กิจกรรมของเอนไซม์ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างคุณภาพที่ใส่ในดินทรายเป็นระยะเวลา 14 ปี

Soil enzyme activities in decomposition of different quality organic residues applied in a sandy soil for 14 years

ภาณุเดชา กมลมานิทย์[1], ปัทมา วิตยากร[2*], วรรณวิภา แก้วประดิษฐ์[3] และ จอร์จ คาดิช[4]
Bhanudacha Kamolmanit[1], Patma Vityakon[2*], Wanwipa Kaewpredit[3] and Georg Cadisch[4]

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ประเมินกิจกรรมของเอนไซม์ในกระบวนการย่อยสลายในดินทรายที่ใส่สารอินทรีย์ที่มีคุณภาพ (องค์ประกอบทางเคมี) ต่างกันอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 14 ปี ซึ่งส่งผลให้เกิดการสะสมอินทรียวัตถุในดินทรายแตกต่างกัน กรรมวิธีทดลองมี 6 กรรมวิธี ประกอบด้วยกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (ควบคุม) และกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์ ได้แก่ ซากถั่วลิสง (*Arachis hypogeae*), ใบ+ก้านมะขามร่วง (*Tamarindus indica*) ใบพลวงร่วง, (*Dipterocarpus tuberculatus*) และฟางข้าว (*Oryza sativa*) โดยใส่ลงในดินอย่างต่อเนื่องทุกปี ๆ ละครั้งในอัตรา 10 ตัน น้ำหนักแห้ง/เฮกตาร์ ขณะที่สารอินทรีย์ผสม (ซากถั่วลิสง + ฟางข้าวที่อัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนักแห้ง) ใส่ในอัตรา 20 ตัน/เฮกตาร์ ผลการศึกษา แสดงว่ากรรมวิธีที่ใส่ซากถั่วลิสง (สารอินทรีย์คุณภาพสูง มีปริมาณไนโตรเจนสูง แต่มีลิกนินและโพลีฟีนอลส์ต่ำ) และกรรมวิธีที่ใส่ใบมะขาม (คุณภาพปานกลาง) มีกิจกรรมของอินเวอร์เตสสูงสุดอยู่ในช่วง 0.40- 0.41 mg GE g^{-1} soil DW h^{-1} นอกจากนี้ใบมะขามทำให้มีกิจกรรมของเบตากลูโคซิเดสสูงสุดด้วยเท่ากับ 59.5 g *p*-nitrophenol g^{-1} soil DW h^{-1} กรรมวิธีที่ใส่ใบพลวง (คุณภาพต่ำ มี N ต่ำ แต่มีลิกนินและโพลีฟีนอลส์สูง) มีกิจกรรมของฟีนอลออกซิเดสสูงที่สุดตามมาด้วยส่วนผสมฟางข้าว+ถั่วลิสงและใบมะขาม ในช่วง 3.1-3.4 μmol substrate converted g^{-1} soil DW h^{-1} ในขณะที่ฟางข้าว (มี N, ลิกนินและโพลีฟีนอลส์ต่ำ แต่มีเซลลูโลสสูง) ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ทุกชนิดต่ำกว่าในสารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ผลจากการศึกษานี้ทำให้เห็นความเกี่ยวข้องของกิจกรรมเอนไซม์กับการสะสมอินทรียวัตถุในดิน ที่ใบมะขามสะสมสูงที่สุดและฟางข้าวต่ำที่สุด ทำให้เข้าใจถึงหน้าที่ของจุลินทรีย์ดินในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบทางเคมีต่างกันได้อย่างลึกซึ้งยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: การทดลองระยะยาว, คุณภาพสารอินทรีย์, จุลินทรีย์ดิน, เอนไซม์ในดิน, การย่อยสลายสารอินทรีย์

ABSTRACT: The objective of this study was to assess the activities of some decomposition enzymes in sandy soil continuously treated with different-quality organic residues over 14 years which led to different degrees of soil organic matter accumulation. There were 6 treatments including no organic input application (control), and plots treated to each organic input: groundnut (*Arachis hypogeae*) stover, freshly fallen tamarind (*Tamarindus indica*) leaf and petiole litter, freshly fallen dipterocarp (*Dipterocarpus tuberculatus*) leaf litter, and rice straw (*Oryza sativa*) annually applied at the rate of 10 Mg dry weight ha^{-1} y^{-1},

[1] นักศึกษาปริญญาเอก, [2] ศาสตราจารย์, สาขาทรัพยากรที่ดินและสิ่งแวดล้อม [3] อาจารย์ สาขาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

[1] Doctoral student, [2] Professor, Land Resources and Environment Section [3] Lecturer Agronomy Section, Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.

