



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: การศึกษาความสามารถในการสะสมและ
ผลทางสรีรวิทยาของตะกั่วในต้นผักกาดภูหิน

โดย ดร.ฐิตินันท์ สำราญวานิช และคณะ

31 พฤษภาคม 2550

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: การศึกษาความสามารถในการสะสมและผลทางสรีรวิทยาของตะกั่วในต้น
ผักกาดกูด

คณะผู้วิจัย

สังกัด

- ดร.จิตินันท์ สำราญวานิช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
- ศาสตราจารย์ ดร.มาลียา เครือตราฐ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

Abstract

Bioaccumulation and physiological effects of lead in *Sonchus arvensis*

Sumranwanich, T.* and Kruatrachue, M.

Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, 10400 Thailand

A field survey of abandoned lead mine in Kanchanaburi has discovered that *Sonchus arvensis*, a deep-rooted perennial herb, accumulated a high concentration of lead (9,316 mg/kg in shoots and 3,686 mg/kg in roots). The plant could also tolerate high concentrations of lead in the soil (165,500 mg/kg). A hydroponic culture study was conducted to investigate phytoextraction and accumulation of lead in *S. arvensis* comparing to a hyperaccumulator *Brassica juncea*. Three month old plants were acclimatized in Hoagland's solution for 7 days before subjecting to different lead concentrations (0, 1, 5, 10 and 20 mg/L) for 15 days. It was found that both plants could remove and accumulate a large amount of lead. *S. arvensis* showed greater removal percentages with increased concentrations of lead, while *B. juncea* died after 6 days of 10 and 20 mg/L lead applications. The removal percentage was correlated with amount of lead accumulated in both plants. Lead was found to accumulate more in the roots than in the shoots. The highest lead concentrations in the shoots were 854 and 1,101 mg/kg for *S. arvensis* and *B. juncea*, respectively. The highest lead concentrations accumulated in the roots of *S. arvensis* and *B. juncea* were 8,121 and 24,075 mg/kg, respectively. High concentrations of lead (10 and 20 mg/L) resulted in decrease in growth and biomass of both species. Toxicity symptoms e.g. burning leaf margins and leaf abscission were also observed. Although *S. arvensis* accumulated less amounts of lead, the plant was more tolerant to lead than *B. juncea* and possibly be useful for lead phytoremediation.

We are also interested in mechanisms that contribute to Pb accumulation and tolerance in *S. arvensis*. One mechanism may involve glutathione-s transferase (GST), an enzyme that catalyzes the conjugation of heavy metals with glutathione (GSH). GST activities were significantly increased in the roots of Pb-treated plants. The GST activities have been found to increase 12 h after Pb treatment. Increasing concentrations of Pb (10 and 20 mg/L) drastically stimulated activity of GST. These results suggest that increases in GST activity may contribute to Pb accumulation and tolerance in *S. arvensis*. Further experiment is planned to purify GSTs using affinity chromatography and analyzed by high performance liquid chromatography (HPCL).

Keywords: phytoremediation, Pb accumulation, phytoextraction, glutathione-s transferase (GST), glutathione (GSH), *Sonchus arvensis*, *Brassica juncea*, hydroponic, hyperaccumulator

*Corresponding author

Tel.: 0-2201-5477; Fax: 0-2354-7161

E-mail: sctcc@mahidol.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาความสามารถในการสะสมและผลทางสรีรวิทยาของตะกั่วในต้นผักกาดกูดหิน

ดร.จิตินันท์ สำราญวานิช* และ ศาสตราจารย์ ดร.มาลีญา เครือตราชู

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ถ.พระรามที่ 6 กรุงเทพฯ 10400

ผักกาดกูดหิน (*Sonchus arvensis*) ซึ่งสามารถสะสมตะกั่วในลำต้นได้สูงเมื่อเจริญในดินที่ปนเปื้อนสารตะกั่วได้ถูกนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการเพื่อสังเกตความสามารถในการดูดซับตะกั่วจากสารละลาย (Pb removal) ความสามารถในการสะสมตะกั่ว (Pb accumulation) และผลของตะกั่วต่ออัตราการเจริญเติบโต โดยทดสอบเปรียบเทียบกับผักกาดเขียว (*Brassica juncea*) ซึ่งเป็นพืชที่ได้รับการยอมรับว่าสามารถสะสมโลหะหนักได้ในปริมาณที่สูง (hyperaccumulator) พืชทั้งสองชนิดถูกเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Hoagland's ที่มีสารละลายตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน และเปลี่ยนอาหารเหลวทุกๆ 3 วัน ผลการทดลองพบว่าพืชทั้งสองชนิดสามารถดูดซับสารละลายตะกั่วได้ดีที่ความเข้มข้น 1 มก./ล. ที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มก./ล. ผักกาดเขียวมีอาการเหี่ยวเฉาและตาย ในขณะที่ผักกาดกูดหินยังสามารถเจริญได้ดีและมีเปอร์เซ็นต์การดูดซับตะกั่ว 37% จากสารละลายตะกั่ว 10 มก./ล. พืชทั้งสองชนิดมีการสะสมตะกั่วในรากมากกว่าลำต้น โดยความสามารถในการสะสมตะกั่วของต้นผักกาดกูดหินสูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายตะกั่ว ในขณะที่ผักกาดเขียวมีการสะสมตะกั่วสูงสุดที่ความเข้มข้น 10 มก./ล. และลดลงเมื่อเลี้ยงในสารละลายตะกั่วเข้มข้น 20 มก./ล. ปริมาณตะกั่วสูงสุดที่พบในลำต้นของผักกาดกูดหินและผักกาดเขียวคือ 854 และ 1,101 มก./ล. ตามลำดับ และปริมาณตะกั่วสูงสุดที่พบในรากของผักกาดกูดหินและผักกาดเขียวคือ 8,121 มก./ล. และ 24,075 มก./ล.ตามลำดับ ความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วในระดับสูง (10 และ 20 มก./ล.) มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของผักกาดเขียวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อการเจริญของผักกาดกูดหิน นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลายตะกั่วเข้มข้น 10 และ 20 มก./ล. สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ glutathione s-transferase (GST) ในรากของต้นผักกาดกูดหินได้ โดยเอนไซม์ GST เพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อเลี้ยงพืชไว้ในสารละลาย 20 มก./ล. นาน 12 ชม. การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าผักกาดเขียวและผักกาดกูดหินมีความสามารถในการสะสมสารตะกั่วได้ใกล้เคียงกันแต่ผักกาดกูดหินสามารถทนทานต่อความเป็นพิษของตะกั่วได้ดีกว่าผักกาดเขียว ดังนั้นผักกาดกูดหินจึงเป็นพืชที่น่าสนใจสำหรับนำมาศึกษาเพื่อประยุกต์ใช้ในกระบวนการกำจัดโลหะหนักโดยใช้พืช หรือ phytoremediation

คำสำคัญ: phytoremediation, Pb accumulation, phytoextraction, glutathione-s transferase (GST), glutathione (GSH), *Sonchus arvensis*, *Brassica juncea*, hydroponic, hyperaccumulator

หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary)

ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่

-
- | | |
|--|---|
| 1. ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) | การศึกษาความสามารถในการสะสมและผลทางสรีรวิทยาของตะกั่วในต้นผักกาดกูด |
| (ภาษาอังกฤษ) | Bioaccumulation and physiological effects of lead in <i>Sonchus arvensis</i> |
| 2. ชื่อหัวหน้าโครงการ
หน่วยงานที่สังกัด | ดร.ฐิตินันท์ สำราญวานิช (Dr.Thitinun Sumranwanich)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10-400 |
| โทรศัพท์ | 02-201-5477 |
| โทรสาร | 02-354-7161 |
| E-mail | sctcc@mahidol.ac.th |
| นักวิจัยที่ปรึกษา
หน่วยงานที่สังกัด | ศาสตราจารย์ ดร.มาลียา เครือตราชู
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10-400 |
| โทรศัพท์ | 02-201-5483 |
| โทรสาร | 02-354-7166 |
| E-mail | scmkt@mahidol.ac.th |
| 3. สาขาวิชาที่ทำการวิจัย | สรีรวิทยา (Plant physiology) และอณูวิทยาของพืช (Plant molecular biology) |
| 5. ระยะเวลาดำเนินงาน | 2 ปี |

6. ได้เสนอโครงการนี้ หรือโครงการที่มีส่วนเหมือนกับเรื่องนี้บางส่วนเพื่อขอทุนต่อแหล่งทุนอื่น
ที่ใดบ้าง

[x] ไม่ได้เสนอต่อแหล่งทุนอื่น

[] เสนอต่อ

ชื่อโครงการที่เสนอ

กำหนดทราบผล (หรือสถานภาพที่ทราบ)

7. ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา

การปนเปื้อนของตะกั่วในสิ่งแวดล้อมนับเป็นปัญหาสำคัญ เพราะตะกั่วมีการ
สลายตัวช้ามาก (150–500 ปี) ทำให้มีการสะสมของตะกั่วเป็นปริมาณมากในห่วงโซ่อาหาร ซึ่ง
ก่อให้เกิดภาวะที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต ตะกั่วมีผลต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยมีผลกระทบต่อระบบ
ประสาท ไต และระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย การกำจัดตะกั่วในดินสามารถทำได้หลายวิธี และ
วิธีที่ดีวิธีหนึ่งคือการใช้พืช (phytoremediation) ซึ่งอาศัยความสามารถของพืชที่ทนต่อโลหะ
หนัก และสะสมโลหะหนักได้เป็นปริมาณมาก ซึ่งโลหะหนักที่พืชสะสมไว้สามารถนำมาเผาหรือ
นำมาย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ได้ โดยพืชที่สะสมโลหะหนักที่มีราคา เช่น นิกเกิล สังกะสี ทองแดง
อาจส่งเข้าโรงงานถลุงแร่เพื่อนำแร่เหล่านี้อีกมาใช้ได้อีก ข้อดีของวิธีนี้คือ มีประสิทธิภาพสูงใน
การลดปริมาณไอออนของโลหะหนัก มีค่าใช้จ่ายต่ำ เหมาะกับการบำบัดดินหรือน้ำที่มีการ
ปนเปื้อนในปริมาณต่ำ ไม่มีการทำลายบริเวณที่มีการปนเปื้อน และมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม
น้อยมาก

ในปัจจุบันได้มีการสำรวจพบพืชมากกว่า 400 สปีชีส์ ที่สามารถใช้สะสมโลหะหนัก
ได้ โดยพืชที่สำรวจพบส่วนใหญ่จะสะสมนิกเกิล สังกะสี ทองแดง และแคดเมียม โดยจะพบว่ามี
พืชที่สะสมตะกั่วน้อยมาก ทั้งนี้เป็นเพราะตะกั่วละลายน้ำได้ต่ำที่ pH ที่เป็นกลางและมัก
ตกตะกอนกับกลุ่มฟอสเฟตและซัลเฟตทำให้รากของพืชดูดตะกั่วได้ยากกว่าโลหะตัวอื่นๆ เพื่อ
เป็นการสำรวจหาและอนุรักษ์พันธุ์พืชที่สะสมตะกั่วในประเทศไทยไม่ให้สูญหาย ศาสตราจารย์
ดร.มาลียา เครือตราฐ จึงริเริ่มโครงการ “การบำบัดดินและน้ำที่ปนเปื้อนด้วยสารตะกั่ว” ในปี
พ.ศ.2546 โดยได้ออกสำรวจพืชที่ขึ้นในเมืองปทุมธานี จ.ปทุมธานี ซึ่งเป็นเมืองแร่ตะกั่วที่ปิด
กิจการแล้ว จากการสำรวจ ศาสตราจารย์ ดร.มาลียา ได้พบพืชจำนวนมากที่สะสมตะกั่วในลำ
ต้นในปริมาณที่สูง (มากกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง) และตัวอย่างพืชที่
น่าสนใจ คือ ผักกาดกูด (*Sonchus arvensis*) ซึ่งสะสมตะกั่วในลำต้นสูงถึง 7,700 มก/กก
นอกจากนี้ผักกาดกูดยังมีขนาดต้นใหญ่เมื่อเจริญเต็มที่ และเพาะพันธุ์ได้รวดเร็ว จึงมีความ
เหมาะสมในการที่จะนำมาใช้บำบัดพื้นที่ปนเปื้อนสารตะกั่วในอนาคต

เนื่องจากปริมาณตะกั่วที่วัดจากต้นผักกาดกูดครั้งนี้เป็นการวัดจากพืชที่เจริญบน
ดินของเมืองแร่ที่มีปริมาณตะกั่วสูงกว่า 100,000 มก/ลิตร ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทดสอบ
ประสิทธิภาพการสะสมตะกั่วของต้นผักกาดกูดในสารละลายตะกั่วความเข้มข้นต่ำ (5-20 มก/

ลิตร) ในห้องปฏิบัติการอีกครั้ง โดยจะใช้ต้นทานตะวัน (*Helianthus annuus*) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกัน (Asteraceae) มาทดลองควบคู่ไปด้วย โครงการวิจัยนี้มีจุดประสงค์หลักเพื่อศึกษาปัจจัยที่เป็นสาเหตุให้ต้นผักกาดภูหินสามารถทนต่อปริมาณตะกั่วสูงๆได้ โดยจะศึกษาจากปริมาณของ glutathione และการแสดงออก (expression) ของยีน glutathione transferase ซึ่งเป็นโปรตีนหลักในการกำจัดสารพิษในเซลล์พืช ผลจากการศึกษารั้จะทำให้เข้าใจกระบวนการตอบสนองสารตะกั่วของพืชสะสมตะกั่วซึ่งมีผู้ศึกษาวิจัยน้อย และนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชได้ อาทิเช่น การถ่ายโอนยีนที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านทานโลหะหนักและ/หรือการขนส่งโลหะหนัก จากพืชสะสมตะกั่วที่มีขนาดเล็กและโตช้าไปยังพืชที่ขนาดใหญ่และเติบโตเร็ว

8. วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณการสะสมตะกั่วในต้นทานตะวันและต้นผักกาดภูหิน
- 2) เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ในต้นทานตะวันและต้นผักกาดภูหิน
- 3) เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบปริมาณ glutathione ในต้นทานตะวันและต้นผักกาดภูหิน
- 4) เพื่อโคลนยีนสำหรับ glutathione transferase จากต้นผักกาดภูหิน
- 5) เพื่อศึกษาผลของสารละลายตะกั่ว แคดเมียม และสังกะสีต่อการแสดงออกของยีนสำหรับ glutathione transferase ที่โคลนได้จากข้อ 4

9. ระเบียบวิธีวิจัย

9.1 การวิเคราะห์หาปริมาณการสะสมตะกั่วในต้นทานตะวันและต้นผักกาดภูหิน

- 1) เพาะเมล็ดทานตะวันและผักกาดภูหินในดิน จนพืชมีอายุ 1 เดือน
- 2) ย้ายพืชลงระบบสารละลาย Hoagland เลี้ยงไว้เป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้พืชปรับตัว
- 3) เปลี่ยนสารละลายเป็นสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ ที่มีตะกั่วเข้มข้น 0, 5, 10, 20 มก/ลิตร
- 4) ปลุกพืชเป็นระยะเวลา 15 วัน โดยเปลี่ยนสารละลายตะกั่วทุก 3 วัน
- 5) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เก็บตัวอย่างพืชไปวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วด้วยเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer (FAAS) โดยแยกส่วนรากและส่วนลำต้น
- 6) วิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วที่เหลือในสารละลาย Hoagland ด้วยวิธี FAAS เช่นเดียวกัน

9.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

- 1) ปลุกต้นทานตะวันและผักกาดกูดในระบบสารละลาย Hoagland เป็นเวลา 3 วัน เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 9.1
- 2) เปลี่ยนสารละลายเป็นสารละลาย $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ที่มีตะกั่วเข้มข้น 0, 5, 10, 20 มก/ลิตร
- 3) เก็บตัวอย่างพืชที่เวลา 30 นาที, 1, 2, 4, 6, 12, 24 ชม., และ วันที่ 2, 3, 5, และ 7 หลังเปลี่ยนสารละลาย โดยใช้ไนโตรเจนเหลว แล้วแช่พืชไว้ที่ -80°C จนกว่าจะวิเคราะห์ผล
- 4) วิเคราะห์หาปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ด้วยวิธี spectrophotometry โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm

9.3 การวิเคราะห์หาปริมาณ glutathione ในต้นทานตะวันและต้นผักกาดกูด

- 1) ปลุกต้นทานตะวันและผักกาดกูดในระบบสารละลาย Hoagland เป็นเวลา 3 วัน เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 9.1
- 2) เปลี่ยนสารละลายเป็นสารละลาย $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ที่มีตะกั่วเข้มข้น 0, 5, 10, 20 มก/ลิตร
- 3) เก็บตัวอย่างพืชที่เวลา 30 นาที, 1, 2, 4, 6, 12, 24 ชม., และ วันที่ 2, 3, 5, และ 7 หลังเปลี่ยนสารละลาย โดยใช้ไนโตรเจนเหลว แล้วแช่พืชไว้ที่ -80°C จนกว่าจะวิเคราะห์ผล
- 4) วิเคราะห์หาปริมาณ glutathione ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

