

可变电荷与恒电荷土壤胶体对 DNA 吸附与解吸特征

王代长¹, 王慎阳¹, 蒋新², 衡利沙¹, 谭金芳¹, 刘世亮¹, 曹永鲜¹

(1. 河南农业大学资源与环境学院, 郑州 450002; 2. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要:采用平衡法研究了红壤胶体、砖红壤胶体、潮土胶体和褐土胶体在不同 pH 值条件下 DNA 吸附与解吸特征. 结果表明, 在 NaCl 和 KCl 电解质体系中, 4 种土壤胶体在吸附过 DNA 后, 溶液 pH 值均有不同程度的增加, pH 增加的幅度为红壤胶体 > 砖红壤胶体 > 潮土胶体 > 褐土胶体; NaCl 电解质体系 > KCl 电解质体系. 土壤胶体对 DNA 的吸附量均随着 pH 值的升高而降低, 在 pH 为 2~4, 不同胶体对 DNA 的吸附量保持最大值, 约为 $13.1 \sim 14.8 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$. 当平衡溶液 pH 值从 4.2 开始上升至 8.6, 在 NaCl 体系中, 砖红壤胶体和红壤胶体上 DNA 的吸附量下降幅度约 $5.5 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, 而在 KCl 体系中, DNA 的吸附量下降幅度约 $2.1 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$. 2 种电解质体系, 潮土胶体与褐土胶体上 DNA 的吸附量下降幅度约为 $8.3 \sim 12.2 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$. DNA 吸附量下降幅度为恒电荷土壤(潮土和褐土)胶体 > 可变电荷土壤(红壤和砖红壤)胶体. 用 NaOAc 和 NaH_2PO_4 对土壤胶体吸附 DNA 的解吸时, 可变电荷土壤胶体与恒电荷土壤胶体解吸规律有明显差异. 在 3 种溶液 pH 值为 3、5 和 7 时, 可变电荷土壤(红壤和砖红壤)胶体上 NaOAc 解吸率约 10%~24.5%, NaH_2PO_4 解吸率约 23.5%~40.2%; 而恒电荷土壤(潮土和褐土)胶体上, NaOAc 解吸率约为 72.3%~85.9%, NaH_2PO_4 解吸率约 8.8%~21.6%. 这表明可变电荷土壤胶体吸附 DNA 时键合作用较大, 恒电荷土壤胶体静电引力较大, 这是 DNA 在不同电荷类型土壤胶体表面的吸附差异.

关键词:土壤胶体; DNA; pH 值; 吸附与解吸; 可变电荷与恒电荷

中图分类号: X144 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)09-2761-06

Characteristics of DNA Adsorption and Desorption in Variable and Constant Charge Soil Colloids

WANG Dai-zhang¹, WANG Shen-yang¹, JIANG Xin², HENG Li-sha¹, TAN Jin-fang¹, LIU Shi-liang¹, CAO Yong-xian¹

(1. College of Resources and Environment, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: The characteristics of adsorption and desorption of DNA by Red soil colloid, Latosol colloid, Chao colloid and Cinnamon colloid at different pH values were studied using a batch method. It showed that there was an increase of solution pH after adsorption of DNA by the four soil colloids in both NaCl and KCl electrolyte systems. The increasing ranges of pH values were in order of Red soil colloid > Latosol colloid > Chao colloid > Cinnamon colloid, and NaCl electrolyte system > KCl electrolyte system. The amounts of DNA adsorption on soil colloids decreased with the increase of pH value. The maximum amounts of DNA adsorption in different colloids were about $13.1 \sim 14.8 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ when pH values were 2~4. The decreasing ranges of the amounts of DNA adsorption were about $5.5 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ in NaCl electrolyte system and $2.1 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ in KCl electrolyte system in Red soil colloid and Latosol colloid after the rising of equilibrium solution pH from 4.2 to 8.6, whereas the remarked decreasing ranges of the adsorption amounts of DNA were about $8.3 \sim 12.2 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ on Chao colloid and Cinnamon colloid in two electrolyte systems. The decreasing ranges of DNA adsorption were in order of the constant charge (Chao soil and Cinnamon) colloids > the variable charge (Red soil and Latosol) colloids. The differences of desorption on the variable and the constant charge colloids are very significant while the DNA adsorbed was desorbed with NaOAc solution and NaH_2PO_4 solution. The desorption percent desorption of DNA as NaH_2PO_4 desorbent was 23.5%~40.2% larger on the variable charge colloids than 8.8%~21.6% on the constant charge of colloids at the three different solution pH values of 3, 5 and 7, while that as NaOAc desorbent was 72.3%~85.9% larger on the constant charge colloids than 10%~24.5% on the variable charge colloids. These results implied that the ligand exchange played a more important role in DNA adsorption on the variable charge colloids, and electrostatic interactions did on the constant charge colloids. This is the differences of DNA adsorption and desorption on different charge colloid surfaces.

