

文章编号:1000-4734(2008)01-0077-07

## 一株胶质芽胞杆菌对磷矿石风化作用的实验研究

谌书<sup>1,2</sup>, 连宾<sup>1</sup>, 刘丛强<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院 地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

**摘要:**以一株质芽胞杆菌为例研究实验条件下微生物对磷矿石的风化作用。以直接作用和间接作用的方式研究培养基中胶质芽胞杆菌对磷矿粉的风化作用,即在装有100目磷矿粉粉的液体培养基中接种,研究该菌对磷矿粉的直接风化作用;同时,将装有100目磷矿粉粉的透析袋放入液体培养基中再接入该菌,研究其对磷矿粉的间接风化作用。按不同时间取培养液上清液,过滤,用电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)测定滤液中 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 和 $\text{K}^+$ 等浓度,比色法测定水溶性P(Pws)和水溶性Si(Siws)的含量;滤膜上的固体物称重并消解后,同方法测定 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 和 $\text{K}^+$ 等浓度以及Pws和Siws含量。此外,细菌风化作用后的矿物残渣用电子探针作表面微观形态分析和XRD矿物物相分析。结果表明:胶质芽胞杆菌对磷矿粉风化的直接作用强度大于间接作用;对不同矿物的风化强度不同,对粘土矿物的风化作用较明显。提出细菌对磷矿石的风化作用源自细菌生长导致的机械破坏作用、胞外分泌物的生化降解作用以及多种因素之间的协同作用。

**关键词:**磷矿石;胶质芽胞杆菌;风化;机理;贵阳**中图分类号:**P593;Q939.99 **文献标识码:**A**作者简介:**谌书,男,1975年生,博士研究生,主要从事环境微生物研究。

磷矿石是地球上最重要的含磷矿产资源,其主要矿物组成是磷灰石,研究磷矿石的微生物风化作用对认识磷的生物地球化学循环具有理论和实际意义。自然条件下微生物对矿物的风化作用是矿物元素溶出或被选择性吸收以及重结晶的过程<sup>[1]</sup>,是外部环境作用下微生物对矿物产生的一系列复杂的生物化学反应和生物物理变化。该过程在生物地球化学循环,土壤肥力及植物营养学研究中具有重要意义。微生物对磷矿石的风化作用与所用试验对象(矿物和菌种)及其环境条件密切相关。微生物对磷矿石的风化机理主要有微生物代谢产物造成矿物的风化溶解<sup>[2-5]</sup>,络合作用<sup>[5-8]</sup>和微生物的数量增多或体积增大而导致的矿物风化作用<sup>[9-11]</sup>等。贵州磷矿是中国著名的磷矿基地和国家级大型磷复肥基地;但磷矿资源属非再生性自然资源,大规模的磷矿开发造成资源逐年减少,而磷矿开采产生的废弃物也给当地生

态环境带来严重压力。微生物对矿物的风化作用具有能耗低、污染小和工艺简单的特点<sup>[12]</sup>,尝试利用微生物作用的方式来解决磷矿资源开发利用与环境保护相矛盾的问题具有实际意义,但前提必须弄清楚微生物与磷矿石相互作用的过程和机制。胶质芽胞杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)是芽胞杆菌属的一个种,是目前广泛用于微生物与矿物相互作用的模式菌种,该菌能利用多种糖类,不明显产酸,可形成肥厚的荚膜,能分解硅酸盐矿物<sup>[13-14]</sup>。目前还没有看到有关胶质芽胞杆菌对磷矿石的生物风化作用研究报道。本文利用一株分离自贵阳郊区玉米地根际土壤中的胶质芽胞杆菌研究其在实验条件下对磷矿石的风化作用,探讨微生物的风化作用机理,为贵州磷矿石的综合开发利用提供基础资料。

## 1 材料与方法

## 1.1 实验材料

## 1.1.1 磷矿石及其矿物学特征

磷矿石采自贵州省开阳县磷矿区,主要由磷灰石组成。薄片鉴定显示,磷灰石以椭球状集合

收稿日期:2007-08-30

基金项目:国家973项目(2006 CB403200);中国科学院知识创新工程项目(KZCX3-SW-140);中国科学院西部行动计划项目(KZCX2-XB2-08)