9.4 การโคลนยีนสำหรับ glutathione transferase จากต้นผักกาดกูด

- 1) ปลุกต้นผักกาดกูดในระบบสารละลาย Hoagland ที่มีตะกั่วเข้มข้น 10 มก/ลิตร เป็นเวลา 1 วัน
- 2) สกัด total RNA ด้วยวิธี hot phenol-chloroform extraction
- 3) ตรวจจับยีนสำหรับ glutathione transferase ในต้นผักกาดกูด ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ primers ที่สร้างจากยีนสำหรับ glutathione transferase ของพืชชนิดต่างๆ
- 4) โคลน cDNA ที่ได้จากปฏิกิริยาในข้อ 3 ลงในพลาสมิดและส่งไปอ่านรหัสพันธุกรรมด้วยเครื่อง automate sequencing machine
- 5) ศึกษาเปรียบเทียบสาย DNA ที่ได้กับข้อมูลของ Genbank

9.5 การศึกษาการแสดงออกของยีนสำหรับ glutathione transferase ในต้นผักกาดกูด

1. ผลของสารละลายตะกั่ว

- 1) ปลูกลงต้นผักกาดกวางตุ้งในสารละลาย Hoagland ที่มีตะกั่วเข้มข้น 0, 5, 10, และ 20 มก/ลิตร
- 2) เก็บตัวอย่างพืชภายในเวลา 30 นาที, 1, 2, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชม.หลังจากเติมสารละลายตะกั่ว
- 3) สกัด RNA และศึกษาการแสดงออกของยีนโดยวิธี Northern hybridization

2. ผลของแคดเมียมและสังกะสี

- 1) ปลูกลงต้นผักกาดกวางตุ้งในสารละลาย Hoagland ที่มีแคดเมียมเข้มข้น 0, 1, และ 10 มก/ลิตร และสังกะสีเข้มข้น 0, 20, และ 50 มก/ลิตร
- 2) เก็บตัวอย่างพืชภายในเวลา 30 นาที, 1, 2, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชม.หลังจากเติมสารละลาย
- 3) สกัด RNA และศึกษาการแสดงออกของยีนโดยวิธี Northern hybridization

10. จำนวนโครงการที่ผู้สมัครกำลังดำเนินการอยู่ โดยขอให้ระบุระยะเวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดของแต่ละโครงการ แหล่งทุน และงบประมาณสนับสนุนที่ได้รับ เวลาที่ใช้ทำโครงการวิจัยในแต่ละโครงการเป็นกี่ชั่วโมงต่อสัปดาห์ ทั้งในฐานะหัวหน้าโครงการ ผู้ร่วมโครงการของแต่ละโครงการที่กำลังดำเนินการอยู่

ไม่มี

เนื้อหางานวิจัย

แผนการทดลองที่ 1: การดูดซับและสะสมตะกั่ว (Lead removal and accumulation)

แผนการทดลองเดิม: เปรียบเทียบผักกาดกุกินกับทานตะวัน

แผนการทดลองใหม่: เปรียบเทียบผักกาดกุกินกับผักกาดเขียว (*Brassica juncea*)

เนื่องจากผักกาดเขียวใช้ระยะเวลาในการเพาะเมล็ดสั้นกว่าและมีข้อมูลอ้างอิงมากกว่า

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับตะกั่วของผักกาดเขียวและผักกาดกุกิน
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณการสะสมตะกั่วของผักกาดเขียวและผักกาดกุกิน
3. เพื่อเปรียบเทียบผลของสารละลายตะกั่วที่มีต่อน้ำหนักของผักกาดเขียวและผักกาดกุกิน

ผลการทดลอง

1.1 ความสามารถของพืชในการดูดซับสารละลายตะกั่ว (Lead removal)

ความสามารถของพืชในการดูดซับโลหะหมายถึงเปอร์เซ็นต์ในการดูดซับโลหะหนักจากสารละลายของพืช ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสูตร

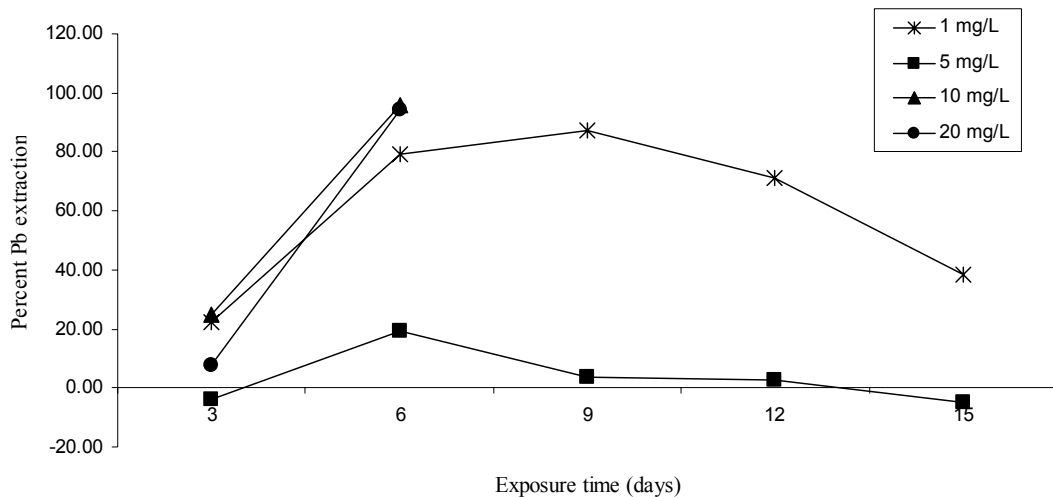
$$\frac{(C_B - C_A) \times 100}{C_B}$$

โดย

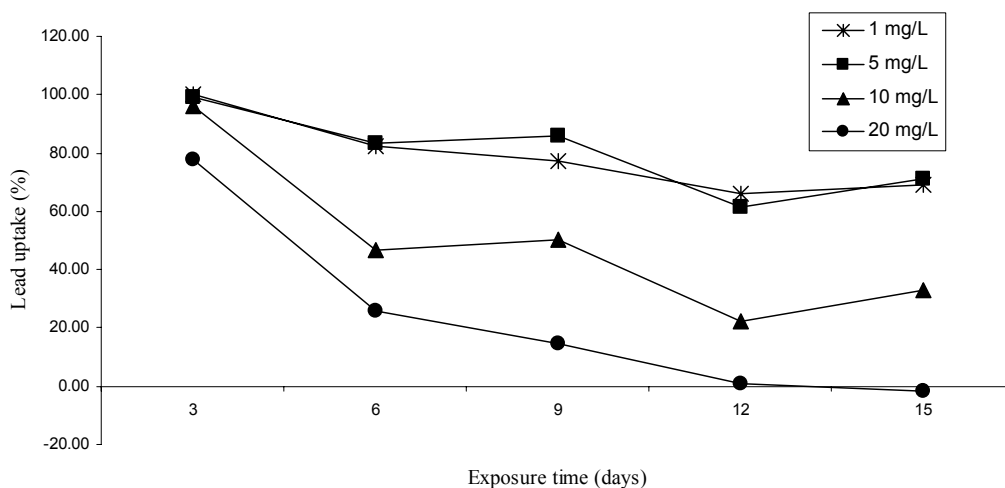
C_B = ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายก่อนทดลอง

C_A = ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายหลังทดลอง

ผักกาดเขียวมีความสามารถในการดูดซับตะกั่วได้ดีที่ความเข้มข้นของสารละลายตะกั่ว 1 มิลลิกรัม/ลิตร (รูปที่ 1) เปอร์เซ็นต์การดูดซับตะกั่วลดลงอย่างมากเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วเป็น 5 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร ผักกาดเขียวแสดงอาการเหลือง (chlorosis) และตายหลังจากทำการทดลองผ่านไป 6 วัน ในขณะที่ผักกาดกุกินมีเปอร์เซ็นต์การดูดซับตะกั่วสูงเกือบทุกความเข้มข้น (รูปที่ 2) โดยเปอร์เซ็นต์การดูดซับตะกั่วจะสูงสุดในวันที่ 3 หลังเติมสารละลายตะกั่วและลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาที่เลี้ยงต้นพืชในสารละลายตะกั่ว เปอร์เซ็นต์การดูดซับตะกั่วของผักกาดกุกินภายหลังเสร็จสิ้นการทดลองเลี้ยงในสารละลายตะกั่ว 1, 5 และ 10 มิลลิกรัม/ลิตร คือ 69, 71 และ 33% ตามลำดับ



รูปที่ 1 กราฟแสดงความสามารถในการดูดซับตะกั่วของผักกาดเขียว
ผักกาดเขียวอายุประมาณ 6 สัปดาห์ถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารละลายตะกั่วเข้มข้น 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน n= 3 ต้น

