หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

การอภิปรายผลการทดลอง

1. <u>ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับธาตุเหล็กต่อปริมาณความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ ปริมาณและรูปของธาตุเหล็กในใบของผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว</u>

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์, ปริมาณเหล็กทั้งหมด (total iron) ปริมาณเหล็กในรูปที่นำไปใช้ได้ (active iron) และปริมาณเหล็กในรูปที่เฉื่อยต่อปฏิกริยา (inactive iron, ซึ่งได้จากผลต่างระหว่าง total iron และ active iron) ในใบของผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว เมื่อความเข้มข้นของธาตุเหล็กในสารละลายธาตุอาหารลดลงจาก 5 ppm. เป็น 0.25 และ 0 ppm. พบว่าปริมาณ total iron, ปริมาณรูปของธาตุเหล็กที่เชื่อว่าเป็นรูปที่ active ต่อพืชและปริมาณคลอโรฟิลล์ ลดลงแตกต่างจากต้นปกติ (control) ซึ่งมีธาตุเหล็กในสารละลายธาตุอาหารเท่ากับ 5 ppm. อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ในพืชทั้งสองชนิด (ตารางที่ 2-5) และการลดลงที่ความเข้มข้นเหล็ก 0 ppm. ยังแตกต่างจากที่ 0.25 ppm. อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% อีกด้วย ปริมาณ total iron และปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงมากยิ่งขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อช่วงเวลาการทดลองนานขึ้นจาก 9 วัน เป็น 15 วัน ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงปริมาณ active iron ค่อนข้างคงที่ ส่วนใน control กลับพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณ active iron เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99% ตามลำดับ ยกเว้นปริมาณ total iron ที่การเปลี่ยนแปลงเมื่อระยะการทดลองเป็น 15 วัน ไม่แตกต่างจากที่ 9 วัน ในทางสถิติ

1.1 เมื่อนำปริมาณธาตุเหล็กที่ได้จากการวิเคราะห์นี้มาหาความสัมพันธ์แบบกราฟเชิงเส้นพบว่าปริมาณเหล็กในรูป total iron. และ active iron สัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งในผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว (กราฟที่ 3 - 6) ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของพืชทั้งสองชนิดเมื่อระยะเวลาการทดลอง 9 วัน และ 15 วัน พบว่าค่า r ของ active iron มีค่าใกล้ 1 มาก (ค่าอยู่ระหว่าง 0.97 - 0.99) ทำให้

มั่นใจมากยิ่งว่าธาตุเหล็กในรูปดังกล่าวตามวิธีของ Katyal และ Sharma (1980) ที่ใช้สาร เคมี 1-10, o-phenanthroline เป็นตัวสกัดนี้มีส่วนสำคัญต่อการวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Jacobson, 1945) สอดคล้องกับที่ Oserkowsky (1933) ได้รายงานผลการศึกษาในใบยาสูบและพืช ชนิดอื่น แต่ active iron นั้นหมายถึงธาตุเหล็กที่สกัดได้ด้วยกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์แมล ซึ่ง สัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณคลอโรฟิลล์เช่นกัน หรือที่มีรายงานการศึกษาในใบมันฝรั่งและมะเขือเทศ เมื่อใช้อีเทอร์ (ether saturate) ผสมกับกรดเกลือเข้มข้น 10 โมลาร์เป็นตัวสกัด (Bolle-Jones, 1955; DeKock et al, 1979) และเชื่อว่า active iron ดังกล่าวนี้จะอยู่ภายใน คลอโรพลาส์(Oserkowsky, 1933; Jacobson, 1945; Katyal & Sharma, 1980) ส่วน ค่า r ของ total iron ในพืชทั้งสองชนิดมีค่าระหว่าง 0.88 - 0.96 แสดงว่า total iron สัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณคลอโรฟิลล์เช่นกัน แต่ไม่ชัดเจนเท่าใน active iron เนื่อง จากมีปริมาณ inactive iron รวมอยู่ด้วย ซึ่งพบเช่นเดียวกับในกรณีของใบยาสูบ ข้าวโพด และแพร์ (Jacobson, 1945) แต่เมื่อพิจารณา curve ของ total iron และ active iron พบว่าไม่ขนานกัน (จาก slope ในสมการกราฟที่ 3 - 5 แต่เมื่อนำปริมาณ active iron และ total iron ที่สัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ค่าเดียวกันในตำแหน่งต่าง ๆ บน slope ของ curve ทั้งสองที่ไม่ขนานกันมาหาความสัมพันธ์กัน พบว่าปริมาณ active iron สัมพันธ์เชิงบวกแบบกราฟเชิงเส้นกับ total iron ซึ่งจะได้กล่าวต่อไปในข้อ 1.2) ยกเว้นในข้าวเมื่อระยะเวลาการทดลองเป็น 15 วัน พบว่า curve ทั้งสองขนานกัน (slope = 0.1 กราฟที่ 6) แสดงว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณธาตุเหล็กทั้งสองรูปเมื่อ เทียบกับปริมาณคลอโรฟิลล์ อาจจะเปลี่ยนแปลงปริมาณในอัตราเดียวกันหรือแตกต่างกัน กล่าว คือ ปริมาณ active iron อาจจะเพิ่มหรือลดตามอัตราเดียวกันกับปริมาณ total iron จะทำให้กราฟทั้งสองขนานกัน ถ้าอัตราการเพิ่มหรือลดของปริมาณ active iron แตกต่างกับ total iron, curve ทั้งสองก็ไม่ขนานกันสอดคล้องกับที่มีรายงานศึกษาในใบ ยาสูบ แล้วให้ผลในลักษณะเดียวกัน และให้เหตุผลว่าอาจจะเป็นผลจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น ระยะเวลาของการเก็บผล ชนิดของพืช และสภาวะอื่น ๆ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาต่อไป (Jacobson, 1945)

1.2 เมื่อนำธาตุเหล็กที่วิเคราะห์ได้ในรูป active iron มาหาความสัมพันธ์แบบกราฟเชิงเส้นกับปริมาณ total iron พบว่าปริมาณธาตุเหล็กทั้งสองสัมพันธ์เชิงบวกซึ่งกันและกัน ทั้งในผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าวไม่ว่าช่วงเวลาการทดลองเป็น 9 วัน หรือ 15 วัน (ตามสมการและค่า r ในกราฟที่ 7 - 8) แสดงว่าปริมาณ total iron มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ active iron ซึ่งผลนี้ขัดแย้งกับที่ DeKock (1979) ได้รายงานการศึกษาในมะเขือเทศว่า ไม่พบความสัมพันธ์ของปริมาณธาตุเหล็กในรูปดังกล่าว แต่กลับพบความสัมพันธ์ระหว่าง total phosphorus กับ total iron ตามสมการ active iron = 15.78 - 3.5390 P/Fe (เมื่อ r = -0.80) เขาเชื่อว่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณ total phosphorus กับ total iron นี้สามารถนำมาเป็นเครื่องชี้แนะปริมาณ active iron โดยปริมาณฟอสฟอรัสจะไปมีผลต่อเมตาโบลิซึมของ active iron และสิ่งผลกระทบกระเทือนต่อปริมาณสารประกอบอนินทรีย์อื่นอีกด้วย (Olsen, 1935; Bacon et al, 1959; Elgala et al, 1971; DeKock et al, 1974) ความแตกต่างของผลดังกล่าวนี้อาจจะขึ้นอยู่กับชนิดพืช ระยะเวลาของการเก็บผลตามที่ Jacobson (1945) ได้เสนอไว้ รวมทั้งวิธีการที่ใช้สกัด ตลอดจนปัจจัยแวดล้อมอื่น ๆ ที่ทำให้พืชเกิดอาการขาดเหลือง ซึ่งจะต้องมีการศึกษากันต่อไปอีก

