

ผลของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวันทีปลูกในดิน ปนเปื้อนตะกั่ว เพื่อการใช้ประโยชน์สำหรับการบำบัดด้วยพืช

Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth Promotion of Sunflower Planted in Pb Contaminated Soil for Using as Phytoremediation

วีรศักดิ์ ศรีเป้า (Weerasak Srepao)* ดร. โสภณ บุญลือ (Dr. Sophon Boonlue)**

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา (arbuscular mycorrhizal fungi; AMF) ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวัน ที่ปลูกภายใต้สภาวะดินปนเปื้อนตะกั่ว 3 ระดับความเข้มข้นคือ 100, 200 และ 300 mg/kg วางแผนการทดลองแบบ Factorial in randomize complete block design (RCBD) ปลูกเชื้อรา AMF 5 ชนิดร่วมกับทานตะวัน เป็นระยะเวลา 75 วัน ผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *Glomus claroideum* KKU-VT-PK-KK และ *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK มีจำนวนสปอร์และการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชสูงที่สุด ในดินปนเปื้อนตะกั่วทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น นอกจากนี้ยังพบว่า *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในด้านความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของรากและลำต้น และชีวมวลได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อ AMF ทั้ง 2 ชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวัน

ABSTRACT

This research aimed to investigated the efficiency of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the growth promotion of sunflower planted on three different concentration level of Pb contaminated soil (100, 200 and 300 mg/kg). Experimental design was conducted by Factorial in randomize complete block design (RCBD). Sunflower were inoculated with 5 AMF species and cultivated for 75 day. The results revealed that *Glomus claroideum* KKU-VT-PK-KK and *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK had the highest of spore density and root colonization when planted in all concentration level of Pb contaminated soil. Additionally, *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK had the best ability to promote plant growth parameters including height, fresh weight, dry weight of root and shoot, and total dry biomass, followed by *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK. As the results, it indicated that these two AMF species had efficiency to promote the growth of sunflower.

คำสำคัญ: เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา การบำบัดด้วยพืช การปนเปื้อนตะกั่ว

Keywords: Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Phytoremediation, Pb contamination

*นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

ปัจจุบันการเจริญเติบโตของโรงงานอุตสาหกรรมมีอัตราเพิ่มสูงขึ้นอย่างมากทำให้เกิดการปล่อยสารอินทรีย์และอนินทรีย์จำนวนมาก ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่บริเวณโดยรอบ สารเหล่านี้เกิดผลกระทบในสิ่งแวดล้อมเป็นจำนวนมากและก่อให้เกิดปัญหาทางระบบนิเวศเป็นอย่างมาก เนื่องจากโลหะหนักมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตซึ่งอาจได้รับการบริโภค เป็นสาเหตุทำให้มีการสะสมโลหะหนักเพิ่มมากขึ้นในระบบห่วงโซ่อาหาร (Adriano, 2001; Wenzel et al., 1999) นอกจากนี้โลหะหนักยังมีผลกระทบโดยรวมกับสิ่งแวดล้อม โดยเกิดผลกระทบในดินทำให้ดินมีสภาพเป็นพิษซึ่งเป็นปัญหาสำคัญทางด้านการเกษตร ไม่เพียงแต่เท่านั้นปัญหาโลหะหนักที่เกิดจากการปนเปื้อนในน้ำยังเป็นอีกหนึ่งปัญหาสำคัญ

ตะกั่ว (Pb) จัดเป็นโลหะที่มีความนุ่มและยืดหยุ่น มีลักษณะสีขาวเงิน ค่าการนำไฟฟ้าต่ำ และทนต่อการกัดกร่อนได้ดีการใช้ประโยชน์จากตะกั่วที่พบว่ามีตะกั่วเป็นส่วนประกอบสำคัญในอุตสาหกรรมผลิตแบตเตอรี่ และเครื่องมืออิเล็กทรอนิกส์ การปนเปื้อนของตะกั่วในสิ่งแวดล้อมเกิดจากหลายกรณี เช่นการฝังกลบแบตเตอรี่ การปนเปื้อนของน้ำมันในสิ่งแวดล้อม การผลิตสีทาบ้าน และสีย้อมผ้า ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการรั่วไหลของตะกั่วสู่ธรรมชาติและสะสมไว้ในดิน การปนเปื้อนของตะกั่วที่ก่อให้เกิดอันตรายโดยตรงต่อมนุษย์มีอยู่ 3 ลักษณะคือ การสูดดม การบริโภคสารตะกั่วโดยตรง และการปนเปื้อนในดินซึ่งก่อให้เกิดผลกระทบต่อร่างกาย เช่น เมื่อร่างกายได้รับสารตะกั่วโดยตรง จะออกฤทธิ์ที่ระบบประสาทส่วนกลาง สมอ ทำให้ความดันโลหิตสูงขึ้น และเป็นอันตรายมากในเด็กเล็ก และทารกที่อยู่ในครรภ์ สารประกอบของตะกั่วที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม มีอยู่หลายรูปแบบเช่น PbO , PbO_2 , Pb_3O_4 , PbS , $PbCrO_4$ และ $PbCl_2$ เป็นต้น สารประกอบเหล่านี้สามารถละลายน้ำได้ดีและถ่ายทอดในห่วงโซ่อาหารในสิ่งมีชีวิตได้ PbO หรือ Lead monoxide เป็นรูปอนินทรีย์ของตะกั่วที่พบมากที่สุดสิ่งแวดล้อม และยังเป็นองค์ประกอบหลักในการผลิตแบตเตอรี่ นอกจากนี้ ยังนำ PbO_2 และ Pb_3O_4 มาใช้ในการผลิตสีย้อมผ้า และสีทาบ้าน ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการรั่วไหลของตะกั่วสู่ธรรมชาติ และสะสมไว้ในดิน

การบำบัดโลหะหนักด้วยวิธีการใช้พืชเป็นหนึ่งในการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพ (Bioremediation) เป็นกระบวนการที่ใช้พืชและจุลินทรีย์ในดินเพื่อลดความเป็นพิษจากโลหะหนัก ซึ่งประกอบด้วย 1) phytoextraction เป็นกระบวนการที่พืชทำการดูดซับโลหะหนักไว้ในเนื้อเยื่อ 2) phytodegradation เป็นกระบวนการเปลี่ยนรูปสารตัวกลางหรือย่อยสลายสารเพื่อไม่ให้เกิดความอันตรายต่อพืชเอง 3) phyto-volatilization เป็นกระบวนการเปลี่ยนรูปของสารพิษให้เป็นสารระเหย และปล่อยออกจากดินพืชผ่านใบ 4) phytostabilization เป็นกระบวนการที่รากพืชปล่อยสารบางอย่างออกมาเพื่อสร้างความเสถียรไม่ให้สารพิษแพร่กระจายออกไป 5) rhizofiltration เป็นกระบวนการที่พืชดูดซับโลหะหนักในรูปของของน้ำเสีย (Chaudhry et al., 1998; Khan, 2005)

เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา (arbuscular mycorrhizal fungi; AMF) เป็นเชื้อราที่อาศัยในรากพืชที่มีระบบท่อลำเลียงเป็นส่วนใหญ่ โดยมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน โดยเชื้อรา AMF จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการหาอาหาร การดูดซับน้ำ และเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดธาตุอาหารที่ละลายอยู่ในดินให้กับพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัส โดยปกติธาตุฟอสฟอรัสมักถูกตรึงอยู่ในดินทำให้พืชไม่สามารถนำไปใช้ได้ เชื้อรา AMF ยังช่วยดูดซับธาตุที่สำคัญเช่น แมกนีเซียม และยังมีบทบาทในการช่วยให้พืชต้านทานต่อโรคที่ระบบราก นอกจากนี้เชื้อรา AMF สามารถเพิ่มความสามารถในการทนต่อสภาวะเครียดแก่พืช เช่น ทนแล้งทนต่อความเค็ม (Tian et al., 2004) และการทนต่อโลหะหนัก เชื้อรา AMF มีนัยสำคัญต่อการเป็น Phytoremediation ของโลหะ โดย 1) กระบวนการดูดซับธาตุอาหารและโลหะ 2) กระบวนการดูดซับโลหะและการเกิดตะกอน การนำเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซามาใช้ประโยชน์ในการกำจัดโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดิน พบว่าเชื้อรา AMF ช่วยเพิ่มธาตุ Zn และ Cu ในดิน และช่วยป้องกันการสะสม

ของ Cu ในราก ในขณะที่เดียวกันพบปริมาณของ Cu สูงในลำต้น เชื้อรา AMF ยังช่วยป้องกันพืชจากสภาวะเครียด และทำให้พืชทนต่อความเป็นพิษได้ โดยการกระตุ้นการสร้างชีวโมเลกุล เช่น proline และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Andrade et al., 2010) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงแสดง ประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวันที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนตะกั่วในระดับต่างๆ เพื่อประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการบำบัดด้วยพืชต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวัน
2. เพื่อหาปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา AMF ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวัน

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมกล้าเชื้อรา AMF ใช้ดินกล้าเชื้อรา AMF 5 ชนิด คือ *Glomus claroideum* KKU-VT-PK-KK, *Glomus. albidum* KKU-VT-PK-KK, *Glomus* sp.1 KKU-VT-KP-KK, *Glomus* sp.2 KKU-VT-Li-KK และ *Glomus* sp.3 KKU-VT-Li2-KK จากห้องปฏิบัติการไมคอร์ไรซาและเทคโนโลยีเชื้อรา สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากหญ้าแฝก โดยดินกล้าเชื้อประกอบด้วยสปอร์ เส้นใย และรากข้าวโพดที่มีการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราไมคอร์ไรซาที่ได้จากการเพิ่มปริมาณในกระถาง (Boonlue et al, 2012) และมีความเข้มข้นของจำนวนสปอร์มากกว่า 50 สปอร์ต่อดิน 1 กรัม จากนั้นนำสปอร์กล้าเชื้อทั้งหมดไปทดสอบประสิทธิภาพการงอกในดินที่มีความเข้มข้นของตะกั่วในระดับต่างๆ คือ 100, 200, 300, 400 และ 500 mg/kg ด้วยวิธีsandwiches test (Hepper, 1979) พบว่าสปอร์สามารถงอกได้ดี ในดินที่มีความเข้มข้นของตะกั่วระดับ 100, 200 และ 300 mg/kg โดยความเข้มข้นนี้ไม่มีผลต่อลักษณะของสปอร์เชื้อรา ดังนั้นจึงเลือกระดับความเข้มข้นทั้ง 3 ระดับนี้สำหรับการทดลองปลูกกับทานตะวัน โดยการทดลองกับทานตะวันใช้สปอร์เชื้อรา AMF จำนวน 500 สปอร์ต่อ 1 กระถาง

2. การเตรียมดิน ใช้ดินปลูกพืชทางการค้า ประกอบด้วยดินและวัสดุปลูก มี pH 5 ในโตรเจนทั้งหมด 300 ppm ฟอสฟอรัส 240 ppm และโพแทสเซียม 280 ppm ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช 4.2 ppm โดยนำดินที่ใช้ในการปลูกมาเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วบรรจุในถุงๆ ละ 1 กิโลกรัม จากนั้นผสมตะกั่ว โดยใช้ Pb(NO)₃ ละลายในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 100, 200 และ 300 ppm ผสมลงในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ตากดินให้แห้งในโรงเรือน โดยหมั่นกลับดินเพื่อให้ตะกั่วผสมกับดินให้ทั่ว แล้วบรรจุดินใส่กระถางพลาสติก ที่เช็ดทำความสะอาดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ กระถางละ 1 กิโลกรัม

3. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Factorial in randomize complete block design (RCBD) ปลูกเชื้อรา AMF ร่วมกับทานตะวัน เป็นระยะเวลา 75 วัน โดยมี 18 คำรับการทดลองที่มีความเข้มข้นของตะกั่ว 3 ระดับ จำนวน 3ซ้ำ (6 treatment x 3 Pb concentration) คำรับการทดลองต่างๆ มีดังนี้

- คำรับการทดลองที่ 1 ชุดเปรียบเทียบ ซึ่งไม่ปลูกเชื้อรา AMF และตะกั่วความเข้มข้น 100 ppm
- คำรับการทดลองที่ 2 ปลูกเชื้อรา *Glomus claroideum* KKU-VT-PK-KK และตะกั่วความเข้มข้น 100 ppm
- คำรับการทดลองที่ 3 ปลูกเชื้อรา *Glomus albidum* KKU-VT-PK-KK และตะกั่วความเข้มข้น 100 ppm
- คำรับการทดลองที่ 4 ปลูกเชื้อรา *Glomus* sp.1 KKU-VT-KP-KK และตะกั่วความเข้มข้น 100 ppm
- คำรับการทดลองที่ 5 ปลูกเชื้อรา *Glomus* sp.2 KKU-VT-Li-KK และตะกั่วความเข้มข้น 100 ppm

- คำรับการทดลองที่ 6 ปลุกเชื้อรา *Glomus* sp.3 KKU-VT-Li2-KK และตะกั่วความเข้มข้น 100 ppm
- คำรับการทดลองที่ 7 ชุดเปรียบเทียบ ซึ่งไม่ปลุกเชื้อรา AMF และตะกั่วความเข้มข้น 200 ppm
- คำรับการทดลองที่ 8 ปลุกเชื้อรา *Glomus claroideum* KKU-VT-PK-KK และตะกั่วความเข้มข้น 200 ppm
- คำรับการทดลองที่ 9 ปลุกเชื้อรา *Glomus albidum* KKU-VT-PK-KK และตะกั่วความเข้มข้น 200 ppm
- คำรับการทดลองที่ 10 ปลุกเชื้อรา *Glomus* sp.1 KKU-VT-KP-KK และตะกั่วความเข้มข้น 200 ppm
- คำรับการทดลองที่ 11 ปลุกเชื้อรา *Glomus* sp.2 KKU-VT-Li-KK และตะกั่วความเข้มข้น 200 ppm
- คำรับการทดลองที่ 12 ปลุกเชื้อรา *Glomus* sp.3 KKU-VT-Li2-KK และตะกั่วความเข้มข้น 200 ppm
- คำรับการทดลองที่ 13 ชุดเปรียบเทียบ ซึ่งไม่ปลุกเชื้อรา AMF และตะกั่วความเข้มข้น 300 ppm
- คำรับการทดลองที่ 14 ปลุกเชื้อรา *Glomus claroideum* KKU-VT-PK-KK และตะกั่วความเข้มข้น 300 ppm
- คำรับการทดลองที่ 15 ปลุกเชื้อรา *Glomus albidum* KKU-VT-PK-KK และตะกั่วความเข้มข้น 300 ppm
- คำรับการทดลองที่ 16 ปลุกเชื้อรา *Glomus* sp.1 KKU-VT-KP-KK และตะกั่วความเข้มข้น 300 ppm
- คำรับการทดลองที่ 17 ปลุกเชื้อรา *Glomus* sp.2 KKU-VT-Li-KK และตะกั่วความเข้มข้น 300 ppm
- คำรับการทดลองที่ 18 ปลุกเชื้อรา *Glomus* sp.3 KKU-VT-Li2-KK และตะกั่วความเข้มข้น 300 ppm

4. การตรวจวัดผล

4.1 การตรวจวัดความสูงของต้น วัดความสูงของต้นทานตะวันทุกกระถาง ทุกๆ 15 วัน และวัดครั้งสุดท้ายเมื่อทานตะวันอายุ 75 วัน โดยวัดจากส่วนของลำต้นที่ติดอยู่กับส่วนบนสุดของรากถึงส่วนที่เป็นฐานของใบอ่อนที่สุด

4.2 การชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น และรากทานตะวัน เก็บเกี่ยวต้นทานตะวันทุกกระถาง โดยตัดต้นทานตะวันบริเวณโคนต้นที่ติดกับส่วนบนสุดของรากแยกในส่วนของรากทำการคว่ำกระถางและเก็บรากที่อยู่ในดินทั้งหมด ล้างเศษดินที่รากออก ใส่ซองกระดาษที่สะอาด นำมาชั่งน้ำหนักสด แล้วนำเข้าเครื่องอบอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักแห้งอีกครั้ง

4.3 การตรวจนับจำนวนสปอร์เชื้อรา AMF ทั้งหมดในดินที่ปลูกทานตะวัน โดยตรวจนับจำนวนสปอร์ทั้งหมดในดินโดยวิธีซึ่งดัดแปลงจากวิธีปั่นเหวี่ยงด้วยน้ำตาลซูโครส (Sucrose centrifuge) ของ Daniels and Skipper (1982) แล้วนำไปตรวจนับสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สามมิติ (stereoscopic microscope) แต่ละตัวอย่างอย่างน้อย 3 ซ้ำ

