สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

เอกสารประกอบการสอนวิชา

จุลชีววิทยาทางดิน (Soil microbiology)

(จล. 305472)

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์

ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา

AQ 000 60039

ISBN 974-352-010-4

11 ก.พ. 2545
151521
เริ่มบริการ
17 ม.ค. 2548

คำนำ

เอกสารประกอบการสอนวิชา "จุลชีววิทยาทางดิน" ได้ถูกเรียบเรียงขึ้นมาเพื่อใช้ในการเรียนการสอนนิสิตในระดับปริญญาตรีของภาควิชาจุลชีววิทยาและโครงการบัณฑิตวิทยาศาสตรชีวภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา เนื้อหาของเอกสารเล่มนี้ครอบคลุมความรู้พื้นฐานทางจุลชีววิทยาทางดินและการประยุกต์ใช้โดยประกอบด้วยประวัติความเป็นมาของจุลชีววิทยาทางดิน ส่วนประกอบและโครงสร้างของดิน สิ่งมีชีวิตในดิน วัฏจักรคาร์บอน ออกซิเจน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัส โลหะ รวมทั้งแบคทีเรียในดินกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในดินและรากพืช และในบทสุดท้ายได้กล่าวถึงมลพิษในดินและการใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายยาฆ่าแมลงที่ปนเปื้อนในดิน ผู้เขียนหวังว่าเอกสารฉบับนี้คงมีประโยชน์บ้างไม่มากก็น้อยและผู้เขียนยินดีรับข้อเสนอแนะและข้อคิดเห็นต่างๆจากผู้อ่านเพื่อนำมาปรับปรุงเอกสารเล่มนี้ต่อไป

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์

พฤศจิกายน 2544

สารบัญ

		หน้า
คำนำ		i
สารบัญ		ii
สารบัญตาราง		v
สารบัญรูป		viiii
กิตติกรรมประกาศ		xvi
บทที่ 1	บทนำและประวัติความเป็นมาของจุลชีววิทยาของดิน	1
	-บทนำ	
	-นักวิทยาศาสตร์ผู้ที่ริเริ่มวิชาจุลชีพทางดิน	
	-จุลชีววิทยาทางดินในระยะตอนต้นศตวรรษที่ 20	
	-จุลชีววิทยาทางดินในช่วงที่เข้าสู่ศตวรรษที่ 21	
บทที่ 2	ส่วนประกอบและโครงสร้างของดิน	10
	-บทนำ	
	-การย่อยสลายของหินและการก่อกำเนิดของดิน	
	-ลักษณะของดินทางกายภาพ	
	-ลักษณะของเนื้อดิน	
	-คุณสมบัติทางเคมีของดิน	
	-ส่วนประกอบของดิน	
บทที่ 3	สิ่งมีชีวิตในดิน	34
	-การแบ่งกลุ่มของสิ่งมีชีวิตตามวิธีการต่าง ๆ และตามกลุ่มนักวิทยาศาสตร์	
	-ชนิดของสิ่งมีชีวิตในดิน	
	1. แบคทีเรีย	
	2. แอคติโนมัยซิส	
	3. เชื้อรา	
	4. สาหร่ายและไซยาโนแบคทีเรีย	
	5. โปรโตซัว	

หน้า

-จุลชีพในดินที่ทำให้เกิดโรค

บทที่ 4 วัฏจักรคาร์บอน ออกซิเจน และไฮโดรเจน 63

-วัฏจักรทางชีวเคมี

-แหล่งสะสมของสาร

-วัฏจักรคาร์บอน

-วัฏจักรออกซิเจน

-วัฏจักรไฮโดรเจน

-ความสัมพันธ์ของวัฏจักรคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน

บทที่ 5 วัฏจักรไนโตรเจน 86

-ความสำคัญของธาตุไนโตรเจน

-ปฏิกิริยาที่เกิดในวัฏจักรไนโตรเจน คือ

1. ปฏิกิริยาตรึงไนโตรเจน
2. ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน
   2.1 ปฏิกิริยาแอมโมเนียมออกซิเดชัน
   2.2 ปฏิกิริยาไนไตรต์ออกซิเดชัน
3. ปฏิกิริยาแอสซิมิลาโทรีไนเตรทรีดักชัน
4. ปฏิกิริยาดิสซิมิลาโทรีไนเตรทรีดักชัน
5. ปฏิกิริยาแอมโมเนียมแอสซิมิเลชัน
6. ปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน
7. ปฏิกิริยาแอมโมโนฟิเคชัน
8. ปฏิกิริยาไนไตรต์แอมโมโนฟิเคชัน

บทที่ 6 วัฏจักรซัลเฟอร์ 110

-ความสำคัญของธาตุซัลเฟอร์

-ปฏิกิริยาที่เกิดในวัฏจักรซัลเฟอร์

บทที่ 7 วัฏจักรฟอสฟอรัส 120

-บทนำ

-วัฏจักรของฟอสฟอรัสบนดิน

-ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้

หน้า

บทที่ 8 การเปลี่ยนแปลงและหมุนเวียนเหล็กโดยจุลชีพ 127

-การเปลี่ยนแปลงรูปต่าง ๆ ของโลหะ

-วัฏจักรของเหล็ก

บทที่ 9 แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนและกิจกรรมที่เกิดขึ้นในดิน 142

-การจำแนกชนิดและความสำคัญของ anaerobic bacteria

1. Obligate anaerobes

- Spore-formers
- Others

2. Facultative anaerobes

- Nitrate reducing bacteria
- Fermentative facultative anaerobes

-ปัจจัยที่ทำให้เกิดการเจริญเติบโตของ anaerobes

-ผลของแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน

-กิจกรรมที่เกิดขึ้นในดิน

บทที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในดินและรากพืช 161

-ไรโซสเฟียร์

-Rhizosheath

-ผลกระทบของรากพืชต่อจุลินทรีย์

-ผลของจุลินทรีย์ที่อาศัยในไรโซสเฟียร์

-ไมโคไรซา (mycorhiza)

-Symbiotic nitrogen fixation ใน nodules

บทที่ 11 มลพิษและการเปลี่ยนแปลงสภาพของยาฆ่าศัตรูพืชในดิน 181

-ยาฆ่าศัตรูพืช

-การแบ่งตามคุณสมบัติทางเคมี

-การแบ่งตามชนิดของกลุ่มเป้าหมาย

-ผลกระทบของยาฆ่าศัตรูพืชต่อมนุษย์และสัตว์

-ผลกระทบของยาฆ่าศัตรูพืชต่อการเกิดมะเร็งในเต้านม

-Fate ของยาฆ่าศัตรูพืชในดิน

สารบัญตาราง

หน้า

บทที่ 2

ตารางที่ 1 ชนิดและส่วนประกอบของหินชนิดต่าง ๆ 13

ตารางที่ 2 ขนาด จำนวนอนุภาค (particle) และพื้นผิวต่อกรัมของ clay , silt และ sand 23

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของดินชนิด silt loam soil บริเวณพื้นผิวดิน 23

ตารางที่ 4 ตัวอย่างของ clay colloids 24

ตารางที่ 5 แสดงถึงลักษณะเฉพาะของ fulvic acids, humic acids และ humin 29

บทที่ 3

ตารางที่ 1 ลักษณะที่ใช้ในการแบ่งกลุ่มของโปรคาริโอตและยูคาริโอต 36

ตารางที่ 2 การแบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตออกเป็น 5 อาณาจักร ลักษณะเฉพาะและตัวอย่างของสิ่งมีชีวิตแต่ละกลุ่ม 38

ตารางที่ 3 การแบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตออกเป็น 4 Divisions ตาม Bergey's Manual of systematic Bacteriology 39

ตารางที่ 4 ลักษณะของจุลินทรีย์กลุ่มที่สำคัญ 40

ตารางที่ 5 การแบ่งชนิดแบคทีเรียในขั้น Phylum 43

ตารางที่ 6 ลักษณะที่แตกต่างกันบางประการระหว่าง eubacteria และ archaeobacteria 44

ตารางที่ 7 แสดงสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของกลุ่มอาร์เคีย (Archea) 45 บางกลุ่ม

ตารางที่ 8 การแบ่งกลุ่มของ Archaea ออกเป็นอาณาจักรต่าง ๆ 46

ตารางที่ 9 แสดงถึงจำนวนจุลชีพต่อ 1 กรัมของดินสวนในระดับความลึกต่าง ๆ กัน 48

บทที่ 4

ตารางที่ 1 แสดงถึงสารที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต (biogenic elements) ที่แบ่งตามระบบ periodic 65

ตารางที่ 2 ธาตุที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตที่สะสมในสิ่งแวดล้อม 66

		หน้า
ตารางที่ 3	แสดงถึงแหล่งสะสม (Reservoirs) ของคาร์บอน	68
ตารางที่ 4	แสดงตัวอย่างของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างก๊าซมีเทน (methanogens) บางชนิด	77
ตารางที่ 5	แหล่งที่ผลิต (producer) และที่ใช้ (sink) ก๊าซไฮโดรเจน (H_2)	80
บทที่ 5		
ตารางที่ 1	แสดงสถานะภาพทางออกซิเดชัน (Oxidation state) ของธาตุไนโตรเจน ชนิดต่างๆ	88
ตารางที่ 2	พลังงานของสารอินทรีย์ไนโตรเจนชนิดต่างๆ ในรูป ΔG^{O} (KJ/mol)	90
ตารางที่ 3	ชนิดและลักษณะพิเศษของแบคทีเรียที่สามารถเปลี่ยนแปลงไนเตรทให้เป็นก๊าซไนโตรเจน (Denitrification) แบบ Nonsymbiotic	93
ตารางที่ 4	แบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและมีความสัมพันธ์กับพืชชั้นสูง (Symbiotic nitrogen fixing microorganism)	94
ตารางที่ 5	แบคทีเรียกลุ่ม Dissimilatory nitrate reduction	100
ตารางที่ 6	แบคทีเรียกลุ่มดีไนตริไฟเออร์ (Denitrifyier bacteria)	105
บทที่ 6		
ตารางที่ 1	แหล่งของธาตุซัลเฟอร์ในรูปแบบต่าง ๆ	110
ตารางที่ 2	สภาวะออกซิเดชั่น (Oxidation states) ของแร่ธาตุซัลเฟอร์ในสารประกอบชนิดต่าง ๆ	111
ตารางที่ 3	การหมุนเวียนของธาตุซัลเฟอร์ (Sulfur flux) ในสิ่งแวดล้อม	112
ตารางที่ 4	แบคทีเรียที่สามารถทำให้เกิดขบวนการ dissimilatory sulfate reduction	118
บทที่ 7		
ตารางที่ 1	แหล่งของฟอสฟอรัสบนพื้นดินและในมหาสมุทร	121
ตารางที่ 2	แสดงถึงสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) ในสิ่งมีชีวิตและในสารอินทรีย์ในดิน	123
บทที่ 8		
ตารางที่ 1	แบคทีเรียที่ออกซิไดส์เฟอร์รัสอิออน (ferrous ion) ไปเป็น	132

หน้า

เฟอร์ริคอิออน (ferric ion)

ตารางที่ 2 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต siderophore ชนิดต่าง ๆ 133

ตารางที่ 3 แบคทีเรียที่รีดิวส์เฟอริกอิออน (Ferric ion) ไปเป็นเฟอรัสอิออน (Ferrous ion) 134

บทที่ 9

ตารางที่ 1 กลุ่มของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนแบ่งตามการใช้ตัวรับอิเลคตรอน (Electron acceptor) 145

ตารางที่ 2 เชื้อก่อโรคที่พบในดิน ชนิดของโรค จำนวนเชื้อก่อโรคที่พบในดินและสภาวะของการเจริญของเชื้อก่อโรคชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจนที่พบในดิน 147

ตารางที่ 3 แสดงถึงความแตกต่างของจีนัส *Desulfovibrio* และ *Dessulfotomaculum* 150

ตารางที่ 4 ค่า Eh ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน 158

บทที่ 10

ตารางที่ 1 สารอินทรีย์ที่หลั่งจากพืช 165

ตารางที่ 2 การหลั่งสารจากเมล็ดพืชในระยะที่มีการงอกถึงพืชระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่ 166

ตารางที่ 3 แบคทีเรียกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนที่พบในบริเวณ rhizosphere 168

ตารางที่ 4 ลักษณะของ ectomycorrhizae 172

ตารางที่ 5 ผลประโยชน์ที่ได้รับจากความสัมพันธ์แบบ ectomycorrhizae 173

ตารางที่ 6 พืชที่มักจะพบความสัมพันธ์ endomycorrhizae 175

ตารางที่ 7 ลักษณะของ genus *Rhizobium* , *Bradyrhizobium* และ *Azorhizobium* 179

บทที่ 11

ตารางที่ 1 ชนิดของยาฆ่าศัตรูพืชที่แบ่งตามคุณสมบัติทางเคมี 182

ตารางที่ 2 แสดงถึงตัวอย่างสารประกอบอินทรีย์คลอรีนที่พบในดินจากแหล่งเกษตรกรรมทั่วประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2530-2531 186

ตารางที่ 3 แสดงถึงตัวอย่างสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตพร้อมสูตรโครงสร้างที่พบในดินจากแหล่งเกษตรกรรมทั่วประเทศไทยระหว่าง 187

หน้า

ปี พ.ศ. 2530-2531

ตารางที่ 4 สารฆ่าแมลงบางชนิดในกลุ่มอินทรีย์เคมี 190

ตารางที่ 5 สารฆ่าแมลงบางชนิดในกลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์ 191

ตารางที่ 6 สารฆ่าแมลงบางชนิดในกลุ่มคาร์บาเมต 192

ตารางที่ 7 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์ 192

ตารางที่ 8 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มฟีน็อกซี 193

ตารางที่ 9 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มเบนโซอิก 193

ตารางที่ 10 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มเอมายด์ 194

ตารางที่ 11 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มคาร์บาเนตและไทโอคาร์บาเมต 195

ตารางที่ 12 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มซิมเมทริคอลไตรอะซีน 196

ตารางที่ 13 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มยูเรีย 196

ตารางที่ 14 สารฆ่าราบางชนิดในกลุ่มต่าง ๆ 197

ตารางที่ 15 ตัวอย่างวัตถุมีพิษที่ได้มีการห้ามนำเข้าหรือจำหน่าย 198

ตารางที่ 16 สารรมควันบางชนิด 199

ตารางที่ 17 ตัวอย่างความเป็นพิษของสารฆ่าศัตรูพืชต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อม 200

ตารางที่ 18 CEC และพื้นที่ผิวจำเพาะของดิน 205

สารบัญรูป

		หน้า
บทที่ 1		
รูปที่ 1	แสดงวัฏจักรของไนโตรเจน	2
รูปที่ 2a	แสดงรากพืชที่เกิดนอก ectotrophic mycorrhiza	3
รูปที่ 2b	แสดงรากพืชที่เกิดใน ectotrophic mycorrhiza	3
รูปที่ 3	Antonius van Leeuwenhoek	5
รูปที่ 4	Sergel Winograsky	5
รูปที่ 5	Louis Pasteur	5
บทที่ 2		
รูปที่1	วัฏจักรของการเคลื่อนที่ของสารต่าง ๆ ระหว่างชั้นในบรรยากาศ (Atmosphere) พื้นดินและส่วนล่างจากพื้นดิน ชั้นที่ยังไม่อิ่มตัวหรือวาโดสโซน และชั้นใต้ดิน (Groundwater)	12
รูปที่ 2	แสดงถึงระดับของการเกิดชั้นดินโดยวัดจากพัฒนาการเกิดความเป็นกรดหรือด่างขึ้นในชั้นดิน รูปนี้ได้เรียงจากพื้นที่ที่มีการผุกร่อนหรือการสลายตัวของหินที่เกิดจากธรรมชาติ น้อย ปานกลาง และมาก	16
รูปที่ 3	ชั้นดิน A:ดินที่มีชั้นดินสมบูรณ์ประกอบด้วยชั้น A,B และ C B:ดินที่มีชั้นดินไม่สมบูรณ์	17
รูปที่ 4	แสดงถึงชั้นดินอย่างละเอียดประกอบด้วยชั้น $O(O_1,O_2)$,$A(A_1,A_2,A_3)$, $B(B_1,B_2,B_3)$,C และชั้นของหินตั้งต้น R (Bedrock)	18
รูปที่ 5	soil texture triangle ที่ประกอบด้วยเปอร์เซนต์ของ clay,silt และ sand	24
รูปที่ 6	รูปร่างของฮิวมัส	26
รูปที่ 7	แสดงถึงส่วนประกอบของฮิวมัสตามคุณสมบัติการละลายในด่างและการตกตะกอนของสารละลายที่มี pH=1.0	28
บทที่ 3		
รูปที่ 1	การแบ่งสิ่งมีชีวิตออกเป็น 5 อาณาจักร (Kingdom) โดย Whittaker	37
รูปที่ 2	การแบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตโดยใช้ Universal phylogenetic	42

หน้า

รูปที่ 3 แสดงถึงรูปวาดของ *Rhodospirillum* และ *Chlorobium* 51

รูปที่ 4 *Rhodospirillum rubrum* ที่ถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่แสดงถึงเม็ด *poly-B*-hydroxybutyrate 52

รูปที่ 5 แสดงถึงรูปของ family *Rhodospirillaceae* 52

(A) *Rhodomicrobium vannielli* เป็นแบคทีเรียกลุ่ม prosthecate budding species

(B) *Rhodopseudomonas acidophila* เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่เป็น nonprosthecate budding species

(C) *Rhopseudomonas palustris* เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่เป็น nonprosthecate budding species มีขนาดของเซลล์แคบหรือบางกว่า

รูปที่ 6 *Streptomyces viridochromegenes* โดยแสดงส่วนของสปอร์ที่ปลายและเป็นรูปเกลียว (coil) ที่เรียกว่า conidia และมีส่วนก้านเรียก hyphae 54

รูปที่ 7 รูปวาดของ *Norcardia asteroides* 55

(a) แสดงการเกิด fragmentation และส่วนสปอร์แบบ aerial chain

(b) แสดงรูปของ pseudonocardia ที่แสดงถึงส่วน hyphae และ aerial chain ของ cylindrical spore

(c) แสดง Micropolyspora ที่มีสปอร์ทั้งแบบ aerial และ substrte mycelium

รูปที่ 8 แสดงถึงรูปของ *Actinomyces israelii* 56

(a) จากวิธี dark-field ทำให้เห็นรูปร่างแบบ V และ Y

(b) จากการย้อมสีแกรม แสดงถึงรูปร่างเป็นเส้นสาย กิ่งก้าน และไม่มีรูปร่าง

(c) จากการย้อมสีแกรม เห็นการรวมตัวกันของ *Actonomyces israelii* เป็นกระจุก

หน้า

บทที่ 4

รูปที่ 1 แสดงถึงโมเดล (model) ของแหล่งสะสมของสารต่าง ๆ (reserviors) โดย 69
a = แหล่งสะสมขนาดใหญ่
b = แหล่งสะสมขนาดเล็ก
v_1 = อัตราการไหลผ่านจาก b ไป a
v_2 = อัตราการไหลผ่านจาก a ไป b

รูปที่ 2 แสดงการหมุนเวียนคาร์บอนในสิ่งแวดล้อม 71

รูปที่ 3 วัฏจักรคาร์บอน โดยแบ่งเป็นสองส่วนคือ ส่วนที่มีออกซิเจน (oxic) 72
และส่วนที่ไม่มีออกซิเจน (anoxic)

รูปที่ 4 (a) การสะสมเม็ดซัลเฟอร์ (sulfur granule) โดย *Beggiatoa* 74
(b) การเกาะของเม็ดซัลเฟอร์บนเซลล์แบคทีเรีย

รูปที่ 5 แสดงปฏิกิริยาการสร้างก๊าซมีเทนจากสารอินทรีย์ (Methanogenesis) 76

รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ของวัฏจักรของคาร์บอน , ไฮโดรเจนและออกซิเจน 79

บทที่ 5

รูปที่ 1 ปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในวัฏจักรไนโตรเจน 87

รูปที่ 2 แสดง Heterocysts 92

รูปที่ 3 แสดง *A. azollae* 93

รูปที่ 4 แสดงระบบของเอ็นไซม์ไนโตรจีเนส (*nif* operon) ใน *Klebsiella* 95
pneumoniae

รูปที่ 5 แสดง Ultrastructure ของ *Nitrobacter winogradskyi* 97

รูปที่ 6 แสดงการขนส่งอิเล็กตรอนใน *E.coli* เมื่อ (a) ออกซิเจน และ 99
(b) ไนเตรท ถูกใช้เป็น electron acceptor (Fp,flaboprotein;
Q, coenzyme Q; LDH, lactate dehydrogenase

รูปที่ 7 ไดอะแกรมแสดงการเปรียบเทียบระหว่าง assimilatory และ 101
dissimilatory nitrate reduction

รูปที่ 8 กระบวนการเปลี่ยนแปลงของไนเตรทเป็นสารต่างๆ ตามลำดับ 103
เมื่อเกิดปฏิกิริยา denitrification

หน้า

รูปที่ 9 ตัวอย่างของปฏิกิริยา Ammonification 107

รูปที่ 10 การละลายของกาซแอมโมเนียในน้ำและกลายเป็นแอมโมเนียมอิออน 108

บทที่ 6

รูปที่ 1 แสดงวัฏจักรซัลเฟอร์ 112

รูปที่ 2 บริเวณที่พบกลุ่มแบคทีเรีย *Beggiatoa* เมื่อมีความลึกและความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนและก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เหมาะสมในหลอดทดลอง 114

รูปที่ 3 แสดงการเกิดปฏิกิริยา assimilatory และ dissimilatory sulfate reduction 117

บทที่ 7

รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างของ Adenosine triphosphate 120

รูปที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงฟอสฟอรัสระหว่าง pedogenesis 122

รูปที่ 3 วัฏจักรของฟอสฟอรัส 124

รูปที่ 4 แสดงการหมุนเวียนฟอสฟอรัสในดิน 125

บทที่ 8

รูปที่ 1 การเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปของเหล็กในรูปเฟอร์ริกอิออนและเฟอร์รัสอิออนโดยปฏิกิริยา Iron oxidation และ iron reduction 130

รูปที่ 2 รูปวาดของ genus *Leptothrix* และ *Crenothrix* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม sheathed bacteria 131

รูปที่ 3 ภาพวาดของ *Sphaerotilus* โดยแสดงถึง sheath, false branching และตัวเซลล์ที่เรียกว่า swarmers 131

รูปที่ 4 ขบวนการเกิด pyrite จากปฏิกิริยา Oxidation-reduction ของแร่เหล็กในธรรมชาติ 135

รูปที่ 5 แบคทีเรียกลุ่ม Magnetotactic ที่ถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนโดยแสดงถึง magnetosome 137

รูปที่ 6 แสดงวิธีการสกัดทองแดงจากสินแร่เกรดต่ำโดยใช้ a continuous leaching precess 140

บทที่ 9

รูปที่ 1 แสดงถึง electron power ที่เรียงตาม E_0'(volts) 144

หน้า

รูปที่ 2 endospore ของ *Clostridium tetani* 146

รูปที่ 3 Anaerobic chamber 154

รูปที่ 4 Anaerobic chamber ด้าน top view (Pelczar et al.,) ที่แสดงอุปกรณ์ 155
คือ

a) Glove port และ rubber glove

b) Air lock

c) Vacuum pump

d) ส่วนที่ต่อกับถังก๊าซเฉื่อย

e) ที่ปั๊มอากาศใน chamber เพื่อให้ผ่านส่วน f)

f) Palladium catalyst

g) ตู้อบเชื้อภายใน anaerobic chamber

รูปที่ 5 Anaerobic jar 156

รูปที่ 6 การใช้สารรับอิเลคตรอนชนิดต่าง ๆ ในตะกอนน้ำทะเลตามความลึก 157
ระดับต่างๆ

บทที่ 10

รูปที่ 1 รูปภาพของรากพืช rye grass ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน 162
แบบ scanning ที่แสดง B=แบคทีเรีย, F=ไมซีเลียมของเชื้อรา,
M=เม็ดแร่ธาตุ และ S=สปอร์ของเชื้อรา

รูปที่ 2 รากพืชที่แสดงถึงรากขน (root hairs) และเม็ดดินที่เกาะอยู่กับพื้นผิว 163
ของรากพืช

รูปที่ 3 Rhizosheath ของ cereal rye (*Secale cereale*) ที่มีขนาดเส้นผ่า 164
ศูนย์กลางของ Rhizosheath ประมาณ 8 มิลลิเมตร

รูปที่ 4 R/S ratios ที่แสดงถึงการเพิ่มขึ้นและลดลงของปริมาณแบคทีเรียและ 167
โปรโตซัวภายใน rhizosphere เมื่อมีการเจริญเติบโตของพืช
Sinapsis alba

รูปที่ 5 (a) ความสัมพันธ์แบบ mycorrhizae ระหว่างรากพืช *Pinus rigida* 171
และเชื้อรา *Thelophora terrestris*

(b) รากต้นสนชนิด *Pinus contorta* ที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราแบบ mycorrhizae ที่ทำให้รากแผ่ขยายได้ดี 171

รูปที่ 6 Hyphae ของเชื้อราแทรกเข้าไปในส่วน epidermis และส่วน cortical region ของรากแต่จะไม่แทรกเข้าไปกับส่วน cortex และส่วนที่มีชีวิตอื่น ๆ ของรากพืชความสัมพันธ์นี้ทำให้รูปร่างของรากพืชเปลี่ยนแปลงโดยที่รูปร่างสั้นลงแบบdichotomously branching cluster 171

รูปที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อราและรากพืชแบบ endomycorrhizae 174

รูปที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อราและรากพืชแบบ endomycorrhizae ชนิด vesicular-arbuscular 175

รูปที่ 9 แสดงถึงการเปรียบเทียบขนาดและความสูงของต้นสนชนิด Pinus radiate ที่ไม่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราแบบ mycorrhizae (ด้านซ้าย) และที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราแบบ mycorrhizae (ด้านขวา) 177

รูปที่ 10 กลไกการเกิดปฏิกริยาระหว่าง Rhizobia และพืชตระกูลถั่วทำให้เกิดการสร้างปมรากถั่ว 178

A: รากขนของพืชจะปล่อยสารเคมีโดยเฉพาะอย่างยิ่ง tryptophan ออกมาดึงดูด Rizobia ให้ไปอาศัยอยู่บริเวณรากขนและแบคทีเรียกลุ่มนี้เกาะกับรากขนตรงบริเวณผนังเซลล์ของรากขนโดยใช้สาร lectins

B: ต่อมาเชื้อ rhizobia จะย่อยสลายสาร tryptophan ไปเป็นสาร indolacetic acid (IAA) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้รากขนเกิดการโค้งงอ รวมทั้งได้รับความช่วยเหลือจากเอ็นไซม์ polygalacturonase ที่ย่อยสลายและทำให้ผนังเซลล์อ่อนตัวจนเกิดการโค้งงอได้ง่ายขึ้น

C: Rhizobia สามารถเข้าไปในเซลล์ของรากขน แต่นิวเคลียสของรากขนจะเป็นตัวนำการพัฒนาการเจริญเติบโตของเชื้อ rhizobia

D: การติดเชื้อ rhizobia จะเกิดการงอกของท่อที่เรียกว่า infection thread โดยท่อนี้ประกอบด้วยเซลล์เมมเบรนที่หุ้มด้วยเซลลูโลส ท่อนี้จะเจริญใน root cortex และเซลล์ชนิด tetraploid ที่เซลล์เหล่านี้เพิ่มจำนวนอย่างมากและทำให้เกิดรูปร่างเป็น nodule tissue หลังจากนั้น rhizobia จะหลุดออกจาก infection thread แต่จะมีรูปร่างเปลี่ยนไป จากรูปร่าง

เป็นแท่งเป็นรูปร่าง bacteroids และเริ่มขบวนการ nitrogen-fixation
E: แสดงถึงพืชตระกูลถั่วที่มีรากเป็นปมที่เรียกว่า Nodulated leguminous plant

บทที่ 11

รูปที่ 1 ปริมาณทบทวีของสารฆ่าศัตรูพืชที่เกี่ยวร้อยในโซ่อาหารเมื่อเกิดการปนเปื้อน 184
รูปที่ 2 การสลายตัวของสารในกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ในดิน 185
รูปที่ 3 สาร metabolite ที่เกิดจากขบวนการเมเทบอลิซึมของ ดีดีที 185
รูปที่ 4 โครงสร้างหลักของสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟต 187
รูปที่ 5 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบคาร์บาเมต 188
รูปที่ 6 กระบวนการเคมี ฟิสิกส์ และชีวเคมีที่เกิดขึ้นกับสารเคมีฆ่าศัตรูพืชในดิน 204
รูปที่ 7 ลักษณะการเสื่อมโดยชีวปัจจัยของสารฆ่าศัตรูพืชบางชนิดในดิน 208

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบิดา มารดาและผู้มีพระคุณทุกท่าน

บทที่ 1
บทนำและประวัติความเป็นมาของจุลชีววิทยาของดิน
(Introduction and history of soil microbiology)

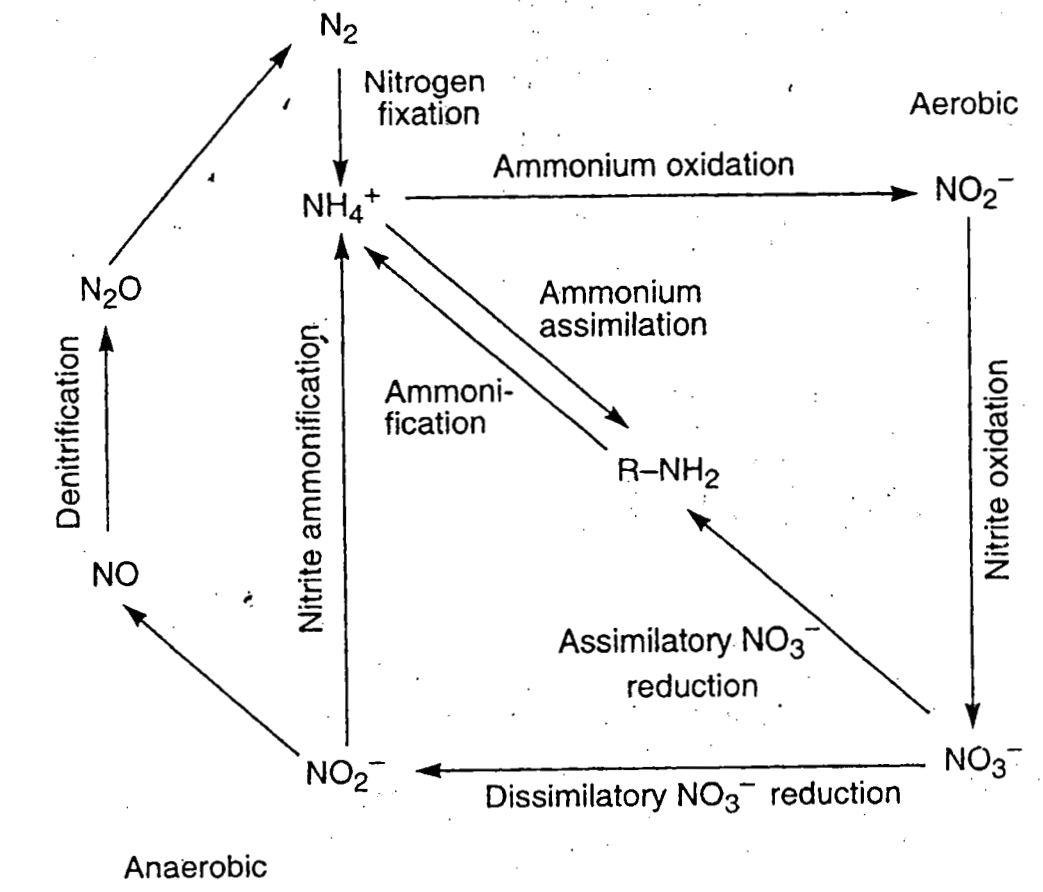
หัวข้อ

- **บทนำ**
- **นักวิทยาศาสตร์ผู้ที่ริเริ่มวิชาจุลชีพทางดิน (Pioneering contributions)**
- **จุลชีววิทยาทางดินในระยะตอนต้นศตวรรษที่ 20**
- **จุลชีววิทยาทางดินในช่วงที่เข้าสู่ศตวรรษที่ 21**
- **สรุป**

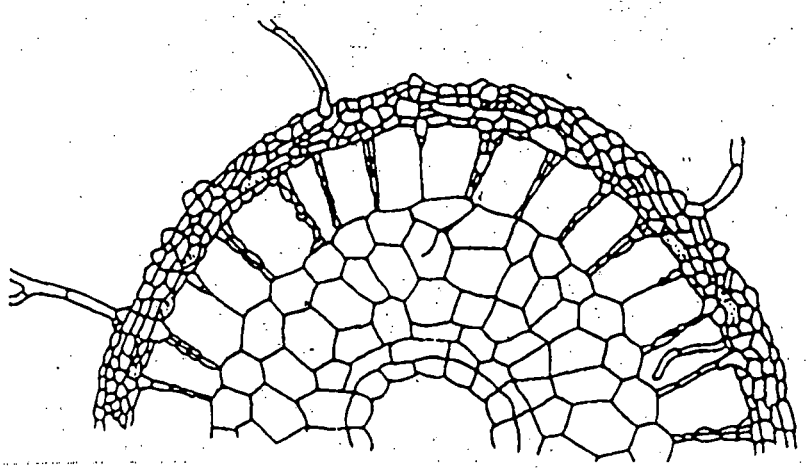
1. บทนำ

จุลชีววิทยาทางดินเป็นวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับจุลชีพในดินและกิจกรรมของจุลชีพเหล่านั้นซึ่งได้แก่การผลิตสารอาหารขั้นต้น (primary productivity) วัฏจักรของสารอาหาร (nutrient cycles) ยกตัวอย่างเช่น วัฏจักรไนโตรเจน ดังรูปที่ 1 การพัฒนาคุณภาพของสิ่งแวดล้อม (environmental quality) รวมทั้งสิ่งมีชีวิตในดินซึ่งมีขนาดที่แตกต่างกันมีตั้งแต่เซลล์เดียวจนถึงสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังขนาดเล็ก นอกจากนั้นยังรวมถึงการศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราและรากพืช (Fungus-root association) ที่เรียกว่า Mycorrhiza ดังรูปที่ 2 ซึ่งในปัจจุบันยังได้ขยายไปถึงการศึกษาบทบาทของจุลชีพในดินที่มีการทำ genetic engineering และได้พยายามนำมาใช้ในการควบคุมพวกแมลงศัตรูพืช (pests) และเชื้อโรค การย่อยสลายพวกสารมลพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและความสัมพันธ์ของจุลชีพในดินและสิ่งแวดล้อมนั้นๆ โดยได้มีการพัฒนาไปพร้อมกับการเจริญเติบโตของวิชา นิเวศวิทยาของจุลชีพ (Microbial ecology)

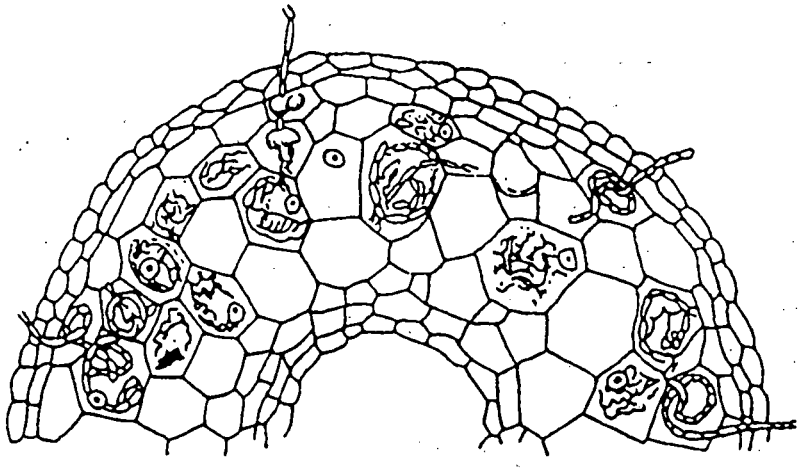
เนื่องจากจุลชีพมีบทบาทสำคัญในการเคลื่อนย้ายกาซชนิดต่าง ๆ ยกตัวอย่าง เช่น การสร้างและทำลายพวกกาซต่างๆ ทำให้มีการเคลื่อนย้ายสารต่างๆจากดินไปสู่บรรยากาศหรือลงสู่แม่น้ำและทะเล และในทางกลับกันคือมีการตรึงพวกกาซต่างๆในบรรยากาศโดยจุลชีพในดินกลายเป็นสารอาหารของพืชและสิ่งมีชีวิตอื่นๆในดินต่อไป ดังนั้นวิชาจุลชีววิทยาทางดินจะเป็นวิชาที่ทำการศึกษาไม่ใช่เฉพาะการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบในบริเวณที่ทำกิจกรรมนั้นเท่านั้นแต่ผลกระทบต่อไปทั่วโลกได้ เช่น การผลิตกาซมีเทนจะทำให้มีผลต่อการเกิดเรือนกระจก (Green house effect) ได้ทั่วไป (Paul and Clark, 1996)



รูปที่ 1 แสดงวัฏจักรของไนโตรเจน (Nitrogen cycle) (Atlas and Bartha, 1998)



รูปที่ 2a แสดงรากพืชที่เกิด ectotrophic mycorrhiza (Atlas and Bartha, 1993)



รูปที่ 2b แสดงรากพืชที่เกิด endotrophic mycorrhiza (Atlas and Bartha, 1993)

2. นักวิทยาศาสตร์ที่ริเริ่มวิชาจุลชีพทางดิน (Pioneering contributions)

ค.ศ. 1676 **Antonius van Leeuwenhoek** (รูปที่ 3) นักวิทยาศาสตร์ชาวฮอล์แลนด์ เป็นผู้ริเริ่มวิชาจุลชีววิทยาทางดินโดยทำการเผยแพร่ว่าได้ค้นพบสัตว์ที่มีขนาดเล็กมากในน้ำตามธรรมชาติ รวมทั้งในซากพืชที่เน่าเปื่อย ทำให้ Leeuwenhoek ได้รับสมญานามว่าเป็นบิดาหรือผู้ก่อตั้งจุลชีววิทยาทางดิน (Founder of soil microbiology) (Paul and Clark, 1996 ; Pelczar *et al.*, 1986)

ค.ศ. 1856-1953 **Sergei Winogradsky** (รูปที่4) เป็นนักวิทยาศาสตร์อีกคนหนึ่งที่ได้รับสมญานามว่าเป็นบิดาหรือผู้ก่อตั้งจุลชีววิทยาทางดิน เพราะได้ศึกษาเกี่ยวกับจุลชีววิทยาทางดินอย่างมาก ศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิริยาไนตริฟิเคชั่น (Nitrification) และซัลเฟอร์ออกซิเดชัน (Sulfur oxidation) ซึ่งทำให้เกิดคำจำกัดความ "Microbial autotrophy" คือจุลชีพใช้สารอินทรีย์เป็นสารตั้งต้นเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน ผลงานที่โดดเด่นอีกอย่างของ Winogradsky คือการค้นพบความสัมพันธ์ของเชื้อราและรากของพืช (Paul and Clark, 1996)

ค.ศ. 1877 **Pfeffer** ได้ศึกษาต่อเนื่องเกี่ยวกับรายละเอียดของความสัมพันธ์ของเชื้อราและรากของพืชตามธรรมชาติ (Paul and Clark, 1996)

ค.ศ. 1885 **Frank** เป็นคนที่ได้นิยามของศัพท์คำว่า Mycorrhiza และได้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่าง ectotrophic และ endotrophic mycorrhiza (รูปที่ 2) (Paul and Clark, 1996)

ค.ศ. 1830-1900 **Louis Pasteur** (รูปที่ 5) ได้ทำการศึกษาให้เห็นรายละเอียดถึงการผลิตแอลกอฮอล์และกรดอินทรีย์อื่นๆโดยใช้จุลชีพที่ไม่ได้ใช้ออกซิเจนในขบวนการเมตตาบอลิซึม (anaerobic metabolism) โดยเป็นการศึกษาเพิ่มเติมจากนักวิทยาศาสตร์รุ่นก่อนหน้า Pasteur ที่เพิ่งค้นพบว่ายีสต์เกี่ยวข้องกับการหมักแต่ยังไม่มีรายละเอียด

ค.ศ. 1897 **Bucher** ได้ค้นพบว่าสารในเซลของยีสต์ทำให้เกิดการหมักแอลกอฮอล์ ซึ่งในปัจจุบันบอกว่าเป็นเอนไซม์ที่เป็นตัวทำให้เร่งปฏิกิริยารายงานว่า

เซลล์ของยีสต์ที่แตกแล้วและปล่อยสารในเซลล์ออกมาซึ่งสารเหล่านั้น สามารถทำให้เกิดการหมักแอลกอฮอล์ ซึ่งในปัจจุบันบอกว่าเป็น

รูปที่ 3 Antonius van Leeuwenhoek (Paul and Clark, 1996)

รูปที่ 4 Sergel Winograsky (Paul and Clark, 1996)

รูปที่ 5 Louis Pasteur (Paul and Clark, 1996)

เอนไซม์ที่เป็นตัวการทำให้เร่งปฏิกิริยา จนได้รับสมญานามว่าเป็นผู้ริเริ่มงานทางด้าน Microbial enzymology

ในช่วงต้นจนถึงช่วงของ Bucher จะเป็นช่วงของการศึกษาแบบเบื้องต้นรวมทั้งเป็นการใช้วิธีการที่แยกเชื้อออกมาเป็นเชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture) (Paul and Clark, 1996)

- **ค.ศ. 1874-1939 Lipman** เป็นนักจุลชีววิทยาทางดินจากอเมริกันที่ก่อตั้ง Soil chemistry และ Bacteriology ณ Rutgers University ประเทศสหรัฐอเมริกา Lipmanได้รับสมญานามบิดาของจุลชีววิทยาทางดินในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยในปี ค.ศ. 1901 มีความสนใจทางด้านผลของจุลชีพในดินต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินและการเจริญเติบโตของพืช (Paul and Clark, 1996)

นักวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาและสอนเกี่ยวกับจุลชีววิทยาทางดินอื่น

Brown : Iowa state University

Fred : University of Wisconsin

Wilson : Cornell University

3. จุลชีววิทยาทางดินในระยะตอนต้นศตวรรษที่ 20 (Paul and Clark, 1996 ; Atlas and Bartha, 1998 ; Tortora *et al.*, 1989)

แรกเริ่ม:

- ศึกษาเกี่ยวกับ symbiotic nitrogen fixation
- การย่อยสลายสารอินทรีย์ในดิน (soil organic matter)
- การย่อยสลายแบบเปลี่ยนแปลงรูปร่างของสารอินทรีย์ในโตรเจน (Mineral nitrogen transformation)

ในระยะเวลาต่อมา:

- การใช้สิ่งมีชีวิตในดินเพื่อเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงความสมบูรณ์ของดิน (soil fertility) แต่ปรากฏว่าดัชนีนี้ไม่สามารถนำมาใช้ได้

- ได้มีการใช้ Liebig's law of the minimum ในการบ่งบอกถึงความความสมบูรณ์ของดิน (soil fertility)
- มีการศึกษาถึงการเพิ่มความสามารถในการตรึงกาซไนโตรเจนจากอากาศโดยวิธีการ asymbiotic โดยใส่เชื้อที่ผลิตเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) ไปในดิน แต่ในเวลานั้นไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจากการขาดความรู้ในด้านนิเวศวิทยา
- นอกจากนั้นยังมีความสนใจในความสัมพันธ์ระหว่างจุลชีพและการย่อยสลายแบบเปลี่ยนแปลงรูปของสารอินทรีย์ไนโตรเจนและได้มีการค้นพบว่า C:N ratio ที่จำเป็นสำหรับการย่อยสลายสาร residue ของพืชโดยที่ไม่มีการตรึงไนโตรเจน (Immobilization) คือ 25:1

4. จุลชีววิทยาทางดินในช่วงที่เข้าสู่ศตวรรษที่ 21 (Paul and Clark, 1996; Atlast and Bartha, 1998; Tortora *et al.*, 1989)

ในศตวรรษนี้มีความต้องการความรู้และความสามารถของจุลชีพในดินในด้าน

- การจัดการทรัพยากรอย่างยั่งยืนทั้งในป่าไม้ เทือกเขาและพื้นที่เกษตรกรรม (Sustainable resource management in forestry, rangelands และ intensive agriculture)
- ความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศน์ (Maintaining biological diversity in those ecosystems)
- บทบาทของจุลชีพต่อสารอินทรีย์ในดิน (The role of soil organic matter and microorganisms) ต่อวัฏจักรคาร์บอน การสร้างและการใช้ radiative gases ในหัวข้อนี้ได้รับความสนใจเพราะมีปัญหาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและบรรยากาศในโลก
- ต้องการใช้จุลชีพที่มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ในขบวนการ composting, การย่อยสลาย(biodegradation) สารที่ผลิตโดยมนุษย์ (Xenobiotics), การควบคุมด้วยจุลชีพ (Biological control) ต่อพวกวัชพืช แมลงที่ก่อให้เกิดโรค การเกิดโรคในพืช

- ในปัจจุบันนักจุลชีววิทยาทางดินจำเป็นต้องใช้คอมพิวเตอร์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำโมเดลลิ่ง (Modeling), การวิเคราะห์รูปภาพ (Image analyses), การใช้เครื่องมือต่างๆ เพื่อการวิเคราะห์ข้อมูลได้ดีขึ้น (Operation of analytical equipment), การแลกเปลี่ยนข้อมูลระหว่างประเทศต่างๆ (Intercontinental exchanges and retrievals of information)
- มีการพัฒนางานทางด้าน molecular biology อย่างมากแต่คำถามมีอยู่ว่าทำไปเพื่ออะไร ไม่ใช่ทำอย่างไร

  จุลชีพใดในธรรมชาติหรือจุลชีพที่ได้มีการตัดต่อยีนต์ที่มีประสิทธิภาพในการทำ bioremediation ในดินบริเวณพื้นผิว (Surface soil) เพื่อเป็นการป้องกันการเคลื่อนย้ายสารเคมีหรือเชื้อก่อโรคไปในน้ำใต้ดิน (Groundwater) หรือจุลชีพที่นำมาควบคุมพวกวัชพืชหรือแทนที่ยาฆ่าแมลงเพื่อนำมาใช้ในชีวิตประจำวัน ดังนั้นการที่จะตอบคำถามเหล่านี้ได้ก็ต้องมีความรู้เกี่ยวกับด้าน Microbial ecology และ biological diversity ร่วมกับความรู้ทางด้านจุลชีววิทยาทางดิน

  นอกจากนั้นเนื่องจากการใช้เครื่องมือจากทาง molecular biology พบว่ามีจุลชีพที่อาศัยอยู่ในดินมีอยู่อย่างน้อย 13,000 สปีชีย์ของแบคทีเรีย ในขณะที่บันทึกใน Bergey's Manual of Systemic Bacteriology มีประมาณ 2,000 สปีชีย์
- จุลชีววิทยาทางดินสามารถช่วยแก้ปัญหาบางอย่างเช่น
  1. กลุ่ม white rot fungi (Basidiomycetes) ที่สามารถย่อยสลายส่วนประกอบของไม้ได้ซึ่งเป็นที่ทราบกันมานานแล้ว แต่ก็ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับ pathway ของการย่อยสลายลิกนิน (Lignin)
  2. กลุ่ม white rot fungi (Basidiomycetes) ที่ย่อยสลายสาร Polychlorobiphenyls (PCBs) ซึ่งเป็นสารที่ยากต่อการย่อยสลาย
  3. ขบวนการ Methanogenesis ในดินนั้นยังมีการศึกษาที่น้อยกว่าในน้ำเสีย (Sewage), ตะกอนในน้ำจืดและน้ำเค็ม (Fresh water and marine sediments) รวมทั้งใน rumens และระบบลำไส้ (Intestinal tracts) ของสัตว์

5. สรุป

1. นักวิทยาศาสตร์ผู้ที่ริเริ่มวิชาจุลชีพทางดินนั้นได้เริ่มต้นเมื่อปี ค.ศ. 1676 โดย Leeuwenhoek ที่ค้นพบสัตว์ที่มีขนาดเล็กมากในธรรมชาติจนถึง ค.ศ. 1897 โดย Bucher ซึ่งเป็นผู้ริเริ่ม Microbial enzymology ช่วงนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นและใช้เชื้อแบบ Pure culture ในการศึกษา หลังจากนั้นเป็นการเริ่มใช้ Mixed culture ในการศึกษาเพราะมุ่งเน้นไปในทาง Microbial ecology หรือความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตในสิ่งแวดล้อม
2. ได้มีการศึกษาจุลชีววิทยาทางดินมานานและได้พูดถึงรายละเอียดในศตวรรษที่ 20 โดยเริ่มตั้งแต่มุ่งเน้นจุลชีววิทยาทางดินไปในแง่ของการพัฒนาทางเกษตรกรรมจนถึงช่วงที่เข้าสู่ศตวรรษที่ 21 จะมุ่งเน้นทางด้านพัฒนาทางด้านสิ่งแวดล้อมมากขึ้นและมีการใช้เครื่องมือต่างๆมาปรับปรุงและวิเคราะห์ข้อมูลให้เร็วขึ้นและมีประสิทธิภาพมากขึ้น เช่น คอมพิวเตอร์เพื่อการทำแบบจำลอง (Modelling) ของการย่อยสลายสารต่างๆ มีประโยชน์ในแง่ของการทำนาย fate ของสารมลพิษที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมหนึ่งๆในอนาคตว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไรต่อไป
3. จุลชีววิทยาทางดินมีความหลากหลายของหัวข้อต่างๆตั้งแต่การศึกษาเบื้องต้นจนในปัจจุบันมุ่งเน้นการใช้จุลชีพจากดินมาใช้ทำลายของเสียทั้งในระบบบำบัดน้ำเสียโดยชีวภาพ และในสิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

Atlas RM and Bartha R (1998) Microbial ecology: Fundamentals and applications. 4th, Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., CA.

Paul EA and Clark FE (1996) Soil microbiology and biochemistry. 2nd, Academic Press, NY.

Pelczar MJ,Jr , Chan ECS and Krieg NR (1986) Microbiology. 5th Ed. McGraw-hill Book Company,Inc., Singapore.

Tortora GJ, Funke BR and Case CL (1989) Microbiology: An introduction. 3rd, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., CA.

บทที่ 2
ส่วนประกอบและโครงสร้างของดิน (Soil components)

หัวข้อ

- **บทนำ (Introduction)**
- **การย่อยสลายของหินและการก่อกำเนิดของดิน (Weathering and soil development)**
- **ลักษณะของดินทางกายภาพ (Physical property of soil)**
- **ลักษณะของเนื้อดิน (Soil texture)**
- **คุณสมบัติทางเคมีของดิน (Chemical characteristic of soil)**
- **ส่วนประกอบของดิน (Soil components)**

1. บทนำ

คำนิยามของ "ดิน" มีหลายแบบโดยขึ้นอยู่กับนักวิทยาศาสตร์กลุ่มที่ให้คำนิยาม ยกตัวอย่างเช่น

นักวิทยาศาสตร์ทางดิน (Soil scientists) ให้คำนิยามของดินว่า "หินขนาดเล็ก (regolith)ที่มีสิ่งมีชีวิตอาศัยอยู่และเป็นแหล่งที่อยู่และให้สารอาหารแก่พืชชั้นสูง" (MaKinney and Schoch, 1996)

นักปฐพีวิทยา (geologist) ให้คำนิยามว่า "ชั้นนอกสุดของเปลือกโลกที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์ก๊าซชนิดต่าง ๆ น้ำ และหินขนาดเล็ก" (Foster, 1969; Renton, 1994)

การศึกษาเกี่ยวกับดินเรียกว่า "pedology" โดย pedon หมายถึง ดิน (Soil หรือ earth)

2. การย่อยสลายและการก่อกำเนิดของดิน (Weathering and soil development)

ดินเป็นสารที่มีส่วนประกอบที่สลับซับซ้อนโดยประกอบด้วยสารอนินทรีย์ (inorganic matter) และสารอินทรีย์ (organic matter) ที่เป็นของแข็ง น้ำ อากาศรวมทั้งสิ่งมีชีวิต ดังนั้นจึงสามารถจำแนกดินออกเป็นส่วนที่เป็นของแข็ง (soil solids) ส่วนที่เป็นของเหลว (soil solution) และส่วนที่เป็นอากาศ (soil air) ส่วนประกอบทั้ง 3 ส่วนของดินจะมีผลกระทบซึ่งกันและกัน ยกตัวอย่าง เช่น ปฏิกิริยาในส่วนประกอบที่เป็นของแข็ง จะมีผลกระทบต่อส่วนประกอบที่เป็นน้ำและอากาศ นอกจากนั้นดินในส่วนประกอบทั้งสามส่วนนี้ สามารถเกิดปฏิกิริยากับสิ่งแวดล้อมอื่นๆ ดังแสดงได้ ในรูปที่ 1 (Bohn *et al.*, 1985)

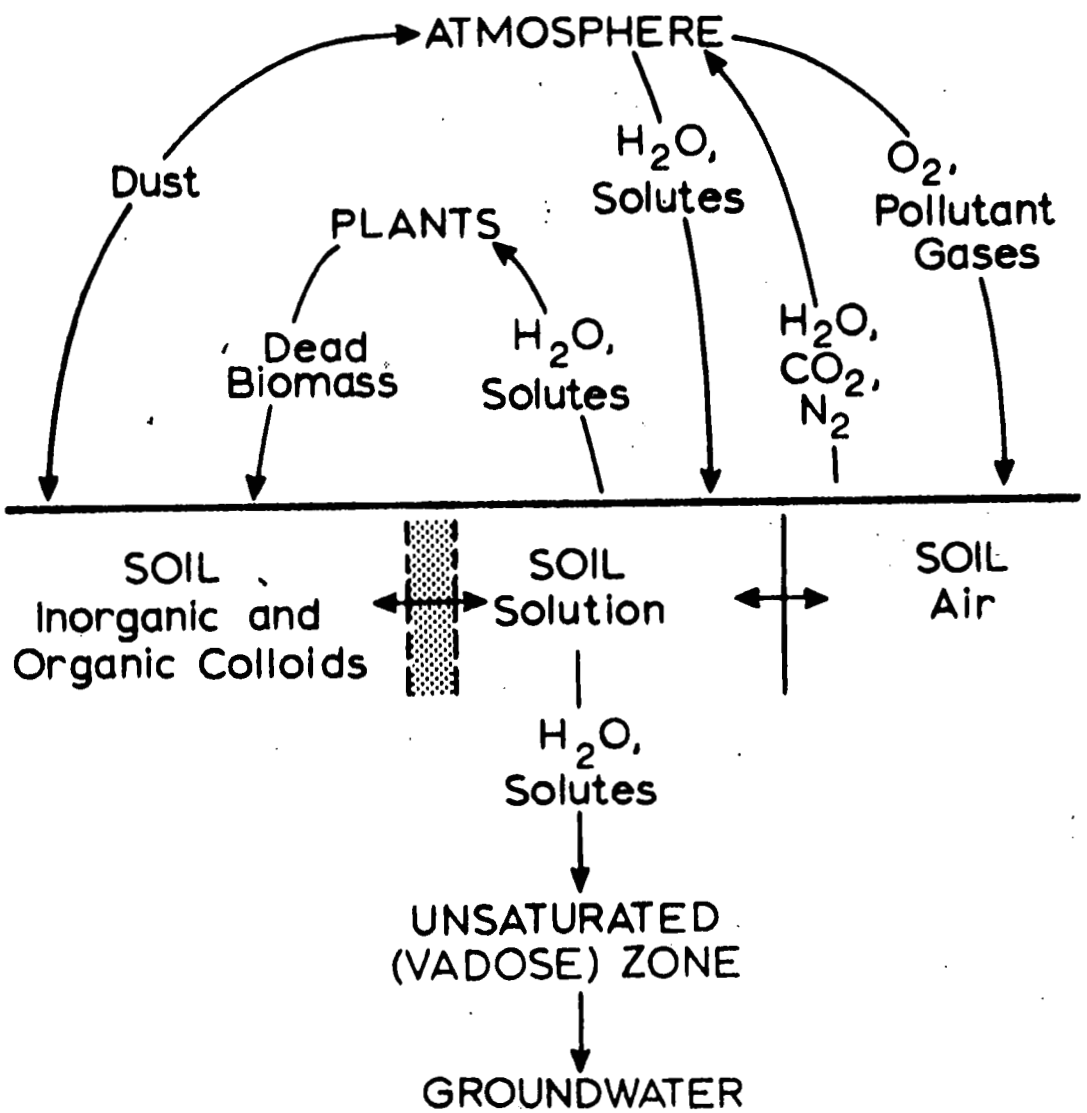
ดินเกิดจากการย่อยสลายของหิน (Rocks) บริเวณเปลือกโลก (Earth's Surface) โดยขบวนการธรรมชาติที่เรียกว่า Weathering ที่เกิดจากผลด้านฟิสิกส์ (Physical force) เคมี (Chemical force) และชีวภาพ (Biological force) จนกลายเป็นหินขนาดเล็กลงหรือที่เรียกว่า regolith (rock bubble) และในที่สุดกลายเป็นดิน (Atlas and Bartha, 1993; Bohn *et al.*, 1985)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดดิน ประกอบด้วย 5 ปัจจัย คือ

1. หินตั้งต้น (Parent material rocks)

โครงสร้างของหินตั้งต้นแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน (ตารางที่ 1) และมีโครงสร้างที่มั่นคงแต่เมื่อมีขบวนการทางธรรมชาติ เช่น (1) การชะล้างและทำให้เกิดการผุกร่อนที่เกิดจากปรากฏการณ์ทางธรรมชาติ (erosion) ของดินหรือ (2) หินที่มีการย่อยสลายเมื่อน้ำในหินเกิดการละลายอย่างรวดเร็วหลังจากขบวนการทำให้แข็งตัวด้วยความเย็นอย่างรวดเร็ว (freezing and thawing) รวมทั้ง (3) การเย็นตัวอย่างรวดเร็วของหินหลังจากได้รับความร้อนสูง (heating & cooling) ปรากฏการณ์เหล่านี้จะทำให้หินเกิดการแตกตัวจนเป็นหินขนาดเล็กลงที่เรียกว่า regolith หรือ rock bubble ต่อมาหินขนาดเล็ก ๆ เหล่านี้จะเกิดการย่อยสลายตัวและเปลี่ยนแปลงโครงสร้างอย่างมากเมื่อเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับน้ำ

ก๊าซต่างๆ เช่น การเกิดปฏิกิริยากับน้ำ ก๊าซออกซิเจน (O_2) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และสารอินทรีย์ (organic compounds) (Bohn *et al,* 1985) แต่อย่างไรก็ตามอัตราการสลายตัวของหินแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของหินแต่ละชนิดได้แก่ ส่วนประกอบทางเคมี (Chemical composition) ส่วนประกอบทางแร่ธาตุ (Mineral composition) ขนาดของ crystal (Crystal size) ที่อยู่ในหินแต่ละชนิดและโครงสร้าง ของหินนั้นๆ (Rock fabric or structure) (Atlas and Bartha, 1993; Bohn *et al.*, 1985)



รูปที่ 1 วัฏจักรของการเคลื่อนที่ของสารต่างๆ ระหว่างชั้นในบรรยากาศ (Atmosphere), พื้นดินและส่วนล่างจากพื้นดินชั้นที่ยังไม่อิ่มตัวหรือ vadose zone และชั้นใต้ดิน (Ground water) (Bohn *et al.*, 1985)

ตารางที่ 1 ชนิดและส่วนประกอบของหินชนิดต่างๆ **(Parent material rocks)** **(Bohn *et al.*,1985)**

สารประกอบ (compound)	Granodiorite (Granitic) %	Basalt %	Shale %	Sandstone %	Limestone %
SiO_2	65.1	49.3	58.1	78.3	5.2
K_2O	2.4	1.2	4.3	1.4	0.04
TiO_2	0.5	2.6	0.6	0.2	0.06
Al_2O_3	15.8	14.1	15.4	4.8	0.8
Fe_2O_3	1.6	3.4	4.0	1.1	0.5
FeO	2.7	9.9	2.4	0.3	-
MgO	2.2	6.4	2.4	1.2	7.9
CaO	4.7	9.7	3.1	5.5	42.6
Na_2O	3.8	2.9	1.3	0.4	0.05
H_2O	1.1	-	5.0	1.6	0.8
P_2O_5	0.1	0.5	0.17	0.08	0.04
SO_3	-	-	0.6	0.07	0.05
CO_2	-	-	2.6	5.0	41.5
จำนวนทั้งหมด	100	100	100	100	100

2. สภาวะอากาศ (Climate)

ปัจจัยที่สองที่ทำให้เกิดการย่อยสลายหินทำให้เกิดดิน คือการเปลี่ยนแปลงทางสภาวะอากาศต่าง ๆ โดยขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ (Temperature) และความชื้น (Moisture) ซึ่งจะมีผลต่ออัตราการสลายตัวที่เกิดจากขบวนการทางธรรมชาติ (Weathering) อัตราการชะล้างที่เกิดจากปรากฏการณ์ตามธรรมชาติ (Erosion) ชนิดของพืชที่พบในบริเวณนั้นๆ และอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี ยกตัวอย่างเช่น เมื่อเปรียบเทียบบริเวณที่มีหินตั้งต้นที่มีอายุเท่ากันแต่อยู่ในประเทศที่มีสภาวะอากาศแตกต่างกัน เช่น ประเทศ Costa Rica ซึ่งเป็นประเทศที่มีอุณหภูมิสูงจะมีอัตราการย่อยสลายที่เร็วกว่าที่รัฐ South Dakota และ North Carolina ในประเทศสหรัฐอเมริกาซึ่งจะมี อากาศหนาวกว่าและมีอากาศร้อนแค่ ช่วงสั้นๆ จากปัจจัยทั้ง 5 ชนิดนี้สภาวะอากาศจะเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดดินมากที่สุด (Renton, 1994)

3. ภูมิประเทศ (Topography)

ลักษณะภูมิประเทศเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการย่อยสลายของหิน ยกตัวอย่างเช่น ภูมิประเทศที่มีความลาดเอียงมากก็จะทำให้น้ำไหลผ่านบริเวณนั้นด้วยอัตราที่เร็วกว่าบริเวณที่ราบเรียบ การไหลผ่านของน้ำจะทำให้มีการเคลื่อนย้ายตัวถูกละลาย (solutes) จากหินบริเวณนั้น ๆ ทำให้อัตราการเกิดดินเร็วขึ้นมากกว่าบริเวณที่ไม่มีการไหลผ่านของน้ำหรือมีการไหลผ่านน้อย ยกตัวอย่างเช่น ดินบริเวณทะเลทราย (Desert soils) (Bohn *et al.*, 1985)

4. ปฏิกิริยาทางชีวภาพ (Biological activities)

ปฏิกิริยาที่เกิดจากจุลชีพที่อาศัยอยู่ในหินหรือดินบริเวณนั้นๆ จะเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการเกิดดินโดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียจะเป็นจุลชีพที่มีบทบาทสำคัญมากตั้งแต่ขบวนการเริ่มต้นจนถึงขั้นตอนสุดท้ายของการเกิดดิน ยกตัวอย่างเช่น แบคทีเรียทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้กลายเป็นสารอนินทรีย์ที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้ นอกจากนั้นกรดอินทรีย์ (organic acids) ที่เกิดระหว่างปฏิกิริยาการย่อยสลายที่

เกิดจากจุลชีพหรือกรดอินทรีย์ที่ถูกปลดปล่อยจากรากของพืชในหินบริเวณนั้นๆ จะทำหน้าที่ต่อในการสลายตัวของหิน โดยการเร่งปฏิกิริยาทางเคมีในการสลายตัวของหิน

