



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**Biorremediación de las aguas residuales en la
planta de tratamiento El Rosario, D. F. a través del
fitoplancton (*Scenedesmus acutus*: Chlorophyceae)
y cosechado con zooplancton (*Brachionus rubens*:
Rotifera)**

TESIS

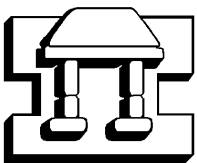
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

Carlos Alberto Torres Guerrero

Director de tesis Dra. Nandini Sarma



IZTACALA

Los Reyes Iztacala, México 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Pobres,
lo que se dice pobres,
son los que no tienen tiempo para perder el tiempo.

Pobres,
lo que se dice pobres,
son los que no tienen silencio ni pueden comprarlo.

Pobres,
lo que se dice pobres,
son los que tienen piernas que se han olvidado de caminar,
como las alas de las gallinas se han olvidado de volar.

Pobres,
lo que se dice pobres,
son los que comen basura y pagan por ella como si fuese comida.

Pobres,
lo que se dice pobres,
son los que tienen el derecho de respirar mierda,
como si fuera aire, sin pagar nada por ella.

Pobres,
lo que se dice pobres
son los que no tienen más libertad de elegir entre uno y otro canal de televisión.

Pobres,
lo que se dice pobres,
son los que viven dramas pasionales con las máquinas.

Pobres,
lo que se dice pobres,
son los que son siempre muchos y están siempre solos.

Pobres,
lo que se dice pobres,
son los que no saben que son pobres.

La utopía está en el horizonte. Camino dos pasos, ella se aleja dos pasos y el horizonte se corre diez pasos más allá. ¿Entonces para que sirve la utopía? Para eso, sirve para caminar.

Eduardo Galeano

**Este trabajo esta dedicado a:
Gerónimo Guerrero † “Momo”, Jose Flores † y Soledad
Cuevas †, gracias por haberme compartido una pequeña
parte de sus vidas.**

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Susana y Juan Carlos, por el apoyo incondicional que siempre me han brindado, por forjar mi carácter, por enseñarme a soñar, a luchar por lo que quiero y a nunca perder la humildad. En fin nunca acabaría de enlistar todo lo que me han enseñado. Muchas gracias.

A mi hermano Alejandro, por haberme acercado a esto de "la ciencia", por hacerme una persona consecuente e idealista, por su compañía y amistad de todos estos años y por todos los conocimientos que me ha compartido.

A Paulina, por todos los momentos felices que hemos compartido, por todo el apoyo y la confianza, por el cariño y amor, por hacerme crecer como persona y sin duda por todas las aventuras que hemos pasado juntos. Nimitznaki Luu.

A la familia Brena Bustamante por abrirme las puertas de su casa y por todo el apoyo que recibí de todos sus integrantes.

A mis cuates de la FES Iztacala Mike, Paco, Oscar, Marianita, Gabriel, Pamela, Ana, Aldana, los Alanises, Elvira, El chino, Las Naybis y todos los que me faltaron, por todas las fiestas, borracheras y viajes que compartimos con tanta felicidad durante la carrera.

Al equipo de Fútbol por todos los partidos perdidos y ganados.

A mis amigos, Juan, Julio, César y Omar por todos los ratos de diversión y reflexión.

A toda la gente que ha luchado por que la Universidad Nacional Autónoma de México sea la numero uno en Iberoamérica, pero sobre todo a toda la gente que ha luchado día con día para que nuestra UNAM sea Pública, Laica, Gratuita e Incluyente.

A todos los integrantes del Laboratorio de Zoología Acuática, en especial a Gerardo, Alma, Jorge, Carmen, Frida, Christian y Abraham.

Al Programa Nacional de Becas para la Educación Superior (PRONABES), por el apoyo económico durante mis estudios.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN203107, por el financiamiento otorgado para la realización de este proyecto de investigación.

A la Dra. Nandini Sarma, por asesorar este trabajo, por sus aportes a la investigación científica, pero sobre todo por los regaños, que me hicieron aprender muchas cosas.

Al comité de revisores asignados para este trabajo el Dr. Pedro Ramírez García, Al Dr. S. S. S. Sarma, al Dr. Alfonso Lugo Vázquez y al M. en C. Mario Fernández Araiza, por sus aportaciones a esta investigación.

INDICE

1. RESUMEN	7
2. INTRODUCCIÓN	8
3. ANTECEDENTES	14
4. JUSTIFICACIÓN	20
5. OBJETIVOS	21
5.1. Objetivo general.....	21
5.2. Objetivos particulares	21
6. MATERIAL Y MÉTODOS	22
6.1. Cultivo de los organismos experimentales.....	22
6.2. Crecimiento poblacional de <i>Scenedesmus acutus</i>	22
6.3. Disminución de Fosfatos y Nitratos	24
6.4. Crecimiento poblacional de <i>Brachionus rubens</i>	24
6.5. Morfometría	25
6.6. Experimentos en campo	26
6.7. Análisis estadístico	27
7. RESULTADOS	28
8. DISCUSIÓN	40
8.1. Crecimiento de <i>Scenedesmus acutus</i> en laboratorio.....	40
8.2. Crecimiento de <i>S. acutus</i> en campo	40
8.3. Disminución de nutrientes.....	41
8.4. Crecimiento de <i>Brachionus rubens</i> en laboratorio	42
8.5. Crecimiento de <i>Brachionus rubens</i> en campo	44
8.6. Morfometría	45
9. CONCLUSIONES	46
10. RECOMENDACIONES	47
11. REFERENCIAS	48

1. RESUMEN

En la actualidad un bajo porcentaje de las aguas residuales urbanas son tratadas y estas se utilizan principalmente para recargar cuerpos de agua artificiales dentro de las ciudades; el problema es que este tipo de aguas presenta grandes cantidades de fósforo y nitrógeno que son los principales agentes causantes de la eutrofización. En este trabajo se evaluó el crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus rubens*, alimentado con el alga clorofita *Scenedesmus acutus*, cultivada en aguas residuales, en tres diferentes medios de cultivo: medio Bold (B), agua de planta de tratamiento (PT) y agua de planta de tratamiento + medio Bold (P+B); el tratamiento de medio Bold, alcanzó las máximas densidades (21.3×10^6 cels.), mientras que en la fase de campo el crecimiento fue mucho menor (1.9×10^6 cels). Las tasas de crecimiento (r) para cada tratamiento fueron calculadas y demostraron diferencias significativas. En el caso de los fosfatos y nitratos, la reducción en el laboratorio fue del 33% y 31% respectivamente y en los microcosmos instalados en la Planta de tratamiento El Rosario, la reducción de fosfatos fue de 79% con respecto a la cantidad inicial, mientras que los nitratos no fueron calculados debido a fallas en la técnica empleada. El rotífero *Brachionus rubens* alimentado con *S. acutus* logró obtener densidades mayores a los 300 ind. mL⁻¹ en el tratamiento de P+B, aunque en los otros dos tratamientos se pudieron cosechar poblaciones considerables de este rotífero [B (240 ind. mL⁻¹) y PT (80 ind. mL⁻¹)]. El comienzo de la fase exponencial, se logró entre el día 3 y 4 en los tres tratamientos. Las tasa de crecimiento (r) calculadas para la fase del laboratorio resultaron ser significativamente diferentes despues de realizar una prueba de ANOVA. Para la fase de campo, en los microcosmos el crecimiento de *B. rubens* rebasó los 700 ind. mL⁻¹, en el tratamiento que contenía el inóculo de *S. acutus* mientras que para el tratamiento control solo se reportó un número máximo de 400 mL⁻¹, aunque sus tasas de crecimiento poblacional no presentaron diferencias significativas. Por último se evaluó si existían diferencias en el tamaño del cuerpo según la dieta ofrecida y se encontró que en los tres tratamientos al término del experimento los organismos presentaron tallas muy semejantes.

2. INTRODUCCIÓN

Los cuerpos de agua urbanos, juegan un papel muy importante en el desenvolvimiento de la vida cotidiana del ser humano, ya que además del aspecto estético, estos reservorios, albergan gran diversidad de plancton, sirven como refugio a un gran número de aves (migratorias y residentes), fungen como sitios de recreación, coadyuvan al ciclo hidrológico y a la recarga de los mantos acuíferos. La ciudad de México junto con la zona metropolitana albergan varios de estos cuerpos tales como: el lago de Chapultepec, Los canales de Xochimilco, el Lago Tezozomoc, el Lago de Zumpango y el Lago de Texcoco, por mencionar algunos de los más importantes debido a su extensión (CNA, 2007). Estos cuerpos son en su mayoría recargados con aguas residuales que llegan al sistema de drenaje con desechos domésticos e industriales con un alto contenido de nutrientes, principales agentes causantes de la eutrofización (Gray, 1989).

Los nutrientes que influyen principalmente en este proceso son el fósforo y el nitrógeno, ya que en algunos ecosistemas, el factor limitante para el crecimiento de las comunidades fitoplanctónicas es el fósforo, mientras que en otros es el nitrógeno (Redfield, 1958). En los últimos 30 años la concentración de fósforo y nitrógeno se ha duplicado en algunos lagos y mares, siendo la principal causa de este aumento en las concentraciones, el arrastre de los ríos (Margalef, 1994). En el caso del nitrógeno una elevada proporción llega a través de la contaminación atmosférica. El nitrógeno puede ser más móvil que el fósforo y puede ser eliminado del suelo por la evaporación del amoníaco o la desnitrificación enviándolo a la atmósfera. El fósforo es mayormente absorbido por las partículas del suelo y es arrastrado por la erosión o por las escorrentías de aguas superficiales. En condiciones naturales en un sistema acuático llega a entrar menos de 1 Kg de fósforo en forma de fosfatos por hectárea por año (Hallegraeff, 1992), aunque en la actualidad esta cifra se ha elevado constantemente debido a las actividades realizadas por el hombre como el uso de jabones y detergentes que contienen fosfatos, el uso de fertilizantes y las aguas residuales de las zonas urbanas e industriales, provocando un desorden en los niveles de nutrientes de los cuerpos de agua (Hallegraeff, 1992).

La eutrofización es un proceso natural de los lagos, el cual progresa aun sin tener la ayuda del hombre, consiste principalmente en cambios del estado trófico de los ecosistemas acuáticos (Harper, 1992). Los problemas asociados a este fenómeno son, entre otros, la alteración de las propiedades organolépticas del agua, disminución de la diversidad de especies, fuertes fluctuaciones de oxígeno disuelto, altas tasas de descomposición de materia orgánica, aparición de florecimientos de cianoprocariontes o vegetación acuática abundante que impiden el paso de la luz, resuspensión de ciertos metales, solo por mencionar los más importantes. Aunque es un proceso que se da en condiciones naturales, en la actualidad éste se ha acelerado a una velocidad considerable debido a diversas actividades antropogénicas (Cugier *et al.*, 2005).

Las cuatro fuentes fundamentales de aguas residuales son: aguas domésticas o urbanas, aguas residuales industriales, escorrentías de usos agrícolas y pluviales (Ramalho, 1993). Cabe resaltar que en el siguiente trabajo se hará hincapié sólo en las dos primeras, pero en conjunto este tipo de aguas son las principales causantes de la aceleración de los procesos de eutrofización en los cuerpos de agua o reservorios artificiales cuyos efectos pueden verse reflejados en la pérdida de la biota en estos hábitats (Ramalho, 1993).

Debido a que el agua es un recurso vital para la regulación de diversos ecosistemas, así como para la sobrevivencia de las sociedades actuales, se han diseñado técnicas para remover los principales contaminantes que se encuentran en las aguas residuales domesticas e industriales, para que posteriormente estas puedan ser reutilizadas por el hombre, la industria, o bien, queden resguardadas en reservorios artificiales. Parte de estos contaminantes pueden ser parcialmente removidos en plantas de tratamiento, (IRC, 2005) empleando diversas tecnologías o métodos tales como el cribado, la sedimentación, la cloración, el intercambio iónico, las lagunas de estabilización y los lodos activados, siendo estos dos últimos los más empleados en México (CNA, 2007).

El sistema de lodos activados hace referencia a todos los procesos de tratamiento biológico aerobios de las aguas residuales. Este proceso ha sido utilizado para el tratamiento de las aguas residuales tanto industriales como urbanas desde hace aproximadamente un siglo. El diseño de las plantas de tratamiento de lodos activados se llevó a cabo fundamentalmente de manera empírica. Este proceso nació hace mucho tiempo al observar que cualquier tipo de agua residual, urbana o industrial, se sometía a aireación durante un periodo de tiempo, en ella se reducía su contenido de materia orgánica formándose a la vez un lodo floculento (Ramalho, 1993).

Una planta de lodos activados es un sistema de mezcla completa. Su nombre proviene de la producción de una masa activada de microorganismos capaz de estabilizar un residuo en medio aerobio. Este método está provisto de un sistema de recirculación y eliminación de lodos. El ambiente aerobio en el reactor se consigue mediante el uso de aereadores mecánicos, que también sirven para mantener el líquido en estado de mezcla completa. Al cabo de un periodo determinado de tiempo, la mezcla de las nuevas células con las antiguas se conduce hasta un tanque para ser separados por sedimentación del agua residual tratada. Una parte de las células sedimentadas se recirculan para mantener en el reactor la concentración de células deseadas, mientras que la otra parte se purga del sistema (Méndez *et al.*, 2004).

El examen microscópico del lodo proveniente de una planta de tratamiento con éste sistema revela que está formado por una población heterogénea de microorganismos, que cambian continuamente en función de las variaciones de la composición de las aguas residuales y de las condiciones ambientales. Los microorganismos presentes son bacterias, hongos, algas, protozoos y rotíferos principalmente (Ramalho, 1993).