[4] Professor, Institute of Plant Production in Agroecology of the Tropics and Subtropics, University of Hohenheim, Stuttgart 70953, Germany.

* Corresponding author: patma@kku.ac.th

while mixed groundnut + rice straw (at the ratio of 1:1 dry weight) was applied at the rate of 20 Mg ha^{-1} y^{-1}. Highest activity of invertase was found in groundnut (high quality with high N, and low lignin and polyphenol contents) and tamarind (intermediate quality) treatments (0.40-0.41 mg GE g^{-1} soil DW h^{-1}). Highest activity of B-glucosidase (59.5 g *p*-nitrophenol g^{-1} soil DW h^{-1}) was also found in tamarind treatment. Highest activity of phenoloxidase was found in dipterocarp (low N, but high lignin and polyphenol contents) followed by the mixture of rice straw + groundnut, and tamarind in the range of 3.1-3.4 µmol substrate converted g^{-1} soil DW h^{-1}. On the other hand, rice straw had the lowest activities of all enzymes among residue treatments. The results of this study served to show the link between enzyme activities and SOM accumulation (highest SOM under tamarind, and lowest under rice straw treatments), and bring about in-depth understanding of soil microbial functions in the decomposition of different-quality organic residues through enzyme activities.

Keywords: long-term study, residue quality, soil microorganism, soil enzyme, residue decomposition

บทนำ

การใส่สารอินทรีย์ที่มีคุณภาพ (องค์ประกอบทางเคมี) เหมาะสมให้กับดินทรายสามารถเพิ่มการสะสมอินทรียวัตถุ (soil organic matter-SOM) ในดินทรายที่โดยทั่วไปมีการสะสมได้ยาก สารอินทรีย์แต่ละชนิดมีระยะเวลาในการย่อยสลายและสะสมอินทรียวัตถุในดินต่างกันขึ้นอยู่กับคุณภาพหรือองค์ประกอบทางเคมีของสารอินทรีย์ การศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าสารอินทรีย์คุณภาพปานกลาง ได้แก่ ใบมะขาม (มีปริมาณ N, ลิกนินและโพลีฟีนอลส์ปานกลาง) ทำให้เกิดการสะสม SOM สูงที่สุด ในขณะที่ฟางข้าว (มี N, ลิกนินและโพลีฟีนอลส์ต่ำ แต่มีเซลลูโลสสูง) มีการสะสม SOM ต่ำที่สุด (Samahadthai et al., 2010) สารประกอบทางชีวเคมีในสารอินทรีย์ที่ง่ายต่อการย่อยสลาย เช่น น้ำตาล จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์และปลดปล่อยธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืชในทันที ขณะที่สารประกอบทางชีวเคมีที่ต้านทานการย่อยสลาย เช่น ลิกนิน และ โพลีฟีนอลส์ จะมีการสลายตัวและปลดปล่อยธาตุอาหารอย่างช้าๆ และเป็นประโยชน์ต่อพืชในระยะยาว (Vityakon et al., 2000) การสลายตัวของสารอินทรีย์ในดินเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ (enzyme activities) ที่จุลินทรีย์ผลิต การวัดกิจกรรมของเอนไซม์จึงช่วยให้ทราบถึงหน้าที่ของจุลินทรีย์ (microbial functions) ที่เกิดขึ้นระหว่างการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ โดยเอนไซม์ที่ได้รับความสนใจในการศึกษาถึงความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ อินเวอเตส (invertase) ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายน้ำตาลซูโครส ซึ่งเป็นสารย่อยสลายง่ายเพื่อเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ คือ กลูโคส และ ฟรุคโตส ขณะที่เบตากลูโคสิเดส(B-glucosidase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเซลโลไบโอส (cellobiose) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของเซลลูโลสที่พบในผนังเซลล์พืชให้ได้ผลิตภัณฑ์ คือ กลูโคส เช่นเดียวกัน และเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส(phenoloxidase) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารประกอบที่ต้านทานต่อการย่อยสลาย เช่น ลิกนินและโพลีฟีนอลส์ในเศษซากพืช การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ประเมินกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหมุนเวียนคาร์บอนในดินที่มีการใส่สารอินทรีย์คุณภาพแตกต่างกันปีละครั้งอย่างต่อเนื่องเป็นปีที่ 14 เพื่อสร้างองค์ความรู้พื้นฐานด้านหน้าที่ของจุลินทรีย์ระหว่างการย่อยสลายสารอินทรีย์คุณภาพต่างกันซึ่งก่อให้เกิดการสะสม SOM ในดินทรายได้แตกต่างกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