สัตว์ที่อาศัยอยู่ในหินบริเวณนั้น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไส้เดือนจะกินหินหรือดินที่มีปริมาณ clay สูง และกระบวนการย่อยอาหารของไส้เดือนจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหินหรือดินให้กลายเป็นดินที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูงขึ้น ซึ่งจะมีลักษณะของปุ๋ยชั้นดี (good fertilizer) นอกจากนั้นสัตว์เหล่านี้ยังทำให้ดินบริเวณนั้นเกิดรูพรุนและทำให้เพิ่มประสิทธิภาพของการทะลุทะลวงของรากพืช การซึมผ่านของก๊าซต่าง ๆ และน้ำในดินได้ดียิ่งขึ้น สิ่งมีชีวิตในดินมีอิทธิพลสูงต่อการย่อยสลายหินชนิดต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียและเชื้อราสามารถย่อยสลายส่วนประกอบต่างๆได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของจุลชีพนั้นๆ (Renton, 1994) รายละเอียดของปฏิกิริยาจะขอกล่าวต่อไปในบทที่ 3 ต่อไป

5. เวลา (Time)

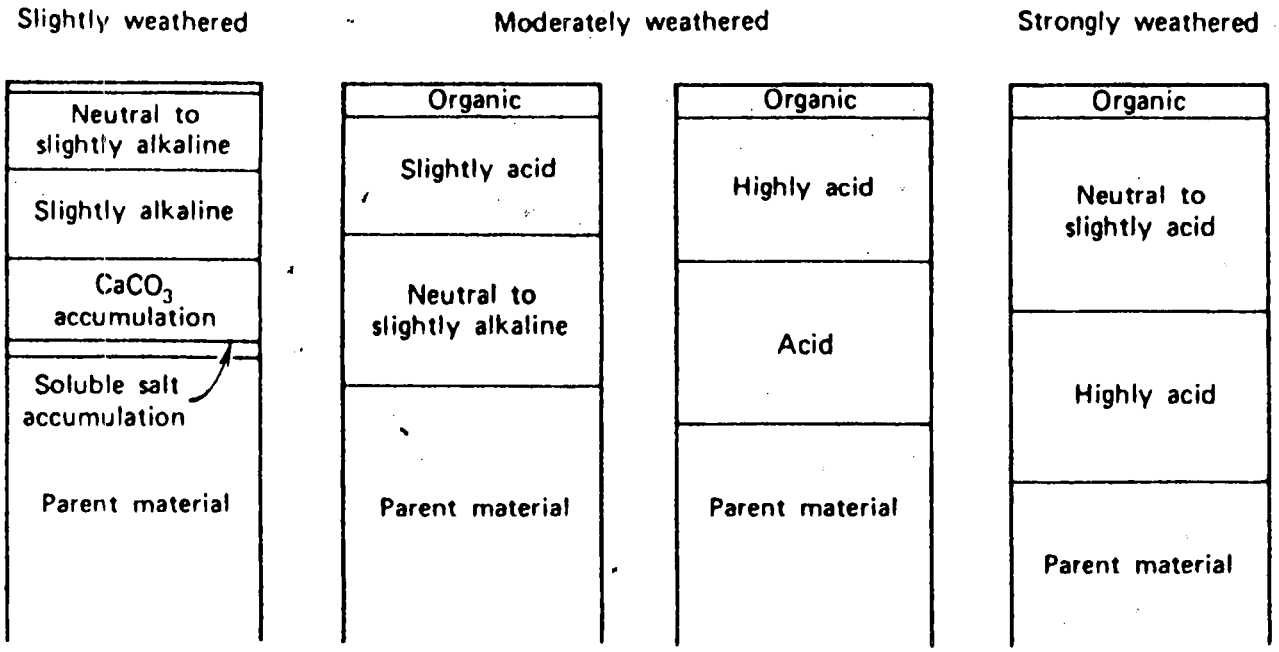
ในการเกิดดินเวลาเป็นปัจจัยที่สำคัญมากอีกอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดดินโดยมีความเชื่อมโยงกับปัจจัยทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวมาแล้ว อัตราการเกิดดินเป็นกระบวนการที่ช้ามาก โดยปกติจะใช้เวลานานถึงร้อย ๆ ปี

ปัจจัยทั้ง 5 ชนิดนี้มีความเกี่ยวพันกันอย่างใกล้ชิด Jenny (1941) ได้เสนอสมการที่ 1 ที่แสดงถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยทั้ง 5 ชนิดนี้แบบคุณภาพโดยสมการนี้จะบ่งบอกถึงเฉพาะคุณภาพและมีข้อจำกัดในการแปลออกเป็นปริมาณ

$$\frac{\Delta \text{ weathering}}{\Delta \text{ time}} = f(\text{Climate, topography, parent material, biosphere}) \quad \ldots.(1)$$

สภาวะหนึ่งที่เห็นได้ชัดว่ามีส่วนเกื้อหนุนการเกิดดินคือ อุณหภูมิสูงและมีปริมาณน้ำสูงจะทำให้เวลาในการเกิดดินจะลดลงตามลำดับ ดังนั้นอัตราการเกิดดินจะพบมากที่สุดในบริเวณเขตร้อน (tropic zone) และลดลงในบริเวณที่ใกล้ขั้วโลก (Renton,

1994) จากการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายของดินจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างภายในชั้นดินทำให้การแสดงถึงระดับของการเกิดดินในชั้นดินตั้งแต่ที่มีการย่อยสลายต่ำๆ จนถึงการย่อยสลายสูงแสดงได้จากการวัดความเป็นกรด (Acidity) และด่าง (Basicity) ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงถึงระดับของการเกิดชั้นดินโดยวัดจากการพัฒนาการเกิดความเป็นกรดหรือด่างขึ้นในชั้นดิน รูปนี้ได้เรียงจากพื้นที่ที่มีการผุกร่อนและการสลายตัวของหินที่เกิดจากธรรมชาติจากน้อย ปานกลาง จนถึงมาก

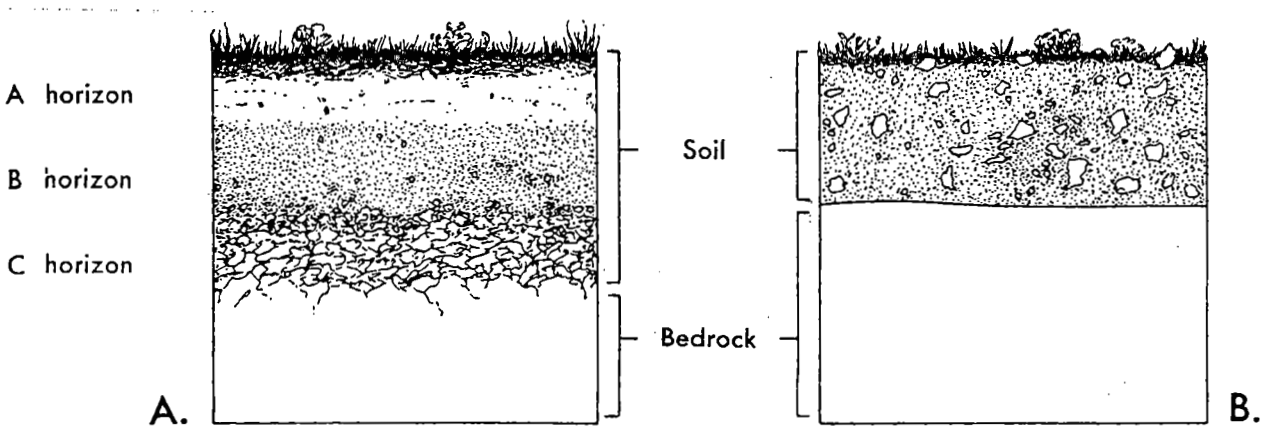
(Bohn *et al.*, 1985)

3. ลักษณะของดินทางกายภาพ

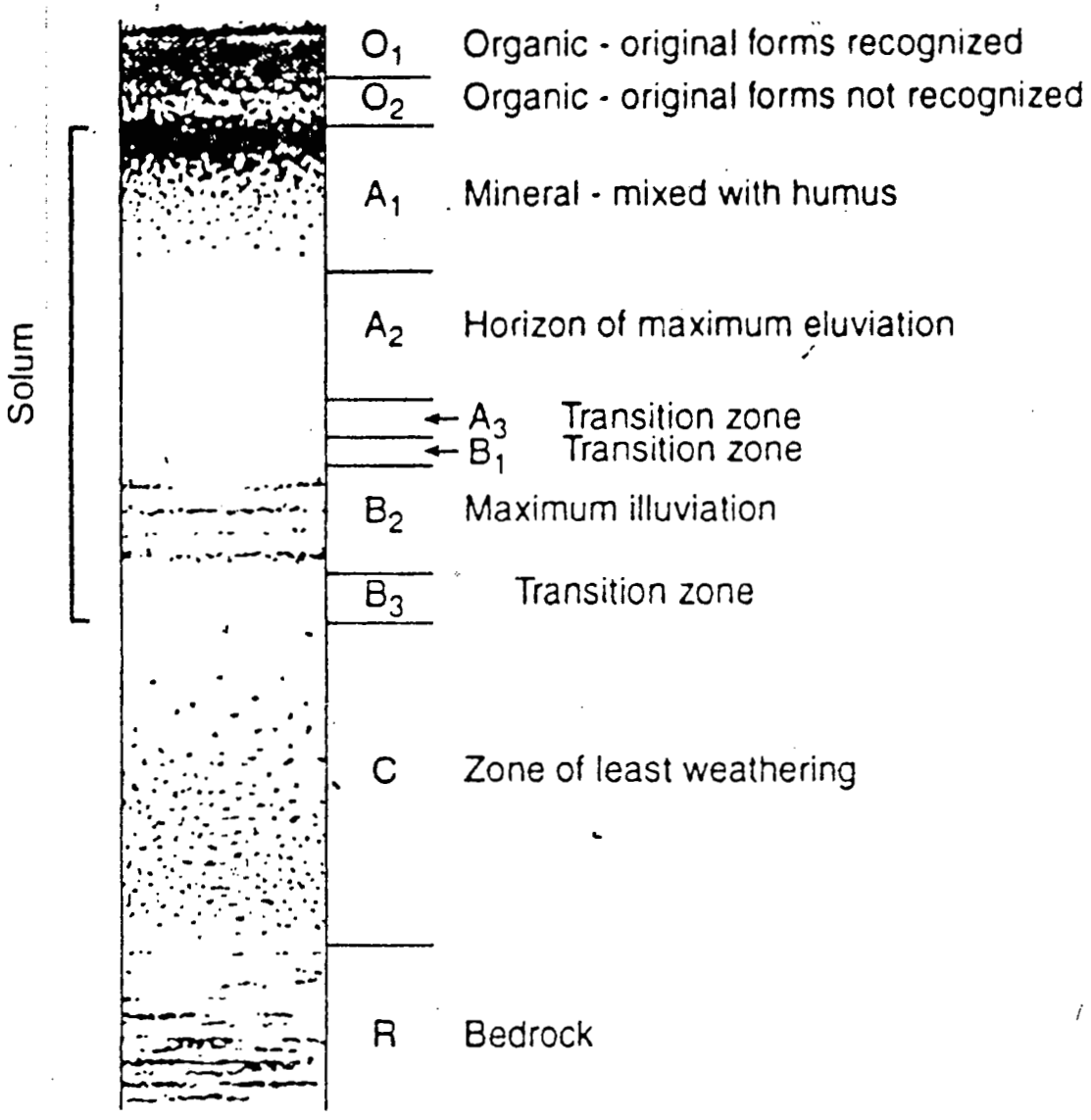
การเกิด soil profiles หรือชั้นดินขึ้นอยู่กับปริมาณและส่วนประกอบของน้ำฝน (Rainwater) หรือน้ำใต้ดิน (Groundwater) ที่ซึมผ่านชั้น regolith โดยลักษณะของดินสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิดใหญ่ ๆ ตามการพัฒนาการของชั้น ดิน คือ

1. ดินที่มีชั้นดินสมบูรณ์ (Mature) ดังแสดงในรูปที่ 3A และจะกล่าวถึงรายละเอียดในรูปที่ 4 (Atlas and Bartha, 1993)
2. ดินที่ชั้นดินไม่สมบูรณ์ (Immature) ดังแสดงในรูปที่ 3B

ดินที่มีชั้นดินที่สมบูรณ์จะประกอบด้วย 3 ชั้น (Layers หรือ horizons) (Atlas and Bartha, 1993) ดังแสดงอย่างละเอียดในรูปที่ 4



รูปที่ 3 ชั้นดิน A: ดินที่มีชั้นดินสมบูรณ์ประกอบด้วยชั้น A, B และ C
B: ดินที่มีชั้นดินไม่สมบูรณ์ (Atlas and Bartha, 1993)



รูปที่ 4 แสดงถึงชั้นดินอย่างละเอียดประกอบด้วยชั้น O (O_1,O_2) A (A_1,A_2,A_3) B (B_1,B_2,B_3) C และชั้นของหินตั้งต้น R (Bedrock) (Atlas and Bartha, 1993)

3.1. ชั้นของสารอินทรีย์ (Organic horizons) หรือ O horizons

ชั้นของสารอินทรีย์เป็นชั้นที่พบบนสุด โดยเรียกว่า O horizon โดย O แทน Organic หรือสารอินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วยสารอินทรีย์หรือสารฮิวมัส (Humus) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้ดินมีสีดำ สารฮิวมัสเกิดจากการย่อยสลายพวกซากพืชและซากสัตว์โดยจุลชีพในดินโดยเฉพาะอย่างยิ่ง กลุ่มแบคทีเรียและเชื้อรา และจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะนำสารอาหารเหล่านั้นมาใช้เพื่อการเจริญเติบโตและให้พลังงาน สารฮิวมัสจะถูกนำไปใช้โดยพืชชั้นสูง (Plant) (Atlas and Bartha, 1993; Foster, 1969 ; Renton, 1994) ในชั้นนี้ยังแบ่งออกได้เป็น 2 ชั้นย่อยๆ คือ

3.1.1 ชั้น O_1 หรือ O_1 horizon

เป็นชั้นที่มีซากพืชและซากสัตว์ที่ยังย่อยสลายไม่หมดและยังมีสภาพที่เป็นซากพืชหรือซากสัตว์ที่เห็นได้ชัดเจน

3.1.2 ชั้น O_2 หรือ O_2 horizon

เป็นชั้นที่มีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ของซากพืชและซากสัตว์จนไม่สามารถบ่งบอกถึงสารตั้งต้นของซากเหล่านั้นได้

3.2 ชั้นของแร่ธาตุ หรือ A horizons (Eluvial horizons)

เป็นชั้นที่ต่อจากชั้น O_2 ซึ่งเป็นชั้นที่ผสมกันระหว่างสารฮิวมัสและ (Minerals) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง clay minerals และ quart 3ชั้นนี้เป็นชั้นที่มีสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ ของแร่ธาตุซึ่งเป็นชั้นที่มีการถูก ชะล้าง (Leaching) มากที่สุด ชั้น O และ A รวมเรียกว่าชั้น topsoil และชั้น A แบ่งออกได้เป็น 3 ชั้นย่อยๆ คือ

3.2.1 ชั้น A_1 หรือ A_1 horizon เป็นชั้นที่มีการผสมระหว่างแร่ธาตุ และฮิวมัส

3.2.2 ชั้น A_2 หรือ A_2 horizon เป็นชั้นที่ประกอบด้วยส่วนประกอบหลักคือ silicate clays, iron oxides และ aluminum oxides

3.2.3 ชั้น A_3 หรือ A_3 horizon เป็นชั้นที่อยู่เหนือชั้น B ขบวนการเกิดดินที่สำคัญนั้นต้องมีทั้งการชะล้างจากชั้นดินด้านบนซึ่งเกิดจากการเกิดปฏิกิริยาของสารฮิวมัสและน้ำทำให้เกิดกรดรวมทั้งการเกิดกรดคาร์บอนิค (Carbonic acid) ที่เกิดจากปฏิกิริยาจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ต่อจากนั้นกรดทำหน้าที่ทั้งด้านการชะล้างสารต่างๆ

ในชั้นดินนั้นๆและมีการสะสมในชั้นใต้ดินซึ่งพบว่ามีการสะสมสารชนิดต่างๆในชั้น B ดังจะ กล่าวต่อไป (Atlas and Bartha, 1993; Foster, 1969 ; Renton, 1994)

Clay minerals คือ silicates ที่มี sheet structures ที่คล้ายกับของ micus และมีประจุเป็นลบ และนอกจากนั้น clay minerals ยังมีคุณสมบัติที่สำคัญ คือ

1. **Cation adsorption** คือขบวนการที่ cation เกาะผิวของ clay ทำหน้าที่เป็นสารอาหารให้กับพืชชั้นสูง

2. **Cation exchange capacity (CEC)** คือขบวนการ cation ที่ adsorb บน clay ถูกแทนที่ด้วย cation ชนิดอื่นใน solution ขบวนการนี้สามารถตรวจวัดได้ และขบวนการนี้ถูกนำไปใช้ในแง่ของการเก็บสารอาหารให้กับพืช

จากคุณสมบัติต่างๆ ของ clay minerals ตามที่กล่าวมาแล้วทำให้ clay minerals เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการบ่งบอกถึง คุณสมบัติทางเคมีของดินที่มี clay minerals เป็นส่วนประกอบหลักอยู่ เช่น ความสามารถในการละลายของ mineral (Mineral solubility), nutrient availability, soil reaction (pH), การแลกเปลี่ยนอิออน (Cation exchange) และ buffering action .

3.3 ชั้น B หรือ B horizons (Illuvial horizon)

เป็นชั้นที่มีการสะสมของสารต่างๆ และเรียกว่า zone of deposition เพราะสารที่ชะล้างจากชั้นที่อยู่เหนือชั้น B มาสะสมในชั้น B โดยมีสาร clay minerals สูงที่สุดและยังพบ iron oxides, aluminum oxides และ silicate clays จำนวนน้อยแต่มีผลทำให้ดินมีสีเหลืองถึงสีน้ำตาล โดยชั้น A และ B รวมเรียกว่า solum (Atlas and Bartha, 1993)

3.4 ชั้น C หรือ C horizons

เป็นชั้นที่ถัดมาจาก B horizon ซึ่งได้รับอิทธิพลของการย่อยสลายของจุลชีพน้อยมาก มีการสะสมพวกแคลเซียมและแมกนีเซียม คาร์บอเนต (Atlas and Bartha, 1993)

3.5 ชั้นประกอบด้วยหินที่มีทั้งขนาดเล็กและใหญ่ (Regolith และ bedrock)

เป็นชั้นที่ถัดมาจาก C horizon (Atlas and Bartha, 1993)

4. ลักษณะของเนื้อดิน (Soil texture)

ดินสามารถแบ่งประเภทโดยใช้ชนิดของเนื้อดิน คือ clay, silt และ sand คุณสมบัติเหล่านี้มีความสำคัญในการบอกถึงนิเวศวิทยาของจุลชีพในดินบริเวณนั้นเพราะจะบอกถึง พื้นผิวที่เอื้ออำนวยสำหรับเป็นที่อยู่อาศัยและการเจริญเติบโตของจุลชีพ นอกจากนั้นเนื้อดินยังมีส่วนที่ทำให้มีการซึมซับน้ำและสารอื่นๆรวมทั้งพื้นผิวสำหรับการอยู่อาศัยของจุลชีพต่างๆ รวมทั้งยังมีอิทธิพลต่อปฏิกิริยาของแบคทีเรียและเชื้อราในดิน (Brady, 1984)

เนื้อดินที่มี clay อยู่สูงจะทำให้ดินชนิดนั้นมีคุณสมบัติที่อุ้มน้ำ (Water-holding capacity: WHC) ได้สูงและมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนอิออน (Ion exchange capacity: IEC) ได้สูงเช่นกันและเราเรียกเนื้อดินชนิดนี้ว่า “heavy” texture เพราะมีการระบายน้ำออก (Drain) ได้ยากน้ำขังได้ง่ายซึ่งจะทำให้เกิดสภาวะ ที่ไร้อ๊อกซิเจน ในขณะเดียวกันดินที่มี sand เป็นส่วนประกอบหลักจะมีคุณสมบัติที่ ไม่อุ้มน้ำ แห้งได้ง่ายและมีอากาศถ่ายเทได้ดีรวมทั้งมีสารอาหารต่ำ (Atlas และ Bartha, 1993) ยกตัวอย่างเช่น Stotzky (1965) พบว่า clay ชนิด montmorillonite ซึ่งเป็นดินที่มีความสามารถในการซึมซับและอุ้มน้ำได้ดีมากและมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพในดินที่ทำการศึกษาอย่างมาก

นอกจากนั้นดินที่มีส่วนประกอบของ clay ปริมาณมากจะทำให้มีพื้นผิวสูง ซึ่งจะเอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของจุลชีพมากกว่าดินที่มีส่วนประกอบเป็นsand เพราะ clay จะมีขนาดที่เล็กมากกว่า sand ดังแสดงในตารางที่ 2 ดังนั้นจึงมีการสรุปว่าลักษณะเนื้อดินมีผลต่อการเจริญเติบโตและปฏิกิริยาของเชื้อในดินแต่ขึ้นอยู่ชนิดของเนื้อดินนั้นๆ (Atlas and Bartha, 1993; Bohn *et. al.*, 1985) ดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบ

โตของพืชที่สุดคือ silt loam soil (ตารางที่ 3) เนื่องจากปริมาณของ clay ที่พอเหมาะจะเป็นส่วนที่มีอิทธิพล ดังนั้นการพิจารณาถึงแหล่งที่อยู่ของจุลชีพจะมุ่งมาที่ปริมาณของ clay ที่อยู่ในดินบริเวณนั้นๆและจำเป็นที่ต้องศึกษาคุณสมบัติของ clay clay colloids มีหลายชนิดและมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันมากทั้งทางด้านกายภาพและด้านเคมีดังแสดงในตารางที่ 4 และความแตกต่างเหล่านี้ก็มีอิทธิพลต่อจำนวนและชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ในดินเหล่านั้น (Marshall, 1980; Hattori and Hattori, 1976) นอกจากเราจะคำนึงถึงแต่ในแง่ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ดิน เพื่อประโยชน์ต่อพืชในปัจจุบัน clay ได้ถูกนำมาใช้ในการปูเป็น liner หรือชั้นใน Sanitary หรือ secure landfill โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Montmorillonite เพราะจะมีทั้งพื้นที่ผิวและความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคทไอออน (Cation) สูงมากและเหมาะสมในการป้องปันการชะล้างของน้ำที่เกิดในระหว่างการย่อยสลายใน landfill บริเวณนั้นๆ

การแบ่งชนิดของเนื้อดินสามารถทำได้โดยใช้ soil triangle (รูปที่ 5) ซึ่งจะแบ่งตามสัดส่วนของ clay, silt และ sand (Alexander, 1977) เมื่อทำการศึกษาถึงลักษณะเนื้อดินโดยวิธีใดวิธีหนึ่งจาก

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

ตารางที่ 2 ขนาด จำนวนของอนุภาค (Particle) และพื้นผิวต่อกรัมของ clay, silt และ sand (Atlas and Bartha, 1998)

ส่วนประกอบของดิน	ขนาด (มิลลิเมตร)	จำนวนของอนุภาค ต่อกรัม	พื้นผิว (ตารางเซนติเมตรต่อกรัม)
Sand	2.00-0.05	90	11
Silt	0.05-0.002	5.78×10^{6}	454
Clay	0.002	9.03×10^{10}	8,000,000

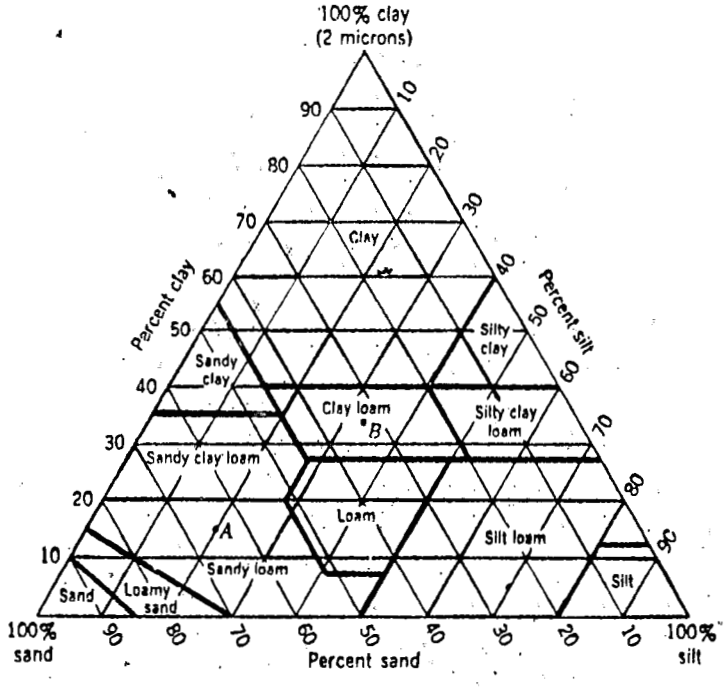
ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของดินชนิด silt loam soil บริเวณพื้นผิวดิน (Bohn *et al.*,1985)

ส่วนประกอบ	เปอร์เซ็นต์
สารอินทรีย์ (Organic matter)	5
สารอนินทรีย์ (Mineral)	45
ก๊าซ (Gas or air)	20-30
น้ำ (Water)	20-30

151521
631.46
ส822ก

ตารางที่ 4 ตัวอย่างของ clay colloids (Atlas and Bartha, 1998)

คุณสมบัติ	Montmorillonite	Illite	Kaolinite
ขนาด (ไมครอน)	0.01-1.0	0.1-2.0	0.1-5.0
พื้นที่ผิว (ตารางเมตรต่อกรัม)	700-800	100-200	5-20
ความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคทไอออน (mEq/100 กรัม)	80-100	15-40	3-15



รูปที่ 5 soil texture triangle ที่ประกอบด้วยเปอร์เซ็นต์ของ clay, silt และ sand (Atlas and Bartha, 1993)

<u>วิธีการจำแนกชนิดของเนื้อดิน</u> (Atlas and Bartha, 1993)

1. จากจำนวนเปอร์เซนต์ของ silt และลากเส้นตรงโดยให้เส้นขนานกับแกนของ จำนวนเปอร์เซนต์ของ clay
2. เส้นที่สองให้เริ่มจากจำนวนเปอร์เซนต์ของ clay และลากเส้นตรงโดยให้เส้นขนานกับแกนของจำนวนเปอร์เซนต์ของ sand
3. เส้นที่สามให้เริ่มจากจำนวนเปอร์เซนต์ของ sand และลากเส้นตรงโดยให้เส้นขนานกับแกนของจำนวนเปอร์เซนต์ของ silt
4. ตรงจุดตัดคือชื่อชนิดของเนื้อดินชนิดนั้นๆ
   ยกตัวอย่างเช่น ถ้าชนิดของเนื้อดินคือ 10% silt, 30% clay และ 60% sand จาก soil triangle พบว่า ดินชนิดนี้มีชื่อว่า sandy clay loam

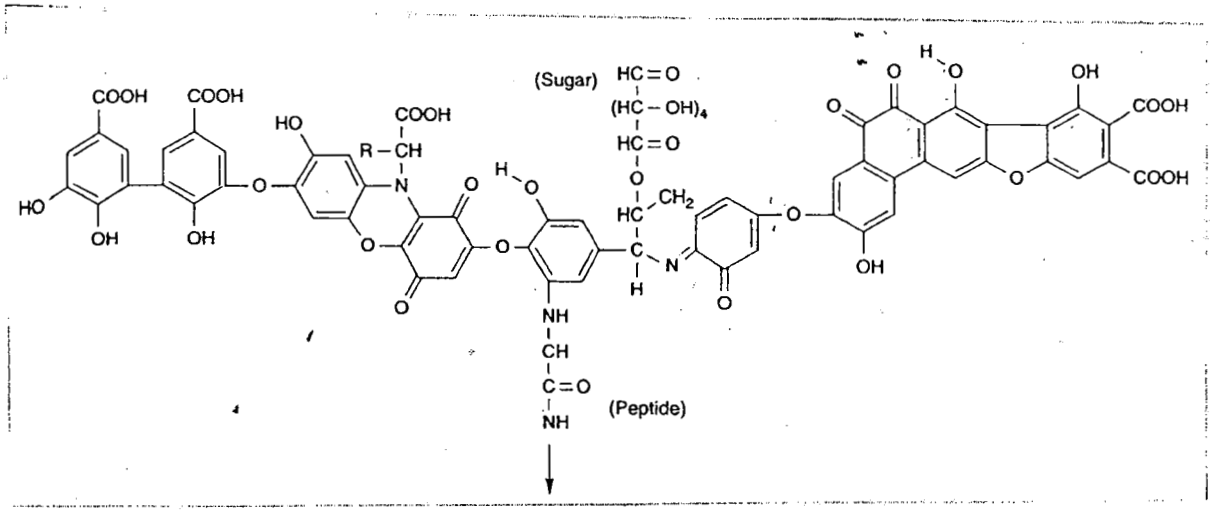
<u>ชื่อของเนื้อดินมีอยู่ 3 ชนิดใหญ่ๆ คือ</u> (Atlas and Bartha, 1993)

1. ชื่อที่นำหน้าด้วยชื่อของ clay, silt และ sand ซึ่งแสดงว่าชนิดของเนื้อดินนั้นมีจำนวนมากกว่าชนิดอื่นอย่างมาก ยกตัวอย่างเช่น sand soils, silt soils หรือ clay soils
2. ชื่อที่มีคำว่า loams แสดงว่าดินนั้นมีส่วนประกอบของเม็ดดินชนิดที่ไม่ได้เอ่ยถึงอยู่ปริมาณที่ใกล้เคียงกันจนทำให้ไม่มีชนิดของเนื้อดินใดโดดเด่น ยกตัวอย่างเช่น sandy loam soils คือดินที่มีปริมาณของ sand มากกว่าชนิดอื่นรวมทั้งมีปริมาณของ clay และ silt อยู่ในปริมาณเท่าๆกัน
3. ชื่อที่แสดงทั้งเนื้อดินและสถานที่ของดินนั้นๆ เช่น Lakewood sand, Nixon sandy loam และ Georgia clay

<u>5. คุณสมบัติทางเคมีของดิน</u>

สารอินทรีย์ในดินได้มาจากการผุพังจากซากพืช ซากสัตว์และซากของจุลชีพ ในดินนั่นเอง (Bear, 1964) สารฮิวมัสคือสารที่มีการเปลี่ยนแปลงซากต่างๆที่ กล่าวมาแล้วจนเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปหมดไม่สามารถจำถึงรูปร่างเดิมได้ สารฮิวมัสจะพบได้เป็นส่วนประกอบของดินชนิด mineral soil ในปริมาณไม่มากคือน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์

รูปร่างและส่วนประกอบที่แน่นอนของฮิวมัสนั้นยังเป็นที่ถกเถียงหรือมีการเปลี่ยนแปลงตามหลักฐานใหม่ๆในปัจจุบันแต่มีรูปร่างที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดคือ เป็นรูปร่างที่มีแกนนำประกอบด้วย สาร aromatic, hetercyclic, และ quinoidal rings ที่เชื่อมกันด้วยพันธะคาร์บอน-คาร์บอน อีเทอร์ อะมิโนและอะโซ (Stevenson, 1976) ดังแสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 6 รูปร่างของฮิวมัส (Stevenson, 1976)

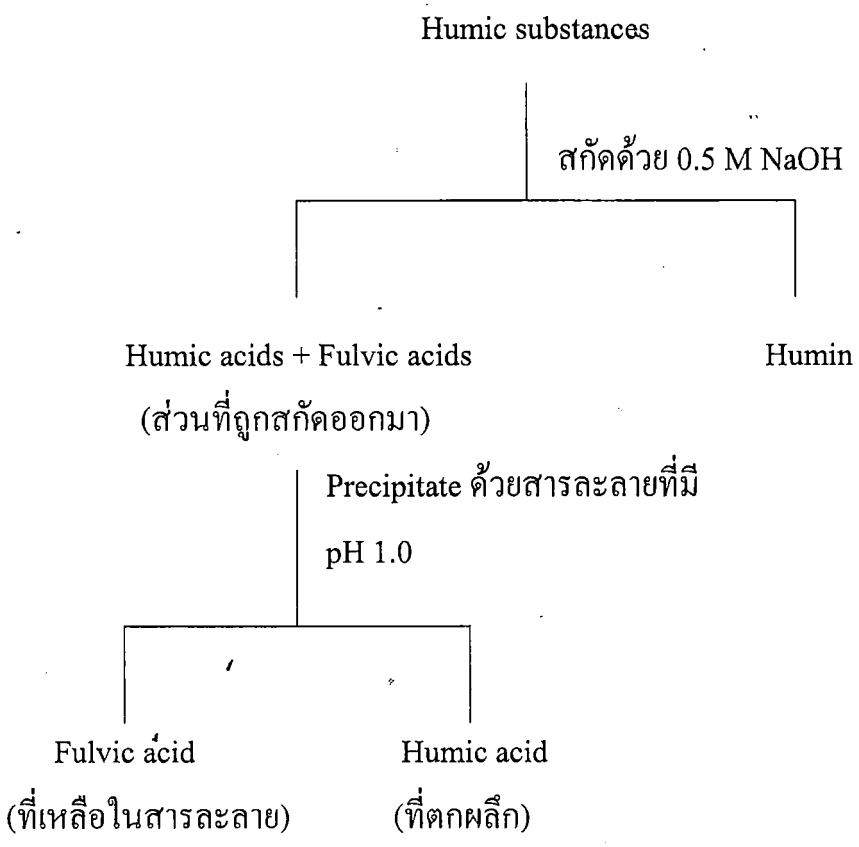
นอกจากนั้นในฮิวมัสจะมีกลุ่ม functional groups หลายชนิดคือ carboxyl, phenolic hydroxyl และ carbonyl groups นอกจากนั้นยังมีส่วนที่ประสานกับแกนนำของสารฮิวมัสคือ กรดอะมิโน เปปไทด์ น้ำตาล และสารฟีนอล คุณสมบัติและความสามารถของฮิวมัสจะมีลักษณะเหมือนฟองน้ำที่ดูดซับ น้ำ อิออน และสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่อยู่ในดิน ดังนั้นจึงมีสารทั้งที่เกิดจากธรรมชาติและสารที่มีผลิตโดยมนุษย์ได้ถูกซึมซับไว้ในสารฮิวมัสมากมายหลายชนิดรวมทั้งเอนไซม์ต่างๆ ด้วย

6.1 <u>แร่ธาตุ</u> (Minerals) ในหินตั้งต้นมีปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 ดังนั้นเมื่อมีการผุพังของหิน เช่น สารซิลิคอน อลูมินัมและแร่เหล็ก จะกลายเป็นส่วนประกอบหลักในดินนั้นๆ นอกจากนั้นยังประกอบไปด้วยสารที่มีประโยชน์สำหรับร่างกาย ของมนุษย์ ยกตัวอย่างเช่น แคลเซียม แมกนีเซียม โปแตสเซียม โซเดียม ฟอสฟอรัส (Atlas และ Bartha, 1993)

6.2 <u>สารอินทรีย์ในดิน</u> (Soil organic matter: SOM) สารอินทรีย์ในดินประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมันและสารอื่นๆ ถ้าเป็นดินที่ใช้ในการเกษตรกรรมจะมีสารอินทรีย์ประมาณ 2-10 % ซึ่งจะแตกต่างจากดินในบริเวณ หนอง บึง (Swamps and bogs) ที่ประกอบด้วย สารอินทรีย์สูงถึง 95% ส่วนใหญ่เกิดจากการย่อยสลายอย่างช้าๆ โดยจุลชีพกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน

สารอินทรีย์ในดิน ได้มาจากซากของจุลชีพ พืช และสัตว์ โดยส่วนใหญ่มาจากพืชโดยเฉพาะพวกรากพืชที่ตายแล้ว สารอินทรีย์ที่พบมาก ในดินคือ ฮิวมัส (Humus) ซึ่งมีสีดำและประกอบด้วยกลุ่ม สารที่ยากต่อการ ย่อยสลายและส่วนน้อยที่ง่ายต่อการย่อยสลายดังนั้นจึง มีอัตราการหมุนเวียนของฮิวมัสต่ำ (Turnover: degradation and resynthesis) คือประมาณ 5 เปอร์เซนต์หรือน้อยกว่าต่อปีในเขตอบอุ่น (Temperate)

จากคุณสมบัติของการละลายในด่างและการตกตะกอนของสารละลายที่มี pH = 1.0 ของส่วนประกอบของฮิวมัสจึงสามารถแบ่งฮิวมัสออกเป็น fulvic acids, humic acids และ humin ดังแสดงในรูปที่ 7 อย่างไรก็ตามส่วนประกอบของฮิวมัสนี้ไม่สามารถบอกถึงลักษณะรูปร่างที่แน่นอนได้ แต่มีลักษณะที่แตกต่างตามที่แสดงได้ในตารางที่ 5



รูปที่ 7 แสดงถึงส่วนประกอบของฮิวมัสตามคุณสมบัติการละลายในด่างและการตกตะกอนของสารละลายที่มี pH= 1.0

ตารางที่ 5 แสดงถึงลักษณะเฉพาะของ fulvic acids, humic acids และ humin

Fulvic acids	Humic acids	Humin
• มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสุด • มีสัดส่วนของออกซิเจนต่อคาร์บอนสูงกว่า humic acids • มีสัดส่วนของ acidic functional groups ต่อน้ำหนักสูง	• มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า fulvic acids • มีสัดส่วนของออกซิเจนต่อคาร์บอนต่ำกว่า fulvic acids • มีสัดส่วนของ acidic functional groups ต่อน้ำหนักต่ำ	• มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า humic acids • เป็นสารที่เชื่อมระหว่าง fulvic acid และ humic acids กับ mineral material

ประโยชน์ของสารอินทรีย์

1. ทำให้ดินอุดมสมบูรณ์เพราะเป็นแหล่งของสารอินทรีย์คาร์บอนและสารเคมีที่เป็นสารอาหารรวมทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัส
2. ทำให้ดินไม่เกาะตัวกันแน่นเกินไปและเพิ่มรูพรุนในดินซึ่งทำให้เพิ่มการหมุนเวียนของอากาศและน้ำในดิน

แหล่งของสารอินทรีย์

1. พืช

สารอินทรีย์ส่วนใหญ่มาจากพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกรากพืช เปลือกไม้ที่ตายและพวกใบไม้ที่ร่วงหล่นจากต้น

2. กลุ่มจุลชีพในดิน

แบคทีเรีย เชื้อรา สาหร่าย โปรโตซัวและไวรัสในดินซึ่งมีจำนวนมาก โดยเฉพาะในดินที่อุดมสมบูรณ์จะพบกลุ่มจุลชีพในดินเหล่านี้ได้มากถึงพันล้านเซลล์ต่อหนึ่งกรัม นอกจากนั้นจุลชีพเหล่านี้ยังย่อยพวกสารอินทรีย์อื่นในดิน ทำให้เกิดสารอนินทรีย์ (ยกตัวอย่าง เช่น ก๊าซแอมโมเนีย น้ำ คาร์บอนไดอ๊อกไซด์ ไนเตรต ฟอสเฟตและแคลเซียม) ซึ่งจะเป็นสารอาหารให้แก่พืชและสิ่งมีชีวิตอื่นๆที่จำเป็นต้องใช้ใน การเจริญเติบโตต่อไป นอกจากนั้นชนิดของพืชที่อยู่ในดินจะมีส่วนสำคัญต่อชนิดและ จำนวนของจุลชีพในดินบริเวณนั้นๆเพราะพืชจะหลั่งสารจากรากพืชและพืชส่วนที่แก่ (Senescent parts of plants) ซึ่งจุลชีพสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งสารอาหารต่อไป ยกตัวอย่างเช่น สาร phenolic compounds (VanSchie and Young, 1998)

3. น้ำ

น้ำสามารถบรรจุอยู่ในช่องว่างของเนื้อดินและจะแทนที่อากาศในดินบริเวณนั้นๆ น้ำเป็นสิ่งจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของจุลชีพในดินเพราะต้อง ใช้น้ำในการดูดซึมสารอาหารทั้งที่เป็นสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตาม ถ้ามีปริมาณน้ำมากเกินไป จะทำให้ก๊าซอ๊อกซิเจนซึมเข้าสู่ดินได้ยากขึ้น ดังนั้นจึงเป็นปัจจัยสำคัญในการส่งเสริมให้มีการเจริญเตบโตและชนิดของสิ่งมีชีวิตในดินมีความหลากหลายโดยขึ้นอยู่กับสภาวะต่างๆ ที่เกิดจากปริมาณน้ำในดินนั้นๆ เช่น ถ้ามีการท่วมขังเป็นเวลานานจะทำให้ดินบริเวณนั้นกลายเป็นบริเวณที่ไม่มีออกซิเจนจะทำให้แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนเจริญเติบโตได้ดีกว่าแบคทีเรียกลุ่มที่ต้องการออกซิเจน เป็นต้น

4. อากาศ

ก๊าซในดินจะอยู่ในช่องว่าง (Porous space) ระหว่างเนื้อดิน (Brock, 1994) ซึ่งประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์เป็นส่วนประกอบหลักและก๊าซ อ๊อกซิเจนเป็นจำนวนน้อย ปริมาณก๊าซในดินขึ้นอยู่กับการหายใจของจุลชีพในดินและความสามารถในการแพร่กระจาย (Aiffusion) ของก๊าซนั้นเอง ปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ในดินจะมีปริมาณที่มากกว่าในบรรยากาศถึง 100-200 เท่า ปริมาณของก๊าซคาร์บอนได-อ๊อกไซด์จะเพิ่มขึ้นและ ก๊าซ อ๊อกซิเจน จะลดลงตามการเพิ่มความลึกของดิน

ดินที่อยู่ในสภาวะมีอ๊อกซิเจน (Aerobic conditions) จะมีก๊าซอ๊อกซิเจน อยู่ในช่องว่างระหว่างเนื้อดินแต่อย่างไรก็ตามแม้แต่ ในดินที่อยู่ในสภาวะที่มีอ๊อกซิเจนก็จะมีบางพื้นที่ที่ไม่มีอ๊อกซิเจนดังแสดงในรูปที่ 8 และในดินที่อยู่ในสภาวะ ไม่มีอ๊อกซิเจนในเนื้อดินนั้นๆก็จะมีแต่ก๊าซชนิดอื่นเช่น มีเทน (Methane) (จาก ปฏิกิริยา methanogenesis) ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (จากปฏิกิริยา sulfate reduction) และไม่มีก๊าซอ๊อกซิเจน (Sexstone *et al.,* 1985)

5. สิ่งมีชีวิต

ดินจะเป็นแหล่งที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลชีพโดยมีการเกิดกลุ่มโคโลนีเล็กๆ (Microcolonies) บนเม็ดดิน ดังนั้นเมื่อมีการเปรียบเทียบกับจำนวนจุลชีพในดินจะมากกว่าที่พบในน้ำจืดหรือน้ำทะเล (Mishustin, 1975) นอกจากนั้นในดินที่อุดมสมบูรณ์จะประกอบด้วย สิ่งมีชีวิตหลายชนิด ได้แก่ แมลง, กิ้งกือ, ตะขาบ, แมงมุม, ทาก, หอยทาก, ไส้เดือน, หนู, ตัวตุ่น, และสัตว์เลื้อยคลาน ซึ่งสัตว์เหล่านี้มีประโยชน์ต่อ ดินอย่างมากโดยจะกล่าวถึงรายละเอียดในบทที่กล่าวถึงสิ่งมีชีวิตในดิน (Brock, 1994)

เอกสารอ้างอิง

Alexander M (1977) Introduction to soil microbiology. 2nd ed. John Wiley and Sons, NY.

Atlas RM and Bartha R (1993) Microbial Ecology. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood. p.273

Brock TD (1979) . Soil microbial communities. *In* Microbial ecology: fundamental and applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.370.

Brock TD Madigan MT Martinko JM and Parker J (1994) Biology of microorganisms. 7th ed. Prentice-Hall, Inc., New Jersey.

Bear FE (1964) Chemistry of the soil. Rheinhold Publishing Co., NY.

Bohn HL, McNeal BL, and O'Connor GA. (1985) Introduction *In* Soil chemistry. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, NY. p. 341.

Brady NC (1984) The nature and properties of soils. Macmillan, NY.

Brady NC (1984) Soil microbial communities. *In* Microbial ecology: fundamental and applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.367.

Foster RJ (1969) Weathering and sedimentary rocks. *In* General geology. Charles E. Merrill Publishing Company, Columbus, Ohio, U.S.

Hattori T and Hattori R (1976) The physical environment in soil microbiology: An attempt to extend principles of microbiology to soil microorganisms. Critical Reviews in Microbiology 4:423-462.

Jenny H (1941) Factors of soil formation. McGraw-Hill, NY. A classic of the soils literature.

Marshall KC (1980) Adsorption of microorganisms to soils and sediments. *In* Adsorption of microorganisms to surface. Bitton G and Marshall KC (Eds.), John Wiley and Sons, NY, p. 317-329.

Mishustin EN (1975) Microbial associations of oil types. Microbial Ecology 2:97-118.

Renton JJ (1994) Soils. *In* Physical Geology. West Publishing Company, St. Paul MN, p.175-191.

Sexstone AJ, Revsbeck NP, Parkin TB and Tiedje JM (1985) Direct measurement of oxygen profiles and denitrification rates in soil aggregates. Soil Science Society of America Journal 49:645-651.

Stevenson FJ (1976) Organic mattter reactions involving pesticides in soils. *In* Bound and conjugated pesticide residues. Kaufman DD, Still GG, Paulson GD and Bandal SK (Eds.) ACS Symposium Ser. 29. American Chemical Society, Washington, D.C., p. 180-207.

Stevenson FJ (1976) Chemistry properties. *In* Microbial ecology: fundamental and applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.366.

Stotzky G (1965) Replica plating technique for studying microbial interactions in soil. Canadian Journal of Microbiology 11:629-636.

Van schie Paula M. (1997) Physiology and Taxonomy of phenol-degradating denitrifying bacteria. (Ph.D. in Microbiology and Molecular Genetics), Department of Microbiology and Molecular Genetics, Rutgers, The State University of New Jersey, New Brunswick, USA.

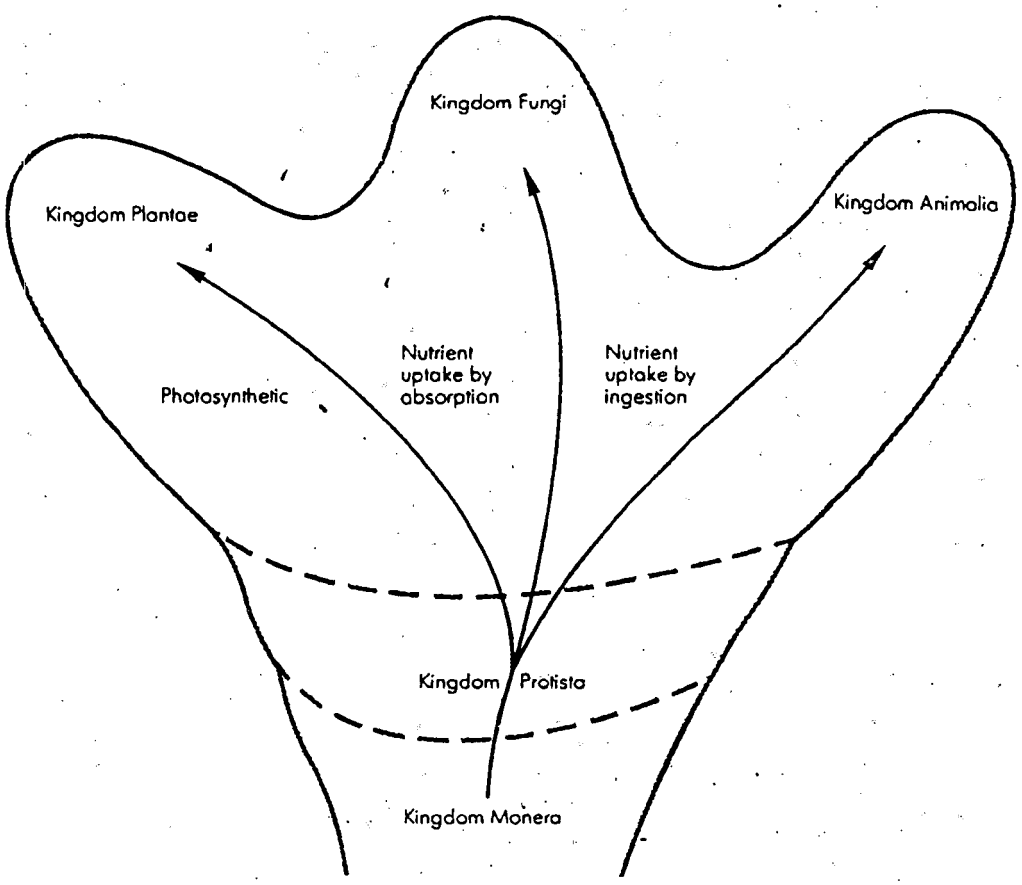
1.3 Whittaker (1969) (Paul and Clark, 1996 ; Pelczar *et al.*, 1986)

แบ่งสิ่งมีชีวิตออกเป็น 5 อาณาจักร ดังแสดงในรูปที่ 1 โดยใช้กฎ 3 ข้อในการแบ่งชนิดของสิ่งมีชีวิต คือ

(1) ระบบอาหาร

(2) การสังเคราะห์แสง

(3) การดูดซึมและการย่อยอาหาร



รูปที่ 1 การแบ่งสิ่งมีชีวิตออกเป็น 5 อาณาจักร (Kingdom) โดย Whittaker (Pelczar *et al.*, 1986)

ตารางที่ 2 การแบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตออกเป็น 4 อาณาจักร ลักษณะเฉพาะและตัวอย่างของสิ่งมีชีวิตแต่ละกลุ่ม

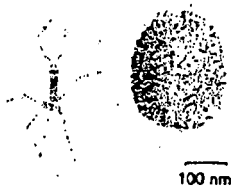
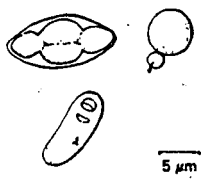
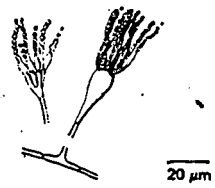
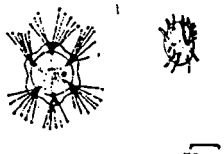
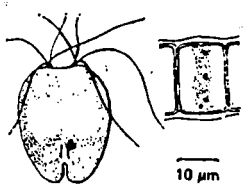
อาณาจักร (Kingdom)	ลักษณะเฉพาะ	ตัวอย่าง
Plantae Kingdom	Multicellular และ multinucleate eucaryotic organisms	พืชชั้นสูง (plants) สาหร่ายชั้นสูง (higher algae)
Animalia Kingdom	Multicellular animals	สัตว์
Fungi Kingdom	Multinucleate higher fungi	ยีสต์ (yeasts) และ molds
Protista Kingdom	จุลินทรีย์กลุ่มยูคาริโอตแบบมีเซลล์เดียว (Unicellular eucaryotic microorganisms) โดยระบบอาหารที่เชื่อมต่อกัน	microalgae -> photosyn. protozoa->ingastive some protozoa->absorptive
Monera Kingdom	กลุ่มโปรคาริโอตเพราะไม่มีระบบย่อยอาหาร (ingestive nutrition	แบคทีเรียและไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria)

การแบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตแบบ comparable manual of classification จะมีเฉพาะแบคทีเรีย Bergey's Manual of Systematic Bacteriology แบ่งกลุ่มแบคทีเรียออกเป็น 4 divisions (ตารางที่ 3) คือ (Pelczar *et al.*, 1986) และตารางที่ 4 ได้แสดงลักษณะและตัวอย่างแต่ละกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่สำคัญ

ตารางที่ 3 การแบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตออกเป็น 4 Divisions ตาม Bergey's Manual of systematic Bacteriology (Pelczar *et al.*, 1986)

Divisions	ลักษณะพิเศษ
1: Gracilientes	กลุ่มโปรคาริโอตที่มีผนังเซลล์แบบแกรมลบ
2: Firmicutes	กลุ่มโปรคาริโอตที่มีผนังเซลล์แบบแกรมบวก
3: Tenericutes	กลุ่มโปรคาริโอตที่ไม่มีผนังเซลล์
4: Mendosicutes	กลุ่มโปรคาริโอตที่มีจุดก่อกำเนิดก่อน Division 1,2

ตารางที่ 4 ลักษณะของจุลินทรีย์กลุ่มที่สำคัญ (Pelczar *et al.*, 1986)

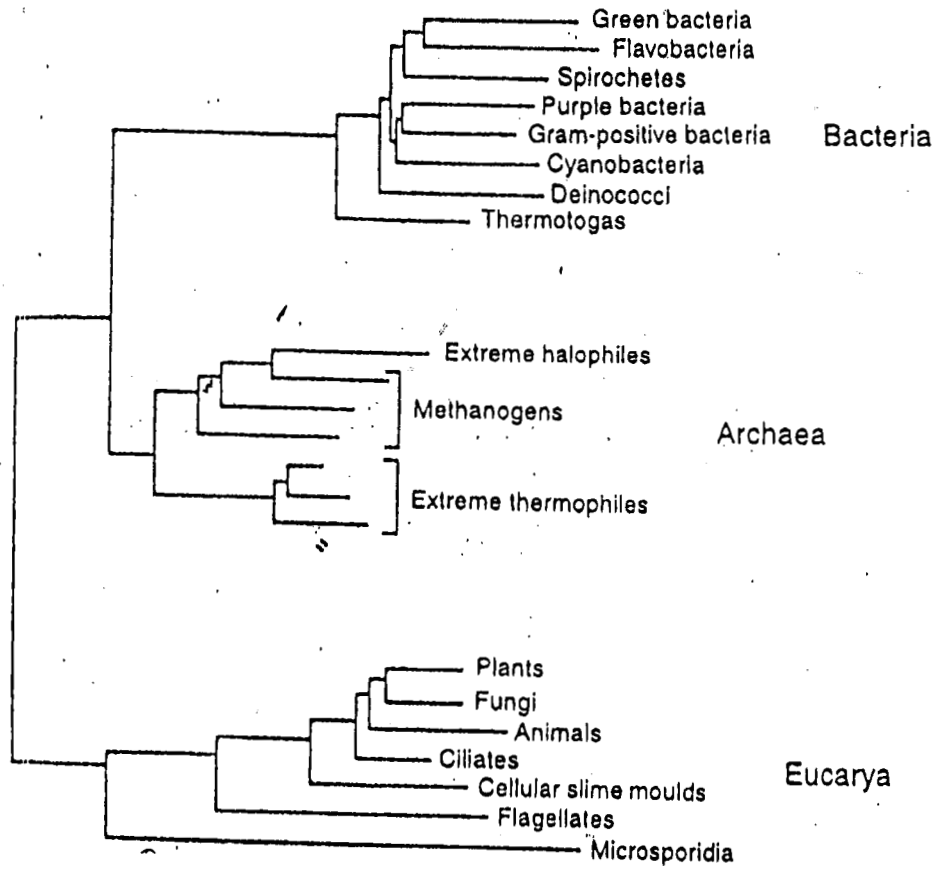
Group	Morphology	Size	Important Characteristics	Practical Significance
Bacteria		Typical: 0.5–1.5 μm by 1.0–3.0 μm Range: 0.2 by 100 μm	Procaryotic; unicellular, simple internal structure; grow on artificial laboratory media; reproduction asexual, characteristically by simple cell division	Some cause disease; some perform important role in natural cycling of elements which contributes to soil fertility; useful in industry for manufacture of valuable compounds; some spoil foods and some make foods
Viruses		Range: 0.015–0.2 μm	Do not grow on artificial laboratory media—require living cells within which they are reproduced; all are obligate parasites; electron microscopy required to see viruses	Cause diseases in humans, other animals, and plants; also infect microorganisms
Fungi: Yeasts		Range: 5.0–10.0 μm	Eucaryotic; unicellular; laboratory cultivation much like that of bacteria; reproduction by asexual cell division, budding, or sexual processes	Production of alcoholic beverages; also used as food supplement; some cause disease
Fungi: Molds		Range: 2.0–10.0 μm by several mm	Eucaryotic; multicellular, with many distinctive structural features; cultivated in laboratory much like bacteria; reproduction by asexual and sexual processes	Responsible for decomposition (deterioration) of many materials; useful for industrial production of many chemicals, including penicillin; cause diseases of humans, other animals, and plants
Protozoa		Range: 2.0–200 μm	Eucaryotic; unicellular; some cultivated in laboratory much like bacteria; some are intracellular parasites; reproduction by asexual and sexual processes	Food for aquatic animals; some cause disease
Algae		Range: 1.0 μm to many feet	Eucaryotic; unicellular and multicellular; most occur in aquatic environments; contain chlorophyll and are photosynthetic; reproduction by asexual and sexual processes	Important to the production of food in aquatic environments; used as food supplement and in pharmaceutical preparations; source of agar for microbiological media; some produce toxic substances

1.4 Maragulis และ Schwartz ในปี 1988 (Paul and Clark, 1996) แบ่งสมาชิกออกเป็น

1. Prokaryotae ประกอบด้วยอาณาจักร Monera
2. Eukaryotae ประกอบด้วย 4 อาณาจักร
   2.1. Protoctista สำหรับ protista
      2.1. Mycota สำหรับเชื้อรา
      2.2. Plantae
      2.3. Animalia

1.5 Woese (1987) แบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตโดยใช้ rRNA sequence ดังแสดงในรูปที่ 2 และตารางที่ 5 (Paul and Clark, 1996)

1. แบคทีเรีย (Bacteria)
2. กลุ่มอาร์เคีย (Archaea)
3. กลุ่มยูคาร์ริยา (Eukarya)



รูปที่ 2 การแบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตโดยใช้ **Universal phylogenetic tree**ที่นำเสนอ

โดย **Carl Woese (1987)**

ตารางที่ 5 การแบ่งชนิดแบคทีเรียในขั้น Phylum (Woese, 1987; Paul and Clark, 1996)

Purple bacteria
- α subdivision
  Purple nonsulfur bacteria, rhizobacteria, agrobacteria, rickettsia. *Nitrobacter*
- β subdivision
  Rhodocyclus, (some) *Thiobacillus, Alcaligenes, Spirillum, Nitrosovibrio*
- γ subdivision
  Enterics, fluorescent pseudomonads, purple sulfur bacteria, *Legionella*, (some) *Beggiatoa*
- δ subdivision
  Sulfur and sulfate reducers *(Desulfovibrio)*, myxobacteria, bedellovibrios

Gram-positive eubacteria
- A. High-G+C species
  Actinomyces, Streptomyces, Arthrobacter, Micrococcus, Bifidobacterium
- B. Low-G+C species
  Clostridium, Peptococcus, Bacillus, mycoplasmas
- C. Photosynthetic species
  Heliobacterium
- D. Species with Gram-negative walls
  Megasphaera, Sporomusa

Cyanobacteria and chloroplasts
Aphanocapsa, Oscillatoria, Nostoc, Synechococcus, Gleobacter, Prochloron

Spirochetes and relatives
- A. Spirochetes
  Spirochaeta, Treponema, Borrelia
- B. Leptospiras
  Leptospira, Leptonema

Green sulfur bacteria
Chlorobium, Chloroherpeton

Bacteroids, flavobacteria, and relatives
- A. Bacteroides
  Bacteroides, Fusobacterium
- B. Flavobacterium group
  Flavobacterium, Cytophaga, Saprospira, Flexibacter

Planctomyces and relatives
- A. Planctomyces group
  Planctomyces, Pasteuria
- B. Thermophiles
  Isocystis pallida

Chlamydiae
Chlamydia psittaci, C. trachomatis

Radioresistant micrococci and relatives
- A. Deinococcus group
  Deinococcus radiodurans
- B. Thermophiles
  Thermus aquaticus

Green nonsulfur bacteria relatives
- A. Chloroflexus group
  Chloroflexus, Herpetosiphon
- B. Thermomicrobium group
  Thermomicrobium roseum

1.6 Cavalier-Smith (1993) (Paul and Clark, 1996) แบ่งออกเป็น

1. Prokaryotae ประกอบด้วยอาณาจักร Monera
2. Eukaryotes ประกอบด้วย 4 อาณาจักร

2.4. Protoctista แบ่งออกเป็นโดยใช้ phylogenetic

2..1.1. Archezoa

2.1.2. Protozoa

2.1.3. Chromista

2.2. Mycota สำหรับเชื้อรา

2.3. Plantae

2.4. Animalia

จากการใช้ rRNA sequence ซึ่งเป็นวิธีที่ทันสมัยและเป็นวิธีการที่ใช้สารพันธุกรรมในการแบ่งชนิดซึ่งน่าจะเป็นวิธีที่แม่นยำมากกว่าวิธีอื่น ดังนั้นต่อไปนี้จะขอกล่าวถึงการแบ่งกลุ่มสิ่งที่ชีวิตโดยวิธี Woese ดังนี้

1. กลุ่มแบคทีเรีย (Bacteria) เป็นกลุ่มที่เรียกว่า eubacteria ที่ประกอบด้วย แบคทีเรียหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ลักษณะที่แตกต่างกันบางประการระหว่าง eubacteria และ archaeobacteria (Pelczar *et al.*, 1986)

Characteristic	Archaeobacteria	Eubacteria
Cell Walls		
Peptidoglycan containing muramic acid and D-amino acids is present	−	+
Lipids of Cytoplasmic Membrane		
Long-chain fatty acids bound to glycerol by ester linkages	−	+
Long-chain branched alcohols (phytanols) bound to glycerol by ether linkages	+	−
Properties Related to Protein Synthesis		
First amino acid to initiate a new polypeptide chain is		
Methionine	+	−
N-Formylmethionine	−	+
Translation process sensitive to action of		
Diphtheria toxin	+	−
Chloramphenicol	−	+

1. กลุ่มอาร์เคีย (Archaea)

เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีลักษณะพิเศษโดยเฉพาะอย่างยิ่งมีผนังเซลที่แตกต่างจากแบคทีเรีย (eubacteria) คือ ประกอบด้วย โปรตีน ไกลโคโปรตีน (glycoprotein) หรือ โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) แทนที่จะประกอบด้วย peptidoglycan เหมือนกับ eubacteria นอกจากนั้นยังมีลักษณะบางประการที่แตกต่างจาก eubacteria ดังแสดงในตารางที่ 6 (Pelczar *et al.*,1986) รวมทั้งมีความสามารถในการเจริญเติบโตในสภาวะที่ extreme ดังแสดงในตารางที่ 7 แบคทีเรียกลุ่มอาร์เคียสามารถแบ่งออกเป็น Kingdom และกลุ่มต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 7 แสดงสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของกลุ่มอาร์เคีย (Archea) บางกลุ่ม (Pelczar *et al.*,1986)

	Temperature (°C)	*pH*	*NaCl (M)*	*Aerobic*	*Anaerobic*
Euryarchaeotes					
Halobacterium halobium	40	7.3	4	+	−
Methanospirillum hungatei	34	7.0	0.01	−	+
Methanothermus fervidus	83	6.5	0.01	−	+
Thermoplasma acidophilum	60	1.5	tr	+	+
Archaeoglobus fulgidus	83	7.0	0.3	−	+
Pyrococcus furiosus	100	7.0	0.3	−	+
Crenarchaeotes					
Sulfolobus acidocaldarius	73	1.5	tr	+	+
Pyrodictium occultum	105	6.5	0.03	−	+
Thermoproteus tenax	88	5.5	tr	−	+

ตารางที่ 8 การแบ่งกลุ่มของ **Archea** ออกเป็นอาณาจักรต่างๆ **(Noll, 1992)**

Kingdoms and groups	ตัวอย่างของ *Archaea*
Kingdom euryarchaeota	
Extreme halophiles	*Halobacterium, Natronobacterium*
Methanogens	*Methanobacterium, Methanospirillum, Methanococcus*
Extreme thermophiles	*Archaeoglobus, Thermococcus, Thermoplasma*
Kingdom crenarchaeota	
Thermoacidophiles	*Sulfolobus,Acidothermus*
Strictly anaerobic crenarchaeotes	*Pyrodictium*

