مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2007) ــ المجلد (23) ــ العدد 1 ــ الصفحات: 305 -320

دراسة تأثير بعض الأحماض المختلفة والكائنات الحية الدقيقة المحللة للفوسفات في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي

محمد منهل الزعبي[1] و مصطفى البلخي[2]
و محمد سعيد الشاطر[2]

الملخص

دُرس تأثير بعض الأحماض (حمض الكبريت، حمض الستريك، حمض الأوكساليك، حمض السكسونيك) والكائنات الحية الدقيقة المحللة للفوسفات (بكتريا *Bacillus* وفطر *Aspergillus*) في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي.

قُدرت الحموض العضوية التي تفرزها الكائنات الحية الدقيقة باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا HPLC.

وضع 0.25 غ من الصخر الفوسفاتي في دوارق مخروطية وأضيفت الحموض المختلفة إليها منفردة بثلاثة تراكيز 1.85 و2.85 و3.85 مغ/ مل، كما أضيفت معاملة تحوي جميع الأحماض العضوية بتركيز 2.85 مغ/ مل، وكذلك معاملة لقحت بالبكتريا ومعاملة لقحت بالفطر بالإضافة إلى معاملة الشاهد.

أظهرت الحموض العضوية فعالية جيدة في إذابة الصخر الفوسفاتي وخصوصاً حمض الستريك والأوكساليك، في حين تفوق الفطر على جميع الحموض العضوية (بجميع التراكيز) في إذابة الصخر الفوسفاتي، وكانت البكتريا أقل فعالية من الفطر في الإذابة.

الكلمات المفتاحية: أحماض عضوية، حمض الستريك، حمض أوكساليك، حمض سكسونيك، حمض الكبريت، الكائنات الدقيقة المحللة للفوسفات، الصخر الفوسفاتي، بكتريا *Bacillus*، فطر *Aspergillus*

[1] طالب دكتوراه، [2] أستاذ، قسم علوم التربة، كلية الزراعة، ص.ب.30621، جامعة دمشق، سورية.

The effect of some acids and phosphate solubilizing microorganisms in solubilization of phosphate rock

M. M. Alzobi[(1)]; M. Elbalkhi[(2)] and M. S. Alshter[(2)]

ABSTRACT

The effect of some acids (H_2SO_4 , citric, oxalic, succinic) and phosphate solubilizing microorganisms (*Bacillus, Aspergillus*) in solubilization of phosphate rock was studied.

The microorganisms excretes of organic acids were determined by using HPLC – analysis.

Three acid concentrations (1.85, 2.85, and 3.85mg/ ml) were used, two treatments inoculated with microorganisms in addition to control.

The treatments of organic acids were effective in solubilization of phosphate rock especially citric and oxalic acids, whereas *Aspergillus* was more effective than all the organic acids. Bacteria were less effective than fungi.

Key words: Organic acids, Citric acid, Oxalic acid, Succinic acid, H_2SO_4, Phosphate solubilizing microorganisms, Phosphate rock, *Bacillus*, *Aspergillus*

[(1)] Ph. D. Student [(2)] Prof., Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, P.O.Box 30621, Damascus University, Syria

المقـــدمـــة

يوجد الفوسفور المتيسر بشكل محدود في ريزوسفير النبات ويرجع ذلك إلى تفاعلات تثبته وتحوله إلى أشكال غير ميسرة للنبات، وتؤدي البكتريا المحللة للفوسفات دوراً فعالاً في زيادة نمو النبات وإنتاجيته ولا سيما عند إضافة الصخر الفوسفاتي وهذا يعـود لمـا تفرزه هذه الكائنات من حموض عضوية Bagyaraj-DJ *et al.*, 2000.

وقد أوضحت بحوث عديدة Gaind ; Gaur *et al*., 1979; Pareek and Gaur, 1973 and Gaur, 1991 الدور المهم للأحماض العضوية التي تفرزها الأحياء الدقيقة في إذابة الفوسفات، وتعمل هذه الأحماض على تحويل $Ca_3(PO_4)_2$ إلى فوسفات ثنائيـة وأحاديـة الكالسيوم Alexander, 1977 حيث تستفيد البكتريا المحللـة للفوسـفات مـن المركبـات العضوية بوصفها مصدراً للكربون والطاقة، وتنتج الحمـوض العـضوية التـي تـذيب مركبات الفوسفات ضعيفة الذوبان أو غير الذائبة، وأهم الأحماض التي تفرزها البكتريـا هي: (Lactic, gluconic, fumaric and succinic acids).

وقد بيّن Illmer 1992 أن الحموض العضوية تنتج من قبل البكتريا المحللة للفوسفات *Pseudomonas sp.*، وذكر أن سلالات من بكتريا *Bacillus liqueniformis* تنتج مزيجاً من حمض اللاكتيك وحمض الاستيك، وأشار إلى أن مذيبات الفوسفات تفـرز حموضـاً عضويةً أخرى مثل الاوكزالك والمالونيك والسكسونيك.

يُعدُّ جنس *Bacillus* و*Pseudomonas* و*Penicillium* و*Aspergillus* مـن الكائنـات الحية الدقيقة المحللة للفوسفات الموجودة في معظم الترب، ويتحرر الفوسفور بواسطة هذه الكائنات عن طريق إنتاج حموض عضوية فـي الوسـط مثـل: Succinic, Glycollic, Lactic.

