



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

วิทยาศาสตรและเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม

วิทยาศาสตร

สาขา

สายวิชา

เรื่อง การสะสมตะกั่วในข้าวโพดและคัดเลือกแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของตะกั่ว
บริเวณบ้านคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี

The Accumulation of Lead in Maize (*Zea May L.*) and Selection of Bacteria in
Lead Contaminated Field at Klity Village, Kanchanaburi Province

นามผู้วิจัย นางสาวฐิตาภา แก้วศรีงาม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ธนวรรณ พาณิชพัฒน์, ปร.ค.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์จินตนาถ วงศ์ชาลิต, Ph.D.)

รักษาราชการแทนหัวหน้าสายวิชา

(อาจารย์ย่อนามย์ คำเนตร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การสะสมตะกั่วในข้าวโพดและคัดเลือกแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อน
ของตะกั่วบริเวณบ้านคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี

The Accumulation of Lead in Maize (*Zea May L.*) and Selection of Bacteria in
Lead Contaminated Field at Klity Village, Kanchanaburi Province

โดย

นางสาวจิตาภา แก้วศรีงาม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม)

พ.ศ. 2557

จิตาภา แก้วศรีงาม 2557: การสะสมตะกั่วในข้าวโพดและคัดเลือกแบคทีเรียที่พบใน
พื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของตะกั่ว บริเวณบ้านคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี ปรินญาวิทยาศาสตร์
มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม) สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สิ่งแวดล้อม สายวิชาวิทยาศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์
ธนวรรณ พานิชพัฒน์, ปร.ด. 105 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสะสมตะกั่วในข้าวโพดและชนิดของแบคทีเรีย
บริเวณรอบรากข้าวโพดในพื้นที่เพาะปลูกที่ปนเปื้อนตะกั่ว การศึกษาการสะสมตะกั่วในข้าวโพด
ถูกศึกษาในโรงเรือนทดลองที่ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนทดลอง สังกัดสถาบันวิจัยและพัฒนา
กำแพงแสน และแปลงทดลองบริเวณบ้านคลิตี้ ตำบลชะแล อำเภอดงพญาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี
ผลการศึกษาพบว่า การทดลองในโรงเรือนทดลองสอดคล้องกับการทดลองในแปลงทดลอง ความ
เข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดเพิ่มขึ้นเมื่ออายุข้าวโพดเพิ่มขึ้น คือ $120 > 70 > 40$ วัน โดยความเข้มข้น
ตะกั่วสูงสุดในราก 120 วัน มีค่าเท่ากับ 172.031 และ 110.665 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของข้าวโพดที่
ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ตามลำดับ ความเข้มข้นตะกั่วต่ำสุดพบในฝักและเมล็ด
ที่อายุ 70 วัน มีค่าเท่ากับ 2.136 และ 1.242 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือน
ทดลองและแปลงทดลอง ตามลำดับ อย่างไรก็ตามความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกใน
โรงเรือนทดลองจะสูงกว่าข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง นอกจากนี้ ข้าวโพดในงานวิจัยนี้ไม่
เหมาะกับการนำมาใช้เป็นพืชบำบัด เนื่องจากค่า Bioconcentration factor (BCF) และ
Translocation factor (TF) มีค่าต่ำกว่า 1 ลักษณะทางกายภาพของข้าวโพด ได้แก่ ความสูงของลำ
ต้น ความยาวราก ค่าความชื้น และน้ำหนักแห้ง พบว่าไม่แตกต่างกันทั้งข้าวโพดที่ปลูกในดิน
ปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนและแปลงทดลองเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานปริมาณการตกค้างสูงสุด
ของสหภาพยุโรปของตะกั่วในธัญพืช พบว่าฝักและเมล็ดข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง ที่อายุ
120 วัน มีค่าสูงเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ ซึ่งไม่ปลอดภัยสำหรับการบริโภคในงานวิจัยนี้
แต่ไม่เกินค่ามาตรฐานสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์ ได้ทำการแยกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ทนทานตะกั่ว
บริเวณรอบรากข้าวโพด สามารถจำแนกได้ 4 สายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ทนความเข้มข้นตะกั่ว
สูงกว่า 3,600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม คือ *Bacillus* sp. B26 (2012), *Pseudomonas* sp. S169,
Pseudomonas putida strain RW10S2 และ *Bacillus subtilis* strain SM10

Thitapa Kaewsringam 2014: The Accumulation of Lead in Maize (*Zea May L.*) and Selection of Bacteria in Lead Contaminated Field at Klity Village, Kanchanaburi Province. Master of Science (Environmental Science and Technology), Major Field: Environmental Science and Technology, Division of Science. Thesis Advisor: Associate Professor Thanawan Panich-pat, Ph.D. 105 pages.

The propose of this research was to study lead accumulation in maize and rhizobacteria types of maize grown in lead contaminated area. Lead accumulation in maize was studied in pot and field experiment at Klity village, Kanchanaburi provide. The result of pot experiment was accorded with field experiment. The lead concentration in maize increased when increasing age on 120 > 70 > 40 days. The highest lead concentration of maize was reported in roots on day 120 (172.031 and 110.665 mg kg⁻¹ of pot and field experiments, respectively). The lowest lead concentration was reported in grains on day 70 (2.136 and 1.242 mg kg⁻¹ of pot and field experiments, respectively). However, lead concentrations in pot experiment were higher than those of field experiment. In addition, maize in this research should not be used for phytoremediation due to the low BCF and TF < 1. Shoot height, root length, moisture content and dry weight were shown not significant of different between pot and field experiment. The European Union Standard of lead in cereals founded that lead concentration in grains on day 120 of field experiment exceeded the European Union Standard for cereals that might not be safe for consumption but did not exceed the standard as animal feed. This research classified 4 species of bacteria which could tolerant endurance on lead concentration more than 3,600 mg kg⁻¹ such as *Bacillus* sp. B26 (2012), *Pseudomonas* sp. S169, *Pseudomonas putida* strain RW10S2 and *Bacillus subtilis* strain SM10

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชนวรรณ พาณิชพัฒน์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ อาจารย์ ดร.จินตนาถ วงศ์สวัสดิ์ ที่ให้คำปรึกษาในการเรียน การค้นคว้าวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ประภา โഴ๊ะสลาม ที่ให้คำปรึกษาการสะสมตะกั่วในพืช

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอนและมอบความรู้อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการทางเคมี หน่วยวิเคราะห์ วิจัย ดิน พืช และวัสดุเกษตร ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนากำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่าง ๆ และขอขอบคุณ พี่ เพื่อน และน้องนิสิตปริญญาโทสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม และนิสิตปริญญาเอก สาขาวิทยาศาสตร์ชีวผลิตภัณฑ์ ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณผู้ใหญ่บ้านนิติพล ตันติวานิช และคุณลุงธงชัย ส่องสว่าง ที่ช่วยเหลือในพื้นที่แปลงทดลอง บริเวณบ้านคลิ ต.ชะแล อ.ทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ขอขอบคุณนางสาวพัชรากา กล้าหาญ และนายฐาปนกรณ์ คำหอมกุล ที่ให้คำปรึกษา การเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ตัวอย่าง และคอยช่วยเหลือให้คำแนะนำ

ด้วยความดีหรือประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแต่ครอบครัวที่ได้อบรมและให้กำลังใจผู้วิจัยมาตลอดในทุกเรื่อง

จิตาภา แก้วศรีงาม

กรกฎาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	27
อุปกรณ์	27
วิธีการ	31
ผลและวิจารณ์ผล	46
ผล	46
วิจารณ์	74
สรุปและข้อเสนอแนะ	85
สรุป	85
ข้อเสนอแนะ	87
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	88
ภาคผนวก	102
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	105

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาณตะกั่วในดินของบ้านคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี	6
2 การกระจายตัวของจุลินทรีย์ในดินที่ระดับความลึกต่างๆ	22
3 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของดินควบคุม และดินปนเปื้อนตะกั่ว ในโรงเรือนทดลอง	47
4 ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูก ในโรงเรือนทดลอง	49
5 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของดินปนเปื้อนตะกั่ว ในแปลงทดลอง	51
6 ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูก ในโรงเรือนทดลอง	52
7 ความสูงของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง (เซนติเมตร)	56
8 ความยาวรากของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง (เซนติเมตร)	57
9 ค่าความชื้นของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง	58
10 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง	59
11 ค่าเฉลี่ยปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในฝักและเมล็ดข้าวโพดที่ปลูก ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง	63
12 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lead aceate agar ที่มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่ว 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	66
13 ค่าความเหมือนของแบคทีเรียที่จำแนกได้แต่ละไอโซเลทกับแบคทีเรีย ในฐานข้อมูล NCBIโดยใช้โปรแกรม BLAST เปรียบเทียบลำดับเบส บริเวณ 16S rDNA	72

สารบัญตาราง (ต่อ)

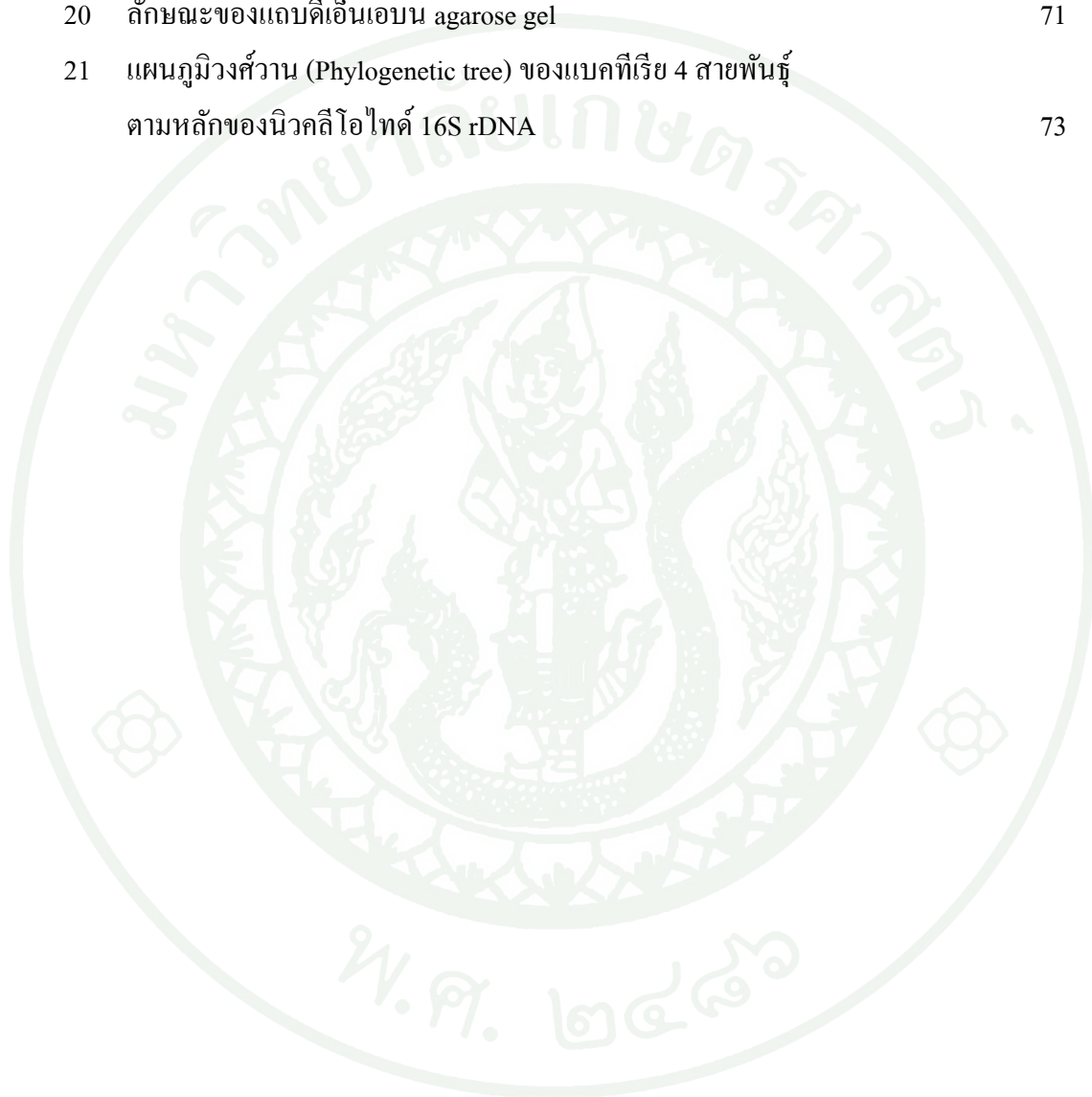
ตารางผนวกที่	หน้า
1 ค่า Bioconcentration factor, Translocation factor และ Uptake by plant ของข้าวโพด	103
2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar	103
3 มาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม	104
4 ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูก	104

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 จุดเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอนดินของกรมควบคุมมลพิษ	7
2 ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อความแตกต่างของจุลินทรีย์บริเวณราก	20
3 บริเวณพื้นที่ปลูกข้าวโพดที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างดินปนเปื้อนตะกั่ว	31
4 การเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกใน ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง	53
5 ความสูงของต้นของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง	56
6 ความยาวรากของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง	57
7 ค่าความชื้นของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง	58
8 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว ค่าความชื้นของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว	59
9 ค่า Bioconcentration factor ของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง	61
10 ค่า Translocation factor ของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง	61
11 ค่า Uptake by plant ของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง	62
12 ลักษณะพื้นที่แปลงข้าวโพดที่ศึกษา บริเวณบ้านคิลีตี อ.ทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี	64
13 ตัวอย่างจุดเก็บตัวอย่าง MKT1	65
14 การขุดดินเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์บริเวณรอบรากอ่อนของข้าวโพด	65
15 ตัวอย่างการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากอ่อนข้าวโพด โดยหลอดเก็บตัวอย่าง (facon tube)	65
16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท MKT 3 2.2 E	69
17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท MKT 4 2.1 G	69
18 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท MKT 5 1.1 D	70
19 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท MKT 5 2.1 A	70

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
20	ลักษณะของแถบดีเอ็นเอบน agarose gel
21	แผนภูมิมิวงศ์วาน (Phylogenetic tree) ของแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ ตามหลักของนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA



การสะสมตะกั่วในข้าวโพดและคัดเลือกแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของ
ตะกั่วบริเวณบ้านคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี

The Accumulation of Lead in Maize (*Zea May L.*) and Selection of Bacteria in
Lead Contaminated Field at Klity Village, Kanchanaburi Province

คำนำ

ตะกั่วเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ แต่กระบวนการขุดและแต่งแร่ตะกั่วเพื่อที่จะนำมาใช้ประโยชน์นั้น ส่วนใหญ่จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมโดยมาจากสาเหตุความตั้งใจและไม่ตั้งใจที่ทำให้เกิดการรั่วไหลของตะกั่วจากผู้ประกอบการ การขาดความรับผิดชอบของผู้ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตทั้งภาครัฐและเอกชน และระบบการจัดการทางด้านสิ่งแวดล้อมยังไม่เหมาะสม ซึ่งส่งผลให้ตะกั่วเหล่านี้เกิดการสะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมและก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตต่อไป

ตะกั่วเป็นโลหะหนักที่เป็นพิษส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของประชาชนที่อยู่บริเวณใกล้เคียง เนื่องจากตะกั่วสามารถสะสมอยู่ในอาหารที่ใช้ในการบริโภค หากตะกั่วมีการปนเปื้อนอยู่ในดินจะสามารถเข้าไปสะสมอยู่ในพืชผักที่ขึ้นอยู่บริเวณนั้นได้ และหากมีการปนเปื้อนอยู่ในน้ำจะเข้าไปสะสมในสัตว์น้ำ เป็นต้น หากนำอาหารที่มีการปนเปื้อนตะกั่วเหล่านี้มาบริโภคก็จะทำให้เกิดการเจ็บป่วย เมื่อตะกั่วเข้าสู่ร่างกายมนุษย์อาการเจ็บป่วยที่เกิดจากพิษของตะกั่วประกอบไปด้วยความเป็นพิษต่อระบบโลหิตซึ่งทำให้เกิดอาการโลหิตจาง มีพิษต่อระบบประสาททำให้เกิดอาการสมองบวม เซลล์ประสาทตาย และโรคทางสมองอื่น ๆ การควบคุมการเคลื่อนไหวผิดปกติ และมีผลทำให้ไตพิการหรือการทำงานผิดปกติได้ เป็นต้น

เหตุการณ์เกี่ยวกับการปนเปื้อนตะกั่วในสิ่งแวดล้อมที่สำคัญของประเทศไทย คือ ในพื้นที่บ้านคลิตี้ (ทุ่งเสือโทน) อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี โรงแต่งแร่ตะกั่วของบริษัทตะกั่วคอนเซนเตรทส์ (ประเทศไทย) จำกัด ดำเนินกิจการเหมืองแร่ตะกั่ว โดยบ่อแต่งแร่ตะกั่วเกิดการรั่วไหลเข้าสู่แหล่งน้ำในปี พ.ศ. 2541 และปนเปื้อนอยู่ในดินปริมาณมาก ตะกั่วเหล่านี้ก่อให้เกิดผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพอนามัยของประชาชนที่อาศัยอยู่ในบริเวณนั้น ยังพบว่าในพื้นที่ที่มี

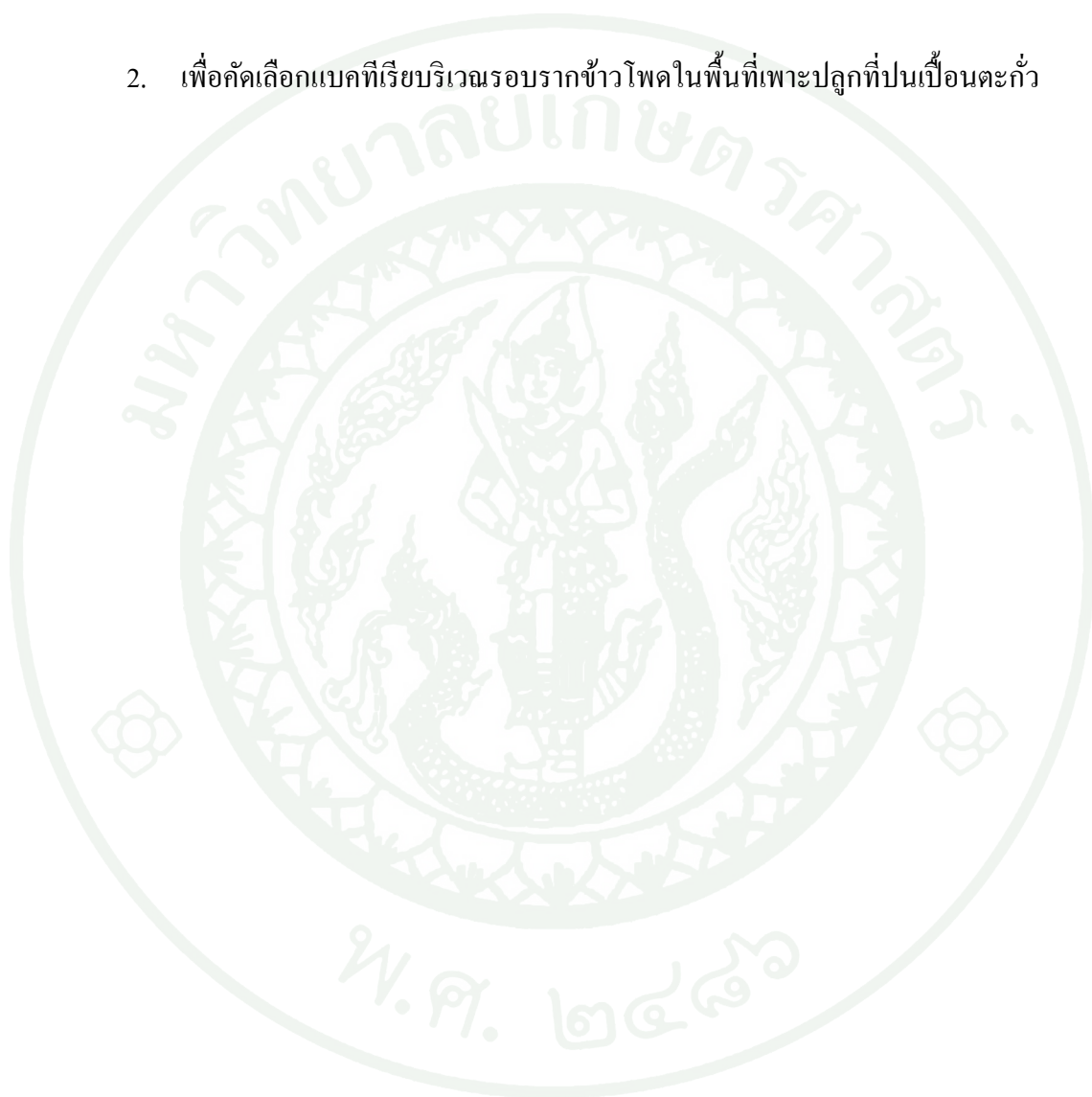
การปนเปื้อนตะกั่วได้มีการทำการเกษตรกรรมโดยมีการปลูกพืชเศรษฐกิจหลายประเภท โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวโพด โดยข้าวโพดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตข้าวโพดใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ของประเทศ และมีความต้องการเพิ่มขึ้นทุกปี มีงานวิจัยหลายงานวิจัยระบุว่าข้าวโพดที่เจริญเติบโตอยู่ในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนตะกั่วจะสามารถดูดดึงตะกั่วที่ปนเปื้อนในดินขึ้นมาสะสมยังส่วนต่างๆของต้นข้าวโพดได้

นอกจากนี้จุลินทรีย์ในดินยังมีความสามารถในการปรับสภาพคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีของดินให้เหมาะสมต่อการเพาะปลูก โดยจุลินทรีย์ในดินใช้สารที่พืชผลิตและขับออกจากราก (root exudate) อันประกอบไปด้วยสารอินทรีย์หลายชนิดเช่น กรดอะมิโน (amino acid) น้ำตาล (sugar) เอนไซม์ (enzyme) วิตามิน (vitamin) กรดอินทรีย์ (organic acid) และฮอร์โมนพืช (plant hormone) เป็นต้น เพื่อการเจริญเติบโต และใช้เพื่อเป็นสารตั้งต้นในการผลิต และสร้างสารอินทรีย์ต่างๆ และปลดปล่อยออกสู่นอกเซลล์ (extracellular substance) เช่น โพลีแซคคาไรด์ สารต่างๆ เหล่านี้ นอกจากจะช่วยปรับคุณสมบัติกายภาพของดินแล้ว ยังมีส่วนทำให้จุลินทรีย์เหล่านั้นสามารถทนอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมของดินได้ เช่น สภาวะดินเค็ม สภาวะดินแห้งจัด หรือ สภาวะการปนเปื้อนโลหะหนัก จุลินทรีย์เหล่านี้มีกลไกในการทนพิษ และกำจัดพิษของโลหะหนักต่างๆได้

จากสาเหตุดังกล่าวข้างต้น งานวิจัยนี้จึงศึกษาการสะสมตะกั่วในส่วนที่อยู่ใต้ดินและต้น ในช่วงการเจริญเติบโตที่ต่างกันของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง บริเวณพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการปนเปื้อนตะกั่วบริเวณบ้านคลิตี้ (ทุ่งเสือโตน) อำเภอดงพญาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี และศึกษาชนิดของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากของต้นข้าวโพดในพื้นที่ปนเปื้อนตะกั่ว ไปคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการทนพิษตะกั่วได้ และในอนาคตสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการบำบัดโลหะหนักด้วยจุลินทรีย์ (Microbial remediation) ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วที่สะสมในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง และแปลงทดลองที่ระยะการเจริญเติบโตแตกต่างกัน
2. เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียบริเวณรอบรากข้าวโพดในพื้นที่เพาะปลูกที่ปนเปื้อนตะกั่ว



การตรวจเอกสาร

สภาพทั่วไปของพื้นที่ที่ใช้ศึกษา

พื้นที่ปนเปื้อนตะกั่วที่ใช้ในการศึกษา ได้เลือกพื้นที่บ้านคลิตี้ (ทุ่งเสือโตน) ตำบลชะแล อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดกาฬสินธุ์ เนื่องจากปี 2510 มีการตั้งโรงแต่งแร่ตะกั่วคลิตี้ของบริษัทตะกั่วคอนเซนเตรทส์ (ประเทศไทย) จำกัด ดำเนินกิจการเหมืองแร่ตะกั่วบริเวณบ่องาม ในเขตป่าสงวนแห่งชาติป่าน้ำโจน บ้านคลิตี้บน ตำบลชะแล อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดกาฬสินธุ์ หรือเรียกว่า “เหมืองคลิตี้” และโรงแต่งแร่คลิตี้นั้น สร้างขึ้นที่บ้านคลิตี้บน เพื่อทำการแต่งแร่ตะกั่วชนิดคาร์บอนेटโดยวิธีลอยแร่ ผลิตเป็นหัวแร่ตะกั่วที่มีความเข้มข้นร้อยละ 65 ขึ้นไป ก่อนที่จะส่งจำหน่ายยังต่างประเทศ และลักลอบปล่อยน้ำเสียปนเปื้อนตะกั่วความเข้มข้นสูงลงลำห้วย ส่งผลกระทบต่อธรรมชาติ คุณภาพชีวิต และสุขภาพของชาวบ้าน โดยเฉพาะชาวคลิตี้ล่างได้ดำรงชีวิตอยู่ด้วยการเลี้ยงสัตว์และทำการเกษตรแบบพอเพียงยังชีพด้วยการปลูกข้าวไร่ พริก แตงไทย แตงเปรี้ยว ผักกาดเขียว ผักชีหอม และข้าวโพด ฯลฯ นอกจากนี้ยังพึ่งพาแหล่งอาหารจากธรรมชาติด้วยการจับสัตว์น้ำในลำห้วยคลิตี้ ซึ่งมีต้นน้ำอยู่ในบริเวณป่าทุ่งใหญ่นเรศวร โดยลำห้วยสายนี้ผ่านโรงแต่งแร่ตะกั่ว บริเวณท้ายหมู่บ้านคลิตี้บน ห่างจากนั้นประมาณ 10 กิโลเมตรจึงไหลผ่านหมู่บ้านคลิตี้ล่าง โดยลำห้วยสายนี้คนในหมู่บ้านทุกชีวิตสามารถเข้าถึงแหล่งน้ำได้โดยสะดวก ทั้งการดื่มกิน นำมาประกอบอาหาร อาบน้ำ ล้างจาน ซักผ้า รวมทั้งเป็นแหล่งอาหารสำคัญที่ชาวบ้านสามารถหากุ้ง หอย ปู ปลาอีกด้วย ซึ่งการปนเปื้อนสารตะกั่วในน้ำและตะกอนท้องน้ำบริเวณใต้โรงแต่งแร่สูงตลอดทั้งลำห้วยรวมระยะทางประมาณ 19 กิโลเมตร (เกื้อเมธา, 2550)

ต่อมาในปี 2542 บริษัทตะกั่วคอนเซนเตรทส์ (ประเทศไทย) จำกัด ได้ดำเนินการขุดลอกตะกอนดินริมฝั่งลำห้วยคลิตี้ ช่วง 2.5 กิโลเมตรแรกจากจุดเริ่มต้นของการปนเปื้อน ประมาณ 3,753 ตัน จำแนกเป็นพื้นที่ฝั่งซ้ายของลำห้วยประมาณ 1,136 ตัน ฝั่งขวาของลำห้วยประมาณ 2,617 ตัน ซึ่งได้มีการจัดการ 2 วิธี ได้แก่ 1) ขนกลับมาฝังกลบยังบ่อเก็บกักตะกอน (tailing pond) ภายในพื้นที่โรงแต่งแร่ จำนวน 2,495 ตัน และ 2) ฝังกลบในหลุมฝัง กลบบริเวณ ฝั่งซ้ายและฝั่งขวาของลำห้วยคลิตี้ จำนวน 1,258 ตัน จากการตรวจสอบเมื่อเดือนธันวาคม 2543 พบว่า การดำเนินการฝังกลบไม่ปฏิบัติตามหลักวิชาการและพบการกักเซาะของน้ำฝนอยู่ทั่วไป ซึ่งในขณะนั้น บริษัท ตะกั่ว คอนเซนเตรทส์ (ประเทศไทย) จำกัด ได้ดำเนินการแก้ไขปัญหานี้โดยการขุดร่องน้ำเบี่ยงเบนทิศทางการไหลของน้ำฝน เพื่อลดปัญหาการกักเซาะและปลูกพืชคลุมดินไว้เพื่อป้องกันการชะของหน้าดิน

และในปี 2547 บริษัท ตะกั่ว คอนเซนเตรตส์ฯ ได้ดำเนินการถมบ่อเก็บกักตะกอน 2 บ่อ และบ่อเก็บกักน้ำใส 1 บ่อ ขนาดพื้นที่รวม 15.4 ไร่ และฟื้นฟูพื้นที่โดยการปลูกต้นยูคาลิปตัส สำหรับบ่อเก็บกักตะกอนอีก 1 บ่อ ขนาดพื้นที่ 13.6 ไร่ บริษัทฯ ได้ทำการถมปิดทับหน้าดินในบ่อและปล่อยให้น้ำท่วมขัง (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ, 2553)

กรมควบคุมมลพิษได้ติดตามตรวจสอบคุณภาพสิ่งแวดล้อมห้วยคลิตี้มาอย่างต่อเนื่อง พบว่าปริมาณตะกั่วในตะกอนดินท้องน้ำ บริเวณใต้โรงแต่งแร่คลิตี้ 2.5 กิโลเมตร (จุดเก็บตัวอย่าง KC3) หลังการขุดลอกห้วยคลิตี้เมื่อปี 2543 มีค่าประมาณ 45,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2546 เป็นต้นมา ปริมาณตะกั่วในตะกอนดินท้องน้ำบริเวณ KC3 มีค่าสูงขึ้นมาก ตรวจวัดได้ 100,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในปี 2551 กรมควบคุมมลพิษจึงได้ตรวจสอบสภาพหลุมฝังกลบตะกอนบริเวณห้วยคลิตี้ จำนวน 6 แห่งพบว่าอยู่บริเวณใต้โรงแต่งแร่คลิตี้ 0.1 กิโลเมตร (จุดเก็บตัวอย่าง KC2) จำนวน 2 แห่ง อยู่ระหว่างจุดเก็บตัวอย่าง KC2 และ KC3 จำนวน 1 แห่ง และอยู่บริเวณจุดเก็บตัวอย่าง KC3 จำนวน 3 แห่ง ซึ่งพบว่าหลุมฝังกลบ 2 แห่ง ได้แก่ หลุมที่ 1 และ 3 เป็นที่รกร้างไม่มีการใช้ประโยชน์หลุมที่ 2 บริเวณ KC2 มีการใช้ประโยชน์ที่ดินในการปลูกข้าว และหลุมฝังกลบอีก 3 แห่งบริเวณ KC3 ได้แก่ หลุมที่ 4, 5 และ 6 มีการทำไร่ข้าวโพด หลุมฝังกลบทั้ง 6 แห่ง มีขนาดพื้นที่ประมาณ 50 – 70 ตารางเมตรต่อแห่งทั้งหมดอยู่ในพื้นที่ลาดชัน มีระยะห่างจากลำห้วยคลิตี้ประมาณ 10 – 15 เมตร จากการตรวจสอบพบว่า หลุมฝังกลบตะกอนหางแร่ห้วยคลิตี้ทั้ง 6 แห่ง มีความเสี่ยงที่จะเกิดการปนเปื้อนของสารตะกั่วออกสู่สิ่งแวดล้อม (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ, 2553) หลุมฝังกลบ 4 แห่ง (หลุมที่ 2, 4, 5 และ 6) มีความเสี่ยงที่จะเกิดปัญหาการรั่วไหลของกากตะกอนหางแร่ออกจากหลุมและลงสู่ห้วยคลิตี้ เนื่องจากมีการเปิดหน้าดินบนหลุมฝังกลบเพื่อทำการเกษตรโดยเฉพาะหลุมฝังกลบที่ 6 เกิดการพังทลายของขอบหลุมและพบการปนเปื้อนสารตะกั่วในดินบริเวณรอบหลุมฝังกลบด้านติดกับห้วยคลิตี้ ส่วนหลุมที่ 1 และ 3 แม้ว่าจะไม่มีการเปิดหน้าดินเพื่อทำการเกษตรและไม่พบการพังทลายของขอบหลุม ทำให้ไม่พบปัญหาการรั่วไหลของกากตะกอนหางแร่ออกจากหลุมแต่ตรวจพบการปนเปื้อนสารตะกั่วสูงทั้งผิวดินและดินที่ความลึก 1 ฟุต บริเวณรอบหลุมด้านติดห้วยคลิตี้ ซึ่งอาจเป็นที่พังกากตะกอนหางแร่ที่ขุดลอกออกจากห้วยคลิตี้และฝังกลบไม่หมด ดังนั้นหากเกิดการชะหน้าดินบริเวณดังกล่าว จะทำให้เกิดการแพร่กระจายของสารตะกั่ว และลงสู่ห้วยคลิตี้ได้เช่นกัน (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ, 2553) สำหรับจุดเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบสภาพหลุมฝังกลบ ได้แสดงไว้ในภาพที่ 1

