

ผลของแคดเมียมต่ออัตราการเจริญเติบโต ความเป็นพิษต่อเซลล์ราก
และปริมาณรงควัตถุในข้าวไรซ์เบอร์รี่ *

Effect of Cadmium to growth rates, cytotoxicity and pigment
contents in Riceberry (*Oryza sativa* L.)

ปณณฐิรา แท่งหิน (Panathira Thaenghin) **

ธนิต ผิวนิ่ม (Thanit Pewnim) ***

อมรรุจี นาคพลายพันธุ์ (Amonrujee Nakphayphan) ****

บทคัดย่อ

แคดเมียม (Cd) เป็นโลหะหนักที่ปนเปื้อนในธรรมชาติ โดยเฉพาะพื้นที่อยู่ใกล้เหมืองแร่และโรงงานอุตสาหกรรม แคดเมียมเหล่านี้ส่วนหนึ่งจะถูกพืชดูดซึมและถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหารและเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ ในที่สุด งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลกระทบของโลหะแคดเมียมต่ออัตราการเจริญเติบโต ปริมาณรงควัตถุ และความเป็นพิษต่อเซลล์ราก ในข้าวไรซ์เบอร์รี่ (*Oryza sativa* L.) ที่ปลูกด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์เป็นเวลา 16 วัน ดังนั้น ข้าวจะมีอายุ 16 วัน จากการศึกษาพบว่า ลักษณะทางกายภาพของข้าวที่ปลูกในสารละลายแคดเมียมนั้นใบข้าวจะมีสีซีด ลำต้นสั้นและลีบบาง รากสั้นและมีแขนงรากน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกลุ่มที่ปลูกในแคดเมียม 250 และ 2500 ไมโครโมลาร์ กับกลุ่มควบคุม พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของรากลดลง 39.73 % และ 58.90 % อัตราการเจริญเติบโตของลำต้นลดลง 51.56 % และ 66.41 % และทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม ลดลง 71.86 % และ 90.63 % แคโรทีนอยด์ลดลง 21.13 % และ 74.38 % ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินไม่แตกต่างทางสถิติ นอกจากนี้ Cd ยังทำให้เซลล์รากเสียหายคิดเป็น 131.58% และ 215.79% ตามลำดับ โดยแปรผันตรงกับ ความเข้มข้นของ Cd ที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากแคดเมียมทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงในระบบแสง I และระบบแสง II ทำงานได้ช้าลงและการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการเจริญเติบโตถูกรบกวน ซึ่งผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการสังเกตการปนเปื้อนของ Cd ในพื้นที่ทางการเกษตรเบื้องต้นได้

คำสำคัญ: ข้าวไรซ์เบอร์รี่ คลอโรฟิลล์ แอนโทไซยานิน แคโรทีนอยด์ ความเป็นพิษต่อเซลล์ราก แคดเมียม คลอไรด์

* เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัย

** นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

e-mail : Panamon.thaenghin@gmail.com

(Student of Master of Science, Faculty of Science, Silpakorn University)

*** อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

(Lecturer, Department of Chemistry, Faculty of science, Silpakorn University)

**** นักวิจัยประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

(Researcher, Department of Chemistry, Faculty of science, Silpakorn University)

Abstract

Effects of Cd on growth rates, pigments levels and cytotoxicity in roots of Riceberry (*Oryza sativa* L.) were investigated. Riceberry rice were cultured in 3 hydroponic solutions containing different levels of Cd (0, 250 and 2500 μ M). Comparisons were made between the control and the the groups of Cd 250 and 2500 μ M. It was found that cadmium significantly reduced growth rates of root by 39.73% and 58.90%, respectively. The stem heights were reduced by 51.56% and 66.41%. The chlorophyll contents were reduced by 71.76% and 90.63% while the carotenoid contents were reduced by 21.13% and 74.38%. However, there were no significant changes in the anthocyanin content. Examination at cellular levels showed that cell damages in roots increased by 131.58% and 215.79% respectively. All effects are proportional to the concentrations of Cd. The findings suggested that the photosynthesis system was hampered and the enzymes in the growth process were disturbed. Results of the present study suggested that the parameters observed with Riceberry can be used to indicate cadmium contamination in agricultural areas.

