การประเมินความเป็นพิษของพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนร่วมกันในดินต่อการเจริญในระยะต้นกล้าของพืชเศรษฐกิจวงศ์ถั่ว
Phytotoxicity Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Co-Contamination in Soil during Economic Legume Seedling Growth

ขนิษฐา สมตระกูล[1]* ดวงอนงค์ ผลาผล[2] และวราภรณ์ ฉุยฉาย[3]

[1]อาจารย์ [2]นักศึกษา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44150
[3]อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์ 60000

บทคัดย่อ

การศึกษาความเป็นพิษร่วมกันของพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) ที่พบบ่อย 4 ชนิด คือ แอนทราซีน ฟลูออรีน ฟลูออแรนทีน และฟีแนนทรีนที่ปนเปื้อนในดินต่อการเจริญระยะต้นกล้าของพืชเศรษฐกิจวงศ์ถั่ว 3 ชนิด คือ ถั่วพุ่ม ถั่วเขียว และถั่วฝักยาว ผลพบว่า การเจริญเติบโตของถั่วเขียวมีความไวต่อการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชมากกว่าถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว การปนเปื้อนร่วมกันระหว่างฟลูออรีน ฟีแนนทรีน ฟลูออแรนทีน และแอนทราซีนทั้งสี่ชนิด ยังแสดงความเป็นพิษต่อพืชวงศ์ถั่วมากกว่าการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชแต่ละคู่ ส่วนความยาวยอดและน้ำหนักสดของต้นกล้ามีความไวต่อการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดมากกว่าความยาวราก ในส่วนน้ำหนักแห้งของต้นกล้ายังมีความไวต่อการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชทุกแบบในลักษณะที่เกิดนี้น้อยที่สุด

Abstract

This research studied combined toxicities of 4 generally found Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) - anthracene, fluorene, fluoranthene, and phenanthrene – during growth of 3 legume seedlings - cow pea, mungbean, and longbean - planted in varied combination of PAH contaminant in soil. Results showed that mungbean growth was more sensitive to PAH co-contaminated soil than cow pea and longbean. Co-contamination of all 4 PAHs was more toxic to legume than each pair of PAHs. Shoot length and fresh weight of legume seedling were more sensitive to co-contamination of all 4 PAHs than root length. Dry weight of legume seedling was the least sensitive to co-contamination of all PAHs.

คำสำคัญ : แอนทราซีน ฟลูออรีน ฟลูออแรนทีน ฟีแนนทรีน
Keywords : Anthracene; Fluorene; Fluoranthene; Phenanthrene

* *ผู้นิพนธ์ประสานงานไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ skhanitta@hotmail.com โทร. 08 0755 7771*

1. บทนำ

พอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช; PAHs) เป็นสารมลพิษอินทรีย์ที่แพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ และกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การใช้เชื้อเพลิงจากถ่านหิน อุตสาหกรรมปิโตรเคมี รั่วไหลจากการขุดเจาะน้ำมัน และอุบัติเหตุจากเรืออับปาง การปนเปื้อนของพีเอเอชพบกันทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยด้วย โดยเฉพาะมักพบในแหล่งอุตสาหกรรมรวมทั้งบริเวณที่มีการทำเกษตรกรรม (Hao et al., 2007)

การปนเปื้อนของพีเอเอชในดินย่อมส่งผลกระทบต่อพืชหลายลักษณะ เช่น รบกวนการเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์และทำให้สมดุลของไอออนในเซลล์เสียไป ทำลายคลอโรฟิลล์ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งอิเล็กตรอน และทำให้พืชเกิดสีเหลือง (วราภรณ์, 2554) เช่น การปนเปื้อนของฟลูออแรนทีนในดินสามารถลดน้ำหนักสดของข้าวฟ่างและผักบุ้ง นอกจากนี้การปนเปื้อนของฟีแนนทรีนยังลดความยาวยอดของข้าวฟ่างและผักบุ้ง (ขนิษฐา และคณะ, 2554a) การได้รับแอนทราซีนผ่านทางใบและการปนเปื้อนในดินยังมีผลทำให้ชีวมวลของรากผักกาดหอมและผักกาดหัวลดลงตามลำดับ (Wieczorek and Wieczorek, 2007)

รายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษของพีเอเอชแต่ละชนิดต่อพืชมีเป็นจำนวนมาก แต่การศึกษาความเป็นพิษของพีเอเอชที่ปนเปื้อนร่วมกันในดินต่อพืชยังมีน้อย ทั้งที่ความเป็นพิษของพีเอเอชที่ปนเปื้อนร่วมกันอาจจะมีความเป็นพิษต่างไปจากพีเอเอชชนิดเดียวได้ เช่น สาหร่ายทะเลชนิด *Phaeodactylum tricornutum* จะไวต่อการปนเปื้อนร่วมกันระหว่างฟลูโอแรนทีนกับไพรีนในน้ำมากกว่าการปนเปื้อนเพียงชนิดเดียว (Wang et al., 2008) การศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาเปรียบเทียบความเป็นพิษของพีเอเอชที่ปนเปื้อนร่วมกันจำนวนสองชนิด ได้แก่ ฟลูออรีนและฟีแนนทรีน แอนทราซีนและฟลูออแรนทีน ฟลูออรีนและแอนทราซีน ฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีน เป็นต้น และครอบคลุมรวมถึงลักษณะการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชทั้งสี่ชนิดต่อการเจริญในระยะต้นกล้าของพืชวงศ์ถั่ว ได้แก่ ถั่วพุ่ม (*Vigna. sinensis*) ถั่วเขียว (*V. radiata*) และถั่วฝักยาว (*V. sesquipedalis*) โดยพีเอเอชที่ต้องการทดสอบเป็นสารที่ต้องกำจัดออกไปจากสิ่งแวดล้อมอย่างเร่งด่วนตามรายการของ US. EPA. (Hao et al., 2007) นอกจากนี้ผลลัพธ์และข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการวางแผนการฟื้นฟูดินในบริเวณที่มีการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชต่อไป

