

## อิทธิพลของการฉีดพ่น ZnO-NPs ต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินในแปลงปลูกทานตะวันที่ใช้ปุ๋ยเคมีเปรียบเทียบกับวัสดุอินทรีย์

### Influence of ZnO-NPs foliar application on soil microbial activities in sunflower fields treated with chemical fertilizers compared with organic materials

ภานุเดชา กมลมานิต<sup>1\*</sup>, ณัฐกิตติยา ไพบูลย์<sup>2</sup> และ ศิวพร แพงคำ<sup>1</sup>

Bhanudacha Kamolmanit<sup>1\*</sup>, Natthakittiya Paiboon<sup>2</sup> and Siwaporn Paengkom<sup>1</sup>

<sup>1</sup> สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา นครราชสีมา 30000

<sup>1</sup> Department of Agriculture, Faculty of Science and Technology, Nakhon Ratchasima Rajabhat University, Nakhon Ratchasima 30000

<sup>2</sup> สาขาวิชานวัตกรรมข้าว สถาบันสหทรรศศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน

<sup>2</sup> Rice innovation, Institute of Interdisciplinary Study, Rajamangala University of Technology Isan 30000

**บทคัดย่อ:** งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของวัสดุอินทรีย์และการฉีดพ่น ZnO-NPs ในแปลงปลูกทานตะวันต่อกิจกรรมของเอนไซม์หมุนเวียนคาร์บอนและการหายใจของจุลินทรีย์ในดินที่ส่งผลต่อการสะสมคาร์บอนอินทรีย์ในดิน กรรมวิธีทดลองในพื้นที่ศึกษาประกอบด้วย 1) ปุ๋ยเคมี (N-P-K) 2) ปุ๋ยเคมี + ZnO-NPs 3) มูลแพะ 4) มูลแพะ + ZnO-NPs 5) ปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ และ 6) ปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ + ZnO-NPs ผลการศึกษาพบว่ากรรมวิธีปุ๋ยเคมีที่มีการฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs ส่งผลให้ดินปลดปล่อย CO<sub>2</sub> เพิ่มขึ้นภายใน 7 วันหลังการใส่ (13.3 และ 12.4 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day) เมื่อเทียบกับวันที่ 0 (5.1 และ 6 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day) โดยมีการลดลงของคาร์บอนอินทรีย์ในดินเฉลี่ยเท่ากับ 13.6% ที่บ่งชี้ถึงการสลายตัวของคาร์บอนที่สะสมในดิน ขณะที่กรรมวิธีมูลแพะ และมูลแพะ + ZnO-NPs ส่งผลให้ดินปลดปล่อย CO<sub>2</sub> ลดลงในช่วงแรก (7 วันหลังการใส่) มีค่าเท่ากับ 22.5 และ 24 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day) เทียบกับวันที่ 0 (39.6 และ 37.5 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day) กรรมวิธีมูลแพะ + ZnO-NPs ส่งผลให้การปลดปล่อย CO<sub>2</sub> ลดต่ำกว่าการไม่ฉีดพ่นในวันที่ 21 และ 63 วันหลังการใส่ (-19.7 และ -23.8% ตามลำดับ) ( $P < 0.001$ ) ขณะเดียวกันกรรมวิธีปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ และปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ + ZnO-NPs ส่งผลให้การปลดปล่อย CO<sub>2</sub> มีแนวโน้มลดลงเกือบทุกช่วงเวลา ค่า metabolic quotient ( $qCO_2$ ) ในวันที่ 0 (3 h) ภายใต้กรรมวิธีมูลแพะและปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ (ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs) มีค่าระหว่าง 0.27-0.48 mg CO<sub>2</sub>-C/g MBC/d สูงกว่ากรรมวิธีปุ๋ยเคมีที่ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น (0.06-0.08 mg CO<sub>2</sub>-C/g MBC/d) ( $P < 0.001$ ) แสดงถึงศักยภาพของจุลินทรีย์ในการใช้คาร์บอนจากวัสดุอินทรีย์เพื่อเป็นแหล่งพลังงานสูงกว่าการสะสมภายในชีวมวลจุลินทรีย์ ในวันที่ 49 และ 63 วันหลังการใส่พบว่าค่า  $qCO_2$  ภายใต้กรรมวิธีปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ (ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs) ลดต่ำกว่าทุกกรรมวิธี (0.05-0.07 mg CO<sub>2</sub>-C /g MBC/d) ( $P < 0.05$ ) สอดคล้องกับกิจกรรมฟีนอลออกซิเดสที่มีค่าสูงในช่วงเวลาดังกล่าว (6.3-7.56  $\mu\text{mol dicq/g soil/h}$ ) บ่งชี้ว่าจุลินทรีย์ปรับเปลี่ยนเมแทบอลิซึมไปใช้สารประกอบคาร์บอนที่ต้านทานการย่อยสลาย การศึกษานี้พบความสัมพันธ์ในทิศทางลบระหว่างเอนไซม์บีตา-กลูโคซิเดสและฟีนอลออกซิเดสในวันที่ 7-21 ( $R^2 = 0.614, r = -0.7213$ ) และ 49-63 ( $R^2 = 0.5152, r = -0.7155$ ) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์มีการปรับเปลี่ยนการใช้แหล่งคาร์บอนระหว่างการย่อยสลาย

**คำสำคัญ:** อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์; การปลดปล่อย CO<sub>2</sub>; คาร์บอนอินทรีย์ในดิน; ฟีนอลออกซิเดส; บีตา-กลูโคซิเดส

\* Corresponding author: [bhanudacha@yahoo.com](mailto:bhanudacha@yahoo.com)

Received: date; October 17, 2022 Accepted: date; April 7, 2023 Published: date;

**ABSTRACT:** The objective of this research was to study the influence of organic materials and impact of ZnO-NPs on microbial activity concerning soil organic carbon turnover in soil. The experiment was divided into 6 treatments as following: 1) chemical fertilizer (CF) (N-P-K) 2) CF + ZnO-NPs 3) goat manure (GM) 4) GM + ZnO-NPs 5) GM-biochar compost and 6) GM-biochar compost + ZnO-NPs. The study found that chemical fertilizer with and without ZnO-NPs treatments resulted in increased CO<sub>2</sub> emissions within 7 days after the application (13.3 and 12.4 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day) compared to day 0 (5.1 and 6 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day) in which the average soil organic carbon reduction (with and without ZnO-NPs) was 13.6%, indicating the degradation of indigenous soil carbon deposits. The GM and GM + ZnO-NPs treatments decreased soil CO<sub>2</sub> emissions at the first 7 days after the application (22.5 and 24 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day) compared to day 0 (39.6 and 37.5 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day). Treatment GM + ZnO-NPs resulted in lower CO<sub>2</sub> emissions than without foliar at days 21 and 63 after application (-19.7 and -23.8%, respectively) ( $P < 0.001$ ). Meanwhile, the GM-biochar compost and GM-biochar compost + ZnO-NPs decreased CO<sub>2</sub> emissions for almost a period. The metabolic quotient ( $qCO_2$ ) at day 0 under GM and GM-biochar compost treatments (with and without ZnO-NPs) (0.27-0.48 mg CO<sub>2</sub>-C/g MBC/d) was significantly higher than that of the CF treatments (with and without ZnO-NPs) (0.06-0.08 mg CO<sub>2</sub>-C /g MBC/d) ( $P < 0.001$ ), indicating that the microorganisms have a higher potential to utilize carbon from organic material as an energy source than its accumulation within the microbial biomass. At day 49 and day 63, the GM-biochar compost treated treatments (with and without ZnO-NPs) had lower  $qCO_2$  than other treatments (0.05-0.07 mg CO<sub>2</sub>-C/g MBC/d) ( $P < 0.05$ ) corresponding to a high phenol oxidase activity during that period (6.3-7.56  $\mu\text{mol dicq/g soil/h}$ ), indicating microorganisms switch their metabolism to use resistant carbon compounds. This study found a negative correlation between  $\beta$ -glucosidase and phenoloxidase during days 7 to 21 ( $R^2 = 0.614$ ,  $r = -0.7213$ ) and 49 to 63 ( $R^2 = 0.5152$ ,  $r = -0.7155$ ), suggesting that microorganisms alter their use of carbon sources during decomposition.

