

ฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Peaenibacillus* sp. BSR₁₋₁ และกรดแนฟทาลีน
อะซีติกต่อแหวนเปิดใหญ่ที่เลี้ยงในน้ำที่ปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียม
และไตรทอนเอ็กซ์-100

PLANT GROWTH PROMOTING ACTIVITY OF *PEANIBACILLUS* SP. BSR₁₋₁ AND
NAPHTHALENE ACETIC ACID TOWARD *SPIRODELA POLYRRHIZA*
CULTIVATED IN CADMIUM AND TRITON X-100 CONTAMINATED WATER

ชนิษฐา สมตระกูล¹, อภิเดช แสงดี¹ และ วรภรณ์ ฉวยฉาย^{2*}

Khanitta Somtrakoon¹, Aphidech Sangdee¹ and Waraporn Chouychai^{2*}

¹คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

¹Faculty of Science, Mahasarakham University

²Faculty of Science and Technology, Nakhonsawan Rajabhat University

Received: 12 July 2020

Accepted: 20 January 2021

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของออกซิน 2 ชนิดคืออินโดล-3-แอซีติก (Indole-3-acetic acid; IAA) ที่ผลิตโดย *Peaenibacillus* sp. BSR₁₋₁ และกรดแนฟทาลีนอะซีติก (Naphthaleneacetic acid; NAA) ต่อการกระตุ้นการเจริญของแหวนเปิดใหญ่ในน้ำที่มีการปนเปื้อนร่วมกันของไตรทอนเอ็กซ์-100 และแคดเมียม ผลการศึกษาพบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 2 ชนิดคือ NAA และ น้ำเลี้ยงเซลล์ของ *Peaenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ไม่สามารถเพิ่มชีวมวลและปริมาณคลอโรฟิลล์ของแหวนเปิดใหญ่ได้ เมื่อเทียบกับทริทเมนต์ที่ไม่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างทริทเมนต์ที่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตเท่ากัน การได้รับ NAA หรือน้ำเลี้ยงเซลล์ของ *Peaenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ทำให้ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในทริทเมนต์ที่มีแคดเมียม

* ผู้ประสานงาน: วรภรณ์ ฉวยฉาย

อีเมลล์: waraporn.c@nsru.ac.th

มีแนวโน้มสูงกว่าพืชมินต์ที่ไม่มีแคดเมียม ดังนั้น NAA และน้ำเลี้ยงเซลล์ของ *Peaenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ไม่เหมาะสมในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในน้ำที่มีการปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียมกับสารลดแรงตึงผิว จึงควรใช้ออกซินสังเคราะห์ชนิดอื่น หรือการใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ทนต่อแคดเมียมและสร้างออกซินได้ต่อไป

คำสำคัญ: กรดอินโดล-3-แอซิติค, แคดเมียม, ความเป็นพิษต่อพืช, ไทรทอนเอ็กซ์-100, สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์, แหนเป็ดใหญ่

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effects of two auxins; indole-3-acetic acid (IAA) produced by *Peaenibacillus* sp. BSR₁₋₁ and naphthalene acetic acid (NAA) on the growth stimulation of duckweed in water co-contaminated with Triton X-100 and cadmium. It was found that two types of plant growth regulators were NAA and bacterial culture filtrate of *Peaenibacillus* sp. BSR₁₋₁, was unable to increase the biomass and chlorophyll content of the duckweed when compared with treatment without plant growth regulator. However, when comparing treatments with equal growth regulators, exposure to NAA or bacterial culture filtrate of *Peaenibacillus* sp. BSR₁₋₁ resulted in the total chlorophyll A and chlorophyll content in cadmium-containing treatments trended to be higher than those without cadmium. With these results, NAA and bacterial culture filtrate of *Peaenibacillus* sp. BSR₁₋₁ is not appropriate to increase plant growth in cadmium and surfactant co-contaminated water. Therefore, other synthetic auxins or cadmium tolerant- and IAA producing microorganisms should be used instead.

