ความเป็นพิษของแอนทราซีนและฟีแนนทรีนที่ปนเปื้อนในดินต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญของต้นกล้าพืชตระกูลถั่วหลังงอก

PHYTOTOXICITY OF ANTHRACENE AND PHENANTHRENE CONTAMINANTS IN SOIL ON LEGUME SEED GERMINATION AND SUBSEQUENT SEEDLING GROWTH

ขนิษฐา สมตระกูล[1], *ดวงอนงค์ ผลาผล[1], วราภรณ์ ฉุยฉาย[2]*

Khanitta Somtrakoon[1], *Duanganong Phalaphol[1], Waraporn Chouychai[2]*

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University.

[2]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

[2]Biology Programe, Faculty of Science and Technology, Nakhonsawan Rajabhat University.

บทคัดย่อ

ศึกษาความเป็นพิษของพีเอเอชสองชนิด คือ ฟีแนนทรีนและแอนทราซีนต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าถั่วสามชนิดคือ ถั่วเขียว (*Vigna radiata*) ถั่วพุ่ม (*Vigna sinensis*) และถั่วฝักยาวเนื้อนวล (*Vigna sesquipedalis*) พบว่า ทั้งฟีแนนทรีนและแอนทราซีนไม่มีผลต่อร้อยละการงอกของถั่วทุกชนิด แต่จะทำให้ความยาวยอดและรากของถั่วลดลงเมื่อมีความเข้มข้นในดินมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ฟีแนนทรีนทำให้น้ำหนักสดของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาวเนื้อนวลลดลง แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักสดของถั่วเขียว และทำให้น้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มลดลง แอนทราซีนมีผลให้น้ำหนักแห้งของถั่วทุกชนิดลดลง แต่มีผลกระทบต่อน้ำหนักสดของถั่วพุ่มเท่านั้น ถั่วพุ่มเป็นถั่วที่มีความไวต่อการปนเปื้อนฟีแนนทรีนและแอนทราซีนในดินมากที่สุด ส่วนถั่วฝักยาวเนื้อนวลมีแนวโน้มทนทานต่อพีเอเอชทั้งสองชนิด ทั้งฟีแนนทรีนและแอนทราซีนแสดงความเป็นพิษต่อความยาวยอดและความยาวรากเหมือนกัน แต่แสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักต่างกัน โดยฟีแนนทรีนแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักสดของพืช ส่วนแอนทราซีนแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักแห้ง

คำสำคัญ: การงอก การเจริญระยะต้นกล้า การทดสอบความเป็นพิษ พืชตระกูลถั่ว พอลิไซคลิกอะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน

Abstract

The phytotoxicity of phenanthrene and anthracene on three legume seed germination and seedling growths, namely mungbean (*Vigna radiata*), cow pea (*Vigna sinensis*) and longbean (*Vigna sesquipedalis*) were studied. Both of phenanthrene and anthracene did not affect seed germination but decreased shoot and root length of all beans significantly when their concentration in soil were higher than 200 mg/kg. Phenanthrene decreased fresh weight of cow pea and long bean but not affected mungbean fresh weight. Phenanthrene decreased dry weight of cow pea significantly. Anthracene decreased dry weight of all beans but decreased fresh weight of only cow pea. With these results, cow pea was judged to be the most sensitive plant when longbean was the most tolerant one. The toxicity of phenanthrene and anthracene to shoot and root length were similar while their toxicity to plant weight were different. Phenanthrene was toxic to fresh weight but anthracene was toxic to dry weight.

Keywords: Seed germination, Seedling growth, Toxicity testing, Legume, Polycyclic aromatic hydrocarbons

บทนำ

พอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน หรือพีเอเอช (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: PAHs) เป็นกลุ่มของสารมลพิษอินทรีย์ที่มีการปนเปื้อนได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม โครงสร้างเป็นวงเบนซีนตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป เรียงต่อกันเป็นเส้นตรง มุมงอหรือเป็นกลุ่มก้อน การเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติมาจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ แต่แหล่งที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของพีเอเอชที่สำคัญมาจากกิจกรรมของมนุษย์ ได้แก่ การรั่วไหลจากการขุดเจาะน้ำมันปิโตรเลียมและอุบัติเหตุการอับปางของเรือบรรทุกน้ำมัน เป็นต้น [1] การปนเปื้อนของพีเอเอชในสิ่งแวดล้อมจัดเป็นปัญหาที่สำคัญ เนื่องจากพีเอเอชเป็นสารก่อกลายพันธุ์และก่อมะเร็งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม รวมทั้งเป็นพิษต่อพืชด้วย ความเป็นพิษต่อพืชของพีอเอชคล้ายกับความเป็นพิษของอนุมูลอิสระโดยทำลายหรือยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช [1-2] และมีผลทำให้สารพันธุกรรมของพืชเกิดการกลายพันธุ์ได้ [3] ด้วยเหตุนี้ พีเอเอชจึงเป็นสารมลพิษที่ควรกำจัดออกจากสิ่งแวดล้อม

