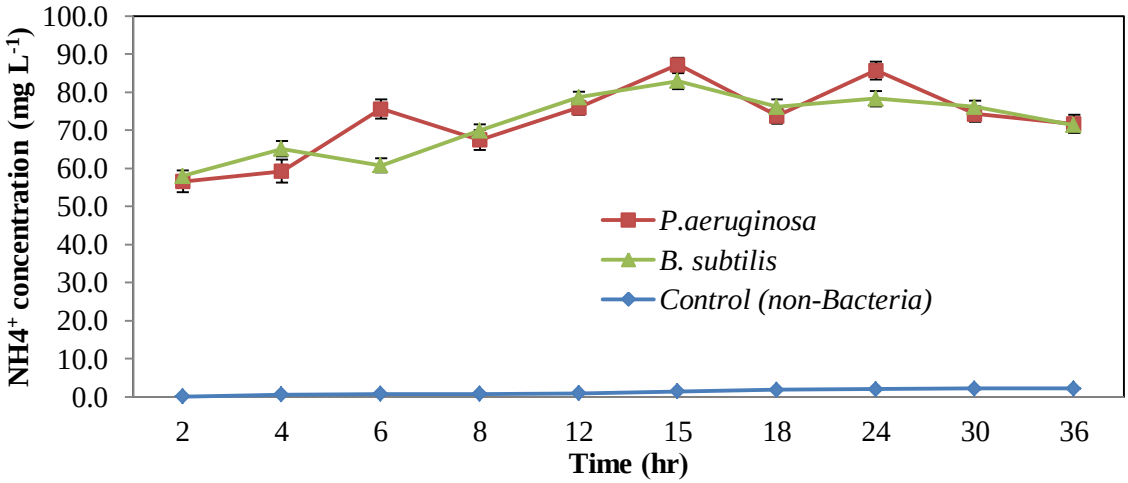
บทที่ 4
ผลการทดลอง

การทดสอบจุลินทรีย์ในการตรึงไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืช เนื่องจากไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของสารประกอบหลายชนิดในพืช เช่น โปรตีน คลอโรฟิลล์ กรดนิวคลิอิกและวิตามิน เป็นต้น เมื่อพืชได้รับธาตุนี้เป็นปริมาณที่พอเพียงแล้วพืชสามารถเจริญเติบโตได้ดีใบพืชจะมีสีเขียวสด มีความแข็งแรง และทำให้พืชออกดอกและผลอย่างสมบูรณ์ โดยทั่วไป ธาตุไนโตรเจนปกติอยู่ในอากาศในรูปก๊าซไนโตรเจน แต่ก๊าซไนโตรเจนนั้นพืชนำเอามาใช้ประโยชน์อะไรไม่ได้ (Kim and Rees, 1994) เพราะพืชจะดึงดูดมาไนโตรเจนใช้ประโยชน์ได้ต้องอยู่ในรูปอนุมูลของสารประกอบ เช่น แอมโมเนียมอิอออน(NH_4^+) และไนเตรตอิออน (NO_3^-) จุลินทรีย์ที่อยู่บริเวณรากพืชสามารถตรึงไนโตรเจน จากก๊าซไนโตรเจนให้อยู่ในรูปแอมโมเนียมอิอออน(NH_4^+) ได้ ซึ่งชนิดของจุลินทรีย์ก็มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกัน การทดลองจึงได้ศึกษาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus subtilis* ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.1 ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า *Pseudomonas aeruginosa* สามารถตรึงไนโตรเจน ประมาณ 87.2 mg/l และ *Bacillus subtilis* สามารถตรึงไนโตรเจน ประมาณ 82.9 mg/l หลังจากบ่มเชื้อ (incubation) 15 ชั่วโมง จากผลการทดลองแสดงว่า *Pseudomonas aeruginosa* สามารถตรึงไนโตรเจนได้สูงกว่า *Bacillus subtilis*

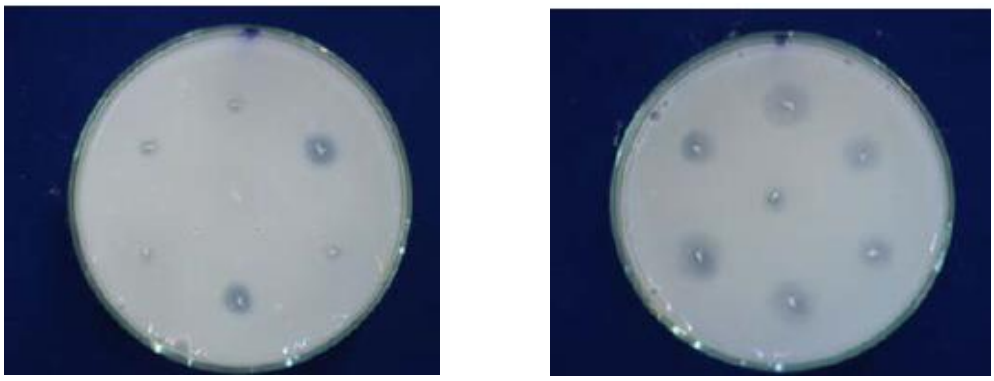


ภาพที่ 4.1 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการตรึงไนโตรเจน

ทดสอบจุลินทรีย์ในการละลายฟอสเฟต

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืชเช่นเดียวกับไนโตรเจน ฟอสฟอรัสจะมีบทบาทในการควบคุมการสังเคราะห์ด้วยแสงและเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตแล้ว ยังมีบทบาทต่อสมดุลของฮอร์โมนพืชด้วย จุลินทรีย์มีความสามารถในการแปรสภาพฟอสฟอรัสจะมีทั้งกลุ่มที่ทำหน้าที่เปลี่ยนอินทรีย์ฟอสฟอรัสและอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปไม่เป็นประโยชน์ต่อพืชให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช(Hilda and Fraga, 1999)

ผลของการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya's media แสดงดังภาพที่ 4.2 แสดงดังภาพที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.2 ผลของภาพที่ 4.1 พบว่า ขนาดของบริเวณวงใส (Clear zone) ของ *Pseudomonas aeruginosa* มีขนาดของวงใสมากกว่า *Bacillus subtilis* แต่อย่างไรก็ตาม *Pseudomonas aeruginosa และ Bacillus subtilis* มีความสามารถละลายฟอสเฟตได้จึงจะมีประโยชน์ในการที่พืชดึงไปใช้ในการเจริญเติบโตได้

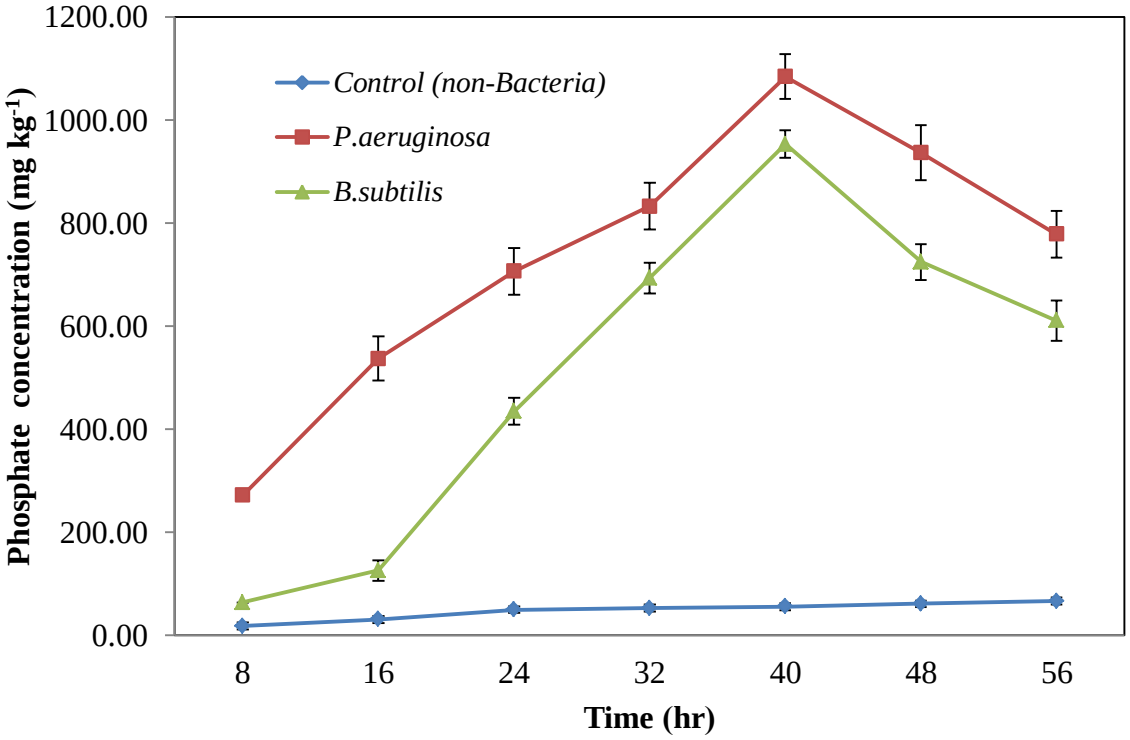


ก. *Bacillus subtilis* ข. *Pseudomonas aeruginosa*

ภาพที่ 4.2 ลักษณะของโคโลนี (colony) และวงใส (clear zone) ของจุลินทรีย์ที่ละลายฟอสเฟต

