

การกำจัดสารหนูที่ละลายในน้ำโดยแบคทีเรียสายพันธุ์คัด



นางสาวสุดา อธิธิสุภรณ์โรจน์

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาดตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ

หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ISBN 974-346-003-9

ลิขสิทธิ์ของ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1 1 1818. 2545

I 19139949

REMOVAL OF SOLUBLE ARSENIC BY BACTERIAL ISOLATES



MISS SUDA ITTISUPORN RAT

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Master of Science in Biotechnology
Programme of Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 1999
ISBN 974-346-003-9**

Thesis Title Removal of Soluble Arsenic by Bacterial Isolates
By Miss Suda Ittisupornrat
Programme Biotechnology
Thesis Advisor Assistant Professor Pin-Chawee Vejjanukroh, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in
Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

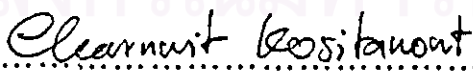
 Dean of Faculty of Science
(Associate Professor Wanchai Phothiphichitr, Ph.D.)


Thesis Committee

 Chairman
(Assistant Professor Vichien Rimphanitchayakit, Ph.D.)

 Thesis Advisor
(Assistant Professor Pin-Chawee Vejjanukroh, Ph.D.)

 Member
(Associate Professor Chaufah Thongthai, Ph.D.)

 Member
(Assistant Professor Charnwit Kosittanon, Ph.D.)

 Member
(Pienpak Tasakorn, Ph.D.)

ชุดา อิทธิสุภรณ์รัตน์: การกำจัดสารหนูที่ละลายในน้ำโดยแบคทีเรียสายพันธุ์คัด
อาจารย์ที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิ่นฉวี เวชชานูเคราะห์; 143 หน้า,
ISBN 974-346-003-9

33 ใน 219 สายพันธุ์ ที่ด้านทานสารหนูในระดับ 700 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถที่จะ
ตกตะกอนสารหนูในรูปอาร์ซีนีลซัลไฟด์ 3 ใน 33 สายพันธุ์ คือ AsR-17, AsR-19 และ AsR-20 ซึ่ง
ด้านทานต่อสารหนูมากกว่า 2,400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร AsR-17 เป็นแบคทีเรียที่เจริญในสภาพ
ไร้ออกซิเจน ส่วน AsR-19 และ AsR-20 เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในสภาพทั้งมี และ/หรือ
ไม่มีออกซิเจน ซึ่งสามารถตกตะกอนสารหนูเมื่อทั้งคู่ทำงานร่วมกัน สายพันธุ์ทั้งสองไวต่อโลหะ
หนักชนิดอื่นได้แก่ แคดเมียม ทองแดง โคบอลต์ นิกเกิล และ เงิน และด้านทานต่อโลหะหนักบาง
ชนิดได้แก่ แมงกานีส และ สังกะสี ที่ระดับ 800 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ความ
เป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญของทั้งสามสายพันธุ์ เป็น 7 ขณะที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของ
AsR-17, AsR-19 และ AsR-20 เป็น 35, 40 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สำหรับความ
เข้มข้นสารหนูที่เหมาะสมต่อการตกตะกอน เป็น 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของ
AsR-17 และ AsR-19 กับ AsR-20 ตามลำดับ นอกจากนี้ ความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสม
ต่อการตกตะกอนสารหนูของทั้งสองกลุ่ม เป็น 7 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์
ของการกำจัดสารหนูใน AsR-17 และ AsR-19 กับ AsR-20 เป็น 35.02 และ 42.21 ที่ความเป็น
กรดต่างเท่ากับ 7 ส่วนอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็น 45.08 และ 46.24 ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา

สาขาวิชา

ปีการศึกษา

เทคโนโลยีทางชีวภาพ

1999

ลายมือชื่อนิติ.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

.....
.....
.....

