บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาการใช้ถ่านเป็นสารปรับปรุงดิน

4.1.1 คุณสมบัติของดินหลังปลูก

อิทธิพลของถ่านต่อ pH ของดิน แสดงผลชัดเจนในดินที่ผสมคลุกเคล้ากับถ่านที่ถูกผลิตด้วยวิธี flash carbonization techniques (FC-BC) ทั้งในการปลูกครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ส่วนดินที่ผสมคลุกเคล้ากับถ่านที่ผลิตโดยวิธีพื้นบ้านในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (TK-BC) นั้นเริ่มแสดงออกในการปลูกพืชครั้งที่ 2 ซึ่งพบว่าค่า pH ของดินได้เพิ่มขึ้นตามอัตราของถ่านที่เพิ่มขึ้นในดินที่ใส่ FC-BC (ตารางที่ 4.3) เนื่องจาก FC-BC มีปริมาณเถ้ามาก (ตารางที่ 4.2) เถ้าซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของถ่าน Ulery et al. (1993), Ohno and Erich (1994) และ Yuan et al. (2011) มีองค์ประกอบที่สำคัญคือ sylvite (KCl), calcite ($CaCO_3$) และ dolomite ($CaMg(CO_3)_2$ ซึ่งเป็นสารที่เพิ่ม pH ของดิน เป็นที่น่าสังเกตว่า ค่า pH ของดินลดลงเมื่อมีการใส่ปุ๋ย ตัวอย่างที่แสดงให้เห็นชัดเจนคือ ในดินที่มีการใส่ถ่านค่า pH ลดลงเมื่อมีการใส่ปุ๋ย ในการปลูกพืชครั้งแรกนั้น TK-BC ยังไม่มีอิทธิพลต่อค่า pH ของดิน อาจมีสาเหตุมาจากการที่ calcite และ dolomite ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเถ้าที่เผา ณ อุณหภูมิมากกว่า 500°C นั้นยังไม่มีผลต่อค่า pH โดย Ulery et al. (1993) พบว่า calcite ซึ่งเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำช้า อีกนัยหนึ่งคือ มีอิทธิพลต่อค่า pH ช้า จึงทำให้ TK-BC มีผลต่อค่า pH ในการปลูกครั้งที่ 2 (ตารางที่ 4.3) อย่างไรก็ตาม pH ได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอัตราถ่าน (ตารางที่ 4.3)

สำหรับ pH ของดินลดลงเมื่อมีการใส่ปุ๋ยนั้นได้รับอิทธิพลจากกระบวนการ nitrification ของสารประกอบแอมโมเนียม Barak et al. (1997) อธิบายเอาไว้ว่า เมื่อแอมโมเนียมไนเตรตที่เป็นองค์ประกอบของปุ๋ยถูกออกซิไดซ์โดยจุลินทรีย์และจะปลดปล่อย H^+ ออกมา ดังสมการ

$$NH_4NO_3 + 2O_2 \rightarrow 2H^+ + 2NO_3^- + H_2O$$

ปริมาณ P (ฟอสฟอรัส) ในดินทั้งสองชนิด ได้เพิ่มขึ้นไปตามอัตราของถ่านที่เพิ่มขึ้น ชี้ให้เห็นว่า P ที่เพิ่มขึ้นมาจากถ่าน ปริมาณ P ที่เพิ่มขึ้นตามอัตราถ่านนั้น ได้รับอิทธิพลจากเถ้า เนื่องจากเถ้าเป็นแหล่งที่สำคัญของ P โดย Yuan et al. (2011) พบว่า P เป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบหลักอีกธาตุหนึ่งของเถ้า และ P จะเพิ่มขึ้นในสัดส่วนเดียวกันกับปริมาณของเถ้าในถ่าน จากการทดลองนี้ จะเห็นได้ว่า TK-BC ซึ่งมีเถ้า 2.35% มีความเข้มข้นของ P เท่ากับ 106 mg kg^{-1} ในขณะที่ FC-BC ซึ่งมีเถ้า 3.85% มี P เท่ากับ 226 mg kg^{-1} (ตารางที่ 4.2) และปริมาณ P ในดินเพิ่มขึ้นตามอัตราของถ่านที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.3) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจว่า นอกจากถ่านเป็นแหล่งที่สำคัญต่อธาตุอาหารประจุบวก เช่น K, Mg และ Ca แล้ว ยังเป็นแหล่งที่สำคัญของ P ด้วย

ความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density; BD) ลดลงตามอัตราของถ่าน (ตารางที่ 4.3) เนื่องจากถ่านเป็นวัสดุที่มีความพรุนสูง (Guo and Lua, 1998; Pan and van Staden, 1998; Pastor-Villegas et al., 1998; Kercher and Nagle, 2003; Downie et al., 2009) หรืออีกนัยหนึ่งคือ มีค่าความหนาแน่นรวมต่ำกว่าดิน Pastor-Villegas et al. (1998) พบว่าความหนาแน่นรวมของถ่านแตกต่างกันไปตามชนิดของวัตถุดิบและกรรมวิธีการผลิต ซึ่งจะมีค่าความหนาแน่นรวมระหว่าง 0.30 – 0.43 g cm^{-3} ในทำนองเดียวกัน Downie et al. (2009) ได้ปริทัศน์ผลงานวิจัยพบว่า activated carbon ที่ใช้ในกระบวนการดูดยึดก๊าซ (gas adsorption) มีค่าความหนาแน่นรวมอยู่ระหว่าง 0.40 – 0.50 g cm^{-3} ส่วน activated carbon ที่ใช้ในกระบวนการฟอกสีมีค่าหนาแน่นรวมระหว่าง 0.25 – 0.75 g cm^{-3} ในขณะที่ความหนาแน่นของดินโคราชและดินวาเฮียวาที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ 1.43 และ 0.91 g cm^{-3} ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ดังนั้นเมื่อคลุกเคล้าลงไปในระบบดินจึงไปลดความหนาแน่นรวมของดินด้วย ซึ่ง FC-BC ทำให้ความหนาแน่นรวมของดินลดลงมากกว่า TK-BC (ตารางที่ 4.4) ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจาก FC-BC อาจมีความพรุนมากกว่า TK-BC อันเนื่องมาจากเทคนิคในการเผา ซึ่ง FC-BC เผาด้วย flash carbonization (FC) techniques ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่มีความก้าวหน้ากว่า TK-BC ซึ่งเผาด้วยวิธีพื้นบ้าน การเผาด้วย FC techniques สามารถควบคุมสภาพการเผาได้ เช่น อุณหภูมิและความดัน เป็นต้น ทำให้ถ่านที่ได้ความพรุนมากกว่า อันมีสาเหตุมาจากกระบวนการเผาที่สมบูรณ์กว่า TK-BC อย่างไรก็ตาม ต้องทดสอบสมมติฐานดังกล่าวนี้ต่อไป

ตารางที่ 4.1 คุณสมบัติเริ่มต้นทางกายภาพและเคมีของชุดดินโคราชและชุดดินวาเฮียวา

Soil	Soil particle distribution							Mineral N		BrayII-P
	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	Soil texture	Bulk density ($g\ cm^{-3}$)	WHC (%)	pH ($Soil:H_2O = 1:5$)	NO_3^- ($mg\ kg^{-1}$)	NH_4^+ ($mg\ kg^{-1}$)	($mg\ kg^{-1}$)
Khorat soil	79.85	17.64	2.51	Loamy sand	1.43	20.5	5.52	ND	23.59	5.73
Wahiawa soil	7.94	35.61	56.45	Silty Clay Loam	0.91	63.4	6.04	1.40	28.78	6.26

ตารางที่ 4.2 ค่า proximate analysis และคุณสมบัติทางเคมีของ TK-BC และ FC-BC

Biochar	Proximate analysis				pH	Mineral N		BrayII-P
	Moisture (%)	Volatile matter (%)	Ash (%)	Fixed C (%)	($BC:H_2O = 1:5$)	NO_3^- ($mg\ kg^{-1}$)	NH_4^+ ($mg\ kg^{-1}$)	($mg\ kg^{-1}$)
TK-BC	3.76	35.79	2.35	61.86	6.52	0.30	23.96	106
FC-BC	3.16	14.65	3.85	81.49	8.92	ND	11.87	226

ตารางที่ 4.3 คุณสมบัติของดินหลังปลูกข้าวโพดครั้งที่ 1 และ 2

Treatment	Crop cycle 1		Crop cycle 2	
	pH (soil:H_2O = 1:5)	BrayII-P (mg kg^{-1})	Bulk density (g cm^{-3})	pH (soil:H_2O = 1:5)
Khorat soil + TK-BC				
Khorat-BC-Fertilizer	5.06	5.1 c	1.55 a	5.72 a
Khorat-BC+Fertilizer	4.74	10.7 b	1.41 ab	5.28 bc
Khorat+1%TK+Fertilizer	4.68	11.3 b	1.55 a	5.12 c
Khorat+2%TK+Fertilizer	4.72	11.5 b	1.22 bc	5.09 c
Khorat+4%TK+Fertilizer	4.83	16.6 a	1.13 c	5.59 ab
F-test	ns	**	**	**
CV (%)	4.32	19.22	7.74	3.21
Khorat soil + FC-BC				
Khorat-BC-Fertilizer	5.06 bc	5.1 c	1.55 a	5.72 b
Khorat-BC+Fertilizer	4.74 c	10.7 b	1.41 ab	5.28 c
Khorat+1%FC+Fertilizer	5.25 bc	11.4 b	1.34 bc	5.31 c
Khorat+2%FC+Fertilizer	5.59 ab	11.8 b	1.13 cd	5.61 bc
Khorat+4%FC+Fertilizer	5.88 a	21.7 a	1.11 d	6.46 a
F-test	**	**	**	**
CV (%)	5.29	22.17	8.38	3.33
Wahiawa soil + TK- BC				
Wahiawa soil-BC-Fertilizer	5.41	5.1	0.88 a	6.18 a
Wahiawa soil-BC+Fertilizer	5.37	5.5	0.84 a	5.42 d
Wahiawa soil+1%TK+Fertilizer	5.20	7.7	0.85 a	5.70 c
Wahiawa soil+2%TK+Fertilizer	5.19	6.3	0.66 b	5.78 bc
Wahiawa soil+4%TK+Fertilizer	5.20	8.5	0.76 ab	5.87 b
F-test	ns	ns	*	**
CV (%)	3.03	28.13	8.49	1.53
Wahiawa soil + FC- BC				
Wahiawa soil-BC-Fertilizer	5.41 b	5.1 c	0.88 a	6.18 a
Wahiawa soil-BC+Fertilizer	5.37 b	5.5 bc	0.84 ab	5.42 c
Wahiawa soil+1%FC+Fertilizer	5.45 b	6.8 ab	0.80 ab	5.72 b
Wahiawa soil+2%FC+Fertilizer	5.59 ab	7.8 a	0.61 c	5.97 ab
Wahiawa soil+4%FC+Fertilizer	5.78 a	7.2 a	0.72 bc	6.10 a
F-test	*	**	**	**
CV (%)	2.63	11.13	8.32	2.24

