

不同土壤胶质芽孢杆菌生理生化特征 及其解钾活性

赵艳¹, 张晓波^{2*}, 郭伟³

1. 山西农业大学资环学院, 山西 晋中 030801; 2. 海南大学农学院, 海南 儋州 571737; 3. 山西晋城市农业技术推广站, 山西 晋城 040026

摘要: 利用土壤矿物为 K 源的硅酸盐细菌选择性培养基, 从我国部分省市土壤中筛选到 30 株胶质芽孢杆菌 *Bacillus mucilaginosus*, 以辽宁菌种保藏中心胶质芽孢杆菌 LICC10201(编号 K31)为参照菌株, 对其生理生化特性、耐盐性、耐酸碱性、温度敏感性及解 K 能力等生物学特性进行了测定。结果表明, 30 株胶质芽孢杆菌菌体均为杆状, 产生椭圆至圆形芽孢。其中 K3、K9、K19、K31 为短杆状, 30 株菌株均为 G⁻。NH₄⁺、NO₃⁻ 为良好 N 源, 且能在无 N 培养基上生长。菌株 K5、K12 和 K31 解 K 能力较强, 释放的 K 比不加菌液对照分别增加 2.39 倍、2.28 和 2.27 倍; K5、K11、K26、K31 在 w=3 % NaCl 的培养基上能生长; 在 25~30 °C 范围内供试胶质芽孢杆菌均能良好生长; 以上试验数据可为将来微生物肥料的研制提供必要的依据。

关键词: 胶质芽孢杆菌; 生理生化特征; 解钾

中图分类号: Q93

文献标识码: A

文章编号: 1674-5906 (2009) 06-2283-05

胶质芽孢杆菌 *Bacillus mucilaginosus* 俗称硅酸盐细菌^[1], 是土壤中一种重要功能菌, 它能分解长石、云母等铝硅酸盐类的原生态矿物, 使土壤中难溶性 K、P、Si 等转变为可溶性供植物生长利用, 同时还可以产生多种生物活性物质促进植物生长^[2]。大量实验^[3-6]表明以胶质芽孢杆菌为主要成份的生物钾肥在缺钾土壤上对各种农作物表现出较好的增产效果。胶质芽孢杆菌解 K 作用是受多种因素制约的, 使其功能发挥的前提条件是要筛选出优良的菌株^[7]。纽旭光等^[8]研究发现不同的菌株解钾能力有强有弱且有较大差异; 所以要使生物钾肥充分发挥高效、稳定的解 K 功能, 必须扩大菌株的筛选范围。

我国幅员辽阔, 气候、土壤、植物多样性丰富, 为筛选高效稳定的胶质芽孢杆菌材料提供了前提; 本试验以来自我国不同省市 30 个土壤样品中的胶质芽孢杆菌为试验材料, 测定其形态、生理生化特征、解 K 效能和其他生物学特性, 对筛选利用和促进菌株的生长具有重要的意义, 可为生物菌肥的研制提供必要的理论数据; 还可为胶质芽孢杆菌在我国不同土壤生态系统中资源保护、多样性研究等方面提供理论和基础^[9]。

1 材料与方法

1.1 样品来源

样品采集地见表 1, 际土壤的采集为挖取带

完整根系的土块, 保存于硫酸纸包好, 带回实验室分离、筛选。以辽宁菌种保藏中心胶质芽孢杆菌 LICC10201(编号 K31)为参照菌株。

1.2 方法

1.2.1 胶质芽孢杆菌的分离、纯化

采用硅酸盐细菌培养基^[10]分离纯化胶质芽孢杆菌, 其中的土壤矿物取耕层土加体积分数为 20% HCl (按 1 mg 的土加 10 mL HCl 比例), 沸 30 min, 蒸馏水洗至无 Cl⁻ 磨碎过 100 目筛, 挑取比较光滑, 比较大、粘稠的菌落转接斜面培养, 4 °C 保存到 LB 培养基。

1.2.2 形态结构观察及生理生化试验

参考文献^[11]在硅酸盐细菌培养基上观察菌落形态, 采用 Gram 染色法^[12]光学显微镜下观察菌体形态; 在淀粉琼脂培养基上采用芽孢染色法^[12]光学显微镜下观察菌体形态; 在阿须贝无氮培养基上采用荚膜染色法^[12]光学显微镜下观察菌体形态; 以硅酸盐细菌培养基为基础, 对供试菌株进行淀粉水解等生理生化特性测定。