ภาพที่ 4.3 แสดงปริมาณของฟอสเฟตที่ละลายออกจากจากอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya's media โดย แบคทีเรีย *Pseudonas aeruginosa* และ *Bacillus subtilis*. ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าที่ชั่วโมงที่ 40 *Pseudomonas aeruginosa* สามารถละลายฟอสเฟต ได้ปริมาณสูงกว่า *Bacillus subtilis* โดย *Pseudomonas aeruginosa* ละลายฟอสเฟต ได้ 1093.41 mg l^{-1} และ *Bacillus subtilis* ละลายฟอสเฟต ได้ 953.24 mg l^{-1} หลังจากชั่วโมงที่ 40 ปริมาณฟอสเฟตค่อยๆ ลดลง จากผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถละลายฟอสเฟตได้ดี

ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลของผลผลิตของต้นข้าวหลังเกี่ยว 90วัน (ภาพที่ 4.5) พบว่า เมื่อใช้ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นเชื้อเติมลงในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าว จะได้น้ำหนักแห้ง (dry weight) ของต้นข้าว สูงกว่า (23.64 กรัม/กระถาง) *Bacillus subtilis* (21.23 กรัม/กระถาง แบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ (phosphate solubilizing bacteria) จะช่วยทำให้พืชสามารถดูดธาตุฟอสฟอรัสได้สูงขึ้น นอกจากนั้นยังช่วยให้พืชดูดธาตุไนโตรเจน (N) โปรแตสเซียม (K) และเหล็ก (Fe) ได้สูง (Biswas et al., 2000)



ภาพที่ 4.3 ปริมาณของฟอสเฟตที่ละลายโดยจุลินทรีย์

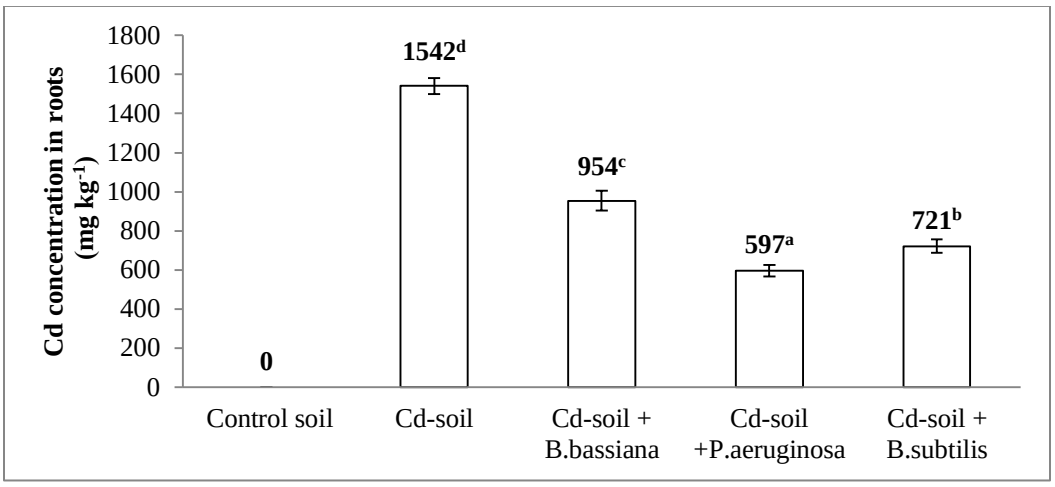
ผลของจุลินทรีย์ต่อปริมาณแคดเมียมที่สะสมในต้นข้าว

จุลินทรียที่ใช้ในการทดลองมี 3 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* (แบคทีเรีย) *Bacillus subtilis* (แบคทีเรีย) และ *Beauveria bassiana* (เชื้อรา) โดยนำจุลินทรีย์ 2 % v/v ไปผสมกับดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าว ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.4

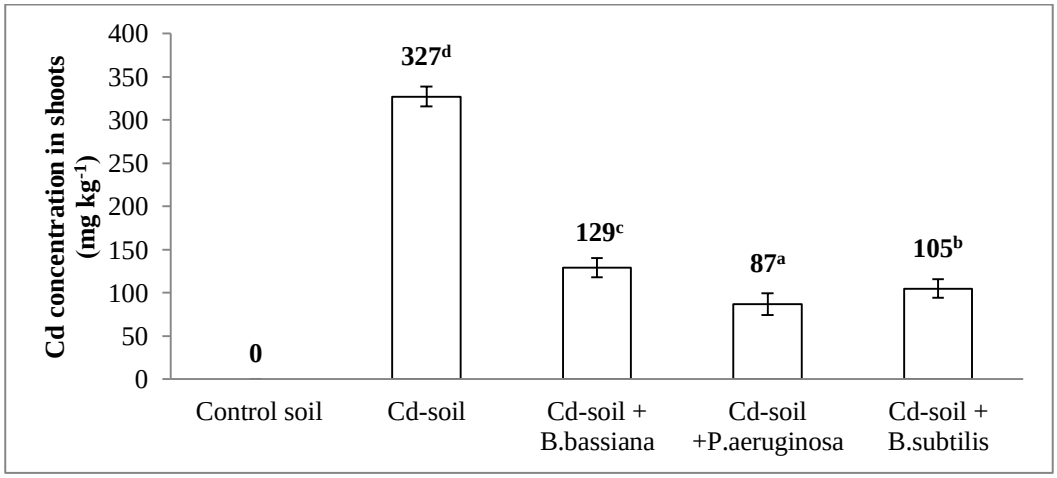
ตารางที่ 4.1 ปริมาณแคดเมียมที่สะสมในส่วนต่าง ๆของต้นข้าว

เงื่อนไขการทดลอง	ปริมาณแคดเมียม (mg kg^{-1})			
	ราก	ลำต้น	เปลือก	เมล็ด
Control soil				
Cd - soil	1542 ± 41.4[d]	327 ± 11.53[d]	60.2 ± 3.79[a]	8.63 ± 0.17[d]
Cd - soil + *Bacillus subtilis*	954 ± 50.30[c]	129 ± 11.04[c]	34.7 ± 3.93[c]	4.76 ± 0.44[c]
Cd - soil +*Pseudomonas aeruginosa*	597 ± 29.57[a]	87 ± 12.50[a]	19.5 ± 3.30[a]	2.23 ± 0.23[a]
Cd-soil + *Beauveria bassiana*	721 ± 34.68[b]	105 ± 10.94[b]	27.8 ± 3.23[b]	3.44 ± 0.26[b]

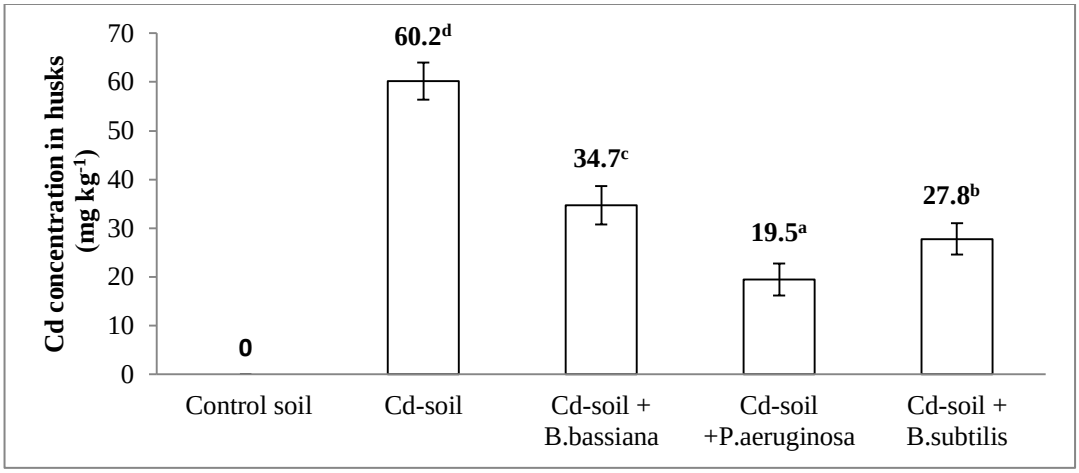
หมายเหตุ:ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำแนกโดย Duncan multiple range test


Cd concentration in roots (mg kg-1)
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0
1542d
954c
597a
721b
Control soil
Cd-soil
Cd-soil + B.bassiana
Cd-soil +P.aeruginosa
Cd-soil + B.subtilis

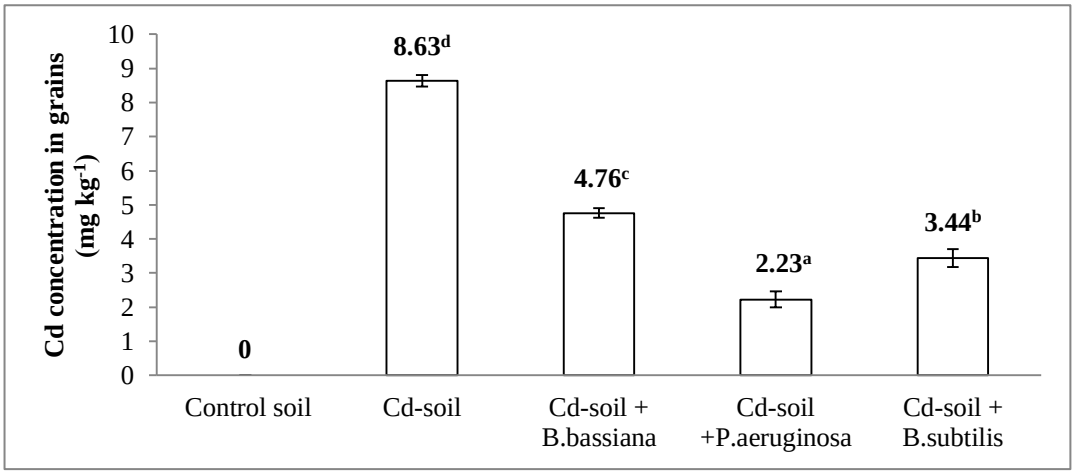
ก) ราก


Cd concentration in shoots (mg kg-1)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
327d
129c
87a
105b
Control soil
Cd-soil
Cd-soil + B.bassiana
Cd-soil +P.aeruginosa
Cd-soil + B.subtilis