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงเชิงสัมพัทธ์ความหนาแน่นรวมของดินเมื่อได้รับอิทธิพลจากถ่านสองชนิดคือ TK-BC และ FC-BC

Biochar treated soil	Relative change of soil bulk density[1/]
Soil treated with TK-BC	0.93 a
Soil treated with FC-BC	0.88 b
F-test	*
CV (%)	9.25

[1/] ค่าการเปลี่ยนแปลงเชิงสัมพัทธ์ความหนาแน่นรวมของดิน เมื่อเปรียบเทียบกับดินที่ไม่ได้รับถ่าน โดยให้ค่า relative change ของดินที่ไม่ได้รับถ่านเท่ากับ 1

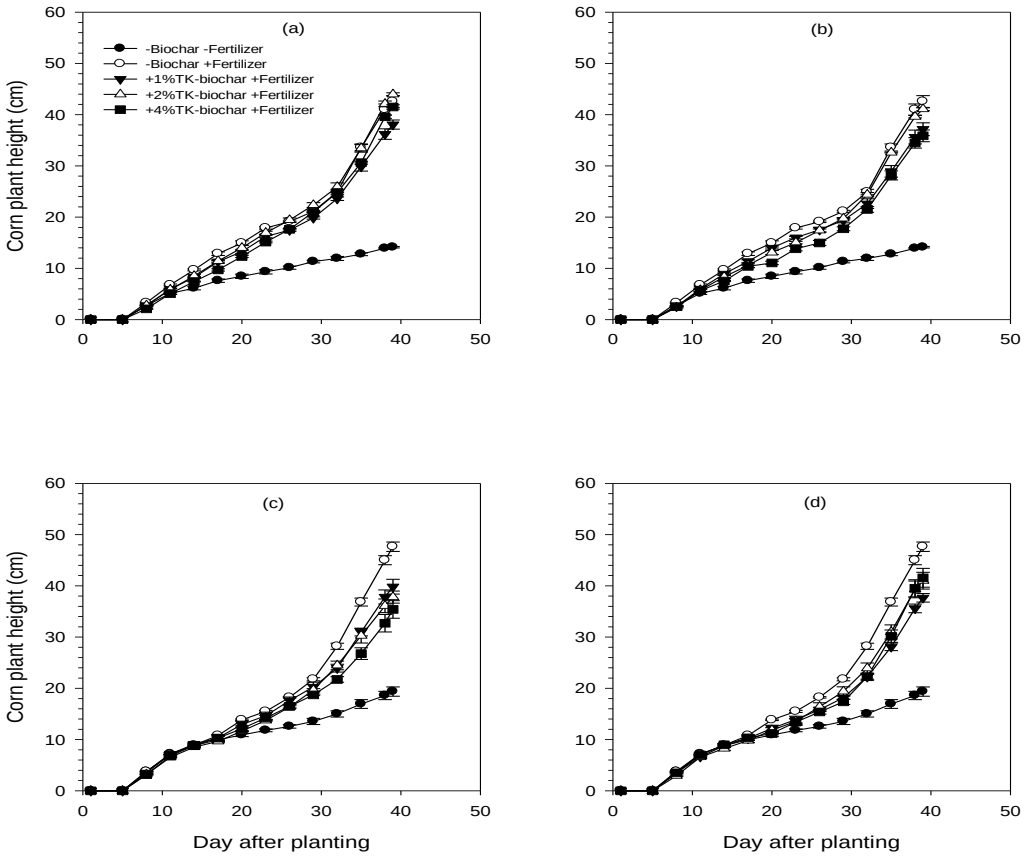
4.1.2 ความสูงของข้าวโพด

ในการปลูกครั้งที่ 1 ความสูงของข้าวโพดที่ปลูกในชุดดินโคราชที่ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC (ภาพที่ 4.1a) ที่ได้ปุ๋ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และในการวัดครั้งสุดท้าย คือ 39 วันหลังปลูก ข้าวโพดมีความสูงระหว่าง 38 - 44 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างกับดินที่ไม่ได้รับทั้งปุ๋ยและถ่านที่มีความสูงเฉลี่ย 14 เซนติเมตร และชุดดินโคราชที่ผสมคลุกเคล้ากับ FC-BC (ภาพที่ 4.1b) ความสูงข้าวโพดไม่มีความแตกต่างกันระหว่างดินที่ได้รับปุ๋ย แม้ว่าจะได้รับถ่านในอัตราที่แตกต่างกัน มีความสูงระหว่าง 36–44 เซนติเมตร

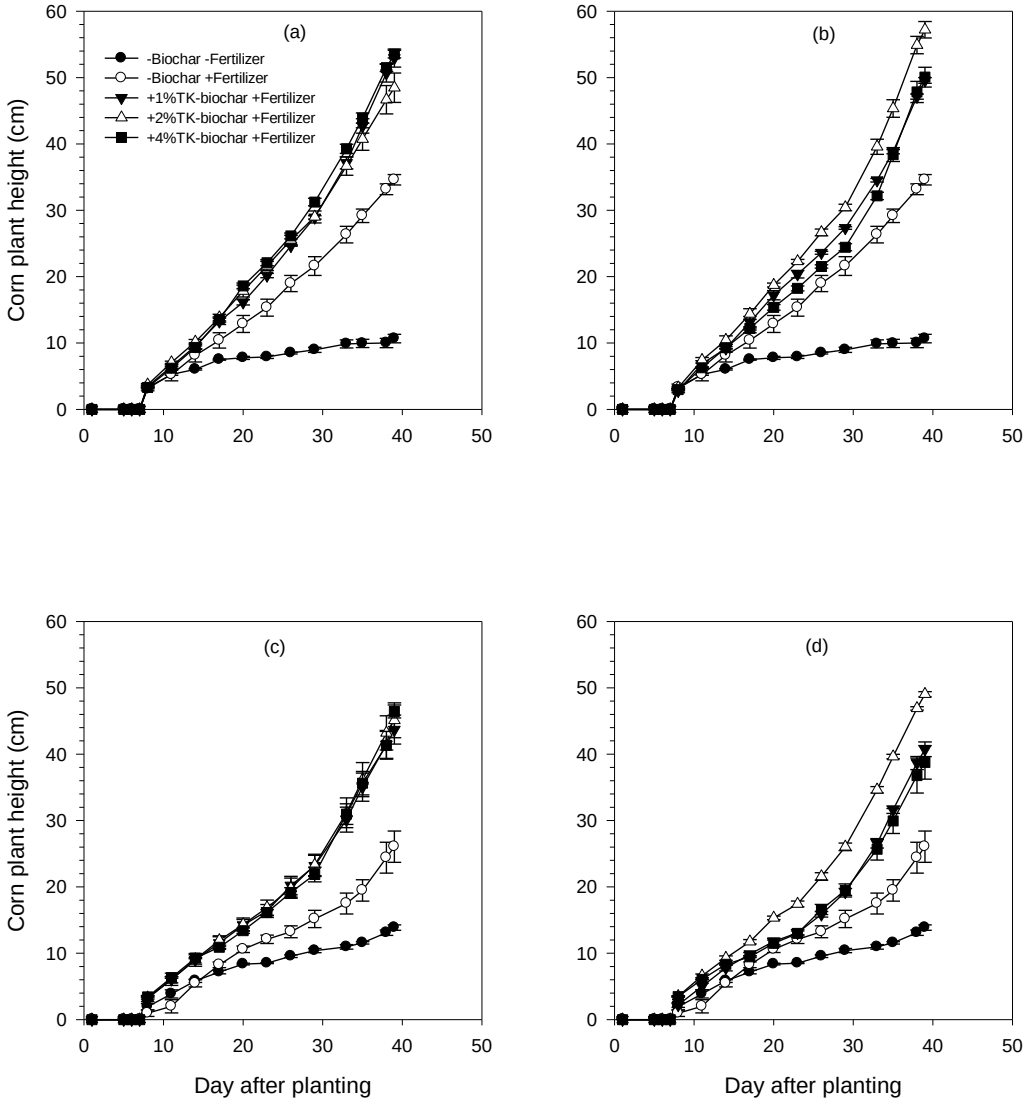
สำหรับชุดดินวาเฮียวา ข้าวโพดที่ปลูกในดินที่ไม่ใส่ถ่านแต่ใส่ปุ๋ยมีความสูงมากที่สุด คือ 48 เซนติเมตร ในขณะที่ดินที่ไม่ได้รับทั้งถ่านและปุ๋ยมีความสูงน้อยที่สุดคือ 20 เซนติเมตร เมื่อคลุกเคล้ากับ TK-BC ในอัตราต่างๆ (ภาพที่ 4.1c) ไม่ได้ทำให้ข้าวโพดมีความสูงที่แตกต่างกัน คือ ระหว่าง 35–40 เซนติเมตร ในทำนองเดียวกันเมื่อชุดดินนี้คลุกเคล้ากับ FC-BC ในอัตราต่างๆ พบว่าไม่ได้ทำให้ข้าวโพดมีความสูงที่แตกต่างกัน ซึ่งมีความสูงอยู่ระหว่าง 39–44 เซนติเมตร (ภาพที่ 4.1d)

