

ถ่านชีวภาพดัดแปลงเสริมด้วยจุลินทรีย์บำรุงจากฟางข้าวสำหรับการส่งเสริมการเจริญ  
ของพืชและปรับปรุงดิน

Microbe-assisted Modified Biochar from Rice Straw for Plant Growth Promotion  
and Soil Amendment

มุจลินทร์ ผลจันทร์<sup>1\*</sup> ทิพปภา พิสิษฐ์กุล<sup>2</sup> ปิยะนุช เนียมทรัพย์<sup>2</sup> ศรีกาญจนา คล้ายเรือง<sup>2</sup> นงคราญ พงศ์ตระกูล<sup>2</sup>  
สุรศักดิ์ กุยมาลี<sup>3</sup> และจักรพงษ์ ไชยวงศ์<sup>4</sup>

Mujalin Pholchan<sup>1\*</sup>, Tippapha Pisitkul<sup>2</sup>, Piyanuch Niumsap<sup>2</sup>, Srikanjana Klayraung<sup>2</sup>  
Nongkran Pongtrakul<sup>2</sup>, Surasak Kuimalee<sup>3</sup> and Chackapong Chaiwong<sup>4</sup>

<sup>1</sup>หลักสูตรเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>2</sup>หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>3</sup>หลักสูตรวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีนาโน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>4</sup>หลักสูตรปฐพีศาสตร์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

<sup>1</sup>Program in Environmental Technology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

<sup>2</sup>Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

<sup>3</sup>Program in Nanoscience and Nanotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

<sup>4</sup>Program in Soil Science, Faculty of Agricultural production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

\*Corresponding author: mujalin@mju.ac.th

Received: September 22, 2023

Revised: March 13, 2024

Accepted: April 10, 2024

## Abstract

From the environmental problems caused by the disposal of agricultural residues through burning and soil quality deterioration. Biochar has become increasingly popular in recent years for its ability to store and release nutrients as well as enhance crop productivity. In practical application, limitations and varied outcomes have been encountered in the field, prompting an interest in further developing more efficient biochar models. The aim of this research was to develop microbe-assisted modified biochar from rice straw for soil amendment and plant growth promotion. In this study, the effect of microbe-assisted modified biochar application on enhancing soil properties and on the growth of Kor-Khor 105 was investigated. Five treatments with the variation of modified biochar dosages (1, 2 and 3% (w/w)) in pot experiments were carried out with triplicates. The obtained optimum ratio of modified biochar application was used in three cement pot experiments. Plant growth promotion after treatments was evaluated, and soil samples were collected before and after 3 months for the analysis of physical and chemical properties. Moreover, the expression of genes involved in the induced systemic response (ISR) was investigated. Results obtained from the rice plantation showed that the

application of microbe-assisted modified biochar at a dosage of 1% (w/w) gave the highest growth promotion. Soil properties such as organic matters, total nitrogen, available phosphorus, extractable potassium and soil fertilities were also increased. The result of the expression of genes involved in the induced systemic response (ISR) indicates the immune and health status of the plants. It was found that modified biochar could moderately increase the ISR and exhibit synergistic effects.

**Keywords:** microbe-assisted modified biochar, paddy field, rice straw, soil amendment  
plant growth promotion

### บทคัดย่อ

จากปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการกำจัดซากวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรด้วยการเผาและคุณภาพดินที่เสื่อมโทรม การประยุกต์ใช้ถ่านชีวภาพในภาคการเกษตรกลายเป็นที่นิยมมากเนื่องจากความสามารถในการเก็บกักและปลดปล่อยธาตุอาหารรวมถึงการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ซึ่งการใช้งานจริงในพื้นที่กลับพบข้อจำกัดและผลลัพธ์ที่แตกต่างกันรวมถึงความสนใจที่จะพัฒนารูปแบบของถ่านให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของถ่านชีวภาพดัดแปลงเสริมด้วยจุลินทรีย์บำรุงจากเศษวัสดุเหลือทิ้งจากนาข้าวเพื่อใช้ปรับปรุงดินและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ในการศึกษาจะทดสอบประสิทธิภาพการใช้งานถ่านชีวภาพในระดับโรงเรียนสำหรับการปลูกข้าวหอมมะลิสายพันธุ์ กข 105 โดยจะทำการศึกษาหาสัดส่วนการใส่ถ่านชีวภาพที่เหมาะสมที่ความเข้มข้นของถ่านชีวภาพที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งจะเก็บตัวอย่างดินก่อนและหลังการปลูกเพื่อวิเคราะห์หาคุณภาพทางกายภาพ เคมีและชีวภาพ และเก็บตัวอย่างพืชเพื่อวัดความสูงของต้น ความยาวของราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง จำนวนใบ จำนวนต้นตอกอ จำนวนรวงและเมล็ด และปริมาณคลอโรฟิลล์ และทดสอบการตอบสนองในระดับการแสดงออกของยีนพืชที่ได้รับถ่านชีวภาพดัดแปลง ผลการศึกษาพบว่า การเติมถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1

เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ช่วยส่งเสริมให้ข้าวเจริญเติบโตดี ที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่ถ่านชีวภาพดัดแปลงสามารถปรับปรุงคุณภาพของดินให้ดีขึ้น โดยมีปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่สกัดได้ในดินหลังการปลูกมีค่าสูงขึ้น จากการประเมินการแสดงออกของยีนพบว่าถ่านชีวภาพดัดแปลงสามารถเหนี่ยวนำการแสดงออกของยีน ISR ที่ช่วยเสริมฤทธิ์ในการกระตุ้น ISR และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

**คำสำคัญ:** ถ่านชีวภาพดัดแปลง นาข้าว ฟางข้าว การปรับปรุงคุณภาพดิน ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

### คำนำ

พื้นที่การเกษตรในประเทศไทยในหลายพื้นที่กำลังประสบกับปัญหาดินเสื่อมโทรมทั้งที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมและกิจกรรมของมนุษย์ ทั้งนี้ยังไม่รวมถึงปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการกำจัดซากวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร ประเทศไทยมีการปลูกข้าวทั้งนาปีและนาปรังประมาณ 66 ล้านไร่ โดยในแต่ละปีประเทศไทยมีฟางข้าวเฉลี่ยประมาณปีละ 25.45 ล้านตัน และมีปริมาณตอซังข้าวที่ตกค้างอยู่ในนาข้าว 16.9 ล้านตัน ซึ่งมีฟางข้าวที่ยังเหลือทิ้งและไม่ได้ใช้ประโยชน์

อยู่ถึง 53 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปริมาณฟางข้าวที่เหลืออยู่นับว่ามีปริมาณมากพอที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่ง อินทรีย์วัตถุ เพื่อปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์ของดินให้ดีขึ้นและสร้างมูลค่าเพิ่มนอกเหนือจากการนำไปอัดเป็นฟางก้อน ดังนั้น การนำเอาซากวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรกลับมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงคุณภาพดินเพื่อทดแทนการเผาที่สร้างมลพิษทางอากาศและก่อปัญหาโลกร้อนและปัญหาสุขภาพหรือทดแทนการหมักปุ๋ยซึ่งใช้ระยะเวลาอันนานจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ปัจจุบันเทคโนโลยีการผลิตถ่านชีวภาพถูกนำมาประยุกต์ใช้กับวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรที่หลากหลายไม่ว่าจะเป็น แกลบ ฟางข้าว ชังข้าวโพด เศษไม้ไผ่ และเศษไม้ เป็นต้น โดยผ่านกระบวนการไพโรไลซิสในสภาพที่มีปริมาณออกซิเจนจำกัด ซึ่งทำให้ได้ถ่านชีวภาพที่มีฤทธิ์เป็นต่าง มีความพรุนสูง จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงคุณภาพดิน การปรับปรุงสภาพทางกายภาพของดินทั้งในแง่ของการระบายอากาศ การซึมน้ำ การอุ้มน้ำ ดูดึงธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืชและความอุดมสมบูรณ์ของดิน (Hussain *et al.*, 2017) เป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน สามารถลดความเป็นกรดของดิน และสามารถกักเก็บคาร์บอนลงในดินเพื่อลดการปล่อยเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นก๊าซเรือนกระจก จึงนับว่าเป็นเทคโนโลยีที่ใช้เวลาไม่นานและสามารถพัฒนาได้ตั้งแต่ระดับเกษตรกร คริวเรือน ชุมชนและองค์กรส่วนท้องถิ่น (Hemwong and Cadisch, 2012; Wang and Wang, 2019)

อย่างไรก็ตามพบว่ามีงานวิจัยหลายชิ้นได้ศึกษาผลของการใช้ถ่านชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวที่พบว่ามีความไม่สอดคล้องในผลลัพธ์ที่รายงานไว้ (Dong *et al.*, 2019; Munda *et al.*, 2018; Pandey *et al.*, 2014) บางงานวิจัยรายงานว่าการใช้ถ่านชีวภาพสามารถเพิ่มผลผลิตของข้าวได้มากขึ้น (Ma *et al.*, 2019) ในขณะที่มีอีกหลายงานวิจัยที่ระบุว่าการใช้ถ่านชีวภาพไม่สามารถทำให้ผลผลิตพืชดีขึ้นและยังมีผลกระทบทางลบ (Hussain *et al.*, 2017) ซึ่งความแตกต่างในผลกระทบเหล่านี้เกิด

