บทที่ 1

บทนำ

1. บทนำต้นเรื่อง

ดินเขตร้อนโดยทั่วไปมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในระดับต่ำมาก เนื่องจากฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ซึ่งได้จากสารประกอบฟอสเฟตต่าง ๆ ทั้งในสภาพธรรมชาติหรือจากปุ๋ยที่ใส่ลงไป ทำปฏิกิริยากับแร่ธาตุและสารประกอบต่าง ๆ ในดิน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจากรูปที่ละลายน้ำได้ง่ายและเป็นประโยชน์ต่อพืชไปเป็นรูปที่ละลายน้ำได้ยากจึงเป็นประโยชน์ต่อพืชได้น้อยมาก เรียกกระบวนการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟอสเฟตนี้ว่ากระบวนการตรึงฟอสฟอรัส นอกจากนั้นฟอสฟอรัสส่วนใหญ่ในดินอยู่ในรูปอินทรีย์ฟอสฟอรัส (organic phosphorus) ซึ่งบางรูปสามารถปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาได้อย่างรวดเร็ว เช่น ฟอสโฟไลปิด (phospholipid) หรือกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) สารประกอบฟอสฟอรัสในรูปนี้มีหมู่ฟอสเฟตเอสเทอร์ (phosphate ester) เป็นองค์ประกอบอยู่และละลายน้ำได้ยาก นอกจากนี้อินทรีย์ฟอสฟอรัสมากกว่าครึ่งหนึ่งของอินทรีย์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินอยู่ในรูปอินโนซิทอลฟอสเฟต (inositol phosphate) หรือไฟติกแอซิด (phytic acid) (Tisdale *et a*l., 1993) การย่อยสลายสารประกอบฟอสฟอรัสดังกล่าวให้กลายเป็นรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชต้องอาศัย จุลินทรีย์ดินบางชนิดที่มีความสามารถในการปลดปล่อยเอนไซม์ในกลุ่มฟอสฟาเทสที่มีอยู่ 2 ชนิดคือ อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline phosphatase) ซึ่งทำงานได้ดีในสภาพที่เป็นด่าง และแอซิดฟอสฟาเทส (acid phosphatase) ซึ่งทำงานได้ดีในสภาพที่เป็นกรด ดินในเขตร้อนส่วนใหญ่เป็นดินกรดและบางส่วนเป็นดินกรดจัดซึ่งมีพีเอชต่ำ เอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสจึงมีบทบาทสำคัญต่อความเป็นประโยชน์ของอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดินเหล่านี้ จากการศึกษาพบว่าดินเขตร้อนอาจมีอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (Foth and Ellis, 1997) โดยในชุดดินคอหงส์และชุดดินหาดใหญ่ซึ่งเป็นชุดดินที่พบมากในภาคใต้มีฟอสฟอรัสในรูปอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงถึง 54-71 เปอร์เซ็นต์ และ 48-62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Onthong *et al*., 1999) ดังนั้นอินทรีย์ฟอสฟอรัสจึงเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสที่มีความสำคัญกับพืชเป็นอย่างมาก และในสภาพดินกรดจัดซึ่งมีปัญหาการขาดฟอสฟอรัสอย่างรุนแรง และส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่ราบลุ่ม จึงนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการทำนา โดยในพื้นที่ภาคใต้แถบจังหวัดสงขลา ปัตตานีและนราธิวาส เป็นพื้นที่ที่มีดินกรดจัดอยู่

ประมาณ 7 แสนไร่ เกษตรกรนิยมปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมือง ได้แก่ พันธุ์ลูกแดงปัตตานี ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ทนต่อสภาพดินกรดจัดได้เป็นอย่างดี สถานีวิจัยข้าวปัตตานีและกรมวิชาการเกษตร ได้ให้การรับรองเป็นพันธุ์ข้าวแนะนำสำหรับปลูกในสภาพดินกรดจัดของภาคใต้ (จิระศักดิ์ และคณะ, 2542) นอกจากนี้ยังมีพันธุ์ช่อลุง และญาเหวย ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกในบางพื้นที่ของภาคใต้เช่นกัน และปัจจุบันทางราชการได้มีการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้สามารถเจริญเติบโต และให้ผลผลิตได้ดีในสภาพดินกรดจัด เช่น พันธุ์สุพรรณบุรี 2 ที่นำมาทดลองปลูกในพื้นที่ของศูนย์ศึกษาและพัฒนาพิกุลทอง ซึ่งพบว่าสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดีและกำลังส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกต่อไป จะเห็นได้ว่าพันธุ์ข้าวที่กล่าวมาข้างต้นสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดีในสภาพดินกรดจัด อาจเนื่องมาจากข้าวมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพเช่นนี้ โดยข้าวมีการปลดปล่อยกรดอินทรีย์บางชนิดเพื่อละลายธาตุอาหารบางส่วนที่ถูกตรึงไว้ในดินให้ละลายออกมา (Ma, 2000) นอกจากนี้อาจมีการปลดปล่อยเอนไซม์ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทสออกมาเร่งปฏิกิริยาในการแปรสภาพอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดินให้กลับมาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์แก่พืชได้ (Marschner, 1991) ซึ่งการปลดปล่อยเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสนี้มีรายงานว่ามีการปลดปล่อยออกมาจากทั้งรากพืชและ จุลินทรีย์ดินบางชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืช จุลินทรีย์ดินที่สามารถปลดปล่อยเอนไซม์ในกลุ่มนี้ออกมาเพื่อช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส ได้แก่ *Pseudomonas* sp. (Illmer and Schinner, 1992) *Rhizobium meliloti*, *R. leguminosarum*, และ *R. loti* (Halder, 1993) เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์ดินมีบทบาทต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารมากกว่าจากแหล่งของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ ในดิน เนื่องจากในดินมีจุลินทรีย์ดินอยู่ปริมาณมากประกอบกับ จุลินทรีย์มีวงจรชีวิตสั้น การผลิตและปลดปล่อยเอนไซม์จึงเกิดขึ้นได้มากกว่า และเมื่อเอนไซม์เข้าไปช่วยทำปฏิกิริยาปลดปล่อยฟอสฟอรัสให้ออกมาอยู่ในรูปที่ใช้ประโยชน์ พืชก็สามารถดูดใช้ฟอสฟอรัสได้เพิ่มขึ้นและส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชต่อไป

เนื่องจากดินเขตร้อนส่วนใหญ่เป็นดินกรดและดินกรดจัดมีฟอสฟอรัสในรูปอินทรีย์ฟอสฟอรัสเป็นส่วนใหญ่ อินทรีย์ฟอสฟอรัสจึงเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสที่มีความสำคัญกับพืชเป็นอย่างมาก แต่ดินเหล่านี้มีแคตไอออนบางชนิดได้แก่ อะลูมินัม เฟอรัส และแมงกานีส ละลายออกมามากจนถึงระดับที่เป็นพิษกับพืช หรือทำให้ลดความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารอื่น ๆ ในดิน เช่น ฟอสฟอรัส โมลิบดินัม โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยการใส่ปูนแต่วิธีการนี้ทำให้มีแคลเซียมไอออนเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส ตลอดจนการปลดปล่อยฟอสฟอรัสของจุลินทรีย์ดิน ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้คัดเลือกจุลินทรีย์ดินที่มีความสามารถในการปลดปล่อยเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส ตลอดจนศึกษาถึงผลของพีเอชและแคตไอออนบางชนิดต่อกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสและการเจริญเติบโตของเชื้อจุลิ

นทรีย์ เพื่อที่จะได้นำจุลินทรีย์เหล่านั้นมาช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินซึ่งจะช่วยให้มีแหล่งของฟอสฟอรัสแก่พืชได้มากขึ้น และเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยให้เกษตรกรได้ลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตซึ่งปัจจุบันเป็นปุ๋ยที่มีราคาสูง และต้องนำเข้าจากต่างประเทศลงได้ รวมทั้งช่วยลดปริมาณของโลหะหนักที่อาจปนเปื้อนมากับปุ๋ยฟอสเฟตได้อีกทางหนึ่ง

