

0038/17
zej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"COLONIZACION DE SUSTRATOS ARTIFICIALES
POR PROTOZOOS CILIADOS COMO UN METODO
DE EVALUACION DE LA EFICIENCIA DE
DEPURACION DE ESTANQUES DE ESTABILIZACION"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS (BIOLOGIA)

P R E S E N T A :

MARIA DEL ROSARIO SANCHEZ RODRIGUEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR FERMIN RIVERO AGUERO

México, D.F. TESIS CON
FALLA DE ORIGEN 1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fermín Rivera Agüero por su asesoría y apoyo de muchos años y en muchos sentidos.

A los integrantes de mi Jurado: Dr. Teófilo Herrera, Dra. Ma. Antonieta Aladro, Dra. Elva Escobar, Dr. Adalberto Noyola, Dra. Silvia Santiago y al Dr. Jean Pierre Guyot; por su tiempo, comentarios y sugerencias para mejorar este trabajo.

Mil gracias.

Al Ing. Carlos Solís, diseñador responsable del Sistema de estanques de Ixtapan de la Sal, Méx., por las facilidades otorgadas para el desarrollo de este estudio.

Este trabajo fue apoyado con becas concedidas por el CONACyT y el Programa de apoyo a estudios de posgrado (PADEP), de la Facultad de Ciencias de la U.N.A.M.

Dedico este trabajo,

A mi madre, quién siempre nos ha infundido su optimismo, valor y fuerza ante cualquier suceso.

A mis hermanos, integrantes de mi vida, amigos de siempre.

A mi esposo Alfonso Lugo, quién incondicionalmente me da todo y más llenando mi existencia.

A la memoria de mi hermano Eduardo , que sigue vivo entre nosotros. Te extraño.

Finalmente, a mis Amigos del Proyecto CyMA, por hacer aún más placentero el trabajo diario.

" El orden de los factores, no altera el producto":

LOS QUIERO.

INDICE

	Página
Resumen	1
Abstract.....	2
1. Introducción	3
2. Antecedentes	8
2.1 Estanques de estabilización.	
2.2 Especies indicadoras y métodos biológicos.	
2.3 Sustratos artificiales como técnica de muestreo.	
3. Objetivos	21
4. Área de estudio	22
5. Metodología	27
6. Resultados y discusión	37
6.1 Muestreo prospectivo.	
6.2 Resultados físicos y químicos.	
6.2.1 Porcentajes de remoción DBO ₅ .	
6.3 Resultados biológicos.	
6.4 Efectividad de muestreo de cada sustrato.	
6.5 Variación del número de organismos en los sustratos	
6.6 Variación de las especies para cada sustrato	
6.7 Coeficientes de correlación.	
6.8 Clasificación e índice saprobio de los ciliados identificados.	
6.9 Muestreo en estanque de laboratorio.	
6.9.1 Proceso de colonización en los sustratos.	
6.9.2 Determinaciones fisicoquímicas.	
7. Conclusiones.....	87
8. Clave	90
8.1 Principales estructuras de los ciliados.	
8.2 Técnicas de observación.	
8.3 Metodología de aplicación de la clave.	
8.4 Ejemplo de aplicación.	
9. Referencias	115

ANEXOS

I. Clasificación de los organismos	108
II. Nombres y clasificación de los organismos.....	110
III. Organismos indicadores de agua extremadamente contaminada	112
IV. Caracterización de parámetros físicos y químicos del afluyente.....	114

RELACION DE FIGURAS Y CUADROS.

FIGURAS

- FIGURA 1. Mapa de localización de la zona de estudio.
- FIGURA 2. Sistema de estanques y localización de sustratos.
- FIGURA 3. Colonización. Muestreo prospectivo.
- FIGURA 4. Temperatura.
- FIGURA 5. Oxígeno disuelto.
- FIGURA 6. pH
- FIGURA 7. Conductividad específica (25°C).
- FIGURA 8. DBO₅ y DQO.
- FIGURA 9. Número de especies por muestreo en cada sustrato.
- FIGURA 10. Variación de la efectividad de muestreo en los tres sustratos.
- FIGURA 11. Portaobjetos. Número de individuos por especie.
- FIGURA 12. Frecuencia vs. abundancia en portaobjetos.
- FIGURA 13. Acrílico. Número de individuos por especie.
- FIGURA 14. Frecuencia vs. abundancia en acrílico.
- FIGURA 15. Poliuretano. Número de individuos por especie.
- FIGURA 16. Frecuencia vs. abundancia en poliuretano.
- FIGURA 17. Número total de ciliados. Acrílico y portaobjetos.
- FIGURA 18. Número total de ciliados en poliuretano.
- FIGURA 19. V. microstoma, variación por sustrato.
- FIGURA 20. O. fallax, variación por sustrato.
- FIGURA 21. E. patella, variación por sustrato.
- FIGURA 22. C. glaucoma, variación por sustrato.
- FIGURA 23. T. pyriformis, variación por sustrato.
- FIGURA 24. P. caudatum, variación por sustrato.
- FIGURA 25. P. aurelia, variación por sustrato.
- FIGURA 26. Variación del índice Saprobio de Pantle y Buck en los tres sustratos.

TRABAJO DE LABORATORIO.

- FIGURA 27. Colonización de sustratos en el laboratorio.
- FIGURA 28. Especies presentes por tiempo en la espuma de poliuretano.
- FIGURA 29. Especies presentes por tiempo en los portaobjetos.
- FIGURA 30. Especies presentes por tiempo en los acrílicos.
- FIGURA 31. Variación de la temperatura.
- FIGURA 32. Variación del oxígeno disuelto.
- FIGURA 33. Variación del pH.

CUADROS

- CUADRO 1. Porcentajes de remoción de la DBO_5 .
- CUADRO 2. Ubicación taxonómica de los protozoos ciliados.
- CUADRO 3. Correlaciones entre ciliados en cada sustrato y parámetros fisicoquímicos.
- CUADRO 4. Clasificación saprobia de los ciliados observados.
- CUADRO 5. CLAVE. Formas de protozoos ciliados.
- CUADRO 6. CLAVE. Evaluación de la calidad del agua utilizando protozoos ciliados.
- CUADRO 7. Colocación de sustratos artificiales.

RESUMEN

Se compara la colonización de tres diferentes sustratos artificiales por protozoos ciliados en una laguna de maduración de julio de 1988 a enero de 1989, con el fin de evaluar, de manera rápida y económica, el funcionamiento de un sistema de estanques de estabilización ubicados en Ixtapan de la Sal, Edo. de México.

Los objetivos de este trabajo fueron: 1) comparar el proceso de colonización de protozoos ciliados en tres tipos de sustratos (portaobjetos de vidrio, cuadros de acrílico y cubos de espuma de poliuretano), 2) encontrar un método biológico rápido y barato para evaluar el funcionamiento de sistemas de estanques de estabilización y 3) establecer la influencia de la temperatura y oxígeno disuelto, el pH, la conductividad, la demanda bioquímica de oxígeno al quinto día (DBO₅) y la demanda química de oxígeno (DQO) sobre el comportamiento de las comunidades de protozoos ciliados recolectados en los sustratos.

Los protozoos ciliados, estuvieron representados por nueve especies pertenecientes a las tres clases del Phylum Ciliophora. Estos organismos se identificaron mediante observación con microscopio óptico y usando técnicas de microscopía en campo claro y contraste de fases, campo oscuro y contraste diferencial de interferencia y técnicas de impregnación con plata. Para su cuantificación se utilizó la cámara de Palmer-Maloney para la espuma, y cuenta directa con un estereoscopio para el portaobjetos y el acrílico.

Los sustratos que recolectaron mayor número de especies (8) fueron el poliuretano y el portaobjetos. Euplotes patella y Paramecium aurelia, indicaron una mejor calidad del agua, mientras que las especies indicadoras de baja calidad fueron Tetrahymena pyriformis y Vorticella microstoma; el resto de las especies indicó una calidad regular del agua.

La DBO₅ en el estanque de maduración fue baja (v. máx. 60 mg/L) y no presentó variaciones grandes (s=32.7), lo cual indica que el sistema mantuvo en general, condiciones adecuadas de funcionamiento. Todo el sistema tuvo, al final del período de muestreo, una sobrecarga de materia orgánica que afectó significativamente a los ciliados de los sustratos.

La colonización de cubos de espuma de poliuretano por protozoos ciliados, junto con la clave simplificada para la identificación por forma, tamaño y color de los ciliados presentes, se propone como un método rápido y de bajo costo para la evaluación biológica del funcionamiento de estanques de estabilización por personal con entrenamiento básico.

ABSTRACT

A protozoological survey was performed to analyze organisms of the Phylum Ciliophora in a comparative colonization experiments using three different artificial substrates types: polyurethane foam (P.F.), acrylic plates and glass slides in a maturation pond located in Ixtapan de la Sal, Estado de Mexico.

The objectives were: 1) To compare the colonization process of ciliates in three different artificial substrates, 2) To find a cheap and quick biological method to evaluate the stabilization pond performance and, 3) To define the influence of some physical and chemical parameters on the behavior of ciliates collected in the artificial substrates.

The three classes of the Phylum Ciliophora were represented in the nine identified species. Techniques to identify ciliates were light microscopy, phase contrast, darkfield examinations, differential interference contrast and argentic impregnation.

Counting was carried out with Palmer-Maloney chambers for specimens collected from P.F. units; direct counts was used on specimens obtained from the acrylic plates and glass slides with stereoscope microscope.

The P.F. and glass slides were recognized as the best collecting methods. Euplotes patella and Paramecium aurelia were indicative of good water quality, while, the presence of Tetrahymena pyriformis and Vorticella microstoma indicated regular pollution level.

The BOD₅ in the maturation pond showed low levels (max. v. 60 mg/L) without large variations. The stabilization pond had a heavy organic matter discharge, that drastically affected the colonization process on the substrates.

Ciliated colonization in the P.F. and the identification key by size, shape and color of organisms, is herein considered to be the faster and cheaper method suggested to evaluate the biological performance of stabilization ponds by basic trained personnel.

1. INTRODUCCION

Uno de los grandes problemas que se han planteado, tanto en la actualidad como en el pasado, es la evacuación de los desechos líquidos de una comunidad, pues es necesario conocer la mayoría de los factores involucrados (reuso, tipo de desecho, conservación del ambiente, entre otros) para poder plantear soluciones adecuadas (Leynaud, 1979). Se sabe también que las alteraciones en el ambiente, como es la contaminación del agua, inducen cambios en la función y estructura de los sistemas biológicos en todos los niveles de organización, desde el molecular (cambios en la concentración de iones) hasta el de la comunidad entera (todos los organismos presentes en el cuerpo de agua) (Leynaud, 1979); considerando que la presencia de especies estenoicas (aquellas cuyo ámbito de tolerancia es reducido) puede indicar una clase determinada de contaminación, su presencia o ausencia sirve para detectar una variación importante del ambiente (Inserentat y De Sloover, 1976). Este es el fundamento de los métodos biológicos para la determinación de la calidad del agua (Leynaud, 1979).

Los métodos biológicos no pueden, por sí solos, lograr la solución de los problemas de control de la calidad del agua, pero los análisis químicos son insuficientes sin la información adicional de los procedimientos biológicos (Leynaud, 1979).

Dentro de los métodos biológicos, los protozoos constituyen un grupo importante de evaluación de la calidad del agua, especialmente en aquéllos basados en el sistema de saprobios. Desde

sus primeros trabajos Kolkwitz y Marsson (1902, 1908, 1909), creadores del sistema de los saprobios, consideraron a una gran cantidad de protozoos como especies indicadoras adecuadas para caracterizar las aguas que contienen una concentración elevada de materia orgánica. Más tarde Liebmann (1962), quien revisó el sistema y además extendió su aplicación al estudio de las aguas remansadas, recomendó el uso de los protozoos para evaluar la calidad del agua; ya que tienen la ventaja de presentar numerosas especies cosmopolitas. Esta característica permite la comparación de resultados de la evaluación de la calidad del agua entre estudios realizados en diferentes regiones del mundo.

El papel principal de los protozoos de vida libre en los ecosistemas consiste en la regulación del crecimiento de las poblaciones de bacterias, que son el grupo más importante de desintegradores (Bamforth, 1985 y Sleight, 1979) ya que participan en el denominado "circuito microbiano" de los ecosistemas acuáticos. Se trata de un circuito cerrado de transmisión de energía y nutrimentos entre las bacterias, las algas y los protozoos, especialmente del grupo de los flagelados (Finlay et al., 1988).

La presencia de protozoos sarcomastigóforos y ciliados en diferentes sistemas biológicos para el tratamiento de las aguas residuales es conocida desde principios de siglo (Curds, 1975). Varios trabajos han mostrado la importancia de estos organismos, y especialmente del grupo de los ciliados, dentro del proceso de depuración que ocurre en los tratamientos biológicos (Curds y

Vandyke 1966, 1982; Mc Kinney y Gram, 1956; Rivera et al., 1987). La presencia de protozoos ciliados en los lodos activados ha sido relacionada con la formación de los flóculos bacterianos que son el fundamento de la depuración del agua en estos sistemas (Curds, 1975).

Existen muy pocos antecedentes de trabajos realizados en estanques de estabilización, aunque puede mencionarse el estudio de Rivera, et al. (1987) en un estanque predominantemente anaerobio.

El empleo de sustratos artificiales de espuma de poliuretano para el estudio de las comunidades de protozoos en cuerpos de agua naturales fue propuesto originalmente por Cairns et al. (1969). Se trata de un método sencillo para la obtención de muestras comparables en varios sitios de muestreo y en tiempos diferentes, asegurando un número de muestras que incluya a representantes del ambiente acuático y simplificando la obtención de información de la estructura de la comunidad (Bamforth, 1982; Pratt et al., 1986). Aun cuando son trabajos recientes, se ha multiplicado el interés científico, apreciándose en un repaso a la bibliografía actual y de algunos años anteriores, que en su mayoría las investigaciones han sido enfocadas a la aplicación de este método en estudios en cuerpos de agua lénticos (Yongue et al., 1973; Yongue y Cairns, 1978; Plafkin et al., 1980; Cairns et al., 1983; Pratt et al. 1986).

Los sustratos son como islas o pedazos de hábitat definidos biológica y físicamente. Gran parte de los estudios ecológicos consideran una parte del ecosistema en un aislamiento parcial o

completo de todas sus partes (Cairns, 1982), en este sentido se estudian islas. Se ha establecido que cuando se introducen sustratos artificiales en un cuerpo de agua, puede esperarse que no se encuentren diferencias significativas para un mismo ambiente acuático en cuanto a la diversidad de especies (Cairns, 1982), pues una de las ventajas de los sustratos artificiales es que resultan más simples que las islas o sustratos naturales; el ambiente local, físico y biológico, así como las características del sustrato pueden ser controladas (localización, orientación, tiempo de exposición, número de muestras, etc.), y se ha considerado que los sustratos naturales son más selectivos y generalmente recolectan pocas especies (Cairns *et al.*, 1974). Es posible encontrar más especies de protozoos en sustratos más grandes ya que existe una relación lineal entre el tamaño óptimo del sustrato y el número de las especies presentes (Cairns, 1977).

Se han realizado modificaciones a este método para su aplicación al estudio de las comunidades de protozoos que viven en sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales. La intención de las investigaciones ha sido la de desarrollar un método sencillo para la evaluación biológica del funcionamiento de estos sistemas de tratamiento y se ha aplicado hasta ahora a lodos activados (Sudzuki, 1981) y biodiscos (Kinner y Curds, 1987).

La colonización de sustratos puede aprovecharse para conocer el estado de la comunidad de protozoos ciliados en un sistema de tratamiento y determinar si la calidad del agua tratada es la que se requiere (Curds, 1965; 1969; Mc. Kinney y Gram, 1956;

Sladecékova y Sládecek, 1966; Sleight, 1979). La información en este sentido, aunque no es escasa, sí resulta insuficiente y no existen trabajos que estudien las posibilidades de uso de sustratos artificiales en estanques de estabilización. Por tanto, parece posible determinar la eficiencia depuradora de los estanques de estabilización mediante el estudio de las comunidades de ciliados en sustratos artificiales colocados en ellos, ya que son sistemas de tratamiento de aguas de desecho que presentan condiciones ambientales semejantes en gran parte a aquéllas que existen en cuerpos naturales lénticos. Los resultados de este estudio tienen una gran posibilidad de aplicación en los sistemas de tratamiento de aguas negras, principalmente en zonas rurales de México (Rivera et al., 1986a; 1986b; 1987; Solís, 1982).

La presente investigación es un trabajo pionero en el estudio de la evaluación de la depuración en sistemas de estanques de estabilización utilizando la colonización de sustratos artificiales por protozoos ciliados.

2. ANTECEDENTES

Estudios arqueológicos indican que los estanques de estabilización fueron empleados desde tiempos remotos. En ruinas de Babilonia y del antiguo Egipto se encontraron estructuras y canalizaciones destinadas al depósito de aguas cloacales de sus ciudades, pero las obras principales y más completas datan del Imperio Romano. También se informa que en algunos castillos medievales, los fosos que los rodeaban tenían un doble propósito: el de protección, y el de almacenar y tratar las aguas con desechos domésticos o ganaderos, en las cuales inclusive se criaban peces (Aharon, 1982).

En Asia, los estanques de desechos eran bien conocidos. Excavaciones recientes en las ciudades de Mohenjo-Daro y Harappa, en el valle del Indostán, revelaron que existía todo un sistema que incluía albercas y un drenaje subterráneo que llevaba los desechos a estanques y después el efluente era utilizado para riego (Fitzgerald y Rohlich, 1958 en Hawkes, 1983).

En 1901 en América se construyó un embalse para el tratamiento de desechos; fueron 275 ha con una profundidad desde uno a cuatro metros y que actualmente es conocido como el lago Mitchell, el más grande de su tipo en los Estados Unidos; en este país se usaron también yacimientos de arena como filtros percoladores que al obstruirse, se transformaron en estanques de aproximadamente 1 m de profundidad, donde se continuaba la depuración de las aguas de desecho ahí vertidas (Arceivala *et al.*, 1970). Alrededor del año 1945, durante la Segunda Guerra Mundial, se perfeccionó el

funcionamiento de los estanques en los Estados Unidos (Bartsch y Allum, 1957). Posteriormente, en el resto del mundo y especialmente en América Latina se extendió el uso de estanques para tratar aguas residuales (Gloyna, 1971).

2.1 Estanques de estabilización.

Durante los años setenta, México se vio en la necesidad de instrumentar sistemas de tratamiento, adaptando los criterios de otros países (Urroz, 1974). Actualmente los estanques representan poco más del 60% de los sistemas para el tratamiento de aguas de desecho en nuestro país, lo cual indica la relevancia de este tipo de sistemas para la depuración y el reuso del agua (Noyola y Jiménez, 1987).

Los estanques de estabilización se definen como cualquier estanque o grupo de estanques previstos y proyectados para llevar a cabo un tratamiento biológico. Los estanques son una de las soluciones más económicas para la depuración de aguas de desecho doméstico en lugares donde el suelo no es caro, las cargas orgánicas fluctúan y existen restricciones económicas y personal poco preparado (Gloyna, 1971), como ocurre en la mayoría de los municipios rurales de nuestro país (González, 1978). Es necesario considerar que la eficiencia y economía del sistema de estanques depende de los factores ambientales, y que los costos de construcción y terreno difieren de un lugar a otro (Dodakundi y Rodgi, 1975).

Un sistema de estanques contiene aguas residuales crudas o parcialmente tratadas en las que la actividad biológica oxida los

desechos del afluente produciéndose en cambio bacterias, algas, hongos, protozoos y metazoos (Gloyna, 1969). Puede comprender un solo estanque o varios tipos de estanques en serie o en paralelo (anaerobios, facultativos y de maduración). Las lagunas de estabilización -como cualquier otro sistema de tratamiento de desechos líquidos- se diseñan de acuerdo con la descarga de aguas residuales de un momento determinado, pero tomando en cuenta una tasa de crecimiento poblacional en la que se consideran las tendencias previas y las posibilidades de crecimiento acelerado en el futuro (Gloyna, 1972).

También se debe tomar en cuenta el uso que se le va a dar al efluente final (Caldwel, 1946; Gloyna, 1971; Mara, 1976). En el caso de usarse para la agricultura el efluente podrá tener una pequeña cantidad de materia orgánica, aunque deben considerarse los problemas de sustancias disueltas peligrosas que se reportan en la literatura. Si el efluente final se descarga a un río o a un lago que puedan servir de abastecimiento aguas abajo o si se usan para fines recreativos o pesca, o si simplemente se quiere conservar el equilibrio ecológico del cuerpo de agua, será necesario disminuir la demanda bioquímica de oxígeno, los sólidos suspendidos y en muchos casos los nutrimentos para evitar la hiperfertilización y problemas de eutrofización (Brockett y Orchard, 1973).

Los estanques de estabilización están considerados para dar un tratamiento secundario a los desechos, donde se involucra el proceso biológico que se encarga de eliminar materia orgánica por oxidación bioquímica; este proceso biológico depende de factores

como la cantidad de desecho biodegradable, la cantidad de radiación solar, la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto. Los estanques se han clasificado para su comprensión de muy diversas maneras, de entre las cuales la más usada es la que se basa en el contenido de oxígeno disuelto en el agua de desecho que, en resumen es como sigue:

1. **Aerobios o fotosintéticos.** De 0.30 a 1.5 m de profundidad, el oxígeno lo proveen las algas que utilizan la luz solar como fuente de energía; por sí mismas no estabilizan la materia orgánica, sino que mantienen el medio aerobio para las bacterias y los hongos; los productos finales del metabolismo son bióxido de carbono y agua (Gloyna, 1969).
2. **Anaerobios.** Reciben una gran carga orgánica y la actividad desintegradora de los microorganismos se desarrolla en condiciones de ausencia de oxígeno disuelto. Algunas bacterias (por ej. Nitrosomonas y Nitrobacter) obtienen energía de la oxidación de compuestos inorgánicos como amoníaco, nitritos, nitratos y sulfatos (Mara 1976). En otros casos, se realiza la fermentación anaerobia de la materia orgánica, como la efectuada por las bacterias productoras de ácidos orgánicos, aldehídos y alcoholes y por bacterias del metano. Las reacciones anaerobias son lentas y pueden generar sustancias con mal olor como el ácido sulfhídrico (Aguirre y Gloyna, 1972).
3. **Facultativos.** Son estanques que presentan en la superficie degradación aerobia de la materia orgánica y en el fondo la descomposición se produce en condiciones anaerobias. La profundidad

de estos estanques varía entre 1 y 3 m. Los estanques facultativos pueden subdividirse en: a) Primarios: tienen como finalidad la separación por medios físicos de los sólidos en suspensión no retenidos en el tratamiento previo, así como de las grasas y aceites. b) Secundarios: eliminan la materia orgánica presente en las aguas residuales que no ha sido retirada en el tratamiento primario la cual sirve como sustrato para el crecimiento de microorganismos en donde se transforma en materia orgánica estabilizada (Gloyna, 1976).

4. Maduración. Se utilizan después de los estanques facultativos y tienen como función primordial el reducir el número de microorganismos patógenos con base en la extensión del tiempo de retención; pueden ser utilizados para la cría de peces (Ciprínidos generalmente) (Gloyna, 1972). Las bacterias fecales y virus mueren razonablemente rápido debido al ambiente adverso; los quistes y huevecillos de parásitos intestinales mueren o se sedimentan eventualmente debido al tiempo de retención (Mara, 1976).

El número de estanques está determinado generalmente por el grado de depuración que se requiera (Gloyna, 1972). En estudios prácticos se ha demostrado que los estanques de maduración de gran tamaño (estanques terciarios) son particularmente eficaces para reducir Escherichia coli de origen fecal (Drews, 1966 en Anderson, 1988), así como su utilidad como estanques amortiguadores de la contaminación ambiental bacteriana (Stander y Meiring, 1962 en Anderson, 1988).

2.2 Especies indicadoras y métodos biológicos.

La composición biológica en los estanques depende entre otros factores de la capacidad que tienen para adaptarse y para transformar la energía disponible; la energía química de los desechos y la energía solar, favorecen el desarrollo de los organismos (Limón, 1979), estos se relacionan con determinadas condiciones ambientales, por lo que estas especies indicadoras valoran indirectamente los factores ecológicos del medio (Gloyna, 1972); por ejemplo, mientras que algunos nutrimentos orgánicos estimulan a ciertas bacterias, tanto éstas como las algas pueden favorecer el desarrollo de los protozoos.

Por regla general, los protozoos siguen un esquema de sucesión (reemplazo de las especies predominantes por otras) más definido que para las bacterias. Generalmente, los flagelados prefieren aguas recién contaminadas; los zooflagelados resisten condiciones de elevada concentración de materia orgánica y se alimentan de bacterias por lo que suelen proliferar en las aguas más contaminadas; los fitoflagelados compiten con las bacterias por sustratos solubles, y generalmente resultan desplazados por éstas; los ciliados libres nadadores ingieren las bacterias con mayor eficacia que los zooflagelados, mientras que los ciliados sésiles pueden sobrevivir con menor cantidad de bacterias por necesitar menor energía que los anteriores debido a que son más eficientes en la captura del alimento. Lo anterior conduce al reemplazo: flagelados bacterívoros-ciliados libres nadadores-ciliados sésiles (Fernández-Galiano, 1986).

Los protozoos tienen un papel significativo en el mantenimiento del flujo de energía y el reciclado de los nutrimentos dentro de los ecosistemas acuáticos (Caron y Goldman, 1990; Fenchel, 1987). Su rápido crecimiento, el uso eficiente de los recursos comparado con formas superiores de vida, así como el hecho de ser un enlace fundamental entre el nivel de los desintegradores y niveles tróficos superiores los convierten en un eslabón importante en las cadenas tróficas acuáticas (Sleigh, 1979).

Un buen número de especies de ciliados son buenas indicadoras, aunque no pueden ser utilizadas para cualquier tipo de contaminación. Por ejemplo, prácticamente todos los ciliados son extremadamente sensibles a la acción de tóxicos inorgánicos (metales pesados, p.ej) por lo que no podrán ser utilizados para la detección de la contaminación por estas sustancias. En cambio, son extremadamente útiles para valorar la contaminación por materia orgánica, es decir, la saprobiedad (Fernández-Galiano, 1986). Listas de ciliados indicadores de acuerdo con el sistema de los saprobios se encuentran en Bick (1972), Sládecek (1973) y Sládecek *et al.* (1981), además de la completa y reciente revisión realizada por Foissner (1988).

El uso de especies de ciliados para evaluar el grado de eficiencia en la depuración que se lleva a cabo en los sistemas de tratamiento es más reciente, y se ha aplicado especialmente en sistemas de lodos activados (Al-Shahwani y Horan, 1991; Bedogni *et al.*, 1991; Cingolani *et al.*, 1992; Curds, 1969; Duchene, 1991;

Madoni, 1991; Téllez y Esteban, 1991 y Volk, 1991). También existen algunos estudios al respecto en filtros rociadores (Curds y Cockburn, 1970) y biodiscos (Kinner y Curds, 1987; Rivera *et al.*, 1988 y Luna, 1988, 1990).

Los protozoos contribuyen a la producción de oxígeno (los flagelados autótrofos), o bien consumen bacterias y materia orgánica para lograr la estabilización y la consecuente eliminación de la contaminación. Es un proceso natural y complejo conocido como autodepuración, en el que colaboran un gran número de microorganismos diferentes (Sudo y Aiba, 1984). La autodepuración se divide en dos fases sucesivas: la primera fase es la mineralización, en la cual la materia orgánica contaminante es degradada sobre todo por las bacterias quimioorganótrofas, aunque también muchos organismos detritívoros no bacterianos colaboran ingiriéndola, siendo éstos en su mayoría flagelados saprozoicos; también abundan otros detritívoros como rotíferos y nemátodos. Las bacterias son los organismos predominantes en esta fase, y a consecuencia de su acción sobre la materia orgánica de la que se nutren, sobreviene un considerable aumento en el número de estos organismos, así como un incremento en las sales minerales en el agua (principalmente compuestos de nitrógeno y fósforo) y una disminución de la materia orgánica, que son las tres consecuencias de esta primera fase.

La segunda fase de esta depuración espontánea del agua se puede llamar fase de oxidación. Debido al aumento en la cantidad de sales minerales que se produce en la fase anterior, sucede un

crecimiento en la flora fotosintetizante, con la proliferación algunas veces de algas filamentosas, de fitoflagelados y de fanerógamas acuáticas, lo que lleva consigo un aumento de la producción primaria y de la cantidad de oxígeno en el agua, así como el agotamiento paulatino de las sales minerales y la disminución de la población bacteriana debido a la menor cantidad de alimento disponible y al ataque de los depredadores como protozoos, rotíferos y nemátodos. Estas fases no son rigurosamente consecuentes (Sládecek, 1973; Curds, 1975; Fernández-Galiano, 1976).

Una muestra de las numerosas propuestas que se han hecho para utilizar a los organismos presentes en un cuerpo de agua como indicadores del grado de contaminación, es el denominado "sistema de los saprobios" (Kolkwitz y Marsson, 1902, 1908, 1909; Sládecek, 1973), aunque también pueden mencionarse, entre otros muchos, el sistema de Fjörðingstad (1964) y el de Patrick, Hohn y Wallace (1954). Los métodos biológicos para evaluar la calidad del agua son muy útiles cuando es necesario conocer los posibles usos de un cuerpo de agua determinado (Verneaux, 1979).

No se ha logrado un acuerdo universal para la aplicación de los métodos, pero sí se sabe que la contaminación del agua es un fenómeno de gran repercusión biológica, y constituye un tema de estudio de particular interés el desarrollo de métodos eficaces con resultados significativos que colaboren para su control (Cairns et al., 1968).

Para la determinación de la calidad del agua, los métodos

biológicos tienen como cualidad principal lo económica que resulta su aplicación, ya que no requieren de equipo sofisticado ni de reactivos caros. Sin embargo, también presentan desventajas, entre las cuales pueden mencionarse (Bartsch e Ingram, 1966): 1) La necesidad de identificar a los organismos hasta especie y la carencia de herramientas taxonómicas adecuadas; 2) La falta de conocimiento básico acerca de las características y requerimientos ecológicos de las especies y de las comunidades; 3) Existen complicaciones causadas por las variaciones físicas de los cuerpos de agua; 4) Su uso está restringido a la contaminación causada por desechos orgánicos y 5) El considerar entrenamientos básicos en técnicas y manejo de equipo para las personas involucradas.

2.3 Sustratos artificiales como técnica de muestreo.

Un gran número de investigadores a lo largo del tiempo, han utilizado sustratos artificiales para recolectar organismos acuáticos, especialmente macroinvertebrados bentónicos y perifiton (Butcher, 1946; Grzenda y Brehmer, 1960; Moon, 1935; Naumann, 1919; Patrick et al., 1954; Wene y Wickliff, 1940; Zoobell y Allen, 1933).

Una revisión sobre los primeros trabajos sobre sustratos artificiales fue realizada por Beak et al. (1959), y posteriormente por Cooke (1965). Estudios sobre migraciones o invasión de especies que colonizan un sustrato artificial deshabitado y que pueden llegar desde la atmósfera se encuentran en Berger, 1927; Darwin, 1863; Gislén, 1948; Huber-Pestalozzi, 1937; Hudson, 1889; Maddox, 1870; Messikommer, 1943; The National Research Council, 1941;

Pouchet, 1860; y Pasteur, 1860 (citados en Schlichting, 1961 y 1964).

Existen estudios acerca de la dispersión de los protozoos por otros organismos (Maguire y Belk, 1967) y de sustratos colocados en agua corriente (Maguire, 1963).

El empleo de los sustratos artificiales como técnica de muestreo ha sido objeto de controversia. Entre las ventajas más comúnmente aceptadas del uso de los sustratos se mencionan que: a) permiten reunir datos de lugares que no pueden ser muestreados adecuadamente por otros medios; b) permiten un muestreo estandarizado; c) reducen la variabilidad comparados con otros métodos de muestreo; d) requieren poca preparación de las personas que hacen el muestreo en comparación con otros métodos; e) son baratos, fáciles de usar y de procesar; f) permiten un muestreo no destructivo del ambiente y g) otorgan una gran flexibilidad en los programas de muestreo (Rosenberg y Resh, 1982).

Los opositores al uso de los sustratos señalan las siguientes desventajas : a) la dinámica de la colonización no se conoce completamente; b) pueden ser selectivos, dando como resultando muestras no representativas tanto en condiciones naturales como en aguas contaminadas; c) se requiere un largo tiempo de exposición para obtener la muestra; d) pueden existir pérdidas de organismos durante la recolección de los sustratos; e) los sustratos pueden desaparecer de los sitios de colocación debido a circunstancias naturales o a factores humanos como el vandalismo; f) son difíciles de manejar y logísticamente problemáticos (Rosenberg y Resh, 1982).

Aunque la controversia continúa, los diversos tipos de sustratos artificiales han sido útiles en un elevado número de estudios y se considera que constituyen una técnica ya establecida dentro de los métodos de estudio de ambientes acuáticos (Cairns, 1982).

El proceso de colonización de un sustrato artificial por una comunidad de protozoos sigue un modelo de incremento exponencial característico (Cairns *et al.*, 1969) que corresponde al modelo no interactivo de colonización de islas deshabitadas propuesto por Mac Arthur y Wilson (1963 en Mac Arthur y Wilson, 1967)). Sin embargo, una vez logrado el equilibrio se mantiene una constancia relativa en el número de especies, hasta que un nuevo cambio en las condiciones ambientales altera el equilibrio establecido. A partir de que el equilibrio es alcanzado, la colonización y el tipo de especies presentes en el sustrato son determinados por factores biológicos como la competencia interespecífica, la depredación, entre otros.

Entonces los protozoos ciliados desempeñan un papel de doble importancia: por una parte, como indicadores del proceso; por otro, como agentes del proceso de descontaminación. En el primer caso, porque la composición de protozoos se va sustituyendo paulatinamente según avanza la depuración, de modo que la identificación de los organismos existentes en un determinado momento o punto del sistema de depuración puede dar una idea muy precisa sobre el proceso. Por otra parte, como agentes activos en el desarrollo de la depuración, los ciliados (y otros protozoos)

aparecen tanto en las fases anaerobias como aerobias, y además de colaborar en el control de la velocidad de degradación de la materia orgánica (Fenchel, 1987), los organismos presentes indican la calidad del agua. Muchos autores han trabajado sobre este tema, aplicando diferentes métodos de recolecta de organismos, un ejemplo son los trabajos de Bick, 1971; Cairns, 1962, Cairns *et al.* 1972, 1977; Curds, 1965, Curds y Cockburn 1970, Curds, 1975; Bartsch y Allum, 1957; Rivera, 1986a, 1986b, 1987, 1988; Verneaux, 1979; entre otros.

3. OBJETIVOS

Comparar tres métodos de estudio de colonización de sustratos artificiales por protozoos ciliados.

Estudiar la variación temporal de comunidades de protozoos ciliados en sistemas de estanques de estabilización.

Proponer un método sencillo y de bajo costo para la evaluación biológica del funcionamiento de sistemas de estanques de estabilización para personal no especializado.

Establecer la influencia de parámetros físicos y químicos seleccionados, sobre el comportamiento de las comunidades de protozoos ciliados en los sustratos artificiales.

4. AREA DE ESTUDIO

La población de Ixtapan de la Sal se localiza en el suroeste del estado de México, en las coordenadas 18° 50' 6'' latitud N y 99° 40' 5'' longitud O, con una extensión de 115 km² y está aproximadamente a 150 km del D.F., a 1 924 metros sobre el nivel del mar (Figura 1).

El clima de la zona es Aw (w) (i) g semicálido con lluvias en verano y marcha de temperatura tipo Ganges (García 1988).

La precipitación media anual es de 1050 mm, la lluvia máxima en 24 h es de 92.5 mm y la evaporación media anual de 1544.5 mm. La temperatura media anual es de 18.4°C, con máxima extrema de 36°C y mínima extrema de 1°C; el mes más frío es enero con 15.3° C de temperatura promedio y el mes más cálido es junio con 20.5°C promedio. Cuenta con 233 días despejados, 31 días nublados y con neblina sólo 16 días (Solís 1982).

La población del poblado es aproximadamente de 25 000 habitantes que en su mayoría se dedican a actividades turísticas (balnearios de aguas termales) y a la agricultura, con 4395 ha de temporal y 742 ha de riego; la vegetación natural es de selva baja de enebro Juniperus communis (CETENAL 1976).

Ixtapan de la Sal se provee de agua potable por un canal de conducción proveniente de los deshielos del Nevado de Toluca que abastece un caudal de 15 L/s. El caudal mínimo necesario para abastecer las necesidades de los habitantes es de 75 L/s; para tratar de solucionar este problema se proyecta la construcción de

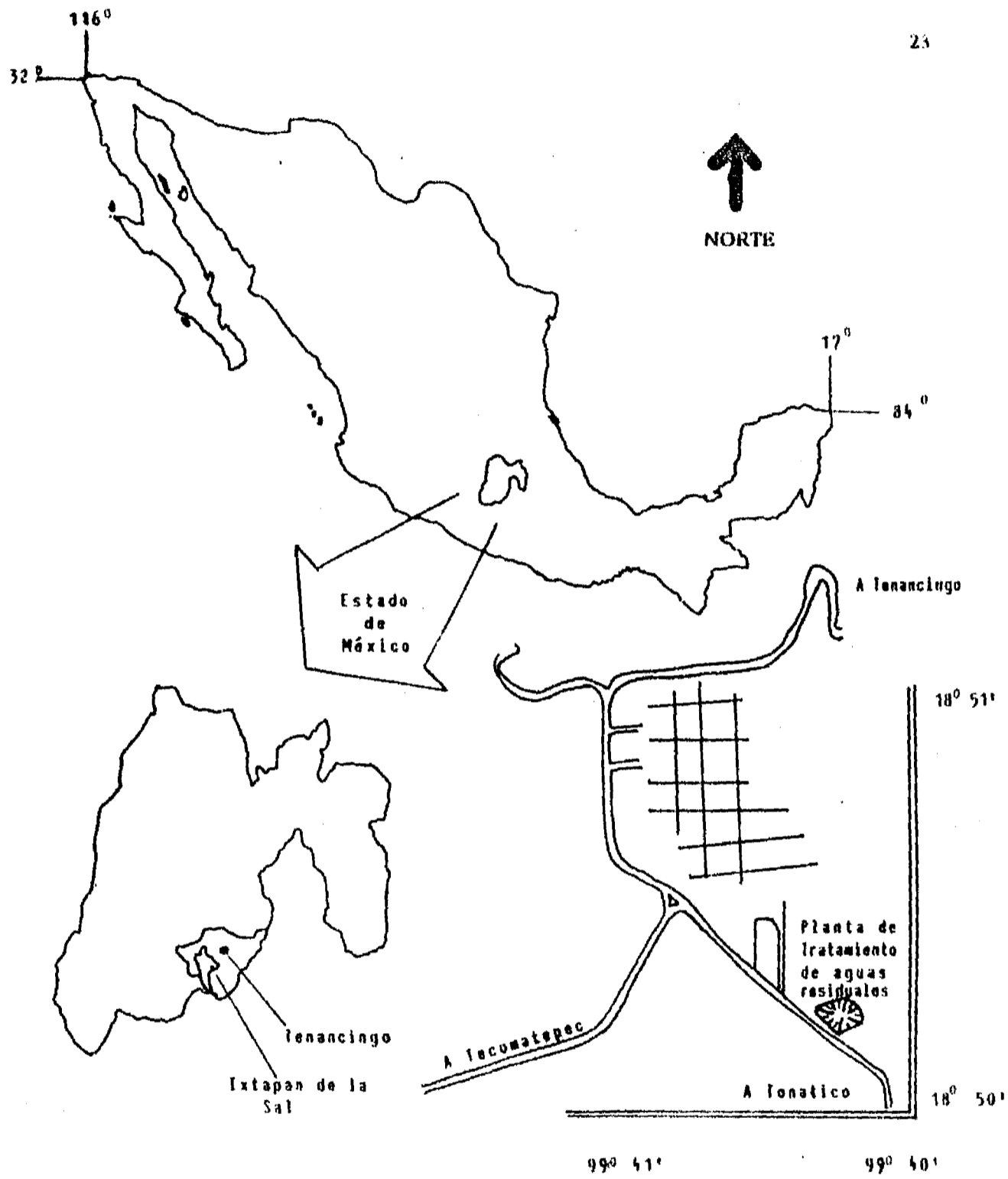


Figura 1 mapa de localización del sistema de estanques.

un vaso de almacenamiento y de tanques de decantación (SEDUE 1988).

Este estudio se realizó en el estanque de maduración de una serie formada por un estanque anaerobio, uno facultativo y uno de maduración (Fig. 2).

El sistema de estanques de estabilización estudiado se encuentra en las afueras de la población y recibe parte del desecho doméstico de sus habitantes. Está formado por: 1) un pretratamiento (rejillas para la separación de la materia flotante y dos cámaras desarenadoras para eliminar materiales de hasta 0.2 mm de diámetro, vertedor y aforador); 2) un estanque anaerobio de tratamiento primario con un dispositivo previo de sedimentación de placas paralelas; 3) un estanque facultativo y 4) un estanque de maduración.

El estanque anaerobio mide 10.70 m de ancho por 18.60 m de largo, con un área superficial de 199 m². Su profundidad es de 3 m y tiene un volumen de 595.3 m³. El tiempo de detención es de 3.4 días (López, 1991; Solís y Solís, 1992).

El estanque facultativo tiene las siguientes dimensiones: ancho de 24 m y largo de 32 m, con área superficial de 768 m²; el tirante de agua en este estanque varía entre 0.85 y 1.25 m, con una media de 1.20; el volumen de agua en la laguna es de 922 m³ y el tiempo de detención hidráulico es de 5.34 días (Solís y Solís, 1992).

Para el estanque de maduración se tiene un volumen de 768 m³, mide de ancho 24 m y de largo 32 m, con profundidad de 1 m. El tiempo de detención hidráulica es de 4.45 días. Todo el sistema

está construido en concreto y presenta compuertas y canales que controlan la entrada y salida de las aguas de un estanque al otro (Solís y Solís 1992).

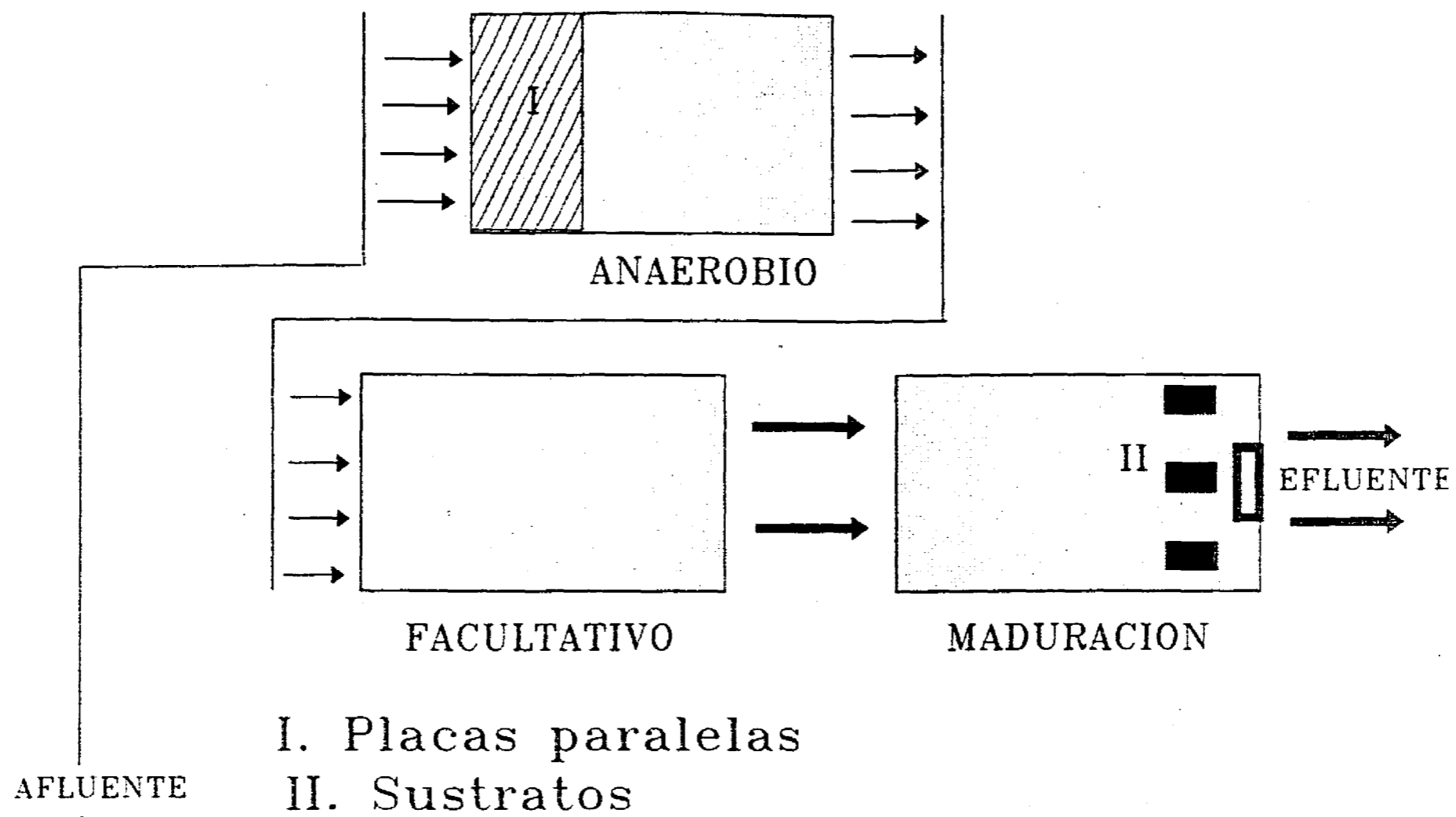


Figura 2: Sistema de Estanques y localización de los sustratos.

5. METODOLOGIA

Se comparó la colonización por protozoos ciliados en tres diferentes sustratos artificiales en el estanque de maduración (laguna final) del sistema de tratamiento de Ixtapan de la Sal (en la figura 2 se muestra la situación del estanque y el lugar donde se colocaron los sustratos). Los sustratos que se utilizaron fueron: portaobjetos de vidrio de 26 x 76 mm (Sudsuki 1981); placas de acrílico de 6 x 6 cm (Curds, com. pers.) y cubos de poliuretano de 1 cm³ (Cairns *et al.* 1969; Sudsuki 1981).

Este estudio tuvo una duración de 6 meses, de julio de 1988 a enero de 1989, con un total de 12 muestreos. Los sustratos se colocaron a una profundidad de 40 cm (pretendiendo con esto tener muestras representativas del fondo y superficie, evitar que se desecaran debido a las fluctuaciones que se presentaban en el estanque e impedir que fueran objeto de vandalismo) y con una separación de 20 cm entre ellos (Cairns y Yongue 1977). Se dispusieron en 3 grupos de 12 sustratos cada uno, recolectando un juego de 3 sustratos diferentes cada 15 días a partir de la fecha de colocación (Figura 2).

Con el fin de establecer el intervalo adecuado para la toma de muestras se realizó un muestreo intensivo que abarcó un período de 15 días. Se colocaron para este fin cuatro juegos adicionales de cada sustrato en el mismo sitio, procediéndose a retirar un juego a los 3,5,9 y 15 días posteriores a la fecha de colocación. Las muestras fueron analizadas y revisadas para familiarizarse con la

composición protozoológica local y para determinar el lapso en que los sustratos presentaban el mayor número de especies de ciliados, este tiempo también permitió la formación de una película bacteriana en los tres tipos de sustratos para el establecimiento de los organismos.

Los sustratos se recolectaron al azar para eliminar cualquier variación sistemática debida a su posición en la línea de fijación. Los sustratos utilizados no fueron esterilizados ya que algunos organismos no son susceptibles de crecer o colonizar un sustrato que ha sido esterilizado (Bach *et al.* 1975; Yongue y Cairns 1976); además un análisis previo de la espuma de poliuretano, portaobjetos y acrílico sin esterilizar, indicó que estaban libres de protozoos y otros organismos.

Una vez recolectados, los sustratos se colocaron individualmente en recipientes de vidrio para evitar que se dañaran, añadiéndoles agua circundante con una botella Van Dorn de 2 L de capacidad para impedir que los organismos murieran o se reprodujeran rápidamente, provocando una errónea interpretación de la estructura de la comunidad. Se transportaron inmediatamente al laboratorio.

Al realizar la recolección de los sustratos, se hizo la determinación de los siguientes parámetros físicos y químicos: oxígeno disuelto (Oxímetro YSI mod. 51B), temperatura del agua (termistor del oxímetro 51 B), pH (potenciómetro Beckman Digi-Sense) y conductividad (celda de conductividad Beckman RC-20). También se tomaron muestras de agua para la determinación en el

laboratorio de la D.B.O.₅ (incubación en botellas DBO según APHA et al. 1985) y de la DQO (reflujo cerrado con dicromato según APHA et al. 1985).

Los portaobjetos y placas de acrílico, fueron examinados primeramente con lentes de mayor aumento (40 X) para identificar los ciliados presentes y determinar la estructura general de la comunidad sobre la película bacteriana formada sobre los sustratos. El cómputo de organismos se hizo considerando el diámetro de campo a 50 aumentos de un microscopio estereoscópico marca Wild (Heerbrugg) y el área para obtener el número de campos a contar por cm².

Se realizó el análisis de los protozoos tanto en el fondo del frasco (donde se encontraban los sustratos) como en el menisco para definir la composición de las especies, algunas veces fijando o tiñendo las preparaciones para confirmar la identificación preliminar, aunque solía dificultarse este proceso cuando la densidad de organismos era baja o existían muchos desechos en las muestras. Se observó que algunos presentaban una distribución espacial dadas las condiciones preferenciales de luz o por la existencia de flóculos bacterianos. Adicional a este procedimiento tanto para espuma de poliuretano como para portaobjetos y acrílico, se realizaron observaciones con microscopio de mayor aumento.

En el caso de los cubos de poliuretano, fueron sacudidos suavemente dentro del recipiente con agua y exprimidos mecánicamente dos veces (con el fin de extraer los protozoos que pudieran estar adheridos entre los intersticios de la espuma) y

del agua obtenida se tomó la cantidad necesaria para hacer las cuentas en la cámara de Palmer-Maloney (APHA et al. 1985) y obtener el número de organismos por mililitro según la fórmula propuesta. Los métodos de cuenta se comprobaron haciendo repeticiones para cada sustrato para conocer si había diferencias significativas entre las cuentas con un análisis de varianza de Fisher (Márques 1988)

Para la identificación de los ciliados se utilizaron las siguientes claves taxonómicas: Bick (1972), Corliss (1959), Corliss (1979), Curds (1969), Curds (1982), Curds et al. (1983), Jahn et al. (1979), Kahl (1930-1935), Lee et al. (1985), Noland (1975) y Streble y Krauter (1985). Para la observación de la infraciliatura se aplicaron las técnicas de impregnación argéntica de Klein (Curds, 1982), de Fernández-Galiano (1976) y la modificación a la técnica de Fernández-Galiano (Augustin et al. 1984).

Los resultados de las cuentas de protozoos se compararon para establecer las diferencias en cuanto a la eficiencia de cada uno de los sustratos para ser colonizado por protozoos ciliados. También se aplicó un análisis de correlación no paramétrica de Spearman (Elliot 1983; Márques 1988; Morrison 1984) para tratar de encontrar relaciones entre las variación de las condiciones ambientales y los números de organismos.

Se realizó un estudio en el laboratorio utilizando una pecera de 40 litros de capacidad con agua del estanque de maduración del sistema de estanques de Ixtapan de la Sal, México. En ella se colocaron 3 series de 12 sustratos de cada tipo (espuma de

poliuretano, portaobjetos y acrílico) para ser recolectados cada tercer día durante 50 días. En cada recolección se determinó el número de especies de protozoos ciliados en ellos, así como la temperatura, el oxígeno disuelto y la conductividad. La finalidad de hacer este estudio en el laboratorio, fue compararlo con el proceso in situ.

Se propone la aplicación de un método modificado al propuesto por Verneaux y Tuffery (1967) para evaluar biológicamente el funcionamiento de estanques de estabilización utilizando a los protozoos ciliados como organismos indicadores y para personas no especializadas.

Es importante señalar que el sistema estudiado originalmente constaba de un estanque anaerobio, dos estanques facultativos y uno de maduración. Un poco antes del inicio del presente estudio, el sistema se modificó eliminando uno de los estanques facultativos y agregando un dispositivo previo de sedimentación de placas paralelas antes del estanque anaerobio (figura 2). Este sedimentador presentó, durante la realización de este estudio, una falla hidráulica que permitió el paso paulatino de una gran parte de la materia orgánica sedimentada hacia el estanque anaerobio y, más tarde, hacia los estanques facultativo y de maduración. Esta sobrecarga constante motivó que, al cabo de seis meses de funcionamiento (tiempo de muestreo), el sistema quedara fuera de servicio; de esta manera, fue necesario desecar y

limpiar los estanques para corregir el desperfecto. Aprovechando estas obras, nuevamente se modificó el sistema, agregándose un tratamiento de tipo químico (floculación). Las circunstancias anteriores hicieron imposible la continuación del muestreo usando los sustratos artificiales, las condiciones de funcionamiento ya no fueron las mismas, y no habría comparación de este trabajo bajo las nuevas circunstancias.

Aunque el tiempo de estudio de este trabajo fue de seis meses, permitió hacer un seguimiento de la degradación de la materia orgánica y mostrar altas eficiencias de depuración. Se observa que a pesar de la falla hidráulica, las especies de ciliados tendieron a colonizar nuevamente los sustratos con abundancias mayores, que de haberse continuado el estudio (bajo el mismo diseño) seguramente se habría logrado la estabilidad en los organismos y en el sistema.

Este estudio y los trabajos anteriores de Martínez (1990) y López (1991) realizados en el mismo sistema de estanques de Ixtapan, han permitido corroborar que las variaciones en las poblaciones de protozoos a lo largo del sistema reflejan los procesos de transformación de la materia orgánica que conducen a la depuración del agua. También se han dado a conocer grupos de especies que sirven de indicadores de las diferentes fases del proceso y confirman a los protozoos como uno de los mejores grupos de indicadores de calidad del agua en sistemas de tratamiento biológico.

Se realizó así mismo, un estudio en el laboratorio utilizando una pecera con agua del estanque de maduración, con la finalidad de

comparar el proceso in situ con el simulado en el laboratorio. Muchas de las condiciones en cuanto a organsimos y parámetros fisicoquímicos fueron semejantes para ambos estudios; en el laboratorio se observó la depuración completa del agua de desecho, situación que posiblemente se hubiera alcanzado si en el sistema de estanques de Ixtapan no se hubiera presentado la falla hidráulica.

6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 MUESTREO PROSPECTIVO.

La primera fase del estudio consistió en una serie de muestreos preliminares que permitieron la determinación del tiempo óptimo de exposición de los sustratos. Los resultados del estudio preliminar se muestran en la figura 3. Se observó que el número de especies en los tres sustratos tuvo un valor máximo de tres. El poliuretano fue el que alcanzó más rápidamente este valor máximo de especies en 3 días. El acrílico presentó su valor máximo a los 5 días. El portaobjetos fue el sustrato que se colonizó más lentamente (valor máximo de especies a los 9 días) y con solo 2 especies de ciliados.

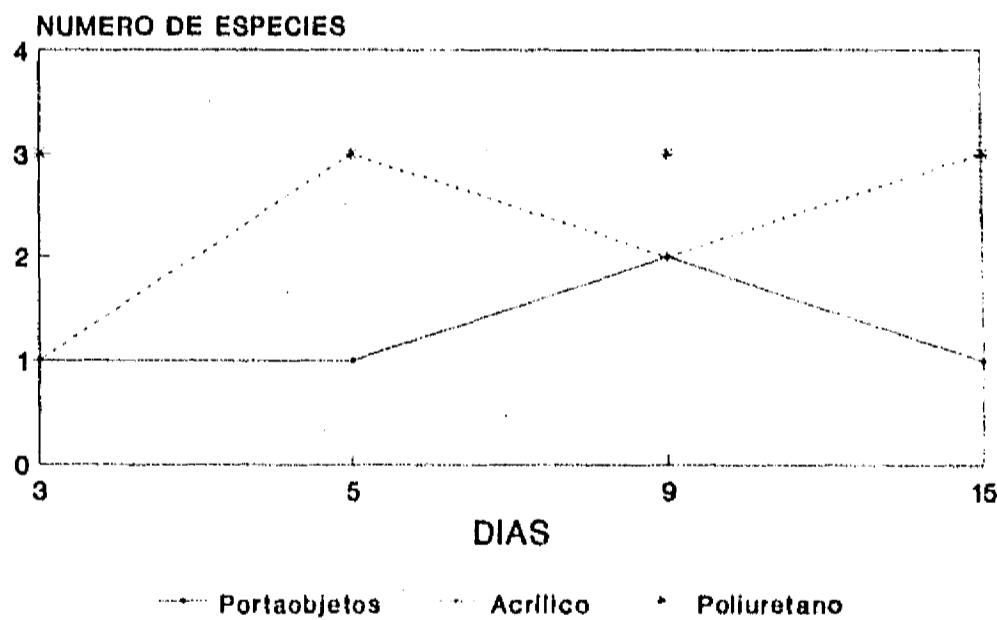


Figura 3. COLONIZACION
Muestreo Prospectivo

Es importante recordar que la composición de la comunidad biológica junto con los parámetros físicos y químicos sirven para evaluar el funcionamiento de un sistema. Se sabe que los primeros organismos en llegar a un sustrato no pueden ser considerados especies típicas de ese ambiente, son principalmente especies bacterívoras y pioneras (flagelados y algunos ciliados); estos a su vez, compiten con especies mejor adaptadas hasta desaparecer permitiendo con esto, la colonización de las especies indicadoras (Madoni 1991). Es de esperarse entonces, que en la fase inicial de la colonización de un sustrato exista poca diversidad en los organismos, pero que estos sean muy abundantes

Con base en el estudio prospectivo se estableció que 15 días eran un lapso adecuado para que los sustratos permanecieran expuestos, coincidiendo con lo establecido por Cairns *et al.* 1973, en Cairns *et al.* 1974-1976, Cairns *et al.* 1977 y A.P.H.A. 1985) Para esta decisión también se tomó en cuenta el tiempo de detención hidráulico del sistema de estanques, el cual fue de 13.2 días (López 1991; Solís y Solís 1992).

Considerando los resultados del muestreo prospectivo, se realizaron los muestreos formales en los cuales, además del muestreo biológico, se determinaron los parámetros físicos y químicos ya mencionados en la metodología. A continuación se presentan estos resultados.

En la figuras los muestreos fueron denotados con números de la manera siguiente:

<u>FECHA</u>	<u>Número de muestreo</u>
1988	
Julio	1
Agosto	2 y 3
Septiembre	4 y 5
Octubre	6 y 7
Noviembre	8 y 9
Diciembre	10 y 11
1989	
Enero	12

6.2 RESULTADOS FÍSICOS Y QUÍMICOS

La evaluación de parámetros físicos y químicos presenta las condiciones que existen en el momento del análisis; en tanto, la determinación biológica representa la sumatoria de las circunstancias ambientales del pasado y del presente (Cairns 1968). Los parámetros registrados en este trabajo son mencionados en la bibliografía (Bamforth 1985; Curds 1975) como los de mayor importancia e influencia sobre los protozoos en sistemas de tratamiento de desechos domésticos. Estos fueron: temperatura ambiente, temperatura del agua, oxígeno disuelto, conductividad específica, DBO₅ y DQO.

Temperatura. Ixtapan de la Sal es una localidad que la mayor parte del tiempo tiene días despejados. Esto permite que la cantidad de radiación solar sea adecuada para un buen funcionamiento de los estanques (Gloyna 1971). Como era de esperarse, la temperatura ambiental influyó notablemente en el agua del estanque de maduración. De julio a octubre, la temperatura ambiente tuvo valores entre los 21 y 25°C (Figura 4) y de noviembre a enero las temperaturas fueron paulatinamente más bajas indicando la época invernal. La temperatura del agua fluctuó de manera parecida a la temperatura ambiental. Dodakundi y Rodgi (1975) establecen para el buen funcionamiento de estanques de estabilización valores entre los 15 y 30°C, condiciones que se presentaron a lo largo del estudio (Figura 4).

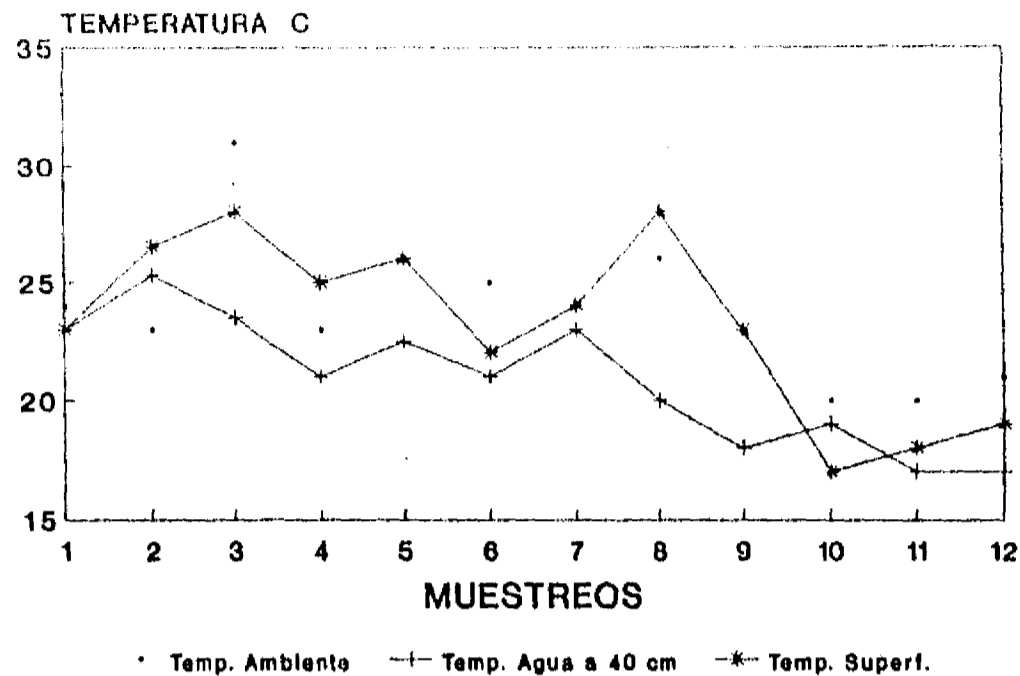


FIGURA 4. TEMPERATURA

Aunque en la figura 4 es muy evidente la diferencia de temperaturas entre la época cálida y la temporada fría es necesario considerar también la variación de la temperatura en la columna de agua durante el día. De acuerdo con Solís (1982) el estanque presenta la mayor parte del tiempo una estratificación térmica seguida de períodos de circulación del agua, que generalmente sucede durante la noche. La estratificación o circulación del estanque es de gran importancia pues influye sobre el tratamiento del agua de desecho.

La circulación permite además, la existencia de oxígeno en toda la columna de agua mientras que la estratificación limita la disponibilidad de este gas en la zona más profunda de los estanques (Solís 1982). Aparentemente, al menos durante las horas del día en que se realizaron los muestreos (entre las 11:30 y las 13:30),

existió estratificación térmica en el estanque de maduración, según se desprende de las notables diferencias entre la temperatura en la superficie del agua y aquella medida a 40 cm de profundidad (nivel en que se colocaron los sustratos, figura 4).

Oxígeno. En los estanques de estabilización facultativos, las algas presentes en la zona trofogénica, al realizar la fotosíntesis durante las horas iluminadas, incrementan notablemente la concentración de oxígeno en el agua superficial. Este oxígeno puede ser aprovechado por las bacterias aerobias para descomponer la materia orgánica, y la asociación de algas y bacterias constituye el fundamento del funcionamiento de dichos estanques (Mara 1976). En los estanques de maduración, debido a que la mayor parte de la materia orgánica ya ha sido degradada, existen altas concentraciones de nutrientes (como CO_2 , nitratos, nitritos, fosfatos) que permiten un gran crecimiento de algas, esto provoca que se elevan las concentraciones de oxígeno. Para este estudio, la mayor parte del tiempo las concentraciones estuvieron alrededor de 2 mg/L (Figura 5), esto se debió a la profundidad en la que se hicieron las determinaciones y donde se encontraban colocados los sustratos, además se considera que esta notable diferencia en la concentración de oxígeno, es un reflejo de la presencia de estratificación térmica en el estanque que favorece una importante clina en el oxígeno disuelto a lo largo de la columna de agua (Figura 5).

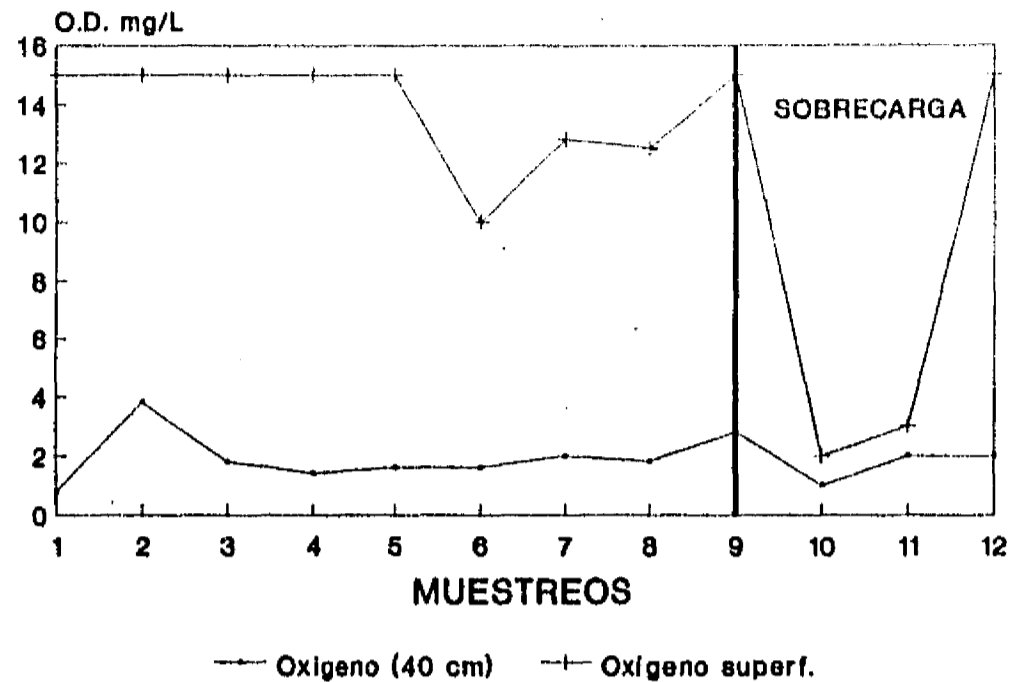


FIGURA 5. OXIGENO DISUELTO

Esta disminución brusca del oxígeno pudo estar relacionada también con la presencia de materia orgánica demandante de oxígeno sedimentada en el fondo del estanque de maduración.

Con la colocación de los sustratos a esa profundidad, se pretendió que tanto los protozoos recolectados en los sustratos, como los parámetros fisicoquímicos, fueran representativos de lo que sucedía en el estanque en su conjunto (superficie y fondo).

Después de un valor muy bajo en el muestreo 1, el oxígeno mantuvo su nivel hasta el muestreo 10, cuando nuevamente descendió. En el nivel superficial también se observó una disminución drástica en los muestreos 10 y 11 (Figura 5).

Esto se debió a una sobrecarga de materia orgánica que experimentó el sistema y que fue provocada por una falla hidráulica consistente en el paso de materia orgánica desde el sedimentador

hacia la laguna anaerobia y, posteriormente, a las lagunas facultativa y de maduración. Sin embargo, la concentración de oxígeno se elevó nuevamente durante el último muestreo (Figura 5), hecho que indicó el inicio de la recuperación del sistema favorecida por la suspensión de la entrada de aguas residuales a las lagunas.

pH. Los estanques de maduración normalmente presentan un pH de 8 a 10.5 (Solís 1982). Este parámetro tuvo el siguiente comportamiento en el estanque (Figura 6): se encontró un promedio de 7.4 (con valor mínimo de 6 y máximo de 9.3), lo cual significa que las condiciones fueron predominantemente básicas.

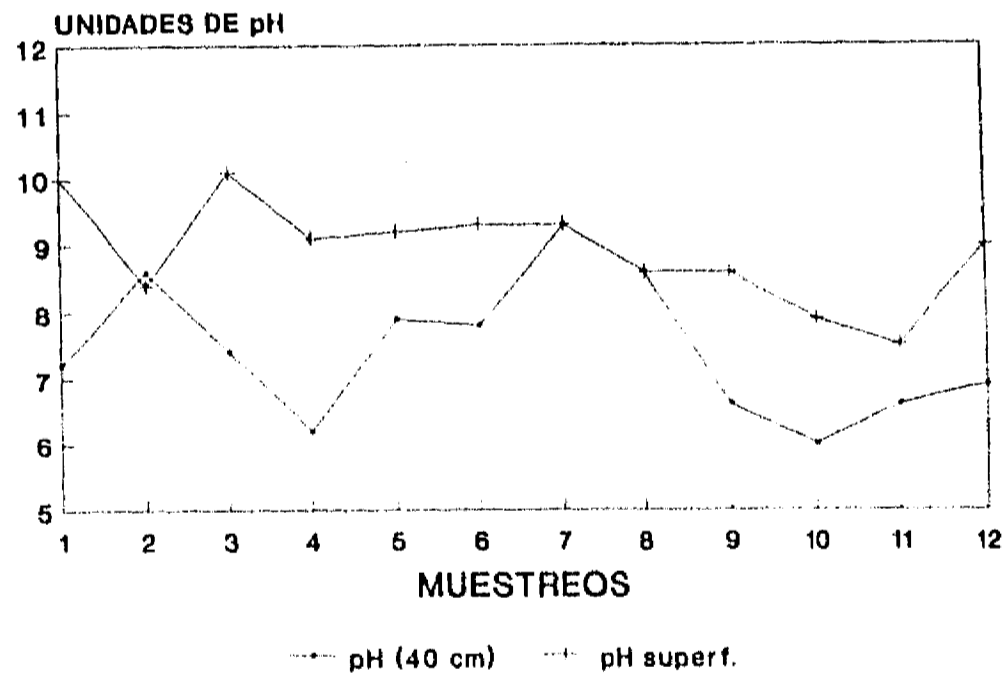


FIGURA 6. pH

Los valores de pH más elevados se debieron a la actividad fotosintética de las algas que, al consumir el bióxido de carbono disuelto en el agua, provocan que el equilibrio CO_2 -bicarbonatos-carbonatos se desplace hacia el lado de los bicarbonatos y carbonatos, aumentando el pH (Leynaud 1979; Margalef 1983).

Los valores de pH más bajos (es decir, ligeramente ácidos) se asociaron a períodos de mayor producción de ácidos orgánicos, sulfuro de hidrógeno y bióxido de carbono por bacterias anaerobias presentes en el fondo del estanque (Dodakundi y Rodgi 1975). Esto se comprobó en el caso del período de sobrecarga durante el cual, a partir del muestreo 10, se presentó un descenso en el pH (Figura 6). La disminución en el pH se asoció, por tanto, con la existencia en el fondo del estanque de cantidades más elevadas de materia orgánica que se degradó en condiciones predominantemente anaerobias. La sobrecarga también afectó el pH en el nivel superficial pues durante el muestreo 11 se presentó el valor más bajo. Esta disminución se asoció a una gran producción de sulfuro de hidrógeno por bacterias anaerobias, favorecida por la ausencia de oxígeno disuelto en el agua del estanque, especialmente en la zona más profunda.

La conductividad específica (K_{25}) es una medida de la cantidad de sólidos disueltos en el agua. Los valores de esta variable obtenidos en el estanque de maduración estuvieron dentro de los valores permitidos para que el agua del sistema pueda ser reusada para riego (menos de $2000 \mu\text{S}/\text{cm}$, SEDUE 1986), uso principal del efluente del estanque en Ixtapan. Esto se traduce en menor

contenido de sales para la zona agrícola y en un bajo riesgo de salinización de los suelos. Durante los primeros muestreos los valores de la conductividad fueron menores (Figura 7) debido a la dilución causada por las lluvias.

A partir del muestreo 6 (octubre) los valores de conductividad se incrementaron, hasta el muestreo 9 (noviembre) en que descendieron nuevamente para elevarse durante los dos últimos muestreos. Puede considerarse que la conductividad indicó que el agua del estanque tiene una moderada concentración de iones y que la variación de este parámetro estuvo notablemente influenciada por las épocas de lluvia y de sequía.

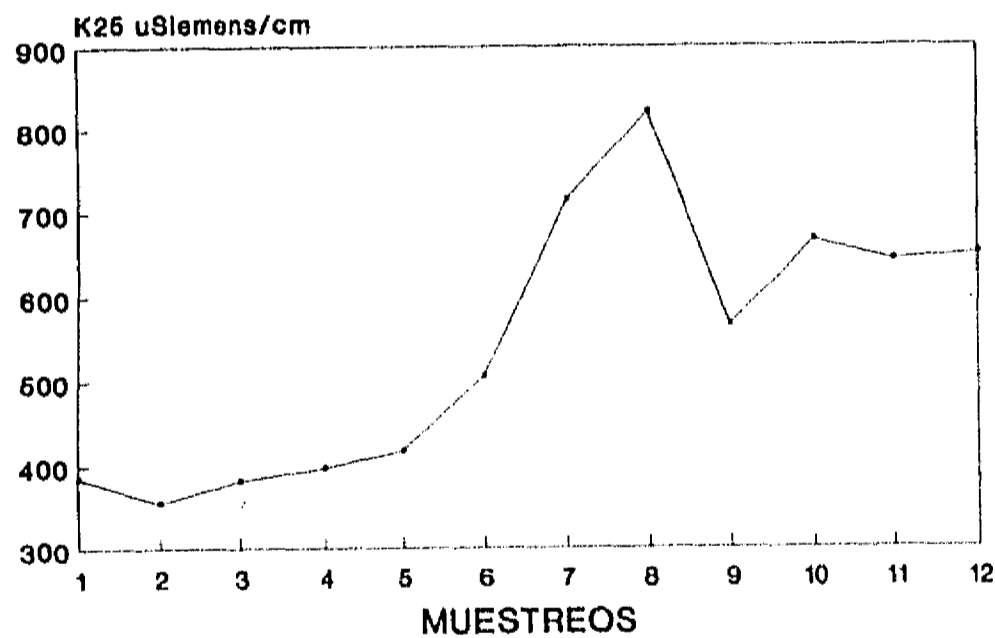


FIGURA 7. CONDUCTIVIDAD ESPECIFICA (25 C)

En la figura 8 se presenta la variación de la Demanda bioquímica de oxígeno al quinto día (DBO_5) y de la Demanda química de oxígeno (DQO) en el lugar donde fueron colocados los sustratos. La DBO_5 fue la variable usada para detectar las eficiencias de eliminación de materia orgánica biodegradable en este sistema de tratamiento, pues resulta una buena medida comparativa para el cálculo de cantidades relativas de enriquecimiento orgánico (Branco, 1984). Se observa que la DBO_5 en el estanque de maduración fue baja (valor máximo de 60 y mínimo de 35) y no presentó grandes variaciones a lo largo del estudio, lo cual indica que el sistema mantuvo, en general, unas condiciones adecuadas de funcionamiento. La SEDUE, en 1986 (citado en López 1991) fijó unas condiciones particulares de descarga para el sistema de Ixtapan de la Sal.

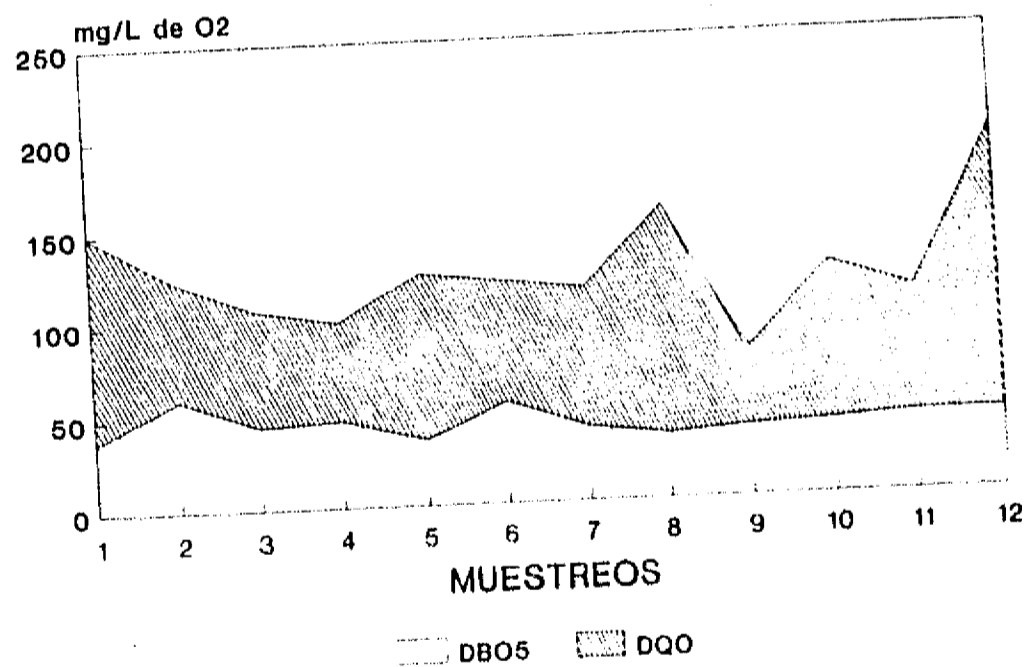


FIGURA 8. DBO_5 Y DQO

El valor máximo permitido para la DBO₅ en el efluente es de 70 mg/L. Aún durante la sobrecarga de materia orgánica los valores de DBO en el estanque de maduración no se elevaron notablemente y se mantuvieron por debajo del límite máximo establecido.

6.2.1 Porcentajes de remoción de la Demanda bioquímica de Oxígeno en el sistema de estanques de estabilización de Ixtapan de la Sal.

La eliminación de materia orgánica biodegradable en el sistema de estanques fue adecuada durante la mayor parte de los muestreos (media = 85 %, Cuadro 1).

CUADRO 1

MUESTREO	%	MUESTREO	%
Julio, 1988	83	Noviembre	78
Agosto	93	Noviembre	81
Agosto	78	Diciembre	77
Septiembre	86	Diciembre	83
Septiembre	87	Enero, 1989	86
Octubre	92		
Octubre	91	PROMEDIO	85

Los valores del afluente siempre fueron considerablemente mayores que los del estanque de maduración, lo cual indica el buen funcionamiento del sistema (Anexo IV) (Gloyna 1971).

Debe aclararse que la eficiencia se refiere a todo el sistema de estanques y no únicamente al estanque de maduración. De hecho, el estanque de maduración contribuye poco a la eliminación de DBO_5 pues las mayores eficiencias de eliminación se presentan en el sedimentador, la laguna anaerobia y la laguna facultativa (López 1991). Un estanque de maduración tiene como objetivos principales el mejorar la calidad del efluente de las lagunas facultativas (Hernández 1982) y la eliminación de patógenos (Mara 1976).

Ya se ha mencionado la existencia de una etapa de sobrecarga del sistema durante los últimos muestreos. Al observar la figura 8 la gráfica de la DBO_5 no muestra esta sobrecarga, en cambio, la DQO sí tiene un notable incremento durante el último muestreo. La explicación de lo anterior se fundamenta en el hecho de que los sistemas de estanques de estabilización presentan una gran resistencia a los períodos de sobrecarga (Gloyna 1971; Hawkes 1983). La materia orgánica en exceso continuó siendo degradada en una alta proporción en el estanque anaerobio y en el facultativo.

Por esto, la DBO_5 en el estanque de maduración (especialmente en la zona cercana al efluente) no se incrementó notablemente. En cambio, toda la materia orgánica no biodegradable o difícilmente biodegradable, medida en la prueba de la DQO , pasó a través de las diferentes fases del sistema y alcanzó en una proporción importante a la laguna de maduración. Por esto la DQO en los muestreos finales se incrementó notablemente mientras que la DBO_5 tuvo una variación mucho menor. López (1991) encontró que la eficiencia de remoción de DBO_5 casi se mantuvo a pesar de la sobrecarga, mientras que la de

DQO pasó de un 70% durante el período de funcionamiento correcto a un 2% durante el período de sobrecarga. Debe mencionarse que un poco antes del último muestreo fue suspendida la entrada de agua residual al sistema de estanques buscando mejorar las condiciones de operación. Como esto no se logró, posteriormente fue necesario vaciar el sistema para realizar una limpieza manual de la materia orgánica sedimentada y corregir la falla que provocó el problema de sobrecarga.

Entonces, las condiciones físicas y químicas en el estanque de maduración pueden resumirse de la siguiente forma: existió una notable estratificación de la temperatura, el oxígeno disuelto y el pH. Estos tres parámetros mostraron valores más elevados en la superficie. En la profundidad donde se colocaron los sustratos (40 cm) los valores de los tres parámetros disminuyeron con relación a los superficiales. La temperatura varió entre 17 y 25° C y el pH fue ligeramente básico. Una sobrecarga de materia orgánica en el sistema provocó que los valores de oxígeno disuelto y de pH durante los 3 últimos muestreos disminuyeran considerablemente.

6.3 RESULTADOS BIOLÓGICOS

Después de permanecer sumergidos el tiempo establecido, los sustratos fueron recolectados y se determinaron las especies de protozoos ciliados presentes. Se examinaron 36 muestras en el curso de este estudio en las cuales se encontraron 9 especies de ciliados. El número de especies fue menor al encontrado en otros

estanques de estabilización (Alagarsamy et al., 1967; Rivera et al., 1987), pero igual al encontrado en otro estudio anterior -en que no se utilizaron sustratos artificiales- realizado en el mismo sistema de estanques (Lugo et al., 1991). Debe considerarse que los organismos estudiados en esta investigación correspondieron exclusivamente a la fase final del tratamiento, mientras que en los otros trabajos citados se mencionan los ciliados encontrados a lo largo de todo el sistema de tratamiento.

Los organismos determinados durante el muestreo prospectivo y los muestreos formales fueron representantes de las tres clases del Phylum Ciliophora. El cuadro 2 muestra su ubicación taxonómica, según Foissner (1988, 1992) Levine et al. (1980) y para las familias se siguió la clasificación de Lee et al. (1985):

CUADRO 2.

Phylum Ciliophora Doflein, 1901.

Clase 1. Kinetofragminophorea de Puytorac et al. 1974.

Subclase Gymnostomatia Bütschli 1889.

Orden Pleurostomatida Schewiakoff 1896.

Familia Amphileptidae Bütschli 1889.

Litonotus fasciola O.F. Müller 1773.

Subclase Suctoria Claparède y Lachmann 1858.

Orden Suctorida Claparède y Lachmann 1858.

Suborden Exogenina Collin 1912.

Familia Podophrydae Haeckel 1866.

Podophrya fixa O.F. Müller 1786.

Clase 2. Oligohymenophorea de Puytorac et al. 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 Complex

Suborden Peniculina Fauré-Fremiet, en Corliss 1956.

Familia Parameciidae Dujardin 1840.

Paramecium aurelia Complex

Paramecium caudatum Ehrenberg 1833.

Orden Scuticociliatida Small 1967.

Suborden Pleuronematina Fauré-Fremiet, en Corliss 1956.

Familia Cyclidiidae Ehrenberg 1838.

Cyclidium glaucoma O.F. Müller 1773.

Subclase Peritrichia Stein 1859.

Orden Peritrichida Stein 1859.

Suborden Sessilina Kahl 1933.

Familia Vorticellidae Ehrenberg 1838.

Vorticella microstoma Ehrenberg 1830.

Clase 3. Polymenophorea Jankowsky 1967.

Subclase Spirotrichia Bütschli 1889.

Orden Hypotrichida Stein 1859.

Suborden Sporadotrichina Fauré-Fremiet 1961.

Familia Euplotidae Ehrenberg 1838.

Euplotes patella O.F. Müller 1773.

Familia Oxytrichidae Ehrenberg 1838.

Oxytricha fallax Stein 1859.

Las especies más abundantes fueron Oxytricha fallax, Paramecium caudatum y Vorticella microstoma (en el 87 % de los muestreos). Del total de especies halladas cinco fueron bacterívoras (P. caudatum, P. aurelia, T. pyriformis, V. microstoma y C. glaucoma), dos fueron carnívoras (L. fasciola y P. fixa) y dos alguívoras (E. patella y O. fallax) (Bick 1972). El hábito de las especies determinadas fue el siguiente: libres nadadores T. pyriformis, P. caudatum, P. aurelia, C. glaucoma y L. fasciola; reptantes como E. patella y O. fallax, asociados a flóculos bacterianos y colonias algales; V. microstoma, bacterívoro sésil que se alimenta de bacterias suspendidas y, por último, P. fixa como carnívoro sésil. La dominancia de especies bacterívoras y alguívoras es un reflejo del tipo de alimento presente en la laguna de maduración, donde aún quedan números elevados de bacterias pero también existen cantidades importantes de algas que son usadas como alimento. Los organismos reptantes aprovechan los sustratos para encontrar película bacteriana que devorar, en tanto que las especies sésiles, como Vorticella, usan los sustratos únicamente como un lugar de fijación pues su alimento se encuentra suspendido en el agua (Anderson 1988).

La fluctuación del número de especies para cada sustrato durante los 12 muestreos se presenta en la figura 9.

Se observa que el mayor número de especies en un muestreo (7) se presentó en la espuma de poliuretano, mientras que para el acrílico y el portaobjetos los valores máximos fueron de seis. Esto demuestra que la capacidad de ser colonizada la espuma de poliuretano en relación con los otros sustratos fue ligeramente mayor, por lo que la espuma de poliuretano puede ser un mejor recolector de especies que el portaobjetos y el acrílico, aunque el primero tiene una estructura tridimensional y los dos restantes bidimensional.

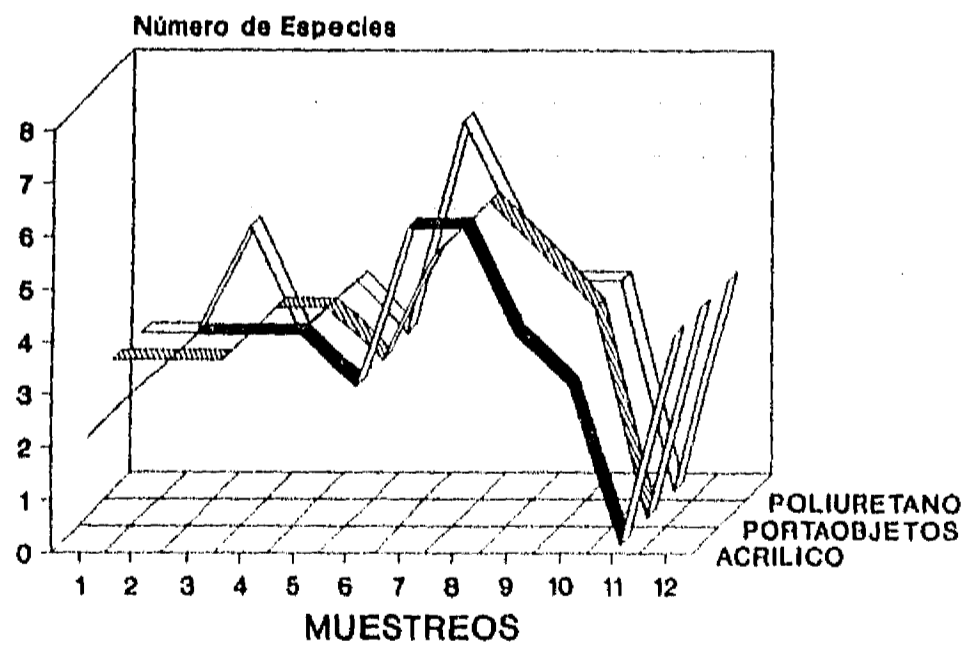


Figura 9. Número de especies por muestreo en cada sustrato

Lo anterior apoya lo afirmado por Cairns y Ruthven (1970) quienes aseguran que cuando se quiere recolectar la mayoría de las especies de una localidad, debe usarse este tipo de sustrato, cuya capacidad de ser colonizado no se ve afectada por el tamaño de los poros o el color del material (Cairns et al. 1974 - 1976).

6.4 Eficiencia de muestreo para cada sustrato.

Para corroborar lo observado en la figura 9 se obtuvieron los porcentajes de eficiencia de muestreo de cada sustrato. Esto se calculó considerando el número de especies diferentes de ciliados halladas en los tres sustratos en cada muestreo, ese valor se tomó como el número total de especies por muestreo. El porcentaje de eficiencia de un sustrato para un muestreo determinado se calculó así: % de eficiencia del sustrato = (número de especies de ciliados halladas en un sustrato en un muestreo / número total de especies de ciliados del muestreo) * 100. La variación en el porcentaje de eficiencia de los tres sustratos se presenta en la Figura 10.

El porcentaje de eficiencia de los tres sustratos fue mayor de 60%, y los valores promedio de los tres sustratos fueron muy similares y superiores al 80%. La espuma de poliuretano presentó el promedio más alto (89%) seguido muy cercanamente por el portaobjetos (88%) y, con un valor un poco menor (85%), el acrílico.

Uno de los problemas más importantes del uso de los sustratos artificiales como muestreadores consiste en la posibilidad de que resulten selectivos para algunas especies del grupo de organismos que se desea estudiar (Rosenberg y Resh, 1982).

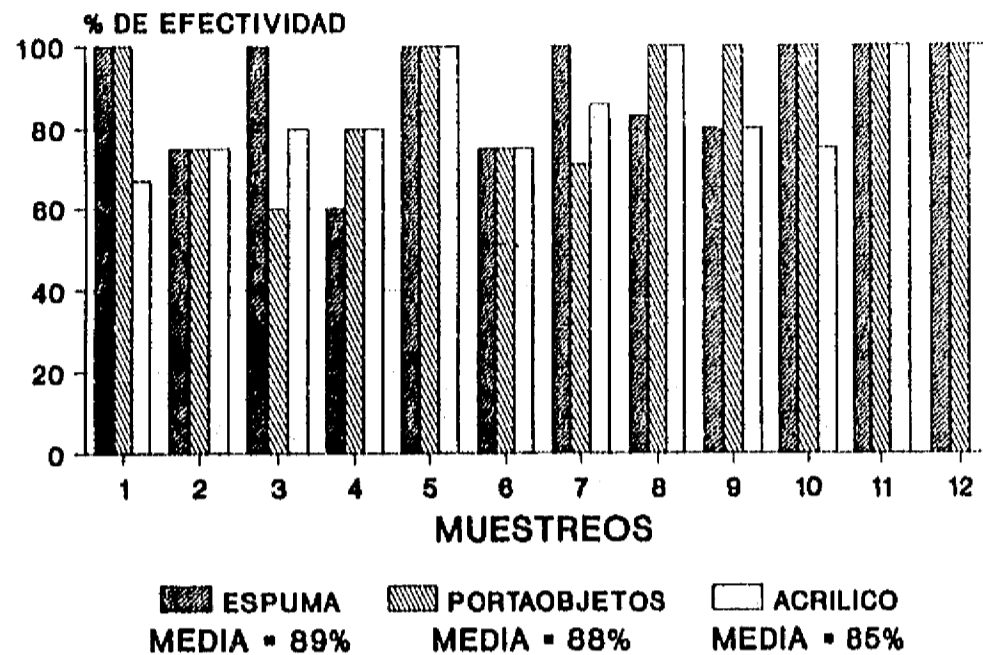


Figura 10. Variación de la efectividad de muestreo en los 3 sustratos.

La selectividad de los sustratos empleados en el presente estudio fue determinada mediante la comparación de las especies obtenidas con este método y las colectadas con otros tipos de muestreo. Martínez (1990) realizó un estudio de los protozoos en el mismo sistema de tratamiento (considerándolo en su totalidad) en el que las muestras de agua para determinar a los protozoos presentes fueron obtenidas directamente en frascos de vidrio. Este autor mencionó la presencia de 9 especies de ciliados en los estanques. En el presente estudio también se determinaron 9 especies de ciliados mediante el uso de los sustratos artificiales. Siete especies de ambos estudios concordaron, lo cual indicó que los sustratos fueron adecuados para muestrear de manera representativa

a la comunidad de ciliados presente en el estanque. Debe mencionarse que el estudio de Martínez se realizó cuando el sistema tenía un diseño diferente (laguna anaerobia, 2 lagunas facultativas y 1 laguna de maduración).

También se observó que la colonización fue más rápida en la espuma de poliuretano con respecto a los otros dos sustratos. Puede afirmarse que la colonización siguió un patrón parecido en los tres sustratos, con las diferencias ya señaladas, y éstos reflejaron al mismo tiempo las condiciones altamente desfavorables que se presentaron en una época (Muestreo 11, noviembre) en el estanque, desapareciendo totalmente de ellos los ciliados (figura 9). Al mejorar las condiciones, los ciliados reaparecieron en los tres sustratos de manera simultánea (Muestreo 12).

El número de especies en cada sustrato por fecha de recolección no se distribuyó normalmente, por lo que se realizó una correlación entre los números de los tres sustratos aplicando el coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman (Green 1975; Sokal y Rohlf 1980; Márques 1988). Se encontraron correlaciones entre los 3 tipos de sustratos artificiales; el acrílico y la espuma presentaron la mayor correlación ($r=0.89$ $p < 0.01$), es decir una correlación altamente significativa; entre el acrílico y el portaobjetos ($r=0.83$ $p < 0.01$), correlación también altamente significativa, y la menor correlación entre el portaobjetos y la espuma ($r=0.67$ $p < 0.05$) significativa (Elliot 1983). Los tres sustratos estuvieron sometidos a las mismas condiciones ambientales lo cual se reflejó en la similitud entre las especies presentes y

en que algunas de estas especies tuvieron, en cuanto a sus abundancias, comportamientos similares en los sustratos, ya que se vieron condicionadas por los mismos factores físicos y químicos imperantes en el estanque de maduración.

6.5 Variación de los números de organismos en los sustratos.

En la figura 11 se presenta la variación en los números de organismos de las especies encontradas en el portaobjetos de vidrio. De las ocho especies determinadas las de mayor abundancia (ecológica) fueron *P. caudatum* y *O. fallax*. En contraste, *L. fasciola* se presentó únicamente en un muestreo y con muy baja abundancia.

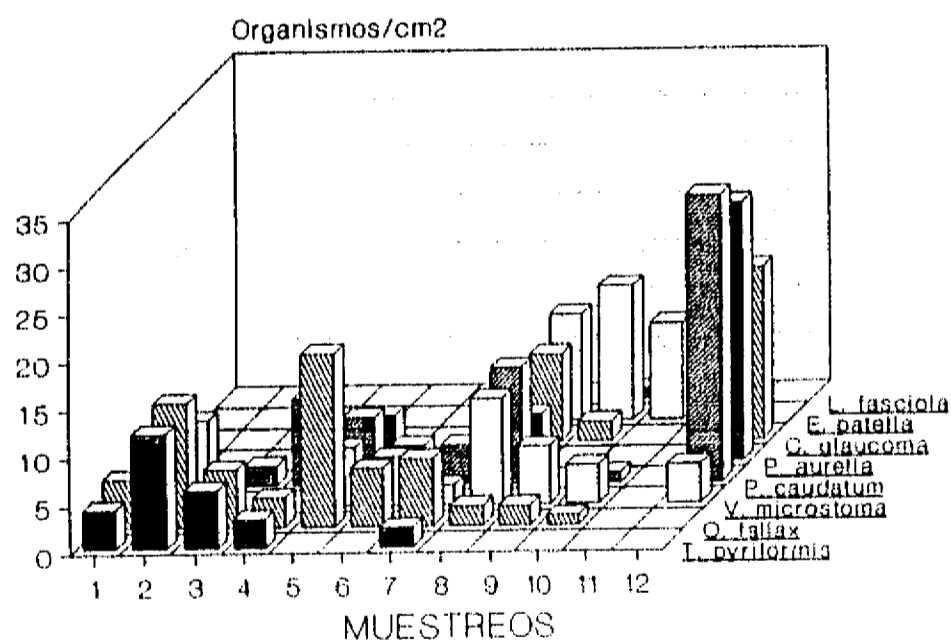


Figura 11. PORTAOBJETOS
Número de Individuos por Especie

En la figura 12 se presenta la gráfica bidimensional (García de León, 1988) de porcentaje de frecuencia (como el número de muestreos en que determinada especie se presenta) vs abundancia (como el número de individuos de esa especie) para las ciliados del portaobjetos.

Se grafica el porcentaje de la frecuencia de aparición de cada especie (número de muestras en que aparece la especie/número de muestras totales * 100) contra su abundancia total; las líneas divisorias son las medias de los porcentajes de frecuencia y de la abundancia para todas las especies.

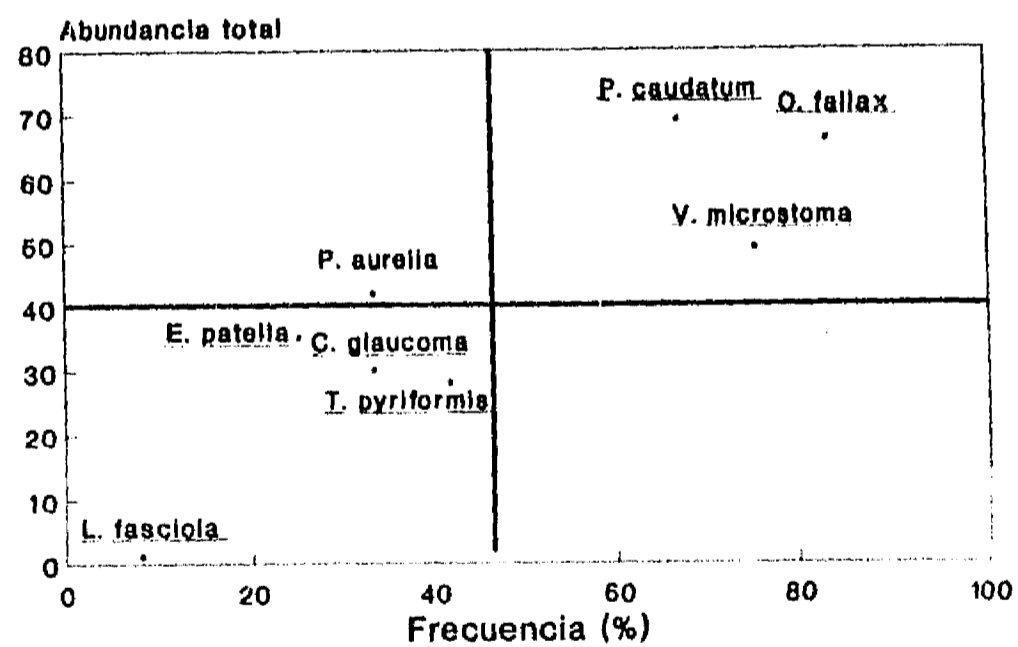


Figura 12. Frecuencia vs Abundancia
Portaobjetos

El diagrama permite discernir cuáles son las especies dominantes (alta frecuencia y alta abundancia, cuadro superior derecho), las constantes (alta frecuencia y baja abundancia -menor número de individuos- cuadro inferior derecho), las temporales (alta abundancia y baja frecuencia, cuadro superior izquierdo) y las escasas o raras (frecuencia y abundancia bajas, cuadro inferior izquierdo).

En la figura 13 se presenta la variación de los números de las especies del acrílico. En este sustrato se encontraron 7 especies, siendo las más abundantes O. fallax, P. caudatum y V. microstoma. Esta última especie presentó un gran pico de abundancia en el muestreo final.

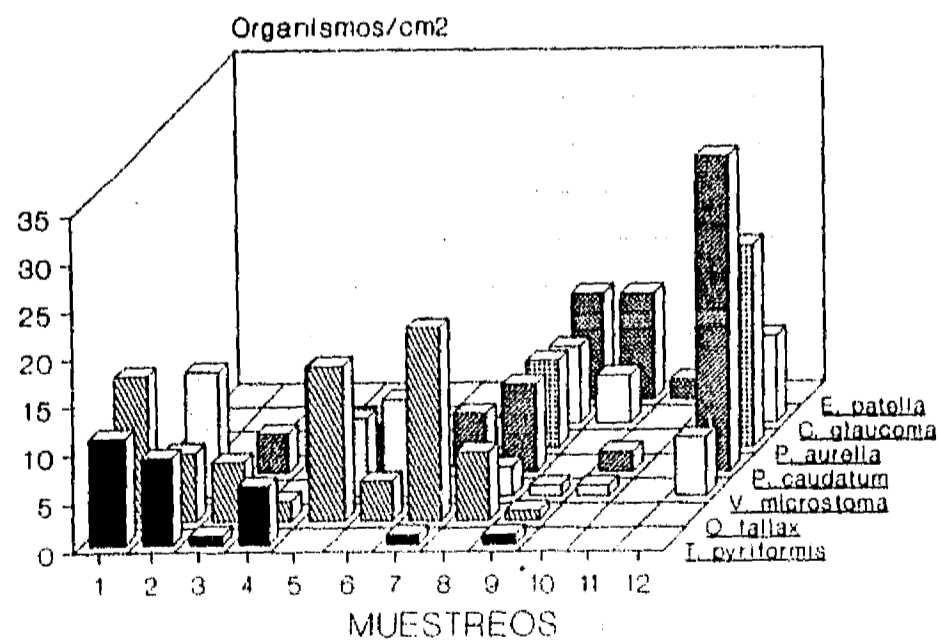


Figura 13. ACRILICO
Número de Individuos por Especie

En el acrílico, de acuerdo con la gráfica de % de frecuencia vs abundancia (Figura 14), las especies dominantes fueron las ya mencionadas como más abundantes. Las demás especies quedaron incluidas en el rubro de raras. En general, puede decirse que los tres sustratos presentaron gran parecido en cuanto al proceso de colonización y a las especies colonizadoras.

La única especie diferente entre el acrílico y el portaobjetos fue L. fasciola, que solamente se encontró en este último. P. caudatum, O. fallax y V. microstoma resultan ser las especies dominantes en el portaobjetos, mientras que P. aurelia aparece como especie temporal (alta abundancia y baja frecuencia). El resto de las especies quedan dentro del grupo de las especies escasas.

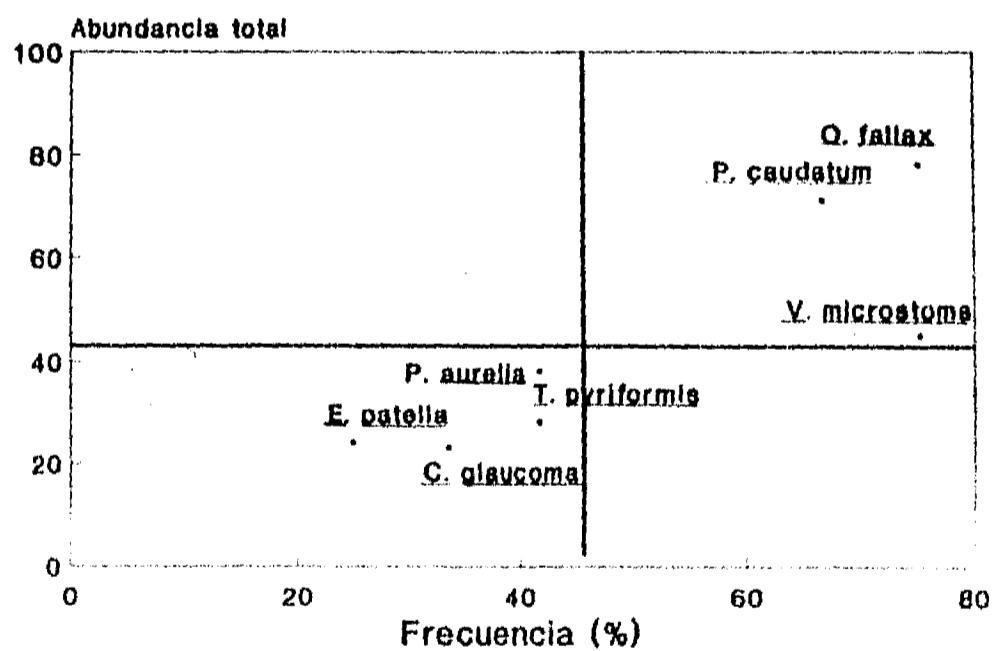


Figura 14. Frecuencia vs Abundancia Acrílico

La figura 15 muestra las especies en los sustratos de espuma de poliuretano.

Al igual que en el portaobjetos, el número de especies encontradas fue de 8; *O. fallax*, *P. caudatum* y *V. microstoma* fueron las especies dominantes en la espuma (Figura 16). *P. aurelia* quedó ubicada, según la gráfica de frecuencia vs abundancia, como especie constante (alta frecuencia y baja abundancia), y *C. glaucoma* apareció dentro de la categoría de especie temporal (alta abundancia y baja frecuencia).

P. fixa se encontró en el poliuretano solamente en un muestreo. La mayoría de las especies presentes se encontraron en números elevados, principalmente durante los cinco muestreos finales.

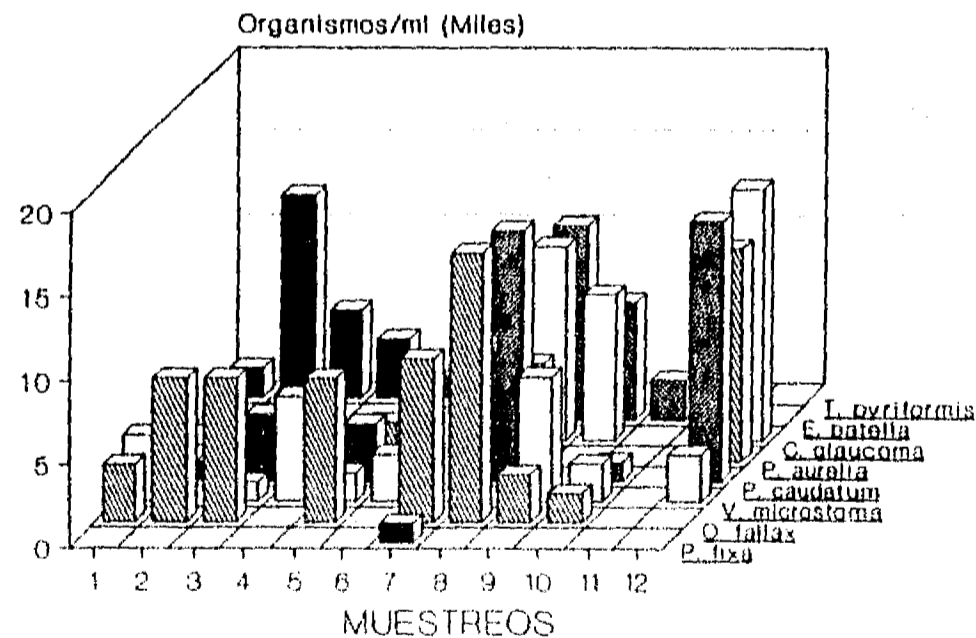


Figura 15. POLIURETANO
Número de Individuos por Especie

E. patella tuvo un gran pico de abundancia durante el último muestreo en este sustrato, no obstante siguió siendo una especie escasa.

Entonces, para los tres sustratos se presentó un cambio en la abundancia de las especies. Durante los primeros muestreos T. pyriformis y O. fallax fueron las especies más abundantes. Posteriormente dominaron C. glaucoma, E. patella y P. aurelia. V. microstoma y P. caudatum que estuvieron siempre presentes, aunque con mayor abundancia en algunos muestreos.

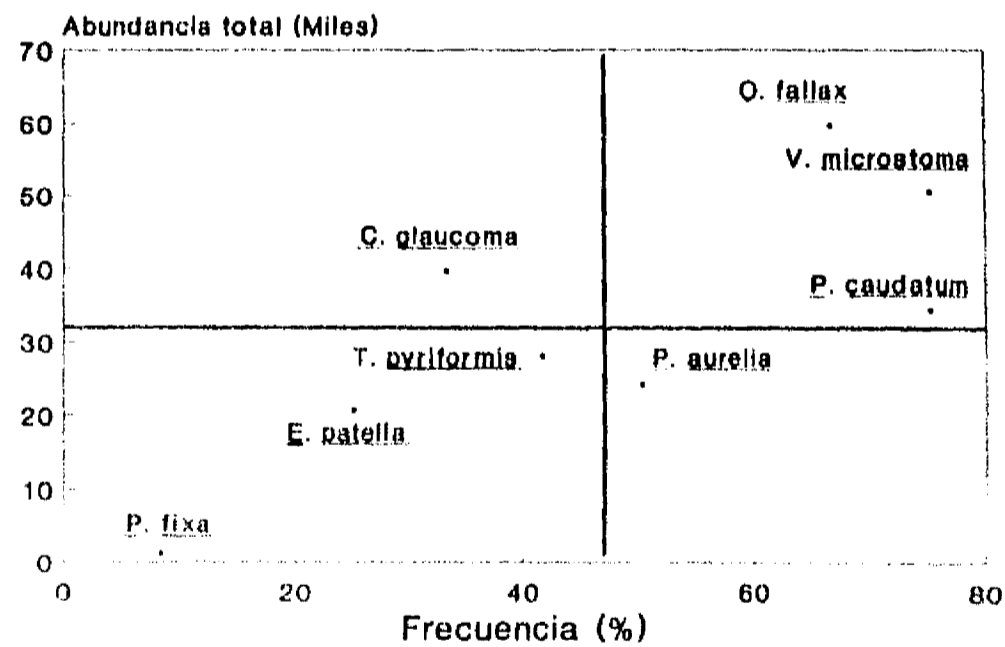


Figura 16. Frecuencia vs Abundancia Poliuretano

La variación en el número total de ciliados para cada sustrato fue muy similar (Figs. 17 y 18). Debe considerarse que la espuma de poliuretano tiene resultados en número de organismos/unidad de volumen, mientras que en los casos de acrílico y portaobjetos los resultados están en número de organismos/unidad de área. A pesar de la gran diferencia numérica en favor de la espuma de poliuretano, puede afirmarse que el comportamiento de la variación en los tres sustratos fue parecido. Lo anterior se confirmó mediante un análisis de correlación usando el coeficiente de Pearson y transformando los datos del número de ciliados por muestreo en los sustratos a $\log(n + 1)$ (Green 1975). Todas las correlaciones resultaron altamente significativas ($p < 0.01$).

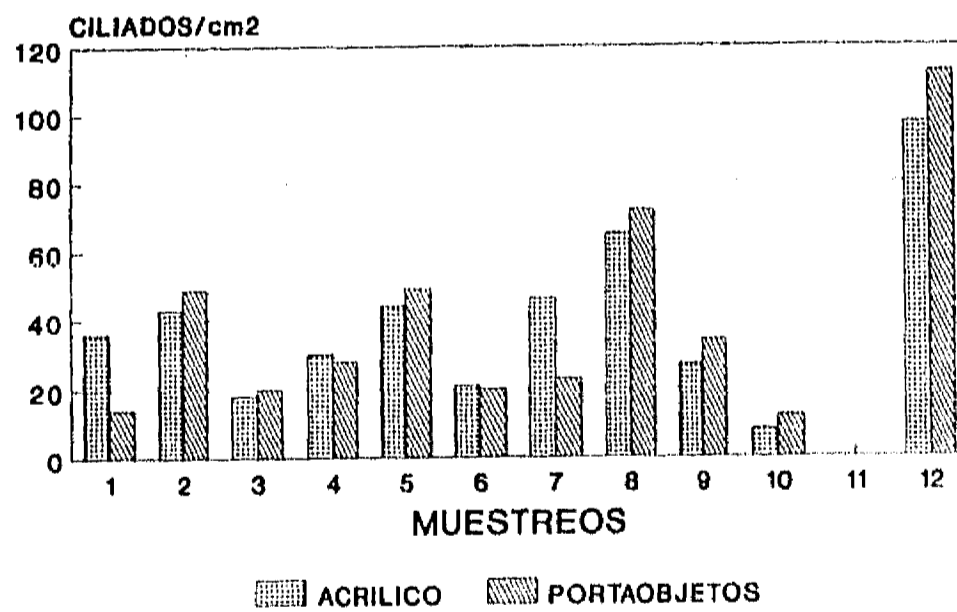
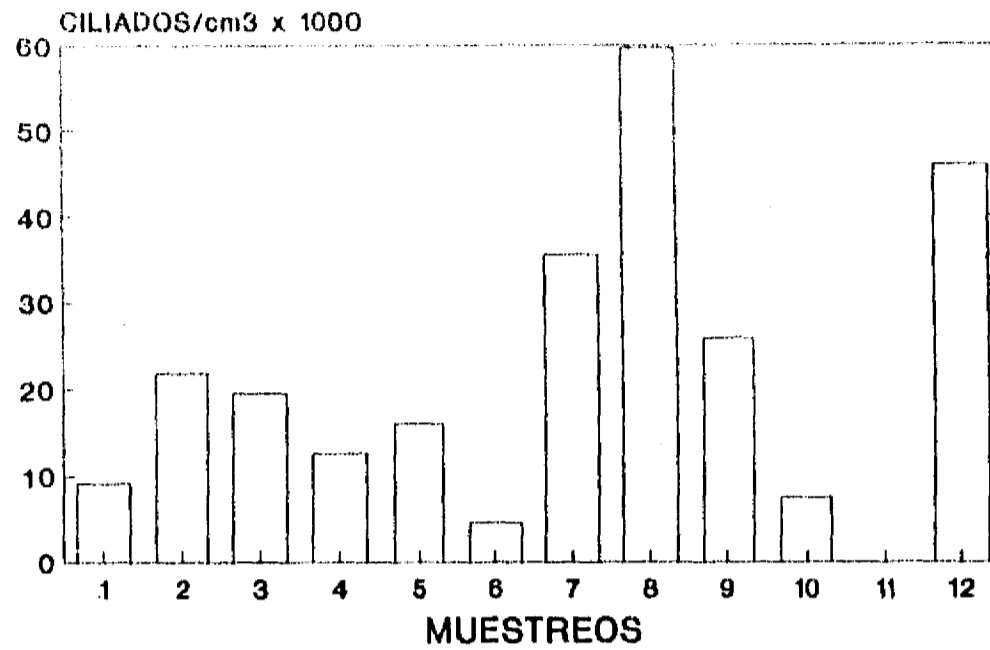


Figura 17. Número total de ciliados
ACRILICO Y PORTAOBJETOS



**Figura 18. Número total de ciliados
POLIURETANO**

Esto es un reflejo de que las condiciones que están afectando a los sustratos son iguales, por lo que las fluctuaciones en los números de organismos son similares aunque los números absolutos en la espuma de poliuretano sean considerablemente mayores.

6.5. Variación de las especies en los sustratos.

En las figuras 19 a 25 se presenta la variación de las siete especies que fueron comunes a los tres sustratos. *V. microstoma* (Figura 19) es una especie típica de sistemas de tratamiento (Curds 1975). Fue un organismo que estuvo presente en la mayoría de los muestreos y con las abundancias más elevadas.

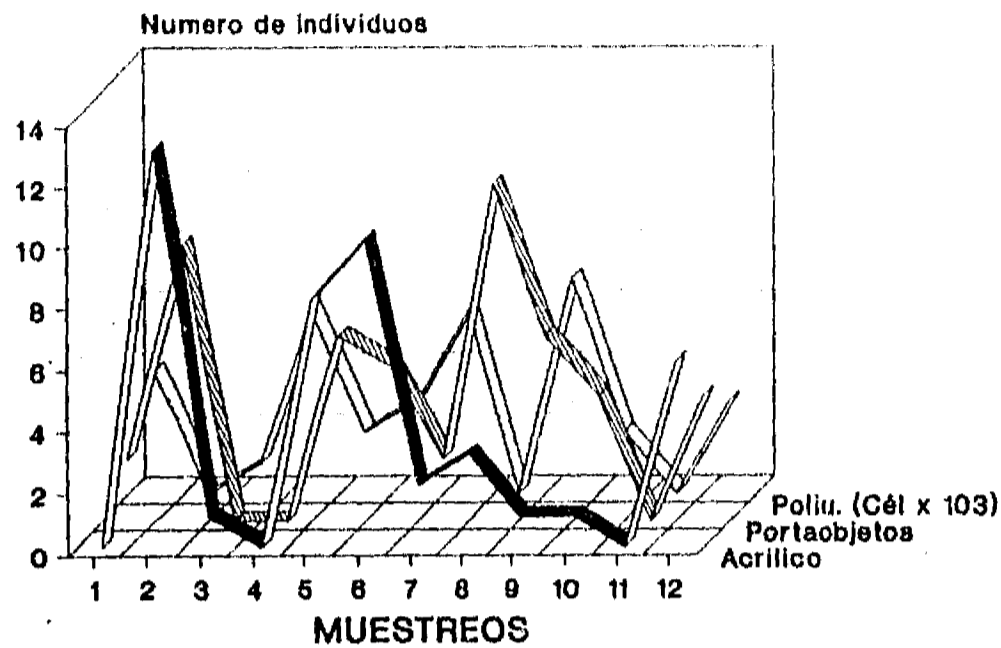


Figura 19. Vorticella microstoma
Variación por sustrato

Se presentaron grandes fluctuaciones durante el estudio, posiblemente por el bajo número de bacterias en el estanque de maduración (que son su alimento principal, junto con algas pequeñas) y por la presencia de condiciones extremas durante una fase de la investigación. Al disminuir la sobrecarga que sufrió el sistema se observó nuevamente una abundancia de estos organismos (muestreo 12). De acuerdo con Bick (1972) esta especie soporta concentraciones de oxígeno desde 0 hasta 12 mg/L y valores de pH desde 6.5 hasta 9.5. También resiste cantidades moderadas de H_2S (hasta 4 mg/L), no obstante desapareció del sistema cuando este gas tóxico estuvo presente en cantidades significativas (Muestreo 11).

Oxytricha fallax fue también una especie de presencia muy constante y de gran abundancia en el estanque (Figura 20).

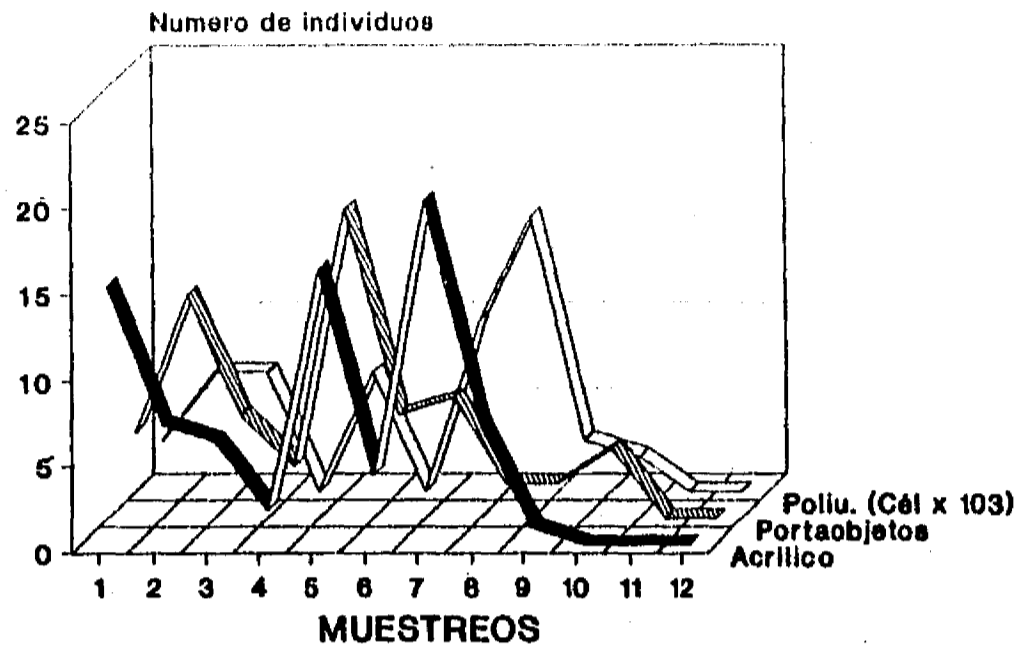


Figura 20. *Oxytricha fallax*
Variación por sustrato

Este organismo se alimenta de bacterias, algas y flagelados (Bick 1972), por lo que la gran diversidad de organismos autótrofos (*Golenkiniopsis*, *Euglena*) en la laguna de maduración, hizo posible su proliferación. De acuerdo con Martínez (1990) este ciliado es capaz de resistir valores elevados de pH, aunque Bick (1972) establece un intervalo de resistencia al pH de entre 6.8 y 7.5. En el presente estudio se confirmó la aseveración de Martínez (1990) y el organismo se asoció con valores de pH altos.

Tanto *Euplotes patella* (figura 21) como *Cyclidium glaucoma* (figura 22) tuvieron un comportamiento similar en los tres sustratos, apareciendo después de haberse logrado una cierta estabilidad en las condiciones del estanque de maduración.

E. patella se alimenta de bacterias, flagelados, algas y

algunos ciliados más pequeños (Bick 1972). El mismo autor encontró que soporta concentraciones de oxígeno entre 0 y 12 mg/L y valores de pH entre 5.7 y 8.2. Esta especie es indicadora de bajas concentraciones de materia orgánica (Foissner 1992), por lo que su presencia se relaciona con las etapas de mejor funcionamiento del sistema.

C. glaucoma es un ciliado de amplia distribución, que se alimenta de bacterias (Bick 1972). Se presentó ocasionalmente en algunos muestreos, pero al final del estudio, cuando disminuyó la concentración de H_2S , encontró grandes cantidades de su alimento, hallándose en alto número en el muestreo 12.

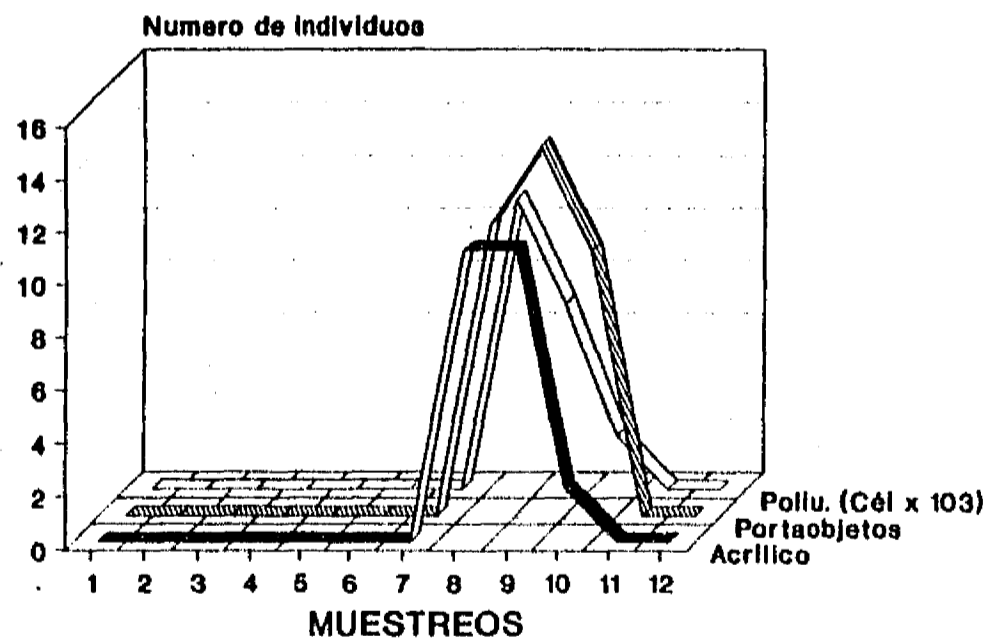


Figura 21. Euplotes patella
Variación por sustrato

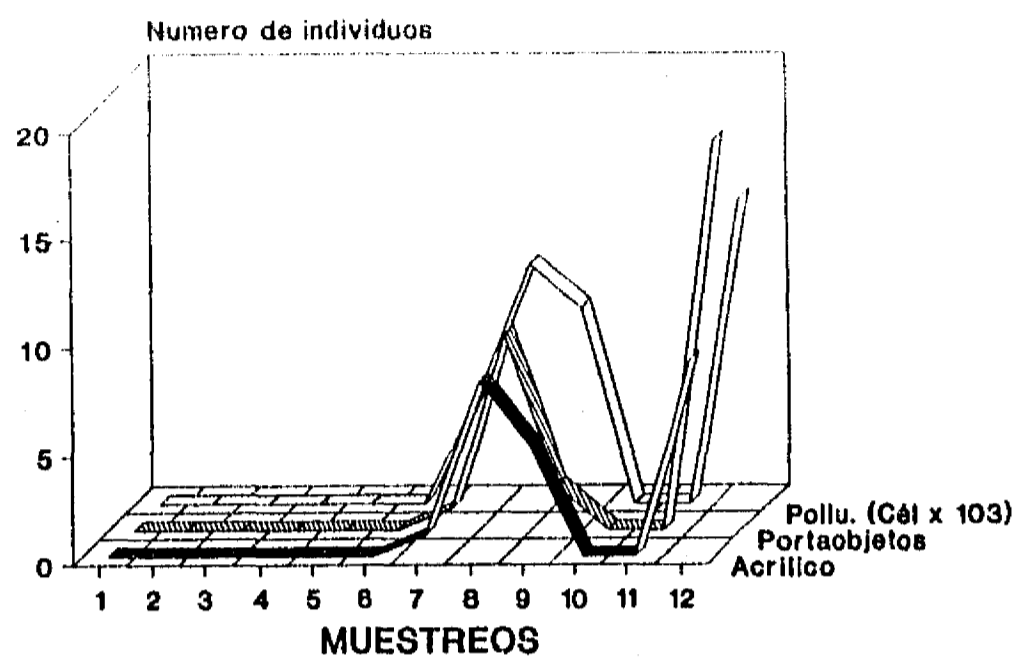


Figura 22. *Cyclidium glaucoma*
Variación por sustrato

Tetrahymena pyriformis (Figura 23) presenta una tendencia parecida para el portaobjetos y la espuma, con números mayores durante la primera mitad de la fase de muestreo. Esta especie soporta condiciones de fuerte contaminación por materia orgánica (Foissner, 1992) y valores de pH entre 7 y 8.9 y de oxígeno disuelto entre 1 y 10 mg/L, alimentándose de bacterias (Bick 1972).

Paramecium caudatum (Figura 24) y *P. aurelia* (Figura 25) presentaron comportamientos muy parecidos para los tres tipos de sustratos.

Como organismos libres nadadores, estuvieron condicionados por las cantidades de bacterias flotantes, que no fueron muy abundantes.

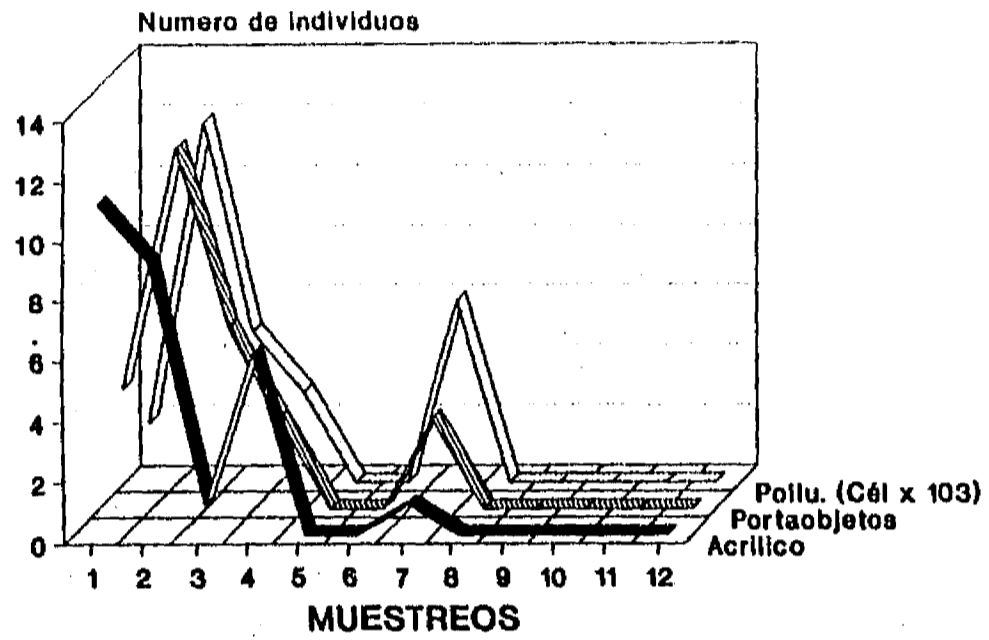


Figura 23. Tetrahymena pyriformis
Variación por sustrato

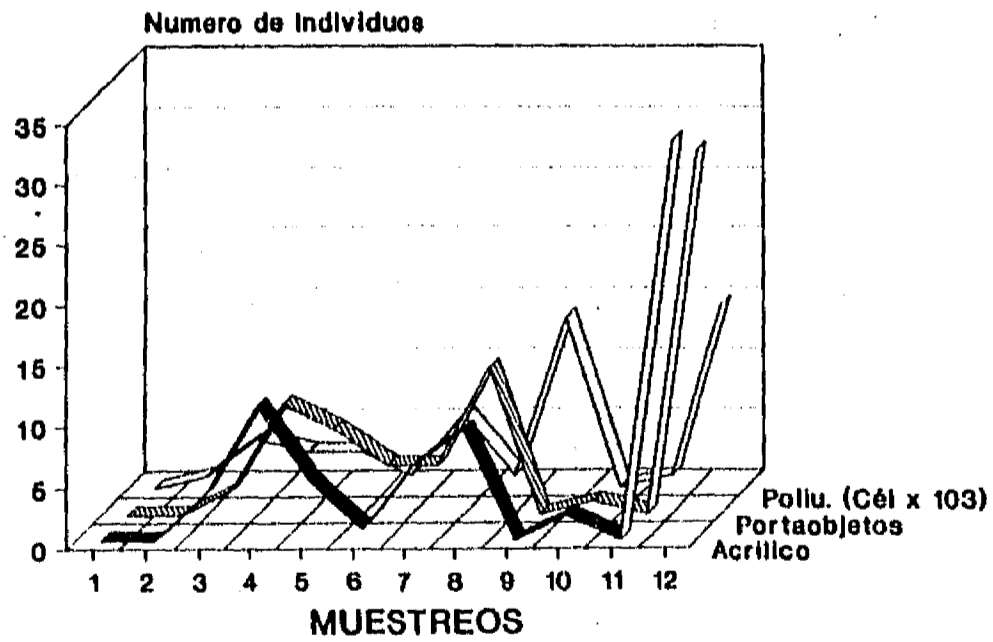


Figura 24. Paramecium caudatum
Variación por sustrato

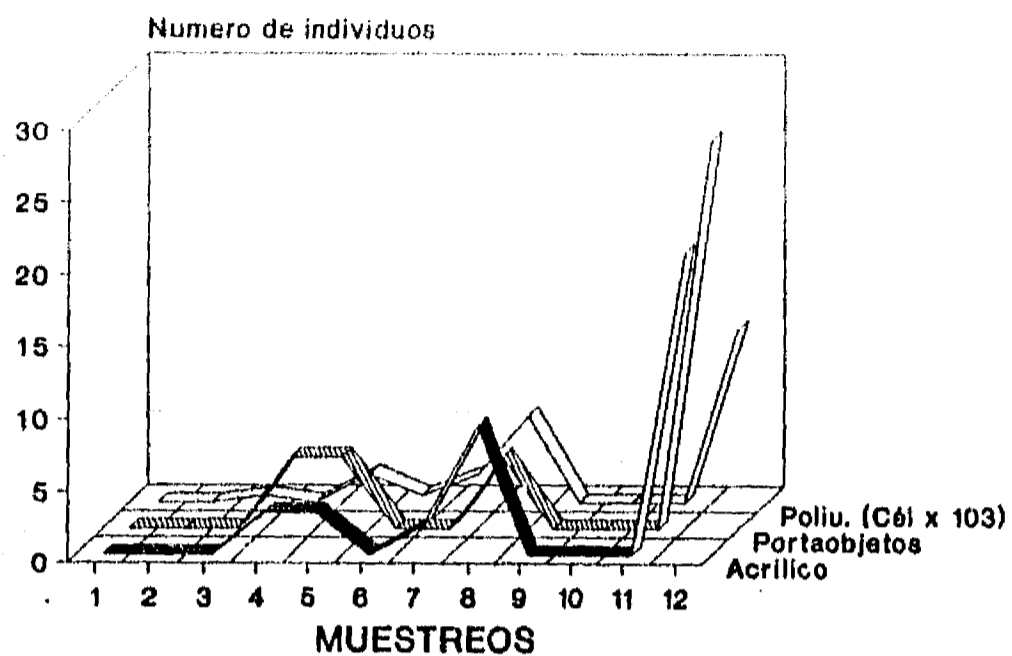


Figura 25. Paramecium aurelia
Variación por sustrato

Después de la sobrecarga en el sistema y al reinstalarse las condiciones para la depuración, volvieron a presentarse pero con abundancias mucho mayores, gracias al notable incremento en el número de bacterias. Sin embargo, P. caudatum se presentó en números más elevados en los tres sustratos con relación a P. aurelia. Este hecho motivó que P. caudatum quedara considerada entre las especies más abundantes del sistema mientras que P. aurelia fue una especie escasa.

P. caudatum puede vivir en condiciones de pH entre 4 y 9.4 y entre valores de oxígeno disuelto de 0 a 12 mg/L (Bick 1972). En el último muestreo se observaron numerosos individuos de este ciliado con bacterias rojas del azufre en su interior. Estas bacterias

proliferaron en grandes números debido al mal funcionamiento del sistema.

Podophrya fixa sólo estuvo presente en la espuma de poliuretano y precisamente cuando existieron condiciones de pH más básico (muestreo 7, octubre); el hecho de encontrarse en la espuma de poliuretano puede deberse a la estructura tridimensional del sustrato que permite la permanencia de este organismo, así como también se vio favorecida por la presencia de P. caudatum, P. aurelia, y C. glaucoma que le sirven de alimento (Bick 1972); posteriormente desapareció, al cambiar el pH a condiciones predominantemente ácidas. La especie está registrada en lagunas de maduración donde la basicidad es elevada; este ciliado suctor se correlacionó directamente con el pH y es indicador de una buena depuración del agua en el sistema, pues es muy escaso en las primeras fases del tratamiento y abundante al final (Martínez 1990).

Litonotus fasciola es otra especie que se presentó aisladamente y sólo en el portaobjetos. Como organismo carnívoro se alimentó principalmente de C. glaucoma (que era abundante) y de otros ciliados presentes (Bick 1972). Es característico de aguas contaminadas (alfa-mesosaprobias) que son las condiciones que prevalecieron en el estanque de maduración y que según Sládeček (1973), es la máxima depuración que se puede lograr en sistemas de tratamiento como son los estanques. Esta especie no tolera la presencia de sulfuro de hidrógeno (Bick 1972).

Bamforth (1982) considera que uno de los inconvenientes de los

sustratos de espuma de poliuretano es que subestiman el número de especies de protozoos sésiles, pues muchas de ellas se quedan atrapadas en el sustrato cuando es exprimido, mientras que los sustratos planos -como los portaobjetos- favorecen a este tipo de organismos. Los resultados de este estudio no apoyan su afirmación, pues en el poliuretano se encontraron más especies sésiles (2) que en los otros sustratos (1). La especie sésil más abundante (V. microstoma) se encontró en grandes números tanto en el poliuretano como en el portaobjetos y el acrílico. Foissner et al. (1992) encontraron números mayores de peritricos en sustratos de consistencia similar a la espuma de poliuretano que en sustratos naturales, por lo cual tampoco coinciden con la afirmación de Bamforth (1982).

La temperatura mostró correlaciones directas significativas con T. pyriformis para los tres sustratos y con O. fallax para el acrílico y el portaobjetos (Cuadro 3). Esto significa que estas dos especies presentaron sus mayores abundancias cuando la temperatura fue más adecuada (>20 °C) y disminuyeron en número cuando descendió. Puede considerarse que dichas especies fueron típicas de la época cálida y lluviosa del año.

6.7. Coeficientes de correlación.

El análisis de correlación (Cuadro 3) no detectó ninguna relación significativa entre la variación en el oxígeno disuelto y

las especies encontradas; puede afirmarse que los valores determinados (0.8 a 3.8 mg/L) estuvieron dentro de los límites adecuados para la mayoría de las especies de ciliados; tal es el caso de las especies más abundantes como O. fallax, C. glaucoma y V. microstoma, que son organismos aerobios (Bick 1972). En el caso del muestreo 11, cuando no se observaron organismos en ninguno de los sustratos, pudo deberse a la baja en el oxígeno pero también al incremento de la concentración de sulfuro de hidrógeno, gas que resulta de gran toxicidad para muchos ciliados (Kudo 1982) y cuya presencia se detectó cualitativamente. El sulfuro de hidrógeno fue generado por la actividad de bacterias reductoras del sulfato que se vieron favorecidas por la sobrecarga de materia orgánica en el sistema (Hawkes 1983).

En cuanto a la relación de las especies con el pH se encontró una correlación positiva de este parámetro con O. fallax y P. fixa (Cuadro 3). Ambas especies son capaces de tolerar los pH más elevados. La primera se alimenta principalmente de algas, las cuales, cuando están presentes en grandes números, provocan la elevación del pH. P. fixa se alimenta de ciliados, uno de los cuales es O. fallax. Esta relación trófica puede explicar, en parte la relación directa con el pH. (Bick 1972; Martínez 1990). Es de notarse la desaparición de estas dos especies en los 2 últimos muestreos, cuando después de la sobrecarga el pH bajó.

CUADRO 3.

Correlaciones no paramétricas (Coeficiente de correlación por rangos de Spearman) entre los números de ciliados encontrados en cada sustrato y los parámetros fisicoquímicos.

A C R I L I C O

ESPECIES	TEMPER.	pH	K ₂₅	DBO
<i>T. pyriformis</i>	*		** (-)	
<i>O. fallax</i>	***	**		
<i>V. microstoma</i>		*	* (-)	
<i>P. caudatum</i>				
<i>P. aurelia</i>			*	
<i>E. patella</i>			**	** (-)

P O R T A O B J E T O S

ESPECIES	TEMPER	pH	K ₂₅	DBO
<i>T. pyriformis</i>	***		** (-)	
<i>O. fallax</i>	**	*		
<i>E. patella</i>				** (-)
<i>P. aurelia</i>				
<i>C. glaucoma</i>			*	

E S P U M A

ESPECIES	TEMPER.	pH	K ₂₅	DBO
<i>T. pyriformis</i>	**		* (-)	
<i>P. aurelia</i>		*		
<i>E. patella</i>				** (-)

Nivel de significancia: * = $p < 0.05$ correlación significativa, ** = $p < 0.01$ altamente significativa y *** = $p < 0.001$ muy altamente significativa (Elliot, 1983); (-) = correlación negativa.

En tanto, V. microstoma tuvo una correlación inversa con el pH, pues cuando este parámetro aumentó (Muestras 7 y 8), el número de organismos de esta especie disminuyó. Según Bick (1972) el valor máximo de pH que es capaz de resistir esta especie es de 9.5. En el presente estudio pareció preferir valores de pH cercanos a la neutralidad.

El análisis de correlación indica una relación inversa entre este parámetro y T. pyriformis en los tres sustratos (Cuadro 3), dado que esta especie disminuye en número, como pudo observarse en los muestreos 4 al 6, en que se ve afectada drásticamente su presencia. La presencia de este ciliado estuvo limitada por un ligero incremento en la cantidad de sólidos disueltos causada por la disminución de las lluvias y la consecuente concentración de las aguas en los estanques. En tanto C. glaucoma se ve favorecido con el incremento de este parámetro (muestras 7 a 9) con una correlación positiva tanto para el acrílico como para el portaobjetos (Cuadro 3).

En resumen, los tres sustratos se comportaron de una manera similar en cuanto al número de especies y al número de individuos por cada especie. La espuma de poliuretano resultó ser el sustrato en donde se observaron más especies (junto con el portaobjetos) y en el que los números de ciliados fueron más elevados. Sin embargo, los tres sustratos presentaron correlaciones significativas en cuanto al número de especies y el número de organismos. El poliuretano, debido a su estructura tridimensional, presentó números de individuos tres órdenes de magnitud superiores a los del

portaobjetos y el acrílico; estos dos sustratos tuvieron en general igual número de especies, quizá a que ambos presentan una estructura bidimensional. Lo anterior conduce a recomendar preferentemente el uso de sustratos de espuma de poliuretano para el monitoreo biológico en sistemas de estanques, aunque los resultados proporcionados por el portaobjetos y el acrílico pueden ser considerados también como aceptables. .

6.8. Clasificación e índice saprobio de los ciliados identificados.

De acuerdo con la clasificación saprobio de Sládecek et al. (1981) y que fue revisada por Foissner (1988) en lo que se refiere a las especies de ciliados, la mayoría de las especies encontradas en los sustratos pertenecen a la categoría de la alfa-mesosaprobiedad, es decir, aquella fase de la depuración donde la cantidad de materia orgánica biodegradable ya ha disminuido y se inicia el incremento del oxígeno disuelto (Sládecek 1973).

Según los fundamentos del sistema de los saprobios, existe una relación entre el tipo de organismos indicadores y la cantidad de materia orgánica presente en el agua, medida como DBO_5 (Sládecek y Tucek 1975). Sládecek (1985) afirma que la saprobiedad puede ser considerada como la expresión biocenótica de la materia orgánica putrescible presente en el agua.

CUADRO 4.

Clasificación saprobia de las especies de ciliados del sistema de estanques según Foissner (1988, 1992).

ESPECIES	CATEGORIA SAPROBIA
<u>Litonotus fasciola</u> Ehrenberg	α -mesosaprobia
<u>Podophrya fixa</u> O.F. Müller	β -mesosaprobia
<u>Tetrahymena pyriformis</u> Complex	α -mesosaprobia-polisaprobia
<u>Paramecium aurelia</u> Complex	β - α mesosaprobia
<u>Paramecium caudatum</u> O.F. Müller	α -mesosaprobia
<u>Cyclidium glaucoma</u> O.F. Müller	α -mesosaprobia
<u>Vorticella microstoma</u> Ehrenberg	polisaprobia
<u>Euplotes patella</u> O.F. Müller	β -mesosaprobia
<u>Oxytricha fallax</u> Stein	α -mesosaprobia

La demanda química de oxígeno, es decir, la cantidad de materia orgánica oxidable químicamente (Gaudy y Gaudy 1981) fue notablemente alta durante la mayor parte del estudio (Figura 8). En este caso, la sobrecarga del sistema se reflejó adecuadamente en los valores, pues en el último muestreo se alcanzó un valor cercano a los 200 mg/L. Puede considerarse que la eliminación en el sistema no fue adecuada y una gran parte de la demanda química permaneció en forma de sólidos sedimentados que ya no pueden ser degradados

por la acción de los microorganismos.

Las correlaciones de los ciliados con la DBO_5 y la DQO mostraron que *E. patella* puede ser considerada como especie indicadora de bajas concentraciones de DBO pues se correlacionó negativamente con esta variable en los tres sustratos.

A partir de los números de las especies y utilizando la tabla de Foissner (1988) para las valencias saprobias, se calculó el índice saprobio de Pantle y Buck (según Sládecek *et al.* 1981) en cada uno de los sustratos (Figura 26).

Este índice es una expresión cuantitativa de la saprobiedad y varía desde valores de cero (aguas xenosaprobias, muy limpias) hasta 8 (aguas ultrasaprobias, excesivamente contaminadas con materia orgánica y en las cuales no existe vida). Se observa que en los 3 sustratos la mayoría de los valores son de 3 o un poco superiores,

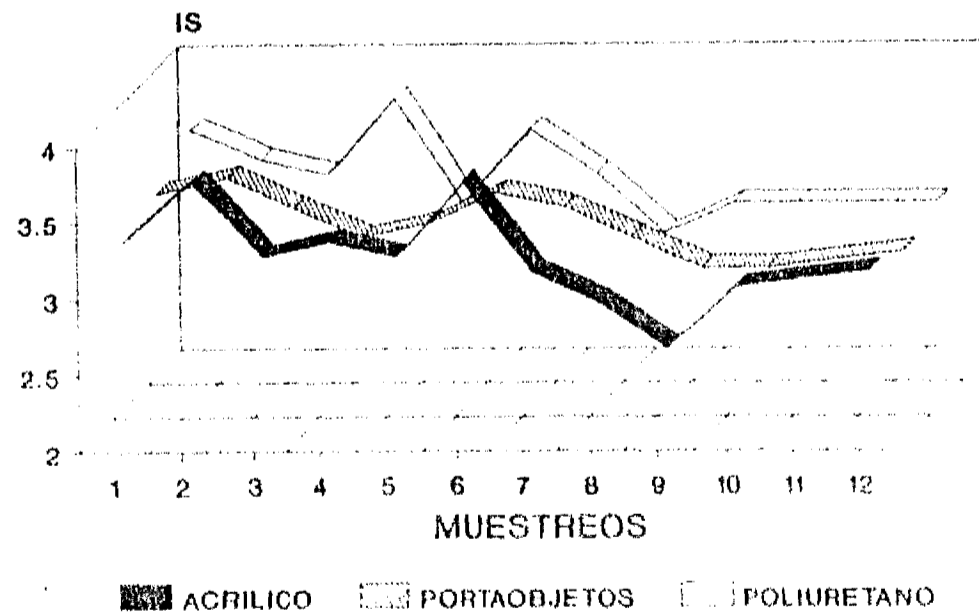


Figura 26. Variación del Índice Saprobio de Pantle y Buck en los 3 sustratos

lo cual denota el predominio de condiciones alfa - mesosaprobias (aguas contaminadas).

El mayor intervalo de variación lo presentó el acrílico (2.6 a 3.7), seguido del poliuretano (2.9 a 3.8). El portaobjetos varió menos (2.9 a 3.5).

Para determinar si existía relación entre el índice saprobio obtenido usando las especies y los números de organismos presentes en los sustratos y las variaciones en la DBO_5 del lugar en donde se ubicaron los sustratos se realizó una correlación por rangos de Spearman para datos no paramétricos. El acrílico ($r= 0.5611$) y el poliuretano ($r= 0.5369$) se correlacionaron positivamente con la DBO_5 . Esto indica que el tipo y la cantidad de los ciliados presentes en estos dos sustratos están relacionados con la cantidad de materia orgánica biodegradable presente en el agua que los rodea. Este hallazgo es de gran importancia pues permite confirmar el uso de los sustratos como un método para evaluar el funcionamiento de los estanques de estabilización.

Foissner et al. (1992) afirman que el índice saprobio calculado a partir de sustratos de espuma es menor que el calculado a partir de las especies de ciliados presentes en sustratos naturales. En este caso, a pesar de que no se usaron sustratos naturales, el índice saprobio de los tres sustratos artificiales fue similar, siendo esto especialmente cierto para el acrílico y el poliuretano. Foissner (1992) también afirma que para obtener un cálculo significativo del índice saprobio (especialmente para el caso del índice de Pantle y Buck) se necesitan encontrar al menos

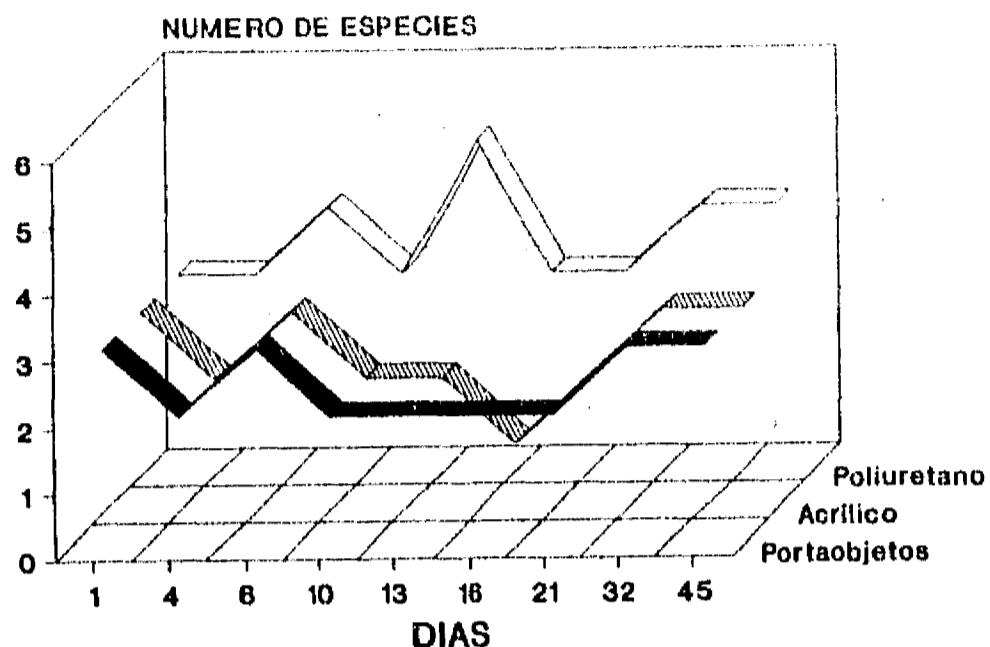
15 especies indicadoras. En este trabajo, a pesar de que el número de especies usadas para el cálculo del índice saprobio fue menor a 15 los resultados reflejaron adecuadamente las condiciones de saprobiidad en el estanque de maduración.

6.9 Muestreo en el estanque de laboratorio.

Se utilizó una pecera de 40 litros de capacidad con agua del estanque de maduración del sistema de estanques de estabilización de Ixtapan de la Sal, México. En ella se colocaron 3 series de 12 sustratos de cada tipo (espuma de poliuretano, portaobjetos y placas de acrílico) para ser recolectados cada tercer día durante 50 días. En cada recolección se determinó el número de especies de protozoos ciliados presentes en ellos, así como la temperatura, el oxígeno disuelto y la conductividad. La finalidad de hacer este estudio en el laboratorio, fue comparar el proceso in situ con el proceso simulado en el laboratorio.

6.9.1 Proceso de colonización en los sustratos.

Se encontraron seis especies de protozoos ciliados (Vorticella microstoma, Paramecium caudatum, Cyclidium glaucoma, Oxytricha fallax, Litonotus fasciola y Podophrya fixa), las cuales ya habían sido halladas durante el estudio in situ en el sistema de estanques. La especie más abundante fue Paramecium caudatum seguida por Vorticella microstoma, con abundancias ligeramente menores. Las menos abundantes fueron Litonotus fasciola, Podophrya fixa y Oxytricha fallax. En la figura 27 se presenta la variación en el tiempo considerando el número de especies para los tres sustratos.



**Figura 27. COLONIZACION
Estanque en el laboratorio**

Las especies presentes por tiempo en los tres sustratos artificiales para el experimento del laboratorio (figuras 28, 29 y 30) fueron las siguientes:

En la figura 28, correspondiente a la espuma de poliuretano, se observa que Podophrya fixa apareció durante la primera mitad del período de muestreo y desapareció posteriormente; Cyclidium glaucoma se presentó desde el tercer muestreo hasta el final del estudio. Paramecium caudatum y Vorticella microstoma siempre estuvieron presentes, quizá debido a la gran cantidad de bacterias, su principal alimento; además, la estructura de la espuma pudo favorecer la presencia de V. microstoma como organismo fijo.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

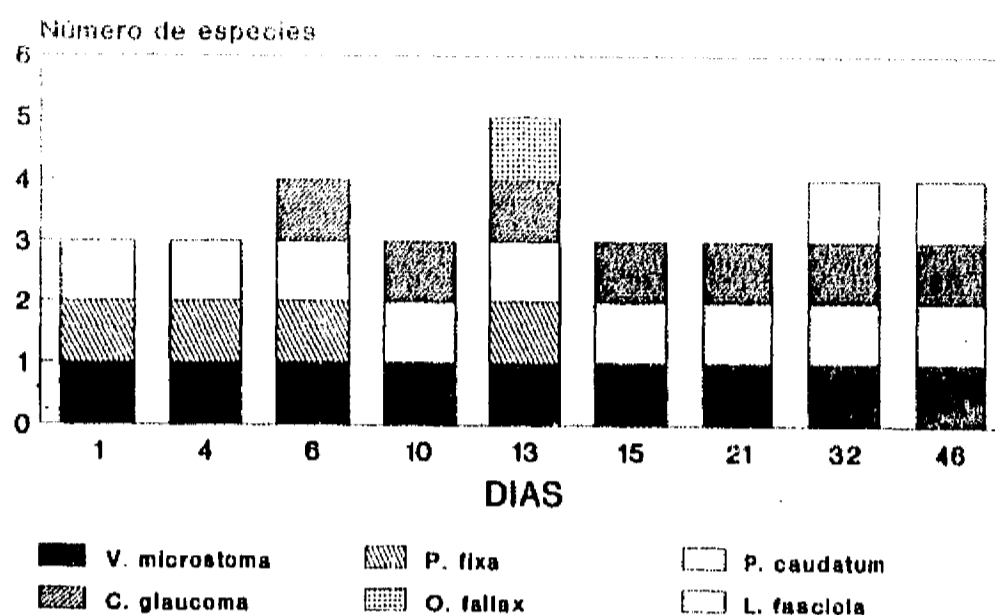


Figura 28. Especies presentes por tiempo en la espuma de poliuretano

Sin embargo, predominaron las especies libre nadadoras. Podophrya fixa sólo se presentó en una ocasión con números muy bajos aún cuando el pH y la abundancia de especies autótrofas fue la adecuada para su crecimiento (Martínez, 1990).

El portaobjetos (Figura 29) tuvo la presencia ocasional de Vorticella microstoma, pero Paramecium caudatum apareció a partir del sexto día de la colocación y permaneció hasta el final. P. fixa sólo se observó durante los tres primeros muestreos (para los tres sustratos) cuando las condiciones fueron de mayor basicidad (comparable con las existentes en el sistema), hecho que confirma que la depuración se estaba realizando, pues se le considera organismo indicador de las últimas fases de tratamiento del sistema de estanques (Martínez, 1990).

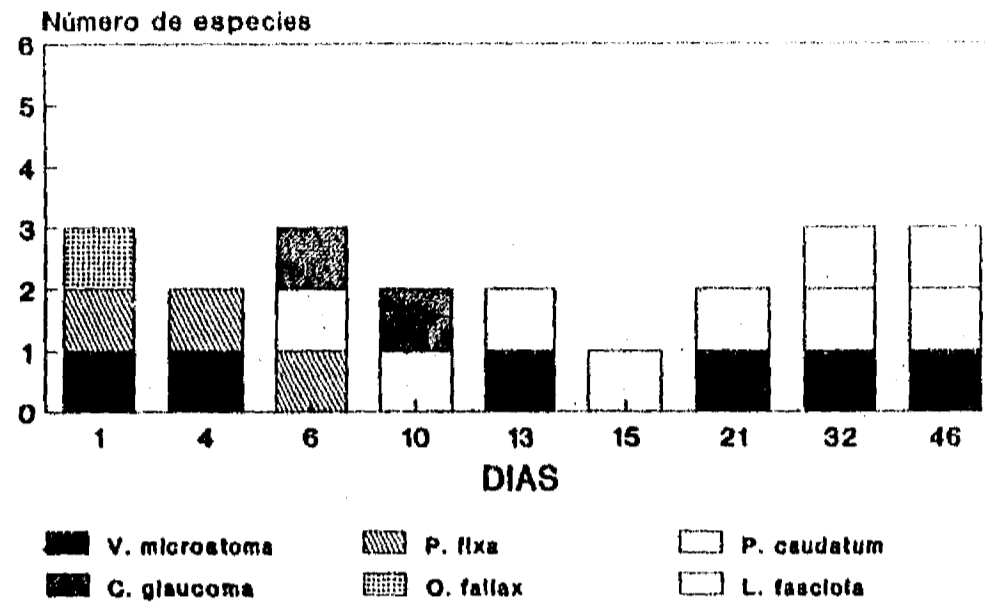


Figura 29. Especies presentes por tiempo en los portaobjetos

En el acrílico (Figura 30) se presentaron 5 especies, siempre con menores abundancias y mayor variación, V. microstoma estuvo presente en este sustrato al inicio y al final del estudio. P. caudatum se observó durante la mayor parte de los días de muestreo, situación nuevamente comparable a lo sucedido en Ixtapan para esta especie y para Cyclidium glaucoma.

Igual que en el sistema, el portaobjetos y el acrílico tuvieron generalmente el mismo número de especies en cada día de recolección; posiblemente la estructura bidimensional de ambos sustratos explique esta similitud. La espuma de poliuretano, a semejanza del estudio in situ, fue el sustrato que presentó el mayor número de especies.

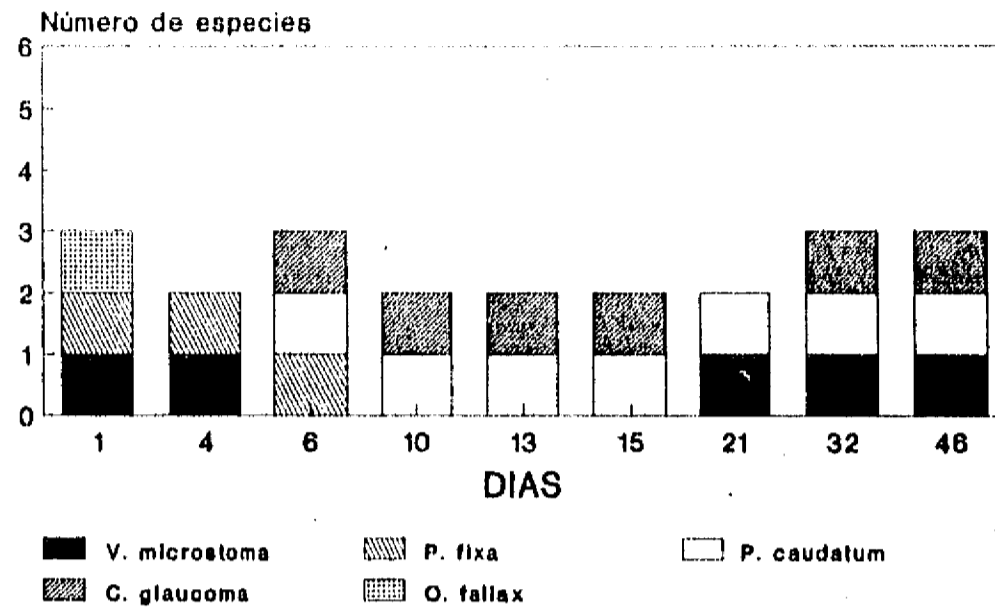


Figura 30. Especies presentes por tiempo en los acrílicos

Podophrya fixa apareció en los primeros 9 días, donde se encontraron las conductividades más altas, la cantidad de oxígeno disuelto más baja y el pH más básico, lo cual confirmó la preferencia de esta especie por condiciones de pH básico. Oxytricha fallax estuvo presente sólo en el primer muestreo cuando el pH era más alto, desapareciendo posteriormente. Un factor que puede explicar lo anterior fue la disminución en el número de algas presentes, que son el principal alimento de este ciliado.

Cyclidium glaucoma apareció a partir del tercer muestreo en los tres tipos de sustratos, desapareció del portaobjetos y el acrílico durante los muestreos intermedios y reapareció al final, excepto en el portaobjetos. En este último sustrato se presentó L. fasciola, ciliado rapaz que pudo haber contribuido, depredándolo, a la desaparición de C. glaucoma.

La espuma de poliuretano fue el único sustrato en que V. microstoma estuvo siempre presente. En el portaobjetos y el acrílico no se observó en los días 9, 15, 21 y 32.

En el laboratorio, el sustrato con menos variaciones en cuanto al número y abundancia de protozoos ciliados fue la espuma de poliuretano, que conservó también el mayor número de especies (cuatro) en los últimos muestreos, seguido del portaobjetos.

Vorticella microstoma, que fue la única especie polisaprobia, siempre estuvo presente aunque con abundancias menores al final del estudio. Al igual que en el sistema de Ixtapan, P. caudatum y C. glaucoma variaron de manera similar y estuvieron presentes en los tres sustratos. Ambos indicadores de condiciones alfa-mesosaprobias.

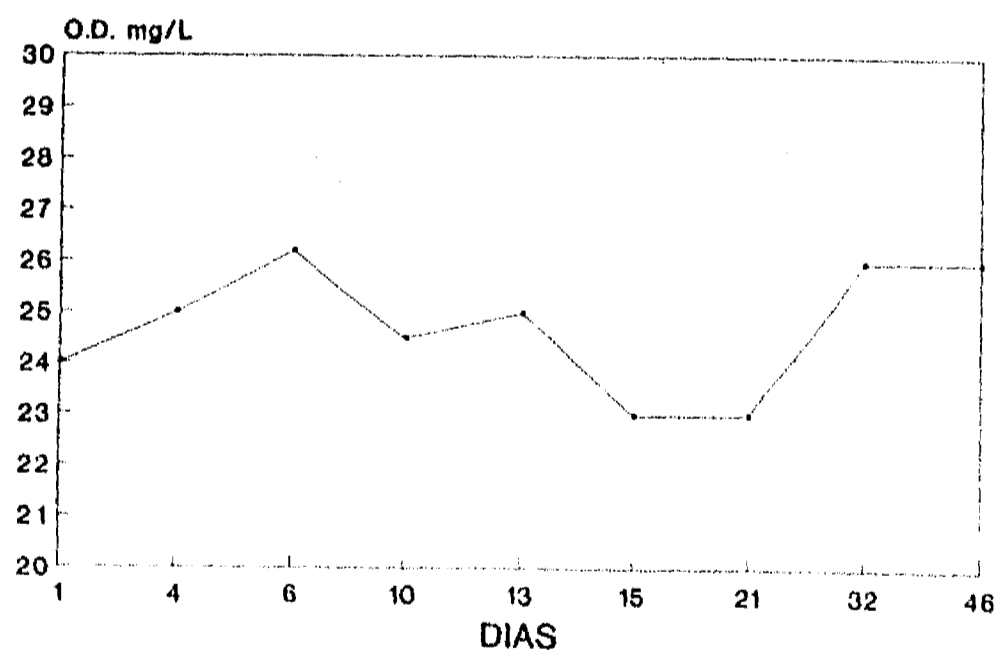


Figura 31. Variación de la temperatura en el estanque de laboratorio

6.9.2 Determinaciones fisicoquímicas.

La temperatura del agua (Figura 31) fue ligeramente más alta en el experimento de laboratorio en relación con las temperaturas registradas *in situ*. Esto se debió a que la pecera se encontraba cerca de una ventana y por las tardes recibía la luz del sol, lo cual favoreció una variación pequeña de esta variable (media de 22.5°C). La variación en los estanques fue mucho mayor y presentó una tendencia decreciente (23 a 17° C).

En cuanto a la concentración de oxígeno disuelto, los valores encontrados estuvieron entre 0.4 mg/L a los 3 días hasta 12 mg/L al final del experimento (Figura 32).

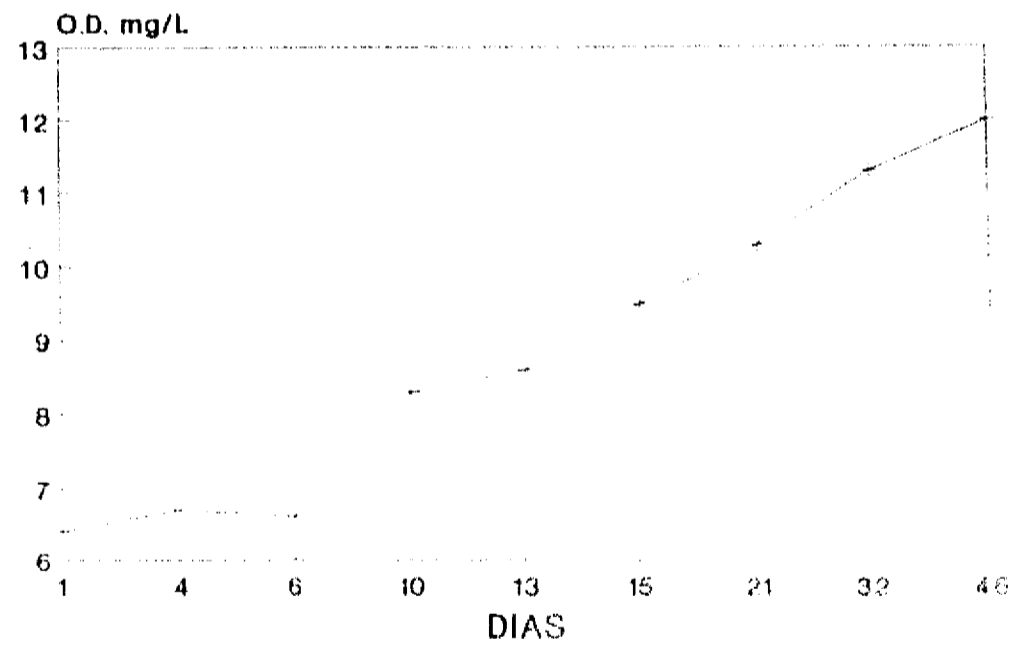


Figura 32. Variación del oxígeno disuelto en el estanque de laboratorio

Esto indica que las condiciones variaron desde microaerofílicas hasta aerobias (Sládecek, 1973). Las condiciones microaerofílicas únicamente se presentaron durante el primer muestreo, pues posteriormente la concentración de oxígeno disuelto se incrementó. La localización de la pecera sin duda favoreció la fotosíntesis aumentando la concentración de este gas para que a su vez fuera consumido para la degradación de la materia orgánica presente. De hecho, fue notable el cambio del color del agua desde un verde oscuro intenso hasta la total transparencia y la ausencia de olor.

El pH (Figura 33) disminuyó en el estanque y en el laboratorio a lo largo del tiempo, aunque en el estanque de Ixtapan fue más notorio el descenso que para el caso de laboratorio.

Esta variación se estableció dentro de los valores de tolerancia de muchos ciliados (Bick 1972). El valor promedio en la pecera fue de 7.9, valor ligeramente superior a la media de los datos en el estanque, y que indica el predominio de condiciones de pH ligeramente básicas. La explicación más adecuada para la existencia de estos valores se encuentra en la actividad fotosintética de las algas presentes (Hawkes 1983).

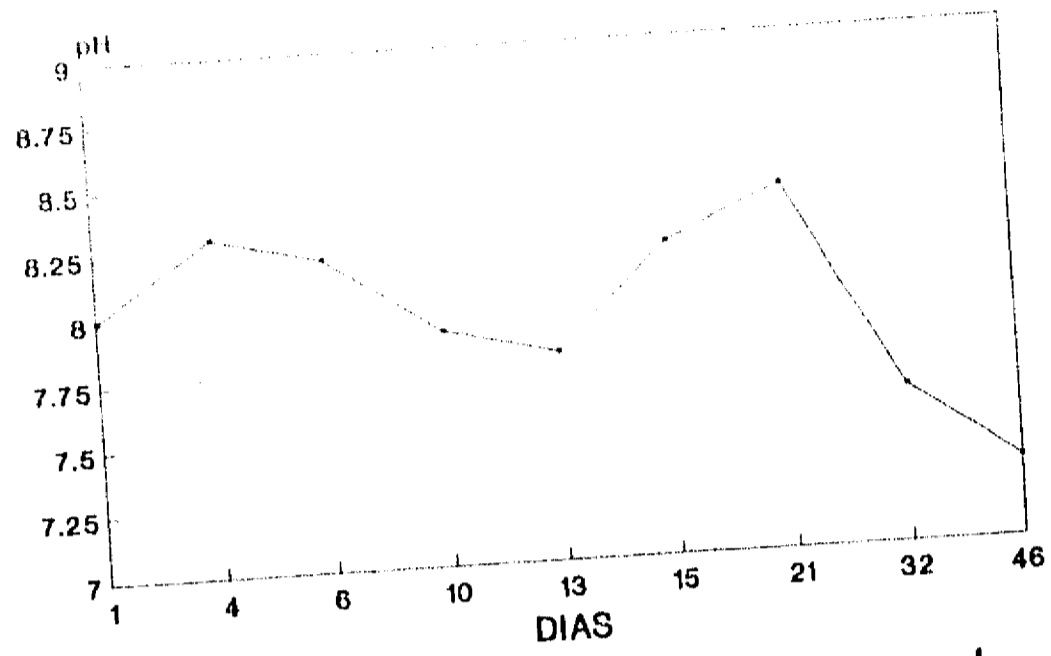


Figura 33. Variación del pH en el estanque de laboratorio

7. CONCLUSIONES.

El número de especies de ciliados registradas en este trabajo fue bajo si se compara con otros estudios en estanques de estabilización. Hay que considerar que se estudió sólo el estanque de maduración, conectado a un sistema bastante eficiente y en donde la materia orgánica es generalmente baja. Estas condiciones, junto con los valores elevados de pH, no favorecieron la presencia de un gran número de especies de ciliados.

Ninguno de los sustratos probados mostró selectividad por algún grupo de ciliados. Sin embargo, puede considerarse que la espuma de poliuretano resultó el sustrato más eficiente para evaluar la calidad del agua en el estanque de maduración. Esta aseveración se basa en las siguientes características:

- 1) reunir el mayor número de especies;
- 2) presentó los números más elevados de individuos;
- 3) reaccionó adecuadamente a los cambios ambientales y de funcionamiento que se presentaron en el estanque.
- 4) La estructura tridimensional, que permite la colonización de protozoos y otros organismos entre sus intersticios.
- 5) Las características de este sustrato (y otros) pueden ser controladas (localización, orientación, tiempo de exposición, número de muestras, tamaño de los sustratos, entre otras).

Bamforth (1982) también considera a la espuma de poliuretano como el sustrato más adecuado debido a su sencillez y a su capacidad de recolección de protozoos. Sin embargo, también

recomienda el uso de portaobjetos. Además de que se pueden integrar muestras de varios microhabitats de un área de estudio con diferentes sustratos o de un solo tipo.

Las especies de ciliados que colonizaron los sustratos reflejaron las condiciones del proceso de depuración en los estanques. El predominio de especies indicadoras de condiciones alfa-mesosaprobias habla de que la depuración se está llevando a cabo adecuadamente pues esta categoría saprobia es el máximo grado de depuración que se puede alcanzar utilizando sistemas de tratamiento biológico (Sládecek, com. pers.).

Basándose en los análisis físicos y químicos, se comprobó también la eficiencia de eliminación de materia orgánica en el sistema de estanques de Ixtapan de la Sal.

Cuando, debido a una falla hidráulica en el sistema, la cantidad de materia orgánica en el estanque de maduración aumentó considerablemente, y disminuyó el oxígeno disuelto así como el pH, los ciliados, durante este período no fueron capaces de soportar las condiciones y desaparecieron en los tres tipos de sustratos. Sin embargo, reaparecieron rápidamente cuando las condiciones volvieron a ser favorables.

El efluente final del sistema cumplió con las condiciones establecidas de descarga sobre terrenos agrícolas para su reuso (SEDUE, 1986).

La comparación de la colonización en los estanques con la realizada en el laboratorio mostró similitudes importantes pero también algunas diferencias notables. Todos los ciliados hallados

en el laboratorio habían sido determinados previamente en el estanque, aunque el número de especies fue menor.

El comportamiento de los sustratos durante la colonización en el laboratorio fue más errático pues algunas especies desaparecieron con gran rapidez. Se observaron cambios notables en las condiciones del agua en el laboratorio con respecto a las condiciones prevalecientes en los estanques.

Un resultado adicional de este trabajo consistió en la elaboración de un método sencillo, adecuado para personal no especializado en protozoología, para la evaluación de la calidad del agua en estanques de estabilización (y aplicable también en otros sistemas aerobios de tratamiento biológico). Este método utiliza las especies de ciliados más típicas de ciertos grados de contaminación orgánica y permite establecer, de manera sencilla y rápida, las características de calidad del agua.

La distribución cosmopolita de los protozoos y su íntima asociación con el ambiente, le da interés particular para las investigaciones ecológicas. Su rápido crecimiento comparado con organismos superiores y la respuesta a los cambios ambientales les confiere las características necesarias para realizar un eficiente análisis de las interacciones organismo-ambiente.

8. CLAVE

Hace 30 años aproximadamente se empezaron a desarrollar metodologías para conocer los efectos de la contaminación sobre los organismos acuáticos (Patrick 1949; Beak et al. 1973; Gauffin y Tarzwell 1952). Muchos de estos trabajos que se han realizado son sofisticados y accesibles para investigadores con amplios conocimientos sobre el tema.

Los métodos biológicos que estudian la totalidad o la mayor parte de las poblaciones acuáticas y se fundamentan en la existencia de especies indicadoras (también llamadas bioindicadoras), es una de las opciones para estudiar aquellas especies o comunidades que tienen una estrecha capacidad para soportar los cambios del medio en el que viven; por lo que su presencia o ausencia sirve para establecer una variación importante en las características del medio (Inserentat y De Sloover 1976). Es necesario entonces, contar con métodos sencillos que permitan la evaluación rápida y confiable del funcionamiento de sistemas de tratamiento biológico como los estanques de estabilización por parte de personas no especializadas. Un ejemplo de método biológico (desarrollado para la evaluación de la contaminación acuática) es el Índice de Comparación Secuencial propuesto por Cairns et al. (1968).

En este estudio, se propone la aplicación de un método modificado al propuesto por Verneaux y Tufféry (1967) que tradicionalmente ha sido utilizado con macroinvertebrados bentónicos como indicadores que colonizan un sustrato en ríos.

Este método se recomienda para evaluar biológicamente el funcionamiento de sistemas de tratamiento de aguas de desecho doméstico utilizando a los protozoos ciliados como organismos indicadores y para personas no especializadas pero si con un entrenamiento básico. No se pretende reemplazar otros más elaborados o ya establecidos y científicamente comprobados, su utilidad reside en la clasificación simple de la comunidad de estos organismos basándose en diferencias de forma, tamaño y color.

La clave presentada se fundamenta en la presencia de los ciliados más característicos según su tolerancia a la contaminación (en particular, como ya se dijo, de tipo orgánico). Asimismo, se utiliza el método de doble entrada, Opciones vs. Unidades diferentes, atribuyéndose el tipo de contaminación en la intersección (Tuffery 1979).

Es posible encontrar otras especies, sin embargo las descritas son los ciliados que a lo largo de estudios en sistemas de tratamiento se han determinado con mayor frecuencia.

Material necesario.

Para el estudio de los protozoos ciliados es necesario contar con el equipo básico necesario: microscopio estándar con objetivos de 10 a 100 aumentos (10X, 40X y 100X) con fuente luminosa; porta y cubreobjetos estándar, papel seda para lentes de microscopía; frascos de colecta de boca ancha, pipetas Pateur.

Se debe asegurar la correcta iluminación de la preparación según las especificaciones del instructivo para el uso de

microscopios (Iluminación de Köhler).

Antes de iniciar el trabajo de campo, es deseable hacer un experimento sencillo en el laboratorio para familiarizarse con la estructura de una comunidad protozoológica y el uso del microscopio. Se puede tomar una muestra del sistema a estudiar o bien en un frasco de boca ancha hacer una infusión ligera de alfalfa, paja o heno llenos a 3/4 de su capacidad para permitir la respiración de los organismos, colocando el frasco cerca de la luz del sol (no directamente) y observar periódicamente los cambios que ocurren en la población. Estos cambios pueden ser rápidos o lentos dependiendo de la cantidad de alimento (bacterias, algas u otros protozoos), de la temperatura o tipo de protozoos originalmente presentes (Jahn *et al.* 1979; Kudo 1982; Bamforth 1985). Se ha visto en muestras de laboratorio, que algunos ciliados tienen preferencias por el fondo o el lado iluminado o el menisco del frasco, etc.; por esto es importante homogeneizar la muestra antes de revisarla para que sea representativa de la comunidad (Cairns 1974). Con este experimento se puede aprender a diferenciar unos organismos de otros, facilitando en gran medida el trabajo que se realizará posteriormente.

Para conocer si el sistema de tratamiento (estanque de estabilización) está funcionando, pueden observarse muestras tanto de la entrada (afluente) como salida (efluente), considerando que la primera estará más contaminada que la segunda, hecho que confirmarán las especies observadas. Esto es solamente una

sugerencia, ya que pueden revisarse puntos específicos (por ejemplo, únicamente la salida).

Recolección.

Si se tienen diferentes sitios de muestreo, deben aplicarse esfuerzos y métodos de recolección similares, a fin de tener mayor confiabilidad en la comparación de resultados (Cairns 1968). En este sentido, el uso de sustratos artificiales, tiene muchas ventajas.

Se recomienda el uso de espuma de poliuretano como sustrato colonizador para obtener la mayoría de las especies presentes en el sistema de tratamiento. Un cubo de 4 cm de lado es adecuado para ser usado y colocado dentro del sistema de tratamiento.

A los sustratos se les puede introducir, por el centro, un trozo de sedal de nylon delgado. Los sustratos se pueden colocar en hilera (horizontal o vertical), atados a una cuerda más gruesa y sumergidos (cuadro 7). En algunos casos puede ser conveniente agregar algunos flotadores para facilitar la localización dentro del agua o para mantener (el) los extremos de la cuerda a flote.

Los sustratos pueden ser colocados en cualquier fase del proceso de depuración, sumergidos a la profundidad necesaria o deseada (30 a 40 cm de la superficie).

Es importante dejar que la colonización por ciliados alcance la fase de estabilidad en el número de especies. Se recomienda dejarlos sumergidos un máximo de 15 días para asegurar que los organismos encontrados reflejen adecuadamente la calidad del agua

(APHA et al. 1985); es también entonces cuando en los intersticios de la espuma se habrá formado una película bacteriana que permite el establecimiento de los ciliados indicadores.

Para recolectar los sustratos después del tiempo establecido se cortan de la hilera y se depositan en un frasco de boca ancha o una bolsa de plástico que contenga del agua circundante al sustrato. En el laboratorio se extrae el sustrato cuidadosamente (es más sencillo si se toma de la cuerda con que fue amarrado) y se exprime el contenido en un frasco o caja de Petri limpios. Es recomendable que ya que se ha exprimido una vez, se vuelva a introducir (el sustrato exprimido) en el frasco o caja de Petri, se agite un poco y vuelva a exprimirse con el fin de asegurar que se tienen los ciliados representativos de ese punto de muestreo.

8.1 Principales estructuras de los ciliados.

Para diferenciar a estos organismos se debe considerar la disposición de los pelillos (cilios) y estructuras parecidas a espinas (cirros), que no es más que un conjunto de pelillos que funcionan como una unidad y pueden ser de forma aguzada o plumosa (cuadro 5) que sirven principalmente para moverse (Aladro et al. 1990). Algunos organismos presentan estructuras con apariencia de fleco, que está compuesto por hileras de pelillos ordenados de forma normalmente rectangular, que sirven principalmente para conseguir alimento. Presentan una gran variedad de formas, algunos de estos organismos pueden tener aplanadas o truncadas algunas de

sus partes (Cuadro 5).

8.2 Técnicas de observación.

Movimiento.

Es necesario considerar que la mayoría de los protozoos presentan movimientos que pueden ser rápidos o lentos, pero en un momento determinado se detendrán para ingerir alimento de un acumulo de materia orgánica, o cerca de una burbuja de aire, o en las orillas del cubreobjetos. Se observarán entonces sus estructuras internas con más detalle (es importante hacer notar que el área con mayor movimiento es la bucal). Se pueden encontrar (y observa) tres tipos principales de ciliados de acuerdo a su movilidad:

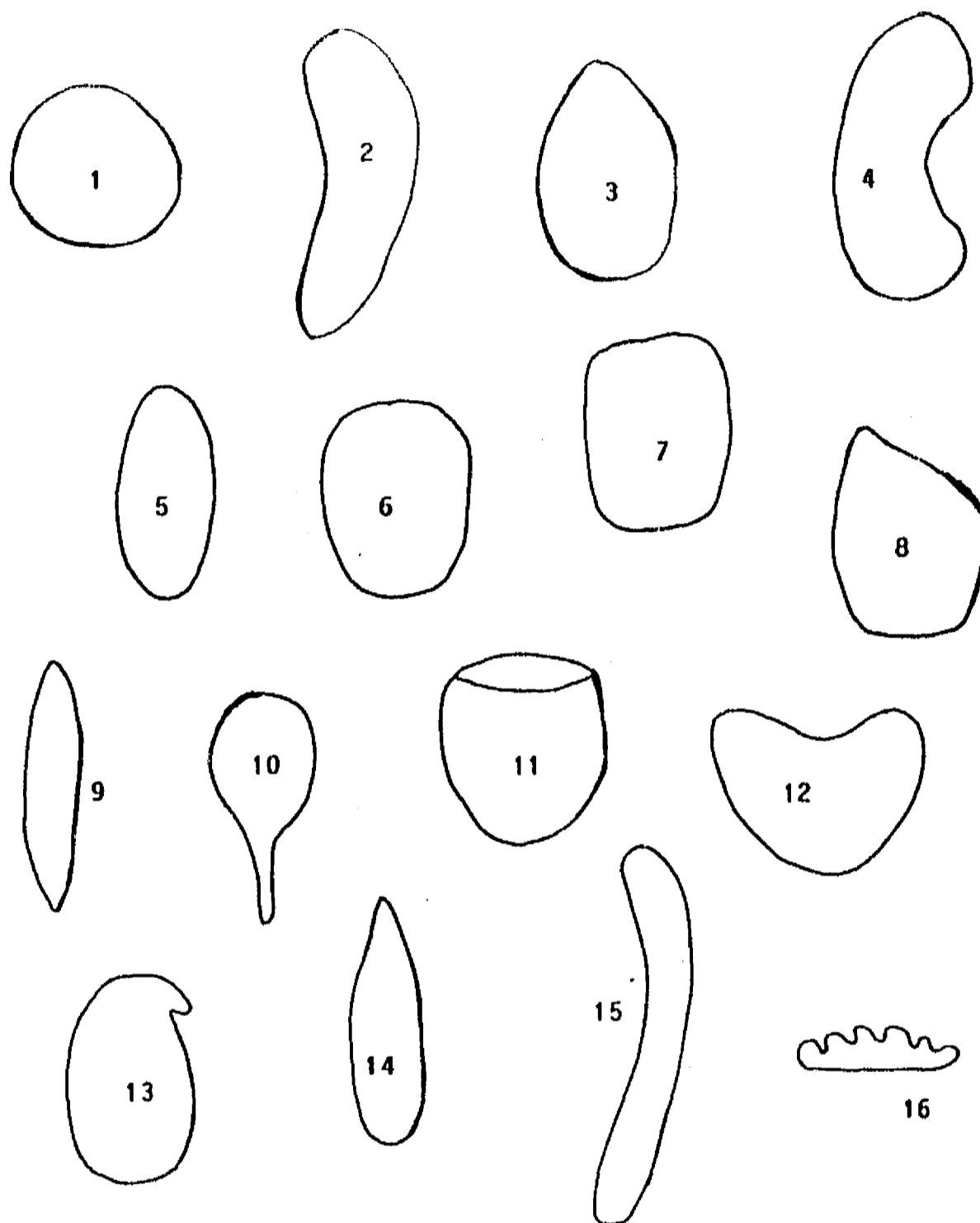
Libres nadadores. generalmente rápidos (V.gr.

Paramecium spp.)

Reptantes. velocidad moderada (V. gr. Aspidisca spp.)

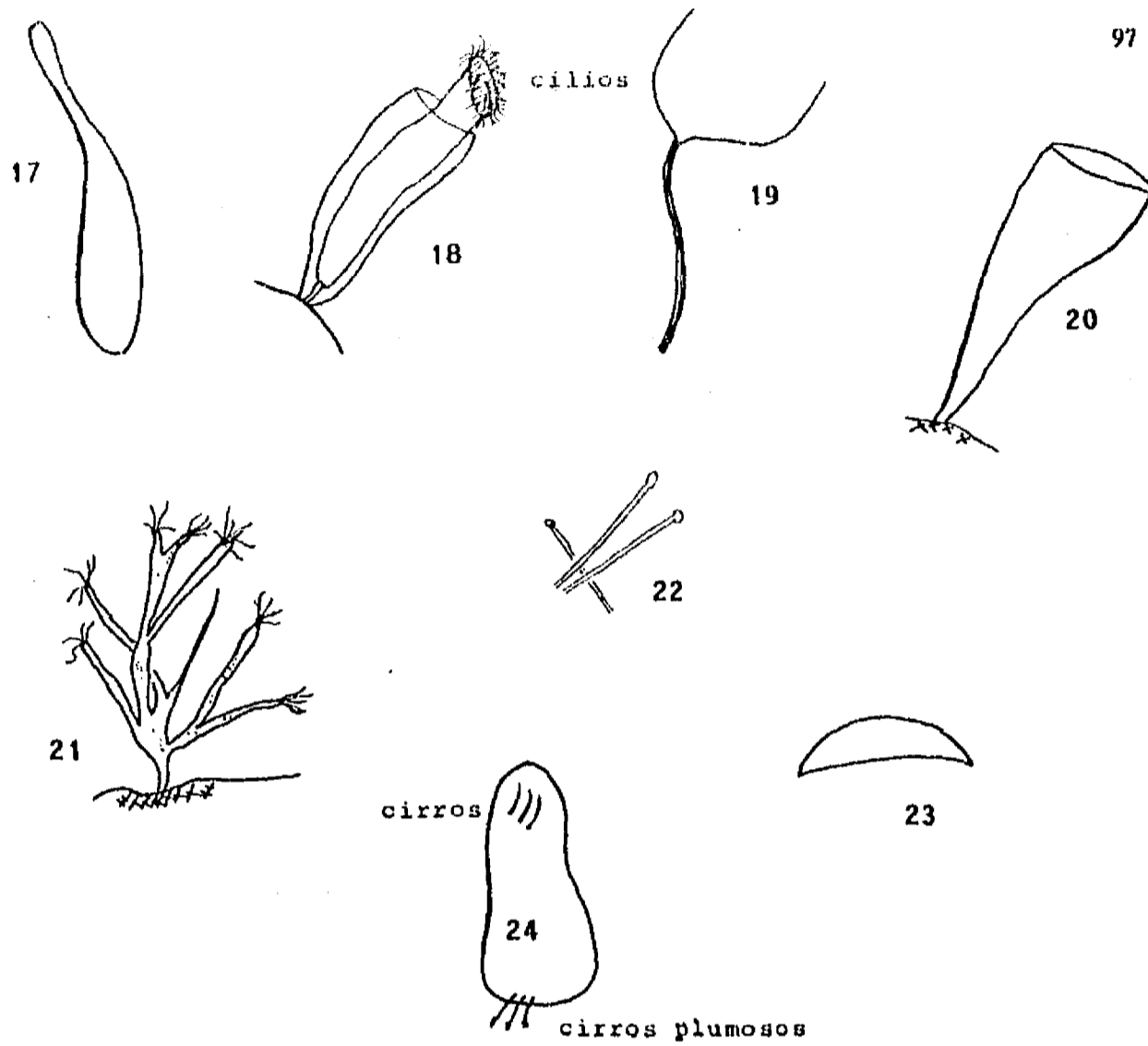
Fijos. poco movimiento (V. gr. Vorticella spp.)

Así también, existirán especies que dependiendo de los factores que regulen el ambiente se ausenten y vuelvan a aparecer o mueran, a fin de alcanzar un cierto equilibrio en que la variedad (diversidad) de especies y el número (abundancia) no cambien fuertemente.



CUADRO 5.

1. Esférica, 2. Huella de zapato, 3. Periforme, 4. Reniforme, 5. Ovoide, 6. Ovoide truncada, 7. Barril, 8. Ovoide truncada diagonal, 9. Ovalada alargada, 10. Clavada, 11. Campana, 12. Corazón, 13. Con rostro, 14. Periforme alargada, 15. Cilíndrica, 16. Aplanada y rugosa (vista lateral).



17. Botella con cuello, 18. Con casa (lórica), 19. Con pie (pedúnculo), 20. Embudo, 21. Arbórea, 22. Brazos suctores (tentáculos), 23. Discoidal (aplanada circular), 24. Semi-cilíndrica. Tomadas de : Kahl, 1930 y 1935; Bick, 1972; Corliss, 1979 y Curds, 1982.

Color

Algunos protozoos presentan coloración debido a sus propios pigmentos citoplasmáticos, al alimento ingerido, a sustancias de reserva o algas simbióticas (Aladro et al. 1990).

Inmovilización.