وقد ذكر Burgstaller *et al* ., 1992 أن فطر *Aspergillus* يقوم بإنتاج كميات كبيرة من الحموض العضوية خاصة حمض الليمـون، وبـين Illmer *et al*., 1995 أن فطـر *Aspergillus* ينتج حمض الستريك والاوكزاليك والغلوكونيك.

كما أوضح Young *et al*., 1998 أن البكتريا المحللة للفوسـفات أفـرزت حمـض ستريك وحمض مالونيك. وقام (Goenadi *et al*., 2000; Singh and Amberger 1998) بجهود شائعة تتضمن استخدام وسائل فيزياكيميائية لتحميض الصخر الفوسفاتي باسـتخدام حموض عضوية.

وبيَّن Goenadi *et al*., 2000 أن فطر اسبرجلس قادر على إنتاج حمـوض عـضوية والتي تعدُّ آلية مهمة لإذابة الفوسفور غير الـذائب. وقـد ذكـر Taha *et al*., 1969 أن

البكتريا المحللة للفوسفات تنتج حموضاً عضويةً: حمض اللاكتيك، الغلوكونيك، الماليك، السكسونيك، الاستيك لذا تتمثل الأهداف الأساسية لهذه الدراسة بـ:

1 -تحديد الأحماض العضوية التي تفرزها الأحياء الدقيقة المحللة للفوسفات.

2 -دراسة تأثير الأحماض المختلفة في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي.

3 -دراسة تأثير الكائنات الدقيقة المحللة للفوسفات في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي.

مـــواد البحـــث وطرائقـــه

تقدير الحموض العضوية التي تفرزها الأحياء الدقيقة المحللة للفوسفات

قدرت الأحماض العضوية التـــي أفرزهـــا فطـــر *Aspergillus* وبكتريـــا *Bacillus megaterium* باستعمال جهاز الكروماتوغرافيا HPLC والذي يعتمد على فصل العينة من خلال حملها عبر الطور المتحرك وهو السائل الحامـــل (H_2SO_4) إلـــى ضـــمن الطـــور الثابت في العمود (Aminex HBX-87H أبعاده 7.8 × 300 mm) وذلك بوجود كاشف UV طول الموجة 214.

قام الجهاز بكشف ثلاثة حموض عضوية أفرزها الفطـــر وهـــي حمـــض الـــستريك والأوكساليك والسكسونيك وكان تركيز حمض الستريك عالياً وقد بلغ 2.85 مغ/ مل في حين كان تركيز الحمضين الآخرين قليلاً (آثار). كما تم الكشف عـــن الحمـــوض التـــي أفرزتها البكتريا وهي حمض الأوكساليك وآثار من حمض الستريك.

توصيف الصخر الفوسفاتي

مرّر الصخر الفوسفاتي (خنيفيس شرق حمص) الجاف هوائياً والمستعمل في التجارب عبر منخل أقطار ثقوبه 90 ميكروناً، وكانت نسبة الفوسفور الكلي فيه 13.14% محسوبة بصورة P. ولتوصيف الصخر الفوسفاتي جرى تعيين نسبة رطوبة العينـــات بـــالتجفيف والوزن، وتقدير الكربونات الكلية بالكالسيمتر، ودرجة الحموضة بجهاز pH meter فـــي معلق بنسبة 1: 10.

قُدر الفوسفور الكلي بعد هضم العينات بحمض الكبريت المركز، واستخدمت طريقـــة أولسن Olsen *et al.*, 1954 لتقدير الفوسفور المتيسر، والذائب بالسترات، والذائب بالمـــاء المقطر ،باستعمال محلول فاندات موليبيدات الأمونيوم Tandon *et al.*, 1968، وقياس شدة اللون عند طول الموجة 435 نانومتراً بجهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) شركة Camspec انكلترا. ويبين الجدولان (1 و2) بعض صفات الصخر الفوسفاتي.

زراعة الكائنات الدقيقة

زرعت العزلة الفطرية PSF 28 (*Aspergillus*) والعزلة البكتيرية PSB 43 (*Bacillus megaterium*) (أخذت هذه العزلات من الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية) في بيئات بكتيرية وفطرية سائلة ذات pH متعادل (بيئة Pikovskaya) وذلك بوضع 100مل من البيئة الخاصة لكل من البكتريا والفطور في دوارق مخروطية سعة كل منها 250مل، جرى تعقيمها في درجة حرارة 120 م° مدة 20 دقيقة، ثم أضيف إليها 0.25 غراماً من الصخر الفوسفاتي المطحون. وبثلاثة مكررات لكل عزلة بكتيرية أو فطرية. رجت الدوارق المخروطية الملقحة بواسطة رجاج وبسرعة 100 دورة في الدقيقة في حرارة 28 ±2م° مدة عشرة أيام Goenadi *et al*., 2000 حتى يصبح عدد الخلايا البكتيرية في البيئات البكتيرية وعدد الأبواغ الفطرية في البيئات الفطرية نحو 10^9 (استخدمت شريحة العد لمعرفة عدد الخلايا البكتيرية وكذلك الأبواغ الفطرية بعد عملية حصاد الأبواغ).

جرى تثفيل العينات باستعمال جهاز الطرد المركزي (4000 دورة / دقيقة) مدة 20 دقيقة لفصل الأحياء الدقيقة والصخر الفوسفاتي المتبقي عن المحلول الذي يحتوي على الفوسفات الذائب Singh and Kapoor, 1999; Goenadi *et al*., 2000.

