

**Thesis Title: Factors Affecting the Biodegradation of Carbaryl with Selected Bacterial Strain**

**Author : Mr. Md. Abul Kalam Azad**

**M.S. : Environmental Risk Assessment for Tropical Ecosystems**

**Examining Committee:**

**Assoc. Prof. Dr. Saisamorn Lumyong**

**Chairman**

**Assis. Prof. Morakot Sukchotiratana**

**Member**

**Assoc. Prof. Dr. Somboon Anuntalabhochai**

**Member**

**Abstract**

A pure culture of bacteria was isolated from the soil of the Royal Pang Da Agricultural Station, Sameong Tai Subdistrict, Chiang Mai Province, Thailand. Biodegradation of carbaryl was tested with this bacteria in different conditions. It was found that this bacteria was able to use carbaryl as a sole source of carbon. Bacterial growth and degradation of carbaryl were measured by spectrophotometer and HPLC, respectively. A low growth of bacteria and degradation of carbaryl in minimum minerals (MM) medium was observed during this study. Bacterial growth which related to the disappearing of carbaryl in MM medium was found at pH 6.8 and 7.0. Whereas a higher degradation of carbaryl was obtained at pH above 7.2 which were not correlated to the growth of bacteria. Out of four temperatures, 30 °C, 34 °C, 37 °C and 41 °C, good growth and degradation was found at both 34 °C and 37 °C.

However, it was unable to grow at 41°C. Bacterial degradation of carbaryl was higher in nutrient broth than yeast-extract enriched MM medium.

No enhancement of biodegradation of carbaryl and bacterial growth was observed when carbaryl containing MM media was enriched with the same amount of carbofuran or carbosulfan. Bacterial growth study in MM which enriched with only carbofuran revealed that it could not use carbofuran whereas it was capable of using the intermediary metabolite of carbaryl, 1-naphthol as a sole source of carbon. Separate addition of each vitamins such as thiamin, riboflavin and nicotinamide to MM did not enhance the bacterial growth and carbaryl degradation, significantly. However, addition of riboflavin caused a higher degradation of carbaryl than the other two vitamins.

In bacterial mutation study with UV, it was found that the isolate U3 which treated with UV-60 sec. degraded primarily more carbaryl than the wild type bacteria. However, after five times subculture of this bacteria no enhancement of biodegradation of carbaryl was observed.

This bacteria was gram-negative, short rod, motile and oxidase positive. It has more than one flagella. It was non-fermentative and did not produce gas from sugar. It was able to grow on MacConkey agar appearing as a non-lactose fermenter. In addition, the positive results were found for the tests of citrate utilization, nitrate reduction whereas the growth in maltose was negative. It did not produce urease enzyme. It could liquefy the gelatin. This bacteria was produced a characteristic fluorescent pigment. From these tests the selected bacterial strain of this study was identified to be *Pseudomonas fluorescens*.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์      ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของคาร์บาริลโดยสายพันธุ์  
แบคทีเรียที่คัดเลือก

ชื่อผู้เขียน                      นายเอ็ดดี อาบูล คาตาม อาซาด

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการประเมินความเสี่ยงทางด้านสิ่งแวดล้อม ในระบบนิเวศเขตร้อน

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร.สายสมร ถ้ายอง	ประธานกรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มรกต สุทธิรัตนัน	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย	กรรมการ

บทคัดย่อ

ได้นำแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน ที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ ตำบลสะเมิงใต้ จังหวัด เชียงใหม่ มาทดสอบการย่อยสลายคาร์บาริลในสภาวะต่าง ๆ พบว่าแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญ ได้เมื่อมีคาร์บาริลเป็นแหล่งคาร์บอนแต่เพียงอย่างเดียว และยังพบว่าการเจริญน้อย และสลาย คาร์บาริลใน minimum minerals (MM) medium การเจริญของแบคทีเรียซึ่งสัมพันธ์กับการลดลง ของคาร์บาริลใน MM medium เกิดขึ้นที่ pH 6.8 และ 7.0 ส่วนการสลายที่มากขึ้นจะเกิดขึ้นที่ pH สูงกว่า 7.2 ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับการเจริญของแบคทีเรีย จากการเพาะเลี้ยงที่ 30°C , 34°C , 37 °C และ 41°C พบว่าการเจริญที่ดีและการสลายคาร์บาริลจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 34°C และ 37°C แต่ไม่ เจริญที่ 41°C การสลายคาร์บาริลจะเพิ่มขึ้นใน nutrient broth มากกว่าใน MM medium ที่ผสม yeast extract

การสลายของคาร์บาริลและการเจริญของแบคทีเรียไม่เพิ่มขึ้นเมื่อเติม carbofuran หรือ carbosulfan ในปริมาณที่เท่ากันใน MM medium ที่มีคาร์บาริล การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียใน MM medium ที่เติม carbofuran อย่างเดียวพบว่าแบคทีเรียไม่สามารถใช้ carbofuran และสามารถใช้ 1-naphthol ซึ่งเป็น intermediate metabolite ของคาร์บาริล เมื่อเติมวิตามิน thiamin, riboflavin หรือ nicotinamide ลงใน MM medium พบว่าการเจริญและการสลายคาร์บาริลไม่ได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามการเติม riboflavin ก่อให้เกิดการสลายของคาร์บาริลได้มากกว่าการเติมวิตามินอีกสองชนิด

การทำให้เกิดการผ่าเหล่าด้วย UV เป็นเวลา 60 วินาทีได้ตัวผ่าเหล่า  $U_3$  ซึ่งสลายคาร์บาริลได้มากกว่าสายพันธุ์ปกติ แต่หลังจากที่ต่อเชื้อห้าครั้ง การสลายคาร์บาริลจะไม่เพิ่มขึ้น

การศึกษารบ่งบอกชนิด พบว่าแบคทีเรียชนิดนี้เป็นพวกกรัมบวก, รูปเป็นแท่งสั้น, เคลื่อนที่ได้ สร้างออกซิเดส ไม่เฟอร์เมนต้น้ำตาล และไม่ผลิตกาซ เจริญได้บนอาหารวุ้น MacConkey ลักษณะที่ปรากฏเป็นแบบไม่ใช้น้ำตาลแลคโตส นอกจากนี้ยังใช้ citrate, รีดิวัชไนเตรต แต่ไม่เจริญในอาหารที่มีอลโดส ไม่ผลิตเอนไซม์ยูรีเอสและสลายเจลาติน สร้าง fluorescent pigment ลักษณะต่าง ๆ ดังกล่าวแสดงว่าแบคทีเรียชนิดนี้คือ *Pseudomonas fluorescens*