



Ciclo de 20

MasterClass

AGUASRESIDUALES.INFO

AGUASRESIDUALES.INFO



MasterClass 14

“La desesperación en la búsqueda del modelo de bioindicación de los fangos activos: retos y perspectivas futuras.”

Andrés Zornoza Zornoza

Cofundador de H2OCITIES y WALEBUBLÉ
Dr. en Ecología Microbiana y procesos biológicos de EDAR.



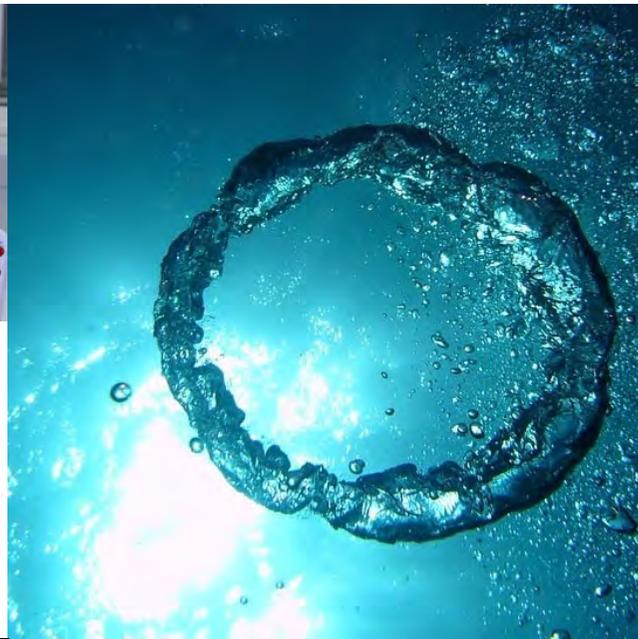
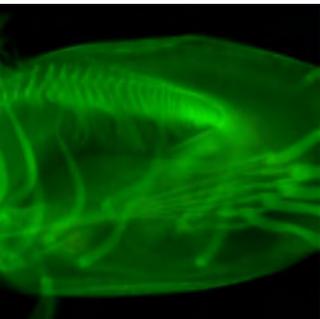
05
Mayo

Ciclo de 20
MasterClass

AGUASRESIDUALES.INFO



La Comunidad Científica del Agua



Nuestra oferta formativa

- www.walebuble.com



A man in a dark blue suit and tie is shown from the chest up, holding a black tablet computer. He is pointing at the screen with his right index finger. The background is a vibrant blue gradient with the word "FUTURE" repeated in a light blue, sans-serif font, creating a sense of depth and movement. The text is slightly blurred and recedes into the distance.

La desesperación en la búsqueda del
modelo de bioindicación en fangos activos:
Retos y perspectivas futuras

Once upon a time

















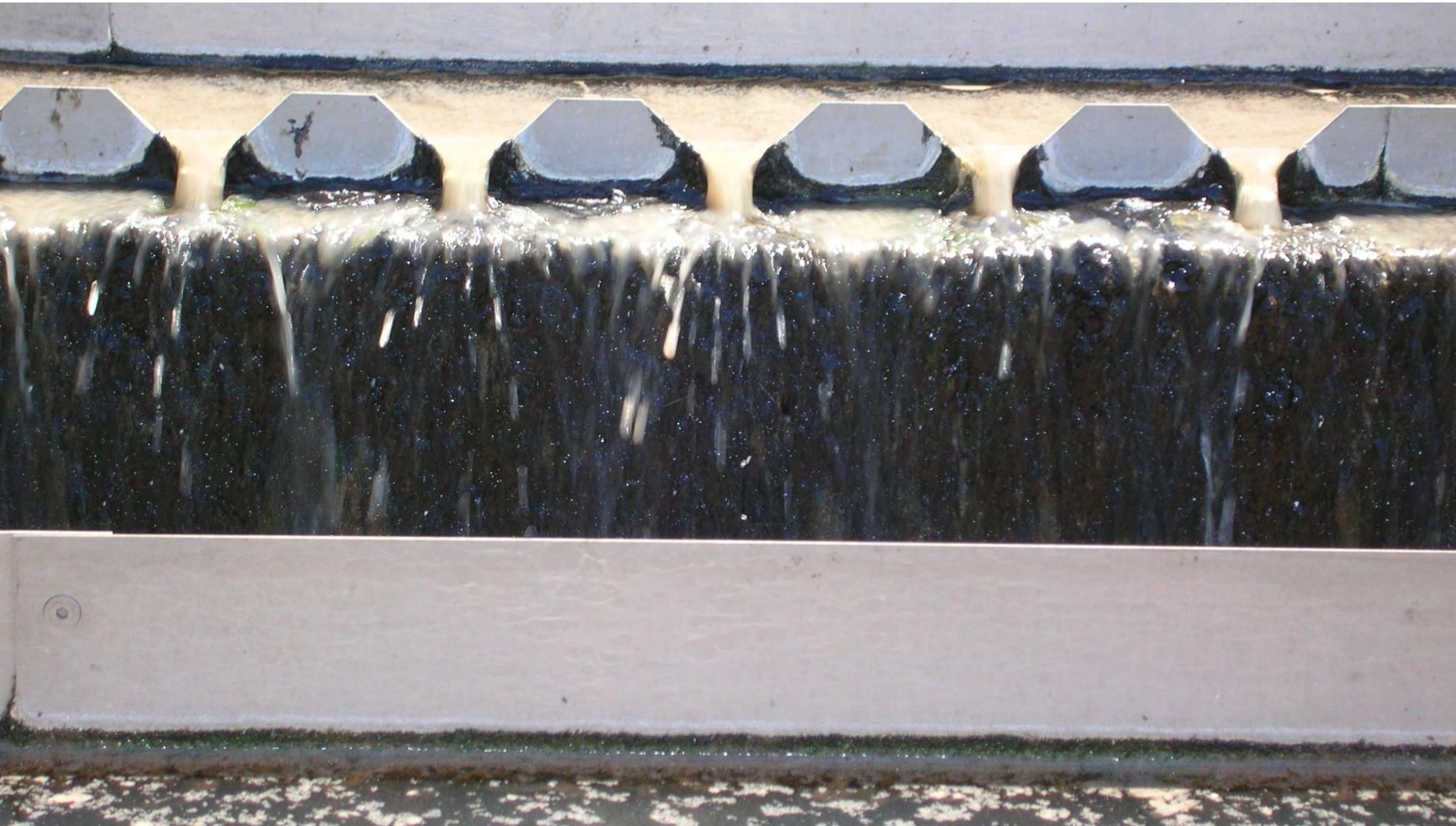












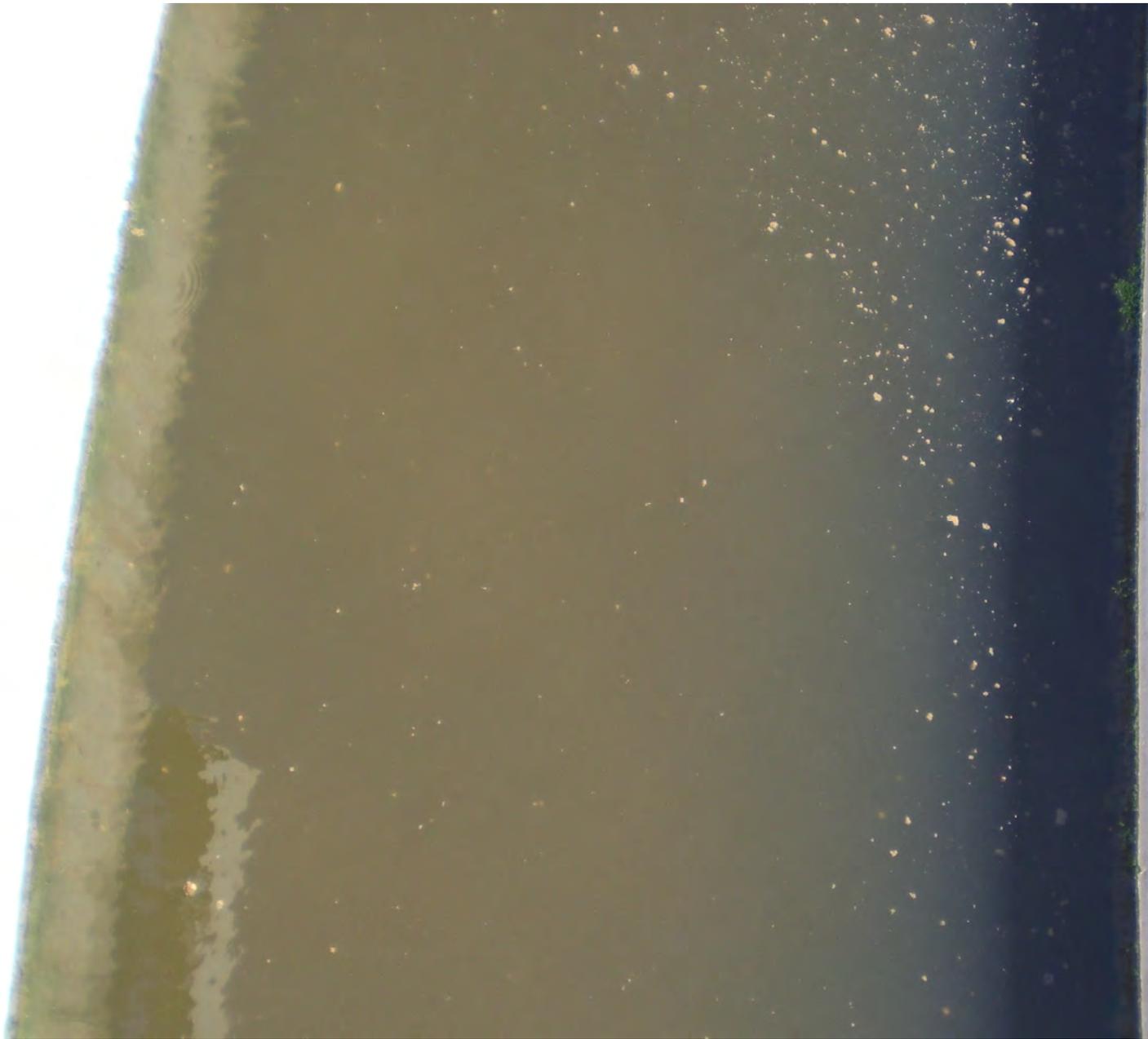


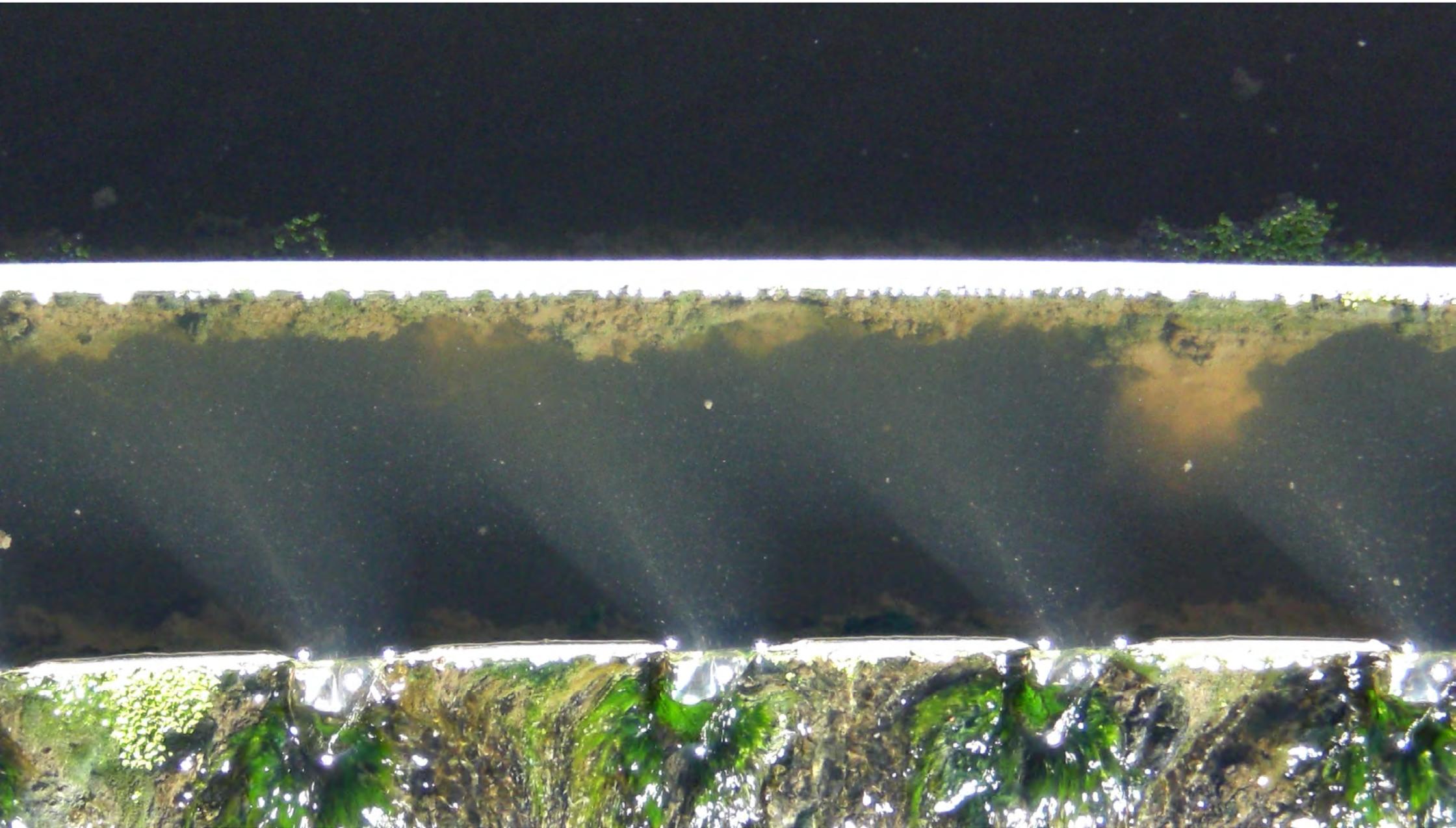




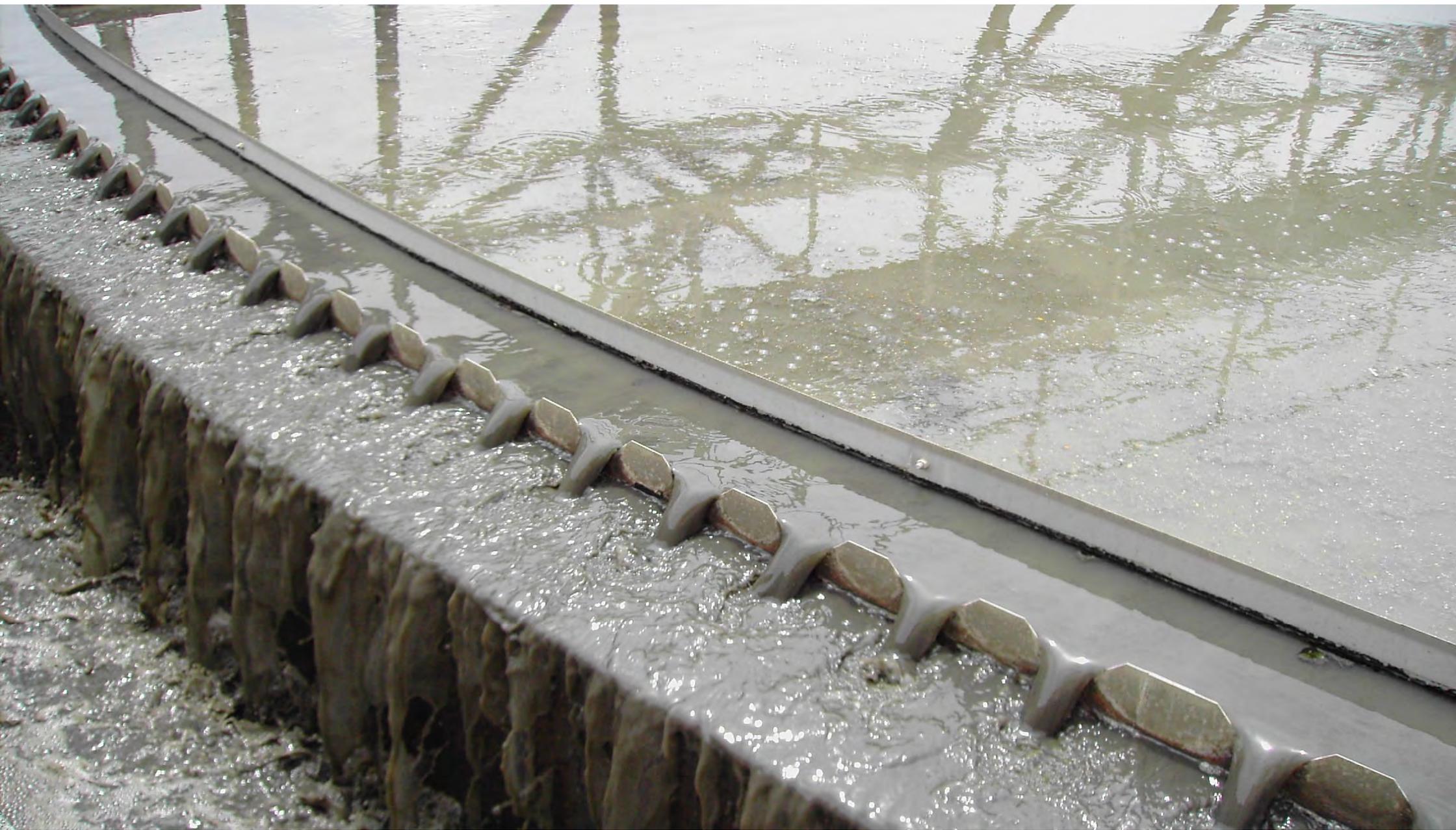
















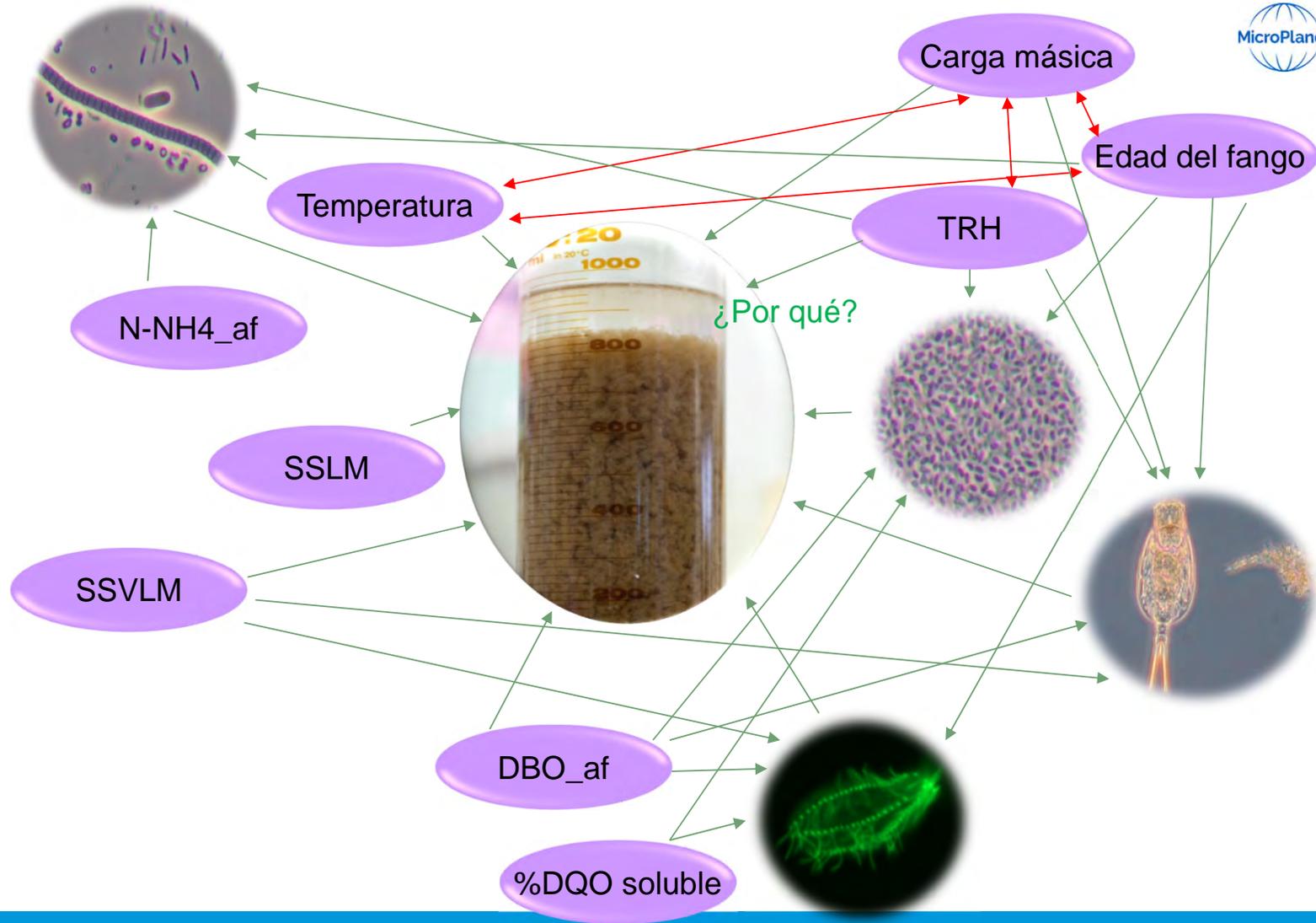










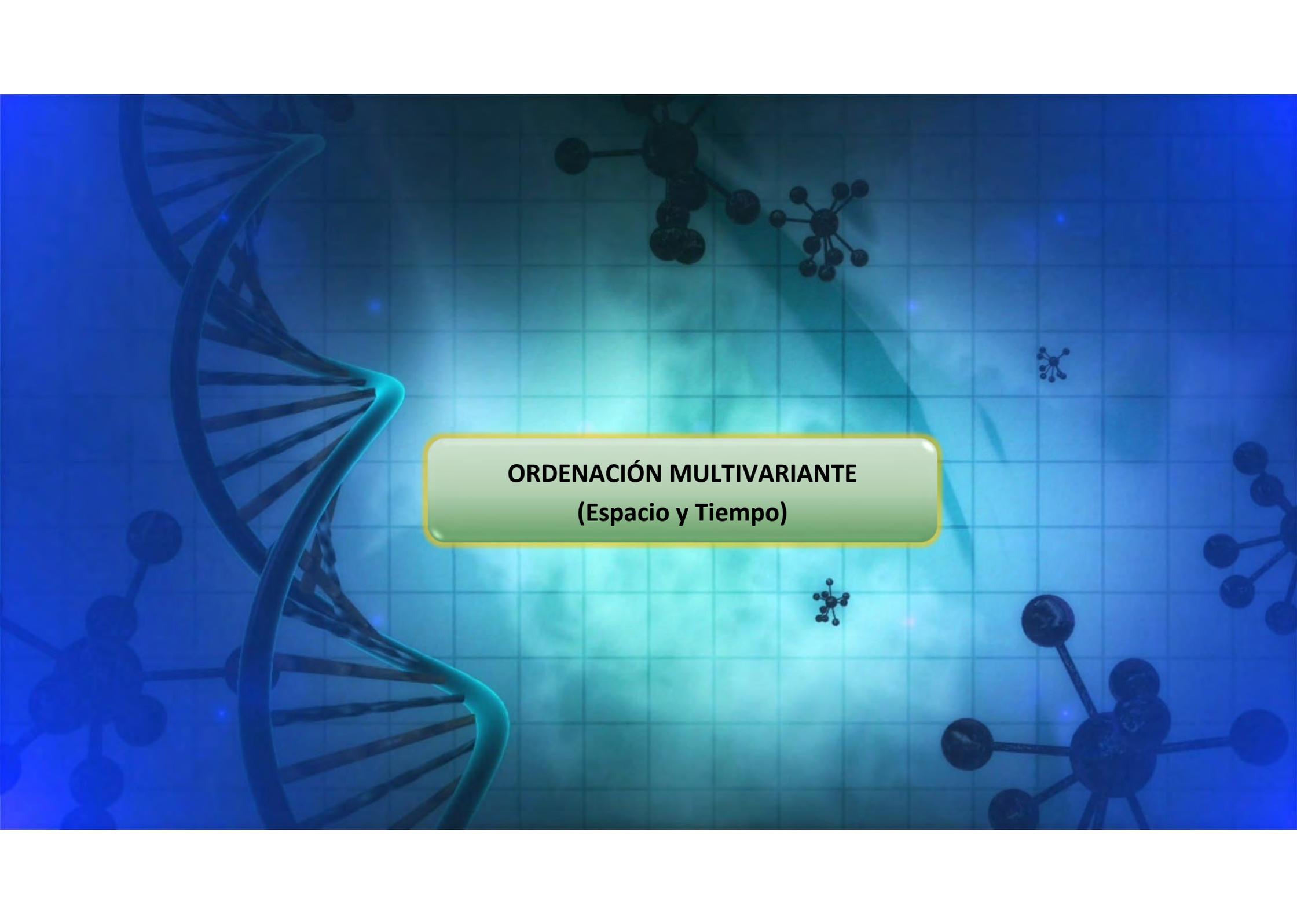








WALEED U.L.E

The background features a blue-toned grid with a glowing DNA double helix on the left and several molecular ball-and-stick models scattered across the scene. A central yellow rounded rectangle contains the title text.

**ORDENACIÓN MULTIVARIANTE
(Espacio y Tiempo)**

Reto 1: diseños EDAR más eficientes



Mejor adaptadas
a los cambios
biológicos

Flexibilidad
operacional

Reto 2: mejor gestión de los datos de control



8ª EDICIÓN

16, 17 y 18
de mayo de
11:00 a 12:30 h
(hora Spain)

Reto 2: mejor gestión de los datos de control

La mayoría de EDAR registran **grandes conjuntos de datos** durante su explotación, sin ser procesados estadísticamente, lo que origina una **pérdida de información** sobre su funcionamiento, optimización y capacidad de predicción. Incluso, si todos estos datos fueran considerados, los responsables de planta aún tendrían dificultades para tomar decisiones, debido a las **complejas interrelaciones** que tienen lugar entre las distintas variables de control del proceso. La mayoría de las **hojas excel** de control de los técnicos de explotación **no son prácticas ni operativas**, siendo los planes de análisis excesivamente conservadores, con numerosos ejemplos de **variables que no aportan información**, siendo además muchas de ellas **redundantes**, provocando un gasto de material y tiempo innecesarios en los laboratorios de las EDAR.

Reto 2: mejor gestión de los datos de control

- ✓ La **matriz madre** será la matriz de trabajo, correspondiente a la tabla de toma de datos. Las variables ambientales deberán estar **categorizadas** (indicador): **FQAF**, **FQLM** y **OPE**. También podremos incluir las variables de energía eléctrica (EE) de la planta. Se deberán incluir los factores espaciales y temporales a explorar.
- ✓ Las **matrices hijas** se configuran a partir de la matriz madre, en función de la aleatoriedad de los datos de esta última. Las matrices hijas no deberán contener espacios vacíos.



Definición variable explicativa y respuesta

Explicativa



- También llamadas **independientes o predictoras**.
- Su variación contribuye a la variación de las variables dependientes o respuesta, es pues la que creemos que **explica o causa** los resultados esperados.
- **Permiten modelizar** las variables dependientes con el objetivo de prever los valores de estas últimas.

Definición variable explicativa y respuesta

Respuesta



- Mide el resultado de un estudio, es pues la variable **dependiente**, que depende de otras variables explicativas. También llamada variable explicada.
- **Son los resultados** o el efecto del fenómeno que se intenta investigar.

Factor ambiental abiótico: ¡el gran secreto!

El **ambiente** y los seres vivos están en una mutua relación: el **ambiente** influye sobre los seres vivos y estos influyen sobre el **ambiente** y sobre otros seres vivos. La forma en que ambos se influyen o condicionan se ha llegado a denominar como **factores** o condicionantes ambientales o ecológicos.

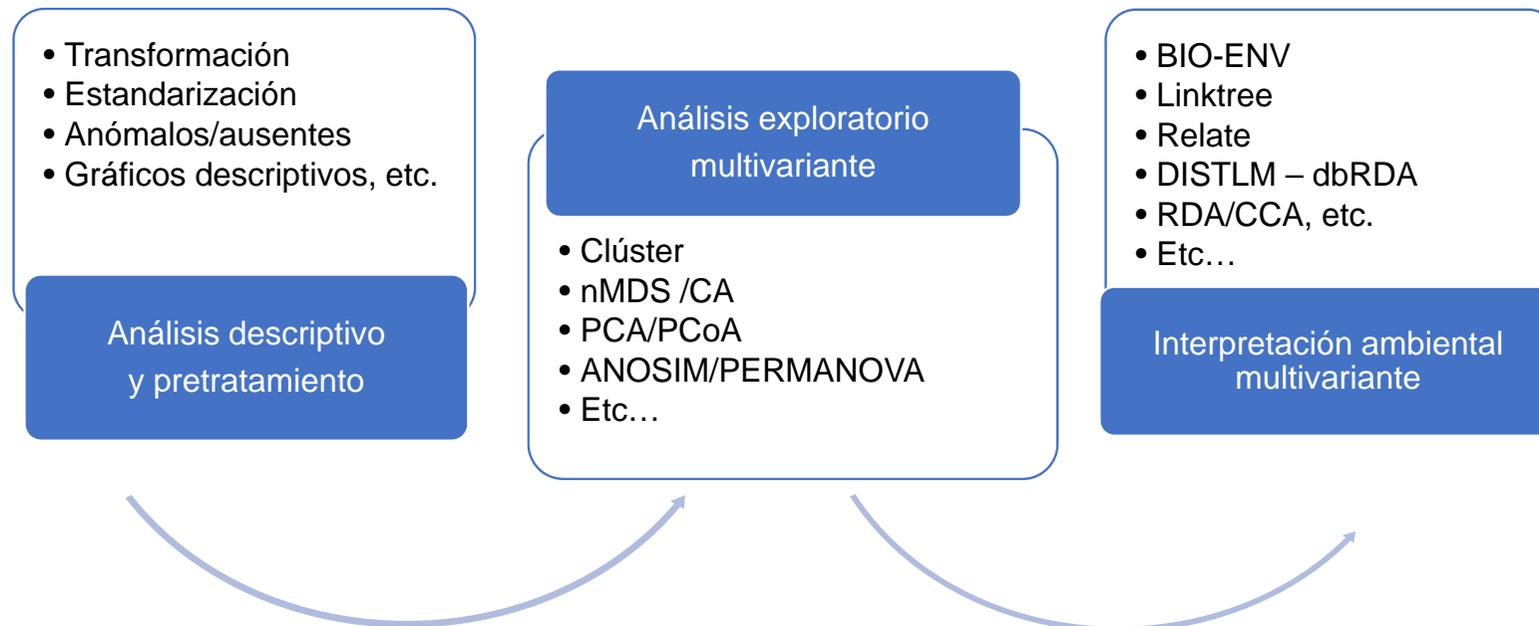
- **FACTOR BIÓTICO:** los provocados por los seres vivos, competencia, depredación, etc.
- **FACTOR ABIOTICO:** los provocados por las circunstancias físicas o químicas del ambiente. En el caso de ecología en EDAR: tipo de proceso, estacionalidad, configuración del reactor, situación geográfica, etc.

Reto 3: estudios a distintas escalas en el tiempo

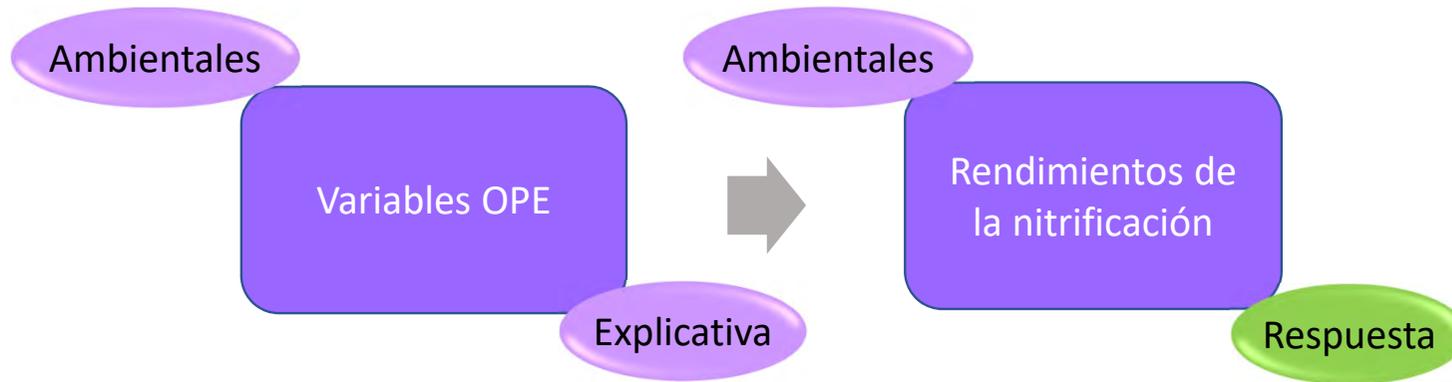


Pasos a seguir en la ordenación multivariante

El **análisis de los datos** obtenidos se ha realizado en **3 pasos consecutivos**. En primero lugar, un análisis descriptivo y pretratamiento de los datos, en segundo lugar, una análisis exploratorio multivariante y, en tercer lugar, un análisis de interpretación ambiental.



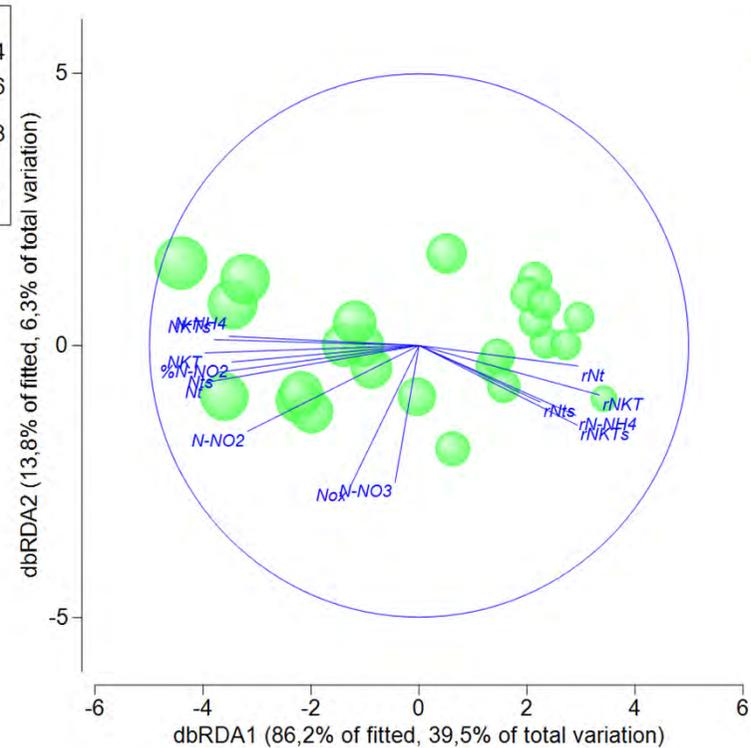
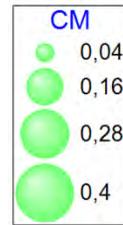
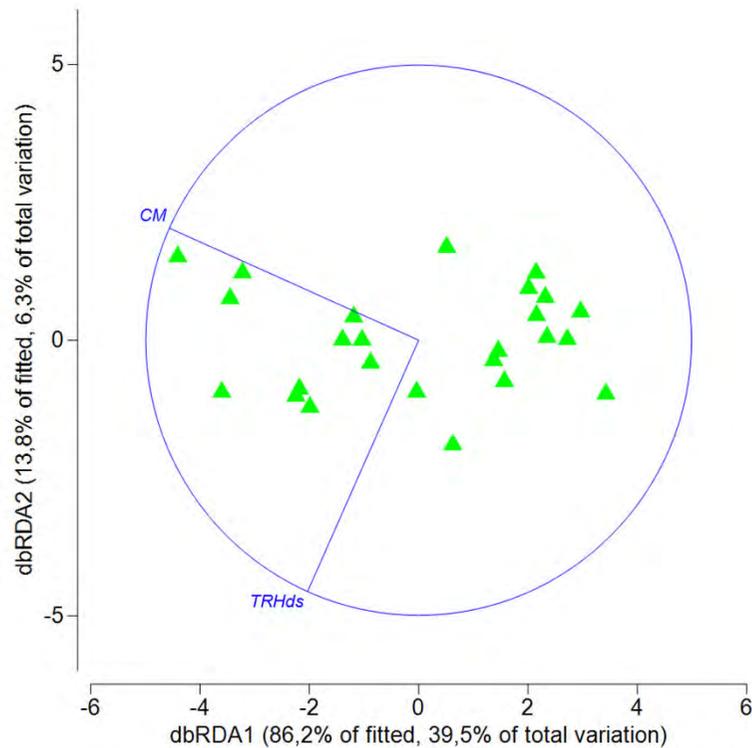
Modelo de regresión lineal multivariante (DISTLM)

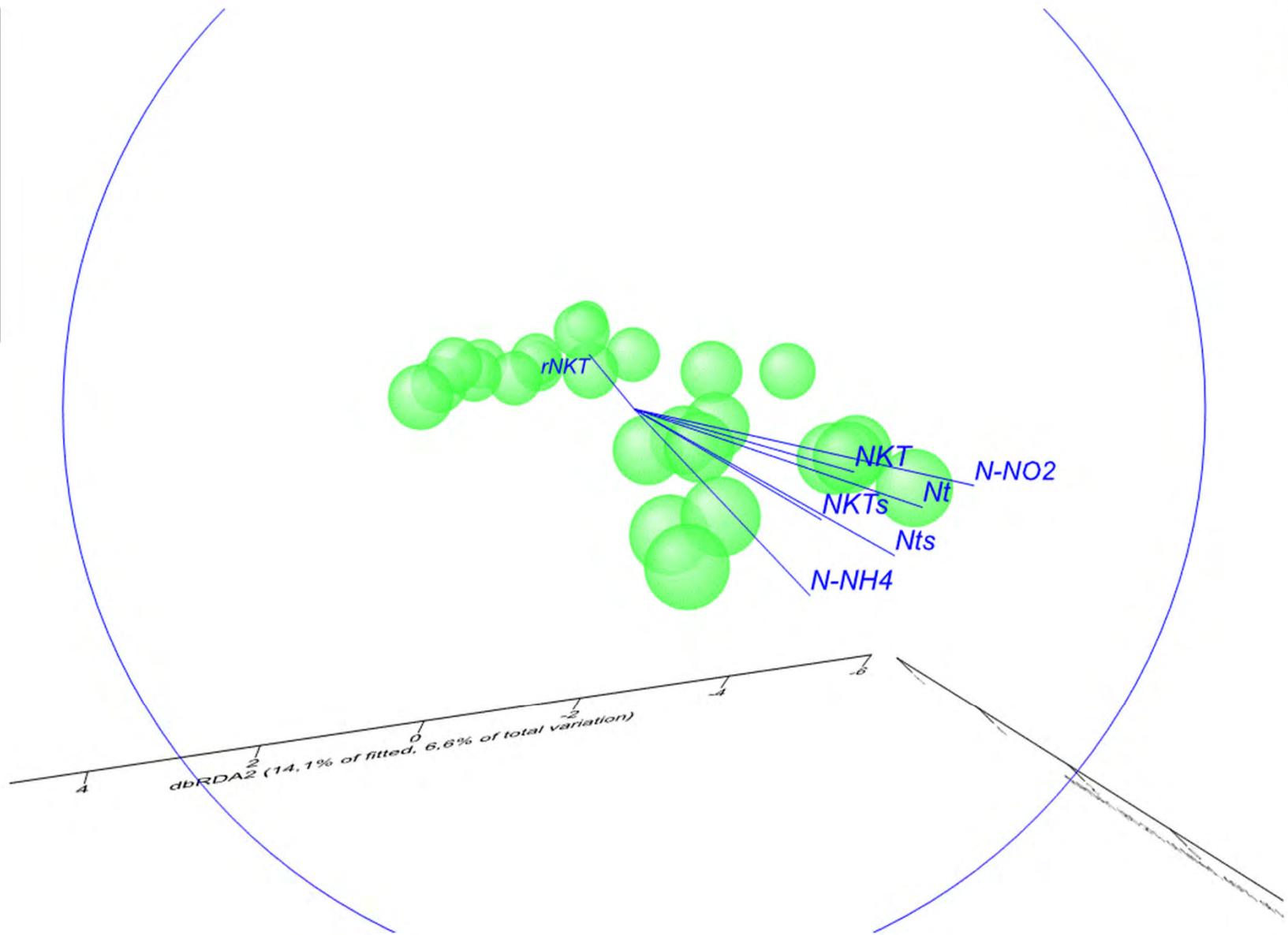
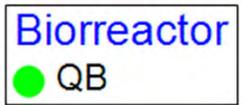
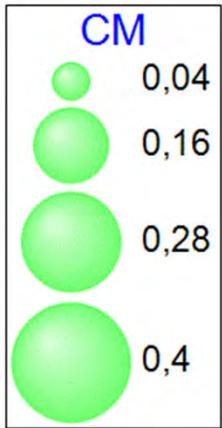


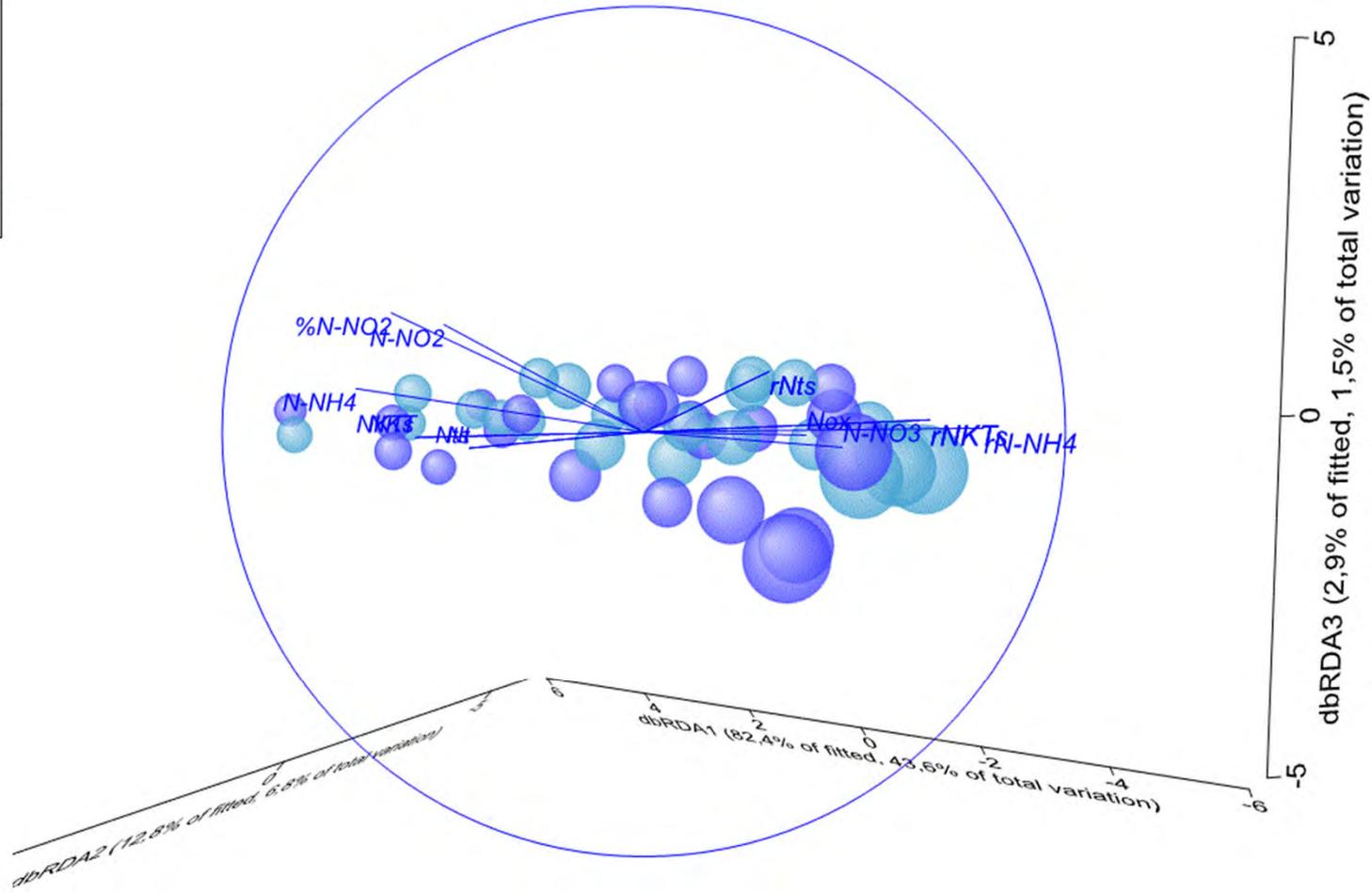
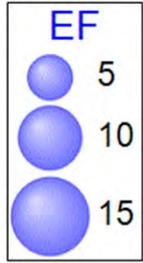
Fenomeno a estudiar:

Determinación de las variables OPE, y sus valores, que originan los mejores rendimientos del proceso de nitrificación

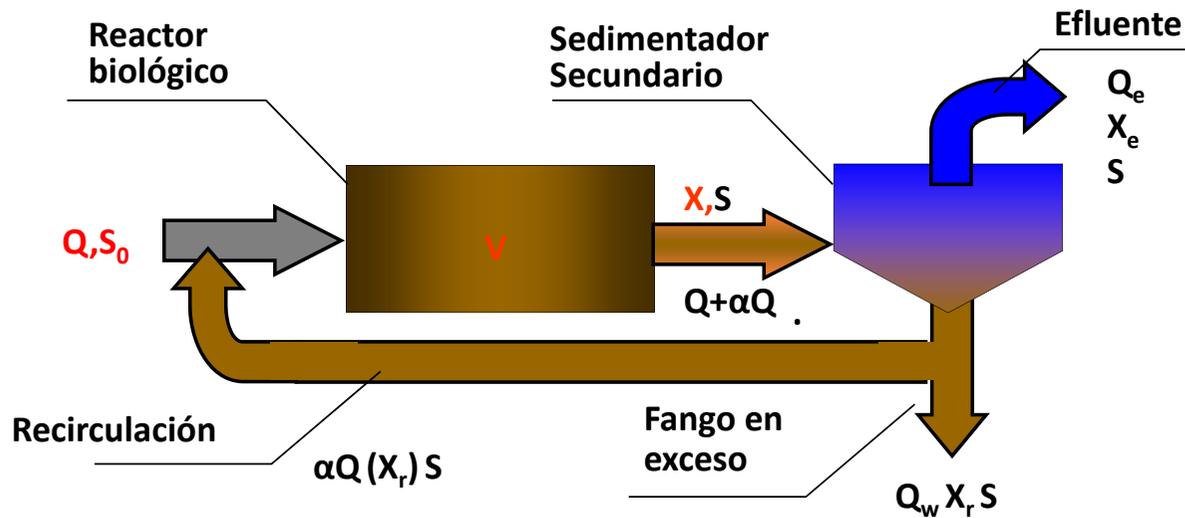
Modelo de regresión lineal multivariante (DISTLM)







Discusión de la variable carga másica



La carga másica (CM) representa la relación entre la carga alimentada al reactor (DBO_5) y los microorganismos presentes en él (SSVLM).

$$\frac{F}{M} = \frac{\text{Alimento}}{\text{Microorganismos}} = \frac{Q \cdot S_0}{V \cdot X} = \frac{Kg DBO_5}{Kg SSVLM \cdot d}$$

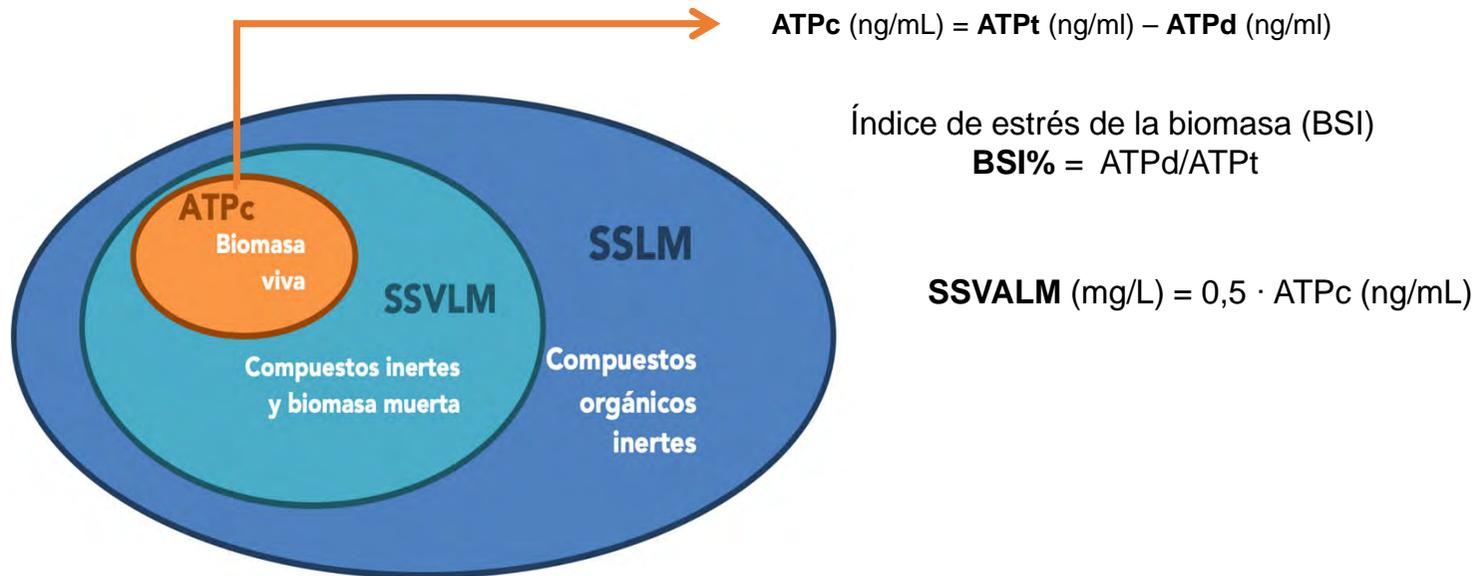
Discusión de la variable carga másica

- ✓ La CM se encuentra relacionada con la **sedimentabilidad del fango**. Por ejemplo, valores bajos de CM ($< 0,1 \text{ Kg DBO}_5/\text{Kg SSVLM.d}$) pueden originar valores bajos del IVF y sedimentación rápida.
- ✓ Se puede expresar como **SSLM** (fracción orgánica + mineral) o **SSVLM** (biomasa activa + biomasa inerte “debris” + biopolímeros).
- ✓ Para la determinación de la carga másica es **necesario conocer**:
 - ❖ La concentración representativa diaria de la DBO_5 .
 - ❖ El caudal diario afluente.
 - ❖ La concentración media de SSLM o SSVLM.



Discusión de la variable carga másica

En el denominador de la fórmula se encuentra el **error más importante** de la CM: los **SSVLM no expresan la biomasa activa**. Trabajamos en estudios incorporando una nueva técnica que permite determinar el dATP (biomasa inerte) y cATP (biomasa activa).



Discusión de la variable carga másica

Tabla 1.

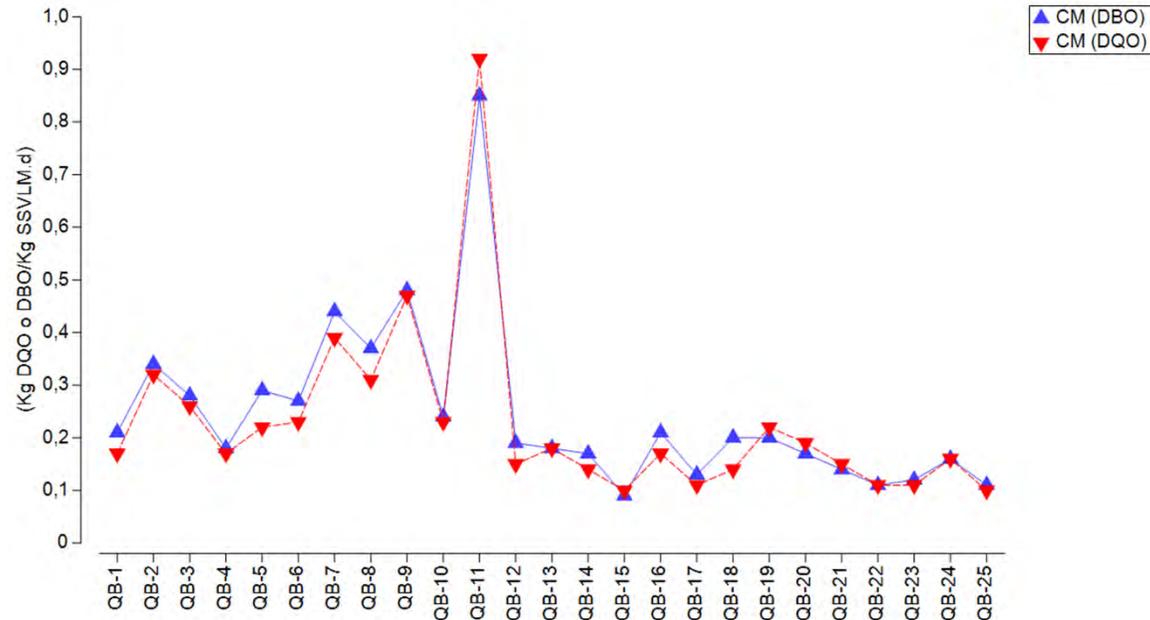
Resultados de los parámetros relacionados con la medida de ATP.

	ATPt	ATPd	ATPc	SSVA	BSI	ABR
MUESTRA	ng/mL	ng/mL	ng/mL	mg/L	%	%
Industrial	680	381	299	145,5	56	3
Química (ref.)	2020	35,7	2180	1090	2	16



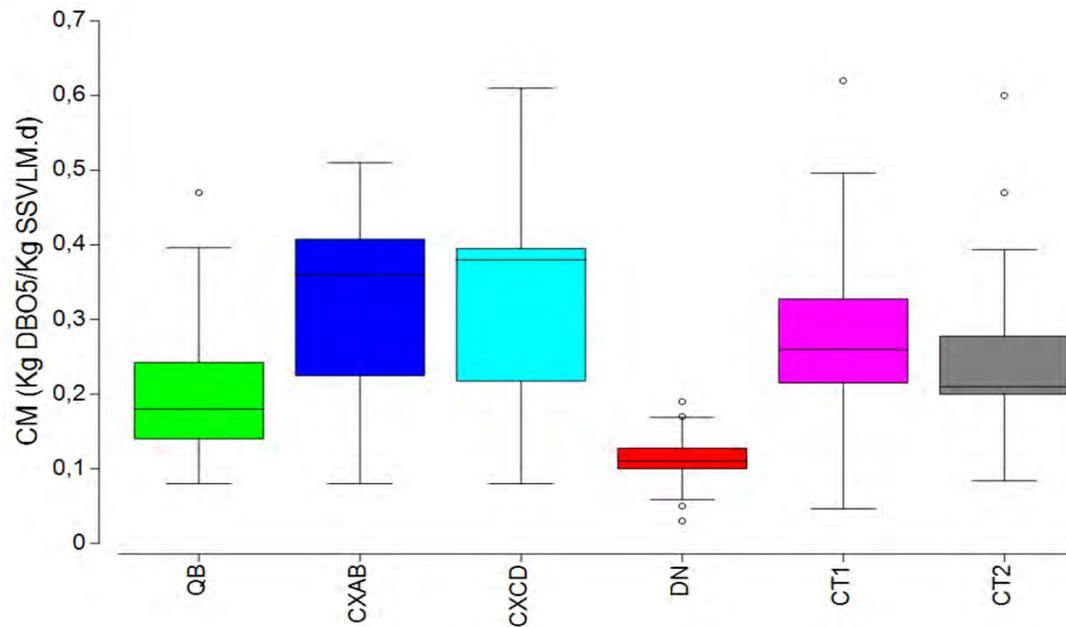
Discusión de la variable carga másica

El numerador de la fórmula de la CM, también acumula errores. Se expresa la materia orgánica de **forma** genérica, como DQO o DBO₅, **no siendo esta última práctica** para su cálculo, ya que se necesitan 5 días para su cálculo. Los cambios de operación no pueden hacerse de una forma rápida y efectiva. Normalmente, en EDAR urbanas es posible el uso de la **DQOs** para el cálculo de la CM.

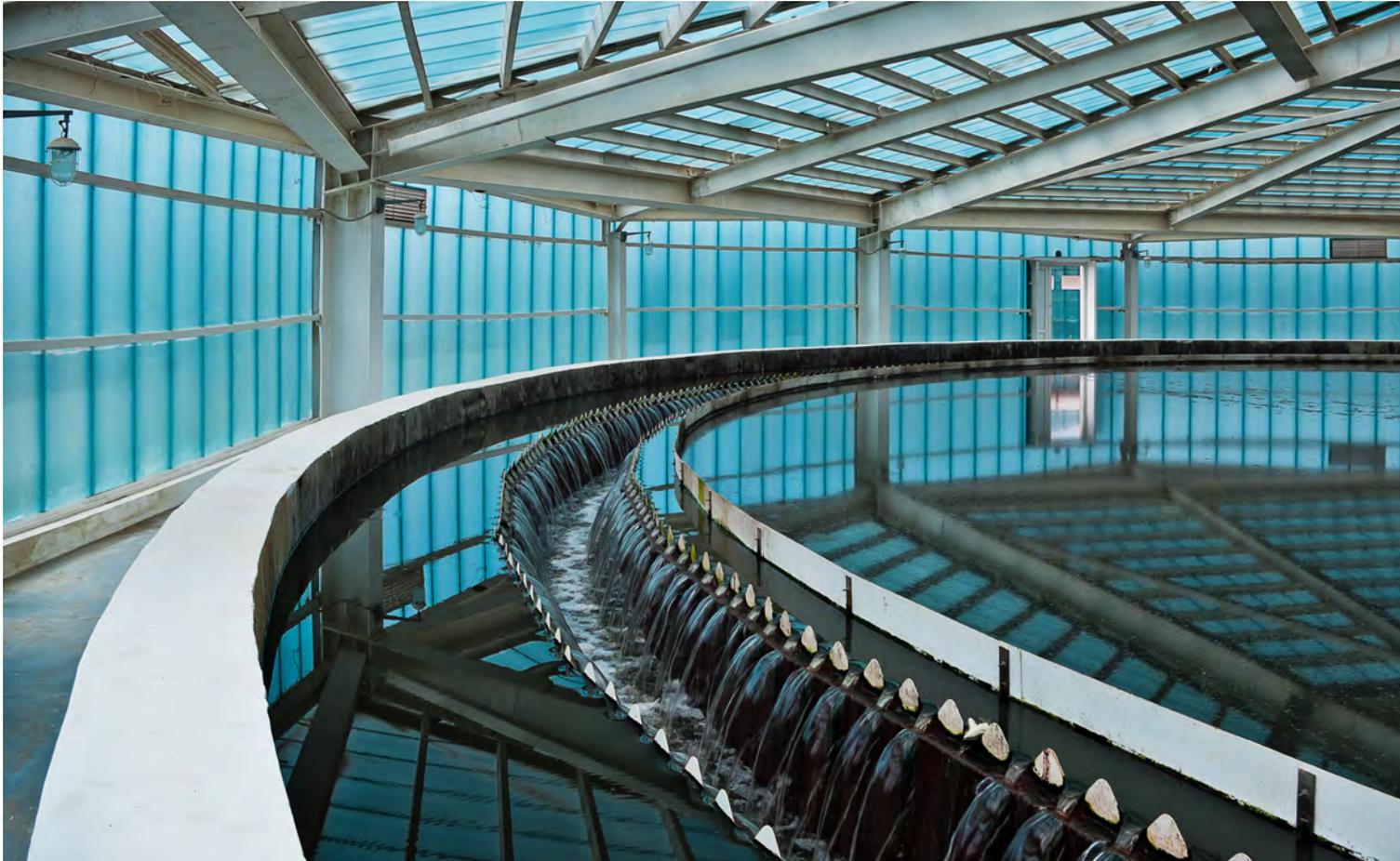


Discusión de la variable carga másica

Igual que la EF, la CM es característica de cada planta y **tiene una fuerte influencia de otras variables OPE**, principalmente con el tiempo de retención hidráulico en el reactor (TRHr) y la T^{ar}. Al aumentar la T^{ar} (>25 °C) y/o el TRHr (el doble) podemos incrementar las purgas de fangos en exceso (disminuir EF), y aumentar la CM.



Reto 4: revisar variables de operación



Una salida rápida alternativa y complementaria



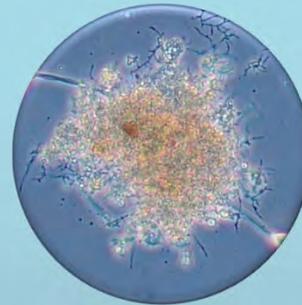
El “atajo”

Una salida alternativa y complementaria



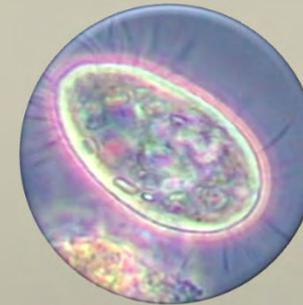
MACROSCOPIA DE LA V30

Color, olor, IVF, capa c rea, turbidez, esponjamiento, capa c rea...



MICROSCOPIA DEL FLÓCULO

Tamaño, estructura, núcleos, puentes interfloculares, crecimiento disperso...



COMPOSICIÓN BIÓTICA

Protistas, metazoos, bacterias filamentosas, otras bacterias...



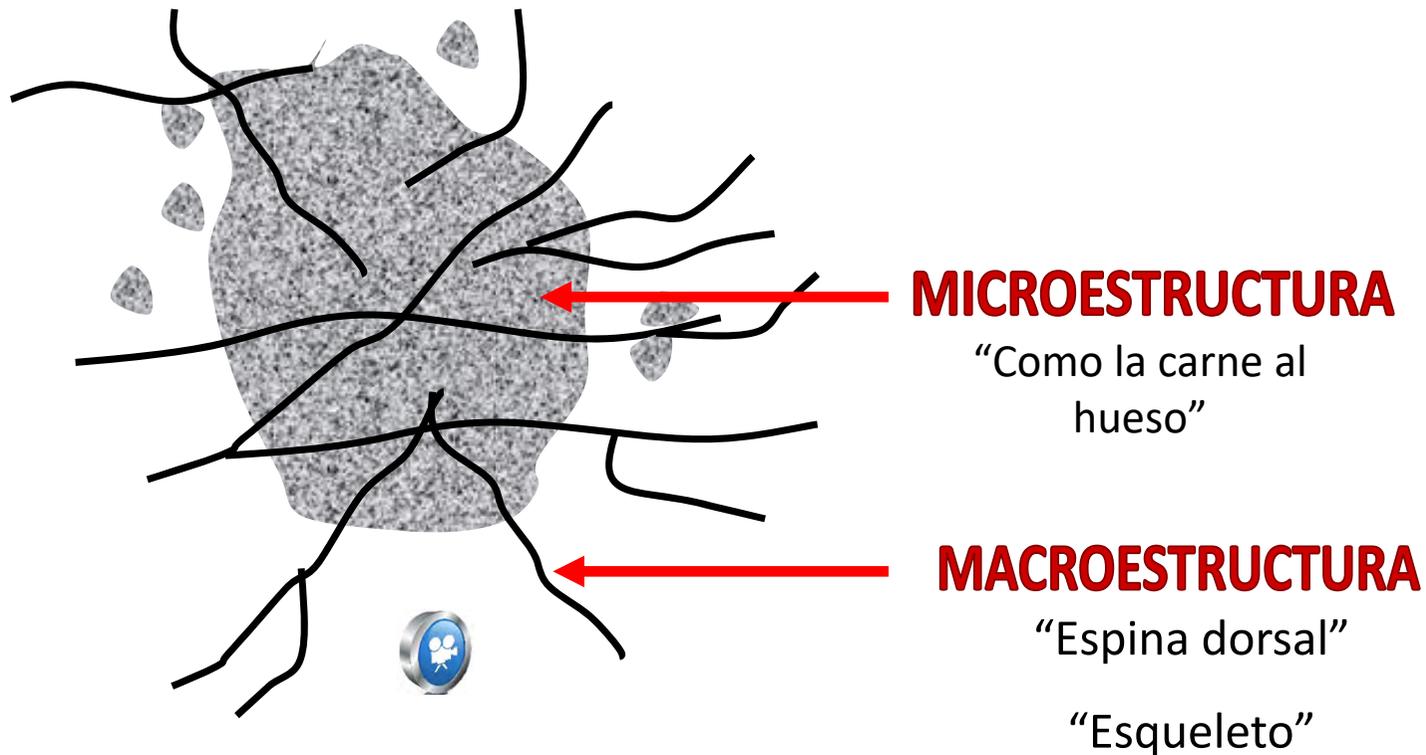
**“No realizar un análisis macroscópico y microscópico del flóculo,
como control rutinario de la EDAR,
es como deambular con una venda en los ojos, junto a un precipicio”**



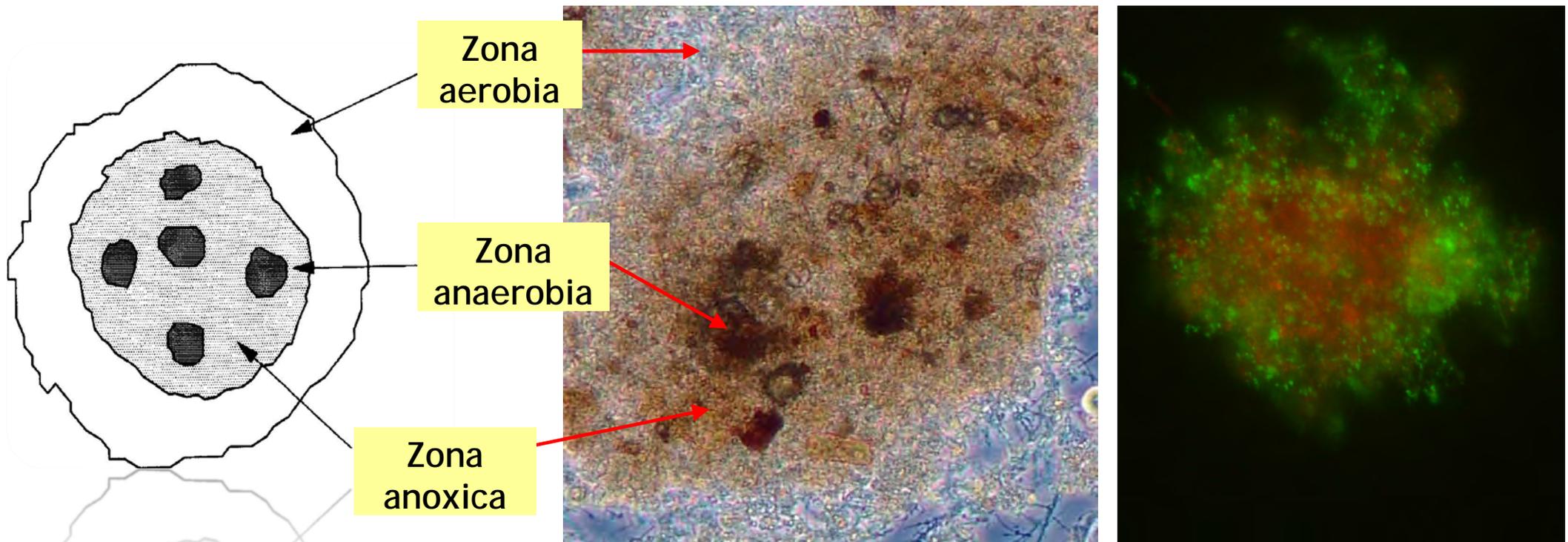
- Andrés Zornoza

Los niveles básicos estructurales del flóculo

Basándose en la observación microscópica y en algunas medidas físicas se ha sugerido que existen **DOS NIVELES** de estructura en los flóculos del fango activado (Sezgin et al. 1978).



El secreto de la sedimentación del fango activo



Análisis rápido microscópico del flóculo



FORMA, TAMAÑO
ESTRUCTURA, NÚCLEOS
AGENTES BIOSURFACTANTES
PUENTES INTERFLOCULARES
CRECIMIENTO DISPERSO
DEFLOCULACIÓN
CONSISTENCIA, etc

PROCEDIMIENTO

Tomar un volumen de 25 μL de una muestra homogénea de licor mezcla. Depositar un cubreobjetos de 18x18 mm. Observar a 100x.

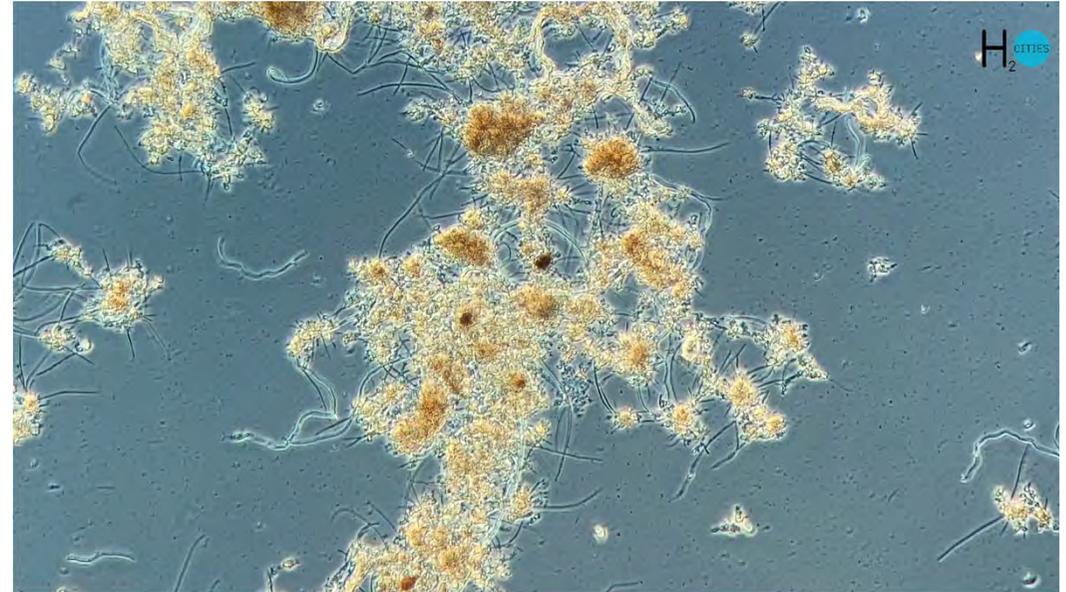
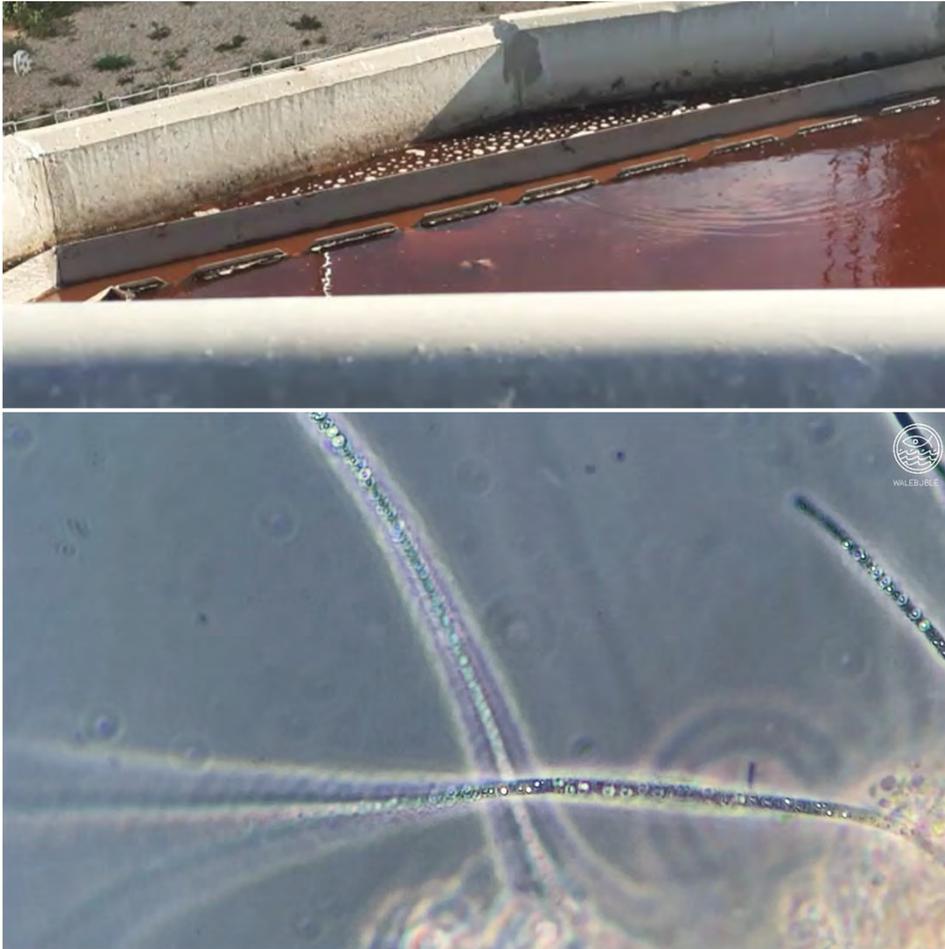
Análisis rápido macroscópico de la V30

¡El ensayo más mal realizado e interpretado de la historia de la depuración!

- *COLOR*
- *TAMAÑO MACROFLÓCULO*
- *ESPONJAMIENTO*
- *EMULSIÓN O CAPA CERA*
- *TURBIDEZ*
- *FLOCULOS EN SUSPENSIÓN*
- *SEDIMENTABILIDAD*
- *DESNITRIFICACIÓN*
- *OTRAS...*



Análisis macroscópico de la V30: ejemplo



“Era informarte que el miércoles comprobamos que aunque el motor del decantador giraba, el puente no lo hacía pero como está totalmente sumergido no lo vimos”.

El cliente de H2Ocities

Análisis macroscópico de la V30: ejemplo



5 minutos

V5 = 960 ml/g



SSLM = 4740 ml/g

20 minutos

V20 = 880 ml/g

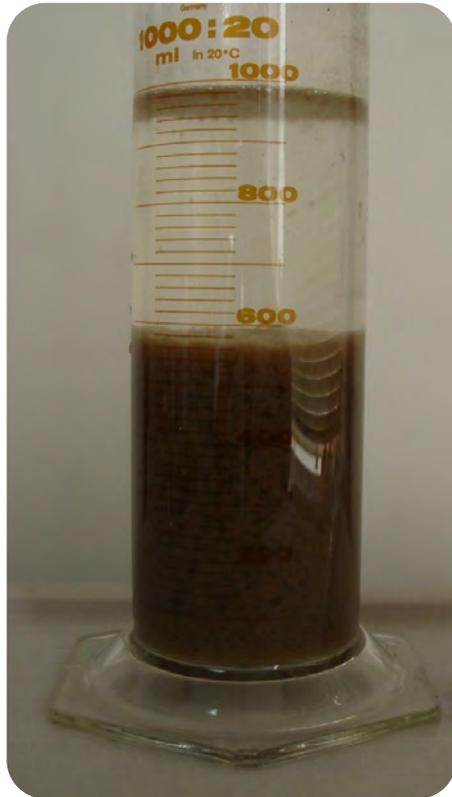


IVF= 173 mL/L

30 minutos

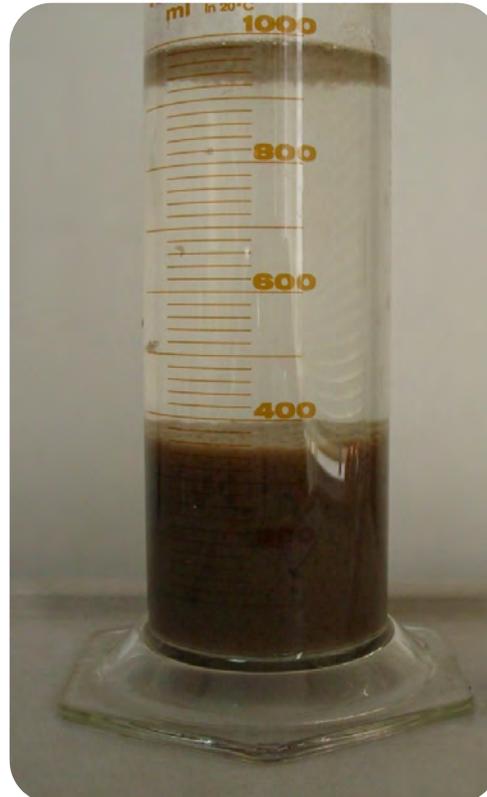
V30 = 820 ml/g

Análisis macroscópico de la V30: ejemplo



5 minutos

$V_5 = 560 \text{ ml/g}$



20 minutos

$V_{20} = 360 \text{ ml/g}$



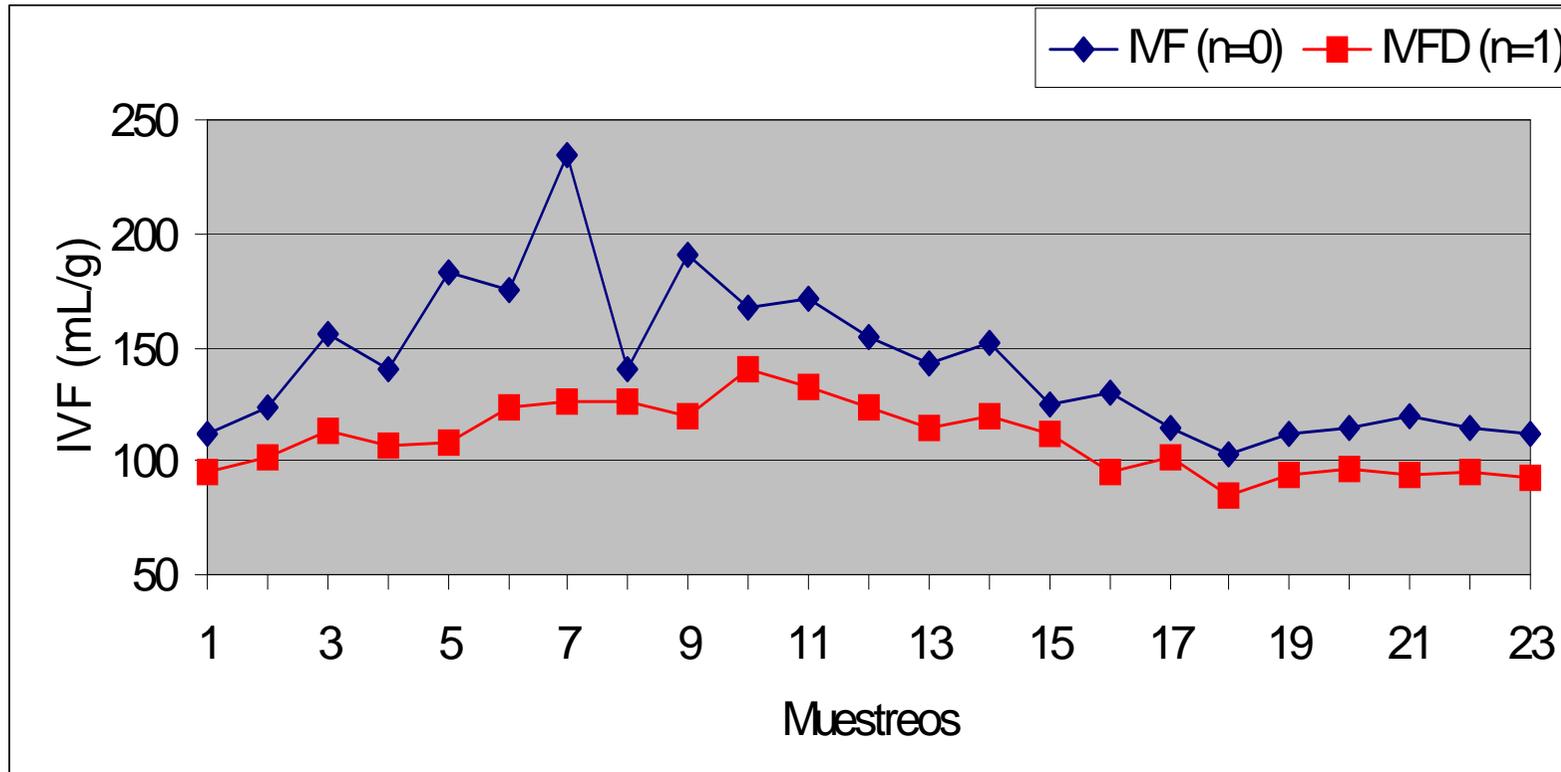
30 minutos

$V_{30} = 310 \text{ ml/g}$

Dilución
 $n=1$

IVF= 131 mL/L

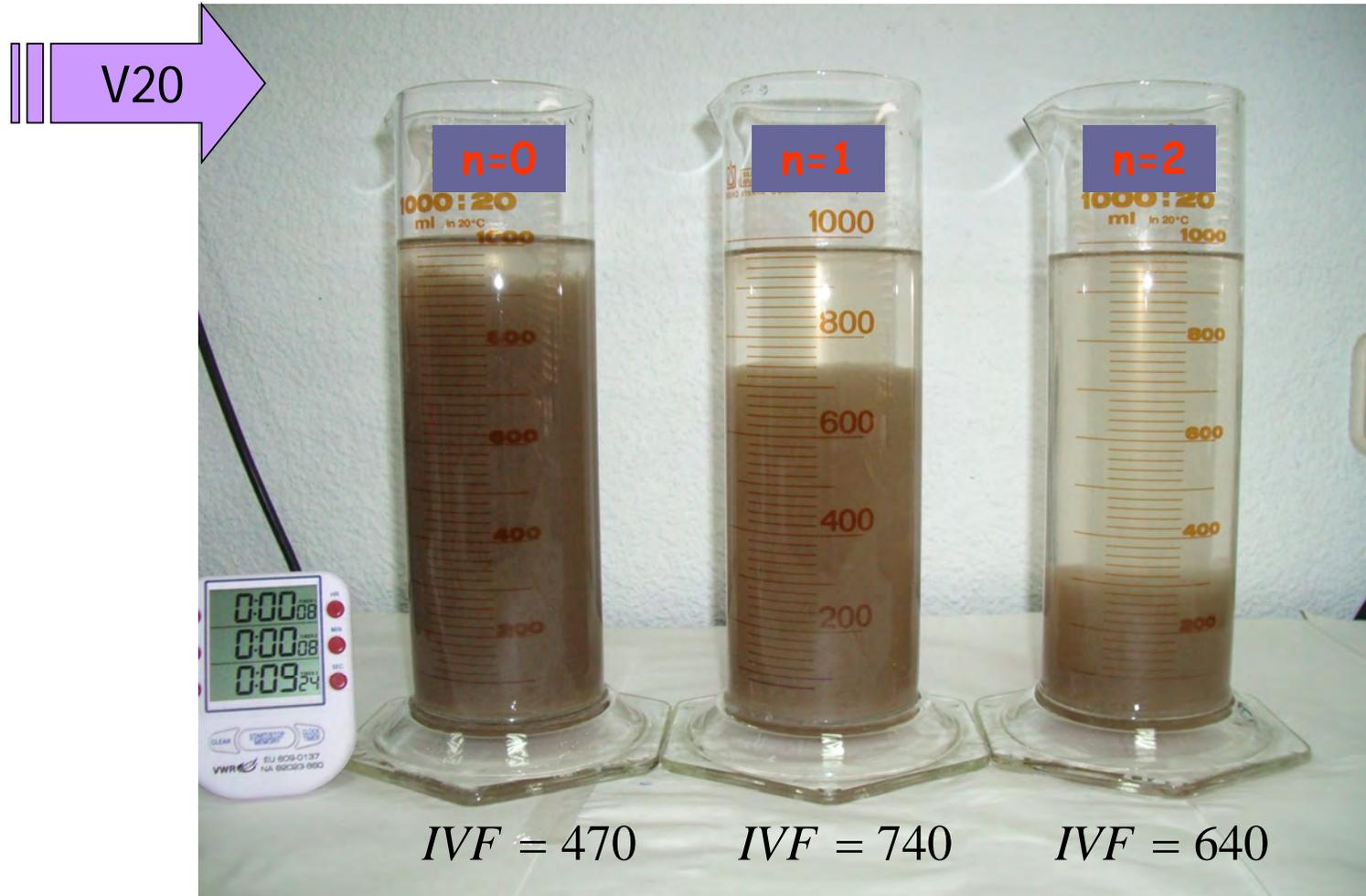
Reto 5: calcular correctamente el IVF



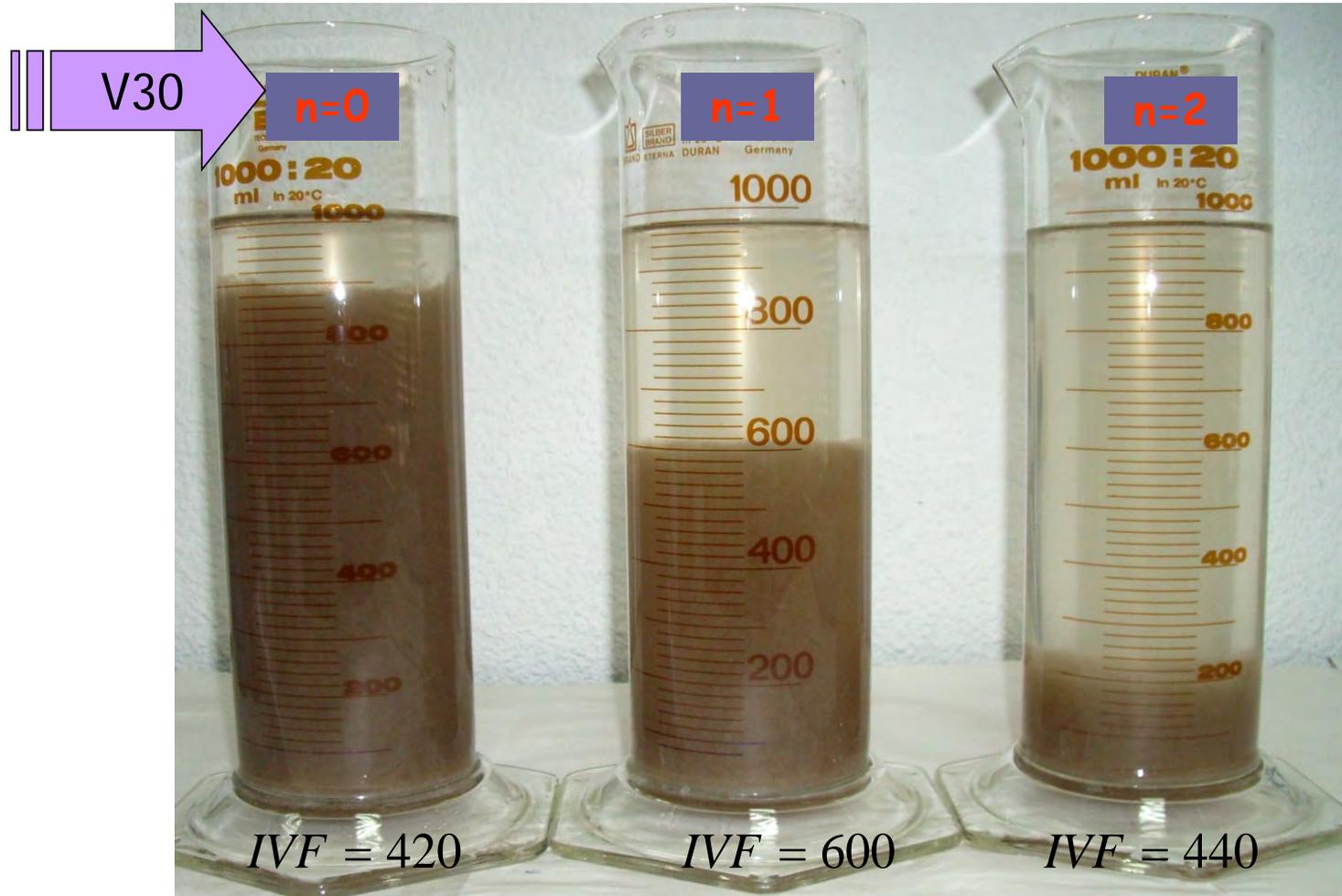
V30 vs. V5



V30 vs. V5



V30 vs. V5



La composición biótica: protistas y metazoos

El papel de los protistas:

- INGESTIÓN Y ESTÍMULO DEL CRECIMIENTO BACTERIANO
- CONTRIBUYEN A LA ELIMINACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS
- SEGREGAN BIOPOLÍMERO QUE FACILITAN LA BIOAGREGACIÓN DEL FANGO
- EXCELENTES BIOINDICADORES DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES



Reto 6: identificación y cuantificación de bioindicadores

Una primera división divide a los organismos bioindicadores en protistas (eucariotas unicelulares) y metazoos (eucariotas pluricelulares), siendo el primer grupo más diverso y abundante. Los protistas, a su vez, se dividen en 3 grandes grupos: flagelados, sarcodinos y ciliados, siendo estos últimos los más importantes, por su abundancia y diversidad. Los metazoos se dividen, a su vez, principalmente en 4 grupos, en el siguiente orden de importancia: rotíferos>gastrotricos>anélidos=nematodos>tardígrados.

PROTISTAS

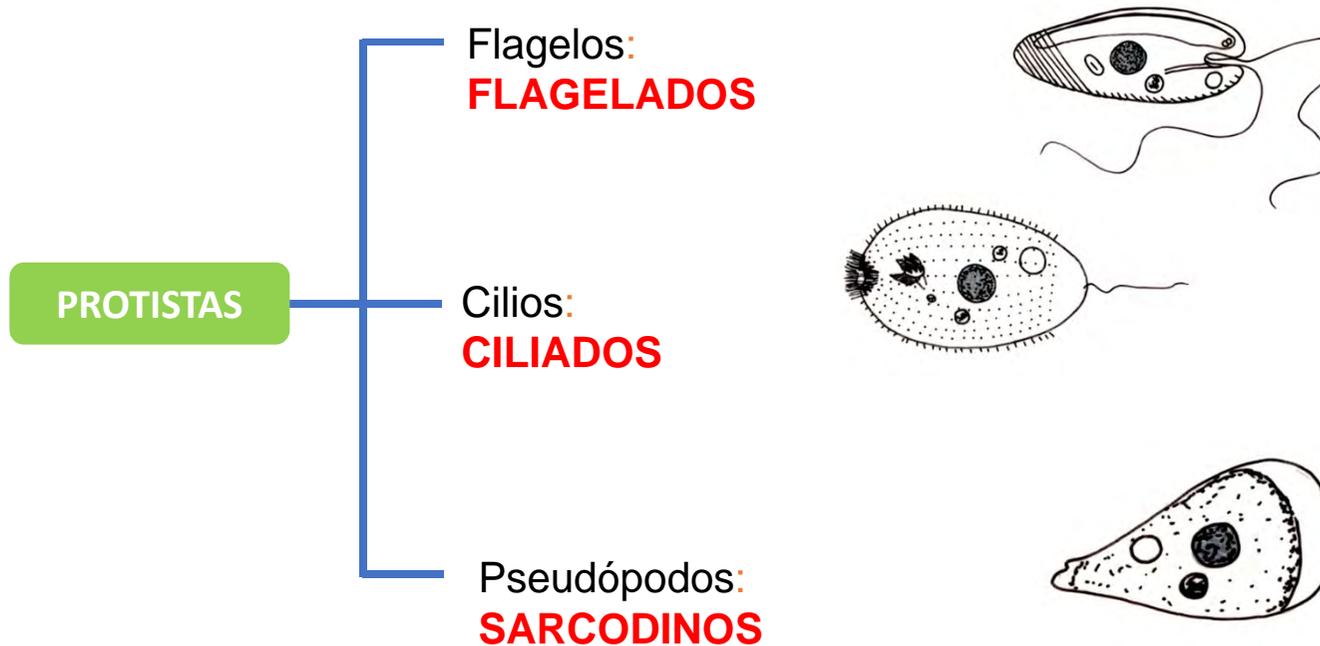
- FLAGLELADOS
- SARCODINOS
- CILIADOS

METAZOOS

- ROTÍFEROS
- GASTROTRICOS
- NEMATODOS
- ANÉLIDOS
- TARDIGRADOS

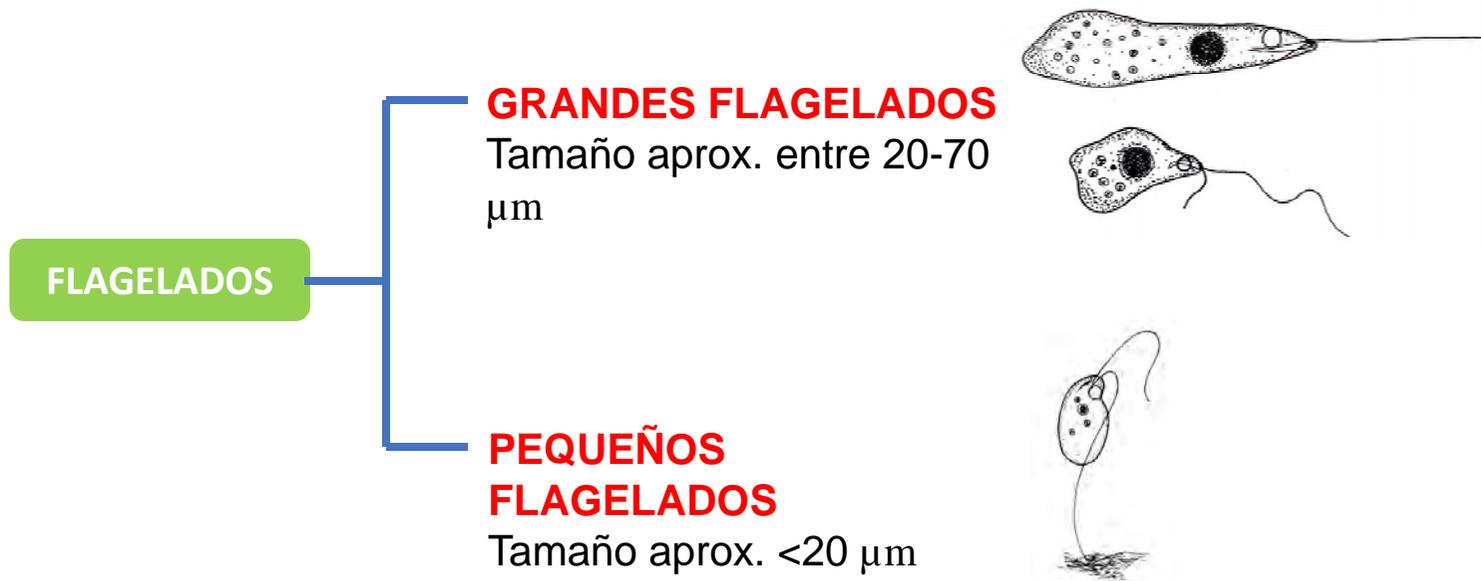
Estrategias en la identificación

Los **protistas** se clasifican en **3 grupos**, a partir de sus apéndices locomotores.



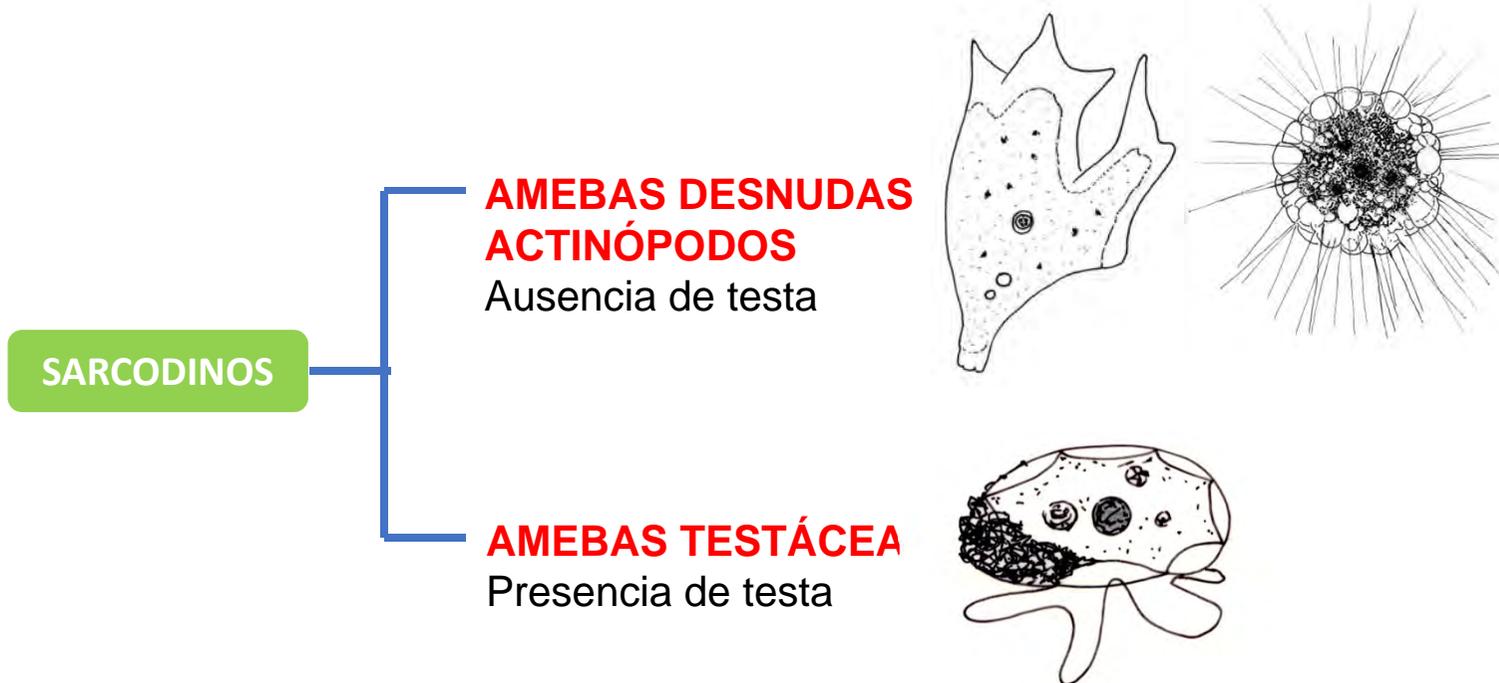
Estrategias en la identificación

Respecto a los **flagelados**, podemos hacer una división sencilla e intuitiva, que nos permitirá su identificación posterior. La clasificación la realizamos en **función del tamaño**. De esta forma tenemos:



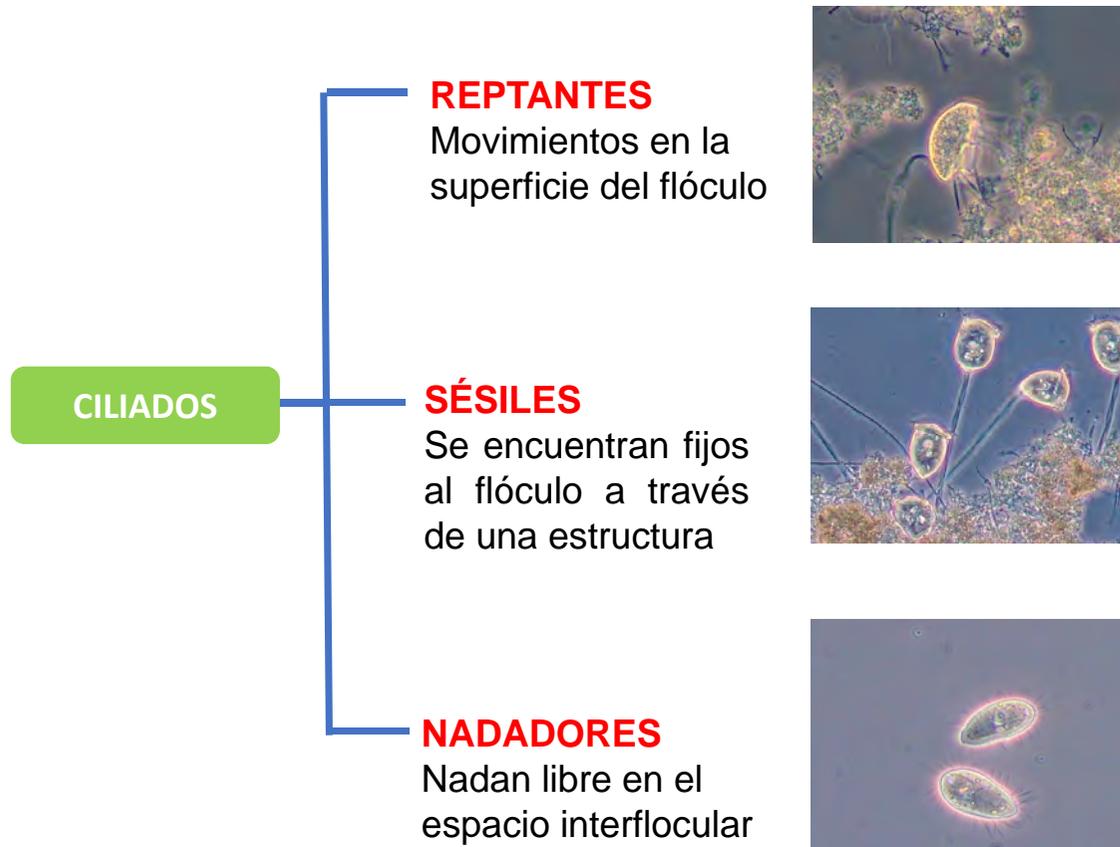
Estrategia en la identificación

Respecto a los **sarcodinos**, podemos hacer una división sencilla a partir de la **presencia o ausencia de testa o caparazón**. De esta forma tenemos:



Estrategias en la identificación

Respecto a los **ciliados**, podemos hacer una clasificación a partir de **grupos funcionales**, respecto a su asociación al flóculo.



Estrategias en la identificación

Una vez alcanzado el **primer nivel de clasificación**, damos paso a la identificación de especies y/o géneros de protistas y metazoos, utilizando las fichas propuestas.

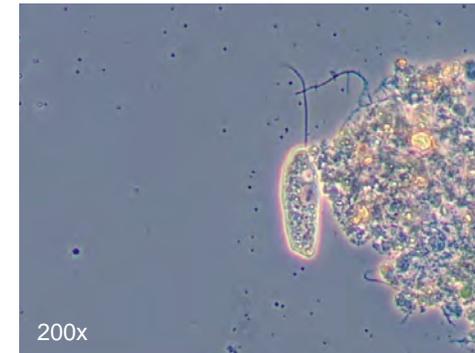
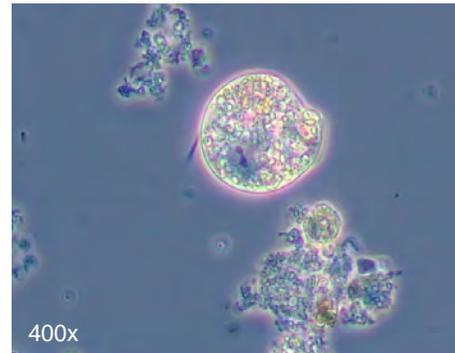
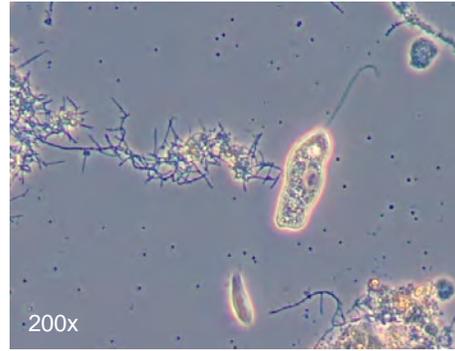
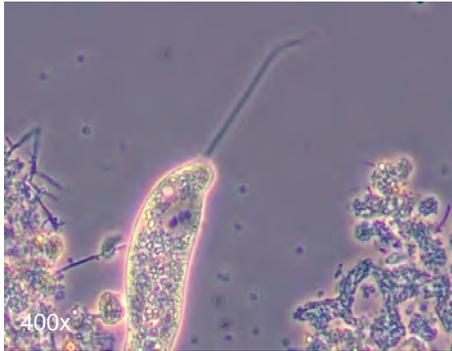


PERANEMA TRICHOPHORUM

(Dujardin, 1841)

GRANDES FLAGELADOS

Clase Euglenoidea (Euglénidos)



CARACTERÍSTICAS

FORMA: Cuerpo alargado y fácilmente deformable. **TAMAÑO:** 40-70 μm .

MOVIMIENTOS: Desplazamiento del flagelo en el sentido del movimiento, permaneciendo rígido y serpenteando sólo el extremo distal. El cuerpo se contrae para cambiar la dirección del movimiento, observándose el flagelo en forma de "látigo".

ESTRUCTURAS: Flagelo largo de longitud similar al cuerpo. Vacuola contractil visible en la parte anterior, cercana a la base del flagelo.

CLAVE IDENTIFICATIVA: El serpenteo del extremo del flagelo cuando se desplaza y la contracción del cuerpo cuando cambia de dirección.

YóGHR

PERANEMA TRICHOPHORUM

(Dujardin, 1841)

GRANDES FLAGELADOS

Clase Euglenoidea (Euglénidos)



CLAVE ECOLÓGICA

Excelente bioindicador del buen rendimiento del proceso de nitrificación, que se asocia a valores bajos de N-NH_4^+ , N-NO_2^- y $\% \text{N-NO}_2^-$ del efluente, y elevados del rNKTs.

INTERPRETACIÓN ECOLÓGICA (RENDIMIENTOS DEL PROCESO)

- **Zhou *et al.* (2008)** Encuentran una correlación inversa baja y significativa de los grandes flagelados con la concentración de amonio del efluente, sin llegar a obtener resultados concluyentes sobre el potencial bioindicador.
- **Pérez-Uz *et al.* (2010)**. Señalan que *P. trichophorum* podría considerarse un indicador indirecto de bajo rendimiento de eliminación de nitrógeno (rNT), al encontrarse relacionado (PCA) este con el rendimiento de la DQO. Respecto a esta cita indicar que se trata de una relación indirecta a partir de un análisis exploratorio (PCA) que no expresa la mejor naturaleza de los datos biológicos.
- **Hu *et al.* (2013b)**. Indican una relación directa (análisis bivariante y PCA) de *P. trichophorum* con la concentración de nitratos del efluente, proponiendo esta especie como indicadora de buen rendimiento de la nitrificación, lo cual es muy discutible debido a que la concentración de nitrato depende de la desnitrificación.
- **Zornoza (2017)**. Los resultados del modelo lineal (DISTLM) indican que es un excelente bioindicador del buen rendimiento del proceso de nitrificación, asociándose a valores de N-NH_4^+ muy bajos, principalmente $<2 \text{ mg/L}$, y valores de rNKTs $>75\%$, así como valores del $\% \text{N-NO}_2^- <10\%$. El modelo unimodal (CCA) ha revelado que la abundancia de *P. trichophorum* se relaciona con valores elevados del rNKTs y bajos de N-NH_4^+ , N-NO_2^- y $\% \text{N-NO}_2^-$, si bien su posición es posterior a *E. sulcatum*, ocupando la quinta posición en el *ranking* respecto al óptimo del rNKTs y valores más bajos de N-NH_4^+ del efluente.

PERANEMA TRICHOPHORUM

(Dujardin, 1841)

GRANDES FLAGELADOS

Clase Euglenoidea (Euglenidos)



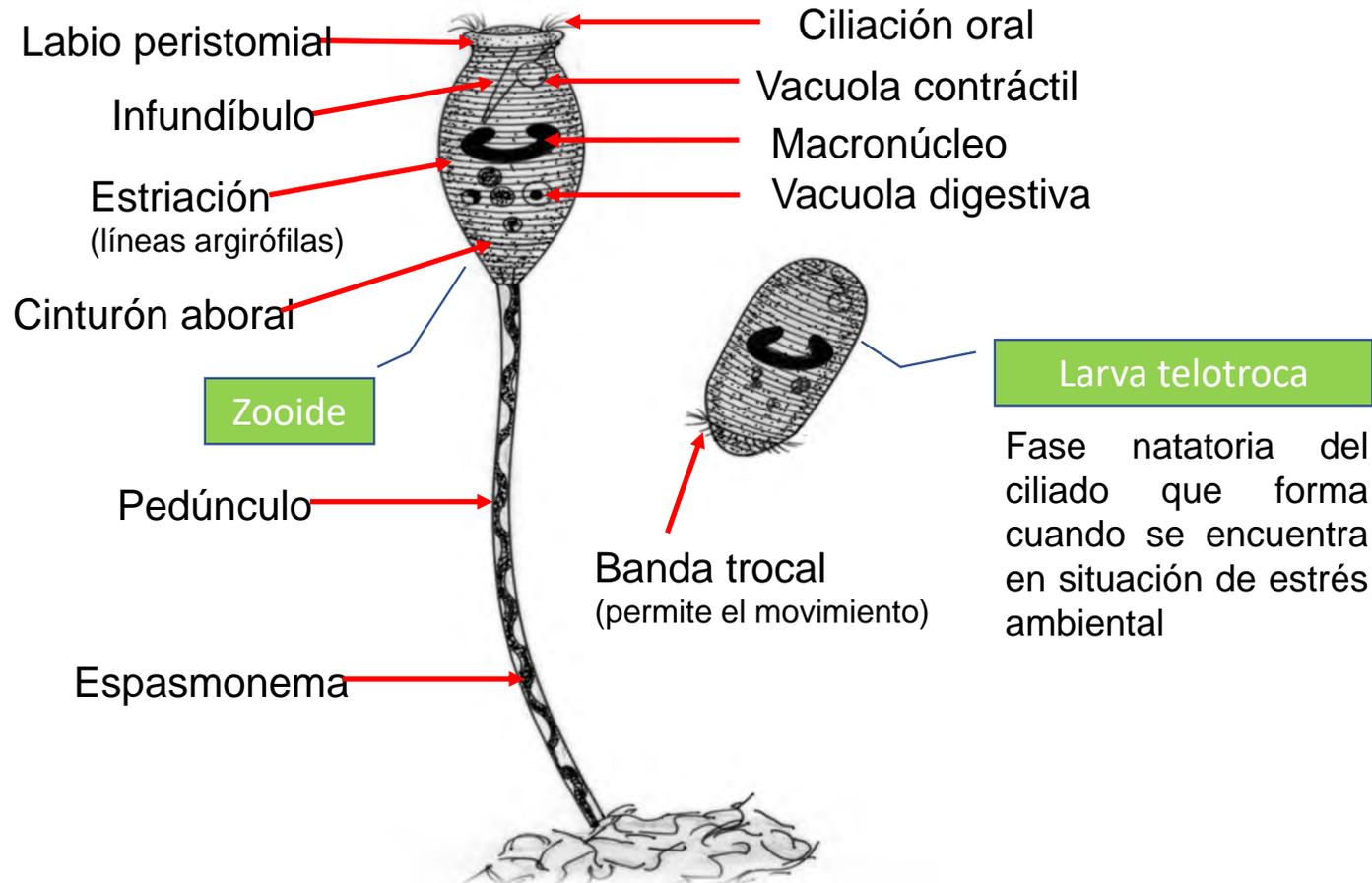
CLAVE ECOLÓGICA

Excelente bioindicador de valores elevados de EF (>10 días) y bajos de carga en el afluente, especialmente de la CPT (<15 g/Kg SSVLM.d).

INTERPRETACIÓN ECOLÓGICA (VARIABLES AMBIENTALES)

- **Hu *et al.* (2013b)**. Indican una relación moderada-baja (análisis bivariado) de *P. trichophorum* con elevada concentración de SSLM y bajos valores del IVF y %SSVLM
- **Zornoza (2017)**. Relacionan *P. trichophorum* con valores de EF >10 días, a partir de modelos lineales (DISTLM) de diferentes biorreactores. Su relación por encima de 20 días de EF en un biorreactor de oxidación total sugiere que *P. trichophorum* podría presentar un mayor rango de EF que *E. sulcatum*. Los modelos unimodales corroboran su asociación con alta EF y baja CM. En algunos biorreactores parece asociarse (modelo lineal y unimodal) a elevada T^r. Por otro lado, los resultados de los modelos indican que *P. trichophorum* es un excelente bioindicador de baja carga en el afluente, especialmente de la CPT, principalmente <15 g/Kg SSVLM.d, y CCarb, CProt y CN-NH₄⁺ del afluente.

Ciliados sésiles: terminología

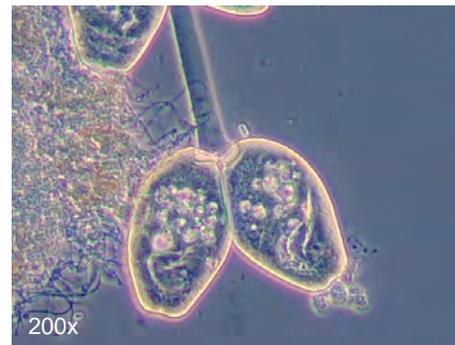
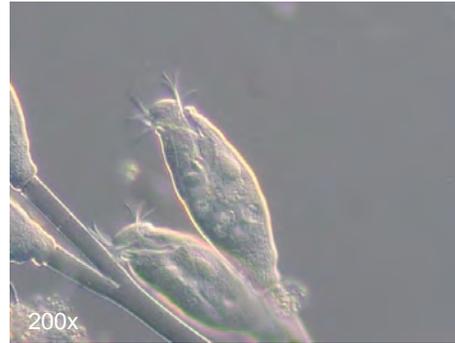
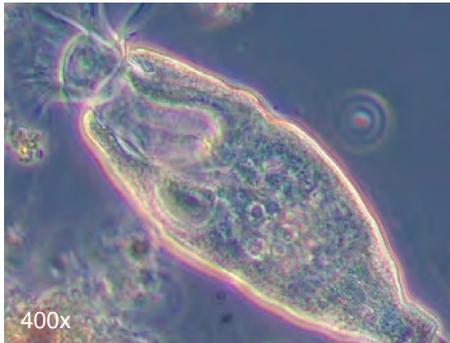


OPERCULARIA ARTICULATA

CILIADOS SÉSILES

(Goldfus, 1820)

Clase Oligohymenophorea (Oligohimenóforos) – Subclase Peritrichia (Peritricos)



CARACTERÍSTICAS

FORMA: Organismo con forma elipsoidal y pedúnculos rígidos. TAMAÑO: 90-120 μm .

MOVIMIENTO: No existe (organismo sésil).

ESTRUCTURAS: Peristoma sin reborde y opérculo claramente sobresaliente del peristoma. Colonias muy grandes y pedúnculos gruesos y rígidos.

CLAVE IDENTIFICATIVA: Macronúcleo en forma de "salchicha", situado transversalmente. Zooides con estrechamiento en la parte superior.

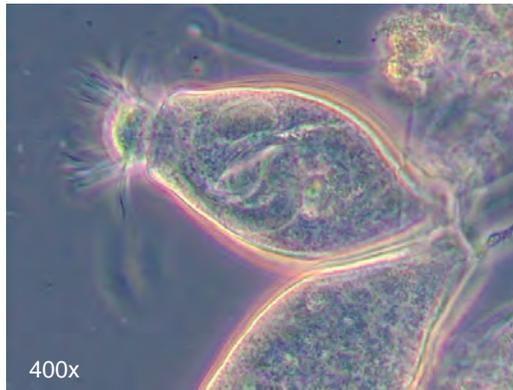
Pedúnculo muy grueso.

OPERCULARIA ARTICULATA

(Goldfuss, 1820)

CILIADOS SÉSILES

Clase Oligohymenophorea (Oligohimenóforos) – Subclase Peritrichia (Peritricos)



CLAVE ECOLÓGICA

Organismo bioindicador del buen rendimiento del proceso de nitrificación, que se asocia a valores bajos de N-NH_4^+ , N-NO_2^- y $\% \text{N-NO}_2^-$ del efluente, y elevados del rNKTs.

INTERPRETACIÓN ECOLÓGICA (RENDIMIENTOS DEL PROCESO)

- Serrano *et al.* (2008b), Pérez-Uz *et al.* (2009, 2010). Relacionan dicho organismo con periodos de buen rendimiento en la eliminación de nitrógeno, aunque no encuentran una relación significativa.
- Zornoza (2017). Los resultados de los modelo lineales (DISTLM) y unimodales (CCA) de diferentes biorreactores determinan que *O. articulata* es un excelente bioindicador del buen rendimiento del proceso de nitrificación, asociándose a valores bajos de N-NH_4^+ , $\% \text{N-NO}_2^-$ y $\% \text{N-NO}_2^-$, y elevados del rNKTs. El modelo unimodal revela que ocupa la quinta posición en el *ranking* del óptimo del rNKTs y valores más bajos de N-NH_4^+ del efluente.

OPERCULARIA ARTICULATA

(Goldfus, 1820)

CILIADOS SÉSILES

Clase Olygohymenophorea (Oligohimenóforos) – Subclase Peritrichia (Peritricos)



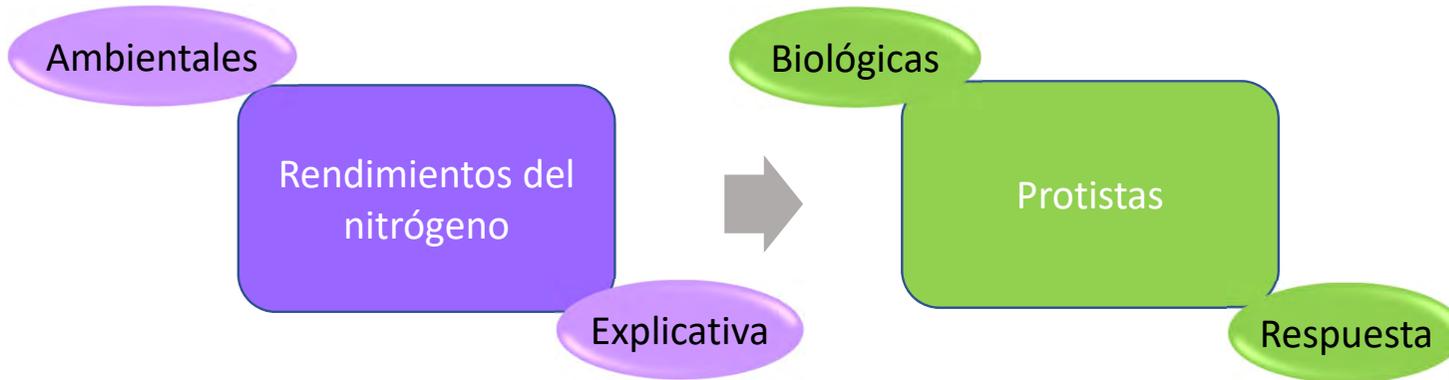
CLAVE ECOLÓGICA

Bioindicador de valores bajos de CM y CPT (<15 g/Kg SSVLM.d), y elevados de EF (>10 días) y TRHr. Valores de T^r >20°C favorecen su crecimiento.

INTERPRETACIÓN ECOLÓGICA (VARIABLES AMBIENTALES)

- **Salvadó *et al.* (2001)**. Describe su tolerancia a choques de carga de cloruro sódico (hasta dosis de 20 g/L).
- **Salvadó & Canals (2015)**. Encuentran valores bajos para la *r* máxima más probable, indicando por tanto su relación con bajas cargas orgánicas y bajas tasas de división.
- **Zornoza (2017)** Los resultados de los modelos lineales (DISTLM) y unimodales (CCA) de diferentes biorreactores determinan que *O. articulata* se asocia a valores de EF >10 días, proponiéndolo como un excelente bioindicador. Además, dicho organismo se encuentra asociado a baja CM y CM(DOOs), y elevado TRHr, condiciones que representan cargas débiles en el reactor biológico. Por otro lado, los resultados evidencian una clara influencia de la T^r en la dinámica poblacional de *O. articulata*, que aumenta por encima de 20°C. Por último, valores bajos de CPT (<15 g/Kg SSVLM.d) favorecen su crecimiento, además de asociarse a valores bajos de C_{prot}, C_{carb} y CN-NH₄⁺.

Ecología: modelo de regresión lineal multivariante

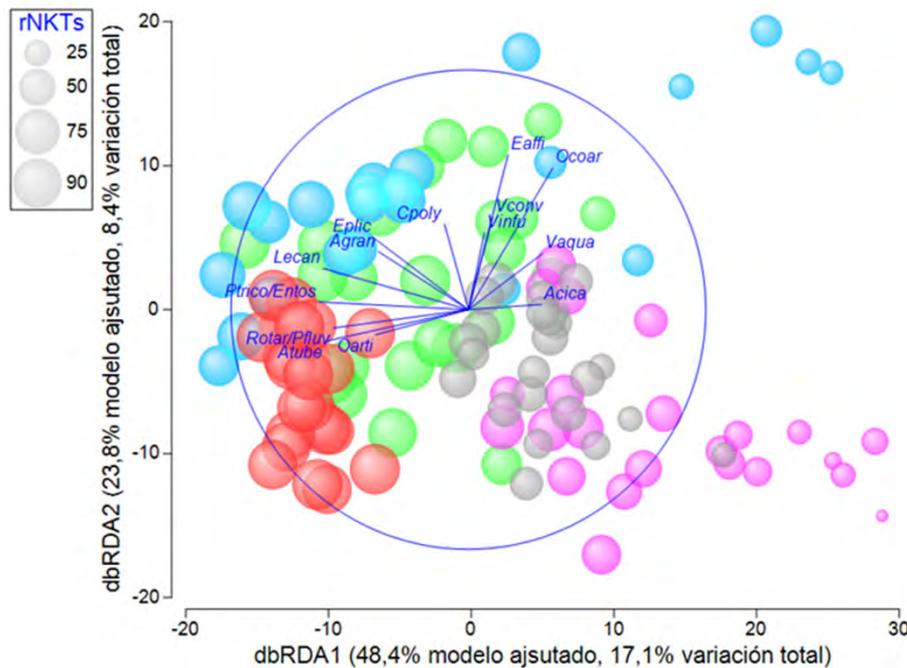


Fenomeno a estudiar:

Protistas bioindicadores de los rendimientos del nitrógeno en EDAR

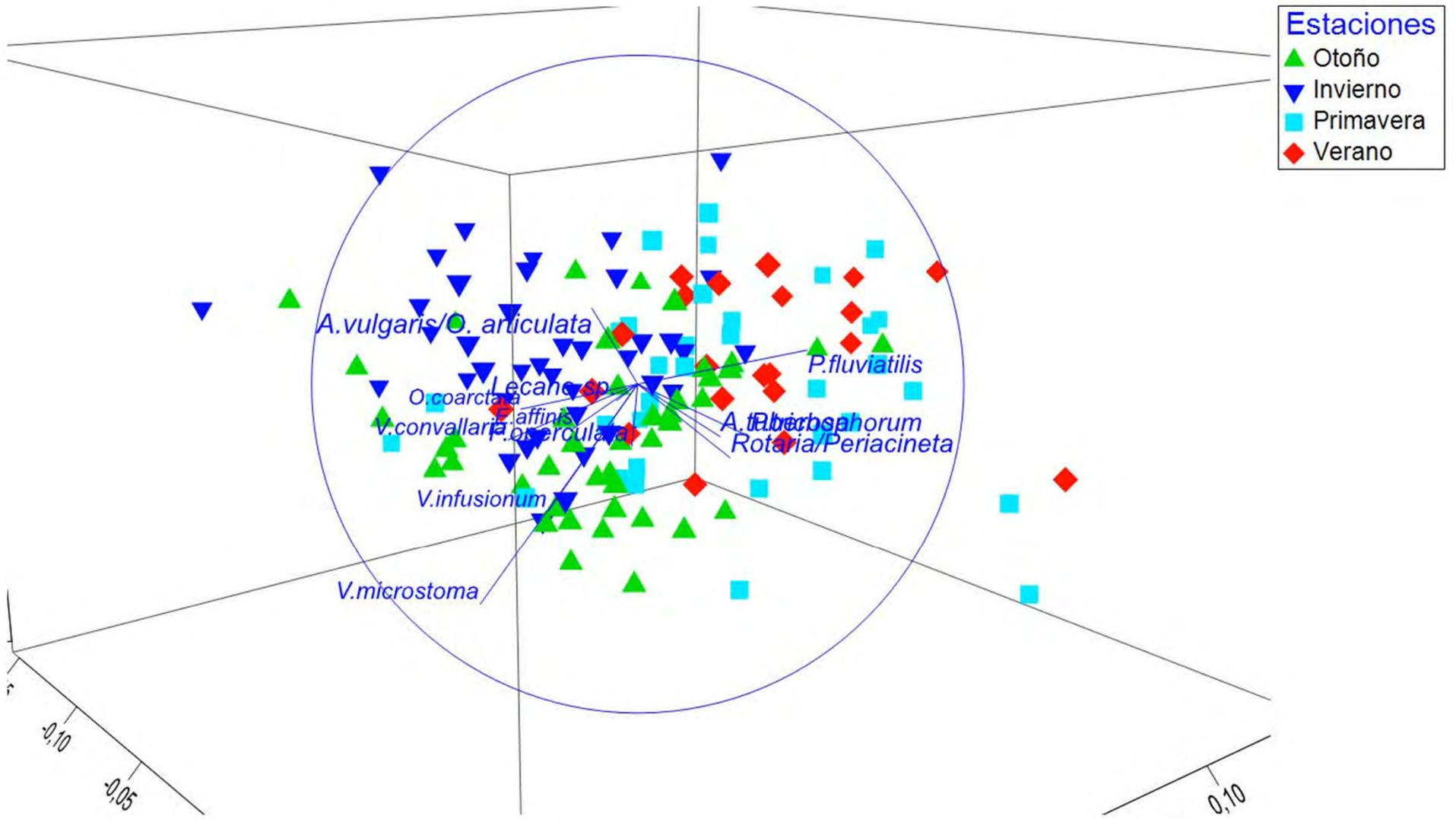
Modelos de regresión lineal múltiple multivariante

La construcción de modelos lineales permite la búsqueda de protistas y metazoos bioindicadores del proceso de nitrificación.

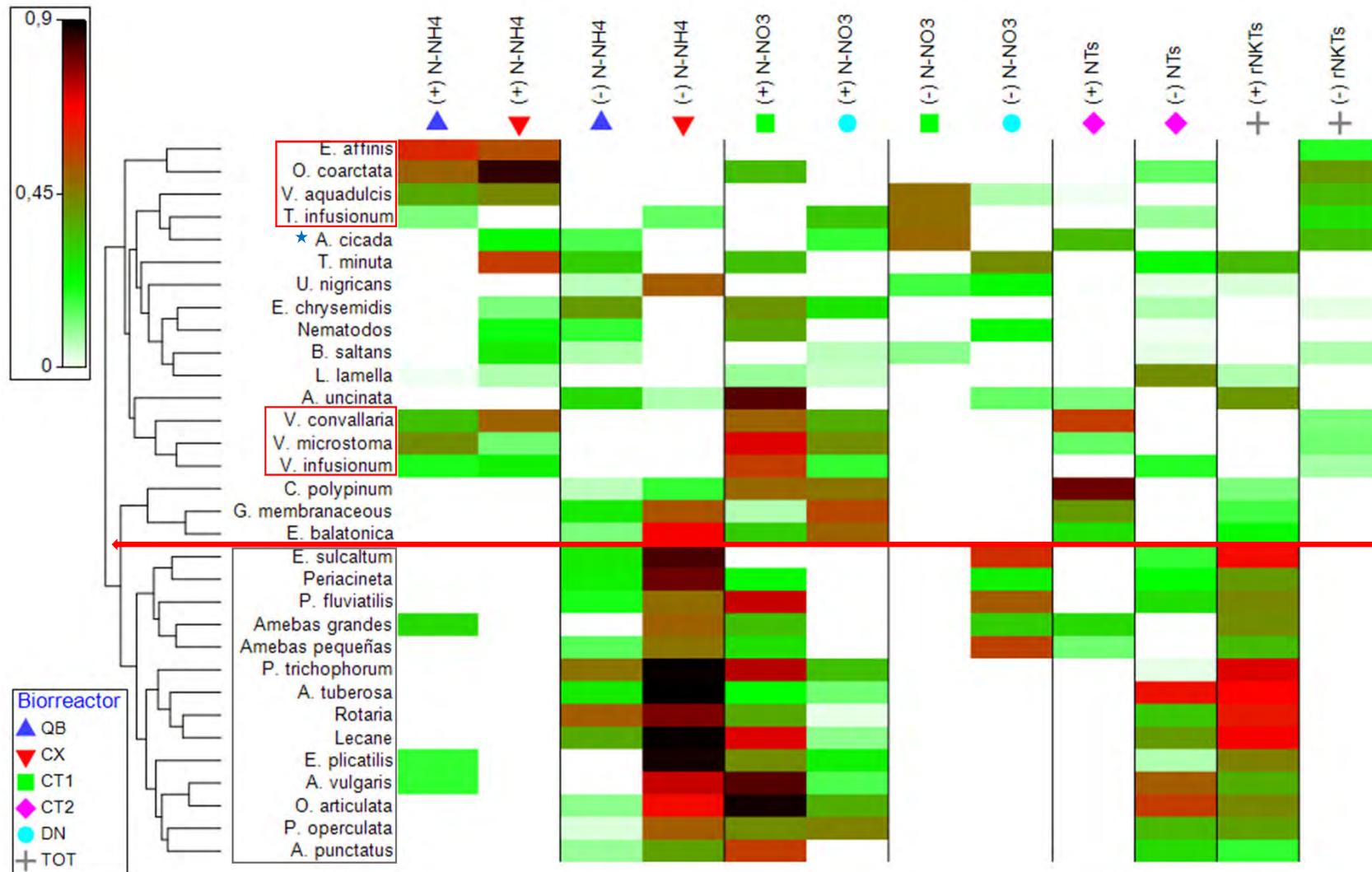


Matriz total (Step-wise / BIC)

Variables	dbRDA1	dbRDA2	dbRDA3
rNKTs	-0,58	-	-
rNTs	-	-	0,620
%N-NO₂⁻	0,40	-	-
N-NO ₃ ⁻	-	0,88	-
N-NH ₄ ⁺	0,37		

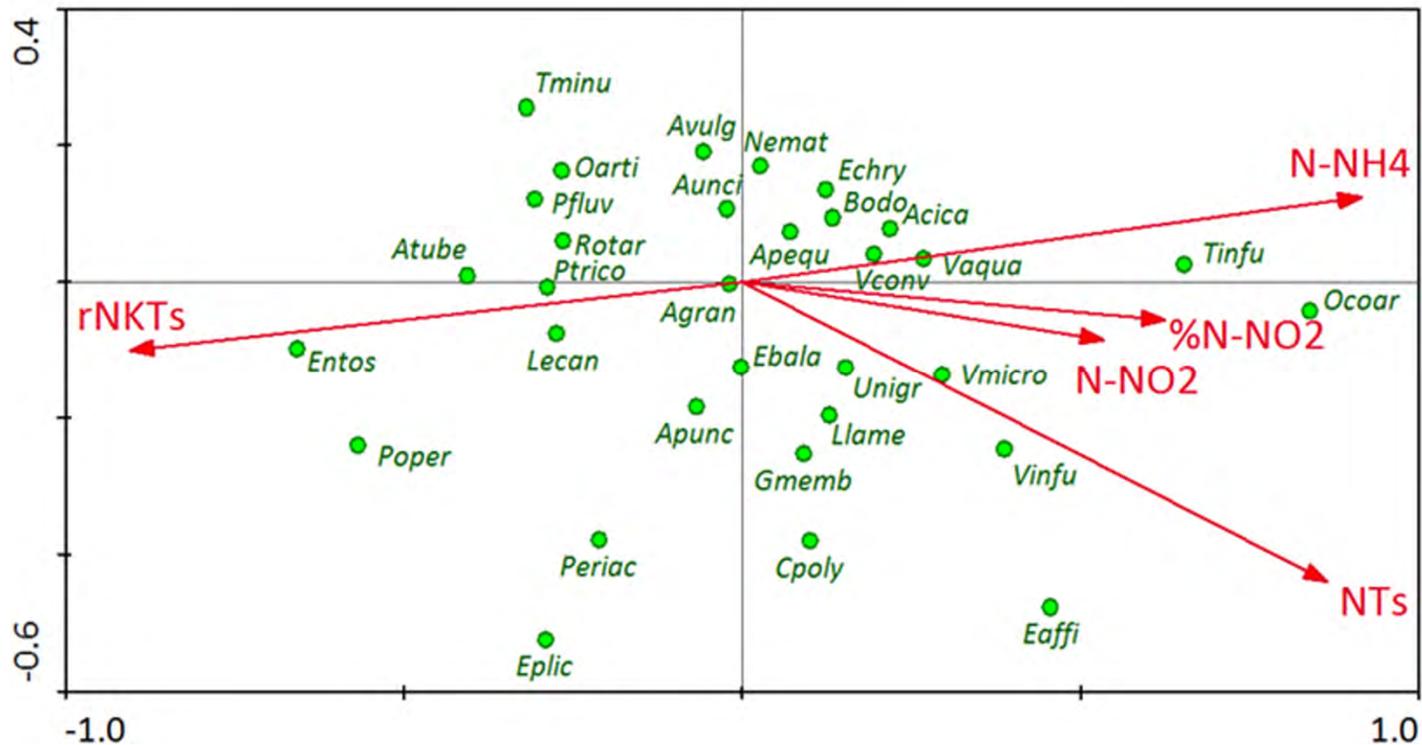


Resumen DISTLM 5 biorreactores y matriz total

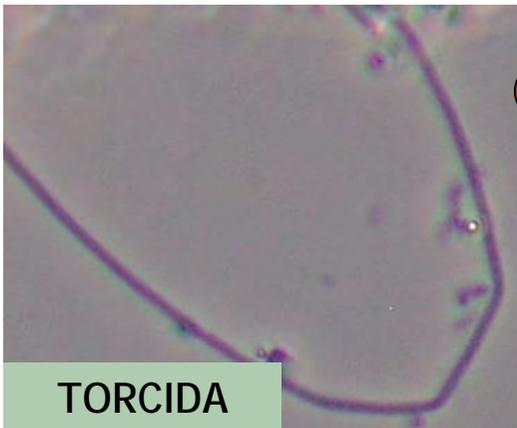
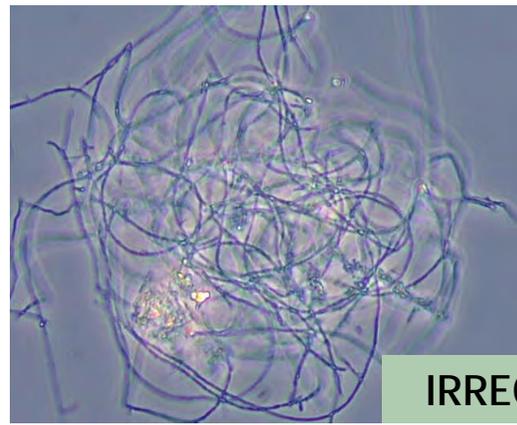
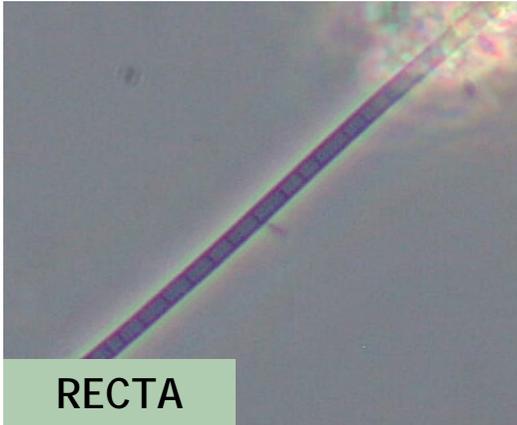


Análisis de correspondencias canónico (CCA)

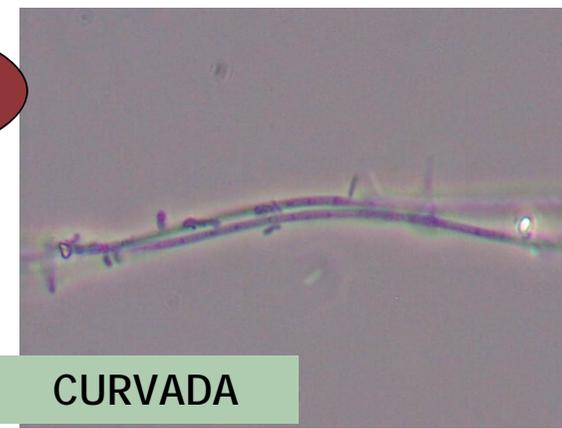
El análisis de correspondencias canónico (CCA) (modelo unimodal) permite determinar el ranking de los protistas bioindicadores de los rendimientos del nitrógeno.



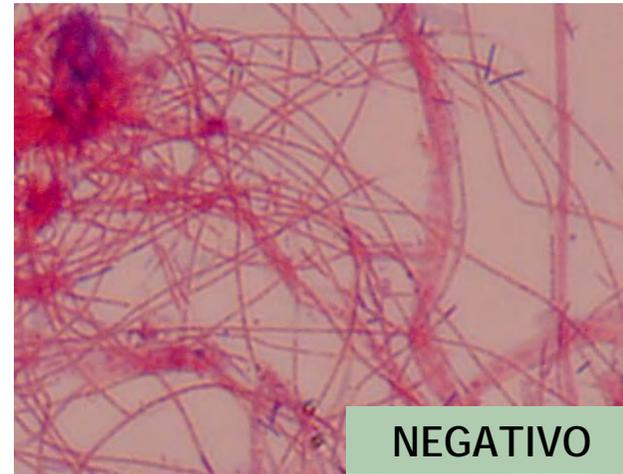
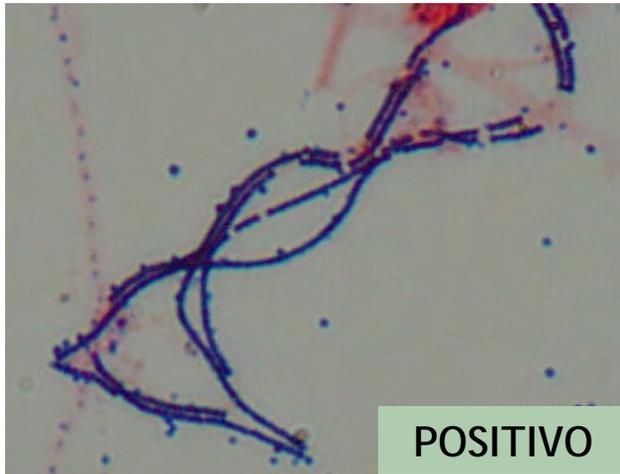
Identificación convencional de bacterias filamentosas



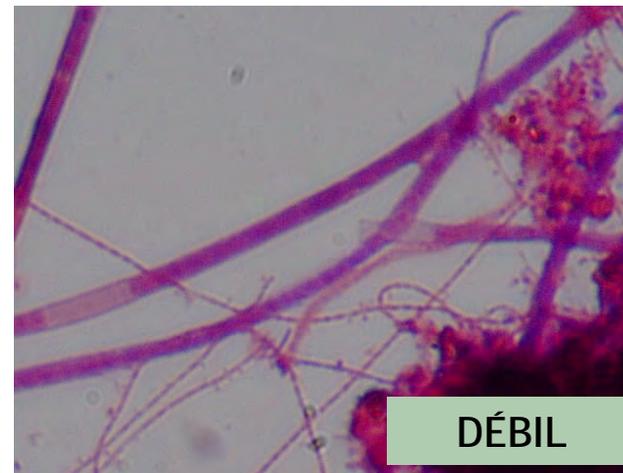
FORMA



Identificación convencional de bacterias filamentosas



tinciones



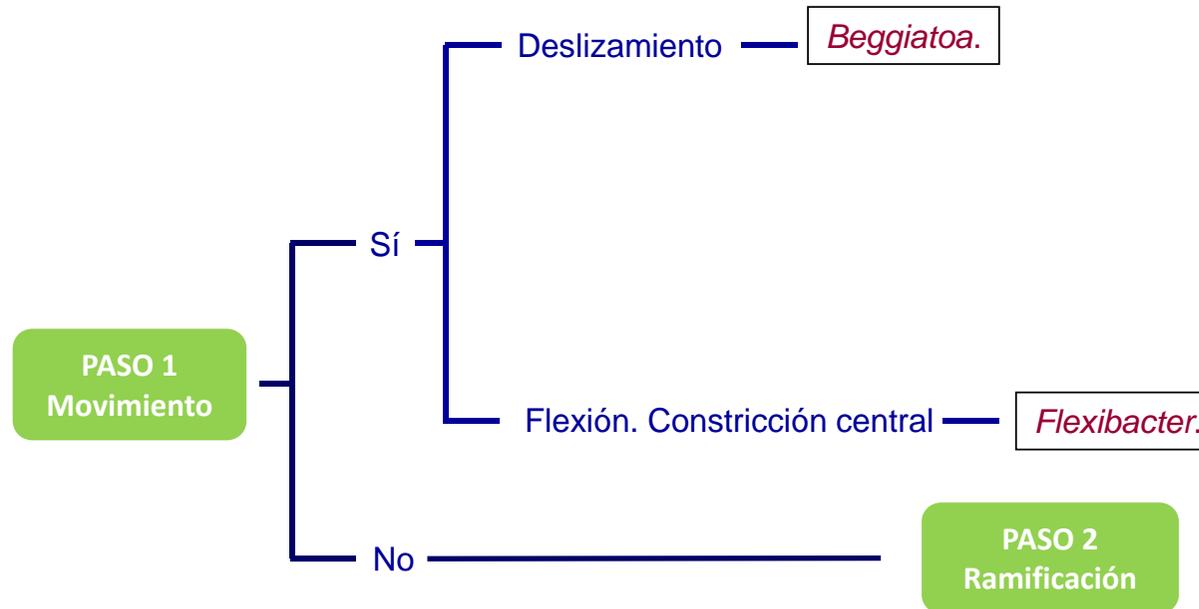
Nuevas claves: “7 pasos hacia delante”



5ª EDICIÓN

27 de abril
de 17:00 a
19:00
(hora Spain)

Nuevas claves: “7 pasos hacia delante”



Nuevas claves: "7 pasos hacia delante"





Organismo: *Gordonia amarae* like organisms (GALO)

1000x. Contraste de fases.

In vivo

YVHR

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y ESTRUCTURALES

FORMA DEL FILAMENTO: Micelial.

LOCALIZACIÓN: En flóculos y libre.

TAMAÑO CELULAR (ancho/largo, μm): 1,0.

GRÁNULOS (AZUFRE y PHB): S - y PHB +.

OTRAS CARACTERÍSTICAS DE INTERÉS (MOVILIDAD, RAMIFICACIONES, CRECIMIENTO ASOCIADO/EPIFÍTICO, VAINA, SEPTOS CELULARES, ASOCIACIÓN ROSETA/GONIDIO): Presencia de ramificaciones verdaderas (continuidad citoplasmática).

CLAVE IDENTIFICATIVA: Presencia de ramificaciones verdaderas cortas en 90°, aproximadamente.

TAMAÑO FILAMENTO (μm): \emptyset 1,0, Longitud 10-100.

FORMA CELULAR: Irregular.

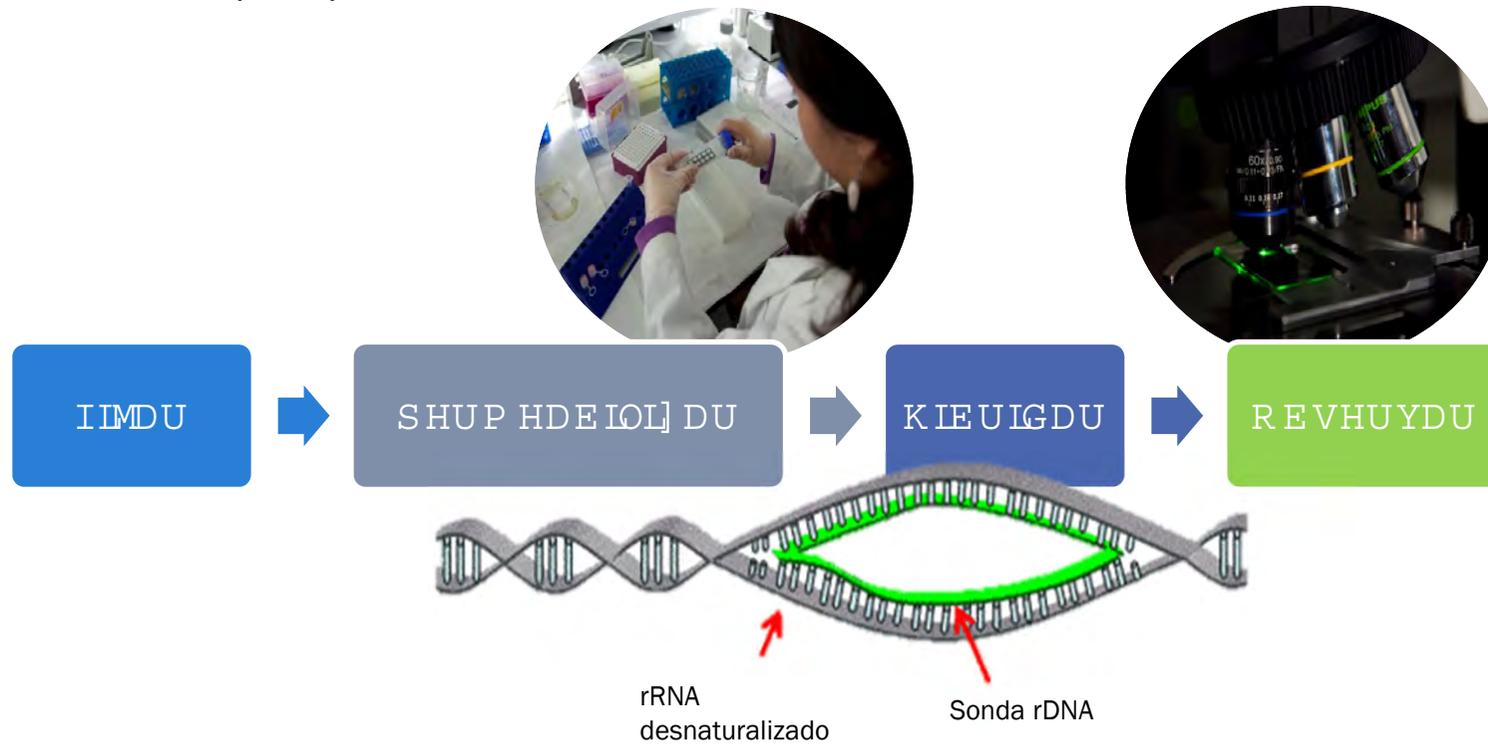
RESPUESTA TINCIONES: G +, N - y gránulos N + (no todas las sp.).

CARACTERÍSTICAS ECOLÓGICAS

PARÁMETROS BIOINDICADORES ASOCIADOS: Aunque las causas de su desarrollo y de la formación de espumas aún no son bien comprendidas, suelen asociarse a: edades de fango elevadas, condiciones de buena aireación (al tratarse de un organismo aerobio estricto), períodos de elevada temperatura y compuestos complejos tales como aceites y grasas en el influente.

La técnica de hibridación in situ (FISH)

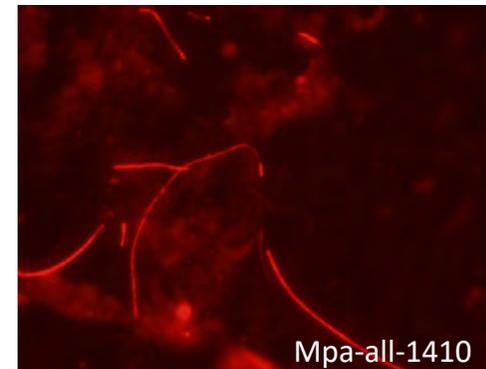
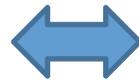
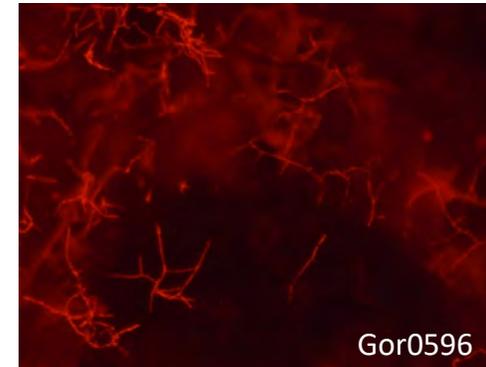
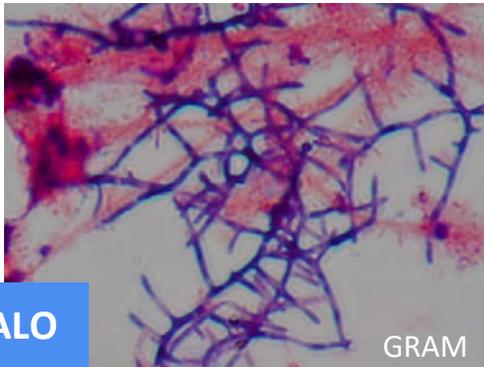
La técnica de hibridación in situ con sondas 16S/23S marcadas con fluoróforos (FISH)



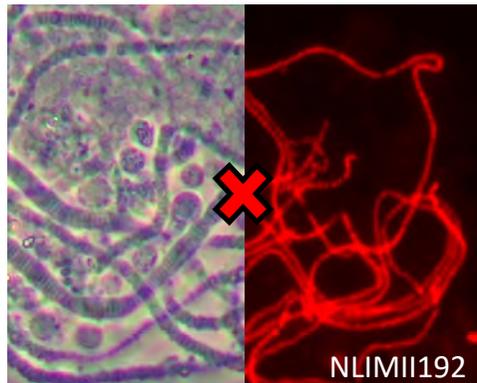
Morfotipo	Sonda	Secuencia (5'-3')	%FA	Especificidad	Abreviatura	Referencia
Thiothrix y 021N	G123T	CCTCCGATCTCTATGCA	40	Thiothrix sp.	G123T	Kanagawa et al. (2000)
Tipo 021N	G1B	TGTGTTCGAGTTTCCTTGC	30	T. disciformis (grupo I)	Tdisci	Kanagawa et al. (2000)
Tipo 021N	G2M	GCACCACCGACCCCTTAG	35	T. eikelboomii (grupo II)	Teikelb	Kanagawa et al. (2000)
Tipo 021N	G3M	CTCAGGGATTCTGCCAT	30	T. flexilis (grupo III)	Tflexi	Kanagawa et al. (2000)
Thiothrix	TNI	CTCCTCTCCCACATTCTA	45	T. nivea, T. unzii	Tniv	Wagner et al. (1994)
Thiothrix	TFR	CTCCTCTCCCACACTCTA	35	T. fructosivorans, 'T. ramosa'	Tfruct	Kim et al. (2002)
Nostocoida limicola I	NlimI91	CGCCACTATCTTCTCAGT	20	Trichococcus sp.	Trichoc	Liu & Seviour (2001)
Nostocoida limicola II	Noli-644	TCCGGTCTCCAGCCACA	35	Ca. 'Alysiosphaera europaea'	Aeurop	Levantesi et al. (2004)
Nostocoida limicola II	MC2-649	CTCTCCCGGACTCGAGCC	35	Ca. 'Monilibacter batavus'	Mbatav	Levantesi et al. (2004)
Nostocoida limicola II	AHW183	CCGACTACTCCACTCGT	35	Nostocoida limicola	NlimII-chl	Schade et al. (2002)
Nostocoida limicola II	Nlim192	AGACTTTCCAGACAGGAG	20	Tetrasphaera japonica	Tjapon	Liu & Seviour (2001)
Nostocoida limicola III	NlimIII301	CCCAGTGTGCCGGGCCAC	20	Isosphaera sp.	Isosph	Liu & Seviour (2001)
Nostocoida limicola III	NlimIII729	AGCATCCAGAACCTCGCT	20	Isosphaera sp.	Isosph	Liu & Seviour (2001)
Nostocoida limicola III	NlimIII830	CCATCGGCGAGCCCCCTA	20	Isosphaera sp.	isosph	Liu & Seviour (2001)
Tipo 0803	Caldi-0678	TTCCACCACTACACCGGG	30	Género Caldilinea	T0803-cal	Kragelund et al. (2011)
Tipo 0803	T0803-0654	ACACC CTCTCACYRCCT	30	Tipo 0803	T0803-D	Kragelund et al. (2011)
Tipo 0803	T0803ind-0642	CTGCCTCAAGCTACTCAG	30	Tipo 0803	T0803-I	Kragelund et al. (2011)
Tipo 0914	CFX67a	TTCCGAAGATCAGGTTTCG	-	Tipo 0914	T0914-a	Speirs et al. (2009)
Tipo 0914	CFX67b	TTCCGAAGATTAGGTTTCG	35	Tipo 0914	T0914-b	Speirs et al. (2009)
Tipo 0092	CFX197	TCCCGGAGCGCCTGAACT	40	Variante A	T0092-A	Speirs et al. (2010)
Tipo 0092	CFX223	GGTGCTGGCTCCTCCCAG	35	Variante B	T0092-B	Speirs et al. (2010)
Microthrix parvicella	MPA645	CCGGACTCTAGTCAGAGC	20	M. parvicella	MPA645	Erhart et al. (1997)
Microthrix parvicella	MPA60	GGATGGCCCGTTCGACT	20	M. parvicella	MPA60	Erhart et al. (1997)
Microthrix parvicella	MPAall-1410	GGTGTTGTCGACTTTCGGCG	35	Microthrix	MPA1410	Levantesi et al. (2006)
Microthrix parvicella	MPA-T1-1260	TTCGCATGACCTCACGGTTT	20	M. calida	Mcalid	Levantesi et al. (2006)
GALO	Gor0596	TGCAGAATTCACAGACGACGC	20	Gordonia sp.	Gord	de los Reyes et al. (1997)
PTLO	Spin1449	CCGCTCCCTCCCAAAAG	35	Skermania piniformis	Sker	Eales et al. (2006)
H. hydrossis	HHY	GCC TAC CTC AAC CTG ATT	20-25	Haliscomenobacter hydrossis	HHY	Wagner et al. (1994a, b)

La técnica de hibridación in situ (FISH)

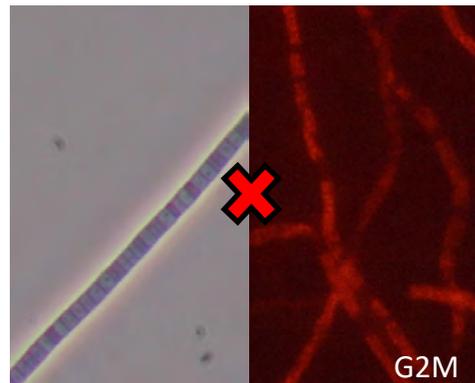
La técnica de hibridación in situ con sondas 16S/23S marcadas con fluoróforos (FISH)



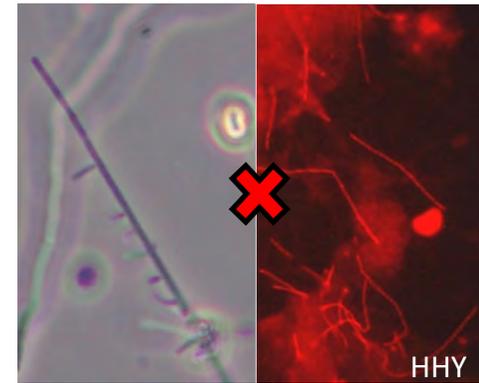
La técnica de hibridación in situ (FISH)



N. limicola



Tipo 021N



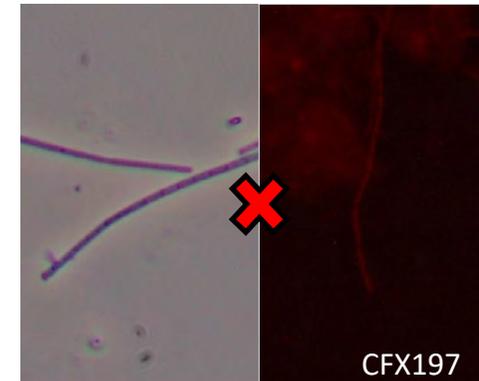
H. hydrossis



Tipo 0914

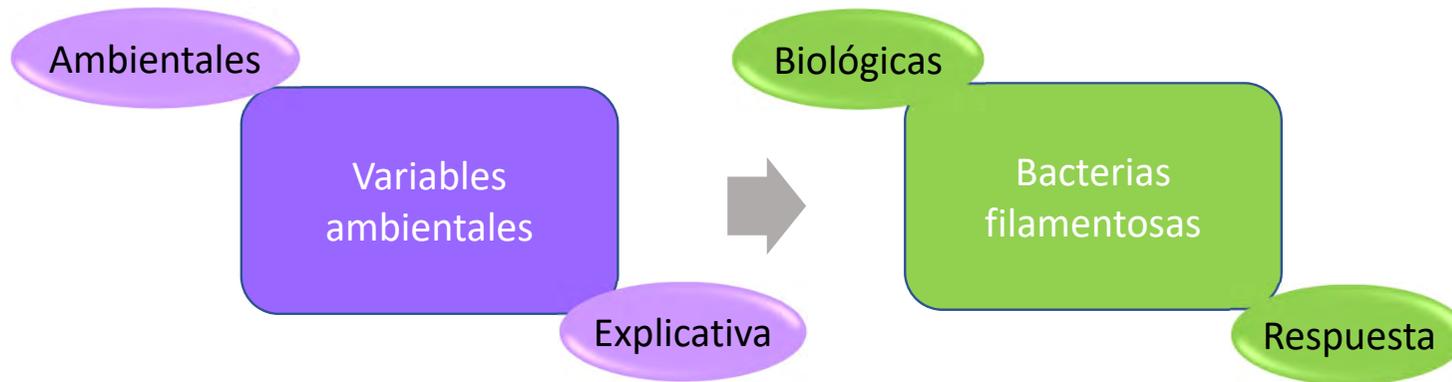


Tipo 0803



Tipo 0092

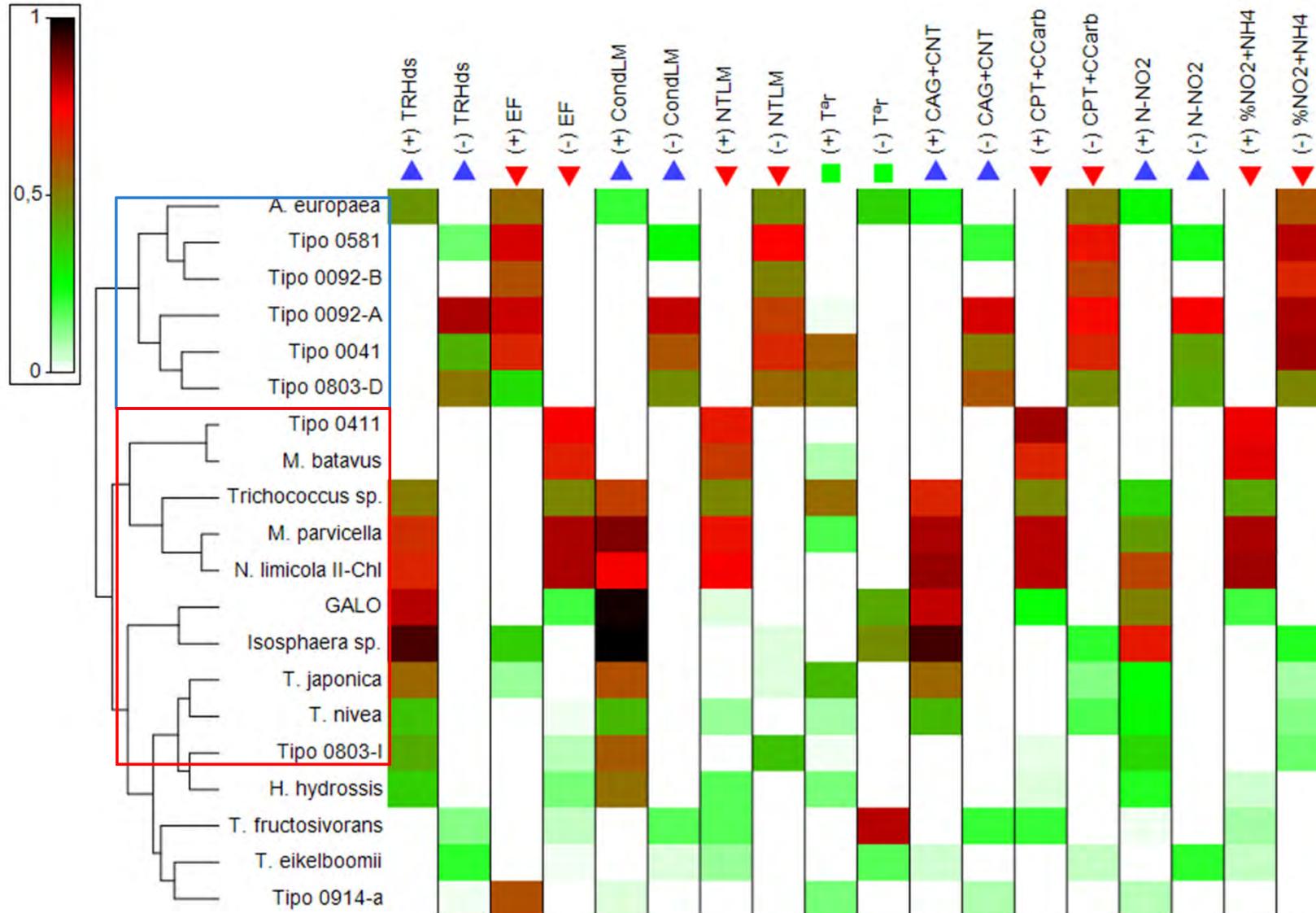
Ecología: modelo de regresión lineal multivariante

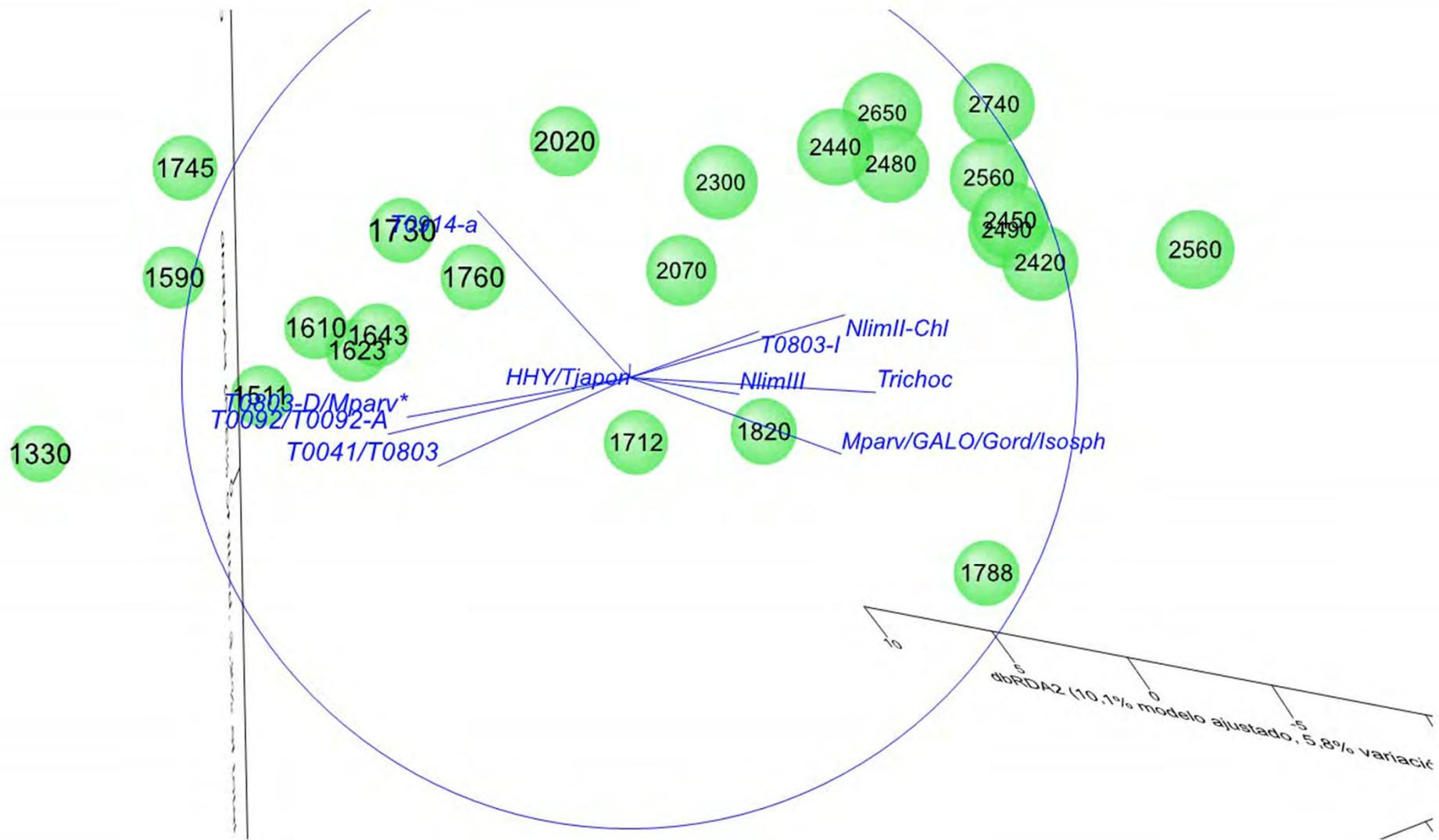


Fenomeno a estudiar:

Filamentos bioindicadores de las variables de planta

Resumen modelos de regresión: 3 biorreactores





Reto 7: elaboración mapa de incidencias filamentosos

Tabla 1.2. Principales estudios realizados en el mundo sobre ocurrencia de bacterias filamentosas en sistemas de fangos activos.		
Región/País	Principales microorganismos filamentosos	Referencias
África		
Sur de África	M. parvicella y tipo 1851, 0041/0675 y 0914	Blackbeard et al. (1986, 1988)
Asia		
Japón	Tipo 021N, NALO, S. natans, tipo 0041/0675 y Thiothrix sp.	Mino (1999)
Thailandia	Tipo 021N, 1701, 0092, 0041/0675 y NALO	Mino (1999)
Europa		
Republica Checa	M. parvicella y tipo 0092	Krhtkova et al. (2002)
Dinamarca	M. parvicella y tipo 0041/0675, 021N, 0092, 0914 y 1851	Kristensen et al. (1994)
Dinamarca, Alemania, Grecia y Países bajos	M. parvicella, N. limicola y tipo 0041/0675, 0092, 0803 y 0914	Eikelboom et al. (1998)
Francia	M. parvicella, N. limicola y tipo 0041/0675 y 0092	Pujol & Canler (1994)
Alemania	M. parvicella y tipo 1701, 0041/0675 y 0092	Kunst & Reins (1994)
Italia	M. parvicella, NALO y tipo 0092 y 0041/0675	Rossetti et al. (1994), Madoni et al. (2000)
Países Bajos	M. parvicella, H. hydrossis y tipo 0092, 021N, 1701 y 0041/0675	Eikelboom (1977, 1994), Kruit et al. (1994)
Reino Unido	M. parvicella, tipo 021N, N. limicola y NALO	Foot (1992), Lavender et al. (2003)
América del Norte		
USA	NALO, M. parvicella y tipo 1701, 021N, 0092 y 0041/0675	Strom & Jenkins (1984), Switzenbaum et al. (1992)
Oceanía		
Australia	M. parvicella, H. hydrossis y tipo 0041/0675 y 0092	Seviour et al. (1994)
América del Sur		
Argentina	Tipo 1701, S. natans, NALO, M. parvicella y tipo 0041/0675	Di Marzio (2002)

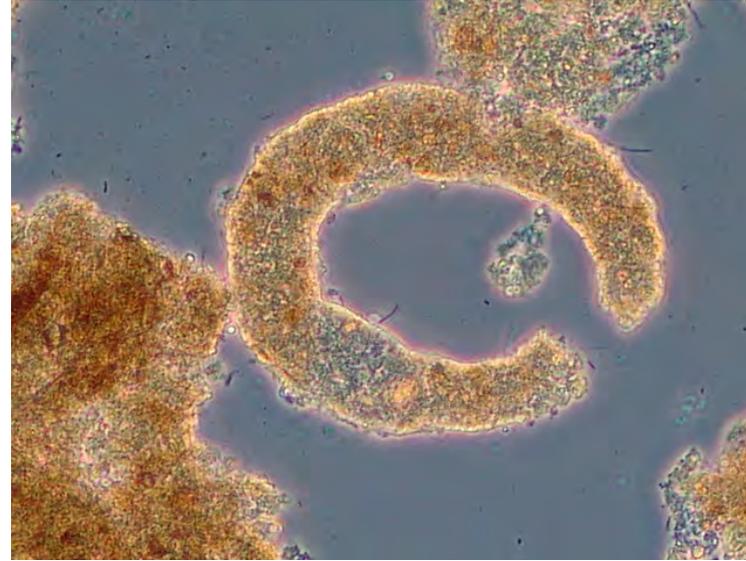
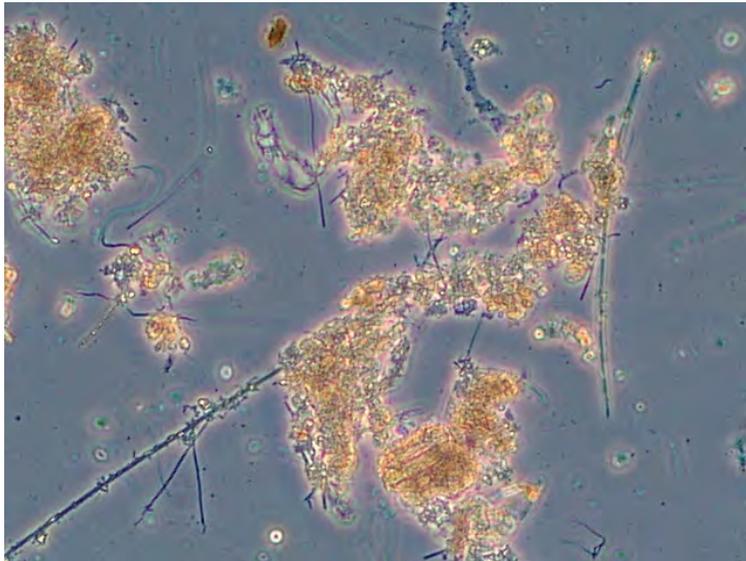
Fuente: Martins et al. (2004).

La nueva era de la microbiología: Metabarcoding

- ✓ Extracción y cuantificación del DNA/RNA
- ✓ PCR + NGS. Primers + plataforma NGS
- ✓ Se centra en una región del gen 16SrRNA
- ✓ Análisis de datos: bioinformática y bioestadística

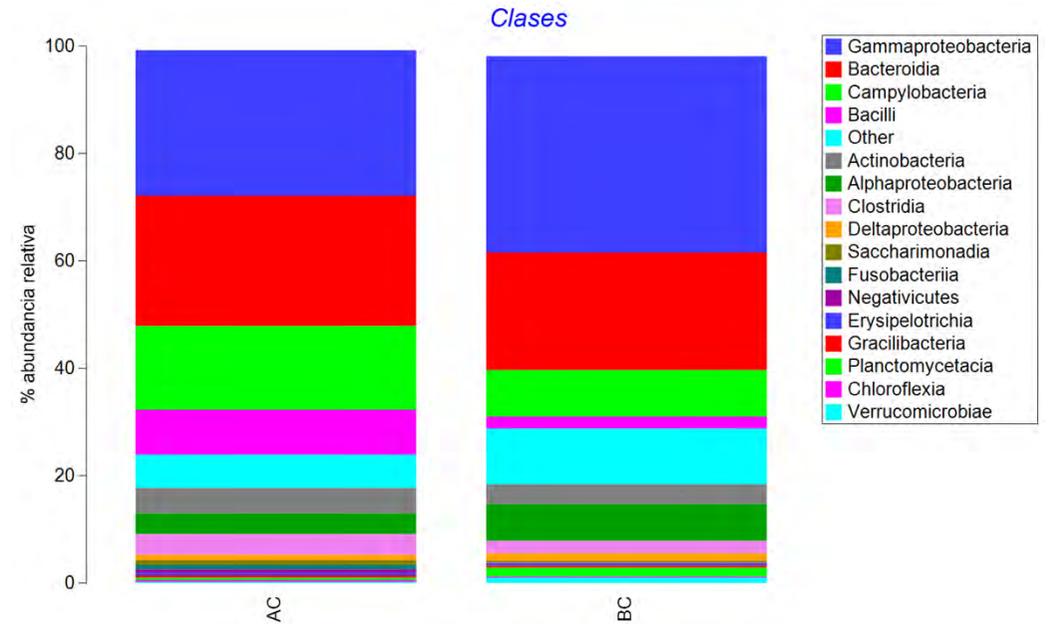
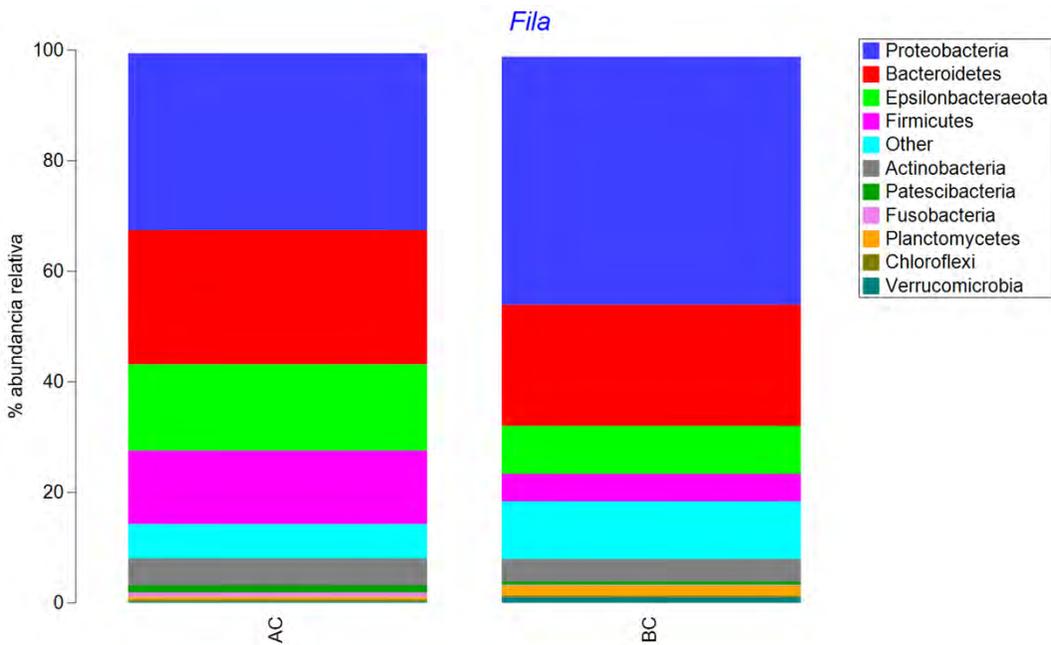
Ejemplo Metabarcoding: filtros percoladores

El objetivo del estudio fue comparar las biopelículas de filtros percoladores de procesos de alta carga y baja carga.



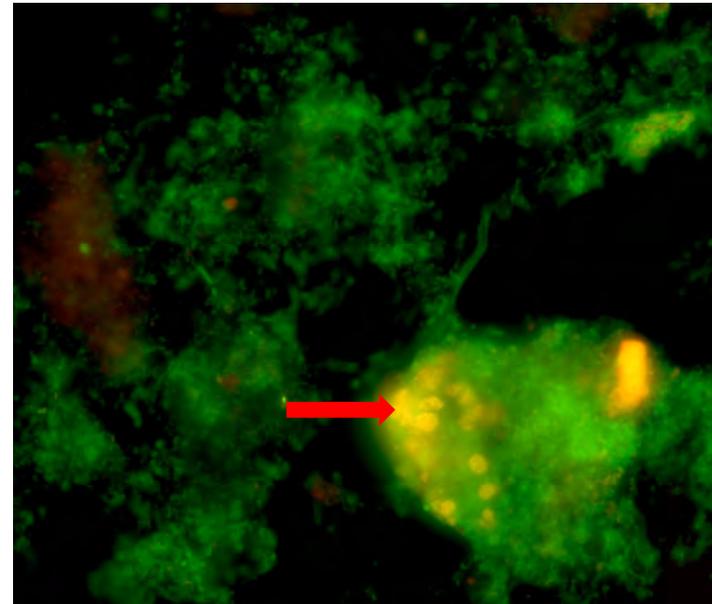
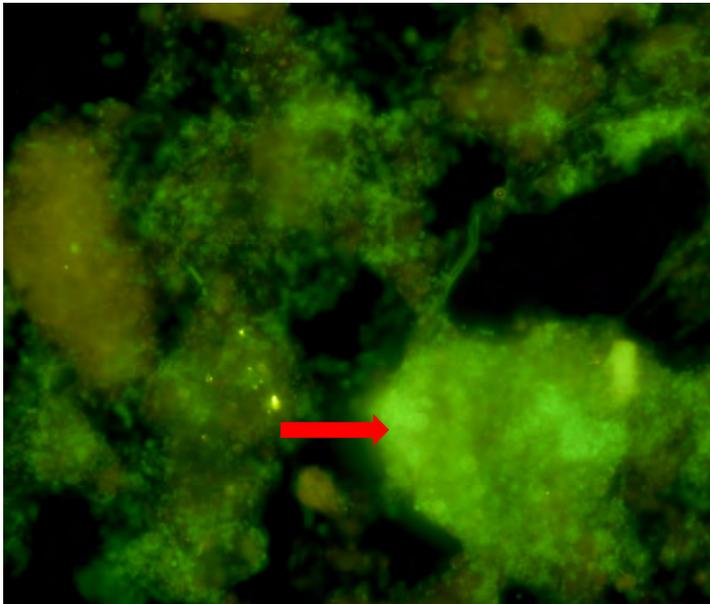
Ejemplo Metabarcoding: filtros percoladores

Se describen las comunidades de bacterias (filo y clases), comparando ambos sistemas.



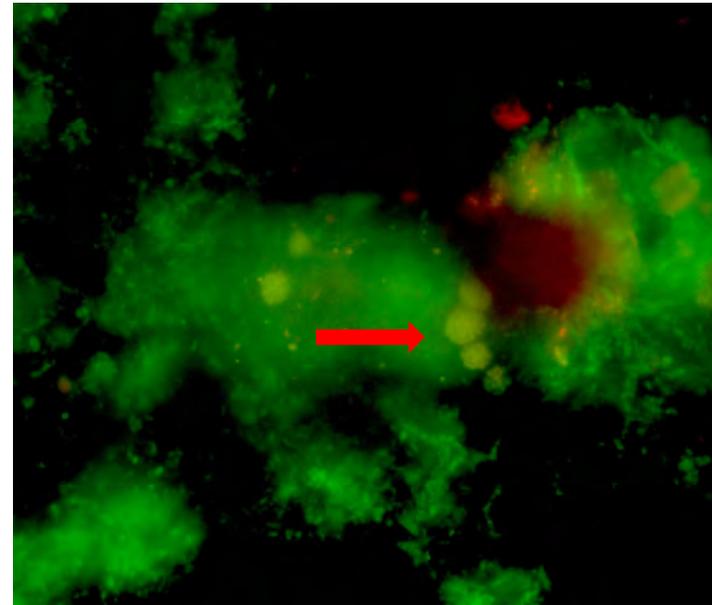
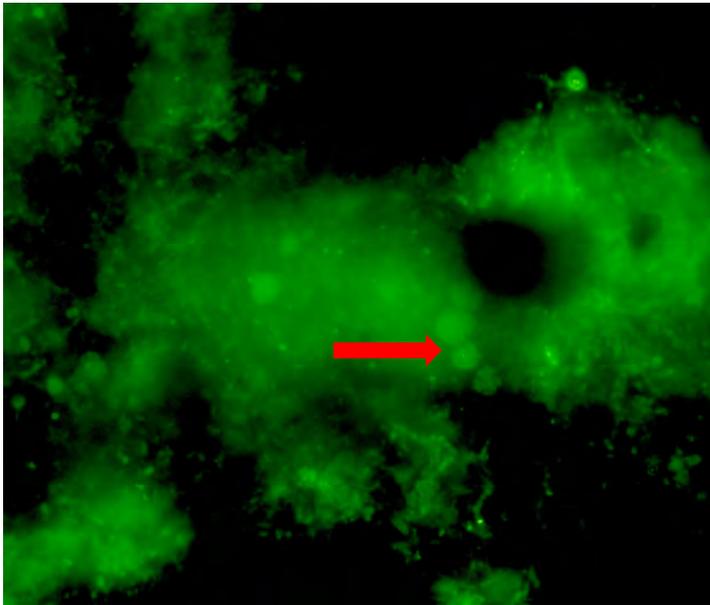
Ejemplo Metabarcoding: filtros percoladores

En primer lugar, se realizó un primer sondeo mediante FISH de las bacterias nitrificantes: *Nitrosomonas* (463, 559, 756, 1118), *Nitrospira* y *Nitrótoxa*. Se compara con el análisis metagenómico, encontrándose baja abundancia en ambos sistemas.



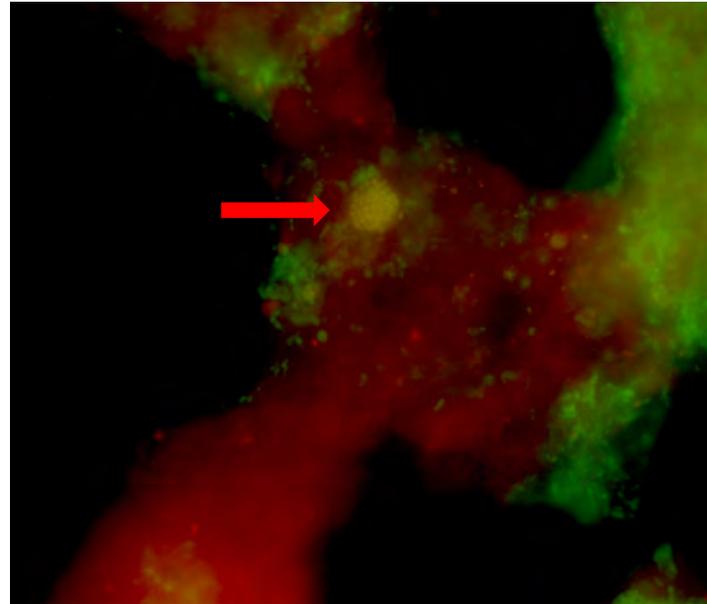
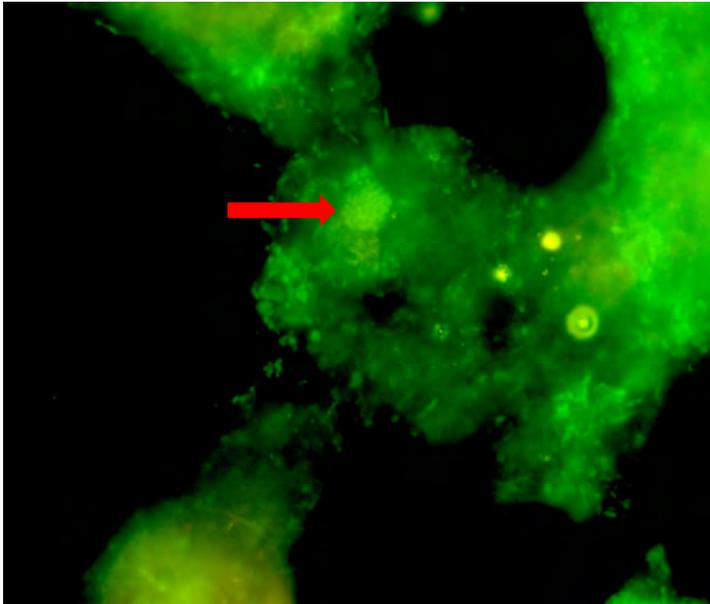
Ejemplo Metabarcoding: filtros percoladores

En primer lugar se realizó un primer sondeo mediante FISH de las bacterias nitrificantes: *Nitrosomonas*, *Nitrospira* (457, 636, 1211) y *Nitrótoga*. Se compara con el análisis metagenómico, encontrándose baja abundancia, siendo mayor en baja carga. Domina *Nitrospira nitrosa* (636).



Ejemplo Metabarcoding: filtros percoladores

En primer lugar se realizó un primer sondeo mediante FISH de las bacterias nitrificantes: *Nitrosomonas*, *Nitrospira* y *Nitrótoqa (1048)*. Se compara con el análisis metagenómico, encontrándose baja abundancia, en ambos sistemas.



Ejemplo Metabarcoding: filtros percoladores

Resultados de la descripción de las comunidades de bacterias (especies), comparando ambos sistemas:

Arcobacter_cryaerophilus: patógeno humano

Bacteroides_graminisolvens: 1 cita en procesos de alta carga

Pseudomonas_mendocina: nueva bacteria publicada en 2021, con alta capacidad de eliminar nitrato por asimilación y reducción simultánea a nitrógeno gas.

Nitrospira nitrosa: bacteria Comamox descrita en 2017

Ejemplo Metabarcoding: filtros percoladores

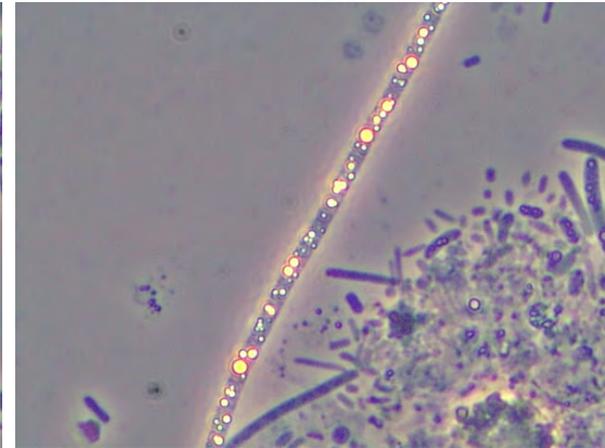
En tercer lugar se asocian los resultados de metagenómica con la identificación convencional de bacterias filamentosas.



Acinetobacter johnsonii (tipo 1863)



Trichococcus pasteurii (N. limicola)

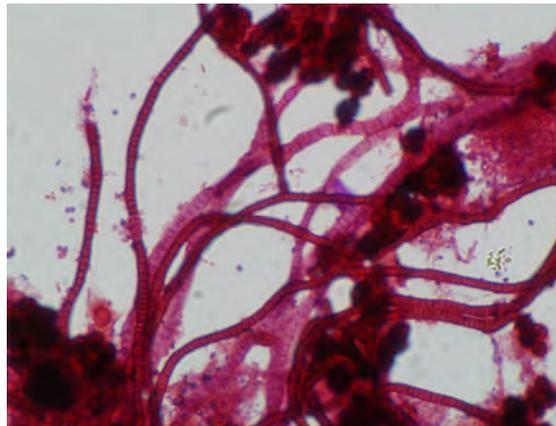


Thiothrix lacustris?



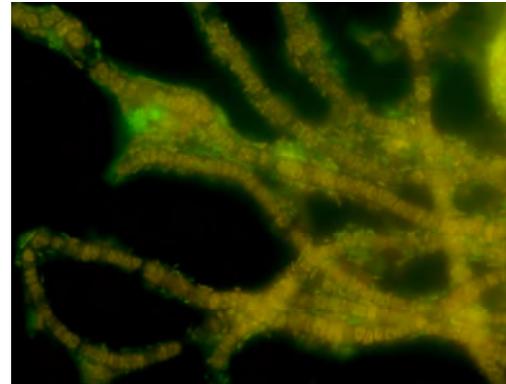
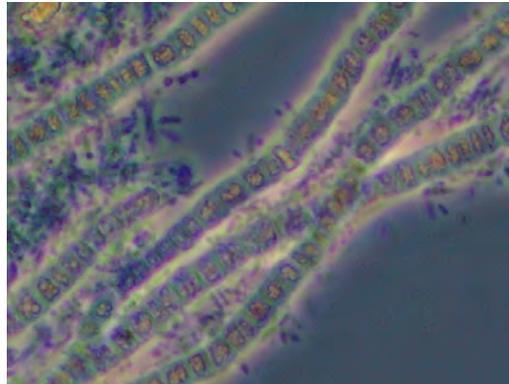
Ejemplo Metabarcoding: *bulking* EDARI

Bulking filamentoso (Nostocoida limícola) que desde hace años afecta gravemente al efluente tratado de una EDARI, con abundantes escapes del manto de fangos en clarificadores secundarios.

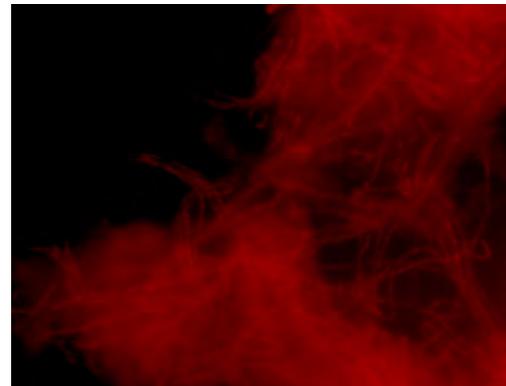


Ejemplo Metabarcoding: *bulking* EDARI

El segundo paso fue la identificación molecular mediante la técnica FISH, identificándose 2 filamentos: *Alfaproteobacteria* y *Chloroflexi*.



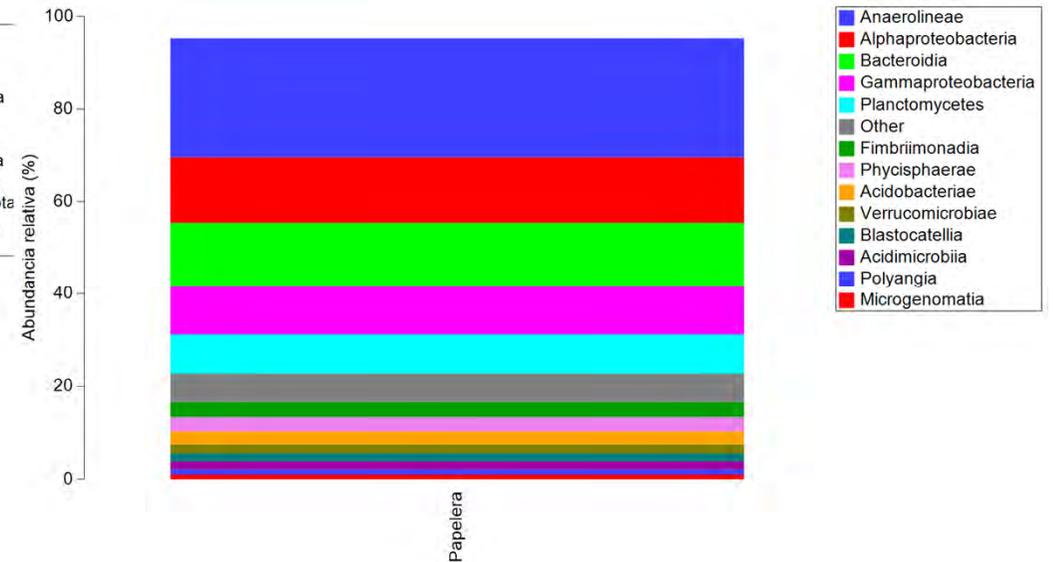
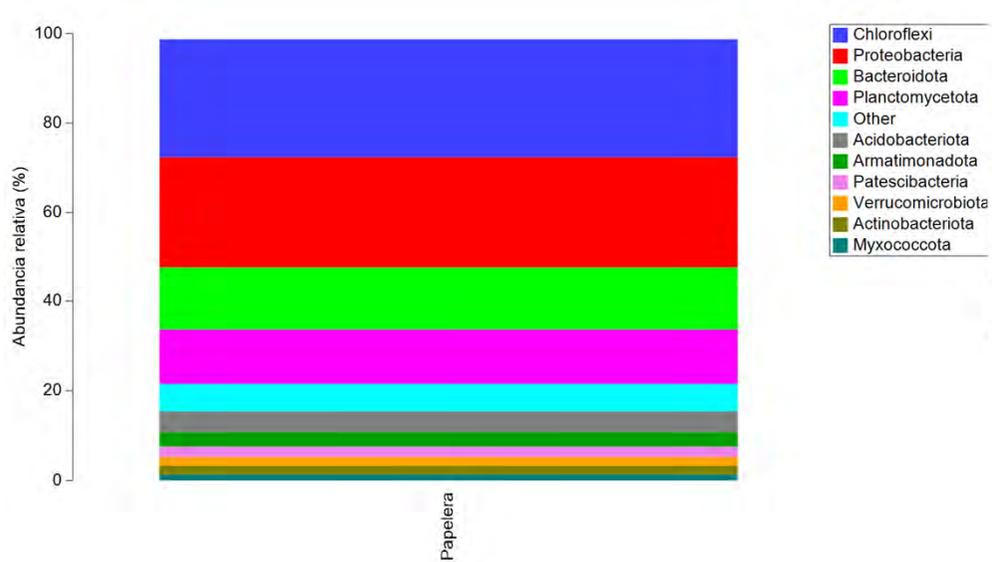
Nostocoida limicola



Tipo 0803

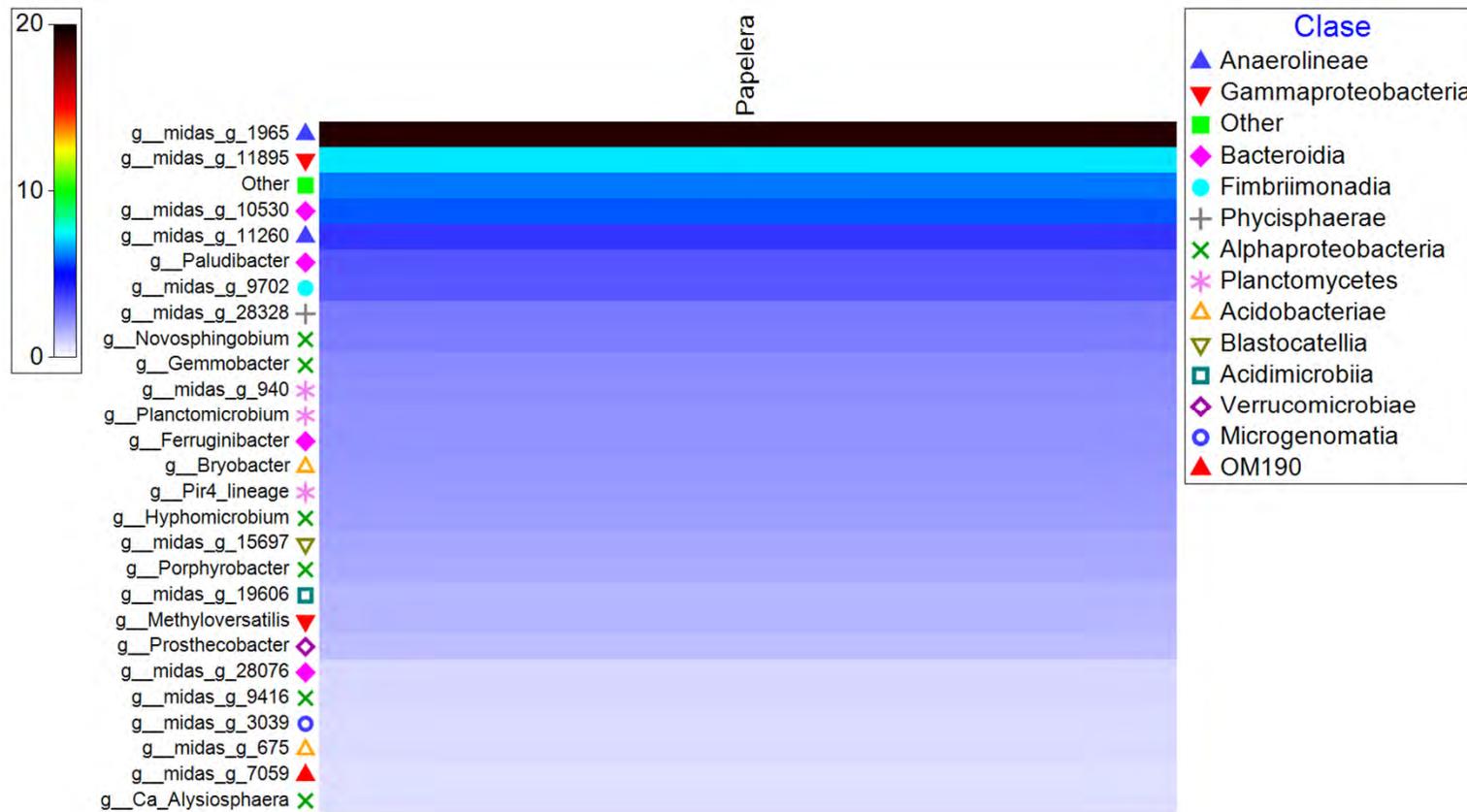
Ejemplo Metabarcoding: *bulking* EDARI

Descripción abundancia relativa a nivel de clase

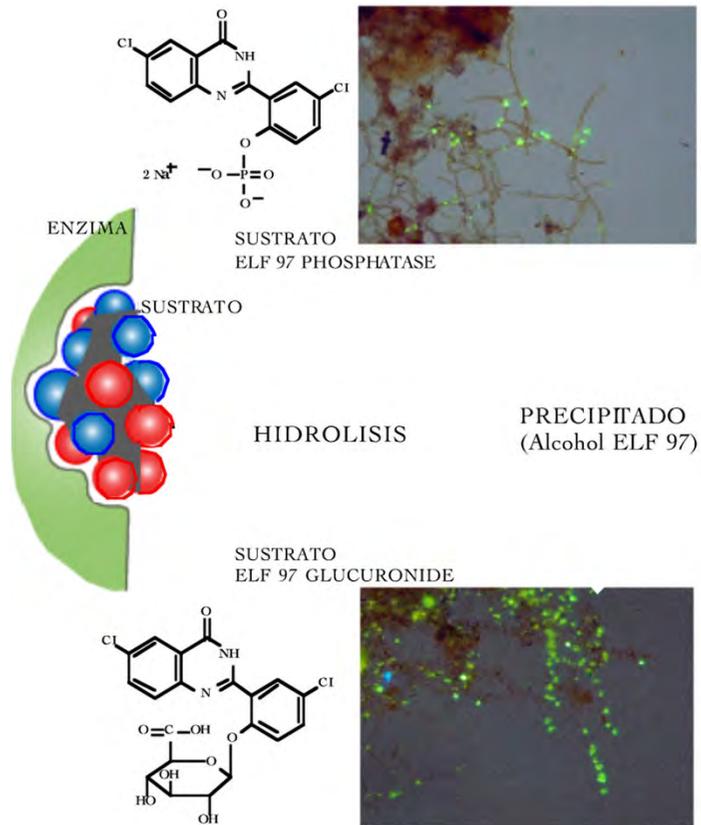


Ejemplo Metabarcoding: *bulking* EDARI

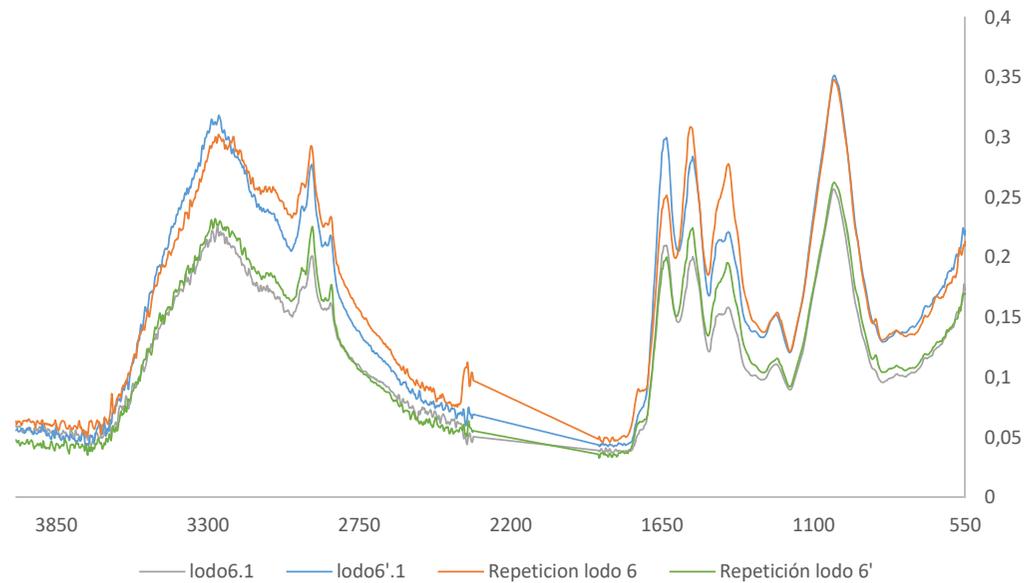
Encontramos dominante a *midas_g_1965* (*Ca. Defluviifilum* “tipo 0803”) y secundario a *Ca. Alysiosphaera*, secuencia aislada (*midas_s_26308*).



Reto 8: otros análisis avanzados



Actividades exoenzimáticas



Espectro infrarrojo del fango

Proteómica

MasterClass
patrocinada por:



**Muchas gracias
por su atención.**

AGUASRESIDUALES INFO



Ciclo de **20**
MasterClass

AGUASRESIDUALES.INFO



Dr. Andrés Zornoza

• h2o@h2cocities.com / www.walebuble.com

- El principal objetivo de WALEBUBLÉ es hacer posible la transferencia de conocimientos científicos y tecnológicos sobre el tratamiento y gestión del recurso agua, gracias a los cursos presenciales, *online* y en *streaming* impartidos por nuestro equipo de investigadores y técnicos especialistas en el campo. El modelo educativo propuesto se basa en una red en continuo crecimiento, donde tanto profesores como alumnos forman parte de sus nodos, interconectados, y donde la tecnología y el conocimiento fluyen de forma bidireccional, potenciando la simbiosis y colaboración entre todas sus partes.