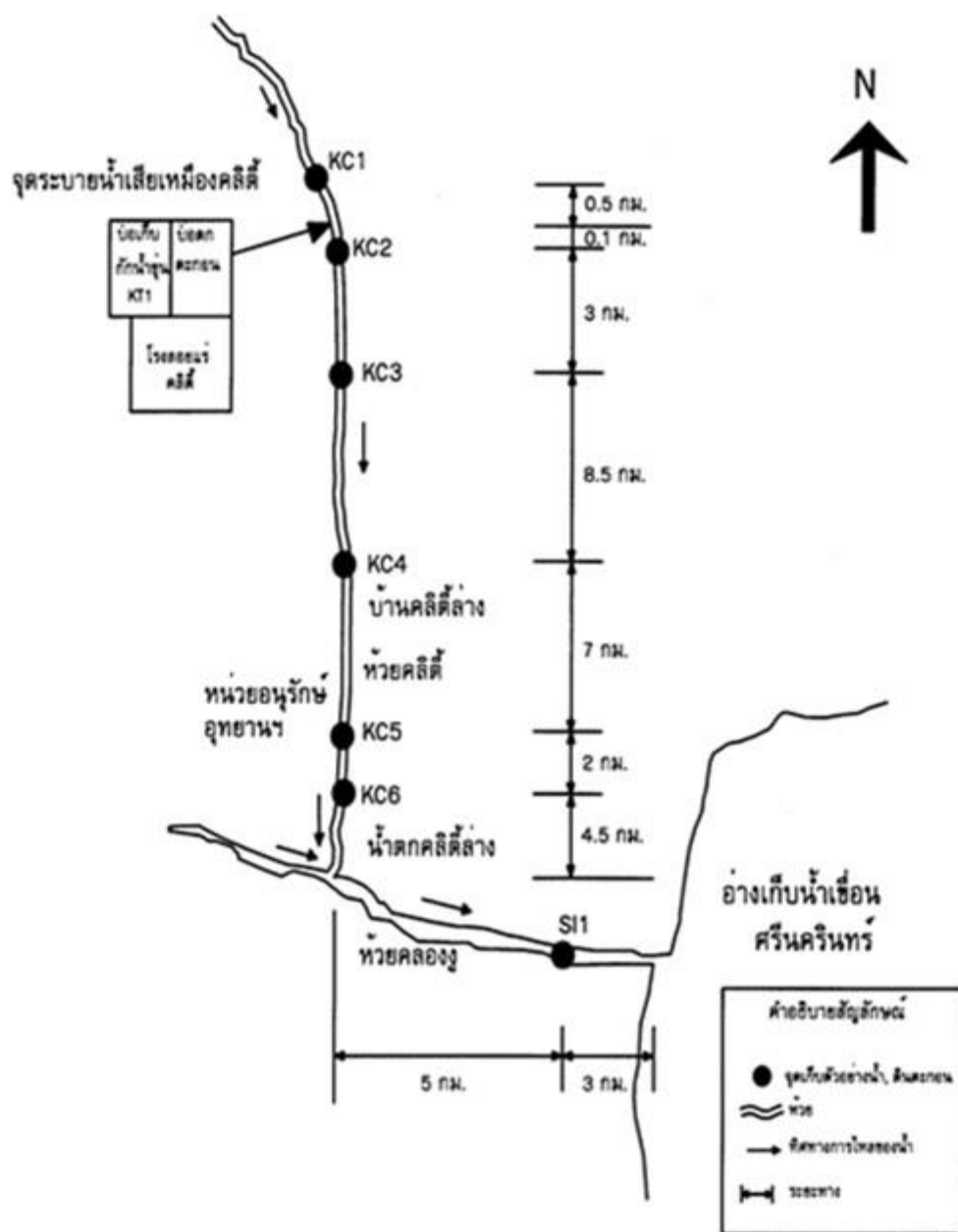
การแก้ปัญหาเกี่ยวกับการปนเปื้อนของตะกั่วแล้วไม่ประสบความสำเร็จเพราะพบว่ายังคงมีการกระจายตัวของตะกั่วในพื้นที่ต่าง ๆ ของหมู่บ้าน และเกิดการสะสมของตะกั่วในดินเป็นปริมาณมากซึ่งทางศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียมูลฝอยมหาวิทยาลัยร่วมกับสำนักงานพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้ทำการสำรวจในปี พ.ศ. 2553 ซึ่งได้อ้างอิงจุดเก็บดินตัวอย่างตามจุดเก็บของกรมควบคุมมลพิษที่ได้กำหนดจุดเก็บไว้ซึ่งค่าที่ได้มีค่าตะกั่วในดินสูงสุดอยู่ที่ริมห้วยคลิตี้ที่มีความลึก 20 เซนติเมตร มีค่า 140,560 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และต่ำสุดอยู่บริเวณ คลิตี้ล่าง ไร่มันหน้าศูนย์เด็กเล็ก มีค่า 38.39 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งค่ามาตรฐานคุณภาพดินเพื่อใช้เป็นที่อยู่อาศัยและเกษตรกรรมกำหนดไว้ไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเมื่อมีการสำรวจบริเวณพื้นที่เหล่านี้ เช่น คลิตี้บน ไร่ข้างบ้านผู้ใหญ่ ชาวบ้านบริเวณดังกล่าวได้มีการใช้พื้นที่เหล่านี้ในการทำเกษตร จึงทำให้ตะกั่วเกิดการสะสมอยู่ในพืชที่ทำการเพาะปลูกในบริเวณนั้น ซึ่งพืชเหล่านี้หากถูกนำมาใช้เป็นอาหารก็จะเข้าสู่ห่วงโซ่อาหาร และอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษ การเจ็บป่วย และการตาย ทั้งมนุษย์และสัตว์ และยังคงอยู่ในระบบนิเวศต่อไป ดังค่าจุดต่าง ๆ ที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณตะกั่วในดินของบ้านคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี

ลำดับที่	สถานที่	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
1	คลิตี้บน ไร่ข้างบ้านผู้ใหญ่	142.70
2	คลิตี้บนบ้านผู้ใหญ่ก่อนห้วย	135.14
3	คลิตี้ล่าง ไร่มันหน้าศูนย์เด็กเล็ก	38.39
4	คลิตี้บน บ้านผู้ใหญ่หลังห้วย	125.99
5	จุด KT3 ลึก 50 เซนติเมตร	626.00
6	ห้วยชะอีไร่หน้าบ้านคุณประรอง	641.88
7	จุด KT3 ลึก 20 เซนติเมตร	688.18
8	คลิตี้ล่าง สะพานหน้าศูนย์เด็กเล็ก	16,535
9	คลิตี้ล่าง น้ำตกธิดาดอย	68,102
10	บริเวณข้างห้วยชะนี	1,431.38
11	ริมห้วยคลิตี้ ลึก 20 เซนติเมตร (จุด KT3)	140,560

*มาตรฐานคุณภาพดินเพื่อใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม ตะกั่วไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

*มาตรฐานคุณภาพดินเพื่อใช้ประโยชน์เพื่อการอื่นนอกเหนืออยู่อาศัยและเกษตรกรรม ตะกั่วไม่เกิน 750 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม



ภาพที่ 1 จุดเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอนดินของกรมควบคุมมลพิษ

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2542)

ตะกั่ว

ตะกั่ว (Pb) เป็นธาตุในหมู่ IVA ของตารางธาตุ มีเลขอะตอม 82 น้ำหนักอะตอม 207.19 ตะกั่วบริสุทธิ์มีลักษณะเป็นของแข็ง สีเทาเข้ม ตะกั่วเป็นโลหะที่มีความอ่อนตัวค่อนข้างสูง ซึ่งสามารถแปรรูปได้โดยการทุบตีรีด ดึง หลอมเป็นรูปต่าง ๆ ได้ง่าย ค่าความถ่วงจำเพาะ 11.35 จุดหลอมเหลว 327.4 และ จุดเดือด 1,725 องศาเซลเซียส ละลายได้ในกรดไนตริกเจือจาง ไม่ละลายน้ำ ละลายได้อย่างช้า ๆ ในน้ำที่เป็นกรดอ่อน กลายเป็นไอได้ดีที่อุณหภูมิสูง ๆ นำไฟฟ้าได้ดี (พฤษ, 2550) ตะกั่วเป็นธาตุที่มีอยู่ในธรรมชาติ มักจะพบในรูปของสารประกอบตะกั่วซัลไฟด์ ตะกั่วซัลเฟต และแร่ที่มีตะกั่วเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ กาลีนนา (galena) ซีรัสไซต์ (cerussite) แองเกลไซต์ (anglesite) หรือพบตะกั่วรวมอยู่กับโลหะอื่น ๆ เช่น ทองแดง สังกะสี และเงิน เป็นต้น แต่จะไม่พบตะกั่วอยู่ในรูปของโลหะอิสระเลย สารตะกั่ว ในธรรมชาติมีแหล่งกำเนิดมาจากหินประเภทต่าง ๆ กัน ทั้งหินชั้น หินแปร และหินอัคนี ฯลฯ ทั้งนี้จะพบมากในหินดินดานสีดำ นอกจากนี้ยังพบทั่วไปในดิน น้ำ อากาศ และพืช (สาธิตา, 2545) หรือพบตะกั่วรวมอยู่กับโลหะอื่น ๆ เช่น ทองแดง สังกะสี เงิน และแคดเมียม (Alloway, 1990) นอกจากนี้สินแร่ของตะกั่วที่อยู่ในสภาพของสารประกอบอนินทรีย์และอินทรีย์ ดังนี้

1. สารประกอบตะกั่วอนินทรีย์ (Inorganic lead compounds)

สารประกอบตะกั่วอนินทรีย์ประกอบไปด้วย กาลีนนา (lead sulfide, PbS), ซีรัสไซด์ (lead carbonate, PbCO₃), แองเกลไซด์ (anglesite lead sulfate, PbSO₄), โครคอยไซด์ (crocoisite lead chromate, PbCrO₄), ไพโมอร์ไซด์ (pyromorphite lead chlorophosphate), อีอัลเฟไนต์ (evulfenite lead molybdate) และ สนิมตะกั่วหรือตะกั่วออกไซด์ (lead red lead oxide, Pb₃O₄)

2. สารประกอบตะกั่วอินทรีย์ (Organic lead compounds)

สารประกอบตะกั่วอินทรีย์ ที่สำคัญที่สุดมี 2 ชนิด ได้แก่ เตตราเอทิล (tetraethyl lead, TEL) และ เตตราเมทิล (tetramethyl lead, TML) ตะกั่วอินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ใช้เป็นสารป้องกันเครื่องยนต์กระตุก (anti – knock additive) ในน้ำมันรถยนต์ ซึ่งมีผลการระเหยสูง ดังนั้น จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ตะกั่วกระจายสู่ภาวะแวดล้อมได้มาก และเนื่องจากสารทั้งสองชนิดนี้มีสมบัติ

ละลายดีและเร็วในไขมัน สารละลายอินทรีย์ต่าง ๆ จึงสามารถถูกดูดซึมผ่านทางผิวหนังได้ และเข้าไปสะสมอยู่ในสมองได้ด้วย เนื่องจากสมองมีไขมันมาก (สาลิกา, 2545)

การใช้ประโยชน์จากตะกั่ว

1. สารประกอบอินทรีย์ตะกั่ว ได้แก่

1.1 โลหะตะกั่ว ใช้ผสมในแท่งโลหะผสมหรือผงเชื่อมบัดกรี โลหะนำมาทำเป็นแผ่นหรือท่อโลหะใช้ในอุตสาหกรรมเคมีเพื่อป้องกันการกัดกร่อน แผ่นกรองในอุตสาหกรรมรถยนต์ การผลิตอาวุธปืนและเครื่องกระสุน และฉนวนกันสารกัมมันตรังสี (กนกศักดิ์, 2554) ใช้เป็นวัสดุหุ้มสายไฟฟ้าและสายโทรคมนาคมที่มีการฝังใต้ดิน เนื่องจากคุณสมบัติของตะกั่วที่มีความยืดหยุ่น และไม่ผุกร่อน (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

1.2 ออกไซด์ของตะกั่ว ได้แก่ ตะกั่วมอนอกไซด์ (lead monoxide) โดยใช้ในอุตสาหกรรมสีโดยใช้เป็นสารสีเหลืองผสมสีทาบ้าน ตะกั่วไดออกไซด์ (lead dioxide) ใช้ทำเป็นขั้วอิเล็กโทรดของแบตเตอรี่รถยนต์ และเครื่องจักร ตะกั่วแดง หรือตะกั่วออกไซด์ใช้ในอุตสาหกรรมแบตเตอรี่ สีทาโลหะเพื่อกันสนิม เครื่องแก้ว ยาง และเครื่องเคลือบ (กนกศักดิ์, 2554)

1.3 สารประกอบของเกลือตะกั่ว ได้แก่ ตะกั่วเหลือง (lead chromate) ตะกั่วขาว (lead carbonate) ใช้เป็นแม่สีหรือสีผสมในอุตสาหกรรมสี ตะกั่วซัลเฟต (lead sulfate) ใช้ในอุตสาหกรรมหมึกพิมพ์ ตะกั่วแอซิเตด (lead acetate) โดยใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง สีย้อม และครีมใส่ผม ผลิตภัณฑ์สีย้อมผ้าฝ้าย สารเคลือบผิวโลหะ รวมทั้งเป็นสารทำแห้งในผลิตภัณฑ์สีน้ำมันขัดเงาและหมึก ตะกั่วซิลิเกต (lead silicate) ใช้ในอุตสาหกรรมกระเบื้อง และเครื่องเคลือบเซรามิกเพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์มีผิวเรียบและเงางาม ตะกั่วไนเตรท (lead nitrate) ใช้ในอุตสาหกรรมพลาสติกและยาง รวมทั้งใช้ผลิตวัตถุระเบิด และตะกั่วอาร์ซีเนต (lead arsenate) ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตสารป้องกันและกำจัดศัตรูพืช (กรมควบคุมมลพิษ, 2547: กนกศักดิ์, 2554)

2. สารประกอบตะกั่วอินทรีย์

เททราเอทิลเลด และเททราเมทิลเลด ใช้เป็นสารกันชน็อก หรือสารป้องกันการกระตุกของเครื่องยนต์เวลาทำงาน โดยผสมในน้ำมันเบนซินเพื่อให้เชื้อเพลิงมีค่าออกเทนสูงขึ้น แต่จากผลของตะกั่วที่ออกมาจากท่อไอเสียรถยนต์จะอยู่ในรูปของตะกั่วออกไซด์ชนิดต่างๆ ที่ก่อให้เกิดพิษต่อมนุษย์ ทำให้ในปัจจุบันได้ยกเลิกการใช้สารประกอบตะกั่วอินทรีย์ในการผลิตน้ำมันเบนซิน (ถนนศักดิ์, 2554)

การดูดซึม แพ้กระจายและการกำจัดตะกั่วออกจากร่างกายมนุษย์

เมื่อผู้ใหญ่กินตะกั่วเข้าไป มีเพียง 5 – 15% ที่ถูกดูดซึม และน้อยกว่า 5% ของตะกั่วที่ถูกดูดซึมจะยังคงอยู่ในร่างกาย เด็กดูดซึมตะกั่วได้มากกว่าผู้ใหญ่ เช่น ค่าเฉลี่ยการดูดซึมในเด็กเป็น 41.5% และ 31.8% ยังคงอยู่ในร่างกาย การดูดซึมของตะกั่วยังขึ้นอยู่กับสภาวะการกินอาหารเช่น เมื่อกินอาหารที่มีแคลเซียมและเหล็กต่ำจะทำให้ตะกั่วดูดซึมมากขึ้น ตะกั่วที่ละลายในน้ำหรือในเครื่องดื่มจะดูดซึมมากกว่าตะกั่วที่ปนอยู่ในอาหาร การดูดซึมผ่านทางปอดขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความเข้มข้นของตะกั่ว รูปแบบ และขนาดของตะกั่วที่ปนเปื้อนและปริมาตรของอากาศที่หายใจ ถ้าขนาดอนุภาคมากกว่า 0.5 ไมครอนจะถูกจับซึ่งอาจถูกกลืนเข้าสู่ทางเดินอาหารได้ แต่ถ้าขนาดของอนุภาคเล็กกว่า 0.5 ไมครอน อนุภาคตะกั่วสามารถเข้าสู่ปอดได้ ประมาณ 90% ของอนุภาคตะกั่วในอากาศที่เข้าสู่ปอดและมีการดูดซึมจากถุงลมเข้าสู่กระแสโลหิต ซึ่งพบว่าตะกั่วจะจับกับเม็ดเลือดแดงมากกว่า 90% กระแสโลหิตนำตะกั่วกระจายไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย กระดูกเป็นอวัยวะที่มีการสะสมตะกั่วได้ปริมาณมาก ในขณะที่ปริมาณตะกั่วในเนื้อเยื่ออื่นจะเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา โดยที่ตะกั่วจะไปสะสมที่ตับและไต ไตเป็นอวัยวะที่ขับตะกั่วออกจากในร่างกายมากที่สุด ยังพบว่าตะกั่วสามารถขับออกทางน้ำนมได้ รวมทั้งตะกั่วสามารถผ่านรกจากแม่สู่ทารกในครรภ์ด้วยอัตราช้า ๆ ได้ (ฐิตียา, 2551)

ความเป็นพิษของตะกั่ว

ตะกั่วสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทางหลัก คือ โดยการกินผ่านเข้าระบบทางเดินอาหาร การหายใจผ่านทางระบบหายใจ การสัมผัสผ่านผิวหนัง เด็กจะเป็นกลุ่มเสี่ยงที่ได้รับสารตะกั่ว เพราะเนื่องจากของเล่นอาจมีตะกั่วปนเปื้อนอยู่ และอัตราการดูดซึมตะกั่วสูง โอกาสการเกิดพิษของตะกั่ว

ในเด็กจึงมีสูง สำหรับผู้ใหญ่อาจได้รับตะกั่วแบบเรื้อรังหรือโดยอุบัติเหตุ เมื่อตะกั่วเข้าสู่กระแสโลหิตพบว่ามากกว่า 80% จะจับกับเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดง (ฐิตยา, 2551) โดยเมื่อตะกั่วเข้าสู่ร่างกายจะแสดงอาการเป็นพิษดังต่อไปนี้

ตะกั่วเป็นพิษต่อระบบประสาท เมื่อได้รับตะกั่วเป็นประจำอาจเกิดอาการเสื่อมของระบบประสาทรอบนอก (peripheral neuropathy) และการเสื่อมของระบบประสาทอย่างเรื้อรัง (chronic neuropathy) และความดันโลหิตสูง ผู้ใหญ่ที่ได้รับสารตะกั่วแบบเรื้อรังเช่น คนงานในโรงงานสีอาจมีความจำซ้าลง โดยตะกั่วมีผลโดยตรงต่อเด็ก โดยเฉพาะระบบประสาทส่วนกลางของพวกเขา (Mojiri, 2011)

ตะกั่วมีผลต่อระบบโลหิตหลายอย่าง เช่น ชักนำให้เกิดโรคโลหิตจาง เนื่องจากเมื่อได้รับตะกั่วจะทำให้เกิดการขาดธาตุเหล็ก อายุของเม็ดเลือดแดงสั้นลงหรือการสังเคราะห์ฮีโมโกลบินผิดปกติ ผลที่ไว้มากที่สุดคือ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ δ - aminolevulinic acid dehydratase (ALA - D) ซึ่งปริมาณตะกั่วในเลือดจะเป็นปฏิกิริยาผกผันกับการทำงานของ ALA - D ตะกั่วลดการทำงานของเอนไซม์ที่นำเฟอรรัสไอออนเข้าสู่โครงสร้างของโพพอร์ไฟริน (porphyrin) ทำให้ลดการสร้างฮีโมโกลบินว่าสังกะสีสามารถแทนที่เฟอรรัสไอออนทำให้เกิดการเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ได้ ซึ่งเราสามารถวัดการเรืองแสงเพื่อตรวจสอบความเป็นพิษของตะกั่วได้ การเปลี่ยนแปลงการทำงานของ ALA - D ในเลือด และในปัสสาวะมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับปริมาณของตะกั่วในเลือดจริงและสามารถนำมาใช้เป็นค่าชี้วัดการได้รับสารตะกั่ว

ตะกั่วเป็นพิษต่อไต ส่วนมากเกิดจากการทำงานในโรงงานอุตสาหกรรม เมื่อได้รับสารตะกั่วพบว่า ความเป็นพิษเฉียบพลันของตะกั่วต่อไตมักเกิดที่การทำงานหรือรูปร่างของบริเวณท่อหน่วยไตที่เซลล์พอกซิมัล ทิกลบูล และจากการศึกษาคนงานที่ได้รับสารตะกั่วพบว่า ตะกั่วจะไปกดระบบภูมิคุ้มกัน (immuno suppressive) ทำให้การทำงานและจำนวนเม็ดเลือดขาวผิดปกติ

ตะกั่วเป็นพิษต่อกระดูกทางอ้อมโดยเปลี่ยนแปลงการทำงานของเซลล์กระดูก ตะกั่วสะสมในกระดูกได้แต่ไม่แสดงอาการพิษให้เห็นเด่นชัด โดยที่ตะกั่วไปรบกวนกลไกการควบคุมแคลเซียมเข้าและออกจากเซลล์ รบกวนการทำงานของฮอร์โมนพาราไธรอยด์ แคลซิโทนิน วิตามินดี และฮอร์โมนอื่นที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงของแคลเซียม (ฐิตยา, 2551)

การเคลื่อนย้ายและเมแทบอลิซึมของตะกั่ว

ลักษณะเด่นของตะกั่วในร่างกาย คือ ตะกั่วจะเคลื่อนที่ไปที่กระดูกและสะสมอยู่อย่างรวดเร็ว มีแนวโน้มว่าจะสะสมทางชีวภาพในกระดูกตลอดชีวิต และประมาณ 90% ของความจุร่างกายของตะกั่วอยู่ในกระดูก ครึ่งชีวิตของตะกั่วในร่างกายมนุษย์ คาดคะเนว่าอยู่ที่กระดูกประมาณ 20 ปี คนงานต้องทราบเกี่ยวกับการรับตะกั่วเข้าร่างกายจากบริเวณโรงงานอุตสาหกรรม ในกระดูกของพวกเขามีตะกั่วมากกว่า 500 มิลลิกรัม โดยในเนื้อเยื่ออ่อน ตับ และไตมีแนวโน้มระดับตะกั่วสูงขึ้น ประมาณ 90 % ของตะกั่วในเลือดมีความเชื่อมโยงกับเซลล์เม็ดเลือดแดง การวัดเกี่ยวกับความเข้มข้นของตะกั่วในเลือด คือ การทดสอบมาตรฐานสำหรับการรับตะกั่วอย่างต่อเนื่องและชั่วคราว การทดสอบนี้ถูกใช้เป็นประจำ เพื่อตรวจสอบการรับตะกั่วในอุตสาหกรรมและในการตรวจคัดเด็กที่ได้รับตะกั่ว ที่พบบ่อยที่สุดของผลกระทบทางชีวเคมีของตะกั่ว คือ การขัดขวางต่อการสังเคราะห์ฮีโม ความซับซ้อนของการแทนที่พอร์ไฟริน และ Fe^{2+} ในฮีโมโกลบิน และไซโตโครม (cytochrome) ตะกั่วรบกวนเกี่ยวกับการเปลี่ยน เกล็ดดำ อะมีโนลิวูลินิกแอซิดเป็นพอร์โฟบิลิโนเจน (prophobilinogen) เกิดความเสียหายทางโลหิตวิทยา ตะกั่วไปยับยั้งเอนไซม์ที่มีกลุ่มซัลฟ์ไฮดริล อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ของตะกั่วกับกลุ่ม -SH ไม่ดีเท่ากับแคดเมียมและปรอท (Manahan, 2003)

การรักษาผู้ป่วยที่ได้รับตะกั่ว จะเริ่มจากการหยุดการรับหรือสัมผัสกับตะกั่ว และใช้วิธีการรักษาแบบคีเลชัน (chelation) ในพวกที่มีอาการรุนแรงโดยทั่วไปจะรักษาโดยใช้แคลเซียมไดไซเคียมอีดีทีเอ (calcium disodium EDTA, ethylenediamine tetraacetic acid versenate) หรือ ไดเมอร์คาพโรล (dimercaprol, BAL) โดยโมเลกุลของสารเหล่านี้สามารถรวมตัวกับตะกั่ว แล้วขับออกจากร่างกายโดยผ่านทางไต แต่วิธีนี้อาจก่อให้เกิดผลข้างเคียง เช่น ทำให้ตะกั่วในกระดูกถูกปลดปล่อยสู่กระแสเลือดเป็นต้น อาการรุนแรงน้อยกว่า การรักษาโดยใช้เพนนีซิลลามีน (pennicillamine, cuprimine, depen) (มธุรส และ จุฑามาศ, 2549; สาลิกา, 2545; ฐาปกรณ์, 2556)

ตะกั่วในดิน

ตะกั่วในดิน เมื่อโลหะหนักมีการปนเปื้อนลงสู่ดินจะอยู่ในรูปหนึ่งหรือหลายรูป ได้แก่ (1) รูปที่ละลายในสารละลายดิน (2) รูปที่ถูกดูดซับในตำแหน่งผิวของอนุภาคคอลลอยด์ดิน (3) รูปที่ถูกตรึงและจับกับสารแขวนลอยอื่นหรือแร่ในดิน (4) รูปที่ตกตะกอนกับสารอื่น และ (5) รูปที่ถูก

คลุกเคล้าเข้าสู่ระบบชีวภาพเป็นสารอินทรีย์ ซึ่งโลหะหนักรูปที่หนึ่งและสองถือเป็นรูปที่เคลื่อนที่ได้ในดิน พืชจึงอาจมีการเปลี่ยนแปลงรูปต่างๆ ได้ตลอดเวลา (ศุภมาส, 2540) โดยส่วนใหญ่ตะกั่วที่อยู่ในดินจะพบอยู่ในรูป Pb^{2+} มากกว่า Pb^{4+} และมีพฤติกรรมคล้ายกลุ่มโลหะแอลคาไลน์ (alkali metal) และโลหะแอลคาไลน์เอิร์ท (alkaline earth metal) ดังนั้นจึงเข้าแทนที่โพแทสเซียม (K) แบเรียม (Ba) สตรอนเชียม (Sr) และ แคลเซียม (Ca) ในแร่และในตำแหน่งที่ไอออนของธาตุเหล่านี้ที่ถูกดูดซับ โดยตะกั่วเป็นธาตุโลหะหนักที่มีสภาพเคลื่อนที่ได้น้อยที่สุด แต่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวภาพคล้ายกับปรอท (Hg) และแคดเมียม (Cd) ซึ่งสภาพการละลายได้ของตะกั่วในดินจะลดลงอย่างมากโดยการใส่ปูน โดยในดินที่มีพีเอชสูงจะพบการตกตะกอนของตะกั่วในรูปไฮดรอกไซด์ (OH) ฟอสเฟต (PO_4^{3-}) คาร์บอเนต (CO_3^{2-}) หรือเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารอินทรีย์และมีความเสถียรค่อนข้างมาก (ศุภมาส, 2540)

โดยปกติตะกั่วจะอยู่บริเวณดินบนตามธรรมชาติ และมีค่าเฉลี่ยประมาณ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีค่าตะกั่วไม่เกิน 70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนดินที่มีการปนเปื้อนตะกั่วปริมาณสูงมาก เช่น ดินในเหมืองแร่เก่าแก่อาจมีค่าตะกั่วได้ตั้งแต่ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมขึ้นไป เนื่องจากตะกั่วเป็นธาตุโลหะหนักที่มีความสามารถในการเคลื่อนที่ในดินได้น้อยมาก โดยอัตราการเคลื่อนที่ของตะกั่วในดินจะลดลงด้วยการใส่ปูนและปรับระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดินให้สูงขึ้น เพื่อให้ตะกั่วในดินเกิดการตกตะกอนในรูปไฮดรอกไซด์ ฟอสเฟต หรือ คาร์บอเนต (ศุภมาส, 2540)

ตะกั่วในพืช

ตะกั่วเข้าสู่พืชได้ 2 ทาง คือ รากและใบ เมื่อเข้าสู่พืชจะสะสมอยู่ที่ส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ตะกั่วที่เคลื่อนที่ผ่านทางรากส่วนใหญ่จะสะสมอยู่ที่รากฝอยขนาดเล็ก พืชของตะกั่วในพืชเกิดขึ้นโดยการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงของพลาสมิด ยับยั้งการออกซิไดส์ซัลฟิเดตในกระบวนการหายใจไมโทคอนเดรีย มีผลต่อการสังเคราะห์แสง ยับยั้งการเจริญของรากและใบ ระดับปกติตะกั่วในพืชคือ 0.5 – 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ศุภมาส, 2539) ส่วนระดับเป็นพิษในพืชนั้นขึ้นกับพืชแต่ละชนิดที่ทนต่อสารตะกั่วไม่เท่ากัน โดยพืชที่บริโภคส่วนหัวจะมี การสะสมตะกั่วมากกว่าส่วนลำต้นและใบ และพบการสะสมน้อยที่สุดในส่วนผล สอดคล้องกับรายงานของวรกาย และคณะ (2541) ศึกษาการสะสมตะกั่วและแคดเมียมในพืชที่ปลูกในดินที่ผสมกากตะกอนน้ำเสียในอัตราส่วนต่าง ๆ พบว่าการสะสมตะกั่วและแคดเมียมในหัวมันเทศ > ผักบุ้ง > มะเขือเปราะ โดยมันเทศและผักบุ้งมีการ

สะสมโลหะหนักเกินค่ามาตรฐานขององค์การอนามัยโลก (1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) โดยมีปริมาณตะกั่วและแคดเมียมในผักบุงส่วนเหนือดิน(ลำต้นและใบ) ในช่วง 1.00 - 1.90 และ 1.59 - 1.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และในส่วนใต้ดินของมันเทศ (รากและหัว) มีปริมาณตะกั่วและแคดเมียม 2.23 - 5.65 และ 0.13 - 0.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ส่วนในผลของมะเขือเปราะพบปริมาณตะกั่วน้อยมาก (ชลาลัย, 2551)

ความสัมพันธ์ของตะกั่วกับข้าวโพด

ข้าวโพด (*Zea mays* L.) เป็นธัญพืชที่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ และมีการปลูกอย่างแพร่หลายทั่วโลก ประเทศที่ตั้งอยู่ตอนใต้ของทะเลทรายซาฮาราในทวีปแอฟริกาซึ่งมีประชากรมากกว่า 1.2 พันล้านคน รับประทานข้าวโพดเป็นอาหารหลัก (Wuana and Okieimen, 2010) ข้าวโพดเป็นพืชอยู่ในวงศ์ Gramineae สกุล *Zea* สายพันธุ์ *mays* เป็นธัญพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ สามารถปลูกได้ตั้งแต่เขตอบอุ่น เขตกึ่งร้อนชื้น และเขตพื้นที่ราบเขตร้อน ข้าวโพดสามารถปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อม ตั้งแต่เขตละติจูด 55 องศาเหนือ ถึง 40 องศาใต้เมล็ดข้าวโพดมีแป้งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ใช้เป็นอาหารหลักของมนุษย์ในหลายประเทศ เช่น เม็กซิโก สเปน อิตาลี โปรตุเกส แอฟริกาใต้ อินเดีย เป็นต้น ข้าวโพดสามารถเจริญเติบโตได้ในดินทุกชนิด แต่จะเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์และระบายน้ำได้ดี โดยเฉพาะดินร่วน (loam) หรือ ดินร่วนปนทรายแป้ง (silt loam) และ ดินร่วนเหนียวปนทรายแป้ง (silty clay loam) (Wuana and Okieimen, 2010.) ส่วนประกอบของเมล็ดข้าวโพดสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรม แป้ง น้ำมัน น้ำตาล และผลิตภัณฑ์อื่น ๆ นอกจากนี้ส่วนต้นของข้าวโพดยังสามารถนำมาใช้เป็นพืชอาหารสัตว์ ได้แก่ หญ้าสด หญ้าแห้ง และหญ้าหมัก (ราเชนทร์, 2539 และ Akihionbare, 2010)