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเตรียมดิน

เก็บดินที่ไม่มีประวัติการปนเปื้อนด้วยพีเอเอชมาจากพื้นที่ในวัดป่ากู่แก้ว ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม และนำดินมาผึ่งให้แห้ง แล้วร่อนด้วยตะแกรงที่มีขนาดรูพรุน 2 มิลลิเมตร ทำการวิเคราะห์ปริมาณพีเอเอชที่ตกค้างอยู่ในดินด้วย GC-MS เพื่อยืนยันถึงการไม่ปนเปื้อนด้วยพีเอเอชมาก่อน นอกจากนี้ ยังทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของดิน ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาขอนแก่น โดยดินที่ใช้มีร้อยละขนาดอนุภาคทราย (% sand) ขนาดอนุภาคทรายแป้ง (% silt) และขนาดอนุภาคดินเหนียว (% clay) เท่ากับ 10.23,

15.33 และ 74.44 ตามลำดับ ส่วนคุณสมบัติอื่น ๆ ของดิน ได้แก่ pH 8.11 ความนำไฟฟ้า 109.5 μs/cm ปริมาณอินทรียวัตถุร้อยละ 2.40 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 0.29 ปริมาณฟอสฟอรัสที่พืชนำไปใช้ได้ 58.38 mg/kg

จากนั้นทำการละลายแอนทราซีน (ความบริสุทธิ์ 98% บริษัท Fluka ประเทศสหรัฐอเมริกา) ฟีแนนทรีน (ความบริสุทธิ์ร้อยละ 98 บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี) ฟลูออรีน (ความบริสุทธิ์ร้อยละ 98 บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี) หรือฟลูออแรนทีน (ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99 บริษัท Fluka ประเทศสหรัฐอเมริกา) ในอะซีโตนแล้วเติมลงดินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารผสมระหว่างฟลูออรีนและฟีแนนทรีน แอนทราซีนและฟลูออแรนทรีน ฟลูออรีนและแอนทราซีน ฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทรีนในอัตราส่วน 1:1 เป็น 0, 2, 20, 200 และ 400 mg/kg ส่วนดินที่ปนเปื้อนด้วยพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนทั้งสี่ชนิดก็ปฏิบัติเช่นเดียวกัน โดยให้มีอัตราส่วนของพีเอเอชทั้งสี่ชนิดเป็น 1:1:1:1 และความเข้มข้นรวมสุดท้ายในดินเป็น 0, 2, 20, 200 และ 400 mg/kg ตามลำดับ ทำการผึ่งดินที่ผสมแล้วในตู้ควันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยไป หลังจากนั้นแบ่งดินในจำนวน 50 กรัมใส่ลงไปภายในภาชนะพลาสติกที่มีความจุ 120 มิลลิลิตร โดยใช้ดินที่ไม่เติมพีเอเอชชนิดใดเลยเป็นชุดควบคุม และปรับความชื้นของดินให้เป็นร้อยละ 65 ก่อนเริ่มต้นการทดลอง

2.2 การทดสอบความเป็นพิษต่อพืช

วิธีการทดสอบความเป็นพิษได้ทำการดัดแปลงมาจากวิธีของ Kirk et al. (2002) โดยแช่เมล็ดพันธุ์ถั่วพุ่ม ถั่วเขียว และถั่วฝักยาว (บริษัทเจียไต๋ ประเทศไทย จำกัด) ในน้ำกลั่นเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง แล้วเพาะในถาดพลาสติกที่มีดินที่ปนเปื้อนที่เตรียมไว้ในแต่ละระดับความเข้มข้น ในจำนวน 10 เมล็ด ต่อระดับความเข้มข้น (ทำสามซ้ำ) และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ได้รับแสงธรรมชาติ ทำการรดน้ำทุกวันเพื่อรักษาความชื้นในดินให้คงที่ เมื่อครบกำหนดระยะเวลา 10 วัน แล้ววัดค่าร้อยละการงอก ความยาวราก ความยาวยอด น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าทั้งต้น ชุดควบคุมก็ปฏิบัติเช่นเดียวกัน

