

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE
EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA

DIVISIÓN DE OCEANOLOGÍA,
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA

BIO-REMEDIACIÓN EX-SITU DE UN EFLUENTE DE CULTIVO DE CAMARÓN
MEDIANTE TAPETES MICROBIANOS CONSTRUIDOS.

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado
de MAESTRO EN CIENCIAS presenta:

OLIMPIA GLORIA DEYANIRA GARCÍA

Ensenada, Baja California México. Noviembre de 1996.

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE
EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA**

**DIVISIÓN DE OCEANOLOGIA.
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA.**

**BIO-REMEDIACIÓN *EX-SITU* DE UN EFLUENTE DE CULTIVO DE CAMARÓN
MEDIANTE TAPETES MICROBIANOS CONSTRUIDOS.**

TESIS

**que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado
de MAESTRO EN CIENCIAS presenta:**

OLIMPIA GLORIA DEYANIRA GARCÍA

Ensenada, Baja California México. Noviembre de 1996.

RESUMEN de la Tesis de Olimpia Gloria Deyanira García, presentada como requisito para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en OCEANOLOGÍA con opción en ECOLOGÍA MARINA. Ensenada, Baja California, México. Noviembre 1996.

BIO-REMEDIACIÓN *EX SITU* DE UN EFLUENTE DE CULTIVO DE CAMARÓN MEDIANTE TAPETES MICROBIANOS CONSTRUIDOS.

Resumen aprobado por:

Esta investigación se realizó como una alternativa no convencional para bio-remediar el nivel de contaminación orgánica de efluentes de agua de mar, específicamente producto de las actividades acuaculturales. Para lograr este fin, se construyeron tapetes microbianos utilizando como soporte los consorcios de microorganismos colectados de un cuerpo de agua hipersalino de Guerrero Negro, Baja California Sur. Los tapetes microbianos son comunidades autotróficas y heterotróficas dominadas por cianobacterias (algas azul-verde) organizadas en estructuras laminadas en sedimentos acuáticos. Los tapetes colectados se inocularon en camas de algodón de fibra de vidrio y se mantuvieron en el medio de cultivo de Allen-Arnon. Los tapetes contruidos se pusieron en las respectivas unidades reaccionales en las cuales se realizó el tratamiento de un efluente de cultivo semi-extensivo de *Penaeus stilirostris* de una granja comercial ubicada en el estado de Sonora. Los resultados del registro fotográfico de los principales microorganismos dominantes del tapete revelaron la presencia de *Microcoleus sp.*, como la principal forma filamentosa, en menor abundancia *Thalassiothrix sp.*, *Schizothrix* y *Calothrix sp.* Otros componentes igualmente importantes fueron las diatomeas del genero *Nitzchia sp* y *Navicula sp.* Así como las cianobacterias Y ciertas microalgas eucariotas como *Dunaliella sp.* En la parte inferior del tapete se encontraron principalmente Halobacterias purpúreas. Los niveles de los parámetros evaluados después del paso del agua del efluente sobre los tapetes contruidos fueron 0.30 mg/l DBO, 0.15 mg/l DQO, 0 mg/l NH₄ y 0.03 mg/l NO₃. Los valores obtenidos mostraron que las reducciones de los niveles de los parámetros mencionados fueron del orden de 91 %, 97 %, 100% y 98 % respectivamente.

ABSTRACT of the Thesis of Olimpia Gloria Deyanira García, presented as a partial requirement to obtain the MASTER IN SCIENCES degree in OCEANOLOGY with option in MARINE ECOLOGY. Ensenada, Baja California, Mexico. November 1996.

EX SITU BIOREMEDIATION OF AN EFFLUENT FROM A SHRIMP HATCHERY BY CONSTRUCTED MICROBIAL MATS

This research was performed as a non-conventional alternative to bioremediate the level of organic pollution of seawater effluents, namely those generated from aquacultural activities. To achieve this goal, microbial mats were constructed using natural consortia of microorganisms collected from an hypersaline lagoon from Guerrero Negro BCS, Mexico. Microbial mats are natural heterotrophic and autotrophic communities dominated by cyanobacteria (blue-green algae) organized in laminated structures in aquatic sediments. The mats were inoculated on glasswool beds and cultured in the Allen/Arnon media. The constructed microbial mats were settled-up on their respective reactional units for the treatment of a semi-extensive culture effluent of *Penaeus stilirrostris* from a commercial hatchery from the state of Sonora. The results of the photographic record of the main microorganisms of the mats shown the presence of *Microcoleus* sp. as the principal filamentous form, *Thalassiothrix* sp. *Schizothrix* sp and *Calothrix* sp. were less abundant. Other important components were diatoms as *Nitzschia* sp and *Navicula* sp. as well as the cyanobacteria *Oscillatoria* sp., and some eukaryotic microalgae as *Dunaliella* sp. Purple halobacteria were found in the lower part of the mat. After passing the effluent on the constructed mat, the levels of the analyzed parameters were 0.30 mg/l DBO, 0.15 mg/l DQO, 0 mg/l NH₄ and 0.03 mg/l NO₃. The obtained data shown reductions of 91 %, 97 %, 100% and 98 % of the above mentioned parameters respectively.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis representa un esfuerzo que no ha sido sólo mío sino de un grupo de investigadores, Instituciones y Empresas sin las cuales no hubiera sido posible su realización y quienes de manera desinteresada, me brindaron en todo momento su apoyo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el soporte económico que me brindó.

Al laboratorio de Acuicultura, en especial al Dr. Fernando Bückle y la M. en C. Claudia Farfán quienes me facilitaron el equipo necesario a lo largo de todo el periodo experimental.

A La Compañía Exportadora de Sal, S.A. (ESSA), específicamente al Lic. Raúl Lyle F. quien brindó el acceso a las salinas par obtener los tapetes microbianos utilizados en este estudio.

A la Compañía El Camarón Dorado, S.A. y Maritech, S.A. por haberme proporcionado el agua de los cultivos de camarón.

A mi director de tesis Jesús Paniagua Michel por su colaboración, por compartir su tiempo y experiencias y sobre todo por haber confiado en mí para la realización de este trabajo que sin duda representó un gran reto.

A la M. en C. Ana María Escofet por todas sus correcciones y porque en todo momento me brindó su apoyo incondicional.

Al Dr. Leonardo Lizárraga Partida y la Dra. Diana Tentori, miembros del comité de tesis, por sus comentarios y correcciones al manuscrito.

Al Dr. Richard F. Lee del Instituto de Oceanografía Skidaway, Georgia E.U.A., por sus comentarios y sugerencias para el manejo de los tapetes microbianos.

Al Dr. Alejandro López-Cortés del CIBNOR, BCS, por sus atinadas observaciones.

Al Sr. David Salazar del taller de Óptica del CICESE que me permitió utilizar el vaporizador de Aluminio y al M. en C. Néstor Valles por ayudarme con la metalización de las muestras. Al Sr. Israel Sotelo y personal del Taller del CICESE por su ayuda en el corte y perforación de las placas de acrílico

Al Sr. Israel Gradilla del Laboratorio de Microscopía de barrido del Instituto de Física de la UNAM.

A la M.en C. Miriam Poumian por permitirme el uso del refractómetro.

Al Dr. Juan Carlos Herguera y Ocean. Cristina del laboratorio de Paleoceanografía quienes me permitieron el acceso a las instalaciones.

Al M. en C. Vicente Ferreira por permitirme utilizar la cámara para la toma de fotografías en el microscopio compuesto.

A los profesores Carlos Granados y Raúl Yepiz por permitirme mantener los tapetes durante el periodo de aclimatación en las instalaciones de Acuicultura de la U.A.B.C.

Al M. en C. Benjamín Barón del laboratorio de Acuicultura por su ayuda y consejos.

A todos mis profesores del CICESE de quienes siempre tuve mucho que aprender en especial a: Ana María Escofet, Saúl Álvarez Borrego, Juan Carlos Herguera, Vicente Ferreira, Erick Mellink, Helmut Maske, y al M. en C. Antonio Trujillo de la U.A.B.C. por todo lo que me enseñó sobre estadística.

Al Ocean. Carlos Santín quien con su comprensión y cariño me ayudó y animó en todo momento que lo necesité, sobre todo en los tiempos más difíciles. Además gracias por invertir su tiempo en el procesamiento digital de las imágenes de microscopía de barrido.

Al Ocean. Isidro Cuevas y Mirna Villalpando por su valiosa ayuda en la toma de las fotos.