สถานที่งานทดลองและกรรมวิธีและแผนการทดลอง

ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการสาขาทรัพยากรที่ดินและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยใช้ ดินตัวอย่างจากแปลงทดลองภาคสนามในสถานีทดลองสำนักงานเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ต.ท่าพระ อ.เมือง จ.ขอนแก่น (16°20¢ N; 102°49¢ E) ซึ่งเป็นดินไร่ชุดโคราช (fine loamy siliceous isohyperthermic Typic Kandiustults) (Soil Survey Staff 2006) ที่มีการใส่สารอินทรีย์คุณภาพแตกต่างกัน

คิดเป็น 6 กรรมวิธีทดลอง ได้แก่ 1) ซากต้นใบถั่วลิสง (groundnut stover) (native groundnut stover-treated soil-NGN) ซึ่งจัดว่ามีคุณภาพสูง กล่าวคือ มี N สูง แต่มีลิกนินและโพลีฟีนอลส์ต่ำคิดเป็นหน่วย g kg^{-1} (N 22.8, lignin 67.6, polyphenols 12.9), 2) ใบ (+ก้าน) มะขามร่วง (tamarind) (native tamarind-treated soil-NTM) จัดว่ามีคุณภาพปานกลาง (มี N, ลิกนินและโพลีฟีนอลส์ปานกลาง) (N 13.6, lignin 87.7, polyphenols 31.5), 3) ใบพลวงร่วง (dipterocarp) (native dipterocarp-treated soil-NDP) จัดว่ามีคุณภาพต่ำ (มี N ต่ำ แต่มีลิกนินและโพลีฟีนอลส์สูง) (N 5.7, lignin 175.5, polyphenols 64.9), 4) ส่วนฟางข้าว (rice straw) (native rice straw-treated soil-NRS) มีคุณภาพที่แตกต่างออกไป กล่าวคือ มีองค์ประกอบทั้งสามต่ำ (N 4.7, lignin 28.7, polyphenols 6.5) แต่มีเซลลูโลสสูงที่สุด (507 g kg^{-1}) โดยใส่ในอัตรา 10 ตัน/เฮกตาร์, 5) ฟางข้าว + ซากถั่วลิสง (mixed) อัตรา 10+10 ตัน/เฮกตาร์ โดยใส่ทุกปีปีละครั้ง เป็นปีที่ 14 และ 6) กรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์ (ควบคุม) วางแผนการทดลองเป็น Randomized Complete Block Design (RCBD) มี 3 ซ้ำ

การเก็บตัวอย่างดินและการวิเคราะห์ดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดินในแต่ละแปลงหลังจากสิ้นสุดปีที่ 14 (52 สัปดาห์ หลังการใส่สารอินทรีย์) ภายในพื้นที่ขนาด 4 x 4 เมตร โดยเก็บห่างจากขอบแปลงไม่ต่ำกว่า 1 เมตร เพื่อหลีกเลี่ยงความแปรปรวนเนื่องผลจากขอบแปลง (border effect) ใช้วิธีสุ่มอย่างง่ายประมาณ 20 จุด โดยใช้ auger ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 cm เก็บที่ความลึก 15 cm นำตัวอย่างย่อยมาผสมรวมกันเป็นตัวอย่างรวม นำตัวอย่างรวมมาผึ่งแห้ง (air dry) ก่อนทำการวิเคราะห์ ทำการวัดกิจกรรมของเอนไซม์อินเวอเตสในตัวอย่างดิน โดยใช้ซูโครสเข้มข้น 50 m*M* เป็นสารตั้งต้น ทำการบ่มตัวอย่างดินสด น้ำหนัก 5 กรัม ที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm ร่วมกับสารตั้งต้นที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการพัฒนาสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร (Schinner and von Mersi, 1990 อ้างถึงโดย Alef and Nannipieri, 1995) ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์เบตากลูโคสิเดสหาได้โดยบ่มดินสดน้ำหนัก 1 กรัม ที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm ร่วมกับสารตั้งต้น คือ 25m*M* *p*-nitrophenyl-B-D-glucoside (PNG) และ modified universal buffer (MUB) pH 6.0 ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการพัฒนาสีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร (Alef and Nannipieri, 1995) สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดสหาได้โดยบ่มดินสดน้ำหนัก 2 กรัม ที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm ร่วมกับสารตั้งต้น คือ 5 m*M* L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ทำการเติม 0.3% H_2O_2 ในตัวอย่างก่อนการบ่ม ทำการบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง คำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ (extinction coefficient) ของ L-DOPA มีค่าเท่ากับ 1.66 μmol และคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส โดยหาความแตกต่างของค่าที่วิเคราะห์ได้ระหว่างฟีนอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดส (Hendel et al., 2005)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ RCBD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) โดยใช้โปรแกรม Statistix 8.0 (Analytical Software, 2003)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ในทุกกรรมวิธีที่มีการใส่สารอินทรีย์มีกิจกรรมของเอนไซม์อินเวอเตส เบตากลูโคสิเดส และฟีนอลออกซิเดสสูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการใส่สารอินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กิจกรรมของอินเวอเตสมีค่าสูงที่สุดในกรรมวิธีที่ใส่ถั่วลิสง ตามด้วยกรรมวิธีใบมะขาม มีค่าเท่ากับ 0.41 (±0.04) และ 0.40 (±0.11) mg GE g^{-1} soil DW h^{-1} ตามลำดับ **(Figure 1)**