4.4 การเข้ายู่อาศัยของเชื้อรา AMF ในรากทานตะวัน โดยนำรากทานตะวันมาตรวจสอบการเข้ายู่อาศัยของเชื้อรา AMF โดยตัดรากแขนงพืชให้สั้นลง แล้วล้างเอาดินออกให้สะอาด นำไปย้อมสีตามวิธีการของ Koske, Gemma (1989) จากนั้นทำการวัดเปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของการเข้ายู่อาศัยในรากพืชตามวิธีของ Trouvellet et al. (1985) โดยตัดรากที่ย้อมสีแล้วให้ยาว 1-1.5 เซนติเมตร เรียงบนสไลด์ๆ ละ 10 เส้น จำนวน 3 สไลด์ นำไปตรวจสอบการเข้ายู่อาศัยของเชื้อรา AMF ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

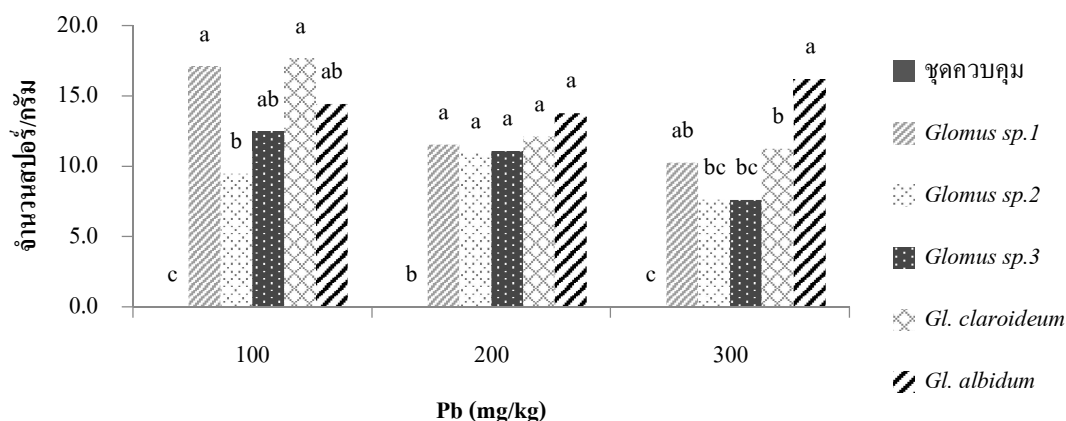
5. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลและทดสอบทางสถิติ (statistical analysis) ด้วยโปรแกรม statistix 10 โดยวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ทุกลักษณะที่ศึกษาตามแผนการทดลองแบบ Factorial in randomize complete block design และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's range test

ผลการวิจัย

1. จำนวนสปอร์ และเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา AMF ทั้ง 5 ชนิด ในทานตะวัน

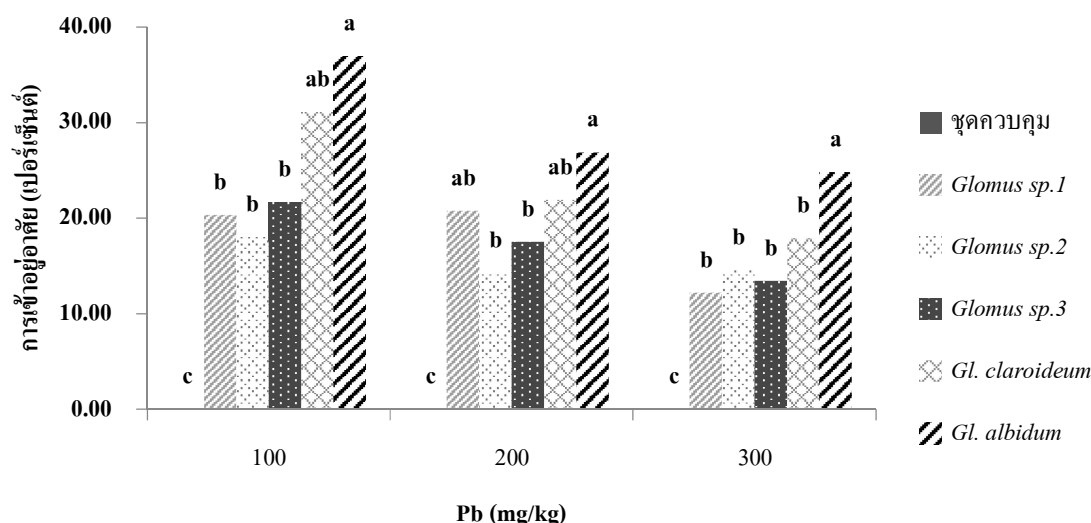
จากการปลูกทานตะวันในดินปนเปื้อนตะกั่ว 3 ระดับความเข้มข้นพบว่า จำนวนสปอร์ และเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา AMF ทั้ง 5 ชนิด คือ *Glomus* sp.1 KKU-VT-KP-KK, *Glomus* sp.2 KKU-VT-Li-KK, *Glomus* sp.3 KKU-VT-Li2-KK, *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK และ *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK ให้ผลที่แตกต่างกัน โดยพบว่าจำนวนสปอร์ที่ระดับความเข้มข้นของตะกั่วทั้ง 3 ระดับ คือ 100, 200 และ 300 mg/kg มีความแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99% ($P < 0.01$) และพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของตะกั่ว 100 mg/kg มีจำนวนสปอร์ของเชื้อรา AMF สูงที่สุด คือได้รับการทดลองที่ใช้เชื้อรา *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK โดยมีจำนวนสปอร์ 17.7 สปอร์/ดินแห้ง 1 กรัม สำหรับระดับความเข้มข้นของตะกั่ว 200 และ 300 mg/kg นั้นพบว่าได้รับการทดลองที่ใช้เชื้อรา *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK มีจำนวนสปอร์ 13.8 และ 16.2 สปอร์/ดินแห้ง 1 กรัม ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 จำนวนสปอร์ของเชื้อรา AMF ทั้ง 5 ชนิด ในดินปลูกทานตะวันที่มีระดับความเข้มข้นของตะกั่วแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 100, 200 และ 300 mg/kg