1.2.3 解 K 试验

参考文献^[13]进行摇瓶解 K 试验。每 250 mL 三角瓶中加土壤矿物 0.1 g 和缺 K 培养基 50 mL, 在 121 °C 灭菌 20 min, 然后接入菌悬液 3 mL, 对照不加菌液, 28 °C 振荡培养 5 d, 取发酵液用 60 g·L⁻¹ 的稀 H₂O₂ 消毒、过滤、定容、原子吸收分光光度法测 K。

基金项目: 海南省自然科学基金项目 (309009); 海南大学博士科研启动基金项目

作者简介: 赵艳(1981 年生), 女, 讲师, 博士研究生, 主要从事微生物相关研究。E-mail: yanbo315@126.com

*通讯作者: angiaoo@126.com

收稿日期: 2009-09-21

表1 菌株来源
Table 1 Sources of stains

菌株编号	土壤类型	采集地	植物
K01	褐土	山西太谷	小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.
K02	褐土	山西太谷	玉米 <i>Zea mays</i> L.
K03	褐土	山西太谷	高粱 <i>Sorghum vulgare</i> Pers.
K04	褐土	山西太谷	谷子 <i>Pennisetum glaucum</i> L.
K05	褐土	山西太谷	草地早熟禾 <i>Poa pratensis</i> L.
K06	褐土	山西太谷	羊草 <i>Leymus chinensis</i> Tzvel.
K07	草甸土	北京	野牛草 <i>Buchloe dactyloides</i> (Nutt.) Engelm.
K08	潮土	北京	高羊茅 <i>Festuca arundinacea</i> Schreb.
K09	潮土	北京	披碱草 <i>Elymus dahuricus</i> Turcz.
K10	棕壤土	北京	一年生黑麦草 <i>Lolium multiflorum</i> L.
K11	棕壤土	北京	多年生黑麦草 <i>Lolium perenne</i> L.
K12	草甸土	北京	匍匐剪股颖 <i>A. Palustris</i> Huds.
K13	草甸土	北京	细弱剪股颖 <i>A. acpillaris</i> L.
K14	棕壤土	北京	无芒雀麦 <i>Bromus inermis</i> Leyss.
K15	棕壤土	北京	假俭草 <i>Eremochloa ophiuroides</i> Munro.
K16	滨海盐土	海南三亚	华南地毯草 <i>Axonopus compressus</i> Sw. Beauv.
K17	滨海盐土	海南三亚	华南半细叶结缕草 <i>Zoysia matrella</i> L.
K18	滨海盐土	海南三亚	狗牙根 <i>Cynodon dactylon</i> L.
K19	滨海盐土	海南三亚	海滨雀稗 <i>Paspalum vaginatum</i> Sw.
K20	砖红壤	海南文昌	甘蔗 <i>Saccharum officinarum</i> L.
K21	滨海沙土	海南文昌	坚尼草 <i>Panicum maximum</i> Jacq.
K22	滨海沙土	海南文昌	青绿黍 <i>Panicum Maximum</i> Var. <i>Trichoglume</i>
K23	滨海沙土	海南文昌	黑籽雀稗 <i>Paspalu matuatum</i> Trin.
K24	滨海沙土	海南文昌	棕籽雀稗 <i>Paspalum plicatulum</i> Michx.
K25	滨海沙土	海南文昌	杂交旗草 <i>Brachiaria hybrid (ruzizensis x brizantha)</i> Var. <i>Mulat.</i>
K26	滨海沙土	海南文昌	珊状旗草 <i>Brachiaria brizantha</i> var. <i>Marandu.</i>
K27	砖红壤	海南儋州	水稻 <i>Oryza. sativa</i> L.
K28	滨海盐土	海南儋州	沟叶结缕草 <i>Zoysia matrella</i> L.
K29	滨海盐土	海南儋州	中华结缕草 <i>Zoysia sinica</i> Hance
K30	滨海盐土	海南儋州	细叶结缕草 <i>Zoysia tenuifolia</i> Willd. ex Trin.

