ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS 3
ÍNDICE GENERAL 9
ÍNDICE DE FIGURAS 13
ÍNDICE DE TABLA 17
INTRODUCCIÓN 19
DESNITRIFICACIÓN 21
Definición 21
Reacciones parciales: 21
Ciclo del Nitrógeno 22
Enzimas claves involucradas en la desnitrificación 23
Microorganismos que desnitrifican 24
Estudio de bacterias desnitrificantes 25
Criterios para determinar la capacidad de desnitrificar de microorganismos aislados. ... 28
Estudio del proceso de desnitrificación en diferentes ecosistemas 29
SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE EFLUENTES 30
Problemas de sedimentación en reactores de tratamiento de efluentes 33
EXOPOLIMEROS - ExoP (EXTRACELULAR POLIMERIC SUBSTANCES) 34
ANTECEDENTES 37
OBJETIVOS 39
OBJETIVO GENERAL 41
OBJETIVOS ESPECIFICOS 41
PREGUNTAS A RESPONDER 43
CAPÍTULO 1 45
Estudio de las características de lodos con diferentes capacidades de sedimentación 45
OBJETIVOS Y ESTRATEGIA EXPERIMENTAL 47
MÉTODOS 47
Extracción de Exopolímeros (ExoP) a partir de lodos 49
Determinación de proteínas y carbohidratos en los exopolímeros extraídos 49
Gel filtración de los ExoP del lodo B 49

Obtención del perfil de bandas proteicas de los EXoPolímeros mediante electroforesis 50
Determinación de la actividad desnitrificante de los lodos 50
Recuento de bacterias desnitrificantes por numero más probable (NMP) 51
Determinación del índice volumétrico de lodos (IVL). 51
RESULTADOS 51
Puesta a punto de la extracción de ExoP de lodos 51
Composición química de los expolímeros extraídos de los lodos 56
Gel filtración 58
Actividad desnitrificante y recuento por NMP de bacterias desnitrificantes de los lodos 59
Relación de SSV (sólidos suspendidos volátiles)-SST (sólidos suspendidos totales) en los lodos 61
DISCUSIÓN.....62
CONCLUSIONES 64
CAPÍTULO 2 65
Aislamiento y caracterización de las cepas desnitrificantes predominantes en la biomasa de reactores con diferente capacidad de sedimentar.....65
OBJETIVOS Y ESTRATEGIA EXPERIMENTAL 67
MÉTODOS.....67
Optimización de técnicas de aislamiento de cepas desnitrificantes 67
Aislamiento y caracterización de las cepas obtenidas a partir de las diferentes muestras de lodos.....70
Determinación de la capacidad desnitrificante de las cepas mediante la técnica de bloqueo por acetileno 71
Análisis de las secuencias de clones de una biblioteca del gen del ARNr 16S.....72
T- RFLP del gen del ARNr 16S en muestras de lodos 72
Estudio de la diversidad de bacterias desnitrificantes mediante T-RFLP *nir*S 73
RESULTADOS 74
Optimización de las técnicas de aislamiento de cepas desnitrificantes 74
Aislamiento y caracterización de cepas desnitrificantes a partir de muestras de los lodos B, M y F 77
Análisis de las secuencias de clones de una librería del gen del ARNr 16S.....82
Análisis de la comunidad microbiana de muestras del reactor B mediante T- RFLP del gen ARNr 16S 85

Estudio de la diversidad de bacterias desnitrificantes mediante T-RFLP del gen *nir*S....87
DISCUSIÓN....88
Optimización del método de aislamiento....88
Diversidad de los aislamientos....90
Correlación de los aislamientos con la comunidad microbiana total....93
CONCLUSIONES....95
CAPÍTULO 3....97
Características de agregación de los aislamientos y efecto de diferentes condiciones de cultivo en la agregación....97
OBJETIVOS Y ESTRATEGIA EXPERIMENTAL....99
MÉTODOS....99
Determinación de la capacidad de agregación de los aislamientos....99
Determinación de la capacidad de desnitrificar con diferentes sustratos....100
Determinación de la actividad desnitrificante de las cepas....100
RESULTADOS....100
Capacidad de agregación de los cultivos....100
Agregación con diferentes concentraciones de nitrato....105
Capacidad de desnitrificación de los cultivos....107
DISCUSIÓN....109
Características de agregación de los aislamientos....109
Efecto de las condiciones de cultivo sobre la agregación....110
Correlación entre actividad desnitrificante y agregación....111
CONCLUSIONES....112
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS....113
CONCLUSIONES FINALES....115
PERSPECTIVAS....115
BIBLIOGRAFÍA....117
ANEXOS....125
ANEXO 1: Determinación de proteínas por LOWRY....127
ANEXO 2: Determinación de azucares por técnica fenol sulfúrico....128
ANEXO 3: Determinación de azucares por Di-Nitro Salicílico (DNS)....128
ANEXO 4: PROTEIN ASSAY REAGENT (BCA)....128

ANEXO 5: Medio de cultivo BCY 129
ANEXO 6: ARDRA.....131
ANEXO 7: Lisis alcalina de células.....132
ANEXO 8: Secuencias de los primers utilizados 133
ANEXO 9: Amplificación del gen *nir*S y *nir*K.....133
ANEXO 10: T-RFLP del gen del ARNr 16S 134
ANEXO 11: T-RFLP del gen *nir*S.....137
ANEXO 12: Determinación de la actividad desnitrificante de cultivos puros. 140