



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาเบื้องต้นการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทริน
อะทราซีน และโบรมาซิล

Preliminary study of bacterial selection for ametryn, atrazine and
bromacil bioremediation

นางสาวภัทรรัตน์ เทียมเก่า

นางสาวสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากทุนวิจัยเงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาเบื้องต้นการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทริน
อะทราซีน และโบรมาซิล
Preliminary study of bacterial selection for ametryn, atrazine and
bromacil bioremediation

นางสาวภัทรรัตน์ เทียมเก่า
นางสาวสุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์

RCH
๑๓๔๔๓
๒๕๕๘

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน **146359**
วัน,เดือน,ปี **19 พ.ค. 2560**

b. 12845164
i.

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากทุนวิจัยเงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาเบื้องต้นการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทรีน
อะทราซีน และโบรมาซิล

แหล่งเงิน ทุนวิจัยเงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2558 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 100,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ วันที่ 1 เดือนตุลาคม พ.ศ. 2558 ถึง วันที่ 30 เดือนกันยายน พ.ศ. 2559

หัวหน้าโครงการ นางสาวภัทรรัตน์ เทียมเก่า สังกัดภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมโครงการวิจัย นางสาวสุนิรัตน์ เรืองสมบุญ สังกัดภาควิชาเทคโนโลยีผลิตสัตว์และประมง คณะ
เทคโนโลยีการเกษตร

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันนี้ ความต้องการอาหารที่มากขึ้นจึงทำให้กระบวนการผลิตทางการเกษตรเน้นการผลิตที่ให้ปริมาณ
ผลผลิตที่สูง สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจึงถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายเพื่อจัดการให้ได้ผลผลิตปริมาณมากและมีคุณภาพดี
อย่างไรก็ตาม การใช้สารเคมีสังเคราะห์เหล่านี้มีผลตกค้างในดิน และอาจเคลื่อนที่ลงสู่แหล่งน้ำใต้ดินซึ่งก่อให้เกิด
ผลเสียต่อมนุษย์เป็นอย่างมาก งานวิจัยนี้ทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทรีน อะทรา-
ซีน และโบรมาซิลจากตัวอย่างดินในแปลงปลูกพืชที่มีประวัติการใช้สารเคมีเหล่านี้ เพื่อประโยชน์ในการใช้บำบัดสาร
กำจัดวัชพืชที่ตกค้างในดิน โดยทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียและรา ในการคัดเลือกแบคทีเรียใช้อาหาร 2
ชนิดคือ nutrient agar medium (NA) และ basal salt agar medium (BSM) ส่วนเชื้อราทำการคัดเลือกเชื้อด้วย
อาหารชนิดเดียวคือ potato dextrose agar medium (PDA) เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพ
ในการบำบัดสารกำจัดวัชพืชในระดับห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาพบว่า จุลินทรีย์ที่สามารถทนต่ออะมีทรีน
และอะทราซีนคัดเลือกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ NA, BSM และ PDA มีจำนวน 16, 18 และ 11 ชนิด ตามลำดับ ส่วน
เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถทนต่อโบรมาซิลคัดเลือกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ NA, BSM, และ PDA มีจำนวน 11, 5, และ 9
ชนิด ตามลำดับ ในจำนวนจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้พบว่ามีจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการบำบัดอะมีทรีนจำนวน 3
ชนิด คือ BR9, PB3 และ PB2 โดยสามารถลดปริมาณอะมีทรีนได้ 99%, 96% และ 85% ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม
เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้นี้มีประสิทธิภาพต่ำในการบำบัดอะทราซีนและโบรมาซิล โดยเชื้อที่คัดเลือกได้ซึ่งสามารถ
บำบัดอะทราซีนได้สูงสุดนั้น สามารถลดปริมาณอะทราซีนได้เพียง 29% (เชื้อ NB2) และเชื้อที่คัดเลือกได้ซึ่งสามารถ
บำบัดโบรมาซิลได้สูงสุดนั้น สามารถลดปริมาณโบรมาซิลได้เพียง 44% (เชื้อ PP1-5) เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ
สูงในการบำบัดอะมีทรีนนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการบำบัดอะมีทรีนที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้

คำสำคัญ : สารกำจัดวัชพืช อะมีทรีน อะทราซีน โบรมาซิล การบำบัดสารพิษโดยใช้จุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Preliminary study of bacterial selection for ametryn, atrazine and bromacil bioremediation

Researcher: Pattrarat Teamkao (Department of Plant Production Technology)

Co-researcher: Suneerat Ruangsomboon (Department of Animal Production Technology and Fishery)

Faculty: Agricultural Technology

ABSTRACT

Nowadays, food demand has increased dramatically, resulting in improving of agricultural production processes for higher yield. The pesticides are widely used for increasing yield and better quality of products. The use of pesticide result in soil contamination and these pesticides might contaminated to ground water that harmful to human. In our research, microorganisms that have potential for remediation of ametryn, atrazine and bromacil were screened form contaminated soil for use in bioremediation process. Soil bacteria was screened with nutrient agar medium (NA) and basal salt agar medium (BSM), and soil fungi was screened with potato dextrose agar medium (PDA). Selected soil microorganisms were test in remediation potential in lab scale. The study found 16, 18, and 21 species in NA, BSM, and PDA medium, respectively, that resistance to ametryn and atrazine, and found 11, 5, and 9 species in NA, BSM, and PDA medium, respectively, that resistance to bromacil. From all of collected microorganisms, 3 species had high potential in ametryn removal which were BR9, PB3, and PB2 that could remove ametryn from nutrient solution for 99%, 96%, and 85%, respectively. The collected soil microorganisms had low potential in atrazine and bromacil bioremediation. The highest atrazine removal was 29% by NB2 and highest bromacil removal was 44% by PP1-5. Selected microorganisms that have potential in ametryn removal can use in ametryn bioremediation process in contaminated environments.

Keywords : pesticide, ametryn, atrazine, bromacil, bioremediation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ด้วยทุนวิจัยเงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คณะเทคโนโลยีการเกษตรที่ให้โอกาสในการทำงานวิจัยครั้งนี้

งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยคามอนุเคราะห์จากทุกฝ่ายที่เกี่ยวข้อง ทั้งเกษตรกรเจ้าของแปลงตัวอย่าง ดิน ผู้ช่วยเก็บตัวอย่างดิน อาจารย์ในคณะเทคโนโลยีการเกษตร นักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ต่างๆ และผู้เกี่ยวข้องอื่นๆ ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจมาโดยตลอด คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อวงการวิจัย การศึกษา และผู้สนใจทั่วไป

ท้ายนี้คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การอุปการะอบรมเลี้ยงดู ตลอดจนส่งเสริม การศึกษา และให้กำลังใจเป็นอย่างดี อีกทั้งขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่ให้การสนับสนุนและช่วยเหลือด้วยดีเสมอมา และขอขอบพระคุณเจ้าของเอกสารและงานวิจัยทุกท่าน ที่ผู้ศึกษาค้นคว้าได้นำมาอ้างอิงในการทำวิจัย จนกระทั่งงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ภัทรารัตน์ เทียมเก่า
สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	1
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย (ชื่อหัวข้อปรับให้เหมาะสมกับงานวิจัย ทางวิทยาศาสตร์/สังคมศาสตร์).....	11
3.1 การคัดเลือกจุลินทรีย์จากดิน.....	11
3.2 การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ในการบำบัดสารกำจัดวัชพืช.....	11
3.3 การจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากการคัดเลือก.....	12
3.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	12
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	13
4.1 อะมีพรีนและอะทราซีน.....	13
4.2 โบรมาซิล.....	21
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	26
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	26
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	26
บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย.....	27
6.1 บทความวิจัย.....	27
เอกสารอ้างอิง.....	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
ภาคผนวก.....	31
ภาคผนวก ก ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อและการติดสีย้อมแกรม.....	32
ภาคผนวก ข บทความวิจัย.....	44
ภาคผนวก ค สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย.....	49
ประวัตินักวิจัย.....	53



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ค่า pH ค่าการนำไฟฟ้า (EC) และปริมาณอินทรีย์วัตถุของตัวอย่างดินที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ ย่อยสลายอะมีทริน.....	13
4.2 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในดินสีแดง ที่ระดับความลึก 0-15 cm และ 15-30 cm.....	14
4.3 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในดินสีดำ ที่ระดับความลึก 0-15 cm.....	15
4.4 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในดินมีแดง และดินสีดำ ที่ระดับความลึก 0-15 cm.....	16
4.5 ค่า pH ค่าการนำไฟฟ้า (EC) และปริมาณอินทรีย์วัตถุของตัวอย่างดินที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ย่อย สลายโบรมาซิล.....	21
4.6 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างดินจากแปลงปลูกสับปะรดที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลาย โบรมาซิล.....	21



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
4.1 ความสามารถในการบำบัดอะมีทรินของจุลินทรีย์ที่คัดเลือก.....	17
4.2 เพอร์เซ็นต์ของอะมีทรินที่จุลินทรีย์สามารถบำบัดได้.....	18
4.3 ความสามารถในการบำบัดอะทราซีนของจุลินทรีย์ที่คัดเลือก.....	19
4.4 เพอร์เซ็นต์ของอะทราซีนที่จุลินทรีย์สามารถบำบัดได้.....	20
4.5 ความสามารถในการบำบัดโบรมาซิลของจุลินทรีย์ที่คัดเลือก.....	23
4.6 เพอร์เซ็นต์ของโบรมาซิลที่จุลินทรีย์สามารถบำบัดได้.....	24



บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันนี้เนื่องจากความต้องการอาหารที่มากขึ้น ทำให้กระบวนการผลิตทางการเกษตรเน้นการผลิตที่ให้ปริมาณผลผลิตที่สูง สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจึงถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย เพื่อให้การจัดการกับกระบวนการผลิตทำได้สะดวกและรวดเร็วสำหรับประเทศไทยนั้น สารกำจัดวัชพืชเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันผลผลิต เพิ่มปริมาณ และคุณภาพของผลผลิต รวมถึงการรักษาลักษณะภายนอกของผลผลิตด้วย (HSRI, 2005) ในแปลงปลูกพืชที่ไม่มีการป้องกันศัตรูพืช ประเมินการว่าผลผลิตประมาณ 50 % เสียหายเนื่องจากศัตรูพืช (Oerke and Dehne, 2004) สำหรับประเทศไทยนั้นการใช้สารกำจัดวัชพืชนั้นมีความจำเป็นและมีความสำคัญเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรรายงานว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชในระยะ 10 ปีที่ผ่านมาเพิ่มขึ้น 4 เท่า และมีการนำเข้าสารออกฤทธิ์ (active ingredients) สู่ประเทศไทยมากกว่า 1 แสนตัน สารเคมีป้องกันศัตรูพืชที่มีการนำเข้ามากที่สุด คือ สารกำจัดวัชพืช (herbicides) รองลงมาคือ สารกำจัดแมลง (pesticides) สารกำจัดรา (fungicides) สารควบคุมการเจริญของพืช (plant growth regulators) และสารกำจัดศัตรูพืชอื่นๆ ตามลำดับ (OAE, 2010; OAR, 2011)

อะมีทริน (ametryn) และอะทราซีน (atrazine) เป็นสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม triazine ซึ่งนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในพื้นที่เกษตร โดยใช้ในการควบคุมวัชพืชทั้งใบแคบและใบกว้าง อายุฤดูเดียว (annual weeds) โดยมีการใช้ในแปลงปลูกข้าวโพด ข้าวฟ่าง สับปะรด และอ้อย ส่วนโบรมาซิลนั้นเป็นสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม uracil ใช้กำจัดวัชพืชล้มลุกและยืนต้น (ใช้ควบคุมวัชพืชทั้งในระยะก่อนงอกและหลังงอก) ซึ่งมีการใช้มากในแปลงปลูกสับปะรด ในการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชนั้น สารเคมีส่วนใหญ่ที่ใช้ฉีดพ่นจะกระจายออกสู่บริเวณโดยรอบ ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของสารเคมีเหล่านี้สู่สิ่งแวดล้อมซึ่งอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย และเนื่องจากสารทั้ง 3 ชนิดนี้มีความคงทนต่อการย่อยสลาย ส่งผลให้เกิดการสะสมในดินและแหล่งน้ำต่างๆ ในบริเวณโดยรอบพื้นที่ทำการเกษตร การศึกษาวิจัยจึงสนใจที่จะใช้วิธีทางชีวภาพในการบำบัดอะมีทริน อะทราซีน และโบรมาซิล ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัด อะมีทริน อะทราซีน และโบรมาซิลจากแหล่งที่มีการปนเปื้อนของสารเคมีเหล่านี้

1.2.2 เพื่อศึกษาความสามารถของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ในการบำบัดอะมีทริน อะทราซีน และโบรมาซิล

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ทำการคัดเลือกแบคทีเรียจากบริเวณที่มีการปนเปื้อนของอะมีทริน อะทราซีน และโบรมาซิล

1.3.2 ศึกษาบทบาทและความสามารถของแบคทีเรียที่ได้จากการคัดเลือกในการบำบัดอะมีทริน อะทราซีน และโบรมาซิลในระดับห้องปฏิบัติการ

1.3.3 จำแนกเชื้อเริ่มต้น โดยใช้ลักษณะรูปร่างของเซลล์ และการติดสีย้อมแกรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1.4.1 คัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัดกำจัดศัตรูพืช

คัดเลือกจุลินทรีย์จากพื้นที่ที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืช (อะมีทรีน อะตราซีน และโบรมาซิล) โดยเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-30 cm แล้วนำตัวอย่างดินแช่ในถังน้ำแข็ง แล้วนำกลับห้องปฏิบัติการทันที ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์โดยการทำ serial dilution ในสารละลาย 0.9 % NaCl แล้วเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด คือ basal salt agar medium (BSA) และ nutrient agar medium (NA) สำหรับใช้คัดแยกเชื้อแบคทีเรีย และอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar medium (PDA) สำหรับการคัดแยกเชื้อรา อาหารเลี้ยงเชื้อมีการเติมสารกำจัดวัชพืชเพื่อให้เฉพาะเชื้อที่ทนหรือสามารถย่อยสลายสารกำจัดวัชพืชนั้นๆ เท่านั้นที่เจริญได้ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ในสภาพมีออกซิเจนเป็นเวลา 15 วัน นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหาร ทำการ sub-culture เชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันบนอาหารใหม่จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ เพื่อทำการศึกษาความสามารถในการบำบัดสารกำจัดวัชพืชต่อไป

1.4.2 การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ในการบำบัดสารกำจัดวัชพืช

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดสารกำจัดวัชพืชโดยเชื้อจุลินทรีย์จะถูกเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการเติมสารกำจัดวัชพืชนั้นๆ เพื่อหาประสิทธิภาพในการบำบัดของจุลินทรีย์แต่ละชนิด โดยการ inoculate เชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 10^6 cell/mL ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องใน rotary shaker ที่ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 15 วัน ทำการวัดปริมาณสารกำจัดวัชพืชที่คงเหลืออยู่ในสารละลายด้วยเครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

1.4.3 จากจำแนกเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น

เชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารกำจัดวัชพืช จะถูกจัดจำแนกขั้นต้นตามลักษณะรูปร่างของเซลล์ และการติดสีย้อมแกรม

1.4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลด้านความสามารถในการลดปริมาณอะมีทรีน อะตราซีน และโบรมาซิล ที่ได้จากการทดลองจะถูกวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม MINITAB version 17 ที่ระดับ $p \leq 0.05$

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ ในการบำบัดอะมีทรีน อะตราซีน และโบรมาซิล

1.5.2 ทราบถึงความเป็นไปได้ในการนำจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้นี้ ไปใช้ประโยชน์ในด้านการบำบัดสารกำจัดวัชพืชที่ปนเปื้อนในดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิด และทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 อะมีทริน (ametryn)

อะมีทริน (N-ethyl-N'-(1-methylethyl)-6-(methylthio)-1,3,5-triazine-2,4-diamine) เป็นสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม triazine มีสูตรเคมี คือ $C_9H_{17}N_5S$ และมีน้ำหนักโมเลกุล 227.35 g/mol อะมีทริน มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้เล็กน้อย (ละลายได้ 185 mg/100 mL) แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (ละลายได้ 56.9 g/100 mL ใน acetone, 61.4 g/100 mL ใน methylene chloride, 51.6 g/100 mL ใน methanol, 46.0 g/100 mL ใน toluene, 24.2 g/100 mL ใน n-octanol และ 1.4 g/100mL ใน n-hexane) อะมีทรินมีค่า vapor pressure ต่ำ (2.74×10^{-6} mmHg ที่อุณหภูมิห้อง) จึงระเหยได้ยาก

อะมีทรินถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการควบคุมวัชพืชในแปลงปลูก กลไกการออกฤทธิ์ของอะมีทริน คือ ยับยั้งการสังเคราะห์ด้วยแสง และกระบวนการทำงานของเอนไซม์ในคลอโรพลาสต์ โดยมีผลมากต่อ Photosystem II (PSII) โดยจะไปขัดขวางกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน อะมีทรินเป็นสารกำจัดวัชพืชที่มีฤทธิ์จำเพาะ ดูดซึมโดยใบและรากพืช จากนั้นเคลื่อนย้ายเข้าสู่ xylem และสะสมใน apical meristems (US EPA, 2010) พืชที่อ่อนแอต่อสารกำจัดวัชพืชนี้จะเกิดอาการใบเหลือง (chlorosis) และการตายของเนื้อเยื่อ (tissue necrosis) (Prade *et al.*, 1998) อะมีทรินนั้นเป็นพืชต่อพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (US EPA, 2010) อะมีทรินถูกนำมาใช้ครั้งแรกในปี 1964 สำหรับกำจัดหญ้า และวัชพืชใบกว้างในแปลงปลูกอ้อย ต่อมา ในปี 1969 มีการเริ่มนำมาใช้ในการควบคุมวัชพืชในแปลงข้าวโพด และมีการขยายไปใช้กับพืชชนิดอื่นๆ เช่น ถั่วฝักยาว ส้ม สับปะรด และมันฝรั่ง โดยใช้ในการควบคุมวัชพืช และหญ้าต่างๆ โดยใช้ฉีดพ่นที่ส่วนเหนือดินของวัชพืช และฉีดพ่นที่พื้นดิน สำหรับกำจัดวัชพืชหลังออก นอกจากนี้ อะมีทรินยังถูกใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชในพื้นที่ที่ไม่ได้ทำการเกษตร และพื้นที่อุตสาหกรรม รวมถึงใช้กำจัดวัชพืชน้ำด้วย ในปัจจุบันอะมีทรินมีการเลิกใช้แล้วกับพืชหลายชนิด แต่พืชหลักที่ยังคงใช้อะมีทรินอยู่ คือ ข้าวโพด สับปะรด และอ้อย จากรายงานของ US EPA (US EPA, 2010) ประมาณการว่า 380,000 ลิตรของออกฤทธิ์ถูกใช้ต่อปี โดย 60% นำไปใช้กับข้าวโพด, 20% นำไปใช้กับสับปะรด และ 20% นำไปใช้กับอ้อย จากเปอร์เซ็นต์ของพืชที่มีการใช้ อะมีทริน พบว่า 100% ของสับปะรดที่ปลูก, 30% ของอ้อยที่ปลูก และน้อยกว่า 1% ของข้าวโพดที่ปลูกมีการใช้อะมีทริน (US EPA, 2010)

อะมีทรินมีความคงทนในสิ่งแวดล้อม ค่าครึ่งชีวิตของการย่อยสลายโดยแสงบนชั้นผิวดิน และน้ำ คือ 85-123 วัน และ 368 วัน ตามลำดับ จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่าอะมีทรินไม่ถูก hydrolyze ใน sterile buffer solutions ที่อุณหภูมิ 25 °C ที่ pH 5, 7 และ 9 ทำให้เชื่อว่าอะมีทรินไม่ถูก hydrolyze ในสภาวะธรรมชาติ (US EPA, 2010) ในการศึกษาการชะละลายใน packed soil columns พบว่า อะมีทรินนั้นเคลื่อนย้ายได้ในดิน sandy loams soil และ loam soil แต่เคลื่อนย้ายได้น้อยใน clay soil ที่มีอินทรีย์วัตถุสูง การศึกษาการชะละลายโดยใช้ radioactive พบว่า ประมาณ 40% ของอะมีทรินจะพบไม่ต่ำกว่าครึ่งใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ความลึกมากกว่า 3 นิ้วของคอลัมน์ สำหรับดิน sand, loam, และ sandy loam soil และประมาณ 90% ของอะมีทรินจะพบที่ความลึกน้อยกว่า 1 นิ้วของคอลัมน์ สำหรับ clay soil โดยความสามารถในการเคลื่อนย้ายของอะมีทรินไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณอินทรีย์วัตถุ, ปริมาณ clay และ cation exchange capacity (CEC) ของดิน (US EPA, 2010) ในการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าอะมีทริน 3 ใน 4 ส่วนในดินสามารถเคลื่อนย้ายได้ดีมาก ($K_d = 1.07-1.21$ ใน loam, sandy loam และ sand soil, และ 26.2 ใน clay soil) อะมีทรินที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำมาจากการใช้สารนี้ในแปลงเกษตร (US EPA, 2005)

