



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES IZTACALA

Aprovechamiento de aguas residuales mediante el cultivo del alga verde, *Scenedesmus acutus* (Cloroficeae), y su cosecha a través del cladócero *Moina macrocopa* (Moinidae).

Tesis que para obtener el título de BIÓLOGO presenta
Alonso Soto Ricardo Alberto.

Director de Tesis
Nandini Sarma



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.

Dedicatoria

Justo ahora, en el calmo y bello atardecer, casi noche, de una etapa imposible sin el tan invaluable apoyo de mis padres, a ellos dedico este trabajo que no siendo solo una tesis, es también el producto de confianza, apoyo, cariño y dedicación que sin duda alguna tuvieron durante estos años para conmigo, Luis y Elena, infinitamente agradecido.

Necesario es mencionar también, el incondicional apoyo brindado por mi familia comenzando con mis hermanos Fano y Vania, mis abuelos Mercedes, Felipe, Mere y Luis, además de todos mis tíos.

A los, primero compañeros de escuela, y luego amigos Frida, Gerry junto con todos los demás en los que pude confiar, son también parte importante de mi trabajo.

Doctora Nandini Sarma gracias por su valiosa guía y aportación académica además de su gran paciencia sin la cual no hubiera logrado cruzar la meta.

A todos mis profesores y maestros, agradezco lo que por ustedes aprendí. Doctor Pedro Ramírez García, Doctor SSS Sarma, Maestro Mario A. Fernandez Araiza y Doctor L. Héctor Hernández Hernández gracias por sus oportunas contribuciones para este trabajo.

No puedo dejar de agradecer a mi casa institucional Universidad Nacional Autónoma de México FESI, y a los programas PAPIIT IN203107 y PAPCA 85 (2008-2009).

El Huizache

Nada sabe decir
pero le llega un golpe de frescura
y en un gozo aromado
hasta las ramas
sube su flor,
dorada
como el sol que le quema.

Erizado de espinas se levanta
en la mitad del llano.

Su fronda
es una copa
de polvo.

Cuando la roza el aire
es una tórtola
triste de sed.

Ay, pero en el verano
el huizache recibe
la humedad de la tierra.

Su débil tronco olvida,
reverdece las hojas,
ablanda las espinas.

Ay, pero en el verano
en una sola flor
amarilla, pequeña,
canta toda la tierra

Dolores Castro

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	7
OBJETIVOS	10
MATERIALES Y METODOS	11
Laboratorio.....	11
Campo.....	13
RESULTADOS.....	17
Laboratorio.....	17
Campo.....	22
DISCUSION	34
CONCLUSION.....	39
RECOMENDACIONES.....	40
LITERATURA CITADA.....	41
ANEXO 1 (Técnicas de laboratorio)	46
DETERMINACION DE FOSFATOS: METODO DE CLORURO ESTAGNOSO.....	46
DETERMINACION DE FOSFATOS: TECNICA DE CATALDO	47
(tomado de Hecht U. & Mohr H, 1990).....	47
MEDIO DE CULTIVO BASAL DE BOLD (Borowitzka y Borowitzka, 1988).	47

RESUMEN

Actualmente, una gran cantidad de aguas negras o de desecho procesadas en plantas de tratamiento de aguas residuales, se destinan exclusivamente para el riego de áreas verdes o al abastecimiento de cuerpos de agua cercanos a la misma. Por ahora éstos dos son los principales usos a los que se destinan dichos efluentes. La gran cantidad de nutrientes que contienen las aguas tratadas, causan la eutrofización y muerte de cuerpos de agua, dado que rebasan la capacidad de autodepuración de los mismos. Estos nutrientes pueden ser aprovechados como un medio de cultivo para microalgas que a su vez pueden ser ofrecidas como alimento a otros organismos, por lo que la presente investigación realizó un acercamiento y descripción sobre el posible aprovechamiento de los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales, mediante el cultivo de la microalga *Scenedesmus acutus* y su cosecha mediante el cladóceros *Moina macrocopa*.

En condiciones de laboratorio, *Scenedesmus acutus* se cultivo en los medios Bold (medio basal bold Borowitzka y Borowitzka 1988) agua residual tratada (Planta) y la mezcla de estos últimos Planta+Bold en botellas de 2 litros con aireación y un fotoperiodo constante. *Moina macrocopa* se cultivo en recipientes de 50 ml con las algas del cultivo en los medios Bold, Planta y Planta+Bold a una concentración de 1×10^6 Células/ml.

En campo y para evaluar el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus in vivo* en agua residual tratada, se emplearon mesocosmos o espacios delimitados físicamente con un volumen de 5 litros, donde la microalga se cultivo para posteriormente darse como alimento a *Moina macrocopa*. La talla de éste cladóceros, se midió para evaluar el efecto de la dieta sobre éste parámetro. También en el agua tratada empleada como medio en los mesocosmos, se cuantifico la disminución en la cantidad de nitratos y fosfatos, 40% y 7% respectivamente, en función del crecimiento de *Scenedesmus acutus* que alcanzo densidades máximas de $10.8 \pm 2.3 \times 10^6$ células/ml.

La capacidad de *Moina macrocopa* para sobrevivir en estos efluentes, lo hace ideal para cosechar la biomasa generada en el cultivo de las microalgas, logrando

densidades de hasta 7 organismos por mililitro. La tasa de crecimiento poblacional para *Scenedesmus acutus* dentro de los mesocosmos fue menor a la observada en los otros cultivos ($r = 0.36$), por el contrario la tasa de crecimiento para *Moina macrocopa* ($r = 0.83$), dentro de los mesocosmos alimentado con el alga cultivada allí mismo, es muy similar a la observada cuando se alimentó con alga cultivada en el medio Planta+Bold ($r = 0.84$).

De manera general se observó que tanto *S. acutus* como *M. macrocopa* tienen la capacidad de crecer en aguas residuales tratadas formando una cadena trófica artificial, disminuyendo significativamente la cantidad de nitratos y fosfatos del medio.

INTRODUCCIÓN

Debido a su limitada disponibilidad, el agua se ha convertido en un importante tema de preocupación internacional, ya que el caudal de agua dulce representa solo el 2.53 % del volumen existente en el planeta (FAO, 2002). Además el consumo de agua aumenta diariamente debido al gran desarrollo de áreas urbanas y rurales, ligado al crecimiento de la población como probable consecuencia de una mejora en los niveles de vida de la misma.

La ciudad de México, demanda en promedio 33,000 litros de agua potable por segundo (DGCOH, 2006), misma que al ser empleada se vierte a la red de drenaje como aguas de desecho. Es así, que como consecuencia de una alta demanda de agua potable, la disposición de aguas residuales domésticas e industriales es proporcional y se encuentra en aumento. Ello lo convierte en un problema severo que repercute en el ambiente, pues a pesar que de manera natural los cuerpos de agua experimentan un proceso de eutrofización, las actividades humanas y sus desechos aceleran dicho proceso en los cuerpos de agua donde se descargan los efluentes del drenaje o de las plantas de tratamiento y debido principalmente a que la cantidad de materia orgánica vertida, rebasa su capacidad de autodepuración.

En el país de acuerdo con el censo de población y vivienda INEGI (2005), con información al 17 de octubre del mismo año de los más de 100 millones de personas que habitan en viviendas particulares, 9.2 cuentan con el servicio de agua potable y 85.6 con el de alcantarillado, se estima entonces que en México a nivel municipal se generaron 255 m³/s de aguas residuales, de los cuales, 205 m³/s se colectaron en la red de drenaje municipal (80.4%) y solamente 71.8 m³/s del total generado recibió algún tipo de tratamiento (28.2%) en una de las 1433 plantas de tratamiento en operación.

Estas aguas residuales se constituyen principalmente por desechos domésticos e industriales dependiendo de la región, con un alto contenido de nutrientes como fósforo y nitrógeno, (Tabla 1). Las principales e inevitables fuentes de estos nutrientes en aguas residuales de origen doméstico, son los desechos humanos y aguas grises (detergentes y jabones).

Tabla 1, elaborada a partir de SEPA (1995) citado en Rybicki S. (1997) y Helena (2004).

Fuente	Fósforo (g/día <i>per capita</i>)	Nitrógeno (g/día <i>per capita</i>)
Orina	1.0 (48%)	11 (81%)
Heces	0.5 (24%)	1.5 (11%)
Aguas de desecho	0.6 (28%)	1.0 (7 %)

Parte de estos nutrientes pueden ser parcialmente removidos en plantas de tratamiento (IRC, 2005). Desafortunadamente no toda el agua de desecho se trata y si esto ocurre no toda se reutiliza, por ejemplo en nuestro país, de toda el agua que se trata sólo el 25.3% se reusa generando un círculo vicioso, que demanda agua potable en exceso y que impide el reciclado de aguas residuales. Estas condiciones llevaron a México en el año 2002 a que entre 122 países ocupara el lugar número 106 en cuanto a la calidad del agua (De Anda, 2007).

En México el 41.3% de las plantas tratadoras de aguas residuales utilizan lagunas de estabilización como sistema de tratamiento y 23.1% utiliza lodos activados. Esta última técnica de tratamiento, remueve cierta cantidad de nutrientes y sustratos carbonosos del agua de desecho, donde los estanques de la planta de tratamiento son parte primordial de este proceso. Estos son reservorios artificiales estructurados como anaerobios, facultativos y de maduración.

Los tanques anaerobios por lo general tienen una profundidad de 2 a 5 m y reciben el agua cruda directamente del cárcamo con importantes cargas de materia orgánica. Estas altas cargas orgánicas producen condiciones anaerobias estrictas (oxígeno disuelto ausente) en todo el volumen del tanque. En términos generales funcionan como tanques sépticos abiertos y trabajan extremadamente bien en climas cálidos. Es en estos tanques donde se lleva a cabo la sedimentación de partículas de mayor tamaño en condiciones anaeróbicas (Duncan, 1997) y se separan por flotación las grasas que no pueden ser tratadas.

Los tanques facultativos pueden ser de dos tipos: facultativos primarios que reciben aguas residuales crudas y facultativos secundarios que reciben aguas sedimentadas de la etapa primaria (usualmente el efluente de un tanque anaerobio). Son diseñados para remoción de DBO_5 con base en una baja carga orgánica superficial que permita el desarrollo de una población algal activa. De esta forma, las algas generan el oxígeno requerido por las bacterias heterotróficas para remover los compuestos carbonosos. Una población saludable de algas le confiere un color verde oscuro a la columna de agua (Duncan, 1997).

Existen diversas investigaciones alrededor del mundo que pretenden aprovechar la gran cantidad de nutrientes en el agua tratada, como un medio de cultivo alternativo para microalgas, principalmente, obteniendo beneficios como: la remoción de sales (amonio, nitritos, nitratos, ortofosfatos), el aumento del pH de los efluentes (proceso fotosintético), lo cual favorece la precipitación de ortofosfatos, la eliminación de nitrógeno amoniacal por efecto de intercambio gaseoso, la disminución de la demanda biológica de oxígeno, la oxigenación del agua, favoreciendo la oxidación continua de materia orgánica, la acción bactericida, reduciendo la sobrevivencia de organismos patógenos y la captación de CO_2 .

Con todos los beneficios mencionados, algunos estudios han demostrado que en presencia de una carga importante de fósforo y nitrógeno, algunas microalgas si son capaces de remover experimentalmente dentro de mesocosmos en canales de desechos

agrícolas de 104 a 139 mg P/m²/día (Adey *et al.* 1993). Las microalgas también han sido usadas en bio-reactores para remover gran cantidad de la materia orgánica generada en industrias como la del papel (Aziz *et al.* 1993, Esra *et al.* 2002).

Un subsecuente problema será cómo extraer de la fase líquida, la biomasa generada mediante dicho cultivo de manera fácil y sobre todo rentable, ya que hasta el momento la cosecha de algas ha sido intentada mediante filtración, sedimentación, centrifugación y floculación resultando en complicados y costosos procesos. Una solución más viable y poco estudiada, es la utilización de las microalgas como alimento para invertebrados filtradores, particularmente los cladóceros que además de aprovecharlas, también podrían disminuir la carga bacteriana y de ciliados en estas aguas.

Estos organismos, los Cladóceros, junto con Ciliados, Rotíferos y Copépodos generalmente son los grupos de invertebrados que dominan el zooplancton en ecosistemas acuáticos naturales o artificiales incluyendo las lagunas de estabilización de aguas residuales (Nandini 1999, Mahassen *et al.* 2008). La presencia de pequeñas partículas de materia orgánica, bacterias y ciliados en el sistema, podrían ser aprovechados por los cladóceros (Nandini *et al.* 2005).

El cladóceros *Moina macrocopa* tiene la capacidad de sobrevivir en agua de diferentes tanques de una planta de tratamiento sin suministro de algas como alimento, dada su capacidad para crecer de manera satisfactoria en aguas residuales crudas filtrando pequeñas partículas del medio (Nandini *et al.* 2004). Además, el género *Moina* tiene gran valor como alimento vivo en acuicultura, la biomasa que se genera se puede cosechar y suministrar como alimento vivo para larvas y peces de menor tamaño.

En este sentido, los cladóceros constituyen una buena herramienta como alimento, en acuicultura debido a su pequeña talla, rápido desarrollo, temprana reproducción, alta tasa de multiplicación, fácil manejo y considerable valor comercial entre otros aspectos. Su

contenido de aminoácidos (perfil bromatológico) (Tabla 2) y minerales se traduce en un adecuado contenido nutricional (Muñoz, 1997), mismo que dependerá de la edad del cladóceros y la fuente de alimentación, siendo en este caso la microalga *Scenedesmus acutus*.

Tabla 2. Tomado de Study and analysis of feeds and fertilizers for sustainable aquaculture development. FAO Rome (2007). Porcentaje en peso seco de la composición próxima.

Organismo	Humedad	Proteína cruda	Lípidos crudos	Fibra cruda	Nitrógeno libre
<i>M. macrocopa</i>	8.5	57.8	7.6	8.4	17.2
<i>Artemia salina</i>	8.0	55.5	6.8	11.3	15.0
<i>Brachionus sp.</i>	8.1	51.9	10.4	3.5	15.3
<i>Spirulina maxima</i>	8.0	55.7	2.8	0.6	28.1

El objetivo del presente estudio no es evaluar la calidad nutricional del agua como medio de cultivo para *Scenedesmus acutus* ni la de ésta alga como alimento para *M. macrocopa*. Sin embargo es posible a través de una manera sencilla y económica, evaluar el valor nutricional del zooplancton mediante la respuesta morfométrica y poblacional (tabla de vida y crecimiento poblacional) que tienen, con respecto a la dieta suministrada. Estos parámetros son respuestas cuantificables y comparables para cada tipo de organismos y aunque existe otro método para determinar la calidad nutritiva de cierta dieta basada en el análisis químico de los ácidos grasos o análisis bromatológico, es un proceso lento y costoso. Por ello se opta por analizar las respuestas demográficas de los organismos.