Keywords: Indole-3-acetic acid, Cadmium, Phytotoxicity, Triton X-100, synthetic surfactant, *Spirodela polyrrhiza*

คำนำ

แคดเมียม (cadmium; Cd) เป็นธาตุที่ไม่จำเป็นและเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตแม้ได้รับในปริมาณต่ำ โดยมีฤทธิ์เป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ แคดเมียมเป็นอันตรายต่อพืชเช่นกัน โดยพืชที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมมักแสดงอาการขาดสารอาหาร (Khan et al., 2015; 2017) แคดเมียมสามารถละลายเข้าสู่พืชผ่านทางรากแล้วจึงเคลื่อนย้ายไปสู่ลำต้นของพืชที่อยู่เหนือพื้นดินซึ่งเป็นตำแหน่งที่แคดเมียมรบกวนปฏิกิริยาชีวเคมีหรือสรีรวิทยาตามปกติของพืชทำให้พืชแสดงอาการที่ผิดปกติออกมา (Khan et al., 2017) โดยช่องทางที่แคดเมียมถูกลำเลียงเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชอาศัยช่องทางเดียวกับช่องทางที่พืชใช้ขนส่งธาตุจำเป็น เช่น แมกนีเซียม แคลเซียม และเหล็ก เป็นต้น (Clemens, 2006; Khan et al., 2017) แคดเมียมปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ทั้งจากกิจกรรมตามธรรมชาติโดยการผุกร่อนของหินต้นกำเนิด และจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การเผาไหม้เชื้อเพลิงถ่านหิน การทำเหมืองแร่ และการใช้เคมีภัณฑ์ในการทำเกษตรกรรม เป็นต้น (Perera et al., 2016; Khan et al., 2017) สำหรับการปนเปื้อนแคดเมียมในประเทศไทยพบรายงานบริเวณลุ่มน้ำแม่ตาว อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการทำเหมืองสังกะสีทำให้ดินที่มีการทำเกษตรกรรมโดยรอบได้รับผลกระทบจากแคดเมียมซึ่งมักพบปนเปื้อนร่วมกับธาตุสังกะสี จากการสำรวจในฤดูแล้งพบว่าปริมาณแคดเมียมในลำธารและคลองน้อยกว่า 0.0001 มิลลิกรัม/ลิตร และในฤดูฝนปริมาณแคดเมียมเพิ่มสูงขึ้นเป็น 0.0005-0.006 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนปริมาณแคดเมียมที่พบในอนุภาคของแข็งที่แขวนลอยซึ่งตรวจพบในฤดูฝนมีค่าระหว่าง 0.0042-0.997 มิลลิกรัม/ลิตร สำหรับดินในบริเวณบ้านแม่ตาวใหม่มีปริมาณแคดเมียมปนเปื้อนอยู่ระหว่าง 2.5-87.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Kosolsaksakul et al., 2014) ในขณะที่ดินในบริเวณบ้านพะเต๊ะ อำเภอแม่สอด จังหวัดตากซึ่งตั้งอยู่ใกล้กับบริเวณที่มีการทำเหมืองแร่มากกว่ามีการปนเปื้อนของแคดเมียมสูงกว่า โดยพบปริมาณแคดเมียมในดินมีค่าระหว่าง 0.5-284 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Simmons et al., 2005)

การปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียมและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ในแหล่งน้ำธรรมชาติอาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากการบำบัดแคดเมียมที่ปนเปื้อนในน้ำเสียด้วยวิธี micellar enhanced ultrafiltration ซึ่งใช้สารลดแรงตึงผิวเติมลงสู่น้ำปนเปื้อนในระดับความเข้มข้นที่มากกว่าค่าความเข้มข้นวิกฤตที่จะเริ่มเกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration; CMC) การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ทำให้บริเวณพื้นผิวภายในของไมเซลล์สามารถดูดซับไอออนของ

โลหะไว้ได้ด้วยแรงดึงดูดไฟฟ้าสถิตย์ (electrostatic interactions) จากนั้นจึงแยกโมเลกุลของโลหะที่อยู่ภายในโมเซลล์ออกจากน้ำที่ปนเปื้อนด้วยเยื่อกรองขนาดเล็กที่มีรูกรองขนาดเล็กกว่าโมเลกุลของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอออนของโลหะและโมเซลล์ โดยชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่มีรายงานให้นำมาใช้ในการบำบัดแคดเมียมด้วยวิธีการดังกล่าว เช่น ไทรทอนเอ็กซ์-100 (Triton X-100) (Huang et al., 2014) การบำบัดแคดเมียมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารเคมีซ้ำซ้อนได้ในกรณีที่น่าวิธีการเหล่านี้ไปประยุกต์ใช้บำบัดบริเวณที่ปนเปื้อนจริงและขาดการจัดการที่ดีกับสารลดแรงตึงผิวที่ใช้และแคดเมียมที่ผ่านการบำบัดออกจากตัวกลางแล้ว