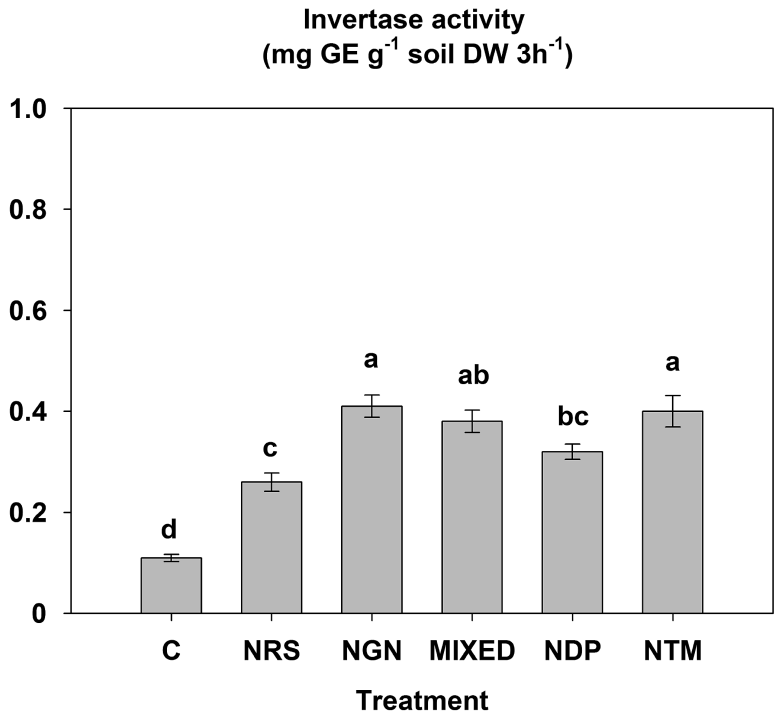

Figure 1 Invertase activity in soils treated with biochemically contrasting organic inputs for 14 years. Treatments are: control soil without any input (C), rice straw (NRS), groundnut stover (NGN), mixed residues of rice straw + groundnut (MIXED), as well as leave litter from dipterocarp (NDP), and tamarind (NTM). Different letters indicate significant differences at $P<0.05$ (LSD). Bars represent standard error of means (SEM) of three measurements.

กิจกรรมของเอนไซม์ที่มีค่าสูงในกรรมวิธีดังกล่าวอาจเนื่องจากการหลงเหลือของน้ำตาลซูโครสในเศษซากพืช (soil litter) หรืออินทรียวัตถุส่วนที่ยังคงความเป็นชิ้น (particulate organic matter- POM) เนื่องจากซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน (C) ที่เป็น substrate ของเอนไซม์อินเวอร์เตส Samahadthai et al. (2010) ทำงานทดลองของปีที่ 10 ของงานทดลองระยะยาวเดียวกับงานนี้ พบว่า ปริมาณ C ใน POM ในกรรมวิธีซากถั่วลิสง ใบพลวง และใบมะขาม มีค่าสูงอยู่ในช่วง 0.20-0.23 g kg^{-1} soil ซึ่งมีสูงกว่าในฟางข้าว C ที่พบอาจเป็นแหล่งของสารอาหาร (substrate) แก่เอนไซม์หรือเอนไซม์อาจถูกกักเก็บ (entrapped) ในส่วนนี้ (Foster, 1998) อย่างไรก็ตาม กรรมวิธีฟางข้าวมีกิจกรรมของอินเวอร์เตสต่ำสุด (0.26±0.04 mg GE g^{-1} soil DW h^{-1}) ภายหลัง 52 สัปดาห์ของการใส่สารอินทรีย์ งานก่อนหน้านี้พบว่า ฟางข้าวมีอัตราการย่อยสลายที่สูง โดย C อินทรีย์ถูกเปลี่ยนเป็น CO_2 (Puttaso et al., 2011) และ C ที่ละลายน้ำ (เบ็ญจพร กุลนิตย์, การติดต่อส่วนตัว) ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์เบตากลูโคสิเดสสูงที่สุดในกรรมวิธีใบมะขาม (59.49 ±1.49 *p*-nitrophenol g^{-1} soil DW h^{-1}) **(Figure 2)**