ลักษณะทั่วไปของข้าวโพด

1. ราก ข้าวโพดมีระบบที่เรียกว่า ระบบรากฝอย (fibrous root system) จะแบ่งออกเป็นหลายชนิด เช่น รากขั้นต้น (primary root) รากยึดเหนี่ยว (brace root) รากด้านข้าง (lateral root) และรากฝอย (root hair) แต่ไม่มีรากแก้ว (tap root) เนื่องจากข้าวโพดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ทำหน้าที่ดูดอาหารและยึดลำต้น

2. ลำต้น ข้าวโพดมีลักษณะเป็นข้อปล้อง มีลำต้นแข็ง ใสน้ำหนักไม่กลวงเหมือนพืชอื่น ส่วนความสูงของลำต้นมีตั้งแต่ 60 เซนติเมตรขึ้นไป บริเวณข้อของข้าวโพด นอกจากจะมีความสำคัญในแง่ที่เป็นข้อต่อปล้องแล้วยังเป็นที่เกิดของราก ลำต้นใหม่ และฝักอีกด้วย ปล้องเหนือพื้นดินจะมีจำนวน 8-20 ปล้อง

3. ใบ ข้าวโพดมีลักษณะใบคล้ายกับพืชตระกูลหญ้าทั่ว ๆ ไป ประกอบด้วย ตัวยาว กาบใบ และหูใบ (ligule) ลักษณะของใบข้าวโพดก็มีความแตกต่างกันไปตามคุณสมบัติของแต่ละพันธุ์ จำนวนใบก็เช่นเดียวกัน มีตั้งแต่ 8-48 ใบ ใบทำหน้าที่ปรุงอาหารและเป็นที่ระเหยของน้ำเพื่อช่วยในการคายความร้อน

4. ดอก ข้าวโพดจะมีดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่แยกกัน แต่อยู่ในลำต้นเดียวกัน (monoecious) ซึ่งดอกตัวผู้และดอกตัวเมียจะมีลักษณะแตกต่างกันไป ดังนี้

4.1 ดอกตัวผู้ จะมีลักษณะรวมกันเป็นช่อ เรียกว่าช่อดอกตัวผู้ (tassel) และอยู่ตอนบนสุดของลำต้น เกษตรกรจะเรียกว่า “ดอกหัว” ดอกตัวผู้หนึ่ง ดอกจะมีอับเรณู (anther) 3 อับ แต่ละอับยาวประมาณ 6 มิลลิเมตร และมีละอองเรณูเกสร (pollen grain) ประมาณอับละ 2,500 เมล็ด การสลัดละอองเกสรจะเริ่มขึ้นก่อนการออกไหม 1-3 วัน บนข้าวโพดต้นเดียวกัน การบานของดอกตัวผู้จะอยู่นานติดต่อกันไปหลายวันหลังจากที่ไหมไหลออกจากฝัก อากาศที่ร้อนและแห้งแล้ง หรือลมแรงจะช่วงเร่งการสลัดละอองเกสรให้หมดเร็วขึ้น

4.2 ดอกตัวเมีย จะมีลักษณะเป็นช่อหรือฝัก และมักอยู่บริเวณข้อตอนกลางของลำต้น ดอกตัวเมียแต่ละดอกประกอบด้วยรังไข่ (ovary) และเส้นไหม (silk หรือ style) ซึ่งมีความยาวประมาณ 5-15 เซนติเมตร และจะยื่นปลายไหล่ออกไปรวมกันเป็นกระจุกอยู่ตรงปลายช่อดอกซึ่งมีเปลือกหุ้มอยู่ และพร้อมที่จะผสมพันธุ์ทันทีที่งอกพ้นเปลือก เส้นใยจะมีลักษณะเป็นยางเหนียว ๆ เพื่อคอยรับละอองเกสรที่ปลิวมาสัมผัส และเข้าผสมกับไข่ โดยจะมีลักษณะดังนี้นานประมาณ 2 สัปดาห์ ต่อจากนั้นจะค่อยๆแห้งตายไป เมื่อรังไข่ได้รับการผสมแล้ว

5. ฝัก คือช่อดอกตัวเมียที่ได้รับการผสมแล้ว ข้าวโพดต้นหนึ่งอาจจะมีมากกว่า 1 ฝักขึ้นไป และฝักหนึ่งอาจจะมีถึง 1,000 เมล็ด หรือมากกว่า โดยที่แกนกลางของฝักเรียกว่าซัง (cob)

6. การผสมเกสร ข้าวโพดเป็นพืชที่ดอกตัวผู้สลัดละอองเกสรก่อนที่ดอกตัวเมียพร้อมที่จะทำการผสมเล็กน้อย ดังนั้นจึงเป็นพืชที่ผสมข้ามพันธุ์กันตามธรรมชาติ มีการผสมตัวเองเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (5%) ละอองเกสรจะปลิวไปตามกระแสลมหรือแรงดึงดูดของโลก เมื่อเส้นไหมได้รับละอองเกสร ก็จะขยายตัวทันทีโดยส่งท่อ (tube) ไปตามเส้นไหมจนถึงรังไข่ซึ่งอยู่ปลายสุดของเส้นไหมจึงเกิดการผสม การผสมระหว่างเกสรและไข่โดยปกติจะเสร็จภายใน 12-28 ชั่วโมง นับตั้งแต่ละอองเกสรเริ่มสัมผัสกับเส้นไหม ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ละอองเกสรอาจจะมีชีวิตอยู่ได้นาน 18-24 ชั่วโมงแต่อาจจะตายในเวลา 2-3 ชั่วโมง ด้วยความร้อนและความแห้ง ความร้อนหรือลม อาจจะเป็นอันตรายต่อดอกตัวผู้ ดังนั้นจึงไม่มีการสลัดละอองเกสร หรือไม่ก็จะไปลดความชื้นที่ไหมและทำให้เกสรไม่สามารถงอกออกไปได้ หลังจากผสมแล้วประมาณ 20-40 วัน รังไข่จะเจริญเติบโตเป็นเมล็ดที่แก่จัด (กรมวิชาการเกษตร, 2524)

ระยะการเจริญเติบโตและการพัฒนาของข้าวโพด

ระยะการเจริญเติบโตและการพัฒนาของข้าวโพด เริ่มตั้งแต่ระยะเริ่มงอกถึงระยะเก็บเกี่ยว ซึ่งรวมอายุได้ประมาณ 100 - 120 วัน ข้าวโพดที่เจริญเติบโตสมบูรณ์จะมีใบ 16 - 18 ใบ และออกไหมเมื่ออายุประมาณ 55 - 60 วัน (พินิจ, 2548)

การจำแนกระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพดจะแบ่งตามช่วงการเจริญเติบโต ดังนี้

1. ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ (vegetative stage) เป็นระยะเริ่มตั้งแต่ที่ ใบอ่อน (coleoptile) โผล่พ้นดินจนถึงระยะออกดอกตัวผู้ ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 45 - 55 วัน ซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของข้าวโพดและสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะอุณหภูมิ
2. ระยะออกดอก (flowering stage) เป็นระยะตั้งแต่ดอกตัวผู้บาน จนถึงระยะที่ไหมโผล่พ้นกาบหุ้มฝัก ตลอดจนระยะผสมเกสรใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 5 - 15 วัน
3. ระยะการสะสมน้ำหนักเมล็ด (grain filling) เป็นระยะที่เมล็ดมีการสะสมแป้งในเมล็ด ถึงระยะที่เมล็ดหยุดการพัฒนา ใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 35 - 45 วัน ระยะนี้แบ่งได้ 2 ระยะคือ ระยะน้ำนม (early milk และ late milk stage) และ ระยะแป้งอ่อน (dough stage)

4. ระยะการสุกแก่ทางสรีระ (physiological maturity) เป็นระยะที่มีชั้นเนื้อเยื่อสีดำ (black layer) ปรากฏที่ส่วนโคนของเมล็ด การสะสมน้ำหนักแห้งจะสิ้นสุดลงเป็นระยะที่ข้าวโพดมีน้ำหนักแห้งสูงสุด

5. ระยะสุกแก่เก็บเกี่ยว (harvest maturity) เป็นระยะที่ต้นและใบของข้าวโพดรวมทั้งกาบหุ้มฝักแห้งคล้ายตัวจากกาบหุ้ม เมล็ดมีการลดความชื้นอย่างต่อเนื่องตามสภาพอุณหภูมิและความชื้นของบรรยากาศ (พินิจ, 2548)

การปลูกข้าวโพด

1. ฤดูกาลเพาะปลูก

ฤดูกาลเพาะปลูกข้าวโพดในประเทศไทยมี 2 ฤดู คือฤดูปลูกต้นฝนและฤดูปลูกปลายฝน

- ฤดูปลูกต้นฝน เริ่มประมาณเดือนเมษายนและพฤษภาคม ขึ้นกับการตกและการกระจายของฝน

- ฤดูปลูกปลายฝน เริ่มประมาณ กรกฎาคม หรือสิงหาคม

2. การเตรียมดิน

การเตรียมดินมีทั้งการไถและการพรวน ซึ่งดินเหนียวจะมีจำนวนครั้งของการไถพรวนมากกว่าดินร่วนและดินปนทราย ในหลักการเตรียมดินก็เพื่อให้ดินอยู่ในสภาพที่เหมาะสมต่อการปลูกพืชการไถดินล่างควรไถให้ลึกประมาณ 15 - 20 เซนติเมตร ถ้ามีการไถ 2 ครั้ง ควรให้ห่างกันประมาณ 7 - 10 วัน เพื่อเป็นการตากดินและเป็นการช่วยปราบวัชพืชไปในตัว ถ้าเป็นที่ลาดเทการไถครั้งสุดท้ายควรให้ขวางกับแนวลาดเทหลังจากการไถควรมีการพรวนเพื่อย่อยเม็ดดินให้มีขนาดเล็กลง และร่วนซุยเหมาะแก่การงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า

3. การปลูกข้าวโพด

ควรหยอดเมล็ดข้าวโพดให้ลึก 5 เซนติเมตร ใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด 3 กิโลกรัมต่อไร่ ในพื้นที่ 1 ไร่ จะมีต้นข้าวโพดประมาณ 8,533 ต้น ถ้าใช้อัตราและระยะปลูกดังนี้

3.1 ระยะปลูก 75 X 25 เซนติเมตร หยอด 2 เมล็ดต่อ 1 หลุม ถอนแยกเหลือ 1 ต้นต่อ 1 หลุม

3.2 ระยะปลูก 75 X 50 เซนติเมตร หยอด 3 เมล็ดต่อ 1 หลุม ถอนแยกเหลือ 2 ต้นต่อ 1 หลุม

3.3 ระยะปลูก 75 X 75 เซนติเมตร หยอด 4 เมล็ดต่อ 1 หลุม ถอนแยกเหลือ 3 ต้นต่อ 1 หลุม
(พินิจ, 2548)

ความสัมพันธ์ระหว่างข้าวโพดกับการสะสมตะกั่ว

พืชประมาณ 400 ชนิดจาก 45 วงศ์มีการรายงานว่าเป็นพืชที่สะสมโลหะหนักในระดับความเข้มข้นสูง เรียกว่า ไฮเปอร์แอคคิวมิวเลเตอร์ (hyperaccumulator) ซึ่งระดับการสะสมสมมูลมลพิษหรือโลหะหนักในพืชนี้อยู่ในช่วง 0.1-1% โดยน้ำหนักของน้ำหนักแห้งของพืช พืชที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มนี้สามารถสะสมโลหะหนักได้มากกว่าพืชทั่วไป 50-100 เท่า (อลิสตา, 2553) ตัวอย่างพืชในกลุ่มนี้ได้แก่ ผักกาดเขียวปลี (Indian mustard) ผักกาดเขียว (*Brassica juncea* L.) ทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) และข้าวโพดได้แสดงรายงานการดูดซึมสูงและทนทานต่อโลหะหนัก (Wuana and Okieimen, 2010.)

ข้าวโพดซึ่งมีการสะสมมวลชีวภาพสูง จึงมีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายตะกั่วและพบว่ามีการสะสมตะกั่วในส่วนต่าง ๆ ของลำต้นสูง (Brennan and Shelly, 1999 : Hernandez - Allica *et al.*, 2008) ซึ่งปริมาณตะกั่วที่สะสมในส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพดจะมีค่าที่แตกต่างกันออกไป โดยผลการศึกษจะพบว่า ปริมาณการสะสมตะกั่วสูงสุดอยู่ที่ราก มีปริมาณมากกว่ายอด และใบจะมีปริมาณการสะสมตะกั่วมากกว่าเมล็ด (Quanlin *et al.* 2007) ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Brennan and Shelley (1999) ได้ศึกษารูปแบบของการดูดซับ การเคลื่อนย้ายและการสะสมตะกั่ว (Pb) ของข้าวโพดสำหรับการใช้เป็นพืชบำบัด (phytoextraction) พบว่า ข้าวโพดมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และมีชีวมวลสูง จึงมีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายตะกั่วจากดินเข้ามา

ภายในรากและเคลื่อนย้ายขึ้นไปสู่ยอดของข้าวโพด แต่เนื่องจากตะกั่วเคลื่อนที่ได้้น้อย จึงมักจะพบอยู่บริเวณรากมากกว่าส่วนอื่น ๆ (Mathur and Yadav, 2009)

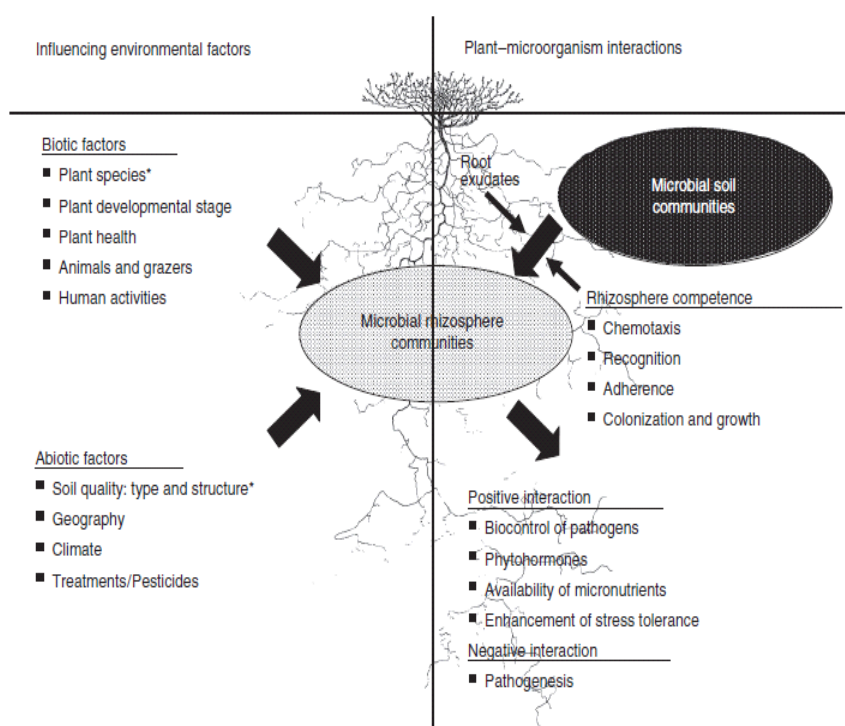
Ciura *et al.* (2005) ได้ทำการทดสอบความเป็นไปได้ของการใช้พืชลดโลหะจากดินปนเปื้อนได้ทำการศึกษาในแปลงทดลองที่ Agricultural Academy Research Station ใกล้กับคราคา (Krakow) ประเทศโปแลนด์ พบว่า ตะกั่วจะสะสมอยู่บริเวณรากพืชและเนื้อเยื่อในเซลล์โลส เพราะมีข้อจำกัดในการเคลื่อนที่ และการสะสมโลหะหนักในเนื้อเยื่อพืช สอดคล้องกับงานวิจัยของ Quanlin *et al.* (2007) ได้ทำการศึกษาสายพันธุ์ข้าวโพดที่มีความเข้มข้นของตะกั่วต่ำ ได้ทำการศึกษาที่เมือง Qingyuan จังหวัด Guangdong ประเทศจีน พบว่า ปริมาณตะกั่วในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพดมีปริมาณที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งพบปริมาณการสะสมตะกั่วมากที่สุดอยู่ที่ราก รองลงมาคือ ยอด ใบ และ น้อยที่สุดอยู่ที่เมล็ด โดยมีค่าดังต่อไปนี้ 210.11, 66.49, 62.08 และ 0.24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

Mojili (2011) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของข้าวโพดสำหรับการบำบัดดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมและตะกั่ว บริเวณจังหวัด Chaharmahal Bakhtaran ในตะวันตกของอิหร่าน ผลการศึกษาพบว่า การสะสมตะกั่วในรากจะมีมากกว่าในยอด ซึ่งมีค่าดังต่อไปนี้ รากมีปริมาณการสะสมตะกั่วอยู่ที่ 4.99, 11.61, 16.31 และ 19.40 ส่วนการสะสมปริมาณตะกั่วในยอดมีค่า 1.30, 3.03, 5.40 และ 6.31 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hegedusova (2009) ได้ศึกษาการบำบัดโดยใช้พืชเพื่อชักนำตะกั่วจากดินที่ปนเปื้อน ได้ทำการศึกษาที่ Vegetable Research Institute ใน Nove Zamky สาธารณรัฐสโลวาเกีย ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณการสะสมตะกั่วโดยรากของข้าวโพด มีค่า 0.632 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมากกว่าปริมาณการสะสมตะกั่วที่บริเวณยอดของข้าวโพด มีค่า 0.039 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

แบคทีเรียรอบราก

บริเวณรากพืช (rhizosphere) หมายถึง บริเวณของดินที่ติดกับรากพืช มีชนิด ปริมาณ และกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน แตกต่างจากบริเวณโดยรอบ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2551) เป็นผลมาจากการขับสารอินทรีย์ออกจากบริเวณรากพืช ซึ่งเป็นผลผลิตของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่เรียกว่าสารขับจากรากพืช ประกอบด้วยสารอินทรีย์ประเภทน้ำตาล กรดนิวคลีอิก ฮอโรโมน และสารอินทรีย์อีกหลายชนิด โดยจุลินทรีย์บริเวณรากพืชใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานและ

แหล่งอาหาร ส่งผลให้บริเวณดังกล่าวมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างรากพืชและจุลินทรีย์ เนื่องจากกิจกรรมของกลุ่มจุลินทรีย์มีผลเอื้อประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตแก่พืช (Starkey *et al.*, 1958 และ กานต์มณี, 2554) โดยสารที่ขับออกมาจากรากพืชนั้น จะเป็นตัวกำหนดขอบเขตบริเวณราก สารดังกล่าวจะถูกขับออกไปได้กว้างเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดของ, ความชื้นในดิน, ค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน, อุณหภูมิของดิน, อายุของพืช และสภาพการเจริญเติบโตของพืช สารขับจากรากมีคุณสมบัติเป็นสารคัดเลือก (selective) ปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ (พิชามญชุ์, 2554) แสดงในรูปภาพที่ 1 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Marschner *et al.* (2001) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความหลากหลายของแบคทีเรียบริเวณรอบราก ได้แก่ สมบัติของดิน ชนิดพืช และตำแหน่งของรากพืชในพืช 3 ชนิด ได้แก่ ถั่ว (chickea), พืชน้ำมัน (rape) และหญ้า (sudan grass) ทำการเพาะปลูกใน 3 พื้นที่ของประเทศแคนาดา ซึ่งแต่ละพื้นที่มีเนื้อดินที่แตกต่างกันคือ ดินทราย ดินร่วนปนทราย และดินเหนียว ผลการศึกษาพบว่า สมบัติดินที่แตกต่างกันมีผลต่อความหลากหลายของแบคทีเรียบริเวณรากถั่ว สำหรับพืชน้ำมันและหญ้า ความยาวรากมีผลต่อความหลากหลายของแบคทีเรียมากกว่าสมบัติดิน



ภาพที่ 2 ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อความแตกต่างของจุลินทรีย์บริเวณราก

ที่มา: Berg and Smalla (2009) และ กานต์มณี (2554)

โดยทั่วไปจุลินทรีย์บริเวณรากพืช (rhizosphere microbes) ได้รับอิทธิพลจากรากพืชโดยตรง ซึ่งบริเวณรากพืช จะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ บริเวณชั้นใน (endorhizosphere) ได้แก่ บริเวณชั้นเมือกที่พืชผลิตขึ้น บริเวณผิวหนังในชั้นนอก (epidermis) ของเนื้อเยื่อรากรวมถึงรากขนอ่อน และส่วนคอร์เท็กซ์ (cortex) สำหรับส่วนที่สอง คือ บริเวณชั้นนอก (ectorhizosphere) ได้แก่ ส่วนของบริเวณผิวหนังรากพืชที่สัมผัสกับบริเวณที่มีสารขับจากรากพืชไปถึงการเจริญของจุลินทรีย์ดินบริเวณรากพืชนั้น (Griffiths *et al.*, 1999 และ พิชามญชุ์, 2554) โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุด แต่ในพืชบางชนิดอาจมีอาณาเขตบริเวณรอบรากมากกว่า 5 มิลลิเมตร ทั้งนี้เนื่องจากรากพืชแต่ละชนิดจะปลดปล่อยสารอาหารบางชนิดออกมาในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งสารดังกล่าวจะเป็นตัวกำหนดขนาดของบริเวณรอบรากพืชซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการเหนี่ยวนำแบคทีเรียชนิดต่างๆ ให้เข้ามาอยู่อาศัยในดินบริเวณรอบรากพืช จึงส่งผลให้สภาพแวดล้อมของดินบริเวณรอบรากแตกต่างจากดินทั่วไป แบคทีเรียที่เจริญอยู่บริเวณรอบรากพืชจะมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยจะเป็นตัวแปรสภาพสารอินทรีย์ให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้แต่ก็มีแบคทีเรียบางชนิดที่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืชและสามารถก่อโรคต่อพืชได้เช่นกัน (Sylvia *et al.*, 1998) ซึ่ง Bardgett *et al.* (1999) ศึกษาความหลากหลายของโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์จากตัวอย่างดินบริเวณทุ่งหญ้า โดยเลือกศึกษาบริเวณรากพืช 4 ชนิด คือ *Agrostis capillaries*, *Festuca rubra*, *Holcus lanatus* และ *Lolium perenne* โดยศึกษาผลของไนโตรเจนในรูปปุ๋ยไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของพืช และโครงสร้างของประชากรจุลินทรีย์บริเวณรากหญ้าทั้ง 4 ชนิด ผลการวิเคราะห์ความหลากหลายของโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์บริเวณรากหญ้าทั้ง 4 ชนิด พบว่าบริเวณรากพืชต่างชนิดกันมีปริมาณเชื้อรา และแบคทีเรียแตกต่างกันตามชนิดพืช โดยบริเวณรากหญ้า *L. perenne* เป็นบริเวณที่พบความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์สูงกว่าชนิดอื่น

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กที่สุด มีชนิด และ ปริมาณมากที่สุดในดิน โดยแบคทีเรียในดินจะพบประมาณ $10^8 - 10^9$ โคโลนีต่อกรัมดินแห้งและเป็นจุลินทรีย์ที่มีพื้นที่ผิวสัมผัสสูง สามารถพบในดินชั้นบนมากกว่าดินชั้นล่าง (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2544) ดังแสดงในตารางที่ 2 นอกจากนี้แบคทีเรียยังเป็นจุลินทรีย์ที่มีรูปแบบการดำรงชีวิตที่หลากหลาย มีทั้งพวกที่ไม่เคลื่อนที่และเคลื่อนที่แต่ส่วนใหญ่มักจะยึดเกาะอยู่บนอนุภาคดินโดยอาศัยแอนไอออนชนิดต่างๆเป็นตัวกลาง และเจริญเติบโตเป็นโคโลนีเล็กๆ หลายชนิดสามารถสังเคราะห์แสง บางชนิดสังเคราะห์สารอินทรีย์จากคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยกระบวนการคล้ายการสังเคราะห์แสงของพืชแต่ใช้พลังงานจากการออกซิไดซ์สารอนินทรีย์แทน (chemoautotroph) บางชนิดสามารถเจริญเติบโตในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobe) หรือบางชนิดสามารถทนต่อความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ที่

เป็นกรดจัด แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบในดินส่วนมากจะเป็นพวกที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (heterotroph) จำพวกซากพืชซากสัตว์เป็นอาหาร (saprophyte) ดังนั้นแบคทีเรียจึงมีบทบาทสำคัญมากในระบบนิเวศของดิน เนื่องจากมีความสามารถในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุและอินทรีย์สารต่างๆ ในดินได้ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2544)

ตารางที่ 2 การกระจายตัวของจุลินทรีย์ในดินที่ระดับความลึกต่างๆ

ความลึก (ซม.)	แบคทีเรีย (โคโลนีกรัมดิน แห้ง)	แอกติโนมัยซีท (โคโลนีกรัมดิน แห้ง)	รา (โคโลนีกรัมดิน แห้ง)	สาหร่าย (โคโลนีกรัมดิน แห้ง)
3 - 8	9,750,000	2,080,000	119,000	25,000
20 - 25	2,179,000	245,000	50,000	5,000
35 - 40	570,000	49,000	14,000	500
65 - 75	11,000	5,000	6,000	100
135 - 145	1,400	-	3,000	-

ที่มา: Gerard *et al.* (2004)

โดยแบคทีเรียแกรมบวกจะพบในดินมากกว่าในน้ำจืดและน้ำทะเล ในขณะที่เดียวกันจำนวนของแบคทีเรียแกรมลบก็จะพบมากในดินด้วย แต่อย่างไรก็ตามปริมาณของแบคทีเรียในดินจะมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนของแบคทีเรียตามความเป็นจริงในดินเนื่องจากแบคทีเรียบางกลุ่มเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ (สุบัตินิต, 2549) Difuza and Gisela (2003) ได้ทำการเพาะเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* PsIA12, *Pantoea agglomerans* 050309 และ *Mycobacterium* sp. ลงไปยังบริเวณรอบรากพืชพบว่าสามารถทำให้พืชดังกล่าวมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและยังเพิ่มความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารของพืชอีกด้วยและเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วแต่จะมีความหลากหลายน้อยกว่าแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบราก และแบคทีเรียในดินบริเวณรอบนอกราก แบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับรากพืชมีสัดส่วนน้อยมากเมื่อเทียบกับแบคทีเรียที่พบทั้งหมดในดินบริเวณรอบรากพืช แสดงให้เห็นว่ามีแบคทีเรียเฉพาะบางชนิดเท่านั้นที่สามารถเข้าไปอาศัยอยู่กับรากพืชได้ (Blaine, 1993) แบคทีเรียที่พบบริเวณรากพืชมีมากมายหลายชนิด เช่น แบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Azotobacter*, *Azotospirillum*, *Acetocacteria*,

Burkholderia, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthobacter*, *Serratia* และ *Pseudomonas* (Glick, 1995; Kloppe *et al.*, 1989) โดยแบคทีเรียบริเวณรากพืชจะมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีมากกว่าแบคทีเรียที่อยู่นอกบริเวณรากพืช

บทบาทของแบคทีเรียดินบริเวณรากพืช

แบคทีเรียดินมีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญเติบโต (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) ส่วนใหญ่จะพบว่าเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช ซึ่งพบว่าแบคทีเรียบริเวณรากพืช ร้อยละ 2-5 เป็นแบคทีเรียที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Antoun and Prevost, 2005) โดยรูปแบบในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช คือทำให้ธาตุอาหารพืชบางชนิดละลายออกมาอยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยแบคทีเรียจะเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์จากซากสิ่งมีชีวิตให้เป็นสารอนินทรีย์ในดิน ธาตุอาหารที่ถูกเก็บกักไว้จะถูกปลดปล่อยออกมาให้พืชหรือจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ในกระบวนการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุจะพบมากในดิน โดยแบคทีเรียกลุ่มเฮเทอโรโทรฟ แต่ละชนิดจะมีเอนไซม์ที่แตกต่างกันไป บางชนิดมีเอนไซม์หลายชนิดที่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น โปรตีนและกรดนิวคลีอิกซึ่งถูกเปลี่ยนรูปโดยแบคทีเรียบางกลุ่มเป็นกรดอะมิโนและแอมโมเนียม แต่ก็ยังมีบางชนิดที่มีเอนไซม์จำกัดอยู่กับสารอินทรีย์ชนิดเดียวเท่านั้น ดังนั้นจึงสามารถจำแนกชนิดของเอนไซม์ได้ออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ intracellular enzyme คือ เอนไซม์ที่เกิดขึ้นและอยู่ภายในเซลล์ อีกกลุ่มหนึ่งคือ เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นแล้วถูกปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งจะเป็นเอนไซม์ที่สำคัญต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ เนื่องจากจะย่อยสลายสารที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส หรือ โพลีแซคคาไรด์ ให้มีโมเลกุลที่เล็กลงจนสามารถซึมผ่านผนังเซลล์เข้าไปได้ (ธนศิริ, 2548)

บทบาทของแบคทีเรียในการตรึงไนโตรเจนให้กับพืช และมีความสำคัญต่อความอุดมสมบูรณ์ของดิน การตรึงไนโตรเจน เป็นกระบวนการเปลี่ยนรูปก๊าซไนโตรเจนให้อยู่ในรูปสารประกอบไนโตรเจน โดยการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพมี 2 แบบ คือการตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพาอาศัย (symbiotic nitrogen fixation) และการตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ (non - symbiotic nitrogen fixation) และการตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพาอาศัยจะมีมากกว่าร้อยละ 50 โดยกระบวนการตรึงไนโตรเจน แบคทีเรียจะนำไนโตรเจนที่ตรึงส่วนหนึ่งไปใช้ในการเจริญเติบโต และอีกส่วนหนึ่งจะปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปไนเตรตเพื่อให้พืชนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและเก็บไว้ที่ดิน (กานต์มณี, 2554)

บทบาทของแบคทีเรียในการละลายฟอสเฟต โดยแบคทีเรียบริเวณรากพืชมีกลไกในการเปลี่ยนรูปของฟอสเฟตจากรูปที่พืชที่ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ แต่เนื่องจากฟอสฟอรัสในดินส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น การตกตะกอนร่วมกับเหล็ก (Fe) อะลูมิเนียม (Al) แคลเซียม (Ca) และแมกนีเซียม (Mg) ส่งผลให้อยู่ในรูปที่ละลายได้น้อย (ธงชัย, 2546)

บทบาทแบคทีเรียรอบรากในการผลิตฮอร์โมนออกซิน (indoleacetic acid : IAA) หรือฮอร์โมนชนิดต่างๆ และการผลิตสารปฏิชีวนะเพื่อไปยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคพืช การยับยั้งดังกล่าวอาจเรียกว่าเป็นการควบคุมทางชีวภาพ(biological control) กิจกรรมต่างๆ เหล่านี้ล้วนเป็นประโยชน์ต่อพืชทั้งสิ้น ได้แก่ แบคทีเรียในจีนัส *Pseudomonas* sp. (Misko and James , 2002)