تحضير الأحماض العضوية

وضع 100 مل من ماء مقطر في دوارق مخروطية سعة كل منها250 مل وأضيف إليه 0.25 غراماً من الصخر الفوسفاتي المطحون، ثم أضيفت إلى هذه الدوارق الحموض العضوية (حمض الستريك وأوكساليك وسكسونيك) وبثلاثة تراكيز كل على حدة وهي:

1 1.85 مغ/ مل.

2 2.85 مغ/ مل (التركيز الذي أفرزه الفطر من حمض الستريك).

3 3.85 مغ/ مل.

كما توجد معاملة أضيفت إليها الحموض العضوية الثلاثة بآن واحد (أي أن تركيز الأحماض الثلاثة المضافة هو 8.55 مغ/ مل)، كما حضرت معاملات أضيف إليها حمض الكبريت بالتراكيز الثلاثة السابقة لمقارنتها مع الحموض العضوية، وبثلاثة مكررات لكل معاملة، جرى تعقيم الدوراق في درجة حرارة 120 م° مدة 20 دقيقة. رجت الدوارق المخروطية الملقحة بواسطة رجاج وبسرعة 100 دورة في الدقيقة في حرارة 28 ±2 م° مدة عشرة أيام. رشحت العينات لفصل الصخر الفوسفاتي المتبقي عن المحلول الذي يحتوي على الفوسفات الذائب، إضافة إلى معاملة الشاهد (Control) دون تلقيح بالكائنات الحية الدقيقة ودون إضافة حموض عضوية.

تصميم التجربة

اعتمد في التجربة تصميم المجموعات العشوائية بـــ 16 معاملة وثلاثة مكررات، ومن ثم فإن عدد الدوارق المستعملة 48 دورقاً، وموزعة كما يأتي:

1 حمض الكبريت تركيز (1.85 مغ/ مل).
2 حمض الكبريت تركيز (2.85 مغ/ مل).
3 حمض الكبريت تركيز (3.85 مغ/ مل).
4 حمض الستريك تركيز (1.85 مغ/ مل).
5 حمض الستريك تركيز (2.85 مغ/ مل).
6 حمض الستريك تركيز (3.85 مغ/ مل).
7 حمض أوكساليك تركيز (1.85 مغ/ مل).
8 حمض أوكساليك تركيز (2.85 مغ/ مل).
9 حمض أوكساليك تركيز (3.85 مغ/ مل).
10 حمض سكسونيك تركيز (1.85 مغ/ مل).
11 حمض سكسونيك تركيز (2.85 مغ/ مل).
12 حمض سكسونيك تركيز (3.85 مغ/ مل).
13 حمض ستريك + أ أوكساليك + سكسونيك تركيز (2.85 مغ/ مل لكل حمض).
14 فطر *Aspergillus*.
15 بكتريا *Bacillus*.
16 -شاهد.

تقدير الفوسفور الذائب

قُدِّر الفوسفور الذائب باستعمال محلول فاندات موليبيدات الأمونيوم Tandon *et al.*, 1968، وقياس شدة اللون عند طول الموجة 435 نانومتراً بجهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer).

تقدير الفوسفور العضوي في الفطر

قُدِّر الفوسفور العضوي في الفطر بعد فصل مشيجة الفطر (والتي تطفو على سطح البيئة السائلة) عن المحلول والمتبقي من الصخر الفوسفاتي بوضع وزنة محددة من العينة (بعد تجفيفها في الدرجة 70 م° حتى ثبات الوزن) في أنبوب هضم أضيف إليه 10سم^3 من محلول الهضم (غرام سيلينيوم+1 لتر حمض كبريت مركز). وضعت العينة في جهاز الهضم في الدرجة 130م° مدة نصف ساعة ثم في الدرجة 380م° مدة 4 ساعات حتى يصبح المحلول عديم اللون ،ثم مدد المحلول بالماء المقطر لتقدير الفوسفور. استخدمت لإظهار اللون الأصفر طريقة فاندات موليبدات الأمونيوم Tandon *et al.*, 1968 عند طول الموجة 435 نانومتراً وقياس شدة اللون باستخدام جهاز المطياف الضوئي فكانت نسبة الفوسفور الكلي P_2O_5 التي قام الفطر بتحويلها إلى شكل عضوي هي 1.259% من البيئة السائلة (من كمية الصخر الفوسفاتي وهي 0.25 غ).

قدرت درجة الحموضة للمحاليل المختلفة باستخدام جهاز pH meter .

النتائـــج والمناقشة

توصيف الصخر الفوسفاتي

يبين الجدول (1) بعض تحاليل الصخر الفوسفاتي.