\* 通讯作者, E-mail: liucongqiang@vip.skleg.cn

体形式存在,颗粒大小在 0.05 ~ 0.1 mm 左右,颗粒支撑和基质支撑,胶结物为胶磷矿。另外见有少量的方解石、粘土矿物等副矿物。隐晶质磷灰石呈隐晶-微晶集合体,6100 倍电镜下为 0.01 ~ 6  $\mu\text{m}$  的粒状、针状、柱状和片状等超微磷灰石晶体。其化学式为  $\text{Ca}_{10}\text{P}_5.9\text{C}_{0.4}\text{O}_{23.2}(\text{OH})_{0.7}\text{F}_{2.1}$ 。岩石化学成分(质量分数)  $\text{CaO}$  51.37%,  $\text{P}_2\text{O}_5$  36.46%,  $\text{SiO}_2$  2.90%,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  1.04%,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  0.63%,  $\text{MgO}$  0.47%,  $\text{Na}_2\text{O}$  0.31%,  $\text{K}_2\text{O}$  0.14% 还有少量的  $\text{TiO}_2$  和  $\text{MnO}_2$  等其它金属氧化物。岩石的 XRD 分析结果是磷灰石 91.1%, 伊利石 2.46%, 蒙脱石 2.45%, 石英 1.98% 和少量的非晶质。

### 1.1.2 菌种

采用胶质芽孢杆菌,其分离鉴定特征见文献[13-14]。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 培养基

由于胶质芽孢杆菌可以固定大气中的氮素,故一般采用无氮培养基(蔗糖 10 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.00 g,  $\text{KCl}$  0.1 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1.00 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 7.0 ~ 7.2) 进行培养。作者通过预实验发现,在无氮培养基的基础上添加少量有机和无机氮源菌体生长会更好,对矿物的风化作用更强。为此,本研究采用有氮培养基,即在无氮培养基基础上添加少量酵母膏(0.20 g/L) 和  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0.5 g/L) 来培养该细菌,并在此培养基中研究其对磷矿粉的风化作用。

### 1.2.2 实验设计

实验分两种不同的处理方式:

(1) 胶质芽孢杆菌对磷矿粉的直接风化作用: 在 250 mL 三角瓶中,加入 100 mL 培养基及磷矿石粉(过 100 目筛)3 g, 121  $^{\circ}\text{C}$  灭菌 30 min。冷却后,无菌操作接入事先准备好的细菌悬液 1 mL (悬液中细菌个数  $10^7 \text{ mL}^{-1}$ );

(2) 胶质芽孢杆菌对磷矿粉的间接风化作用: 将装有 3 g 矿粉(过 100 目筛)的透析袋放入 250 mL 三角瓶中,加入 100 mL 培养基,121  $^{\circ}\text{C}$  灭菌 30 min。冷却后,接入细菌悬液 1 mL(同上)。同时以培养基中接细菌不加矿粉为对照处理。以上各

处理和对照均设定 6 个重复,共计 108 个样, 25  $^{\circ}\text{C}$  静置培养。

### 1.2.3 测定不同培养时间培养液中主要离子浓度

每隔 7 d 取上清液(分别于 7, 14, 21, 28, 35 和 42 d 取样,每次取样 18 瓶,测定后不再使用),先测上清液的 pH 值(A420 型,美国 Thermo Orion 公司,精度:  $\pm 0.01$ ),然后将样品用针头过滤器(Millipore, Whatman 滤膜,孔径 0.22  $\mu\text{m}$ ) 过滤,取滤液 5 mL 置 50 mL 的容量瓶中定容(稀释 10 倍)。取 5 mL 置于小离心管中,加 1 滴浓硝酸,使其酸化。用 ICP-OES(美国 Varian 公司 Vista MPX 型)测定  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{K}^+$  等浓度(相对标准偏差  $< 1\%$ );用比色法测定  $\text{P}_{\text{w}}$ (水溶性 P) 和  $\text{Si}_{\text{w}}$ (水溶性 Si) 的含量(相对标准偏差  $< 1\%$ )。