จากหลายปัจจัย เช่น คุณสมบัติของดิน เงื่อนไขการทดลอง และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของถ่านชีวภาพ (Hussain *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2018) ดังนั้น เพื่อให้เกษตรกรสามารถนำถ่านชีวภาพไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาปริมาณการใส่ถ่านชีวภาพที่เหมาะสมและผลกระทบของการใช้ถ่านชีวภาพจึงเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณาและให้ความสำคัญ นอกจากนี้การใช้ถ่านชีวภาพในพื้นที่เกษตรยังมีบางแง่มุมที่ ยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อพัฒนาประสิทธิภาพของถ่านชีวภาพและการใช้งานในพื้นที่เกษตร ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาเชิงลึกเพื่ออธิบายกลไกการทำงานของถ่านชีวภาพที่เชื่อมโยงกับการทำงานของจุลินทรีย์ในดิน และผลต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินและการเจริญเติบโตของพืช ตลอดจนศักยภาพในการช่วยลดการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศด้วยการจัดเก็บคาร์บอนในดินในระยะยาวและผลกระทบในระยะสั้นของการใช้ถ่านชีวภาพในดินต่อการอุ้มน้ำ ความอุดมสมบูรณ์ของดิน และผลผลิตของพืช

ปัจจุบันมีการดัดแปลงถ่านชีวภาพในหลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นการเคลือบด้วยโพลีเมอร์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปล่อยธาตุอาหาร (Rubin *et al.*, 2020) การหมักถ่านชีวภาพร่วมกับปุ๋ย (Ekebafe *et al.*, 2015; Cruz-Méndez *et al.*, 2021) นอกจากนี้ยังพบว่าการผสมผสานเชื้อจุลินทรีย์กับวัสดุอื่นที่ไม่ใช่จุลินทรีย์ เช่น ถ่านชีวภาพ สามารถสร้างผลกระทบที่สัมพันธ์และมีประสิทธิผลต่อกัน (Adesemoye and Kloepper, 2009) งานของ Hu *et al.* (2014) ได้พบว่าการใช้ถ่านชีวภาพร่วมกับเชื้อ *Trichoderma* spp. ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของประชากร *Trichoderma* spp. ถึง 14.5% เช่นเดียวกับ Muter *et al.* (2017) ที่รายงานว่า การเพิ่ม *Trichoderma* ร่วมกับถ่านชีวภาพสามารถเพิ่มการงอกของข้าวโพด (*Zea mays* L.) และต้นพืชที่สูงขึ้น นอกจากนี้จุลินทรีย์จำพวก Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) ที่สามารถอาศัยอยู่กับรากพืชนอกจากจะช่วยส่งเสริมให้เกิดการเจริญเติบโตแล้วยังช่วยควบคุมโรคพืชและ

เหนียวนำความต้านทานในพืชด้วยการกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันประเภท Induced Systemic Resistance (ISR) ซึ่งถูกกระตุ้นโดยฮอร์โมน jasmonic acid (JA) และ Ethylene (ET) (Pieterse *et al.*, 1996) ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าการตอบสนองในระดับยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน Induced Systemic Resistance (ISR) ของข้าวหลังจากที่มีการเติมถ่านชีวภาพนั้นน่ามีความน่าสนใจและเป็นเรื่องใหม่ที่มีการศึกษาน้อยมาก ดังนั้นงานชิ้นนี้จึงต้องการที่จะศึกษาถ่านชีวภาพดัดแปลงเสริมด้วยจุลินทรีย์บำรุง (Microbe-assisted modified biochar) จากฟางข้าวเพื่อปรับปรุงคุณภาพดิน ส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นภูมิคุ้มกันของข้าว โดยทำการศึกษาค้นคว้าส่วนในการใช้งานที่เหมาะสม ประสิทธิภาพของถ่านชีวภาพดัดแปลงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว และการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของข้าว เพื่อจะเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดการประยุกต์ใช้ถ่านชีวภาพไปยังพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### การผลิตถ่านชีวภาพ

เตรียมถ่านชีวภาพจากฟางข้าว โดยควบคุมอุณหภูมิในการเผาอยู่ที่ 500 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการเผาถ่าน 1 ชั่วโมง ถ่านชีวภาพที่ได้จะพักให้เย็นก่อนจะนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ได้แก่ การอุ้มน้ำ พื้นที่ผิวและรูพรุน ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Organic matter) ด้วยวิธี Walkley and Black (1934) ค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity) ด้วยเครื่อง EC meter ความจุประจุบวกที่แลกเปลี่ยนได้ (Cation Exchange Capacity: CEC) ด้วยวิธี Distillation ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen) ด้วยวิธี Kjeldahl (Multi EA 4000) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available phosphorus) ด้วยวิธี Bray II Extraction ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable K) ด้วย AAS ปริมาณ

แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Ca) ด้วยวิธี AAS ปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Mg) ด้วย AAS และจากนั้นทำการเก็บรักษาในที่แห้งและปิดสนิทเพื่อใช้สำหรับการตรึงเซลล์ในขั้นตอนต่อไป

### การเตรียมถ่านชีวภาพดัดแปลงเสริมจุลินทรีย์ด้วยการตรึงเซลล์

นำถ่านชีวภาพที่เก็บไว้มาบดก่อนที่จะมีการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ โดยจะทำการวัดความชื้นและปริมาณเชื้อเริ่มต้น ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Bacillus pumilus* โดยนำหัวเชื้อ *Bacillus pumilus* มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Trypticase soy broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน จากนั้นดูดหัวเชื้อ จำนวน 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ถาลงในอาหารเหลว Trypticase soy broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ  $1.77 \times 10^8$  cfu/มิลลิลิตร หรือ  $9.25 \log$  cfu/มิลลิลิตร จากนั้นทำการตรึงเซลล์โดยใช้กลไกการตรึงเซลล์แบบยึด (Binding to a support) ซึ่งจะเป็นวิธีการดูดติดกับวัสดุ (Adsorption) ทางกายภาพโดยใช้ถ่านชีวภาพเป็นวัสดุรองรับ โดยใช้ถ่านชีวภาพ 5 กรัม ต่อสารละลายเชื้อ 24 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป นอกจากนี้หัวเชื้อ *Bacillus pumilus* ที่ใช้ในการทดลองได้ถูกส่งไปวิเคราะห์ความสามารถในการผลิตฮอร์โมน Idole-3-acetic acid (IAA) ที่ห้องปฏิบัติการดินและปุ๋ยชั้นสูง ภาควิชาดินและปุ๋ย คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

### การศึกษ้อัตราส่วนการใช้ถ่านชีวภาพดัดแปลงเสริมจุลินทรีย์ในการปลูกข้าว

ในการศึกษ้อัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้ถ่านชีวภาพดัดแปลงเสริมจุลินทรีย์สำหรับการปลูกข้าวหอมมะลิ พันธุ์ กข 105 จะแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 5 การทดลอง และทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ดังแสดงดังใน

Table 1 แต่ละการทดลองจะใช้กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 นิ้ว โดยแต่ละกระถางจะใช้ดินนาจากอำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเป็นกลุ่มชุดดินลำปาง/สันทราย ปริมาณ 3.5 กิโลกรัม ใส่ถ่านในอัตรา 500 กิโลกรัม/ไร่ (Mananok *et al.*, 2017) ในแต่ละชุดการทดลองจะใส่ถ่านชีวภาพตัดแปลงเสริมจุลินทรีย์ในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 2) 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 3) และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 4) โดยมีชุดควบคุม ได้แก่ ดินที่ไม่ใส่ถ่านชีวภาพ (Control) และดินผสมถ่านชีวภาพ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่ไม่มีการเสริมจุลินทรีย์ (Treatment 1) ทำการเตรียมต้นกล้าข้าวเป็นเวลา 20 วัน ก่อนลงปลูกโดยจะนำเมล็ดข้าวมาแช่น้ำ 24 ชั่วโมง และบ่มไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนลงปลูกในถาดเพาะกล้า ปลูกต้นข้าวจำนวน 5 ต้น ต่อ 1 กระถาง ก่อนปลูกข้าวในทุกกรรมวิธีจะใส่ปุ๋ย 20-20-0 ในอัตรา 20 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อผ่านไป 2 เดือน ใส่ปุ๋ย 46-0-0 ในปริมาณ 5 กิโลกรัม/ไร่ ทำการเก็บตัวอย่างดินก่อนและหลังปลูกที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร ตากดินให้แห้ง บดและร่อนด้วย

ตะแกรงขนาด 80 mesh เพื่อส่งไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Organic matter) ด้วยวิธี Walkley and Black (1934) ความจุประจุบวกที่แลกเปลี่ยนได้ (Cation Exchange Capacity, CEC) ด้วยวิธี distillation ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen) ด้วยวิธี Kjeldahl (Multi EA 4000) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available phosphorus) ด้วยวิธี Bray II Extraction ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable K) ด้วย AAS ที่ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หลังจากการปลูกข้าวทำการวัดการเจริญเติบโตของข้าวทุกสัปดาห์ นับจำนวนใบ ความสูง จำนวนเมล็ด เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองจะทำการวัดความยาวรากและลำต้น วิเคราะห์น้ำหนักรากแห้งโดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักคงที่ นับปริมาณใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยวิธี Spectrophotometric (Strickland and Parsons, 1972)

**Table 1** Experimental design for modified biochar applications on rice plantation

Treatment	Condition
Control	Soil without biochar
Treatment 1	Soil with 1% w/w biochar
Treatment 2	Soil with 1% w/w modified biochar
Treatment 3	Soil with 2% w/w modified biochar
Treatment 4	Soil with 3% w/w modified biochar