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

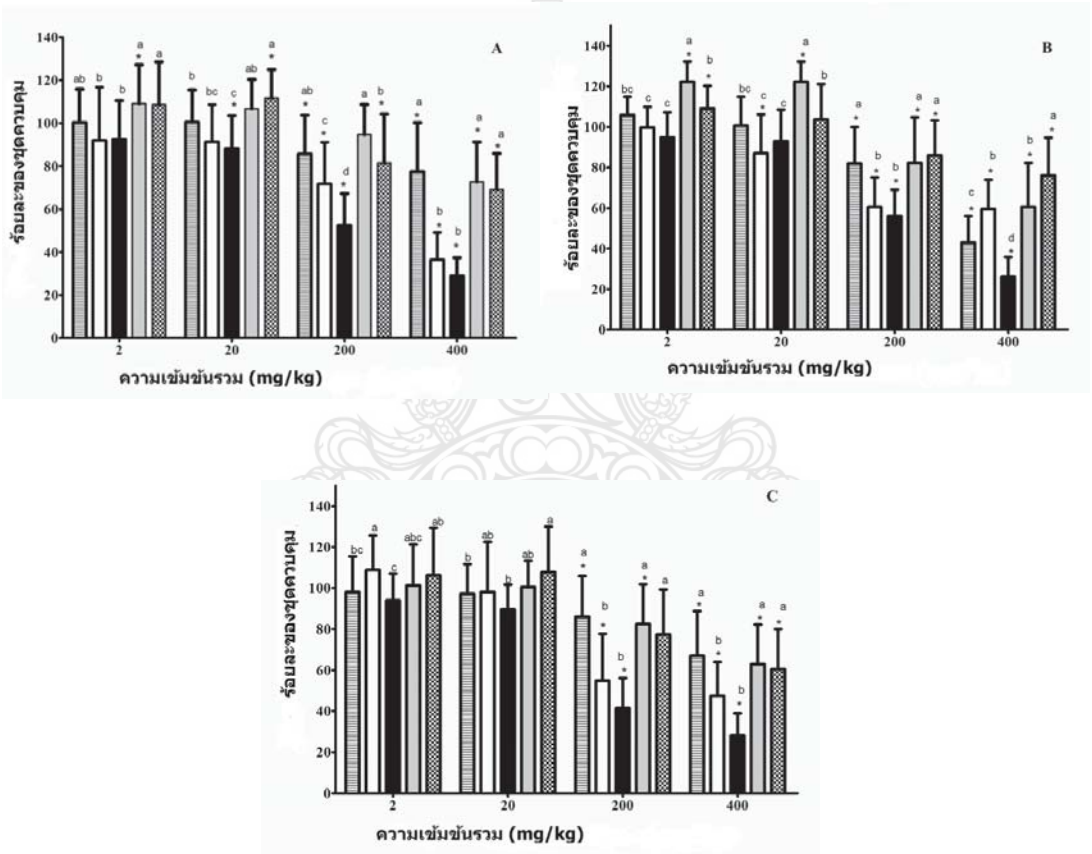
ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วย Turkey's Test ส่วนการประเมินความเข้มข้นที่ทำให้การเจริญของพืชลดลงร้อยละ 20 (EC_{20}) ได้เลือกใช้วิธี Probit Analysis และคำนวณหาค่า Additive index เพื่อประเมินผลร่วมของสารมลพิษตามวิธีการที่ระบุไว้อย่างชัดเจนของ Wang et al. (2008) และ Chen and Lu (2002)

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 ผลของพีเอเอชต่อการเจริญของถั่วพุ่ม

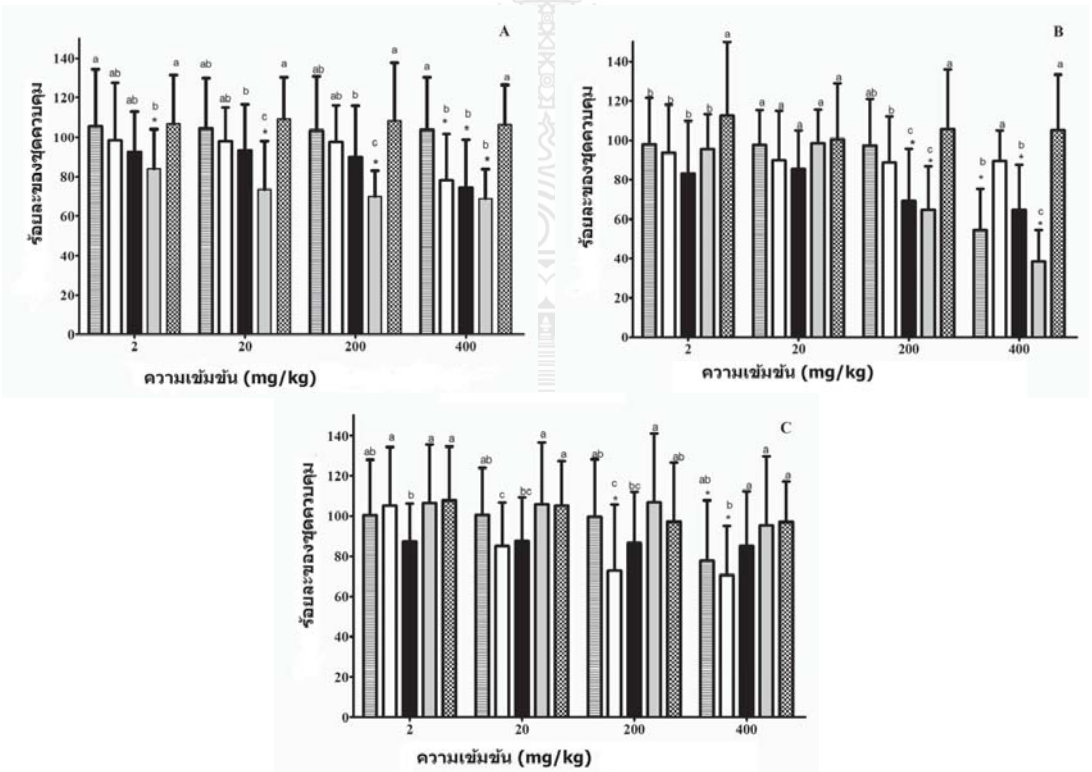
ความยาวยอดของถั่วพุ่มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีฟลูออรีนและแอนทราซีน หรือฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนปนเปื้อนร่วมกันในดินที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 20 mg/kg (รูปที่ 1) ลักษณะการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดในดินแสดงความเป็นพิษต่อถั่วพุ่มอย่างชัดเจน และพบเห็นอยู่มากกว่าการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสองชนิด

โดยที่ระดับความเข้มข้นรวมของพีเอเอชตั้งแต่ 20 mg/kg ขึ้นไปส่งผลทำให้ความยาวยอดของถั่วพุ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนคู่ของพีเอเอชที่แสดงความเป็นพิษต่อความยาวยอดของถั่วพุ่มรองลงมาจากพีเอเอชทั้งสี่ชนิด ได้แก่ การปนเปื้อนร่วมกันระหว่างแอนทราซีนและฟลูออแรนทีนซึ่งส่งผลทำให้ความยาวยอดลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นรวมตั้งแต่ 200 mg/kg ขึ้นไป ส่วนคู่ของพีเอเอชอื่น ๆ จะเป็นพิษต่อถั่วพุ่มเมื่อมีการปนเปื้อนอยู่ในดินที่ความเข้มข้น 400 mg/kg และเป็นพิษในระดับต่ำกว่าการปนเปื้อนของพีเอเอชทั้งสี่ชนิดหรือคู่ของแอนทราซีนและฟลูออแรนทีนที่ความเข้มข้นเดียวกัน