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับด้านบนต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

การหาเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา AMF ทั้ง 5 ชนิด ในรากทานตะวันที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วระดับต่างๆ พบว่าได้รับการทดลองที่ใช้เชื้อรา *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK มีเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยในรากพืชสูงที่สุดในทุกระดับความเข้มข้นของตะกั่ว คือ 36.90, 26.87 และ 24.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือ ได้รับการทดลองที่ใช้เชื้อรา *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK มีเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัย คือ 31.10, 21.90 และ 17.90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา AMF ทั้ง 5 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 100, 200 และ 300 mg/kg

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับด้านข้างต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

2. ประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นทานตะวัน

การตรวจสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นทานตะวัน ทำโดยเก็บข้อมูลต่างๆ คือ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของรากและลำต้น ของต้นทานตะวันที่ถูกปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 100, 200 และ 300 mg/kg เป็นระยะเวลา 75 วัน พบว่าระดับความเข้มข้นของตะกั่วที่ 100 mg/kg ผลของน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของลำต้น และราก และชีวมวลแห้งรวม (Total dry biomass) ของต้นทานตะวันในการทดลองที่ใช้เชื้อรา *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK มีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 1 สำหรับระดับความเข้มข้นของตะกั่วที่ 200 mg/kg พบว่าผลของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก และน้ำหนักสดของลำต้น และชีวมวลแห้งรวมของพืชที่ใช้เชื้อรา *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK และ *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK เท่านั้นมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่น้ำหนักแห้งของลำต้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักชีวมวลสด และแห้งของพืชที่ใช้เชื้อรา *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK และ *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK พบว่าต้นทานตะวันที่ใช้เชื้อรา *Gl. claroideum* มีน้ำหนักสูงกว่าพืชที่ใช้เชื้อรา *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK ดังแสดงในตารางที่ 2

ระดับความเข้มข้นของตะกั่วที่ 300 mg/kg พบว่าเชื้อรา *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK ทำให้พืชมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและราก และชีวมวลแห้งรวม สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสูงกว่าการทดลองอื่นเกือบทุกด้านของการเจริญ ดังแสดงในตารางที่ 3 และเมื่อพิจารณาถึงผลของเชื้อรา AMF ต่อการเจริญของต้นทานตะวันในดินปนเปื้อนตะกั่วในทุกๆระดับความเข้มข้น พบว่า เชื้อรา *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK มีแนวโน้มในการทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

ตารางที่ 1 ผลของเชื้อรา AMF ชนิดต่างๆ ต่อชีวมวลของต้นทานตะวันอายุ 75 วัน ที่ปลูกใน ดินปนเปื้อนตะกั่วในระดับ
100 mg/kg

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักสด ของราก (g)	น้ำหนักแห้ง ของราก (g)	น้ำหนักสด ของลำต้น (g)	น้ำหนักแห้ง ของลำต้น (g)	Biomass
ชุดควบคุม	7.30b	3.19b	23.56c	9.99b	13.18b
<i>Glomus</i> sp.1	12.80ab	6.20ab	46.82b	17.99b	24.19b
<i>Glomus</i> sp.2	14.67ab	6.95a	54.77b	19.64b	26.60b
<i>Glomus</i> sp.3	17.12a	9.22a	60.18b	20.98b	30.21b
<i>Gl. claroideum</i>	17.39a	8.64a	82.57a	30.8a	39.44a
<i>Gl. albidum</i>	15.76a	9.59a	60.27a	19.56a	29.16b
F-test	**	**	**	**	**
%CV	18.77	18.17	13.38	14.22	11.72

** คือ ผลการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ ($P < 0.01$)

ตารางที่ 2 ผลของเชื้อรา AMF ชนิดต่างๆ ต่อชีวมวลของต้นทานตะวันอายุ 75 วัน ที่ปลูกใน ดินปนเปื้อนตะกั่วในระดับ
200 mg/kg

ตำรับการทดลอง	น้ำหนักสด ของราก (g)	น้ำหนักแห้ง ของราก (g)	น้ำหนักสด ของลำต้น (g)	น้ำหนักแห้ง ของลำต้น (g)	Biomass
ชุดควบคุม	8.10d	3.92d	21.92b	10.81	14.74b
<i>Glomus</i> sp.1	12.89bc	7.69bc	52.55a	12.86	20.56ab
<i>Glomus</i> sp.2	11.65cd	6.68cd	48.01a	16.15	22.84ab
<i>Glomus</i> sp.3	14.72abc	8.06abc	64.40a	17.48	25.54a
<i>Gl. claroideum</i>	17.59a	11.11a	63.65a	14.38	25.49a
<i>Gl. albidum</i>	16.38ab	9.83ab	51.95a	16.51	26.34a
F-test	**	**	**	ns	*
	11.56	14.08	12.94	24.09	16.38

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษในคอลัมน์เดียวกันที่แตกต่างกัน แสดงถึงผลการทดลองที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ns คือผลการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* คือ ผลการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ($P < 0.05$)