1.2.4 其他生物学特性

分别配制含有不同盐浓度 (NaCl质量分数分别为1%、2%、3%、4%)、酸碱 (pH 5~10) 的硅酸盐细菌培养基, 用供试胶质芽孢杆菌菌株点样, 培养3 d后观察菌落的生长情况, 测定菌株的耐盐性、耐酸碱性。用供试菌株在硅酸盐细菌培养基平板上点样, 在不同温度 (10~60 °C) 下培养3 d后, 观察菌株的生长情况, 测定其生长温度范围。

2 结果与分析

2.1 胶质芽孢杆菌的形态特征

供试胶质芽孢杆菌菌体均为杆状 (短杆状), 其中K3、K9、K19、K31为短杆状。菌株均为G⁻, 均产生椭圆至圆形芽孢以及椭圆形肥大荚膜。硅酸

盐细菌培养基上的菌落凸起, 湿润光滑, 边缘整齐, 玻璃光泽, 菌落粘稠, 富有弹性, 在培养基上用接种针挑起时能拉成丝。

2.2 生理生化特征

由表2可见, 供试菌株均能在葡萄糖、木醇、甘露醇为C源的培养基上生长; 所有的菌株都能利用硝酸盐和铵盐作为其唯一的氮源; 在无N培养基上能生长, 此外还具有硝酸盐还原 (K16, K18除外)、淀粉水解 (K17, K18除外) 等特征, 过氧化氢酶、溶菌酶试验均为阳性反应, 不水解酪素、酪氨酸, 不产生吲哚, 苯丙氨酸脱氨、VP反应、卵磷脂酶均为阴性, 这与李杨^[14]、何琳燕^[15]、贺积强^[16]等的研究结果基本一致。

表2 供试胶质芽孢杆菌的生理生化特征
Table 2 Physiological and biochemical characteristics of *Bacillus mucilaginosus*

菌株	反应特性												
	过氧 化氢 酶	溶 菌 酶	糖 醇 解	淀粉 水解	柠檬 酸盐 水解	酪素 水解	酪氨 酸水 解	硝酸 盐还 原	吲哚 试验	VP 试验	苯丙 氨酸 脱氨 酶	卵磷 脂酶	氮 源
K01	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K02	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K03	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K04	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K05	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K06	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K07	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K08	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
K09	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
K10	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K11	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
K12	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
K13	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
K14	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K15	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K16	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
K17	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
K18	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
K19	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
K20	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K21	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K22	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K23	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K24	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K25	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K26	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K27	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K28	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
K29	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
K30	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
K31	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+

注: +: 阳性反应; -: 阴性反应; +/-: 不反应

2.3 解钾试验

对胶质芽孢杆菌菌株的解钾作用进行了研究。表3结果表明, K31接种含土壤矿物的缺K培养基培养5天后溶液中的钾为23.64 mg·L⁻¹, 比不加菌液对照(CK)增加2.27倍; 而菌株K05释放的钾为24.5

表3 不同胶质芽孢杆菌解钾效能的比较
Table 3 Effect of different strains on potassium release

材料编号	$\rho(\text{钾})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{钾})\text{增加量}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	比CK增加的倍数
CK	7.22	0.0	0.00
K01	20.31	13.09	1.81
K02	13.46	6.24	0.86
K03	13.93	6.71	0.93
K04	21.55	14.33	1.98
K05	24.5	17.28	2.39
K06	9.22	2.00	0.28
K07	20.38	13.16	1.82
K08	11.52	4.30	0.60
K09	22.67	15.45	2.14
K10	9.34	2.12	0.29
K11	13.26	6.04	0.84
K12	23.65	16.43	2.28
K13	20.22	13.00	1.80
K14	13.79	6.57	0.91
K15	15.2	7.98	1.11
K16	7.91	0.69	0.10
K17	11.38	4.16	0.58
K18	22.56	15.34	2.12
K19	7.43	0.21	0.03
K20	9.82	2.60	0.36
K21	13.31	6.09	0.84
K22	21.28	14.06	1.95
K23	7.34	0.12	0.02
K24	13.75	6.53	0.90
K25	9.02	1.80	0.25
K26	15.88	8.66	1.20
K27	9.49	2.27	0.31
K28	7.38	0.16	0.02
K29	20.12	12.9	1.79
K30	13.45	6.23	0.86
K31	23.64	16.42	2.27

mg·L⁻¹, 比不加菌液对照(CK)增加2.39倍, 菌株K12释放的K含量为23.65 mg·L⁻¹, 比不加菌液对照(CK)增加2.28倍; 比较溶液中钾增加的倍数认为K05解钾能力最强, K12和K31次之。菌株K19、K23、K28解钾能力最弱, 释放的钾比不加菌液对照(CK)仅增加0.03、0.02、0.02倍。解钾能力较高的K5、K12和K31菌株的形态、生理生化特征也有差别, K5、K12为杆状, K31为短杆状; K5利用柠檬酸盐产碱而K12、K31菌株不能利用柠檬酸盐(表2)。