2. การตรวจเอกสาร

2.1 ปัญหาและความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน

ฟอสฟอรัสในรูปที่พืชสามารถดูดไปใช้ได้ทันทีในดินเขตร้อนโดยทั่วไปมีอยู่ 2 รูปคือ โมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต (HPO_4^{2-}) และไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($H_2PO_4^-$) (Foth and Ellis, 1997) เมื่อเติมฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชลงสู่ดิน ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชจะลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากฟอสฟอรัสส่วนใหญ่ถูกตรึงและตกค้างอยู่ในดินเปลี่ยนเป็นรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชยากมากขึ้น โดยเฉพาะในดินกรดที่ฟอสฟอรัสมักถูกตรึงด้วยอะลูมินัม เฟอรัส และแมงกานีส ก่อให้เกิดปัญหาการขาดฟอสฟอรัสโดยเฉพาะในดินกรดเขตร้อน (ธงชัย, 2546; Foth and Ellis, 1997) การตรึงฟอสฟอรัสในดินแบ่งได้ดังนี้

2.1.1 การตรึงฟอสฟอรัสทางชีวภาพ

เป็นการเปลี่ยนรูปของฟอสฟอรัสจากรูปอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชไปสู่รูปอินทรีย์ฟอสฟอรัสที่อยู่ในจุลินทรีย์ดิน และเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ สะสมอยู่ในเซลล์ของจุลินทรีย์ เช่น ฟอสโฟไลปิด (phospholipid) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) และสารให้พลังงานสูง เช่น เอทีพี (ATP) เป็นต้น ฟอสฟอรัสส่วนนี้จะถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อจุลินทรีย์ตายและถูกย่อยสลายในเวลาต่อมา (ธงชัย, 2546; Anderson, 1980) การตรึงฟอสฟอรัสในรูปแบบนี้เกิดขึ้นเมื่อใส่ชิ้นส่วนพืชที่มีปริมาณอินทรียคาร์บอนสูงและมีอินทรีย์ฟอสฟอรัสปริมาณต่ำลงไปในดินทำให้สัดส่วนของ C:P อยู่ในช่วงกว้าง จุลินทรีย์จึงต้องดูดเอาฟอสฟอรัสไปจากดิน โดยเฉพาะในรูปอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ง่ายไปใช้เพื่อเพิ่มกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินทำให้เกิดกระบวนการที่เรียกว่าอิมโมบิไลเซชัน (immobilization) ซึ่งเป็นกระบวนการตรึงฟอสฟอรัสที่เกิดขึ้นเพียงชั่วคราว เมื่อกระบวนการย่อยสลายอินทรียวัตถุดำเนินไปเรื่อย ๆ มีคาร์บอนถูกปลดปล่อยออกไปทำให้สัดส่วนของ C:P ลดลง จึงจะมีการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากการย่อยสลายของอินทรียวัตถุเหล่านั้น เรียกว่าเกิดกระบวนการ มิเนอรัลไลเซชัน

(mineralization) โดยถ้าสัดส่วนของ C:P ที่เป็นองค์ประกอบของวัสดุซึ่งเพิ่มเติมลงไปอยู่ในระดับที่มากกว่าหรือเท่ากับ 300:1 จุลินทรีย์ดินจะดูดฟอสฟอรัสจากดินไปใช้ ทำให้เกิดการตรึงฟอสฟอรัสเกิดขึ้น แต่เมื่อสัดส่วนของ C:P ลดลงจนถึงประมาณ 200:1 จึงเริ่มมีฟอสฟอรัสถูกปลดปล่อยออกมาจากการย่อยสลายอินทรียวัตถุดังกล่าว (สมศักดิ์, 2528, Tisdale *et al*., 1993)

2.1.2 การตรึงฟอสฟอรัสทางเคมี ซึ่งสามารถแบ่งได้ 3 สาเหตุดังนี้

2.1.2.1 การทำปฏิกิริยาของฟอสฟอรัสกับแคตไอออนบางชนิดในดิน เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในดินกรดและดินด่าง (มุกดา, 2544; ธงชัย, 2546; Foth and Ellis, 1997) ในดินกรดฟอสฟอรัสในสารละลายดินจะทำปฏิกิริยากับไอออนของอะลูมินัม เฟอรัส และแมงกานีส เพราะดินเป็นกรดจะส่งเสริมให้สารประกอบของอะลูมินัม เฟอรัส และแมงกานีส ละลายได้ดีทำให้ไอออนของอะลูมินัม เฟอรัส และแมงกานีสละลายอยู่ในสารละลายดินเป็นจำนวนมากจึงทำปฏิกิริยากับฟอสฟอรัสและตกตะกอนได้มากขึ้น ในสภาพดินด่างจะเกิดปฏิกิริยาขึ้นระหว่างฟอสฟอรัสและไอออนของแคลเซียม และแมกนีเซียม รวมทั้งทำปฏิกิริยาโดยตรงกับแคลเซียมคาร์บอเนต แมกนีเซียมคาร์บอเนตซึ่งพบมากในดินที่มีปฏิกิริยาเป็นด่าง

2.1.2.2 การทำปฏิกิริยาของฟอสฟอรัสกับไฮดรัสออกไซด์ของเฟอรัสและอะลูมินัม เนื่องจากออกไซด์ของเฟอรัสและอะลูมินัมมีประจุไฟฟ้าแฝงอยู่ และไอออนฟอสเฟตก็มีประจุไฟฟ้าแฝงอยู่เช่นกัน ดังนั้นจึงเกิดการดูดซับทำให้ไอออนฟอสเฟตอัดตัวอยู่รอบ ๆ พื้นผิวของคอลลอยด์ดิน (มุกดา, 2544; ธงชัย, 2546)

2.1.2.3 การทำปฏิกิริยาของฟอสฟอรัสในสารละลายดินกับแร่ดินเหนียว เนื่องจากฟอสเฟตไอออนเกิดการแลกเปลี่ยนกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH^-) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของแร่ดินเหนียว โดยเฉพาะในดินที่มีแร่ดินเหนียวประเภท 1:1 ที่พบมากในดินเขตร้อน หรือฟอสเฟตไอออนทำปฏิกิริยากับแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ที่ถูกยึดอยู่ที่ผิวของอนุภาค ดินเหนียว ซึ่งเกิดได้ดีในดินที่มีแร่ดินเหนียวประเภท 2:1 หรือฟอสเฟตไอออนถูกดูดซับอยู่ตามจุดต่างๆ บนผิวของอนุภาคดินเหนียวที่มีประจุบวกค้างอยู่ (มุกดา, 2544; ธงชัย, 2546)

2.2 รูปของฟอสฟอรัสในดิน

ฟอสฟอรัสที่พบในดินมี 2 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกคือ กลุ่มของอนินทรีย์ฟอสฟอรัส (inorganic phosphorus) เนื่องจากดินในเขตร้อนส่วนใหญ่อยู่ในอันดับอัลทิซอลส์ (Ultisols) และออกซิซอลส์ (Oxisols) จึงมีอะลูมินัมและเฟอรัสละลายออกมามาก ส่งผลให้ฟอสฟอรัสจับกับไอออนของธาตุเหล่านี้ อยู่ในรูปของอะลูมินัมฟอสเฟต และไอรอนฟอสเฟต และบางส่วนอาจถูก

