

บทคัดย่อ

มีความเชื่อมาตลอดหลายสิบปีว่าแอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย (AOB) เป็นจุลินทรีย์เพียงกลุ่มเดียวที่มีบทบาทสำคัญในการออกซิไดซ์แอมโมเนียไปเป็นไนโตรเจนในวัฏจักรไนโตรเจน อย่างไรก็ตามเมื่อ 6 ปีที่ผ่านมาได้มีการค้นพบว่านอกจากแบคทีเรียแล้ว ยังมีจุลินทรีย์อีกจำพวกหนึ่งคืออาร์เคียที่สามารถออกซิไดซ์แอมโมเนียไปเป็นไนเตรทได้เช่นกัน การค้นพบนี้ได้เปลี่ยนแปลงแนวความคิดและองค์ความรู้ว่าด้วยการออกซิไดซ์แอมโมเนียในวัฏจักรไนโตรเจน จึงเกิดคำถามขึ้นว่าในระบบสิ่งแวดล้อมแบบต่างๆแอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงอาร์เคีย (AOA) เป็นจุลินทรีย์หลักในการออกซิไดซ์แอมโมเนียไปเป็นไนโตรเจนหรือไม่ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษากลุ่มประชากร AOB และ AOA ในระบบบำบัดน้ำเสีย 10 แห่ง (โรงบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม 4 แห่ง และ โรงบำบัดน้ำเสียชุมชน 6 แห่ง) ที่มีลักษณะน้ำเสีย, องค์ประกอบ, และการควบคุมระบบที่แตกต่างกัน ทำการศึกษาากลุ่มประชากร AOB โดยใช้เทคนิค specific PCR amplification ตามด้วย DGGE และอ่านลำดับเบสของ AOB 16S rRNA ขึ้น และกลุ่มประชากร AOA โดยใช้เทคนิค specific PCR simplification ตามด้วย clone libraries และอ่านลำดับเบสของ AOA *amoA* ขึ้น จากผลการทดลองพบว่ากลุ่มประชากร AOB ในระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมมีความหลากหลายมากกว่าในระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน AOB ที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมตกอยู่ใน 4 คริสเตอร์ ดังนี้คือ unknown *Nitrosomonas* cluster, *N. europaea*-*Nc. mobilis* cluster, *N. communis* cluster, และ *N. oligotropha* cluster ส่วน AOB ที่พบในระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนตกอยู่ในกลุ่ม *N. communis* cluster และ *N. oligotropha* cluster ความแตกต่างของลักษณะน้ำเสีย (ความเข้มข้นของแอมโมเนีย) อาจเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดรูปแบบการกระจายของกลุ่มประชากร AOB ในระบบบำบัดน้ำเสียทั้ง 2 แบบ ในส่วนของ AOA พบ AOA 8 ใน 10 ของระบบบำบัดน้ำเสียที่ทำการศึกษา โดยสามารถแบ่ง AOA 72 โคลนที่พบได้เป็น 38 OTUs กระจายใน 12 คริสเตอร์ ซึ่งมีความแตกต่างจาก AOB คือ กลุ่มประชากร AOA ในระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมมีความหลากหลายน้อยกว่าในระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน จากระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมพบ AOA จาก 2 โรงบำบัดเท่านั้น คือ จากระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่รับภาระแอมโมเนียปานกลาง (40 -70 mg-N/l) โดย AOA อยู่ใน คริสเตอร์ G และ K ในทางตรงกันข้ามพบ AOA จากทั้ง 6 ระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนซึ่งรับภาระแอมโมเนียต่ำ (5 – 13 mg-N/l) โดยอยู่ใน คริสเตอร์ A, B, C, E, F, I, J, K, L, M, และ N สำหรับระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนที่เป็นระบบตะกอนเร่ง พบ AOA เพียง 1-3 คริสเตอร์ในแต่ละระบบบำบัดเท่านั้น ในขณะที่พบ AOA ถึง 6 คริสเตอร์ ในระบบที่เป็นบ่อเติมอากาศ (Aerated lagoon) ดังนั้น องค์ประกอบและการควบคุมระบบน่าจะส่งผลต่อการกระจายตัวของ AOA ในระบบบำบัดน้ำเสีย ผลการทดลองแสดงความเป็นไปได้ที่ AOA จะเป็นจุลินทรีย์หลักที่ออกซิไดซ์แอมโมเนียไปเป็นไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน

คำสำคัญ: แอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงแบคทีเรีย, แอมโมเนียออกซิไดซ์ซิงอาร์เคีย, ยีน *amoA*, ตะกอนเร่ง ระบบบำบัดน้ำเสีย

Abstract

For several decades, ammonia-oxidizing bacteria (AOB) had been believed to be the only microorganisms playing a key role in ammonia oxidation in global nitrogen cycle. However, a few evidence recently suggested that autotrophic ammonia oxidation is not only restrict to the domain *Bacteria*, but also occur in the domain *Archaea*. The occurrence of ammonia monooxygenase (*amoA*) genes of ammonia-oxidizing archaea (AOA) has been reported in a variety of natural environments; in addition, the first and the only available thus far AOA isolate, *Nitrosopumilus maritimus*, has been retrieved from marine system. As results, it is suspected that in the environments AOA are the major microorganisms that oxidize ammonia to nitrite. In this study, communities of AOB and AOA in ten full-scale wastewater treatment plants (WWTPs) (four industrial WWTPs and six municipal WWTPs) that are different in influent characteristics, system configuration and system operation were observed. The communities of AOB and AOA were analyzed using specific PCR amplification followed by DGGE and sequencing of AOB 16S rRNA genes and specific PCR amplification followed by clone libraries and sequencing of AOA *amoA* genes, respectively. The results showed that AOB communities in four industrial WWTPs were more diverse than those in the six municipal WWTPs. AOB found in the industrial WWTPs fell into 4 clusters that are unknown *Nitrosomonas* cluster, *N. europaea-Nc. mobilis* cluster, *N. communis* cluster, and *N. oligotropha* cluster, while AOB found in the municipal WWTPs were restricted to only *N. communis* cluster and *N. oligotropha* cluster. The difference of influent wastewater characteristic (ammonia concentration) might be the key factor causing distinct distribution patterns of AOB communities in both types of WWTPs. In spite most of the municipal WWTPs in this study were the activated sludge processes with an exception of one plant that was an aerated lagoon system, the communities of AOB in all municipal WWTPs were similar. As results, system configuration and system operation were less significant than influent wastewater characteristics. A total 72 AOA *amoA* sequences, recovered from 8 out of 10 WWTPs, could be categorized into 38 OTUs, and distributed in 12 clusters. Unlike AOB, the communities of AOA in the industrial WWTPs were less diverse than those in the municipal WWTPs. Only 2 industrial WWTPs with moderate ammonium loads (40 -70 mg-N/l), contained AOA (clusters G and K). In contrast, all six municipal WWTPs, that received low ammonium loads of 5 – 13 mg-N/l, possessed AOA (cluster A, B, C, E, F, I, J, K, L, M, and N). For each sample of activated sludge processes, only 1 – 3 clusters of AOA were observed, while in the sample of an aerated lagoon system much more AOA clusters of 6 were found. Therefore, in the case of AOA system configuration and system operation are significant for the distribution of AOA in WWTPs.

Keywords : Activated sludge, Ammonia-oxidizing archaea, Ammonia-oxidizing bacteria, *amoA* gene, Wastewater treatment plant