

00376
-4-



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CALIDAD DEL AGUA Y PRESENCIA DE
PROTOZOARIOS CILIADOS EN UN FILTRO
BIOLOGICO AEROBIO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
(ECOLOGIA Y CIENCIAS AMBIENTALES)

P R E S E N T A :
BIOL. CLARA GARCIA SANTANA



DIRECTOR DE TESIS: DR. SIMON GONZALEZ MARTINEZ

MEXICO, D. F.

2000

283145



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta 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. Simón González Martínez por su apoyo como director del presente trabajo.

Al Comité tutorial:

Dr. Simón González Martínez, Dr. Alfonso Lugo Vázquez y Dra. María Antonieta Aladro Lubel. Por su valiosa asesoría durante el desarrollo de este trabajo.

A los miembros del comité revisor:

Dra. María del Rosario Sánchez Rodríguez, Dra. María Esther Martínez Murillo, Dra. Rosaura Mayén Estrada y al Dr. Javier Alcocer Durand. Por sus valiosos comentarios para la mejora del trabajo.

Al Dr. Alfonso Lugo Vázquez por su apoyo para la toma de fotografías de los ejemplares y la identificación de las especies observadas..

A la planta de tratamiento de aguas residuales por las instalaciones prestadas para el desarrollo del trabajo.

A todas y cada unas de las personas que colaboraron directa o indirectamente para la realización de este trabajo.

Dedicatorias

A Dios por todas las cosas con las que siempre me ha favorecido, por darme la familia que tengo y permitirme conocer Miguel.

A mi padre:

Arturo García que es un ejemplo a seguir y a quién admiro y respeto.

A Rosa María:

A quién por tanto tiempo he querido como a una madre y a quién agradezco la presencia de Chuchito y el Nani.

A mis hermanos:

Arturo, Tamael, Jesús y José Luis. Con todo mi amor, esperando que estemos siempre juntos.

A Miguel:

Que trajo el amor y la esperanza a mi vida y que siempre me ha apoyado en las buenas y en las malas. A ti amor, mil gracias.

A mis amigas:

Angélica, Dolores, Elia, Gaby, Jaina, Lilia y Mary. Por su amistad incondicional, en las buenas y en las malas siempre unidas.

CONTENIDO

RESÚMEN	i
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	
II.1 Procesos Biológicos para el tratamiento de aguas residuales.	5
II.2 Filtros de lecho sumergido o filtros combinados.	5
II.3 Formación y composición de la biopelícula.	8
II.4 Importancia de los protozoarios ciliados dentro del tratamiento biológico.	11
II.5 Papel indicador de los ciliados.	12
II.6 El sistema de depuración como un ecosistema artificial.	15
III OBJETIVOS	
III.1 General.	19
III.2 Específicos.	19
IV METODOLOGÍA	
IV.1 Diseño y características del filtro.	21
IV.2 Variables.	23
IV.3 Toma y número de muestras.	25
IV.4. Determinación y abundancia de protozoarios ciliados.	25
IV.5 Análisis fisicoquímicos	28
IV.6 Análisis estadístico.	29
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
V.1 Análisis Protozoológico.	31
V.2. Grupos Funcionales.	32
V.3. Variación de protozoarios ciliados en las tres cargas orgánicas	34
V.4. Diversidad de protozoarios ciliados y su relación con los parámetros fisicoquímicos	39
V.5 Indices saprobios.	45
VI CONCLUSIONES.	52
VII LITERATURA CITADA.	55
IX ANEXOS	
IX.1 ANEXO I. Material filtrante y flóculos.	61
IX.2 ANEXO II. Microfotografías de los organismos observados y su ubicación taxonómica.	65
IX.3 ANEXO III. Tablas de resultados generales.	76

Dentro de los procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales, los filtros combinados cumplen con dos funciones, el tratamiento biológico del agua residual y el tratamiento físico por medio de la filtración. En estos sistemas, también ocurre una sucesión de microorganismos dentro de los cuales los ciliados juegan un papel importante al consumir las bacterias y favorecer la degradación de la materia orgánica contaminante, razón por la cual se les ha usado como indicadores biológicos. En México, la filtración combinada se ha revelado como una forma más económica de tratar el agua sin embargo, no existe ningún estudio sobre índices biológicos para estos sistemas. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo fue relacionar la calidad del agua tratada en este tipo de sistemas, con la presencia y abundancia relativa de protozoarios ciliados en función de la concentración del material orgánico y de las condiciones de operación del filtro.

Se utilizó un filtro combinado a nivel piloto, empacado con piedras de tezontle de 12 mm de diámetro, localizado en la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria. Se aplicaron tres cargas orgánicas (3, 7 y 9 gDQO/m² d), y se tomaron muestras del influente y efluente, cuantificándose la DQO, NH₄, N-total, NO₃ y SST según los métodos estándar. Se identificaron las principales especies de protozoarios ciliados presentes en cada carga orgánica y se determinó el índice saprobio de acuerdo con Pantle y Buck (1955).

En total se identificaron 18 especies de ciliados, 13 de ellas presentes en la primera carga, 14 en la segunda y 10 en la tercera. Todos ellos agrupados en dos categorías funcionales (bacterívoras y depredadores) con predominio de bacterívoras en las tres cargas orgánicas; estas especies carnívoras mostraron una ligera disminución al incrementarse las carnívoras. En estas últimas también se observó una disminución como resultado del incremento de la carga orgánica.

La variación de protozoarios en el sistema fue similar a la sucesión observada en otros procesos de tratamiento. Esta aparente sucesión se dio a través de las tres cargas orgánicas ya que el incremento de éstas no afectó totalmente la composición inicial.

La segunda carga presentó una mayor diversidad de especies, lo que indicó una mejor calidad de agua en el efluente. De acuerdo con los análisis fisicoquímicos, el mayor porcentaje de remoción de los parámetros evaluados se obtuvo en la segunda carga orgánica con excepción del $N-NH_4$ que tuvo una mayor oxidación en la primera, siendo el tiempo de retención hidráulico (TRH) y la concentración de amonio en el influente los responsables.

Los resultados de los análisis fisicoquímicos coincidieron con los índices saprobios obtenidos, los cuales mostraron que las tres cargas orgánicas se encuentran en el rango de las α -mesosaprobias pero la segunda carga presenta una tendencia hacia la β -mesosaprobiedad.

Finalmente se concluye que los indicadores biológicos son una buena herramienta para determinar el buen funcionamiento de un sistema de tratamiento.

INTRODUCCIÓN

Los procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales se han desarrollado en las últimas décadas. Particularmente, el desarrollo de los procesos de filtros sumergidos ha sido innovador. La filtración combinada o filtración con película biológica es un tipo de filtro sumergido que cumple con dos funciones, el tratamiento biológico del agua residual y el tratamiento físico por medio de la filtración. Estos filtros combinados ofrecen varias ventajas comparados con los tratamientos convencionales conocidos (lodos activados, filtros percoladores y biodiscos, entre otros), como son: su fácil adaptación a una planta de tratamiento, fácil mantenimiento y estabilidad en el proceso, tolerancia a variaciones de temperatura y carga orgánica (Valdivia, 1998).

Desde el punto de vista ecológico, este sistema es en realidad un ecosistema artificial en donde los organismos vivos que forman la biopelícula están representados por microorganismos que constituyen comunidades complejas, interrelacionadas entre sí y con el medio físico que las rodea en el sistema de tratamiento. El funcionamiento de este ecosistema tiene lugar a través de la dinámica de las comunidades de microorganismos que lo integran y que se refleja en la sucesión de dichas comunidades en el espacio y en el tiempo (EDAR, 1999).

Las sucesiones de microorganismos no sólo ocurren como resultado de las relaciones tróficas, sino que pueden ser debidas también a perturbaciones ocasionales pero significativas del proceso de depuración, provocadas a veces para mejorar el rendimiento del sistema. Durante este desarrollo y sucesión, la calidad del efluente va mejorando debido a la actividad depredadora de los protozoarios, principalmente ciliados, y es precisamente esta relación entre la calidad del efluente y las especies de ciliados presentes, lo que ha llevado a varios autores a utilizarlos como indicadores de la calidad del efluente (Curds, 1969).

La presencia de protozoarios ciliados como indicadores de la calidad del agua, ha sido ampliamente utilizada en los sistemas de tratamiento, principalmente en sistemas de lodos activados (Curds y Cockburn, 1970; Slàdeček, 1981, 1985);

biodiscos (Luna-Pabello, 1987; Kinner y Curds, 1987; Luna-Pabello *et al.*, 1990) y filtros percoladores (Al-Shahwani y Horan, 1991), donde se ha observado que éstos tienen un papel importante en el proceso de depuración al alimentarse de bacterias, favoreciendo con ello el recambio de la biopelícula y promoviendo una eficiente degradación de la materia orgánica que se refleja en los efluentes de mejor calidad.

Debido a que el estudio de los protozoarios como indicadores biológicos de los sistemas de tratamiento, es una práctica que poco a poco se está convirtiendo en un análisis rutinario, ya que puede ser de gran valor práctico para los responsables de la operación de las plantas de tratamiento (Sánchez y Lugo, 1993), se consideró importante que este estudio también se realice con filtros combinados, debido a que estos sistemas se presentan como una forma más económica de tratar el agua y a la fecha no existe ningún estudio sobre índices biológicos.

MARCO TEÓRICO

II.1 Procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales

El tratamiento biológico de las aguas residuales se basa en un proceso aparentemente simple, en el que una población mixta de microorganismos utiliza como nutrimentos la materia orgánica que contamina el agua, utilizándola para su metabolismo y reproducción; esto último trae consigo la formación de nuevos organismos de las diferentes comunidades representadas a lo largo del proceso depurativo (Ramalho, 1991). Este es el mecanismo por el cual las corrientes de agua naturales, como los lagos y ríos, se autopurifican. Dentro de estos procesos se encuentran los reactores de biopelícula con lecho empacado, filtros percoladores y filtros combinados o de lecho sumergido. Estos últimos se han desarrollado a nivel piloto recientemente, debido a que son sistemas compactos, ideales para tratar aguas residuales domésticas (Valdivia, 1998).

II.2 Filtros de lecho sumergido o filtros combinados

El filtro sumergido se define, de acuerdo con Iwai y Kitao (1994), como un sistema de tratamiento en el cual el agua es tratada al entrar en contacto con la película biológica que crece sobre el medio de soporte sumergido en el agua. Estos reactores dependen de la tendencia natural de las poblaciones de microorganismos para adherirse a las superficies y formar la biopelícula.

Los filtros combinados pueden estar empacados con platos o tubos de plástico y piedras de tezontle entre otros; son similares a los filtros percoladores pero, a diferencia de éstos, es indispensable el empleo de aereación artificial para abastecer de oxígeno a los microorganismos que forman la película biológica. La profundidad del filtro va de dos a tres metros (Figura 1), y los tamaños para el material filtrante son relativamente pequeños (5-15 mm). El aire se difunde desde el fondo del filtro para que las burbujas asciendan a través del material filtrante. Por su parte el agua residual entra por la parte superior del lecho y fluye en forma descendente por los intersticios del mismo; el agua tratada se extrae por la parte inferior del filtro (Rogalla y Bourbigot, 1990; Iwai y Kitao, 1994).

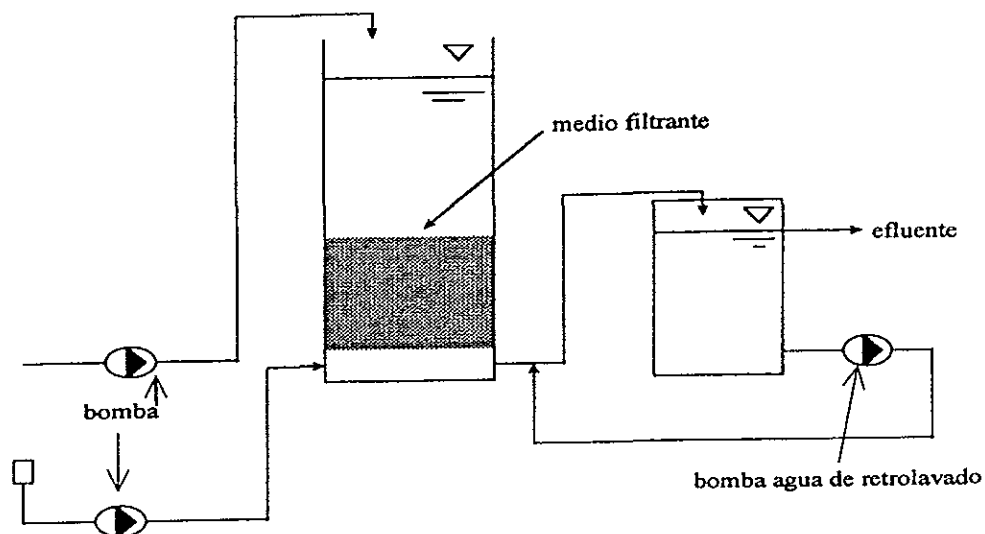


Figura 1. Configuración de un filtro con película biológica (tomado de Rogalla y Bourbigot, 1990).

Debido a que estos sistemas no requieren de una sedimentación secundaria, ya que operan simultáneamente como reactores biológicos y como filtros, la construcción de éstos se hace compacta quedando el proceso sujeto a la altura de la columna (Rogalla y Bourbigot, 1990; Goncalves y Rogalla, 1992).

El desarrollo tecnológico en los procesos biológicos ha mejorado las fases de mezclado, de transferencia de oxígeno y las fases de separación en los reactores. Los filtros combinados están considerados dentro de este concepto. En la figura 2 se resumen las características de los procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales y el desarrollo tecnológico para cumplirlas (Iwai y Kitao, 1994).

A pesar del desarrollo considerable en la tecnología de filtros combinados en la últimas décadas, los trabajos se han limitado a nivel piloto en una variedad de efluentes domésticos e industriales (Goncalves *et al.*, 1994). Sin embargo, este proceso presenta características que hacen viable su aplicación:

1. Maneja gran cantidad de biomasa con una mejor transferencia de oxígeno, presentando una alta capacidad y eficiencia para tratamiento de agua residual (Moreau *et al.*, 1994).

2. No requiere de un sistema de sedimentación secundaria, con lo cual, todo evento relacionado a la purga y recirculación de lodos queda eliminado, logrando así una independencia entre el tiempo de retención hidráulico y el celular, favoreciendo un alto crecimiento de biomasa en el medio granular (Goncalves *et al.*, 1994).
3. Utilizan un medio granular de tamaño pequeño que facilita la expansión del lecho durante el retrolavado, lo cual significa un incremento en el área de superficie por unidad del material filtrante, presentando altas tasas de colonización y poca fricción entre las partículas del medio (Andrews y Trapazo, 1985; Lazarova y Manem, 1994).

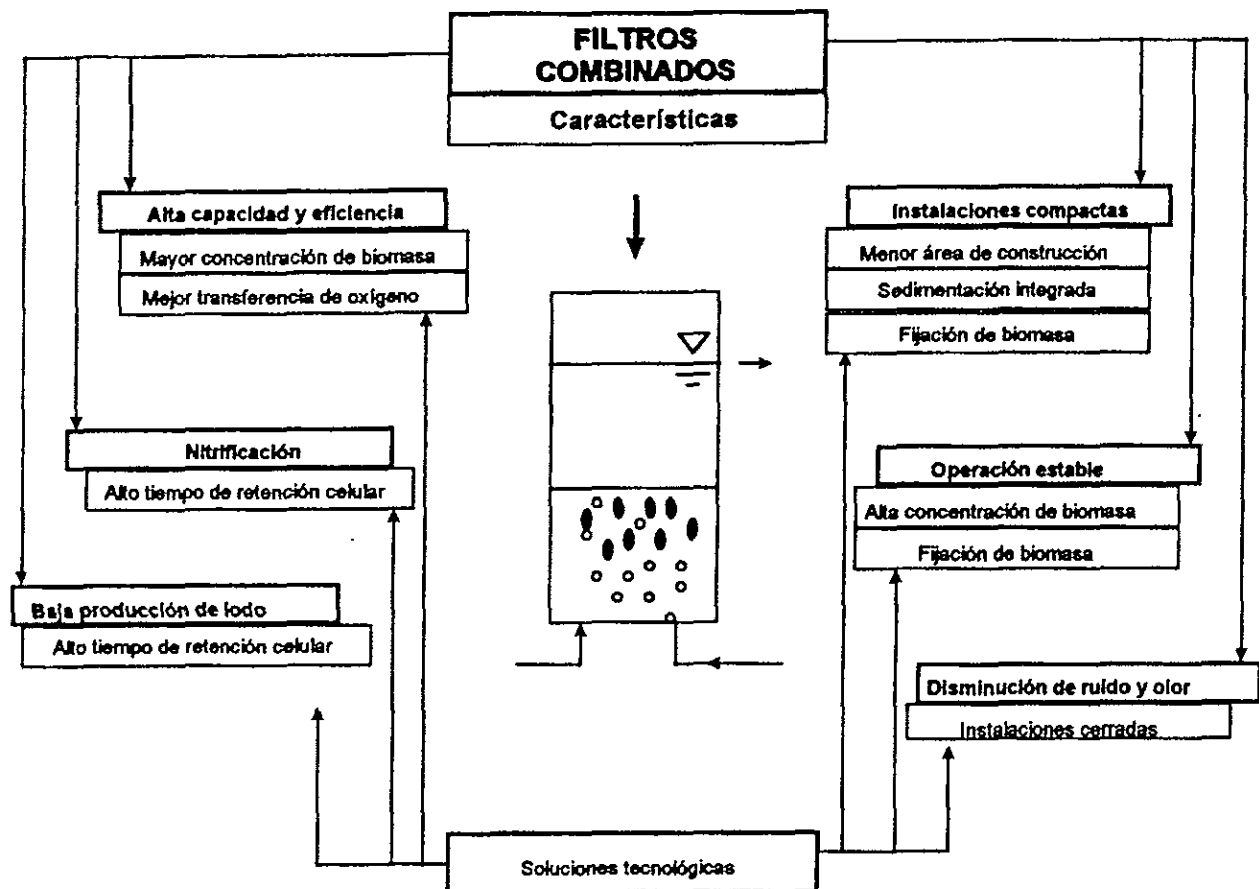


Figura 2. Características de los procesos biológicos avanzados (tomado de Iwai y Kitao, 1994).

Las principales desventajas de este tipo de sistemas son:

1. La construcción y el material necesario es más sofisticada que para procesos convencionales para el tratamiento de aguas residuales.

2. La frecuente operación de lavado debido al rápido colmatamiento de la cama filtrante y por consiguiente un alto consumo de energía (Lazarova y Manem, 1994).

Sin embargo, si la disponibilidad de suelo es limitada y se requiere de un tratamiento terciario, estos reactores son económicamente competitivos; por ello, es necesario estudiar el proceso para disminuir la frecuencia de lavado y configurar un sistema con características que lo hagan competitivo con los sistemas convencionales.

Por otra parte, el tratamiento biológico de las aguas residuales principalmente de origen municipal a través de filtración combinada se puede realizar de formas más económicas y en menores terrenos que con procesos convencionales (Valdivia, 1998).

II.3 Formación y composición de la biopelícula

En los filtros combinados, al igual que todos los tratamientos biológicos, se forma lo que comúnmente se conoce como biopelícula y que se refiere al crecimiento de microorganismos sobre un material inerte que puede ser piedras o materiales plásticos, formando una película biológica que se mantiene en contacto con el agua residual de manera continua o intermitente (Winkler, 1994).

De acuerdo con González-Martínez (1998), las biopelículas son conglomerados de microorganismos donde predominan las bacterias heterótrofas impartiendo al conjunto adhesión mediante la producción de polímeros. Cuando una superficie inerte limpia se pone en contacto con agua residual y oxígeno atmosférico, la biopelícula se forma dependiendo de las características de la superficie del material (afinidad al agua, porosidad, carga electrostática). Una vez que existen las condiciones para que las bacterias se fijen, el crecimiento de la biopelícula se lleva a cabo en etapas. Characklis y Marshall (1990) indican cuatro etapas para la formación de biopelícula (figura 3).

1.- Colonización. Las bacterias entran en contacto con la superficie y se adhieren a ella para realizar una colonización incipiente.

2.- Adherencia. Una vez adheridos algunos microorganismos, se inicia el desarrollo de las primeras capas de bacterias que utilizan mecanismos para garantizar su adherencia y de las generaciones siguientes. Por lo general, este proceso lo logra una sola especie de rápido crecimiento que forma una película delgada que cubre toda la superficie.

3.- Oportunismo. Al existir una primera película, otros organismos de más lento crecimiento tienen la oportunidad de encontrar acomodo aprovechando esta primera biopelícula o utilizarla como soporte para su crecimiento. Conforme transcurre el tiempo un mayor número de especies tienen oportunidad de utilizar la biopelícula como medio de vida.

4.- Estabilización. Esta fase se lleva a cabo cuando, desde un punto de vista teórico, se tienen todas las especies presentes y se ha alcanzado un equilibrio teórico. Desde el punto de vista ecológico, el tiempo de "maduración" es diferente para cada sistema y se refiere al tiempo que el sistema requiere para que se establezcan las relaciones entre los diferentes organismos. Desde el punto de vista práctico, el número de individuos de cada especie cambiará de acuerdo a los factores bióticos y abióticos.

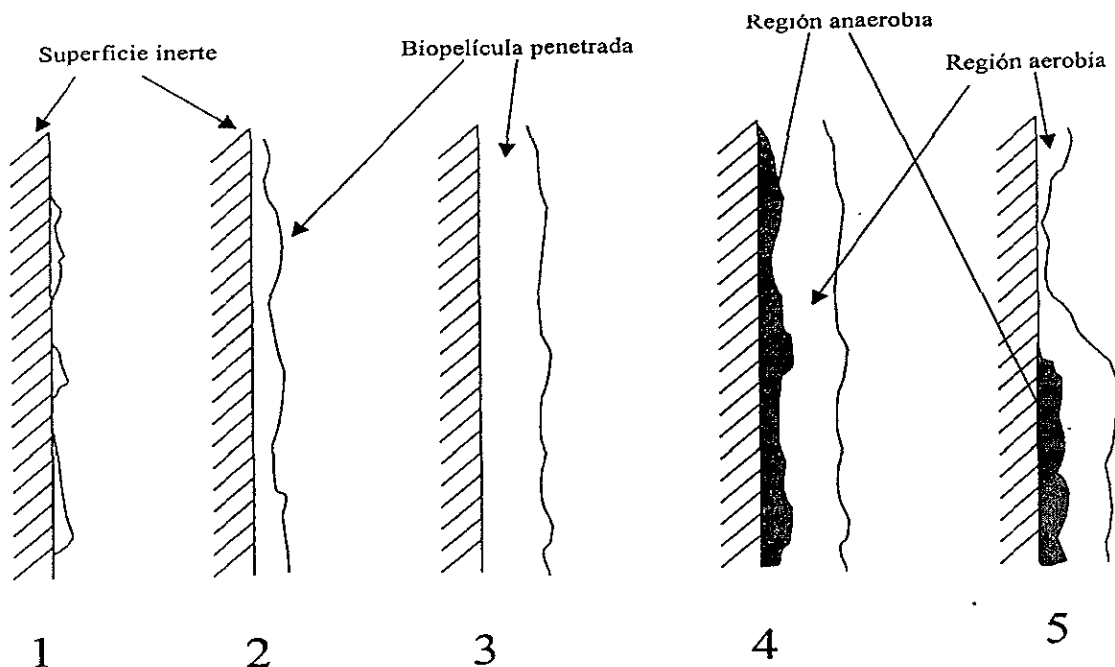


Figura 3. Etapas del desarrollo de la biopelícula (tomado de González-Martínez, 1998)

La composición de las biopelículas utilizadas en los diferentes sistemas de tratamiento de aguas residuales depende principalmente de la cantidad y calidad del alimento

disponible y de las condiciones ambientales. Generalmente están presentes los siguientes grupos de microorganismos:

Bacterias. Characklis y Marshall en González-Martínez (1998) señalan los principales géneros observados en filtros rociadores y biodiscos, donde son predominantes las bacterias heterótrofas con la presencia de algunas nitrificantes en área de baja carga orgánica, entre los principales géneros menciona a *Achromobacterium*, *Alcaligenes*, *Beggiatoa*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Sphaerotilus* y *Zooglea*. La masa de este grupo es superior al 90% expresada como materia seca (González-Martínez, 1998).