الجدول (1) بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية للصخر الفوسفاتي المستعمل

أقطار الحبيبات ميكرون	المحتوى الرطوبي الوزني %	الكربونات الكلية %	pH	
			معلق 1:5	معلق 1:2.5
90	1.51	9.77	8.3	8.07

الجدول (2) المحتوى من الفوسفور الكلي والذائب في المستخلصات المختلفة للصخر الفوسفاتي %

P الكلي	P مستخلص بالسترات	P مستخلص بطريقة أولسن	P مستخلص بالماء المقطر
13.14	0.24	0.00087	0.00044

تأثير الأحماض المختلفة والكائنات الدقيقة في إذابة الصخر الفوسفاتي

1 تأثير حمض الكبريت في إذابة الصخر الفوسفاتي:

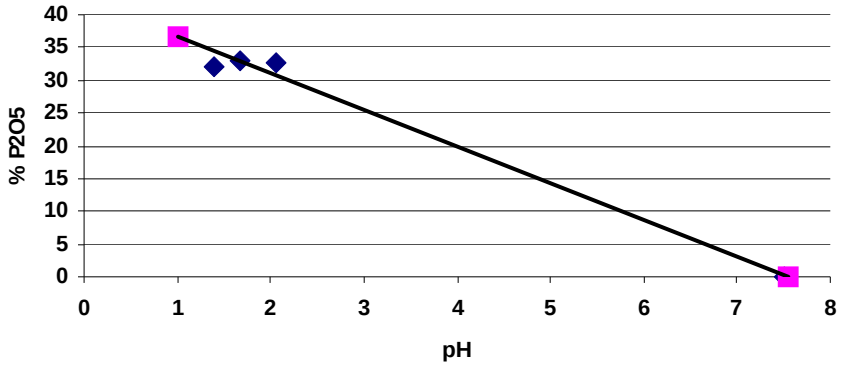
يبين الجدول (3) تأثير حمض الكبريت في إذابة الصخر الفوسفاتي.

الجدو (3) تأثير حمض الكبريت في إذابة الصخر الفوسفاتي

pH	ذائب % P_2O_5	التركيز مغ/ مل	
2.05	32.77 a	1.85	حمض الكبريت
1.67	33.06 a	2.85	
1.4	32.21 a	3.85	
7.5	0.0366 b	شاهد 2.5 مع صخر فوسفاتي / مل ماءً مقطراً	
	1.826	LSD	

الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي على المستوى 5%

يبين الجدول (3) تأثير ثلاثة تراكيز من حمض الكبريت في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي، ويظهر الجدول وجود فروق معنوية في المعاملات المضاف إليها حمض الكبريت مقارنة بالشاهد، ولم يلاحظ وجود فرق معنوي في ما بين المعاملات المضاف إليها حمض الكبريت بتراكيزه المختلفة لأن التركيز الأدنى لحمض الكبريت 1.85 كان كافياً لإذابة كامل فوسفور الصخر الفوسفاتي وهذا يعود لكون حمض الكبريت حمضاً قوياً. ويوضح الشكل (1) منحنى الانحدار بين درجة الحموضة والفوسفور الذائب من الصخر الفوسفاتي وذلك بالنسبة لمعاملات الجدول السابق.



معامل الانحدار= - 5.581 Y = 42.13 – 5.581 X معامل الارتباط r = - 0.994**

الشكل (1) منحنى الانحدار بين رقم الحموضة و الفوسفور الذائب

ويظهر الشكل (1) أن منحنى الانحدار كان سالباً وهذا يعني أن العلاقة بين الفوسفور الذائب وبين رقم الحموضة هي علاقة عكسية أي أنه كلما انخفضت درجة الحموضة

زاد الفوسفور الذائب، كما يبين الشكل السابق علاقة الارتباط بين الفوسفور الذائب والـpH إذ يتبين من خلال اختبار معنوية هذا الارتباط أن الارتباط كبير بين هذين المتغيرين وله دلالة معنوية على المستوى 0.05 و0.01.

2 تأثير حمض الكبريت والكائنات الدقيقة في إذابة الصخر الفوسفاتي:

ويبين الجدول (4) تأثير حمض الكبريت والكائنات الدقيقة في إذابة الصخر الفوسفاتي.

الجدول (4) تأثير حمض الكبريت والكائنات الحية الدقيقة في إذابة الصخر الفوسفاتي

pH	P_2O_5 % ذائب	التركيز مغ/ مل	
2.05	32.77 a	1.85	حمض الكبريت
1.67	33.06 a	2.85	
1.4	32.21 a	3.85	
4	16.97 b	PSF 28	
4.82	3.08 c	PSB 43	
7.5	0.0366 d	شاهد	
	1.649	LSD	

الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي على المستوى 5%

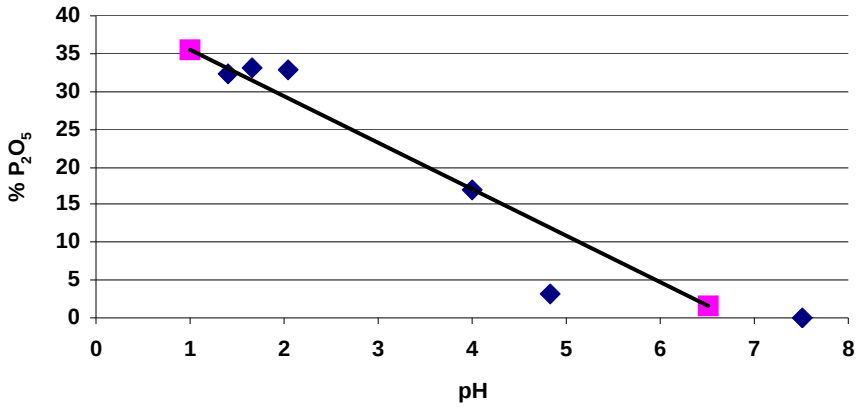
يبين الجدول وجود فروق معنوية في المعاملات المضاف إليها حمض الكبريت مقارنة بالشاهد ومقارنة بالمعاملات الملقحة بالكائنات الحية الدقيقة، بينما قام الفطر *Aspergillus* بإذابة نصف الكمية التي أذابها حمض الكبريت وهذا يظهر دور الفطر في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي نظراً لإفرازاته الكبيرة من الأحماض العضوية وخاصة حمض الستريك Burgstaller *et al* ., 1992.

