外源有机碳源减少, 可能引起洞穴环境出现碳源缺乏胁迫, 可能促进了自源微生物的碳同化代谢, 旱季 C1 组分含量增加。综上所述, 雪玉洞地下河中微生物对有机质的降解和同化作用十分显著, 岩溶地下河水系统各主要向外输出内源有机碳。但是, 雨季时以微生物对外源有机质的降解为主, 洞穴地下河水向外输出的芳香性类腐殖质的外源有机碳占比较高; 旱季时以微生物自源碳同化为主, 洞穴地下河水

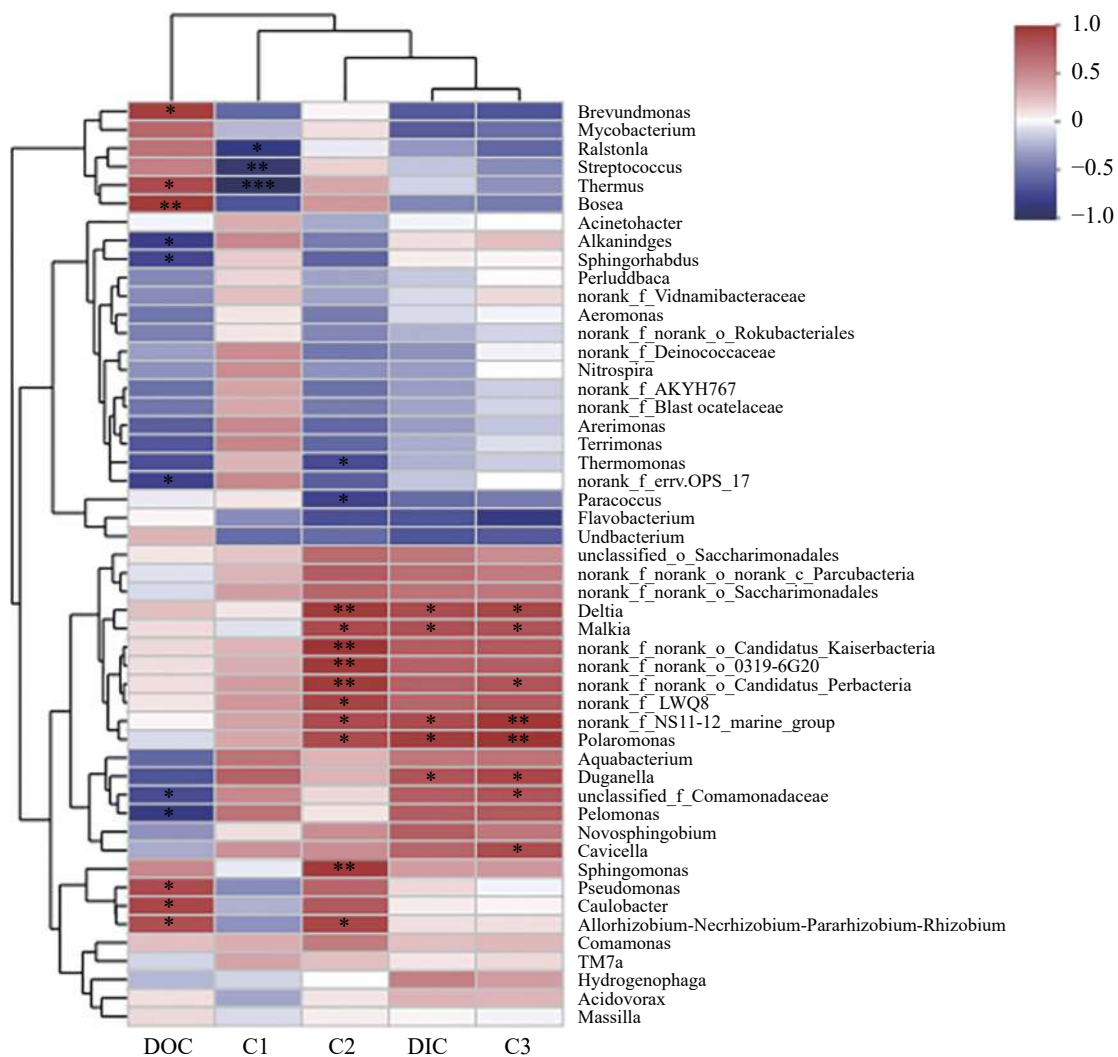


图 11 雪玉洞地下水主要细菌属丰度与有机和无机碳及组分含量斯皮尔曼相关性 heatmap 分析

Fig. 11 Spearman correlation heatmap between top 50 bacteria genera and carbon concentrations in the Xueyu Cave underground river

向外输出内源微生物源有机碳占比较高。

## 4 结 论

本研究通过对重庆雪玉洞地下河水中水化学指标、CDOM 光谱性质以及细菌群落结构的季节变化对比分析发现:

(1) 雪玉洞地下河水中 DOM 主要来源于微生物内源有机质, 微生物源 DOC 含量占总 DOC 的 61%~71%; 雨季外源有机质含量比旱季高, 降水是引起雨季外源有机质含量增加的主要因素;

(2) 雪玉洞地下河中微生物对有机质的降解和同化作用明显, 洞穴向外输出的有机碳以内源为主。雨季受降水引起的外源有机质增加控制, 地下河水中细菌群落和碳代谢功能基因主要以降解外源芳香

性类腐殖质为主, 向地表输出的外源有机碳占比较高; 旱季主要受微生物的碳同化过程影响, 向地表输出的内源有机碳增加 7%~35%。

## 参考文献

- [1] 曹建华, 蒋忠诚, 袁道先, 夏日元, 章程. 岩溶动力系统与全球变化研究进展[J]. *中国地质*, 2017, 44(5): 874-900.  
CAO Jianhua, JIANG Zhongcheng, YUAN Daoxian, XIA Riyuan, ZHANG Cheng. The progress in the study of the karst dynamic system and global changes in the past 30 years[J]. *Geology in China*, 2017, 44(5): 874-900.
- [2] Hansell D A, Carlson C A. Deep-ocean gradients in the concentration of dissolved organic carbon[J]. *Nature*, 1998, 395(6699): 263-266.
- [3] Stedmon C A, Markager S. Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis[J]. *Limnology and*