**การศึกษาผลของการใส่ถ่านชีวภาพตัดแปลงต่อการเจริญเติบโตของข้าว**

ในขั้นตอนนี้จะนำถ่านชีวภาพตัดแปลงเสริมจุลินทรีย์มาทดสอบการปลูกข้าวในท่อวงซีเมนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 เซนติเมตร โดยจะแบ่งชุดการ

ทดลองออกเป็น 3 การทดลอง และทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ แต่ละถังจะใช้ดินนา จากอำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเป็นกลุ่มชุดดินลำปาง/สันทราย ปริมาณ 100 กิโลกรัม ใส่ถ่านชีวภาพตัดแปลงในอัตรา 500 กิโลกรัม/ไร่ โดยจะใส่ถ่านชีวภาพตัดแปลงเสริมจุลินทรีย์ที่ 1

เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (ผลจากการศึกษาก่อนหน้า) และจะมีชุดควบคุมที่ใช้ดินที่ไม่ใส่ถ่านและดินผสมถ่านชีวภาพที่ไม่มีการเสริมจุลินทรีย์ ทำการเตรียมต้นกล้าข้าวเป็นเวลา 20 วัน ก่อนลงปลูกโดยจะนำเมล็ดข้าวมาแช่น้ำ 24 ชั่วโมง และบ่มไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนลงปลูกในภาคเพาะกล้าจะใช้ต้นข้าวจำนวน 5 ต้น ต่อ 1 กระถาง ก่อนปลูกข้าวในทุกกรรมวิธี ใส่ปุ๋ย 20-20-0 ในอัตรา 20 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อผ่านไป 2 เดือน ใส่ปุ๋ย 46-0-0 ในปริมาณ 5 กิโลกรัม/ไร่ ทำการเก็บตัวอย่างดินก่อนและหลังปลูกที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร ตากดินให้แห้ง บดและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 80 mesh เพื่อส่งวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Organic matter) ความจุประจุบวกที่แลกเปลี่ยนได้ (Cation Exchange Capacity, CEC) ด้วยวิธี Distillation ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen) ด้วยวิธี Kjeldahl (Multi EA 4000) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available phosphorus) ด้วยวิธี Bray II Extraction ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable K) ด้วย AAS ที่ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จากนั้นทำการวัดการเจริญเติบโตของข้าวทุกสัปดาห์ นับจำนวนใบ ความสูง จำนวนเมล็ด เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองจะทำการวัดความยาวรากและลำต้น วิเคราะห์น้ำหนักแห้งโดยนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ นับปริมาณใบ และ Spectrophotometric (Strickland and Parsons, 1972)

### การศึกษาการตอบสนองในระดับการแสดงออกของยีนข้าวที่ได้รับถ่านชีวภาพดัดแปลง

ในการศึกษาการตอบสนองเบื้องต้นในระดับการแสดงออกของยีนพีซีทีที่ได้รับถ่านชีวภาพดัดแปลง จะแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ต้นกล้าข้าวที่เติมน้ำเปล่า (ชุดควบคุม) ต้นกล้าข้าวที่เติมถ่านชีวภาพ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และต้นกล้าข้าวที่เติมถ่านชีวภาพดัดแปลง (มีเชื้อจุลินทรีย์) ความเข้มข้น

1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิเฉลี่ย 26.9 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 74 เปอร์เซ็นต์ ในแต่ละกลุ่มการทดลอง ผู้วิจัยใช้ข้าวที่ทำการทดลองมีอายุ 1 สัปดาห์หลังจากการงอก และได้เก็บตัวอย่างรากและใบข้าวที่เวลา 1, 24 และ 48 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างจำนวน 3 ซ้ำ ตัวอย่างพีซีทีที่เก็บมาแล้วถูกนำมาชั่งประมาณ 0.5 กรัม เติมนิโตรเจนเหลว แล้วบดละเอียดก่อนนำไปสกัดอาร์เอ็นเอ (RNA) ด้วย TRIzol (Invitrogen) โดยใช้วิธีการตามข้อมูลที่ผลิตภัณฑ์แนะนำ RNA ที่ได้ถูกนำไปเก็บใน RNA stabilizing solution (QIAGEN) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ โดย RNA ดังกล่าวจะถูกใช้เพื่อเป็น Template ในการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนด้วยวิธี Reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) โดยใช้ น้ำยาแบบ 1-step reaction (SensiFAST™ SYBR® No-ROX One-Step Kit, Bioline Reagents Ltd., UK) ในการศึกษาจะใช้ Actin เป็น Housekeeping gene เป็นตัวเปรียบเทียบ และมีอีก 5 ยีน ที่ใช้ศึกษาในระดับการแสดงออกได้แก่ NPR1, IAA9, GH3-8, Rab21 และ PR10b เมื่อเตรียมตัวอย่างแล้วจะทดสอบโดยใช้เครื่อง RT-PCT (QIAquant 96 5 plex, QIAGEN, USA) เพื่อทำปฏิกิริยาแบบ 1-step โดยใช้ RT-PCR cycling ดังนี้ ขั้นแรก Reverse transcription ที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 1 รอบ ขั้นที่ 2 Polymerase activation ที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จำนวน 1 รอบ และ ขั้นที่ 3 Denaturation ที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วินาที และ Annealing /extension ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที จำนวน 40 รอบ

### การวิเคราะห์ข้อมูล

สำหรับการวิเคราะห์ค่าทางสถิติของส่วนการวิเคราะห์ค่าทางสถิติของการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้ถ่านชีวภาพดัดแปลงสำหรับการปลูกข้าวจะใช้การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี

ANOVA และการเปรียบเทียบนัยสำคัญทางสถิติ ด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) และ Duncan's Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ IBM SPSS statistics

## ผลการวิจัย

### อัตราส่วนของถ่านชีวภาพตัดแปลงเสริมจุลินทรีย์ที่เหมาะสม

ถ่านชีวภาพจากฟางข้าวที่ได้จากการเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีค่าพีเอช  $8.92 \pm 0.09$  ค่าการนำไฟฟ้าเท่ากับ 7.34 มิลลิซีเมนส์ต่อเซนติเมตร ปริมาณอินทรีย์วัตถุเท่ากับ 3.54% ปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 1.32 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสเท่ากับ 0.34 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโพแทสเซียมเท่ากับ 5.43 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแคลเซียมเท่ากับ 0.28 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแมกนีเซียมเท่ากับ 0.50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโซเดียมเท่ากับ 0.16 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และปริมาณเถ้าเท่ากับ 43.48 เปอร์เซ็นต์ โดยมีพื้นที่ผิว 45.1040 ตารางเมตร/กรัม และมีปริมาณรูพรุน 0.015218 ลูกบาศก์เซนติเมตร/กรัม นอกจากนี้จากการทดสอบการอุ้มน้ำของถ่านชีวภาพ พบว่ามีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงถึง  $90 \pm 0.4$  เปอร์เซ็นต์ สำหรับการศึกษาหาอัตราส่วนของการผสมถ่านชีวภาพตัดแปลงสำหรับการปลูกข้าวหอมมะลิสายพันธุ์ กข 105 เมื่อเปรียบเทียบอัตราการผสมดินกับถ่านชีวภาพจำนวน 3 ค่า คือ การใส่ถ่านชีวภาพตัดแปลงในสัดส่วน 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 2) สัดส่วน 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 3) และ สัดส่วน 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 4) โดยเทียบผลการศึกษากับการปลูกในดิน (Control) และดินผสม 1% โดยน้ำหนัก ถ่านชีวภาพที่ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ (Treatment 1) โดยวิเคราะห์คุณภาพดินก่อนและหลังการทดลองเมื่อเติมถ่านชีวภาพ จากผลการทดลองใน Table 2 พบว่าดินที่ใช้ในการศึกษามีลักษณะเนื้อดินร่วนปนทราย ประกอบด้วยทราย 35.7

เปอร์เซ็นต์ ทรายแป้ง 59.5 เปอร์เซ็นต์ และดินเหนียว 4.8 เปอร์เซ็นต์ มีค่าพีเอช 8.33 มีปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน เท่ากับ 0.96 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนทั้งหมด 0.15 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 6.75 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โพแทสเซียม 101.10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และค่าความจุในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดิน (CEC) เท่ากับ 24.86 เซนติโมลต่อกิโลกรัม และเมื่อนำมาทดสอบการปลูกข้าวเป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าดินหลังปลูกจะมีค่าพีเอชลดลงในทุกๆ การทดลอง ซึ่งการปลูกในดิน (ชุดควบคุม) ชุดการทดลองที่ใช้ดินผสมถ่านชีวภาพ (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์) (Treatment 1) และชุดการทดลองที่ใช้ดินผสมถ่านชีวภาพตัดแปลงในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 2) จะมีค่าพีเอชที่เป็นกลางมากขึ้น โดยมีค่าเท่ากับ 7.02, 7.06 และ 7.51 ตามลำดับ และมีค่าลดลงมากกว่าชุดการทดลองที่ใส่ถ่านชีวภาพตัดแปลงที่ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 3) และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 4) ซึ่งมีค่า 8.06 และ 8.32 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของข้าว (Figure 1 ถึง Figure 3) ในภาพรวมจะพบว่าการใส่ถ่านชีวภาพ (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์) และถ่านชีวภาพตัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะเพิ่มการเจริญเติบโต เพิ่มการแตกกอ เพิ่มความยาวราก การออกรวง และจำนวนเมล็ด น้ำหนักส่วนของต้นเหนือดิน และปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยจะมีค่ามากกว่าการปลูกข้าวโดยใช้ดิน (ชุดควบคุม) เพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามการเติมถ่านชีวภาพตัดแปลงในปริมาณที่สูงขึ้นกลับให้ผลของการเจริญเติบโตของข้าวลดลง จากผลการศึกษาจะเห็นได้ชัดเจนว่าการใส่ถ่านชีวภาพ (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์) และถ่านชีวภาพตัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ส่งเสริมให้ข้าวมีความสูงของต้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) กว่าการปลูกด้วยดินเพียงอย่างเดียวและการปลูกข้าวที่มีการเติมถ่านชีวภาพตัดแปลงที่ 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก โดยความสูงของข้าวเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเท่ากับ  $37.7 \pm 0.91$  เซนติเมตร และหลังจาก 90 วัน ความสูงของ