เมื่อปลูกข้าวโพดครั้งที่ 2 ในดินเดิมโดยไม่มีการใส่ถ่านเพิ่มเติม (ภาพที่ 4.2) พบว่าอิทธิพลของถ่านส่งผลกระทบต่อความสูงของข้าวโพดชัดเจนมากขึ้น โดยพบว่าในชุดดินโคราชที่ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC อัตราต่างๆ (ภาพที่ 4.2a) ไม่ได้มีความสูงแตกต่างกัน แต่เป็นที่น่าสนใจว่าชุดดินโคราชที่ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC ทั้ง 3 อัตรา คือ 1, 2, และ 4% โดยน้ำหนัก มีความสูงในการวัดครั้งสุดท้าย เท่ากับ 53, 49 และ 54 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความสูงมากกว่าชุดดินโคราชที่ไม่ได้รับถ่าน คือ 35 เซนติเมตร แม้จะได้รับปุ๋ยในอัตราเท่ากัน ในทำนองเดียวกับชุดดินวาเฮียวาที่คลุกเคล้ากับ TK-BC (ภาพที่ 4.2c) ในอัตรา 1, 2, และ 4% โดยน้ำหนัก ทำให้ข้าวโพดมีความสูงในการวัดครั้งสุดท้าย เท่ากับ 44, 45, และ 46 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่ได้มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ทั้งสามอัตราทำให้ข้าวโพดมีความสูงมากกว่าดินวาเฮียวาที่ไม่ได้รับถ่านแม้ว่าจะได้รับปุ๋ยในอัตราเท่ากัน ซึ่งมีความสูง 26 เซนติเมตร

สำหรับชุดดินโคราชที่ผสมคลุกเคล้ากับ FC-BC (ภาพที่ 4.2c) นั้น พบว่าข้าวโพดที่รับถ่านอัตรา 2% โดยน้ำหนักมีความสูงมากที่สุด คือ 57 เซนติเมตร รองลงมาคือ 1 และ 4% โดยน้ำหนัก ซึ่งมีความสูง 50 เซนติเมตร เท่ากัน ถ่านทั้งสามอัตรามีความสูงมากกว่าดินที่ไม่ได้รับถ่านแต่ได้รับปุ๋ย ซึ่งมีความสูง 26 เซนติเมตร ลักษณะเช่นนี้เป็นไปในทำนองเดียวกับชุดดินวาเฮียวาที่ผสมกับ FC-BC (ภาพที่ 4.2d) ที่พบว่าถ่านอัตรา 2% โดยน้ำหนัก ทำให้ข้าวโพดมีความสูงสูงที่สุด คือ 49 เซนติเมตร และรองลงมา คือถ่านอัตรา 1 และ 4% โดยน้ำหนัก ทำให้ข้าวโพดมีความสูงเท่ากับ 41 และ 38 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยทั้งสามอัตราของชุดดินวาเฮียวาที่ผสมคลุกเคล้ากับ FC-BC ทำให้ข้าวโพดมีความสูงมากกว่าดินวาเฮียวาที่ได้รับถ่าน แม้ว่าจะได้รับปุ๋ยในอัตราเท่ากัน ที่มีความสูง 26 เซนติเมตร



ภาพที่ 4.1 ความสูงของข้าวโพดในการปลูกครั้งที่ 1 ใน (a) ชุดดินโคราช + TK-biochar (b) ชุดดินโคราช + FC-biochar (c) ชุดดินวาเฮียวา + TK-biochar และ (d) ชุดดินวาเฮียวา + FC-biochar โดยในแต่ละดินจะได้รับถ่านอัตราต่างๆ ประกอบด้วยดินที่ ไม่ใส่ถ่านและไม่ใส่ปุ๋ย (-biochar – fertilizer), ไม่ใส่ถ่านแต่ใส่ปุ๋ย (-biochar + fertilizer), ใส่ถ่าน 1% โดยน้ำหนัก (+1%biochar + fertilizer), ใส่ถ่าน 2% โดยน้ำหนัก (+2%biochar + fertilizer) และใส่ถ่าน 4% โดยน้ำหนัก (+4%biochar + fertilizer) Error bar คือค่า Standard deviation



ภาพที่ 4.2 ความสูงของข้าวโพดในการปลูกครั้งที่ 2 ที่ปลูกใน (a) ชุดดินโคราช + TK-biochar (b) ชุดดินโคราช + FC-biochar (c) ชุดดินวาเฮียวา + TK-biochar และ (d) ชุดดินวาเฮียวา + FC-biochar โดยในแต่ละดินจะได้รับถ่านอัตราต่างๆ ประกอบด้วยดินที่ ไม่ใส่ถ่านและไม่ใส่ปุ๋ย (-biochar – fertilizer), ไม่ใส่ถ่านแต่ใส่ปุ๋ย (-biochar + fertilizer), ใส่ถ่าน 1% โดยน้ำหนัก (+1%biochar + fertilizer), ใส่ถ่าน 2% โดยน้ำหนัก (+2%biochar + fertilizer) และใส่ถ่าน 4% โดยน้ำหนัก (+4%biochar + fertilizer) Error bar Standard deviation

4.1.3 น้ำหนักแห้งของข้าวโพด

น้ำหนักแห้งของข้าวโพดในกรรมวิธีต่างๆ ไม่ได้รับอิทธิพลจากอัตราของถ่าน สำหรับการปลูกครั้งที่ 1 แต่จะแสดงผลชัดเจนในการปลูกครั้งที่ 2 และน้ำหนักแห้งของข้าวโพดในดินแต่ละชนิดมีแนวโน้มเช่นเดียวกับความสูง คือ TK-BC ที่ได้ผสมทั้งกับดินโคราชและดินวาเฮียวา อัตรา 1,

2 และ 4% โดยน้ำหนัก ไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น ถ่าน 1% ในดินโคราชที่มีน้ำหนักแห้งต่ำกว่าถ่าน 2 และ 4% ในขณะที่ FC-BC อัตรา 2% โดยน้ำหนัก ทำให้ข้าวโพดมีน้ำหนักแห้งมากที่สุด ทั้งในดินโคราชและดินวาเฮียวา ยกเว้นในดินโคราช อัตรา 1 และ 2% โดยน้ำหนัก ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

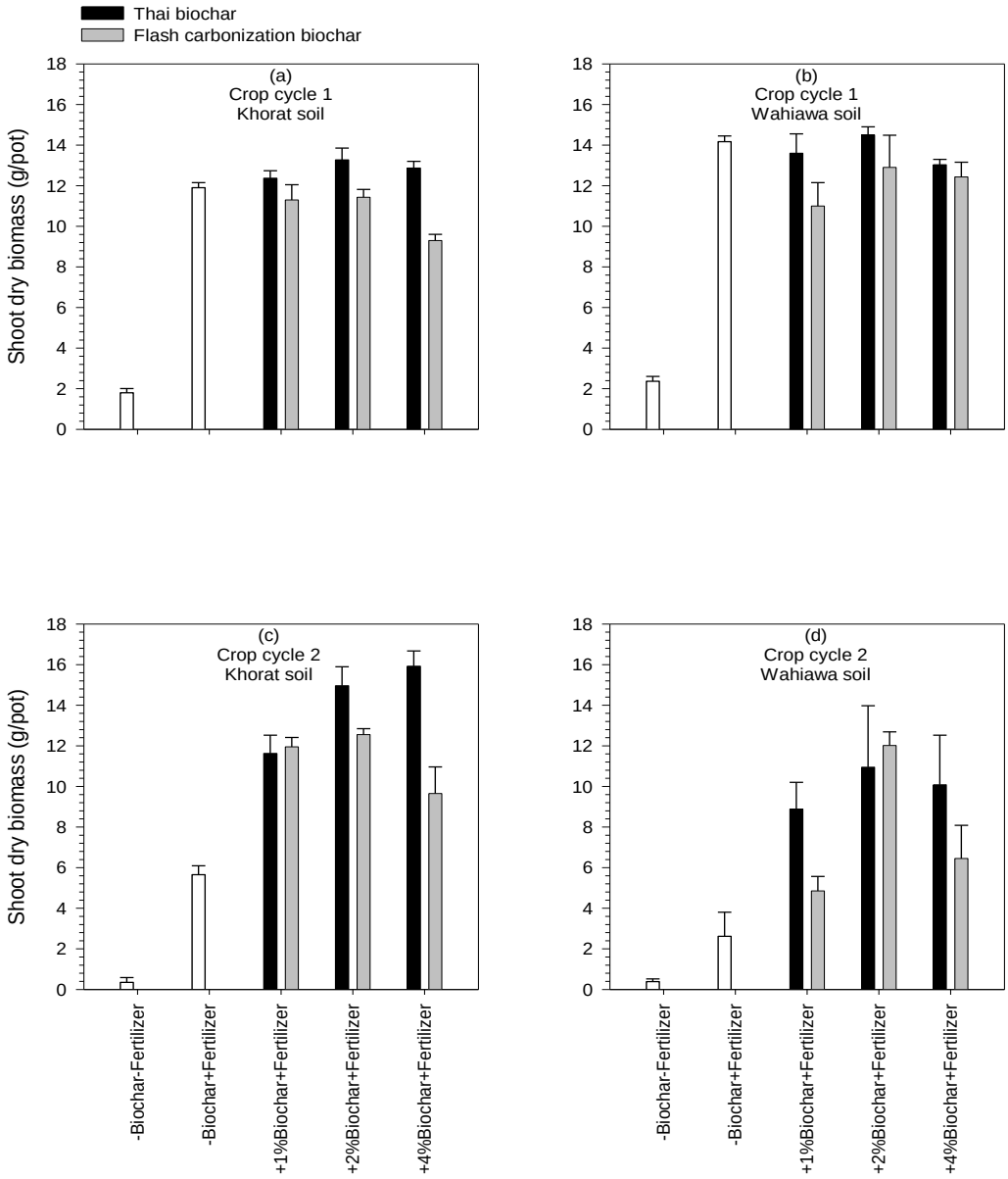
ในการปลูกครั้งที่ 1 ข้าวโพดที่ปลูกในชุดดินโคราชที่ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC (ภาพที่ 4.3a) ในอัตรา 1, 2 และ 4% โดยน้ำหนัก มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 12.4, 13.3 และ 12.9 กรัม/กระถาง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่ต่างจากดินที่ไม่ได้รับถ่านแต่ได้รับปุ๋ยที่มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 11.9 กรัม/กระถาง ยกเว้นถ่านที่ใส่ในอัตรา 2% โดยน้ำหนัก TK-BC ที่มีน้ำหนักแห้งมากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้รับทั้งถ่านแต่ได้รับปุ๋ย สำหรับชุดดินโคราชที่ผสมคลุกเคล้ากับ FC-BC (ภาพที่ 4.3a) ในอัตรา 1 และ 2% โดยน้ำหนัก ที่ทำให้ข้าวโพดมีน้ำหนักแห้ง 11.3 และ 11.4 กรัม/กระถาง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างจากดินที่ไม่ได้รับถ่านแต่ได้รับปุ๋ย (น้ำหนักแห้ง 11.9 กรัม/กระถาง) และน้ำหนักแห้งของข้าวโพดลดลงเมื่อใส่ FC-BC อัตรา 4% โดยน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง 9.3 กรัม/กระถาง)