Volviendo a las aguas residuales, los efluentes de las plantas de tratamiento, solo se destinan al riego de áreas verdes o para ser liberadas y mantener el nivel en los cuerpos de agua cercanos a las mismas. Generalmente conservan compuestos orgánicos que no fueron eliminados durante el tratamiento, su presencia disminuye la calidad del agua

tratada e incrementa la productividad primaria en los cuerpos naturales de agua a donde se vierte como lagos, lagunas y ríos (Rybicki, 1997). El resultado, es la degradación de ecosistemas acuáticos y un creciente deterioro de las aguas superficiales y subterráneas que constituyen las fuentes principales de abastecimiento de agua potable. No obstante, siendo las aguas residuales una importante fuente de energía, es necesario desarrollar nuevas técnicas y tecnologías que permitan remover los compuestos mencionados para prevenir la eutrofización y mejorar la calidad de los efluentes. Sin embargo en México no existe una línea de investigación clara, que promueva y respalde el cultivo de microalgas para disminuir la cantidad de Nitrógeno y Fosforo presentes en aguas residuales para su posterior reutilización, y tampoco una propuesta para la cosecha y aprovechamiento de la biomasa generada en dichos cultivos.

Por lo que el presente trabajo pretende evaluar la cantidad de Fósforo y Nitrógeno removidos mediante el crecimiento de *Scenedesmus acutus* en agua del tanque de sedimentación de la planta de tratamiento de aguas residuales El Rosario, en la delegación Azcapotzalco, así mismo cuantificar la respuesta poblacional y tendencia morfométrica del cladóceros *Moina macrocopa* al ser alimentado con dichas algas.

ANTECEDENTES

Tredici et al. (1992) probaron la capacidad, a escala de laboratorio, de una cadena alimenticia artificial constituida por la microalga del género *Scenedesmus* y el cladóceros *Daphnia magna* para recuperar Nitrógeno y Fósforo de agua del tratamiento secundario de una planta de tratamiento de aguas residuales en Begano Florencia. Concluyeron que el agua tratada es un buen medio de cultivo para ésta especie de microalga, y que a su vez este organismo constituye una optima fuente de alimento para el cladóceros *Daphnia magna*.

Adey et al. (1993) demostraron el potencial de usar la producción de algas para disminuir el exceso de fósforo en canales de agua de uso agrícola. Las poblaciones de algas, incluyen especies de los géneros *Cladophora*, *Spirogyra*, *Enteromorpha*, *Stigeoclonium*, y una variedad de diatomeas filamentosas como *Eunotia* y *Melosira*, todas estas fueron crecidas en mesocosmos, demostraron una capacidad de remoción de 104 a 139 mg TP/m²/día.

Rupert et al. (1995) cultivaron, *Tricornutum microalgal* de un sitio en la bahía del St Andrews, Escocia, Las concentraciones de nutrientes en los cultivos fueron medidos diariamente y se cuantificó en los cultivos una remoción del 80% de amonio y el 80% de ortofosfatos.

Nandini (1999), realizó un estudio para determinar las variaciones físicas, químicas, y la estructura de comunidades del plancton en una serie de lagunas de estabilización de aguas residuales en India, encontró que entre otros, los géneros *Scenedesmus* y *Moina* se encuentran de manera natural en esos cuerpos de agua, y por ende tienen la capacidad de sobrevivir en estas lagunas de estabilización.

Chacón et al. (2002) evaluaron el uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp., para la remoción de N-NH₄⁺, PPO₄⁻³ y DQO de las aguas residuales del sistema de

estabilización de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Se presentó una remoción total de N-NH_4 , al final del experimento, en todos los cultivos con agua residual; mientras que, la remoción máxima de P-PO_4^{-3} para *Chlorella* sp. fue del 44,0% en agua residual esterilizada y del 48,7% en agua residual no esterilizada.

Kassim (2002), cultivo *Scenedesmus abundance*, *S. quadricauda* y *Chlorella vulgaris* en aguas residuales de una planta de tratamiento en Rustamiha, Túnez, registro tasas de crecimiento altas dentro de la primera semana de cultivo para cada especie, logrando una remoción del 85% del contenido de fosfatos y 50% del contenido de nitratos. Al cabo de dos semanas de cultivo, no se obtuvieron diferencias significativas de remoción de nutrientes y el crecimiento de las especies de algas.

Siranee *et al.* (2002) cultivaron *Chlorella* sp. en aguas residuales de desechos de cerdo tratadas, disminuyendo la cantidad de nutrientes presentes en el agua, para posteriormente evaluar la capacidad de *Moina macrocopa* para cosechar la biomasa generada durante el cultivo. Con una concentración de algas de entre 100 y 240 mg/L lograron obtener hasta 3,000 individuos de *M. macrocopa* por litro.

Jiménez-Pérez *et al.* (2003) midieron el crecimiento de *Scenedesmus intermedius* y *Nannochloris* sp. y la disminución de fósforo y del nitrógeno mediante su crecimiento en desechos de cerdos. La disminución de P y de N para *Scenedesmus intermedius* libre fue de 0.014 y 0.012 mg P/h⁻¹ y 0.022 y 0.009 mg P/h⁻¹ para las células inmovilizadas. La remoción de *Nannochloris* sp eran 0.006 y 0.009 mg P/h⁻¹ en células libres y 0.011 y 0.006 P/h⁻¹ para las células inmovilizadas.

Bashan *et al.* (2003) a través de su aproximación: el tratamiento con Bacterias promotoras de crecimiento de microalgas en aguas residuales indican que al inmovilizar de manera conjunta *Chlorella vulgaris* y *Azospirillum brasilense* en esferas de alginato, se obtiene como resultado un aumento significativo en varios parámetros de crecimiento de la microalga, además, aumentaron los lípidos y la variedad de ácidos grasos. La microalga combinada con la bacteria promotora de crecimiento de

microalgas (MGPB) tiene una mayor capacidad de eliminar amonio y fósforo tanto en agua residual sintética como en agua residual doméstica.

Nandini *et al.*, (2004) demostró que en general, el cladóceros *Moina macrocopa* es capaz de sobrevivir en aguas residuales crudas, ya que este utiliza partículas de materia orgánica y bacterias como alimento, mostrando un crecimiento mayor que cuando se alimenta con microalgas. Al cultivar *Moina macrocopa* en aguas residuales los valores de r fueron más altos (0.19) que al cultivarlas solo con microalgas (0.15).

Karin Larsdotter (2006) experimentó en climas nórdicos, combinando la remoción de nutrientes de aguas residuales de una comunidad Sueca, mediante al cultivo de microalgas y plantas por hidroponia, obteniendo resultados favorables con el cultivo algal, ya que se removió el 40 % del nitrógeno total y el 25 % del fósforo total del efluente. Las condiciones climáticas no fueron las óptimas para producir mejores resultados pero demostró que es posible fuera de climas tropicales darle un tratamiento biológico a las aguas residuales de esta comunidad.

Abdel Hameed (2007), inmovilizó 1.5×10^6 células de *Chlorella vulgaris* en granos de alginato de calcio de 4 mm de diámetro dentro de bioreactores, cuantificó la total remoción de nitrógeno y 95 % de fosfatos en un plazo de 48 horas, demostrando que es posible la utilización de microalgas para la remoción de nutrientes de aguas residuales.

OBJETIVOS

- I. Evaluar el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* cultivado en agua tratada del tanque de sedimentación de la planta de tratamiento de aguas residuales Azcapotzalco como medio de cultivo, y la remoción de nitratos y fosfatos en función de éste.
- II. Evaluar el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* cultivada en tres diferentes medios (medio Bold, medio Bold y agua tratada del tanque de sedimentación de la planta de tratamiento de aguas residuales, y solo en agua tratada).
- III. Evaluar el crecimiento poblacional y la tendencia morfométrica de *Moina macrocopa* alimentado con *Scenedesmus acutus* cultivada en tres diferentes medios (medio Bold, medio Bold mas agua tratada del tanque de sedimentación de la planta de tratamiento de aguas residuales y solo en agua tratada).
- IV. Cuantificar el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* cultivado en mesocosmos dentro del tanque de sedimentación de la planta de tratamiento de aguas residuales Azcapotzalco y la remoción de nitratos y fosfatos en función de este.
- V. Evaluar el crecimiento poblacional y la tendencia morfométrica de *Moina macrocopa* cultivada en mesocosmos dentro del tanque de sedimentación con *Scenedesmus acutus* previamente cultivado en los mismos mesocosmos y sin *Scenedesmus acutus*.

MATERIALES Y METODOS.

Laboratorio

Para cuantificar el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* en agua del tanque de sedimentación como medio de cultivo, se inocularon 0.25×10^6 células/mL de esta alga en cada una de tres botellas transparentes de PET de 2 litros de capacidad, rellenas con 1.5 litros de agua de éste tanque.



Foto 1. Cultivo de *S. acutus* en laboratorio, botellas de PET, 2 litros de capacidad con 1.5 litros en aireación.

Los cultivos se mantuvieron durante nueve días con fotoperiodo y aireación constante para mantener expuestas de manera homogénea a la misma cantidad de luz y nutrientes a las microalgas, así como para también evitar su sedimentación. Además el aireado permite un adecuado intercambio gaseoso entre el medio y el aire.

El conteo algal se realizó cada tercer día a partir del inóculo mediante una cámara de Neubauer y un microscopio óptico Nikon. Como fuente de carbono del cultivo, se adicionó 0.5g de Bicarbonato de Sodio por botella el mismo día del conteo. Adicionalmente y para todos los experimentos de cultivo de algas, se calculó la tasa intrínseca de crecimiento de *Scenedesmus acutus*, mediante la ecuación de crecimiento exponencial $r = \frac{(\ln N_t - \ln N_0)}{t}$ donde N_0 y N_t son la densidad poblacional inicial y al tiempo final del cultivo, respectivamente y donde t es el tiempo en días. También se calculó la densidad máxima alcanzada.

La cantidad de nitratos y fosfatos presentes en el medio se cuantificó, de igual manera, el día de inóculo y cada tercer día a partir de éste. Los Nitratos mediante la técnica de Cataldo y Fosfatos mediante el método de Cloruro Estagnoso, APHA (Anexo 1).

Para cuantificar el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus*, en tres diferentes medios (Planta, Bold + Planta y Bold) se cultivaron 0.25×10^6 células/ml de esta alga, en tres botellas transparentes de PET de dos litros de capacidad para cada diferente medio, las tres réplicas por medio contenían 1.5 litros por botella de:

- A) Agua del tanque de maduración de la planta de tratamiento, Planta.
- B) Agua del tanque de maduración de la Planta de tratamiento + medio basal Bold (Borowitzka and Borowitzka 1988), Planta+Bold.
- C) Medio basal Bold (Borowitzka and Borowitzka 1988), Bold.

Los cultivos en estas botellas se mantuvieron durante 15 días, con fotoperiodo y aireación constante. El conteo algal se realizó cada tercer día a partir del inóculo

mediante una cámara de Neubauer y un microscopio óptico Nikon E200. Como fuente de carbono para el cultivo, se adicionaron 0.5 g de Bicarbonato de Sodio por botella el mismo día del conteo.

Para cuantificar el crecimiento poblacional de *Moina macrocopa* se inocularon 10 neonatos de este cladóceros en cuatro replicas de 50 mL, cada una con una concentración de 1×10^6 Células/ml de *Scenedesmus acutus* resultante de cada uno de los tres cultivos del segundo objetivo (Medio Planta, Planta+Bold y Bold). Diariamente se contó el total de organismos por cada replica mediante un microscopio estereoscópico.

Paralelamente con ayuda de un microscopio óptico NIKON, se midió el largo y alto de 50 organismos por cada replica para obtener la tendencia morfométrica en función de la dieta. Para ello se tomo como punto de referencia la parte exterior de la región cefálica y caudal de cada organismo. Adicionalmente y para todos los experimento de cultivo de *M. macrocopa* se calculo la tasa intrínseca de crecimiento mediante la ecuación de crecimiento exponencial $r = \frac{(\ln N_t - \ln N_0)}{t}$ donde N_0 y N_t son la densidad poblacional inicial y al tiempo final del experimento, respectivamente y donde t es el tiempo en días. También se caculo densidad máxima alcanzada.

Campo

Para cuantificar el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* en mesocosmos dentro de la planta de tratamiento, se colocaron 3 botellas de 5 litros dentro del tanque de sedimentación de la misma. Estas permanecieron inmersas durante el estudio pretendiendo mismas condiciones de luz y temperatura que los de la planta, se mantuvieron aireadas para evitar la sedimentación algal y para promover una homogénea exposición a los nutrientes y luz.

En cada botella se inocularon 0.25×10^6 Células/ml de *S. acutus*. El conteo algal se realizó en el laboratorio cada tercer día a partir del inóculo mediante una cámara de Neubauer y un microscopio óptico Nikon, para ello se tomaron muestras de 10 ml por

cada botella. Simultáneamente a las muestras para los conteos, se extrajeron otros 20 ml del cultivo para cuantificar la cantidad de nutrientes (fosfatos y nitratos) en función del crecimiento poblacional de *S. acutus*, mediante el método de cloruro Estagnoso y la técnica de Cataldo respectivamente. Paralelamente se colocaron otras 3 botellas del mismo volumen y con la misma cantidad de agua del tanque de maduración, en las solo se midió la cantidad de nutrientes (nitratos y fosfatos) presentes en función del tiempo.



Foto 2. Mesocosmos dentro del tanque de sedimentación de la planta de tratamiento de aguas residuales el Rosario.

El crecimiento poblacional de *Moina macrocopa* en los mesocosmos, se cuantifico al inocular 250 neonatos en cada una de seis botellas transparentes de PET con cinco litros de capacidad, dentro del tanque de sedimentación en la planta de tratamiento. Pretendiendo mismas condiciones de luz y temperatura.

Las seis botellas fueron llenadas con agua del tanque de sedimentación, en tres de estas se colocó una concentración de 1×10^6 Células/mL de *Scenedesmus acutus*

resultante del cultivo del cuarto objetivo. Las tres botellas rasantes contenían solo a los 250 neonatos sin algas. Diariamente se contó el total de organismos presentes en las seis botellas del cultivo de manera directa hasta donde fue posible y después mediante alícuotas de 100 mL. Del total 50 organismos fueron elegidos aleatoriamente y medidos a lo largo (Figura 1) y ancho para obtener la tendencia morfométrica en función de la dieta mediante un microscopio NIKON con regla incluida en el.