อะมีทรินในแหล่งน้ำถูกย่อยสลายด้วยแสงได้ช้ามาก (มีค่าครึ่งชีวิตที่ 368 วัน) การย่อยสลายของอะมีทรินที่สำคัญในสิ่งแวดล้อม คือ การย่อยสลายภายใต้สภาวะที่มีอากาศ ในการทดลองระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า เมื่อเกิดการย่อยสลายอะมีทรินจะมีค่าครึ่งชีวิตที่ 84 วัน ในดิน sandy loam ที่อุณหภูมิ 25 °C การศึกษาการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนโดยจุลินทรีย์ดิน พบสารอนุพันธ์ที่ได้จากการย่อยสลาย คือ 2-ethylamino-4-amino-6-methylthio-s-triazine ซึ่งพบประมาณ 12.2 % หลังจากการทดสอบเป็นเวลา 14 วัน ซึ่งสารที่ได้จากการย่อยสลายนี้มีความคงทน และสามารถเคลื่อนย้ายได้ในดินหลายชนิด ซึ่งเสี่ยงต่อการปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำใต้ดิน ในการศึกษาการย่อยสลายใน sandy loam soil column พบสารอนุพันธ์จากการย่อยสลายหลัก คือ 2-ethylamino-4-isopropylamino-6-hydroxy-s-triazine, 2-amino-4-isopropylamino-6-methylthio-s-triazine, 2-ethylamino-4-amino-6-methylthio-s-triazine, 2,4-diamino-6-methylthio-s-triazine, 2-ethylamino-4-isopropylamino-s-triazine และ 2-amino-4-isopropylamino-s-triazine ส่วนสารอนุพันธ์ที่ได้จากการย่อยสลายที่พบในปริมาณน้อย คือ 2,4-Diamino-6-hydroxy-s-triazine และ 2-Amino-4-isopropylamino-6-hydroxy-s-triazine นอกจากนี้ยังพบคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณน้อยมาก (ประมาณ 2%) ในดินที่ทดสอบการย่อยสลายของอะมีทรินหลังจาก 84 วันของการทดลองซึ่งทั้งอะมีทริน และสารอนุพันธ์ที่ได้จากการย่อยสลายนั้นระเหยได้ยาก (US EPA, 2005)

2.1.2 อะตราซีน (atrazine)

อะตราซีน (6-chloro-N2-ethyl-N4-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) เป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม triazine ใช้ในการควบคุมวัชพืชใบกว้างและหญ้าบางชนิด มีสูตรเคมี คือ $C_8H_{14}ClN_5$ และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 215.7 g/mol อะตราซีนถูกลงทะเบียนเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชในปี 1958 เป็นสารกำจัดวัชพืช 1 ใน 2 ชนิดที่มีการใช้กันมากที่สุดในสหรัฐอเมริกา โดยมีการใช้สารออกฤทธิ์ประมาณ 64-76 ล้านปอนด์ ในแต่ละปีประมาณ 75% ของแปลงปลูกข้าวโพด, 58.5% ของแปลงปลูกข้าวฟ่าง และ 76% ของแปลงปลูกอ้อย มีการใช้อะตราซีน อะตราซีนส่วนมากจะใช้ในการควบคุมวัชพืชก่อนงอกในแปลงปลูกข้าวโพด และข้าวฟ่าง (US EPA, 2006) ประมาณการว่าอะตราซีน 34.8 ล้านกิโลกรัม ถูกใช้ในการเกษตรของสหรัฐอเมริกา ระหว่างปี 1999 ถึง 2009 ในประเทศจีนมีการใช้อะตราซีนประมาณ 5,000-10,000 กิโลกรัม ในการผลิตพืชในปี 2008-2009 เนื่องจากมีการใช้กันมากในกระบวนการผลิตพืช (เช่น ข้าว, ข้าวสาลี, ข้าวโพด และข้าวฟ่าง) โดยการใช้ฉีดพ่นไปสู่วัชพืชเป้าหมายโดยตรง หรือการใช้โดยอ้อมโดยการฉีดพ่นที่ดินก่อนและหลังวัชพืชงอก กลไกการออกฤทธิ์เป็นการยับยั้งการทำงานของ PSII เช่นเดียวกับอะมีทริน (Albright III *et al.*, 2013)

อะตราซีนเป็นสารที่เคลื่อนย้ายได้และมีความคงทนในสิ่งแวดล้อม ซึ่งยืนยันได้จากการที่พบปนเปื้อนในแหล่งน้ำผิวดิน และแหล่งน้ำใต้ดิน อะตราซีนสามารถปนเปื้อนสู่ดิน แหล่งน้ำ และสิ่งมีชีวิตที่เอ็กสาร์นเป็นเอ็กสาร์นที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ใช่เป้าหมายได้จากการกระจายขณะฉีดพ่น หรือการชะล้างจากพืชเป้าหมายเมื่อเกิดฝนตก อะทราซีนมีความคงทนต่อการย่อยสลายด้วยแสง และการ hydrolysis โดยมีความคงทนต่อการย่อยสลายในดินในระดับปานกลาง (มีค่าครึ่งชีวิต 3-4 เดือน) อะทราซีนที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำจะมีค่าครึ่งชีวิตที่นานกว่าที่ปนเปื้อนในดิน (US EPA, 2006) การศึกษาการย่อยสลายในแหล่งน้ำในสภาวะไร้อากาศพบว่าอะทราซีนมีค่าครึ่งชีวิตที่ 608 วัน อะทราซีนไม่ระเหยขณะฉีดพ่น เนื่องจากมีค่า Henry's Law constant ต่ำ (2.6×10^{-9} atm@m³/mol) และมีค่า octanol/water coefficient ต่ำ (Log K_{ow} = 2.7) รวมถึงมีความสามารถในการดูดซับได้ต่ำ ทำให้เสี่ยงต่อการถูกชะล้างจากพืชเป้าหมายที่ได้รับการฉีดพ่น

กลไกหลักในการย่อยสลายของอะทราซีน คือ การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีอากาศ การศึกษาการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน พบ desethylhydroxyatrazine (DEHA) และ desisopropylhydroxyatrazine (DIHA) เป็นสารอนุพันธ์ที่ได้จากการย่อยสลาย ส่วนการย่อยสลายแบบไร้อากาศในแหล่งน้ำพบ desethylatrazine (DEA), desisopropylatrazine (DIA), hydroxyatrazine และ diaminochloroatrazine (DACT) เป็นสารอนุพันธ์ที่ได้จากการย่อยสลาย ซึ่งในการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบสารเหล่านี้น้อยกว่า 10% ของปริมาณอะทราซีนที่ใช้ จึงไม่สามารถยืนยันได้ว่าสารเหล่านี้เป็นสารหลักที่ได้จากการย่อยสลาย จากการศึกษาการย่อยสลายในดินเป็นเวลาหลายเดือน พบว่าปริมาณของ DEA>DIA>DACT=hydroxyatrazine (US EPA, 2006)

2.1.3 โบรมาซิล (bromacil)

โบรมาซิล (5-bromo-3-sec-butyl-6-methyluracil) เป็นสารกำจัดวัชพืชในกลุ่ม uracil มีสูตรเคมี คือ $C_9H_{13}BrN_2O_2$ และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 261.1 g/mol มีความสามารถในการละลาย 815 ppm ในน้ำ ที่ 25°C ความสามารถในการละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ 20 °C คือ 0.023 g/100 g ใน n-hexane, 3.0 g/100 g ใน toluene, 4.65 g/100 g ใน acetonitrile, 11.4 g/100 g ใน acetone และ 12.0 g/100 g ใน methylene chloride (US EPA, 1996) โบรมาซิลเป็นสารกำจัดวัชพืชฤทธิ์กว้าง มักใช้สำหรับควบคุมวัชพืชหลายชนิดในพื้นที่ที่ไม่ได้ทำการเกษตร และเป็นสารกำจัดวัชพืชที่แนะนำสำหรับการใช้กำจัดวัชพืชในแปลงปลูกสับปะรด และส้ม (Chaudhry and Cortez, 1988)

ในการศึกษาระดับแปลงปลูกพบว่าโบรมาซิลเคลื่อนย้ายได้ดีมาก จากการศึกษาการเคลื่อนย้ายของ ¹⁴C-bromacil ที่ความเข้มข้น 5.49 mg ai/column (ประมาณ 27 kg ai/ha) พบว่าโบรมาซิลเคลื่อนย้ายได้ดีมากในคอลัมน์ของ sand, sandy loam, clay loam, และ silt loam soils (US EPA, 1996) โบรมาซิลมีความคงทนในสิ่งแวดล้อม โดยมีค่าครึ่งชีวิตที่ 124-155 วัน การศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่า โบรมาซิลไม่สามารถย่อยสลายได้โดยการ hydrolysis หรือ แสง ที่ pH 5 และ 7 ในน้ำ, ไม่สามารถย่อยสลายด้วยแสงในดิน และไม่สามารถย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในสภาวะมีอากาศได้ แต่โบรมาซิลถูกย่อยสลายได้ด้วยแสงได้อย่างรวดเร็วที่ pH 9 โดยมีค่าครึ่งชีวิตที่ 4-7 วัน โบรมาซิลจะถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศโดยมีค่าครึ่งชีวิตที่ 1 เดือน (US EPA, 1996)

2.1.3.1 การย่อยสลายแบบมีอากาศในดิน

การย่อยสลายของโบรมาซิลโดยจุลินทรีย์ดินในสภาวะมีอากาศนั้นเกิดขึ้นช้า การศึกษาการย่อยสลายในสภาวะมีอากาศ โดยใช้ ¹⁴C-bromacil ที่ความเข้มข้น 9 ppm พบว่า ในดิน silty clay loam ที่บ่มในความมืดที่ 25 ± 1 °C และ 75% ของความชื้นที่ความจุสนาม เป็นเวลา 12 เดือน จะมีค่าไม่ต่ำกว่าครึ่งใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครึ่งชีวิตที่ 275 วัน โบรมาซิลลดลงปริมาณลงจาก 98.5% เป็น 53.1% เมื่อเวลาผ่านไป 184 วัน, ลดปริมาณลงเหลือ 48.6% เมื่อเวลาผ่านไป 240 วัน และลดปริมาณลงเหลือ 38.6% เมื่อเวลาผ่านไป 12 เดือน โดยคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลผลิตหลักจากการย่อยสลาย โดยพบคาร์บอนไดออกไซด์เป็นปริมาณ 40.3% จากการศึกษาการย่อยสลายของโบรมาซิลเป็นเวลา 12 เดือน ผลผลิตหลักที่พบจากการย่อยสลายของโบรมาซิลคือ

- 5-bromo-6-methyluracil (Metabolite G) โดยพบสูงสุด 3.4% ของปริมาณโบรมาซิลที่ใช้ ที่ 304 วันของการศึกษา
- 5-bromo-3-(alpha-hydroxymethylpropyl)-6-methyluracil (Metabolite C) โดยพบสูงสุด 1.5% ของปริมาณโบรมาซิลที่ใช้ ที่ 154 และ 184 วันของการศึกษา
- 5-bromo-3-sec-butyl-6-hydroxymethyluracil (Metabolite A) โดยพบสูงสุด 0.6% ของปริมาณโบรมาซิลที่ใช้ ที่ 184 วันของการศึกษา
- 5-bromo-3-(2-hydroxy-1-methylpropyl)-6-methyluracil (Metabolite D) โดยพบสูงสุด 0.8% ของปริมาณโบรมาซิลที่ใช้ ที่ 304 วันของการศึกษา
- 3-sec-butyl-6-methyluracil (Metabolite F) โดยพบสูงสุด 0.7% ของปริมาณโบรมาซิลที่ใช้ ที่ 304 วันของการศึกษา (US EPA, 1996)

2.1.3.2 การย่อยสลายแบบไร้อากาศ

การศึกษาการย่อยสลายของโบรมาซิลโดย *Pseudomonas* sp. ซึ่งแยกได้จากดิน โดยใช้โบรมาซิลเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงาน พบว่า *Pseudomonas* sp. สามารถย่อยโบรมาซิลได้ และลดการปนเปื้อนในดินในระดับห้องปฏิบัติการได้ โดยพบ 5-bromouracil เป็นสารอนุพันธ์ของการย่อยสลาย (Chaudhry and Cortez, 1988) การศึกษาการย่อยสลายของโบรมาซิลในสภาวะไร้อากาศโดยจุลินทรีย์กลุ่ม denitrifying, sulfatereducing และ methanogenic พบว่า จุลินทรีย์กลุ่ม methanogenic เท่านั้นที่สามารถย่อยสลายโบรมาซิลได้ และ พบ 3-sec-butyl-5-hydroxy-6-methyluracil เป็นสารอนุพันธ์ของการย่อยสลาย (Adrian and Suflita, 1990)

2.1.4 การบำบัดสารมลพิษโดยวิธีทางชีวภาพ

การบำบัดสารมลพิษโดยวิธีทางชีวภาพ (bioremediation) เป็นการนำจุลินทรีย์มาใช้ในการบำบัดพื้นที่หรือบริเวณที่มีการปนเปื้อนของสารมลพิษ ในกระบวนการ bioremediation นั้น แบ่งเป็น 2 ประเภทหลัก คือ การบำบัดสารมลพิษในบริเวณที่มีการปนเปื้อนนั่นๆ (*in situ* technology) และ การนำสิ่งที่ถูกปนเปื้อนออกมาบำบัดที่บริเวณอื่น (*ex situ* technology) ในกระบวนการแบบ *in situ* bioremediation นั้นสารมลพิษจะถูกนำไปใช้หรือย่อยสลายด้วยสภาวะตามธรรมชาติ ซึ่งจะเป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายน้อย ไม่ต้องการการดูแลรักษาระบบมาก รวมทั้งยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเป็นวิธีที่มีความยั่งยืนในการบำบัดพื้นที่ที่มีการปนเปื้อน ส่วน *ex situ* bioremediation เมื่อเทียบกับ *in situ* bioremediation นั้นจะมีค่าใช้จ่ายสูงกว่า เนื่องจากต้องเคลื่อนย้ายสิ่งที่ถูกปนเปื้อนเพื่อไปบำบัดที่บริเวณอื่น *in situ* bioremediation สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ bioattenuation ซึ่งอาศัยกระบวนการทางธรรมชาติในการย่อยสลายสารมลพิษ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

biostimulation ซึ่งเป็นการกระตุ้นความสามารถในการบำบัดสารมลพิษของจุลินทรีย์โดยการเติมสารอาหารหรือปัจจัยอื่นๆ เช่น น้ำ และตัวรับอิเล็กตรอน และ bioaugmentation ซึ่งเป็นการเติมจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดลงในพื้นที่ที่ต้องการ ซึ่งความเหมาะสมของเทคนิค bioremediation แต่ละแบบนี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น สภาพแวดล้อมของบริเวณที่ปนเปื้อน ประชากรของจุลินทรีย์ประจำถิ่น ชนิดและปริมาณของสารมลพิษที่ปนเปื้อน (Megharaj *et al.*, 2011)

2.1.4.1 Bioattenuation

เป็นกระบวนการทางธรรมชาติ ในกระบวนการจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสารพิษให้มีความเป็นพิษลดลงหรืออยู่ในรูปที่ไม่เคลื่อนย้าย ซึ่งกระบวนการเหล่านี้จะเกิดจากกระบวนการ metabolisms ของจุลินทรีย์ (Smets and Pritchard, 2003) และกระบวนการตามธรรมชาติอื่นๆ หรือการจับกับวัตถุต่างๆ ในดิน กระบวนการนี้มีความเหมาะสมกับสารพิษบางชนิด เช่น สารจำพวกเชื้อเพลิง (e.g., BTEX) (Atteia and Guillot, 2007) เวลาที่ใช้ในการบำบัดจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้นๆ

2.1.4.2 Biostimulation

ในการที่จุลินทรีย์จะเปลี่ยนสารมลพิษได้นั้น โดยทั่วไปแล้วขึ้นอยู่กับปริมาณคาร์บอน สารอาหาร เช่น ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน pH ของดิน redox potential และ ชนิดและปริมาณของสารมลพิษ (Carberry and Wik, 2001) ในการกระตุ้นการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ มักจะมีการเติมสารอาหารในรูปของปุ๋ย (ในรูปที่ละลายน้ำ เช่น KNO_3 , NaNO_3 , NH_3NO_3 , K_2HPO_4 , MgNH_4PO_4 , ในรูปที่ปลดปล่อยช้า เช่น customblen, IBDU, max-bac, และในรูป oleophilic เช่น Inipol EAP22, F1, MM80, S200) (Nikolopoulou and Kalogerakis, 2008)

2.4.3 Bioaugmentation

โดยส่วนมากในพื้นที่ที่ไม่มีประวัติการปนเปื้อนมาก่อน จุลินทรีย์จะมีช่วงเวลาในการปรับตัว (lag phase) นานหลายสัปดาห์ถึงหลายเดือน “soil activation” เป็นกรอบความคิดโดย Otte และคณะ ที่มีพื้นฐานมาจากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากดินบริเวณที่มีการปนเปื้อน แล้วนำกลับไปใช้เป็น inoculum สำหรับกระบวนการ bioaugmentation ในพื้นที่เดิมสำหรับการย่อยสลาย PCP และ PAHs (Otte *et al.*, 1994) โดยจุลินทรีย์ที่ได้นี้สามารถนำไปใช้กับพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนซึ่งเป็นพื้นที่เกิดใหม่ของสารชนิดเดียวกันได้ และมีประสิทธิภาพที่ดีขึ้นด้วย ทั้งยังลด lag phase ของจุลินทรีย์ด้วย (Lamberts *et al.*, 2008) pre-exposure และ การ re-exposure อย่างต่อเนื่องจะเป็นการเพิ่มความสามารถในการเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ (Reddy and Sethunathan, 1983) ปรากฏการณ์ที่คงไว้ซึ่งความสามารถในการเมตาบอลิซึมหลังจากการ pre-exposure เป็นเวลานานจะหมายถึง “soil memory” ในการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการ bioaugmentation จะมีการใช้จุลินทรีย์หลายกลุ่มที่มีความสามารถในการย่อยสารมลพิษที่หลากหลาย (Diaz, 2004)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประทีป (2529) ศึกษาผลตกค้างของสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนในดินปลูกข้าวโพด ชุดปากช่อง (Oxic paleustults) บริเวณศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา พบว่า หลังจากร่นสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนอัตรา 600 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ลงไปในแปลงปลูกข้าวโพด จะพบผลตกค้างของอะทราซีนในดินระดับลึก 0-5 ซม., 5-10 ซม. และ 10-15 ซม. จากผิวดิน จำนวน 2.154 ppm, 1.403 ppm และ 0.923 ppm ตามลำดับ ผลตกค้างของอะทราซีนในดินจะลดลงอย่างรวดเร็วโดยมี half-life เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมาณ 19 วัน

อรรถสิทธิ์ (2546) ทำการศึกษาการเปรียบเทียบสารกำจัดวัชพืชอะมีทริน โกลโฟเสท ไดยูรอน และพาราควอท ในการกำจัดวัชพืชในแปลงปลูกอ้อยในระยะหลังอ้อยออกแล้ว พบว่าสารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด มีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชใบแคบ ใบกว้าง และหัวหนุ่ได้ไม่แตกต่างกัน การใช้สารกำจัดวัชพืชในขณะที่ยังอายุน้อยจะให้ผลดีกว่าวัชพืชอายุมาก แต่การกำจัดวัชพืชในขณะที่ยังอายุน้อยจะทำให้ย้อยได้รับพิษจากสารกำจัดวัชพืช โดยเฉพาะโกลโฟเสท และพาราควอท มีพิษต่ออ้อยมาก การใช้สารกำจัดวัชพืชกับแปลงอ้อยอายุน้อยกว่า 60 วันจะมีความสูงของอ้อยลดลง การใช้โกลโฟเสทมีผลทำให้การแตกกอลดลง การใช้อะมีทรินและพาราควอทควรใช้กับอ้อยที่มีอายุมากกว่า 30 วัน และโกลโฟเสทควรใช้กับอ้อยที่มีอายุมากกว่า 120 วัน