Key words: soil colloids; DNA; pH value; adsorption and desorption; variable and constant charge

土壤中 DNA 是由动植物和微生物细胞主动分泌或细胞死亡裂解释放出来的^[1~3]. 过去人们一直认为从死亡或代谢性微生物体内释放到土壤环境中的 DNA, 很快就会被微生物分泌的核酸酶降解, 特别是在水环境中, DNA 容易生物降解; 然而 DNA 在

自然土壤中保存的时间远比人们想象得要长^[4, 5].

收稿日期: 2008-09-16; 修订日期: 2009-02-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(40571082); 国家杰出青年科学基金项目(40325001); 河南农业大学创新基金项目(2006-CX-017)

作者简介: 王代长(1965~)男, 博士, 副教授, 主要研究方向为土壤环境与污染化学, E-mail: dzwang@henau.edu.cn

细胞外的核酸物质 DNA, 缺少合适宿主而在胞外存在时, 可迅速被土壤黏粒吸附固定^[1, 6, 7], 从而对核酸酶降解产生抗性而在土壤中持久存在^[8~10]. 土壤的环境因素, 如 pH、盐浓度、阳离子价数、温度和湿度等条件, 影响土壤 DNA 的吸附与键合作用^[6, 11~14]. 土壤固定的 DNA 被称作环境中的“隐性基因”, 一旦遇到合适的宿主, 其编码基因很快就能表达^[1], 如微生物种类多, DNA 容易发生变异, 其分子的遗传信息通过转录和翻译, 形成具有生物活性的蛋白质, 因而这些“隐性基因”在微生物活性、生物多样性及遗传进化方面起着重要作用^[1, 5, 15], 土壤中 DNA 的吸附将影响这些“隐性基因”活性. 本研究选择 4 种不同类型土壤胶体为实验对象, 探讨其对 DNA 的吸附与解吸特征, 以期为预测和提取土壤中 DNA 提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 供试样品

1.1.1 土壤胶体样品

供试土壤采自江西省鹰潭市中国科学院红壤生态站, 发育于第四纪红色粘土母质的红壤(0~20 cm), 以高岭石和水云母为主, 含有氧化铁、三水铝石和少量蛭石, 土壤 pH 为 4.57, 土壤质地为重粘土; 砖红壤采自广东省徐闻玄武岩发育的砖红壤底土, 以高岭石为主, 基本不含其他层状硅酸盐矿物, 含有三水铝石、氧化铁, 土壤 pH 为 5.66, 土壤质地为重粘土; 红壤广泛分布在江西、湖南、福建、广西、广东等地, 砖红壤主要分布广东、海南岛、云南等地, 在电荷性质上, 这类土壤表现为可变电荷的特点, 主要是氧化铁(铝)和高岭石边面上断键的羟基, 受溶液 pH 的影响, 在电荷零点以下, 土壤带正电荷, 在电荷零点以上, 土壤带负电荷, 因而属于可变电荷土壤. 潮土采自河南省郑州市黄河滩区(0~20 cm), 粘土矿物一般以水云母为主, 蒙脱石、蛭石, 高岭石次之, 土壤 pH 为 8.35, 土壤质地为中壤土; 褐土采自郑州市邙山区(0~20 cm), 其粘土矿物以水化云母为主, 蒙脱石次之, 少量的高岭石, 土壤 pH 为 7.75, 土壤质地为轻壤土; 这两类土壤广泛分布在河南、山东、河北等地, 土壤带永久负电荷, 不受溶液 pH 的影响, 属于恒电荷土壤. 4 种土壤均去除有机质, 其中潮土及褐土再进行去 CaCO₃ 处理. 土壤胶体的基本理化性状见表 1.

1.1.2 供试 DNA

供试 DNA 样品购自德国 Sigma Chemical Co.,

St. Louis, Mo. 公司生产的鲑鱼精子 DNA, 国内外研究者所大多采用这种 DNA^[10, 13, 16~18]. DNA 溶解在 0.01 mol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液中(pH 为 5.5), 用紫外分光光度计在 260 nm 和 280 nm 下分别测定吸光值, $A_{260}:A_{280}=1.88$, 表明不含蛋白质.