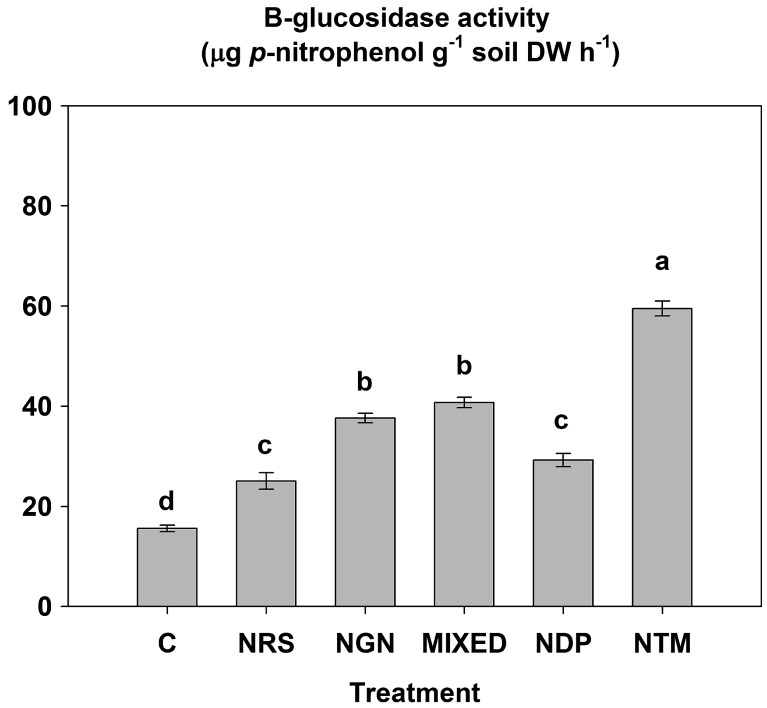

Figure 2 B-glucosidase activity in soils treated with biochemically contrasting organic inputs for 14 years. Treatments are: control soil without any input (C), rice straw (NRS), groundnut stover (NGN), mixed residues of rice straw + groundnut (MIXED), as well as leave litter from dipterocarp (NDP), and tamarind (NTM). Different letters indicate significant differences at $P<0.05$ (LSD). Bars represent standard error of means (SEM) of three measurements.

การคงเหลืออยู่ของเอนไซม์ภายหลังการใส่สารอินทรีย์เป็นระยะเวลา 52 สัปดาห์ อาจเนื่องมาจากการถูกเก็บกักของเอนไซม์ในส่วนต่างๆ (fractions) ของดิน เช่น เม็ดดิน (aggregate) (Liu et al., 2013) หรือ แร่ดินเหนียว (clay mineral) (Sinsabaugh, 1994) หรือ POM (Foster, 1998) เป็นต้น ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Samahadthai et al. (2010) ที่พบว่า กรรมวิธีที่ใส่ใบมะขาม มีการสะสมปริมาณเม็ดดินขนาดใหญ่ (macroaggregate) สูงสุด (52.8% w/w) และยังพบว่าปริมาณ C ใน POM ส่วน heavy fraction (HF) ขนาด 0.25-1 mm มีค่าสูงเท่ากับ 0.50 g kg^{-1} เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (0.40 g kg^{-1}) ซึ่งคาดว่า C ที่พบเป็นแหล่งอาหารสำคัญของเอนไซม์ในดิน ตรงกันข้ามกับฟางข้าวที่มีกิจกรรมของเบตากลูโคซิเดสต่ำที่สุดในบรรดากรรมวิธีที่ได้รับสารอินทรีย์ อาจเนื่องมาจาก กรรมวิธีฟางข้าวมีการสะสม C ใน POM ต่ำสุด (0.40 g kg^{-1}) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Kamolmanit et al. (2013) ที่ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในดินทรายที่มีการใส่สารอินทรีย์คุณภาพแตกต่างกันอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 16 ปี พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ที่ย่อยสารอินทรีย์ที่ง่ายต่อการย่อยสลาย ได้แก่ อินเวอเตส และเบตากลูโคสิเดส มีกิจกรรมสูงที่สุดในกรรมวิธีใบมะขามตามด้วยกรรมวิธีซากถั่วลิสง ขณะที่กรรมวิธีฟางข้าวมีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่มีใส่สารอินทรีย์ด้วยกัน คณะผู้ทดลองได้อภิปรายว่ากิจกรรมของเอนไซม์อินเวอเตสและเบตากลูโคสิเดสที่สูงในกรรมวิธีดังกล่าว อาจเนื่องจากซากถั่วลิสงและใบ + ก้านมะขาม มีปริมาณไนโตรเจนที่สูงเท่ากับ 22.8 และ 13.6 g kg^{-1} ตามลำดับ เมื่อเทียบกับใบพลวง