### 1.2.4 测定菌体中金属离子浓度

将针头过滤器滤膜上菌体称重,然后轻轻刮入 Teflon 坩埚中,加入 5 mL 浓  $\text{HNO}_3$  (工艺超纯),再将坩埚装入钢套中封闭,160  $^{\circ}\text{C}$  消解 24 h,待完全消解后用 10 mL 容量瓶定容。用 ICP-OES 测定  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{K}^+$  等浓度(相对标准偏差  $< 1\%$ ),比色法测定 P 和 Si 的含量(相对标准偏差  $< 1\%$ )。

### 1.2.5 XRD 分析细菌作用后的矿物残渣

细菌直接风化作用后的矿物残渣先用蒸馏水在超声波清洗机中清洗(尽量除去其中的可溶性离子和菌体),间接风化作用后的样品用蒸馏水清洗即可,然后将矿物残渣烘干称重;将少量干燥样品放入研钵中研磨(过 200 目筛)后作 XRD 分析(D/Max-2200 型,  $\text{Cu K}\alpha$  辐射,石墨单色器滤波,管电压 40 kV,管电流 30 mA,扫描速度:  $3(^{\circ})/\text{min}$ 。用 K 值法计算出样品中各矿物的相对百分含量<sup>[15-16]</sup>,然后再乘以样品干重,得各矿物的绝对含量。

### 1.2.6 电子探针分析细菌作用后矿物残渣

冷冻干燥样品粉末分散在导电胶上,在表面喷镀导电碳膜,最后用电子探针分析(日本岛津 EPMA-1600 型电子探针,仪器的工作参数为:加速电压 25 kV,速流 0.25 nA,扫描二次电子成像)。

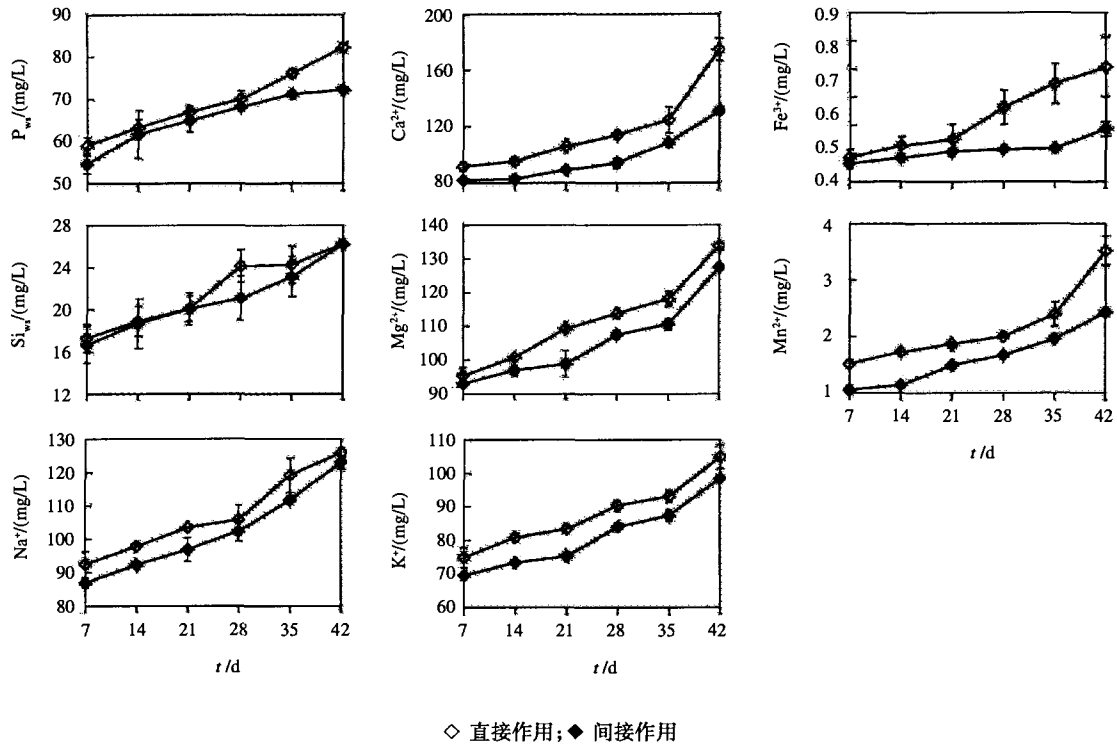


图 1 胶质芽胞杆菌对磷矿石风化作用过程中上清液中离子浓度随时间的变化特征, 误差线代表正负标准偏差(n=6, P<0.05)

Fig. 1. The variation characteristics of supernatant with time for *Bacillus mucilaginosus* on weathering.