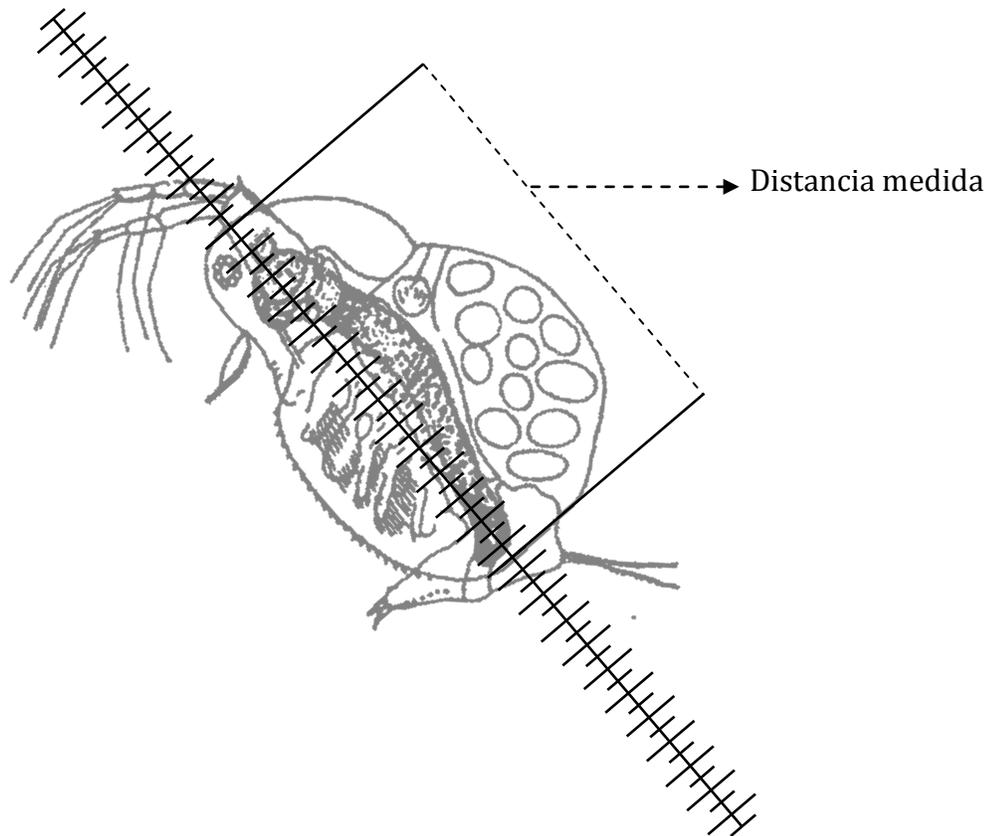
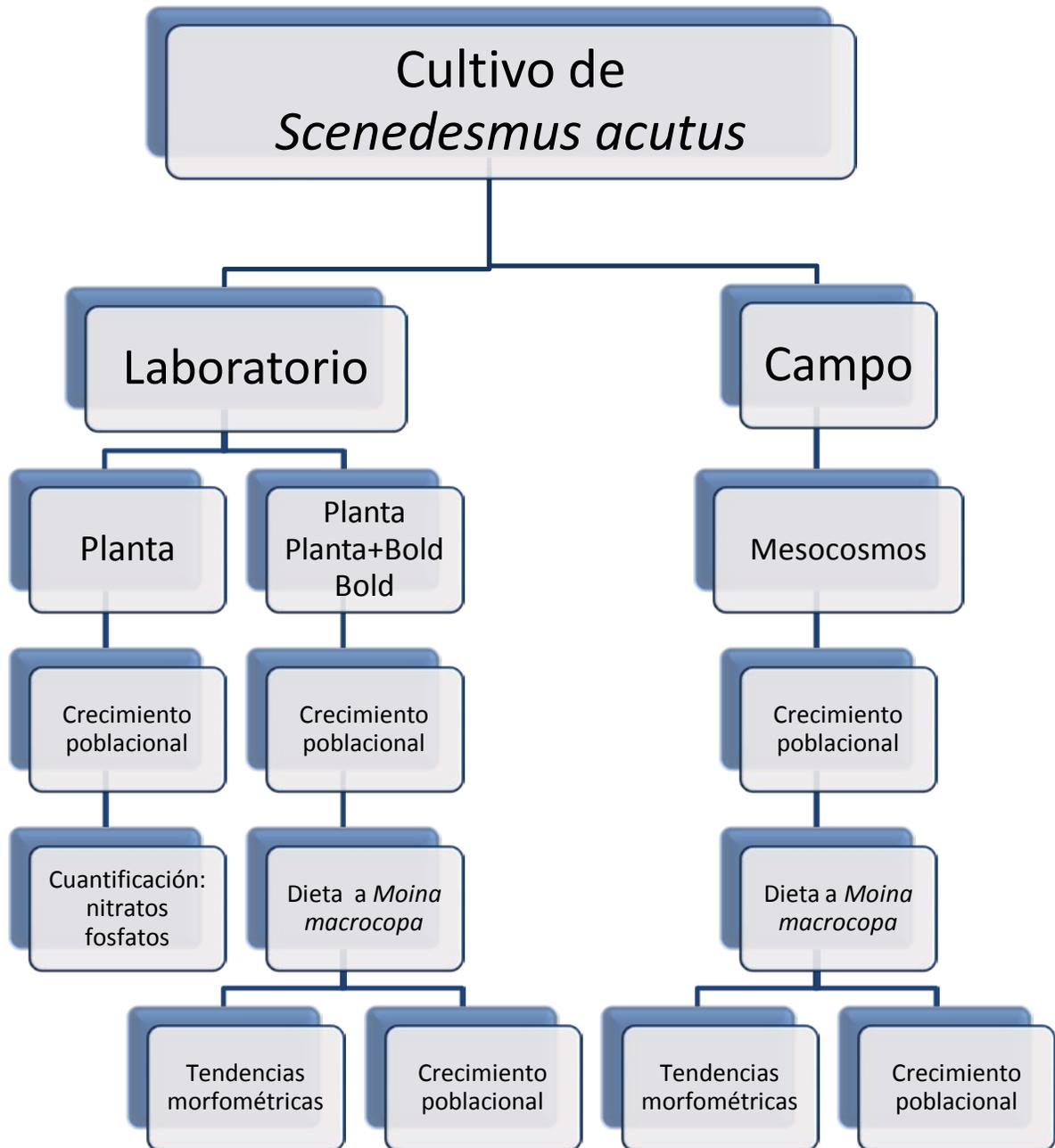


Figura 1. Eje y distancia como se midió la talla de *M. macrocopa* en función de la dieta que le fue ofrecida.

Se realizó un análisis estadístico de una vía para comparar las densidades máximas y las tasas intrínsecas de crecimiento de cada cultivo.

Diagrama de flujo (materiales y métodos)



RESULTADOS

Laboratorio

El crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* en agua de la planta de tratamiento (Figura 2), comenzó a partir del día de inoculo y siguió así hasta finalizar el cultivo. La fase de crecimiento exponencial se mantuvo durante tres días, iniciando en el tercero para culminar al quinto día. Al término del experimento, *S. acutus* se tornó de una coloración amarillenta anormal al color verde intenso que generalmente adquiere el cultivo de ésta especie. La máxima densidad celular alcanzada con éste medio, planta, fue significativamente diferente (mayor) al observado en el cultivo con el mismo medio, en los mesocosmos dentro del tanque de maduración de la planta de tratamiento.

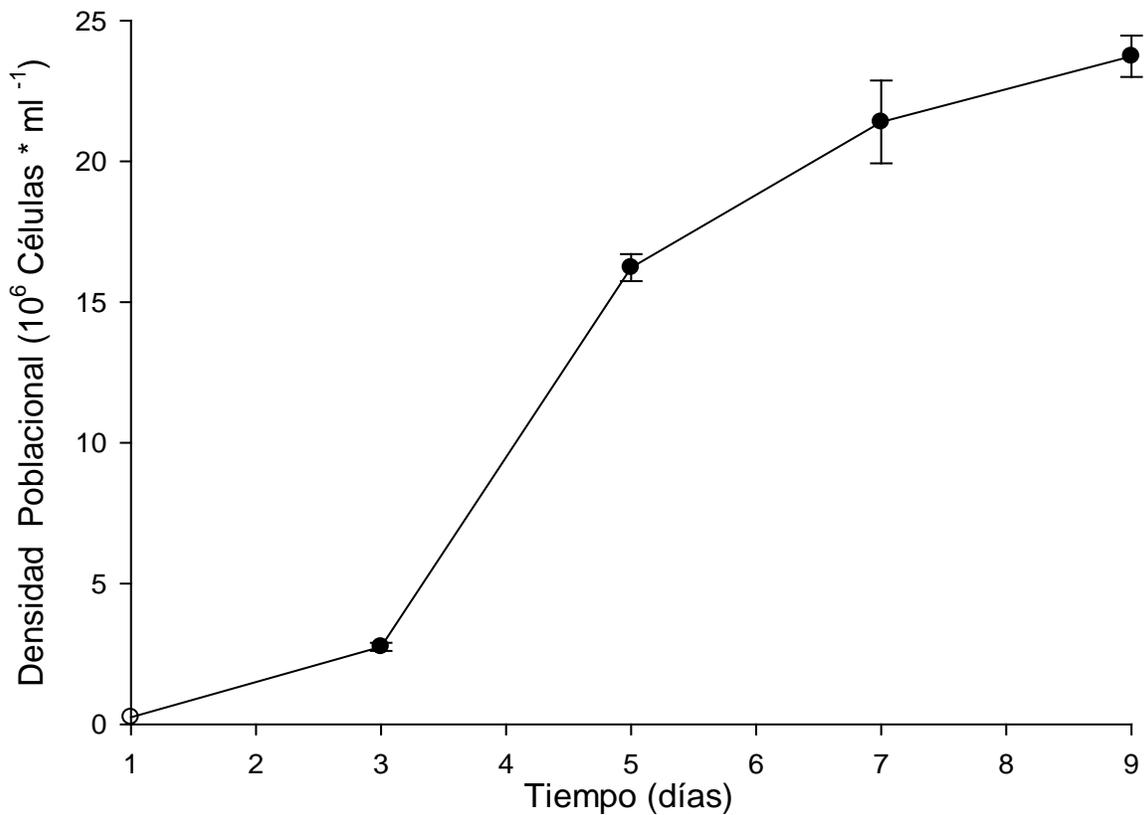


Figura 2. Curva de crecimiento poblacional para *Scenedesmus acutus* en agua residual tratada. Se muestra la media y el error estándar basados en tres replicas.

Proporcional, al crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus*, se genero una disminución del 70 % en la cantidad de Nitratos presentes del medio Figura 3. Por el contrario a partir del quinto día, la cantidad de Fosfatos comenzó a incrementar hasta el séptimo, para finalmente disminuir a un 32 % de la cantidad inicial.

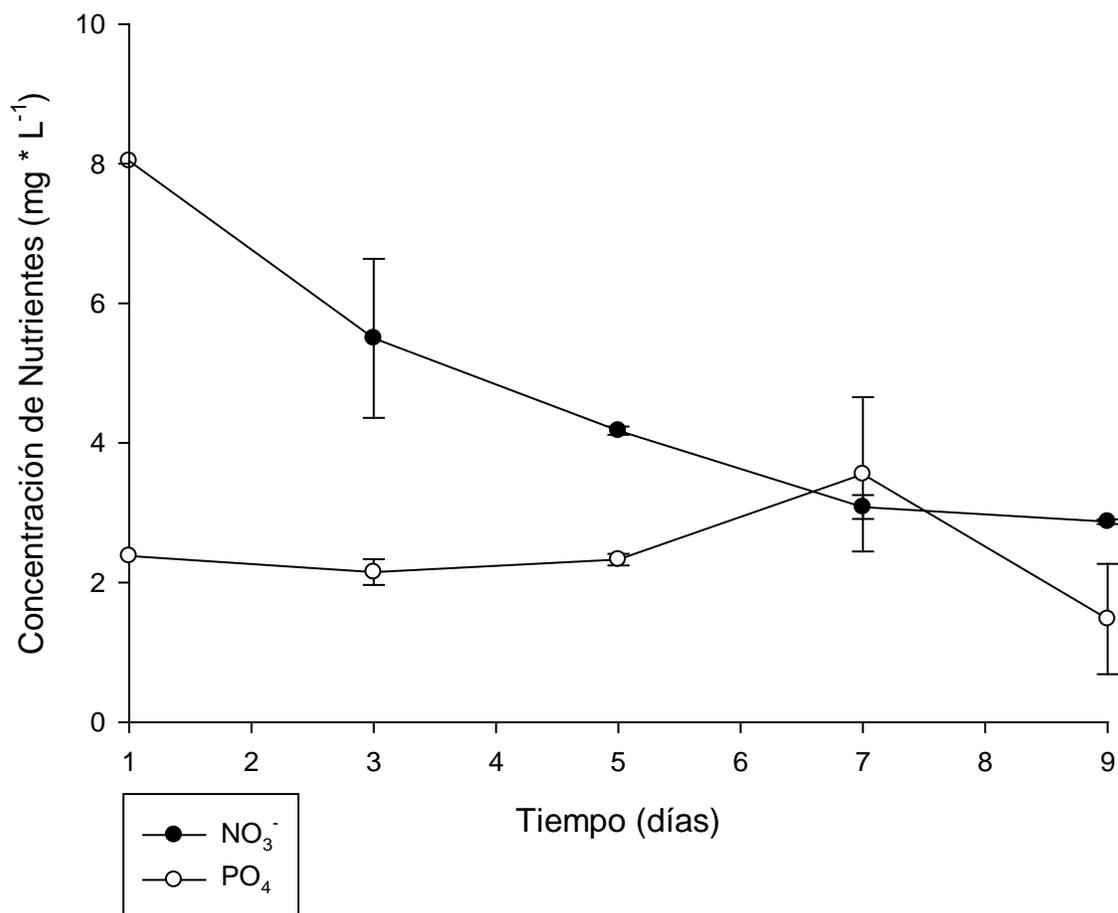


Figura 3. Cantidad de Nitratos (NO₃⁻) y Fosfatos (PO₄) presentes agua residual, en función del crecimiento poblacional de *S. acutus*. Se muestra la media y el error estándar basado en tres réplicas.

Las curvas de crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* en tres diferentes medios (Figura 4) se asemejan entre sí hasta el tercer día de cultivo, a partir de éste día, la mezcla Planta+Bold comienza su fase exponencial para terminarla al séptimo. Los otros dos medios, Planta y Bold inician la fase exponencial al quinto día para concluir la también al séptimo. La densidad poblacional del medio Planta y Bold fue 30% y 67% respectivamente, del logrado en el medio Planta+Bold. Es evidente que al cultivar *S. acutus* en el medio Planta+Bold se promueve un mayor crecimiento poblacional que cuando se cultiva por separado en cada uno de los medio Planta y Bold.