ข) ลำต้น



ค) เปลือก



ง) เมล็ด

ภาพที่ 4.4 ปริมาณแคดเมียมในราก (ก) ลำต้น (ข) เปลือก (ค) และเมล็ดข้าว (ง) เมื่อปลูกข้าวในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมภายใต้เงื่อนไขการทดลองต่างๆ หลังเก็บเกี่ยว 90 วัน

จากผลการทดลองพบว่า หลังจากเก็บเกี่ยวข้าว 90 วัน *Pseudomonas aeruginosa* สามารถลดแคดเมียมที่สะสมในราก ลำต้น เปลือก และเมล็ดข้าว ได้สูงกว่า *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยปริมาณแคดเมียมที่สะสมในราก

ลำต้น เปลือก และ เมล็ด เท่ากับ 597, 87, 19.5 และ 2..23 mg Cd/kg dry weight ตามลำดับ เมื่อเติมเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียม และจากผลการทดลองยังพบว่าการปลูกข้าวในดินปนเปื้อนแคดเมียมแต่ปราศจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์เข้าไป (Cd-soil) พบว่าปริมาณแคดเมียมที่สะสมใน ราก ลำต้น เปลือก และเมล็ดข้าว สูงกว่าในการปลูกข้าวที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากผลการทดลองจึงเป็นไปได้ว่าการเติมเชื้อจุลินทรีย์ ทั้ง *Pseudomonas aeruginosa* *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* ในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าวจะลดแคดเมียมที่สะสมในต้นข้าว

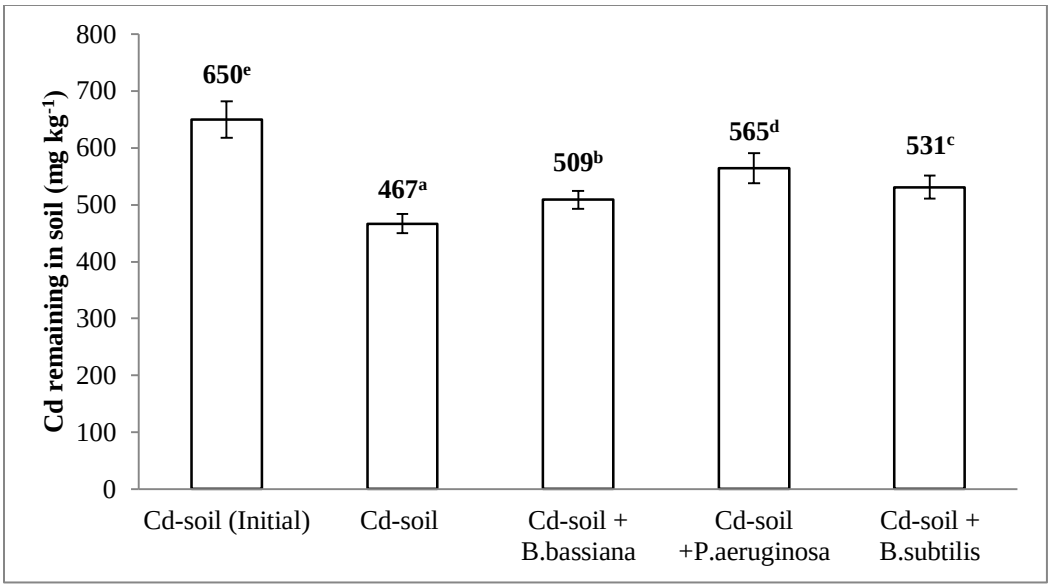
ปริมาณของแคดเมียมที่เหลืออยู่ในดิน

ปริมาณของแคดเมียมที่เหลืออยู่ในดิน หลังจากเติมใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมเพื่อปลูกข้าว แสดงดังตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.5

ตารางที่ 4.2 ปริมาณแคดเมียมที่เหลืออยู่ในดิน หลังจากเก็บเกี่ยว 90 วัน

เงื่อนไขการทดลองต่าง ๆ	ปริมาณปริมาณแคดเมียม (mg kg^{-1})
Cd - soil (initial)	650 ± 32.01[c]
Cd - soil	467 ± 12.01 [a]
Cd - soil + *Bacillus subtilis*	509 ± 14.05[b]
Cd - soil +*Pseudomonas aeruginosa*	565 ± 29.3[d]
Cd-soil + *Beauveria bassiana*	531 ± 15.72[c]

หมายเหตุ:ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำแนกโดย Duncan multiple range test



ภาพที่ 4.5 ปริมาณแคดเมียมที่เหลืออยู่ในดินภายใต้เงื่อนไขการทดลองต่างๆ หลังจากเก็บเกี่ยว 90 วัน

จากภาพผลการทดลองที่ 4.5 พบว่าเมื่อใช้เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เติมลงในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าว จะมีปริมาณแคดเมียมที่เหลือในดินสูงที่สุด เมื่อเทียบกับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิด *Bacillus subtilis* *Beauveria bassiana* และ การปลูกข้าวในที่ดินปนเปื้อนแคดเมียมปราศจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์ (Cd - soil) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณแคดเมียมที่เหลือในดินเท่ากับ 565 mg cd /kg ดิน จากปริมาณแคดเมียมเริ่มต้น 650 mg cd /kg ดิน แสดงให้เห็นว่า แคดเมียมอิออนในดินจะถูกดูดซับด้วย *Pseudomonas aeruginosa* สูงกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ดังนั้น แคดเมียมจึงเคลื่อนย้ายจากดิน ไปสู่ ราก ลำต้น เปลือก และเมล็ดได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับใช้ *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* (ภาพที่ 4.4)

ผลผลิตของข้าวในรูปน้ำหนักแห้งหลังเก็บเกี่ยว

หลังเก็บเกี่ยว ชั่งน้ำหนักแห้ง (dry weight) ของต้นข้าว เพื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของต้นข้าวเมื่อใช้ชนิดของจุลินทรีย์ต่างกันในการเติมในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าว ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.6 ซึ่งจากตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.6 พบว่าน้ำหนักของต้นข้าว (dry weight) เมื่อใช้ *Pseudomonas aeruginosa* เติมในดินที่ปนเปื้อน

แคดเมียมในการปลูกข้าว มีน้ำหนักสูกกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (significant) ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับใช้ เชื้อ *Bacillus subtilis* *Beauveria bassiana* ดินปนเปื้อนแคดเมียมปราศจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์ และดินที่ไม่ปนเปื้อนแคดเมียม โดยน้ำหนักแห้งของต้นข้าวที่ใส่เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* มีน้ำหนักแห้งของต้นข้าวเท่ากับ 23.64 กรัม ต่อ กระถาง ที่ปลูก ส่วนการใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* มีน้ำหนักแห้งของต้นข้าว เท่ากับ 21.23 และ 18.21 กรัม ต่อกระถาง ตามลำดับ

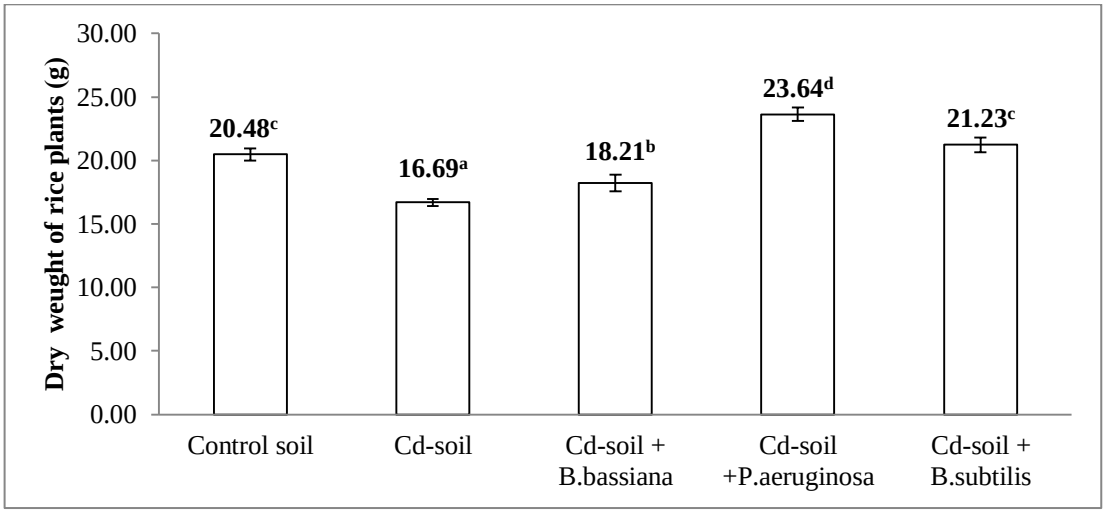
การใช้เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เติมลงดินปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกต้นข้าวแล้วทำให้ผลผลิตในรูปน้ำหนักแห้งของต้นข้าวสูง ทั้งนี้อาจเนื่องจาก *Pseudomonas aeruginosa* มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน และ ละลายฟอสเฟตได้ดี ต้นข้าวจึงสามารถนำไนโตรเจนและฟอสฟอรัสนำมาใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต (ผลการทดลองจากภาพที่ 4.1 และ 4.2) ดังนั้นผลผลิตของต้นข้าวในรูปน้ำหนักแห้งจึงมีน้ำหนักสูงสุดเมื่อเทียบกับการใช้จุลินทรีย์ชนิดอื่น