A Paola y Gaby gracias por toda su ayuda y por ese gran equipo que siempre formamos no solo de trabajo sino también de amistad. A mis compañeros quienes hicieron mas placentera mi estancia en el CICESE, en especial a los de la generación: Luis, Norma, Alejandro, Elizabeth, Verónica, Chava, Laura, Paty Vilchis, Paty Rojo, gracias a todos ellos por los momentos tan alegres que vivimos y porque en muchisimas ocasiones me hicieron reir además de compartir sus días tanto en la escuela como en los viajes. También a Salomé, Héctor e Iriana.

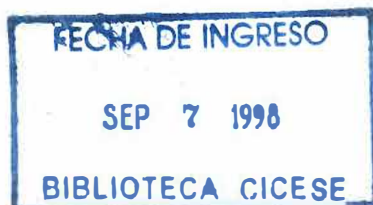
Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada por todas las facilidades otorgadas en mi estancia y por la gran Institución que es, representando a aquellos que en verdad luchan por contribuir con su trabajo y esfuerzo al engrandecimiento de la Ciencia en México.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCIÓN	1
I. 1. Antecedentes	4
I. 1.1. Sistemas de tratamiento biológico convencionales	4
I. 1.2. Características de los efluentes acuaculturales	5
I. 1.3. Propiedades y ventajas de los tapetes microbianos	8
I. 2. Objetivos	13
I. 2.1. Objetivos generales	13
I. 2.2. Objetivos específicos	13
II. MATERIALES Y MÉTODOS	14
II. 1. Localización y colecta de muestras	14
II. 2. Mantenimiento y aclimatación de los tapetes microbianos	16
II. 3. Caracterización del tapete	17
II. 4. Construcción del tapete microbiano	19
II. 5. Diseño y construcción de las unidades reaccionales experimentales (URE)	19
II. 6. Efluente de tratamiento	22
II. 7. Procedimientos analíticos	22
II. 7. 1. pH	23
II. 7. 2. Oxígeno disuelto (OD)	23
II. 7. 3. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)	24
II. 7. 4. Demanda química de oxígeno (DQO)	24
II. 7. 5. Amonio (NH_3)	25
II. 7. 6. Nitratos (NO_3)	26
II. 8. Procesamiento de los datos	27
II. 9. Análisis estadístico de los datos	27

CONTENIDO (Continuación)

	<u>Página</u>
III. RESULTADOS	28
III. 1. Caracterización del Tapete	28
III. 2. Procedimientos Analíticos	34
III. 2. 1. pH	34
III. 2. 2 Oxígeno Disuelto	36
III. 2. 3. Demanda Bioquímica de Oxígeno	39
III. 2. 4. Demanda Química de Oxígeno	42
III. 2. 5. Amonio	45
III. 2. 6. Nitratos	48
IV. DISCUSION	52
IV. 1. Tapete microbiano	52
IV. 2. Sistema de tratamiento	54
V. CONCLUSIONES	62
LITERATURA CITADA	63



LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>	<u>Página</u>
1 Diagrama de flujo de la ecotecnología alternativa para el tratamiento biológico de efluentes acuaculturales marinos.	12
2 Localización del sitio del muestreo de los tapetes microbianos utilizados en este trabajo. El rectángulo inferior derecho indica la zona de colecta.	15
3 Sistema experimental. URE) Unidad Reaccional Experimental, CC) Cámara de contención, TM) Tapete Microbiano, PL) Placas de acrílico SG) Flujo por goteo, AP) Algodón plástico, C) Llave de colecta.	21
4 Fotomicrografía de algas azul-verdes, a) <i>Microcoleus</i> sp. b) <i>Oscillatoria</i> sp.	29
5 Fotomicrografía de a) algas azul-verdes del género <i>Schizothrix</i> sp. Y diatomeas del género <i>Nitzschia</i> sp. b) algas azul verde del género <i>Oscillatoria</i> sp.	30
6 Fotografía de microscopía electrónica de Barrido a) <i>Nitzschia</i> sp.;b) <i>Navicula</i> sp.	31
7 Fotografía de microscopía electrónica de Barrido a) <i>Microcoleus</i> sp.;b) <i>Navicula</i> sp. (izquierda) y <i>Calothrix</i> (derecha).	32
8 Fotografía de microscopía electrónica de Barrido a) <i>Thalassiothrix</i> sp.; b) género <i>Oscillatoria</i> sp.	33
9 Relación entre: (▲)temperatura, (■)pH tratamiento; (□) pH Control; (●) Oxígeno del Tratamiento; (○) Oxígeno del control, durante el periodo experimental.	38
10 Relación entre el porcentaje de reducción y la concentración de la demanda bioquímica de oxígeno, en el tratamiento del efluente con los tapetes microbianos (●) y en el control(○).	41

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

<u>Figura</u>	<u>Página</u>
11 Relación entre el porcentaje de reducción (barras):(▨) tratamiento y (□) control y la concentración de la demanda bioquímica de oxígeno (líneas): (■) tratamiento y (●) control durante el tiempo de experimentación.	41
12 Relación entre el porcentaje de reducción y la concentración de la demanda química de oxígeno, en el tratamiento del efluente con los tapetes microbianos (●) y en el control(○).	44
13 Relación entre el porcentaje de reducción (barras):(▨) tratamiento y (□) control y la concentración de la demanda química de oxígeno (líneas): (■) tratamiento y (●) control durante el tiempo de experimentación.	44
14 Relación entre el porcentaje de reducción y la concentración de amonio en. El tratamiento del efluente con los tapetes microbianos (●) y en el control(○).	47
15 Relación entre el porcentaje de reducción (barras):(▨) tratamiento y (□) control y la concentración de amonio (líneas): (■) tratamiento y (●) control durante el tiempo de experimentación.	47
16 Relación entre el porcentaje de reducción y la concentración de nitratos en el tratamiento del efluente con los tapetes microbianos (●) y en el control(○).	50
17 Relación entre el porcentaje de reducción (barras):(▨) tratamiento y (□) control y la concentración de nitratos (líneas): (■) tratamiento y (●) control durante el tiempo de experimentación.	50
18 Relación entre: (●) demanda bioquímica de oxígeno; (○) demanda química de oxígeno; (▲) amonio y (■) nitratos contra el tiempo de experimentación.	51
19 Procesos de nitrificación y reciclado de nitrógeno en los tapetes microbianos construidos.	61

LISTA DE TABLAS

<u>Tabla</u>		<u>Página</u>
I	Programa de disminución de la salinidad del agua original por el agua de la granja.	17
II	Medio de cultivo Allen-Arnon para preparar 10 litros de medio.	18
III	Valores de pH registrados durante el periodo experimental y las pruebas estadísticas aplicadas al efluente tratado con los tapetes microbianos y el control.	35
IV	Parámetros medidos durante el periodo experimental.	36
V	Concentraciones de Oxígeno disuelto registrados durante el periodo experimental y las respectivas pruebas estadísticas aplicadas en el tratamiento con los tapetes microbianos y el control.	37
VI	Concentraciones de la demanda bioquímica de oxígeno registrados durante el periodo experimental y las respectivas pruebas estadísticas aplicadas.	40
VII	Valores de la demanda química de oxígeno registrados durante el periodo experimental y las pruebas estadísticas aplicadas.	43
VIII	Niveles de amonio (NH_3) registrados durante la investigación en los análisis de los tratamientos con los tapetes microbianos y el control.	46
IX	Estimaciones de nitratos (NO_3) registrados durante el estudio.	49
X	Porcentajes de reducción (R) obtenidos con los datos de cada parámetro en las muestras del tratamiento y del control a lo largo del periodo de estudio.	51

BIO-REMEDIACIÓN *EX-SITU* DE UN EFLUENTE DE CULTIVO DE CAMARÓN MEDIANTE TAPETES MICROBIANOS CONSTRUIDOS.

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se enfrentan numerosos problemas relacionados con sistemas de agua contaminados con una variedad de componentes orgánicos e inorgánicos. Las leyes ambientales han proporcionado una aplicabilidad general y su fuerza se ha ido incrementando, por lo que ésta tendencia continúa debido a la presión pública y gubernamental. Últimamente se han implementado medidas correctivas en términos de salud, ambiente y economía, así la lucha contra la contaminación ha venido a cobrar una mayor importancia (de la Noüe *et al.* 1992).

Las comunidades necesitan cumplir con los estándares legales impuestos para la calidad de las aguas. Por lo tanto el tratamiento y prevención de efluentes contaminados ha sido el foco de atención en las últimas décadas. Las alternativas generales de depuración de efluentes contaminados puede dividirse en dos grandes categorías: 1) procesos físico/químicos y 2) sistemas biológicos (Metcalf, 1995).