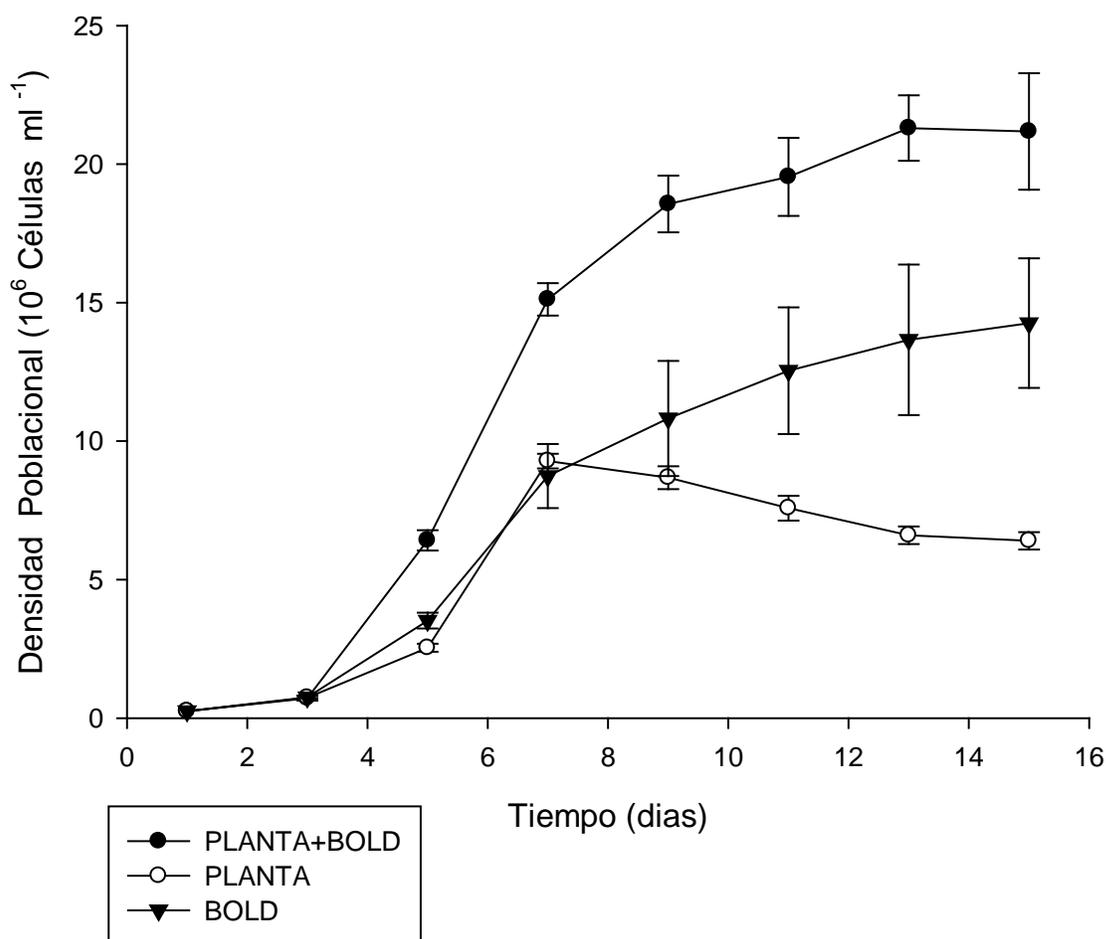


Figura 4. Crecimiento poblacional de *S. acutus* en tres diferentes medios: Bold (B) como control, Bold y agua del tanque de maduración de la Planta de tratamiento (BP), y en solo agua del tanque de maduración de la Planta de tratamiento (P). Se muestra la media y el error estándar basados en tres replicas.

El crecimiento poblacional de *Moina macrocopa* con tres diferentes dietas (Figura 5), inició entre el quinto y sexto día de cultivo. El alga del medio Planta+Bold promovió la mayor densidad poblacional (6.3 ± 0.6 ind/mL), seguido por alga del medio Bold (6.3 ± 0.4 ind/mL) y por alga del medio planta (2.2 ± 0.1 ind/mL). *M. macrocopa* alimentada con *S. acutus* del medio Planta, logro el 34% de la densidad máxima alcanzada por éste cladóceros al ser alimentado con alga del medio Planta+Bold. En este experimento, también se aprecia que el medio Planta+Bold, promueve un mayor crecimiento poblacional que cuando se cultiva por separado en cada uno de los medios Planta y Bold.

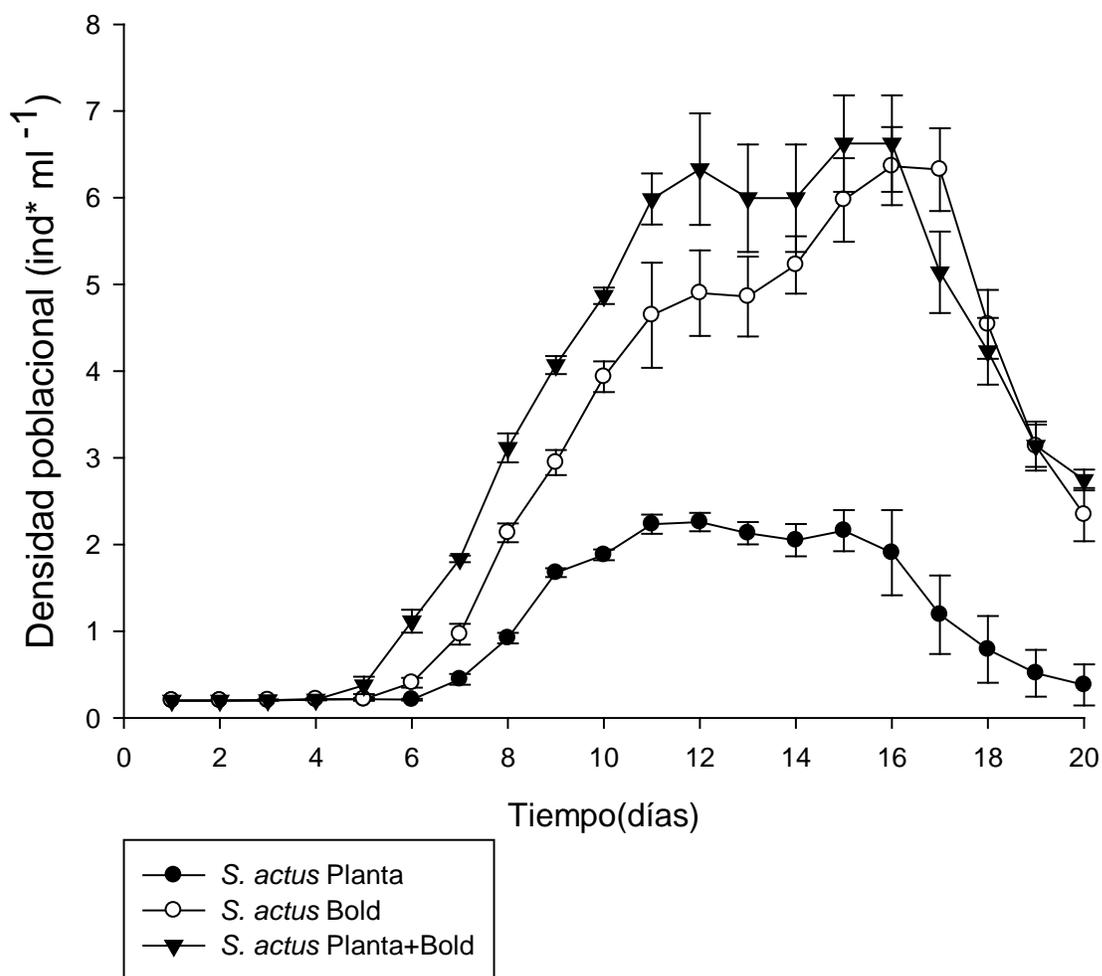


Figura 5. Curvas de crecimiento poblacional de *Moina macrocopa* con una dieta de *S. acutus* cultivada en medio: Bold (Bold) , Bold y agua tratada del tanque de sedimentación Planta de tratamiento (Planta+Bold), y en solo agua tratada del tanque de maduración de la Planta de tratamiento (Planta). Se muestra la media y el error estándar basados en cuatro replicas.

Las tendencias morfométricas para *Moina macrocopa* (Figura 6), cultivado en algas del medio Planta, se inclino a tamaños pequeños, que se observaron al final del experimento; 600 μm fue la talla más usual registrada para éste cultivo sin que destacaran organismos mayores a 1000 μm .

Por el contrario con algas provenientes del medio Bold, 800 μm fue la talla más usual aunque un pequeño porcentaje de los organismos alcanzaron los 1400 μm de longitud. Un cambio significativo en el tamaño de los organismos ocurrió cuando las algas del medio Planta+Bold fueron suministradas a los cladóceros, el tamaño más usual fueron 1000 μm , ello sugiere una mejor calidad alimenticia reflejada en la talla de los organismos.

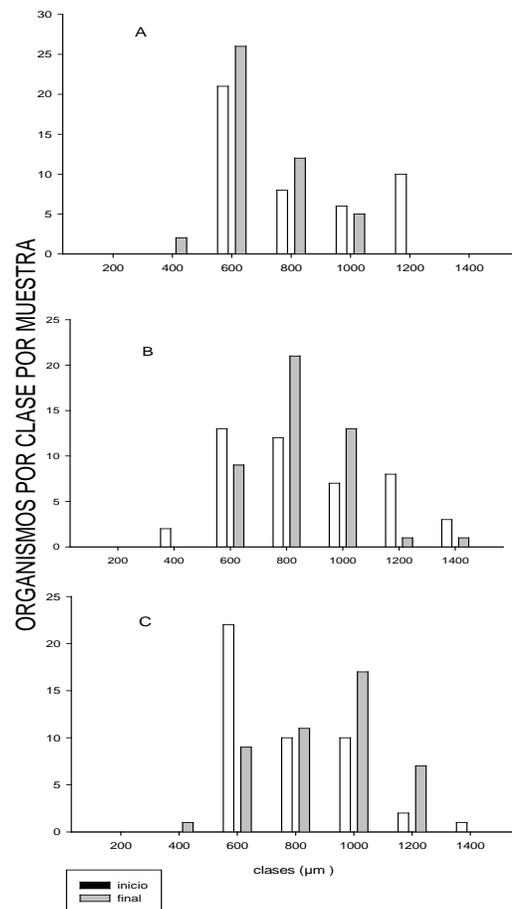


Figura 6. Tendencias morfométricas de *Moina macrocopa* cultivada en tres diferentes dietas (*S. acutus* cultivada en medio: Planta (A), Bold (B) y Planta+Bold (C)), basadas en la longitud existente entre la región cefálica y caudal de los organismos. Se presentan una muestra de cincuenta individuos por cada dieta al inicio y final del experimento de crecimiento poblacional.

Campo.

Un crecimiento constante a partir del día de inóculo, se observó en el cultivo de *S. acutus* dentro de los mesocosmos en la planta de tratamiento (Figura 7). La densidad poblacional alcanzada fue 54% de la generada en el cultivo con el mismo medio pero a nivel laboratorio. Es probable que la diferencia en la densidad sea consecuencia directa del contenido de nutrientes en el medio y que las condiciones ambientales como la luz y la temperatura no fueron controladas.

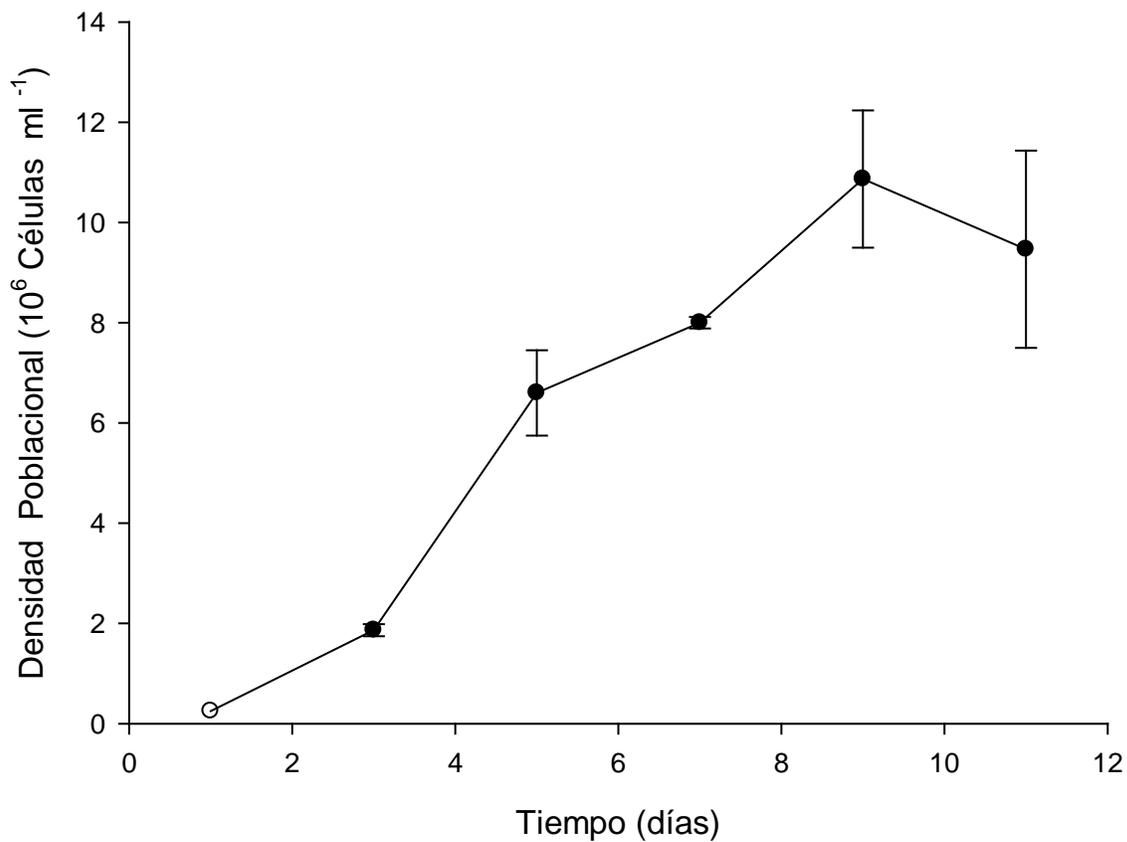


Figura 7. Curva de crecimiento poblacional, de *S. acutus* cultivada en mesocosmos con agua del tanque de maduración. Se muestra la media y el error estándar basados en tres réplicas.

La cantidad y la relación en la proporción de nutrientes en el medio planta dentro de los mesocosmos, es similar a la encontrada durante el primer experimento del estudio donde se usó el medio Planta como medio de cultivo a nivel laboratorio. La curva de disminución (Figura 8) en función del crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus*, comenzó a decrecer a partir del primer día del experimento. El crecimiento de las microalgas disminuye de manera considerable la cantidad de Nitratos y Fosfatos en el medio, 40% y 7% respectivamente del total inicial. Aun cuando no se inoculó *S. acutus* se registró una ligera disminución de éstos nutrientes en el medio.