Keyword : Riceberry, Chlorophyll, Anthocyanin, Carotenoid, Cytotoxicity, CdCl₂

บทนำ

หลังจากศตวรรษที่ 20 เป็นต้นมา ได้มีการพัฒนาของภาคอุตสาหกรรมอย่างก้าวกระโดด มีการนำทรัพยากรธรรมชาติเข้ามาใช้ในกระบวนการผลิตอย่างกว้างขวาง ซึ่งโลหะแคดเมียมก็เป็นอีกประเภทหนึ่งของปัจจัยที่มีการนำมาใช้ในกระบวนการผลิตที่หลากหลาย เช่น อุตสาหกรรมผ้า สีทาบ้าน เครื่องแก้ว พลาสติก ฯลฯ และเมื่อกระบวนการผลิตเสร็จสิ้นก็จะมีการปล่อยโลหะหนักที่เป็นผลเสียพลอยได้ออกสู่สิ่งแวดล้อม ทำให้โลหะแคดเมียมปนเปื้อนตามแหล่งดิน น้ำและอากาศ นอกจากนี้การถลุงแร่ การใช้ปุ๋ยเคมี และการใช้สารเคมีฆ่าแมลงในพื้นที่เพาะปลูก ก็ล้วนแล้วแต่เป็นสาเหตุของการปนเปื้อนของแคดเมียมในธรรมชาติเช่นกัน (Lima et al., 2006) โดยแคดเมียมจัดเป็นโลหะที่มีความเป็นพิษสูง สามารถถูกดูดซึมและสะสมได้ในพืชหลายชนิด เมื่อพืชดูดซึมเข้าไปจะส่งผลกระทบต่อในด้านลบแก่พืช ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและชีวภาพหลายประการ (Liu et al., 2011) โดยความรุนแรงจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแคดเมียมที่พืชได้รับ และแคดเมียมเหล่านี้จะถูกถ่ายทอดเข้าสู่สัตว์ต่างๆ และสุดท้ายจะเกิดการสะสมในร่างกายมนุษย์ตามห่วงโซ่อาหาร (Mangal et al., 2013; Kibria et al., 2006)

ประเทศไทยเป็นประเทศอุตสาหกรรมที่มีการปลูกข้าวเป็นอาชีพหลักของประเทศ ทั้งปลูกเพื่อการส่งออกและการบริโภค ประชากรมากกว่าครึ่งโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลักเช่นกัน ลักษณะทั่วไปของข้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่สามารถมีการดูดซึมและสะสมแคดเมียมในระดับที่สูง (Chen et al., 2011; Xiong et al., 2013) ในปัจจุบันข้าวไรซ์เบอร์รี่ (*Oryza sativa* L.) ได้รับความนิยมในกลุ่มผู้บริโภคสุขภาพเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าข้าวทั่วไป และข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นสายพันธุ์ที่เกิดจากการผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่าง

ข้าวเจ้าหอมนิลและข้าวมะลิ 105 จึงเป็นข้าวที่ไม่ทนต่อโรคและสภาวะแห้งแล้ง ดังนั้นในการปลูกข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวจึงต้องได้รับการดูแลเป็นพิเศษ และในปัจจุบันมีการปลูกเฉพาะภูมิภาคที่อุดมสมบูรณ์เท่านั้นและยังไม่มีพื้นที่แพร่หลายมากนัก จึงมีความกังวลว่าถ้าหากนำข้าวไรซ์เบอร์รี่ไปปลูกในภูมิภาคอื่นๆ ที่ดินไม่อุดมสมบูรณ์ มีการใช้ปุ๋ยเคมี เคยผ่านการทำไร่เลื่อนลอย หรืออยู่ใกล้เหมืองแร่ ซึ่งมีการสะสมของโลหะแคดเมียม ข้าวชนิดนี้จะสามารถเจริญเติบโตได้เป็นปกติและสามารถนำมาบริโภคได้หรือไม่

งานวิจัยที่ผ่านมาได้ศึกษาถึงผลของแคดเมียมต่อข้าวหลากหลายสายพันธุ์ เช่น การสะสมของแคดเมียมในข้าว 8 สายพันธุ์ในประเทศศรีลังกา (Herath et al., 2014) มีการศึกษาผลของแคดเมียมต่ออัตราการเจริญเติบโตของข้าว (Kibria et al., 2006; Kavita Shah, 2001 and Yoneyama et al., 2015) เช่นเดียวกับการศึกษาผลของแคดเมียมต่อรวงข้าว (Bouzon et al., 2011) และ Wahid et al (2008) งานวิจัยเกี่ยวกับข้าวไรซ์เบอร์รี่ในปัจจุบันมุ่งเน้นทางด้านคุณค่าทางโภชนาการเป็นหลัก เช่น การใช้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ป้องกันโรคอัลไซเมอร์และต้านอนุมูลอิสระ (Kongkachuichai et al., 2013) เป็นต้น อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงผลกระทบของโลหะแคดเมียมต่อข้าวไรซ์เบอร์รี่ทั้งในไทยและต่างประเทศ

