

土壤矿物与微生物相互作用的机理及其环境效应

荣兴民, 黄巧云*, 陈雯莉, 梁 巍

(华中农业大学农业微生物学国家重点实验室, 农业部亚热带农业资源与环境重点实验室, 武汉 430070)

摘要: 土壤矿物与微生物相互作用是地球表层系统中重要的生态过程。微生物或生物分子与矿物间的吸附(粘附)是两者相互作用的基础。吸附(粘附)是一个由分子间力、静电力、疏水作用力、氢键和空间位阻效应等多种作用力或作用因素共同决定、影响的物理化学过程。因此, 微生物和矿物的表面性质如表面电荷、疏水性和它们所处的环境条件如 pH、电解质浓度、温度等, 都影响着矿物-微生物吸附(粘附)过程。微生物细胞或酶可吸附于矿物表面, 其结果是细胞代谢或酶活性会发生明显变化, 并进一步影响土壤中诸多相关的生态、环境过程。结合 4 种典型的初始吸附理论: 表面自由能热力学理论、DLVO 理论、吸附等温线理论和表面复合物理论及本课题组近年来的研究成果, 对土壤矿物与微生物相互作用的类型、机理、作用力和现代研究技术等方面的最新研究进展进行了较为全面的论述, 对土壤矿物-微生物相互作用的环境效应进行了讨论, 并就该领域今后研究工作的特点及应关注的问题进行了展望。

关键词: 相互作用; 矿物; 微生物; 土壤

文章编号: 1000-0933(2008)01-0376-12 中图分类号: Q142, Q938 文献标识码: A

Interaction mechanisms of soil minerals with microorganisms and their environmental significance

RONG Xing-Min, HUANG Qiao-Yun, CHEN Wen-Li, LIANG Wei

State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Key Laboratory of Subtropical Agriculture and Environment, Ministry of Agriculture, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(1): 0376 ~ 0387.

Abstract: The interaction between mineral and microorganism is one of the most important ecological processes in soil system. The first step of microorganism-mineral interactions is the initial adhesion of microbes or biomolecules to soil minerals. As a physicochemical process, the initial adhesion was controlled by Lifshitz van der waals, electrostatic and hydrophobic forces, hydrogen bonding, as well as steric effect. The activities of microorganisms and extracellular biomolecules may subsequently be influenced after the attachments of microbial cells onto mineral surfaces. The effect of minerals on the activity of microorganisms or biomolecules may be positive, negative or neutral. This paper presents some recent advances on the interaction mechanisms of microbes with minerals especially the initial adhesion models such as surface free energy thermodynamics, DLVO theory, adsorption isotherms and surface complexation. The authors focus mainly on the interfacial and adhesion forces for the interaction between these inorganic and alive soil components. The environmental significances of these interactions are also discussed. Some modern molecular techniques such as atomic force microscopy (AFM),

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40571084)

收稿日期: 2006-10-31; **修订日期:** 2007-03-20

作者简介: 荣兴民(1978~), 男, 湖北麻城人, 博士生, 主要从事土壤矿物-微生物相互作用研究. E-mail: rongxm@webmail.hzau.edu.cn

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: qyhuang@mail.hzau.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 40571084)

Received date: 2006-10-31; **Accepted date:** 2007-03-20

Biography: RONG Xing-Min, Ph. D. candidate, mainly engaged in the investigations of the interactions between soil minerals and microorganisms. E-mail: rongxm@webmail.hzau.edu.cn

extended x-ray absorption fine structure (EXAFS) and microcalorimetry, which are powerful tools for probing biophysicochemical interactions between soil microorganisms and soil particles, are highlighted. A brief outlook is given on future studies that are needed in this intersect field.

Key Words: interactions; mineral; microorganism; soil

土壤是一个复杂的多相体系,是陆地生态系统的中心枢纽。土壤微生物是土壤中最富活力的组分,主要由土壤细菌、放线菌、真菌、藻类和各种微小的原生动物组成,其中以细菌的数量最为丰富,可高达 10^{12} 个/克土壤^[1]。土壤中诸多重要的过程都是在这些微生物的直接或间接作用下发生的,土壤微生物的数量及它们参与各种土壤生物化学反应的进程和强度深刻影响着土壤的肥力水平、环境质量甚至整个地球生态系统的碳、氮平衡。矿物是土壤固相颗粒的主要组成部分,包括各种层状酸盐矿物和铁、铝、锰的氧化物,它们构成土壤的骨架。生活在土壤中的微生物,80% ~ 90% 是粘附在各种矿物或矿物-有机物复合体表面,形成单个的微生物落或生物膜^[2]。微生物的代谢或其残体分解后,会释放出各种生物分子,如蛋白质、核酸、胞外多糖等,这些生物分子也趋向于吸附在土壤固相颗粒表面。微生物体或生物分子吸附于矿物表面后,其活性将发生改变,从而影响到土壤中与生物和生物分子相关的一系列土壤过程,如矿物形成与演化、土壤结构体稳定性、土壤养分有效性、土壤污染物质的毒性以及污染土壤的生物修复等等。因此,研究土壤矿物-微生物相互作用,不仅有助于深入了解土壤微生物过程,而且对评估和预测土壤体系中,有机污染物降解和转化的特点与动态,进而提高污染物的修复效率等也有着重要的实际意义。从 20 世纪 60 年代开始,土壤学家就对土壤微生物与矿物的相互作用研究给予了关注^[3, 4]。迄今为止,这一领域的研究已经涉及到微生物在矿物表面的吸附过程、矿物对微生物和生物分子活性的影响、微生物对矿物的溶解以及矿物-微生物-土壤污染物三者间的关系等多个方面。在矿物学中,对微生物成矿、生物浸矿等也进行了深入的研究。本文主要就土壤矿物与微生物及生物分子间相互作用的类型、作用机理、理论模型、研究现状及新型研究技术手段等,并结合作者课题组的相关研究成果,综述了近年来这一领域的主要研究进展。

1 作用机理与过程

微生物与土壤矿物间的相互作用,可分为生物学和非生物学相互作用两类。生物学相互作用包括微生物细胞在矿物颗粒表面的生长繁殖和分泌有机物质,如细胞释放胞外酶和生物多聚物等。非生物学相互作用又可分为物理相互作用和物理化学相互作用。物理相互作用主要是土壤基质的几何形状和聚合能力,如由土壤矿物决定的土壤孔隙大小分布、持水力、黏结性、土壤的机械性质等对微生物的影响。物理化学相互作用包括两者在界面和土壤溶液中发生的过程,如吸附、溶解、水解、氧化、pH 值变化等^[5]。

土壤矿物与微生物相互作用,首先要相互接触,即土壤矿物对微生物的吸附。土壤矿物对细菌,真菌和放线菌的吸附均有报道^[6~8],其中以细菌的研究相对较多^[9~11]。两者间的吸附反应一般包括 4 个步骤:(1) 细胞向固相表面迁移。细菌胶粒由于布朗运动而向表面的扩散、对流引起的细胞向表面靠近及主动运输。对流迁移速度远大于扩散迁移,主动运输是由于自身的鞭毛运动,或者对界面附近存在的营养物或其它化学物的浓度梯度变化的自主趋化性,细胞会主动向界面靠拢。(2) 初始吸附,两者相互接触,细菌粘附于矿物表面。(3) 细胞逐步更加紧密地结合在矿物颗粒上。(4) 细菌在矿物颗粒表面定殖,形成粘附的微生物落或生物膜。初始吸附过程反应较快,一般认为是物理化学过程,可以在几秒或几分钟内完成,依据吸附能量的大小,将其分为可逆初始吸附和不可逆初始吸附^[12]。迁移和初始吸附持续的时间较短,细菌可以视为无新陈代谢的惰性胶体颗粒。而在结合与定殖这两步反应中,细菌同时进行着新陈代谢,为活性颗粒^[5]。吸附反应的后两步可持续几个小时或几天,并合成胞外多聚物,如多聚糖或者蛋白质,这些物质可以使细胞的吸附更加紧密^[13, 14]。