การใช้พืชช่วยในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนพีเอเอชจัดเป็นกระบวนการฟื้นฟูสภาพทางชีวภาพ (Bioremediation) วิธีหนึ่งที่ช่วยทำให้การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยพีเอเอชประสบผลสำเร็จได้ดีขึ้น เนื่องจาก

พืชสามารถสะสมพีเอเอชหรือกระตุ้นกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์ที่อาศัยบริเวณรอบรากพืชได้ด้วย มีต้นทุนต่ำ และไม่รบกวนระบบนิเวศบริเวณที่ต้องการบำบัดด้วย [4] พืชที่มีรายงานว่าสามารถใช้ในการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนพีเอเอชนั้นมีหลายชนิด โดยพืชที่มีการใช้งานบ่อยที่สุด คือ พืชตระกูลหญ้า (Poaceae) และพืชตระกูลถั่ว (Fabaceae) แม้ว่าพืชตระกูลถั่วจะทนทานต่อพีเอเอชได้น้อยกว่าพืชตระกูลหญ้า โดยเฉพาะเมื่อมีการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชหรือเกิดการปนเปื้อนในดินกรด [5-6] แต่ลักษณะเด่นของพืชตระกูลถั่ว คือ มีระบบรากแก้วที่สามารถหยั่งลึกลงในดินได้ลึกกว่าระบบรากฝอย พื้นที่ผิวของรากมาก ไม่ต้องพึ่งพาไนโตรเจนจากดินเพราะมีการตรึงไนโตรเจนร่วมกับไรโซเบียม [7] มีรายงานการใช้พืชตระกูลถั่วหลายชนิดในการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนและพีเอเอช ได้แก่ การใช้ถั่วโคลเวอร์ขาว (*Trifolium repens*) อึ้งคี้ (*Astragalus membranaceus*) และโสนคางคก (*Aeschynomene indica*) ในการลดปริมาณฟีแนนทรีนและไพรีนที่ปนเปื้อนในดิน [8-9] ดังนั้นการเลือกใช้พืชตระกูลถั่วที่มีความทนทานต่อพีเอเอชจึงยังเป็นทางเลือกที่น่าสนใจสำหรับการฟื้นฟูดิน

พีเอเอชที่มีรายงานว่า มีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและมีรายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษต่อพืชมักเป็นพีเอเอชมวลโมเลกุลต่ำ เช่น ฟีแนนทรีน และแอนทราซีน ดังนั้น พืชตระกูลถั่วที่สามารถทนทานต่อพีเอเอชมวลโมเลกุลต่ำนี้ได้ ย่อมมีความเหมาะสมในการใช้ฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนพีเอเอชในสิ่งแวดล้อมได้ดี ในการศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาความทนทานของพืชตระกูลถั่วสามชนิด ได้แก่ ถั่วเขียว (*Vigna radiata*) ถั่วพุ่ม (*Vigna sinensis*) และถั่วฝักยาวเนื้อนวล (*Vigna sesquipedalis*) ต่อพีเอเอชที่ปนเปื้อนในดิน ได้แก่ ฟีแนนทรีน และแอนทราซีน เพื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของพีเอเอชทั้งสองชนิดต่อการเจริญระยะต้นกล้าของพืชตระกูลถั่ว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกพืชตระกูลถั่วที่มีความทนทานต่อพีเอเอช เพื่อนำไปใช้ในการฟื้นฟูดินต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบความทนทานของพืชตระกูลถั่วระยะต้นกล้าสามชนิดต่อพีเอเอชที่ปนเปื้อนในดิน

2. เพื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของฟีแนนทรีนและแอนทราซีนต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าพืชตระกูลถั่วระยะต้นกล้า

วิธีดำเนินการวิจัย

เมล็ดพันธุ์พืช

เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว (*V. radiata*) ถั่วพุ่ม (*V. sinensis*) และถั่วฝักยาวเนื้อนวล (*V. sesquipedalis*) เป็นเมล็ดพันธุ์ทางการค้าของบริษัท เจียไต๋ ประเทศไทย จำกัด

การเตรียมดิน

เก็บดินที่ไม่มีประวัติการปนเปื้อนด้วยพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจากวัดป่ากู่แก้ว ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม นำดินมาผึ่งให้แห้งแล้วร่อนด้วย