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同培养时间培养液上清液中的离子浓度变化特征

培养基中胶质芽胞杆菌对磷矿石粉产生直接风化作用或间接风化作用后,上清液中主要离子浓度随时间变化情况见图 1。细菌与矿粉之间

发生直接风化作用和间接风化作用时,所测离子浓度都随培养时间的增加而增大,且直接作用时离子浓度大于间接作用,据此认为胶质芽胞杆菌对磷矿石的直接风化作用大于间接风化作用。

细菌培养过程中,培养液 pH 值随培养时间发生变化,直接作用和间接作用后上清液 pH 值的变化情况见图 2。细菌培养过程中,培养液中的 pH 值在前 7 d 内由初始的 7.1 迅速下降到 5.0 以下,7 d 后培养液中的 pH 值变动不大,但略有回升。如:直接作用时, pH 值从作用 7 d 时的 4.48 升高到 42 d 的 4.76;间接作用时,溶液 pH 值从作用 7 d 时的 4.60 升高到 42 d 后的 4.74。细菌培养基在 7 ~ 42 d 期间 pH 值的小幅上升可能是由于矿粉被风化溶解消耗了细菌产生的部分酸性物质所致,这与细菌风化过程中的酸溶作用相稳合<sup>[6,17-18]</sup>。

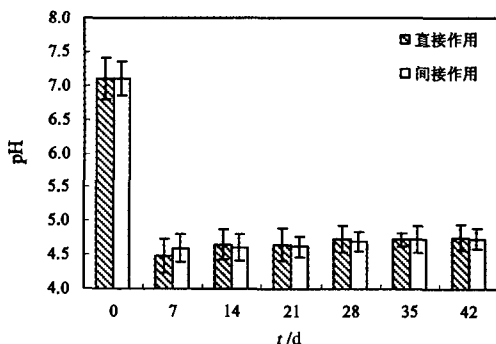


图 2 培养液 pH 随培养时间的变化

Fig. 2. The variation characteristics of pH in the supernatant with incubation time.

胶质芽胞杆菌的直接风化作用不仅有酸性物质的溶解作用,还能产生胞外多糖,并在矿物表面形成生物膜,从而可在矿物颗粒表面形成一个相对特殊的微环境,加速矿物的溶解。这与 Jayasinghachari 等<sup>[9]</sup>和 Vandevivere 等<sup>[10]</sup>在研究细

菌对矿物溶解作用时所得的结论一致;而间接作用由于透析袋的隔离,只有能透过的小分子酸性物质对袋内的矿物发挥风化作用,因而比直接风化作用的强度弱。

## 2.2 菌体及大分子吸收或吸附的主要元素离子浓度变化特征

在细菌与矿粉直接作用过程中,细菌分泌的胞外多糖黏附在矿粉颗粒上,形成细菌-矿物复合体<sup>[17,19]</sup>,此时很难将菌体或有机物质与矿粉分离开,这对后续实验分析带来一定难度。为避免较大的误差,暂不对直接作用过程中菌体吸收或吸附的主要元素离子浓度进行测定,代之以分析间接作用过程与对照组间菌体及大分子吸收或吸附

的离子浓度,以此来说明风化过程中菌体对各元素的吸附特征。

图3结果表明,随着培养时间的增加,间接作用组滤膜上菌体物质消解后所测定的几种离子浓度都增加。其原因可能与矿粉风化后,溶出的离子被菌体及大分子吸收或吸附,并且随着时间的延长吸收(附)的量也增多。由于溶出的多种离子带有不同电荷,而菌体细胞和胞外分泌物也带有阳性基团和阴性基团,它们能发生相互作用,且这种作用与细胞死活无关<sup>[20]</sup>。所以,离子被菌体及大分子物质吸收或吸附提高了细菌分解矿物的能力<sup>[21-23]</sup>;而对照组中由于没有矿粉存在,所测定的几种离子浓度基本不变。