矿物与微生物间的吸附与解吸,是多种作用力共同作用结果。这些作用力主要包括范德华力、静电力、疏

水相互作用(路易斯酸碱作用)、空间位阻效应及氢键等等。当细菌和表面距离较远($>50\text{nm}$)时,起决定作用的是范德华力,一般表现为引力;细菌和矿物表面常常带有电荷,当两种颗粒逐步靠近($2\sim20\text{nm}$),两者电场相互重叠,此时静电力不可忽视。范德华力和静电力由于其作用距离远,常称之为长程作用力。当两者距离继续靠近($<2\text{nm}$),疏水作用力更为重要。根据 van Oss^[15]的观点,当细菌与表面接触后,疏水相互作用力比范德华力要大 $10\sim100$ 倍。疏水相互作用源于水分子间氢键聚合的键能^[16],而氢键结合可以视为电子供体或电子受体的一种更普遍的表达方式,因此也将疏水相互作用称为路易斯酸碱相互作用。相对于长程作用力,疏水力由于其作用距离近,又称为短程作用力。由于同晶置换作用或晶体边缘断键而形成表面活性基团使土壤矿物颗粒表面常带净负电荷。细菌表面也富含各种活性基团,如羟基、羧基、酮基、醛基以及肽键等,使细菌表面带净负电荷。根据扩散双电层理论,细菌细胞要与矿物接触,必须克服势能障碍,其可能方法是通过胞外多聚物和土壤溶液中高离子强度电解质来形成阳离子键桥、水桥或多聚物桥^[17]。此外,细菌在土壤溶液中,形成粗分散系,这种粗分散系易受重力而沉降。因此,重力亦可促进细菌在固相表面的定殖。细菌细胞、生物大分子作为胶体颗粒,在某些条件下布朗运动也可能是其吸附于固相表面的初始作用力^[18]。当胶体颗粒间距离很近($<1\text{nm}$)时,还存在空间位阻效应、氢键、表面基团的特异识别等相互作用。而渗透压,表面粗糙度,微气泡形成的空穴(microbubble cavitation)也对吸附行为有影响^[19]。这些作用力和作用因素共同决定、影响着细菌在矿物表面的吸附与解吸行为。

土壤微生物与矿物的表面吸附过程,是两者相互作用的基础。如果将整个吸附过程看作一系列反应,则初始吸附一般为整个过程的限速步骤^[20]。因此,研究初始吸附是探讨细菌与矿物相互作用的关键。

2 初始吸附的理论模型

目前预测细菌与矿物间初始吸附过程的理论与模型主要有 4 种:表面自由能热力学模型、DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek) 理论、表面复合物模型和等温吸附模型。

2.1 表面自由能热力学模型

热力学方法假定相互作用实体的表面发生物理接触,吸附过程是可逆的,并达到热力学平衡。基于表面自由能理论,若忽略空间位阻效应,则吸附的总自由能为:

$$\Delta G_{\text{adh}} = \gamma_{\text{sm}} - \gamma_{\text{sl}} - \gamma_{\text{ml}} \quad (1)$$

式中, γ_{sm} 、 γ_{sl} 、 γ_{ml} 分别为固相-微生物、固相-液相、微生物-液相的界面自由能(或表面张力)。式(1)同样也适合于细菌间的聚合、共聚合(coaggregation)或共吸附(coadhesion)。微生物与固相表面吸附反应的发生,总是趋向于使自由能达到最小。因此,从自由能的观点来看,当 $\Delta G_{\text{adh}} < 0$ 时,微生物与固相表面容易发生吸附反应;反之若 $\Delta G_{\text{adh}} > 0$,则两者不容易发生吸附。根据 Young's 方程(2)和状态方程(3):

$$\gamma_{\text{lv}} \cos\theta = \gamma_{\text{sv}} - \gamma_{\text{sl}} \quad (2)$$

$$\gamma_{\text{ml}} = \frac{(\sqrt{\gamma_{\text{sv}}} - \sqrt{\gamma_{\text{lv}}})^2}{1 - 0.015 \sqrt{\gamma_{\text{sv}} \gamma_{\text{lv}}}} \quad (3)$$

如果分别测定液体对细胞和固相表面的接触角(θ),以及液体的表面张力(γ_{lv}),则可以计算出 γ_{sm} 、 γ_{sl} 、 γ_{ml} 和吸附自由能(ΔG_{adh})。此外,热力学方法认为,界面自由能主要由非极性的范德华力组分(ΔG^{LW})和极性的路易斯酸碱组分(ΔG^{AB})两部分构成,此时如果不考虑扩散压,则至少需要测定两种液体的接触角,才能获得吸附自由能数据。Chen 和 Zhu^[21]报道,两种革兰氏阳性菌(*Streptococcus mitis* 和 *Lactobacillus casei*)与石英砂间均为负的吸附自由能,表明这两种细菌与石英砂间可发生吸附反应。当石英砂表面覆盖铁氧化物后,负的吸附自由能明显减小,显示铁氧化物覆盖后两者间吸附反应更容易发生。表面自由能热力学模型假定吸附是可逆过程,然而在某些情况下细菌的吸附是不可逆过程^[12]。此外,若吸附发生在次级最小势能处(the secondary minimum),新的细胞-底物界面还未形成时,热力学模型一般不适用^[22]。热力学模型描述的是一个平衡过程,却不能解释吸附过程的动力学特征,而且这个模型也忽略了吸附自由能与距离的关系。甚至有的研究表明,该模型预测的细菌吸附行为与实际情况相矛盾^[23]。因此,该理论还需要进一步完善。

2.2 DLVO 理论

微生物细胞大小一般在微米级,当其游离于土壤溶液时,形成菌胶体悬液,此时其与固相表面间的吸附行为,符合胶体动力学规律,可以用胶体科学理论对二者间的吸附现象进行研究。Marshall 等^[24]首次将 DLVO 理论应用于细菌在固相表面的吸附,认为电解质浓度对细菌吸附过程的影响可以用这个理论来解释。根据经典的 DLVO 理论,细菌与固相表面的吸附反应,是两者间范德华力和静电力作用平衡的结果。相互作用的总能量(G^{TOT})等于范德华力能(G^{LW})和静电力作用能(G^{EL})之和,即: $G^{\text{TOT}}(d) = G^{\text{LW}}(d) + G^{\text{EL}}(d)$ 。这里 d 为细菌与固相表面的距离,表明这两种作用能的大小与距离的远近直接相关。经典的 DLVO 理论并没有考虑疏水相互作用(G^{AB}),扩展的 DLVO 理论认为细菌与固相表面的吸附是范德华力、静电力和疏水相互作用 3 种作用力平衡的结果,即: $G^{\text{TOT}}(d) = G^{\text{LW}}(d) + G^{\text{EL}}(d) + G^{\text{AB}}(d)$ 。Sharma 和 Rao^[25]运用表面热力学模型和扩展的 DLVO 理论对多粘芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)在黄铜矿和黄铁矿表面的吸附进行了比较研究,发现 DLVO 理论的预测与实际情况吻合。但应用表面自由能热力学模型,由于未考虑两者间的静电作用,得出细菌不能在这两种矿物表面吸附的结论。由此可见,DLVO 理论比表面热力学理论能够更准确地预测细菌在矿物表面的吸附行为。扩展的 DLVO 理论可以看作是热力学理论与传统 DLVO 理论的结合。