น้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ปลูกครั้งที่ 1 ในชุดดินวาเฮียวา ที่คลุกเคล้ากับ TK-BC (ภาพที่ 4.3b) ในอัตรา 1, 2 และ 4% โดยน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง 13.6, 14.5 และ 13.0 กรัม/กระถาง ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และไม่แตกต่างจากดินที่ไม่ได้ใส่ถ่านแต่ใส่ปุ๋ย (น้ำหนักแห้ง 14.2 กรัม/กระถาง) เช่นเดียวกันกับชุดดินวาเฮียวาที่ผสมคลุกเคล้ากับ FC-BC ในอัตรา 2 และ 4% โดยน้ำหนัก ไม่ได้ทำให้น้ำหนักแห้งของข้าวโพดแตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่ถ่าน ยกเว้นดินที่ผสมคลุกเคล้ากับ FC-BC ในอัตรา 4% โดยน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง 13.0 กรัม/กระถาง) ที่มีน้ำหนักแห้งลดลง

การปลูกข้าวโพดในดินเดิมครั้งที่ 2 โดยไม่ได้ใส่ถ่านเพิ่ม พบว่าน้ำหนักแห้งของข้าวโพดในชุดดินโคราชที่ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC (ภาพที่ 4.3c) อัตรา 4% โดยน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง 15.9 กรัม/กระถาง) มีน้ำหนักแห้งมากที่สุดแต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ได้รับถ่านอัตรา 2% (น้ำหนักแห้ง 14.9 กรัม/กระถาง) รองลงมาคือ ดินที่ได้รับถ่านอัตรา 1% โดยน้ำหนัก และดินที่ไม่ได้รับถ่าน ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 11.6 และ 5.6 กรัม/กระถาง ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน น้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ปลูกในดินวาเฮียวาที่ผสมกับ TK-BC (ภาพที่ 4.3d) ที่ถ่านอัตรา 1, 2 และ 4% โดยน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง 8.9, 10.9, และ 10.0 ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสูงกว่าดินวาเฮียวาที่ไม่ได้ใส่ถ่าน (น้ำหนักแห้ง 2.6 กรัม/กระถาง)

ในขณะที่น้ำหนักแห้งของข้าวโพดในการปลูกครั้งที่ 2 ในดินโคราชที่ได้ผสมคลุกเคล้ากับ FC-BC (ภาพที่ 4.3c) มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุดในกรรมวิธีที่ได้รับถ่านอัตรา 2% โดยน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง 12.6 กรัม/กระถาง) แต่ไม่แตกต่างกับในดินที่ใส่ถ่านอัตรา 1% โดยน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง 11.9 กรัม/กระถาง) แต่น้ำหนักแห้งลดลงเมื่อใส่ถ่านอัตรา 4% โดยน้ำหนัก (น้ำหนักแห้ง 9.7 กรัม/

กระถาง) ซึ่งดินโคราชที่ใส่ถ่านทั้งสามอัตราทำให้ข้าวโพดมีน้ำหนักแห้งสูงกว่าดินที่ไม่ได้ใส่ถ่าน (น้ำหนักแห้ง 5.7 กรัม/กระถาง) ลักษณะเช่นนี้เป็นไปในทำนองเดียวกับดินวาเฮียวาที่ได้ผสมคลุกเคล้ากับ FC-BC (ภาพที่ 4.3d) ที่มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุดในดินที่ได้รับถ่านอัตรา 2% โดยน้ำหนัก (12.0 กรัม/กระถาง) ซึ่งสูงกว่าดินที่ได้รับถ่านอัตรา 1% (4.9 กรัม/กระถาง) แต่น้ำหนักแห้งลดลงในดินที่ได้รับถ่านอัตรา 4% (6.5 กรัม/กระถาง) และน้ำหนักแห้งของข้าวโพดในถ่านทั้งสามอัตราสูงกว่าในดินที่ไม่ได้ใส่ถ่าน



ภาพที่ 4.3 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดในการปลูกครั้งที่ 1 และ 2 ในชุดดินโคราช (a และ c) และชุดดินวาเฮียวา (b และ d) Error bar คือค่า standard error of the mean

เป็นที่น่าสนใจว่าในการปลูกครั้งที่สองโดยไม่ได้ใส่ถ่านเพิ่มเติม ทั้งชุดดินโคราชและชุดดินวาเฮียวาที่ได้ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC และ FC-BC นั้น ทำให้ข้าวโพดมีน้ำหนักแห้งมากกว่าดินที่ไม่ได้ใส่ถ่าน ซึ่งลักษณะเช่นนี้แตกต่างจากการปลูกครั้งแรก ที่กรรมวิธีที่ได้รับถ่านไม่ได้ทำให้น้ำหนักแห้งของข้าวโพดแตกต่างกับดินที่ไม่ได้รับถ่านเลย

จากผลการทดลองในการปลูกพืชครั้งแรก น้ำหนักแห้งของข้าวโพดไม่ได้ตอบสนองทั้งต่อชนิดและอัตราของถ่าน เนื่องจากในการปลูกพืชทดสอบครั้งแรกนั้น ถ่านไม่ได้มีอิทธิพลในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดินมากนัก จะเห็นได้ว่า pH ของดิน (ตารางที่ 4.2) ระหว่างดินที่ใส่และไม่ใส่ถ่าน ไม่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกประการหนึ่งคือปริมาณ P ของดินก็ไม่ได้แตกต่างกัน ยกเว้นดินที่ได้ใส่ถ่านในอัตรา 4% โดยน้ำหนัก อาจกล่าวได้ว่า P ไม่ได้เป็นปัจจัยหลักต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดในการปลูกทดสอบครั้งแรก อย่างไรก็ตาม จำเป็นต้องวัดปริมาณ P ของดินหลังปลูกครั้งที่สองต่อไป

ในการปลูกพืชทดสอบครั้งที่สอง ทั้งชุดดินโคราชและดินวาเฮียวาที่ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC และ FC-BC ทั้งสามอัตรา คือ 1, 2 และ 4% โดยน้ำหนัก ทำให้มีน้ำหนักแห้งของข้าวโพดมากกว่าดินที่ไม่ใส่ถ่าน ผลดังกล่าวอาจได้รับอิทธิพลจากคุณสมบัติของดินที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งทางด้านกายภาพ (เช่น ความหนาแน่นรวม), เคมี (pH, CEC และความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช) และชีวภาพ (การเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านมวลชีวภาพและโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์ และการปลดปล่อยสารประกอบคล้ายฮอร์โมนพืช) อันเนื่องมาจากอิทธิพลของถ่าน

ค่า pH ของดินที่เพิ่มขึ้นในดินที่ใส่ถ่านของการปลูกครั้งที่สองค่อนข้างชัดเจนกว่าการปลูกครั้งแรก ซึ่งเป็นผลมาจาก calcite ($CaCO_3$) อันเป็นองค์ประกอบหนึ่งของเถ้าละลายน้ำได้มากขึ้น (Ulery et al., 1993) และ pH ที่เพิ่มขึ้นทำให้ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืชเพิ่มขึ้นด้วย (Marschner, 1995; Taiz and Zeiger, 2003) อีกทั้ง การเพิ่มขึ้นของ pH ทำให้ความเป็นพิษของอะลูมินัม (Al) และแมงกานีส (Mn) ลดลง (Chan et al., 2007a; Chan et al., 2008; Hossain et al., 2010; Major et al., 2010; Van Zwieten et al., 2010) ซึ่งเป็นปัญหาของชุดดินโคราชและวาเฮียวาตามลำดับ อย่างไรก็ตาม สำหรับชุดดินโคราชค่า pH ระหว่างดินที่ไม่ได้ใส่ถ่านกับดินที่ใส่ถ่าน 1% และ 2% ไม่ได้แตกต่างกัน แต่อาจเป็นไปได้ว่าเมื่อผิวของถ่านถูกออกซิไดซ์มากขึ้น ซึ่งจะเกิดขึ้นที่ผิวด้านนอก (external surface area) ก่อนพื้นผิวภายใน (internal surface area) (Brodowski et al., 2005; Chen et al., 2008; Cheng et al., 2008; Liang et al., 2008) ทำให้มีหมู่ฟังก์ชันที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบเพิ่มขึ้น เช่น carboxylic (-COOH), hydroxyl (-OH), phenolic carboxyl (-C=O) และ quinone (Joseph et al., 2009) เป็นผลสืบเนื่องทำให้ CEC ของถ่านและดินเพิ่มขึ้นทำให้มี buffering capacity ของ pH เพิ่มขึ้น และทำให้ความเป็นพิษของธาตุบางชนิดลดลง เช่น Al เนื่องจากธาตุดังกล่าวจะถูกดูดยึดไว้ที่ผิวของถ่าน ทำให้ความเป็นพิษต่อพืชลดลง Beesley and