Pseudomonas aeruginosa จัดอยู่ในกลุ่มจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting rhizobacteria ,PGPR) ผลิตฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น กรดอินโด – 3 - แอซีติก (indole – 3 - acetic acid, IAA) ไซโตไคนิน (cytocynins) ออกซิน (auxins) จิบเบอเรลลิน (gibberellins) และเอทิลีน (ethylene) ในพืช กระตุ้นความยาวของราก กระตุ้นการงอก กระตุ้นการสืบพันธุ์ และป้องกันความเครียดของพืชจากสิ่งไม่มีชีวิต (abiotic stress) และสิ่งมีชีวิต (biotic stress) (Faisal *et al*., 2014)

ตารางที่ 4.3 น้ำหนัก (dry weight) ของต้นข้าวหลังเก็บเกี่ยว 90 วัน

เงื่อนไขการทดลองต่าง ๆ	น้ำหนักของต้นข้าว (dry weight, g)
Control soil	20.48 ± 0.98^{c}
Cd - soil	16.69 ± 0.79^{a}
Cd - soil + *Bacillus subtilis*	18.21 ± 0.35^{b}
Cd - soil + *Pseudomonas aeruginosa*	23.64 ± 1.24^{d}
Cd-soil + *Beauveria bassiana*	21.23 ± 0.51^{c}

หมายเหตุ:ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำแนกโดย Duncan multiple range test



ภาพที่ 4.6 น้ำหนักแห้งของต้นข้าวหลังเก็บเกี่ยว 90 วัน ภายใต้เงื่อนไขการทดลองต่าง ๆ

ผลของธาตุอาหารต่อปริมาณแคดเมียมที่สะสมในต้นข้าว

1) ผลของแคลเซียมต่อปริมาณแคดเมียมที่สะสมในต้นข้าว

แคลเซียมจัดเป็นธาตุที่จำเป็นต่อพืชและมีบทบาทที่สำคัญในพืช เช่น ช่วยในการสร้างเซลล์และโครงสร้างของเซลล์ของพืช ช่วยให้เซลล์ติดต่อกัน และจะช่วยเชื่อมผนังเซลล์ และให้เป็นรูปร่าง (Cho et al., 2012) และเมื่อพืชขาดแคลเซียมใบจะบิดเบี้ยว งอ ใบเหลือง (Schmitz - Eiber et al., 2002; Cho et al., 2012) และถ้าพืชอยู่ในระยะออกดอก ติดผล ตาดอกและและกลีบดอกจะไม่พัฒนาดอกและผลจะร่วง

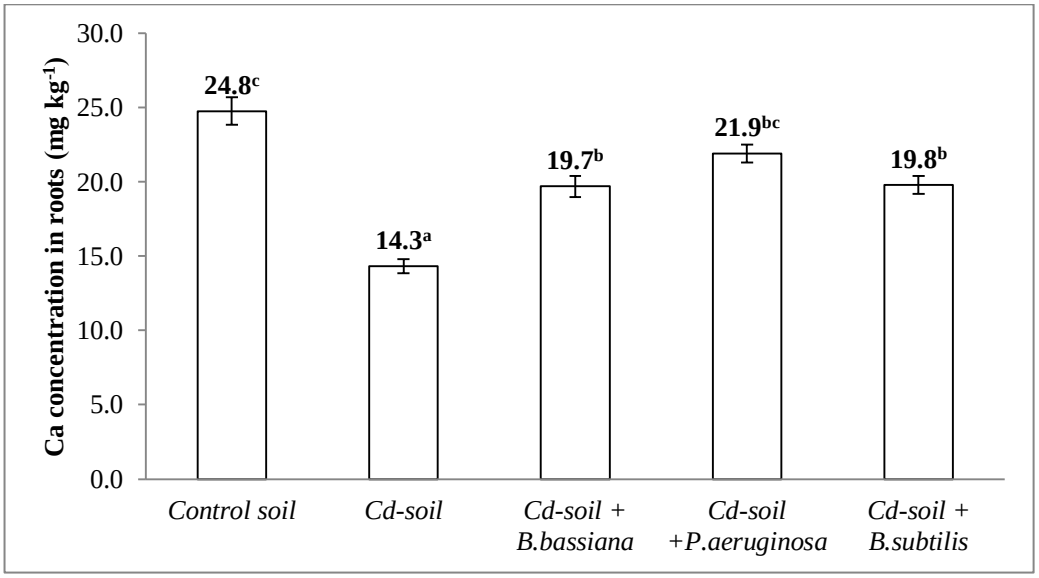
ผลของแคลเซียมต่อปริมาณแคดเมียมที่สะสมในราก ลำต้น เปลือก และ เมล็ด แสดงดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.7 ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า การเติมเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าว จะมีปริมาณแคลเซียมในราก ลำต้น ใบ และ เมล็ด สูงกว่า *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* โดยมีปริมาณแคลเซียมในราก ลำต้น เปลือก และเมล็ด มีค่าเท่ากับ 21.9, 55.4, 0.60 และ 0.62 mg /kg dry weight เมื่อเติมเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* แต่ในทางตรงกันข้ามพบว่า ปริมาณของแคดเมียมในราก ลำต้น เปลือก และเมล็ดของ

ข้าว เมื่อเติมเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* จะมีปริมาณแคดเมียมที่สะสมในส่วนต่างๆ ของข้าวน้อยกว่าเมื่อเติมเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* (ตารางที่ 4.1 และ ภาพที่ 4.4) แสดงให้เห็นว่าปริมาณแคลเซียมที่สะสมในส่วนต่างๆ ต้นข้าวจะแปรผกผันกับปริมาณแคดเมียมในราก ลำต้น เปลือก และเมล็ด แสดงให้เห็นว่า แคลเซียมน่าจะช่วยลดความเป็นพิษของแคดเมียมในต้นข้าว โดยปริมาณแคดเมียมจึงลดลงเมื่อมีปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้นในต้นข้าว แคดเมียมอิออนและแคลเซียมอิออนแย่งจับเข้าในเซลรากของพืช (Tian et al., 2011 : Cho, et al, 2012) นอกจากนี้ Lu et al. (2010) ยังได้ศึกษาพบว่า ปริมาณแคลเซียมจะช่วยลดปริมาณแคดเมียมที่สะสมในลำต้นของ *S. alifredii*

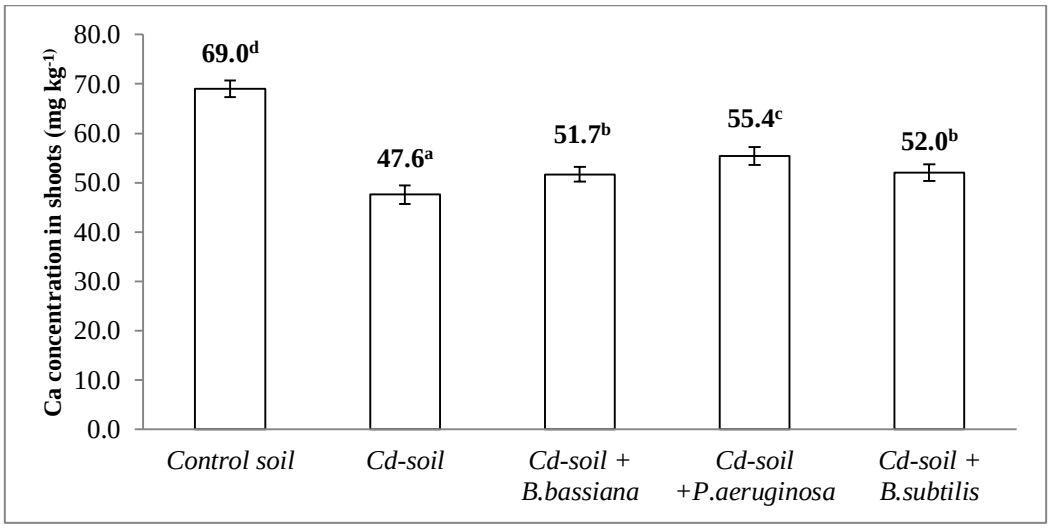
ตารางที่ 4.4 ปริมาณแคลเซียมที่สะสมในส่วนต่างๆของต้นข้าวหลังเก็บเกี่ยวข้าว 90 วัน

เงื่อนไขการทดลอง	ปริมาณแคลเซียมหลังเก็บเกี่ยว 90 วัน (mg kg^{-1} dry weight)			
	ราก	ลำต้น	เปลือก	เมล็ด
Control soil	24.8 ± 0.1	69.0 ± 0.8	0.62 ± 0.1	0.21 ± 0.1
Cd-soil	14.4 ± 0.9	47.6 ± 0.1	0.42 ± 0.1	0.12 ± 0.1
Cd-soil + *Bacillus subtilis*	19.7 ± 0.9	51.7 ± 0.6	0.55 ± 0.1	0.16 ± 0.1
Cd-soil + *Pseudomonas aeruginosa*	21.9 ± 0.7	55.4 ± 0.9	0.60 ± 0.1	0.20 ± 0.1
Cd-soil + *Beauveria bassiana*	19.8 ± 0.7	52.0 ± 0.8	0.55 ± 0.1	0.17 ± 0.1