2.3 化学平衡表面复合物模型

这一模型认为,由于细菌表面含有羟基、羧基、磷酸基等基团,矿物表面也含有羟基等。这些基团在一定条件下,可以解离出 H^+ 。因此,细菌表面基团和矿物表面基团可以发生特异性结合,形成表面复合物。若这种结合是可逆的,则根据解离平衡常数,不同实验条件下细菌的吸附量等参数,就可以拟合出细菌与矿物间吸附的最佳反应模型,并运用模型对吸附反应进行预测和模拟。如 Yee 等^[11]认为,枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)与刚玉的表面初始吸附反应为完全可逆的平衡过程。这一反应可以表示为:



即细菌表面的羧基作为质子供体,吸附于矿物表面的正电荷位点($>\text{Al}-\text{OH}_2^{+1}$),这一反应的平衡常数的对数值为 13.0 ± 1.1 。该常数可以很好的描述体系 pH 值、细菌、矿物质量比对吸附行为的影响。运用该模型,可以解释枯草芽孢杆菌吸附于矿物表面,是受疏水相互作用力的驱动,静电引力也起着重要作用。

2.4 等温吸附模型

探讨在等温条件下,矿物表面的细菌吸附量随体系中矿物量浓度或随细菌浓度改变而变化的关系。根据获取的实验数据,拟合它们间的关系,如经典的 Langmuir、Freundlich 吸附方程。Hendricks 等^[26]指出,金黄葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)在土壤矿物上的吸附符合 Langmuir 方程。Ohmura 等^[27]也报道,在菌液浓度达到每毫升 9.0×10^8 个细胞时,大肠杆菌(*E. coli*)在黄铁矿表面的吸附达到饱和,吸附量与菌液浓度的关系符合 Langmuir 方程。Mills 等^[28]发现细菌吸附于洁净石英砂表面的吸附量与细菌浓度和离子强度成线性关系,等温线的斜率(K_d)在 0.55 到 6.11 ml g^{-1} 范围变化。当离子强度最大时,吸附量也达到最大。这是由于矿物和细菌表面都带有负电荷,当离子强度增加时,双电层厚度被压缩而使细菌与矿物间的吸附增强。

以上四种初始模型中,DLVO 理论对细菌的吸附行为进行的解释较为合理。既可以解释两带电表面的静电力和范德华力,也可以用来描述矿物与细菌表面相互作用势能随两者间距离的变化规律,还能模拟不同离子强度下,相互作用势能随两带电表面双电层厚度的变化情况。但这一理论仍不能在未进行实验测定情况下,对反应体系进行估测。例如预测反应体系中吸附于矿物表面的细菌和游离于溶液中细菌的数量分布。因此难以用于实践,只能作为实验中对吸附的机理进行解释。此外,若细胞表面含丰富的胞外多聚物质,扩展的 DLVO 理论也未能准确地解释细菌的吸附,这是由于扩展 DLVO 理论忽视了胞外多聚物的结构和构象变化^[29]。但表面复合物模型可以通过实验数据,结合基本的化学规律,来推断其他条件下的反应情况,即可以对实际情况进行预测。

3 微生物和生物分子在矿物表面的吸附

矿物对细胞和生物分子的吸附,是一个复杂的过程,受到矿物和细胞的结构、表面性质、环境条件的影响。

吸附反应能否发生、吸附后能否解吸,吸附的紧密程度等,受各种环境条件所控制。Yee 等^[11]报道,枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)在石英(SiO_2)和刚玉($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$)表面的吸附反应,是一个完全可逆的过程,反应在一小时内达到平衡。枯草芽孢杆菌对刚玉显示出较高的亲和力,其吸附量与 pH、离子强度的大小有显著相关性。在 pH 3 ~ 11 间,随 pH 增加,吸附量从约 80% 减小至零吸附;离子强度增加一千倍,吸附量减小 20%。而该细菌在石英表面的吸附则较弱,对 pH 值、离子强度的依赖性也较小,在 pH 4.4 条件下,平均吸附量仅为 9.4%。铁氧化物的覆盖可以使矿物对细菌的吸附显著增强。例如石英和细菌表面都带负电荷,两者间存在静电斥力。有 FeOOH 覆盖后,石英表面常带正电荷,由于静电引力使石英对细菌的吸附率增大^[9]。增加离子强度可以改变赤铁矿和多粘芽孢杆菌(*B. polymyxa*)的 ζ 电位,但两者的电荷零点不发生变化。吸附实验表明多粘杆菌与赤铁矿和石英的吸附受到作用时间、体系 pH 值和离子强度的控制。多粘杆菌在赤铁矿表面的吸附量大于在石英表面的吸附量。这种选择性吸附可以用于赤铁矿的浮选和絮凝^[30]。矿物表面对细菌的吸附还取决于细菌类型及细胞的结构特点,革兰氏阳性和阴性细菌细胞壁结构和组成差异较大,这两类细菌的吸附行为有所不同。David 等^[9]比较了枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)和门多萨假单胞菌(*P. mendocina*)在铁氧化物覆盖的石英表面的吸附,表明革兰氏阳性的枯草芽孢杆菌吸附量大于革兰氏阴性的门多萨假单胞菌,显示细胞壁结构差异对细菌在矿物表面的吸附的影响。不同生理状态的细菌,其表面性质也有差别,从而在矿物表面表现出不同的吸附行为。Grasso 等^[31]报道,铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)在白云石表面的吸附,静止期显著大于对数期和衰退期,这是由于铜绿假单胞菌在静止期其表面电子供体能力(γ_{e})比对数期和衰退期小,但静止期细菌 ζ 电位比对数期和衰退期高。Walker 等^[32]的研究表明,每克蒙皂石和高岭石可饱和吸附约 0.75 ~ 1.0 mg 分离自大肠杆菌(*E. coli*)和枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)的胞外披膜或细胞壁,它们优先吸附于粘土的边缘,加入重金属离子如 Ag^+ 、 Cu^{2+} 、 Cr^{3+} 后,则吸附于矿物晶面的可能性增加,这表明多价金属离子的桥接作用影响到矿物对胞外披膜和细胞壁的吸附。Parent 和 Velegol^[33]报道,腐殖酸可以促进大肠杆菌在石英颗粒表面的吸附,但促进效应较小。磁极性可显著影响荧光假单胞菌(*P. fluorescens*)在磁性表面的吸附,这是由于表面磁性效应可以显著改变表面自由能,从而影响到细菌的吸附^[34]。

粘土对病毒的吸附研究表明,粘土表面阳离子交换位点的多少,直接影响到大肠杆菌 T_1 噬菌体在高岭石表面的吸附,而蒙脱石表面上的阳离子交换位点则影响较小。高岭石和蒙脱石对 T_1 噬菌体的吸附与其阳离子交换量没有相关性,但 T_1 噬菌体在这两种矿物表面的吸附量则与矿物的阳离子交换量有关^[35]。此外,土壤矿物表面并不是洁净的表面,常常包被有一层矿物或有机物质,这可以影响到土壤矿物的表面性质及其对微生物的吸附^[5]。

