

典型土壤矿物对枯草芽胞杆菌自然转化的影响

刀国华 黄巧云 陈雯莉

华中农业大学农业微生物学国家重点实验室, 武汉 430070

摘要 采用化学吸附方法与紫外微量 DNA 浓度检测技术, 考察恒电荷土壤活性颗粒吸附及固定胞外 DNA (质粒 pHTG) 的特点, 同时研究不同矿物对枯草芽胞杆菌发生自然转化的影响。不同种类的矿物颗粒对质粒 pHTG 的吸附能力不同, 其中以针铁矿最强, 高岭石次之, 蒙脱石则为三者中最弱的。同时矿物的存在会对枯草芽胞杆菌的自然转化率产生一定的影响, 其转化效率随着矿物质量浓度的增加而降低, 当矿物质量浓度由 0 mg/mL 增加至 8 mg/L 时, 与对照相比, 转化效率下降 2 个数量级。

关键词 自然转化; 枯草芽胞杆菌; 土壤矿物; 吸附

中图分类号 S 154.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)03-0013-06

在自然环境中, 很多细菌种属如假单胞菌属、芽胞杆菌属、不动杆菌属和链球菌属等都能发生自然转化^[1-3]。转化的成功发生需要 2 个条件同时存在, 分别是胞外游离的 DNA 和具有转化能力的感受态细胞。感受态细胞是指微生物细胞在生长的一定阶段, 通过改变自身的细胞状态, 使其具有摄取外源 DNA 的能力, 这个过程可以自发产生或人工诱导^[4]。不同的微生物细胞形成感受态的机制有所不同。以土壤中典型菌株—枯草芽胞杆菌 (*Bacillus subtilis*) 为例, 当细胞生长到对数后期时, 可由二元信号转导系统协同调控一系列相关基因的表达而形成感受态。二元信号转导系统包括 ComX (感受态因子) 和 CSF (competence and sporulation factor, 感受态信号分子)^[5-7]。ComX 是一种由 10 个氨基酸组成的胞内信号分子, ComX 的前体是一段 55 个氨基酸组成的短肽序列, 经过 ComQ 蛋白修饰后形成具有活性的寡肽信号分子^[8-9]。ComX 信号分子的活性由 ComP/ComA 双组分调节系统调控。细胞在适宜的条件下生长时, ComX 信息素不断分泌到胞外, 当胞外的信号分子累积达到一定浓度后, 就会与 ComP/ComA 双组分调节系统中传感激酶 ComP 发生相互作用, 导致 ComP 磷酸化, 然后进一步诱导应答调节蛋白 ComA 磷酸化, 最终促进

srfA 启动子内开放阅读码组 ComS 的表达, 进而激活转录因子 ComK。CSF 是 *phrC* 基因编码的具有 5 个氨基酸残基的寡肽信号分子^[10-11]。它是一种具有物种特异性的群体感应信号分子, 使枯草芽胞杆菌菌株之间可以通过群体感应来交流环境的变化^[12]。CSF 合成以后会被转运出胞外并转变为活性状态, 与寡肽透性酶 (由 *spoOK* 编码) 发生特异作用从而重新进入胞内。CSF 的主要功能是结合胞内的脱磷酸酶 RapC 并使其失活, 导致 ComA 不能正常磷酸化, 保证了 srfA 可以持续地转录以启动感受态晚期基因的表达。在枯草芽胞杆菌整个感受态形成过程中, CSF 作为一种胞外信号分子, 决定了细胞感受态晚期基因是否大量稳定表达。

ComX 和 CSF 胞外信号分子发挥其生物学功能的一个重要前提是需要胞外积累到一定的浓度, 同时还需以具有生理活性的形式进入到细胞内。土壤粘粒矿物等固相颗粒是土壤中的活性组分, 会与细菌分泌的信号分子、胞外酶和多糖等胞外成分相互作用, 从而影响细菌的各项生理活动。如土壤中的某些微生物可以通过分泌胞外蛋白、多糖等物质吸附到矿物表面, 使细胞具有抵御不良环境变化的能力^[13]。Zobell^[14] 研究指出, 环境中存在的固相表面可以吸附营养物质, 从而在贫营养条件下可以