Protozoarios. Se distinguen tres grupos principales: flagelados (como *Peranema*, *Bodo* y *Diplosiga*), amebas (como *Astramoeba*, y *Thecamoeba*) y sobre todo ciliados (*Paramecium*, *Vorticella*, *Aspidisca*, *Opercularia*, entre otros), y pueden llegar a alcanzar valores medios de 5,000 individuos por mililitro en los reactores biológicos constituyendo aproximadamente el 5% del peso seco de los sólidos en suspensión en un tanque de lodos activados (Hartmann, 1983).

Metazoarios. Su presencia en los sistemas de tratamiento es menor que la de los protozoarios pero también desempeñan una función importante ayudando al desprendimiento de la biopelícula. Entre los principales metazoarios están los rotíferos (como *Rotaria* y *Cephalodella*) y nemátodos; los primeros eliminan bacterias dispersas y protozoarios, los nemátodos también depredan bacterias y protozoarios pero pueden presentar formas saprozoicas capaces de alimentarse de la materia orgánica disuelta e incluso de materia de la biopelícula (Slàdeček, 1983).

Aun cuando cada grupo desempeña una función concreta en el sistema, la aparición y abundancia de las especies de ciliados reflejan las distintas condiciones fisicoquímicas existentes por lo que resultan ser un índice muy útil para valorar la eficiencia del proceso depurativo, lo que se le conoce como bioindicación. El rango y proporciones de las diferentes especies de organismos presentes depende de las condiciones de operación del sistema, especialmente la carga orgánica y la composición de nutrimentos de las aguas residuales (Winkler, 1994). El equilibrio entre las especies también varía con la situación dentro del lecho, y cuando la unidad está situada al aire libre, el equilibrio ecológico mostrará también variaciones estacionales (EDAR, 1999).

II.4 Importancia de los Protozoarios ciliados dentro del tratamiento biológico

Clasificados como protozoarios se encuentran aproximadamente 65,000 diferentes organismos cuya característica fundamental es la de ser unicelulares y eucariontes; la gran mayoría son microscópicos (Martínez y Gutiérrez, 1985). Al parecer este grupo evolucionó por diversos caminos y además tuvo un origen polifilético por lo que incluye una extensa variedad de seres vivos totalmente diferentes entre sí. Los protozoarios han logrado explotar una gran diversidad de ambientes, principalmente lugares donde hay humedad o una película de agua (Martínez y Gutiérrez, 1985). Su tamaño varía entre 10 μm y 3 mm de longitud; los hay desde solitarios hasta coloniales y pueden ser autótrofos aunque la mayoría son heterótrofos (Kudo, 1972).

Dentro del tratamiento de aguas residuales, los protozoarios son una de las comunidades más abundantes. De acuerdo con Curds (1975), son cinco los grupos de protozoarios que se han encontrado: Phytomastigophorea, Zoomastigophorea, Rhizopodea, Actinopodea y Ciliophora; siendo dominantes los ciliados en cualquiera de los diferentes sistemas. Curds y Cockburn (1970) examinaron muestras de agua del efluente de 52 filtros percoladores, y todos ellos contenían protozoarios ciliados, por lo que concluyeron que los ciliados son generalmente más abundantes que los otros grupos.

Los protozoarios ciliados son responsables de una considerable proporción de la purificación de aguas residuales. Resultados experimentales con agua residual doméstica, mostraron que cuando están presentes existe mayor remoción de contaminantes, hasta en un 40% para el material orgánico disuelto (medido como demanda química de oxígeno); 50% en contenido de nitrógeno orgánico y de 70% tanto en sólidos suspendidos como en bacterias (Duncan, 1976). Los protozoarios también inciden de manera directa sobre la mineralización de los compuestos orgánicos es decir, que propician la estabilidad del material contaminante, lo cual reduce la interacción de éste con el ambiente (Wiggins y Alexander, 1988).

El agua de un filtro biológico tiene una apariencia turbia causada por los flóculos suspendidos de bacterias y materia orgánica. Los protozoarios ciliados son los responsables de eliminar los flóculos al utilizarlos como alimento por ello, los efluentes que se obtienen en presencia de estos microorganismos son de mejor calidad. Por otra parte, son los depredadores de las bacterias que forman la biopelícula, lo cual favorece el recambio de éstas (González-Martínez, 1998).

Durante el desarrollo y sucesión de las poblaciones de microorganismos, la calidad del efluente se va mejorando debido a la actividad depredadora de los protozoarios y es precisamente esta relación entre la calidad del efluente y las especies de protozoarios presentes, lo que ha llevado a varios autores a usarlos como indicadores de la calidad del efluente (Curds, 1975). En este sentido, los trabajos realizados hasta el momento han sido encaminados a asociar a las poblaciones de ciliados encontrados de manera frecuente, con el nivel de contaminación por materia orgánica biodegradable, susceptible de ser cuantificada química o bioquímicamente (Curds y Cockburn, 1970; Slàdeček, 1981; Slàdeček, 1985; Luna-Pabello, 1987; Kinner y Curds, 1987; Luna-Pabello *et al.*, 1990; Al-Shahwani y Horan, 1991).

II.5 Papel indicador de los ciliados

Un sistema saprobio es un método (o grupo de métodos) propuesto para la evaluación del grado total de contaminación orgánica en una escala particular, usando como parámetro la presencia o ausencia de especies biológicas o comunidades (Curds, 1969). Detalladas discusiones acerca de los "pros" y "contras" de los sistemas saprobios, y de la valoración de la calidad del agua, se han suscitado entre especialistas (Amavis y Smeets, 1975; Moog, 1991; Slàdeček, 1973). Existen diversas escalas saprobias (como la de Kolkwitz y Marsson, 1909, modificada por Liebmann en 1962), pero las más utilizadas son la que distinguen cuatro zonas de contaminación usando parámetros químicos (contenido de oxígeno) y biológicos (organismos saprobios) específicos (Amavis y Smeets, 1975; Moog, 1991; Slàdeček, 1973; Pantle y Buck, 1955 y Zelinka y Marvan, 1961):

1.- *Polisaprobia*. Zona de alta contaminación con materia orgánica, muy poco o sin oxígeno disuelto. Poca diversidad, especialmente bacterias y protozoarios heterotróficos, con una alta abundancia.

2.- *Alfa-mesosaprobia*. Es una zona con poco oxígeno presente donde apenas comienza la mineralización. La diversidad es mayor que en la zona polisaprobia; el número de organismos por especie sigue siendo alto, las bacterias y los protozoarios siguen dominando.

3.- *Beta-mesosaprobia*. Zona donde la descomposición de los productos se aproxima a la mineralización y el déficit de oxígeno es menor. Una gran diversidad de protozoarios, algas y larvas de otros organismos están presentes, con baja abundancia en comparación con las dos zonas anteriores.

4.- *Oligosaprobia*. La mineralización de la materia orgánica es completa y el agua está saturada de oxígeno. Una gran diversidad de algas y larvas de artrópodos ocurren con muy baja abundancia. Los protozoarios son escasos en esta zona.

De acuerdo con Foissner (1992), muchos organismos indicadores (más de 40 especies) de varios grupos de bacterias, protozoarios autótrofos y heterótrofos son usados para evaluar la calidad del agua. Estos pueden ser valorados con simples observaciones al microscopio y la ubicación de las especies en la clasificación saprobia. Por ello los "índices bióticos" se han sugerido como una forma de reducir la complejidad de las mediciones cuantitativas (Washington, 1994).

Foissner (1992) sugiere dos índices saprobios para evaluar la calidad de aguas corrientes:

- ◆ Índice saprobio de Pantle y Buck (1955)

$$ISPB = \frac{\sum (N \cdot SI)}{\sum N}$$

Donde:

N = número de individuos estimados para cada especie (abundancia relativa) y puede tomar cualquiera de los siguientes valores, según el observador. 1= los menos abundantes; 3= abundantes y 5=los más abundantes.

SI = es el índice saprobio de cada especie en particular (i).

- ◆ Índice saprobio de Zelinka y Marvan (1961).

$$ISZM = \frac{\sum (N \cdot I \cdot r_i)}{\sum (N \cdot I)}$$

Donde:

N = número de individuos estimados para cada especie y puede tomar cualquiera de los siguientes valores, según el observador. 1=pocos; 3=algunos y 5=muchos

I = Importancia o peso indicativo de la especie y toma valores de 5 a 1.

r_i = Valencia saprobio de la especie (i).

Ambas clasificaciones son similares, sólo que la segunda muestra la situación de la contaminación más detallada debido a que el índice saprobio es calculado independientemente para cada clase saprobio.

Foissner (1992) señala algunas consideraciones para estos índices que deben tenerse en cuenta:

- 1.- Las muestras tomadas directamente del agua corriente son más eficaces y prácticas que las tomadas de un substrato artificial.
- 2.- Un cálculo significativo del índice saprobio, necesita al menos 15 especies indicadoras identificadas.
- 3.- Los índices saprobios son simples construcciones matemáticas y por ello deben compararse con otros parámetros como indicadores químicos.
- 4.- La saprobiedad (= contaminación con residuos orgánicos degradables) debe valorarse usando diversos grupos de organismos indicadores (protozoarios y macroinvertebrados) no sólo organismos individuales que a menudo prefieren ciertos niveles saprobicos. Por ejemplo, los protozoarios heterótrofos son usualmente usados como indicadores de la alfa y polisaprobiedad, mientras que los insectos son confinados a biotopos beta y oligosaprobios.
- 5.- Comparar índices de saprobiedad en el espacio y el tiempo, de acuerdo con la prueba estadística de Tümping (1966).
- 6.- Los sistemas saprobios no pueden ser aplicados para aguas que reciban venenos o residuos no biodegradables.

A partir de lo anterior se puede inferir que es posible encontrar una correspondencia entre determinadas poblaciones de protozoarios ciliados y un tipo particular de agua contaminada, mediante el estudio previo y simultáneo de parámetros fisicoquímicos y el análisis de los ciliados mediante muestras consecutivas de un sistema o cuerpo de agua particular.

II.6 El sistema de depuración como un ecosistema artificial

El sistema de depuración de aguas residuales es un ecosistema artificial en donde los organismos vivos (biocenosis) están representados con mayor o menor abundancia, por grupos de microorganismos que constituyen comunidades complejas interrelacionadas entre sí y con el medio físico que las rodea en la planta de tratamiento (biotopo) (Madoni, 1991).

Estos microorganismos tienen una estructura (componentes y factores) y una dinámica (en el tiempo y en el espacio). En los sistemas de tratamiento los componentes abióticos están representados por las instalaciones de la planta y las aguas residuales y los bióticos por los descomponedores (bacterias, hongos y algunos protozoarios flagelados) y consumidores (protozoarios y metazoarios), que se alimentan de bacterias y de otros organismos formando una cadena alimentaria (EDAR, 1999, Sleight, 1989) según se indica en la figura 4.

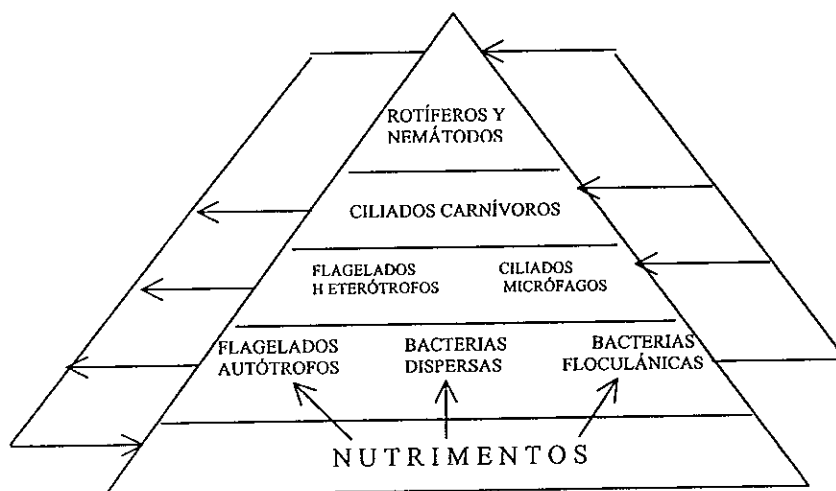


Figura 4. Cadena alimentaria en los sistemas de tratamiento (Modificado de EDAR, 1999)

En el primer nivel se encuentran los compuestos orgánicos presentes en las aguas residuales (nutrimentos). Estos compuestos son degradados por las bacterias que a su vez sirven de alimento a los flagelados y ciliados bacterívoros. Los flagelados pueden ser devorados por ciliados o por metazoarios. Los ciliados que se alimentan de bacterias y flagelados (tanto autótrofos como heterótrofos) son consumidos a su vez por algunos ciliados carnívoros o por los metazoarios (Sánchez y Lugo, 1993). Parte de la materia orgánica procedente de las células muertas se incorpora de nuevo al ecosistema en forma de nutrimentos.

Estas sucesiones de microorganismos que tienen lugar en los sistemas biológicos, no sólo ocurren como resultado de relaciones tróficas, sino que pueden ser debidas también a alteraciones ocasionales pero significativas del proceso de depuración, provocadas a veces para mejorar el rendimiento como es la manipulación sobre el tiempo de retención celular (AYMA, 1997).

Por otra parte, algunos autores (Schoener, 1984; Bahr, 1982; Cairns y Henebry, 1982 y Pratt y Cairns, 1985) sugieren que los protozoarios pueden agruparse en categorías funcionales, como una forma simplificada de estudiar la abundancia y actividad de los mismos en los ecosistemas. Estos autores señalan que existen diversas ventajas, que reducen la necesidad de estudios taxonómicos detallados de una comunidad en particular, al utilizar grupos funcionales:

- a) Reducen la necesidad de identificar específicamente a los microorganismos.
- b) Simplifican la información sobre la estructura de la comunidad.
- c) Se reduce el tiempo de análisis por muestra.
- d) Incrementan la cuantificación del número de muestras.
- e) La identificación de grupos funcionales, disminuye el número de especies enumeradas pero se incrementa la enumeración de individuos (o la biomasa relativa de individuos) en cada categoría.

Pratt y Cairns (1985) distinguen seis grupos funcionales en los que se pueden agrupar los protozoarios.

1. **Autótrofos fotosintéticos.** Fitoflagelados que son productores primarios, la clorofila, cromoplastos y otros pigmentos accesorios siempre están presentes. Su nutrición es holofítica. En este grupo se incluyen formas que son principalmente fotosintéticas, aunque se ha observado que algunos de estos organismos (como *Cryptomonas*) depredan bacterias.
2. **Bacterívoros-detrítívoros.** Formas holozoicas que se alimentan de bacterias y partículas de detritos con bacterias adheridas. Este grupo es el más grande en el esquema de clasificación. No hay una diferenciación entre las formas que se alimentan selectivamente de bacterias (algunas amebas) y los que simplemente ingieren partículas en rangos de tamaño apropiado. El tamaño de los organismos varía ampliamente en este grupo (por ejemplo *Bodo* y *Spirostomum*).
3. **Saprotrofos.** Formas holozoicas que se alimentan de moléculas disueltas en el medio (*Chilomonas* y *Anthophysis*). El origen de estas moléculas puede ser producto de la digestión celular liberada por acción directa del organismo de interés, o puede estar libre en el medio debido a la acción de otros organismos.
4. **Alguívoros.** Formas holozoicas que se alimentan principalmente de algas, especialmente diatomeas y pequeños filamentos (*Bursaria* y *Euplotes*).
5. **Omnívoros no selectivos.** Formas holozoicas que se alimentan de una gran variedad de alimentos sin preferencia aparente (*Phacodinium* y *Dileptus*). Muchos de los incluidos en este grupo se alimentan tanto de algas como de bacterias y detritos.
6. **Depredadores (carnívoros).** Formas holozoicas que se alimentan principalmente de otros protozoarios (no fotosintéticos) o de taxa superiores (rotíferos por ejemplo). Este grupo incluye especies comúnmente rapaces como *Didinium* y *Trachelius*.

OBJETIVOS

III.1 General

- ❖ Relacionar la calidad del agua tratada en un filtro biológico combinado con la presencia y abundancia relativa de protozoarios ciliados en función de la concentración del material orgánico contaminante y de las condiciones de operación del filtro.

III.2 Específicos

- ❖ Identificar y determinar la abundancia relativa de los protozoarios ciliados que se desarrollan en la biopelícula expuesta a tres diferentes concentraciones de contaminantes orgánicos (3, 7 y 9 gDQO/m².d)
- ❖ Determinar la cantidad de contaminantes orgánicos a la entrada y salida del filtro, y su relación con la presencia de protozoarios ciliados.
- ❖ Determinar para cada carga orgánica, la calidad del agua tratada en el sistema con el índice saprobio.

METODOLOGÍA

IV.1 Diseño y características del filtro

El filtro biológico combinado que se utilizó en el presente trabajo fue construido en la planta de tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria por Valdivia (1998). Este filtro consiste de un tubo de PVC hidráulico de 3 m de largo colocado en posición vertical; tiene un diámetro de 30 cm y un espesor de pared de 6 mm. La base del filtro lo forma una placa de acero de 6 mm de espesor, la cual soporta el medio filtrante. Una estructura de ángulo de acero en forma de tripié es la que soporta el filtro (figura 5).

Medio filtrante: Se utilizó piedra de tezontle como medio filtrante ya que tiene una gran porosidad, rugosidad, área superficial y es de bajo costo, además de encontrarse fácilmente en el mercado. El tezontle fue tamizado a través de una malla (apertura de 11.7 mm) para obtener partículas del mismo tamaño y tener una medida precisa del área superficial. El diámetro promedio de las piedras fue de 12 mm y con éstas se empacó el filtro hasta una altura de 1 metro (figura 5).

Con las partículas de tezontle tamizadas se realizaron repetidas pruebas en el laboratorio para determinar la porosidad del medio (Weber, 1979), la porosidad de las piedras (Iwai y Kitao, 1994), el área superficial y la densidad. Posteriormente estas pruebas se realizaron directamente con el filtro, obteniéndose resultados similares. Las características del tezontle utilizado fueron las siguientes:

Superficie específica del lecho, expuesta para la fijación de la biopelícula: 15.9 m².

Porosidad del lecho: 50.2%.

Volumen ocupado por el lecho: 30.9 litros.

Volumen disponible para el agua: 30.6 litros.

Nivel del agua dentro del filtro: 10 cm por arriba del lecho.

Oxigenación: La introducción de aire al filtro se hizo por la parte inferior del mismo, a través de un difusor de aire en forma de "H" colocado sobre la base del filtro. Este aire provino de un compresor instalado lejos del filtro y por una vía independiente, suficiente para oxigenar todo el medio. La cantidad de oxígeno aportado al filtro fue constante (0.4 kg/cm^2).

Entrada y salida de agua: El agua residual que se utilizó es la que llega a la planta de tratamiento la cual proviene, una parte de Ciudad Universitaria y otra de la colonia Copilco el Alto. El agua se introdujo por la parte superior del filtro con una bomba centrífuga de $\frac{1}{4}$ HP conectada a la red de alimentación de un sistema de discos biológicos de la planta de tratamiento. El flujo del agua entrante es descendente pasando a través del lecho filtrante y saliendo por la parte inferior hacia el desagüe.

Lavado: Como en este tipo de filtros el medio soporta las partículas sólidas provocando un taponamiento progresivo del filtro que se refleja en un incremento de la columna de agua sobre el medio, por ello es necesario mantener el lecho filtrante en buenas condiciones. En este caso, el lavado consistió en la aplicación de un chorro de agua de la llave y aire a alta presión desde el fondo del filtro para lavar por arrastre el exceso de biopelícula. El aire se proporcionó por la misma vía de alimentación de aire para la oxigenación pero con un compresor independiente a una presión de 100 lb/pulg^2 . El agua se suministró por otra vía con una bomba centrífuga de $\frac{1}{4}$ HP conectada al tanque de lavado previamente lleno con agua potable (figura 5). La salida del agua se localizó 40 cm por arriba del nivel del medio filtrante y se recibió en un tanque de 145 litros para su cuantificación. De acuerdo con pruebas anteriores (Valdivia, 1998) los lavados se realizaron cada 48 horas para permitir el establecimiento de los microorganismos y evitar el taponamiento del filtro.

Bombas de muestreo: Para la toma de muestras compuestas se conectaron dos bombas peristálticas (Cole-Parmer Masterflex, mod. 7016-21), una a la red de

alimentación para muestrear el influente, y otra en la salida del filtro para muestras del efluente (Figura 5).