ตะแกรงที่มีขนาดรูพรุน 2 มิลลิเมตร วิเคราะห์ปริมาณฟีแนนทรีนและแอนทราซีนที่ตกค้างในดินด้วย GC-MS เพื่อยืนยันการไม่ปนเปื้อนด้วยสารทั้งสองชนิดมาก่อน วิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของดิน ณ บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาขอนแก่น ดินที่ใช้มี %sand 10.23 %silt 15.33 % clay 74.44 พีเอช 8.11 ความนำไฟฟ้า 109.5 ms/cm อินทรียวัตถุ 2.40% ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.29% ปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชนำไปใช้ได้ 58.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง

นำฟีแนนทรีน (ความบริสุทธิ์ 98% บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมัน) หรือแอนทราซีน (ความบริสุทธิ์ 98% บริษัท Fluka ประเทศสหรัฐอเมริกา) มาละลายในอะซีโตน แล้วเติมลงดินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของแต่ละชนิดในดินเป็น 0, 2, 20, 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ผึ่งดินที่ปนเปื้อนในตู้ควันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยไปให้หมด หลังจากนั้นแบ่งดิน 50 กรัม ใส่ลงในภาชนะพลาสติกที่มีความจุ 120 มิลลิลิตร โดยใช้ดินที่ไม่เติมฟีแนนทรีนหรือแอนทราซีนเป็นชุดควบคุม และปรับความชื้นของดินให้เป็น 65 เปอร์เซ็นต์ก่อนการทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษต่อพืช

การทดสอบความเป็นพิษดัดแปลงจากวิธีของ Kirk และคณะ [10] และ Chouychai และคณะ [8] โดยแช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และถั่วฝักยาวเนื้อนวลในน้ำกลั่นเป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วเพาะในถาดพลาสติกที่มีดินที่ปนเปื้อนฟีแนนทรีนหรือแอนทราซีนแต่ละความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 เมล็ด (ทำการทดลองทั้งหมดสามซ้ำ) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ได้รับแสงธรรมชาติ รดน้ำทุกวันเพื่อรักษาความชื้นในดินให้คงที่ เมื่อครบกำหนดเวลา 10 วัน วัดร้อยละการงอก ความยาวราก ความยาวยอด น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าทั้งต้น คำนวณดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าโดยใช้สูตร [11]

ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า = [(ความยาวยอด + ความยาวราก) x (ร้อยละการงอก/10)]

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ด้วย One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วย Turkey's test

ผลการวิจัย

ผลของฟีแนนทรีนและแอนทราซีนต่อร้อยละการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ

ฟีแนนทรีนทุกระดับความเข้มข้น ได้แก่ 2, 20, 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ไม่ส่งผลต่อร้อยละการงอกของถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และถั่วฝักยาวเนื้อนวล โดยร้อยละการงอกของพืชทั้งสามชนิดไม่แตกต่างไปจากการทดลองในชุดควบคุม (ตารางที่ 1) เช่นเดียวกันกับแอนทราซีนที่ระดับความเข้มข้น 2, 20, 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ไม่ส่งผลต่อร้อยละการงอกของถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และถั่วฝักยาวเนื้อนวลเช่นกัน (ตารางที่ 2)

ผลของฟีแนนทรีนและแอนทราซีนต่อความยาวยอดและรากของต้นกล้าพืชทดสอบ 10 วันหลังเพาะ

ฟีแนนทรีนที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ไม่ทำให้ความยาวยอดของถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และถั่วฝักยาวเนื้อนวลแตกต่างไปจากการทดลองในชุดควบคุม (ตารางที่ 1) แต่ที่ระดับความเข้มข้นของฟีแนนทรีนตั้งแต่ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้งขึ้นไป จะทำให้ความยาวยอดของถั่วเขียวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่ความยาวยอดของถั่วพุ่ม และถั่วฝักยาวเนื้อนวลลดลงจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อมีฟีแนนทรีนเข้มข้นสูงถึง 200-400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ฟีแนนทรีนที่ระดับความเข้มข้นเพียง 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ทำให้ความยาวรากถั่วเขียวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่ความยาวรากของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาวเนื้อนวลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อมีฟีแนนทรีนปนเปื้อนในดินที่ระดับความเข้มข้นถึง 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง และฟีแนนทรีนความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ยังทำให้ความยาวรากของถั่วฝักยาวเนื้อนวลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย (ตารางที่ 1)