2. กลุ่มยูคาร์ริยา (Eucarya)

คือกลุ่มที่ประกอบด้วยพืชชั้นสูง (plants) เชื้อรา (fungi) สัตว์ (animals) โปรโต-ซัว (Protozoa) Slime molds และ Microsporidia ซึ่งเป็นกลุ่มใหญ่โดยเป็นกลุ่มที่เป็นชั้นสูงกว่าแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มดังที่กล่าวมาแล้ว

2. ชนิดของสิ่งมีชีวิตในดิน

ดินเป็นแหล่งของสิ่งมีชีวิตรวมทั้งจุลชีพต่างๆ ดังได้กล่าวมาแล้วได้แก่ ไวรัส แบคทีเรีย เชื้อรา สาหร่ายและโปรโตซัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินบริเวณที่มีสารอินทรีย์ปริมาณสูงจะทำให้มีจำนวนของจุลินทรีย์กลุ่ม heterotrophสูงด้วย โดยทั่วไปจะพบแบคทีเรียประมาณ 10^6-10^9 ต่อ 1 กรัมของดิน (Paul and Clark, 1996) ในดินที่อุดมสมบูรณ์มากๆขนาดเท่ากับสนามฟุตบอลนั้นๆจะมีจำนวนจุลชีพมากถึงน้ำหนักของวัวทั้งหมดที่อยู่ในสนามฟุตบอลนั้นๆ แต่ activities ของจุลชีพในบริเวณนั้นๆจะมีปริมาณถึง 100,000 เท่าของจำนวนของน้ำหนักของวัวเหล่านั้น

แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าจุลชีพในดินนั้นจะอยู่ในสภาพที่อดอยาก (starvation) และมีอัตราการสืบพันธุ์ (reproductive) ที่ต่ำ การศึกษาโดยการวัดกาซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ที่ปล่อยออกมาโดยจุลินทรีย์ จนกระทั่งมีการเติมสารอาหารเข้าไปในดินพวกจุลชีพจะมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วจนกว่าสารอาหารจะหมดลงและหลังจากนั้นอัตราการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ก็จะลดลงเพราะเข้าสู่สภาพที่อดอยากเหมือนเดิม (Paul and Clark, 1996)

ดังที่แสดงในตารางที่ 9 พบว่าจำนวนจุลชีพในดินมากที่สุดในดินบริเวณส่วนบนประมาณ 2-3 เซนติเมตรและจะลดลงตามความลึกของดิน การนับปริมาณของจุลชีพในดินมีอยู่หลายวิธี วิธีที่นิยมใช้วิธีหนึ่งคือ วิธี plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่วิธีนี้จะนับปริมาณของจุลินทรีย์ได้จำนวนที่ต่ำกว่าความเป็นจริงอย่างมากเพราะไม่มีอาหารเลี้ยงเชื้อแบบใดที่สามารถทำให้เชื้อในดินทุกชนิดเจริญได้ทั้งหมด

ตารางที่ 9 แสดงถึงจำนวนจุลชีพต่อ 1 กรัมของดินสวนในระดับความลึกต่างๆ กัน (Paul and Clark, 1996)

ความลึก (เซนติเมตร)	แบคทีเรีย	แอคทิโนมัยซีส	เชื้อรา	สาหร่าย
3-8	9,750,000	2,080,000	119,000	25,000
20-25	2,179,000	245,000	50,000	5,000
35-40	570,000	49,000	14,000	500
65-75	11,000	5,000	6,000	500
135-145	1,400	-	3,000	-

จุลชีพในดินทำหน้าที่ย่อยสลายพวกซากพืชซากสัตว์ต่าง ๆ และทำให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุและสารอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารโพลิเมอร์ของพืชเช่น เซลลูโลสและลิกนิน (Flanagan, 1978) แต่อย่างไรก็ตามพืชจะเป็นสมาชิกกลุ่มที่มีบทบาทต่อกระบวนการ primary productivity สูงสุด ไม่ใช่กลุ่มจุลชีพในดินซึ่งแตกต่างจากสิ่งแวดล้อมในน้ำที่จุลชีพจะมีอิทธิพลสูงมากต่อ primary productivity ในบทนี้เราจะมากล่าวถึงสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญต่อขบวนการในดิน

2.1 แบคทีเรีย (Bacteria)

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กที่สุดและเป็นจุลชีพในดินที่มากที่สุดทั้งชนิดและจำนวน โดยแบคทีเรียในดินมักจะยึดเกาะกับอนุภาคของดินเพราะในอนุภาคของดินจะมีประจุทั้งบวกและลบ อย่าง เช่น กรดฮิวมิค (humic acid) ดังนั้นเซลแบคทีเรียที่มีประจุลบก็จะเกาะกับอนุภาคดินนั้นได้ นอกจากนั้นจำนวนของแบคทีเรียขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น จำนวนอินทรียสารในดิน เพราะแบคทีเรียต้องใช้อินทรียสารเพื่อการเจริญเติบโต นอกจากนั้นพบว่า ในดินที่มีการเพาะปลูกพืชจะมีแบคทีเรียมากกว่าในดินที่ไม่มีการเพาะปลูกเพราะดินที่มีการเพาะปลูกจะได้รับอินทรียสารต่างๆที่รากขับออกมามากมาย สารเหล่านี้แบคทีเรียนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญและทวีจำนวนต่อไปได้

ในดินสวนทั่วๆไป 1 กรัมจะมีจำนวนแบคทีเรียประมาณล้านเซลล์ซึ่งประกอบด้วยมากกว่า 400 จีนัส (genus) และ 10,000 สปีชีย์ (species) โดยแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) จะพบในดินมากกว่าในน้ำจืดและน้ำทะเล ในขณะเดียวกันจำนวนของแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) ก็พบมากในดินด้วย แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของแบคทีเรียในดินจะมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนแบคทีเรียตามความเป็นจริงในดินเนื่องจากแบคทีเรียบางกลุ่มเท่านั้นที่สามารถเจริญ

แบคทีเรียที่มักพบในดินได้แก่ *Acinetobacter, Agrobacterium, Alcaligenes, Arthrobacter, Bacillus, Brevibacterium, Caulobacter, Cellulomonas, Clostridium, Corynebacterium, Flavobacterium, Micrococcus, Mycobacterium, Pseudomonas,*

Staphylococcus, Streptococcus และ *Xanthomonas* ส่วนปริมาณของแบคทีเรียแต่ละชนิดจะพบแตกต่างกันในดินแต่ละชนิด (Alexander, 1977)

นอกจากนั้นยังสามารถพบ Myxobacteria ในดินและในป่าบริเวณที่มีใบไม้ทับถมกันอยู่ (forest litter) ตัวอย่างของแบคทีเรียกลุ่ม Myxobacteria ที่พบในดินเช่น *Myxococcus, Chondrococcus, Archangium* และ*Polyangium* รวมทั้งมีแบคทีเรียกลุ่มที่สามารถเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนให้เป็น fixed nitrogen โดยขบวนการ nitrogen fixation ยกตัวอย่างเช่น *Azotobacter* เป็นแบคทีเรียกลุ่มไนโตรเจนที่พวกสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ นำไปใช้ได้ heterotrophic free-living ที่อาศัยอยู่ในดิน *Clostridium, Rhizobium,* และ *Bradyrhizobium*

2.1.2 แบคทีเรียสีม่วง (Purple bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้ประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมลบหลายชนิดทั้งheterotrophs, chemolithotrophs และ แบคทีเรียกลุ่มนี้มีประโยชน์ต่อพืชหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่ม Pseudomonads คือ

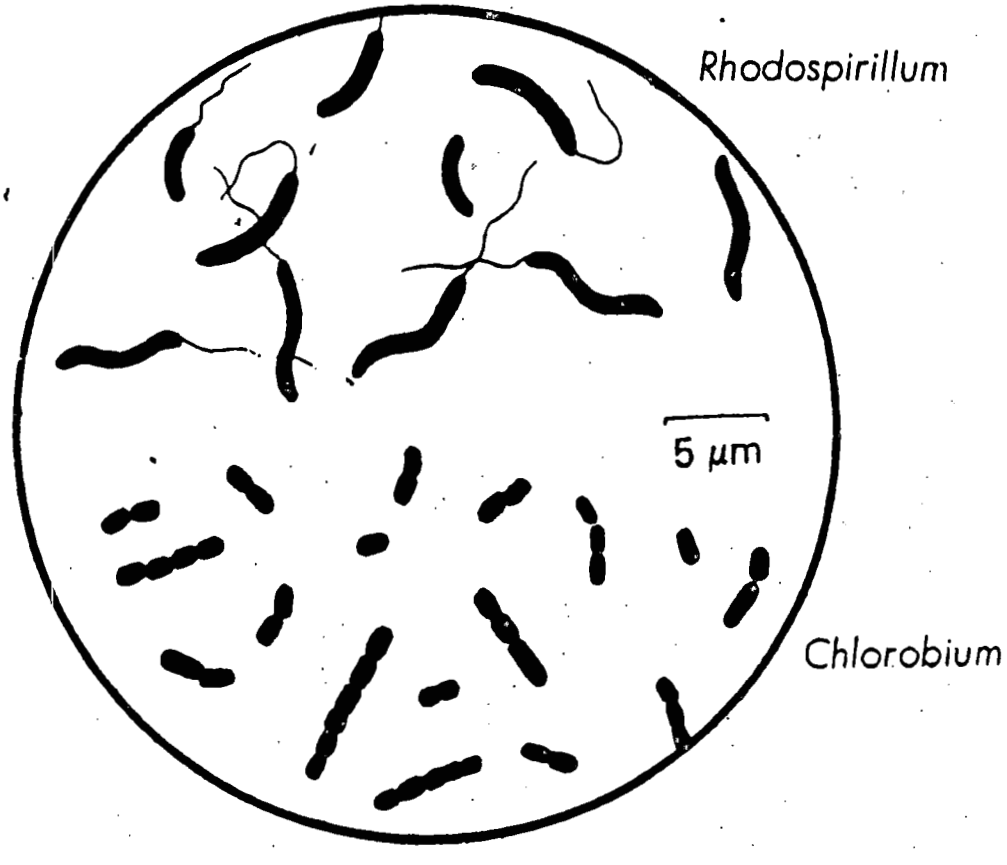
1. ควบคุมพวกแบคทีเรียที่ก่อโรคในพืช โดยผลิตซิเดอร์โรฟอร์ (siderophores) ที่สามารถจับเหล็กได้ ดังนั้นในดินที่มีปริมาณเหล็กจำนวนเล็กน้อย (มีฤทธิ์เป็นด่าง) แบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้เหล็กจนหมดทำให้แบคทีเรียก่อโรคขาดเหล็กทำให้ไม่สามารถเจริญเติบโตได้
2. ทำลายแบคทีเรียก่อโรคในพืชโดยสร้างสารเซลลูโลสและ pectinase
3. สร้างสารที่ช่วยให้เจริญเติบโต (growth stimulants) เช่น สาร ethylene และ indoleacetic acid
4. ไดอะโซโทรฟิคไรโซเบีย (Diazotrophic rhizobia) ทำให้เกิด nodules บนรากของพวกพืชตระกูลถั่ว (legumes) ดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มนี้จึงถูกตั้งชื่อว่า *Rhizobium* และ *Bradyrhizobium*

Purple bacteria ที่มีแคโรทีนอยส์ (carotenoid) และแบคทีริโอคลอโรฟิลล์ (bacteriochlorophylls) ในเมมเบรนทั้งบริเวณไซโตพลาสซึมและภายในชั้นของเยื่อ

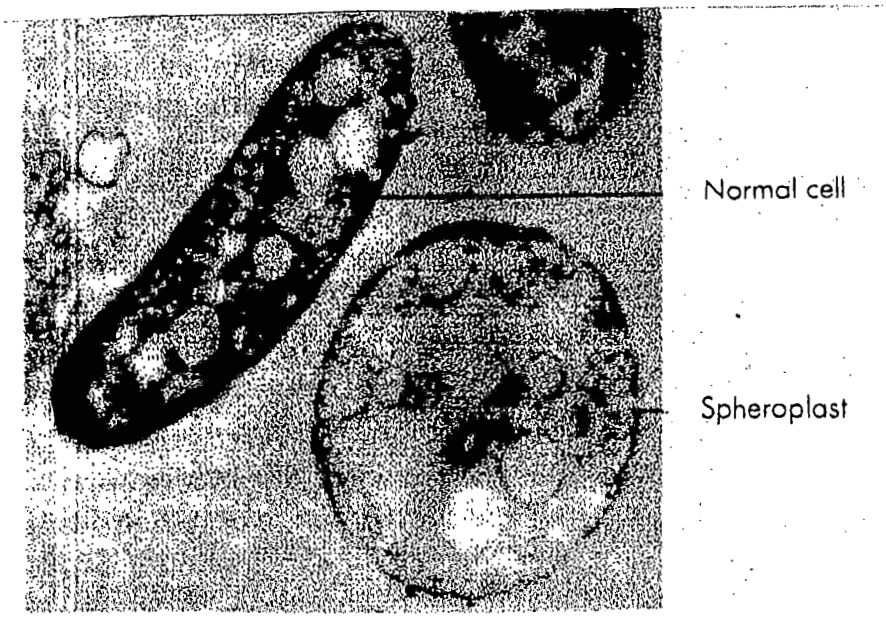
เมมเบรน (cytoplasmic and intracytoplasmic membranes)] ที่ออกซิไดซ์ซัลเฟอร์

2.1.2 Purple nonsulfur bacteria

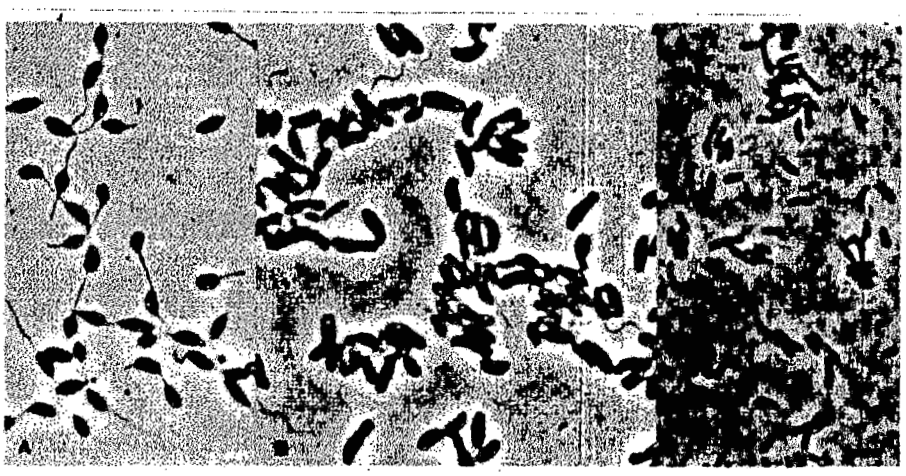
Purple bacteria กลุ่มที่ไม่สามารถออกซิไดซ์ซัลเฟอร์เรียกว่ากลุ่ม Purple nonsulfur bacteria) ยกตัวอย่าง เช่น *Rhodospirillum* (รูปที่ 3 และ 4), *Rhodopila, Rhodobacter, Rhodopseudomonas* (รูปที่ 5B และ C), *Rhodomicrobium* (รูปที่ 5A) และ *Rhodocyclus*



รูปที่ 3 แสดงถึงรูปวาดของ *Rhodospirillum* และ *Chlorobium* (Pelczar *et al.*, 1986)



รูปที่ 4 *Rhodospirillum rubrum* ที่ถ่ายโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่แสดงถึงเม็ด *poly-β* –hydroxybutyrate (Pelczar *et al.*, 1986)



รูปที่ 5 แสดงถึงรูปของ family *Rhodospirillaceae*

(A) Rhodomicrobium vannielli เป็นแบคทีเรียกลุ่ม prosthecate budding species

(B) Rhodopseudomonas acidophila เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่เป็น nonprosthecate budding species

(C) Rhodopseudomonas palustris เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่เป็น nonprosthecate budding species มีขนาดของเซลล์แคบหรือบางกว่า

Purple bacteria เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่สำคัญมากต่อนิเวศวิทยายกตัวอย่าง เช่น พวกไนตริไฟอิงแบคทีเรีย (nitrifying bacteria) รวมทั้งแบคทีเรียกลุ่มที่ออกซิไดซ์เหล็กและแมงกานีส

1. ส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่ม photoheterotroph และเจริญในสภาวะไร้ออกซิเจน
2. กลุ่ม photolithotroph และใช้ก๊าซไฮโดรเจน
3. กลุ่มที่ใช้ซัลไฟด์ (sulfide) หรือ elemental sulfur เป็นตัวให้อิเลคตรอนและใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน

2.4 แบคทีเรียสีเขียวที่ออกซิไดซ์ซัลเฟอร์ (Green sulfur bacteria)

กลุ่มแบคทีเรียกลุ่มนี้มีลักษณะรวม ๆ คือ

1. แบคทีเรียกลุ่มที่ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานและใช้สารอนินทรีย์เป็นแหล่งของคาร์บอน (obligately photolithotroph)
2. เจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีอ๊อกซิเจน (anaerobes)
3. กลุ่มที่อ๊อกซิไดซ์ซัลไฟด์ (sulfide) และ สร้าง S_0 globules ภายนอกเซลหลังจากนั้น S_0 globules นี้จะถูกซึมซับเข้าไปในเซลและถูกอ๊อกซิไดซ์ไปเป็นซัลเฟต
4. ทุกจีนัสในเชื้อกลุ่มนี้สามารถสังเคราะห์แสงและผลิตสารอินทรีย์ (photoassimilation)ที่มีโครงสร้างง่ายๆถ้าในสิ่งแวดล้อมนั้นๆมีซัลไฟด์และไบคาร์บอเนตอยู่ด้วย
5. แหล่งที่พบ Green sulfur bacteria คือ บริเวณที่ไม่มีกาซอ๊อกซิเจนหรือบริเวณที่มีสารซัลไฟด์ เช่น ดินโคลน น้ำจืดและน้ำทะเล

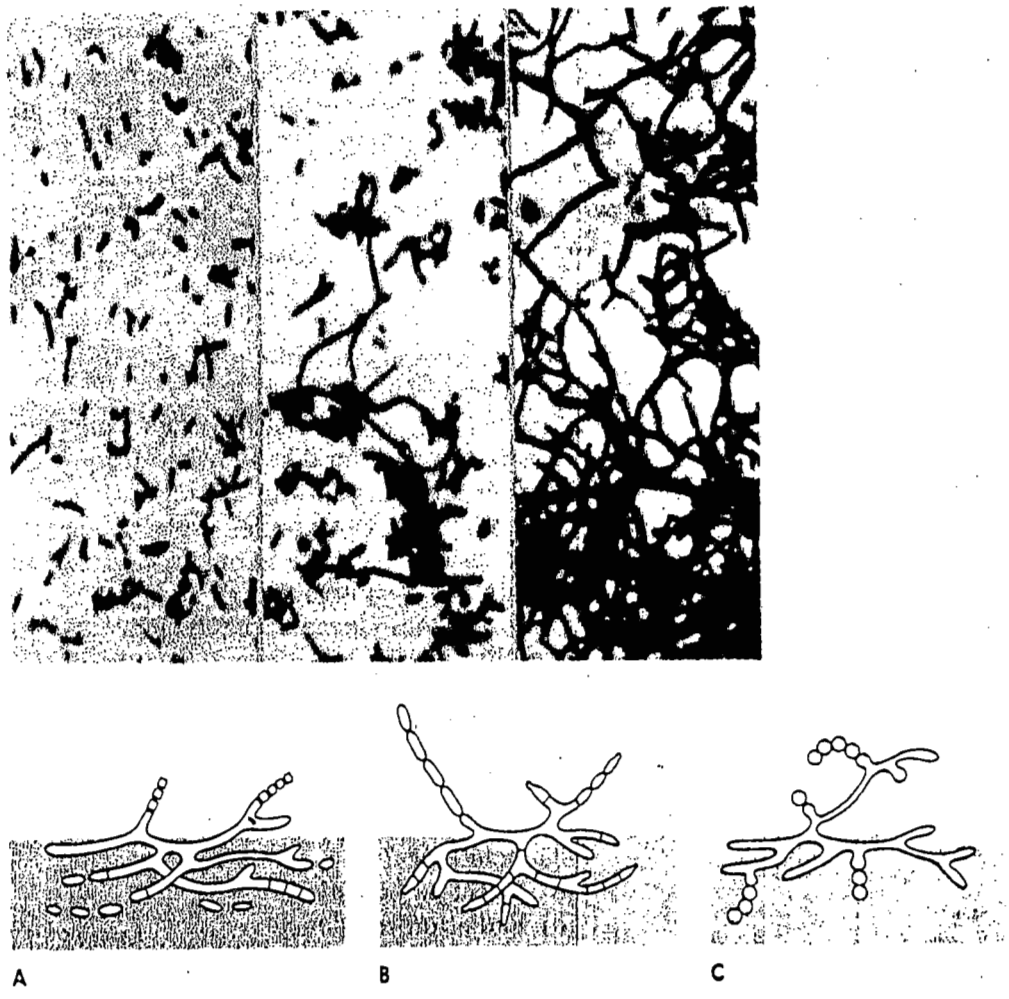
3. แอคทิโนมัยซีเทส (Actinomycetes)

แอคทิโนมัยซีเทสเป็นแบคทีเรียแต่มักจะถูกแยกออกมาศึกษาออกจากแบคทีเรียทั่วไปเนื่องจากแอคทิโนมัยซีเทสจะมีลักษณะพิเศษคือมีรูปร่างแบบฟิลาเม้นที่ต่อเป็นเส้นยาว (long filament) ซึ่งมีลักษณะคล้ายเชื้อราแต่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่าเชื้อรา จากลักษณะรูปร่างแบบนี้ชีวมวล (biomass) คือ จำนวน total mass ของสิ่งมีชีวิต

1. ในสภาวะที่แห้ง ฟิลาเม้น (filament) ของแอคทิโนมัยซีเทสจะเชื่อมโยงระหว่างก้อนดิน 2 ก้อน
2. ฟิลาเม้นของแอคทิโนมัยซีเทสจะทำให้เชื้อมีพื้นที่ผิวมากที่สุดเมื่อเทียบกับรูปร่างแบคทีเรียแบบอื่นๆซึ่งจะทำให้มีประโยชน์ต่อการดูดอาหาร

แอคทิโนมัยซีเทสจะพบในดินประมาณ 10-33 เปอร์เซนต์ของแบคทีเรียในดิน (Alexander, 1977) กลุ่มที่พบมากที่สุดในดินคือ *Streptomyces* (รูปที่ 6) และ *Nocardia* ดังแสดงในรูปที่ 7 ส่วนกลุ่มที่อาศัยอยู่ในดินแต่มีปริมาณน้อยๆคือ *Micromonospora, Actinomyces* (รูปที่ 8) และ Actinomycetes อื่นๆ ในดินที่มีแอคทิโนมัยซีเทส จะมีกลิ่นเหม็นอับเนื่องจากแอคทิโนมัยซีเทสเป็นแบคเรียที่สามารถสร้างสารที่เรียกว่าจีโอสมิน (geosmin) ที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นอับ (musty)

รูปที่ 6 *Streptomyces viridochromegenes* โดยแสดงส่วนของสปอร์ที่ปลาย และเป็นรูปเกลียว (coil) ที่เรียกว่า conidia และมีส่วนก้านเรียก hyphae (Pelczar *et al.*, 1986)

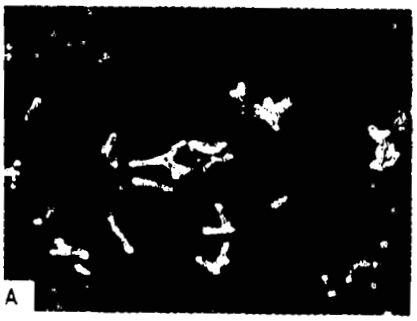


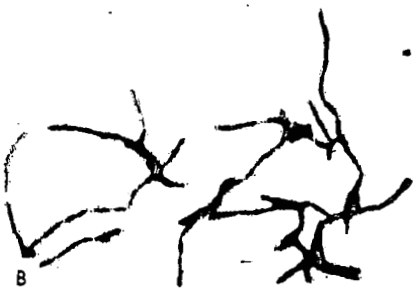
รูปที่ 7 รูปวาดของ *Nocardia asteroides* (Pelczar *et al.*, 1986)

(a) แสดงการเกิด fragmentation และส่วนสปอร์แบบ aerial chain

(b) แสดงรูปของ pseudonocardia ที่แสดงถึงส่วน hyphae และ aerial chain ของ cylindrical spore

(c) แสดง Micropolyspora ที่มีสปอร์ทั้งแบบ aerial และ substrate mycelium





รูปที่ 8 แสดงถึงรูปของ *Actinomyces israelii* (Pelczar *et al.*, 1986)

(a) จากวิธี dark-field ทำให้เห็นรูปร่างแบบ V และ Y

(b) จากการย้อมสีแกรม แสดงถึงรูปร่างเป็นเส้นสาย กิ่งก้านและไม่มีรูปร่าง

(c) จากการย้อมสีแกรม เห็นการรวมตัวกันของ *Actinomyces israelii* เป็นกระจุก

Actinomycetes ค่อนข้างทนต่อความแห้งแล้งดังนั้นจึงสามารถรอดชีวิตได้ในสภาวะที่แห้งแล้งมากเช่น ดินในทะเลทราย นอกจากนั้นยังชอบที่จะเจริญเติบโตในสภาวะที่เป็นด่างหรือเป็นกลางแต่ไม่ทนในสภาวะที่เป็นกรด แอคทิโนมัยซีเทสได้รับความสนใจมากขึ้นเมื่อมีการค้นพบว่าบางจีนัสของแอคทิโนมัยซีเทส เช่น *Streptomyces* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ

3. เชื้อรา (Fungi)

เชื้อราที่พบในดินมีปริมาณที่น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียและแอคทิโนมัยเซส แต่อย่างไรก็ตามการนับปริมาณของเชื้อราได้มาจากการใช้ plate count ซึ่งอาศัยการนับโคโลนีของเชื้อราที่มีความสามารถงอกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นปริมาณที่นับได้จึงอาจจะต่ำกว่าความเป็นจริง โดยทั่ว ๆไปเราสามารถพบ เชื้อราเกือบทุกชนิดในดิน และส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดิน เชื้อรานั้นอาจจะอาศัยในดินในลักษณะที่เป็นอิสระ (free-living organisms) หรือมีความสัมพันธ์กับรากพืช

เชื้อราพบมากบริเวณหน้าดินประมาณ 10 เซนติเมตรและพบได้น้อยมากที่ดินลึกมากกว่า 30 เซ็นติเมตร โดยเชื้อราจะพบมากในดินที่มีอากาศถ่ายเทและดินที่เป็นกรด ยกตัวอย่างของเชื้อราในดินที่พบบ่อย เชื้อราเมื่ออยู่ในดินจะอยู่ในสภาพ dormancy บางชนิดสามารถอยู่ในสภาพ dormancy ได้นานเป็นสิบๆปี เมื่อไม่สารอาหารที่เหมาะสม เชื้อราเหล่านี้ก็จะคงสภาพอยู่ใน dormancy และไม่ active dormancy ของเชื้อรามีหลายประเภทคือ sporangiospores, conidia, oospores, ascospores, basidiospores, chlamydospores และ sclerotia ซึ่งอาจจะรวมถึงไมซีเลียมของเชื้อราที่อยู่ในสภาพ dormancy ด้วย

ในดินจะมีสารที่ยังยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราซึ่งเรียกว่าfungistasis fungistasis สามารถพบได้ในดินทั่วไปยกเว้นดินที่อยู่ลึกๆหรืออดินที่เป็นกรดมากๆและดินที่มีความเย็นสูง การยับยั้ง fungistasis ได้โดยการเติมสารอินทรีย์ที่ย่อยง่ายลงไปในดินนั้นแล้วเชื้อราที่ dormancy จะมีการงอกหรือมีเมตาบอลิซึมที่ active ขึ้น

fungistasis สามารถกำจัดได้โดยการ sterilization การศึกษาเกี่ยวกับ fungistasis ยังเป็นที่น่าสนใจเพราะยังไม่ค่อยทราบเกี่ยวกับธรรมชาติของสารนี้

ยีสต์เป็นเชื้อที่พบได้ในดินโดยทั่วไปและส่วนใหญ่ยีสต์จะเป็นจุลชีพที่เป็นเชื้อพลัดถิ่นในดินไม่ใช่เชื้อที่อาศัยอยู่ในดินแต่จะเป็นชนิดที่ติดมากับพืชที่เป็นโรค จะเจริญเติบโตในดินเมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น มีความชื้นพอสมควร มีอากาศถ่ายเท และมีสารอาหาร (สารตั้งต้น) ที่มากพอ เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนของ mold พบว่ายีสต์จะมีจำนวนน้อยกว่า แต่มีปริมาณ Biomass ของเชื้อราจะสูงโดยเทียบเท่ากับ Biomass ของแบคทีเรียและแอคทิโนมัยซีเทสรวมกันทั้งนี้เป็นเพราะเชื้อรามีไมซีเลียมซึ่งมี dimension สูงกว่าเซลล์ของแบคทีเรีย

4. สาหร่าย (Algae) และไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria)

จุลชีพทั้งสองกลุ่มนี้สามารถพบได้ในดินทั่วไปแม้แต่ในดินที่แห้งแล้งมาก เช่น ทะเลทราย เนื่องจากจุลชีพกลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่สังเคราะห์แสงดังนั้นจึงมักจะพบบนผิวดินเมื่อมีปัจจัยที่เหมาะสมคือ แสงแดด น้ำและกาซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ทำให้สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าบนผิวดิน แต่อย่างไรก็ตามยังพบจุลชีพกลุ่มนี้ได้ในดินที่อยู่ลึกถึง 50 เซนติเมตรสาหร่ายที่พบว่าอาศัยอยู่ในดินคือกลุ่ม*Chlorophycophyta, Rhodophycophyta, Euglenophycophyta* และ *Chrysophycophyta* ส่วนใหญ่สาหร่ายจะสามารถพบได้ในพื้นผิวดินหรือใต้ดินแค่ลึกลงไปเป็นมิลลิเมตร อาจพบจำนวน 10^6 เซลล์ของสาหร่ายต่อดิน 1 กรัม สาหร่ายพบว่าเป็นจุลชีพที่อาศัยอยู่ที่พื้นผิวดินแต่จะเป็นเชื้อพลัดถิ่นในดินที่ลึกลงไปและจะถูกกินโดยสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ สาหร่ายส่วนใหญ่ในดินจะมีขนาดเล็กและเป็นชนิดเซลล์เดียว (Atlas and Bartha, 1998) ตัวอย่างของ cyanobacteria ที่พบได้ในดินที่สำคัญ คือ *Anabaena,Colothrix, Chroococcus, Cylindrospermum, Lyngbya, Microcoleus, Nodularia, Nostoc, Oscillatoria, Phormidium, Plectonema, Schizothrix, Scytonema, และTolypothrix*

จุลชีพเหล่านี้จะทำประโยชน์ให้กับสิ่งแวดล้อมบริเวณนั้นเช่น การตรึงไนโตรเจนจากอากาศโดยบางสปีชีย์ของ cyanobacteria เช่น *Nostoc* ในเขตทุ่งหญ้า ทุนดราและในบริเวณทะเลทรายที่มีฝนตกซึ่งจะทำให้ดินบริเวณดังกล่าวมีความอุดมสมบูรณ์มากขึ้น

5. โปรโตซัว

โปรโตซัวพบมากในดินเช่นกันโดยจะเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ชนิดที่อาศัยอยู่อย่างอิสระ (Free-living protozoa) มีขนาดเล็กและมีความหลากหลายของชนิดน้อยเมื่อเทียบกับโปรโตซัวที่พบในน้ำ โปรโตซัวชนิดที่มีแฟลกเจลล่าจะมีจำนวนที่มากกว่าชนิดอื่นในดิน โปรโตซัวสามารถพบได้ประมาณ 10^4-10^5 ต่อดิน 1 กรัม โดยจะอยู่ในสภาวะซีสต์ถ้ามีสภาพอากาศที่ไม่เหมาะสม เนื่องจากโปรโตซัวกินแบคทีเรียเป็นอาหาร ดังนั้นจำนวนของโปรโตซัวจะมากหรือน้อยจะขึ้นอยู่กับปริมาณของแบคทีเรียที่มีในดินบริเวณนั้น โปรโตซัวพบได้ในบริเวณใกล้กับพื้นผิวของดินประมาณ 15 เซนติเมตรของความลึกของดิน เนื่องจากโปรโตซัวส่วนใหญ่จะต้องการปริมาณอ๊อกซิเจนในการหายใจปริมาณที่สูงดังนั้นจึงทำให้โปรโตซัวไม่สามารถอาศัยอยู่ในดินที่มีความลึกมาก

3. จุลชีพในดินที่ทำให้เกิดโรค

จุลชีพก่อโรคที่พบในดินสามารถจำแนกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ โดยขึ้นอยู่กับกลุ่ม host ที่ก่อโรค คือ จุลชีพก่อโรคในคนส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มปรสิตหรือเป็นกลุ่มที่ต้องอาศัยอยู่ใน host และจะไม่อาศัยอยู่ในดิน เช่น พวกแบคทีเรียก่อโรค *Salmonella* จะสามารถทนอยู่ในดินได้ประมาณ 2-3 อาทิตย์เท่านั้นหลังจากที่มีการนำไปปนเปื้อนในดิน (Paul and Clark, 1996)

แบคทีเรียอีกกลุ่มหนึ่งที่มักจะก่อโรคในพืช เช่น *Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria (Xcv)* ทำให้ใบและผลของมะเขือเทศและพริกเป็นจุด นอกจากจะเป็นการทำให้รายได้ต่ำลงเนื่องจากใบและผลเกิดอาการเป็นจุดดังได้กล่าวมาแล้วยังพบว่าแบคทีเรียยังสามารถอาศัยอยู่ในเมล็ดของมะเขือเทศอีกด้วยซึ่งจะทำให้เมล็ดมีมูลค่าทางเศรษฐกิจลดลง นอกจากนั้นยังพบแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในพืชที่เรียกว่า โรคเหี่ยวเขียวในต้นมะเขือเทศคือ *Ralstonia solanacedrum (Rs)* (วัลลา, 2000)

แบคทีเรียที่สามารถทนอยู่ในดินได้นานมักจะเป็นกลุ่มที่สามารถสร้างสปอร์ยก ตัวอย่างเช่นพวก *Bacillus antracis* ซึ่งจะทำให้เกิดโรคแอนแทร็กซ์ในสัตว์สามารถทนอยู่ได้นานถึง 10 ปีและยังสามารถงอกในสัตว์ ถ้าสัตว์นั้นกินพวกสปอร์เหล่านี้เข้าไป ดังนั้นการทำลายสัตว์ที่ติดโรคแอนแทรกซ์จึงต้องมีการระมัดระวังในการจำกัดซากสัตว์ที่ติดโรคเพราะในซากสัตว์เหล่านั้นจะมีสปอร์ของ *Bacillus anthracis* (สาเหตุของโรคบาดทะยัก) ปนเปื้อนอยู่ (Paul and Clark, 1996)

Clostridium ก็เป็นอีกจีนัสหนึ่งที่มีการสร้างสปอร์ *Clostridium* หลายสปีชีส์ที่ก่อให้เกิดโรคต่อคน เช่น *Clostridium tetani* (สาเหตุของโรค tetanus), *Clostridium botulinum* (สาเหตุของโรค botulism) และ *Clostridium perfringens* (สาเหตุของโรค gas gangrene) แบคทีเรียเหล่านี้เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่อาศัยอยู่ในดิน และสามารถทำให้เกิดโรคได้ถ้ามีการปนเปื้อนเชื้อโรคเหล่านี้ในอาหารหรือในบาดแผลเชื้อโรคเหล่านี้จะมีการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษออกมาจุลชีพก่อโรคในพืชส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อกลุ่มที่อาศัยอยู่ในดินและส่วนใหญ่เชื้อกลุ่มนี้จะเป็นเชื้อราเนื่องจากเชื้อราสามารถเจริญในพื้นผิวของพืชซึ่งจะมีความชื้นค่อนข้างต่ำ พวกอาการ rusts, smuts, blights, and wilts ที่ทำลายพวกพืชจะมีสาเหตุมาจากเชื้อราที่มีช่วงชีวิตผ่านมาในดิน (Paul and Clark, 1996)

ส่วนพวกแบคทีเรียที่ก่อโรคในพืชนั้นจะมีน้อยแต่ก็สามารถเกิดขึ้นได้และทำให้เกิด rots ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้จะปล่อยเอนไซม์ออกมาไฮโดรไลซ์พวกเนื้อเยื่อพืช ไวรัสก็สามารถทำให้เกิดโรคในพืชได้เช่นกันโดยมีการชอนไชเข้าไปในผนังเซลล์ของพืชโดยใช้แมลงที่กินน้ำหวานของพืช (a sap-feeding insect) จุลชีพบางกลุ่มในดินที่ก่อโรคในแมลงและมีความพยายามที่จะนำมาใช้ในการทำลายแมลงแทนที่ยาฆ่าแมลงหรือที่เรียกว่า biological pesticides หรือ microbial control agents ยกตัวอย่างเช่น *Bacillus thuringiensis* หรือที่เรียกว่า Bt ที่สามารถก่อโรคใน larvae ของแมลงหลายชนิดและได้นำมาใช้ในการควบคุมแมลงเหล่านั้นแล้วในปัจจุบัน แต่อย่างไรก็ตามการนำเอา microbial control agents ชนิดต่างๆรวมทั้ง Bt มาใช้ในชีวิตประจำวันในประเทศไทยต้องมีคือ

1. ผลิตภัณฑ์ต้องมีราคาเหมาะสมต่อการนำมาใช้ทดแทนยาฆ่าแมลงที่อยู่ในรูปของสารเคมีต่างๆ
2. ผลิตภัณฑ์ต้องมีประสิทธิภาพสูงเทียบเท่ากับสารเคมี
3. เทคนิคที่จะนำมาใช้ในการฉีดสารชนิดนี้ต้องไม่ยุ่งยากหรือต้องสามารถนำเอาเทคนิคที่ใช้ในการฉีดสารเคมีมาประยุกต์ใช้ได้ ในปัจจุบันชาวไร่ชาวนาไทยได้ใช้เครื่องฉีดที่มีทั้งปริมาณและความดันที่ใช้ในการฉีดยาฆ่าแมลงที่เป็นสารเคมีแต่การใช้เครื่องฉีดชนิดนี้ทำให้มีการควบคุมทั้งปริมาณ อัตราที่เหมาะสม (dose) และขนาดของหยดน้ำขณะที่ฉีด ไม่เหมาะต่อการฉีด microbial control agents

ในประเทศคานาดาและประเทศอื่นๆที่ประสบผลสำเร็จในการใช้ microbial control agents คือใช้ปริมาณสารที่เข้มข้นและไม่ต้องเจือจางพร้อมทั้งฉีดด้วยวิธี ultra-low application volumes โดยใช้ 1-2 กิโลกรัมของสาร microbial control agents ต่อ 1.5-2.5 ลิตรต่อ ป๋า 6.25 ไร่ (1 hectare หรือ ha.) หรือใช้มากกว่า 500 ลิตรต่อพื้นที่ของการเพาะปลูก 6.25 ไร่ (Biotec news, 2000) นอกจากกลุ่ม Bt ยังได้มีการศึกษาการใช้เชื้อราและไวรัสเพื่อนำไปใช้ในการควบคุมแมลง

เอกสารอ้างอิง

วัลลา ดิฐพงษ์พิชญ์ (2000) การพัฒนาและใช้เทคนิคดีเอ็นเอสำหรับตรวจหาแบคทีเรียที่สำคัญของมะเขือเทศและพริก *In* Biotec News 6(7):6-6.

Alexander M (1977) Microorganism in their natural habitats: Air, water, and soil Microbiology. *In* Microbial ecology: fundamentals and applications. 4th ed. Atlas RM Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.372.

Atlas RM and Bartha R (1998) Microbial ecology: fundamentals and applications. 4th ed. Addison Wesley Longman, Inc., California. p.374.

Biotec News (2000) Use of microbial agents for control of insect pests in Thailand 6(2): 1-3.

Domsch KH Gams W and Anderson TH (1980) Microorganism in their natural

habitats: Air, water, and soil microbiology. *In* Microbial ecology: fundamentals and applications. 4th ed. Atlas RM Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.372.

Flanagan PW (1978) Microorganism in their natural habitats: Air, water, and soil Microbiology. In Microbial ecology: fundamentals and applications. 4th ed. Atlas RM Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.374.

Gilman JC (1945) Microorganism in their natural habitats: Air, water, and soil Microbiology. *In* Microbial ecology: fundamentals and applications. 4th ed. Atlas RM Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.372.

Nool KM (1992) Archaebacteria (Archaea) Encyl Microbiol 1:149-156.

Paul EA and Clark FE (1996) Soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. Academic Press, San Diego. p.72

Tortora GJ Funke BR and Case CL (1982) Microbiology an introduction. 3rd Ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., NY.

Woese CR (1987) Bacterial evolution. Microbiol Rev 51:221-271.

บทที่ 4
วัฏจักรคาร์บอน ออกซิเจน และไฮโดรเจน
(Carbon, Oxygen and Hydrogen cycles)

หัวข้อ

- **วัฏจักรทางชีวเคมี (Biogeochemical cycle)**
- **แหล่งสะสมของสาร (Reservoirs)**
- **วัฏจักรคาร์บอน (Carbon cycle)**
- **วัฏจักรออกซิเจน (Oxygen cycle)**
- **วัฏจักรไฮโดรเจน (Hydrogen cycle)**
- **ความสัมพันธ์ของวัฏจักรคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน (Interrelation of the biogeochemical cycles of carbon, hydrogen and oxygen)**

1. วัฏจักรทางชีวเคมี (Biogeochemical cycle)

คือการเปลี่ยนแปลงและเคลื่อนย้ายสารด้วยปฏิกิริยาทางชีวเคมีในบรรยากาศ น้ำและดินของสารเกิดขึ้นทั่วโลก วัฏจักรที่เกิดขึ้นรวมทั้งการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น การละลาย การตกผลึก การระเหยและการตรึง การเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น การสร้างสารโดยสิ่งชีวิต การย่อยสลายและการเปลี่ยนแปลงโดย oxidoreductive biotransformation หรือมีการผสมผสานของการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพกับทางเคมี ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ทำให้พวกสารต่างเคลื่อนย้ายจากดินไปสู่บรรยากาศหรือ อาจจะเคลื่อนย้ายจากน้ำไปสู่ตะกอน (Atlas and Bartha, 1998) ทำให้มีผลกระทบต่อ ธรณีวิทยาและสิ่งแวดล้อมโดยส่วนรวม

สิ่งมีชีวิตทุกชนิดมีส่วนร่วมในการเปลี่ยนแปลงสารเหล่านี้แต่จุลชีพเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะพิเศษและมีความสามารถในกระบวนการเกิดเมตาบอลิซึม อย่างกว้างขวาง รวมทั้งเพราะมีเอนไซม์หลายชนิด มีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีหลายรูปแบบ (Pomeroy, 1984; Jorgensen, 1989) โดยมีแหล่งพลังงานอยู่ 2 แหล่งใหญ่ คือ พลังงานแสงอาทิตย์จะเป็นแหล่งที่ให้พลังงานทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีอาจจะเป็นทางตรงหรือทางอ้อม (Woodwell, 1970) นอกจากนั้นยังมีแหล่งพลังงานอื่นคือ reduced minerals

สารแต่ละชนิดจะมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกัน แต่สารที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต เรียกว่า biogenic elements ดังได้แสดงในตารางธาตุ (ตารางที่ 1) ใน 5 แถวแรก (Frieden, 1972; Mertz, 1981) โดยธาตุดังกล่าวมีความจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตในรูปแบบต่างๆ ที่ปรากฏในสิ่งแวดล้อม (ตารางที่ 2) ยกตัวอย่างเช่น ธาตุ 6 ชนิดที่สำคัญต่อสิ่งชีวิตคือ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์ จะเป็นสารที่มีการเปลี่ยนแปลงในวัฏจักรทางชีวเคมีอย่างมาก นอกจากนั้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีสำหรับสารแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับปริมาณสารนั้น ๆ ที่เป็นส่วนประกอบใน biomass ของสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย

ตารางที่ 1 แสดงถึงสารที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต (biogenic elements)ที่แบ่งตามระบบ periodic (Brock, 1994)

Period number				
1	**2**	**3**	**4**	**5**
[1H]	3Li	$11Na^+$	$19K^+$	37Rb
	4Be	$12Mg^+$	$20Ca^+$	38Sr
			21Sc	39Y
			22Ti	40Zr
			23V	41Nb
			24Cr	42Mo
			25Mn	43Tc
			26Fe	44Ru
			27Co	45Rh
			28Ni	46Pd
			29Cu	47Ag
			30Zn	48Cd
	5B	13Al	31Ga	49In
	[6C]	14Si	32Ge	50Sn
	[7N]	[15P]	33As	51Sb
	[8O]	[16S]	34Se	52Te
	9F	17Cl	35Br	53I
2He	10Ne	18Ar	36Kr	54Xe

ตารางที่ 2 ธาตุที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตที่สะสมในสิ่งแวดล้อม

ธาตุ	รูปแบบของที่สะสมในสิ่งแวดล้อม
C	Carbon dioxide (CO_2)
	Organic compounds
H	Water (H_2O)
	Organic compounds
O	Water (H_2O)
	Oxygen gas (O_2)
N	Ammonia (NH_3)
	Nitrate (NO_3^-)
	Organic compounds (e.g., amino acids)
P	Phosphate (PO_4^{3-})
S	Hydrogen sulfide (H_2S)
	Sulfate (SO_4^{2-})
	Organic compounds (e.g., cysteine)
K	K^+
Mg	Mg^{2+}
Ca	Ca^{2+}
Na	Na^+
Fe	Fe^{3+}
	Organic iron complexes

สารที่เรียกว่า minor element (แมกนีเซียม โปแตสเซียม โซเดียม และพวกกลุ่มฮาโลเจน) และกลุ่ม trace element (โบรอน โคบอล โครเมียม ทองแดง โมลิบเดด

นิเกิล ซีเซียม ดีบุก และสังกะสี) เป็นกลุ่มสารที่สิ่งมีชีวิตต้องการจำนวนน้อยจึงมีการหมุนเวียนที่ไม่มากเมื่อเทียบกับ biogenic elements แต่ยกเว้นธาตุเหล็ก แมงกานีส แคลเซียม และซิลิคอน ที่มีการหมุนเวียนมากโดย ธาตุเหล็กและแมงกานีสมีการหมุนเวียนอย่างมากในปฏิกิริยา oxidoreductive ส่วนซิลิคอนและแคลเซียมนั้นมีการหมุนเวียนอย่างมากถึงหลายพันล้านตันต่อปี นอกจากสารที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตเกิดการหมุนเวียนในปฏิกิริยาชีวเคมีแล้ว สารที่ไม่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตและมีพิษยังมีการหมุนเวียนในวัฏจักรเหล่านี้ดังแสดงได้ในหลักฐานของการสะสมของพวก radioactive strontium และ cesium isotopes รวมทั้งการเกิด methylation ของปรอท ดีบุกและสารหนูซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากปฏิกิริยาของจุลชีพ (Deevey, 1970; Hutchinson, 1970; Underwood, 1977)

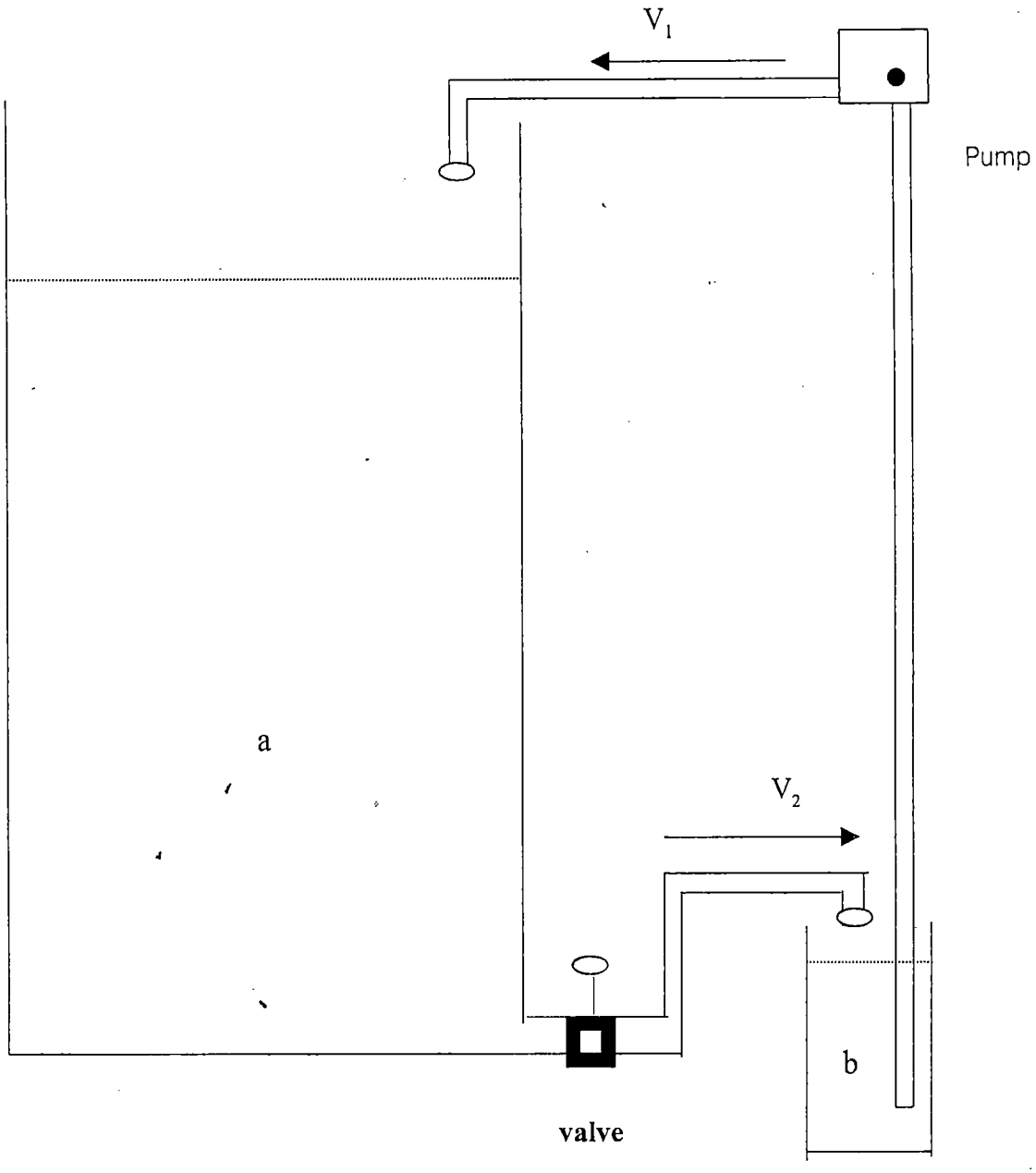
2. แหล่งสะสมของสารต่างๆ (Reservoirs)

Reservoirs หรือ pools คือแหล่งสะสมของสารเคมีที่อยู่ในรูปแบบต่างๆ โดยปกติแล้วเราจะกล่าวถึงแหล่งสะสมโดยรวมทั้งโลกซึ่งจะมีความคงที่ในช่วงอายุของคน ในสิ่งแวดล้อมจะมีธาตุสะสมอยู่ดังแสดงในตารางที่ 3 แต่ละสิ่งแวดล้อมมีการสะสมสารแต่ละชนิดที่ไม่เท่ากัน (Odum, 1983) ขนาดของ แหล่งสะสม มีความสำคัญอย่างมากเมื่อมีการพิจารณากับการเปลี่ยนแปลงทางวัฏจักรของสารดังแสดงให้เห็นได้ในรูปที่ 1 ถ้ามีการปั๊มน้ำออกจาก แหล่งสะสม b จะทำให้มีผลกระทบอย่างมากมายต่อ แหล่งสะสม b นี้ แต่จะมีผลกระทบต่อ แหล่งสะสม a ค่อนข้างน้อย ดังนั้นผลกระทบซึ่งเกิดจากธรรมชาติหรือจากสิ่งที่มนุษย์ได้กระทำจะกระทบต่อ แหล่งสะสม ที่มีขนาดเล็กมากกว่าขนาดใหญ่ (Atlas and Bartha, 1998)

ตารางที่ 3 แสดงถึงแหล่งสะสม (Reservoirs) ของคาร์บอน (Bolin *et al.*, 1979)

แหล่งสะสม (Reservoir)	จำนวนของคาร์บอน (พันล้านเมตริกตัน)
บรรยากาศก่อนปี ค.ศ. 1850	560-610
บรรยากาศในปี 1978	692
ในน้ำทะเลและน้ำจืด	
• สารอนินทรีย์	35,000
• สารอินทรีย์ที่ละลายในน้ำ	1,000
ในสิ่งมีชีวิตบนดิน	
• สารอินทรีย์ในดิน	1,500
• ในตะกอน	10,000,000
• Fossil fuels	10,000

จุลชีพได้ย่อยสลายและเปลี่ยนแปลงสารต่างๆในวัฏจักรชีวเคมีเพื่อจะทำให้สารเหล่านั้นถูกนำไปใช้โดยพืชและสัตว์ ถ้ามีการกระทำที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อกิจกรรมของจุลชีพ ยกตัวอย่างเช่น การมีการปนเปื้อนของสิ่งมลพิษจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการเคลื่อนย้ายสารจาก แหล่งสะสม หนึ่งไปยังอีกแหล่งสะสมหนึ่งซึ่งจะทำให้มีผลกระทบทั้งทางด้านชีวเคมีทั้งด้านคุณภาพและปริมาณ (Atlas and Bartha, 1998)



รูปที่ 1 แสดงถึงโมเดล (model) ของแหล่งสะสมของสารต่าง ๆ (reservoirs) โดย

a = แหล่งสะสมขนาดใหญ่

b = แหล่งสะสมขนาดเล็ก

v_1 = อัตราการไหลผ่านจาก b ไป a

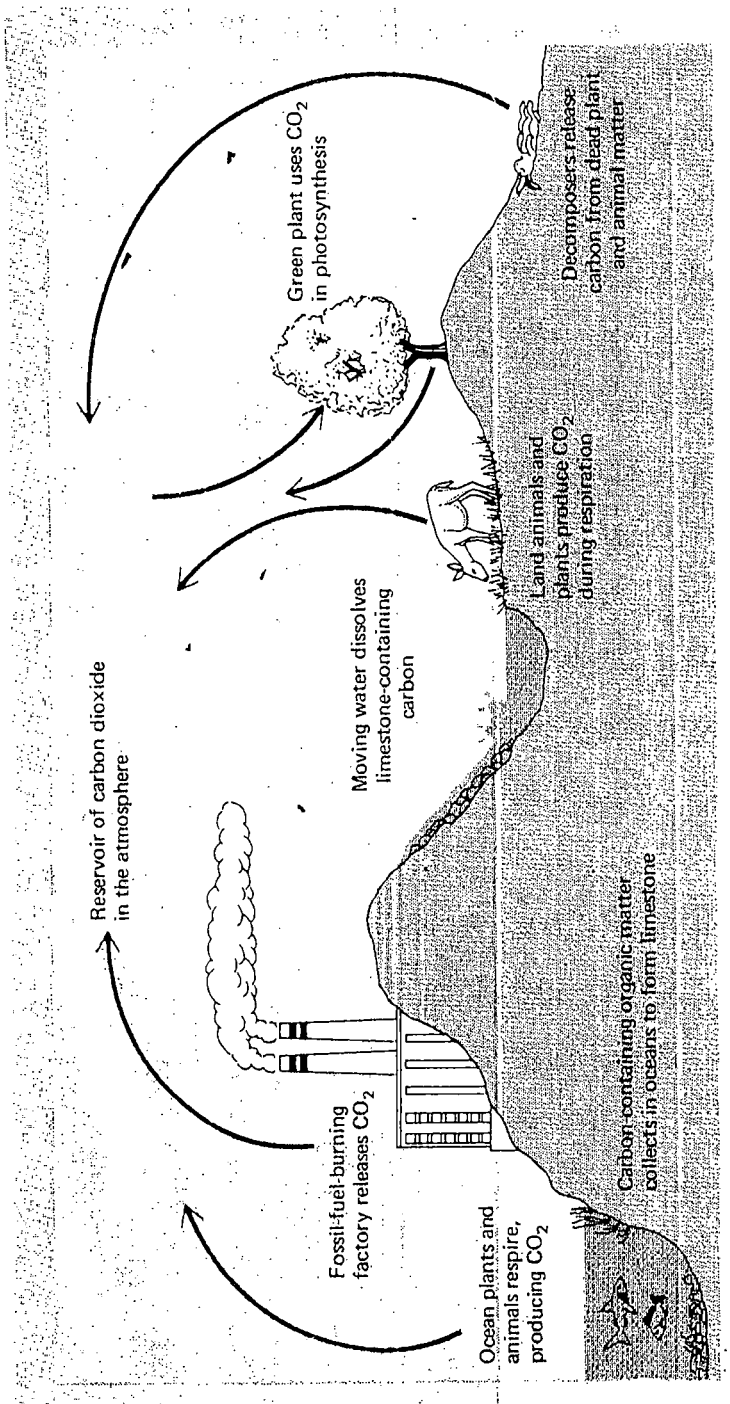
v_2 = อัตราการไหลผ่านจาก a ไป b

(Atlas and Bartha, 1993)

ในบทนี้จะกล่าวถึงวัฏจักรของสารชนิดต่างๆโดยจะกล่าวแยกชนิดหรือแต่ละวัฏจักรถึงแม้ว่าวัฏจักรเหล่านี้จะมีความเกี่ยวพันกันทั้งหมด บทนี้จะกล่าวถึงวัฏจักรคาร์บอน ไฮโดรเจนและอ๊อกซิเจนซึ่งมีความสัมพันธ์เกี่ยวเนื่องซึ่งกันและกันโดยเกี่ยวข้องกับขบวนการสังเคราะห์แสงและการหายใจ (Bolin, 1979; Cloud and Gibor, 1977; Krumbein and Swart, 1983)

2. วัฏจักรคาร์บอน

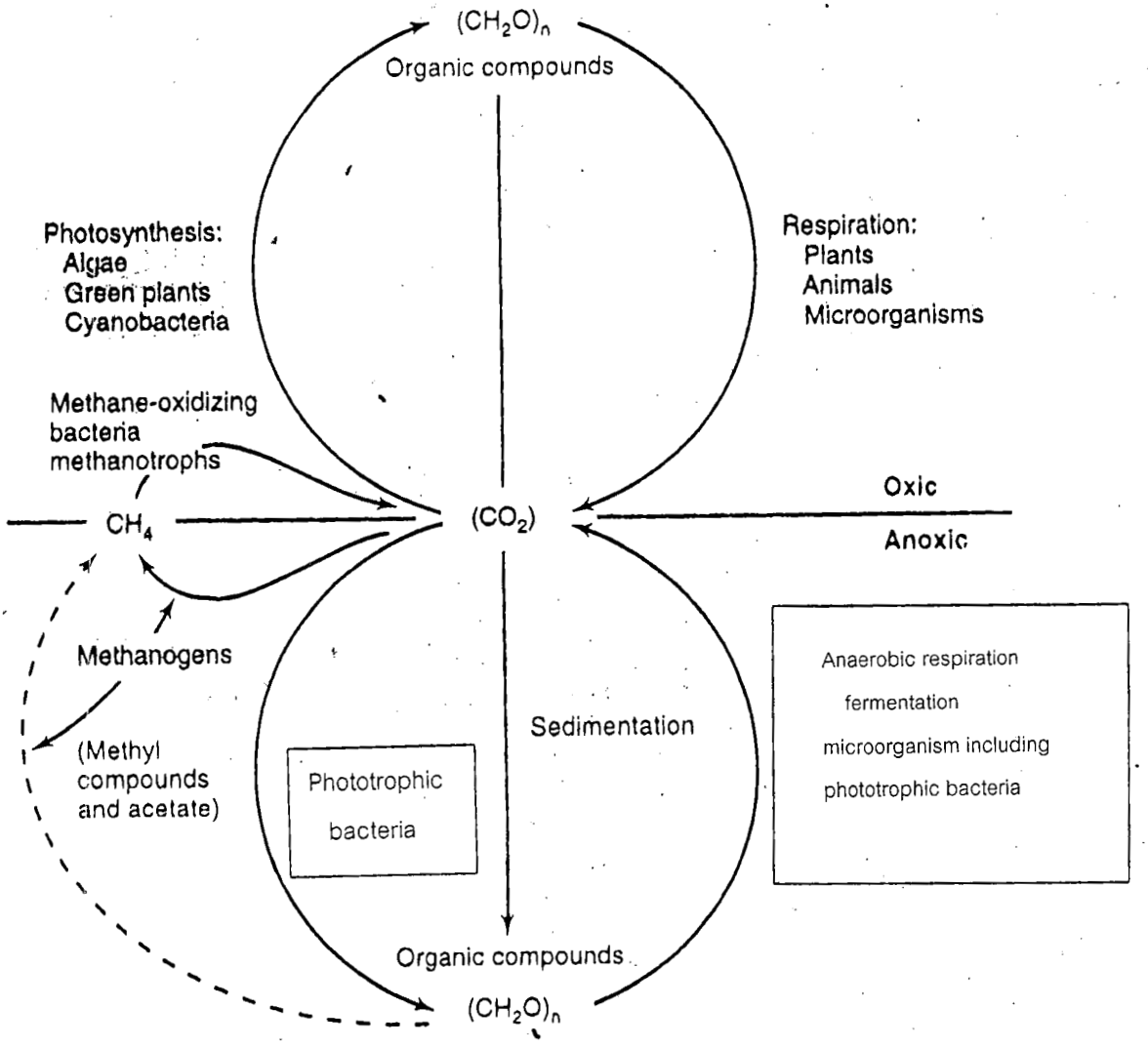
เมื่อจะมีการกล่าวถึงวัฏจักรทางชีวเคมีจะต้องมีการกล่าวถึงแหล่งสะสม (Reservoirs) ที่กล่าวถึงในขนาดของโลกและต้องทราบว่าจะมีขนาดใหญ่ขนาดไหนและมีความ active มากน้อยขนาดไหน แหล่งสะสมคาร์บอนที่มากที่สุดคือตะกอน และชั้นหินของเปลือกโลก (earth's crust) แต่จะมีอัตราการหมุนเวียน (turn over) คาร์บอนในรูปนี้นานมากจนเรียกแหล่งสะสมนี้ว่าเป็นแหล่งสะสมที่ไม่ active แหล่งสะสม ที่ active ที่สุดของคาร์บอนคือ คาร์บอนไดอ๊อกไซด์ที่อยู่ในบรรยากาศ (0.034 % ของบรรยากาศหรือประมาณ 700 พันล้านเมตริกตันของคาร์บอน) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เหล่านี้ถูกตรึงโดยขบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) โดยพืชบนบกและปล่อยก๊าซนี้กลับสู่บรรยากาศโดยขบวนการหายใจ (respiration) ของพวกสัตว์และ chemoorganotrophic microorganisms และโดยขบวนการที่ถือว่าสำคัญที่สุด คือการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ และฮิวมัสโดยจุลชีพดังจะกล่าวรายละเอียดต่อไป ส่วนคาร์บอนที่อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ (CO_2, H_2CO_3, HCO_3^- และ CO_3^{2-}) ที่ละลายในน้ำทะเลที่อยู่ที่บริเวณผิวน้ำได้แก่ CO_2, H_2CO_3, HCO_3^- และ CO_3^{2-} รวมแล้วประมาณ 500 พันล้านเมตริกตันของคาร์บอน นอกจากนั้นคาร์บอนในรูปต่างๆเหล่านี้จะมีการแลกเปลี่ยนและทำให้ถึงจุดสมดุลกับคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ที่อยู่ในบรรยากาศเสมอดังแสดงในรูปที่ 2 (Graham, 1982) อย่างไรก็ตามคาร์บอนในรูปต่างๆนี้จะอยู่ในทะเลลึกเป็นส่วนใหญ่คือประมาณ 34,500 พันล้านเมตริกตันของคาร์บอน ส่วน biomass ของสิ่งมีชีวิตในดินและน้ำทั่วไปจะมีคาร์บอนปริมาณน้อยกว่าในบรรยากาศดังที่กล่าวมาแล้วคือประมาณ 450-500 พันล้านเมตริกตัน (Atlas and Bartha, 1998)