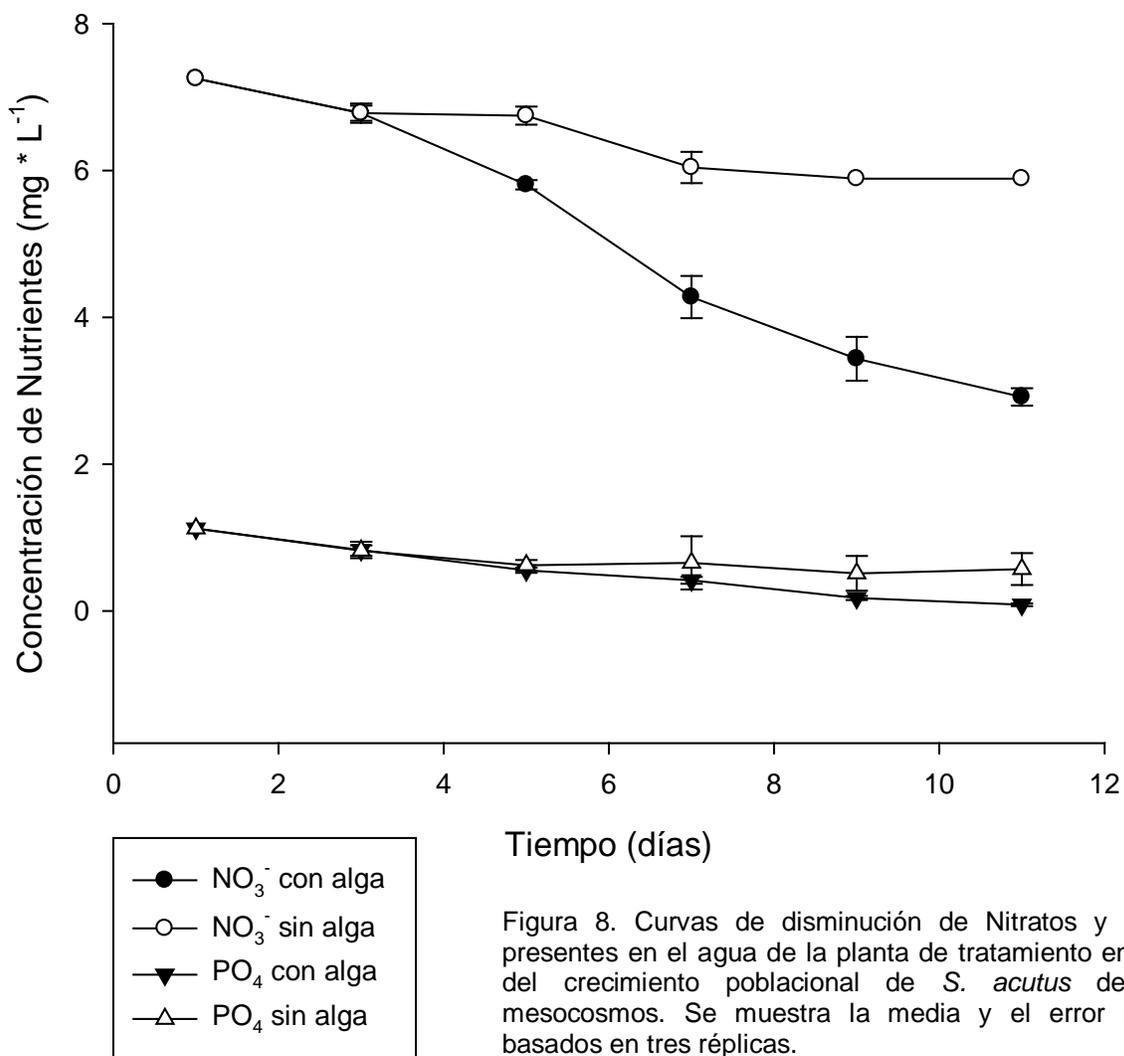


Figura 8. Curvas de disminución de Nitratos y Fosfatos presentes en el agua de la planta de tratamiento en función del crecimiento poblacional de *S. acutus* dentro de mesocosmos. Se muestra la media y el error estándar basados en tres réplicas.

Un crecimiento lento y menor, se observó para *Moina macrocopa* cuando se cultivó en un mesocosmos sin alga como alimento (Figura 9), la máxima densidad registrada fue de 4 ± 0.23 ind/mL. Por el contrario un rápido y constante crecimiento hasta el séptimo día de cultivo, se observó cuando *S. acutus* previamente se cultivo en los mesocosmos, para después ser ofrecida como alimento a *M. macrocopa*, generando una densidad máxima de 7 ± 0.05 ind/mL.

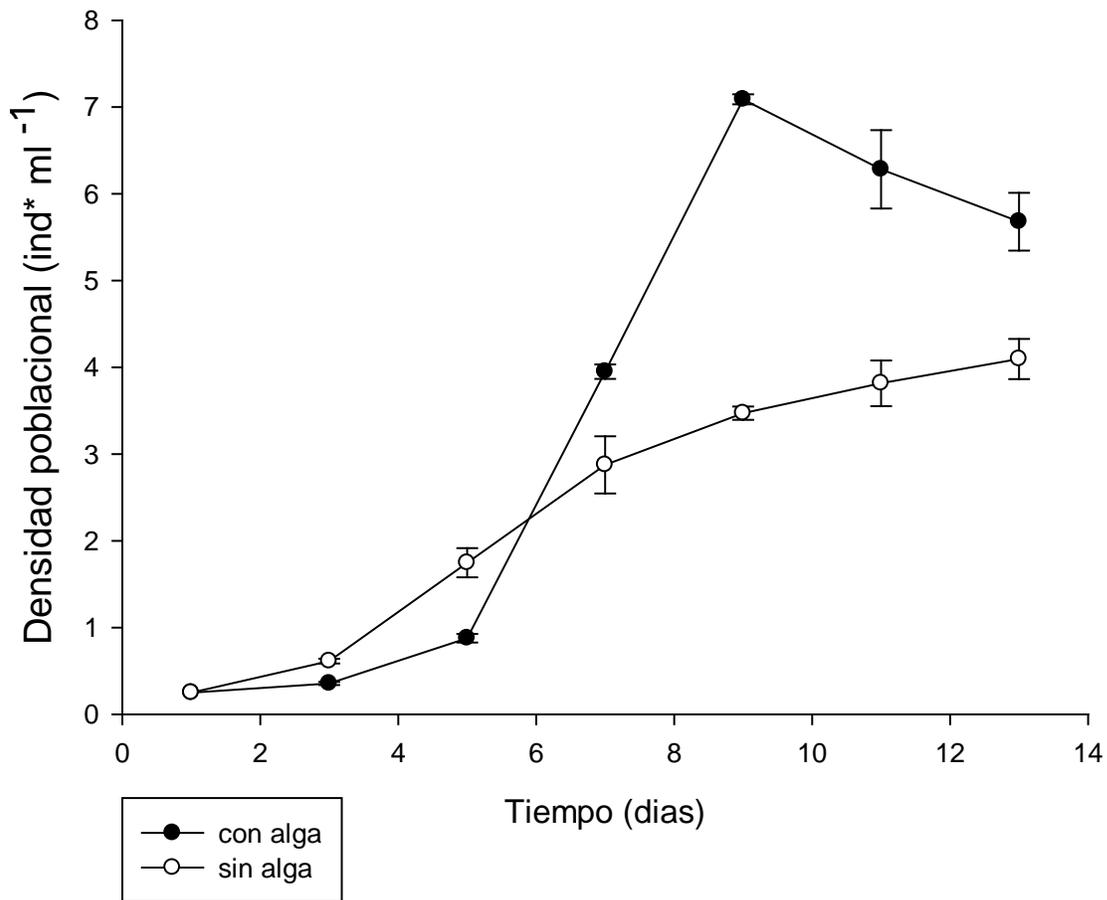


Figura 9. Crecimiento poblacional de *Moina macrocopa* en mesocosmos dentro del tanque de sedimentación, sin y con *Scenedesmus acutus* previamente cultivado en los mismos mesocosmos. Se muestra la media y el error estándar basado en tres réplicas.

Organismos no mayores a los 1200 μm fueron registrados al final del cultivo de *Moina macrocopa* dentro de los mesocosmos en la planta de tratamiento. En presencia de algas como alimento, se observó que los organismos se encontraron mayormente entre los 600 y 1200 μm (figura 10). Cuando no le fue suministrado *S. acutus* los organismos se situaron entre los 600 μm y 1000 μm . Estos cladóceros, crecidos dentro de los mesocosmos, se tornaron de una coloración menos rojiza y hasta cierto punto transparentes.

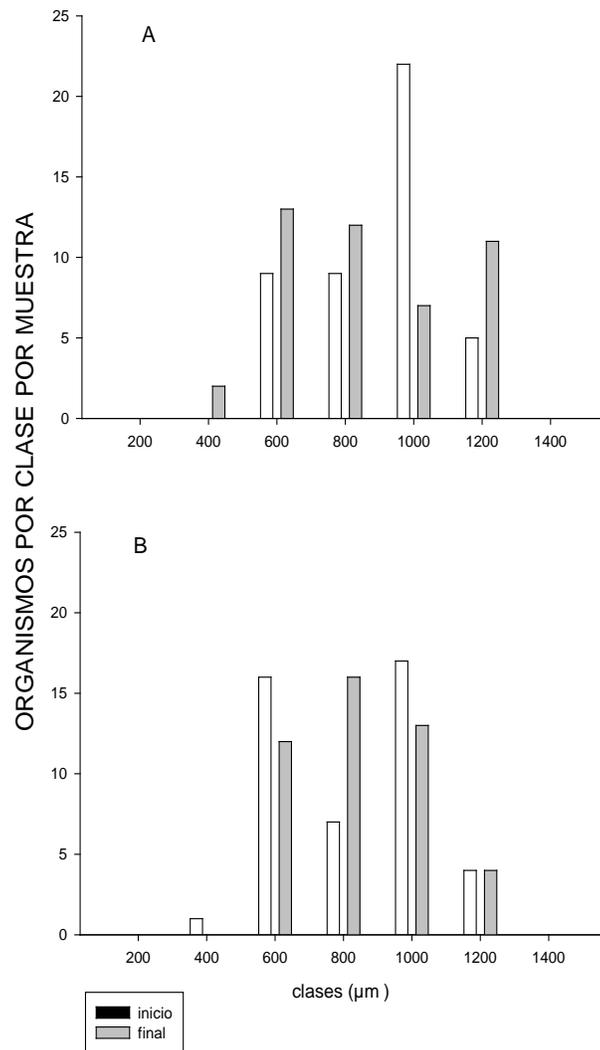


Figura 10. Tendencias morfométricas de *Moina macrocopa* cultivado en mesocosmos con algas (A) y sin algas (B) en el cultivo basadas en la longitud de los organismos. Se presentan una muestra de cincuenta individuos por cada dieta al inicio y final del experimento de crecimiento poblacional.

Al comparar entre sí, las tasas de crecimiento poblacional de *Moina macrocopa* alimentado con tres diferentes dietas (figura 11) a nivel laboratorio, estadísticamente se encontró una diferencia significativa ($P < 0.05$) mediante la prueba de Tukey entre la dieta de algas cultivadas en el medio Planta+Bold y el medio Planta. Sin embargo entre las dietas de los medios Planta+Bold y Bold ó Planta y Bold no existe diferencia significativa alguna.

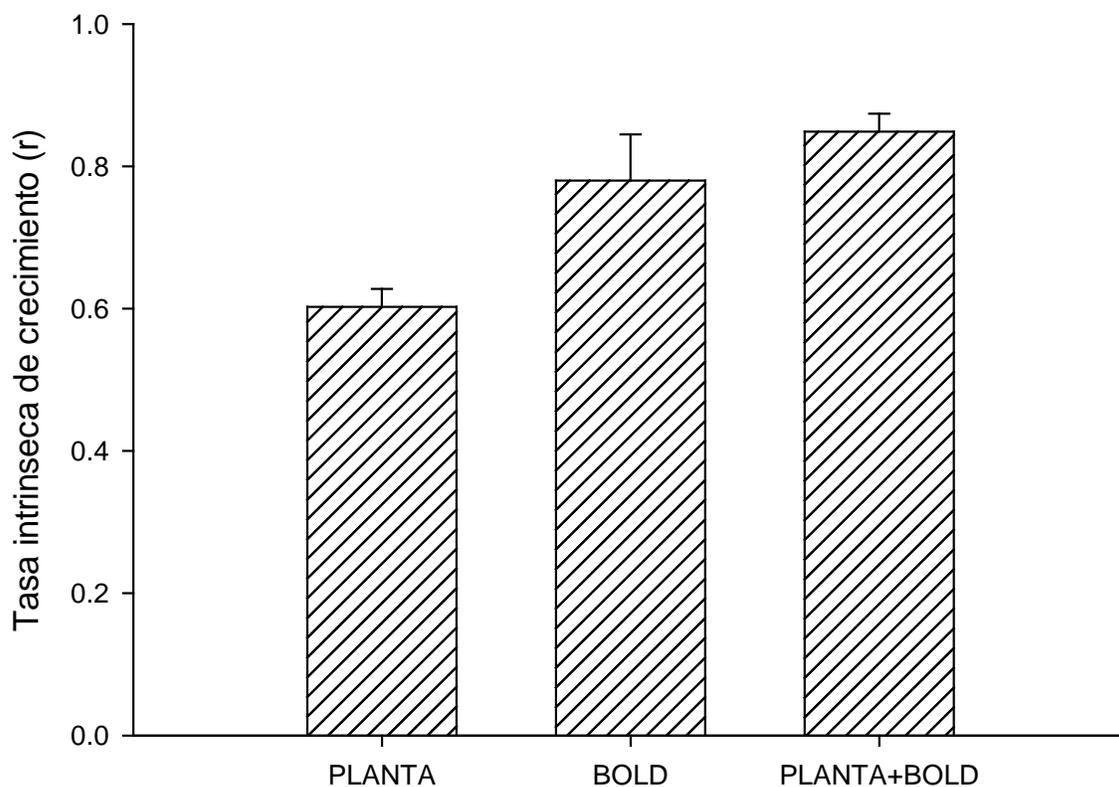


Figura 11. Comparación de las tasas de crecimiento poblacional para *Moina macrocopa* cultivada en tres diferentes dietas. Se muestra en cada barra la media y el error estándar basado en cinco replicas.

Una diferencia significativa mediante el método de Holm-Sidak ($P < 0.001$) se encontró al comparar entre si las tasas de crecimiento poblacional para *M. macrocopa* cuando se cultivo con una dieta de algas y sin algas dentro de los mesocosmos en la planta de tratamiento (figura 12). Al inocular *Scenedesmus acutus* como alimento, favoreció la tasa de crecimiento en éste cladóceros 20% más que el cultivo donde no hubo la presencia de ésta microalga.

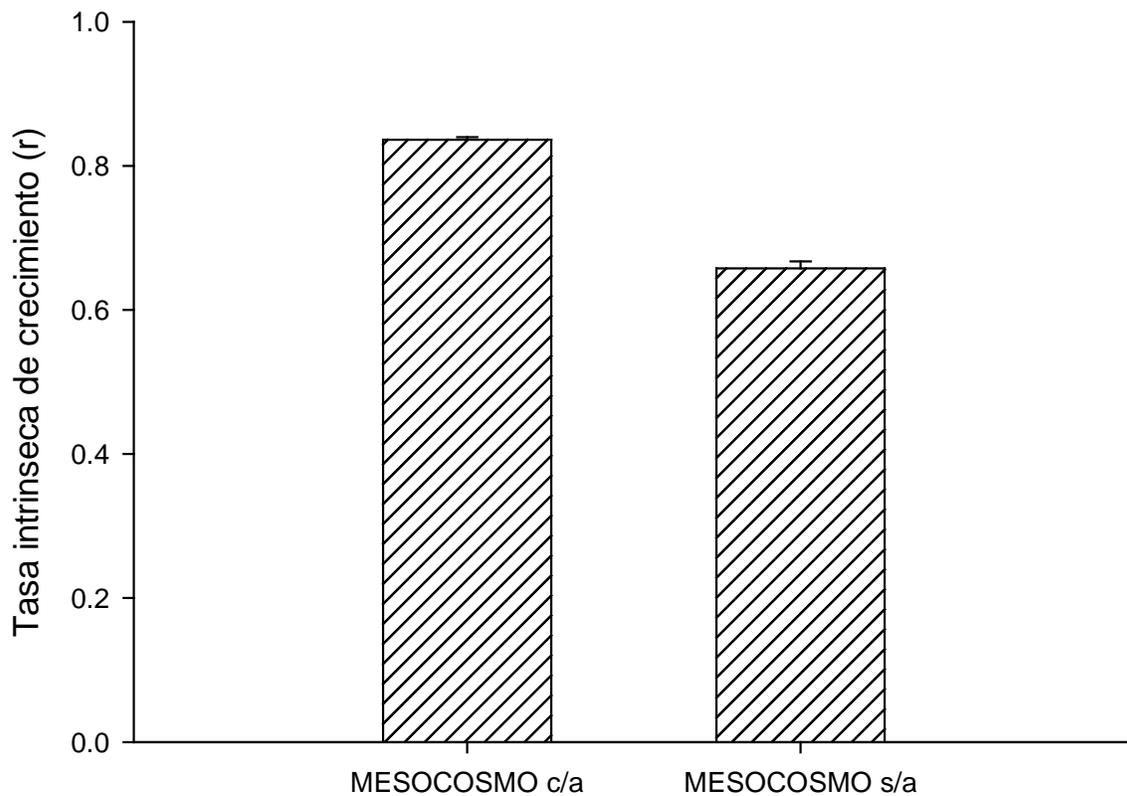


Figura 12. Tasas de crecimiento poblacional para *Moina macrocopa* cultivado dentro de los mesocosmos con y sin *Scenedesmus acutus*. Se muestra la media y el error estándar basado en tres replicas.

