

รายงานการวิจัย

ชื่อโครงการ: รายงานผลการวิจัยปีที่ 3: การใช้ถ่านเป็นสารปรับปรุงดินเสื่อมโทรม และการศึกษา
หน้าที่และโครงสร้างประชากรราผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างคุณภาพ

คณะผู้วิจัย: ปัทมา วิตยากร, สมชาย บุตรนันท์ และ ภาณุเดชา กมลมานิตย์

หน่วยงาน: มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ทุนวิจัย: ทุนอุดหนุนทั่วไปมหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปีงบประมาณ 2554

ระยะเวลา: 2553 - 2554

บทคัดย่อ

การวิจัยส่วนแรกเป็นการศึกษาการใช้ถ่านเป็นสารปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดิน โดยดินที่ใช้ในการศึกษานี้มี 2 ชนิด ที่มีเนื้อดินและคุณสมบัติทางแร่วิทยาที่แตกต่างกัน คือชุดดินโคราช (Khorat series: isohyperthermic, Typic (Oxyaquic) Kandistults) ซึ่งเป็นดินเนื้อทรายร่วน และชุดดินวาฮีเยวา (Wahiawa series: clayey, kaolinitic, isohyperthermic, Tropeptic Eustrtox) ซึ่งเป็นดินเนื้อเหนียว ส่วนถ่านที่ใช้ศึกษาเป็นสารปรับปรุงดินผลิตจากวัตถุดิบคือส่วนปลายของไม้ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) ที่เหลือจากการตัดส่งโรงงานทำกระดาษแต่มีวิธีการเผาที่แตกต่างกัน ชนิดแรกเป็นถ่านที่ผลิตโดยวิธีพื้นบ้านในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (TK-biochar) โดยถ่านที่ได้รับการคัดเลือกนั้นผลิตโดยกลุ่มผู้เผาถ่านที่เป็นสมาชิกของสวนปามัญจาศิริ อำเภอมัญจาศิริ จังหวัดขอนแก่น และชนิดที่สองเป็นถ่านที่ถูกผลิตด้วยวิธี flash carbonization techniques (FC-biochar) ซึ่งเป็นวิธีการเผาที่ให้ความร้อนอย่างรวดเร็ว โดยมีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ $25^{\circ}\text{C}/\text{min}$ จนถึงอุณหภูมิ 350°C โดยให้คงอุณหภูมิไว้ที่ 350°C เป็นเวลา 1.4 นาที ซึ่งเป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ Hawaii Natural Energy Institute มหาวิทยาลัยฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา ดำเนินแผนการทดลองแบบ factorial in RCBD (randomized complete block design) ประกอบด้วย 3 ปัจจัยการทดลอง คือ 1) ดิน 2 ชนิด คือ ชุดดินโคราชและวาฮีเยวา, 2) ถ่าน 2 ชนิด คือ TK-biochar และ FC-biochar) และ 3) อัตราถ่าน 5 ระดับ คือ ไม่ใส่ถ่านและไม่ใส่ปุ๋ย, ไม่ใส่ถ่านแต่ใส่ปุ๋ย, ใส่ถ่าน 1%, ใส่ถ่าน 2% และใส่ถ่าน 4% ของน้ำหนักดิน และส่วนที่สองเป็นการศึกษาระยะยาวของดินที่มีการใส่สารอินทรีย์ต่างคุณภาพต่อการเปลี่ยนแปลงและการสะสมอินทรีย์วัตถุในดินทราย ในสถานีทดลองสำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดขอนแก่น ตำบลท่าพระ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ซึ่งมีการใส่สารอินทรีย์คุณภาพ(องค์ประกอบทางเคมี) แตกต่างกัน 5 กรรมวิธีทดลอง คือ กรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่มีการใส่สารอินทรีย์, ซากคั้นใบถั่วลิสง(groundnut stover) ซึ่งจัดว่ามีคุณภาพสูง กล่าวคือมี N สูงแต่มีลิกนินและโพลีฟีนอลต่ำ, ใบ+ก้านมะขามร่วง (tamarind) จัดว่ามีคุณภาพปานกลาง (มี N, ลิกนินและโพลีฟีนอลปานกลาง), ใบพลวงร่วง (dipterocarp) จัดว่ามีคุณภาพต่ำ (มี N ต่ำ แต่มี