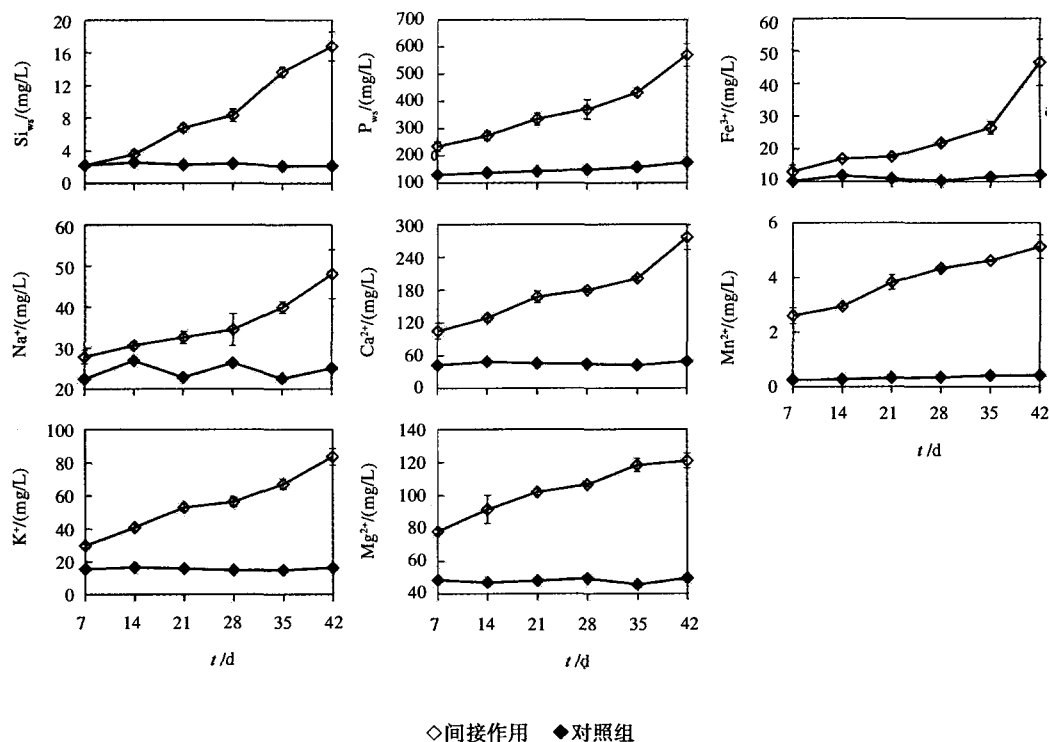


图3 菌体及大分子吸收或吸附的离子浓度随时间的变化特征,误差线代表正负标准偏差 (n=6, P<0.05)

Fig. 3. The variation of concentrations of ion absorbed by bacteria and macromolecules between the indirect process with the control for *Bacillus mucilaginosus* on weathering.

## 2.3 XRD 分析及表面形态微观分析

### 2.3.1 矿物残渣的 XRD 分析

胶质芽孢杆菌与磷矿粉直接作用后,矿物残渣中各种矿物组成分析结果见表1。直接作用时,随着作用时间的增加,磷灰石含量逐渐减少,

42 d 后磷灰石的量仅为 2.525 g,表现出对磷灰石有风化作用。磷矿石含多种矿物,风化程度各不相同。14 d 高岭石已完全被风化;其它矿物也有一定的减少;14 d 后伊利石被完全风化;42 d 后蒙脱石由最初的 0.074 g 减少到 0.022 g;说明磷灰石和粘土矿物受风化作用明显。而石英由 0 d 的 0.059 g 减少到 42 d 后的 0.049 g,表明也受到

一定程度的风化作用。

胶质芽孢杆菌与磷矿粉间接作用后,矿物残渣中各种矿物组成分析结果见表 2。对于间接作用,随着作用时间的增加,磷灰石含量逐渐减少,42 d 后磷灰石的量为 2.642 g,说明细菌对磷灰石的风化有一定促进作用。磷矿石含多种矿物,风化程度各不相同。14 d 时,高岭石已被全部风化。伊利石到 28 d 时被完全风化;42 d 后,蒙脱石由最初的 0.074 g 减少到 0.027 g,但在 14 d 到 28 d 之间,蒙脱石含量有一定的增加,可能是由于伊利石中 K 或 Mg 被 Al 等代换而转变成蒙脱石。石英由 0.059 g 减少到 42 d 后的 0.034 g。