ห่อหุ้มไว้ด้วยออกไซด์ของธาตุเหล่านี้ จึงทำให้ฟอสฟอรัสเป็นประโยชน์ได้ยากขึ้น และฟอสฟอรัสอีกกลุ่มหนึ่งคือกลุ่มของอินทรีย์ฟอสฟอรัส (organic phosphorus) ซึ่งในดินมีอยู่ประมาณ 30-80 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (Dalal, 1978) ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของอินโนซิทอลฟอสเฟต ฟอสโฟไลปิด และนิวคลีอิคแอซิด โดยจากรายงานของ Onthong *et al.* (1999) ได้ศึกษาเกี่ยวกับรูปของฟอสฟอรัสในดินกรด และดินทราย จำนวน 3 ชุดดิน คือ ชุดดินคอหงส์ (Kh) หาดใหญ่ (Hy) และ บ้านทอน (Bh) พบว่า ทุกชุดดินมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดอยู่ในปริมาณต่ำ และฟอสฟอรัสส่วนใหญ่อยู่ในรูปอินทรีย์ฟอสฟอรัส โดยฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชได้ทันทีนั้นมีอยู่น้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณที่มีทั้งหมดในดิน และสอดคล้องกับรายงานของ Pimsirikul และ Motoh (2003) ที่ศึกษาเกี่ยวกับสถานะของฟอสฟอรัสในดินของประเทศไทยจำนวน 10 ชุดดิน ที่เป็นดินกรดในที่ดอนและดินนา นำมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและสกัดฟอสฟอรัสโดยใช้ EDTA-NaF สกัดฟอสฟอรัสในรูปต่าง ๆ โดยดัดแปลงวิธีของ Sekiya พบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินอยู่ในช่วง 50-496 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัม โดยมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสกัดโดยใช้วิธีเบรย์ทู (Bray II) อยู่ในช่วง 0.44-33.16 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัม (0.17-12 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน) ส่วนอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดินมีอยู่ในช่วง 30-217 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัม หรือคิดเป็น 38-67 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน ในขณะที่รายงานของประพิศ และวิศิษฐ์ (2532) ที่ศึกษารูปของฟอสฟอรัสในดินนาของประเทศไทยจำนวน 39 ตัวอย่าง พบว่าดินนาในประเทศไทยมีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน ส่วนอินทรีย์ฟอสฟอรัสมีประมาณ 23 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน ทั้งนี้ยังพบว่าปริมาณอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดินมีความสัมพันธ์กับปริมาณอินทรียวัตถุในดิน (r=0.639**) กลุ่มของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดินมีฟอสฟอรัสหลายรูป ซึ่งแต่ละรูปมีรายละเอียดต่าง ๆ ดังนี้

2.2.1 อนินทรีย์ฟอสฟอรัส แบ่งเป็น 3 ประเภทดังนี้

2.2.1.1 ฟอสฟอรัสที่อยู่ในสารละลายดิน (soil solution phosphorus) เป็นฟอสฟอรัสในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที ในดินที่ใช้ทำการเกษตรโดยทั่วไปมีพีเอชอยู่ในช่วง 4-8 ฟอสฟอรัสส่วนใหญ่อยู่ในรูปโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต (HPO_4^{2-}) และไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($H_2PO_4^-$) (Foth and Ellis, 1997) ฟอสเฟตไอออนในรูปนี้มีอยู่ในสารละลายดินเพียงเล็กน้อย คือประมาณ 0.3-3 พีพีเอ็มเท่านั้นเมื่อเทียบกับฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินซึ่งมีถึง 200-1,500 พีพีเอ็ม ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันทีแต่ก็สามารถทำปฏิกิริยาหรือถูกตรึงได้ง่ายทั้งในสภาวะที่เป็นกรดและด่าง (มุกดา, 2544; ธงชัย, 2546)

2.2.1.2 ฟอสฟอรัสที่ถูกดูดซับไว้อย่างหลวม ๆ (weakly adsorbed inorganic phosphorus) เป็นส่วนของฟอสฟอรัสที่ถูกดูดซับอยู่ที่ผิวของคอลลอยด์ดิน หรือพวกแร่ดินเหนียวและอินทรียวัตถุ ซึ่งมีประจุไฟฟ้าแฝงอยู่ทั้งที่ผิวของคอลลอยด์ดินและฟอสเฟตไอออนจึงเกิดการดูดซับเกิดขึ้น โดยฟอสเฟตไอออนจะรวมและอัดตัวอยู่รอบ ๆ ผิวของคอลลอยด์ ซึ่งฟอสฟอรัสในส่วนนี้สามารถแตกตัวและละลายออกมาในสารละลายดินได้ เมื่อฟอสเฟตไอออนในสารละลายดินลดลงเพื่อรักษาสภาวะสมดุลทางเคมีไว้ (มุกดา, 2546; ไพบูลย์, 2546)

2.2.1.3 ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของแร่ (phosphate mineral) ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของแร่ แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มอะลูมินัมฟอสเฟต ได้แก่แร่วาริสไซต์ ($AlPO_4 \cdot 2H_2O$) ส่วนกลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มไอรอนฟอสเฟต ได้แก่ แร่สะเทรนไจต์ ($FePO_4 \cdot 2H_2O$) โดยแร่ทั้งสองรูปนี้พบมากในสภาพดินกรด แต่ถ้าดินมีสภาพเป็นกลางหรือเป็นด่าง จะพบแร่ในกลุ่มที่ 3 คือ แคลเซียมฟอสเฟตซึ่งมีอยู่หลายชนิด เช่น ฟลูออออะพาไทต์ ($Ca_{10}(PO_4)_6F_2$) คาร์บอเนตอะพาไทต์ ($Ca_{10}(PO_4)_6CO_3$) ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($(Ca_3(PO_4)_2$) (มุกดา, 2544; ธงชัย, 2546) ความสามารถในการละลายและปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาให้พืชนั้น สารประกอบในกลุ่มของแคลเซียมฟอสเฟตสามารถละลายได้ดีกว่าอะลูมินัมฟอสเฟต ส่วนไอรอนฟอสเฟตละลายได้น้อยที่สุด (วิโรจน์, 2531)

2.2.2 อินทรีย์ฟอสฟอรัส

ดินเขตร้อนโดยทั่วไปอาจมีอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (Foth and Ellis, 1997) โดยฟอสฟอรัสในกลุ่มนี้มีอยู่หลายรูป แต่ที่สามารถจำแนกได้มีประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของอินทรีย์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (Tisdale *et a*l., 1993) ซึ่งประกอบด้วยรูปต่าง ๆ ดังนี้

2.2.2.1 อินโนซิทอลฟอสเฟต (inositol phosphate) อินทรีย์ฟอสฟอรัสในรูปนี้ถูกปลดปล่อยได้ช้ากว่าอินทรีย์ฟอสฟอรัสในรูปอื่น ๆ และในดินโดยทั่วไปจะพบอินทรีย์ฟอสฟอรัสในรูปนี้มากกว่าครึ่งหนึ่งของอินทรีย์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (Anderson,1980) ลักษณะโครงสร้างของอินโนซิทอลเหมือนกับน้ำตาล ($C_6H_{12}O_6$) โดยเป็น *myo*-, *scyllo*-, *neo*- หรือ *chiro*-Inositol ที่จับอยู่กับหมู่ฟอสเฟตตั้งแต่ 1-6 โมเลกุล และรูปอินโนซิทอลฟอสเฟตที่มีอยู่เป็นปริมาณมากในดินคือรูปของ *myo*-Inositol hexaphosphate (phytic acid) (Dalal, 1978; L'Annunziata, 1975 อ้างโดย Anderson,1980) อินโนซิทอลฟอสเฟตในรูปนี้ละลายน้ำได้เมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกรด ระดับพีเอชประมาณ 4 โดยมีเอนไซม์ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสในการละลายฟอสฟอรัสในรูปดังกล่าว และเรียกเอนไซม์ดังกล่าวว่าฟีเทส (phytase)

แต่บางครั้งอินโนซิทอลฟอสเฟตสามารถเกิดเป็นสารประกอบกับโปรตีนหรือไอออนต่างๆ เช่น ไอรอนไฟเทต ($C_6H_{18}O_{24}P_6Fe_4$) หรืออะลูมินัมไฟเทต ($C_6H_{18}O_{24}P_6Al_4$) ซึ่งเป็นรูปที่ละลายได้ยากมาก เนื่องจากเป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ ทำให้มีพื้นที่สัมผัสกับเอนไซม์ที่สามารถช่วยในการละลายได้น้อยลง (สมศักดิ์, 2528; Cosgrove, 1962 อ้างโดย Anderson, 1980)