เมื่อระดับความเข้มข้นของแอนทราซีนในดินเป็น 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้งขึ้นไป ทำให้ความยาวยอดของถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และถั่วฝักยาวเนื้อนวลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แอนทราซีนความเข้มข้น 20-200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ทำให้ความยาวรากของถั่วเขียวเพิ่มขึ้นและลดลงมาอยู่ในระดับเดียวกับชุดควบคุมเมื่อความเข้มข้นเพิ่มเป็น 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง และที่ระดับความเข้มข้นของแอนทราซีนตั้งแต่ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้งขึ้นไป มีผลให้ความยาวรากของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาวเนื้อนวลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 2)

ผลของฟีแนนทรีนและแอนทราซีนต่อดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า

ฟีแนนทรีนส่งผลต่อดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้ามากกว่าแอนทราซีน โดยฟีแนนทรีนทำให้ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าถั่วเขียวมีแนวโน้มลดลง เมื่อความเข้มข้นของฟีแนนทรีนเพิ่มขึ้น ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าถั่วพุ่มและถั่วฝักยาวเนื้อนวลมีแนวโน้มไม่แน่นอน แต่ส่วนใหญ่จะมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของฟีแนนทรีนที่ปนเปื้อนในดินเพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้นของฟีแนนทรีนเป็น 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง จะส่งผลให้ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าถั่วพุ่ม และถั่วฝักยาวเนื้อนวลลดลงมากที่สุด เช่นเดียวกับแอนทราซีนทำให้ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าถั่วเขียว ถั่วพุ่ม และถั่วฝักยาวเนื้อนวลลดลง โดยที่ระดับความเข้มข้นของแอนทราซีนเท่ากับ 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง จะส่งผลให้ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าลดลงมากที่สุด (ตารางที่ 1 และ 2)

ผลของฟีแนนทรีนและแอนทราซีนต่อน้ำหนักของพืชทั้งต้น

ฟีแนนทรีนทุกระดับความเข้มข้นไม่ส่งผลต่อทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของ

ถั่วเขียว และถั่วฝักยาวเนื้อนวล น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของถั่วเขียว และถั่วฝักยาวเนื้อนวลที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนด้วยฟีแนนทรีนไม่ต่างไปจากน้ำหนักของพืชที่ปลูกในดินชุดควบคุม ($P<0.05$) ในขณะที่ฟีแนนทรีนทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มลดลง ที่ระดับความเข้มข้นของฟีแนนทรีน 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ทำให้น้ำหนักสดของถั่วพุ่มลดลงมากที่สุด และที่ระดับความเข้มข้นของฟีแนนทรีนตั้งแต่ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ทำให้น้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มต่ำกว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 1)

แอนทราซีนไม่มีผลต่อน้ำหนักสดของถั่วเขียว และถั่วฝักยาวเนื้อนวล โดยความเข้มข้นของแอนทราซีนทุกระดับไม่ทำให้น้ำหนักสดของถั่วเขียว และถั่วฝักยาวเนื้อนวลแตกต่างไปจากการชุดควบคุม ($P<0.05$) ในขณะที่แอนทราซีนทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มลดลง โดยแอนทราซีนความเข้มข้นตั้งแต่ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้งขึ้นไปจะทำให้น้ำหนักสดของถั่วพุ่มต่ำกว่าน้ำหนักสดของต้นที่ปลูกในดินชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่แอนทราซีนลดน้ำหนักแห้งของถั่วเขียว และถั่วพุ่มโดยน้ำหนักแห้งของถั่วเขียวลดลง เมื่อมีแอนทราซีนปนเปื้อนอยู่ในดินตั้งแต่ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง แอนทราซีนที่ปนเปื้อนในดินที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้งขึ้นไป ทำให้น้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มลดลง (ตารางที่ 2)

สรุปและอภิปรายผล

ฟีแนนทรีนและแอนทราซีนเป็นพีเอเอชมวลโมเลกุลต่ำที่มีรายงานว่ามีความเป็นพิษต่อพืช แอนทราซีนเป็นพีเอเอชที่แตกตัวด้วยแสงได้เร็ว แอนทราซีนและอนุพันธ์ที่เกิดจากการสลายตัวด้วยแสง ยับยั้งการขนส่งอิเล็กตรอนระหว่างการสังเคราะห์ด้วยแสงของแหนเป็ด [12] ใน *Arabidopsis* การได้รับฟีแนนทรีนในสภาพปลอดเชื้อทำให้การเจริญเติบโตของยอดและรากลดลง ไตรโคมผิดรูปร่าง ขนรากน้อยลง ใบเหลือง ออกดอกช้า เกิดจุดขาวบนใบ ทำให้เกิดสภาวะเครียด โดยพบการผลิตไฮโดรเจนเปอรอกไซด์และทำให้เซลล์ตาย การแสดงออกของโปรตีนที่ทำให้ผนังเซลล์ขยายตัวลดลง และเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน [13]