表 1 土壤胶体粘粒的基本性质

土壤胶体	Table 1 Selected properties of soil colloids			
	表面积 /m ² ·g ⁻¹	CEC /cmol·kg ⁻¹	氧化铁 /g·kg ⁻¹	电荷零点 /ZPC
红壤胶体	70.45	10.13	84.3	3.54
砖红壤胶体	73.51	7.15	219.2	4.42
潮土胶体	90.91	20.14	143.5	—
褐土胶体	95.78	34.27	71.1	—

1.2 研究方法

1.2.1 土壤胶体的制备

取潮土与褐土 30.0 g 于离心管, 先加入 20 mL 3% H₂O₂, 不断搅拌, 去除有机质, 过剩 H₂O₂ 加热去除; 后加入 0.5 mol·L⁻¹ HCl, 不断搅拌, 去除 CaCO₃, 于 4 500 r/min 离心 6 min, 弃去上清液, 如此重复 2~3 次, 直至处理完毕. 取少量上清液加入数滴饱和草酸溶液, 若无白色沉淀, 则说明 Ca²⁺ 去除完毕. 继续向上述离心管中加入 20 mL 2% Na₂CO₃, 不断搅拌, 然后于 4 500 r/min 离心 6 min, 弃去上清液, 如此重复 2~3 次. 将洗过的土样移入烧杯中, 用 2% Na₂CO₃ 将溶液 pH 值调至 8.0~9.5, 超声波振荡分散 0.5 h. 根据温度查表获得 10 cm 处 < 0.002 mm 的颗粒沉降时间. 在规定吸液前 30 s 将虹吸管轻轻插入烧杯, 把胶体悬液虹吸至另一容器, 重复虹吸至悬浊液在规定沉降时间内不再显混浊为止^[19]. 红壤与砖红壤去除有机质后, 按照上述胶体分离方法提取胶体.

按照不同类型土壤胶体的分散, 采取不同的分散方法. 石灰性土壤中含有游离的碳酸钙会使土粒凝聚, 也可能形成碳酸钙包膜土粒, 因此, 在分散处理前去除碳酸钙. 去除有机质也有类似的作用, 有机质包裹在土壤胶体表面. 胶体自然风干, 过 100 目筛, 贮存, 备用.

1.2.2 不同 pH 值 DNA 溶液的配制

将 DNA 溶解在 0.01 mol·L⁻¹ 的醋酸-醋酸钠缓冲液中, 使 DNA 浓度为 100 mg·L⁻¹, 溶液用 0.1 mol·L⁻¹ 的 NaCl 作为支持电解质, 用醋酸和 NaOH 分别调节 DNA 溶液的 pH 为 2.0~7.0.

将 DNA 溶解在 0.01 mol·L⁻¹ 的醋酸-醋酸钾缓冲液中, 使 DNA 浓度为 100 mg·L⁻¹, 溶液用 0.1 mol·L⁻¹ 的 KCl 作为支持电解质, 用醋酸和 KOH 分

别调节 DNA 溶液的 pH 为 2.0~8.0.

1.2.3 DNA 的平衡吸附与解吸

DNA 的平衡吸附实验: 在 25℃, 准确称取 0.050 0 g 土壤胶体, 分别加入不同 pH 值的 DNA 溶液(NaCl 或 KCl 体系)8 mL, 在振荡机上往复振荡 2 h, 取下静置 24 h 后, 在 6 000 r/min 下离心, 并分别测上清液 pH 值及 DNA 吸光值. DNA 的加入量减去上清液中残留 DNA 量, 即为土壤胶体对 DNA 的吸附量, 实验重复 3 次.

DNA 的解吸附实验: NaCl 体系的上述沉淀物用 8 mL 0.1 mol·L⁻¹ 醋酸钠(pH 为 7.3)重复洗涤, 每次分别测上清液 pH 值和吸光值, 直至上清液检测不出 DNA 时, 再用 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(pH 为 4.5)洗涤 1 次, 分别测得的值即为 DNA 的解吸量.

1.3 测定方法

DNA 用 UV3100 分光光度计测量; pH 值用玻璃电极测定(江苏电分析仪器厂生产, 231C 型), 参比电极为饱和甘汞电极.

2 结果与分析

2.1 土壤胶体吸附 DNA 前后溶液 pH 值的变化

图 1 显示, 在 2 种电解质的情况下, 4 种土壤胶体在吸附过 DNA 后, pH 值均有不同程度的增加, pH 增加的幅度为: 红壤胶体 > 砖红壤胶体 > 潮土胶体 > 褐土胶体; NaCl 解质 > KCl 解质.

在 NaCl 电解质体系中, 褐土胶体吸附过 DNA 后其 pH 值基本没有变化. 红壤胶体在加入 DNA 溶液前 pH 为 3 时, 吸附 DNA 后溶液 pH 为 4.8; pH 为 5.0 时, 吸附 DNA 后溶液 pH 为 7.6. 砖红壤胶体与潮土胶体接近, 其 pH 的变化介于红壤胶体与褐土胶体之间. 经方差分析, 在吸附 DNA 前溶液 pH 为 2~4 的范围内, 红壤胶体与褐土胶体吸附 DNA 后, 溶液 pH 值变化差异达到极显著, 砖红壤胶体和潮土胶体吸附 DNA 后, 溶液 pH 值变化差异不显著, 但与褐土胶体吸附 DNA 后, 溶液 pH 值变化差异达到显著. 在吸附 DNA 前溶液 pH 为 5 时, 几种胶体吸附 DNA 后, 溶液 pH 值变化差异达到极显著. 在吸附 DNA 前溶液 pH 为 6~7 时, 红壤胶体、砖红壤胶体和潮土胶体吸附 DNA 后, 溶液 pH 值变化差异不显著, 但都与褐土胶体的变化差异达到极显著.