รูปที่ 1 ลักษณะความยาวยอดของถั่วพุ่ม (A) ถั่วเขียว (B) และถั่วฝักยาว (C) ในระยะต้นกล้าที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนพีเอเอชเป็นเวลา 10 วัน สัญลักษณ์ : ▤ ฟลูออรีนและฟีแนนทรีน; □ แอนทราซีนและฟลูออแรนทรีน; ▨ ฟลูออรีนและแอนทราซีน; ▩ ฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีน และ ■ พีเอเอชทั้งสี่ชนิด ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างพีเอเอชผสมแต่ละแบบที่ระดับความเข้มข้นรวมเดียวกัน ส่วน * หมายถึง พีเอเอชผสมแต่ละความเข้มรวมมีความแตกต่างจากดินที่ไม่ปนเปื้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ลักษณะความเป็นพิษของพีเอเอชต่อความยาวรากของถั่วพุ่มแตกต่างออกไปจากความเป็นพิษต่อความยาวยอด โดยคู่ของสารที่ทำให้ความยาวรากของถั่วพุ่มลดลงมากที่สุด ได้แก่ ฟลูออรีนและแอนทราซีน ซึ่งลดความยาวรากของถั่วพุ่มลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ระดับความเข้มข้นรวมตั้งแต่ 2 mg/kg ขึ้นไป (รูปที่ 2) โดยความเข้มข้นที่ทำให้ความยาวรากของถั่วพุ่มลดลงร้อยละ 20 คือ 5.41 mg/kg (ตารางที่ 1) ในขณะที่การปนเปื้อนของพีเอเอชทั้ง 4 ชนิด หรือการปนเปื้อนร่วมกันของแอนทราซีนและฟลูออแรนทีนแสดงความเป็นพิษต่อความยาวรากที่ความเข้มข้นรวมเป็น 400 mg/kg ซึ่งทำให้ความยาวรากลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่คู่ของฟลูออรีนและฟีแนนทรีนหรือฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนไม่แสดงความเป็นพิษต่อถั่วพุ่ม (รูปที่ 2) นอกจากผลของฟลูออรีนและแอนทราซีนแล้ว การปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชชนิดอื่น ๆ หรือการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดยังมีผลทำให้ความยาวรากของถั่วพุ่มลดลงร้อยละ 20 เมื่อมีระดับความเข้มข้นรวมของสารในดินมากกว่า 400 mg/kg (ตารางที่ 1)



รูปที่ 2 ลักษณะความยาวรากของถั่วพุ่ม (A) ถั่วเขียว (B) และถั่วฝักยาว (C) ในระยะต้นกล้าที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนพีเอเอชเป็นเวลา 10 วัน สัญลักษณ์ : ▤ ฟลูออรีนและฟีแนนทรีน; □ แอนทราซีนและฟลูออแรนทรีน; ▒ ฟลูออรีนและแอนทราซีน; ▩ ฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีน และ ■ พีเอเอชทั้งสี่ชนิด ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างพีเอเอชผสมแต่ละแบบที่ระดับความเข้มข้นรวมเดียวกัน ส่วน * หมายถึง พีเอเอชผสมแต่ละความเข้มรวมมีความแตกต่างจากดินที่ไม่ปนเปื้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 1 ค่าความเข้มข้นของพีเอเอช (mg/kg) ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชร้อยละ 20 (EC_{20}) และค่า Additive Index (AI) ของต้นกล้าถั่วพุ่ม ถั่วเขียว และถั่วฝักยาวที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนพีเอเอชชนิดต่าง ๆ ร่วมกัน

ชนิดของพีเอเอช	ถั่วพุ่ม				ถั่วเขียว				ถั่วฝักยาว			
	ความยาวราก	AI	น้ำหนักสด	AI	ความยาวราก	AI	น้ำหนักสด	AI	ความยาวราก	AI	น้ำหนักสด	AI
ฟลูออรีน+ฟีแนนทรีน	>400	-	>400	-	201.9	-	360.8	-	>400	-	355.6	-
ฟลูออแรนทีน + แอนทราซีน	>400	-	>400	-	>400	-	>400	-	350.8	-	165.8	-
ฟลูออรีน+แอนทราซีน	5.41	-	233.8	-	56.9	-	>400	-	>400	-	292.8	-
ฟลูออแรนทีน + ฟีแนนทรีน	>400	-	>400	-	>400	-	>400	-	>400	-	>400	-
4 พีเอเอช	>400	-	58.4	-	16.0	-	33.3	-	>400	-	12.31	-
(ฟลูออรีน+ ฟีแนนทรีน) + (ฟลูออแรนทีน + แอนทราซีน)		1		0.15		0.06		0.08		1.07		0.05
(ฟลูออแรนทีน+แอนทราซีน) + (ฟลูออแรนทีน + ฟีแนนทรีน)		3.75		0.2		0.16		0.09				0.04

สำหรับลักษณะความเป็นพิษร่วมกันของพีเอเอช 4 ชนิด พบว่า มีการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน เพราะการปรากฏของพีเอเอช 4 ชนิด แสดงความเป็นพิษต่อการเจริญเติบโตมากกว่าการปนเปื้อนพีเอเอช 2 ชนิด โดยเฉพาะเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างการปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออรีนและแอนทราซีนกับการปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออแรนทรีนและฟีแนนทรีน ต่อความยาวรากของถั่วพุ่ม (ตารางที่ 1)

