THE POTENTIAL PLANTS FOR PHYTOREMEDIATION OF CADMIUM AND ZINC CONTAMINATED SOILS AND ENHANCEMENT OF PHYTOREMEDIATION BY PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR)

CHETSADA PHAENARK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (BIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2010

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

THE POTENTIAL PLANTS FOR PHYTOREMEDIATION OF CADMIUM AND ZINC CONTAMINATED SOILS AND ENHANCEMENT OF PHYTOREMEDIATION BY PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR)

CHETSADA PHAENARK 4736410 SCBI/D

Ph.D. (BIOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: PRAYAD POKETHITIYOOK, Ph.D., MALEEYA KRUATRACHUE, Ph.D., WACHAREEPORN TRINACHARTVANIT, Ph.D.

ABSTRACT

Plant species grown on heavy metal contaminated soils around Padaeng Zn mine were collected and investigated for Cd and Zn accumulation to find the potential metal hyperaccumulator plants for phytoremediation. *Chromolaena odoratum*, *Gynura pseudochina*, *Justicia procumbens* and *Impatiens violaeflora* met the required hyperaccumulation criteria. They were thus considered as Cd hyperaccumulators while *J. procumbens* was also considered a Zn hyperaccumulator. *C. odoratum* from field collection accumulated 166 and 110 mg Cd kg^{-1} DW in shoots and roots, respectively. Moreover, the hydroponically grown plants could accumulate 266 and 1,670 mg Cd kg^{-1} DW in shoots and roots, respectively without showing any toxicity symptoms at Cd supply level of 2.5 mg l^{-1}. *C. odoratum* was the best candidate for feasible phytoremediation. It was able to accumulate not only high Cd concentration but also retained many favorable characteristics suitable for practical phytoremediation. Metal toxicities in *C. odoratum* exposed to high Cd concentration were seen as having brown colored roots, root fragmentation, and red spots in the veins and petioles of leaves. Tissue damage and organelle deformities were also observed. They possibly resulted from the interference of Cd with the homeostatic pathway for essential metals. In *C. odoratum*'s roots, Cd was mainly found in the cell wall, intercellular space and in cells close to the vascular system. It indicated that Cd transported apoplastically can be immobilized in the cell wall and intercellular space while Cd taken into plant cells will be bound to phytochelatin and transported into vacuole. In plant leaves, Cd was found in mesophyll cells lying along the way of water migration from vascular cylinder to the epidermis, indicating involvement of transpiration in metal transportation.

Normally heavy metal availability in soil is not the only rate limiting factor for phytoextraction, but also the retardation of plant growth due to metal toxicity. The combination between plants and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) is an alternative for improving phytoextraction efficiency since PGPR not only promote plant growth but also enhance metal uptake. In the present study *Chryseobacterium sp*. TKS21, *Comamonas testosteroni* TKS07, *Cupriavidus taiwanensis* TKS05, *Delftia sp*. TKS10, *Pseudomonas aeruginosa* TKS22, and *Serratia marcescens* TKS01 were isolated from the rhizosphere of *C. odoratum* grown on metal contaminated soils. All of them could colonize the roots of *Helianthus annuus*. Moreover, TKS21, TKS07, TKS05, and TKS10 not only promoted plant growth but also enhanced Cd accumulation in the plants grown on non-sterile metal contaminated soil. Plant growth promotion may have resulted from production of IAA synthesized by bacterial inoculants, while Cd accumulation was probably enhanced through metal solubilizing activity by the rhizobacteria. Enhancing metal accumulation in high yielding crop plants without diminishing their yield is fundamental to successful phytoextraction.

KEY WORDS: *CHROMOLAENA ODORATUM* / HYPERACCUMULATOR / Cd / Zn / PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR)

213 pages

Copyright by Mahidol University

การศึกษาพืชที่เป็นไปได้เพื่อใช้บำบัดดินที่ปนเปื้อนโลหะแคดเมียมและสังกะสี และการเพิ่มประสิทธิภาพของการบำบัดโดยใช้แบคทีเรียรอบรากพืชที่ส่งเสริมการเติบโตของพืช

THE POTENTIAL PLANTS FOR PHYTOREMEDIATION OF CADMIUM AND ZINC CONTAMINATED SOILS AND ENHANCEMENT OF PHYTOREMEDIATION BY PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR)

เจษฎา แพนาค 4736410 SCBI/D

ปร.ด. (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ประหยัด โภคฐิติยุกต์, Ph.D., มาลียา เครือตราชู, Ph.D., วัชรีพร ตฤณชาติวณิชย์, Ph.D.