收稿日期: 2016-05-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(41571230); 中央高校基本科研业务费专项(2662015PY016; 2662015PY116)

刀国华, 硕士研究生, 研究方向: 土壤与环境微生物. E-mail: daoguohua@qq.com

通信作者: 黄巧云, 博士, 教授, 研究方向: 土壤生物与生物化学. E-mail: qyhuang@mail.hzau.edu.cn

促进吸附于固相表面细菌的生长繁殖。土壤矿物的存在还会影响细菌的代谢活性,如粘土矿物的存在对细菌的底物利用、硝化与反硝化作用和呼吸作用等都会产生影响^[15-17]。细菌分泌的胞外酶通过氢键、静电作用和疏水作用很容易被粘土矿物吸附。吸附通常会降低酶的活性并使酶的最适 pH 值明显向碱性值移动。当 pH 值低于酶的等电点时,带负电荷的粘土矿物表面和带正电荷的酶会发生强烈的静电作用,这些作用可能会改变酶的蛋白质构象,从而使酶失去部分活性^[18]。胞外的 DNA 分子容易被核酸酶所降解^[19],一般认为土壤中的 DNA 分子不易发生自然转化,但研究表明,土壤中的 DNA 分子可吸附于土壤矿物的表面而不易被核酸酶所降解,进而保留了发生自然转化的能力^[20]。而土壤中的多种因素也会影响 DNA 分子在其表面的吸附过程,如土壤矿物颗粒的大小、环境 pH 值等^[21]。可见,关于细菌细胞本身及细胞分泌物与土壤固相颗粒互作的研究已有较多涉及,但到目前为止,土壤固相颗粒的存在对细胞感受态形成影响的相关研究还鲜有报道。

本研究通过考察枯草芽胞杆菌自然转化效率来检测质粒 pHTG 与 3 种典型矿物(蒙脱石、高岭石和针铁矿)的相互作用以及 3 种典型矿物对枯草芽胞杆菌感受态形成及发生自然转化的影响,揭示枯草芽胞杆菌在土壤环境中形成自然感受态和发生自然转化的规律。

1 材料与方 法

1.1 菌株与检测用 DNA

供试菌株为枯草芽胞杆菌(*B. subtilis*) 168 菌株,检测用 DNA 来源于笔者所在实验室构建的革兰氏阳性细菌表达质粒 pHTG(7.7 kb),带有 *kan* 和 *ery* 抗性基因及 *gfp* 荧光基因。

1.2 土壤矿物胶体的提取

蒙脱石和高岭石分别购于河南信阳蒙脱石公司和上海五四化学试剂公司,其纯度为化学纯。胶体制备过程见参考文献[22]。针铁矿依据 Atkinson 等^[23]方法制备。

1.3 培养基

10×培养基 A:酪氨酸 2 g,酵母提取物 10 g,加 900 mL 去离子水溶解,高压蒸汽灭菌后加入 50% 过滤除菌的葡萄糖溶液 100 mL,使最终体积为 1 L。

10×枯草芽胞杆菌盐溶液(*B. subtilis* Salts):
(NH₄)₂SO₄ 20 g, K₂HPO₄·3H₂O 183 g, KH₂PO₄ 60 g, 柠檬酸钠 10 g, MgSO₄·7H₂O 2 g, 加水至 1 L, 高压蒸汽灭菌。

培养基 A: 无菌水 81 mL, 10×培养基 A 10 mL, 10×枯草芽胞杆菌盐溶液 9 mL。

培养基 B: 培养基 A 10 mL, 50 mmol/L CaCl₂·2H₂O 0.1 mL, 250 mmol/L MgCl₂·6H₂O 0.1 mL。

LB 培养基: 称取酵母提取物 5 g, 胰蛋白胨 10 g, NaCl 10g, 调节 pH 至 7.5, 加去离子水至总体积 1 L, 高压蒸汽灭菌 30 min。