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาผลของแคดเมียมในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของข้าวไรซ์เบอร์รี่เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ (biomarker) ถึงการสะสมโลหะแคดเมียมสิ่งแวดล้อม ทำการศึกษาความเป็นพิษในเซลล์เพื่อยืนยันว่าข้าวมีการดูดซึม Cd เข้าไปและทำให้เซลล์เสียหาย และยังรวมถึงศึกษาระดับรวงข้าวที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์และแอนโทไซยานิน เพื่อเป็นแนวทางที่ช่วยให้เกษตรกรใช้พิจารณาถึงแหล่งที่จะใช้ปลูกข้าวข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาระดับความเข้มข้นของแคดเมียมต่ออัตราการเจริญเติบโตของข้าวไรซ์เบอร์รี่
2. ศึกษาระดับความเข้มข้นของแคดเมียมต่อความเป็นพิษในเซลล์ราก (Cytotoxicity) ของข้าวไรซ์เบอร์รี่
3. ศึกษาระดับความเข้มข้นของแคดเมียมต่อปริมาณรงควัตถุในใบข้าวไรซ์เบอร์รี่

วิธีดำเนินการ

1. ปลูกข้าวไรซ์เบอร์รี่

เมล็ดพันธุ์ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ นำมาจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม อายุเก็บเกี่ยว 30-60 วัน ก่อนปลูกนำไปแช่น้ำเปล่า 12 ชั่วโมง จากนั้นเทน้ำออก แล้วนำไปใส่ไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดสนิท เก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิปกติ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รากข้าวจะเริ่มงอก จึงนำเมล็ดข้าวไปปลูกในภาชนะระบบ hydroponics จำนวน 3 ภาชนะ โดยมีสารละลายธาตุอาหาร หรือ nutrient solution ที่ผลิตและจัดจำหน่ายโดยบริษัท ไฮโดรการ์เด็น จำกัด และเติมแคดเมียม ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 250 ไมโครโครลาร์ ลงในภาชนะใบที่สอง และ 2500 ไมโครโมลาร์ ลงในภาชนะใบที่สาม ส่วนภาชนะใบแรกกำหนดเป็นกลุ่มควบคุมไม่ต้องเติมแคดเมียม (Yamaguchia et al., 2011) โดยสภาวะที่ใช้ปลูกข้าวไรซ์เบอร์รี่ คือ กำหนดช่วงเวลาให้แสงฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมง สลับกับสภาวะมืด 8 ชั่วโมง ในรอบ 1 วัน โดยควบคุม

อุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 25 - 27 องศาเซลเซียส เปลี่ยนสารละลายใหม่ทุกๆ 3 วัน เมื่อครบกำหนด 16 วัน ก็ทำการเก็บเกี่ยวข้าวไรซ์เบอร์รี่เพื่อนำไปใช้ในส่วนการวิเคราะห์ต่อไป (Skrebsky et al., 2008)

2. การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของข้าวไรซ์เบอร์รี่

วัดการเจริญเติบโตของข้าวโดยการใช้น้ำบรรทัดวัดความยาวของราก และลำต้นในหน่วยเซนติเมตร โดยวัดในช่วงเวลา 9.00 – 9.30 นาฬิกา ของทุกๆ วัน เป็นเวลา 16 วัน แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยของการเจริญเติบโตต่อวันและวัดระดับความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS version 11.5 คำนวณหา standard deviation (mean $\pm$ S.E.), และทำ one-way analysis of variance (ANOVA) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3. การศึกษาความเป็นพิษของแคดเมียมต่อเซลล์รากข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยการย้อมด้วยสารละลายสีย้อมอีวานส์ บลู (Evans blue staining)

การศึกษากการตายของเซลล์รากโดยใช้วิธีย้อมด้วยสารละลายสีย้อมอีวานส์ บลู มีรายละเอียดดังนี้ เตรียมสารละลาย Evans blue ความเข้มข้น 0.25% (w/v) จำนวน 4 ชุด ตัดรากข้าวไรซ์เบอร์รี่ทั้ง 3 ตัวอย่าง ความยาว 1 เซนติเมตรวัดจากปลายราก (ทำ positive control โดยแช่รากข้าวในสารละลาย Triton-X เป็นเวลา 15 นาที) นำรากข้าวทั้งหมดลงไปแช่ใน 0.25% Evans blue เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำรากข้าวมาล้างสีย้อมออกและแช่รากข้าวในน้ำกลั่นเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำรากข้าวไปถ่ายภาพด้วยกล้องถ่ายภาพและทำการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยนำรากข้าวที่ย้อมแล้วด้วยไปแช่ในสารละลาย N,N-dimethylformamide ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-vis spectrophotometer (Ghosha et al., 2015)

4. การวัดปริมาณ คลอโรฟิลล์ แอนโทไซยานิน แคโรทีนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์โดยชั่งใบข้าวทั้ง 3 ตัวอย่าง อย่างละ 1 กรัม บดให้ละเอียด เติม 80% acetone ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันโดยใช้ vortex เบอร์ 6 เป็นเวลา 2 นาที นำไปวางไว้ที่มืดเป็นเวลา 15 นาที แล้วกรองสารละลายผ่านผ้าขาวบางแล้วนำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบ/นาที จากนั้นแยกสารละลายส่วนที่ใสออกมาแล้วปรับปริมาตรด้วย 80% acetone ให้มีปริมาตรรวมเป็น 25 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร (Witham et al., 1971)

วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยชั่งใบข้าวทั้ง 3 ตัวอย่าง อย่างละ 1 กรัม บดให้ละเอียด เติมสารละลาย ethanolic hydrochloric ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันโดยใช้ vortex เบอร์ 6 เป็นเวลา 2 นาที นำไปวางไว้ที่มืดเป็นเวลา 5 ชั่วโมง กรองสารละลายผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบ/นาที แยกสารละลายส่วนที่ใสออกมาแล้วปรับปริมาตรด้วย ethanolic hydrochloric ให้มีปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร (Ranganna, 1986)

วิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม โดยชั่งใบข้าวทั้ง 3 ตัวอย่าง อย่างละ 1 กรัม บดให้ละเอียด เติม dimethylsulphoxide (DMSO) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันโดยใช้ vortex เบอร์ 6 เป็นเวลา 2 นาที นำไปวางไว้ที่มืดเป็นเวลา 15 ชั่วโมง กรองสารละลายผ่านผ้าขาวบาง แล้วนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบ/นาที แยกสารละลายส่วนที่ใสออกมาแล้วปรับปริมาตรด้วย dimethylsulphoxide (DMSO) ให้มีปริมาตร

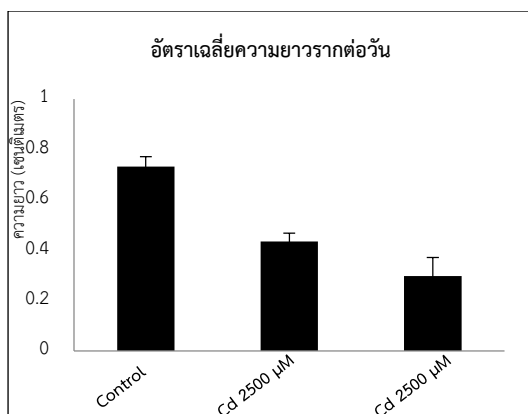
รวม 25 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 665, 649 และ 480 นาโนเมตร (Pawelzik, 2005)

5. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสถิติวิเคราะห์ SPSS เวอร์ชัน 11.5 โดยวิธี standard deviation (mean $\pm$ S.E.), และ one-way analysis of variance (ANOVA) test โดยยอมรับที่ระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

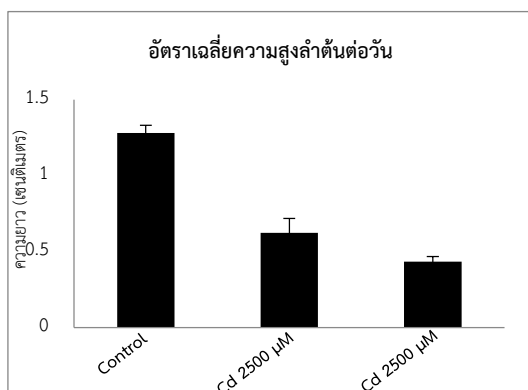
1. อัตราการเจริญเติบโตของข้าวไรซ์เบอร์รี่



(ก)



(ค)



(ข)

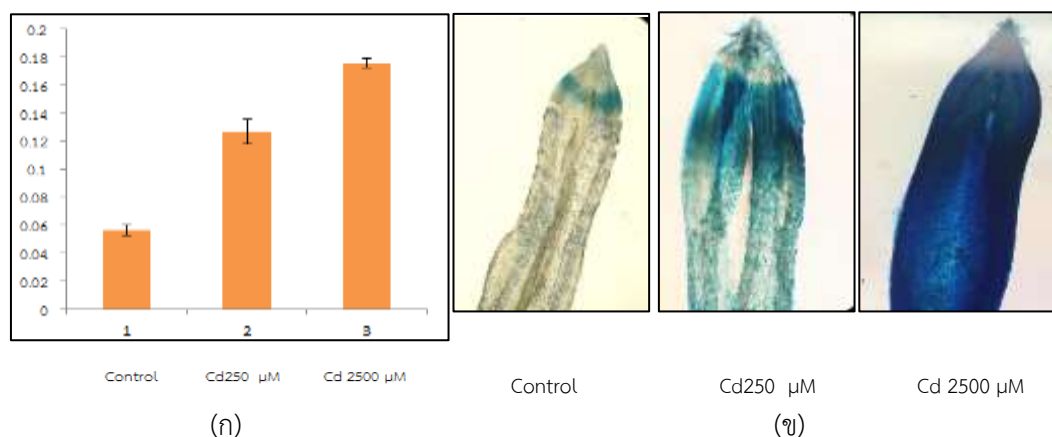
รูปที่ 1 อัตราการเจริญเติบโตของข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ก) อัตราการเจริญเติบโตของราก (ข) อัตราการเจริญเติบโตลำต้น และ (ค) ลักษณะทางกายภาพของการเจริญเติบโตที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 0, 250 และ 2500 µM