ร่วงและฟางข้าวซึ่งมีไนโตรเจนเท่ากับ 5.7 และ 4.7 g kg^{-1} ตามลำดับ ซึ่งไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ดังกล่าว คาดว่าเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่ย่อยสารที่ง่ายต่อการย่อยสลาย (Trinsoutrot et al., 2000) กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสสูงที่สุดในกรรมวิธีใบพลวงตามด้วยกรรมวิธีส่วนผสมฟางข้าว+ซากถั่วลิสงและมะขาม มีค่าเท่ากับ 3.38 (±0.23) 3.17 (±0.32) และ 3.07 (±0.30) μmol substrate converted g^{-1} soil DW h^{-1} ตามลำดับ (Figure 3) ขณะที่กิจกรรมของเปอร์ออกซิเดสสูงสุดในกรรมวิธีส่วนผสม ตามด้วยกรรมวิธีใบพลวงและใบมะขามมีค่าเท่ากับ 2.7 (±0.18), 2.25 (±0.45) และ 1.98 (±0.17) μmol substrate converted g^{-1} soil DW h^{-1} ตามลำดับ (Figure 4)

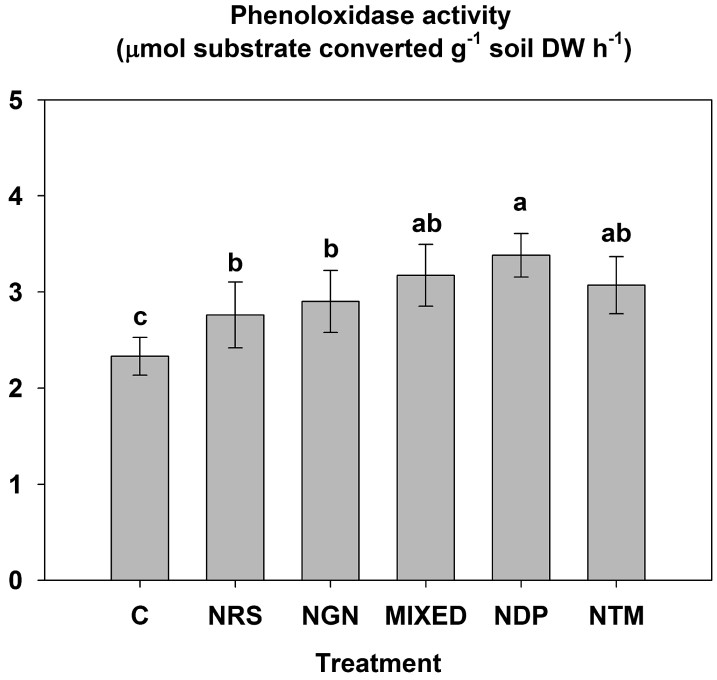

Figure 3 Phenoloxidase activity in soils treated with biochemically contrasting organic inputs for 14 years. Treatments are: control soil without any input (C), rice straw (NRS), groundnut stover (NGN), mixed residues of rice straw + groundnut (MIXED), as well as leave litter from dipterocarp (NDP), and tamarind (NTM). Different letters indicate significant differences at $P<0.05$ (LSD). Bars represent standard error of means (SEM) of three measurements.

กิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีแนวโน้มสูงในกรรมวิธีที่ใส่ใบพลวง เนื่องจากใบพลวงมีปริมาณลิกนินและโพลีฟีนอลส์เป็นองค์ประกอบสูง ซึ่งเป็นสารอาหาร (substrate) ที่สำคัญของเอนไซม์นี้ นอกจากนี้การที่ใบพลวงมีปริมาณไนโตรเจนต่ำอาจส่งผลให้มีการแสดงออกของเอนไซม์นี้เพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Carreiro et al. (2000), Hobbie et al. (2012) และ Sinsabaugh et al. (2005) ที่พบว่าไนโตรเจนที่พบเป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์และ/หรือจากอินทรียวัตถุที่มีอยู่ในดิน เป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่สามารถยับยั้งการแสดงออกของกิจกรรมของเอนไซม์ที่ย่อยสารที่ต้านทานต่อการย่อยสลายได้ อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่ากรรมวิธีฟางข้าว+ถั่วลิสงมีปริมาณลิกนินและโพลีฟีนอลส์ที่ต่ำกว่า แต่มีปริมาณที่ใส่สูงเป็น 2 เท่า (20 ตัน/ เฮกตาร์) จึงส่งผลให้เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์ในกรรมวิธีดังกล่าวมีกิจกรรม

