รายงานการวิจัย

ชื่อโครงการ: **รายงานผลการวิจัยปีที่ 3: การใช้ถ่านเป็นสารปรับปรุงดินเสื่อมโทรม และการศึกษาหน้าที่และโครงสร้างประชากรราผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างคุณภาพ**

คณะผู้วิจัย: **ปัทมา วิตยากร, สมชาย บุตรนันท์ และ ภาณุเดชา กมลมานิทย์**

หน่วยงาน: **มหาวิทยาลัยขอนแก่น**

ทุนวิจัย: **ทุนอุดหนุนทั่วไปมหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปีงบประมาณ 2554**

ระยะเวลา: **2553 - 2554**

บทคัดย่อ

การวิจัยส่วนแรกเป็นการศึกษาการใช้ถ่านเป็นสารปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดิน โดยดินที่ใช้ในการศึกษานี้มี 2 ชนิด ที่มีเนื้อดินและคุณสมบัติทางแร่วิทยาที่แตกต่างกัน คือชุดดินโคราช (Khorat series: isohyperthermic, Typic (Oxyaquic) Kandiustults) ซึ่งเป็นดินเนื้อทรายร่วน และชุดดินวาเฮียวา (Wahiawa series: clayey, kaolinitic, isohyperthermic, Tropeptic Eutrustox) ซึ่งเป็นดินเนื้อเหนียว ส่วนถ่านที่ใช้ศึกษาเป็นสารปรับปรุงดินผลิตจากวัตถุดิบคือส่วนปลายของไม้ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus camaldulensis*) ที่เหลือจากการตัดส่งโรงงานทำกระดาษแต่มีวิธีการเผาที่แตกต่างกัน ชนิดแรกเป็นถ่านที่ผลิตโดยวิธีพื้นบ้านในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (TK-biochar) โดยถ่านที่ได้รับการคัดเลือกนั้นผลิตโดยกลุ่มผู้เผาถ่านที่เป็นสมาชิกของสวนป่ามัญจาคีรี อำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น และชนิดที่สองเป็นถ่านที่ถูกผลิตด้วยวิธี flash carbonization techniques (FC-biochar) ซึ่งเป็นวิธีการเผาที่ให้ความร้อนอย่างรวดเร็ว โดยมีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 25^0C/min จนถึงอุณหภูมิ 350^0C โดยให้คงอุณหภูมิไว้ที่ 350^0C 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 ชุดดินโคราชและวาเฮียวา, 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 และส่วนที่สองเป็นการศึกษาระยะยาวของดินที่มีการใส่สารอินทรีย์ต่างคุณภาพต่อการเปลี่ยนแปลงและการสะสมอินทรียวัตถุในดินทราย ในสถานีทดลองสำนักงานเกษตรและสหกรณ์จังหวัดขอนแก่น ตำบลท่าพระ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ซึ่งมีการใส่สารอินทรีย์คุณภาพ(องค์ประกอบทางเคมี) แตกต่างกัน 5 กรรมวิธีทดลอง คือ กรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่มีการใส่สารอินทรีย์, ซากต้นใบถั่วลิสง(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 ทั้งชุดดินโคราชและชุดดินวาเฮียวาไม่ได้รับอิทธิพลจากชนิดและอัตราถ่าน แต่จะแสดงผลในการปลูกพืชครั้งที่ 2 พบว่าชุดดินโคราชและชุดดินวาเฮียวา 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 ของดินระหว่างดินที่ใส่และไม่ใส่ถ่านไม่ได้แตกต่างกัน ยกเว้นอัตรา 4% ส่วนการปลูกพืชทดสอบครั้งที่ 2 ทั้ง 2 ชุดดินที่ผสมคลุกเคล้ากับ TK-BC และ FC-BC ในอัตราต่างๆ ทำให้น้ำหนักแห้งของข้าวโพดมีมากกว่าดินที่ไม่ได้ผสมคลุกเคล้ากับถ่าน ผลดังกล่าวอาจรับอิทธิพลของคุณสมบัติของดินที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งทางด้านกายภาพ (เช่น ความหนาแน่นรวม), เคมี (pH, CEC, และความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช) และชีวภาพ (การเปลี่ยนแปลงทางด้านมวลชีวภาพและโครงสร้างประชากรของจุลินทรีย์) อันเนื่องมาจากอิทธิพลของถ่าน อย่างไรก็ตามอิทธิพลของชนิดและอัตราถ่านทั้งในชุดดินโคราชและชุดดินวาเฮียวาไม่ได้มีทั้งต่อคุณสมบัติของดินและการเจริญเติบโตของข้าวโพดในการปลูกครั้งที่ 1 แต่จะมีผลชัดเจนในการปลูกพืชครั้งที่ 2

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

N-soil (ดินที่มีการใส่สารอินทรีย์ต่างคุณภาพติดต่อเป็นระยะเวลา 16 ปี) โดยกรรมวิธี NTM (ดินที่มีการใส่ใบ+ก้านมะขามร่วงต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี) มีกิจกรรมของเอนไซม์ invertase สูงที่สุด ตามด้วยกรรมวิธี NTM+TM (ดินที่มีการใส่ใบ+ก้านมะขามร่วงต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี และใส่ใบมะขามร่วงเข้าไปใหม่) ในกรรมวิธี C-soil (ดินที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์) ที่มีการใส่สารอินทรีย์เพิ่มเข้าไปใหม่ พบว่ากรรมวิธี C+GN (ดินที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ และใส่ซากถั่วลิสงเข้าไปใหม่) มีกิจกรรมของเอนไซม์ invertase สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการใส่สารอินทรีย์ชนิดอื่น 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 เพิ่มสูงขึ้น 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) จากตัวอย่างที่ใช้เอนไซม์ 2 ชนิดในการตัดจำเพาะ คือ MSP I และ HAE III ในขณะที่ผลของการวิเคราะห์ similarities ที่ได้จากการวิเคราะห์ non-metric multidimensional scaling (nMDS) โดยวิธี Bray-Curtis จากการใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ คือ MSP I และ HAE III ชี้ให้เห็นว่าประชากรราในกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ (N-soils) มีความแตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C-soil) ผลจากการใช้เอนไซม์ MSP I ในการตัดจำเพาะพบว่ากรรมวิธี NTM มีการเปลี่ยนแปลงของประชากรรามากที่สุด ขณะที่การใช้เอนไซม์ HAE III ในการตัดจำเพาะพบว่ากรรมวิธี NDP มีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างประชากรรามากที่สุด ตามด้วยกรรมวิธี NTM เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (C)