Miss Suda Ittisupornrat : Removal of soluble arsenic by bacterial isolates. Assistant Professor Pin-Chawee Vejjanukroh, Ph. D., 143 pp. ISBN 974-346-003-9

Thirty-three of 219 strains of arsenic resistant isolates (700 µg/ml) were able to precipitate arsenic as arsenous sulfide (AsS, As₂S₂). Three of all were selected and named AsR-17, AsR-19 and AsR-20, resistant to >2400 µg/ml arsenic. AsR-17 was obligately anaerobic bacteria. AsR-19 and AsR-20 were facultative anaerobic bacteria which capable precipitate arsenic when both of them work together and acts as consortium. Both of the selected strains were almost sensitive to other metal, i.e., Cd, Cu, Cr, Ni and Ag, but resist to some metals, e. g., Mn and Zn in concentration of 800 and 100 µg/ml, respectively. Optimum pH for growth of those selected bacterial isolates was 7 while optimum temperature of AsR-17, AsR-19 and AsR-20 were 35, 40 and 35°C, respectively. For optimum arsenic concentration for arsenic precipitation were 100 and 200 µg/ml found in AsR-17 and AsR-19/AsR-20, respectively. Besides, optimum pH and temperature for arsenic precipitation of both of the selected bacterial isolates were 7 and 35°C, respectively. Percentages of removal arsenic of AsR-17 and AsR-19/AsR-20 were 35.02 and 42.21, respectively at pH7; at temperature 35°C, were 45.08 and 46.24, respectively.

ภาควิชา

สาขาวิชา

ปีการศึกษา

Biotechnology

1999

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษารวม

นิตยา อภิชาติกุล

ศ.ดร. 10 ธ.ค. 1999

ACKNOWLEDMENT

I wish to express my thesis advisor, Assistant Professor Dr. Pin-Chawee Vejjanukroh, for her valuable suggestion, assistance, guidance, encouragement and everything during the thesis work.

I am thank to Department of General Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University and X-ray diffraction and Electron Microscopy Unit, the Scientific and Technological Instrument Center, Chulalongkorn University, for offering laboratory facilities in the research.

I would like to express my appreciate to Assistant Professor Dr. Vichien Rimphanichayakit, Assistant Professor Dr. Pin-Chawee Vejjanukroh, Associate Professor Dr. Chaufah Thongthai, Assistant Professor Dr. Charnwit Kosittanon and Dr. Pienpak Tasakorn, the members of this committee, for their valuable advice.

I am also grateful to the advice people and friends at the Department of General Science for their help and encouragement and very special thanks to Assistant Professor Sirirat Rengpipat, for lending a crimper for aluminum seal throughout my anaerobic works.

Finally, this thesis could not accomplish even if without the support of my parents and my sister, and also appreciate the support from Mr. Suwit Keeratkaroon. I am grateful for real understanding, continuous assistance and strong encouragement during my thesis work.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT THAI	iv
ABSTRACT ENGLISH	v
ACKNOWLEDGEMENT.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	xii
LIST OF FIGURES.....	xiii
ABBREVIATION.....	xvi
NAME OF ORGANISMS.....	xviii
CHAPTER	
1. INTRODUCTION	
1.1 Objectives.....	3
1.2 Scope of the study.....	3
1.3 Place	4
1.4 Anticipated benefits	4
1.5 Components of the thesis.....	4
2. LITERATURE SURVEY	
2.1 ARSENIC.....	6
2.1.1 SOURCES.....	6
2.1.1.1 Natural Sources.....	6
2.1.1.2 Anthropogenic Sources.....	7
i) Mining Activities and Smelters.....	7
ii) Agricultural Materials.....	7
iii) Sewage Sludges.....	8
2.1.2 PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES.....	8
2.1.3 USES.....	9
2.1.4 TOXICITY OF ARSENIC.....	10
2.1.4.1 Toxic Effects on Man and Animals.....	10
2.1.4.2 Toxic Effects on Plants.....	13

CONTENTS (CONT.)