การปนเปื้อนของพีเอเอชแต่ละคู่และการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดมีผลทำให้น้ำหนักสดของถั่วพุ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นรวม 400 mg/kg (รูปที่ 3) การปนเปื้อนของพีเอเอชสี่ชนิดยังแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักสดมากที่สุดและรองลงมาคือ การปนเปื้อนร่วมกันระหว่างฟลูออรีนและแอนทราซีน โดยระดับความเข้มข้นรวมของพีเอเอช 4 ชนิด และฟลูออรีนและแอนทราซีนที่ทำให้น้ำหนักสดลดลงร้อยละ 20 คือ 58.4 และ 233.8 mg/kg ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนความเป็นพิษร่วมกันของพีเอเอช 4 ชนิด พบว่า มีการเสริมฤทธิ์ กล่าวคือ ถ้าพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างการปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออรีนและฟีแนนทรีนกับคู่ของฟลูออแรนทีนและแอนทราซีน หรือการปนเปื้อนของฟลูออรีนและแอนราซีนร่วมกันกับคู่ของฟลูออแรนทีนและฟีแนนทรีน (ตารางที่ 1)

น้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มมีความไวต่อการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอช 4 ชนิดมากที่สุดเช่นกัน โดยที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 20 mg/kg มีผลทำให้น้ำหนักแห้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่การปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชคู่อื่น ๆ ที่ระดับความเข้มข้นรวมเดียวกันนี้กลับไม่ทำให้น้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มลดลง การปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออรีนและฟีแนนทรีน หรือฟลูออรีนและแอนทราซีนมีส่วนทำให้น้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นรวมเป็น 200 mg/kg ขึ้นไป และการปนเปื้อนร่วมกันของฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนเป็นพิษต่อน้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มต่ำที่สุดโดยความเข้มข้นรวมต้องสูงถึง 400 mg/kg จึงจะส่งผลทำให้น้ำหนักแห้งของถั่วพุ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3.2 ผลของพีเอเอชต่อการเจริญของถั่วเขียว

การปนเปื้อนของฟลูออรีนและแอนทราซีนหรือฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนที่ระดับความเข้มข้น 2 mg/kg สามารถกระตุ้นความยาวยอดของถั่วเขียวเช่นกัน นอกจากนี้ การปนเปื้อนของพีเอเอช 4 ชนิดและการปนเปื้อนร่วมกันของแอนทราซีนและฟลูออแรนทีนมีแนวโน้มเป็นพิษต่อความยาวยอดของถั่วเขียวอย่างชัดเจนตั้งแต่ความเข้มข้น 20 mg/kg ขึ้นไป โดยชัดเจนมากขึ้นที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 mg/kg ตามลำดับ ส่วนการปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออรีนและฟีแนนทรีน ฟลูออรีนและแอนทราซีน หรือ ฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนเริ่มส่งผลเป็นพิษต่อความยาวยอดของถั่วเขียวเมื่อระดับความเข้มข้นมากกว่า 200 mg/kg ขึ้นไป (รูปที่ 1)

ลักษณะการปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออรีนและแอนทราซีน หรือการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชทั้งสี่ชนิดแสดงความเป็นพิษต่อความยาวรากของถั่วเขียวเมื่อความเข้มข้นรวมตั้งแต่ 200 mg/kg ขึ้นไป ในขณะที่ฟลูออรีนและฟีแนนทรีนจะส่งผลเป็นพิษต่อความยาวรากของถั่วเขียวเมื่อระดับความเข้มข้นเท่ากับ 400 mg/kg (รูปที่ 2)

จากตารางที่ 1 พบว่า การปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดยังแสดงความเป็นพิษต่อถั่วเขียวมากที่สุดโดยความเข้มข้นเพียง 16 mg/kg ทำให้ความยาวรากของถั่วเขียวลดลงร้อยละ 20 ในขณะที่การปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออรีนและแอนทราซีนเป็นพิษรองลงมาโดยที่ระดับความเข้มข้น 56.9 mg/kg ทำให้ความยาวรากลดลงร้อยละ 20 ส่วนคู่ของฟลูออแรนทีนและแอนทราซีน หรือฟลูออแรนทีนและฟีแนนทรีนมีผลเป็นพิษต่อความยาวรากของถั่วเขียวเกิดขึ้นต่ำที่สุด โดยระดับความเข้มข้นที่ทำให้ความยาวรากของถั่วเขียวลดลงร้อยละ 20 ต้องมีค่าสูงมากกว่า 400 mg/kg ขึ้นไป

การปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดยังแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักสดของถั่วเขียวเกิดได้มากที่สุด โดยส่งผลทำให้น้ำหนักสดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 2 mg/kg และความเป็นพิษเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นรวมที่เพิ่มขึ้น ส่วนคู่อื่น ๆ ของพีเอเอชไม่เป็นพิษต่อน้ำหนักสดของถั่วเขียว ยกเว้นคู่ของฟลูออรีนและฟีแนนทรีนซึ่งทำให้น้ำหนักสดของถั่วเขียวลดลงที่ความเข้มข้นรวมสูงสุดเท่านั้น (รูปที่ 3) ส่วนน้ำหนักสดของถั่วเขียวลดลงร้อยละ 20 เมื่อมีการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดที่ระดับความเข้มข้นรวมเพียง 33.3 mg/kg หรือเมื่อมีการปนเปื้อนของฟลูออรีนและฟีแนนทรีนในระดับความเข้มข้น 360.8 mg/kg ในขณะที่คู่ของพีเอเอชอื่น ๆ ต้องมีระดับความเข้มข้นรวมอยู่สูงมากกว่า 400 mg/kg จึงจะส่งผลทำให้น้ำหนักสดของถั่วเขียวลดลงร้อยละ 20 (ตารางที่ 1)