การใช้พืชน้ำในการกำจัดโลหะหนักในน้ำที่ปนเปื้อนโลหะหนักนั้นมีรายงานอย่างกว้างขวาง ตัวอย่างเช่น แหนเป็ดใหญ่ซึ่งเป็นพืชที่เจริญล่องลอยบนผิวน้ำ พบแพร่กระจายทั่วไปในแหล่งน้ำ มีรายงานว่าสามารถกำจัดแคดเมียมออกจากน้ำที่ปนเปื้อนได้ (Chaudhuri et al., 2014) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าพืชน้ำเช่น แหนแดง จอก ผักบุ้ง และ *Lemna minor* สามารถเจริญในน้ำที่ปนเปื้อน Cd 10 mg/l และสามารถสะสมแคดเมียมในเนื้อเยื่อได้ (Bunluesin et al., 2004) การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้พืชทนทานต่อโลหะหนักได้ดีขึ้น ตัวอย่างเช่น การให้ IAA สามารถเพิ่มชีวมวลของ *Bidens pilosa* ที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนตะกั่วได้ (Salazar et al., 2016) การเติมเอนโดไฟต์ที่คัดแยกได้จาก *Solanum nigrum* และสามารถสร้าง IAA ได้ ให้กับต้น *Solanum nigrum* ที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม พบว่าสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตและการสะสมแคดเมียมได้ (Chen et al., 2010) การศึกษานี้จึงได้ประเมินความเป็นพิษร่วมกันระหว่างแคดเมียมและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ได้แก่ ไทรทอนเอ็กซ์-100 อย่างไรก็ตามการนำแหนเป็ดใหญ่มาบำบัดบริเวณที่ปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียมและไทรทอนเอ็กซ์-100 อาจมีข้อจำกัดจากความเป็นพิษของสารทั้งสองชนิด โดยไทรทอนเอ็กซ์-100 มีรายงานว่าส่งผลให้น้ำหนักของแหนเป็ดใหญ่ลดลง (Somtrakoon & Chouychai, 2018) ส่วนแคดเมียมมีรายงานว่าส่งผลลดปริมาณคลอโรฟิลล์ น้ำหนักสด และปริมาณโปรตีนของแหนเป็ดใหญ่ (Seth et al., 2007; Chaudhuri et al., 2014) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของการใช้จุลินทรีย์กลุ่มสนับสนุนการเจริญของพืช *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ (คล้ายคลึงกับ *Paenibacillus polymyxa* 97% โดยใช้ข้อมูลจากลำดับเบสบน 16s rDNA) ที่มีความสามารถในการผลิต IAA กระตุ้นการเจริญของแหนเป็ดใหญ่ในสภาวะที่

ได้รับแคดเมียมร่วมกับสารลดแรงตึงผิว โดยเปรียบเทียบกับสารกระตุ้นด้วย NAA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตสังเคราะห์ในกลุ่มออกซินชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ทางการเกษตรและการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนโลหะหนัก เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียมและสารลดแรงตึงผิวต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เตรียมน้ำที่ปนเปื้อนร่วมกันระหว่างไทรทอนเอ็กซ์-100 และแคดเมียม
นำน้ำกลั่นปราศจากเชื้อมาทำให้ปนเปื้อนด้วยแคดเมียมโดยเติมสารละลายแคดเมียมไนเตรต $[Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O]$ (บริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Limited, New South Wales, Australia; ความบริสุทธิ์ 99%) เพื่อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของแคดเมียมไอออนในน้ำเท่ากับ 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร จากนั้นเติมไทรทอนเอ็กซ์-100 ลงสู่น้ำที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 เท่าของความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) ของไทรทอนเอ็กซ์-100 ปรับพีเอชของน้ำที่ปนเปื้อนให้มีค่าเท่ากับ 6.5-7.0 ด้วย NaOH 1 N จากนั้นแบ่งน้ำที่ปนเปื้อนลงสู่ภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงเห็ดใหญ่ภาชนะละ 50 มิลลิลิตร
2. เตรียมอาหารเหลวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียซึ่งมี IAA ผสมอยู่
เพาะเลี้ยงหัวเชื้อแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ เตรียมโดยเพาะเลี้ยงในอาหาร nutrient broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มเชื้อในเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบ/นาที ควบคุมอุณหภูมิเป็น 30 °C เป็นเวลา 24 ชม. เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซ็นตริฟิวจ์ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที แบ่งส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 2 มิลลิลิตร มาวิเคราะห์ปริมาณ IAA ตามวิธีการของ Ahmad et al. (2008) จากนั้นนำส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อไปกรองด้วยเยื่อกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร ก่อนนำไปใช้ในการทดลองในตอนต่อไป
3. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินต่อความเป็นพิษของแคดเมียมและไทรทอนเอ็กซ์-100 ต่อเห็ดใหญ่