Marmiroli (2011) พบว่าถ่านที่ผลิตจากไม้เนื้อแข็งชนิดต่างๆ เช่น Oak (*Quercus spp.*), Common Ash (*Fraxinus excelsior*), Sycamore (*Acer spp.*), Birch (*Betula spp.*) และ Cherry (*Prunus spp.*) ทำให้ปริมาณโลหะชนิดต่างๆ เช่น สารหนู (As), แคดเมียม (Cd) และสังกะสี (Zn) ที่สกัดได้จากดินลดลง ในทำนองเดียวกัน Park et al. (2011) พบว่าถ่านที่ผลิตจากมูลไก่และเศษพืชสีเขียวทำให้ความเข้มข้นของแคดเมียม (Cd), ทองแดง (Cu) และตะกั่ว (Pb) ลดลง ซึ่งโหละหนักเหล่านี้ถูกดูดยึดไว้ที่พื้นผิวของถ่าน

สมมติฐานอีกประการหนึ่งที่ทำให้การตอบสนองของพืชในการปลูกทดสอบครั้งที่สองเพิ่มขึ้น คือ มวลชีวภาพของจุลินทรีย์ในดินเพิ่มขึ้น (Hossain et al., 2010; Zwieten et al., 2010) ซึ่งจะไปย่อยและเปลี่ยนไนโตรเจนอินทรีย์ (organic N) ที่มีอยู่เดิมในดินเป็นไนโตรเจนอนินทรีย์ (inorganic N) ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อพืชต่อไป (Noguera et al., 2010) นอกจากนี้ Noguera et al. (2010) รายงานว่า จุลินทรีย์ดินและรากพืชสามารถปลดปล่อยสารประกอบที่มีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนพืช เช่น ออกซิน ออกมา ซึ่งมีปริมาณเพียงพอที่จะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้

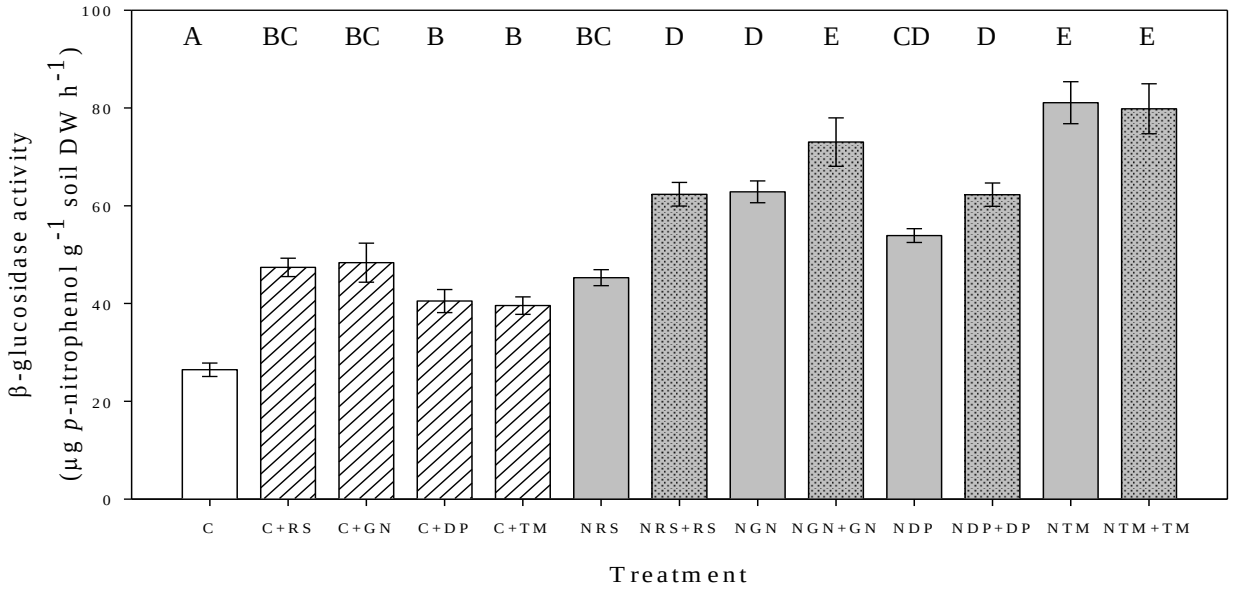
อย่างไรก็ตาม มีหลายปัจจัยที่ยังไม่ได้ทำการทดสอบในการทดลองนี้ เช่น ปริมาณ Al และ Mn ทั้งในดินและพืช ค่า CEC ของดิน ฮอร์โมนพืชที่ถูกปลดปล่อยออกมา ซึ่งคณะผู้วิจัยจะทำการทดสอบสมมติฐานต่อไป

4.2 การศึกษาระยะยาวของอิทธิพลของการใส่สารอินทรีย์ต่างคุณภาพต่อการเปลี่ยนแปลงและการสะสมอินทรียวัตถุในดินทราย: การศึกษาหน้าที่และโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ โดยเน้นที่เชื้อราที่ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างคุณภาพ

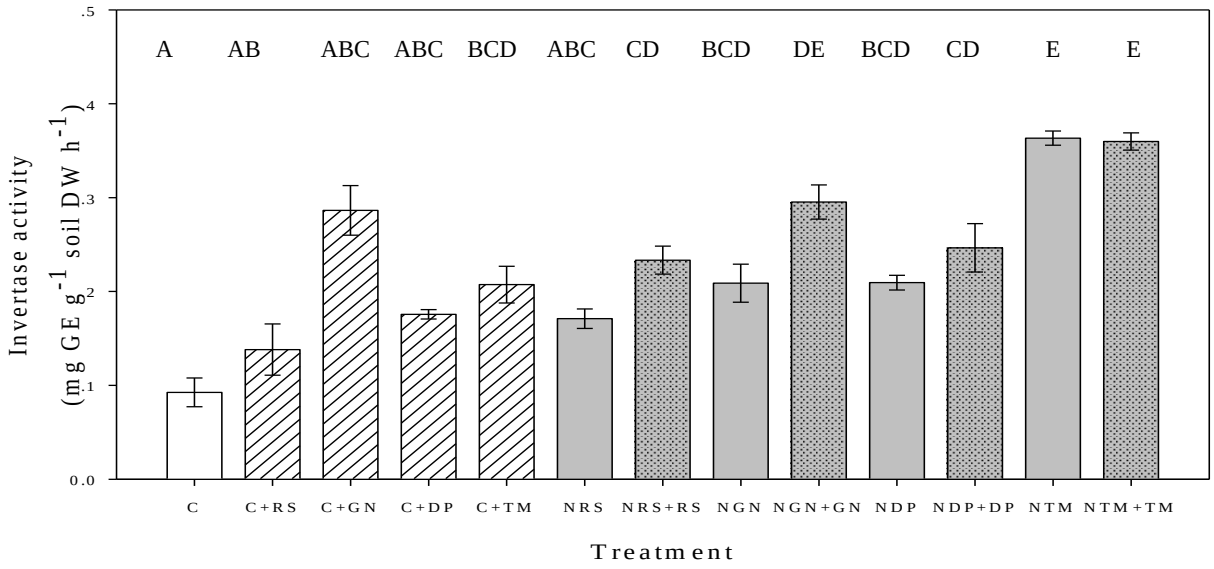
4.2.1 หน้าที่ของจุลินทรีย์ที่ทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างคุณภาพภายใต้สภาวะการบ่ม

การสะสมขององค์ประกอบทางเคมีในสารอินทรีย์ที่ใส่ลงไปในดินเป็นระยะเวลายาวนานกว่า 16 ปี และจากการที่ใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ในดินส่งผลต่อหน้าที่ (functions) ของจุลินทรีย์ กล่าวคือในทุกกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ทั้งใน C-soil และ N-soils มีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ β-glucosidase เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ (ภาพที่ 4.4) ยกเว้นกรรมวิธี NTM ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด แต่มีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ (-1.53%) โดยกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดในกรรมวิธี NTM ตามด้วยกรรมวิธี NTM+TM และ NGN+GN ($P < 0.001$) มีค่าเท่ากับ 81.08, 79.84 และ73.02 mg *p*-nitrophenol g^{-1} soil DW h^{-1}ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C) มีกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำสุด (26.45 g *p*-nitrophenol g^{-1} soil DW h^{-1}) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ β-glucosidase ในกรรมวิธี C-soil ที่มีการใส่สารอินทรีย์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับกรรมวิธี N-soil ที่มีการใส่สารอินทรีย์ กลับพบว่าในกรรมวิธี C+GN มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มสูงสุด (82.81%) (ภาพที่ 4.4) เช่นเดียวกับกิจกรรมของเอนไซม์ invertase ที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในทุกกรรมวิธีที่มีการใส่

สารอินทรีย์ลงไปใหม่ทั้งใน C-soil และ N-soil ยกเว้นกรรมวิธี NTM+TM ที่มีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 4.5)โดยกรรมวิธีที่มีกิจกรรมของ invertase สูงสุดได้แก่ กรรมวิธี NTM ตามด้วยกรรมวิธี NTM+TM มีค่าเท่ากับ 0.360 และ 0.363 mg glucose equivalent (GE) g^{-1} soil DW h^{-1} ตามลำดับ ($P < 0.001$) ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ invertase ในกรรมวิธี C-soil ที่มีการใส่สารอินทรีย์ พบว่ากรรมวิธี C+GN มีเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด (210%) เมื่อเทียบกับการใส่สารอินทรีย์ชนิดอื่น โดยมีค่าเท่ากับ (0.29 mg GE g^{-1} soil DW h^{-1}) แนวโน้มที่คล้ายกันพบในกรรมวิธี NGN+GN โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 0.30 mg GE g^{-1} soil DW h^{-1} ขณะที่เปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์พบว่ามีเพียง 41% นอกจากนี้กรรมวิธีที่มีการใส่ฟางข้าวทั้งในกรรมวิธี C+RS และ NRS+RS พบว่ามีการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ invertase ต่ำสุด โดยเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์มีค่าเท่ากับ 49.3% และ 36.4% ตามลำดับ จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นอิทธิพลของคุณภาพสารอินทรีย์ต่อหน้าที่ของจุลินทรีย์