2.2.2.2 กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) กรดนิวคลีอิกแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ดีออกซีไรโบนิวคลีอิกแอซิด (deoxyribonucleic acid) และไรโบนิวคลีอิกแอซิด (ribonucleic acid) กรดนิวคลีอิกเป็นโพลิเมอร์ของนิวคลีโอไทด์มาต่อกันเป็นสายยาวซึ่งมีส่วนประกอบ 3 ส่วน คือ 1) ไนโตรจีนัสเบสในรูปของพิวรีน (purine) และไพริมิดีน (pyrimidine) 2) น้ำตาลที่ประกอบด้วยคาร์บอน 5 อะตอมในรูปน้ำตาลไรโบส (ribose) และ ดีออกซีไรโบส (deoxyribose) 3) หมู่ฟอสเฟต (Dalal, 1978) อินทรีย์ฟอสฟอรัสในรูปกรดนิวคลีอิกสามารถสลายตัวได้ง่ายแม้รวมอยู่กับฮิวมัสก็สามารถถูกย่อยสลายได้ โดยการย่อยสลายเกิดขึ้นได้ดีในสภาพที่เป็นกรด (สมศักดิ์, 2528; มุกดา, 2544) ดินเขตร้อนโดยทั่วไปพบอินทรีย์ฟอสฟอรัสในรูปนี้ประมาณ 0.2-2.5 เปอร์เซ็นต์ของอินทรีย์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (Tisdale *et al*., 1993)

2.2.2.3 ฟอสโฟไลปิด (phospholipid) ฟอสโฟไลปิดเป็นสารประกอบที่มีฟอสฟอรัสรวมอยู่ในโครงสร้างของไลปิด ตัวอย่างของฟอสโฟไลปิดได้แก่ เลซิติน (lecithin) และเซฟาลีน (cephalin) (สมศักดิ์, 2528) ฟอสโฟไลปิดเป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เป็นสารประกอบที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ โดยละลายในตัวทำละลายประเภทอีเทอร์ หรือคลอโรฟอร์ม แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดสามารถย่อยสลายฟอสโฟไลปิดแล้วปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาได้โดยอาศัยเอนไซม์ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทส ในดินโดยทั่วไปมีฟอสโฟไลปิดอยู่ในช่วง 0.2-14 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัม (Kowalenko and Makercher, 1971 อ้างโดย Anderson, 1980) ซึ่งน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ของอินทรีย์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน เนื่องจากฟอสฟอรัสในรูปนี้สลายตัวได้ง่ายเช่นเดียวกับกรดนิวคลีอิก (Tisdale *et al*., 1993)

2.3 ความสำคัญของจุลินทรีย์ดินต่อความเป็นประโยชน์ต่ออินทรีย์ฟอสฟอรัสในดิน

2.3.1 ประเภทของจุลินทรีย์ดิน

จุลินทรีย์ดินเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมาก และมีอยู่เป็นปริมาณมากในดิน จุลินทรีย์ดินมีวงจรชีวิตสั้น และมีความสำคัญต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดินเป็นอย่างมาก จุลินทรีย์ดินมีหลายกลุ่มซึ่งมีความแตกต่างกันออกไปดังนี้

2.3.1.1 แบคทีเรีย (bacteria) เป็นจุลินทรีย์ที่มีจำนวนมากที่สุดในดิน แบคทีเรียไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคียส จัดเป็นเซลล์แบบโปรคารีโอต (prokaryote) ผนังเซลล์ของแบคทีเรียจะมีสารประกอบหลักคือ เพปติโดไกลแคน (peptidoglycan) (ดวงพร, 2545) เซลล์ของแบคทีเรียมีขนาดเล็กกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่มีเซลล์แบบยูคารีโอต (eukaryotic) มาก โดยมีความกว้างประมาณ 0.2-2 ไมโครเมตร และยาวประมาณ 1-10 ไมโครเมตร (Sylvia *et al*., 2005) แหล่งพลังงานและคาร์บอนของแบคทีเรียทำให้แบคทีเรียมีลักษณะทางสรีรวิทยาที่แตกต่างจากสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ แบคทีเรียที่ใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานเรียกว่าโฟโทโทรปิค (phototropic) ส่วนพวกที่ใช้สารเคมีเป็นแหล่งพลังงานเรียกว่าเคโมโทรปิค (chemotropic) และพวกที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนเรียกว่าพวก ออโทโทรปิค (autotropic) ส่วนพวกที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนเรียกว่าพวกเฮเทอโรโทรปิค (heterotrophic) แต่แบคทีเรียส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มเคโมออแกโนโทรปิค (chemoorganotropic) หรือเฮททีโรโทรป (heterotrop) ตัวอย่างของแบคทีเรียที่พบได้ในดินโดยทั่วไปได้แก่ *Arthobacter* sp. เป็นแบคทีเรียที่พบเป็นปริมาณมากที่สุดในดิน รองลงมาคือ *Streptomyces* sp. *Psuedomonas* sp. และ *Bacillus* sp. เป็นต้น

2.3.1.2 แอคติโนมัยซีท (actinomyces) เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างคล้ายราพบมากในดิน นอกจากนี้ยังพบว่าในปุ๋ยหมัก วัตถุเน่าเปื่อยอื่น ๆ ในดินใต้น้ำ และในทะเลสาบมีแอคติโนมัยซีทในปริมาณมากเช่นกัน ปริมาณของแอคติโนมัยซีทในดินมีอยู่ใกล้เคียงกับปริมาณของแบคทีเรีย ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยซีทจะมีกลิ่นคล้ายดิน ปัจจัยที่ควบคุมปริมาณของแอคติโนมัยซีทส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับสมบัติทางกายภาพของดิน ปริมาณอินทรียวัตถุ และความเป็นกรดเป็นด่างของดิน จากรายงานการประเมินปริมาณแอคติโนมัยซีทในดินพบว่ามีปริมาณโดยเฉลี่ย 10^5-10^8 เซลล์ต่อดินแห้ง 1 กรัม โดยในดินป่าบางแห่งหรือดินที่มีการเขตกรรม มีความอุดมสมบูรณ์สูง มีความเป็นด่าง และค่อนข้างแห้งจะมีแอคติโนมัยซีทในปริมาณสูง แต่ในดินพีทที่เป็นกรดจัดหรือดินที่มีน้ำขังปริมาณแอคติโนมัยซีทจะต่ำมาก แอคติโนมัยซีทที่พบมากในดินมีอยู่ 4 วงศ์คือ Mycobacteriaceae, Actinomycetaceae, Streptomycetaceae และ Actinoplanaceae (สมศักดิ์, 2528)

2.3.1.3 เชื้อรา (fungi) เป็นจุลินทรีย์ที่มีเซลล์แบบยูคารีโอตสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ดี ในดินจะมีเชื้อราในปริมาณที่น้อยกว่าแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีท แต่ปริมาตรของเซลล์เชื้อรามีมากที่สุดเมื่อคิดเป็นค่าเฉลี่ยในดินทั่ว ๆ ไป ทั้งนี้เพราะเชื้อรามีลักษณะเป็นเส้นใย (hyphae) ซึ่งมีขนาดใหญ่และยาวกว่าแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีทมาก โดยเส้นใยอาจมีหรือไม่มีผนังกั้นละมีนิวเคลียสหลายอัน เชื้อราที่มีอยู่ในดินมีอยู่หลายชนิด เช่น *Acrostalagmus* sp., *Aspergillu*s sp., *Penicillium* sp., *Alternaria* sp. และ *Rhizoctonia* sp. เป็นต้น ในดินกรดส่วนใหญ่

พบเชื้อรามากกว่าจุลินทรีย์ดินชนิดอื่น ๆ เนื่องจากเชื้อราสามารถทนต่อสภาพที่เป็นกรดได้ดี โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยกเชื้อรานิยมปรับพีเอชให้เป็นกรดเพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีท (สมศักดิ์, 2528) นอกจากนี้ยังมียีสต์ (yeast) ซึ่งจัดอยู่จำพวกเดียวกับรา เป็นพวกเซลล์เดี่ยว มีการแบ่งเซลล์โดยการแตกหน่อ (budding หรือ fission) ประกอบด้วยสองพวกใหญ่ ๆ คือพวกที่สร้างแอสโคสปอร์ (ascospore)เช่น *Saccharomyces* sp., *Pichia* sp. และ *Hansenula* sp. และพวกที่ไม่สร้างแอสโคสปอร์ เช่น *Candida* sp., *Rhodotorula* sp. และ *Cryptococcus* sp. (สมศักดิ์, 2528; ดวงพร, 2545)