จากรูปที่ 1 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโต พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของรากข้าวกลุ่มควบคุม มีค่าเฉลี่ย 0.73 ± 0.07 เซนติเมตร/วัน กลุ่มแคดเมียม 250 ไมโครโมลาร์ มีค่าเฉลี่ย 0.41 ± 0.03 เซนติเมตร/วัน และกลุ่มแคดเมียม 2500 ไมโครโมลาร์ มีค่าเฉลี่ย 0.32 ± 0.16 เซนติเมตร/วัน ส่วนอัตราการเจริญเติบโตของลำต้น พบว่า ในกลุ่มที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 1.28 ± 0.07 เซนติเมตร/วัน กลุ่มแคดเมียม 250 ไมโครโมลาร์ มีค่าเฉลี่ย 0.63 ± 0.16 เซนติเมตร/วัน และกลุ่มแคดเมียม 2500 ไมโครโมลาร์มีค่าเฉลี่ย 0.44 ± 0.06 เซนติเมตร/วัน ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าในกลุ่มควบคุม นั้นจะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม

แคดเมียม 250 ไมโครโมลาร์ และกลุ่มแคดเมียม 2500 ไมโครโมลาร์ตามลำดับ โดยมีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองอธิบายได้ว่าพืชตระกูลข้าวมีความไวต่อโลหะแคดเมียมสูง (Chen et al., 2011) โดยอวัยวะส่วนรากจะเป็นเนื้อเยื่อส่วนที่สัมผัสกับดินและดูดซึมแคดเมียมจากดินผ่านกระบวนการ apoplastic transport เข้ามายังลำต้น ทำให้เกิดการสะสมแคดเมียมตามส่วนต่างๆ ของต้นข้าวได้ โดยเฉพาะ ราก รากจึงมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าลำต้น เมื่อแคดเมียมเข้าไปสะสมในเซลล์จะไปยับยั้งการทำงานของ โปรตีนสังเคราะห์ในเซลล์ เช่น phosphoenol-pyruvate carboxylase (Santos et al., 2012) ทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตทั้งรากและลำต้นแบบยืดเซลล์ (elongation growth rate) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในลำต้น (Herath et al., 2014) จึงทำให้ข้าวกลุ่มแคดเมียม 250 ไมโครโมลาร์ และกลุ่มแคดเมียม 2500 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่ากลุ่มควบคุม

2. ความเป็นพิษของเซลล์ (cytotoxicity)

การศึกษาความเป็นพิษของแคดเมียมต่อเซลล์รากพืช โดยการย้อมด้วยสีย้อม Evans blue ให้ผลการทดลอง ดังต่อไปนี้

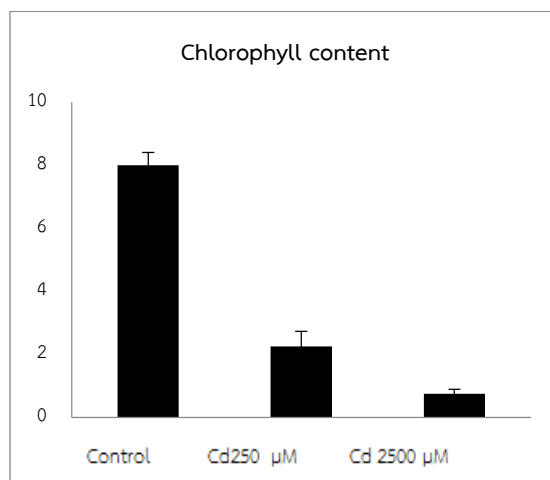


รูปที่ 2 (ก) ผลการย้อมเซลล์รากด้วยสีย้อม Evans blue (ข) ลักษณะการติดสีของเซลล์รากที่บ่งชี้ถึงการตายของเซลล์รากที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของแคดเมียม

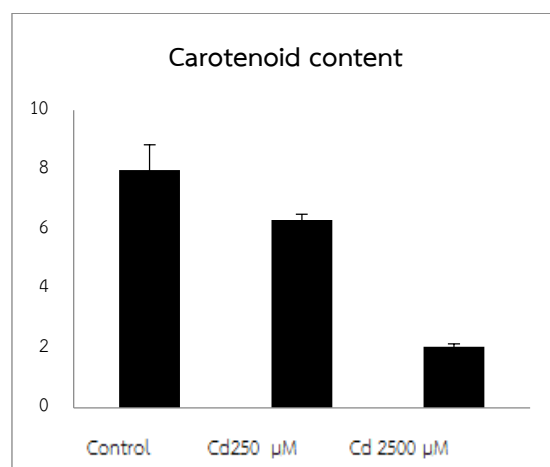
จากการศึกษาการตายของเซลล์รากข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยการย้อมสารละลาย Evans blue พบว่า แคดเมียมมีผลต่อการตายของเซลล์รากเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแคดเมียมที่เพิ่มขึ้น เมื่อทำปริมาตรวิเคราะห์ และ เปรียบเทียบการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร พบว่าข้าวที่ปลูกใน Cd 250 ไมโครโมลาร์ และ 2500 ไมโครโมลาร์ เซลล์รากเสียหาย 131.58% และ 215.79% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นั้นแสดงว่าเซลล์รากพืชที่ได้รับความเสียหายจะย้อมติดสี Evans blue ได้มากกว่า อธิบายได้ ว่าเยื่อหุ้มเซลล์ของพืชทุกชนิดจะมีความเฉพาะเจาะจงต่อการคัดเลือกรากผ่านเข้าออกเซลล์อย่างเป็นระบบ ดังนั้นเซลล์ที่ยังมีชีวิตจะสามารถกั้นสีย้อมไม่ให้ผ่านเข้าไปภายในเซลล์ได้ทำให้ภายในเซลล์ไม่ถูกย้อม ในขณะที่ กลุ่มเซลล์รากที่ตายแล้วคุณสมบัติในส่วนนี้จะหายไป ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ไม่สามารถกั้นสีย้อม Evans blue ได้ ส่งผลให้ภายในเซลล์ถูกย้อมติดสีน้ำเงินของสีย้อมดังแสดงในรูปที่ 2 ข) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ค่าการ ดูดกลืนแสงของรากกลุ่มที่มีแคดเมียมมีค่าสูงด้วย (Leethanapanich et al., 2016)

3. รงควัตถุในใบข้าวไรซ์เบอร์รี่

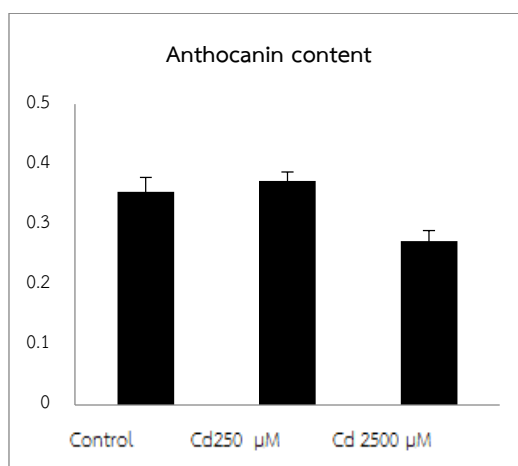
การศึกษาหาปริมาณรงควัตถุใบข้าวไรซ์เบอร์รี่ ประกอบด้วย คลอโรฟิลล์ แอนโทไซยานิน และแคโรทีนอยด์ โดยการสกัดรงควัตถุออกจากใบข้าวอายุ 16 วันและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นต่างๆ ได้ผลตามรายละเอียด ดังแสดงในรูปที่ 3



(ก)



(ข)

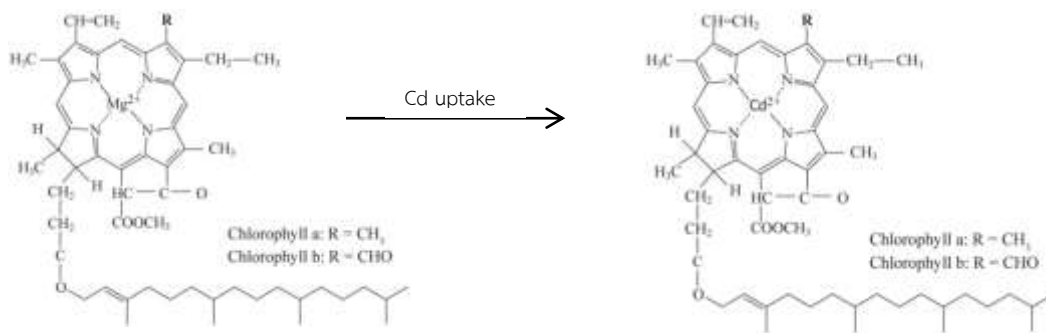


(ค)

รูปที่ 3 ปริมาณรงควัตถุทั้ง 3 ชนิด ในใบข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ไมโครกรัมต่อกรัม) รูป (ก) ปริมาณคลอโรฟิลล์ (ข) ปริมาณแคโรทีนอยด์ และ (ค) ปริมาณแอนโทไซยานิน