Dado que algunos microorganismos pueden estar presentes aun después del proceso de los lodos activados, el agua tiene que ser sometida a un paso final de desinfección utilizando cloro frecuentemente, éste a su vez forma cloro libre, que consiste en cloro molecular acuoso, ácido hipocloroso e ión hipoclorito; que al reaccionar con el amonio y algunos compuestos de

nitrógeno pueden producir monocloraminas, dicloraminas y tricloruro de nitrógeno, que son compuestos potencialmente cancerígenos; otra desventaja es que el color y olor característico de los fenoles y otros compuestos orgánicos presentes en el agua pueden intensificarse (NMX-AA-108-SCFI-2001). En la actualidad se han puesto en marcha técnicas alternativas para el tratamiento de aguas residuales, como por ejemplo la biomanipulación con microorganismos.

La biomanipulación es un método relativamente nuevo, que por lo general se utiliza en sistemas acuáticos de corta extensión, someros y cerrados, para evitar una división espacial de los organismos, los niveles de nutrientes son más estáticos ya que no hay una pérdida considerable en el hipolimnion (Hanson, 1994). El manejo de los componentes bióticos tiene como finalidad mejorar la calidad del agua. Este método se ha enfocado en aumentar las poblaciones de zooplancton que puedan controlar la biomasa fitoplanctónica. En general la biomanipulación es una alternativa para el manejo del exceso de nutrientes en los sistemas acuáticos, que comúnmente se realiza mediante la aplicación de tratamientos químicos. Estos últimos no son eficaces a largo plazo en lagos eutróficos (Cooke, 1986); la ineficacia se debe a que este tipo de técnicas no considera las interacciones biológicas propias de los sistemas acuáticos. En la actualidad se ha visto un aumento en cuanto a trabajos de investigación que emplean la biomanipulación en cuerpos de agua dulce eutróficos y en estanques de plantas de tratamiento de aguas residuales (Fernández, 2007; Hanson, 1994; Tarlan *et al.*, 2002).

Se ha demostrado que algunas algas (microalgas principalmente) son capaces de remover experimentalmente en canales de desechos agrícolas de 104 a 139 mgTP/m²/día (Adey *et al.*, 1993) y en algunos otros casos se ha comprobado que las clorofitas en particular, son capaces de remover 98% del fósforo y 100% del nitrógeno contenido en aguas residuales (Nguyen *et al.*, 1999; Martínez *et al.*, 2000). Estas microalgas pueden ser aprovechadas en su mayoría ya que sirven como alimento para varios organismos que forman parte del zooplancton como son los copépodos, los cladóceros y los rotíferos. Los rotíferos frecuentemente son consumidores de microalgas, en el caso particular

de *S. obliquus*, puede ser ingerida por organismos de tallas muy pequeñas como *Anuraeopsis fissa* (Dumont *et al.*, 1995), por lo que el rotífero *B. rubens* de mayor tamaño y empleado en ésta investigación, puede consumir sin problemas esta microalga. Cabe resaltar que existe una confusión nomenclatural en torno a *S. acutus* y *S. obliquus*. (Komárek y Fott, 1983; Hewegald y Silva, 1988) por lo que en ésta investigación serán consideradas como sinónimos.

Los rotíferos son organismos dulceacuícolas filtradores que se alimentan principalmente de fitoplancton, bacterias y materia orgánica viva o muerta (Nogrady, 1993); la mayoría mide de 0.1-1.0mm de largo, son solitarios libres nadadores y entre los que se encuentran algunos coloniales o sésiles. Por lo general son transparentes y pueden presentar color debido a la pigmentación de su aparato digestivo; la forma de su cuerpo es largo o saquiforme y relativamente cilíndrico. Generalmente se reproducen partenogenéticamente produciendo hembras solamente (ciclo amíctico), aunque cuando las condiciones ambientales no son favorables las hembras pueden producir huevos haploides que producen machos (por lo general mas pequeños que las hembras) y a esto se le conoce como ciclo míctico (Barnes, 1996). Su importancia biológica radica en que son bioindicadores de contaminantes, alimento para larvas de peces, intermediarios entre productores primario y consumidores primarios de la cadena trófica (Nogrady, 1993).

Los rotíferos son comúnmente utilizados como organismos para bioensayo, debido a que poseen diversas características que favorecen al investigador como son: ciclo de vida corto, partenogenéticos, fáciles de mantener en laboratorio, fáciles de manejar, sensibles a los cambios en el medio, así como al cambio de dietas y calidad nutricional del alimento que se les brinda (Sarma, 2000). En algunos casos los rotíferos pueden mostrar cambios en su morfometría de acuerdo a la cantidad y calidad de los recursos disponibles en el medio, uno de los cambios principales se ve reflejado en el tamaño de los huevos y por lo tanto en el tamaño de los organismos, esto se debe principalmente a la reducción en las gónadas del organismo (Claus-Peter, 2001). Algunos autores mencionan que existen concentraciones umbrales de

alimento, en las que se puede predecir las condiciones en las que se encuentran las poblaciones de rotíferos y si estos comienzan a presentar cambios en su morfometría (Stemberg y Gilbert, 1985).

Es por este motivo que se ha considerado, el uso de las microalgas como un método alternativo para la eliminación de fósforo y nitrógeno, se pretende realizar el crecimiento de *Scenedesmus acutus* en condiciones de laboratorio y de campo para observar la disminución de P y N; así mismo estas microalgas serán empleadas como alimento del rotífero *Brachionus rubens*, que comúnmente se alimenta de fitoplancton, materia orgánica viva o muerta y bacterias. Este a su vez nos brindará información acerca de la calidad alimenticia de las algas cultivadas con aguas residuales tratadas de la planta de tratamiento El Rosario. Los rotíferos cosechados después de haber sido alimentados con las diferentes dietas pueden ser utilizados como alimento para larvas de peces, principalmente de ornato.

3. ANTECEDENTES

Los antecedentes acerca de la utilización tanto de fitoplancton como zooplancton para el saneamiento de aguas residuales urbanas tienen una antigüedad de sólo una década. Aun más recientes son los trabajos que hablan sobre el aprovechamiento de estos organismos como alimento para otros (por ejemplo peces) y el uso de éstas relaciones ecológicas como una posible herramienta de biomanipulación, para la remoción de nutrientes en aguas residuales, mostrando a la vez beneficios económicos para algunos productores de alimento para peces o algunas granjas acuicultoras que pueden así recircular el agua y obtener alimento de este proceso.

Goldman *et al.* (1973) realizaron experimentos con diferentes combinaciones de aguas residuales después del tratamiento terciario y con agua de mar, para observar el crecimiento de fitoplancton en esta combinación de tipos de agua. Al mezclar en diferentes proporciones los dos tipos de agua se encontraron resultados positivos en cuanto al crecimiento del fitoplancton, pero observaron que solo podían crecer hasta ciertas densidades, sin embargo al agregar nitrógeno al medio estas poblaciones fitoplanctónicas podían crecer aun más. Con base en esto ellos afirmaron que el nitrógeno es el factor limitante para el crecimiento del fitoplancton.

Tarlan *et al.* (2002) mencionan la efectividad de un cultivo mixto de microalgas para remover desechos orgánicos de las aguas residuales de la industria del papel. Los cultivos se realizaron en reactores con aguas residuales de la industria papelera. Ellos encontraron que las clorofitas y las diatomeas fueron las que más intervinieron en la remoción de agentes inorgánicos (fósforo y nitrógeno principalmente) de las aguas residuales.

Nguyen *et al.* (1999) demostraron que al combinar a la macrófita flotante *Eichhornia crassipes* con la clorofita microscópica *Chlorella vulgaris* en una laguna de estabilización con exceso de nutrientes, la tasa de remoción de nitrógeno total aumenta hasta el 23%; así mismo algunos parámetros como la

DQO resultaron con valores por debajo de 500 mg L^{-1} y los sólidos en suspensión de 50 mg L^{-1} .

Sebnem e Ilgi (2006) calcularon los coeficientes biocinéticos de *Chlorella vulgaris* para remover fósforo y nitrógeno de las aguas residuales sintéticas o creadas en el laboratorio, encontrando una relación de $N/P = 2/1$. Los valores que se lograron cuantificar en las lagunas de agua residuales para fósforo y nitrógeno variaron de entre $7.7 - 199 \text{ mg L}^{-1}$ y $13.2 - 410 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Al término de la investigación los autores concluyen en que la calidad del agua aumenta considerablemente con el empleo de este tratamiento y que *C. vulgaris* remueve con mayor facilidad al nitrógeno que al fósforo.

Martínez et. al. (2000) estudiaron la eliminación de fósforo y nitrógeno en aguas residuales de España bajo diferentes condiciones de agitación y temperatura. Se evaluó la producción de biomasa, la eliminación de NH_3 , la producción química de cada tratamiento y la remoción de nutrientes inorgánicos. Se observó que la agitación pudo aumentar considerablemente la producción de biomasa y la temperatura en la que se encuentran los máximos crecimientos del alga *Scenedesmus obliquus*, fue a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. La agitación y la temperatura, no mostraron diferencias significativas en cuanto a la remoción de nitrógeno y fósforo, sin embargo el tratamiento con agitación y a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ fue el que obtuvo los mayores rendimientos, con una remoción del 98% del fósforo total como PO_4 y el 100% de nitrógeno en forma de amonio. Al cosechar las microalgas, estas fueron evaluadas para su calidad nutricional con análisis bromatológicos encontrando una baja cantidad de proteínas y una gran cantidad de ácidos grasos polinsaturados (PUFA por sus siglas en inglés).

Nandini (1999), elaboró un estudio; en el que comparó durante un año el comportamiento de parámetros fisicoquímicos de varias lagunas de estabilización de aguas residuales urbanas, así como la estructura de la población del fitoplancton y zooplancton, encontrando valores de $1.2\text{-}2.0 \text{ mg L}^{-1}$ de fósforo reactivo soluble, $2.0\text{-}3.5 \text{ mg L}^{-1}$ de fósforo total y $0.075\text{-}0.030 \text{ mg L}^{-1}$ de nitrógeno como nitrato y en el caso de a estructura poblacional del plancton

se obtuvieron poblaciones masivas de *Euglena*, *Pandorina*, *Oscillatoria* y *Spirulina*, los rotíferos *Brachionus calyciflorus*, *Hexarthra mira* y *Filinia longiseta*; el cladóceros *Moina macrocopa* y el copépodo *Mesocyclops thermocyclopoides*.

Kampf y *et al.* (1999) utilizaron un desagüe de aguas residuales para crecer fitoplancton y cladóceros del género *Daphnia* para utilizarlos como alimento de peces. Las conclusiones son, que el establecimiento de cultivos de este tipo de organismos es factible aunque con bajos rendimientos y que es necesario revisar la calidad nutricional que tienen estos organismos al crecer en este tipo de aguas.

Nandini *et al.* (2004, 2005) realizaron tablas de vida y supervivencia, así como crecimiento poblacional de *Alona rectangula*, *Ceriodaphnia dubia*, *Moina macrocopa* y *Daphnia pulex* en aguas residuales de tres diferentes fases de tratamiento y *Chlorella vulgaris* como alimento para los organismos. Ellos observaron que tanto la sobrevivencia y el crecimiento poblacional de *Moina macrocopa* en el agua de la laguna B, (agua del reactor biológico) fue el mayor en todos los parámetros demográficos calculados con una tasa de crecimiento poblacional de 0.25 ($r\ d^{-1}$).

Groeneweg y Schlüter (1981) cultivaron *Brachionus rubens* en aguas residuales de un efluente con gran cantidad de algas y bacterias, proveniente del tratamiento de los desechos de una granja de cerdos, obteniendo densidades máximas desde los 200 hasta los 580 ind. mL^{-1} . Los autores proponen este sistema de cultivo como una herramienta para aprovechar las aguas residuales y así beneficiar a las granjas acuicultoras para que produzcan el alimento de las larvas de peces con este tratamiento y reduzcan los costos de producción al dejar de comprar quiste de *Artemia* como alimento de los primeros estadios de los peces.

Stevenson *et al.* (1998) proponen que con la combinación de aguas residuales de la industria del maíz de México (Nejayote) y una concentración constante de *C. vulgaris* de 1×10^6 cels. mL^{-1} , se obtiene la mayor abundancia, cerca de 240 ind. mL^{-1} , del rotífero *Brachionus calyciflorus*.

Sarma *et al.* (2003) cuantificaron el crecimiento poblacional y la calidad nutrimental de *Brachionus rubens*, *B. patulus* y *B. calicyflorus* cultivados en aguas residuales tratadas, parcialmente tratadas y agua cruda, observando que el rotífero que pudo establecer las poblaciones más grandes en este tipo de agua fue *B. rubens*, la cual alcanzó densidades máximas de 200 ind. mL⁻¹ aproximadamente. Para cuantificar la calidad nutricional de este rotífero los autores realizaron un experimento en el cual, *B. rubens* fue proporcionado como alimento de *Asplanchna sieboldi*, obteniendo buenos rendimientos con una tasa de crecimiento poblacional de ~0.8 (r, d⁻¹).

Rothhaupt (1990) señala que para algunos rotíferos la eficiencia para alimentarse depende del tamaño de partícula que consumen y del tamaño del organismo, también muestra que algunos organismos son selectivos al momento de ingerir partículas mientras otros como *Brachionus rubens* se considera como un organismo poco selectivo ya que consume cualquier partícula viva o muerta (fitoplancton, detritus, materia orgánica o bacterias), que se encuentre en un intervalo de 3.5 a 20 µm.