รุ่งนภา (2548) ศึกษาการสลายสารตามธรรมชาติ, การใช้สารเร่งการสลายและการเติมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อสลายสาร 4-คลอโรอะนินที่ปนเปื้อนในดิน พบว่าในดินร่วนการจะเกิดการย่อยสลายได้มากที่สุด ในวิธีการเติมกลุ่มจุลินทรีย์และการใช้จุลินทรีย์เดี่ยวพบว่าสามารถสลายสาร 4-คลอโรอะนินได้ 87% และ 84% ตามลำดับ ขณะที่วิธีสลายสารตามธรรมชาติสามารถสลายสารได้เพียง 67% สำหรับดินร่วนปนทรายไม่มีความแตกต่างกันในการสลายสาร 4-คลอโรอะนินในทั้ง 3 วิธีการ ซึ่งการสลายมีค่าสูงสุดที่ 58% ภายในระยะเวลาสองเดือน เมื่อมีการปรับความเป็นกรดต่างในดินร่วนปนทรายให้มีความเป็นกลาง พบว่าการสลายของสาร 4-คลอโรอะนินเกิดขึ้นมากที่สุดในการเติมกลุ่มจุลินทรีย์ ซึ่งสลายสารได้ถึง 95% ภายในระยะเวลาสองเดือน การใช้สารเร่งการสลายและการใช้จุลินทรีย์เดี่ยวพบว่าสามารถสลายสารได้เพียง 29%

ศิริไล (2551) ศึกษาความผิดปกติของมันเป็นผลที่เกิดจากสารกำจัดวัชพืช พบว่า อะมีทรินทำให้มันเป็นผลให้เกิดอาการใบเหลือง โดยเริ่มเหลืองจากขอบใบเข้ามาหาเส้นกลางใบ ถ้าได้รับสารปริมาณมากทำให้ใบไหม้ (สีน้ำตาลแดง) ต้นตายได้ มันสำปะหลังจะอ่อนแอต่อสารอะมีทรินในระยะที่เริ่มแตกใบ จนถึงอายุประมาณสองถึงสามเดือน มันสำปะหลังต้นโตที่ได้รับละอองสารในปริมาณมากจะทำให้ใบไหม้ ใบร่วงทั้งต้น แต่สามารถแตกใบใหม่ได้ภายในระยะเวลาหนึ่งเดือน ดินที่มีละอองสารอะมีทรินปกคลุมอยู่ในปริมาณมาก เมื่อฝนตกลงมาสารจะซึมลงดิน รากพืชจะดูดซึมสารขึ้นมา ส่งผลให้มันเป็นผลให้เกิดอาการใบไหม้โดยเริ่มจากใบล่างขึ้นมาใบบน

วันทนา (2552) ศึกษาการตอบสนองต่อสารเคมีกำจัดวัชพืชของอ้อย จำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ 95-2-213, 98-2-097, BC04-713, BC04-768, ขอนแก่น 3 และพันธุ์เค 88-92 ต่อสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในระยะก่อนวัชพืชงอก (อะทราซีน, อะมีทริน, เพนดิเมทาลิน, เอ็กซาซิโนน, อิมาซาพิก และไดยูรอน) และใช้ในระยะหลังวัชพืชงอก (พาราควอท, โกลโฟเสท, อะมีทริน, เมทริบูซีน, 2,4-D และ กลูโฟซิเนตแอมโมเนียม) พบว่า การใช้ในระยะก่อนวัชพืชงอก อะมีทรินเป็นสารคุมวัชพืชสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี แต่เป็นพิษเล็กน้อยกับอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3, 98-2-097 และ 95-2-213 ส่วนสารเคมีที่ควบคุมวัชพืชได้ไม่ดี คือ อิมาซาพิก และในด้านผลผลิต การใช้อะมีทรินให้ผลผลิตอ้อยปลูกมากที่สุด การใช้ในระยะหลังวัชพืชงอกพบว่า สารเคมีที่สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี คือ 2,4-D เมื่อฉีดพ่นแล้วสามารถควบคุมวัชพืชได้หมด สารเคมีที่ควบคุมวัชพืชได้ไม่ดี คือ อะมีทริน ความเป็นพิษของอ้อยหลังพ่นสารเคมีพบว่าอ้อยทุกพันธุ์แสดงความเป็นพิษระดับรุนแรงต่อการพ่นด้วยพาราควอท ส่วนการพ่นด้วยโกลโฟเสท, อะมีทริน, เมทริบูซีน, 2,4-D แสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย และการพ่นด้วยกลูโฟซิเนตแอมโมเนียมมีผลกับอ้อยพันธุ์ 98-2-097 ในระดับความเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นพืชเล็กน้ย ในด้านผลผลิตการใช้เมทริบูซินพ่นหลังอ้อยและวัชพืชงอกให้ผลผลิตอ้อยสูงที่สุด ส่วนการใช้พาราควอทให้ผลผลิตอ้อยน้อยที่สุด

จรัญญา และคณะ (2555) การศึกษาวิธีการจัดการวัชพืชในสวนปาล์มน้ำมัน เพื่อศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช ประเภทก่อนวัชพืชงอก และประเภทหลังวัชพืชงอก ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าสารกำจัดวัชพืชทุกชนิดในกรรมวิธีการทดลองเป็นพืชเล็กน้ยต่อปาล์มน้ำมัน แต่สารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์, อะซีโตคลอร์, เมโตลาคลอร์, เพนโดเมทาลิน มีผลกระทบต่อใบปาล์มน้ำมันที่เจริญขึ้นมาใหม่มีการเจริญเติบโตผิดปกติ ในการใช้ควบคุมวัชพืชในระยะหลังวัชพืชงอก พบว่า โกลโฟเสท, กลูโฟสิเนต, พาราควอท และอะมีทรีน สามารถควบคุมวัชพืช สาบม่วง, สาบเสือ, หญ้าปากควาย, หญ้าตีนนก, หญ้าชันกาด และกกทราย ได้ดี

จรัญรัตน์ (2558) ทำการศึกษาคุณสมบัติและศักยภาพของจุลินทรีย์จากธรรมชาติ เพื่อใช้ในการบำบัดสิ่งแวดล้อม พบจุลินทรีย์ในธรรมชาติมากกว่า 40 สายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่างๆได้ในปริมาณที่ปนเปื้อนสูง คณะผู้วิจัยสามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ธรรมชาติกว่า 50 สายพันธุ์ที่มีความสามารถสูงในการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืช เช่น พาราควอท, โกลโฟเสท, 2,4-D, อะทราซีน, ไดยูรอน, แพนทีรา นอกจากนี้คณะผู้วิจัยยังคัดเลือกจุลินทรีย์ธรรมชาติกว่า 30 สายพันธุ์ที่มีความสามารถสูงในการย่อยสลายสารมลพิษ โดยจุลินทรีย์ธรรมชาติเหล่านี้เป็นสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับจุลินทรีย์สองกลุ่มข้างต้น พบว่าจุลินทรีย์ธรรมชาติเหล่านี้ สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้และสามารถย่อยสลายน้ำมันต่างๆ สารกำจัดวัชพืช หรือสารมลพิษและสารฆ่าแมลงได้เป็นอย่างดี ทำให้ปริมาณสารปนเปื้อน สารตกค้างลดปริมาณลงอย่างมีนัยสำคัญ

Zhu และ Li (2002) ศึกษาโบรมาซิลและเฮกซะไซโนนที่ตกค้างในดิน ในพื้นที่ปลูกสับปะรดจำนวน 6 แปลง โดยมีประวัติการใช้เฮกซะไซโนนในอัตรา 0.6 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์ และโบรมาซิล 1.8 หรือ 3.4 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์ เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-1,860 เซนติเมตร พบโบรมาซิลในทุกตัวอย่างดินที่ระดับความลึกน้อยกว่า 60 เซนติเมตร (105-1,338 นาโนกรัมต่อกรัมของดิน) พบ 74% ของดินทั้งหมดที่ระดับความลึกต่ำกว่า 400 เซนติเมตร (26-473 นาโนกรัมต่อกรัมของดิน) และพบในปริมาณน้อย (90-113 นาโนกรัมต่อกรัมของดิน) ในตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 1,540 เซนติเมตร แต่พบเฮกซะไซโนนในตัวอย่างดินจาก 3 แปลง และพบที่ระดับความลึก 0-60 เซนติเมตรเท่านั้น (86-107 นาโนกรัมต่อกรัมของดิน) สาเหตุที่พบโบรมาซิลในปริมาณที่สูงกว่า เนื่องจากโบรมาซิลมีอัตราการใช้ที่สูงกว่า และมีความทนทานและเคลื่อนที่ในดินได้ดีกว่าเฮกซะไซโนน

Alavi และคณะ (2008) ศึกษาการปนเปื้อนของโบรมาซิลจากแปลงปลูกสับปะรดสู่แหล่งน้ำดื่ม พบว่าการใช้โบรมาซิล (อัตรา 1.8 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์) ส่งผลให้เกิดการสะสมของโบรมาซิลในดินสูงขึ้น และพบการปนเปื้อนของโบรมาซิลในดินบน หลังการใช้สารเคมีนาน 9 เดือน หลังการใช้สารเคมี 18 เดือน พบการปนเปื้อนของโบรมาซิลในดินที่ระดับลึกลงไป 30 เมตร การใช้โบรมาซิลในปริมาณที่สูงขึ้นส่งผลให้เกิดการสะสมและการเคลื่อนที่ของสารนี้ลงไปดินสูงมากขึ้น

Navaratna และคณะ (2012) ศึกษาผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชอะมีทรีนต่อจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบบำบัดน้ำเสีย สารอะมีทรีนในห้องปฏิบัติการระบบบำบัดน้ำเสียมีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลาการพ่นน้ำเสีย 7.8-15.6 ชั่วโมงสามารถถูกกำจัดได้ 20-40% ความเข้มข้นลดลงเหลือ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนประกอบของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตเพิ่มมากขึ้นและมีการผลิตชีวมวลลดลงเมื่อมีสารอะมีทรินในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น แบคทีเรียที่สามารถทนต่อสารอะมีทรินได้ถึง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ แบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวกที่มีรูปร่างเป็นแท่งหรือท่อนสั้น และแบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างทรงกลม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การคัดเลือกจุลินทรีย์จากดิน

3.1.1 คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทรินและอะทราซีน

คัดเลือกจุลินทรีย์จากพื้นที่ที่มีการใช้อะมีทรินและอะทราซีน โดยเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกอ้อย ในจังหวัดราชบุรี ที่มีลักษณะดินแตกต่างกัน จำนวน 2 แปลง ซึ่งในแปลงปลูกอ้อยนี้มีการใช้ทั้งอะมีทรินและอะทราซีนในการกำจัดวัชพืชในแปลงปลูกร่วมกัน เก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-15 และ 15-30 เซนติเมตร ในแปลงดินสีแดง (แปลงที่ 1 อ้อยปลูก) และตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-15 ในแปลงดินสีดำ (แปลงที่ 2 อ้อยต่อ) ทำการคัดเลือกแบคทีเรียโดยการทำ serial dilution ในสารละลาย 0.9 % NaCl แล้วเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด คือ basal salt agar medium (BSA) และ nutrient agar medium (NA) สำหรับใช้คัดแยกเชื้อแบคทีเรีย และอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar medium (PDA) สำหรับการคัดแยกเชื้อรา อาหารเลี้ยงเชื้อมีการเติมอะมีทริน และอะทราซีน ที่ความเข้มข้น 25 mg/L และ 25 mg/L, สำหรับใช้แยกเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายอะมีทริน และอะทราซีน ตามลำดับ โดยทำการศึกษาศาสตร์กำจัดวัชพืชแต่ละชนิดแยกกัน ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ในสภาพมีออกซิเจนเป็นเวลา 15 วัน นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหาร ทำการ sub-culture เชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันบนอาหารใหม่จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ เพื่อทำการศึกษาศาสตร์ความสามารถในการบำบัดอะมีทรินและอะทราซีนต่อไป

3.1.2 คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดโบรมาซิล

คัดเลือกแบคทีเรียจากแปลงปลูกสับปะรดที่มีประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชโบรมาซิล โดยเก็บตัวอย่างดิน จากแปลงปลูกสับปะรด จำนวน 3 แปลง เก็บตัวอย่างที่ระดับความลึก 0-30 เซนติเมตร ทำการคัดเลือกแบคทีเรียโดยการทำ serial dilution ในสารละลาย 0.9 % NaCl และเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BSA ที่เติมโบรมาซิล ที่ความเข้มข้น 25 mg/L ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพมีออกซิเจน เป็นเวลา 15 วัน นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหาร ทำการ sub-culture เชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันบนอาหารใหม่จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ เพื่อทำการศึกษาศาสตร์ความสามารถในการบำบัดโบรมาซิลต่อไป

3.2 การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ในการบำบัดสารกำจัดวัชพืช

3.2.1 การศึกษาศาสตร์ความสามารถของจุลินทรีย์ในการบำบัดอะมีทรินและอะทราซีน

เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้จะถูกเลี้ยงในอาหารเหลว basal salt broth medium (BSB) ที่มีการเติมอะมีทรินที่ความเข้มข้น 50 mg/L เพื่อหาประสิทธิภาพในการบำบัดของแบคทีเรียแต่ละชนิด โดยการ inoculate เชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 10^6 cell/mL ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องใน rotary shaker ที่ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 15 วัน ทำการวัดปริมาณอะมีทรินและอะทราซีนคงเหลือในอาหารในวันที่ 15 ของการทดลองด้วยเครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้ C-18 คอลัมน์ และใช้ mobile phase เป็นเมทิลแอลกอฮอล์และน้ำ ในอัตราส่วน 70:30 ด้วย flow rate 1.2 มิลลิลิตรต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาที่ และใช้ UV detector ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ในแต่ละครั้งจะฉีดตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร โดยพีคของสารอะมีทรินจะแสดงที่เวลา 4.5 นาที และอะทราซีนจะแสดงที่เวลา 3.3 นาที

3.2.2 การศึกษาความสามารถของจุลินทรีย์ในการบำบัดโบรมาซิล

เชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จะถูกเลี้ยงในอาหารเหลว BSB ที่มีการเติมโบรมาซิลที่ความเข้มข้น 50 mg/L เพื่อหาประสิทธิภาพในการบำบัดของแบคทีเรียแต่ละชนิด โดยการ inoculate เชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 10^6 cell/mL ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน ทำการวัดปริมาณโบรมาซิลคงเหลือในอาหารในวันที่ 15 ของการทดลอง โดยการสกัดด้วยเมทิลีนคลอไรด์ และวัดปริมาณด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ C-18 คอลัมน์ และใช้ mobile phase เป็นอะซีโตไนไตรล์และน้ำ ในอัตราส่วน 40:60 ด้วย flow rate 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้ UV detector ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ในแต่ละครั้งจะฉีดตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร

3.3 การจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากการคัดเลือก

เชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารกำจัดวัชพืช จะถูกจัดจำแนกขั้นต้นตามลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ รูปร่างของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และการดัดสีย้อมแกรม

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ one-way ANOVA โดยใช้โปรแกรม MINITAB 17 ที่ระดับ $p \leq$

0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 อะมีทรีน และอะทราซีน

4.1.1 สมบัติของตัวอย่างดินที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินที่ใช้เป็นแหล่งในการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทรีนและอะทราซีนจำนวน 2 แปลง พบว่าค่า pH ของตัวอย่างดินทั้ง 2 แปลงมีค่าที่แตกต่างกัน ดินแปลงที่ 1 ซึ่งมีลักษณะเป็นดินสีแดง มีค่า pH เฉลี่ยที่ pH 5.73 ซึ่งอยู่ในช่วงกรดปานกลาง และส่วนดินแปลงที่ 2 ซึ่งมีลักษณะเป็นดินสีดำ มีค่า pH เฉลี่ยที่ 7.44 ซึ่งอยู่ในช่วงด่างอ่อน ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ของดินจากแปลงที่ 1 มีเฉลี่ยอยู่ที่ 0.0543 mS/cm และแปลงที่ 2 มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 0.0436 mS/cm ซึ่งค่า EC ของทั้งสองแปลงอยู่ในช่วงที่ไม่เค็ม ปริมาณอินทรีย์วัตถุของตัวอย่างดินจากแปลงที่ 1 มีค่าเฉลี่ยที่ 4.53 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณอินทรีย์วัตถุของตัวอย่างดินจากแปลงที่ 2 มีค่าเฉลี่ยที่ 5.86 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่าอินทรีย์วัตถุของดินทั้ง 2 แปลงอยู่ในระดับที่สูงมาก (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ค่า pH ค่าการนำไฟฟ้า (EC) และปริมาณอินทรีย์วัตถุของตัวอย่างดินที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายอะมีทรีน

Soil sample	pH (1:1)	EC (mS/cm)	OM (%)
Red soil	5.73 ± 0.11	0.054 ± 0.002	4.53 ± 0.35
Black soil	7.44 ± 0.25	0.044 ± 0.022	5.86 ± 0.15

4.1.2 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

การศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทรีนในแปลงปลูกอ้อยทั้ง 2 แปลงที่ 2 ระดับความลึกคือ ที่ระดับความลึก 0-15 cm และที่ระดับความลึก 15-30 cm สำหรับดินสีแดง และที่ระดับความลึก 0-15 cm สำหรับดินสีดำ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด คือ nutrient agar medium (NA) และ basal salt agar medium (BSM) สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และ อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar medium (PDA) สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อรา จากการศึกษพบว่าในดินสีแดงมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เฉลี่ยที่ระดับความลึก 0-15 cm จำนวน 1.5×10^6 CFU/g soil และ 1.6×10^5 CFU/g soil สำหรับการคัดแยกด้วยอาหาร NA และ BSM ตามลำดับ ส่วนเชื้อราพบปริมาณ 7.2×10^3 CFU/g soil (ตารางที่ 4.2) ส่วนที่ระดับความลึก 15-30 cm พบเชื้อแบคทีเรียเฉลี่ย 4.7×10^5 CFU/g soil และ 1.8×10^5 CFU/g soil สำหรับการคัดแยกด้วยอาหาร NA และ BSM ตามลำดับส่วนเชื้อราพบปริมาณ 2.6×10^3 CFU/g soil (ตารางที่ 4.2)

ระดับความลึกของการเก็บตัวอย่างดินมีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ เปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์พบว่าในแต่ละแปลง ที่ระดับความลึก 0-15 cm จุลินทรีย์มีการกระจายตัว หรือมีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ NA และ BSM ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ทนต่อสารอะมีทรีนและอะทราซีนได้ และเชื้อราที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA คือกลุ่มเชื้อราที่เอ็กสาร์นเป็นเอ็กสาร์นที่สวงวนไวสำหรับการเชิงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทนต่ออะมีทรีนและอะทราซีนได้ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกันระหว่าง enrich medium และ minimal medium ไม่มีผลต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ ส่วนที่ระดับความลึก 15-30 cm นั้น ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้แต่ละจุดเก็บตัวอย่างในแปลงเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 3 ชนิดอาหารที่ใช้ทำการคัดแยกเชื้อ

การเปรียบเทียบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกด้วยอาหารชนิดเดียวกันที่ 2 ระดับความลึกคือ ระดับความลึก 0-15 cm และ 15-30 cm พบว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ไม่พบความแตกต่างของปริมาณเชื้อที่คัดแยกได้ ในอาหาร BSM ปริมาณเชื้อที่ 2 ระดับความลึกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความชื้น 95% โดยดินที่ระดับความลึก 0-15 cm จะพบปริมาณแบคทีเรียมากกว่า ส่วนปริมาณเชื้อรา นั้นพบว่าปริมาณเชื้อราที่ 2 ระดับความลึกนั้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบปริมาณเชื้อราในระดับความลึก 0-15 cm มากกว่าที่ระดับความลึก 15-30 cm เช่นกัน

การแยกเชื้อแบคทีเรียโดยใช้อาหาร 2 ชนิดในการแยกเชื้อคือ enrich medium (NA) และ minimal medium (BSM) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของปริมาณแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินที่ระดับความลึก 0-15 cm แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความลึก 15-30 cm โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA สามารถคัดเลือกเชื้อได้ปริมาณมากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ BSM

ตารางที่ 4.2 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในดินสีแดง ที่ระดับความลึก 0-15 cm และ 15-30 cm

Soil depth	Collection points	Bacteria (CFU/g soil)		Fungi (CFU/g soil)
		NA medium	BSM medium	
0-15 cm	1	2.3×10^5 b	4.7×10^5 bA	1.1×10^4 bA
	2	1.1×10^5 a	1.4×10^6 aA	4.8×10^2 aA
	3	1.6×10^5 c	1.6×10^5 cA	6.6×10^2 cA
	4	2.2×10^5 bc	1.4×10^5 bcA	5.3×10^2 bcA
	5	1.5×10^5 c	1.6×10^5 cA	8.0×10^3 cA
	Average	1.1×10^6	5.2×10^5	7.2×10^3
15-30 cm	1	8.5×10^5 a	2.3×10^5 aB	3.1×10^3 aB
	2	3.9×10^5 a	1.1×10^5 aB	8.9×10^2 aB
	3	2.7×10^5 a	1.6×10^5 aB	1.3×10^3 aB
	4	4.3×10^5 a	2.2×10^5 aB	2.3×10^3 aB
	5	5.8×10^5 a	1.5×10^5 aB	5.2×10^3 aB
	Average	4.7×10^5	1.8×10^5	2.6×10^3