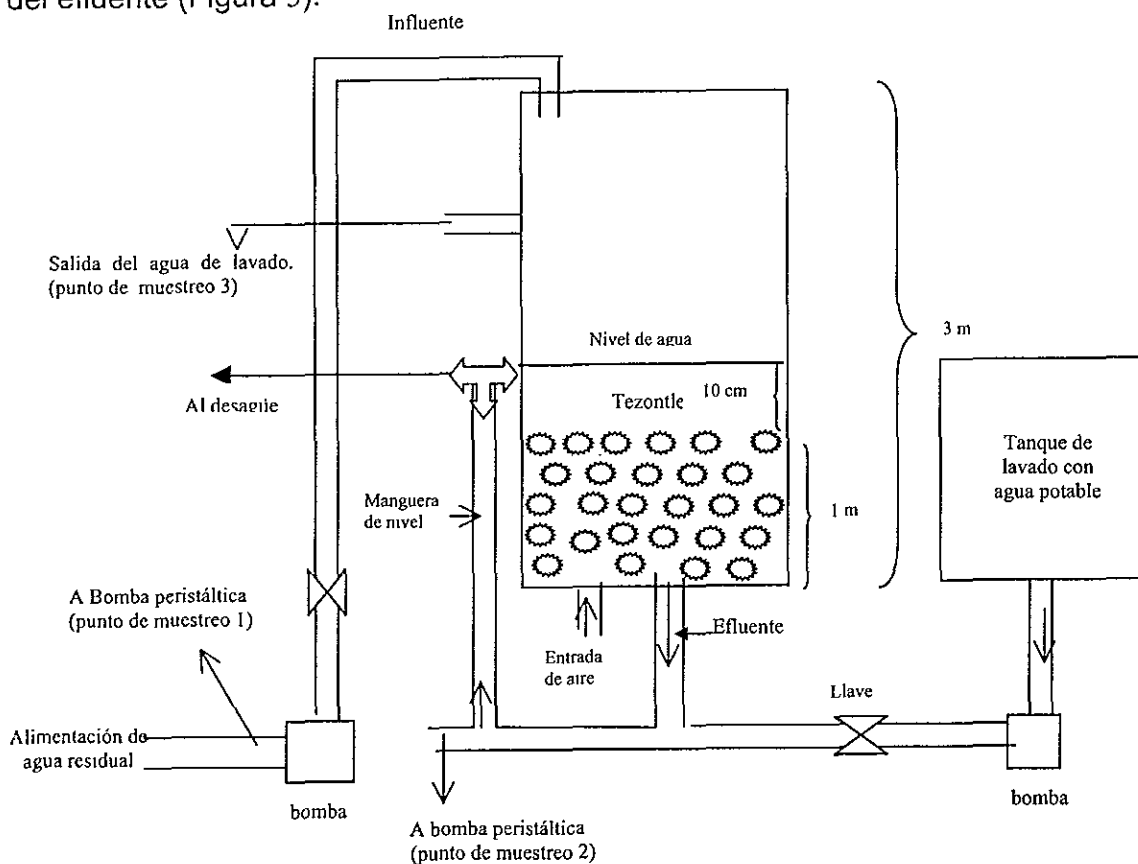


Figura 5. Esquema del filtro utilizado. Todo el sistema se operó a través de interruptores.

IV.2 Variables

Se analizaron tres cargas orgánicas (CO) medidas como DQO (demanda química de oxígeno). Las cargas fueron 3, 7, y 9 gDQO/m².d y se inició con la más baja. Para determinar cada carga se utilizó la siguiente relación:

$$C.O. = Q(DQO) / A_s$$

Donde:

Q = caudal promedio (ml/minuto)

A_s = área superficial del lecho, que en este caso fue de 15.9 m²

DQO = es la demanda química de oxígeno dada en gDQO/m².d

Para mantener constante la concentración del influente y debido a que el agua que entra a la planta presenta diferentes concentraciones de contaminantes a lo largo del día, la DQO del caudal se midió dos veces diarias (mañana y tarde) y de acuerdo al valor se regulaba el caudal a fin de mantener constante la carga.

El experimento duró 8 meses aproximadamente (finales de primavera a principios de invierno), iniciando la operación del filtro en abril de 1998, con la carga orgánica más baja ($3 \text{ gDQO/m}^2\cdot\text{d}$), dejándose trabajar dos semanas sin lavar para que se colonizara el medio filtrante por la población de microorganismos presentes en el agua residual y se formara la biopelícula. Durante este tiempo se observaron las piedras de tezontle cada tercer día para verificar la formación de biopelícula.

A partir de la tercera semana se empezó a lavar cada 48 horas y se inició el muestreo. Se decidió que los análisis fisicoquímicos del agua se realizaran cada 96 horas a partir de una sola muestra tomada en cada punto de muestreo (figura 5), pues se esperaba que el filtro tardara en estabilizarse ya que se inició con la carga orgánica más baja, además de que el tiempo de lavado retrasaría considerablemente tanto la colonización total del material filtrante por las bacterias, como la estabilización de las poblaciones de especies de protozoarios, pues con cada lavado la biopelícula se desprende del material filtrante, quedando éste con algunas reminiscencias en los poros que permiten iniciar nuevamente su colonización por microorganismos. En las figuras 1-3 del anexo 1, se muestra el medio filtrante antes y después del lavado, así como los flóculos que se desprendieron con él.

A partir del segundo mes fue notoria la presencia de la biopelícula, observándose los poros del tezontle ocupados por una lama grisácea y una capa mucosa en todo el resto de la superficie, por lo que se consideró el sistema estable, mismo que se confirmó por el inicio de la nitrificación, dando comienzo a la experimentación formal para los objetivos propuestos, realizando los análisis protozoológicos y fisicoquímicos cada 48 horas durante 3 semanas.

La experimentación con la segunda y tercera carga duró dos meses cada una, y de igual forma se realizaron los análisis protozoológicos y fisicoquímicos cada 48 horas durante 3 semanas. El cambio de una carga a otra se realizó inmediatamente después de haber concluido los análisis de la precedente y sólo consistió en incrementar el volumen de agua entrante, de acuerdo al valor de la DQO.

IV.3 Toma y número de muestras

Agua: Se tomó una muestra de 500 ml de agua para su análisis, tanto del influente (entrada de agua al filtro, punto de muestreo 1) como del efluente (salida del agua filtrada, punto de muestreo 2), a través de las bombas peristálticas que muestrearon continuamente para formar muestras compuestas de 48 horas. Con éstas muestras se realizaron los análisis fisicoquímicos.

Biopelícula. El agua obtenida en cada lavado (160 litros en promedio, punto de muestreo 3) se mezcló perfectamente y se tomó una muestra de 500 ml. Esta muestra se utilizó para los análisis protozoológicos.

Durante la primera carga (3 gDQO/m²·d) se tomaron muestras semanales en las fases inicial y estable de la carga. En la segunda (7 gDQO/m²·d) y tercera carga (9 gDQO/m²·d) solamente se tomaron muestras semanales en la fase estable.

IV.4 Determinación y abundancia de protozoarios ciliados

Para determinar la presencia y abundancia relativa de los protozoarios ciliados presentes en cada una de las cargas orgánicas, se utilizó la muestra de biopelícula obtenida del agua de lavado (punto de muestreo 3), la mitad de este volumen (250 ml) se fijó con formaldehído al 2% para preparaciones semipermanentes. Los otros 250 ml se utilizaron para las preparaciones temporales.

Preparaciones temporales

Se tomó una alícuota de la muestra en un portaobjetos y se observó al microscopio de contraste de fases en 10, 40 y 100x (con cámara fotográfica acoplada). Se observó toda el área del cubreobjetos para la identificación preliminar de los ciliados, además de determinar la abundancia relativa de cada especie de acuerdo a la escala propuesta por Pantle y Buck (1955 en Foissner, 1992). En total se observaron 15 preparaciones por cada muestra y se tomaron fotografías de los ejemplares observados.

Preparaciones semipermanentes

Se utilizó la técnica de impregnación argéntica con carbonato de plata amoniacal de Fernández-Galiano (1976). Para estas preparaciones, se usaron las muestras previamente fijadas con formaldehído. Se registraron algunas de las características morfológicas relevantes como longitud y anchura total del organismo, ciliatura y posición y forma del macronúcleo para poder identificarlos y ubicarlos taxonómicamente. Finalmente se tomaron fotografías de los ejemplares observados utilizando el mismo microscopio que en las preparaciones frescas.

La identificación específica de los protozoarios ciliados se realizó de acuerdo con la clave ilustrada de Curds (1969). La ubicación taxonómica de las especies identificadas se realizó de acuerdo al esquema propuesto por Small y Lynn (1985).

Con las especies identificadas se formaron grupos funcionales de acuerdo a lo propuesto por Pratt y Cairns (1985), para determinar las principales relaciones tróficas dentro del sistema.

Índice saprobio. En este trabajo se utilizó el índice saprobio de Pantle y Buck (1955), comparado con el índice propuesto por Slàdeček y Tucek (1975), para cada carga orgánica.

Índice saprobio de Pantle y Buck (ISPB). Se obtiene de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$ISPB = \frac{\sum (N \cdot SI_i)}{\sum N}$$

Donde:

N = número de individuos estimados para cada especie y puede tomar cualquiera de los siguientes valores, según el observador. 1= los menos abundantes; 3= abundantes y 5=los más abundantes.

SI = es el índice saprobio de cada especie en particular (i). Este valor fue tomado de las tablas propuestas por Foissner (1992).

El índice saprobio se calculó de acuerdo al siguiente ejemplo:

Especies	N	IS*	N·SI _i
A	1	2.8	2.8
B	3	1.9	5.7
C	3	3.5	10.5
.	.	.	.
G	5	4.8	14.4
Σ	19		63.5

$$ISPB = \frac{63.5}{19.0} \quad \boxed{ISPB= 3.3}$$

* El valor de ISPB es el correspondiente al índice saprobio del agua, de acuerdo con la siguiente clasificación:

Valor de ISPB	Características del agua
1.0 – 1.5	Limpia = oligosaprobia = calidad de agua clase I; color indicador: azul.
1.5 – 2.5	Ligera a moderadamente contaminada = beta-mesosaprobia = calidad de agua clase II; color indicador: verde
2.5 – 3.5	Contaminada = alfa-mesosaprobia = calidad de agua clase III; color indicador: amarillo
3.5 - ≥ 4.0	Fuertemente contaminada = polisaprobia = calidad de agua clase IV; color indicador: rojo

Índice saprobio de Slàdeček y Tucek (S). Este índice se determina con base a los valores de DBO_5 . La ecuación propuesta la obtienen como resultado final de una serie de análisis y demostraciones de la relación que existe, entre S y la DBO_5 . La ecuación es la siguiente:

$$S = \frac{K_2 \cdot S_0(L - L_0)}{1 + K_2(L - L_0)}$$

Donde la única variable es la $DBO_5 = L$; y los valores de K_2 , S_0 y L_0 son constantes y equivalen, para $0 \leq L \leq 2000$, a:

$$K_2 = 0.0021; \quad S_0 = 9.0 \quad \text{y} \quad L_0 = -420$$

Debido a que la DBO_5 se midió a la entrada y salida del filtro, esta fórmula se aplicó tanto al influente como al efluente.

IV.5 Análisis fisicoquímicos

De los diversos parámetros existentes para evaluar la calidad del agua, se seleccionaron aquellos que se consideraron fundamentales para ponderar el funcionamiento del sistema: Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5), pH, temperatura y oxígeno disuelto (OD). Además se evaluaron sólidos suspendidos totales (SST), nitratos ($N-NO_3$), nitrógeno amoniacal ($N-NH_4$) y total (N-total).

En la siguiente tabla se muestran los sitios de muestreo y los parámetros evaluados en cada uno.

SITIOS DE MUESTREO	PARAMETROS EVALUADOS					
	DQO	DBO_5	NH_4	NO_3	NT*	SST
INFLUENTE	✓	✓	✓	✓	✓	✓
EFLUENTE	✓	✓	✓	✓	✓	✓
BIOPELICULA			✓		✓	

* Nitrógeno total.

Temperatura, pH y oxígeno disuelto. Se tomaron registros diarios *in situ*. La temperatura y el pH se midieron con un multímetro ORION modelo 420, y el oxígeno con un oxímetro YSI modelo 57.

DQO. Este análisis se realizó cada 48 horas con las muestras de agua a través de fotometría, utilizando reactivos específicos para pruebas analíticas espectroquant de Merck (100-1500 mg/l).

DBO₅. Se determinó una vez por semana con las muestras de agua utilizando un Oxitop IS-6.

Nitratos y Amonio. Ambos se midieron cada 48 horas con las muestras compuestas, a través de fotometría utilizando reactivos específicos para pruebas analíticas Spectroquant de Merck (0-90 y 0.03-3.0 mg/l respectivamente).

Nitrógeno total. También se determinó con las muestras de agua a través de la prueba de Kjeldahl siguiendo el método estándar (APHA, 1992).

Sólidos suspendidos. Se cuantificaron en cada lavado los sólidos suspendidos totales (SST) por diferencia de pesos según el método estándar (APHA, 1992), y utilizando filtros Whatman de microfibra de vidrio, de 0.45 μm .

IV.6 Análisis estadístico

Con todos los resultados obtenidos se realizó un análisis de correlación (r), utilizando el programa SPSS versión 9.0, para poder interpretar la relación entre los parámetros fisicoquímicos y biológicos.

Debido a que el filtro estuvo expuesto a las condiciones ambientales y la única variable que se pudo controlar fue la cantidad de agua aportada al filtro, se tomaron como significativas los valores de r con una $p > \alpha = 0.25$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1 Análisis protozoológico

En total se identificaron 18 especies de ciliados; 13 de éstas presentes en la primera carga orgánica, 14 en la segunda y 10 en la tercera. Todas ellas se han registrado como habitantes típicos de aguas domésticas sin tratar o bajo tratamiento biológico, siendo en los filtros percoladores (Kinner y Curds, 1987; Sleigh, 1989) y los sistemas de lodos activados (Curds, 1969; Curds y Cockburn, 1970; Al-Shahwani and Horan, 1991; EDAR, 1999; Sládeček, 1981; Sleigh, 1989; Madoni, 1991) en donde han sido observadas. En el anexo 2 (figuras 1-21) se muestran las fotografías de los ejemplares identificados.

La ubicación taxonómica de estas especies se realizó según el esquema propuesto por Small y Lynn (1985) obteniéndose 5 clases, 10 órdenes y 14 familias como se muestra en el cuadro 1 del anexo dos. En la tabla 1 se muestran las especies encontradas en cada carga orgánica, su abundancia relativa, forma de vida y tipo de alimentación.

Tabla 1. Protozoarios ciliados encontrados en la fase estable de las tres cargas orgánicas

PROTOZOARIO CILIADO	PRESENCIA EN CARGA ORGÁNICA Y ABUNDANCIA RELATIVA*			HABITO ALIMENTARIO+	FORMA DE VIDA
	3 gDQO/m ² -día	7 gDQO/m ² -día	9 gDQO/m ² -día		
<i>Aspidisca cicada</i>	3	5	5	B	R
<i>Aspidisca lynceus</i>	3	5	5	B	R
<i>Amphileptus</i> sp.	-	1	-	C	LN
<i>Colpidium</i> sp.	1	-	-	B	LN
<i>Cyclidium</i> sp.	1	-	-	B	LN
<i>Chilodonella uncinata</i>	-	-	1	B	LN
<i>Epistylis plicatilis</i>	5	5	5	B	S
<i>Glaucoma</i> sp.	1	-	-	B	LN
<i>Litonotus fasciola</i>	3	3	3	C	LN
<i>Opercularia curvicaula</i>	3	1	1	B	S
<i>Oxytricha fallax</i>	-	1	-	B	LN
<i>Paramecium aurelia</i>	3	3	5	B	LN
<i>Paramecium caudatum</i>	3	3	5	B	LN
<i>Podophrya fixa</i>	1	1	-	C	S
<i>Stylonychia putrina</i>	-	1	-	B (**)	R
<i>Trachelophyllum pusillum</i>	3	3	3	C	LN
<i>Tokophrya quadripartita</i>	-	1	-	C	S
<i>Vorticella microstoma</i>	1	1	1	B	S
Total de especies	13	14	10		

*De acuerdo con Pantle y Buck (1955); 1= los menos abundantes; 3= abundantes y 5=los más abundantes. S= sésil, R= reptante, LN= libre nadador. + De acuerdo con Pratt y Cairns (1985): B= bacterívoro, C= depredador. (**) esta especie puede presentar hábitos caníbales.

V.2 Grupos funcionales

De acuerdo a la clasificación de Pratt y Cairns (1985), se observa que las 18 especies de ciliados se agrupan en dos categorías funcionales que corresponden a: 1) Bacterívoros (*Aspidisca cicada*, *A. lynceus*, *Colpidium* sp., *Cyclidium* sp., *Chilodonella uncinata*, *Epistylis plicatilis*, *Glaucoma* sp., *Opercularia curvicaula*, *Oxytricha fallax*, *Paramecium aurelia*, *Paramecium caudatum*, *Stylonychia putrina* y *Vorticella microstoma*) y 2) depredadores (*Amphileptus* sp., *Litonotus fasciola*, *Podophrya fixa*, *Trachelophyllum pusillum* y *Tokophrya quadripartita*). En la figura 6 se presenta el número de especies de ciliados que se encontraron en las tres cargas orgánicas, según su hábito alimentario. Es evidente que en las tres cargas orgánicas, el mayor número de especies correspondió a las bacterívoras; que disminuyeron ligeramente con el incremento de la carga (de 10 especies en la primera a nueve y ocho en la segunda y tercera respectivamente).

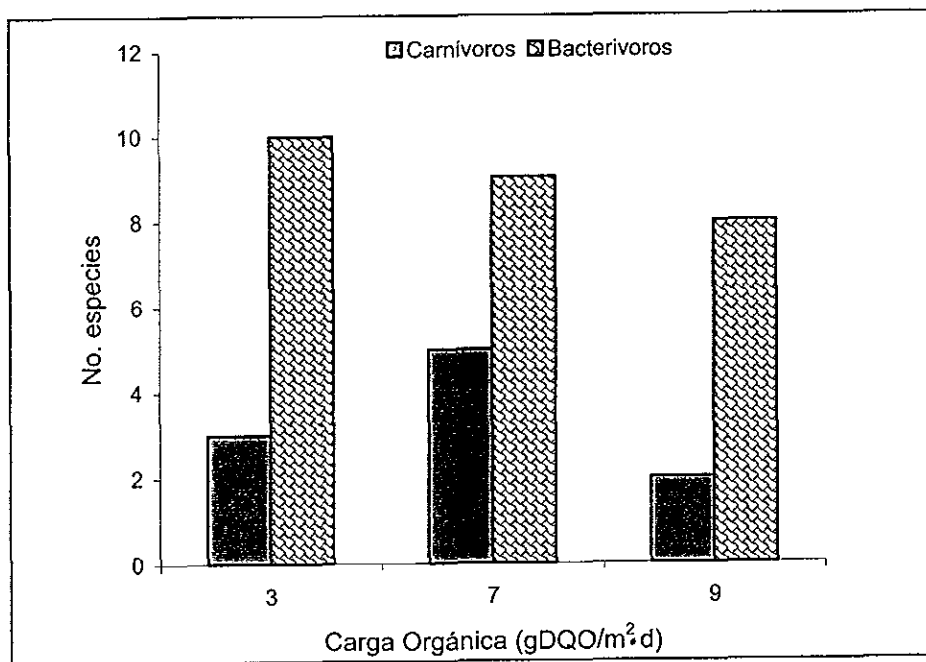


Figura 6 Número de especies en cada carga orgánica, según el tipo de alimentación.

Al existir grandes cantidades de ciliados bacterívoros en el sistema, las especies carnívoras pudieron proliferar debido a la gran cantidad de alimento que estas representan, esto explicaría el incremento de las especies de carnívoros de la primera a la segunda carga. En la tercera carga se observa un descenso de las especies carnívoras (de cinco en la segunda a dos en la tercera carga), esto se debió principalmente al incremento de la carga orgánica ($r=-0.98$ $p=0.12$).

En la primera carga están presentes *Litonotus fasciola*, *Trachelophyllum pusillum* y *Podophrya fixa*, con abundancias relativas de 3,3 y 1 respectivamente. Las dos primeras especies son libres nadadoras que se alimentan de peritricos sésiles y *Podophrya fixa* es un organismo sésil que se alimenta de ciliados y otros protozoarios libres nadadores (Curds, 1975). En la segunda carga aparecen además, *Amphileptus* sp. y *Tokophrya quadripartita* con una abundancia relativa de 1 en ambas especies. *Amphileptus* sp. es una especie libre nadadora que se alimenta de peritricos sésiles al igual que *Litonotus fasciola* y *Trachelophyllum pusillum*, por lo que es muy probable que los tres entren en competencia saliendo ventajosos estos últimos, posiblemente debido a que su abundancia fue mayor en comparación con *Amphileptus* sp., por lo que terminaron por desplazar a éste último razón por la cuál ya no aparece en la tercera carga orgánica.

Por otra parte, *Tokophrya quadripartita* es un organismo sésil y suctor, que también se alimenta de ciliados libres y otros protozoarios al igual que *Podophrya fixa*. Estas dos especies desaparecen en la tercera carga orgánica lo cual pudo deberse principalmente a la estación del año. Curds (1992) menciona que algunos ciliados están presentes en todo el año y algunos otros presentan una marcada incidencia estacional por ejemplo: *Litonotus* sp. y *Uronema* sp. generalmente están presentes en verano, mientras que *Cyclidium* sp., *Cinetochilum* sp y *Podophrya* sp. se encuentran en los meses de verano. Los análisis de la primera y segunda cargas se realizaron en los meses de abril a agosto (tablas 1 y 2 del anexo 3) que corresponden a las épocas de primavera y verano, y donde estuvieron presentes *Tokophrya quadripartita* y *Podophrya fixa*.

Sin embargo, estas especies desaparecen en la tercera carga, misma que se analizó en la época de otoño (octubre, tabla 3 del anexo 3).

V.3 Variación de protozoarios ciliados en las tres cargas orgánicas

En la figura 7 se muestra el número de especies en cada carga orgánica, según su forma de vida. Claramente se observa que, aunque las tres formas de vida están presentes en las tres cargas, existe una variación a lo largo de éstas.

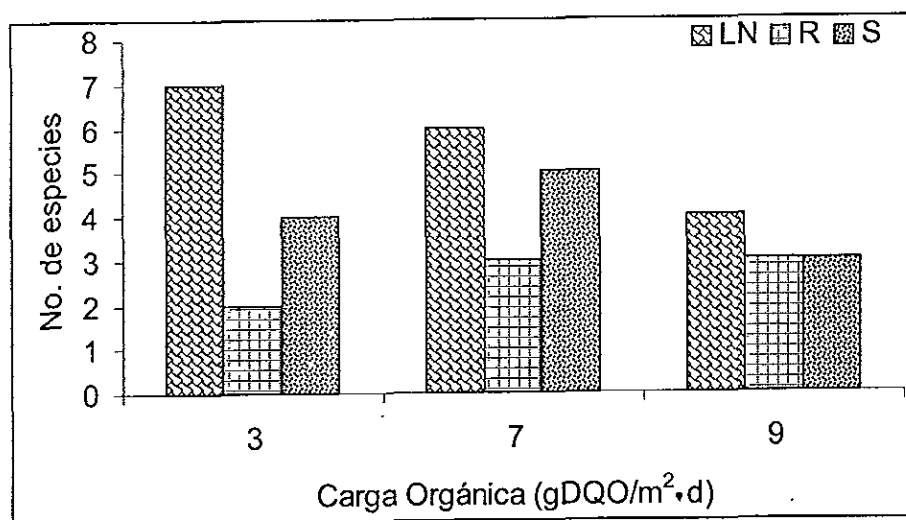


Figura 7. número de especies en cada carga según su forma de vida

Al inicio de la primera carga, se observó una gran cantidad de bacterias, flagelados principalmente del género *Peranema* sp. (figura 20 del anexo 2) y amebas desnudas (figura 21 del anexo 2), que entraron con el influente y que han sido reportados (Patterson y Hedley, 1992; EDAR, 1999) como característicos en las primeras etapas de la puesta en marcha del sistema, cuando las poblaciones estables de protozoarios ciliados no se han desarrollado todavía (curds, 1975 y 1992), debido a que resisten condiciones más extremas que los ciliados (Sánchez y Lugo, 1993). Las amebas y los flagelados se alimentan principalmente de bacterias dispersas por lo que su abundancia se incrementó rápidamente. Paulatinamente las bacterias van adhiriéndose al medio (tezonite) y se fue formando la biopelícula.