รูปที่ 2 แสดงการหมุนเวียนคาร์บอนในสิ่งแวดล้อม(Graham, 1982)

นอกจากนั้นคาร์บอนที่อยู่ในรูปของสารอินทรีย์สามารถพบได้ในพืชบนดิน (land plants) ซึ่งได้แก่ ป่าไม้และหญ้า (grasslands) เช่น สารฮิวมัสและสารอินทรีย์ที่อยู่ในตะกอนจะประกอบด้วย 3,700 พันล้านตันซึ่งสามารถพูดได้ว่าเป็นแหล่งของคาร์บอนที่ active ในขณะเดียวกันคาร์บอนใน fossil fuels มีประมาณ 10,000 พันล้านตันและหินชนิด carbonaceous sedimentary มีประมาณ 20,000,000 พันล้านตันแต่ทั้ง 2 แหล่งนี้จะมีอัตราการแลกเปลี่ยนและย่อยสลายที่น้อยมาก ตารางที่ 3 ได้แสดงถึงแหล่งสะสมของคาร์บอนที่สำคัญ (Atlas and Bartha, 1998)

วัฏจักรคาร์บอนได้กล่าวถึงโดยสรุปดังแสดงในรูปที่ 2 (Brock, 1994) วัฏจักรคาร์บอนประกอบด้วย 6 ปฏิกิริยา คือ



รูปที่ 3 วัฏจักรคาร์บอน โดยแบ่งเป็นสองส่วนคือ ส่วนที่มีออกซิเจน (oxic) และ ส่วนที่ไม่มีออกซิเจน (anoxic) (Brock, 1994)

1. Oxygenic photosynthesis (มั่นสิน, 2539)

สิ่งมีชีวิตบางกลุ่มมีความสามารถในการสังเคราะห์แสงโดยใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์ CO_2 ซึ่งเป็นก๊าซที่เป็นส่วนประกอบส่วนน้อย 0.033% ของอากาศ เป็นแหล่งคาร์บอนและน้ำเป็นวัตถุดิบในการเกิดปฏิกิริยาดังแสดงในสมการที่ 1 เรียกว่า oxygenic phototrophic organisms

$$6CO_2 + 6H_2O \xrightarrow{\text{แสง}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \text{ ----------(1)}$$

ผลผลิตของขบวนการสังเคราะห์แสงคือ ออกซิเจนและกลูโคส ปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงจึงเป็นแหล่งกำเนิดสำคัญของสารอินทรีย์ที่เป็นอาหารและพลังงานของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ รวมทั้งเป็นแหล่งผลิตออกซิเจน เพื่อสิ่งมีชีวิตที่ต้องการออกซิเจนในการหายใจ หรือกล่าวอีกแง่หนึ่ง คือ ต้องการใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน

2. ขบวนการหายใจ (มั่นสิน, 2539)

สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่จะเผาผลาญสารอินทรีย์เพื่อการหายใจซึ่งเป็นขบวนการออกซิเดชันในการเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ดังสมการที่2

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O \text{ ----------(2)}$$

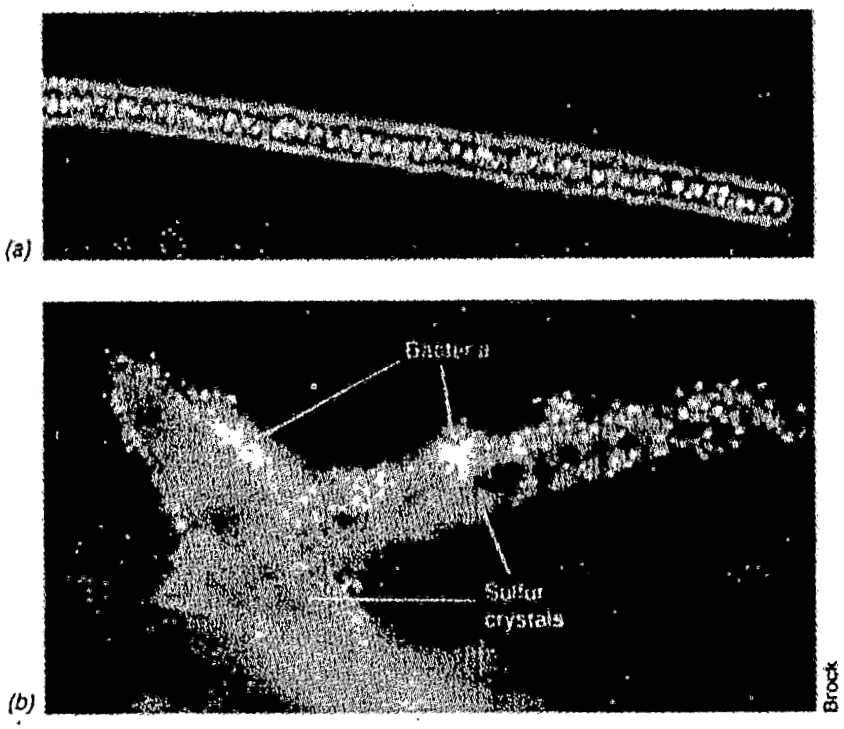
กระบวนการดังกล่าวสร้างพลังงานที่สามารถนำไปใช้ในปฏิกิริยาชีวเคมีต่างๆ อันจำเป็นสำหรับการดำรงชีวิต จะเห็นได้ว่าการหายใจเป็นกระบวนการที่ตรงกันข้ามกับการสังเคราะห์แสง คือเป็นปฏิกิริยาที่เผาผลาญสารอินทรีย์และใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอนทำให้เกิดพลังงานโดยส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ ATP ซึ่งสิ่งมีชีวิตทั้งหลายจะใช้พลังงานเพื่อการดำรงชีวิตต่อไป

3. กระบวนการสังเคราะห์แสงประเภทที่ไม่ผลิตออกซิเจน (Anoxygenic photosynthesis) (มั่นสิน, 2539)

แบคทีเรียบางชนิดสามารถใช้สารอื่น ๆ แทนน้ำ เช่น H_2S ในปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงโดยใช้ CO_2 เป็นแหล่งของคาร์บอนเช่นเดียวกับ aerobic photosynthesis

$$CO_2 + 2H_2S \longrightarrow CH_2O + H_2 + 2S \text{ ----------(3)}$$

ดังนั้นการสังเคราะห์แสงแบบนี้เกิดสารอินทรีย์ ก๊าซไฮโดรเจนและเม็ดแกรนูลที่มักจะสะสมอยู่ในรูปของ sulfur granule ในแบคทีเรียยกตัวอย่างเช่น ในแบคทีเรีย *Sulfolobus acidocaldarius* (รูปที่3) ไม่มีออกซิเจนเกิดขึ้นและมักจะเกิดปฏิกิริยาภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน



รูปที่ 4 (a) การสะสมเม็ดซัลเฟอร์ (sulfur granules) โดย *Beggiatoa*
(b) การเกาะของเม็ดซัลเฟอร์บนเซลล์แบคทีเรีย (Brock, 1994)

4. Anaerobic respiration และ fermentation

4.1 Anaerobic respiration คือ ขบวนการหายใจโดยใช้ตัวรับอิเล็กตรอน(electron acceptor) ตัวอื่นที่ไม่ใช่ O_2 และใช้ตัวให้อิเล็กตรอนหรือสารที่จะให้พลังงาน คือ สารอินทรีย์ หรือสามารถกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าเป็นการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์โดยไม่ใช้ O_2 โดย Anaerobic microorganisms โดยจะกล่าวรายละเอียดต่อไปในบทที่ 9 (Anaerobic bacteria)

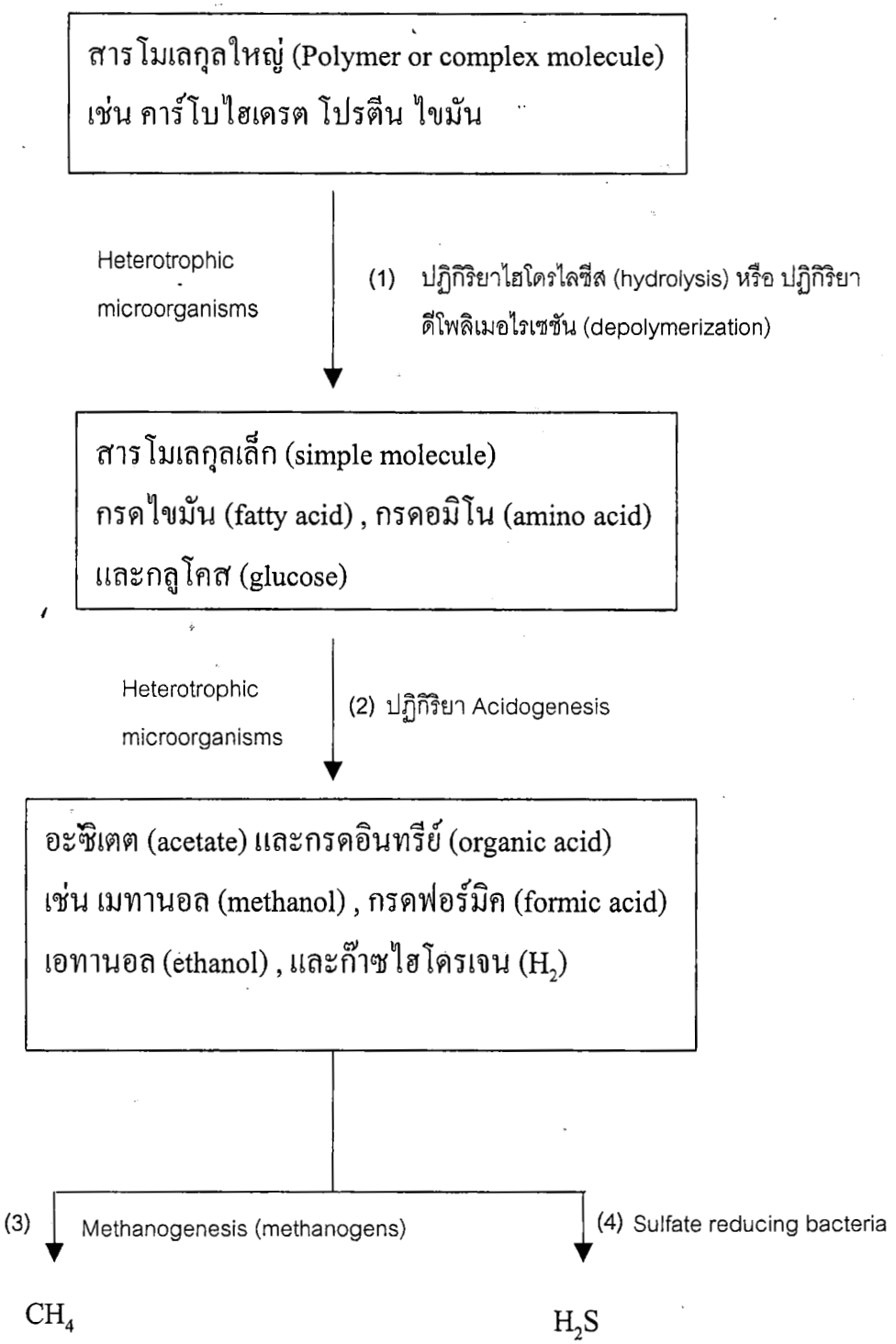
4.2 Fermentation คือขบวนการหมักที่ใช้สารอินทรีย์เป็นตัวให้และรับอิเล็กตรอน

5. Methanogenesis

คือขบวนการหายใจโดยใช้กาซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวรับอิเลคตรอนโดยแบคทีเรียกลุ่ม methanogenesis ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่ม obligate anaerobes ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาหนึ่งและมักจะเป็นปฏิกิริยาสุดท้ายใน anaerobic digestor (รูปที่ 5) ซึ่งจะประกอบด้วย 4 ปฏิกิริยาหลักๆคือ

1. **ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)** หรือปฏิกิริยาที่ใช้น้ำสลายสารโมเลกุลใหญ่ เช่น พวกคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ให้กลายเป็นสารโมเลกุลเล็ก
2. **ปฏิกิริยา acidogenesis** ในการเปลี่ยนสารโมเลกุลเล็กให้เป็นกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น กรดฟอร์มิค และกรดอะซิติค
3. **ปฏิกิริยา methogenesis** ซึ่งจะได้กล่าวในรายละเอียดต่อไป
4. **ปฏิกิริยา sulfate reducing** เป็นปฏิกิริยาที่ใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็คตรอนตัวสุดท้ายและเปลี่ยนเป็นกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาที่ไม่พึงประสงค์จะให้เกิดในถัง anaerobic digestor เพราะจะทำให้การย่อยสลายผิดปกติและไม่ได้กาซมีเทนซึ่งเป็นกาซที่มีประโยชน์แต่ได้กาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่งเป็นกาซพิษ

ปฏิกิริยา methanogenesis จะเป็นปฏิกิริยาที่ควบคุมปฏิกิริยาทั้งหมดของ anaerobic digestor แหล่งคาร์บอนหรือตัวให้อิเลคตรอนมักจะเป็นกาซไฮโดรเจน (H_2) และกรดอะซิติค ดังปฏิกิริยาที่ 1 และ 2 ตามลำดับ



รูปที่ 5 แสดงปฏิกิริยาการสร้างก๊าซมีเทนจากสารอินทรีย์ (Methanogenesis)

$$4\,H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2\,H_2O \quad \text{.....(1)}$$

$$CH_3COOH + CO_2 \longrightarrow CH_4 + CO_2 \quad \text{.....(2)}$$

นอกจากนั้นยังมีแหล่งคาร์บอนอื่นๆคือ เมททานอล (methanol), ฟอร์เมท (formate), methyl mercaptan และ methyllamine ตารางที่ 4 ได้รวบรวมตัวอย่างของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกาซมีเทน

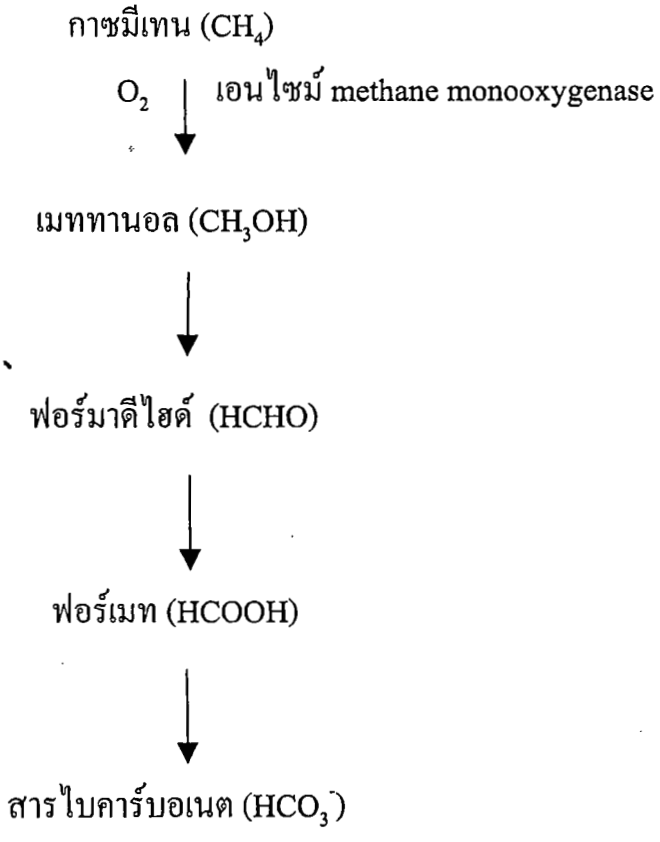
ตารางที่ 4 แสดงตัวอย่างของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกาซมีเทน (methanogens) บางชนิด (Atlas and Bartha, 1993 ; Brock, 1994)

แหล่งของคาร์บอน (Source of CH_4– carbon)	ตัวให้อิเลคตรอน (electron donor)	แบคทีเรียกลุ่มที่สร้างก๊าซมีเทน (Methanogenic bacteria)
CO_2	H_2	*Methanobacterium bryantii*
CO_2	H_2	*Methanobacterium thermoautotrophicum*
CO_2	H_2	*Methanomicrobium mobile*
CO_2	H_2 , formate	*Methanococcus vannielii*
CO_2	H_2 , formate	*Methanobrevibacter ruminantium*
CO_2	H_2 , CO_2 , formate	*Methanobacterium formicicum*
CO_2 , methanol, methylamine, di-และ tri-Methylamine, acetate	H_2	*Methanosarcina barkeri*

6. Methane oxidation

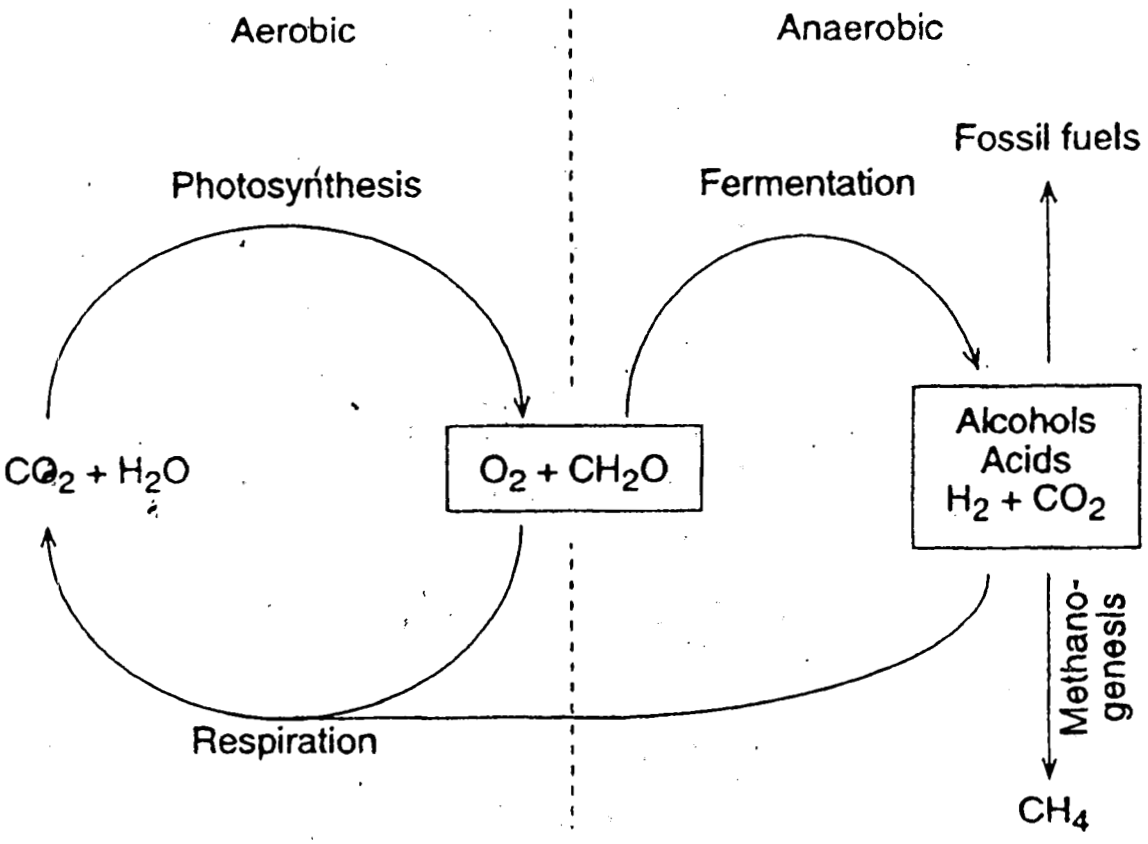
คือปฏิกิริยาที่ใช้กาซมีเทน (methane) เป็นแหล่งคาร์บอนโดยแบคทีเรียกลุ่ม methanotrophs หรือแบคทีเรียกลุ่ม methane-oxidizing และจะเกิดในสภาวะที่มีออกซิเจนโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็คตรอนดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความหลากหลายในธรรมชาติทั้งทางดินและน้ำ กาซมีเทนสามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติที่ผลิตจากปฏิกิริยา methanogenesis ดังที่กล่าวมาแล้วในข้อ 5 และจะเกิดในบริเวณที่ไม่มีออกซิเจน เช่น โคลน เลน บริเวณใต้น้ำของทะเลสาบ ส่วน rumen และระบบลำไส้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

ขบวนการทางชีวเคมีโดย methane oxidation คือ



3. วัฏจักรออกซิเจน (Oxygen cycle) (Atlas and Bartha, 1998)

วัฏจักรออกซิเจนเป็นวัฏจักรที่ไม่ค่อยสลับซับซ้อนเหมือนวัฏจักรไนโตรเจนหรือซัลเฟอร์ ดังแสดงในรูปที่ 6 (Atlas and Bartha, 1993) ซึ่งเป็นวัฏจักรที่คล้ายกับวัฏจักรไฮโดรเจน (Hydrogen cycle) และวัฏจักรคาร์บอนดังจะกล่าวถึงความสัมพันธ์ของทั้ง 3 วัฏจักรต่อไป



รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ของวัฏจักรของคาร์บอน, ไฮโดรเจนและออกซิเจน

(CH_2O แสดงถึงสารอินทรีย์)(Atlas and Bartha, 1993)

แหล่งสะสมของ O_2 ที่ active คือ O_2 ในบรรยากาศ O_2 ที่ละลายอยู่ในน้ำ O_2 ที่อยู่ในรูปของก๊าซ CO_2 และ H_2O นอกจากนั้นแหล่งสะสมของ O_2 ที่ inert คือ O_2 ที่สะสมอยู่ในรูป ferric iron (Fe^{3+}) และรูปของสารประกอบซัลเฟต

O_2 ทำหน้าที่ที่สำคัญๆ คือ ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนในขบวนการหายใจแบบใช้ O_2 เพื่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ขนาดใหญ่ให้กลายเป็นสารอินทรีย์ขนาดเล็กลง หรือจนกลายเป็นสารอนินทรีย์ ขบวนการเพิ่มปริมาณ O_2 ในพื้นที่ที่มี O_2 ต่ำๆ คือ

1. การแพร่ของ O_2 จากบริเวณที่มี O_2 มากเข้ามาสู่บริเวณที่มี O_2 ต่ำ
2. เกิดจากขบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis)
3. เพิ่ม O_2 ในดินโดยสัตว์ขนาดเล็กในบริเวณนั้น เช่น ไส้เดือน

4. วัฏจักรไฮโดรเจน (Hydrogen cycle)

รูปที่ 6 แสดงให้เห็นว่าวัฏจักรไฮโดรเจนมีความเกี่ยวข้องกับวัฏจักรคาร์บอนและออกซิเจน โดยแหล่งสะสมของไฮโดรเจนที่ active และเป็นแหล่งใหญ่ที่สุด คือ น้ำ (H_2O) และมีการหมุนเวียนปริมาณไฮโดรเจนโดย 2 กระบวนการ คือ การสังเคราะห์แสงและการหายใจ แหล่งสะสมที่ active แต่มีปริมาณน้อย คือ ซากพืชซากสัตว์ (living and dead organic material) ส่วนแหล่งสะสมแบบ inert คือ liquid และ gaseous fossil hydrocarbons (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 แหล่งที่ผลิต (producer) และที่ใช้ (sink) ก๊าซไฮโดรเจน (H_2) (Atlas and Bartha, 1993)

H_2 producer	มหาสมุทร (Oceans) เป็นแหล่งที่ผลิตขนาดใหญ่ที่สุด Fossil fuel Biomass burning Exhaust of internal Combustion engines Photochemical Decomposition of methane
H_2 sink (consumption)	ดิน

ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ H_2 เป็นตัวให้อิเล็กตรอนเรียกว่า Hydrogen bacteria เช่น facultative chemolithotrophic hydrogen bacteria มีการใช้ H_2 ดังแสดงในสมการที่ 1

$$H_2 + \tfrac{1}{2} O_2 \longrightarrow H_2O \ (\Delta G = -56.7 \text{ Kcal/mole}).....(1)$$

ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดภายใต้สภาวะที่มี O_2 จากการศึกษาพบว่า genus *Alcaligenes* เป็นจีนัสที่มีประสิทธิภาพในการรีดิวส์ H_2 แบคทีเรียกลุ่มนี้มีคุณสมบัติพิเศษ 2 ประการ คือ 1. Membrane-bound hydrogenases

2. ประกอบด้วย soluble NAD-linked hydrogenase

จีนัสอื่นๆ ที่สามารถใช้ H_2 เป็น ED = ตัวให้อิเล็กตรอน คือ จีนัส *Pseudomonas, Parococcus, Xanthobacter, Nocardia* และ *Azospirillum* จะมี membrane-bound hydrogenases แบคทีเรียกลุ่ม hydrogen bacteria นอกจากที่จะใช้ H_2 เป็นตัวให้อิเล็กตรอนแล้วยังมีความสามารถที่จะใช้สารอินทรีย์ชนิดอื่นๆหลากชนิดรวมทั้งยังมีความสามารถในการใช้ทั้ง H_2 และสารอินทรีย์ชนิดอื่นในเวลาเดียวกัน

5. ความสัมพันธ์กันของวัฏจักรคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน (Interrelation of the biogeochemical cycles of carbon, hydrogen and oxygen)

วัฏจักรของคาร์บอน ออกซิเจน และไฮโดรเจน จะเป็นวัฏจักรที่เกี่ยวพันซึ่งกันและกัน (รูปที่ 6) เพราะประกอบด้วยปฏิกิริยาหลักๆ อยู่ 2 ชนิด คือ การสังเคราะห์แสง และการหายใจ แต่อย่างไรก็ตามอัตราการ turnover ของธาตุ 3 ชนิดนี้ แตกต่างกันโดยอัตราการ turnover ของคาร์บอนเร็วที่สุด รองลงมาคือออกซิเจนและไฮโดรเจนเป็นอันดับสุดท้าย สิ่งมีชีวิตทุกชนิดจะมีส่วนเกี่ยวข้องในทั้ง 3 วัฏจักรนี้ และจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารต่างๆ เช่น เซลลูโลส ลิกนิน และฮิวมัสในดิน (terrestrial environment) เพราะจุลินทรีย์สามารถสร้างเอนไซม์หลายหลากชนิด

เนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ในบรรยากาศจะเป็น แหล่งสะสมของคาร์บอนที่มีปริมาณต่ำดังนั้นจึงทำให้ก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ที่ปลดปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมมีผลกระทบต่อปริมาณ CO_2 ในบรรยากาศอย่างสูงได้ง่าย (Bolin *et al.*, 1979) ระหว่างปี ค.ศ. 1860-1980 ก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ในบรรยากาศเพิ่มขึ้น 70 ppm โดยเพิ่มจากบริเวณที่ยังไม่มีอุตสาหกรรม 270 ppm เป็น 340 ppm (Houghton *et al.*, 1983; Hobbie and Melillo, 1984; La Marche *et al.*, 1984) การเพิ่มขึ้นของคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ในบรรยากาศส่วนใหญ่เกิดจากการเผาพวกฟอสซิล (fossils) รวมทั้งจากการเผาป่าไม้และฮิวมัสในดินเพื่อการเกษตร บางส่วนของก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์เหล่านี้ได้ถูกนำไปใช้หรือละลายไปในทะเลในรูปของไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) และ/หรือถูกตรึงโดยพืชและนำไปใช้เป็น biomass

ปัจจุบันมีความกังวลถึงการเพิ่มขึ้นของก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ในบรรยากาศในอัตรา 1 ppm ต่อปีซึ่งอาจจะเกี่ยวเนื่องกับการเพิ่มผลกระทบต่อปฏิกิริยาเรือนกระจก (greenhouse effect) เพราะก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์สามารถซึมซับแสงอินฟาเรด (infrared radiation) และไม่ซึมซับแสงในช่วงที่มองเห็นได้ (visible radiation) ดังนั้นเมื่อแสงจากดวงอาทิตย์ส่องลงมาที่ผิวโลกแสงช่วงอินฟาเรดจะเกิดการสะท้อนกลับออกนอกโลกแต่ถ้ามีการเพิ่มปริมาณก๊าซ CO_2 ในบรรยากาศของโลกก็จะทำให้ก๊าซ CO_2 ซึมซับแสงอินฟราเรดไว้ในปริมาณสูงขึ้นจึงทำให้อุณหภูมิของโลกร้อนขึ้น (Atlas and Bartha, 1998)

นอกจากนั้นก๊าซที่มีผลต่อ greenhouse effect อีกชนิดหนึ่งคือ ก๊าซมีเทน ซึ่งมีผลมาจากการกระทำของมนุษย์เช่น การขุดน้ำมันและก๊าซธรรมชาติ การทำ landfill ของ solid waste การเลี้ยงพวกวัวควายรวมทั้งการปลูกข้าวขนาดใหญ่ ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณที่น้อยกว่าก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ที่เกิดจากการเผาไหม้ fossil แต่ก๊าซมีเทนมีความสามารถที่ซึมซับแสงอินฟาเรดได้ดีกว่าก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ถึง 4-5 เท่า

เอกสารอ้างอิง

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ (2539) การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ : เล่ม 1 การจัดการคุณภาพน้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 3 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 55.

Atlas RM and Bartha R (1993) Microbial ecology: fundamentals and Applications. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, California. p.371.

Atlas RM and Bartha R (1998) Microbial ecology: fundamentals and Applications. 4th ed. Addison Wesley Longman, Inc., California.

Bolin B, Degens ET, Duvigneaud P and Kempe S (1979) The carbon cycle. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Eds.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.390.

Brock TD Madigan MT Martinko JM and Parker J (1994) Biology of microorganisms. 7th ed. Prentice Hall, New Jersey.

Cloud P and Gibor A (1977) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 3th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p..

Deevey ES Jr (1970) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 3th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p..

Frieden E (1972) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.387.

Hobbie JE and Melillo JM (1984) Comparative carbon and energy flow in ecosystem. *In* Current Perspectives in microbial Ecology. Klug MJ Reddy CA (Eds.) American Society for Microbiology, Washington, D.C., p.389-393.

Houghton RA Hobbie JE Melillo JM Moore B Peterson BJ Shaver GR and Woodwell

GM (1983) Changes in the carbon content of terrestrial biota and soils between 1860 and 1980: A net release of CO_2 to the atmosphere. Ecological Monograph 53(3): 235-262.

Hutchinson GE (1970) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 3th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California.

Graham TM (1982) Biology: the essential principles. Saunders College Publishing, NY.

Jorgensen BB (1989) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.386.

Krumbein WE and Swart PK (1983) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 3th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p..

LaMarche VC Greybill DA Fritts HC and Rose MR (1984) Increasing atmosphere carbon dioxide: Tree ring evidence for growth enhancement in natural vegetation. Science 225: 1019-1021.

Mertz W (1981) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.387.

Odum EP (1983) Reservoir and transfer rates. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.388.

Pomeroy LR (1984) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.386.

Underwood EJ (1977) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 3th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p..

Woodwell, GM (1970) Biogeochemical cycling. *In* Microbial ecology: fundamentals and Applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California. p.386.

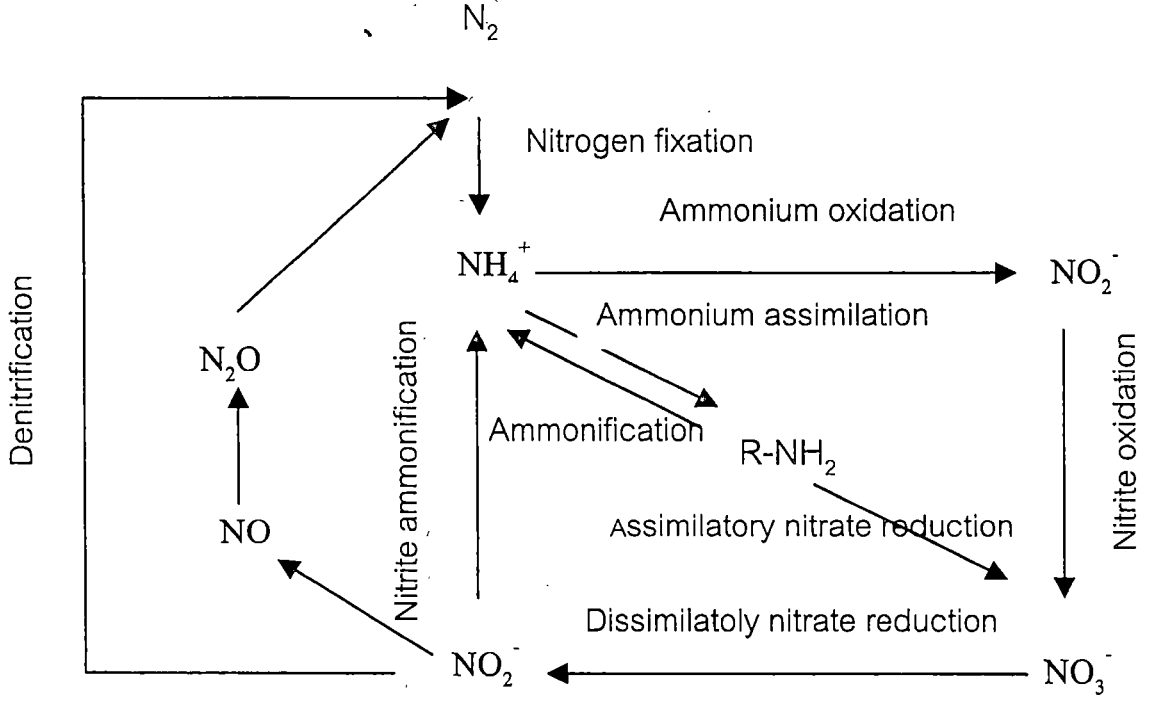
บทที่ 5
วัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen cycle)

<u>หัวข้อ</u>

- ความสำคัญของธาตุไนโตรเจน
- ปฏิกิริยาที่เกิดในวัฏจักรไนโตรเจน คือ
    1. ปฏิกิริยาตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation)
    2. ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน (Nitrification)
        2.1 ปฏิกิริยาแอมโมเนียมออกซิเดชัน (Ammonium oxidation)
        2.2 ปฏิกิริยาไนไตรต์ออกซิเดชัน (Nitrite oxidation)
    3. ปฏิกิริยาแอสซิมิลาโทรีไนเตรทรีดักชัน (Assimilatory nitrate reduction)
    4. ปฏิกิริยาดิสซิมิลาโทรีไนเตรทรีดักชัน (Dissimilatory nitrate reduction)
    5. ปฏิกิริยาแอมโมเนียมแอสซิมิเลชัน (Ammonium assimilation)
    6. ปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification)
    7. ปฏิกิริยาแอมโมโนฟิเคชัน (Ammonofication)
    8. ปฏิกิริยาไนไตรต์แอมโมโนฟิเคชัน (Nitrite ammonofication)

1. ความสำคัญของไนโตรเจน

ในบทนี้จะกล่าวถึงความสำคัญของไนโตรเจน (Nitrogen element) ซึ่งเป็นธาตุที่สำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิดเพราะไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบพื้นฐานของโปรตีน (Protein) และกรดนิวคลีอิค (Nucleic acid) โดยทั่วไปในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตมีธาตุไนโตรเจนประมาณ 16 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักแห้ง อย่างไรก็ตามไนโตรเจนเป็นธาตุที่พืชขาดแคลนมากที่สุดถึงแม้ว่าไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญอันดับ 4 ของพืช รองมาจาก คาร์บอน (carbon) ไฮโดรเจน (hydrogen) และ ออกซิเจน (oxygen) ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับการย่อยสลายของไนโตรเจนได้รับความนิยมต่อนักจุลชีววิทยาทางดินมาตั้งแต่โบราณกาลจนถึงปัจจุบัน และได้รับความสนใจสูงสุด คือช่วงปี คศ.1956 ถึง 1985 (Bohn *et al.*,1985) ไนโตรเจนที่พบในสิ่งแวดล้อมสามารถพบได้หลายรูปแบบ เนื่องจากไนโตรเจนอะตอมสามารถมีหลายสถานะภาพทางออกซิเดชัน (oxidation state) ตั้งแต่ –3 ถึง +5 ดังแสดงในตารางที่ 1 จึงทำให้ไนโตรเจนในธรรมชาติมีการหมุนเวียนในรูปต่างๆอย่างสลับซับซ้อนโดยเรียกว่าวัฏจักรของไนโตรเจนซึ่งเป็นวัฏจักรที่เกิดจากกลไกทางฟิสิกส์ เคมีและชีวภาพ (Rosswall, 1978) ดังแสดงในรูปที่ 1 (Atlas and Bartha, 1993)



รูปที่ 1 ปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในวัฏจักรไนโตรเจน (Atlas and Bartha, 1993)

ตารางที่ 1 แสดงสถานะภาพทางออกซิเดชัน (Oxidation state) ของธาตุไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ (Brock, 1994)

ชนิดของไนโตรเจน	สถานะภาพทางออกซิเดชัน (oxidation state)	คุณสมบัติ
สารอินทรีย์ไนโตรเจน (Organic nitrogen) ได้แก่ ยูเรีย กรดยูริก และกรดอะมิโน	-3	• พืชและแพลงก์ตอนพืชสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง
กาซแอมโมเนีย (NH_3 gas)	-3	• เป็นของเสียที่เกิดจากสัตว์น้ำเกือบทุกชนิด • เป็นพิษอย่างมากต่อปลา คือทำให้ปลาไม่สามารถขับถ่าย NH_3 ออกจากกระแสเลือดส่งผลให้ปลามักจะอ่อนแอและติดโรคได้ง่าย
แอมโมเนียมอิออน (NH_4^+)	-3	• ไม่มีพิษต่อสัตว์น้ำ • พืชและแพลงก์ตอนพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้
กาซไนโตรเจน (N_2 gas)	0	• ละลายน้ำได้ดีกว่าออกซิเจน • ก่อให้เกิดโรคฟองกาซในเลือด (gas bubble disease) ในปลาหรือสัตว์น้ำอื่น ๆ และทำให้สัตว์ดังกล่าวเสียชีวิตได้ • เป็นไนโตรเจนรูปแบบที่เสถียรที่สุด • แบคทีเรียบางกลุ่มเท่านั้นที่สามารถนำไปใช้ได้โดยตรง

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดของไนโตรเจน	สถานภาพทางออกซิเดชัน (oxidation state)	คุณสมบัติ
ก๊าซไนโตรเจนออกไซด์ (NO gas)	+2	• ทำให้เกิดมลภาวะทางอากาศ
ก๊าซไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO_2 gas)	+4	• ทำให้เกิดมลภาวะทางอากาศ
ไนไตรท์ (NO_2^-)	+3	• มีพิษต่อสัตว์น้ำ
ไนเตรท (NO_3^-)	+5	• พืชและแพลงก์ตอนพืชสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง

ปฏิกิริยาชีวเคมีที่กล่าวมาข้างต้นทั้ง 8 ชนิดเกิดขึ้นเนื่องจากมีความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนแปลงสารประกอบไนโตรเจนที่แตกต่างกันรวม ทั้งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพลังงานในรูปของ ΔG° (ตารางที่ 2) โดยตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าจากปฏิกิริยาทางชีวเคมีทั้ง 11 ปฏิกิริยา ปฏิกิริยาที่ผลิตได้พลังงานสูงสุด คือ ปฏิกิริยา denitrification ที่สามารถผลิตพลังงานออกมาอยู่ในรูป ΔG° สูงถึง –1121 (kJ/mol) และปฏิกิริยาที่ต้องใช้พลังงานในการเกิดปฏิกิริยา คือ ปฏิกิริยาไนเตรทรีดักชัน (Likens, 1981)

ตารางที่ 2 พลังงานของสารอินทรีย์ในโตรเจนชนิดต่าง ๆ ในรูป ΔG°(KJ/mol) (Likens, 1981)

ชนิดของปฏิกิริยา	ΔG° (KJ/mol)
1. Denitrification	
Pseudomonas aeruginosa	
$2NO^{-}_3 + 2H^{+} + 5H_2 \rightarrow N_2(g) + 6H_2O$	-1121
2. Nitrate fermentation	
Clostridium perfringens	
$NO^{-}_3 + 2H^{+} + 4H_2 \rightarrow NH^{+}_4 + 3H_2O$	-1121
3. Other possible reactions	
$N_2O(g) + H_2 \rightarrow N_2(g) + H_2O$	-340
$N_2^{-} + 1/2\ H_2 + H^{+} \rightarrow NO(g) + H_2O$	-76
$2NO(g) + H_2 \rightarrow N_2O(g) + H_2O$	-316
$2NO^{-}_2 + 2H^{+} + 2H^{+} + 2H_2 \rightarrow N_2O(g) + 3H_2O$	-459
4. Nitrification	
Nitrosomonas	
$NH^{+}_4 + ½\ O_2 \rightarrow NH_2OH + H^{+}$	+15
$NH_2OH + O_2 \rightarrow NO^{-}_2 + H_2O + H^{+}$	-289
Nitrobacter	
$NO^{-}_2 + 1/2O_2 \rightarrow NO^{-}_3$	-77
5. Nitrate respiration	
Escherichia coli	
$NO^{-}_3 + H_2 \rightarrow NO^{-}_2 + H_2O$	-161
6. Nitrate reduction	
$NO^{-}_3 + 2H^{+} + H_2O \rightarrow NH^{+}_4 + 2O_2$	-77

ต่อจากนี้จะขอกล่าวปฏิกิริยาชีวเคมีและจุลินทรีย์ในแต่ละปฏิกิริยาอย่างละเอียดในแต่ละปฏิกิริยาดังต่อไปนี้

1. ปฏิกิริยาตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation reaction)

ปฏิกิริยาตรึงไนโตรเจน คือ ปฏิกิริยาที่มีการนำเอาก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศให้กลายเป็นแอมโมเนียมอิออน (รูปที่ 1)

$$N_2 + 6H^+ + 6e^- \longrightarrow 2NH_3 \qquad \text{----------(1)}$$

ก๊าซไนโตรเจนเป็นก๊าซที่มีมากที่สุดในบรรยากาศ คือ 79 % แต่จะเป็นไนโตรเจนในรูปแบบที่สิ่งมีชีวิตโดยทั่วไปไม่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนเหมือนกับไนโตรเจน แอมโมเนียม และสารอินทรีย์ไนโตรเจน (Bitton, 1994)

ในทางอุตสาหกรรมจะมีการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนโดยใช้ปฏิกิริยารีดักชัน chemical reduction ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ต้องใช้พลังงานอย่างมากจึงทำให้ราคาของปุ๋ยไนโตรเจนจึงแพง นอกจากนั้นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการตรึงไนโตรเจนได้นั้นก็มีไม่กี่ชนิดนั่นคือ แบคทีเรียบางชนิด และไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria)

การตรึงไนโตรเจนสามารถเกิดขึ้นได้โดย

1. Chemical nitrogen fixation ที่มักจะเกิดในบรรยากาศ เช่น การเกิด lightning Dischanges
2. การผลิตปุ๋ยไนโตรเจน (Nitrogen fertilizers หรือเรียกว่า industrial fixation
3. Antificial combustion process โดยใช้อุณหภูมิสูงจะสามารถเปลี่ยน N_2 ไปเป็นไนเตรทดังสมการที่ 2

$$N_2 \rightarrow NO \rightarrow NO_3^- \qquad \text{----------(2)}$$

4. Biological nitrogen fixation ที่เกิดโดยจุลินทรีย์ และพบว่าการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีนี้คิดเป็นประมาณ 85% จาก nitrogen fixation ทั้งหมด โดย 60% เกิดบนพื้นดิน และอีก 40% เกิดขึ้นในมหาสมุทร

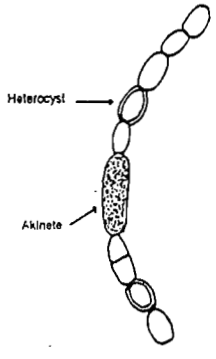
ดังนั้นนักวิชาการการเกษตรจึงมีการศึกษาที่จะทำให้มีการเกิดการตรึงไนโตรเจนโดยใช้จุลินทรีย์มากที่สุดในดินตามธรรมชาติเพื่อลดค่าใช้จ่ายจากการใช้ปุ๋ยเคมีและลดมลพิษที่เกิดตามมาจากการใช้ปุ๋ยเคมีจำนวนมากอีกด้วย (Bitton, 1994)

1.1 จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen - fixation microorganisms)

จากการศึกษาพบว่าบางชนิดของโปรคาริโอต(prokaryotes) เท่านั้นที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศและแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ nonsymbiotic nitrogen – fixing microorganisms และกลุ่ม symbiotic nitrogen fixation (Brock, 1994)

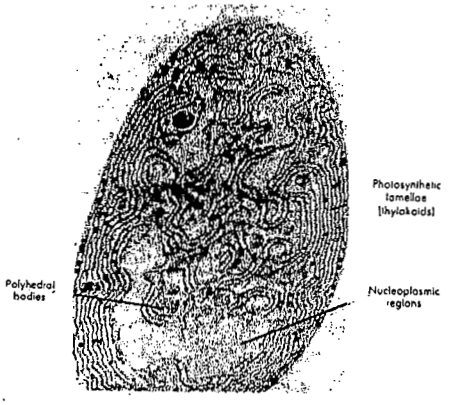
1.1.1 กลุ่ม Nonsymbiotic nitrogen fixation

จุลินทรีย์กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่อาศัยอย่างอิสระในดินหรือสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ โดยไม่อาศัยอยู่กับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ (ตารางที่ 3) เช่น *Azotobacter agilis, A. chroococcum* และ *A. vinelandii* เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีการสร้างซีสต์ (cyst) และตรึงไนโตรเจนในดินและในสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ *Cyanobacteria* และ *Nostoc* จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีการตรึงไนโตรเจนในดินและแหล่งน้ำตามธรรมชาติ โดยมีเซลล์พิเศษที่สามารถตรึงได้ คือ heterocyst ดังรูปที่ 2 และในบางครั้ง *Cyanobacteria* อาจจะอยู่ร่วมกับพืชน้ำ (aquatic plants) เช่น ความสัมพันธ์ระหว่าง *Anaebaena กับ Azolla* (รูปที่ 3)



รูปที่ 2 แสดง Heterocysts

(Bitton, 1994)



รูปที่ 3 แสดง *A. azollae*

(Pelczar *et al.*, 1986)

แบคทีเรียชนิดอื่น ๆ เช่น *Klebsiella* และ *Clostridium* ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนและมีการสร้างสปอร์

ตารางที่ 3 ชนิดและลักษณะพิเศษของแบคทีเรียที่สามารถ เปลี่ยนแปลงไนเตรทให้เป็นก๊าซไนโตรเจน (Denitrification) แบบ Nonsymbiotic (Atlas and Bartha, 1993)

กลุ่มของแบคทีเรีย	ชื่อสกุลของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา denitrification	ลักษณะพิเศษ
Organotrophs	*Pseudomonas* เช่น *P. aeruginosa* *P. denitrificans* *P. fluorescens* *Alcaligenes*, *Bacillus, Propionebacterium* *Agrobacterium, Flavobacterium,* *Blastobacter*	พบมากในดิน และน้ำเสีย
Chemolitho-trophs	*Thiobacillus,* *Thiomicrospira, Nitrosomonas*	*Thiobacillus denitrificans* สามารถ oxidize สาร elemental S และ reduce ไนเตรท $5S+6KNO_3+2H_2O \rightarrow 3N_2+K_2SO_4+4KHSO_4$
Photolitho-troph	*Rhodopseudomonas*	-

กลุ่มของแบคทีเรีย	ชื่อสกุลของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา denitrification	ลักษณะพิเศษ
Diazotrophs	*Rhizobium, Azospirillum, Rhodopseudomonas*	-
Thermophile	*Bacillus*	บางสปีชีส์จะ denitrify แบบ obligately fermentative
Archaea	*Halobacterium*	-
Miscellaneous	*Paracoccus, Branhamella, Neisseria*	-

1.1.2 กลุ่ม symbiotic nitrogen fixing microorganisms

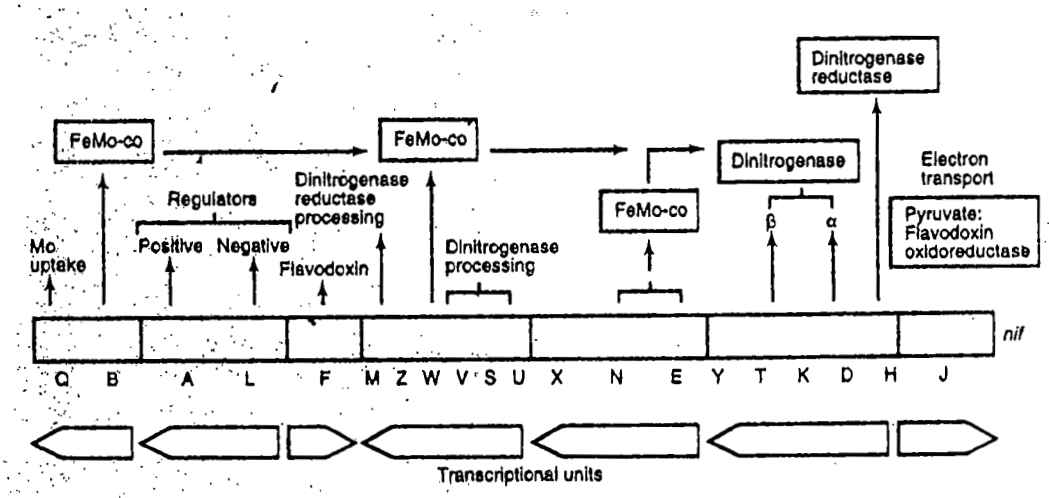
จุลินทรีย์กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่ต้องอาศัยอยู่กับพืชชั้นสูงแล้วทำให้มีความสามารถตรึงไนโตรเจนจาก บรรยากาศ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและ มีความสัมพันธ์กับพืชชั้นสูง (Symbiotic nitrogen fixing microorganism)

แบคทีเรีย	พืชที่มีความสัมพันธ์กับกลุ่มแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน	ลักษณะพิเศษ
Rhizobium	พืชตระกูลถั่ว	-
Frankia	รากพืชของ Woody peremial plant	-
Azospirillum	รากพืชตระกูล maize และ tropical grasses	ไม่เกิด nodule

1.2 เอนไซม์ไนโตรจีเนส (Nitrogenase enzyme) (Bitton, 1994)

เอนไซม์ไนโตรจีเนสเป็นเอนไซม์ที่ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาตรึงไนโตรเจนโดย เอนไซม์นี้ประกอบด้วยองค์ประกอบสำคัญ คือ iron sulfide และ molybdo-iron proteins ซึ่งทั้ง 2 ส่วนประกอบนี้จะไวต่อออกซิเจน ดังนั้นในแบคทีเรียกลุ่มนี้จึงต้องมีกลไกที่ป้องกันออกซิเจนในบริเวณที่เกิดปฏิกิริยานี้ ยกตัวอย่างเช่น *Azotobacter* จะผลิตโพลี-แซคคาไรด์ปริมาณมาก ๆ เพื่อลดการซึมผ่านของออกซิเจน เอนไซม์ไนโตรจีเนสจะรีดิวซ์โมเลกุลที่มีพันธะสาม (triple-bonded molecules) เช่น ก๊าซไนโตรเจน (N_2) ปฏิกิริยาจะเกิดได้ต้องมีแมกนีเซียมอิออน (Mg^{2+}) และทำให้เกิดพลังงานในรูปของ ATP ในปริมาณ 15-20 ATP/N_2 มีการสร้างเอนไซม์ชนิดนี้โดย *nif* genes (รูปที่4)



รูปที่ 4 แสดงระบบของเอ็นไซม์ไนโตรจีเนส (*nif* operon) ใน *Klebsiella pneumoniae* (Bitton, 1994)

1.3 การวัดปริมาณการเกิดปฏิกิริยา Nitrogen fixation (Bitton, 1994)

การใช้ acetylene reduction เทคนิคในการวัดปริมาณการเกิดปฏิกิริยา nitrogen fixation ซึ่งเป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงการรีดักชันของอะเซททิลีน (acetylene, C_2H_2) ไปเป็นเอททิลีน (ethylene, C_2H_4) และทำโดยการคำนวณจากสมการที่ 3 และ 4

Moles ของ N_2 fixed = $\frac{\text{moles } C_2H_2 \rightarrow C_2H_4}{3}$ ..... (3)

กรัมของ N_2 fixed = $\frac{\text{moles } C_2H_2 \rightarrow C_2H_4}{3} \times 28$ ..... (4)

2. ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน (Nitrification)

ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน คือกระบวนการเปลี่ยนแอมโมเนียหรือแอมโมเนียมอิออนเป็นไนเตรทซึ่งประกอบด้วย 2 กระบวนการ คือ (1) การเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียมอิออนหรือก๊าซแอมโมเนียมให้เป็นไนไตรต์ โดยกระบวนการ Nitrosification หรือ ammonium oxidation และ (2) การเปลี่ยนแปลงไนไตรต์ให้เป็นไนเตรท โดยกระบวนการ Nitrite oxidation (Paul and Clark, 1996)

2.1 ปฏิกิริยาไนโตรซิฟิเคชัน (Nitrosification) หรือ แอมโมเนียมออกซิเดชัน (ammonium oxidation)

คือปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียไปเป็นไนไตรต์ ดังสมการที่ 5

$$NH_4^+ + 1.5O_2 \longrightarrow NO_2^- + H_2O + 2H^+ + \text{พลังงาน} \quad \text{..... (5)}$$

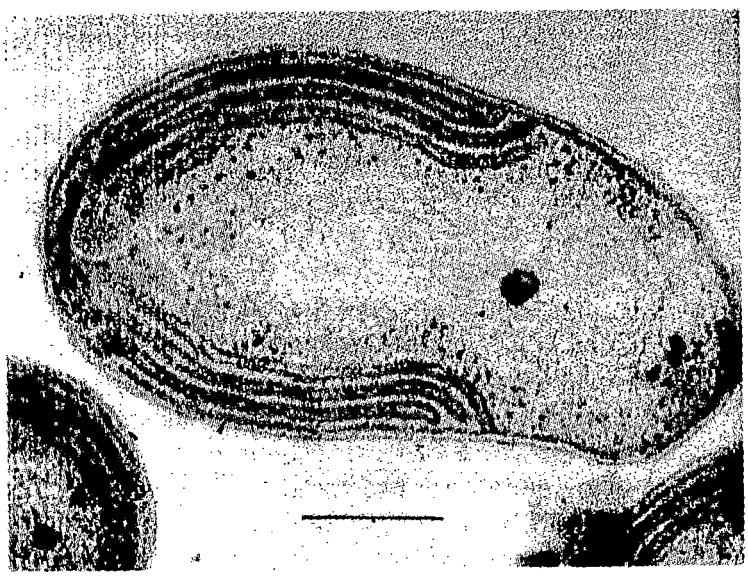
แบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดปฏิกิริยานี้ได้แก่ *Nitrosococcus, Nitrosocystis* (เช่น *N. oceanus), Nitrosogloea* และ *Nitrosospira* เนื่องจากไนไตรต์เป็นสารที่มีความเป็นพิษอย่างรุนแรงต่อพืชดังนั้นถ้ามีปฏิกิริยานี้สูงก็จะเกิดการสะสมไนไตรต์ในดินจะทำให้การเจริญเติบโตของพืชชะงักลง

2.2 ปฏิกิริยาไนไตรต์ออกซิเดชัน (Nitrite oxidation)

เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงไนไตรต์เป็นไนเตรต (Paul and Clark, 1996; Bitton, 1994; มั่นสิน,2540) ดังสมการที่ 6

$$NO_2 + 0.5O_2 \longrightarrow NO_3 + \text{พลังงาน} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (6)$$

แบคทีเรียที่รับผิดชอบในการเกิดปฏิกิริยานี้ได้แก่ *Nitrobacter* (เช่น *N. winogradskyi*) (รูปที่ 5), *Nitrocystis* รวมทั้งเชื้อราพวก *Aspergillus spp.* (เช่น *A. flavus*)



รูปที่ 5 แสดง **Ultrastructure** ของ ***Nitrobacter winogradskyi*** **(Pelczar *et al.*, 1986)**

ไนเตรทที่เกิดจากปฏิกิริยานี้เป็นสารที่ละลายน้ำได้ดีจึงถูกพืชดูดซึมไปใช้ได้ง่าย แต่ในขณะเดียวกันไนเตรทบางส่วนอาจซึมลงสู่ใต้ดินไปปนเปื้อนน้ำใต้ดินหรือน้ำบาดาล ซึ่งไนเตรทเป็นสารที่มีพิษต่อร่างกายของมนุษย์ เพราะถ้าหากได้รับไนเตรทเข้าสู่ร่างกาย ไนเตรทจะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นไนไตรต์ที่ลำไส้และไนไตรต์จะเกาะกับฮีโมโกลบินในเลือดให้กลายเป็น methemoglobin ซึ่งทำให้ฮีโมโกลบินไม่สามารถจับออกซิเจนได้อีก จึงทำให้ร่างกายขาดออกซิเจน ดังนั้นถ้าร่างกายได้รับไนเตรทในปริมาณมากจะทำให้เสียชีวิตได้ปฏิกิริยานี้จะพบมากในเด็กทารก

จากสมการจะเห็นได้ว่า Nitrifier เป็นแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนในการหายใจและขบวนการทั้ง 2 ขั้นตอนนี้ จะทำให้ไนโตรเจนไม่สะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อม Nitrification สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดีที่สุด เมื่อ pH มีค่าประมาณ 7-8 และอุณหภูมิ 25-35 $^{\circ}C$ ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นได้ต้องอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน แบคทีเรียกลุ่มไนตริไฟเออร์พบได้ทั้งน้ำจืด น้ำเค็ม และดินตะกอนที่มีออกซิเจน

3. ปฏิกิริยาแอสซิมิลาโทรีไนเตรทรีดักชัน (Assimilatory nitrate reduction)

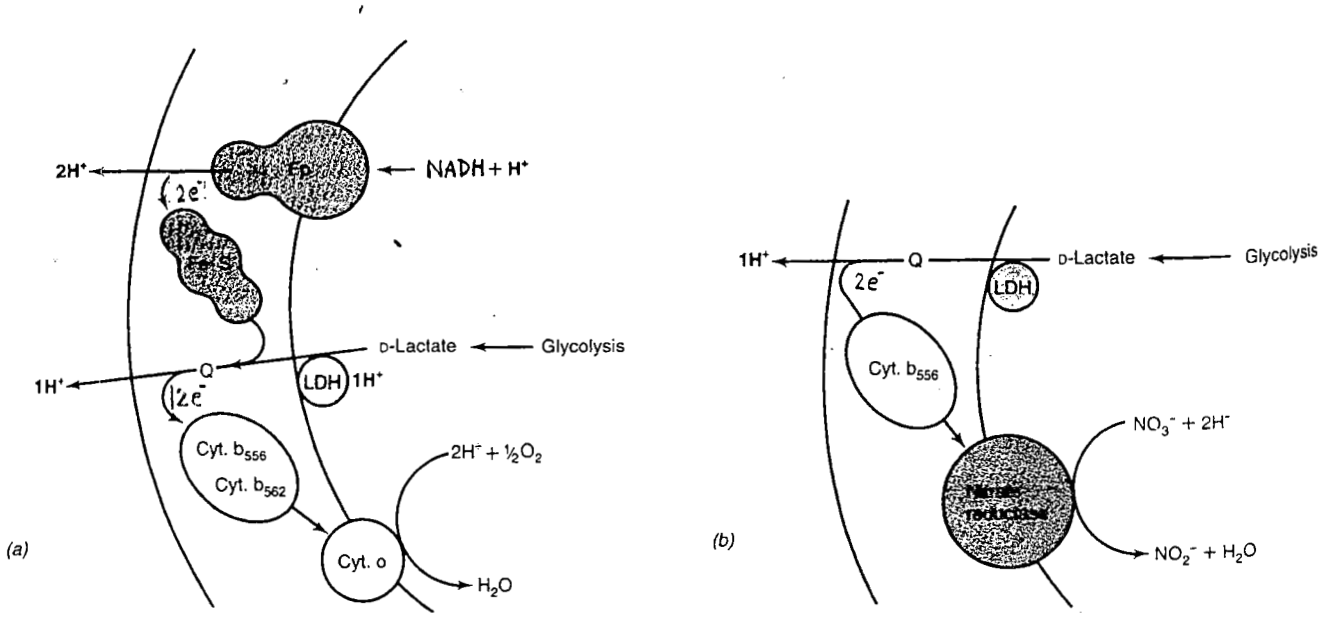
คือปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงไนเตรทไปเป็นแอมโมเนียมอิออนโดยกลุ่มของพืชชั้นสูง และจุลินทรีย์ยกตัวอย่างเช่น *P.aeruginosa* เข้าไปในปฏิกิริยานี้ต้องใช้เอนไซม์หลายชนิด เช่น assimilatory nitrate reductases ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทนต่อก๊าซออกซิเจน แตกต่างจากเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาตรึงไนโตรเจน ในการเปลี่ยนแปลงจากไนเตรทไปเป็นแอมโมเนียมอิออน และเปลี่ยนแอมโมเนียมอิออนไปเป็นส่วนประกอบของเซลล์ในรูปโปรตีน และ กรดนิวคลีอิค (Bitton, 1994)

$$NO_3 \longrightarrow NO_3 \longrightarrow NH_4^+ \quad \text{..... (7)}$$

4. ปฏิกิริยาดิสซิมิลาโทรีไนเตรทรีดักชัน (Dissimilatory nitrate reduction)

ปฏิกิริยานี้คือปฏิกิริยาที่มีการรีดิวซ์ไนเตรทซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็คตรอนให้เปลี่ยนกลายเป็นไนไตรต์ที่เกิดภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนแบคทีเรียกลุ่มใช้ออกซิเจน (aerobic), ออโตโทรป (autotrophic) หรือเฮทเทอโรโทรป (heterotroph) ที่มีความสามารถพิเศษในการเจริญในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแต่มีไนเตรทดังรูปที่ 6 และตารางที่ 5 แสดงถึงกระบวนการ electron transport process ที่เกิดขึ้นใน *E. coli* ดังนั้นปฏิกิริยานี้ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตก๊าซไนโตรเจนที่อยู่ในบรรยากาศ เพราะไนโตรเจนเป็นก๊าซที่มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำดังนั้นก๊าซไนโตรเจนที่เกิดขึ้นในดินหรือสภาพแวดล้อมอื่น ๆ มักจะกลายเป็นก๊าซลอยไปสู่บรรยากาศ (Bitton, 1994)