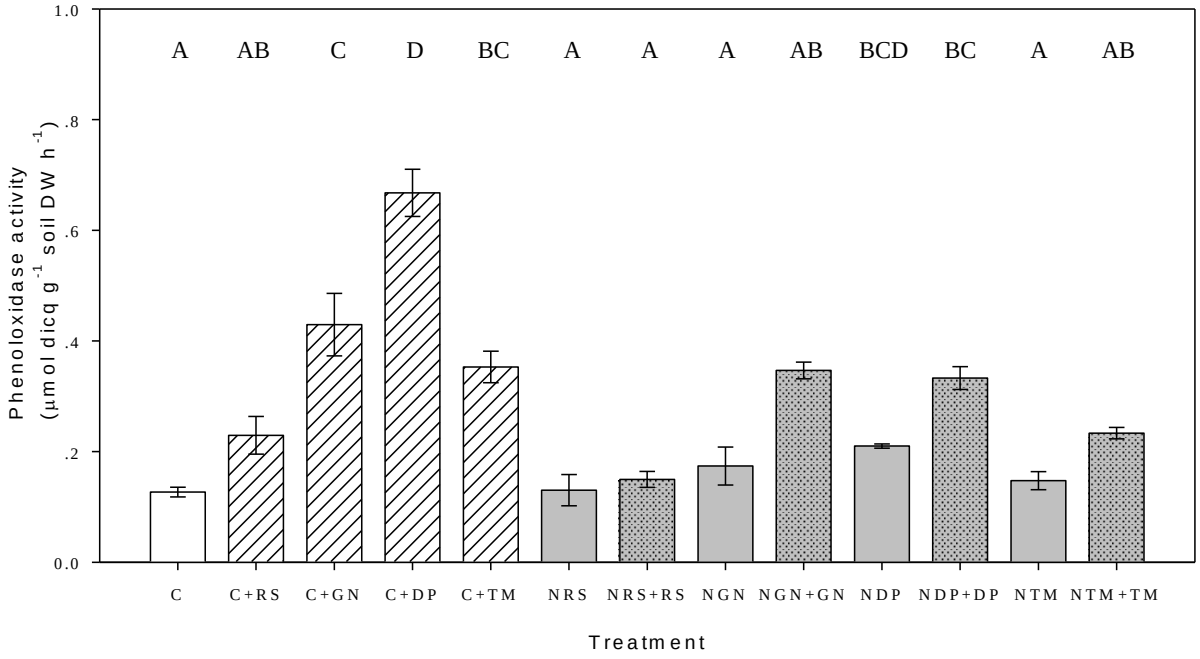
ภาพที่ 4.4 กิจกรรมของเอนไซม์ β-glucosidase (mg *p*-nitrophenol g^{-1} soil DW h^{-1})
อักษรกำกับที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น95%



ภาพที่ 4.5 กิจกรรมของเอนไซม์ invertase (mg glucose equivalent (GE) g^{-1} soil DW h^{-1})
อักษรกำกับที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

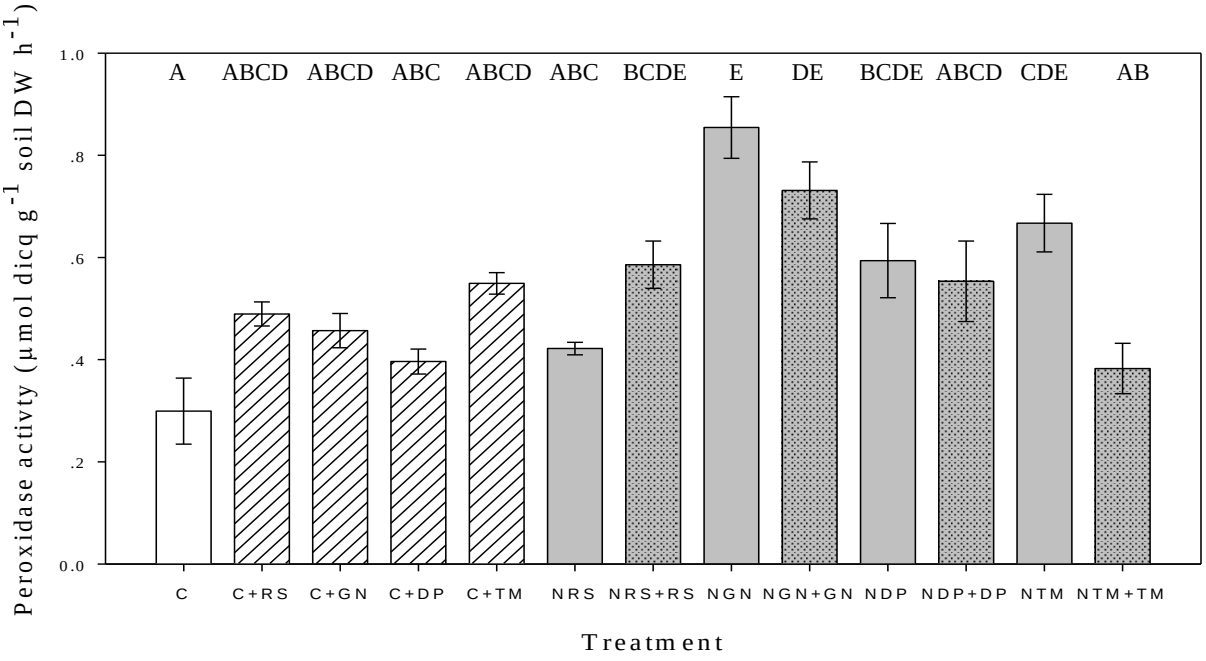
กิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase ในกรรมวิธี C soil ที่มีการใส่สารอินทรีย์มีค่าสูงสุดในกรรมวิธี C+DP ตามด้วยกรรมวิธี C+GN, C+TM และ C+RS มีค่าเท่ากับ 0.67, 0.43, 0.35 และ 0.23 µmol dicq g^{-1} soil DW h^{-1} ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ภายหลังการใส่สารอินทรีย์เท่ากับ 426, 239, 178 และ 81% (ภาพที่ 4.6) เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ระหว่างกรรมวิธี N-soils ที่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่พบว่ากรรมวิธี NGN+GN มีกิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase สูงสุด ตามด้วยกรรมวิธี NDP+DP, NTM+TM และ NRS+RS มีค่าเท่ากับ 0.35, 0.33, 0.23 และ 0.15 µmol dicq g^{-1} soil DW h^{-1} ตามลำดับ โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 99, 59, 58 และ 15% ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ พบว่ากรรมวิธี NDP มีกิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase สูงสุด ตามด้วยกรรมวิธี NGN, NTM และ NRS มีค่าเท่ากับ 0.21, 0.17, 0.15 และ 0.13 µmol dicq g^{-1} soil DW h^{-1}ตามลำดับ และมีค่าต่ำสุดในกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C) (0.127 µmol dicq g^{-1} soil DW h^{-1}) จากการทดลองนี้กรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์คุณภาพต่ำ เช่น dipterocarp ในดินที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์มาเป็นระยะเวลากว่า 16 ปี (C+DP) มีค่าสูงสุดนั้นชี้ให้เห็นถึงอิทธิพลของคุณภาพสารอินทรีย์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับดินที่มีการใส่สารอินทรีย์มาเป็นระยะเวลายาวนานและมีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ (NDP+DP) กลับพบว่าการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase ต่ำกว่า ชี้ให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ภายหลังการใส่สารอินทรีย์มาเป็นระยะเวลานานกว่า 16 ปี ซึ่งเห็นได้อย่างเด่นชัดในกรรมวิธี N-soil ได้แก่ NRS, NGN, NDP และ NTM เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธี C-soil

ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ในกรรมวิธี C soil ที่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น โดยค่าสูงสุดในกรรมวิธี C+TM ตามด้วยกรรมวิธี C+RS, C+GN และ C+DP มีค่าเท่ากับ 0.55, 0.49, 0.46 และ 0.40 µmol dicq g^{-1} soil DW h^{-1} ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7) อย่างไรก็ตามผลจากการศึกษาพบว่าการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ใน N-soil ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงในกรรมวิธีส่วนใหญ่ของ N-soil ที่มีการใส่สารอินทรีย์ ยกเว้นกรรมวิธี NRS+RS ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase เพิ่มสูงขึ้น โดยกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase สูงสุดในกรรมวิธี NGN ตามด้วย NGN+GN และ NTM มีค่าเท่ากับ 0.85, 0.73 และ 0.67 µmol dicq g^{-1} soil DW h^{-1} ตามลำดับ



ภาพที่ 4.6 กิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase (µmol dicq g^{-1} soil DW h^{-1})

อักษรกำกับที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



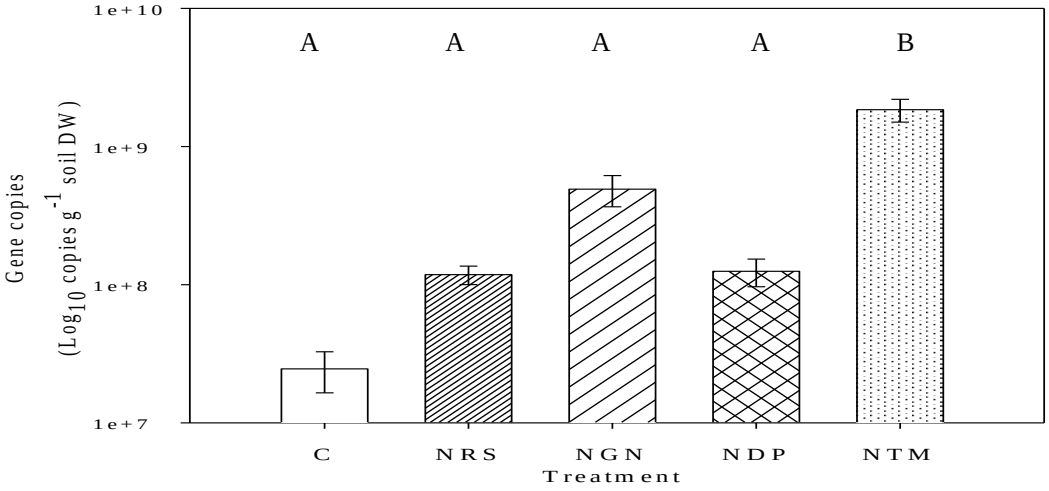
ภาพที่ 4.7 กิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase (µmol dicq g^{-1} soil DW h^{-1})
อักษรกำกับที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าองค์ประกอบทางเคมี (คุณภาพ) ของสารอินทรีย์เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อโครงสร้างประชากรรา (fungal community structure) และกิจกรรมของเอนไซม์ (enzyme activities) ทั้งนี้ทุกกรรมวิธีภายในกลุ่ม (within group) ที่มีการใส่สารอินทรีย์มาเป็นระยะเวลานานกว่า 16 ปี ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรรา (fungal community structure) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่การใส่สารอินทรีย์ที่มีคุณภาพปานกลาง (intermediate quality) ได้แก่ มะขาม (tamarind) ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรราแตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C) มากที่สุด กิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ invertase, beta-glucosidase, phenoloxidase และ peroxidase เพิ่มสูงขึ้นในทุกกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์มาเป็นระยะเวลายาวนานกว่า 16 ปี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C) ในระยะเวลาเดียวกัน โดยกิจกรรมของเอนไซม์ในทุกกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ลงไปใหม่ (fresh organic input) เพิ่มสูงขึ้น ขณะที่กิจกรรมของ invertase ที่เพิ่มสูงขึ้นในกรรมวิธีที่มีการใส่ถั่วลิสง (groundnut) และมะขาม (tamarind) แสดงให้เห็นว่าสารอินทรีย์ที่มีคุณภาพสูง (N; 2.28%) และคุณภาพปานกลาง (N; 1.36%) ส่งผลให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ invertase เพื่อย่อยสารประกอบอินทรีย์ที่ง่ายต่อการย่อยสลาย ได้แก่ soluble sugar และ คาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้น เช่นเดียวกับกิจกรรมของ beta-glucosidase ที่เพิ่มสูงขึ้นในกรรมวิธีที่มีการใส่ฟางข้าว (rice straw) เนื่องจากฟางข้าวมีเซลลูโลส(cellulose) เป็นองค์ประกอบอยู่สูง (507 g kg^{-1})