Small letters showed comparison within same soil depth in the same medium

Capital letters showed comparison in the same medium with different soil depth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในดินจากดินสีดำ ที่ระดับความลึก 0-15 cm แสดงในตารางที่ 4.3 ปริมาณแบคทีเรียที่พบในอาหาร NA คือ 1.0×10^6 CFU/g soil และในอาหาร BSM คือ 6.3×10^5 CFU/g soil ส่วนเชื้อราพบปริมาณ 1.7×10^3 CFU/g soil เปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ในแต่ละจุดเก็บตัวอย่างพบว่าปริมาณแบคทีเรียที่เรียในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง NA และ BSM มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% แต่ปริมาณเชื้อราที่แยกอาหาร PDA ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกัน (enrich medium และ minimal medium) พบว่ามีปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในดินสีดำ ที่ระดับความลึก 0-15 cm

Collection points	Bacteria (CFU/g soil)		Fungi (CFU/g soil)
	NA medium	BSM medium	
1	2.0×10^6 aA	7.7×10^5 aB	1.5×10^3 a
2	1.4×10^6 abA	7.9×10^5 aB	2.0×10^3 a
3	9.3×10^5 bcA	1.2×10^6 aB	1.8×10^3 a
4	1.1×10^6 bA	9.3×10^5 aB	2.8×10^3 a
5	2.9×10^5 cA	2.0×10^5 bB	6.9×10^2 a
6	8.1×10^5 bcA	9.2×10^5 aB	1.4×10^3 a
7	4.2×10^5 cA	2.1×10^5 bB	2.5×10^3 a
8	8.4×10^5 bcA	1.9×10^5 bB	6.8×10^2 a
Average	1.0×10^6	6.3×10^5	1.7×10^3

Small letters showed comparison within same soil depth in same medium
Capital letters showed comparison in the different medium

อิทธิพลของชนิดของดินต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่าง ดินสีแดง และตัวอย่างดินสีดำ ที่สามารถเจริญเติบโตที่ความลึก 0-15 cm ที่แยกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ NA และ PDA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินสีดำมีปริมาณมากกว่าดินสีแดง แต่ในอาหาร PDA พบว่าปริมาณเชื้อราที่แยกได้จากดินสีแดงมีปริมาณมากกว่าดินสีดำ อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของปริมาณเชื้อที่แยกได้บนอาหาร BSM จากดินทั้งสองชนิด

4.1.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย

การศึกษาลักษณะโคโลนี และการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ (ภาคผนวก ตารางที่ 1) ชนิดของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้แยกตามลักษณะโคโลนีที่พบ พบว่าสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหาร NA ได้ 11 ชนิด แยกด้วยอาหาร BSM ได้ 12 ชนิด และแยกด้วยอาหาร PDA ได้ 8 ชนิด จากตัวอย่างดินสีแดง ส่วนตัวอย่างดินดำนั้นสามารถแยกเชื้อได้ 5, 6, และ 3 ชนิด จากอาหารเลี้ยงเชื้อ NA, BSM, และ PDA ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในดินมีแดง และดินสีดำ ที่ระดับความลึก 0-15 cm

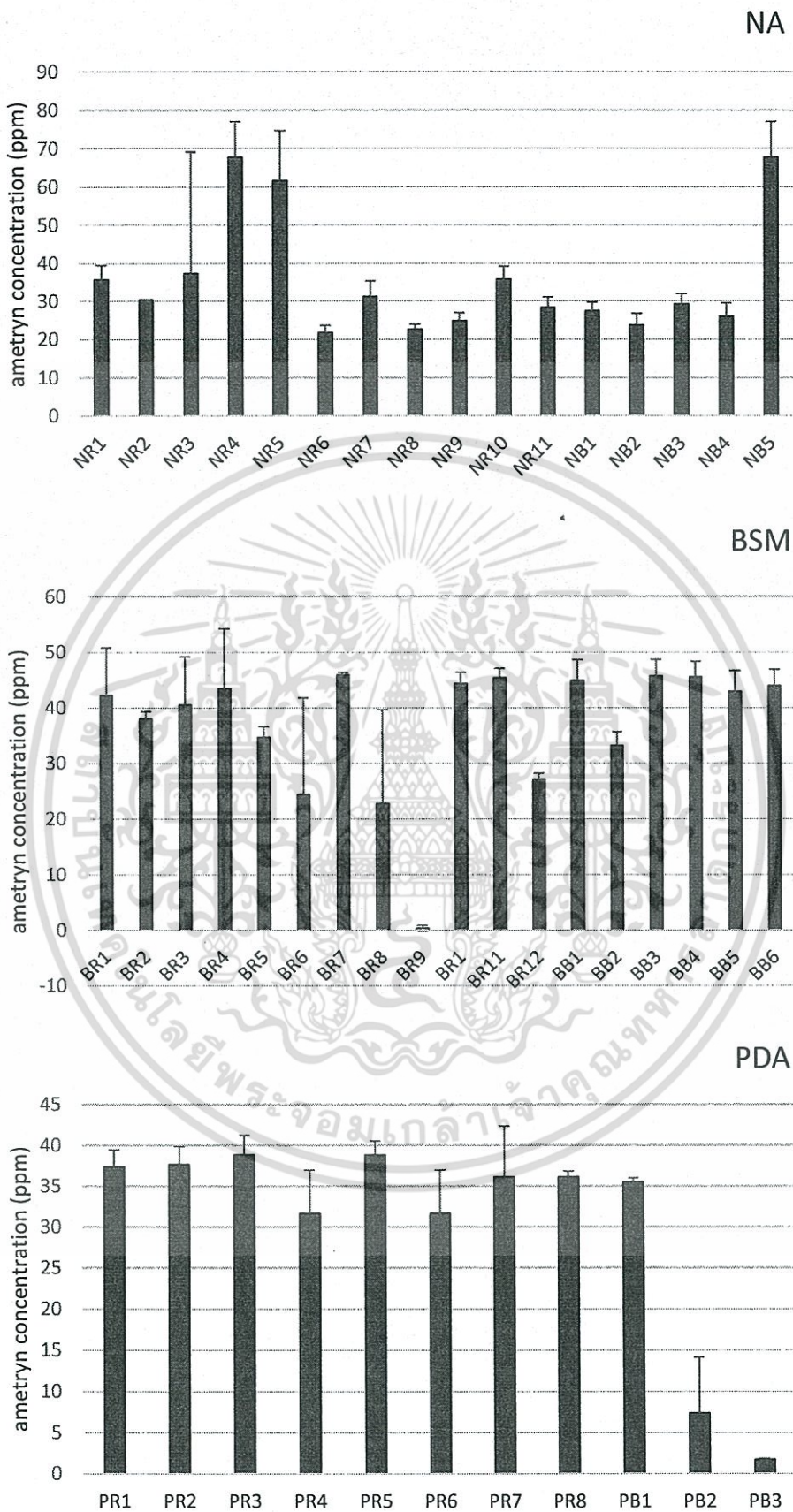
Collection points	NA medium		BSM medium		PDA medium	
	Red soil	Black soil	Red soil	Black soil	Red soil	Black soil
1	2.3×10^5	2.0×10^6	4.7×10^5	7.7×10^5	1.1×10^4	1.5×10^3
2	1.1×10^5	1.4×10^6	1.4×10^6	7.9×10^5	4.8×10^2	2.0×10^3
3	1.6×10^5	9.3×10^5	1.6×10^5	1.2×10^6	6.6×10^2	1.8×10^3
4	2.2×10^5	1.1×10^6	1.4×10^5	9.3×10^5	5.3×10^2	2.8×10^3
5	1.5×10^5	2.9×10^5	1.6×10^5	2.0×10^5	8.0×10^3	6.9×10^2
6	-	8.1×10^5	-	9.2×10^5	-	1.4×10^3
7	-	4.2×10^5	-	2.1×10^5	-	2.5×10^3
8	-	8.4×10^5	-	1.9×10^5	-	6.8×10^2
p-value	0.005		0.426		0.000	

4.1.4 ประสิทธิภาพของเชื้อในการบำบัดอะมีทริน

ประสิทธิภาพของเชื้อในการบำบัดอะมีทรินทำการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการโดยการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่มีการเติมอะมีทรินที่ความเข้มข้น 50 ppm และอะทราซีนที่ความเข้มข้น 50 ppm ร่วมกันพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถลดปริมาณอะมีทรินในอาหารเลี้ยงเชื้อลงได้เล็กน้อย (ภาพที่ 4.1) มีจุลินทรีย์เพียง 6 ชนิดเท่านั้นที่สามารถลดปริมาณอะมีทรินลงได้มากกว่าครึ่งหนึ่ง คือ NR6, NR8, NB2, BR9, PB2 และ PB3 (ภาพที่ 4.2) โดยเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดคือ BR9 และ PB3 นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณอะมีทรินในสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณมากกว่าที่เติมเข้าไป คือในตัวอย่าง NR4, NR5, และ NB5 อาจเนื่องมาจากการผลิตสารอินทรีย์บางชนิดโดยจุลินทรีย์ที่ถูกปลดปล่อยออกมาอยู่ในสารละลายอาหาร แล้วมีผลรบกวนการวัดปริมาณอะมีทรินโดยเครื่อง HPLC การวัดปริมาณสารอินทรีย์ด้วยเครื่อง HPLC นั้นเป็นการวัดการเคลื่อนที่ของสารผ่านตัวกลาง (stationery phase) ในสถานะที่มีความดันสูงโดยมีของเหลวเป็นตัวพาสารในการเคลื่อนที่ สารอินทรีย์ที่มีขนาดโมเลกุลใกล้เคียงกัน และมีความสามารถการละลายในตัวทำละลายที่ใช้ได้เท่ากันอาจสามารถเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางได้ในอัตราเร็วที่เท่ากัน จึงส่งผลกระทบต่อผลการวัดสารที่ต้องการได้

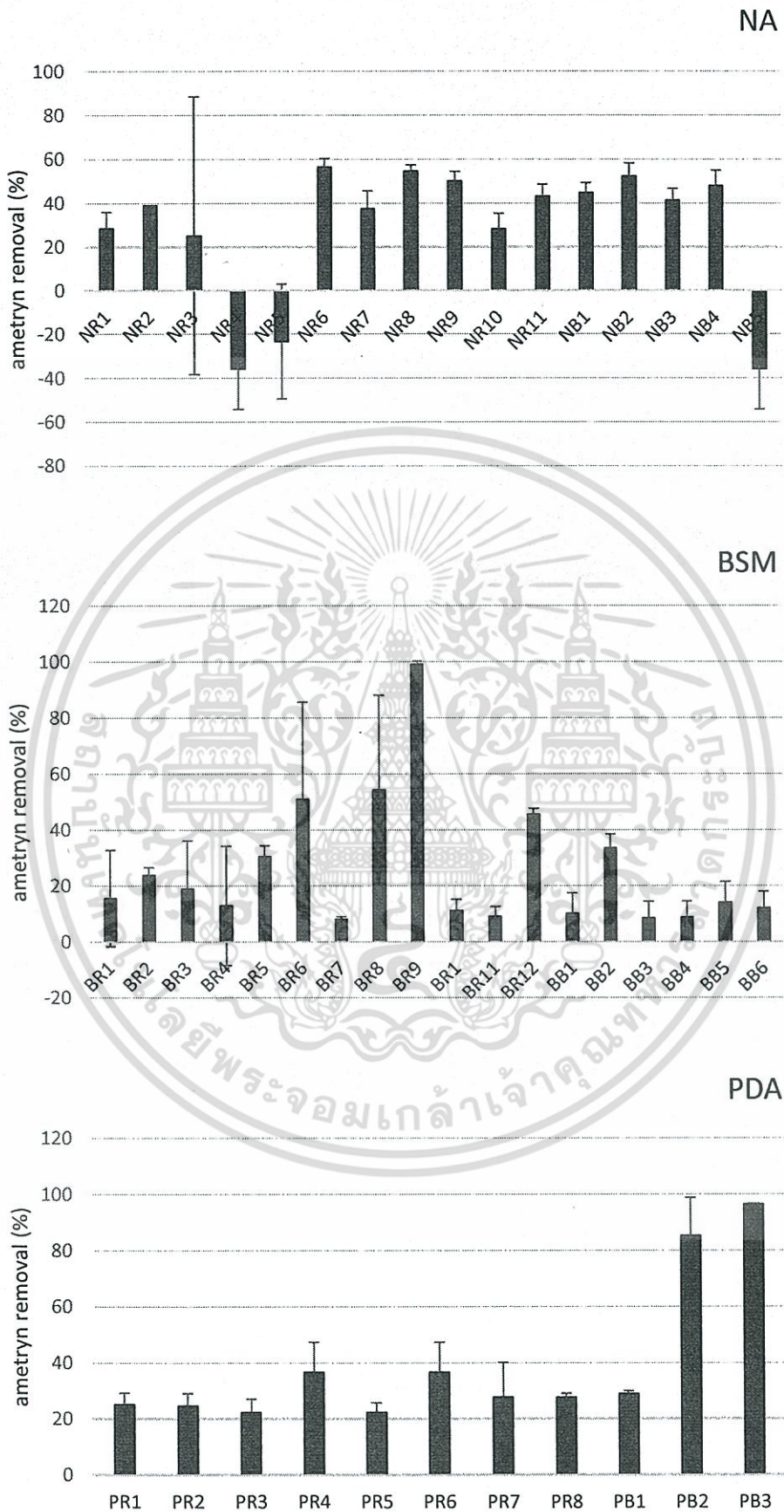
ประสิทธิภาพของเชื้อในการบำบัดอะทราซีนทำการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการโดยพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการคัดเลือกได้มีประสิทธิภาพในการบำบัดอะทราซีนต่ำ (ภาพที่ 4.3) ปริมาณอะทราซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อยังคงเหลืออยู่ในปริมาณสูงมากกว่า 35 ppm จุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้นั้นมีประสิทธิภาพในการบำบัดอะทราซีนได้สูงที่สุดคือ NB2 ซึ่งสามารถลดปริมาณอะทราซีนในสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อได้ 29% (ภาพที่ 4.4) และเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดคือ PR4 ซึ่งสามารถลดปริมาณอะทราซีนได้ 15% อย่างไรก็ตาม ไม่พบปริมาณอะทราซีนในสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่าที่เติมลงไป ในอาหารเช่นในกรณีของอะมีทริน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



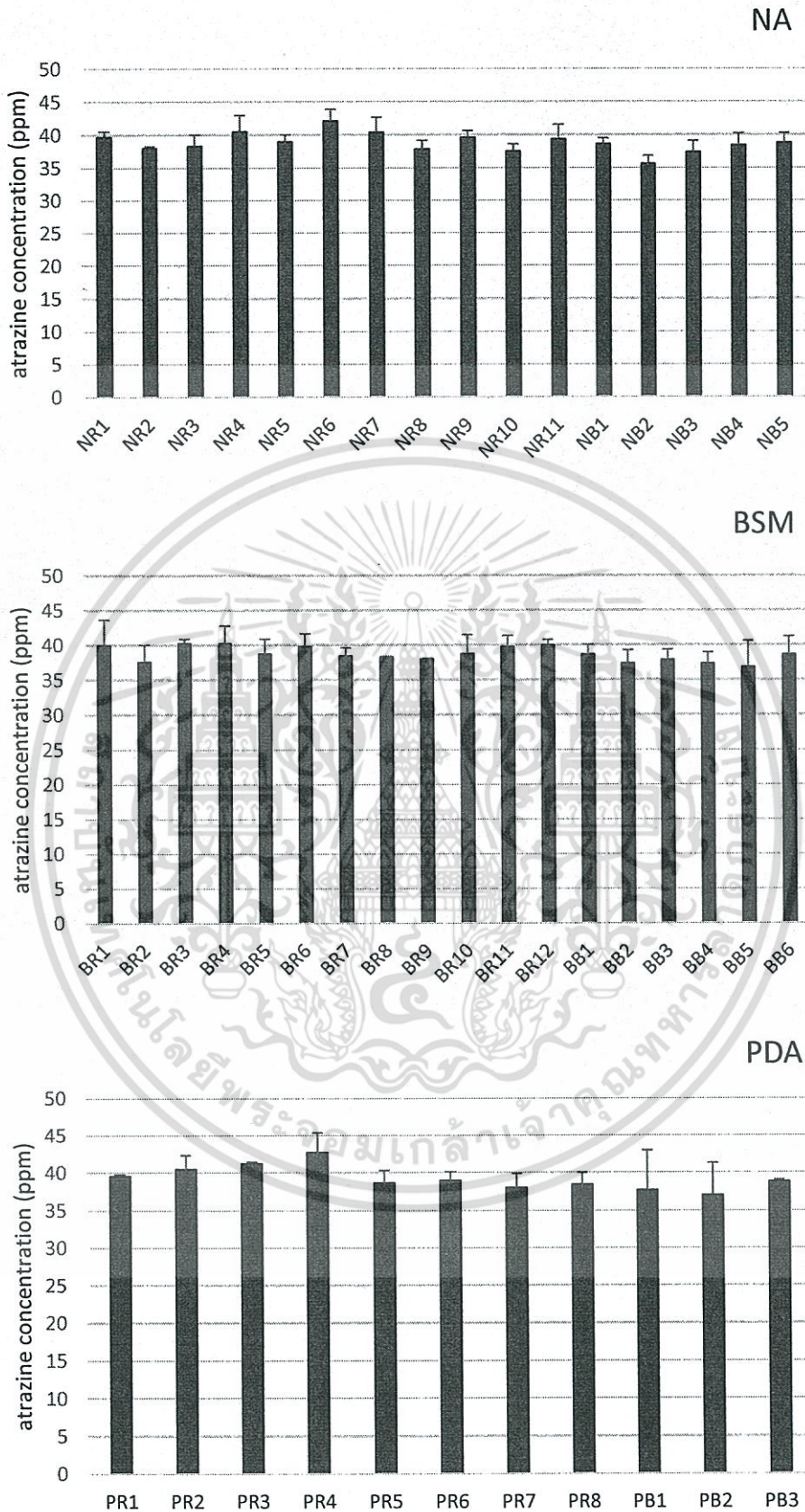
ภาพที่ 4.1 ความสามารถในการบำบัดอะมีทรินของจุลินทรีย์ที่คัดเลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



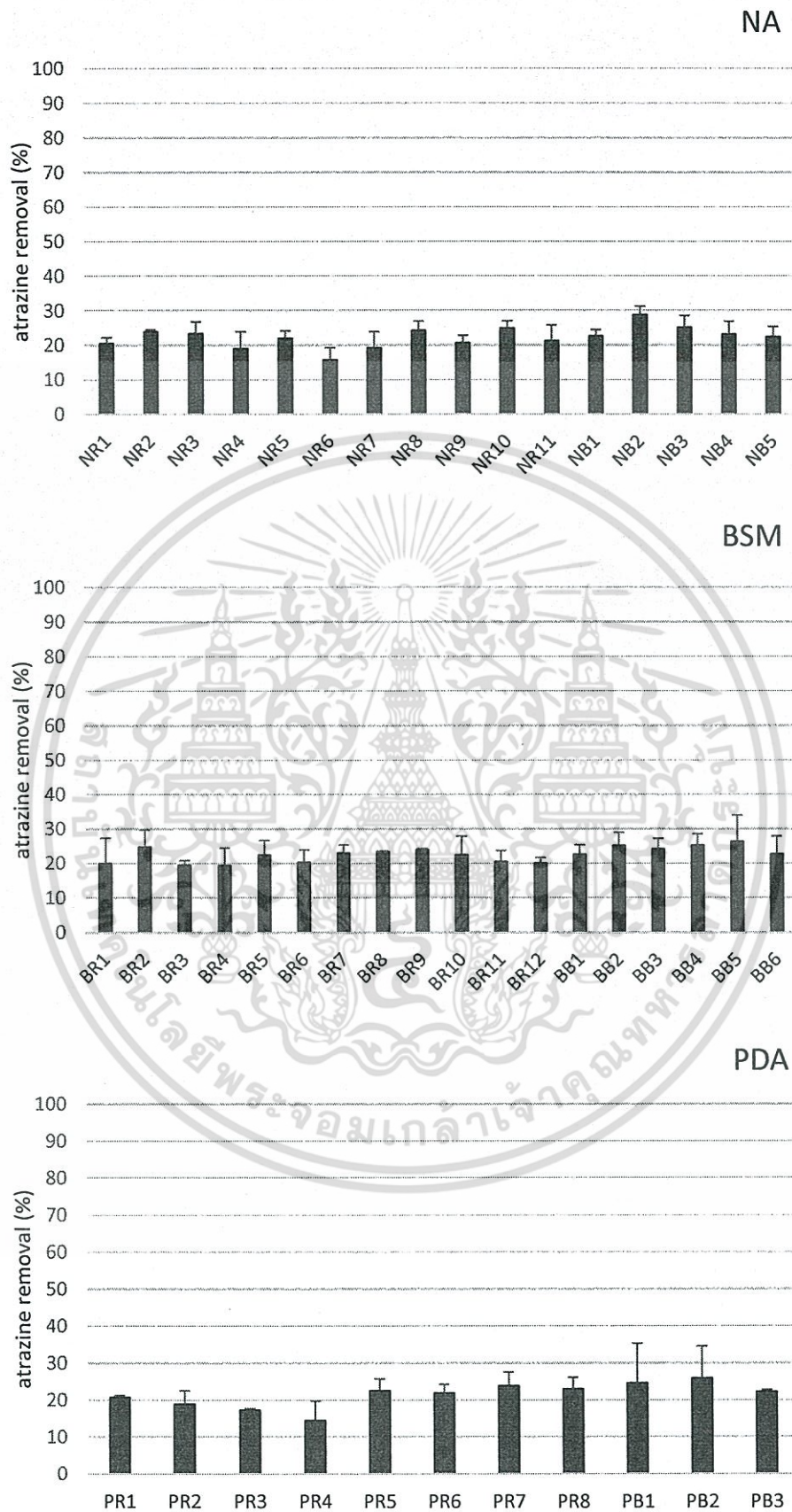
ภาพที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์ของอะมีทรินที่จุลินทรีย์สามารถบำบัดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ความสามารถในการบำบัดอะทราซีนของจุลินทรีย์ที่คัดเลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 เปอร์เซนต์ของอะทราซีนที่จุลินทรีย์สามารถบำบัดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 โบรมาซัล