ที่สูงกว่ากรรมวิธีอื่น ในขณะที่ใบมะขามมีลิกนินและโพลีฟีนอลส์ปานกลางทำให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองสูงรองลงมา และในกรรมวิธีฟางข้าวมีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองต่ำที่สุดแต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีถั่วลิสง

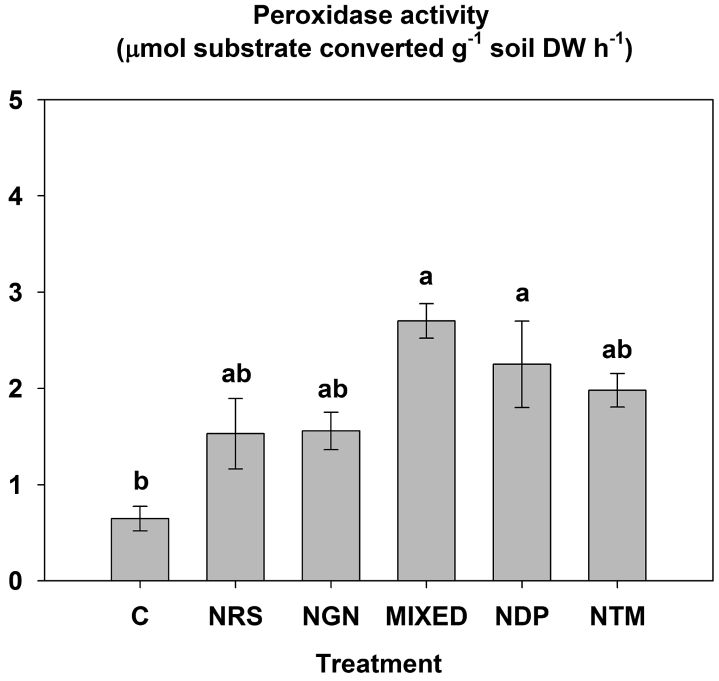

Figure 4 Peroxidase activity in soils treated with biochemically contrasting organic inputs for 14 years. Treatments are: control soil without any input (C), rice straw (NRS), groundnut stover (NGN), mixed residues of rice straw + groundnut (MIXED), as well as leave litter from dipterocarp (NDP), and tamarind (NTM). Different letters indicate significant differences at $P<0.05$ (LSD). Bars represent standard error of means (SEM) of three measurements.

สรุป

การใส่สารอินทรีย์ที่มีคุณภาพ (องค์ประกอบทางเคมี) ต่างกันลงในดินอย่างต่อเนื่องเป็นเวลายาวนานเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้จุลินทรีย์ในดินผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสลายสารอินทรีย์อย่างจำเพาะ จากการทดลองพบว่าการใส่ซากถั่วลิสง ซึ่งเป็นสารอินทรีย์คุณภาพสูงและย่อยสลายง่าย ส่งผลให้มีกิจกรรมของเอนไซม์อินเวอร์เตสสูง เนื่องจากสารอินทรีย์เหล่านี้ทำให้มีซูโครสตกค้างอยู่ในดินมากซึ่งเป็นสารอาหารให้เอนไซม์นี้สูง ในขณะที่สารอินทรีย์คุณภาพต่ำและย่อยสลายยาก เช่น ใบพลวง ทำให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดสสูงเนื่องจากมีลิกนินและโพลีฟีนอลส์ซึ่งเป็นสารอาหารให้เอนไซม์นี้สูง ซึ่งสารที่ต้านทานการสลายตัวเหล่านี้ยังคงตกค้างอยู่ในดินหนึ่งปีหลังใส่สารอินทรีย์ ขณะที่สารอินทรีย์คุณภาพปานกลาง เช่น ใบมะขามร่วง นอกจากทำให้มีเอนไซม์อินเวอร์เตสและฟีนอลออกซิเดสสูงแล้ว ยังมีกิจกรรมของเบตากลูโคซิเดสสูงที่สุดด้วย ในขณะที่ฟางข้าวส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ทุกชนิดต่ำที่สุดในบรรดากรรมวิธีที่ใส่สารอินทรีย์ จึงจะทำการศึกษาต่อไปถึงกลไกทางจุลชีววิทยา โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับหน้าที่ของจุลินทรีย์ที่ทำให้มะขามส่งผลให้มีการสะสม SOM สูง แต่ฟางข้าวทำให้มีการสะสม SOM ต่ำในดินทราย การศึกษานี้นอกจากได้ให้ข้อมูลกิจกรรม