Para los volúmenes elevados de aguas residuales que requieren un método de bajo capital y bajo costo de operación, la alternativa biológica en sus múltiples formas, ha atraído la atención como una posible solución para éste problema (Pearson, 1989).

Los contaminantes orgánicos e inorgánicos son utilizados por los sistemas biológicos para formar nuevo material celular o para producir energía la cual es requerida por los organismos en sus formas de vida. Aún los sistemas biológicos más simples, son mezclas complejas de miles de reacciones bioquímicas generadas por una variedad de microorganismos. Esta complejidad usualmente habilita a los microorganismos a las condiciones reaccionales importantes en el procesamiento de contaminantes (Pearson, 1989; Sorkhoh, 1992; Lin 1995 y Yocum 1995).

Los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales son complemento importante de los mecanismos físicos y químicos, considerados en general, demasiado costosos para ser implementados en la mayoría de los lugares. El inconveniente de estos últimos es que pueden conducir a una contaminación secundaria (de la Noüe *et al.* 1992).

Entre las alternativas recientes de mejoramiento ambiental de aguas impactadas por contaminantes se encuentra la biotecnología marina ambiental que incursiona por medio de la bio-remediación. La bio-remediación se define como la utilización de sistemas biológicos para destruir o reducir la concentración de desechos peligrosos de un medio contaminado. Como tal, la bio-remediación puede utilizarse para restaurar las propiedades originales del agua contaminada susceptible a tratamiento biológico (Mearns, 1993).

La bio-remediación *ex situ* se refiere a la implementación del tratamiento fuera del sitio donde se localiza la materia a depurar, en este caso, la bio-

remediación del agua de cultivo de camarón se realiza en un sistema de laboratorio, o bioreactor.

Esta biotecnología debe verse en armonía con las tecnologías industriales como los ciclos globales de materiales en la biosfera, generándose así una nueva cultura de tratamiento de residuos que debe ser familiar al humano y al medio ambiente, cuyas componentes se mencionarán a continuación:

- a) Debe basarse en recursos renovables.
- b) Los productos resultantes deben ser compatibles ambientalmente.
- c) Los residuos generados deben ser reciclables.
- d) El tratamiento debe ser de bajo costo.

Además de lo anterior, es esencial un conocimiento general de la ecología y características de las poblaciones biológicas degradadoras a emplear. Esta información es necesaria para el diseño y valoración de la efectividad de los costos, seguridad ecológica y un plan de bio-remediación ambientalmente correcto (Liu, 1993).

I. 1. Antecedentes

I. 1. 1. Sistemas de tratamiento biológico convencionales.

En términos de ingeniería ambiental, los procesos de tratamiento mecánicos, físicos y químicos se han aplicado tradicionalmente en numerosos lugares con el fin de eliminar fácilmente los materiales presentes (tratamiento primario) y para oxidar parcialmente los compuestos presentes en el agua residual (tratamiento secundario). Sin embargo el efluente secundario obtenido, posee aún nutrientes orgánicos e inorgánicos disueltos que al acumularse a ciertos niveles pueden causar la eutroficación y problemas a largo plazo al descargarse en cuerpos de agua naturales (Metcalf, 1991; de la Noüe *et al.*, 1992; Hopkins *et al.*, 1993 y 1994; Briggs, 1994 y Gray, 1995).

Las alternativas convencionales de tratamiento biológico han considerado tanto bacterias como microalgas por separado para lograr los fines de depuración de iones inorgánicos de los efluentes residuales.

El uso de formas libres de microalgas para fines de remoción de nutrientes de aguas residuales es una técnica antigua que posee limitaciones inherentes entre las que sobresalen:

- a) Poseen tiempos de generación largos.
- b) La concentración de biomasa activa es baja.
- c) La cosecha de biomasa es difícil y costosa.
- d) No inciden simultáneamente sobre contaminantes mixtos.

Estos inconvenientes persisten actualmente, por lo que la remoción de los componentes residuales se logra sólo parcialmente sin incidir en los compuestos recalcitrantes por carecer de componentes heterotróficas específicas asociadas.

Existen actualmente procesos de sofisticación tecnológica para el procesamiento terciario y/o cuaternario que remueven los iones inorgánicos como el amonio, nitratos, fosfatos y ciertos metales pesados.

Estos mecanismos avanzados de depuración de efluentes por lo general son costosos y en ocasiones generan otro tipo de contaminación limitándose su aplicación a países industrializados y/o a fines industriales.

En esta situación, se requiere de sistemas de tratamiento biológico alternativos e innovadores enmarcados en el contexto de la biotecnología ambiental y de acuerdo a los principios de la bio-remediación. Específicamente se desea que la alternativa realice una remoción y transformación mayor de los contaminantes en tiempos menores a formas menos nocivas ecológicamente.

I. 1. 2. Características de los efluentes acuaculturales.

La acuicultura es una actividad industrial cuyo impacto ambiental recientemente se está considerando (Wang, 1990; Pruder, 1992a; Pruder *et al.* 1992b; Griffin, 1993; Phillips, 1993 y Hopkins, 1994). Esto debido principalmente al aumento de las granjas o criaderos de acuicultura intensiva en el Noroeste de

México y a la reciente reglamentación de estas actividades establecida por organismos gubernamentales.

Entre los problemas que generan los efluentes acuaculturales sobre la calidad de las aguas receptoras se encuentra la acumulación de nitrógeno inorgánico y fósforo, sólidos disueltos y suspendidos. Estos contaminantes provocan una eutroficación de las aguas receptoras.

Lin *et al.* (1994), informan que en el país de Tailandia los efluentes de las granjas de camarón contribuyeron a la acumulación anual de 187 mil toneladas de materia orgánica y 13 mil toneladas de nitrógeno al ambiente provocando una disminución en la calidad de agua del medio.

Otro de los problemas que generan los efluentes son las descargas de grandes cantidades de sustancias orgánicas e inorgánicas tales como, desperdicios producto de la alimentación y excreción de los organismos que se cultivan en las granjas de acuicultura intensiva que ocasionan acumulación y contaminación del medio (Pruder, *op. cit.*; Wang, *op. cit.*).

Entre los impactos ambientales que se generan están los procesos de eutroficación, interacción con la cadena alimenticia, consumo de oxígeno, disturbio de la vida silvestre y el hábitat natural, introducción de compuestos bio-activos (incluyendo pesticidas y antibióticos), descarga de compuestos inhibitorios en el ambiente acuático, hormonas y promotores de crecimiento entre otros (Aquafarm-news, 1995; Thorhaugh, 1990 y Sundararaj, 1993).

Dosdat y colaboradores (1995), realizaron estudios en base al análisis de efluentes acuaculturales para evaluar la excreción de los compuestos nitrogenados de los peces.

Arbiv y Van Rijn (1990, 1992 y 1995) demostraron que con una combinación de nitrificación y denitrificación en los sistemas de cultivo, se pueden abatir los niveles de nitrógeno a concentraciones aceptables para su reutilización en el crecimiento de los organismos.

Una de las premisas para cumplir con los postulados de la bio-remediación es que el producto (bien) o servicio obtenido sea reutilizado o reciclado. Entre las alternativas no convencionales de reciclado y reutilización de los nutrientes removidos se encuentran los consorcios microbianos. Las características específicas de estas asociaciones de algas-bacterias, la sitúan como componentes importantes para depurar efluentes marinos contaminados.

Un aspecto principal por considerar es el destino final de los nutrientes transformados, los cuales no deben causar una contaminación secundaria. Una opción para cumplir con este postulado es el tratamiento de los nutrientes suceptibles a reutilización por formas biológicas (nitratos, fosfatos y proteína celular), producto de la bio-depuración en alimentos para organismos acuáticos. Pocos antecedentes existen al respecto en donde consideren los postulados de la biotecnología ambiental y bio-remediación para fines de remoción y reciclado de contaminantes.

Bender *et al.* (1984 y 1989) elaboraron un alimento para peces, a partir del material vegetal producido de los procesos microbianos de los estanques y ensilados de pasto. La biomasa obtenida mediante este proceso contuvo un valor nutritivo elevado considerado en función de sus componentes de proteína y carbohidratos. Esta propiedad incidió en el crecimiento mayor de los organismos cultivados y alimentados con este material.

1.1. 3. Propiedades y ventajas de los tapetes microbianos.