4.2.1 สมบัติของตัวอย่างดินที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์

ตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อที่มีความสามารถในการบำบัดโบรมาซัลได้มาจากแปลงปลูกสับปะรด จำนวน 3 แปลง เก็บตัวอย่างแปลงละ 20 จุดกระจายทั่วแปลง 4 จุดเก็บตัวอย่างนำมารวมเป็น 1 ตัวอย่าง เป็นจำนวน 5 ตัวอย่างต่อแปลง ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างดินจากแปลงที่ 1 และ 2 มีค่า pH อยู่ที่ 3.88 และ 4.43 ซึ่งเป็นกรดแก่จัด ส่วนแปลงที่ 3 มีค่า pH ที่ 5.10 ซึ่งอยู่ในช่วงเป็นกรดจัด ค่าการนำไฟฟ้าของทั้ง 3 แปลงมีค่าต่ำกว่า 2,000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ซึ่งอยู่ในระดับที่ไม่มีความเค็ม ปริมาณอินทรีย์วัตถุในแปลงที่ 1 และ 2 มีค่าสูงกว่า 3% ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับสูง ส่วนแปลงที่ 3 มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 2.07% ซึ่งอยู่ในระดับปานกลาง (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ค่า pH ค่าการนำไฟฟ้า (EC) และปริมาณอินทรีย์วัตถุของตัวอย่างดินที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายโบรมาซัล

Area of collection	pH (1:1)	EC ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	OM (%)
Field 1	3.88 \pm 0.01	109.57 \pm 2.56	3.07 \pm 0.00
Field 2	4.43 \pm 0.02	95.4 \pm 2.88	3.61 \pm 0.00
Field 3	5.10 \pm 0.03	93.87 \pm 3.58	2.07 \pm 0.09

4.2.2 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

การศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนโบรมาซัลพบว่า จำนวนจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินแปลงปลูกสับปะรดทั้ง 3 แปลง แสดงในตารางที่ 4.6 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่แยกด้วยอาหาร NA และปริมาณเชื้อราที่แยกด้วยอาหาร PDA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในแปลงที่ 3 มีปริมาณแบคทีเรียที่แยกได้ด้วยอาหาร NA มากกว่าแปลงที่ 1 และ 2 ส่วนในแปลงที่ 2 มีปริมาณเชื้อราที่แยกได้ด้วยอาหาร PDA มากกว่าแปลงที่ 1 และ 3 แต่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณเชื้อที่แยกได้ด้วยอาหาร BSM เปรียบเทียบปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ด้วยอาหารทั้ง enrich medium (NA) และ minimal medium (BSM) ไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างดินจากแปลงปลูกสับปะรดที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายโบรมาซัล

Sample	Bacteria (CFU/g soil)		Fungi (CFU/g soil)
	NA	BSM	
PRP1	6.9 \times 10 ⁴ b	2.5 \times 10 ⁵ a	1.3 \times 10 ⁵ b
PRP2	1.8 \times 10 ⁵ b	1.8 \times 10 ⁵ a	2.5 \times 10 ⁵ a
PRP3	3.2 \times 10 ⁵ a	1.3 \times 10 ⁵ a	8.5 \times 10 ⁴ b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

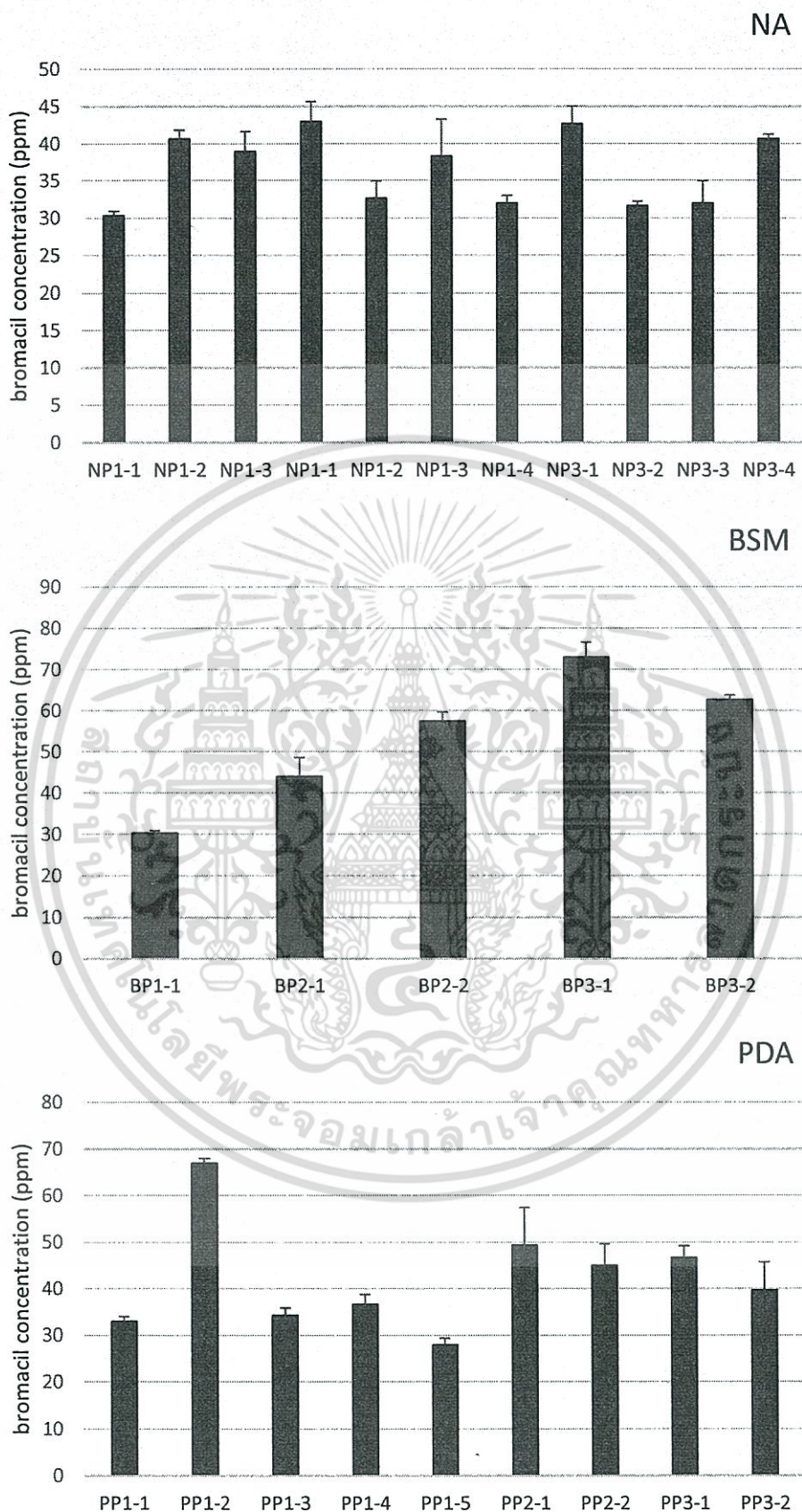
4.2.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย

การศึกษาลักษณะโคโลนี และการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ (ภาคผนวก ตารางที่ 2) ชนิดของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้แยกตามลักษณะโคโลนีที่พบ พบว่าแปลงปลูกสับปะรดแปลงที่ 1 (PRP1) สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหาร NA ได้ 3 ชนิด แยกด้วยอาหาร BSM ได้ 1 ชนิด และแยกด้วยอาหาร PDA ได้ 5 ชนิด แปลงปลูกสับปะรดแปลงที่ 2 (PRP2) สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหาร NA ได้ 4 ชนิด แยกด้วยอาหาร BSM ได้ 2 ชนิด และแยกด้วยอาหาร PDA ได้ 2 ชนิด แปลงปลูกสับปะรดแปลงที่ 3 (PRP3) สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหาร NA ได้ 4 ชนิด แยกด้วยอาหาร BSM ได้ 2 ชนิด และแยกด้วยอาหาร PDA ได้ 2 ชนิด เป็นที่สังเกตว่า เชื้อราที่แยกได้จากแปลงที่ 1 มีความหลากหลายมากกว่าแปลงอื่นๆ อย่างมาก อาจเนื่องมาจากแปลงนี้มีการใส่มูลไก่ก่อนเข้าทำการเก็บตัวอย่างประมาณ 1 เดือน อาจมีผลให้เชื้อราที่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากมีมูลไก่เป็นอาหาร หรือมีเชื้อราจากมูลไก่ที่ใส่เข้าไปเพิ่มในแปลง

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากแปลงปลูกสับปะรดพบว่ามีความหลากหลายน้อยมากเมื่อเทียบกับการแยกเชื้อจุลินทรีย์บำบัดอะมีทรินและอะทราซีนจากแปลงปลูกอ้อย ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากความเป็นพิษของโบรมาซิลนั้นสูงกว่าอะมีทรินและอะทราซีน

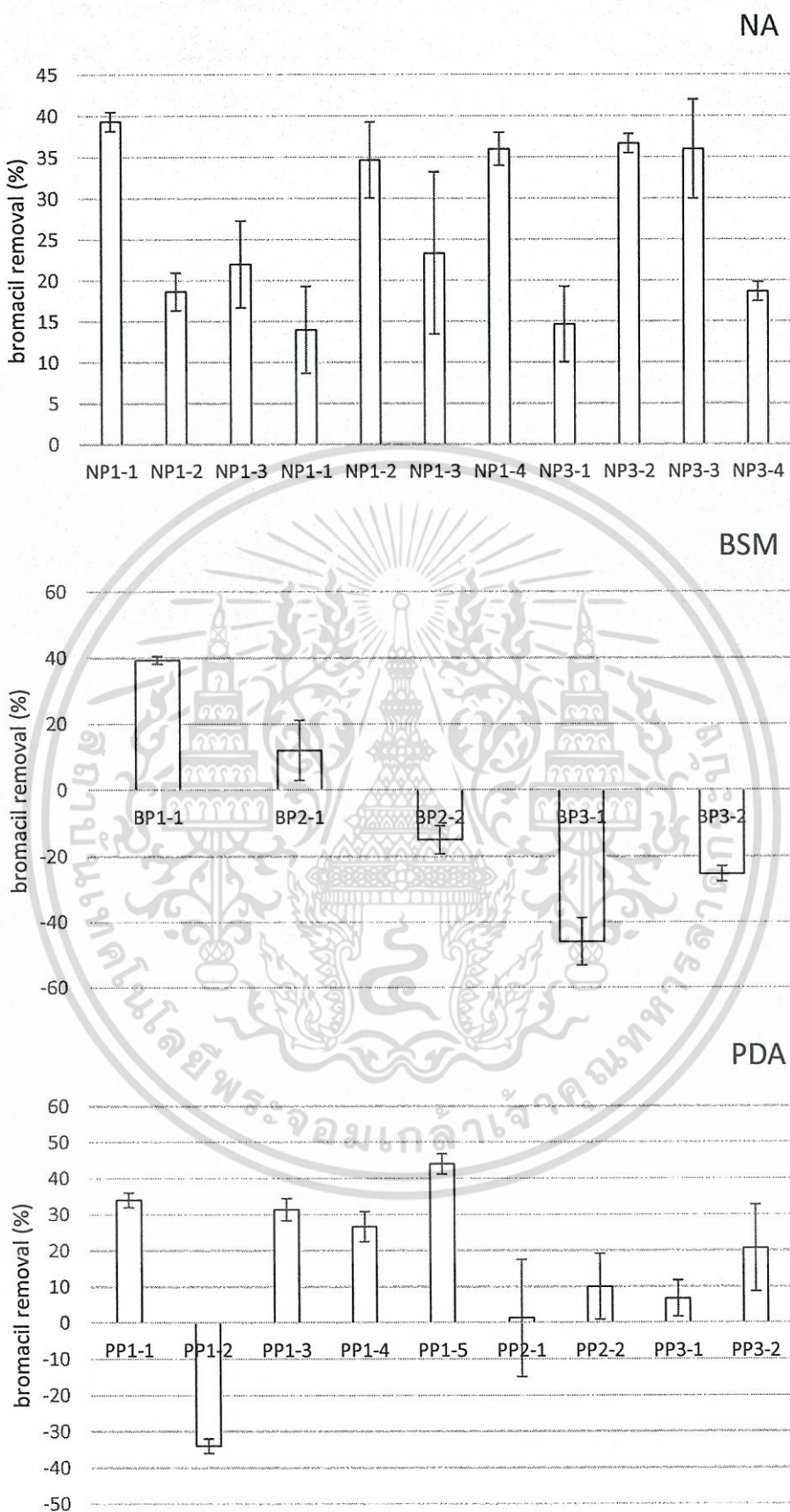
4.2.4 ประสิทธิภาพของเชื้อในการบำบัดโบรมาซิล

ประสิทธิภาพของเชื้อที่คัดแยกได้ใน การบำบัดโบรมาซิลในสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมโบรมาซิลความเข้มข้น 50 ppm แสดงในภาพที่ 4.5 จากการศึกษาพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่คัดแยกได้มีประสิทธิภาพในการบำบัดโบรมาซิลได้ต่ำมาก โดยเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีประสิทธิภาพในการบำบัดโบรมาซิลได้ต่ำกว่า 50% (ภาพที่ 4.6) เชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการบำบัด คือ PP1-5 ซึ่งสามารถลดโบรมาซิลในสารละลายลงได้ 44% นอกจากนี้เชื้อบางชนิด (BP2-2, BP3-1, BP3-2 และ PP1-2) ยังส่งผลให้วัดปริมาณโบรมาซิลในสารละลายได้สูงขึ้น ซึ่งน่าจะมีสาเหตุเช่นเดียวกับในกรณีของอะมีทริน



ภาพที่ 4.5 ความสามารถในการบำบัดโบรมาซิลของจุลินทรีย์ที่คัดเลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 เปอร์เซนต์ของโบรมาซิลที่จุลินทรีย์สามารถบำบัดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากค่า oral LD50 ของอะมีทรินมีค่า 945 mg/kg, อะทราซีนมีค่า 850-1,750 mg/kg, และโบรมาซิลในหนูมีค่า 3,040 mg/kg ซึ่งโบรมาซิลมีความเป็นพิษต่ำที่สุด อย่างไรก็ตามโบรมาซิลนั้นคงอยู่ในดินได้นานกว่าโดยมีค่าครึ่งชีวิตในดินมากกว่า 100 วัน (Extension Toxicology Network, 1992c) และคงอยู่ในดินในความเข้มข้นต่ำๆ ได้นานกว่า 7 เดือน ในขณะที่อะมีทรินนั้นมีค่าครึ่งชีวิตในดินที่ 70-250 วัน และสามารถละลายน้ำได้ดี จึงน่าจะถูกย่อยสลายได้ง่ายโดยจุลินทรีย์ (Extension Toxicology Network, 1992a) ส่วนอะทราซีนนั้นมีค่าครึ่งชีวิตที่ 60-มากกว่า 100 วัน และละลายน้ำได้ปานกลาง (Extension Toxicology Network, 1992b) ความสามารถในการถูกย่อยสลายนั้นโดยจุลินทรีย์มีปัจจัยจากคุณสมบัติด้านการละลาย (bioavailability) และความเป็นพิษของสาร (toxicity) จึงทำให้อะทราซีนถูกบำบัดได้น้อยกว่าอะมีทรินและโบรมาซิล

นอกจากชนิดของสารปนเปื้อนแล้ว ชนิดของดินน่าจะมีผลต่อปริมาณและความหลากหลายของจุลินทรีย์ด้วย ซึ่งชนิดของดินสัมพันธ์กับความเป็นกรด-ด่าง เนื้อดิน อุณหภูมิดิน ปริมาณความชื้นในดิน รวมถึงซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการดำรงชีวิต และการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ทั้งสิ้น (Vieira and Nahas, 2005) ธาตุอาหารในดิน รวมถึงสังเกตได้จากดินต่างชนิดกันให้ปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้แตกต่างกันออกไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทรินและอะทราซีน

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทรินและอะทราซีนด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ NA (enrich medium) และ BSM (minimal medium) และอาหารเลี้ยงเชื้อรา 1 ชนิด คือ PDA จากตัวอย่างดิน 2 ชนิด คือ ดินสีแดง และดินสีดำ ตัวอย่างดินสีแดงพบจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหาร NA, BSM, และ PDA ได้จำนวน 11, 12, และ 8 ชนิด ตามลำดับ ตัวอย่างดินสีดำพบจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหาร NA, BSM, และ PDA ได้จำนวน 5, 6, และ 3 ชนิด ตามลำดับ จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการบำบัดอะมีทรินพบ 3 ชนิด คือ BR9 (บำบัดได้ 99%), PB3 (บำบัดได้ 96%) และ PB2 (บำบัดได้ 85%) แต่เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้มีประสิทธิภาพต่ำในการบำบัดอะทราซีนโดยเชื้อที่บำบัดอะทราซีนได้สูงที่สุดคือ NB 2 ซึ่งลดปริมาณอะทราซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อลงได้เพียง 29%

5.2 จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการบำบัดโบรมาซิล

คัดเลือกแบคทีเรียจากพื้นที่ที่มีการใช้โบรมาซิล โดยเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกสับปะรดจำนวน 3 แปลง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด คือ NA, BSM, และ PDA พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 3, 1, และ 5 ชนิดจากตัวอย่างดินแปลงที่ 1, พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 4, 2, และ 2 ชนิดจากตัวอย่างดินแปลงที่ 2, พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 4, 2, และ 2 ชนิดจากตัวอย่างดินแปลงที่ 3 เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่คัดแยกได้มีประสิทธิภาพในการบำบัดโบรมาซิลได้ต่ำกว่า 50% เชื้อที่คัดแยกได้ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการบำบัด คือ PP1-5 ซึ่งสามารถลดโบรมาซิลในสารละลายลงได้ 44%

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ในการศึกษาครั้งนี้ทำการทดลองในสภาวะสารละลายซึ่งต่างกับสภาวะจริงในดิน อาจมีผลทำให้สารอยู่ในสภาพที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์มากกว่าในสภาพดินจริง ซึ่งสารเคมีบางส่วนจับอยู่ที่อนุภาคดินจึงทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดต่ำ อย่างไรก็ตามยังมีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถบำบัดสารปนเปื้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.3.2 ในการศึกษาครั้งนี้เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืชที่มีประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืชมาเป็นระยะเวลาไม่ต่ำกว่า 5 ปี อย่างไรก็ตามตัวอย่างแปลงที่นำมาใช้ในการศึกษาเชื้อบำบัดสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิดอยู่ในเขตจังหวัดเดียวกันและปลูกพืชชนิดเดียวกันซึ่งอาจทำให้ความหลากหลายของเชื้อมีน้อย หากสามารถเก็บตัวอย่างดินได้จากหลายๆแหล่งที่มีการปลูกพืชต่างชนิดกันอาจทำให้ได้ข้อมูลเชื้อที่เป็นประโยชน์มากขึ้น