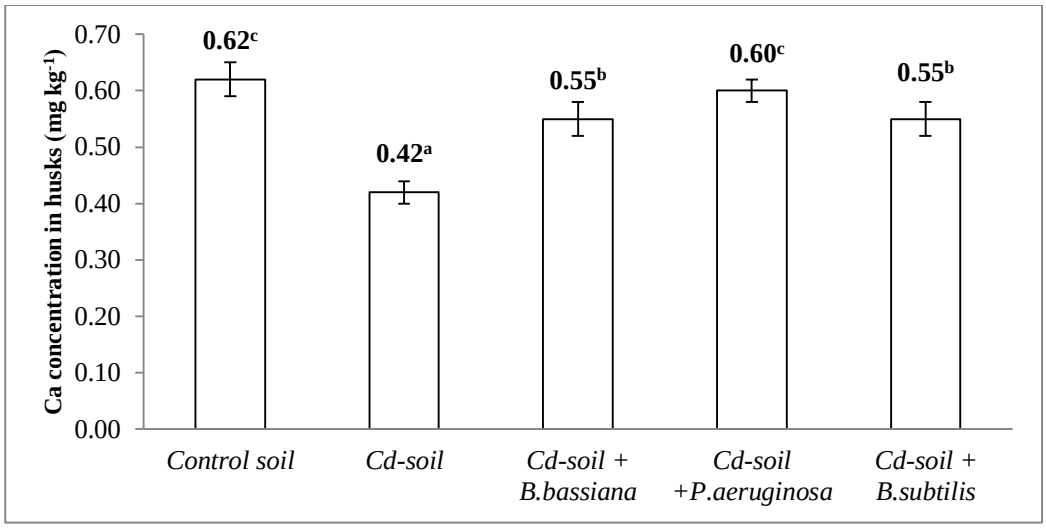
หมายเหตุ:ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำแนกโดย Duncan multiple range test


Ca concentration in roots (mg kg-1)
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
24.8c
14.3a
19.7b
21.9bc
19.8b
Control soil
Cd-soil
Cd-soil + B.bassiana
Cd-soil +P.aeruginosa
Cd-soil + B.subtilis

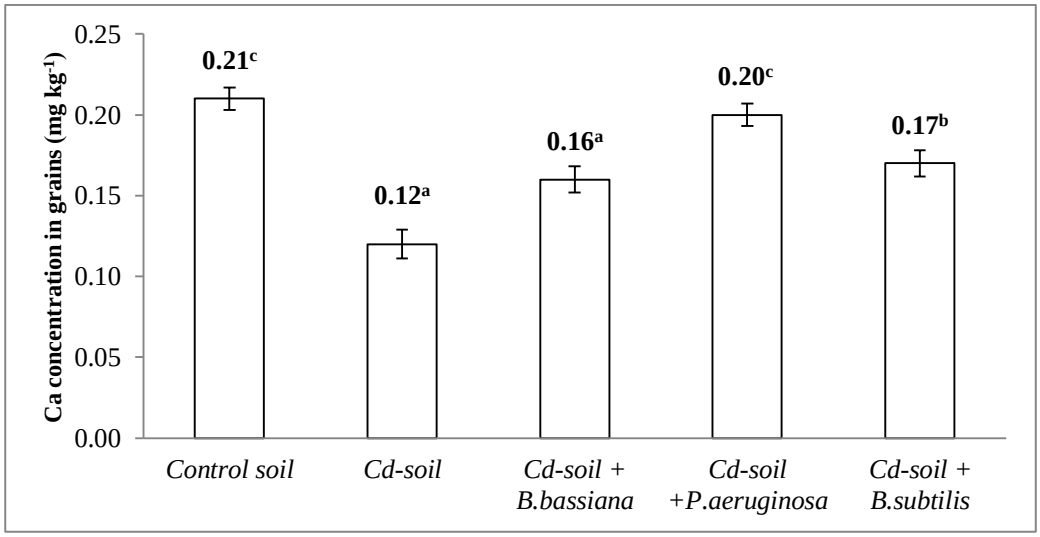
ก) ราก


Ca concentration in shoots (mg kg-1)
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
69.0d
47.6a
51.7b
55.4c
52.0b
Control soil
Cd-soil
Cd-soil + B.bassiana
Cd-soil +P.aeruginosa
Cd-soil + B.subtilis

ข) ลำต้น



ค) เปลือก



ง) เมล็ด

ภาพที่ 4.7 ปริมาณแคลเซียมในราก (ก) ลำต้น (ข) เปลือก (ค) และเมล็ดข้าว (ง) เมื่อปลูกข้าวในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมภายใต้เงื่อนไขการทดลองต่างๆ หลังเก็บเกี่ยว 90 วัน

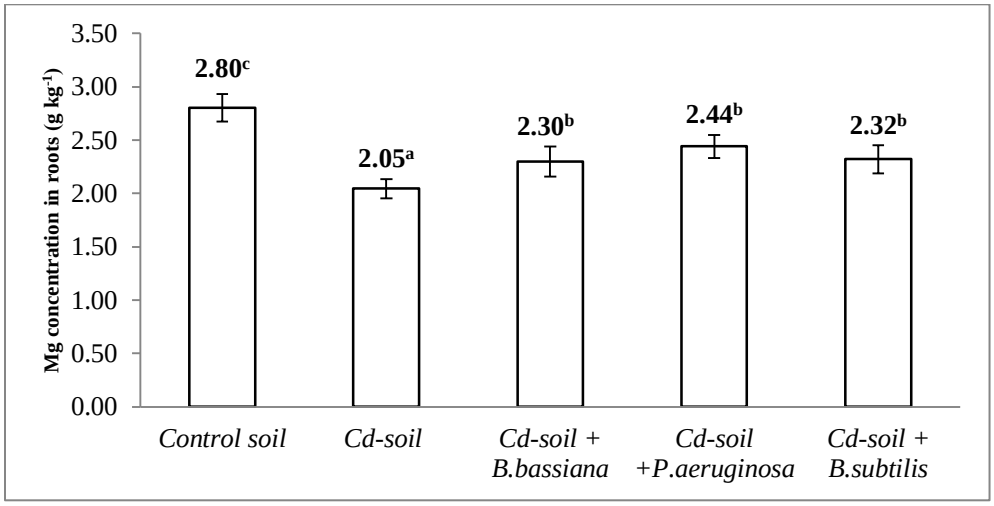
2) ผลของแมกนีเซียมต่อปริมาณแคดเมียมที่สะสมในต้นข้าว

แมกนีเซียมมีความสำคัญกับพืช เช่น เป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช เป็นตัวเร่งและส่วนประกอบของเอนไซม์ในพืช ช่วยในการเคลื่อนย้ายอาหารในพืชและเป็นตัวนำพาฟอสฟอรัสในการดูดซึมจากรากไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช (Chou et al, 2011) ซึ่งผลของ แมกนีเซียมต่อปริมาณแคดเมียมที่สะสมในส่วนต่างของต้นข้าวแสดงดังตารางที่ 4.5 และ ภาพที่ 4.8

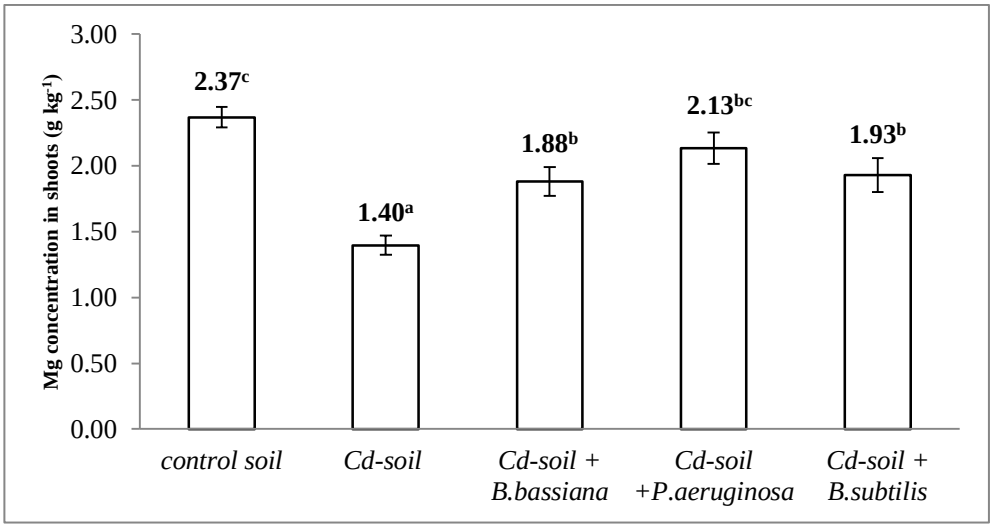
ตารางที่ 4.5 ปริมาณแมกนีเซียมที่สะสมในส่วนต่างๆของต้นข้าวหลังเก็บเกี่ยวข้าว 90 วัน

เงื่อนไขการทดลอง	ปริมาณแมกนีเซียม หลังเก็บเกี่ยว 90 วัน (mg kg^{-1} dry weight)			
	ราก	ลำต้น	เปลือก	เมล็ด
Control soil	2.8 ± 0.07	2.37 ± 0.09	0.65 ± 0.08	0.18 ± 0.07
Cd-soil	2.05 ± 0.08	1.40 ± 0.06	0.47 ± 0.08	0.10 ± 0.04
Cd - soil + *Bacillus subtilis*	2.30 ± 0.09	1.88 ± 0.08	0.59 ± 0.06	0.12 ± 0.04
Cd - soil + *Pseudomonas aeruginosa*	2.44 ± 0.08	2.13 ± 0.15	0.63 ± 0.08	0.13 ± 0.04
Cd - soil + *Beauveria bassiana*	2.32 ± 0.06	1.93 ± 0.08	0.58 ± 0.06	0.12 ± 0.06