การทดสอบผลของสารควบคุมการเจริญของพืชในกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA และน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ต่อการเจริญของเห็ดใหญ่ที่เพาะเลี้ยงในน้ำที่ปนเปื้อนแคดเมียมเพียงลำพังและน้ำที่ปนเปื้อนแคดเมียมร่วมกับไทรทอนเอ็กซ์-100 วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (6x3) ปัจจัย ปัจจัยแรกคือ

ระดับความเข้มข้นของไทรทอนเอ็กซ์-100 ร่วมกับแคดเมียมไอออน ($0X + Cd0$, $0.5X + Cd0$, $1.0X + Cd0$, $0X + Cd0.05$, $0.5X + Cd0.05$, $1.0X + Cd0.05$) ปัจจัยที่สองคือความเข้มข้นของ NAA ที่ความเข้มข้น 0, 1 และ 5 มิลลิกรัม/ลิตร เติมน้ำลงไปในวันเริ่มต้นของการทดลอง จากนั้นย้ายแหวนเปิดใหญ่ซึ่งเก็บจากแหล่งน้ำธรรมชาติและผ่านการอนุบาลในน้ำกลั่นมาแล้วเป็นเวลา 2 สัปดาห์มาเพาะเลี้ยงในน้ำที่ปนเปื้อนปริมาณร้อยละ 50 มิลลิลิตร ทำการทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ เมื่อเพาะเลี้ยงแหวนเปิดใหญ่ได้อายุ 7 วันให้เก็บแหวนเปิดใหญ่มาวិเคราะห์การเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของแหวนเปิดใหญ่ตามวิธีการของ Huang et al. (2004)

การทดสอบผลของสารควบคุมการเจริญของพืชในกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA และน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ต่อการเจริญของแหวนเปิดใหญ่ที่เพาะเลี้ยงในน้ำที่ปนเปื้อนแคดเมียมเพียงลำพังและน้ำที่ปนเปื้อนแคดเมียมร่วมกับไทรทอนเอ็กซ์-100 ทำเช่นเดียวกับการใช้ NAA เพียงแต่เปลี่ยนเป็นน้ำเลี้ยงเซลล์แบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ที่ปริมาณ 1 และ 2 มิลลิลิตร/ถ้วย

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์แสดงด้วยค่าเฉลี่ย \pm ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ด้วย Two – way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วยวิธี LSD's test

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ผลของ NAA ต่อความเป็นพิษของแคดเมียมและไทรทอนเอ็กซ์-100 ต่อแหวนเปิดใหญ่ การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญของพืชในกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญของพืชสังเคราะห์ ต่อการกระตุ้นการเจริญของแหวนเปิดใหญ่ที่เพาะเลี้ยงในน้ำที่ปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียม 0 และ 0.05 มิลลิกรัม/ลิตรและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ไทรทอนเอ็กซ์-100 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 เท่าของ CMC นั้น เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของแหวนเปิดใหญ่ที่สัมผัสกับแคดเมียมและไทรทอนเอ็กซ์-100 เท่ากัน แต่ได้รับ NAA ที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่า NAA ไม่สามารถกระตุ้นให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง หรือปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบแหวนเปิดใหญ่แตกต่างไปจากทรีทเมนต์ที่ไม่ได้รับ NAA ได้ (Figure 1A-B, Figure 2A-C)

ในขณะที่เมื่อพิจารณาจากสภาวะที่ได้รับ NAA เท่ากัน แต่สัมผัสกับแคดเมียมและ ไทรทอนเอ็กซ์-100 ต่างกัน พบว่า น้ำหนักสดของแห่นเป็ดใหญ่ลดลงเมื่อมีการปนเปื้อน ร่วมกับไทรทอนเอ็กซ์-100 ไม่ว่าจะมีความเข้มข้นหรือไม่ ในขณะที่น้ำหนักแห้งจะลดลงเมื่อมีการปนเปื้อนแคดเมียมหรือไทรทอนเอ็กซ์-100 อย่างใดอย่างหนึ่ง ยกเว้นเมื่อเติม NAA 5.0 mg/L น้ำหนักแห้งของแห่นเป็ดใหญ่ในแต่ละทริทเมนต์ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 1A)