2.3.1.4 สาหร่าย (algae) มีเซลล์เป็นแบบยูคารีโอต มีคลอโรฟิลล์จึงสังเคราะห์แสงได้ สาหร่ายเป็นจุลินทรีย์ดินที่ปรากฏอยู่บนดิน ลักษณะโดยทั่วไปเป็นทั้งพวกเซลล์เดี่ยว และหลายเซลล์รวมกันเป็นเส้นสายยาว เมื่ออยู่อย่างโดดเดี่ยวจะมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า แต่ถ้าเจริญรวมกันมาก ๆ จะมองเห็นเป็นกลุ่มสีเขียวหรือค่อนข้างเขียวโดยไม่ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ สาหร่ายที่เป็นเซลล์เดี่ยวอาจทำหน้าที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์ ส่วนพวกที่มีหลายเซลล์จะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ สาหร่ายในดินมักเป็นพวกที่มีเซลล์เดี่ยว และอาจมีพวกที่เป็นเส้นสายอยู่บ้างเล็กน้อยโดยเส้นสายจะสั้นกว่าสาหร่ายที่อาศัยอยู่ในน้ำ สาหร่ายในดินจำแนกได้เป็นสี่ประเภทใหญ่ ๆ คือ Chlorophyceae (สาหร่ายสีเขียว), Bacillariophyceae (ไดอะตอม), Cyanophyceae (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) และ Xanthophyceae (สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง) (สมศักดิ์, 2528; ดวงพร, 2545)

2.3.1.5 โปรโตซัว (protozoa) เป็นสัตว์เซลล์เดียว มีรูปร่างที่หลากหลายเป็นสัตว์ที่มีขนาดเล็กมากในระดับไมครอน จนถึงระดับเซนติเมตร ในวงจรชีวิตของโปรโตซัวมีทั้งเซลล์ที่กำลังมีกิจกรรมเต็มที่ เซลล์ที่กำลังแบ่งตัว และเซลล์ที่มีส่วนห่อหุ้มเซลล์หนาจนทำให้เซลล์ซึ่งอยู่ภายในทนทานต่อสภาพที่ไม่เหมาะสมได้ ทำให้จุลินทรีย์ชนิดนี้อาศัยอยู่ในดินได้นานหลายปี แม้ว่าสภาพในดินจะไม่เหมาะสมก็ตาม โปรโตซัวพวกที่อยู่อย่างอิสระและอาศัยอยู่ในดินจะกินสารอินทรีย์ที่ละลายได้ และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กอื่น ๆ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ หรือโปรโตซัวชนิดอื่น จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า การย่อยสลายสารอินทรีย์เกิดได้รวดเร็วขึ้น ในที่ที่มีทั้งโปรโตซัวและแบคทีเรีย เมื่อเทียบกับมีแบคทีเรียเพียงอย่างเดียว โปรโตซัวจะช่วยเร่งวัฏจักรของสารอาหาร และการเคลื่อนที่ของมันในโมเลกุลของน้ำในดินจะช่วยให้แบคทีเรียได้รับสารอาหารและออกซิเจนดีขึ้น ตัวอย่างของโปรโตซัวที่อยู่ในดิน ได้แก่ *Cercobodo* sp., *Lecythium* sp., *Uroteptus* sp. และ *Oxytricha* sp. (สมศักดิ์, 2528; ดวงพร, 2545)

2.3.1.6 ไวรัส (virus) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กที่สุดในดิน เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาคเพียง 0.05-0.10 ไมครอน ไม่สามารถเรียกว่าเซลล์ได้ เนื่องจากมีลักษณะและสมบัติบางประการไม่ครบพอที่จะถือเป็นเซลล์ได้ ไวรัสอาจเป็น

เพียงอาร์เอ็นเอ หรือดีอ็นเอที่อยู่ภายใน มีโปรตีนเป็นเปลือกหุ้ม ไม่มีการหายใจ ไวรัสบางชนิดอาจเป็นสาเหตุให้เกิดโรคในพืช สัตว์และมนุษย์ ปัจจุบันความรู้เกี่ยวกับนิเวศวิทยาของไวรัสกับจุลินทรีย์อื่น ๆ ในดินมีน้อยมาก แต่ปัจจุบันมีการใช้ไวรัสควบคุมแบบชีววิธีกับวัชพืชและแมลงศัตรูพืช (สมศักดิ์, 2528; ดวงพร, 2545)

2.3.2 จุลินทรีย์ในดินกรดจัด

จุลินทรีย์ดินที่เจริญในดินกรดจัดนั้นมีอยู่ในปริมาณน้อย เนื่องจากในสภาพดินกรดจัด เป็นดินที่มี พีเอชต่ำ และยังมีไอออนของอะลูมินัม ไอรอน และแมงกานีส ละลายออกมามากจนอาจถึงระดับที่เป็นพิษ ทำให้มีจุลินทรีย์ดินเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถเจริญได้ในสภาพเช่นนี้ โดยส่วนใหญ่แล้ว จุลินทรีย์ดินที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพดินกรดจัด จะมีกลไกในการปรับตัวให้ทนต่อสภาพที่มีพีเอชต่ำ ๆ โดยจุลินทรีย์บางชนิดมีกลไกบางอย่างที่จะรักษาพีเอชภายในเซลล์ให้สูงกว่าพีเอชของดินโดยรอบเพื่อป้องกันไม่ให้ไฮโดรเจนไอออนเป็นพิษต่อเซลล์ (Sylvia *et al*., 2005) นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังมีกลไกที่ช่วยลดความเป็นพิษของแคตไอออน ที่อาจเป็นพิษต่อเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะกลไกในการต้านทานความเป็นพิษของอะลูมินัมพบว่า มีทั้งการที่จุลินทรีย์ดูดเอาอะลูมินัมไปไว้ภายในเซลล์ แล้วอะลูมินัมไปจับกับโปรตีนบางชนิดเปลี่ยนเป็นรูปที่ไม่เป็นพิษ หรืออาจสะสมไว้ในส่วนของแวคคิลโอล หรือจุลินทรีย์ดินมีการปลดปล่อยสารบางชนิดออกมา เช่นกรดอินทรีย์ หรือเอนไซม์บางชนิดมาตกตะกอนกับอะลูมินัมที่อยู่รอบเซลล์ เปลี่ยนเป็นรูปที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (Jo *et al*., 1997) และเนื่องจากมีจุลินทรีย์ดินเพียงบางชนิดเท่านั้นที่มีกลไกในการปรับตัวเหล่านี้ ทำให้มีจุลินทรีย์เพียงบางชนิดเท่านั้นที่จะสามารถเจริญเติบโตได้ในดินกรดจัด ส่วนใหญ่จึงมักพบว่าจุลินทรีย์ในดินกรดจัดจะมีปริมาณน้อยกว่าดินปกติ เช่นจากการศึกษาของ Phung และ Lieu (1994) ที่ศึกษาปริมาณและชนิดของ จุลินทรีย์ในดินกรดจัดซึ่งปลูกยูคาลิปตัสในประเทศเวียดนามจำนวน 9 แปลงเปรียบเทียบกับ แปลงที่ไม่เป็นดินกรดจัด พบว่าในแปลงที่เป็นดินกรดจัดมีจุลินทรีย์ดินอยู่ในปริมาณที่ต่ำมาก คือ พบเพียง 2.2-9.0 x 10^5 cfu (colony forming unit) ต่อดิน 1 กรัม ในขณะที่ในแปลงที่ไม่เป็นดินกรดจัดพบได้สูงถึง 1.2 x 10^9 cfu ต่อดิน 1 กรัม และพบว่าบริเวณผิวดินที่ความลึก 0-20 เซนติเมตรมีปริมาณจุลินทรีย์ดินสูงกว่าที่ระดับ 20-40 เซนติเมตร ชนิดของจุลินทรีย์ดินที่พบในดินกรดจัดส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย รองลงมาคือแอคติโนมัยซีท และเชื้อรา ซึ่งโดยปกติแล้วในสภาพดินกรดจะพบเชื้อราสูงกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ แต่ในการศึกษาครั้งนี้กลับพบแบคทีเรียในปริมาณที่สูงกว่าเชื้อรามาก เพราะยูคาลิปตัสอาจปลดปล่อยสารบางอย่างที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และถ้าแยกชนิดของจุลินทรีย์ดินตามลักษณะทางสรีรวิทยาพบว่าจุลินทรีย์ดินที่เป็น ดีไนทริไฟเออ (denitrifiers) จะพบอยู่ในช่วง 10^5-10^{10} cfu ต่อดิน 1 กรัม แอมโม