En el año 2004 se instaura en la unión Europea la “Waterharmonica”, un sistema creado en Holanda por Ruud Kampf para la reutilización y potabilización de las aguas residuales, con la ayuda de conceptos de ecoingeniería como el uso de humedales, la inserción de fitoplancton, el cultivo de cladóceros y la utilización de esta agua para el desove de algunos peces (De Waterharmonica, 2007).

Los estudios acerca del tamaño del cuerpo dependiendo de la dieta o de factores alimenticios en rotíferos, son unos cuantos y enseguida se enlistan los más importantes y convenientes para esta investigación.

Robertson y Salt (1981), cultivaron a *Asplanchna girodi* con diferentes dietas de *Paramecium tetraurelia* y evaluaron los cambios en la fecundidad, mortalidad y crecimiento de este organismo. Los autores mencionan que todas las variables cuantificadas, tienen relación y se ven afectadas por la

concentración de alimento que es brindada al rotífero. Tanto la fecundidad, la tasa de crecimiento y el tamaño de los rotíferos se ven afectados directamente con la cantidad de alimento ingerido, mientras que la longevidad y la edad de la primera camada presentan una relación inversa con la cantidad de alimento. Cuando la concentración del alimento resultó ser alta los organismos jóvenes funcionaron como un amortiguador de la población, respondiendo con altas tasas de fecundidad.

Bogdan y Gilbert (1984) realizaron una investigación en la que, proporcionaron alimento de diferentes tamaños, a diferentes especies de rotíferos. En sus resultados clasifican a los rotíferos en tres categorías dependiendo del tipo y tamaño de partícula que estos ingirieron. Los investigadores concluyen que la longitud del zooplancton puede ser influenciada por la capacidad máxima de ingesta o la partícula de mayor tamaño que pueden ingerir.

Stenberg y Gilbert (1985) propusieron que existe una relación muy estrecha entre la concentración de alimento y la talla de los rotíferos. Ellos realizaron un experimento con diferentes concentraciones de alimento y 17 especies de rotíferos con tamaños diferentes para cada especie. Descubrieron que existe una relación muy significativa del tipo log-log para los umbrales de alimento (concentración de alimento en la que $r=0$) para mantener viva a la mitad de la población en casi todas las especies probadas ($r_{max}/2$). Es por ello que los autores comentan que una de las estrategias adaptativas en los organismos o especies de tallas pequeñas es que el umbral de alimento se reduce debido al tamaño del cuerpo, siendo estas las más exitosas cuando el alimento es escaso.

Stenberg y Gilbert (1987) en otro estudio y utilizando los datos previamente publicados, describieron una explicación fisiológica para la relación entre los umbrales de alimento y las masa corporal de los rotíferos planctónicos. El exponente describe la máxima tasa de aclaramiento como una función de la masa corporal y esto es similar al exponente que es expresado en la tasa de energía consumida en concentraciones bajas de alimento. Ellos

mencionan que el primer exponente calculado es considerablemente menor al exponente de la respiración. Por consecuencia la diferencia entre la energía consumida y el metabolismo puede decrecer con el incremento del tamaño del cuerpo en bajas concentraciones de alimentos. Por último los autores concluyen que la velocidad de natación y locomoción se encuentran directamente determinadas por la concentración de alimento y el tamaño del cuerpo.

Claus-Peter (2001) demostró la relación que existe entre la proporción de recursos y la reproducción de un rotífero planctónico (*Synchaeta pectinata*). Realizó experimentos en laboratorio y en campo, estos mostraron que mientras los recursos son ilimitados o suficientes para el crecimiento de las poblaciones de *S. pectinata*, el tamaño del ovario y del huevo es constante, mientras que si el alimento es limitado: 1) la tasa reproductiva es afectada y 2) los ovarios tienden a reducirse y a originar huevos de menor tamaño. Esto es considerado como una estrategia adaptativa ya que aunque se producen huevos más pequeños y por lo tanto organismos de menor tamaño el organismo puede continuar reproduciéndose y establecer poblaciones.

4. JUSTIFICACIÓN

En la ciudad de México se producen diariamente 25 m³/s de aguas residuales industriales y domésticas, de las cuales sólo cerca del 30% es tratada y devuelta para el uso industrial, riego o relleno de algunos cuerpos de agua urbanos (como el lago de Xochimilco, Chapultepec, Tezozomoc, etc.). Generalmente este tipo de agua al ser tratada solamente con procesos secundarios como los lodos activados, contienen exceso de nutrientes (P y N principalmente), principales agentes causantes de la eutrofización de estos sitios, tales condiciones promueven la muerte de la fauna y algunas veces el florecimiento de cianoprocariontes nocivos para la salud humana debido a la producción de cianotoxinas.

En algunas investigaciones recientes se ha demostrado que algunas microalgas (en particular clorofitas y diatomeas) pueden crecer en aguas residuales tratadas, disminuyendo considerablemente los niveles de nutrientes, principalmente el fósforo y el nitrógeno que actúan como un factor limitante en el crecimiento de las microalgas. Por consiguiente si estas algas pueden llegar a ser cosechadas en cantidades considerables pueden fungir como alimento del plancton, en particular de *Brachionus rubens* que presenta hábitos generalistas en su alimentación, el cual es una de las especies más utilizadas como alimento para larvas de peces de ornato en muchas granjas acuícolas. Con base lo antes mencionado el objetivo de la siguiente investigación es:

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

- Cuantificar el crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus rubens* alimentado con la microalga *Scenedesmus acutus* cultivada con aguas residuales tratadas.

5.2. Objetivos particulares

- Determinar el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* cultivada en aguas residuales tratadas, en el laboratorio.
- Medir la disminución de fósforo (PO_4) y nitrógeno (NO_3) debido al crecimiento del alga *Scenedesmus acutus*, en condiciones de campo y laboratorio.
- Cuantificar el crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus rubens* alimentado con *Scenedesmus acutus* cultivada en aguas residuales tratadas, en el laboratorio.
- Observar diferencias en el tamaño de cuerpo del rotífero *B. rubens* alimentado con los diferentes tratamientos, en el laboratorio.
- Cuantificar el crecimiento de *S. acutus* y *B. rubens*, dentro de microcosmos cerrados en el estanque de tratamiento terciario de la planta de tratamiento El Rosario.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Cultivo de los organismos experimentales

Los organismos planctónicos utilizados en la siguiente investigación fueron suministrados por el laboratorio de Zoología Acuática de la FES Iztacala. *Scenedesmus acutus* se cultivó masivamente en botellas de plástico de 2 L con medio basal Bold (Borowitzka y Borowitzka 1988) y agua destilada, las botellas estuvieron expuestas a fotoperiodo constante, aireación con ayuda de un tubo de vidrio y como fuente de carbono se adicionó NaH_2CO_3 cada tercer día. Después de 10 días las botellas fueron refrigeradas a 4 °C, para evitar la descomposición.

En el caso de *Brachionus rubens* se obtuvieron cultivos masivos a partir de un individuo, en acuarios de 2 L de capacidad. Se utilizó como alimento *S. acutus* exclusivamente y el medio fisiológico EPA (Anónimo, 1985) preparado con agua destilada.

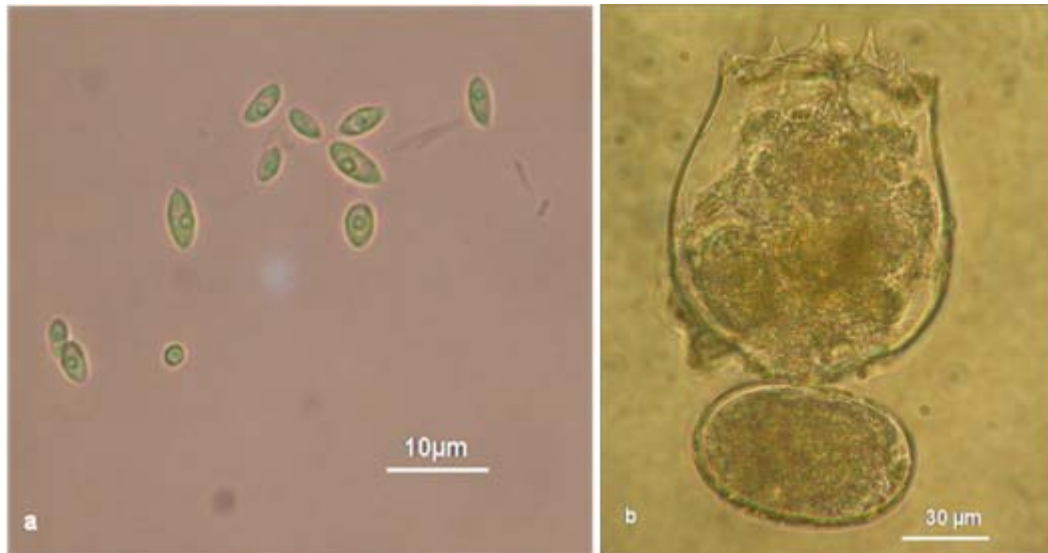


Foto 1. La microalga *Scenedesmus acutus* (a) y el rotífero *Brachionus rubens* (b)

6.2. Crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus*

Scenedesmus acutus se cultivó en botellas transparentes con un volumen de 1.5L, y rellenas de la siguiente manera:

- 1) Medio basal Bold (B) como control
- 2) Agua de la planta de tratamiento en tratamiento terciario (PT)
- 3) Agua de la planta de tratamiento + medio basal Bold (P+B),

cada tratamiento constó de 5 réplicas con un inóculo inicial de 0.25×10^6 cels. mL^{-1} . Como fuente de carbono se adicionó cada tres días 0.5g de Bicarbonato de Sodio (NaH_2CO_3) por botella. Todas las botellas fueron sometidas a agitación y fotoperiodo constantes. Para el conteo de las algas, se empleó una cámara de Neubauer y un microscopio óptico Nikon Eclipse E600, tomando muestras (cada tercer día) durante un periodo de 15 días, con el previo relleno de las botellas a su volumen inicial. Los datos obtenidos de los conteos sirvieron para calcular la tasa de crecimiento poblacional (r) utilizando el modelo de crecimiento exponencial (Krebs, 1985).

$$r = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}$$

Donde:

N_0 = Densidad poblacional inicial

N_t = Densidad poblacional después del tiempo (t)

t = tiempo

Las algas obtenidas de este experimento fueron cosechadas y utilizadas posteriormente para el crecimiento de *B. rubens*



Foto 2. *Scenedesmus acutus* cultivada con aguas residuales en condiciones de laboratorio

6.3. Disminución de Fosfatos y Nitratos

Para cuantificar la disminución de nutrientes, fue montado un experimento similar al que se empleó para el crecimiento de *Scenedesmus acutus* en el tratamiento en el que se relleno con agua de planta de tratamiento (PT), solo que este constó de cuatro replicas. En el caso de los experimentos en campo, se instalaron ocho microcosmos de 5 L de capacidad, cuatro contenían un inóculo de *S. acutus* de 0.25×10^6 cels. mL⁻¹ y las cuatro restantes solo fueron rellenas con agua de la planta de tratamiento.

Para ambos casos (Laboratorio y campo), fueron colectadas muestras cada tres días, en tubos de plástico; y con ayuda de un filtro de fibra de vidrio (GFC) de apertura de malla de $\sim 0.45 \mu\text{m}$ y una bomba de vacío, todas las muestras fueron filtradas para quitar las partículas en suspensión.

Para la medición de nitratos se empleó un fotómetro de campo de la marca YSI modelo 9100 y para la cuantificación de fósforo reactivo soluble se empleó la técnica colorimétrica del cloruro estagnoso mencionada por APHA

(1989). Para el caso de las mediciones de fosfatos, fue empleado un espectrofotómetro digital de la marca Turner SP-870.

6.4. Crecimiento poblacional de *Brachionus rubens*; Error! Marcador no definido.

El diseño experimental para el crecimiento poblacional de *B. rubens* constó de 12 vasos transparentes con capacidad de 50 mL (tres tipos de alimento incluyendo el control y 4 réplicas de cada tratamiento), adicionando 20 mL de EPA preparado con agua destilada. Como alimento se usó *S. acutus* obtenida en el experimento anterior, cultivadas en medio basal Bold (BI) como control, agua de planta de tratamiento (PT) y Bold + agua de planta de tratamiento (P+B), con una densidad de 1×10^6 cels. mL⁻¹ y a cada vaso se le agregó una densidad de *B. rubens* de 1 ind/mL, los cuales fueron aislados con la ayuda de una pipeta Pasteur y un microscopio estereoscópico Nikon SMZ645. Diariamente fue removido el medio utilizado el día anterior y sustituido por otro con la misma concentración, mientras que los organismos fueron transferidos al nuevo medio. Los datos obtenidos de los conteos diarios sirvieron para calcular la tasa de crecimiento poblacional (r) usando la ecuación de crecimiento exponencial (Krebs, 1985).

6.5. Morfometría

Para evaluar las diferencias morfométricas del rotífero *B. rubens* se montó un experimento con el mismo diseño experimental que se utilizó para el crecimiento poblacional en laboratorio. Cada tres días fue tomada aleatoriamente una alícuota de 2 mL de cada vaso y preservada con formalina al 4%. Con ayuda de un tubo de dibujo Nikon Y-IDT y un microscopio óptico Eclipse E600, se tomó la medida del largo de la lóricas (LL) aproximadamente a 20 individuos por cada alícuota extraída.