จากการศึกษาผลของแคดเมียมต่อปริมาณรงควัตถุในใบข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ 2 ระดับความเข้มข้น พบว่าความเข้มข้นของแคดเมียมมีผลทำให้ปริมาณรงควัตถุทั้ง 3 ชนิดในข้าวไรซ์เบอร์รี่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Wahid et al., 2008) โดยผลการศึกษาของเราพบว่า ในกลุ่มควบคุม กลุ่มแคดเมียม 250 ไมโครโมลาร์ และกลุ่มแคดเมียม 2500 ไมโครโมลาร์ นั้นมีปริมาณคลอโรฟิลล์รวมเท่ากับ 8, 2.25 และ 0.75 ไมโครกรัมต่อกรัม มีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 8, 6.31 และ 2.05 ไมโครกรัมต่อกรัม มีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 0.37, 0.35 และ 0.27 ไมโครกรัมต่อกรัม หรือเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มแคดเมียม 250 ไมโครโมลาร์ และกลุ่มแคดเมียม 2500 ไมโครโมลาร์กับกลุ่มควบคุม พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง 71.86 % และ 90.63 % ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง ลดลง 21.13 % และ 74.38 % แต่ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงในระดับที่ต่ำกว่า คือลดลง 5.41 % และ 27.03 % ตามลำดับ โดยปริมาณการลดลงของรงควัตถุชนิดแคโรทีนอยด์และคลอโรฟิลล์รวมนั้นมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยกเว้นในกรณีของแอนโทไซยานิน

การลดลงของปริมาณรงควัตถุในใบข้าวไรซ์เบอร์รี่เนื่องจากผลของแคดเมียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งความรุนแรงนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแคดเมียมที่พืชได้รับ โดยแคดเมียมจะก่อให้เกิดความเสียหายของระบบสังเคราะห์แสงในพืช กล่าวคือ มีการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ อาจมาจากการลดแอกทิวิตีของเอนไซม์ chlorophyllase และ 5-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Wang et al., 2015) หรืออาจทำให้ประจุบวก (proton pump) ลดลงหรือช้าลง ซึ่งเป็นตัวสำคัญในหลายๆ กลไกของการสังเคราะห์แสง โดยเฉพาะการเกิด proton gradient ทำให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงลดลง หรือการลดลงของเอนไซม์ ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase เนื่องจากแคดเมียมไปจับหมู่ SH (Bouzon et al., 2011) และนอกจากนี้ยังพบว่าแมกนีเซียม (Mg) ซึ่งเป็นอะตอมกลางของโครงสร้างคลอโรฟิลล์ มีขนาดใกล้เคียงและมีประจุเท่ากับกับแคดเมียม แคดเมียมจึงสามารถไปแทนที่ Mg ได้ ดังแสดงในรูปที่ 4 ทำให้โครงสร้างของคลอโรฟิลล์เปลี่ยนแปลงไปและไม่สามารถทำงานได้ตามทฤษฎีของ (Parmar et al., 2013)



รูปที่ 4 ข้อสันนิษฐานที่แสดงว่าโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ a และ b ที่ถูกแทนที่ด้วย Cd²⁺ ตรงตำแหน่งอะตอมของแมกนีเซียม (Mg²⁺) ซึ่งเป็นอะตอมกลางที่มีประจุเป็นบวกสอง และมีขนาดอะตอมที่ใกล้เคียงกันกับโลหะแคดเมียม จึงสันนิษฐานว่าเมื่อพืชได้รับแคดเมียมเข้าไป แคดเมียมอาจจะไปแทนที่แมกนีเซียมในโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ตามกระบวนการที่ Parmar ได้อธิบายไว้ (Parmar et al., 2013)

สรุปผลการทดลอง

การทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า แคดเมียมมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของข้าวไรซ์เบอร์รี่โดยทำให้อัตราการเจริญเติบโตทั้งลำต้นและรากลดลง และทำให้รวงควัลดลงอย่างเห็นได้ชัด ได้แก่ คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ นอกจากนี้แคดเมียมยังทำให้การตายของเซลล์รากเพิ่มขึ้นอีกด้วย ดังนั้นการปลูกข้าวในพื้นที่การเกษตรบริเวณใดที่มีการปนเปื้อนโลหะแคดเมียม จะทำให้ข้าวเจริญเติบโตช้าผิดปกติ ใบมีสีซีดจางขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแคดเมียม และท้ายที่สุดอาจจะทำให้ต้นข้าวตายได้ ดังนั้น หากพบความผิดปกติเหล่านี้เกิดขึ้นก็อาจสันนิษฐานเบื้องต้นว่าพื้นที่เหล่านั้นมีโลหะหนักปนเปื้อนและก่อนจะนำไปบริโภคควรมีการสุ่มตรวจปริมาณการสะสมโลหะหนักด้วย

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

- Bouzon ZL, Schmidt EC, Almeida AC, Yokoya NS, Oliveira MC, Chow F (2011) Cytochemical characterization and ultrastructural organization in calluses of the agarophyte *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariiales, Rhodophyta). *Micron* 42:80-86.
- Chen X, Wang J, Shi Y, Zhao MQ, Chi GY (2011) Effects of cadmium on growth and photosynthetic activities in pakchoi and mustard. *Botanical Studies* 52:41-46.
- Ghosha M, Bhadra S, Adegoke A, Bandyopadhyay M, Mukherjee A (2015) MWCNT uptake in *Allium cepa* root cells induces cytotoxic and genotoxic responses and results in DNA hyper-methylation. *Mutation Research* 7:49–58.
- Herath HMDAK, Bandara DC, Weerasinghe PA, Iqbal MCM, Wijayawardhana HCD (2014) Effect of Cadmium on Growth Parameters and Plant Accumulation in Different Rice (*Oryza sativa*L.) Varieties in Sri Lanka. *Tropical Agricultural Research* Vol. 25 (4):532 – 542.

