T158741

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 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

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 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.