- Oceanography*, 2005, 50(2): 686-697.
- [4] 康卫华, 程从雨, 李为, 余龙江. 微生物在岩溶碳循环中的作用研究回顾与展望[J]. *中国岩溶*, 2022, 41(3): 453-464.  
KANG Weihua, CHENG Congyu, LI Wei, YU Longjiang. Review and prospect of research on the role of micro-organisms in karst carbon cycle[J]. *Carsologica Sinica*, 2022, 41(3): 453-464.
- [5] Birdwell J E, Engel A S. Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV-Vis absorbance and fluorescence spectroscopy[J]. *Organic Geochemistry*, 2009, 41(3): 270-280.
- [6] Williams C J, Yamashita Y, Wilson H F, Rudolf J, Xenopoulos M A. Unraveling the role of land use and microbial activity in shaping dissolved organic matter characteristics in stream ecosystems[J]. *Limnology and Oceanography*, 2010, 55(3): 1159-1171.
- [7] 方开凯, 黄廷林, 张春华, 周石磊, 曾明正, 刘飞, 夏超. 淮河流域周村水库夏季CDOM吸收光谱特征、空间分布及其来源分析[J]. *湖泊科学*, 2017, 29(1): 151-159.  
FANG Kaikai, HUANG Tinglin, ZHANG Chunhua, ZHOU Shilei, ZENG Mingzheng, LIU Fei, XIA Chao. Summer absorption characteristics, spatial distribution and source analysis of CDOM in Zhoucun reservoir in Huaihe catchment[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2017, 29(1): 151-159.
- [8] 章程. 岩溶动力学理论与现代岩溶学发展[J]. *中国岩溶*, 2022, 41(3): 378-383.  
ZHANG Cheng. Theory of karst dynamics and development of modern karst science[J]. *Carsologica Sinica*, 2022, 41(3): 378-383.
- [9] 焦友军, 黄奇波, 于青春. 初始裂隙对岩溶水紊流形成的影响[J]. *中国岩溶*, 2022, 41(4): 501-510.  
JIAO Youjun, HUANG Qibo, YU Qingchun. Influence of initial fractures on the occurrence of karst turbulent flow[J]. *Carsologica Sinica*, 2022, 41(4): 501-510.
- [10] 杨睿, 韩志杰, 韩志伟, 吴起鑫, 吴攀, 何守阳. 旅游活动输入岩溶地下水系统的水化学指纹记录[J]. *中国岩溶*, 2023, 42(2): 193-206.  
YANG Rui, HAN Zhijie, HAN Zhiwei, WU Qixin, WU Pan, HE Shouyang. Effects of tourism activities on hydrochemical fingerprints in the karst underground river system[J]. *Carsologica Sinica*, 2023, 42(2): 193-206.
- [11] 李军, 杨国丽, 朱秀群, 徐利, 朱丹尼, 赵一, 李衍青, 蓝芙宁. 南洞地下河流域水质分析及灌溉适用性评价[J]. *中国岩溶*, 2023, 42(2): 207-219.  
LI Jun, YANG Guoli, ZHU Xiuqun, XU Li, ZHU Danni, ZHAO Yi, LI Yanqing, LAN Funing. Water quality analysis and evaluation of irrigation applicability in Nandong underground river basin, Southwest China[J]. *Carsologica Sinica*, 2023, 42(2): 207-219.
- [12] 蒋忠诚, 章程, 罗为群, 肖琼, 吴泽燕. 我国岩溶地区碳汇研究进展与展望[J]. *中国岩溶*, 2022, 41(3): 345-355.  
JIANG Zhongcheng, ZHANG Cheng, LUO Weiqun, XIAO Qiong, WU Zeyan. Research progress and prospect of carbon sink in karst region of China[J]. *Carsologica Sinica*, 2022, 41(3): 345-355.