Los tapetes microbianos son comunidades autotróficas y heterotróficas dominadas por cianobacterias (algas azul-verde) conformadas en capas comunes en los sedimentos acuáticos generalmente en las zonas intermareales costeras y principalmente en ambientes hipersalinos. Estos consorcios microbianos están organizados a manera de estructuras laminadas compactadas fuertemente por secreciones viscosas formando camas mucilaginosas entre los varios componentes microbianos (Jorgensen, 1979; Javor, 1981b y Rodríguez-Eaton 1994).

La estructura microbial se encuentra organizada en su parte superior por una fotozona cianobacterial. Debajo de esta zona, se localiza una comunidad multilaminada de bacterias (bacterias fotosintéticas anoxigénicas) y una variedad

de heterótrofos (Javor, *op. cit.*). Esta disposición permite la realización conjunta de mixotrofia o heterotrofia.

Estos consorcios microbianos juegan un papel importante como absorbentes, filtradores y transformadores de varios nutrientes y contaminantes que incursionan en las zonas intermareales y costeras. Debido a que los tapetes presentan tanto zonas óxicas y anóxicas pueden reducir sulfatos así como oxidar y reducir ciertos compuestos recalcitrantes como los metales (Bender *et al.*, 1995 y Canfield *et al.*, 1991).

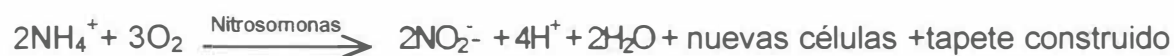
Los ecosistemas microbianos naturales y construidos, contienen zonas químicas heterogéneas que pueden representar propiedades únicas para las tecnologías ambientales. Por ejemplo al estudiar la transformación de metales, metaloides e hidrocarburos para fines de bio-remediación (Bender *et al.* 1994a, 1994b y 1995; Mondecar *et al.*, 1994; Phillips *et al.*, 1994), vía oxidación, reducción y precipitación.

Con el uso de tapetes microbianos para la bio-remediación se aprovecha la función que estos consorcios naturales de microorganismos poseen para filtrar, absorber y transformar compuestos orgánicos e inorgánicos en zonas intermareales costeras. Esta característica se debe a la capacidad única que poseen los tapetes para formar asociaciones con nuevas especies microbianas autótrofas y heterótrofas (Bender *et al.*, 1995). Esto permite utilizar la capacidad de la naturaleza para seleccionar inóculos de microorganismos especiales para cada

sitio según el lugar que se quiere remediar. Se aporta así, una invaluable aplicación para procesos específicos de bio-remediación.

El proceso de bio-remediación del efluente tratado en relación a los compuestos nitrogenados se basa en los procesos de nitrificación y denitrificación que ocurren en los consorcios microbianos del tapete.

Efluente



Denitrificación:



Actualmente, estas propiedades de los tapetes microbianos se aplican e investigan para remover compuestos orgánicos e inorgánicos comprendiendo metales pesados de sitios y aguas contaminadas así como efluentes acuaculturales (Bender *et al.* 1995; Richard Lee com. pers.), para los tratamientos terciarios y cuaternarios.

Es así como entre las ecotecnologías alternativas de tratamiento, los tapetes microbianos representan un potencial importante para la bio-remediación de efluentes contaminados. Además de su bajo costo, la capacidad de funcionar tanto en aguas dulces como saladas y el hecho de no generar contaminación

secundaria, las sitúa como una biotecnología innovadora en el tratamiento biológico avanzado de aguas residuales.

La utilización conjunta de los tapetes con fines de depuración de los efluentes contaminados por materia orgánica e inorgánica susceptible a tratamiento biológico, permitiría obtener un sistema de acuacultura integral, mediante la incorporación de los residuos transformados en alimento o biomasa o formas menos nocivas.

La figura 1 presenta la incorporación de esta alternativa no convencional para el tratamiento biológico de aguas residuales marinas. (v.g. efluentes acuaculturales).

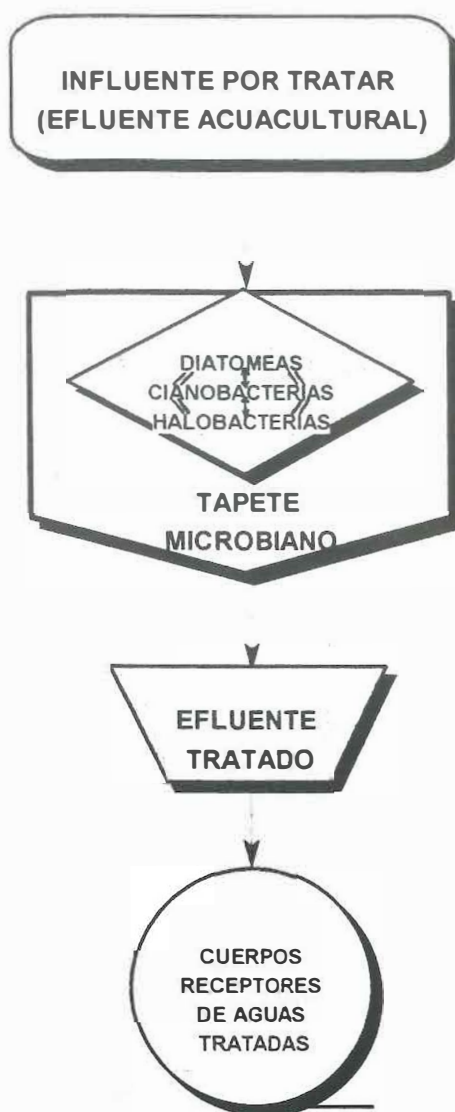


Figura 1. Diagrama de flujo de la ecotecnología alternativa para el tratamiento biológico de efluentes acuaculturales marinos.

I. 2. Objetivos

I. 2.1. Objetivos Generales

Demostrar que los tapetes microbianos contruidos se pueden utilizar para la bio-remediación de un efluente de cultivo semi-extensivo del camarón *Penaeus stilirostris*.

I. 2.2. Objetivos Específicos.

- Construir tapetes microbianos a partir de consorcios de microorganismos colectados de un cuerpo de agua salino de Baja California Sur.
- Evaluar la capacidad de los tapetes contruidos para remover los compuestos nitrogenados de aguas contaminadas (amonia, nitritos y nitratos) de una granja camaronícola del Estado de Sonora.
- Evaluar la capacidad de los tapetes contruidos para reducir la carga orgánica estimada mediante la demanda bioquímica y química del oxígeno (DBO y DQO) de un efluente del cultivo semi-extensivo de camarón.

II. MATERIALES Y MÉTODOS.

II. 1 Localización y colecta de muestras.

Para la construcción de los los tapetes microbianos utilizados en este estudio, se muestreó la parte intermarèal baja de un sitio de los cuerpos de agua del sistema de salinas de la localidad de Guerrero Negro, Baja California Sur, localizada a los 27°35 latitud norte y 113°53 longitud oeste, (Fig. 2). Los tapetes se colectaron de la poza que presentó la menor salinidad con el fin de aclimatarlos al agua del efluente a tratar con salinidades del orden de 40 ‰.

Los tapetes microbianos elegidos para fines de construcción de nuevos tapetes se colectaron en marzo de 1996. Estos se desprendieron del sedimento mediante espátula. Se registraron los principales parámetros fisicoquímicos en el sitio de colecta, como la salinidad del agua con un refractómetro manual Reichert de temperatura compensada, modelo 10419 y la temperatura con un termómetro de cubeta con graduación de 0-30°C.