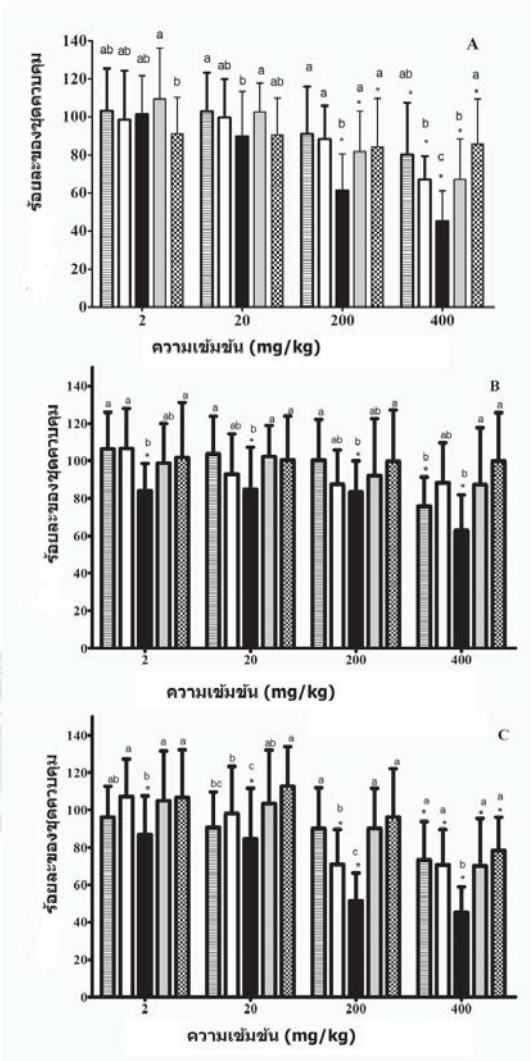
ในกรณีการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอช 4 ชนิด ยังพบว่า มีการเสริมฤทธิ์เกิดขึ้นอีกด้วย กล่าวคือ ถ้าพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างการปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออรีนและแอนทราซีนกับการปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออแรนทรีนและฟีแนนทรีนหรือในทางกลับกันต่อทั้งน้ำหนักสดและความยาวรากต่อถั่วเขียว (ตารางที่ 1)

การปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดและการปนเปื้อนร่วมกันของแอนทราซีนและฟลูออแรนทีน หรือฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนจะแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเขียวในระดับเดียวกัน โดยที่ระดับความเข้มข้น 200 mg/kg สามารถส่งผลทำให้น้ำหนักแห้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่การปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชคู่อื่น ๆ มีผลทำให้น้ำหนักแห้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อระดับความเข้มข้นสูงถึง 400 mg/kg

3.3 ผลของพีเอเอชต่อการเจริญของถั่วฝักยาว

การปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชทั้งสี่ชนิดและคู่ของแอนทราซีนและฟลูออแรนทีนแสดงความเป็นพิษต่อความยาวยอดของถั่วฝักยาวเกิดมากที่สุด โดยพบความเป็นพิษชัดเจนที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 mg/kg ส่วนคู่ของฟลูออรีนและฟีแนนทรีน หรือฟลูออรีนและแอนทราซีนจะแสดงความเป็นพิษต่อถั่วฝักยาวที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน แต่มีระดับของความเป็นพิษที่เกิดขึ้นต่ำกว่าคู่ของแอนทราซีนและฟลูออแรนทีน หรือการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชทั้งสี่ชนิด คู่ของฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนมีความเป็นพิษต่อความยาวยอดของถั่วฝักยาวเกิดขึ้นต่ำที่สุด เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดลองเท่านั้นจึงจะมีผลทำให้ความยาวยอดของถั่วฝักยาวลดลง (รูปที่ 1)

นอกจากนี้ ความยาวรากของถั่วฝักยาวลดลงอย่างชัดเจนเมื่อปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีนและฟลูออแรนทีนที่ระดับความเข้มข้นรวม 200 mg/kg ขึ้นไป คู่ของพีเอเอชอีกคู่หนึ่งที่แสดงความเป็นพิษต่อความยาวรากของถั่วฝักยาว คือ



รูปที่ 3 น้ำหนักสดของถั่วพุ่ม (A) ถั่วเขียว (B) และถั่วฝักยาว (C) ในระยะต้นกล้าที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนพีเอเอชเป็นเวลา 10 วัน สัญลักษณ์ : ▤ ฟลูออรีนและฟีแนนทรีน; □ แอนทราซีนและฟลูออแรนทรีน; ▨ ฟลูออรีนและแอนทราซีน; ▩ ฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีน และ ■ พีเอเอชทั้งสี่ชนิด ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างพีเอเอชผสมแต่ละแบบที่ระดับความเข้มข้นรวมเดียวกัน ส่วน * หมายถึง พีเอเอชผสมแต่ละความเข้มรวมมีความแตกต่างจากดินที่ไม่ปนเปื้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ฟลูออรีนและฟีแนนทรีน โดยเป็นพิษชัดเจนที่ระดับความเข้มข้นรวม 400 mg/kg ส่วนคู่ของพีเอเอชอื่น ๆ รวมทั้งการปนเปื้อนของพีเอเอชสี่ชนิดไม่เป็นพิษต่อความยาวรากของถั่วฝักยาว (รูปที่ 2) จากรายละเอียดที่พบในตารางที่ 1 คู่ของฟลูออแรนทีนและแอนทราซีนเป็นพิษต่อความยาวรากเกิดขึ้นมากที่สุด โดยที่ระดับความเข้มข้น 350.8 mg/kg ส่งผลทำให้ความยาวรากลดลงร้อยละ 20 และพบการหักล้างฤทธิ์กันเมื่อมีการปนเปื้อนของพีเอเอช 4 ชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับคู่ของการปนเปื้อนพีเอเอชสองชนิดในดิน (ตารางที่ 1)

การปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักสดของถั่วฝักยาวเกิดขึ้นมากที่สุด ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2-400 mg/kg โดยทำให้น้ำหนักสดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คู่ของแอนทราซีนและฟลูออแรนทีนมีความเป็นพิษเกิดขึ้นรองลงมา โดยที่ระดับความเข้มข้นรวม 200 mg/kg ส่งผลให้น้ำหนักสดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่คู่ของพีเอเอชอื่น ๆ ทำให้น้ำหนักสดของถั่วฝักยาวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อระดับความเข้มข้นรวมสูงถึง 400 mg/kg (รูปที่ 3) น้ำหนักสดของถั่วฝักยาวยังมีความไวต่อความเป็นพิษของพีเอเอชทุกคู่ โดยลักษณะการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดได้ทำให้น้ำหนักสดลดลงร้อยละ 20 เมื่อมีระดับความเข้มข้นรวมเพียง 12.31 mg/kg เท่านั้น ส่วนคู่ของฟลูออแรนทีนและแอนทราซีน ฟลูออรีนและแอนทราซีน หรือฟลูออรีนและฟีแนนทรีนส่งผลให้น้ำหนักสดลดลงร้อยละ 20 เมื่อระดับความเข้มข้นรวมเป็น 165.8, 292.8 และ 355.6 mg/kg ตามลำดับ นอกจากนี้ ในกรณีการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอช 4 ชนิด พบว่า มีการเสริมฤทธิ์ ถ้าพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างการปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออรีนและแอนทราซีนกับการปนเปื้อนร่วมกันของฟลูออแรนทีนและฟีแนนทรีนหรือในทางกลับกันต่อน้ำหนักสดของถั่วฝักยาว (ตารางที่ 1)

น้ำหนักแห้งของถั่วฝักยาวมีความไวต่อการปนเปื้อนของฟีแนนทรีนและฟลูออแรนทีนเกิดขึ้นมากที่สุดโดยที่ระดับความเข้มข้น 200 mg/kg ทำให้น้ำหนักแห้งของถั่วฝักยาวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่คู่ของพีเอเอชอื่น ๆ และการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดเป็นพิษต่อน้ำหนักแห้งต่ำกว่า โดยที่ระดับความเข้มข้นต้องสูงถึง 400 mg/kg จึงจะสามารถทำให้น้ำหนักแห้งของถั่วฝักยาวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การปนเปื้อนร่วมกันระหว่างฟลูออรีนและแอนทราซีนมีแนวโน้มเป็นพิษต่อพืชวงศ์ถั่วที่เลือกมาทดสอบสูงที่สุด ส่วนคู่ของฟลูออรีนและฟีแนนทรีน และคู่ของฟลูออแรนทีนและแอนทราซีนมีความเป็นพิษในระดับปานกลาง ส่วนคู่ของพีเอเอชที่ความเป็นพิษเกิดขึ้นต่ำที่สุดต่อพืชวงศ์ถั่ว คือ ฟลูออแรนทีนและฟีแนนทรีน ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับการตอบสนองของฟักทองซึ่งเป็นพืชวงศ์แตง พบว่า คู่ของแอนทราซีนกับฟลูออแรนทีนเป็นพิษต่อความยาวยอด ความยาวรากและน้ำหนักสดของต้นกล้าฟักทองมากที่สุด ส่วนคู่ของฟีแนนทรีนกับฟลูออรีนแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักแห้งของฟักทองมากที่สุด โดยคู่ที่แสดงความเป็นพิษมากที่สุดต่อฟักทองนี้จะแสดงความเป็นพิษมากกว่าการมีพีเอเอชทั้งสี่ชนิด ได้แก่ ฟลูออรีน ฟีแนนทรีน แอนทราซีนและฟลูออแรนทีนร่วมกัน ซึ่งแสดงว่า อาจมีการหักล้างฤทธิ์ระหว่างพีเอเอชบางตัวเกิดขึ้นได้เมื่อมีการปนเปื้อนร่วมกัน (ขนิษฐา และคณะ, 2554b) ลักษณะความแตกต่างที่พบเช่นนี้

แสดงให้เห็นว่า กลไกการออกฤทธิ์ของพีเอเอชรวมทั้งกลไกการลดพิษของพืชต่างวงศ์กันอาจจะแตกต่างกันหรือมิฉะนั้นตำแหน่งในการออกฤทธิ์ของพีเอเอชแต่ละชนิดในพืชแต่ละวงศ์มีความแตกต่างกัน จึงส่งผลทำให้ความเป็นพิษร่วมแตกต่างกันออกไปด้วย ซึ่งควรมีการศึกษาเปรียบเทียบในระดับสรีรวิทยาและระดับโมเลกุลต่อไปในโอกาสข้างหน้า

ความเป็นพิษของพีเอเอชต่อพืชจึงขึ้นอยู่กับอวัยวะเป้าหมายของพีเอเอชแต่ละชนิด รวมไปถึงความสามารถในการละลายน้ำของสารด้วย โดยสารที่ละลายน้ำได้แตกต่างกันจะถูกลำเลียงเข้าสู่พืชได้ต่างกัน ชนิดของพีเอเอชที่เลือกมาศึกษาครั้งนี้เป็นพิษต่อพืชได้แตกต่างกัน เช่น แอนทราซีนและฟลูออแรนทีนรบกวนกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง กระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน รวมไปถึงการขนส่งธาตุไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเข้าสู่เซลล์พืช (Kummerová et al., 2006) ในขณะที่ฟลูออรีนทำให้การสะสมน้ำของ *Trifolium pratense* และหญ้าไรน์ลดลง (Sverdrup et al., 2003)

สำหรับการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชสี่ชนิดแสดงความเป็นพิษต่อน้ำหนักสดของถั่วทุกชนิดมากกว่าการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชแต่ละคู่ มีเพียงถั่วเขียวเท่านั้นที่ความยาวรากลดลงด้วยเมื่อสัมผัสกับพีเอเอชทั้งสี่ชนิด โดยทั้งนี้จะพบการเสริมฤทธิ์และหักล้างฤทธิ์กันของพีเอเอชสี่ชนิดต่อพืช โดยการปนเปื้อนของฟลูออรีนและฟีแนนทรีนแล้วมีคู่ของฟลูออแรนทีนและแอนทราซีนร่วมด้วย หรือการปนเปื้อนของฟลูออแรนทีนและแอนทราซีนแล้วมีฟลูออแรนทีนและฟีแนนทรีนร่วมด้วย จะส่งผลทำให้พืชวงศ์ถั่วที่เลือกทดสอบมีน้ำหนักสดลดลงเกือบทุกชนิด โดยที่สารในกลุ่มพีเอเอชมีรายงานว่ามีความเป็นพิษต่อการสะสมน้ำในพืช การสัมผัสกับพีเอเอชที่ปนเปื้อนร่วมกันสองชนิดลดการนำน้ำเข้าสู่พืช เช่น การได้รับฟีแนนทรีนร่วมกับฟลูออแรนทีนหรือฟลูออแรนทีนร่วมกับไพรีนเมื่อเปรียบเทียบร่วมกับการได้รับฟลูออแรนทีนหรือไพรีนเพียงอย่างเดียว (Witting et al., 2003)

4. สรุป

ความเป็นพิษของการปนเปื้อนร่วมกันระหว่างฟลูออรีน ฟีแนนทรีน ฟลูออแรนทีน และแอนทราซีนต่อพืชวงศ์ถั่วเพิ่มขึ้นเมื่อมีการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชทั้งสี่ชนิด โดยส่งผลต่อน้ำหนักสดและมากกว่าความยาวราก และพบการเสริมฤทธิ์กันเมื่อมีการปนเปื้อนร่วมกันของพีเอเอชตั้งแต่สี่ชนิดขึ้นไปต่อน้ำหนักสด โดยถั่วเขียวเป็นพืชที่ไวต่อความเป็นพิษของพีเอเอชมากที่สุดทั้งที่ปนเปื้อนร่วมกันทั้งสองชนิดและสี่ชนิดด้วยกันตามลำดับ

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ปี 2554 เลขที่สัญญา 5405016/2554 และ Prof.Dr. Hung Lee, School of Environmental Science, University of Guelph ประเทศแคนาดา ที่ให้คำแนะนำและเป็นประโยชน์ต่อการวิจัยครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

ขนิษฐา สมตระกูล ดวงกมล ผลาผล จำปีไชยเมืองคูณ และวราภรณ์ ฉุยฉาย. 2554a. **ความเป็นพิษของฟลูออแรนทีนและฟีแนนทรีนที่ปนเปื้อนในดินต่อการเจริญของพืชเศรษฐกิจระยะต้นกล้า.** วารสารวิชาการและวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน 4 (1): 19-26.

ขนิษฐา สมตระกูล ดวงอนงค์ ผลาผล และวราภรณ์ ฉุยฉาย. 2554b. **การตอบสนองของต้นกล้าฟักทองต่อการปนเปื้อนร่วมกันระหว่างพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน 4 ชนิด.** การประชุมทางวิชาการนเรศวรวิจัย ครั้งที่ 7 29-30 กรกฎาคม 2554 10 หน้า.

วราภรณ์ ฉุยฉาย. 2554. **การแพร่กระจายและความเป็นพิษต่อพืชของโพลีไซคลิกอะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน.** วารสารวิชาการและวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร 5(1): 140-152.

Chen, C. and Lu, C. 2002. **An analysis of the combine effect of organic toxicants.** Science and Total Environmental. 289: 123-132.

Hao, R., Wan, H., Song, Y., Jiang, H., and Peng, S. 2007. **Polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils of the southern subtropics, China.** Pedosphere. 17: 673-680.

Kirk, J.L., Klironomos, J.N., Lee, H., and Trevors, J.T. 2002. **Phytotoxicity assay to assess plant species for phytoremediation of petroleum contaminated soil.** Bioremediation Journal. 6: 57-63.

Kummerová, M., Krulová, J., Zezulka, š., and Tříska, J., 2006. **Evaluation of fluoranthene phytotoxicities in pea plants by Hill reaction and chlorophyll fluorescence.** Chemosphere. 65: 489-496.

Sverdrup, L.E., Krogh, P.H., Nielsen, T., Kjaer, C., and Stenersen, J. 2003. **Toxicity of eight polycyclic aromatic compounds to red clover (*Trifolium pratense*), ryegrass (*Lolium parenne*), and mustard (*Sinapsis alba*).** Chemosphere. 53: 993-1003.

Wang, L., Zheng, B., and Meng, W. 2008. **Photo-induced toxicity of four polycyclic aromatic hydrocarbons, singly and in combination, to the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*.** Ecotoxicology Environmental Safety 71: 465-472.

Wieczorek, J.K. and Wieczorek, Z.J. 2007. **Phytotoxicity and accumulation of anthracene applied to the foliage and sandy substrate in lettuce and radish plants.** Ecotoxicology Environmental Safety. 66: 369-377.

Witting, R., Ballach, H., and Kuhn, A. 2003. **Exposure of the roots of *Populus nigra* L. cv.Loenen to PAHs and its effect on growth and water balance.** Environmental Science and Pollution Research. 10: 235-244.