Estadísticamente, no se encontró diferencia significativa entre las tasas de crecimiento poblacional para *Scenedesmus acutus* cultivada en tres diferentes medios (figura 13). Lo que sugiere una cualidad similar entre estos medios para generar un cultivo.

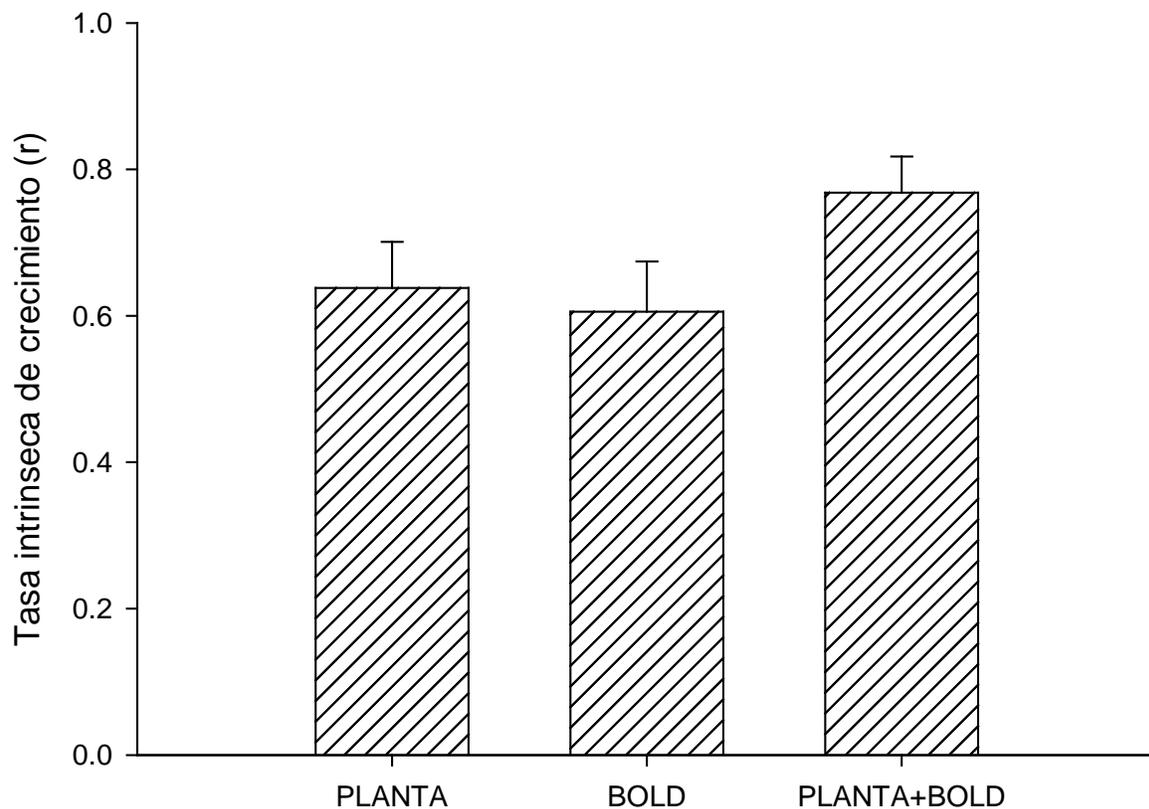


Figura 13. Comparación de las tasas de crecimiento poblacional para *S. acutus* cultivada en los medios Planta, Planta+Bold y Bold. Se muestra en cada barra la media y el error estándar basado en cinco réplicas.

El cultivo de *Scenedesmus acutus* en el medio planta a nivel laboratorio y en campo dentro de los mesocosmos (figura 14), indica una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.012$) por el método de Holm-Sidak, entre las tasas de crecimiento poblacional. La diferencia se atribuye a la cantidad de nutrientes presentes cada vez que se realizó la colecta del medio para los cultivos, una durante la época de seca o estiaje y otra cuando la lluvia se hacía presente.

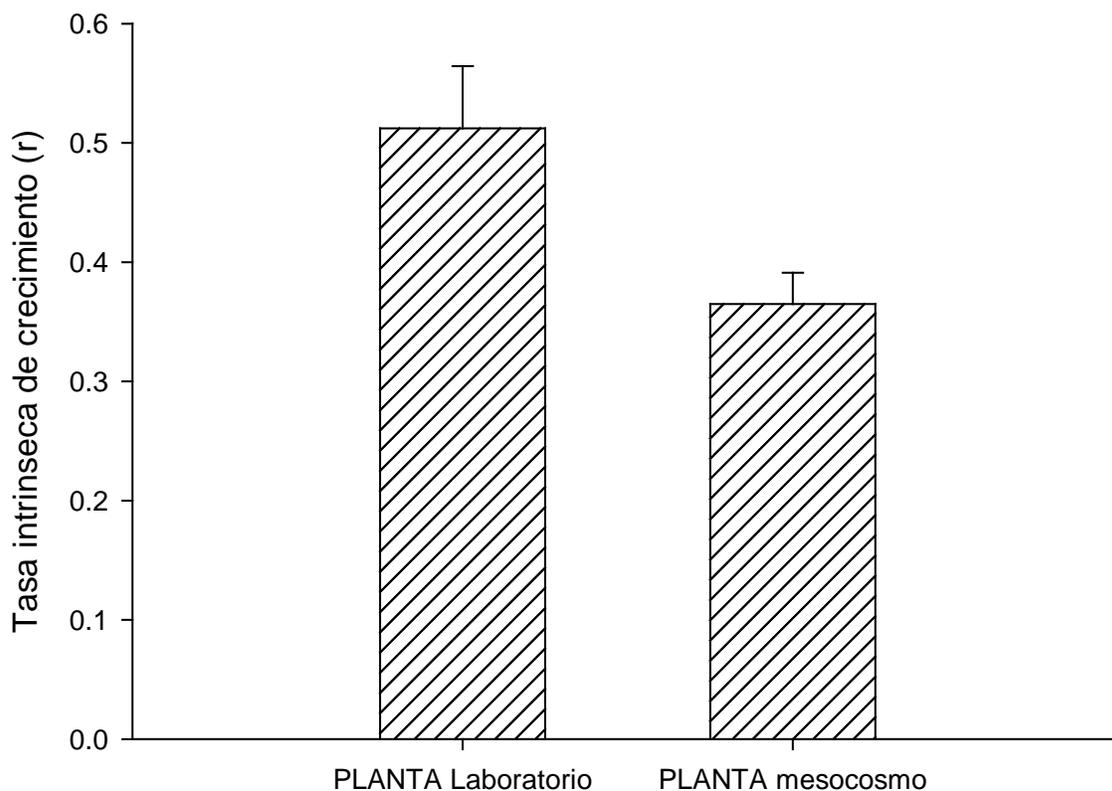


Figura 14. Tasas de crecimiento para *S. acutus* en el medio Planta, se presenta la media y el error estándar basado en tres réplicas.

Las densidades poblacionales para *Moina macrocopa* cuando se ofreció *Scenedesmus acutus* del medio Planta+Bold y Bold como dieta, no muestran estadísticamente una diferencia significativa ($P < 0.001$) entre sí (figura 15). Por el contrario la densidad del cladóceros al ofrecer *S. acutus* del medio Planta, representa una diferencia significativa ($P < 0.001$) comparada con los Medios Planta y Planta+Bold mediante el método Holm-Sidak.

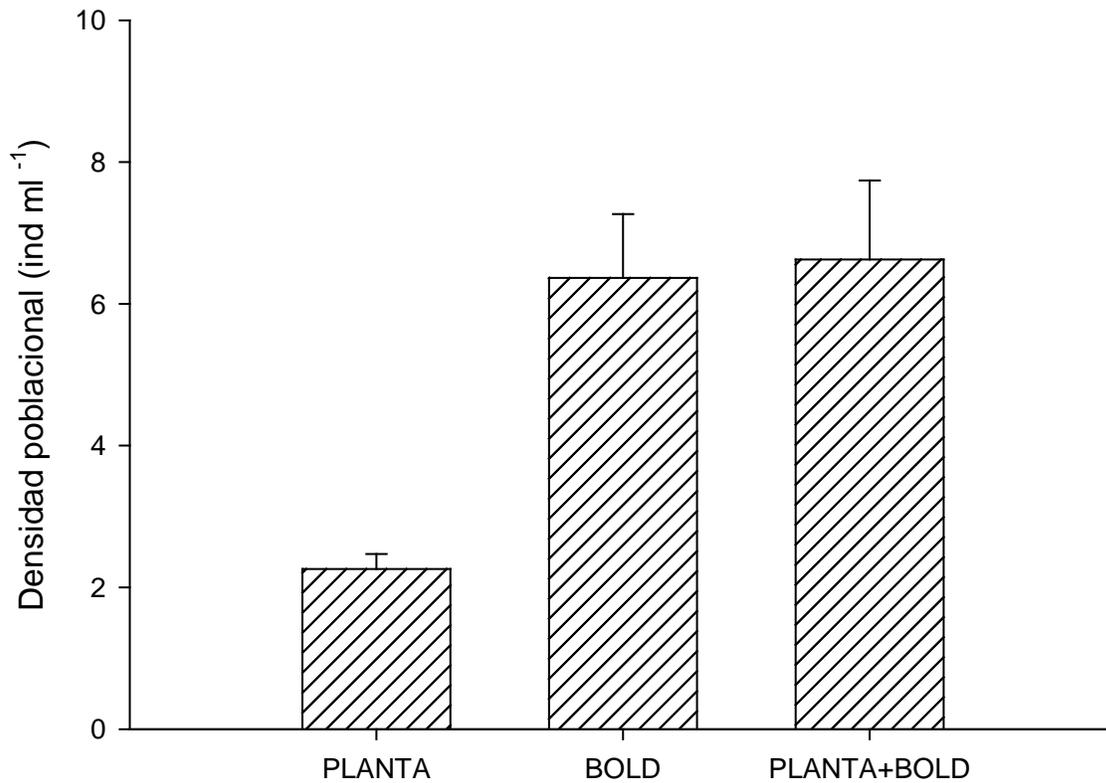


Figura 15. Densidades máximas alcanzadas por *S. acutus* en los medios Planta, Bold y Planta+Bold. Se muestra la media y el error estándar basado en cuatro réplicas.

Una diferencia estadísticamente significativa, ($P < 0.001$) método de Holm-Sidak, se encontró al comparar entre si las máximas densidades poblacionales alcanzadas por *Moina macrocopa*, cuando se cultivo dentro de los mesocosmos con y sin *Scenedesmus acutus* como dieta (figura 16). Es notorio que cuando se ofreció *S. acutus* como dieta, la densidad aumento en casi un 50% del cultivo realizado sin el inculo de la microalga.

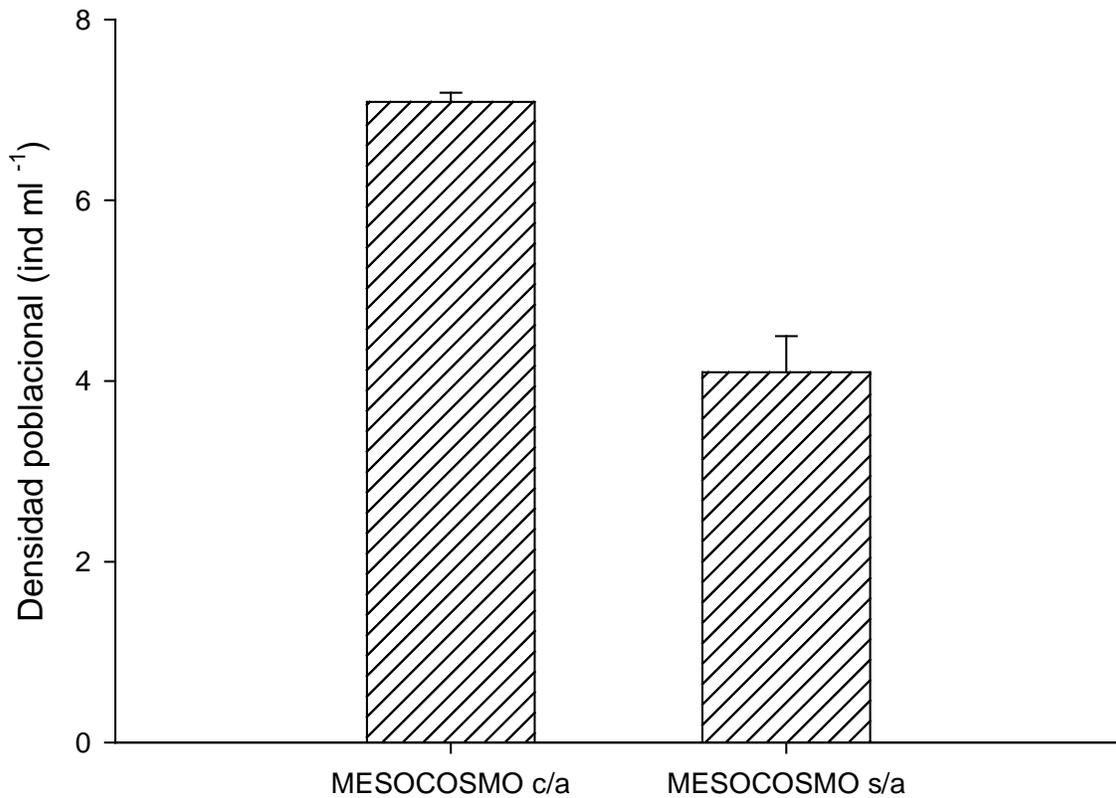


Figura 16. Máximas densidades poblacionales de *Moina macrocopa* dentro de los mesocosmos con y sin algas como dieta, se muestra la media y el error estándar basado en tres réplicas.

Estadísticamente, no se encontró alguna diferencia significativa, ($P < 0.015$) prueba de Tukey, en las densidades máximas para *Scenedesmus acutus* cuando ésta microalga se cultivo en los medios Planta+Bold y Bold (figura 17). La única diferencia significativa existe entre los cultivos del medio Planta y Planta +Bold. Estas diferencias se pueden interpretar como una consecuencia, de la calidad nutritiva en cada uno de los medios.