土壤微生物常常通过分泌各种蛋白质,与粘土矿物形成粘土-蛋白质复合体。用¹⁴C 标记法研究表明,分离自大肠杆菌的蛋白质和氨基酸可以被紧密而迅速地吸附于粘土矿物表面,并且吸附后不容易解吸,静电相互作用是影响矿物吸附蛋白质的主要因素^[36]。有些种类的土壤微生物可以分泌黏性胞外多糖(EPS),使细胞更加紧密地吸附于矿物表面,并且帮助细胞抵御干燥和耐受不良环境^[37]。胞外多糖能快速而不可逆的吸附于粘土矿物表面^[38~40]。这种吸附主要包括弱的相互作用,如氢键和范德华力。在带电的 EPS 吸附中也包括静电相互作用,如二价或三价阳离子可增强带负电的胞外多糖在带负电荷的粘土表面吸附^[41]。胞外核酸对细菌在针铁矿表面的吸附有重要影响,Omoike 等^[42]报道,源于胞外核酸的磷酸二酯基可与针铁矿表面中心铁原子形成键能稳定的单齿配合物。胞外酶,毒素, DNA 等释放于土壤环境中的生物活性分子,容易被土壤颗粒,尤其是粘土矿物所吸附。胞外酶通过氢键、静电力和疏水相互作用而吸附在粘土矿物上^[43]。吸附一般导致酶活性降低,但也有例外,Quiquanpoix^[44]报道,土壤真菌产生的植酸酶,其构象高度稳定,吸附后似乎对酶活性没有影响。因此,土壤微生物在产生胞外酶的过程中,可以适应环境条件,以使其所产生的胞外酶在吸附到粘土矿物后仍然保持活性。被粘土矿物吸附后,胞外酶的最适 pH 值可能向碱性范围明显偏移^[45~47]。在 pH 值低于等电点时,带正电荷的酶与带负电荷的粘土矿物表面有很强的静电相互作用。胞外酶被土壤矿物或土壤中其它组分吸附后,以固定态存留于土壤。土壤矿物对酶的吸附固定在一定程度上影响着土壤组分

与微生物的相互作用及微生物的活性。Huang 和 Shindo^[48]报道,与固定于针铁矿和 MnO_2 表面的酸性磷酸酶相比,固定在可变电荷土壤和高岭石表面的酸性磷酸酶活性更容易受氯化铜的抑制。柠檬酸铜对游离酶和固定态酶活性的抑制效应比氯化铜小。动力学研究表明,铜和锌抑制了固定于粘土表面酸性磷酸酶的最大反应速率,但增加了固定态酶对底物的亲和力^[49]。土壤中不同大小的矿物颗粒对土壤酶的吸附有显著差异,细粘粒($<0.2\mu\text{m}$)对酸性磷酸酶的吸附显著大于粗粘粒,而且吸附后不易被解吸。粗粘粒($0.2\sim2\mu\text{m}$)和无机粘土比细粘粒和有机粘粒对酶有更强的亲和力。静电力和配体交换是酸性磷酸酶吸附土壤粘粒的主要驱动力。有机粘粒对磷酸酶的吸附量大于无机粘粒,但吸附于有机粘粒的磷酸酶容易被解吸。配体交换是酸性磷酸酶在针铁矿表面吸附的主要原因,而范德华力、疏水相互作用和氢键则是这种酶吸附于高岭石表面的主要作用力^[50]。

土壤中数量和种类丰富的 DNA,来自于活体微生物或微生物残体,或高等动植物残体分解。土壤中 DNA 可以被核酸酶所降解^[51],故一般认为土壤中 DNA 的“自然转化”过程不容易发生。然而,DNA 分子被土壤矿物吸附后,不但难于被降解,甚至具有转化感受态细胞的能力^[52],因此,探讨 DNA 在土壤矿物表面的吸附机理,有助于了解遗传物质在土壤中的转移过程。DNA 分子在粘土矿物或土壤胶体表面的吸附受多种因素影响。有机质在恒电荷棕壤中抑制 DNA 吸附,而在可变电荷红壤中促进 DNA 吸附。土壤颗粒大小、环境 pH 值也可以影响 DNA 的吸附行为,DNA 与 $0.2\sim2\mu\text{m}$ 粗粘粒、去有机质粘粒及高岭石之间有较强的亲和力,而与细粘粒、含有机质粘粒、蒙脱石及针铁矿之间亲和力较弱。环境 pH 从 2.0 上升到 5.0,DNA 在土壤胶体和矿物表面的吸附量显著降低;pH 从 5.0 上升到 9.0,吸附量则是一个缓慢降低的过程,而电解质 MgCl_2 比 NaCl 更能促进 DNA 在土壤胶体和矿物表面的吸附^[53]。DNA 在有机粘粒和蒙脱石表面的吸附受静电力控制(占 60%),主要吸附在胶体平面,且易被解吸;DNA 与无机粘粒和高岭石通过配位交换以及氢键等作用,吸附在胶体边缘面上,不易被解吸。DNA 在红壤胶体和矿物表面通过静电力作用吸附的比例较低,仅为 10%~20%。在含有机质粘粒和高岭石表面,DNA 可能主要通过疏水力和氢键作用,而在去有机质粘粒和针铁矿表面,DNA 主要通过配位交换吸附,占 43.3%~65.2%^[54]。DNA 在棕壤有机粘粒和蒙脱石表面对核酸酶有较强的抗性,而无机粘粒和高岭石表面固定的 DNA 易被降解;在可变电荷红壤中,有机质和颗粒大小对 DNA 降解的影响不显著。DNA 在土壤胶体和矿物表面的降解与 DNA 的固定强度及构型变化无关,而主要决定于土壤胶体和矿物表面酶的活性和 DNA 的吸附位点^[55]。DNA 分子在蒙脱石、高岭石和针铁矿上的吸附焓变随着 pH 的增加而增加,而随着 MgCl_2 浓度的增加而降低。DNA 在各种土壤活性颗粒上的吸附均是自发过程,由熵推动。土壤无机胶体对 DNA 的吸附为放热过程,而土壤有机无机复合胶体对 DNA 的吸附则为吸热反应,脱水作用可能是 DNA 在土壤胶体表面吸附的主要推动力^[56]。

4 土壤矿物与微生物相互作用的后果

土壤矿物与微生物的相互作用,对土壤中的一系列生态过程产生深远影响,Babich 和 Stotzky^[57]报道,蒙脱石和高岭石可以减轻镉对细菌、放线菌和丝状真菌的毒性。细菌和土壤矿物对污染物质,如重金属和有机污染物有着较强的吸附能力^[58,59],决定了土壤中污染物的迁移性与细菌运移密切相关。Huang 等^[60]认为,与细菌混合后,分离自淋溶土和老成土中的高岭石和土壤胶体的表面积增加了 3.0%~8.8%,土壤胶体表面负电荷增加,正电荷减少,细菌可以促进高岭石和土壤胶体对重金属铜和镉的吸附。在粘土矿物与细菌共存体系中,细菌更容易吸附重金属离子,且吸附后不易解吸。Flemming 等^[61]指出, Ag^+ 吸附于细胞壁-高岭石复合体后,其 EDTA 解吸率与 Ag^+ 吸附于细胞壁后的解吸率相当,但小于 Ag^+ 吸附于高岭石后的解吸率 6~8 倍,这说明细胞壁在此复合体对 Ag^+ 的吸附解吸过程中起决定作用。Ohnuki 等^[62]报道,当枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)与高岭石共存时,铀(VI)更容易吸附于枯草芽孢杆菌表面,吸附量随细菌浓度增大而增加。吸附于高岭石表面的铀(VI),80% 可被醋酸钾解吸,当细菌存在时,铀的解吸量则明显减小。环境中的细菌常与矿物形成细菌-矿物复合体,这种复合体对重金属的吸附行为与单一的细菌或矿物对重金属的吸附行为有差异。长期 X-射线驻波技术研究表明,伯克霍尔德菌(*Burkholderia cepacia*)在赤铁矿($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$)和刚玉($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$)表