**Keywords:** Zn oxide nanoparticle; CO<sub>2</sub> emissions; soil organic carbon; phenoloxidase;  $\beta$ -glucosidase

## บทนำ

พื้นที่ตอนภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยจำนวน 61 ล้านไร่ถูกใช้เพาะปลูกพืชไร่ 49 ล้านไร่ ในจำนวนนี้มีกลุ่มดินที่เนื้อดินเป็นทรายสัดส่วนมากถึง 8 ล้านไร่ (สภทระ และคณะ, 2558) อีกทั้งสภาพภูมิประเทศแบบเขตร้อนยิ่งส่งผลให้คาร์บอนอินทรีย์ในดินต่ำ ดังเห็นได้จากวัสดุอินทรีย์ในดินถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์อย่างรวดเร็ว (Rasche and Cadisch, 2013) คาร์บอนอินทรีย์ในดินเป็นตัวชี้วัดหนึ่งของความอุดมสมบูรณ์ทางดิน ในกระบวนการสร้างต้องอาศัยปัจจัยด้านองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุอินทรีย์ ปริมาณการนำเข้าสู่ระบบดิน ร่วมกับการลดการไถพรวน (Allam et al., 2022; Mao et al., 2012) เพื่อให้ดินรักษาระดับคาร์บอนอินทรีย์เอาไว้ได้ โดยองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุอินทรีย์เป็นปัจจัยหลักในการเพิ่มระดับคาร์บอนอินทรีย์ในดินให้สูงขึ้น (Shi and Schulin, 2019) วัสดุอินทรีย์ที่มีลิกนินและพอลิฟีนอลสูงส่งผลให้ดินสะสมคาร์บอนอินทรีย์ในดินได้มากกว่าวัสดุประเภทเซลลูโลส (Kamolmanit et al., 2013) โดยในปัจจุบันมีการใช้วัสดุประเภทถ่านชีวภาพที่มีคาร์บอนคงตัว (fixed C) ซึ่งมีความเสถียรสูงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะเพิ่มการสะสมคาร์บอนอินทรีย์ในดินได้เช่นกัน (Singh et al., 2020) อย่างไรก็ตามวัสดุอินทรีย์มีธาตุอาหารหลักพืชต่ำกว่าปุ๋ยเคมี (Kanouo et al., 2018; Sarfaraz et al., 2020) ทำให้ต้องใช้ในปริมาณสูงและไม่คุ้มกับการลงทุน เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารส่งเสริมการเจริญเติบโตร่วมด้วยในการเพิ่มผลผลิตพืช สังกะสี (Zn) เป็นจุลธาตุที่ส่งเสริมการสังเคราะห์ฮอร์โมน IAA ซึ่งเกี่ยวข้องกับ การสร้างความแข็งแรงของดอกพืช (Fu et al., 2015) การให้ปุ๋ย Zn ส่วนใหญ่อยู่ในรูป ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O หรือ ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O แต่สารประกอบกลุ่มนี้สามารถตกตะกอนอยู่ในรูปที่ไม่ละลายทำให้พืชไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ ทำให้ปัจจุบันมีการใช้อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (Zn oxide nanoparticle, ZnO-NPs) อย่างแพร่หลายเพื่อเป้าหมายเพิ่มผลผลิตพืชด้านกายภาพ (Raliya and Tarafdar, 2013) หรือกระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์น้ำมันในเมล็ดพืชอย่างเช่นทานตะวัน (Meenakshi et al., 2020) โดย Ruangthep et al. (2018) พบว่าการใช้ ZnO-NPs ที่ระดับความเข้มข้น 200 mg/l ส่งเสริมลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ดีที่สุด อย่างไรก็ตามเนื่องจาก ZnO-NPs มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่น้อยกว่า 100 nm (Heer, 2017) ทำให้สามารถถูกดูดซับที่ผิวของคอลลอยด์ดินสูงถึง 20 เท่าของ ZnO ปกติ (Srivastav et al., 2016) ดังนั้นการใช้ ZnO-NPs ในระบบเกษตรจึงอาจตกค้างในดินและส่งผลกระทบต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินในระยะยาว โดยเฉพาะอย่างยิ่งระบบเกษตรที่มีการนำเข้าของเศษซากพืชที่มีการใช้ ZnO-NPs โดยอนุภาคนาโนดังกล่าวอาจย่อยสลายผ่านกระบวนการทางชีวภาพ หรือเคลื่อนย้ายไปยังน้ำใต้ดินผ่านการไหลบ่าหรือชะล้าง (Boxall

et al., 2007) ทำให้เกิดการปนเปื้อนต่อสภาพแวดล้อมได้ อีกทั้งพบรายงานว่า ZnO-NPs มีคุณสมบัติทำลายเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* (Adams et al., 2006; Elumalai et al., 2015; Rajiv et al., 2013) รวมถึงยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า (สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, 2564) ขณะที่บางการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์ในดินบางชนิดสามารถสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลาย ZnO-NPs แล้วเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์หรือพืช (Singh et al., 2013) ทำให้การใช้อนุภาคนาโนในระบบเกษตรที่มีการหมุนเวียนกลับคืนของวัสดุอินทรีย์อาจมีสารตกค้างที่ส่งผลต่อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะหน้าที่เกี่ยวข้องกับ การหมุนเวียนคาร์บอนในระบบดิน และอาจส่งผลต่อพลวัตของอินทรีย์วัตถุในดินได้ในระยะยาว งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา กิจกรรมของจุลินทรีย์ ได้แก่ รูปแบบการหายใจ และกิจกรรมของเอนไซม์ ที่สัมพันธ์กับการสะสมคาร์บอนในรูปมวลชีวภาพจุลินทรีย์ คาร์บอนและคาร์บอนอินทรีย์ในดิน ภายใต้อิทธิพลของการใช้ปุ๋ยเคมีหรือวัสดุอินทรีย์ร่วมกับการฉีดพ่น ZnO-NPs ในแปลงปลูก ทานตะวัน

## วิธีการศึกษา

### สมบัติดินบางประการ

เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทรายประกอบด้วยอนุภาคขนาดทราย ทรายแป้ง และดินเหนียว เท่ากับ 734 136 และ 130 g/kg ตามลำดับ (ภาณุเดชา และ พฤษชา, 2564) ความหนาแน่นรวมของดินที่ระดับความลึก 0-15 cm เท่ากับ 1.58 Mg/m<sup>3</sup> เพาะปลูก ทานตะวัน (*Helianthus annuus*. L.) สายพันธุ์ลูกผสมระหว่างเดือนตุลาคมถึงมกราคมเป็นประจำทุกปี

### การเตรียมวัสดุอินทรีย์ และนาโนซิงค์ออกไซด์ที่ใช้ศึกษา

ถ่านมูลแพะเตรียมโดยไฟโรไลซิสด้วยเตาสมัยใหม่ผลิตจากถ่านทำจากวัสดุพอลิเอทิลีนขนาด 200 litre ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 59 cm ความสูงของตัวถัง 89 cm ภายในบรรจุป้อนที่มีขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 25 x 25 x 35 cm ได้รอบละ 2 ปี๊บ ปุ๋ยหมักถ่าน มูลแพะเตรียมโดยผสมฟางข้าว มูลแพะ และถ่านมูลแพะ โดยคำนวณอัตราส่วน C/N ให้ได้ 30 ต่อ 1 โดยใช้ค่าเปอร์เซ็นต์ TOC TN และ ความชื้นของแต่ละวัสดุ คิดเป็นปริมาณอัตราส่วนการใช้เท่ากับ 150 650 และ 200 kg ตามลำดับ ผสมวัสดุหมัก 1,000 kg ร่วมกับสาร เร่งซูเปอร์ พด. 1 หมักเป็นระยะเวลา 49 วัน รายละเอียดและขั้นตอนการหมักปุ๋ยอ้างอิงจากภาณุเดชา และคณะ (2561) สมบัติบาง ประการของดินและวัสดุอินทรีย์แสดงดัง **Table 1** อนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ (ZnO-NPs) ได้รับความอนุเคราะห์จากวิทยาลัยเทคโนโลยี และนวัตกรรมวัสดุ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### พื้นที่ศึกษา