ความสัมพันธ์แบคทีเรียกับโลหะหนัก

โลหะทุกชนิดที่เป็นประจุบวก เมื่ออยู่ในสภาพอิสระในดินที่มีประจุบวก เช่น Pb^{2+} หรือ Ca^{2+} จะเข้าทำปฏิกิริยากับอนุภาคดินหรือเกลือที่มีประจุลบเช่น ฟอสเฟตและซัลเฟตหรืออินทรีย์สารที่มีประจุลบ เช่น ไฮดรอกไซด์และไทออล นอกจากนี้ยังยึดเกาะได้ดีกับผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นผลให้เกิดสภาพความเป็นพิษขึ้น โลหะที่มีประจุบวกจะจับกับอนุภาคดินและผนังเซลล์โดยมีความแข็งแรงของการจับต่าง ๆ กัน เรียกว่าสัมพรรคภาพของการดูดซับ (adsorption affinity) เช่น ในดินปกติอะลูมิเนียมจะยึดเกาะได้ดีกว่าแคลเซียมหรือแมกนีเซียม ($Al^{3+} > Ca^{2+} = Mg^{2+} > K^+ > Na^+$) จะเห็นได้ว่าขนาดประจุของโลหะแสดงถึงความแข็งแรงในการดูดซับ ดังนั้น โลหะที่เป็นมลพิษจะแข่งขันเกิดการแย่งกันแลกเปลี่ยนประจุกับโลหะที่มีประจุต่ำกว่าเกิดการแทนที่ขึ้น โลหะที่มีประจุบวกมาก มีแนวโน้มที่จะถูกดูดซับไว้ที่ดินสูง เช่น Al^{3+} มีความสามารถในการจับฟิวดินได้สูงซึ่งในช่วงแรกจะพบในรูป $Al(OH)_3$ จึงมีสภาพพร้อมใช้ได้ต่ำ โลหะที่เป็นพิษหลายชนิดมีขนาดใหญ่และมีประจุเป็นแบบไดวาเลนซ์จึงมีการดูดซับสูงและไม่เกิดการแลกเปลี่ยน ในทางตรงกันข้ามโลหะที่มีประจุลบเช่น AsO_4^{3-} (อาร์เซเนต) จะเกิดแรงดึงดูดกับฟิวดินโดยใช้โลหะที่มีประจุบวกไดวาเลนซ์เป็นสะพานเชื่อมเช่น Ca^{2+} และ Mg^{2+} องค์ประกอบของดินเองก็มีผลต่อการละลายน้ำของโลหะ เช่น การสร้างพันธะกับฟอสเฟต ซัลเฟต และคาร์บอเนต (วีรานุช, 2551)

แบคทีเรียบริเวณรอบรากพืชสามารถเปลี่ยนโลหะหนักมาใช้ประโยชน์ทางชีวภาพ (Lasat, 2002; McGrath *et al.*, 2001; Whiting *et al.*, 2001) ผ่านการปลดปล่อยของสารคีเลต กระบวนการ

สร้างกรด (acidification) โดยจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม และโดยอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงศักย์รีดอกซ์ (redox potential) (Smith and Read., 1997) อย่างไรก็ตาม โลหะหนักเป็นที่ทราบกันดีว่ามีพิษต่อพืชและสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ มีระดับความเข้มข้นในดินมากเกินไป (Jing *et al.*, 2007)

แบคทีเรียบริเวณรอบรากพืชจะแสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงสารโลหะหนัก โดยการสะสมความเป็นพิษของโลหะหนักที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อพืช (Jing *et al.*, 2007) โดยผลการวิจัยของ Gadd (1990) พบว่า แบคทีเรียรอบรากพืชหลายชนิดมีลักษณะทนทานต่อโลหะหนัก มีบทบาทที่สำคัญในการเคลื่อนที่ และการตรึงของโลหะหนัก นอกจากนั้นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืชยังมีอิทธิพลต่อการดูดซับโลหะหนักในพืช แต่พื้นที่ที่มีระดับโลหะหนักสูงจะส่งผลทำให้กิจกรรมเมตาบอลิก (metabolic) ช้าลง และความหลากหลายของแบคทีเรียลดลง (Gremion *et al.*, 2004; Sandaa *et al.*, 1997 ; Masalha., 2000)

Roane. (1998) ศึกษาลักษณะแบคทีเรียที่ทนตะกั่ว 2 ชนิด จากดินที่ปนเปื้อนตะกั่วที่แตกต่างกัน 2 ที่ โดยการแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค BIOLOG พบ *Pseudomonas marginalis* และ *Bacillus megaterium* นำไปศึกษาการทนตะกั่วที่ระดับตะกั่ว 0, 0.1, 0.3, 0.6, 1.2 และ 2.5 มิลลิโมล พบว่า *Pseudomonas marginalis* มีระดับการทนต่อตะกั่วในปริมาณสูง คือ 2.5 มิลลิโมล และ *Bacillus megaterium* ระดับการทนตะกั่ว ที่ 0.6 มิลลิโมล

Chen *et al.* (2011) ศึกษาการบำบัดดินปนเปื้อนตะกั่วด้วยแบคทีเรียที่ทนตะกั่ว โดยทำการศึกษาในกระถางทดลอง ด้วยแบคทีเรียที่ทนตะกั่ว 2 ชนิด จากดินปนเปื้อนตะกั่วในเขตเหมืองแร่ เมือง Heilongjian ประเทศจีน เมื่อนำดินปนเปื้อนตะกั่วมาวิเคราะห์หาแบคทีเรีย โดยระบุด้วยยีน 16S rDNA คือ *Bacillus pumilus* และ *Pseudomonas aeruginosa* และนำไปศึกษาการบำบัดตะกั่วในกระถางทดลองที่มีระดับตะกั่วที่แตกต่างกัน คือ 0, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเชื้อแบคทีเรียความหนาแน่น 10^8 CFU/ ml ทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในกระถางที่ปลูกร่วมกันกับกระหล่ำปลี ต่อ 1 กระถาง ผลการทดลองความเข้มข้นตะกั่ว พบว่าดินบริเวณรากพืชมีความเข้มข้นตะกั่วลดลงด้วยแบคทีเรียที่ทนตะกั่ว ซึ่งหลังจาก 48 วันของการเพาะปลูกในความเข้มข้นตะกั่ว 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า *Bacillus pumilus* มีความสามารถในการยับยั้งสำหรับการบำบัดได้ดีกว่า *Pseudomonas aeruginosa*

Piyaporn (2009) ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้พืชตระกูลราชวดีในการบำบัดตะกั่ว และศึกษาผลของแบคทีเรียจากรากของต้นราชวดีป่าในการกำจัดตะกั่ว ทำการทดลองพื้นที่เหมืองแร่ตะกั่วบ่องาม จ.กาญจนบุรี เป็นระยะเวลา 6 เดือนในบริเวณพื้นที่ 3 แห่งที่มีความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกัน โดยใช้พืชราชวดีป่า (*Buddleja asiatica*) สายพันธุ์ที่พบบริเวณเหมืองแร่ตะกั่ว และราชวดีบ้าน (*Buddleja paniculata*) พบว่าพืชทั้งสองสายพันธุ์สามารถดูดซับได้ มีการเจริญเติบโตและความสามารถในการดึงตะกั่วเพิ่มขึ้น (TF 1.1-2.3) เมื่อปลูกในดินที่มีความเข้มข้นของตะกั่ว 94,584-101,405 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และทำการแยกแบคทีเรียที่มีความทนทานตะกั่วจากรากของต้นราชวดีป่าที่ทนตะกั่วใน 0, 100, 150, 200, 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีแบคทีเรียที่ทนทานตะกั่ว 4 ชนิด คือ *Bacillus cereus*, *Microbacterium paraoxydans*, *Ochrobactrum intermedium* และ *Bacillus fusiformis* และนำแบคทีเรียสามชนิดหลังไปศึกษาคุณสมบัติด้วย ค่า MIC ของ ตะกั่ว แคดเมียม และ สังกะสีโดยแบคทีเรียทั้งสามชนิดแสดงความต้านทานตะกั่วมากกว่าโลหะชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะ *Ochrobactrum intermedium* มีความทนทานต่อตะกั่วมากที่สุด

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ปลูกข้าวโพดในโรงเรือนทดลอง
 - 1.1 จอบ
 - 1.2 พลั่วมือ
 - 1.3 ถังมือยาง
 - 1.4 ตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนตะกั่วจากบ้านคดี จังหวัดกาญจนบุรี
 - 1.5 ตัวอย่างดินที่ไม่ปนเปื้อนตะกั่วจากสถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน
 - 1.6 กระถางพลาสติกเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร
 - 1.7 บัวรดน้ำ
 - 1.8 ส้อมพรวนดิน
 - 1.9 ป้ายแสดงตำรับทดลอง
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างพืชเพื่อวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ
 - 2.1 ถังกระดาษสีน้ำตาลเบอร์ 2
 - 2.2 มีดและกรรไกร
 - 2.3 ตลับเมตร
3. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ
 - 3.1 พลั่ว จอบ เสียม
 - 3.2 ถังพลาสติกถังมือยาง
 - 3.3 หลอดเก็บตัวอย่าง (falcon tube) ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ

3.4 กรรไกรที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ แอลกอฮอล์ฆ่าเชื้อ 70%

3.5 กล้องโฟมเก็บรักษาตัวอย่างภายในบรรจุน้ำแข็ง

4. อุปกรณ์และเครื่องมือในการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน และตัวอย่างพืชในห้องปฏิบัติการ

4.1 เครื่องบดตัวอย่างพืช

4.2 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร

4.3 กระบอกตวง (cylinder)

4.4 ปีกเกอร์ (beaker)

4.5 ปิเปต (pipette)

4.6 หลอดทดลอง ขนาด 250 มิลลิลิตร

4.7 เครื่องย่อยตัวอย่าง (hot-block digest)

4.8 ตู้ดูดควัน (fume hood)

4.9 กระดาษกรองเบอร์ 42

4.10 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

4.11 ตะแกรงร่อน ขนาด 0.5 มิลลิเมตร

4.12 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

4.13 เครื่องอะตอมมิกแอ็บซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (flame atomic absorption

spectrophotometer = FAAS) (Spectra AA 200)

4.14 สารเคมี ประกอบไปด้วย

- กรดไนตริกเข้มข้น (conc. HNO_3)

- กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (conc. HClO_4)

- น้ำปราศจากไอออน (distilled deionized water = Di)

- สารละลายมาตรฐานตะกั่ว ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

- สารละลายมาตรฐานตะกั่ว (Pb standard) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 4

และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมและการวิเคราะห์ตัวอย่างสำหรับห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา

- 5.1 หลอดทดลองขนาด 13 x 100 มิลลิเมตร
- 5.2 Micro tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 5.3 Polymerized chain reaction (PCR) tube ขนาด 200 ไมโครลิตร
- 5.4 ลวดเย็บเชื้อ และแท่งแก้วสำหรับ spread plate
- 5.5 ปิเปตอัตโนมัติขนาด 20, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร บริษัท Gilson
- 5.6 ปิเปตอัตโนมัติขนาด 10 มิลลิลิตร บริษัท Lio Lab
- 5.7 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ยี่ห้อ Tomy ES - 315
- 5.8 กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Olympus
- 5.9 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaker incubator) บริษัท Handylab
- 5.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ยี่ห้อ Sorvell
- 5.11 เครื่องวัด pH ยี่ห้อ Mettler, Toledo
- 5.12 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 5.13 ตู้อบฆ่าเชื้อ (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert
- 5.14 ตู้เป่าเชื้อ (laminar flow) ยี่ห้อ Microtech
- 5.15 เครื่อง Polymerized Chain Reaction (PCR)
- 5.16 เครื่อง Gel documentary ยี่ห้อ BIO - RAD
- 5.17 เครื่อง Gel electrophoresis
- 5.18 เครื่อง UV-VIS spectrometer
- 5.19 สารเคมีวิเคราะห์แบคทีเรีย
 - อาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar (ภาคผนวก)
 - อาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate broth (ภาคผนวก)
 - Proteose peptone
 - Glucose
 - Lead acetate $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

- Disodium phosphate (Na_2HPO_4)
- Bacto agar
- Isopropanol
- Isoplant II DNA extraction kits (Nippon Gene Co, Ltd.)
- PCR kits (Green Master Mix M7122 Go Taq)
- Agarose
- Ethidium bromide

6. อุปกรณ์การวิเคราะห์ทางสถิติ

6.1 โปรแกรม SPSS version 16

วิธีการ

1. การสำรวจพื้นที่ที่ปนเปื้อนตะกั่วและเก็บตัวอย่างดินวิเคราะห์ความเข้มข้นตะกั่ว

ทำการสำรวจพื้นที่บริเวณบ้านคลิตี้ ตำบลชะแล อำเภอลองพญาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่เกษตรกรรมที่มีการปลูกข้าวโพด และเป็นพื้นที่ประสบปัญหาการปนเปื้อนตะกั่ว หลังจากนั้นทำการเก็บดิน โดยเลือกพื้นที่ที่อยู่ติดกับถนนที่ใช้ในการขนย้ายแร่ตะกั่ว และนำดินในพื้นที่ไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของตะกั่ว จากนั้นกำหนดจุดเก็บตัวอย่างดินบริเวณพื้นที่ที่ปลูกข้าวโพด ขนาดพื้นที่ 800 ตารางเมตร และทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณนั้นจำนวน 400 กิโลกรัม โดยในการเก็บตัวอย่างดินเพื่อเป็นตัวแทนของดินในพื้นที่นั้น แบ่งจุดเก็บตัวอย่างออกเป็น 5 จุด ประกอบไปด้วย จุดตรงกลางพื้นที่ในแปลงข้าวโพด 1 จุด และมุมทั้ง 4 ของพื้นที่ข้าวโพดอีกด้านละ 1 จุด นำดินบรรจุใส่ถุงที่สะอาดที่เตรียมไว้ และจดบันทึกรายละเอียด



ภาพที่ 3 บริเวณพื้นที่ปลูกข้าวโพดที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างดินปนเปื้อนตะกั่ว

ที่มา: ดัดแปลงมาจากโปรแกรม Google Earth version 6.2.0.5905 beta (2012)

2. การทดลองการดูดซับตะกั่วของข้าวโพดที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนตะกั่วและดินควบคุมในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

2.1 การทดลองในโรงเรือนทดลอง

2.1.1 ตัวอย่างดินที่ใช้ในการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ตะกั่วในดินที่ปนเปื้อนตะกั่ว บริเวณที่เป็นตัวแทนของดินในพื้นที่ พบว่าปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในดินโดยเฉลี่ยเท่ากับ 3,641.65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณการปนเปื้อนตะกั่ว เกินค่ามาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม ที่กำหนดความเข้มข้นของตะกั่วในดินไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม (กรมควบคุมมลพิษ, 2554) นำดินมาตากให้แห้งในโรงเรือนทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการคลุกเคล้าดินให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วชั่งตัวอย่างดินที่คลุกเคล้าเสร็จแล้วใส่กระถาง กระถางละ 20 กิโลกรัม จำนวน 18 กระถาง

ทำการเก็บตัวอย่างดินควบคุมเก็บตัวอย่างดินบริเวณด้านหลังสถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน ซึ่งแบ่งเก็บเป็น 5 จุด เพื่อให้ได้ตัวแทนของดินที่ไม่ปนเปื้อนตะกั่วหรือมีค่าตะกั่วต่ำที่สุด จากนั้นนำมาตากให้แห้งในโรงเรือนเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทำการคลุกเคล้า ดินให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วชั่งตัวอย่างดินที่คลุกเคล้าเสร็จแล้วใส่กระถาง กระถางละ 20 กิโลกรัม จำนวน 18 กระถาง

2.1.2 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (complete randomized design) มีจำนวน 6 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 6 ซ้ำ รายละเอียดการทดลองมีดังต่อไปนี้ คือ

ชุดการทดลองที่ 1 ข้าวโพดในดินควบคุมและเก็บเกี่ยวที่ระยะ 40 วัน

ชุดการทดลองที่ 2 ข้าวโพดในดินปนเปื้อนตะกั่วและเก็บเกี่ยวที่ระยะ 40 วัน

ชุดการทดลองที่ 3 ข้าวโพดในดินควบคุมและเก็บเกี่ยวที่ระยะ 70 วัน

ชุดการทดลองที่ 4 ข้าวโพดในดินปนเปื้อนตะกั่วและเก็บเกี่ยวที่ระยะ 70 วัน

ชุดการทดลองที่ 5 ข้าวโพดในดินควบคุมและเก็บเกี่ยวที่ระยะ 120 วัน

ชุดการทดลองที่ 6 ข้าวโพดในดินปนเปื้อนตะกั่วและเก็บเกี่ยวที่ระยะ 120 วัน

2.1.3 การดำเนินการทดลอง

นำตัวอย่างดินปนเปื้อนตะกั่วและดินควบคุมที่เก็บได้จากพื้นที่ศึกษา มาผึ่งแดดให้แห้งเป็นเวลาอย่างน้อย 7-10 วัน และคลุกเคล้าดินให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นชั่งใส่กระถางปริมาณ 20 กิโลกรัมต่อกระถาง เป็นจำนวนทั้งสิ้น 36 กระถาง นำมาวางแบบสุ่มสมบูรณ์ตามแผนการทดลองที่ได้เตรียมไว้ข้างต้น ทำการเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกเพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน และปริมาณตะกั่วทั้งหมดในดิน จากนั้นนำเมล็ดข้าวโพดมาปลูกในดินที่เตรียมไว้ หยอดเมล็ดในกระถาง กระถางละ 3 เมล็ด เมื่อครบ 1 สัปดาห์ ถอนต้นกล้าของข้าวโพดที่เหลือ 1 ต้นต่อกระถาง และรดน้ำเข้าเย็นทุกวันจนครบระยะเก็บเกี่ยว

การเก็บตัวอย่าง การเก็บเกี่ยวแบ่งเป็นสามช่วงอายุ คือ

- เก็บเกี่ยวข้าวโพดที่ระยะ 40 วัน
- เก็บเกี่ยวข้าวโพดที่ระยะ 70 วัน
- เก็บเกี่ยวข้าวโพดที่ระยะ 120 วัน

โดยก่อนที่จะเก็บเกี่ยวจะทำการวัดความสูงของพืชในแต่ละระยะก่อน จึงทำการเก็บเกี่ยว และนำมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำประปา และแบ่งต้นพืชออกเป็นส่วนตัวต่าง ๆ ดังนี้

- ที่ระยะ 40 วัน แบ่งเป็น ราก ลำต้นและใบ
- ที่ระยะ 70 วัน แบ่งเป็น ราก ลำต้นและใบ และฝักและเมล็ด
- ที่ระยะ 120 วัน แบ่งเป็น ราก ลำต้นและใบ และฝักและเมล็ด

2.2 การทดลองในแปลงทดลอง

2.2.1 การวางแผนการทดลอง

ตัวอย่างดินและตัวอย่างข้าวโพดเลือกจากพื้นที่ที่ปลูกข้าวโพด บ้านคลิตี้ อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี ขนาดพื้นที่ครึ่งไร่ (800 ตารางเมตร) ซึ่งเป็นบริเวณเดียวกันกับที่นำดินมาทดลองการดูดซับตะกั่วของข้าวโพดที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลอง

2.2.2 การดำเนินการทดลอง

การเก็บตัวอย่างดิน โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ก่อนการปลูกข้าวโพดในแปลงทดลองที่มีการปนเปื้อนตะกั่ว จะแบ่งเก็บตัวอย่างเป็น 5 จุด ประกอบไปด้วย จุดตรงกลางพื้นที่แปลงข้าวโพด 1 จุด และมุมทั้ง 4 ของพื้นที่ข้าวโพดอีกด้านละ 1 จุดเพื่อให้ได้ดินที่มีค่าปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วเฉลี่ยใกล้เคียงกันมากที่สุด โดยเก็บดินที่มีความลึก 0-15 เซนติเมตร และทำการถางหญ้า ถากเศษพืชหรือวัสดุที่อยู่ผิวหน้าดินออกเสียก่อน แล้วจึงใช้จอบ เสียม หรือพลั่วขุดหลุมเป็นรูปตัว V จำนวน 5 จุด จุดละ 1 กิโลกรัม นำดินบรรจุใส่ถุงที่สะอาดที่เตรียมไว้และจดบันทึกรายละเอียด แล้วรวบรวมนำไปวิเคราะห์ทางเคมี

การเก็บตัวอย่างพืช โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวโพดเป็นแนวฟันปลาให้ทั่วในพื้นที่ที่กำหนด โดยการเก็บเกี่ยวแบ่งเป็นสามช่วงอายุ คือ

- เก็บเกี่ยวข้าวโพดที่ระยะ 40 วัน
- เก็บเกี่ยวข้าวโพดที่ระยะ 70 วัน
- เก็บเกี่ยวข้าวโพดที่ระยะ 120 วัน

จะทำการเก็บตัวอย่างพืชจำนวน 100 ต้น ในแต่ละระยะที่กำหนด ก่อนเก็บเกี่ยวจะวัดความสูงของพืช จากนั้นจึงทำการเก็บเกี่ยว และนำมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำประปา และแบ่งต้นพืชออกเป็นส่วนต่าง ๆ ดังนี้

- ที่อายุ 40 วัน แบ่งเป็น ราก และลำต้นและใบ
- ที่ระยะ 70 วัน แบ่งเป็น ราก ลำต้นและใบ และฝักและเมล็ด
- ที่ระยะ 120 วัน แบ่งเป็น ราก ลำต้นและใบ และฝักและเมล็ด

จากนั้นรวบรวมนำไปวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการ

3. การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

3.1 การเตรียมตัวอย่างดินและพืช

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างดิน นำตัวอย่างดินที่เก็บมาจาก 5 จุด ใน 1 แปลง ไปผึ่งลมให้แห้งในที่ร่ม เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เกลี่ยตัวอย่างดินให้สม่ำเสมอในภาชนะที่สะอาด เขียนรายละเอียดของจุดเก็บลงบนภาชนะที่ติดฉลากอย่างชัดเจน เช่น สถานที่เก็บตัวอย่าง จุดเก็บตัวอย่าง วันที่เก็บตัวอย่าง นำดินตัวอย่างที่แห้งแล้วแต่ละจุดมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งตัวอย่างดินรวมออกเป็น 4 ส่วนเท่า ๆ กัน จากนั้นสุ่มเก็บดินมา 100 กรัม นำตัวอย่างดินที่ได้ไปบดในโกร่ง (ครกหิน) จนละเอียด แล้วนำมาร้อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ดินตัวอย่างที่ไม่สามารถผ่านตะแกรงร้อนได้ให้นำไปบดและนำมาร้อนอีกครั้ง เก็บตัวอย่างดินที่ร้อนได้ใส่ลงถุงพลาสติกที่สะอาด เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นตะกั่วต่อไป

3.3.2 การเตรียมตัวอย่างพืช นำข้าวโพดมาล้างทำความสะอาดดินที่ติดมาที่รากและต้น ด้วยน้ำประปา แล้วทำการแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ราก และต้น นำไปผึ่งลมให้แห้ง จากนั้นตัดให้ขนาดเล็กลง ทำการชั่งน้ำหนัก บันทึกข้อมูล ใส่ถุงกระดาษ และนำไปอบในตู้อบลมร้อน (hot air oven) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างแห้งมาบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืชและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร ตัวอย่างพืชที่ได้เก็บใส่ขวดแก้ว หรือถุงที่สะอาด ก่อนนำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาใช้ ควรชั่งน้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

3.2 วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของข้าวโพด

3.2.1 การวัดการเจริญเติบโตของข้าวโพด โดยการวัดความสูงของต้นข้าวโพด คือ วัดจากข้อแรกของลำต้นข้าวโพดจนถึงปลายใบยอด (ใบธง) และ การวัดความยาวราก โดยวัดจากข้อแรกของลำต้นจนถึงปลายราก

3.2.2 การวัดความชื้นข้าวโพด คือ เปอรเซ็นต์ของน้ำ หรือความชื้นในข้าวโพด โดยแบ่งตัวอย่างข้าวโพดออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วน ราก และต้น ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้

$$WC (\%) = \frac{\text{Weight of fresh sample} - \text{Weight of dry sample}}{\text{Weight of fresh sample}} \times 100$$

3.2.3 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง เมื่อแบ่งตัวอย่างพืชออกเป็นส่วนต่าง ๆ แล้ว นำตัวอย่างพืชที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก(น้ำหนักสด) จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำออกจากตู้อบลมร้อน นำมาชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (น้ำหนักแห้ง) (Panich-Pat and Srinives, 2009)

3.3 วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของดินก่อนการทดลอง

3.3.1 ความเป็นกรด-ด่าง ของดิน โดยใช้เครื่องวัดปฏิกิริยาดิน (pH meter) ใช้อัตราส่วนดินต่อน้ำและดินต่อสารละลาย 1 KCl เท่ากับ 1:1 (Beck , 1999)

3.3.2 การนำไฟฟ้า (electrical conductivity) โดยวัดสภาพการนำไฟฟ้าของสารสกัดจากสารละลายดินที่อิ่มตัว (saturation extract) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่อง Electrical conductivity (Beck, 1999)

3.3.3 ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน โดยวิธี Walkley and Black Titration (Walkley and Black, 1947)

3.3.4 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) โดยวิธี Micro Kjeldahl (McKenzie and Wallace, 1954)

3.3.5 ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus) โดยวิธี Bray II แล้ววัดปริมาณฟอสฟอรัสด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Bray , 1945)

3.3.6 ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable potassium) โดยวิธีการของ Chapman (Chapman, 1965)

3.4 วิเคราะห์ความเข้มข้นของตะกั่วทั้งหมดในดิน

3.4.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างดิน

การเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยการย่อยตัวอย่างดิน (ดัดแปลงจาก Amacher (1996) และ Hesse (1971) อ้างใน กรมควบคุมมลพิษ (2553))

เตรียมสารเคมีสำหรับย่อยโดยผสมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น และกรดไนตริกเข้มข้น อัตราส่วน 2:1 จากนั้นชั่งดินที่ผ่านการบดละเอียดและร่อนแล้ว 0.5 กรัมใส่ในหลอดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร เติม กรดเปอร์คลอริกและกรดไนตริก (2:1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน จากนั้นนำไปใส่ในเครื่องย่อยตัวอย่าง (block digestion) ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 85 ± 5 องศาเซลเซียส เมื่อควันสีน้ำตาลหมดไปเพิ่มอุณหภูมิเป็น 128 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง ค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิเป็น 200 ± 2 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเหลือปริมาตร 1 มิลลิลิตร และตัวอย่างดินเปลี่ยนสีเป็นสีเทาซีด ถ้าตัวอย่างดินมีอินทรีย์วัตถุเหลืออยู่จะมีสีดำให้เติมกรดเปอร์คลอริกและกรดไนตริก ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วย่อยตัวอย่างดินต่อไปจนเปลี่ยนสีเป็นสีเทาซีด ตั้งหลอดทดลองทิ้งไว้ให้เย็นในตะแกรงหลอดทดลอง และกรองสารละลายตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman no. 42 ใต้ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำสารละลายที่ได้ใส่ขวดพลาสติกขนาด 60 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิทเพื่อเตรียมไว้สำหรับวิเคราะห์ขั้นต่อไป ควรทำ blank ไปพร้อมกับตัวอย่าง

3.4.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างข้าวโพด

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างข้าวโพดคัดแปลงจากสำนักงานวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน(2547)

ซึ่งพืชที่อบและบดละเอียดแล้ว 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร และกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร จากนั้นวางหลอดทดลองในเครื่องย่อยตัวอย่าง ซึ่งวางอยู่ในตู้ดูดควันที่ 150 องศาเซลเซียส ระยะแรกจะมีควันสีน้ำตาลเกิดขึ้น เร่งอุณหภูมิเป็น 220 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง เมื่อควันเปลี่ยนเป็นสีขาวให้ตรวจดูตัวอย่างในหลอดใส ถ้าเปลี่ยนเป็นสารละลายใสแล้วแสดงว่าการย่อยเสร็จสมบูรณ์ นำหลอดแก้วออกจากเตาย่อยวางในตะแกรงวางหลอดทดลองที่เตรียมไว้ รอจนควันหมดปิดตู้ดูดควัน เมื่อตัวอย่างเย็น กรองสารละลายตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman no. 42 ใต้ลงในขวดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำสารละลายที่ได้ใส่ขวดพลาสติกขนาด 60 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิทเพื่อเตรียมไว้สำหรับวิเคราะห์ขั้นต่อไป โดยทำ blank พร้อมไปกับตัวอย่าง

3.4.3 วิเคราะห์ความเข้มข้นตะกั่วในสารละลายดินและพืช

เมื่อได้สารละลายใสที่ผ่านการกรองเรียบร้อยแล้ว นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วด้วยเครื่องอะตอมมิกแอ็บซอร์บชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Anonymous, 1970)

4. การเก็บข้อมูล

4.1 การเก็บข้อมูลดินก่อนปลูก โดยเก็บข้อมูล pH ปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ การนำไฟฟ้า C/N ratio (วิเคราะห์โดยรวมทั้งหมด) และ ปริมาณตะกั่วทั้งหมดในดิน (total soil lead) วิเคราะห์แยกในแต่ละหน่วยทดลอง

4.2 เก็บข้อมูลดินหลังปลูก โดยเก็บข้อมูลปริมาณตะกั่วทั้งหมดในดินวิเคราะห์แยกในแต่ละหน่วยทดลอง)

4.3 การเก็บข้อมูลพืช โดยเก็บข้อมูลดังนี้

- น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง
- ความสูงต้น ความยาวราก
- ความเข้มข้นของตะกั่วในราก และลำต้นและใบ ของข้าวโพดที่ระยะ 40 วัน
- ความเข้มข้นของตะกั่วในราก ลำต้นและใบ และฝักอ่อน ของข้าวโพดที่ระยะ 70 วัน
- ความเข้มข้นของตะกั่วในราก ลำต้นและใบ และฝักแก่ ของข้าวโพดที่ระยะ 120 วัน

4.4 คำนวณค่าความเข้มข้นทางชีวภาพ (Bioconcentration factor, BCF) จากสูตร (Yoon *et al.*, 2006)

$$BCF = \frac{Pb \text{ in plant (total)}}{Pb \text{ in soil (total)}}$$

หมายเหตุ Pb in Plant (total) = ปริมาณตะกั่วทั้งหมดในต้นพืช

Pb in Soil (total) = ปริมาณตะกั่วทั้งหมดในดิน

4.5 คำนวณค่าปัจจัยการเคลื่อนย้ายตะกั่วจากรากสู่ต้น Translocation factor (TF) จากสูตร (Yoon *et al.*, 2006)

$$TF = \frac{Pb \text{ in shoot}}{Pb \text{ in root}}$$

หมายเหตุ Pb in Plant (shoot) = ปริมาณตะกั่วในต้นของพืช

Pb in Plant (root) = ปริมาณตะกั่วในส่วนราก

4.6 คำนวณค่า Uptake by plant (UP) จากสูตร

$$UP = B \text{ Treatment} \times Pb \text{ in whole plant}$$

หมายเหตุ B Treatment = คือ น้ำหนักแห้งของพืชที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว

Pb in whole plant = คือ ความเข้มข้นตะกั่วทั้งหมดในพืช

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้โปรแกรม SPSS version 16 ในการวิเคราะห์ข้อมูลดังต่อไปนี้

5.1 เปรียบเทียบความเข้มข้นของตะกั่วที่สะสมในข้าวโพดที่ปลูกในพื้นที่แตกต่างกัน โดยใช้การทดสอบทางสถิติแบบ ความแปรปรวนทางเดียว (one way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ก็จะนำมาเปรียบเทียบหาความแตกต่างโดยใช้ DMRT (Duncan's new multiple range test)

5.2 เปรียบเทียบความเข้มข้นของตะกั่วที่สะสมในระยะอายุ 40, 70 และ 120 วัน จากข้าวโพดที่มีการปนเปื้อนตะกั่วโดยใช้การทดสอบทางสถิติแบบ ความแปรปรวนทางเดียวที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ก็จะนำมาเปรียบเทียบหาความแตกต่างโดยใช้ DMRT

6. การวิเคราะห์ชนิดของแบคทีเรียบริเวณผิวดินและรากข้าวโพด

6.1. การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินที่หมู่บ้านคลิตี้ อำเภอนาทม จังหวัดกาฬสินธุ์ ในบริเวณ 5 จุด ประกอบไปด้วย จุดตรงกลางพื้นที่แปลงข้าวโพด 1 จุด และมุมทั้ง 4 ของพื้นที่ข้าวโพดอีกด้านละ 1 จุด โดยใช้พลั่วมือขุดดินลงไปยังบริเวณรากพืชลึกประมาณ 15 เซนติเมตรและใช้กรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อเลือกตัดรากฝอยที่มีดินเกาะอยู่ จากนั้นใช้ปากก๊อบที่ผ่านการฆ่าเชื้อคีบเอารากดังกล่าวขึ้นมา สะบัดเอาเศษดินที่เกาะรากอยู่ไถ่ลงในหลอดเก็บตัวอย่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำตัวอย่างดินไปเก็บรักษาไว้ในกล่องที่ภายในบรรจุน้ำแข็ง (ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