表 1 直接作用后矿物残渣含量的 XRD 分析结果

Table 1. The contents of minerals after processed in remainder during direct process

作用时间/d	磷灰石	石英	蒙脱石	伊利石	高岭石
0	2.733	0.059	0.074	0.074	0.051
14	2.621	0.035	0.073	0.072	0
28	2.564	0.066	0.069	0	0
42	2.525	0.049	0.022	0	0

表 2 间接作用后矿物残渣含量的 XRD 分析结果

Table 2. The contents of minerals after processed in remainder during indirect process

矿物	作用时间/d			
	0	14	28	42
磷灰石	2.733	2.716	2.661	2.642
石英	0.059	0.069	0.059	0.034
蒙脱石	0.074	0.054	0.112	0.027
伊利石	0.074	0.061	0.022	0
高岭石	0.051	0	0	0

比较表 1 和表 2 的结果,就磷灰石而言,直接风化作用 42 d 时磷灰石的含量(2.525 g)小于间接风化作用同样时间的量(2.642 g);对粘土矿物而言,直接和间接风化作用 42 d 后高岭石和伊利石都完全被风化,蒙脱石有少量存在,但直接风化作用 42 d 时蒙脱石的含量小于间接风化作用同样时间的量。因此,可以认为直接风化作用时对磷矿石的作用要强于间接作用,这与前面的结论一致。

直接风化作用时,有机体对矿物颗粒的粘着,穿插和剥落,可以加速矿物的分解;该风化作用可能与胶质芽孢杆菌所分泌的胞外多糖及其它有机物质密切相关,胞外多糖含有很多络合作用的官

能团,能将 Ca 和 Al 等金属离子络合而释放出磷酸根;间接作用时,透析袋对细菌和大分子物质的阻隔,导致间接风化作用程度弱于直接风化作用。

### 2.3.2 电子探针对细菌风化作用后残留物的表面形态微观分析

对胶质芽孢杆菌直接和间接风化磷矿石粉 42 d 后的残体进行电子探针扫描分析,结果见图 4。图 4a 表示未经风化作用的矿粉,矿粉颗粒的棱角分明,不小不等,且大颗粒较多;图 4b 为直接风化作用 42 d 后的扫描图,从图可以看出:经直接风化作用后,大颗粒已明显减少,且颗粒棱角变得不分明;一部分小颗粒已无法分辨。矿粉颗粒之间无明显的界线,大颗粒间的空隙已经被风化的残体或细小的矿粉颗粒填满;且在矿粉表面出现许多不规则形的物质,可能是菌体及其分泌物与矿物形成的矿物复合体。图 4c 为间接风化作用 42 d 后的扫描图,间接风化作用后,一部分大颗粒变小,小颗粒增多;小的颗粒被溶蚀后,颗粒变得浑圆。由于透析袋的阻隔,缺少菌体及其大分子有机物对矿粉的粘附作用和机械剥蚀作用,使得矿粉颗粒之间变得较松散,风化程度也弱于直接作用。

磷矿石粉含有多种矿物,在多种矿物共存的条件下,细菌对磷矿石的风化作用会因矿物晶体结构的不同而在作用强弱或快慢上表现出明显差异,从而不同类型的矿物受风化的程度也不同,细菌对矿物的破坏作用不仅表现在不同矿物之间,也表现在同种矿物的不同部位之间<sup>[19]</sup>。由于具体的某个矿物只不过是物质在一定的理化条件下,在特定的时间和空间范围内处于暂时的平衡状态中的一种形式,因此矿物周围理化条件的改变会影响到矿物的存在形式,在胶质芽孢杆菌的风化作用下,矿物所发生的变化应该是逐步的,从量变到质变的过程。细菌直接风化作用时,由于生物的机械蚀刻作用十分微弱,因此溶蚀作用的长进行只能首先选择矿物表面非常脆弱的部分如棱角,微裂隙处发生<sup>[17-18]</sup>。因而细菌对矿石颗粒风化时,先从矿物的“薄弱”处进攻。对矿物颗粒进行聚集,聚集的过程可能是靠细菌的生和生长过程中所分泌的胞外大分子物质将矿物包裹起来,慢慢的许多矿物颗粒被聚成一团,使得矿物在菌体及其分泌物形成的生物膜中更易于发生生化降解作用<sup>[24]</sup>。间接风化作用时,只是透过透析袋