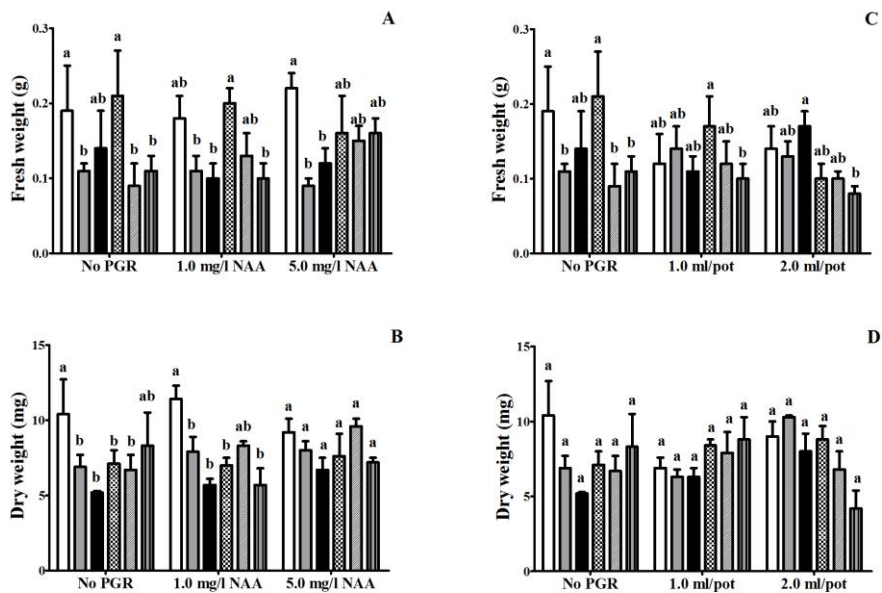


Figure 1. Fresh and dry weight of *Spirodela polyrhiza* expose to Triton X-100 and 0.05 mg/l Cd^{2+} co-contaminated water containing vary concentration of NAA (A-B) or culture filtrate of *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ (C-D). Symbol: □ No surfactant, ▒ 0.5 CMC Triton X-100, ■ 1.0 CMC Triton X-100, ▣ No surfactant + Cd, ▤ 0.5 CMC Triton X-100 + Cd, ▥ 1.0 CMC Triton X-100 + Cd, Values with different lowercase letter are statistically different between same PGR concentration ($P < 0.05$).

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของແຫນປີດໃຫຍ່ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อไม่มี NAA แต่การปนเปื้อนไทรทอนเอ็กซ์-100 อย่างเดียวทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดลดลง แต่เมื่อให้ NAA 1.0-5.0 mg/l แก่ແຫນປີດໃຫຍ່ ทริทเมนต์ที่มีแคดเมียมจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมากกว่าทริทเมนต์ที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม ยกเว้นปริมาณคลอโรฟิลล์บีของແຫນປີດໃຫຍ່ที่ได้รับ NAA 1.0 mg/l ที่ไม่มีความแตกต่างระหว่างทริทเมนต์ (Figure 2A-C)

2. ผลของ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ต่อความเป็นพิษของแคดเมียมและไทรทอนเอ็กซ์-100 ต่อແຫນປີດໃຫຍ່

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญของพืชในกลุ่มออกซิน ได้แก่ IAA ที่สังเคราะห์ขึ้นจากแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ต่อการกระตุ้นการเจริญของແຫນປີດໃຫຍ່ที่เพาะเลี้ยงในน้ำที่ปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียม 0 และ 0.05 มิลลิกรัม/ลิตรและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ไทรทอนเอ็กซ์-100 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 เท่าของ CMC นั้น เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของແຫນປີດໃຫຍ່ที่สัมผัสกับแคดเมียมและไทรทอนเอ็กซ์-100 เท่ากัน แต่ได้น้ำเลี้ยงเซลล์ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 1 ml/ถ้วย และ 2 ml/ถ้วย (มี IAA ประมาณ 9.0 และ 17.0 mg/l) พบว่า น้ำเลี้ยงเซลล์ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ไม่สามารถกระตุ้นให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง หรือปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบແຫນປີດໃຫຍ່แตกต่างไปจากทริทเมนต์ที่ไม่ได้น้ำเลี้ยงเซลล์ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ได้ (Figure 1C-D)

ในขณะที่เมื่อพิจารณาจากสภาวะที่ได้รับน้ำเลี้ยงเซลล์ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ เท่ากัน แต่สัมผัสกับแคดเมียมและไทรทอนเอ็กซ์-100 ต่างกัน พบว่า เมื่อไม่มีน้ำเลี้ยงเซลล์ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ การปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียมกับไทรทอนเอ็กซ์-100 ทำให้น้ำหนักสดของແຫນປີດໃຫຍ่งลดลง แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักแห้งและปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ (Figure 2D-E) เมื่อมีน้ำเลี้ยงเซลล์ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ น้ำหนักแห้งของແຫນປີດໃຫຍ່ไม่มีความแตกต่างกัน ในขณะที่น้ำหนักสดนั้น พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเป็นบางครั้ง คือ เมื่อมีน้ำเลี้ยง 1 ml/ถ้วย (มี IAA ประมาณ 9.0 mg/l) เฉพาะการปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียมกับไทรทอนเอ็กซ์-100 1.0 CMC ทำให้น้ำหนักสดของແຫນປີດໃຫຍ่น้อยกว่าทริทเมนต์ที่ปนเปื้อนแต่แคดเมียมอย่างเดียว ในขณะที่เมื่อมีน้ำเลี้ยงเซลล์ 2 ml/ถ้วย