在 KCl 电解质体系中, 吸附 DNA 溶液前 pH 值为 2.5~4.5 间, 与吸附 DNA 后溶液 pH 值没有多大变化. 经方差分析, 4 种胶体吸附 DNA 后, 溶液 pH 值变化差异不显著. 在 pH 为 5.0 时, 吸附 DNA 后,

在褐土胶体上平衡溶液 pH 为 5.20, 但在红壤胶体上升高至 7.5, 4 种胶体吸附 DNA 后, 溶液 pH 值变化差异达到极显著. 在 pH 为 6.0~8.0 间, 吸附 DNA 后, 溶液 pH 在褐土胶体上为 6.7, 在红壤胶体上为 7.8, 且红壤胶体、砖红壤胶体和潮土胶体吸附 DNA 后, 溶液 pH 值变化差异不显著, 但与褐土胶体吸附 DNA 后溶液 pH 值变化差异达到极显著.

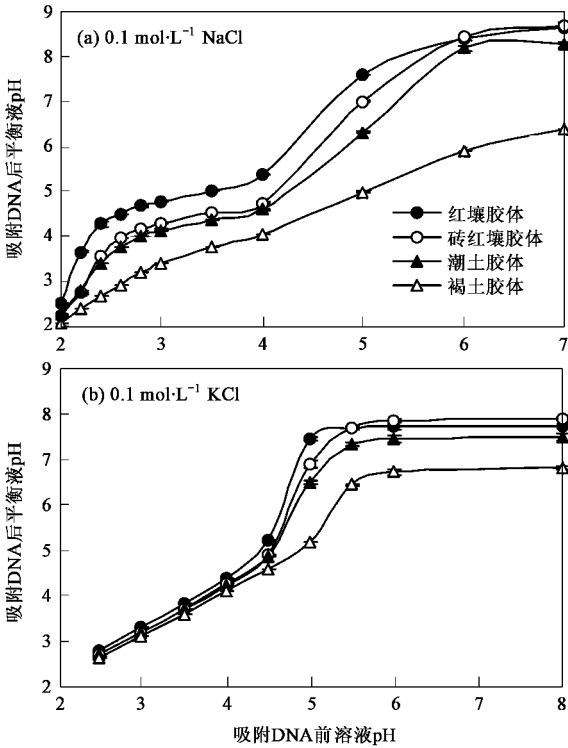


图 1 加入 DNA 溶液平衡前后 pH 的变化
Fig.1 pH variation before and after adding DNA solution

2.2 DNA 的吸附特征

DNA 的吸附特点如图 2, 在 NaCl 和 KCl 电解质下, 4 种土壤胶体对 DNA 的吸附存在明显差异, 且对 DNA 的吸附量均随着 pH 值的升高而出现不同程度的下降.

在 NaCl 电解质体系中, 4 种土壤胶体对 DNA 的吸附量为红壤胶体 > 砖红壤胶体 > 潮土胶体 > 褐土胶体. 当溶液 pH 值从 2.0~4.2 变化时, 4 种土壤胶体对 DNA 的吸附基本上处于吸附的最大值, 约为 13.0~15.0 μg·mg⁻¹. 当溶液 pH 值从 4.2 继续上升至 pH 为 8.6 时, 红壤胶体对 DNA 的吸附量开始大幅下降, 其吸附量从 14.48 μg·mg⁻¹ 下降至 8.76 μg·mg⁻¹; 砖红壤胶体对 DNA 吸附量快速下降, 其吸附量从 14.11 μg·mg⁻¹ 下降至 8.81 μg·mg⁻¹; 潮土胶体对 DNA 吸附量从 14.2 μg·mg⁻¹ 急剧下降至 2.0 μg·mg⁻¹; 褐土胶体对 DNA 的吸附量急剧下降, 从

pH 为 3.8 时的 $13.47\ \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 下降至 7.0 时的 $5.20\ \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$.