2.4 其他生物学特性

2.4.1 耐盐性试验

供试胶质芽孢杆菌在w(NaCl)为1%~2%的硅胶

盐培养基上能够生长。菌株K5、K11、K26、K31在w(NaCl)=3%下仍能生长; 菌株K21、K28耐盐能力最低, w(NaCl)=2%时即不生长。

2.4.2 耐酸碱试验

试验结果表明, 耐酸能力较强的菌株为K11、K18、K26, 这些菌株在pH 5.0时生长; 耐碱能力较强的菌株有K3、K6、K14、K19、K31, 这些菌株可以在pH 9.0时生长。总的来说, 胶质芽孢杆菌可以在pH 5.0~9.0可以生长, 最适pH范围在8.0左右。

2.4.3 耐热性试验

供试胶质芽孢杆菌在温度范围25~30℃都可以生长。菌株K2、K6、K9、K13、K14、K23、K25在较低温度10℃能生长, 但生长缓慢; K11、K19、K27菌株能在60℃高温下生长。

3 讨论与结论

本试验通过对不同生境土壤样品中分离纯化得到30株胶质芽孢杆菌, 与参照菌株K31相比, 这些菌株在硅酸盐细菌培养基和无N培养基上的菌落、菌体形态与何琳燕等^[17]描述基本一致, 表现出特有的生理生化性质, 说明胶质芽孢杆菌在各类土壤中广泛存在, 具有一定的生物多样性。贺积强等^[16]对40株来自紫色土的硅酸盐细菌进行了包括形态、生理生化特征等52个表型性状的测试, 认为硅酸盐细菌在表型特征上存在多样性, 主要是胶冻样芽孢杆菌, 其余菌株可能是新种。

胶质芽孢杆菌是目前广泛应用于微生物肥料的一种重要功能菌, 其功能的有效发挥必须满足两个基本条件: 一是菌株的高效性, 二是菌株本身对土壤环境的适应性(抗逆性)。人们发现胶质芽孢杆菌具有较显著溶磷解钾作用的菌株仅占15%~29%^[7]。本试验中供试胶质芽孢杆菌有一定的解钾能力, 不同的菌株解钾能力存在差异。因此, 从我国丰富的胶质芽孢杆菌资源中筛选出解钾效能较强的菌株并进行人工诱变育种获得更高效并具有较强抗逆性的胶质芽孢杆菌菌株具有重要的理论与实用价值。

参考文献:

- [1] LIU W X, XU X S, WU X H, et al. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2006, 28 (2): 120-130.
- [2] 葛诚. 微生物肥料生产应用基础[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 81-84.
GE Cheng. A review of effects of biofertilizers on crop yield and quality[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 81-84.
- [3] 中国微生物菌种保委员会农业微生物中心. 中国农业菌种目录[M]. 北京: 中国农业出版社, 1991: 1011.
- [4] 郭勋斌, 吴洪生, 刘怀阿, 等. 钾细菌制剂对水稻生长发育的影响[J]. 江西农业大学学报, 2001, 23(3): 447-449.