A la tercera semana el número de flagelados se redujo y aparecieron protozoarios ciliados bacterívoros (*Colpidium* sp., *Cyclidium* sp., *Glaucoma* sp., *Paramecium aurelia* y *P. caudatum*) y depredadores carnívoros (*Litonotus fasciola* y *Trachelophyllum pusillum*) que terminaron por desplazar a los flagelados. Estos ciliados que son libres nadadores contribuyen a la aglomeración de bacterias (Sleigh, 1989).

Al final de la primera carga orgánica el número de ciliados libres nadadores disminuyó ya que fueron siendo desplazados por especies reptantes (*Aspidisca cicada* y *A. lynceus*) y sésiles (*Epistylis plicatilis*, *Opercularia curvicaula*, *Podophrya fixa* y *Vorticella microstoma*) que también son bacterívoras, con excepción de *P. fixa*, pero que tiene mejores mecanismos de adaptación al sistema de tratamiento. Por ejemplo, las especies reptantes presentan estructuras bucales eficaces (EDAR, 1999) que les permiten "raspar" las bacterias de la superficie de la biopelícula; en cambio los libres nadadores se alimentan de bacterias dispersas y flóculos que se desprenden de la biopelícula, por lo que al reducirse su fuente de alimento como resultado de los continuos lavados y la aglomeración de bacterias, la cantidad y abundancia de especies libres nadadoras se redujo también. Además de que éstas son depredadas por organismos sésiles como *Podophrya fixa*, contribuyendo a su reducción.

Curds (1975) menciona que la velocidad del agua aportada al sistema puede afectar la presencia y abundancia de los protozoarios, en el presente trabajo el agua aportada al filtro se convertía en una corriente turbulenta formada por el aire proporcionado al sistema. Podemos suponer que este tipo de corriente también afectó a las especies libres nadadoras que tienden a salir con el agua del efluente. En cambio, las especies reptantes y sésiles pueden resistir más la turbulencia del agua debido a que las primeras "caminan" sobre y entre la biopelícula utilizando sus cirros que les permite tener una mayor adherencia sobre el medio (Madoni, 1991), y las especies sésiles están sujetas al medio a través de su pedúnculo.

Al incrementarse la carga orgánica (de 3 a 7 gDQO/m²·d), equivalente a una perturbación en términos ecológicos, las poblaciones de protozoarios se modificaron ligeramente, empezando por una nueva aparición de flagelados en los dos primeros días, pero con abundancias relativas muy bajas (de 1) por lo que nuevamente fueron desplazados por los ciliados libres nadadores. De estos últimos, desaparecieron tres especies bacterívoras (*Colpidium* sp., *Cyclidium* sp. y *Glaucoma* sp.) que resultaron ser las menos abundantes en la carga anterior (tabla1), y aparecieron dos nuevas: una bacterívora (*Oxytricha fallax*) y otra carnívora (*Amphileptus* sp.) con abundancia relativa de 1 en ambos casos. También apareció una nueva especie reptante (*Stylonychia putrina*) y una sésil (*Tokophrya quadripartita*), la primera bacterívora y la segunda depredadora con abundancia relativa de 1.

De manera general vemos que el incremento de la carga afectó negativamente el número de especies libres nadadoras ($r = -0.99$, $p = 0.12$), principalmente las que presentaron una alimentación bacterívora ($r = -0.94$, $p = 0.21$), esto explica la desaparición de las tres especies bacterívoras como resultado de su poca tolerancia a cambios bruscos en la concentración de contaminantes. Estas especies fueron reemplazadas por otras con mayores rangos de tolerancia a la concentración de contaminantes, una de las cuales (*Stylonychia putrina*) es reptante y, de acuerdo a lo explicado en párrafos anteriores, sus estructuras bucales la hacen mejor competidora.

A pesar de la variación en el número y abundancia relativa de las poblaciones de ciliados en esta segunda carga, podemos ver que la perturbación no fue lo suficientemente fuerte para cambiar totalmente la composición de ciliados de la primera carga, por lo que solo se afectaron las especies con estrechos intervalos de tolerancia. Esto se muestra en la figura 8, donde se puede ver que las especies libres nadadoras disminuyeron de la primera a la segunda carga, seguidas por el incremento en el número de especies reptantes y sésiles. Esta variación es semejante a lo reportado por diversos autores (Curds, 1975, 1992,

Sleigh, 1989, Madoni, 1991, Sánchez y Lugo, 1993, Al-Shahwani y Horan, 1991) como una sucesión típica en los sistemas de tratamiento.

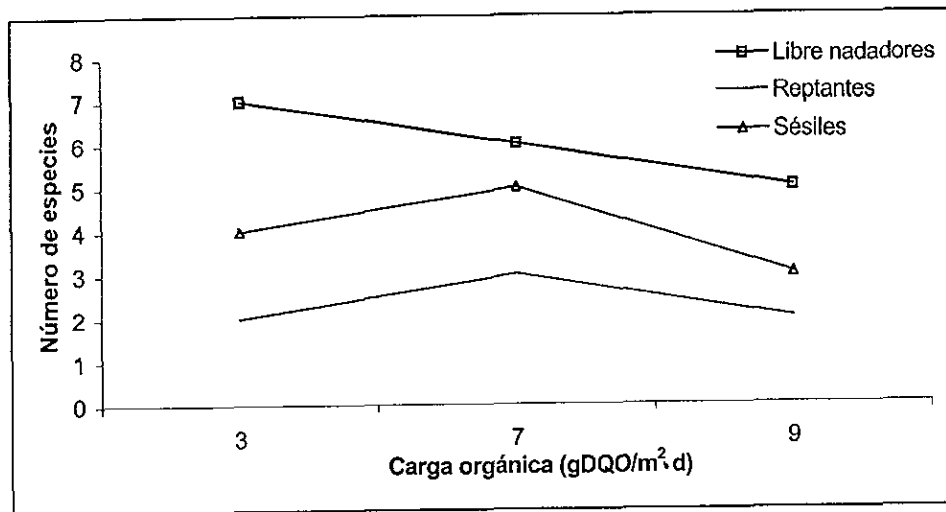


Figura 8. Reemplazo de protozoarios ciliados a lo largo de las tres cargas orgánicas.

Al aplicar otra perturbación (incrementar la carga orgánica a lo triple de la primera), nuevamente el sistema sufre un cambio en su composición de especies. Desaparecen dos especies libres nadadoras: una carnívora (*Amphileptus* sp.) y otra bacterívora (*Oxytricha fallax*), una reptante bacterívora (*Stylonichia putrina*) y dos sésiles carnívoras (*Podophrya fixa* y *Tokophrya quadripartita*). Todas estas especies resultaron ser las menos abundantes en la segunda carga orgánica (abundancia relativa de 1), al igual que las especies que desaparecieron de la primera a la segunda carga. Esto apoya la propuesta hecha por Sousa (1984) quién sugiere que la abundancia inicial de las poblaciones tiene algún tipo de relación con la sobrevivencia de éstas después de una perturbación. Bajo este contexto, las especies con abundancias muy altas pueden tener mayor probabilidad de que al menos un individuo logre sobrevivir a la perturbación, ésta probabilidad puede disminuir considerablemente en las especies con bajas abundancias. Sin embargo, como se acaba de mencionar, éstos resultados pueden apoyar esta suposición más no la comprueban totalmente.

También se observó la aparición de una nueva especie libre nadadora (*Chilodonella uncinata*, que en este caso se comportó como bacterívora) con una abundancia relativa de 1. A pesar de esto, la variación poblacional de ciliados parece continuar en esta tercera carga según se muestra en la figura 8, donde se observa que la tendencia general de los libres nadadores a disminuir, continúa en esta tercera carga; los reptantes y sésiles disminuyen ligeramente lo cual se explica por la competencia que se da entre ellos por ser dominantes en el sistema. De acuerdo con diversos autores (Curds, 1975, 1992, Sleight, 1989, Madoni, 1991, Sánchez y Lugo, 1993, Al-Shahwani y Horan, 1991), este tipo de competencia es característica de un sistema de tratamiento maduro.

La madurez de una biopelícula se obtiene, desde el punto de vista teórico, cuando están presentes todas las especies y se ha alcanzado un equilibrio trófico. Desde el punto de vista ecológico, el tiempo de maduración es el que el sistema requiere para que se establezcan las relaciones entre las diferentes especies y el número de individuos de cada una no cambie con respecto al tiempo (González-Martínez, 1998).

La estabilización de las relaciones tróficas puede darse a través del tiempo en los sistemas de tratamiento, siempre y cuando la concentración de material contaminante aportado al sistema sea constante y los factores abióticos también. De acuerdo con esto, en el filtro biológico utilizado para este trabajo, la estabilidad de los microorganismos no llega a darse debido al cambio en la concentración del material contaminante y a los constantes lavados aplicados al sistema para eliminar el exceso de biopelícula.

Podemos ver entonces, que el comportamiento y la variación de ciliados en este sistema es muy semejante a la sucesión que se da en los sistemas aerobios convencionales como lodos activados (Curds, 1969, 1975, 1992; Sánchez y Lugo, 1993; Madoni, 1991), biodiscos (Luna-Pabello *et al.*, 1990; Luna-Pabello, 1987; Sánchez y Lugo, 1993, Rivera *et al.*, 1988) y filtros percoladores (Sánchez

y Lugo, 1993). Sin embargo, en este filtro combinado, esta aparente sucesión de ciliados se dio a través de las tres cargas orgánicas, ya que el incremento de la carga orgánica no fue lo suficientemente intenso para alterar totalmente la composición original de las especies de ciliados y solo provocó la desaparición de las especies menos tolerantes o competitivas que resultaron ser las de menor abundancia en las cargas donde se presentaron. Sin embargo, los constantes lavados no permitieron la estabilidad de éstas.

Finalmente podemos señalar que la segunda carga orgánica fue la que presentó a mayor diversidad de especies (77.7% del total identificadas), además de todas las especies reptantes y sésiles encontradas. Esto último nos indica un efluente de mejor calidad en comparación con las otras cargas, pues se ha reportado (Curds, 1975, EDAR, 1999) que las especies reptantes y sésiles son las más frecuentes en sistemas que funcionan adecuadamente.

V.4 Diversidad de protozoarios ciliados y su relación con los parámetros fisicoquímicos.

En la tabla 2 se muestran los valores promedio de los parámetros evaluados durante las tres cargas orgánicas, así como el porcentaje de remoción de nutrientes; y en las figuras 9 y 10 se observa la relación entre los grupos funcionales de ciliados y los parámetros fisicoquímicos. Debido a que la concentración de contaminantes que entran al sistema es lo que afecta la presencia y abundancia de protozoarios (Curds, 1975, 1992, Madoni, 1991, Sleigh, 1989), se utilizaron los valores promedio del influente para hacer los análisis de correlación.

De acuerdo con la figura 9 y los coeficientes de correlación obtenidos, se observó un ligero efecto de la DBO_5 sobre las especies reptantes ($r=-0.94$, $p=0.21$), pero la DQO no mostró ningún efecto sobre los ciliados. Sin embargo,

estos coeficientes no nos explican la presencia de las especies a lo largo de las tres cargas pero si nos permiten inferir un posible efecto sobre ellas.

Tabla 2. Valores promedio de los resultados obtenidos durante las tres cargas orgánicas

Parámetro (mg/l)	CARGA ORGÁNICA (gDQO/m ² ·d)								
	3			7			9		
	IN	EF	% REM	IN	EF	% REM	IN	EF	% REM
DQOt	291	43	85	215	40	81	212	33	85
DBO ₅	86	11	87	80	10	88	84	12	86
SST	127	36	72	23	4	83	151	29	81
N-NH ₄	33	4	88	43	8	81	45	10	78
N-NO ₃	0.4	6	-	0.6	35	-	0.5	34	-
N-total	50	7	86	51	12	76	62	20	68
Parámetros evaluados sólo en el interior del filtro									
Biomasa (g)	30.5			42			107		
Temp. (°C)	11			12.5			14		
pH	6.25			6.1			7.25		
OD (mg/l)	5.5			5			5		

IN= influente, EF= efluente, %REM= % de remoción

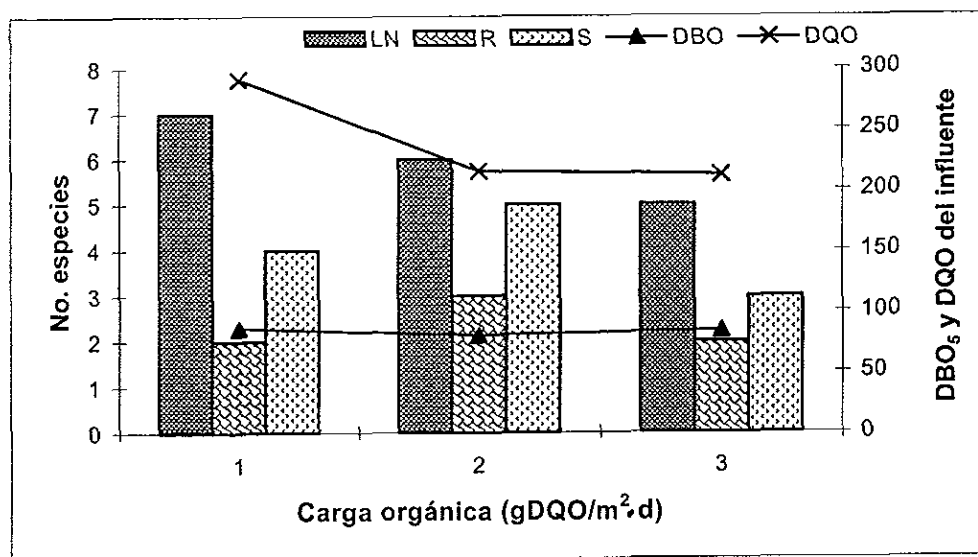


Figura 9. Número de especies presentes en cada carga orgánica comparado con los valores de DQO y DBO₅ del influente. LN= libre nadadoras, R= reptantes y S= sésiles.

En la figura 10 se muestra la relación entre la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto, con los grupos de ciliados presentes en las tres cargas orgánicas.

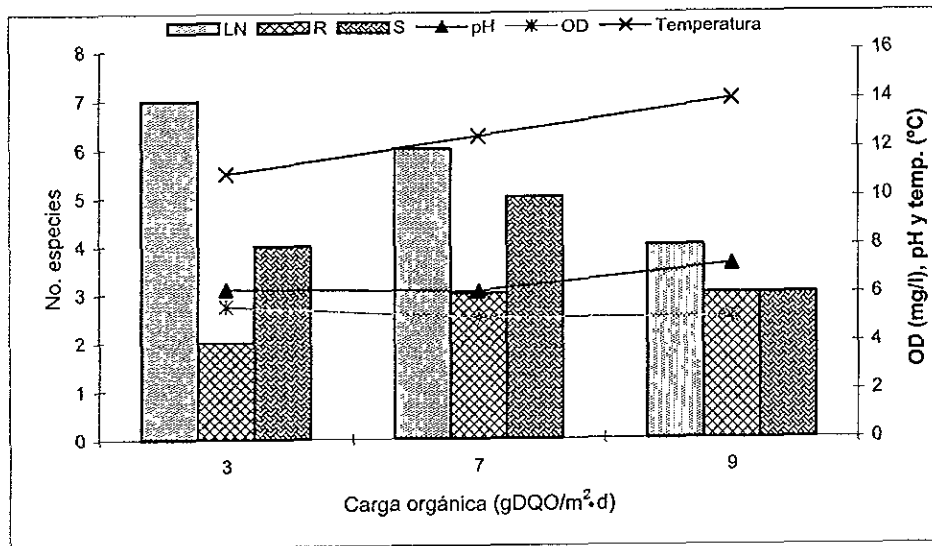


Figura 10. Número de especies presentes en cada carga orgánica comparado con los valores de pH, OD y temperatura dentro del filtro. LN= libres nadadoras, R= reptantes y S= sésiles.

El pH tiene una correlación negativa con las especies ($r=-0.92$, $p=0.25$) para las sésiles. Esto indica que el incremento del pH de la segunda a la tercera carga (ver tabla 2) influyó en la disminución de especies sésiles en la última carga y confirma lo mencionado anteriormente (punto V.3) sobre la poca tolerancia de especies a los cambios bruscos en el sistema.

La temperatura, en este sistema de tratamiento, solo dependió de las condiciones del medio ambiente por lo que se observa un incremento, a lo largo de las tres cargas (figura 10) debido a la época del año en que se realizó este experimento, y que solo influyó sobre las especies libres nadadoras ($r=-1$, $p=0$) sin efecto aparente sobre las reptantes ni sésiles. Esto último pudo deberse a la aereación suministrada artificialmente al sistema, la cual contribuyó a mantener la temperatura dentro de éste.

El OD no tiene ninguna relación con los ciliados ($r=0$, $p=1$ en los tres grupos), pues sus concentraciones en el sistema fueron estables en las tres cargas (ver tabla 2) ya que se suministró artificialmente, por lo que no representó una limitante para los microorganismos.

Por lo que respecta a la eliminación de los compuestos contaminantes, en la tabla 2 se observa que el mayor porcentaje de remoción de la DBO₅ y los SST, se obtuvo en la segunda carga orgánica, pero el N-NH₄ y el N-total presentaron una mayor eliminación en la primera, disminuyendo su remoción conforme se incrementó la carga. Esto último se debió a las condiciones ambientales y de operación del filtro, mencionadas en la metodología.

Las condiciones óptimas de nitrificación mencionadas en la literatura, para unidades de lodos activados, varían de investigador a investigador presentándose algunas contradicciones: Dowing (1966) indica que las condiciones básicas para un proceso biológico de nitrificación requieren un mínimo de 0.5 mg/l de oxígeno disuelto y un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 8 horas. En cambio, Wuhrmann (1972) establece que altos niveles de nitrificación son posibles a TRH de 0.48 a 2 horas y concentraciones de OD no menores de 1 mg/l. Por otra parte, Sawyer (1981) ha concluido que tanto el pH como la temperatura afectan el proceso de nitrificación encontrándose que los valores óptimos son de 8.4 y de 5° a 30°C, respectivamente.

En la figura 11 se muestra la relación de la temperatura y el pH con la remoción de N-NH₄. Aparentemente la remoción de amonio disminuye conforme se incrementa la temperatura, lo cual es confirmado por el coeficiente de correlación ($r = -0.97$, $p = 0.14$) que indica un ligero efecto de ésta sobre la remoción de amonio, a pesar de que se encuentra dentro de los valores óptimos reportados por Norouzian (1983) para la nitrificación.

Sawyer, (1981) reporta que el pH óptimo para la nitrificación es de 8.4; los valores promedio que se obtuvieron en las tres cargas son de 6.2, 6.1 y 7.2 respectivamente. Aunque tiene pocas variaciones en las dos primeras, se ve un incremento en la tercera carga por lo que se esperaría que en esta última la remoción de amonio fuera mayor ya que el pH se acerca más al valor óptimo reportado. Sin embargo, la remoción disminuye y esto es confirmado por el

coeficiente de correlación obtenido ($r = -0.64$, $p = 0.55$), por lo que se considera que el pH no afectó la remoción de $N-NH_4$.

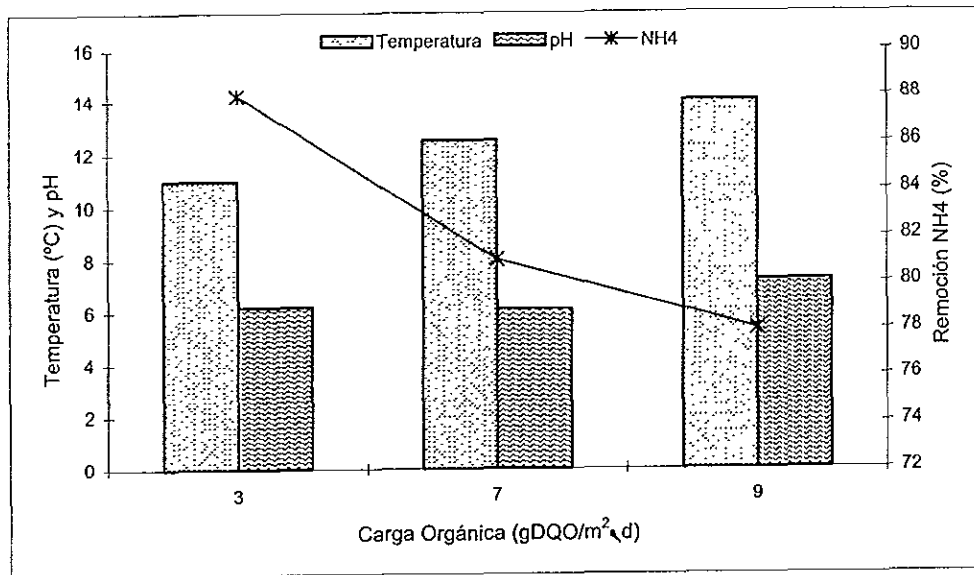


Figura 11. Relación de la temperatura y el pH sobre la remoción de amonio.

En la figura 12 se muestra la relación entre el TRH y la concentración de NH_4 en el influente con la remoción de amonio en las tres cargas orgánicas. De acuerdo con reportes de trabajos realizados con filtros combinados como el de este trabajo (Rogalla *et al.* 1990; Rogalla y Bourbigot, 1990), se puede obtener una oxidación casi completa con tiempos de retención de una hora si las concentraciones de $N-NH_4$ están por debajo de los 20 mg/l.

De acuerdo con la figura 12, el porcentaje de remoción de amonio se va reduciendo conforme se incrementa la concentración de éste en el influente, lo cual se confirma por el coeficiente de correlación ($r = -0.99$, $p = 0.19$). Esto concuerda con lo reportado por Chen y Cheng (1994) quienes reportan que las bacterias nitrificantes pueden ser inhibidas por concentraciones de amonio arriba de 20 mg/l. En este trabajo las concentraciones promedio fueron muy altas (33, 43 y 45 mg/l respectivamente) por lo que es probable que haya habido una inhibición de bacterias contribuyendo a la disminución en la remoción de $N-NH_4$.

Sin embargo, es importante tomar en cuenta que la concentración de amonio en el influente es el resultado del incremento de la carga lo que se confirma con el coeficiente de correlación ($r= 0.98$, $p=0.11$), por lo que se puede decir que el incremento de ésta es el principal factor que provocó la concentración de NH_4 en el influente. Esto último explicó la reducción en la remoción de N-total (N-NH_4 + N-orgánico) que se observa con el incremento de la carga y se confirma por el coeficiente de correlación ($r=-0.95$, $p=0.15$) y las concentraciones de N-NH_4 obtenidas en el efluente, las cuales se incrementaron con la carga (tabla 2).