6.2. การแยกเชื้อแบคทีเรีย

นำตัวอย่างดินบริเวณรอบรากข้าวโพดมาทำการแยกเชื้อโดยการเจือจางดินตัวอย่างเป็นลำดับ (series of dilution) ที่ระดับความเจือจาง 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} ในแต่ละตัวอย่าง จากนั้นนำสารละลายดินแต่ละระดับความเจือจาง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มา spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (lead acetate agar) ที่มีความเข้มข้นตะกั่วเริ่มต้นที่ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้แท่งแก้วรูปตัว “L” คนสารละลายให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

6.3. การคัดเลือกแบคทีเรียที่ทนทานตะกั่ว

ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย โดยคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวในแต่ละจานอาหาร โดยอาศัยสังเกตความแตกต่างทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะโคโลนี รูปร่างของโคโลนี และสีของโคโลนี จากนั้นทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยนำมา streak ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นตะกั่วเริ่มต้นที่ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปบ่มเพาะที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง จนมีโคโลนีเดี่ยวเจริญขึ้นบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีตะกั่ว

6.4 ความสามารถในการทนตะกั่วของแบคทีเรีย

หลังจากนั้นนำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือกทั้งหมด มาถ่ายเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของตะกั่วต่างกัน คือ 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 1,000, 1,250, 1,500, 2,000, 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง

6.5 การจัดจำแนกแบคทีเรียที่ทนทานตะกั่วที่ความเข้มข้นสูง

6.5.1 การทดสอบสัณฐานวิทยา

การทดสอบสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย ทำโดยใช้เทคนิคการย้อมสีแกรม คือนำแบคทีเรียที่คัดเลือกแล้วที่ทนตะกั่ว แต่ละไอโซเลตมาเกลี่ยเป็นผิวบางบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด ปล่อยให้แห้ง จากนั้นนำมาลงบนเปลวไฟ 2-3 ครั้ง เพื่อให้เชื้อติดแน่นบนสไลด์ แล้วหยดสีคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) บนรอยเกลี่ยของเชื้อให้ท่วม ทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที แล้วเทสีทิ้ง หยดสารละลายไอโอดีน (Lugol's iodine) ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วล้างด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ไหลผ่านซ้ำๆ บนสไลด์ จนกระทั่งไม่มีสีของคริสตัลไวโอเลตปนไปกับแอลกอฮอล์ จากนั้นย้อมทับด้วยสีแซฟรานิน (safranin O) บนรอยเกลี่ย ทิ้งไว้ 30 วินาที ล้างสีออกด้วยน้ำเปล่า และซับให้แห้ง แล้วนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อศึกษาลักษณะของแบคทีเรีย

6.5.2 การเปรียบเทียบ

6.5.2.1 การสกัด DNA (DNA extraction)

นำเชื้อแบคทีเรียที่ทนตะกั่วได้ในระดับสูงมาสกัดดีเอ็นเอ โดยนำแบคทีเรียมาเลี้ยงในอาหารที่ตะกั่ว (Lead acetate broth) ปริมาตร 3 มิลลิกรัม บ่มโดยใช้เครื่องบ่มเชื้อแบบเขย่า 37 องศาเซลเซียส 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอ GF-1 Soil Sample DNA Extraction Kit (vivantis) ปิเปตเซลล์ลงในหลอดไมโครเซนตริฟิวจขนาด 1.5 ไมโครลิตร ที่มี glass beads ปริมาตร 500 มิลลิกรัม เติม buffer SLX Mlus ในหลอด 1 มิลลิตร และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วสูงสุด 14,000 รอบต่อนาที นาน 3-5 นาที เพื่อให้ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกันอย่างละเอียด เติม บัฟเฟอร์ Ds ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากัน

โดยการกลับลอด 2-3 ครั้ง จากนั้นบ่มที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที ถ่ายสารละลาย 800 ไมโครลิตร ในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์อันใหม่ เติมบัฟเฟอร์ P2 ปริมาตร 270 ไมโครลิตรในหลอดตัวอย่าง และผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า เขย่าตัวอย่างในน้ำแข็งนาน 5 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วสูงสุด 14,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที ถ่ายสารละลาย ทั้งหมดไปยังหลอดไมโครเซนติฟิวจ์อันใหม่ และจดบันทึกปริมาตรสารละลายที่ได้เติมไอโซโพรพานอล (isopropanol) ปริมาตร 0.7 เท่า เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ และผสมโดยการพลิกกลับลอดประมาณ 20-30 ครั้ง ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วสูงสุด 14,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เทสารละลายทิ้ง เติมบัฟเฟอร์ Elution ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 10-20 นาที จนตะกอน DNA ละลาย เติมสาร HTR 100 ไมโครลิตร ผสมสาร โดยการกลับลอดตลอด 10 วินาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง 2 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วสูงสุด 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ถ่ายสารละลายไปในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ ที่สะอาด ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม RNase A ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยการเขย่า บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เติม XP1 Buffer ปริมาตรที่เท่ากัน เพื่อล้างตัวอย่าง และผสมให้เข้ากันด้วยการเขย่า แล้วเติมบัฟเฟอร์ XP1 ปริมาตร 300 ไมโครลิตร วางคอลัมน์ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง (collection tube) และเติมบัฟเฟอร์ Equilibration ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในคอลัมน์ ตั้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วสูงสุด 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที ดูดสารละลายทิ้ง และหลอดเก็บตัวอย่าง ใส่คอลัมน์ในหลอดเก็บตัวอย่างอันใหม่ ถ่ายตัวอย่าง 600 ไมโครลิตรในคอลัมน์ ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ทิ้งสารละลาย เติมบัฟเฟอร์ XP1 ปริมาตร 300 ไมโครลิตร และหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ทิ้งสารละลาย และหลอดเก็บตัวอย่างใส่คอลัมน์หลอดเก็บตัวอย่างอันใหม่ เติมบัฟเฟอร์ SPW Wash ปริมาตร 700 ไมโครลิตร และปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ทิ้งสารละลาย ล้างซ้ำด้วยบัฟเฟอร์ SPW Wash ปริมาตร 700 ไมโครลิตร เทสารละลายทิ้ง ปั่นเหวี่ยงคอลัมน์ที่ความเร็วสูงสุด 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที วางคอลัมน์ในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ที่ล้างทำความสะอาด เติมบัฟเฟอร์ Elution ทันทีไปยังตรงกลางเยื่อเมมเบรน (membrane) บ่มที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วสูงสุดนาน 14,000 รอบต่อนาที 1 นาที เก็บส่วนใสของดีเอ็นเอที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้

6.5.2.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วนของ 16S rDNA ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จะใช้เป็นต้นแบบ (DNA template) สำหรับเพิ่มปริมาณในส่วนของเรา โปไซมอลดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction; PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ 27 F (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3') และ 1512R (5'AAAGGAGGTGATCCAGCC -3') โดยส่วนประกอบของปฏิกิริยา PCR จำนวน 25 ไมโครลิตร ประกอบไปด้วย ดีเอ็นเอต้นแบบ 0.5 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ในส่วน forward 27F และ reverse 1512R ความเข้มข้นอย่างละ 1.25 ไมโครลิตร สารละลาย PCR master mix (ประกอบด้วย MgCl₂, dNTP, Taq polymerase) 12.5 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 9.5 ไมโครลิตร การทำปฏิกิริยาด้วยเครื่อง thermal cycling จำนวน 30 รอบ ในแต่ละรอบจะประกอบด้วย

1. pre-denaturing ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที
2. denaturing ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที
3. annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที
4. elongation ที่อุณหภูมิ 74 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 นาที และ
5. extended elongation ที่อุณหภูมิ 74 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (gel electrophoresis)

ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์โดยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส เตรียม 1% อะกาโรส (agarose) ใน 1 x TAE buffer โดยใช้อะกาโรสจำนวน 0.5 กรัม ละลายใน TAE buffer จำนวน 50 มิลลิลิตร แล้วเท agarose ลงในถาดเตรียมเจล รอจนเจลแข็ง นำ PCR ปริมาตร 8 ไมโครลิตร มาโหลดลงในหลุม (wells) โดยผลิตภัณฑ์ PCR ทั้งหมดจะนำไปเปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน (10,000 bp DNA Ladder) ภายใต้กระแสไฟฟ้า 150 โวลต์ 100 แอมแปร์ เวลา 30 นาที แล้วนำเจลไปแช่ในสารละลาย เอทีเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) เป็นเวลา 15 นาที ทำการวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (UV) โดยเครื่องถ่ายภาพและวิเคราะห์สารพันธุกรรม (gel documentation)

6.5.2.3 การวิเคราะห์สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic analysis) โดยการวิเคราะห์และหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย

DNA เป้าหมายขนาด 1,500 bp จะถูกนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide sequence) โดยใช้ ABI PRISM 310 Genetic Analyzer a Big Dye Terminator (version 3.0) จากนั้นจะนำไปเปรียบเทียบกับยีนส์ 16S rDNA เปรียบเทียบกับลำดับเบสในฐานข้อมูล (Genebank) ของโปรแกรม BlastN database เพื่อจัดจำแนกชนิดและสายพันธุ์ของแบคทีเรียตัวต่อไป จากฐานข้อมูล NCBI เพื่อใช้ในการหาค่าเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงหรือเหมือน (% identify) และรายละเอียดต่างๆ และนำข้อมูลแบคทีเรียมาหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย ด้วยแผนภูมิวงศาวาน (phylogenetic tree analysis) ด้วยโปรแกรม ClustalX เวอร์ชัน 2.0.11

7. สถานที่และระยะเวลาในการทำการวิจัย

สำหรับการปลูกข้าวโพดในโรงเรือนทดลองทำการทดลองที่ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สังกัดสถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน สถานที่เก็บข้าวโพดในแปลงทดลองที่บ้านคัลดี ต.ชะแล อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง จะตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการทางเคมี หน่วยวิเคราะห์ วิจัย ดิน พืช และวัสดุเกษตร ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนากำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โครงการจัดตั้งสายวิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์ และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ระยะเวลาที่เริ่มทำการวิจัย จะเริ่มตั้งแต่เดือน มกราคม 2555 จนถึง ธันวาคม 2556

ผลและวิจารณ์

ผล

1. ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในดินและข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วและดินควบคุม ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

1.1 การทดลองในโรงเรือนทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความเข้มข้นของตะกั่วในดินปนเปื้อนตะกั่วและดินควบคุม ความเข้มข้นตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูกจากดินที่ปนเปื้อนตะกั่วและดินควบคุม ซึ่งศึกษาข้าวโพดในช่วงอายุ 40, 70 และ 120 วัน ในสภาพควบคุมในโรงเรือนทดลอง โดยผลการศึกษาแบ่งออกเป็นหัวข้อดังต่อไปนี้

1.1.1 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของดินที่ใช้ในการทดลอง

ดินควบคุมมี pH เท่ากับ 7.61 จัดอยู่ในดินที่มีค่าความเป็นด่างเล็กน้อย (ตารางที่ 3) มีค่าการนำไฟฟ้าวัดได้ 2.44 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร เป็นดินที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุค่อนข้างต่ำ มีค่าเท่ากับ 1.28 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีอยู่ค่อนข้างต่ำ (0.11เปอร์เซ็นต์) แต่ปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดินอยู่ในระดับสูงมาก มีค่าเท่ากับ 188.56 และ 142.81 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับปริมาณตะกั่วพบว่า ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วที่ปนเปื้อนอยู่ในดินก่อนและหลังการทดลองมีค่าเท่ากับ 19.691 และ 17.752 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และเมื่อนำปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในดินควบคุมเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานการปนเปื้อนตะกั่วในดินเกษตรกรรมของประเทศไทย (มีตะกั่วปนเปื้อนในดินได้ไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม) พบว่า มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้

ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางฟิสิกส์และเคมีของดินปนเปื้อนตะกั่ว พบว่า pH ของดินมีค่าเท่ากับ 7.32 จัดอยู่ในดินที่เป็นกลาง มีค่าการนำไฟฟ้าวัดได้ 2.49 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร มีปริมาณอินทรีย์วัตถุสูงมาก เท่ากับ 7.81 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอยู่ในระดับปานกลาง (0.34 เปอร์เซ็นต์) อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 13.36:1 ปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมที่

เป็นประโยชน์ในดินสูงมาก มีค่าเท่ากับ 66.97 และ 141.83 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ปริมาณตะกั่วก่อนและหลังการทดลอง มีค่าเท่ากับ 3,392.99 และ 3,064.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และเมื่อนำปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในดินปนเปื้อนตะกั่วเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน การปนเปื้อนตะกั่วในดินเกษตรกรรมของประเทศไทย พบว่า มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วสูงกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของดินควบคุมและดินปนเปื้อนตะกั่ว ใน โรงเรือนทดลอง

การวิเคราะห์	ค่าที่วิเคราะห์ได้	
	ดินควบคุม	ดินปนเปื้อนตะกั่ว
pH ^{1/}	7.61	7.32
ECe (dS/m) ^{2/}	2.44	2.49
OM (%) ^{3/}	1.28	7.81
Total N (%) ^{4/}	0.11	0.34
C/N ratio ^{5/}	6.76:1	13.36:1
Avai. P ^{5/}	188.56	66.97
Exch. K ^{6/}	142.81	141.83
Total Pb (ก่อนการทดลอง)	19.69	3392.99
Total Pb (หลังการทดลอง)	17.75	3064.38

^{1/} 1:1 H₂O (Beck, 1999)

^{2/} 1:5 H₂O (Beck, 1999)

^{3/} Walkley and Black method (Walkley and Black, 1947)

^{4/} Kjeldahl method (Mckenzie and Wallace, 1954)

^{5/} Bray II extraction (Bray and Kurtz, 1945)

^{6/} 1N H₄OAc pH7 (Chapman, 1965)

1.1.2 ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วและดินควบคุมที่อายุ 40, 70 และ 120 วัน ในโรงเรือนทดลอง พบว่าปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว ความเข้มข้นตะกั่วในราก > ต้น > ฝักและเมล็ด ซึ่งปริมาณความเข้มข้นตะกั่วสูงสุดในราก มีค่าเท่ากับ 53.74 ± 44.70 , 141.13 ± 28.83 และ 173.03 ± 56.55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4) ในข้าวโพดที่มีอายุ 40, 70 และ 120 วัน ตามลำดับ และมีปริมาณเข้มข้นตะกั่วต่ำสุดพบในฝักและเมล็ด มีค่าเท่ากับ 2.14 ± 0.22 และ 4.24 ± 1.08 ในข้าวโพดที่มีอายุ 70 และ 120 วัน ตามลำดับ

นอกจากนั้นยังพบว่า เมื่ออายุของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วและดินไม่ปนเปื้อนตะกั่วเพิ่มขึ้น จะส่งผลให้มีความเข้มข้นของตะกั่วในข้าวโพดเพิ่มมากขึ้น โดยความเข้มข้นตะกั่วสูงสุดและต่ำสุดพบอยู่ในข้าวโพดที่มีอายุ 120 วัน และ 40 วัน ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพด (มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง)					
	ราก		ต้น		ฝักและเมล็ด	
	ดินควบคุม	ดินปนเปื้อนตะกั่ว	ดินควบคุม	ดินปนเปื้อนตะกั่ว	ดินควบคุม	ดินปนเปื้อนตะกั่ว
40 วัน	2.63±2.20 ^a	53.74±44.70 ^a	0.58±0.80 ^a	22.88±5.18 ^a	-	-
70 วัน	3.03±2.04 ^a	141.13±28.83 ^{ab}	0.83±0.77 ^a	28.21±3.90 ^a	ND	2.14±0.22 ^a
120 วัน	3.66±3.62 ^a	173.03±56.55 ^b	1.91±2.24 ^a	39.10±13.93 ^b	ND	4.24±1.08 ^a

หมายเหตุ: a,b,c ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

ND = Not Detected

1.2 การทดลองในแปลงทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความเข้มข้นของตะกั่วในดิน และความเข้มข้นของตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่อายุ 40, 70 และ 120 วัน ในแปลงทดลอง จากพื้นที่ปลูกข้าวโพดบ้านคลีต้อ อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี โดยผลการศึกษาแบ่งออกเป็นหัวข้อดังต่อไปนี้

1.2.1 ลักษณะทางฟิสิกส์และเคมีของดินที่ใช้ในการทดลอง

ดินมีค่า pH เป็นกลาง เท่ากับ 7.32 ค่าการนำไฟฟ้าวัดได้ 2.49 เดซิซีเมนต์ต่อเมตร (ตารางที่ 5) มีปริมาณอินทรีย์วัตถุสูงมาก (7.81) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดปานกลาง (0.34 เปอร์เซ็นต์) อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 13.36:1 ปริมาณฟอสฟอรัส ที่เป็นประโยชน์สูงมาก (66.97 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ปริมาณโพแทสเซียม ที่เป็นประโยชน์สูงมาก (141.83 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วก่อนการทดลองคือ 3,641.65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และหลังการทดลองคือ 3,214.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเมื่อนำปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในดินควบคุมเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานการปนเปื้อนตะกั่วในดินเกษตรกรรมของประเทศไทย พบว่า มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วสูงกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีของดินปนเปื้อนตะกั่วในแปลงทดลอง

การวิเคราะห์	ค่าที่วิเคราะห์ได้
pH ^{1/}	7.32
ECe (dS/m) ^{2/}	2.49
OM (%) ^{3/}	7.81
Total N (%) ^{4/}	0.34
C/N ratio ^{5/}	13.36:01
Avai. P ^{5/}	66.97
Exch. K ^{6/}	141.83
Total Pb (ก่อนการทดลอง)	3641.65
Total Pb (หลังการทดลอง)	3214.8

^{1/} 1:1 H₂O (Beck, 1999)

^{2/} 1:5 H₂O (Beck, 1999)

^{3/} Walkley and Black method (Walkley and Black, 1947)

^{4/} Kjeldahl method (Mckenzie and Wallace, 1954)

^{5/} Bray II extraction (Bray and Kurtz, 1945)

^{6/} 1N H₄OAc pH7 (Chapman, 1965)

1.2.2 ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง

ผลการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพด พบว่า ในราก > ต้น > ฟักและเมล็ด ซึ่งมีค่าความเข้มข้นตะกั่วสูงสุดในราก เท่ากับ 71.90 ± 35.25 , 97.99 ± 58.16 และ 110.67 ± 76.74 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักแห้ง ในข้าวโพดที่มีอายุ 40, 70 และ 120 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 6) และมีค่าความเข้มข้นตะกั่วต่ำสุดพบในฟักและเมล็ดมีค่าเท่ากับ 1.24 ± 0.14 และ 4.79 ± 4.64 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในอายุข้าวโพด 70 และ 120 วัน ตามลำดับ

นอกจากนี้พบว่าเมื่ออายุของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในแปลงทดลองเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดเพิ่มขึ้น โดยปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วสูงสุดและต่ำสุดพบอยู่ในข้าวโพดที่มีอายุ 120 วัน และ 40 วัน ตามลำดับ

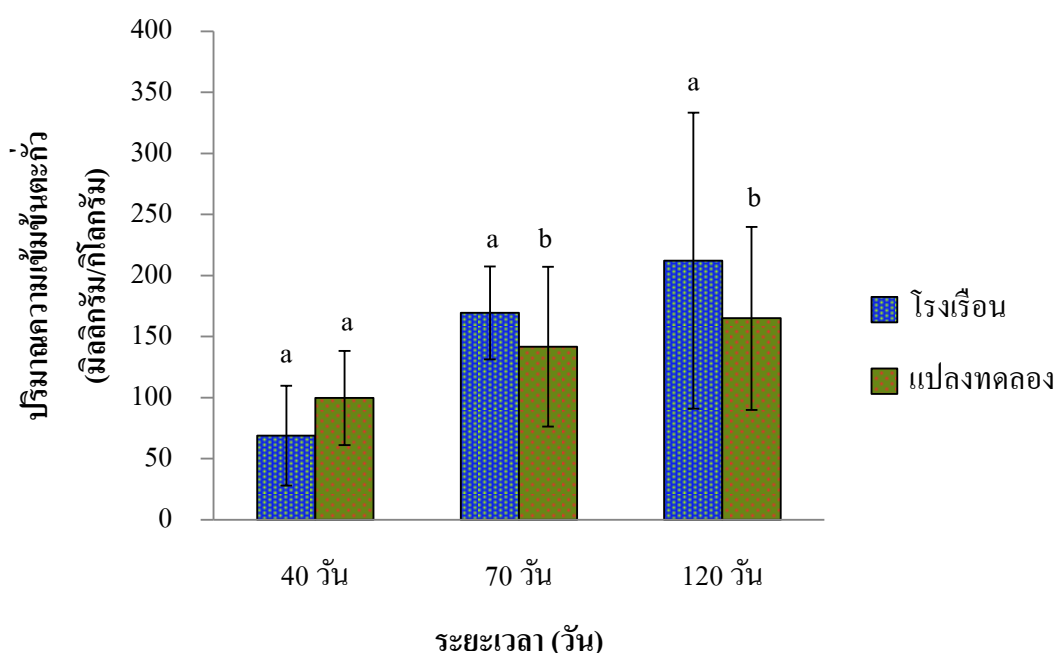
ตารางที่ 6 ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพด (มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง)		
	ราก	ต้น	ฟักและเมล็ด
40	71.90 ± 35.25^a	27.80 ± 14.64^a	-
70	97.99 ± 58.16^b	43.71 ± 19.20^b	1.24 ± 0.14^a
120	110.67 ± 76.74^c	54.31 ± 27.38^c	4.79 ± 4.64^a

หมายเหตุ: a,b,c ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์นี้มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

2. การเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

การเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ศึกษาในโรงเรือนทดลอง และแปลงทดลอง ที่อายุ 40, 70 และ 120 วัน พบว่าความเข้มข้นตะกั่วที่อายุ 40 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง สำหรับความเข้มข้นตะกั่วที่อายุ 70 และ 120 วัน มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% แสดงดังภาพที่ 4 พบว่า ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองมากกว่าปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง โดยปริมาณความเข้มข้นตะกั่วสูงสุดจะตรวจพบในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง มีค่า 212.13 ± 121.24 , 169.34 ± 38.17 และ 68.99 ± 40.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในข้าวโพดอายุ 120, 70 และ 40 วัน ตามลำดับ และข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลองมีค่า 164.98 ± 74.90 , 141.70 ± 65.40 และ 99.70 ± 38.46 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในข้าวโพดอายุ 120, 70 และ 40 วัน ตามลำดับ



ภาพที่ 4 การเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

a,b,c ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3. เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ที่อายุ 40, 70 และ 120 วัน โดยพิจารณาจากความสูงของต้น ความยาวราก ความชื้น และน้ำหนักแห้ง โดยผลการศึกษาแบ่งออกเป็นหัวข้อดังต่อไปนี้

3.1 ความสูงของต้นของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว

ความสูงของต้นของข้าวโพดที่เจริญเติบโตในดินปนเปื้อนตะกั่ว ในโรงเรือนทดลองและในแปลงทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยความสูงของต้นในแปลงทดลองมากกว่าความสูงของต้นที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง โดยความสูงในต้นของข้าวโพดสูงสุดที่อายุ 120 วันมีค่า 216.61 ± 2.03 เซนติเมตร และ 187.77 ± 3.31 เซนติเมตร ในแปลงทดลองและโรงเรือนทดลอง ตามลำดับ และค่าความสูงในต้นของข้าวโพดต่ำสุดที่อายุ 40 วันมีค่า 216.61 ± 2.03 และ 187.77 ± 3.31 เซนติเมตร ในแปลงทดลองและโรงเรือนทดลอง ซึ่งความสูงของต้นของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุพืช (ตารางที่ 7, ภาพที่ 5)

3.2 ความยาวรากของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว

ความยาวรากของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและในแปลงทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยความยาวรากของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนมีค่ามากกว่าข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง ซึ่งความยาวรากที่มีค่าสูงสุดพบที่อายุ 120 วัน มีค่า 64.58 ± 2.96 เซนติเมตร และ 52.25 ± 0.93 เซนติเมตร ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ตามลำดับ และความยาวรากของข้าวโพดที่มีค่าต่ำสุดพบในอายุ 40 วัน มีค่า 46.74 ± 5.58 เซนติเมตร และ 30.78 ± 0.38 เซนติเมตร ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ตามลำดับ และความยาวของรากข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุพืช (ตารางที่ 8, ภาพที่ 6)

3.3 ความชื้นของข้าวโพดในดินปนเปื้อนตะกั่ว

ความชื้นของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและในแปลงทดลอง พบว่าข้าวโพดที่อายุ 70 วันมีค่าความชื้นมากที่สุด ซึ่งมีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% กับอายุ 40 และ 120 วัน ซึ่งความชื้นของข้าวโพดในดินที่ปลูกในแปลงทดลอง มากกว่า ข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง โดยความชื้นของดินที่สูงที่สุดคือ อายุ 70 วัน มีค่า 88.72 ± 5.92 เปอร์เซ็นต์ และ 82.19 ± 3.47 เปอร์เซ็นต์ ในแปลงทดลองและโรงเรือนทดลอง ตามลำดับ ส่วนความ ความชื้นของรากข้าวโพดที่สูงที่สุดคือ อายุ 70 เช่นกัน มีค่า 86.72 ± 6.92 เปอร์เซ็นต์ และ 85.84 ± 7.67 เปอร์เซ็นต์ ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ตามลำดับ (ตารางที่ 9, ภาพที่ 7)

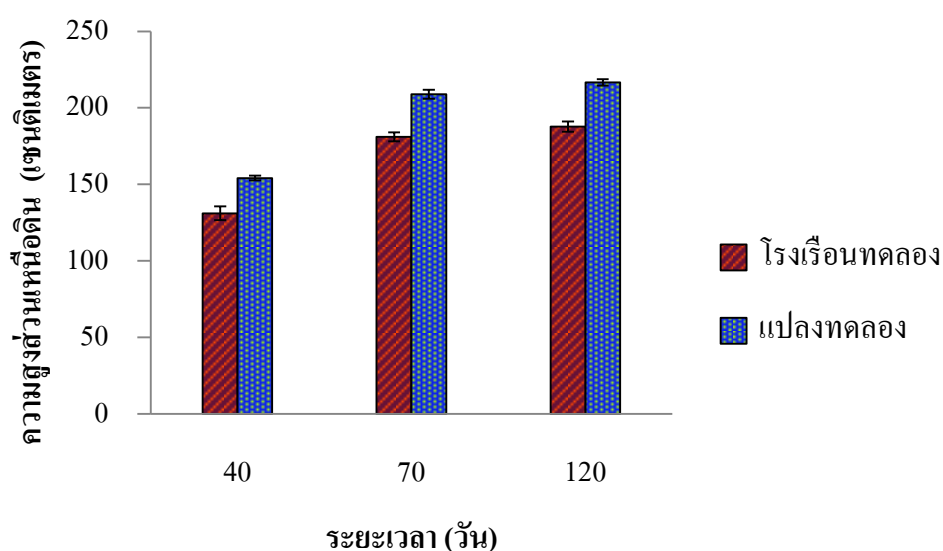
3.4 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดในดินปนเปื้อนตะกั่ว

น้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและในแปลงทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยน้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลองมีค่ามากกว่าข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง ซึ่งน้ำหนักแห้งที่มีค่าสูงสุดพบที่อายุ 120 วัน มีค่า 158.17 ± 21.07 กรัม และ 134.56 ± 18.92 กรัม ในแปลงทดลองและโรงเรือนทดลอง ตามลำดับ และน้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่มีค่าต่ำสุดพบในอายุ 40 วัน มีค่า 57.83 ± 10.65 กรัม และ 55.28 ± 5.92 กรัม ในแปลงทดลองและโรงเรือนทดลอง ตามลำดับ และน้ำหนักแห้งข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุพืช (ตารางที่ 10, ภาพที่ 8)

ตารางที่ 7 ความสูงของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง (เซนติเมตร)

ระยะเวลา	การทดลอง	
	โรงเรือนทดลอง	แปลงทดลอง
40	131.03±4.49 ^a	154.18±1.51 ^a
70	181.10±2.89 ^a	208.92±2.93 ^a
120	187.77±3.30 ^a	216.61±2.02 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแต่ละแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

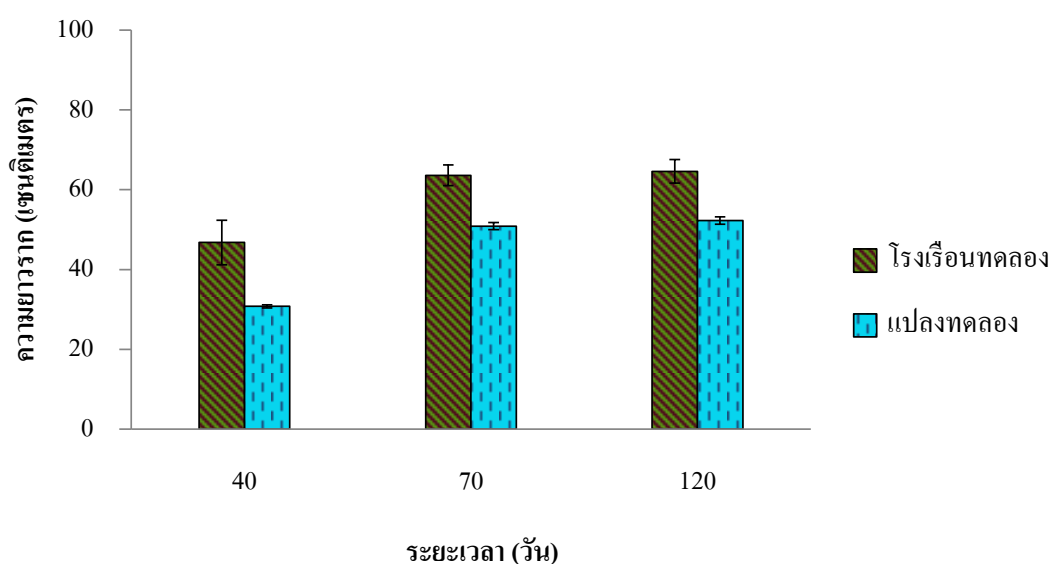


ภาพที่ 5 ความสูงของต้นของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนปุ๋ยคอกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

ตารางที่ 8 ความยาวรากของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง(เซนติเมตร)

ระยะเวลา	การทดลอง	
	โรงเรือนทดลอง	แปลงทดลอง
40	46.78±5.58 ^a	30.78±0.38 ^a
70	63.60±2.61 ^a	50.89±0.89 ^a
120	64.58±2.95 ^a	52.25±0.93 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแต่ละแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

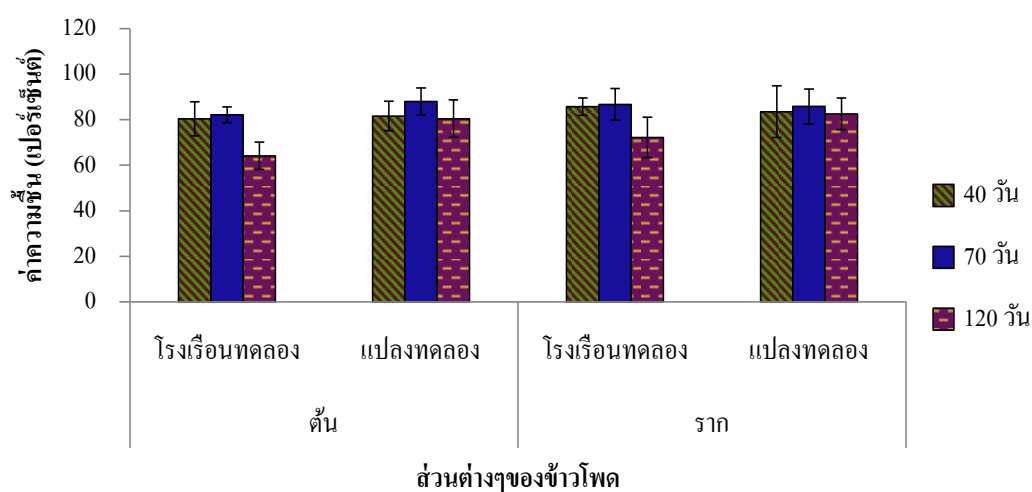


ภาพที่ 6 ความยาวรากของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

ตารางที่ 9 ค่าความชื้นของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

ระยะเวลา	ส่วนต่างๆของข้าวโพด (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)			
	ต้น		ราก	
	โรงเรือนทดลอง	แปลงทดลอง	โรงเรือนทดลอง	แปลงทดลอง
40	80.36±7.47 ^a	81.59±6.48 ^a	85.73±3.80 ^a	83.53±11.36 ^a
70	82.19±3.47 ^a	88.01±5.91 ^a	86.72±6.92 ^a	85.84±7.67 ^a
120	64.13±6.03 ^a	80.45±8.20 ^a	72.23±8.81 ^a	82.58±6.91 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแต่ละแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