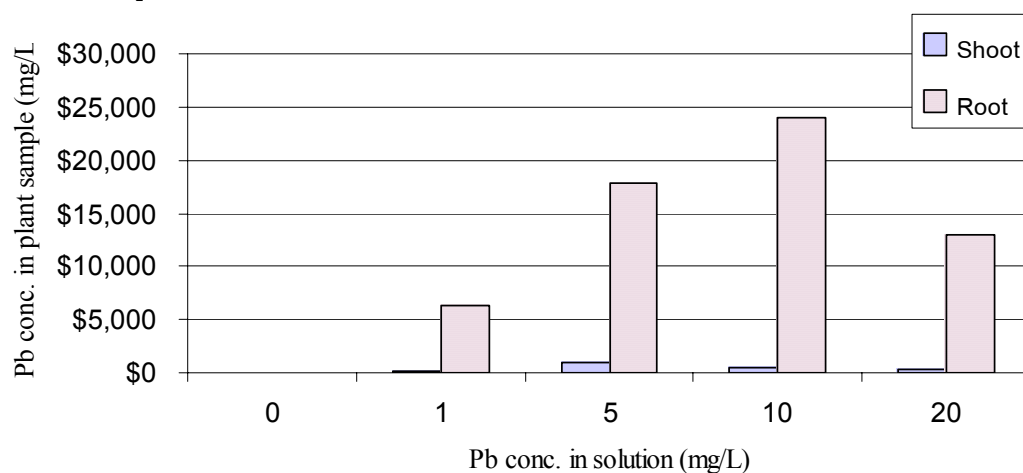


รูปที่ 2 กราฟแสดงความสามารถในการดูดซับตะกั่วของผักกาดกุหลาบ
ผักกาดกุหลาบอายุประมาณ 3 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารละลายตะกั่วเข้มข้น 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน n= 3 ต้น

1.2 ความสามารถของพืชในการสะสมสารตะกั่ว (Lead accumulation)

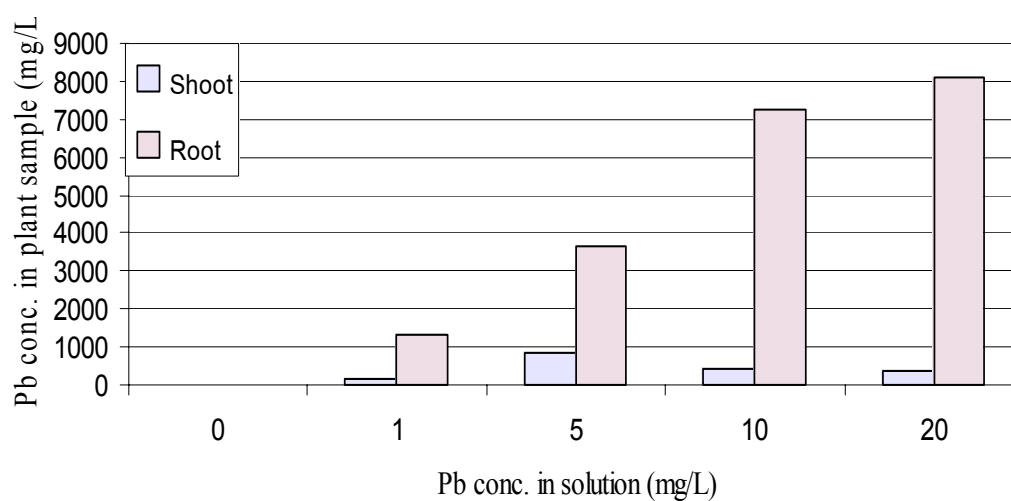
ผักกาดเขียวและผักกาดกุหลาบมีการสะสมตะกั่วในรากมากกว่าลำต้น โดยผักกาดเขียวสะสมตะกั่วสะสมสูงสุดในลำต้นที่ 1,011.19 มิลลิกรัม/ลิตร (ความเข้มข้นสารละลายตะกั่ว 5 มิลลิกรัม/ลิตร) และรากที่ 24,075.32 มิลลิกรัม/ลิตร (ความเข้มข้นสารละลายตะกั่ว 10 มิลลิกรัม/ลิตร) (รูปที่ 3) สำหรับต้นผักกาดกุหลาบสามารถสะสมตะกั่วสูงสุดในลำต้นได้ 854.15 (ความเข้มข้นสารละลาย

ตะกั่ว 5 มิลลิกรัม/ลิตร) และในราก 8,121.85 มิลลิกรัม/ลิตร (ความเข้มข้นสารละลายตะกั่ว 20 มิลลิกรัม/ลิตร) (รูปที่ 4)



รูปที่ 3 กราฟแสดงการสะสมตะกั่วในรากและลำต้นผักกาดเขียว

ผักกาดเขียวอายุประมาณ 6 สัปดาห์ถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน n= 3 ต้น



รูปที่ 4 กราฟแสดงการสะสมตะกั่วในรากและลำต้นผักกาดกุหลาบ

ผักกาดกุหลาบอายุประมาณ 3 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน n= 3 ต้น

1.3 ผลของสารละลายตะกั่วต่ออัตราการเจริญเติบโตของพืช

อัตราส่วนการเจริญเติบโตของพืชสามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\frac{\ln(FW_A) - \ln(FW_B)}{\text{Time}}$$

โดย FW_A = น้ำหนักสดของพืชหลังทดลอง

FW_B = น้ำหนักสดของพืชก่อนทดลอง

Time = จำนวนสัปดาห์ที่ทำการทดลอง

จากการทดลองพบว่าสารละลายตะกั่วไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของต้นผักกาดกุกินอย่างมีนัยสำคัญ (ความเชื่อมั่น 95%) แต่สารละลายตะกั่วเข้มข้น 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร มีทำให้ผักกาดเขียวลดการเจริญเติบโตลงอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1)

ความเข้มข้นสารตะกั่วในสารละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/อาทิตย์)	
	ผักกาดเขียว	ผักกาดกุกิน
0	0.27 ± 0.16^a	0.04 ± 0.07^a
1	0.16 ± 0.06^a	0.04 ± 0.02^a
5	-0.25 ± 0.12^b	-0.04 ± 0.02^a
10	-0.17 ± 0.05^b	-0.06 ± 0.05^a
20	-0.28 ± 0.07^b	-0.04 ± 0.05^a

ตารางที่ 1 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของผักกาดเขียวและผักกาดกุกินเมื่อปลูกในสารละลายตะกั่วเป็นเวลา 15 วัน $n = 3$

แผนการทดลองที่ 2: ผลของสารละลายตะกั่วต่อการทำงานของเอนไซม์ GST (Effects of lead on GST activity)

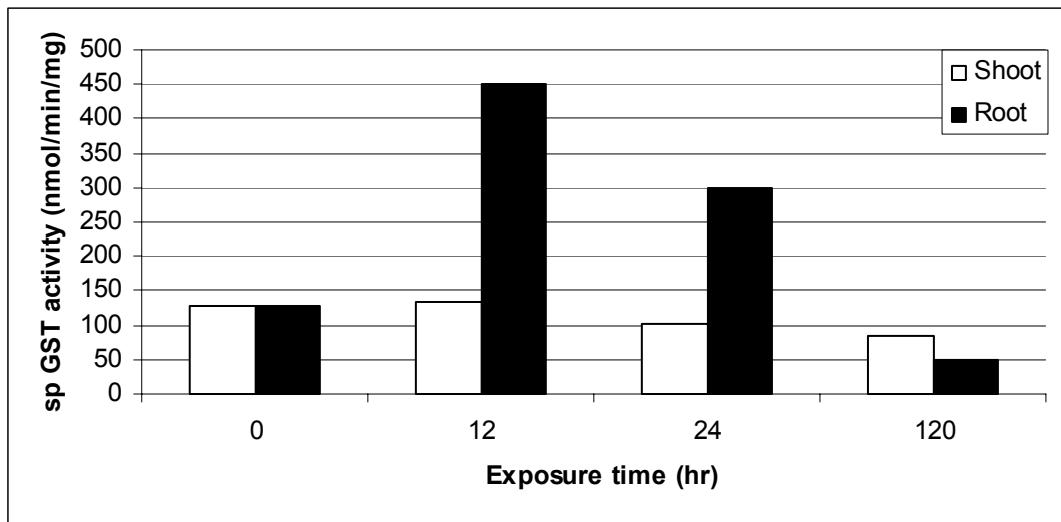
วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสารละลายตะกั่วต่อระยะเวลาในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ glutathione-s transferase ในต้นผักกาดกุกินที่เลี้ยงในสารละลายตะกั่ว
2. เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วต่อการทำงานของเอนไซม์ glutathione-s transferase ในต้นผักกาดกุกินที่เลี้ยงในสารละลายตะกั่ว
3. เพื่อศึกษาการทำงานของเอนไซม์ glutathione-s transferase ในต้นผักกาดกุกินภายหลังจากที่ย้ายต้นพืชออกจากสารละลายตะกั่ว