พื้นที่ปลูกทานตะวันจำนวน 3 ไร่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์ฝึกอบรมและวิจัยทางการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏ นครราชสีมา ต. ไชยมงคล อ. เมือง จ. นครราชสีมา พิกัด 14°51'16"N 102°04'12"E ปลูกทานตะวันปีละหนึ่งครั้งต่อเนื่องทุกปีตั้งแต่ พ.ศ. 2558 โดยใช้ปุ๋ยเคมีแต่ไม่มีประวัติการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และ ZnO-NPs วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) จำนวน 6 บล็อก กรรมวิธีทดลองประกอบด้วย 1) ปุ๋ยเคมี (N-P-K) 2) ปุ๋ยเคมี + ZnO-NPs 3) มูลแพะ 4) มูลแพะ + ZnO-NPs 5) ปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ และ 6) ปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ + ZnO-NPs ทุกกรรมวิธีมีการไถพรวนดิน 2 สัปดาห์ก่อนย้ายปลูก กรรมวิธีปุ๋ยเคมีใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 kg/rai จำนวน 2 ครั้งต่อรอบการปลูก กรรมวิธีใส่มูลแพะและปุ๋ยหมักมูลแพะใช้อัตรา 500 kg/rai กรรมวิธีฉีดพ่น ZnO-NPs เตรียมสารละลายที่ระดับความเข้มข้น 200 mg/l ฉีดพ่นส่วนใบและลำต้นเมื่อทานตะวันปรากฏ ใบจริงเฉลี่ย 5-7 ใบ เก็บตัวอย่างดินโดยวิธีสุ่มอย่างง่ายด้วย auger ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 cm ที่ระดับความลึก 0-15 cm จำนวน 9 จุดจากแต่ละบล็อก ในวันที่ 0 (3 ชั่วโมงหลังใส่ปุ๋ย) 7 21 49 63 77 และ 112 ตั้งแต่ตุลาคม 2564-มกราคม 2565

### การวิเคราะห์ตัวอย่าง

วัดค่า pH ด้วย pH meter (อัตราส่วนดินต่อน้ำ = 1: 2.5, อัตราส่วนดินต่อวัสดุอินทรีย์ = 1: 10) วัดความชื้นดินโดยวิธี gravimetric วิเคราะห์คาร์บอนอินทรีย์ทั้งหมดโดย TOC analyzer ปริมาณ CO<sub>2</sub> ที่ปลดปล่อยโดยใช้ 1M NaOH ดักจับแล้วไทเทรตด้วย 0.5M HCl (Rowell, 1997) รายงานหน่วยการปลดปล่อย CO<sub>2</sub>-C แบบรายวันและแบบสะสมเป็น mg CO<sub>2</sub>-C/kg soil/day และ mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day วิเคราะห์ Total N โดยวิธี micro Kjeldahl วิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total P) และโพแทสเซียมทั้งหมด (Total K)

โดยย่อยด้วยกรดไนตริก-เปอร์คลอริก สำหรับ Total P พัฒนาสีด้วยสารละลาย vanadomolybdate จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm (Olsen and Sommers, 1982) สำหรับ Total K วัดความเข้มข้นด้วย Atomic absorption spectrophotometer วิเคราะห์ค่า proximate ของมูลแพะและถ่านชีวภาพโดยวิธีมาตรฐาน ASTM 1762-84 (American Standard of Testing Material, 1990) โดยอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 105 °C กระทั่งน้ำหนักคงที่ วิเคราะห์ปริมาณสารระเหย (Volatile matter, VM) โดยเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 950 °C เป็นเวลา 6 นาที วิเคราะห์เถ้า (Ash) โดยเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 750 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง วิเคราะห์มวลชีวภาพจุลินทรีย์คาร์บอน (microbial biomass C) โดยวิธี chloroform fumigation-extraction ทำการรมดินด้วยคลอโรฟอร์ม (CHCl<sub>3</sub>) จากนั้นสกัดด้วย 0.5 N K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> และไทเทรตด้วยไดโครเมต (Amato and Ladd, 1988) คำนวณส่วนต่างระหว่างดินที่รมและไม่รมโดยใช้ค่าแฟกเตอร์ (f<sub>EC</sub>) เท่ากับ 0.33 เพื่อแปลงหน่วย OC เป็นมวลชีวภาพจุลินทรีย์คาร์บอน (MBC) (Sparling and West, 1988) คำนวณค่า metabolic quotient จากสมการ  $qCO_2$  (mg CO<sub>2</sub>-C/g MBC/d) = CO<sub>2</sub>-C/MBC วิเคราะห์กิจกรรม  $\beta$ -glucosidase โดยบ่มดินกับซับสเตรตสังเคราะห์ p-nitrophenyl-B-D-glucoside (PNG) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 nm (ดัดแปลงจาก Alef and Nannipieri, 1995) รายงานหน่วยเป็นไมโครกรัมของพารา-ไนโตรฟีนอลต่อกรัมของดินแห้งต่อชั่วโมง ( $\mu$ g PNG /g soil/h) กิจกรรมของเอนไซม์ phenoloxidase โดยบ่มดินกับซับสเตรต L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 460 nm รายงานหน่วยเป็นไมโครโมลของ 2,3-dihydroindole-5,6-quinone-2-carboxylate ต่อกรัมของดินแห้งต่อชั่วโมง ( $\mu$ mol dicq/g soil/h) (Hendel et al., 2005)

#### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน One-Way ANOVA ตามแผนการทดลองแบบ RCBD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD); standard error of the difference (SED) และ standard error of the mean (SEM) วิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ (correlation, r) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปัจจัยที่ระดับความเชื่อมั่น  $P < 0.05$  โดยโปรแกรม Statistix 10.0.0.9

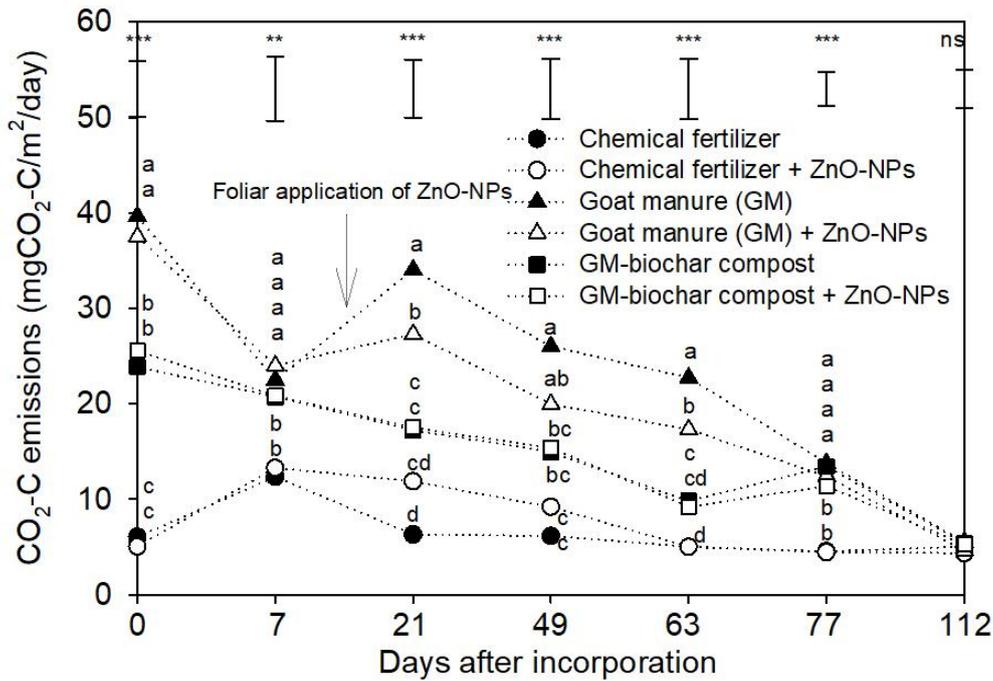
#### ผลการศึกษาและวิจารณ์

##### รูปแบบการปลดปล่อย CO<sub>2</sub>

ปริมาณ CO<sub>2</sub> ที่ปลดปล่อยสะท้อนกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารประกอบคาร์บอนในวัสดุอินทรีย์หรือในดิน ปริมาณ CO<sub>2</sub> ที่ตรวจวัดได้ภายใต้กรรมวิธีมูลแพะมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีปุ๋ยเคมีเกือบทุกช่วงเวลา มีรายงานการศึกษาพบว่า ZnO-NPs สามารถส่งผลให้กิจกรรมโดยรวมของจุลินทรีย์เปลี่ยนไปได้จากหลายกลไก ได้แก่ การปลดปล่อยในรูป Zn<sup>2+</sup> การสร้างสารอนุมูลอิสระ หรือสร้างพันธะไอออนิกภายในเซลล์ โดยอนุภาคระดับนาโน (NPs) นั้นสามารถผ่านเปปติโดไกลแคนของแบคทีเรียที่ทำให้เซลล์เกิดความเสียหายได้ (Sirelkhatim et al., 2015) สำหรับอิทธิพลของ ZnO-NPs ต่อจุลินทรีย์ในมูลสัตว์มีรายงานโดย Pang et al. (2022) ที่พบว่าความชุกชุมของยีน (gene abundance) ต้านยาปฏิชีวนะในแบคทีเรีย *Ruminiclostridium* sp., *Riminooccus* sp. และ *Paenibacillus* sp. ในมูลวัวลดลง 6.6% เมื่อได้รับ ZnO-NPs เข้มข้น 5 g/kg ขณะที่ Read et al. (2016) พบว่าเมื่อใช้ ZnO-NPs ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 g/kg soil ส่งผลให้โครงสร้างประชากรจุลินทรีย์ในดินเปลี่ยนแปลง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าการตอบสนองของจุลินทรีย์ในดินต่อ ZnO-NPs ที่แตกต่างกันสามารถเกิดได้จากจุลินทรีย์ต่างชนิดหรือสายพันธุ์ที่พบในดินหรือในวัสดุอินทรีย์นั้น ซึ่งคาดว่าเป็นสาเหตุทำให้การปลดปล่อย CO<sub>2</sub> ภายใต้กรรมวิธีมูลแพะ + ZnO-NPs ลดต่ำกว่ากรรมวิธีมูลแพะได้ภายหลังการฉีดพ่น (วันที่ 21-63) โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.001$ ) ในวันที่ 21 (-19.7%) และวันที่ 63 (-23.8%) (Figure 1)