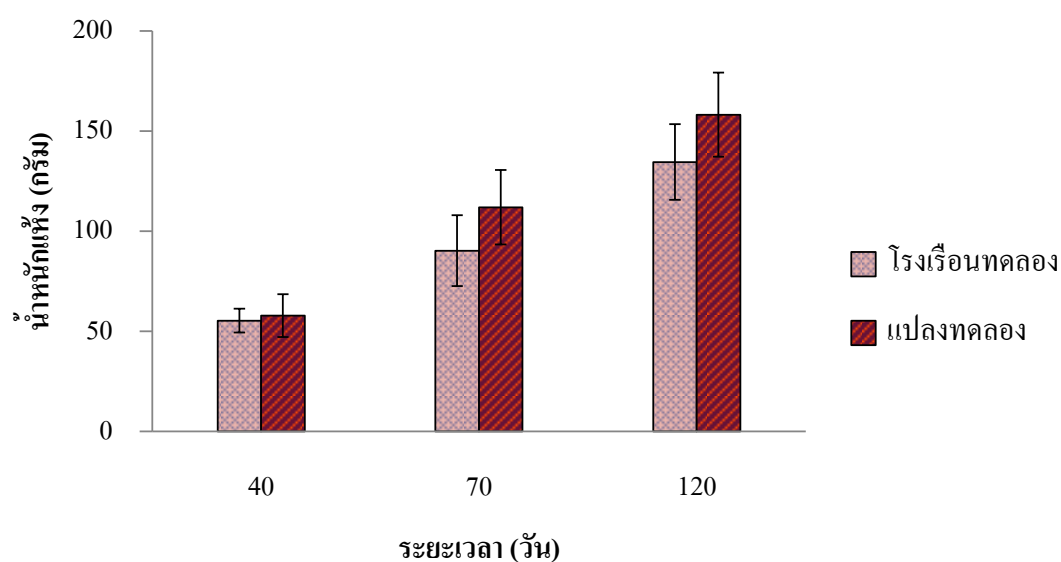


ภาพที่ 7 ค่าความชื้นของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

ตารางที่ 10 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

ระยะเวลา	การทดลอง	
	โรงเรือนทดลอง	แปลงทดลอง
40	55.28±5.92 ^a	57.83±10.65 ^a
70	90.27±17.74 ^a	111.94±18.56 ^a
120	134.56±18.92 ^a	158.17±21.07 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแต่ละแถวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test



ภาพที่ 8 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

4. ศักยภาพการเคลื่อนย้ายตะกั่ว

4.1 ปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพ (Bioconcentration factor, BCF)

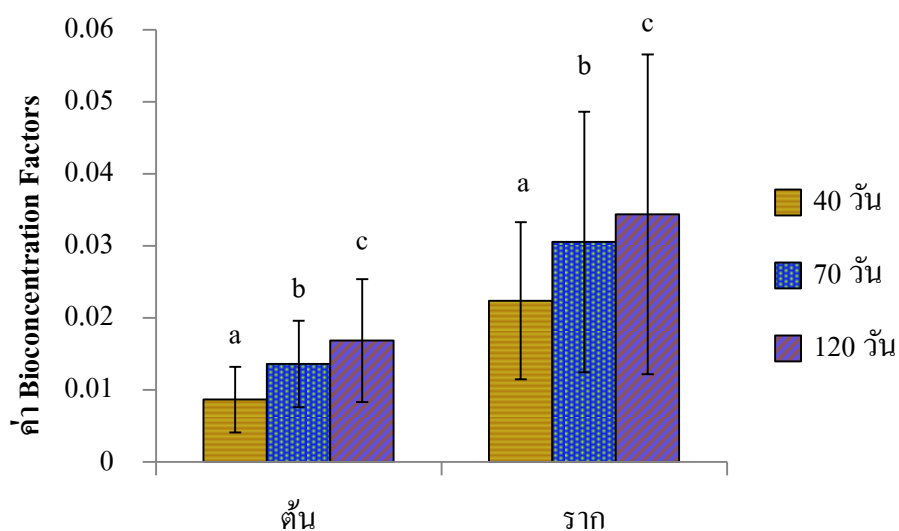
ปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพ แสดงถึงประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายตะกั่วจากดินเข้ามาสะสมในพืช ซึ่งพบว่าข้าวโพดในต้นที่มีอายุ 40, 70 และ 120 วัน มีค่า BCF แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยค่า BCF สูงสุดพบอยู่ในข้าวโพดที่มีอายุ 120 วัน (0.017 ± 0.01) รองลงมาคือข้าวโพดอายุ 70 วัน (0.014 ± 0.01) และต่ำที่สุดในข้าวโพดที่มีอายุ 40 วัน (0.01 ± 0.00) สำหรับในส่วนรากของข้าวโพดค่า BCF ของข้าวโพดอายุ 40, 70 และ 120 วัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยค่า BCF สูงสุดพบในข้าวโพดที่มีอายุ 120 วัน (0.034 ± 0.02) รองลงมาคือข้าวโพดอายุ 70 วัน (0.031 ± 0.02) และต่ำที่สุดในข้าวโพดที่มีอายุ 40 วัน (0.22 ± 0.01) (ภาพที่ 9)

4.2 การเคลื่อนย้ายตะกั่วจากรากสู่ต้นของพืช (Translocation factor, TF)

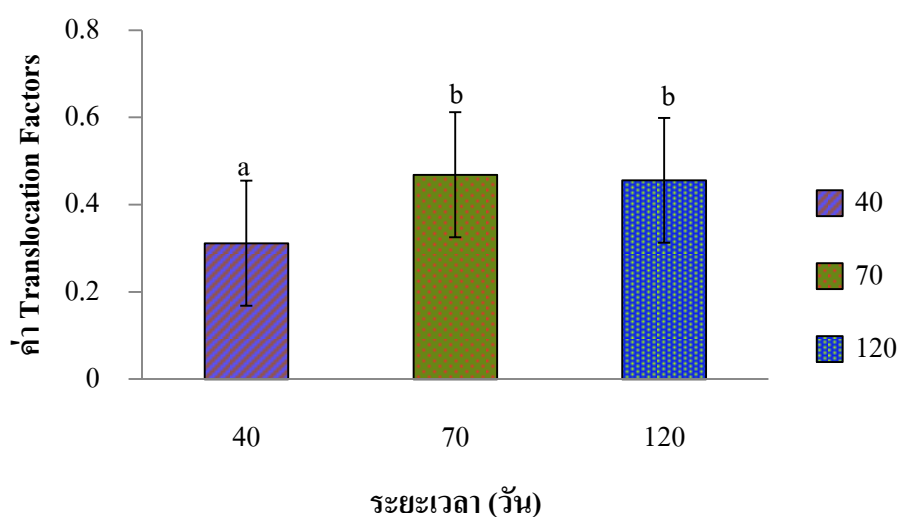
การเคลื่อนย้ายตะกั่วจากรากสู่ต้นของพืช เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของพืชในการเคลื่อนย้ายตะกั่วขึ้นมาสะสมในส่วนที่สามารถเก็บเกี่ยวได้สะดวก (Harvestable parts) ซึ่งจากการทดลองพบว่าค่า TF ของข้าวโพดอายุ 40 วัน (0.311 ± 0.13) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% กับข้าวโพดที่มีอายุ 70 วัน (0.468 ± 0.09) และ 120 วัน (0.456 ± 0.14) (ภาพที่ 10)

4.3 การดูดซับตะกั่วโดยพืช (Uptake by plant, UP)

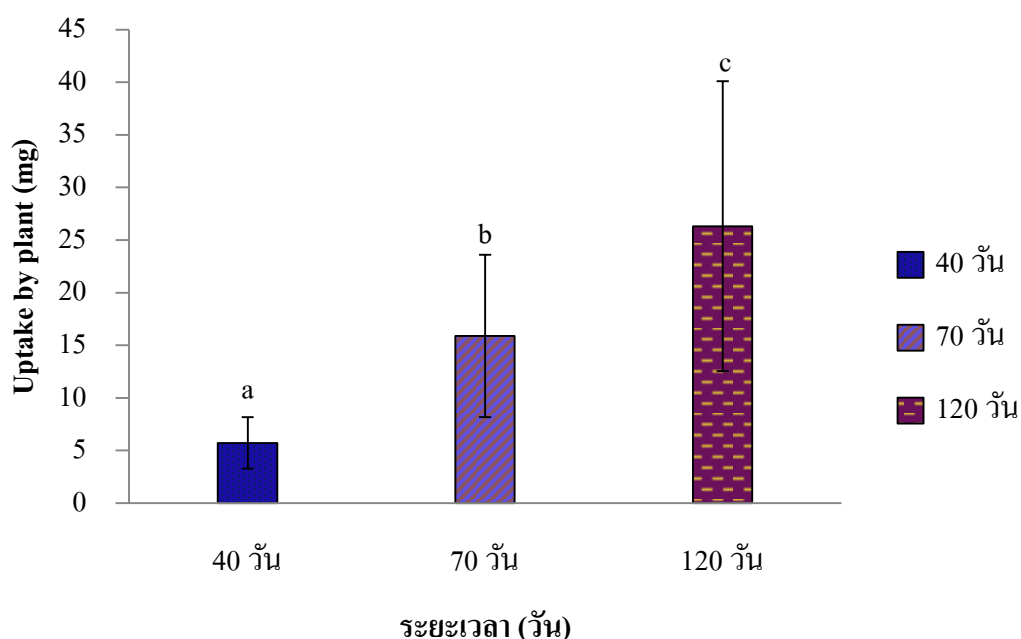
การดูดซับตะกั่วโดยพืช (UP) คือค่าที่แสดงถึงประสิทธิภาพที่แท้จริงของพืชหนึ่งต้นในการดูดซับตะกั่วเข้ามาในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ จากการทดลองพบว่าค่า UP แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยค่า UP สูงสุดพบอยู่ในข้าวโพดที่มีอายุ 120 วัน มีค่า 26.32 ± 13.77 มิลลิกรัม/กิโลกรัม รองลงมาคือข้าวโพดอายุ 70 วัน มีค่า 15.88 ± 7.72 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และต่ำที่สุดในข้าวโพดที่มีอายุ 40 วัน 5.71 ± 2.45 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 9 ค่า Bioconcentration factor ของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง
a,b,c ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างที่ระดับความ
เชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test



ภาพที่ 10 ค่า Translocation factor ของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง
a,b,c ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างที่ระดับความ
เชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test



ภาพที่ 11 ค่า Uptake by plant ของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง

a,b,c ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

5. ความปลอดภัยในการบริโภคข้าวโพดที่ปลูกจากดินปนเปื้อนในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

เนื่องจากข้าวโพดมีความสามารถในการดูดซับและสะสมตะกั่วในส่วนต่างๆของข้าวโพดได้ โดยในส่วนของฝักและเมล็ดของข้าวโพดมีการนำไปบริโภคได้ จึงต้องนำมาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานปริมาณการตกค้างสูงสุดของสหภาพยุโรป ของตะกั่วในธัญพืช ค่าความเข้มข้นตะกั่วแสดงในตารางที่ 11 โดยผลการวิเคราะห์ พบว่า ข้าวโพดที่อายุ 70 วัน มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในฝักและเมล็ด มีค่า 0.79 และ 0.19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักสด ที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ตามลำดับ และข้าวโพดที่อายุ 120 วัน มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในฝักและเมล็ด มีค่า 2.20 และ 2.12 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักสด ที่ ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ตามลำดับ เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานพบว่า ฝักและเมล็ดที่อายุ 120 วัน ที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง มีค่าเกินค่ามาตรฐาน ส่วนฝักและเมล็ดที่อายุ 70 วัน ที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง พบว่ามีค่าเกินมาตรฐาน ส่วนค่าที่ยอมรับได้สำหรับใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์คือไม่เกิน 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) (Chaney, 1989) พบว่า ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในฝักและเมล็ดข้าวโพดที่อายุ 70 วัน และ 120 วัน ที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ค่า

เกินมาตรฐาน ส่วนค่าที่ยอมรับได้สำหรับใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์คือไม่เกิน 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) (Chaney, 1989) จากการทดลองพบว่า ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในฝักและเมล็ดข้าวโพดที่อายุ 70 วัน และ 120 วัน ไม่เกินค่ามาตรฐาน

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในฝักและเมล็ดข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลอง และแปลงทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	โรงเรือนทดลอง		แปลงทดลอง	
	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	มิลลิกรัม/กิโลกรัม	มิลลิกรัม/กิโลกรัม
	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง
70	0.79±0.04 ¹	2.14±0.22 ²	0.19±0.06 ¹	1.24±0.14 ²
120	2.20±0.01 ¹	4.24±1.08 ²	2.12±0.01 ¹	4.79±4.64 ²

หมายเหตุ : ¹ ค่ามาตรฐาน ปริมาณการตกค้างสูงสุดของสหภาพยุโรป (EU) ของตะกั่วในธัญพืช 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักสด (Zhao *et al.* 2004)

² ค่าที่ยอมรับได้สำหรับใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์คือไม่เกิน 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) (Chaney, 1989)

6. การคัดแยกชนิดของแบคทีเรียที่มีความสามารถทนพิษตะกั่วบริเวณรากข้าวโพดในดินปนเปื้อนตะกั่ว

งานวิจัยนี้ทำการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถทนพิษของตะกั่วจากบริเวณรากข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว บริเวณบ้านคลิตี้ อ.ทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นตะกั่วในดินก่อนการทดลอง มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วเท่ากับ 3,641.65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากข้าวโพดในพื้นที่สี่เหลี่ยมจัตุรัสที่มีขนาด 800 ตารางเมตร แสดงภาพที่ 12 โดยเก็บตัวอย่างดิน 5 จุด ประกอบไปด้วย จุดตรงกลางพื้นที่แปลงข้าวโพด 1 จุด และมุมทั้ง 4 ของพื้นที่ข้าวโพดอีกด้านละ 1 จุด แต่ละจุดเก็บตัวอย่างจะใช้รหัส MKT (ดังภาพที่ 13) ทำการขุดดินห่างจากโคนต้นประมาณ 10 เซนติเมตร และลึกประมาณ 10 เซนติเมตรเช่นกัน แสดงดังภาพที่ 14 และใช้กรรไกรที่ผ่านการฆ่าเชื้อตัดส่วนรากอ่อนของข้าวโพดที่มีดินเกาะอยู่ใส่ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง ดังแสดงในภาพที่ 15 จากนั้นนำตัวอย่างที่เก็บได้มาทำการแยกจุลินทรีย์ตามวิธีการทางด้านจุลชีววิทยา



ภาพที่ 12 ลักษณะพื้นที่แปลงข้าวโพดที่ศึกษา บริเวณบ้านคลิตี้ อ.ทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี



ภาพที่ 13 ตัวอย่างจุดเก็บตัวอย่าง MKT1



ภาพที่ 14 การขุดดินเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์บริเวณรากอ่อนของข้าวโพด



ภาพที่ 15 ตัวอย่างการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากอ่อนข้าวโพดโดยหลอดเก็บตัวอย่าง (facon tube)

จากการคัดแยกชนิดแบคทีเรียที่ทนตะกั่ว พบว่า มีแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar ที่มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วเริ่มต้นเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งหมด 21 ไอโซเลต โดยแยกจากลักษณะแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยา (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar ที่มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่ว 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ลำดับที่	รหัสเชื้อ	ลักษณะสัณฐานวิทยา
1	MKT 1 1.1 A	โคโลนีรูปร่างกลมแบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ขอบโคโลนีและผิวหน้าเกลี้ยง ทึบแสง
2	MKT 1 1.1 E	โคโลนีรูปร่างกลมมนบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีเกลี้ยง ผิวหน้าเป็นสันนูน ทึบแสง
3	MKT 1 1.2 A	โคโลนีรูปร่างกลมแบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ขอบโคโลนีเกลี้ยง ผิวหน้าลักษณะวงแหวนซ้อนกัน ทึบแสง
4	MKT 1 2.1 A	โคโลนีรูปร่างกลมมนบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีและผิวหน้าเกลี้ยงแต่เป็นคลื่น ทึบแสง
5	MKT 2 1.1 C	โคโลนีรูปร่างกลมแบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ขอบโคโลนีเว้า ผิวหน้าเป็นคลื่น โปร่งแสงพอประมาณ
6	MKT 2 1.2 D	โคโลนีรูปร่างกลมแบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ขอบเกลี้ยง ผิวหน้าไม่แน่นอน ทึบแสงสีเหลืองขุ่น
7	MKT 2 2.1 B	โคโลนีขนาดเล็กแบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ขอบโคโลนีและผิวหน้าเกลี้ยง ทึบแสง
8	MKT 2 2.1 F	โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ผิวหน้าเป็นคลื่น ขอบโคโลนีเกลี้ยง สีขุ่น
9	MKT 3 2.1 D	โคโลนีรูปร่างกลมหนาเจริญกว่าผิวอาหาร ขอบโคโลนีและผิวหน้าเกลี้ยง ทึบแสง
10	MKT 3 2.2 C	โคโลนีขนาดเล็กแบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ขอบโคโลนีและผิวหน้าเกลี้ยง โปร่งแสงพอประมาณ

ตารางที่ 12 (ต่อ)

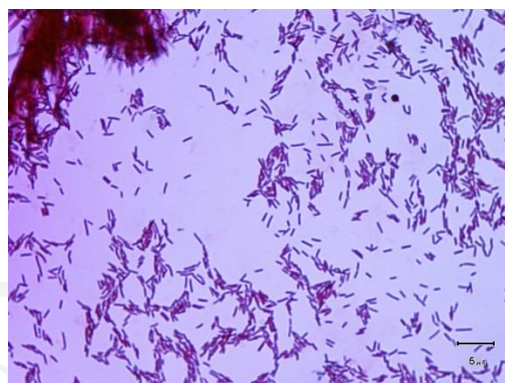
ลำดับที่	รหัสชื่อ	ลักษณะพื้นฐานวิทยา
11	MKT 3 2.2 D	โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอนนูน โค้งจากผิวหน้าอาหาร ขอบ โคโลนีหยัก ทึบแสง
12	MKT 3 2.2 E	โคโลนีรูปร่างกลมนูน โค้งจากผิวอาหาร ขอบโคโลนีเกลี้ยง ไม่มีรอยหักเว้าและผิวหน้าเกลี้ยงเกลาสีเหลืองทึบแสง
13	MKT 4 1.2 A	โคโลนีรูปร่างกลมเจริญกว่าผิวหน้าอาหาร ขอบโคโลนี และผิวหน้าเกลี้ยงเกลากว้าง ทึบแสง
14	MKT 4 1.2 B	โคโลนีรูปร่างกลมนูน โค้งจากผิวหน้าอาหาร ขอบขอบ โคโลนีและผิวหน้าเกลี้ยง ทึบแสง
15	MKT 4 2.1 B	โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอนนูน โค้งจากผิวหน้าอาหาร ขอบ ขอบโคโลนีเว้า ผิวหน้าสันนูน โปร่งแสงพอประมาณ
16	MKT 4 2.1 E	โคโลนีรูปร่างกลมนูน โค้งจากผิวอาหาร ขอบขอบโคโลนี และผิวหน้าเกลี้ยง ทึบแสง
17	MKT 4 2.1 G	โคโลนีรูปร่างกลมนูน โค้งบริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนี และผิวหน้าเกลี้ยงแต่เป็นคลื่น ทึบแสง
18	MKT 4 2.2 A	โคโลนีขนาดเล็กแบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ขอบและ ผิวหน้าเกลี้ยง โปร่งแสง
19	MKT 5 1.1 A	โคโลนีรูปร่างกลมแบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ขอบ เกลี้ยง ผิวหน้าเป็นคลื่น โปร่งแสงพอประมาณ
20	MKT 5 1.1 D	โคโลนีรูปร่างกลมบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ขอบ โคโลนีเกลี้ยงโคโลนีผิวหน้าเกลี้ยงเกลากว้าง โปร่งแสง
21	MKT 5 2.1 A	โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอนแบนราบติดผิวหน้าอาหาร ขอบ หยักไม่สม่ำเสมอ ผิวหน้าขรุขระ ทึบไม่ให้เห็นผ่าน

จากผลการคัดแยกแบคทีเรียที่ทนความเข้มข้นของตะกั่วเริ่มต้น 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลต เมื่อทดสอบความสามารถในการทนความเข้มข้นของตะกั่วโดยการนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar ที่มีระดับความเข้มข้นตะกั่วที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1,000, 1,250, 1,500, 2,000, 3,000 และ 3,600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้ใกล้เคียงกับค่าตะกั่วในดิน ก่อนการทดลองคือ 3,641 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่สามารถทน ตะกั่วในระดับสูงมีจำนวน 4 ไอโซเลต คือ MKT 3 2.2 E, MKT 4 2.1 G, MKT 5 1.1 D และ MKT 5 2.1 A

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลต ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า (1) ไอโซเลต MKT 3 2.2 E มีลักษณะโคโลนีรูปร่างกลม นูนโค้งจากผิวอาหาร ริมขอบโคโลนีเกลี้ยงไม่มีรอยหักเว้า ลักษณะผิวหน้าเกลี้ยงเงา มีโคโลนีสีเหลืองทึบแสง เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าโคโลนีติดสีแกรมบวก ลักษณะรูปร่างเซลล์เป็นแท่งเดี่ยว หรือเซลล์เป็นท่อนเรียงต่อกัน (ภาพที่ 16) (2) ไอโซเลต 4 2.1 G ลักษณะโคโลนีรูปร่างกลม นูนโค้งบริเวณกลางโคโลนี ริมขอบโคโลนีเกลี้ยงไม่มีรอยหักเว้า ลักษณะผิวหน้าเกลี้ยงเงา โคโลนีทึบแสง เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าโคโลนีติดสีแกรมลบ ลักษณะรูปร่างเซลล์เป็นท่อน (ภาพที่ 17) (3) ไอโซเลต MKT 5 1.1 D ลักษณะโคโลนีรูปร่างกลมและ ผิวหน้าแบนราบติดบนผิวหน้าอาหาร ริมขอบโคโลนีเกลี้ยงไม่มีรอยหักเว้า ลักษณะโคโลนีผิวหน้าเกลี้ยงเงาโปร่งแสงพอประมาณ เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าโคโลนีติดสีแกรมลบ ลักษณะรูปร่างเซลล์เป็นแท่งเดี่ยว มีการกระจายออกจากกัน (ภาพที่ 18) และ (4) ไอโซเลต 5 2.1 A ลักษณะโคโลนีรูปร่างไม่แน่นอน แบนราบติดผิวหน้าอาหาร ขอบหยักไม่สม่ำเสมอ ผิวหน้าขรุขระ ทึบไม่ใสแสงผ่าน เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าโคโลนีติดสีแกรมบวก มีลักษณะรูปร่างเซลล์เป็นแท่งเดี่ยว เรียงต่อกันเป็นสาย (ภาพที่ 19)



(ก)



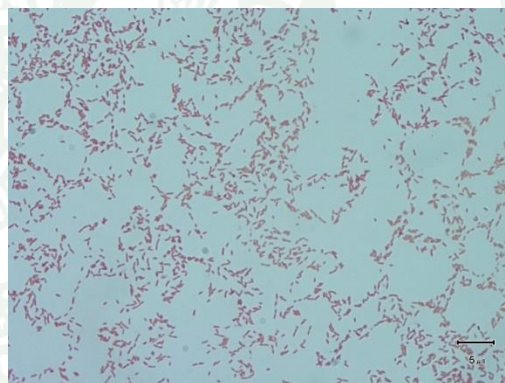
(ข)

ภาพที่ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท MKT 3 2.2 E

- 1) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar
- 2) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า



(ก)



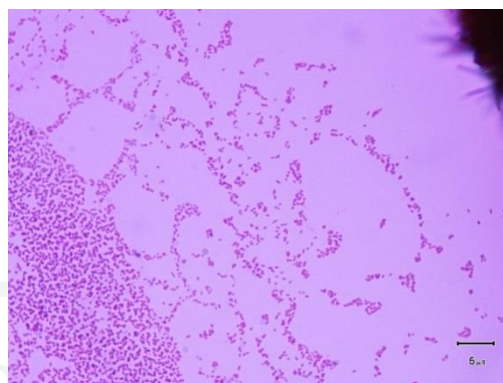
(ข)

ภาพที่ 17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท MKT 4 2.1 G

- 1) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar
- 2) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า



(ก)



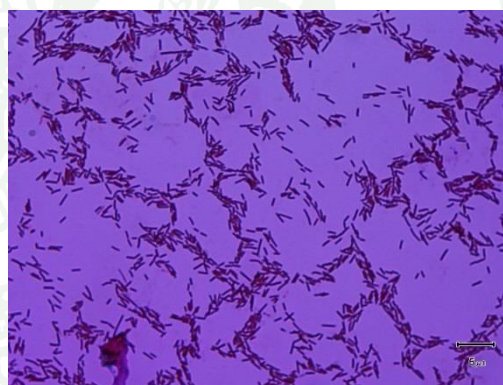
(ข)

ภาพที่ 18 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท MKT 5 1.1 D

- 1) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar
- 2) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า



(ก)



(ข)

ภาพที่ 19 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท MKT 5 2.1 A

- 1) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar
- 2) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

7. การจัดจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรีย 16S rDNA โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน

หลังจากคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถทนความเข้มข้นตะกั่วได้ดีที่สุด ทั้งหมด 4 ไอโซเลต และจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์เบื้องต้น จากนั้นแบคทีเรียทั้งหมดถูกนำมาจัดจำแนกด้วยเทคนิคทางด้านชีวโมเลกุล โดยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บน 16S rDNA ซึ่งเป็นยีนอนุรักษ์ในแบคทีเรียทุกชนิด นำแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อนำเซลล์แบคทีเรียมาสกัด DNA และทำการเพิ่มปริมาณ 16S rDNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ primer ที่จำเพาะต่อ 16S rDNA คือ 27F (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3') และ 1512R (5'AAAGGAGGTGATCCAGCC -3') โดย Taq polymerase มีขนาดของผลผลิตของ PCR เท่ากับ 1,500 bp เมื่อวิเคราะห์แทป DNA บน agarose gel ทั้งหมด 4 ไอโซเลตที่ให้ผล PCR ตรงกับขนาดของ 16S rDNA เป้าหมายเมื่อเปรียบเทียบกับ DNA Standard Marker (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 ลักษณะของแถบดีเอ็นเอบน agarose gel

- 1) แถบดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA marker) 10,000 bp Ladder, 2) รหัสเชื้อ MKT 3 2.2 E,
- 3) รหัสเชื้อ MKT 4 2.1 G, 4) รหัสเชื้อ MKT 5 1.1 D, 5) รหัสเชื้อ MKT 5 2.1 A

8. ผลการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rDNA

หลังจากเพิ่มปริมาณ 16s rDNA ยีน ด้วยเทคนิค PCR แล้วนั้น พบว่าทั้ง 4 ไอโซเลท ขนาดของ DNA เป้าหมายของ 16s rDNA จึงทำการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ ของ 16 s rDNA ยีน และนำไปเปรียบเทียบ นำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสที่มีอยู่ในฐานข้อมูล บน NCBI BLAST พบว่าลำดับเบสของแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลทมีความเหมือนกับลำดับเบสในฐานข้อมูลสูงสุด 99% (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 ค่าความเหมือนของแบคทีเรียที่จำแนกได้แต่ละไอโซเลทกับแบคทีเรียในฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLAST เปรียบเทียบลำดับเบส บริเวณ 16S rDNA

Code number	GenBank acc.no	Best match with	Identity %
MKT 3 2.2 E	JX941521.1	<i>Bacillus</i> sp. B26 (2012)	99%
MKT 4 2.1 G	KC898248.1	<i>Pseudomonas</i> sp. S169	99%
MKT 5 1.1 D	JN982334.1	<i>Pseudomonas putida</i> strain RW10S2	99%
MKT 5 2.1 A	JQ809795.1	<i>Bacillus subtilis</i> strain SM10	99%

วิจารณ์

1. ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในดินและข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วและดินควบคุม ในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง และปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมตะกั่วในข้าวโพด

1.1 การศึกษาปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว

จากผลการศึกษาพบว่า ข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว ในโรงเรือนทดลอง มีการตรวจพบตะกั่วสะสมอยู่ในราก ต้น และฝักและเมล็ด ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ ข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในสภาพควบคุมในแปลงทดลอง จึงสรุปได้ว่า ข้าวโพดมีความสามารถในการดูดซับและสะสมตะกั่วจากดินที่มีการปนเปื้อนตะกั่ว โดยผลศึกษานี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Akhionbare *et al.* (2010) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการดูดซับโลหะหนัก ในข้าวโพดที่เจริญเติบโตในดินปนเปื้อน ซึ่งได้สรุปผลการศึกษาว่า ข้าวโพดมีความสามารถในการดูดซับตะกั่ว และมีคุณสมบัติเป็นพืชที่สะสมโลหะหนักในปริมาณสูง (hyperaccumulator) นอกจากนี้ นักวิจัยหลายท่านได้ศึกษาเกี่ยวกับความสามารถของข้าวโพดในการสะสมโลหะหนักชนิดต่างๆ ดังต่อไปนี้ อาทิเช่น Fassler *et al.* (2010) ได้ศึกษาการสะสมสังกะสี แคดเมียม และทองแดง ในข้าวโพด พบว่า ข้าวโพดมีความสามารถในการดูดซับ สังกะสี แคดเมียม และทองแดงจากดินที่ปนเปื้อนมาสะสมไว้ในส่วนต่างๆของข้าวโพด และ Wuana and Okieimen. (2010) กล่าวว่า ข้าวโพดมีความสามารถในการบำบัดโลหะจากดินปนเปื้อนโดยการเคลื่อนย้ายจากรากไปยังยอด และข้าวโพดสามารถสะสมโลหะหนักบางชนิด เช่น แคดเมียม และ ตะกั่ว ในระดับสูง ขึ้นอยู่กับความสามารถในการดูดซับโลหะหนักและความไวต่อมลพิษโลหะสูง สอดคล้องกับ Mathe and Anton (2005) กล่าวว่าข้าวโพดจัดอยู่ในกลุ่มพืชที่สะสมและทนทานโลหะ โดยเฉพาะ แคดเมียม และ สังกะสี ส่วน Okieimena *et al.* (2011) ศึกษาการดูดซับ สารหนู โครเมียม และ ทองแดง โดยใช้ข้าวโพด ในดินปนเปื้อน ผลการศึกษาพบว่าข้าวโพดสามารถดูดซับ สารหนู > โครเมียม > ทองแดง ซึ่งโลหะเหล่านี้เคลื่อนย้ายจากรากไปสู่ยอดของข้าวโพดได้

1.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมตะกั่วในข้าวโพด

จากการศึกษาพบว่า การสะสมตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ได้รับอิทธิพลจากปัจจัยดังต่อไปนี้

1.2.1 ผลของความเข้มข้นของตะกั่วในดิน

จากผลการศึกษาปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว พบว่า ข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วจะมีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วสูงกว่าข้าวโพดที่ปลูกในดินควบคุม จึงสรุปได้ว่าปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในดินส่งผลต่อความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพด คือ เมื่อความเข้มข้นของตะกั่วในดินสูงขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดสูงขึ้นด้วย สอดคล้องกับแนวคิดของ Mojili (2011) ที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับศักยภาพของข้าวโพดในการใช้เป็นพืชบำบัดดินปนเปื้อนแคดเมียมและตะกั่ว ซึ่งได้สรุปผลการศึกษาว่า ความเข้มข้นของตะกั่วในข้าวโพดเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของตะกั่วในดินเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Usman (2013) ได้ทำประเมินศักยภาพการดูดซับตะกั่วของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อน พบว่าข้าวโพดมีค่าความเข้มข้นตะกั่วในรากเท่ากับ 1.84, 3.65 และ 3.95 ไมโครกรัมต่อกรัม ในดิน ที่มีความเข้มข้นตะกั่ว 5, 10 และ 20 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