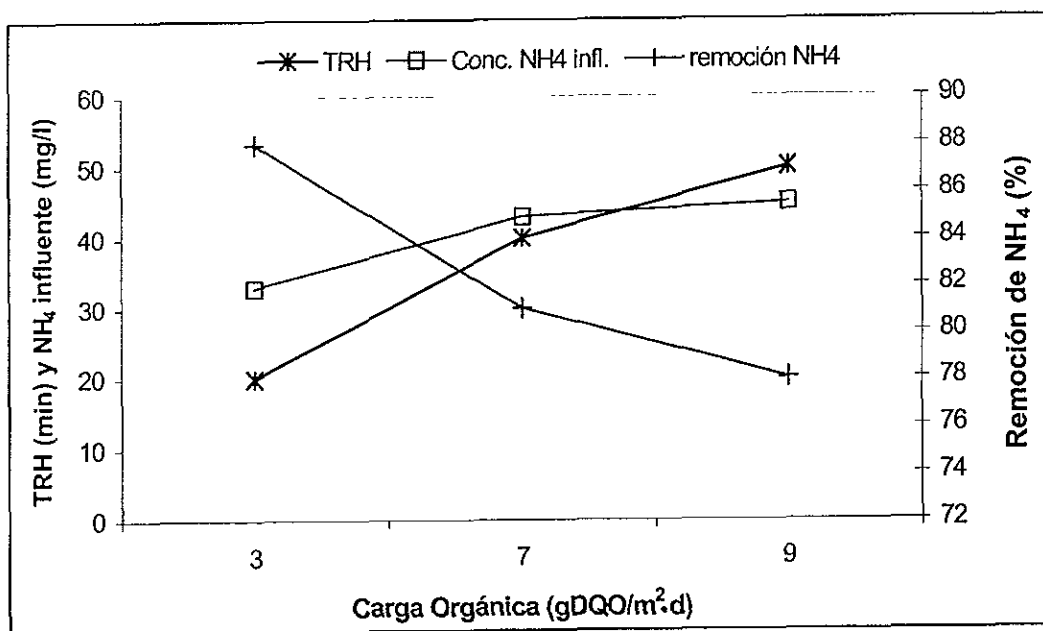


Figura 12. Efecto del TRH y la concentración de NH_4 sobre la remoción de amonio.

La mayor producción de NO_3 también se obtuvo en la segunda carga orgánica (tabla 2) observándose un descenso en la tercera, debido a la disminución en la remoción de amonio ($r=0.98$, $p=0.11$) como resultado de la inhibición de bacterias.

Por lo que respecta al TRH, Rogalla *et al* (1990) proponen que para aguas residuales con altas concentraciones de amonio, se debe incrementar el tiempo de retención hidráulico para lograr efluentes con residuos amoniacaes bajos; para un influente que presente un promedio de 40 mg de $\text{N-NH}_4/\text{l}$, este autor

menciona que se requiere un filtro con una cama filtrante de 2 metros de altura y un TRH cercano a las 2 horas. En el trabajo realizado por Valdivia (1998) con este mismo sistema, se obtuvo una mayor remoción de amonio con tiempos de retención cercanos a una hora.

Para este trabajo se utilizaron TRH de 20, 40 y 50 minutos para las tres cargas respectivamente, con una cama filtrante de 1m. Estos valores están muy por debajo del óptimo reportado por lo que se puede inferir que el TRH es el factor que más afectó la nitrificación (remoción de amonio) y en menor grado la concentración de NH_4 en el influente, lo que se ve confirmado por el valor de correlación ($r = -0.99$, $p = 0.15$). Este último indica que el incremento del TRH a través de las tres cargas, influyó en la remoción del N-NH_4 ; pero también el incremento de la concentración de amonio en el influente produjo un efecto en la remoción de éste ($r = -0.99$, $p = 0.19$). Sin embargo, el valor de probabilidad es mas pequeño para la relación con el TRH en comparación con la concentración de N-NH_4 en el influente, además de que en la primera carga se obtuvo una remoción hasta del 100% (tabla1 del anexo 3) con concentraciones de N-NH_4 en el influente hasta de 34.7 mg/l; valor muy superior a lo reportado por Chen y Cheng (1994) para la inhibición de bacterias nitrificantes, por lo que finalmente se puede afirmar que en el filtro combinado, utilizado en este trabajo, la remoción de amonio estuvo afectada principalmente por el TRH y en menor grado por la concentración de N-NH_4 en el influente como resultado del incremento de la carga orgánica.

V.5 Índices Saprobios.

El índice saprobio se calculó independientemente para cada carga orgánica. En la tabla 3 se muestran los valores ISPB de las tres cargas y el grado de saprobiedad de acuerdo con Pantle y Buck (1955), así como las características del agua según éstos mismos valores.

Tabla 3. ISPB de las tres cargas orgánicas y su grado de saprobiedad

Carga orgánica	ISPB*	Saprobiedad	Características
3 gDQO/m ² ·d	2.87	α-mesosaprobia	Agua fuertemente contaminada; poco OD, apenas comienza la mineralización, las especies son bacterias y protistas
7 gDQO/m ² ·d	2.8	α-mesosaprobia	
9 gDQO/m ² ·d	2.8	α-mesosaprobia	

* ISPB = índice saprobio de Pantle y Buck.

Los ISPB obtenidos muestran que las tres cargas orgánicas están dentro del rango de las α-mesosaprobias. Sin embargo, en los resultados de los análisis fisicoquímicos (tabla 2), la mayor eficiencia en la remoción de materia orgánica contaminante se obtuvo en la segunda carga, así como una mayor diversidad de protozoarios ciliados (tabla 1). De acuerdo con esto, se esperaría obtener un valor de saprobiedad para esta carga por debajo de 2.5, perteneciente al rango de las β-mesosaprobias. Sin embargo, el ISPB indica el mismo valor para las tres cargas orgánicas. Para confirmar mejor éstos resultados se utilizó la ecuación propuesta por Sládeček y Tuček (1975), para determinar S (índice saprobio) con base a los valores de DBO₅. Debido a que ésta se midió a la entrada y salida del filtro, esta fórmula se aplicó tanto al influente como al efluente, obteniéndose los siguientes resultados:

Primera carga orgánica.

Influente: DBO₅ = 86

$$S = \frac{0.0021 \cdot 9(86 - (-420))}{1 + 0.0021(86 - (-420))} = 4.63 = \text{polisaprobia}$$

Efluente: DBO₅ = 11

$$S = \frac{0.0021 \cdot 9(11 - (-420))}{1 + 0.0021(11 - (-420))} = 3.4 = \alpha\text{-mesosaprobia}$$

Segunda carga orgánica.

Influente: DBO₅ = 80

$$S = \frac{0.0021 \cdot 9(80 - (-420))}{1 + 0.0021(80 - (-420))} = 4.6 = \text{polisaprobia}$$

Efluente: $\text{DBO}_5 = 10$

$$S = \frac{0.0021 \cdot 9(10 - (-420))}{1 + 0.0021(10 - (-420))} = 3.3 = \alpha\text{-mesosaprobía}$$

Tercera carga orgánica.

Influente: $\text{DBO}_5 = 84$

$$S = \frac{0.0021 \cdot 9(84 - (-420))}{1 + 0.0021(84 - (-420))} = 4.62 = \text{polisaprobía}$$

Efluente: $\text{DBO}_5 = 12$

$$S = \frac{0.0021 \cdot 9(12 - (-420))}{1 + 0.0021(12 - (-420))} = 3.46 = \alpha\text{-mesosaprobía}$$

De manera general observamos que los resultados obtenidos en el influente no coinciden con los valores de los índices biológicos pero los del efluente sí; esto es de esperarse ya que el agua que entra al filtro es cruda es decir, apenas va a entrar en tratamiento en cambio, el agua que sale del filtro (efluente) nos refleja mejor las condiciones que hay en su interior y por lo tanto, en las que están los microorganismos. Todos los efluentes indican que las tres cargas orgánicas están en el rango de las α -mesosaprobias confirmando los resultados obtenidos en el ISPB, esto puede deberse a que la mayoría de las especies se han encontrado tanto en zonas α -mesosaprobias como β -mesosaprobias (tabla 4). Sin embargo, en la segunda carga se aprecia un valor de $S= 3.3$, éste es menor en comparación de las otras dos cargas lo que indica una posible tendencia hacia la β -mesosaprobiedad en donde la descomposición de la materia orgánica se aproxima a la mineralización y el déficit de oxígeno es muy pequeño.

En la última columna de la tabla 4 se muestra el índice saprobio (IS) de cada especie según lo propuesto por Foissner (1992); este valor indica la saprobiedad característica que representa cada especie en particular y toma valores de 0 a 8. Cada valor representa una categoría saprobio: 0= xenosaprobio, 1= oligosaprobio, 2= β -mesosaprobio, 3= α -mesosaprobio, 4= polisaprobio, 5= isosaprobio, 6= metasaprobio, 7=hipersaprobio y 8= ultrasaprobio.

Tabla 4. Intervalos de distribución sapróbica, en los que se han encontrado las especies identificadas en las tres cargas orgánicas

Protozoario Ciliado	Intervalo de saprobiedad **				Índice saprobio*
	Curds (1969)	Bick (1972)	Sládecèck (1981)	Foissner (1992)	
<i>Aspidisca cicada</i>	a - b	b	--	a - b	2.7
<i>Aspidisca lynceus</i>	a - b	a	--	b - a	2.5
<i>Amphileptus</i> sp.	a	a	a	a	2.7
<i>Colpidium</i> sp.	a - p	a - p	p - i	p - i	3.7
<i>Cyclidium</i> sp.	a - b	a	a	a - b	2.6
<i>Chilodonella uncinata</i>	a - b	a	a	a	3.0
<i>Epistylis plicatilis</i>	a - b	a	--	a - b	2.8
<i>Glaucoma</i> sp.	a - b	a - p	p - i	p - a	3.4
<i>Litonotus fasciola</i>	a - b	a	--	a	3.0
<i>Opercularia curvicaula</i>	a - b	--	--	b - a	2.5
<i>Oxytricha fallax</i>	a	a	--	a	3.0
<i>Paramecium aurelia</i>	a - b	--	a	b - a	2.5
<i>Paramecium caudatum</i>	a	a - b	a	a	3.3
<i>Podophrya fixa</i>	a - b	a	--	a	3.1
<i>Stylonychia putrina</i>	a - b	a - b	--	a	2.9
<i>Trachelophyllum pusillum</i>	b	--	b - p	b - a	2.7
<i>Tokophrya quadripartita</i>	b	--	--	a - b	2.9
<i>Vorticella microstoma</i>	a - p	p - a	P - i	p - a	3.5

*IS propuesto por Foissner (1992). ** a= α-mesosaprobias, b= β-mesosaprobiedad, p= polisaprobía, i= isosaprobía

De acuerdo con la tabla 4, vemos que de las 18 especies encontradas, el 55% (10 especies: *Aspidisca cicada*, *A. lynceus*, *Amphileptus* sp., *Cyclidium* sp., *Epistylis plicatilis*, *Oprecularia curvicaula*, *Paramecium aurelia*, *Stylonychia putrina*, *Trachelophyllum pusillum* y *Tokophrya quadripartita*) son características de zonas β-mesosaprobias y el otro 45 % (9 especies: *Colpidium* sp., *Chilodonella uncinata*, *Glaucoma* sp., *Litonotus fasciola*, *Oxytricha fallax*, *Paramecium caudatum* *Podophrya fixa* y *Vorticella Microstoma*) de zonas α-mesosaprobias. En la tabla 5 se muestra el número de especies de estas dos categorías saprobias en cada carga y su índice saprobio promedio ($IS_{\bar{x}}$).

Tabla 5. Número de especies de cada categoría saprobia en las tres cargas orgánicas

CATEGORÍA SAPROBIA	CARGA ORGANICA (gDQO/m ² ·d)								
	3			7			9		
	No. Esp.	%	IS _x	No. Esp.	%	IS _x	No. Esp.	%	IS _x
β-mesosaprobia	7	53.8	2.6	9	64.3	2.4	6	60	2.8
α-mesosaprobia	6	46.2	3.3	5	35.7	3.1	4	40	3.2
Total	13	100		14	100		10	100	

No. Esp. = número de especies características de cada categoría saprobia con respecto al total de especies de la carga orgánica. % = porcentaje de especies con respecto al total de la carga orgánica. SI_x = valor de SI (tabla 4) promedio de todas las especies de la categoría saprobia presentes en esa carga orgánica.

Claramente se observa que en la segunda carga se presenta el mayor número de especies icaracterísticas de la β-mesosaprobiedad con respecto a las otras dos cargas. Esto se aprecia gráficamente en la figura 13 donde también se muestra que, aunque el 55% del total de especies identificadas (18) sean características de zonas β-mesosaprobias, la mayoría de ellas se encontraron en la segunda carga orgánica lo cual indica una tendencia de esta carga hacia la β-mesosaprobiedad apoyando lo obtenido en el índice de Pantle y Buck y el de Sládeček y Tucek.

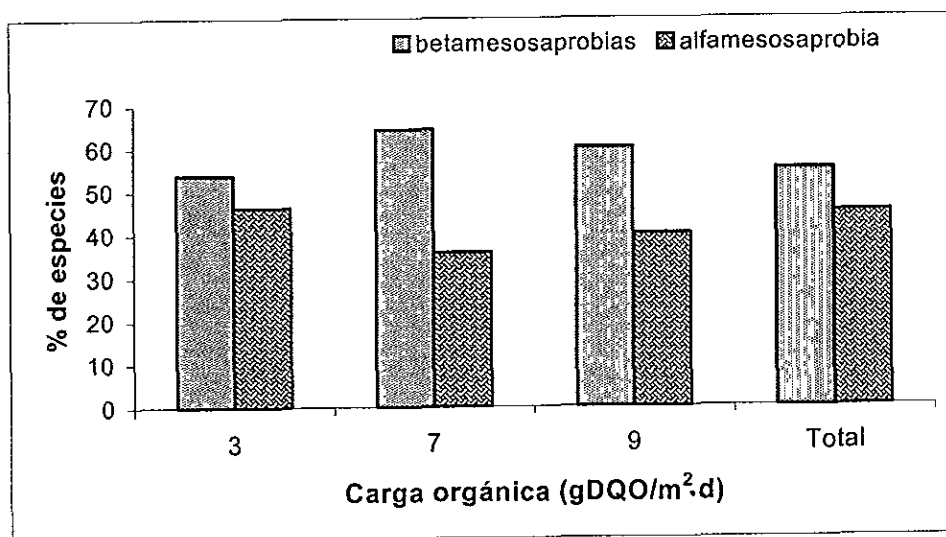


Figura 13. Porcentaje de especies de cada categoría saprobia en las tres cargas orgánicas comparadas con el total de especies identificadas.

Esta tendencia hacia la β -mesosaprobiedad también se ve apoyada por el índice saprobio promedio ($IS_{\bar{x}}$) calculado que se muestra en la tabla 5. Este valor se obtuvo del valor de IS de las especies presentes en cada carga orgánica, y nos da una estimación aproximada del intervalo de saprobiedad que representa la comunidad del sistema. En este caso, el $IS_{\bar{x}}$ es de 2.7 para la segunda carga y de 3 para las otras dos. De acuerdo con las categorías saprobias de la página 47, propuestas por foissner (1992), la primera y tercera cargas (con un $IS_{\bar{x}} = 3$) se encuentran dentro del rango de las α -mesosaprobias, pero la segunda carga (con $IS_{\bar{x}} = 2.7$) en la clase de las β -mesosaprobias cerca del límite de las α -mesosaprobias.

Sin embargo, debido a que los dos índices saprobios calculados (Pantle y Buck y el de Slàdeček y Tucek) muestran que esta segunda carga esta dentro del intervalo de las α -mesosaprobias y sólo la valencia saprobio promedio ($IS_{\bar{x}}$) indica que se encuentra dentro de las α -mesosaprobias muy cercana a la α -mesosaprobiedad, decimos que esta segunda carga tiene una α -mesosaprobiedad con tendencia hacia la β -mesosaprobiedad, ya que los índices calculados reflejan la comunidad en su conjunto y no solo las especies particulares como lo es el IS.

Con base a lo anterior, vemos que los índices saprobios obtenidos muestran que la segunda carga orgánica presenta una mejor calidad de agua en el efluente, misma que presentó una mayor claridad (figura 5 del anexo 1), y coincide con los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos.

Por otra parte, es importante tomar en cuenta la probabilidad de que se hayan desarrollado especies con intervalos más estrechos de tolerancia pero debido a las variaciones en la concentración del influente, éstas desaparecieron por su poca tolerancia. La poca abundancia de algunas especies observadas (aquellas con abundancia relativa = 1) y su presencia solamente en una carga y su rápida desaparición, apoyan ésta suposición. También es probable que la falta de

especies haya afectado un poco el valor del ISPB pues, como se mencionó en el marco teórico, uno de los supuestos señalados por Pantle y Buck para el uso de su modelo, es que se necesita identificar al menos 15 especies para que el cálculo de S sea significativo. Sin embargo solo se obtuvieron 13 especies en la primera carga, 14 en la segunda y 10 en la tercera. A pesar de lo anterior, podemos decir que el índice saprobio de Pantle y Buck sí funcionó adecuadamente para este sistema ya que los valores obtenidos coinciden con los análisis fisicoquímicos realizados, pues según éstos, la mejor eficiencia y mayor porcentaje de remoción del filtro se obtiene en la segunda carga orgánica y es precisamente en ésta donde se observa una tendencia hacia la β -mesosaprobiedad.

Finalmente, si consideramos que en la segunda carga la concentración de materia orgánica ($7 \text{ gDQO/m}^2\cdot\text{d}$) aportada al filtro fue más del doble de la primera ($3 \text{ gDQO/m}^2\cdot\text{d}$), y en la tercera el triple de la primera, y aún así la calidad de sus efluentes es igual en todas las cargas; entonces vemos que realmente sí hay una mejor calidad de agua en la segunda carga pues hay una mayor remoción de contaminantes.

CONCLUSIONES

- ❖ En total se identificaron 18 especies de ciliados; 13 de éstas presentes en la primera carga orgánica, 14 en la segunda y 10 en la tercera. Todas ellas se han registrado como habitantes típicos de sistemas biológicos de tratamiento como filtros percoladores y lodos activados. Sin embargo, es la primera vez que se reportan éstas especies en los filtros combinados.
- ❖ Las 18 especies encontradas se agrupan en dos categorías funcionales: Bacterívoras y carnívoras. Las especies bacterívoras fueron predominantemente dominantes en las tres cargas orgánicas aunque mostraron una ligera disminución al incrementarse las especies carnívoras. La disminución de las especies depredadoras se debió principalmente al incremento de la carga orgánica ($r=-0.98$, $p=0.12$).
- ❖ La variación de protozoarios ciliados en este sistema fue muy similar a la sucesión que se observa en los procesos de lodos activados y filtros percoladores. Sin embargo, esta aparente sucesión se dio a través de las tres cargas orgánicas, ya que el incremento de éstas no fue lo suficientemente fuerte para afectar totalmente la composición inicial de ciliados. Sin embargo, los constantes lavados no permitieron una estabilidad de las poblaciones de ciliados.
- ❖ La segunda carga orgánica (7 gDQO/m²·d) es la que presentó mayor diversidad de especies (77.7% del total) y donde se presentaron todas los ciliados reptantes y sésiles encontrados, lo que indicó una mejor calidad de agua en el efluente.
- ❖ Los análisis fisicoquímicos indicaron que el filtro tuvo una mayor eficiencia en la segunda carga pues su efluente presenta una menor concentración de DBO₅ y SST, y una mayor producción de NO₃ en comparación con las otras dos cargas.

- ❖ La relación de los parámetros fisicoquímicos con presencia de protozoarios ciliados, mostraron que las especies reptantes fueron afectadas por la DBO_5 ($r=-0.94$, $p=0.21$), las sésiles por el pH ($r=-0.92$, $p=0.25$) y las libres nadadoras por la temperatura ($r=-1$, $p=0$).
- ❖ La remoción $N-NH_4$ se vio afectada principalmente por el TRH ($r=-0.99$, $p=0.15$) y en menor grado por la concentración de NH_4 en el influente ($r=-0.99$, $p=0.19$).
- ❖ El ISPB y el S, a través de las especies identificadas mostró que las tres cargas orgánicas se encuentran en el rango de las α -mesosaprobias; pero la segunda tiene una tendencia hacia la β -mesosaprobiedad.
- ❖ Los índices saprobios obtenidos muestran que la segunda carga orgánica presenta una mejor calidad de agua en el efluente y coincide con los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos; por lo que podemos decir que los índices biológicos son una buena herramienta para determinar el buen funcionamiento de un sistema de tratamiento. Sin embargo, es necesario realizar más trabajos al respecto para poder obtener una sola escala de saprobiedad que pueda ser utilizada para cualquier sistema de tratamiento.
- ❖ Este es el primer trabajo de indicadores biológicos para filtros combinados, por lo que representa una contribución para el estudio de indicadores biológicos.

LITERATURA CITADA

- 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.* 6 (25):633-638.
- Amavis, R. y Smeets, J. 1975. Principles and methods for determining ecological criteria on hydrobiocenoses. Pergamon Press, New York. 236 p.
- Andrews, G. y Trapazo, R. 1985. The optimal design of fluidized bed bioreactors. *Jour. Wat. Poll. Cont. Fed.* 57(2):143-149.
- AYMA (Agua y Medio Ambiente) Planta de tratamiento de aguas residuales. 1997. Tratamiento biológico de aguas residuales. Informe anual. Madrid, España. 25 p.
- Bahr, L. M. 1982. Funtional taxonomy: an immodest proposal. *Ecol. Model.* 15:211-233.
- Bick, H. 1972. An ilustrated guide to Ciliated protozoa in the biological assessment of water pollution levels. Intl. Symp. Identif. Measurment Enviroment pollutants. Ottawa, Ont. Canada. Pp. 305-309.
- Cairns, J. y Henebry, M. N. 1982. Interactive and moninteractive protozoan colonization processes. In Cairns, J. (Ed.). Artificial substrates. Ann Arbor Science Publishers Inc. Ann Arbor Michigan. Pp. 23-70.
- Characklis, W. y Marshall, K. 1990. Biofilms. John Wiley and Sons. New York. 795 p.
- Chen, S. y Cheng, S. 1994. The enhancement of nitrification by indirect aeration and kinetic control in sumerged biofilm reactor. 18th IAWQ Biennial International Conference and Exhibition. Singapore. Pp. 327-337.
- Curds, C.R. 1969. An ilustrated Key to the British Freshwater Ciliated Protozoa commonly found in Activated Sludge. W. P. R. Ministry of tecnology, HMSO. Technical paper No. 12. Londres, Inglaterra. 90 p.
- Curds, C.R. y Cockburn, A. 1970. Protozoa in biological sewage treatment process. II. Protozoa as indicators in the activated sludge process. *Wat. Res.* 4:237-249.
- Curds, C. R. 1975. Protozoa. En: Curds, C. R. y Hawkes H.A. (Eds.). Ecological Aspects of used water treatment. Vol.1. Academic Press, Londres. Pp. 203-268.
- Curds, C.R. 1992. Protozoa and the water industry. Cambridge University Press. New York. 122 pp.
- Dowing, A. L. 1966. Nitrification in activated sludge process. *Jour. Inst. Sew. Purif.* 8:130-138
- Duncan, M.D. 1976. Sewage treatment in hot climates. John Wiley and Sons. Londres, Inglaterra. 168 p.