บทที่ 6

สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

6.1 บทความวิจัย

ส่วนหนึ่งงานวิจัยชิ้นนี้ได้นำเสนอในที่ประชุมวิชาการ โดยนำเสนอในหัวข้อเรื่อง Screening of ametryn resistant bacteria from sugarcane cultivation soils ในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ ชื่อ 2nd International Symposium on Agricultural Technology (ISAT2015) เมื่อวันที่ 1-3 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2558 ซึ่งจัดที่โรงแรมเอวัน จังหวัดชลบุรี (ภาคผนวก) และบทความตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติซึ่งกำลังอยู่ในระหว่างดำเนินการอีกจำนวน 1 เรื่อง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- จรัญญา ปิ่นสุภา, สิริชัย สาธุวิจารณ์, จรรยา มณีโชติ, และ วนิตา ธารถวิล. 2555. ศักยภาพการจัดการวัชพืชในสวนปาล์มน้ำมัน. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ หน้า 116-132.
- จूरีย์รัตน์ ลีสมีทธิ และสมพร สัมโย. (2558). จุลินทรีย์ธรรมชาติเพื่อประยุกต์ใช้ในการบำบัด สิ่งแวดล้อมโดยชีววิธี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch54> [วันที่สืบค้นข้อมูล 6 เมษายน 2559].
- ประทีป กระแสสินธุ์. 2529. ผลตกค้างของสารกำจัดวัชพืชอะทราซีน ในดินชุดปากช่อง. วารสารวิชาการเกษตรกรมวิชาการเกษตร. ปีที่พิมพ์ 2529 ปีที่ 4 ฉบับที่ 2. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://soclaimon.wordpress.com/>. [วันที่สืบค้นข้อมูล 21 เมษายน 2559].
- รุ่งนภา ทองอรุณ. 2548. ฐานข้อมูลวิทยานิพนธ์ไทย. การสลายสารตามธรรมชาติ, การใช้สารเร่งการสลาย และการเติมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อสลายสาร 4-คลอโรอะนีสที่ปนเปื้อนในดิน. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.thaithesis.org/detail.php?id=1082548000053>. [วันที่สืบค้นข้อมูล 20 มกราคม 2559].
- วันทนา เลิศศิริวรกุล, ทักษิณา ศันสยะวิชัย, วีระพล พลรักดี, ภาควงมูมิ ถิ่นคำ และวันรุ่ง เสือปู่. 2552. การศึกษาการตอบสนองต่อสารเคมีกำจัดวัชพืชของอ้อยโคลนดีเด่นโคลนอ้อยระหว่างศูนย์ปี 2552. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.doa.go.th/research/>. [วันที่สืบค้นข้อมูล 20 มกราคม 2559].
- ศิริไล ลาภบรรจบ. 2551. ปัญหาการใช้สารกำจัดวัชพืช: ความต่างที่ไม่ลงตัวของอ้อยกับมันสำปะหลัง. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://nsfrc-news.blogspot.com/2008/04/blog-post.html>. [วันที่สืบค้นข้อมูล 21 เมษายน 2559].
- อรรถสิทธิ์ บุญธรรม, ธงชัย ตั้งเปรมศรี และเฉลิมพล ไหลรุ่งเรือง. 2546. ผลของการใช้สารกำจัดวัชพืชหลังอ้อยออกชนิดต่าง ๆ ในอ้อยพันธุ์ Phil 66-07. ในรายงานผลงานวิจัยปี 2543 อ้อย. ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร. หน้า 301-315.
- Adrian, N.R. and J.M. Sufлита. 1990. Reductive dehalogenation of a nitrogen heterocyclic herbicide in anoxic aquifer slurries. Appl. Environ. Microbiol. 56(1): 292-294.
- Alavi, G., Sanda, M., Loo, B., Green, R.E., and Ray, C. 2008. Movement of bromacil in a Hawaii soil under pineapple cultivation – a field study. Chemosphere, 72(1): 45-52.
- Albright III, V.C., Murphy, I.J., Anderson, J.A. and J.R. Coats. 2013. Fate of atrazine in switchgrass–soil column system. Chemosphere 90: 1847-1853.
- Atteia, O. and C. Guillot. 2007. Factors controlling BTEX and chlorinated solvents plume length under natural attenuation conditions. J. Contam. Hydrol. 90: 81-104.
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Carberry, J.B. and J. Wik. 2001. Comparison of *ex situ* and *in situ* bioremediation of unsaturated soils contaminated petroleum. *J. Environ. Sci. Health A*. 36: 1491-1503.
- Chaudhry, G.R., and L. Cortez. 1988. Degradation of Bromacil by a *Pseudomonas* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 54(9): 2203-2207.
- Diaz, E. 2004. Bacterial degradation of aromatic pollutants: a paradigm of metabolic versatility. *Int. Microbiol.* 7: 173-180.
- Environmental Protection Agency (EPA). 1996. Registration eligibility decision: Bromacil (EPA 738-R-96-013). U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Environmental Protection Agency (EPA). 2005. Reregistration eligibility document and risk assessment for the use of ametryn on corn, pineapple and sugarcane. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Environmental Protection Agency (EPA). 2006. Atrazine: Finalization of interim reregistration eligibility decision and completion of tolerance reassessment and reregistration eligibility process. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Environmental Protection Agency (EPA). 2012. Pesticides: Topical & Chemical Fact Sheets, Atrazine Background. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Extension Toxicology Network. 1992a. Ametryn. [online] Available at: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/24d-captan/ametryn-ext.html> [Cited 1 April 2017].
- Extension Toxicology Network. 1992b. Atrazine. [online] Available at: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/24d-captan/atrazine-ext.html> [Cited 1 April 2017].
- Extension Toxicology Network. 1992c. Bromacil. [online] Available at: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/24d-captan/bromacil-ext.html> [Cited 1 April 2017].
- Health System Research Institute (HSRI). 2005. Knowledge needed for effective decision of pesticide policy in Thailand Ministry of Public Health, Nonthaburi, Thailand.
- Lamberts, R.F., Johnsen, A.R., Andersen, O. and J.H. Christensen. 2008. Univariate and multivariate characterization of heavy fuel oil weathering and biodegradation in soil. *Environ. Pollut.* 156: 297-305.
- Megharaj, M., Ramakrishnan, B., Venkateswarlu, K., Sethunathan, N. and R. Naidu. 2011. Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective, *Environ. Int.* 37: 1362-1375.
- Navaratna, D., Elliman, J., Cooper, A., Shu, L., Baskara, K., Jegatheesan, V. 2012. Impact of herbicide Ametryn on microbial communities in mixed liquor of a membrane bioreactor (MBR). *Bioresource Technology*, 113: 181-190.
- Nikolopoulou, M. and N. Kalogerakis. 2008. Enhanced bioremediation of crude oil utilizing

เชื่อว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- lipophilic fertilizers combined with biosurfactants and molasses. *Mar. Pollut. Bull.* 56: 1855-1861.
- Office of Agricultural Economics (OAE). 2010. Summary of imported pesticides. [online] Available at: <http://www.oae.go.th> [Cited 20 December 2012].
- Office of Agriculture Regulation (OAR). 2011. Public access database. [online] Available at: <http://m.doa.go.th/ard/> [Cited 20 December 2012].
- Oerke, E. C. and H. W. Dehne. 2004. Safe guarding production-losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection* 23(4): 275-285.
- Otte, M.P., Gagnon, J., Comeau, Y., Matte, N., Greer, C.W. and R. Samson. 1994. Activation of an indigenous microbial consortium for bioaugmentation of pentachlorophenol-creosote contaminated soils. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40: 926-932.
- Prade, L., Huber, R. and B. Bieseler. 1998. Structures of herbicides in complex with their detoxifying enzyme glutathione S-transferase explanations for the selectivity of the enzyme in plants. *Structure* 11: 1445-1452.
- Reddy, B.R. and N. Sethunathan. 1983. Mineralization of parathion in the rice rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 826-829.
- Smets, B.F. and P.H. Pritchard. 2003. Elucidating the microbial component of natural attenuation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 14: 283-288.
- Vieira, F.C.S., and Nahas, E. 2005. Comparison of microbial numbers in soils by using various culture media and temperature. *Microbiological research*, 160(2): 197-202.
- Zhu, Y. and Li, Q.X. 2002. Movement of bromacil and hexazinone in soil of Hawaiian pineapple fields. *Chemosphere*, 49(6): 669-674.



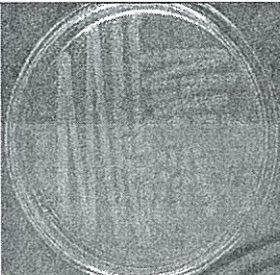
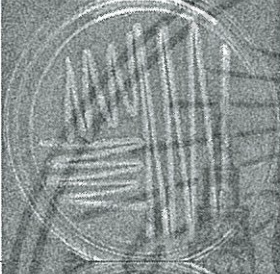

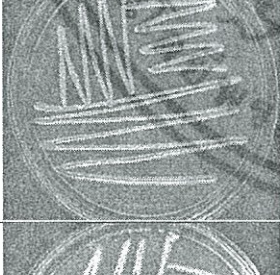
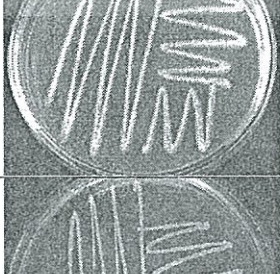

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก


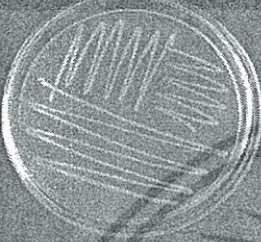




ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อและการติดสีย้อมแกรม

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทางสัญญาณวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินสีแดง และดินสีดำ

Sample	Colony morphology		Code
ดินสีแดง (0-15 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ BSM		แบคทีเรียโคโลนีสีเหลืองจาง ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.35 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR1
		แบคทีเรียโคโลนีสีเทา ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.36 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR2
		แบคทีเรียโคโลนี สีเขียวอ่อน ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนมาก ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.16 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR3
		แบคทีเรียโคโลนีสีน้ำตาลอ่อน ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR4
		แบคทีเรียโคโลนีสีเทาปนขาว ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.16 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR5
		แบคทีเรียโคโลนีสีน้ำตาล ทรงรี ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบแฉก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.43 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR6

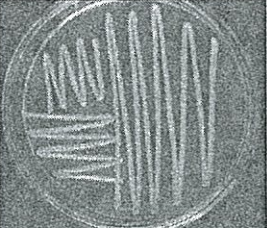

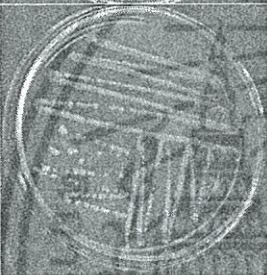

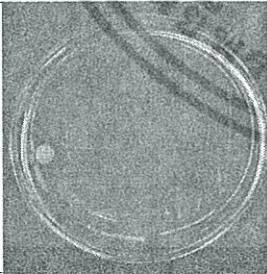

เอกสารนี้เป็นเอกสารทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินสีแดง และดินสีดำ (ต่อ)

Sample	Colony morphology		Code
ดินสีแดง (15-30 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ BSM		แบคทีเรียโคโลนีสีเขียวอ่อน ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.26 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR7
		แบคทีเรียโคโลนีสีเทา ทรงรี ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง 0.46 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR8
		แบคทีเรียโคโลนีสีเทาอ่อน ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.33 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR9
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาว ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบเรียบ โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR10
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาว ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนมาก ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.26 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR11
		แบคทีเรียโคโลนีสีเหลืองปนน้ำตาล ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบเรียบ โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.33 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BR12

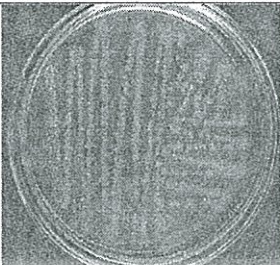
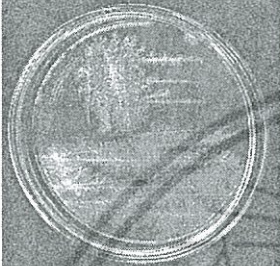
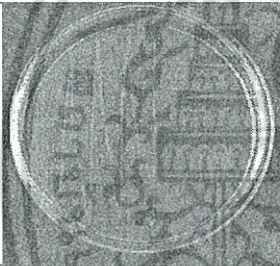

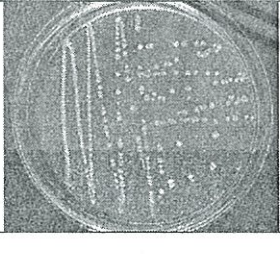
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินสีแดง และดินสีดำ (ต่อ)

Sample	Colony morphology		Code
ดินสีดำ (0-15 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ BSM		แบคทีเรียโคโลนีสีเทาเข้ม ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.06 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BB1
		แบคทีเรียโคโลนีสีเทา ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง 0.23 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BB2
		แบคทีเรียโคโลนี สีน้ำตาล ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.23 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BB3
		แบคทีเรียโคโลนี สีเหลืองอ่อน ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบเรียบ โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BB4
		แบคทีเรียโคโลนีสีเหลืองอ่อน ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.17 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BB5
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาว ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบแฉก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.33 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BB6

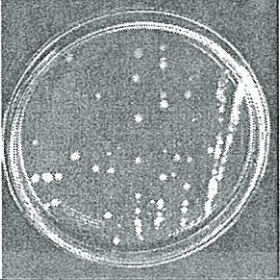
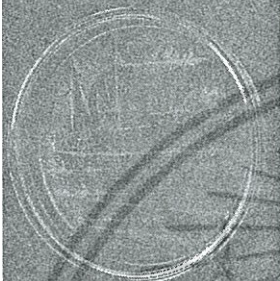


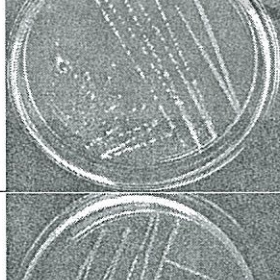

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินสีแดง และดินสีดำ (ต่อ)

Sample	Colony morphology		Code
ดินสีแดง (0-15 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ NA		แบคทีเรียโคโลนีสีน้ำตาลอ่อน ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR1
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาว ทรงรี ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบแฉก โปร่งแสง 0.63 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR2
		แบคทีเรียโคโลนี สีเหลืองอ่อน ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบเรียบ โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR3
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาว ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบเรียบ โปร่งแสงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.36 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR4
		แบคทีเรียโคโลนี สีน้ำตาลปนขาว ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR5


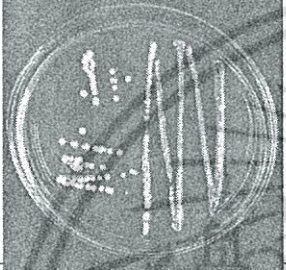
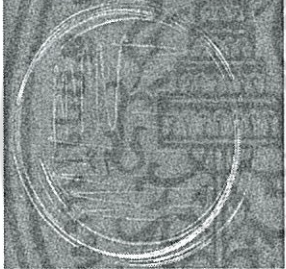
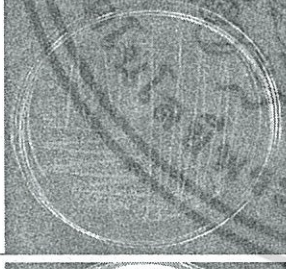
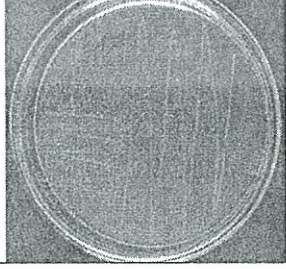
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินสีแดง และดินสีดำ (ต่อ)

Sample	Colony morphology		Code
ดินสีแดง (15-30 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ NA		แบคทีเรียโคโลนี สีขาว ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบเรียบ โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR6
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาวขุ่น ทรงรี ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบแฉก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR7
		แบคทีเรียโคโลนี สีขาว ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.23 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR8
ดินสีดำ (0-15 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ NA		แบคทีเรียโคโลนีสีน้ำตาลปนเหลือง ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนมาก ขอบเรียบ โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.4 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR9
		แบคทีเรียโคโลนี สีเหลือง ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR10
		แบคทีเรียโคโลนี สีเขียวปนขาว ทรงกลม ผิวหน้าเรียบ นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NR11

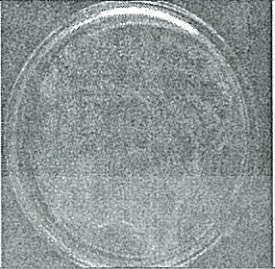
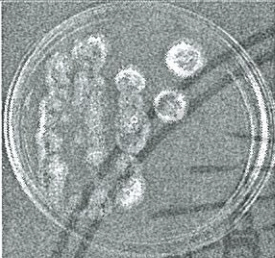


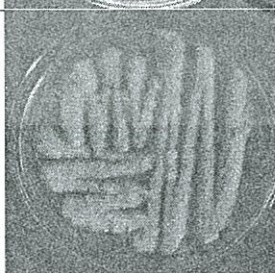
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินสีแดง และดินสีดำ (ต่อ)

Sample	Colony morphology		Code
ดินสีดำ (0-15 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ NA		แบคทีเรียโคโลนีสีขาว ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบแฉก ทึบแสงขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 1.35 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NB1
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาว ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.41 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NB2
		แบคทีเรียโคโลนีสีส้ม ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบเรียบ โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.31 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NB3
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาว ทรงรี ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบแฉก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.47 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NB4
		แบคทีเรียโคโลนีสีเหลืองเข้ม ทรงรี ผิวหน้ามัน วาว นูนน้อย ขอบเรียบ โปร่งแสง ขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลาง 0.17 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NB5

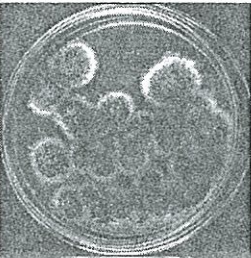
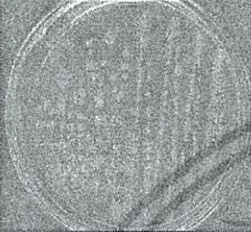


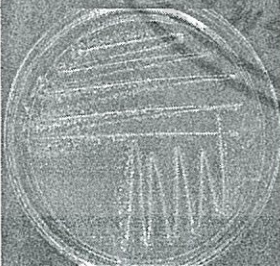
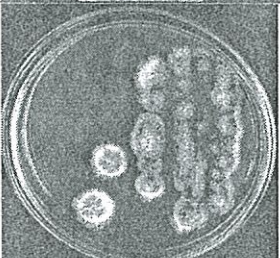
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินสีแดง และดินสีดำ (ต่อ)

Sample	Colony morphology		Code
ดินแดง (0-15 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA		เส้นใยสีน้ำตาล สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใยฟู มาก	PR1
		เส้นใยสีขาว สปอร์สีดำ ขนาดเล็ก เส้นใยฟูมาก	PR2
		เส้นใยสีขาว สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใยฟูน้อย	PR3
		เส้นใยสีขาว สปอร์สีดำ ขนาดเล็ก เส้นใยฟูมาก	PR4
		เส้นใยสีขาว สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใยฟูน้อย	PR5

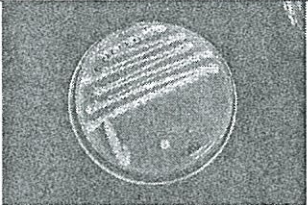




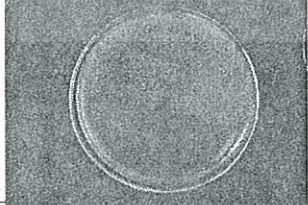

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินสีแดง และดินสีดำ (ต่อ)

Sample	Colony morphology	Code	
ดินแดง (15-30 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA		เส้นใยสีขาว สปอร์สีดำ ขนาดใหญ่ เส้นใยฟูมาก	PR6
		เส้นใยสีขาว สปอร์สีน้ำตาล ขนาดเล็ก เส้นใยฟู น้อย	PR7
		เส้นใยสีน้ำตาล สปอร์สีน้ำตาล ขนาดเล็ก เส้นใย ฟูน้อย	PR8
ดินดำ (0-15 cm) บนอาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA		เส้นใยสีขาว สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใยฟูมาก	PB1
		เส้นใยขาว สปอร์สีเหลือง ขนาดเล็ก เส้นใยฟูน้อย	PB2
		เส้นใยสีขาว สปอร์สีดำ ขนาดเล็ก เส้นใยฟูมาก	PB3

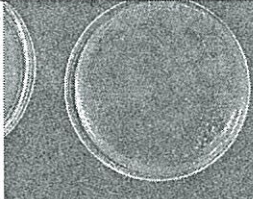
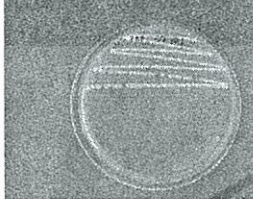
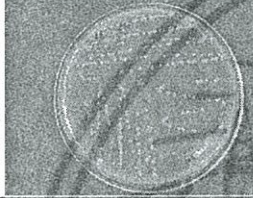