面吸附并形成单层生物膜,这个过程不会钝化这两种矿物表面的反应位点,它们仍可吸附大量 Pb^{2+} [63]。重金属离子在矿物-细菌复合体中的分配受环境 pH 条件影响。在 pH 小于 5.5 时,至少 50% 的 Pb^{2+} 是结合在细菌-针铁矿复合体中的细菌表面;当 pH 大于 6 时,则有 70% 的 Pb^{2+} 吸附于针铁矿表面[64]。离子强度显著影响锆在细菌或水合氧化铁表面的吸附,而细菌-水合氧化铁复合体对锆的吸附受离子强度影响较小,当体系 $NaNO_3$ 浓度从 0 增加到 0.1 mol/L 时,此复合体对锆最大吸附量从 $34 \mu\text{mol g}^{-1}$ 减小到 $24 \mu\text{mol g}^{-1}$ 。

细菌吸附于矿物后,其代谢活性将发生改变,从而影响到土壤中多种微生物过程。粘土矿物的吸附对微生物利用底物、硝化作用、呼吸作用和微生物生长繁殖等有促进或抑制作用[65~67]。有的学者认为固相表面的存在,有利于细菌的生存。Zobell[68]报道,在贫营养条件下,固相表面可以吸附营养物质,从而促进吸附于固相表面细菌的生长繁殖。Martin 等[69]发现,蒙脱石对代谢废物的吸附可增强链霉菌(*Streptomyces* sp.)和小单孢菌(*Micromonospora* sp.)的代谢活性。Lavie 和 Stotzky[70,71]报道,在低浓度土壤矿物(蒙脱石、高岭石或绿坡缕石)存在条件下,荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma capsulatum*)的呼吸作用显著降低;随着矿物浓度增加,呼吸作用缓慢减小,其原因是粘土矿物颗粒与菌丝结合影响到营养物质和代谢物在菌丝内外的移动,并干扰了细胞壁的气体通透性,从而影响到菌体的呼吸作用。另外,吸附于粘土表面的铁载体固定了大量的铁养分,致使这种真菌铁营养不足。Manini[72]观察到,在自然沉积物中加入方解石或石英,并培养 15d 后,微生物生物量和 β -葡萄糖苷酶活性分别降低了 15%~18% 和 56%。以上结果也表明,土壤矿物的存在可以显著改变土壤微生物的群落结构。基于微量热技术的研究表明,蒙脱石、高岭石和针铁矿 3 种土壤矿物均不同程度地促进了苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)对数生长期的活性,而对其孢子形成期的代谢活性则有着显著的抑制作用,如纯细菌体系孢子形成期的最大热功率为 $110 \mu\text{W}$,加入针铁矿 $5 \sim 50 \text{ mg ml}^{-1}$ 后,最大热功率降至 $60 \mu\text{W}$ 以下(图 1)。

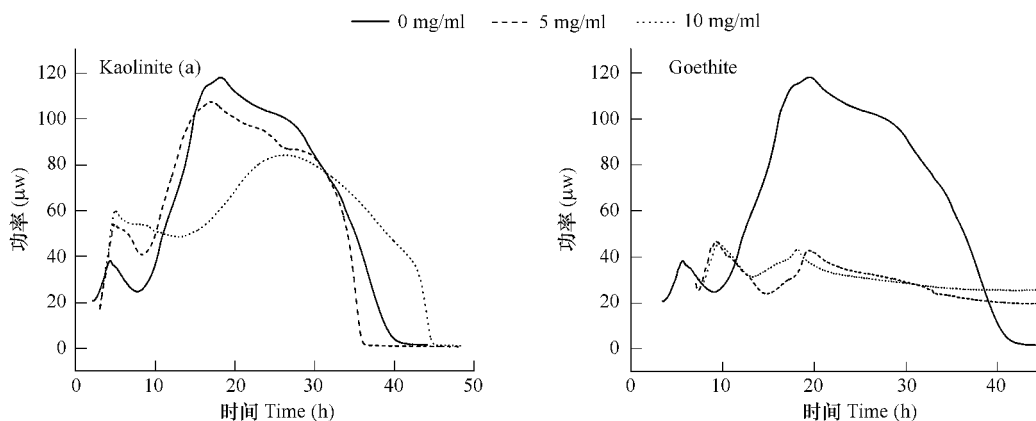


图 1 苏云金芽孢杆菌与不同浓度高岭石(a)、针铁矿(b)共存时的功率-时间曲线

Fig. 1 The power-time curves of *B. thuringiensis* in the presence of increasing amounts of kaolinite (a) or goethite(b)

高岭石和蒙脱石可以促进铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)在高浓度重油污染的海洋环境中的生长繁殖,形成重油-细胞-粘土复合体。对这种复合体进行透射电镜观察显示,细胞倾向于首先结合在矿物边缘。X-射线衍射分析表明,粘土-重油和粘土-重油-细胞复合体参与了细菌在粘土外表面的吸附[73]。进一步研究还发现,高岭石可以促进铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)对重油的分解,其可能原因有以下两点:(1)来源于高岭石的硅有利于细菌利用碳氢化合物;(2)在碳氢化合物存在时,细胞壁表面形成的 C-O-Na-Si 复合体可促进细菌生长[74]。有机污染物吸附于矿物表面后,其对微生物的可利用性将发生明显变化。如萘吸附于土壤后,其被恶臭假单胞菌(*P. putida*)矿化的速率和矿化程度都明显减小[75]。

细菌与矿物的相互作用可改变两者的表面性质。Sharma[76]等报道,经过与含硫矿物一起驯化培养后,多粘芽孢杆菌(*P. polymyxa*)表面亲水性更强,但 zeta 电位未发生明显变化,其表面基团也没有发生明显改变。细菌在矿物表面生长,常常可利用矿物中的某些元素作为电子受体,从而使矿物中元素溶解出来,并改变矿物

的结构和性质。Kostka 等^[77]报道,从土壤和沉积物中分离到的细菌(*Shewanella putrefaciens*, *Geobacter metallireducens*, *Pseudomonas putida*)可以催化蒙皂石中 46% 到超过 90% 的三价铁被还原,同时使蒙皂石的表面化学性质发生显著变化,如膨胀压减小 40% ~ 44%,表面积减小 26% ~ 46%,但表面电荷密度和表面疏水程度则有一定程度增加。细菌与矿物的表面性质(如表面疏水性、表面电位等)影响到细菌的浸矿效率,而表面性质则依赖于溶液性质,如 pH 值、离子强度等。