นอกจากนี้ จากสมการของกราฟที่ 3 - 6 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง active iron, total iron กับปริมาณคลอโรฟิลล์ตามข้อ 1.1 นั้น พบว่า curve ของกราฟไม่ผ่านจุด origin แต่จะตัดกับแกน x (ค่า a ติดเครื่องหมายลบ) ปริมาณธาตุเหล็กที่ curve ของ active iron ตัดกับแกน x นี้ อาจจะเป็นไปได้ 2 กรณี คือ เป็นปริมาณธาตุเหล็กที่คงที่จำนวนหนึ่ง ไม่ว่าระยะเวลาของการให้ขาดเหล็กจะนานออกไปอีกอีกกรณีหนึ่งอาจจะเป็นปริมาณธาตุเหล็กที่ inactive ต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ส่วนปริมาณธาตุเหล็กที่ curve ของ total iron ตัดกับแกน x อาจจะเป็นปริมาณต่ำสุดของธาตุเหล็กที่จำเป็นต่อการคงรูปร่างของใบที่นอกเหนือไปจากที่จะต้องนำไปใช้สังเคราะห์คลอโรฟิลล์

1.3 ความเข้มข้นของธาตุเหล็กในสารละลายธาตุอาหาร มีความสำคัญต่อการที่พืชจะดูดสำเลียงไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ปริมาณวิกฤติของธาตุเหล็กในสารละลาย (critical-iron-concentration) เมื่อให้ในรูป Fe-EDTA ต้องมีความเข้มข้นเฉลี่ย

ประมาณ 5 ppm. (Jacobson, 1951) เมื่อความเข้มข้นของธาตุเหล็กที่ให้ต่ำกว่าปกติ จนถึงสภาวะขาดเหล็ก (0 ppm.Fe^{3+}) ส่งผลเปลี่ยนแปลงปริมาณธาตุเหล็กภายในพืชทำให้ปริมาณ total iron ที่ความเข้มข้นเหล็ก 0 ppm. ลดลงแตกต่างจากที่ 0.25 ppm. โดยเฉพาะในฝักกาดเขียวกวางตุ้งนั้นปริมาณดังกล่าวลดลงเกือบถึงค่าของปริมาณต่ำสุดเมื่อระยะเวลาการทดลองเป็น 15 วัน เช่นเดียวกับการลดลงของปริมาณ active iron (ตารางที่ 2 - 3, กราฟที่ 4) แสดงให้เห็นว่าทุกความเข้มข้นของธาตุเหล็กในสารละลายที่ลดลงทำให้ปริมาณ total iron, active iron และคลอโรฟิลล์ลดลงมากยิ่งขึ้น และตามกราฟที่ 3 - 6 ทำให้มั่นใจว่าทั้งปริมาณ total iron และ active iron ส่งผลรบกวนต่อการวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ ทำให้ปริมาณที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้ศูนย์ และสัมพันธ์กับความรุนแรงของอาการซีดเหลืองที่ปรากฏบริเวณใบยอด (ตารางที่ 11, ภาพที่ 4) อันเนื่องจากธาตุเหล็กเป็น immobile element (Brown, 1955) การตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (Christ, 1974) เมื่อพิจารณาอัตราการลดลงของปริมาณ total iron และ active iron เมื่อระยะเวลาการทดลอง 9 วัน พบว่าอัตราการลดของ total iron น้อยกว่า active iron (คำนวณปริมาณของธาตุเหล็กทั้งสองที่ลดลงจาก control เป็นเปอร์เซ็นต์ตามตารางที่ 2, 4) แสดงว่าในสภาวะที่ธาตุเหล็กเป็นปัจจัยจำกัด ปริมาณเหล็กที่บริเวณรากจะถูกลำเลียงไปสู่ส่วนกันและยอดได้อย่างรวดเร็วสอดคล้องกับที่มีรายงานการศึกษาในข้าวบาร์เลย์ ทานตะวันและถั่วเหลือง พบเช่นเดียวกันว่า สภาวะขาดเหล็กในสารละลายธาตุอาหารพืชจะมีการตอบสนองโดยการเพิ่มความสามารถในการดูดและลำเลียงธาตุเหล็กจากรากไปสู่ยอดในอัตราเร็วที่สูงกว่าในพืชปกติเสียอีก (Christ, 1974; Brown & Ambler, 1974; Agarwala et al, 1977; Romheld, 1979; Romheld & Marscher, 1981) ปริมาณเหล็กในภาวะดังกล่าวนี้มีรายงานพบว่าจะถูกลำเลียงไปสู่ส่วนของเอนไซม์ที่มีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบและอยู่ในภาวะ strong sink มากที่สุดเป็นอันดับแรก โดยธาตุเหล็กอาจจะเข้าไปมีบทบาทสำคัญในการทำหน้าที่เป็น cofactor หรือเป็นส่วนประกอบใน prosthetic group ของโปรตีนหรือโคเอนไซม์ เช่น iron porphyrin enzyme ต่าง ๆ อาทิ cytochrome enzyme: cytochrome C, cytochrome oxidase, cytochrome reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการหายใจ นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ catalase,oxidase ใน peroxisome ที่

ทำหน้าที่สลาย hydrogenperoxide., ใน non heme iron protein เช่น ferridoxin ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสง และยังมี non heme iron enzyme หลายชนิดในไมโตคอนเดรีย ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทต่อการส่งผ่านอิเล็กตรอนในระบบ cytochome ของกระบวนการหายใจ เอนไซม์ nitrogenese ซึ่งมีบทบาทต่อการตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) (San Pietro, 1965; Steward, 1963; Epstein, 1972) ทั้งที่มีการลำเลียงธาตุเหล็กไปสู่ส่วนดังกล่าว แต่กลับพบว่า activity ของเอนไซม์หลายชนิดลดลง (Oertli & Jacobson, 1956; Bogorad, 1966; Vesk et al, 1966; Price, 1968; Agarwala et al, 1977) การที่ปริมาณ total iron ในช่วงเวลาการทดลอง 9 วัน ของการลดความเข้มข้นของธาตุเหล็กในสารละลายธาตุอาหารลดลงไม่มากนัก ในขณะที่อัตราการลดของ active iron และปริมาณคลอโรฟิลล์ค่อนข้างสูงชี้แนะว่า ธาตุเหล็กที่ถูกลำเลียงไปในระบบของเอนไซม์ยังอยู่ในรูปของ inactive (Fe^{3+}) ไม่สามารถรีดิวส์เป็น active form (Fe^{2+}) ได้หรืออาจเป็นไปได้ว่าธาตุเหล็กที่ถูกลำเลียงขึ้นไป แล้วถูกเก็บไว้ในรูป Phytoferritin ก่อนที่จะนำไปใช้ซึ่งยังอยู่ในรูป Fe^{3+} (Mark et al, 1981) และถูกรบกวนทำให้ไม่สามารถรีดิวส์ในขณะที่จะนำไปใช้เช่นในการสร้างโปรตีนที่มีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นโปรตีนที่สำคัญต่อสรีรวิทยาหลายระบบของพืช ซึ่งจะต้องมีการศึกษาหาข้อสรุปต่อไป แต่เมื่อระยะเวลาการทดลองนานขึ้นเป็น 15 วัน อัตราการลดลงของ total iron กลับสูงขึ้น ซึ่งหมายถึงสภาวะขาดแคลนเหล็กโดยตรงทำให้เป็นปัจจัยส่งเสริมความรุนแรงของอาการซีดเหลืองที่เกิดขึ้นเพราะกระทบกระเทือนต่อการลดสัดส่วนของ Fe^{2+} : Fe^{3+} มากยิ่งขึ้น (ตารางที่ 6) เป็นผลให้การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ถูกรบกวนมากยิ่งขึ้น (Moore, 1972; Rain, 1976) ซึ่งเห็นได้ชัดในข้าวเมื่อระยะเวลาการทดลองเป็น 15 วัน (กราฟที่ 6 ค่า slope เท่ากัน โดยที่ slope ของ total iron ลดลง และ slope ของ active iron เพิ่มขึ้นจากเมื่อ 9 วันแรก) สำหรับ control แม้ว่าปริมาณ total iron จะไม่เพิ่มขึ้นจากเมื่อ 9 วันแรก แต่ปริมาณ active iron ที่ระยะเวลาการทดลอง 15 วัน เพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากปริมาณเมื่อ 9 วัน เช่นเดียวกับการเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ทำให้สัดส่วนระหว่าง Fe^{2+} : Fe^{3+} เพิ่มขึ้น (กราฟที่ 9, 11 และตารางที่ 6) เป็นการสนับสนุนว่าธาตุเหล็กที่ลำเลียงและพืชสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์

