ชื่อเรื่อง การย่อยสลายสารไกลโฟเสททางชีวภาพของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินในพื้นที่เพาะปลูก

ชื่อผู้เขียน นางสาวจุไรรัตน์ อิมินา

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารไกลโฟเสท และศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียการย่อยสลายสารไกลโฟเสทที่ปนเปื้อนในดิน ในการทดลองได้คัดแยกแบคทีเรียจากดินในพื้นที่การเกษตรที่มีประวัติการใช้สารไกลโฟเสท ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 27 ไอโซเลท หลังจากนั้นทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายสารไกลโฟเสทในระดับห้องปฏิบัติการโดยทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร tryptic soy broth (TSB) ที่เติมสารไกลโฟเสทความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของสารไกลโฟเสทด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่าสามารถคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายสารไกลโฟเสทมากที่สุด 3 ไอโซเลท คือ LMC2 MMC2 และ PMA2 จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและผลการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอในส่วนของยีน 16S rRNA พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท MMC2 มีลำดับเบสที่คล้ายกับ *Bacillus megaterium* มีความเหมือน 100 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียไอโซเลท LMC2 มีลำดับเบสที่คล้ายกับ *Bacillus subtilis* มีความเหมือน 100 เปอร์เซ็นต์ และแบคทีเรียไอโซเลท PMA2 มีลำดับเบสที่คล้ายกับ *Bacillus cereus* มีความเหมือน 99 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายสารไกลโฟเสทในดินโดยทำการศึกษาทั้งหมด 5 ชุดการทดลอง ได้แก่ ไม่เติมแบคทีเรีย (ชุดควบคุม) เติมแบคทีเรียไอโซเลท LMC2, MMC2, PMA2 และแบคทีเรียรวมทั้ง 3 ไอโซเลท (ผสม) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ มาผสมในดินที่มีการปนเปื้อนของสารไกลโฟเสทความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 10 วัน เก็บตัวอย่างดินมาทำการสกัดและหาปริมาณความเข้มข้นของสารไกลโฟเสทที่ด้วยเครื่อง HPLC พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus subtilis* (MMC2) และแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* (PMA2) มีประสิทธิภาพการย่อยสลายสารไกลโฟเสทได้มากที่สุดเท่ากับ 98.84 และ 98.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Title	Biodegradation of Glyphosate by Bacteria Isolated from Plantation Soil
Author	Miss Jurairat Eimina
Degree of	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr.Tapana Cheunban

ABSTRACT

The objectives of this study were to isolate bacteria which could degrade glyphosate and to explore the efficiency of bacteria on glyphosate contaminated in the soil degradation. Bacteria were isolated from plantation soil where glyphosate was used to be applied. Results showed that 27 isolates of bacteria could be isolated. Efficiency on glyphosate degradation was later examined in a laboratory where bacteria were cultured in tryptic soy broth (TSB) added with 20 mg/l glyphosate and which were then shaken at the rate of 150 rpm at 37 ^{o}C for 10 days. Samples were collected for finding a level of glyphosate concentration by using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Results showed that 3 isolates of bacteria, LMC2, MMC2 and PMA2, had the highest efficiency on glyphosate degradation, and were then selected. Based on the morphological characteristics and results of base series finding of DNA in gene 16s rRNA, results showed that bacteria isolate MMC2 had base series that showed similarity with *Bacillus megaterium* at 100 percent. Likewise, bacteria isolate LMC2 had base bacterial isolate series showing similarity with *Bacillus subtilis* at 100 percent. Bacteria isolate PMA2 had base series also showing similarity with *Bacillus cereus* at 99 percent. The efficiency of glyphosate degradation in the soil was studied by using 5 treatments: non-application of bacteria (control) application of bacteria (LMC2, MMC2, PMA2) and mixture of 3 isolates, with 3 replications for each method. Bacteria were then mixed in the soil that was contaminated with 20 mg/kg glyphosate for 10 days. Soil samples were collected and extracted to find a level of glyphosate concentration by using HPLC. Results showed that *Bacillus subtilis* (MMC2) and *Bacillus cereus* (PMA2) showed high efficiency in glyphosate degradation of 98.84 and 98.46 percent, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล ประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.ศิราภรณ์ ชื่นบาล และอาจารย์ ดร.ศรีกาญจนา คล้ายเรือง กรรมการที่ปรึกษาที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และสนับสนุนในเรื่องของอุปกรณ์ สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนให้คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร สาขาวิชาปฐพีศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับความรู้พื้นฐานของดินที่ใช้ในการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และอำนวยความสะดวกในด้านสถานที่ อุปกรณ์ เครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในการทำงานวิจัยนี้ ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดนุวัติ เพ็งอ้น และคุณรัตติกาล ติง สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความอนุเคราะห์และให้คำแนะนำสำหรับการใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษาประเภททุนศิษย์เรียนดี ประจำปีการศึกษา 2555

ขอขอบคุณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ภาคเหนือ ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณพ่อทองอินทร์ อิมินา คุณแม่จันทร์นวล อิมินา และญาติ พี่น้องทุกคนที่คอยให้การสนับสนุน ให้ทุนการศึกษา ตลอดจนการอบรมสั่งสอนและให้กำลังใจในการศึกษาและการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้เสมอมา

จุไรรัตน์ อิมินา

กรกฎาคม 2557