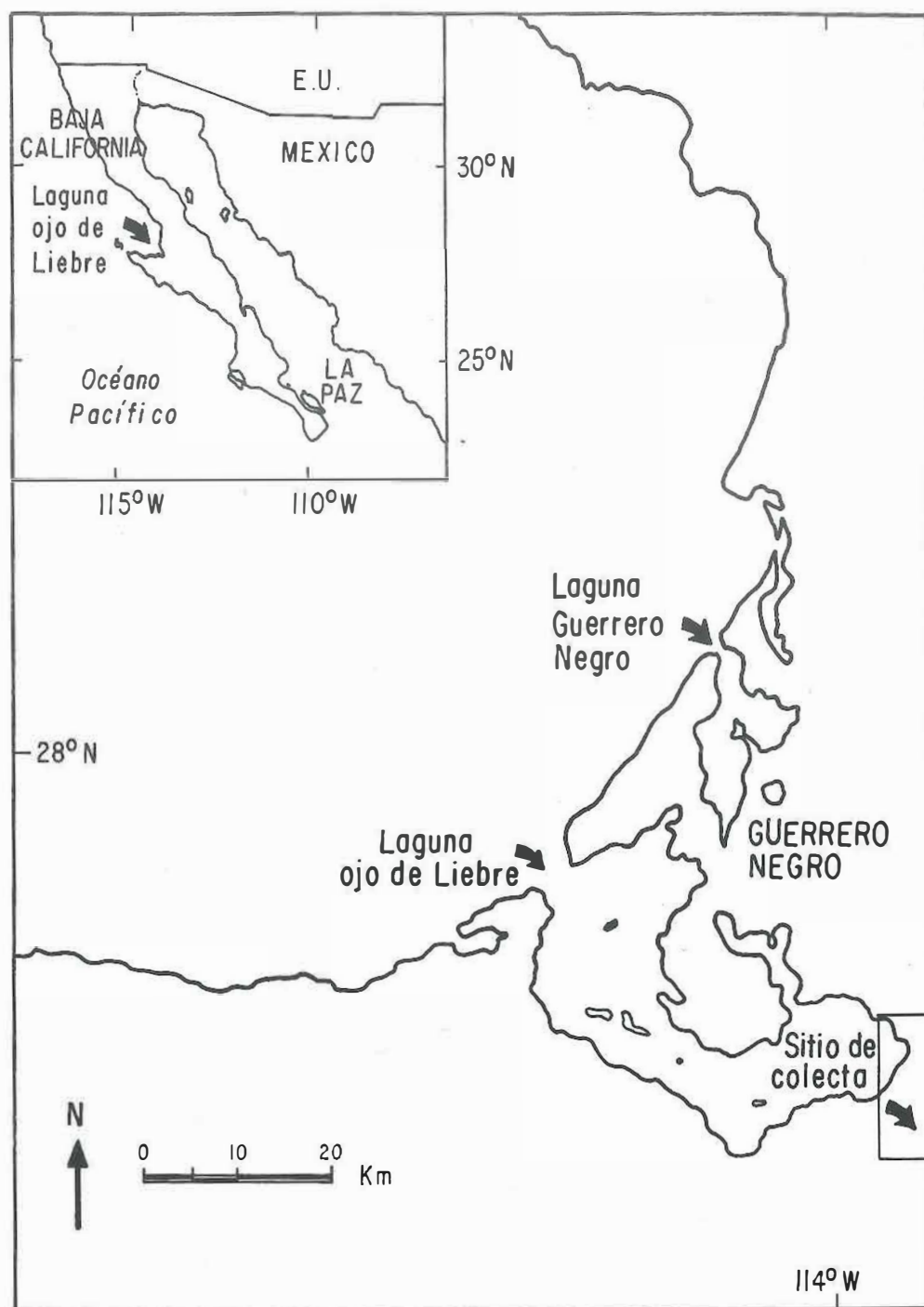


Figura 2.- Localización del sitio del muestreo de los tapetes microbianos utilizados en este trabajo. El rectángulo inferior derecho indica la zona de colecta.

Los tapetes se limpiaron en el sitio de colecta removiendo principalmente el exceso de material muerto (sedimento, conchas y restos gruesos de rocas: debris). Estos se almacenaron *in vivo* en bolsas de polietileno conteniendo el agua original de la poza de cosecha y se transportaron al laboratorio.

III. 2 Mantenimiento y aclimatación de los tapetes microbianos.

Los tapetes se mantuvieron las dos primeras semanas bajo la luz directa del sol en acuarios con agua de mar adicionándole sal de grado comercial obtenida de la Salina de Guerrero Negro para mantener una salinidad similar a la del ambiente donde fueron obtenidos.

Debido a las diferencias de salinidad entre el agua de colecta de los tapetes (70 ‰) y la del efluente por tratar, (40 ‰) se inició a partir de la tercera semana un programa de adaptación-aclimatación. Esta consistió en el reemplazo parcial progresivo del agua de mantenimiento por la procedente de un efluente de un estanque de engorda de la granja camaronícola, El Camarón Dorado S.A. ubicada en Huatabampo Sonora (Tabla I).

Tabla I. Programa de disminución de la salinidad del agua original por el agua de la granja.

Tiempo (semanas)	Salinidad (‰)
0-2	68-70
3	68-60
4	60-50
5	50-42
6	42-40
7	40

II. 3 Caracterización del tapete.

Los organismos del tapete se identificaron hasta nivel de grandes grupos taxonómicos y a nivel de género en ciertos casos, utilizando las claves de Van Heurck (1962), Palmer (1962), Vinyard (1975) y Hum (1980). Se empleó la técnica de montaje directo de una submuestra del tapete. Para observar los componentes microbianos, éstos se separaron mediante centrifugación diferencial (500, 1000 y 3000 xg) y se resuspendieron en medio Allen-Arnon (Allen, 1955) estéril a la salinidad de aclimatación (Tabla II).

Una vez separadas las respectivas fracciones de microorganismos se mantuvieron *in vivo* en portaobjetos para su observación al microscopio compuesto así como para su registro fotográfico en un microscopio marca Zeiss. Por otra parte se realizó la técnica de microscopía electrónica de barrido con un microscopio JEOL modelo JSM 5300. Las muestras se metalizaron previamente con un vaporizador de aluminio Edwards modelo 306 de 12 pulgadas de diámetro, para permitir la toma de fotografía electrónica de barrido.

Tabla II. Medio de cultivo Allen-Arnon para preparar 10 litros de medio.

Componente	Cantidad
Fe EDTA	0.30g
NaHCO ₃	8.40g
NaCl	2.34g
MgSO ₄ 7H ₂ O	2.46g
CaCl ₂ 2H ₂ O	0.74g
Solución de Metales Traza	2.50 ml
K ₂ HPO ₄	3.48g
KH ₂ PO ₄	0.41g

II. 4 Construcción del tapete microbiano.

Los tapetes se mantuvieron en el agua de la granja a una salinidad de 40 ‰ durante 5 semanas para lograr su completa aclimatación. Posteriormente estos se fraccionaron en múltiples unidades y se inocularon sobre superficies de algodón de fibra de vidrio con la finalidad de colonizar el algodón mediante el crecimiento de nuevas células. Las superficies inoculadas se mantuvieron durante siete semanas en el medio de cultivo Allen-Arnon, metodología tomada de Bender (1994) y Vatcharapijarn (1994). Una vez que se logró la colonización total de los tapetes en el algodón de fibra de vidrio, (alcanzando a cubrir del 90-100%), éstos se colocaron en las unidades experimentales para iniciar la etapa de experimentación.

II. 5 Diseño y construcción de las unidades reaccionales experimentales (URE).

Se diseñaron tres (URE) cada una con su respectiva cama microbial contruida y sus correspondientes repeticiones para fines de tratamiento estadístico. Los sistemas diseñados son de tipo semicerrado, el cual se caracteriza por el uso único del agua a través del sistema (Wheaton, 1977).

Para la construcción de las unidades experimentales se utilizaron tres URE con un volumen total de 15 litros (Fig. 3). Cada unidad contó en su parte superior con una cámara de contención (CC) para la depositación del agua por tratar (5.5 litros de capacidad). Esta se construyó de vidrio con base de acrílico con perforaciones de 1 mm de diámetro para generar un flujo por goteo hacia las camas inferiores para su cosecha final.

Cada URE contuvo 2 placas de acrílico con una pendiente de 4.5° recubiertas a su vez con igual cantidad de superficie de tapetes microbianos de 60 x 10 cm con un grosor de 0.5 cm cada una (600 cm^2). Debido a que cada URE contuvo 4 superficies cubiertas con su respectivo tapete, se estimó una superficie total de tapetes de 2400 cm^2 (0.24 m^2) por cada URE.