ข้าวเพิ่มขึ้นเป็น  $99.5 \pm 0.76$  เซนติเมตร ในขณะที่การทดลองที่ใส่ถ่านชีวภาพ (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์) และถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีความสูงของข้าวเท่ากับ  $126.0 \pm 4.04$  และ  $111.0 \pm 6.08$  เซนติเมตรตามลำดับ

ความยาวรากของการทดลองที่เติมถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ก็พบว่ามีความยาวมากกว่าการทดลองที่ใส่ถ่านชีวภาพ (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์) โดยมีค่า  $17.5 \pm 3.50$  เซนติเมตร ในขณะที่ความยาวรากของที่ใส่ถ่านชีวภาพ (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์) มีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุม โดยมีค่า  $13.0 \pm 0.00$  เซนติเมตร (Figure 1)

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาการแตกกอ พบว่าการใช้ถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีการแตกกอของข้าวที่ดีกว่าการใช้ถ่านชีวภาพ (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์) เล็กน้อย โดยมีค่า  $8 \pm 1.53$  กอต่อต้น และ  $7 \pm 0.58$  กอต่อต้นสำหรับถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก และถ่านชีวภาพที่ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจำนวนรวงข้าวและเมล็ดข้าว พบว่าการใช้ถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ส่งเสริมให้ข้าวออกรวงและมีจำนวนเมล็ดมากที่สุด คิดเป็นเมล็ดทั้งหมด  $274 \pm 40$  และ  $224 \pm 19$  เมล็ด ตามลำดับ (Figure 2)

**Table 2** Effect of different rates of modified biochar application (1, 2 and 3% (w/w)) on soil properties at the end of the experiment

Sample **	pH*	OM (%)	TN (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	CEC (cmol(+)/kg)
Initial soil	8.33	0.96	0.15	6.75	101.10	24.86
Control	7.02	1.05	0.19	259.81	80.70	23.04
Treatment 1	7.06	1.53	0.21	269.08	394.25	23.65
Treatment 2	7.51	1.53	0.24	272.27	474.25	20.02
Treatment 3	8.06	2.04	0.24	236.92	984.13	21.58
Treatment 4	8.32	2.16	0.23	284.51	1465.0	21.58

\*1:1 soil/water solution is used for pH measurement.

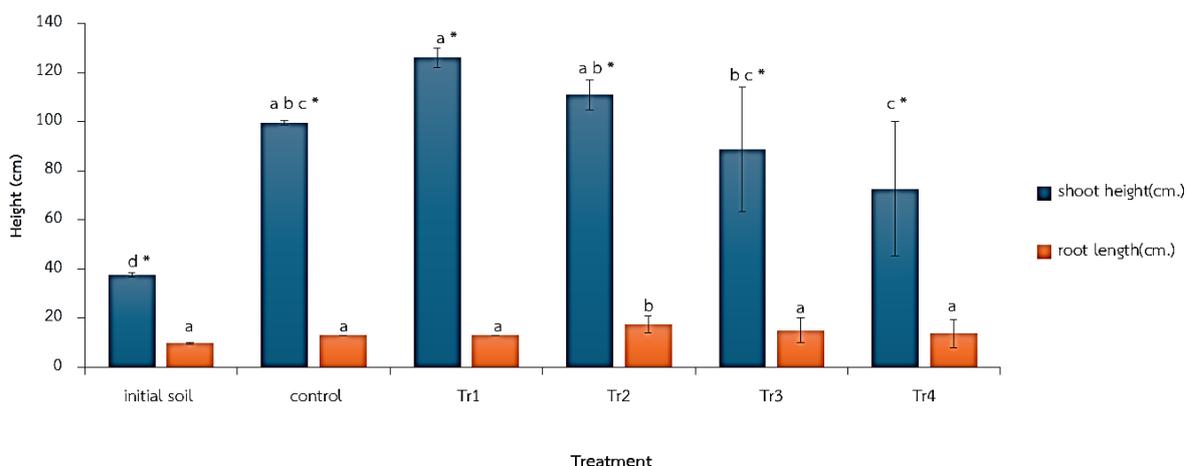
\*\* Soil without biochar (control), soil with 1% biochar (w/w) (treatment 1), soil with 1% (w/w) modified biochar (treatment 2), soil with 2% (w/w) modified biochar (treatment 3) and soil with 3% (w/w) modified biochar (treatment 4)

นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ทำให้ข้าวตั้งท้องเร็วขึ้นกว่าชุดการทดลองอื่น นอกจากนี้เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินจากการทดลองที่เติมถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีค่าน้ำหนักแห้งมากกว่าการทดลองที่ใส่ถ่านชีวภาพ (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์) โดยมีค่า  $4.80 \pm 0.91$  กรัม (Figure 3) และยังมีน้ำหนักสดมากกว่า โดยมีค่า  $16.55 \pm 1.31$  กรัม

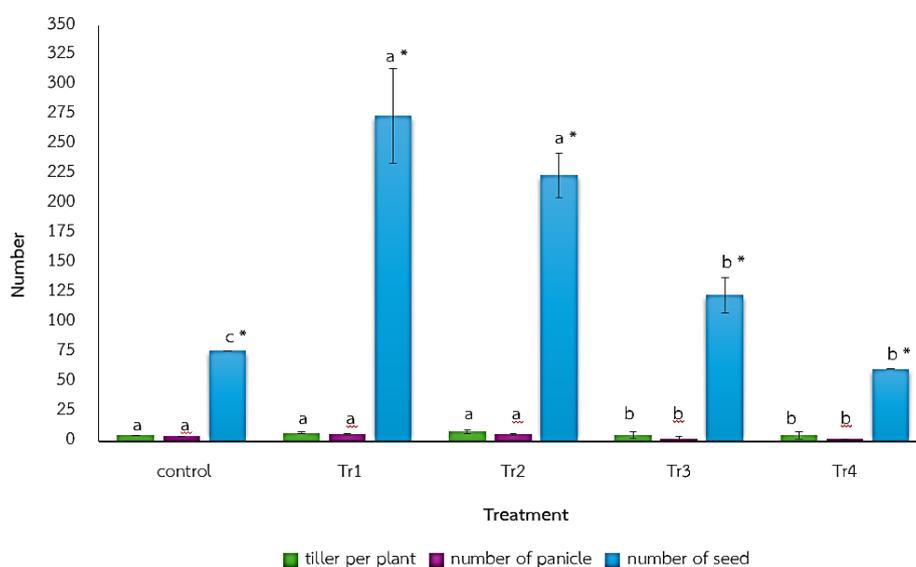
แสดงให้เห็นว่าในการใส่ถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก สามารถเพิ่มปริมาณชีวมวลของข้าวได้ดีกว่าการใช้ถ่านชีวภาพ (ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์) (Treatment 1) และการปลูกโดยใช้ดินที่ไม่มีการเติมถ่านชีวภาพ (Control) นอกจากนี้ยังพบว่าต้นข้าวที่ปลูกด้วยถ่านชีวภาพ (ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์) มีลำต้นที่สูงและหักงอได้ง่าย ในขณะที่การใช้ถ่านชีวภาพดัดแปลงในปริมาณที่สูงเกินไปทำให้ลำต้นมีขนาดเล็กกลง โดยมีน้ำหนักสด

ไม่แตกต่างจากข้าวที่ปลูกด้วยดินและน้ำหนักรากที่สูงกว่าข้าวที่ปลูกด้วยดินเพียงเล็กน้อย เมื่อพิจารณาปริมาณคลอโรฟิลล์จากส่วนของใบข้าวจะพบแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน คือ การใช้ถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะทำให้ใบมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าการทดลองอื่น แสดงให้เห็นถึงความอุดมสมบูรณ์ของต้นข้าว ในขณะที่การใช้ถ่านชีวภาพ