Foto 3. Medida del Largo de la Lorica (LL) de *B. rubens*

6.6. Experimentos en campo

Para la cuantificación del crecimiento poblacional de *S. acutus* y *B. rubens* se realizaron microcosmos cerrados con una capacidad de 5 L cada uno. Estos fueron rellenos con agua de la poza de tratamiento terciario (antes de pasar por la cloración de la planta de tratamiento El Rosario) y permanecieron sumergidos sin intercambio de agua en esta misma laguna. El diseño constó de cuatro tratamientos que fueron los siguientes:

- 1) agua de planta de tratamiento como control (PT_c),
- 2) agua de planta de tratamiento + *S. acutus* (P+S),
- 3) agua de planta de tratamiento + *B. rubens* (P+Br) y
- 4) agua de planta de tratamiento + *S. acutus* + *B. rubens* (P+Br+S), cada uno con tres réplicas. Al segundo tratamiento se le agregó un inóculo de *S. acutus* de 0.25×10^6 cel. mL⁻¹ y fue monitoreado cada tres días, para cuantificar el crecimiento poblacional y la tasa de crecimiento diaria (Krebs, 1985) de la microalga. El tercer tratamiento fue inoculado con *B. rubens* a una densidad 2 ind. mL⁻¹ para obtener el crecimiento poblacional así como la tasa de crecimiento poblacional. Por último el cuarto tratamiento fue inoculado de igual

manera con *S. acutus* (0.25×10^6 cel. mL⁻¹) y se dejó crecer por un periodo de 8-10 días, para posteriormente agregar un inóculo de 2 ind. mL⁻¹ de *B. rubens* y cuantificar el crecimiento poblacional y la tasa de crecimiento (Krebs, 1985).

Los microcosmos fueron agitados en su totalidad, durante el experimento para brindar condiciones homogéneas de cultivo, tanto para los que contenían microalga como los que contenían rotíferos.



Foto 4. Microcosmos instalados en la planta de tratamiento El Rosario para los experimentos realizados en campo.

6.7. Análisis estadístico

Para analizar estadísticamente las tasas de crecimiento (r d⁻¹) y el día de abundancia máxima en cada uno de los experimentos en que fueron calculadas, tanto para el crecimiento poblacional de *S. acutus* y *B. rubens* en fase de laboratorio y campo; se empleó el software STATISTICA 6.0 para realizar los análisis de varianza (ANOVA) correspondientes y en el caso de los análisis que mostraron diferencias significativas, se procedió a realizar una prueba de Tukey para saber entre que tratamientos existían dichas diferencias.

7. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el laboratorio con respecto al crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* (Ver figura 1), muestran que se obtienen mayores rendimientos al utilizar el medio basal Bold (B) y que los menores rendimientos se registraron utilizando solo agua de la planta de tratamiento (PT); aunque cabe señalar que con los tres tratamientos utilizados, en la fase de laboratorio *S. acutus* pudo establecer poblaciones suficientemente altas para su cosecha. En los tres tratamientos se observa que la fase exponencial de crecimiento comienza alrededor del día cinco y se prolonga más en el tratamiento con medio basal Bold; después se observa en la mezcla P+B y por último en el tratamiento PT. Las abundancias máximas alcanzadas para cada tratamiento fueron: medio Bold 21.3×10^6 , B+P 14.2×10^6 cel. mL⁻¹ y por último para la planta fue de 9.2×10^6 cel. mL⁻¹. En la fase de campo los resultados muestran que *S. acutus* no pudo establecer poblaciones muy grandes y que el único indicio de crecimiento significativo se registró cerca del día siete, alcanzando densidades máximas de 1.9×10^6 cel. mL⁻¹.

La tasa intrínseca de crecimiento de *S. acutus* (Figura 2) muestra que los valores mayores fueron alcanzados en el tratamiento de B ($r= 0.62$), siguiéndole el tratamiento de P+B ($r= 0.54$) y por último el tratamiento de agua de PT ($r= 0.44$). Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) que se presenta en el cuadro 1, se puede observar que los tratamientos de medio B y P+B no presentan diferencias significativas entre sí, por el contrario estos dos tratamientos presentan resultados significativamente diferentes en comparación con el tratamiento PT ($P < 0.05$, GL= 2). Los datos de la tasa de crecimiento poblacional para el experimento realizado en campo no son comparables estadísticamente con los datos obtenidos en el laboratorio, pero se puede observar en la gráfica (Ver figura 2), que la tasa ($r= 0.21$) es tres veces menor que la máxima (r) calculada para los datos de laboratorio.

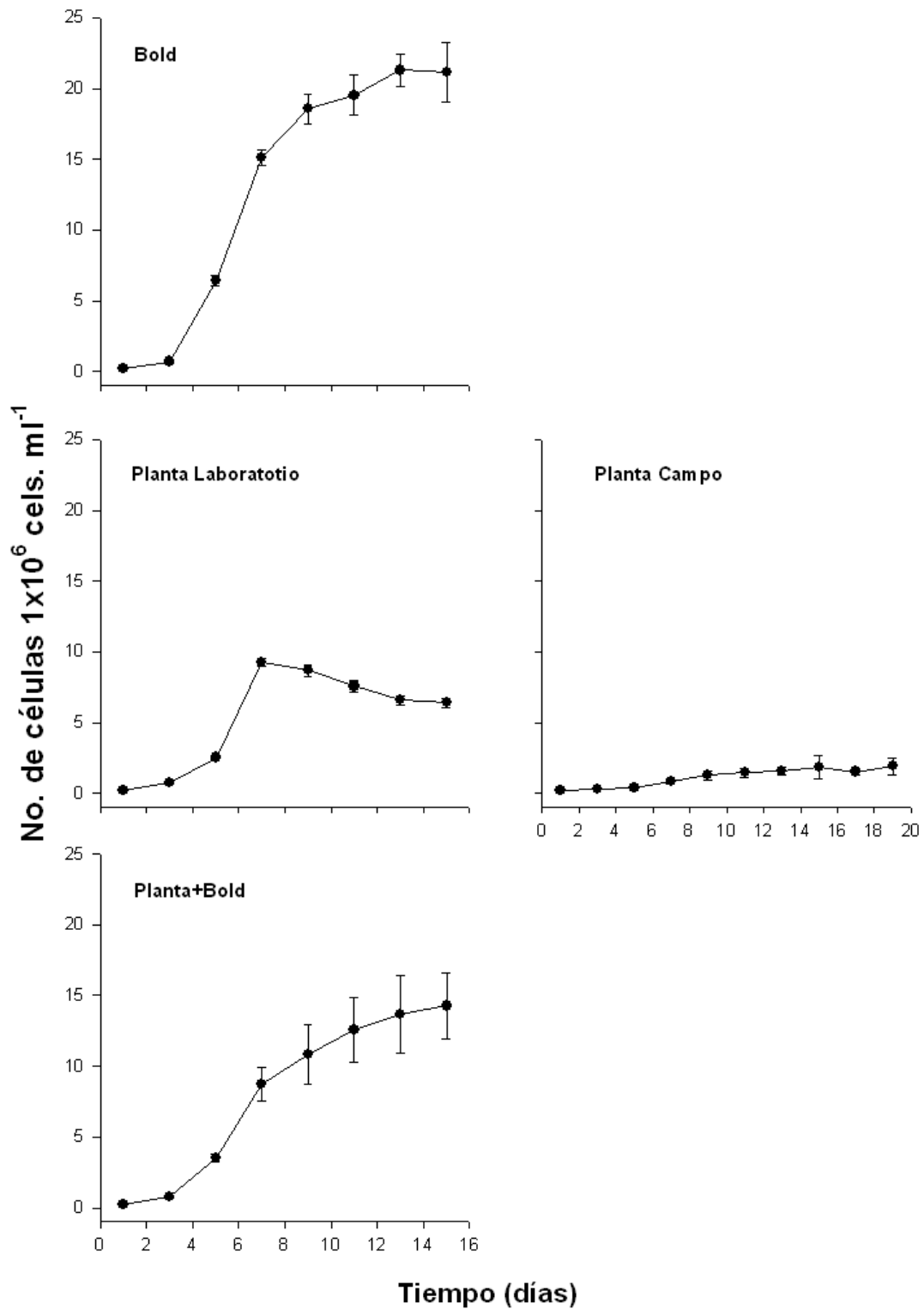


Figura 1. Crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* cultivada en tres diferentes medios Bold (BI), agua de planta (PT) y Planta+Bold (P+B); y en campo con agua de la planta de tratamiento de aguas residuales El Rosario.

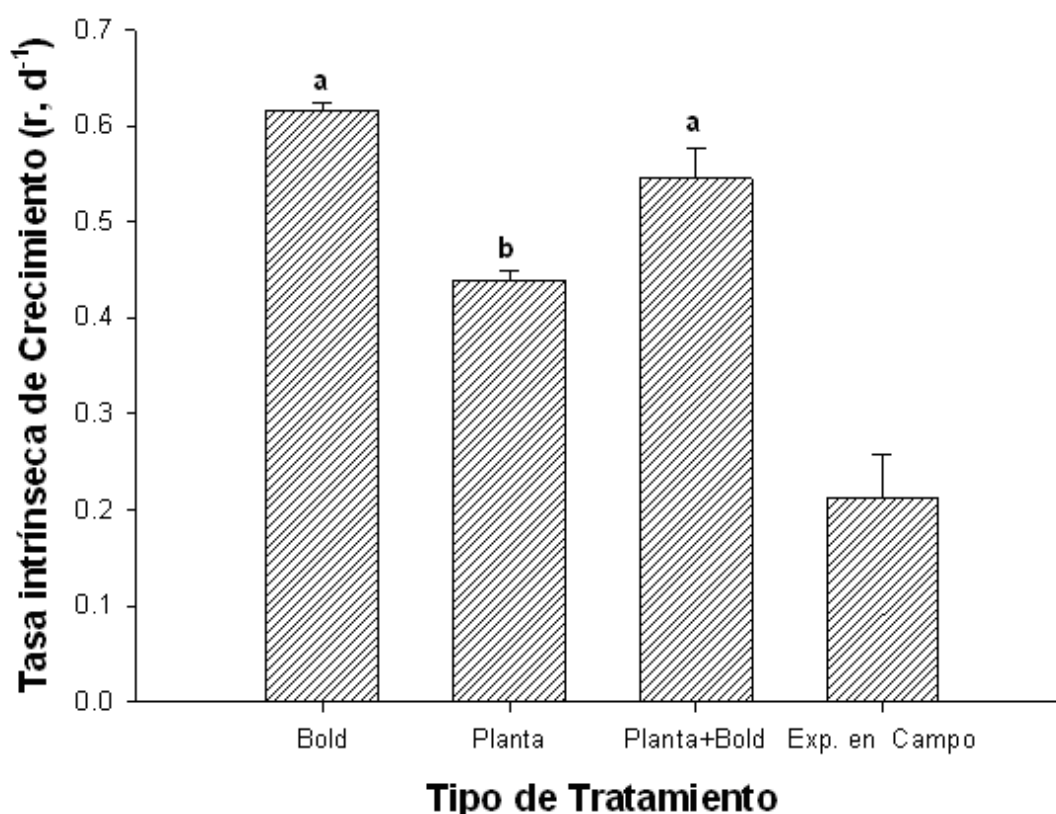


Figura 2. Tasa intrínseca de crecimiento poblacional de *S. acutus* calculada en los tres tratamientos realizados en el laboratorio y en la fase de campo. Cada columna representa el promedio de la población en tres replicas y su error estándar. Columnas con letras diferentes son significativamente diferentes.

Cuadro 1. Análisis de Varianza (ANOVA), de una vía, para la tasa intrínseca de crecimiento poblacional de *S. acutus* cultivada en tres tratamientos diferentes (Bold, Planta + Bold y planta). GI = grados de libertad, SC = suma de cuadrados; MC = media de cuadrados, F = prueba F y P=Probabilidad. * Significativamente diferente

FUENTE	GI	SC	MC	F	P
Tipo de tratamiento <i>S. acutus</i>	2	0.0768	0.0384	20.325	0.000140*
Error	12	0.0226	0.0018		

La reducción de fosfatos y nitratos, se realizó tanto en condiciones de laboratorio y de campo, demostrando los siguientes resultados: para el experimento realizado en el laboratorio, los fosfatos presentaron una disminución total del 33% con respecto a la cantidad inicial, mientras que los nitratos una reducción del 31%, las cantidades en mg L⁻¹ se pueden observar en la figura 3. Se debe de tomar en cuenta que las mediciones para fosfatos y

nitratos no se realizaron al mismo tiempo, debido a problemas con la sensibilidad de la técnica seleccionada para cuantificar nitratos en un principio.

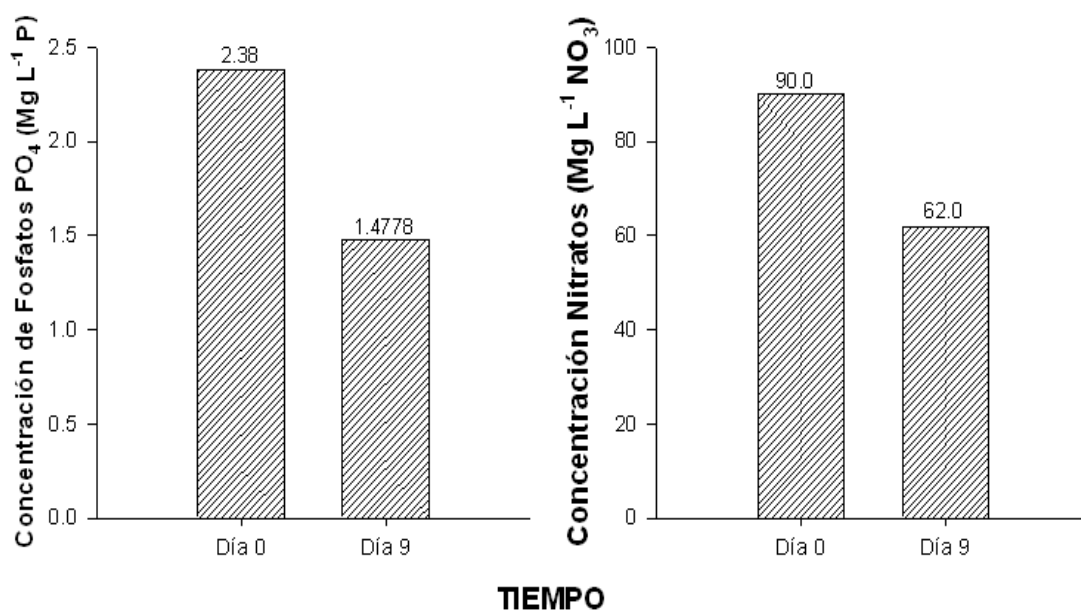


Figura 3. Disminución de fosfatos y nitratos de *S. acutus* cultivada con aguas residuales en condiciones de laboratorio.