นิไฟเออ (ammonifiers) 10^4-10^7 cfu ต่อดิน 1 กรัม *Clostidium* sp. และ *Thiobacillus* sp. พบในปริมาณ 10^2-10^4 และ 10^4-10^7 cfu ต่อดิน 1 กรัม และจากการศึกษาของ Sieangjieaw และคณะ (2002) ซึ่งศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ดินที่มีความสามารถในการปลดปล่อยเอนไซม์เซลลูเลสในดินและบริเวณรอบรากหญ้าที่เจริญในดินปกติ (ชุดดินท่ายาง พีเอช 5.5) และดินกรดจัด (ชุดดินองครักษ์ พีเอช 4.0) พบว่าจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืชมีปริมาณสูงกว่าในดินอย่างชัดเจน และปริมาณของเชื้อ *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp. และ *Aspergillus* sp. ในดินกรดจัดมีอยู่ 3.8×10^4, 2.5×10^4 และ 1.5×10^3 cfu ต่อดิน 1 กรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าในดินปกติอย่างชัดเจน (5.5×10^6, 5.0×10^6 และ 4.6×10^5 cfu ต่อดิน 1 กรัม ตามลำดับ)

2.3.3 กลไกการละลายฟอสฟอรัสโดยจุลินทรีย์ดินที่ปลดปล่อยเอนไซม์แอซิด-ฟอสฟาเทส

ฟอสฟอรัสในดินซึ่งอยู่ในรูปของอนินทรีย์ฟอสฟอรัส และอินทรีย์ฟอสฟอรัสนั้นมีการแปรสภาพจากรูปหนึ่งไปเป็นอีกรูปหนึ่งได้ โดยการที่อนินทรีย์ฟอสฟอรัสเปลี่ยนไปอยู่ในรูปอินทรีย์ฟอสฟอรัสนั้นเกิดขึ้นโดยกระบวนการอิมโมบิไลเซชัน ซึ่งเป็นกระบวนการตรึงฟอสฟอรัสโดยสิ่งมีชีวิตในดินที่เกิดขึ้นเพียงชั่วคราว ในกรณีที่มีการเพิ่มวัสดุซึ่งมีสัดส่วนของอินทรีย์คาร์บอนต่ออินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงลงไปในดิน เนื่องจากจุลินทรีย์ดินมีการดูดใช้อนินทรีย์ฟอสฟอรัสในรูปที่ใช้ประโยชน์ได้ง่ายไปใช้เพื่อการเจริญเติบโต และย่อยสลายวัสดุต่าง ๆ เหล่านั้น ในทางกลับกันการแปรสภาพจากอินทรีย์ฟอสฟอรัสไปเป็นอนินทรีย์ฟอสฟอรัสนั้นเรียกว่าเกิดกระบวนการมินเนอรัลไลเซชัน เป็นกระบวนการที่มีการปลดปล่อยฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ออกมาสู่ดิน

$$\text{Organic P} \underset{\text{immobilization}}{\overset{\text{mineralization}}{\rightleftharpoons}} \text{inorganic P } (H_2PO_4^-, HPO_4^{2-})$$

การเกิดกระบวนการมินเนอรัลไลเซชันในดินนั้น ถูกควบคุมด้วยหลายปัจจัย ได้แก่ ระดับพีเอชของดิน ความชื้น อุณหภูมิ โดยปัจจัยเหล่านี้เกี่ยวข้องโดยตรงกับการเจริญเติบโตและการทำงานของจุลินทรีย์ดิน นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณอินทรีย์ฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน มีผลต่อการเกิดกระบวนการมินเนอรัลไลเซชันในดินเป็นอย่างมาก โดยดินที่มีปริมาณอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดินสูง จะส่งผลให้เกิดกระบวนการมินเนอรัลไลเซชันสูงขึ้นตามไปด้วย (Sharpley, 1985 อ้างโดย Tisdale *et al*., 1993) ทั้งนี้เป็นเพราะดินที่มีอินทรีย์ฟอสฟอรัสในปริมาณมาก จะมี

สัดส่วนระหว่างอินทรีย์คาร์บอนและอินทรีย์ฟอสฟอรัสต่ำลง จนถึงระดับที่ต่ำกว่า 200:1 จุลินทรีย์ดินสามารถใช้อินทรีย์ฟอสฟอรัสจากวัสดุต่าง ๆ ในดินได้อย่างเพียงพอ ไม่จำเป็นต้องดูดใช้อนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่อยู่ในดิน หลังจากนั้นจุลินทรีย์ดินจะปลดปล่อย อนินทรีย์ฟอสฟอรัสออกมาพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป การที่จุลินทรีย์ดินหลายชนิดสามารถแปรสภาพของฟอสฟอรัส จากอินทรีย์ฟอสฟอรัสไปเป็นอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้นั้นอาศัยเอนไซม์ในกลุ่มฟอสฟาเทส ซึ่งในดินเขตร้อนโดยทั่วไป พบเอนไซม์ที่มีกิจกรรมได้ดีในสภาพที่เป็นกรดจึงเรียกเอนไซม์กลุ่มนี้ว่าแอซิดฟอสฟาเทส (acid phosphatase) โดยแอซิดฟอสฟาเทสเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส ทำลายพันธะระหว่าง C-O-P ของสารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัส ทำให้อนุมูลฟอสเฟตถูกปลดปล่อยออกมา (Marschner, 1991; Hysek and Sarapatka, 1998; Yadav and Tarafdar, 2001; Magboul and McSweeney, 1998; Hayes *et. al*., 2000) เอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสมีประสิทธิภาพในการทำงานที่พีเอช 3-5 และอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส (Magboul and McSweeney, 1998) เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามสารตั้งต้นที่เอนไซม์สามารถช่วยให้เกิดการปลดปล่อยฟอสฟอรัสเช่น เอนไซม์ฟอสโฟโมโนเอสเทอเรสและฟอสโฟไดเอสเทอเรส ซึ่งช่วยปลดปล่อยฟอสเฟตที่จับอยู่กับหมู่โมโนเอสเทอร์ และไดเอสเทอร์ ในสารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัส เช่น ฟอสโฟไลปิด และกรดนิวคลีอิค และเอนไซม์ฟีเทสหรือไมโอ- อินโนซิทอลเฮกซะฟอสเฟตฟอสโฟไฮโดรเลส (phytase หรือ myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolase) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการแปรสภาพอินโนซิทอลฟอสเฟต ซึ่งเป็นรูปของอินทรีย์ฟอสฟอรัสที่พบมากที่สุดในดิน ให้ออกมาเป็นหมู่ของอินโนซิทอลและหมู่ของฟอสเฟตที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป (ตารางที่ 1) (Sarapatka, 2003; Sylvia *et al*. 2005) เอนไซม์ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทส พบได้ในเนื้อเยื่อของพืช สัตว์ เชื้อรา และแบคทีเรีย โดยเอนไซม์เหล่านี้จะมีการปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ และเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์มีบทบาทต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารมากกว่าจากแหล่งของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในดิน เนื่องจากจุลินทรีย์ดินมีวงจรชีวิตสั้น และมีปริมาณมากที่สุดในดิน การผลิตและปลดปล่อยเอนไซม์จึงเกิดขึ้นได้มากกว่า (Sarapatka, 2003) โดย Rodriguez และ Fraga (1999) รายงานว่ามีจุลินทรีย์ดินหลายชนิดที่สามารถปลดปล่อยเอนไซม์ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทส โดยสามารถพบจุลินทรีย์เหล่านั้นได้ในบริเวณรอบรากพืช (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 เอนไซม์ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทสและปฏิกิริยาในการปลดปล่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดิน

เอนไซม์	ปฏิกิริยา
Phosphomonoesterases, Phosphodiesterases	phosphate ester+H_2O $\longrightarrow$ ROH + PO_4^{3-}
Phytase	inositol hexaphosphate + $6H_2O$ $\longrightarrow$ inositol + $6PO_4^{3-}$