การปลดปล่อย CO<sub>2</sub> ที่เพิ่มขึ้นสูงในกรรมวิธีปุ๋ยเคมี และกรรมวิธีปุ๋ยเคมี + ZnO-NPs ในวันที่ 7 (12.4 และ 13.3 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day ตามลำดับ) (Figure 1) บ่งชี้ว่าไนโตรเจนที่เข้าสู่ระบบดินส่งเสริมการสลายตัวของคาร์บอนอินทรีย์ที่สะสมในดิน (C mineralization) โดย N สามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับของคาร์บอนอินทรีย์ที่สะสมในดินที่เรียกว่าปรากฏการณ์ไพรมิง (priming effect) และตรวจวัดได้ในรูป CO<sub>2</sub> ที่ปล่อยออกมา (Kuzyakov, 2010; Kuzyakov et al., 2000) ระดับ SOC ในดินใส่ปุ๋ยเคมีที่วัดได้ในวันที่ 112 มีค่าเฉลี่ย (ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs) เท่ากับ 1.91 g/kg โดยมีค่าลดลงประมาณ 13.2% สอดคล้องกับค่า CO<sub>2</sub>-C สะสม (cumulative CO<sub>2</sub>-C emissions) ที่เพิ่มขึ้นในกรรมวิธีดังกล่าว ทั้งนี้ในการศึกษานี้พบว่า CO<sub>2</sub>-C สะสมเฉลี่ย (ฉีดพ่นและ

ไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs) มีค่าสูงสุดไปต่ำสุด ดังนี้ ดินใส่มูลแพะ>ดินใส่ปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ>ดินใส่ปุ๋ยเคมี (Table 2) นอกจากนี้ยังพบว่า ค่า C/N ratio ของดินในแปลงทดลองเดียวกันนี้ลดลงจาก 22.6 (Kamolmanit et al., 2019) เท่ากับ 14.7 (Table 1) ทั้งนี้มีรายงานว่า การใส่ปุ๋ยเคมีปริมาณที่สูงยังสามารถส่งผลให้ SOC ที่กักเก็บถูกปล่อยออกมาในรูปคาร์บอนที่ละลายได้ (dissolved organic C) ได้ (Oladele and Adetunji, 2021) และส่งผลให้ดินเกิดการสูญเสียไนโตรเจนในรูป N<sub>2</sub>O ได้เช่นเดียวกัน (Hijbeek et al., 2019) การปลดปล่อย CO<sub>2</sub> ที่พบในวันที่ 21 ทั้งภายใต้กรรมวิธีมูลแพะและมูลแพะ + ZnO-NPs มีค่าเท่ากับ 34.1 และ 26 mg CO<sub>2</sub>-C/m<sup>2</sup>/day ตามลำดับ เนื่องจากสมบัติด้านองค์ประกอบทางเคมีของมูลแพะที่มีคาร์บอนส่วนที่ต้านทานการย่อยสลายจาก fixed C ที่สูง โดยมูลแพะ และปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มี fixed C เท่ากับ 1.3% และ 2.32% ตามลำดับ



**Figure 1** Pattern changes of CO<sub>2</sub>-C evolution as affected by organic materials and ZnO-NPs treatments. Different letters indicate significant differences at  $P < 0.05$  (LSD). \*\*, \*\*\* significantly different at  $P < 0.01$  and  $0.001$ , respectively. ns: not significantly different

**Table 1** Some properties of soil and organic materials used in this study

Parameter	Soil	GM	GMB	GMBC
pH (materials: water = 1: 10)	5.54	7.79	8.68	8.17
(soil: water = 1: 2.5)				
Total organic C (g/kg)	2.2	317	372.4	195
Total N (g/kg)	0.15	13.6	9.8	8.5
C/N ratio	14.7	23.3	38	22.9
Total P (g/kg)	ND	1.8	2.5	2.1
Total K (g/kg)	ND	26	103.6	54
Volatile matter	ND	80.6	50.48	ND
Ash	ND	18.1	47.2	ND
Fixed C	ND	1.3	2.32	ND

GM: Goat manure; GMB: GM-biochar; GMBC: GM-biochar compost; ND: not determined.

### กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบคาร์บอน

เอนไซม์หมุนเวียนสารประกอบคาร์บอนสองชนิด คือ บีตา-กลูโคซิเดส (ย่อยสลายเซลลูโลส) และฟีนอลออกซิเดส (ย่อยสลายลิกนินและพอลิฟีนอลส์) ถูกตรวจวัดเพื่อศึกษาการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ กิจกรรมฟีนอลออกซิเดสในกรรมวิธีปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ และกรรมวิธีปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ + ZnO-NPs มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีใส่มูลแพะและปุ๋ยเคมีเกือบทุกช่วงเวลา โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 49 (Table 3) โดย Lu et al. (2015) พบว่าดินที่ใส่ปุ๋ยหมักถ่านชีวภาพมูลสัตว์ปีกอัตรา 12 t/ha ภายหลัง 1 ปีส่งผลให้กิจกรรมเอนไซม์หมุนเวียนคาร์บอนอย่างเช่นอินเวเตสมีค่าสูงกว่าดินที่ไม่ได้ใส่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้ Lehmann et al. (2011) รายงานว่าถ่านชีวภาพมีสมบัติในการดูดซับสารชีวโมเลกุลหลายชนิดรวมถึงเอนไซม์ จึงมีความเป็นไปได้ที่เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นระหว่างการย่อยสลายปุ๋ยหมักได้รับการป้องกันและยังคงมีความว่องไว (active) เมื่อนำมาใส่ลงในดิน อิทธิพลของ ZnO-NPs ต่อกิจกรรมฟีนอลออกซิเดสพบว่าดินใส่ปุ๋ยหมักที่ฉีดพ่น ZnO-NPs มีกิจกรรมเพิ่มสูงกว่าการไม่ฉีดพ่นอย่างเด่นชัดในวันที่ 21-49 ( $P < 0.001$ ) กิจกรรมของฟีนอลออกซิเดสที่สูงหลังการใส่ปุ๋ยหมักมีสาเหตุจากเอนไซม์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ระหว่างการย่อยสลายคาร์บอนที่ต้านทานการย่อยสลาย ได้แก่ fixed C ที่พบในถ่าน รวมถึงลิกนินและพอลิฟีนอลส์ในมูลแพะ โดยณัฐพงษ์ และ ภาณุเดชา (2562) พบว่าการผสมถ่านชีวภาพในอัตรา 10% (w/w) ก่อนกระบวนการหมักปุ๋ยสามารถกระตุ้นกิจกรรมฟีนอลออกซิเดสให้เพิ่มได้เท่ากับ  $2.59 \mu\text{mol dicq/g soil/h}$  เมื่อเทียบกับการไม่ใส่ ( $0.72 \mu\text{mol dicq/g soil/h}$ ) ซึ่งอาจเกิดได้จากคาร์บอนส่วนที่ต้านทานการย่อยสลายสูงที่พบในถ่าน การศึกษาที่พบว่ากรรมวิธีมูลแพะ + ZnO-NPs ส่งผลให้กิจกรรมของฟีนอลออกซิเดสลดต่ำกว่าการไม่ฉีดพ่นในวันที่ 49 และ 63 โดยเปอร์เซ็นต์การลดลงของกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ -35.8% และ -42.9% ตามลำดับ ขณะที่กิจกรรมของบีตา-กลูโคซิเดสภายใต้กรรมวิธีมูลแพะ + ZnO-NPs มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของกิจกรรมเท่ากับ -44% ในวันที่ 21 เมื่อเทียบกับการไม่ฉีดพ่น โดย Kim et al. (2011) พบว่าการใช้ ZnO-NPs ในดินที่ปลูกแตงกวา (*Cucumis sativus*) ส่งผลยับยั้งกิจกรรมดีไฮโดรจีเนสและบีตา-กลูโคซิเดสในดิน ซึ่งดีไฮโดรจีเนสยังสามารถบ่งชี้กิจกรรมออกซิเดชันที่เกิดขึ้นทั้งหมดของจุลินทรีย์ในดิน (Kumar et al., 2013) ซึ่งรวมถึงการหายใจที่ลดลงได้เช่นเดียวกัน ในทางเพิ่มเติม Kim et al. (2011) คาดการณ์ว่าการที่เอนไซม์ในดินถูกยับยั้งอาจเนื่องจากกลไกที่เอนไซม์ถูกตรึงกับ ZnO-NPs ในดิน โดยการศึกษาที่พบว่ากรรมวิธีปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ + ZnO-NPs ส่งผลให้กิจกรรมของบีตา-กลูโคซิเดสและฟีนอลออกซิเดสเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 21-49 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.001$ ) สาเหตุเนื่องจากปุ๋ยหมักที่ใช้มีถ่านเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นวัสดุที่มีความพรุนสูง จุลินทรีย์สามารถอยู่บริเวณพื้นผิวได้ด้วยกลไกดูดซับ (sorption) หรืออยู่ภายในโครงสร้างรูพรุนและป้องกันจุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ (Lehmann et al., 2011)