ของจุลินทรีย์ในดินระหว่างการย่อยสลายสารอินทรีย์คุณภาพต่างกันที่ลึกซึ้งยิ่งขึ้น ยังได้ให้องค์ความรู้พื้นฐานที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเลือกใส่สารอินทรีย์ที่มีคุณภาพเหมาะสมในดิน เพื่อให้ดินมีศักยภาพในการสะสมอินทรียวัตถุและรักษาความอุดมสมบูรณ์ไว้ได้อย่างยั่งยืน

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนวิจัยต่อไปนี้: ทุนอุดหนุนทั่วไปมหาวิทยาลัยขอนแก่น (มข) ปี 2552, และ 2556, ทุนวิจัยมุ่งเป้าเกษตรยั่งยืน (รหัส DBG 5180007) ปี 2551 และทุนวิจัยพื้นฐานเชิงยุทธศาสตร์เกษตรยั่งยืนฯ (รหัส DBG 5480001) ปี 2554 จากฝ่ายวิชาการ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.), ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการและศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืนมหาวิทยาลัยขอนแก่น, อาจารย์ที่ปรึกษาและนักศึกษาผู้วิจัยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากโครงการร่วมให้ทุนปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.) ระหว่างสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และ มข.

เอกสารอ้างอิง

Alef, K., and P. Nannipieri. 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press, London.

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.

Foster, K.C. 1998. Microenvironments of soil microorganisms. Biol. Fertil. Soils. 6: 189-203.

Hendel, B., R.L. Sinsabaugh, and J. Marxsen. 2005. Lignin-degrading enzymes: phenoloxidase and peroxidase. In: M.A.S. Graça, F. Bärlocher, and M.O. Gessner. (Eds.). Methods to study litter decomposition: a practical guide, Springer, Dordrecht.

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. Ecol. Monogr. 82: 389-405.

Kamolmanit, B., P. Vityakon, W. Kaewpradit, G. Cadisch, and F. Rasche. 2013. Soil fungal communities and enzyme activities in a sandy, highly weathered tropical soil treated with biochemically contrasting organic inputs. Biol. Fertil. Soils. 49: 905–917.

Liu, Y.R., X. Li, Q.R. Shen, and Y.C. Xu. 2013. Enzyme activity in water-stable soil aggregates as affected by long-term application of organic manure and chemical fertilizer. Pedosphere. 23: 111–119.

Puttaso, A., P. Vityakon, P. Saenjan, V. Trelo-ges, and G. Cadisch. 2011. Relationship between residue quality, decomposition patterns, and soil organic matter accumulation in a tropical sandy soil after 13 years. Nutr. Cycl. Agroecosyst. 89: 159-174.

Samahadthai, P., P. Vityakon, and P. Saenjan. 2010. Effects of different quality plant residues on soil carbon accumulation and aggregation formation in a tropical sandy soil in Northeast Thailand as revealed by a 10-year field experiment. Land Degrad. Dev. 21: 463–473.

Schinner, F., and W. von Mersi. 1990. Xylanase-, CM-cellulase-, and invertase activity in soil: an improved method. Soil Biol. Biochem. 22: 511–515.

Sinsabaugh, R.L. 1994. Enzymic analysis of microbial pattern and process. Biol. Fertil. Soils. 17: 69–74.

Sinsabaugh, R.L., M.E. Gallo, C. Lauber, M. Waldrop, and D.R. Zak. 2005. Extracellular enzyme activities and soil carbon dynamics for northern hardwood forests receiving simulated nitrogen deposition. Biogeochemistry. 75: 201-215.

Soil Survey Staff. 2006. Key to soil taxonomy, 10th edition. USDA-Natural Resources Conservation Service, Washington, DC.

Trinsoutrot, I., S. Recous, B. Mary, and B. Nicolardot. 2000. C and N fluxes of decomposing ^{13}C and ^{15}N *Brassica napus* L.: Effects of residue composition and N content. Soil Biol. Biochem. 32: 1717-1730.

Vityakon, P., S. Meepech, G. Cadisch, and B. Toomsan. 2000. Soil organic matter and nitrogen transformation mediated by plant residues of different qualities in sandy acid upland and paddy soils. Neth. J. Agr. Sci. 48: 75–90.