1.2.2 ผลของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวโพด

จากผลการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของตะกั่วในรากของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง สูงกว่า ดิน และฝักและเมล็ด ซึ่งค่าเฉลี่ยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงให้เห็นว่าลักษณะสัณฐานวิทยาของข้าวโพดมีผลต่อการสะสมตะกั่วในข้าวโพด เพราะว่าตะกั่วเป็นโลหะหนักที่มีความสามารถในการเคลื่อนที่จากดินเข้าสู่ต้นพืชได้น้อย จึงทำให้ตะกั่วสะสมอยู่บริเวณรากมากกว่าต้น นอกจากนั้นตะกั่วมีประจุเป็นบวก จึงสร้างพันธะกับผนังเซลล์ของพืชซึ่งมีโครงสร้างผนังเซลล์เป็นประจุลบ ทำให้การเคลื่อนที่ของโลหะหนักผ่านระบบท่อลำเลียงในพืชเป็นไปได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากระบบท่อลำเลียงน้ำและอาหารของพืชมีเอนโดเดอร์มิส (endodermis) และ แคสพาเรียนสตรีป (casparian strip) กั้นอยู่ (ฐาปกรณ์, 2556 และ สายชล, 2556) ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Daniela *et al.* (2010) ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับการสะสมตะกั่วในข้าวโพด จำนวน 25 สายพันธุ์ ที่เมือง Dolj ประเทศโรมาเนีย ผลการศึกษาพบว่า ข้าวโพดทั้ง 25 สายพันธุ์มีลักษณะการสะสมตะกั่วที่คล้ายคลึงกัน คือ สะสมในราก > ลำต้น > ใบ > ฝักและเมล็ด ตัวอย่างเช่นในข้าวโพดสายพันธุ์ No.1 มีค่าความเข้มข้นตะกั่วอยู่ที่ 109.27, 93.57, 0.19 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใน ราก ลำต้น ใบ และ เมล็ด ตามลำดับ ส่วน Mohebbi *et al.* (2012) ศึกษาประสิทธิภาพพืชบำบัดในดินปนเปื้อน ผล

การศึกษาพบข้าวโพดมีความเข้มข้นตะกั่วในส่วนราก > ลำต้น ซึ่งรากมีค่าความเข้มข้นตะกั่ว 32.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และลำต้นมีความเข้มข้นตะกั่ว 12.64 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

นอกจากนั้นในการทดลองกับพืชชนิดอื่นให้ผลการศึกษาที่คล้ายกัน เช่น Panich-pat and Srinives (2009) ศึกษาการสะสมตะกั่วในต้นข้าว พบว่า ในตำรับการทดลองที่มีการเติมสารละลายตะกั่วที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร ข้าวสามารถสะสมตะกั่วในส่วนต่างๆของต้นได้แตกต่างกัน ราก > ลำต้นและใบ > รำข้าว > แกลบหรือเปลือกของเมล็ดข้าว > เมล็ดข้าวที่สีเรียบร้อยแล้ว โดยมีความเข้มข้นของตะกั่วเท่ากับ 165.9, 58.7, 6.0, 0.4 และ ND มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับในตำรับการทดลองที่มีการเติมสารละลายตะกั่วที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ข้าวสามารถสะสมตะกั่วในส่วนต่าง ๆ ของต้นได้แตกต่างกัน ราก > ลำต้นและใบ > รำข้าว > แกลบหรือเปลือกของเมล็ดข้าว > เมล็ดข้าวที่สีเรียบร้อยแล้ว โดยมีความเข้มข้นของตะกั่วเท่ากับ 400.5, 127.7, 5.3, 0.2 และ ND มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วน Xia *et al.* (2009) ศึกษาประสิทธิภาพในการใช้อ้อยบำบัดดินปนเปื้อนตะกั่ว ที่ประเทศจีน พบว่า อ้อยสามารถเจริญเติบโตได้ในดินปนเปื้อนตะกั่ว มีปริมาณความเข้มข้นตะกั่วใน ใบ และราก เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้นตะกั่วในดินเพิ่มขึ้น ตะกั่วสามารถสะสมในส่วน ราก > ใบ > ลำต้น โดยมีความเข้มข้นตะกั่วเท่ากับ 1336.86, 26.92 และ 46.56 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับในการทดลองที่มีความเข้มข้นตะกั่วในดินเท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นต้น

1.2.3 ผลของอายุของข้าวโพด

จากผลการศึกษาความเข้มข้นของตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ที่อายุ 120 > 70 > 40 วัน ซึ่งค่าเฉลี่ยมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งสรุปได้ว่า อายุของข้าวโพดมีผลต่อการสะสมตะกั่วในเนื้อเยื่อของข้าวโพด คือ เมื่ออายุข้าวโพดเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดสูงขึ้น เพราะว่า มวลชีวภาพของพืชส่งผลต่อการสะสมตะกั่วในพืชเนื่องจากมวลชีวภาพของพืชสูงจะสะสมโลหะหนักได้สูง และ มวลชีวภาพจะสูงขึ้นเมื่ออายุของพืชเพิ่มขึ้น ดังนั้น การสะสมตะกั่วของข้าวโพดที่อายุ 120 วัน จึงสูงกว่าการสะสมที่ 70 และ 40 วัน (Sebastiani *et al*, 2004 และ Kaewsringam *et al*, 2014) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kimmiyu *et al.* (2009) ซึ่งศึกษาการสะสมตะกั่วในข้าวโพดที่ประเทศเคนยา พบว่า การสะสมตะกั่วในข้าวโพดที่ 3 เดือน มากกว่า 2 เดือน และ 1 เดือน ตามลำดับ

2. การเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นตะกั่วที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองสูงกว่าปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง ดังนั้นสถานการณ์ปลูกข้าวโพดที่ต่างกันจะส่งผลต่อการสะสมตะกั่วในข้าวโพด เนื่องจากข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองปลูกในกระถางจึงทำให้ระบบรากของข้าวโพดสัมผัสกับตะกั่วที่สะสมอยู่ในดินได้มากกว่าระบบรากของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง ส่งผลให้ปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองมีค่าสูงกว่าข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Schmidt U. (2000) ซึ่งศึกษาผลของลักษณะทางเคมีของดินต่อการเคลื่อนที่ การสะสมโลหะหนักในพืช และการชะล้างโลหะหนักจากดินปนเปื้อน สรุปว่า ความเข้มข้นของโลหะในพืชที่ปลูกในกระถางสูงกว่าในแปลงทดลอง เนื่องจากระบบรากของพืชในกระถางจะสัมผัสกับโลหะหนักที่อยู่ในดินได้มากกว่า อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในเรือนทดลองช่วยยืนยันผลการศึกษาในแปลงทดลองเกี่ยวกับการสะสมตะกั่วในข้าวโพดที่เจริญเติบโตในดินที่ปนเปื้อนตะกั่วจากบ้านคลิตี้

3. เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง

ผลการศึกษาความสูงของต้น ความยาวราก ค่าความชื้น และน้ำหนักแห้งของข้าวโพด พบว่ามีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน โดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจาก ปัจจัยที่ส่งผลโดยตรงต่อลักษณะทางกายภาพของข้าวโพด คือ ลักษณะทางกายภาพและเคมีของดิน แต่ในการทดลองนี้ดินที่ใช้ในการปลูกข้าวโพดในโรงเรือนและแปลงทดลองเป็นดินที่นำมาจากแหล่งปนเปื้อนเดียวกัน จึงทำให้ลักษณะทางกายภาพของข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนและแปลงทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับงานวิจัย Steckel *et al.* (2003) ที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยของดินต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพด พบว่า ข้าวโพดที่ปลูกในดินที่แตกต่างกัน 3 ที่ มีผลการเจริญเติบโตทางกายภาพและผลผลิตที่แตกต่างกัน จึงสรุปได้ว่า ลักษณะของดินมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพด นอกจากนั้นการทดลองของ Olaniyan *et al.* (2011) ได้ศึกษาเกี่ยวกับผลของลักษณะดินและการใช้ปุ๋ยต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพด ประเทศไนจีเรีย พบว่า ค่าเฉลี่ยความสูงของข้าวโพดมีค่า 149.50 และ 155.83 เซนติเมตร ในดินทดลองพื้นที่ Tankpafu และ Ilorin ตามลำดับ และพื้นที่ใบมีค่า 409.21 และ 354.95 ตารางเซนติเมตร ในดินทดลองพื้นที่ Tankpafu และ Ilorin ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าถ้าลักษณะดินที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโตของ

ข้าวโพด ส่วน Zou *et al.* (2012) ศึกษาการสะสมตะกั่วและสัณยภาพในการ phytostabilization ของชนิดพืชที่เติบโตในเหมืองแร่ตะกั่วและสังกะสี พบว่าชีวมวลของพืชที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วจะมีปริมาณต่ำกว่าชีวมวลของพืชที่ปลูกในดินไม่ปนเปื้อนตะกั่ว และมวลชีวภาพจะสูงขึ้นเมื่ออายุของพืชเพิ่มสูงขึ้น (Sebastiani *et al.*, 2004)

4. ศักยภาพการเคลื่อนย้ายตะกั่ว

4.1 ปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพ (Bioconcentration factor, BCF)

ปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพ เป็นค่าความเข้มข้นของโลหะหนักในพืชต่อความเข้มข้นของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดทางชีวภาพสำหรับดินปนเปื้อน โดยพืชที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดทางชีวภาพจะต้องมีค่าปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพมากกว่า 1 (Elekes *et al.*, 2010) Baker (1981) และ Greger (1999) แบ่งประสิทธิภาพของพืชในการดูดซับโลหะหนักออกเป็น 3 กลุ่ม คือ (1) Excluders กลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายโลหะหนักเข้ามาสะสมในตัวพืชได้ต่ำ เนื่องจากดินมีความเข้มข้นของโลหะหนักต่ำพืชจะมีกลไกในการป้องกันไม่ให้โลหะเข้ามาสะสมในตัวพืชได้ แต่เมื่อโลหะหนักในดินมีการปลดปล่อยออกมาในรูปของไอออนเพิ่มขึ้น กลไกในการป้องกันการสะสมโลหะหนักจะหายไปทำให้โลหะหนักสามารถเข้ามาสะสมในเซลล์พืชได้สูงขึ้น (2) Accumulators กลุ่มนี้พืชจะมีความสามารถในการสะสมโลหะหนักได้สูง ถึงแม้ว่าปริมาณโลหะหนักในสารละลายดินจะมีปริมาณต่ำก็ตาม พืชก็สามารถดูดซับโลหะหนักเข้ามาสะสมในเซลล์ได้สูงกว่าปริมาณที่มีอยู่ในสารละลายดิน (3) Indicator plants พืชกลุ่มนี้จะสะสมโลหะหนักได้มากที่สุดต่อเมื่อปริมาณโลหะหนักในสารละลายดินเพิ่มขึ้น จากผลการทดลองพบว่า ข้าวโพดที่อายุ 120 วัน มีค่าความเข้มข้นชีวภาพสูงสุด คือ 0.017 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 1 ดังนั้นข้าวโพดในการทดลองนี้ ไม่มีประสิทธิภาพในการใช้เป็นเครื่องมือบำบัดตะกั่วในดินปนเปื้อนตะกั่วบ้านคิลี ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Davila *et al.* (2012) ศึกษาเกี่ยวกับการปนเปื้อนของโลหะหนักในดินและพืชจากพื้นที่การเกษตร สรุปว่า ค่าปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพของข้าวโพดมีค่าต่ำกว่า 1 ส่วน Mohebbi *et al.* (2012) ศึกษาเกี่ยวกับศักยภาพการใช้พืชบำบัดดินปนเปื้อนโลหะหนัก ซึ่งพบว่าทานตะวัน และถั่วอัลฟัลฟาที่ปลูกร่วมกับปาล์มจะมีค่าปัจจัยความเข้มข้นชีวภาพมากกว่า 1 สำหรับตะกั่ว

Malik *et al.* (2010) ศึกษาการสะสมโลหะหนักและการปนเปื้อนในดินและชนิดของพืชป่าจากเขตอุตสาหกรรมของปากีสถาน พบว่า หญ้า (*Brachiaria reptans* L.) มีค่ามีค่าปัจจัยการเคลื่อนย้ายสำหรับตะกั่วเท่ากับ 18.5 และยังพบว่าพืชป่าเช่น ผักโขม (*Amaranthus viridis*) กล้วยชา (*cannabis sativa*) หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) มีค่า BCF>1 สำหรับตะกั่ว สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang *et al.* (2011) สรุปได้ว่าค่า BCF ที่สูงนั้นส่วนหนึ่งมาจากความเข้มข้นของโลหะในดินที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับสมบัติของดินและชนิดพืช

4.2 ปัจจัยการเคลื่อนย้ายตะกั่วจากรากสู่ต้นของพืช (Translocation factor, TF)

ปัจจัยการเคลื่อนย้ายเป็นค่าที่แสดงถึงอัตราของโลหะหนักในต้นต่อราก ซึ่งหากค่าปัจจัยการเคลื่อนย้ายมากกว่า 1 จะแสดงให้เห็นว่า โลหะหนักมีความสามารถในการเคลื่อนย้ายจากรากสู่ต้น จากผลการทดลองพบว่า ค่าเฉลี่ยปัจจัยการเคลื่อนย้ายในการทดลองนี้มีค่าต่ำกว่า 1 โดยค่าสูงสุดตรวจพบอยู่ในข้าวโพดที่มีอายุ 120 วัน มีค่าเท่ากับ 0.456 ดังนั้น ข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วจากบ้านคลิตี้ มีความสามารถในการเคลื่อนย้ายตะกั่วจากรากไปสู่ต้นต่ำ จึงไม่เหมาะกับการใช้เป็นพืชบำบัด ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohebbi *et al.* (2012) ศึกษาเกี่ยวกับศักยภาพการใช้พืชบำบัดดินปนเปื้อนโลหะหนัก ซึ่งพบว่า ข้าวโพดมีค่าปัจจัยการเคลื่อนย้ายมีค่าต่ำกว่า 1 และยังพบว่า ถั่วอัลฟัลฟา ทานตะวัน และ ปาล์ม มีค่าปัจจัยการเคลื่อนย้ายมีค่าต่ำกว่า 1 เช่นกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kabata -Pendias and Pendias (1992) รายงานว่าปกติพืชที่มีการสะสมตะกั่วมักพบว่า 3 เปอร์เซ็นต์ของความเข้มข้นตะกั่วในรากสามารถเคลื่อนย้ายไปยังส่วนเหนือดินได้ ซึ่งส่วนใหญ่แล้วตะกั่วจะสะสมในรากและมีปริมาณน้อยมากที่เคลื่อนที่ไปสะสมในส่วนเหนือดิน ซึ่งงานวิจัยของ Ho *et al.* (2008) พบว่าการเคลื่อนย้ายตะกั่วจากรากสู่ส่วนเหนือดินของปอแก้วมีความน้อยกว่า 1 ซึ่งอาจเป็นเพราะพืชมีการปกป้องตัวเองจากความเป็นพิษของตะกั่วที่มีความเข้มข้นสูง

Surat *et al.* (2008) ศึกษาการสะสมตะกั่วและการแสดงออกของยีนไฟโทคีลาตินซินเทสใน *Sonchus arvensis* ซึ่งเป็นวัชพืชที่พบในบริเวณเหมืองแร่ตะกั่วบ่องามประเทศไทย พบว่า ส่วนต้นของพืชสะสมตะกั่วได้สูงสุดถึง 9317 มก/กก และมีค่า TF สูงสุดเท่ากับ 2.5 แสดงให้เห็นว่า *S. arvensis* เป็นพืชที่เหมาะสมสำหรับนำไปบำบัดพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนด้วยสารตะกั่ว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Malik *et al.* (2010) จะพบว่า *Parthenium hysterophorus* เป็นวัชพืชป่ามีค่า TF>1 ซึ่งมีค่า TF เท่ากับ 23 และ หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) มีค่า TF เท่ากับ 2.3 สำหรับตะกั่ว

4.3 การดูดซับตะกั่วโดยพืช (Uptake by plant, UP)

ค่าการดูดซับตะกั่วโดยพืช เป็นค่าที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพที่แท้จริงของพืชหนึ่งต้นที่จะสามารถดูดซึมโลหะหนักเข้ามาสะสมในพืช โดยคำนวณเป็นค่าที่แท้จริงที่พืชจะสามารถดูดซับโลหะหนักได้ (mg Pb) ซึ่งคำนวณจากจำนวนโลหะที่ดูดซับโดยพืช $\times$ น้ำหนักแห้งของพืช จากการทดลองพบว่า ข้าวโพดที่อายุ 120 วัน มีการดูดซับตะกั่วที่แท้จริงได้ถึง 26.32 มิลลิกรัม/กิโลกรัม Greger (1999) อธิบายถึงความสำคัญของน้ำหนักแห้งพืชที่ใช้เป็นตัวดูดซับโลหะหนักในดินไว้ว่า พืชที่มีน้ำหนักแห้งมากแสดงถึงการผลิตมวลชีวภาพได้มาก พืชที่มีมวลชีวภาพมากแสดงถึงการเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก ย่อมมีความสามารถในการดูดซับโลหะที่ปนเปื้อนในดินได้มากด้วย หรือ การที่พืชมีมวลชีวภาพมากจะเป็นการเจือจางความเป็นพิษของโลหะภายในเซลล์พืชลงไปด้วย ทำให้พืชมีโอกาสดังกล่าวแสดงความเป็นพิษ (phytotoxicity) ของโลหะหนักลดลง (Marschner, 1995 และ สายชล, 2556) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sebastiani *et al*, 2004 พบว่ามวลชีวภาพของพืชส่งผลต่อการสะสมตะกั่วในพืชเนื่องจากมวลชีวภาพของพืชสูงจะสะสมโลหะหนักได้สูง และ มวลชีวภาพจะสูงขึ้นเมื่ออายุของพืชเพิ่มสูงขึ้น

5. ความปลอดภัยในการบริโภคข้าวโพดที่ปลูกจากดินที่ปนเปื้อนตะกั่ว

สหภาพยุโรปได้กำหนดค่ามาตรฐานการปนเปื้อนตะกั่วในธัญพืชไว้ว่า ธัญพืชจะต้องมีความเข้มข้นตะกั่วปนเปื้อนอยู่ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต่อน้ำหนักสดของธัญพืช 1 กิโลกรัม (Zhao *et al*, 2004) เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับความเข้มข้นตะกั่วในฝักและเมล็ดข้าวโพดของการทดลองนี้ (ตารางที่ 11) พบว่าข้าวโพดที่อายุ 70 วัน มีความเข้มข้นตะกั่วในฝักและเมล็ด มีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ทั้งในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง และที่อายุ 120 วัน มีความเข้มข้นตะกั่วในฝักและเมล็ด มีค่าเกินกว่าค่ามาตรฐานทั้งในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า ฝักและเมล็ดข้าวโพดที่อายุ 120 วันของการทดลองนี้ ไม่สามารถนำมาใช้บริโภคและไม่ส่งออกไปยังประเทศในแถบยุโรป ส่วนค่าที่ยอมรับได้สำหรับใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์คือไม่เกิน 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) (Chaney, 1989) เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของตะกั่วในฝักและเมล็ดข้าวโพดของการทดลองนี้ พบว่า ค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐาน สามารถใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์เลี้ยงได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ สายชล, 2556 ศึกษาการดูดซับตะกั่วในทานตะวันและข้าวฟ่าง พบว่า ทานตะวันที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว

มีการสะสมตะกั่วในเมล็ดสูงถึง 0.72 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วนข้าวฟ่างมีการสะสมตะกั่วสูงถึง 0.65 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งไม่เกินค่ามาตรฐานอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์ เช่นกัน

6. ชนิดของแบคทีเรียที่ทนต่อความเข้มข้นของตะกั่ว

จากผลการศึกษาการคัดแยกชนิดของแบคทีเรียบริเวณรากข้าวโพดในดินปนเปื้อนตะกั่ว บริเวณบ้านคิลี อำเภอดงพิกุล จังหวัดกาญจนบุรี สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลท ที่ทนต่อความเข้มข้นตะกั่ว 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar ที่มีความเข้มข้นตะกั่วตั้งแต่ 0, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1,000, 1,250, 1,500, 2,000, 3000 และ 3,600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า จุลินทรีย์ที่ทนตะกั่วได้สูงที่สุดคือ 3,600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมมีทั้งหมด 4 ไอโซเลท คือ MKT 3 2.2 E, MKT 4 2.1 G, MKT 5 1.1 D และ MKT 5 2.1 A และทำการศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยา ด้วยการย้อมสีแกรม และนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และหาลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อทำการเปรียบเทียบลำดับเบสในฐานข้อมูลแบคทีเรีย บน NCBI BLAST พบว่าแบคทีเรียที่ทนตะกั่วที่แยกได้ ถูกจำแนกเป็น *Bacillus* sp. MKT 3 2.2 E, *Pseudomonas* sp. MKT 4 2.1 G, *Pseudomonas putida*, MKT 5 1.1 D และ *Bacillus subtilis*. MKT 5 2.1 A ตามลำดับ โดยแบคทีเรียที่เป็นแกรมบวก คือ *Bacillus* sp. MKT 3 2.2 E และ *Bacillus subtilis*. MKT 5 2.1 A และแบคทีเรียที่เป็นแกรมลบ คือ *Pseudomonas* sp. MKT 4 2.1 G และ *Pseudomonas putida*. MKT 5 1.1 D ทั้งสองสายพันธุ์ *Bacillus* และ *Pseudomonas* มีความสามารถในการทนพิษตะกั่ว โดยมีรายงานการวิจัย กล่าวไว้ว่า สายพันธุ์จำนวนมากของเชื้อ *Bacillus* sp. จะใช้กลไกภายในและภายนอกเซลล์ในการจับกับ Pb^{2+} เพื่อลดความเป็นพิษลง เช่น สายพันธุ์ *Bacillus megaterium* ลดความเข้มข้นไอออนตะกั่วโดยการตกตะกอนตะกั่วเป็นเกลือฟอสเฟต สำหรับสายพันธุ์ *Pseudomonas marginalis* หลีกเลี่ยงความเป็นพิษตะกั่วโดยการสร้างสารโพลีแซคคาไรด์ และจับกับตะกั่วไว้ภายนอกเซลล์ อย่างไรก็ตามกลไกระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับรูปแบบการตกตะกอนของตะกั่วในสายพันธุ์เหล่านี้ยังไม่เป็นที่รู้จักกันแพร่หลาย (Lugauskas *et al*, 2005) ส่วนรายงานการวิจัยของ Ashraf and Ali (2007) ที่ศึกษาผลกระทบของโลหะหนักต่อจุลินทรีย์ในดิน ผลการศึกษาพบว่า *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียที่ได้รับการยอมรับว่าสามารถทนต่อสารตะกั่ว อีกทั้งยังมีศักยภาพในการบำบัดทางชีวภาพของดินปนเปื้อนโลหะหนักด้วย รายงานวิจัยนี้ให้ผลสอดคล้องกับงานของ Wyszowska *et al*. (2008) ศึกษาผลกระทบของแบคทีเรียในดินปนเปื้อนโลหะหนัก ผลการทดลองพบว่า *Pseudomonas* sp. เป็น

แบคทีเรียที่ทนตะกั่ว > ทองแดง > สังกะสี > แคลเซียม เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่แข็งแกร่งต่อผลกระทบ และมีความทนต่อโลหะหนักสูง

Kafilzadeh *et al.* (2012) ศึกษาช่วงการต้านทานและการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินปนเปื้อนตะกั่วใกล้สถานีก๊าซ ประเทศอิหร่าน ผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบสามารถทนทานตะกั่วได้ ซึ่งเปอร์เซ็นต์ส่วนใหญ่ของแบคทีเรียแกรมบวกสามารถทนตะกั่วได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดย *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียที่ทนตะกั่วได้สูง แบคทีเรียเหล่านี้สามารถอยู่รอดได้ในพื้นที่ปนเปื้อนโดยการเคลื่อนย้ายโปรตีนและฟอสเฟต ทำให้ความเป็นพิษของตะกั่วลดลง *Bacillus* sp. เป็นแบคทีเรียที่ทนตะกั่ว และสามารถเจริญเติบโตในความเข้มข้นระดับสูงของ lead acetate ได้ และเป็นแบคทีเรียมีการปรับตัวต่อสภาวะเครียดที่เกิดจากสารที่เป็นพิษได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rathnayak *et al.* (2009) ที่ศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นตะกั่วที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ผลการทดลองพบว่า การเจริญเติบโตของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นในความเข้มข้นตะกั่วที่สูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียมีความสามารถกำจัดตะกั่วที่เติมลงไปในการอาหาร ซึ่งแบคทีเรียมีการสัมผัสกับตะกั่วอย่างต่อเนื่องนั้น แบคทีเรียสามารถปรับตัวกับสภาวะเครียดที่เกิดจากสารที่เป็นพิษและเจริญเติบโตได้ สอดคล้องกับ Xie *et al.* (2010) ที่ศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นตะกั่วที่แตกต่างกันต่อสายพันธุ์แบคทีเรียที่ทนทาน ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ระดับความเข้มข้นที่เป็นพิษของตะกั่วมีผลเพียงเล็กน้อยต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ทนตะกั่ว

สำหรับกลไกของการทนต่อโลหะมักจะเกี่ยวข้องกับการขัดขวางการผ่านเข้าออกของเซลล์ โดยโลหะจะจับกับผิวเซลล์ที่เป็นประจุลบ โดยมักเกิดกับโลหะที่เป็นประจุบวก เช่น ตะกั่ว โดยการตรึงโลหะไว้ภายนอกเซลล์ การจับภายนอกเซลล์มักเกิดกับชั้นผิวเมือก (slime layer) หรือพอลิเมอร์ที่อยู่ภายนอก (exopolymer) ที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โพลีแซ็กคาไรด์ พอลิเมอร์ที่อยู่ภายนอกนี้มักมีผลต่อการจับโลหะหนัก เช่น ตะกั่ว โดยมีหมู่ทำหน้าที่ (functional group) โดยทั่วไปเป็นประจุลบ โดยกลไกนี้เป็นกลไกการต้านทานตะกั่วที่พบบ่อยที่สุด (วีรบุษ, 2551) ส่วน Akhtar *et al.* (2013) ศึกษาการบำบัดตะกั่วโดยจุลินทรีย์จากดินปนเปื้อน พบว่าแบคทีเรียดินอาจมีความสัมพันธ์โดยตรงหรือโดยอ้อมกับตะกั่วในดินปนเปื้อน และสามารถลดรูปแบบที่ไม่เป็นพิษลงได้ ซึ่งแบคทีเรียบางชนิดใช้การบำบัดทางชีวภาพของสารตะกั่ว ได้แก่ *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas aeruginosa* แบคทีเรียเหล่านี้อาจจะลดปริมาณตะกั่วในแหล่งปนเปื้อน โดยการดูด

จับตะกั่วด้วยหมู่ทำหน้าที่บน พื้นผิวเซลล์ หรือการปฏิสัมพันธ์ และ การสร้างสารเชิงซ้อน (complex formation) ระหว่างตะกั่วและกรดในผนังเซลล์

Hookoom and Puchooa (2013) จำแนกลักษณะแบคทีเรียที่สามารถสะสมตะกั่ว และการนำไปใช้ในการกำจัดโลหะหนักจากพื้นที่ปนเปื้อน ผลการศึกษาพบว่า *Bacillus subtilis* สามารถทนตะกั่วความเข้มข้น 5.0 มิลลิโมล ซึ่งกลไกการต้านทานตะกั่ว เกี่ยวข้องกับ ATPases และ สารประกอบเชิงซ้อนภายในเซลล์ กลไกนี้สามารถปั๊มไอออนที่เป็นพิษที่เข้าไปในเซลล์ออกจากเซลล์โดยกระบวนการ active transport (ATPase pump) อีกทั้ง *Bacillus subtilis* สามารถสะสมตะกั่วไว้ที่ผนังเซลล์ สอดคล้องกับ Nies (1999) ที่พบว่า *Bacillus subtilis* MTCC-1427 แสดงความสามารถในการดูดซับ Pb^{2+} สูง โดยกลไกอื่น เช่น lead ions efflux และ sequestration ส่วน วรินุช (2551) ได้สรุปกลไกการทนต่อโลหะหนักแบบขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะหนัก ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับการจับหรือการแยกโดยเมทัลโลไทโอนีน (metallothionein) เป็นโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลต่ำประกอบด้วยซิสเทอีน (cysteine)จำนวนมากซึ่งจะจับแบบสัมพันธภาพของโลหะ การสร้างนี้ถูกชักนำโดยการมีโลหะและหน้าที่อันแรกคือการทำลายพิษของโลหะนั้น โปรตีนที่คล้ายเมทัลโลไทโอนีนถูกแยกจาก *Pseudomonas putida* อย่างไรก็ตามยังไม่เป็นที่แน่ชัดเกี่ยวกับกระบวนการสร้างโปรตีนที่คล้ายเมทัลโลไทโอนีนในแบคทีเรีย

ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียกับข้าวโพดนั้น พืชจะมีการปลดปล่อยสารที่เรียกว่า root exudate ที่มีความสัมพันธ์กับแบคทีเรียให้เข้ามาอาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืช เนื่องจากสารเหล่านี้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งอาหารที่สำคัญ ส่งผลต่อกิจกรรมของแบคทีเรียช่วยส่งเสริมการพัฒนารากพืช และธาตุอาหาร เช่น ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส (Barea *et al.*, 2005) สอดคล้องกับงานวิจัยของ หนึ่ง และคณะ, 2555 คัดหาสายพันธุ์ Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์แปซิฟิก 283 พบว่า *Bacillus subtilis* SUT3 ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด และ *Pseudomonas* sp. SUT19 ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดเช่นกัน และให้ประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตดีที่สุดทั้งในระดับกระถาง และระดับแปลงทดลอง เมื่อทำการตรวจสอบสมบัติสำคัญพบว่า การสร้างเอนไซม์ ACC-deaminase น่าจะเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดต่อการส่งเสริมการเจริญของข้าวโพด ซึ่งงานวิจัยของ Pereira *et al.* (2011) ศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียบริเวณรอบรากข้าวโพด ผลการศึกษาพบแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Pantoea* และ *Klebsiella* มากที่สุดบริเวณ

รอบรากข้าวโพด และพบได้น้อยบริเวณรอบรากข้าวโพด คือ *Paenibacillus*, *Achromobacter*, *Herbaspirillum*, *Erwinia*, *Sphingomonas* เป็นต้น