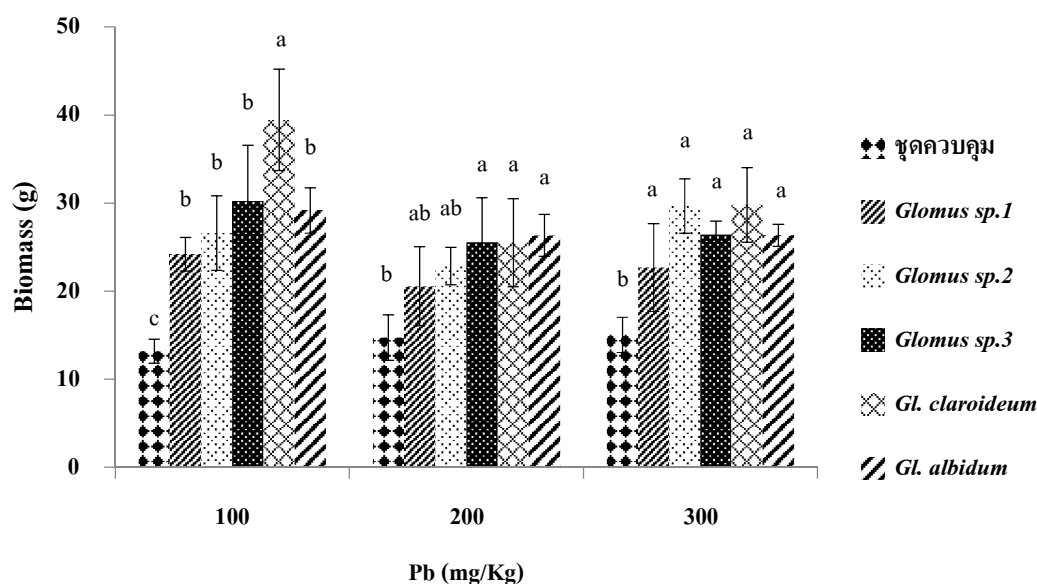
** คือ ผลการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ ($P < 0.01$)

ตารางที่ 3 ผลของเชื้อรา AMF ชนิดต่างๆ ต่อชีวมวลของดินทานตะวันอายุ 75 วัน ที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในระดับ 300 mg/kg

ตัวรับการทดลอง	น้ำหนักสด ของราก (g)	น้ำหนักแห้ง ของราก (g)	น้ำหนักสด ของลำต้น (g)	น้ำหนักแห้ง ของลำต้น (g)	Biomass
ชุดควบคุม	9.27c	4.62c	25.53c	10.41b	15.03b
<i>Glomus</i> sp.1	14.56ab	8.43ab	46.42b	14.24ab	22.67a
<i>Glomus</i> sp.2	18.34a	9.62ab	67.98a	20.03a	29.65a
<i>Glomus</i> sp.3	12.96bc	6.58bc	64.60ab	19.86a	26.44a
<i>Gl. claroideum</i>	17.89a	10.39a	61.62ab	19.39a	29.78a
<i>Gl. albidum</i>	16.23ab	9.46ab	51.37ab	16.89ab	26.35a
F-test	**	**	**	**	**
%Cv	11.58	17.97	13.62	13.78	10.20

หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษในคอลัมน์เดียวกันที่แตกต่างกัน แสดงถึงผลการทดลองที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

** คือ ผลการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ ($P < 0.01$)



ภาพที่ 3 ชีวมวลแห้งรวมของดินทานตะวันอายุ 75 วัน ที่ใส่เชื้อรา AMF ชนิดต่างๆ และปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในระดับต่างๆ

ประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ในการส่งเสริมการเจริญด้านความสูงของทานตะวัน พบว่าในความเข้มข้นของ ตะกั่วที่ 100 mg/kg ค่าความสูงที่วิเคราะห์ได้ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ($P < 0.01$) ในทุกช่วงเวลาที่เราตรวจสอบคือ 15, 30, 45, 60 และ 75 วัน โดยพบว่าเชื้อรา *Gl. claroideum* ทำให้ความสูงของทานตะวัน ทุกช่วงเวลาที่เราตรวจสอบสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่อนข้างจะสูงกว่าค่ารับการทดลองที่ปลูกเชื้อรา AMF ชนิดอื่นๆ (ตารางที่ 4) ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของตะกั่ว 200 และ 300 mg/kg พบว่าในช่วงเวลา 15 วัน นั้นพืชที่ได้ เชื้อรา AMF และ ไม่ได้เชื้อรา AMF มีความสูงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อพืชมีอายุ ตั้งแต่ 30 วัน เป็นต้นไปจนกระทั่งถึงวันที่ 75 พบว่าพืชที่ได้เชื้อรา *Gl. claroideum* มีความสูงมากกว่าค่ารับการทดลองที่ไม่ได้ใส่เชื้อรา AMF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่อนข้างที่จะสูงกว่าค่ารับการทดลองที่ได้เชื้อรา AMF ชนิดอื่นๆ (ตารางที่ 5 และ 6) จาก ผลการทดลองในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวันด้วยเชื้อรา AMF นั้น

ตารางที่ 4 ผลของเชื้อรา AMF ต่อความสูงของต้นทานตะวันในช่วงอายุ 15, 30, 45, 60 และ 75 วัน ที่ปลูกในดินปนเปื้อน ตะกั่วในระดับความเข้มข้น 100 mg/kg

ค่ารับการทดลอง	15 วัน	30 วัน	45 วัน	60 วัน	75 วัน
ชุดควบคุม	27.00b	36.67c	56.33d	72.33b	79.33c
<i>Glomus</i> sp.1	31.67ab	39.67bc	63.67cd	87.00ab	93.33bc
<i>Glomus</i> sp.2	36.67ab	48.67ab	71.00bc	91.00ab	105.33bc
<i>Glomus</i> sp.3	28.33b	38.33c	72.67b	98.67a	114.67ab
<i>Gl. claroideum</i>	41.33a	51.00a	82.00a	104.67a	135.67a
<i>Gl. albidum</i>	33.67ab	45.67abc	79.00ab	88.67ab	98.00bc
F-test	**	**	**	**	**
%CV	12.39	7.95	4.27	9.11	10.26

ตารางที่ 5 ผลของเชื้อรา AMF ต่อความสูงของต้นทานตะวันในช่วงอายุ 15, 30, 45, 60 และ 75 วัน ที่ปลูกในดินปนเปื้อน
 ตะกั่วในระดับความเข้มข้น 200 mg/kg

