ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การคัดเลือกแบคทีเรียย่อยสลายเมโทมิลจากดินบริเวณเพาะปลูก

ผู้เขียน นางสาวชีวาพัฒน์ อรรถพลไพศาล

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อ. ดร. สกุณี บวรสมบัติ ประธานกรรมการ
รศ. วันชัย สนธิไชย กรรมการ
อ. ดร. สุนันทา วังกานต์ กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการนำดินบริเวณพื้นที่การเกษตรซึ่งมีการใช้เมโทมิลในการทำลายศัตรูพืชในเขตอำเภอสารภี จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย จำนวน 10 ตัวอย่าง มาแยกแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเมโทมิลโดยการบ่มใน Ringer's solution เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Basal Salt Medium (BSM) ที่มีเมโทมิลปริมาณ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ่ายเชื้ออย่างต่อเนื่อง 5 ครั้ง บ่มครั้งละ 24 ชั่วโมง นำมาหาจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดโดยการ spread plate บนอาหารวุ้น BSM ที่มีเมโทมิล ปริมาณ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จำนวนแบคทีเรียที่เจริญได้ที่ปริมาณดังกล่าวอยู่ในช่วง 1.14×10^5 - 1.62×10^7 cfu/g คัดแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 110 ไอโซเลท เป็นกรัมลบท่อนยาว 19 ไอโซเลท กรัมลบท่อนสั้น 56 ไอโซเลท กรัมบวกท่อนยาว 7 ไอโซเลท และกรัมบวกท่อนสั้น 28 ไอโซเลท และเมื่อนำไอโซเลทที่แยกได้มาคัดเลือกหาแบคทีเรียที่สามารถเจริญบนอาหารวุ้นที่มีเมโทมิลที่ปริมาณ 4,000, 5,000, 6,000 และ 7,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีเพียง 8 ไอโซเลทที่สามารถเจริญได้ดีทุกปริมาณ จากนั้นนำแบคทีเรีย 8 ไอโซเลท ที่คัดเลือกได้ไปศึกษาการย่อยสลายเมโทมิลในอาหารเหลวที่ปริมาณ 7,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา12 วัน เมื่อตรวจวัดปริมาณเมโทมิลที่เหลือโดยใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ทุก 3 วัน พบว่ามีแบคทีเรีย 4 ไอโซเลท ที่ลดปริมาณเมโทมิลได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้แก่ ไอโซเลท E2, H2, H3 และ H8 ซึ่งลดปริมาณเมโทมิลได้ 54.7, 56.9, 58.0 และ 60.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากนั้นนำแบคทีเรียไอโซเลท H8 มาศึกษาการย่อยสลายเมโทมิลในดินที่ปริมาณ 0.2 มิลลิกรัมต่อกรัม พบว่าปริมาณของเมโทมิลไม่มีการเปลี่ยนแปลงในทุกการทดลอง เมื่อทำการบ่งบอกลักษณะโดยการเทียบลำดับเบสของ 16S rDNA พบว่าไอโซเลท H8 คือแบคทีเรีย *Klebsiella* sp. P2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