ويوضح الجدول وجود فروق معنوية في المعاملة الملقحة بفطر *Aspergillus* مقارنة بالمعاملة الملقحة بالبكتريا ومقارنة بالشاهد، ويبين الجدول أن الفطر كان أكثر فعالية من البكتريا في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي إذ تعد الفطور أكثر فعالية من البكتريا في إذابة الفوسفات، وهذه النتائج تتطابق مع ما توصل له Venkateswarlu *et al*., 1984

ويظهر الجدول وجود فروق معنوية في المعاملة الملقحة بالبكتريا مقارنة بالشاهد، بينما كانت الإذابة في هذه المعاملة أقل من المعاملة الملقحة بالفطر، وهذا يعود لكون هذه الكائنات تفرز الحموض العضوية بكميات قليلة كما أشير إلى ذلك سابقاً عند تحليل الحموض العضوية في البيئات الملقحة بهذه الكائنات. كما يظهر الجدول (4) أن درجة الحموضة pH قد تفاوتت كثيراً مقارنة بالشاهد، إذ كانت في الشاهد 7.5 لتنخفض إلى1.4 في المعاملة المضاف إليها حمض الكبريت بالتركيز الثالث، وكذلك انخفضpH في

المعاملة الملقحة بالفطر إلى 4 ويعزى هذا الانخفاض إلى تحرير الحموض العضوية وخصوصاً حمض السيتريك Goenadi *et al.*, 2000 التي تفرزها هذه الفطريات خلال تكاثرها، مما يؤدي إلى خفض pH الوسط، وتحويل مركبات الفوسفات غير الذائبة إلى أشكال أكثر قابلية للذوبان (Gaind Gaur *et al.*,1979; Pareek and Gaur., 1973 Taha., 1969 and Gaur., 1991، وكذلك يعزى إلى إفراز CO_2 (Taha *et al*, 1969; Alexander 1977) .

وانخفض الـ pH في المعاملة الملقحة بالبكتريا إلى 4.82 ويعزى هذا الانخفاض إلى إفراز الحموض العضوية والتي تعمل على تحويل $Ca_3(PO_4)_2$ إلى فوسفات أحادية وثنائية الكالسيوم Alexander, 1977. تستفيد البكتريا المحللة للفوسفات من المركبات العضوية بوصفها مصدراً للكربون والطاقة، وتنتج الحموض العضوية التي تذيب مركبات الفوسفات ضعيفة الذوبان أو غير الذائبة Gaind ;Gaur *et al.*, 1979; Pareek and Gaur, 1973 and Gaur, 1991، وأهم الأحماض التي تفرزها البكتريا هي (Lactic, gluconic, fumaric, and succinic acids) (Sperber, 1958). ويبين الشكل (2) منحنى الانحدار بين درجة الحموضة والفوسفور الذائب من الصخر الفوسفاتي وذلك بالنسبة لمعاملات الجدول (4).



معامل الانحدار= - 6.169 Y = 41.73 – 6.169 X معامل الارتباط r = - 0.949 **

الشكل (2) منحنى الانحدار بين درجة الحموضة والفوسفور الذائب

ويظهر الشكل (2) منحنى الانحدار الذي يربط بين الفوسفور الذائب ودرجة pH ويبين هذا الشكل أن منحنى الانحدار كان سالباً، وهذا يعني أن العلاقة بين الفوسفور الذائب وبين درجة الحموضة هي علاقة عكسية أي أنه كلما انخفضت درجة الحموضة

زاد الفوسفور الذائب ولا سيما في المعاملات المضاف إليها حمض الكبريت والمعاملة الملقحة بالفطر كما يبين الشكل السابق علاقة الارتباط بين الفوسفور الذائب وبينpH إذ يتبن من خلال اختبار معنوية الارتباط أن الارتباط كبير بين هذين المتغيرين وله دلالة معنوية على المستوى 5% و1%.

3 تأثير الأحماض العضوية في إذابة الصخر الفوسفاتي:

يبين الجدول (5) تأثير الأحماض العضوية في إذابة الصخر الفوسفاتي.