	Page
2.2 PHYSICO-CHEMICAL METHODS OF ARSENIC REMOVAL.....	14
2.2.1 CONVENTIONAL COAGULATION.....	14
2.2.2 LIME SOFTENING.....	15
2.2.3 SULFIDE PRECIPITATION.....	16
2.2.4 ADSORPTION.....	16
2.2.5 ION EXCHANGE.....	18
2.2.6 REVERSE OSMOSIS.....	18
2.3 ARSENIC RESISTANCE IN MICROORGANISMS.....	19
2.3.1 ARSENIC RESISTANCE IN ALGAE.....	19
2.3.2 ARSENIC RESISTANCE IN FUNGI.....	21
2.3.3 ARSENIC RESISTANCE IN BACTERIA.....	23
2.3.3.1 Methylation and Demethylation.....	24
2.3.3.2 Oxidation.....	26
2.3.3.3 Reduction.....	27
2.4 NOVEL MECHANISM OF ARSENIC IN BACTERIA.....	29
2.4.1 ARSENIC AS THE ELECTRON ACCEPTOR IN BACTERIA.....	29
2.4.2 BIOCHEMICAL MODEL FOR ARSENATE RESPIRATION.....	32
2.5 ALTERNATIVE METHODS OF ARSENIC REMOVAL.....	33
2.5.1 VOLATILIZATION.....	34
2.5.2 PRECIPITATION.....	35
2.5.2.1 Dissimilatory Sulfate Reduction.....	35
2.5.2.2 Arsenic Precipitation by Sulfate-Reducing Bacteria (SRB).....	36

CONTENTS (CONT.)

	Page
3. MATERIAL AND METHODS.....	48
3.1 SOURCES OF MICROORGANISMS.....	48
3.1.1 Samples.....	48
3.1.2 Bacterial References Strains.....	48
3.2 CHEMICALS, REAGENTS, GASES AND SPECIAL INSTRUMENTS.....	49
3.2.1 Chemicals and Reagents.....	49
3.2.2 Gases.....	51
3.2.3 Special Instruments.....	51
3.3 CULTURE MEDIA.....	52
3.3.1 General Media.....	52
3.3.2 Selective Media.....	52
3.3.3 Media for resistant test.....	52
3.4 STAINING FOR IDENTIFICATION.....	53
3.5 BIOCHEMICAL TESTS FOR IDENTIFICATION.....	53
3.6 BACTERIOLOGICAL PROCEDURES.....	53
3.6.1 SAMPLING AND CULTIVATION PROCEDURES	53
3.6.1.1 Sampling Procedures.....	53
3.6.1.2 Isolation of Arsenic-resistance bacteria.....	54
3.6.1.3 Arsenic resistance test.....	54
3.6.1.4 Precipitation of selected bacterial strains.....	55
3.6.1.5 Identification of selected bacterial strains.....	55
3.6.2 RESISTANT TO OTHER METALS.....	55
3.6.3 EFFECT OF SOME ENVIRONMENTAL FACTORS ON GROWTH OF THE SELECTED BACTERIAL STRAINS.....	56
3.6.3.1 Effect of pH.....	56
3.6.3.2 Effect of temperature.....	56

CONTENTS (CONT.)