จะต้องอยู่ในรูป active (Fe^{2+}) (Epstein, 1972; Clarkson & Hanson, 1980) และภายในพืชจะต้องมีกลไกการเปลี่ยนแปลงธาตุเหล็กที่ลำเลียงมาในรูป Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} แต่ตามรายงานการศึกษาถึงขณะนี้ก็ยังไม่พบกลไกการออกซิไดซ์และรีดิวส์ธาตุเหล็กภายในพืช นอกจากจะทราบเพียงว่าเหล็กที่อยู่ในรูป Fe^{2+} มักจะเกิดออกซิไดส์ตัวเองเป็น Fe^{3+} ได้ง่ายในอากาศ หรือเมื่อมีออกซิเจนในรูปของสารละลายดังสมการ

$$2\ Fe^{2+} + \frac{1}{2}O_2 + 2H^+ \longrightarrow 2\ Fe^{3+} + H_2O$$

ซึ่งมีผู้เสนอว่ากลไกการเปลี่ยนแปลงรูปของเหล็กภายในพืชน่าจะเกี่ยวข้องกับ oxidising หรือ reducing enzyme รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงปริมาณอิออนต่าง ๆ ภายในโดยเฉพาะในสภาวะขาดเหล็กซึ่งการที่ปริมาณธาตุเหล็กลดลง ส่งผลเปลี่ยนแปลงสมดุลแร่ธาตุต่าง ๆ (nutrient balance) และการเปลี่ยนแปลงปริมาณอิออนซึ่งอาจจะรวมถึง hydrogen ion ดังในสมการข้างต้นด้วย และการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ นี้จึงส่งผลกระทบกระเทือนต่อการเปลี่ยนรูปของธาตุเหล็กระหว่าง Fe^{2+} และ Fe^{3+} (Moore, 1972; Clarkson & Hanson, 1980)

จะเห็นได้ว่าในสภาวะขาดเหล็กในสารละลายธาตุอาหารเป็นผลทำให้ปริมาณ active iron ลดลงเป็นเบื้องต้น แล้วส่งผลต่อการลดการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์และที่สุดการลดลงของปริมาณ total iron ทำให้สัดส่วนของ Fe^{2+} : Fe^{3+} ลดลงมากยิ่งขึ้น พืชจึงแสดงอาการรุนแรงยิ่งขึ้นเช่นเดียวกับที่มีการศึกษาในพืชชนิดอื่นและด้วยวิธีการแตกต่างออกไป แต่ให้ผลสอดคล้องกัน (Oserkowsky, 1933; Jacobson, 1945; Bolle - Jones, 1955: Omar, 1971: Brown & Jones, 1976; DeKock et al, 1979: Katyal & Sharma, 1980) อย่างไรก็ดี ผลดังกล่าวข้างต้นขัดแย้งกับรายงานอื่น ๆ หลายฉบับที่ใช้ปริมาณ total iron เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาพืชที่แสดงอาการขาดเหล็ก ทำให้พบว่าพืชที่แสดงอาการดังกล่าวมีปริมาณธาตุเหล็ก (total iron) มากกว่าในพืชปกติเสียอีก (Gile & Carrera, 1920; Wallace, 1928; Chapman, 1931; Vidal, 1937; Bennett, 1945; Patnaik & Bhadrachalam, 1965; DeKock et al, 1960; Sagilio, 1969; Mehrotra et al, 1976; Patel et al, 1977) เชื่อว่าผลของความแตกต่างกันนี้โดยเฉพาะในรายงานฉบับช่วงปี 1920- 1945

เกิดจากการทดลองดังกล่าวไม่ได้ทำการล้างส่วนของเหล็กที่ติดอยู่ที่ผิวใบที่ปะปนจากอากาศด้วยกรดเกลือเสียก่อนเพราะทำให้ค่าผิดพลาดเกิดขึ้นได้จาก 348 ppm. เป็น 21.6 ppm. (เมื่อล้างด้วยกรดเกลือเข้มข้น 0.1 นอร์แมลแล้ว) ในใบซีดเหลือง และจาก 250 ppm. เป็น 36.1 ppm. ในใบเขียวปกติ ค่าผิดพลาดต่างกันกว่า 1500% และเมื่อล้างด้วยน้ำเพียงครั้งเดียวก็ยังพบค่าผิดพลาดได้ถึง 100% (Jacobson, 1945; Katyal & Sharma, 1980) ส่วนรายงานในฉบับหลังปี 1960 ขึ้นไปพบว่าแม้จะแก้ไขความผิดพลาดในขั้นตอนการวิเคราะห์แล้วก็ตาม แต่การทดลองส่วนใหญ่ทำในสภาพธรรมชาติไม่ได้ควบคุมปัจจัยอื่นที่สามารถชักนำให้พืชเกิดอาการซีดเหลืองได้ เช่น ในบางสภาวะอาจเกิดจากภาวะความเป็นด่างมาก (lime-induced chlorosis) หรืออาจเกิดจากพิษของธาตุโลหะหนัก ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเพิ่มหรือลด total iron ได้ แล้วแต่ชนิดของพืชและปัจจัยแวดล้อมอื่น ๆ (Price, 1968)

2. <u>ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับธาตุโลหะหนักในสารละลายธาตุอาหารต่อปริมาณความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์, ปริมาณและรูปของธาตุเหล็กในใบผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว</u>

2.1 <u>ผลของธาตุสังกะสี</u>

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์, ปริมาณ total iron และ active iron ในใบของผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าวเมื่อความเข้มข้นของสังกะสีในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกพืชทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้นจาก 0 ppm. ไปเป็น 10, 20 และ 40 ppm. ในผักกาดเขียวกวางตุ้ง และจาก 0 ppm. เป็น 10, 20 และ 30 ppm. ในข้าว พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์, total iron และ active iron ลดลงแตกต่างจาก control อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และยังแตกต่างกันในทางสถิติระหว่างความเข้มข้นของ treatment ที่เพิ่มขึ้นด้วย ยกเว้นในข้าวเมื่อระยะเวลาการทดลอง 9 วัน ปริมาณ total iron ของ treatment ที่ให้สังกะสี 10 ppm. ไม่แตกต่างจาก control รวมทั้ง active iron ในระหว่างความเข้มข้น 10, 20 และ 30 ppm. พบว่าไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2 - 5) แต่เมื่อระยะเวลายาวนานขึ้นเป็น 15 วัน พบว่าปริมาณต่าง ๆ ที่กล่าวข้างต้นลดลง แตกต่างจากเมื่อระยะเวลา 9 วัน และในระหว่างความเข้มข้นของ treatment ก็ลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ยกเว้นในผักกาดเขียว