Se determinó un flujo de 1ml/h, necesario para colectar un litro de agua cada día de muestreo (cinco muestreos cada cinco días)

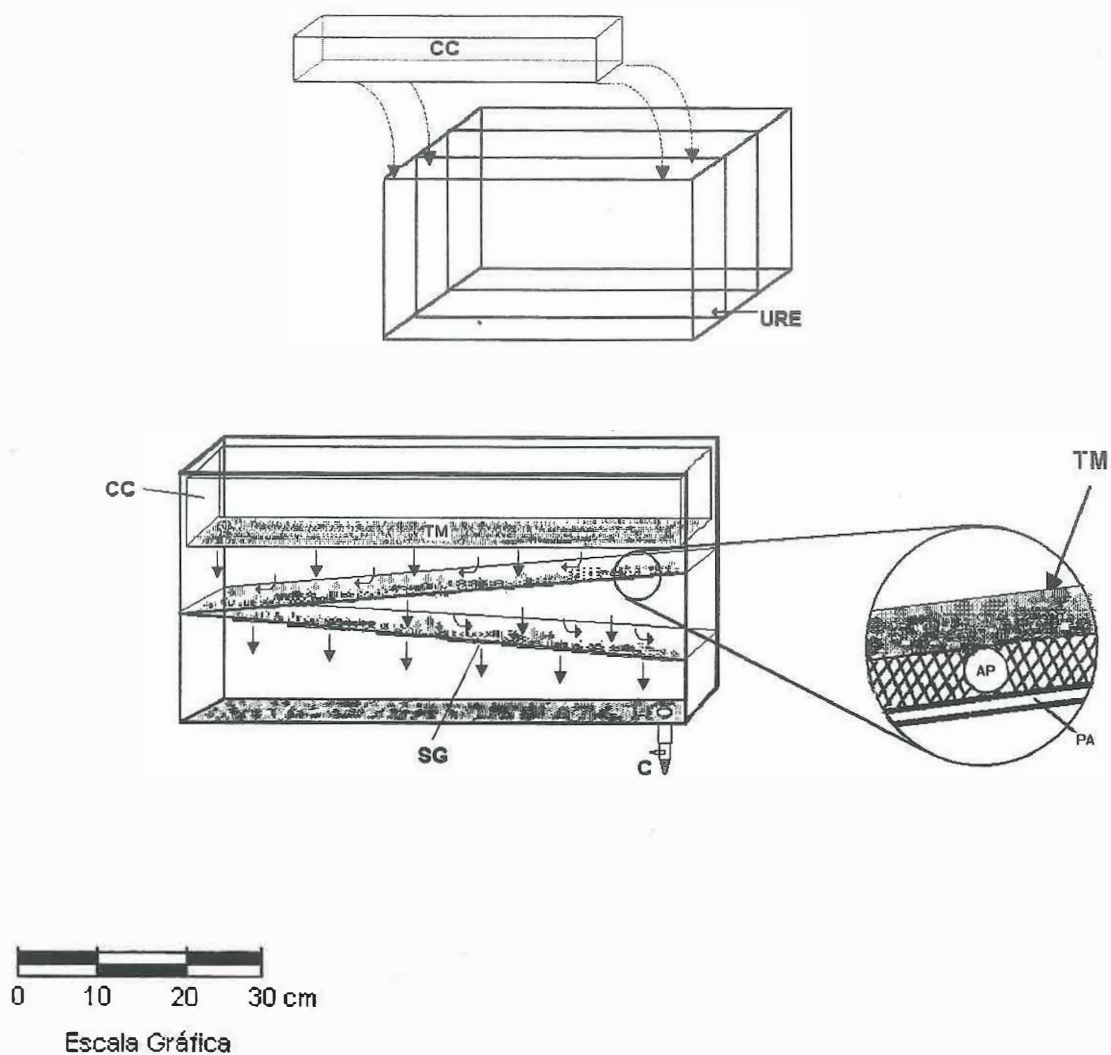


Figura 3. Sistema experimental. URE) Unidad Reaccional Experimental, CC) Cámara de contención, TM) Tapete Microbiano, PL) Placas de acrílico SG) Flujo por goteo, AP) Algodón plástico, C) Llave de colecta.

II. 6 Efluente de tratamiento.

El agua que se utilizó para probar la eficiencia de los tapetes se colectó de un efluente de un estanque de cultivo semiextensivo de engorda del camarón azul *Penaeus stiliarrostris* de la compañía Maritech S.A. ubicada en el golfo de Santa Clara, Sonora.

Las características iniciales del efluente como salinidad ($^{\circ}/_{oo}$), temperatura ($^{\circ}C$), pH, oxígeno disuelto (mgO_2/l), demanda bioquímica de oxígeno (mgO_2/l), demanda química de oxígeno (mgO_2/l), nitratos (mg/l) y amonio (mg/l), se registraron en el agua original del efluente previamente al paso por el sistema de tratamiento.

II. 7 Procedimientos Analíticos.

El efluente se evaluó antes y después de su paso por los tapetes contruidos durante 20 días a intervalos de 5 días de tiempo de retención (0, 5, 10, 15 y 20 días) en cada (URE) y para cada parámetro estimado. Se utilizaron 40 litros de agua del efluente acuacultural durante el experimento, de acuerdo a la cantidad necesaria para cada análisis. Se analizó un número igual de muestras de agua sin tratar (control) para fines de comparación de las características del agua al inicio, durante y al final del experimento.

II. 7.1 pH

Se determinó el pH con un potenciómetro Orion modelo SA 230 para todas las muestras obtenidas durante el experimento como un indicador de la oxidación-reducción de la materia orgánica y de los compuestos nitrogenados provenientes en el efluente.

II. 7.2 Oxígeno Disuelto (OD).

Para la determinación de la variación del oxígeno disuelto del agua pasada por el tapete en relación al control se utilizó el método de Winkler modificado APHA (1992), WPCF (1975). El método consiste en agregar a la muestra una solución con Manganese, seguida por una base fuerte que al reaccionar producen el hidróxido de manganeso ($\text{Mn}(\text{OH})_2$) el cual se precipita. El oxígeno disuelto rápidamente oxida una cantidad equivalente de Mn^{+2} produciendo hidróxidos básicos de mayor valencia. Cuando la solución se acidifica en presencia de yoduro, el manganeso oxidado vuelve a su valencia anterior(+2), liberando yodo (I_2), equivalente a una cantidad igual a la del Oxígeno original(O_2).

II. 7.3 Demanda bioquímica de oxígeno (DBO).

La estimación de la capacidad de tratamiento de la materia orgánica disuelta en el efluente por el tapete microbiano se estimó mediante la DBO. Se empleó el método iodimétrico (APHA, *op cit*, WPCF *op cit*). Las muestras se inocularon en botellas de 300 ml las cuales se incubaron en baños de agua controlados termostáticamente a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ evitando cualquier interferencia de la luz durante 5 días. Las estimaciones finales de la concentración en DBO se realizaron comparando la demanda inicial de oxígeno inmediatamente después del llenado de las botellas de DBO con el agua de dilución. Después de 5 días de incubación, se calculó la concentración del oxígeno disuelto final en las diluciones de las muestras (conteniendo agua contaminada antes y después de su paso por los tapetes) y muestra de referencia (blanco).

II. 7.4 Demanda química de oxígeno (DQO).

Se utilizó el método de oxidación del permanganato de potasio para agua de mar (Rodier 1978 y Canino, 1993). Las muestras del agua previamente y posteriormente a su exposición al tapete se inocularon en botellas de incubación de 250 ml llenadas con 100 ml de agua conteniendo nutrientes específicos (KMnO_4 y NaOH). Estas botellas se incubaron en baños de agua a 100°C . Los frascos se

depositaron con el tapón invertido a manera de sello hidráulico y se protegieron de la luz. Después de 30 minutos de calentamiento, se interrumpió la oxidación poniendo los frascos en agua fría. Posteriormente se adicionó ácido sulfúrico y yoduro de potasio, procediéndose a la titulación con tiosulfato de sodio, utilizando almidón como indicador.

II. 7.5 Amonio (NH_3).

La concentración de amonia se refiere en este trabajo tanto como NH_3 y NH_4^+ . No se disociaron los efectos de formas ionizadas de las no ionizadas. Este compuesto se analizó en las muestras de agua antes y después de su paso por los tapetes y se midió por el método de Salicylato (Hach, 1992).

Se empleó agua libre de amonio durante el manejo y análisis de la muestra. Las estimaciones de las muestras pasadas por los tapetes se preservaron refrigerándolas a una temperatura de 4°C . Los valores elevados de pH (superior a 11) se mantuvieron añadiendo volúmenes suficientes de una solución de NaOH 1N. La concentración final de $\text{NH}_3\text{-N}$ se calculó con el procedimiento establecido por el equipo Hach[®]

II. 7.6 Nitratos (NO_3).

Se evaluó la capacidad de nitrificación de los tapetes microbianos sobre el agua pasada a través de los tapetes en relación al control mediante el método de la reducción de cadmio utilizando los reactivos y equipo específico Hach[®]. Este método consiste en la utilización del cadmio para reducir los nitratos a nitritos. Los nitritos reaccionan en un medio ácido con ácido sulfanílico para formar una sal diazonio intermedia, la cual al combinarse con el ácido gentísico forma un compuesto color ámbar. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de nitratos de la muestra (Hach, *op. cit.*).