ลิกนินและโพลีฟีนอลสูง) และฟางข้าว (rice straw) ซึ่งมีคุณภาพที่แตกต่างออกไป กล่าวคือ มีองค์ประกอบทั้งสามต่ำ แต่มีเซลลูโลสสูงที่สุด ในอัตรา 10 ตัน/เฮกตาร์ โดยใส่ทุกปี ปีที่ศึกษานี้เป็นปีที่ 16 โดยส่วนนี้จะเป็นการศึกษาหน้าที่ของจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิคเอนไซม์และโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ โดยเน้นที่เชื้อราจากการใช้เทคนิคชีวโมเลกุลที่ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างคุณภาพ

จากการศึกษาการใช้ถ่านเป็นสารปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดินนั้น คุณสมบัติของดินหลังปลูกพบว่า ดินที่มีการผสมคลุกเคล้ากับ FC-BC ทั้งในการปลูกข้าวโพดครั้งที่ 1 และ 2 มีค่า pH เพิ่มขึ้นตามอัตราของถ่านที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ส่วนดินที่มีการผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC นั้นเริ่มแสดงออกในการปลูกข้าวโพดครั้งที่ 2 อย่างไรก็ตามค่า pH ของดินลดลงเมื่อมีการใส่ปุ๋ย ส่วนปริมาณ P ในดิน เพิ่มขึ้นไปตามอัตราของถ่านที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ความหนาแน่นรวมของดินลดลงตามอัตราของถ่านที่เพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตของข้าวโพด (ความสูง) ที่ปลูกในครั้งที่ 1 นั้น ทั้งชุดดินโคราชและชุดดินวาเหียวไม่ได้รับอิทธิพลจากชนิดและอัตราถ่าน แต่จะแสดงผลในการปลูกพืชครั้งที่ 2 พบว่าชุดดินโคราชและชุดดินวาเหียว ที่ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC และ FC-BC ในอัตรา 1, 2 และ 4% โดยน้ำหนัก ไม่ได้มีความสูงแตกต่างกัน แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ความสูงของข้าวโพดในการวัดครั้งสุดท้ายทั้ง 2 ชุดดิน มีความสูงมากกว่าดินที่ไม่ได้รับถ่าน แม้จะได้รับปุ๋ยในอัตราเดียวกัน การตอบสนองของพืชด้านผลผลิตมวลชีวภาพ (biomass) หรือน้ำหนักแห้งของข้าวโพด ในการปลูกครั้งที่ 1 นั้น น้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ปลูกในดินทั้ง 2 ชุดดินไม่ได้ตอบสนองต่อชนิดและอัตราของถ่าน และถ่านไม่ได้มีอิทธิพลในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของชุดดินทั้ง 2 มากนัก ซึ่งจะเห็นได้จาก pH และปริมาณ P ของดินระหว่างดินที่ใส่และไม่ใส่ถ่าน ไม่ได้แตกต่างกัน ยกเว้นอัตรา 4% ส่วนการปลูกพืชทดสอบครั้งที่ 2 ทั้ง 2 ชุดดินที่ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC และ FC-BC ในอัตราต่างๆ ทำให้น้ำหนักแห้งของข้าวโพดมีมากกว่าดินที่ไม่ได้ผสมคลุกเคล้ากับถ่าน ผลดังกล่าวอาจรับอิทธิพลของคุณสมบัติของดินที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งทางด้านกายภาพ (เช่น ความหนาแน่นรวม), เคมี (pH, CEC, และความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช) และชีวภาพ (การเปลี่ยนแปลงทางด้านมวลชีวภาพและโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์) อันเนื่องมาจากอิทธิพลของถ่าน อย่างไรก็ตาม อิทธิพลของชนิดและอัตราถ่านทั้งในชุดดินโคราชและชุดดินวาเหียวไม่ได้มีทั้งต่อคุณสมบัติของดินและการเจริญเติบโตของข้าวโพดในการปลูกครั้งที่ 1 แต่จะมีผลชัดเจนในการปลูกพืชครั้งที่ 2

การศึกษาหน้าที่ของจุลินทรีย์ที่ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างคุณภาพภายใต้สภาวะการบ่ม (incubation study) ได้ศึกษาเอนไซม์ 4 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ invertase, เอนไซม์ β -glucosidase, เอนไซม์ peroxidase และเอนไซม์ phenoloxidase ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายองค์ประกอบอินทรีย์ที่ต้านทานการย่อยสลายได้ต่างกัน ในสารอินทรีย์ต่างคุณภาพทั้งในสารอินทรีย์ที่ใส่เข้าไปใหม่และในอินทรีย์วัตถุที่สะสมอยู่เดิมในดินอยู่แล้ว พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ invertase มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในทุกกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ทั้ง C-soil (ดินที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์) และ

N-soil (ดินที่มีการใส่สารอินทรีย์ต่างคุณภาพติดต่อกันเป็นระยะเวลา 16 ปี) โดยกรรมวิธี NTM (ดินที่มีการใส่ใบ+ก้านมะขามร่วงต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี) มีกิจกรรมของเอนไซม์ invertase สูงที่สุดตามด้วยกรรมวิธี NTM+TM (ดินที่มีการใส่ใบ+ก้านมะขามร่วงต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี และใส่ใบมะขามร่วงเข้าไปใหม่) ในกรรมวิธี C-soil (ดินที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์) ที่มีการใส่สารอินทรีย์เพิ่มเข้าไปใหม่ พบว่ากรรมวิธี C+GN (ดินที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ และใส่ซากถั่วลิสงเข้าไปใหม่) มีกิจกรรมของเอนไซม์ invertase สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการใส่สารอินทรีย์ชนิดอื่น เช่นเดียวกับกิจกรรมของ เอนไซม์ β -glucosidase ในทุกกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ทั้ง C-soil และ N-soil มีเอนไซม์ β -glucosidase เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์เข้าไปใหม่ ยกเว้นกรรมวิธี NTM ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด และมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ ขณะที่กรรมวิธี C soil มีกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำสุด กิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase พบว่าในกรรมวิธี C soil ที่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น โดยสูงที่สุดในกรรมวิธี C+TM (ดินที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ และใส่ใบ+ก้านมะขามร่วงเข้าไปใหม่) ตามด้วยกรรมวิธี C+RS (ดินที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ และใส่ซากฟางข้าวเข้าไปใหม่), C+GN และ C+DP (ดินที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ และใส่ใบพลวงเข้าไปใหม่) การใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ใน N-soil ส่วนใหญ่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง ยกเว้นกรรมวิธี NRS+RS ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase เพิ่มขึ้น ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase ในกรรมวิธี C soil ที่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ พบว่ากรรมวิธี C+DP มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด ตามด้วยกรรมวิธี C+GN, C+TM และ C+RS ส่วนกรรมวิธี N-soils ที่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่พบว่ากรรมวิธี NGN+GN (ดินที่มีการใส่ซากถั่วลิสงต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี และใส่ซากถั่วลิสงเข้าไปใหม่) มีกิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase สูงสุด ตามด้วยกรรมวิธี NDP+DP (ดินที่มีการใส่ใบพลวงต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี และใส่ใบพลวงเข้าไปใหม่), NTM+TM (ดินที่มีการใส่ใบมะขามร่วงต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี และใส่ใบมะขามร่วงเข้าไปใหม่) และ NRS+RS (ดินที่มีการใส่ซากฟางข้าวต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี และใส่ซากฟางข้าวเข้าไปใหม่) ทั้งนี้กรรมวิธีที่ใส่สารอินทรีย์อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 16 ปี แต่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ (N soil) พบว่ากรรมวิธี NDP มีกิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase สูงสุด ตามด้วยกรรมวิธี NGN, NTM และ NRS

การศึกษาประชากรจุลินทรีย์ โดยเน้นที่เชื้อราที่ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างคุณภาพในดินเนื้อทรายที่มีการใส่สารอินทรีย์เป็นเวลายาวนาน 16 ปี โดยใช้เทคนิคชีวโมเลกุล ได้แก่ real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) และ conventional polymerase chain reaction (PCR) ในการเพิ่มจำนวนชิ้นยีน (gene copies) พบว่า การใส่สารอินทรีย์คุณภาพต่างกันต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรรา โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใส่ใบ+ก้านมะขาม (NTM) มีการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของประชากรราแตกต่างกรรมวิธีอื่นอย่างมี