กวางตุ้งที่ความเข้มข้นสังกะสี 20 และ 40 ppm พบว่า เฉพาะปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ปริมาณคงที่ไม่แตกต่างไปจากเมื่อ 9 วัน รวมทั้งปริมาณ active iron ของสังกะสีที่ 10 ppm. ด้วย ในผักกาดเขียวกวางตุ้งนี้เมื่อเปรียบเทียบอัตราการลดลงของ total iron และ active iron (ตารางที่ 2 - 3) เมื่อความเข้มข้นของธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้น (โดยคิดจากปริมาณที่ลดลงจาก control ของปริมาณเหล็กทั้งสองเป็นเปอร์เซ็นต์) พบว่าอัตราการลดลงของ total iron ต่ำกว่าของ active iron ไม่ว่าระยะเวลาการทดลองจะเป็น 9 หรือ 15 วัน อัตราการลดของ total iron นี้แม้จะต่ำแต่ก็ยังสูงกว่าในสภาวะการให้ขาดธาตุเหล็กโดยตรง (Fe = o ppm.) โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของธาตุสังกะสีในระดับสูง 40 ppm. ซึ่งมีปริมาณ total iron ต่ำกว่าใน treatment เหล็ก 0 ppm. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำให้เชื่อว่าอาการซีดเหลืองที่ปรากฏในพืชตามการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์เมื่อไม่พิจารณาน้ำหนักแห้งที่ลดลงของต้นแล้ว ด้านหนึ่งเป็นผลจากการลดลงของปริมาณ active iron เป็นสำคัญ แต่เมื่อพิจารณาการลดลงของน้ำหนักแห้งของต้นใน treatment สังกะสี 40 ppm. จะเห็นได้ว่า นอกจากสังกะสีจะมีผลต่อปริมาณรูปของธาตุเหล็กแล้ว ยังมีผลต่อสรีรวิทยาอื่น ๆ อีกหลายด้านที่ไม่เกี่ยวข้องกับธาตุเหล็กด้วย (Steward, 1963; Epstein, 1972) การลดลงของปริมาณ active iron นี้ Rosen และคณะ (1977) เสนอว่าเป็นผลจากการที่สังกะสีเข้าไปหน่วงเหนี่ยวการเปลี่ยนรูปของธาตุเหล็กจาก Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ซึ่งกลไกอาจจะไปรบกวน reducing enzyme โดยเข้าไปทำปฏิกริยากับเอนไซม์ที่มีหมู่ซัลไฮดริล (SH-) อยู่ที่ active site เช่น catalase, dehydrogenase หรือเข้าจับกับโปรตีนที่สำคัญเป็น metal proteinates ทำให้เอนไซม์หรือโปรตีนสูญเสียประสิทธิภาพในการทำงาน (สิรินทร์ วิโมกข์-สันถวั และคณะ, 2521; Vallee & Wacker, 1970; Conn & Stumpf, 1976) รวมทั้งการที่เพิ่มความเข้มข้นของธาตุสังกะสีในสารละลายธาตุอาหารทำให้สังกะสีเข้าไปสะสมในส่วนของราก ลำต้น และใบมากขึ้น (กิตติ เอกอำพน, 2522) สังกะสีในปริมาณเกินความต้องการทำให้เปลี่ยนสมดุลของแร่ธาตุและอิออนอื่น ๆ ภายในพืช ซึ่งมีผลรบกวนกลไกการออกซิไดส์และรีดิวส์ของเหล็กได้ (Clarkson & Hanson, 1980) ส่วนการที่ปริมาณ total iron ลดลงทั้งที่ความเข้มข้นของธาตุเหล็กในสารละลายมีเพียงพอเช่นเดียวกับ control พบว่าเป็นผลจากการที่ธาตุสังกะสีซึ่งมีรายงานในผักกาดเขียวกวางตุ้งว่าสะสมที่บริเวณรากมากที่สุดนั้น (กิตติ เอกอำพน, 2522; Agarwala et al, 1977) ไปมีผลต่อการยับยั้งการดูดและการสำเลียง

ธาตุเหล็กจากรากไปสู่ต้น ขณะเดียวกันก็ยังมีผลต่อการกดการสร้าง reductant ที่ปลดปล่อยออกจากเซลรากเพื่อมารีดิวส์เหล็กที่อยู่ในรูปออกซิไดส์ (Fe^{3+}) ซึ่งเป็นรูปที่พืชจะดูดเข้าไปภายในต้นได้ แต่จะผ่านเข้าสู่เซลรากในรูป Fe^{2+} นั่นหมายถึงจะต้องเกิดปฏิกริยา reduction ปริมาณ total iron ที่วิเคราะห์ได้จึงลดลง และลดลงมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการทดลองนานขึ้นทำให้สัดส่วนของ Fe^{2+} : Fe^{3+} ลดลงจาก 2.43 เป็น 1.31 (ตารางที่ 6) (Lingle et al, 1962; Rosell & Ulrich, 1964; Bates et al, 1967; Ambler et al, 1970; Chaney et al, 1972; Epstein, 1972; Garcia & Boella, 1978) สำหรับในข้าวการเปลี่ยนแปลงปริมาณและรูปของธาตุเหล็ก, ปริมาณคลอโรฟิลล์ (ตารางที่ 4 - 5, 6) พบว่ามีลักษณะคล้ายกับรูปแบบการเปลี่ยนแปลงในผักกาดเขียวกวางตุ้ง

เมื่อแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงปริมาณ active iron กับปริมาณคลอโรฟิลล์ และ inactive iron เมื่อความเข้มข้นของธาตุสังกะสีในสารละลายธาตุอาหารเพิ่มขึ้นในพืชทั้งสองชนิดพบว่าการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์เปลี่ยนแปลงตามการลดของปริมาณ active iron (กราฟที่ 13, 15) และเมื่อสัดส่วนของ Fe^{2+} : Fe^{3+} ลดลงทำให้ธาตุเหล็กที่อยู่ในรูป inactive (Fe^{3+}) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องจากกลไกการรีดิวส์ถูกยับยั้ง ปริมาณ inactive iron จึงเป็นปฏิภาคกลับกับปริมาณ active iron และปริมาณคลอโรฟิลล์ (กราฟที่ 13 - 16)

ผลของธาตุสังกะสีต่ออาการชีดเหลืองคล้ายกับการขาดเหล็กทั้งในผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว สรุปได้ว่า สังกะสีทุกความเข้มข้นมีผลรบกวนรูปของธาตุเหล็กที่จำเป็น (Fe^{2+}) ต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ และยับยั้งการดูดและการลำเลียงธาตุเหล็กจากรากไปสู่ยอด ทำให้ปริมาณ total iron ลดลง เป็นผลทำให้สัดส่วน Fe^{2+} : Fe^{3+} ลดลง ส่งผลกระทบกระเทือนมากยิ่งขึ้นต่อปริมาณ active iron และปริมาณคลอโรฟิลล์

2.2 ผลของธาตุแคดเมียม

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์, ปริมาณ total iron และ active iron ในใบผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว เมื่อความเข้มข้นของธาตุแคดเมียมในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกพืชทั้งสองเพิ่มขึ้นจาก 0 ppm. ไปเป็น 10, 20 และ 40 ppm.

ในผักกาดเขียวกวางตุ้ง และจาก 0 ppm. เป็น 20, 30 และ 40 ppm. ในข้าว พบว่าการตอบสนองของพืชทั้งสองชนิดต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณต่าง ๆ ดังกล่าวแตกต่างกันโดยในผักกาดเขียวกวางตุ้งนั้น การเปลี่ยนแปลงมีลักษณะเช่นเดียวกับใน treatment ของธาตุสังกะสี กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาและความเข้มข้นสูงขึ้น ปริมาณ total iron, active iron และปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงมากขึ้น โดยปริมาณลดลงแตกต่างจาก control อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และเมื่อทดสอบความแตกต่างของปริมาณรูปของธาตุเหล็กและปริมาณคลอโรฟิลล์ในระหว่างความเข้มข้นของแต่ละ treatment พบว่าปริมาณดังกล่าวลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ยกเว้นปริมาณ total iron เมื่อระยะเวลาการทดลอง 9 วัน ทุกความเข้มข้นของแคดเมียมที่เพิ่มขึ้นจาก 10 - 40 ppm. ปริมาณไม่แตกต่างกันในทางสถิติ แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็น 15 วัน พบว่าที่ความเข้มข้นแคดเมียม 20, 40 ppm. ปริมาณ total iron ลดลงแตกต่างจากที่ 10 ppm. แต่ในระหว่างความเข้มข้นทั้งสองยังไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาอัตราการลดของปริมาณ total iron และ active iron พบว่าอัตรการลดของ total iron ต่ำกว่า active iron มาก และ active iron ที่ลดลงนี้สัมพันธ์กับการลดปริมาณคลอโรฟิลล์ (กราฟที่ 17) ทำให้เชื่อว่าอาการซีดเหลืองเนื่องจากการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์นี้มีกลไกของสาเหตุคล้ายกับใน treatment ของสังกะสี คือ การมีผลต่อ reducing enzyme ที่เกี่ยวข้องเพราะมีรายงานพบว่าแคดเมียมมีผลต่อการยับยั้งการถ่ายทอดอิเล็กตรอนตรงตำแหน่ง cytochome b complex (Miller et al, 1973) และผลต่อ iron enzyme หลายชนิด (Lee et al, 1976) เป็นผลทำให้ธาตุเหล็กซึ่งในสภาวะปกติที่สะสมอยู่ในใบหรือที่ส่งมาตามระบบลำเลียงซึ่งอยู่ในรูป Fe^{3+} (Clarkson & Hanson, 1980) ไม่สามารถเปลี่ยนเป็น Fe^{2+} ทำให้สัดส่วนของ Fe^{2+} : Fe^{3+} ลดลงเช่นเดียวกับในกรณีของสังกะสี (ตารางที่ 6) และลดลงมากขึ้น เมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็นผลให้ธาตุเหล็กในรูป Fe^{3+} มีปริมาณเพิ่มขึ้น (กราฟที่ 18) แม้จะไม่มีรายงานการวิเคราะห์ active iron จากผลของธาตุแคดเมียมในพืชชนิดอื่น แต่สำหรับการลดลงของ total iron นี้มีรายงานพบในพืชชนิดอื่นด้วย (Haghiri, 1973; Iwai et al, 1975; John, 1976; Wallace et al, 1977) การลดลงของ total iron นี้สูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการทดลองนานขึ้นเป็น 15 วัน แต่ไม่พบความแตกต่างเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นจาก 20 ppm. เป็น