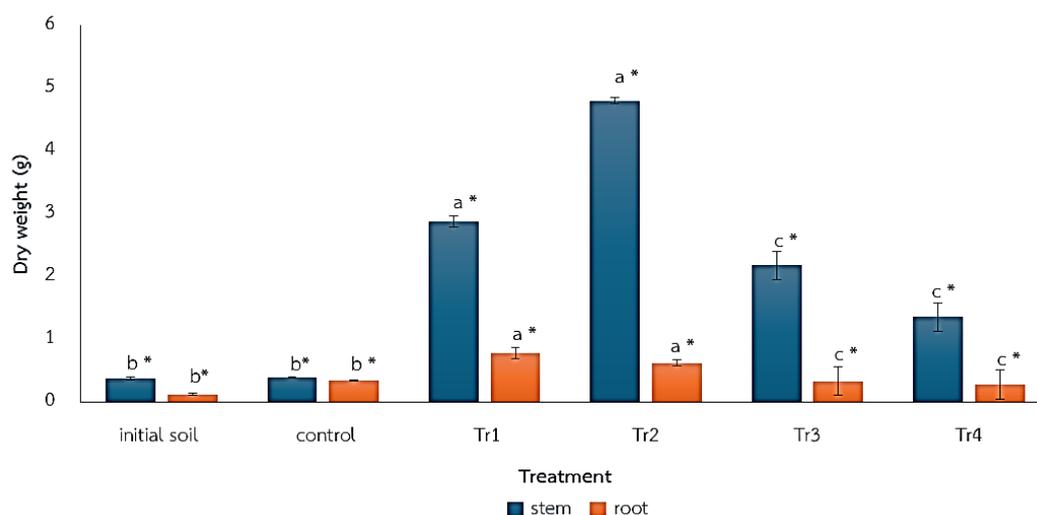
ดัดแปลงในปริมาณที่สูงขึ้นใบข้าวจะมีสีเหลืองเกิดขึ้น นอกจากนี้การเติมถ่านชีวภาพดัดแปลงในปริมาณที่แตกต่างกันจะมีผลต่อความสูงของส่วนเหนือราก น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือราก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$  และมีผลต่อจำนวนเมล็ดและน้ำหนักแห้งของส่วนราก และน้ำหนักสดของส่วนเหนือรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.01$



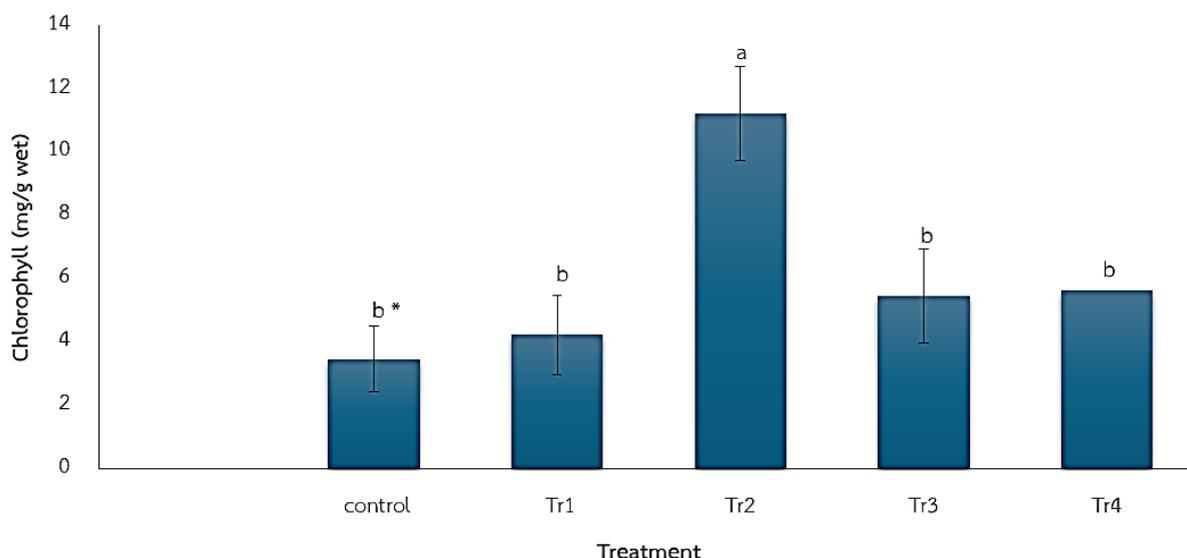
**Figure 1** Effect of different modified biochar applications on rice growth: soil without biochar (control), soil with 1% biochar (w/w) (Tr 1), soil with 1% (w/w) modified biochar (Tr 2), soil with 2% (w/w) modified biochar (Tr 3), soil with 3% (w/w) modified biochar (Tr 4); Different letters and \* indicate significant difference at  $p < 0.05$ , Duncan's Multiple Range Test and one-way ANOVA, respectively.



**Figure 2** Effect of different modified biochar applications on rice tillers, panicles, and seed: soil without biochar (control), soil with 1% biochar (w/w) (Tr 1), soil with 1% (w/w) modified biochar (Tr 2), soil with 2% (w/w) modified biochar (Tr 3), soil with 3% (w/w) modified biochar (Tr 4); Different letters and \* indicate significant difference at  $p < 0.05$ , Duncan's Multiple Range Test and one-way ANOVA, respectively.



**Figure 3** Effect of different modified biochar applications on rice dry weight: soil without biochar (control), soil with 1% biochar (w/w) (Tr 1), soil with 1% (w/w) modified biochar (Tr 2), soil with 2% (w/w) modified biochar (Tr 3), soil with 3% (w/w) modified biochar (Tr 4); Different letters and \* indicate significant difference at  $p < 0.05$  Duncan's Multiple Range Test and one-way ANOVA, respectively.



**Figure 4** Effect of different modified biochar applications on chlorophyll contents: soil without biochar (control), soil with 1% biochar (w/w) (Tr 1), soil with 1% (w/w) modified biochar (Tr 2), soil with 2% (w/w) modified biochar (Tr 3), soil with 3% (w/w) modified biochar (Tr 4); Different letters and \* indicate significant difference at  $p < 0.05$ , 05 Duncan's Multiple Range Test and one-way ANOVA, respectively.

### ประสิทธิภาพการใช้ถ่านชีวภาพดัดแปลงเสริมจุลินทรีย์ในการปลูกข้าว

จากการทดสอบประสิทธิภาพการใช้ถ่านชีวภาพดัดแปลงเสริมจุลินทรีย์ในการปลูกข้าวหอมมะลิ กข 105 ในอัตราส่วนของถ่านชีวภาพดัดแปลง 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ผลการเปรียบเทียบคุณภาพดินก่อนและหลังการปลูก (Table 3) และการเจริญเติบโตของข้าว (Figure 5 และ 6) ระหว่าง 3 ชุดการทดลอง (ดินที่ไม่ผสมถ่าน (Control) ดินผสมถ่านชีวภาพ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 1) และดินผสมถ่านชีวภาพดัดแปลง 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 2) พบว่าคุณภาพดินชุด Control หลังจากทำการปลูกข้าวเป็นระยะเวลา 90 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนการทดลอง มีค่าพีเอช ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ไนโตรเจนทั้งหมด และค่าความจุในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดิน มีค่าไม่แตกต่างจากดินก่อนการทดลอง โดยมีค่าเท่ากับ 7.64, 1.11 เปอร์เซ็นต์ 0.16 เปอร์เซ็นต์ และ 25.26 เซนติโมลต่อ

กิโลกรัม ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามกับพบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมในดินหลังการทดลองมีค่าสูงขึ้นกว่าตอนเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า 108.03 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 116.90 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเปรียบเทียบคุณภาพดินจาก Treatment 1 และ Treatment 2 พบว่าดินหลังปลูกข้าวจากทั้งสองกรรมวิธีการทดลองมีค่าพีเอช ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนปลูก โดยมีค่า 7.06 และ 7.40 สำหรับถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงตามลำดับ นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมในดินหลังการปลูกมีค่าสูงกว่าดินก่อนการทดลอง โดยมีค่า เท่ากับ 1.96 เปอร์เซ็นต์ 0.18 เปอร์เซ็นต์ 262.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 434.25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับ Treatment 1 และ 1.81 เปอร์เซ็นต์ 0.19 เปอร์เซ็นต์ 261.55 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 481.75 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ

สำหรับ Treatment 2 อย่างไรก็ตามกลับพบว่า ความจุในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดินในการทดลองทั้งสองชุด มีค่าลดลงจากดินก่อนการทดลองเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามมีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของข้าว (Figure 5 ถึง 7) พบว่าการใส่ถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 2) จะเพิ่มการเจริญเติบโตทั้งในส่วนของคุณสูงของต้น ความยาวของราก การออกรวง

และจำนวนเมล็ด น้ำหนักส่วนของต้นเหนือดินและราก และปริมาณคลอโรฟิลล์ มีค่ามากกว่าข้าวที่ปลูกด้วยการใส่ถ่านชีวภาพในปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (Treatment 1) และมากกว่าการปลูกข้าวโดยใช้ดิน (Control) โดยมีความสูงของต้นเท่ากับ  $92.80 \pm 10.64$  เซนติเมตร ความยาวรากเท่ากับ  $14.10 \pm 1.14$  เซนติเมตร จำนวน  $9.4 \pm 1.14$  กอต่อต้น จำนวนรวงเท่ากับ  $7.8 \pm 1.30$  รวง (Figure 5 และ 6)