ผลการทดลอง

2.1 ระยะเวลาในการเลี้ยงในสารละลายตะกั่ว

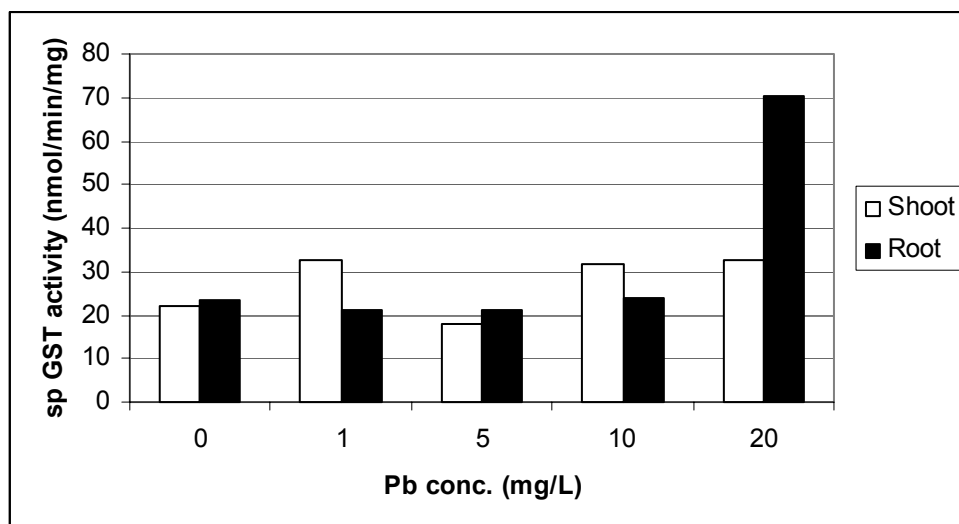
ทดลองเลี้ยงต้นผักกาดกุกินในสารละลายตะกั่วเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ลิตร ในระยะเวลาต่างกัน พบว่าสารละลายตะกั่วสามารถกระตุ้นให้เกิดการทำงานของเอนไซม์ glutathione-s transferase (GST) ในรากเพิ่มมากขึ้น (รูปที่ 5) โดยเพิ่มสูงสุดภายหลังเลี้ยงต้นพืชในสารละลายนาน 12 ชั่วโมง การทำงานของ GST ลดลงเมื่อเลี้ยงต้นพืชนาน 5 วัน (120 ชั่วโมง)



รูปที่ 5 กราฟแสดงระยะเวลาการตอบสนองของเอนไซม์ GST ในรากและลำต้นของผักกาดหมู โดยผักกาดหมูอายุประมาณ 3 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารตะกั่วเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ลิตร ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน n= 3 ต้น

2.2 ความเข้มข้นของสารละลายตะกั่ว

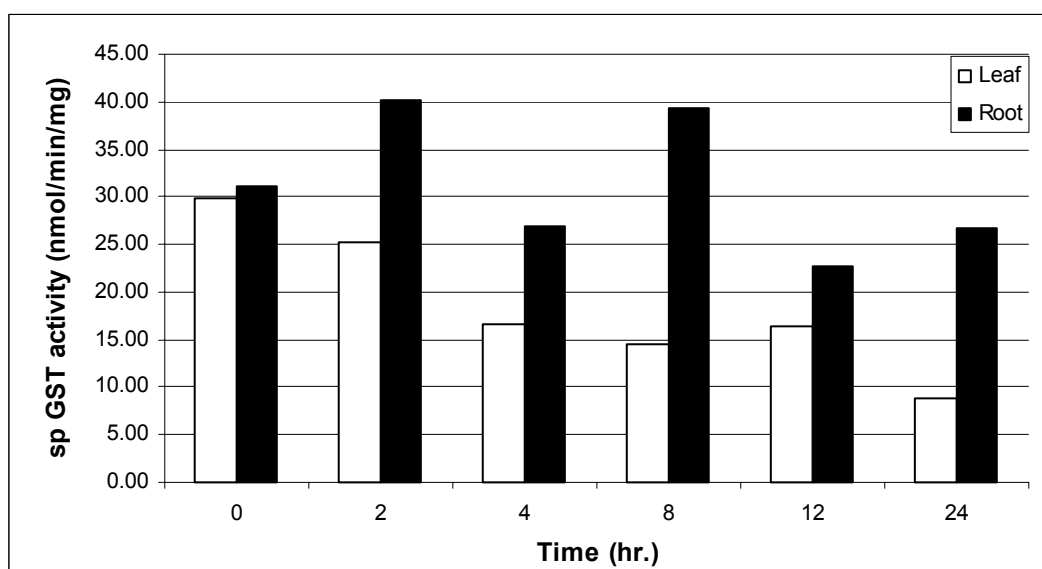
เมื่อทดลองเลี้ยงต้นผักกาดหมูในสารละลายตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายตะกั่ว GST มีการทำงานเพิ่มขึ้นโดยเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ลิตร และรากมีการตอบสนองมากกว่าส่วนของลำต้น (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 กราฟแสดงผลของความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วต่อการทำของเอนไซม์ GST ในรากและลำต้นของผักกาดหมู ผักกาดหมูอายุประมาณ 3 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง n= 3 ต้น

2.3 ระยะเวลาหลังย้ายพืชสู่สารละลายปกติ

การทดลองนี้ต้องการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ GST ภายหลังจากย้ายจากสารละลายตะกั่วสู่สารละลายปกติ ในการทดลองนี้ได้เลี้ยงพืชไว้ในสารละลายตะกั่วเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงย้ายพืชลงสารละลาย Hoagland's ที่ไม่มีตะกั่ว ทั้งไว้เป็นระยะเวลาต่างกัน แล้วจึงเก็บตัวอย่างพืชเพื่อวัดการทำงานของเอนไซม์ GST พบว่า GST ในลำต้นมีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่องภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในขณะที่ GST ในรากยังคงมีปริมาณสูงภายใน 8 ชั่วโมงหลังย้ายพืช และลดลงเล็กน้อยระหว่าง 12-24 ชั่วโมง (รูปที่ 7) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าตะกั่วได้ถูกดูดซับและสะสมอยู่มากในบริเวณรากของพืช ทำให้พืชต้องกระตุ้นระบบป้องกันตัวเองซึ่งก็คือเอนไซม์ GST อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้เนื่องจากตะกั่วมีน้ำหนักมากจึงยากที่จะถูกลำเลียงเข้าสู่ส่วนของลำต้น ปริมาณ GST ในลำต้นจึงลดลงอย่างรวดเร็วภายหลังจากย้ายต้นพืชออกจากสารละลายตะกั่ว



รูปที่ 7 กราฟการทำงานของเอนไซม์ GST ในรากและลำต้นของผักกาดกุกุหินภายหลังจากย้ายออกจากสารละลายตะกั่ว ผักกาดกุกุหินอายุประมาณ 3 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารตะกั่วเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงย้ายไปเลี้ยงในสารละลายที่ไม่มีตะกั่วและเก็บพืชในระยะเวลาต่างๆกัน n = 3 ต้น

แผนการทดลองที่ 3: การโคลนและศึกษาการแสดงออกของยีน GST ในผักกาดกุกุหิน (Cloning and characterization of GST genes)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อโคลนยีนสำหรับ glutathione transferase จากต้นผักกาดกุกุหิน

2. เพื่อศึกษาผลของสารละลายตะกั่ว แคดเมียม และสังกะสีต่อการแสดงออกของยีนสำหรับ glutathione transferase ที่โคลนได้

ผลการทดลอง

สำหรับการโคลนยีน glutathione transferase (GST) จากต้นผักกาดกูดนั้น ผู้วิจัยพบอุปสรรคในเรื่องคุณภาพของ total RNA ที่จะนำมาใช้เป็นแม่แบบในการโคลนยีน เนื่องจากต้นผักกาดกูดมียางในปริมาณสูง ผู้วิจัยได้ปรับปรุงวิธีสกัด RNA ของต้นผักกาดกูดโดยเปรียบเทียบกันระหว่าง (1) วิธีที่ปรับปรุงจาก Liu et al. (2005) ซึ่งใช้สกัด RNA จากเนื้อเยื่อที่มี secondary metabolites สูง (2) วิธีที่ใช้ TRI reagent และ (3) การใช้ชุดสกัด RNA ของ Nucleospin RNA plant (Macherey-Nagel, Germany) แต่ก็ยังไม่สามารถโคลนยีน GST ได้ ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าอาจเกิดจาก 2 สาเหตุ ดังนี้

1. คุณภาพและปริมาณ RNA ที่สกัดได้ยังไม่ดีพอสำหรับการทำ PCR
2. GST genes ของผักกาดกูดมีความแตกต่างจาก GST genes ที่นำมาจาก GenBank database ทำให้ไม่สามารถจับ Primers ที่สังเคราะห์ขึ้นมาได้

แผนการทดลองใหม่ แยกสกัดโปรตีน GST จากสารสกัดผักกาดกูด โดยการผ่านคอลัมน์ที่บรรจุเม็ดพลาสติกที่มี glutathione จับอยู่ และนำสารที่แยกได้ไปแยกซ้ำอีกครั้งด้วยวิธี Affinity chromatography ก่อนนำมาทำ SDS-PAGE และตัดชิ้นส่วนโปรตีนที่สนใจไปทำการอ่านสายกรดอะมิโน (N-terminal amino acid sequencing)

