

6
2ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGIA**

**ESTUDIO DE LOS PROTOZOARIOS CILIADOS
PRESENTES EN UN SISTEMA DE TRATAMIENTO
BIOLOGICO DE UN EFLUENTE INDUSTRIAL
PETROQUIMICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

CLAUDIA CECILIA ANAYA HUERTAS

México, D. F.

1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

RESUMEN -----	1
1. INTRODUCCION -----	2
2. GENERALIDADES SOBRE EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES ----	4
2.1 Parámetros importantes en aguas residuales -----	6
2.2 Tratamientos secundarios o biológicos -----	7
2.3 Aguas residuales industriales -----	9
2.4 Principales sistemas de tratamiento biológico para efluentes industriales petroquímicos -----	10
2.5 Microorganismos de importancia en tratamientos biológicos -----	13
2.5.1 Protozoarios -----	16
2.5.2 Los ciliados y su actividad en la depuración de aguas contaminadas -----	19
3. OBJETIVOS -----	27
4. MATERIALES Y METODOS -----	28
4.1 Características estructurales de la laguna de aireación escala laboratorio -----	28
4.2 Características del efluente petroquímico -----	28
4.2.1 Parámetros fisicoquímicos y bioquímicos -----	33
4.3 Observaciones al microscopio -----	33

4.3.1	Elaboración de preparaciones temporales y permanentes	34
4.3.2	Metodología para la cuenta de ciliados, rotíferos y nemátodos	36
4.4	Experimentación en la laguna de aireación	37
4.5	Experimentación con inóculos de diferente origen	37
4.6	Determinación de ciliados	38
5.	RESULTADOS	42
5.1	Comportamiento fisicoquímico de la laguna de aireación	42
5.2	Diversidad y abundancia de ciliados observados en la laguna de aireación	46
5.3	Diversidad y abundancia de ciliados en diferentes inóculos aclimatados	60
5.4	Descripción de los ciliados encontrados	65
6.	DISCUSION	96
6.1	Comportamiento fisicoquímico en la laguna de aireación	96
6.2	Comportamiento biológico	103
6.3	Relación entre los ciliados y los factores fisicoquímicos y bioquímicos evaluados	109
7.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	122

B. BIBLIOGRAFIA -----	125
9. ANEXOS -----	135
9.1 Anexo A	
9.1.1 Demanda química de oxígeno (DQO) -----	136
9.1.2 Demanda bioquímica de oxígeno (DBO ₅) -----	141
9.2 Anexo B	
9.2.1 Cuenta de protozoarios y micrometazoarios -----	145
9.2.2 Preparaciones temporales -----	146
Colorantes vitales -----	146
9.2.3 Preparaciones permanentes -----	147
Técnica de Klein -----	147
Técnica de hematoxilina de Delafield -----	148
Técnica de hematoxilina de Harris -----	149
Técnicas de adhesión -----	149
Técnica de protargol -----	151
9.3 Anexo C	
9.3.1 Ubicación taxonómica de los cilia- encontrados -----	154

RESUMEN

La industria refinadora del petróleo es una de las más grandes consumidoras de agua y generadoras de aguas residuales. La descarga directa de los efluentes líquidos industriales en ríos, lagos u otros cuerpos receptores ocasiona su desequilibrio ecológico.

Una alternativa de prevención y/o solución ha sido la aplicación de sistemas de tratamiento biológicos. En éstos intervienen microorganismos, de ellos los protozoarios, particularmente los ciliados juegan un papel muy importante dada su actividad descontaminadora que es consecuencia del consumo de bacterias, materia orgánica e intervención en el proceso de floculación.

El objetivo de este estudio fue la determinación de la diversidad de ciliados presentes en un efluente petroquímico tratado en una laguna de aireación a escala laboratorio; asimismo el registro de algunos parámetros físicoquímicos con el fin de evaluar el comportamiento del sistema de tratamiento y asociarlos con los ciliados observados.

Se evaluaron los siguientes parámetros físicoquímicos: pH, oxígeno disuelto, temperatura y demanda química de oxígeno (DQO); los bioquímicos: demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), y se observaron al microscopio 35 muestras (febrero-abril, de 1991) del efluente petroquímico tomadas durante la fase experimental en la laguna de aireación.

Durante la fase estable del proceso depurativo en la laguna de aireación, se encontró baja diversidad de ciliados posiblemente por lo restringido del inóculo empleado, ya que al aumentar la diversidad de ciliados en el líquido residual petroquímico, aumentó la sobrevivencia de las especies.

Al establecer la asociación entre los parámetros físicoquímicos y bioquímicos con la presencia de ciliados se observó que los intervalos obtenidos no fueron limitantes para la sobrevivencia de éstos.

A partir de los resultados obtenidos, se permite entrever que es factible el tratamiento biológico de este tipo de efluentes mediante sistemas aerobios.

1. INTRODUCCION

La contaminación del agua constituye un grave y creciente problema que ocasiona importantes situaciones indeseables. Por un lado impide que el hombre utilice ese recurso para la satisfacción de sus necesidades domésticas, agrícolas e industriales; por otro lado ocasiona la alteración del medio líquido en el que se desarrollan comunidades acuáticas. Esta problemática ecológica se debe básicamente a tres fenómenos interrelacionados, que son el aumento demográfico, la urbanización y el desarrollo industrial, (Izurieta, 1984). El agua residual contaminada se origina después de que el ser humano la ha empleado en diversos usos (Murguía, 1981).

En México la generación de aguas contaminadas tanto de origen doméstico como industrial es abundante, aproximadamente 160 metros cúbicos por segundo (información proporcionada directamente por SEDUE, 1991). Actualmente a nivel nacional existen 200 plantas de tratamiento municipal y 60 plantas de tratamiento de efluentes industriales las cuales solamente pueden tratar el 9 % de las aguas residuales generadas (SEDUE, 1991). La refinación del petróleo ocupa el sexto lugar entre las industrias consumidoras de agua y generadoras de aguas residuales. La descarga directa de estas aguas en cuerpos acuáticos y/o terrestres receptores ocasiona el desequilibrio ecológico de los mismos.

El tratamiento de los efluentes líquidos provenientes del

proceso, representa una alternativa de atenuación, dado que pueden ser reusados o bien descargados, con menor concentración de contaminantes. Entre los principales beneficios colaterales se presentan: la disminución del daño al ecosistema, la preservación de la salud del ser humano, incluyendo aspectos estéticos del entorno. Sin embargo, la implantación de los procesos de tratamiento es poco usual, dado, entre otras cosas a que las poblaciones humanas adolecen tanto de la información como del presupuesto para llevarlas a cabo.

Entre los diferentes sistemas de tratamiento de aguas residuales destacan los de tipo biológico, los cuales se emplean principalmente para la transformación de material orgánico biodegradable en sólidos suspendidos separables del agua por sedimentación (Duncan, 1976; Luna-Pabello, 1987; Ramalho, 1991). Como principales ventajas frente a los de tipo fisicoquímico están su menor costo de inversión y operación y la no generación de lodos tóxicos (Stuckey, 1990).

Los sistemas de tratamiento biológico emplean microorganismos para su funcionamiento. Cuando la concentración de contaminantes orgánicos biodegradables es inferior a 1000 mg/L como DBO₅, se recomienda el empleo de procesos biológicos aerobios, los que propician una alta producción de sólidos sedimentables. Dichos sólidos están constituidos por materia orgánica y microorganismos, principalmente bacterias, hongos, protozoarios y micrometazoarios. La importancia de los protozoarios, particularmente la de los ciliados, se debe a su actividad

descontaminadora consecuencia del consumo de bacterias, materia orgánica y a su intervención en el proceso de floculación (Sleigh, 1979).

Al conocer que los ciliados se desarrollan en aguas tratadas de manera biológica aerobia es posible asociar su presencia con algunas condiciones fisicoquímicas y establecer una posterior comparación entre ambos parámetros.

La importancia de esto radica en que es posible utilizar la caracterización ciliatológica al microscopio del agua en tratamiento, de manera más rutinaria que la caracterización fisicoquímica. Con esto se puede mejorar el funcionamiento de las plantas depuradoras mediante una evaluación biológica de bajo costo que rectifique las posibles fallas de operación.

2. GENERALIDADES SOBRE EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

El procedimiento para tratar las aguas residuales depende tanto de su origen como de su composición (López-Mercado, 1985) y el reuso que se le pretenda dar (Duncan, 1976). Los tratamientos pueden agruparse en tres tipos (Eckenfelder, 1985);

1. Primarios. Son tratamientos fisicoquímicos que se orientan principalmente a la remoción de sólidos suspendidos ya sea por cribación, sedimentación, flotación o filtración, eliminando el material de mayor tamaño. En estos tratamientos, se preparan las aguas residuales para recibir un tratamiento posterior tales como el biológico o fisicoquímico.

2. Secundarios. Son procesos biológicos en los que intervienen microorganismos (bacterias, algas, hongos, y protozoarios entre otros), los cuales utilizan la materia orgánica y nutrientes para su reproducción y desarrollo, degradando de esa manera los compuestos orgánicos solubles y transformándolos en nuevas células y metabolitos como bióxido de carbono, agua, nitrógeno, etc. Los sistemas de tratamiento comunmente empleados son lodos activados, filtros percoladores, lagunas de aireación y biodiscos.

3. Terciarios. Están orientados a la remoción de sustancias que no son eliminadas por los tratamientos secundarios convencionales tales como compuestos solubles orgánicos recalcitrantes o inorgánicos, materiales sólidos particulados y microorganismos patógenos (Murguía, 1981).

Este tipo de tratamientos se lleva a cabo para obtener agua de mejor calidad que la obtenida por tratamientos biológicos. Los procesos que generalmente se utilizan son la adsorción, intercambio iónico, la coagulación, cloración y ósmosis inversa, Degremont, 1975).

En la depuración de aguas residuales se aplican los procesos anteriores de manera independiente, es decir, no deben seguir necesariamente la secuencia de tratamiento primario, secundario, y terciario, sino que podrá ser primario y terciario, secundario y terciario y, en fin el arreglo que mejor resuelva el problema particular de contaminación.

Para prevenir, mantener y restaurar el equilibrio ecológico de los ecosistemas es de gran importancia la disminución de contaminantes contenidos en las aguas residuales por medio de estos tratamientos.

2.1 PARAMETROS IMPORTANTES EN AGUAS RESIDUALES

Para llevar a cabo el tratamiento adecuado de los efluentes líquidos es necesario determinar algunas de sus características fisicoquímicas. Dichas características están estrechamente asociadas con el origen de los desechos y afectan directamente al buen funcionamiento de la planta de tratamiento (Durán, 1988).

Desde el punto de vista biológico, resulta fundamental la evaluación de los siguientes parámetros:

a) pH.- Expresa el grado de acidez o alcalinidad de un medio. La acidez es la capacidad de donar protones, la alcalinidad es la habilidad del medio para recibir protones. El tratamiento biológico de líquidos residuales requiere entre otras cosas de aguas neutras o cercanas a la neutralidad debido a que en este intervalo es donde proliferan más especies de microorganismos.

b) Temperatura.- Es una medida indirecta de la cantidad de energía calorífica contenida en el medio. La actividad microbiana incrementa en términos generales de manera proporcional a la temperatura dentro del intervalo entre 5 y 37°C.

c) Demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅). - Es una medida indirecta de la concentración de material biodegradable disuelto y/o suspendido presente en medios líquidos naturales o artificiales. Estima la cantidad de oxígeno que se requiere para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua por medio de una población microbiana heterogénea. De esta manera se conoce la materia orgánica biodegradable presente. Ya que el tiempo necesario para efectuar la oxidación es infinito, se ha encontrado que en cinco días se logra obtener un porcentaje razonablemente alto (70-80%) de la DBO total.

d) Demanda química de oxígeno (DQO). - Es una medida indirecta de la concentración total de materia oxidable presente. En esta prueba se emplean fuertes condiciones de oxidación, evaluando al final de la misma la cantidad de un reactivo oxidante remanente.

2.2 TRATAMIENTOS SECUNDARIOS O BIOLÓGICOS

En cuerpos de agua contaminados con materia orgánica, ocurren procesos depurativos naturales, denominados de autopurificación. Estos procesos fueron suficientes durante mucho tiempo, pero con el desarrollo industrial y el incremento poblacional, se volvieron lentos e insuficientes. Actualmente, mediante plantas de tratamiento, se reproducen con mayor rapidez y en menor espacio los procesos depurativos que ocurren en la naturaleza acelerando la transformación de materia orgánica disuelta a

sólidos suspendidos de fácil sedimentación mediante los microorganismos que en ella proliferan (Winkler, 1986).

Clasificación de los sistemas biológicos

Por metabolismo:

Basándose en la naturaleza del electrón aceptor los tratamientos biológicos pueden ser aerobios o anaerobios. En los primeros, el oxígeno libre está presente y puede servir como el electrón aceptor. En los segundos no hay oxígeno y algunas formas de carbono o de sulfuro sirven como electrones aceptores. El proceso de biodegradación puede representarse con una ecuación simplificada (Eckenfelder, 1989):



Existe además una combinación de sistemas aerobios y anaerobios llamados mixtos. Cada uno de ellos originan distintas formas de crecimiento microbiano las cuales se mencionan a continuación:

Por crecimiento:

Crecimiento en suspensión.- Los microorganismos presentes están suspendidos dentro del líquido formando flóculos de distintos tamaños. Logrando así mayor superficie de contacto para intercambio de gases y sustancias orgánicas e inorgánicas.

Crecimiento adherido.- Los microorganismos responsables de la conversión de la materia orgánica, están unidos a un soporte inerte. El desecho líquido se hace pasar por este conjunto induciendo una serie de reacciones bioquímicas de estabilización en la superficie de dichos sólidos microbianos (Falcon, 1981).

2.3 AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES

Por pequeña que sea una industria en su proceso, produce desechos gaseosos, líquidos y sólidos. Estos residuos representan la adición de nuevos elementos al medio, los cuales modifican su composición creando situaciones adversas para los seres vivos preexistentes. Las aguas más complicadas para tratar son las de origen industrial, en las cuales la cantidad y calidad de sus contaminantes dependen de la industria que las genera.

Los productos de desecho provenientes de los procesos industriales son una parte importante de las aguas residuales producidas por una población. Los desechos pueden contener desde materiales inorgánicos, orgánicos naturales, orgánicos sintéticos, tóxicos, corrosivos, hasta bacterias patógenas (Anaya-Durand, 1991).

Existen muchos procesos para la reutilización del agua industrial. El reuso del agua industrial debe estudiarse en particular ya que hay industrias cuyos efluentes líquidos presentan una elevada concentración de tóxicos y sales, lo cual se traduce en daños (Azad, 1976).

Los efectos del reuso del agua en la industria generalmente son positivos, dado que evita tanto el empleo de nuevos volúmenes de agua, como su pretratamiento para lograr la calidad requerida. Consecuentemente hay por un lado ahorro de agua y por otro se evita el tratamiento del agua proveniente de la fuente de abastecimiento.

Hay industrias que requieren que la calidad del agua sea mejor que la del agua potable (Izurieta, 1984) y por tanto se busca la optimización de su uso, promoviéndose así el empleo de circuitos cerrados de agua.

2.4 PRINCIPALES SISTEMAS DE TRATAMIENTO BIOLÓGICO PARA AFLUENTES INDUSTRIALES PETROQUÍMICOS

El tratamiento biológico ha sido una alternativa de solución para la depuración de aguas residuales de la industria (Ramalho, 1981). La selección del mejor sistema de tratamiento se realiza basándose en las características del agua, los objetivos del tratamiento y en los factores adicionales como las condiciones climáticas, localización de la planta y disponibilidad de área (Stuckey, 1990).

Los tratamientos biológicos de aguas residuales industriales, además de los objetivos mencionados, incluyen la remoción de nutrientes y compuestos orgánicos solubles, así como la reducción de su toxicidad (Eckenfelder, 1989).

La refinación del petróleo es uno de los procesos que

consumen mayores volúmenes de agua potable y que además genera cantidades considerables de aguas residuales. Por lo general el tratamiento primario no es suficiente para que el efluente de un complejo petroquímico pueda descargarse en cualquier cuerpo receptor. Es necesario realizar previamente el tratamiento de estas aguas pudiendo emplearse para tal efecto sistemas biológicos de tipo convencional. Sin embargo, es importante determinar los límites máximos permisibles de contaminantes tolerables por tratamientos secundarios (González, et al., 1980).

En los procesos de refinación se producen aguas amargas que contienen altas concentraciones de compuestos de azufre, cianuro y amoníaco, así como aceites, fenoles, compuestos aromáticos polinucleares, hidrocarburos saturados, insaturados y mezclas de alifáticos-aromáticos (Anaya-Durand, 1991). Entre los principales sistemas biológicos para el tratamiento de efluentes líquidos petroquímicos se encuentran:

Lodos Activados.- Este es el proceso más empleado para el tratamiento de aguas residuales industriales (Winkler, 1986), se utiliza cuando las cargas orgánicas son iguales o inferiores a 1500 mg/L de DBO₅. El proceso consiste en la degradación microbiana (lodo activado) de compuestos orgánicos disueltos bajo condiciones aeróbicas dentro de un reactor biológico. Después del tratamiento, los lodos son separados del efluente tratado por sedimentación y parte de ellos son recirculados al biorreactor, con la finalidad de mantener un inóculo microbiano adecuado en calidad y cantidad (Martínez, 1991).

Lagunas de aireación.- Son estanques de 1 a 3 m de profundidad a los que se les introduce aire por medio de algún mecanismo o dispositivo (aireadores). La cantidad de oxígeno es suficiente para mantener un nivel mínimo de 2 ppm de oxígeno disuelto en todo el volumen de la laguna, así como para promover el mezclado completo que impida la sedimentación de los lodos. A diferencia del tratamiento con lodos activados, los lodos generados no se reciclan y las concentraciones de microorganismos en el bioreactor son bajas. Se utilizan cuando las cargas orgánicas de los efluentes industriales no son muy elevadas (250-500 mg/L de DBO₅). Este sistema es muy usado en el tratamiento de efluentes industriales ya que son más económicos que el sistema de lodos activados (Durán, 1988).

Lagunas de oxidación.- Son estanques menos profundos que los anteriores. En este caso no hay aireación mecánica y por lo tanto la velocidad de oxidación es lenta, por lo que los tiempos de residencia son altos.

Lagunas mixtas o facultativas.- Se llaman así porque hay procesos aerobios en las capas superficiales y anaerobios en el fondo del bioreactor. El oxígeno entra por la difusión del aire y por las algas que se desarrollan de forma notable en la capa superficial de estos sistemas.

Reactores biológicos rotatorios.- Estos sistemas están formados por una serie de cámaras intercomunicadas entre sí por la parte

superior. Cada cámara contiene un conjunto de discos ensamblados a un eje. Aproximadamente el 40 % de la superficie de dichos discos se encuentra sumergida en las aguas de desecho por tratar. El líquido una vez tratado pasa a un sedimentador secundario en donde los lodos de desecho y el agua tratada, se separan por gravedad, (Luna-Pabello, 1991).

2.5 MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA EN TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

Los microorganismos tienen gran capacidad de adaptación a multitud de ecosistemas y condiciones ambientales. Esto les permite metabolizar y degradar gran cantidad de compuestos orgánicos.

La presencia de microorganismos en los sistemas de tratamiento biológico; su relación con el nivel de contaminación por materia orgánica biodegradable y la eficiencia en la purificación ha sido tema de numerosos estudios (Baines, et al., 1953; Barker, 1946; Bick, 1963, 1968, 1971, 1972, 1973, 1976; Cairns, 1969, 1982; Curds, 1966, 1969, 1975, 1983; Curds y Cockburn, 1970 a b; Curds y Vandyke, 1966; Curds et al., 1968; Fernandez-Galiano, 1985; López-Ochoterena, 1965; Luna-Pabello, 1987, 1990; Luna-Pabello et al., 1988, 1991; Madoni, 1981; Madoni et al., 1985; Mohr, 1952; Pike y Curds, 1971, Reynoldson, 1942; Rico-Ferrat y López Ochoterena, 1976 a y b; Rivera et al., 1989; Sládeček, 1973; Wiggins y Alexander, 1988; Yuhei et al., 1989).

En estos trabajos se ha visto que se puede establecer una

relación entre las poblaciones de ciliados y la calidad del agua, analizando la estructura comunitaria y los valores de los parámetros fisicoquímicos.

En consecuencia deben considerarse las ventajas en cuanto a la utilización de microorganismos en estos sistemas ya que son fáciles de coleccionar y de manejar, se pueden obtener grandes muestras sin afectar a la comunidad y puede establecerse una correlación entre la presencia de éstos y las condiciones fisicoquímicas (Cairns et al., 1979).

El proceso de degradación en los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales depende de una sucesión entre diferentes microorganismos de la biocenosis como son bacterias, protozoarios, hongos, algas, rotíferos, nemátodos y algunos crustáceos.

Se ha visto que a medida que la contaminación va disminuyendo ocurren cambios en cuanto a la cantidad de especies presentes y su abundancia relativa. (Ramalho, 1991).

De los microorganismos presentes en los sistemas de tratamiento biológico se hará un breve comentario:

Bacterias.- Son organismos procariontes unicelulares autótrofos y heterótrofos. Se les atribuye el mayor porcentaje de remoción de contaminantes orgánicos disueltos durante el proceso depurativo, generalmente están presentes en grandes cantidades. Han sido utilizadas como indicadores saprobios de aguas contaminadas orgánicamente (Dutka, 1979).

Protozoarios.- Son organismos eucariontes unicelulares autótrofos y heterótrofos . Son denominados los pulidores de las aguas en proceso de recuperación ya que consumen bacterias y materia orgánica (Fenchel, 1980).

Más adelante se ampliará la información sobre este grupo ya que resulta de interés particular para este trabajo.

Algas.- Son organismos eucariontes unicelulares y pluricelulares autótrofos. Se ha observado la presencia de algas en sistemas de tratamiento que cuentan con luz en cantidades adecuadas para su desarrollo, su presencia es importante ya que provee oxígeno a los organismos aeróbicos; sin embargo, los malos olores y sabores que puedan despedir, se vuelven un problema en los sistemas biológicos (Curds y Hawkes, 1975).

Hongos.- Son organismos eucariontes pluricelulares heterótrofos. Se han presentado en algunos sistemas de tratamiento biológico. La capacidad de los hongos para sobrevivir a pH ácidos y condiciones limitantes en cuanto a nitrógeno, los vuelven organismos de importancia para tratar tanto residuos industriales, como componentes de residuos orgánicos (Degremont, 1975).

Rotíferos.- Son organismos eucariontes multicelulares pseudocelomados heterótrofos. Son muy útiles en los tratamientos biológicos aerobios, se alimentan de bacterias dispersas o

floculadas, protozoarios y materia orgánica suspendida. La presencia de estos organismos en un efluente, está asociada un alto contenido de oxígeno en el proceso de purificación y a bajas concentraciones de materia orgánica disuelta (Metcalf y Eddy, 1979).

Nemátodos.- Son organismos eucariontes multicelulares pseudocelomados, heterótrofos, con amplia distribución en medios acuáticos. Ocasionalmente son empleados como indicadores de aptitud en los procesos de depuración ya que tienden a desarrollarse en grandes poblaciones cuando hay una baja carga orgánica. Son más resistentes que los rotíferos, y generalmente indican condiciones limitantes para la vida aerobia (Metcalf y Eddy, 1979)

Crustáceos.- Son organismos eucariontes multicelulares celomados heterótrofos. Casi no se les encuentra en sistemas de tratamiento, pero cuando están presentes es indicio de baja presencia de materia orgánica y alto contenido de oxígeno.

A continuación se ampliará la información sobre el grupo de microorganismos de interés particular para este trabajo.

2.5.1 Protozoarios

Este tipo de microorganismos que pertenecen al reino Protoctista (Margulis y Schwartz, 1981) o Protista

(Corliss, 1984) y al Subreino Protozoa (Lee et al., 1985) o Protista (Fernández-Galiano, 1990). Son eucariontes unicelulares, poseen una estructura celular típica, su tamaño varía de unos cuantos micrómetros hasta varios milímetros.

Son acuáticos (marinos, salobres y agua dulce), edafícolas y otros viven en tejidos de organismos con alto contenido acuoso. Muchos viven como individuos solitarios y otros tantos forman colonias.

Presentan una destacada diversidad en organización celular y ciclo de vida, algunos son autótrofos y otros heterótrofos.

Los protozoarios se reproducen asexualmente y varios de ellos también sexualmente (Meglitsch, 1978), en particular los ciliados presentan procesos sexuales (conjugación, autogamia o citogamia), (Sleigh, 1979).

Para su desplazamiento ocupan tres tipos de organoides locomotores pudiendo ser pseudópodos, flagelos o cilios.

Importancia de los protozoarios en sistemas de tratamiento biológico

Los protozoarios desempeñan un papel muy importante en el tratamiento de efluentes. Forman parte de la cadena trófica de manera significativa a lo largo del proceso de degradación de la materia orgánica existente tanto en cuerpos de agua natural como en los sometidos a tratamientos biológicos (Luna-Pabello, et al., 1991).

Para el desarrollo de las especies debe considerarse la disponibilidad de alimento, la competencia, la relación depredador-presa y los factores ambientales abióticos (Bick, 1973).

Hay protozoarios que están adheridos en los flóculos (masas o grumos microbianos) y se alimentan de bacterias dispersas, otros nadan libremente en el líquido y de igual forma consumen las bacterias y materia orgánica, por ello se dice que actúan como pulidores de los efluentes (Metcalf, 1979).

Algunos protozoarios engloban fragmentos de detritos y otros son capaces de tomar la materia orgánica y utilizarla como fuente de energía (Mayory, et al., 1983). Presentan competencia por el aprovechamiento de materia orgánica con organismos como bacterias, hongos y otros protozoarios.

Uno de los efectos más importantes de los protozoarios es la remoción de bacterias dispersas, las que no serían separables de las aguas residuales por asentamiento. Por otro lado se ha visto que los protozoarios inciden de manera directa sobre la mineralización de los compuestos orgánicos, es decir que propician la estabilidad del material contaminante lo cual reduce la interacción de éste con el ambiente (Wiggins y Alexander, 1988).

La presencia de protozoarios se considera como signo de un efluente poco contaminado.

Se han hecho experimentos en los que se ve que las aguas contaminadas orgánicamente libres de protozoarios y con grandes

cantidades de bacterias dispersas, son de mala calidad. Sus características fisicoquímicas mejoran notablemente poco tiempo después de la inoculación de dichas aguas con cultivos de protozoarios. Esto se debe a que estos realizan depredación bacteriana y flocculan la materia orgánica disuelta (Curds, 1977; Watson, 1945).

En muestreos realizados en plantas de tratamiento, se han encontrado diversos grupos de protozoarios, sobre todo flagelados, amebas y ciliados, estos últimos suelen ser los dominantes en los sistemas de tratamiento biológico (Pike y Curds, 1971).

Dado el papel preponderante de los ciliados, a continuación se dará una descripción detallada de los mismos, así como de su importancia en sistemas de tratamiento biológico.

2.5.2 Los ciliados y su actividad en la depuración de aguas contaminadas

Los ciliados del latín *cillium*, pestaña, del griego *pherein*, llevar, pertenecen al Reino Protista, Haeckel, 1866, Subreino Protozoa Golfuss, 1818 emd. von Siebold, 1845 y constituyen el phylum Ciliophora, Doflein, 1901. Se divide en 3 subphyla, 8 clases, 15 subclases, 45 órdenes, 30 subórdenes, 214 familias y se han descrito aproximadamente 8000 especies.

Son heterótrofos y con pocas excepciones son todos unicelulares (Margulis y Schwartz, 1981). El tamaño de los ciliados varía de

10 μm a 4 mm; siendo formas predominantes la esférica, ovoide o alargada. Se caracterizan por la presencia de cilios simples u organoides ciliares compuestos, cuando menos en un estado de su ciclo de vida. En algunos casos los cilios se han modificado y realizan especializadas funciones locomotoras, alimenticias y de adhesión. La modificación más frecuente es la agrupación de los cilios en haces (cirros) o láminas (membranelas) (Piatkin, et al., 1981).

Son heterocariotes ya que el aparato nuclear está formado por un macronúcleo y un micronúcleo, cuyo número puede ser uno o más en ambos casos; el macronúcleo regula el metabolismo del ciliado, mientras que el micronúcleo está involucrado en su genética y la recombinación sexual.

Es frecuente la presencia de algunos organoides como las vacuolas contráctiles o vesículas de expulsión del agua; el citoprocto o citopigio por donde se descargan los materiales indigeribles y varios tipos de extrusomas (organoides de expulsión) como los mucocistos, tricocistos, toxicistos, etc., que se encuentran debajo de la película.

Su alimentación tiene una amplia variación, siendo bacteriófagos, alguóvoros, fungívoros, herbívoros, carnívoros, omnívoros y consumidores de materia orgánica.

Varios ciliados presentan ciclos de vida polimórficos y muchos pueden formar quistes de diferentes tipos (Aladro, et al., 1990).

Los ciliados son los protozoarios más ampliamente estudiados

desde el punto de vista de contaminación de cuerpos de aguas, tanto naturales como artificiales, particularmente aguas residuales en drenajes domésticos, aguas negras sin tratar y en sistemas de tratamiento biológico (Luna-Pabello, 1990).

El papel de los ciliados desde el punto de vista depurativo se debe por un lado a que se alimentan a base de bacterias y materia orgánica, y por el otro a que intervienen en la formación de flóculos microbianos.

La actividad ciliar de estos microorganismos, produce corrientes de agua que estimulan la microaireación y transfieren materiales entre el flóculo y el líquido (Curi, 1980).

Los ciliados nadadores se mueven rápidamente a través del líquido, consumiendo y metabolizando bacterias y materia orgánica particulada tan rápido como pueden, mientras que los ciliados adheridos se unen a los flóculos por medio de un pedúnculo (Reynoldson, 1942), éstos son solitarios o forman colonias.

Los ciliados son los microorganismos más frecuentemente utilizados en cuanto a la evaluación biológica de los sistemas de tratamiento y autopurificación de corrientes (Falcon, 1981), lo cual se debe a las ventajas que presentan frente a otros grupos, dadas sus características intrínsecas como son tamaño, amplia distribución en medios líquidos, relativa facilidad para su determinación específica, etc. (Cairns, 1969). La presencia y abundancia de estos microorganismos es inversamente proporcional a los niveles de carga orgánica. La clarificación de los efluentes y consecuentemente su calidad es mejor definitivamente

cuando los ciliados predominan (Curds, y Cockburn, 1970 a). En cambio cuando las plantas de tratamiento biológico producen efluentes turbios, se ha visto que la presencia de bacterias es alta y la de ciliados baja. Consecuentemente el inocular ciliados y/o propiciar su proliferación en sistemas de tratamiento biológico, aumenta la calidad del efluente (Curds, et al., 1968).

El cambio de la calidad del agua en tratamiento, por ejemplo, la disminución de la carga orgánica, propicia cambios en cuanto a la población de ciliados (Curds y Cockburn, 1970 b).

De acuerdo a su tolerancia ambiental y su actividad los ciliados pueden considerarse como a) depuradores, cuando estos consumen bacterias y materia orgánica abundantemente en intervalos ambientales amplios y b) cuando son altamente sensibles a variaciones del medio líquido, como indicadores de la calidad del agua (Baines et al., 1953).

El hecho de que predomine una determinada especie de ciliado da la idea del grado de adaptación de éste al efluente, la calidad de oxigenación, la presencia de tóxicos, etc. (Mohr, 1952).

Por ejemplo, una desaparición repentina de ciliados puede ser por agotamiento de oxígeno disuelto o por la presencia de alguna sustancia tóxica, lo cual sería reflejo de la calidad que tiene el efluente respecto a un parámetro determinado.

El estudiar las poblaciones de ciliados y su asociación con algunos parámetros fisicoquímicos hace posible que al conjuntarlos puedan, de existir una correlación, minimizarse los

análisis químicos de rutina realizando con mayor frecuencia las observaciones al microscopio de muestras de aguas residuales en tratamiento y de acuerdo con la población encontrada poder saber de manera aproximada, las condiciones fisicoquímicas en que se encuentra el efluente y la posibilidad, dado el caso, de mejorar la calidad del mismo, modificando, alguna variable de operación.

Factores fisicoquímicos que determinan la presencia de los protozoarios en los sistemas de tratamiento

La influencia de determinados parámetros fisicoquímicos, así como de las condiciones locales, por ejemplo la naturaleza química del lodo, tipo de medio, drenaje local, etcétera, se refleja en variaciones cualitativas y cuantitativas de los microorganismos (Barker, 1946). Por ello, es importante conocer qué factores afectan directamente la presencia de los protozoarios, a continuación se enuncian algunos de ellos.

a) pH. El pH es un factor importante, debido a que las enzimas son sensibles a los cambios bruscos, llegando incluso a inactivarse. La mayoría de los protozoarios toleran un pH entre 6 y 8 unidades. El pH de las aguas residuales domésticas, industriales o mixtas, debe ajustarse de manera previa a su incorporación en sistemas de tratamiento biológico (Degremont, 1975).

b) Temperatura. Este parámetro influye en los procesos de crecimiento dado que de manera general, la rapidez de las reacciones químicas y bioquímicas es afectada por la temperatura (Stout, 1980).

Los protozoarios presentan diferentes intervalos de tolerancia térmica, los cuales dependen de la especie en estudio. En los sistemas de tratamiento biológico los organismos son generalmente mesófilos (20 a 40°C) dependiendo de la especie y por supuesto de la temperatura a la que se desarrollen. En climas fríos, la baja temperatura, permite por un lado, una mayor concentración de oxígeno disuelto, disminuyendo por otro la tasa de crecimiento microbiano, esto significa que habrá un bajo consumo de materia orgánica disuelta y consecuentemente una menor depuración. Cuando la temperatura se incrementa se invierten los efectos anteriores, es decir, que mientras la tasa metabólica aumenta al doble cada 10°C, los niveles de oxígeno disminuyen (Moreno, 1985). De acuerdo con Kudo (1969) la temperatura óptima para la vida de los protozoarios, es de 16 a 25 °C.

c) Oxígeno disuelto. El oxígeno disuelto está reconocido como uno de los factores más importantes que determinan la presencia o ausencia de los protozoarios (Curda, et al., 1968).

La mayoría de los protozoarios requieren de oxígeno disuelto para sobrevivir de manera activa. Existen pocas especies anaerobias y un gran número que son de tipo facultativas, pero la cantidad de especies aerobias obligadas es enorme (Degremont, 1975).

En general, los sistemas de tratamiento biológico aerobios requieren una concentración de oxígeno disuelto de 2 o más mg/L. Sin embargo, muchos protozoarios son microaerofílicos, es decir toleran bajas concentraciones de oxígeno, cercanas a 1 mg/L (Kemmer y Mc Callion, 1979).

El oxígeno atmosférico es transferido y disuelto en el agua por procesos mecánicos. La turbulencia es esencial para poner en contacto al agua con el flóculo y favorecer el intercambio gaseoso aire-agua. La cantidad de oxígeno disuelto en el agua como se mencionó anteriormente varía con la temperatura, también influye la cantidad de sólidos contenidos en la misma. La cantidad desciende desde 14 mg/L a 0°C hasta 7.5 mg/L a 30°C. La velocidad del metabolismo de los microorganismos y por lo tanto la utilización de oxígeno, tienden a crecer proporcionalmente con el aumento de la temperatura hasta aproximadamente 37°C (Sleigh, 1979).

d) Luz. Este parámetro constituye la fuente de energía para los organismos fotosintéticos. De acuerdo con Curds, et al., (1975) es esencial en las lagunas de oxidación. Por otra parte puede resultar un factor inhibitorio de crecimiento para organismos acuáticos como los hongos.

e) Nutrientes. Para que la población de microorganismos se mantenga, con crecimiento constante, es necesario que existan los nutrientes básicos para los microorganismos, estos son: C, N, P,

y S junto con otros como K, Ca, Zn, Mg, Fe, Mn, Cu, y Co los cuales son requeridos de forma balanceada. La relación puede ser para los tres primeros C(DBO):N:P, 100:5:1 (Stout, 1980). En el tratamiento de aguas residuales industriales es muy importante mantener este balance, lo cual es posible mediante la adición de los nutrientes requeridos. Los resultados obtenidos han sido positivos, al aplicarse en la biodegradación de líquidos residuales petroquímicos (Ramalho, 1991).

Los factores anteriormente mencionados, representan los principales parámetros que se deben controlar para mantener el buen funcionamiento de sistemas biológicos de tratamiento de aguas contaminadas. Esto se debe a que determinan la presencia o ausencia de los microorganismos encargados del proceso depurativo.

3. OBJETIVOS

- Determinar la diversidad y abundancia de ciliados presente durante la depuración de un efluente petroquímico en una laguna de aireación a escala laboratorio.
- Registrar los parámetros fisicoquímicos seleccionados para evaluar el comportamiento del sistema de tratamiento y asociarlos con los ciliados observados.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES DE LA LAGUNA DE AIREACION A ESCALA LABORATORIO

La investigación preliminar fue realizada en un sistema de laguna aireada a escala laboratorio construida con material acrílico (Fig. 4.1) . Las condiciones en las que operó este sistema biológico fueron las siguientes:

Volúmen de trabajo (V): 65.26 L

Flujo o gasto volumétrico(Q): 13.05 L/día

Tiempo de residencia hidráulico (θ_h): 5 días

Suministro de oxígeno: No menor de 2 ppm de oxígeno disuelto incorporado por medio de agitación mecánica.

Carga orgánica medida como DQO = 2300 mg/L

Relación C:N:P 100:5:1

4.2 CARACTERISTICAS DEL EFLUENTE PETROQUIMICO

Se elaboró el efluente de alimentación al reactor mezclando las aguas residuales de las cuatro corrientes que constituyen el influente a tratamiento biológico. La composición fue obtenida a partir de datos de flujo medidos en el centro petroquímico de cada una de las corrientes y está constituida como se indica a continuación:

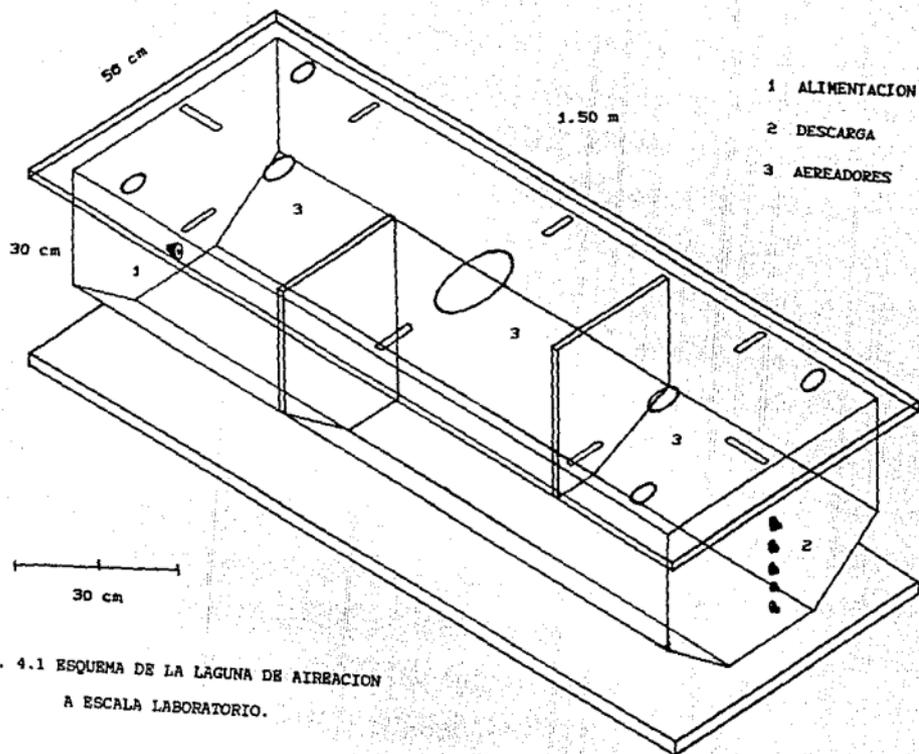
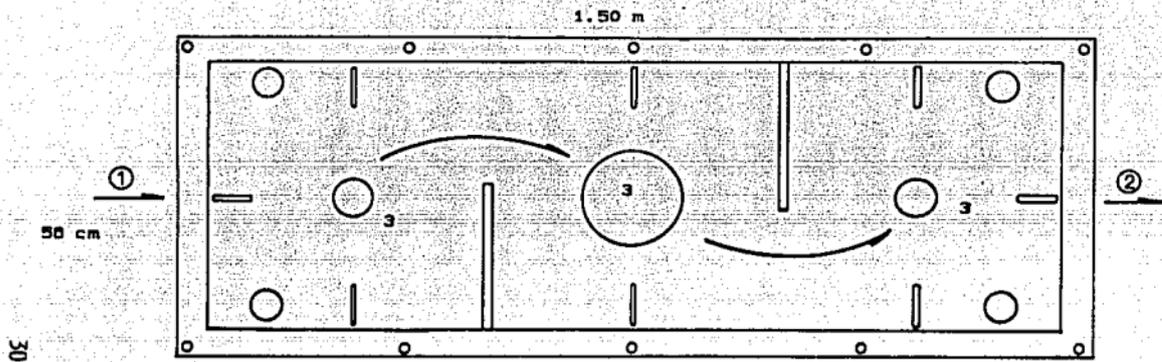
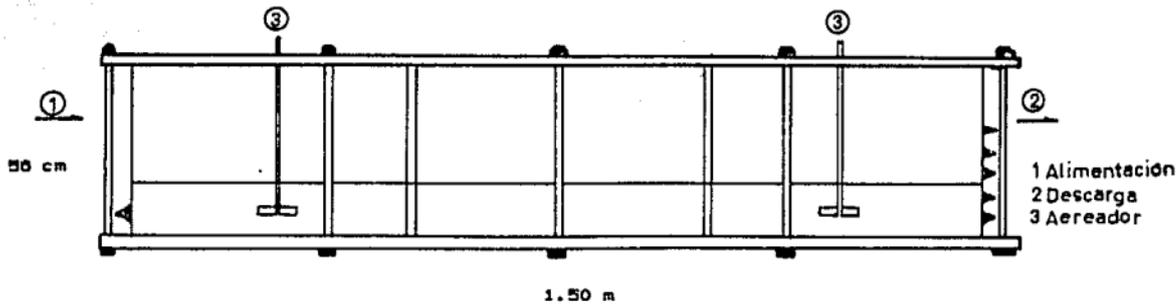


FIG. 4.1 ESQUEMA DE LA LAGUNA DE AIRACION
A ESCALA LABORATORIO.



VISTA SUPERIOR



- 1 Alimentación
- 2 Descarga
- 3 Aereador

VISTA LATERAL

Composición global del efluente	Composición porcentual
Sosas gastadas y aguas amargas de proceso	1.4 %
Aguas ácidas de la planta de acetaldehído	26 %
Aguas glicoladas de la planta de óxido de etileno	31 %
Aguas residuales del drenaje aceitoso	41.6 %
Valor de la DQO del efluente petroquímico	10,800 mg/L

El agua residual de alimentación al reactor fue preparada utilizando la mezcla de efluentes antes citada. Lo que ocurre de manera real en la planta petroquímica. Una vez elaborada la solución fue neutralizada, decantada y posteriormente filtrada a través de lana de vidrio para eliminarle los sólidos suspendidos. De esta forma se obtuvo un lote único para las pruebas de tratamiento, el cual para su conservación se mantuvo en refrigeración durante todo el periodo experimental. De este lote fueron tomadas porciones las cuales se diluyeron con agua de la llave, hasta un nivel tal que la DQO fuera de 2300 mg/L. A continuación se agregaron sales de NaH_2PO_4 y NH_4NO_3 en cantidades suficientes para obtener una proporción de 100:5:1 de DBO₅:N:P con la que se alimentó al reactor biológico.

El recipiente del líquido con que se alimentaba al reactor biológico era diariamente cargado con la mezcla de agua necesaria para mantener una dosificación constante durante 24 horas de acuerdo con el tiempo de residencia hidráulico antes mencionado.

Inicio del proceso

Inóculación. Se utilizó una suspensión de lodo biológico constituido por diferentes tipos bacterianos aclimatados al efluente y a la concentración de materia orgánica de prueba, para ello se dispuso de 8 litros de lodo biológico crecido y mantenido en un sistema de cultivo por lote cuya concentración de partículas fue de 576 NTU.

Cultivo. Se utilizó la técnica de cultivo alimentado, es decir, suministrando la mezcla de efluente de alimentación a una velocidad de flujo de 13.05 L/día, de tal manera que se mantuvo este tipo de cultivo hasta alcanzar la capacidad de operación del reactor y a partir de ese momento se dió inicio al cultivo continuo, la turbiedad alcanzada en ese punto fue de 54 NTU, el pH del sistema fue de 8.88 manteniéndose éste a una temperatura de 22°C y a un nivel de oxígeno disuelto de 6.6 ppm.

Estabilización. Para detectar el estado de equilibrio dinámico del proceso, se determinó la demanda química de oxígeno (DQO), y cuando ésta no osciló mas allá de $\pm 5 \%$ se consideró como estabilizado el reactor.

4.2.1 Parámetros físicoquímicos y bioquímicos

La evaluación de estos parámetros se realizó tanto durante la etapa experimental preestable como estable con el equipo y la frecuencia que a continuación se indica:

pH.- Con un medidor de pH Chemcadet Cole Parmer de acuerdo con el manual de operación, 5 veces por semana.

Oxígeno disuelto (OD) y temperatura (T).- Con un oxímetro YSI Modelo 57, siguiendo las instrucciones del fabricante, 5 veces por semana.

Demanda química de oxígeno (DQO).- La determinación de la carga orgánica (medida como DQO), se hizo tres veces por semana siguiendo el método aprobado por la APHA (1981). La técnica se describe en el anexo A.

Demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅).-Se determinó la DBO₅ tres veces por semana, siguiendo la técnica de la APHA (1981), la técnica está descrita en el anexo A.

4.3 OBSERVACIONES AL MICROSCOPIO

Se hicieron observaciones al microscopio con contraste de fases y cámara fotográfica acoplada. Se realizaron preparaciones

temporales (con y sin colorantes) y permanentes. Se realizó la cuenta de ciliados por mililitro con el fin de conocer la abundancia de las especies. Una descripción mas amplia de lo anteriormente señalado se da a continuación.

4.3.1 Elaboración de preparaciones temporales y permanentes

Para la determinación de los ciliados, es necesario la elaboración de preparaciones tanto temporales como permanentes ya que de esta manera se distinguen estructuras que son de utilidad para la identificación.

Preparaciones temporales.

a) Sin colorantes. La observación "in vivo" de los microorganismos en el microscopio en contraste de fases, permitieron la apreciación de algunas estructuras útiles para su determinación.

Dado que el movimiento de los ciliados es rápido, e impide su observación en detalle, se utilizó metilcelulosa al 10 %, con objeto de aumentar la viscosidad de la solución, por lo que el desplazamiento de los microorganismos se hace más lento, facilitando así la apreciación de sus estructuras (Jahn, 1979).

b) Con colorantes vitales. Se utilizaron azul de metileno, verde

de metilo, y rojo neutro (en solución acuosa al 1%), para resaltar estructuras internas y la nigrosina para demostrar elementos pelliculares. El procedimiento para su elaboración está en el anexo B.

Preparaciones permanentes.

Para la elaboración de este tipo de preparaciones fue necesario aumentar la densidad de la población de los ciliados. Para lograrlo se hizo primero la separación de los ciliados con ayuda de una pipeta Pasteur y un microscopio de disección "Southern Precision". Una vez que se aislaron por micropipeteo, se transfirieron a cajas de Petri las cuales contenían 3 mL de infusión de lechuga o granos de arroz. Estos medios permiten la proliferación de bacterias y propician la multiplicación de los ciliados que se alimentan de estas (Kudo, 1969).

Se utilizó la técnica de tinción de hematoxilina de Harris y de Delafield, que resaltan el núcleo de los ciliados.

También se utilizaron técnicas argentícas, la de Klein (1926) para resaltar estructuras como cilios, cinetosomas, cinetias, y poros de las vacuolas contráctiles, y la técnica de protargol (Lee et al., 1985) que da muy buenos resultados, destacando estructuras como el núcleo, cilios, cinetosomas, cinetias, poros de las vacuolas contráctiles, y el citoprocto. Todas las técnicas se describen en el anexo B.

4.3.2 Metodología para la cuenta de ciliados, rotíferos y nemátodos

Con el fin de conocer la abundancia de los ciliados, se hizo su cuenta tomando como base la técnica de cuenta microdiagonal por gota de Lackey (APHA, 1981) que se describe en el anexo B.

El empleo de esa técnica para cuenta de microorganismos, presenta algunas ventajas de uso, sobre las basadas en la cámara de Sedwick-Rafter (1 mL de muestra) y la de Neubauer (0.001 mL de muestra), conocida también como hemocitómetro (APHA, 1981). Entre las principales ventajas destaca el volumen de muestra empleado para su observación al microscopio (de 0.01 a 0.1 mL), el cual resulta más adecuado comparativamente ya que es un volumen intermedio. Dicho volumen permite una cuenta más representativa que la obtenida mediante el hemocitómetro y no tan extenuante como el de la cámara de Sedwick-Rafter.

De acuerdo con la técnica de Lackey, se seleccionó un volumen de muestra de 0.1 mL y se contó la totalidad de los ciliados, rotíferos y nemátodos presentes en toda el área bajo el cubreobjetos de 22 x 22 mm.

Lo anterior permitió conocer el número de microorganismos presentes por unidad de volumen.

4.4 EXPERIMENTACION EN LA LAGUNA DE AIRBACION

Se registraron los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos en la laguna con una frecuencia de 3 a 5 veces por semana. Se evaluó la DQO y DBO₅ del influente y del efluente de la laguna de aireación una vez que ésta se estabilizó funcionalmente. Esto ocurrió cuando la fluctuación de los valores de la DQO no fue mayor a $\pm 5\%$ en tres muestreos consecutivos.

Las observaciones al microscopio se hicieron en un microscopio Olympus BH-2 con cámara incorporada.

Las muestras se obtuvieron del líquido en tratamiento, extraídas de distintas zonas de la laguna con objeto de conocer si había diferencias en cuanto a la distribución, diversidad y abundancia dentro del sistema.

Se elaboraron preparaciones temporales y permanentes. Dentro de estas últimas se utilizó solamente la técnica de Klein.

Para conocer la abundancia de los ciliados se hizo la cuenta microdiagonal por gota de Lackey (APHA, 1981), (Figura 4.2).

4.5 EXPERIMENTACION CON INOCULOS DE DIFERENTE ORIGEN

Para ésta parte experimental se seleccionaron 3 inóculos con mayor diversidad de ciliados que la encontrada en la laguna de aireación. Dichos inóculos fueron: (A) infusión con tallos de flores, (B) aguas residuales de una destilación alcohólica (vinazas) y (C) aguas residuales de un proceso de fabricación de papel (aguas blancas).

A estos inóculos se les fue agregando con objeto de aclimatarlos a un líquido residual diferente el 20 % cada tercer día del efluente hasta llegar al 100 % del mismo. Se realizaron observaciones al microscopio a lo largo del período de aclimatación para registrar las modificaciones en la comunidad de ciliados, (abundancia y diversidad).

Cuando los cultivos tuvieron el 100% del efluente se tomó una muestra diaria de cada uno de estos durante cinco días y se hizo la cuenta de ciliados, rotíferos y nemátodos por mL con la técnica de cuenta microdiagonal por gota de Lackey (APHA, 1991), anteriormente citada. Se elaboraron preparaciones temporales y permanentes utilizando las técnicas de hematoxilina de Harris, de Delafield y la de protargol, (Figura 4.3)

4.6 DETERMINACION DE CILIADOS

Para la determinación de ciliados fue importante su observación en preparaciones temporales y permanentes, así como en fotografías que permitieron la apreciación de las diversas estructuras utilizadas en su identificación.

La literatura consultada fue la siguiente: Bick, 1972; Curds, 1969, 1983; Curds et al., 1983; Czapic, 1968; Kahl, 1930-1935; Kudo, 1969; López-Ochoterena, 1965; Song y Wilbert, 1989; Wilbert, 1986; Wu y Curds, 1979.

La ubicación taxonómica de las especies de ciliados determinados se realizó de acuerdo al esquema propuesto por Small y Lynn en Lee et al., 1985.

De los ciliados observados se hicieron esquemas* y se tomaron fotografías* anotando lo siguiente:

- Características del organismo,*
- tipo de preparación* (temporal, con o sin colorante, o permanente),
- aumento,*
- técnica de iluminación* (campo claro, campo oscuro o contraste de fase),
- tiempo de exposición* y
- filtro utilizado*.

FIG. 4.2 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA EXPERIMENTACION EN LA LAGUNA DE AIREACION

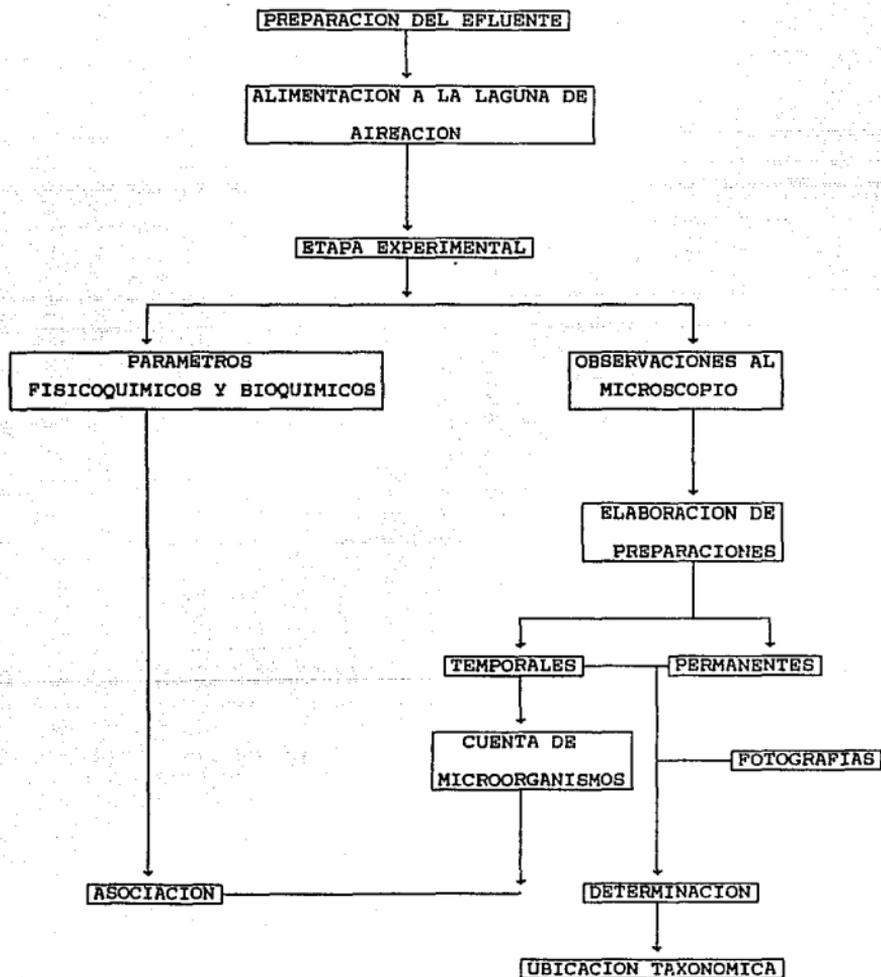
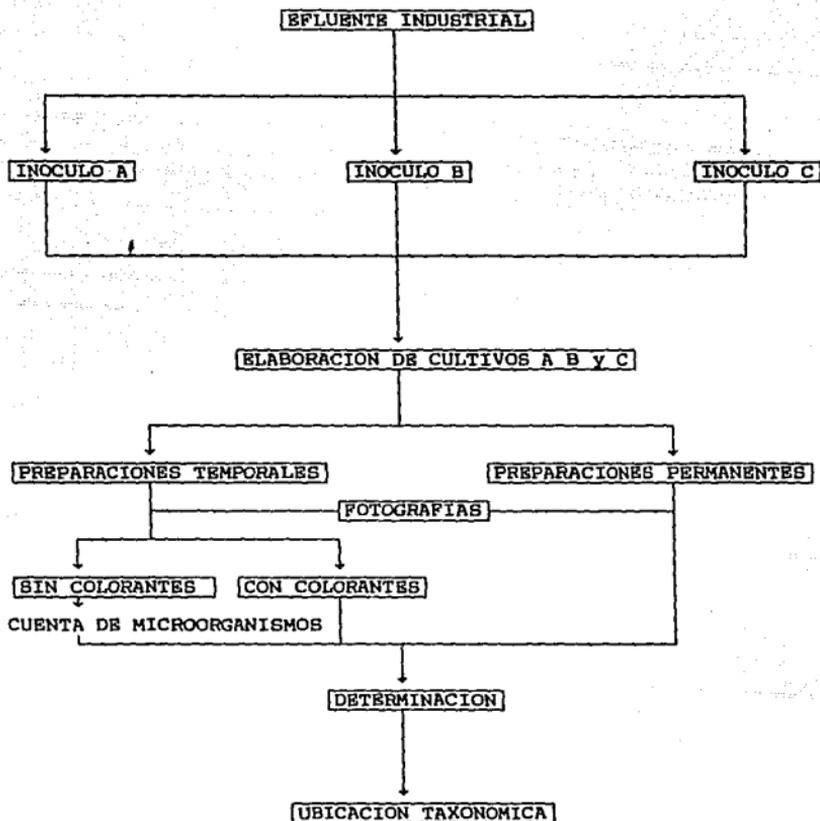


FIG. 4.3 DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA EXPERIMENTACION CON INOCULOS DE DIFERENTE ORIGEN



- A.- INFUSION CON TALLOS DE FLORES
- B.- AGUAS RESIDUALES DE UNA DESTILACION ALCOHOLICA (VINAZAS)
- C.- AGUAS RESIDUALES DE UN PROCESO DE FABRICACION DE PAPEL

5. RESULTADOS

5.1 COMPORTAMIENTO FISICOQUIMICO EN LA LAGUNA DE AIREACION

Se realizaron los registros fisicoquímicos, bioquímicos y las observaciones microscópicas de un total de 35 muestras. Cada muestra correspondiente a un día.

En la tabla 5.1 se presentan los resultados de los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos para cada muestra, así como el total de ciliados y rotíferos contados por mililitro.

En la tabla 5.2 se observan los porcentajes de remoción total de la demanda química de oxígeno (DQO) y la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) para el total de las muestras.

Los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos durante la etapa pseudoestable no fueron limitantes para la proliferación de ciliados.

pH = 8.12 ± 0.10 unidades

oxígeno disuelto = 5.80 ± 0.66 mg/L

temperatura = 29.10 ± 1.87 °C

DQO que entra = 2400 ± 110 mg/L

DQO que sale = 140 ± 10 mg/L

DBO que entra = 1590 ± 60 mg/L

DBO que sale = 18 ± 5 mg/L

TABLA 5.1 PARAMETROS FISICOQUIMICOS DEL EFLUENTE INDUSTRIAL PETROQUIMICO EN TRATAMIENTO.

MUESTRA	FECHA	pH	OD (mg/L)	T (°C)	DQO ₅ (mg/L)	DQO ₂₀ (mg/L)	DBO ₅ (mg/L)	DBO ₂₀ (mg/L)	MICROORGANISMOS/AL
1	22/02/91	8.28	5.2	27.5	3000	260	2000	70	590
2	25/02/91	8.18	4.7	26.0	3000	210	2000	80	670
3	26/02/91	8.27	5.0	27.0	----	90	----	75	880
4	27/02/91	8.31	4.4	27.0	----	80	----	70	810
5	28/02/91	8.29	4.2	28.0	----	80	----	70	830
6	01/03/91	8.08	2.9	29.0	2600	80	1700	55	730
7	04/03/91	8.24	2.5	22.0	----	280	----	140	440
8	05/03/91	8.53	6.7	24.0	----	290	----	15	370
9	06/03/91	8.43	6.7	23.0	2300	290	1500	20	540
10	07/03/91	8.03	2.3	23.0	----	290	----	----	660
11	08/03/91	8.39	5.8	27.0	----	200	----	20	380
12	11/03/91	8.39	7.2	22.0	2400	200	----	5	250
13	12/03/91	8.43	6.7	23.0	----	200	----	5	310
14	15/03/91	8.60	6.4	25.0	----	240	----	20	430
15	19/03/91	8.40	7.6	25.0	2500	120	1600	----	500
16	20/03/91	8.26	7.6	24.0	----	200	----	----	390
17	22/03/91	8.26	7.7	24.0	----	230	----	----	370
18	25/03/91	8.40	6.8	21.0	----	160	----	----	440
19	26/03/91	8.40	7.0	22.0	----	80	----	----	620
20	27/03/91	8.44	7.0	23.0	2400	40	----	----	620
21	01/04/91	8.00	5.4	17.0	----	160	----	30	350
22	02/04/91	8.00	5.3	17.0	----	160	----	----	250
23	05/04/91	----	7.2	27.5	2300	250	1500	15	350
24	09/04/91	8.26	6.3	26.5	----	250	----	40	400
25	11/04/91	8.37	6.4	27.0	2400	250	1540	----	270
26	15/04/91	8.34	6.6	27.0	----	140	----	----	250
27	16/04/91	----	6.5	27.0	2300	140	1510	15	150
28	18/04/91	8.10	6.4	27.5	2300	140	----	15	140
29	19/04/91	8.01	----	----	----	140	1580	15	120
30	23/04/91	8.15	5.2	30.0	2500	140	1600	15	160
31	24/04/91	8.16	5.4	30.0	----	140	----	----	230
32	25/04/91	8.05	5.1	31.2	2500	----	1600	----	380
33	26/04/91	8.06	5.4	31.0	----	140	----	30	690
34	29/04/91	7.98	4.9	31.4	2500	190	1600	20	550
35	30/04/91	8.06	5.1	30.0	----	170	----	40	300

**TABLA 5.2 PORCENTAJE DE REMOCION
TOTAL DE LA DQO Y LA DBO5.**

MUESTRA	DQO (mg/L)	DBO5 (mg/L)
5	97.3	96.5
6	97.3	97.2
10	92.1	—
11	—	99.9
13	91.3	99.8
16	92.9	—
17	—	98.1
19	97.8	—
24	89.5	97.5
27	94.1	99.1
29	94.2	99.8
31	94.1	99.8
33	94.1	98.2
34	92.3	—
35	93.1	95.7

Durante la fase preestable, los intervalos registrados de acuerdo a los valores máximos y mínimos fueron los siguientes:

pH = 7.8 - 8.48 unidades
oxígeno disuelto = 2.3 - 7.7 mg/L
temperatura = 21.0 - 31.4 °C
DQO = 40 - 290 mg/L
DBO₅ = 5 - 150 mg/L

Estos resultados no constituyen en si una limitante para la proliferación de ciliados pero si lo podría ser su constante fluctuación.

Las especies registradas, en este periodo fueron *Litonotus lamella*, *Euploes* sp, *Tetrahymena pyriformis*, *Colpidium colpoda*, *Colpoda steinii*, y las formas móviles de peritrico (FMP).

Durante la fase estable los intervalos de los parámetros fisicoquímicos fueron:

pH = 8.01 - 8.34 unidades
oxígeno disuelto = 5.1 - 6.6 mg/L
temperatura = 27.0 - 31.2 °C
DQO = 140 mg/L
DBO₅ = 15 - 30 mg/L

Los cuales al presentar un menor intervalo de variación permitió la proliferación de las siguientes especies: *Tetrahymena pyriformis*, *Vorticella octava*, *Colpoda steinii* y las FMP.

Las figuras 5.1 a 5.5, ilustran la variación de los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos evaluados en las 35 muestras a lo largo del periodo experimental (febrero-abril de 1991) en la laguna de aireación.

En la figura 5.1 se presentan los valores de la DQO y la DBO₅ del agua residual antes y después del tratamiento. La DQO es inicialmente fluctuante y posteriormente se estabiliza en 140 mg/L (etapa considerada como estable).

El porcentaje de remoción total de la DQO y la DBO₅ es mayor del 90% (figura 5.2).

El pH de la mezcla de efluentes fue neutralizado, al hacer la dilución se mantuvo en 8 unidades y durante el tratamiento los valores siempre fueron básicos oscilando entre 8 a 9 unidades (figura 5.3).

El oxígeno disuelto se mantuvo siempre superior a una concentración de 2 mg/L, con un intervalo de 2.3 a 7.7 mg/L es decir, permaneció en condiciones aerobias (figura 5.4).

En la figura 5.5 se observa que la temperatura presente en el líquido tratado está dentro del intervalo de 21 a 30 °C, es decir en el que crecen microorganismos tipo mesofílicos.

5.2 DIVERSIDAD Y ABUNDANCIA DE CILIADOS OBSERVADOS EN LA LAGUNA DE AIREACION

Se determinaron 6 especies de ciliados, las cuales se describen en el punto 5.4. Están agrupadas en 2 subphyla, 4

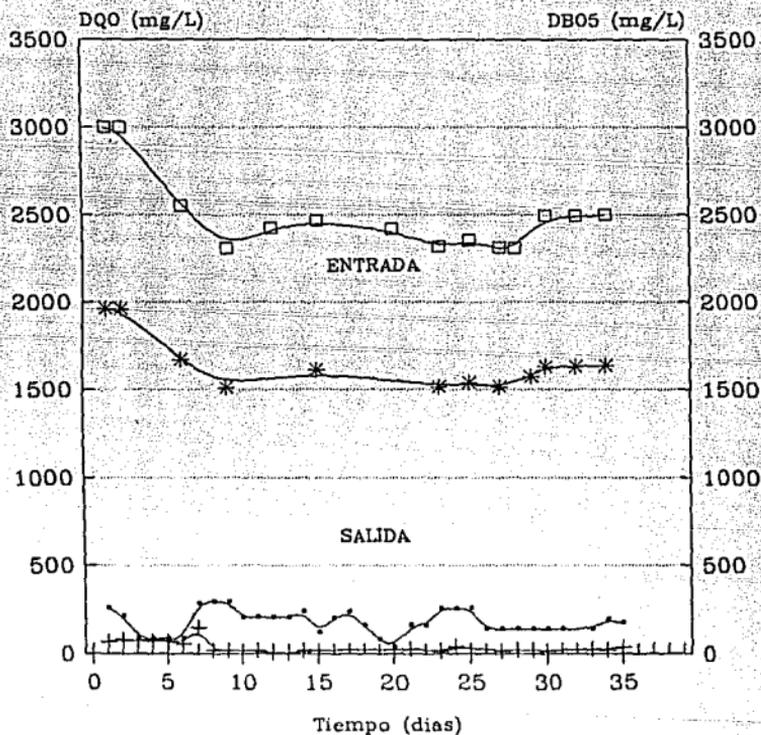


FIG.5.1 VARIACION DE LA DQO Y LA DBO5 DEL AGUA RESIDUAL CON RESPECTO AL TIEMPO ANTES Y DESPUES DE SER TRATADA EN LA LAGUNA DE AIREACION.

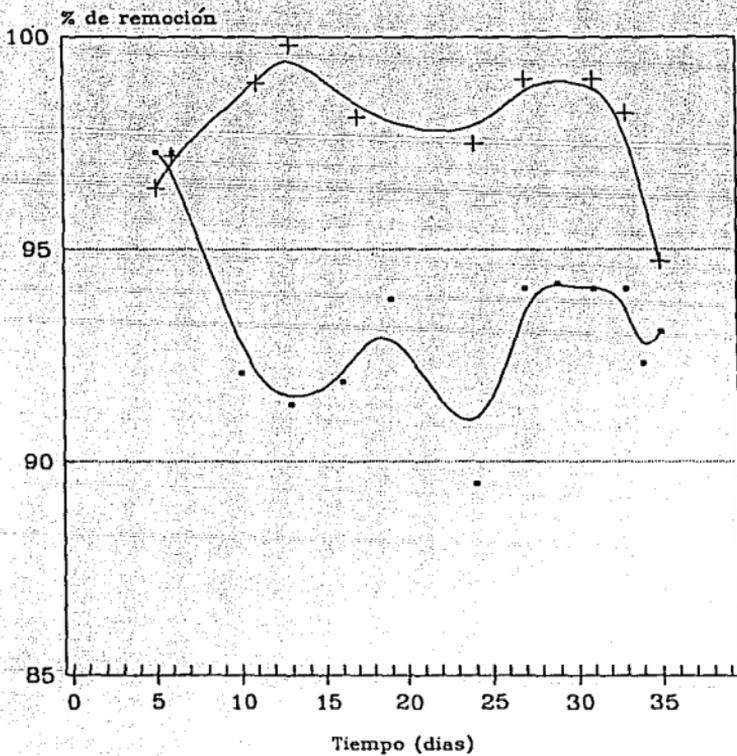


FIG.5.2 REMOCION PORCENTUAL TOTAL DE LA DQO Y LA DBO5 REALIZADO EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.

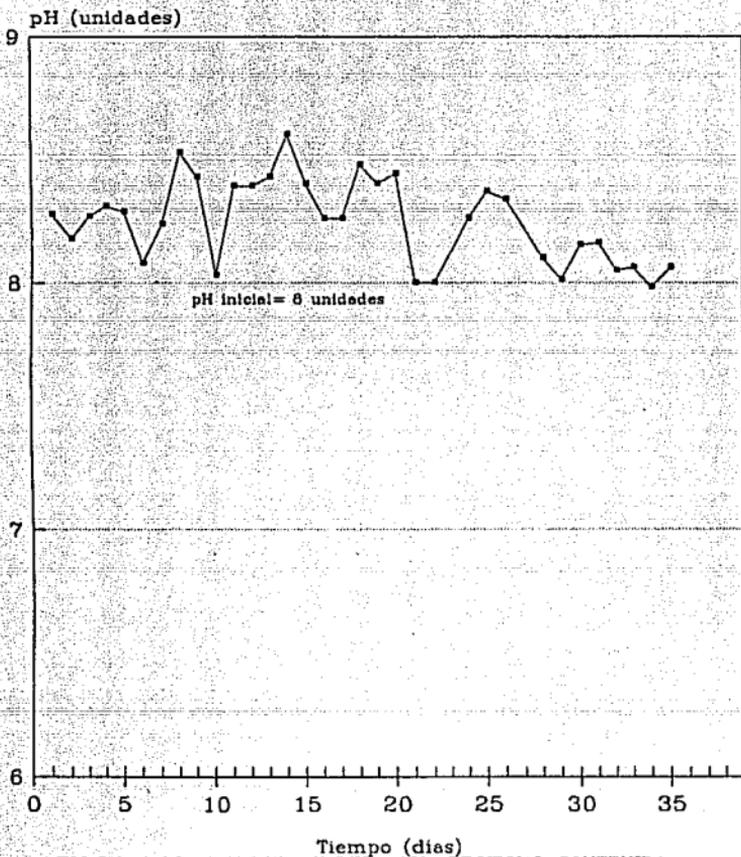


FIG.5.3 VARIACION DEL pH DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.

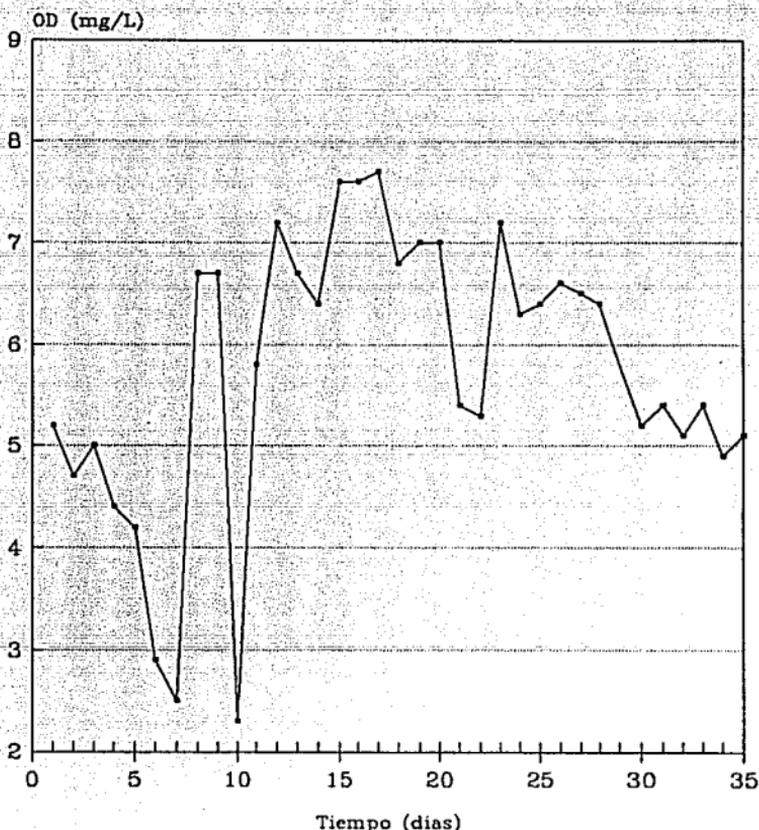


FIG.5.4 VARIACION DEL OXIGENO DISUELTO DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.

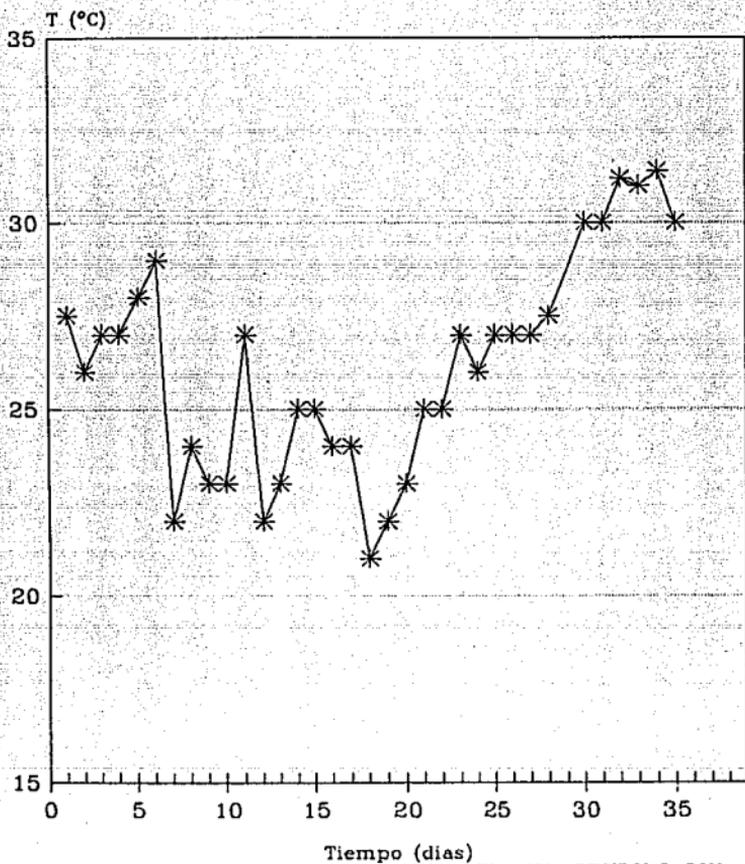


FIG.5.5 VARIACION DE LA TEMPERATURA DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.

clases, 4 subclases, 5 órdenes, 3 subórdenes, 6 familias y 6 géneros.

La tabla 5.3 contiene la cuenta total y relativa de ciliados y rotíferos presentes en cada muestra analizada. Las abundancias de ciliados y rotíferos en el agua residual en tratamiento son oscilantes en concentración (figura 5.6).

La mayor abundancia corresponde a los ciliados, los cuales se presentaron de manera permanente, mientras que los rotíferos únicamente aparecieron al final del periodo experimental.

En las figuras 5.7, 5.8 y 5.9 se ilustra la variación de la abundancia para cada especie de ciliado encontrado en la laguna de aireación.

Nota: La distribución de las especies para su graficación se hizo de manera arbitraria con objeto de facilitar la presentación para el análisis de la información.

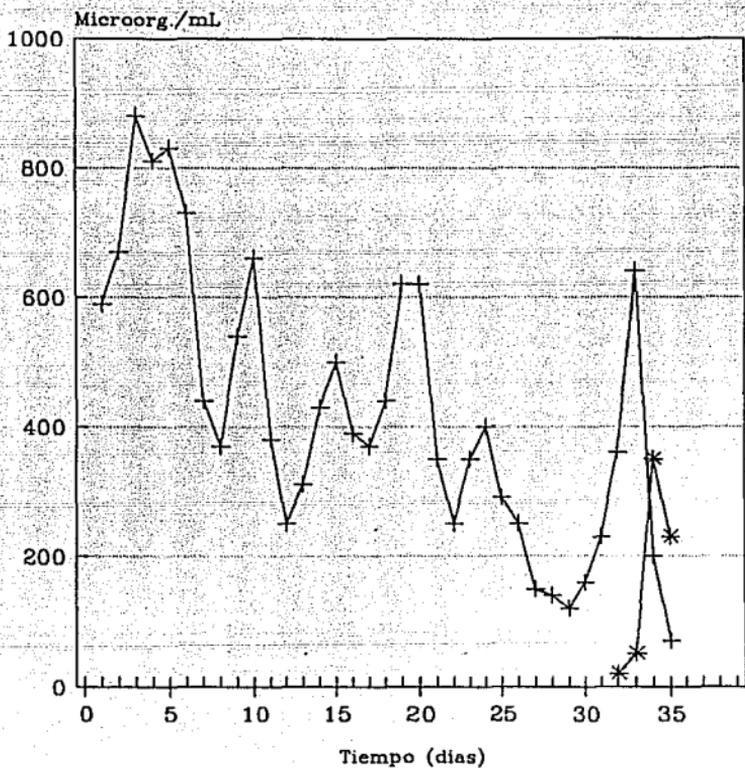
Litonotus lamella, estuvo presente los 11 primeros días, *Euploes* sp, únicamente se encontró 3 días y en bajas cantidades. *Colpoda steinii* se mantuvo en todas las muestras al igual que *Tetrahymena pyriformis*, *Colpidium colpoda* está presente hasta el día 28, y a partir del día 30, las FMP aumentaron considerablemente.

En las figuras 5.10 y 5.11, se presenta la relación de la concentración de ciliados con la DQO y la DBO₅, respectivamente.

TABLA 5.3 CILIADOS Y ROTIFEROS PRESENTES POR MILILITRO EN EL EFLUENTE PETROQUIMICO EN TRATAMIENTO.

MUESTRA	CILIADOS	<u>Litonotus lamella</u>	<u>Euploes sp</u>	<u>Tetrahymena pyriformis</u>	<u>Colpidium colpoda</u>	<u>Vorticella octava</u>	<u>Colpoda steinii</u>	FMP	ROTIFEROS
1	590	130	0	230	80	50	100	0	0
2	670	180	0	300	70	50	70	0	0
3	880	120	0	410	50	100	130	70	0
4	810	80	0	470	10	70	100	80	0
5	830	100	0	430	30	170	50	50	0
6	730	10	0	130	70	180	320	20	0
7	440	10	0	250	20	30	130	0	0
8	370	10	0	130	50	80	100	0	0
9	540	30	0	200	70	90	150	0	0
10	660	10	0	270	50	210	120	0	0
11	380	40	0	160	20	80	80	0	0
12	250	0	0	150	40	20	100	0	0
13	310	0	0	110	50	30	120	0	0
14	430	0	0	150	60	100	120	0	0
15	500	0	0	170	70	150	110	0	0
16	390	0	0	100	30	160	100	0	0
17	370	0	0	70	0	130	150	0	0
18	440	0	0	190	0	80	170	0	0
19	620	0	10	240	30	130	210	0	0
20	620	0	30	170	20	220	100	0	0
21	350	0	30	80	0	120	160	0	0
22	250	0	0	90	0	60	100	0	0
23	350	0	0	130	0	120	100	0	0
24	480	0	0	170	0	90	140	0	0
25	290	0	0	80	0	50	160	0	0
26	250	0	0	80	0	10	160	0	0
27	150	0	0	50	0	30	70	0	0
28	140	0	0	70	0	20	50	0	0
29	120	0	0	30	0	0	90	0	0
30	160	0	0	20	0	0	40	100	0
31	230	0	0	40	0	0	60	130	0
32	360	0	0	90	0	0	60	210	20
33	640	0	0	40	0	0	60	540	50
34	200	0	0	20	0	0	50	120	350
35	70	0	0	30	0	0	40	0	230

FMP = FORMAS MOVILES DE PERITRICO



+ Ciliados * Rotíferos
FIG.5.6 VARIACION DE LA CONCENTRACION DE CILIADOS Y ROTIFEROS EN EL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.

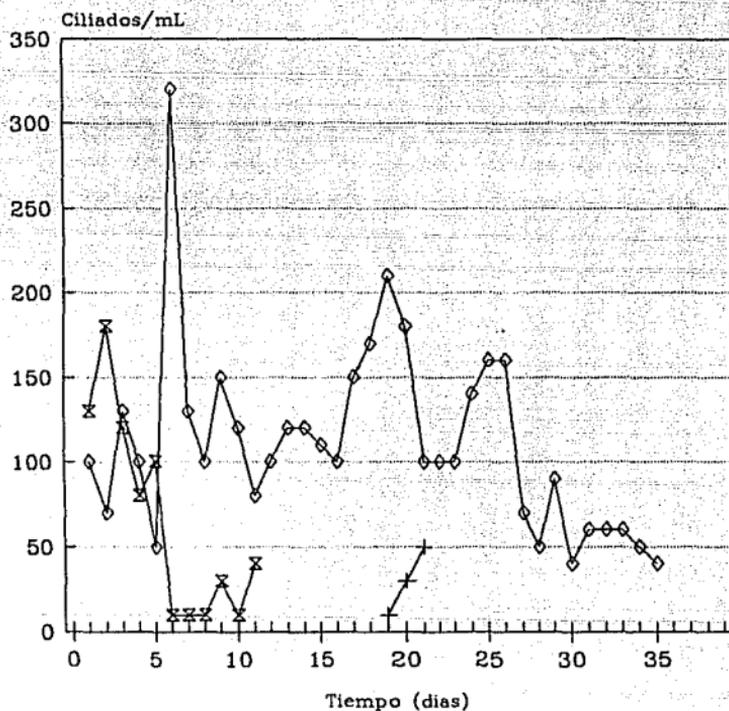
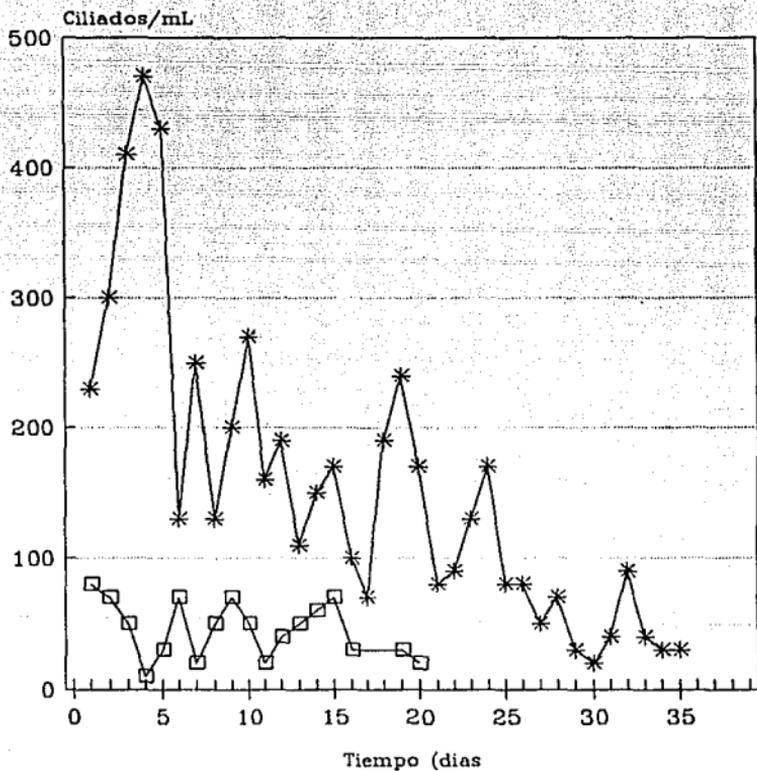
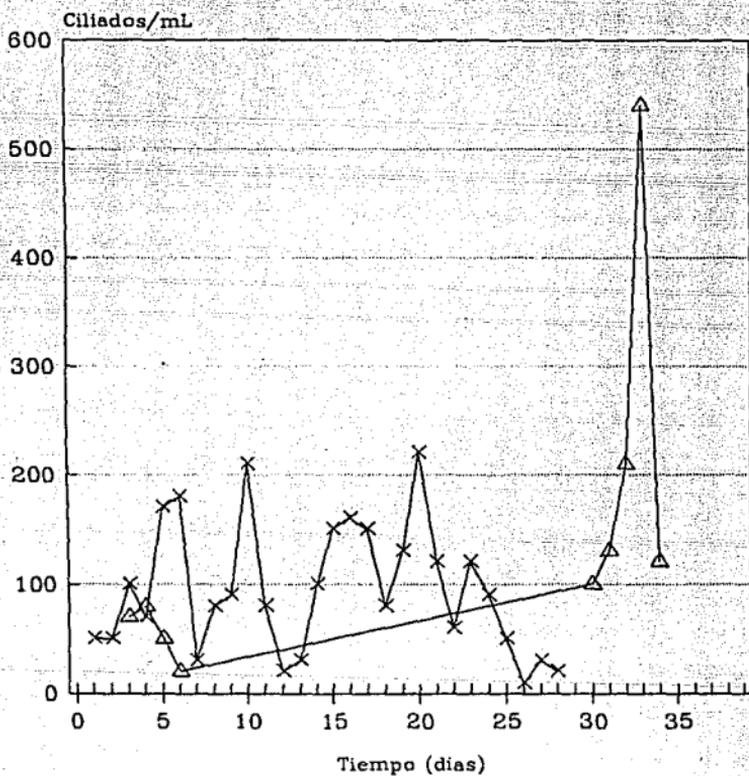


FIG.5.7 VARIACION DE LA CONCENTRACION DE TRES ESPECIES DE CILIADOS EN EL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.

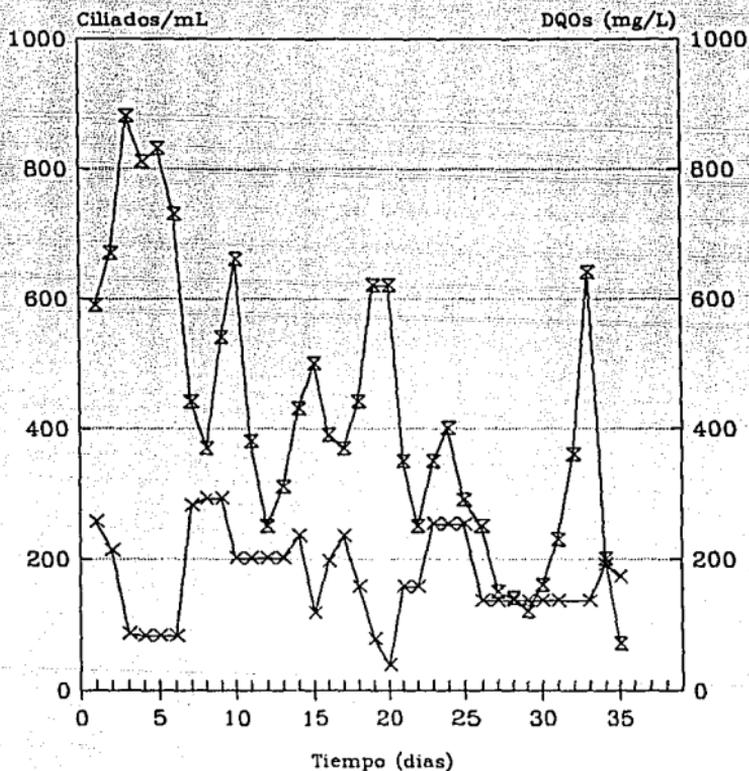


* — *T. pyriformis* □ — *C. colpoda*
 FIG.5.8 VARIACION DE LA CONCENTRACION DE DOS ESPECIES DE CILIADOS EN EL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.



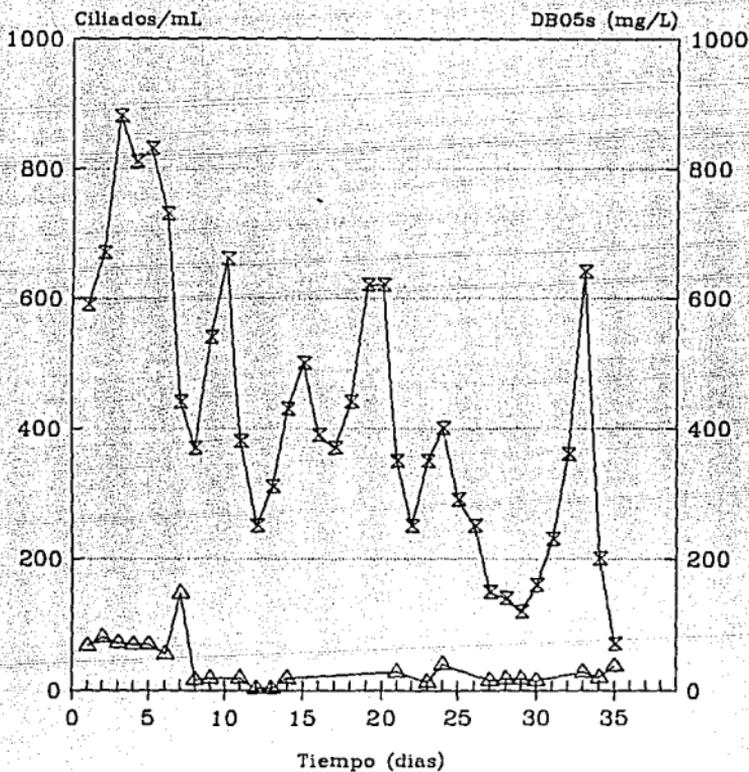
—x— *Vorticella octava* —△— FMP

FIG.5.9 VARIACION DE LA CONCENTRACION DE DOS ESPECIES DE CILIADOS EN EL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.



—x— DQOs —x— Ciliados

FIG.5.10 RELACION ENTRE LA CONCENTRACION TOTAL DE CILIADOS Y LA DQO DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.



—△— DBO5s —x— Ciliados
 FIG.5.11 RELACION ENTRE LA CONCENTRACION TOTAL DE CILIADOS Y LA DBO5 DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO.

5.3 DIVERSIDAD Y ABUNDANCIA DE CILIADOS EN DIFERENTES INOCULOS ACLIMATADOS

Se determinaron 9 especies de ciliados, las cuales se describen en el punto 5.4. Estas se agrupan en 2 subphyla, 4 clases, 6 subclases, 7 ordenes, 5 subórdenes, 8 familias y 8 géneros.

En la tabla 5.4 se observan los ciliados presentes en los tres inóculos estudiados con distintas concentraciones del efluente petroquímico.

Los resultados de la cuenta de ciliados, rotíferos y nemátodos realizada al 100 % del efluente petroquímico, se muestran en la tabla 5.5. A partir de dichos resultados, es posible calcular los porcentajes relativos respecto a su concentración total (tabla 5.6).

En la tabla 5.7 se indica la presencia de ciliados tanto en la laguna de aireación durante todo el periodo experimental, como en cada uno de los inóculos. De estos últimos se indica los ciliados que había al inicio (I), es decir, sin efluente petroquímico y los que sobrevivieron al final (F) con el 100 % de dicho efluente.

TABLA 5.4 RELACION DE LOS CILIADOS ENCONTRADOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL EFLUENTE PETROQUIMICO CON DISTINTOS INOCULOS.

CILIADO	INOCULO A					INOCULO B					INOCULO C				
	20 x	40 x	60 x	80 x	100 x	20 x	40 x	60 x	80 x	100 x	20 x	40 x	60 x	80 x	100 x
<i>Oxotricha fallax</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
<i>Litonotus lamella</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Podophrya fixa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Paramecium aurelia</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Paramecium caudatum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Aspidisca costata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Colpidium colpoda</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Dexiotricha plagia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Uronema sp</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Cycolidium sp</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Epistylis sp</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Vorticella octava</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TOTAL	8	8	8	8	4	9	9	9	9	6	7	7	7	7	6

INOCULO A: INFUSION DE TALLOS DE FLORES.

PRESENCIA = +

INOCULO B: AGUAS RESIDUALES DE UNA DESTILACION ALCOHOLICA.

AUSENCIA = -

INOCULO C: AGUAS RESIDUALES DE UN PROCESO DE FABRICACION DE PAPEL.

TABLA 5.5 CONCENTRACION DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN LOS DIFERENTES INOCULOS CON EL EFLUENTE INDUSTRIAL PETROQUIMICO AL 100 %.

CILIADO	INOCULO A				INOCULO B				INOCULO C			
	1	2	3	x	1	2	3	x	1	2	3	x
<i>Litonotus lamella</i>	0	0	0	0	100	60	60	73 ± 23	00	50	50	60 ± 17
<i>Podophrya fixa</i>	250	190	220	220 ± 30	30	50	10	30 ± 20	30	40	20	30 ± 10
<i>Paramecium aurelia</i>	0	0	0	0	130	150	100	127 ± 25	0	0	0	0
<i>Paramecium caudatum</i>	50	20	20	30 ± 17	40	50	50	47 ± 6	40	60	20	40 ± 20
<i>Aspidisca costata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	250	300	370	307 ± 40
<i>Colpidium colpoda</i>	30	40	30	33 ± 6	40	20	10	23 ± 15	0	0	0	0
<i>Dexiotricha plagia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	50	40	30	40 ± 10
<i>Cyclidium sp</i>	0	0	0	0	30	40	30	33 ± 6	0	0	0	0
<i>Vorticella octava</i>	130	150	50	110 ± 53	40	30	30	33 ± 6	120	100	50	90 ± 50
NEMATODOS	00	00	30	63 ± 29	50	20	10	21 ± 27	50	60	20	43 ± 21
ROTIFEROS	0	0	0	0	40	50	40	43 ± 6	20	20	30	23 ± 6
No. DE MICROORG./mL	540	480	350	457 ± 97	500	470	340	437 ± 85	640	670	540	613 ± 74

INOCULO A: INFUSION DE TALLOS DE FLORES.

INOCULO B: AGUAS RESIDUALES DE UNA DESTILACION ALCOHOLICA.

INOCULO C: AGUAS RESIDUALES DE UN PROCESO DE FABRICACION DE PAPEL.

TABLA 5.6 PORCENTAJE RELATIVO DE MICROORGANISMOS PRESENTES POR ML EN LOS DIFERENTES INOCULOS CON EL EFLUENTE INDUSTRIAL PETROQUIMICO AL 100 %.

CILIADO	INOCULO A				INOCULO B				INOCULO C			
	1	2	3	\bar{x}	1	2	3	\bar{x}	1	2	3	\bar{x}
<i>Litonotus lamella</i>	0	0	0	0	20	13	17	17 ± 4	12	7	9	9 ± 3
<i>Fodophrya fixa</i>	46	40	63	50 ± 12	6	11	3	10 ± 4	5	6	3	5 ± 2
<i>Paramecium aurelia</i>	0	0	0	0	26	33	29	29 ± 4	0	0	0	0
<i>Paramecium caudatum</i>	9	4	6	6 ± 3	0	11	15	11 ± 4	6	9	3	6 ± 3
<i>Aspidisca costata</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	39	45	63	49 ± 9
<i>Colpidium colpoda</i>	6	0	0	7 ± 1	0	4	3	5 ± 1	0	0	0	0
<i>Dexiotricha plagia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5	6 ± 2
<i>Cyolidium sp</i>	0	0	0	0	6	6	9	7 ± 1	0	0	0	0
<i>Vorticella octava</i>	24	31	14	23 ± 9	0	6	9	0 ± 2	19	15	9	14 ± 5
NEMATODOS	15	17	9	14 ± 4	10	4	3	6 ± 4	8	9	3	7 ± 3
ROTIFEROS	0	0	0	0	0	12	12	11 ± 2	3	3	5	4 ± 1
No. DE MICROORG./ml	540	480	350	457 ± 97	500	470	340	437 ± 85	640	670	540	613 ± 74

INOCULO A: INFUSION DE TALLOS DE FLORES.

INOCULO B: AGUAS RESIDUALES DE UNA DESTILACION ALCOHOLICA.

INOCULO C: AGUAS RESIDUALES DE UN PROCESO DE FABRICACION DE PAPEL.

TABLA 5.7 CILIADOS ENCONTRADOS EN EL EFLUENTE PETROQUIMICO DURANTE SU TRATAMIENTO EN LA LAGUNA DE AIREACION Y CON LOS DIFERENTES INOCULOS.

CILIADO	LAGUNA DE AIREACION	INOCULO A		INOCULO B		INOCULO C	
		I	F	I	F	I	F
<u>Oxtricha fallax</u>	-	+	-	-	-	+	-
<u>Litonotus lamella</u>	+	-	-	+	+	+	+
<u>Podophrya fixa</u>	-	+	+	+	+	+	+
<u>Paramecium aurelia</u>	-	-	-	+	+	-	-
<u>Paramecium caudatum</u>	-	+	+	+	+	+	+
<u>Aspidisca costata</u>	-	-	-	-	-	+	+
<u>Euplotes sp</u>	+	-	-	-	-	-	-
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	+	-	-	-	-	-	-
<u>Colpidium colpoda</u>	+	+	+	+	+	-	-
<u>Dexiotricha plagia</u>	-	-	-	-	-	+	+
<u>Uronema sp</u>	-	+	-	+	-	-	-
<u>Cyolidium sp</u>	-	-	-	+	+	-	-
<u>Epistylis sp</u>	-	+	-	+	-	-	-
<u>Vorticella costata</u>	+	+	+	+	+	+	+
<u>Colpoda steinii</u>	+	-	-	-	-	-	-
TOTAL DE ESPECIES	6	7	4	9	7	7	6

INOCULO A: INFUSION CON TALLOS DE FLORES.

INOCULO B: AGUAS RESIDUALES DE UNA DESTILACION ALCOHOLICA.

INOCULO C: AGUAS RESIDUALES DE UN PROCESO DE FABRICACION DE PAPEL.

+ = PRESENCIA

I = INICIO

- = AUSENCIA

F = FINAL

5.4 DESCRIPCION DE LOS CILIADOS ENCONTRADOS

Las especies de ciliados que a continuación se describen, fueron determinadas tanto en el efluente petroquímico tratado en la laguna de aireación, como con los inóculos aclimatados (A, B, y C) mediante la dosificación paulatina del efluente en estudio.

PHYLUM	Ciliophora	Doflein, 1901
SUBPHYLUM	Rhabdophora	Small, 1976
CLASE	Litostomatea	Small y Lynn, 1981
SUBCLASE	Haptoria	Corliss, 1974
ORDEN	Pleurostomatida	Schewiakoff, 1896
FAMILIA	Amphileptidae	Bütschli, 1889

Litonotus lamella Ehrenberg, 1838

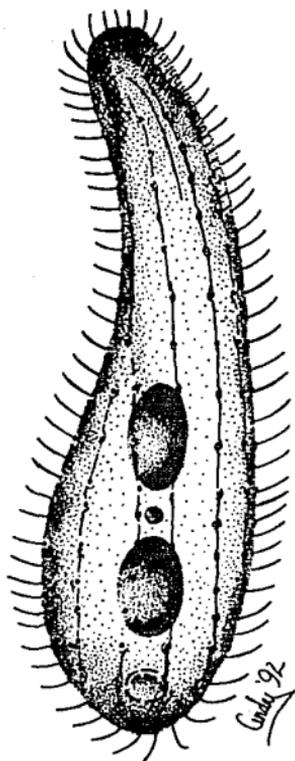
Tamaño: 80-110 μm x 12-20 μm .

Cuerpo lanceolado con el extremo anterior ligeramente truncado y curvo y el posterior redondeado. La región anterior presenta en uno de los bordes laterales una serie de tricocistos, observándose también en la región posterior pero en menor número. Ciliatura somática representada por 14-17 cinetias paralelas. Citostoma anterior en forma de hendidura. Citoplasma granuloso; dos macronúcleos ovoides centrales y un micronúcleo entre ellos. Vacuola contráctil en el extremo posterior.

Alimento: Flagelados y Ciliados (*Cyclidium* y *Uronema*)

Distribución cosmopolita. Común en aguas contaminadas con materia orgánica en descomposición, se ha registrado en lodos activados (Madoni et al., 1985), filtros percoladores (Bick, 1972; Curds, 1975) y en reactores biológicos rotatorios (Luna-Pabello, 1987; Rivera, et al., 1989).

30 μ m



Litonotus lamella (Ehrenberg)



Litonotus lamella (Ehrenberg). Protargol 100x

SUBPHYLUM	Cyrtophora	Small, 1796
CLASE	Phyllopharyngea	de Puytorac <u>et al.</u> , 1974
SUBCLASE	Suctoria	Claparède y Lachmann, 1858
ORDEN	Exogenida	Collin, 1912
FAMILIA	Podophryidae	Haeckel, 1866

Podophrya fixa Quennerstedt, 1867

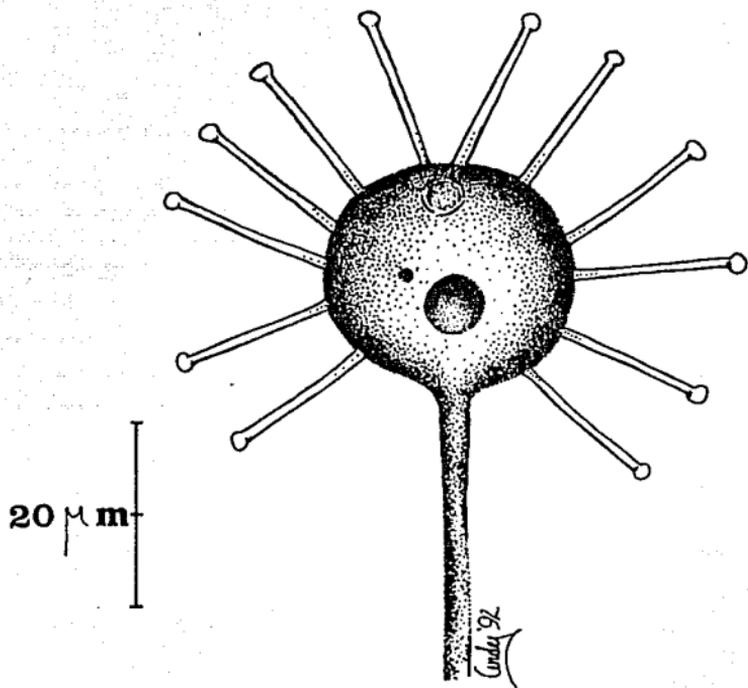
Tamaño: 20-38 μm .

Forma esférica, con un pedúnculo de aproximadamente 37 μm . Tiene de 12 a 15 tentáculos suctores de tamaño uniforme y distribuidos en forma regular. Macronúcleo y micronúcleo esféricos localizados en el centro. Una vacuola contráctil en posición anterior.

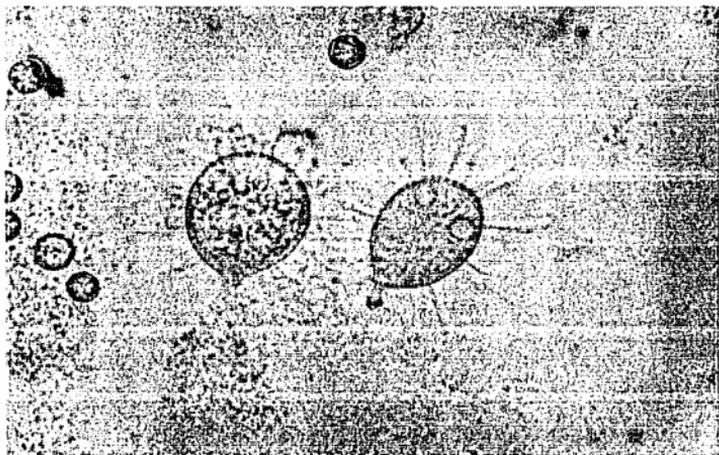
Alimento: Ciliados.

Distribución cosmopolita, presente en aguas contaminadas con material biodegradable (Bick, 1972). Se han encontrado en filtros percoladores y lodos activados (Bick, 1972; Curds y Cockburn, 1969; Curds, 1975; Madoni, 1981; Madoni et al., 1985;), y en reactores biológicos rotatorios (Luna-Pabello, 1987, 1990; Luna-Pabello et al., 1991).

Su presencia se asocia a una calidad pobre del efluente en tratamiento (Madoni, 1981).



Podophrya fixa (Quennerstedt)



Podophrya fixa (Quennerstedt). "In vivo" 40x

CLASE	Nassophorea	Small y Lynn, 1981
SUBCLASE	Nassophoria	Small y Lynn, 1981
ORDEN	Peniculida	Fauré-Fremiet en Corliss, 1956
SUBORDEN	Parameciina	Jankowski, en Small y Lynn, 1985
FAMILIA	Parameciidae	Dujardin, 1840

Paramecium aurelia Ehrenberg, 1831

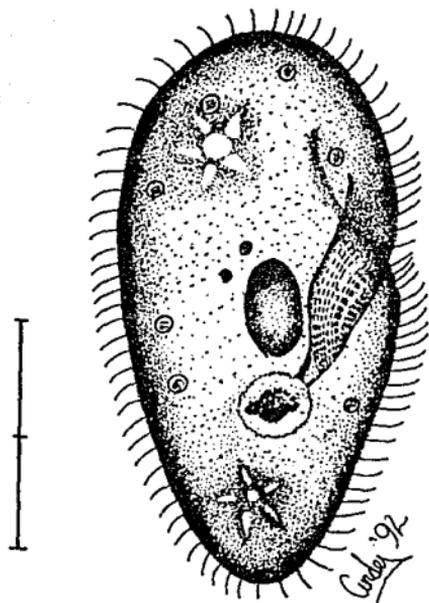
Tamaño: 120-180 μm x 35-40 μm .

Cuerpo en forma de huso con la parte anterior redondeada y la posterior en forma de cono amplio (ángulo de 90° aproximadamente). Ciliatura somática uniforme dispuesta en 91-97 cinetias conectadas a partir del lado derecho del citostoma que se presenta ventralmente. Está delimitada anterior y posteriormente por las suturas pre y post-orales respectivamente. Presenta una infraciliatura vestibular formada por 7 cinetias. Las estructuras infraciliarias de los organoides bucales corresponden a la membrana paroral que presenta 22 cinetosomas espaciados regularmente, los penículos están formados por cuatro hileras de gránulos basales, estando más separadas en el tercer penículo (cuádrulo). Macronúcleo central ovoide, dos micronúcleos pequeños localizados junto a éste. Dos vacuolas contráctiles con canales radiales cortos localizadas dorsalmente entre las cinetias 48-49.

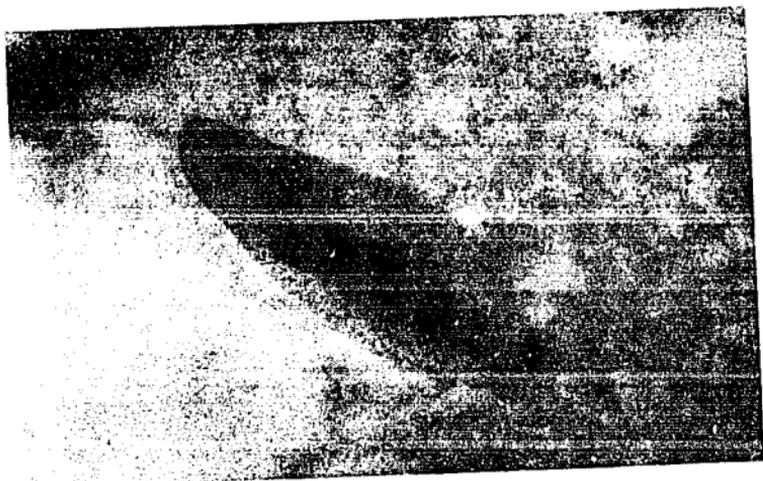
Alimento: Bacterias

Prolifera en filtros percoladores y lodos activados (Curds y Cockburn, 1969; Curds, 1975,), rectores biológicos rotatorios (Luna-Pabello, 1990; Luna-Pabello *et al.*, 1991) y en aguas negras (Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976 a).

50 μ m



Paramecium aurelia (Ehrenberg)



Paramecium aurelia (Ehrenberg). Protargol 100x

Paramecium caudatum Ehrenberg, 1838

Tamaño: 180-300 μm x 40-62 μm .

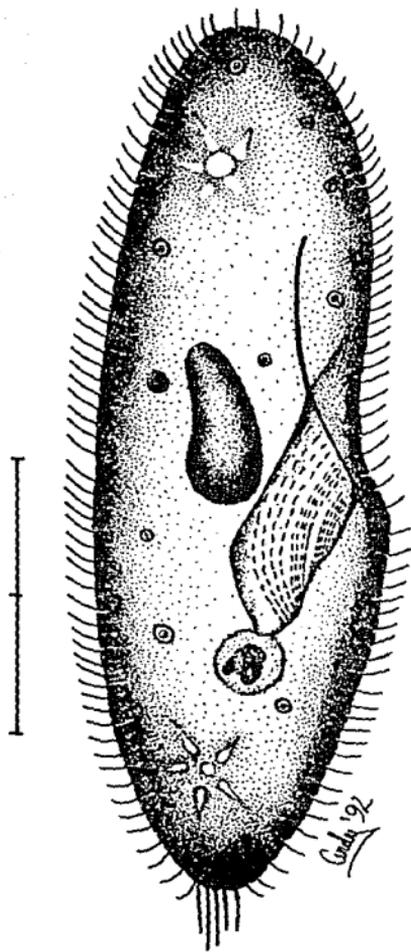
Cuerpo alargado con el extremo posterior puntiagudo obtusamente. La ciliatura somática es uniforme formada por 116-121 cinetias. Numerosos tricocistos. Presenta una cavidad profunda que se dirige en forma oblicua hacia la parte media del cuerpo, donde se termina el citostoma. Este se encuentra localizado al centro de la cara ventral, presenta un vestíbulo con una infraciliatura uniforme, la cual consta de 9 cinetias. Las estructuras infraciliares bucales comprenden una membrana paroral, y tres penáculos que están formados por cuatro hileras de gránulos basales, presentándose más separadas en el tercero (cuádrulo). La membrana paroral está formada por 30 gránulos basales y se localiza a la derecha de la abertura bucal. Macronúcleo central ovoide, un micronúcleo compacto cercano a éste. Dos vacuolas contráctiles localizadas dorsalmente. La anterior se encuentra entre las cinetias 39-40, y la posterior, entre la 40-41.

Alimento: Bacterias.

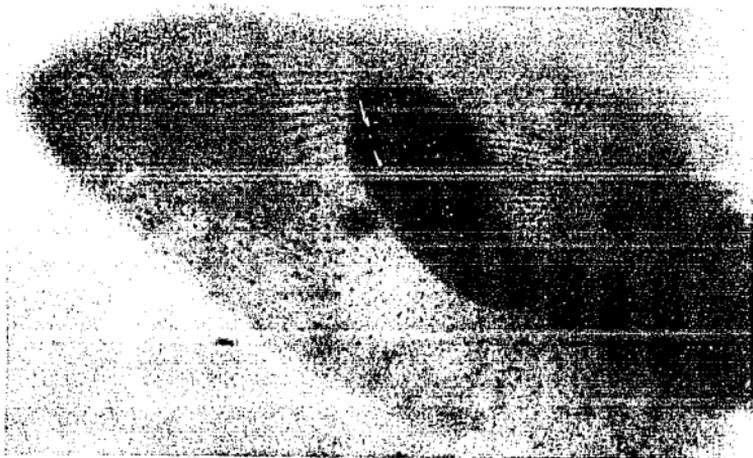
Distribución cosmopolita. Prolifera en filtros percoladores y lodos activados (Curds y Cockburn, 1969; Curds, 1965, 1975; Madoni, 1981; Madoni et al., 1985), reactores biológicos rotatorios (Luna-Pabello et al., 1991; Madoni, 1981) y en aguas negras (Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976 a).

Comunmente presente en sistemas de tratamiento que funcionan correctamente. Generalmente se encuentra asociado con *Vorticella convallaria*, rotíferos y nemátodos (Madoni, 1981).

60 μ m



Paramoecium caudatum (Ehrenberg)



Paramecium caudatum (Ehrenberg) Protargol 100x

SUBCLASE Hypotrichia Stein, 1859
ORDEN Euplotida Small y Lynn, 1985
SUBORDEN Euplotina Small y Lynn, 1985
FAMILIA Aspidiscidae Ehrenberg, 1838

Aspidisca costata Dujardin, 1841

Tamaño: 24.5-40 μm x 16-32 μm .

Forma ovoide con el extremo anterior redondeado y el posterior ligeramente truncado. La cara dorsal convexa y la ventral plana. Provisto de seis pliegues o costillas en la parte dorsal. La ciliatura somática está representada por siete cirros frontales y cinco transversales. Tiene la zona adoral dividida en dos. Citoplasma con granulaciones. El macronúcleo tiene forma de herradura de aproximadamente 21 x 1.15 μm , el micronúcleo está en la parte izquierda anterior. Vacuola contráctil posterior de 3 μm .

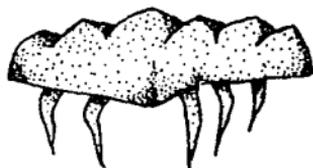
Alimento: Bacterias.

Distribución cosmopolita, se ha encontrado en lodos activados (Bick, 1975; Curds, 1975; Pike y Curds, 1971; Madoni, 1981; Madoni et al., 1985), filtros percoladores (Bick, 1975; Curds y Cockburn, 1969), y reactores biológicos rotatorios (Madoni, 1981).

La presencia de esta especie se asocia con eficiencia en la depuración.

Se presenta asociada con *Vorticella convallaria*, estableciendo competencia (Madoni, 1981).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



I 10 μ m

Aspidisca costata (Dujardin)



Aspidisca costata (Dujardin). Protargol 100x

CLASE	Oligohymenophorea	de Puytorac <u>et al.</u> , 1974
SUBCLASE	Hymenostomatia	Delage y Hérouard, 1896
ORDEN	Hymenostomatida	Delage y Hérouard, 1896
SUBORDEN	Tetrahymenina	Fauré-Fremiet en Corliss, 1956
FAMILIA	Tetrahymenidae	Corliss, 1952

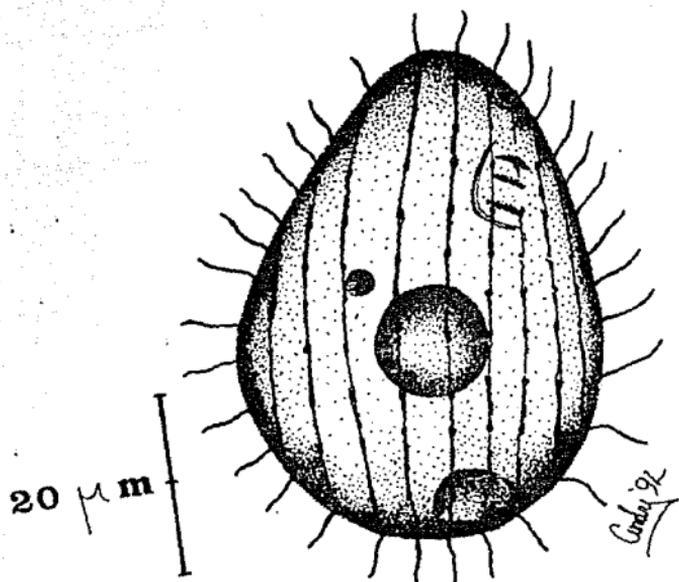
Tetrahymena pyriformis Ehrenberg, 1831.

Tamaño: 40-60 μm x 27-40 μm .

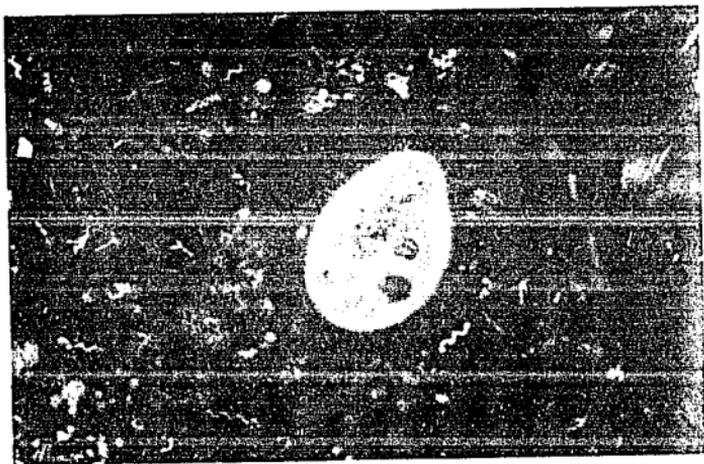
Ovoide con el extremo anterior puntiagudo y el posterior redondeado. Ciliatura somática uniforme con 17-25 cinetias. El citostoma se localiza al centro de la línea media ventral y en posición anterior. Ciliatura bucal tetrahiménica, constituida por tres membranelas, colocadas del lado izquierdo del ciliado y una membrana paroral del lado derecho. Macronúcleo y micronúcleo esféricos centrales. Vacuola contráctil en el extremo posterior.

Alimento: Detritos, bacterias y algas (Bick, 1976).

Distribución cosmopolita, es común que cambie de forma en respuesta a presiones locales. Habita en aguas contaminadas con materia orgánica en descomposición (Bick, 1972). Prolifera en filtros percoladores, lodos activados (Bick, 1976; Curds y Cockburn, 1969; Curds, 1975; Madoni, 1981; Madoni et al., 1985), reactores biológicos rotatorios, (Luna-Paballo, 1987, 1990; Luna-Paballo et al., 1991; Madoni, 1981; 1987, Rivera et al., 1989; y aguas negras (Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976 a).



Tetrahymena pyriformis (Ehrenberg)



Tetrahymena pyriformis (Ehrenberg). Protargol 100x

FAMILIA Turaniellidae Didier, 1971

Colpidium colpoda Stein, 1860

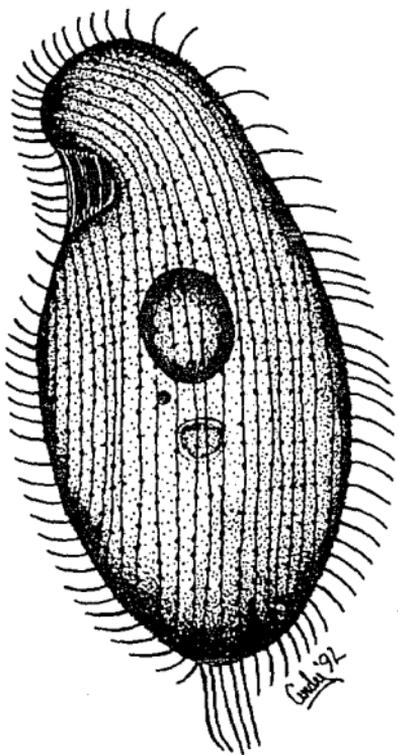
Tamaño: 100-150 μm x 47-98 μm .

Cuerpo reniforme alargado. El extremo posterior es ligeramente más ensanchado que el anterior. Ciliatura uniforme representada por 50-60 cinetias. Cilios caudales en la parte posterior. Presenta de 50-60 cinetias. Sutura preoral curvada hacia la izquierda del lado ventral. El citostoma está en la parte derecha anterior. Ciliatura bucal tetrahiménica. El macronúcleo es oval y central, tiene un micronúcleo compacto cercano a éste. La vacuola contractil está en la parte central del cuerpo.

Alimento: Bacterias y pequeños flagelados.

Distribución cosmopolita durante todo el año en aguas contaminadas. Se ha registrado en filtros percoladores, lodos activados (Curds y Cockburn, 1969; Curds, 1975) y en reactores biológicos rotatorios (Madoni, 1981; Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976 b; Rivera, et al. 1989). Suele estar asociado con *Colpidium campylum*, *Cinetochilum margaritaceum*, *Glaucoma scintillans*, *Paramecium trichium*, *Tetrahymena pyriformis*, y otros (Madoni, 1980).

60 μ m



Colpidium colpoda (Stein)



Colpidium colpoda (Stein). Klein 40x

ORDEN Scuticociliatida Small, 1967.
SUBORDEN Philasterina Small, 1967
FAMILIA Loxocephalidae Jankowski, 1964

Dexiotricha plagia Stokes, 1885

Tamaño: 50-70 μm x 25-35 μm .

Cuerpo cilíndrico. Ciliatura somática uniforme con 22-30 cinetias. Presenta un cilio caudal. Los cinetosomas anteriores se caracterizan porque las dos primeras hileras son dicinetidas y las siguientes monocinetidas.

Apertura bucal tetrahiménica, con membrana paroral y tres membranelas cortas rectangulares, siendo de mayor tamaño la segunda. Presenta una hilera oblicua adicional de cilios asociada con el peristoma localizada en la orilla derecha. El macronúcleo es esférico y se localiza en la parte media. El micronúcleo se encuentra en la parte izquierda de éste. Presenta una vacuola contráctil en la parte posterior del cuerpo.

Nuevo registro para México en efluentes industriales.

Sinónimos de acuerdo con Wilbert (1986):

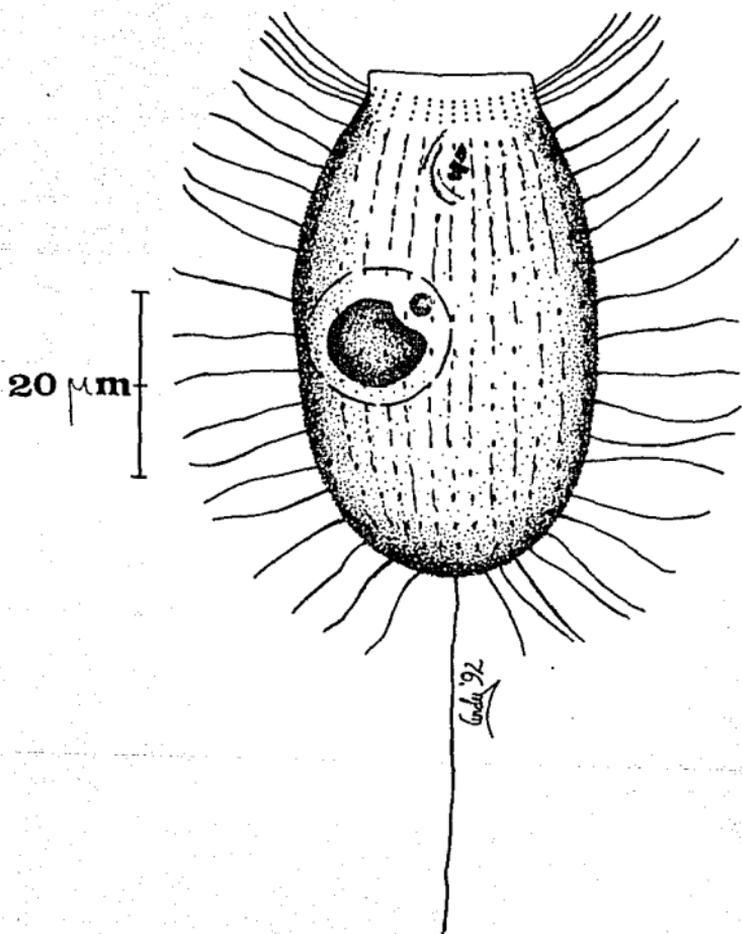
Loxocephalus annulatus, Kahl

L. luridus, Smith

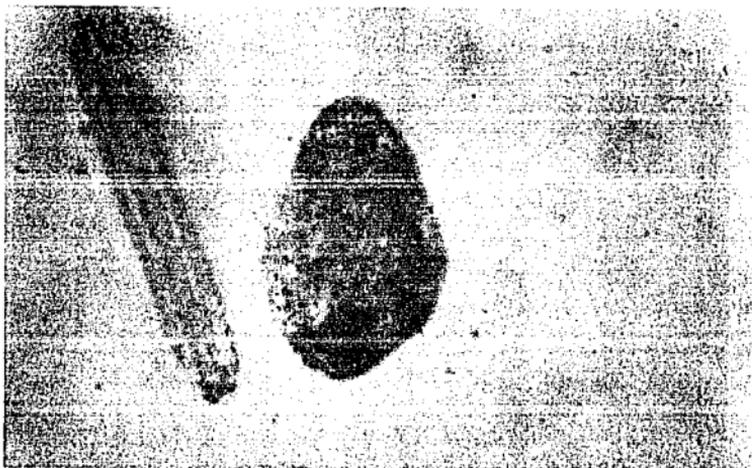
L. simplex, (Penard) Kahl

Uronema simplex, Penard

Colpidium pannonicum, Gelei



Dextotricha plagia (Stokes)



Dexiotricha plagi (Stokes). Protargol 100x

SUBCLASE Peritrichia Stein, 1859
ORDEN Sessilida Kahl, 1933
FAMILIA Vorticellidae Ehrenberg, 1838

Vorticella octava Stokes, 1885

Tamaño: 20-60 μm de largo, 15-40 μm de ancho, 13-40 μm el ancho del peristoma y de 20-300 μm el pedúnculo.

Cuerpo en forma de copa. El cuerpo presenta de 25-40 estrias o anillos. Peristoma angosto. Citoplasma transparente. Macronúcleo en forma de banda situado en la parte anterior. Micronúcleo compacto localizado en la parte derecha anterior. Vacuola contráctil cerca de la cavidad bucal.

Alimento: Bacterias.

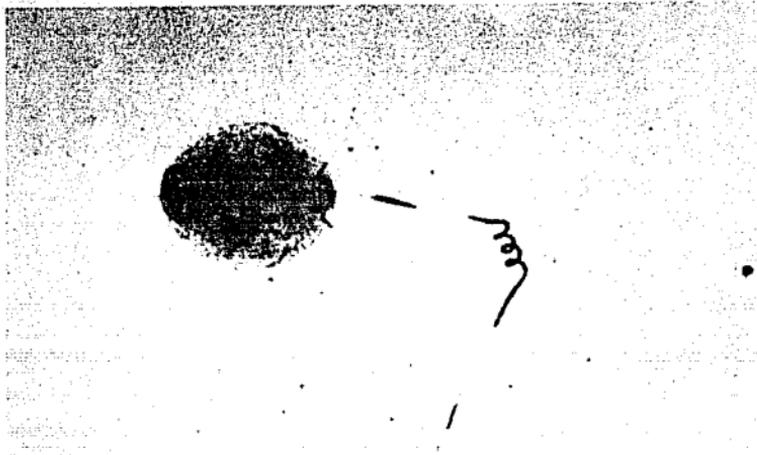
Distribución cosmopolita, alta tolerancia a los cambios de salinidad.

Vive en aguas con materia orgánica. Se ha registrado en filtros percoladores (Curds y Cockburn, 1969; Curds, 1975) y en lodos activados (Curds, 1965, 1975; Madoni, 1981; Madoni et al., 1985). Su presencia en los sistemas de tratamiento, indican una buena oxigenación (Madoni, 1981).

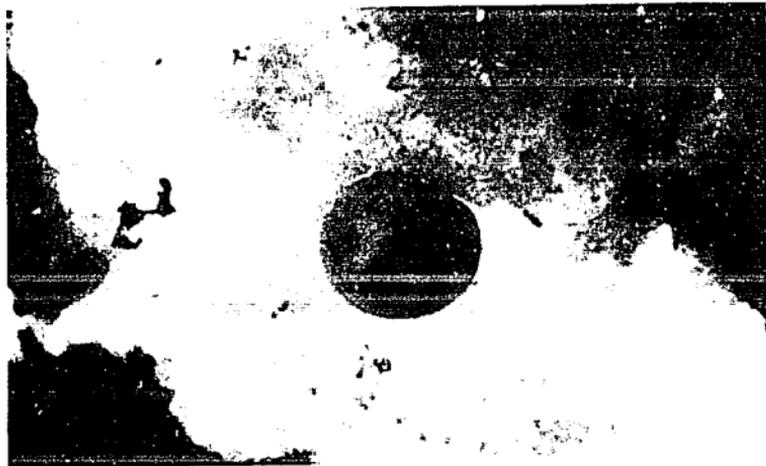
20 μ m



Vorticella octava (Stokes)



Vorticella octava (Stokes) Protargol 40x



Vorticella octava (Stokes). Klein 40x

CLASE Colpodea de Puytorac et al., 1974
ORDEN Colpodida de Puytorac et al., 1974
FAMILIA Colpodidae Ehrenberg, 1838

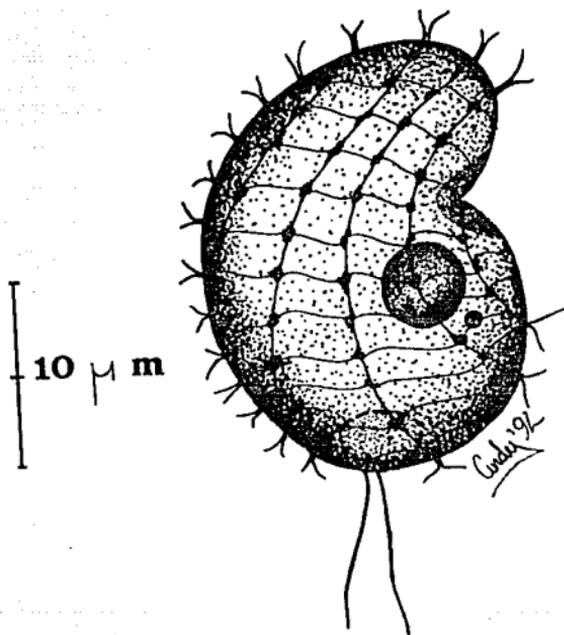
Colpoda steinii Maupas, 1883

Tamaño: 15-60 μm x 11-56 μm .

Reniforme comprimido. La ciliatura somática está distribuida uniformemente formada por 14 cinetias. Presenta dos cilios caudales largos. El citostoma está en posición ventral y anterior. Citoplasma muy granuloso con varias vacuolas digestivas. Macronúcleo esférico, localizado en la parte posterior de la cavidad oral. El micronúcleo es compacto y se encuentra cercano a éste. Vacuola contráctil posterior.

Alimento: Bacterias.

Distribución cosmopolita, presente en todos los tipos de agua con desechos de plantas y animales. Prolifera en lodos activados (Bick, 1975; Curds, 1975), y en reactores biológicos rotatorios (Madoni, 1981; Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1976 b; Rivera et al., 1989).



Colpoda steinii (Maupas)



Colpoda steinii (Maupas). Klein 100x

6. DISCUSION

6.1 COMPORTAMIENTO FISICOQUIMICO DE LA LAGUNA DE AIREACION

Después de obtener los resultados durante los 35 días que duró la fase experimental, se procedió a graficar la demanda química de oxígeno (DQO) con respecto al tiempo. Esto se hizo con objeto de tener una noción global del comportamiento de la laguna de aireación a lo largo del período experimental. También para facilitar el manejo de la información y profundizar en su análisis durante la etapa pseudoestable o de equilibrio dinámico del sistema de tratamiento. Al analizar los datos se observó una porción en donde el valor de la DQO no osciló $\pm 5 \%$ y se consideró como la etapa estable de operación de la laguna. Lo anterior ocurrió durante 8 días del total del período experimental (de la muestra 26 a la 33).

A pesar de que existe una variación en el valor de la DQO de ± 110 mg/L en el agua residual que entra al sistema, la calidad de la salida es estable, permaneciendo con un valor de DQO de 140 mg/L (figura 6.1).

Al evaluar el porcentaje de remoción de la DQO (figura 6.2), se observa que este es mayor de 90 % y que el de la DBO₅ es superior a 95%. Esto sugiere que el funcionamiento de la laguna es bueno y que la comunidad microbiana que está actuando realiza el proceso de biotransformación de manera adecuada.

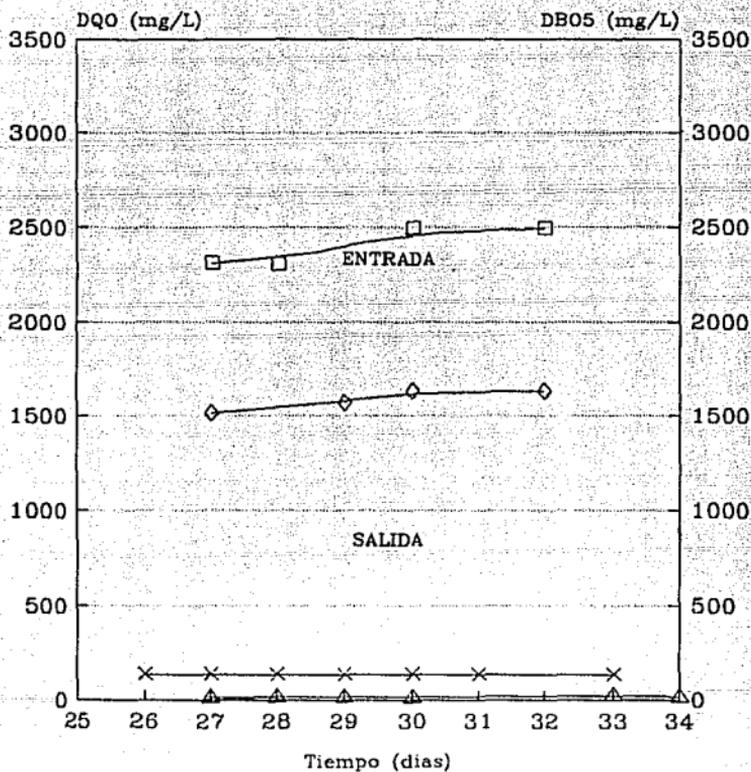


FIG.6.1 COMPORTAMIENTO DE LA DQO Y DBO5 DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO ANTES Y DESPUES DE SER TRATADA, DURANTE LA FASE ESTABLE.

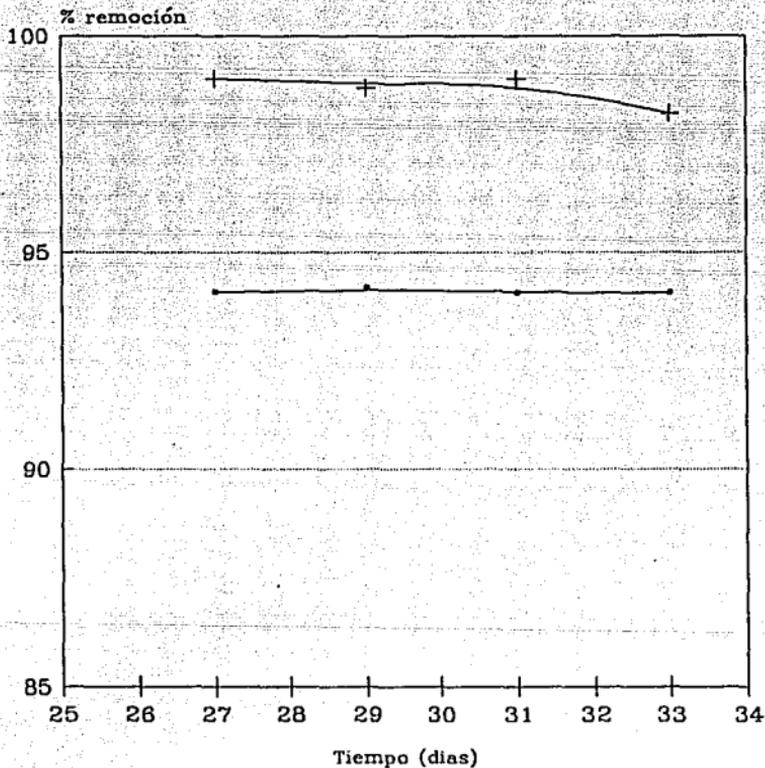


FIG.8.2 VARIACION DEL PORCENTAJE DE REMOCION TOTAL DE LA DQO Y LA DBO5 DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO DURANTE LA FASE ESTABLE.

Los valores del pH (figura 6.3) fueron superiores a 8 unidades pero manteniéndose dentro del intervalo en que crecen los microorganismos que es de 6 a 9 unidades (Kudo, 1969). El aumento del pH puede deberse al incremento en la concentración de oxígeno disuelto, la cual pudo haber permitido que los ácidos orgánicos existentes fueran consumidos por los microorganismos aerobios. Al haber disminución de los ácidos orgánicos en el líquido, puede permitir el desarrollo de mayor número de protozoarios (Curds, 1975).

En este tipo de líquidos residuales es importante controlar el parámetro de pH ya que por su alta acidez, resultaría sumamente difícil un tratamiento biológico aerobio sin una neutralización previa.

Por otra parte, respecto al oxígeno disuelto (figura 6.4), siempre se cuidó que la agitación inducida en la laguna fuera constante, de tal manera que el valor mínimo de oxígeno disuelto fuera de 2 mg/L.

A pesar de haber consumo de oxígeno por la actividad metabólica, la aireación fue suficiente para mantener condiciones aerobias. Los valores se mantuvieron en un intervalo entre 5 y 7 mg/L. Debe considerarse que los niveles de oxígeno disuelto dependen tanto de la oxigenación microbiana efectuada en el sistema, como de las fluctuaciones de la temperatura ambiente y del líquido, las cuales pueden observarse en la figura 6.5.

Al aumento de la temperatura observado durante la fase estable, corresponde una disminución en la concentración del

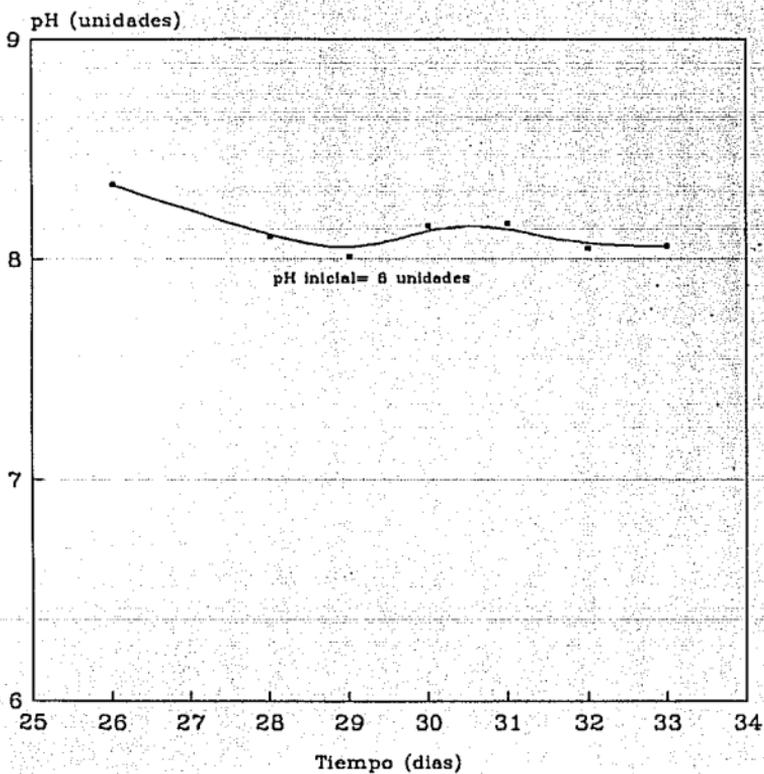
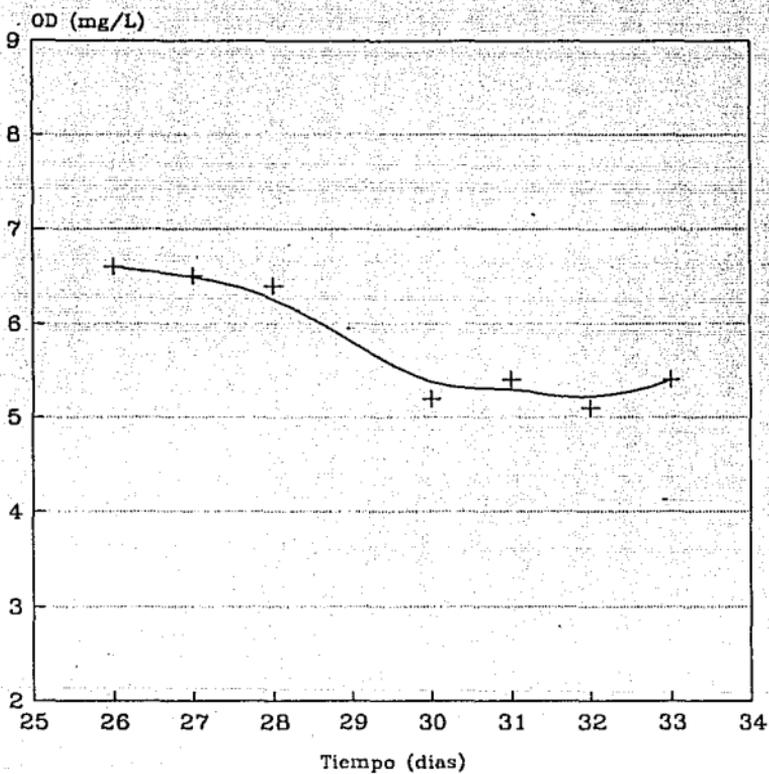
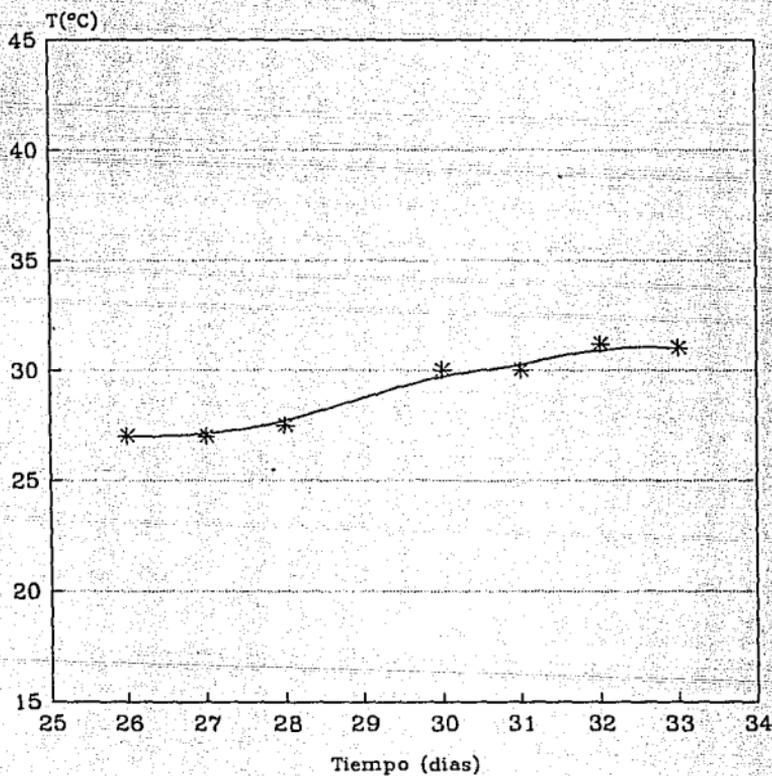


FIG.6.3 VARIACION DEL pH DEL AGUA RESIDUAL
CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON
RESPECTO AL TIEMPO, DURANTE LA FASE ESTABLE.



—+ OD

FIG.6.4 VARIACION DEL OXIGENO DISUELTO DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO, DURANTE LA FASE ESTABLE.



—*— Temperatura

FIG.6.5 VARIACION DE LA TEMPERATURA DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO DURANTE LA FASE ESTABLE.

oxígeno disuelto, lo cual puede constatarse al contrastar las figuras 6.4 y 6.5.

El factor temperatura no resultó una variable limitante para la rapidez de crecimiento microbiano (Atlas, 1981).

En general se puede decir que existió una variación de los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos en la laguna de aireación, pero nunca fuera de los intervalos necesarios para el buen funcionamiento de la misma.

Es importante hacer notar que al existir una comunidad mixta de microorganismos como en este caso, continuamente se presentan cambios a estos niveles. De manera adicional resulta difícil conseguir un régimen estacionario o pseudoestable en los sistemas de tratamiento biológico de efluentes industriales debido a la fluctuación en la concentración de contaminantes presentes en las descargas, así como por la presencia eventual de sustancias tóxicas (Ramalho, 1991).

6.2 COMPORTAMIENTO BIOLOGICO

Diversidad de ciliados encontrada en el efluente petroquímico

De las 6 especies de ciliados determinadas durante la fase preestable del sistema de tratamiento, 5 son libres nadadoras (*Litonotus lamella*, *Euplotes* sp *Tetrahymena pyriformis*,

Colpidium colpoda y *Colpoda steinii*), y una es sésil (*Vorticella octava*).

Las especies con mayor abundancia fueron, en orden decreciente, *Tetrahymena pyriformis*, *Colpoda steinii* y *Vorticella octava* (figura 6.6). Estas especies permanecieron durante la fase estable (figura 6.7), en la cual aparecen también rotíferos y formas móviles de peritrico (figura 6.8). Dichas formas móviles son presumiblemente de *V. octava* dado que no hay otra especie de peritrico que pudiera originarlas.

Respecto a los porcentajes relativos totales durante la fase estable la especie más abundante fue *Colpoda steinii* (29%) después *Tetrahymena pyriformis* (20%) y finalmente *Vorticella octava* (3%) con sus formas móviles (48%) (figura 6.9).

La alta abundancia de formas móviles de peritrico (FMP) puede deberse a que las condiciones ambientales no son propicias para el establecimiento de peritricos como coloniales o solitarios, así pues, la mayoría de la población de ciliados correspondería a *Vorticella octava*.

En un sistema de tratamiento biológico, la presencia de peritricos es indicio de una calidad mejor que cuando los ciliados libres nadadores son los únicos existentes (Curds y Cockburn, 1970 a).

La calidad depurativa lograda en la laguna de aireación está asociada a una buena aireación y a un buen manejo en el balance Carbono: Nitrógeno: Fósforo (C:N:P), por lo cual los microorganismos no presentaron problemas en la obtención de alimento.

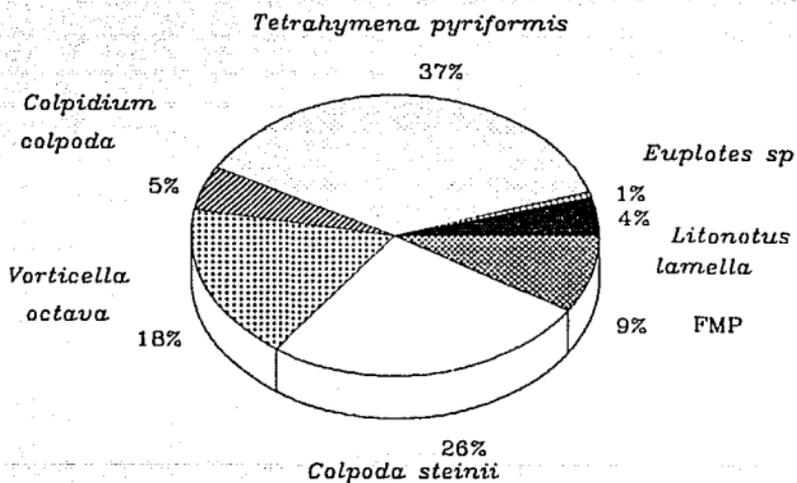
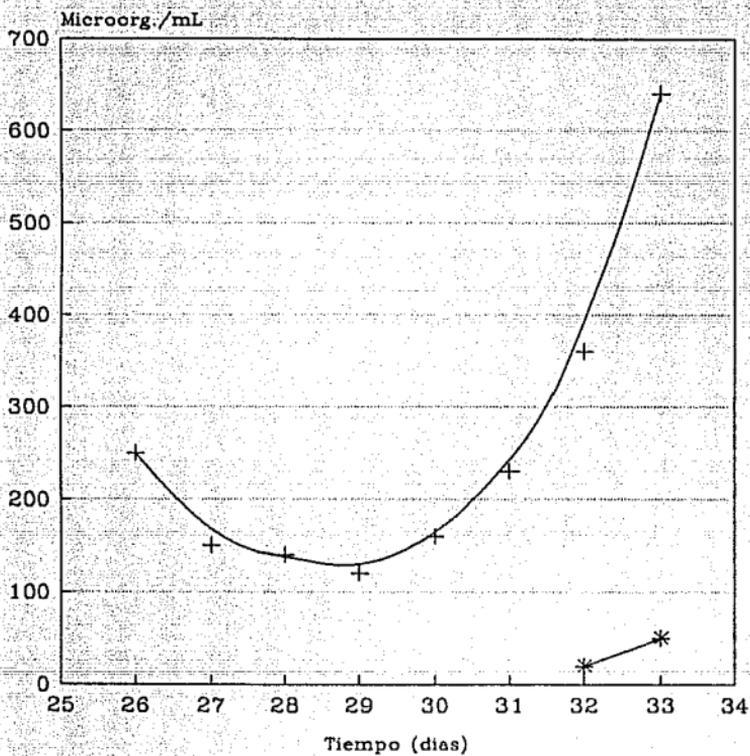


FIG.8.6 PORCENTAJES RELATIVOS DE CILIADOS PRESENTES EN EL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION.



+ Ciliados * Rotíferos

FIG.6.7 VARIACION EN LA CONCENTRACION DE CILIADOS Y ROTIFEROS DEL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO DURANTE LA FASE ESTABLE.

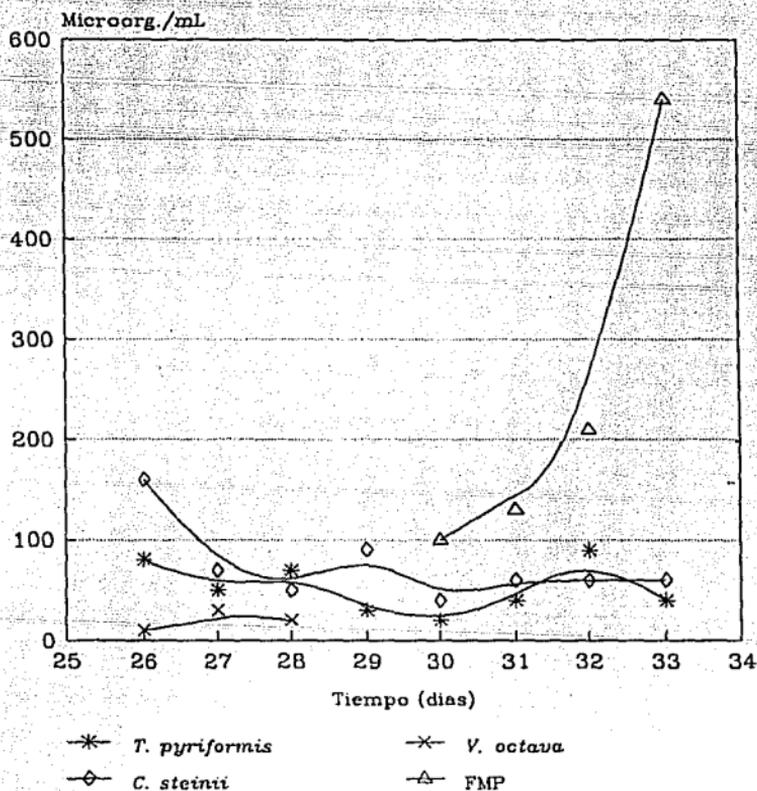


FIG.6.8 VARIACION DE LA CONCENTRACION DE DIFERENTES ESPECIES DE CILIADOS EN EL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO DURANTE LA FASE ESTABLE.

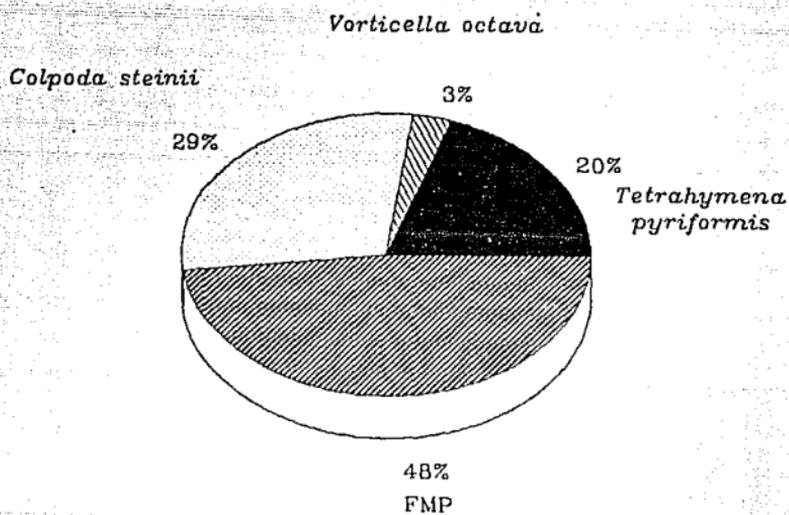


FIG.6.9 PORCENTAJES RELATIVOS TOTALES DE LOS CILIADOS PRESENTES EN EL AGUA RESIDUAL CONTENIDA EN LA LAGUNA DE AIREACION DURANTE LA FASE ESTABLE.

Los ciliados están muy influenciados por las condiciones fluctuantes del sistema, de esta forma, se espera que cuando éste está estable, la comunidad microbiana también.

6.3. RELACION ENTRE LOS CILIADOS Y LOS FACTORES FISICOQUIMICOS Y BIOQUIMICOS EVALUADOS

En las figuras 6.10 y 6.11 se presenta la relación de ciliados con la demanda química de oxígeno (DQO) y la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), respectivamente.

En este punto hay que considerar que la relación entre la materia orgánica y los ciliados es indirecta ya que para las bacterias, el alimento fundamental es la materia orgánica y la base de la alimentación de los ciliados son las bacterias.

Al tener la relación entre los parámetros fisicoquímicos del sistema de tratamiento y las especies de ciliados presentes, se puede evaluar cuándo es correcto el funcionamiento del sistema observando la comunidad de ciliados.

Se encontró que las especies de ciliados registradas, se presentan dentro de los intervalos de tolerancia señalados por Bick, 1972, 1976 y Sládeček, 1973, para los factores ambientales evaluados (tabla 6.1).

Los parámetros de pH, oxígeno disuelto, y temperatura no presentan valores limitantes para el desarrollo de los microorganismos.

En cuanto a el contenido de materia orgánica medida como DQO

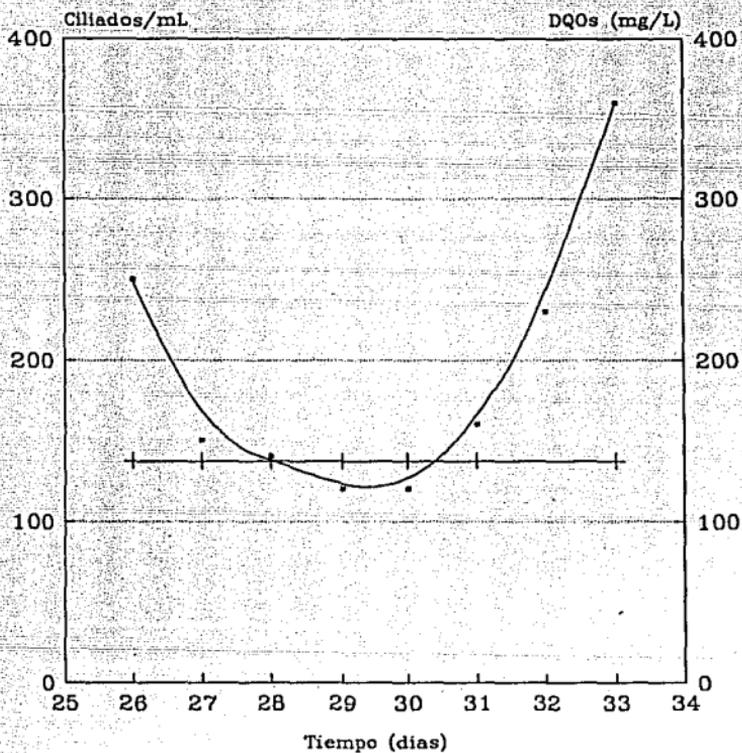
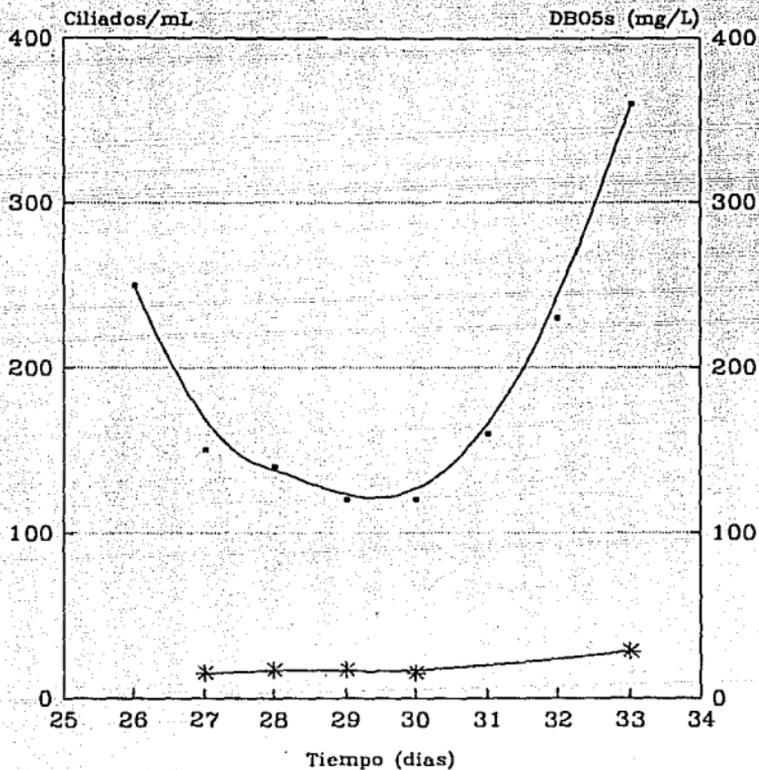


FIG. 6.10 RELACION ENTRE LA CONCENTRACION TOTAL DE CILIADOS Y LA DQO EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO, DURANTE LA FASE ESTABLE.



—●— Ciliados -*- DBO5
 FIG.8.11 RELACION ENTRE LA CONCENTRACION DE CILIADOS Y LA DBO5 EN LA LAGUNA DE AIREACION CON RESPECTO AL TIEMPO, DURANTE LA FASE ESTABLE.

TABLA 6.1 ESPECIES DE CILIADOS ENCONTRADAS EN EL EFLUENTE INDUSTRIAL PETROQUIMICO Y SU INTERVALO DE TOLERANCIA REGISTRADO PARA DIFERENTES FACTORES AMBIENTALES.

CILIADO	TEMPERATURA ^N (° C)	pH ^N	OXIGENO ^N DISUELTO (mg/L)	DBO5 ^{NN} (mg/L)
<u>Litonotus lamella</u>	0 - 30	6.0 - 9.4	0 - 13	----
<u>Podophrya fixa</u>	4 - 19	6.9 - 7.4	2.0 - 4.0	10 - 100
<u>Paramecium aurelia</u>	1 - 42	6.0 - 9.0	0.1 - 12.5	5 - 15
<u>Paramecium caudatum</u>	1 - 35	4.0 - 9.4	0 - 12.5	10 - 100
<u>Aspidisca costata</u>	0 - 30	5.4 - 9.4	0.1 - 12	5 - 100
<u>Tetrahymena pyriformis</u>	1 - 40	7.8 - 8.9	0 - 10	50 - 100
<u>Colpidium colpoda</u>	30	6.2 - 8.3	0 - 7.2	50 - 100
<u>Dexiotricha plagia</u>	----	----	----	----
<u>Vorticella octava</u>	0 - 26	6.0 - 9.0	Niveles altos	5 - 15
<u>Colpoda steinii</u>	10 - 40	4.0 - 9.5	0 - 10	----

^N Tomado de Bick, 1972; 1976 a, b.

^{NN} Tomado de Sladeczek, 1973.

y DBOs, los ciliados presentaron una tolerancia mayor a la registrada en la literatura (Bick, 1972, 1976).

Con estos resultados podemos darnos cuenta bajo qué condiciones se presentan los ciliados, como en este caso el funcionamiento del sistema de tratamiento fue satisfactorio, podrían propiciarse las condiciones para sistemas similares, para una proliferación de las especies.

La diferencia entre la etapa preestable y la estable radica principalmente en que en ésta última la variación en los valores de DQO son menores que en la primera, lo que trae como consecuencia la disminución en el número de especies. Esto puede atribuirse a distintas causas, por un lado las características bióticas (número de bacterias y depredadores) y abióticas (concentración de materia orgánica, pH, oxígeno disuelto, etcétera) particulares del medio líquido en que se desarrollan. Por otro lado las características fisicoquímicas del agua en estudio, las cuales podrían inhibir el desarrollo de la mayoría de las especies comúnmente encontradas en sistemas de tratamiento biológico que depuran aguas de tipo doméstico. También podría ser que el inóculo utilizado en la laguna de aireación, (lodos biológicos provenientes del tratamiento aerobio de efluentes petroquímicos), no presenta una amplia diversidad de especies.

Con el fin de esclarecer si alguna o ambas razones son la causa de la baja diversidad, se realizó un experimento

complementario que consistió en adquirir inóculos microbianos de diferente origen, determinar las especies presentes y posteriormente realizar su aclimatación paulatina al líquido de origen petroquímico y por último observar la diversidad persistente a este medio.

Diversidad de ciliados encontrada en inóculos aclimatados de diferente origen

Al realizar esta parte experimental, se observó que al iniciar con una diversidad mayor en los inóculos seleccionados, la presencia de especies en el efluente petroquímico fue mayor. Estos resultados permitieron inferir que las características del efluente no eran fuertemente limitantes para permitir el desarrollo de mayor número de especies. Por tanto la poca diversidad encontrada en la laguna de aireación pudo deberse a que ya existía un bajo número de especies en el lodo que fue inoculado dada su misma procedencia.

De las 12 especies detectadas para los tres diferentes inóculos persistieron al 100 % de concentración del efluente petroquímico, nueve, lo que equivale al 75 % aproximadamente, esto significa que la mayoría de ciliados inoculados puede tolerar dicho ambiente.

Tres de la especies inoculadas *Oxytricha fallax*, *Uronema* sp y *Epistylis* sp no se registraron en la etapa experimental final, quizá porque el número de ellas disminuyó drásticamente,

dificultando su detección por medio del muestreo y análisis practicados.

Es importante hacer notar que estas especies estuvieron presentes en dos de tres inóculos utilizados, y en ambos dejan de registrarse cuando se agrega el 80 % de la concentración del efluente petroquímico (tabla 5.5).

En un cultivo microbiano mixto, como el utilizado, pueden existir bacterias de diferente tipo. Hay ocasiones en las que algunas son tóxicas para ciertos ciliados, por ejemplo *Proteus vulgaris* que inhibe el desarrollo de *Epistylis* o *Pseudomonas fluorescens* el de *Oxytricha* (Cuds y Vandyke, 1966). Sin embargo, no se sabe si estas bacterias estaban o no presentes en el cultivo utilizado.

Como siguiente paso en esta etapa, se realizó el análisis cualitativo de los ciliados y rotíferos en los diferentes inóculos, con concentraciones graduales del líquido en estudio. Esto es importante ya que permite conocer el tipo de organismos que predominan en una comunidad y su influencia en el proceso depurativo.

Hubo especies que sobrevivieron con el 100 % del efluente y que estaban presentes en dos o en los tres cultivos. Esto es interesante ya que si solo hubieran sobrevivido en uno de los cultivos y en los otros no, podría pensarse que las características del inóculo no permitieron que se desarrollara la especie, o que la mezcla del inóculo con el efluente no les resultara tolerante a las especies.

Al realizar la cuenta de los ciliados en los diferentes inóculos (tabla 5.6), se observó que ninguna población decae, no se presenta por consiguiente el problema de falta de alimento. Debe considerarse que la presencia de rotíferos, los cuales se alimentan de algunos ciliados, disminuyen su abundancia, sin embargo, debe tomarse en cuenta que al inicio de la experimentación, la presencia de rotíferos fue baja y la de ciliados alta.

Ocho de las nueve especies determinadas, han sido registradas para distintos sistemas de tratamiento biológico (ver descripciones de ciliados, capítulo 5, apartado 5.4). De esas especies, *Dexiotricha plagia*, constituye un nuevo registro para México en efluentes industriales, y además no ha sido registrada en sistemas de tratamiento biológico (Rivera et al., 1989; Luna-Pabello, 1987, 1990).

Cada uno de los tres inóculos presenta diferencias en número y tipos de especies. En el inóculo de infusión con tallos de flores (A) se presentaron *Podophrya fixa*, *Paramecium caudatum*, *Colpidium colpoda*, y *Vorticella octava*. En el de aguas residuales de una destilación alcohólica (B), *Litonotus lamella*, *Podophrya fixa*, *Paramecium aurelia*, *Paramecium caudatum*, *Colpidium colpoda*, *Cyclidium* sp., y *Vorticella octava*. Y para las aguas residuales de un proceso de fabricación de papel (C), *Litonotus lamella*, *Podophrya fixa*, *Paramecium caudatum*, *Aspidisca costata*, *Dexiotricha plagia*, *Vorticella octava*. Siendo *Podophrya fixa*, *Paramecium caudatum* y *Vorticella octava* las especies comunes para

los tres inóculos.

En el inóculo A (figura 6.12), los ciliados sésiles dominaron presentándose únicamente dos especies libres nadadoras y los nemátodos se presentan en tercer lugar.

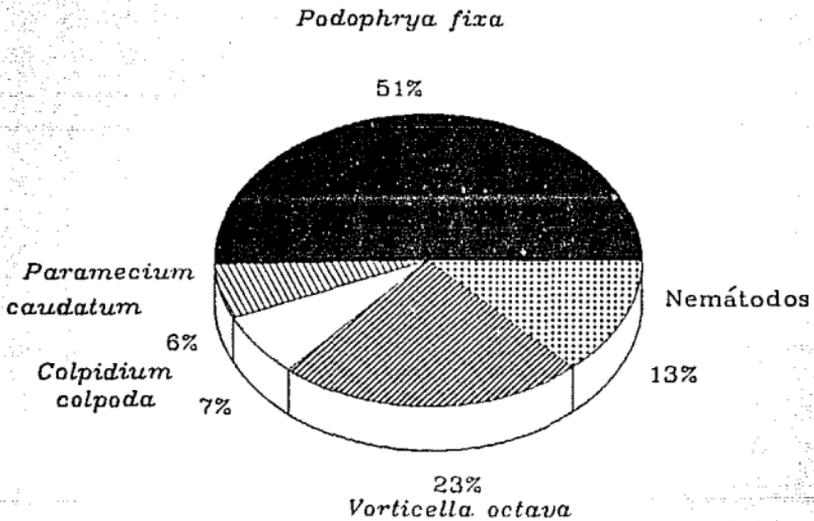
En el inóculo B (figura 6.13), predominaron los ciliados libres nadadores, en este cultivo fue donde se presentó mayor diversidad con respecto a los otros dos.

En el inóculo C (figura 6.14), fue notable la abundancia de *Aspidisca costata*, la cual es una especie común en los sistemas de tratamiento biológico. Las abundancias encontradas en los tres diferentes inóculos microbianos fueron diferentes (tabla 5.5).

De acuerdo con los datos anteriores es posible inferir cuál de los inóculos es el que mejor soporta concentraciones altas del líquido en tratamiento (efluente petroquímico), mediante la evaluación del número de especies y la abundancia específica. Conociendo esta información es posible inducir las condiciones fisicoquímicas y biológicas del agua durante su tratamiento, mejorando de esta manera el proceso de biodegradación.

En resumen se puede decir que el efluente con estas características, lo toleran especies de ciliados típicas de sistemas de tratamiento biológico que tratan aguas residuales domésticas y de tipo industrial. Estas especies presentan una amplia tolerancia y adecuación a estos medios, no solo en cuanto al contenido orgánico, sino también a parámetros como pH, oxígeno disuelto y temperatura. Estos parámetros presentan intervalos amplios o estrechos dependiendo del tipo de tratamiento que se

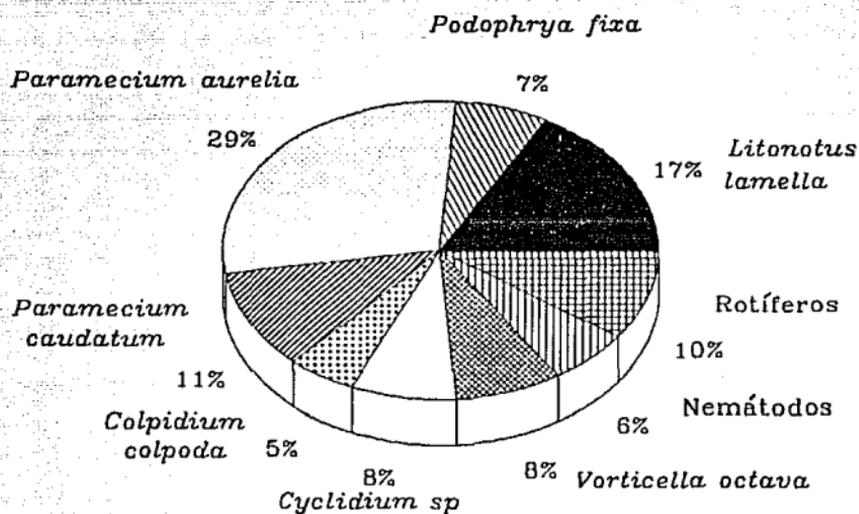
No. total de individuos/mL = 456



INOCULO A
(INFUSION DE TALLOS DE FLORES)

FIG.6.12 PORCENTAJES RELATIVOS DE CILIADOS Y NEMATODOS PRESENTES EN EL INOCULO A CON EL EFLUENTE PETROQUIMICO AL 100 %.

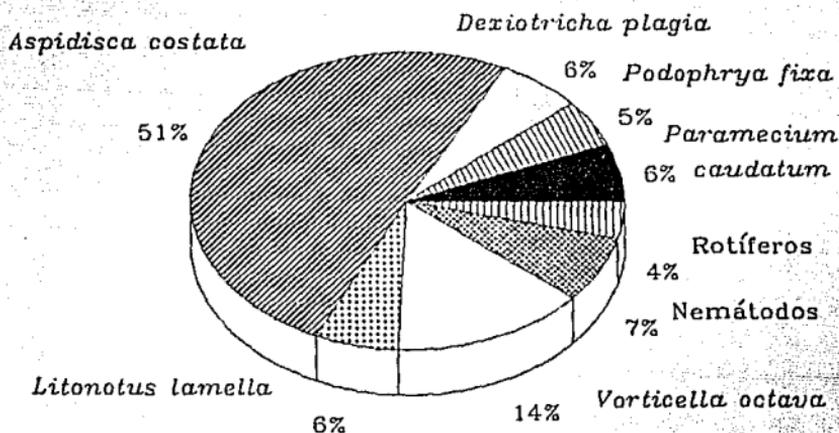
No. total de individuos/mL = 435



INOCULO B
(AGUAS RESIDUALES DE UNA DESTILACION ALCOHOLICA)

FIG.6.13 PORCENTAJES RELATIVOS DE CILIADOS, ROTÍFEROS Y NEMATODOS PRESENTES EN EL INOCULO B CON EL EFLUENTE PETROQUIMICO AL 100 %.

No. total de individuos/mL = 633



INOCULO C

(AGUAS RESIDUALES DE UN PROCESO DE FABRICACION DE PAPEL)

FIG.6.14 PORCENTAJES RELATIVOS DE CILIADOS, ROTÍFEROS Y NEMATODOS PRESENTES EN EL INOCULO B CON EL EFLUENTE PETROQUIMICO AL 100 %.

esté empleando en la depuración de las aguas contaminadas. En la laguna de aireación se registraron a lo largo de toda la etapa experimental pocas especies posiblemente por lo restringido del inóculo empleado ya que éste provenía de una planta de tratamiento de efluentes petroquímicos en donde se llevó a cabo una preselección.

La laguna de aireación tuvo un buen funcionamiento a pesar de las fluctuaciones iniciales en los parámetros evaluados. Los porcentajes de remoción de materia orgánica vía DQO y DBO₅ fueron mayores al 90 % durante la fase estable. Por otra parte las fluctuaciones de pH, temperatura y oxígeno disuelto no impidieron la proliferación de los ciliados dado que estas se mantuvieron dentro de los intervalos de tolerancia para los ciliados.

Al hacer revisiones al microscopio de muestras de efluentes en tratamiento, y ver la abundancia y diversidad de las especies de ciliados es posible inferir la calidad del efluente y el funcionamiento del sistema de depuración, y de esta manera propiciar un buen funcionamiento del mismo. No debe perderse de vista que para hacer ésto, las condiciones de operación del sistema de tratamiento a evaluar, deben ser similares, ya que un organismo que resiste determinados intervalos fisicoquímicos en un sistema, puede no tolerarlos en otro.

7. CONCLUSIONES

- 1.- A lo largo del proceso depurativo del efluente petroquímico en la laguna de aireación a escala laboratorio alimentada con una DQO= 2300 mg/L, DBO₅= 1500 mg/L y pH= 7 unidades, proliferaron diferentes especies de ciliados.
- 2.- Las seis especies determinadas en la laguna de aireación se encuentran ubicadas dentro del phylum Ciliophora en 2 subphyla, 4 clases, 4 subclases, 5 ordenes, 3 subórdenes, 6 familias y 6 géneros. Todas han sido registradas como habitantes comunes en sistemas de tratamiento aerobio.
- 3.- Los parámetros fisicoquímicos y bioquímicos evaluados (pH, OD, T, DQO, DBO₅) se mantuvieron dentro de los intervalos adecuados para la sobrevivencia de ciliados.
- 4.- El porcentaje de remoción de la DQO y la DBO₅ fue superior a 90 % y 95 %, respectivamente.
- 5.- Durante la fase estable del tratamiento, las especies más abundantes fueron *Vorticella octava*, *Tetrahymena pyriformis* y *Colpoda steinii*.

- 6.- Al aumentar la diversidad de ciliados inoculados en el efluente petroquímico, aumentó la sobrevivencia en número de especies.
- 7.- Al cultivar tres inóculos de diferente origen y diversidad en el efluente petroquímico al 100 %, la sobrevivencia de las especies de ciliados fue del 75% aproximadamente.
- 8.- Tres especies de ciliados resultaron con menor tolerancia al efluente líquido industrial, estas son: *Oxytricha fallax*, *Uronema* sp, *Epistylis* sp.
- 9.- *Dextotricha plagia*, constituye para México un nuevo registro en efluentes industriales.
- 10.- La presencia de ciliados en este tipo de agua residual, permite vislumbrar su tratamiento mediante sistemas biológicos aerobios.
- 11.- La constante interacción de parámetros fisicoquímicos y biológicos, debe considerarse simultáneamente en la evaluación de un sistema de tratamiento con objeto de optimizar su operación.

RECOMENDACIONES

- 1.- Realizar la experimentación bajo condiciones prácticamente iguales, dado que para este tipo de efluentes petroquímicos, es la primera vez que se realiza una caracterización ciliatológica.
- 2.- Profundizar en la metodología de muestreo y establecer una correlación entre la diversidad de ciliados y las condiciones fisicoquímicas predominantes en la laguna de aireación.
- 3.- Utilizar un inóculo más diverso a nivel específico y propiciar las condiciones ambientales para el desarrollo de las especies que intervienen en la mejora de la calidad del agua tratada en el sistema de depuración.
- 4.- Aumentar la concentración del efluente industrial petroquímico, utilizando un inóculo con alta diversidad de ciliados y evaluar la máxima concentración que toleran los mismos.
- 5.- Propiciar las investigaciones bajo condiciones similares en efluentes petroquímicos para poder establecer una correlación entre los parámetros fisicoquímicos y la diversidad y abundancia de ciliados encontrados. De esta forma puede evaluarse biológicamente la calidad del agua y en consecuencia mejorar el proceso depurativo.

B. BIBLIOGRAFIA

- ALADRO-LUBEL, M. A., MARTINEZ-MURILLO, M. E. y MAYEN-ESTRADA, R. 1990. Manual de ciliados psamofilos marinos y salobres de México. Cuadernos 9. Instituto de Biología. UNAM, México, D.F. 174 pp.
- ANAYA-DURAND, A. 1991. La Contaminación: su prevención y control. Rev. IMIQ 22:21-37.
- APHA. 1981. Standard methods for examination of water and wastewater. 14a Ed. Washington, E.U.A. 1134 pp.
- ATLAS, R. M. y BARTHA, R. 1981. Structure and development of microbial communities and ecosystems. En: Microbial Ecology Fundamentals and Applications. Cap. 7. pp 223-245.
- AZAD, H. S. 1976. Industrial wastewater management handbook. Mc Graw Hill, USA, 265 pp.
- BAINES, S., HAWKES H. A., HEWITT, C. H. y JENKINS, S. H. 1952. Protozoa as indicators in activated sludge treatment. Sew. Ind. Wastes. 25:1023-1033.
- BARKER, A. N. 1946. The ecology and function of protozoa in sewage purification. Ann. Appl. Biol. 33:314-325.
- BICK, H. 1963. A Review of Central European Methods for the Biological Estimation of Water Pollution Levels. Bull. Org. Mond. Santé. 20:401-413.
- 1968. Untersuchungen zur Verträglichkeit von Meeruna Brackwasser für ciliaten des saprobien systems der Wassergütebeurteilung. Helgoländer Wiss. Meeresunters. 17:257-268.

----- 1971. The potentialities of ciliated protozoa in the biological assessment of water pollution levels. Intl. Symp. Identif. Measurement Environ. Pollutants. Ottawa, Ont. Canada. pp 305-309.

----- 1972. An illustrated guide to ciliated protozoa used as "Biological Indicators". En Fresh Wat. Ecol. Fasc. 1-9, W. H. O. Washington, D. C. EUA.

----- 1973. Population Dynamics of Protozoa Associated with decay of organic materials in fresh water. Amer. Zool. 13,149-160.

----- 1976 a. Ciliates als Indikatororganismen bei der Gewässerserruntersuchung Vorträge der tagun über Umweltforschung der Universität Hohenheim. 19,173-179.

----- 1976 b. Zusammenstellung von autökologischen und saprobiologischen Befunden. Arch. Hydrobiol. 20,338-384.

CAIRNS, J. Jr. 1969 . Rate of species diversity restoration followin stress in freshwater. Protozoan communities. The University of Kansas Science Bull. 48(6):209-224.

-----1982. Freshwater protozoan communities. Microb. Inter. and Commun. 1:249-285.

CAIRNS, J., LANZA, R. G. Y PARKER, C. B. 1972. Pollution related structural and functional changes in acuatic communities whit emphasis in freshwater algae and protozoa. Academy of Natural Sciences of Philadelphia. 124 (5):79-129.

CAIRNS, J., KUHN, D. L. Y PLAFKIN, J. L. 1979. Protozoan colonization of Artificial Substrates. Special Technical Publication 690. American Society for testing and materials. Philadelphia, EUA. 34-54 pp.

CORLISS, J. O. 1966. The ciliated protozoa. Pergamon Press. Oxford, Inglaterra, 455 pp.

----- 1984. The Kingdom Protista and its 45 Phyla. Biosyst. 17:87-126.

CURDS, C. R. 1963. The flocculation of suspended matter by *Paramecium caudatum*. F. gen. Microbiol. 33,357-363.

-----, 1966. An ecological study of the ciliated Protozoa in activated sludge. Oikos. 15,282-289.

-----, 1969. An Illustrated Key to the British Freshwater Ciliated Protozoa Commonly Found in Activated Sludge. Water Pollution Research Laboratory, Ministry of Technology HMSO. Technical paper No 12 Londres, Inglaterra.

-----, 1975. Protozoa. En: Curds y Hawkes, H.A. Academic Press. Ecological Aspects of Used Water Treatment. Inglaterra. pp 203-268.

-----, 1977. Microbial interaction involving protozoa. En Aquatic microbiology. Skinner, F.A. y Shewan, J.M. Eds. Soc. Appl. Bact. Symp. Series No. 6. Academic Press. Londres, Inglaterra, pp 69-105.

-----, 1983. British and other freshwater ciliated protozoa. Kermack, D. M. and Barnes, R.S.K. Eds. Synopses of the British Fauna. No. 22 Part. I Publ. the Linnean Society of London and The Estuarine and Brackish-water Sciences Association. Londres, Inglaterra. 387 pp.

CURDS, C. R. Y COCKBURN, A. 1970 a. Protozoa in biological sewage treatment process. I. A survey of the protozoan fauna of British percolating filters and activated sludge plants. Water Research. 4:225-236.

-----, 1970 b. Protozoa in biological sewage treatment process. II. Protozoa as indicators in the activated sludge process. Water Research. 4:237-249.

CURDS, C. R., COCKBURN, A. y VANDYKE, J. M. 1968. An experimental study of the role of the ciliated protozoa in the activated sludge process. JWPCF. 67:312-329.

CURDS, C.R., GATES, M.A. Y ROBERTS, D.McI. 1983. British and other ciliated protozoa. Kermarck, D. M. y Barnes, R.S.K. Eds. Synopses of the British Fauna. No. 23 Part II. Publ. the Linnean Society of London and the Estuarine and Brackish-water Sciences Association. Londres, Inglaterra. 474 pp.

CURDS, C. R. Y HAWKES, H. A. 1975. Ecological Aspects of used water treatment. vol 1. The organisms and their ecology Academic Press. London. 414 pp.

CURDS, C. R. Y VANDYKE, J. M. 1966b. The feeding habitats and growth rates of some freshwater ciliates found in activated sludge plantes. J. Appl. Ecol. 3:127-137.

CURI, K. Y ECKENFELDER, W. W. Jr. 1980. Theory and practice of Biological wastewater treatment. Alphen aan den Rijn, The Netherlands. 542 pp.

CZAPIC, A. 1968. La famille Tetrahymenidae et son importance dans la systématique et l'évolution des ciliés. Acta Prot. 5:315-357.

DEGREMONT, G. 1975. Manual técnico del agua. Pelletier, S.A. México D.F. 1142 pp.

DUNCAN, M. D. 1976. Sewage treatment in hot climates. John Wiley and Sons. Pub. Co. Londres, Inglaterra. 168 pp.

DURAN DE BAZUA, C. 1988. Reaprovechamiento de residuos líquidos usando sistemas biológicos. Departamento de Tecnología de Alimentos. División de Ingeniería. Facultad de Química, UNAM, México, D.F. 107 pp.

DUTKA, B. 1979. Microbiological indicators problems and potential of new microbial indicator of water quality. En: James, A and Evison, L. Eds. John Wiley and Sons. Biological Indicators of water Quality. Inglaterra pp 1-24.

ECKENFELDER, W. W. 1989. Process selection criteria for the biological treatment of industrial wastewaters. Environ. Prog. 8(11),40-41.

ECKENFELDER, W. W. JR, PATOCZKA, J Y WATKIN, A. T. 1985. Wastewater treatment. Chem. Engin. 11:60-74.

FALCON, V. J. 1981. Procesos biológicos de tratamiento, conceptos fundamentales. Tratamiento de aguas residuales municipales, industriales y reusos. Coordinación de Ingeniería Ambiental. Instituto de Ingeniería, UNAM, México, D.F. 30 pp.

FENCHEL, T. 1980. Suspension feeding in ciliated protozoa, feeding rates and their ecological significance. Microb. Ecol. 6,13-25

FERNANDEZ-GALIANO, D. 1985. Los protozoos y la contaminación de las aguas dulces. III Curso y Simposio sobre la biología de la contaminación. ENEP-Iztacala, UNAM. México, D.F. pp 16-17.

FERNANDEZ-GALIANO, D. 1990. Las nuevas clasificaciones de los organismos eucarióticos unicelulares. Protistología versus Protozoología. Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. (Sec. Biol.). 85,1-4):107-125.

- FOISSNER, W. 1988. Taxonomic and nomenclatural revision of Sladeczek's list of ciliates (Protozoa; Ciliophora) as indicators of water quality. Hydrobiol. 166:1-64.
- GAVINO, T. G., JUAREZ, L.C. y FIGUEROA, T. H. 1972. Técnicas selectas de laboratorio y campo. Limusa, México, D.F. 251 pp.
- GONZALEZ, J.; ROJAS, A. ROCH I. y MUGICA M. 1980. Cómo abordar el tratamiento de efluentes petroquímicos. Petróleo Int. México, D.F. pp 94-103.
- IZURIETA, R. E. 1984. Agua residuales, regimenes de descarga, efectos en la salud, la economía y el ambiente. Tratamiento de aguas residuales municipales, industriales y reusos. División de educación continua. Facultad de Ingeniería, UNAM, México, D.F. 30 pp.
- JAHN, E. T.; BOVEE, E. C. Y JAHN, T. L. 1979. How to know the protozoa. Pictured Key Nature Series, EUA. 234 pp.
- KAHL, A. 1930-1935. Urtiere order Protozoa. I. Wimpertiere order ciliata (Infusoria), eine Bearbeitung der Freilebenden und. Ectocommensalen Infusorian der Erde, unter Ausschluss der marinen Tintinnidae. En Die Tierwelt Deutschlands, Dahl, F., Ed. G. Fisher, Jena. 886 pp.
- KEMMER, F. Y Mc CALLION, J. 1979. Manual del agua. Mc Graw Hill. México, D.F. pp 103-113.
- KLEIN, B. M. 1958. The dry silver method and its proper use. J. Protozool. 5:99.
- KUDO, R. R. 1969. Protozoología. CECSA. México, D.F., 905 pp.
- LEE, J. J., HUTNER, S. H. Y BOVEE, E. C. (eds.) 1985 An illustrated guide to the protozoa. Society of Protozoologist. Kansas, E.U.A. 629 pp.

LEVINE, W. D.; Corliss, J. O.; Cox, F. E. G.; Deroux, G.; Grain, J.; Honlberg, B. M.; Leedale, G.F.; Loeblich, A. R.; Lom, J.; Lynns, D.; Merinfeld, E. G.; Page, E. C.; Poljansky, G.; Sprague, V.; Vaura, J. y Wallace, F. G. 1980. A newly revised classification of the protozoa. J. Protozool. 27(1):37-58. Traducción al español: Dra. Ma. Antonieta Aladro Lubel. Laboratorio de Protozoología. Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F.

LOPEZ-MERCADO, V. 1985. Tratamiento biológico de aguas residuales. "Prospectiva de la biotecnología en México". CONACYT. México, D.F. pp 259-285.

LOPEZ-UCHOTERENA, E. 1965. Ciliados mesosapróbicos de Chapultepec: Sistemática, Morfología, Ecología. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 26:115-247.

LUNA-PABELLO, V. M. 1987. Estudio de los protozoarios ciliados presentes en un sistema de tratamiento por medio de "biodiscos". Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F. 86 pp.

----- 1990. Efecto de la temperatura en las poblaciones de protozoarios ciliados en un reactor de biodiscos. Tesis Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F. 123 pp.

LUNA-PABELLO, V. M.; DURAN DE BAZUA, C; MAYEN-ESTRADA R.; ALADRO-LUBEL, M. A.; OLVERA-VIASCAN, V. Y SAAVEDRA-SOLA, J. 1988 Estudio de los protozoarios ciliados para determinar la calidad depurativa de Sistemas Rotatorios Biológicos para tratamiento de aguas residuales. Universidad y Ciencia. 5(10); 109-132.

LUNA-PABELLO, V. M.; PICASO, H. R. M. y DURAN, B. C. 1991. Determinación de protozoarios ciliados en reactores biológicos rotatorios que tratan aguas residuales de la industria del papel, ingenios azucareros y nixtamalización de maíz. Informe técnico de trabajo AR-01-91. Facultad de Química. Departamento de Alimentos y Biotecnología. División de Ingeniería. 64 pp.

MADONI, P. 1981. I Protozoi ciliati degli impianti biologici di depurazione. Consiglio Nazionale delle Ricerche AQ/1/167. Roma. 134 pp.

MADONI, P., MANZINI, P., SPAGGIARI, 1985. Analisi della microfauna per il controllo di qualità degli impianti biologici di depurazione. Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale. Roma. 111 pp.

MARGULIS, L. Y SCHWARTZ, K. V. 1981. Cinco Reinos. Guía ilustrada de los phyla de la vida en la Tierra. Pub. Fac. Ciencias. UNAM. México, D.F. 337 pp.

MARTINEZ, D. S. A. 1991. Tratamiento electrolítico de efluentes de refinaria. Tesis Doctoral. Universidad Estadual de Campinas, Brasil. 172 pp.

MAYORY, M. L., CHANG-SOO YUK, LI-NUO LIANG Y MARTIN, A. 1983. Alternative prey: a mechanism for elimination of bacterial species by protozoa. Appl. and envirom. microbiol. 46(5):1073-1079.

METCALF y EDDY, INC. 1979. Wastewater engineering treatment, disposal and reuse. Mc. Graw Hill, N. Y., EUA. 920 pp.

MEGLITSCH, P. A. 1978. Zoología de invertebrados. Ciencias de la Naturaleza. H. Blume Ediciones. México, D.F. 906 pp.

MOHR, J. L. 1952. Protozoa as indicators of pollution. Sci. Mon. N. Y., EUA. 74:7-9.

MORENO, R. G. 1985. Análisis de protozoarios en un sistema de biodiscos empleado en la planta de tratamiento de C.U. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM, México, D.F. 90 pp.

MURGUIA, E. 1981. Contaminación de aguas. Dpto. de Ingeniería Sanitaria. Facultad de Ingeniería. UNAM, México. 175 pp.

PIATKIN, K., KRIVOSHEIN, YU. 1981. Microbiología. Ed. Mir. Moscú, URSS. 582 pp.

PICASO-HERNANDEZ, R. M. 1991. Estudio de los ciliados bentónicos de la laguna de Tamiahua Veracruz, México. Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM, México, D.F. 95 pp.

PIKE, E. B. Y CURDS C. R. 1971. Microbial ecology of the activated sludge process. In Microbial Aspects of Pollution. Society of Applied Bacteriology Symposium. Series 1. pp 123-147.

RAMALHO, R. S. 1991. Tratamiento de Aguas Residuales. (3ra. ed). Reverté, S.A., España. 714 pp.

REYNOLDSON, T. B. 1942. "Vorticella as an indicator organism for activated sludge". Nature. 149:608-609.

RICO-FERRAT, G. Y LOPEZ-UCHOTERENA E. 1976 a. Aspectos biológicos de los protozoarios de las aguas negras de la zona metropolitana de la Ciudad de México. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 37:221-222.

RICO-FERRAT, G. Y LOPEZ-UCHOTERENA E. 1976 b. Protozoarios de México XXIII. Frecuencia de algunas especies que habitan en el drenaje doméstico. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 37:229:232.

RIVERA, F., CASTRO, F., MORENO, G., LUGO, A, GALLEGOS, E., Y NOROUZIAN, M. 1989. Protozoa of a rotatory biological contactor in a water treatment plant in México. Wat. Air and Soil Pollut. J. :28.

SLADECEK, V. 1973. System of water quality from the biological points of view. Arch. Hydrobiol. 7:1-218.

SLEIGH, M. 1979. Biología de los Protozoos. Ed. Blume. España, Madrid, 399 pp.

SONG, W. Y WILBERT, N. 1989. Taxonomische Untersuchungen an Aufwuchsciliaten (Protozoa, Ciliophora) im Poppelsdorfer Weiher, Bonn. Lauterbornia H. 3:2-121.

STOUT, J. D. 1980. The role of protozoa in nutrient cycling and energy flow. Advances in microbial ecology. 4:1-50.

STUCKEY, D.C. 1990. Biological treatment of liquid effluents from refineries and petrochemical plants. Dept. Chemical Engineering, Imperial College, Londres, Inglaterra. 10 pp.

WATSON, J. M. 1945. Mechanism of bacterial flocculation caused by protozoa. Nature. 155: 271-272.

WIGGINS, B. A. Y ALEXANDER, M. 1988. Role of Protozoa in microbial acclimation for mineralization of organic chemicals in sewage. Can. J. Microbiol. 34:661-663.

WILBERT, N. 1986. Ciliaten aus dem Interstitial des Ontario Sees. Acta Protozool. 25(4):379-396.

WINKLER, M. 1986. Tratamiento biológico de aguas de desecho Limusa, México, D.F. 388 pp.

WU, H.C.I. Y CURDS, C.R. 1979. A guide to the species of the genus *Aspidisca*. Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool). 36(1):34.

YUHEI, I., YUKO, K., RYUICHI, S. Y MINAKO, K. 1989. Role of Ciliated Protozoa in Control of the Growth of filamentous Microorganisms. Wat. Science Tech. 21 (12):1887-1890.

9. ANEXOS

9.1 ANEXO A

9.1.1 DEMANDA QUIMICA DE OXIGENO (DQO)

METODO VOLUMETRICO DE REFLUJO CON DICROMATO DE POTASIO

(APHA, 1981)

Este método está basado en la oxidación mediante dicromato de potasio en medio ácido durante 2 horas, a 150°C de la materia orgánica e inorgánica presente en la muestra. El exceso de agente oxidante se determina con una solución valorada de sulfato ferroso amoniacal, en presencia de un complejo ferroso de ortofenantrolina como indicador interno.

Con esta prueba no se puede conocer el tipo de compuestos orgánicos presentes ni diferenciar entre el material biodegradable y no biodegradable, por lo cual solo constituye un análisis para la determinación de carbono orgánico total.

Interferencias:

- Las sustancias inorgánicas como los iones ferroso (Fe^{++}) sulfato (SO_4^-), sulfitos (SO_3) y tiosulfatos (S_2SO_3^-), se oxidan bajo ciertas condiciones y crean una DQO inorgánica, la cual modifica el valor estimado de compuestos orgánicos oxidables presentes en el agua residual evaluada.
- El ión cloruro (Cl^-) interfiere, pero se elimina al agregar el sulfato mercurico ($(\text{Hg})_2 \text{SO}_4$).

- Cuando existen nitritos en cantidad 1.2 (mg NO_2^- N/L) se desprecia el efecto que puedan tener éstos.
- Cuando exista una cantidad mayor que pueda interferir, adicionar 10 mg de ácido sulfámico por cada mg de NO_2^- N en el matraz de reflujo.

REACTIVOS

- Solución de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) (0.25 N)
- Solución de sulfato ferroso amoniacal ($\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 (\text{SO}_4)_2$) (0.25 N)
- Solución de ácido sulfúrico-sulfato de plata ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{Ag}_2\text{SO}_4$)
- Solución indicadora de 1.10 ortofenantrolina ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)
- Sulfato mercurico (HgSO_4)
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4)
- Sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

PREPARACION DE REACTIVOS

-Solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) (0.25 N)

Disolver 12.2588 g de $K_2Cr_2O_7$ secado durante 2 horas a $105^\circ C \pm 1$ aforando a 1000 mL

-Solución de sulfato ferroso amoniacal ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$) (0.25 N).

Disolver 98.0 g de $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ en aproximadamente 800 mL de agua destilada. Agregar con cuidado 20 mL de H_2SO_4 concentrado frío, aforar a 1000 mL.

-Solución de ácido sulfúrico-sulfato de plata (H_2SO_4/Ag_2SO_4).

Pesar 9.51 g de Ag_2SO_4 . Disolver en 1000 mL de H_2SO_4 concentrado.

Nota.- La disolución es lenta.

-Solución indicadora de ortofenantrolina ($C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$)

Disolver en H_2O 1.485 g de 1.10 de $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$ y 0.695 g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. Aforar a 1000 mL.

PROCEDIMIENTO

a) Normalización de la solución de ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$) (0.25 N)

En un matraz colocar:

-10 mL de $K_2Cr_2O_7$ (0.25 N)

-90 mL de agua destilada

- 30 mL de H_2SO_4 (agregar lentamente)
- Enfriar
- Agregar 2 gotas de 1.10 $C_{12}H_{10}N_2 \cdot H_2O$
- Titular con $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$, hasta que vire de amarillo a rojo ladrillo.

Valoración:

$$N_1 = \frac{N_2 V_2}{V_1}$$

N₁= NORMALIDAD DEL SULFATO FERROSO AMONICO

N₂= NORMALIDAD DE LA SOLUCION DE DICROMATO DE POTASIO

V₂= VOLUMEN DE LA SOLUCION DE DICROMATO DE POTASIO USADOS (ml)

V₁= GASTO DE LA SOLUCION DE SULFATO FERROSO AMONIACAL

b) Tratamiento de la muestra:

1. Centrifugar las muestras y filtrarlas con membrana millipore.
2. Poner en el recipiente de reflujo:
 - perlas de vidrio
 - 25 mL de $K_2Cr_2O_7$
 - 1 g de $HgSO_4$
 - muestra + agua destilada
3. Colocar el refrigerante y añadir lentamente 50 mL de solución de plata en H_2SO_4 .
4. Cerrar la unión y calentar hasta ebullición.

5. Reflujar 2 horas a partir del momento en que cada matraz ebulla.
6. Enfriar, agregar 50 mL de agua destilada.
7. Agregar al recipiente de reflujo 2 gotas de 1.10 (C₁₂H₂₂O₁₁ H₂O).
8. Titular con solución de Fe(NH₄)₂ (SO₄)₂.

Nota.- Correr simultáneamente un blanco solamente con agua destilada y reactivos al igual que los problemas.

Calculos:

$$\frac{\text{mg DQO}}{l} = \frac{(A - B) \text{ N SFA} \times 8000}{\text{ml muestra}}$$

SFA= SULFATO FERROSO AMONICAL

A= GASTO DE SFA BLANCO

N= NORMALIDAD DEL SULFATO

B=GASTO DE SFA PROBLEMA

FERROSO AMONICAL

9.1.2 DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO EN CINCO DIAS (DBO5)

METODO DE INCUBACION A 20°C (APHA, 1991)

Este tipo de prueba se basa en estimar la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para efectuar la oxidación de la materia orgánica biodegradable presente en aguas naturales y/o residuales. Se determina por la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial de la muestra a evaluar y el oxígeno disuelto al cabo de cinco días de incubación a 20°C de la misma.

Interferencias,

Interfieren con la determinación, la acidez y la alcalinidad presentes en las aguas, el cloro residual, la sobresaturación de oxígeno disuelto, la presencia de sustancias tóxicas para los microorganismos, y los procesos de nitrificación.

Estas interferencias pueden evitarse si se le da un pretratamiento a la muestra.

Nota: La extrapolación de los resultados de DBO₅ a cuerpos de agua, es altamente cuestionable, debido a que el ambiente de laboratorio no reproduce las condiciones tales como temperatura, luz solar, poblaciones biológicas, movimiento del agua y concentración de oxígeno. Por lo tanto no deben compararse resultados de DBO₅ realizados en circunstancias diferentes (Luna-Pabello, 1987).

REACTIVOS

-Solución buffer de fosfatos

2.125 g de fosfato diácido de potasio KH_2PO_4

5.438 g de fosfato ácido de potasio K_2HPO_4

8.45 g de fosfato ácido de sodio $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$

0.425 g de cloruro de amonio NH_4Cl

diluir y aforar a 250 mL. Esterilizar.

-Solución de sulfato de magnesio ($MgSO_4$)

5.625 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$

diluir y aforar a 250 mL. Esterilizar.

-Solución de cloruro de calcio ($CaCl_2$)

6.875 g $CaCl_2$

diluir y aforar a 250 mL. Esterilizar.

-Solución de cloruro férrico ($FeCl_3$)

0.0625 g $FeCl_3$

diluir y aforar a 250 mL. Esterilizar.

-Solución de glucosa-glutámico ($C_6H_{12}O_6$ - $C_5H_9NO_4$)

15 mg de $C_6H_{12}O_6$ (secada a $103^\circ C$ durante 1 hora)

15 mg de $C_5H_9NO_4$ (secado a $103^\circ C$ durante 1 hora)

diluir y aforar a 100 mL.

Nota: Hacer esta solución cada vez que se haga la prueba.

-Agua de dilución:

Fosfatos (PO_4)

Magnesio (Mg)

Calcio (Ca)

Fierro (Fe)

Agregar 1 mL por cada litro de
agua de dilución (agua destilada)

MATERIAL DE VIDRIO

-Botellas Wheaton para evaluar DBOs

-Pipetas, jeringa, difusor

-Matraces aforados para las diluciones requeridas

-Recipiente para el agua de dilución.

Todo el material debe estar bien lavado con agua, jabón, mezcla
crómica, y agua destilada. Además debe ser esterilizado.

EQUIPO DE LABORATORIO

-Oxímetro

-Incubadora (ajustada a $20^{\circ}C$).

PROCEDIMIENTO

1. Obtener las muestras centrifugadas, filtradas, sin sólidos en suspensión y con el pH neutro.
2. Preparar el inóculo (cultivo de microorganismos aclimatados).
3. Preparar la solución ($C_6H_{12}O_6$ - $C_5H_8NO_4$).
4. Preparar el agua de dilución y airear para saturar.
5. Organizar la botellas y agregar las muestras ($C_6H_{12}O_6$ - $C_5H_8NO_4$).

6. Llenar con agua de dilución las botellas testigo y tapar (sin burbujas).
7. Agregar el inóculo a las botellas (aproximadamente 0.5 mL).
8. Llenar totalmente las botellas con el agua a evaluar y tapar sin dejar burbujas internas.
9. Guardar las botellas en la incubadora a 20°C.
10. Calibrar el oxímetro para medir el oxígeno en el agua de dilución saturada.
11. Dejar cinco días en incubación.
12. Leer en todas las botellas el oxígeno disuelto remanente.
13. Hacer los cálculos.

CALCULOS

$$DBO_5 = (OD_i - OD_f) - C.inoc. = \text{Consumo/fracción decimal de la dilución}$$

$$\text{Fracción decimal de la dilución} = \frac{\text{Vol. de muestra}}{\text{Vol.tot. de aforo}} = \text{Factor de dilución}$$

Donde:

OD_i = Oxígeno disuelto inicial

OD_f = Oxígeno disuelto final

C.inoc = Consumo del inóculo

9.2 ANEXO B

9.2.1 Cuenta de protozoarios y micrometazoarios.

1. Tomar una muestra de 0.1 mL.
2. Colocarla sobre el portaobjetos.
3. Colocar un cubreobjetos de 22 x 22 cuidando no crear burbujas.
4. Contar los microorganismos en 3 o 4 franjas o en la totalidad del área.

Para calcular el número de organismos por mililitro de la muestra se utiliza la siguiente ecuación:

$$\text{ORG/ml} = \frac{C(TA)}{(A)(S)(V)}$$

C= NUMERO DE ORGANISMOS CONTADOS

TA= AREA DEL CUBREOBJETOS EN mm²

A= AREA DE UNA FRANJA EN mm²

S= NUMERO DE FRANJAS CONTADAS

V= VOLUMEN DE LA MUESTRA DEBAJO DEL CUBREOBJETOS

Cuando se cuenta la totalidad del área se obtiene la relación de microorganismos por mililitro de la siguiente forma:

$$\frac{\text{ORGANISMOS}}{\text{MILILITRO}} = C(F)$$

DONDE:

C= NUMERO DE MICROORGANISMOS DE INTERES CONTADOS

F= FACTOR DE CONVERSION A mL, EN ESTE CASO VALE 10 DADO QUE:

1mL= FIG. 1), F= 1mL/0.1mL, F= 10

9.2.2 Preparaciones temporales

Colorantes vitales.

Son colorantes simples básicos. Resaltan estructuras citoplasmáticas y nucleares. La concentración a la que se preparan es variable 1/500, 1/1000, 1/10000 según sea el caso; producen poca deformación en los microorganismos dada la baja concentración a la que se utilizan.

PREPARACION DE COLORANTES

-Solución de azul de metileno;

1g de polvo de azul de metileno

0.6g de cloruro de sodio (NaCl)

100 mL de agua destilada

Resalta gránulos citoplasmáticos y ligeramente el núcleo.

-Solución de verde de metilo;

1g de polvo de verde de metilo

100 mL de agua destilada

Resalta las estructuras nucleares.

-Solución de rojo neutro:

1g de polvo rojo neutro

100 mL de agua destilada

Este colorante da buenos resultados en la coloración del núcleo y vacuolas.

-Solución de nigrosina:

1g de polvo de nigrosina

100 mL de agua destilada

Destaca sobre fondo obscuro detalles de ciliatura, así como vacuolas, causando poco daño en la estructura celular, puede usarse en frotis o en fresco (Kudo, 1969).

9.2.3 Preparaciones permanentes

Técnica de Klein.

1. Colocar una gota de cultivo sobre el cubreobjetos, extenderla con una aguja de disección y dejar secar al aire libre.
2. Introducir el cubreobjetos en una solución de nitrato de plata al 5 % durante 5 minutos.
3. Retirar el cubreobjetos y lavarlo dos veces con agua destilada.
4. Colocar el cubreobjetos en una caja de Petri con agua destilada y fondo blanco. Irradiar la preparación preferentemente con una lámpara de luz UV hasta que tome un color pardo claro (de 2 a 5 minutos).

5. Lavar con agua destilada.
6. Dejar secar al aire libre.
7. Montar en bálsamo de Canadá.
8. Observar los resultados al microscopio.

La técnica de Klein no utiliza ningún fijador, sino simplemente se deja secar, esto puede hacer que los organismos sufran una leve deformación. Sin embargo, es una técnica que resalta las estructuras argentófilas, tales como los cilios, cinetosomas, las cinetias, los poros de las vacuolas contráctiles y el citoprocto.

Hematoxilina de Delafield.

1. Utilizar la técnica de adhesión seleccionada.
2. Colocar una gota del cultivo en el cubreobjetos y distribuirla uniformemente.
3. Fijar con formol al 4%
4. Lavar el fijador con agua destilada.
5. Teñir con hematoxilina de Delafield durante 5 minutos.
6. Diferenciar con alcohol acidulado si se tinte demasiado.
7. Virar con agua de la llave.
8. Deshidratar con alcohol etílico al 30%, 50%, 70%, 95%, y absoluto durante 5 minutos en cada uno.
9. Aclarar con xilol durante 5 minutos.
10. Montar en bálsamo de Canadá.

Hematoxilina de Harris.

1. Fijar con formol al 4% y lavar con agua destilada durante 5 minutos.
2. Teñir con hematoxilina de Harris de 1-10 minutos, observar al microscopio el grado de tinción (si queda sobreteñida utilizar agua acidulada al 2%).
3. Lavar con agua destilada.
4. Virar con agua de la llave.
5. Lavar con agua destilada.
6. Deshidratar con alcohol etílico al 30 %, 50 %, 70 %, 96% y absoluto, 5 minutos en cada uno.
7. Aclarar con xilol durante 5 minutos.
8. Montar en bálamo de Canadá.

Técnicas de adhesión.

a) Adhesivo de Haupt. Disolver 1 g de gelatina sin sabor en 10 mL de agua destilada caliente, una vez disuelta completamente, agregar 2 g de cristales de fenol y 15 mL de glicerina químicamente pura, revolver bien y filtrar dos veces. La manera como se utilizó fue colocando una pequeña gota de la mezcla sobre el cubre o portaobjetos, se extendió perfectamente formando una película muy delgada, se dejó secar, posteriormente se agregó una gota de fijador (se recomienda usar formol al 4 %) y una gota de cultivo, nuevamente se dejó secar, para después proceder con la técnica de tinción a realizar.

b) Adhesión de Curds-Gates-Roberts, 1983.

1. En un tubo de centrifuga fijar los ciliados por 5 minutos con Bouin (75 mL de solución saturada de ácido pícrico, 25 mL de formol y 5 mL de ácido acético glacial). No se debe mantener a los ciliados en este fijador por períodos largos. Extraer el fijador.

La proporción del fijador para ciliados de agua dulce debe ser por cada 19 partes de organismos, 1 parte de fijador (Lee et al. 1985).

2. En el mismo tubo de centrifuga deshidratar con alcohol isopropílico al 70 % y absoluto durante 5 minutos, y para cada caso centrifugar a 500 revoluciones por minuto y extraer el exceso.

3. Esparcir sobre el cubreobjetos albúmina/glicerina (debe estar fresca, mezclando 2 partes de clara de huevo con una parte de glicerina) formando una película muy delgada y secar en una plancha caliente (45-50°C) hasta que esté pegajosa. Añadir una gota de los ciliados deshidratados y dejar el cubreobjetos en la plancha durante 2-3 minutos para que se evapore el alcohol y la glicerina.

4. Colocar una solución de alcohol/formol (preparar alcohol etílico absoluto y formol comercial al 40 % a partes iguales), introducir los cubreobjetos de 5-20 minutos para que se asiente la albúmina.

5. Deshidratar los ciliados durante 5 minutos con cada uno de los siguientes alcoholes: isopropílico al 95 %, alcohol etílico

absoluto dos veces y finalmente en alcohol metílico absoluto.

6. Sumergir en parlodión al 0.5 % (disuelto en alcohol metílico) hasta que el cubreobjetos tenga una apariencia lechosa.

7. Rehidratar durante 5 minutos con alcohol isopropílico al 70 %, 50%, y 30 %.

8. Hacer tres lavados rápidos con agua destilada. Una inmersión más prolongada en agua tiende a desprender la albúmina. Continuar con la técnica de tinción a realizar.

Técnica de protargol.

Para la realización de esta técnica se utilizó la adhesión de Curds-Gates-Roberts (1983).

1. Colocar el cubreobjetos con los ciliados en permanganato de potasio al 0.5 % durante 5 minutos. Los ciliados se tornan de color pardo. (Cuando no se utilice el permanganato de potasio se refrigera y si toma un color pardo se desecha).

2. Lavar con agua de la llave para remover el exceso de permanganato de potasio. Escurrir después de cada lavado, el agua que escurra deberá ser transparente al final de este paso.

3. Colocar los cubreobjetos en ácido oxálico al 5 % durante 5 minutos y escurrir, éste removerá el tono pardo producido por el permanganato de potasio.

4. Lavar y escurrir de tres a seis veces con agua de la llave para remover el ácido oxálico, porque este inhibirá la impregnación del protargol.

5. Colocar en una solución de protargol de 0.5-2%. En un vaso columbia agregar agua destilada y espolvorear el protargol (no mezclar), dejar que el protargol se disuelva solo y medir el pH que deberá ser de 8.8, si no resultara así, se ajusta añadiendo una solución 0.1 Normal de hidróxido de sodio o de ácido clorhídrico. A esta solución añadir pequeñas láminas o alambres de cobre (de un peso aproximado de 0.5/0.7 g) previamente flameados y pasados por alcohol al 95 %, que permanecerá en protargol hasta que el pH haya bajado a 6.8 o 7, normalmente dejar una noche.

6. Extraer los cubreobjetos del protargol sin escurrir y colocarlos directamente en una solución de hidroquinona al 1 % (diluir 1g de hidroquinona en una solución de sulfito de sodio al 5 %) durante 5 minutos, para revelar la plata. Desechar la hidroquinona cuando tome un color pardo.

7. Lavar con agua de la llave dos o tres veces, escurrir después de cada lavado.

8. Colocar los cubreobjetos durante 5 minutos en una solución de cloruro de oro al 1 % para dar tono a la tinción.

9. Colocar los cubreobjetos en una solución de ácido oxálico al 2 %, dejarlos aproximadamente 5 minutos como máximo (hasta que tenga una tonalidad morada) y revisarlos en el microscopio.

10. Lavar una vez con agua de la llave y escurrir.

11. Sumergir en una solución de tiosulfato de sodio al 5% durante 5 minutos para que se fije la impregnación.

12. Lavar con agua destilada y escurrir.

13. Deshidratar con alcohol isopropílico al 15%, 30%, 50%, 70%, 95% y absoluto durante 5, 6, 7, 8, 9 y 10 minutos respectivamente.
14. Aclarar con xilol durante 10 minutos.
15. Montar con bálsamo de Canadá.

9.3 ANEXO C

9.3.1 Ubicación taxonómica de los ciliados encontrados de acuerdo con el esquema propuesto por Small y Lynn, en Lee et al., (1985).

Las especies de ciliados encontradas en el efluente petroquímico, se distribuyen como se indica a continuación:

PHYLUM	Ciliophora	Doflein, 1901
SUBPHYLUM	Rabdophora	Small, 1976
CLASE	Litostomatea	Small y Lynn, 1981
SUBCLASE	Haptoria	Corliss, 1974
ORDEN	Pleurostomatida	Schewiakoff, 1896
FAMILIA	Amphileptidae	Bütschli, 1889
	<i>L. lamella</i>	Ehrenberg, 1838
SUBPHYLUM	Cyrtophora	Small, 1976
CLASE	Phyllopharyngea	De Puytorac <u>et al.</u> , 1974
SUBCLASE	Suctoria	Claparède y Lachmann, 1858
ORDEN	Exogenida	Collin, 1912
FAMILIA	Podophryidae	Haeckel, 1866
	<i>P. fixa</i>	Quennerstedt, 1867
CLASE	Nassophorea	Small y Lynn, 1981
SUBCLASE	Nassophoria	Small y Lynn, 1981
ORDEN	Peniculida	Fauré-Fremiet en Corliss, 1956

SUBORDEN	Parameciina	Jankowski en Small y Lynn, 1985
FAMILIA	Parameciidae	Dujardin, 1840
	<i>P. aurelia</i>	Ehrenberg, 1831
	<i>P. caudatum</i>	Ehrenberg, 1838
SUBCLASE	Hypotrichia	Stein, 1859
ORDEN	Euplotida	Small y Lynn, 1985
SUBORDEN	Euplotina	Small y Lynn, 1985
FAMILIA	Aspidiscidae	Ehrenberg, 1838
	<i>A. costata</i>	Dujardin, 1841
FAMILIA	Euplotidae	Ehrenberg, 1838
	<i>Euplotes</i>	Ehrenberg, 1830
CLASE	Oligohymenophorea	de Puytorac <u>et al.</u> , 1974
SUBCLASE	Hymenostomatia	Delage y Hérourard, 1896
ORDEN	Hymenostomatida	Delage y Hérourard, 1896
SUBORDEN	Tetrahymenina	Fauré-Fremiet en Corliss, 1956
FAMILIA	Tetrahymenidae	Corliss, 1952
	<i>T. pyriformis</i>	Ehrenberg, 1831
FAMILIA	Turanelliidae	Didier, 1971
	<i>C. colpoda</i>	Stein, 1860
ORDEN	Scuticociliatida	Small, 1967
SUBORDEN	Philasterina	Small, 1967

FAMILIA	Loxocephalidae	Jankowski, 1964
	<i>D. plagia</i>	Stokes, 1885
SUBORDEN	Pleuromatina	Fauré-Fremiet en Corliss, 1956
FAMILIA	Cyclidiidae	Ehrenberg, 1838
	<i>Cyclidium</i>	Müller, 1786
SUBCLASE	Peritrichia	Stein, 1859
ORDEN	Sessilida	Kahl, 1933
FAMILIA	Vorticellidae	Ehrenberg, 1838
	<i>V. octava</i>	Stokes, 1885
CLASE	Colpodea	de Puytorac <u>et al.</u> , 1974
ORDEN	Colpodida	de Puytorac <u>et al.</u> , 1974
FAMILIA	Colpodidae	Ehrenberg, 1838
	<i>C. steinii</i>	Maupas, 1883