**Table 3** Effect of soil amendments after the application of modified biochar at the end of experiment

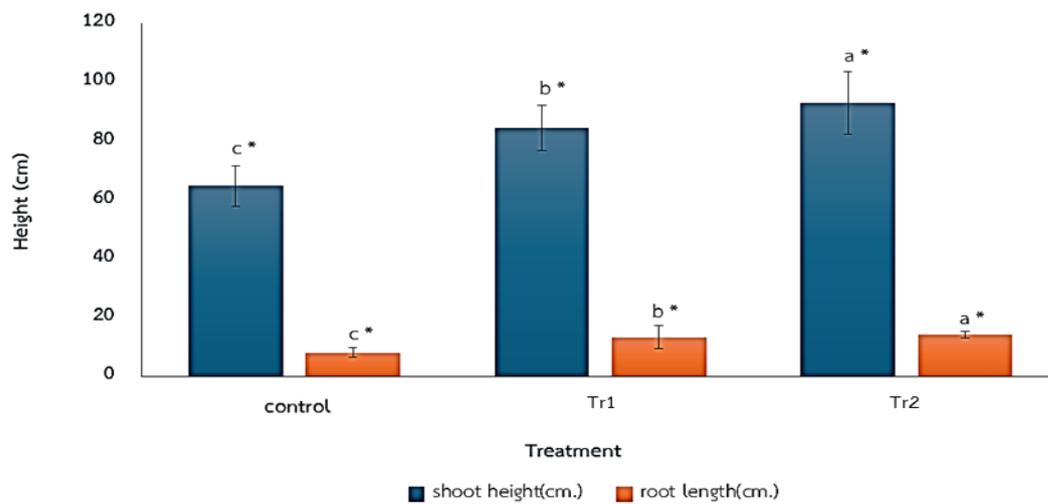
Samples	pH	OM (%)	TN (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	CEC (cmol (+)/kg)
Initial soil	7.95	0.78	0.14	7.33	57.05	25.46
control	7.64	1.11	0.16	108.03	116.90	25.26
Treatment 1*	7.06	1.96	0.18	262.13	434.25	20.42
Treatment 2**	7.40	1.81	0.19	261.55	481.75	20.82

\*Treatment 1 is soil with 1% (w/w) biochar application

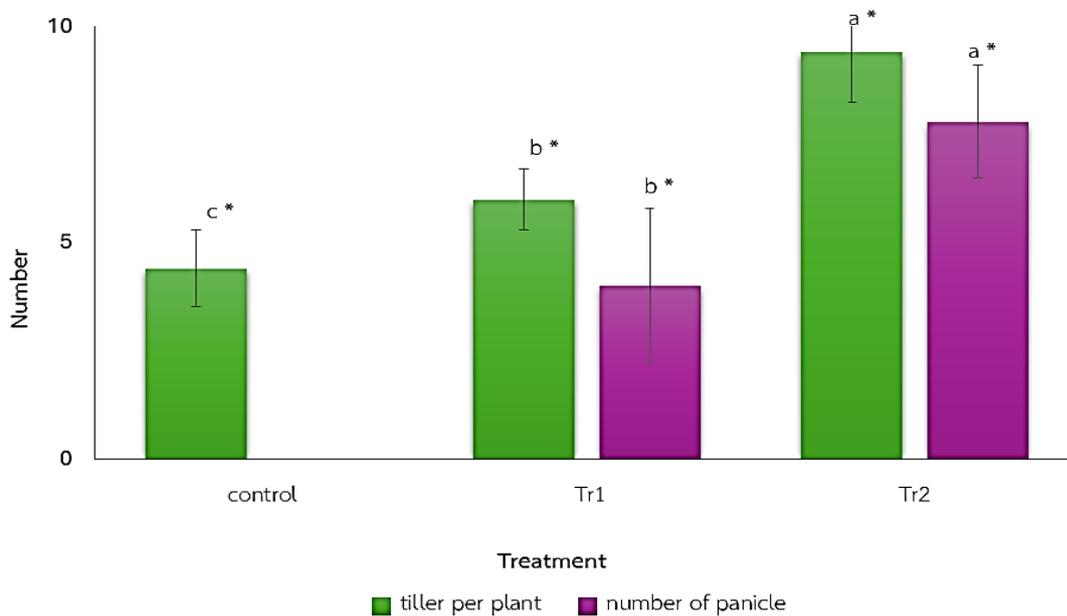
\*\*Treatment 2 is soil with 1% (w/w) modified biochar application

เป็นที่น่าสังเกตจากผลการศึกษาว่าข้าวที่ปลูกในชุดควบคุมไม่มีการเกิดรวงข้าว ในขณะที่การเติมถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงทำให้ข้าวสร้างรวง โดยมีจำนวนเมล็ดในชุด Treatment 2 เท่ากับ  $388 \pm 80$  เมล็ด ซึ่งมากกว่า Treatment 1 ที่มีจำนวนเมล็ดน้อยกว่าถึง 3 เท่าอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเท่ากับ  $130 \pm 49$  เมล็ด นอกจากนี้ข้าวที่ได้จากชุดการทดลอง Treatment 2 จะมีน้ำหนักสดในส่วนเหนือรากสูงกว่าข้าวที่ได้จากชุดควบคุมถึง 6 เท่า และสูงกว่าชุดที่ใช้ถ่านชีวภาพประมาณ 3 เท่า ในขณะที่น้ำหนักแห้งในส่วนเหนือรากของข้าวที่ปลูกด้วย

ถ่านชีวภาพดัดแปลง (Treatment 2) สูงกว่าข้าวที่ได้จากชุดควบคุมถึง 13 เท่า และสูงกว่าชุดที่ใช้ถ่านชีวภาพ (Treatment 1) ประมาณ 2 เท่า แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของชีวมวลของข้าวหลังจากที่มีการเติมถ่านชีวภาพดัดแปลง สำหรับน้ำหนักส่วนของรากก็ให้ผลเช่นเดียวกัน จากผลการศึกษาจะเห็นได้ชัดเจนว่าการใส่ถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะช่วยส่งเสริมให้ข้าวเจริญเติบโตได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และต้นข้าวที่ปลูกด้วยถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีความสมบูรณ์ของต้นที่มากกว่า



**Figure 5** Effect of rice growth promotion after the application of modified biochar: soil without biochar (control), soil with 1% biochar (w/w) (Tr 1), soil with 1% (w/w) modified biochar (Tr 2); Different letters and \* indicate significant difference at  $p < 0.05$ , Duncan's Multiple Range Test and one-way ANOVA, respectively.

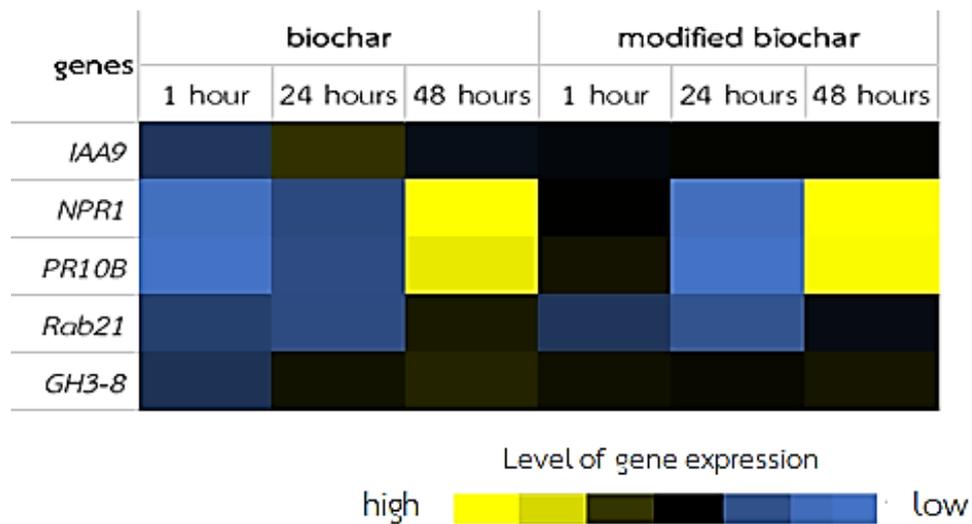


**Figure 6** Comparison of tiller and panicles after the application of modified biochar; soil without biochar (control), soil with 1% biochar (w/w) (Tr 1), Soil with 1% (w/w) modified biochar (Tr 2). Different letters and \* indicate significant difference at  $p < 0.05$ , Duncan's Multiple Range Test and one-way ANOVA, respectively.

**การตอบสนองในระดับการแสดงออกของยีนพืชที่ได้รับถ่านชีวภาพดัดแปลง**

จากการทดสอบไพรมเมอร์เพื่อศึกษาการตอบสนองของข้าวต่อถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 48 ชั่วโมง พบว่าทั้งรากและใบของข้าวมีการแสดงออกของยีนทั้ง 6 ยีน (*Actin*, *NPR1*, *IAA9*, *GH3-8*, *Rab21* และ *PR10b*) ในระดับที่ตรวจวัดได้ด้วยวิธีการ 1-step RT-PCR และผลจากการทดลองสรุปได้ว่า *NPR1* และ *PR10b* มีการแสดงออกสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวในกลุ่มที่เดิมถ่านชีวภาพทั้งแบบดั้งเดิมและแบบดัดแปลง (Figure 7) สำหรับ *NPR1* จัดว่าเป็นยีนที่ควบคุมการกระตุ้นภูมิคุ้มกันพืชแบบ Systemic Acquired Resistance (SAR) ซึ่งช่วยป้องกันพืชจาก

เชื้อโรคทั่วไป (Broad spectrum of pathogens) (Fu and Dong, 2013) ส่วนยีน *PR10b* นั้น ถูกเรียกว่าแปลดรหัสเป็น Pathogenesis-related protein PR-10b มีงานวิจัยพบว่าเมื่อแสดงออกยีน *PR10b* ปริมาณมาก (Overexpression) ในข้าวญี่ปุ่น ส่งเสริมให้ข้าวมีรากและลำต้นที่เจริญเติบโตมากขึ้น แต่ไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิต นอกจากนี้ยังทำให้ข้าวทนต่อรา Rice blast fungus ทนเกลือ และทนแล้งได้มากกว่าพันธุ์ดั้งเดิม (Wildtype) อีกด้วย (Wu *et al.*, 2016) นอกจากนี้ผลการทดลองยังชี้ให้เห็นว่าเมื่อใช้ถ่านชีวภาพดัดแปลง (Modified biochar) แม้ในปริมาณต่ำ สามารถทำให้เกิดการตอบสนองระยะสั้นได้ดีกว่าถ่านชีวภาพดั้งเดิมที่ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ (Figure 7)



**Figure 7** Heatmap for level of gene expression of Systemic Acquired Resistance (SAR); fold change calculated by  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ;  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$  (treated sample) –  $\Delta Ct$  (untreated sample);  $\Delta Ct = Ct$  (gene of interest) –  $Ct$  (housekeeping gene) and yellow color showed high level of gene expression and blue color indicated low level of gene expression.