	Page
3.7 CHEMICAL ANALYSIS PROCEDURES.....	57
3.7.1 EFFECT OF SOME FACTORS ON PRECIPITATION AS SULFIDE FORM IN THE SELECTED BACTERIAL ISOLATES	57
3.7.1.1 Effect of Concentration of arsenic.....	57
3.7.1.2 Effect of pH.....	58
3.7.1.3 Effect of Temperature.....	58
4. RESULTS	
4.1 ISOLATION SCREENING AND SELECTION OF ARSENIC- RESISTANCE BACTERIAL ISOLATES.....	59
4.2 RESISTANCE TO OTHER METAL IONS BY THE SELECTED BACTERIAL ISOLATES.....	60
4.3 EFFECT OF SOME ENVIRONMENTAL FACTORS ON GROWTH OF THE SELECTED BACTERIAL STRAINS.....	60
4.4 EFFECT OF SOME FACTORS ON PRECIPITATION CAPABILITY OF THE SELECTED BACTERIAL STRAINS.....	60
4.4.1 Effect of arsenic concentration.....	60
4.4.2 Effect of pH.....	61
4.4.3 Effect of temperature.....	61
5. DISCUSSION AND CONCLUSION.....	98
REFERENCES.....	103
APPENDICES	
APPENDIX A Rate of arsenic and arsenic compounds imported in Thailand during 1995 to 1999.....	119
APPENDIX B Bacterial Sources.....	121
APPENDIX C Media.....	123
APPENDIX D pKa of arsenic form.....	131
APPENDIX E Molybdenum blue method and Determination of hydrogen sulfide.....	131

CONTENTS (CONT.)

	Page
APPENDIX F Some characteristic of the selected bacterial isolates; AsR-17, AsR-19 and AsR-20.....	139
APPENDIX G Peak of arsenic precipitation by X-ray diffraction.....	141
BIOGRAPHY.....	143



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table	Page
2.1 Calculated ratios of arsenic concentrations in natural reservoirs with respect to soil.....	38
2.2 Calculated arsenic rates of transfer (Fluxes).....	39
2.3 Microbial production of alkylated arsines.....	40
2.4 Comparison of different arsenate reductases.....	42
4.1 Arsenic resistance in 219 bacterial strains.....	62
4.2 Arsenic resistance in 33 bacterial strains capable precipitate arsenic.....	63
4.3 Some characteristic of colony and morphology of selected bacterial isolates.....	64
4.4 Some selective media and biochemical tests for identification Of characteristic of selected bacterial isolates.....	65
4.5 Resistance of other metal ions by selected bacterial strains.....	67
4.6 Effect of concentration arsenic on capability to precipitate arsenic in AsR-17 and AsR-19/AsR-20 strains.....	68
4.7 Effect of pH on capability to precipitate arsenic in AsR-17.....	69
4.8 Effect of pH on capability to precipitate arsenic in AsR-19/AsR-20.....	70
4.9 Effect of temperature on capability to precipitate arsenic in AsR-17.....	71
4.10 Effect of temperature on capability to precipitate arsenic in AsR-19/AsR-20.....	72
5.1 The percentage of arsenic removal by bacteria compared to the former investigations.....	102

LIST OF FIGURES

Figure	Page
2.1	Challenger's proposed methylation pathway.....43
2.2	Anaerobic biomethylation pathway be <i>Methanobacterium</i> sp.44
2.3	Proposed model for energy-coupling of arsenite oxidase to cytochrome oxidase.....45
2.4	Model for arsenic resistance mechanisms and energy-coupling in <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i>46
2.5	Biochemical model of arsenate respiration in strain SES-3.....47
4.1	Percentage of bacterial isolates, resistant to and precipitated arsenic and resistant to arsenic only, were compared at different arsenic.....73
4.2	Colonial characteristic, gram staining and high resolution scanning electron micrograph (x10,000) of AsR-17 bacteria strain.....74
4.3	Colonial characteristic, gram staining and high resolution scanning electron micrograph (x10,000) of AsR-19 bacteria strain.....75
4.4	Colonial characteristic, gram staining and high resolution scanning electron micrograph (x10,000) of AsR-20 bacteria strain.....76
4.5	Colonial characteristic and high resolution scanning electron micrograph (x10,000) of AsR-19/AsR-20 bacterial strains.....77
4.6	Colonial characteristic on MacConky agar and Shigella-Salmonella agar of AsR-19 bacteria strain.....78
4.7	Colonial characteristic on Maconky agar, EMB agar and Salmonella-Shigella agar of AsR-20 bacteria strain.....79
4.8	Characteristic of biochemical test of AsR-19 and AsR-20 bacterial strains.....80

LIST OF FIGURES (cont.)