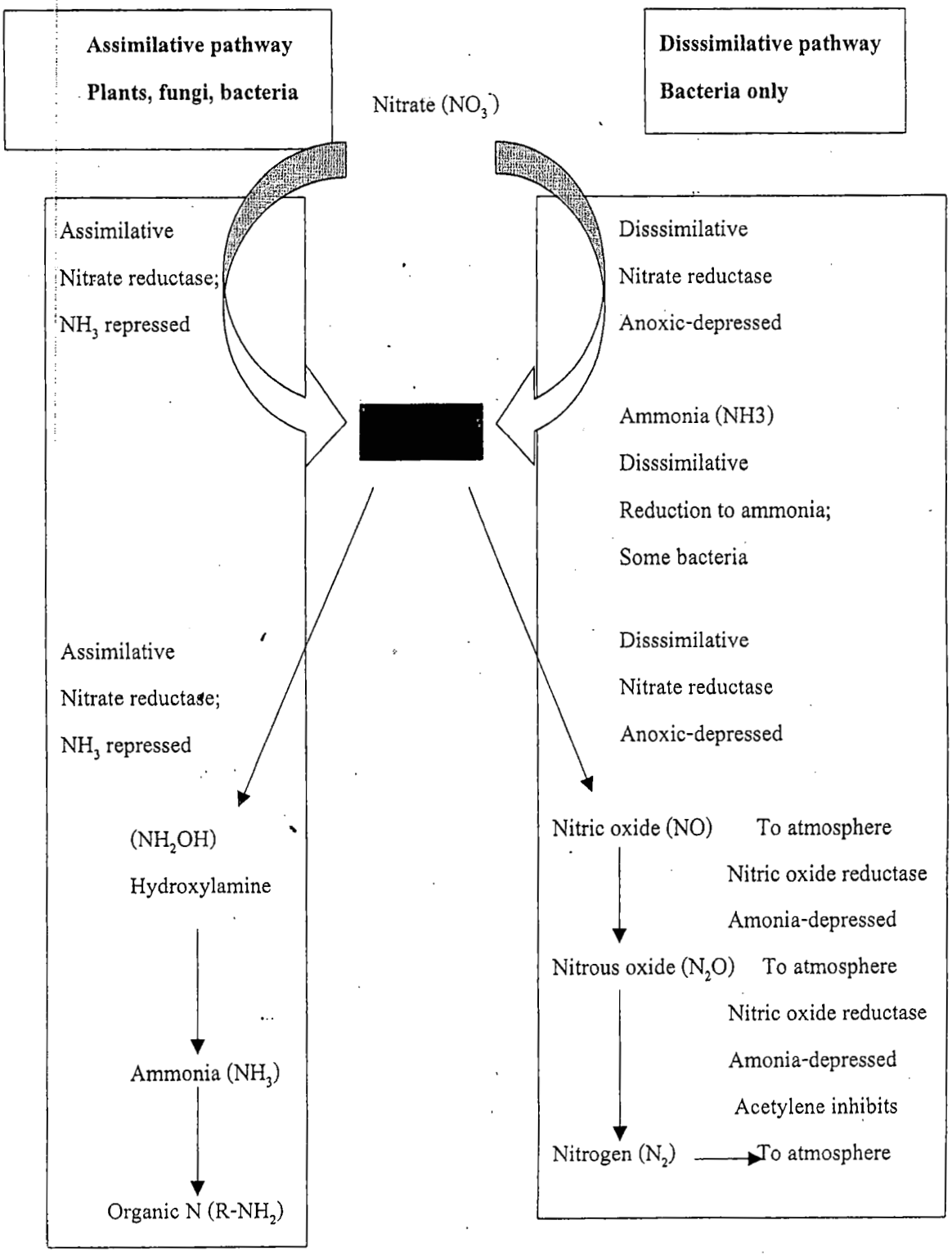
เอนไซม์ที่มีบทบาทในปฏิกิริยานี้คือ dissimilatory nitrate reductases ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ไวต่อกาซออกซิเจน ดังนั้น Sias และคณะ (1980) จึงตั้งสมมติฐานว่ายีนส์ที่สร้างเอนไซม์ dissimilatory nitrate reductases แตกต่างจากยีนส์ที่สร้างเอนไซม์ assimilatory nitrate reductases ดังรูปที่ 7 แสดงถึงความแตกต่างของกระบวนการใน dissimilatory nitrate reduction ปฏิกิริยานี้พบว่าเกิดมากในดินตะกอนโดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินตะกอนน้ำจืด (freshwater sediments)



รูปที่ 6 แสดงการขนส่งอิเล็กตรอนใน *E.coli* เมื่อ (a)ออกซิเจน และ (b) ไนเตรท ถูกใช้เป็น electron acceptor (Fp,flavoprotein; Q, coenzyme Q; LDH, lactate dehydrogenase (Brock, 1994)

ตารางที่ 5 แบคทีเรียกลุ่ม Dissimilatory nitrate reduction

แบคทีเรียกลุ่ม Dissimilatory nitrate reduction
Alcaligenes
Flavobacterium
Escherichia
Nocardia
Aeromonas
Spirillum
Enterococcus
Staphylococcus
Bacillus
Ps. aeruginosa
Vibrio



รูปที่ 7 ไดอะแกรมแสดงการเปรียบเทียบระหว่าง **assimilatory** และ **dissimilatory nitrate reduction (Brock, 1994)**

5. ปฏิกิริยาแอมโมเนียมแอสซิมิเลชัน (Ammonium assimilation)

(Bitton, 1994)

คือปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอมโมเนียมอิออนหรือกาซแอมโมเนียมให้กลายเป็นสารประกอบอินทรียไนโตรเจน ดังแสดงในสมการที่ 8

$$NH_4^+ \longrightarrow R\text{-}NH_2 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (8)$$

โดยแบคทีเรียกลุ่ม เฮทเทอโรโทรป และออโตโทรป จะเปลี่ยนแปลงจากแอมโมเนียมหรือไนเตรทไปเป็นโปรตีนเพื่อการเจริญเติบโต นอกจากนั้นการใช้คาร์บอนในการเจริญเติบโตต้องใช้ไนโตรเจนในอัตราส่วนที่เหมาะสม คือ C:N = 10:1 ปฏิกิริยานี้ทำให้ลดปริมาณของแอมโมเนียมอิออนในดิน ซึ่งเป็นไนโตรเจนสัดส่วนของพืชชั้นสูงและสาหร่ายชอบใช้เป็นสารอาหารมากกว่าในรูปของไนเตรท

6. ปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification)

เป็นปฏิกิริยาของการรีดิวส์ไนเตรทให้กลายเป็นกาซไนโตรเจน (N_2) โดยแบคทีเรียกลุ่มดีไนตริไฟอิงแบคทีเรีย (denitrifying bacteria) หรือแบคทีเรียดีไนตริไฟเออร์ (denitrifier) 4 ขั้นตอน คือ

1. NO_3^- reduction

$$NO_3^- \xrightarrow{\text{Nitrate reductase (NR)}} NO_2^- \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (9)$$

ขั้นตอนแรก คือ ปฏิกิริยาการใช้ไนเตรทแทนออกซิเจนในการหายใจหรือที่เรียกว่า nitrate respiration

2. NO_2^- reduction

Nitritereductase (NiR)

$NO_2^- \longrightarrow NO$ ..... (10)

3. NO reduction

Nitric oxide reductase (NOR)

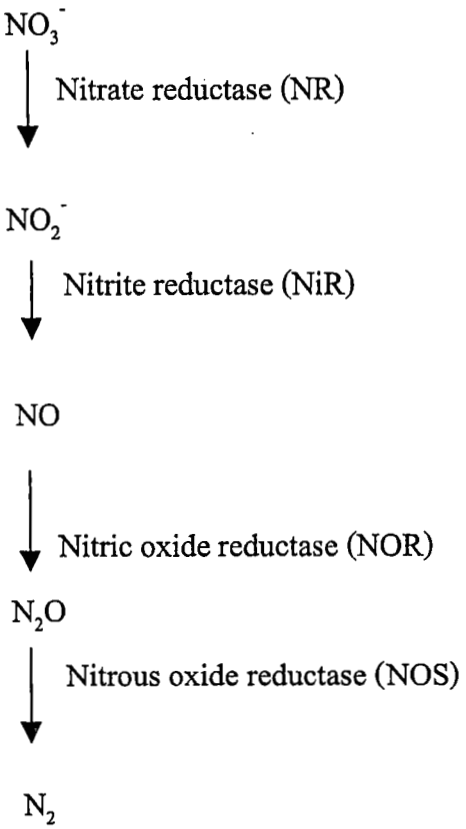
$NO \longrightarrow N_2O$ ..... (11)

4. N_2O reduction

Nitrous oxide reductase (NOS)

$N_2O \longrightarrow N_2$ ..... (12)

หรืออาจจะแสดงการเกิด denitrification ดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 กระบวนการเปลี่ยนแปลงของไนเตรทเป็นสารต่างๆตามลำดับเมื่อ เกิดปฏิกิริยา denitrification (Paul and Clark, 1996)

ดังนั้นขบวนการนี้เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงที่เกษตรกรไม่พึงประสงค์ เพราะเป็นกระบวนการที่เปลี่ยนแปลงไนโตรเจนที่อยู่ในรูปที่พืชนำออกไปใช้ได้ หรือเรียกว่า fixed nitrogen ให้กลายเป็นกาซไนโตรเจนซึ่งลอยขึ้นสู่อากาศและเป็นรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ได้ ทำให้เกษตรกรต้องสิ้นเปลืองปุ๋ยไนโตรเจน แต่อย่างไรก็ตามปฏิกิริยานี้มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการบำบัดน้ำเสียโดยชีวภาพ เช่น น้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรม หรือใน แหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (aquaculture) เพราะในน้ำเสียต้องมีการกำจัดสารไนโตรเจนทั้งในรูปของไนเตรท , ไนไตรท์ และแอมโมเนียมอิออน ซึ่งถ้ามีการปล่อยไปในแหล่งน้ำจะให้เกิดขบวนการ eutrophication หรือ ขบวนการที่มีพืชน้ำเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จนทำให้อายุของแหล่งน้ำนั้นมีอายุการใช้งานลดลงอย่างสูง

Denitrifying bacteria เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic bacteria) ในสภาวะที่มีออกซิเจนแบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน และในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแต่มีไนโตรเจนแบคทีเรียกลุ่มนี้ก็สามารถใช้ไนโตรเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้ หรือแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเลือกใช้ออกซิเจน ถ้าในสภาวะนั้น ๆ มีทั้งไนเตรทและออกซิเจน (Paul and Clark, 1996)

การวัดปริมาณการเกิด denitrification

เนื่องจากเอนไซม์ Nitrous oxide reductase (NOS) มีลักษณะเฉพาะคือถูกยับยั้งโดย acetylene (C_2H_2) ดังนั้นเราสามารถวัดการศึกษา denitrification โดยมีการยับยั้งการเปลี่ยน N_2O ไปเป็น N_2 และเราสามารถวัดการสะสมของไนตรัสอ๊อกไซด์ต่อไป (Bitton, 1994)

แบคทีเรียที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา denitrification

แบคทีเรียที่ทำให้เกิดปฏิกิริยานี้มีหลายกลุ่มดังแสดงในตารางที่ 6 ได้แก่แบคทีเรียบางชนิดในสกุล *Pseudomonas* (เช่น *P. aeruginosa* และ *P. denitrificans), Bacillus* (เช่น *B. licheniformis), Paracocus* (เช่น *P. denitrificans)* และ *Thiobacillus*

denitrificans แบคทีเรียเหล่านี้มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไนเตรทเป็นกาซไนโตรเจนได้ดี ส่วนแบคทีเรียที่เปลี่ยนแปลงในขบวนการนี้ได้และมีพบค่อนข้างน้อยได้แก่ *Chromobacterium, Corynebacterium, Hyphomicrobium, Serratia* และ *Achromobacter* (Paul และ Clark, 1996) ปฏิกิริยา denitrification และ N-fixing เกิดขึ้นได้ในบางกลุ่มของ diazotrophs เอนไซม์ที่ใช้ใน 2 ปฏิกิริยาบางส่วนพบว่าอาจจะเป็นกลุ่มเดียวกันแต่การเกิดชนิดใดของ 2 ปฏิกิริยานี้จะขึ้นอยู่กับสารตั้งต้น และไนเตรทจะยับยั้งเอนไซม์ nitrogenase *Thiospara pantotropha* สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา nitrification และ denitrification ในเวลาเดียวกันและเกิดขึ้นในบริเวณที่ต่างกัน

ตารางที่ 6 แบคทีเรียกลุ่มดีไนตริไฟเออร์ (Denitrifyier bacteria)

กลุ่มของแบคทีเรียกลุ่มดีไนตริไฟเออร์ (Denitrifyier bacteria)	
แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic bacteria)	*Paracoccus denitrificans* *Thiobacillus denitrificans* *Pseudomonas** *Ps. Denitrificans* *Alcaligenes** *Azospirillum* *Rhizobium* *Rhodopseudomonas* *Propionibacterium* *Bacillus*
แบคทีเรียกลุ่ม aerobic denitrification	*Thiosphaera pantotropha*
แบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ	*Spirillum, Hyphomicrobium* *Agrobacterium, Acinetobacter* *Propionobacterium, Rhizobium,* *Corynebacterium, Cytophaga* *Thiobacillus*

* คือ แบคทีเรียที่พบมากในสิ่งแวดล้อม

ดังนั้นความสามารถที่เกิดปฏิกิริยาได้มากกว่า 1 อย่างของจุลชีพกลุ่มนี้น่าจะมีประโยชน์ต่อการฟื้นฟูน้ำใต้ดินที่มีการปนเปื้อนด้วยสารเคมีและการบำบัดน้ำเสียที่มี การปนเปื้อนสารเคมีและแอมโมเนียมไอออนและไนเตรทปริมาณสูงเพราะแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถใช้สารเคมีเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้ไนโตรเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน (Paul and Clark, 1996)

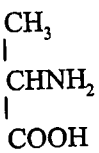
7. ปฏิกิริยาการผลิตแอมโมเนีย หรือ แอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) หรือ nitrogen mineralization

คือปฏิกิริยาที่มีการเปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรียไนโตรเจนให้เป็นแอมโมเนียมอิออนหรือกาซแอมโมเนีย โดยมีการเกิดปฏิกิริยาจากโปรตีนเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน และเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียม ไนโตรเจนในดินเกือบทั้งหมดจะอยู่ในรูปของสารอินทรีย์โดยเฉพาะในรูปของโปรตีน จากนั้นจะมีการย่อยสลายส่วนประกอบที่เป็นโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโน (Bitton, 1994; Paul and Clark, 1996) โดยแบคทีเรีย ต่อจากนั้น กลุ่มอะมิโนของกรดอะมิโนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นกาซแอมโมเนีย (NH_3) ในปฏิกิริยา deamination ดังนั้นปฏิกิริยาที่มีการปลดปล่อยกาซแอมโมเนียเรียกว่า Ammonification โดยแบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิดมีบทบาทสำคัญในการเกิดปฏิกิริยานี้ (รูปที่ 9)

โปรตีนจากเซลล์ที่ตายแล้วและจากสารของเสีย

1) ปฏิกิริยา Proteolysis โดยจุลชีพ

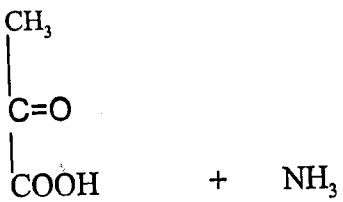
กรดอะมิโน เช่น



alanine

ปฏิกิริยา deamination

(Alanine deaminase)



รูปที่ 9 ตัวอย่างของปฏิกิริยา Ammonification

การเจริญเติบโตของจุลชีพจะมีการปลดปล่อยเอนไซม์ proteolytic ออกนอกเซลล์เพื่อจะย่อยสลายโปรตีน ต่อจากนั้นกรดอะมิโนจะถูกย้ายเข้าสู่เซลล์ของจุลชีพในขณะที่มีขบวนการ ammonification เกิดขึ้น เนื่องจากแอมโมเนียเป็นกาซจึงสามารถระเหยออกจากดินที่แห้งอย่างรวดเร็วแต่ในดินเปียกก๊าซแอมโมเนียจะมีการละลายในน้ำและกลายเป็นแอมโมเนียมอิออนดังแสดงในรูปที่ 10 แอมโมเนียมอิออนจะถูกนำไปใช้ในการสร้างกรดอะมิโนโดยพืชและแบคทีเรียต่อไป (Paul and Clark, 1996)

$$NH_3 + H_2O \rightarrow NH_4OH \rightarrow NH_4^+ + OH^-$$

รูปที่ 10 การละลายของกาซแอมโมเนียในน้ำและกลายเป็นแอมโมเนียมอิออน

แอมโมเนียในดินนอกจากจะเกิดจากการย่อยสลายกรดอะมิโนของจุลชีพในดินแล้ว อาจได้จากการย่อยสลายยูเรียและปุ๋ยแอมโมเนียอีกด้วย แอมโมเนียเหล่านี้บางส่วนจะถูกพืชและจุลชีพนำไปใช้บางส่วนจะถูกจุลชีพเปลี่ยนแปลงเป็นสารประกอบไนเตรทต่อไป (Paul และ Clark, 1996) นอกจากนั้นยังพบว่าสารประกอบไนโตรเจนบางส่วนจะมีการเกิดปฏิกิริยากับสารฟีนอล (phenols) และ/หรือ polyphenols ซึ่งจะทำให้เกิดสารที่คงทนต่อการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ต่อไป แอมโมเนียมอิออนจะพบมากในสิ่งแวดล้อมที่มี pH เป็นกรด และเป็นกลางในขณะที่ถ้า pH สูงขึ้น แอมโมเนียมอิออนจะเปลี่ยนไปเป็นกาซแอมโมเนีย (Bitton, 1994)

8. ปฏิกิริยาไนไตรต์แอมโมนิฟิเคชัน (Nitrite ammonification)

คือปฏิกิริยาการเปลี่ยนไนไตรต์ให้เป็นแอมโมเนียมอิออน

$$NO_2^- \longrightarrow NH_4^+ \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (13)$$

เอกสารอ้างอิง

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ (2539) การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ : เล่ม 1 การจัดการคุณภาพน้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 3 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า .

Atlas RM and Bartha R (1993) Microbial Ecology. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City.

Bitton G (1994) Wastewater Microbiology. John Wiley & Sons, Chichester.

Bohn HL, McNeal BL and O'Connor GA. (1985) Introduction *In* Soil chemistry. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, NY.

Brock DB, Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1994) Biology of Microorganisms. 7th ed. Prentice-Hall,Inc., New Jersey.

Likens GE (1981) Some Perspectives of The Major Biogeochemical Cycles. John Wiley & Sons, Chichester.

Patureau D, Zumstein E, Delgenes JP and Moletta R (2000) Aerobic denitrifiers isolated from diverse natural and managed ecosystem. Microb Ecol. 39: 145-152.

Paul EA and Clark FE (1996) Soil Microbiology and Biochemistry. 2nd ed. Academic Press, San Diego.

Pelczar MJ,Jr , Chan ECS and Krieg NR (1986) Microbiology. 5th Ed. McGraw-hill Book Company, Inc., Singapore.

Rosswall T (1978) *In* Some Perspectives of The Major Biogeochemical cycles. John Wiley & Sons, Chichester.

Sias et. al. (1980) The assimilatory nitrate reductase of *Pseudomonas aeruginosa* are encodeed by different genes. J.Gen.Microbiol. 35: 38-44.

U.S. Environmental Protection Agency (1995) Inventory of U.S. Greenhouse Gas and Emissions and Sinks ; 1990 to 1994. Office Policy Plann. Evaluation, Washington, D.C.

บทที่ 6
วัฏจักรซัลเฟอร์ (Sulfur cycle)

หัวข้อ

- **ความสำคัญของธาตุซัลเฟอร์**
- **ปฏิกิริยาที่เกิดในวัฏจักรซัลเฟอร์**

ความสำคัญของธาตุซัลเฟอร์

ธาตุซัลเฟอร์ (Sulfur) เป็นธาตุที่มีมากเป็นอันดับที่ 10 ที่พบได้ในเปลือกโลกโดยพบได้ในประมาณ 520 ppm ดังนั้นจึงไม่พบว่าธาตุนี้จะมีการขาดแคลนเหมือนกับธาตุไนโตรเจน (Ehrlich, 1981; Jorgensen, 1983) รวมทั้งไม่มีการสะสม ของซัลเฟอร์ในบรรยากาศเหมือนกับแร่ธาตุคาร์บอน ออกซิเจน ไฮโดรเจน และไนโตรเจน แหล่งของ ธาตุซัลเฟอร์ ในรูปแบบต่างๆได้แสดงในตารางที่ 1 โดยซัลเฟอร์ (Sulfur) เป็นแร่ธาตุที่มีออกซิเดชั่นตั้งแต่ -2 จนถึง +6 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แหล่งของธาตุซัลเฟอร์ในรูปแบบต่างๆ

รูปแบบของธาตุซัลเฟอร์	แหล่งสะสม (Reservoir)
SO_4^{2-}	• เป็นสารแอนอิออน (Anion) ที่พบมากที่สุดเป็นอันดับ 2 ในน้ำทะเล (ประมาณ 28 mM) แต่เป็นแหล่งสะสมที่มีการหมุนเวียนอย่างช้าๆ • ซัลเฟอร์ที่อยู่ในสารอินทรีย์ทั้งในสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตจะ มีปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับซัลเฟตในน้ำทะเลแต่มี อัตราการหมุนเวียนของสารซัลเฟอร์ที่รวดเร็ว
Metal sulfides	• สะสมอยู่ในหิน (Rock) แต่อยู่ในสภาพที่ไม่ค่อยมีการหมุนเวียนของสารซัลเฟอร์จากแหล่งนี้
Elemental sulfur deposit และ fossil fuels	• แหล่งสะสมที่ไม่ค่อยมีการหมุนเวียนของสาซัลเฟอร์ในรูปนี้

ตารางที่ 2 สภาวะออกซิเดชัน (Oxidation states) ของแร่ธาตุซัลเฟอร์ในสารประกอบชนิดต่างๆ (Atlas and Bartha, 1993)

รูปแบบของธาตุซัลเฟอร์	ตัวอย่าง	สภาวะออกซิเดชั่น
S^{2-}	Sulfides, mercaptans	-2
S^0	Elemental sulfur	0
S_2O_4	Hyposulfite	+2
SO_3^{2-}	Sulfite	+4
SO_4^-	Sulfate	+4

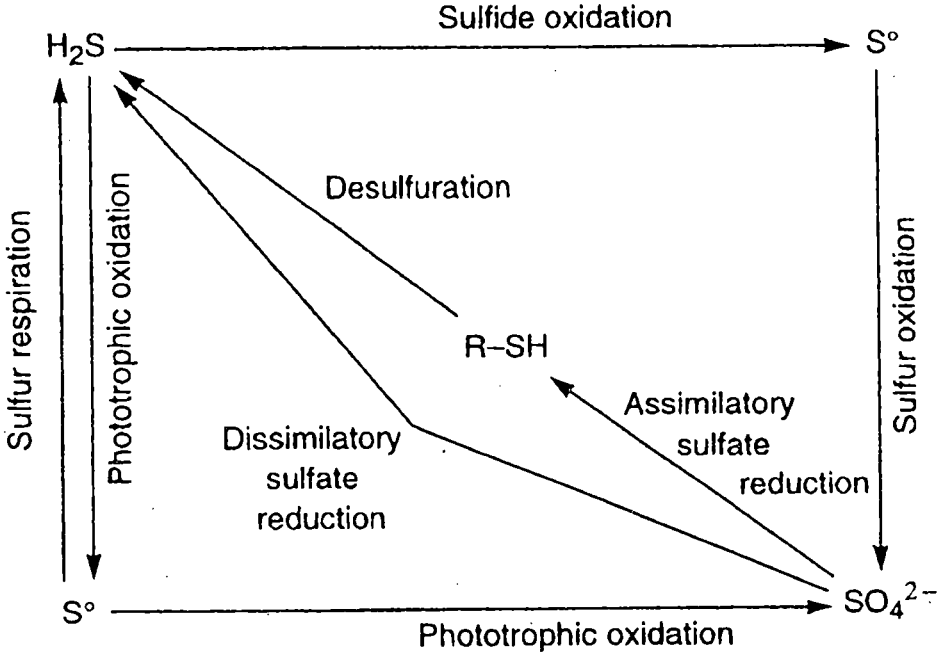
พืชชั้นสูง (Plant), สาหร่าย (Algae) และจุลชีพกลุ่ม heterotroph สามารถใช้ ซัลเฟอร์ที่อยู่ในรูปซัลเฟตมาใช้โดยจะนำผลิตเป็นสารอะมิโน cysteine, methionine และโคเอนไซม์ชนิดต่างๆ (Coenzymes) โดยอยู่ในรูปของ sulfhydryl (-SH) ดังแสดงในรูปที่ 2 แต่กลุ่มสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ไม่สามารถใช้ธาตุซัลเฟอร์ที่อยู่ในรูปของซัลไฟด์ (Sulfide) หรือไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) เพราะสารทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีความ เป็นพิษสูงต่อ สิ่งมีชีวิต

ถ้ามีการสะสมของออร์แกนโนซัลเฟอร์ (Organosulfur) ดังแสดงในรูปที่ 3 ในดินและตะกอนจะทำให้เกิดการสร้างสาร mercaptans และไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) (Bremmner and Steele, 1978) โดยปฏิกิริยาที่เรียกว่า desulfuration สาร mercaptans และไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นสารที่การระเหยได้ง่ายและมีกลิ่นเหม็นเหมือนไข่เน่า (Rotten eggs) นอกจากนั้นธาตุซัลเฟอร์ได้ถูกหมุนเวียนในสิ่งแวดล้อมดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การหมุนเวียนของธาตุซัลเฟอร์ (Sulfur flux) ในสิ่งแวดล้อม

การหมุนเวียนของซัลเฟอร์ (Sulfur flux)	**X 10^{11} กรัม/ปี**
แหล่งที่มีการปลดปล่อยสารซัลเฟอร์ (Emissions)	
H_2S (ในดิน)	30
H_2S (ในมหาสมุทร)	340
Sea spray	340
การเผาไหม้ (Combustion)	340
ภูเขาไฟ (Volcanoes)	30
แหล่งที่มีการสะสมของธาตุซัลเฟอร์ (Deposition)	
พื้นดิน (Land)	340
มหาสมุทร (Oceans)	340

วัฏจักรซัลเฟอร์ได้แสดงในรูปที่ 1 ประกอบด้วย ปฏิกิริยาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในวัฏจักรเหล่านี้ ได้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไร้ ออกซิเจน



รูปที่ 1 แสดงวัฏจักรซัลเฟอร์ (Atlas and Bartha, 1993)

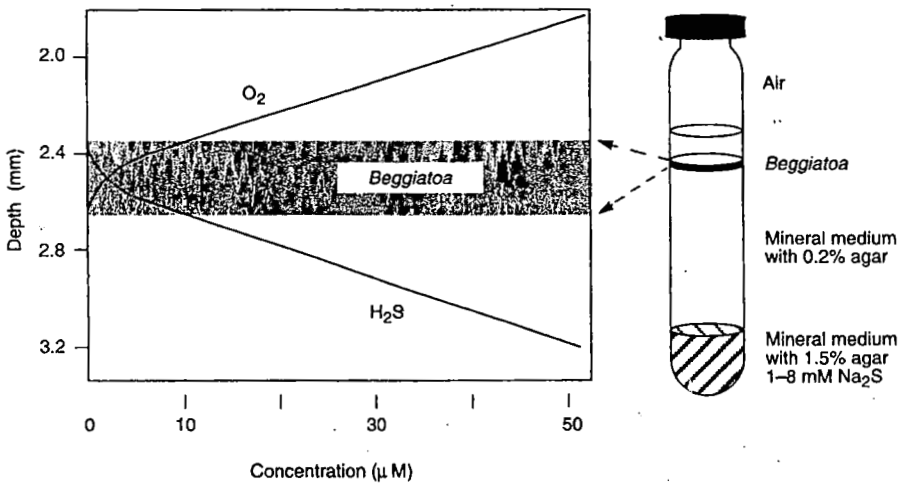
ปฏิกิริยาที่เกิดในวัฏจักรซัลเฟอร์

1. ปฏิกิริยาซัลไฟด์ออกซิเดชัน (Sulfide oxidation)

ปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ไปเป็น elemental sulfur (S^0) ดังแสดงในสมการที่ 1

$$H_2S + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow S^0 + H_2O \quad \text{.....(1)}$$

กลุ่มแบคทีเรียที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยานี้คือกลุ่ม chemolithotrophs เช่น *Beggiatoa, Thioploca,* และ *Thiothrix* (Nelson, 1990) และกลุ่มที่เจริญได้ดีใน ที่มีอุณหภูมิสูง (Thermophillic microorganisms) เช่น *Thermothrix* (Caldwell *et al.*, 1976) Elemental sulfur (S^0) ในแบคทีเรียเหล่านี้จะใช้และถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นซัลเฟต ถ้าสภาวะที่ไม่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มนี้จะถูกพบได้ในรอยต่อระหว่างสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนและมีออกซิเจนดังแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งแสดงถึงตัวอย่างของ *Beggiatoa* (รูปที่ 2), *Thiobacillus thioparus* และ *T. novellus* สามารถออกซิไดส์กาซ ไฮโดรเจนซัลไฟด์และซัลเฟอร์อื่นๆที่อยู่ในรูปของสารรีดิวส์ (Reduced sulfur compounds) แต่เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ทนทานต่อสภาวะที่เป็นได้ต่ำดังนั้นจึงมักจะสะสมสารซัลเฟอร์ในรูปของ elemental sulfur (S^0) มากกว่าที่จะมีการออกซิไดซ์ S^0 ไปเป็น กรดซัลฟุริก



รูปที่ 2 บริเวณที่พบกลุ่มแบคทีเรีย *Beggiatoa* เมื่อมีความลึกและความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนและก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เหมาะสมในหลอดทดลอง (Atlas and Bartha,1993)

2. ซัลเฟอร์ออกซิเดชัน (Sulfur oxidation)

คือปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลง elemental sulfur (S^0) ไปเป็นซัลเฟตดังแสดงในสมการที่ 2

$$S^0 + 1½\ O_2 + H_2O \longrightarrow H_2SO_4 \text{ .....(2)}$$

จีนัส *Thiobacillus* บางสปีชีย์สามารถออกซิไดซ์ elemental sulfur (S^0) ให้เปลี่ยนเป็นซัลเฟตในรูปของกรดซัลฟุริกดังแสดงในสมการที่ 2 และสารประกอบซัลเฟอร์ที่เป็นสาร อนินทรีย์ (Inorganic sulfur compounds)

<u>แบคทีเรียกลุ่มนี้มีลักษณะโดยทั่วไปคือ</u>

1. แบคทีเรียที่ชอบ เจริญในบริเวณที่เป็นกรด (Acidophile) โดยเจริญได้ดีใน pH 2-3

2. Obligate chemolithotrophs ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ได้พลังงานจากการออกซิไดซ์ inorganic sulfur และรีดิวส์กาซคาร์บอนไดออกไซด์
3. Obligate aerobes โดยที่ใช้กาซออกซิเจนเพื่อใช้ในกจรออกซิไดซ์สารประกอบ inorganic sulfur ยกเว้น *Thiobacillus denitrificans* ที่ใช้สารไนเตรทเป็นสารรับอิเล็คตรอน (Terminal electron acceptor) ในปฏิกิริยาออกซิเดชั่น inorganic sulfur compounds ดังแสดงในสมการที่ 3 แต่อย่างไรก็ตามแบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่สามารถทำให้ เกิดปฏิกิริยา assimilatory nitrate reduction ดังนั้นจึงต้องการแอมโนเนียมอิออนเพื่อ เป็นแหล่งไนโตรเจน

$$4NO_3^- + 3S^0 \longrightarrow 3SO_4^- + 2N_2 \quad \text{.....(3)}$$

นอกจากนั้นแบคทีเรียในจีนัส *Sulfolobus* (Archaebacteria) ยังสามารถออกซิ-ไดซ์ elemental sulfur (S^0) ไปเป็นซัลเฟตเพื่อผลิตพลังงานในบริเวณที่มีสภาวะเป็นกรดและมีอุณหภูมิสูง (Hot acidic habitats)

3. ปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันแบบแอสซิมิเรชัน (Assimilatory sulfate reduction)

คือปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงซัลเฟตไปเป็น สารประกอบอินทรีย์ (R-SH) ดังแสดงในสมการที่ 4 และแสดงรายละเอียดการเกิดสารประกอบอินทรีย์ในรูปที่ 3

$$SO_4^- \longrightarrow R\text{-}SH \quad \text{.....(4)}$$

ปฏิกิริยานี้จะมีการผลิต H_2S ในปริมาณต่ำและ H_2S จะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นกรดอะมิโนชนิดต่างๆ

4. ปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชันแบบดิสซิมิเรชัน (Dissimilatory sulfate reduction)

คือปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงซัลเฟตไปเป็นกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ดังแสดงใน สมการที่ 5 และรูปที่ 3 ปฏิกิริยา dissimilatory sulfate reduction นี้จะมีการปล่อยกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์อย่างมากออกสู่สิ่งแวดล้อม

$$SO_4^- \longrightarrow H_2S \quad \text{.....(5)}$$

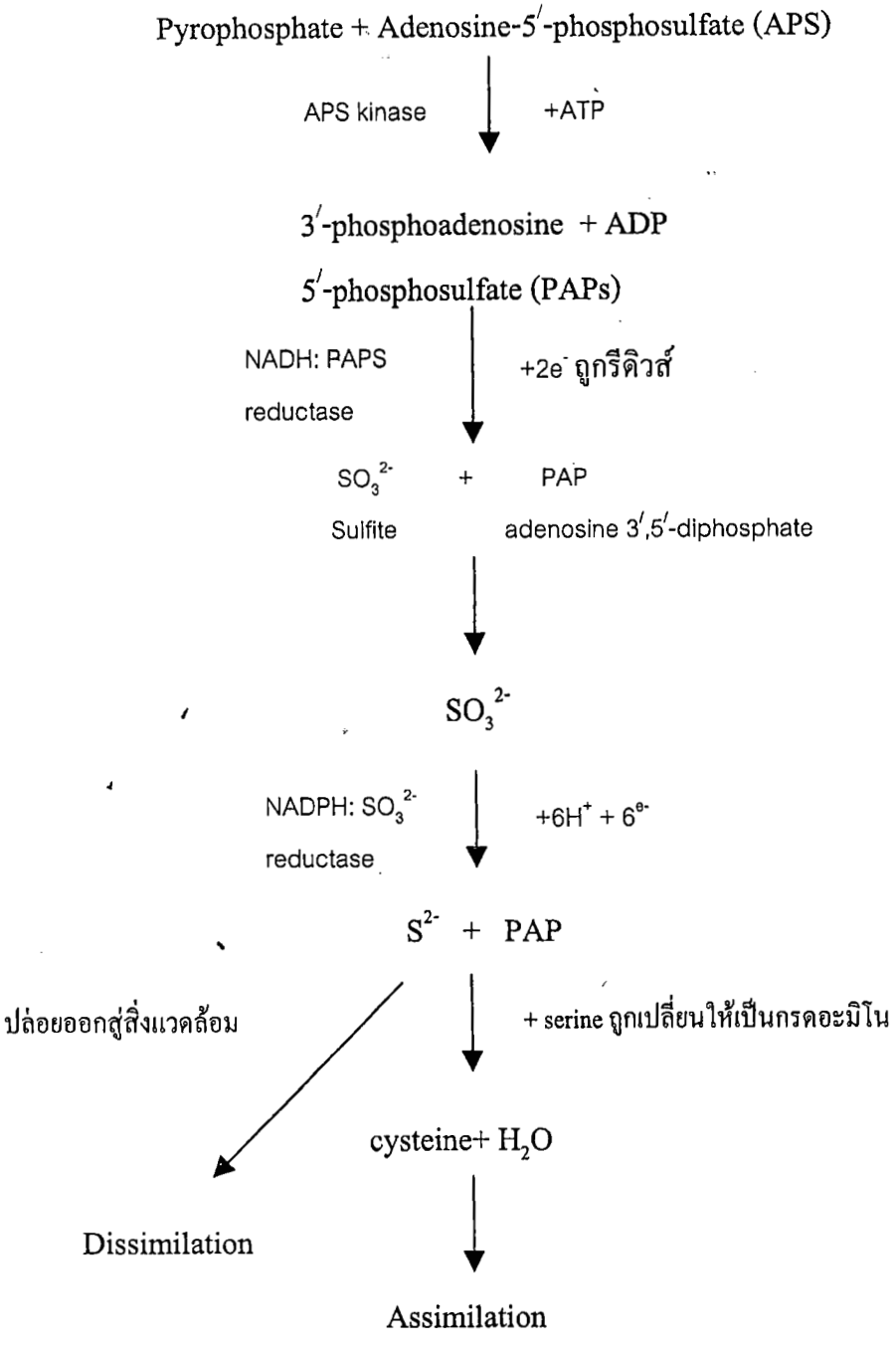
ซึ่งกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่ผลิตออกจากหลายๆปฏิกิริยาในวัฏจักรซัลเฟอร์ เป็นกาซพิษที่มีพิษอย่างแรงกับสิ่งมีชีวิต ยกตัวอย่างเช่น

1. มีพิษต่อระบบไซโตครอมของรากพืชทำให้พืชตายได้
2. มีพิษต่อกลุ่ม nematode และสัตว์ในดิน ซึ่งมักจะพบเกิดขึ้นในดินที่มีน้ำท่วมขัง
3. มีพิษต่อกลุ่มจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

5. ปฏิกิริยาดีซัลฟูเรชัน (Desulfuration)

คือปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลง สารประกอบอินทรีย์ (R-SH) ไปเป็นกาซไฮโดรเจน-ซัลไฟด์ (H_2S) ดังแสดง ในสมการที่ 6

$$R\text{-}SH \longrightarrow H_2S \quad \text{.....(6)}$$



รูปที่ 3 แสดงการเกิดปฏิกิริยา assimilatory และ dissimilatory sulfate reduction (Atlas and Bartha, 1993)

ตารางที่ 4 แบคทีเรียที่สามารถทำให้เกิดขบวนการ dissimilatory sulfate reduction

- *Desulfovibrio*	- *Desulfonema*
-*Desulfotomaculum*	- *Desulfosarsina*
- *Desulfobacter*	- *Bacillus*
- *Desulfobulbus*	- *Pseudomonas*
- *Desulfococcus*	- *Saccharomyces*

ปฏิกิริยานี้สามารถเกิดขึ้นได้ในหลายสภาวะ ทั้งทางด้าน pH , ความดัน , อุณหภูมิ , ความเค็ม แต่ข้อจำกัดของปฏิกิริยา sulfate reduction เหล่านี้มักจะเกิดจากปัญหาการขาดแคลนแหล่งของคาร์บอน

6. Phototrophic oxidation

คือ ปฏิกิริยาที่เปลี่ยนแปลงกาซไฮโดรเจนซัลไฟด์ไปเป็นเม็ดซัลเฟอร์และในที่สุดเป็นซัลเฟต

7. Sulfur respiration

คือปฏิกิริยาที่เปลี่ยนเม็ดซัลเฟอร์ให้เป็นก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (สมการที่ 7) ปฏิกิริยานี้จะมีการเกิดคล้ายกับปฏิกิริยา oxidative respiration ที่มีการใช้อ๊อกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน (สมการที่ 8)

$$\text{Substrate} + S^0 \longrightarrow CO_2 + H_2S \quad \text{.....(7)}$$

$$\text{Substrate} + O_2 \longrightarrow CO_2 + H_2O \quad \text{.....(8)}$$

ปฏิกิริยาทั้ง 7 ปฏิกิริยาที่กล่าวข้างต้นมีความสำคัญแตกต่างกันในแต่ละสิ่งแวดล้อมหรือการนำไปใช้ประโยชน์ ส่วนในแง่ของการฟื้นฟูสภาพของสิ่งแวดล้อมในดินที่ปนเปื้อนด้วยสารเคมีโดยใช้วิธีทางชีวภาพจะได้รับความสนใจในการย่อยสลายโดยใช้ปฏิกิริยาที่ 4 และ 5 แต่ในปฏิกิริยาที่ 4 นั้นได้รับความสนใจศึกษาเพิ่มขึ้นเมื่อไม่นานมานี้เองเนื่องจากการศึกษายุ่งยากและต้องใช้เทคนิคที่ค่อนข้างยุ่งยาก อย่างไรก็ตามวัฏจักรซัลเฟอร์เป็นวัฏจักรหนึ่งที่มีความสำคัญต่อจุลชีววิทยาทางดิน

เอกสารอ้างอิง

Atlas RM and Bartha R (1998) Microbial ecology: Fundamentals and applications. 4th, Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., CA.

Bremner JM and Steele CG (1978) The sulfer cycle. *In* Microbiology ecology: fundamentals and Applications. 3rd ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) The Benjamin/cummings publishing company, Inc., Redwood. p.323.

Caldwell DE, Caldwell SJ, and Laycock JP (1976) *Thermothrix thiopara* gen. et sp. nov., a facultatively anaerobic facultative chemolithotroph living at neutral pH and high temperature. Canadian Journal of Microbiology 22:1509-1517.

Ehrlich HL (1981) The sulfer cycle. *In* Microbiology ecology: fundamentals and Applications. 3rd ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) The Benjamin/cummings publishing company, Inc., Redwood. p.323.

Jorgensen BB (1980) The sulfer cycle. *In* Microbiology ecology: fundamentals and Applications. 3rd ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) The Benjamin/cummings publishing company, Inc., Redwood. p.323.

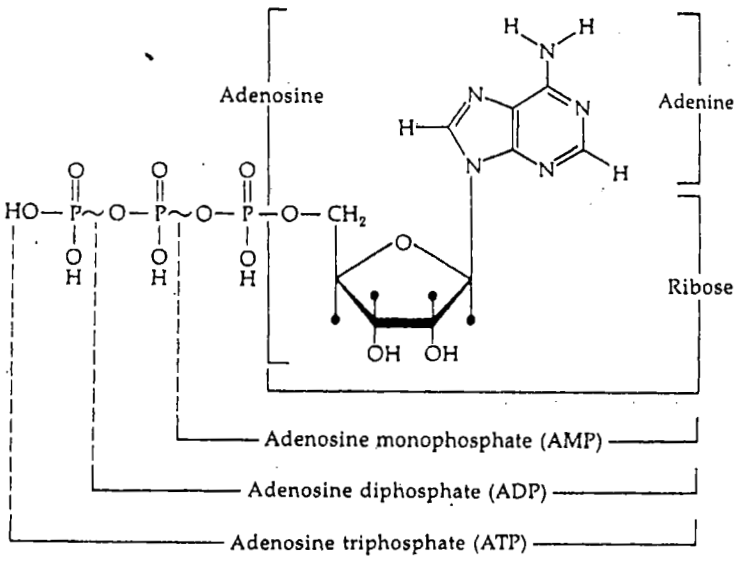
Nelson DC (1990) Autotrophic Bacteria. Springer-Verlag, Berlin.

บทที่ 7
วัฏจักรฟอสฟอรัส (Phosphorus cycles)

หัวข้อ

- บทนำ (Introduction)
- วัฏจักรของฟอสฟอรัสบนดิน
- ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้

ธาตุฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดเพราะฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบของโครโมโซมในนิวเคลียสและเป็นส่วนประกอบของสารพลังงาน ATP หรือ อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate) ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงโครงสร้างของ Adenosine triphosphate (Brock, 1994)

ในเปลือกโลกจะมีฟอสฟอรัสประมาณ 0.1 เปอร์เซนต์หรือประมาณ 10^{15} กิโลกรัม ตารางที่ 1 แสดงถึงแหล่งของฟอสฟอรัสทั้งในพื้นดินและมหาสมุทร

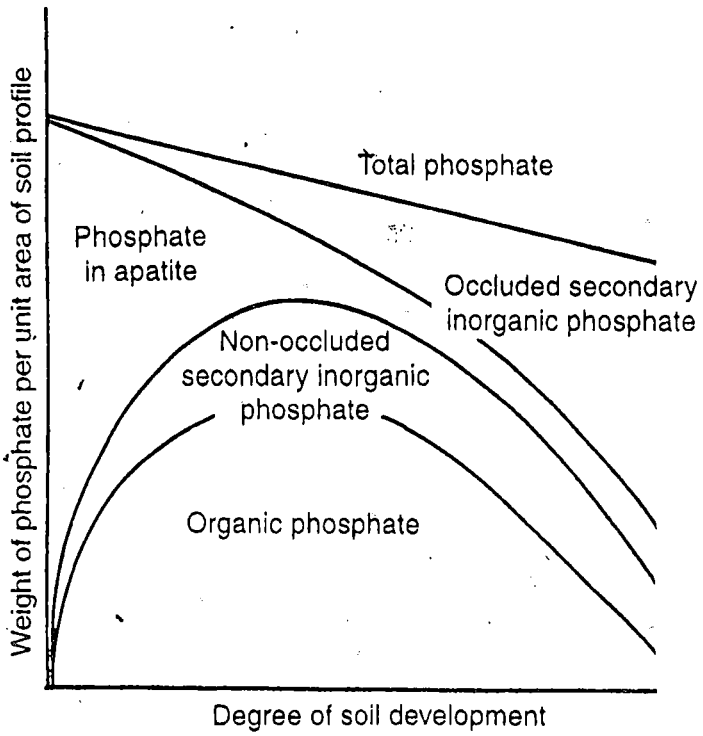
ตารางที่ 1 แหล่งของฟอสฟอรัสบนพื้นดินและในมหาสมุทร (Adapted from Bolin *et al.*, 1983)

แหล่งของฟอสฟอรัส	ปริมาณฟอสฟอรัส (x 10^{12} กิโลกรัม)
บนพื้นดิน	
ดิน	96-160
หินแร่	19
สิ่งมีชีวิต	2.6
น้ำจืด	0.090
มหาสมุทร	
ตะกอน	840,000
สารอนินทรีย์ที่ละลายอยู่	80
ซากที่ตายแล้ว (Detritus)	0.65
สิ่งมีชีวิต	0.050-0.12

Mean residence times ของฟอสฟอรัสสูงถึง หลายพันพันปี แหล่งสะสมของฟอสฟอรัสที่มากที่สุดคือ ตะกอนในมหาสมุทรที่มีการสะสมฟอสฟอรัสที่มาจากการกัดเซาะฟอสฟอรัสจากดินหรือมากับสิ่งมีชีวิตและลงมาสู่มหาสมุทรโดยมีการสะสมปริมาณน้อยๆแต่สม่ำเสมอ แหล่งใหญ่ที่นำฟอสฟอรัสจากดินมาสู่มหาสมุทรคือการสึกกร่อนของดินและการทิ้งพวกของเสียของมนุษย์ลงสู่มหาสมุทร

ฟอสฟอรัสอยู่ในรูป apatites ($M_{10}(PO_4)_6X_2$ ซึ่ง M จะหมายถึงแคลเซียมเป็นส่วนใหญ่ หรืออาจจะเป็นอลูมิเนียมหรือแร่เหล็กเป็นส่วนน้อย ส่วน X คือแอนอิออน (anion) ที่อาจจะเป็น F^-, Cl^-, OH^- หรือ CO_3^- ดังนั้นฟอสฟอรัสจึงอยู่ในรูปแบบ ฟูออโร-

คลอโร- ไฮดรอกซี่- และคาร์บอเนตแอปพาไทน์ (Carbonate apatites) รูปแบบของฟอสฟอรัสจึงมีหลากหลายถึง 200 รูปแบบที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ หินที่มีคาร์บอเนตแอปพาไทน์ปริมาณสูงได้ถูกนำมาใช้เป็นแหล่งของการผลิตปุ๋ย รูปที่ 2 แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงฟอสฟอรัสระหว่าง pedogenesis ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของฟอสฟอรัสต่างๆตามการพัฒนาการเกิดดินในบริเวณนั้นๆ



รูปที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงฟอสฟอรัสระหว่าง pedogenesis (Paul and Clark, 1996)

มีการค้นพบหลักฐานว่าฟอสฟอรัสเป็นแร่ที่มีส่วนควบคุมการเคลื่อนย้ายคาร์บอนและไนโตรเจนโดยสิ่งมีชีวิต (Immobilization in biological systems) Redfield (1958) รายงานว่าฟอสฟอรัสควบคุมคาร์บอน ไนโตรเจนและซัลเฟอร์ในน้ำเค็มและพบว่าสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสของน้ำทะเลจะคล้ายคลึงกับสัดส่วนในแพลงตอนและสัณนิษฐานว่าความสัมพันธ์โดยทั่วไปอาจแสดงโดยสมการที่ 1 ส่วนสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส ของสิ่งมีชีวิตอื่นแสดงในตารางที่ 2

$$106\ CO_2 + 16\ NO_3^- + 122\ H_2O + 18\ H^+ + PO_4^{3-} \xrightarrow[\text{trace elements}]{\text{solar energy}} C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P_1 + 138\ O_2 \quad \text{.....(1)}$$

ตารางที่ 2 แสดงถึงสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (C:N:P) ในสิ่งมีชีวิตและในสารอินทรีย์ในดิน (Paul and Clark, 1996)

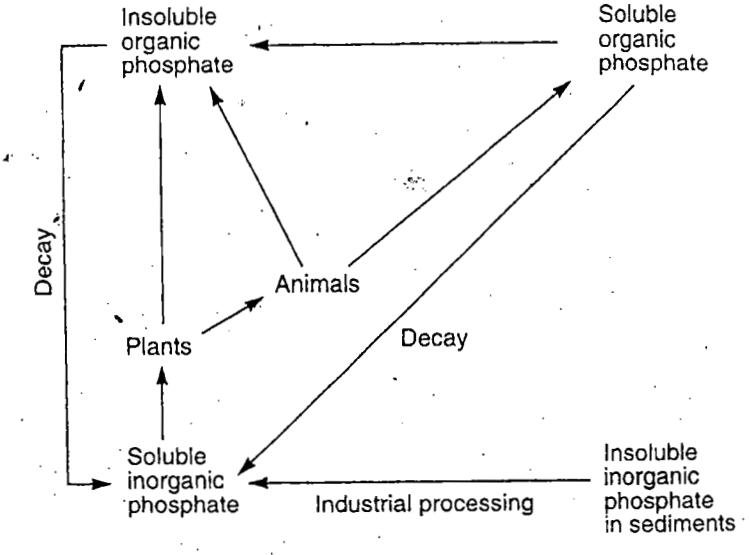
สารในธรรมชาติ	คาร์บอน	ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส
สาหร่ายทะเล	106	16	1
แบคทีเรียในดิน	31	5	1
Grassland soil			
Virgin	191	6	1
Cultivated, fertilized	119	9	1
Weakly weathered soil	80	1	1
Strongly weathered soil	106	16	1

ในปี ค.ศ. 1965 Walker และคณะ (Walker *et al* ,1965) พบถึงสมมติฐานที่ว่าการสะสมคาร์บอน ไนโตรเจน ซัลเฟตและฟอสฟอรัสในสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ (SOM) ขึ้นอยู่กับปริมาณของฟอสฟอรัสในดิน (soil parent material) ซึ่งมีการศึกษาในประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนต์ว่าปุ๋ยที่มีส่วนผสมของฟอสฟอรัสที่ใส่ในดินที่มีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำจะทำให้เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของ grasslands และมีการเพิ่มของสารอินทรีย์ด้วย (Paul and Clark, 1996)

วัฏจักรของฟอสฟอรัสบนดิน

ฟอสฟอรัสจากอากาศไม่มีการเคลื่อนย้ายโดยสิ่งมีชีวิตในปริมาณมากเหมือนธาตุคาร์บอนและไนโตรเจน แต่ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปแบบรีดิวส์ทำหน้าที่เป็นแหล่งพลัง-

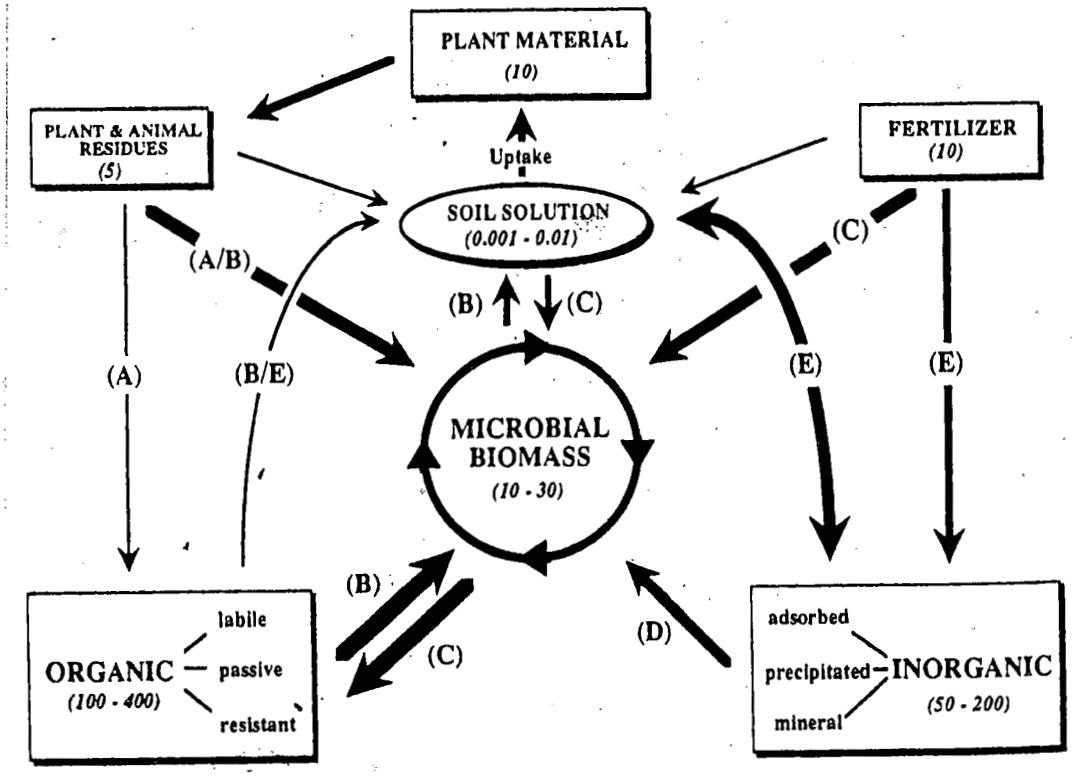
งานแรกเริ่ม (primary energy source) สำหรับปฏิกิริยาอ๊อกซิเดชั่นซึ่งเกิดขึ้นโดยจุลชีพ รวมทั้งจุลชีพในดินมีความเกี่ยวพันอย่างมากในการทำให้เกิดวัฏจักรของฟอสฟอรัสในดิน (รูปที่ 3) จุลชีพเหล่านี้มีส่วนร่วมในการละลายสารอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ของสารอินทรีย์ฟอสฟอรัส รวมทั้งมีบทบาทสำคัญในการทำให้ไม่มีการเคลื่อนย้าย (immobilization) ของฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในดิน ถึงแม้ว่า biomass ของแบคทีเรียจะน้อยกว่าพืชชั้นสูงแต่พบว่าฟอสฟอรัสในแบคทีเรียมีปริมาณสูงกว่าในพืชถึง 10 เท่า ในเวลา 1 ปีจุลชีพหลากหลายชนิดในดินจะมีการเจริญเติบโตได้หลาย generation ดังนั้นการ uptake ของฟอสฟอรัสในแต่ละปีจึงมากกว่าที่เกิดขึ้นในพืชชั้นสูงด้วย การตรึงของฟอสฟอรัสในจุลชีพจะมีระยะเวลาที่ไม่นานซึ่งจะทำให้เกิดผลดีต่อพืชชั้นสูงรวมทั้งป้องกันการตรึงสารฟอสฟอรัสในแร่ธาตุอื่นๆด้วย



รูปที่ 3 วัฏจักรของฟอสฟอรัส (Paul and Clark, 1996)

ในรูปที่ 4 แสดงถึงการหมุนเวียนของฟอสฟอรัสในดิน ส่วนใหญ่ของฟอสเฟตในดินไม่ละลายน้ำหรือละลายน้ำได้น้อยมาก เมื่อฟอสฟอรัสที่เติมในดินในรูปที่ละลายน้ำได้ฟอสฟอรัสจะถูกตรึงซึ่งจะเรียกว่า fixed P โดยมีส่วนน้อยที่จะถูกละลายออกมาอีกครั้งด้วยน้ำหรือโดยกรดอ่อนหรือสารละลายไบคาร์บอเนตซึ่งเรียกว่า available P ส่วนนี้ของฟอสฟอรัสซึ่งประกอบด้วยสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์จะสามารถนำมาใช้

โดยสิ่งมีชีวิต ส่วนประกอบฟอสฟอรัสที่สามารถถูกสกัดด้วย resin จะถูกเรียกว่า ส่วน labile P เป็นส่วนที่สามารถเข้าไปในสารละลายได้โดยวิธี isoionic exchange



รูปที่ 4 แสดงการหมุนเวียนฟอสฟอรัสในดิน (Paul and Clark, 1996)

ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้

ปริมาณของฟอสฟอรัสที่อยู่ใน soil solution ซึ่งจะเรียกว่า solution P จะมีปริมาณ 0.1-1 ไมโครกรัมต่อดิน 1 กรัม ความสามารถของการละลายของฟอสฟอรัสขึ้นอยู่กับ common ion, ion association และ pH effects รวมทั้งปริมาณที่ฟอสฟอรัสที่ติดบนผิวของเม็ด clay (P adsorbed on the surfaces of clay minerals) Solution P จะถึงสมดุลได้อย่างรวดเร็วกับ labile P และในดินส่วนใหญ่จะมีปริมาณของ Solution P และ

labile P เป็นแบบเส้นตรง ฟอสฟอรัส availability ต่อพืชชั้นสูงขึ้นอยู่กับพีเอชของดินนั้นๆ ถ้าดินเป็นกรดต่ำกว่า 6.5 จะทำให้ฟอสฟอรัสติดกับอลูมิเนียมและแร่เหล็กเพิ่มขึ้น หรือเมื่อมีการเพิ่มความเป็นด่างจะทำให้ฟอสฟอรัสติดกับแคลเซียม

เอกสารอ้างอิง

Atlas RM and Bartha R (1998) Microbial ecology: fundamentals and applications. 4th ed. Addison Wesley Longman, Inc., California. p.438.

Bolin B, Rosswall T, Freney JR, Ivanov MV and Richey JE (1983) Global aspects. *In* Soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. Paul EA and Clark FE (Ed.) Academic Press, San Diego. p.290.

Brock TD Madigan MT Martinko JM and Parker J (1994) Biology of microorganisms. 7th ed. Prentice-Hall, Inc., New Jersey.

Harrison AE (1987) Global aspects. *In* Soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. Paul EA and Clark FE (Ed.) Academic Press, San Diego. p.291.

Paul EA and Clark FE (1996) Soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. Academic Press, San Diego. p.291, 295.

Redfield AC (1958) Global aspects. *In* Soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. Paul EA and Clark FE (Ed.) Academic Press, San Diego. p.290.

Walker CH, Hopkin SP, Sibly RM and Peakall DB (2001) Major classes of pollutant *In* Principles of ecotoxicology. 2nd. Taylor & Francis Inc., NY.