(a) 未经作用的矿粉, (b) 直接风化作用 42 d 后的矿粉, (c) 间接风化作用 42 d 后的矿粉

图 4 矿物残渣的电子探针分析图

Fig. 4. Electron probe images of the mineral remainder after processed.

的小分子物质的作用, 风化作用弱。因此, 胶质芽孢杆菌对磷矿粉的直接风化作用强度要大于间接风化作用。

### 3 结 语

胶质芽孢杆菌对磷矿石的风化作用是一个复杂的过程。以上研究定量分析了风化过程中元素含量的变化, 并对矿物风化过程中微形态变化进行了定性的描述, 得出如下结论:

胶质芽孢杆菌对磷矿石的风化过程中, 直接风化作用大于间接风化作用。直接风化作用不仅有小分子物质的溶蚀作用, 还有菌体及有机物的溶蚀与机械破坏作用, 胞外大分子物质可直接或间接地促进矿物风化, 一方面通过胞外大分子物

质的络合作用直接破坏矿物晶格中的某些化学键, 另一方面胞外大分子物质对矿粉颗粒的黏附作用也有利于矿物的风化。间接风化作用过程中由于透析袋的阻隔使有机体的机械破坏作用以及胞外大分子物质的风化作用难以发生。根据以上分析, 认为胶质芽孢杆菌对磷矿石的风化作用源自细菌生长所致的机械破坏作用, 胞外分泌物的生化降解作用以及多种因素之间的协同作用。

目前, 对胶质芽孢杆菌风化磷矿石的作用机理已有一定的认识, 但有关微生物风化作用过程中所分泌的胞外大分子物质如何参与矿物的风化? 风化过程中形成的中间产物有哪些? 这些胞外大分子物质的结构与功能又如何等问题都还有待于进一步探讨。

### 参 考 文 献:

- [1] 克伦宾. 微生物地球化学[M]. 杨承运(译). 北京:地质出版社, 1990. 138-139.
- [2] Ademloa O A, Geoffrey M G. Fungal degradation of calcium-, lead- and silicon-bearing minerals[J]. *Biometals*, 2005, 18: 269-281.
- [3] Burford E P, Fomina M, Gadd G M. Fungal involvement in bioweathering and biotransformation of rocks and minerals[J]. *Mineral Management*, 2003, 67: 1127-1155.
- [4] Kucey R M N, Janzen H H, Leggett M E. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus[J]. *Advances in Agronomy*, 1989, 42: 199-228.
- [5] Whitelaw M A, Harden T J, Helyar K R. Phosphate solubilisation in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31: 655-665.
- [6] Ullman W J, Kirchman D L, Welch S A, et al. Laboratory evidence for microbially mediated silicate mineral dissolution in nature[J]. *Chemical Geology*, 1996, 132:11-17.
- [7] Anna R, Bj? m D L, Andy F S T, Roger D F. Mycelial growth and substrate acidification of ectomycorrhizal fungi in response to different minerals[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 47: 31-37.
- [8] Gadd G M. Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 1999, 41: 47-92.
- [9] Jayasinghearachi H S, Seneviratne G. Fungal solubilization of rock phosphate is enhanced by forming fungal-rhizobial biofilms[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38: 405-408.
- [10] Vandevivere P, Kirchman D L. Attachment stimulates exopolysaccharide synthesis by a bacterium[J]. *Applied and Environmental Microbi-*