ที่มา : ดัดแปลงจาก Sarapatka, 2003

ตารางที่ 2 การปลดปล่อยเอนไซม์ของแบคทีเรียบางชนิดเพื่อช่วยในการละลายฟอสฟอรัส

Bacterial strain	Substrate	Enzyme type
Pseudomonas fluorescens	Non-specific	Acid phosphatase
Burkholderia cepacia	Non-specific	Acid phosphatase
Citrobacter freundi	Non-specific	Acid phosphatase
Proteus mirabilis	Non-specific	Acid phosphatase
Bacillus subtilis	Inositol phosphate	Phytase
Pseudomonas putida	Inositol phosphate	Phytase
P. mendocina	Inositol phosphate	Phytase

ที่มา : ดัดแปลงจาก Rodriguez และ Fraga (1999)

2.4 ผลของแคตไอออนบางชนิดต่อกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส

แคตไอออนมีความสำคัญต่อเซลล์ของจุลินทรีย์เนื่องจาก จุลินทรีย์จะนำแคตไอออนไปสร้างเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ แต่บางครั้งพบว่าแคตไอออนบางชนิดไม่ได้เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ใด ๆ เลย แต่มีหน้าที่ช่วยหรือกระตุ้นให้ปฏิกิริยาหรือกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์เป็นไปอย่างปกติ (สมศักดิ์, 2528) การที่จุลินทรีย์ได้รับแคตไอออนในปริมาณที่เหมาะสมช่วยให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เป็นไปอย่างปกติ เช่นเดียวกันกับเชื้อ *Rhizobium trifolii* ที่เลี้ยงในอาหารสูตร defined medium พีเอช 5.5 และ 6.0 แม้ว่าจะมีการเพิ่มแคลเซียมลงไป 2.0 และ 40.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็ไม่ได้ทำให้จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของจุลินทรีย์เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอาหารสูตรนี้มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณที่

เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้ออยู่แล้ว เมื่อใส่เพิ่มเติมลงไปจึงไม่มีการตอบสนอง (Wood and Cooper, 1984) ในขณะที่เชื้อ *Bradyrhizobium* sp. สายพันธุ์ SEMIA 6144 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร minimal saline medium พีเอช 5 กลับมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเติมแคลเซียมไอออนลงไป 204 มิลลิกรัมต่อลิตร (Maccio *et al*., 2002) สำหรับแมงกานีสมีรายงานว่า แมงกานีสความเข้มข้น 22.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วยให้กิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสที่ปลดปล่อยจากรากของถั่ว lupin และมะเขือเทศเกิดได้รวดเร็วขึ้น 10 เปอร์เซ็นต์ (Minggang, 1997) และรายงานของ Bozzo และคณะ (2004) พบว่าเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสที่อยู่ในเซลล์ของมะเขือเทศจะทำงานได้รวดเร็วขึ้น 130 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มี $MnCl_2$ อยู่ 54.9 มิลลิกรัมต่อลิตร

เฟอรัสเป็นแคตไอออนอีกชนิดหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญต่อกิจกรรมของเอนไซม์ แอซิดฟอสฟาเทส โดยเฟอรัสไอออนมีบทบาทสำคัญต่อการสร้างเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส ทั้งนี้เฟอรัสอาจเป็นองค์ประกอบสำคัญในโครงสร้างของเอนไซม์ เช่นเดียวกับเอนไซม์เพอร์เพิลแอซิดฟอสฟาเทส (purple acid phosphatase) ซึ่งสามารถพบได้ทั้งในพืช สัตว์ และเชื้อรา พบว่ามีธาตุซึ่งเป็นโลหะอยู่คู่กัน 2 โมเลกุลตรงตำแหน่งที่เป็นจุดศูนย์กลางของบริเวณที่เป็น active site โดยในพืชเช่น ถั่วแดง และถั่วเหลืองจะมีโมเลกุลของ Fe^{3+}- Zn^{2+} มันฝรั่งจะมี Fe^{3+}- Mn^{2+} ส่วน เพอร์เพิลแอซิดฟอสฟาเทสที่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะมีโมเลกุลของ Fe^{3+} - Fe^{2+} เป็นองค์ประกอบ (Schenk *et al*., 1999) หรือเฟอรัสไอออนอาจทำหน้าที่เป็นโคแฟคเตอร์ช่วยให้กิจกรรมของเอนไซม์เกิดได้เร็วขึ้น (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

อะลูมินัมเป็นธาตุที่เป็นพิษต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิตโดยส่วนใหญ่ มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อได้รับอะลูมินัมเพิ่มขึ้น โดยอะลูมินัมความเข้มข้นมากกว่า 1.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ *Pseudomonas* sp. มีการเจริญเติบโตลดลง (lllmer and Schinner, 1999) เช่นเดียวกับ *Rhizobium trifilii* ที่พบว่าอะลูมินัมระดับ 1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวที่เลี้ยงในอาหารสูตร defined medium พีเอช 5.5 ตั้งแต่ระยะ log phase (Wood and Cooper, 1984) นอกจากนี้พบว่าอะลูมินัมความเข้มข้นสูงกว่า 8.1 มิลลิกรัมต่อลิตรยับยั้งการเคลื่อนที่ของ *Pseudomonas* sp. และ *Arthrobacter* sp. (lllmer and Schinner, 1997) เช่นเดียวกับรายงานของ Minggang (1997) พบว่าอะลูมินัมความเข้มข้น 22.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสที่ปลดปล่อยจากรากของถั่ว lupin และมะเขือเทศ และจากรายงานของ Schmohl และ Horst (2002) ที่ศึกษาผลของอะลูมินัมต่อกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสที่ปลดปล่อยจากรากข้าวโพด พบว่าอะลูมินัมไม่ได้มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์โดยตรง แต่อะลูมินัมทำให้เอนไซม์ถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ได้น้อยลง โดยปริมาณโปรตีนที่ปลดปล่อยออกมาจากรากข้าวโพดใน ระยะเวลา 1 ชั่วโมงมีค่าลดลง แต่เมื่อสกัดเอาเฉพาะเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส

ไปทดสอบหาค่า specific activity ของเอนไซม์พบว่าไม่ได้มีความแตกต่างกันระหว่างทรีตเมนต์ที่ใส่และไม่ใส่อะลูมินัม ทั้งนี้อาจเนื่องจากอะลูมินัมยับยั้งการเคลื่อนที่ออกนอกเซลล์ของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส และโปรตีนอื่น ๆ โดยอะลูมินัมไปจับกับสารเพคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบกับผนังเซลล์พืช ทำให้ช่องว่างที่ผนังเซลล์มีขนาดลดลง โมเลกุลของสารที่มีขนาดใหญ่ อย่างเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส และโปรตีนอื่น ๆ ซึมผ่านออกมาได้น้อยลง

2.5 การใช้จุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มความเป็นประโยชน์ของอินทรีย์ฟอสฟอรัส