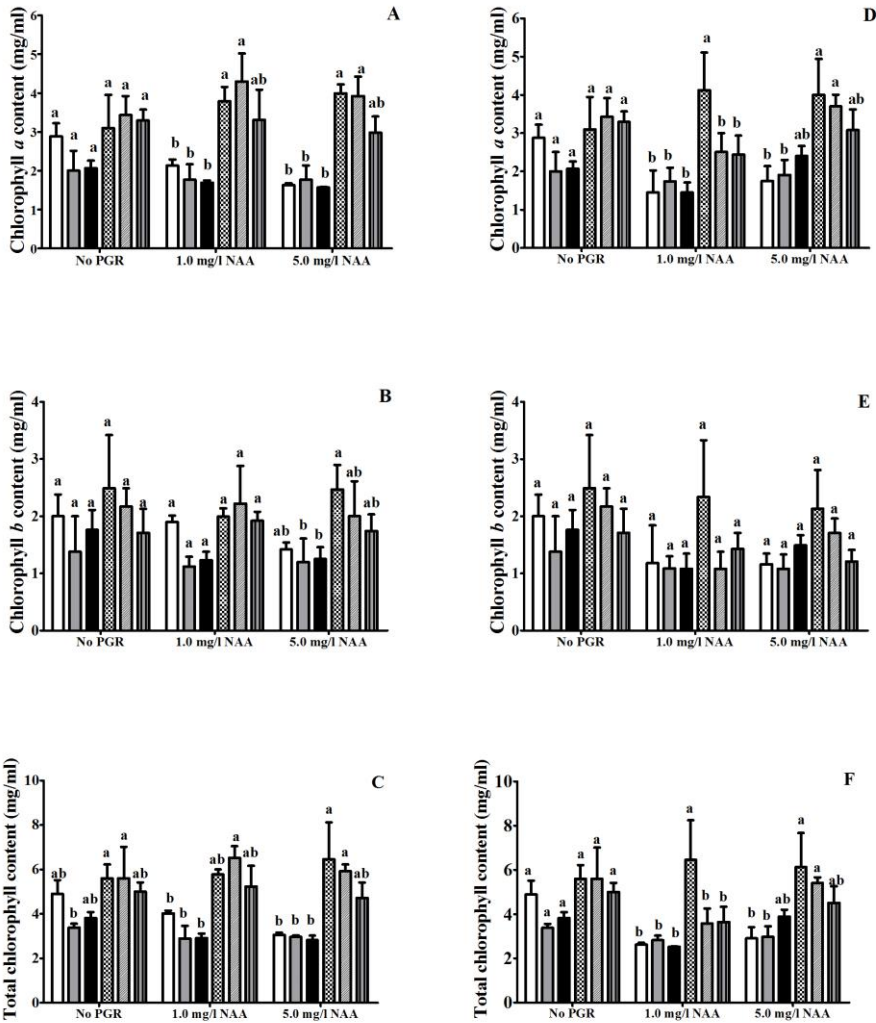


Figure 2. Chlorophyll content of *Spirodela polyrhiza* expose to Triton X-100 and 0.05 mg/l Cd^{2+} co-contaminated water containing vary concentration of NAA (A-C) or culture filtrate of *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ (D-F). Symbol: □ No surfactant, ▒ 0.5 CMC Triton X-100, ■ 1.0 CMC Triton X-100, ▨ No surfactant + Cd, ▩ 0.5 CMC Triton X-100 + Cd, ▪ 1.0 CMC Triton X-100 + Cd, Values with different lowercase letter are statistically different between same PGR concentration ($P < 0.05$).

(มี IAA ประมาณ 17.0 mg/l) เฉพาะการปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียมกับไทรทอน เอ็กซ์-100 1.0 CMC ทำให้น้ำหนักสดของแหวนเปิดใหญ่น้อยกว่าทริทเมนต์ที่ปนเปื้อนแต่ไทรทอนเอ็กซ์-100 1.0 CMC อย่างเดียว นอกจากนี้ ในสถานะที่เติมน้ำเลี้ยงเซลล์ การปนเปื้อนแคดเมียมไม่ว่าจะโดยลำพังหรือร่วมกับไทรทอนเอ็กซ์-100 ทำให้คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์ทั้งหมดสูงกว่าทริทเมนต์ที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม (Figure 2D-E)