在 KCl 电解质体系中,供试土壤胶体对 DNA 的吸附总量与 NaCl 电解质体系相差不大.4 种土壤胶体对 DNA 的吸附量顺序亦为红壤胶体 > 砖红壤胶体 >> 潮土胶体 > 褐土胶体.体系 pH 为 2.5 ~ 4.5 间变化时,4 种胶体对 DNA 的吸附处于最大值,约为 $13.5\sim 15.5\ \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$; 当 $\text{pH} > 4.5$ 时,各供试胶体对 DNA 的吸附量表现出下降,其中潮土胶体与褐土胶体下降幅度较大,约为 $9.0\sim 10.7\ \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$.与 NaCl 体系相比较,pH 为 4.5 ~ 7.5,红壤胶体与砖红壤胶体上 DNA 的吸附量下降幅度不大,约为 $2.1\ \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$.

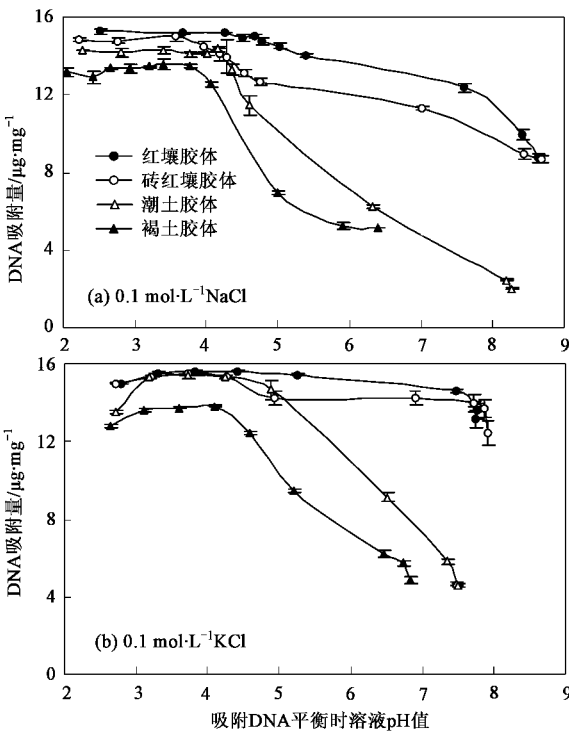


图 2 不同 pH 值时土壤胶体对 DNA 的吸附
Fig.2 DNA adsorption by soil colloids at different pH values

2.3 DNA 的解吸特征

实验用 NaOAc 溶液和 NaH_2PO_4 溶液为解吸剂,NaOAc 解吸的是通过分子引力或静电引力吸附的 DNA, NaH_2PO_4 解吸的主要所通过配位体交换吸附的 DNA,在 25℃ 恒温条件下将土壤胶体所吸附的 DNA 解吸下来.

图 3(a)可以看出,以 NaOAc 为解吸剂,在加入 DNA 溶液 pH 为 3.0 时,红壤胶体、砖红壤胶体、潮土胶体和褐土胶体上吸附 DNA 的解吸率分别为 25.5%、23.6%、76.2%和 85.9%.在 pH 为 5 时,上

述几种胶体的解吸率分别为 11.1%、11.5%、58.4%和 73.7%.经方差分析,上述 pH 值情况下,红壤胶体和砖红壤胶体的解吸率差异不显著,潮土胶体和褐土胶体的解吸率差异极显著.在 pH 值为 7 时,上述 4 种胶体的解吸率分别为 16.8%、9.5%、73.9%和 72.3%,红壤胶体和砖红壤胶体的解吸率差异极显著,潮土胶体和褐土胶体的解吸率差异不显著.在上述 3 种 pH 值的情况下,可变电荷胶体(红壤胶体和砖红壤胶体)解吸率与恒电荷胶体(潮土胶体和褐土胶体)的差异达到极显著水平.红壤胶体和砖红壤胶体在溶液 pH 为 3 时的解吸率,高于溶液 pH 为 5 和 7 时约 10% ~ 15%;潮土胶体和褐土胶体在溶液 pH 为 3 时的解吸率,高于溶液 pH 为 5 和 7 时约 2% ~ 14%,且恒电荷土壤胶体 NaOAc 解吸率高于可变电荷土壤胶体 50% ~ 60% .