จุลินทรีย์ดินที่อยู่บริเวณรอบรากพืชมีการปลดปล่อยสารบางอย่างเช่น กรดอินทรีย์หรือเอนไซม์บางชนิดออกมาเพื่อช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน ซึ่งการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ จะทำให้ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปอนินทรีย์ฟอสฟอรัส เช่น อะลูมินัมฟอสเฟต ไอรอนฟอสเฟต แคลเซียมฟอสเฟต และฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตออกมาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ได้มากขึ้น เนื่องจากการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ของจุลินทรีย์ดินส่งผลให้พีเอชลดลง จึงช่วยให้อนินทรีย์ฟอสฟอรัสเหล่านี้ละลายและปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาได้ แต่ถ้าจุลินทรีย์ดินมีการปลดปล่อยเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสจะช่วยให้อินทรีย์ฟอสฟอรัสเปลี่ยนเป็นรูปที่พืชสามารถใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น โดยเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการแปรสภาพของอินทรีย์ฟอสฟอรัสทำให้อนุมูลฟอสเฟตถูกปลดปล่อยออกมา สำหรับดินในเขตร้อนโดยทั่วไปฟอสฟอรัสส่วนใหญ่อยู่ในรูปอินทรีย์ฟอสฟอรัส จึงมีการศึกษาถึงจุลินทรีย์ดินที่มีความสามารถในการปลดปล่อยเอนไซม์ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทส เพื่อช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดินกันมากขึ้น เช่นจากการศึกษาของ Tarafdar และคณะ (2001) ซึ่งศึกษาผลของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสในการละลายฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปไฟติน (phytin) เลซิติน (lecetin) และกลีเซอโรฟอสเฟต (glycerophosphate) โดยเปรียบเทียบระหว่างแอซิดฟอสฟาเทสที่ปลดปล่อยจากรากของข้าวฟ่างและจากเชื้อรา *A. niger* โดยปลูกข้าวฟ่างในสารละลายเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ในส่วนของเชื้อราเลี้ยงไว้ในอาหาร potato dextrose agar แล้วย้ายลงอาหารเหลวสูตร Czapek Dox เลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 21 วัน แยกเอาส่วนของสารละลายและส่วนของเส้นใยออกจากกัน นำส่วนของสารละลายที่ได้จากข้าวฟ่างและเชื้อราไปทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอส-ฟาเทสเริ่มต้น เจือจางสารละลายให้ได้เอนไซม์ที่มีกิจกรรมเท่ากับ 5.4 และ 10.8 x 10^{-5} เอนไซม์ยูนิต นำไปใส่ในขวดซึ่งมีสารละลายฟอสฟอรัสในรูปของไฟติน เลซิติน และกลีเซอโร-ฟอสเฟต (ฟอสฟอรัส 500 มิลลิกรัมต่อลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นตรวจสอบปริมาณฟอสฟอรัสในรูปของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสหลังจากบ่มไว้ พบว่าปริมาณของ อนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่ถูกปลดปล่อยออกมาเพิ่มสูงขึ้น เมื่อบ่ม

กับเอนไซม์ที่มีกิจกรรมสูงกว่า และเอนไซม์ที่ได้จากเชื้อราสามารถปลดปล่อยฟอสฟอรัสได้สูงกว่าเอนไซม์จากรากข้าวฟ่าง

Tarafdar และ Claassen (1988) ศึกษาการละลายฟอสฟอรัสโดยเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส ในดินที่ปลูกพืช 4 ชนิด คือ ถั่วคลุม ข้าวบาร์เล่ย์ ข้าวโอ๊ต และข้าวสาลี โดยปลูกพืชในดิน และเติมอนินทรีย์ฟอสฟอรัส และอินทรีย์ฟอสฟอรัสในรูปเลซิติน โซเดียมกลีเซอโรฟอสเฟต และไฟติน ปริมาณ 20 มิลลิกรัมต่อดิน 100 กรัม หลังปลูกพืช 40 วัน เก็บดินเพื่อวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และทดสอบประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ แอซิดฟอสฟาเทส วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในต้นพืชและนับจำนวนของเชื้อราและแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น พบว่าในทรีตเมนต์ที่มีการใส่อินทรีย์ฟอสฟอรัสมีปริมาณเชื้อราและแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้นและประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสเพิ่มมากขึ้น เมื่อเทียบกับชุดที่ไม่มีการใส่อินทรีย์ฟอสฟอรัส แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์มีส่วนช่วยในการปลดปล่อยฟอสฟอรัส โดย จุลินทรีย์ดินที่อยู่บริเวณรอบรากพืชมีการปลดปล่อยเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสออกมา เพื่อเปลี่ยนอินทรีย์ฟอสฟอรัสเป็นอนินทรีย์ฟอสฟอรัส รวมทั้งน้ำหนักแห้งต้นพืชและปริมาณฟอสฟอรัสที่สะสมในต้นพืชทุกชนิดเพิ่มสูงขึ้นในทุกชุดที่มีการใส่อินทรีย์ฟอสฟอรัส

เอนไซม์ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทสที่ผลิตโดยจุลินทรีย์นั้นมีทั้งส่วนที่ปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ (extracellular) และส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ (intracellular) เอนไซม์ทั้งสองส่วนนี้อาจมีประสิทธิภาพในการทำงานที่แตกต่างกัน Tarafdar *et al.* (2002) จึงทดสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสที่ผลิตโดยเชื้อราจำนวน 6 สายพันธุ์ โดยเปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์และเอนไซม์ที่มีการปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ ในการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากสารละลายไฟตินและกลีเซอโรฟอสเฟต โดยพบว่าเอนไซม์ที่ปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ สามารถปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากสารละลายไฟตินออกมาได้มากกว่าเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ ในขณะที่ฟอสฟอรัสในรูปกลีเซอโรฟอสเฟตสามารถปลดปล่อยออกมาได้ใกล้เคียงกัน โดยการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจะสูงขึ้นตามกิจกรรมของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น การที่ จุลินทรีย์ปลดปล่อยเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ส่งผลดีต่อการละลายฟอสฟอรัสในดิน เนื่องจากฟอสฟอรัสในส่วนที่จุลินทรีย์ละลายออกมานั้นสามารถเป็นประโยชน์ต่อพืชได้ทันที

โดยปกติแล้วถ้าจุลินทรีย์ดินอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์อย่างเพียงพอ พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทสในบริเวณนั้นลดลง ซึ่งจากการศึกษาของ Gargova และ Sariyska (2003) โดยเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus niger* ในอาหารที่มีฟอสฟอรัสในรูปไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) อยู่ในระดับ 0-40 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัส และนำมาทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสที่ พีเอช 5.0

และ 2.5 และชั่งน้ำหนักแห้งของเส้นใยเชื้อราหลังจากเลี้ยงไว้เป็นเวลา 7 วัน พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสลดลงเมื่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสสูงกว่า 20 มิลลิกรัม ทั้งในระดับพีเอช 5.0-2.5 ในขณะที่น้ำหนักแห้งของเส้นใยเชื้อราเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีฟอสฟอรัสสูงขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก

เมื่อนำจุลินทรีย์ดินที่สามารถผลิตเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสไปใส่ลงดินร่วมกับการปลูกถั่วคาโนลาในกระถางซึ่งมีดิน 2.5 กิโลกรัม มีฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ 20 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัม โดยเปรียบเทียบระหว่างการใส่หินฟอสเฟต 90 กิโลกรัมฟอสฟอรัสต่อเฮกแตร์ ปุ๋ยทริปเปิลซุปเปอร์ฟอสเฟต 22.5 และ 45.0 กิโลกรัมฟอสฟอรัสต่อ เฮกแตร์ และการใส่เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสจำนวน 7 สายพันธุ์ พบว่ามีแนวโน้มที่เมล็ดคาโนลาซึ่งปลูกโดยการใช้จุลินทรีย์มีฟอสฟอรัสสะสมอยู่ในระดับที่สูงกว่าการใช้หินฟอสเฟต และชุดควบคุมที่ไม่มีการใส่ปุ๋ย แต่น้อยกว่าการใช้ปุ๋ยทริปเปิลซุปเปอร์ฟอสเฟตทั้ง 2 ระดับ เช่นเดียวกันกับน้ำหนักฝักและเมล็ดที่มีแนวโน้มว่าจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับเชื้อ เนื่องจากผลของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสที่เชื้อปลดปล่อยออกมาช่วยให้ฟอสฟอรัสถูกปลดปล่อยออกมาจากอินทรีย์ฟอสฟอรัสในดิน ถั่วจึงสามารถนำฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้ (Freitas *et al*., 1997)

3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

3.1 เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทสจากบริเวณรอบรากข้าวที่ปลูกในดินกรดจัด

3.2 เพื่อทดสอบผลของพีเอชต่อกิจกรรมของเอนไซม์แอซิดฟอสฟาเทส

3.3 เพื่อทดสอบผลของแคตไอออนบางชนิดต่อการเจริญเติบโต กิจกรรมของเอนไซม์และการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากโซเดียมไฟเทตของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

3.4 เพื่อทดสอบผลของเชื้อจุลินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและการดูดใช้ฟอสฟอรัสของข้าว เมื่อได้รับอินทรีย์ฟอสฟอรัสในสภาพห้องปฏิบัติการ