- [13] 张连凯, 刘朋雨, 覃小群, 单晓静, 刘文, 赵振华, 姚昕, 邵明玉. 溶解性有机质在岩溶水系统中的迁移转化及影响因素分析[J]. *环境科学*, 2018, 39(5): 2104-2116.  
ZHANG Liankai, LIU Pengyu, QIN Xiaoqun, SHAN Xiaojing, LIU Wen, ZHAO Zhenhua, YAO Xin, SHAO Mingyu. Migration and transformation of dissolved organic matter in karst water systems and an analysis of their influencing factors[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(5): 2104-2116.
- [14] Mudarra M, Andreo B, Baker A. Characterisation of dissolved organic matter in karst spring waters using intrinsic fluorescence: Relationship with infiltration processes[J]. *Science of the Total Environment*, 2011, 409(18): 3448-3462.
- [15] 傅平青, 刘丛强, 吴丰昌. 溶解有机质的三维荧光光谱特征研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2005(12): 2024-2028.  
FU Pingqing, LIU Congqiang, WU Fengchang. Three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopic characterization of dissolved organic matter[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2005(12): 2024-2028.
- [16] 范佳鑫, 蒋勇军, 贺秋芳, 王家楠, 何瑞亮, 张彩云, 马丽娜, 汪啟容. 水生生物光合作用对雪玉洞岩溶水体中CDOM的影响[J]. *环境科学*, 2019, 40(6): 2657-2666.  
FAN Jiaxin, JIANG Yongjun, HE Qiufang, WANG Jianan, HE Ruiliang, ZHANG Caiyun, MA Lina, WANG Qirong. Effects of photosynthesis of submerged aquatic plants on CDOM in a karst water system: A case study from Xueyu Cave, Chongqing, China[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(6): 2657-2666.
- [17] Rontani J F, Volkman J K. Lipid characterization of coastal hypersaline cyanobacterial mats from the Camargue (France)[J]. *Organic Geochemistry*, 2004, 36(2): 251-272.
- [18] 姚昕, 邹胜章, 夏日元, 许丹丹, 姚敏. 典型岩溶水系统中溶解性有机质的运移特征[J]. *环境科学*, 2014, 35(5): 1766-1772.  
YAO Xin, ZOU Shengzhang, XIA Riyuan, XU Dandan, YAO Min. Dissolved Organic Matter (DOM) dynamics in karst aquifer systems[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(5): 1766-1772.
- [19] Thompson B, Richardson D, Vangundy R D, Cahoon A B. Metabarcoding comparison of prokaryotic microbiomes from Appalachian karst caves to surface soils in southwest Virginia, USA[J]. *Journal of Cave and Karst Studies*, 2019, 81(4): 244-253.
- [20] Zhu H Z, Zhang Z F, Zhou N, Jiang C Y, Wang B J, Cai L, Liu S J. Diversity, distribution and co-occurrence patterns of bacterial communities in a karst cave system[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10(5): 1726.
- [21] Dong Yiyi, Gao Jie, Wu Qingshan, Ai Yilang, Huang Yu, Wei Wenzhang, Sun Shiyu, Weng Qingbei. Co-occurrence pattern and function prediction of bacterial community in karst cave[J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 1-13.