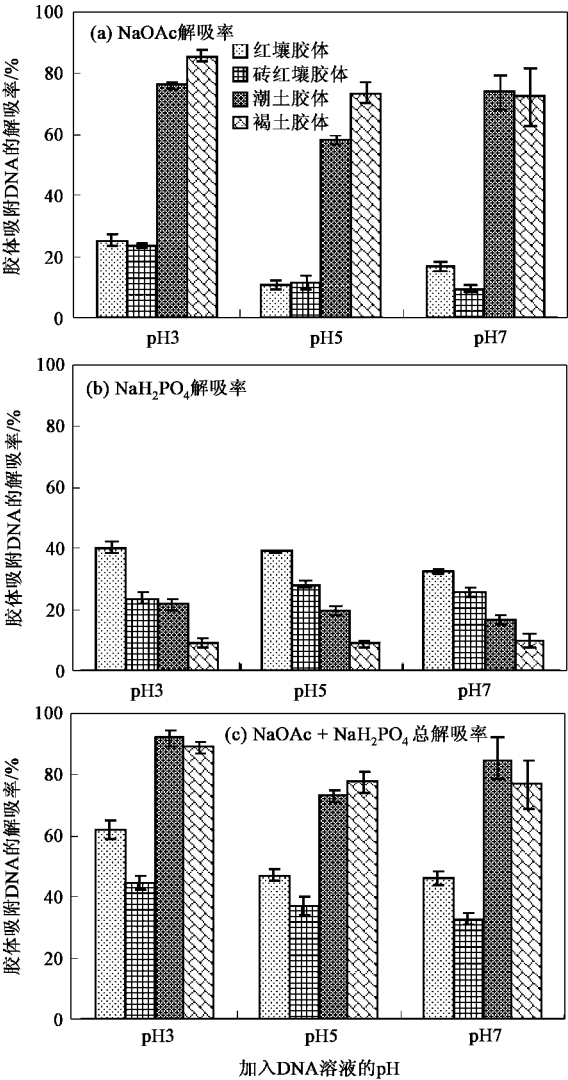


图 3 不同解吸剂对土壤胶体吸附 DNA 的解吸率
Fig.3 Desorption percentage of DNA on soil colloids at different pH values

图 3(b)可以看出,以 NaH_2PO_4 为解吸剂,在加入 DNA 溶液 pH 为 3.0 时,红壤胶体、砖红壤胶体、潮土胶体和褐土胶体的解吸率分别为 40.2%、23.5%、21.6% 和 8.7%。经方差分析,红壤胶体和砖红壤胶体的解吸率差异极显著,潮土胶体和褐土胶体的解吸率差异极显著,但砖红壤胶体与潮土胶体的解吸率差异不显著。在 pH 为 5 时,上述 4 种胶体的解吸率分别为 38.9%、28.0%、19.4% 和 8.8%;在 pH 为 7 时,分别为 32.3%、25.5%、16.4% 和 9.3%。经方差分析,在 pH 为 5 和 7 情况下,红壤胶体、砖红壤胶体、潮土胶体和褐土胶体的解吸率差异极显著,恒电荷土壤胶体的 NaH_2PO_4 解吸率低于可变电荷土壤胶体 14% ~ 20%。

用 NaOAc 解吸和 NaH_2PO_4 解吸的总和计算总解吸率。图 3(c)可以看出,在 pH 为 3 时,潮土胶体与褐土胶体的总解吸率达到 95% 以上,而红壤胶体与砖红壤胶体的总解吸率约 47% ~ 65%;在 pH 为 5 时,潮土胶体与褐土胶体的总解吸率 78% ~ 83%,而红壤胶体和砖红壤胶体上总解吸率为 40% ~ 50%;在 pH 为 7 时,潮土胶体与褐土胶体的总解吸率 82% ~ 90%,红壤胶体和砖红壤胶体的总解吸率 35% ~ 50%。经方差分析,在上述 3 种 pH 值的情况下,红壤胶体和砖红壤胶体的解吸率差异极显著,潮土胶体和褐土胶体的解吸率差异不显著,可变电荷胶体解吸率与恒电荷胶体的差异达到极显著水平。恒电荷土壤胶体的总解吸率大于可变电荷土壤胶体。

3 讨论

吸附平衡体系 pH 值的变化与土壤胶体的理化性质有密切关系。自然条件下,土壤胶体一般带负电荷,由于静电作用,土壤胶体很容易吸附 DNA 溶液中的 H^+ 。在 2 种电解质体系中,红壤与砖红壤胶体中存在氧化铁,表面质子化特别明显^[20]。潮土与褐土胶体溶液的 pH 上升幅度小于砖红壤和红壤,主要是存在高浓度的 Na^+ 和 K^+ 离子,但 NaCl 体系的 pH 上升幅度较大,可能与土壤胶体对 K^+ 的吸附力大于 Na^+ 的吸附力有关,因而 H^+ 在 NaCl 体系比在 KCl 体系更容易被土壤胶体吸附,导致 pH 上升幅度较大^[21]。

当 DNA 被土壤胶体吸附时,溶液体系 pH 值的变化还与 DNA 自身的性质有关^[5, 6, 10, 13],DNA 的等电点大约是 5.0^[22],体系 pH < 5.0, DNA 分子中的腺嘌呤、鸟嘌呤和胞嘧啶上的氨基基团发生质子化,

DNA 分子带正电荷,被带负电荷的土壤胶体吸附,所以溶液 pH 值升高不大,特别是在 KCl 体系中;当体系 pH > 5.0, DNA 分子中的氨基基团脱去质子, DNA 分子带负电荷^[6, 13],土壤胶体会吸附大量 H^+ ,从而使溶液 pH 值升高幅度加大。