Los resultados cuantificados en los microcosmos que se instalaron en la planta de tratamiento El Rosario, indican que la reducción de los fosfatos en los tratamientos experimentales, fue del 66.56 y 79.25% en el agua de planta y en los microcosmos que contenían el inóculo de *S. acutus* respectivamente (Ver figura 4), cabe señalar que solo se tomaron en cuenta los días tres y cinco, ya que son en los que se observan mayores reducciones, mientras que en el resto de los días en los que siguió el experimento solo se reportaron pequeñas fluctuaciones en cuanto a la concentración de fosfatos. Los resultados de nitratos no se pudieron completar, debido al empleo de una técnica inadecuada.

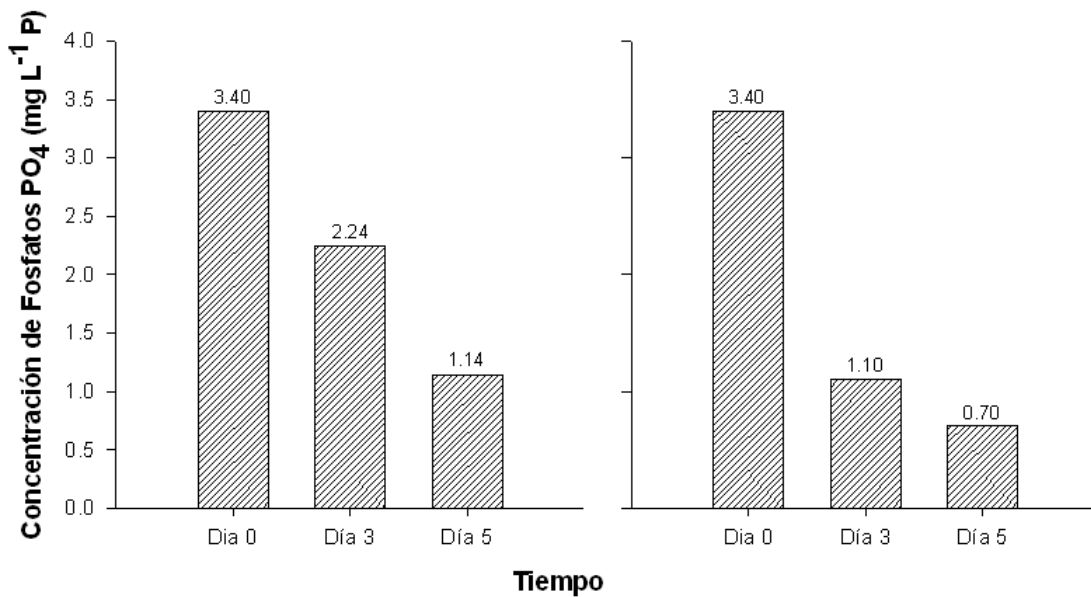


Figura 4. Disminución de fosfatos en los microcosmos instalados en la planta de tratamiento de aguas residuales El Rosario.

Los patrones del crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus rubens* alimentado con los tres tipos de alga cosechada en el experimento anterior se muestran en la figura 5; en los tres tratamientos el rotífero *B. rubens* pudo establecer poblaciones, en los tratamientos de medio B y PT la fase exponencial se observó al quinto día, mientras que en el tratamiento de P+B, la fase exponencial comenzó desde el tercer día del experimento. El tratamiento de PT fue el que obtuvo las menores densidades poblacionales (78 ind. mL⁻¹) con valores por debajo de la mitad de las densidades máximas alcanzadas en los otros dos tratamientos. El tratamiento de P+B fue en el que se registraron las mayores densidades poblacionales (313 ind. mL⁻¹). Las densidades máximas de cada tratamiento B (242 ind. mL⁻¹), PT (80 ind. mL⁻¹) y P+B (313 ind. mL⁻¹) se alcanzaron hasta los días 9, 12 y 7 respectivamente.

Los resultados obtenidos en los microcosmos establecidos en la planta de tratamiento El Rosario, se presentan en la figura 6. El tratamiento que mostró mayores densidades poblacionales fue el que constaba de agua de planta + *S. acutus* + *B. rubens* (P+Br+S) y este comenzó su fase exponencial al tercer día y finalizó al octavo día con densidades por arriba de 700 ind mL⁻¹, mientras que para el tratamiento que constaba únicamente de agua de la planta de tratamiento (P+Br) comenzó la fase exponencial en el día siete y

concluyó en el día trece con densidades máximas cercanas a los 400 ind. mL⁻¹ en el pico de la fase exponencial.

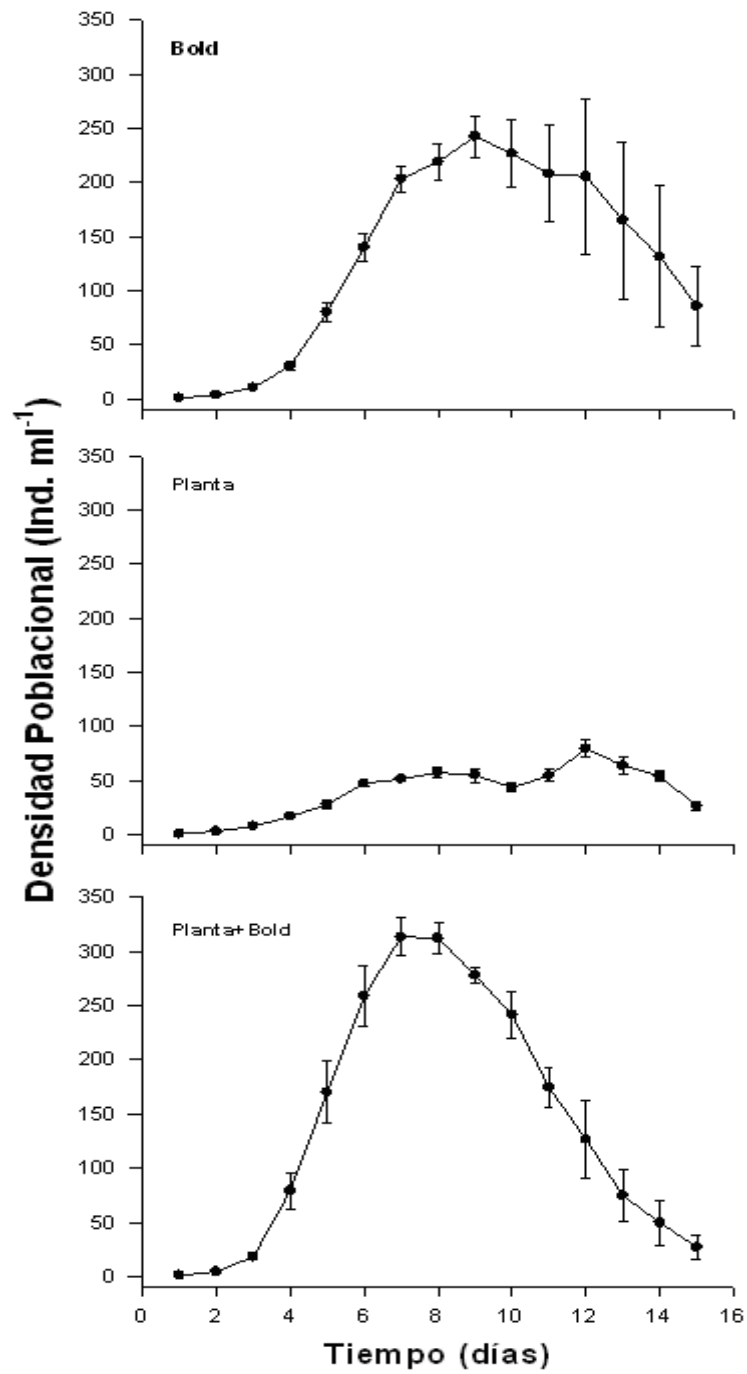


Figura 5. Crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus rubens* alimentado con tres tipos de alga cosechada en el laboratorio

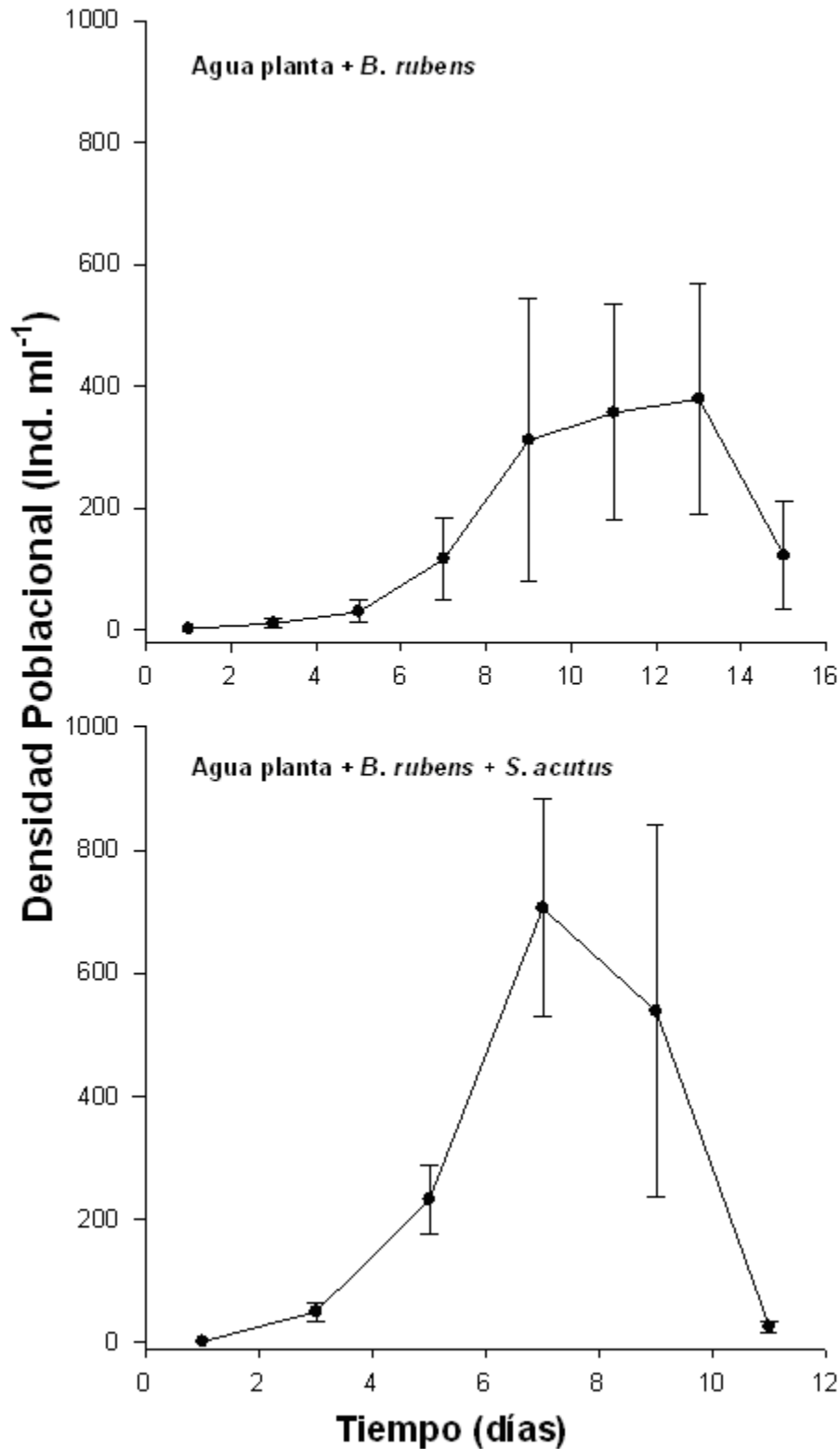


Figura 6. Crecimiento poblacional de *Brachionus rubens* en microcosmos montados en la planta de tratamiento El Rosario con dos tratamientos diferentes, Agua de planta + *B. rubens* (P+Br) y agua de planta + *B. rubens* + *S. acutus* (P+Br+S)

Las tasas de crecimiento de *B. rubens* fueron calculadas para cada tipo de dieta ofrecida siendo la dieta de P+B la que obtuvo un mayor valor ($r= 0.80$),

seguido de la dieta que consistía de algas cultivadas en B ($r= 0.65$) y por último PT ($r= 0.39$), estos resultados corresponden también al comportamiento de las curvas de crecimiento poblacional (figura 7). Con el ANOVA realizado (cuadro 2), se detectó que existían diferencias significativas entre los tratamientos, mismas que al realizar una prueba de Tukey, señalaron que las dietas de algas cosechadas con agua de P+B y las cosechadas en medio BI, son semejantes estadísticamente, no obstante estas dos mantienen diferencias significativas ($P<0.05$, $Gl= 2$) con las algas que fueron cultivadas y cosechadas en el tratamiento de PT. Mientras tanto en la fase de campo se observaron tasas de crecimiento de *B. rubens* muy semejantes para los dos tratamientos empleados, para los microcosmos que fueron rellenados sólo con agua de la planta de tratamiento (P+Br) la tasa alcanzó un valor de $r= 0.63$ y para el microcosmos que contenía P+Br+S obtuvo un valor de $r= 0.65$. Por lo que estos dos tratamientos al ser analizados estadísticamente con un ANOVA, no mostraron diferencias significativas.