- EDAR (Estación Depuradora de Aguas Residuales). 1999. Indicadores biológicos. Resumen Informativo de Proyecto. Madrid, España. 20 p.
- Fernández-Galiano, D. 1976. Silver impregnation of protozoa: procedure yielding good results with the pyridinated silver carbonate method. *Trans. Amer. Microscop. Soc.* 95: 557-560.
- Foissner, W. 1992. Evaluating water quality using protozoa and saprobity indexes. *Protocols in protozoology. Society of Protozoologists.* Pp 1-19.
- Goncalves, R. F. y Rogalla, F. 1992. Continuous biological phosphorus removal in a biofilm reactor. *Water Quality International'92; Sixteenth Biennial Conference and Exhibition, Washington D.C.* Pp. 245-251.
- Goncalves, R.F.; Le Grand, L. y Rogalla, F. 1994. Biological phosphorus removal in fixed films reactors. *Wat. Sci. Tech.* 25 (12):165-174.
- González-Martínez, S. 1998. Biopelículas aerobias en tratamiento de aguas residuales. Presentado en el IV Simposio Internacional Sobre Control de Polución de Aguas por Procesos Biológicos. Valencia, Venezuela. Pp. 1-19.
- Hartmann L. 1983. *Biologische Abwasserbiologie.* Werner-Verlag. Düsseldorf, Alemania. 235 p.
- Iwai, S. y Kitao, T. 1994. *Wastewater treatment with microbial films.* Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster, Pensilvania. 184 p.
- Kinner, N.E. y Curds, C.R. 1987. Development of Protozoa and Metazoan communities in rotating biological contactor biofilm. *Wat. Res.* 1:74-122.
- Kolwitz, R. y Marsson, M. 1909. *Int. Revue ges. Hydrobiol. Hydrogr.* 2:126-152.
- Kudo, R.R. 1972. *Protozoología.* C.E.C.S.A., México. 830 p.
- Lazarova, V. y Manem, J. 1994. Advances in biofilm aerobic reactors ensuring effective biofilm activity control. *Wat. Sci. Tech.* 29:319-327.
- Liebmann, H. 1962. *Handbuch der Frischwasser –und. Abwasser-Biologie.* BD.1, Jena, Oldenburg. 588 p.
- Luna-Pabello, V.M. 1987. Estudio de los protozoarios ciliados presentes en un sistema de tratamiento por medio de "biodiscos". Tesis profesional. Facultad de Ciencias., UNAM. México, D.F. 86 p.
- Luna-Pabello, V. M.; Aladro-Lubel, M. A. y Durán de Bazúa, C. 1990. Microorganismos Indicadores del tratamiento biológico de aguas residuales. Vol.1. PIQA y QA, UNAM. 117 p.

- Madoni, P. 1991. Role of protozoans and their indicator value in the activate sludge process. En: Madoni, P. (Ed.). Biological approach to sewage treatment process: current status and perspectives. Perugia. Pp. 21-27.
- Martínez, P. J. y Gutiérrez, M.E. 1985. Introducción a la Protozoología. Trillas, México. 207 p.
- Moog, O. 1991. Biologische parameter zum bewerten der gewässergüte von fliessgewässern. *Landschaftswasserbau* .11:235-266.
- Moreau, M.; Liu, Y.; Capdeville, B.; Audic, J. y Calvez, L. 1994. Kinetic behaviour of heterotrophic and autotrophic biofilms in wastewater treatment processes. *Wat. Sci. Tech.* 29(10):385-391.
- Norouzian, N.Y. 1983. A performance evaluation and kinetics determination of an RCB system operating at the C.U. wastewater treatment plant. Project report 3306 para el Instituto de Ingeniería, UNAM. 39 p.
- Pantle, R. y Buck, H. 1955. Die biologische Überwachung der gewässer und die darstellung der ergebnisse. *Gas-u Wass. Fach.* 96: 604-620.
- Patterson, D.J. y Hedley, S. 1992. Free-living freshwater protozoa: a colour guide. Wolfe Publishing. Londres, Inglaterra. 222 p.
- Pratt, J. R. y Cairns, J. 1985. Functional groups in the protozoa: roles in differing ecosystems. *J. Protozool.* 32(4):15-423
- Ramalho, R. S. 1991. Introduction to Wastewater Treatment Processes. Academic Press. New York. 580 p.
- Rivera, F.; Castro, F.; Moreno, G.; Lugo, A.; Gallegos, E. y Norouzian, M. 1988. Protozoa of rotating biological contactor treatment plant in México. *Water, Air and Soil Pollution.* 42:281-301.
- Rogalla, F. y Bourbigot, M. 1990. New developments in complete nitrogen removal with biological aerated filters. *Wat. Sci. Tech.* 22(1):273-280.
- Rogalla, F.; Parraudeau, M.; Bacquet, G.; Burbigot, M.; Sibong, J. y Gilles, P. 1990. Nitrification and phosphorus precipitation with biological aerated filters. *Jour. Wat. Poll. Cont. Fed.* 62(2):169-176.
- Sánchez, R.R. y Lugo, V. A. 1993. Papel de los protozoos en sistemas de tratamiento aerobio en México. Presentado en el IX Congreso Nacional SMISA y I Congreso Internacional de AIDIS de Norte América y del Caribe. México. Pp. 29-33.
- Sawyer, C. W. 1981. Nitrification and denitrification facilities. Presented at the Seminary for Wastewater Treatment facilities, Kansas City. Pp. 158-163.

- Schoener, T. 1984. Rates of species turnover decrease from lower to higher organisms – a review of the data. *Oikos*. 41:372-378.
- Sládeček, V. 1973. System of water quality from the biological point of view. *Arch. Hydrobiol. Ergebn. Limnol.* 7(4):1-218.
- Sládeček, V. 1981. Indicator value of the genus *Opercularia* (Ciliata). *Hydrobiology*, 79:229-232.
- Sládeček, V. 1983. Rotifers as indicators of water quality. *Hydrobiologia*. 100:169-201.
- Sládeček, V. 1985. Scale of saprobity. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 22:2337-2341.
- Sládeček, V. y Tucek F. 1975. Relation of the saprobic index to BOD₅. *Wat. Res.* 9:791-794.
- Sleigh, M. A. 1989. Protozoa and Other protists. Cambridge University Press. New York. 342 p.
- Small, E.B. y Lynn, D.H. 1985. Phylum Ciliophora. In: Lee, J.J; Hunter, S.H. y Bovee, E.C. (Eds.). An illustrated guide to the Protozoa. Society of Protozoologists. Allen Press Inc. EUA. Pp. 393-575.
- Sousa, W.P. 1984. The role of disturbance in natural communities. *Ann. Rew. Ecol. Sat.* 15:353-391.
- Tümping, W. 1966. Über die statische sicherheit soziologischer methoden in der biologischen gewässeranalyse. *Limnologica*. 4:235-244.
- Valdivia, S. C. 1998. Filtración combinada en lechos de tezontle para el tratamiento de aguas residuales. Tesis de Maestría. Facultad de Ingeniería, UNAM. México. 98 p.
- Washington, H. G. 1994. Diversity, biotic and similarity indices. A review with special relevance to aquatic ecosystems. *Wat. Res.* 18:653-694.
- Weber, W. 1979. Control de la calidad del agua: procesos fisicoquímicos. John Wiley and Sons. Barcelona, España. Pp. 170-172.
- Wiggins, B.A. y Alexander, M. 1988. Role of protozoa in microbial acclimation for mineralization of organic chemicals in sewage. *Can. J. Microbiol.* 34:661-666.
- Winkler, A.M. 1994. Tratamiento biológico de aguas de desecho. Limusa. México. 183 p.
- Wuhrmann, K. 1972. Nitrogen removal in sewage treatment process. Presented at 15th Intl. Congress of limnology. Univ. of Wisconsin, Madison. Pp. 378-385.

Zelinka, M. y Marvan, P. 1961. Zur Präzisierung der biologischen klassifikation der reinheit filie Bender gewässer. *Arch. Hydrobiol.* 57:389-407.

ANEXO I

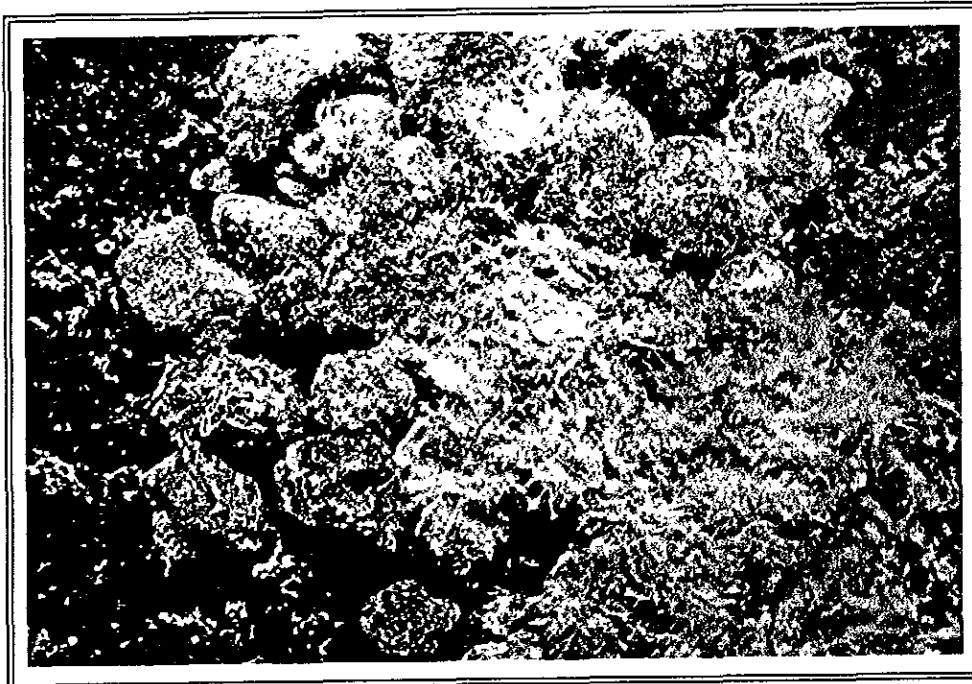


Figura 1. Material filtrante (tezontle) antes del lavado.

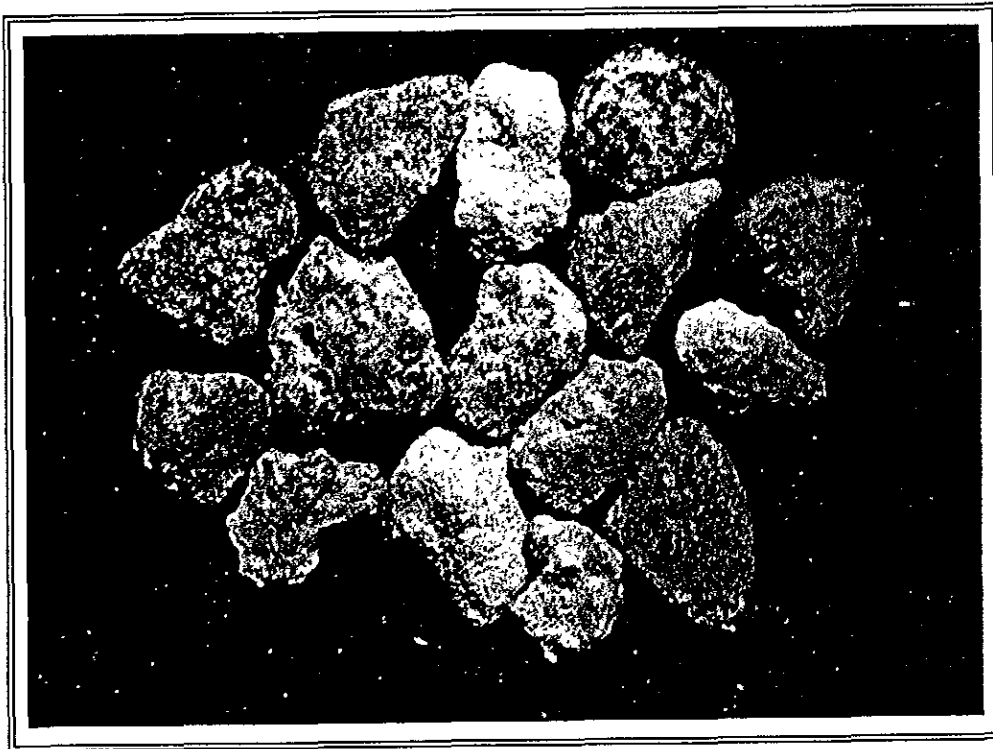


Figura 2. Material filtrante (tezontle) después del lavado, mostrando los poros llenos de biopelícula.



Figura 3. Flóculos que conforman la biopelícula y que se desprenden con el lavado.

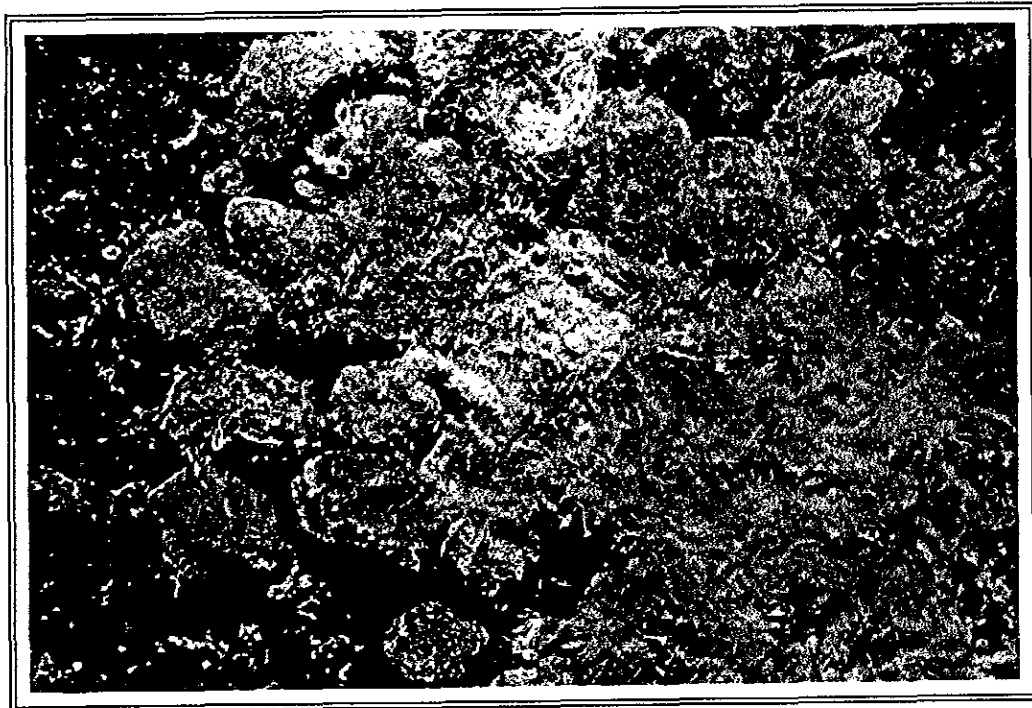


Figura 4. Biopelícula en los poros de las piedras de tezontle.

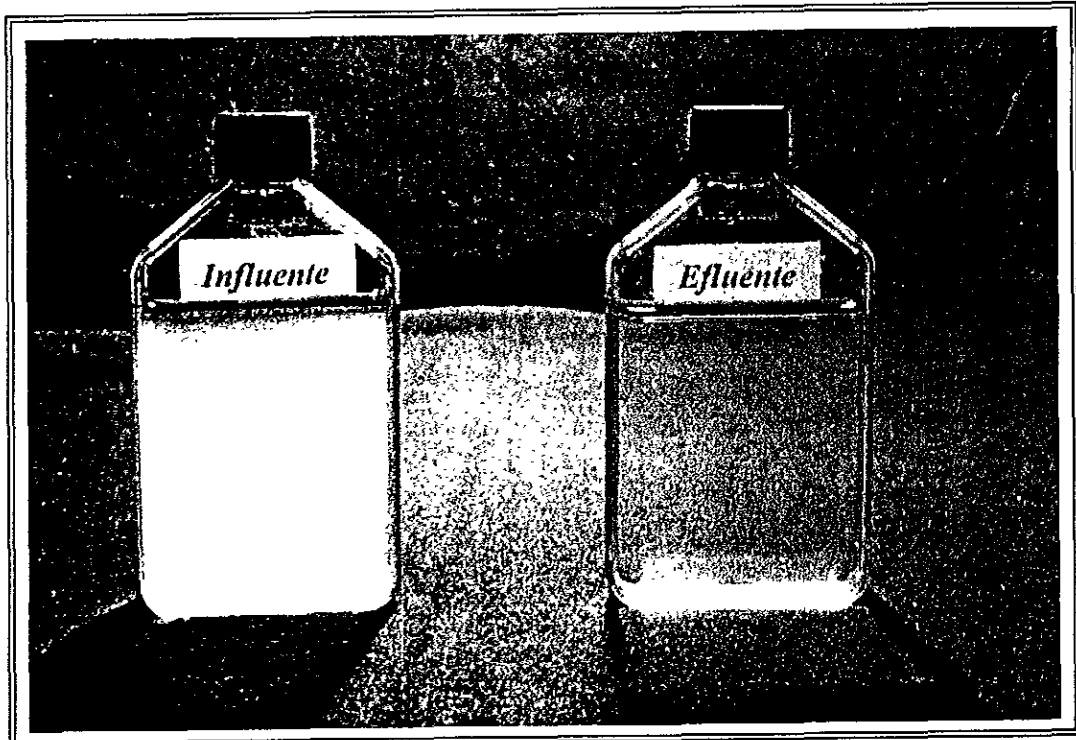


Figura 5. Muestras del agua de influente y efluente de la segunda carga orgánica. El efluente se ve más claro debido a la eliminación de flóculos de bacterias por los ciliados.

ANEXO II

- Phylum Ciliophora Doflein, 1901
 Subphylum Postciliodesmatophora Gerassimova y Scravin, 1976
 Clase Spirotrichea Bütschli, 1889
 Subclase Stichotrichia Small y Lynn, 1985
 Orden Stichotrichida Fauré-Fremiet, 1961
 Suborden Sporadotrichina Fauré-Fremiet, 1961
 Familia Oxytrichidae Ehrenberg, 1838
Oxytricha fallax Stein, 1859
Stylonichia putrina Stokes, 1885
- Subphylum Rhabdophora Small, 1976
 Clase Litostomatea Small y Lynn, 1981
 Subclase Haptorina Corliss, 1974
 Orden Haptorida Corliss, 1974
 Familia Trachelophyllidae Kent, 1886
Trachelophyllum pusillum Perty 1852
 Orden Pleurostomatida Schewiakoff, 1896
 Familia Amphileptidae Bütschli, 1889
Amphileptus sp.
Litonotus fasciola Müller, 1773
- Subphylum Cyrtophora Small, 1976
 Clase Phyllopharyngea Puytorac et al, 1974
 Subclase Phyllopharyngia Puytorac et al, 1974
 Orden Cyrtophorida Fauré-Fremiet en Corliss, 1956
 Suborden Chlamydodontina Deroux, 1976
 Familia Chilodonellidae Deroux, 1970
Chilodonella uncinata Ehrenberg, 1838
- Subclase Suctorina Claparède y Lachmann, 1858
 Orden Exogenida Collin, 1912
 Familia Podophryidae Haeckel, 1866
Podophrya fixa Müller, 1786
 Orden Endogenida Collin, 1912
 Familia Tokophryidae Jankowski, 1985
Tokophrya quadripartita Claparède y Lachmann, 1859
- Clase Nassophorea Small y Lynn, 1981
 Subclase Nassophoria Small y Lynn, 1981
 Orden Peniculida Fauré-Fremiet en Corliss, 195
 Suborden Parameciina Jankowski en Corliss, 1979
 Familia Parameciidae Dujardin, 1840
Paramecium aurelia Müller, 1773
Paramecium caudatum Ehrenberg, 1833
- Subclase Hypotrichia Stein, 1859
 Orden Euplotida Small y Lynn, 1985
 Suborden Euplotina Small y Lynn, 1985
 Familia Aspidiscidae Ehrenberg, 1838
Aspidisca cicada Müller, 1786
Aspidisca lynceus Müller, 1776
- Clase Oligohymenophorea Puytorac et al, 1974
 Subclase Hymenostomatia Delage y Hérovard, 1896
 Orden Hymenostomatida Delage y Hérovard, 1896
 Suborden Tetrahymenia Fauré-Fremiet en Corliss, 1956
 Familia Glaucomidae Corliss, 1971
Glaucoma sp.
 Familia Turaniellidae Didier, 1971
Colpidium sp.
 Orden Scuticociliatida Small, 1967
 Suborden Pleuromatina Fauré-Fremiet en Corliss, 1956
 Familia Cyclidiidae Ehrenberg, 1838
Cyclidium sp.
- Subclase Peritrichia Stein, 1859
 Orden Sessilida Kahl, 1933
 Familia Epystilididae Kahl, 1933
Epistylis plicatilis Ehrenberg, 1838
 Familia Operculariidae Fauré-Fremiet, 1906
Opercularia curvicaula (Penard) Curds, 1964
 Familia Vorticellidae Ehrenberg, 1838
Vorticella microstoma Ehrenberg, 1830

Cuadro 1. Ubicación taxonómica de las especies de ciliados encontrados en las tres cargas orgánicas, de acuerdo con Small y Lynn (1985).

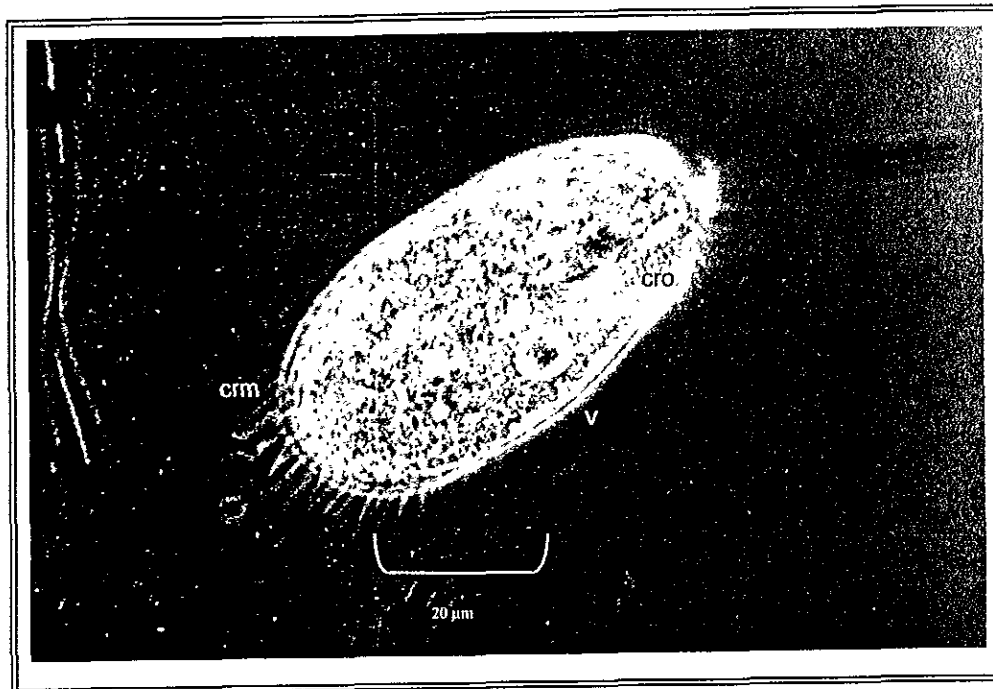


Figura 1. *Oxytricha fallax* en vivo, presente en la segunda carga orgánica (contraste de fases 40x). Crm =cirros marginales, V=vacuola, cro=cirros orales.