บทที่ 8
การเปลี่ยนแปลงและหมุนเวียนเหล็กโดยจุลชีพ
(Microbial transformations of iron)

หัวข้อ

- **การเปลี่ยนแปลงรูปต่างๆ ของโลหะ**
- **วัฏจักรของเหล็ก (Iron cycle)**
  - **การเปลี่ยนแปลงรูปของแร่เหล็กในธรรมชาติ**
  - **การกัดกร่อนของท่อเหล็กในสภาวะไร้ออกซิเจน**
  - **การสกัดสารแร่โดยจุลชีพ**

1. การเปลี่ยนแปลงรูปต่างๆของโลหะ สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

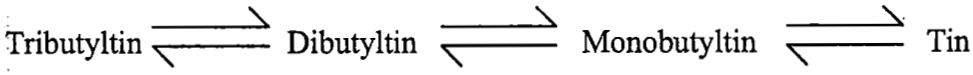
1.1 การเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชั่น-รีดักชั่น (Oxidation-Reduction)

ในปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโลหะจะถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานของการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพในกลุ่ม lithotroph ส่วนในปฏิกิริยารีดักชั่นจุลินทรีย์ใช้โลหะเป็นตัวรับอิเลคตรอน

1.1 การเปลี่ยนแปลงโลหะ (Metal) ให้อยู่ในรูปสารอินทรีย์ (Organometals) หรือการเปลี่ยนแปลงโลหะในรูปของสารอินทรีย์ไปเป็นสารอนินทรีย์

Metals $\rightleftharpoons$ Organometals

ยกตัวอย่างเช่น



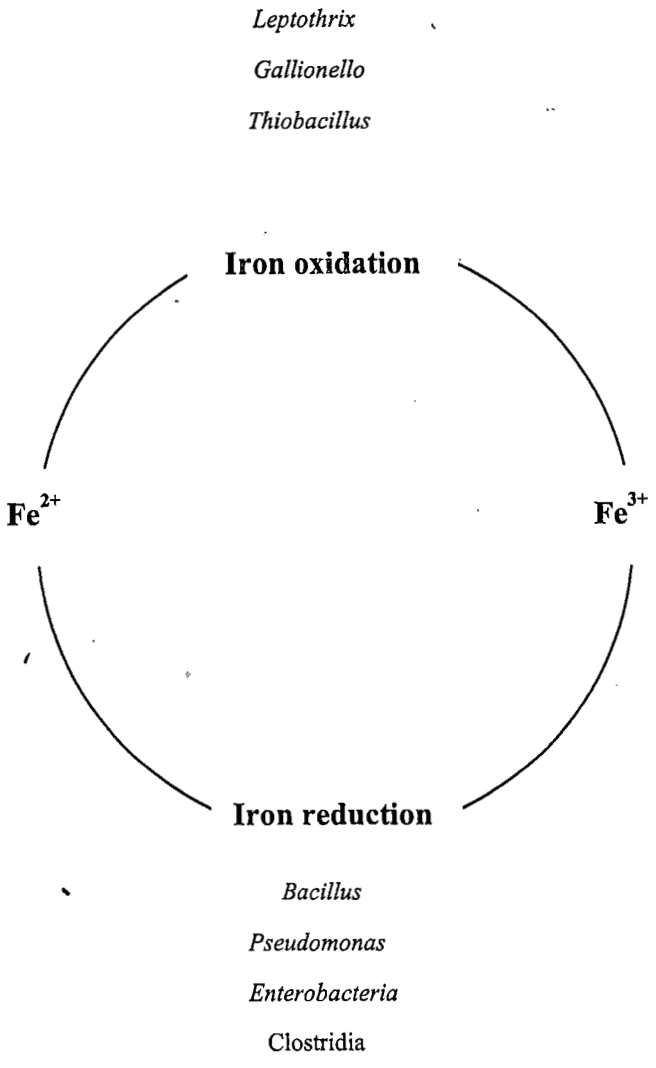
ทั้ง 2 ปฏิกิริยานั้นมีความสำคัญต่อธรรมชาติในหลายๆด้าน ยกตัวอย่างเช่น (1) การนำโลหะมาใช้อีกครั้งจากแร่เกรดต่ำ (2) การทำให้น้ำเสียที่เกิดจากเหมืองแร่ปรับสภาพเป็นกรด (3) การบำบัดน้ำเสียหรือของเสียที่มีโลหะมีพิษปนเปื้อนอยู่ (4) การปนเปื้อนโลหะในน้ำประปาและการผลิตพวกสารพิษในอากาศการปนเปื้อนของน้ำใต้ดินและดินด้วยโลหะทั้งในรูปของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ เช่น สารหนู (Arsenic, As), ปรอท (mercury, Hg), แคดเมียม (cadmium, Cd) และซีลีเนียม (selenium, Se) ทำให้เกิดปัญหาที่บริเวณที่มีการทิ้งของเสีย และ (5) ถ้ามีการพัดพาของน้ำผ่านบริเวณที่มีการสะสมของสินแร่อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของน้ำใต้ดินและน้ำผิวดินได้ ในที่นี้จะขอกล่าวถึงวัฏจักรของเหล็กเพราะเป็นแร่ที่พบมากในดินและการเปลี่ยนแปลงของแร่เหล็กจะมีความสัมพันธ์กับปฏิกิริยาชนิดอื่นโดยเฉพาะอย่างยิ่งวัฏจักรซัลเฟอร์ทำให้มีผลต่อสิ่งแวดล้อมทั่วๆไป นอกจากนั้นเป็นวัฏจักรของโลหะที่ได้รับความสนใจในการศึกษาเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน

2. วัฏจักรของเหล็ก (Iron cycle)

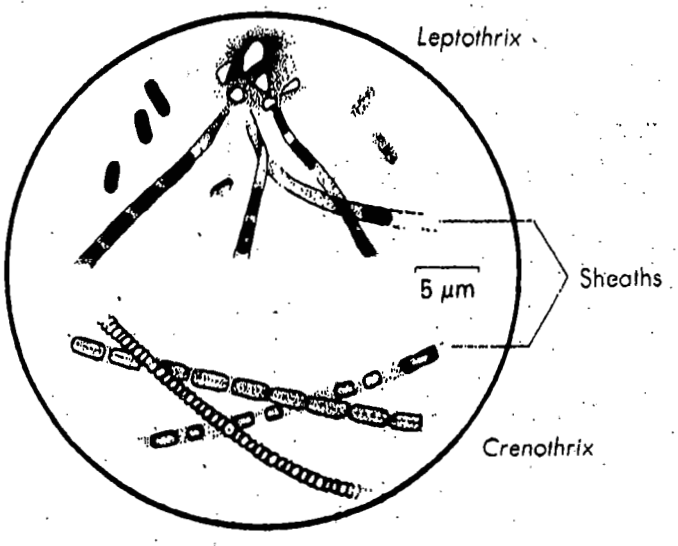
แร่เหล็กเป็นแร่ธาตุที่มีมากเป็นอันดับที่ 4 ในเปลือกโลกดังแสดงในตารางที่ 1 (Foster, 1969) แต่มีแค่ส่วนน้อยของแร่เหล็กที่สามารถถูกนำมาใช้ได้ในวัฏจักรชีวเคมี (Ehrlich, 1992) วัฏจักรของเหล็กประกอบด้วยปฏิกิริยา oxidation-reduction ที่รีดิวส์เฟอร์ริคอิออน (ferric iron; Fe^{3+}) เป็นเฟอร์รัส (Ferrous iron; Fe^{2+}) และออกซิไดซ์ Fe^{2+} เป็น Fe^{3+} ดังแสดงในรูปที่ 1 Fe^{3+} และ Fe^{2+} ซึ่งทั้งสองรูปแบบของแร่เหล็กมีคุณสมบัติในการละลายน้ำที่แตกต่างกันโดย Fe^{3+} จะตกผลึกเป็น ferric hydroxideในสิ่งแวดล้อมที่เป็นด่าง Fe^{2+} มีความสามารถละลายน้ำได้มากกว่า Fe^{3+} (Atlas and Bartha,1993)

ในปี ค.ศ. 1838 Ehrlich พบว่าแบคทีเรียมีส่วนเกี่ยวข้องกับการสะสมของแร่เหล็กในหนองบึง ต่อมา Winogradsky (1949) เชื่อว่าแบคทีเรีย *Leptothrix* (รูปที่ 2) ทำให้เกิดการตกผลึกของ ferric hydroxide โดย *Leptothrix* มีลักษณะดังนี้ (1) เป็นกลุ่ม lithotroph ที่ออกซิไดซ์ Fe^{2+} ไปเป็นเฟอร์ริคอิออน Fe^{3+} (2) แบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นเส้นและมีชีทหุ้ม (sheath-forming filamentous bacteria) (3) กลุ่ม chemoorganotroph ที่มีการสะสม Fe^{3+} เช่น สะสม $Fe(OH)_3$ ในชีท นอกจาก *Leptothrix* แล้วยังมีแบคทีเรียหลายชนิดที่สามารถออกซิไดส์ Fe^{2+} ไปเป็น Fe^{3+} ดังแสดงในตารางที่ 1 รวมทั้งในปัจจุบันพบว่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น Fe^{2+} สามารถเกิดขึ้นได้โดยไม่ต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตในสภาวะที่ใกล้จะเป็นกลาง

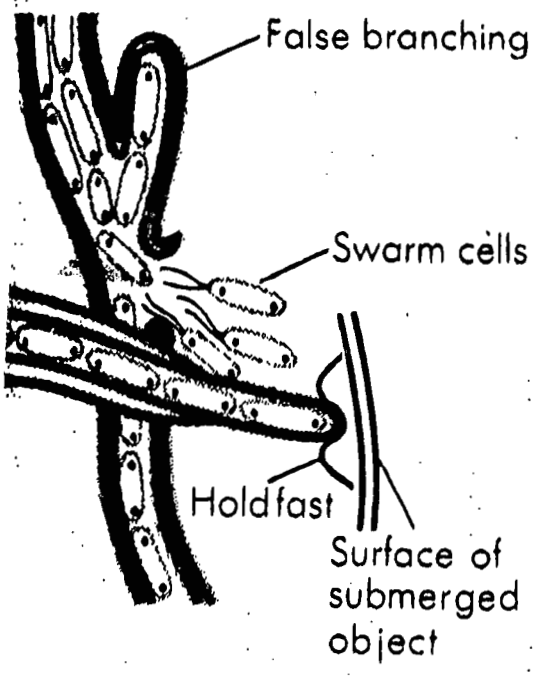
Sphaerotilus (รูปที่ 3) และ *Crenothrix* (รูปที่ 2) เป็นแบคทีเรียอีก 2 จีนัสที่มีชีทหุ้มและมีการสะสมพวกสารประกอบเหล็กเหมือนกับ *Leptothrix* แบคทีเรียกลุ่มที่มีชีทนี้จะสร้างสารที่มีลักษณะเป็นเจลลาตินที่ทำให้เกิดการอุดตันพวกท่อที่ทำด้วยเหล็ก นอกจากนั้นเมื่อแบคทีเรียกลุ่มนี้ตายลงจะทำให้เกิดกลิ่นเหม็นรวมทั้งชีทที่เป็น $Fe(OH)_3$ จะหลงเหลือในรูปของการตกตะกอนผลึกสีแดงเราสามารถกำจัดแบคทีเรียกลุ่มนี้โดยใช้สารฟอกขาว



รูปที่ 1 การเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปของเหล็กในรูปเฟอร์ริกอิออนและเฟอร์รัสอิออน โดยปฏิกิริยา Iron oxidation และ iron reduction (Atlas and Bartha, 1993)



รูปที่ 2 รูปวาดของ genus *Leptothrix* และ *Crenothrix* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม sheathed bacteria (Pelczar *et al.*, 1986)



รูปที่ 3 ภาพวาดของ *Sphaerotilus* โดยแสดงถึง sheath, false branching และตัวเซลล์ที่เรียกว่า swarmers (Pelczar *et al.*, 1986)

ตารางที่ 1 แบคทีเรียที่ออกซิไดส์เฟอร์รัสอิออน (ferrous ion) ไปเป็นเฟอรร์ริคอิออน (ferric ion)

Acidophiles	*Thiobacillus feroxidans*
	Leptospirillum feroxidans
	Sulfolobus acidocaldarius
Nonacidophilic	*Hyphomicrobium*
Iron bacteria	*Pedomicrobium*
	Planctomyces
Filamentous	*Sphaerotilus*
Others Bacteria	*Leptothrix*
	Gallionella
	Metallogenium
	Seliberia
	Ochrobium
	Siderocapsa
	Nanmanniella
	Siderococcus

จากการศึกษาการระบายน้ำของ acid coal mine ในปี ค.ศ. 1950s นำไปสู่การค้นพบ *Thiobacillus ferrooxidans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ออกซิไดซ์พวกโลหะเช่น พวกแร่เหล็กซัลไฟด์ (FeS) และทองแดงซัลไฟด์ (CuS) ที่ไม่ละลายน้ำ วิธีการนี้จะทำให้โลหะสามารถละลายน้ำได้และเกิดสภาวะเป็นกรด (acidification) ซึ่งจะเอื้อต่อการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องอื่นๆ ดังจะกล่าวในรายละเอียดต่อไปภายหลัง

$$2\,Fe^{2+} + 2H + \tfrac{1}{2}O \longrightarrow 2Fe^{3+} + H_2O \quad \text{.....(1)}$$

จากสมการที่ 1 จาก FeS เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น Fe^{3+} โดย Fe^{3+} เป็นรูปแบบที่พบได้มากที่สุดในดินและเป็นรูปแบบของเหล็กที่ไม่ละลายน้ำที่ pH เป็นกลาง ดังนั้นการใช้ Fe^{3+} โดยพืชชั้นสูงต้องใช้ (1) proton exudation (2) acidification (3) ปฏิกิริยาที่สารอินทรีย์จับกับ Fe^{3+} สารอินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ ferrichromes หรือ siderophores ซึ่งจะประกอบด้วย hydroxymates เป็นโมเลกุลที่มีส่วน hydroxy group เกาะอยู่กับส่วนประกอบไนโตรเจนซึ่งจะเป็นส่วนที่ทำให้เกิดการจับกับแร่เหล็กด้วยโมเลกุลเหล่านี้ (Paul and Clark, 1996) Siderophores เป็นโมเลกุลที่มีขนาด molecular weight ที่ต่ำประมาณ 500-1500 ดาลตัน มีคุณสมบัติละลายน้ำ และสามารถเกาะกับแร่เหล็กที่แน่นหนาและแยกออกจากกันได้ยาก (high affinity) โดยปรกติแล้วแบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถสร้างและหลั่งสาร siderophores เพื่อมาจับสารเหล็ก siderophore มีอยู่ 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ phenolate (ไม่ละลายน้ำ) และ hydroxamate (ละลายน้ำ) Siderophores ทั้งสองชนิดสามารถแตกตัวแล้วให้ประจุลบทำให้สามารถจับเหล็กซึ่งมีประจุบวกได้ดีและสัดส่วน siderophore: เหล็ก อาจจะเป็น 1 : 1, 2 : 1 หรืออื่นๆ ขึ้นกับชนิด Siderophore ที่แยกจากแบคทีเรียจากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียหลายชนิดที่ผลิต siderophore ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต siderophore ชนิดต่างๆ

ชนิดของแบคทีเรีย	Siderophore กลุ่ม phenolate	Siderophore กลุ่ม hydroxamate
Azotobacter vinelandii	azotochelin	azotobactin
Bacillus megaterium	-	schizokinen
Enterobacter aerogenes	-	aerobactin
Enterobacter cloacae	enterochelin	aerobactin
Escherichia coli	enterochelin	aerobactin
Pseudomonas aeruginosa	pyochelin	pyoverdin

แต่อย่างไรก็ตามในแบคทีเรียเหล่านี้ต้องมีระบบที่จะรับเอาferric-siderophore complexes เข้าไปในเซลล์ด้วย (Atlas and Bartha,1993) นอกจากนี้ ใน soil solution จะพบว่ามีปริมาณเหล็กที่น้อยกว่าความต้องการของพืชในดินที่เป็นด่างดังนั้นแบคทีเรียที่มีสามารถผลิต siderophores ที่อาศัยอยู่ในบริเวณรากพืชจะสามารถเพิ่มปริมาณของแร่เหล็กให้กับพืชได้ซึ่งเป็นขบวนการที่สำคัญเพราะแร่เหล็กเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์หลายชนิดและจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิด

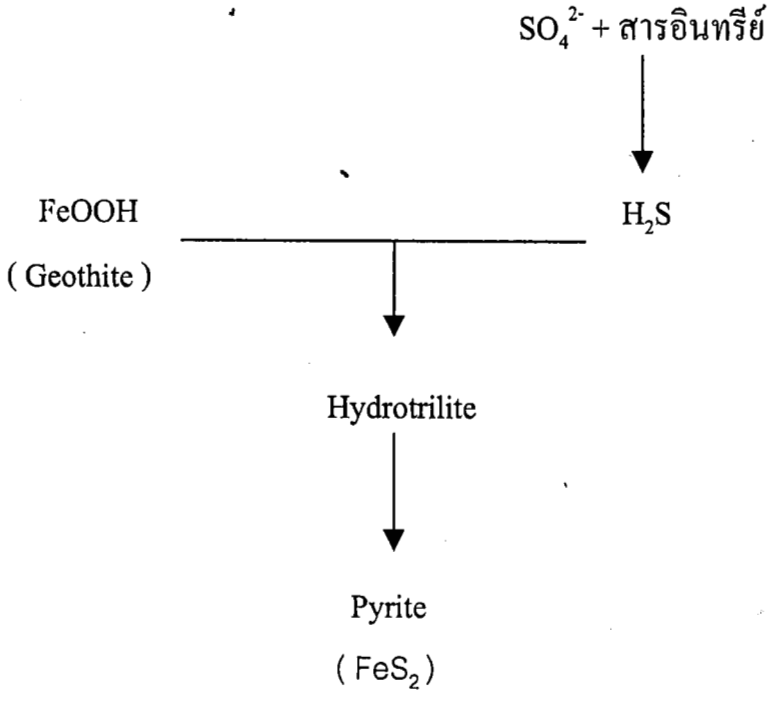
เนื่องจากแร่เหล็กสามารถเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นโดยใช้เอนไซม์และไม่ต้องใช้เอนไซม์ดังนั้นการรีดิวส์แร่เหล็กสามารถเกิดได้โดยหลายขบวนการรวมทั้ง microbial reduction และ chemical reduction โดยใช้ Fe^{3+} ถูกใช้เป็นตัวรับอิเลคตรอนในขบวนการหายใจ มีจุลชีพหลายชนิดที่สามารถรีดิวส์ Fe^{3+} ดังแสดงในตารางที่ 3 แต่ถ้ามีเอนไซม์ nitrate reductase ส่วนมากมักจะระงับการเกิดการรีดิวส์แร่เหล็ก (Paul and Clark, 1996)

ตารางที่ 3 แบคทีเรียที่รีดิวส์เฟอริกอิออน (Ferric ion) ไปเป็นเฟอรัสอิออน (Ferrous ion)

Bacillus
Pseudomonas
Proteus
Alcaligenes
Clostridia
Enterobacteria

1.1. การเปลี่ยนแปลงรูปของแร่เหล็กในธรรมชาติ

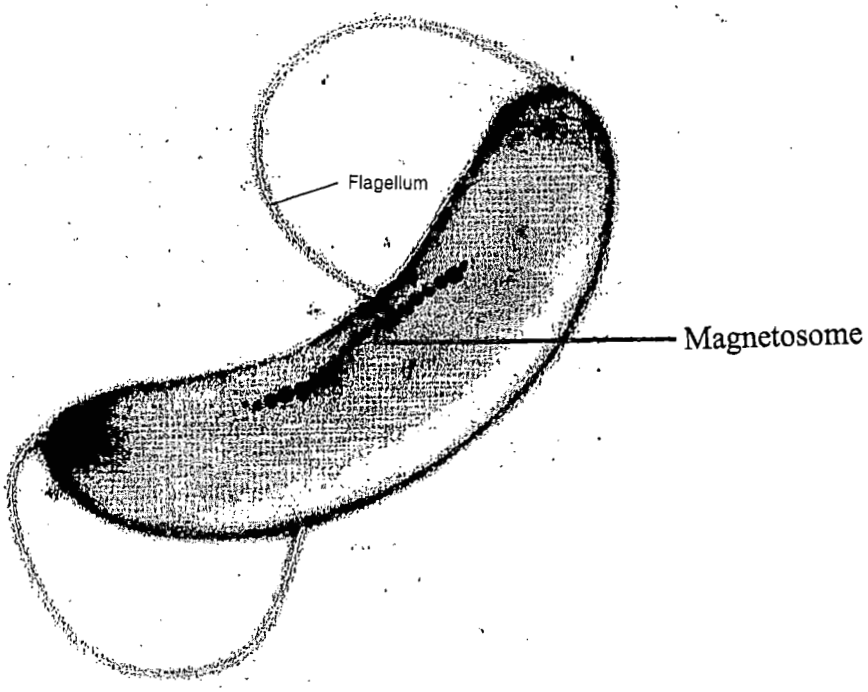
ในธรรมชาติปฏิกิริยา oxidation-reduction จะเกิดขึ้นได้ตั้งแต่เป็นการตกตะกอนปริมาณเล็กน้อยจนถึงการตกตะกอนจนกลายเป็นหินตะกอนขนาดใหญ่รวมทั้งทำให้เกิดแร่ธาตุต่างๆเช่น geothite และ pyrite (FeS_2) ถ้าสิ่งแวดล้อมบริเวณนั้นมีซัลเฟตและแบคทีเรียกลุ่มที่รีดิวส์ซัลเฟต (sulfate-reducing bacteria) อยู่ด้วย แบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้ซัลเฟตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนและผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์และแร่เหล็กดังกล่าวจะเกิดปฏิกิริยากับก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ได้ hydrotrilite และเปลี่ยนเป็น pyrite ในที่สุดโดยสรุปดังรูปที่ 4 และโดยปกติแล้วซัลเฟตจะมีมากในมหาสมุทรและการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวมาในข้างต้นทำให้มีการควบคุมปริมาณแร่เหล็กในมหาสมุทรให้มีปริมาณที่ต่ำเพื่อเป็นการควบคุม primary productivity



รูปที่ 4 ขบวนการเกิด Pyrite จากปฏิกิริยา Oxidation-reduction ของแร่เหล็กในธรรมชาติ

ภายใต้สภาวะที่น้ำท่วม ดินจะมีสีเทาอ่อนจนถึงสีเขียวเพราะมีการเกิดเหล็กในรูป reduced หรือเรียกว่า Gleyed soils และโดยปรกติแล้วจะมี mottled spots ของ Fe_2O_3 ในแนวแตกของดินบริเวณที่รากแทงผ่านหรือรอยแตกของดินบริเวณนั้นซึ่งจะทำให้มีการเกิดออกซิเดชั่นของแร่เหล็กในบริเวณนั้นๆ ซึ่งเรียกปฏิกิริยานี้ว่า gleying reaction ปกติแล้ว gleying reaction จะมีประโยชน์คือทำให้ดินติดแน่นกลายเป็นแผ่นเดียวในบริเวณใต้สระน้ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีการใช้ฟางหนาประมาณ 15 เซนติเมตรฝังไปในใต้ท้องสระน้ำและปิดทับอีกครั้งด้วยดินที่หนาประมาณ 15 เซนติเมตรเพื่อทำให้เกิดการย่อยสลายของฟางและทำให้เกิดการรีดิวส์ของ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+} ในขณะเดียวกันซัลเฟตถูกเปลี่ยนไปเป็น S_2^{2-} แล้วทำให้แร่เหล็กเกิดปฏิกิริยากับก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ดังกล่าวมาแล้วในรูปที่ 4 และ FeS_2 จะตกตะกอนผลึกและทำให้ soil colloids กระจายไปทั่วบริเวณนั้นๆซึ่งทำให้มีการปิดใต้ท้องน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในกรณีที่มีแบคทีเรียชนิด magnetotactic เป็นแบคทีเรียชนิดที่เคลื่อนที่ตาม magnetic field ซึ่ง Spring *et al.*, (1993, 1995) ได้จำแนกชนิดของแบคทีเรียกลุ่มนี้โดยวิธี rRNA sequence analysis และพบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้ประกอบด้วยแบคทีเรียหลากหลายชนิด (Atlas and Bartha, 1993) แบคทีเรียกลุ่มนี้มี cytoplasmic dense inclusions หรือที่เรียกว่า magnetic iron ที่ประกอบด้วย 1 คริสตอล อาจจะเป็นชนิด magnetic (Fe_3SO_4) หรือ greigite (Fe_3S_4) magnetic iron เป็น membrane-bound magnetosome (รูปที่ 5) ซึ่งจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์-กลาง 10-50 นาโนเมตร ซึ่งจะมีขนาดเล็กเกินกว่าที่มองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (light microscope) magnetosome ทำให้เซลล์สามารถบังคับทิศทางตาม magnetic field รวมทั้งใช้แฟลกเจลล่าขับเคลื่อนไปตามขั้วของ magnetic ในแบคทีเรียบางชนิด magnetosome จะประกอบด้วย ferrihydrite ($5FeO_3.9H_2O$) นอกจากนั้นยังพบ FeS_2 เป็นสาร inclusion ที่พบได้เสมอในเซลล์ของแบคทีเรียเหล่านี้ส่วนใหญ่แบคทีเรียชนิด magnetotactic จะไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Paul and Clark, 1996; Brock, 1994)



รูปที่ 5 แบคทีเรียกลุ่ม Magnetotactic ที่ถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนโดยแสดงถึง magnetosome (Brock, 1994)

ในปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ 2 สปีชีส์ โดยจาก Bergey's manual ได้รายงานว่ามีเฉพาะ 1 สปีชีย์เท่านั้นคือ *Aquaspirillum magnetotacticum* ที่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้เชื้อสปีชีย์นี้เป็นเชื้อกลุ่ม chemolithotroph และ obligately microaerophilic และมีความสามารถตรึงก๊าซไนโตรเจน (Nitrogen-fixation) และเปลี่ยนแปลงไนเตรทเป็นก๊าซไนโตรเจนอีกด้วย เซลล์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้จะประกอบด้วยเหล็ก (จากเซลล์ที่แห้ง) 3.8 $\pm$ 0.3% และเม็ดแกรนูลซัลเฟอร์ (จากเซลล์ที่แห้ง) ประมาณ 2-9เปอร์เซ็นต์ ในปี ค.ศ. 1992 Stolz พบแบคทีเรียชนิด magnetotactic อีกหนึ่งสปีชีย์ที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ คือ *Shewanella putrefaciens* การเพาะเลี้ยงเชื้อกลุ่มนี้กระทำโดยการนำเอาแท่งแม่เหล็กวางไว้ติดกับ culture flasks ที่ใส่ดินตะกอนแล้วมีการเก็บเชื้อที่สะสมอยู่บริเวณที่ติดกับขั้วแม่เหล็ก(Paul and Clark,1996; Atlas and Bartha, 1993)

จำนวนแบคทีเรียชนิด magnetotactic ในธรรมชาติสามารถพบได้สูงถึง 10 เซลล์ต่อ 1 มิลลิลิตร เมื่อแบคทีเรียเหล่านี้มีการตายลง magnetosomes จะถูกสะสมอยู่ในรูป ferromagnetic ปรากฏการณ์เหล่านี้มีประโยชน์ต่อการบันทึก magnetic field ของโลก และในการวัดการกระจายของตะกอนในมหาสมุทร รวมทั้งประวัติความเป็นมาของการกัดเซาะของพื้นดิน ชั้นบรรยากาศและประวัติการไหลของน้ำ

1.2 การกัดกร่อนของท่อเหล็กในสภาวะไร้ออกซิเจน (Anaerobic corrosion of iron pipes)

จุลชีพมีส่วนร่วมในทำให้เกิดการกัดกร่อนของท่อเหล็กทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไร้ออกซิเจน ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจนผิวของท่อเหล็กจะทำหน้าที่เป็นขั้วแอโนด (Anode) ดังนั้นเมื่อเกิดปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมี (electrochemical reduction) และเปลี่ยนแปลงเหล็กให้เป็น Fe^{2+} ในขณะเดียวกันจะเกิดไฮโดรเจนอิออน (H^+) ที่ขั้วคาโทด (Cathode) ในปริมาณเท่ากับปริมาณการเกิด Fe^{2+}

Desulfovibrio ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะไร้ออกซิเจนและรีดิวส์ซัลเฟตที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับ Fe^{2+} ทำให้เกิด FeS และในขณะเดียวกันกลุ่มไฮดรอกซิลล์ (hydroxyl group) จากน้ำจะทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนอิออน ปฏิกิริยาทั้งหมดสรุปได้ในสมการที่ 2

$$4Fe + SO_4^{2-} + 4H_2O \longrightarrow FeS + 3FeOH^{2-} + 5OH^- \quad \text{.....(2)}$$

ปฏิกิริยานี้ต้องการสภาวะที่ไร้ออกซิเจนที่มี redox potential ต่ำกว่า –400 มิลลิโวลต์ มีสภาวะที่พีเอชสูงกว่า 5.5 และมีซัลเฟต ถ้าในสิ่งแวดล้อมใดมีความเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาดังที่กล่าวมาแล้ว จะทำให้ท่อเหล็กบริเวณนั้นที่มีความหนา 3 มิลลิเมตรสามารถถูกกัดกร่อนภายใน 5-7 ปี ดังนั้นปฏิกิริยานี้จึงเป็นขบวนการที่เกิดขึ้นโดยจุลชีพที่ก่อให้เกิดความเสียหายสูงปฏิกิริยาหนึ่งในธรรมชาติ ดังนั้นการฝังท่อเหล็กจึงต้องมีการหมุนเปลี่ยนท่อเหล็กอยู่เสมอหรืออาจจะป้องกันโดยการพันด้วย asphalt หรือพลาสติก นอกจากนั้นการป้องกันอีกแบบหนึ่งโดยการให้กระแสไฟฟ้าปริมาณน้อยๆไปตามท่อเพื่อป้องกันการเกิด electrode half-cell ถึงแม้ว่าการเกิดการกัดกร่อนในท่อเหล็กสามารถเกิดจากปฏิกิริยาอื่นๆ ภายใต้สภาวะมีออกซิเจนและ/หรือ ชนิดที่สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะมีออกซิเจนหรือไร้ออกซิเจนแต่อย่างไรก็ตามการกัดกร่อนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนจะมีผลเสียหายต่อเศรษฐกิจมากกว่าภายใต้สภาวะอื่นๆ

1.3. การสกัดสินแร่โดยจุลชีพ (Microbial participation in ore leaching)

การสกัดสินแร่ใน stockpiles หรือใน mine tailings ทำให้มีการนำโลหะหมุนเวียนมาใช้อีกครั้งโลหะจากสินแร่ที่มีปริมาณโลหะอยู่จำนวนไม่มากนักเพราะถ้านำเอาวิธี smelting มาสกัดโลหะจากสินแร่เกรดต่ำเหล่านี้ทำให้ได้โลหะไม่คุ้มการลงทุนการสกัด ดังนั้นจึงมีการประยุกต์ใช้การสกัดสินแร่โดยใช้จุลชีพและจุลชีพที่มีบทบาทสำคัญคือ *Thiobacillus ferrooxidans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ชอบกรดและการสกัดโดยวิธีนี้จะนิยมใช้กับการนำกลับคืนมาของพวกทองแดงและยูเรเนียมปฏิกิริยาเริ่มมาจากการที่มักจะมีเฟอร์ริคลอไรด์อยู่รวมกับคอปเปอร์ซัลไฟด์ในสินแร่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปของแร่เหล็กจะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ดัง แสดงได้ในสมการที่ 3-6 และรูปที่ 6 (ปราโมทย์, 2534; Zastrow and Strude, 1991)

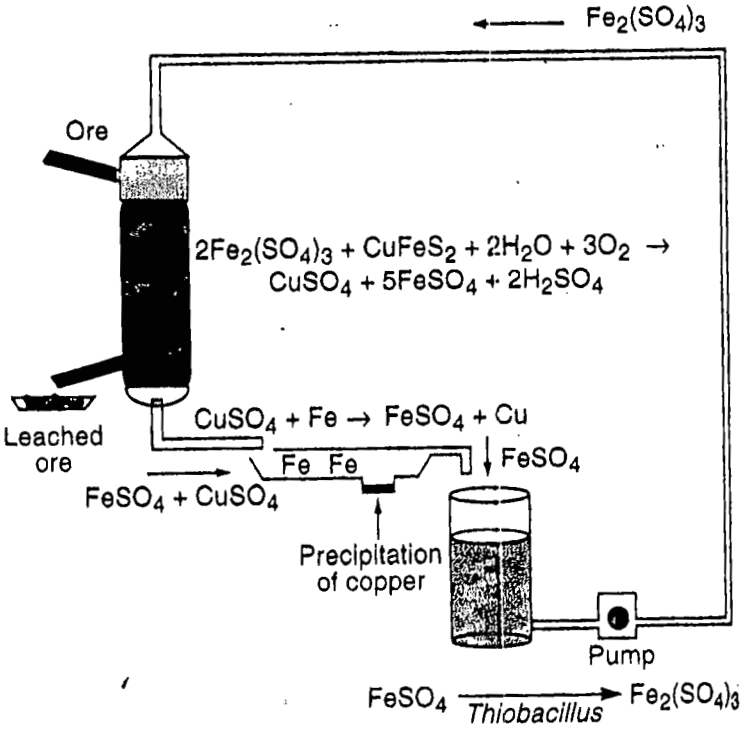
$$2FeS_2 + 7O_2 + 2H_2O \longrightarrow 2FeSO_4 + 2H_2SO_4 \quad \text{.....(3)}$$

$$4FeSO_4 + O_2 + 2H_2SO_4 \longrightarrow 2Fe_2(SO_4)_3 + 2H_2O \quad \text{.....(4)}$$

$$FeS_2 + Fe_2(SO_4)_3 \longrightarrow 3FeSO_4 + 2S^0 \quad \text{.....(5)}$$

$$2S^0 + 3O_2 + H_2O \longrightarrow 2H_2SO_4 \quad \text{.....(6)}$$

ปฏิกิริยา (3), (4) และ (6) เกิดจากเอ็นไซม์ของแบคทีเรีย ในขณะที่ปฏิกิริยา (5) เป็นปฏิกิริยาทางเคมีไม่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรีย



รูปที่ 6 แสดงวิธีการสกัดทองแดงจากสินแร่เกรดต่ำโดยใช้ a continuous leaching process (Atlas and Bartha, 1993)

หลังจากนั้นคอปเปอร์จะถูกนำกลับคืนมาจากสารละลายส่วน leachate โดยวิธี (1) ตกตะกอน (sedimentation) หรือ(2) การสกัดโดยใช้สารละลาย (solvent action) หรือ (3) electrolysis ส่วน Fe^{2+} ที่เหลืออยู่หลังจากการสกัดเอาคอปเปอร์ออกไปแล้วจะถูกออกซิไดซ์อีกครั้งดังสมการที่ 1 รวมทั้งแบคทีเรียกลุ่มที่ออกซิไดส์ซัลเฟอร์จะเปลี่ยน S^0 ไปเป็นกรดซัลฟูริคดังแสดงในสมการที่ 2

$$S^0 + H_2O + 3/2\ O_2 \longrightarrow H_2SO_4 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (7)$$

หลังจากนั้นกรดซัลฟุริคช่วยเอื้อต่อการสกัดมากขึ้นเพรราะเชื้อกลุ่มที่ออกซิไดส์แร่เหล็กและซัลเฟอร์มักจะชอบเจริญในสภาวะเป็นกรด ขบวนการเหล่านี้สามารถเกิดขึ้นได้โดยไม่ต้องมีการใส่เชื้อใดๆ ลงไปในสินแร่นั้นๆเพราะปรกติแล้วจะมีเชื้อกลุ่มที่ออกซิ

ไดสั์แร่เหล็กและซัลเฟอร์รวมทั้งแบคทีเรียกลุ่ม heterotroph ที่ทนต่อกรดอยู่ในสิ่งแวดล้อมเหล่านี้อยู่แล้ว ยกตัวอย่างเชื้อที่สำคัญที่สามารถสกัดสารแร่ เช่น *Thiobacillus ferrooxidans, T. thioxidans, Leptospirillum ferrooxidans, Sulfobacillus thermosulfidooxidans* และ*Acidianus brierleyi*

เอกสารอ้างอิง

Atlas RM and Bartha R (1993) Microbial ecology. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Redwood.

Brock TD (1979) . Soil microbial communities. *In* Microbial ecology: fundamental and applications. 4th ed. Atlas RM and Bartha R (Ed.) Addison Wesley Longman, Inc., California.

Ehrlich HL (1992) Microbial transformations of metals. *In* Soil microbiology and Biochemistry. 2nd ed. Paul EA and Clark FE (Ed.) Academic Press, San Diego.

Foster RJ (1969) Weathering and sedimentary rocks. *In* General geology. Charles E. Merrill Publishing Company, Columbus, Ohio, U.S.

Paul EA and Clark FE (1996) Soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. Academic Press, San Diego.

Pelczar MJ,Jr , Chan ECS and Krieg NR (1986) Microbiology. 5th Ed. McGraw-hill Book Company,Inc., Singapore.

Winogradsky SN (1949) Microbial transformations of metals. *In* Soil microbiology and biochemistry. 2nd ed. Paul EA and Clark FE (Ed.) Academic Press, San Diego.

บทที่ 9

แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนและกิจกรรมที่เกิดขึ้นในดิน

(Anaerobic bacteria and their activities in soil)

<u>หัวข้อ</u>

- การจำแนกชนิดและความสำคัญของ anaerobic bacteria

1. Obligate anaerobes

- **Spore-formers**
- **Others**

2. Facultative anaerobes

- **Nitrate reducing bacteria**
- **Fermentative facultative anaerobe**

- ปัจจัยที่ทำให้เกิดการเจริญเติบโตของ anaerobes
- ผลของแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช่ออกซิเจน
- กิจกรรมที่เกิดขึ้นในดิน

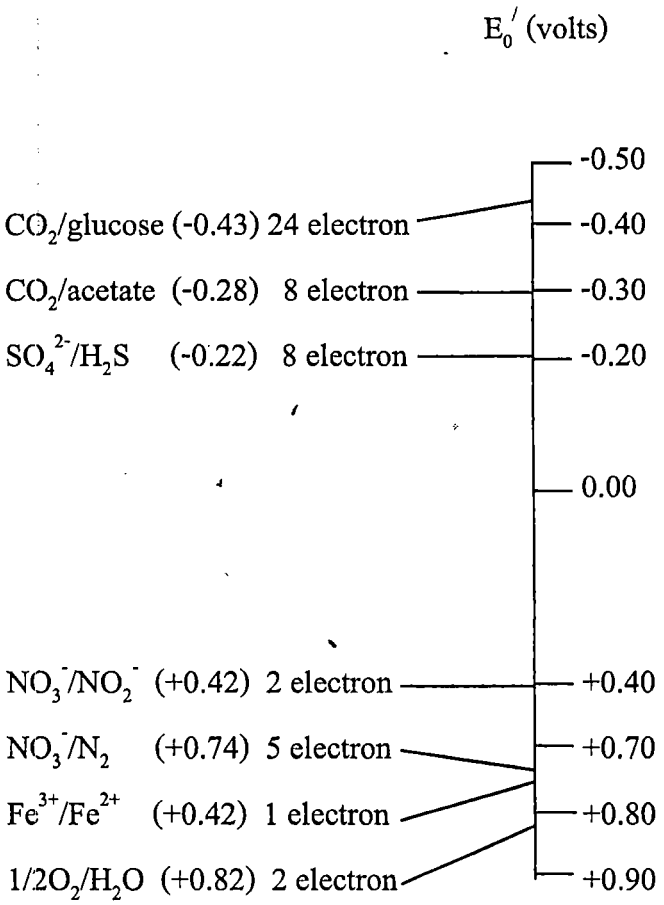
1. การจำแนกชนิดและความสำคัญของแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria)

การจำแนกชนิดของแบคทีเรียมีหลายวิธีดังกล่าวมาแล้วบ้างในบทที่ 3 ในบทนี้จะแบ่งชนิดของแบคทีเรียโดยแบ่งตามการใช้ตัวรับอิเลคตรอน (electron acceptor) สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

1. **แบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน (Aerobic bacteria)** ซึ่งจะเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ได้รับความสนใจมากที่สุดเนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้รวดเร็ว (สมการที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน

$$CHO + O_2 \longrightarrow CO_2 + H_2O \ldots\ldots\ldots\ldots (1)$$

2. แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน(Anaerobic bacteria) แบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic bacteria) คือแบคทีเรียที่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในที่มีออกซิเจนเพราะแบคทีเรียกลุ่มนี้ถูกฆ่าด้วยออกซิเจนเนื่องจากไม่มีเอนไซม์คะตะลิส (catalase) ดังนั้นจึงต้องใช้สารอื่นๆมาทำหน้าที่รับอิเลคตรอนแทนออกซิเจน ยกตัวอย่างเช่น ไนเตรท ซัลเฟต หรือเฟอร์ริคอิออน (Paul and Clark, 1996) การที่จุลชีพชนิดใดจะเลือกใช้ตัวรับอิเลคตรอน ตัวใดก็ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติตามธรรมชาติและค่า E_0' (volts) จาก electron power (รูปที่ 1) ซึ่งแสดงด้วยค่า reduction potentials ของ oxidation-reduction pairs โดยค่าอยู่ด้านบนสุดจะเป็นคู่ที่ให้พลังงานสูงสุดและลดลงตามลำดับหรือในทางตรงกันข้าม oxidized substrance ในคู่ล่างสุดจะมีความสามารถในการรับอิเลคตรอนสูงสุดดังนั้นเราจึงสามารถแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนตามชนิดของตัวรับอิเล็กตรอน (electron acceptor) ได้ในตารางที่ 1 คือ



รูปที่ 1 แสดงถึง electron power ที่เรียงตาม E_0' (volts) (ดัดแปลงมาจาก Brock,1994)

ตารางที่ 1 กลุ่มของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนที่แบ่งตามการใช้ตัวรับอิเลคตรอน (Electron acceptor)

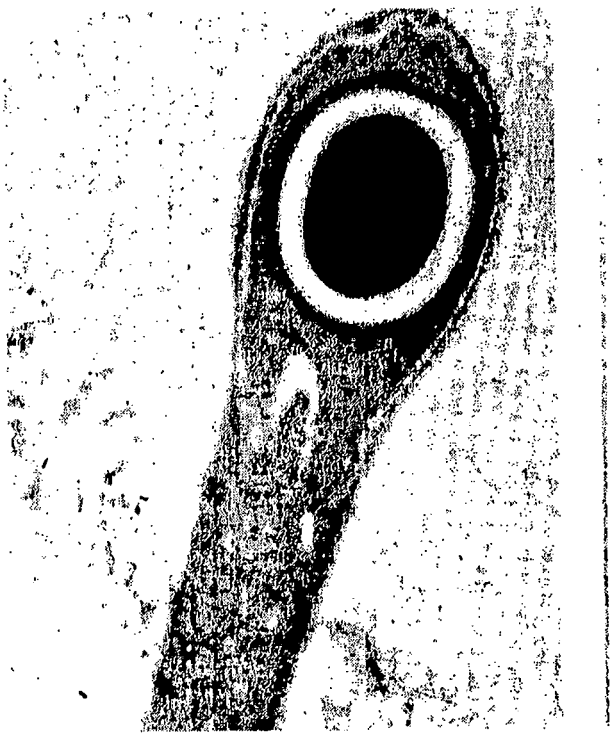
ตัวรับอิเลคตรอน (Electron acceptor)	กลุ่มของแบคทีเรีย
สารอินทรีย์ ไนเตรท	Nitrate reducing/Denitrifying bacteria
ซัลเฟต	Sulfate reducing bacteria
กาซคาร์บอนไดออกไซด์	Methanogens
สารอินทรีย์ Chlorinated compound	Dechlorinating bacteria
Haloginated compound	Dehaloginating bacteria

นอกจากนั้นเรายังสามารถแบ่งกลุ่มแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนตามความสามารถการทนทานต่อออกซิเจน คือ

1. 1 กลุ่มแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะไร้อ๊อกซิเจน(Obligate anaerobes)

1.1.1 กลุ่มที่ผลิตสปอร์ (Spore-formers)

แบคทีเรียกลุ่มที่เจริญเติบโตในสภาวะไร้อ๊อกซิเจนส่วนใหญ่ที่อยู่ในดินคือ กลุ่ม *Clostridium* (รูปที่ 2) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ได้พบแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้มากประมาณ 10^4-10^5 ต่อดินในเขตอบอุ่นปริมาณ 1 กรัม หลายสปีชีย์ของแบคทีเรียในจีนัส Clostridia จะสามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ (Paul and Clark, 1996) ดังแสดงในตารางที่ 2



รูปที่ 2 endospore ของ *Clostridium tetani* (Totora *et al*, 1989)

ตารางที่ 2 เชื้อก่อโรคที่พบในดิน ชนิดของโรค จำนวนเชื้อก่อโรคที่พบในดินและสภาวะของการเจริญของเชื้อก่อโรคชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจนที่พบในดิน

เชื้อที่ก่อโรคที่พบได้ในดิน	ชนิดของโรค	จำนวนที่พบในดิน	สภาวะของการเจริญของเชื้อ
Clostridium welchii	Gas gangrene ในคน	พบมากถึง 10^5 สปอร์ต่อ 1 กรัมของดิน	สามารถเจริญได้ในที่มีออกซิเจนปริมาณเล็กน้อย (Microaerophiles)
Cl. oedematiens Type A	-	พบได้ค่อนข้างมาก	เจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
Cl. septicum	-	พบได้ค่อนข้างมาก	เจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
Cl. tetani	โรคบาดทะยัก (Tetanus)	พบได้แต่จำนวนไม่มาก	เจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

เชื้อ Clostridia ที่พบได้ในดินสามารถเพาะเลี้ยงได้โดยสารอาหารที่เหมาะสม เช่น โดยวิธีของ Gibbs and Freame (1965) และพบว่าเชื้อกลุ่มนี้จะพบในดินในรูปของสปอร์ อาจจะเกิดจากสาเหตุที่เชื้อกลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในลำไส้ของคนและสัตว์แต่สภาวะของดินจะไม่เหมาะต่อการเจริญดังนั้นในดินจึงได้พัฒนาเป็นสปอร์เพราะอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมนั่นเอง เนื่องจากเชื้อในกลุ่ม Clostridia จะมีความสำคัญทางด้านการทำให้เกิดโรคในคนแต่ก็มีบางกลุ่มที่มีประโยชน์ต่อดิน ยกตัวอย่างเช่น *Cl. Sporogenes* เป็นเชื้อในกลุ่มที่ย่อยสลายโปรตีน (proteolytic bacteria) ดังนั้นจึงน่าจะมีส่วนทำให้เกิดการย่อยสลายพวกเนื้อเยื่อของซากสัตว์ในสภาวะไร้ออกซิเจนในเชื้อกลุ่มอื่นๆที่มีคุณสมบัติ proteolytic นอกจากจะมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนแล้วก็ยังมีความสามารถใน

การย่อยคาร์โบไฮเดรตซึ่งจะทำให้สามารถย่อยพวกเนื้อเยื่อพืชอีกด้วย นอกจากนั้นยังมีกลุ่ม saccharolytic ยกตัวอย่างเช่น *Cl. Butyricum* และ *Cl. Pasteurianum* ได้รับความสนใจโดยนักจุลชีววิทยาทางดินเพราะหลายชนิดสามารถตรึงกาซไนโตรเจนในอากาศได้ (Nitrogen-fixation bacteria) (Paul and Clark, 1996)

นอกจากนี้เชื้อในกลุ่ม Clostridia สามารถย่อยสลายเซลลูโลสในดินภายใต้สภาวะไร้อ๊อกซิเจนแต่ต้องใช้เวลาระยะหนึ่ง (Skinner, 1965) ตัวอย่างเช่น ในสภาวะที่มีน้ำขัง (water logging) และไม่มีไนเตรทอยู่ในบริเวณนั้นๆ แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่ทำหน้าที่ผลิตกาซมีเทนจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลเล็ก ๆ แบคทีเรียที่ผลิตก๊าซมีเทนต้องการสภาวะไร้ออกซิเจนจริงๆ จำนวนกาซมีเทนที่เกิดขึ้นจากธรรมชาติหรือจากดินทางเกษตรกรรมส่วนใหญ่แล้วมีปริมาณน้อยยกเว้นบริเวณดินที่มีสารอินทรีย์สะสมอยู่มากรวมทั้งเป็นบริเวณที่เปียกชื้นหรือเป็นบริเวณที่มีปุ๋ยคอกทับถมอยู่หนาแน่น (Skinner, 1965)

Clostridia ที่ตรึงก๊าซไนโตรเจน (Nitrogen-fixer)

หลายสายพันธุ์ของ Clostridia ที่ย่อย saccharose โดยเฉพาะ *Cl. Pasteurianum* ที่ตรึงก๊าซไนโตรเจนถ้ามีแหล่งคาร์บอนและมีสารประกอบไนโตรเจนปริมาณน้อยมาก ดังนั้นเชื้อกลุ่มนี้จึงได้รับความสนใจในการจะนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มคุณภาพของดินเพราะเป็นการเพิ่มปริมาณปุ๋ยไนเตรทในดิน (Paul and Clark, 1996)

วิธีการแยกเชื้อพวก Clostridia ที่ตรึงก๊าซไนโตรเจน

1. ใส่ดินปริมาณหนึ่งในสารอาหารแบบน้ำที่ไม่มีแหล่งของไนโตรเจนซึ่งประกอบด้วย

กลูโคส	10	กรัม
K_2HPO_4	1	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.2	กรัม
น้ำ	1	ลิตร

ชอล์กปริมาณเล็กน้อย

2. บ่มในอุณหภูมิ 18-20 °C ในที่ที่มีก๊าซไนโตรเจนผ่านเป็นเวลา 2-3 วัน
3. ต่อจากนั้นจะมีการแยกเชื้อกลุ่ม Clostridia ที่ตรึงก๊าซไนโตรเจนได้โดยวิธีทางจุลชีววิทยาภายใต้สภาวะไร้อ๊อกซิเจน

ในการแยกเชื้อกลุ่มนี้จากสารอาหารดังกล่าวสามารถทำได้ง่ายเพราะในดินก็มีสารที่ช่วยเสริมการเจริญเติบโตมากพออยู่แล้ว แต่ถ้ามีการแยกเชื้อให้มีความบริสุทธิ์นั้นต้องมีการเพิ่มสารที่เสริมการเจริญเติบโต (ไม่มีการเติมดิน) ยกตัวอย่าง เช่น สารสกัดจากยีสต์ สารที่สกัดจากมันฝรั่ง ในสารอาหารรวมทั้งเติมแร่เหล็กและโมลิบดินัมปริมาณเล็กน้อยเพราะเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อระบบเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogen-fixing enzyme) (Paul และ Clark, 1996)

1.1.2 แบคทีเรียกลุ่มที่เจริญในสภาวะที่ไร้อ๊อกซิเจนชนิดอื่น

แบคทีเรียในกลุ่มนี้ที่สำคัญคือ กลุ่มที่รีดิวส์ซัลเฟต (sulfate reducer)และแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตก๊าซมีเทน (Methanogen)เป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีความสำคัญถ้ามีสภาวะไร้อ๊อกซิเจนนานพอสมควรเพราะเป็นกลุ่มที่ต้องเจริญในที่ที่ไม่มีอ๊อกซิเจนเลย แบคทีเรียกลุ่มนี้จะพบได้ในธรรมชาติและเจริญเติบโตได้ดีในดินที่เปียกหรือดินที่มีน้ำขัง รวมทั้งดินโคลนที่ไม่มีอ๊อกซิเจนอยู่เลยแต่มีซัลเฟต (เป็นตัวรับอิเลคตรอน) และสารอินทรีย์ (เป็นตัวให้อิเลคตรอน)

แบคทีเรียกลุ่มที่รีดิวส์ซัลเฟต(sulfate reducer)

ถึงแม้ว่าจากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียกลุ่มที่รีดิวส์ซัลเฟตมีมากในสิ่งแวดล้อมทั่วๆ ไปแต่จนถึงปัจจุบันพบว่าเราสามารถแยกเชื้อกลุ่มนี้ออกมาเพียง 4-5 สปีชีส์ (Paul and Clark, 1996) ยกตัวอย่างในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงถึงความแตกต่างของ จีนัส *Desulfovibrio* และ *Desulfotomaculum*

Desulfovibrio	*Desulfotomaculum*
ไม่มีการสร้างสปอร์	มีการสร้างสปอร์
มีไซโตครอม C_3 และ desulfoviridin ที่เป็นส่วนประกอบของระบบหายใจ	ไม่มีไซโตครอม C_3 และ desulfoviridin ที่เป็นส่วนประกอบของระบบหายใจ

แบคทีเรียกลุ่มที่รีดิวส์ซัลเฟตจะมีการสร้างซัลไฟด์ (sulfide) ที่ทำให้ท่อเหล็กหรืออุปกรณ์อื่นที่ฝังอยู่ในบริเวณที่ไร้อ๊อกซิเจนผุพังได้ นอกจากการผุพังนั้นจากการเกิดปฏิกิริยาโดยจุลชีพแต่การผุพังของท่อเหล็กยังสามารถเกิดจากปฏิกิริยา electrolytic (Booth, 1964) นอกจากนั้นกาซซัลไฟด์ยังมีผลทางการเกษตรเพราะก๊าซนี้จะทำลายรากพืชได้ (Culbert, 1972)

1.2. กลุ่มแบคทีเรียที่สามารถใช้และไม่ใช้อ๊อกซิเจน (Facultative anaerobes)

(Paul and Clark, 1996)

กลุ่มแบคทีเรียเหล่านี้ประกอบด้วยแบคทีเรียหลายชนิด แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1. กลุ่มที่สามารถใช้ไนเตรท (nitrate reducing bacteria) หรือสารประกอบไนโตรเจนอ๊อกไซด์อื่นๆ เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (terminal electron acceptor)ในขบวนการหายใจ
2. กลุ่มที่ใช้ออกซิเจนในการหายใจถ้าเจริญในที่มีก๊าซออกซิเจนหรือโดยขบวนการหมัก (fermentation) ของสารอินทรีย์ถ้าสภาวะนั้นไม่มีออกซิเจน

แบคทีเรียบางกลุ่มสามารถใช้ทั้งไนเตรท อ๊อกซิเจนและทำให้เกิดการหมักของสารอินทรีย์ เช่น *Klebsiella (Aerobacter) aerogenes*

1.2.1 กลุ่มที่รีดิวส์ไนเตรท (The nitrate reducing bacteria)

มีแบคทีเรียหลายชนิดที่สามารถรีดิวส์ไนเตรทให้เป็นไนไตร์ท โดยกระบวนการที่เรียกว่า nitrate reduction และแบคทีเรียกลุ่มนี้เรียกว่า nitrate reducer ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่หลากชนิดจากการศึกษาในดินพบเชื้อกลุ่ม nitrate reducer ที่มากที่สุด คือ Pseudomonadales , Eubacteriales และ Actinomycetales ดังแสดงในรายชื่อที่จำแนกโดย Bergey's Manual นอกจากยังรวมจีนัสอื่นๆ ประมาณ 23 จีนัส (Paul and Clark,1996)

<u>การรีดิวส์ไนเตรทมีอยู่ 2 แบบคือ</u>

1. การรีดิวส์ไนเตรทแบบที่ได้พลังงานหรือเรียกว่า dissimilatory process เรียกว่า nitrate respiration
2. การรีดิวส์ไนเตรทแล้วดูดซึมเข้าสู่เซลล์หรือเรียกว่า assimilatory process

การรีดิวส์ไนเตรทเป็นขบวนการที่มีการผลิตพลังงานค่อนข้างสูง (McCarty, 1972) พบว่าพลังงานที่ได้จากกฺรเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์ซึ่งเป็นสารตั้งต้นไปสู่ไนเตรท ซึ่งเป็นสารที่รับอิเลคตรอนประมาณ 18 กิโลแคลลอรี่ต่อกรัมอีควิวาเลนท์หรือเปรียบได้กับ 67.9% ของพลังงานที่ได้จากการใช้อ๊อกซิเจนเป็นสารที่รับอิเลคตรอน ไนเตรทถูกรีดิวส์ไปเป็นก๊าซไนโตรเจนโดยแบคทีเรียบางชนิดซึ่ง Gayon และ Dupetit (Paul and Clark, 1996) เรียกขบวนการนี้ว่า denitrification แบคทีเรียกลุ่มนี้ได้แก่ *Pseudomonas, Micrococcus* และ *Bacillus* นอกจากนั้นยังมีบางกลุ่มที่สามารถรีดิวส์ไนเตรทไปเป็นไนตรัสอ๊อกไซด์ ส่วนเชื้อที่มีความสามารถรีดิวส์ไนไตรต์มีน้อยมากเนื่องจากไนไตรต์เป็นสารที่มีพิษ

การหายใจโดยใช้ไนเตรทเป็นสารรับอิเลคตรอนขึ้นอยู่กับความสามารถในการผลิตเอนไซม์ reductases โดยเอนไซม์ชนิดนี้จะหายไปถ้าเชื้อกลุ่มที่รีดิวส์ไนเตรทเจริญเติบโตในสภาวะที่มีอ๊อกซิเจนและจะมีการผลิตขึ้นมาใหม่ถ้าปริมาณอ๊อกซิเจนลดลง ดังนั้นการที่ไม่มีอ๊อกซิเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการทำให้เกิดการผลิต nitrogenous

oxide reductases ในทุกสปีชีส์ที่มีขบวนการหายใจโดยใช้ไนเตรทเป็นตัวรับอิเลคตรอน ยกตัวอย่างเช่น เมื่อ *Pseudomonas denitrificans* เจริญเติบโตในสภาวะที่ไม่มีอ๊อกซิเจน และไม่มี nitrogenous oxides เชื้อตัวนี้จะผลิต nitrous oxide reductase และมีปริมาณสูงสุดภายใน 3 ชั่วโมงและในขณะเดียวกันก็จะมีการผลิต nitrite และ nitric oxide reductase ด้วยแต่มีปริมาณน้อยกว่า nitrous oxide reductase หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า การกระตุ้นให้มีการสร้างเอนไซม์เหล่านี้ไม่จำเป็นต้องใช้ไนเตรทเป็นตัวรีดิวส์

มีการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยในการเกิดปฏิกิริยา denitrification พบว่าการสร้างเอนไซม์ในขบวนการ denitrificaion โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวกับปัจจัยในการกระตุ้นให้เกิดการสร้างเอ็นไซม์ ยกตัวอย่างเช่น ขึ้นอยู่กับปริมาณของอ๊อกซิเจน พบว่าถ้าไม่มีอ๊อกซิเจนก็จะทำให้เพิ่มอัตราการเกิดขบวนการ denitrificaion ได้ดีขึ้นนอกจากนั้นพบว่าการมีสารตั้งต้น (สารอินทรีย์) ก็มีความสำคัญต่อการหายใจโดยใช้ nitrogen oxide เป็นตัวรับอิเล็กตรอนยกตัวอย่างเช่น การใส่ (short-chain fatty acids) ในการทดลองที่มีไนเตรทจะเพิ่มปริมาณของ nitrate reductase จากเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* รวมทั้งมีการใส่กรดแลคติคในสารอาหารจะทำให้ *Scrofulaceum* สามารถเกิดขบวนการรีดิวส์ไนเตรทและจะไม่มีขบวนการรีดิวส์ไนเตรทถ้าการทดลองนั้นๆ ไม่มีการเติมกรดแลคติด (Paul and Clark, 1996)

1.2.2 กลุ่มที่หมักสารในสภาวะที่มีหรือไม่มีอ๊อกซิเจน (Fermentative facultative anaerobic bacteria)

จุลชีพกลุ่มที่หมักสารภายใต้สภาวะไร้อ๊อกซิเจนมีหลากหลายชนิดและขบวนการนี้พบได้มากในดิน การเกิดขบวนการเหล่านี้สามารถทดสอบได้โดยเตรียมการทดลองโดยใช้คาร์โบไฮเดรตสภาวะที่ไม่มีไนเตรท (Nitrate-free) และต้องเจริญอยู่ในสภาวะไร้อ๊อกซิเจนหรือเลี้ยงอยู่ในภาชนะที่มีความลึกเพื่อป้องกันการซึมเข้ามาได้ของกาซออกซิเจนและใช้ดินชนิด Rothamsted จากการทดลองพบเชื้อกลุ่มนี้เจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นโดยจะมีกลุ่มที่พบมากคือแบคทีเรียและยีสต์ โดยทั่วๆไปแล้วจะพบประมาณ 10 % ของจุลชีพชนิดที่ใช้อ๊อกซิเจนแต่อย่างไรก็ตามความสำคัญของเชื้อกลุ่มนี้

ที่ทำให้ดินอุดมสมบูรณ์ยังไม่ปรากฏชัดเจนและต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอย่างมาก ถึงแม้ว่ามีการค้นพบแบคทีเรียเหล่านี้มานานแต่ความหลากหลายของเชื้อกลุ่มนี้มีความก้าวหน้าที่ช้าเนื่องจากการเพาะเลี้ยงเชื้อเหล่านี้ทำได้ยากกว่ากลุ่มที่ใช้อ๊อกซิเจนและยังมีปัจจัยหลายชนิดที่ทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มนี้ (Paul และ Clark, 1996)

2. ปัจจัยที่ทำให้เกิดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มไร้อ๊อกซิเจน คือ

2.1 สภาวะที่ไร้อ๊อกซิเจน

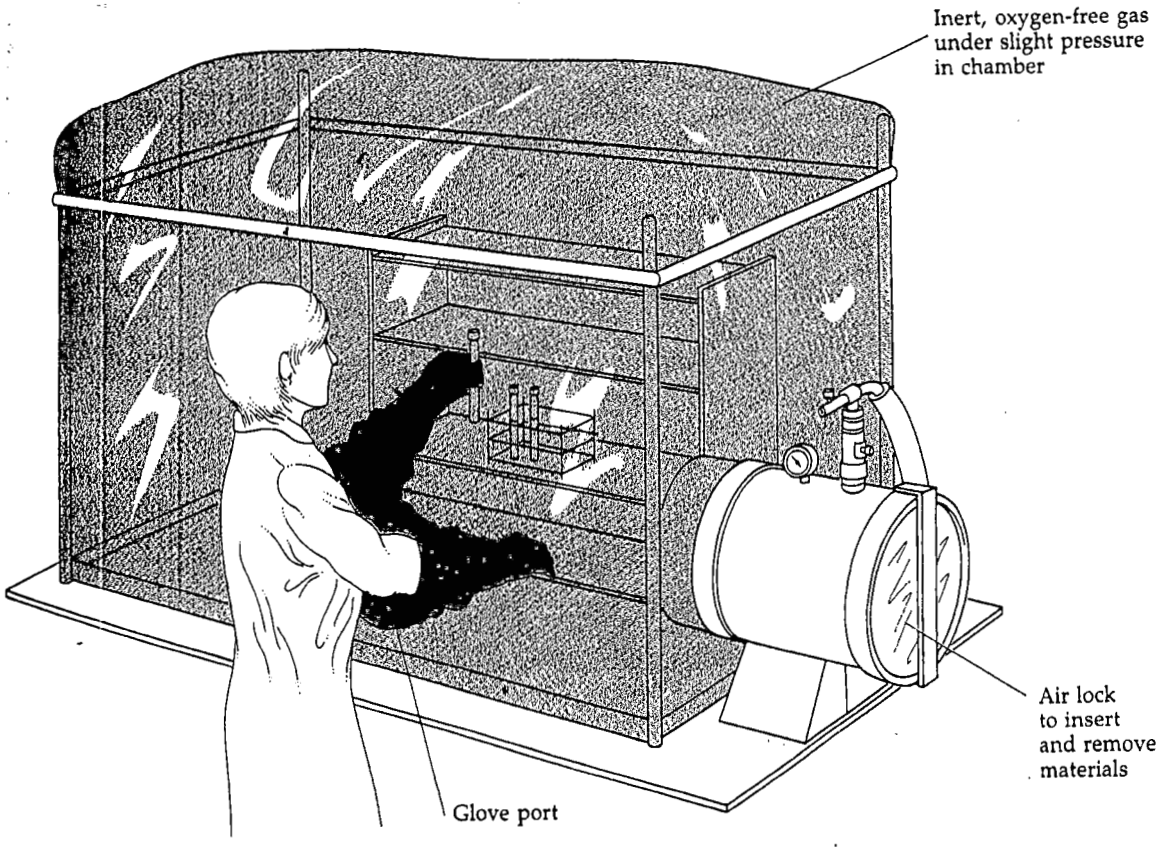
ตามธรรมชาติ จุลชีพและสิ่งมีชีวิตในดินจะมีการใช้ออกซิเจนด้วย มีการแทนที่อากาศด้วยน้ำ ยกตัวอย่างเช่น บริเวณที่มีน้ำขังอยู่ (waterlogging) รวมทั้งการเกิดสภาะไร้ออกซิเจน นอกจากนั้นยังมีการใช้อ๊อกซิเจนในดิน ขบวนการหายใจและจะเป็นขบวนการที่เร็วกว่าอัตราการแพร่ (diffusion) ของอ๊อกซิเจนเข้าในดินบริเวณนั้นๆ นอกจากนั้นถ้ามีการทำการเกษตรที่ใช้เครื่องมือที่หนักทำให้ดินเกิดการเกาะตัวกันแน่นหรือการใช้ปุ๋ยที่มีน้ำปริมาณสูงจะทำให้ป้องกันอากาศซึมเข้าไปในดินได้ยากขึ้นซึ่งจะทำให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจนได้ง่ายขึ้น (Paul and Clark, 1996) ในห้องปฏิบัติการมีเครื่องมือหลายชนิดที่นำมาใช้ในการเพาะเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้อ๊อกซิเจนคือ

1. **Anaerobic chamber** คือเป็นตู้ที่ใช้ในการทำการทดลองภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน ที่ประกอบด้วย อุปกรณ์ 3 ส่วนคือ

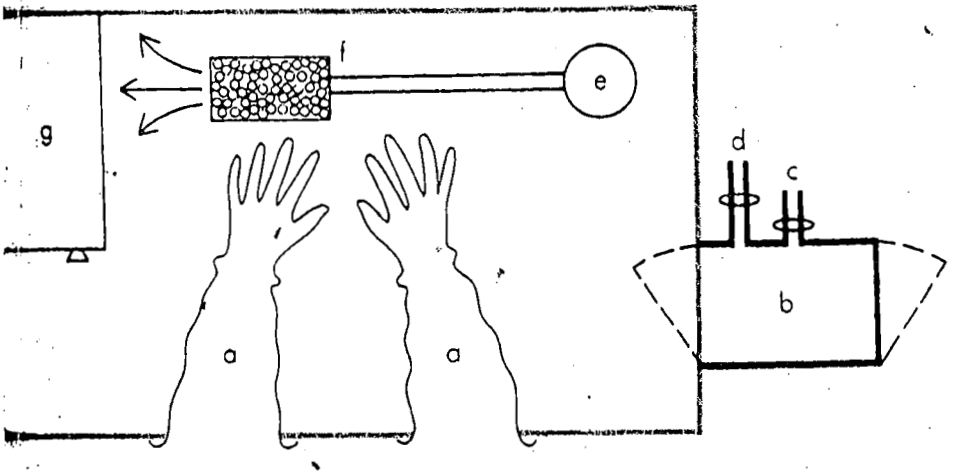
1.1 แผ่นพลาสติกใสและหนาเพื่อทนต่อแรงดันของก๊าซ N_2 หรือ ก๊าซเฉื่อยชนิดอื่นๆ ที่ต้องใช้เพื่อแทนที่กาซออกซิเจน

1.2 อุปกรณ์ส่วนที่ให้มือสอดเข้าไปใน chamber (glove port) และมีถุงมือยางที่ใช้ในการทำงาน

1.3 ส่วน air lock เป็นบริเวณที่ใส่อุปกรณ์ หรือสิ่งของที่จะนำไปใช้ใน chamber โดยจะต่อกับถังก๊าซเฉื่อย เมื่อใส่ในส่วน air lock แล้วเปิดเครื่องปั๊มเพื่อ(vacuum pump) ทำการดูดอากาศออก และเติมด้วยก๊าซเฉื่อยทดแทน 2-3 ครั้ง แล้วจึงเปิดฝาด้านใน chamber เพื่อเอาอุปกรณ์ทั้งหลายมาทำงานใน chamber ต่อไป (รูปที่ 3 และ 4)



รูปที่ 3 Anaerobic chamber (Tortora *et al.*, 1989)



รูปที่ 4 Anaerobic chamber ด้าน top view (Pelczar *et al.*, 1986) ที่แสดงอุปกรณ์ คือ

a) Glove port และ rubber glove

b) Air lock

c) Vacuum pump

d) ส่วนที่ต่อกับถังก๊าซเฉื่อย

e) ที่ปั๊มอากาศใน chamber เพื่อให้ผ่านส่วน (f)