คำรับการทดลอง	15 วัน	30 วัน	45 วัน	60 วัน	75 วัน
ชุดควบคุม	29.67ab	41.67a	52.67c	69.33b	78.33a
<i>Glomus</i> sp.1	33.33ab	41.33a	74.00ab	87.33ab	92.00a
<i>Glomus</i> sp.2	33.33ab	43.33a	66.33bc	89.33ab	99.67a
<i>Glomus</i> sp.3	37.67ab	46.67a	78.67ab	93.00ab	103.67a
<i>Gl. claroideum</i>	38.67a	50.00a	82.33a	99.33a	112.00a
<i>Gl. albidum</i>	27.33b	41.67a	64.33bc	69.00b	80.67a
F-test	*	ns	**	**	ns
%CV	11.45	9.25	7.26	11.26	14.16

ตารางที่ 6 ผลของเชื้อรา AMF ต่อความสูงของต้นทานตะวันในช่วงอายุ 15, 30, 45, 60 และ 75 วัน ที่ปลูกในดิน
 ปนเปื้อนตะกั่วในระดับความเข้มข้น 300 mg/kg

คำรับการทดลอง	15 วัน	30 วัน	45 วัน	60 วัน	75 วัน
ชุดควบคุม	32.67a	42.33c	52.00c	68.33b	73.67c
<i>Glomus</i> sp.1	38.33a	45.00ab	68.33ab	77.00b	92.00ab
<i>Glomus</i> sp.2	39.67a	49.33ab	69.00ab	89.00ab	106.67ab
<i>Glomus</i> sp.3	29.33a	47.67abc	70.00ab	105.67a	118.00ab
<i>Gl. claroideum</i>	32.33a	51.33ab	76.67a	109.00a	128.00a
<i>Gl. albidum</i>	38.00a	52.33a	60.33b	73.33b	77.67bc
F-test	ns	**	**	**	**
%CV	24.18	4.93	5.55	11.09	14.38

3. การหาปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ ต่อน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของราก และลำต้น ของต้นทานตะวันที่ ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว

การหาปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ ต่อน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของรากและลำต้นของทานตะวันพบว่า ระดับความเข้มข้นของตะกั่วทั้ง 3 ระดับ (Pb) ไม่ทำให้น้ำหนักสดของลำต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของราก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$) ยกเว้นน้ำหนักแห้งของลำต้นและชีวมวลแห้ง รวม เท่านั้นที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($P < 0.01$) ในขณะที่คำรับการทดลองที่ใส่เชื้อรา AMF ทั้ง 5 ชนิด (Mycor) ให้ค่าชีวมวลสด แห้ง และรวมแตกต่างจากคำรับการทดลองที่ไม่ใส่เชื้อรา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่นที่ 99% นอกจากนี้คำรับการทดลองที่ใส่เชื้อรา AMF ทั้ง 5 ชนิด และคำรับที่ไม่ใส่เชื้อรา AMF มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของตะกั่วทั้ง 3 ระดับ (Pb*Mycor) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่

ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยทำให้ชีวมวลรวม น้ำหนักสดของลำต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากแตกต่างกัน ยกเว้น น้ำหนักแห้งของลำต้นที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่างๆ ต่อน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของรากและลำต้น ความสูง และชีวมวลแห้งรวม ของต้นทานตะวันอายุ 75 วัน ที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วในระดับต่างๆ

SV	DF	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	น้ำหนักสด	น้ำหนักแห้ง	ความสูงที่	ชีวมวล
		ของราก	ของราก	ของลำต้น	ของลำต้น	75 วัน	แห้งรวม
MS							
Rep	2	14.1530	0.3264	265.65	6.5342	406.74	72127
Pb	2	7.8574	3.6268	83.33	119.62**	450.02	93.082**
Mycor	5	94.9342**	42.25562**	2273.27**	138.159**	2859.19**	317.530**
Pb*Mycor	10	9.0592*	3.9798*	152.97*	29.188**	117.66	26.853*
Error	34	4.1442	1.5753	50.97	8.717	182.25	10.540
Total	53						
%CV		14.33	16.11	13.55	17.25	13.59	13.04

หมายเหตุ Df คือ Degree of freedom

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการตรวจสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวันในดินปนเปื้อนตะกั่วในระดับต่างๆ พบว่าจำนวนสปอร์ของเชื้อรา AMF มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99% ($P < 0.01$) ดำรับการทดลองที่ใส่เชื้อรา *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK มีจำนวนสปอร์สูงที่สุดที่ระดับความเข้มข้นของตะกั่ว 100 และ 200 mg/kg ในขณะที่เชื้อรา *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK มีจำนวนสปอร์สูงที่สุดที่ระดับความเข้มข้นของตะกั่ว 300 mg/kg และยังพบว่าเชื้อรา AMF บางชนิดมีจำนวนสปอร์ลดลง เมื่อมีความเข้มข้นของตะกั่วในระดับที่สูงขึ้น เนื่องจากการที่พืชมีความเครียดจากสภาพแวดล้อมสูงจะทำให้อัตราการงอกของสปอร์ต่ำ และใช้เวลานาน เช่น สภาวะความเครียดจากความเค็ม และโลหะหนัก (Jahromi et al., 2008)

การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อรา AMF พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99% ($P < 0.01$) ซึ่งดำรับการทดลองที่ใส่เชื้อรา *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK มีเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยสูงที่สุดในทุกระดับความเข้มข้นของตะกั่ว รองลงมาคือ *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK ทั้งนี้ความหนาแน่นของการเข้าอยู่อาศัยลดลงเมื่อความเข้มข้นของตะกั่วสูงขึ้น จากการทดลองแสดงให้เห็นความสอดคล้องกันของจำนวนสปอร์ในดินและ