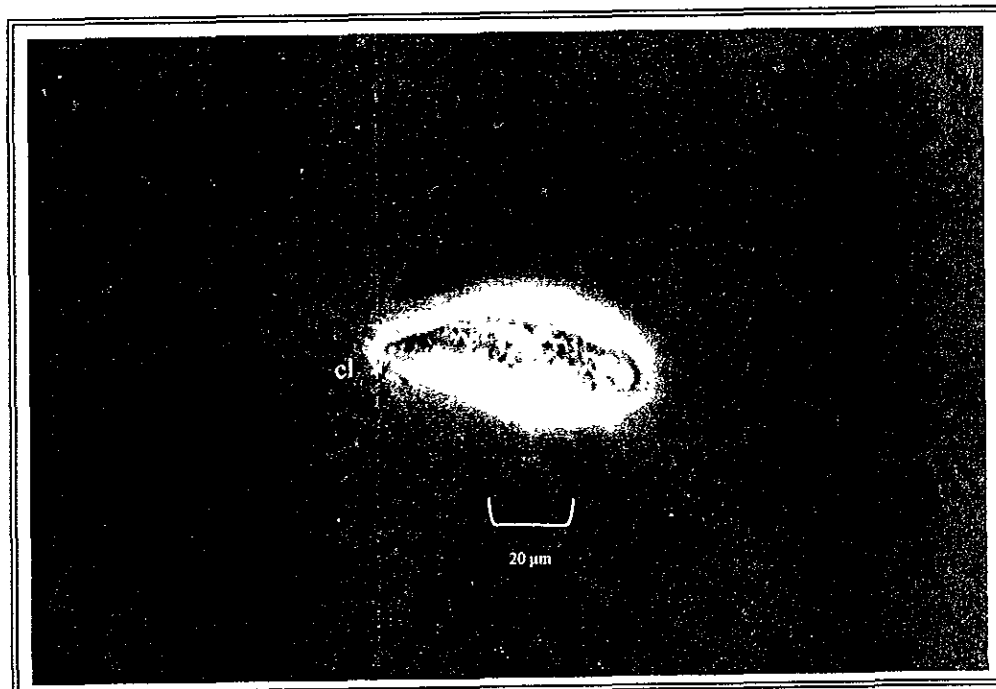


Figura 2. *Trachelophyllum pusillum* en vivo. Presente en las tres cargas orgánicas. (Contraste de fases 10x). cl=cilios.

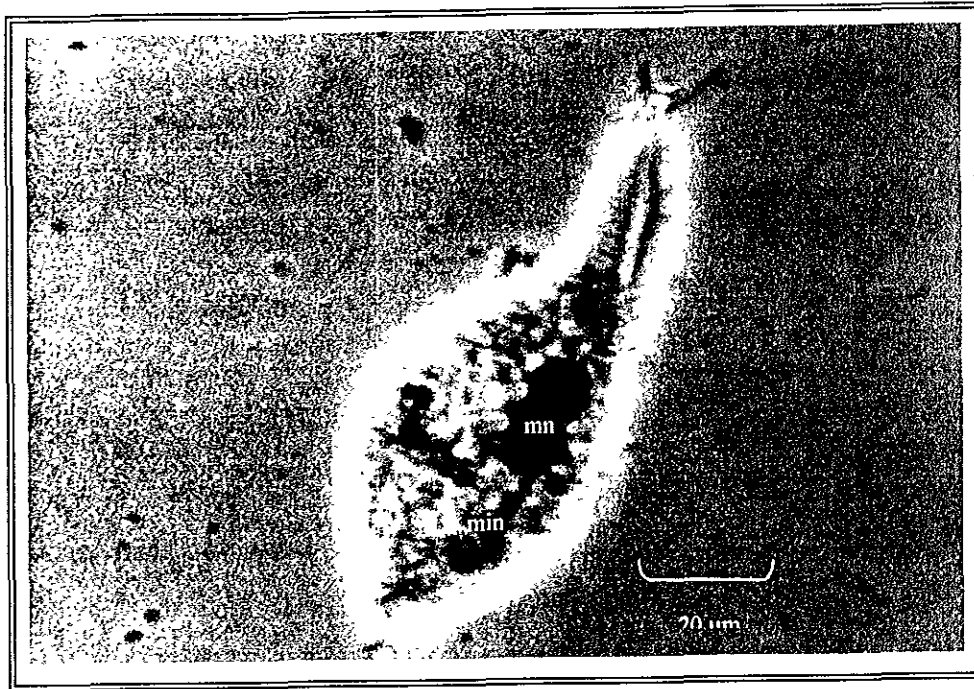


Figura 3. *Litonotus fasciola*. Técnica de Fernández-Galiano, presente en las tres cargas orgánicas (Contraste de fases 40x). min=micronúcleo, mn=macronúcleo



Figura 4. *Chilodonella uncinata* en vivo. Presente en la tercera carga orgánica (Contraste de fases 40x).

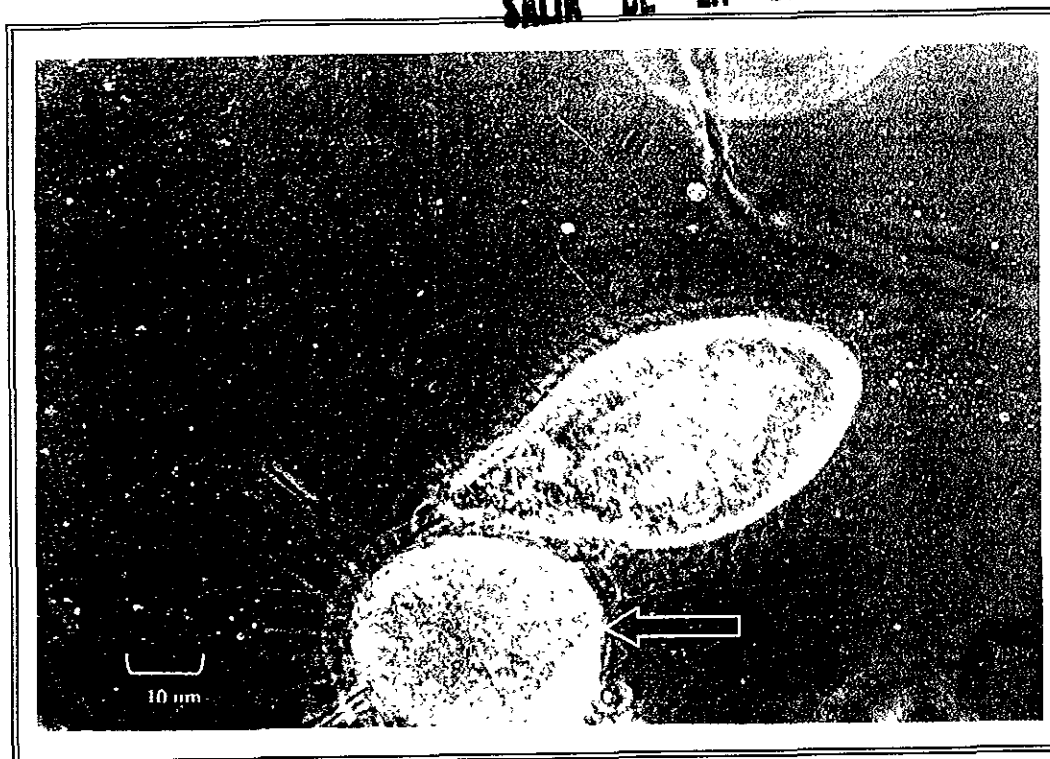


Figura 5. *Podophrya fixa* en vivo (señalada por la flecha). Presente en la primera y segunda carga orgánica (Contraste de fases 40x).

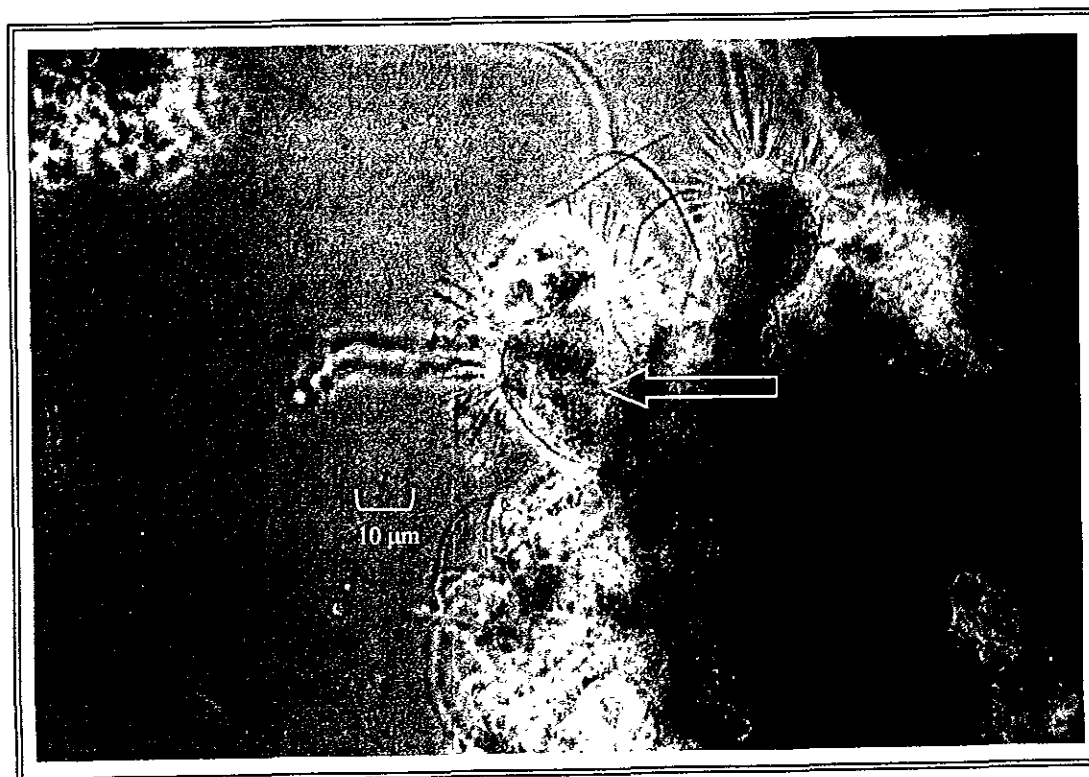


Figura 6. *Tokophrya quadripartita* en vivo (señalada por la flecha). Presente en la segunda carga orgánica (contraste de fases 40x).

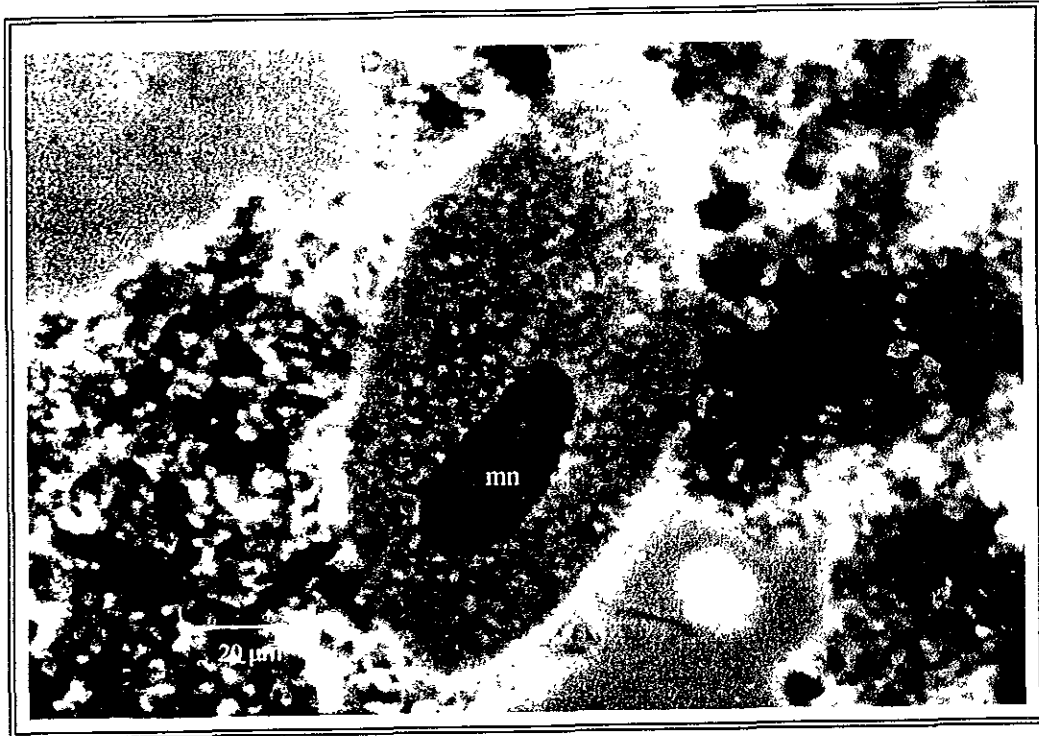


Figura 7 *Paramecium aurelia*. Técnica de Fernández-Galiano. Presente en las tres cargas orgánicas (Contraste de fases 40x), mn=macronúcleo.

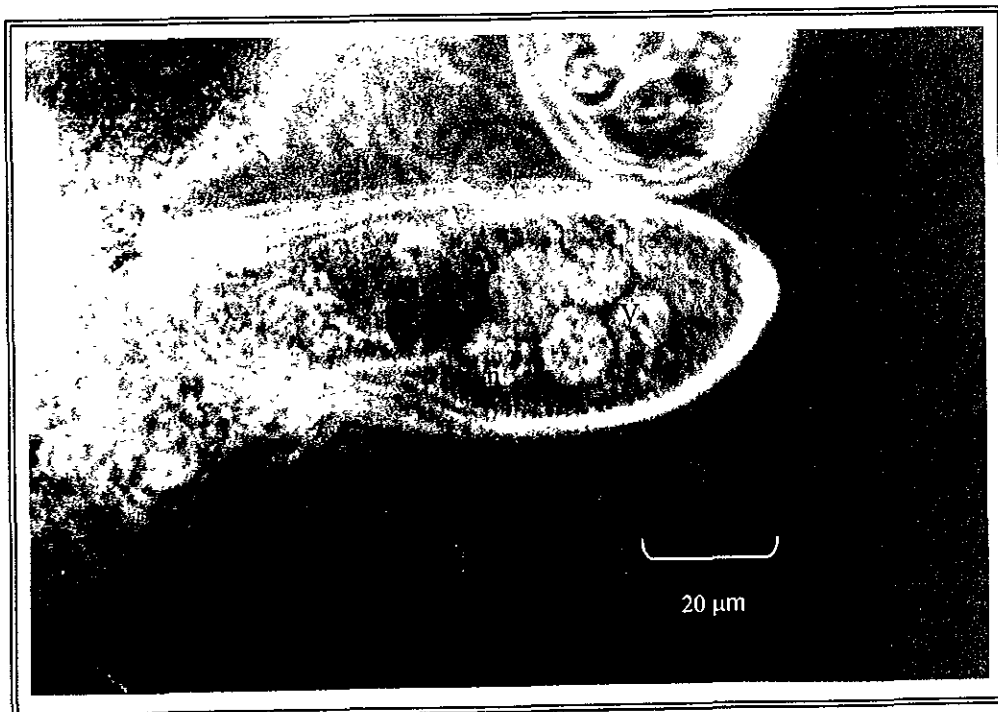


Figura 8. *Paramecium caudatum* en vivo. Presente en las tres cargas orgánicas (Contraste de fases 40x), V=vacuolas, n=núcleo.

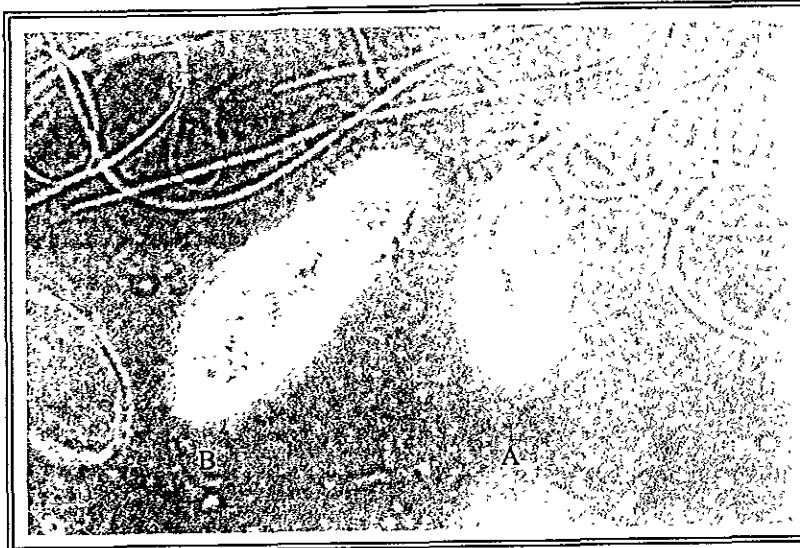


Figura 9. *P. aurelia* (A) y *P. caudatum* (B) en vivo, el primero es más grande que *P. caudatum* (contraste de fases 40x).



Figura 10. *Aspidisca cicada* en vivo. Presente en las tres cargas orgánicas (Contraste de fases 40x).

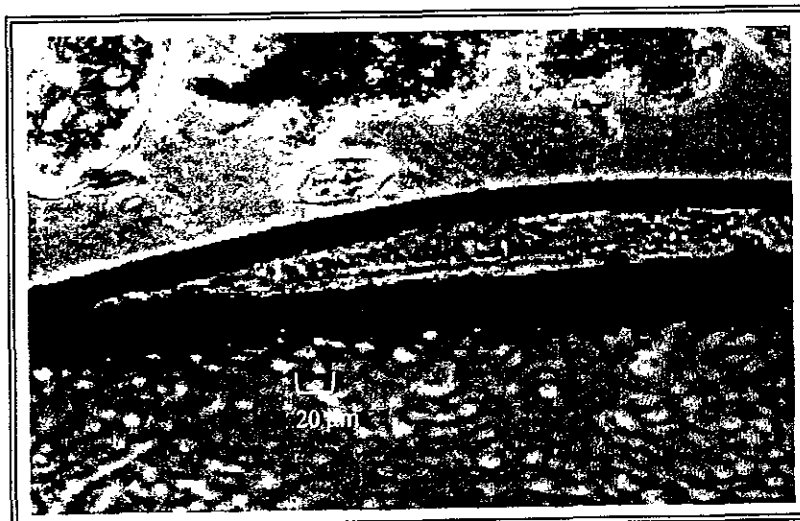


Figura 11. *Aspidisca lynceus* en vivo. Presente en las tres cargas orgánicas (Contraste de fases 40x).



Figura 12. *Glaucoma* sp. en vivo. Presente en la primera carga orgánica (Contraste de fases 40x).

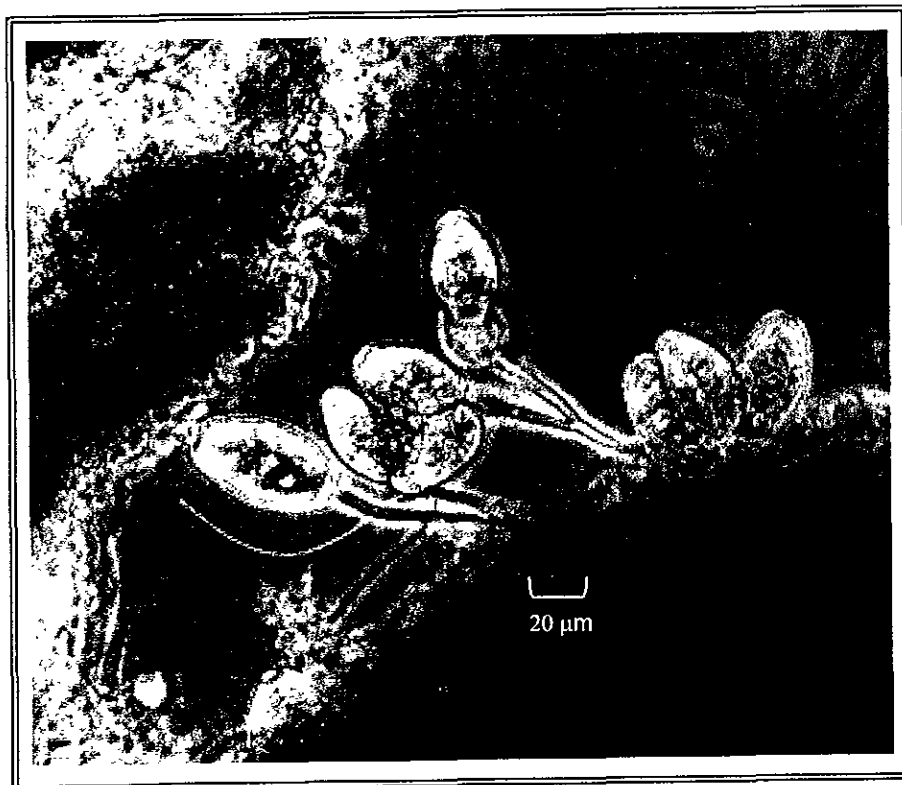


Figura 13. *Epistylis plicatilis* en vivo. Presente en las tres cargas orgánicas (Contraste de fases 10x).