คาร์บอนไดออกไซด์ที่มีค่าสูงในวันที่ 0 (3h) ภายใต้กรรมวิธีมูลแพะและกรรมวิธีปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ (ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs) มีสาเหตุจากคาร์บอนอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบทั้งในมูลแพะและปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ (317 และ 195 g/kg ตามลำดับ) โดยดินที่ใส่ มูลแพะกระตุ้นปีทา-กลูโคไซด์ให้มีความสูงที่สุดในวันที่ 21 (105.7  $\mu\text{g PNG /g soil/h}$ ) ( $P < 0.001$ ) บ่งชี้ถึงการย่อยสลายของเซลลูโลสที่พบ ในมูลแพะ ในขณะที่สารประกอบประเภทฟีนอลิกในปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะอาจส่งผลกระตุ้นฟีนอลออกไซด์ให้มีความสูงที่สุดในวันที่ 49 (7.56  $\mu\text{mol dicq/g soil/h}$ ) (Table 3) ทั้งนี้กิจกรรมฟีนอลออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นในดินใส่ปุ๋ยเคมีอธิบายได้จากกลไกที่จุลินทรีย์ปรับตัวให้ สามารถใช้คาร์บอนที่มีโครงสร้างซับซ้อนขึ้นเมื่อดินขาดแคลนแหล่งคาร์บอนที่ใช้ได้ง่าย แต่กรณีของปุ๋ยเคมีซึ่งไม่มีคาร์บอนจึงส่งผลให้ จุลินทรีย์ปรับตัวใช้คาร์บอนที่อยู่ในดิน ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของกระบวนการสลายตัวของอินทรีย์วัตถุในดินในลำดับต่อมา (Carreiro et al., 2000; Hobbie et al., 2012) โดย Li et al. (2019) รายงานว่าดินที่มีการนำเข้าไปในโตรเจนอินทรีย์ 180 kg N/ha/year โดยไม่มีการ ใส่วัสดุอินทรีย์ที่คาร์บอนเป็นองค์ประกอบสามารถส่งผลให้ SOC ลดลง ดังนั้นระบบดินที่มีการนำเข้าไปในโตรเจนในปริมาณมากและเป็น เวลานาน โดยไม่มีการนำเข้าไปของคาร์บอนจึงอาจเป็นสาเหตุลดลงของคาร์บอนที่สะสมอยู่ในดินอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษานี้พบ ความสัมพันธ์ในทิศทางลบระหว่างปีทา-กลูโคไซด์กับฟีนอลออกไซด์ระหว่างวันที่ 7-21 ( $R^2 = 0.614, r = -0.7213$ ) (Figure 2a) และ วันที่ 49-63 ( $R^2 = 0.5152, r = -0.7155$ ) (Figure 2b) ซึ่งสนับสนุนการศึกษาของ Thirukkumaran and Parkinson (2000) ที่แสดงให้เห็นว่าเมื่อประชากรจุลินทรีย์เลือกใช้ซับสเตรตที่ย่อยสลายยากอย่างลิกนินจะหยุดใช้คาร์บอนที่ย่อยสลายได้ง่ายอย่างพอลิแซ็กคาไรด์ ความสัมพันธ์ในทิศทางลบระหว่างเอนไซม์สองชนิดชี้ให้เห็นว่าในการส่งเสริมการสะสมคาร์บอนในดิน วัสดุอินทรีย์ควรมีสัดส่วน คาร์บอนส่วนที่ต้านทานการย่อยสลายที่สูงกว่าคาร์บอนที่ง่ายต่อการย่อยสลาย

**Table 2** Cumulative CO<sub>2</sub>-C evolution over 112 days after organic materials incorporation

Parameter	Treatment (T)						P	SED
	CF		GM		GMBC			
	T1	T2	T3	T4	T5	T6		
	-ZnO-NPs +ZnO-NPs		-ZnO-NPs +ZnO-NPs		-ZnO-NPs +ZnO-NPs			
Cumulative CO <sub>2</sub> -C emissions (mg CO <sub>2</sub> -C/m <sup>2</sup> /day)	691 d	862 d	2448 a	2059 b	1573 c	1536 c	***	133.4

CF: chemical fertilizer. GM: goat manure. GMBC: GM-biochar compost. +, -: with and without ZnO-NPs.

SED: standard error of the difference. Different letters indicate significant differences at  $P < 0.05$  (LSD).

\*\*\* significantly different at  $P < 0.001$ .

### พลวัตของคาร์บอนในดิน

เมื่อจุลินทรีย์ย่อยสลายวัสดุอินทรีย์จะปลดปล่อยคาร์บอนบางส่วนออกมาในรูป CO<sub>2</sub> โดยมีบางส่วนถูกกักเก็บไว้ในเซลล์ของ จุลินทรีย์เกิดเป็นพลวัตของคาร์บอนในดินขึ้น การศึกษานี้พบว่าคาร์บอนในดินที่ใช้ศึกษามีค่าเท่ากับ 2.2 g/kg (Table 1) ซึ่งต่ำกว่าที่ เคยรายงานโดย ภาณุเดชา และ ศิวพร (2562) ที่ทำการศึกษากายใต้แปลงทดลองเดียวกันนี้ที่ระบุว่าคาร์บอนในดินมีค่าเฉลี่ย 2.8-3.8 g/kg สาเหตุเนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวไม่มีการนำเข้าไปของคาร์บอนจากวัสดุอินทรีย์อย่างเพียงพอ ร่วมกับมีการไถพรวนดินอย่างเข้มข้น ร่วมกับการใช้ปุ๋ยเคมีเป็นประจำทุกปี การลดลงของคาร์บอนอินทรีย์ที่สะสมในดินที่ปลูกพืชอย่างต่อเนื่องสอดคล้องกับรายงานของ Buschiazzo et al. (2002) ที่ระบุว่าอินทรีย์วัตถุทั้งหมด (total organic matter) ในดินที่ปลูกพืชต่อเนื่องมีค่าลดลงเฉลี่ย 35% สาเหตุ หนึ่งเนื่องจากพื้นที่ทางการเกษตรมีจุลินทรีย์เข้าย่อยสลายอินทรีย์วัตถุที่ส่งผลให้คาร์บอนสูญเสียไปจากดินได้มากและเร็วขึ้น (Chivenge et al., 2007) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้พบว่า SOC มีค่าสูงขึ้นในวันที่ 112 ในทุกกรรมวิธีทดลอง สอดคล้องกับรายงานโดย ภาณุเดชา และ ศิวพร (2562) ที่พบว่า SOC เพิ่มขึ้นได้จากวัสดุอินทรีย์ที่ร่วงหล่นเข้าสู่ระบบดินภายหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตทานตะวัน

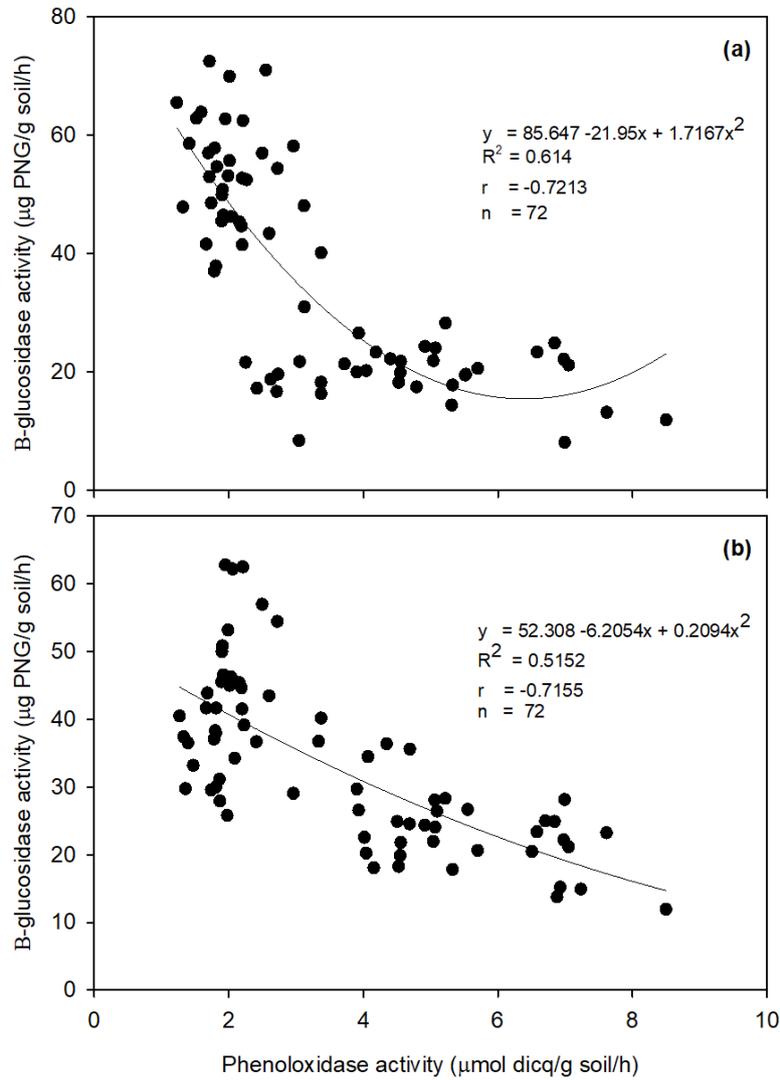
**Table 3** C-cycling enzyme activities in soils treated with different organic materials

Treatment	Days after incorporation					
	7	21	49	63	77	112
	Phenoloxidase activity ( $\mu\text{mol dicq/g soil/h}$ )					
CF	1.64 cd	2.85 c	2.25 d	1.89 b	1.85 b	1.59
CF + ZnO	1.58 d	2.68 c	2.21 d	1.73 b	2.02 ab	1.35
GM	2.56 bc	2.32 c	4.61 c	4.15 a	2.48 ab	1.62
GM + ZnO	1.59 cd	1.99 c	2.96 d	2.37 b	1.19 b	1.45
GMBC	3.40 ab	5.16 b	6.30 b	4.92 a	3.35 a	2.59
GMBC + ZnO	4.04 a	6.44 a	7.56 a	4.58 a	3.33 a	2.77
$ P $	***	***	***	***	*	ns
SED	0.48	0.58	0.55	0.71	0.86	0.60
	$\beta$ -glucosidase activity ( $\mu\text{g PNG /g soil/h}$ )					
CF	18.2 b	12.5 d	10.9 c	10.6	16.4	9.7
CF + ZnO	9.1 c	11.6 d	16.8 c	13.9	20.8	12.5
GM	53.9 a	105.7 a	44.2 a	22.4	19.5	11.8
GM + ZnO	57.2 a	59.0 b	35.6 ab	15.4	20.8	10.1
GMBC	20.5 b	39.9 c	22.4 bc	14.8	19.3	8.4
GMBC + ZnO	19.3 b	56.8 b	22.2 bc	12.5	15.2	8.3
$ P $	***	***	***	ns	ns	ns
SED	3.04	7.38	6.58	3.67	2.84	2.94

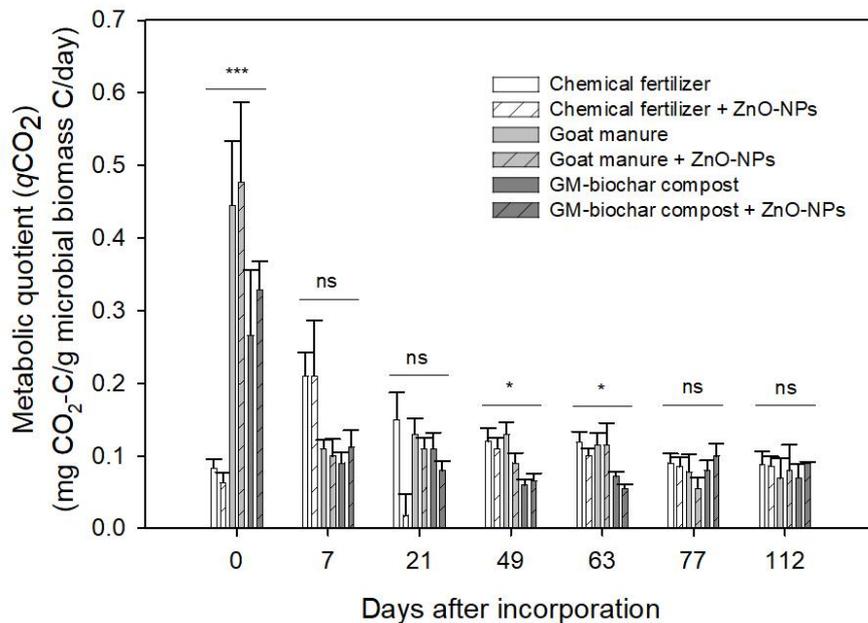
CF: Chemical fertilizer. GM: Goat manure. GMBC: GM-biochar compost. SED: standard error of the difference. Different letters indicate significant differences at  $P < 0.05$  (LSD). \*, \*\*\* significantly different at  $P < 0.05$  and 0.001, respectively. ns: not significantly different.

ค่า metabolic quotient ( $q\text{CO}_2$ ) แสดงสัดส่วน  $\text{CO}_2$  ต่อคาร์บอนที่จุลินทรีย์ใช้เพื่อการสร้างเซลล์ ค่า  $q\text{CO}_2$  ที่สูงบ่งชี้ว่าจุลินทรีย์นำคาร์บอนมาใช้สร้างเป็นชีวมวลได้ต่ำ (Anderson and Domsch, 1993) ค่า  $q\text{CO}_2$  ในกรรมวิธีใส่ปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะและมูลแพะ (ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs) มีค่าสูงในวันที่ 0 (3 h) (0.27-0.48  $\text{mg CO}_2\text{-C /g MBC/d}$ ) เมื่อเทียบกับการใส่ปุ๋ยเคมี (0.06-0.08  $\text{mg CO}_2\text{-C /g MBC/d}$ ) ( $P < 0.001$ ) (Figure 3) สาเหตุจากทั้งมูลแพะและปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะมีปริมาณ TOC ที่มากพอต่อการนำไปใช้โดยจุลินทรีย์โดยมีค่าเท่ากับ 317 และ 195  $\text{g/kg}$  ตามลำดับ ในวันที่ 49 และ 63 พบว่าค่า  $q\text{CO}_2$  ต่ำสุดในดินใส่ปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะมีค่าเท่ากับ 0.05 และ 0.07  $\text{mg CO}_2\text{-C /g MBC/d}$  ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์ได้รับแหล่งคาร์บอนที่ง่ายต่อการนำไปใช้ปริมาณมากเกินพอต่อการสร้างเซลล์ภายในทันทีหลังการใส่ ส่งผลให้ค่า  $q\text{CO}_2$  ที่ตรวจวัดได้มีค่าสูง ขณะที่ช่วงกลางของการย่อยสลายในวันที่ 49-63 จุลินทรีย์ปรับเปลี่ยนการย่อยสลายมาใช้คาร์บอนรูปที่ยากขึ้นซึ่งแหล่งคาร์บอนดังกล่าวคาดได้ว่าเป็น fixed C ที่พบในถ่านชีวภาพที่เป็นองค์ประกอบของปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ จึงส่งผลให้ค่า  $q\text{CO}_2$  ที่ตรวจวัดได้มีค่าต่ำ ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่ฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs ดังนั้นดินที่ใส่วัสดุอินทรีย์ที่มีถ่านชีวภาพเป็นส่วนผสมจึงมีข้อดีช่วยให้จุลินทรีย์ใช้คาร์บอนได้อย่างมี

ประสิทธิภาพจากการนำไปผสมในชีวมวล โดยไม่ปลดปล่อยในรูปของ CO<sub>2</sub> อย่างรวดเร็ว และเป็นแหล่งกักเก็บคาร์บอนที่สำคัญอีกรูปในดิน



**Figure 2** Relationships between β-glucosidase and phenoloxidase at day 7-21 (a) and day 49-63 (b) after chemical fertilizer and organic materials incorporation.