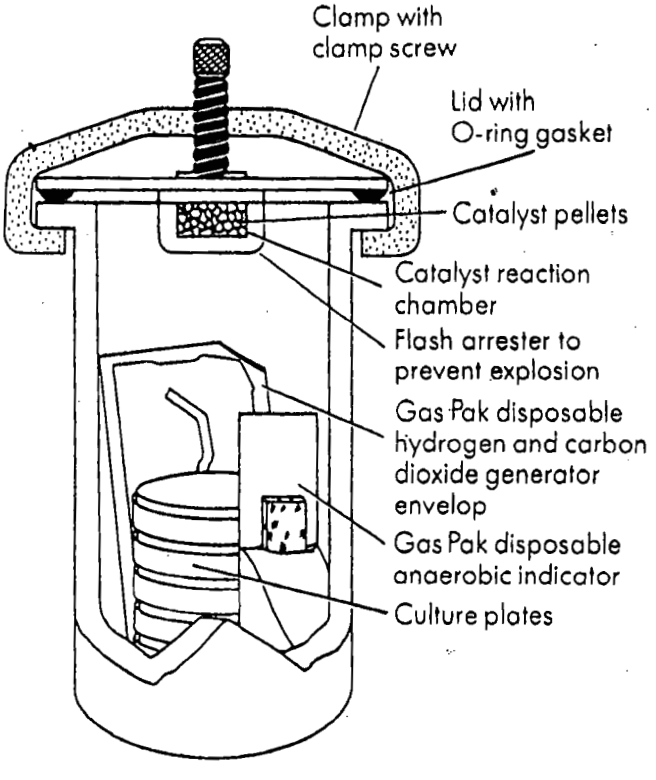
f) Palladium catalyst

g) ตู้อบเชื้อภายใน anaerobic chamber

2. **Anaerobic jar** คือ อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการบ่มเชื้อที่เจริญภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนที่ประกอบด้วยอุปกรณ์ 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ

2.1 ถังหรือ jar ซึ่งทำด้วยพลาสติกหรือแก้ว

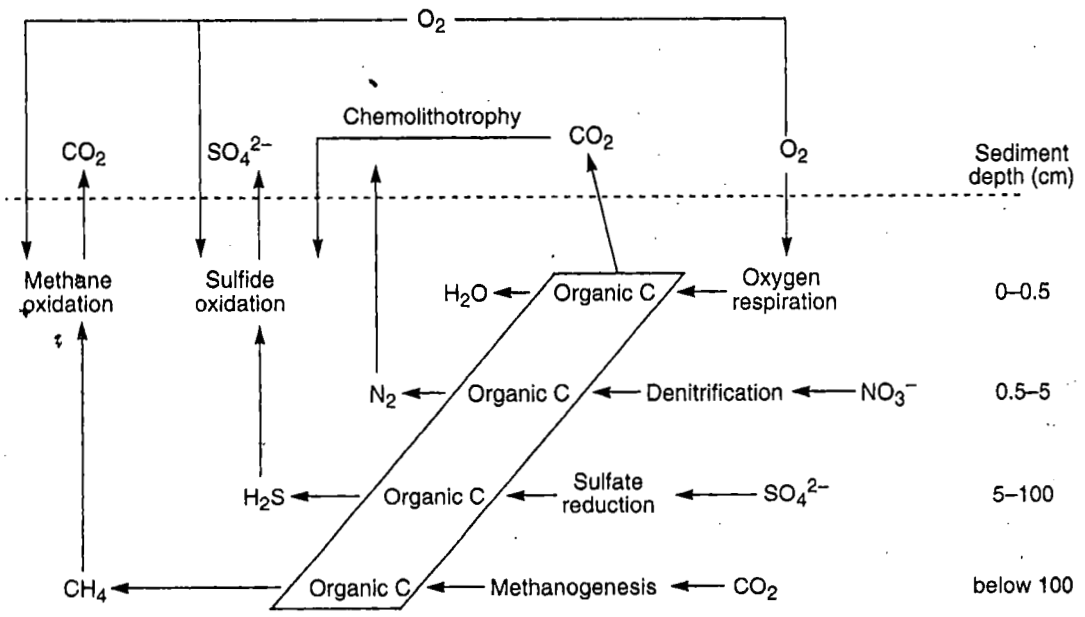
2.2 Chemical packet ที่มีสารโซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) โซเดียมโบโรไฮดราย (sodium borohydride) จะเกิดการทำปฏิกิริยากันเกิดกาซไฮโดรเจนและกาซคาร์บอนไดออกไซด์โดยปฏิกิริยาจะเกิดบนผิวของ palladium catalyst ที่อยู่ในส่วน palladium catalyst pellets กาซไฮโดรเจนและออกซิเจนในอากาศในถังนั้นๆจะเกิดปฏิกิริยากันกลายเป็นน้ำนอกจากนั้นยังมีตัวบ่งบอกถึงสภาวะที่ไร้ออกซิเจนจะบอกโดยแผ่น methylene blue ซึ่งจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงิน (blue) เป็นแผ่นที่ไม่มีสี (colorless) ถ้าสภาวะนั้นไม่มีออกซิเจน



รูปที่ 5 Anaerobic jar (Pelczar *et al*, 1986)

2.2 สภาวะที่มีความ reduced ต่ำเพียงพอ

บริเวณที่มีน้ำขังอยู่ (waterlogging)โดยถ้ามีการขังของน้ำนานพอก็จะทำให้สภาวะของดินในบริเวณเกิดสภาวะของความเป็น reduced conditions และทำให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกลุ่มไร้อ๊อกซิเจน โดยสภาวะความ reduced ต่ำนั้นสามารถตรวจวัดโดยค่า Redox potential (Eh) ซึ่งเป็นการวัดความแตกต่างของค่าความต่างศักย์ (มิลลิโวลต์) ระหว่างขั้ว platinum และ a saturated calomel electrode (Brock *et al.*, 1994) จุลชีพจะเลือกใช้สารรับอิเลคตรอนตัวที่ให้พลังงานมากที่สุดก่อนยกตัวอย่างเช่น จุลชีพจะเลือกใช้ไนเตรทก่อนที่จะใช้ซัลเฟตเพราะให้พลังงานจากการใช้ไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอนมากกว่าซัลเฟต ในรูปที่ 6 แสดงถึงการใช้สารรับอิเลคตรอนชนิดต่างๆในตะกอนในน้ำทะเลตามความลึกระดับต่างๆ นอกจากนั้นปฏิกิริยาบางชนิดจะต้องมีค่า Eh ที่เหมาะสม (ตารางที่ 4)



รูปที่ 6 การใช้สารรับอิเล็กตรอนชนิดต่างๆ ในตะกอนน้ำทะเลตามความลึกระดับต่างๆ

(Atlas and Bartha, 1993)

ตารางที่ 4 ค่า Eh ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ปฏิกิริยาชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจน	Eh (mV)
Denitrification	+200
Sulfate reduction	+2))
Methanogensis	-300

Bell (1969) พบว่าดินที่มีน้ำขังอยู่โดยปรกติแล้วจะมี redox potential (E_h) ประมาณ +200 mV ซึ่งจะเหมาะต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่ม (Nitrate reducer หรือ denitrifier; ตารางที่4) หรือถ้ามีการหมักคาร์โบไฮเดรตเกิดขึ้นจะเกิดก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนต่อจากนั้น E_h ก็จะตกลงสู่ –200 mV ด้วยและจะเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยา methanogenesis หรือเป็นขบวนการสร้างกาซมีเทนแต่อย่างไรก็ตามถ้าสภาวะนั้นมีไนเตรทอยู่ด้วยจะมีปฏิกิริยา denitrification เกิดขึ้นรวมทั้งจะมีก๊าซไนโตรเจนเกิดขึ้นด้วย หลังจากที่ไนเตรทถูกใช้หมดแล้ว E_h จะตกลงไปถึง –200 mV แต่ถ้ามีการเพิ่มไนเตรทลงไปจะทำให้สภาวะที่มี E_h คงอยู่ที่ +200 ซึ่งจะทำให้เกิดการสร้างก๊าซมีเทนช้าลงหรือถ้ามีปริมาณไนเตรทเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยา denitrification ของแบคทีเรียกลุ่ม denitrifiers จะป้องกันการเกิดปฏิกิริยา methanogenesis อย่างสิ้นเชิง

ไนเตรทคือสารอาหารชนิดหนึ่งของพืชที่สามารถไหลจากดินสู่น้ำใต้ดินไปกับน้ำได้อย่างง่ายดายเพราะไนเตรทมีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ดีซึ่งจะทำให้เกิดผลเสียคือมีการสูญเสียสารอาหารนี้จากพืชโดยวิธีดังกล่าวนอกจากการใช้ไนเตรทเป็นสารอาหารให้แก่พืชยังใช้ในรูปของแอมโมเนียมอิออน (NH_4^+) แต่ต้องมีการระงับการเกิดปฏิกิริยาของ nitrifying bacteria คือการเปลี่ยนแอมโมเนียมอิออนเป็นไนเตรทเพื่อรักษาแอมโมเนียที่สามารถถูกซึมซับโดย soil colloids และสะสมเพื่อให้พืชนำไปใช้ได้และไม่เกิดการถูกชะลงสู่น้ำใต้ดินเหมือนไนเตรท

จากการนำปุ๋ยคอกมาใช้ในดินสามารถทำให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจนได้ถ้าปุ๋ยคอกนั้นๆมีน้ำปะปนอยู่มากเท่าไหร่ก็จะทำให้เกิดการป้องกันการหมุนเวียนของอากาศมากขึ้นเท่านั้นซึ่งจะนำไปสู่การเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มที่เจริญในที่ไร้อ๊อกซิเจนได้ ดังนั้นจึงต้องระมัดระวังในการเติมปุ๋ยคอกลงไปในดินเพราะสภาวะไร้ออกซิเจนเป็นสภาวะที่ไม่น่าพึงประสงค์ต่อการเกษตรกรรมดังที่กล่าวมาแล้ว (Skinner, 1965)

3. ผลของแบคทีเรียกลุ่มที่ไม่ใช้ออกซิเจน

นักจุลชีววิทยาทางด้านการเกษตรมีความสนใจในแบคทีเรียกลุ่มนี้โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจน ย่อยสลายเซลลูโลส กลุ่มที่สร้างกาซมีเทน กลุ่มที่เปลี่ยนไปเป็นซัลไฟด์ หรือกลุ่มที่เปลี่ยนไนเตรทเป็นกาซไนโตรเจน ในขณะเดียวกันก็ยังมีแบคทีเรียในกลุ่มอื่นที่อาจจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารต่างๆ ในดินแต่อย่างไรก็ตามความรู้เกี่ยวกับแบคทีเรียกลุ่มนี้ยังมีอยู่ไม่มากนักและควรจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีก ปกติแล้วสภาวะที่ไร้ออกซิเจนนี้ไม่ได้เป็นผลดีต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินเพราะลักษณะของดินที่ดีควรจะทำให้มีการถ่ายเทของอากาศไปถึงรากของพืชได้ดีรวมทั้งแบคทีเรียกลุ่มไร้ออกซิเจนที่ให้เกิดการผลิตกาซที่ไม่พึงปรารถนา เช่น

กาซแอมโมเนีย : เกิดจากการย่อยสลายที่สมบูรณ์ของสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ในสภาวะทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนแต่ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจนจะทำให้เกิดการสร้างแอมโมเนียได้เร็วกว่าในสภาวะที่มีออกซิเจน

ซัลไฟด์ (sulfide), เฟอร์รัสอิออน (ferrous ion) และกาซมีเทน :ปฏิกิริยาเหล่านี้จะเกิดขึ้นในสภาวะที่มีความเป็น reduced สูง

กาซเอทิลีน (ethylene): จะเกิดขึ้นในสภาวะที่มี reduced condition ที่ค่อนข้างไม่ต่ำมากรวมทั้งเมื่อมีไนเตรทอยู่ด้วย

Phosphine : การเกิดขึ้นของ phosphine ยังไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่าเกิดขึ้นได้อย่างไรแต่สันนิษฐานว่าเกิดจากปฏิกิริยาของจุลชีพ (Skinner, 1965)

ของดินโดยจะมีการเพิ่มขึ้นมากภายใน 3 วันแรกและต่อจากนั้นจะคงที่ นอกจากนั้นยังพบก๊าซอีเทน และโปรเพนในปริมาณน้อยๆ

การย่อยสลายของยาฆ่าแมลง

ปรกติแล้วสารประกอบอินทรีย์จะย่อยสลายได้ภายใต้สภาวะมีอ๊อกซิเจนเร็วกว่าสภาวะไร้อ๊อกซิเจนแต่ในปัจจุบันมียาฆ่าแมลงบางชนิดที่ไม่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้อ๊อกซิเจนแต่มีการย่อยสลายได้บางส่วนภายใต้สภาวะที่มีอ๊อกซิเจนน้อยลง เช่น ดีดีที โดย ในปี 1968 Guenzi และ Beard พบว่าเมื่อมีการนำดีดีทีใส่ในดินที่มีสภาวะไร้อ๊อกซิเจนมีดีดีทีคงเหลือในดินนั้นๆน้อยกว่า 1 เปอร์เซนต์ภายในเวลา 14 วันแต่พบว่าในดินที่มีอ๊อกซิเจนเหลือถึง 75 เปอร์เซนต์เมื่อใช้เวลาเท่ากัน และมีการยืนยันว่าการย่อยสลายนี้น่าจะเกิดจากจุลชีพไม่ใช่ปฏิกิริยาทางเคมีหรือฟิสิกส์โดยการทดลองของ Burge เมื่อปี1971 โดยพบว่าดีดีทีจะไม่เกิดการย่อยสลายถ้าใช้ดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันและการย่อยสลายจะเกิดขึ้นอีกครั้งเมื่อมีการเติมดินที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อลงไปเพราะเป็นการเพิ่มปริมาณสารอาหารและเพิ่มสภาวะที่ไร้ออกซิเจนได้เร็วขึ้นและคงอยู่ได้นานขึ้น (Paul and Clark, 1996) ส่วนรายละเอียดอื่นๆ จะกล่าวถึงในบทที่ 11 ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Brock DB, Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1994) Biology of Microorganisms. 7th ed. Prentice-Hall,Inc., New Jersey.

Gibbs and Freame (1965) Anaerobic bacteria and their activities in soil. *In* Soil microbiology. Walker N (Ed.) John Wiley & Sons, New York. P.5.

Paul EA and Clark FE (1996) Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, San Diego.

Skinner FA (1963) Anaerobic bacteria and their activities in soil. *In* Soil microbiology. Walker N (Ed.) John Wiley & Sons, New York. P.7, 10.

บทที่ 10
ความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในดินและรากพืช
(Interaction of microorganisms in soil and plant root

หัวข้อ

- ไรโซสเฟียร์ (The rhizosphere)
- Rhizosheath
- ผลกระทบของรากพืชต่อจุลินทรีย์ (plant root effects on microbial population)
- ผลของจุลินทรีย์ที่อาศัยในไรโซสเฟียร์
- ไมโคไรซา (Mycorrhizae)
- Symbiotic nitrogen fixation ใน nodules

จุลินทรีย์จะมีปฏิกิริยากับพืชทั้งแบบพึ่งพา commensalism, synergism, และ mutualism นอกจากนั้นยังมีความสัมพันธ์แบบ amensalism, competition, and parasitism (Atlas and Bartha, 1993) ดังนั้นจุลินทรีย์จึงมีผลต่อพืชทั้งทางบวกและทางลบกับบริเวณพื้นผิวของพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งรวมทั้งรากพืชซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์ในดิน แต่ในบทนี้จะขอกล่าวถึงผล ทางด้านบวกของจุลินทรีย์ในดินต่อพืช

ไรโซสเฟียร์ (The rhizosphere)

ก่อนอื่นมากล่าวถึงศัพท์ rhizosphere และ rhizoplane

Rhizosphere หมายถึง ดินที่เกาะอยู่บริเวณรอบรากพืชหลังจากเขย่าดินที่เกาะหลวมๆ ออก ขนาดของ rhizosphere ขึ้นกับชนิดของรากพืช ยกตัวอย่างเช่น รูปที่ 1 แสดงถึง ดินบริเวณรากของต้น rye grass ประกอบด้วยแบคทีเรีย ไมซีเลียมของเชื้อรา สปอร์ ของเชื้อรารวมทั้งส่วนประกอบของดินหรือเม็ดแร่ธาตุ

รูปที่ 1 รูปภาพของรากพืช rye grass ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ scanning ที่แสดง B = แบคทีเรีย, F = ไมซีเลียมของเชื้อรา, M = เม็ดแร่ธาตุ และ S = สปอร์ของเชื้อรา (Atlas and Bartha, 1993)

Rhizoplane คือ บริเวณพื้นผิวของรากพืชดังแสดงในรูปที่ 2 ที่แสดงให้เห็นว่า มีเม็ดดินเกาะอยู่กับพื้นผิวของรากพืช

รูปที่ 2 รากพืชที่แสดงถึงรากขน (root hairs) และเม็ดดินที่เกาะอยู่กับพื้นผิวของราก พืช (Atlas and Barth, 1993)

รากพืชเป็นแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์โดยจะพบจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ในปริมาณสูงรอบๆ รากพืชเพราะจุลินทรีย์ในดินและรากพืชจะเอื้อเฟื้อซึ่งกันและกันในด้านอาหารรวมทั้งพบว่ามีจุลินทรีย์ปริมาณสูงในบริเวณ rhizoplane และ rhizosphere เมื่อคำนวณต่อปริมาณชีวมวลของพืชทั้งหมดพบว่ารากฝอยของพืชพวกหญ้าจะมีพื้นที่ผิวมากกว่าระบบรากแก้ว (Bowen, 1980; Atlas and Bartha, 1993)

Rhizosheath

Rhizosheath เป็นลักษณะที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของความสัมพันธ์ระหว่างรากพืช และจุลินทรีย์ rhizosheath คือลักษณะที่มีดินเกาะกับรากพืชเป็นท่อและค่อนข้างหนา (รูปที่ 3) โดยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกที่ปล่อย ออกมาโดยราก พืช rhizosheath เป็นการพัฒนาการทำรูปร่างของรากพืชเพื่อเป็นการรักษาความชื้นของ ดินรวมทั้งยังเพิ่มพื้นผิวสัมผัสที่เกิดระหว่างรากพืชและจุลินทรีย์ นอกจากนั้นยังพบว่า มีปฏิกิริยา nitrogen-fixation เพิ่มขึ้นในบริเวณ rhizosheath การเกิด rhizosheath เป็น ลักษณะที่เกิดขึ้นกับหญ้าทะเลทราย บางชนิดรวมทั้งหญ้าทั่วๆ ไปที่มีการเจริญเติบโตภาย ใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการ เจริญเติบโต (Wullstein *et al.* 1979; Duell and Peacok, 1985) rhizosheath เป็นสิ่งที่ยังน่าศึกษาเพิ่มเติมเพราะยังมีการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้น้อย

รูปที่ 3 Rhizosheath ของ cereal rye (*Secale cereale*) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ rhizosheath ประมาณ 8 มิลลิเมตร (Duell and Peacock, 1985)

ผลของรากพืชที่มีต่อจุลินทรีย์ในดิน (plant root effects on microbial population)

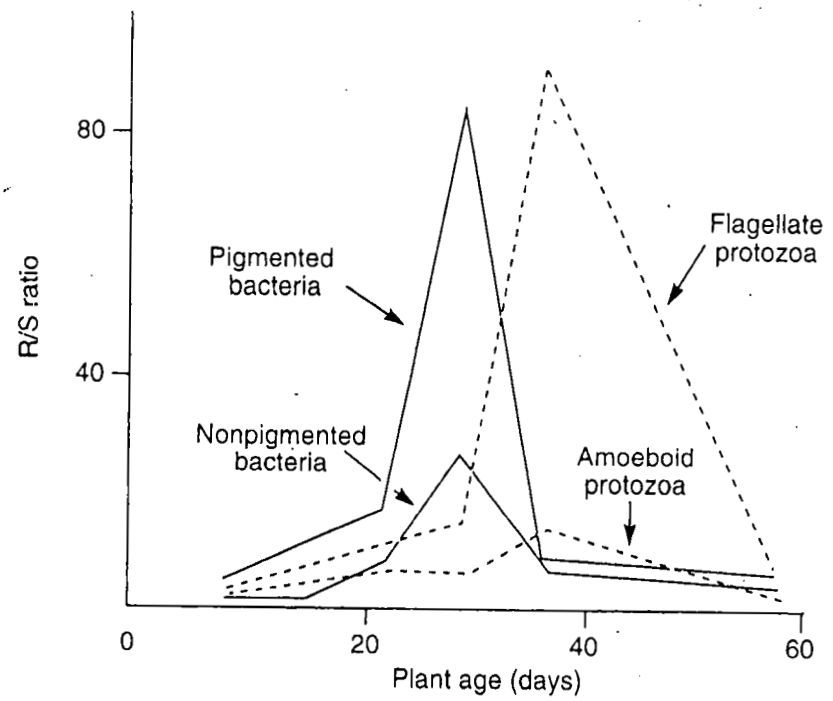
รากพืชจะดูดน้ำและปล่อยสารอินทรีย์ไปสู่ดินบริเวณนั้นๆ ซึ่งเป็นสารอาหารและสารอื่นที่ช่วยให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดีขึ้น (ตารางที่ 1) ดังนั้นบริเวณ rhizosphere จะมีผลกระทบโดยตรงต่อส่วนประกอบและความหนาแน่นของจุลินทรีย์ในดินเนื่องจากสารที่หลั่งจากพืช เรียกว่า rhizosphere effect ซึ่งสามารถดูจากความหนาแน่นของจุลินทรีย์ในดินโดยดูจากอัตราส่วนของจำนวนจุลินทรีย์ในบริเวณ rhizosphere ต่อจำนวนของจุลินทรีย์ในบริเวณที่ไกลจากรากพืช (The R/S ratio) โดยทั่วไป แล้ว R/S ratios บริเวณของ rhizosphere จะสูงถึง 5-20 หรืออาจจะพบสูงถึง 100 นั่นหมาย ถึงปริมาณจุลินทรีย์บริเวณ rhizosphere สูงกว่าบริเวณที่ไม่มีรากพืชถึง 100 เท่า และ rhizosphere effect ขึ้นอยู่กับ (1) ชนิดของพืชและ (2) ช่วงอายุของพืชเหล่านั้น (Atlas and Bartha, 1993) ดังแสดงในรูปที่ 4 และตารางที่ 2

ตารางที่ 1 สารอินทรีย์ที่หลั่งจากพืช (Atlas and Bartha, 1993)

กรดอะมิโน (amino acid)
keto acid
วิตามิน
น้ำตาลชนิดต่างๆ
tannins
alkaloids
phosphatides

ตารางที่ 2 การหลั่งสารจากเมล็ดพืชในระยะที่มีการงอกถึงพืชระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่

เมล็ดพืชในระยะที่มีการงอก (Seed germination)	
บริเวณที่มีการหลั่งสารของพืช	สารที่หลั่งจากพืช
บริเวณร่องของ epidermis ของต้นพืช บนพื้นผิวของราก ภายใน mucilaginous layers รอบๆ รากพืช	Carbohydrate exudates Mucilaginous materials
พืชระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่	
บริเวณที่มีการหลั่งสารของพืช	สารที่หลั่งจากพืช
บริเวณที่เกิดการสลายตัวของรากพืชบางส่วน บริเวณที่รากพืชเกิดการเจริญเติบโต	น้ำตาล กรดอะมิโน



รูปที่ 4 R/S ratios ที่แสดงถึงการเพิ่มขึ้นและลดลงของปริมาณแบคทีเรียและโปรโตซัวภายใน rhizosphere เมื่อมีการเจริญเติบโตของพืช *Sinapsis alba* (Atlas and Bartha, 1993)

โปรโตซัวกลุ่มที่เคลื่อนที่ด้วยวิธีการ amoeboid movement (Amoeboid protozoa)และโปรโตซัวกลุ่มที่มีแฟลกเจลลา (Flagellate protozoa) ที่เปลี่ยนแปลงตามอายุของพืชพบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มจะมีสัดส่วน R/S สูงสุดเมื่อพืช *Sinapsis alba* มีอายุได้ประมาณ 30 วันและหลังจากนั้นอีกประมาณ 5 วันจะมีสัดส่วนของโปรโตซัวทั้ง 2 ชนิดสูงสุด ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าในช่วงแต่ละช่วงอายุของ *Sinapsis alba* จะมีการหลั่งสารอาหารออกมาแตกต่างกันจึงทำให้ปริมาณแบคทีเรียเปลี่ยนแปลง (Atlas and Bartha, 1993) นอกจากนั้นในบริเวณ rhizosphere ยังพบว่ามีขบวนการตรึงกาซไนโตรเจนจากบรรยากาศได้เพิ่มขึ้นเนื่องจากในบริเวณนี้ยังพบแบคมีเรียกลุ่มที่สามารถตรึงกาซไนโตรเจนได้หลากชนิดดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แบคทีเรียกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนที่พบในบริเวณ rhizosphere (Smith *et al.*, 1976; Lammand Neyra, 1981; Atlas and Bartha, 1993)

ชนิดของแบคทีเรีย	Rhizosphere ของพืช	ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน
Azotobacter paspati	พืชเขตร้อน : Digitaria, Panicum, Paspalum	สูงถึง 40 กิโลกรัมของไนโตรเจน/ 6.25ไร่ / ปี
Azospirillum	พืชเขตอบอุ่น :Zea mays	คงที่
Desulfovibrio *Clostridium* Anaerobe อื่นๆ	หญ้าบริเวณพื้นที่บริเวณชายฝั่งทั้งเขตอบอุ่นและเขตร้อน *Zostera marina* (eel grass) *Thalassia testudinum* (turtle grass)	สูงมาก
Rhizobium	พืชตระกูลถั่วบริเวณชายฝั่งทะเล	100-500 กิโลกรัมของไนโตรเจน/ 6.25 ไร่/ปี
ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม	หญ้า *Spatina alterniflora* ที่พบบริเวณ sumisubmerged salt-marsh grass	สูง

ผลของจุลินทรีย์ที่อาศัยใน rhizosphere ต่อพืช

นอกจากรากพืชจะมีผลต่อจุลินทรีย์ในดินบริเวณ rhizosphere เพราะมีการปล่อยสาร ที่มีประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ดังที่กล่าวมาแล้วนั้น ในขณะเดียวกันจุลินทรีย์เองก็มีผลต่อพืช เช่นกันคือ

1. **เพิ่มปริมาณสารอาหารที่ละลายน้ำได้ทำให้เกิดการหมุนเวียนสารอาหารเหล่านี้เพิ่มขึ้น ยกตัวอย่างเช่น**

1.1 ฟอสเฟต

การเพิ่มปริมาณของฟอสเฟตในรูปที่ละลายน้ำเพราะโดยปกติฟอสเฟตมักจะอยู่ใน รูปของสารที่ไม่ละลายน้ำในดินซึ่งจะเป็นรูปที่พืชนำไปใช้ไม่ได้แต่ในดินที่มีจุลิน - ทรีย์อาศัยอยู่พบว่ามีปริมาณของฟอสเฟตในรูปที่ละลายน้ำได้สูงขึ้นจากการศึกษาโดย Cambell (1985) พบว่าจุลินทรีย์ทำการสร้างกรดออกมาละลายสารประกอบฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ เช่น สาร apatite หรือ $M_{10}(PO_4)_6X_2$ (ซึ่ง M จะหมายถึงแคลเซียมเป็นส่วน

ใหญ่หรืออาจจะเป็นอลูมิเนียมหรือแร่เหล็กเป็นส่วนน้อย ส่วน X คือแอนอิออน (anion) ที่อาจจะเป็น F^-, Cl^-, OH^- หรือ CO_3^-) ทำให้พืชมีประสิทธิภาพการดูดซึมฟอสเฟตสูงขึ้น

1.2 แคลเซียม

จุลินทรีย์บนรากพืชได้เพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมของแคลเซียมของพืช บริเวณนั้นเพราะจุลินทรีย์จะปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ดินในบริเวณนั้นมีฤทธิ์เป็นกรดทำให้เกิดการละลายของแคลเซียมเพิ่มขึ้น (Atlas and Bartha, 1993)

2. เพิ่มการสร้างวิตามิน กรดอะมิโน ฮอร์โมนและยาปฏิชีวนะ

ทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดีขึ้นเพราะมีการสร้างฮอร์โมนช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโต รวมทั้งสร้างยาปฏิชีวนะฆ่า/ยับยั้งเชื้อก่อโรคเพื่อใช้ในการต่อต้านพวกเชื้อก่อโรคพืช ยกตัวอย่างเช่น มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่ผลิตสารเร่งการเจริญ เช่น *Arthrobacter*, *Pseudomonas* และ *Agrobacterium* ผลิตสารออกซิน และจิบเบอร์ริลลินโดยสารทั้งสองชนิดนี้เร่งการงอก่ของเมล็ดพืชและการพัฒนาการของรากขน นอกจากนั้นมีแบคทีเรียหลายชนิดในเมล็ดข้าวสาลีที่ผลิตกรดอินโดอะซิติค (Indoleacetic acid, IAA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโตของพืชโดยช่วยให้รากพืชเจริญเติบโตได้เร็วขึ้น (Atlas and Bartha, 1993)

3. เปลี่ยนสารพิษภายในดินบริเวณนั้นให้กลายเป็นสารที่ไม่มีพิษ

พืชที่มีการเจริญในบริเวณน้ำท่วมขังซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มีกาซออกซิเจนและสะสมกาซมีพิษต่างๆ ยกตัวอย่าง ต้นข้าว ดังนั้นรากพืชเหล่านั้นต้องมีการปรับตัวเพื่อผลิตก๊าซออกซิเจนเพิ่มขึ้นและในขณะเดียวกันต้องกำจัดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาซัลเฟตรีดักชั่น (sulfate reduction) ด้วยจุลินทรีย์ในบริเวณนั้นๆ (Drew and Lynch, 1980)

4. จุลินทรีย์บางกลุ่มอาจจะทำให้เกิดกระบวนการบางชนิดที่อาจจะเกิดผลลบต่อพืช

ยกตัวอย่างเช่น แบคทีเรียกลุ่ม denitrifier หรือแบคทีเรียกลุ่มที่เปลี่ยนสาร

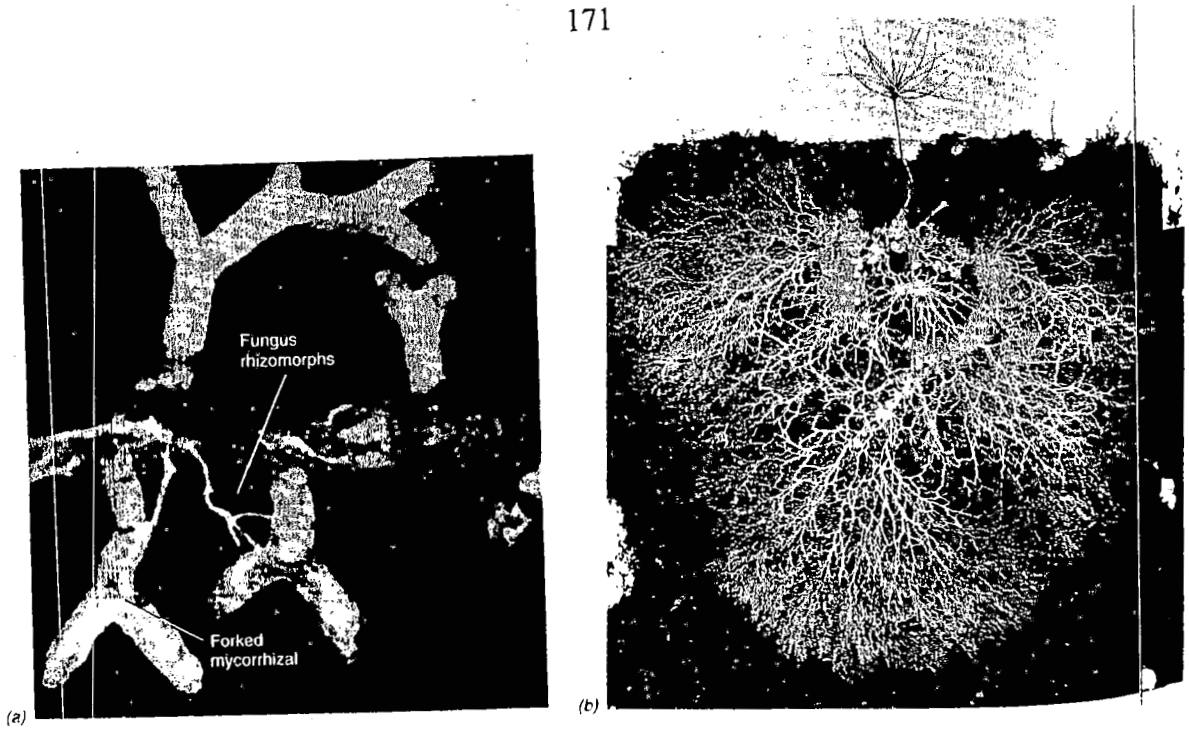
ไนเตรทไปเป็นสารไนไตร์ทและเป็นกาซไนโตรเจนโดยปฏิกิริยา denitrification ทำให้เกิดการสูญเสียปุ๋ยไนโตรเจนที่เติมลงไปในดินบริเวณนั้นๆ (Atlas and Bartha, 1993)

Mycorrhizae (ไมโคไรซา)

Mycorrhizae หมายถึง ความสัมพันธ์แบบพึ่งพา (Mutualism) ระหว่างรากพืชและเชื้อราโดยเชื้อราจะแทรกอาศัยอยู่ในรากพืช ดังแสดงในรูปที่ 5 (a และ b) ที่แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างต้นสนชนิด *Pinus rigida* กับเชื้อรา *Thelophora terrestris* ในรูป 5a และ รูป 5b เป็นรากต้นสนชนิด *Pinus contorta* ที่รากมีความสัมพันธ์กับเชื้อราและทำให้รากแผ่ขยายได้อย่างดีและมั่นคง เนื่องจากความสัมพันธ์แบบ mycorrhizae เป็นความสัมพันธ์ที่มีความเฉพาะเจาะจงระหว่างชนิดของเชื้อราและชนิดของพืชทำให้เป็นความสัมพันธ์ที่มีลักษณะพิเศษกว่าความสัมพันธ์อื่นๆที่เกิดขึ้นใน rhizosphere จากการเรียงตัวของเชื้อราในรากพืชนี้เองที่สามารถแบ่ง mycorrhizae ได้ 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ (1) ectomycorrhizae และ (2) endomycorrhizae

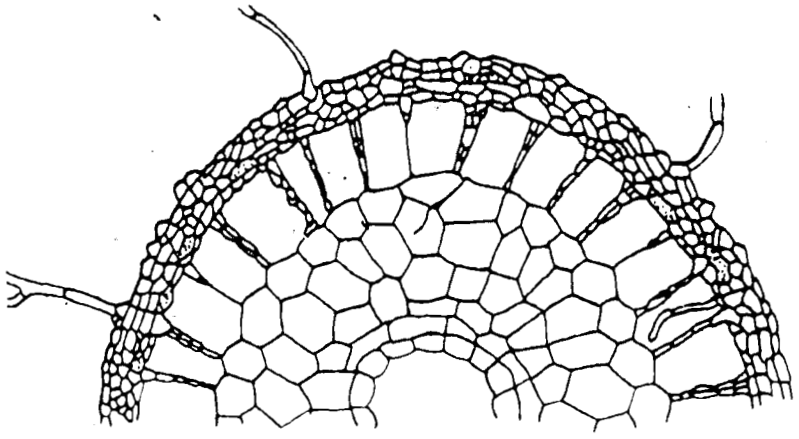
1. Ectomycorrhizae

คือความสัมพันธ์ของ mycorrhizae ที่เชื้อราจะรวมตัวกลายเป็นส่วนที่เรียกว่า pseudoparenchymatous sheath อยู่ส่วนด้านนอกหรือในส่วน epidermis และส่วน cortical ของรากพืชแต่จะไม่แทรกตัวอยู่ในส่วน cortex หรือส่วนที่มีชีวิตอื่นๆของรากพืช (รูปที่ 6) จากการเกิดการรวมตัวของเชื้อราเข้ามาทำให้รูปร่างของพืชเปลี่ยนแปลงไปโดยรากพืชจะมีรูปร่างสั้นลงหรือที่เรียกว่า dichotomously branching cluster ectomycorrhizae ส่วนนี้ จะคิดเป็น 40% ของน้ำหนักแห้งทั้งหมดของเชื้อรารวมกับส่วนรากพืชบริเวณนั้น (Hartley, 1965) เชื้อรากลุ่มที่มักจะเกิด ectomycorrhizae คือ กลุ่ม ascomycete และ basidiomycete (Atlas and Bartha, 1993) ตารางที่ 4 ได้สรุปรวมลักษณะของ ectomycorrhizae และ ตารางที่ 5 ได้สรุปประโยชน์ที่ได้จากการพึ่งพาซึ่งกันและกันของเชื้อราและพืชที่ได้มาอาศัยอยู่ด้วยกันแบบ ectomycorrhizae (Atlas and Bartha, 1993; Holt *et al.,* 1993; Odum, 1983)



รูปที่ 5 (a) ความสัมพันธ์แบบ mycorrhizae ระหว่างรากพืช *Pinus rigida* และเชื้อรา *Thelophora terrestris*

(b) รากต้นสนชนิด *Pinus contorta* ที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราแบบ mycorrhizae ที่ทำให้รากแผ่ขยายได้ดี (Odum, 1983)



รูปที่ 6 Hyphae ของเชื้อราแทรกเข้าไปในส่วน epidermis และส่วน cortical region ของรากแต่จะไม่แทรกเข้าไปกับส่วน cortex และส่วนที่มีชีวิตอื่นๆของรากพืช ความสัมพันธ์นี้ทำให้รูปร่างของรากพืชเปลี่ยนแปลงโดยที่มีรูปร่างสั้นลงแบบ dichotomously branching cluster (Atlas and Bartha, 1993)

ตารางที่ 4 ลักษณะของ ectomycorrhizae (Marks and Kozlowski, 1973; Atlas and Bartha, 1993)

พบในพืช	Gymnosperms Angiosperms เช่น Oak, beech and coniferous trees พืชส่วนใหญ่ในป่าเขตอบอุ่น
เชื้อราที่มักจะเกิดความสัมพันธ์แบบ ectomycorrhizae	Ascomycetes เช่น *Truffles* Basidiomycetes เช่น *Boletus* และ *Ananita*
อุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญ	15-30°C
pH ที่เหมาะต่อการเจริญ	pH 4-6 หรือ pH < 3
สารอาหาร	simple carbohydrate เช่น disaccharides, sugar, alcohols complex organic source: nitrogen, amino acid

ตารางที่ 5 ผลประโยชน์ที่ได้รับจากความสัมพันธ์แบบ ectomycorrhizae ระหว่างเชื้อรา และพืช (Atlas and Bartha, 1993; Holt *et al.*, 1993; Odum, 1983)

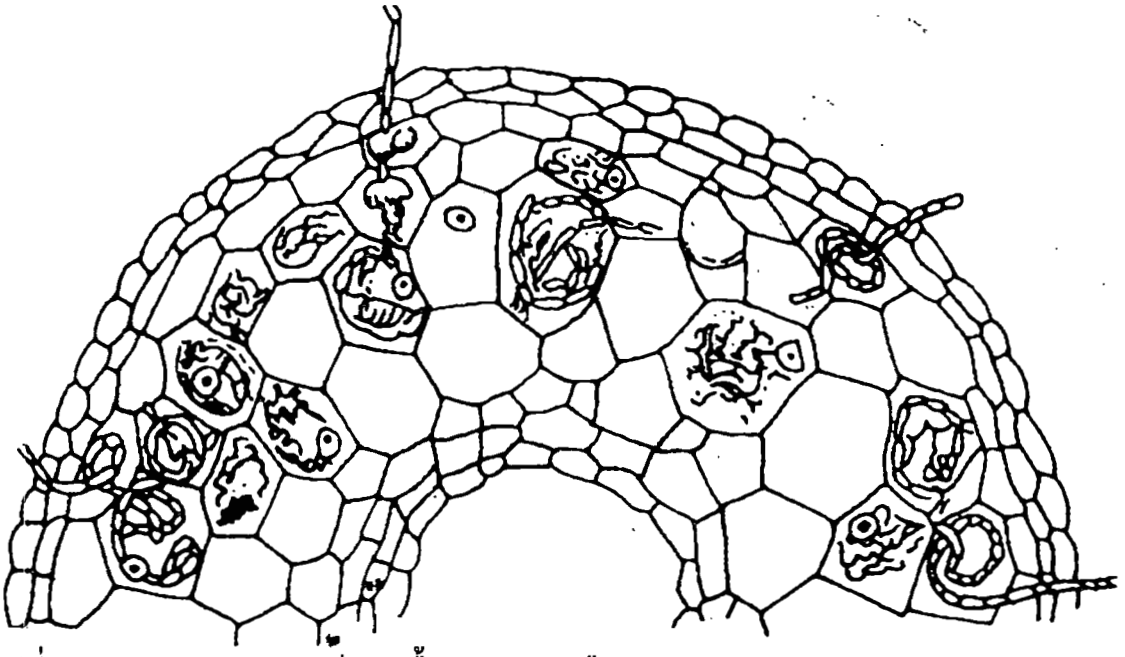
ประโยชน์ที่เชื้อราได้รับจากรากพืช	ประโยชน์ที่รากพืชได้รับจากเชื้อรา
1. ได้สารอาหารจากพืช ยกตัวอย่างเช่น น้ำตาล ชนิดต่างๆ ที่ได้มาจากการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นการหลีกเลี่ยงการแย่งสารอาหารอินทรีย์กับจุลินทรีย์ในดินชนิดอื่นๆ	1. ทำให้รากพืชมีอายุยืนยาวกว่ารากพืชที่ไม่มีเชื้อรา 2. มีอัตราการดูดซึมสารอาหารจากดินเพิ่มขึ้นเพราะเชื้อราเพิ่มพื้นที่ของการดูดซึม 3. เพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมอิออนที่เฉพาะเจาะจงจากดิน 4. เอนไซม์จากเชื้อราช่วยทำให้สารอาหารถูกย่อยให้เป็นสารที่พืชดูดซึมได้ง่ายขึ้น 5. เพิ่มความต้านทานต่อโรคพืช สารพิษและสภาวะแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความแห้งแล้ง และ pH

2. Endomycorrhizae

Endomycorrhizae (รูปที่ 7) คือความสัมพันธ์ของเชื้อราและรากพืชโดยเชื้อราแทรกตัวของ เชื้อราเข้าไปในส่วน cortex และส่วนที่มีชีวิตของรากพืชทำให้กลายเป็นกลุ่มของไมซีเลียม (mycelial cluster) ซึ่งเป็นลักษณะของ mycorrhizae ที่พบมากที่สุด (Hartley, 1965; Holt *et al.*, 1993) ลักษณะของ Endomycorrhizae มักจะเกิดขึ้นกับกลุ่มพืช 2-3 order เท่านั้น เช่น Ericales (heath, arbutns, azalea, rhododendron and american laurel) (Sanders *et al.*, 1975) เชื้อราที่มักจะเกิดความสัมพันธ์แบบ Endomycorrhizae คือกลุ่ม zygomycete (Holt *et al.*, 1993)

ข้อดีของ endomycorrhizae

1. ป้องกันการเกิดโรคจากเชื้อก่อโรคในบริเวณ root cortex โดยการรวมตัวของ hyphae ของเชื้อรากับรากพืช
2. เพิ่มปริมาณการดูดซับของไนโตรเจนให้แก่พืช
3. ทำให้มีการเพิ่มกิจกรรมของเอ็นไซม์ phosphatase

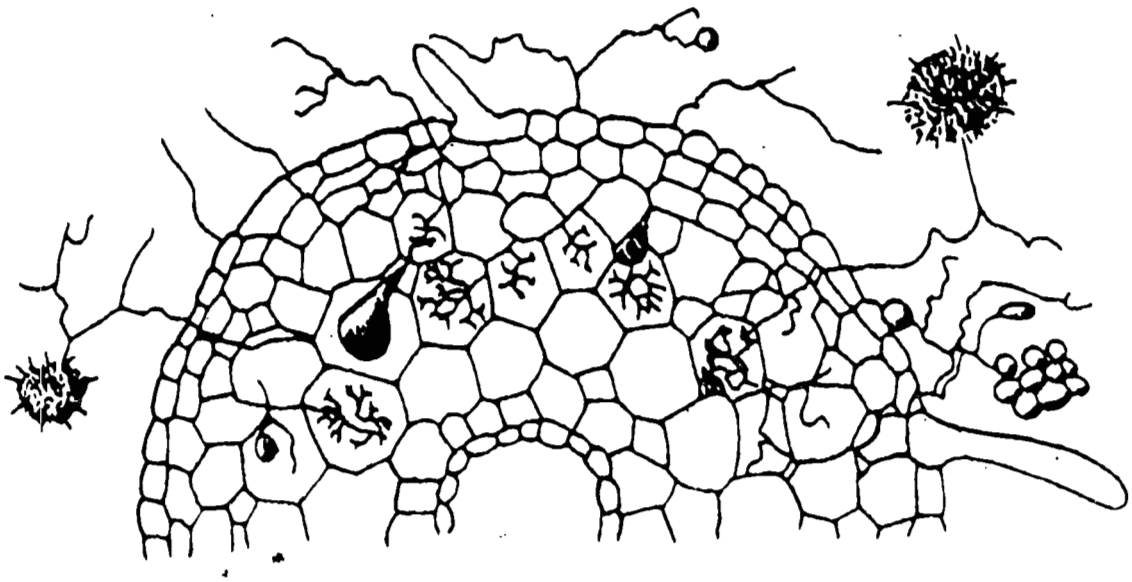


รูปที่ 7 แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อราและรากพืชแบบ endomycorrhizae (Atlas and Bartha, 1993)

โดยทั่วไปรากพืชกลุ่มกล้วยไม้มักจะมีความสัมพันธ์กับเชื้อราแบบนี้โดยเชื้อราจะม้วนตัวเป็นขดภายใน cortex และเมื่อนานเข้าเชื้อราก็จะค่อยๆ ถูกกลืนเข้าไปในส่วนของ พืชจนแยกออกมาเป็นเชื้อราแบบอิสระเหมือนเดิมไม่ได้ ดังนั้น mycorrhizae ที่เกิดขึ้นในกล้วยไม้จึงเป็นแบบที่ต้องพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกันอย่างมาก(obligate mycorrhizae) ยกตัวอย่างเชื้อราที่มักจะเกิดความสัมพันธ์กับพืชกลุ่มกล้วยไม้ เช่น *Armillaria mellea* และ *Rhizoctonia solani* โดยความสัมพันธ์นี้ช่วยให้เมล็ดกล้วยไม้งอกตัวได้ดีขึ้นแต่เชื้อราก็อาจจะเป็นแบบปรสิตในกล้วยไม้ชนิดนี้ได้เช่นกันหรือในขณะเดียวกันพืชก็อาจจะย่อยไมซีเลียมของเชื้อราได้เช่นเดียวกัน (Atlas and Bartha, 1993)

นอกจากนั้น endomycorrhizae แบบที่กล่าวถึงโดยทั่วไปแล้วยังมีชนิด endomycorrhizae แบบที่เรียกว่า endomycorrhizae แบบ vesicular- arbuscular หรือเรียกย่อ ว่าชนิด endomycorrhizae แบบ VA ลักษณะของความสัมพันธ์แบบนี้เพราะจะไม่ทำให้รากของพืชส่วนที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดด้วยตาเปล่าและเป็นความสัมพันธ์ที่พบบ่อยกว่าชนิด ectomycorrhizae และ endomycorrhizae ชนิดอื่นๆ การแยกชนิดของ VA mycorrhizae ออกจาก endomycorrhizae โดยทั่วไปคือการพบว่ามี vesicles และ arbuscules ใน root cortex ดังแสดงในรูปที่ 8 ส่วนสายใย

ของเชื้อราแบบ intercellular และ intracellular hyphae จะพบในส่วน cortex ของรากพืช สายใยของเชื้อราจะมีการเชื่อมโยงทั้งเชื้อราที่ฝังตัวอยู่ในส่วน cortex และจะเชื่อมโยงโดยตรงกับไมซีเลียมที่แผ่ลงไปในดินรอบๆรากพืช บริเวณนั้นๆ ตารางที่ 6 ได้รวบรวมชนิดของพืชที่พบว่ามักจะเกิดความสัมพันธ์กับเชื้อรา แบบ VA



รูปที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อราและรากพืชแบบ endomycorrhizae ชนิด vesicular-arbuscular (Atlas and Bartha, 1993)

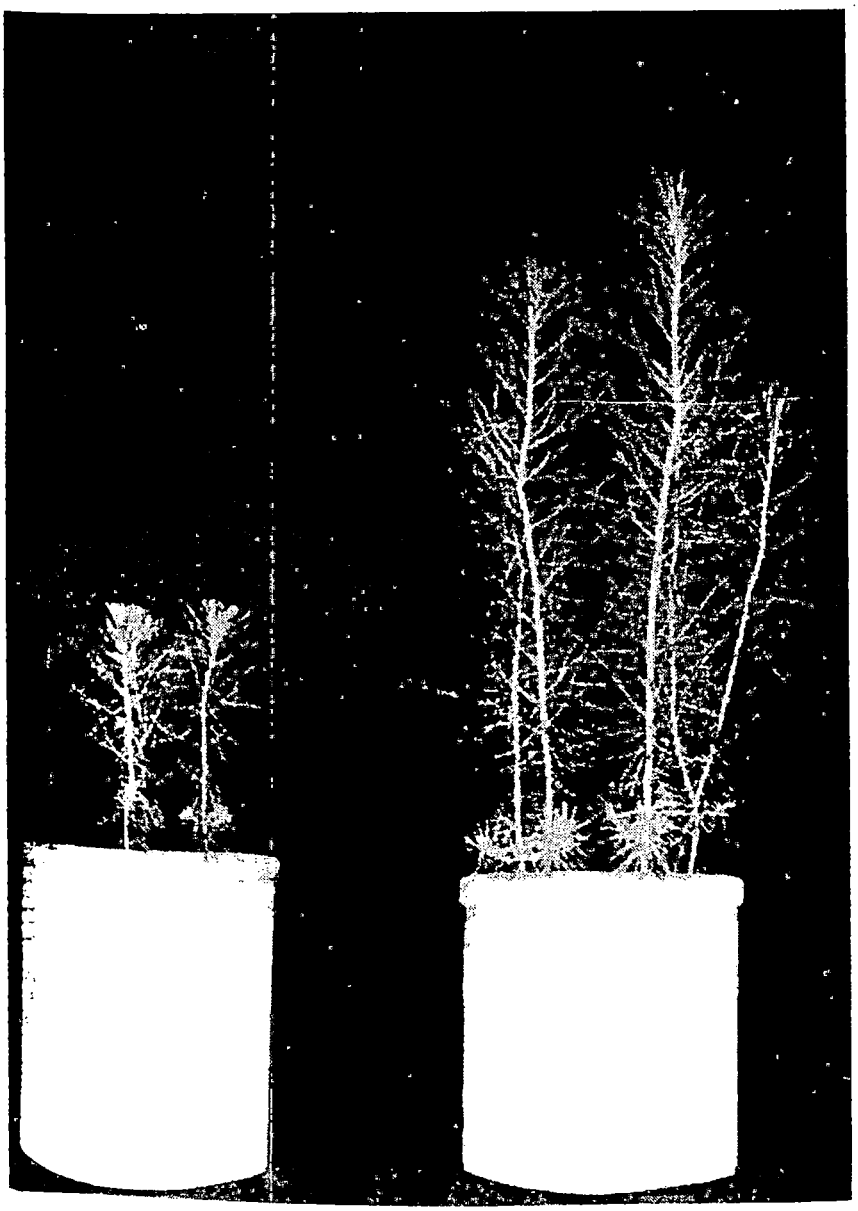
ตารางที่ 6 พืชที่มักจะพบความสัมพันธ์ endomycorrhizae แบบ VA

ข้าวสาลี	ยาสูบ	angiosperms
ข้าวโพด	ชา	gymnosperms
มันฝรั่ง	กาแฟ	pterdophytes
ถั่ว	อ้อย	bryophytes
ถั่วเหลือง	เมเปิ้ล	
มะเขือเทศ	ต้นยาง	
สตอเบอร์รี่	ส้ม	
แอปเปิ้ล		

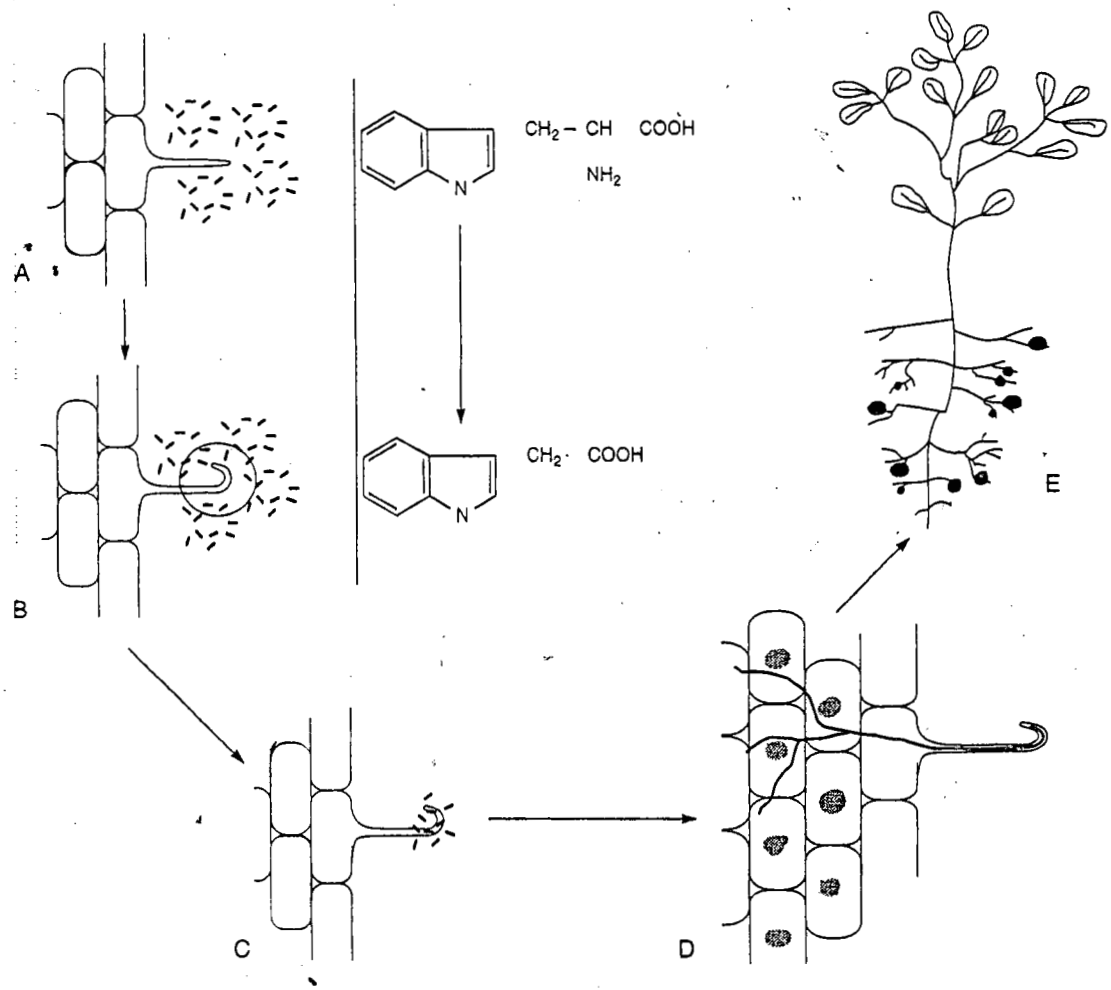
เชื้อราชนิดที่ทำให้เกิดความสัมพันธ์แบบ VA ยังไม่สามารถแยกเชื้อออกเป็นเชื้อเดี่ยวๆได้ดังนั้นในสมัยก่อนเชื้อรากลุ่ม VA นี้จะถูกเรียกรวมๆว่าอยู่ใน genus *Endogone* แต่ในปัจจุบันพบว่าเชื้อราเหล่านี้ประกอบด้วยหลายจีนัส ประโยชน์ของ mycorrhizae คือเพิ่มประสิทธิภาพของพืชในการดูดซึมฟอสเฟตและ อิออนชนิดอื่นๆ เช่น สังกะสี ซัลเฟอร์ แอมโมเนียมอิออนจากดิน (Chiariello *et al,* 1982) นอกจากนี้พืชที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราแบบ mycorrhizae จะมีประสิทธิภาพในการดูดซึม สารอาหารจากดินสูงแม้แต่จากดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำทำให้พืชสามารถเจริญบนดินที่ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโต ดังนั้นทำให้พืชเหล่านั้นสามารถเจริญอยู่ได้แม้แต่ในบริเวณที่ทุรกันดาร ความรู้เกี่ยวกับ mycorrhizae ได้รับความสนใจมานานแล้วและมีการนำเอาเทคนิคของ mycorrhizae ช่วยทำให้เพิ่มผลผลิตในพืชชนิดต่างๆ ยกตัวอย่างเช่น ข้าว นอกจากนั้นยังมีความสนใจที่จะนำเอาความ สัมพันธ์นี้มาใช้ในพื้นดินเขตอบอุ่นโดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวกับการฟื้นฟูดิน เช่น ดินบริเวณป่าไม้ที่ถูกตัดไม้จนหมดหรือดินบริเวณที่ถูกปล่อยให้รกร้างหรือเป็นดินบริเวณที่ใช้สำหรับทิ้งขยะของเสีย ยกตัวอย่างเช่นเมื่อมีการเติมเชื้อ *Pisolithus tinctorius* ที่สามารถทำให้เกิดความสัมพันธ์แบบ ectomycorrhizae ในเมล็ดสนพบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวช่วยให้พืชกลุ่มนี้สามารถเจริญในดินบริเวณที่ราบสูงและดินบริเวณที่ไม่เหมาะสมบริเวณ อื่นๆได้ (Odum, 1983; Atlas and Bartha, 1993) รวมทั้งรูปที่ 9 แสดงให้เห็นว่า ต้นสนชนิด monterey (*Pinus radiate)* ที่มีการเกิด mycorrhizae เปรียบเทียบกับการที่ไม่มี mycorrhizae พบว่าต้นที่มี mycorrhizae (ด้านขวา) มีทั้งความสูงและขนาดสูงกว่าต้นที่ไม่มี mycorrhizae (ด้านซ้าย) อย่างเห็นได้ชัด

Symbiotic nitrogen fixation ใน nodules

Symbiotic nitrogen fixation (SNF) เป็นกระบวนการอีกขบวนการที่สำคัญมากที่สุด อย่างหนึ่งในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินรวมทั้งการเพิ่มผลผลิตเพราะเป็นการเพิ่มปริมาณสารไนโตรเจนให้กับดินบริเวณนั้นๆ ดังได้กล่าวการตรึงไนโตรเจนในบทที่ 5 มาแล้ว การเกิด SNF ใน nodules เกิดขึ้นได้ดังแสดง ในรูปที่ 10



รูปที่ 9 แสดงถึงการเปรียบเทียบขนาดและความสูงของต้นสนชนิด*Pinus radiate* ที่ไม่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราแบบmycorrhizae (ด้านซ้าย) และที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อราแบบ mycorrhizae (ด้านขวา) (Odum, 1983)



รูปที่ 10 กลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง *Rhizobia* และพืชตระกูลถั่วทำให้เกิดการสร้างปมรากถั่ว (Atlas and Bartha, 1993)

A: รากขนของพืชจะปล่อยสารเคมีโดยเฉพาะอย่างยิ่ง tryptophan ออกมาดึงดูดเชื้อ rhizobia ให้ไปอาศัยอยู่บริเวณรากขนและแบคทีเรียกลุ่มนี้เกาะกับรากขนตรงบริเวณผนังเซลล์ของรากขนโดยใช้สาร lectins

B: ต่อมาเชื้อ rhizobia จะย่อยสลายสาร tryptophan ไปเป็นสาร indolacetic acid (IAA) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้รากขนเกิดการโค้งงอรวมทั้งได้รับความช่วยเหลือจากเอ็นไซม์ polygalacturonase ที่ย่อยสลายและทำให้ผนังเซลล์อ่อนตัวจนเกิดการโค้งงอได้ง่ายขึ้น

C: Rhizobia สามารถเข้าไปในเซลล์ของรากขน แต่นิวเคลียสของรากขนจะเป็นตัวนำการพัฒนาการเจริญเติบโตของเชื้อ rhizobia

D: การติดเชื้อ rhizobia จะเกิดการงอกของท่อที่เรียกว่า infection thread (ดังแสดงในรูป D) โดยท่อนี้ประกอบด้วยเซลล์เมมเบรนที่หุ้มด้วยเซลลูโลส ท่อนี้จะเจริญใน root cortex และเซลล์ชนิด tetraploid ที่เซลล์เหล่านี้เพิ่มจำนวนอย่างมากและทำให้เกิดรูปร่างเป็น nodule tissue หลังจากนั้น rhizobia จะหลุดออกจาก infection thread แต่จะมีรูปร่างเปลี่ยนไป จากรูปร่างเป็นแท่ง เป็นรูปร่าง bacteroids และเริ่มขบวนการ nitrogen-fixation

E: แสดงถึงพืชตระกูลถั่วที่มีรากเป็นปมที่เรียกว่า Nodulated leguminous plant

ตารางที่ 7 ลักษณะของ genus *Rhizobium, Bradyrhizobium* และ *Azorhizobium*

ลักษณะ	*Rhizobium*	*Bradyrhizobium*	*Azorhizobium*
แฟลกเจลล่าใน - อาหารเหลว - อาหารแข็ง	ไม่เห็น Peritrichous	ไม่เห็น one polar	1 ด้านของเซลล์ Peritrichous
อัตราการเจริญในอาหาร	เร็ว	ช้า	เร็ว
บริเวณที่พบ nod และ *nif* genes	ในพลาสมิด	ในโครโมโซม	ในโครโมโซม
ความจำเพาะเจาะจงต่อ host	สูง	น้อย	จำเพาะต่อเชื้อ 1 ชนิด
ความสัมพันธ์ของเชื้อราต่อพืช ในการเกษตรกรรม	พืชตระกูลถั่วส่วนใหญ่	ถั่วเหลือง	-

เอกสารอ้างอิง

Atlas RM and Bartha R (1998) Microbial ecology: Fundamentals and applications. 4th, Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., CA.

Bowen GD (1980) Misconceptions, concepts and aproaches in hizosphere biology. *In* Contemporary Microbial Ecology. Ellwood DC, Hedger JN, Lathan MJ, Lynch JM and Slater JH (Eds.) Academic Press, London.

Brock DB, Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1994) Biology of Microorganisms. 7th ed. Prentice-Hall,Inc., New Jersey.

Drew MC and Lynch JM (1980) Soil anaerobiosis, microorganisms and root function. Annual Review of Phytopathology 18:37-67.

Duell RW and Peacock GR (1985) Rhizosheaths on mesophytic grasses. Crop Science 25:880-883.

Gibbs and Freame (1965) Anaerobic bacteria and their activities in soil. *In* Soil microbiology. Walker N (Ed.) John Wiley & Sons, New York. P.5.

Hartley JL (1965) Mycorrhiza. *In* Ecology of soil-borne plant pathogens. Baker KF and Snyder WC (Eds.). University of California Press, Berkeley, p. 218-229.

Lamm RB and Neyra CA (1981) Characterization and cyst production of azospirilla isolated from selected grasses growing in New Jersey and New York. Canadian Journal of Microbiology 27:1320-1325.

Marks GC and Kozlowski TT (1973) Ectomycorrhizae-Their ecology and physiology. Academic Press, NY.

Odum EP (1983) Reservoir and transfer rates. *In* Basic ecology: Saunders College Publishing, Philadelphia.

Paul EA and Clark FE (1996) Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, San Diego.

Sanders FE, Mosse B and Tinker PB (1975) Endomycorrhizas. Academic Press, London.

Skinner FA (1963) Anaerobic bacteria and their activities in soil. *In* Soil microbiology. Walker N (Ed.) John Wiley & Sons, New York. P.7, 10.

Smith RL, Bouton JH, Schank SC, Quesenverry KH, Tyler ME, Milan JR, Gaskins MH and Little RC (1976) Nitrogen fixation in grassess inoculated with *Spirillum lipoferum*. Science 193: 1003-1005.

Wullstein LH, Bruening ML and Bollen WB (1979) Nitrogen fixation associated with sand grain root sheaths (rhizosheaths) of certain xeric grasses. Physiologia Plantarum 46:1-4.