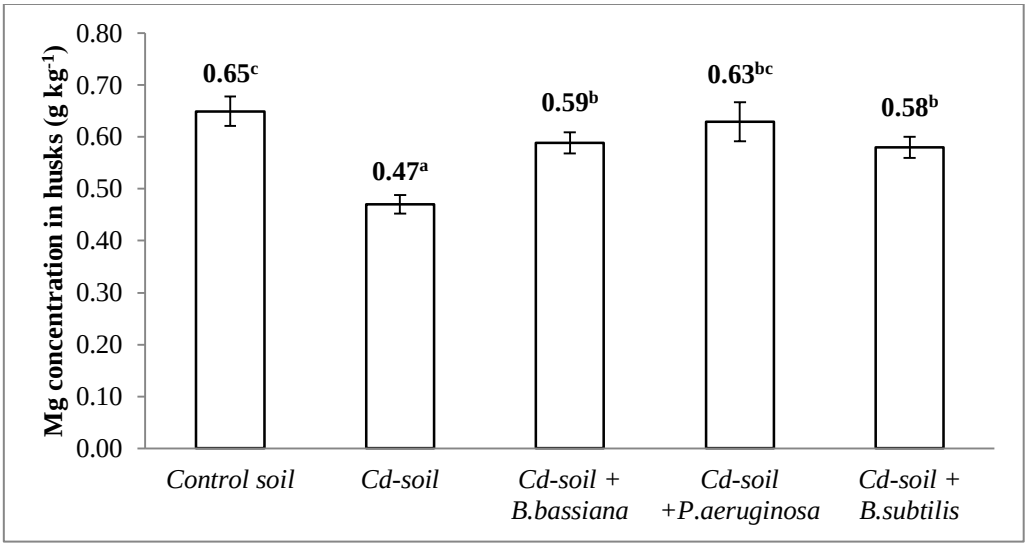
หมายเหตุ:ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำแนกโดย Duncan multiple range test


Mg concentration in roots (g kg-1)
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
2.80c
2.05a
2.30b
2.44b
2.32b
Control soil
Cd-soil
Cd-soil + B.bassiana
Cd-soil +P.aeruginosa
Cd-soil + B.subtilis

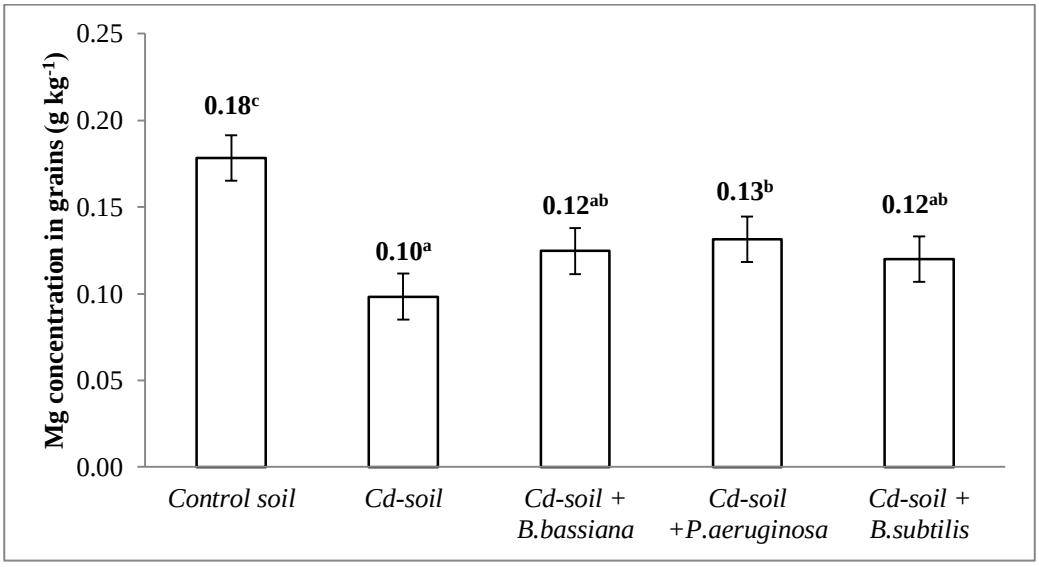
ก) ราก


Mg concentration in shoots (g kg-1)
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
2.37c
1.40a
1.88b
2.13bc
1.93b
control soil
Cd-soil
Cd-soil + B.bassiana
Cd-soil +P.aeruginosa
Cd-soil + B.subtilis

ข) ลำต้น



ค) เปลือก



ง) เมล็ด

ภาพที่ 4.8 ปริมาณแมกนีเซียมในราก (ก) ลำต้น (ข) เปลือก (ค) และเมล็ดข้าว (ง) เมื่อปลูกข้าวในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมภายใต้เงื่อนไขการทดลองต่างๆ หลังเก็บเกี่ยว 90 วัน

จากตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.8 พบว่า การเติมเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ลงในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าว จะมีปริมาณแมกนีเซียมในราก ลำต้น ใบ และ เมล็ด สูงกว่าเมื่อเติมเชื้อชนิด *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* โดยปริมาณแมกนีเซียมในราก ลำต้น เปลือก และเมล็ด มีค่าเท่ากับ 2.44, 2.13, 0.63 และ 0.13 mg / kg dry weight เมื่อเติมเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ขณะที่ปริมาณแคดเมียมที่สะสมใน ราก ลำต้น เปลือก และเมล็ดของต้นข้าวเมื่อเติมเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในการปลูกข้าวในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมมีปริมาณน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเติมเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* (ตารางที่ 4.1 ภาพที่ 4.4) แสดงว่าแมกนีเซียมจะลดการปริมาณแคดเมียมในต้นข้าว (Nazar et al., 2012) สอดคล้องกับการวิจัยของ Kashem and Kawai (2007) ที่รายงานว่าแมกนีเซียมจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชเนื่องจากช่วยลดความเป็นพิษจากแคดเมียม โดยประจุ 2+ ของแคดเมียมและแมกนีเซียมจะแย่งกันเพื่อเข้าจับกับเมนเบรนของพืช (Nazar et al., 2012).

และจากผลการทดลองน้ำหนักของต้นข้าวหลังเก็บเกี่ยว 90 วัน พบว่า เมื่อใช้เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.6) จะมีน้ำหนักต้นข้าวสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับใช้เชื้อชนิดอื่น แสดงว่าแมกนีเซียมช่วยลดความเป็นพิษจากแคดเมียมในรูปของผลผลิตในรูปน้ำหนักแห้งของต้นข้าว (Cho et al., 2011)

3) ผลของซิลิกอนต่อปริมาณแคดเมียมที่สะสมในต้นข้าว

ซิลิกอนมีความสำคัญต่อพืช เช่น ป้องกันความเครียดของพืชจากสิ่งไม่มีชีวิต (abiotic stress) และสิ่งมีชีวิต (biotic stress) (Song et al., 2009; Feng et al 2010; Rizwan et al., 2012) เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ ช่วยให้พืชต้นทานต่อโรค ซึ่งปริมาณซิลิกอนในรากและลำต้นหลังเก็บเกี่ยว 90 วัน แสดงดัง ตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.9

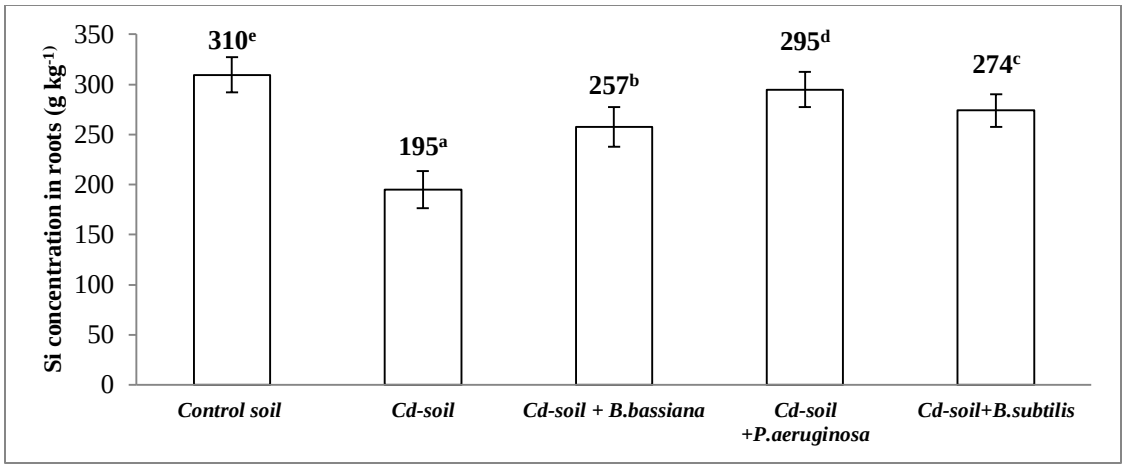
และจากผลการทดลองพบว่าการใช้เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เติมในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าว และหลังเก็บเกี่ยว 90 วัน พบว่าสามารถเพิ่มซิลิกอนใน ราก และ ลำต้น สูงกว่าเมื่อใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* โดยมีปริมาณซิลิกอน ในราก และลำต้นเท่ากับ 295 และ 270 mg / kg dry weight ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามการใช้เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เติมในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าว จะทำให้ปริมาณแคดเมียมสะสมในส่วนต่าง ๆของต้นข้าวน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ แสดงว่า ซิลิกอนจะช่วยลดปริมาณแคดเมียมที่พืชจะดึงดูด (uptake) เข้าไปในพืช (Ja - Wen et al., 2013) ซึ่งสอดคล้องกับการที่วิจัยที่ผ่านของนักวิจัยหลายท่านที่รายงานว่า ซิลิกอนจะช่วยลด