- [22] Adesso Rosangela, Gonzalez-Pimentel Jose L, D'Angelillenia M, De Waele Jo, Saiz-Jimenez Cesareo, JuradoValme, Miller-Ana Z, Cubero Beatriz, Vigliotta Giovanni, Baldantoni Daniela. Microbial community characterizing vermiculations from karst caves and its role in their formation[J]. *Microbial Ecology*, 2021, 81(5): 884-896.
- [23] 吕现福, 孙玉川, 贺秋芳, 梁作兵, 赵瑞一, 张媚, 谢正兰. 重庆雪玉洞地下河溶解态脂肪酸来源解析及变化特征[J]. *环境科学学报*, 2017, 37(3): 918-924.  
LYU Xianfu, SUN Yuchuan, HE Qiufang, LIANG Zuobing, ZHAO Ruiyi, ZHANG Mei, XIE Zhenglan. Source and variation characteristics of dissolved fatty acids in Xueyu Cave underground river, Chongqing, China[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(3): 918-924.
- [24] West A G, Goldsmith G R, Brooks P D, Dawson T E. Discrepancies between isotope ratio infrared spectroscopy and isotope ratio mass spectrometry for the stable isotope analysis of plant and soil waters[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2010, 24(14): 1948-1954.
- [25] Schultz N M, Griffiths T J, Lee X, Baker J M. Identification and correction of spectral contamination in  $^2\text{H}/^1\text{H}$  and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  measured in leaf, stem, and soil water[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2011, 25(21): 3360-3368.
- [26] Millar Cody, Pratt Dyan, Schneider David J, McDonnell Jeffrey J. A comparison of extraction systems for plant water stable isotope analysis[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2018, 32(13): 1031-1044.
- [27] Bricaud, Annick, Andre M, Louis P. Absorption by dissolved organic matter of the sea (yellow substance) in the UV and visible domains[J]. *Limnology and Oceanography*, 1981, 26(1): 43-53.
- [28] Stedmon C A, Bro R. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: A tutorial[J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2008, 6(11): 572-579.
- [29] Zhang YL, Yin Y, Feng LQ, Zhu GW, Shi ZQ, Liu XH, Zhang YZ. Characterizing chromophoric dissolved organic matter in Lake Tianmuhu and its catchment basin using excitation-emission matrix fluorescence and parallel factor analysis[J]. *Water Research*, 2011, 45(16): 5110-5122.
- [30] Helms J R, Stubbins A, Ritchie J D, Minor EC, Kieber DJ, Mopper K. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter[J]. *Limnology and Oceanography*, 2008, 53(3): 955-969.
- [31] 何小松, 张慧, 黄彩红, 李敏, 高如泰, 李丹, 席北斗. 地下水中溶解性有机物的垂直分布特征及成因[J]. *环境科学*, 2016, 37(10): 3813-3820.  
HE Xiaosong, ZHANG Hui, HUANG Caihong, LI Min, GAO Rutai, LI Dan, XI Beidou. Vertical distribution characteristics of dissolved organic matter in groundwater and its cause[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(10): 3813-3820.
- [32] Fellman J B, Hood E, Spencer R G M. Fluorescence spectroscopy opens new windows into dissolved organic matter dynamics in freshwater ecosystems: A review[J]. *Limnology and Oceanography*, 2010, 55(6): 2452-2462.
- [33] Peuravuori J, Pihlaja K. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1997, 337(2): 133-149.
- [34] 程远月, 王帅龙, 胡水波, 周沉冤, 施震, 李芊, 黄小平. 海草生态系中 DOM 的三维荧光光谱特征[J]. *光谱学与光谱分析*, 2015, 35(1): 141-145.  
CHENG Yuanyue, WANG Shuailong, HU Shuibo, ZHOU Chenyuan, SHI Zhen, LI Qian, HUANG Xiaoping. The fluorescence characteristics of dissolved organic matter (DOM) in the seagrass ecosystem from Hainan by fluorescence excitation-emission matrix spectroscopy[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2015, 35(1): 141-145.
- [35] Huguet A, Vacher L, Relexans S, Saubusse S, Froidefond J M, Parlanti E. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary[J]. *Organic Geochemistry*, 2009, 40(6): 706-719.
- [36] Craig H. Isotopic variations in meteoric waters[J]. *Science*, 1961, 133(3465): 1702-1703.
- [37] 李廷勇, 李红春, 沈川洲, 杨朝秀, 李俊云, 衣成城, 袁道先, 王建力, 谢世友. 2006-2008年重庆大气降水 $\delta\text{D}$ 和 $\delta^{18}\text{O}$ 特征初步分析[J]. *水科学进展*, 2010, 21(6): 757-764.  
LI Tingyong, LI Hongchun, SHEN Chuazhou, YANG Chaoxiu, LI Junyun, YI Chengcheng, YUAN Daoxian, WANG Jianli, XIE Shiyu. Study on the  $\delta\text{D}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  characteristics of meteoric precipitation during 2006-2008 in Chongqing, China[J]. *Advances in Water Science*, 2010, 21(6): 757-764.
- [38] Ford D, Williams P. *Karst Hydrogeology and Geomorphology* [M]. New York: John Wiley, 2007.
- [39] Ohno T, Culver D C, Simon K S, Pipan T. Spatial and temporal patterns in abundance and character of dissolved organic matter in two karst aquifers[J]. *Fundamental & Applied Limnology*, 2010, 177(2): 81-92.
- [40] Chen Jie, Eugene J LeBoeuf, Dai Sheng, Gu Baohua. Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions[J]. *Chemosphere*, 2003, 50(5): 639-647.
- [41] Murphy K R, Ruiz G M, Dunsmuir W T M, Waite T D. Optimized parameters for fluorescence-based verification of ballast water exchange by ships[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(7): 2357-2362.
- [42] Wang Y, Li X, Li BHH, Shen ZYY, Feng CHH, Chen YXX. Characterization, sources, and potential risk assessment of PAHs in surface sediments from nearshore and farther shore zones of the Yangtze estuary, China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2012, 19(9): 4148-4158.
- [43] Zhou Y Q, Li Y, Yao X L, Ding W H, Zhang Y L, Podgorski D C, Chen C M, Ding Y. Response of chromophoric dissolved organic matter dynamics to tidal oscillations and anthropogenic

- disturbances in a large subtropical estuary[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 662(5): 769-778.
- [44] Hong Huasheng, Wu Jingyu, Shang Shaoling, Hu Chuanmin. Absorption and fluorescence of chromophoric dissolved organic matter in the Pearl River Estuary, South China[J]. *Marine Chemistry*, 2005, 97(1): 78-89.
- [45] Tzortziou M, Neale P J, Osburn C L, Megonigal J P, Maie N, Jaffé R. Tidal marshes as a source of optically and chemically distinctive colored dissolved organic matter in the Chesapeake Bay[J]. *Limnology and Oceanography*, 2008, 53(1): 148-159.
- [46] Thomas J D. The role of dissolved organic matter, particularly free amino acids and humic substances, in freshwater ecosystems[J]. *Freshwater Biology*, 1997, 38(1): 1-36.
- [47] Coble P G. Marine optical biogeochemistry: The chemistry of ocean color[J]. *Chemical Reviews*, 2007, 107(2): 402-418.
- [48] 卢松, 江韬, 张进忠, 闫金龙, 王定勇, 魏世强, 梁俭, 高洁. 两个水库型湖泊中溶解性有机质三维荧光特征差异[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(2): 516-523.  
LU Song, JIANG Tao, ZHANG Jinzhong, YAN Jinlong, WANG Dingyong, WEI Shiqiang, LIANG Jian, GAO Jie. Three-dimensional fluorescence characteristic differences of dissolved organic matter (DOM) from two typical reservoirs[J]. *China Environmental Science*, 2015, 35(2): 516-523.
- [49] Dotsika E, Lykoudis S, Poutoukis D. Spatial distribution of the isotopic composition of precipitation and spring water in Greece[J]. *Global and Planetary Change*, 2009, 71(3): 141-149.
- [50] 杨平恒, 袁道先, 叶许春, 谢世友, 陈雪彬, 刘子琦. 降雨期间岩溶地下水化学组分的来源及运移路径[J]. *科学通报*, 2013, 58(18): 1755-1763.  
YANG Pingheng, YUAN Daoxian, YE Xuchun, XIE Shiyong, CHEN Xuebin, LIU Ziqi. Sources and migration path of chemical compositions in a karst groundwater system during rainfall events[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2013, 58(18): 1755-1763.
- [51] 王巧莲, 蒋勇军, 陈宇. 岩溶流域地下水TOC输出及影响因素分析: 以重庆丰都雪玉洞地下河流域为例[J]. *环境科学*, 2016, 37(5): 1788-1797.  
WANG Qiaolian, JIANG Yongjun, CHEN Yu. Export of total organic carbon (TOC) from karst watershed and its influencing factors: An example from Xueyudong underground river system, Chongqing[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(5): 1788-1797.
- [52] Cooper Katherine, Whitaker Fiona, Anesio Alexandre, Naish Miranda, Reynolds Darren, Evans Emma. Dissolved organic carbon transformations and microbial community response to variations in recharge waters in a shallow carbonate aquifer[J]. *Biogeochemistry*, 2016, 129(1-2): 215-234.
- [53] Diane M McKnight, Elizabeth W Boyer, Paul K Westerhoff, Peter T Doran, Thomas Kulbe, Dale T Andersen. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity[J]. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(1): 38-48.
- [54] Leenheer J A, Croué J P. Characterizing aquatic dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(1): 18-26.
- [55] Marfia A M, Krishnamurthy R V, Atekwana E A, Panton W F. Isotopic and geochemical evolution of ground and surface waters in a karst dominated geological setting: A case study from Belize, Central America[J]. *Applied Geochemistry*, 2004, 19(6): 937-946.
- [56] Azzaz H, Cherchali M, Meddi M, Houha B, Puig J M, Achachi A. The use of environmental isotopic and hydrochemical tracers to characterize the functioning of karst systems in the Tlemcen Mountains, northwest Algeria[J]. *Hydrogeology Journal*, 2008, 16(3): 531-546.
- [57] Cory R M, Mcknight D M. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(21): 8142-8149.
- [58] Mendez-Millan M, Dignac M F, Rumpel C, Rasse D P, Derenne S. Molecular dynamics of shoot vs. root biomarkers in an agricultural soil estimated by natural abundance  $^{13}\text{C}$  labelling[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 42(2): 168-177.
- [59] He XS, Xi BD, Wei ZM, Guo XJ, Li MX, An D, Liu XL. Spectroscopic characterization of water extractable organic matter during composting of municipal solid waste[J]. *Chemosphere*, 2011, 82(4): 541-548.
- [60] Xiao Y H, Sara-Aho T, Hartikainen H, Vähätalo A V. Contribution of ferric iron to light absorption by chromophoric dissolved organic matter[J]. *Limnology and Oceanography*, 2013, 58(2): 653-662.
- [61] Weishaar J L, Aiken G R, Bergamaschi B A, Fram M S, Roger Fujii, Mopper K. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(20): 4702-4708.
- [62] Panagiotopoulos C, Repeta D J, Mathieu L, Rontani J F, Sempéré R. Molecular level characterization of methyl sugars in marine high molecular weight dissolved organic matter[J]. *Marine Chemistry*, 2013, 154(5): 34-45.
- [63] He Ding, Mead Ralph N, Belicka Laura, Pisani Oliva, Jaffé Rudolf. Assessing source contributions to particulate organic matter in a subtropical estuary: A biomarker approach[J]. *Organic Geochemistry*, 2014, 75(5): 129-139.
- [64] Kothawala D N, Stedmon C A, Müller R A, Weyhenmeyer G A, Köhler S J, Tranvik L J. Controls of dissolved organic matter quality: Evidence from a large-scale boreal lake survey[J]. *Global Change Biology*, 2014, 20(4): 1101-1114.