- ology, 1993, 59: 3280-3286.
- [11] Jongmans A G, van Breemen N, Finlay R D, et al. Rock-eating fungi[J]. *Nature*, 1997, 389: 682-683.
- [12] Cameselle C, Ricart M T, Núñez M J, et al. Iron removal from kaolin. Comparison between "in situ" and "two-stage" bioleaching processes[J]. *Hydrometallurgy*, 2003, 68: 97-105.
- [13] Chen Y, Lian B. Ability of *Bacillus mucilaginosus* GY03 Strain to adsorb chromium ions[J]. *Pedosphere*, 2005, 15(2): 225-231.
- [14] Lian B, Chen Y, Yuan S, et al. Study on flocculability of metal ions by *Bacillus mucilaginosus* GY03 strain[J]. *Chinese Journal of Geochemistry*, 2004, 23(4): 380-386.
- [15] 段荔, 欧阳健明. 不同种类羧酸钠对草酸钙结晶过程中晶相的影响[J]. *物理化学学报*, 2003, 19(10): 982-985.
- [16] 姚艳红, 阚玉和, 王思宏, 等. X-射线 K 值法测定硅铁中硅的含量[J]. *分析化学*, 2002, 30(5): 639.
- [17] 连宾. 硅酸盐细菌 GY92 对伊利石的释钾作用[J]. *矿物学报*, 1998, 18(2): 234-237.
- [18] 连宾, 傅平秋, 莫德明, 等. 硅酸盐细菌解钾作用机理的综合效应[J]. *矿物学报*, 2002, 22(3): 179-183.
- [19] Malinoskaya I M. The role of *Bacillus mucilaginosus* polysaccharide in the destruction of silicate minerals[J]. *Mikrobiologiya*, 1990, 59(1): 70-78.
- [20] Warren L A, Haack E A. Biogeochemical controls on metal behaviour in freshwater environments[J]. *Earth-Science Reviews*, 2001, 54: 261-320.
- [21] Schultze-Lam S, Fortin D, Davis B S, et al. Mineralization of bacterial surfaces[J]. *Chemical Geology*, 1996, 132: 171-181.
- [22] Beveridge T J, Makin S A, Kadurugamuwa J L. Interactions between biofilms and the environment[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1997, 20: 291-303.
- [23] Yilmaz E I. Metal tolerance and biosorption capacity of *Bacillus circulans* strain EB1[J]. *Research in Microbiology*, 2003, 154: 409-415.
- [24] Lian B, Wang B, Pan M, et al. microbial release of potassium from K-bearing minerals by thermophilic fungus *aspergillus fumigatus*[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2008, 72(1): 87-98.

## THE ROLE OF A STRAIN OF *Bacillus mucilaginosus* ON WEATHERING OF PHOSPHORITE ROCK UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS

CHEN Shu<sup>1,2</sup>, LIAN Bin<sup>1</sup>, LIU Cong-qiang<sup>1</sup>

- (1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China;  
2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract:** The authors have examined the microbiological weathering effect of phosphorite by using *Bacillus mucilaginosus* strain as an example under laboratorial conditions. In liquid culture, incubation in static state, the weathering of apatite with the bacteria was done by using the contrast method: apatite powder (100 mesh) was put in the liquid culture medium in a flask, the medium was autoclaved, followed by fungus inoculation for the study of direct weathering process; a dialysis bag with apatite powder (100 mesh) was put in the liquid culture medium in the flask, the medium was autoclaved, followed by bacteria inoculation so as to study the indirect weathering process. The supernatants collected at different incubation periods were determined in terms of the concentrations of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{K}^+$  by ICP-OES. The contents of water soluble phosphorus ( $\text{P}_{\text{ws}}$ ) and silicon ( $\text{Si}_{\text{ws}}$ ) were determined by colorimetry in the filtrate. The solids were quantified and digested on the filter paper. The main cation concentrations and  $\text{P}_{\text{ws}}$ ,  $\text{Si}_{\text{ws}}$  in digest liquid were measured by the above method. The remaining minerals were micromorphologically analyzed by means of an electron microprobe, and the mineral composition was determined by XRD. The results showed that the direct weathering process was stronger than the indirect one. *B. mucilaginosus* had a capability of weathering toward phosphorite, and stronger ability to clay minerals. Based on our experimental results, it is concluded that the mechanical breakage of bacterial growth, the bio-degradation of extra cellular macromolecules, and the integrated operation of many factors seem to be the reasons for the bio-weathering of minerals.

**Key words:** phosphorite rock; *Bacillus mucilaginosus*; weathering; mechanism; Guiyang