II. 8 Procesamiento de los datos.

Los datos resultantes de los parámetros obtenidos se manejarán de manera independiente para obtener el porcentaje de remoción entre las muestras del tratamiento, así como el porcentaje de remoción entre las muestras del control. Por otra parte se analizarán conjuntamente las concentraciones tanto del tratamiento como del control para obtener el porcentaje de reducción (R) através de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Reducción (R)} = \left(\frac{\text{Control} - \text{Tratamiento}}{\text{Control}} \right) \times (100) \quad (1)$$

II. 9 Análisis estadístico de los datos.

Se aplicó una prueba de "t" de Student para muestras no pareadas, con la finalidad de determinar las posibles diferencias entre el sistema de tratamiento con los tapetes microbianos y el control. El rechazo de la hipótesis nula en la prueba estadística se basó en $\alpha=0.05$, $gl=4$. Para detectar posibles diferencias entre todos los resultados obtenidos del tratamiento y del control, se aplicó un análisis de Varianza (Steel, 1989 y Zar, 1984).

III. RESULTADOS

III. 1. Caracterización del tapete

Al realizar la identificación de los grupos inoculados y colonizados en el tapete construido, se encontraron componentes dominantes como las microalgas de las formas filamentosas del género *Microcoleus* sp. (Fig. 4). También se hallaron microalgas de los géneros: *Thalassiothrix* sp., *Schizothrix* sp., y *Calothrix* sp. (Fig. 5) y grandes comunidades de diatomeas del género *Nitzschia* sp. y *Navicula* sp. (Figs. 6 y 7) así como cianobacterias filamentosas principalmente *Oscillatoria* sp. (Fig. 8 y 9).

a)



b)

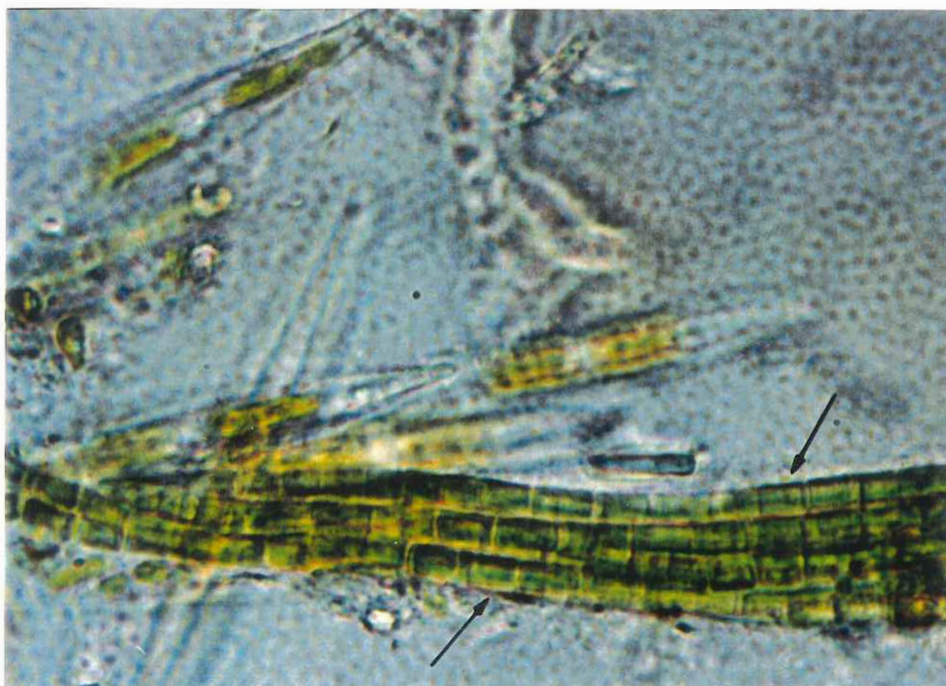


Fig. 4. Fotomicrografía de algas azul-verdes, a) *Microcoleus* sp. b) *Oscillatoria* sp.

a)



b)



Fig. 5. Fotomicrografía de a) algas azul-verdes del género *Schizothrix* sp. y diatomeas del género *Nitzschia* sp. b) algas azul verde del género *Oscillatoria* sp.

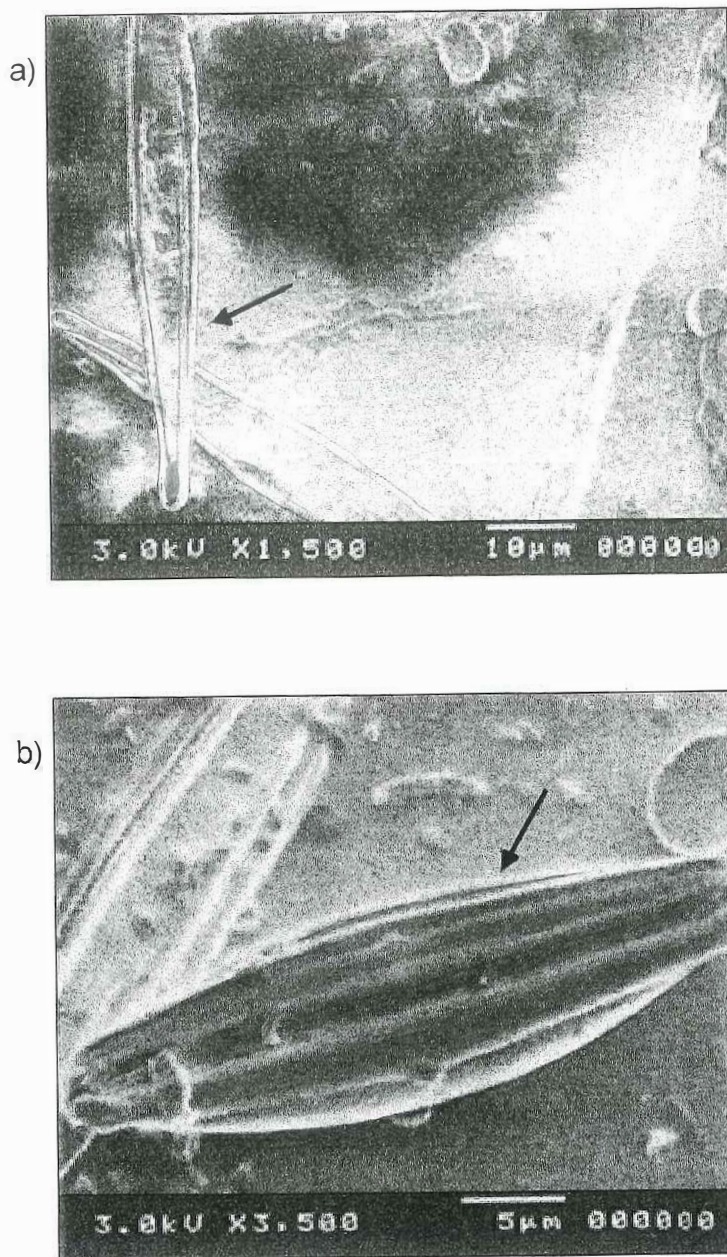


Fig. 6. Fotografía de microscopía electrónica de Barrido a) *Nitzschia* sp.; b) *Navicula* sp.

