28 OCT 2002

LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

DECOMPOSITION OF TOXIC SCUM, TOXIC CYANOBACTERIAL CELLS AND DISSOLVED CYANOTOXINS

ASIRA MUNKHONG

With compliments
of
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2002

ISBN 974-04-2203-9

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
A833d
2002

Copyright by Mahidol University

4136868 ENTM/M : MAJOR:TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT ;
M.Sc. (TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT)
KEY WORDS : CYANOBACTERIA/ BLUE-GREEN ALGAE/ MICROCYSTIN/
DECOMPOSITION/ DEGRADATION

ASIRA MUNKHONG : DECOMPOSITION OF TOXIC SCUM, TOXIC CYANOBACTERIAL CELLS AND DISSOLVED CYANOTOXINS. THESIS ADVISORS : PATANA THAVIPOKE, Ph.D., CHUMLONG ARUNLERTAREE, Ph.D., APARAT MAHAKHANT, Ph.D. 120 p. ISBN 974-04-2203-9

The objectives of this study were to investigate decomposition of cyanobacterium scum of *Microcystis aeruginosa* and its intracellular toxins under terrestrial conditions both in the shade and well lit situations and to screen for bacterial strains that were capable of *M. aeruginosa* TISTR 8325 lysis and microcystins crude extract degradation. An identification of the most potent bacterial strains was also performed.

The decomposition study was undertaken with bloom scum samples containing cyanobacterium *M. aeruginosa* that were collected from a fishpond in Pathumthani Province. Untreated scum samples as well as samples of soil mixture were incubated under terrestrial conditions. The experiment was continued until no residual microcystins were detected. The viability of cyanobacterial cells was also tested by culturing the decomposed scum in an aqueous MA medium. Bacterial strains presented in the treatment that indicated better conditions for the decomposition were isolated. Cyanobacteriolytic strains were subsequently screened for the study of *M. aeruginosa* TISTR 8325 lysis and the study of microcystin crude extract degradation. The screening of the strains was performed using the agar diffusion method. The most efficient strains in cell lysis as well as microcystin degradation were identified and characterized according to Bergey's Manual of Systematic Bacteriology and the API Identification system.

The results indicated that terrestrially, the scum decomposed more effectively in shade than direct sunlight. The microcystins removal rate in a sample of the soil mixture was found to be the fastest. After eight days of incubation, residual microcystins were undetectable. Attempts to culture the treated scum samples in the MA medium were also unsuccessful. From the samples treated in shade, a total of 22 bacterial strains could be isolated. However, only five proved to be cyanobateriolytic strains. The most potent bacterial strain was D3-2. According to the removal rate of the extract, the bacterial strain D1-2 was the most effective. The dissolved microcystins at concentrations of 10, 50 and 100 $\mu g\ l^{-1}$ were completely degraded within 6, 7 and 9 days, respectively. These were equivalent to a microcystin half-life of 0.92, 1.06, and 1.20 days. The strain D3-2 was the next effective strain. The toxins were completely degraded within 6, 8 and 9 days, with a half-life of 0.74, 1.52 and 1.62 days. The bacterial strains D1-2 and D3-2 were identified as *Microcyclus* sp. and *Bacillus brevis*, respectively.

This present study indicated that removal of cyanobacterial scum by physical means and subsequent incubation with normal soil in shade could be a simpler and more appropriate method for management of cyanobacterial bloom in surface water sources than chemical application. For practical use, *Bacillus brevis* D3-2 addition during the incubation could improve the efficiency of the decomposition process of the scum. For microcystins contaminated in raw water supplies, it may be worthwhile incorporating the bacterial strain D1-2 *Microcyclus* sp. into the treatment process.

Copyright by Mahidol University

4136868 ENTM/M : สาขาวิชา: เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม; วท.ม. (เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม)

อาศิรา มั่นคง : การย่อยสลายมวล เซลล์ และสารพิษของไซยาโนแบคทีเรีย (DECOMPOSITION OF TOXIC SCUM, TOXIC CYANOBACTERIAL CELLS AND DISSOLVED CYANOTOXINS). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : พัฒน ทวีโภค, Ph.D., จำลอง อรุณเลิศอารีย์, Ph.D., อาภารัตน์ มหาขันธ์, Ph.D.
120 หน้า. ISBN 974-04-2203-9

การศึกษาในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบหาสภาพในสภาวะบกที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายชีวมวลไซยาโนแบคทีเรียชนิด *Microcystis aeruginosa* และสารพิษไมโครซิสตินที่อยู่ภายในเซลล์ รวมถึงการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีความสามารถสูงสุดในการย่อยสลายเซลล์ และสารสกัดหยาบไมโครซิสติน และทำการจำแนกชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรียนั้นๆ

ทำการศึกษาโดยทดสอบกับชีวมวลของตัวอย่างไซยาโนแบคทีเรีย *M. aeruginosa* ที่พบเป็นแผ่นฝ้าหนาในบ่อเลี้ยงปลาแห่งหนึ่ง ในจังหวัดปทุมธานี โดยเตรียมตัวอย่างที่เก็บรวบรวมมาได้นั้น เป็น 2 ลักษณะ ส่วนหนึ่งผสมกับดิน อีกส่วนไม่ผสม ทำการบ่มตัวอย่างในที่ร่มเปรียบเทียบกับภายใต้แสงธรรมชาติ ทำการคัดแยกสายพันธุ์แบคทีเรียจากสภาพที่เหมาะสมที่สุด ไปใช้ในการทดสอบความสามารถในการย่อยเซลล์ *M. aeruginosa* TISTR 8325 ด้วยวิธีทดสอบบนอาหารวุ้น รวมไปถึงหาอัตราการย่อยสลายของสารสกัดหยาบไมโครซิสตินที่ความเข้มข้น ต่าง ๆ หลังจากนั้นทำการจำแนกชนิดแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง โดยอาศัยแนวทางในการจัดจำแนกของ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ร่วมกับการใช้อุปกรณ์จำแนกชนิดแบคทีเรียระบบเอพีไอ

จากผลการทดลองพบว่า ปฏิกิริยาการย่อยสลายชีวมวลของ *M. aeruginosa* จะเกิดในที่ร่มได้เร็วกว่าในที่ได้รับแสงโดยตรง ซึ่งช่วงเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายชีวมวลและสารพิษภายในเซลล์จนสมบูรณ์นั้น จะสั้นที่สุดในชุดทดลองที่มีการผสมชีวมวลกับดิน โดยสารไมโครซิสตินตกค้างจะลดต่ำกว่าขีดจำกัดในการตรวจวัดหลังจากทำการทดลองเป็นเวลา 8 วัน นอกจากนั้นยังไม่พบการเจริญของเซลล์เมื่อนำตัวอย่างที่เหลือไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากชุดการทดลองในที่ร่ม สามารถคัดแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 22 สายพันธุ์ จัดเป็นชนิดที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลล์ ของ *M. aeruginosa* TISTR 8325 รวม 5 สายพันธุ์ โดยแบคทีเรียรหัส D3-2 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลล์ได้ดีที่สุด และแบคทีเรียรหัส D1-2 มีความสามารถในการย่อยสลายสารสกัดหยาบไมโครซิสตินได้ดีที่สุด โดยสามารถย่อยสลายสารสกัดหยาบความเข้มข้น 10 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อลิตรได้อย่างสมบูรณ์ ในเวลา 6 7 และ 9 วัน เทียบเป็นค่าครึ่งชีวิต 0.92 1.06 และ 1.20 วัน ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียรหัส D3-2 ซึ่งมีความสามารถรองลงมา สามารถย่อยสลายสารสกัดอย่างสมบูรณ์ในเวลา 6 8 และ 9 วัน เทียบเป็นค่าครึ่งชีวิต 0.74 1.52 และ 1.62 วัน ตามลำดับ สำหรับผลการการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย พบว่า แบคทีเรียรหัส D1-2 คือ *Microcyclus* sp. และ แบคทีเรียรหัส D3-2 คือ *Bacillus brevis*

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การเก็บชีวมวลโดยวิธีทางกายภาพไปผสมดินแล้วหมักในที่ร่มน่าจะเป็นวิธีที่ง่าย และเหมาะสมกว่า วิธีการใช้สารเคมี ในการจัดการกับชีวมวลที่เกิดจากการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียในแหล่งน้ำต่าง ๆ ในกรณีที่นำไปประยุกต์ใช้ในพื้นที่จริง อาจเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัด โดยการเติมแบคทีเรียชนิด *Bacillus brevis* ในช่วงระยะการหมักด้วย ส่วนการบำบัดน้ำดิบที่มีการปนเปื้อนของสารไมโครซิสติน อาจทำได้โดยการเติมแบคทีเรียรหัส D1-2 คือ *Microcyclus* sp. ลงในกระบวนการบำบัด

Copyright by Mahidol University