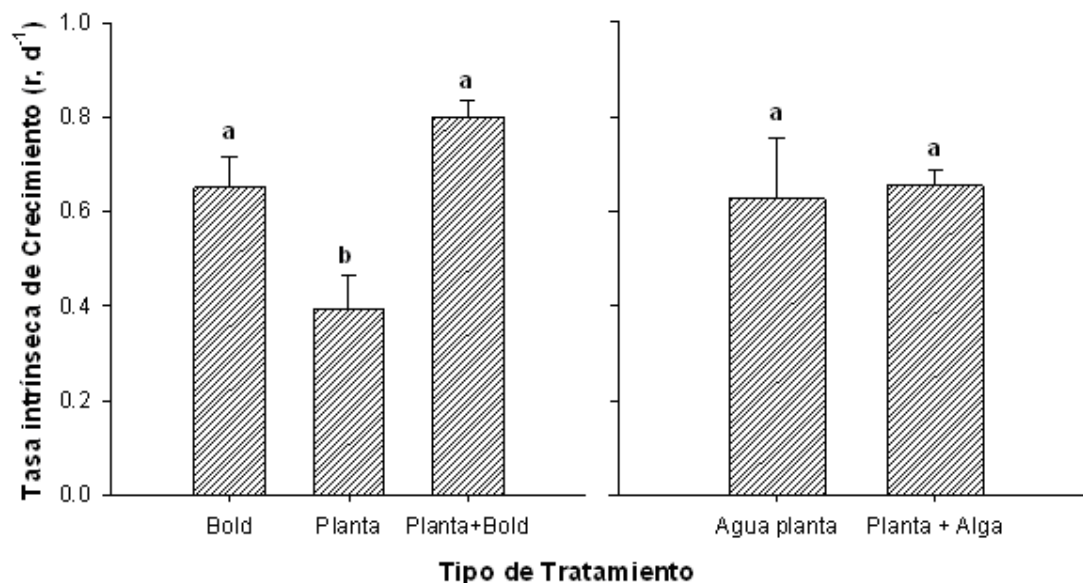


Figura 7. Tasa intrínseca de crecimiento poblacional para cada tipo de dieta suministrada a *B. rubens* en el laboratorio (izquierda). Tasa (r) del experimento realizado en campo (derecha) en los dos tratamientos. Columnas con letras diferentes son significativamente diferentes de acuerdo a prueba de Tukey.

Cuadro 2. Análisis de varianza (ANOVA) de la tasa de crecimiento poblacional, para las diferentes dietas de *S. acutus* proporcionadas a *B. rubens* en condiciones de laboratorio y campo. Gl = grados de libertad, SC = suma de cuadrados; MC = media de cuadrados, F = prueba F y P =Probabilidad. * Significativamente diferente

FUENTE	GI	SC	MC	F	P
Tipo de dieta de <i>B.</i>					

<i>rubens</i> (laboratorio)	2	0.3387	0.1693	11.9924	0.002895*
Error	9	0.1271	0.0141		
Tipo de dieta en experimento de campo	1	0.0011	0.0011	0.0447	0.8428
Error	4	0.1037	0.0259		

El día de abundancia máxima de *B. rubens* para cada dieta en el experimento realizado en el laboratorio se encuentra representado en la figura 8 y se puede apreciar que la dieta que alcanzó la fase exponencial de su crecimiento antes que las demás, fue la de P+B ($D_{max}= 7.0$), le siguió la dieta de B ($D_{max}= 10.25$) y por último el tratamiento de PT ($D_{max}= 11.25$). En este caso se ve reflejada una relación inversa entre el día de abundancia máxima (D_{max}) y la tasa de crecimiento poblacional ($r d^{-1}$) para *B. rubens*, ya que la dieta de *S. acutus* cultivada en agua de la planta (PT) fue la que alcanzó una D_{max} mayor con respecto a los demás tratamientos y fue la que obtuvo los menores valores de $r d^{-1}$, mientras que la mezcla (P+B) fue la que obtuvo los valores menores para D_{max} y los valores mayores en cuanto a la tasa de crecimiento. En lo que respecta al experimento que se realizó en la planta de tratamiento El Rosario los valores de D_{max} variaron solo con dos días de diferencia, *B. rubens* alcanzó su densidad máxima a los 9 días en el microcosmos que fue rellenado con P+Br, mientras que en el día 7 fue cuando alcanzó sus densidades máximas en los contenedores que poseían el inoculo de la microalga (P+Br+S). En este caso no se observa una relación directa o inversa entre la D_{max} y la tasa intrínseca de crecimiento poblacional, como en el experimento realizado en el laboratorio.

El análisis estadístico de los valores de D_{max} , nos muestra que para los datos obtenidos en el laboratorio la dieta de PT y la de medio BI no sugieren una diferencia significativa, mientras estos dos si demuestran una diferencia con respecto a la dieta de P+B ($P<0.05$, $Gl= 2$). Para los datos del experimento en campo no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos por lo que estadísticamente se consideran similares las D_{max} de las dietas utilizadas.

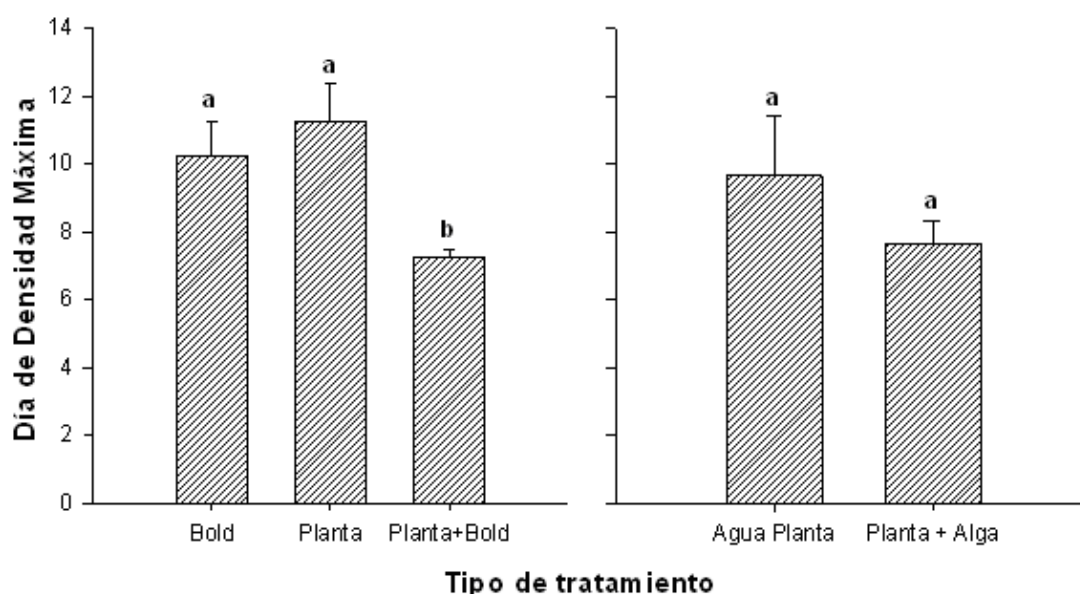


Figura 8. Día de abundancia máxima de las tres diferentes dietas de *S. acutus* suministrada a *B. rubens* en el laboratorio (izquierda). Experimento realizado en la planta de tratamiento El Rosario, con 2 dietas diferentes (derecha) Columnas con letras diferentes son significativamente diferentes (prueba de Tukey).

Cuadro 2. Análisis de varianza (ANOVA) en el día de densidad máxima para las dietas de *S. acutus* suministradas a *B. rubens* en condiciones de laboratorio. GI = grados de libertad, SC = suma de cuadrados; MC = media de cuadrados, F = prueba F y P=Probabilidad. * Significativamente diferente

FUENTE	GI	SC	MC	F	P
Día de abundancia máxima para cada dieta (laboratorio)	2	34.667	17.333	5.5221	0.027236*
Error	9	28.250	3.139		
Día de abundancia máxima para cada dieta (laboratorio)	1	6.000	6.000	1.1250	0.3486
Error	4	21.333	5.333		

La relación entre el tamaño del cuerpo y el tipo de dieta con la que fue alimentado *Brachionus rubens* se muestra en la figura 9. Se encuentran graficados en un histograma los días uno tres y quince (el último día del experimento), ya que son los que representan una mejor tendencia de dicha relación en los bioensayos realizados en el laboratorio. Se aprecia que en los tres tratamientos hubo una mayor tendencia a encontrar organismos de tallas

medias de entre 107-140.4 μm de largo. En lo que respecta al tratamiento de BI, se observa que al principio de los experimentos se contaba con organismos de tallas medias a largas de 107-173.9 μm de (LL) y que al término del experimento las tallas de los organismos pasaron a ser de medias a pequeñas (73.5-140.4 μm). Para el tratamiento de agua PT la tendencia fue diferente ya que al principio se contaba con organismos de tallas chicas a muy grandes en un intervalo de 73.5-207.5 μm de largo y al término de los ensayos la tendencia presento organismos de tallas muy chicas a tallas grandes solamente (40-173.9 μm), teniendo como las más representativas a las tallas medias y ausentándose las tallas muy grandes. Como observación hay que resaltar que el tratamiento con agua de la planta de tratamiento (PT) fue el único que mostró tallas muy chicas (40-73.4 μm) y tallas muy grandes (174-207.5 μm). Para el caso del último tratamiento P+B, las tallas al principio de los bioensayos practicados en su mayoría eran medias (107-140.4 μm) y algunas tallas grandes; al tercer día las tallas grandes aumentaron, aunque la tallas medias siguieron dominando y hacia el final de los bioensayos la población se componía principalmente de individuos de tallas medias y sólo unos cuantos de tallas pequeñas y tallas grandes.

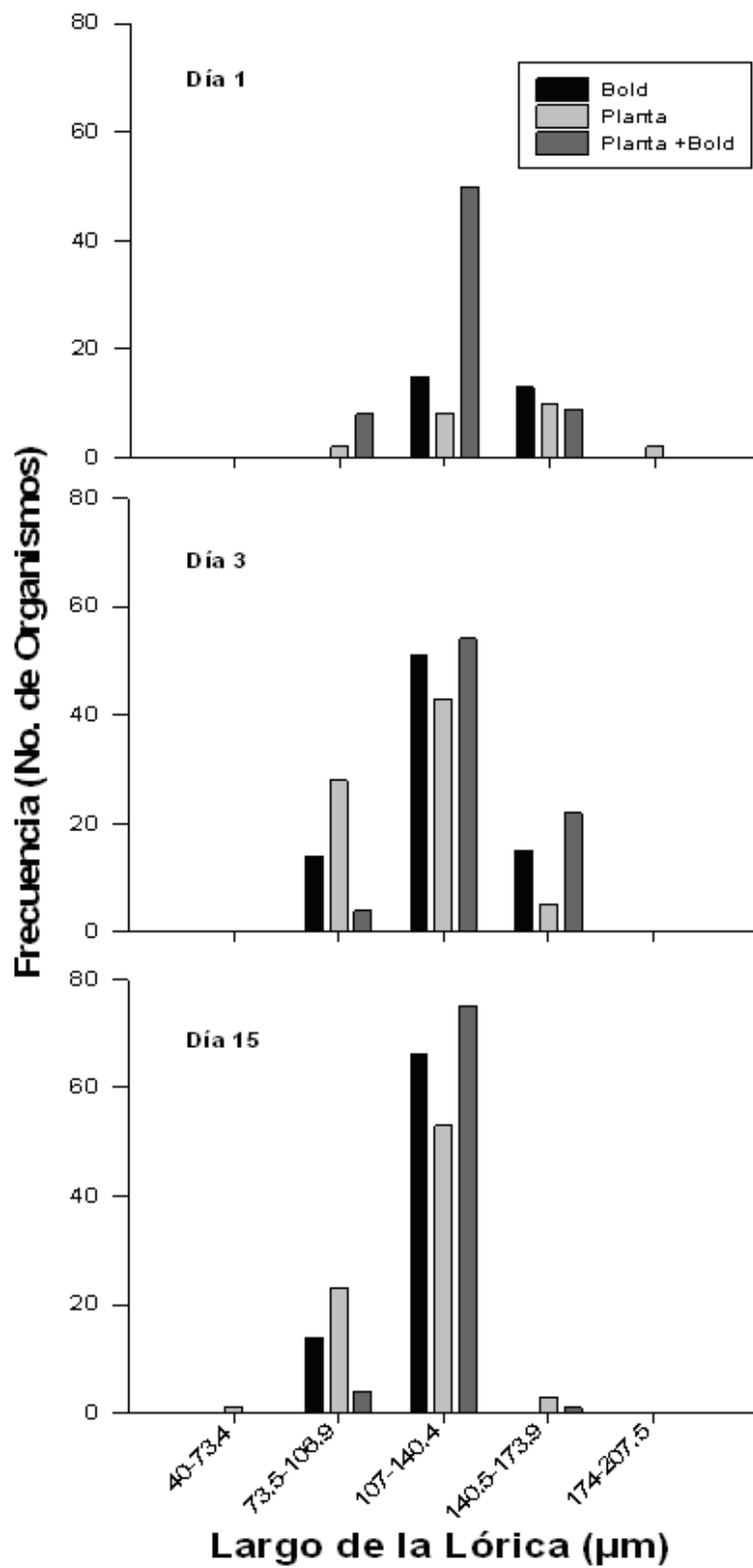


Figura 9. Medida de la lórica del rotífero *B. rubens*, alimentado con tres dietas diferentes, al día uno, tres y quince del experimento.