关于土壤胶体对 DNA 的吸附,已经提出了静电引力、氢键结合、脱水作用、配位交换及范德华力等机制^[1, 6, 16]。4 种土壤胶体主要是通过 Na^+ 或 K^+ 形成盐桥吸附 DNA,而土壤胶体对 K^+ 离子的吸附力大于 Na^+ 离子^[21],所以在 KCl 体系吸附的 DNA 量略比 NaCl 体系要高。

NaOAc 解吸以静电引力吸附在胶体上的 DNA 分子,而 NaH_2PO_4 解吸的是配位体交换吸附于胶体上的 DNA, DNA 分子两端的核糖和磷酸根表面羟基与土壤表面羟基经配位交换反应被吸附,后被磷酸盐的配位交换反应得以释放^[10, 12, 14]。以上实验结果表明,红壤与砖红壤胶体主要通过配位体交换的方式吸附 DNA,而静电引力所吸附的 DNA 占约 10% ~ 25%;从总解吸率来看,红壤和砖红壤胶体至少有 50% 的没有被 NaH_2PO_4 解吸,可能是更强烈的键合作用;土壤胶体氧化铁含量的差异,红壤胶体氧化铁含量低于砖红壤的,使得吸附在砖红壤胶体表面的 NaH_2PO_4 解吸 DNA 量和未解吸的 DNA 要略高于红壤。与南方可变电荷土壤胶体不同的是,对北方的恒电荷土壤胶体解吸时,NaOAc 要比 NaH_2PO_4 解吸的 DNA 量大很多,甚至褐土在不同 pH 值的 NaH_2PO_4 解吸率不到 7%,从总解吸率来看,潮土和褐土胶体仅仅有 10% ~ 20% 的没有被 NaH_2PO_4 解吸,这部分也可能是更强烈的键合作用,同时也表明潮土与褐土对 DNA 的吸附主要通过静电引力作用。

土壤胶体对 DNA 的吸附在 pH 为 2 ~ 5 时吸附量处于最大值,因为 DNA 的等电点约为 5,当体系 pH < 5 时, DNA 分子表面的正电荷量增加, DNA 与土壤胶体或矿物间的静电引力增强,特别是潮土与褐土在 pH 为 3 时的 NaOAc 的解吸率达到 70% 以上,这充分说明是以静电引力的吸附为主^[13];低 pH 值下吸附量的增大,也可能是因为 DNA 的沉淀增加了吸附量^[14, 16]。

土壤胶体对 DNA 的吸附在 pH 为 5 ~ 8 时吸附量褐土与潮土下降幅度最大,这与 DNA 带负电荷,它与土壤胶体间就会表现出静电斥力, DNA 吸附量则会大幅下降。红壤与砖红壤矿物组成均以高岭石为主,且含有一定的氧化铁,所吸附的 DNA 主要

靠配位交换和氢键结合^[6, 15];从 DNA 的解吸率可以看出,在红壤与砖红壤上用 NaH_2PO_4 解吸和未解吸的 DNA 较高,进一步说明 DNA 的吸附是以配位交换为主.褐土与潮土的矿物组成以水化云母和蒙脱石为主,含少量的高岭石,有实验结果显示,体系 $\text{pH} < 5.0$ 时,蒙脱石内外表面都吸附 DNA,而当 $\text{pH} > 5.0$ 时,仅有外表面吸附^[6, 12],这是因为在 pH 值较高时,DNA 以离子形式存在,不能进入矿物层间,DNA 吸附量就少^[12, 13];也有实验结果表明,在 pH 为 7 时,高岭石表面吸附的 DNA 量大于蒙脱石表面^[13].

4 结论

(1)在 2 种电解质体系中,4 种胶体在吸附 DNA 前后, pH 值均有不同程度的增加.在可变电荷(砖红壤和红壤)胶体中,即使存在高浓度 Na^+ 或 K^+ 离子,由于氧化铁表面的质子化过程,溶液的 pH 上升幅度较大;在恒电荷土壤(潮土和褐土)胶体中,由于存在高浓度 Na^+ 或 K^+ 离子,溶液 pH 增加幅度并没有可变电荷土壤胶体大.

(2)土壤胶体对 DNA 的吸附量随着 pH 值的升高分为两段,在平衡液 pH 为 2 ~ 4,胶体对 DNA 的吸附量保持最大值约为 $13.1 \sim 14.8 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$;在平衡液 pH 为 4 ~ 8,胶体吸附 DNA 的吸附量下降,恒电荷土壤胶体对 DNA 的吸附量下降幅度约为 $8.3 \sim 12.2 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$,可变电荷土壤胶体对 DNA 的吸附量的下降幅度约为 $2.1 \sim 5.5 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$,且在 NaCl 体系 $> \text{KCl}$ 体系.以高岭石和氧化铁为主的红壤胶体与砖红壤胶体吸附 DNA 量 $>$ 以蒙脱石为主的褐土胶体与潮土胶体.