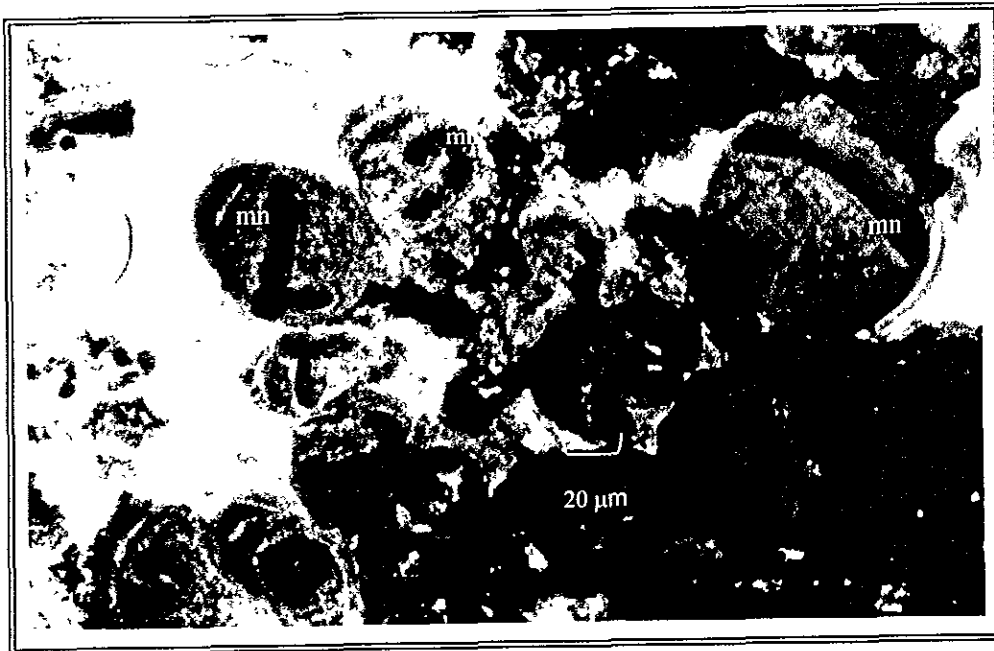


Figura 14. *Epistylis plicatilis* mostrando sus macronúcleos (mn). Técnica Fernández-Galiano (Contraste de fases 40x).

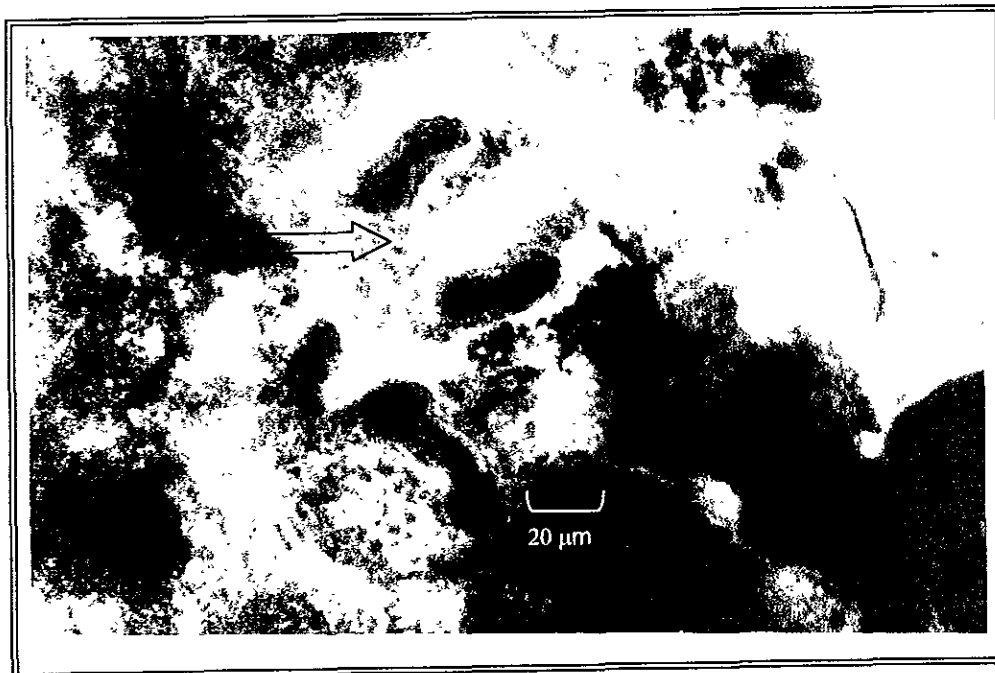


Figura 15. *Epistylis plicatilis*. Zooide en división (señalado por la flecha). Técnica Fernández-Galiano (Contraste de fases 40x).

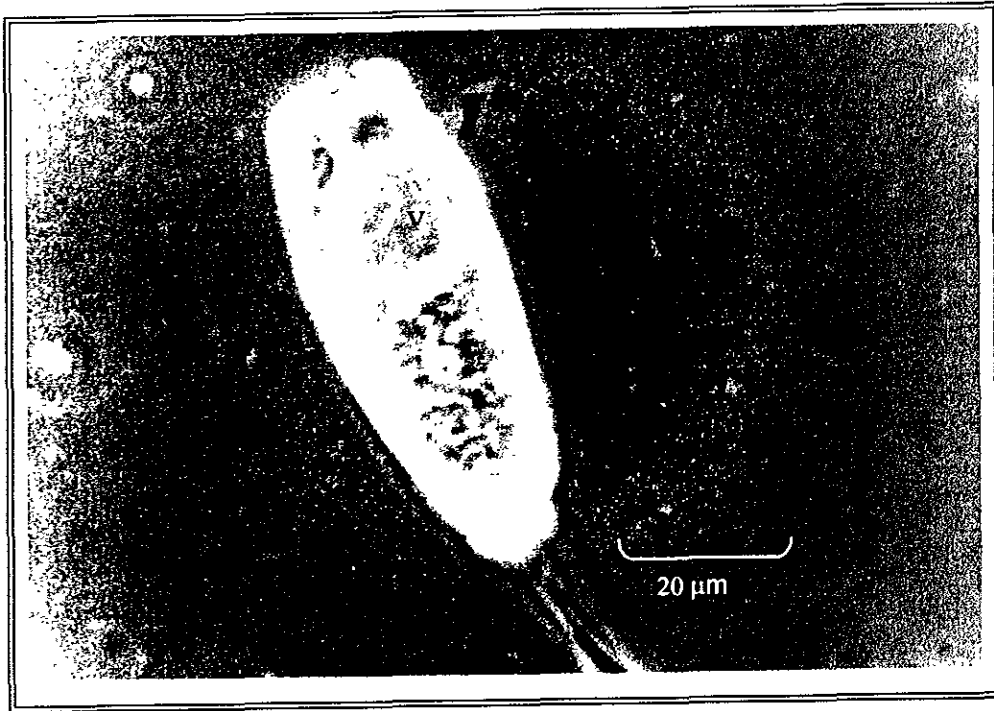


Figura 16. *Opercularia curvicaula* en vivo. Presente en las tres cargas orgánicas (Contraste de fases 40x), V=vacuola.

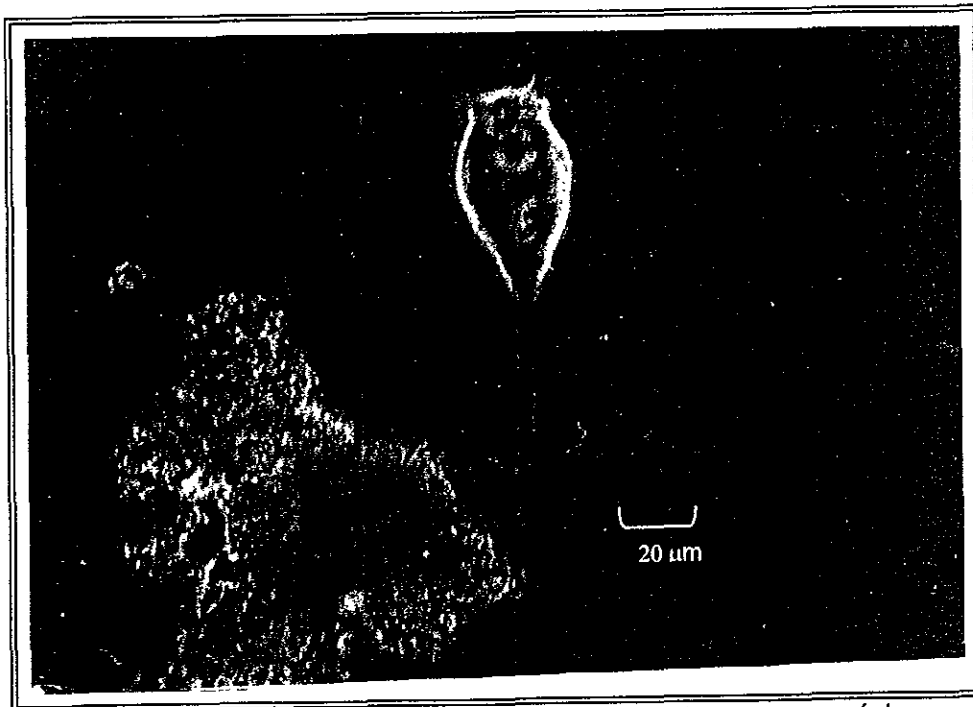


Figura 17. *Vorticella microstoma* en vivo. Presente en las tres cargas orgánicas (Contraste de fases 20x).

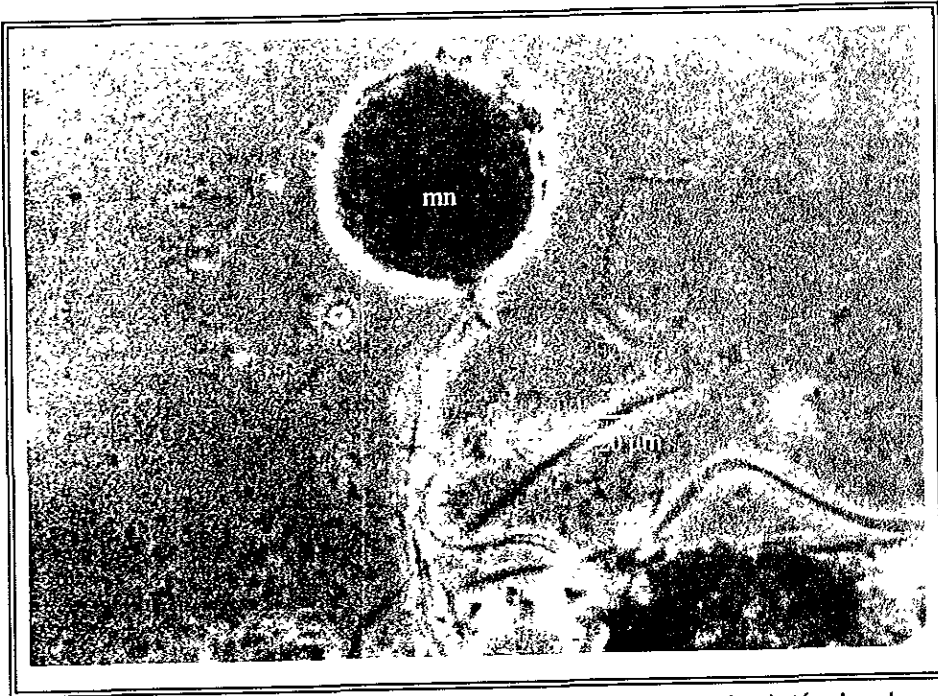


Figura 18. *Vorticella microstoma* mostrando su macronúcleo (mn), técnica de Fernández-Galiano (Contraste de fases 40x).



Figura 19. *Vorticella microstoma* en vivo mostrando su disco peristomal (dp) (Contraste de fases 40x).



Figura 20 Flagelados del género *Peranema* sp. en vivo presentes al inicio de la primera carga orgánica (Contraste de fases. 40x).

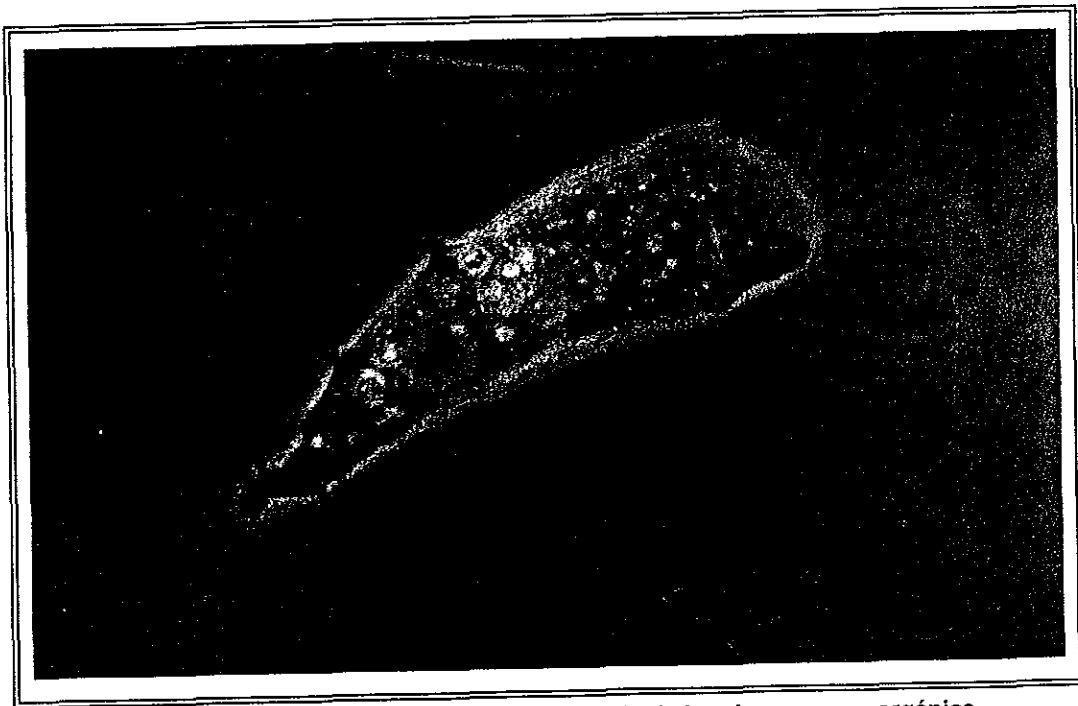


Figura 21 Ameba desnuda en vivo, presente al inicio de la primera carga orgánica (contraste de fases. 40x).

ANEXO III

TABLA I

FECHA	Q *	N-total (mg/l)		N-NH ₄ (mg/l)		PO ₄ (mg/l)		NO ₃ (mg/l)		NH ₄ (mg/l)		DQO (mg/l)		SST (mg/l)		SSV (mg/l)		Biomasa (gr)	
		INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.		
17/4/98	880	*	*	23.8	25.2	24.9	20.15	0.29	0.12	0.63	0.6	54	194						
20/4/98	105	*	*	16.8	21.7	17.36	15.5	0.28	3.78	0.72	1.14	454	297						
23/4/98	438	7.93	8.86	14	16.33	11.91	9.35	0.0	0.08	0.26	0.24	109	128						
26/4/98	230	11.95	35	4.9	5.0	12.04	10.38	0.08	0.23	0.96	1.12	159	92						
29/4/98	134	15.8	8.86	14.23	18.66	12.6	9.05	0.19	0.0	0.57	0.99	355	156						
2/05/98	130	15.8	18.6	22.4	22.4	14.5	12.77	0.0	0.0	0.64	1.31	371	115						
5/5/98	130	16.8	16.8	28.58	46.88	14.57	33.04	0.62	0.0	0.6	0.56	362	279						
8/5/98	260	34.3	20.7	31.5	28.0	10.84	10.7	0.5	0.44	0.85	1.32	183	127						
11/5/98	110	*	*	49.5	42.0	0.93	0.89	0.33	0.36	1.04	1.27	439	70						
14/5/98	125	*	*	56	21.3	17.37	29.01	0.29	0.95	1.14	1.6	324	187						
17/5/98	150	*	*	*	*	16.96	34.64	0.55	7.31	1.02	0.83	273	133						
20/5/98	170	*	*	*	*	16.03	11.64	0.4	2.87	0.91	0.39	597	52						
23/5/98	80	*	*	*	*	10.2	10.8	0.42	4.64	1.3	0.93	302	55					49	
26/5/98	160	*	*	29.68	0	13.24	9.64	0.77	4.18	19.7	0	332.1	32.4	29.7				49	
28/5/98	140	47.6	0	49.84	6.72	16.96	10.44	0	6.65	10.55	0.83	387	66.6	32.1				60.26	
30/5/98	120	58.8	10.9	42.56	4.48	12.04	9.18	0.39	2.3	14.4	0.55	376.2	47.7	36.9				52.93	
1/6/98	130	61.6	8.4	41.56	6.72	11.97	11.77	0.76	8.2	16.3	0.82	352.8	50.4	18	215	25	195	48.1	
3/6/98	130	66.1	12.32	41.44	39.2	20.28	15.56	0.03	0.12	13.5	0.24	369	130.5	121	300	260	260	49.2	
5/6/98	130	64.1	53.2	45.92	39.2	20.28	15.56	0.03	0.12	13.5	0.24	369	130.5	121	300	260	260	49.2	
7/6/98	130	39.2	0	34.72	0	15.23	16.96	0.407	0.05	11.3	0	354.6	30	27	320	105	245	26.91	
9/6/98	140	72.8	7.28	1.12	0	13.9	12.24	0.77	0.91	29.7	0.1	345.6	45	5.4	80	115	30	28.5	
11/6/98	120	78.4	9.96	73.36	6.16	13.77	9.91	0	5.92	17.71	1.4	381.6	54	25.2	60	85	15	15.94	
13/6/98	150	64.4	7.28	40.32	2.8	17.76	9.91	0.84	22.43	45.56	0.42	318.6	78.2	16.2	175	55	155	7.01	
15/6/98	130	52.6	10.08	49.2	5.6	17.56	7.98	0.39	1.15	35.32	3.02	374.8	14.4	7.2	150	15	55	22.9	
17/6/98	130	51.5	1.68	30.24	0	14.37	7.6	0.69	8.11	33.86	0	374.4	19.8	16.2	180	55	165	22.87	
19/6/98	150	56	1.12	30.24	0.56	12.7	10.5	0.76	13.04	34.83	0.11	315	21.6	19.8	115	35	115	20	18.303
21/6/98	160	49.3	2.24	30.24	0.56	11.57	9.12	0.86	5.77	42.15	0.18	300.6	23.4	16.2	130	10	105	10	23.82
23/6/98	160	38.6	2.24	21.84	5.6	11.04	9.51	1.55	15.17	22.4	0.35	304.2	10.8	0	115	10	100	10	23.73
25/6/98	380	17.4	2.24	11.76	0	10.05	6.92	0.35	4.72	12.77	0.05	124.2	36	23.4	60	15	50	15	22.9
27/6/98	190	47.6	2.24	33.04	0	18.75	3.67	0.04	2.57	33.86	0.03	252	97.2	88.2	60	5	50	5	22.04
29/6/98	280	29.1	2.24	19.6	0	9.78	5.72	0	2.43	19.57	0	169	1.8	0	85	30	60	30	38.8
1/7/98	180	37.3	1.12	25.27	0	10.98	0.67	0.25	0.83	27.76	0	268.2	39.6	19.8	80	10	75	10	43.2
3/7/98	290	41.4	3.36	31.92	1.68	10.24	6.8	0	4.76	38.98	1.6	162	36	18	50	20	40	20	19.8
5/7/98	290	36.4	1.68	28	0.56	9.65	6.8	0.216	7.31	31.78	1.8	163.8	43.2	27	55	10	50	10	20.26
7/7/98	510	33.6	1.68	25.76	0	9.98	7.39	0	6.77	28.13	0	93.6	30.6	14.4	60	15	50	15	24.85

Q* = Caudal (ml/min). * Sin datos.

Tabla 2

RESULTADOS OBTENIDOS DURANTE LA SEGUNDA CARGA ORGÁNICA. (7gDQO/m².d)

FECHA	Q*	N-TOT. (mg/l)		N-NH ₄ (mg/l)		PO ₄ (mg/l)		NO ₃ (mg/l)		NH ₄ (mg/l)		DQO (mg/l)			SST (mg/l)		SSV (mg/l)		Biomasa (g)	
		INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	SED	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.
4/8/98	660	56	50.4	40.32	39.2	10.86	10.86	0	0.4	40.73	2.3	167.4	54	43	15	8	12	2		
6/8/98	510	47.6	29.12	42	29.12	15.1	13.9	0.5	59.3	36.15	2.6	216	57	48	18	3	16	1	44.28	
8/8/98	340	42	7.28	41	7.28	14.23	6.6	0.4	28.81	13.2	1.9	331.2	36	18	24	4	22	3	44.68	
10/8/98	350	57	6.72	40.52	3.36	14.8	6.4	1.1	48	42.5	2	320.4	41	36	32	4	27	4	49	
12/8/98	360	51	5.6	39.2	2.24	14.24	7.8	0	52.8	33.4	3.1	311.4	0	0	29	4	25	4	43.6	
14/8/98	500	53	8.0	47	3.3	15	7	1	50	43	3	211	45	25	27	5	20	3	40	
16/8/98	700	52	7.5	42	3.0	14.7	7	0.5	48	47	3.1	160	43	20	26	6	22	2	35	
18/8/98	500	52	7.0	40	3.1	14.3	6	0.8	47	45	4	216	34	28	23	4	20	2	48	
20/8/98	670	48	6.0	41	2.8	15	6	0.5	42	40	3	164.5	46	23	28	4	20	4	40	
22/8/98	670	50	6.0	47	3.0	14.5	6.5	1	46	48	2	165	45	20	15	3	19	3	45	
24/8/98	670	52	6.0	47	3.0	14	6	1	46	47	2	165	40	20	20	2	18	3	30	
26/8/98	700	53	7.0	46	3.0	14	6	1	45	47	2	159	45	23	18	2	20	3		

Q* = caudal (ml/min)

Tabla 3

RESULTADOS OBTENIDOS DURANTE LA TERCERA CARGA ORGÁNICA (9 gDQO/m ² ·d)																			
FECHA	Q*	N-TOT (mg/l)		N-NH ₄ (mg/l)		PO ₄ (mg/l)		NO ₃ (mg/l)		NH ₄ (mg/l)		DQO (mg/l)			SST		SSV		BIOMASA (g)
		INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EFL.	INF.	EF-T.	EF-S	INF.	EFL.	INF.	EFL.	
3/10/98	970	52.6	8	50.4	2.8	15.7	15	1.6	45	42.2	3.1	148	39	25.2					
5/10/98	872	51.2	7.9	44.8	4	10.2	9.6	0	42	43	2	164	46	28					
7/10/98	600	64	36.4	56	34.7	14.3	11.84	0	34	71	48	248	48.6	45	155	105	105	95	195
9/10/98	680	72.8	46	53.2	33.6	13.64	12.8	0	19.5	60	3.6	211	30.6	23.4	105	20	90	15	202
11/10/98	600	81.2	5.6	19.6	2.24	7	6.3	0	23.5	22	4.6	91.8	30.6	9	400	15	400	15	62.22
13/10/98	400	64	5.6	47.6	2.24	14.4	13.1	0.6	79	43.6	2.2	358	34.2	27	205	20	165	20	53.22
15/10/98	1000	44.8	19.6	30.8	16.24	8.6	7.2	0	22.1	29.5	9.8	135	27	18	70	15	50	15	105
17/10/98	850	64.4	40.32	42	33.6	14.2	14	2.4	26.8	41	9.4	169	25.2	16.2	60	15	60	15	67.17
19/10/98	370	63	13.44	39.2	9.52	17.9	10.2	0	17.6	57	7.5	387	21.6	16.2	65	16	63	15	63.15

Q* = ml/min.