土壤活性颗粒对微生物的吸附,并形成微生物-矿物复合体,使得微生物细胞很难从土壤中被浸提出来,这一直是从土壤中分离微生物比较困难的原因。此外,在运用现代分子生态技术研究土壤微生物群落结构时,由于土壤颗粒对 DNA 的强烈吸附,导致土壤中总 DNA 不容易被完全提取^[78],给土壤生态学研究增加了一定的难度。

5 土壤矿物-微生物相互作用研究技术

新兴的研究技术有助于从两者间相互作用后的形貌信息、作用力的大小、作用过程中表面基团的变化情况等方面了解细胞在矿物表面相互作用的微观机理。借助扫描或透射电子显微镜,可以观察到土壤微生物吸附在砂粒或植物残体等较大颗粒的表面^[79],也可以观察到微生物吸附在比自身小的颗粒表面,吸附的结果是在细胞外形成一层矿质包被,称为“细菌微团聚体”^[80]。运用相同的手段也可以观察到土壤团聚体表面细菌形成的生物膜^[79]。扫描电子显微镜观察结果显示荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma capsulatum*)菌丝可与粘土颗粒紧密结合,导致此真菌呼吸作用显著降低^[71]。垂直扫描干涉测量(Vertical Scanning Interferometry)技术可以在埃到纳米水平量化表面形貌。因此可以直接的、非破坏性的对矿物的溶解速率进行高精度的测定。Lüttge 和 Conrad^[81]对矿物表面溶解进行研究,沙雷氏菌的出现导致钙长石的表面溶解速率显著降低。原子力显微镜(AFM)是研究矿物与微生物间相互作用的有效工具。它可以测定矿物与细菌间在纳米距离范围内,两者间作用力大小随距离的变化情况及力的作用范围。Lower 等^[82]使用原子力显微技术研究伯克霍尔德菌(*Burkholderia* sp.)与白云母的相互作用的结果表明,在 pH 6.0,离子强度 10^5 mol/L 时,带正电的聚赖氨酸与带负电的白云母 001 面间有较强的吸引力。与此相反,在约 80nm 处,伯克霍尔德菌细胞与白云母 001 面显示出排斥相互作用,但当两者一旦相互接触,克服了排斥障碍后,细菌则有向矿物表面吸附的趋势。此外,在贫营养条件下培养的伯克霍尔德菌与白云母间表现出很强的亲和性,此时两者间的引力大,而且作用距离远。沙雷氏菌在厌氧条件下能对针铁矿表面做出快速响应,并在细胞-矿物界面积累较强的吸附能。这是由于在厌氧条件下,细菌识别针铁矿并将其作为末端电子受体,然后这种细菌固定(或产生)一种铁还原酶,这种酶可与针铁矿表面特异相互作用^[83]。傅立叶变换红外光谱(FTIR)对于考察表面有机官能团有独特作用。Deo 等^[84]将赤铁矿、刚玉及石英与多粘芽孢杆菌一起培养 24h 后,傅立叶变换红外光谱研究显示,石英表面基团发生明显变化,在 3430 cm^{-1} 处出现了一个 N-H 基团的尖峰,此外还出现了 C=O、—CONH、基团的特征峰,在刚玉和赤铁矿表面则出现了 CH_2OH 、C—OH 特征基团。这些数据表明,若矿物与细菌处在同一环境中,源于细菌的蛋白质可特异吸附于石英表面,而胞外多糖则特异吸附于赤铁矿和刚玉表面。

6 结语

综上所述,土壤矿物与微生物及生物分子间的相互作用,是当今土壤学领域的研究热点与前沿。国际土壤学联合会原土壤矿物-有机物-微生物相互作用工作组的基础上,于 2006 年正式成立了土壤物理/化学/生物界面反应专业委员会,显示出国际土壤学界对这一领域研究的高度关注与重视。但是,由于土壤矿物与微生物相互作用的复杂性,目前的研究大多都是考虑矿物和微生物的表面特征,如表面疏水性、表面电荷等对吸附过程的贡献,而较少从分子或原子水平研究矿物-微生物相互作用的机理。此外,现有工作主要集中于微生物在大颗粒的原生矿物表面的吸附研究,对土壤中占重要地位的粘粒矿物还很少涉及;实验室模拟研究较多,原位研究还很缺乏。因此,土壤矿物与微生物的相互作用研究还需不断创新,大量的问题仍有待阐明,特别是在以下几个方面尤需加强研究。首先,需要从分子或原子水平探讨矿物与微生物的作用机制,譬如参与吸附的表面基团的认定,细胞与矿物间是否存在特异识别机制,如果存在,其相互识别的机理如何。其次,需

要弄清作用过程中的各种力的大小及影响因素。传统理论只是定性地了解参与吸附的各种作用力,而各种作用力对吸附过程的贡献大小却仍然未知。第三,目前对微生物或生物分子与矿物间相互作用的热力学信息,如微生物-矿物间吸附反应的热效应,吸附过程的熵驱动机理等还知之甚少。第四,矿物微生物互作对养分元素的有效性、有机污染物质的降解以及重金属毒性的影响如何等等。围绕以上的工作和重点问题,除了常规的物理化学研究手段外,可以利用原子力显微技术和激光共聚焦扫描显微镜(LSCM)获得细菌或矿物表面的高清晰平面和三维形貌,X-射线光电子能谱(XPS)获取表面元素的组成和含量,同步加速辐射技术(XAFS)提供表面原子间配位数、配位距离及元素价态,运用高精度微量热技术(Microcalorimetry)得到土壤矿物-微生物相互作用的热力学信息等。土壤矿物与微生物间相互作用的研究,涉及到土壤化学、微生物学、胶体化学等多个领域,需要将这些不同的现代分析技术结合起来,只有这样才能从不同的侧面深入揭示矿物-微生物互作的有关机理,使这一领域的研究迈上新的台阶。

References:

- [1] Young I M, Crawford J W. Interactions and self-organization in the soil-microbe complex. *Science*, 2004, 304(5677): 1634—1637.
- [2] Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini M T, *et al.* Microbial diversity and soil functions. *Eur J of Soil Sci*, 2003, 54(4): 655—670.
- [3] Stotzky G. Clay minerals and microbial ecology. *Transactions of the New York Academy of Sciences*, 1967, 30(1): 11—21.
- [4] Stotzky G, Rem L T. Influence of clay minerals on microorganisms I. Montmorillonite and kaolinite on bacteria. *Can J Microbiol*, 1966, 12(3): 547—563.
- [5] Chenu C, Stotzky G. Interactions between microorganisms and soil particles: An overview. In: *Interactions between soil particles and microorganisms*. Chichester: John Wiley & Sons, 2002. 4—29.
- [6] Stotzky G, Rem L T. Influence of clay minerals on microorganisms IV. Montmorillonite and kaolinites on fungi. *Can J Microbiol*, 1967, 13(11): 1535—1550.
- [7] Stotzky G. Influence of clay minerals on microorganisms. . Effect of particle size, cation exchange capacity, and surface area on bacteria. *Can J Microbiol*, 1966, 12(6): 1235—1246.
- [8] Fomina M, Gadd G M. Influence of clay minerals on the morphology of fungal pellets. *Mycol Res*, 2002, 106(1): 107—117.
- [9] David A, Jeremy F, Dong H, *et al.* Experimental measurements of the adsorption of *Bacillus subtilis* and *pseudomonas mendocina* onto Fe-oxyhydroxide-coated and uncoated quartz grains. *Geomicrobiol J*, 2004, 21(8): 511—519.
- [10] van Loosdrecht M C M, Lyklema J, Norde W, *et al.* Bacterial adhesion: A physicochemical approach. *Microb Ecol*, 1989, 17(1): 1—15.
- [11] Yee N, Fein J B, Daughney C J. Experimental study of the pH, ionic strength, and reversibility behavior of bacteria-mineral adsorption. *Geochim Cosmochim Acta*, 2000, 64(4): 609—617.
- [12] Rijnaarts H H M, Norde W, Bouwer E J, *et al.* Reversibility and mechanism of bacterial adhesion. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 1995, 4(1): 5—22.
- [13] Dufrêne Y, Boonaert C J, Rouxhet P G. Role of proteins in the adhesion of *Azospirillum brasilense* to model substrata. In: *Effect of Mineral-Organic-Microorganisms Interactions on Soil and Freshwater Environments*. New York: Kluwer-Plenum, 1999. 261—274.
- [14] Hermesse M P, Dereppe C, Bartholome Y, *et al.* Immobilization of *Acetobacter aceti* by adhesion. *Can J of Microbiol*, 1988, 34(5): 638—644.
- [15] van Oss C J. Energetics of cell-cell and cell-biopolymer interactions. *Cell Biophys*, 1989, 14(1): 1—16.
- [16] van Oss C J. Hydrophobic, hydrophilic and other interactions in epitope-paratope binding. *Mol Immunol*, 1995, 32(3): 199—211.
- [17] Theng B K G, Orchard V A. Interactions of clays with microorganisms and bacterial survival in soil: A physicochemical perspective. In: *Environmental Impact of Soil Component Interactions: Metals, Other Inorganics and Microbial Activities*. Boca Raton: CRC Lewis, 1995. 123.
- [18] Marshall K C. *Interfaces in Microbial Ecology*. Cambridge: Harvard University Press, 1976.
- [19] Grasso D, Subramaniam K, Butkus M, *et al.* A review of non-DLVO interactions in environmental colloidal systems. *Re/views in Environ Sci and Bio/technol*, 2002, 1(1): 17—38.
- [20] van Loosdrecht M C M, Lyklema J, Norde W, *et al.* Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1990, 54(1): 75—87.
- [21] Chen G, Zhu H. Bacterial adhesion to silica sand as related to Gibbs energy variations. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2005, 44(1): 41—48.
- [22] van Loosdrecht M C M, Lyklema J, Norde W, *et al.* The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. *Appl Environ Microbiol*, 1987, 53

- (8): 1893—1897.
- [23] Bellon-Fontaine M N, Mozes N, van der Mei H C, *et al.* A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata. *Cell Biophys*, 1990, 17(1): 93—106.
- [24] Marshall K C, Stout R and Mitchell R. Mechanisms of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. *J Gen Microbiol*, 1971, 68(3): 337—348.
- [25] Sharma P K, Hanumantha Rao K. Adhesion of *Paenibacillus polymyxa* on chalcopyrite and pyrite: Surface thermodynamics and extended DLVO theory. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2003, 29(1): 21—38.
- [26] Hendricks D W, Post F J, Khairnar D R. Adsorption of bacteria on soils: Experiments, thermodynamic rationale, and application. *Water, Air, & Soil Pollution*, 1979, 12:219—232.
- [27] Ohmura N, Kitamura K, Saiki H. Selective adhesion of *Thiobacillus ferrooxidans* to pyrite. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59(12): 4044—4050.
- [28] Mills A L, Herman J S, Hornberger G M, *et al.* Effect of solution ionic strength and iron coatings on mineral grains on the sorption of bacterial cells to quartz sand. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60(9): 3300—3306.
- [29] Abu-Lail N I, Camesano T A. Role of ionic strength on the relationship of biopolymer conformation, DLVO contributions, and steric interactions to bioadhesion of *Pseudomonas putida* KT2442. *Biomacromolecules*, 2003, 4(4): 1000—1012.
- [30] Shashikala A R, Raichur A M. Role of interfacial phenomena in determining adsorption of *Bacillus polymyxa* onto hematite and quartz. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2002, 24(1): 11—20.
- [31] Grasso D, Smets B F, Strevett K A, *et al.* Impact of physiological state on surface thermodynamics and adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Sci Technol*, 1996, 30(12): 3604—3608.
- [32] Walker S G, Flemming C A, Ferris F G, *et al.* Physicochemical interaction of *Escherichia coli* cell envelopes and *Bacillus subtilis* cell walls with two clays and ability of the composite to immobilize heavy metals from solution. *Appl Environ Microbiol*, 1989, 55(11): 2976—2984.
- [33] Parent M E, Velegol D E. Coli adhesion to silica in the presence of humic acid. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2004, 39(1-2): 45—51.
- [34] Yeo S H, Chua L Y. Adhesion of *Pseudomonas fluorescens* on magnetic surfaces. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2004, 36(2): 75—80.
- [35] Schiftenbauer M, Stotzky G. Adsorption of coliphages T1 and T7 to clay minerals. *Appl Environ Microbiol*, 1982, 43(3): 590—596.
- [36] Ding X, Henrichs S M. Adsorption and desorption of proteins and polyamino acids by clay minerals and marine sediments. *Mar Chem*, 2002, 77(4): 225—237.
- [37] Chenu C. Clay- or sand-polysaccharide associations as models for the interface between microorganisms and soil: Water related properties and microstructure. *Geoderma*, 1993, 56(1-4): 143—156.
- [38] Chenu C, Pons C H, Robert M. Interaction of kaolinite and montmorillonite with neutral polysaccharides. In: *Proceedings of the international clay conference*. Bloomington: The Clay Minerals Society, 1987, 375—381.
- [39] Khandal R K, Chenu C, Lamy I, *et al.* Adsorption of different polymers on kaolinite and their effect on flumequine adsorption. *Appl Clay Sci*, 1992, 6(5-6): 343—357.
- [40] Malik M, Letey J. Adsorption of polyacrylamide and polysaccharide polymers on soil materials. *Soil Sci Soc Am J*, 1991, 55: 380—383.
- [41] Santoro G, Stotzky G. Effect of electrolyte composition and pH on the particles size distribution of microorganisms and clay minerals as determined by the electrical sensing zone method. *Arch Biochem Biophys*, 1967, 122: 664.
- [42] Omoike A, Chorover J, Kwon K D, *et al.* Adhesion of bacterial exopolymers to -FeOOH: Inner-sphere complexation of phosphodiester groups. *Langmuir*, 2004, 20(25): 11108—11114.
- [43] Quiquampoix H, Abadie J, Baron M H, *et al.* Mechanisms and consequences of protein adsorption on soil mineral surfaces. *ACS Symp Series*, 1995, 602: 321—333.
- [44] Quiquampoix H. Mechanisms of protein adsorption on surfaces and consequences for soil extracellular enzyme activity. In: *Soil biochemistry*. New York: Marcel Dekker, 2000. 171.
- [45] Calamai L, Lozzi I, Stotzky G, *et al.* Interaction of catalase with montmorillonite homoionic to cations with different hydrophobicity: Effect on enzymatic activity and microbial utilization. *Soil Biol Biochem*, 2000, 32(6): 815—823.
- [46] Gianfreda L, Rao M A, Violante A. Invertase β -fructosidase: Effects of montmorillonite, AL-hydroxide and AL(OH)x-montmorillonite complex on activity and kinetic properties. *Soil Biol Biochem*, 1991, 23(6): 581—587.
- [47] Masaphy S, Fahima T, Levanon D, *et al.* Parathion degradation by *Xanthomonas* sp. And its crude enzyme extract in clay suspensions. *J Environ*