الجدول (5) تأثير الأحماض العضوية في إذابة الصخر الفوسفاتي

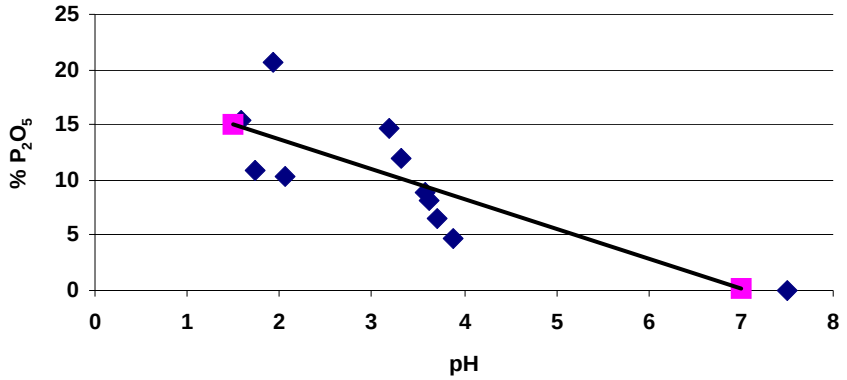
pH	P_2O_5 % ذائب	التركيز مغ/ مل	
3.57	8.88 de	1.85	حمض الستريك
3.31	11.97 c	2.85	
3.19	14.7 b	3.85	
2.05	10.39 cd	1.85	حمض أوكساليك
1.73	10.91 c	2.85	
1.58	15.39 b	3.85	
3.89	4.72 g	1.85	حمض سكسونيك
3.71	6.6 f	2.85	
3.63	8.1 ef	3.85	
1.93	20.64 a	2.85	**حمض ستريك +** أوكساليك **+ سكسونيك**
7.5	0.0366 h		**شاهد**
	1.659	LSD	

إذ توجد فروق معنوية في المعاملات المضاف إليها حمض الستريك مقارنة بالشاهد، كما لوحظت فروق معنوية في المعاملة المضاف إليها حمض الستريك (التركيز الثالث) مقارنة بالتركيز الثاني ومقارنة بالتركيز الأول، في حين كان التركيز الثاني ذا فروق معنوية مقارنة بالتركيز الأول وبذلك يكون التركيز الثالث لحمض الستريك هو أفضل التراكيز حيث وصل الفوسفور الذائب في الصخر الفوسفاتي إلى 14.7 % P_2O_5 .

ويبين الجدول (5) وجود فرق معنوية في المعاملات المضاف إليها حمض الأوكساليك مقارنة بالشاهد، كما لوحظت فروق معنوية في المعاملة المضاف إليها حمض الأوكساليك (التركيز الثالث) مقارنة بالتركيز الثاني ومقارنة بالتركيز الأول، في حين لم يكن التركيز الثاني ذا فروق معنوية مقارنة بالتركيز الأول وبذلك يكون التركيز الثالث هو أفضل التراكيز إذ وصل الفوسفور الذائب في الصخر الفوسفاتي إلى 15.39 % P_2O_5. ولم يلاحظ وجود فروق معنوية في المعاملات المضاف إليها حمض الستريك مقارنة بالمعاملات المضاف إليها حمض أوكساليك مما يبين أن للحمضين الأثر نفسه في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي.

ويشير الجدول السابق إلى وجود فروق معنوية في المعاملات المضاف إليها حمض سكسونيك مقارنة بالشاهد، كما لوحظت فروق معنوية في المعاملة المضاف إليها حمض السكسونيك (التركيز الثالث) مقارنة بالتركيز الأول، وكذلك كان التركيز الثاني ذا فروق معنوية مقارنة بالتركيز الأول وبذلك يكون التركيز الثالث لحمض سكسونيك هو أفضل التراكيز إذ وصل الفوسفور الذائب في الصخر الفوسفاتي إلى 8.1 % P_2O_5.

ولوحظ وجود فروق معنوية في المعاملات المضاف إليها حمض الستريك مقارنة بالمعاملات المضاف إليها حمض سكسونيك، وكذلك في المعاملات المضاف إليها حمض أوكساليك مقارنة بالمعاملات المضاف إليها حمض سكسونيك مما يبين أن لحمض الستريك والأوكساليك دوراً أكبر كثيراً من دور حمض سكسونيك في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي وذلك في جميع التراكيز. وعند إضافة الحموض العضوية الثلاثة بالتركيز الثاني ارتفع معدل إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي إلى20.64 % P_2O_5 إذ أبدت هذه المعاملة فروقاً معنوية مقارنة بالشاهد ومقارنة بالمعاملات المضافة إليها الحموض العضوية كل على حدة. ويبين الشكل (3) منحنى الانحدار بين درجة الحموضة والفوسفور الذائب من الصخر الفوسفاتي و4 ذلك بالنسبة لمعاملات الجدول (5).



معامل الانحدار= - 2.701 Y = 19.08 – 2.701 X معامل الارتباط r = - 0.797

الشكل (3) منحنى الانحدار بين درجة الحموضة والفوسفور الذائب

ويظهر الشكل (3) منحنى الانحدار الذي يربط بين الفوسفور الذائب ودرجة pH ويبين الشكل أن ذوبان الفوسفور مرتبط برقم الحموضة بعلاقة سالبة، فكلما ازدادت حموضة الوسط ازداد انحلال فوسفور الصخر الفوسفاتي كما يبين الشكل السابق علاقة الارتباط المعنوية بين الفوسفور وبين pH.

4 تأثير الأحماض العضوية و الكائنات الدقيقة في إذابة الصخر الفوسفاتي:

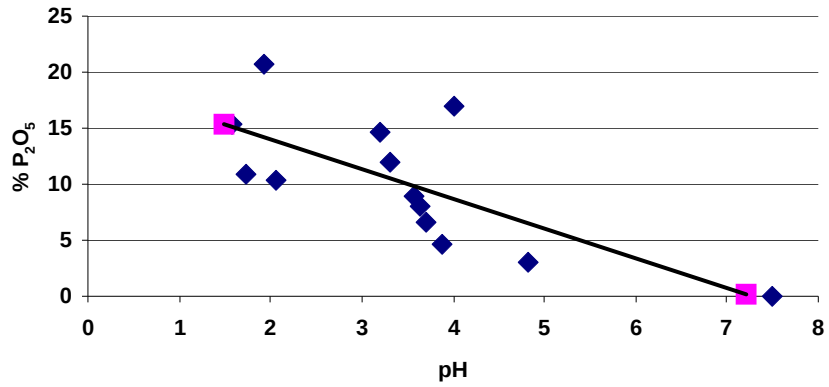
يبين الجدول (6) تأثير الأحماض العضوية والكائنات الدقيقة في إذابة الصخر الفوسفاتي.