แหวนเปิดใหญ่เป็นพืชที่มีรายงานว่าสามารถสะสมแคดเมียมได้ แต่ความเป็นพิษของแคดเมียมต่อแหวนเปิดใหญ่คือทำให้ระดับคลอโรฟิลล์ลดลง โดยเฉพาะคลอโรฟิลล์เอ ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมลาร์หรือ 0.28 mg/l ในขณะที่คลอโรฟิลล์บีลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมลาร์หรือ 0.56 mg/l (Su et al., 2017) นอกจากนี้ แคดเมียมที่ความเข้มข้น 0.05 – 20 mg/l ส่งผลต่อโปรตีนที่ละลายน้ำได้ รงควัสดุ และกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระใน *Lemna minor* (Hou et al., 2007) แต่ในการทดลองนี้ ไม่พบความเป็นพิษของแคดเมียม 0.05 mg/l ต่อการเจริญของแหวนเปิดใหญ่อย่างชัดเจน โดยเฉพาะต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ ซึ่งเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นของแคดเมียมที่ใช้ในการทดลองนี้อยู่ในระดับที่แหวนเปิดใหญ่ยังทนทานได้ ในขณะที่ไทรทอนเอ็กซ์-100 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ แสดงความเป็นพิษที่ชัดเจนต่อน้ำหนักสดของแหวนเปิดใหญ่เท่านั้น ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับความเป็นพิษร่วมกันของไทรทอนเอ็กซ์ 100 กับโซเดียมอิตีที่เอต่อแหวนเปิดใหญ่ ซึ่งไทรทอนเอ็กซ์ 100 ไม่มีผลต่อระดับคลอโรฟิลล์แต่มีผลต่อน้ำหนักของแหวนเปิดใหญ่เท่านั้น (Somtrakoon & Chouychai, 2018)

การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินนั้นมีรายงานว่าการเติม NAA 0.05 ไมโครโมลาร์แก่ *Arabidopsis thaliana* ที่เจริญในสารละลายธาตุอาหารที่มีแคดเมียมสามารถลดความเป็นพิษของแคดเมียมต่อพืชได้ โดยเพิ่มการยึดเกาะระหว่างไอออนของแคดเมียมกับผนังเซลล์ (Zhu et al., 2013) ในขณะที่การให้ IAA 100 ไมโครโมลาร์ช่วยลดความเป็นพิษของทองแดงต่อการเจริญเติบโตของทานตะวันได้ (Ouzounidou & Ilias, 2005) แต่ในการทดลองนี้ การใช้ออกซินทั้งในรูปของ NAA ซึ่งเป็นออกซินสังเคราะห์ และ IAA ที่สังเคราะห์โดยแบคทีเรีย ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหวนเปิดใหญ่ในน้ำที่มีการปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียมกับไทรทอนเอ็กซ์-100 ได้ ซึ่งอาจเป็นเพราะความเข้มข้นของ NAA ไม่เหมาะสม รวมทั้งการใช้ในรูปน้ำเลี้ยงเซลล์ไม่เหมาะสมกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหวนเปิดใหญ่ เนื่องจากหากใช้ในปริมาณที่มากกว่า 2 ml/pot จะทำให้เกิด

การเน่าเสีย ซึ่งการเน่าเสียของน้ำนี้ไม่พบเมื่อเติม *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ในรูปของหัวเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85% และยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของจอกหูหนูในน้ำที่ปนเปื้อนโซเดียมคลอไรด์ได้ (Chouychai et al., 2020) ซึ่งความแตกต่างนี้คาดว่า เป็นผลมาจากอาหารสูตร Nutrient Broth ที่ใช้ในการเลี้ยง *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ และนำน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ได้มาใช้ในการทดลองต่อทันที ดังนั้น การเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างออกซินได้และทนทานต่อแคดเมียมจึงอาจเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจกว่า

สรุปผลการวิจัย

การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินในรูปของน้ำเลี้ยงเชื้อของ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ซึ่งผลิต IAA ได้ หรือการใช้ออกซินสังเคราะห์ในรูป NAA ไม่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแหวนเปิดใหญ่ในน้ำที่ปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแคดเมียมกับไทรทอนเอ็กซ์-100 ได้ จึงควรทดสอบผลของออกซินสังเคราะห์ชนิดอื่น หรือการใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ทนต่อแคดเมียมและสร้างออกซินได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคามสำหรับงบประมาณสนับสนุนการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M. S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*, 163, 178-181.
- Bunluesin, S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Lanza, G. R., Upatham, E. S., & Soonthornsarathool, V. (2004). Plant screening and comparison of *Ceratophyllum demersum* and *Hydrilla verticillata* for cadmium accumulation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 73, 591-598