- Qual, 1996, 25(6): 1248—1255.
- [48] Huang Q, Shindo H. Effects of copper on the activity and kinetics of free and immobilized acid phosphatase. *Soil Biol Biochem*, 2000, 32(13): 1885—1892.
- [49] Huang Q, Shindo H. Activity and kinetics of free and immobilized acid phosphatase. *Soil Sci Plant Nutr*, 2001, 47(1): 767—772.
- [50] Huang Q, Liang W, Cai P. Adsorption, desorption and activities of acid phosphatase on various colloidal particles from an Ultisol. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2005, 45(3-4): 209—214.
- [51] Lorenz M G, Wackernagel W. Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiol Rev*, 1994, 58(3): 563—602.
- [52] Stotzky G. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids. *J Environ Qual*, 2000, 29(3): 691—705.
- [53] Cai P, Huang Q, Zhang X, *et al.* Adsorption of DNA on clay minerals and various colloidal particles from an Alfisol. *Soil Biol Biochem*, 2006, 38(3): 471—476.
- [54] Cai P, Huang Q, Jiang D, *et al.* Microcalorimetric studies on the adsorption of DNA by soil colloidal particles. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2006, 49(1): 49—54.
- [55] Cai P, Huang Q Y, Zhang X W. Interactions of DNA with clay minerals and soil colloidal particles and protection against degradation by DNase. *Environ Sci Technol*, 2006, 40(9): 2971—2976.
- [56] Cai P, Huang Q, Zhang X. Microcalorimetric studies of the effects of $MgCl_2$ concentrations and pH on the adsorption of DNA on montmorillonite, kaolinite and goethite. *Appl Clay Sci*, 2006, 32(1-2): 147—152.
- [57] Babich H, Stotzky G. Effect of Cadmium on fungi and on interactions between fungi and bacteria in soil: Influence of clay minerals and pH. *Appl Environ Microbiol*, 1977, 33(5): 1059—1066.
- [58] Lindqvist R, Enfield C G. Cell density and non-equilibrium sorption effects on bacterial dispersal in groundwater microcosms. *Microb Ecol*, 1992, 24(1): 25—41.
- [59] Yee N, Fein J. Cd adsorption onto bacterial surfaces: A universal adsorption edge? *Geochim Cosmochim Acta*, 2001, 65(13): 2037—2042.
- [60] Huang Q, Chen W, Xu L. Adsorption of copper and cadmium by Cu- and Cd-resistant bacteria and their composites with soil colloids and kaolinite. *Geomicrobiol J*, 2005, 22(5): 227—236.
- [61] Flemming C A, Ferris F G, Beveridge T J, *et al.* Remobilization of toxic heavy metals adsorbed to bacterial wall-clay composites. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56(10): 3191—3203.
- [62] Ohnuki T, Yoshida T, Ozaki T, *et al.* Interactions of uranium with bacteria and kaolinite clay. *Chem Geol*, 2005, 220(3-4): 237—243.
- [63] Templeton A S, Trainor T P, Traina S J, *et al.* Pb(II) distributions at biofilm-metal oxide interfaces. *Proc Natl Acad Sci*, 2001, 98(21): 11897—11902.
- [64] Templeton A S, Spormann A M, Brown G E. Speciation of Pb(II) sorbed by *Burkholderia cepacia*/goethite composites. *Environ Sci Technol*, 2003, 37(10): 2166—2172.
- [65] Jones D L, Edwards A C. Influence of sorption on the biological utilization of two simple carbon substrates. *Soil Biol Biochem*, 1998, 30(14): 1895—1902.
- [66] Diab S, Shilo M. Effect of adhesion to particles on the survival and activity of *Nitrosomonas* sp. and *Nitrobacter* sp. *Archives of Microbiology*, 1988, 150(4): 387—393.
- [67] Keen G A, Prosser J I. The surface growth and activity of *Nitrobacter*. *Microbial Ecology*, 1988, 15(1): 21—39.
- [68] Zobell C E. The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *Journal of Bacteriology*, 1943, 46(1): 39—56.
- [69] Martin J P, Filip Z, Haider K. Effect of montmorillonite and humate on growth and metabolic activity of some actinomycetes. *Soil Biology and Biochemistry*, 1976, 8(5): 409—413.
- [70] Lavie S, Stotzky G. Interactions between clay minerals and siderophores affect the respiration of *Histoplasma capsulatum*. *Appl Environ Microbiol*, 1986, 51(1): 74—79.
- [71] Lavie S, Stotzky G. Adhesion of the clay minerals montmorillonite, kaolinite, and attapulgite reduce respiration of *Histoplasma capsulatum*. *Appl Environ Microbiol*, 1986, 51(1): 65—73.
- [72] Manini E, Luna G M. Influence of the mineralogical composition on microbial activities in marine sediments: an experimental approach. *Chemistry and Ecology*, 2003, 19(5): 399—410.

- [73] Chaerun S K, Tazaki K, Asada R, *et al.* Interaction between clay minerals and hydrocarbon-utilizing indigenous microorganisms in high concentrations of heavy oil; Implications for bioremediation. *Clay Miner*, 2005, 40(1): 105 — 114.
- [74] Chaerun S K, Tazaki K. How kaolinite plays an essential role in remediating oil-polluted seawater. *Clay Miner*, 2005, 40(4): 481 — 491.
- [75] Guerin W F, Boyd S A. Differential bioavailability of soil-sorbed naphthalene to two bacterial species. *Appl Environ Microbiol*, 1992, 58(4): 1142 — 1152.
- [76] Sharma P K, Hanumantha Rao K, Forssberg K S E, *et al.* Surface chemical characterisation of *Paenibacillus polymyxa* before and after adaptation to sulfide minerals. *Int J Miner Process*, 2001, 62(1-4): 3 — 25.
- [77] Kostka J E, Wu J, Nealson K H, *et al.* The impact of structural Fe(III) reduction by bacteria on the surface chemistry of smectite clay minerals. *Geochim Cosmochim Acta*, 1999, 63(22): 3705 — 3713.
- [78] Torsvik V, Goksoyr J, Daae F L. High diversity in DNA of soil bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56(3): 782 — 787.
- [79] Chenu C, Hassink J, Bloem J. Short-term changes in the spatial distribution of microorganisms in soil aggregates as affected by glucose addition. *Biol Fertil Soils*, 2001, 34(5): 349 — 356.
- [80] Robert M, Chenu C. Interactions between soil minerals and microorganisms. In: *Soil biochemistry*. New York: Marcel Dekker, 1992, 307 — 404.
- [81] Lüttge A, Conrad P G. Direct observation of microbial inhibition of calcite dissolution. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(3): 1627 — 1632.
- [82] Lower S K, Tadanier C J, Hochella Jr M F. Dynamics of the mineral-microbe interface: Use of biological force microscopy in biogeochemistry and geomicrobiology. *Geomicrobiol J*, 2001, 18(1): 63 — 76.
- [83] Lower S K, Hochella M F Jr., Beveridge T J. Bacterial recognition of mineral surfaces: Nanoscale interactions between *Shewanella* and α -FeOOH. *Science*, 2001, 292(5520): 1360 — 1363.
- [84] Deo N, Natarajan K A, Somasundaran P. Mechanisms of adhesion of *Paenibacillus polymyxa* onto hematite, corundum and quartz. *Int J Miner Process*, 2001, 62(1-4): 27 — 39.