LB 固体培养基: 1 L 的 LB 液体培养基中加入 12 g 琼脂粉, 高压蒸汽灭菌。

1.4 矿物与 DNA 的互作

于 10 mL 的离心管中, 分别加入 1 600 μL 10 mmol/L Tris-HCl(pH 7.0)、500 μL 矿物悬液和 400 μL DNA 溶液(使 DNA 终质量浓度为 100 μg/mL)。设置正负对照各一组, 正对照为 2 100 μL 10 mmol/L Tris-HCl(pH 值=7.0)和 400 μL DNA 溶液的混合体系, 负对照为 2 000 μL 10 mmol/L Tris-HCl(pH 值=7.0)和 500 μL 矿物悬液的混合体系。将实验体系置于 28 °C、180 r/min 处理 30 min, 然后离心取上清, 测定 DNA 浓度。测量前以负对照调节仪器空白。DNA 在矿物表面的吸附量用正对照上清液中的 DNA 残余量减去实验管上清液中 DNA 的残余量计算得出。

1.5 DNA 等温吸附数据的 Langmuir 方程拟合

用 Langmuir 方程拟合吸附等温曲线。方程为: $X = X_m KC / (1 + KC)$, 式中: X_m 表示土壤胶体或矿物胶体对 DNA 的最大吸附量 μg/mg; K 是与吸附结合能有关的常数, mL/μg, C 为平衡液中 DNA 的质量浓度, μg/mL。

1.6 *B. subtilis* 悬液制备

将枯草芽胞杆菌接种至培养基 A 中, 37 °C、180 r/min 条件下测定并绘制细胞生长曲线。记录细胞生长到对数生长期末端的点, 并将此点记为 t_0 ; 继续培养 90 min, 记下此点为 t_{90} ; 然后取 500 μL 培养液到预热至 37 °C 的培养基 B 中。37 °C 180 r/min 培养 90 min 后制备实验所用细胞悬液。

1.7 矿物对 *B. subtilis* 转化的影响

于 10 mL 离心管中加入 2 mL 枯草芽胞杆菌感受态悬液及不同质量浓度的矿物悬液, 使终体积为 4 mL。37 °C 180 r/min 培养 30 min 后向混合培养

体系中加入过量的质粒 pHTG, 再于 37 °C、180 r/min 混合培养 30 min, 最后将培养液涂布 Ery 平板, 计数平板长出的菌落形成单位数 (cfu)。以菌落形成单位数除以总菌数, 获得转化率。

2 结果与分析

2.1 质粒 pHTG 与土壤矿物的互作

1) 土壤矿物对质粒的吸附平衡。为获得质粒在土壤矿物表面的吸附特性, 进行了土壤矿物对质粒的吸附平衡实验 (图 1), 在吸附前 15 min, 矿物表面对质粒 pHTG 的吸附量增幅最大, 当吸附进行到 15 min 时, 其吸附量已达到最大吸附量的 87% ~ 90%。在 30 min 时, 矿物对质粒 pHTG 的吸附量基本达到最大量, 此后的吸附量随时间的延长几乎没有增加。