ความหนาแน่นของการอยู่อาศัยของเชื้อราในรากพืชในทิศทางเดียวกันคือ เมื่อความเข้มข้นของตะกั่วมากขึ้นจะทำให้จำนวนสปอร์ลดลง ความหนาแน่นในการเข้าอยู่อาศัยก็ลดลงด้วยเช่นกัน

ประสิทธิภาพของเชื้อรา AMF ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของทานตะวันปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่ว ในด้านความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของรากและลำต้น และชีวมวล พบว่าได้รับการทดลองที่ได้เชื้อรา AMF ทานตะวันมีการเจริญเติบโตในทุกด้านสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อรา AMF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าเชื้อรา *Gl. claroideum* KKU-VT-PK-KK ทำให้การเจริญของพืชเกือบทุกด้านสูงสุด รองลงมาคือเชื้อรา *Gl. albidum* KKU-VT-PK-KK ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Andrade et al. (2010) โดยพบว่าเชื้อราจะสร้างสารโมเลกุลบางชนิด ที่ทำให้พืชทนต่อสภาวะเครียดจากสิ่งแวดล้อมได้ และทำให้พืชอาศัยทนต่อสภาวะความเป็นพิษจากสิ่งแวดล้อม เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Leung et al. (2013) รายงานว่าได้รับการทดลองที่ได้เชื้อรา AMF จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านชีวมวลให้กับพืช เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความเข้มข้นของสารหนูที่เท่ากัน แสดงถึงประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อพืชอาศัยภายใต้สภาพการปนเปื้อนของโลหะหนัก และพบว่าเชื้อรา AMF ช่วยทำให้พืชสามารถลำเลียงสารหนูเข้าสู่รากและลำต้นได้มากกว่าชุดควบคุม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อรา AMF มีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือนำไปใช้ร่วมกับการบำบัดโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดินด้วยพืชต่อไปได้ในอนาคต อย่างไรก็ตามควรมีการคัดเลือชนิดของพืช และชนิดของเชื้อราให้มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้บำบัดโลหะหนักชนิดนั้นๆ ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงต่อรองศาสตราจารย์ ดร.โสภณ บุญถนอม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้คำแนะนำในการศึกษาวิจัยอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง และกรุณาให้ข้อเสนอแนะด้านวิชาการ และคำปรึกษาอันเป็นประโยชน์ในระหว่างดำเนินการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ Prof.Dr. Hiroyuki Harada จากมหาวิทยาลัย Prefectural University of Hiroshima ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ และความช่วยเหลือในการวิเคราะห์โลหะหนัก ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลงไปได้ด้วยดี สุดท้ายขอขอบคุณหัวหน้าและเจ้าหน้าที่ศูนย์สารสนเทศการพัฒนาระบบและบรรณการฯ วิทยาลัยเทคโนโลยีอาชีวศึกษา 6 จังหวัดขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อการเก็บตัวอย่างในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Adriano DC.Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. New York, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2001.
- Andrade SAL, APD Silveira, and P Mazzafera. Arbuscular mycorrhiza alters metal Uptake and the physiological response of Coffea arabica seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil. Science of the Total Environment; 2010.
- Boonlue S, W Surapat, C Pukahuta, P Suwanarit, A Suwanarit and T Morinaga. Diversity and efficiency of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from organic chili (*Capsicum frutescens*) farms. Mycoscience 2012; 53(1), 10–16.
- Chaudhry T, Hayes W, Khan A, Khoo C. Phytoremediation—focusing on hyperaccumulator plants that remediate metal-contaminated soils. Aust. J. Ecotoxicology 1998; 4, 37–51

- Daniels BA, Skipper HA, & Schenck NC. Methods and principles of mycorrhizal research; 1982.
- Hepper, CM. Germination and growth of *Glomus caledonius* spores: The effects of inhibitors and nutrients. Soil Biology and Biochemistry 1979; 11(3), 269–277.
- Jahromi F, Aroca R, Porcel R, Ruiz-Lozano JM. Influence of salinity on the in vitro development of *Glomus* intraradices and on the in vivo physiological and molecular responses of mycorrhizal lettuce plants. Microbial Ecology 2008; 55(1): 45.
- Khan A. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. J. Trace Elem. Med. Biol 2005; 18: 355–64.
- Khan AG. Mycorrhizoremediation an enhanced form of phytoremediation. J Zhejiang UnivSci B 2006, 7, 503–14.
- Koske RE, Gemma JN. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. Mycological research 1989; 92(4): 486–488.
- Leung, H M. , WANG Zhen-Wen, YE Zhi-Hong, YUNG Kin-Lam, PENG Xiao-Ling, and KC Cheung. Interactions between arbuscular mycorrhizae and plants in phytoremediation of metal-contaminated soils: a review. Pedosphere 2013, 23(5), 549–563.
- Tian CY, Feng G, Li XL, Zhang FS. Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline on salinity tolerance of plants. Applied Soil Ecology 2004; 26: 143–148.
- Trouvelet, A, JL Kough and V Gianinazzi-Pearson. Mesure Dutaux de Mycorrhization VA d'un Systeme Radiculaire. pp. 217–221. In V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi (eds.). Aspects Physiologiques et Genetiques des Mycorrhizes. Actes d'un Symposium Europeen sur les Mycorrhizes. INRA, Paris Wenzel WW, Lombi E, Adriano DC. (1999). Biogeochemical processes in the rhizosphere: role in phytoremediation of metal-polluted soils. In: Prasad MNV, Hagemeyer J, editors. Heavy Metal Stress in Plants. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag 1995: 273–303.
- Wenzel WW, Andriana DC, Salt D, Smith R. Phytoremediation : a plant microbe-based remediation System. In : Bioremediation of Contaminated Soils, Agronomy Monograph 1999; 37.