## Seasonal variation characteristics of dissolved organic matter composition and cycle process in caves

LIU Yugang, HE Qiufang, SHEN Licheng, FAN Jiabin

(Chongqing Key Laboratory of Karst Environment, School of Geographical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract** Dissolved organic matter (DOM) is the key part and important carbon source of karst carbon sink. The migration and degradation of DOM in karst aquifers is an important carrier of material and energy transfer. However, due to the lack of long-term and in-depth research on the content, composition and migration process of DOM in karst groundwater, the transfer and metabolism process of organic carbon in cave water system and its impact on karst carbon sink process are still unclear. Colored dissolved organic matter (CDOM), a colored soluble component in DOM, is often used to characterize DOM in marine and freshwater systems. It is also used to characterize the composition and change process of organic matter in the study of karst groundwater. 16S rDNA high-throughput sequencing, a commonly used method for the detection of non-cultured microorganisms, can comprehensively detect and analyze the bacterial community composition and species abundance in environmental samples. This study collected samples from the underground river in Fengdu Xueyu Cave, Chongqing on a quarterly basis, analyzed their hydrochemical indexes and organic carbon content, and characterized the changes in the composition and structure of organic carbon using CDOM fluorescence and UV-visible spectrum information. Combined with 16S rDNA high-throughput sequencing, this study also analyzed the structural characteristics of bacterial communities in groundwater and the metabolic function genes of microorganisms based on Pectrust2 prediction. According to the metabolism and transformation process of organic carbon in cave water and its response to the external input of organic matter, we can understand the migration and transformation process of organic carbon in karst groundwater, and provide scientific information for the carbon cycle and carbon sink process of karst groundwater system.