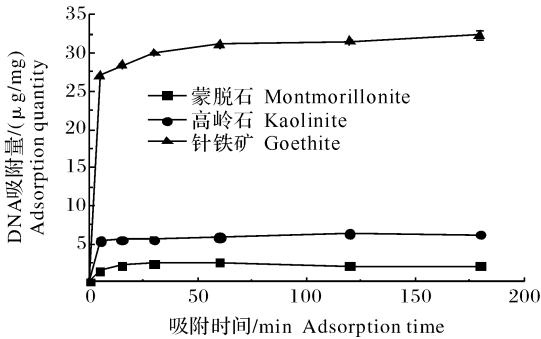


图 1 时间对矿物表面吸附 pHTG 的影响

Fig.1 Effect of time on pHTG adsorption on minerals

2) 质粒在矿物表面的等温吸附。为进一步获得质粒在矿物表面的吸附特性, 对数据进行 Langmuir 模型的拟合。如图 2 所示, 在供试土壤中, 针铁矿对质粒 pHTG 的最大吸附量为 104.83 μg/mg, 显著高于蒙脱石 (4.10 μg/mg) 与高岭石 (7.14 μg/mg)。供试矿物对质粒 pHTG 的吸附等温曲线均符合 Langmuir 模型 (相关系数 $R^2 \geq 0.94$, $P < 0.01$)。在

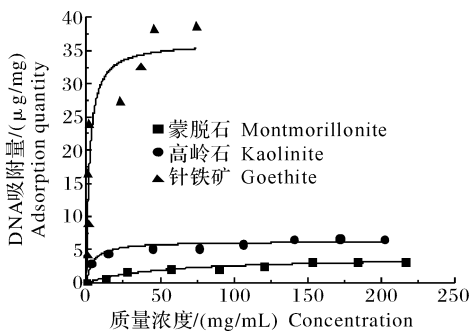


图 2 矿物胶体对质粒 pHTG 的等温曲线

Fig.2 Adsorption isotherms of pHTG on minerals

吸附体系中, 矿物对质粒的吸附量随体系中质粒浓度的增加而缓慢上升, 符合 L 型曲线特征 [24]。

Langmuir 模型拟合结果显示, 土壤矿物对质粒吸附的 K 值范围在 0.019 ~ 0.885 mL/μg 之间 (表 1)。 K 值大说明矿物对质粒 pHTG 的吸附亲和力和大。因此, 供试的 3 种矿物对质粒的亲合力大小顺序为针铁矿 > 高岭石 > 蒙脱石。

表 1 质粒 pHTG 在矿物胶体表面吸附曲线的 Langmuir 拟合相关参数

Table 1 Langmuir parameters for the adsorption of pHTG on minerals

矿物 Minerals	K	吸附量/(μg/g) Adsorption quantity	R^2
蒙脱石 Montmorillonite	0.019 2	3.91	0.96
高岭石 Kaolinite	0.241 0	6.25	0.94
针铁矿 Goethite	0.885 0	35.21	0.94

2.2 3 种土壤矿物对枯草芽胞杆菌自然转化能力的影响

3 种矿物对枯草芽胞杆菌转化效率产生了不同的影响 (图 3)。随着体系中矿物质量浓度的增加, 枯草芽胞杆菌转化子数目呈现出下降的趋势, 原因可能是矿物对枯草芽胞杆菌形成自然感受态的过程产生了抑制。当体系中矿物质量浓度 2 mg/mL 时, 枯草芽胞杆菌的转化被抑制程度为: 蒙脱石体系 > 针铁矿体系 > 高岭石体系, 且蒙脱石的转化子数量显著低于高岭石体系和针铁矿体系。而当矿物质量浓度由 0 mg/mL 增加到 4 mg/mL 和 6 mg/mL 时, 获得的枯草芽胞杆菌转化子数量为: 针铁矿体系 > 高岭石体系 > 蒙脱石体系。当矿物质量浓度增加到 8 mg/mL 时, 3 种矿物体系中的枯草芽胞杆菌转化子数量与对照相比下降明显, 其降幅