Figure	Page
4.9 Characteristic of Oxidation-Fermentation test of AsR-19 and AsR-20 bacterial strains.....	81
4.10 Characteristic of arsenic precipitation on control, AsR-17 and AsR-19/AsR-20 bacterial strains.....	82
4.11 Effect of pH and temperature on growth of AsR-17 bacteria strain.....	83
4.12 Effect of pH and temperature on growth of AsR-19 bacteria strain.....	84
4.13 Effect of pH and temperature on growth of AsR-20 bacteria strain.....	85
4.14 Percentage of removal arsenic in each arsenic concentration of the AsR-17 bacteria strain.....	86
4.15 Percentage of removal arsenic in each arsenic concentration of the AsR-19/AsR-20.....	86
4.16 Transformation of As(V) to As(III) in the AsR-17 at different arsenic.....	87
4.17 Transformation of As(V) to As(III) in the AsR-19/AsR-20 at different arsenic.....	88
4.18 Percentage of removal arsenic at each pH of AsR-17 bacteria strain.....	90
4.19 Percentage of removal arsenic at each pH of AsR-19/AsR-20 bacteria strain.....	90
4.20 Transformation of As(V) to As(III) in the AsR-17 bacteria strain at each pH.....	91

LIST OF FIGURES (cont.)

Figure	Page
4.21 Transformation of As(V) to As(III) in the AsR-19/AsR-20 bacteria strain at each pH.....	92
4.22 Percentage of removal arsenic in each temperature of AsR-17 bacteria strain	94
4.23 Percentage of removal arsenic in each temperature of AsR-19/AsR-20 bacteria strain.....	94
4.24 Transformation of As(V) to As(III) in the AsR-17 bacteria strain at each temperature.....	95
4.25 Transformation of As(V) to As(III) in the AsR-19/AsR-20 bacteria strain at each temperature.....	96

ABBREVIATION

Ag	=	Silver
$\text{Al}_2(\text{OH})_3$	=	Aluminium hydroxide
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	=	Aluminium sulfate
Arr A	=	Submit A of Respiratory Arsenate Reductase
Arr B	=	Submit B of Respiratory Arsenate Reductase
Arr.	=	Respiratory Arsenate Reductase
As	=	Arsenic
As(III)	=	Arsenous Arsenic in Trivalent Form
As(V)	=	Arsenic in Pentavalent Form
As_2O_3	=	Arsenic Trioxide
As_2S_3	=	Arsenic Trisulfide, or piment
AsS	=	Arsenous Sulfide, realgar
atm	=	Atmosphere
ATP	=	Adenosine triphosphate
ATSDR	=	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
Au	=	Gold
Bi	=	Bismuth
BLC	=	Basic Lanthanum Carbonate
°C	=	Degree Celsius
Ca	=	Calcium
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	=	Calcium hydroxide
$\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_4$	=	Calcium arsenate
CaCO_3	=	Calcium carbonate
CCA	=	Chromate Copper Arsenate
CdS	=	Cadmium sulfide
CO_2	=	Carbon dioxide
CO_3^-	=	Carbonate Group
Cu	=	Copper
Cu_3AsS_4	=	Enargite
CuS	=	Copper sulfide
CuSO_4	=	Copper sulfate
Fe	=	Iron
$\text{Fe}(\text{OH})_3$	=	Ferric Hydroxide
Fe AsS	=	Arsonopyrite
FeSO_4	=	Ferrous Sulfate
Fe(III)	=	Ferrous ion
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	=	Ferric Sulfate
FeCl_3	=	Ferric chloride
g/l	=	Gram(s) Per Liter
ha	=	Hectare