การดึงดูดแคดเมียมในต้นข้าว (Zhang et al., 2008), แตงกวา (Feng et al., 2010) ข้าวโพด (Liang et al., 2005) ผักกาดฮ่องเต้ (pakchoi) (Song et al., 2009) นอกจากนี้ผลการทดลองในเรื่องน้ำหนักของต้นข้าวหลังเก็บเกี่ยว 90 วัน พบว่าการใช้เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในการเติมในดินปนเปื้อนแคดเมียมในการปลูกข้าวจะมีน้ำหนัก (dry weight) ของต้นข้าวสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* และปราศจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์แสดงว่า ซิลิกอนช่วยลดความเป็นพิษของแคดเมียมในรูปการเพิ่มน้ำหนักของต้นข้าว (Song et al., 2009 Feng et al 2010; Liu et al., 2013)

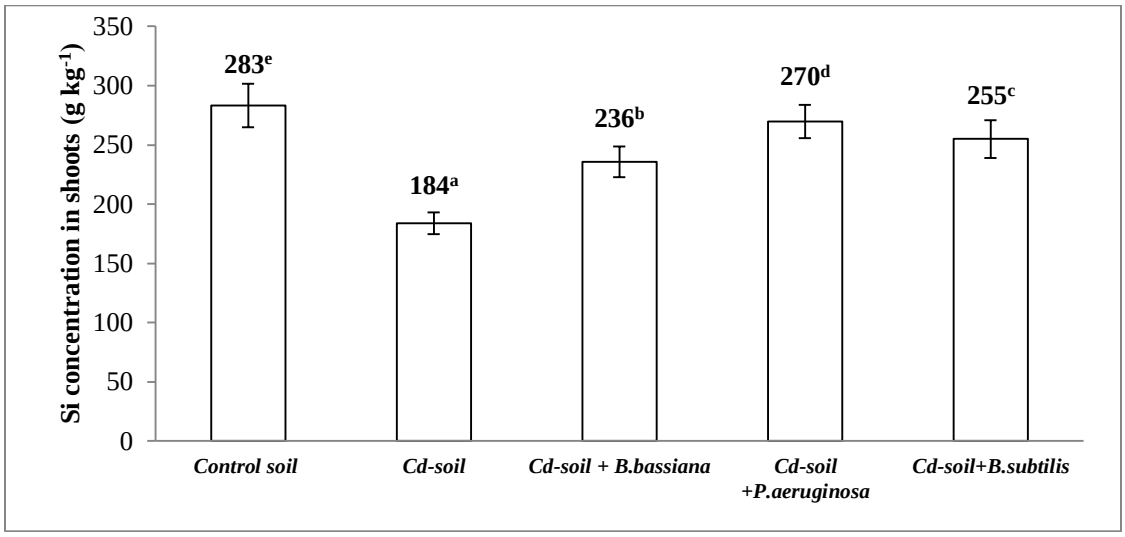
ตารางที่ 4.6 ปริมาณซิลิกอนที่สะสมในรากและลำต้นของต้นข้าวหลังเก็บเกี่ยวข้าว 90 วัน

เงื่อนไขการทดลอง	**ปริมาณซิลิกอน หลังเก็บเกี่ยว 90 วัน (mg kg^{-1} dry weight)**	
	ราก	**ลำต้น**
Control soil	310.33 ± 13	283.33 ± 7
Cd - soil	195.33 ± 14	184 ± 7
Cd - soil + *Bacillus subtilis*	257 ± 7	236.33 ± 6
Cd - soil +*Pseudomonas aeruginosa*	295.33 ± 8	270 ± 9
Cd-soil + *Beauveria bassiana*	274 ± 10	255.33 ± 6

หมายเหตุ:ตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จำแนกโดย Duncan multiple range test



ก) ราก



ข) ลำต้น

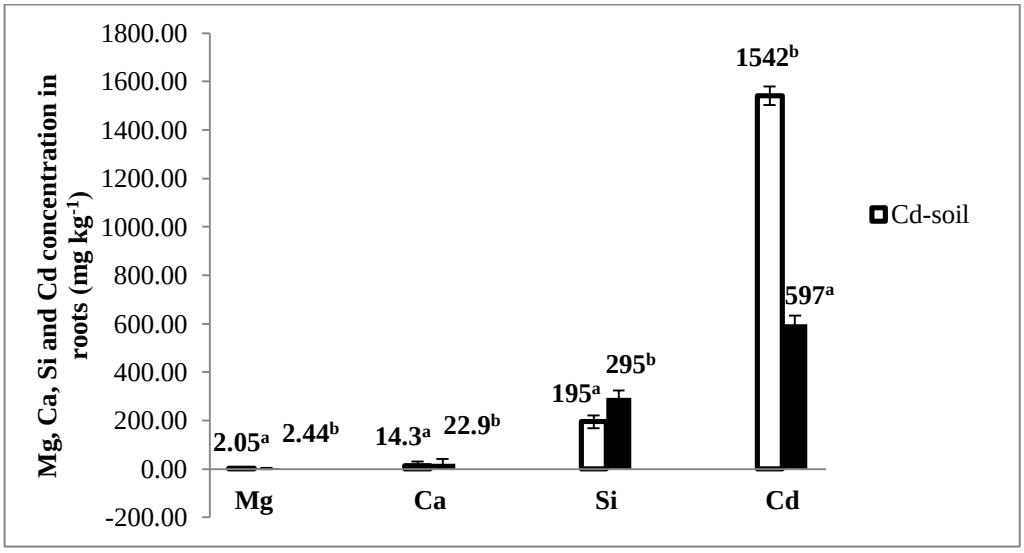
ภาพที่ 4.9 ปริมาณซิลิกอนในราก (ก) ลำต้น (ข)เมื่อปลูกข้าวในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมภายใต้เงื่อนไขการทดลองต่างๆ หลังเก็บเกี่ยว 90 วัน

ผลของ *Pseudomonas aeruginosa* ต่อการสะสม Mg, Cd, Si และ Cd ในต้นข้าว

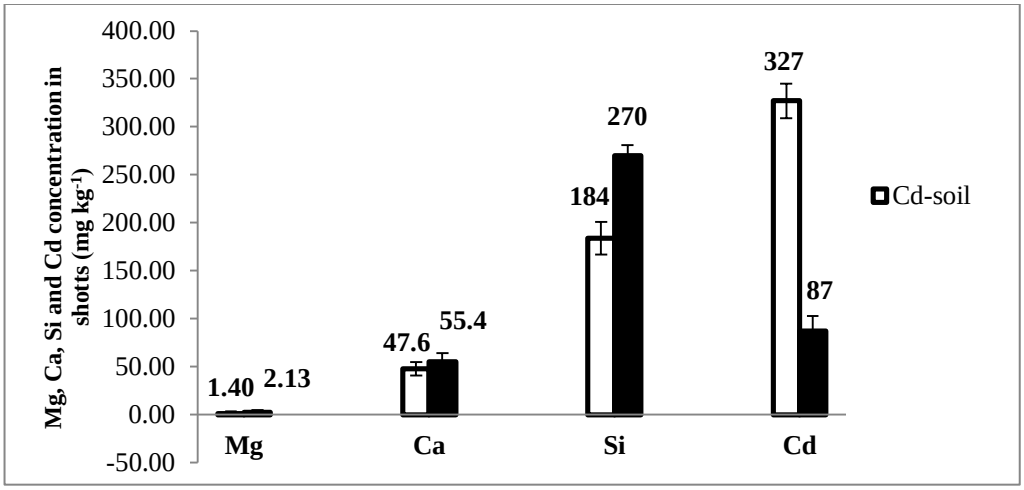
ภาพที่ 4.10 แสดงปริมาณการสะสมแมกนีเซียม แคลเซียม ซิลิกอน และแคดเมียมใน ราก ลำต้น เปลือก และเมล็ดในข้าวที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมที่เติมเชื้อ *Pseudomonas*

aeruginosa และในดินที่ปราศจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า การปลูกข้าวที่ปนเปื้อนแคดเมียมและการใส่เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* มีการสะสมของธาตุอาหาร เช่น แมกนีเซียม แคลเซียม และซิลิกอนปริมาณสูงกว่าการปลูกข้าวในดินปนเปื้อนแคดเมียม (Cd - soil) ปราศจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) จำแนกโดย Duncan multiple range test ขณะที่การสะสมของแคดเมียมเมื่อเติมเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในราก ลำต้น เปลือกและเมล็ด น้อยกว่าการปลูกข้าวที่ปราศจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์ (Cd - soil)

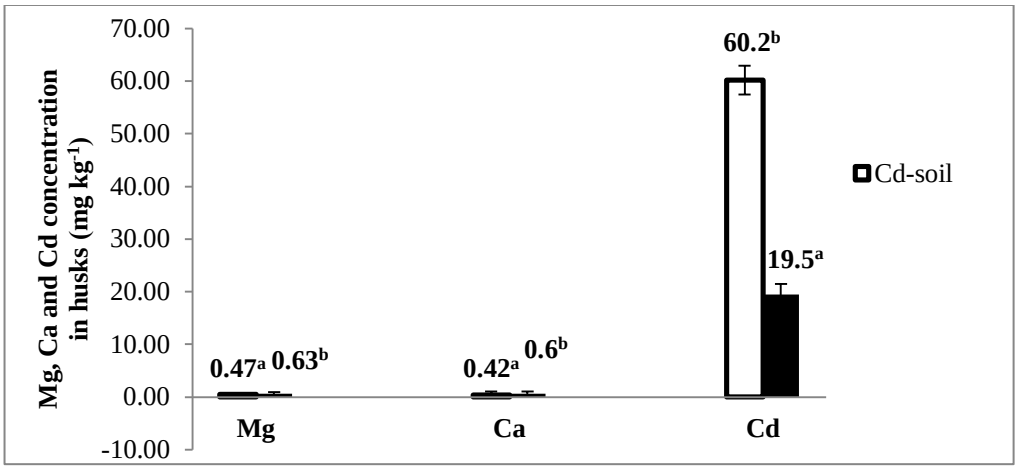
Pseudomonas aeruginosa เป็นจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting rhizobacteria ,PGPR) ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดี (symbiotic N2 fixation) และเป็นจุลินทรีย์ที่ละลายฟอสเฟตเพื่อนำมาใช้ประเยชน์การการเจริญเติบโตของพืชได้ดี