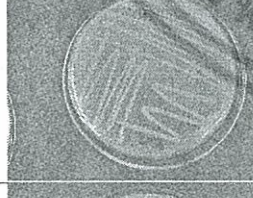

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินที่
ปนเปื้อนโบรมาซิล

Sample	Colony morphology	Code	
PRP1 ในอาหาร เลี้ยงเชื้อ NA		แบคทีเรียโคโลนีสีขาวขุ่น ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.41 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NP1-1
		แบคทีเรียโคโลนีสีเหลืองอ่อน ทรงกลม ผิวหน้า มันวาว นูนปานกลาง ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NP1-2
		แบคทีเรียโคโลนีสีเหลืองอ่อน ทรงกลม ผิวหน้า มันวาว นูนปานกลาง ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NP1-3
PRP1 ในอาหาร เลี้ยงเชื้อ BSM		แบคทีเรียโคโลนีสีส้ม ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนมาก ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.35 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BP1-1
PRP1 ในอาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA		เส้นใยสีขาวขุ่น สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใยฟู มาก	PP1-1
		เส้นใยสีขาวขุ่น สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใยฟู ปานกลาง	PP1-2
		เส้นใยสีน้ำตาลอ่อน สปอร์สีน้ำตาลอมส้ม ขนาด เล็ก เส้นใยฟูน้อย	PP1-3
		เส้นใยสีเหลือง สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใยฟู น้อย	PP1-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินที่
ปนเปื้อนโบรมาซิล (ต่อ)

Sample	Colony morphology		Code
		เส้นใยสีขาว สปอร์สีน้ำตาลแดง ขนาดเล็ก เส้นใยฟูปานกลาง	PP1-5
PRP2 ใน อาหาร เลี้ยงเชื้อ NA		แบคทีเรียโคโลนีสีขาวอมเหลือง ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NP2-1
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาวอมเหลือง ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนปานกลาง ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NP2-2
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาวขุ่น ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NP2-3
		แบคทีเรียโคโลนีสีส้ม ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนปานกลาง ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NP2-4
PRP2 ใน อาหาร เลี้ยงเชื้อ BSM		แบคทีเรียโคโลนีสีขาวขุ่น ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนปานกลาง ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BP2-1
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาวขุ่น ทรงกลม ผิวหน้ามันวาว นูนน้อย ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	NP2-2

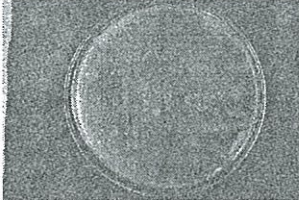



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินที่ปนเปื้อนโบรมาซิล (ต่อ)

Sample	Colony morphology	Code
PRP2 ใน อาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA	 เส้นใยสีขาว สปอร์สีเหลือง ขนาดเล็ก เส้นใยฟู มาก	PP2-1
	 เส้นใยสีเหลืองอ่อน สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใย ฟูมาก	PP2-2
PRP3 ใน อาหาร เลี้ยงเชื้อ NA	 แบคทีเรียโคโลนีสีเหลืองอ่อน ทรงกลม ผิวหน้า มันวาว นูนปานกลาง ขอบหยักเล็กน้อย ทึบแสง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.25 cm ย้อมติดสีแก รมลบ	NP3-1
	 แบคทีเรียโคโลนีสีขาวอมเหลือง ทรงกลม ผิวหน้า มันวาว นูนปานกลาง ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	PP2-2
	 แบคทีเรียโคโลนีสีขาวขุ่น ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.5 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	PP2-3
	 แบคทีเรียโคโลนีสีขาวขุ่น ทรงกลม ผิวหน้ามัน วาว นูนมาก ขอบเรียบ ทึบแสง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.35 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	PP2-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีย้อมแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินที่
ปนเปื้อนโบรมาซิล (ต่อ)

Sample	Colony morphology		Code
PRP3 ใน อาหาร เลี้ยงเชื้อ BSM		แบคทีเรียโคโลนีสีขาวขุ่น ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก โปร่งแสง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.35 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BP3-1
		แบคทีเรียโคโลนีสีขาวขุ่น ทรงกลม ผิวหน้าด้าน นูนน้อย ขอบหยัก ทึบแสง ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.2 cm ย้อมติดสีแกรมลบ	BP3-2
PRP3 ใน อาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA		เส้นใยสีขาวขุ่น สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใย มาก	PP3-1
		เส้นใยสีเหลืองอ่อน สปอร์สีขาว ขนาดเล็ก เส้นใย พุ่มาก	PP3-2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Screening of Ametryn Resistant Bacteria from Sugarcane Cultivation Soils

Patrrarat TEAMKAO*, Nipaporn ROENGANAN, and Siratee PONGPOUN

Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Ladkrabang, Bangkok, Thailand

*Corresponding email: ktpattra@kmitl.ac.th

ABSTRACT

Ametryn is a selective systemic herbicide and widely used for the pre- and post-emergence control of weeds in plantations of sugarcane, maize, and banana. In this work, study the amount of ametryn resistance bacterial and its diversity in two types of sugarcane cultivation soil with long term of ametryn application were conducted. The result showed different bacterial number in two soil types, red- and black-soil. The occurrence of bacteria in red-soil was 2.3×10^5 CFU/g soil with significantly lower than that of the black-soil (9.2×10^5 CFU/g soil). The upper red-soil (0-15 cm in depth) had higher amount of bacteria than the lower red-soil (15-30 cm in depth). The diversity of bacteria in black-soil was lower than that of the red-soil, and all bacteria that found in both soils were gram-negative bacteria. The use of minimal medium (basal salt agar) was appropriated for ametryn resistant bacterial screening than enriched medium (nutrient agar).

Keywords: Ametryn, Bacteria, Soil, Sugarcane

Introduction

Ametryn ((2-ethylamino)-4-(isopropylamino)-6-(methylthio)-s-triazine) is triazine herbicide that is widely used in agriculture. In Thailand, ametryn is used to control broadleaf weeds and annual grasses in corn, pineapple, and sugarcane fields. Most ametryn is used in sugarcane in more than 45 countries. Thailand has more than 1.6 million hectares of sugarcane plantations and is a top five country using this chemical (Farland and Burnside, 2011). Ametryn is Class III chemical with low toxic to fish and mammals but high toxic to crustaceans and mollusks. Ametryn moves vertical and horizontal in soil. It is highly mobile in loam, sandy loams, and sand soil, but slightly mobile in clay soil. The widely application of herbicide leads to presence of them in fresh water (Farré *et al.*, 2002). The contaminated ametryn in water came from leaching by flooding and raining from agriculture area (US EPA, 2005). Ametryn is resistance herbicide, degradation half-life in surface soil and water are 85-123 days and 368 days, respectively (US EPA, 2005). Microbial plays various roles in soil such as soil formation, nutrient cycling, and decomposition of organic matter including organic contaminants. Many indigenous microorganism in soil and water are capable to degrade organic contaminants. The persisted ametryn compound could be lost from soil by microbial degradation (Farré *et al.*, 2002). Contaminated soil is a good source of degrading microbial for bioremediation purpose. The aim of this study was to screen the ametryn resistance bacteria from sugarcane field.

Materials and Methods

Soil

Soil samples were collected at a depth of 0-15 cm and 15-30 cm for red-soil, and 0-15 cm for black-soil, from sugarcane fields with a long term of ametryn application in Ratchaburi

province, Thailand. The soil was passed through a 2 mm sieve and air dried at room temperature before chemical properties analysis of the soil. The soils for bacterial analysis were kept in ice-box immediately after being collected, then transferred to laboratory and kept at 4°C until analysis.

Media preparation

The culture media used in this study were carbon limited basal salt agar (BSA) medium and nutrient agar (NA) medium. BSA medium consisting of (all in g/L): 5.57, NaHPO₄; 2.44, KH₂PO₄; 2.00, NH₄Cl; 0.20, MgCl₂.6H₂O; 0.0004, MnCl₂.4H₂O; 0.001, FeCl₃.6H₂O; 0.001, CaCl₂; 15, bactoagrose. NA medium consisting of (all in g/L): 5.0 peptone; 3.0 beef extract; 15, bactoagrose. Ametryn solution, in water, was added into the media as a carbon source with final concentration of 1.3 mg/L. The pH of the media was adjusted to 7 before bactoagarose was added and sterilized.

Bacterial isolation

Bacteria were collected from soil sample by serial dilution and spread plate method using BSA and NA media. Ten gram of soil sample was serially diluted in sterilized distill water to get a concentration range of 10⁻¹ to 10⁻⁴. A volume of 0.2 mL of each dilution was transferred aseptically to agar media. The sample was spread uniformly. The plates were incubated at room temperature for 3 days. The bacterial isolates were further sub-cultured to obtain pure culture.

Microscopic observation

The bacterial isolates were gram stained and observed under a high power magnifying lens in light microscope.

Statistic analysis

Data were analyzed by Minitab program Version 16.0. The significance of treatments was set at a P-value of less than or equal to 0.05.

Results and Discussion

Soil properties

The properties of soil samples showed in Table 1. The black-soil had higher soil fertility for plant growth with appropriate pH, higher organic matter, and higher plant nutrients (nitrogen, phosphorus, and potassium). However, sugarcane growing in both soils did not show unusual sign of growth.

Table 1 Chemical property of soil samples.

Soil type	pH (1:1)	OM (%)	Total N (%)	Extractable P (mg/kg)	Extractable K (mg/kg)
Black soil	7.44	5.86	0.30	98.34	260
Red soil	5.73	4.53	0.25	9.83	66

Bacterial number

Regard to the study of bacteria in black- and red-soil with a long term of ametryn application, it was found that red-soil tended to have lower amount of bacteria than the black-soil by both NA medium and BSA medium. The higher numbers of soil bacteria were related to the fertility of black-soil that over the red-soil in organic matter, nitrogen, and phosphorus, that is essential for microbial growth. The depth of soil affected the number of bacteria. The surface soil (0-15 cm) had higher bacterial count than the deeper soil (15-30 cm). Higher bacterial number in surface soil related to soil fertility that usually had higher nutrient in upper than lower or deeper soil. Approximately 65% of microbial biomass found in top 2 meter of soil

was found in a depth of 0-25 cm (Fierer *et al.*, 2003). Bacterial number cultured in NA medium was higher than BSA medium because of nutrients in the medium. NA with enriched of bacterial nutrient could culture all of bacteria that resistant to ametryn while BSA, which is minimal medium, could culture only bacteria that could use ametryn as a carbon source.

Table 2 Bacterial number in soil samples screening by BSA and NA medium.

Soil type	Bacteria (CFU/g soil)	
	BSA	NA
Black soil (0-15 cm)	9.2x10 ⁵ a	2.0x10 ⁶ a
Red soil (0-15 cm)	2.3x10 ⁵ b	1.1x10 ⁶ a
Red soil (15-20 cm)	1.8x10 ⁵ b	5.9x10 ⁵ b

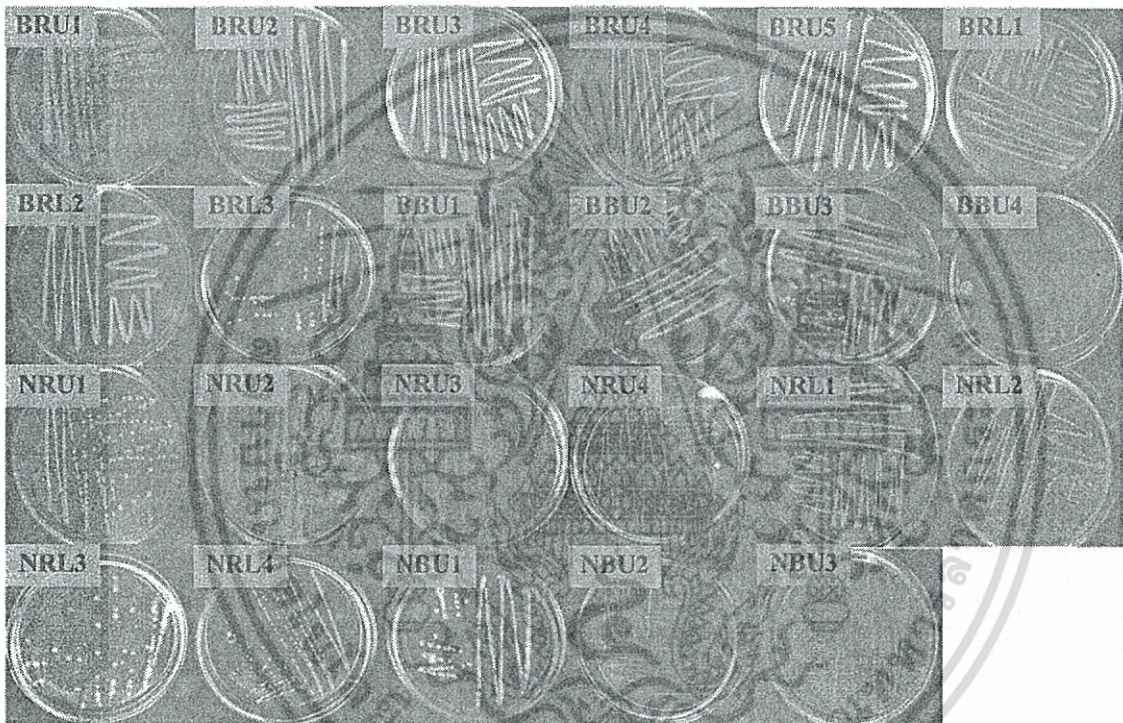


Figure 1 Bacterial colony isolated by BSA (B-) and NA (N-) from black-soil at a depth of 0-15 cm (BU), red-soil at a depth of 0-15 cm (RU), and red-soil at a depth of 15-30 cm (RL).

Table 3 Bacterial isolate in soil samples.

Soil type	Bacterial strain	
	BSA	NA
Black soil (0-15 cm); BU	4	3
Red soil (0-15 cm); RU	5	4
Red soil (15-20 cm); RL	3	4

Bacterial diversity

Bacterial strains were isolated on the bases of colony morphology in each soil sample (Figure 1). The number of bacterial isolates found in black- and red-soil cultured in each medium shown in Table 3. Generally, the diversity of soil bacteria isolated by BSA medium was

higher than NA medium except in 15-30 cm deep red-soil. The ametryn resistance bacteria in the depth of 0-15 cm of red-soil were higher than in black-soil both in BSA and NA medium, although red-soil had lower amount of bacteria (Table 2). The deeper soil tended to have lower bacterial diversity (Table 3). PLFA analysis pointed that microbial diversity declined about 33% from soil surface down to 2 meter (Fierer *et al.*, 2003). Soil depth affected the community composition of soil-bacteria, typically bacterial diversity was highest in the top 10 cm of soil profile (Eilers, 2012). All of bacterial isolates were gram-negative bacteria. Gram-negative bacteria dominated in organic compound contaminated environments, and amount of the bacteria declined with soil depth (MacNaughton *et al.*, 1999; Männistö *et al.*, 2001). This bacterial isolate may possibly be used in remediated contaminated soil and water however further study on potential remediation and stability in environment is required.

Conclusion

Base on the screening of bacteria in two soil types, black- and red-soil, from sugarcane field in Ratchaburi province, it found that bacteria in red-soil was 2.3×10^5 CFU/g soil with lower than that of the black-soil that was 9.2×10^5 CFU/g soil. The red-soil at the depth of 0-15 cm had higher amount of bacteria than red-soil the depth of 15-30 cm. The diversity of bacteria in black-soil was lower than that of the red-soil, although bacterial amount was higher. All of bacteria isolated in both soils were gram-negative bacteria. These bacteria might have potential in ametryn bioremediation.

References

- Eilers, K.G., S. Debenport, S. Anderson, and N. Fierer. 2012. Digging deeper to find unique microbial communities: The strong effect of depth on the structure of bacterial and archaeal communities in soil. *Soil Biol. Biochem.* 50: 58-65.
- Farré, M., J. Fernandez, M. Paez, L. Granada, L. Barba, H.M. Gutierrez, C. Pulgarin, and D. Barceló. 2002. Analysis and toxicity of methomyl and ametryn after biodegradation. *Anal. Bioanal. Chem.* 373: 704-709.
- Fierera, N., J.P. Schimela, and P.A. Holden. 2003. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biol. Biochem.* 35: 167-176.
- LeBaron, H.M., J.M. Farland, and O. Burnside. 2011. *The Triazine Herbicides*. Elsevier. New York. 600 p.
- MacNaughton, S.J., J.R. Stephen, A.D. Venosa, G.A. Davis, Y.J. Chang, and D.C. White. 1999. Microbial population changes during bioremediation of an experimental oil pill. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(8): 3566-3574.
- Männistö, M.K., M.S. Salkinoja-Salonen, and J.A. Puhakka. 2001. In situ polychlorophenol bioremediation potential of the indigenous bacterial community of boreal groundwater. *Water Res.* 35(10): 2496-2504.
- United State Environmental Protection Agency (US EPA). 2005. Reregistration eligibility document and risk assessment for the use of ametryn on corn, pineapple and sugarcane. Washington, DC.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บันทึกการรับ-จ่ายเงิน โครงการวิจัย สัญญาเลขที่ 2558-01-04-019 ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2558 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2559

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ชื่อโครงการ : การศึกษาเบื้องต้นการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีตรีน อะทราซีน และโบรมาซิล

ชื่อหัวหน้าโครงการ: นางสาวภัทรรัตน์ เทียมเก่า

ว/ด/ป	รายการ	เลขที่อ้างอิง	รายการรับ - จ่าย			รายการรับ ดอกเบี้ยรับ	รายการจ่าย					รวม รายการจ่าย	
			รับ	จ่าย	คงเหลือ		งบบุคลากร	งบดำเนินงาน			งบลงทุน		
								ค่าจ้างชั่วคราว	ค่าตอบแทน	ค่าใช้สอย			ค่าวัสดุ
	งบประมาณที่ได้รับการอนุมัติ (ตามแผน)												-
	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 1 = 100%)		100000.00										
	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 2 = 0%)		-										
	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 3)		-										
	หัก ค่าใช้จ่าย (ครั้งที่ 1)			44,322.61		16,000.00	-	10,000.00	18,322.61	-	-	-	44,322.61
	ค่าใช้จ่าย (ครั้งที่ 2)			12,000.00		12,000.00	-	-	-	-	-	-	12,000.00
	ค่าใช้จ่าย (ครั้งที่ 3)			43,677.39		12,000.00	-	-	31,677.39	-	-	-	43,677.39
	ค่าใช้จ่าย (ครั้งที่ 4)			-		-	-	-	-	-	-	-	-
	งบประมาณคงเหลือ		100000.00	-		0.00							
	รายละเอียดค่าใช้จ่าย												
ครั้งที่ 1													
12 ม.ค. 58	วัสดุ	ตั้งเบิกจากคณะฯ							11,580.61				11,580.61
	วัสดุ	ตั้งเบิกจากคณะฯ							6,742.00				6,742.00
6 ก.พ. 58	ค่าใช้สอย	ตั้งเบิกจากคณะฯ						10,000.00					10,000.00

บันทึกการรับ-จ่ายเงิน โครงการวิจัย สัญญาเลขที่ 2558-01-04-019 ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2558 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2559

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ชื่อโครงการ : การศึกษาเบื้องต้นการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทรีน อะทราซีน และโบรมาซิล

ชื่อหัวหน้าโครงการ: นางสาวภัทรรัตน์ เทียมเก่า

ว/ด/ป	รายการ	เลขที่อ้างอิง	รายการรับ - จ่าย			รายการรับ	รายการจ่าย				รวม รายการจ่าย		
			รับ	จ่าย	คงเหลือ		ดอกเบี่ยรับ	งบบุคลากร	งบดำเนินงาน			งบลงทุน	
30 ธ.ค. 58	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
30 ม.ค. 59	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
28 ก.พ. 59	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
31 มี.ค. 59	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
	รวมครั้งที่ 1						16,000.00	-	10,000.00	18,322.61	-	-	44,322.61
ครั้งที่ 2													
30 เม.ย. 17	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
31 พ.ค. 59	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
30 มิ.ย. 59	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
	รวมครั้งที่ 2						12,000.00	-	-	-	-	-	12,000.00
ครั้งที่ 3													
31 ก.ค. 59	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
31 ส.ค. 59	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
10 ก.ย. 59	ค่าวัสดุ (สารเคมีและอุปกรณ์แลป)	ตั้งเบิกจากคณะฯ								31,677.39		31,677.39	

บันทึกการรับ-จ่ายเงิน โครงการวิจัย สัญญาเลขที่ 2558-01-04-019 ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2558 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2559

แหล่งทุน: เงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ชื่อโครงการ : การศึกษาเบื้องต้นการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการบำบัดอะมีทรีน อะทราซีน และโบรมาซิล

ชื่อหัวหน้าโครงการ: นางสาวภัทรารัตน์ เทียมเก่า

ว/ด/ป	รายการ	เลขที่อ้างอิง	รายการรับ - จ่าย			รายการจ่าย				รวม รายการจ่าย			
			รับ	จ่าย	คงเหลือ	ดอกเบี้ยรับ	งบบุคลากร	งบดำเนินงาน			งบลงทุน		
30 ก.ย. 59	ค่าจ้างชั่วคราว	ตั้งเบิกจากคณะฯ					4,000.00					4,000.00	
	รวมครั้งที่ 3						12,000.00	-	-	31,677.39	-	-	43,677.39
ครั้งที่ 4													
	ไม่มี											-	
	รวมครั้งที่ 4						-	-	-	-	-	-	

ลงชื่อหัวหน้าโครงการ  วันที่ 25 เมษายน 2560

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติส่วนตัว

1. ชื่อ-สกุล : นางสาวภัทรารัตน์ เทียมเก่า

ตำแหน่งปัจจุบัน : อาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.บ.	เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2550
Ph.D.	Biotechnology	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี	2555

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2550-2555	โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก	สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
2557-2559	โครงการวิจัยเงินรายได้ ภายใต้ระบบนักวิจัยพี่เลี้ยง	คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล.