IARC	=	International Agency For Research On Cancer
kDa	=	Kilo dalton
kg	=	Kilogram
LaAsO ₄	=	Lanthanum Arsenate
LC	=	Lanthanum
LH	=	Lanthanum hydroxide
mdr	=	Multidrug Resistance
Mg	=	Magnesium
mg	=	Milligram
mg/L	=	Milligram per liter
Mn(IV)	=	Manganese ion
Mo	=	Molybdenum
N	=	Nitrogen
Na	=	Sodium
NaCl	=	Sodium Chloride
NiS	=	Nikel sulfide
OH ⁻	=	Hydroxyl Group
P	=	Phosphorus
Pb	=	Lead
Pb ₃ (PbOH)(As O ₄) ₄	=	Lead Arsenate
ppm	=	part(s) per million
S	=	Sulfur
S(II)	=	Sulfide
S(VI)	=	sulfate
SAM	=	S-adenosylmethionine
Sb	=	Antimony
Se	=	Selenium
SH-group	=	Sulhydryl Group
Sn	=	Tin
SRB	=	Sulfate-Reducing Bacteria
Te	=	Tellurium
TMA	=	Trimethylarsine
U(VI)	=	Uranium ion
ug/g	=	Microgram Per Gram
USEPA	=	U.S. Environmental Protection Agency
W	=	Wolfram
Zn	=	Zinc
ZnS	=	Zinc sulfide

Name of Organisms

<i>A. stolonifera</i>	=	<i>Agrostis stolonifera</i> (plant)
<i>A. tenuis</i>	=	<i>Agrostis tenuis</i> (plant)
<i>A. variabilis</i>	=	<i>Anabaena variabilis</i> (plant)
<i>Alcaligenes strain</i>		
<i>Ankistrodesmus sp.</i>		
<i>B. arsenoxydan</i>	=	<i>Bacillus arsenoc</i>
<i>C. arsenatis</i>	=	<i>Chrysiogenes arsenatis</i> (bacteria)
<i>C. dactylon</i>	=	<i>Cynodon dactylon</i> (plant)
<i>C. erosa</i>	=	<i>Cryptomonas erosa</i> (algae)
<i>C. humicola</i>	=	<i>Candida humicola</i> (fungi)
<i>C. reinhardtii</i>	=	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (algae)
<i>C. vulgaris</i>	=	<i>Chlorella vulgaris</i> (algae)
<i>Corynebacterium sp.</i>		
<i>D. auripigmentum</i>	=	<i>Desulfotomaculum auripigmentum</i> (bacteria)
<i>Desulfovibrrio desulfuricans</i>		
<i>E. coli</i>	=	<i>Eschemchia coli</i> (bacteria)
<i>Flavobacterium sp.</i>		
<i>G. roseum</i>	=	<i>Gliocladium roseum</i> (fungi)
<i>M. aerogenes</i>	=	<i>Micrococcus aerogenes</i> (bacteria)
<i>M. lactilyticus</i>	=	<i>Micrococcus lactilyticus</i> (bacteria)
<i>Methanobactericem strain M.O.H</i>		
<i>Penicillium sp.</i>		
<i>Proteus sp.</i>		
<i>Pseudomonas sp.</i>		
<i>R. rubra</i>	=	<i>Rhodotorula rubra</i> (fungi)
<i>S. typhimurium</i>	=	<i>Salmonella typhimurium</i> (bacteria)
<i>S. arsenophilus</i>	=	<i>Sulfurospirillum arsenophilus</i> (bacteria)
<i>S. aureus</i>	=	<i>Staphylcoccus aureus</i> (bacteria)
<i>S. barnesii</i>	=	<i>Sulfurospirillum barnesii</i> (bacteria)
<i>S. brevicaulis</i>	=	<i>Scopuloriopsis brevicaulis</i> (fungi)
<i>Seenedesmus sp.</i>		
<i>T. chuii</i>	=	<i>Tetraselmis chuii</i> (algae)