- GUO Xunbin, WU Hongsheng, LIU Huaia, et al. Effect of *Bacillus mucilaginosus* preparation on the growth and development of rice plant[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2001, 23(3): 447-449.
- [5] 孙福来, 王文凤, 张金光, 等. 硅酸盐菌剂在小麦上的应用效果[J]. 土壤肥料, 2002, (3): 31-32.
- SUN Fulai, WANG Wenfeng, ZHANG Jinguang, et al. Response of wheat to silicate bacteria agent[J]. Soil and Fertilizer, 2002, (3): 31-32.
- [6] 盛下放, 黄为一, 殷永娟. 硅酸盐细菌的解钾作用及对棉花的增产效果[J]. 土壤, 2001(3): 163-165.
- CHENG Xiafang, HUANG Weiyi, YIN Yongxian. Potassium release role of silicate bacterium and its effect on cotton yield[J]. Soils, 2001(3): 163-165.
- [7] 盛下放, 黄为一. 硅酸盐细菌NBT菌株释钾条件的研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(6): 637-677.
- CHENG Xiafang, HUANG Weiyi. Study on the conditions of potassium release by strain NBT of silicate bacteria[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2002, 35(6): 637-677.
- [8] 纽旭光, 华秀英, 何随成. 硅酸盐细菌解钾活性的研究[J]. 土壤通报, 2005, 36(3): 950-953.
- NIU Xuguang, HUA Xiuying, HE Suicheng. Studies on the potassium-dissolving ability of silicate bacteria[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2005, 36(3): 950-953.
- [9] Han H S, Lee K D. Phosphate and Potassium solubilizing bacteria effect on mineral uptake soil availability and growth of eggplant[J]. Agriculture and Biological Sciences, 2005, 1(2): 176-180.
- [10] 唐亮, 张进忠, 于萍萍, 等. 硅酸盐细菌的分离、纯化、鉴定及生物学特性研究. 山东农业科学[J], 2008(1): 76-78.
- TANG Liang, ZHANG Jinzhong, YU Pingping, et al. Isolation, purification and identification of silicate-dissolving bacterial strains and studies of their biological characteristics[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2008(1): 76-78.
- [11] 惠明, 王慧, 田青, 等. 一株脱硅胶质芽孢杆菌的分离与初步鉴定[J]. 河南科技学院学报(自然科学版), 2007, 35(3): 15-18.
- HUI Ming, WANG Hui, TIAN Qing, et al. Isolation and basic identification of a *Bacillus mucilaginosus* liberating silicon[J]. Journal of Henan Institute of Science and Technology, 2007, 35(3): 15-18.
- [12] 李顺鹏. 微生物学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 33-38.
- LI Shunpeng. Microbiology Experimental Guide[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003: 33-38.
- [13] 徐大勇, 李峰, 贺雪丽. 硅酸盐细菌的分离及其解钾活性的初步比较[J]. 淮北煤炭师范学院学报, 2006, 27(4): 42-44.
- XU Dayong, LI Feng, HE Xueli. Isolation of silicate bacteria and their capacities of releasing potassium[J]. Journal of Huaibei Coal Industry Teachers College, 2006, 27(4): 42-44.
- [14] 李杨, 李登煜, 黄明勇, 等. 从盐碱土中分离的几株硅酸盐细菌的生物学特性初步研究[J]. 土壤通报, 2006, 37(1): 206-208.
- LI Yang, LI Dengyi, HUANG Mingyong, et al. Study on biological characteristics of several silicate bacteria isolated from saline soil[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2006, 37(1): 206-208.
- [15] 何琳燕, 殷永娟, 黄为一. 一株硅酸盐细菌的鉴定及其系统发育学分析[J]. 微生物学报, 2003, 43(2): 162-168.
- HE Linyan, YIN Yongxian, HUANG Weiyi. Characterization and phylogenetic analysis of a strain of silicate *Bacterium*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2003, 43(2): 162-168.
- [16] 贺积强, 李登煜, 张小平, 等. 紫色土硅酸盐细菌的表型特征及溶磷解钾能力[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(1): 71-77.
- HE Jiqiang, LI Dengyi, ZHANG Xiaoping, et al. Phenotypic aspects and phosphorus-releasing and potassium-releasing ability of silicate bacteria isolated from purple soils[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2003, 9(1): 71-77.
- [17] 何琳燕, 盛下放, 陆光祥. 不同土壤中硅酸盐细菌生理生化特征及其解钾活性的研究[J]. 土壤, 2004, 36(4): 434-437.
- HE Linyan, CHENG Xiafang, LU Guangxiang. Physiological and biochemical characteristics of silicate-dissolving bacteria in different soils and their capacities of releasing potassium[J]. Soils, 2004, 36(4): 434-437.

Physiological and biochemical characteristics and capacities of potassium-releasing of *Bacillus mucilaginosus* screened from different soils

ZHAO Yan¹, ZHANG Xiaobo², GUO Wei³

1. College of Resources & Environment, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, China;

2. Agriculture College of Hainan University, Hainan 571737, China; 3. Jincheng Agro-Technical Extension Centre, Shanxi 040026, China

Abstract: Thirty strains of *Bacillus mucilaginosus* were screened from soils sampled of several provinces in China by using selective medium based on soil mineral as potassium source. Physiological and biochemical characters, salt tolerance, acid and alkali resistance, temperature sensitivity and K releasing capability were determined by setting *Bacillus mucilaginosus* LICC10201 (strain code: K31) from Liaoning Center of Culture Collection as modal strain. The results showed that all strains appeared as rods and produced spores from elliptical to circular while strains of K3, K9, K19 and K31 were short rod and the Gram reaction of 30 strains were negative; the isolated strains grew well in the culture medium with NH_4^+ and NO_3^- as nitrogen source, and survived in the medium absent of N; Strains were compared in capability of releasing potassium and found that strains of K5, K12 and K31 were more capable of releasing potassium; the content of soluble potassium was increased by 2.39, 2.28 and 2.27 respectively; Strains of K5, K11, K26 and K31 survived in the medium with 3% NaCl and were growing well under the temperature ranging from 25~30 °C. The experimental data above can provide the necessary basis for the future development of microbial fertilizers

Key words: *Bacillus mucilaginosus*; physiological and biochemical character; potassium-releasing