บทคัดย่อ

พืชที่เจริญบนดินที่ปนเปื้อนโลหะหนักรอบเหมืองผาแดงถูกเก็บรวบรวมและตรวจสอบการสะสมโลหะแคดเมียมและสังกะสีเพื่อหาพืชดูดซับโลหะหนักปริมาณสูงไปใช้ในการบำบัดดินปนเปื้อนโลหะ *Chromolaena odoratum*, *Gynura pseudochina*, *Justicia procumbens*, และ *Impatiens violaeflora* ผ่านเกณฑ์การเป็นพืชดูดซับโลหะหนักปริมาณสูง พืชเหล่านั้นถูกพิจารณาให้เป็นพืชดูดซับโลหะแคดเมียมปริมาณสูง ขณะที่ *J. procumbens* ก็เป็นพืชดูดซับโลหะสังกะสีปริมาณสูงด้วย *C. odoratum* ซึ่งรวบรวมมาจากพื้นที่สำรวจ สะสม 166 และ 110 มิลลิกรัมแคดเมียม ต่อกิโลกรัมมวลแห้งในส่วนลำต้น และราก ตามลำดับ พืชที่เพาะเลี้ยงด้วยสารละลายที่มีแคดเมียมผสมอยู่ในความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสะสมโลหะในส่วนลำต้นและรากได้ 267 และ 1,670 มิลลิกรัมแคดเมียมต่อกิโลกรัมมวลแห้ง ตามลำดับ โดยไม่แสดงอาการความเป็นพิษ *C. odoratum* เป็นพืชที่เหมาะสมในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนโลหะโดยใช้พืช นอกจากมีความสามารถสะสมแคดเมียมได้ในปริมาณสูงแล้วยังมีคุณลักษณะหลายอย่างที่เหมาะสมในการบำบัดการปนเปื้อนโลหะโดยใช้พืชในทางปฏิบัติ ความเป็นพิษซึ่งเกิดจากแคดเมียมที่พบใน *C. odoratum* คือ รากพืชเป็นสีน้ำตาล การหักเป็นท่อนของราก จุดแดงตามเส้นใบและก้านใบ การทำลายของเนื้อเยื่อและความผิดปกติของออร์แกเนลล์ การเปลี่ยนแปลงนี้อาจเป็นผลจากการรบกวนของแคดเมียมต่อสมดุลแร่ธาตุที่จำเป็นของพืช ในรากพืชแคดเมียมถูกพบมากในผนังเซลล์ ช่องว่างระหว่างเซลล์ และภายในเซลล์ที่อยู่ใกล้กับระบบท่อลำเลียง แคดเมียมซึ่งถูกลำเลียงโดยไม่ผ่านเซลล์จะถูกตรึงไว้ในผนังเซลล์ และช่องว่างระหว่างเซลล์ ขณะที่แคดเมียมที่ถูกนำเข้าเซลล์จะถูกจับกับไฟโทคีลาทินแล้วถูกลำเลียงไปเก็บไว้ในแวคิวโอล ในใบของพืชแคดเมียมถูกพบในเซลล์ใบซึ่งเรียงตัวอยู่ในแนวทางการลำเลียงน้ำจากระบบ ท่อลำเลียงไปสู่เซลล์ชั้นนอกสุดของใบ แสดงให้เห็นว่าการลำเลียงโลหะในใบพืชเกี่ยวพันกับการคายน้ำของพืช

ความสามารถถูกนำไปใช้ได้ของโลหะหนักในดินและการเจริญเติบโตของพืชที่ลดลงเนื่องจากความเป็นพิษของโลหะล้วนเป็นข้อจำกัดของ phytoextraction การรวมกันระหว่างพืชกับแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญของพืช (PGPR) เป็นหนึ่งทางเลือกที่จะนำไปสู่การเพิ่มศักยภาพของ phytoextraction ไม่เพียงแค่ PGPR สามารถส่งเสริมการเติบโตของพืชได้ แล้วยังช่วยการดูดซับโลหะหนักด้วย ในการศึกษาครั้งนี้ *Chryseobacterium sp.* TKS21, *Comamonas testosteroni* TKS07, *Cupriavidus taiwanensis* TKS05, *Delftia sp.* TKS10, *Pseudomonas aeruginasa* TKS22 และ *Serratia marcescens* TKS01 ถูกแยกมาจากบริเวณดินรอบรากของ *C. odoratum* ที่เจริญบนดินปนเปื้อนโลหะหนัก แบคทีเรียทั้งหมดสามารถอยู่ร่วมกับรากของ *Helianthus annuus* ได้ TKS21, TKS07, TKS05 และ TKS10 ส่งเสริมการเติบโตและการดูดซับโลหะหนักของพืชที่ปลูกในดินปนเปื้อนโดยไม่ผ่านกระบวนการปลอดเชื้อ แบคทีเรียอาจส่งเสริมการเติบโตของพืชโดยการผลิต IAA และส่งเสริมการสะสมโลหะหนักของพืชโดยการทำให้โลหะในดินละลายได้ การสะสมโลหะในพืชที่เพิ่มขึ้นโดยมวลพืชไม่ลดลงเป็นหลักพื้นฐานที่จะนำไปสู่ความสำเร็จของ phytoextraction

213 หน้า

Copyright by Mahidol University