الجدول (6) تأثير الأحماض العضوية والكائنات الحية الدقيقة في إذابة الصخر الفوسفاتي

pH	ذائب % P_2O_5	التركيز مغ/ مل	
3.57	8.88 ef	1.85	حمض الستريك
3.31	11.97 d	2.85	
3.19	14.7 c	3.85	
2.05	10.39 de	1.85	حمض أوكساليك
1.73	10.91 d	2.85	
1.58	15.39 bc	3.85	
3.89	4.72 h	1.85	حمض سكسونيك
3.71	6.6 g	2.85	
3.63	8.1 fg	3.85	
1.93	20.64 a	2.85	**حمض ستريك +** أوكساليك **+ سكسونيك**
4	16.97 b	PSF 28	
4.82	3.08 h	PSB 43	
7.5	0.0366 i	شاهد	
	1.65	LSD	

وبيبن الجدول وجود فروق معنوية عالية في المعاملة المضافة إليها الحموض الثلاثة بالتركيز الثاني مقارنة بجميع المعاملات، وفي المعاملة الملقحة بفطر *Aspergillus* أبدت هذه المعاملة فروقاً معنويةً مقارنةً بالشاهد، وكذلك أبدت فروقاً معنويةً مقارنةً بجميع الحموض العضوية المضافة كل على حدة باستثناء المعاملة المضاف إليها حمض أوكساليك بالتركيز الثالث، إذ وصل معدل الإذابة إلى 16.97 % P_2O_5 وبإضافة الفوسفور العضوي إلى جسم الفطر يصبح معدل تيسر فوسفور الصخر الفوسفاتي 18.23 % P_2O_5 ، ونوه سابقاً عند تحليل الحموض العضوية إلى أن الفطر أفرز حمض الستريك بتراكيز عالية وصلت إلى 2.85 مغ / مل في حين كان إفراز الفطر لحمض أوكساليك وسكسونيك قليلاً جداً، ومن ثم فإن إذابة الفطر لفوسفور الصخر الفوسفاتي كانت أفضل من إذابة حمض الستريك عند إضافته بالتركيز نفسه الذي أفرزه الفطر (2.85 مغ/مل) وهذا ربما يشير إلى أن آلية إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي من قبل الفطر لا تتوقف فقط على إفراز الحموض العضوية بل هناك عدة آليات للإذابة منها إفراز CO_2 من قبل الفطر والذي يؤدي دوراً في تشكيل حمض الكربون ومن ثم في زيادة الإذابة.

ويظهر الجدول وجود فروق معنوية في المعاملة الملقحة بالبكتريا مقارنة بالشاهد، بينما كانت الإذابة في هذه المعاملة أقل من المعاملات المضاف إليها الحموض وكذلك المعاملة الملقحة بالفطر، وهذا يعود لكون هذه الكائنات تفرز الحموض العضوية بكميات قليلة كما ذكر سابقاً عند تحليل الحموض العضوية في البيئات الملقحة بهذه الكائنات. ويبين الشكل (4) منحنى الانحدار بين درجة الحموضة والفوسفور الذائب من الصخر الفوسفاتي و ذلك بالنسبة لمعاملات الجدول (6).



معامل الانحدار = - 2.678 Y = 19.44 – 2.678 X معامل الارتباط r = - 0.722

الشكل (4) منحنى الانحدار بين درجة الحموضة و الفوسفور الذائب

الاستنتاجات

إن تلقيح الأحياء الدقيقة المحللة للفوسفات مع الصخر الفوسفاتي أو مفاعلة الصخر مع المستخلصات السائلة لمزارع هذه الكائنات يعدُّ وسيلة جيدة للتغلب على مشكلات الإذابة المنخفضة للصخر (Goenadi 1996 في Goenadi *et al.*, 2000)، وهذا يجعل الظروف مناسبة لإنتاج سوبر فوسفات أحادي دون استعمال تحميض كيميائي ومن ثم توفر سماداً فوسفاتياً اقتصادياً آمناً بيئياً. (Goenadi *et al.*, 2000).

قدرت الحموض العضوية التي تفرزها الكائنات الدقيقة باستخدام جهاز كروموتغراف HPLC، فكانت الحموض التي أفرزها الفطر هي حمض الستريك وأوكساليك وسكسونيك وكان تركيز حمض الستريك عالياً إذ وصل إلى 2.85 مغ/ مل في حين كان تركيز

الأحماض الأخرى قليلاً (آثار). كما تم الكشف عن الحموض التي أفرزتها البكتريا وهي حمض أوكساليك وآثار من حمض الستريك.

وقد درست فعالية بعض الأحماض (حمض الكبريت، حمض الستريك، حمض أوكساليك، حمض سكسونيك بثلاثة تراكيز 1.85 2.85 3.85 مغ/ مل) والكائنات الحية الدقيقة المحللة للفوسفات (بكتريا *Bacillus* وفطر *Aspergillus*) في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي.