บทที่ 11
มลพิษและการเปลี่ยนแปลงสภาพของยาฆ่าศัตรูพืชในดิน
(Pollution and Fate of pesticides in soil)

หัวข้อ

- บทนำ
- ยาฆ่าศัตรูพืช (pesticides)
- การแบ่งตามคุณสมบัติทางเคมี
- การแบ่งตามชนิดของกลุ่มเป้าหมาย
- ผลกระทบของยาฆ่าศัตรูพืชต่อมนุษย์และสัตว์
- ผลกระทบของยาฆ่าศัตรูพืชต่อการเกิดมะเร็งในเต้านม
- Fate ของยาฆ่าศัตรูพืชในดิน

ในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีหลายชนิดถ้าไม่มีการจัดการที่ถูกต้องกับสารเคมีเหล่านั้น ทำให้สารเคมีเหล่านี้เกิดสะสมในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในดินและแหล่งน้ำ สิ่งที่ปนเปื้อนในดินและสิ่งแวดล้อมอื่นๆนั้นเราสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆคือ สารอินทรีย์ (Organic matter) และสารอนินทรีย์ (Inorganic matter)

1. สารอินทรีย์ (Organic matter)

สารอินทรีย์มีประมาณ 4 ล้านชนิดจากการเรียกชื่อตามระบบ International Union of Pure and Applied Chemistry หรือ IUPAC และในแต่ละปีจะมีการผลิตสารอินทรีย์ชนิดใหม่อีกประมาณ 1,000 ชนิด อย่างไรก็ตามยังน่าดีใจที่มีแค่บางส่วนของสารเคมี

เหล่านี้ที่ได้รับการยืนยันว่าเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (Carcinogens) หรือเป็นสารมีพิษ (Toxic substances) สารอินทรีย์เป็นสารที่ผลิตมาจากตามธรรมชาติ (Natural products) เช่น สารปิโตรเลียม (Petroleum) ถ่านหิน (Coal) และซากพืช (Plant residues) และสารที่ผลิต โดยมนุษย์ (Xenobiotics) ซึ่งผลิตมาจากสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น ยาฆ่าศัตรูพืช (pesticides) ซึ่งจะพูดรายละเอียดต่อไปเนื่องจากเป็นสารที่พบว่ามีการปนเปื้อนดิน อย่างมาก (Walker *et al.*, 2001)

1.1 ยาฆ่าศัตรูพืช (Pesticides)

ยาฆ่าศัตรูพืช (Pesticides) เป็นสารที่มนุษย์สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการกำจัด ศัตรูพืชชนิดต่างๆ มีมากกว่า 1,000 ชนิดและมีสูตรเคมีมากกว่า 2,000 สูตร (Brock, 1994) มีการจำแนกยาฆ่าศัตรูพืชได้หลายแบบคือ

1.1.1 การแบ่งตามคุณสมบัติทางเคมี

ได้แก่ 4 ประเภทใหญ่ๆดังแสดงในตารางที่ 1 คือ

ตารางที่ 1 ชนิดของยาฆ่าศัตรูพืชที่แบ่งตามคุณสมบัติทางเคมี

ชนิดของยาฆ่าศัตรูพืช	ปีที่เริ่มผลิต	ตัวอย่างของยาฆ่าศัตรูพืช
สารประกอบอินทรีย์คลอรีน (Organochlorines)	1940	DDT [1,1,1- trichloro –2,2-bis-(p-chlorophenyl) ethane], Aldrin, Chlordane, Heptachlor, Lindane (Hexachloro-cyclohexane)
สารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟต (Organophosphate)	1944	Diazinon, Malathion, Parathion, Methyl parathion
สารประกอบคาร์บาเมต (Carbamate)	1956	Aldicarb, Carofuran
สารไพรีทรอยด์ (Pyrethroides)	1949	Allethrin, Dimethrin

1.1.1.1 สารประกอบอินทรีย์คลอรีน (Organochlorines)

สารประกอบอินทรีย์คลอรีนประกอบด้วยสารเคมีหลากชนิดรวมกันและมีจำนวนสูงกว่ายาฆ่าแมลงกลุ่มอื่นโดยแต่ละชนิดมีโครงสร้างคุณสมบัติและการใช้งานที่แตกต่างกันไป (Walker *et al.*, 2001)

คุณสมบัติทั่ว ๆ ไป ของ สารประกอบอินทรีย์คลอรีน คือ

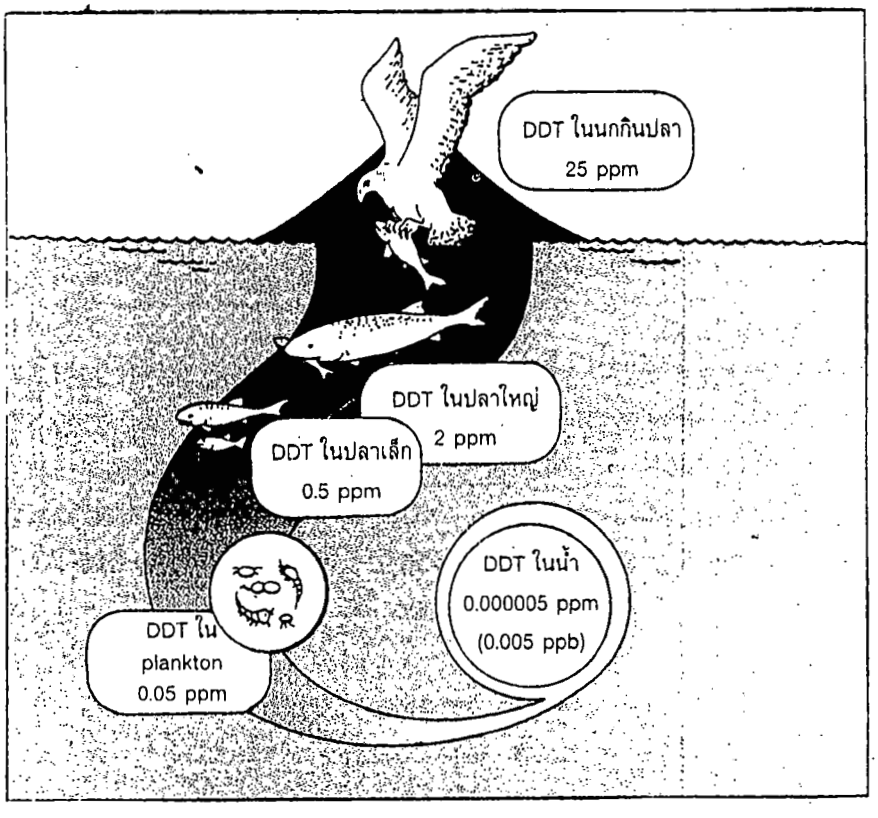
- เป็นสารที่คงตัวเพราะมีความดันไอต่ำ (Stable solids of limited vapour pressure)
- มีความสามารถละลายน้ำต่ำมาก (very low water solubility)
- มีความสามารถละลายไขมันได้ดี (lipophilicity)

สารกลุ่มนี้ประกอบด้วยอะตอมของคลอรีนยึดติดกับสารประกอบอินทรีย์ สารฆ่าศัตรูพืชกลุ่มนี้ได้รับความนิยมสูงมากในอดีตเนื่องจากมีคุณสมบัติ ที่ทนทานต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ แต่ในปัจจุบันมีการค้นพบว่าเนื่องจากคุณสมบัติ ดังกล่าวทำให้เกิดการสะสมสารเหล่านี้ในสิ่งแวดล้อมได้ ยกตัวอย่างเช่น สารดีดีที (DDT) จะมีการสะสมนานถึง 4 ปี (นวลศิริ, 2533) หรือ 40 ปี (Brock, 1994) รวมทั้งมีการสะสม ในเนื้อเยื่อไขมัน (Bioaccumulation) และสามารถเพิ่มปริมาณในเนื้อเยื่อ จากการกินอาหารผ่านโซ่อาหารในระบบนิเวศ (Biomagnification) รูปที่ 1 (ศุภมาศ, 2540) อย่างไรก็ตามความทนทานของ สารประกอบอินทรีย์คลอรีน จะเปลี่ยนแปลงตามสภาวะสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และ pH

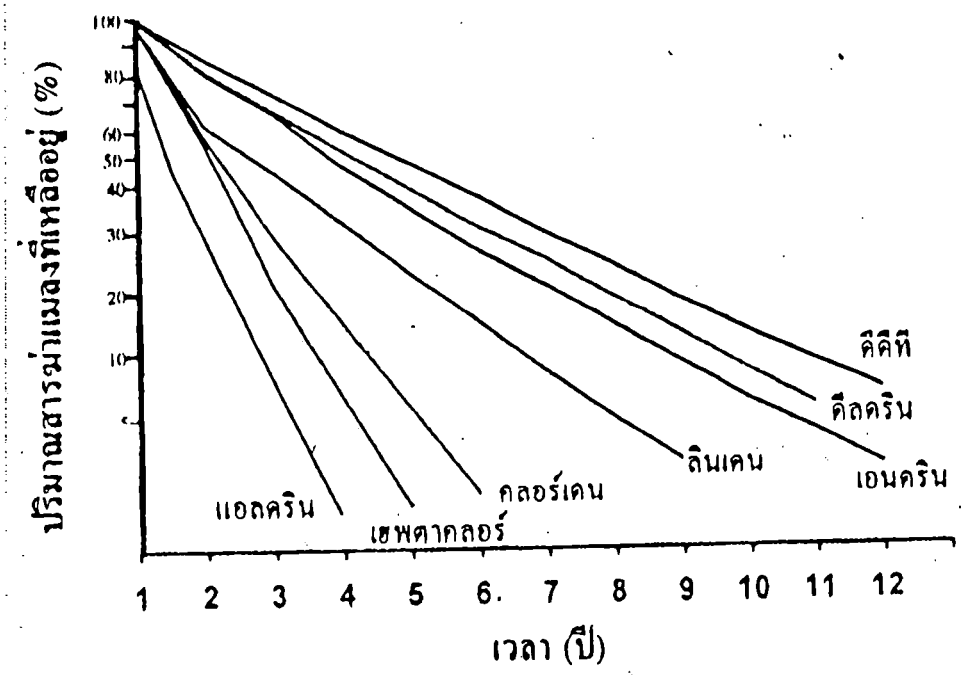
นอกจากนั้นชนิดของดินก็มีผลต่อการสะสมของยาฆ่าศัตรูพืชได้แตกต่าง ยกตัวอย่างเช่น ยาฆ่าแมลงมีความคงทนในดินที่มีสารอินทรีย์สูงกว่าในดินทั่วไปและพบว่าดินที่นิยมใช้ในการทำสวนผักมักจะพบว่ามียาฆ่าแมลงตกค้างอยู่ในดินบริเวณนั้นเสมอ เมื่อเปรียบเทียบกับยาฆ่าศัตรูพืชกลุ่มอื่นจะมีคุณสมบัติที่ย่อยสลายได้ง่ายกว่ากลุ่ม สารประกอบอินทรีย์คลอรีน จึงพบว่ามีการสะสมในดินแทบทุกครั้งเมื่อนำมาใช้ในการเกษตร ยกตัวอย่างเช่นยาฆ่าแมลง ชนิดท็อกซาฟีนมีความคงทนในดินสูงมากเช่นเดียวกับ กลุ่มดีดีที ดีลดริน และเอนดริน โดยพบว่าท็อกซาฟีนมีครึ่งชีวิต (half life) ประมาณ 10 ปี และพบว่ามีการสลายตัวในธรรมชาติประมาณ 10-30 % ต่อปีรวมทั้ง

ตรวจพบได้หลังจาก มีการใช้แล้ว 1-3 ปี และในบางกรณียังสามารถตรวจพบที่อกซาฟีนได้ภายหลังการใช้ถึง 20 ปี รูปที่ 2 ได้แสดงถึงการสลายตัวของยาฆ่าศัตรูพืชในกลุ่มคลอรีนอินทรีย์จากการ ศึกษา (Edwards, 1976) พบว่าความคงทนของสารกลุ่มนี้ได้เรียงจากมากมาหาน้อยคือ ดีดีที > ดีลดริน > เอนดริน > ลินเดน > เฮพตาคลอร์ > แอลดริน

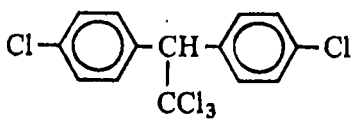
เนื่องจากในสมัยก่อนมีความนิยมใช้สารดีดีทีกันโดยทั่วไปรวมทั้งถูกนำมาใช้ในสวนผลไม้ สวนผัก ไร่ยาสูบ และพืชเศรษฐกิจอื่น จนกระทั่งมีการค้นพบว่าสารชนิดนี้มีความคงทนอย่างสูงในธรรมชาติจึงได้มีการเลิกใช้ทั้งในประเทศและต่างประเทศ แต่อย่างไรก็ตามสารดีดีทียังพบได้ในดินในปัจจุบันเพราะเป็นสารกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ที่มีความคงทนในดินมากกว่าสารอื่นในกลุ่มเดียวกัน นอกจากพบสารดีดีทีแล้วยังพบอนุพันธ์ ของสารดีดีที เช่น ดีดีดี (DDD) และดีดีอี (DDE) (รูปที่ 3) จากการศึกษาถึงเวลาที่ใช้ในการสลายตัวของสารกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ในดินดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า



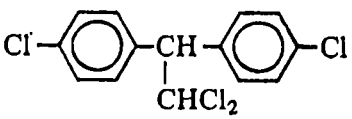
รูปที่ 1 ปริมาณทบทวีของสารฆ่าศัตรูพืชที่เกี่ยวร้อยในโซ่อาหารเมื่อเกิดการปนเปื้อน (ศุภมาศ, 2540)



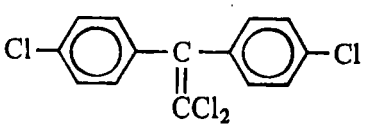
รูปที่ 2 การสลายตัวของสารในกลุ่มคลอรีนอินทรีย์ในดิน (Edwards, 1976)



DDT



DDD



DDE

รูปที่ 3 สาร metabolite ที่เกิดจากขบวนการเมเทบอลิซึมของดีดีที (Walker *et al.*, 2001)

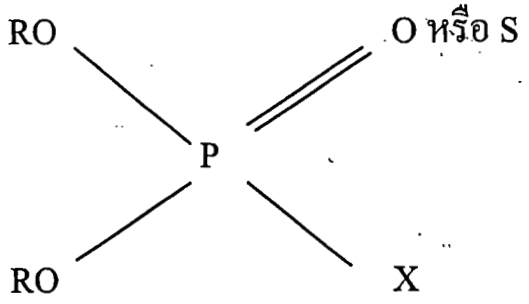
ดีดีทีและดีลดรินมีความคงทนสูงมาก รองลงมาได้แก่ ลินเดน เฮพตาคลอร์ และแอลดริน ตามลำดับ ถึงแม้ว่าแอลดรินมีความคงทนต่ำสุดจากการทดลองในครั้งนี้ก็ยังคงฤทธิ์ในดินได้นานถึง 1-6 ปี ปัจจัยส่วนหนึ่งที่ทำให้แอลดรินมีความคงทนในดินต่ำเพราะเป็นสารที่มีความดันไอสูง (ศุภมาศ, 2540)

ตารางที่ 2 แสดงถึงตัวอย่างสารประกอบอินทรีย์คลอรีนที่พบในดินจากแหล่งเกษตรกรรมทั่วประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2530-2531 (นวลศรี, 2533 ; ศุภมาศ, 2540)

ตัวอย่างสารประกอบอินทรีย์คลอรีน	% ของตัวอย่างที่พบในดิน	ปริมาณที่พบในดิน (มก./กก.)	เวลาที่ใช้ในการสลายตัวของ pesticide 75-100 % ในดิน (ปี)
บีเอชซี (BHC)	10	< 0.001	-
ลินเดน (Lindane)	22	< 0.001 – 0.017	3-10
ดีดีที (DDT)	10	< 0.001 – 0.795	4-40
เฮพตาคลอร์ (Heptachlor)	84	< 0.001 – 0.119	-
แอลดริน (Aldrin)	84	< 0.001 – 0.119	1-6
ดีลดริน (Dieldrin)	97	< 0.001 – 0.226	3-10

1.1.1.2 สารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟต (Organophosphate)

สารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตเป็นสารที่ประกอบด้วยอนุมูลฟอสเฟตที่ยึดติดกับสารประกอบอินทรีย์ ดังแสดงในรูปที่ 4 โดยสารกลุ่มนี้เป็นสารที่ถูกนำมาใช้แทนที่สารประกอบอินทรีย์คลอรีนเพราะเป็นสารที่มีการย่อยสลายทางชีวภาพได้รวดเร็วกว่ากลุ่มแรกแต่อย่างไรก็ตามสารกลุ่มนี้มีความเป็นพิษสูงทั้งต่อกลุ่มเป้าหมาย (target organisms) และกลุ่มที่ไม่ใช่เป้าหมาย (non-target organisms) ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้แสดงได้ในตารางที่ 3



รูปที่ 4 โครงสร้างหลักของสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟต

โดย R = Alkyl group

X = Leaving group

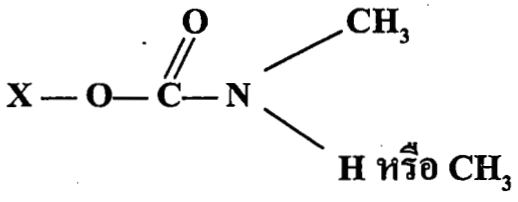
ตารางที่ 3 แสดงถึงตัวอย่างสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตพร้อมสูตรโครงสร้างที่พบในดินจากแหล่งเกษตรกรรมทั่วประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2530-2531 (ดัดแปลงมาจากนวลศรี, 2533)

ตัวอย่างสารประกอบอินทรียฟอสเฟต	% ของตัวอย่างที่พบในดิน	ปริมาณที่พบในดิน (มก./กก.)
ไดเมโทเอต (Dimethoate)	10	< 0.001 – 0.051
มาลาไทออน (Malathion)	10	< 0.001 – 0.009
พาราไทออน (Parathion)	34	< 0.001 – 0.018
ไดอะซินอน (Diazinon)	34	< 0.001 – 0.013
เมททิลพาราไทออน (Methyl parathion)	34	< 0.001 – 0.475

1.1.1.3 สารประกอบคาร์บาเมต (Carbamates)

สารประกอบคาร์บาเมตเป็นสารกลุ่มที่ผลิตจากกรดคาร์บามิก (Carbamic acid) และมีโครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบกลุ่มคาร์บาเมต (รูปที่ 5) ตัวอย่างของสาร กลุ่มนี้ คือ Aldicarb, oxamyl, arprocarb, carbaryl และ carbofuran (คาร์โบฟูราน) สารฆ่าแมลง

ใน กลุ่มคาร์บาเมตมีความคงทนในดินเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่ม ฟอสเฟตอินทรีย์ เล็กน้อย สารใน กลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะมีความคงทนเป็นระยะเวลาตั้งแต่เพียงไม่กี่วัน จนถึงหลายสัปดาห์ การ สลายตัวของกลุ่มโครงสร้างหลักอาจใช้เวลา 1-4 เดือน ยกเว้นคาร์โบฟูรานที่อาจสลายตัวได้ ตั้งแต่สองสัปดาห์จนถึงกว่าหนึ่งปี (ศุภมาศ, 2540)



รูปที่ 5 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบคาร์บาเมต
โดย X = Organic group ทั้ง aromatic หรือ heterocyclic

สารกลุ่มนี้ถึงแม้จะมีพิษต่อนกและผึ้งแต่มีความสามารถที่จะย่อยสลายทางชีวภาพได้เร็วและไม่สะสมในระบบนิเวศน์รวมทั้งมีความเป็นพิษต่อปลาน้อย จึงทำให้สารชนิด นี้น่าจะปลอดภัยต่อการใช้ในการเกษตรกรรมรวมทั้งปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมได้มากกว่าสารกลุ่มอินทรีย์คลอรีนและสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟต

1.1.1.4 สารไพรีทรอยด์ (Pyrethroid)

สารไพรีทรอยด์เป็นสารประกอบที่สังเคราะห์จากสารประกอบชนิดไพเรททรินเอสเตอร์ (Pyrethrin ester) ซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติที่สกัดจากดอกเก๊กฮวย (*Chrysanthemum*) ยกตัวอย่างได้แก่ แอลเลทรีน (Allethrin), ไดเมททริน (Dimethrin) อย่างไรก็ตามสารกลุ่มนี้มีพิษอย่างยิ่งต่อปลา

1.1.2 การแบ่งตามชนิดของกลุ่มเป้าหมาย

1.1.2.1 ยาฆ่าแมลง (Insecticides)

เป็นสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันและกำจัดแมลงที่เป็นศัตรูต่อพืช ตัวอย่างของยาฆ่าแมลงแสดงใน ตารางที่ 4, 5 และ 6

1.1.2.2 ยากำจัดวัชพืช (Herbicides)

ตัวอย่างของยากำจัดวัชพืชดังแสดงใน ตารางที่ 7, 8, 9, 10, 11, 12 และ 13

1.1.2.3 ยากำจัดเชื้อรา (Fungicides)

เป็นสารเคมีที่กำจัดเชื้อราที่มักทำให้ผัก ผลไม้และเมล็ดพันธุ์พืชเน่าเสีย ตัวอย่างของยากำจัดเชื้อราดังแสดงใน ตารางที่ 14

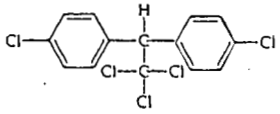
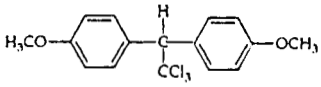
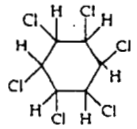
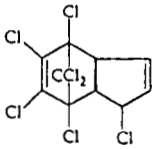
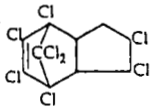
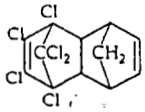
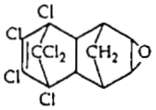
การป้องกันพิษภัยจากสารเคมีในวงกว้างสามารถทำได้โดยการกำหนดมาตรการของภาครัฐได้มีพระราชบัญญัติวัตถุมีพิษ พ.ศ. 2510 ควบคุมการขึ้นทะเบียนเพื่อจำหน่ายสารกำจัดศัตรูพืชซึ่งมีกองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตรเป็นผู้พิจารณจดทะเบียนและอนุญาตให้นำเข้าหรือจำหน่ายเหตุผลที่ใช้พิจารณาคือเป็นวัตถุมีพิษที่เมื่อนำมาใช้แล้ว ทั้งผู้ใช้ผู้บริโภคและผู้เกี่ยวข้องอื่นๆมีความเสี่ยงในเรื่องพิษภัยมาก เช่น อาจก่อให้เกิดมะเร็งหรือความผิดปรกติของทารกและเป็นสารพิษที่ตกค้างนานมากและในตารางที่ 15 แสดงตัวอย่างสารพิษที่ได้มีการห้ามนำเข้าหรือจำหน่าย ในประเทศไทยด้วยเหตุผลดังกล่าว (ศุภมาศ, 2540; กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม, 2532)

1.1.2.4 สารรมควัน (Soil fumigant)

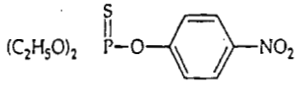
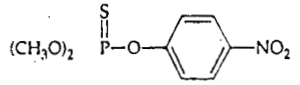
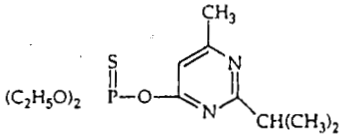
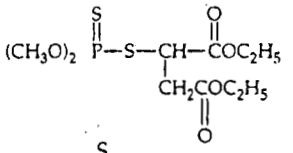
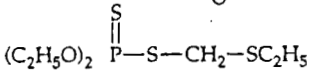
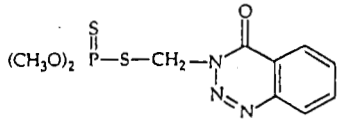
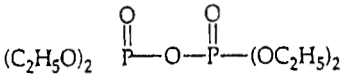
สารรมควัน (ตารางที่ 16) แทบทั้งหมดอยู่ในสถานะแก๊สในสภาพอุณหภูมิปรกติ หรืออยู่ในรูปของเหลวและมีสภาพความดันไอสูงพอที่จะแพร่กระจายไป

ตามช่องในดินชั้นบน ตัวอย่างเช่น เมทิลโบรไมด์อยู่ในสภาพแก๊สที่ต้องใช้ภายใต้การคลุมดินเสมอ เช่นเดียว กับคลอโรพิคริน สำหรับฟอร์มาลดีไฮด์ใช้สำหรับฆ่าเชื้อโรคเน่าของกล้าที่ อาศัยอยู่ บริเวณดินชั้นบน คาร์บอนไดซัลไฟด์ใช้ฆ่าเชื้อราในดิน ส่วนสารที่ใช้ ควบคุม ไส้เดือน ฝอยก็มีเอทิลีนไดโบรไมด์ สารผสมไดคลอโรโพรพีน และไดโบรโมคลอโร- โพรพีน เป็นต้น (ศุภมาศ, 2540)

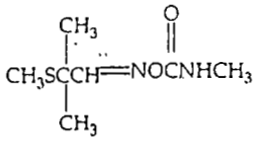
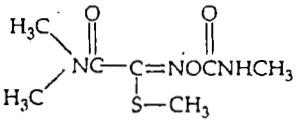
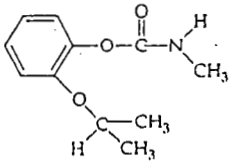
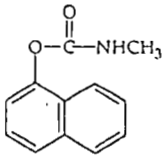
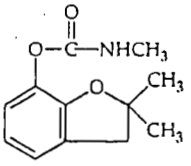
ตารางที่ 4 สารฆ่าแมลงบางชนิดในกลุ่มอินทรีย์เคมี (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
1. DDT analogues	
1) DDT	
2) Methoxychlor	
2. Benzene hexachloride isomers	
1) Lindane or BHC	
3. Cyclodiene compounds	
1) Heptachlor	
2) Chlordane	
3) Aldrin	
4) Dieldrin	

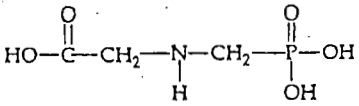
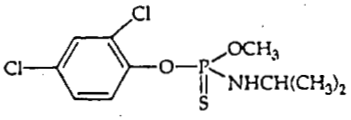
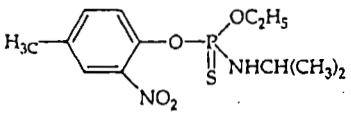
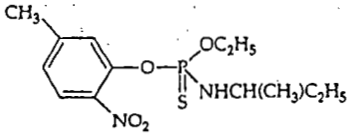
ตารางที่ 5 สารฆ่าแมลงบางชนิดในกลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์ (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
Parathion	
Methyl parathion	
Diazinon	
Malathion	
Phorate	
Methyl azinophos	
TEPP	
DDVP	

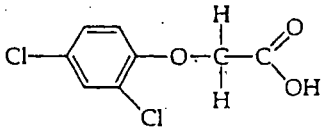
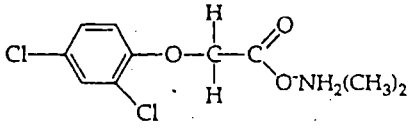
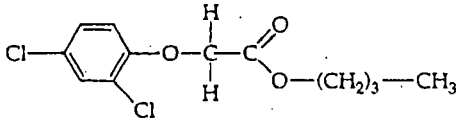
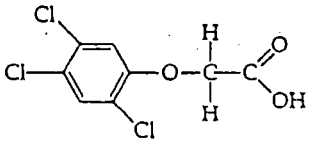
ตารางที่ 6 สารฆ่าแมลงบางชนิดในกลุ่มคาร์บาเมต (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อการค้า	สูตรโครงสร้าง
1. Oxime carbamates	
1) Aldicarb (Temik)	
2) Oxamyl (Vydate)	
2. *N*-methylcarbamates	
1) Arprocarb (Baygon)	
2) Carbaryl (Sevin)	
3) Carbofuran (Furadan)	

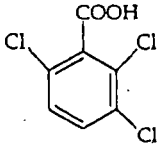
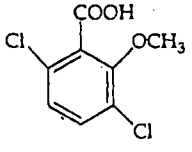
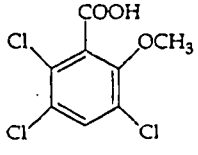
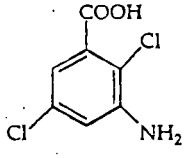
ตารางที่ 7 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มฟอสเฟตอินทรีย์ (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
Glyphosate	
DMPA	
Amiprophos	
Metacrephos	

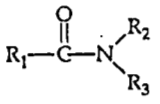
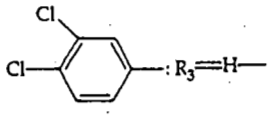
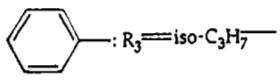
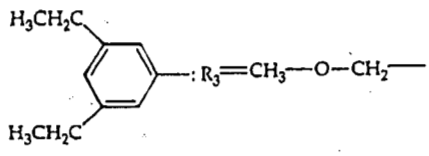
ตารางที่ 8 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มฟีน็อกซี (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
2,4-D	
2,4-D-dimethylamine salt	
2,4-D-*n*-butyl ester	
2,4,5-T	

ตารางที่ 9 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มเบนโซอิก (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
2,3,6-TBA	
Dicamba	
Tricamba	
Chloramben	

ตารางที่ 10 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มเอมายด์ (ศุภมาศ, 2540)

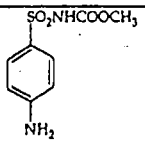
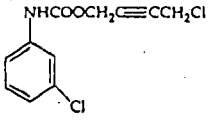
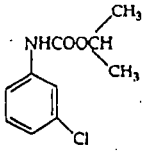
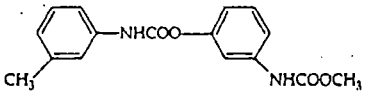
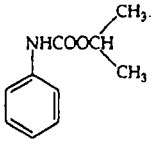
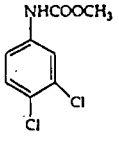
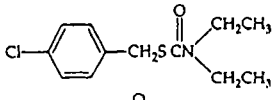
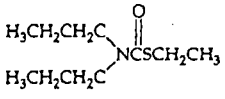
ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
โครงสร้างหลัก	
Propanil	R_1=C_2H_5—: R_2=  : R_3=H—
Propachlor	R_1=Cl–CH_2—: R_2=  : R_3=iso-C_3H_7—
Alachlor	R_1=Cl–CH_2—: R_2=  : R_3=CH_3—O–CH_2—

หมายเหตุ R_1 คือ อิมิโนไฮโดรเจน (imino hydrogen) เช่น ไฮโดรเจนยึดกับไนโตรเจน

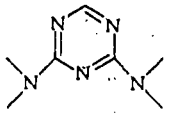
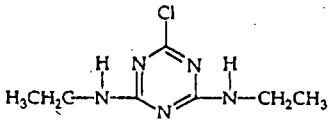
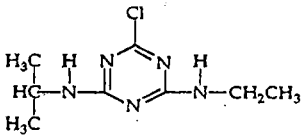
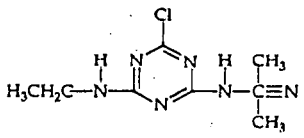
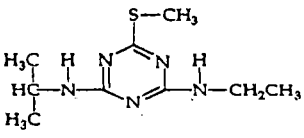
R_2 คือ กลุ่มวงเฟ็นนิล (phenyl ring)

R_3 คือ กลุ่มแอลคิล หรือรวมเอากลุ่มแอลคิลและแอริล (aryl)

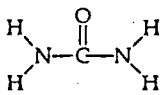
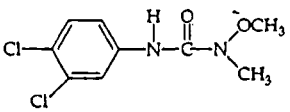
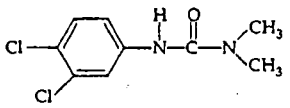
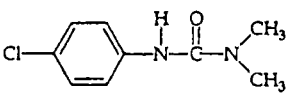
ตารางที่ 11 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มคาร์บาเนตและไทโอคาร์บาเมต (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
1. Methylcarbamates	
1) Asulum	
2. Phenylcarbamates	
1) Barban	
2) Chlorpropham	
3) Phenmedipham	
4) Propham	
5) Swep	
3. Thiolcarbamates	
1) Benthiocarb	
2) EPTC	

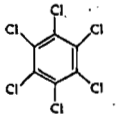
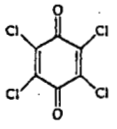
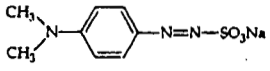
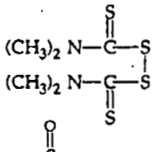
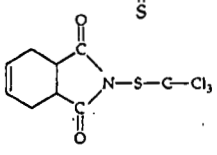
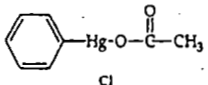
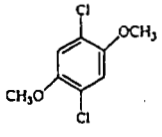
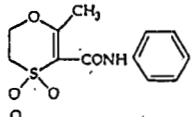
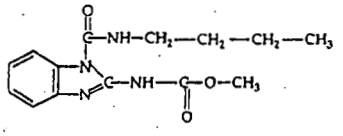
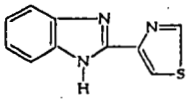
ตารางที่ 12 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มซิมเมทริคอลไตรอะซีน (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
โครงสร้างหลัก	
Simazine	
Atrazine	
Cyanazine	
Ametryn	

ตารางที่ 13 สารฆ่าวัชพืชบางชนิดในกลุ่มยูเรีย (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
โครงสร้างหลัก (urea)	
Linuron	
Diuron	
Monuron	

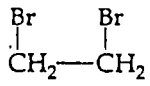
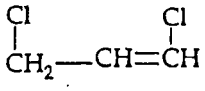
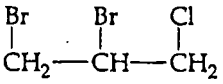
ตารางที่ 14 สารฆ่าราบางชนิดในกลุ่มต่าง ๆ (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
Hexachlorobenzene	
Chloranil	
Dexon	
Thiram	
Captan	
Methyl mercury dicyandiamide	$CH_3HgNHC(=NH)NHCN$
Phenylmercuric acetate	
Chloroneb	
Oxycarboxin	
Benomyl	
Thiabendazole	

ตารางที่ 15 ตัวอย่างวัตถุมีพิษที่ได้มีการห้ามนำเข้าหรือจำหน่าย (กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม, 2532)

ชื่อวัตถุมีพิษ	เดือนปีที่ห้าม	เหตุผล
บีเอชซี	มีนาคม 2523	- มีฤทธิ์ตกค้างนานมาก - เป็นสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็ง
เอนดริน	กรกฎาคม 2524	- มีฤทธิ์ตกค้างนาน เสี่ยงภัยในการใช้และการบริโภค - มีฤทธิ์ตกค้างอยู่ในเมล็ดพืชที่ส่งไปจำหน่ายต่างประเทศ ทำให้ถูกห้ามนำเข้าผลิตผลเกษตร - สิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่ศัตรูที่ต้องการกำจัด มีโอกาสได้รับอันตรายมาก
ดีดีที	มีนาคม 2526	- เป็นสารที่มีแนวโน้มทำให้สัตว์ทดลองเกิดเป็นมะเร็งได้ - มีฤทธิ์ตกค้างนาน
ท็อกซาฟีน	มีนาคม 2526	- เป็นสารที่มีแนวโน้มทำให้สัตว์ทดลองเกิดมะเร็งได้ - มีฤทธิ์ตกค้างนาน
2,4,5,-ที	กันยายน 2526	- เป็นสารที่ใช้แล้วมีพิษตกค้างนาน - เป็นสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งและอาจทำให้ทารกในครรภ์ผิดปรกติ
พาราไทออน	พฤษภาคม 2531	- มีพิษเฉียบพลันต่อมนุษย์สูงมาก โดยเฉพาะการซึมเข้าทางผิวหนัง ทำให้ผู้ใช้เสี่ยงภัยสูง
ดีลดริน	พฤษภาคม 2531	- เป็นสารที่มีฤทธิ์ตกค้างนาน สะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมและในร่างกายมนุษย์และสัตว์ได้ - ไม่มีการพิสูจน์ในเรื่องพิษเรื้อรังอย่างเห็นได้ชัด

ตารางที่ 16 สารรมควันบางชนิด (ศุภมาศ, 2540)

ชื่อสามัญ	สูตรโครงสร้าง
Methyl bromide	CH_3Br
Chloropicrin	CCl_3NO_2
Formaldehyde	H-CHO
Carbon disulfide	CS_2
Ethylene dibromide	
Dichloropropene mixture	
Dibromochloropropene	

ผลกระทบของยาฆ่าศัตรูพืชต่อมนุษย์และสัตว์

จากระดับความเข้มข้นเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเข้าสู่โซ่อาหารแล้วสามารถเพิ่มระดับความเข้มข้นถึงขั้นเป็นพิษต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมได้ ตารางที่ 17 แสดงถึงตัวอย่าง ของพิษภัยของสารกำจัดศัตรูพืชเมื่อมีการสะสมในมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ดีดีที เป็นสาร ฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพสูง ยิ่งเมื่ออุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมต่ำลงฤทธิ์ของดีดีทีจะเพิ่มขึ้น ดีดีทีเป็นสารที่ถือได้ว่ามีพิษเฉียบพลันต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในระดับต่ำ เมื่อเข้าสู่ร่าง กาย ดีดีทีแสดงฤทธิ์ค่อนข้างช้า อาการแรกของสิ่งมีชีวิตที่มักพบได้แก่ อาการสั่นทั้งร่างกาย แขน ขา การเคลื่อนไหวไม่ประสานกัน อาการพิษเฉียบพลันมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง ผู้ป่วยจะแสดงอาการไวต่อสิ่งเร้ามากกระวนกระวาย เวียนศีรษะ เสียการทรงตัว มีอาการชัก อาการพิษเรื้อรังผู้ป่วยจะแสดงอาการผิดปรกติต่อระบบทางเดินอาหาร มีอาการเบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน น้ำหนักลด เหน็ดเหนื่อยและเมื่อยล้าตามร่างกาย

สำหรับสารฆ่าแมลงในกลุ่มไซโคลไดอีนส์ เช่น แอลดริน ดีลดริน เฮพตาคลอร์ และท็อกซาฟีนล้วนเป็นพิษต่อระบบประสาทเช่นกัน อาการพิษเฉียบพลันคล้ายคลึงกับ

ดีดีที แต่ต่างกัน คือ อาการพิษของสารเคมีในกลุ่มนี้มีอาการชักได้ในระยะแรกๆ ของการได้รับพิษ มีผู้เสียชีวิตจากสารฆ่าแมลงในกลุ่มนี้มากกว่าเสียชีวิตจากดีดีที พิษเรื้อรังอาจมีอาการ เจ็บปวด แน่นหน้าอก พูดไม่ชัด ไม่สามารถโฟกัสสายตา ลืมความจำใหม่ๆ กล้ามเนื้อไม่มีแรง ซึมเศร้า มือสั่น การสร้างสเปอร์มลดลงอย่างผิดปรกติ เป็นต้น (พาลาภ, 2533)

ตารางที่ 17 ตัวอย่างความเป็นพิษของสารฆ่าศัตรูพืชต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อม (ศุภมาศ, 2540)

สารฆ่าศัตรูพืช	ผลต่อมนุษย์	ผลต่อสภาพแวดล้อม
สารฆ่าแมลง		
แอลดริน/ดีลดริน	กระตุก,ชัก,พิษต่อไต,สารก่อมะเร็ง	เนื้องอกในสัตว์,เสื่อมเสียการเจริญพันธุ์ในนกและปลา
ดีดีที	กระตุก,ประสาทส่วนกลางเสื่อม, สารก่อมะเร็ง	เสื่อมการเจริญพันธุ์ในนกและปลา,เปลือกไข่นกบาง,เนื้องอกในสัตว์
พาราไทออน	พิษเฉียบพลัน	ฆ่าสัตว์ป่า
ท็อกซาฟีน	โครโมโซมผิดรูป,สารก่อมะเร็ง	สะสมในปลา,ยับยั้งการเจริญเติบโต, ทำลายตับปลา
สารฆ่าวัชพืช		
2,4-ดี	เกิดไนโตรซามีน (nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง	ลดที่อยู่อาศัยของสัตว์ป่า

ผลกระทบของยาฆ่าศัตรูพืชที่มีต่อการเกิดมะเร็งที่เต้านม

การใช้สารประกอบอินทรีย์คลอรีนอย่างแพร่หลายตั้งแต่ปี 1940 ได้มีผลกระทบต่อ ระบบสืบพันธุ์ และการตายของสัตว์ ซึ่งต่อมานักวิจัยได้พยายามศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบอินทรีย์คลอรีนกับการเสี่ยงการเกิดมะเร็งที่เต้านมในคน แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษายังมีข้อสรุปที่ไม่ชัดเจนในระยะประมาณ 10 ปี ที่ผ่านมานี้นักวิทยาศาสตร์ที่มหาวิทยาลัย Cornell ได้ตั้งสมมติฐานถึงความเกี่ยวข้องของสารประกอบอินทรีย์คลอรีน ที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งเต้านมในคนว่าสารประกอบอินทรีย์คลอรีนอาจจะกระตุ้นการเกิด มะเร็งเต้านมโดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขบวนการเมตาบอลิซึม ของฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) เนื่องจากยาฆ่าแมลงเหล่านั้นมีลักษณะการทำงานคล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจน (Patlak, 1996) การค้นพบเหล่านี้เชื่อว่าจะมีส่วนช่วยในการป้องกันและเข้าใจถึงสาเหตุ ของการเกิดมะเร็งที่เต้านมโดยสารประกอบอินทรีย์คลอรีนได้ดีขึ้น

แม้ว่าโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์คลอรีนจะแตกต่างกับฮอร์โมนสเตอรอยด์ (steroid hormone) เช่น เอสโตรเจน (estrogen), โปรเจสเตอโร(progesterone) หรือ เทสทอสเทอโรน (testosterone) เป็นต้น แต่สารประกอบอินทรีย์คลอรีนหลายชนิดจะทำหน้าที่เสมือนฮอร์โมนเอสโตรเจนอย่างมากในร่างกายเช่นดีดีที, methoxychlor และ chlordecone (kepone) มีผลทำให้ตัวอ่อนของหนูฝังตัวในมดลูก (implantation of embryos) และช่วยทำให้การตั้งครรภ์ดำเนินไปตามปกติ

นอกจากนี้ kepone, heptachlor และ chlordane ยังทำให้เซลล์เนื้องอกบริเวณเต้านม มีการเพิ่มจำนวนอย่างมากเช่นเดียวกับฮอร์โมนเอสโตรเจน การที่สารประกอบอินทรีย์คลอรีน ทำหน้าที่เสมือนฮอร์โมนเอสโตรเจน ได้ทำให้เกิดความกังวล ในวงการแพทย์ว่า ความเสี่ยงที่เกิดมะเร็งเต้านมในคนจะมีแนวโน้มสูงขึ้น ถ้าได้รับสารพิษ เหล่านั้นเข้าไปเพราะมีรายงานว่า การที่ร่างกายได้รับ สารประกอบอินทรีย์คลอรีน เข้าไปตลอดเวลาทำให้โอกาสเกิดมะเร็งเต้านมสูงขึ้น นอกจากนี้สตรีที่เริ่มมีประจำเดือนในระยะวัยรุ่นและสตรีที่หมด ประจำเดือนในช่วงวัยทองต่างก็มีความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง

ที่เต้านมสูงกว่าสตรีที่มีประจำเดือนในระยะวัยเจริญพันธ์ แต่ก็มีรายงานว่าการตัดรังไข่มีผลทำให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลงและการเกิดมะเร็งเต้านมลดลง จากเหตุผลดังกล่าวนักวิทยาศาสตร์จึงมีความเชื่อว่า สารประกอบอินทรีย์คลอรีน มีส่วนอย่างมากในการทำให้เกิดมะเร็งที่เต้านมซึ่งเกิดขึ้นอย่างแพร่หลายทั่วโลกตั้งแต่ปี 1940 เป็นต้นมา

การศึกษาในสตรีที่เป็นมะเร็งเต้านมก็ยังพบว่ามีสารดีดีทีหรือสารเมตาบอไลท์สะสมอยู่ในไขมันบริเวณทรวงอก (breast fat) และเลือดอยู่ในปริมาณที่สูงกว่าสตรีที่ไม่เป็นมะเร็งที่เต้านม (กลุ่มควบคุม) อย่างมาก ทำให้ความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งที่เต้านมเพิ่มมากขึ้น 2-10 เท่า ในปี 1993 Davis และคณะก็รายงานว่า หนูตัวผู้ที่ได้รับการฉีดสารพิษเข้าไปในร่างกายก็มีส่วนที่ทำให้เกิดมะเร็งที่เต้านมได้เช่นกัน จากการศึกษาในระดับ receptor และฮอร์โมนทำให้เข้าใจถึงขั้นตอนที่ สารประกอบอินทรีย์คลอรีน ทำให้เกิด มะเร็งเต้านม โดยทั่วไปฮอร์โมนเอสตราไดออล (estradiol) ซึ่งเป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน ที่พบมากในสตรีจ่ะเปลี่ยนรูปไปเป็นฮอร์โมน 16 ∝- hydroxyestrone (C16) และฮอร์โมน 2-hydroxyestrone แม้ว่าฮอร์โมนทั้งสองตัวนี้จะมีความแตกต่างกันเฉพาะตำแหน่ง ของ OH group แต่ก็จะมีผลต่อร่างกายแตกต่างกัน ฮอร์โมน 2-hydroxyestrone จะจับกับ estrogen receptor ได้ไม่ดีและไม่กระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ growth – promoting genes ในนิวเคลียส ในขณะที่ฮอร์โมน C16 จะจับกับ estrogen receptor ได้ดีมาก และกระตุ้นให้ growth promoting genes ทำงานและเซลล์มะเร็งเต้านมมีการเพิ่ม จำนวนมากขึ้นอย่างผิดปกติ (Patlak, 1996)

นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาในคนและสัตว์ว่าระดับฮอร์โมน C16ที่สูงมีผลทำให้ ความเสี่ยงเป็นมะเร็งเต้านมสูงขึ้นเช่นกัน เช่น ในคนที่เป็นมะเร็งเต้านมพบว่าเซลล์ของมะเร็งเต้านม (breast tissue) จะมีระดับฮอร์โมน C16 มากกว่าเซลล์ทรวงอกที่ปกติ (normal breast cells) อยู่ถึง 4 เท่า ดังนั้นจึงทำให้เชื่อกันว่า สารประกอบอินทรีย์คลอรีนทำให้เกิดมะเร็งเต้านมได้โดย สารประกอบอินทรีย์คลอรีนจะมีส่วนทำให้สัดส่วน ของปริมาณ C16 ต่อ 2-hydroxyestrone ที่มีในเนื้อเยื่อบริเวณทรวงอก (breast tissue) มีค่าเปลี่ยนแปลงไปจากสภาวะปกติจึงทำให้เกิดมะเร็งที่เต้านม การทดสอบสมมติฐานดัง กล่าวโดย การเพาะเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อทรวงอกด้วยกลุ่มยาฆ่าแมลง เช่น

atrazine, ดีดีที, kepone, endosulfans และ benzene hexachloride. ปรากฏว่าสารพิษเหล่านี้ทำให้สัดส่วน ของฮอร์โมน C16 ต่อ 2-hydroxyestrone เพิ่มสูงขึ้นมากเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้รับ สารพิษ (กลุ่มควบคุม) โดยระดับของฮอร์โมน C16 ในเซลล์ที่ถูกสารพิษจะมีค่าเพิ่มขึ้นกว่า ปกติ 3-4 เท่า (Patlak, 1996)

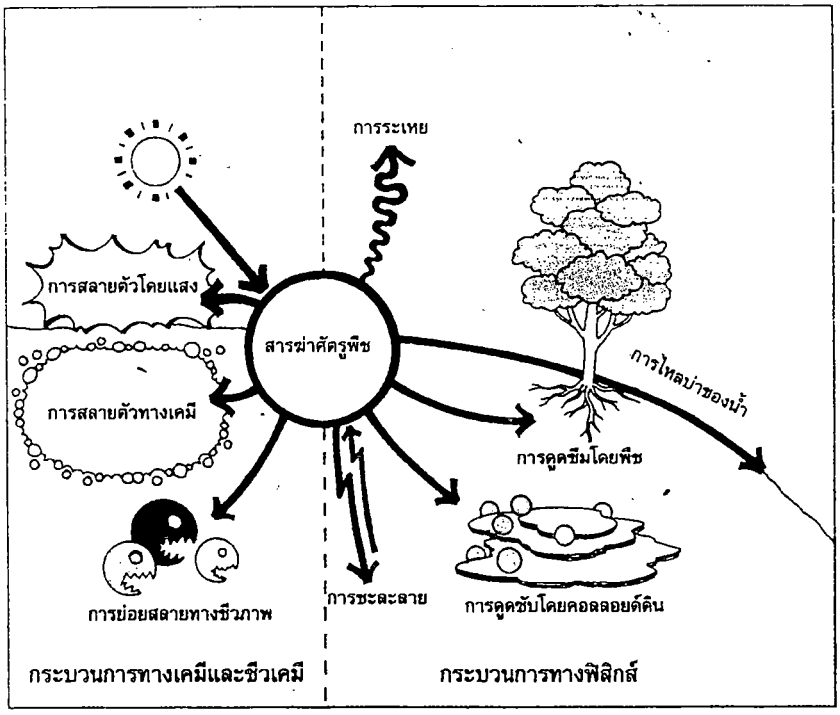
นอกจากนี้การศึกษายังไม่ได้มุ่งเน้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน C16 และ 2-hydroxyestrone ของเซลล์มะเร็งที่เต้านมเมื่อเลี้ยงเซลล์เหล่านั้นในสารที่เชื่อว่าป้องกันการ เกิดมะเร็ง เช่น indole-3-carbinol ซึ่งพบในผัก broccoli และlicosapentenoic acid ซึ่งมีใน น้ำมันปลา ผลปรากฏว่าสารยับยั้งการเกิดมะเร็งเหล่านั้น มีผลทำให้สัดส่วนของฮอร์โมน C16 ต่อ 2-hydroxyestrone มีค่าลด ลงประมาณ 33% เปรียบเทียบกับเซลล์กลุ่มควบคุม ดังนั้นการศึกษาในปัจจุบันจึงทราบว่าผัก broccoli มีส่วนช่วยในการป้องกันมะเร็ง เต้านมและ สารประกอบอินทรีย์คลอรีนทำให้ปริมาณ metabolite ของฮอร์โมน C16 เพิ่ม สูงขึ้นซึ่งอาจจะใช้เป็น biomarker ในการประเมิน ความเสี่ยงของมะเร็งเต้านม

5. fate ของยาฆ่าศัตรูพืชในดิน

ยาฆ่าแมลงถูกใช้ในเกษตรกรรมเพื่อเป็นสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ และทำให้ได้ ผลผลิตสูงเพียงพอต่อความต้องการของมนุษย์ แต่อย่างไรก็ตามยาฆ่าแมลงบางส่วนเท่านั้น ที่เกิดการสลายตัวในสิ่งแวดล้อมโดยหลายขบวนการ ดังแสดงใน รูปที่ 6 ส่วนที่เหลือจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศน์และมนุษย์ (Brock, 1994; ศุภมาศ, 2540)

5.1 กระบวนการดูดซับ (adsorption)

การดูดซับ (adsorption) คือขบวนการที่ประจุหรือความแรงที่ผิวของตัวดูดซับ (Adsorbent) ในที่นี้คือผิวของคอลลอยด์ดิน (Soil colloid) ที่กระทำต่อสารปนเปื้อนที่อยู่ใน สภาวะที่เป็นไอหรืออยู่ในรูปของสารละลายซึ่งเรียกว่าตัวถูกดูดซับ (Adsorbate) ยกตัวอย่าง เช่น ยาฆ่าศัตรูพืช (ศุภมาศ, 2540) การดูดซับยาฆ่าศัตรูพืชอาจเกิดจากขบวนการดังต่อไปนี้



รูปที่ 6 กระบวนการเคมี ฟิสิกส์ และชีวเคมีที่เกิดขึ้นกับสารเคมีฆ่าศัตรูพืชในดิน (ศุภมาศ, 2540)

1. การแลกเปลี่ยนแคทอิออน (Cation exchange capacity หรือ CEC)

นอกจากความสามารถของความจุแลกเปลี่ยนแคทอิออน (Cation exchange capacity หรือ CEC) แล้วพื้นที่ผิวจำเพาะของตัวถูกดูดซับทำให้ เราสามารถบ่งบอกถึงความสามารถ ใน การแลกเปลี่ยนแคทอิออน จากตารางที่ 18 พบว่าสารอินทรีย์และแร่ดินเหนียว (Clay minerals) จะมีทั้งความจุแลกเปลี่ยนแคทอิออนและพื้นที่ผิวจำเพาะสูงสุด ทำให้สารทั้ง 2 ชนิดมีศักย์การดูดซับ (Adsorption potential) สูงสุดต่อยาฆ่าศัตรูพืช

2. การเกิดพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bonding)

ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นได้เมื่อสารปนเปื้อนนั้นมีความสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับสารอินทรีย์ในดินบริเวณนั้นๆ

3. การเกิดแรงวันเดอร์วาล (Van der Waals force)

ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นได้เมื่อสารปนเปื้อนนั้นเป็นสารที่ไม่มีขั้วจะเกิดการจับกับสารอินทรีย์หรือสารอื่นในดินอย่างหลวมๆ

4. Coordination complex

การเกิดปฏิกิริยานี้จะเกิดได้กับยาฆ่าศัตรูพืชที่มีกลุ่มฟังก์ชัน -OH, -COOR, -NR $-NH_2$, $-CONH_2$ และ -NHR จะทำให้ถูกดูดซับได้ดีโดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสารอินทรีย์ในดิน และแร่ดินเหนียว การดูดซับและการคาย (Desorption) เป็นปัจจัยที่สำคัญในการเคลื่อน ย้ายของยาฆ่าศัตรูพืชจากแหล่งปนเปื้อนไปยังบริเวณอื่นๆรวมทั้งทำให้การย่อยสลายยาฆ่า ศัตรูพืชนั้นๆได้ยากหรือง่าย (Bioavailability)

ตารางที่ 18 CEC และพื้นที่ผิวจำเพาะของดิน (ศุภมาศ, 2540)

ส่วนประกอบของดิน	CEC (me/100g)	พื้นที่ผิวจำเพาะ (ตร.ม./ก.)
อินทรียวัตถุ	200 - 400	500 - 800
เวอร์มิคิวไลต์	100 - 150	600 - 800
มอนต์มอริลโลไนต์	80 - 150	600 - 800
ไดอ็อกตะฮีดรอล เวฮร์มิคิวไลต์	10 - 150	50 - 800
อิลไลต์	10 - 40	65 - 100
คลอไรต์	10 - 40	25 - 40
เคโอลิไนต์	3 - 15	7 - 30
ออกไซด์และไฮดรอกไซด์	2 - 6	100 - 800
แอลโลเฟน (Allophane)	80 - 90	430 - 570

5.2 การระเหย (Volatilization)

คุณสมบัติของการระเหยจะขึ้นอยู่กับความดันไอ (Vapor pressure) ถ้ามีความดันไอ สูงจะมีความสามารถระเหยได้เร็ว ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวจะทำให้ยาฆ่าศัตรูพืชแพร่กระจายไปได้ในระยะทางไกลจากแหล่งปนเปื้อนแต่ในขณะเดียวกันการระเหยก็เป็นขบวนการลดพิษของยาฆ่าศัตรูพืชนั้นๆและเป็นผลดีต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของยาฆ่า ศัตรูพืชในบริเวณดินที่ได้รับการปนเปื้อน

5.3 การดูดซึมโดยพืช

เมื่อพืชทำการดูดซึมยาฆ่าศัตรูพืชทำให้เกิดขบวนการ 2 ประการคือ (1) เกิดการเปลี่ยนแปลงของยาฆ่าศัตรูพืชในพืชและอาจจะทำให้เกิดเป็นสารที่มีพิษน้อยลงหรือไม่มีพิษหรือเกิดสารชนิดที่เป็นพิษสูงขึ้น (2) เกิดการสะสมในพืชซึ่งจะทำให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม ยกตัวอย่างเช่น มีการสะสมในน้ำนมของโคนมของสาร Heptaclor และ dieldrin เป็นเพราะมีการสะสมในพืชและเมื่อโคกินพืชกลุ่มนั้นก็จะเกิดการสะสมของสาร เคมีเหล่านี้และสะสมในส่วนต่างๆ รวมทั้งในน้ำนม

5.4 การสลายตัวโดยแสง (Photooxidation)

กระบวนการสลายโดยแสงเป็นวิธีหนึ่งที่ลดปริมาณของยาฆ่าศัตรูพืชบางชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งโดยรังสี UV (Ultraviolet) ยกตัวอย่างเช่น ดีดีที ไดควอท ไตรอะซีน 2,4-D การสลายตัวแบบนี้ช่วยทำให้โครงสร้างของยาฆ่าศัตรูพืชเกิดการสลายตัวเกิดสารที่มีโครงสร้างซับซ้อนน้อยลงและช่วยให้จุลินทรีย์ย่อยสลายโดยวิธีอื่นโดยเฉพาะโดย วิธีชีวภาพได้ง่ายขึ้น

5.5 การสลายตัวด้วยปฏิกิริยาทางเคมี (Chemical degradation)

เป็นการสลายตัวที่เกิดได้หลายขบวนการ เช่น

1. Hydrolysis
2. Oxidation

3. Isomerization

4. Ionization

ปฏิกิริยา hydrolysis และ oxidation เป็นปฏิกิริยาการสลายตัวของยาฆ่าศัตรูพืชที่มักจะเกิดในสิ่งแวดล้อม เช่น มาลาไทออน (Malathion)

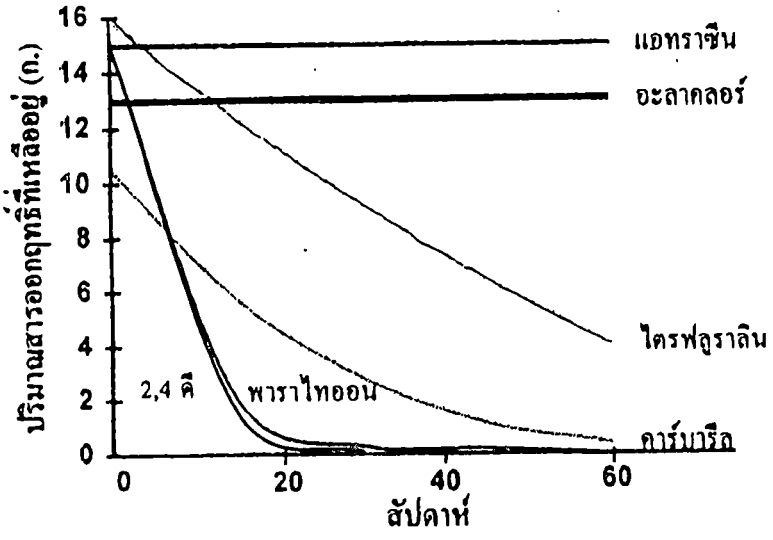
5.6 การย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradation)

การย่อยสลายทางชีวภาพของยาฆ่าศัตรูพืช หมายถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ สารประกอบดังกล่าวจนเสียสภาพโมเลกุลเดิมโดยชีวปัจจัยเพราะยาฆ่าแมลงหลายชนิดสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนและเป็นตัวให้อิเล็คตรอนโดยจุลชีพในดินและสาร แต่ละชนิดจะมีกลไกการถูกย่อยสลายที่แตกต่างขึ้นอยู่ปัจจัยต่างๆ

Brock (1994) พบว่า มีการย่อยสลายของสารประกอบอินทรีย์คลอรีนโดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร ดีดีทีจะเกิดการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน (anoxic environments) ยกตัวอย่างเช่น กระบวนการหนึ่งที่น่าสนใจคือ reductive dechlorination ซึ่งส่วนใหญ่พบว่าเปลี่ยนแปลงสารตั้งต้นที่มีพิษให้กลายเป็นสารที่มีพิษลดลง ยกตัวอย่างเช่น *Desulfomonile* (sulfate reducing bacterium) รีดิวส์ chlorobenzoate ซึ่งถือว่าเป็นตัวแทนในการศึกษาของสารประกอบอินทรีย์คลอรีนให้กลายเป็น benzoate และ Cl^- (สมการที่ 1)

$$\underset{\text{3-chlorobenzoate}}{C_7H_4O_2Cl} + 2H^+ \longrightarrow \underset{\text{Benzoate}}{C_7H_5O_2} + HCl \text{ ----------(1)}$$

เมื่อมีการเปรียบเทียบการย่อยสลายทางชีวภาพของยาฆ่าศัตรูพืชชนิดต่างๆคือ แอทราซีน อะลาคอร์ ไตรฟลูราลิน คาร์บาริล พาราไทออนและ 2,4-D ในดินโดย Brady (1990) พบว่า พาราไทออนและ 2,4-D เกิดการย่อยสลายได้ค่อนข้างเร็วคือย่อยสลายภายใน เวลา 30 สัปดาห์และสารที่ไม่เกิดการย่อยสลายภายในเวลาในการทดลองครั้งนี้คือ แอทราซีน และอะลาคอร์ (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 ลักษณะการเสื่อมโดยชีวปัจจัยของสารฆ่าศัตรูพืชบางชนิดในดิน (ศุภมาศ, 2540)

ปัจจัยที่สำคัญต่อการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในดินนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยคือ

1. ชนิดของสารที่จะถูกย่อยสลาย ถ้าสารเคมีที่มีขั้ว (polar group) จะทำให้จุลินทรีย์ย่อยสลายได้ง่ายกว่าสาเคมีที่ไม่มีขั้วเพราะมีจุดที่ให้เข้าทำการย่อยสลายได้ยกตัวอย่าง เช่น กลุ่มที่มีโครงสร้าง –OH, $-COO^-$, $-NH_2$
2. ชนิดของจุลินทรีย์ในดินบริเวณนั้นว่ามียีนส์หรือเอนไซม์ที่ย่อยสลายสารปนเปื้อนนั้นๆ
3. สภาวะแวดล้อมในดินบริเวณนั้นๆว่าเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และช่วยทำให้จุลินทรีย์เกิดการปรับตัวได้อย่างรวดเร็วต่อสารปนเปื้อนชนิดนั้น ได้แก่ ความ เหมาะสมของอุณหภูมิ สภาพความชื้น และปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ยกตัวอย่าง เช่น ในการย่อยสลายดีดีที ต้องการสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแต่ถ้าดินบริเวณนั้นเป็นดิน ร่วนซุยมีอากาศถ่ายเทได้ดีย่อมทำให้การย่อยสลายดีดีทีได้ไม่เกิดขึ้น เลยก็ได้

เอกสารอ้างอิง

กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม (2532) การประเมินความเสี่ยงอันตรายจากสารเคมีเบื้องต้น สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และการพลังงาน

นวลศรี ทยาพัชร (2533) ปัญหาสารพิษทางการเกษตรในประเทศไทย รายงานวิชาการ กองวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

พาลาภ สิงหเสนี (2537) พิษของยาฆ่าแมลงต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พิมพ์ครั้งที่ 4 โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์ลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ

ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา (2540) สารฆ่าศัตรูพืชกับภาวะมลพิษของดิน *ใน* ภาวะมลพิษของดินจากการใช้สารเคมี พิมพ์ครั้งที่ 2 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ

Brock DB, Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1994) Biology of Microorganisms. 7th ed. Prentice-Hall,Inc., New Jersey.

Edwards CA (1976) Persistent pesticides in the environment. CRC Press. Cleaveland, Ohio.

Patlak M (1996) Estrogens may link pesticides, breast cancer. Environmental science & Technology/news 30(5):210-211a.

Walker CH, Hopkin SP, Sibly RM and Peakall DB (2001) Major classes of pollutant *In* Principles of ecotoxicology. 2nd. Taylor & Francis Inc., NY.