และเป็น substrate ของเอนไซม์ beta-glucosidase ทั้งนี้กิจกรรมของ phenoloxidase สูงสุดใน C-soil ที่มีการใส่พลวง (C+DP), ตามด้วยถั่วลิสง (C+GN) และมะขาม (C+TM) ในทางกลับกันพบว่ามีค่าต่ำสุดในกรรมวิธี C+RS ชี้ให้เห็นว่า สารประกอบอินทรีย์ที่ต้านทานต่อการย่อยสลาย (recalcitrant compounds) ได้แก่ ลิกนิน และโพลีฟีนอล เป็นปัจจัยสำคัญที่เหนี่ยวนำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ phenoloxidase เพื่อออกมาย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ดังกล่าว ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในทุกกรรมวิธีของ C-soil ที่มีการใส่สารอินทรีย์ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธี C-soil และ N-soils ภายหลังจากการใส่สารอินทรีย์เป็นระยะ 16 ปี พบว่ากิจกรรมของ peroxidase เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกรรมวิธี NGN และ NTM ชี้ให้เห็นว่าการใส่สารอินทรีย์ที่มีคุณภาพสูงและคุณภาพปานกลางลงในดินเป็นระยะเวลานาน นอกจากส่งผลกิจกรรมของเอนไซม์ invertase, beta-glucosidase เพิ่มสูงขึ้นแล้ว ยังส่งผลให้กิจกรรมของ peroxidase เพิ่มสูงขึ้นด้วย

4.2.2 การศึกษาประชากรจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิคชีวโมเลกุล

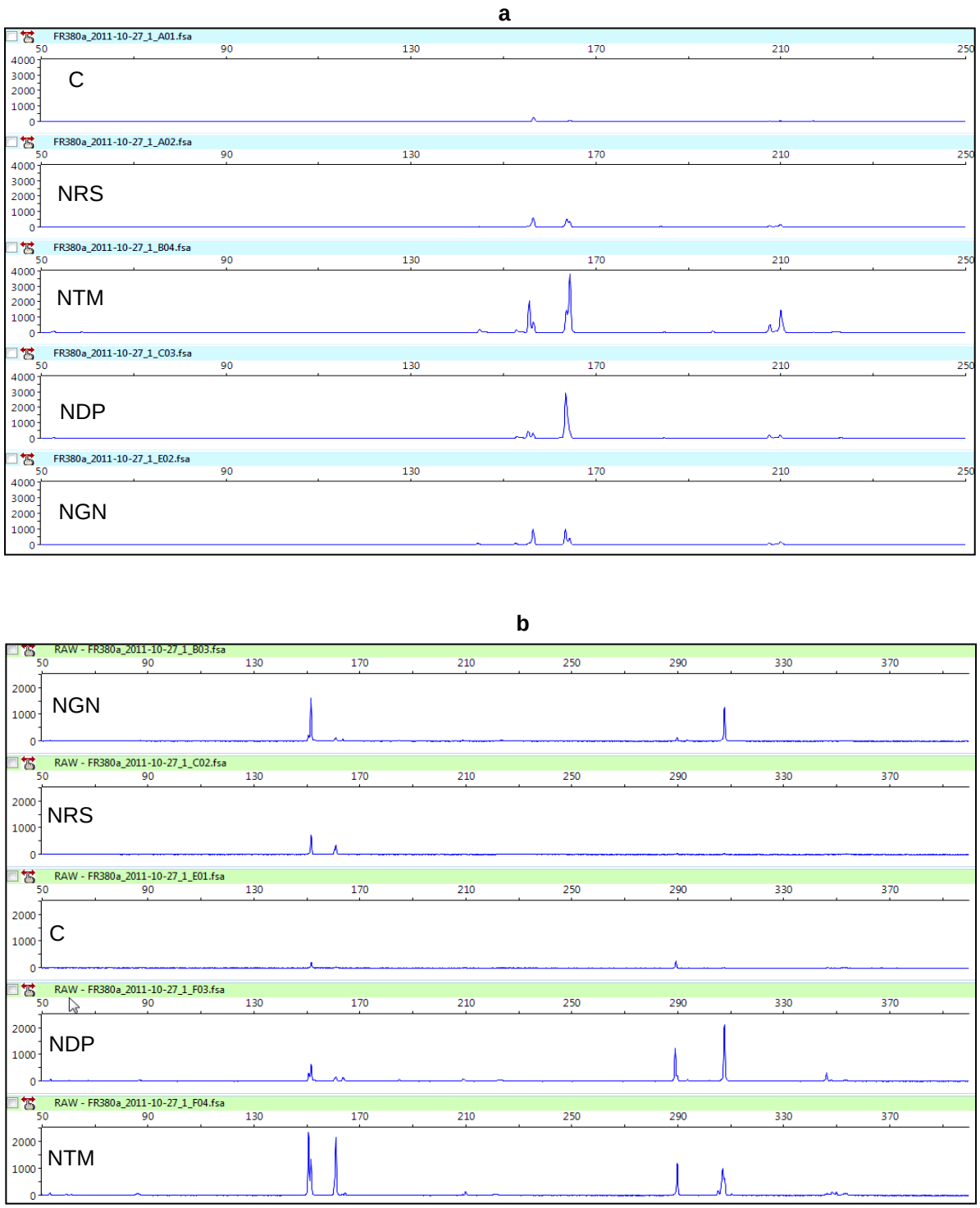
ผลการวิเคราะห์ปริมาณชิ้นยีนที่เพิ่มขึ้น (gene copies) ในแต่ละกรรมวิธีโดยใช้เทคนิค RT-PCR แสดงดังภาพที่ 4.8 พบว่าปริมาณ gene copies ในกรรมวิธี NTM (native tamarind; ดินที่ได้ใส่ใบ+ก้านมะขาม) มีปริมาณสูงสุดและแตกต่างจากกรรมวิธีอื่น แสดงให้เห็นว่าการใส่ใบ+ก้านมะขามในดินเป็นระยะเวลา 16 ปี ส่งผลให้มีการเพิ่มปริมาณประชากรรา (abundance of fungi) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 4.8 ปริมาณประชากรรา (abundance of fungi) ระหว่างกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ (NRS, NGN, NDP และ NTM) เป็นระยะเวลา 16 ปี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C-soil) โดยเทคนิค RT-PCR

อักษรกำกับที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลจากการวิเคราะห์ T-RFLP ของโครงสร้างประชากรรา (fungal community structure) จากการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ในการตัดลำดับเบสในตำแหน่งจำเพาะ (recognition site) บนตำแหน่งยีนที่ amplified โดย conventional PCR ชี้ให้เห็นว่าการใส่สารอินทรีย์คุณภาพแตกต่างกันอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรราทั้งชนิดและปริมาณ โดยสารอินทรียที่จัดว่ามีคุณภาพปานกลาง (มีปริมาณไนโตรเจน, ลิกนิน และโพลีฟีนอล ปานกลาง) เช่นกรรมวิธี NTM มีการเพิ่มจำนวนของชิ้นยีน 18s rDNA ที่พบใน fungi มากที่สุด และมีการเปลี่ยนแปลงทั้งชนิดและปริมาณของประชากรราแตกต่างจากกรรมวิธีอื่นอย่างเห็นได้ชัด พิจารณาได้จำนวนและความสูงของ T-RFLP peak ที่ปรากฏจากการใช้เอนไซม์ HAE III ตัดจำเพาะในตำแหน่ง recognition site (ภาพที่ 4.9a) และจากการใช้เอนไซม์ MSP I ในการตัดจำเพาะ (ภาพที่ 4.9b) ขณะที่การวิเคราะห์ similarities จากการวิเคราะห์ non-metric multidimensional scaling plotโดยวิธี Bray-Curtis ของชิ้นส่วนลำดับเบส (base sequences) ที่ได้จากการใช้เอนไซม์ MSP I (ภาพที่ 4.10a และ ตารางที่ 4.5) และ HAE III ในการตัดจำเพาะ (ภาพที่ 4.10b และ ตารางที่ 4.6) แสดงให้เห็นว่าประชากรราในกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ (native soil หรือ N-soils) มีความแตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (control soil หรือ C-soil) โดยผลจากการใช้เอนไซม์ MSP I ในการตัดจำเพาะแสดงให้เห็นว่ากรรมวิธี NTM มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรรามากที่สุด โดยกลุ่มประชากรราของกรรมวิธี NTM อยู่ห่างจากประชากรราในกรรมวิธีที่ไม่ใส่สารอินทรีย์ (C-soil) มากที่สุด และแตกต่างจากกรรมวิธีที่มีการใส่สารสารอินทรีย์ ได้แก่กรรมวิธี NRS, NGN และ NDP (R=1.0) โดยกรรมวิธี NTM มีความแตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ใส่สารอินทรีย์ (C-soil) มากที่สุด ตามด้วยกรรมวิธี NDP (0.926), NGN (0.444) และ NRS (0.444) แสดงให้เห็นว่าลิกนินและโพลีฟีนอล เป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของประชากรรา (fungal community structure) ขณะที่การใช้เอนไซม์ HAE III ในการตัดจำเพาะพบว่ากรรมวิธี NDP (native dipterocarp หรือ ดินที่ใส่ใบพลวง) มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรราในกรรมวิธี NDP มากที่สุด ตามด้วยกรรมวิธี NTM เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C-soil) และสามารถเห็นได้ว่ากรรมวิธี NRS มีการเปลี่ยนแปลงของ fungal community structure น้อยที่สุด จากการใช้ MSP I และ HAE III ในการตัดจำเพาะ