ในการศึกษานี้ ทั้งฟีแนนทรีนและแอนทราซีนไม่มีผลต่อร้อยละการงอกของถั่วทั้งสามชนิด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Henner และคณะ [14] ที่พบว่า พอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนไม่ทำให้ร้อยละการงอกของพืชลดลง แต่จะทำให้อัตราการงอกช้าลงเท่านั้น พอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่มีวงแหวนเบนซีนตั้งแต่ 3-5 วง ไม่ทำให้อัตราการงอกของถั่วอัลฟัลฟาและถั่วโคลเวอร์แดง (*Trifolium pratense*) ช้าลง ส่วนในการศึกษาของ Smith และคณะ [6] รายงานว่า การปนเปื้อนร่วมกันระหว่างพีเอเอช 7 ชนิด ได้แก่ แนฟทาลีน ฟลูโอรีน อะซีแนฟทีน ฟีแนนทรีน แอนทราซีน ฟลูโอแรนทีน และไพรีน ไม่มีผลต่อร้อยละการงอกของถั่วโคลเวอร์แดง ถั่วโคลเวอร์ขาว และ *Lotus*

corniculatus เพียงแต่ทำให้พืชทั้งสามมีอัตราการงอกช้าลงเท่านั้น

ความยาวรากถือเป็นดัชนีการเจริญเติบโตที่ไวต่อความเป็นพิษของสารพิษที่ปนเปื้อนอยู่ในดินและมีความเหมาะสมต่อการนำมาประเมินความเป็นพิษของสารมลพิษต่อพืช เพราะเป็นส่วนที่สัมผัสกับสารมลพิษโดยตรง ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ทั้งฟีแนนทรีนและแอนทราซีนทำให้ทั้งความยาวยอดและความยาวรากของถั่วทุกชนิดลดลง ซึ่งความเป็นพิษของพีเอเอชต่อรากพืชนั้น เคยมีรายงานในถั่วหลายชนิด เช่น ทุกระดับความเข้มข้นของฟลูโอแรนทีนส่งผลให้ความยาวยอดและความยาวรากของถั่วลันเตาลดลง [15] ฟีแนนทรีนและไพรีนที่ปนเปื้อนร่วมกันทำให้ความยาวรากของถั่วลิสงลดลง [5]

ความเป็นพิษของแอนทราซีนและฟีแนนทรีนต่อพืชชนิดอื่นมีรายงานเช่นกัน เช่น ในการศึกษาของ Witting และคณะ พบว่าแอนทราซีนและฟีแนนทรีนที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลยับยั้งการเจริญของพืชชนิดอื่น เช่น *Populus nigra* ได้เช่นกัน โดยส่งผลให้พืชนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ลดลงและยับยั้งการเจริญที่ปลายยอดของพืชด้วย โดยฟีแนนทรีนส่งผลยับยั้งการเจริญที่ปลายยอดมากกว่าแอนทราซีน การที่พืชดูดซึมสารอาหารได้ลดลงอาจมีสาเหตุมาจากระบบรากพืชเปลี่ยนแปลงไป พื้นที่ผิวรากพืชที่ใช้ในการดูดซึมสารอาหารจึงน้อยลงตามไปด้วย [16]

พีเอเอชมีผลต่อการสะสมชีวมวลของพืชทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง โดยการทำให้น้ำหนักแห้งลดลงนั้น น่าจะเกี่ยวข้องกับการที่พีเอเอชเข้าไปรบกวนกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช การได้รับฟลูโอแรนทีน 1 mg/l ในอาหารเหลวทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์และน้ำหนักแห้งของยอดและรากของถั่วลันเตาลดลง [15] ในขณะที่การส่งผลต่อน้ำหนักสดนั้น น่าจะเกี่ยวข้องกับการเข้าไปรบกวนระบบการลำเลียงน้ำและสะสมน้ำในพืช เช่น การที่พีเอเอชยับยั้งการคายน้ำของพืช [16] พีเอเอชหลายชนิด เช่น ฟลูโอแรนทีน ฟลูโอรีน ฟีแนนทรีน และไพรีนส่งผลต่อน้ำหนักสดของต้นกล้า *Sinapsis alba* ถั่วโคลเวอร์แดง และหญ้าไรน์ โดยที่ระดับความเข้มข้นของฟลูโอแรนทีนในช่วง 140-650 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ฟลูโอรีน 55-380 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง ฟีแนนทรีน 37-300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง และไพรีน 49-1,300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมดินแห้ง จะส่งผลให้น้ำหนักสดของต้นกล้าของพืชทั้งสามลดลง 20% น้ำหนักสดของพืชไวต่อความเป็นพิษของพีเอเอชมากกว่าน้ำหนักแห้งและความเข้มข้นของฟลูโอรีนที่เพิ่มขึ้น ทำให้อัตราส่วนของน้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักสดมากขึ้น ซึ่งบ่งชี้ถึงการสะสมน้ำในพืชลดลง [17] ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ พบพืชที่มีการตอบสนองเช่นนี้เพียงชนิดเดียวคือการตอบสนองของต้นกล้าถั่วฝักยาวต่อฟีแนนทรีน