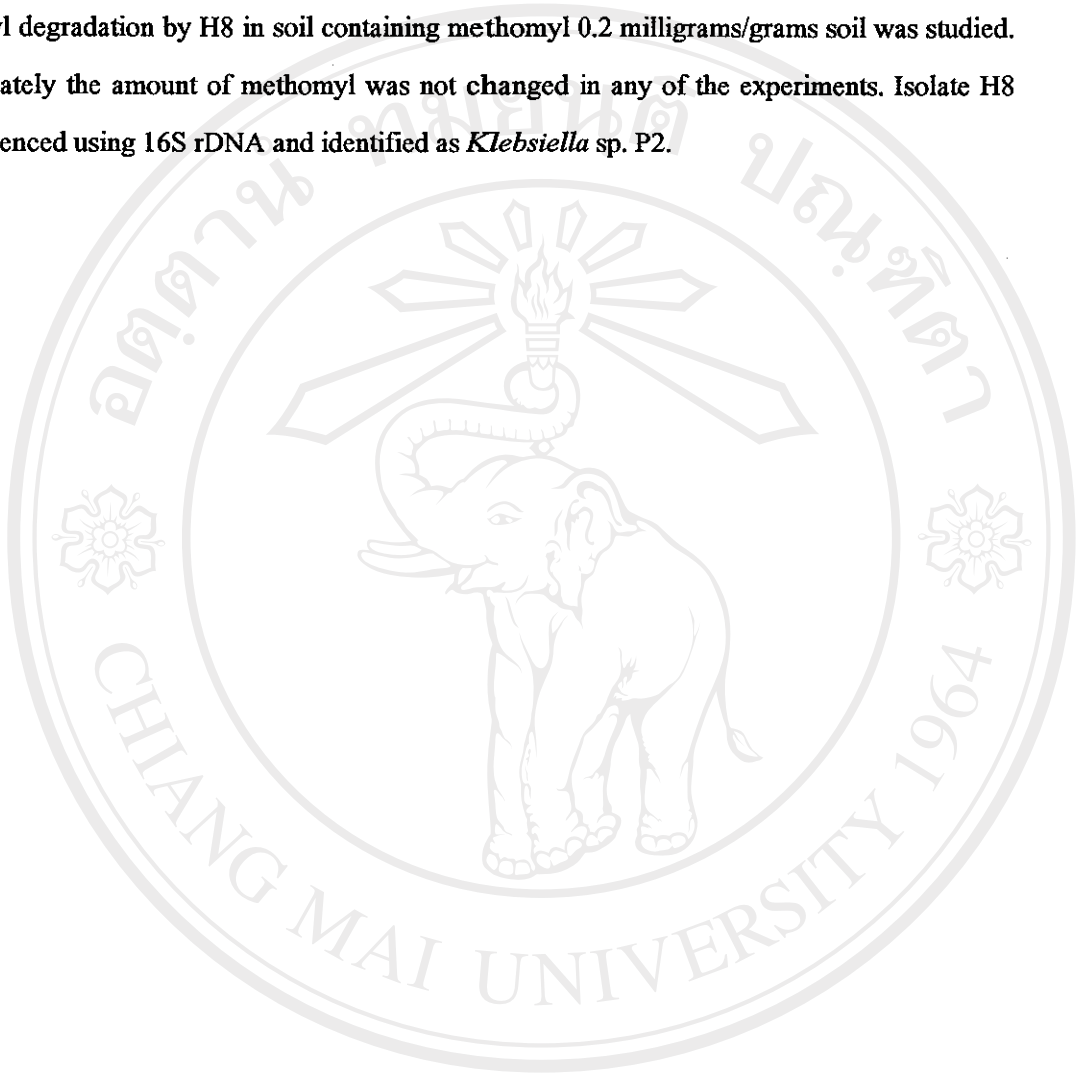
Thesis Title	Selection of Methomyl-Degrading Bacteria from Cultivated Soils
Author	Miss Chewapat Uttaponpisarn
Degree	Master of Science (Biology)
Thesis Advisory Committee	Lect. Dr. Sakunnee Bovonsombut Chairperson Assoc. Prof. Wanchai Sonthichai Member Lect. Dr. Sunanta Wangkarn Member

ABSTRACT

Ten soil samples in agricultural areas where methomyl have been used as pesticides in Sarapee District, Chiang Mai, Thailand were collected to select methomyl-degrading bacteria. They were inoculated in Ringer's solution and incubated at room temperature for 24 hours, then transferred consecutively 5 times into Basal Salt Medium (BSM) broth, containing 250 milligrams/litres of methomyl and incubated at room temperature for 24 hours. The cultures were subsequently spread on BSM agar, containing 250 milligrams/litres of methomyl and incubated at room temperature for 48 hours. Methomyl-degrading bacteria were found in all soil samples at concentration of between 1.14×10^5 - 1.62×10^7 cfu/g. One hundred and ten bacterial isolates, 19 gram-negative rods, 56 gram-negative short rods, 7 gram-positive rods and 28 gram-positive short rods were obtained. The selected methomyl-degrading bacterial isolates were inoculated onto BSM agar containing 4,000, 5,000, 6,000 and 7,000 milligrams/litres of methomyl. Eight isolates grew well in all methomyl concentrations. They were cultivated in BSM broth, containing 7,000 milligrams/litres of methomyl for 12 days. Methomyl residues were analysed using high performance liquid chromatography (HPLC) every 3 days. Four isolates namely, E2, H2, H3 and

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

H8 degraded methomyl more than 50% (54.7, 56.9, 58.0 and 60.4%, respectively). Subsequently, methomyl degradation by H8 in soil containing methomyl 0.2 milligrams/grams soil was studied. Unfortunately the amount of methomyl was not changed in any of the experiments. Isolate H8 was sequenced using 16S rDNA and identified as *Klebsiella* sp. P2.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved