

IMPORTANCIA DE SEIS CEPAS DESNITRIFICANTES DENTRO DE LA COMUNIDAD BACTERIANA DE UN REACTOR DE TRATAMIENTO DE AGUAS

José Antonio Velázquez A.^{1*}, Hugo C. Ramírez Saad², Óscar Monroy¹. Universidad Autónoma Metropolitana. ¹Unidad Iztapalapa Sn. Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina Delegación Iztapalapa C.P. 09340. ²Unidad Xochimilco, Depto. de Sistemas Biológicos, C.P. 04960 México D. F. * Jovear2002@yahoo.com.mx

Palabras clave: Desnitrificación, DGGE, ITS.

Introducción. La desnitrificación está caracterizada por los pasos consecutivos que comienzan con la biotransformación de nitrato a nitrito, óxido nítrico, óxido nitroso hasta nitrógeno gaseoso. Este proceso ha sido utilizado ampliamente en combinación con el de nitrificación (biotransformación de amonio a nitrato) para la eliminación de compuestos nitrogenados de aguas residuales(1). Se conoce poco sobre el comportamiento de las comunidades bacterianas dentro de los reactores desnitrificantes. Si bien se han logrado obtener muchos aislados con capacidad desnitrificante a partir de reactores y otras fuentes naturales, se desconoce si estos aislados juegan un papel importante en sus respectivos ambientes, o si fueron seleccionadas debido a su alta capacidad para crecer en los medios de cultivo utilizados. Las técnicas moleculares son una herramienta poderosa para investigar a las bacterias en su medio ambiente natural, especialmente para aquellas que todavía no son posibles de cultivar. Recientes estudios señalan que es muy complejo el comportamiento de las comunidades bacterianas desnitrificantes ya que aquellas bacterias que han sido estudiadas ampliamente en cultivos puros probablemente no son las principales poblaciones dentro de la comunidad y no son responsables de llevar a cabo el proceso en habitats naturales y dentro de reactores(1). El objetivo de este trabajo fue aislar cepas desnitrificantes de los lodos de un reactor desnitrificante para tratamiento de aguas residuales de la UAM Iztapalapa, caracterizar a los aislados que se obtuvieron, determinar su capacidad de consumo de nitrato y reconocer importancia dentro de la comunidad del reactor.

Metodología. Se tomaron muestras de lodo del reactor a diferentes tiempos y fueron sembradas en un medio selectivo para bacterias desnitrificantes. Basados en caracteres morfológicos se seleccionaron colonias diferentes. Los aislados fueron tipificados por digestión con endonucleasas de los amplicones del espacio intergénico del 16S y 23S (ITS)(2), posteriormente se utilizaron galerías API20 NE para identificar las cepas tipificadas como distintas. La capacidad de consumo de nitrato fue determinada midiendo la concentración de proteína por el método de Bradford y la concentración de nitrato por electroforesis capilar de iones. La importancia de cada cepa en la comunidad se determinó mediante la técnica de DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) utilizada para separar amplicones de segmentos del gen del 16S del RNA ribosomal de la comunidad presente en el reactor desnitrificante a diferentes tiempos y cargas de compuestos de nitrógeno y compararla con los amplicones de los aislados obtenidos, la importancia de una población se determina por la intensidad de su banda correspondiente(3).

Resultados y discusión.

Se aislaron seis cepas desnitrificantes a partir del lodo del reactor, se tipificaron como cepas diferentes ya que el análisis de restricción del ITS de las cepas mostró patrones distintos para cada una de ellas. Tres cepas fueron identificadas por la galería API20 NE con un porcentaje de identificación mayor al 98% las cuales son *Chryseomonas luteola*, *Burkholderia cepacia*, *Alcaligenes xylosoxidans*, dos cepas tuvieron

identificaciones mayores al 75% que correspondieron con *Sphingomonas paucimobilis* y *Aci. johnsonii* y una no fue identificada y se nombró cepa Dsn1. Se determinó la capacidad de consumo de nitratos de las cepas en condiciones de laboratorio siendo las cepas de *Chryseomonas luteola* y *Alcaligenes xylosoxidans* las que presentaron la mayor capacidad, aunque sólo hubo una diferencia significativa entre las capacidades de *Chryseomonas luteola* y *Sphingomonas paucimobilis* (Cuadro1).

Cepa	Promedio de capacidad de consumo de nitrato. mg de nitrato consumido/ mg de proteína.
Dsn 1	0.126 ^a
<i>Aci. johnsonii</i>	0.117 ^a
<i>Chryseomonas luteola</i>	0.176 ^{ab}
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	0.151 ^a
<i>Burkholderia cepacia</i>	0.063 ^a
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	0.075 ^{ac}

Cuadro1. Capacidad de consumo de nitrato de los aislados a las 48 horas de crecimiento. Diferencias significativas entre ab-ac según la prueba de Tukey-Kramer. sig.< 0.05 n=3.

Los resultados de DGGE mostraron que la cepa Dsn1 tenía una presencia importante en el consorcio antes de la alimentación del reactor con NH₄NO₃ pero una vez que la concentración de nitratos aumento perdió importancia dentro de la comunidad, caso contrario a la cepa de *Alcaligenes xylosoxidans* la cual aumento su presencia al alimentar al reactor con una carga extra de nitrato, los demás aislados no mostraron ser importantes dentro de la comunidad bacteriana del lodo y no se vieron afectados por los cambios en la concentración de nitrato ya que no mostraron bandas correspondientes dentro de la comunidad bajo ninguna condición de operación.

Conclusiones. Los resultados muestran que las bacterias aisladas no son necesariamente las de mayor importancia dentro de la comunidad bacteriana del reactor desnitrificante, aunque en este trabajo se aisló una cepa cuya importancia dentro de la comunidad se ve aumentada por las concentraciones altas de nitrato, lo cual la hace interesante para estudios de bioaumentación.

Bibliografía.

- 1.Bothe H. et al. (2000). "Molecular analysis of ammonia oxidation and denitrification in natural environments". *FEMS Microbiol. Rev.* Vol. (24): 673-390.
2. Normand P. et al. (1996) "ITS analysis of prokaryotes" *Molecular Microbial Ecology Manual*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Holanda. Chap. 3.4.5: 1-12.
3. Muyzer G. et al.(1998). "Application of DGGE and TGGE in microbial ecology". *Antonie van Leeuwenhoek*. Vol. (73): 123-141.