การทดลองเพิ่มเติม: ความทนทานและการสะสมตะกั่วของดาวเรือง

เนื่องจากผักกาดกูด (*Sonchus arvensis*) เป็นวัชพืชที่มีเมล็ดขนาดเล็ก มีขนโดยรอบ และเพาะได้ยาก การเพาะต้นพืชจากเมล็ดต้องอาศัยระยะเวลาในการทดลองนี้จึงเลือกเพาะจากกิ่งซึ่งพืชที่ได้จะมีรากจำนวนน้อยซึ่งมีผลทำให้การดูดซับโลหะหนักน้อยลงด้วย ผู้ทำการทดลองจึงต้องการทดสอบหาพืชชนิดใหม่ที่เพาะเมล็ดได้ง่ายและมีความทนทานต่อพิษของโลหะหนักได้ดี ในการทดลองนี้จึงทำการเปรียบเทียบดาวเรือง (*Tagetes erecta*) กับผักกาดเขียว (*Brassica juncea*) ซึ่งมีการศึกษายืนยันว่าสามารถดูดซับโลหะหนักได้ในปริมาณสูง

วัตถุประสงค์

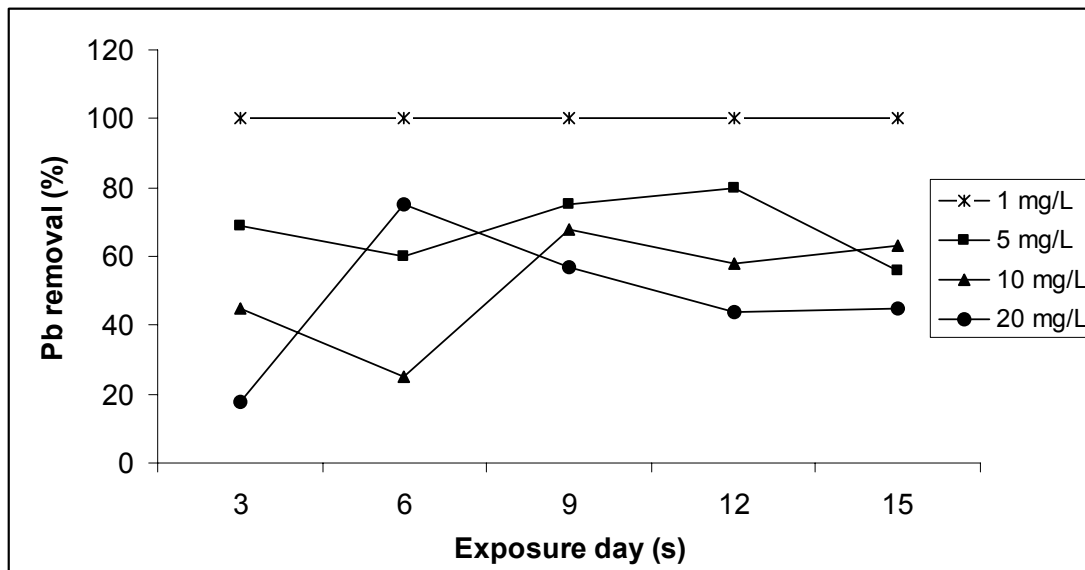
1. เพื่อทดสอบความสามารถในการดูดซับสารละลายตะกั่วของผักกาดเขียวและดาวเรือง
2. เพื่อทดสอบปริมาณการสะสมตะกั่วของผักกาดเขียวและดาวเรือง
3. เพื่อทดสอบผลของสารละลายตะกั่วต่อการงอกของเมล็ดผักกาดเขียวและดอกดาวเรือง
4. เพื่อทดสอบผลของสารละลายตะกั่วต่อความยาวยอดและรากของเมล็ดผักกาดเขียวและดอกดาวเรือง
5. เพื่อทดสอบผลของสารละลายตะกั่วต่ออัตราการงอกของผักกาดเขียวและดาวเรือง

6. เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วต่อการทำงานของเอนไซม์ glutathione-s transferase ในต้นผักกาดเขียวและดาวเรือง

ผลการทดลอง

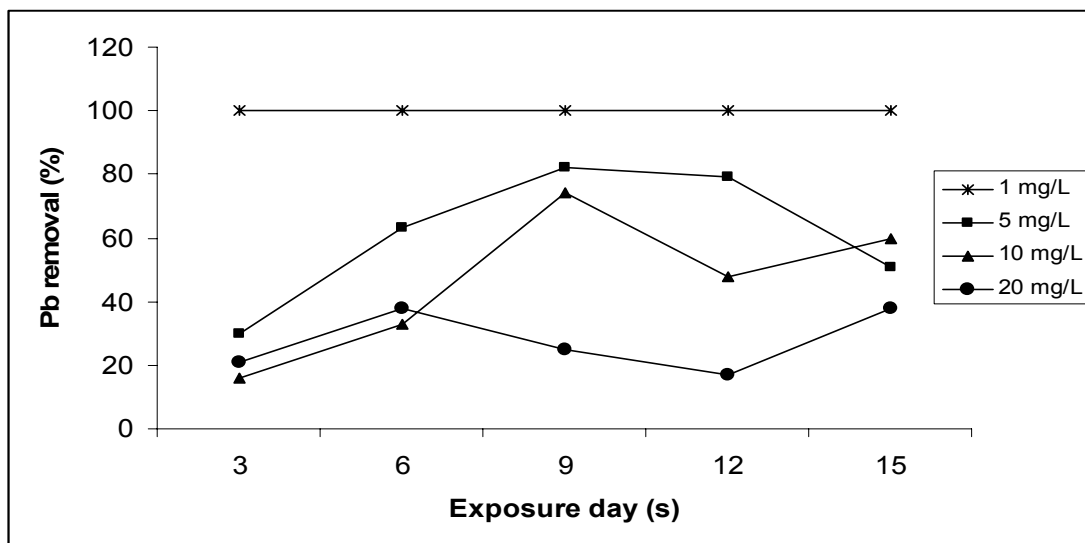
1. ความสามารถในการดูดซับสารละลายตะกั่วของต้นดาวเรืองและผักกาดเขียว

ดาวเรืองและผักกาดเขียวมีความสามารถในการดูดซับตะกั่ว 100% เมื่อเลี้ยงต้นพืชในสารละลายตะกั่วเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร (รูปที่ 8-9) ความสามารถในการดูดซับตะกั่วของพืชทั้งสองชนิดลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายตะกั่ว ที่ความเข้มข้นตะกั่ว 20 มิลลิกรัม/ลิตร ผักกาดเขียวมีเปอร์เซ็นต์การดูดซับตะกั่วลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ดาวเรืองยังคงดูดซับตะกั่วได้มากกว่า 50%



รูปที่ 8 กราฟแสดงความสามารถในการดูดซับตะกั่วของดาวเรือง

ดาวเรืองอายุประมาณ 1 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารละลายตะกั่วเข้มข้น 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน n= 3 ต้น

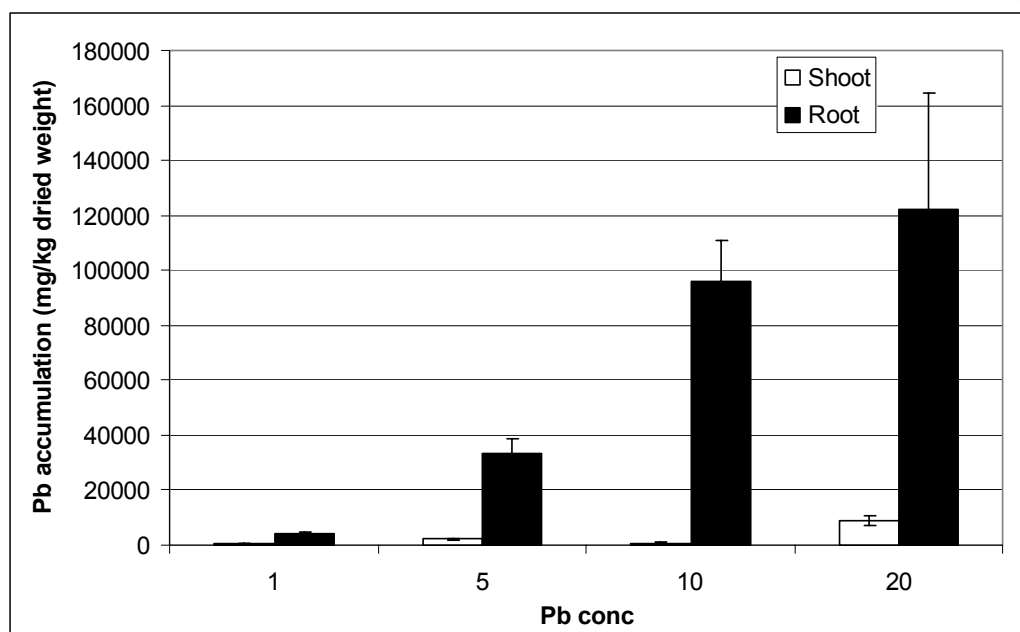


รูปที่ 9 กราฟแสดงความสามารถในการดูดซับตะกั่วของผักกาดเขียว

ผักกาดเขียวอายุประมาณ 1 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารละลายตะกั่วเข้มข้น 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน n = 3 ต้น