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

ภัทรารัตน์ เทียมเก่า. 2556. ความเป็นพิษของไกลโฟเสทและการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์.วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 32(3) หน้า 71 -79.

Teamkao, P. and Thiravetyan, P. 2010. Phytoremediation of ethylene glycol and its derivatives by the burhead plant (*Echinodorus cordifolius* L.). Chemosphere 81, 1069-1074.

Thongtha, S., Teamkao, P., Boonapatcharoen, N., Tripetchkul, S., Techkarnjararuk, S., and Thiravetyan, P. 2014. Phosphorus removal from domestic wastewater by *Nelumbo nucifera* Gaertn. and *Cyperus alternifolius* L. Journal of Environmental Management 137, 54-60.

Teamkao, P. and Thiravetyan, P. 2015. Phytoremediation of mono-, di-, and triethylene glycol by *Echinodorus cordifolius* L. Griseb. International Journal of Phytoremediation 17, 93-100.

Maneesuwannarat, S., Teamkao, P., Vangnai, A.S., Yamashita, M., Thiravetyan, P. 2016. Possible mechanism of gallium bioleaching from gallium nitride (GAN) by *Arthrobacter creatinolyticus*: Role of aminoacids/peptides/proteins bindings with gallium. Process

เอกสาร Safety and Environmental Protection 103: 36-45.

นั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Teamkao, P. and Thiravetyan, P. 2017. Comparison of bioremediation and phytoremediation in treatment of diethylene glycol from stationery industry. *Desalination and Water Treatment* 60: 114-121.

การเสนอผลงานวิชาการ

- Teamkao, P. and Thiravetyan, P., “Bioremediation of MEG, DEG, and TEG: Potential of burhead plant and soil microorganisms”, ICEBESE 2012: International Conference on Environmental, Biological and Ecological Science, and Engineering, October 15th-16th, 2012, Ibis Styles Luzern City, Switzerland.
- Teamkao, P. and Thiravetyan, P., “Bioremediation of triethylene glycol by *Echinodorus cordifolius* L. and soil microorganisms”, 3rd ICGRC: International Conference on Global Resource Conservation, July 7th, 2012, University of Brawijaya, Indonesia (with best presenter award).
- Teamkao, P. and Thiravetyan, P., “Phytodegradation of Ethylene Glycol by Burhead Plant (*Echinodorus cordifolius* L. Griseb).”, The RGJ Ph.D. Congress 13th, April 6th-8th, 2012, Jomtien Balm Beach Resort, Thailand.
- Teamkao, P., Roenganan, N., and Pongpoun, S. Screening of Ametryn Resistant Bacteria from Sugarcane Cultivation Soils. 2nd International Symposium on Agricultural Technology. July 1st -3rd, 2015, Pattaya, Thailand.
- Teamkao, P. and Ruangsomboon, S. Screening of glyphosate resistance bacteria from agricultural soils with different plantations. The 27th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference. November 17th -20th, 2015, Bangkok, Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ชื่อ-สกุล : นางสาวสุนีรัตน์ เรืองสมบุญณ์

ตำแหน่งปัจจุบัน : อาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.บ.	ประมง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2538
วท.ม.	วิทยาศาสตร์การประมง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2541
Ph.D.	Environmental Technology	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี	2549

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิมหาบัณฑิต)

อนุกรมวิธานแพลงก์ตอนและสาหร่าย การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่าย การผลิตอาหารสัตว์น้ำโดยใช้สาหร่ายเป็นส่วนผสม

รางวัลด้านวิชาการ/งานวิจัย/งานสร้างสรรค์ (ด้านศิลปะ หรืออื่นๆ) ที่ได้รับ

ปี พ.ศ.	ชื่อรางวัล	สถาบันที่ให้
2554	รางวัลการนำเสนอผลงาน ระดับดี สาขาประมง ในการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 48	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2556	รางวัลเชิดชูเกียรตินักวิจัย	คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล.

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

สุนีรัตน์ เรืองสมบุญณ์. 2544. การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ควบคุมปริมาณ แพลงก์ตอนพืช

Oscillatoria. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 9(3): 19-23.

สุนีรัตน์ เรืองสมบุญณ์. 2545. การควบคุมการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช *Oscillatoria* โดยใช้ฟอร์มาลิน และคลอรีน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 18(3): 30-37.

สุนีรัตน์ เรืองสมบุญณ์. 2545. การบำบัดน้ำเสียที่มีตะกั่วและแคดเมียมปนเปื้อนโดยใช้แหนเป็ดเล็ก (*Lemna perpusilla* Torr.). วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 20(3): 1-11.

สุนีรัตน์ เรืองสมบุญณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ กลิ่นสุคนธ์ สุวรรณรัตน์. 2546. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้สาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย : *Oscillatoria* sp., *Microcystis* sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21: 48-60.

สุนีรัตน์ เรืองสมบุญณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ, ปวีณา ทวีกิจการ และ จตุพร บัณฑิต. 2546. ผลของความเข้มแสงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและการสร้างไขพักของไรแดง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 21: 61-68

สุนีรัตน์ เรืองสมบุญณ์. 2547. การกำจัดตะกั่วและแคดเมียมโดยใช้สาหร่ายขนาดเล็ก *Phormidium angustissimum* และ *Chlorella vulgaris*. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ (Section T) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 3(1): 287-296.

สุนีรัตน์ เรืองสมบุญณ์. 2547. การดูดซับตะกั่วและแคดเมียมจากน้ำเสียโดยใช้ *Scenedesmus dimorphus* เป็นตัวดูดซับ. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 12(1): 42-47.

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์สงวนไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ และ ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2547. การผลิตไขฟักของไรแดงภายใต้สภาวะการควบคุมระดับพีเอช และแอมโมเนีย. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 22(2): 65-75.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ และ จำริญ เล้าสินวัฒนา. 2548. ผลของสารสกัดจากสาหร่ายต่อการงอกของพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 36: 978-981.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์, บุปผา จงพัฒน์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ปวีณา ทวีกิจการ. 2548. คุณค่าทางโภชนาการของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 23(2): 38-47.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. 2549. การสร้างไขฟักของไรแดงที่ระดับอุณหภูมิต่ำและอัตราฟักของไขฟักที่ฆ่าเชื้อด้วยฟอร์มาลิน และไขฟักที่เก็บรักษาไว้ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(2): 54-62.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. 2549. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไขน้ำ *Wolffia arrhiza* (L.) Wimmer. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 24(3): 1-14.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ และ จำริญ เล้าสินวัฒนา. 2549. ผลของแสงและอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Phormidium angustissimum* ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 37(6): 925-928.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. 2549. ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโต ปริมาณโปรตีนและพอลิแซ็กคาไรด์ของไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* Vaucher. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14(2): 40-49.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. 2550. การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Calothrix marchica* Lemm. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 25: 13-26.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์ และ ศักดิ์ชัย ชูโชติ. 2550. การกำจัดตะกั่วจากน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้ไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria jäsorvensis* และ *Microcystis aeruginosa*. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 14: 46-54.
- อติยา สะพานกลาง และ สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. 2553. การดูดซับตะกั่วโดยไซยาโนแบคทีเรีย *Stigonema* sp. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28: 20-30.
- นำถม ตั้งคำ และ สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์. 2553. คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงปลาตู้ที่มีการเจริญเติบโตอย่างหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. หน้า 305-312.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ปวีณา ทวีกิจการ. 2555. การใช้อาหารผสมไซยาโนแบคทีเรีย *Nostoc commune* สดและแห้งในการเลี้ยงปลาหมอสี Kenyi Cichlid, *Pseudotropheus lombardoi*. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 40: 208-217.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบุรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ดุสิต เอื้ออำนวย. 2556. ผลของระยะเวลา แสง และอุณหภูมิในการเก็บรักษาสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย, *Phormidium angustissimum* ต่อความสามารถในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดเขียววางตุ้ง (*Brassica chinensis* var. *parachinensis* Tsen & Lee). วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 41: 973-984.
- Ruangsomboon, S. and Wongrat, L. Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*C. regularis*), zooplankton (*M. macrocopa*), and the predatory catfish. *Aquatic Toxicology*. 78:15-20.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. Production, composition and Pb²⁺ adsorption characteristics of capsular polysaccharides extracted from a cyanobacterium *Gloeocapsa gelatinosa*. *Water Research*. 40:3759-3766.
- Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2008. Removal of lead (Pb²⁺) by cyanobacteria *Gloeocapsa sp.* *Bioresource Technology*. 99:5650-5658.
- Ruangsobmoon S. 2012. Effect of Light, Nutrient, Cultivation Time and Salinity on Lipid Production of Newly Isolated Strain of the Green Microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2. *Bioresource Technology*. 109:261-265.
- Ruangsomboon S., Ganmanee M, and Choochote S. 2013. Effects of different nitrogen, phosphorus, and iron concentrations and salinity on lipid production in newly isolated strain of the tropical green microalga, *Scenedesmus dimorphus* *Journal of Applied Phycology*. 25:867-874.
- Ruangsomboon S., Wongrat L., Choochote S., Ganmanee M. and Saparnklang A. 2013. Effects of low pH and Pb²⁺ stress on living cyanobacterium, *Phormidium angustissimum* West & G.S. West : A test of its feasibility as a living biosorbent. *Journal of Applied Phycology*. 25:905-911.
- Ruangsomboon S. 2013. The effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of the tropical cyanobacterium, *Oscillatoria limnetica* *Academic Journal of Science*. 2:311-321.
- Ruangsomboon S. 2014. Effect of media and salinity on lipid content of cyanobacterium *Hapalosiphon Chiang Mai J. Sci.* 41:307-315.
- Ruangsomboon S., Yongmanitchai W., Taveekijakarn P., Ganmanee M. 2014. Cyanobacterial Composition and Microcystin Accumulation in Catfish Pond. *Chiang Mai J. Sci.* 41:27-38.
- Ruangsomboon S. Biosorption of lead (Pb²⁺) by living cyanobacterium, *Oscillatoria limnetica* Lemmermann. *Academic Journal of Science*. 03(02):459-469.
- Ruangsomboon S. 2015. Enhanced Production of Polysaccharides and Protein Content in Cyanobacterium, *Oscillatoria limnetica* as a Defense Mechanism Against Low pH and Pb²⁺. *Chiang Mai J. Sci.* 42(1):34-43.
- Ruangsomboon S. 2015. Effects of different media and nitrogen sources and levels on growth and lipid of green microalga *Botryococcus braunii* KMITL and its biodiesel properties based on fatty acid composition. *Bioresource Technology*. 191:377-384.
- Ruangsomboon S. and Pumnuan J. 2016. Acaricidal activities of algal extracts against the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart). *Journal of The Acarological Society of Japan*. 25:169-178.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเสนอผลงานวิชาการ

- Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. Bioremoval of Lead by cyanobacteria : *Gloeocapsa* sp. and *Calothrix marchica*. Proceeding of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science and technology. 2:188-191.
- Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. Lead (Pb²⁺) Adsorption potentials of *Gloeocapsa* sp. and role of its capsular polysaccharides. Proceeding of The International Conference on Sustainable Energy and Environment. 3(011):210-213.
- Ruangsomboon, S. and Wongrat, L. 2007. Bioaccumulation of Cadmium in an Experimental Aquatic Ecosystem Involving Phytoplankton, Zooplankton, Catfish and Sediment. Kasetsart Journal (Natural Science) 41:180-185.
- Ruangsomboon, S. Removal of lead (Pb²⁺) by the cyanobacterium *Phormidium angustissimum*. Proceedings of The International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST) "Biological Diversity, Food and Agricultural Technology", Bangkok, Thailand. 26-27 April 2007, 340-344.
- Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. Lead (Pb²⁺) adsorption characteristics and sugar composition of capsular polysaccharides of cyanobacterium *Calothrix marchica*. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 29:529-541.
- Ruangsomboon, S., Chidthaisong, A., Bunnag, B., Inthorn, D. and Harvey, N.W. 2004b. Lead (Pb²⁺) Adsorption potentials of *Gloeocapsa* sp. and role of its capsular polysaccharides. Proceeding of The International Conference on Sustainable Energy and Environment. 3(011):210-213.
- Ruangsomboon, S. Removal of lead (Pb²⁺) by the cyanobacterium *Phormidium angustissimum*. Proceedings of The International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST) "Biological Diversity, Food and Agricultural Technology". 26-27 April 2007. p. 340-344.
- Ruangsomboon, 2007. Nitrate, ammonia and orthophosphate removal from wastewater by duckweed *Lemna perpusilla* Torr. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 922-925.
- Ruangsomboon, 2007. Study of the parameters affecting the binding of cadmium (Cd²⁺) in solution by *Phormidium angustissimum* West & G.S. West. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 918-921.
- Ruangsomboon, and Choochote, S. 2007. Effect of feeding diets containing *Nostoc commune* on growth, survival, protein and carotenoid content of red

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- tilapia *Oreochromis niloticus*. Proceedings of International Conference on Engineering, Applied Sciences, and Technology. 21-23 November 2007. p. 772-775.
- Ruangsomboon, S. Lead (Pb²⁺) removal from printing wastewater by living cyanobacteria *Gloeocapsa gelatinosa* and *Calothrix marchica*. Environmental Science and Technology 1:172-178. Proceedings from the Third International Conference on Environmental Science and Technology, August 6-9, 2007 in Houston, Texas, USA.
- Ruangsomboon, Choochote, S. and Taveekijakarn P. 2010. Growth performance and nutritional composition of red tilapia (*Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus*) fed Diets containing raw *Spirulina platensis*. The international conference on Sustainable community development 2010. 21-23 January, 2010. Khon Kaen University, Nong Khai campus, Thailand and Vientiane, Lao PDR. P. 27-31.
- Ruangsomboon, Choochote, S. and Taveekijakarn P. 2010. Biosorption of Cadmium (Cd²⁺) from Wastewater by Crab Shell. Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st International Symposium on Agricultural Technology "Sufficiency Agriculture". 25-27 August 2010, Bangkok, Thailand. p. 464-467.
- Ruangsomboon, Choochote, S. and Worasing, S. 2010. Study of Total Lipid Content of Fifteen Genera of Algae. Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st International Symposium on Agricultural Technology "Sufficiency Agriculture". 25-27 August 2010, Bangkok, Thailand. p. 468-471.
- Saparnklang, A. and Ruangsomboon, 2010. Effects of Nitrogen and Phosphorus Limitation on Polysaccharides Content and Lead (Pb²⁺) Biosorption Capacity of Cyanobacterium *Phormidium* sp. Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st International Symposium on Agricultural Technology "Sufficiency Agriculture". 25-27 August 2010, Bangkok, Thailand. p. 476-479.
- Samosorn, A., Pumnuan, J., Insung, A. and Ruangsomboon, S. Effectiveness of Cyanobacteria Extracts on the House Dust Mite, *Dermatophagoides Pteronyssinus* (Trouessart) by Contact Method. Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st International Symposium on Agricultural Technology "Sufficiency Agriculture". 25-27 August 2010, Bangkok, Thailand. p. 700-703.
- Pumnuan, J., Ruangsomboon, S., Kangkunt, S. Insecticide Residues in Neptunia Plantation Water and Related Canals: A Case Study in Amphur Bangplee, Samutprakarn Province. .Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st International Symposium on Agricultural Technology "Sufficiency Agriculture". 25-27 August 2010, Bangkok, Thailand. p. 460-463.
- Samosorn, A., Pumnuan, J., Insung, A. and Ruangsomboon, S. Effects Of Nitrogen And Phosphorus In Culture Medium On Bioactive Compounds Of *Oscillatoria* sp. Extracts On The House Dust Mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart). The เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
- ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. 4-6 October, 2010, Pattaya, Thailand. 215-219.
- Pansamrit, K. and Ruangsomboon, S. Effect of pH on biosorption of basic-dye malachite green by algae. The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. 4-6 October, 2010, Pattaya, Thailand. 220-224.
- Saparnklang, A. and Ruangsomboon S. Effects of nitrogen and phosphorus limitation on polysaccharides content and lead (Pb²⁺) biosorption capacity of cyanobacterium *Hapalosiphon* sp. The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. 4-6 October, 2010, Pattaya, Thailand. 225-230.
- Ruangsomboon , Choochote S., Taveekijakarn P. and Worasing S. 2010. Antibacterial activity of lipophilic and hydrophilic extracts of algae. The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. 4-6 October, 2010, Pattaya, Thailand. 231-237.
- Suneerat Ruangsomboon and Ladda Wongrat. 2012. Toxic Effects of Low pH and Pb²⁺ on Chlorophyll Fluorescence and Growth of Cyanobacterium, *Hapalosiphon* 2012 International Conference on Sustainable Environmental Technologies (ICSET). Century Park Hotel, Bangkok, Thailand; 26-27 April, 2012. p. 1-7
- Suneerat Ruangsomboon and Sakchai Choochote. Effects of Different media on growth and lipid production in the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL2. Proceeding of 2nd Asia-Oceania algae innovation summit: algae for sustainable development, September 3-5, 2012.
- Suneerat Ruangsomboon, Sakchai Choochote, Paveena Thaweekijakarn, Dusit Aueumneoy. Nitrogen and Phosphorus removal from wastewater by green microalga, *Scenedesmus dimorphus*. Proceeding of 2nd Asia-Oceania algae innovation summit: algae for sustainable development, September 3-5, 2012.
- Suneerat Ruangsomboon, Sakchai Choochote, Paveena Thaweekijakarn, Monthon Ganmanee and Chamroon Laosinwattana. Acute toxicity of cyanobacterial extracts, *Oscillatoria tenuis* and *Phormidium angustissimum* on freshwater invertebrate, Water flea (*Moina Macrocopa*). Proceeding of 2nd International symposium of Biopesticides and Ecotoxicological Network (ISBioPEN): Contribution of Organic Agriculture in the 21st Century". September 24-26, 2012, Bangkok Thailand, p.329-338.
- Ruangsomboon S., Choochote S., Taveekijakran P., and Ganmanee M. Effect of different nitrogen sources and concentrations on growth and microcystin production of toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. Proceeding of 2nd International symposium of Biopesticides and Ecotoxicological Network (ISBioPEN): Contribution of Organic Agriculture in the 21st Century". September 24-26, 2012, Bangkok Thailand, p 339-346.
- Ruangsomboon S., Choochote S., Taveekijakran P., and Ganmanee M. Toxic effect of *Oscillatoria tenuis* and *Arthrospira platensis* extracts on freshwater invertebrate, เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Lanchester's freshwater prawn (*Macrobrachium lanchesteri*). Proceeding of 2nd International symposium of Biopesticides and Ecotoxicological Network (ISBioPEN): Contribution to Organic Agriculture in the 21st Century". September 24-26, 2012, Bangkok Thailand, p 347-354.
- Ruangsomboon S., Aue-Umneoy D., and Saparnklang A. Biosorption of basic dye, malachite green by brown alga *Padina* sp. Proceeding of 2nd International conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST 2013): Biological diversity, food and agricultural technology. November 28-29, 2013, Bangkok Thailand, p.490-501
- Saparnklang A. and Ruangsomboon S. Growth, polysaccharide contents and biosorption of lead (Pb²⁺) by the cyanobacterium *Hapalosiphon* sp. cultured under different medium concentrations. Proceeding of 2nd International conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (ICIST 2013): Biological diversity, food and agricultural technology. November 28-29, 2013, Bangkok Thailand, p.193-202.
- Ruangsomboon S. 2015. Preliminary study on used microalga (*Nostoc commune*) as a protein supplement in dry-wet mixtures feed for juveniles snakehead (*Channa striata*). Proceeding of 2nd International Symposium on Agricultural Technology: Global Agriculture Trends for Sustainability (ISAT). July 1-3, 2015, Pattaya, Thailand, p. 321-324.
- Patrrarat Teamkao and Suneerat Ruangsomboon. 2015. Screening of glyphosate resistance bacteria from agricultural soils with different plantations. The 27th Annual meeting of the Thai Society for biotechnology and International Conference. November 17-20, 2015. Mandarin Hotel Bangkok by Centre Point, Bangkok, Thailand. P. 345-349.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้