## วิจารณ์ผลการวิจัย

ผลการศึกษาจะเห็นได้ชัดว่าคุณสมบัติของดิน เช่น พีเอช ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โพแทสเซียม และค่าความจุในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดิน (CEC) เกิดการเปลี่ยนแปลงหลังจากที่มีการเติมถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงโดยปริมาณของการเติมถ่านชีวภาพนั้น พบว่ามีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีของดินและการเจริญเติบโตของพืช เมื่อเปรียบเทียบกับดินเริ่มต้นจะเห็นได้ว่าปริมาณอินทรีย์วัตถุ ไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมในดิน ที่มีการเติมถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงเสริมจุลินทรีย์จะมีค่าสูงขึ้นกว่าดินที่ไม่มีการเติมถ่านชีวภาพ ซึ่งคาดว่าผลของถ่านชีวภาพที่มีองค์ประกอบของคาร์บอนและมีรูพรุนสูงสามารถเก็บกักน้ำและเป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์ในดิน ดังนั้นการเติมถ่านชีวภาพลงไปบนดินจึงสามารถช่วยลดความหนาแน่นของดิน เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ เพิ่มคาร์บอนในดิน ช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารและการปลดปล่อยธาตุอาหาร และการปรับปรุงสมบัติทางชีวภาพของดินจากการเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดิน ซึ่งมีผลต่อความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ และกิจกรรมการย่อยสลายทางชีวภาพและการหมุนเวียนธาตุอาหารที่เกิดขึ้นในดิน Prayogo *et al.* (2013) ได้พบว่าการเติมถ่านชีวภาพในดินช่วยให้การเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนในดินดีขึ้น เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยาการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในดิน นอกจากนี้ผลการศึกษา ยังสอดคล้องกับรายงานวิจัยอื่น ๆ ที่พบว่าการใส่ถ่านชีวภาพช่วยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน (Hemwong and Cadisch, 2012; Wang and Wang, 2019)

อย่างไรก็ตามสำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในดินพบว่าขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ไม่ว่าจะเป็นโครงสร้างของดินและองค์ประกอบในดิน เช่น ปริมาณ OM และปริมาณ Clay ซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติในการเป็น Buffer ของดิน (Cruz-Méndez *et al.*, 2021) รวมไปถึงชนิดและ

รูปแบบการปลูกพืช (Zhang *et al.*, 2015; Streubel *et al.*, 2011; Gaskin *et al.*, 2010) นอกจากนี้ค่าพีเอชของถ่านยังขึ้นกับปริมาณเถ้าในถ่านชีวภาพ ซึ่งเป็นผลมาจากสถานะในการเผาและคุณสมบัติของชีวมวล ดังนั้นยังมีการเติมถ่านที่มีปริมาณเถ้าสูง ค่าพีเอชของถ่านจะมีค่าสูง มีผลทำให้ค่าพีเอชในดินมีค่าสูงขึ้นด้วย

นอกจากนี้ผลการศึกษา ยังพบว่า การเติมถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ดีขึ้น จากการเปรียบเทียบปริมาณการใส่ถ่านชีวภาพที่แตกต่างกัน 3 ระดับ พบว่าการเติมถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และการเติมถ่านชีวภาพ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ดีกว่าดินที่ไม่มีการเติมถ่านชีวภาพและดินที่มีการเติมถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ทั้งในแง่ของความสูงของส่วนเหนือราก น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือรากที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.05$  และมีผลต่อจำนวนเมล็ดและน้ำหนักแห้งของส่วนราก และน้ำหนักสดของส่วนเหนือรากที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่  $p \leq 0.01$  นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพดัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ส่งผลทำให้ข้าวตั้งท้องเร็วขึ้นกว่าชุดการทดลองอื่น ทั้งนี้เนื่องจากถ่านชีวภาพมีโครงสร้างที่มีรูพรุนสามารถเก็บกักน้ำธาตุอาหาร และเป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์ในดิน ซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ในดินและการปลดปล่อยธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของข้าวโดยเฉพาะไนโตรเจน (Prayogo *et al.*, 2013) นอกจากนี้อาจเป็นผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมเข้าไปพร้อมกับถ่านชีวภาพดัดแปลง เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้มีความสามารถในการสร้าง IAA ซึ่งมีกลไกเหมือนกับ PGRs ดังนั้นจึงมีกลไกที่สามารถเพิ่มปริมาณไนโตรเจนในดินโดยการตรึงไนโตรเจนจากอากาศหรือเพิ่มการละลายของธาตุอาหาร เช่น ฟอสฟอรัส หรือ โพแทสเซียมในดิน เพื่อให้พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Lopes *et al.*, 2021;

Martinez-Viveros *et al.*, 2010) โดยเชื้อจุลินทรีย์ *B. pumilus* ที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถสร้าง Indole-3-Acetic Acid (IAA) ได้สูงถึง  $153.7 \pm 1.55$  ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อีกทั้งยังมีรายงานวิจัยที่สนับสนุนว่าการผสมผสานเชื้อจุลินทรีย์กับวัสดุอื่นที่ไม่ใช่จุลินทรีย์ เช่น ถ่านชีวภาพ สามารถสร้างผลกระทบเชิงบวกช่วยส่งเสริมการทำงานร่วมกันระหว่างเชื้อจุลินทรีย์และถ่านชีวภาพได้มากกว่าการเติมเชื้อจุลินทรีย์หรือการใช้ถ่านชีวภาพเพียงอย่างเดียว (Adesemoye and Kloepper, 2009)

อย่างไรก็ตามผลการศึกษายังพบว่า การใช้ถ่านชีวภาพตัดแปลงในปริมาณที่สูงขึ้น (2 และ 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก) ทำให้ความสูงของข้าวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเติมถ่านชีวภาพที่มากเกินไปจะทำให้ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืชในดินลดลง เนื่องจากถ่านชีวภาพทำให้ค่า pH ของดินสูงขึ้นจนทำให้เกิดการตกตะกอนของธาตุบางชนิด เช่น ฟอสฟอรัส และจุลธาตุ และยังทำให้เกิดการแข่งขันระหว่างธาตุอาหารที่เป็นไอออนประจุบวก เช่น โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ทำให้พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งอาจจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์ของพืช (Butnan *et al.*, 2015) เมื่อพิจารณาปริมาณคลอโรฟิลล์จากส่วนของใบข้าว พบแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน คือ การใช้ถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพตัดแปลงที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก จะทำให้ใบมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าการทดลองอื่น แสดงให้เห็นถึงความอุดมสมบูรณ์ของต้นข้าว ในขณะที่การใช้ถ่านชีวภาพตัดแปลงในปริมาณที่สูงขึ้นจะทำให้ใบข้าวมีสีเหลืองเกิดขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากถ่านชีวภาพมีกลไกที่ช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบแสง 2 ของพืชเพื่อให้เกิดการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในระบบรับแสงมายังระบบแสง 1 ได้ (Thussagunpanit *et al.*, 2012)

นอกจากนี้ผลของการทดสอบการตอบสนองในระดับการแสดงออกของยีนพืชที่ได้รับถ่านชีวภาพตัดแปลงในระดับห้องปฏิบัติการ ยังสนับสนุนผลของการ

เจริญเติบโตของข้าวหลังจากที่มีการเติมถ่านชีวภาพและถ่านชีวภาพตัดแปลง โดยพบว่าการแสดงออกของยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของพืชสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวในกลุ่มที่เติมถ่านชีวภาพทั้งแบบดั้งเดิมและแบบตัดแปลง นอกจากนี้ผลที่ได้ยังสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบว่าถ่านชีวภาพและเซลล์แบคทีเรีย PGPR ที่เติมนั้นสามารถเสริมฤทธิ์ (Synergize) กันได้ ถ่านชีวภาพตัดแปลงสามารถกระตุ้นปริมาณการแสดงออกของ GH3-8 สูงขึ้นถึงกว่า 8 เท่า โดยถ่านชีวภาพและบาซิลลัสจะเหนี่ยวนำการแสดงออกของยีนที่ทดสอบผ่านกลไกที่แตกต่างกัน ผลดังกล่าวทำให้เห็นว่าการเลือกการส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันของพืชจากการใช้ถ่านชีวภาพน่าจะมีผลต่อความแข็งแรงของข้าวและส่งผลต่อการเจริญเติบโตของข้าว จากผลการศึกษายีน PR-10b นั้นตอบสนองต่อความเครียดจากการรุกรานของเชื้อก่อโรค เช่น *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) (Thomas *et al.*, 2016) สำหรับยีน Rab21 จะตอบสนองต่อ Abscisic acid (Mundy and Chua, 1988) และยีน GH3-8 ตอบสนองต่อออกซิน (Westfall *et al.*, 2010) ส่วนยีน NPR1 นั้น ทำงานร่วมกับกรดซาลิไซลิก (Salicylic acid; SA) ในการตอบสนอง/ต้านความเครียดและเพิ่มความต้านทานต่อโรคให้แก่พืช (Backer *et al.*, 2019)