เป็น 40 ppm. แสดงว่าธาตุแคดเมียมมีผลต่อการชะงักการส่งผ่านธาตุเหล็ก เนื่องจากแคดเมียมมีผลต่อการชะงักการเจริญของรากทำให้รากแคระแกรนและเน่าในที่สุด (ตารางที่ 11) และเชื่อว่าแคดเมียมที่พบสะสมอยู่ในส่วนของรากมากกว่าส่วนอื่นของต้นนั้น Jones et al, 1977; John, & van Laerhoven, 1976; Ito & Iimura, 1976; Wallace et al, 1977; Jarvis & Johns, 1978) อาจจะไปมีผลต่อการยับยั้งการดูดและการลำเลียงธาตุเหล็ก เช่นเดียวกับในธาตุสังกะสี (John, 1976) และมีรายงานการศึกษาพบว่าพิษของแคดเมียมมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของรากโดยตรง (Lagerwerff & Bierdsdorf, 1972; Tuner, 1973; Varia, 1976; Rauser, 1979) โดยการยับยั้งนี้จะเข้ายับยั้งในส่วนของรากแขนง (lateral root) ก่อน (Bram & Fiskell, 1971; Daniel et al, 1972; Malone et al, 1977) ทำให้รากไม่สามารถดูดแร่ธาตุอื่น ๆ ได้เป็นเหตุให้สมดุลของแร่ธาตุอาหารต่าง ๆ เปลี่ยนแปลง เป็นผลทำให้รบกวนปฏิกริยา redox ของการเปลี่ยนแปลงรูปของธาตุเหล็กและธาตุอื่น ๆ อีกด้วย

ในข้าวพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงแตกต่างจาก control อย่างมีนัยสำคัญและเมื่อระยะเวลาการทดลองนานขึ้นการลดลงนี้จะสูงขึ้นรวมทั้งในระหว่างความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ปริมาณคลอโรฟิลล์ก็ลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ขณะที่ปริมาณ total iron กลับเพิ่มสูงแตกต่างจาก control อย่างมีนัยสำคัญไม่ว่าระยะเวลาจะเพิ่มขึ้นเป็น 15 วัน แต่เมื่อพิจารณาในระหว่าง treatment พบว่าเมื่อระยะเวลาการทดลอง 9 วัน ปริมาณ total iron ที่เพิ่มสูงขึ้นที่ความเข้มข้น 40 ppm. ไม่แตกต่างจากที่ 30 ppm. แต่เมื่อระยะเวลาการทดลองเพิ่มขึ้นปริมาณดังกล่าวที่ความเข้มข้นทั้งสองจึงแตกต่างกัน ส่วน active iron นั้น เมื่อระยะเวลาการทดลอง 9 วัน ที่ความเข้มข้นแคดเมียม 20 ppm. พบว่าปริมาณต่ำกว่า control อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนที่ความเข้มข้น 30 ppm. ปริมาณไม่แตกต่างจาก control ยกเว้นที่ 40 ppm. เท่านั้น ที่ปริมาณสูงกว่า control แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็น 15 วัน พบว่าปริมาณ active iron ที่ความเข้มข้นแคดเมียม 20 และ 30 ppm. ลดลงแตกต่างจาก control ส่วนที่ 40 ppm. กลับพบว่าปริมาณดังกล่าวไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ดีเมื่อทดสอบความแตกต่างในระหว่างความเข้มข้นทั้งสามพบว่าปริมาณ active iron ที่เปลี่ยนแปลงนี้ แตกต่างซึ่งกันและกันในทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าแม้ปริมาณ

active iron ที่ความเข้มข้นแคดเมียม 40 ppm. จะสูงกว่า control ในระยะแรกแต่ก็มีแนวโน้มลดลงในระยะต่อมา (ตารางที่ 4, 5) เมื่อพิจารณาอัตราการเพิ่มของ total iron และ active iron ที่แคดเมียม 40 ppm.พบว่า active iron มีอัตราเพิ่มสูงกว่าใน total iron ทั้ง ๆ ที่ปริมาณเหล็กทั้งสองรูปมีค่าสูงกว่า control แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงต่ำกว่า control อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าอาการฮีตเหลืองในกรณีของแคดเมียมต่อข้าวนี้ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการขาดเหล็กแต่อย่างใด อาการฮีตเหลืองที่เกิดกับใบอ่อนและการเปลี่ยนสีของขอบใบที่สองและสามเป็นสีส้มอมแดง (ตารางที่ 12, ภาพที่ 9) อาจจะเป็นผลจากการเพิ่มของปริมาณ total iron และ active iron เพราะมีรายงานพบลักษณะเดียวกันในข้าวหลายพันธุ์ที่ได้รับธาตุแคดเมียมแล้วเกิดสภาวะเหล็กเป็นพิษ (iron toxicity) (Howeler, 1973; Takijima, 1973; Tadano, 1975) นอกจากนี้ Root และคณะ (1975) รายงานการศึกษาในข้าวโพดพบว่าเมื่อความเข้มข้นของแคดเมียมในเนื้อเยื่อสูงขึ้น ปริมาณ total iron ที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูงตามด้วยและสูงกว่า control เสียอีก ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดต่ำลง ซึ่งเขาอ้างตามรายงานบางฉบับพบว่าธาตุแคดเมียมและสังกะสีเป็นธาตุที่แข่งขันซึ่งกันและกัน (competitive cation) (Lagerwerff & Biersdorf, 1972) โดยแคดเมียมเข้าแข่งขันกับ active site ของ zincmetalloenzyme ที่มีสังกะสีเป็น functional group (Vallee & Ulmer, 1972; Vallee, 1977) เช่น dehydrogenase, aldolase, phosphatase, isomerase, transphosphorylase เป็นต้น ธาตุสังกะสีเป็น micronutrient element ที่สำคัญต่อการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในขบวนการสังเคราะห์แสง เชื่อว่าแคดเมียมอาจจะมีผลทำให้ปริมาณธาตุสังกะสีขาดแคลนโดยขัดขวางการดูดและการลำเลียงธาตุสังกะสีเช่นเดียวกับผลที่เกิดจากธาตุทองแดง (Hawf & Schmid, 1967) นอกจากนี้ธาตุเหล็กและสังกะสีมีอัตราส่วนที่สมดุลในพืชแต่ละชนิด เมื่อธาตุสังกะสีเกิดขาดแคลนทำให้สมดุลแร่ธาตุเปลี่ยนแปลงเป็นผลในการเพิ่มธาตุเหล็กสูงขึ้นได้ (Watanabe et al, 1965; Jackson et al, 1967; Ambler & Brown, 1969; Adrino et al, 1971) อย่างไรก็ดีเมื่อพิจารณาโครงสร้างของระบบรากพบเช่นเดียวกันว่าเมื่อระยะเวลาการทดลองเป็น 15 วัน แคดเมียมมีผลทำให้รากแคระแกรนและเน่าเช่นเดียวกับในผักกาดเขียวกวางตุ้ง แต่ปริมาณ total iron ก็ยังมีค่าสูงกว่า control อธิบายได้ว่าผลของแคดเมียมนี้ส่งผลรุนแรงมาก