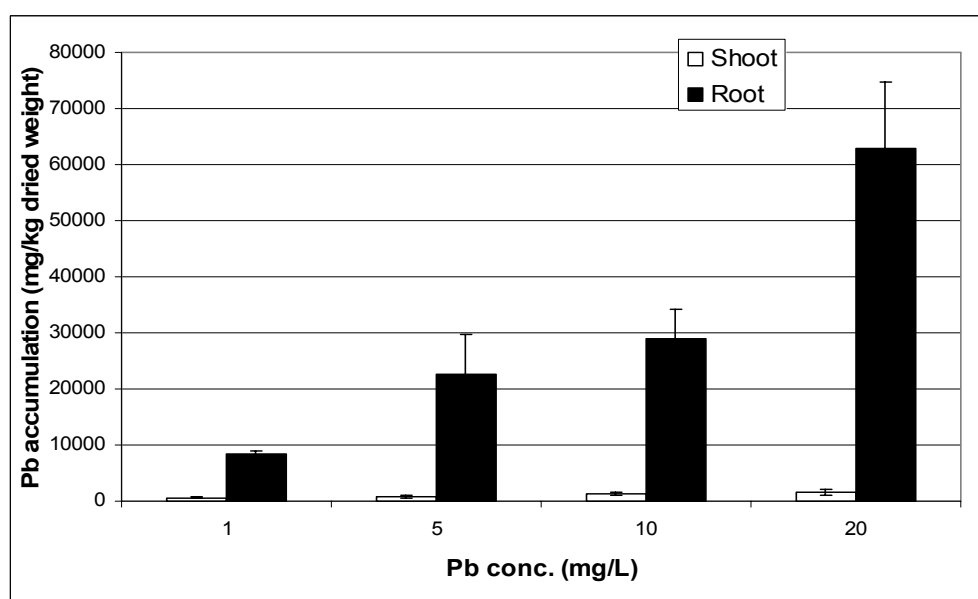
2. ความสามารถในการสะสมตะกั่วของต้นดาวเรืองและผักกาดเขียว

ดาวเรืองมีความสามารถในการสะสมตะกั่วได้สูงมากกว่าผักกาดเขียว โดยสามารถสะสมตะกั่วไว้ในรากสูงถึง 122,147 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง เมื่อปลูกไว้ในสารละลายตะกั่ว 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน (รูปที่ 10) ในขณะที่ผักกาดเขียวสามารถสะสมตะกั่วไว้ในรากเพียง 63,023 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง เมื่อปลูกไว้ในสารละลายตะกั่วประเภทเดียวกัน (รูปที่ 11)



รูปที่ 10 กราฟแสดงการสะสมตะกั่วในรากและลำต้นของดาวเรือง

ดาวเรืองอายุประมาณ 1 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารละลายตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน n = 3 ต้น

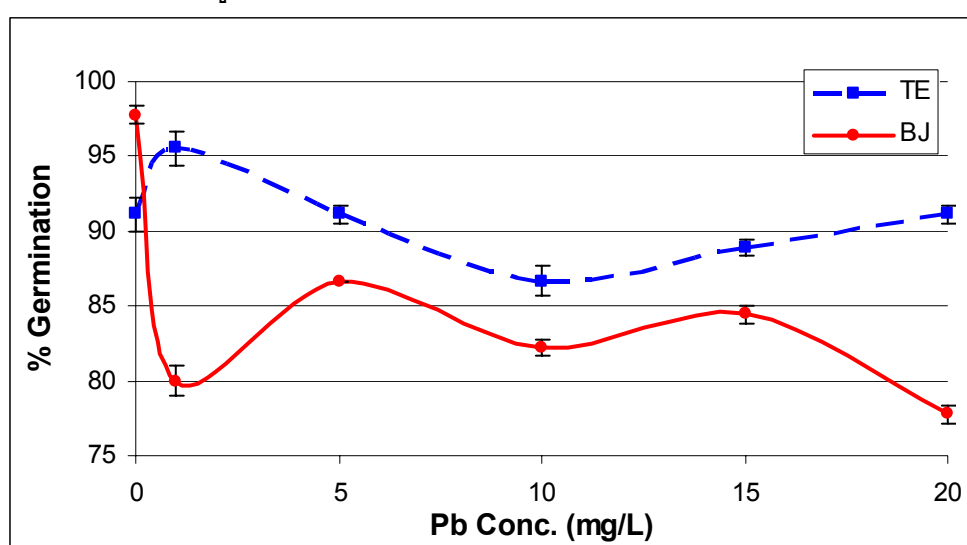


รูปที่ 11 กราฟแสดงการสะสมตะกั่วในรากและลำต้นผักกาดเขียว

ผักกาดเขียวอายุประมาณ 1 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 15 วัน $n = 3$ ต้น

3. ผลของสารละลายตะกั่วต่อการงอกของเมล็ดดาวเรืองและเมล็ดผักกาดเขียว

เมล็ดดอกดาวเรืองสามารถทนต่อพิษของสารละลายตะกั่วได้ดีกว่าเมล็ดผักกาดเขียว จากการทดลองเพาะเมล็ดดาวเรืองและผักกาดเขียวในสารละลายตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10, และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเมล็ดดอกดาวเรืองมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงกว่าเมล็ดผักกาดเขียวในทุกความเข้มข้น (รูปที่ 12) และที่ความเข้มข้นของสารละลายตะกั่ว 20 มิลลิกรัม/ลิตร เมล็ดดอกดาวเรืองยังคงงอก 91% ในขณะที่เมล็ดผักกาดเขียวงอกเพียง 78% จากผลการทดลองนี้แสดงว่าหากเพาะเมล็ดดอกดาวเรืองในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนตะกั่ว เมล็ดดอกดาวเรืองจะมีโอกาสงอกสูงกว่าเมล็ดผักกาดเขียว



รูปที่ 12 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดดอกดาวเรือง (TE) และเมล็ดผักกาดเขียว (BJ) ที่เพาะบนกระดาษกรองที่เติมสารละลายตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10, และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 7 วัน $n = 15$ เมล็ด

4. ผลของสารละลายตะกั่วต่อความยาวยอดและรากของต้นดาวเรืองและผักกาดเขียว

สารละลายตะกั่วมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของราก (root elongation) ของพืชทั้งสองชนิด โดยมีผลต่อผักกาดเขียวมากกว่าดาวเรือง จากการทดลองเพาะเมล็ดดาวเรืองและผักกาดเขียวในสารละลายตะกั่วความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงทำการวัดความยาวรากและยอด พบว่าที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร สารละลายตะกั่วสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากผักกาดเขียวอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่สารละลายตะกั่วเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/ลิตร จึงจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของรากดาวเรืองได้ (ตารางที่ 2) ในขณะที่ส่วนยอดของพืชทั้งสองยังสามารถเจริญเติบโตได้ไม่แตกต่างจากพืชควบคุม โดยที่ความยาวยอดของดาวเรืองที่เพาะในสารละลายตะกั่ว 5 มิลลิกรัม/ลิตร มีความยาวมากกว่าพืชควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากค่า pH ที่ต่ำในสารละลายตะกั่วเพื่อควบคุมไม่ให้ตะกั่วตกตะกอน

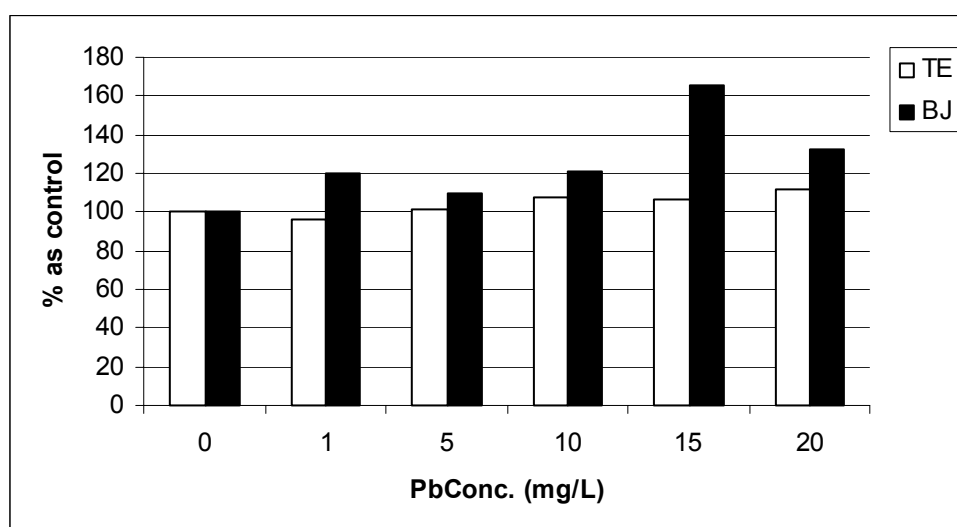
จากค่าความยาวของรากสามารถนำไปคำนวณค่า EC_{50} หรือความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของราก 50 % พบว่าผักกาดเขียวมีค่า EC_{50} เท่ากับ 2.07 มิลลิกรัม/ลิตร ในขณะที่ดาวเรืองมีค่า EC_{50} เท่ากับ 32.26 มิลลิกรัม/ลิตร หมายความว่า จะต้องใช้ความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของรากดาวเรืองสูงกว่าผักกาดเขียวถึง 16 เท่า