- Chaudhuri, D., Majumder, A., Misra, A.K., & Bandyopadhyay, K. (2014). Cadmium removal by *Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza*. *International Journal of Phytoremediation*, 16(7-12), 1119-11132.
- Chen, L., Luo, S., Xiao, X., Guo, H., Chen, J., Wan, Y., Li, B., Xua, T., Xi, Q., Rao, C., Liu, C., & Zeng, G. 2010. Application of plant growth-promoting endophytes (PGPE) isolated from *Solanum nigrum* L. for phytoextraction of Cd-polluted soils. *Applied Soil Ecology*, 46, 383-389.
- Chouychai, W., Saengdee, A., & Somtrakoon, K. (2020). Effect of plant growth promoting bacteria on growth of *Salvinia calcollata* and *Spirodela polyrhiza* in sodium chloride-contaminated water *Phranakhon Rajabhat Research Journal (Science and Technology)*, 15(1), 56 – 68.
- Clemens, S. (2006.) Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 88, 1707-1719.
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q., & Chang, C. C. (2007). Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 62-69.
- Huang, X. D., El-Alawi, Y., Penrose, D. M., Glick, B. R., & Greenberg, B. M. (2004). Responses of three grass species to creosote during phytoremediation. *Environmental Pollution*, 130, 453-463.
- Huang J., Peng, L., Zeng, G., Li, X., Zhao, Y., Liu, L., Li, F., & Chai, Q. (2014). Evaluation of micellar enhanced ultrafiltration for removing methylene blue and cadmium ion simultaneously with mixed surfactants. *Separation and Purification Technology*, 125, 83-89.
- Khan, A., Khan, S. Khan, M. A., Qamar, Z., & Waqas, M. (2015). The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18), 13772-13799.

- Khan, M. A., Khan, S., Khan, A., & Alam, M. (2017). Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Science of the Total Environment*, 601-602, 1591-1605.
- Kosolsaksakul, P., Farmer, J. G., Oliver, I. W., & Graham, M. C. (2014). Geochemical associations and availability of cadmium (Cd) in a paddy field system, northwestern Thailand. *Environmental Pollution*, 187, 153-161.
- Ouzounidou, G., & Ilias, I. (2005). Hormone-induced protection of sunflower photosynthetic apparatus against copper toxicity. *Biologia Plantarum*, 49(2), 223-228.
- Perera, P. A. C. T., Sundarabarathy, T. V., Sivananthawerl, T., Kodithuwakku, S. P., & Edirisinghe, U. (2016). Arsenic and cadmium contamination in water, sediments and fish is a consequence of paddy cultivation: Evidence of river pollution in Sri Lanka. *Achieve Life Science*, 10, 144-160.
- Salazar, M. J., Rodriguez, J. H., Cid, C. V., & Pignata, M. L. (2016). Auxin effects on Pb phytoextraction from polluted soils by *Tegetes minuta* L. and *Bidens pilosa* L.: Extractive power of their root exudates. *Journal of Hazardous Materials*, 311, 63-69.
- Seth, C. S., Chaturvedi, P. K. & Misra, V. (2007). Toxic effect of arsenate and cadmium alone and in combination on giant duckweed (*Spirodela polyrrhiza* L.) in response to its accumulation. *Environmental Toxicology*, 22(6), 539- 549.
- Simmons, R. W., Pongsakul, P., Saiyasitpanich, D., & Klinhoklap, S. (2005). Elevated levels of cadmium and zinc in paddy soils and elevated levels of cadmium in rice downstream of a zinc mineralized area in Thailand: implication for public health. *Environmental Geochemistry and Health*, 27, 501-511.
- Somtrakoon, K. & Chouychai, W. (2018). Co-phytotoxicity of ethylenediaminetetraacetic acid and synthetic surfactants on *Spirodela polyrrhiza* and *Lemna perpusilla*. *RMUTP Research Journal*, 12(2), 10-24.

- Su, C., Jiang, Y., Li, F., Yang, Y., Lu, Q., Zhang, T., Hu, D., & Xu, Q. (2017). Investigation of subcellular distribution, physiological, and biochemical changes in *Spirodela polyrhiza* as a function of cadmium exposure. *Environmental and Experimental Botany*, 142, 24-33.
- Zhu, X. F., Wang, Z. W., Dong, F., Lei, G. J., Shi, Y. Z., Li, G. X. & Zheng, S. J. (2013). Exogenous auxin alleviates cadmium toxicity in *Arabidopsis thaliana* by stimulating synthesis of hemicellulose 1 and increasing the cadmium fixation capacity of root cell walls. *Journal of Hazardous Materials*, 263, 398-403.