**Figure 3** Metabolic quotient ( $qCO_2$ ) pertaining to soil under contrasting organic materials with and without ZnO-NPs. \*, \*\*\* significantly different at  $P < 0.05$  and  $0.001$ , respectively. ns: not significantly different. Vertical bars represent standard error of the mean (SEM).

## สรุป

อิทธิพลจากการใช้ปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับการฉีดพ่น ZnO-NPs ในแปลงปลูกทานตะวันส่งผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินในรูปแบบที่แตกต่างกัน การฉีดพ่น ZnO-NPs ร่วมกับการใส่มูลแพะส่งผลให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ลดลงโดยส่งผลให้  $CO_2$  ที่ปลดปล่อยและกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสลดต่ำกว่าการไม่ฉีดพ่นในทุกช่วงเวลา เมื่อเปรียบเทียบระหว่างวัสดุอินทรีย์สองชนิด คือ มูลแพะและปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะ พบว่าดินที่ใส่ปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะสามารถลดการปลดปล่อย  $CO_2$  ได้มากกว่ามูลแพะเกือบทุกช่วงเวลาทั้งกรรมวิธีที่มีการฉีดพ่นและไม่ฉีดพ่น ZnO-NPs โดยมีสาเหตุจากรูปของคาร์บอนที่จุลินทรีย์ใช้เพื่อเป็นแหล่งพลังงานมีความยากกว่าเนื่องจากปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะประกอบด้วยคาร์บอนส่วนที่ต้านทานการย่อยสลายทั้งที่ได้จากมูลแพะและขณะเดียวกันก็มีคาร์บอนคงตัวสูงซึ่งได้จากถ่านมูลแพะที่ใช้เป็นส่วนผสม ดินที่ใส่ปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะช่วยให้ดินไม่ปลดปล่อย  $CO_2$  อย่างรวดเร็วแต่ถูกนำมาเก็บไว้ในรูปมวลชีวภาพจุลินทรีย์คาร์บอนและคาร์บอนอินทรีย์ในดิน การปรับปรุงคุณภาพวัสดุอินทรีย์โดยการผสมถ่านมูลสัตว์จึงเป็นแนวทางส่งเสริมการสะสมคาร์บอนในดินให้เพิ่มสูงขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในดินทรายที่มีความสามารถสะสมคาร์บอนในดินได้ต่ำ อิทธิพลของ ZnO-NPs ต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินที่ใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยหมักถ่านมูลแพะไม่เด่นชัดแต่การฉีดพ่น ZnO-NPs ร่วมกับการใส่มูลแพะสามารถส่งผลให้การหายใจของจุลินทรีย์ลดลงในช่วงระยะเวลาหนึ่ง

## คำขอขอบคุณ

งานวิจัยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยสำหรับบุคลากรมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ประจำปี พ.ศ. 2564 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์ฝึกอบรมและวิจัยทางการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ทดลอง และเครื่องมือในการทำวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

ณัฐพงษ์ พานวงษ์ และภาณุเดชา กมลมานิตย์. 2562. การประเมินคุณภาพและความสมบูรณ์ของปุ๋ยหมักถ่านชีวภาพจากรูปแบบกิจกรรมของเอนไซม์หมุนเวียนคาร์บอนและการปลดปล่อย  $CO_2$ -C. แก่นเกษตร. 47: 199-210.

- ภาณุเดชา กมลมานิตย์ และพฤกษา หล้าวงษา. 2564. อิทธิพลของปุ๋ยหมักถ่านชีวภาพมูลแพะต่อการสะสมคาร์บอนอินทรีย์ในดินและการสร้างเม็ดดิน. *แก่นเกษตร*. 49: 1194-1204.
- ภาณุเดชา กมลมานิตย์ และศิวพร แผงคำ. 2562. อิทธิพลของการใช้ที่ดินต่างกันต่อการสะสมอินทรีย์คาร์บอนในดินร่วนปนทราย. *แก่นเกษตร*. 47: 1037-1044.
- ภาณุเดชา กมลมานิตย์, ณัฐพงษ์ พานวงษ์ และพฤกษา หล้าวงษา. 2561. อิทธิพลของอัตราส่วนถ่านชีวภาพต่อฟางข้าวร่วมกับมูลแพะต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีววิทยาของปุ๋ยหมัก. *แก่นเกษตร*. 46: 843-856.
- สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ. 2564. ซิงค์ออกไซด์นาโนจากเถ้าสังกะสีเหลือใช้สำหรับการเกษตร. แหล่งข้อมูล: <https://open.nia.or.th/zno-nps>. ค้นเมื่อ 1 มีนาคม 2566.
- Adams, L. K., D. Y. Lyon, and P. J. J. Alvarez. 2006. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. *Water Research*. 40: 3527-3532.
- Alef, K., and P. Nannipieri. 1995. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry: enzyme activities*. 452 Academic Press, London.
- Allam, M., E. Radicetti, V. Quintarelli, V. Petroselli, S. Marinari, and R. Mancinelli. 2022. Influence of organic and mineral fertilizers on soil organic carbon and crop productivity under different tillage systems: A meta-analysis. *Agriculture*. 12(464): doi.org/10.3390/agriculture12040464.
- Amato, M., and J. N. Ladd. 1988. Assay for microbial biomass based on ninhydrin reactive nitrogen in extracts of fumigated soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 20: 107-114.
- American Standard of Testing Material. 1990. Standard Test Method for Chemical Analysis of Wood Charcoal ASTM D 1762-84.
- Anderson, T. H., and K. H. Domsch. 1993. The metabolic quotient for CO<sub>2</sub> (*q*CO<sub>2</sub>) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 25: 393-395.
- Boxall, A. B. A., Q. Chaudhry, C. Sinclair, A. Jones, R. Aitken, B. Jefferson, and C. Watts. 2007. Current and future predicted environmental exposure to engineered nanoparticles. Report by the Central Science Laboratory (CSL) York for the Department of the Environment and Rural Affairs (DEFRA), United Kingdom.
- Buschiazzo, D. E., G. G. Havis, E. N. Hepper, A. M. Urioste, and E. L. Anton. 2002. Organic matter accumulation in soil of the semiarid Pampa of Argentina. In: *Transactions of the 17<sup>th</sup> World Congress of Soil Science, Symposium no. 20, 14-21 August 2002, Thailand*. Available: <https://www.semanticscholar.org/paper/Organic-matter-accumulation-in-soils-of-the-Pampa-BUSCHIAZZOD/6b032410f45d69e5e45ec87ddc7bde482918e638>. Accessed Jun. 19, 2023.
- Carreiro, M. M., R. L. Sinsabaugh, D. A. Repert, and D. F. Parkhurst. 2000. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. *Ecology*. 81: 2359-2365.
- Chivenge, P. P., H. K. Murwira, K. E. Giller, P. Mapfumo, and J. Six. 2007. Long-term of reduced tillage and residue management on soil carbon stabilization: Implications for conservation agriculture on contrasting soils. *Soil and Tillage Research*. 94: 328-337.
- Elumalai, K., S. Velmurugan, S. Ravi, V. Kathiravan, and S. Ashokkumar. 2015. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Moringa oleifera* leaf extract and evaluation of its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 143: 158-164.