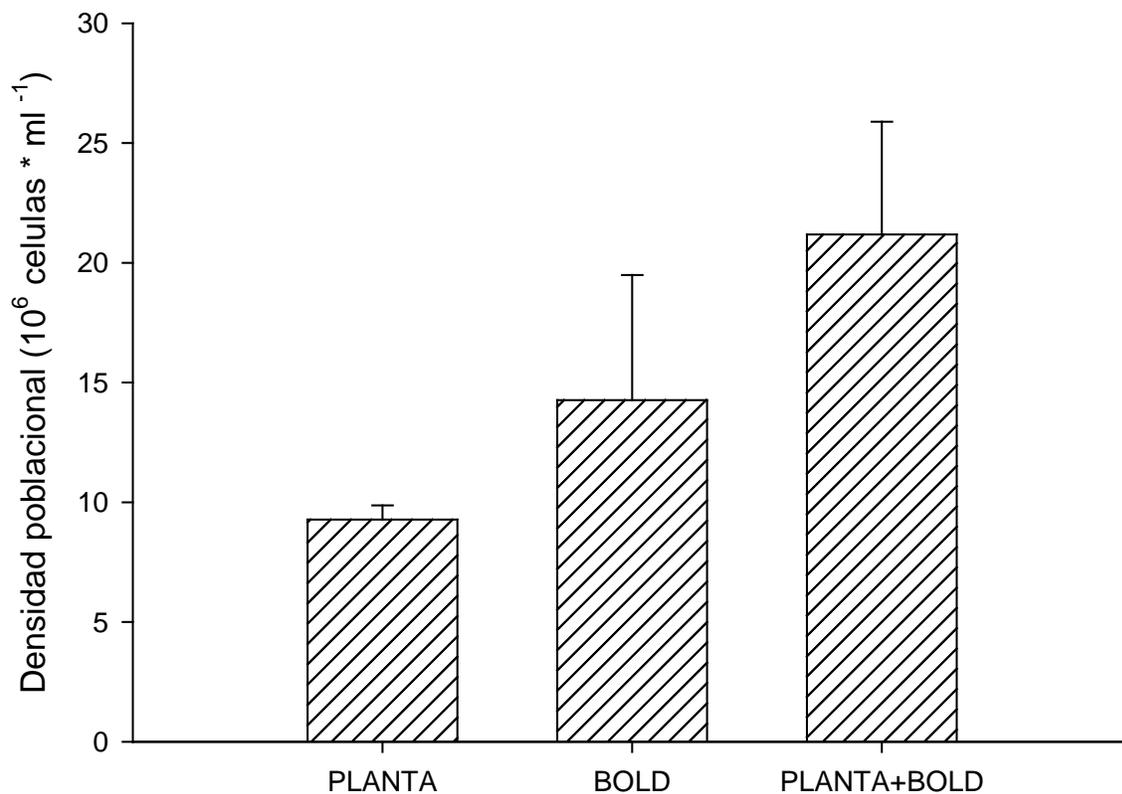


Figura 17. Máximas densidades poblacionales de *Scenedesmus acutus* en os medios Planta, Planta+Bold y Bold. Se muestra la media y el error estándar basados en cinco réplicas.

El cultivo de *Scenedesmus acutus* en el medio Planta laboratorio y Planta mesocosmos (figura 18), genera una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.001$) entre estos dos medios, la cantidad de nutrientes en ellos es diferente dado que su colecta se llevo a cabo en la época de secas o estiaje y en la época de lluvias. Las lluvias, son un importante factor de dilución que pudo haber generado las diferencias encontradas.

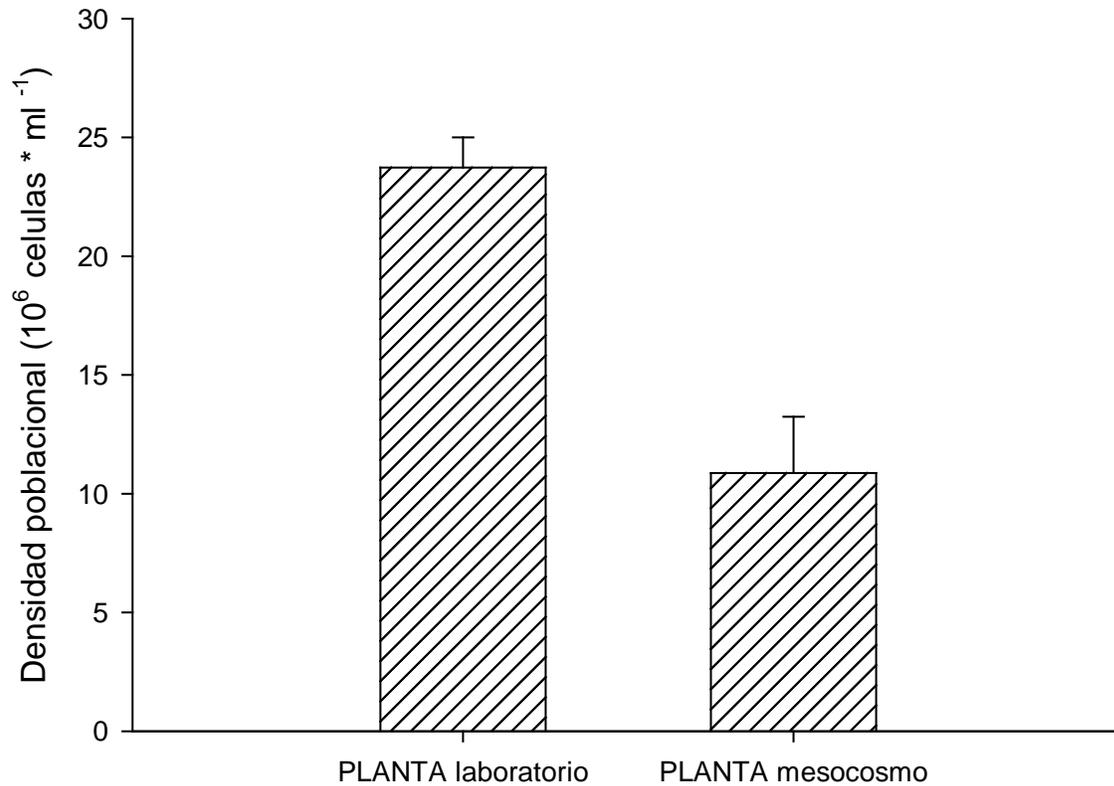


Figura 18. Densidad poblacional máxima de *Scenedesmus acutus* en medio Planta. Se muestra la media y el error estándar basado en tres réplicas.

DISCUSION

Tal como se esperaba, a la par del crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus*, se registró una disminución de nutrientes en el medio Planta. Hacia el último día de cultivo, del total inicial de nitratos y fosfatos, quedaron en el medio 29.5% y 67.5% respectivamente. Estos porcentajes, coinciden con algunos reportados en estudios como el realizado por Voltolina *et al.*, (2004) donde, bajo condiciones de laboratorio similares a las nuestras, registraron la capacidad de *Scenedesmus* sp. para remover entre 69-79% de Nitratos y entre 29-43% de Fósforo contenidos en un medio de cultivo de aguas residuales artificial. Así como el de Kassim (2002), quien observó que *Scenedesmus abundance*, *S. quadricauda* y *Chlorella vulgaris* disminuyeron 85 % los Fosfatos y 35% los Nitratos. Ello demuestra junto con el presente trabajo que mediante el cultivo de microalgas, en este caso *S. acutus*, es posible disminuir nitratos y fosfatos que durante el tratamiento en la planta no fue posible.

Simultáneamente, durante nuestro experimento y mientras la tasa de disminución en los Nitratos fue constante hasta el último día de cultivo, se registró un incremento cercano al 50% en la cantidad de fosfatos en el séptimo día (Figura 3). Este aumento, contrario a la disminución que se esperaría en función del crecimiento poblacional de las microalgas, pudo ser resultado del aprovechamiento de otras formas disponibles del fósforo en el medio como son: ortofosfatos, pirofosfatos y tripolifosfatos, (Rybicki, 1997) y que en el presente estudio no fueron cuantificados. Tam *et al.* (1989) encontró que estas diferentes formas del fósforo, son aprovechadas en diferentes proporciones y cambian en función del tiempo. Finalmente se presentó una remoción del 32.5%, partiendo de la cantidad total inicial de fosfatos, similar a lo observado en el estudio de González *et al.* (1997), cuando cultivaron *C. vulgaris* en aguas residuales agroindustriales, y también observaron que a pesar del crecimiento del cultivo, primero existió un ligero incremento y una posterior disminución en los fosfatos del medio.

Una diferencia entre las máximas densidades alcanzadas en el cultivo de *Scenedesmus acutus*, teóricamente en un mismo medio (Planta) en dos diferentes ocasiones, la podemos atribuir a la diferencia en los nutrientes presentes en el medio, ya que al comparar la cantidad de estos entre el primer experimento y el desarrollado en los mesocosmos, se encontró que el primero contenía 9.82% de Nitratos y 52.81% de Fosfatos, más que el desarrollado en los mesocosmos, ello confirma lo que sugiere Unrein *et al.* (1994), donde describe que dependiendo de las proporciones de cada nutriente presente en un medio y que a una mayor concentración de éstos en conjunto (Nitrógeno y Fósforo), resulta un incremento significativo en la biomasa de las microalgas, principalmente del género *Chlorophyceae*. Es probable que la diferencia entre la cantidad de nutrientes del medio Planta, se deba a que las colectas de agua para los cultivos, se realizaron en diferentes épocas del año y es atribuible el cambio en la concentración de nutrientes por el factor de dilución que implica la lluvia, dado que la primer colecta y donde *S. acutus* alcanzó la máxima densidad, se efectuó al final de la temporada de estiaje ó seca, cuando las aguas residuales se encuentran más concentradas, es decir con una mayor cantidad de nutrientes. Contrario a lo anterior, el agua usada en el cultivo de *S. acutus* dentro de los mesocosmos, se tomo cuando las lluvias se hacían presentes, y es probable que la lluvia diluyera la concentración de nutrientes en el agua residual.

De manera general y refiriéndose a los cultivos que se mantienen para preservar las cepas de microalgas en nuestro laboratorio, el crecimiento poblacional de las especies *Scenedesmus acutus* y *Chlorella vulgaris* es satisfactorio al emplear el medio basal Bold para dicho objetivo. Al cultivar *S. acutus* en los medios Planta, Bold y Planta+Bold, para comparar entre sí su crecimiento poblacional (Figura 4), se observó que en el cultivo del medio Planta+Bold, el crecimiento fue más que satisfactorio, y la tasa intrínseca de crecimiento (0.76 ± 0.04), resaltó de las que se presentaron ente los otros medios (Figura 11).

Una gran similitud se encuentra, al comparar entre si las densidades algales de los medios Planta del primer experimento y el medio Planta+Bold. Como en ese primer

cultivo (medio Planta) se alcanzó la mayor densidad poblacional, se infiere que el medio fue lo suficientemente nutritivo para mantener el cultivo. Dicha similitud, que básicamente se basa en la densidad poblacional, sugiere que el medio Planta+Bold, tiene una importante cualidad nutritiva que permite un buen crecimiento poblacional ya que por así mencionarlo, de manera separada los medios Planta y Bold, promueven una máxima densidad 56.4 % y 35.8 % respectivamente del observado en el medio Planta+Bold. El hecho de haber mezclado los medios Bold y Planta para generar un nuevo medio y se observe una dinámica poblacional de *S. acutus* con una buena densidad algal y una alta tasa de crecimiento, supone una complementariedad de los medios, que resulta en el óptimo medio de cultivo con buenas respuestas poblacionales. Realizando la analogía y tomando en cuenta que una buena parte de los nutrientes presentes en las aguas residuales provienen de la orina (Tabla 1), se apoya la teoría de la complementariedad de medio con algunos trabajos realizados en Europa, donde encontraron mejoras en el crecimiento algal cuando éstas fueron cultivadas en orina humana adicionada con elementos traza Dahllof (1995, citado en Adamsson 2000) y Nordqvist (1996 citado en Adamsson 2000), donde en cultivos continuos de 5 L, encontró que la adición de Fe^{3+} y de Mg^{2+} a la orina humana, promovió el crecimiento de *Chlamydomonas* y en estos mismos cultivos, sin haber sido inoculada apareció *Scenedesmus* sp. dominando el cultivo. Adamsson (2000), encontró que al cultivar *Scenedesmus acuminatus* en orina al 2 % adicionada con EDTA, Fe^{3+} y Mg^{2+} se logró una mejora en la densidad poblacional alcanzada comparada con la que se presentó en el cultivo de orina 2 % sin elementos traza, adicionalmente cultivó esta microalga en un medio estándar donde el crecimiento fue mayor que en los medios de orina. A pesar de que en los estudios mencionados se percibe una mejora en la calidad de los medios, reflejada en las dinámicas poblacionales, en ningún caso se iguala o acerca a alguna como las presentadas en este trabajo.

Volviendo al cultivo de las microalgas, las dinámicas poblacionales que se registraron en los mesocosmos de *S. acutus*, promovieron la disminución de nutrientes, Nitratos y Fosfatos, en un 59.81 % y 92.5 % respectivamente, partiendo de la cantidad inicial total registrada en el medio antes del inóculo. Adicionalmente se midieron los niveles

de estos nutrientes sin la presencia de microalgas y también se registró una disminución de 18.77 % y de 41.76 % de Nitratos y Fosfatos. Lo anterior sugiere que de manera natural, existe una disminución de nutrientes, y que la disminución real de estos fue de 41.04 % de Nitratos y 50.74 % de Fosfatos.

Atendiendo un aspecto más del presente trabajo (cadenas alimenticias artificiales ó construidas), al cultivar al Cladóceros *Moina macrocopa* con las dietas *S. acutus* de los medios: Planta, Bold, Planta+Bold, Mesocosmos con alga y Mesocosmos sin alga, las densidades máximas en estos cultivos se lograron con las dietas Planta+Bold y Mesocosmos con alga, la máxima tasa de crecimiento se alcanzó con la dieta algal Planta+Bold ($r = 0.84 \pm 0.02$) seguida por la registrada en Mesocosmos con alga ($r = 0.83 \pm 0.0003$). Estos valores, son similares entre sí, característica que podría sugerir que entre las dietas con las que se alimentó *Moina macrocopa*, existe una similitud que promueve dinámicas poblacionales similares. Esta similitud es relativa y podría ser solo circunstancial, ya que en los estudios realizados por Nandini *et al.* (2004 y 2005), al cultivar bajo condiciones similares en dos diferentes ocasiones 20 individuos *Moina macrocopa* en agua residual cruda, obtuvo diferentes valores en las tasas de crecimiento poblacional. Seguramente por una diferencia en la cantidad de materia orgánica contenida en el agua, que como se discutió, cambia en función de la época del año en la que se realizan las colectas para los estudios y que finalmente influye en las dinámicas poblacionales.