นัยสำคัญ โดยวิธีวิเคราะห์รูปแบบความหลากหลายของยีน (terminal restriction fragment length polymorphism-T-RFLP) จากตัวอย่างที่ใช้เอ็นไซม์ 2 ชนิดในการตัดจำเพาะ คือ MSP I และ HAE III ในขณะที่ผลของการวิเคราะห์ similarities ที่ได้จากการวิเคราะห์ non-metric multidimensional scaling (nMDS) โดยวิธี Bray-Curtis จากการใช้เอ็นไซม์ตัดจำเพาะ คือ MSP I และ HAE III ชี้ให้เห็นว่าประชากรราในกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ (N-soils) มีความแตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C-soil) ผลจากการใช้เอ็นไซม์ MSP I ในการตัดจำเพาะพบว่ากรรมวิธี NTM มีการเปลี่ยนแปลงของประชากรรามากที่สุด ขณะที่การใช้เอ็นไซม์ HAE III ในการตัดจำเพาะพบว่ากรรมวิธี NDP มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรรามากที่สุด ตามด้วยกรรมวิธี NTM เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C)

Research report

- Project title:** Report of the 3rd year of the project: The use of biochar as a soil amendment for degraded soils and studies on function and community structure of fungi decomposers of organic residues contrasting in quality continuously in the long term.
- Researchers:** Patma Vityakon, Somchai Butnun, and Bhanudacha Kamolmanit
- Affiliation:** Khon Kaen University
- Funding:** Government research grant to Khon Kaen University, FY 2010
- Period:** 2009-2010

Abstract

The first part of the studies is the investigation of the use of biochar as a soil amendment. Two soils which had contrasting textures and mineralogies, were employed including Korat series (isohyperthermic, Typic (oxyaquic) Kandistults) a loamy-sand textured soil, and Wahiawa series (clayey, kaolinitic, isohyperthermic, Tropeptic Eustrtox) a clayey textured soil. The two types of biochar used were made from eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) wood which was the part not used as feedstock for paper making, i.e. top 3 meter end of a eucalyptus tree. The two biochar types had different pyrolysis methods. One was produced in traditional method of Northeast Thailand, i.e. traditional kiln (TK), designated as TK-biochar, and the other employed flash carbonization (FC) techniques designated as FC biochar. The FC technique based on rapid temperature increase 25⁰C/min during pyrolysis to the highest temperature of 350⁰C which was maintained for 1.4 minutes. This technique was developed by Hawaii Natural Energy Institute, University of Hawaii. The experiment was factorial with 3 factors including 2 soils types, 2 biochar types and 5 rates of biochar and chemical fertilizers, i.e. No biochar and no fertilizers, no biochar+fertilizers, 1% soil weight+, 2%+, and 4% + fertilizers. The second part of the studies involves a long-term experiment in a research station (Office of Agriculture in the Northeast, Tha Phra subdistrict, Muang district, Khon Kaen province) which organic residues were applied yearly. There were 5 organic residue treatments of different residue quality (biochemical composition): Control (no residue application), groundnut stover (high quality residue with high contents of N but low lignin and polyphenols; tamarind leaf(+

petiole) litter (intermediate quality with medium contents of N, lignin and polyphenols), dipterocarp leaf litter (low quality with low N but high lignin and polyphenol contents), and rice straw which had different quality, i.e., it had low contents of all the three biochemical components but it had the highest cellulose content. The residues were applied at the rate 10 t/ha yearly. The studies of microbial functions through enzyme analyses and microbial (fungal) community structure, performing decomposition of the contrasting quality residues, reported herein, made use of soils from year 16 of the long-term experiment.