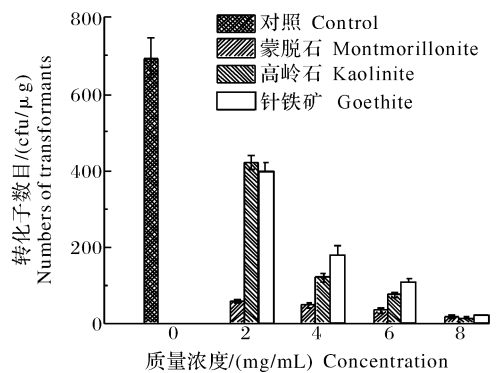


图 3 矿物对枯草芽胞杆菌转化的影响

Fig.3 Effect of minerals on the transformation of *B. subtilis*

可达 2 个数量级,说明矿物对细菌感受态的形成及转化的发生产生了很大的影响。

表 2 显示了矿物对枯草芽胞杆菌转化率的影

响。在供试条件下,枯草芽胞杆菌转化率为 2.33×10^{-5} ,随着 3 种矿物质量浓度的增加,枯草芽胞杆菌的转化率都有不同程度的降低,且降幅都达到了

表 2 矿物对枯草芽胞杆菌转化率的影响

Table 2 Effect of minerals on genetic transformation rate of *B. subtilis*

矿物 Mineral	矿物质量浓度/(mg/mL) Minerals concentration				
	0	2	4	6	8
蒙脱石 Montmorillonite	2.33×10^{-5}	1.85×10^{-6}	1.41×10^{-6}	9.25×10^{-7}	2.68×10^{-7}
高岭石 Kaolinite	2.33×10^{-5}	1.40×10^{-5}	3.86×10^{-6}	2.24×10^{-6}	2.01×10^{-7}
针铁矿 Goethite	2.33×10^{-5}	1.32×10^{-5}	5.67×10^{-6}	3.42×10^{-6}	3.79×10^{-7}

98%以上。

3 讨 论

基因水平转移是普遍存在于环境中的一种细菌与细菌之间、细菌与高等植物之间的遗传物质交换现象,有报道称 *E. coli* 中有 1/10 的基因是通过这一过程从外界获取的^[25-27]。而转化作用被认为是自然界中发生基因水平转移的主要形式^[28]。转化作用的必要条件之一是细胞处于感受态,形成这一阶段需要细胞自身的调控作用,但很大程度上也会受到细胞所处环境的影响,而对于通过群体感应这一途径调控产生感受态细胞的细菌来说,环境对感受态细胞的影响是不可忽略的。本研究结果显示,在矿物存在的条件下,枯草芽胞杆菌形成感受态并发生自然转化的效率受到了一定程度的影响,主要原因可能是矿物的存在影响了枯草芽胞杆菌的菌体状态和其分泌产生的感受态相关信号分子,因为矿物一方面会吸附信号分子,另一方面会影响到信号分子的生物活性,从而导致枯草芽胞杆菌转化活性下降。蒙脱石对质粒 DNA 的亲合力最弱,说明其吸附 DNA 量最少,因而游离的 DNA 量相对于其他 2 种矿物较多,更加具备发生自然转化的条件,但从转化实验的结果来看,其转化效率却最低;相反, DNA 吸附能力最强的针铁矿表现出较高的转化效率,本研究结果从一个方面说明了矿物对枯草芽胞杆菌转化的影响更多是因为矿物本身对细菌形成感受态的影响,而不是矿物对游离 DNA 的影响。有研究表明,环境因素会影响相关群体调控细菌的群体感应过程^[29-30],如 Duan 等^[31]对铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 在不同环境条件下调控

基因转录的情况进行了研究,发现不同环境条件会影响铜绿假单胞菌 *lasI-lasR* 和 *rhlI-rhlR* 2 个群体调控系统的基因转录,从而影响菌体的生理活动。本研究所选用的 3 种典型矿物蒙脱石、高岭石和针铁矿的等电点分别为 2.5、3.6 和 9.0,因此,在中性条件下,蒙脱石和高岭石带有正电荷,且蒙脱石强于高岭石,而针铁矿则带有负电荷。在矿物质量浓度较低时,虽然 3 种矿物对枯草芽胞杆菌的自然转化效率都产生了负面影响,但由于蒙脱石带有强烈的负电荷,对菌体和信号分子的活性影响最大,随着矿物质量浓度的增加,枯草芽胞杆菌转化率下降,但针铁矿体系的转化率略高于其他 2 种矿物,这可能是由于其带正电荷有助于吸附带负电荷的菌体,从而在空间上更有利于发生群体调控,但由于矿物对信号分子的影响占主要因素,所以随着矿物质量浓度的增加,枯草芽胞杆菌的自然转化率呈现出下降的趋势。