- Fu, S. F., J. Y. Wei, H. W. Chen, Y. Y. Liu, H. Y. Lu, and J. Y. Chou. 2015. Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms. *Plant Signaling and Behavior*. 10(8): e1048052.
- Gunamantha, I. M., and G. A. B. Widana. 2018. Characterization the potential of biochar from cow and pig manure for geoecology application. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 131(012055): doi: 10.1088/1755-1315/131/1/012055.
- Heer, A. S. K. 2017. Spectral characterization and anti-fungal activity of zinc oxide (ZnO) nanoparticles synthesized using *Cynodon dactylon* leaf extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 6: 1587-1596.
- Hendel, B., R. L. Sinsabaugh, and J. Marxsen. 2005. Lignin-degrading enzymes : phenoloxidase and peroxidase. In Graca, M. A. S., F. Barlocher and M. O. Gessner, eds. *Methods to study litter decomposition: a practical guide*. Dordrecht: Springer.
- Hijbeek, R., M. P. van Loon, and M. K. van Ittersum. 2019. Fertiliser use and soil carbon sequestration: Opportunities and trade-offs. CCAFS Working Paper no. 264. CGIAR Research Program on Climate Change, Agriculture and Food Security. Wageningen, Netherlands.
- Hobbie, S. E., W. C. Eddy, C. R. Buyarski, E. C. Adair, M. L. Ogdahl, and P. Weisenhorn. 2012. Response of decomposing litter and its microbial community to multiple forms of nitrogen enrichment. *Ecological Monographs*. 82: 389-405.
- Ippolito, J. A., L. Cui, C. Kammann, N. Wrage-Monnig, J. M. Estavillo, T. Fuertes-Mendizabal, M. Cayuela, G. C. Sigua, J. M. Novak, K. A. Spokas, and N. Borchard. 2020. Feedstock choice, pyrolysis temperature and type influence biochar characteristics: a comprehensive meta-data analysis review. *Biochar*. 2: 421-438.
- Joseph, S., P. Taylor, F. Rezende, K. Draper, and A. Cowie. 2019. The properties of fresh and aged biochar. Available: <https://biochar.international/guides/properties-fresh-aged-biochar>. Accessed Mar. 29, 2022.
- Kamolmanit, B., P. Lawongsa, and M. Nopparatmaitree. 2019. Pattern changes of carbon-cycling enzyme activities as influenced by different C and N availability of organic materials. *Khon Kaen Agriculture Journal*. 47: 1301-1314.
- Kamolmanit, B., P. Vityakon, W. Kaewpradit, G. Cadish, and F. Rasche. 2013. Soil fungal communities and enzyme activities in a sandy, highly weathered tropical soil treated with biochemically contrasting organic inputs. *Biology and Fertility of Soils*. 49: 905-917.
- Kanouo, B. M. D., S. E. Allaire, and A. D. Munson. 2018. Quality of biochars made from eucalyptus tree bark and corncob using a pilot-scale retort kiln. *Waste Biomass Valori*. 9: 899-909.
- Kim, S., J. Kim, and I. Lee. 2011. Effects of Zn and ZnO nanoparticles and Zn<sup>2+</sup> on soil enzyme activity and bioaccumulation of Zn in *Cucumis sativus*. *Chemistry and Ecology*. 27: 49-55.
- Kumar, S., S. Chaudhuri, and S. K. Maiti. 2013. Soil dehydrogenase enzyme activity in natural and mine soil - a review. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 13: 898-906.
- Kuzyakov, Y. 2010. Priming effects: interaction between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*. 42: 1363-1371.
- Kuzyakov, Y., J. K. Friedel, and K. Stahr. 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil*

Biology and Biochemistry. 32: 1485-1498.

- Lehmann, J., M. C. Rillig, J. Thies, C. A. Masiello, W. C. Hockaday, and D. Crowley. 2011. Biochar effects on soil biota-A review. *Soil Biology and Biochemistry*. 43: 1812-1836.
- Li, W., J. Wang, X. Li, S. Wang, W. Liu, S. Shi, and W. Cao. 2019. Nitrogen fertilizer regulates soil respiration by altering the organic carbon storage in root and topsoil in alpine meadow of the north-eastern Qinghai-Tibet Plateau. *Scientific Reports*. 9(13735): doi.org/10.1038/s41598-019-50142-y.
- Lu, H., M. S. Lashari, X. Liu, H. Ji, L. Li, J. Zheng, G. W. Kibue, S. Joseph, and G. Pan. 2015. Changes in soil microbial community structure and enzyme activity with amendment of biochar-manure compost and pyrolytic solution in a saline soil from Central China. *European Journal of Soil Biology*. 70: 67-76.
- Mao, R., D. H. Zeng, L. J. Li, and Y. L. Hu. 2012. Changes in labile soil organic matter fractions following land use change from monocropping to poplar-based agroforestry systems in a semiarid region of Northeast China. *Environmental Monitoring and Assessment*. 184: 6845-6853.
- Meenakshi, G., K. Raja, J. Renugadevi, and M. Karthikeyan. 2020. Inorganic metal oxide nanoparticles seed invigoration for extended storability of sunflower (*Helianthus annuus*) under ambient environment. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 9: 1302-1306.
- Oladele, S. O., and A. T. Adetunji. 2021. Agro-residue biochar and N fertilizer addition mitigates CO<sub>2</sub>-C emission and stabilized soil organic carbon pools in a rain-fed agricultural cropland. *International Soil and Water Conservation Research*. 9: 76-86.
- Olsen, S. R., and L. E. Sommers. 1982. Phosphorus. In: A. L., Page et al., eds, *Methods of soil analyses*. Part 2. Chemical and microbiological properties. ASA and SSSA, Madison, WI.
- Pang, L., K. Xu, L. Qi, E. Chatzisyemon, X. Liu, and P. Yang. 2022. Response behavior of antibiotic resistance genes to zinc oxide nanoparticles in cattle manure thermophilic anaerobic digestion process: A metagenomic analysis. *Bioresource Technology*. 347(126709): doi: 10.1016/j.biortech.2022.126709.
- Rajiv, P., S. Rajeshwari, and R. Venkatesh. 2013. Bio-fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Parthenium hysterophorus* L. and its size-dependent antifungal activity against plant fungal pathogens. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 12: 384-387.
- Raliya, R., and J. C. Tarafdar. 2013. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorus-mobilizing enzyme secretion and gum contents in clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Agricultural Research*. 2: 48-57.
- Rasche, F., and G. Cadisch. 2013. The molecular microbial perspective of organic matter turnover and nutrient cycling in tropical agroecosystems – What do we know? *Biology and Fertility of Soils*. 49: 251-262.
- Read, D. S., M. Matzke, H. S. Gweon, L. Newbold, L. Heggelund, M. D. Ortiz, E. Lahive, D. Spurgeon, and C. Svendsen. 2016. Soil pH effects on the interactions between dissolved zinc, non-nano- and nano-ZnO with soil bacterial communities. *Environmental Science and Pollution Research*. 23: 4120-4128.
- Rowell, D. L. 1997. *Soil Science: methods and application*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Ruangthep, P., S. Samart, and S. Chutipajit. 2018. ZnO nanoparticles affect differently the morphological and physiological responses of Riceberry plants (*Oryza sativa* L.). *SNRU Journal of Science and Technology*. 10: 75-81.

- Sarfaraz, Q., L. Silva, G. Drescher, M. Zafar, F. Severo, A. Kokkonen, G. Molin, M. Shafi, Q. Shafique, and Z. Solaiman. 2020. Characterization and carbon mineralization of biochars produced from different animal manures and plant residues. *Scientific Reports*. 10(955): doi.org/10.1038/s41598-020-57987-8.
- Shi, P., and R. Schulin. 2019. Effects of soil organic residue amendment on losses of dissolved organic carbon, P, Cu and Zn via surface runoff from arable soils. *Soil and Tillage Research*. doi.org/10.1016/j.still.2019.104352.
- Singh, N. B., N. Amist, K. Yadav, D. Singh, J. K. Pandey, and S. C. Singh. 2013. Zinc oxide nanoparticles as fertilizer for the germination, growth and metabolism of vegetable crops. *Journal of Nanoengineering and Nanomanufacturing*. 3: 353-364.
- Singh, S. V., S. Chaturvedi, V. C. Dhyani, and G. Kasivelu. 2020. Pyrolysis temperature influences the characteristics of rice straw and husk biochar and sorption/desorption behaviour of their biourea composite. *Bioresource Technology*. 314(123674): doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123674.
- Sirelkhatim, A., S. Mahmud, A. Seeni, N. H. M. Kaus, L. C. Ann, S. K. M. Bakhori, H. Hasan, and D. Mohamad. 2015. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*. 7: 219–242.
- Song, W., and M. Guo. 2012. Quality variations of poultry litter biochars generated at different pyrolysis temperatures. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 94: 138-145.
- Sparling, G. P., and A. W. West. 1988. A direct extraction method to estimate soil microbial C: calibration in situ using microbial respiration and <sup>14</sup>C labeled cells. *Soil Biology and Biochemistry*. 20: 337-343.
- Srivastav, A. K., M. Kumar, N. G. Ansari, A. K. Jain, J. Shankar, N. Arjaria, P. Jagdale, and D. Singh. 2016. A comprehensive toxicity study of zinc oxide nanoparticles versus their bulk in Wistar rats: Toxicity study of zinc oxide nanoparticles. *Human and Experimental Toxicology*. 35: 1286-1304.
- Thirukkumaran, C. M., and D. Parkinson. 2000. Microbial respiration, biomass, metabolic quotient and litter decomposition in a lodgepole pine forest floor amended with nitrogen and phosphorous fertilizers. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 59-66.