LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

2002

THE TOXICITY AND ACCUMULATION OF CADMIUM-ADSORBED CYANOBACTERIA, *SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS* ON VARIOUS ORGANS OF FISH, *PUNTIUS GONIONOTUS* BLEEKER

NIRAMOL RANGSAYATORN

ขอขอบคุณ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (BIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVSRSITY
2002

ISBN 974-04-1946-1

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSIY

Copyright by Mahidol University

3936828 SCBI/D : MAJOR : BIOLOGY ; Ph.D. (BIOLOGY)
KEY WORD : BIOSORPTION/CYANOBACTERIA/CADMIUM/ HISTOPATHOLOGICAL CHANGE/PHYTOREMEDIATION ULTRASTRUCTURE

NIRAMOL RANGSAYATORN : THE TOXICITY AND ACCUMULATION OF CADMIUM-ADSORBED CYANOBACTERIA, *SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS* ON VARIOUS ORGANS OF FISH, *PUNTIUS GONIONOTUS* BLEEKER. THESIS ADVISORS : SUCHART UPATHAM, Ph.D., MALEEYA KRUATRACHUE, Ph.D., PRAYAD POKETHITIYOOK, Ph.D. 175P. ISBN 974-04-1946-1

Cadmium removal was investigated using the cyanobacteria, *Spirulina (Arthrospira) platensis* TISTR 8217, which exhibited a high level of cadmium tolerance. The cyanobacteria were exposed to six different cadmium concentrations for 96 hours, and the growth rate was determined using an optical density estimate at 560 nm. The inhibiting concentration (IC_{50}) was estimated using a probit analysis. The IC_{50}s at 24 h, 48 h, 72 h, and 96 h were 13.15, 16.68, 17.28, and 18.35 mg/l Cd, respectively. Cellular damage was studied under a light microscope and a transmission electron microscope. Swollen cells and fragmented filaments were observed. Cell injury increased with increasing concentrations of cadmium. Ultrastructural changes were observed in the cyanobacteria exposed to cadmium concentrations both close to IC_{50} (14.68 mg/l) and at IC_{50} (18.35 mg/l). The alterations induced by cadmium were disintegration and disorganization of thylakoid membranes, presence of large intrathylakoidal space, increase of polyphosphate bodies, and cell lysis. The cadmium adsorption by cyanobacterial cells, immobilized cells on alginate and immobilized cells on silica gel were studied. Environmental factors were found to have an effect on biosorption. The uptake of cadmium was not affected by the temperature of the solution, but the sorption was pH dependent. The optimum pH for biosorption of cyanobacteria cells and alginate immobilized cells were 7 and 6, respectively, while silica immobilized cell adsorption was not affected at a pH range between 4 and 7. The cadmium uptake process was rapid, with 78 % of metal sorption completed within 5 min. The sorption data fitted well to the Langmuir isotherm. The maximum adsorption capacity for *S. platensis*, alginate immobilized cells and silica immobilized cells were 98.04, 70.92 and 36.63 mg Cd/g biomass, respectively. Hydrochloric acid at 0.1 M was used as the desorbing agent to study a reusability of the immobilized biomass. It was effective for cadmium desorption from immobilized cells. The results showed that immobilized cells could be repeatedly used in the sorption process up to 5 times.

In addition, the toxicity of cadmium to fish, *Puntius gonionotus*, that consumed the cadmium-adsorbed cyanobacterial cells, *S. platensis* was also studied. Fish were fed on cadmium-adsorbed cells for four weeks. After a four-week feeding, cadmium accumulation in various organs was determined. They were, in decreasing order, intestinal bulb (115.3 µg/g), intestine (100.0 µg/g), kidney (55.97 µg/g), liver (35.75 µg/g), and whole body (3.276 µg/g). Histopathological alterations of cells were observed in different organs, gills, intestinal bulb, intestine, kidney, and liver. The results showed dietary cadmium caused hypertrophy and edema of gill filament. In the liver, there was vacuolation in cytoplasm, infiltration of macrophages and focal necrosis. In the kidney, there was coagulative necrosis and karyolysis of the nucleus. The accumulation of vacuoles and hyaline droplets in epithelium cell of proximal tubule was found. Histological alteration of the gastrointestinal tract (intestinal bulb and intestine) was also noticed. The enterocytes were damaged with increased secretion of mucus. They also showed necrosis, with karyolysis and vaculoation in the cytoplasm. The vacuolation was also found in the submucosal area, including inflitration of lymphocytes in the lamina propria. Ultrastructural changes that occurred in the cells of different organs were similar. There was a proliferation of vacuoles and lysosomes, formation of myelin bodies, degranulation, vesiculation and dilation of rough endoplasmic reticulum, as well as swelling of mitochondria, with loss of cristae.