本研究从枯草芽胞杆菌发生自然转化的角度探讨了土壤矿物的存在对菌体群体调控的影响,后期需要更加深入地了解环境因素对菌体群体感应过程的影响,进一步解析菌体分泌的信号分子与矿物的相互作用,以期更好地解析环境因素的存在对菌体群体过程产生的影响。

参 考 文 献

- [1] HAMOEN L W, VENEMA G, KUIPERS O P. Controlling competence in *Bacillus subtilis*: shared use of regulators[J]. *Microbiology*, 2003, 149(1): 9-17.
- [2] SHAW A J, HOGSETT D A, LYND L R. Natural competence in thermoanaerobacter and thermoanaerobacterium spe-

- cies[J]. Applied and environmental microbiology, 2010, 76(14): 4713-4719.
- [3] JOHNSTON C, MARTIN B, FICHANT G. Bacterial transformation: distribution, shared mechanisms and divergent control[J]. Nature reviews microbiology, 2014, 12(3): 181-196.
- [4] 陈涛, 王靖宇, 班睿, 等. 枯草芽胞杆菌感受态研究新进展[J]. 生命的化学, 2004, 24(2): 130-134.
- [5] MILLER M B, BASSLER B L. Quorum sensing in bacteria[J]. Annual reviews in microbiology, 2001, 55(1): 165-199.
- [6] SHANK E A, KOLTER R. Extracellular signaling and multicellularity in *Bacillus subtilis*[J]. Current opinion in microbiology, 2011, 14(6): 741-747.
- [7] JUNG J, YU K O, RAMZI A B. Improvement of surfactin production in *Bacillus subtilis* using synthetic wastewater by overexpression of specific extracellular signaling peptides, comX and phrC[J]. Biotechnology and bioengineering, 2012, 109(9): 2349-2356.
- [8] ANSALDI M, DUBNAU D. Diversifying selection at the *Bacillus* quorum-sensing locus and determinants of modification specificity during synthesis of the ComX pheromone[J]. Journal of bacteriology, 2004, 186(1): 15-21.
- [9] OCHMAN H, LAWRENCE J G, GROISMAN E A. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation[J]. Nature, 2000, 405(6784): 299-304.
- [10] LANIGAN-GERDES S, DOOLEY A N, FAULL K F. Identification of subtilisin, Epr and Vpr as enzymes that produce CSF, an extracellular signalling peptide of *Bacillus subtilis*[J]. Molecular microbiology, 2007, 65(5): 1321-1333.
- [11] LANIGAN-GERDES S, BRICENO G, DOOLEY A N. Identification of residues important for cleavage of the extracellular signaling peptide CSF of *Bacillus subtilis* from its precursor protein[J]. Journal of bacteriology, 2008, 190(20): 6668-6675.
- [12] POTTATHIL M, JUNG A, LAZAZZERA B A. CSF, a species-specific extracellular signaling peptide for communication among strains of *Bacillus subtilis* and *Bacillus mojavensis*[J]. Journal of bacteriology, 2008, 190(11): 4095-4099.
- [13] CHENU C. Clay-or sand-polysaccharide associations as models for the interface between microorganisms and soil; water related properties and microstructure[J]. Geoderms, 1993, 56(1/2/3/4): 143-156.
- [14] ZOBELL C E. The effect of solid surfaces upon bacterial activity[J]. Journal of bacteriology, 1943, 46(1): 39-56.
- [15] JONES D L, EDWARDS A C. Influence of sorption on the biological utilization of two simple carbon substrates[J]. Soil Biol Biochem, 1998, 30(14): 1895-1902.
- [16] DIAB S, SHILO M. Effect of adhesion to particles on the survival and activity of *Nitrosomonas* sp. and *Nitrobacter* sp.[J]. Archives of microbiology, 1988, 150(4): 387-393.
- [17] KEEN G A, PROSSER J I. The surface growth and activity of *Nitrobacter*[J]. Microbial ecology, 1988, 15(1): 21-39.