### สรุปผลการวิจัย

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าถ่านชีวภาพที่ได้จากการจัดการเศษวัสดุเหลือทิ้งจากนาข้าว สามารถนำมาใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดินที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งการใช้ถ่านชีวภาพตัดแปลงเสริมจุลินทรีย์จากฟางข้าวที่ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก สามารถช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของดิน ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวหอมมะลิสายพันธุ์ กข 105 เพิ่มประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ด้วยแสงและปริมาณคลอโรฟิลล์ ตลอดจนส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันของข้าวให้สูงขึ้น

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย และนวัตกรรม สัญญาเลขที่ วช.อว.(อ)(ภส)/197/2563 จากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2563 และทุนสนับสนุนงานมูลฐาน ประจำปีงบประมาณ 2566 รหัสโครงการวิจัย มจ.1-66-08-005.1

### เอกสารอ้างอิง

- Adesemoye, A.O. and J.W. Kloepper. 2009. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer use efficiency. **Applied Microbiology and Biotechnology** 85(1): 1-12.
- Backer, R., S. Naid and N. Van Den Berg. 2019. The nonexpressor of pathogenesis-related genes 1 (NPR1) and related family: mechanistic insights in plant disease resistance. **Frontiers in Plant Science** 10: 00102.
- Butnan, S., J.L. Deenik, B. Toomsan, M.J. Antal, and P. Vityakon. 2015. Biochar characteristics and application rates affecting corn growth and properties of soils contrasting in texture and mineralogy. **Geoderma** 237-238: 105-116.
- Cruz-Méndez AS, E. Ortega-Ramírez, C.A. Lucho-Constantino, O. Arce-Cervantes, G.A. Vázquez-Rodríguez, C. Coronel-Olivares and R.I. Beltrán-Hernández. 2021. Bamboo biochar and a nopal-based Biofertilizer as improvers of alkaline soils with low buffer capacity. **Applied Sciences** 11(14): 6502.
- Ekebafé, M.O., L.O. Ekebafé and S.O. Ugbesia. 2015. Biochar composts and composites. **Science Progress** 98(2): 169-176.
- Dong, Y., Z. Wu, X. Zhang, L. Feng, and Z. Xiong. 2019. Dynamic responses of ammonia volatilization to different rates of fresh and field-aged biochar in a rice-wheat rotation system. **Field Crops Research** 241: 107568.
- Fu, Z.Q. and X. Dong. 2013. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. **Annual Review of Plant Biology** 64: 839-863.
- Gaskin, J.W., R.A. Speir, K. Harris, K.C. Das, R.D. Lee, L.A. Morris and D.S. Fisherr. 2010. Effect of peanut hull and pine chip biochar on soil nutrients, corn nutrient status, and yield. **Agronomy Journal** 102: 623-633.
- Hemwong, S. and G. Cadisch. 2012. **Effect of Biochar Amendment on Soil Fertility and Lowland Rice Yield in Nakhon Phanom Province.** pp. 45-48. *In* Nakhon Phanom University Journal 8th Nation Agricultural System Conference. Nakhon Phanom: Nakorn Phanom University.
- Hu, L., L. Cao and R. Zhang. 2014. Bacterial and fungal taxon changes in soil microbial community composition induced by short-term biochar amendment in redoxidized loam soil. **World Journal of Microbiology Biotechnology** 30: 1085-1092.

- Hussain, M., F. Muhammad, N. Ahmad, A.S. Abdullah, S. Zakaria, A. Salem, J. Ammara, O.Y. Sik and S. Kadambot. 2017. Biochar for crop production: potential benefits and risks. **Journal of Soils and Sediments** 17: 685-716.
- Liu, Y., Z. Q. Zhu, X.S. He, C. Yang, Y.Q. Du, Y.D. Huang, P. Su, S. Wang, X.X. Zheng, and Y.J. Xue. 2018. Mechanisms of rice straw biochar effects on phosphorus sorption characteristics of acid upland red soils. **Chemosphere** 207: 267-277.
- Lopes M.J.S., M.B. Dias-Filho, E.S.C. Gurgel. 2021. Successful plant growth-promoting microbes: inoculation methods and abiotic factors. **Frontiers in Sustainable Food Systems** 5: 606454.
- Ma, Y., D.L. Liu, G. Schwenke and B. Yang. 2019. The global warming potential of straw-return can be reduced by application of straw-decomposing microbial inoculants and biochar in rice-wheat production systems. **Environmental Pollution** 252: 835-845.
- Manaonok, J., S. Gonkhamdee, K. Dejbhimon, W.K. Polpinit and D. Jothityangkoon. 2017. Biochar: Its effect on soil properties and growth of wet-direct seeded rice (a pot trial). **Khon Kaen Agriculture Journal** 45(2): 209-220. [in Thai]
- Martínez-Viveros, O., M.A., Jorquera, D.E., Crowley, G. Gajardo and M.L. Mora.. 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. **The Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 10: 293-319.
- Munda, S., A.K. Nayak, M. Shahid, D. Bhaduri, D. Chatterjee, S. Mohanty. and N. Jambhulkar. 2023. Soil quality assessment of lowland rice soil of Eastern India: implications of rice husk biochar application. **Heliyon** 9(7): 1-9.
- Mundy, J., and N.-H. Chua. 1988. Abscisic acid and water-stress induce the expression of a novel rice gene. **The EMBO Journal** 7(8): 2279-2286.
- Muter, O., L. Grantina-levina, G. Makarenkova, D. Vecstaudza, S. Strikauska, T. Selga and C. Steiner. 2017. Effect of biochar and Trichoderma application on fungal diversity and growth of *Zea mays* in a sandy loam soil. **Environmental Experimental and Biology** 15: 289-296.
- Pandey, A., D.Q. Vu, T.P.L. Bui, T.L.A. Mai, L.S. Jensen and A. de Neergaard. 2014. Organic matter and water management strategies to reduce methane and nitrous oxide emissions from rice paddies in vietnam. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 196: 137-146.
- Pieterse, C.M., S.C. Van Wees, E. Hoffland, J.A. Van Pelt and L.C. Van Loon. 1996. Systemic resistance in Arabidopsis induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. **The Plant Cell** 8(8): 1225-1237.

- Prayogo, C., Jones, J.E., Baeyens and G.D. Bending. 2013. Impact of biochar on mineralisation of C and N from soil and willow litter and its relationship with microbial community biomass and structure. **Biology and Fertility of Soils** 50: 695-702.
- Rubin, R.L., T.R. Anderson and K.A. Ballantine, 2020. Biochar simultaneously reduces nutrient leaching and greenhouse gas emissions in restored wetland soils. **Wetlands** 40: 1981-1991
- Streubel, J.D., H.P. Collins, M. Garcia-Perez, J. Tarara, D. Granatstein and C.E. Kruger. 2011. Influence of contrasting biochar types on five soils at increasing rates of application. **Soil Science Society of America Journal** 75: 1402-1413.
- Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons. 1972. **A Practical Hand Book of Seawater Strick land Analysis**. 2 nd Edition. Ottawa: Fisheries Research Board of Canada Bulletin. 310 p.
- Thomas, N.C., B. Schwessinger, F. Liu, H. Chen, T. Wei, Y.P. Nguyen. and P.C Ronald. 2016. XA21-specific induction of stress-related genes following *Xanthomonas* infection of detached rice leaves. **PeerJ** 4: e2446.
- Thussagunpanit, J., K. jutamee, W. Chai-arree, and L. Kaveeta. 2012. Increasing photosynthetic efficiency and pollen germination with 24-epibrassinolide in rice (*Oryza sativa* L.) under heat stress. **The Journal of Botany** 4(Special Issue): 135-143.
- Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of the Degtjareft method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Sci.** 37: 29-38.
- Wang, J. and S. Wang. 2019. Preparation, modification and environmental application of biochar: a review. **Journal of Cleaner Production** 227: 1002-1022.
- Westfall, C.S., J. Herrmann, Q. Chen, S. Wang and J.M. Jez. 2010. Modulating plant hormones by enzyme action: the GH3 family of acyl acid amido synthetases. **Plant Signaling and Behavior** 5(12): 1607-1612.
- Wu, J., S.G. Kim, K.Y. Kang, J.G. Kim, S.R. Park, R. Gupta and S.T. Kim. 2016. Overexpression of a pathogenesis-related protein 10 enhances biotic and abiotic stress tolerance in rice. **The Plant Pathology Journal** 32(6): 552.
- Xiaoyu, L., J. Zhou, Z. Chi, J. Zheng, L. Li, X. Zhang, J. Zheng, K. Cheng, R. Bian, G. Pan. 2019. Biochar provided limited benefits for rice yield and greenhouse gas mitigation six years following an amendment in a fertile rice paddy. **CATENA** 179: 20-28.
- Zhang, H., R. Voroney and G. Price. 2015. Effects of temperature and processing conditions on biochar chemical properties and their influence on soil C and N transformations. **Soil Biology and Biochemistry** 83: 19-28.