เนื่องจากสารมลพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมมีปริมาณมาก เทคโนโลยีการฟื้นฟูทางชีวภาพเป็นเทคโนโลยีที่ใช้ในการบำบัดสารพิษหรือฟื้นฟูพื้นที่ที่ปนเปื้อน ด้วยใช้กระบวนการย่อยสลายทางธรรมชาติของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์สามารถนำมาใช้เทคโนโลยีดังกล่าวได้ในพื้นที่ปนเปื้อน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Choi *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาการบำบัดแร่ยูเรเนียม แคดเมียม และตะกั่ว ที่ปนเปื้อนในดินและน้ำที่ใช้ในการอุปโภคบริโภคด้วยกระบวนการในการดูดซับของแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* ในการศึกษาได้ใช้แบคทีเรียทั้งที่เป็นเซลล์มีชีวิต (Live cell) และเซลล์ที่ตายแล้ว (Dead cell) ในการดูดซับแร่ยูเรเนียม (U) แคดเมียม (Cd) และตะกั่ว (Pb) พบว่า Dead cell มีการดูดซับสารโลหะทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่า Live cell และแบคทีเรีย *Pseudomonas putida* มีการดูดซับแร่ยูเรเนียม ได้ดีที่สุด รองลงมาคือแคดเมียม และตะกั่วตามลำดับ และในปี ค.ศ.2012 งานวิจัยของ Murthy *et al.* กล่าวว่าแบคทีเรียสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการบำบัดทางชีวภาพของสารตะกั่วได้ ซึ่งผลการศึกษาพบว่า *Bacillus cereus* มีศักยภาพในการดูดซับสารตะกั่ว และสามารถนำไปใช้ในการบำบัดทางชีวภาพได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Issazadeh *et al.* (2011) ศึกษาการบำบัดทางชีวภาพของสารพิษโลหะหนักโดยใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* ในการดูดซับ แคดเมียม ทองแดง สังกะสี และตะกั่ว ผลการทดลองพบว่า การสะสมตะกั่วของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สามารถสะสมตะกั่วได้ 1.8 โมลต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และเป็นแบคทีเรียที่ทนโลหะหนักได้ดี จึงสามารถนำสายพันธุ์ *Bacillus* ไปใช้ในการตรึงหรือลดโลหะหนักจากพื้นที่ปนเปื้อนได้ ซึ่งชนิดของโลหะหนักในพื้นที่ปนเปื้อนจะเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อชนิดของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการทนพิษของโลหะหนัก และแบคทีเรียดังกล่าวนำมาใช้ในการบำบัดทางชีวภาพได้ ก่อนหน้านั้นในปี ค.ศ. 2010 งานวิจัยของ Kumar *et al.* ได้ศึกษาความสามารถของจุลินทรีย์ที่สะสมโลหะหนักและใช้เป็นตัวแทนในการบำบัดทางชีวภาพในพื้นที่ ผลการศึกษาพบว่า จุลินทรีย์ 4 สายพันธุ์ในพื้นที่ปนเปื้อน ได้แก่ คือ *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp. และ *Aspergillus niger*. โดยพบว่า *Staphylococcus* sp. สามารถดูดซับตะกั่วได้ดีที่สุดในขณะที่ *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. สามารถดูดซับทองแดงได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า *Pseudomonas* sp. สามารถลดปริมาณของโลหะหนักในพื้นที่ได้มากกว่าจุลินทรีย์อื่นๆ จึงใช้เป็นตัวแทนสำหรับการบำบัดทางชีวภาพ

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาเกี่ยวกับการสะสมตะกั่วในข้าวโพดและชนิดแบคทีเรียที่พบในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนตะกั่ว บริเวณบ้านคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี สามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. จากการศึกษาปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง พบว่า ข้าวโพดมีความสามารถในการดูดซับและสะสมตะกั่วจากดินที่มีการปนเปื้อนตะกั่วไว้ในส่วนต่างๆของข้าวโพด โดยปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดจะสะสมอยู่ใน ราก > ต้น > ฝักและเมล็ด เป็นผลมาจากปัจจัยที่ส่งผลต่อการสะสมตะกั่วในข้าวโพด ได้แก่ ผลของความเข้มข้นของตะกั่วในดิน ผลของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวโพด ผลของอายุของข้าวโพด ซึ่ง ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง ที่อายุ 120 > 70 > 40 วัน นอกจากนี้ค่า BCF และ TF ของข้าวโพดในงานวิจัยนี้มีค่าต่ำกว่า 1 ดังนั้น ข้าวโพดในการทดลองนี้ควรจะไม่นำมาใช้เป็นพืชบำบัดตะกั่วในพื้นที่ปนเปื้อน

2. การเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นตะกั่วที่ปลูกในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง พบว่าปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองมากกว่าปริมาณความเข้มข้นตะกั่วในข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง เนื่องจากข้าวโพดที่ปลูกในโรงเรือนทดลองจะปลูกในกระถางจึงทำให้ระบบรากของข้าวโพดสัมผัสกับตะกั่วที่สะสมอยู่ในดินได้มากกว่าระบบรากของข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลอง

3. การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของข้าวโพดคือ ความสูงของต้นข้าวโพด ความยาวรากข้าวโพด ความชื้นของข้าวโพด และน้ำหนักแห้งของข้าวโพด ซึ่งลักษณะทางกายภาพของข้าวโพดที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในโรงเรือนทดลองและแปลงทดลอง พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

4. ความปลอดภัยในการบริโภคข้าวโพดที่ปลูกจากดินที่ปนเปื้อนตะกั่ว จากการทดลองนี้พบว่า เมื่อนำเอาปริมาณตะกั่วที่สะสมในฝักและเมล็ดข้าวโพด ที่อายุ 70 และ 120 วัน เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานการปนเปื้อนตะกั่วในธัญพืช (ความเข้มข้นตะกั่วต้องไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อ

กิโลกรัม ต่อน้ำหนักสดของธัญพืช 1 กิโลกรัม) พบว่า ฝักและเมล็ดข้าวโพดที่อายุ 70 และ 120 วันของการทดลองนี้ ไม่สามารถนำมาใช้บริโภคและส่งออกไปยังประเทศในแถบยุโรป แต่ไม่เกินค่ามาตรฐานของการใช้เพื่อเป็นอาหารสัตว์ (30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)

5. จากการคัดแยกแบคทีเรียบริเวณรอบรากข้าวโพดที่ทนความเข้มข้นตะกั่ว ที่ความเข้มข้น 3,600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบแบคทีเรีย 2 กลุ่มคือ แบคทีเรียแกรมบวก คือ *Bacillus* ได้แก่ *Bacillus* sp. B26 (2012) และ *Bacillus subtilis* strain SM10 และแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Pseudomonas* ได้แก่ *Pseudomonas* sp. S169 และ *Pseudomonas putida* strain RW10S2 ซึ่งแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์มีรายงานการวิจัยถึงกลไกการทนพิษของตะกั่วได้เป็นอย่างดี อาจกล่าวได้ว่าแบคทีเรียเหล่านี้ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด โดยการช่วยลดปริมาณตะกั่วในดิน และช่วยปรับคุณสมบัติทางกายภาพของดิน ให้มีคุณภาพเหมาะแก่การเพาะปลูกข้าวโพดได้ นอกจากนี้หากต้องการคัดเลือกลายพันธุ์จุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้ในการบำบัดสิ่งแวดล้อมการปนเปื้อนตะกั่ว สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ได้จากแหล่งที่มีการปนเปื้อนโดยตรง

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองที่ได้ ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในฝักและเมล็ดที่อายุ 120 วัน ปริมาณความเข้มข้นของตะกั่วในเมล็ดมีค่าสูงเกินมาตรฐานเพื่อการใช้บริโภคเป็นอาหารมนุษย์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาแนวทางในการนำผลผลิตที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ซึ่งแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายวิธี เช่น การนำต้นพืชหลังจากปลูกในดินที่มีการปนเปื้อนตะกั่วไปเผา เป็นวิธีที่ใช้ในการกำจัดเศษเหลือจากพืชภายหลังการเก็บ และการนำไปใช้เพื่อผลิตเป็นเอทานอล เนื่องจากข้าวโพดเป็นธัญพืชที่มีการปลูกกันอย่างกว้างขวางทั่วโลก และฝักและเมล็ดข้าวโพดมีแป้งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ หรือการนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ จากผลการทดลองความเข้มข้นของตะกั่วใน ราก ต้น และฝักและเมล็ด มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่จะนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ได้ (30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) จึงอาจนำไปประยุกต์หรือผลิตเป็นอาหารสัตว์ในรูปแบบต่าง ๆ ได้ โดยเมล็ดอาจนำไปผสมกับวัตถุดิบอื่น ๆ และส่วนลำต้นและใบ อาจใช้เป็นอาหารสัตว์ได้โดยตรง

การคัดเลือกแบคทีเรียจากแหล่งที่มีการปนเปื้อน โลหะหนัก จะทำให้ได้แบคทีเรียที่ทนตะกั่ว ซึ่งมีประโยชน์ในการใช้แบคทีเรียดูดซับชีวภาพของโลหะหนัก (ทองแดง แคดเมียม สังกะสี นิกเกิล และตะกั่ว) เนื่องจากแบคทีเรียสามารถดูดซับโลหะหนัก โดยใช้กลไกที่เกี่ยวข้องกับการดูดซับชีวภาพ ซึ่งสามารถนำเอาโลหะหนักกลับคืนจากตัวดูดซับชีวภาพได้ และเป็นมิตรต่อระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อม

เอกสารและอ้างอิง

กนกศักดิ์ อุดมสิน. 2554. ศักยภาพของสาบเสือในการบำบัดดินปนเปื้อนตะกั่ว และการศึกษาปริมาณตะกั่วจากองค์ประกอบของพืชด้วยวิธี Steam Explosion และ Wayman's Method. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กรมควบคุมมลพิษ. 2542. รายงานประจำปี พ.ศ. 2542. กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. บริษัท รุ่งศิลป์การพิมพ์ (1977) จำกัด, กรุงเทพฯ.

กรมควบคุมมลพิษ. 2547. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการของสารเคมีเฉพาะเรื่อง: ตะกั่ว. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

กรมควบคุมมลพิษ. 2553. คู่มือปฏิบัติงานกระบวนการวิเคราะห์ดิน น้ำ และพืช ด้านสิ่งแวดล้อม. กรมควบคุมมลพิษ, กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร. 2524. ข้าวโพด. เอกสารวิชาการเล่มที่ 4. ธนประดิษฐ์การพิมพ์, กรุงเทพฯ.

กานต์มณี จันทร์ขาว. 2554. โครงสร้างประชากรของเชื้อราและแบคทีเรียบริเวณรากหญ้าแฝกกลุ่ม และหญ้าแฝกตอนที่อยู่ดินเค็มและดินเปรี้ยวจัด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เกื้อเมธา ฤกษ์พรพัฒน์. 2550. คลิตี้ สายน้ำ ชุมชน และพืชตะกั่ว. พิมพ์ดี, นนทบุรี.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2551. พจนานุกรมปฐพีวิทยา. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2544. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 9. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชลาลัย เสน่ห์. 2551. การแพร่กระจายของสังกะสี ตะกั่ว และแคดเมียม จากการจราจรในพื้นที่
ผลิตผัก ขอบชุมชนเมือง จังหวัดสระบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิตติยา แซ่ป้ง. 2551. พืชวิทยาสังแวดล้อม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ฐาปนกรณ์ คำหอมกุล. 2556. การสะสมของตะกั่วในเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) จากฟางและ
ตอซังข้าวที่มีการปนเปื้อนตะกั่ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธงชัย มาลา. 2546. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. สำนักพิมพ์.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธนิศร์ ปัทมพิฑูร. 2548. การศึกษาแบคทีเรียรอบรากพืชรักษา ธรรมชาติและเชิงแดง ที่มีผลต่อ
ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียชุมชนเทศบาลเมืองเพชรบุรี จังหวัดเพชรบุรี. วิทยานิพนธ์
ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พฤษส์ จันทน์วล. 2550. พลวัตของโลหะหนัก: กรณีศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโลหะ
หนักและคุณภาพดินตะกอนในแม่น้ำแม่กลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิชามณูษ์ อินตะโม. 2554. บทบาทของแบคทีเรียบริเวณตะไคร้หอมต่อการเจริญเติบโตและการ
สร้างสารสำคัญของพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พินิจ จิรคกุล. 2548. ผลของการบำบัดดินต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มธุรส รุจิรัตน์ และ จุฑามาศ สัตยวิรัตน์. 2549. พืชวิทยาสังแวดล้อม. ทรินิตี้ พับลิชชิ่ง,
กรุงเทพ.

ราชนนทร์ ธีรพร. 2539. ข้าวโพด การผลิต การใช้ประโยชน์ การวิเคราะห์ปัญหา และการ
ถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่เกษตรกร. บริษัทด้านสุทธาการพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ.

ศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา. 2540. ภาวะมลพิษทางดินจากการใช้สารเคมี. สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุบัณฑิต นิมรรัตน์. 2549. จุลชีววิทยาทางดิน. โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สายชล สุขญาณกิจ. 2556. การเปรียบเทียบการใช้ท่อนตะวันและข้าวฟ่างในการดูดซับตะกั่วที่
ปนเปื้อนในดินจากบ้านคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาธิตา วรหาญ. 2545. ปัจจัยเสี่ยงต่อการสัมผัสสารตะกั่วของประชาชนบ้านคลิตี้บน อำเภอดอง
ผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.

สำนักจัดการคุณภาพน้ำ. 2553. โครงการแก้ไขปัญหาตะกอนทางแร่ในหลุมฝังกลบ (เดิม) บริเวณ
ริมลำห้วยคลิตี้ อำเภอดองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี : รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักจัดการ
คุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, กรุงเทพฯ

สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุ
ปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจรับรองมาตรฐานสินค้า เล่ม 1. กรมพัฒนาที่ดิน,
กรุงเทพฯ.

วรกาย อุตสาหกรรม, สามัคคี บุญชะวัฒน์, วิชา นิยม และ วีรศักดิ์ อุดมโชค. 2541. ปริมาณโลหะหนัก
ในพืชที่ปลูกโดยใช้วัสดุปลูกผสมระหว่างดินและกากตะกอนน้ำเสียในท้องที่จังหวัด
เพชรบุรี, น. 451-455. ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่
37. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วีรานุช หลาง. 2551. จุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- หนึ่ง เตียอำรุง. 2555. การรวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์ **Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)**. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร.
- อลิสา วังใน. 2553. การบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพ. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- Akhionbare, S.M.O., T.E. Ebe., W.N. Akhionbare and N. Ac-Chukwuocha. 2010. Heavy Metal Uptake by Corn (*Zea Mays*) Grown on Contaminated Soil. **Res. J. Agric. & Biol. Sci.** 6(6): 993-997.
- Akhtar, M.S., C. Birtaut and A. Tanweer. 2013. Bioremediation of Arsenic and Lead by Plants and Microbes from Contaminated Soil. **RPB.** 1(3): 68-73.
- Alloway, B.J. 1990. **Heavy metals in soils.** John Wiley and Sons, Inc. New York
- Anonymous. 1970. **Lab procedures.** Soil testing and plant analysis laboratory. Co-operative Extension Service. Athens, GA.
- Antoun, H. and D. Prevost. 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. pp. 1-39. In Z.A. Siddiqui, ed. **PGPR: Biocontrol and Biofertilization.** Springer, Inc., Netherlands
- Ashraf, R. and A.T. Ali. 2007. Effect of heavy metals on soil microbial community and mung beans seed germinated. **Pak. J. Bot.** 39(2): 629-636.
- Baker, A.J.M. 1981. Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals. **J. Plant Nutr.** 3: 634-654.
- Barea, J.M., M.J. Pozo, R. Azcon and C. Azcon-Aguilar. 2005. Microbial co-operation in the rizosphere. **J. Exp. Bot.** 56:1761-1778.

- Bardgett, R.D., J.L. Mawdsley, S. Edwards, P.J. Hobbs, J.S. Rodwell and W.J. Davies. 1999. Plant species and nitrogen effects on soil biological properties of temperate upland grasslands. **Funct Ecol.** 13:650–660.
- Beck, R. 1999. **Soil Analysis Handbook of Reference Methods. Soil and Plant Analysis Council, Inc.** CRC Press, USA. 247 p.
- Berg, G and K. Smalla. 2009. Plant species versus soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. **FEMS. Microbiol. Ecol.** 63: 1-13.
- Blaine M. F. 1993. **Soil Microbial Ecology Applications in Agricultural and Environmental Management.** Marcel Dekker. Inc., New York.
- Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of Total, Organic, and Available Forms of Phosphorus in Soils. **Soil Sci.** 59: 39-45.
- Brennan, M.A. and M.L. Shelley. 1999. A model of the uptake, translocation, and accumulation of lead (Pb) by maize for the purpose of phytoextraction. **Ecol Eng.** 12: 271–297.
- Chaney, R.L. 1989. Toxic element accumulation in soil and crop: protecting soil fertility and agriculture food-chains, pp. 140-158. In Y.B. Bar eds. **Inorganic contaminant in the vadose zone.** Springer-Varlag, Berlin.
- Chapman, H.D. 1965. **Cation Exchange Capacity.** Methods of Soil Analysis, part 2, Ed., Black, C.A. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp: 891-901.
- Chen, B., J.N. Liu., Z. Wang., L. Dong., J.H. Fan and J.J. Qu . 2011. Remediation of Pb-resistant bacteria to Pb polluted soil. **J Environ Protect.** 2, 130–141.

- Choi, J., J.L. Young and Y. Jung-Seok. 2008. Biosorption of heavy metals and uranium by starfish and *Pseudomonas putida*. **J Hazard Mater.** 161: 157-162.
- Ciura, J., M. Poniedzialek., A. Sekara and E. Jedrzejczyk. 2005. The Possibility of Using Crops as Metal Phytoremediants. **Pol. J. Environ. Stud.** 14(1): 17-22.
- Daniela, M.M., A. Nicole. and M. Septimiu. 2010. Studies Regarding the Pb Toxicity Accumulation in Plants. **Rom Biotech Lett.** 15 (3): 5240-5245.
- Davila, O.G., J.M. Gomez-Bernal and E.S. Ruiz-Huerta. 2012. **Plants and Soil Contamination with Heavy Metals in Agricultural Areas of Guadalupe, Zacatecas, Mexico.** Environmental Contamination, Ed., Srivastava, J. InTech, pp: 37-50.
- Dilfuza, E. and H. Gisela. 2003. Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. **Soil Biol Biochem.** 35: 973-978.
- Elekes, C.C., G. Busuioc and I. Dumitriu. 2010. Bioaccumulation and Translocation Factors of Some Wild Growing. **ABR.** 61 (4): 464-468.
- Fassler, E., S. Plaza., A. Pairraud., S.K. Gupta., B. Robinsion and R. Schulin. 2010. Expression of selected genes involved in cadmium detoxification in tobacco plants grown on a sulphur-amended metal-contaminated field. **Environ Exp Bot.** 70: 158-165.
- Gadd, G.M. 1990. Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms. **Experientia.** 46(8):834-840.
- Gerard, J., R.Tortora., F. Berdell and L. Case Christine. 2004. **Microbiology an Introduction.** 8th ed. Benjamin Cummings Publ. Pearson Education. Inc., San Francisco.

- Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Can. J. Microbiol.** 41: 109-117.
- Greger, M. 1999. Metal availability and bioconcentration in plant, pp. 1-28. *In* M.N.V. Prasad and J. Hagemeyer, eds., **Heavy Metal Stress in Plant**. Springer- Varlag, Berlin.
- Gremion, F., A. Chatzinotas., K. Kaufmann, K., W.V. Sigler and H. Harms. 2004. Impacts of heavy metal contamination and phytoremediation on a microbial community during a twelve- month microcosm experiment. **FEMS Microbiol. Ecol.** 48(2):273-283.
- Griffiths, B.S., K. Ritz, N. Ebbelwhite and G. Dobson. 1999. Soil microbial community structure: effects of substrate loading rates. **Soil Biol. Biochem.** 1:145–153.
- Hernandez-Allica, J., J.M. Becerril and C. Garbisu. 2008. Assessment of the phytoextraction potential of high biomass crop plants. **Environ Pollut.** 152: 32 - 40.
- Hegedusova, A., S. Jakabova., L. Simon., O.Hegedus., A. Vargova., K. Talos., T. Pernyeszi and C. Majdik. 2009. Induced phytoextraction of lead from contaminated soil. **Agr Environ** 1: 116-122.
- Ho, W.M., L.H. Ang and D.K. Lee. 2008. Assessment of Pb uptake, translocation and immobilization in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) for phytoremediation of sand tailings. **J. Environ. Sci.** 20: 1341-1347.
- Hookoom, M. and D. Puchooa. 2013. Isolation and identification of heavy metals tolerant bacteria from industrial and agricultural areas in mauritius. **Curr. Res. Microbiol. Biotechnol.** 1: 119-123.

- Issazadeh, K., M.R. Majid., K. Pahlaviani and A. Massiha. 2011. **Bioremediation of Toxic Heavy Metals Pollutants By *Bacillus* spp. Isolated From Guilan Bay sediments, North of Iran.** International Conference on Biotechnology and Environment Management. 18.
- Jing, YD., ZL. He and XE. Yang. 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. **J Zhejiang Univ Sci B.** 8(3):192-207.
- Kabata-Pendias, A and H. Pandias. 1992. **Trace element in soil and plant 2nd ed.** CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kafilzadeh, F., R. Afrough. H. Johari and Y. Tahery. 2012. Range determination for resistance/tolerance and growth kinetic of indigenous bacteria isolated from lead contaminated soils near gas stations (Iran). **Euro. J. Exp. Bio.** 2 (1):62-69.
- Kaewsringam, T., J. Wongchawallit. and T. Panich-Pat. 2014. Accumulation of Lead in Maize (*Zea May L.*) Growth on Lead Contaminated Soil at Klity Village, Kanchanaburi Province. **JAPES.** 3 (3): 93-100.
- Kimenyu, P.N., N. Oyaro., J.S. Chacha and M.K. Tsanuo. 2009. The Potential of *Commelina bengalensis*, *Amaranthus hybridus*, *Zea mays* for Phytoremediation of Heavy Metals from Contaminated Soils. **Sains Malaysiana.** 38 (1): 61-68.
- Kloepper, J.W. 1992. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agent. pp. 255-264. In F.B. Metting Jr., ed. **Soil Microbiol. Ecol.** Marcel Dekker, Inc., Washington, D.C.
- Kumar, A., B.S. Bisht and V.D. Joshi. 2010. Biosorption of Heavy Metals by four acclimated microbial species, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. and *Aspergillus niger*. **J. BIOL. ENVIRON. SCI.** 4(12): 97-108.

Lasat, H.A. 2002. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms.

J. Environ. Qual. 31(1):109-120.

Lugauskas, A., L. Levinskaite., D. Peeiulyte., J. Repekiene., A. Motuzas., R. Vaisvalavieius and I. Prosyeevas. 2005. Effect of copper, zinc and lead acetates on microorganisms in soil. **Ekologija.** 1:61–69.

Malik, R.N., S.Z. Husain and I. Nazir. 2010. Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of Islamabad, Pakistan. **Pak. J. Bot.** 42 (1): 291–301.

Manahan, S.E. 2003. **Toxicological chemistry and biochemistry.** 3rd ed. Lewis Publishers, Boca Raton, Fla.

Marschener, H. 1995. **Mineral nutrition of higher plants.** Academic Press. Cambridge.

Marschner , P., C.H Yang, R. Lieberei and D.E. Crowley. 2001. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. **Soil Biol. Biochem.** 33: 1437-1445.

Masalha, J., H. Kosegarten., O. Elmaci and K. Mengal. 2000. The central role of microbial activity for iron acquisition in maize and sunflower. **Biol. Fertil. Soils.** 30(5-6): 433-439.

Mathe-Gaspar ang G. Anton. 2005. Phytoremediation study: Factors influencing heavy metal uptake of plants. **Acta Biologica Szegediensis.** 49(1-2):69 -70.

Mathur, S. and B.K. Yadav. 2009. Phytoextraction modeling of heavy metal (lead) contaminated site using maize (*Zea Mays*). **Pract. Period. Hazard. Toxic Radioact. Waste Manage.** 13(4):229 -238.

- McGrath, S.P., A.M. Chaudri and K.E. Giller. 1995. Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants. **J. Ind. Microbiol.** 14(2):94-104.
- Mckenzie, H. A. and H.S. Wallace. 1954. The Kjeldahl Determination of Nitrogen: A Critical Study of Digestion Conditions - Temperature, Catalyst and Oxidizing Agent. **Aust. J. Chem.** 7: 3-39.
- Misko, A.L. and J.G. James. 2002. Taxonomic and functional diversity of pseudomonads isolated from the roots of field-grown canola. **FEMS Microbiology Ecology.** 42: 399-407.
- Mohebbi, A.H., S.S Harutyunyan and M. Chorom. 2012. Phytoremediation Potential of Three Plant Grown in Monoculture and Intercropping with Date Palm in Contaminated Soil. **Intl J Agri Crop Sci.** 4 (20): 1523-1530.
- Mojiri, A. 2011. The Potential of Corn (*Zea mays*) for Phytoremediation of Soil Contaminated with Cadmium and Lead. **J Biol Environ Sci.** 5(13): 17-22.
- Murthy, S., G. Bali and SK. Sarangi. 2012. Lead biosorption by resting cells of *Bacillus cereus*. **Int. J. Biosci.** 2(3): 81-87.
- Nies, D.H. 1999. Microbial heavy metal resistance. **Appl Microbiol Biotechnol.** 51: 730-750.
- Okieimena, F.E., E.U. Ikhuoriab and E.G. Uwumarongie-Iloric. 2011. Comparative study of As, Cr and Cu accumulation by maize (*Zea Mays*. L) and okra (*Abelmoschus esculentus*) plants in cca contaminated soil. **IJPAES.** 1(3): 45-50.

- Olaniyan, J.O., A.O. Ogunkunle and M.O. Aduloju. 2011. **Response of Soil types to Fertilizer Application as conditioned by Precipitation in the Southern Guinea Savanna Ecology of Nigeria.** Tillage for agricultural productivity and environmental sustainability. pp: 419-428.
- Panich-pat, T and P. srinives. 2009. Partitioning of lead accumulation in rice plants. **Thai J. Agric.Sci.** 42(1): 35-40.
- Pereira, P., I. Fernando., R. Monica., E. Miriam and M.R. Esperanza. 2011. Analysis of the Bacterial Diversity Associated with the Roots of Maize (*Zea mays* L.) through Culture-Dependent and Culture-Independent Methods. **ISRN Ecology.** 2011: 1-10.
- Piyaporn waranusantigul. 2009. Phytoremediation potential of lead by *Buddleja* sp. and effects of its rhizobacteria on metal uptake. **Ph. D. (Biology).** Mahidol University.
- Quanlin, DAI., Y. Jiangang., F. Wei and Y. Zhongyi. 2007. Differences on Pb accumulation among plant tissues of 25 varieties of maize (*Zea mays*). **Front. Biol. China.** 2(3): 303-308.
- Rathnayake, V.N., M. Megharaj, N. Bolan and R. Naidu. 2009. Tolerance of heavy metals by gram positive soil bacteria, **World Acad. Sci. Eng. Technol.** 53 :1185-1189.
- Roane, T.M. 1998. Lead Resistance in Two Bacterial Isolates from Heavy Metal–Contaminated Soils. **Microb Ecol.** 37:218–224.
- Sandaa, R.A., V. Torsvik., O. Enger., L.F. Daae., T. Castber and D. Hahn. 1999. Analysis of bacterial communities in heavy metal-contaminated soils at different levels of resolution. **FEMS Microbiol. Ecol.** 30(3):237-251.

- Schmidt U. 2000. Enhancing Phytoextraction: the Effect of Chemical Soil Manipulation on Mobility, Plant Accumulation, and Leaching of Heavy Metals. **J Environ Qual.** 32: 1939-1954.
- Sebastiani, L., F. Scebba and R. Tognetti. 2004. Heavy Metal Accumulation and Growth Responses in Poplar Clones Eridano (*Populus deltoides* × *maximowiczii*) and I-214 (*P.* × *euramericana*) Exposed to Industrial Waste. **EEB.** 52 (1): 79–88.
- Smith, S.E. and D.J. Read. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. **Academic Press Inc.**, San Diego.
- Starkey, R.L. 1958. **Interrelation between Microorganisms and Plant Roots in the Rhizosphere.** New Brunswick Press, New Jersey.
- Steckel, L.E., F.W. Simmons and C.L. Sprague. 2003. Soil factor effects on tolerance of two corn (*Zea mays*) hybrids to isoxaflutole plus flufenacet. **Weed Technol.** 17: 599-604.
- Surat, W., M. Kruatrachue., P. Pokethitiyook., P. and T. Samranwanich. 2008. Potential of *Sonchus arvensis* for the phytoremediation of lead-contaminated soil. **Int J Phytoremediation.** 10: 325-42.
- Sylvia D.M., J.F. Jeffry and A.Z. David. 1998. **Principles and Applications of Soil Microbiology.** 8th ed. Prentice Hall Publ. Upper Saddle River. Inc., New Jersey.th
- Usman, O.A.S. 2013. Evaluation of Lead Uptake Potential of Maize (*Zea Mays*) Seedling Grown in Contaminated Soil. **J. Chem. Bio. Phy. Sci. Sec. B.** 3(1): 717-722.
- Walkley, A. and I.A. Black. 1947. Chromic Acid Titration Method for Determination of Soil Organic Matter. **Soil Sci Amer Proc.** 63: 257.

- Wang, Z.W., Z.R. Nan, S.L. Wang and Z.J. Zhao. 2011. Accumulation and distribution of cadmium and lead in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in contaminated soils from the oasis, north- west china. **J. Sci. Food Agric.** 91: 377-384.
- Whiting, S.N., M.P. de Souza and N. Terry. 2001. Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*. **Environ. Sci. Technol.** 35(15): 3144-3150.
- Wuana, R.A. and F.E. Okieimen. 2010. Phytoremediation potential of maize (*Zea mays* L.). A review. **Afr. J. Gen. Agric.** 6(4): 275-287.
- Wyszkowska, J., J. Kucharski., A. Borowik and E. Boros. 2008. Response of bacteria to soil contamination with heavy metals. **J. Elementol.** 13(3): 443-453.
- Xia, H., X. Chi and W. Cheng. 2009. Uptake and Growth Response of *Saccharum Officinarum* to Lead Pollution in Soil. **The 8th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering.** 3: 1-4.
- Xie, X., J. Fu., H. Wang and J. Liu. 2010. Heavy metal resistance by two bacteria strains isolated from a copper mine tailing in China. **Afr J Biotechnol.** 9(26): 4056-4066.
- Yoon, J., X. Cao, Q. Zhou and L.Q. Ma. 2006. Accumulation of Pb, Cu and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Sci. Total Environ.** 368: 456-464.
- Zhao, F.J., M.L. Adams., S.P. McGrath., A.M. Chaudri., F.A. Nicholson., B.J. Chambers and A.H. Sinclair. 2004. Factors Affecting the Concentrations of Lead in British Wheat and Barley Grain. **Environ Pollut.** 131: 461-468.

Zou, T., T. Li, X. Zhang, H. Yu and H. Huang. 2012. Lead accumulation and phytostabilization potential of dominant plant species growth in a lead zinc mine tailing. **Environ. Earth Sci.** 65: 621-630.





ตารางผนวกที่ 1 ค่า Bioconcentration factor, Translocation factor และ Uptake by plant ของข้าวโพด

ระยะเวลา	Bioconcentration Factor		Translocation factor	Uptake by plant (mg)
	ต้น	ราก		
40	0.008±0.00	0.022±0.01	0.311±0.13	26.32±13.77
70	0.013±0.01	0.031±0.02	0.468±0.09	15.88±7.72
120	0.016±0.01	0.034±0.02	0.456±0.14	5.71±2.45

ตารางผนวกที่ 2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate agar

สารเคมี	ปริมาณ
Proteose peptone	20.0 กรัม
Na ₂ HPO ₄	2.0 กรัม
Glucose	10 กรัม
Agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบต่าง ๆ และปรับพีเอช (pH) ให้เป็น 6.6 หลังจากนั้นเติมสารละลาย lead acetate 2% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงอาหาร จากนั้นทำการนึ่งฆ่าเชื้อ

ตารางผนวกที่ 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Lead acetate broth

สารเคมี	ปริมาณ
Proteose peptone	20.0 กรัม
Na ₂ HPO ₄	2.0 กรัม
Glucose	10 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนประกอบต่าง ๆ และปรับพีเอช (pH) ให้เป็น 6.6 หลังจากนั้นเติมสารละลาย lead acetate 2% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงอาหาร จากนั้นทำการนึ่งฆ่าเชื้อ

ตารางผนวกที่ 4 มาตรฐานคุณภาพดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรม

โลหะหนัก	ค่ามาตรฐาน (มก./กก.)
สารหนู	3.9
แคดเมียมและสารประกอบแคดเมียม	37
ตะกั่ว	400
ปรอทและสารประกอบปรอท	23

ที่มา : ดัดแปลงจากกรมควบคุมมลพิษ (2549)

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ นางสาวจิตาภา แก้วศรีงาม
เกิดวันที่ 22 พฤศจิกายน 2530
สถานที่เกิด โรงพยาบาลพหลพลพยุหเสนา อำเภอมะนัง จังหวัดกาญจนบุรี
ประวัติการศึกษา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 2) สาขาเกษตรและสิ่งแวดล้อม
ศึกษา คณะศึกษาศาสตร์และพัฒนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน ปี พ.ศ. 2552
ตำแหน่งปัจจุบัน -
สถานที่ทำงานปัจจุบัน -
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ -
ทุนการศึกษาที่ได้รับ ได้รับทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการ
ระดับนานาชาติ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี
งบประมาณ 2553