- [18] CALAMAI L, LOZZI I, STOTZKY G. Interaction of catalase with montmorillonite homoionic to cations with different hydrophobicity: effect on enzymatic activity and microbial utilization[J]. Soil biology and biochemistry, 2000, 32(6): 815-823.
- [19] LORENZ M G, WACKERNAGEL W. Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment[J]. Microbiol Rev, 1994, 58(3): 563-602.
- [20] 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]. J Environ Qual, 2000, 29(3): 691-705.
- [21] 荣兴民, 黄巧云, 陈雯莉, 等. 土壤矿物与微生物相互作用的机理及其环境效应[J]. 生态学报, 2008, 28(1): 376-387.
- [22] 熊毅. 土壤胶体: 第二册[M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [23] ATKINSON R J, POSNER A M, QUIRK J P. Adsorption of potential-determining ions at the ferric oxide-aqueous electrolyte interface[J]. The journal of physical chemistry, 1967, 71(3): 550-558.
- [24] GILES C H, MACEWAN T H, NAKHWA S N, et al. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solids[J]. J Chem Soc, 1960, 3: 3973-3993.
- [25] TENG L S. Petrographical study of the neogene sandstones of the coastal range, eastern Taiwan (I. Northern part)[J]. Acta geologica taiwanica, 1979, 20: 129-155.
- [26] MEL S F, MEKALANOS J J. Modulation of horizontal gene transfer in pathogenic bacteria by *in vivo* signals[J]. Cell, 1996, 87(5): 795-798.
- [27] LAWRENCE J G, OCHMAN H. Molecular archaeology of the *Escherichia coli* genome[J]. PNAS, 1998, 95(16): 9413-9417.
- [28] 沈萍, 彭珍荣. 自然转化的研究进展[J]. 遗传, 1995, 17(增刊): 89-91.
- [29] WAGNER V E, BUSHNELL D, PASSADOR L. Microarray analysis of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing regulons: effects of growth phase and environment[J]. Journal of bacteriology, 2003, 185(7): 2080-2095.
- [30] 陈林, 杨亮, 段康民. 从进化谈细菌细胞间的群体感应信号传递[J]. 遗传, 2012, 34(1): 33-40.
- [31] DUAN K, SURETTE M G. Environmental regulation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Las and Rhl quorum-sensing systems[J]. Journal of bacteriology, 2007, 189(13): 4827-4836.

Effects of typical soil minerals on natural transformation of *Bacillus subtilis*

DAO Guohua HUANG Qiaoyun CHEN Wenli

Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract The adsorption of extracellular DNA (a designed plasmid, pHTG) on the soil active particles and the influences of the minerals on the natural transformation of *Bacillus subtilis* were investigated with chemical adsorption and trace DNA detection analysis. The trace DNA was mixed with the three clay mineral solutions to clarify the adsorption characteristic of pHTG on permanent-charge soil active particles. The results showed that the adsorption of pHTG were dependent on the minerals. Different minerals had different adsorption. The maximum amount of pHTG adsorbed was in the order of goethite>kaolinite>montmorillonite. Minerals reduced the natural transformation. The transformation efficiency was decreased with the increase of mineral concentration. When mineral concentration increased from 0.0 mg/mL to 8.0 mg/mL, the transformation efficiency was reduced in two orders of magnitude. Montmorillonite significantly decreased the transformation, while goethite had the least influence.

Keywords natural transformation; *Bacillus subtilis*; soil minerals particles; adsorption

(责任编辑:张志钰)