ตั้งแต่การทดลอง 9 วันแรก แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นปริมาณ total iron ที่แคดเมียม 30 ppm. ลดลงต่างจากเมื่อ 9 วัน ในทางสถิติและที่ความเข้มข้น 40 ppm. ก็ไม่แตกต่างจากเมื่อ 9 วัน เป็นผลให้สัดส่วน Fe^{2+} : Fe^{3+} ลดต่ำลงกว่าในระยะแรก (ตารางที่ 6 กราฟที่ 20) แต่สัดส่วนของ Fe^{2+} : Fe^{3+} ที่ความเข้มข้นแคดเมียม 40 ppm. ก็ยังมีค่าสูงกว่า control ชี้ให้เห็นว่าการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์เชื่อว่าไม่ได้เป็นไปตามการเปลี่ยนแปลงรูปของธาตุเหล็ก (กราฟที่ 19) แต่อาจจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงสมดุลของธาตุอาหารอื่น ๆ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องต่อไปอีก

ในกรณีของแคดเมียมจึงพอสรุปได้ว่า ผลความรุนแรงต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและรูปของธาตุเหล็กและปริมาณคลอโรฟิลล์ นอกจากจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแคดเมียมที่สูงแล้วยังขึ้นอยู่กับการตอบสนองของพืชแต่ละชนิด โดยเฉพาะความแตกต่างระหว่างพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ ผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและรูปของธาตุเหล็กจึงมีผลทั้งการลดและเพิ่ม total iron และ active iron แต่มีผลต่อการลดปริมาณคลอโรฟิลล์ในพืชทั้งสองชนิด

2.3 <u>ผลของธาตุนิเกิล</u>

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์, ปริมาณ total iron และ active iron ในใบผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าวเมื่อความเข้มข้นของนิเกิลในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกพืชทั้งสองเพิ่มขึ้นจาก 0 ppm. เป็น 10, 20 และ 40 ppm. ในผักกาดเขียวกวางตุ้ง และจาก 0 ppm. เป็น 20, 30 และ 40 ppm. ในข้าว โดยในผักกาดเขียวกวางตุ้งการเปลี่ยนแปลงมีลักษณะเช่นเดียวกับใน treatment ของสังกะสีแต่ความรุนแรงในระยะการทดลอง 9 วันแรกพบน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณ active iron ที่ความเข้มข้นนิเกิล 10 และ 20 ppm. ไม่แตกต่างจาก control และปริมาณ total iron ที่ความเข้มข้น 40 ppm. นิเกิลที่ลดลงก็ไม่แตกต่างจากที่ 20 ppm. แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นความแตกต่างในปริมาณต่าง ๆ ทั้งปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณรูปของธาตุเหล็กลดลงแตกต่างมากยิ่งขึ้น (ตารางที่ 2 - 3) เมื่อพิจารณาอัตราการลดของ active iron พบว่าสูงกว่า total iron เช่นเดียวกับใน treatment อื่น ๆ ข้างต้นโดยสัมพันธ์กับการลดของปริมาณคลอโรฟิลล์ (กราฟที่ 21) อาการซีดเหลืองที่เกิดขึ้นนี้คงจะเป็นผลการหน่วงเหนี่ยวการเปลี่ยนรูปของธาตุเหล็กจาก Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} เช่นเดียวกัน ทำให้สัดส่วนของ Fe^{2+} :

Fe^{3+} ลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับในธาตุสังกะสี (ตารางที่ 6) การลดลงของ total iron ตามการเพิ่มของความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับนิเกิล ซึ่งมีรายงานสนับสนุนที่ทำในพืชชนิดอื่นและให้ผลสอดคล้องกัน(Nicholus et al, 1957; Roth et al, 1971) และการลดลงของ total iron นี้อาจจะเกิดจากการยับยั้งการลำเลียงธาตุเหล็กจากรากไปสู่ยอด ตามรายงานพบว่ามีการสะสมธาตุเหล็กความเข้มข้นสูงที่ส่วนของรากและใบแก่ (Lingle et al, 1963; Wallace & DeKock, 1966; Chaney, 1970; Agarwala et al, 1977) สำหรับในข้าวการตอบสนองต่อธาตุนิเกิล พบว่าแตกต่างจากผักกาดเขียวกวางตุ้งเล็กน้อย เมื่อระยะเวลาการทดลอง 9 วัน, ปริมาณ total iron ที่วิเคราะห์ได้สูงกว่า control เสียอีก และเมื่อความเข้มข้นของนิเกิลในสารละลายธาตุอาหารสูงขึ้น การเปลี่ยนแปลงปริมาณดังกล่าวก็ไม่แน่นอน (ตารางที่ 3 - 4) ซึ่งมีรายงานศึกษาในข้าวบาร์เลย์, เมื่อได้รับนิเกิลความเข้มข้นสูง ในช่วงเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าอัตราส่วนของการดูด ^{59}Fe ระหว่างต้น:ราก มีค่ามากกว่า control (Agarwala et al, 1977) บางรายงานก็ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอาการซีดเหลืองกับปริมาณ total iron แต่กลับพบความสัมพันธ์ กับอัตราส่วนระหว่างนิเกิลและเหล็กภายในพืช (Crooke, 1955) เมื่อพิจารณาความแตกต่างในระหว่างความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ปริมาณ total iron ที่ความเข้มข้นนิเกิล 40 ppm. ไม่แตกต่างจากที่ 30 ppm. ส่วนการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์และ active iron ในระหว่าง treatment ทั้งสามความเข้มข้นจะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาการทดลอง 9 วัน ความแตกต่างของปริมาณที่ลดลงดังกล่าวในแต่ละคู่ของ treatment เรียงลำดับ พบว่าไม่สอดคล้องระหว่างการลดของปริมาณคลอโรฟิลล์และ active iron แม้ว่าปริมาณทั้งคู่จะแตกต่างจาก control อย่างมีนัยสำคัญก็ตาม แต่เมื่อระยะเวลานานขึ้นเป็น 15 วัน ปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณ active iron ลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไม่ว่าจะเทียบกับ control หรือ ในระหว่างความเข้มข้นเรียงลำดับก็พบว่าการลดลงของปริมาณทั้งสองสอดคล้องกัน (ตารางที่ 4 - 5) กรณีเช่นนี้แสดงให้เห็นว่าแม้ปริมาณ total iron จะเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นหรือลดลงจาก control ก็ตาม แต่ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงสัมพันธ์กับการลดของปริมาณ active iron (กราฟที่ 22) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าธาตุเหล็กในรูป Fe^{2+} มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์มากกว่าที่จะพิจารณาจากปริมาณ total iron เพียงอย่างเดียว เมื่อพิจารณาสัดส่วนของ Fe^{2+} : Fe^{3+} พบว่าสัดส่วนของรูปเหล็กทั้งสองลดลงเมื่อระยะเวลาการทดลองนานขึ้นเป็นผลจากธาตุเหล็กอยู่ในรูป Fe^{3+}

มากขึ้น (ตารางที่ 6) สำหรับผลของนิเกิลต่อการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์นี้ Anderson และคณะ (1979) ศึกษาพืชที่สะสมปริมาณนิเกิลในระดับสูงพบว่าจะมีปริมาณของ protochlorophyll สูงในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำรวมทั้งปริมาณ soluble protein ก็ต่ำลง ซึ่งผลนี้สอดคล้องกับที่ Agarwala และคณะ (1977) พบในข้าวบาร์เลย์ในลักษณะเดียวกัน แสดงให้เห็นว่านิเกิลอาจจะไปมีผลต่อกลไกทางชีวเคมีต่อการเปลี่ยน protochlorophyll เป็นคลอโรฟิลล์ นอกจากนี้พบว่านิเกิลยับยั้ง activity ของเอนไซม์ catalase เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และยังกลับเพิ่ม activity ของ peroxidase อีกด้วย ซึ่งไม่พบผลดังกล่าวสำหรับโลหะหนักชนิดอื่นเชื่อว่าลักษณะการรบกวนของกลไกการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ของแต่ละธาตุโลหะหนักย่อมแตกต่างกันออกไป (DeKock et al, 1960; Agarwala & Kumar, 1962; Agarwala et al, 1977)

ในกรณีของธาตุนิเกิล สรุปได้ว่า อาการซีดเหลืองที่เกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของนิเกิลในสารละลายธาตุอาหารเพิ่มขึ้น ด้านหนึ่งเกิดจากการที่นิเกิลไปมีผลต่อกลไกที่จะรีดิวส์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ซึ่งสาเหตุจะต้องมีการศึกษากันต่อไป ทำให้สัดส่วนของ Fe^{2+} : Fe^{3+} ลดลง แล้วรบกวนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ รวมทั้งยังมีผลต่อการยับยั้งการลำเลียงธาตุเหล็กจากรากไปสู่ยอด ทำให้ปริมาณเหล็กทั้งหมดขาดแคลนมากขึ้น