Xueyu Cave is located in the Longjiang Gorge in Fengdu county, Chongqing, the southwest karst region. The cave opening is exposed at the mid-mountain elevation of 340 meters. Affected by the subtropical monsoon climate, there are relatively obvious dry seasons with low precipitation (from October to April of the next year) and rainy seasons with high precipitation (from May to September). The flow of underground river in the cave is controlled by precipitation which is much higher in the rainy season than in the dry season. This study collected water samples from the deep part of the cave and at the mouth of the cave in the Xueyu Cave underground river on a quarterly basis in 2018 and analyzed their hydrochemical characteristics. It is found that the chemical type of the underground river water is a typical  $\text{HCO}_3\text{-Ca}$  type, with high pH, high DIC and high Ca. PCA analysis shows that the hydrochemical indicators are mainly controlled by precipitation, and present a two-level distribution in the dry season and the rainy season.  $\delta\text{D}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  content indicates that the evaporation effect and retention time of groundwater in the dry season are higher than those in the rainy season. Three CDOM components are found in the underground water of Xueyu Cave by CDOM three-dimensional fluorescence EEM parallel factor analysis, C1 is an endogenous tryptophan-like substance of microbial origin; C2 is an endogenous humic acid or fulvic acid of microbial origin; C3 is an exogenous humic acid component. The results of UV-visible absorption spectrum parameters and fluorescence spectrum parameters are similar, both of which indicate that the DOM components in the Xueyu Cave underground water are affected by inputs both from internal and external sources. The internal organic matter is mainly small molecular endogenous organic matter, accounting for 61%-77%. PCA analysis of organic carbon content and CDOM related indicators shows no obvious seasonal changes in terms of DOC and TOC content, while CDOM components, fluorescence spectrum parameters and absorption spectrum parameters demonstrate obvious seasonal differences. The fluorescence intensity and proportion of exogenous C3 in the rainy season are much higher than those in the dry

season, while the proportions of endogenous C1 and C2 in the dry season are higher. In the fluorescence parameters, HIX indicates the humification degree of CDOM, with the average value of 1.89 in the dry season, lower than the average value of 2.00 in the rainy season. On the contrary, BIX indicates the contribution of endogenous DOM in the new generation. The mean value in the dry season is 0.88, higher than that in the rainy season. 16Sr DNA analysis of bacterial community diversity shows that the Xueyu Cave underground water is dominated by heterotrophic microorganisms, and there is a large difference in the microbial community structure between the rainy season and the dry season. The gene abundance of metabolic function predicted by Pccrust 2 demonstrates that the functional gene abundance related to the degradation of aromatic substances in the rainy season is 30%-56%, higher than that in the dry season. The above analyses show that the input of exogenous organic carbon introduced by rainfall is the main control factor of organic carbon composition and carbon metabolism process in karst groundwater. During the rainy season from May to September in the karst area of Southwest China, exogenous organic matter enters karst groundwater with rainstorms, and hence its content increases. The proportions of exogenous components in CDOM and the indexes of HIX, FI and other related spectral also increase. The change of organic matter compositions takes place with the change of bacterial community diversity. The abundance of functional genes that metabolize exogenous aromatic substances in underground water increases, so does the content of exogenous organic carbon output from underground water to the outside of the cave. During the dry season from October to April of the next year, the rainfall is about 1/4 of the rainy season. While the input of exogenous organic matter decreases, the retention time of karst groundwater is longer, and the process of microbial degradation and metabolism is more sufficient. Therefore, the CDOM spectrum of groundwater reflects stronger endogenous characteristics of microorganisms with higher proportion of endogenous CDOM components exported by karst groundwater to the outside of the cave. The study results show that the main source of organic carbon in karst groundwater is controlled by rainfall, and the input amount in the rainy season is higher than that in the dry season. The full degradation and metabolism of organic matter in groundwater by microorganisms in the dry season causes the endogenous enhancement in groundwater system, which has an important impact on the process of karst underground carbon sink.

**Key words** colored dissolved organic matter , three-dimensional fluorescence spectrum, microbes, karst cave, groundwater

(编辑 张玲)