The study on the use of biochar as a soil amendment showed that after harvesting of corn of both crop 1 and 2, soils treated with FC-BC showed significant increases in pH over the control. Meanwhile, soils treated with TK-BC showed soil pH increases over the control only in crop 2. However, pH decreased under treatments with added fertilizer. Phosphorus (P) contents increased while bulk density of soils decreased with increasing biochar rates. Corn heights in crop 1 in both Korat and Wahiawa soils were not significantly affected by types and rates of biochars, but in crop 2 both soils treated with TK- and FC-BC at 1, 2, and 4% had higher heights than the controls. Corn biomass or dry weight in crop 1 in both soils did not significantly respond to types and rates of biochars. In addition, biochars did not significantly affect properties of both soils as indicated by soil pH and P contents which were not significantly different between those treated with biochars and the control. This was with the exception of the 4% rate of crop 2. In crop 2, both soils treated with TK- and FC-BC at various rates resulted in higher corn biomass than the control. This was likely due to changes in soil properties be it physical, such as bulk density, chemical (pH, CEC, and nutrient availability) and biological (changes in microbial biomass and population), as a result of BC application. However, influence of BC types and rates on properties of both Korat and Wahiawa soils were not seen in crop 1 but it was clearly shown in crop 2.

Studies on microbial function in decomposition of organic residues contrasting in quality under incubation experiment conditions were through investigations of 4 enzymes including invertase, β -glucosidase, peroxidase and phenoloxidase. These are enzymes involved in degrading organic compounds varying in resistance to decomposition. These organic compounds were constituents of either newly added organic residues or indigenous soil organic matter. It was found that invertase activity tended to increase in all newly applied organic residues treatments, i.e., in C-

soil (soil without organic residue inputs) and N-soil (soil with 16 years application of organic residues). NTM (the soil treated with tamarind leaf(+petiole) litter for 16 years) had the highest invertase activity followed by NTM+TM treatment (soil treated with tamarind leaf(+petiole) litter for 16 years plus newly added litter). In C-soil treatment which received newly added organic residues, it was found that C+GN (soil without organic residue application for 16 years but with newly added groundnut stover residue) had higher invertase activity compared with those that received the other organic residues. Similarly, β -glucosidase activity increased in all treatments receiving newly added organic residues in both C-soil and N-soil relative to those without newly added residues. This was with the exception of NTM treatment which had the highest activity of the enzyme but it decreased when new residue was applied. Meanwhile, C-soil treatment had the lowest β -glucosidase activity. Peroxidase activity increased in C-soil treatments that received newly added residues. The highest activity was found in C+TM treatment (soil that had never received organic residues before new tamarind litter was applied) followed by C+RS (soil that had never received organic residues before new rice straw residue was applied), C+GN and C+DP (soil that had never received organic residues before new dipterocarp leaf litter was applied). Addition of fresh residues into the N-soil brought about decreases in peroxidase activities with the exception of NRS+RS. Meanwhile, phenoloxidase activities in C soil receiving newly added residues increased and the highest increase was found in C+DP followed by C+GN, C+TM, and C+RS. As for the N-soils receiving newly added residues, NGN+GN (soil that had been receiving GN residues continuously for 16 years + newly added residues) had the highest phenoloxidase activities followed by NDP+DP (soil that had been receiving DP residues continuously for 16 years + newly added residues), NTM+TM (soil that had been receiving TM residues continuously for 16 years + newly added residues), and NRS+RS (soil that had been receiving RS residues continuously for 16 years + newly added residues). As for the N soil treatments (those that had been receiving residues continuously for 16 years without newly added residues), the NDP had the highest phenoloxidase activity followed by NGN, NTM, and NRS.

Microbial community studies emphasizing on fungal communities which decompose contrasting quality organic residues in a sandy soil treated with organic residues continuously for 16 years, employed molecular techniques including real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) and conventional PCR in order to multiply gene copies. It was found that applications of contrasting

quality organic residues continuously for 16 years led to changes in fungal community structure. This is especially so under NTM treatment which showed significant differences in fungal species and fungal abundance relative to the other treatments. This was determined by employing the technique “terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP)” which employed two kinds of enzymes, MSP I and HAE III digestion-based T-RFLP. Analysis of similarity by Bray-Curtis combined with non-metric multidimensional scaling (nMDS) based on two enzymes digestion confirmed the clear separation of fungal community structure in C- and N-soils. The digestion of MSP I revealed a clearest separation of fungal community structure in NTM soil followed by NDP soil as compared to control soil. Meanwhile, the digestion of HAE III showed the clearest separation of fungal community structure under NDP soil followed by NTM soil as compared to control soil.