Existen técnicas alternativas para inmovilizar a los organismos que afectan poco su forma y que deben ser puestas directamente sobre la muestra a observar:

1. Metilcelulosa (methocel): 10 g de metil celulosa en 90 ml. de agua caliente (Jahn et al. 1979).
2. Cloruro mercúrico saturado: poner una gota pequeña en el portaobjetos con la muestra (Kudo 1982).
3. Solución de lugol: 1.5 g de yoduro de potasio, 25 ml de agua destilada y 1 g de yodo. Para teñir cilios (Kudo 1982).
4. Sulfato de níquel: 5 mg/L (Jahn et al. 1979).
5. Colocando pequeños fragmentos de tabaco entre el porta y cubreobjetos.
6. Protoslo: marca comercial (Carolina Biological Supply Co. Burlington, NC 27215).

Tinciones.

Asimismo, se puede teñir a los ciliados (sin olvidar su color original) para destacar su presencia en la muestra. Se usan preferentemente colorantes que no maten a los organismos (llamados vitales, que si pueden deformar a los ciliados después de

un tiempo de preparada la muestra), por ejemplo:

1. Rojo neutro: 1:3000 (Kudo 1982).
2. Rojo congo: 1:1000 (Kudo 1982).
3. Azul de metileno: 1:10 000 o más (Kudo 1982).
4. Tinta china: 1:40 000 (Sládeček com. pers.).

Para estos colorantes puede ponerse una gota sobre el portaobjetos (limpio) extenderla y dejarla secar, posteriormente colocar una gota de la muestra (de 0.3 a 0.5 ml) y si se desea fijador, para después colocar encima el cubreobjetos.

Para conservar la muestra en el portaobjetos por algunas horas (2 ó 3) puede ponerse en las orillas del cubreobjetos petrolato o vaselina para prevenir la desecación. Para facilitar este procedimiento, se pone una capa ligera de petrolato extendida sobre un dedo o la palma de la mano y pasando las orillas del cubreobjetos, para después colocarlo sobre la muestra en el portaobjetos y presionarlo suavemente.

Una burbuja de aire entre porta y cubre permitirá proveer de oxígeno a los protozoos.

Tamaños.

Los ciliados en sistemas de tratamiento tienen muchos y diversos tamaños, como el de una bacteria hasta aquellos que son visibles con un ojo no entrenado por tener un tamaño equivalente al de algunos metazoarios (3 a 4 mm).

Para determinar el tamaño de los ciliados, deben hacerse las observaciones en el microscopio y considerarse el micrómetro " μm "

(que es la millonésima parte de un metro o la milésima parte de un milímetro) como la unidad de medición para determinar el diámetro de campo.

Cada objetivo tiene un diámetro de campo; para obtener la medida adecuada, se puede usar un portaobjetos graduado o papel milimétrico (de buena calidad) con una precisión del 10 % (Jahn et al. 1979).

Para el objetivo de 10X que tiene habitualmente un diámetro de 1500 a 1600 micrómetros se obtiene midiendo con un ocular dividido en 100 partes. Si el diámetro de campo a este aumento es de 1600, cada división tendrá un valor de 16 micrómetros (Jahn et al. 1979). Si un ciliado mide un tercio de ese campo, su tamaño será de 520 micrómetros aproximadamente o la mitad del campo, será de 800 micrómetros, etc.; lo mismo podrá hacerse para el objetivo de 40X que tiene un diámetro de campo de entre 375 a 400 micrómetros, cada división equivaldrá entonces de 3.75 ó 4.0 micrómetros.

En el caso del papel milimétrico, se obtiene un diámetro de 1.6 milímetros o 1600 micrómetros para el objetivo de 10X y para el de 40X, sería 1600 entre 40, dando un área de campo de 400 micrómetros aproximadamente (Figura 34).

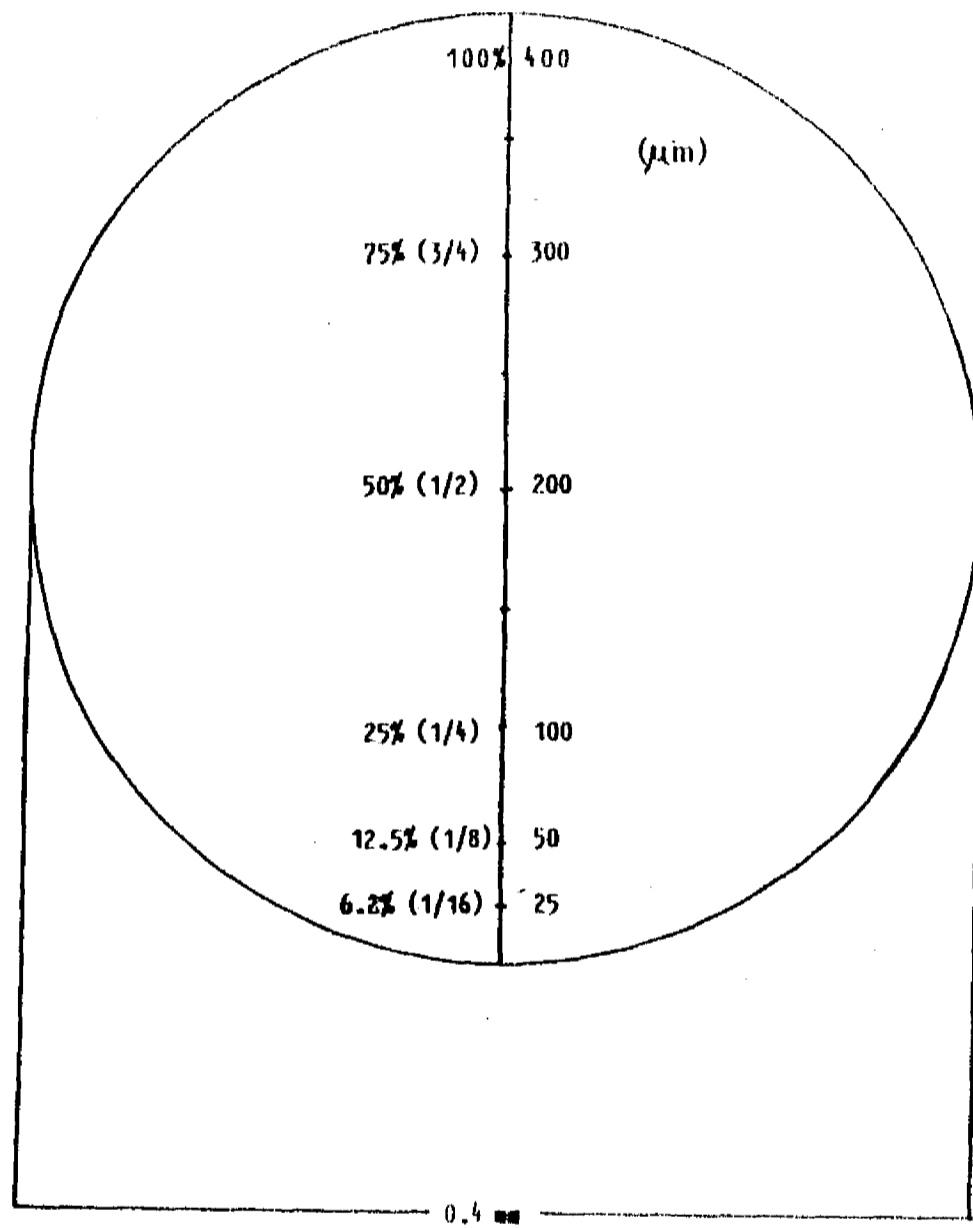


Figura 34. Área de campo a 40 x, con proporciones, porcentajes y micrómetros.

8.3 Metodología de aplicación de la clave.

1. Para utilizar la clave, se busca en el Cuadro 6 los organismos identificados en la muestra considerando el número de ciliados diferentes y las opciones: A: menos exigentes en cuanto a calidad del agua (extremadamente contaminada), B (muy contaminada), C (contaminada) o D (poco contaminada). El que un organismo sea más abundante en esa muestra significará condiciones muy favorables para su crecimiento, mientras que un solo organismo o unidad puede significar situaciones menos propicias para su desarrollo e inclusive condiciones límite (Tuffery 1979). Puede tenerse una idea del grado de contaminación del agua que se está observando, en este caso dirigirse directamente hacia las opciones y buscar entre los organismos dibujados.

Cada una de estas opciones refleja las condiciones más favorables a esas especies y son las que prevalecen en ese ambiente además de ser las especies más representativas en los sistemas de tratamiento.

Se les ha asignado el tamaño determinado en estudios anteriores en sistemas de tratamiento (en micrómetros, en porcentajes y en proporción al diámetro de campo, 40X).

2. Hacer observaciones con 3 a 5 preparaciones de cada muestra es suficiente, se debe procurar que la gota (entre 0.03 y 0.05 ml) no se derrame del cubreobjetos.

3. Observar las opciones dibujadas en el Cuadro 6 de evaluación de la calidad del agua (y anexo I). Considerar cuántos organismos (unidades diferentes) se encuentran en la muestra, ubicar ese número en las columnas del lado derecho para conocer la calidad de agua determinada:

Agua muy contaminada: con desechos, grandes grupos de bacterias que son las encargadas de los procesos de descomposición, deficiencia de oxígeno y grandes producciones de amoníaco y ácido sulfhídrico (olor a huevos podridos). Agua color pardo-grisáceo.

Agua contaminada: Aumento de los procesos de oxidación, incremento en la cantidad de oxígeno disuelto y disminución del ácido sulfhídrico. Se encuentra menor número de bacterias y la presencia de gusanos pequeño rojos. Empiezan a aparecer algunas algas. Color pardo-verdoso.

Agua poco contaminada o contaminación moderada: Mayor cantidad de oxígeno disponible, se mineralizan los compuestos orgánicos; se encuentran numerosas especies de algas. Color del agua francamente verde.

Se debe recordar, que si un organismo es más abundante que otros, es que esas condiciones le son favorables y son el reflejo de la calidad del agua.

4. Si se hace un esquema, la disposición para ver detalles es mayor; si además a un lado de éste se describe forma, tamaño y color (original), será más fácil reconocerlo cuando se vea de nuevo, de manera que puedan asimismo coleccionarse estos dibujos de

ciliados, que podrán a su vez ser usados por otras personas. Puede completarse esta tarjeta si se añaden datos como lugar, fecha, observaciones y la calidad de agua determinada.

5. Con la práctica (y paciencia), será más sencillo calcular las cantidades y volúmenes apropiados para mejorar las observaciones de los ciliados.

Nota: Puede darse el caso de que no se observen ciliados y sólo organismos como los dibujados en el anexo III, esto es indicativo que el agua está excesivamente contaminada; este caso puede presentarse especialmente cuando se observan aguas no tratadas o en efluentes de sistemas de tratamiento con un funcionamiento muy deficiente.

8.4 Ejemplo de aplicación.

Una vez que se han revisado de 3 a 5 preparaciones de la misma muestra, se observa lo siguiente:

I. Organismos alargados con forma de huella de zapato de aproximadamente la mitad del campo (50 %) a 40 aumentos. No presenta coloración especial, y aproximadamente en la parte media se observa mayor movimiento de los pelillos (cilios). Se cuentan 11 organismos (fig. 19, Cuadro 6).

II. Ocho organismos que miden un poco más de un cuarto del campo, son de forma ovoide alargada que parecen caminar sobre y entre las partículas de la preparación con estructuras pequeñas como espinas (cirros). En la parte superior y lateralmente se observa un fleco

de pelillos (cilios) con mayor movimiento (fig. 21, Cuadro 6).

III. Dos organismos ovoides truncados de un lado, de aproximadamente 25 % del campo, con un gran fleco de pelillos con mucho movimiento desde uno de los extremos y lateralmente. Con estructuras como espinas de un solo lado del organismo. Y opuesto al fleco, espinas (cirros) plumosas que sobresalen del cuerpo (fig. 28, Cuadro 6).

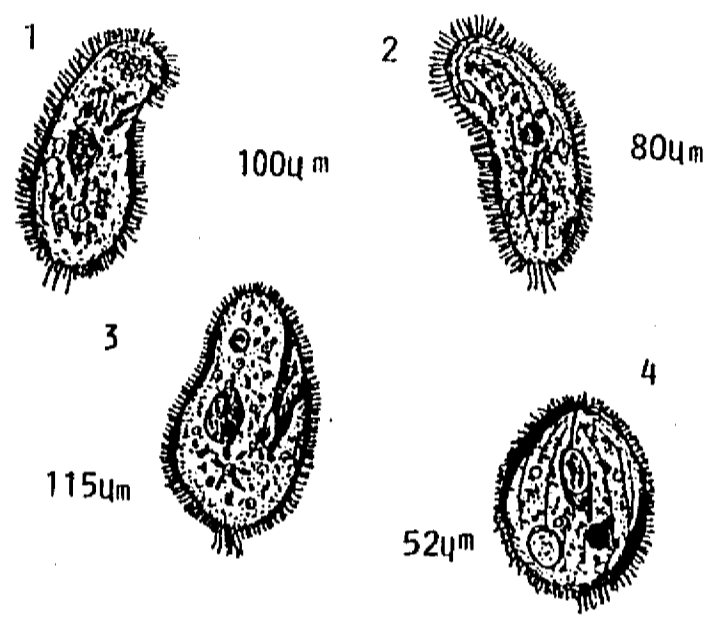
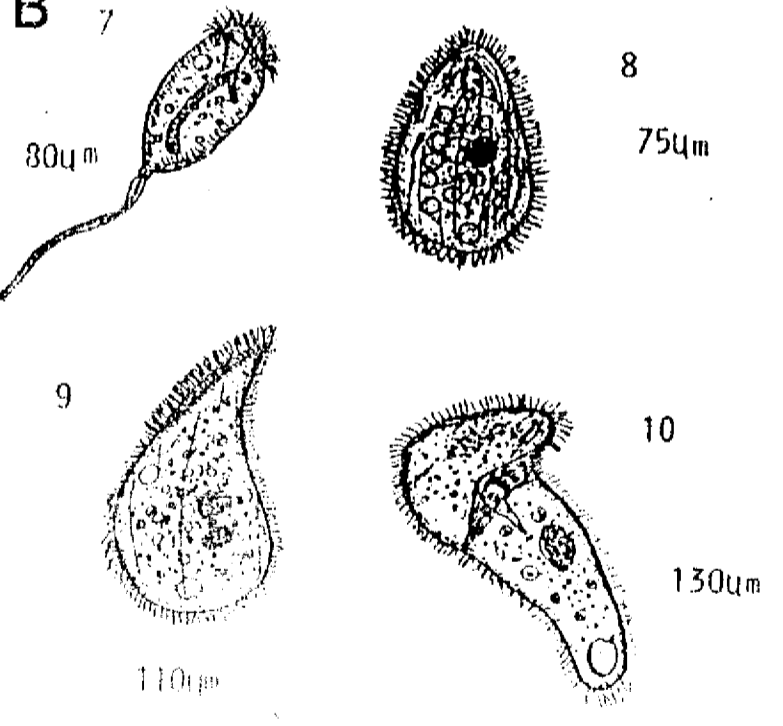
IV. Pequeños organismos del 6 % del tamaño del campo y de forma ovoide. Un extremo se observa aplanado y sin pelillos y en el otro (el inferior), un gran pelillo. De un solo lado y más cerca del extremo aplanado se observa un fleco de pelillos, se encuentran diez y seis de estos organismos (fig. 18, Cuadro 6).

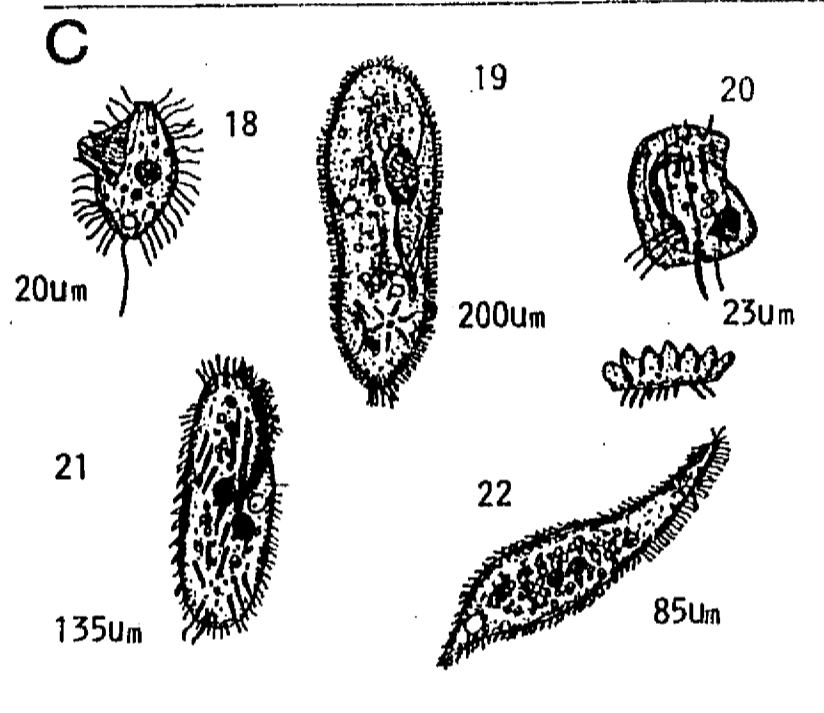
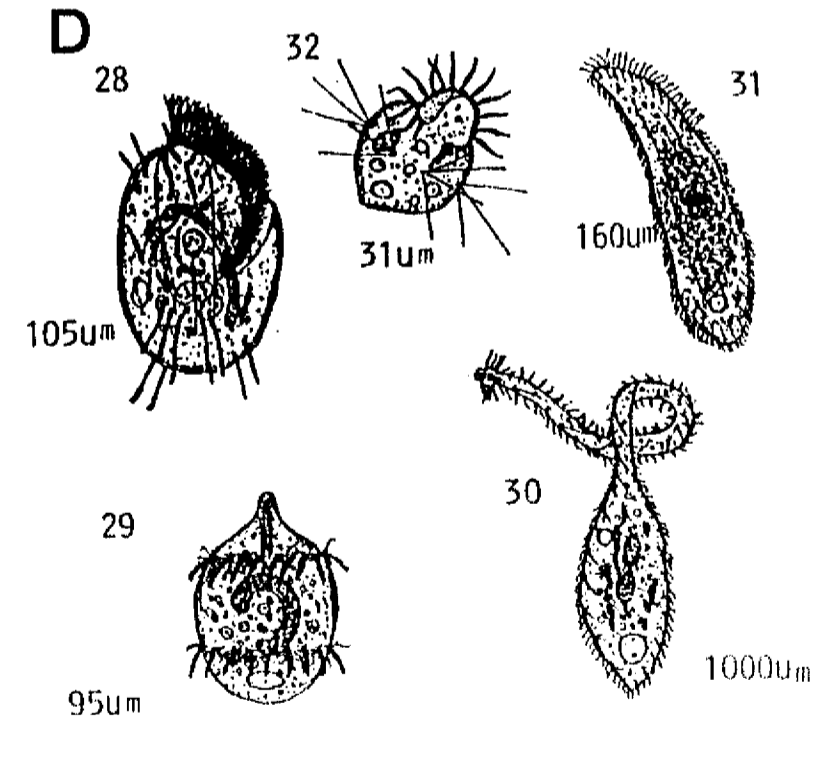
Resultados: Once organismos con el número 19, de la opción C = agua contaminada; ocho organismos con el número 21, también de la opción C = contaminada); dos organismos con el número 28, de la opción D = poco contaminada y finalmente ocho ciliados con el número 18 de la opción para organismos presentes en agua contaminada (C).

Conclusiones: Dentro de la opción C, se encuentran 3 de los 4 organismos identificados que reflejan condiciones de agua contaminada.

Al realizar la intersección del cuadro de opciones C = agua contaminada de grupos de ciliados característicos vs. Unidades diferentes (diversidad) se encuentra que de 1 a 4 (primera columna del lado superior derecho) le corresponde una clasificación de agua contaminada.

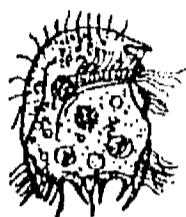
CUADRO 6. Evaluación de la calidad del agua en sistemas de tratamiento utilizando protozoos ciliados (Versión modificada del Índice Biótico de Verneaux y Tuffery, 1967)

GRUPOS DE CILIADOS CARACTERÍSTICOS		Unidades diferentes (Diversidad)			
		1-4	5-8	9-12	13-16
<p>A</p>  <p>1 100µm</p> <p>2 80µm</p> <p>3 115µm</p> <p>4 52µm</p>	<p>M U Y C O N T A M I N A D A</p>	<p>M U Y C O N T A M I N A D A</p>			
<p>B</p>  <p>7 80µm</p> <p>8 75µm</p> <p>9 110µm</p> <p>10 130µm</p>	<p>M U Y C O N T A M I N A D A</p>	<p>C O N T A M I N A D A</p>			

GRUPOS DE CILIADOS CARACTERISTICOS		Unidades diferentes (Diversidad)			
		1-4	5-8	9-12	13-16
C 	18 20um	CONTAMINADA	CONTAMINADA	POCO CONTAMINADA	
	19 200um				
20 23um	21 135um				
22 85um					
D 	28 105um	CONTAMINADA	POCO CONTAMINADA	POCO CONTAMINADA	LIMPIA
	29 95um				
30 1000um	31 160um				
32 31um					

A

5



65µm

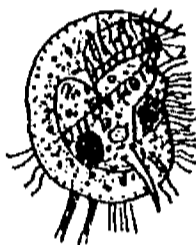
6



35µm

B

11



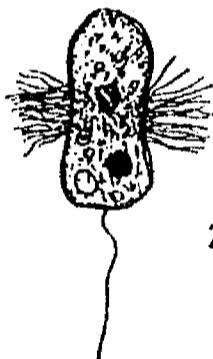
75µm

12



125µm

13



20µm

14



220µm

15



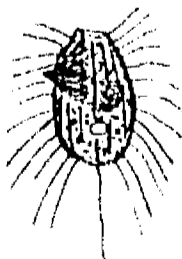
40µm

16

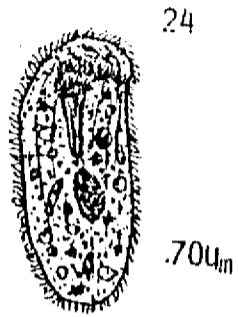
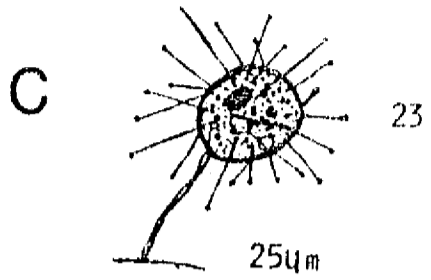


100µm

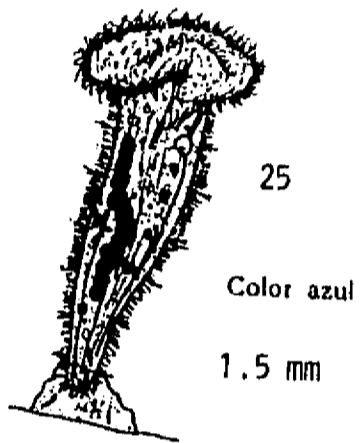
17



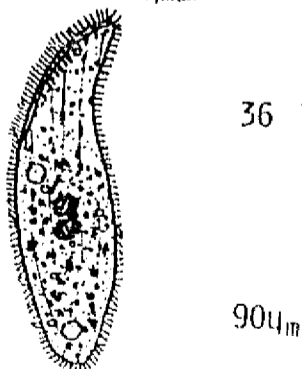
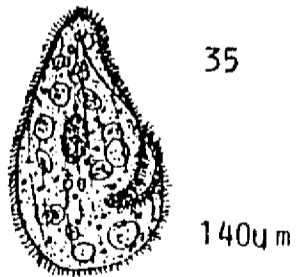
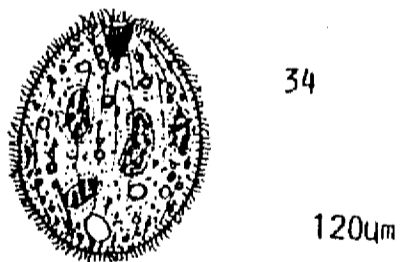
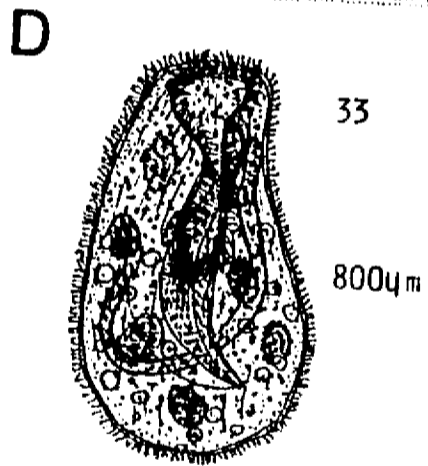
45µm



Individuo 100µm
Colonia mayor a 2 mm



Individuo 80µm
Colonia 3 mm dicotómica



NOMBRES Y CLASIFICACIÓN DE LOS ORGANISMOS.

- A. Extremadamente contaminada
 B. Muy contaminada
 C. Contaminada
 D. Poco contaminada

NOMBRE	TAMAÑO (μ m)	DESCRIPCION
A		
1. <i>Colpidium colpoda</i>	100	(Losana)
2. <i>Colpidium campylum</i>	80	(Stokes)
3. <i>Paramecium putrinum</i>	115	Claparéde y Lachmann
4. <i>Glaucoma scintillans</i>	52	Ehrenberg
Opciones		
5. <i>Saprodinium dentatum</i>	65	Lauterborn
6. <i>Dexiotrichides centralis</i>	35	(Stokes)
B		
7. <i>Vorticella microstoma</i>	80	Complex
8. <i>Tetrahymena pyriformis</i>	75	Complex
9. <i>Litonotus varsaviensis</i>	110	Wrzesniowski
10. <i>Metopus es</i>	130	(O.F. Muller)
Opciones		
11. <i>Dicomorphella pectinata</i>	75	(Levander)
12. <i>Caenomorpha medusula</i>	130	Perty
13. <i>Urozona bütschlii</i>	25	Schewiakoff
14. <i>Lacrymaria elegans</i>	220	Engelmann
15. <i>Colpoda steinii</i>	40	Maupas
16. <i>Sphaerophrya soliformis</i>	90	Lauterborn
17. <i>Cristigera media</i>	45	Kahl
C		
18. <i>Cyclidium glaucoma</i>	20	O.F. Muller
19. <i>Paramecium caudatum</i>	200	Ehrenberg
20. <i>Aspidisca cicada</i>	24	O.F. Muller
21. <i>Oxytricha fallax</i>	135	Stein
22. <i>Litonotus fasciola</i>	85	O.F. Muller

Opciones

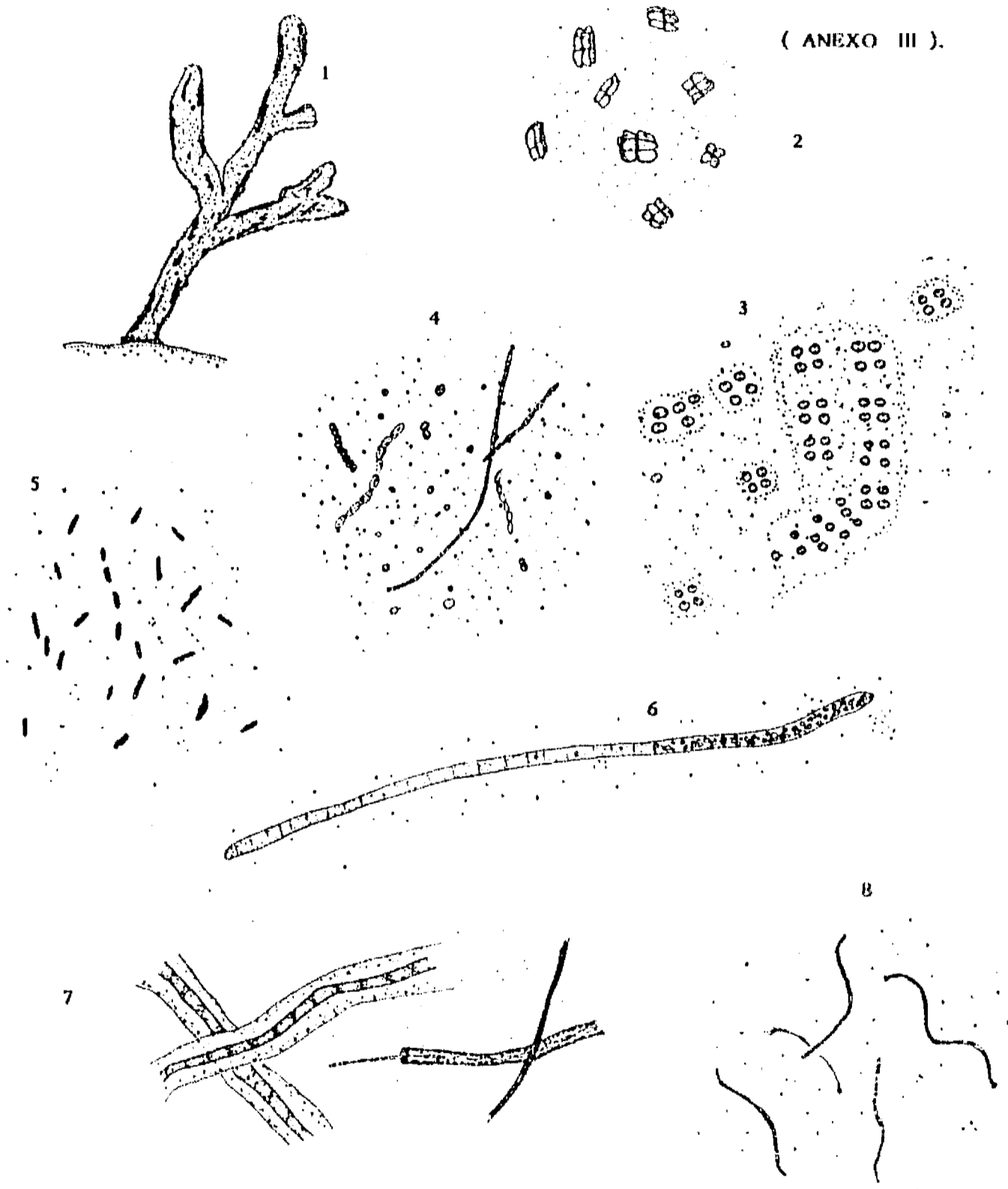
23. <i>Podophrya fixa</i>	25	O. F. Muller
24. <i>Chilodonella uncinata</i>	70	Ehrenberg
25. <i>Stentor coeruleus</i>	1.5 mm	(Pallas)
26. <i>Carchesium polypinum</i>	120	(Linnaeus)
27. <i>Epistylis plicatilis</i>	80	Ehrenberg

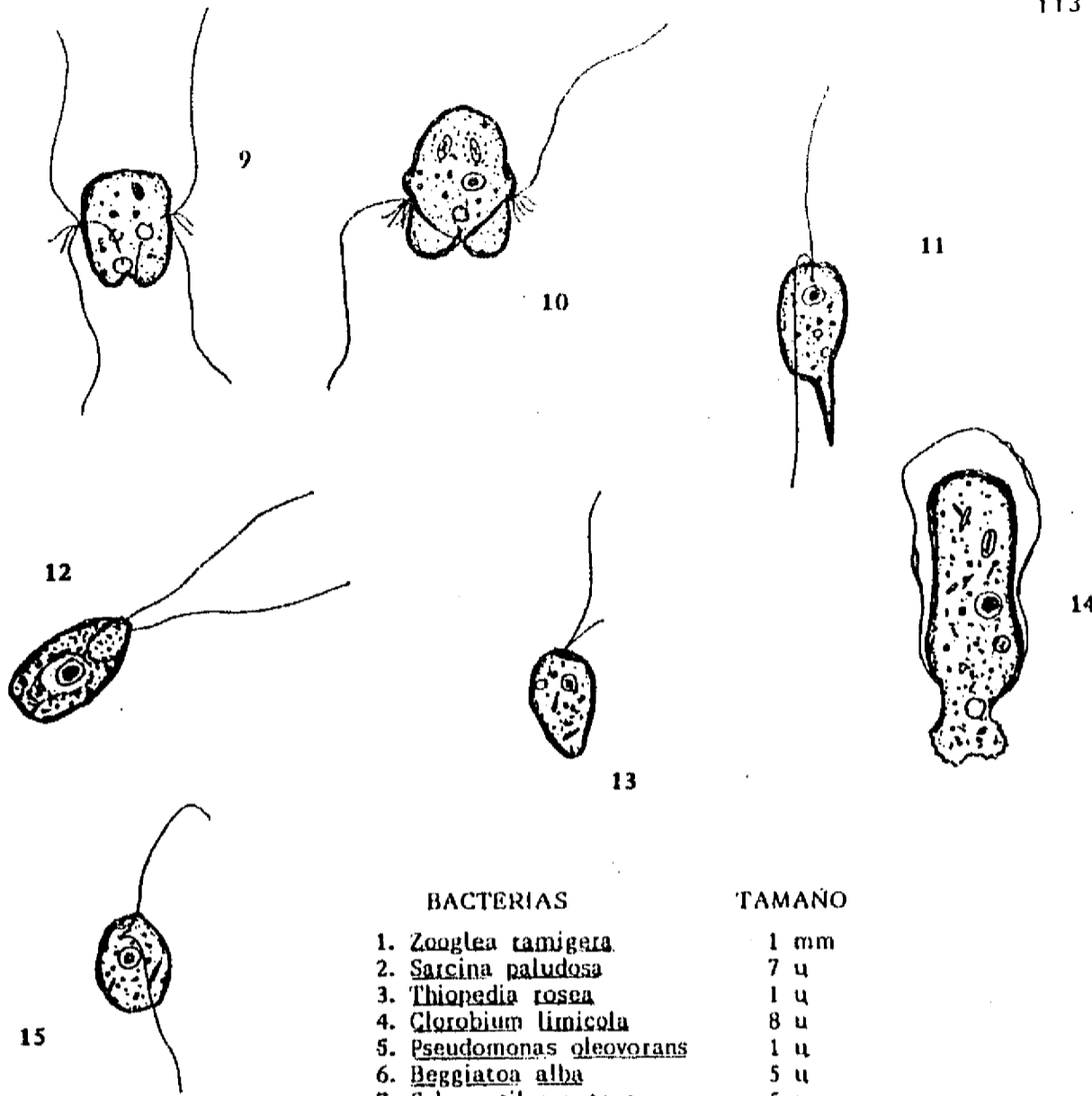
D

28. <i>Euplotes patella</i>	105	(O. F. Muller)
29. <i>Halteria grandinella</i>	31	(O. F. Muller)
30. <i>Litonotus lamella</i>	160	(O. F. Muller)
31. <i>Didinium nasutum</i>	95	(O. F. Muller)
32. <i>Lacrymaria olor</i>	1000	(O. F. Muller)

Opciones

33. <i>Bursaria truncatella</i>	800	O. F. Muller
34. <i>Holophrya nigricans</i>	120	Lauterborn
35. <i>Blepharisma lateritium</i>	140	(Ehrenberg)
36. <i>Amphileptus claparedii</i>	130	Stein





BACTERIAS	TAMANO
1. <i>Zooglea ramigera</i>	1 mm
2. <i>Sarcina paludosa</i>	7 u
3. <i>Thiopedia rosea</i>	1 u
4. <i>Clorobium limicola</i>	8 u
5. <i>Pseudomonas oleovorans</i>	1 u
6. <i>Beggiatoa alba</i>	5 u
7. <i>Sphaerotilus natans</i>	5 u
8. <i>Spirillum undulans</i>	1 u

FLAGELADOS	TAMANO
9. <i>Trepomonas rotans</i>	10 u
10. <i>Trepomonas agilis</i>	15 u
11. <i>Cercomonas longicauda</i>	18 u
12. <i>Polytoma uvella</i>	20 u
13. <i>Monas termo</i>	10 u
14. <i>Vahlkampfia limax</i>	80 u
15. <i>Bodo caudatus</i>	15 u

ANEXO IV

Caracterización de parámetros físicos y químicos del afluente del sistema.