8. DISCUSIÓN

8.1. Crecimiento de *Scenedesmus acutus* en laboratorio.

En los experimentos realizados se pudieron establecer cultivos en aguas residuales del alga verde *S. acutus*, aunque las algas cultivadas exclusivamente con aguas residuales, obtuvieron los menores rendimientos, pudieron ser cosechadas. El bajo rendimiento en el crecimiento de las microalgas se debe en su gran mayoría, a que el agua que se empleó contiene una cantidad de nutrientes limitada, mientras que los medios de cultivo comerciales o especiales para el crecimiento de algunas microalgas, contienen los requerimientos necesarios para un mayor crecimiento (Vilchez *et al.* 1997). Algunos autores han reportado el crecimiento en aguas residuales de algunas microalgas, aunque en el presente trabajo se reportaron concentraciones mayores a las reportadas por López Elías *et al.* (2003). Las r calculadas para las algas que se cultivaron en las aguas residuales, también fueron las que obtuvieron el menor valor con respecto a los otros dos tratamientos empleados y además el tratamiento resultó ser significativamente diferente de los tratamientos de B y B+P, ya que *S. acutus* cultivada en aguas residuales (PT) alcanzó en un menor tiempo el pico máximo de la fase exponencial de crecimiento, la cual no se prolongó por más de tres días, a diferencia de los otros tratamientos, lo que les permitió seguir creciendo y así alcanzar valores aun mayores en su tasa de crecimiento.

8.2. Crecimiento de *S. acutus* en campo

Scenedesmus acutus pudo mantener poblaciones constantes en los microcosmos que fueron montados en la planta de tratamiento El Rosario, algunos trabajos realizados en condiciones parecidas son reportados por Sánchez *et al.* (1996) y Voltolina *et al.* (2005), estos muestran la producción de microalgas del género *Scenedesmus* en algún tipo de aguas residuales con resultados satisfactorios. Se encontró que los resultados obtenidos por López Elías *et al.* (2003) y Voltolina *et al.* (2004), con dos clorófitas diferentes,

alcanzaron densidades cercanas a las 20×10^5 cel. mL⁻¹, son muy similares a los alcanzados en esta investigación (19×10^5 cel. mL⁻¹). Según López Elías *et al.*, (2003) el crecimiento en condiciones naturales en regiones de climas tropicales y subtropicales, muestran particularmente una alta producción de fitoplancton en cultivos exteriores y ésta puede depender principalmente de algunos factores ambientales especialmente las variaciones diarias y temporales en la temperatura, así como las variaciones en la intensidad luminosa, otro factor un poco menos importante es la contaminación del agua que se emplee para el cultivo, aunque se ha demostrado que no tiene mucha influencia en la producción final (Richmond *et al.*, 1993).

8.3. Disminución de nutrientes

El porcentaje de la disminución de fosfatos y nitratos en el laboratorio fue del 33% y 31% respectivamente, valores que concuerdan con lo reportado por Nguyen *et al.*, 1998 y Voltolina *et al.*, 2005, aunque estos valores quedan por debajo de los reportados para *Scenedesmus obliquus* (Martínez *et al.*, 2000) y esto se puede deber en gran medida a las cepas de microalga y al tipo de aguas residuales que fueron utilizadas tanto en este trabajo como las que se utilizaron en el artículo mencionado con anterioridad. Para el caso de la disminución de fosfatos en el campo, estos fueron del 66.56 y 79.25% en el agua de planta y en los microcosmos que contenían el inóculo de *S. acutus* respectivamente, en datos presentados por otros autores, se encuentran valores por debajo de los que se registraron en este trabajo como es el caso de Nguyen *et al.*, 1998 y Voltolina *et al.*, 2005, mientras que algunos otros demuestran resultados parecidos o mayores en cuanto a la remoción de nutrientes (fósforo y nitrógeno) en aguas residuales urbanas o aguas residuales creadas artificialmente (Martínez *et al.*, 2000 y Sebnem e Ilgi, 2006). Las investigaciones realizadas con *S. acutus* o *S. obliquus*, en cuanto a la eliminación de nitrógeno y fósforo en todas sus formas, en aguas residuales, varían en cuanto al porcentaje máximo alcanzado (Martínez *et al.*, 2000; Voltolina *et al.*, 2005), pero es conveniente destacar que los porcentajes alcanzados en estas superan el 20% de remoción de nitrógeno y el 70% del fósforo, mostrando así una gran posibilidad de implementar estas técnicas para

el tratamiento de aguas residuales, ya que pueden ser instalados en espacios muy pequeños y pueden llegar a ser tan eficientes que remuevan del 90 al 98% del fósforo y hasta el 100% del nitrógeno totales.

En esta investigación si bien las reducciones en las concentraciones de fosfatos y nitrógenos pueden ser consideradas altas, hay que mencionar que mientras se desarrolló el experimento en la planta de tratamiento El Rosario, se presentaron lluvias al cuarto día después de haber empezado el experimento, lo que pudo haber diluido la concentración de los fosfatos y nitratos presentes en los microcosmos, aumentando así las cantidades que fueron removidas por *S. acutus*; de cualquier forma, estos datos muestran que la microalga participa tanto en la remoción de nitratos como de fosfatos

8.4. Crecimiento de *Brachionus rubens* en laboratorio

En el experimento que se realizó para observar el crecimiento poblacional de *B. rubens* bajo tres dietas diferentes de *S. acutus* cultivada en aguas residuales, los resultados para el tratamiento de medio basal Bold concuerdan con los datos que reportan Fernández-Araiza, *et al.* (2005), Peña-Aguado, *et al.* (2005) y Sarma, *et al.* (2005), para el crecimiento de *B. rubens* en condiciones de laboratorio, utilizando medio fisiológico EPA y alga verde como alimento en densidades semejantes a las que se utilizaron en esta investigación. El crecimiento que se presentó en el tratamiento que constaba de la mezcla de medio Bold + agua de la planta de tratamiento, obtuvo densidades mayores a los otros dos tratamientos ensayados; lo que supone que el rotífero *B. rubens*, además de alimentarse de las microalgas producidas en dicho tratamiento, se pudo alimentar de la gran cantidad de materia orgánica y bacterias que se encontraban todavía en el agua de la planta de tratamiento, ya que según Stevenson *et al.* (1998), si se combinan aguas residuales (en este caso de la industria del maíz) y fitoplancton (*Chlorella vulgaris*) a densidades de 1 ó 2×10^6 cel. mL⁻¹, el crecimiento del rotífero *Brachionus calyciflorus* aumenta considerablemente con respecto a los que son alimentados únicamente con *C. vulgaris*; otro de los factores que determinó un mayor crecimiento fueron los hábitos alimenticios que presenta *B. rubens*, ya

que a diferencia de algunos otros brachionidos *B. rubens* no demuestra selectividad por algún determinado tamaño de partícula ya que este posee un intervalo de ingesta de partículas de entre 3.5-20.0 μm (Rothaupt, 1990). Por último, aunque el crecimiento del rotífero que fue alimentado con microalgas cultivadas con agua de planta de tratamiento exclusivamente, fue el menor de los tres tratamientos y menor también a los datos registrados por Sarma *et al.* (2003), estas densidades son favorables para su cosecha y sugieren este método como una buena alternativa para la reutilización de las aguas residuales industriales y domésticas. Uno de los motivos por los que el crecimiento de *B. rubens* se vio disminuido en este tratamiento, fue probablemente porque según datos reportados por Sánchez, *et al.* (1996), las algas cultivadas en aguas residuales presentan generalmente al ser cosechadas un gran cantidad de ácidos grasos insaturados (HUFA por sus siglas en inglés) y en menores cantidades ácidos grasos polinsaturados (PUFA por sus siglas en inglés), estos últimos son precursores de algunas proteínas, que inducen el crecimiento en el zooplancton (Brett y Müller-Navarra, 1997; DeMott y Müller-Navarra, 1997) por lo que las algas cosechadas pudieron contar con una baja calidad nutricional a diferencia de los otros tratamientos; el otro motivo por el que se vio afectado el crecimiento poblacional, fue que *S. acutus* al ser cosechada presentaba una coloración pardusca, semejante a la coloración de las poblaciones de algas que entran en un estado de senescencia.

En el caso de los cálculos de la tasa de crecimiento poblacional Sarma *et al.* (2003), enuncia que tanto la tasa como el día de abundancia máxima mantienen una relación directa, con el tipo de alimento; los datos que nosotros obtuvimos concuerdan con el enunciado de la abundancia máxima para los tres tratamientos ya que el tratamiento en el que fue ofrecido *S. acutus* cultivado en agua de la planta de tratamiento, fue el que obtuvo los valores menores, siendo estas microalgas las de menor calidad alimenticia, mientras que los dos tratamientos restantes se asemejan a las investigaciones realizadas por Sarma *et al.*, (2003), Fernández-Araiza *et al.*, (2005); Peña-Aguado *et al.*, (2005) y Sarma *et al.*, (2005). Para la tasa de crecimiento poblacional (r) los valores calculados sobrepasan a los reportados por Sarma, *et al.* (2003) y Stevenson *et*

al., (1998) y que no concuerda con lo antes mencionado de que la calidad y tipo de alimento afectan la tasa reproductiva.

8.5. Crecimiento de *Brachionus rubens* en campo.

Los resultados obtenidos en los microcosmos instalados en la planta de tratamiento de aguas residuales El Rosario, que no fueron inoculados con *S. acutus*, se encuentran por debajo de las abundancias máximas reportadas por Groeneweg y Schlüter (1981), que lograron obtener cultivos con más de 550 ind. mL⁻¹, en estanques que contenían solamente aguas residuales de una granja de porcinos, mientras que en esta investigación sólo se reportaron densidades máximas de aproximadamente 400 ind. mL⁻¹; por lo que se puede suponer que las aguas residuales con las que se realizaron estos bioensayos poseen una menor calidad o bien que pudiera contener algunos compuestos tóxicos, en comparación de la que fue utilizada por Groeneweg y Schlüter, ya que esta última al ser de una granja de cultivo de cerdos brinda una mayor cantidad de materia orgánica al medio y algunos pocos desechos que pueden o no ser biodegradables (Groeneweg, 1980), a diferencia de las aguas residuales industriales y domésticas que pueden contener una mayor cantidad de sustancias tóxicas, así como, pequeñas concentraciones de amonio (Sarma *et al.*, 2003); aunado a esto Schlüter y Groeneweg (1981) mencionan que algunos factores ambientales pueden afectar el cultivo de rotíferos en aguas residuales. Por otro lado el tratamiento al que fue adicionado el inóculo de la microalga *S. acutus*, presentó densidades máximas por arriba de los 700 ind. mL⁻¹, en este caso se demuestra que el inóculo de *S. acutus* influyó de manera positiva el crecimiento de *B. rubens* y que concuerda con los datos publicados por Stevenson *et al.* (1998), al agregar microalgas a los rotíferos cultivados en aguas residuales. Por último tanto las tasas de crecimiento poblacional como el día de abundancia máxima fueron analizadas estadísticamente por medio de una prueba de ANOVA y se encontró que no existen diferencias significativas entre las dos dietas ofrecidas al rotífero *B. rubens*, por lo que se puede deducir que las dietas ofrecidas no están relacionadas con el crecimiento poblacional, aunque al adicionar *S. acutus* se pueden obtener densidades mayores que cuando no se adiciona, el rotífero no es alterado en su tasa de crecimiento,

mostrando así que *B. rubens* se alimentó de igual manera de los organismos y materia orgánica del agua de la planta de tratamiento como de las microalgas y que estas últimas en combinación con las aguas residuales ayudaron a aumentar las abundancias máximas. Estos datos demuestran que *B. rubens* no prefiere ningún tipo de alimento y que presenta hábitos alimenticios generalistas como lo menciona Rothhaupt (1990).

8.6. Morfometría

En el experimento de morfometría se puede observar claramente en los tres tratamientos la tendencia a la homogenización del tamaño, quedando la mayoría de los organismos en un intervalo de 107-140.4 μm y algunos pocos en un intervalo de 73-108 μm . Sólo en el tratamiento de agua de planta de tratamiento se mostraron algunos individuos que entraban en un intervalo de 40-73 μm . En este caso recomendamos realizar un perfil de ácidos grasos, en particular de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) y ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), ya que son uno de los compuestos que están relacionados directamente con la calidad nutricional de las microalgas y el crecimiento de los organismos zooplanctónicos (Müller-Navarra, 1995). Además, Coutteau y Sorgeloos, (1997) mencionan que los PUFA pueden ser precursores de algunas hormonas y proteínas de los rotíferos y que estos pueden influir tanto en la reproducción como en el crecimiento poblacional. Es por ello que en este ensayo no se pueden apreciar relaciones entre el tipo de dieta y el tamaño del cuerpo de *B. rubens*, es decir que para fines prácticos el uso de cualquiera de los tres tratamientos antes ensayados, puede brindar la misma cantidad en biomasa y tamaño de los rotíferos que se cultiven en el tratamiento seleccionado, aunque para mejorar estos resultados es necesario realizar análisis bromatológicos a las microalgas consumidas, para determinar la calidad nutricional de dichas algas.