أبدت المعاملات المضاف إليها حمض الكبريت فروقاً معنويةً مقارنة بالشاهد، ولم يلاحظ وجود فرق معنوي في ما بين المعاملات المضاف إليها حمض الكبريت بتراكيزه المختلفة إذ إن التركيز الأدنى لحمض الكبريت 1.85 كان كافياً لإذابة كامل فوسفور الصخر الفوسفاتي، في حين قام الفطر *Aspergillus* بإذابة نصف الكمية التي أذابها حمض الكبريت وهذا يظهر دور الفطر في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي نظراً لإفرازاته الكبيرة من الأحماض العضوية وخاصة حمض الستريك Burgstaller *et al* ., 1992، كما أن الفطر كان أكثر فعالية من البكتريا في إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي إذ تعد الفطور أكثر فعالية من البكتريا في إذابة الفوسفات وهذه النتائج تتطابق مع ما توصل له Venkateswarlu *et al* ., 1984.

وبالنسبة للحموض العضوية فقد أظهرت فعالية جيدة في إذابة الصخر الفوسفاتي وخصوصاً حمض الستريك وأوكساليك، وكانت الإذابة تزداد مع زيادة تركيز الحمض.

وقد تفوق الفطر على جميع الحموض العضوية (بجميع التراكيز) وبفعالية جيدة في إذابة الصخر الفوسفاتي ومن ثم فإن إذابة الفطر نفسه لفوسفور الصخر الفوسفاتي كانت أفضل من إذابة حمض الستريك عند إضافته بالتركيز نفسه الذي أفرزه الفطر (2.85 مغ/ مل) وهذا ربما يشير إلى أن آلية إذابة فوسفور الصخر الفوسفاتي من قبل الفطر لا تتوقف فقط على إفراز الحموض العضوية بل هناك عدة آليات للإذابة منها إفراز CO_2 من قبل الفطر والذي يؤدي دوراً في تشكيل حمض الكربون ومن ثم في زيادة الإذابة.

REFERENCES

Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. Wiley, New York.

Bagyaraj, D. J.; Krishnaraj, P. U.; Khanuja, S.P.S. 2000. Mineral phosphate solubilization: agronomic implications, mechanism and molecular genetics. Proceedings of the Indian National Science Academy part B, Reviews and Tracts Biological Sciences 66: 2-3, 69-82; Many ref.

Burgstaller, W.; Strasser, H. and Schinner. 1992. Solubilization of zinc oxide from filterdust with *Penicillium simplicissimum*:Bioreaktor, leaching and stoichiometry. Environmental Science and Technology 26, 340 – 346.

Gaind, S. and A. C. Gaur. 1991. Thermotolerant phosphate solubilizing microorganisms and their interaction with mung bean. Plant and Soil.137:141-149.

Gaur, A. C.; D. Arora, and N. Prakash. 1979. Electron microscopy of some rock phosphate dissolving bacteria and fungi. Folio Micriobiol.24 :314-317.

Goenadi Didiek H., Siswanto and Yudho Sugiarto. 2000. Bioactivation of poorly solube phpsphate rocks with a phosphorus-solubilizing fungus. Soil Sci. Soc. Am. J. 64:927-932.

Illmer P, A. Barbato and F. Schinner 1995. Solubilization of hardly - soluble $AlPO_4$ with p-solubilizing microorganisms. Soil Biol. Biochem. Vol. 27. No. 3, pp. 265-270.

Illmer, P. and F. Schinner. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. Soil Biol Biochem . 24: 389-95.

Olsen, R. S.; C. V. Cole, F. S. Watanabe and L. A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA Circular No.939.

Pareek,R.P,and A.C .Gaur 1973. Release of phosphate from tricalcium and rock phosphate by organic acids. Curr.Sci. 42 : 278-279.

Singh, S. and K. K. Kapoor. 1999. Inoculation with phosphate –solubilizing microorganisms and a *vesicular –arbuscular mycorrhizal* fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. Biol. Fertil. Soils 28,139- 144.

Sperber, J. I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil.Australian Journal of Agricultural Research 9,778-781.

Taha, S. M.; S. A. Z. Mahmoud, A. H. Eldamaty, and A. M. A. Elhafeg. 1969. Activity of phosohate-dissolving bacteria in Egyptian soils. Plant and Soil 31,149-160.

Tandon, H. L. S.; M. P. Cescas, and E. H. Tyner. 1968. An acid-free vanadate-molybdate reagent for the determination of total phosphorus in soils. Soil Science Society of America Proceedings 32, 48-51.

Venkateswarlu, B.; Rao, A. V.; Raina, P. 1984. Evaluation of phospate solubilization by microorganisms isolated from Aridisols. Journal of the Indian Society of Soil Science . 32 : 2, 273-277.

Young-Chiuchung; Chang-ChihHsien; Chen-Lihfu; Chao-ChenChing; Young-C.C.; Chang, C. H.; Chen, L. F.; Chao, C.C. 1998. Characterization of the nitrogen fixation and ferric phosphate solubilizing bacteria isolated from a Taiwan soil. Journal of the Chinese Agriculture Chemical Society. 36: 2, 201-210.

Received	2005/04/20	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2005/08/22	قبول البحث للنشر