PARÁMETRO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR
pH	7.17	0.36
Temperatura	24.4	2.1
O. disuelto	1.7	1.63
D.B.O. ₅	321.7	119.9
D.Q.O.	840.3	640.7
Sólidos susp.	7.36	3.46
Sólidos dis.	474.8	429.8
Sólidos tot.	776	309.3

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Agamaliev, F.G. 1974. Ciliates of the solid surface overgrowth of the Caspian sea. Acta protozool. 13:53-83.

Aguirre, J. y Gloyna, E.F. 1972. Diseño de lagunas de estabilización y lagunas de aereación mecánica. Curso sobre Tratamiento Biológico, U.N.I. Lima. 47 pp.

Aharon, A. 1982. Biological equilibrium in waste water reservoir. Wat. Res. 16(7): 1135-1138.

Aladro, L.A., Martínez, M.E. y Mayén, E.R. 1990. Manual de ciliados psamófilos marinos y salobres de México. Cuadernos de Biología 9. Instituto de Biología, U.N.A.M. México. 174 pp.

Alagarsamy, S.R., Abdulappa, M.K. y Bopardikar, M. 1967. High-rate deep stabilization pond. Part II. Studies on the faunal assemblage of the system. Environ. Health. 9: 306-316.

Al-Shahwani, S.M. y Horan, N.J. 1991. The use of protozoa to indicate changes in the performance of activated sludge plants. Wat. Res. 25 (6): 633-638.

Anderson, R.O. 1988. Comparative Protozoology. Ecology, Physiology, Life History. Springer-Verlag, Nueva York. 482 pp.

A.P.H.A., A.W.W.A., W.P.F.C. 1985. Standard Methods for the examination of water and waste water. 16 ed. Cincinnati. 1268 pp.

Arceivala, S.J., Lakshmanarayana, J.S. y Sastry, C.A. 1970. Waste stabilization ponds: design, construction and operation in India. Central Publ. Health. Ing. Res. Inst. Nagpur. 69 pp.

Augustin, H., Foissner, W. y Adam, H. 1984. An Improved Pyridinated Silver Carbonate Method which needs few Specimen and yields permanent Slides of Impregnated Ciliates (Protozoa, Ciliophora). Mikroskopie 41: 134-137.

Bach, J. A., Wnuk, R.J. y Martin, D.G. 1975. Inhibition of microbial growth by fatty amine catalysts from polyurethane foam test tube plugs. Appl. Microbiol. 29:615-620.

Bamforth, S.S. 1982. The Variety of Artificial Substrates Used for Microfauna. En: Cairns, J.Jr. (ed.). Artificial Substrates. Ann Arbor Science Publishers, Michigan. pp. 115-130.

Bamforth, S.S. 1985. Ecology of Protozoa. En: Lee, J.J., Hutner, S.H. y Bovee, E.C. (eds.). An Illustrated Guide to the Protozoa. Society of Protozoologists, Kansas. pp. 7-12.

Bartsch, A.F. y Allum, O.M. 1957. Biological factors in treatment of raw sewage in artificial ponds. Limnol. Oceanogr. 2: 77-84.

Bartsch, A.F. e Ingram, W.M. 1966. Biological Analysis of water pollution in North America. Verh. Internat. Verein Limnol. 16:786-800.

Beak, T.W., Griffing, T.C. y Appleby, G. 1973. Use of artificial substartes samplers to assess water pollution. En: Biological methods for the assessment of water quality. ASTM Spec. Tech. Pub. No. 528, J. Cairns Jr. y Dickson, K.L. (Eds.). Phil. Am. Soc. for Test. and Mat. pp. 227-241.

Bedogni, G., Falanelli, A. y Pedrazzi, R. 1991. Evaluation of the abundance ratio between crawling and attached ciliates in the management of an activated sludge sewage treatment plant. En: Madoni, P.(ed.). Proceeding of the International Symposium Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives, Perugia. pp. 229-233

Benson - Evans, K. y Williams, P.F. 1983. Algal and briophytes. En: Curds, C.R. y Hawkes, H.A. (eds.). Ecological aspects of used-water treatment. Vol I. Academic Press. Londres. 153-202 pp.

Bick, H. 1971. The potentialities of ciliated protozoa in the biological assessment of water pollution levels. Int. Sym. on Identification and Measurement of Environmental Pollutants. Ottawa. 305 -309 pp.

Bick, H. 1972. An Illustrated Guide to Ciliated Protozoa used as biological indicators in freshwater ecology. W.H.O. Ginebra. 198 pp.

Branco, S.M. 1984. Limnología sanitaria, estudio de la polución de aguas continentales. Sria Gral de la O.E.A. Washington. 120 pp.

Brockett, O.D. y Orchard, T.A. 1973. Microbial reaction in facultative oxidation ponds. II Biochemical activity of facultative oxidation pond sediments. Wat. Res. 9(3): 315-322.

Butcher, R.W. 1946. The biological detection of pollution. J. Inst. Sewage Purification. 2: 92-97.

Cairns, J.Jr. 1962. The environmental requirements of fresh water protozoa. Biological problems in water pollution. 3Th. Seminar P.H.S. Publ. No. 999-WP-25.

Cairns, J.Jr., Albaugh, D.W., Busey, F. & Chaney, M.D. 1968. The sequential comparison index- a simplified method for non biologist to estimate relative differences in biological diversity in stream pollution studies-. J. Wat. Pollut. Control. Fed. 40(9): 1607-1613.

Cairns, J.Jr., Dahlberg, M.L., Dickson, K.L., Smith, N.R. y Waller, W.T. 1969. The relationship of fresh-water protozoan communities to the Mac-Arthur-Wilson equilibrium model. Am. Nat. 103:439-454.

Cairns, J.Jr. y Ruthven, J.A. 1970. Artificial microhabitats size and the number of colonizing protozoan species. Trans. Am. Micros. Soc. 89(1):100-109.

Cairns, C.R., Lanza, G.R., Parker, B.C. 1972. Pollution related structural and functional changes in aquatic communities, with emphasis on freshwater algae and protozoa. Acad. of Nat. Sciences of Philadelphia. 124(5): 79-127.

Cairns, J.Jr., Yongue, W.H. y Boatin, H. 1973. The relationship between number of protozoa species and duration of habitat immersion. Rev. Biol. 9(1-4): 35-42.

Cairns, J.Jr. 1974. Protozoans (Protozoa). En: Hart, C.W. y Fuller, S.L.H. (eds.) Pollution Ecology of Freshwater Invertebrates. Acad. Press, Nueva York. pp. 1-28.

Cairns, J.Jr., Yongue, W.H. y N. Smith. 1974-1976. The effects of substrates quality upon colonization by freshwater protozoa. Rev. Biol. 10(1-4): 13-20.

Cairns, J.Jr. y Yongue, W.H. 1977. Factors Affecting the Number of Species in Freshwater Protozoan Communities. En: Cairns, J.Jr. (ed). Aquatic microbial communities. Garland Publishing, Inc. Nueva York. pp. 257-303

Cairns, J.Jr. 1982. Freshwater Protozoan Communities. En: Bull, A.T. y Watkinson, A.R.K. (eds.). Microbial Interactions and Communities, Vol. I. Academic Press, Londres. pp. 249-285.

Cairns, J.Jr., Plafkin, J.L., Kaesler, R.L. y Lowe, R.L. 1983. Early colonization patterns of diatoms and protozoa in fourteen freshwater lakes. J. Protozool. 30: 47-51.

Caldwell, D.H. 1946. Sewage oxidation pond-performance, operation and design. Sewage Works J. 18(3): 433-516.

Caron, D.A. y Goldman, J.C. 1990. Protozoan nutrient regeneration. En: Capriulo, G.M. (ed.). Ecology of marine protozoa. Oxford University Press, Nueva York. pp. 283-306.

C.E.T.E.N.A.L. 1976. Carta de uso del suelo No. E-14-A-57. S.P.P., México.

C.G.S.N.E.G.I. 1981. Síntesis geográfica del estado de México. S.P.P. México.

- Cingolani, L., Cossignani, M. y Miliani, R. 1991. The role of microfauna in the prediction and control of the activated sludge disfunctions of a municipal plant. En: Madoni, P.(ed.). Proceeding of the International Symposium Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives, Perugia. pp. 93-96
- Cooke, W.B. 1965. Colonization of artificial bare areas by microorganisms. Bot. Rev. 22:613-638.
- Corliss, J.O. 1959. An illustrated key to the higher group of ciliated protozoa, with definition of terms. J. Protozool. 6(3): 265-281.
- Corliss, J.O. 1979. The ciliated protozoa. Characterization, classification and guide to the literature. 2a. ed. Pergamon Press, Cambridge. 455 pp.
- Curds, C.R. 1965. An ecological study of the ciliated protozoa in activated sludge. Oikos. 15(11):282-289.
- Curds, C.R. y Vandyke J.M. 1966. The feeding habits and growth rates of some fresh-water ciliates found in activated sludge plants. J. Appl. Ecol. 3:127-137.
- Curds, C.R. 1969. An illustrated key to the British Freshwater Ciliated Protozoa commonly found in activated sludge. Water Pollution Research Technical Paper No. 12, Londres. 90 pp.
- Curds, C.R. y Cockburn, A. 1970. Protozoa in biological sewage treatment processes. Water Res. 4: 225-236.
- Curds, C.R. 1975. Protozoa En: Curds, C.R. y Hawkes, H.A. (eds.). Ecological aspects of used-water treatment. Vol. I. Academic Press, Londres. pp. 203- 268.
- Curds, C.R. 1982. British and Other Freshwater Ciliated Protozoa. Part 1. Ciliophora: Kinetofragminophorea. Cambridge University Press, Cambridge. 387 pp.
- Curds, C.R., Gates, M.A. y Roberts, D. McL. 1983. British and Other Freshwater Protozoa. Part 2. Ciliophora: Oligohymenophora and Polyhymenophora. Cambridge University Press, Cambridge. 474 pp.
- Dodakundi, G.B. y Rodgi, S.S. 1975. Waste stabilization ponds - A review. J. of the Karnatak Univ. Sci. 20: 191-211.
- Duchene, Ph. 1991. The most significant protozoa and metazoa currently found in activated sludge. En: Madoni, P.(ed.). Proceeding of the International Symposium Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives, Perugia.

pp. 35-37.

Duncan, M.D. 1972. Sewage treatment in hot climates. John Wiley & sons. Londres. 169 pp.

Eckenfelder, W.W. 1980. Principles of water quality management. CBI (Ed). Massachusetts. 717 pp.

Elliot, J.M. 1983. Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates. Freshwater Biological Association Scientific Publication No. 25, 2nd. ed. 160 pp.

Fenchel, T. 1987. Ecology of protozoa. The biology of free-living phagotrophic protists. Science tech. Publishers and Springer-Verlag. Michigan. 197 pp.

Fernández-Galiano, D. 1976. Silver impregnation of protozoa procedure yielding good results with the pyridinated silver carbonate method. Trans. Am. Microsc. Soc. 95: 557-560.

Finlay, B.J., Rogerson, A. y Cowling, A.J. 1988. A Beginners Guide to the Collection, Isolation, Cultivation and Identification of Freshwater Protozoa. Culture Collection of Algae and Protozoa, Ambleside. 78 pp.

Fjordingstad, E. 1964. Pollution of streams estimated by benthic phytomicro-organisms. A saprobic system estimated by benthic communities of organisms and ecological factors. Internat. Rev. Hydrobiol. 49:63-131.

Foissner, W. 1988. Taxonomic and nomenclatural revision of Sládeček's list of ciliates (Protozoa: Ciliophora) as indicators of water quality. Hydrobiologia 166: 1-64.

Foissner, W. 1992. Evaluating water quality using protozoa and saprobity indexes. En: Lee, J.J. y Soldo, A.T. (eds.). Protocols in Protozoology. Society of Protozoologists, Kansas. pp. B11.1-B.11.20.

García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. E. García (ed.). México. 217 pp.

García de León, A. 1988. Generalidades del Analisis de Cumulos y del analisis de componentes principales. Divulgación Geográfica No.8, Instituto de Geografía, UNAM. México. 29 pp.

Gaudy, A. y Gaudy, E. 1981. Microbiology for environmental scientists and engineers. McGraw-Hill Int. Book Co. Tokio. 736 pp.

Gauffin, A.R. y Tarzwell, C.M. 1952. Aquatic invertebrates as indicators of stream pollution. Pub. Health Rept. 65. 57 pp.

Gloyna, E.F. 1969. Waste stabilization pond- basis for waste water treatment. W.H.O. serie monográfica No. WD/672. 168 pp.

Gloyna, E.F. 1971. Waste stabilization ponds. W.H.O. Serie monográfica No. 60. Ginebra. 175 pp.

Gloyna, E.F. 1972. Principios de depuración de aguas residuales. En: O.P.S. Curso sobre tratamiento biológico. U.N.I. Lima. 46 pp.

Gloyna, E.F. 1976. Ponds as a wastewater treatment alternative. En: Gloyna, E.F. (Ed.). Water Resources Symposium. No. 9 Center for Research in Water Resources. Texas. 447 pp.

González, G.C. 1978. Análisis hidráulico-cinético de las lagunas de estabilización utilizadas en el tratamiento de aguas residuales domésticas. XVI Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria. Santo Domingo, Rep. Dom. pp. 13-38.

Green, R.H. 1975. Sampling design and statistical methods for environmental biologist. Wiley-Interscience, Toronto. 257 pp.

Grzenda, A.R. y Brehmer, M.L. 1960. A quantitative method for the collection and measurement of stream periphyton. Limnol. Oceanogr. 5(2):190-194.

Hawkes, H.A. 1983. Stabilization ponds. En: Curds, C.R. y Hawkes, H.A. (eds.) Ecological aspects of used-water treatment, Vol. 2 Academic Press. Londres. pp. 163-215.

Henebry, M.S. y Cairns, J.Jr. 1980. The effect of island size, distance and epicenter maturity on colonization in freshwater protozoan communities. Am. Mid. Nat. 104: 80-92.

Henebry, M.S. y Cairns, J.Jr. 1984. Protozoan colonization rates and trophic status of some freshwater wetland lakes. J. Protozool. 31: 456-467.

Hernández, C. 1982. Selección de diferentes alternativas de tratamiento de aguas negras de origen doméstico en medios rurales de México. Memorias del Curso Temas Selectos de Ecología Microbiana. Universidad La Salle, México. s/p.

Huber-Pestalozzi, G. 1941. Das Phytoplankton des Süsswassers. Systematik und Biologie. Chrysophyceen, Farblose Flagellaten, Heterokonten, Binnengewasser, 16, Teil 2.

Hynes, H.B. 1974. Further studies on the distribution of stream animal within the substratum. Limnol. Oceanogr. 19: 92-99.

Inserentant, R. y De Sloover, J.R. 1979. Le concept de bioindicateur. Mem. Soc. Roy. Bot. Belg. 7:15-24.

Jahn, T.H., Bovee, E.C. y Jahn, F.F. 1979. How to know the protozoa. William Co. Publisher, Iowa. 279 pp.

Kahl, A. 1930-1935. Urtiere Order Protozoa. I Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria), eine Bearbeitung der freilebenden und ectocommensalen Infusorien der Erde, unter Ausschluss der Marinen Tintinnidae. En Dahl, F. Die Tierwelt Deutschlands. Teil 18(1930), 21(1931), 25(1932), 30(1935). Gustav Fisher, Jena. 886 pp.

Kinner, N.E. y Curds, C.R. 1987. Development of protozoan and metazoan communities in Rotating biological contactor biofilms. Wat. Res. 21(4): 481-490.

Kolkwitz, R. y Marsson, M. 1902. Grunsätze für die biologische Beurteilung des Wasser nach seiner Flora und Fauna. Prüfungsanst. Wasserversorg. Abwasserreinig. 1:33-72.

Kolkwitz, R. y Marsson, M. 1908. Okologie der pflanzlichen Saprobien. Ber. dt. Bot. Ges. 26 A: 505-519.

Kolkwitz, R. y Marsson, M. 1909. Okologie der tierischen Saprobien. Internat. Rev. Hydrobiol. 2:126-152.

Kudo, R.R. 1982. Protozoología. C.E.C.S.A., México. 905 pp.

Lee, J.J., Hutner, S.H. y Bovee, E.C. 1985. An Illustrated Guide to the Protozoa. Society of Protozoologists, Kansas. 629 pp.

Levine, N.D., Corliss, J.O., Cox, F.E.G., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B.M., Leedale, G.F., Loeblich, A.R., Lom, J., Lynn, D., Merinfeld, E.G., Page, E.C., Polansky, G., Sprague, V., Vaura, J. y Wallace, F.G. 1980. A Newly Revised Classification of the Protozoa. J. Protozool. 27: 37-58.

Leynaud, G. 1979. Modificaciones del medio acuático por influencia de la polución. En: Pesson, P. (ed.). La contaminación de las aguas continentales. Mundi-Prensa. Madrid. 335 pp.

Liebmann, H. 1962. Handbuch der Frischwasser uns Abwasserbiologie. Vols. I y II G. Fisher Verlag, Jena.

Limón, G. 1979. Microbiología de lagunas de estabilización. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, México. 27 pp.

López, R.A. 1991. Tratamiento de Aguas Residuales de Bajo Costo en Nuestro País. Eficiencia del Sistema de Estanques de Estabilización en Ixtapan de la Sal, Edo. de México. Tesis de Licenciatura (Biología). E.N.E.P. Ixtacala, UNAM. 68 pp.

- Lugo, A., Martínez, S., Rivera, F. y Sánchez, R. 1991. Protozoan indicator communities in waste stabilization pond systems. En: Madoni, P.(ed.). Proceeding of the International Symposium Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives, Perugia. pp. 115-118.
- Luna, P., Durán de Bazúa, C., Mayén, E., Aladro, L., Olvera, V. y Saavedra, S. 1988. Estudio de los protozoarios ciliados para determinar la calidad depurativa de sistemas biológicos rotatorios biológicos para tratamiento de aguas residuales. Universidad y Ciencia. 5 (10):109-132.
- Luna, P., Mayén, E., Olvera, V., Saavedra, J. y Durán de Bazúa, C. 1990. Ciliated protozoa as indicators of a waste water treatment system performance. Biol. Waste. 31 (2): 81-90.
- Mac Arthur, R.H. y Wilson, E.O. 1967. The Theory of Island Biogeography. Princeton University Press, Nueva Jersey. 203 pp.
- Madoni, P. 1991. Role of protozoans and their indicator value in the activated sludge process. En: Madoni, P.(ed.). Proceeding of the International Symposium Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives, Perugia. pp. 21-27.
- Maguire, B. Jr. 1963. The passive dispersal of small aquatic organisms and their colonization of isolated bodies of water. Ecol. Monogr. 33:101-185.
- Maguire, B. Jr. y Belk, D. 1967. Paramecium transport by land snails. J. Protozool. 14(3): 445-447.
- Mara, D. 1976. Sewage treatment in hot climates. John Wiley & sons. Nueva York. 168 pp.
- Margalef, R. 1983. Limnología. Ed. Omega, Barcelona. 1010 pp.
- Márques de C. M.J. 1988. Probabilidad y estadística para ciencias químico-biológicas. E.N.E.P. Zaragoza, U.N.A.M. México. 572 pp.
- Martínez, S. 1990. Estudio de la fauna protozoológica presente en un sistema de estanques de estabilización facultativos, en Ixtapan de la Sal. Estado de México. Tesis licenciatura, E.N.E.P. Iztacala, U.N.A.M. México. 64 pp.
- Mc Kinney, R. y Gram. A.G. 1956. Protozoa and activated sludge. Sewage ind. Wastes. 28: 1219-1231.
- Morrison, D.F. 1984. Multivariate statistical methods. 2a. Ed. McGraw-Hill International Book Co, Singapur. 415 pp.

- Moon, H.P. 1935a. Methods and apparatus suitable for an investigation on the littoral region of oligotrophic lakes. Int. Rev. Ges. Hydrobiol. 32: 319-333.
- Naumann, E. 1919. Eine einfache methode zum nachweis bzw. Einsammeln der Eisenbakterian. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 37:76-78.
- Noland, L.E. 1975. Ciliophora, En: Ward, H.B. y Whipple, G.C. (eds.). Freshwater Biology. 2 ed. John Wiley & Sons, Nueva York. pp. 265-297.
- Noyola, R.A. y Jiménez, C.B. 1987. Desarrollo de tecnología adaptada para procesos de tratamiento de aguas residuales. Memorias del I Congreso Mundial Universitario Ecología, Realidad y Futuro. México.
- Patrick, R. 1949. A proposed biological measure of stream conditions based on a survey of the Canetosoga basin, Lancaster country Penn. Proc. Acad. Nat. Sci. Phil. 101:277-341.
- Patrick, R. Hohn, M.H. y Wallace, J.H. 1954. A new method for determinig the pattern of the diatom flora. Not. Nat. Acad. Nat. Sci. 259:1-12.
- Plafkin, J.L., Kuhn, D.L., Cairns, J.Jr. y Yongue, W.H.Jr. 1980. Protozoan Species Accrual on Artificial Islands in Differing Lentic and Wetland Systems. Hydrobiologia 75: 161-178.
- Pratt, J.R., Lang, B.Z., Kaesler, R.L. y Cairns, J.Jr. 1986. Effect of seasonal changes on protozoa inhabiting artificial substrates in small ponds. Arch. Protistenkd. 131: 45-57.
- Rivera, F., Lugo, A., Ponce, J., Lares, F., y Ortiz, R. 1986a. Zooflagellates in an anaerobic waste stabilization pond system in Mexico. Water, Air and Soil Pollut. 27:199-214.
- Rivera, F., García, G., Lugo, A., Zierold, E., Islas, J., Ramírez, E. y Bonilla, P. 1986b. Amoebae in waste stabilization pond system in Mexico. Water, Air and Soil Pollut. 28: 185-198.
- Rivera, F., Sánchez, Ma. del R., Lugo, A. Ramírez, P., Ortiz, R. y Calderón, A. 1987. Ciliates in a waste stabilization pond system in Mexico. Water, Air and Soil pollut. 34: 245-262.
- Rivera, F., Castro, F., Moreno, G., Lugo, A., Gallegos, E. y Norouzian, M. 1988. Protozoa of a rotating biological contactor treatment plant in Mexico. Water, Air and Soil Pollut. 40: 281-301.
- Rosenberg, D.M. y Resh, V.H. 1982. The use of artificial substrates in the study of freshwater benthic macroinvertebrates. En: Cairns, J.Jr. (ed.). Artificial Substrates. Ann Arbor Publishers, Michigan. pp. 175-235.

- Schlichting, H.E. Jr. 1961. Viable species of algae and protozoa in the atmosphere. Lloydia. 24(2): 81-88.
- Schlichting, H.E. Jr. 1964. Meteorological conditions affecting the dispersal of air-borne algae and protozoa. Lloydia. 27 (1): 64-78.
- SEDUE. 1986. Reglamento para la prevención y control de la contaminación de las aguas. Serie Normatividad Ecológica No. 4. México, D.F. 47 pp.
- SEDUE. 1988. Programa regional de regularización de aguas residuales. Dir. Gral de Prevención y Control de la Contaminación del Agua, Subsecretaría de Ecología, México. 87 pp.
- Sládecek, V. 1973. System of water quality from the biological point of view. Ergebnisse der Limnologie Beih. Arch. Hydrobiol. 7:1-218.
- Sládecek, V. y Tucek, F. 1975. Relation of saprobic index to BOD₅. Wat. Res. 9: 791-794.
- Sládecek, V., Zelinka, M., Rothschein, J. y Moravcová, V. 1981. Biological Analysis of surface water. Comentary to the Czech State Norm 83 0532-part 6: Determination of the saprobic index. Urad pro normalizaci a mereni. Praga. 186 pp. (En checo)
- Sládecek, V. 1985. Scale of saprobity. Verh. Internat. Verein. Limnol. 22: 2337-2341.
- Sládecekova, A. y Sládecek, V. 1966. The indicator value of some sessile protozoans. Arch. Protistenkd. 109:223-225.
- Sleigh, R. 1979. Biología de los Protozoos. H. Blume Editores, Madrid. 399 pp.
- Sokal, R. y Rolfh F.J. 1980. Introducción a la bioestadística. Revertè. Barcelona 259 pp.
- Solís, M.C.. 1982. Experiencias acerca del comportamiento de lagunas de estabilización facultativas en serie en clima subtropical. En: Memorias del Tercer Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. México. pp. 1-37.
- Solís, M.C. y Solís, F.F. 1992. Coeficientes de velocidad de reacción de un sistema lagunar modificado modelo U.A.E.M. En: Memorias del VIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, A.C., Cocoyoc, México. II: 3-4.
- Streble, H. y Krauter, D. 1985. Das leben im Wassertropfen Franckh'sche Verlaghandlung. W. Keller and Co. Stuttgart. 365 pp.

Sudo, R. y Aiba, S. 1984. Role and function of protozoa in the biological treatment of polluted waters. Ad. Biochem. Eng./Biotech. 29: 117-140.

Sudzuki, M. 1981. Faunistic and ecological studies of the sewage biota of Japan. Verh. Internat. Verein Limnol. 21:1094-1100.

Téllez, C. y Esteban, G. 1991. The density of ciliate populations in the prediction of the activated-sludge performance. En: Madoni, P.(ed.). Proceeding of the International Symposium Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives, Perugia. pp. 49-52

Tuffery, J.E. 1974. Incidencias ecológicas de la polución de las aguas continentales. En: Pesson, P. (Presentador). La contaminación de las aguas continentales. Mundi Prensa. Madrid. pp 245-247.

Urroz, J.E. 1974. Sistemas económicos de tratamiento de aguas residuales domésticas de pequeñas comunidades ajustadas a las condiciones nacionales. Seminario México-Israelí sobre manejo de recursos hidráulicos. México. 29 pp.

Vernaux, J. 1979. Fundamentos biológicos y ecológicos del estudio de la calidad de las aguas continentales. Principales métodos biológicos, En: Pesson, P. (Presentador). La contaminación de las aguas continentales. Mundi-Prensa, Madrid. pp. 267-331.

Verneaux, G. y Tufféry, G. 1967. Une methode zoologique pratique de détermination de la qualité biologique des eaux courrantes. Indices biotiques. Annals. Scient. Univ. Besancon. Zoologie. 3: 70-90.

Volk, C. 1991. Examples for plant operation improvement by using long-term microscopic examinations. En: Madoni, P.(ed.). Proceeding of the International Symposium Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives, Perugia. pp. 39-47.

Wene, G. y Wickliff, F.L. 1940. Modification of a stream bottom and effects on the insect fauna. Can. Entomol. 72: 131-135.

Yongue, W.H.Jr., Cairns, J.Jr. y Boatin, H.Jr. 1973. A comparison of Fresh-Water Protozoan Communities in Geographically Proximate but Chemically Dissimilar Bodies of Water. Arch. Protistenkd. 115: 154-161.

Yongue, W. H. y Cairns, J.Jr. 1978. The role of flagellates in pionner protozoan colonization of artificial substrates. Pol. Arch. Hydrobiol. 25: 787-801.

Yongue, W.H. y Cairns, J.Jr. 1976. A comparison between numbers and kinds of freshwater protozoa colonizing autoclaved and unautoclaved polyurethane foam substrates. Appl. Environ. Microbiol. 31(5): 750-753.

Zobell, C.E. y Allen, E.C. 1933. Attachment of marine bacteria to submerged slides. Soc. Exp. Biol. Med. Proc. 30:1409-1411.