9. CONCLUSIONES

- Se logró cosechar *S. acutus* en los tres tratamientos empleados y el que tuvo mayor rendimiento fue el de medio Bold (21.3×10^6).
- La tasa de crecimiento de *S. acutus* cultivada en aguas residuales resultó significativamente menor con relación a los otros dos tratamientos utilizados.
- *S. acutus* cultivada en laboratorio con aguas residuales redujo los fosfatos y nitratos en un 33 y 71 % respectivamente.
- En los microcosmos que contenían *S. acutus*, los fosfatos fueron removidos, hasta en un 85%, mientras que los nitratos hasta el 60%.
- *Brachionus rubens* obtuvo su mayor rendimiento de 313 ind. mL⁻¹, al séptimo día, en el tratamiento donde fue alimentado con algas que fueron cultivadas con medio Bold + agua de planta,
- Se obtuvo un mayor crecimiento del rotífero *B. rubens*, en el campo con densidades máximas a 700 ind. mL⁻¹, en el caso de los microcosmos que contenían el inóculo de *S. acutus*.
- Los rotíferos utilizados para el bioensayo de morfometría, homogenizaron sus tallas, al final del experimento, demostrando que el tipo de dieta no influyó en el tamaño del cuerpo.

10. RECOMENDACIONES

- Realizar un análisis bromatológico de las algas cosechadas, haciendo especial énfasis en los ácidos grasos polinsaturados.
- Repetir los experimentos que se realizaron para cuantificar la reducción de fosfatos y nitratos, en época de secas, para comparar con los datos obtenidos y observar si la lluvia influyó o no de manera significativa estos resultados.
- Realizar estudios demográficos, en especial tablas de vida del rotífero *B. rubens*, para observar si se presentan cambios en su desarrollo debido al tipo de dieta con la que fue alimentado. Así mismo realizar estudios ecológicos con depredadores naturales de *B. rubens* para observar su calidad alimenticia.

11. REFERENCIAS

1. Adey W., Luckett C. & Jensen, K. (1993). Phosphorus removal from natural waters using controlled algal production. *Restoration Ecology* 1 (1), 29-39.
2. Anónimo. (1985). Methods of Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms. US Environment Protection Agency EPA/600/4-85/013, Washington.
3. APHA (1989). American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. 17th Edition. APHA, Washington, D.C.
4. Barnes, R. (1996). Zoología de los Invertebrados. Mc Graw Hill. Interamericana. 6 Edición.
5. Bogdan, K. G. & Gilbert, J. J. (1984). Body size and food size in freshwater zooplankton. *Proceedings of the Natural Academy of Sciences*. 81: 6427-6431.
6. Borowitzka, M. & Borowitzka, L., (1988). Micro-algal biotechnology, Cambridge University, London..
7. Bragg, A. (2003) Phosphorus reduction in dairy effluent through flocculation and precipitation. Submitted to Texas A&M University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science.
8. Brett, M. T. & Müller-Navarra, D. C. (1997). The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. *Freshwater Biology*. 38: 483-499.
9. Cambra, J., M. Álvarez-Cobelas & M. Aboal (1998). Lista florística y bibliográfica de los clorófitos (Chlorophyta) de la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias. Madrid. *Asociación Española de Limnología*. 614: 84-92

10. Centro Internacional de Agua Potable y Saneamiento (IRC) (2005) <http://www.es.irc.nl/page/26728>
10. Claus-Peter S. (2001). Resource Limitation and Reproductive Effort in a Planktonic Rotifer. *Ecology*. 82(9): 2521-2533.
11. Comisión Nacional del Agua (CNA) (2007). www.cna.gob.mx
12. Cooke, G. D. (1986). Advanced treatment and diversion of wastewater and stormwater. 57-54pp. Phosphorus precipitation and inactivation. 101-132pp. Sediment removal. 139-202pp. Biological controls. 315-348pp. in Lake and reservoir restoration. Butterworth Boston. MA.
13. Coutteau, P & Sorgeloos, P. (1997). Manipulation of dietary lipids, fatty acids and vitamins in zooplankton cultures. *Freshwater Biology*. 38: 501-512.
14. Cugier, P., Billen, G., Guillaud, J. F., Garnier, J. & Menesguen, A. (2005). Modelling the eutrophication of the Seine Bight (France) under historical, present and future riverine nutrient loading. *Journal of Hydrology*. 304(1-4): 381-396.
15. DeMott, W. R. & Mueller-Navarra, D. C. (1997). The importance of highly unsaturated fatty acids in zooplankton nutrition: evidence from experiments with *Daphnia*, a cyanobacterium and lipid emulsions. *Freshwater Biology*. 38:649-664.
16. De Waterharmonica (2007). <http://www.waterharmonica.nl>
17. Dumont, H. J., S. S. S. Sarma & A. J. Ali. (1995). Laboratory studies on the population dynamics of *Anuraeopsis fissa* (Rotifera) in relation to food density. *Freshwater Biology*. 33: 39-46.

18. Duncan, M. (1997). Design manual for waste stabilization ponds in India, lagoon technology international. Ltd. Newton House, Newton Road, Leeds LS7 4DN, England.
19. Fernández-Araiza, M. A., Sarma S. S. S. & Nandini S. (2005). Combined effects of food concentration and temperature on competition among four species of *Brachionus* (Rotifera). *Hydrobiologia* 546: 519–534.
20. Fernández, R. (2007). Control de la densidad de cianoprocariontes, por medio de cinco especies de zooplancton como una herramienta de la biomanipulación. Tesis Licenciatura. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Iztacala.
21. Gray, N. F., (1989). Biology of wastewater treatment. Imperial College Press. New York. Oxford.
22. Groeneweg, J., (1980). Behandlung von Abwasser aus Massentierhaltungen in *Algengriiben*. *Wii. Umwelt*, 4: 165-170.
23. Groeneweg J. & Schluter M. (1981). Mass production of freshwater rotifers on liquid wastes II. Mass production of *Brachionus rubens* (Ehrenberg 1838) in the effluent of high rate algal ponds used for the treatment of piggery waste. *Aquaculture* 25: 25–34.
24. Gilbert, J. J. (1998). Kairomone-induced morphological defenses in rotifers. En *The ecology and evolution of inducible defenses*. Tollrian, R.; Harvell, C.D., Eds.; Princeton University Press, Princeton.
25. Hallegraeff, G. (1992). A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*. 32(2) 79-99.

26. Hanson, M. & Butler, M. G. (1994). Turbidity and Macrophytes to Biomanipulation in a Shallow Prairie Lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 51: 1180-1188.
27. Harper, D, (1992). Eutrophication of Freshwaters. London. Ingl & Chapman & Hall.
28. Hegewald, E. & P.C. Silva (1988). Annotated catalogue of Scenedesmus and nomenclaturally related genera, including original descriptions and figures. Bibliotheca Phycologica. Berlin.
29. Komárek, J. & B. Fott (1983). Chlorococcales. Das Phytoplankton der Binnengewässer 7. Stuttgart.
30. López Elías, J.A., Voltolina, D., Chavira Ortega, C. O., Rodríguez, B. B., Sáenz Gaxiola L. M., Cordero Esquivel, B. & M. Nieves. (2003). Mass production of microalgae in six commercial shrimp hatcheries of the Mexican Northwest. *Aquacultural Engineering*. 29: 155-164.
31. Margalef, R. (1994). Limnology Now a paradigm of a new planetary problems. Elsevier Science. Netherlands.
32. Martínez, M. E., Sánchez, S., Jiménez, J. M., El Yousfi, F. & Muñoz L. (2000). Nitrogen and Phosphorus removal from urban waste water by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*. 73, 263-272.
33. Müller-Navarra, D. (1995). Evidence that a highly unsaturated fatty acid limits Daphnia growth in nature. *Arch. Hydrobiologia*.132: 297-307.
34. Nandini, S., (1999). Variations in physico-chemical parameters and plankton community structure in a series of sewage stabilization ponds. *Revista Biología Tropical* 47: (Supl. 1), 149–156.

35. Nandini, S., Aguilera-Lara, D. & Sarma, S. S. S., Ramírez-García, P. (2004). The ability of selected cladoceran species to utilize domestic wastewaters in Mexico City. *Journal of Environmental Management*. 71: 59-65.
36. Nandini, S., Hernández, M. & Sarma, S. S. S. (2005). Life Store characteristics of cladocerans (Cladocera) Fed on wastewaters. *Acta hydrochim. Hydrobiologia*. 33: (2), 133-141.
37. Nguyen, N. B., Mohammad, I. Y. & Nordin, A. K. (1999). Combination of *Chorella vulgaris* and *Eichhornia crassipes* for waste water nitrogen removal. *Water Restoration*. 33(10): 2357-2362.
38. Nogrady, T., R. I., Wallace, & T. W., Snell. (1993) *Rotifera 1*. Biology, ecology and systematics. Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. 6. SPB Academic Publishers. The Hague. The Netherlands.
39. Norma Mexicana. NMX-AA-108-SCFI-2001. (2001) Calidad de agua. Determinación de Cloro libre y Cloro Total. Método de prueba.
40. Olrik, K. (1994). *Phytoplankton Ecology*. K0benhavn.
41. Peña-Aguado, F, Nandini, S, & Sarma S. S. S. (2005). Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. *Limnologica*. 35: 298–303.
42. Ramalho R.S., (1993). *Tratamiento de aguas residuales*. Reverté, España.
43. Redfield, A. C. (1958). The biological control of chemical factors in the environment. *American Science*. 46: 206-221.
44. Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A., Koper, R., (1993). A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. *Journal Applied Phycology*. 5: 327–332.

45. Robertson, G. R. & Salt, G. W. (1981). Responses in Growth Mortality, and Reproduction to Variable Food Levels by the Rotifer, *Asplanchna Girardi*. *Ecology*. 62(6): 1585-1596.
46. Rosas, M. M. (1973). Peces dulceacuícolas que se explotan en México y datos sobre su cultivo. Ediciones Centro de Estudios Económicos del 3er. Mundo, México.
47. Rothhaupt, K. O. (1990). Differences in Particle Size-Dependent Feeding Efficiencies of Closely Related Rotifer Species. *Limnology and Oceanography* 35(1): 24-32.
48. Ruud, K., Robbert G. Jak & M. Groot. (1999). Growing Daphnia on effluent to improve the food situation of spoonbills on the Island of Texel, *do Daphnia really eat sewage sludge? 4th International Conference on Ecological Engineering for Wastewater Treatment*.
49. Sánchez Villasclaras, S., Martínez Sancho, M. E., Espejo Caballero M, T, & Delgado Pérez. (1997). A. Production of microalgae from olive mill wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 245-247.
50. Sarma, S.S.S. (2000). The use of rotifers for ecotoxicological studies in Mexico, pp. 8-11. In E. Ríos-Jara *et al.* (eds). *Estudios sobre plancton en México y el Caribe*. Sociedad Mexicana Planctología, Universidad de Guadalajara, México.
51. Sarma, S. S. S., Nuñez-Cruz, H. F. & Nandini, S. (2005). Effects of the population dynamics of *Brachionus rubens* (Rotifera) caused by mercury and cadmium administered through medium and algal food *Chlorella vulgaris*. *Acta Zoologica Sinica*. 51(1): 46-52.

52. Sarma, S.S.S., Trujillo-Hernández, H.E. & Nandini, S., (2003). Population growth of herbivorous rotifers and their predator (*Asplanchna*) on urban wastewaters. *Aquatic Ecology* 37, 243–250.
53. Schlüter, M. & Groeneweg, J., (1981). Mass production of freshwater rotifers on liquid wastes I. The influence of some environmental factors on population growth of *Brachionus rubens*. *Aquaculture*, 25: 17-24.
54. Sebnem., A. & Ilgi, K. K. (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*. 28, 64-70.
55. Stenberg, R. S. & Gilbert, J. J. (1985). Body Size, Food Concentration, and Population Growth in Planktonic Rotifers. *Ecology*. 66(4): 1151-1159.
56. Stenberg, R. S. & Gilbert, J. J. (1987). Rotifer Threshold Food Concentrations and the Size-Efficiency Hypothesis. *Ecology*. 68(1): 181-187.
57. Stevenson R.A., Sarma S.S.S. & Nandini S. (1998). Population dynamics of *Brachionus calyciflorus* Pallas: Monogononta: Brachionidae in waste water from food-processing industry in Mexico. *Revista de Biología Tropical*. 43: 595-600.
58. Tarlan, E., Filiz B., & Yetis, U. (2002). Effectiveness of algae in the treatment of a wood-based pulp and paper industry wastewater. *Bioresource Technology*. 84, 1-5.
59. Uherkovich, G., A. Schmidt & É. Ács (1995). A *Scenedesmus* zó'ldalga nemzetség (Chlorococcales, Chlorophyceae) különös tekintettel magyarországi előfordulású taxonjaira [The green algal genera *Scenedesmus* (Chlorococcales, Chlorophyceae) with special attention to taxa occurring in Hungary]. Magyar Algológiai Társaság. Budapest.
60. Vílchez, C., Garbayo, I., Lobato, M. V. & Vega, J. M. (1997). Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. *Enzyme and Microbial Technology*. 20:562-572.

61. Voltolina, D., Gómez-Villa, H. & Correa, G. (2004). Biomass production and nutrient removal in semicontinuous cultures of *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) in artificial wastewater, under a simulated day-night cycle. *Vie et Milieu*. 54 (1): 21-25.

62. Voltolina, D., Gómez-Villa, H. & Correa, G. (2005). Nitrogen removal and recycling by *Scenedesmus obliquus* in semicontinuous cultures using artificial wastewater and a simulated light and temperature cycle. *Bioresource Technology*. 96:359-362.