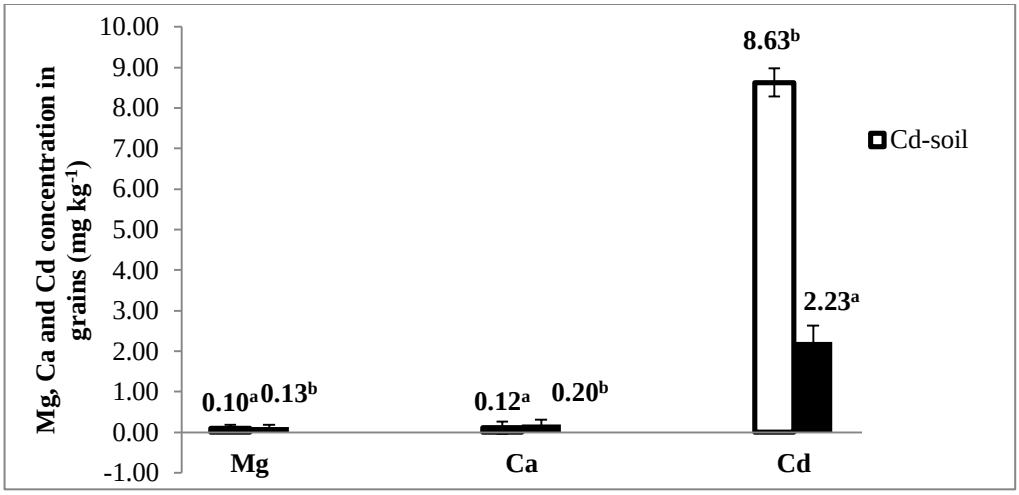
ก) ราก



ข) ลำต้น



ค) เปลือก



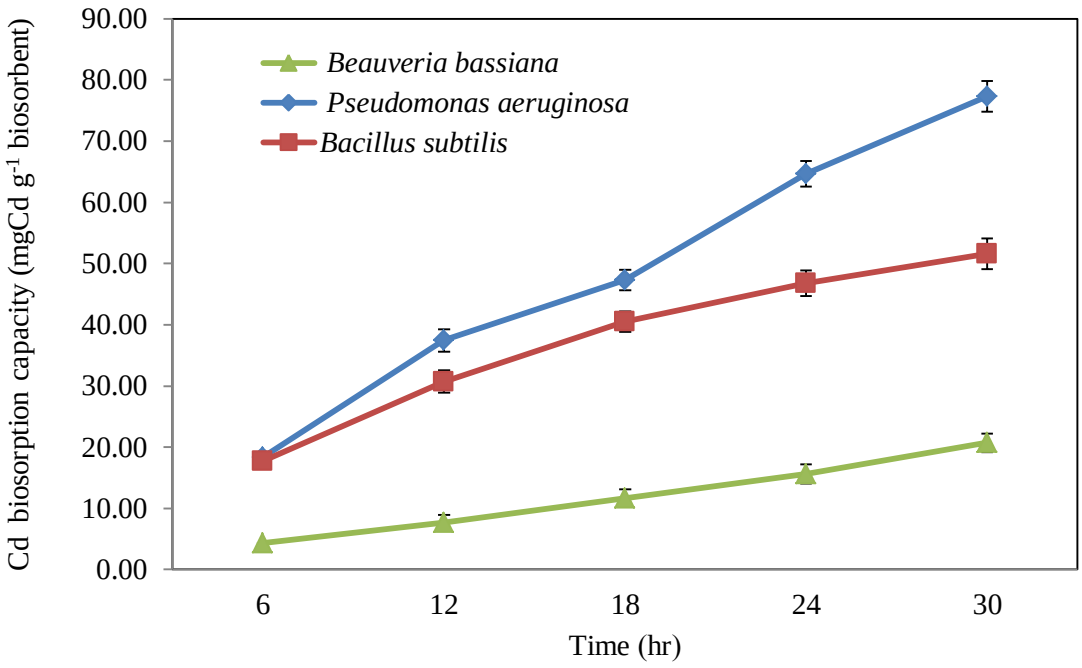
ง) เมล็ด

ภาพที่ 4.10 แสดงปริมาณการสะสมแมกนีเซียม แคลเซียม ซิลิกอน และแคดเมียมใน ราก (ก) ลำต้น (ข) เปลือก (ค) และเมล็ดข้าว (ง) ที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแคดเมียมที่เติมเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และในดินที่ปราศจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์หลังเก็บเกี่ยว 90 วัน

การดูดซับสารละลายแคดเมียมด้วยจุลินทรีย์

1) ผลของเวลาในการดูดซับแคดเมียมโดยจุลินทรีย์

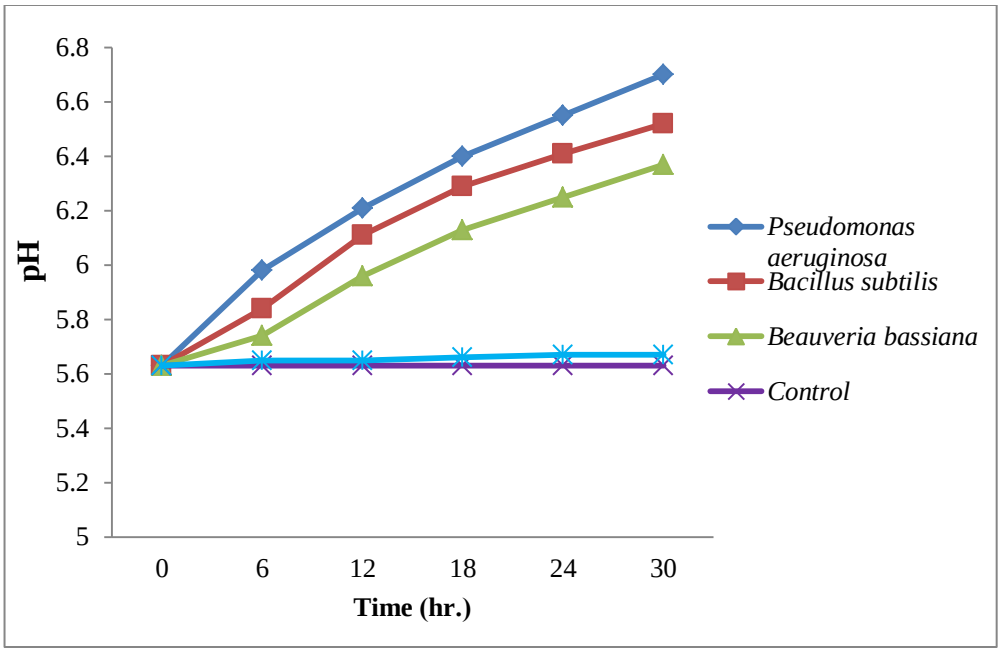
ผลการทดลองระยะเวลาการดูดซับแคดเมียมด้วยจุลินทรีย์ (สารละลายแคดเมียมเริ่ม 141 mg/l) แสดงดังภาพที่ 4.11 ผลการทดลองพบว่าปริมาณการดูดซับเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น และ *Pseudomonas aeruginosa* ดูดซับแคดเมียมได้ 77 mg Cd/g ในระยะเวลา 30 ชั่วโมง ส่วน *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana* ดูดซับได้ 52 และ15.55 mg Cd/g ตามลำดับ แสดงว่า *Pseudomonas aeruginosa* มีศักยภาพในการดูดซับสารละลายแคดเมียมได้สูงกว่า *Bacillus subtilis* และ *Beauveria bassiana*



ภาพที่ 4.11 ผลของระยะเวลาในการดูดซับแคดเมียมด้วยเชื้อจุลินทรีย์

2) ผลของพีเอชต่อการดูดซับแคดเมียมด้วยเชื้อจุลินทรีย์

พีเอชเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญต่อการดูดซับของโลหะหนัก (Kapoor et al., 1999). ซึ่งผลของพีเอชต่อการดูดซับแคดเมียมด้วยจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, and *Beauveria bassiana* แสดงดังภาพที่ 4.12 ผลการทดลองพบว่าเมื่อระยะเวลาการดูดซับเพิ่มขึ้น พีเอชจะเพิ่มสูงขึ้น โดยพีเอชสูงสุดที่ 6.7 เมื่อระยะเวลาดูดซับ 30 ชั่วโมง เมื่อใช้ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นตัวดูดซับ จากผลการทดลองแสดงว่าพีเอชเพิ่มขึ้น จะทำให้การดูดซับสารละลายแคดเมียมเพิ่มขึ้นด้วย จึงเป็นไปได้ว่าเมื่อพีเอชสูงขึ้นจะทำให้การเคลื่อนย้ายแคดเมียมเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์ง่ายกว่า



ภาพที่ 4.12 ผลของพีเอชต่อการดูดซับแคดเมียมด้วยจุลินทรีย์