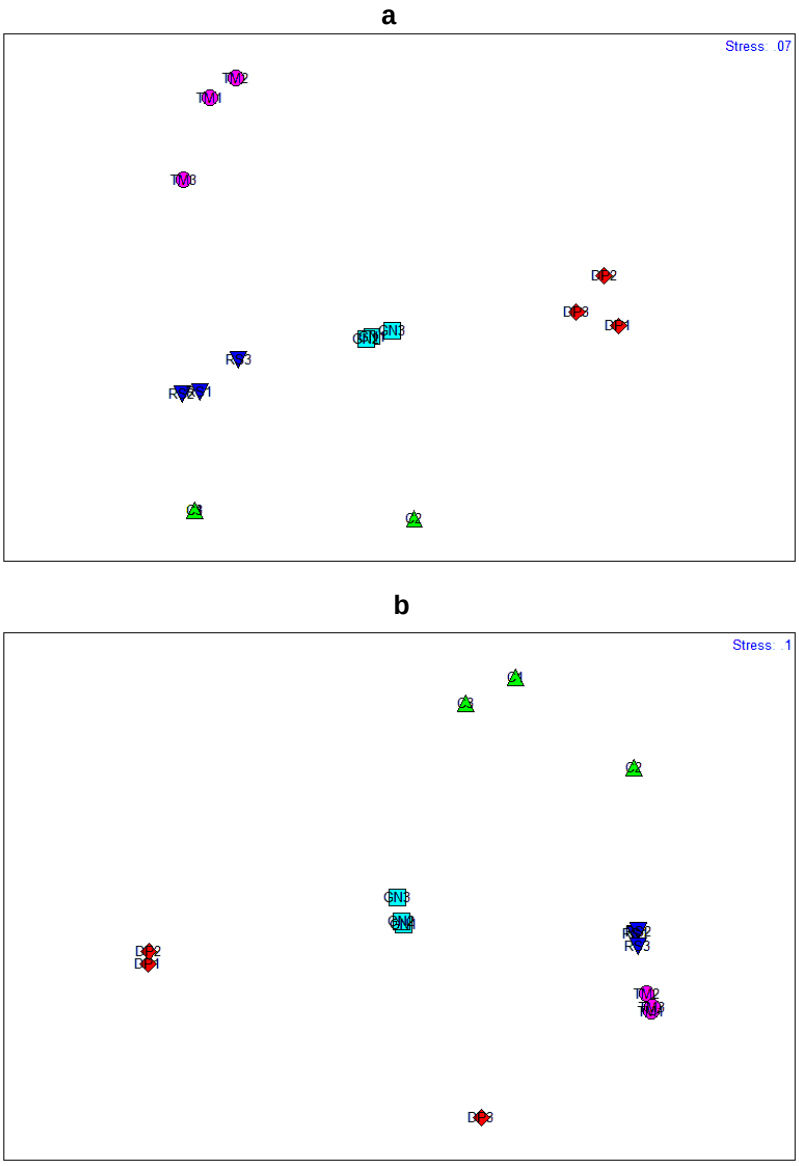
ภาพที่ 4.9 รูปแบบ T-RFLP ของ PCR-amplified 18s rDNA โดยใช้เอนไซม์ HAE III (a) และเอนไซม์ MSP I (b) ในการตัดจำเพาะ ระหว่างกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ (NRS, NGN, NDP และ NTM) เป็นระยะเวลา 16 ปี เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C-soil)

ตารางที่ 4.5 Percent similarity ตัดโดยเอนไซม์ MSP I

	C1	C2	C3	NRS1	NRS2	NRS3	NGN1	NGN2	NGN3	NDP1	NDP2	NDP3	NTM1	NTM2	NTM3
C1															
C2	41.51														
C3	100.00	41.51													
NRS1	73.93	41.51	73.93												
NRS2	66.64	41.51	66.64	87.42											
NRS3	64.24	41.51	64.24	90.31	86.53										
NGN1	49.38	41.51	49.38	61.25	55.96	69.43									
NGN2	48.78	41.51	48.78	64.13	58.84	70.93	93.11								
NGN3	47.75	41.51	47.75	56.46	51.81	62.54	92.06	88.20							
NDP1	13.79	41.03	13.79	13.79	13.79	19.87	49.39	45.52	54.81						
NDP2	12.57	36.22	12.57	16.98	16.98	23.06	52.58	48.72	60.17	86.43					
NDP3	16.46	50.92	16.46	20.51	20.51	26.59	54.38	52.25	56.78	81.78	84.68				
NTM1	14.72	14.72	14.72	40.79	44.43	44.40	29.74	30.80	24.64	13.79	18.18	19.98			
NTM2	14.15	14.91	14.15	40.22	39.46	43.83	29.16	30.23	24.54	14.55	19.42	20.64	91.58		
NTM3	40.65	40.65	40.65	45.93	40.65	48.04	49.08	46.66	45.30	13.79	12.57	16.46	65.78	71.18	

ตารางที่ 4.6 Percent similarity ตัดโดยเอนไซม์ HAE III

	C1	C2	C3	NRS1	NRS2	NRS3	NGN1	NGN2	NGN3	NDP1	NDP2	NDP3	NTM1	NTM2	NTM3
C1															
C2	37.17														
C3	84.03	37.17													
NRS1	52.44	47.37	52.44												
NRS2	51.75	46.91	51.75	92.45											
NRS3	45.24	48.37	45.24	92.80	91.78										
NGN1	34.16	40.75	50.13	58.27	54.29	58.27									
NGN2	34.42	39.77	50.39	55.41	55.41	55.41	88.36								
NGN3	40.65	43.34	56.62	49.62	46.82	49.62	80.57	80.24							
NDP1	7.48	12.04	23.45	17.12	12.04	17.12	53.99	52.51	65.22						
NDP2	9.85	13.99	25.82	17.82	13.99	17.82	56.51	54.46	67.17	92.95					
NDP3	29.53	42.68	29.53	46.14	39.27	47.49	40.10	34.88	38.49	27.60	29.42				
NTM1	23.81	41.72	23.81	70.35	72.06	77.19	54.10	44.81	34.91	20.74	22.58	42.35			
NTM2	29.89	45.99	29.89	76.52	78.14	83.37	58.81	50.89	40.87	20.10	19.83	48.16	93.82		
NTM3	25.50	43.84	25.50	73.07	73.75	80.27	50.50	46.50	34.47	18.08	17.82	45.98	92.00	90.98	



ภาพที่ 4.10 Pattern T-RFLP วิเคราะห์ Non-metric multidimensional scaling plot โดยวิธี Bray-curtis ที่ตัดโดยใช้ restriction enzyme คือ MSP I (a) และ HAE III (b) ; ●:C; ▲:RS;▼:GN;■:DP;◆:TM

ผลจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าปริมาณประชากรรา (abundance of fungi) แตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธีที่ได้รับสารอินทรีย์ต่างชนิดกัน แสดงให้เห็นว่าการใส่สารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบทางเคมี (คุณภาพ) แตกต่างกันเป็นระยะเวลานานกว่า 16 ปีส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของประชากรราทั้งชนิดและปริมาณ โดยสารอินทรีย์ที่จัดว่ามีคุณภาพปานกลาง (ไนโตรเจน ลิกนิน และโพลีฟีนอล ปานกลาง) เช่นในกรรมวิธี NTM (ใบมะขามร่วง) มีการเพิ่มจำนวนของชิ้นยีน 18s rDNA ที่พบใน fungi มากที่สุด และมีการเปลี่ยนแปลงของประชากรราทั้งในแง่ของชนิดและปริมาณมากที่สุด นอกจากนี้ผลที่ได้จาก Non-metric multidimensional scaling plot โดยวิธี Bray-

curtis ที่ตัดโดยใช้ restriction enzyme คือ MSP I ชี้ให้เห็นว่ากรรมวิธี NTM มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรราจากกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C-soil) มากที่สุด แต่มีความคล้ายคลึงกับกรรมวิธี NRS (native rice straw หรือ ดินที่ใส่ฟางข้าว), NGN (native groundnut หรือ ดินที่ใส่ซากถั่วลิสง) และ NDP (native dipterocarp หรือ ดินที่ใส่ใบพลวง) ตามลำดับ ขณะที่การใช้เอนไซม์ HAE III ในการตัดจำเพาะชี้ให้เห็นว่าประชากรรากรรมวิธี NDP มีการเปลี่ยนแปลงจากกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C) มากที่สุดตามด้วยกรรมวิธี NTM, NRS และ NGN ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ตัดจำเพาะสามารถจดจำตำแหน่ง (recognition region) ในการตัดชิ้นยีนที่สนใจในตำแหน่งของลำดับเบส ได้แตกต่างกัน ดังนั้นรูปแบบ (pattern) ของลำดับเบสที่ได้ (Terminal restriction fragments; T-RFs) ของตัวอย่างจากแต่ละกรรมวิธี ที่มีการใช้ MSP I และ HAE III จึงมีขนาดแตกต่างกัน