ในทางตรงกันข้าม การได้รับแอนทราซีนทำให้ถั่วเขียวสะสมน้ำมากขึ้น เนื่องจากมีอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักแห้งต่อน้ำหนักสดลดลง เมื่อความเข้มข้นของแอนทราซีนสูงขึ้น ซึ่งการสะสมน้ำของพืชมีความสำคัญต่อการปรับตัวของพืชเมื่อเจริญในดินที่ปนเปื้อนด้วย

สารมลพิษ โดยพืชที่มีความทนทานต่อสารมลพิษมักเพิ่มการสะสมน้ำไว้ที่ลำต้น ปริมาณน้ำที่สะสมไว้จะช่วยเจือจางความเข้มข้นของสารมลพิษที่ถูกสะสมไว้ในเซลล์พืช [18] ทั้งนี้ ความเป็นพิษของสารในกลุ่มพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนต่อพืช มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายน้ำของสารด้วย โดยสารที่ละลายน้ำได้ดีจะมีความสามารถเข้าสู่เซลล์พืช (Bioavailability) ได้มากกว่าจึงมักเป็นพิษต่อพืชมากกว่า โดยฟีแนนทรีนซึ่งมีค่าความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ฟีแนนทรีนสามารถเข้าสู่เซลล์พืชได้มากกว่า จึงมีความเป็นพิษมากกว่าแอนทราซีนที่มีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร [19]

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ถั่วพุ่มเป็นถั่วที่มีความไวต่อการปนเปื้อนฟีแนนทรีนและแอนทราซีนในดินมากที่สุด โดยการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วพุ่มทั้งน้ำหนักและความยาวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในดินที่ปนเปื้อนฟีแนนทรีนและแอนทราซีน ส่วนถั่วฝักยาวเนื้อนวลเป็นถั่วที่มีแนวโน้มทนทานต่อพีเอเอชทั้งสองชนิดมากกว่าถั่วเขียว ทั้งฟีแนนทรีนและแอนทราซีนแสดงความเป็นพิษต่อความยาวยอดและความยาวรากเหมือนกัน แต่แสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักต่างกัน โดยฟีแนนทรีนแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักสดของพืชมากกว่าโดยลดน้ำหนักสดของถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว ส่วนแอนทราซีนแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักแห้งมากกว่า โดยลดน้ำหนักแห้งของถั่วทั้งสามชนิด ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ในระดับเซลล์และสรีรวิทยาของสารทั้งสองชนิดต่อพืชตระกูลถั่วเป็นสิ่งที่ต้องศึกษาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปี 2554 (ผ่าน วช.) เลขที่สัญญา 5405016/2554 และ Prof. Dr. Hung Lee, School of Environmental Science, University of Guelph ประเทศแคนาดา ที่ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

[1] Wieczorek, J.K.; & Wieczorek, Z.J. (2007). Phytotoxicity and accumulation of anthracene applied to the foliage and sandy substrate in lettuce and radish plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 66: 369-377.

[2] Oguntimehin, I.; Nakatani, N.; & Sakugawa, H. (2008). Phytotoxicity of fluoranthrene deposited on needle surfaces of the evergreen conifer, Japanese red pine (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.). *Environmental Pollution*. 154: 264–271.

[3] Aina, R.; Palin, L.; & Citterio, S. (2006). Molecular evidence for benzo[a]pyrene and naphthalene genotoxicity in *Trifolium repens* L. *Chemosphere*. 65: 666–673.

[4] Merkl, N.; Schultze-Kraft, R.; & Arias, M. (2006). Effect of the tropical grass *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. rich.) stapf on microbial population and activity in petroleum-contaminated soil. *Microbiological Research*. 161: 80-91.

[5] Chouychai, W.; et al. (2007). Phytotoxicity assay of crop plants to phenanthrene and pyrene contaminants in acidic soil. *Environmental Toxicology*. 22: 597-604.

[6] Smith, M.J.; et al. (2006). Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAHs residues. *Environmental Pollution*. 141: 519-525.