ผลของธาตุโลหะหนักทั้งสามที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและรูปของธาตุเหล็กแล้วรบกวนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ทำให้พืชแสดงอาการซีดเหลืองจะเห็นได้ว่าถ้าใช้ปริมาณ total iron เป็นเกณฑ์สำคัญในการพิจารณาแล้วพบว่าผลที่ได้ไม่แน่นอน เพราะมีหลายปัจจัยที่ทำให้ปริมาณดังกล่าวเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ แต่ถ้าพิจารณาจากปริมาณ active iron แล้วจะเห็นได้ว่าโลหะหนักส่วนมากทำให้ปริมาณ active iron ลดลงสัมพันธ์กับการลดปริมาณคลอโรฟิลล์และอาการซีดเหลืองที่ปรากฏในเวลาต่อมา ยกเว้นโลหะหนักบางชนิดที่มีผลเป็นพิษต่อพืชบางชนิดเฉพาะด้านอย่างในกรณีของแคดเมียมที่มีต่อข้าวเป็นต้น นอกจากโลหะหนักเหล่านี้ไปมีผลดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังพบว่ามีผลรบกวนต่อเมตาโบลิซึมด้านอื่น ๆ อีก เช่น การหายใจ การสังเคราะห์แสง การคายน้ำ (Miller et al, 1973; Bazzaz et al, 1974; Bittell et al, 1974; Baszynki, 1980) Samarakoon และ Rauser (1979) พบว่าโลหะหนักรบกวนต่อเมตาโบลิซึมของคาร์โบไฮเดรท โดยนิเกิล แคดเมียม สังกะสี เป็นตัวยับยั้ง

การสำเสียงแป้งแล้วเกิดสะสมไว้ที่ส่วนของใบ ผลดังกล่าวเป็นการยับยั้งกลไกอื่นที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสง ตามสมมุติฐาน product inhibition หรือการยับยั้งย้อนกลับ (feed back inhibition) ทำให้ยับยั้ง carbondioxide fixation การที่สมดุลของคาร์โบไฮเดรทระหว่างแหล่งสร้าง (source) และแหล่งที่ใช้ (sink) เปลี่ยนแปลงไปส่งผลกระทบกระเทือนต่อสมดุล hormone และเมตาโบลิซึมในที่สุด (Neales & Incoll, 1968; Naf Nafziger & Koller, 1976)

3. ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับธาตุเหล็กและโลหะหนักต่อน้ำหนักสด, น้ำหนักแห้งของต้นและรากของผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว

ความเข้มข้นของธาตุเหล็กในสารละลายธาตุอาหารที่ลดลงจาก control และความเข้มข้นของธาตุสังกะสี, แคดเมียม และนิเกิล ที่เพิ่มขึ้นในสารละลายของธาตุอาหารที่ปลูกผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว พบว่าในผักกาดเขียวกวางตุ้งทุก treatment' มีผลลดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของทั้งต้นและราก แตกต่างจาก control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผลการลดลงนี้รุนแรงมากขึ้นเมื่อระยะเวลานานขึ้น', ในข้าวเมื่อความเข้มข้นของธาตุสังกะสีและนิเกิลระดับต่ำระหว่าง 10 - 20 ppm. ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตไม่รุนแรงนัก ส่วนแคดเมียมพบว่ามีผลยับยั้งอย่างรุนแรง ทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งการตอบสนองของพืชทั้งสองนี้จะเห็นได้ว่าแตกต่างกันไป และเมื่อพิจารณาความแตกต่างของน้ำหนักสด, น้ำหนักแห้งของต้นและรากในระหว่าง treatment ของโลหะหนักชนิดเดียวกันในพืชทั้งสองชนิด พบว่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลงตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น ยกเว้นบางคู่ของความเข้มข้นของ treatment ของโลหะหนักชนิดเดียวกันอาจจะไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 7 - 10, กราฟที่ 23 - 24) (Pinkerton & Simpson, 1977) การตอบสนองที่แตกต่างกันนี้อาจเป็นไปได้ว่าเมื่อสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนไปพืชบางชนิดมีการพัฒนาความทนทานต่อโลหะหนักบางชนิดมากขึ้น และพืชต่างชนิดกันพบว่ามีประสิทธิภาพในความทนทานต่อธาตุโลหะหนักแตกต่างกัน (Page et al, 1972; John, 1973; Bingham et al, 1975; John & van Laerhoven, 1976) ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับธาตุเหล็ก และโลหะหนักต่อการลดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของต้นและรากในพืชทั้งสองนี้เป็นผลที่ปรากฏภายหลังจากที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมตาโบลิซึมภายในพืชก่อน นอก

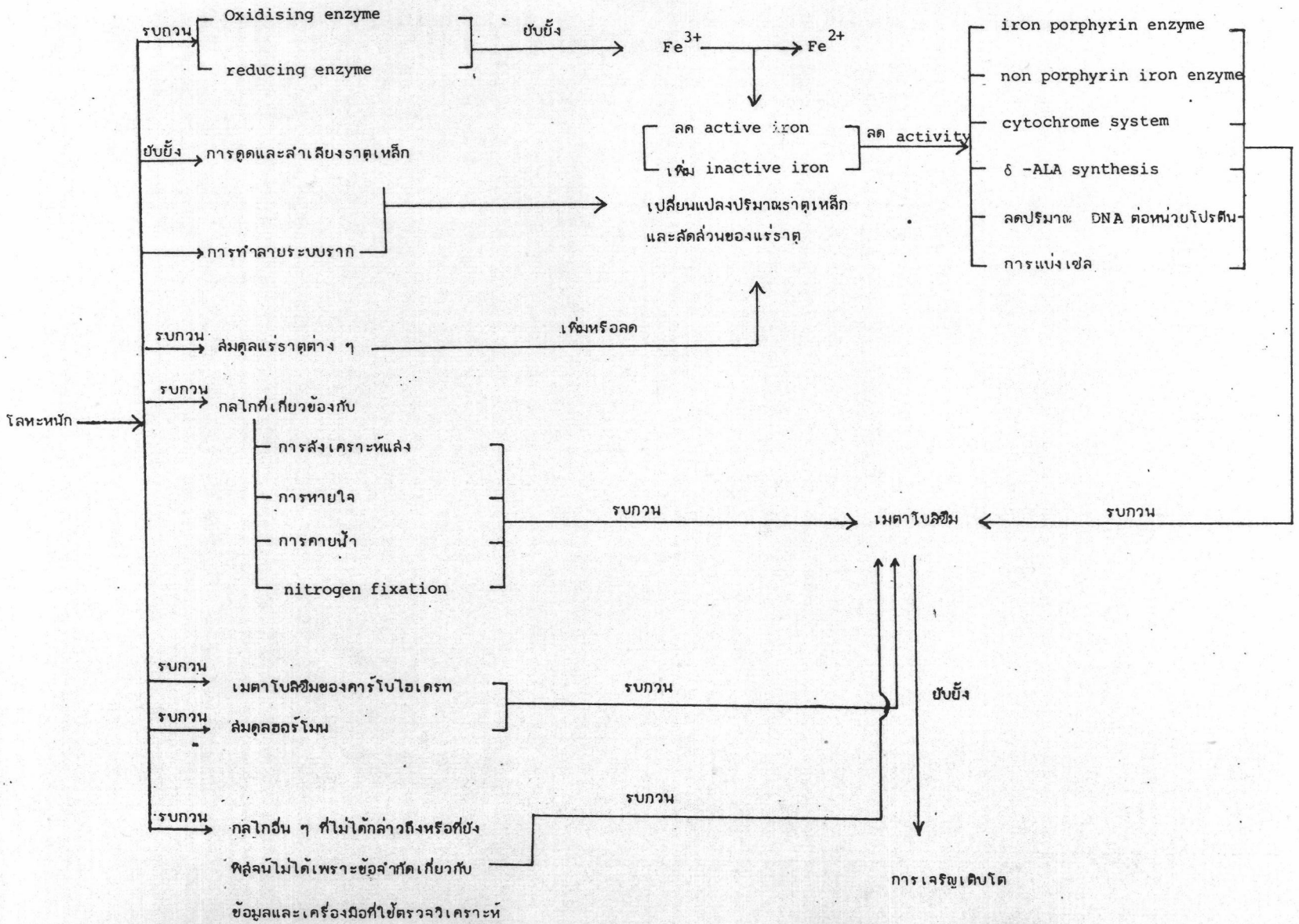
จากการมีผลทางอ้อมต่อการลดปริมาณรูปของธาตุเหล็กที่สำคัญต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาต่าง ๆ เช่น การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ การหายใจ เป็นต้น ยังมีผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาอื่นที่ไม่มีธาตุเหล็กเป็นบทบาทสำคัญ ซึ่งพอสรุปกลไกความเป็นพิษของธาตุโลหะหนักได้ตามแผนภาพที่ 11

4. ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับธาตุเหล็กและโลหะหนักต่ออาการที่ปรากฏของผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว

4.1 ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับธาตุเหล็กในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว

เมื่อความเข้มข้นของธาตุเหล็กลดลงเป็น 0.25 และ 0 ppm. พบว่าใบอ่อนเกิดอาการซีดเหลืองโดยเริ่มซีดเหลืองบริเวณเนื้อเยื่อระหว่างเส้นใบ (interveinal chlorosis) จนซีดทั้งแผ่นใบ ความรุนแรงของอาการเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลานานขึ้น ในผักกาดเขียวกวางตุ้งเห็นได้ชัดว่าเนื้อเยื่อบางส่วนของใบเริ่มแห้ง (necrosis) รากมีสีน้ำตาลเข้มแคระแกรน ปลายรากเป็นตุ่มเรียงกันตลอดทั้งราก (ตารางที่ 11, ภาพที่ 4) พบเช่นเดียวกับในข้าวแต่ความรุนแรงในระหว่างความเข้มข้นที่ลดลงทั้งสองไม่ต่างกันอย่างในผักกาดเขียวกวางตุ้ง (ภาพที่ 5) อาการที่ปรากฏนี้เชื่อว่าเกิดจากการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ถูกรบกวนซึ่งเกิดจากรูปของเหล็กที่ active ลดปริมาณลง รวมทั้งผลการขาดเหล็กโดยตรง ความรุนแรงนี้เป็นสัดส่วนโดยตรงกับการลดลงของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและรากด้วย (Agarwala et al, 1977) การที่รากมีการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาเกิดเป็นตุ่มนั้นมีรายงานว่าเป็นการพัฒนาขึ้นของ cortex ให้หนาขึ้นและ root hair จะเพิ่มขึ้น (Romheld & Marschner, 1979, 1981) และยังพบว่าในด้านเซลวิทยาที่สังเกตภายใน 24 - 48 ชั่วโมง พบการเปลี่ยนแปลง peripheral cell differentiate เป็น transfer cell, ซึ่งไซโตพลาสซึมของเซลมีไมโตคอนเดรียมาก มี rough endoplasmic reticulum ที่หนามาก และมี Leucoplast ขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นผลจากการปรับตัวเพื่อเพิ่มการปลดปล่อย H^+ (Kramer et al, 1980)

ภาพที่ 11 แสดงกลไกของธาตุโลหะหนักต่อการยับยั้งการเจริญของพืช



4.2 ผลของธาตุสังกะสี

สังกะสีทำให้เกิดใบซีดเหลือง (chlorosis) จากใบอ่อนไปสู่ใบแก่ทั้งในผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว โดยเกิด interveinal chlorosis ก่อนเมื่อความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่นานขึ้น ทำให้ใบอ่อนซีดเหลืองทั้งใบ ใบแคระแกรนไม่เจริญ บางส่วนของใบเกิด necrosis รากมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 6 - 7) (กิตติ เอกอำพน, 2522) อาการ chlorosis และ necrosis ที่เกิดขึ้นเชื่อว่าเป็นผลจากการที่สังกะสีไปรบกวนเมตาโบลิซึมของธาตุเหล็กรวมทั้งการดูดและลำเลียง ทำให้ขาดแคลนธาตุเหล็กโดยเฉพาะรูปของธาตุเหล็กที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Rosen et al, 1977)

4.3 ผลของธาตุแคดเมียม

แคดเมียมทำให้เกิดใบซีดเหลืองจากใบอ่อนไปสู่ใบแก่ โดยอาการซีดเหลืองค่อนข้างสม่ำเสมอทั้งแผ่นใบในผักกาดเขียวกวางตุ้ง ในข้าวยังเป็นผลทำให้ใบที่สองและสามรองมา เกิดขอบใบแห้งเป็นสีส้มอมแดงจากขอบบนลงมาและทำให้ขอบใบม้วนเข้าหาตัวใบ และพบว่าทำให้รากเป็นสีน้ำตาลและรุนแรงมากจนเกิดการเน่าเมื่อความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับแคดเมียมนานขึ้น (ภาพที่ 8 - 9) ซึ่งเชื่อว่าเป็นผลการรบกวนของเมตาโบลิซึม active iron และผลต่อการเพิ่มหรือยับยั้งการดูดและหรือการลำเลียงธาตุเหล็กขึ้นอยู่กับชนิดพืช โดยเฉพาะในข้าวซึ่งอาจจะเกิดจากการมีผลต่อสมดุลของแร่ธาตุอื่น ๆ มากกว่าการเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาของธาตุเหล็ก และการเปลี่ยนแปลงสมดุลของแร่ธาตุดังกล่าวยังคงมีผลต่อการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Root et al, 1975)

4.4 ผลของธาตุนิเกิล

นิเกิลทำให้เกิด interveinal chlorosis จากใบอ่อนไปสู่ใบแก่ทั้งในผักกาดเขียวกวางตุ้งและข้าว (ภาพที่ 8 - 10) อันเป็นผลจากการรบกวนเมตาโบลิซึมของธาตุเหล็กที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์เช่นเดียวกับในธาตุสังกะสี และความรุนแรงเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับนานขึ้น

จากผลของโลหะหนักต่อการยับยั้งเหลืองที่ปรากฏนี้พบว่าสังกะสีให้ผลรุนแรงมาก โดยทำให้เกิดทั้ง chlorosis และ necrosis ทั้งที่ความเข้มข้นสูงสุดในข้าวเพียง 30 ppm. ก็พบว่ารุนแรงมากมีผลลดธาตุเหล็กทั้ง total iron, active iron และปริมาณ chlorophyll กว่าอีกสองธาตุ สอดคล้องกับรายงานของ กิตติ เอกอำพน (2522) ซึ่งใช้ในรูปของ Zn-EDTA เช่นกัน แตกต่างจากการใช้ในรูป ionic ซึ่งพบผลการยับยั้งน้อยมาก (Agarwala et al, 1977) เชื่อว่า Zn-EDTA เป็นรูปที่พืชดูดได้และเป็นพิษดีที่สุด (Stewart, 1962) สำหรับนิเกิลรายงานหลายฉบับพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของธาตุดังกล่าวเพียง 5 - 20 ppm. แสดงผลการยับยั้งรุนแรงมาก ทำให้เกิด necrosis เมื่อให้ในรูป ionic (วิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา, 2523; Hunter & Vergnano, 1953; Hara et al, 1976; Rauser & Samarakoon, 1980; Crooke et al, 1954; Anderson et al, 1973) แต่การทดลองนี้ใช้ความเข้มข้นถึง 40 ppm. ไม่พบ necrosis การให้นิเกิลและแคดเมียมในรูป EDTA นี้อาจจะไปลดผลความเป็นพิษลง (Stewart, 1962) โดยความจำเพาะสำหรับ EDTA ต่อธาตุดังกล่าว, เมื่อ EDTA แตกตัวก่อนเข้าสู่รากหรือเข้าไปในรากแล้วก็ตาม อาจจะกลับมาจับกับโลหะหนักใหม่แล้วลดความเป็นพิษหรือแข่งขันกับ carrier ที่รากปลดปล่อยออกมาจับกับโลหะหนักทำให้ความเป็นพิษลดลงไปจากความเข้มข้นที่ใช้ (Stewart, 1962; Chaney et al, 1972)