Pb conc. (mg/L)	<i>Brassica juncea</i>		<i>Tagetes erecta</i>	
	Shoot	Root	Shoot	Root
0	3.90±0.08	5.54±0.32	1.84±0.09	2.59±0.11
1	3.91±0.25	1.78±0.17*	2.05±0.10	2.84±0.13
5	3.69±0.20	2.34±0.42*	2.27±0.06*	2.43±0.23
10	4.58±0.20	1.38±0.17*	2.00±0.03	1.77±0.03*
15	4.11±0.17	1.81±0.20*	1.89±0.08	1.86±0.23*
20	3.96±0.22	1.21±0.07*	2.09±0.10	1.87±0.16*
EC₅₀	-	2.07	-	32.26

ตารางที่ 2 แสดงความยาวของรากและยอดของเมล็ดผักกาดเขียว (*Brassica juncea*) และดาวเรือง (*Tagetes erecta*) ที่เพาะบนกระดาษกรองที่เติมสารละลายตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10, และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 7 วัน n = 15 เมล็ด

5. ผลของสารละลายตะกั่วต่อน้ำหนักแห้งของต้นดาวเรืองและผักกาดเขียว

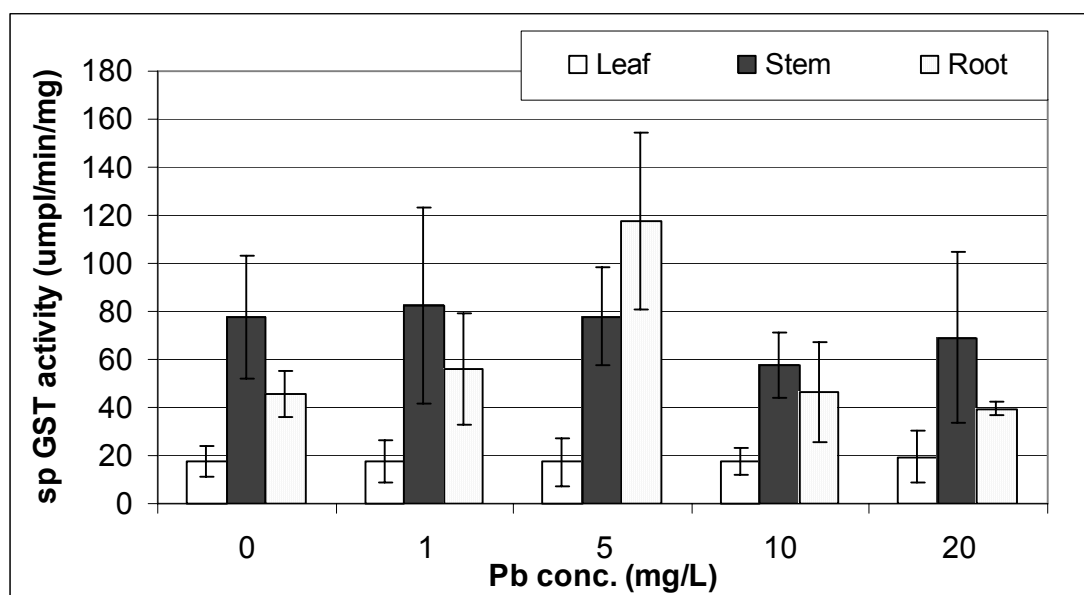
ความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของต้นดาวเรืองเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 13) ในขณะที่น้ำหนักแห้งของผักกาดเขียวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยโดยเพิ่มสูงสุดในสารละลายตะกั่ว 15 มิลลิกรัม/ลิตร



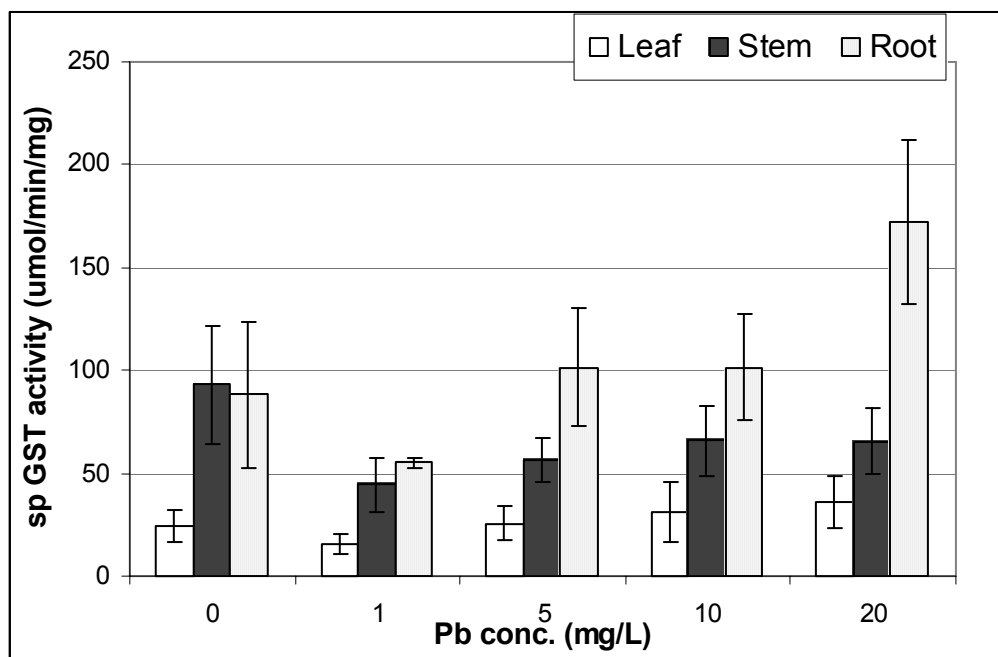
รูปที่ 13 กราฟแสดงน้ำหนักแห้ง (dried weight) ของต้นดอกดาวเรือง (TE) และผักกาดเขียว (BJ) ที่เพาะบนกระดาดกรองที่เติมสารละลายตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10, และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 17 วัน n = 15 เมล็ด

6. ผลของสารละลายตะกั่วต่อการทำงานของเอนไซม์ GST ในต้นดาวเรืองและผักกาดเขียว

เมื่อทดลองเลี้ยงต้นดาวเรืองและผักกาดเขียวในสารละลายตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 6 วัน พบว่าสารละลายตะกั่วไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ GST ในต้นดาวเรือง (รูปที่ 10) แต่สารละลายตะกั่วเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ GST ในรากของต้นผักกาดเขียว (รูปที่ 11) จากผลการทดลองนี้มีความเป็นไปได้ว่าผักกาดเขียวและดาวเรืองอาจมีระบบกำจัดพิษของสารละลายตะกั่วแตกต่างกัน ดยผักกาดเขียวอาจทำงานผ่านเอนไซม์ GST ในขณะที่ดาวเรืองอาจใช้ระบบอื่น



รูปที่ 14 กราฟแสดงผลของความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วต่อการทำงานของเอนไซม์ GST ในใบ ลำต้น และรากของดาวเรือง ดาวเรืองอายุประมาณ 1 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 6 วัน n = 4



รูปที่ 15 กราฟแสดงผลของความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วต่อการทำของเอนไซม์ GST ในใบ ลำต้น และรากของผักกาดเขี้ยว ผักกาดเขี้ยวอายุประมาณ 1 เดือนถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสาร ตะกั่วเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 6 วัน n= 4

ผลงานวิจัยที่คาดว่าจะตีพิมพ์

1. Sumranwanich, T., Chotwanvirat, P., Teerakathiti, P., and Maleeya Kruatrachue, M. **Accumulation and toxicological effects of lead on African marigold (*Tagetes erecta*), a potential plant for lead phytoremediation.** *Science Asia*
2. Surat, W., Goldsbrough, P.B., Sumranwanich, T., and Kruatrachue, M. **Uptake and accumulation of cadmium, lead, zinc by local sow thistle (*Sonchus arvensis*).** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.*

กิจกรรมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

การเสนอผลงานแบบบรรยาย หัวข้อ “Analysis of lead hyperaccumulation in *Sonchus arvensis*” ในงาน BioAsia 2007 ระหว่างวันที่ 7-9 พฤศจิกายน 2550 หอประชุมแห่งชาติสิริกิติ์