[7] Fan, S.; et al. (2008). Promotion of pyrene degradation in rhizosphere of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Chemosphere*. 71: 1593-1598.

[8] Lee, S.H.; et al. (2008). Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes. *Journal of Hazardous Materials*. 153: 892-898.

[9] Xu, S.Y.; et al. (2006). Enhanced dissipation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by combined plants cultivation. *Science of the Total Environment*. 363: 206-215.

[10] Kirk, J.L.; et al. (2002). Phytotoxicity assay to assess plant species for phytoremediation of petroleum contaminated soil. *Bioremediation Journal*. 6: 57-63.

[11] Ajithkumar, P.U. (1998). Soil inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* 3MT eliminates the inhibitory effect of 3-chloro- and 4-chlorobenzoate on tomatoe seed germination. *Soil Biology and Biochemistry*. 30: 1053-1059.

[12] Malakin, A.; et al. (2002). Sites of toxicity of specific photooxidation products of anthracene to higher plants: Inhibition of photosynthetic activity and electron transport in *Lemna gibba* L. G-3 (Duckweed). *Environmental Toxicology*. 17: 462-471.

[13] Alkio, M.; et al. (2005). Stress responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in Arabidopsis induce growth inhibition and hypersensitive response-like symptoms. *Journal of Experimental Botany*. 56: 2983–2994.

[14] Henner, P.; et al. (1999). Phytotoxicity of ancient gaswork soil. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on plant germination. *Organic Geochemistry*. 30: 963-969.

[15] Kummerová, M.; et al. (2006). Evaluation of fluoranthene phytotoxicity in pea plants by Hill reaction and chlorophyll fluorescence. *Chemosphere*. 65: 489-496.

[16] Witting, R.; Ballach, H.J.; & Kuhn, A. (2003). Exposure of the roots of *Populus nigra* L. cv. Loenen to PAHs and its effect on growth and water balance. *Environmental Science and Pollution Research*. 10: 235-244.

[17] Sverdrup, L.E.; et al. (2003). Toxicity of eight polycyclic aromatic compounds to red clover (*Trifolium pratense*), ryegrass (*Lolium parenne*), and mustard (*Sinapsis alba*). *Chemosphere*. 53: 993-1003.

[18] Huang, X.D.; et al. (2004). Response of three grass species to creosote during phytoremediation. *Environmental Pollution*. 130: 453-363.

[19] Brandt, R.; et al. (2006). Potential of vetiver (*Vetiver zizanioides* (L.) Nash) for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils in Venezuela. *International Journal of Phytoremediation*. 8: 273-284.

ตารางที่ 1 ร้อยละการงอก ความยาวยอด ความยาวราก ดัชนีความแข็งแรง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าพืชตระกูลถั่วสามชนิดที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนฟีแนนทรีนความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นเวลา 10 วัน

ความเข้มข้น (mg/kg)	ร้อยละการงอก	ความยาวยอด (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)	ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า	พืชทั้งต้น		
					น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง(g)	น้ำหนักแห้ง/น้ำหนักสด
ถั่วเขียว							
0	96.7 ± 5.8a	14.1 ± 3.6a	16.9 ± 2.0a	300.3	0.20 ± 0.05a	0.05 ± 0.01a	0.23
2	96.7 ± 5.8a	11.1 ± 4.9ab	16.4 ± 2.0ab	266.0	0.22 ± 0.04a	0.05 ± 0.01a	0.21
20	70.0 ± 52.0a	8.3 ± 4.1bc	14.6 ± 2.8b	160.0	0.23 ± 0.05a	0.05 ± 0.02a	0.20
200	86.7 ± 23.1a	7.0 ± 4.2c	11.6 ± 3.9c	161.4	0.22 ± 0.07a	0.04 ± 0.01a	0.19
400	80.0 ± 34.6a	7.6 ± 4.2c	10.6 ± 3.1c	145.0	0.20 ± 0.04a	0.04 ± 0.01a	0.20
ถั่วพุ่ม							
0	80.0 ± 34.6a	15.2 ± 4.6a	11.8 ± 5.3a	216.6	0.62 ± 0.26a	0.08 ± 0.04a	0.13
2	66.7 ± 28.9a	15.1 ± 4.3ab	10.8 ± 4.9a	172.4	0.61 ± 0.31a	0.07 ± 0.04ab	0.12
20	90.0 ± 17.3a	14.5 ± 3.0ab	8.6 ± 4.1ab	208.5	0.45 ± 0.22ab	0.06 ± 0.03ab	0.14
200	53.3 ± 40.4a	11.3 ± 3.6bc	6.4 ± 3.3b	94.7	0.42 ± 0.21ab	0.05 ± 0.02b	0.12
400	83.3 ± 28.9a	10.3 ± 4.0c	5.9 ± 2.2b	135.8	0.32 ± 0.20b	0.05 ± 0.02b	0.15
ถั่วฝักยาว							
0	90.0 ± 17.3a	18.4 ± 3.0ab	15.8 ± 3.6ab	308.6	0.8 ± 0.19a	0.09 ± 0.03a	0.12
2	83.3 ± 28.9a	19.7 ± 2.1a	17.0 ± 2.6a	306.0	0.8 ± 0.15a	0.1 ± 0.02a	0.12
20	73.3 ± 46.2a	18.2 ± 3.4ab	13.6 ± 2.8b	208.7	0.8 ± 0.23a	0.09 ± 0.03a	0.12
200	93.3 ± 11.5a	16.3 ± 3.9bc	10.2 ± 4.7c	247.2	0.6 ± 0.22b	0.09 ± 0.03a	0.14
400	80.0 ± 34.6a	15.0 ± 2.5c	9.3 ± 2.6c	194.4	0.6 ± 0.13b	0.09 ± 0.03a	0.15

ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันของพืชแต่ละชนิดที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันแสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ Turkey's test ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2 ร้อยละการงอก ความยาวยอด ความยาวราก ดัชนีความแข็งแรง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าพืชตระกูลถั่วสามชนิดที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีนความเข้มข้นต่างๆ กันเป็นเวลา 10 วัน

ความเข้มข้น (mg/kg)	ร้อยละการงอก	ความยาวยอด (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)	ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า	พืชทั้งต้น		
					น้ำหนักสด (g)	น้ำหนักแห้ง(g)	น้ำหนักแห้ง/น้ำหนักสด
ถั่วเขียว							
0	96.7 ± 5.8a	22.62 ± 2.8a	13.19 ± 3.3ab	346.1	0.34 ± 0.07a	0.05 ± 0.01a	0.14
2	93.3± 11.5a	22.46 ± 3.2a	12.48 ± 3.6ab	326.1	0.39 ± 0.08a	0.04 ± 0.01b	0.09
20	100.0 ± 0.0a	23.25 ± 2.8a	14.38 ± 3.8ab	376.3	0.39 ± 0.06a	0.04 ± 0.01b	0.09
200	90.0 ± 17.3a	18.72 ± 3.0b	14.86 ± 3.8a	302.2	0.37 ± 0.11a	0.04 ± 0.01b	0.10
400	66.7 ± 28.9a	11.67 ± 2.5c	11.67 ± 2.5b	155.6	0.34 ± 0.11a	0.03 ± 0.01b	0.08
ถั่วพุ่ม							
0	80.0 ± 34.6a	21.30 ± 2.6a	15.2 ± 1.8a	292.2	0.62 ± 0.18ab	0.08 ± 0.02a	0.13
2	76.7 ± 40.4a	18.24 ± 3.8a	12.59 ± 2.9b	236.4	0.57 ± 0.16abc	0.08 ± 0.02a	0.15
20	86.7 ± 23.1a	18.20 ± 3.0a	13.98 ± 2.1ab	279.0	0.53 ± 0.13bc	0.08 ± 0.02a	0.14
200	76.7± 40.4a	12.02 ± 6.1b	9.23 ± 1.7c	163.0	0.46 ± 0.21c	0.06 ± 0.01b	0.14
400	96.7 ± 5.8a	7.70 ± 3.7c	6.95 ± 2.9d	141.7	0.69 ± 0.16a	0.07 ± 0.01b	0.10
ถั่วฝักยาว							
0	100.0 ± 0.0a	29.21 ± 3.6a	18.0 ± 3.0a	472.0	1.04 ± 0.20a	0.06 ± 0.02ab	0.06
2	96.7 ± 5.8a	30.49 ± 4.7a	15.92 ± 3.3ab	448.7	1.00 ± 0.20a	0.05 ± 0.01bc	0.05
20	93.3 ± 11.5a	28.05 ± 3.0ab	16.05 ± 3.0ab	411.7	0.97 ± 0.16a	0.05 ± 0.02bc	0.05
200	100.0 ± 0.0a	25.7 ± 2.9b	14.38 ± 2.8bc	400.8	0.94 ± 0.18a	0.04 ± 0.02c	0.04
400	80.0 ± 34.6a	15.71 ± 3.6c	12.0 ± 5.5c	221.7	0.89 ± 0.26a	0.07 ± 0.02a	0.08

ค่าเฉลี่ยที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันของพืชแต่ละชนิดที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันแสดงความไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ Turkey's test ($P< 0.05$)