Copyright by Mahidol University

3936828 SCBI/D : สาขาวิชา : ชีววิทยา ; วท.ด. (ชีววิทยา)

นิรมล รังสยาธร : ผลของแบคทีเรียสีเขียวแกมน้ำเงิน (*SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS*) ที่ดูดซับแคดเมียมต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะต่าง ๆ ในปลาตะเพียนขาว (*PUNTIUS GONIONOTUS* BLEEKER) (THE TOXICITY AND ACCUMULATION OF CADMIUM-ADSORBED CYANOBACTERIA, *SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS* ON VARIOUS ORGANS OF FISH, *PUNTIUS GONIONOTUS* BLEEKER.) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : สุชาติ อุปถัมภ์, Ph.D., มาลียา เครือตราชู, Ph.D., ประหยัด โภคธิติยุกต์, Ph.D. 175 หน้า ISBN 974-04-1946-1

การศึกษาการดูดซับแคดเมียมและพิษวิทยาของแคดเมียมต่อแบคทีเรียสีเขียวแกมน้ำเงินสไปรูไลน่ากระทำโดยใช้สารละลายแคดเมียมที่ความเข้มต่าง ๆ ผลการวิจัยพบว่าสไปรูไลน่ามีความทนทานต่อแคดเมียมที่ความเข้มข้นสูง ความเข้นข้มของแคดเมียมที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียร้อยละ 50 ภายใน 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงคือ 13.15, 16.68, 17.28, และ 18.35 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ถึงผลของแคดเมียมต่อเซลล์พบว่ามีการแตกหักของเส้นแบคทีเรียและมีการพองบวมของเซลล์ การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่ทดลองที่แคดเมียมความเข้มข้น 14.68 และ 18.35 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 96 ชั่วโมงพบความผิดปกติของ thylakoid membrane ในเซลล์ มีการเพิ่มขนาดของ polyphosphate body และ intrathylakoidal space และมีการแตกของเซลล์ ส่วนการดูดซับแคดเมียมของสไปรูไลน่า และสไปรูไลน่าที่ถูกตรึงบน alginate gel และ silica gel พบว่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับแคดเมียมของสไปรูไลน่า และสไปรูไลน่าที่ถูกตรึงบน alginate gel และ silica gel คือ 98.04, 70.92 และ 36.63 มิลลิกรัมแคดเมียมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซับ เช่น อุณหภูมิของสารละลาย สภาพความเป็นกรด-เบส (pH) และเวลาที่ใช้ในการดูดซับ พบว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อการดูดซับของแคดเมียม ในส่วนของ pH พบว่าสไปรูไลน่า และสไปรูไลน่าที่ถูกตรึงบน alginate gel สามารถดูดซับแคดเมียมได้สูงสุดที่ pH 7 และ 6 ตามลำดับ ส่วนสไปรูไลน่าที่ถูกตรึงบน silica gel สามารถดูดซับแคดเมียมได้ดีในช่วง pH 4-7 การศึกษาเวลาในการดูดซับพบว่าแคดเมียมถูกดูดซับได้มากกว่าร้อยละ 78 ภายใน 5 นาทีแรกของการทดลอง สไปรูไลน่าที่ถูกตรึงบน alginate gel และ silica gel เมื่อถูกล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริกสามารถนำกลับมาดูดซับแคดเมียมได้ถึง 5 ครั้ง

นอกจากนี้ยังศึกษาพิษวิทยาและการสะสมของแคดเมียมในปลาตะเพียนขาวที่กินสไปรูไลน่าที่ดูดซับแคดเมียมเป็นเวลา 4 สัปดาห์ด้วย ผลการตรวจวัดแคดเมียมในปลาตะเพียนพบว่ามีการสะสมของแคดเมียมสูงสุดในกระเพาะอาหาร รองลงมาคือ ลำไส้, ไต, และตับ ตามลำดับ จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในอวัยวะต่าง ๆ ในเหงือกพบการบวมของเซลล์ในกิ่งเหงือก ในส่วนของทางเดินทางอาหารพบการหลั่งของมิวคัสปริมาณมาก การเพิ่มจำนวนของแวคคิวโอล การสลายตัวของนิวเคลียส และการฉีกขาดของกล้ามเนื้อ ในไตพบการสะสมของ hyaline droplet และแวคคิวโอล รวมทั้งการสลายของนิวเคลียส ในตับพบการสะสมของแวคคิวโอลและไลโซโซม การบวมพองและสลายตัวของไมโทคอนเดรีย การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต่าง ๆ เมื่อตรวจดูกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่พบทั่วไป คือ การสะสมของแวคคิวโอลและไลโซโซม การสร้าง myeline body การพองตัวของไมโทคอนเดรีย การพองตัวและการสลายตัวของ RER

Copyright by Mahidol University