Con base en lo anterior y tomando en cuenta las tendencias morfométricas observadas, la calidad nutricional de un alimento, influye en las tallas de los organismos. Por ello, dependiendo de la dieta, resultaran diferentes tamaños en los organismos. Parámetro importante si se trata de diversificar los usos para *M. macrocopa*. El principal uso, y planteado así por que de manera natural los cladóceros son presa fácil de peces en cuerpos de agua, es ofrecerlo como alimento vivo a peces de pequeño tamaño o juveniles (Gerking, 2000), y con lo observado en el presente estudio, es posible que la gran cantidad de agua residual que en la actualidad solo es tomada en cuenta como un desecho, sea aprovechada por el momento, para producir

M. macrocopa como alimento para peces de ornato. Pues a pesar de que las aguas residuales provenientes de sectores puramente habitacionales en teoría no contienen tóxicos como metales pesados, si podrían contener hormonas y trazas de medicamentos que provocarían efectos secundarios si se emplearan para alimentar peces de consumo humano.

Una utilidad más, en la que pocas veces se ha pensado, es la que propone extraer del exoesqueleto de estos organismos, el polímero Quitina. Si tomamos en cuenta que *M. macrocopa* finalmente forma parte del grupo de los artrópodos, y estos se distinguen por un exoesqueleto que se constituyen en su mayoría por dicho polímero, la idea no es descartable. Algunas investigaciones como la de Cauchie *et al.* (1995 y 2002) se ha probado que del cladóceros *Daphnia magna* se logra extraer este polímero en una proporción de entre 3 y 7% del peso seco de este organismo. Cabe señalar que actualmente la quitina, cuenta con una amplia variedad de usos desde farmacéuticos hasta alimenticios. Los usos mencionados son entonces otro beneficio no explotado ni plenamente investigado, que se puede obtener de algo que actualmente solo se toma como un desecho.

CONCLUSIÓN

Como parte complementaria en el tratamiento de aguas residuales, el cultivo de *Scenedesmus acutus* en éstos efluentes, es una alternativa que permite la remoción de nutrientes como nitratos y fosfatos que no fueron eliminados por completo durante el tratamiento.

La capacidad de *S. acutus* para remover cantidades significativas de nitratos y fosfatos es un buen indicio de los beneficios que se pueden obtener a una mayor escala mediante cultivos masivos de ésta Cloroficeae en el efluente de las plantas de tratamiento con lodos activados que operan en el país.

El uso de los efluentes como medio de cultivo, evitara que solo se destinen al riego de aéreas verdes o al llenado de cuerpos de agua, causando problemas de eutrofización por el exceso de nutrientes.

La biomasa de microalgas generada es posible cosecharla mediante el cladócero *Moina macrocopa*, organismo capaz de crecer en el efluente de la planta de tratamiento y que puede ser empleado como alimento vivo de peces y sus larvas, o como una fuente alternativa de quitina, útil en múltiples procesos industriales.

RECOMENDACIONES

Para posteriores trabajos es recomendable realizar las pruebas de cultivo, tanto de *Scenedesmus acutus* y *Moina macrocopa* a mayor escala. Además de también tomar en cuenta parámetros fisicoquímicos como temperatura, oxígeno disuelto, pH así como nitrógeno y fósforo total.

LITERATURA CITADA.

Abdel Hameed M.S.; Effect of algal density in bead, bead size and bead concentrations on wastewater nutrient removal. African Journal of Biotechnology Beni Suf University, Beni suef, Egypt. Vol. 6 (10), pp. 1185-1191, May 2007.

Adamsson M.; Potential use of human urine by greenhouse culturing of microalgae (*Scenedesmus acuminatus*), zooplankton (*Daphnia magna*) and tomatoes (*Lycopersicon*). Ecological Engineering 16, 243–254, 2000.

Adey W., Luckett, C. & Jensen K.; Phosphorus removal from natural waters using controlled algal production. restoration ecology 1 (1), 29–39 1993.

Aziz, M.A., Ng, W.J.; Industrial wastewater treatment using an activated algae reactor; Hydraulic Environmental Engn Div, National University of Singapore, Kent Ridge, Singapore, Singapore. Water Science and Technology Volume 28, Issue 7, Pages 71-76 Department of Civil Engineering 1993.

Bashan L. E. y Bashan Y.; Bacterias promotoras de crecimiento de microalgas: una nueva aproximación en el tratamiento de aguas residuales. Revista colombiana de biotecnología vol. V no.2, Diciembre 2003.

Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J.; Micro-algal biotechnology, Cambridge University, London, 480 pp. 1988.

Bragg A.; 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, 2003.

Cauchie H.M., Jaspar-Versali M.F., HOFFMANN L. & THOME J.P.; Potential of using *Daphnia magna* (Crustacea) developing in an aerated waste stabilization pond as a commercial source of chitin. Aquaculture, vol. 205, 103-117, 2002.

Cauchie, H.M., Hoffmann, L., Jaspar-Versali, M.F., Salvia, M. & Thome, J.P.; *Daphnia magna* Straus living in an aerated sewage lagoon as a source of chitin: ecological aspects. Belgian Journal of Zoology (Belgium) v. 125(1) p. 67-78 1995.

Centro Internacional de Agua Potable y Saneamiento (IRC) <http://www.es.irc.nl/page/26728>, 2005.

Chacón C., Andrade C., Cárdenas C., Araujo I. y Morales E.; uso de *chlorella* sp. y *scenedesmus* sp. en la remoción de nitrógeno, fósforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela; Centro de Investigación del Agua (CIA), Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia -Maracaibo, Estado Zulia. Laboratorio de Bioquímica y Microorganismos Fotosintéticos, Departamento de Biología 2002.

Craggs R.J., Smith V.J. and McAuley P.J.; Wastewater nutrient removal by marine microalgae cultured under ambient conditions in mini-ponds. School of Biological and Medical Sciences, Harold Mitchell Building, University of St Andrews St Andrews, Fife, Scotland UK. Water Science and Technology Vol 31 No 12 pp 151-160 © IWA 1995.

De Anda S. J.; Tecnología innovadora que permite tratar aguas grises y generar un jardín o producir flores de ornato, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. Unidad de Tecnologías Ambientales, Marzo, 2007.

Dirección de fomento de tierras y aguas Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) www.fao.org/landwater, Agua y Cultivos logrando el uso óptimo del agua en la agricultura. Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Roma, Italia 2002.

Dirección General de Obras y Operaciones Hidráulicas (DGCOH) <http://www.sacm.df.gob.mx/hidrahulico/recomendaciones.html> , 2005.

Downing, J. A., and Rigler, F. H. (Eds.). A manual for the methods of assessment of secondary productivity in fresh waters, 2nd ed., IBP Handbook 17. Blackwell Scientific, London, 1984.

González L. E., Cañizares Rosa O., Baena Sandra. ; Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresource Technology* 60 259-262, 1997.

Hickey Christopher W.; Sensitivity of four New Zealand cladoceran species and *Daphnia magna* to aquatic toxicants. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, Vol. 23: 131-137, 1989.

Hecht U. & Mohr H; Factors controlling nitrate and ammonium accumulation in mustard (*Sinapis alba*) seedlings. *Physiologia Plantarum* 78: 397-387. Copenhagen 1990.

Karin L.; Microalgae for phosphorus removal from wastewater in a nordic climate. A doctoral thesis from the School of Biotechnology, Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden 2006.

Kassim T. I.; Possible use of microgreen algae to remove phosphate and nitrate from wastewater. Proceedings of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management, Tunis (EPCOWM'2002), p.628-632 7-10 January 2002.

Mahassen M. E. G., Waled M., Azza M. A, and Kamel M.; performance evaluation of a waste stabilization pond in a rural area in Egypt, *American Journal of Environmental Sciences* 4 (4): 316-326, 2008.

Mara D.; design manual for waste stabilization ponds in India. Lagoon Technology International Ltd. Newton House, Newton Road, Leeds LS7 4DN, England 1997.

Mohammad R. Hasan, Thomas Hecht, Sena S. De Silva, Albert G.J. Tacon; Study and analysis of feeds and fertilizers for sustainable aquaculture development. Food and agriculture organization of the United Nations Rome, 2007.

Muñoz C.A., González M.S.; Remoción biológica de fósforo: condiciones de operación, Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México D.F., México.

Muñoz-Gutierrez M. E.; Alimento vivo para peces. Revista Facultad de Ciencias Básicas 2 (1): p 43-63, Universidad Militar Nueva Granada, 2007.

Nandini S., Aguilera-Lara D., Sarma S.S.S., Ramírez-García P.; The ability of selected cladoceran species to utilize domestic wastewaters in Mexico City. Journal of Environmental Management 71, 59–65 2004.

Nandini S., Valdez M. H., Sarma S.S.S.; Life history characteristics of cladocerans (Cladocera) fed on wastewaters *Acta hydrochim. hydrobiol.* 33 (2): 133-14, 2005.

Nandini S.; Variations in physical and chemical parameters and plankton community structure in a series of sewage-stabilization ponds. Revista de Biología Tropical, 47 (supl 1): 149-156, 1999.

Palmquist H.; Hazardous substances in wastewater management, Doctoral Tesis. División of Sanitary Engineering, Departement of Civil and Environmental Engineering. Lulea University of Technology Sweden 2004.

Rottmann R.W., Graves J. Scott, Watson Craig & Yanong Roy P.E.; Culture techniques of *Moina*: the ideal daphnia for feeding to freshwater fish fry. Circular 1054, Department of Fisheries and Aquatic Sciences University of Florida 1992.

Rybicki S.; advanced wastewater treatment *phosphorus removal from wastewater a Literature Review*. Division of water resources engineering department of civil and environmental engineering royal institute of technology Stockholm 1997.

Siranee S., Ratana A., Pratana S.; Treatment and reuse of swine wastewater. Thammasat int. J .Sc. Tech. Vol.7, No.1 Thailand, January-April 2002.

Subdirección General de Infraestructura Hidráulica Urbana, Centro mexicano de capacitación en agua y saneamiento, a. c. (CEMCAS); Situación del subsector agua

potable, alcantarillado y saneamiento, edición 2006. Comisión Nacional del Agua, Texcoco, Estado de México, 2006.

Tam N. E. Y., Wong Y. S.; Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. *Environmental Pollution* 58, 19-34 1989.

Tredici M. R., Margheri M. C., Chini ZitteUi G., Biagiolini S. and Capolino E.; Nitrogen and phosphorus reclamation from municipal wastewater through an artificial food-chain system *Bioresource Technology* 42, 247-253, 1992.

Unrein F., Tell G.; Respuesta del fitoplancton al enriquecimiento con fósforo y nitrógeno en aguas de una laguna de inundación del río Paraná. *Hydrobiology Tropical*. 27 (4) 315-328 1994.

Vives Fabregas M. Teresa; SBR Technology for wastewater treatment: suitable operational conditions for a nutrient removal. Laboratori D'enginyeria Química I Ambiental, Universitat de Girona. Doctoral Thesis, 2004.

Voltolina D., Gomez-Villa H., Correa G.; Biomass production and nutrient removal in semicontinuous cultures of *Scenedesmus* sp. (*Chlorophyceae*) in artificial wastewater under simulated day-night cycle. *VIE MILIEU*, 54 (1): 21-25, 2004.

c) Medida del color: Al cabo de 10 minutos, mídase el color fotométricamente a 690 nm, con el mismo intervalo para todas las determinaciones.

Compárese con una curva de calibrado, utilizando un blanco de agua destilada. La curva de calibración puede desviarse de la línea recta a las concentraciones

DETERMINACION DE FOSFATOS: TECNICA DE CATALDO
(tomado de Hecht U. & Mohr H, 1990)

Reactivos:

- a) Solución 5% peso/volumen de ácido salicílico ($C_7H_6O_3$) en ácido clorhídrico concentrado (HCL).
- b) Solución 2 molar de Hidróxido de Sodio. Dilúyase 40 gramos de NaOH en un litro de agua destilada.

Procedimiento:

A 100 μ L de muestra, adiciónese 400 μ L de la solución de ácido salicílico en ácido clorhídrico concentrado, después de 20 minutos a temperatura ambiente, se adiciona 9.5 mL de hidróxido de sodio 2 molar. Se deja enfriar la muestra a temperatura ambiente y se lee la absorbancia a 410 nm. La curva de calibración se realizó con nitrato de potasio.

MEDIO DE CULTIVO BASAL DE BOLD (Borowitzka y Borowitzka, 1988).

Para 1 L de agua destilada, donde se agregan 1.5 mL de cada solución. Las soluciones se agregan en orden ascendente. La solución resultante tiene un color azul claro, lo que indica que la mezcla fue hecha correctamente).

ANEXO 1 (Técnicas de laboratorio)

DETERMINACION DE FOSFATOS: METODO DE CLORURO ESTAGNOSO

Reactivos:

- a) Solución Acuosa indicadora de fenolftaleina
 - b) Solución de ácido fuerte
 - c) Reactivo de molibdato de amonio: Disuélvase 25 g de $(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ en 175 mL de agua destilada. Añádanse 280 mL de H_2SO_4 concentrado a 400 mL de agua destilada. Enfríese y añádase solución de molibdato y dilúyase a 1 L.
 - d) Reactivo I de cloruro estagnoso: Disuélvanse 2.5 g de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ reciente en 100 mL de glicerol. Caliéntese en baño de agua y agítese, para acelerar la disolución.
 - e) Solución de patrón de fosfato
 - f) Reactivos para extracción:
 - 1) Disolvente de Benceno-isobutanol: Mézclense volúmenes iguales de benceno y alcohol isobutílico
 - 2) Reactivo II de Molibdato amónico: Disuélvanse 40.1 g de $\text{NH}_4 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 500 mL de agua destilada. Añádanse lentamente 396 mL de reactivo molibdato amónico I. Enfríese y dilúyase a 1 L.
 - 3) Reactivo II de cloruro estagnoso diluido: Mézclense 8 mL de reactivo I de cloruro de estagnoso con 50 mL de glicerol
- Procedimiento
- a) Tratamiento previo de la muestra: A 100 mL de muestra, se añaden 0.05 mL de fenolftaleina. Si la muestra se pone rosa, añádese solución del ácido fuerte para decolorarla. Si se precisan más de 0.25 mL, tómesese una muestra menor y dilúyase a 100 mL con agua destilada tras la primera decoloración con ácido.
 - b) Desarrollo del color: Añádanse 4.0 mL de reactivo de molibdato I y 0.5 mL de cloruro estagnoso I. La velocidad con que aparece el color y su intensidad dependen de la temperatura de la solución final; cada aumento de 1°C produce alrededor del 1 por 100 de aumento del color

1. Nitrato de sodio (NaNO_3)	250 g/L
2. Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	75 g/L
3. Fosfato de potasio dibásico (K_2HPO_4)	75 g/L
4. Fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4)	75 g/L
5. Cloruro de sodio (NaCl)	25 g/L
6. EDTA	50 g + 31 g KOH/L
7. Sulfato de hierro ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	4.89 g + 1 mL H_2SO_4
8. Ácido bórico (H_3BO_3)	11.42 g/L
9. Elementos traza:	
• Cloruro de magnesio ($\text{MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	1.44 g/L
• Trióxido de molibdeno (MoO_3)	0.71 g/L
• Sulfato de cobre (CuSO_4)	1.75 g/L
• Nitrato de cobalto ($\text{Co}(\text{NO}_3)_2$)	0.49 g/L
• Sulfato de zinc (ZnSO_4)	8.82 g/L