(3)用 NaOAc 作为解吸剂时,恒电荷土壤胶体解吸率为 60% ~ 85%,可变电荷土壤胶体解吸率仅为 10% ~ 20%;用 NaH_2PO_4 作为解吸剂时,恒电荷土壤胶体解吸率为 8.8% ~ 21.6%,可变电荷土壤胶体解吸率 23.5% ~ 40.2%,且 NaH_2PO_4 解吸的和未解吸下来的占 80% ~ 90%,这类胶体可能是通过氧化物和高岭石表面的键合作用吸附 DNA.这是 DNA 在不同电荷类型土壤胶体表面的吸附 DNA 的差异.

参考文献:

- [1] Levy-Booth D J, Campbell R G, Gulden R H, *et al.* Cycling of extracellular DNA in the soil environment [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, **39**: 2977-2991.
- [2] 张瑞福,曹慧,崔中利,等.土壤微生物总 DNA 的提取和纯

- 化[J]. *微生物学报*, 2003, **43**(2): 276-282.
- [3] 杨朝晖,肖勇,曾光明,等.用于分子生态学研究的堆肥 DNA 提取方法[J]. *环境科学*, 2006, **27**(8): 1613-1617.
- [4] Crecchio C, Stotzy G. Binding of DNA on humic acids: Effect on transformation of *Bacillus subtilis* and resistance to Dnase [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, **30**: 1061-1067.
- [5] Stotzy G. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2000, **29**: 691-705.
- [6] Pietramellara G, Franchi M, Gallori E, *et al.* Effect of molecular characteristics of DNA on its adsorption and binding on homoionic montmorillonite and kaolinite [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, **33**(5): 402-409.
- [7] Cai P, Huang Q Y, Li M, *et al.* Binding and degradation of DNA on montmorillonite coated by hydroxyl aluminum species [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008, **62**: 299-306.
- [8] Demanèche S, Jocteur-Monrozier L, Quiquampoix H, *et al.* Evaluation of biological and physical protection against nuclease degradation of clay-bound plasmid DNA [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**: 293-299.
- [9] Romanowski G, Lorenz M G, Wackernagel W. Adsorption of plasmid DNA to mineral surfaces and protection against Dnase I [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, **57**(4): 1057-1061.
- [10] Cai P, Huang Q Y, Zhang X W. Interactions of DNA with Clay Minerals and Soil Colloidal Particles and Protection against Degradation by Dnase [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, **40**: 2971-2976.
- [11] Pietramellara G, Dal Canto L, Vettorl C, *et al.* Effects of air-drying and wetting cycles on the transforming ability of DNA bound on clay minerals [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, **29**: 55-61.
- [12] Greaves M P, Wilson M J. The adsorption of nucleic acids by montmorillonite [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1969, **1**: 317-323.
- [13] Cai P, Huang Q Y, Zhang X W, *et al.* Adsorption of DNA on clay minerals and various colloidal particles from an Alfisol [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, **38**: 471-476.
- [14] Pietramellara G, Ascher J, Ceccherini M T, *et al.* Adsorption of pure and dirty bacterial DNA on clay minerals and their transformation frequency [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2007, **43**: 731-739.
- [15] Alvarez A J, Khanna M, Toranzos A, *et al.* Amplification of DNA bound on clay minerals [J]. *Molecular Ecology*, 1998, **7**: 775-778.
- [16] Melzak K A, Sherwood C S, Turner R F B, *et al.* Driving forces for DNA adsorption to silica in perchlorate solutions [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1996, **18**: 635-644.
- [17] Teeters M A, Root T W, Lightfoot E N. Adsorption and desorption behavior of plasmid DNA on ion-exchange membranes: Effect of salt valence and compaction agents [J]. *Journal of chromatography*, 2004, **1036**: 73-78.
- [18] Cárdenas M, Nylander T, Lindman B. DNA and cationic surfactants at solid surfaces [J]. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2005, **270-271**: 33-43.
- [19] 熊毅. 土壤胶体: 土壤胶体的研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985. 1-39.
- [20] 朱茂旭,蒋新,季国亮,等.可变电荷土壤和恒电荷土壤与氢离子的反应动力学[J]. *环境科学*, 2001, **22**(3): 49-53.
- [21] 于天仁,季国亮,丁昌璞.可变电荷土壤的电化学[M]. 北京: 科学出版社, 1996. 39-66.
- [22] Theng B K G. Formation and properties of clay-polymer complexes [M]. Amsterdam: Elsevier, 1979. 3-35.