- Kavita Shah RGK, Shalini Verma, R.S. Dubey (2001) Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Science* 161:1135–1144.
- Kibria MG, Osman KT, Ahmed MJ (2006) Cadmium and lead uptake by rice (*Oryza sativa* L.) grown in three different textured soils. *Soil & Environ* 25:70-77.
- Kongkachuichai R, Prangthip P, Charoensiri R, Surasiang R, Kettawan A, Posuwan J, Vanavichit A (2013) Effect of Riceberry oil (deep purple oil; *Oryza sativa Indica*) supplementation on hyperglycemia and change in lipid profile in Streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats fed a high fat diet. *International Food Research Journal* 20:873-882.
- Leethanapanich K, Mauromoustakos A, Wang Y-J (2016) Impacts of parboiling conditions on quality characteristics of parboiled commingled rice. *Journal of Cereal Science* 69:283-289.
- Lima AIG, Pereira SIA, Maria dAPFE, Caldeira GCN, de Matos Caldeira HDQ (2006) Cadmium detoxification in roots of *Pisum sativum* seedlings: relationship between toxicity levels, thiol pool alterations and growth. *Environmental and Experimental Botany* 55:149-162.
- Liu YT, Chen ZS, Hong CY (2011) Cadmium-induced physiological response and antioxidant enzyme changes in the novel cadmium accumulator, *Tagetes patula*. *Journal of hazardous materials* 189:724-731.
- Mangal M, Agarwal M, Bhargava D (2013) Effect of Cadmium and Zinc on growth and Biochemical Parameters of Selected Vegetables. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2:2278-4136.
- Parmar P, Kumari N, Sharma V (2013) Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. *Botanical studies* 54:134-142.
- Pawelzik (2005) Workshop on the Nutritional Quality and Phytochemicals of Tropical and Subtropical Fruits. Postharvest Technology Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai. . 57 p.
- Ranganna (1986) Handbook of Analysis and Quality Control for Fruit and Vegetable Products. Tata McGraw Hill Publishing Co. Ltd., New Delhi. Tata McGraw Hill Publishing Co Ltd, New Delhi 190-210

- Santos RWd, Schmidt ÉC, Martins RdP, Latini A, Maraschin M, Horta PA, Bouzon ZL (2012) Effects of Cadmium on Growth, Photosynthetic Pigments, Photosynthetic Performance, Biochemical Parameters and Structure of Chloroplasts in the Agarophyte (Rhodophyta, Gracilariales). American Journal of Plant Sciences 03: 1077-1084.
- Skrebsky EC, Maldaner J, Tabaldi LA, Cargnelutti D, Shetinger MRC (2008) Effect of cadmium on growth, micronutrient concentration, and δ -aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*. Brazilian society of physiology 20:285-294.
- Wahid A, Ghani A, Javed F (2008) Effect of cadmium on photosynthesis, nutrition and growth of mungbean. Agronomy for Sustainable Development 28:273-280.
- Wang F, Wang M, Liu Z, Shi Y, Han T, Ye Y, Gong N, Sun J, Zhu C (2015) Different responses of low grain-Cd-accumulating and high grain-Cd-accumulating rice cultivars to Cd stress. Plant physiology and biochemistry. Societe francaise de physiologie vegetale 96: 261-269.
- Witham F, Blaydes D, Devlin R (1971) Experiments in Plant Physiology. Van Nostrand Reinhold Company 1:245 p.
- Xiong C, Zhang Y, Xu X, Lu Y, Ouyang B, Ye Z, Li H (2013) Lotus roots accumulate heavy metals independently from soil in main production regions of China. Scientia Horticulturae 164:295-302.
- Yamaguchia N, Moria S, Babaa K, Kaburagi-Yadaa S, Tomohito Araoa, Kitajimab N, Hokurac A, Teradad Y (2011) Cadmium distribution in the root tissues of solanaceous plants with contrasting root-to-shoot Cd translocation efficiencies. Environmental and Experimental Botany 71:198–206.
- Yoneyama T, Ishikawa S, Fujimaki S (2015) Route and Regulation of Zinc, Cadmium, and Iron Transport in Rice Plants (*Oryza sativa* L.) during Vegetative Growth and Grain Filling: Metal Transporters, Metal Speciation, Grain Cd Reduction and Zn and Fe Biofortification. International journal of molecular sciences 16:19111-19129.