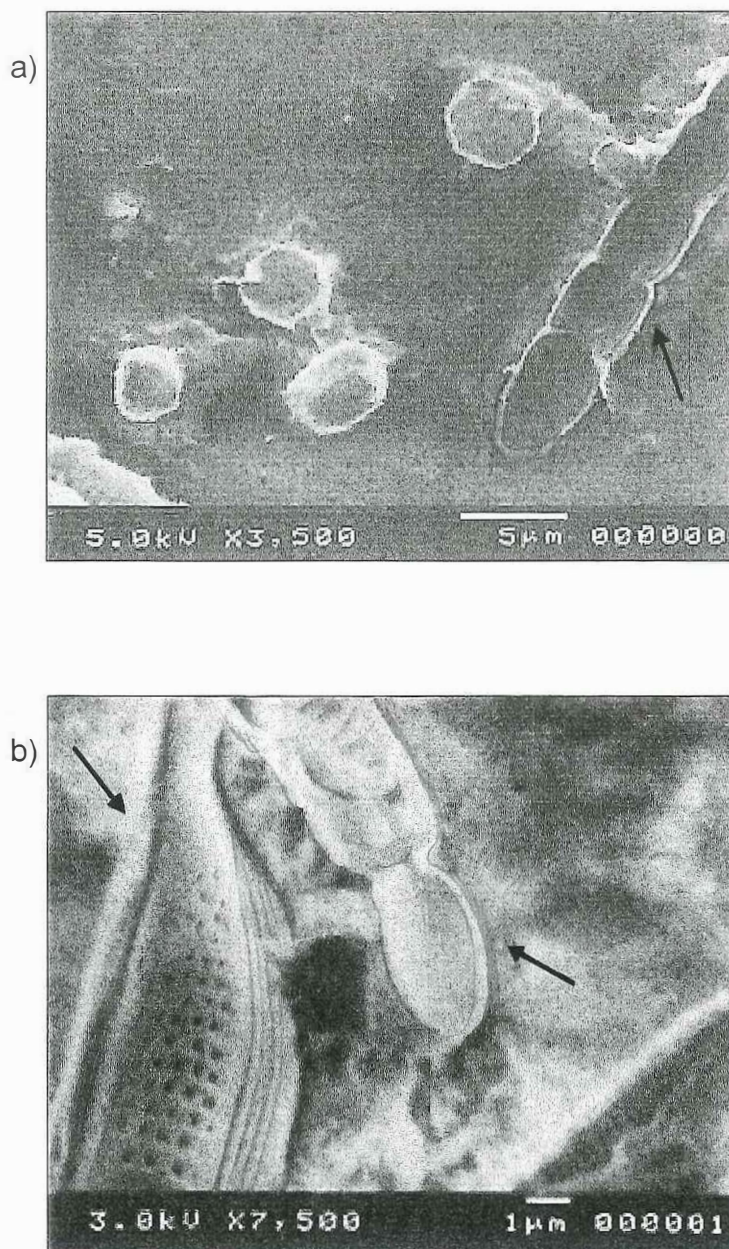


Fig. 7. Fotografía de microscopía electrónica de Barrido a) *Microcoleus* sp.; b) *Navicula* sp. (izquierda) y *Calothrix* (derecha).

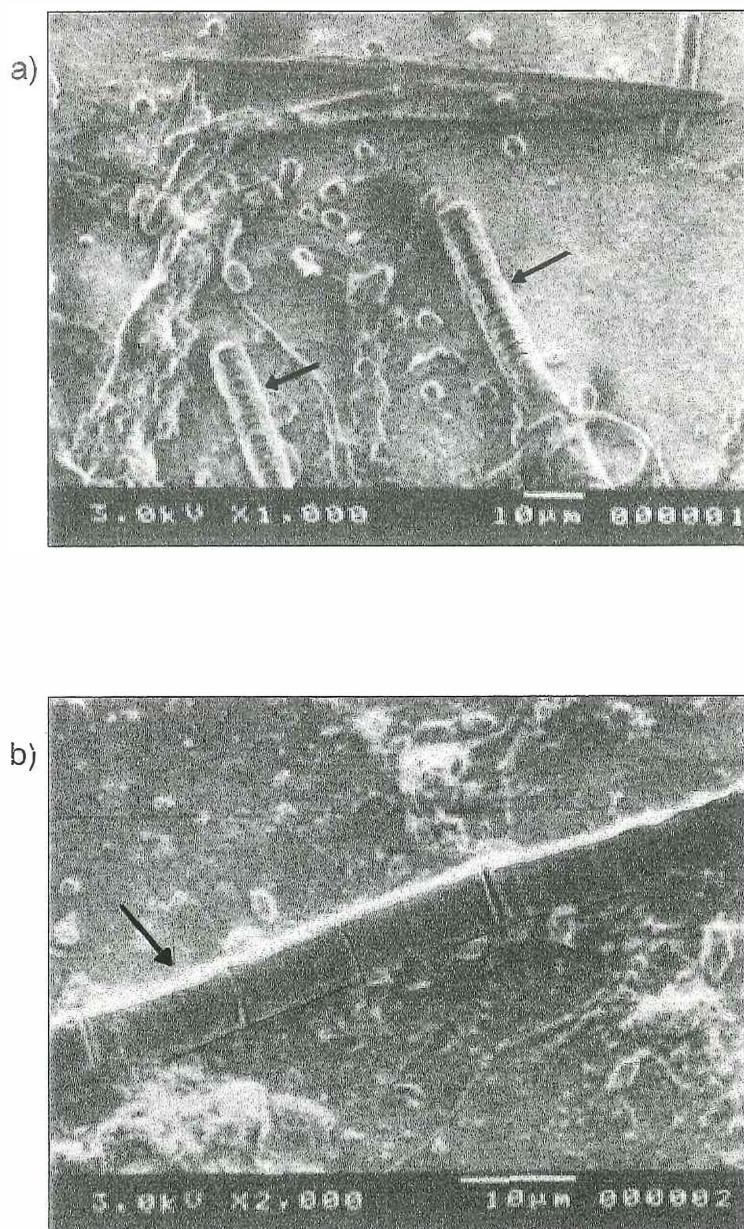


Fig. 8. Fotografía de microscopía electrónica de Barrido a) *Thalassiothrix* sp.; b) género *Oscillatoria* sp.

III. 2. Procedimientos Analíticos

III. 2. 1. pH

El pH inicial del efluente fue de 7.96 y varió en el tratamiento hasta 8.64 en promedio como máximo y 7.96 como mínimo. En el control el valor de pH máximo obtenido en promedio fue 8.31 mientras que el mínimo fue de 7.51. Tales resultados mostraron la tendencia del efluente con los tapetes a hacerse alcalino (8.64) al final del tratamiento. El control mostró la tendencia a la alcalinidad; sin embargo, presentó un pH ácido durante las primeras fases del experimento. Al aplicar las pruebas estadísticas se determinó que existieron diferencias significativas entre el tratamiento y el control, excepto en el décimo día de tratamiento donde los resultados reflejan estadísticamente la igualdad de pH ($p < 0.05$, $t_{obs} = 2.24$). (Fig. 9, Tablas III y IV).

Tabla III. Valores de pH registrados durante el periodo experimental y las pruebas estadísticas aplicadas al efluente tratado con los tapetes microbianos y el control.

TRATAMIENTOS	D Í A S				
	0	5	10	15	20
Tratamiento 1 (mg/l)	7.96	8.45	8.30	8.60	8.46
Tratamiento 2 (mg/l)	7.96	8.33	8.10	8.41	8.40
Tratamiento 3 (mg/l)	7.96	8.47	8.32	8.90	8.50
Media (mg/l)	7.96	8.42	8.24	8.64	8.45
Desv. Estándar $\pm$	0.00	0.08	0.12	0.25	0.05
Varianza	0.00	0.00	0.01	0.06	0.00
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00
Control 1 (mg/l)	7.96	7.54	8.06	8.19	8.25
Control 2 (mg/l)	7.96	7.40	8.10	8.23	8.37
Control 3 (mg/l)	7.96	7.60	8.08	8.20	8.30
Media (mg/l)	7.96	7.51	8.08	8.21	8.31
Desv. Estándar $\pm$	0.00	0.10	0.02	0.02	0.06
Varianza	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Prueba de "t" 0.05 (gl)	0	12.26	2.24	3.00	3.23
gl=(2*(3-1)) p>0.05	2.776	2.776	2.776	2.776	2.776
Se acepta H_0	✓		✓		
Se acepta H_1		✓		✓	✓

III. 2. 2. Oxígeno disuelto.

El efluente tratado presentó un valor inicial de 5.71 mgO₂/l. Durante el tratamiento presentó un mínimo de 2.1 mgO₂/l y un máximo de 7.66 mgO₂/l al último día de muestreo. La concentración en el efluente control fue de 1.88 mgO₂/l como mínimo al quinto día del experimento y 5.86 mgO₂/l como máximo al quinceavo día de muestreo. Al aplicar las pruebas estadísticas, se evidenció que en el quinto y décimo día de experimentación las concentraciones del tratamiento y el control fueron estadísticamente iguales ($p < 0.05$, $t_{obs} = 2.12$ y 1.73 respectivamente). Al realizar el estadístico de prueba de "t" de Student al 95 % de confianza se observaron las diferencias significativas en el último día de experimentación entre el tratamiento con tapetes microbianos y el control (Fig. 9 y Tabla IV y V).

Tabla IV. Parámetros medidos durante el periodo experimental.

Tiempo (Días)	Temperatura (°C)	pH		Oxígeno disuelto (mgO ₂ /l)	
	Trat. y Contr	Tratamiento	Control	Tratamiento	Control
0	27	7.96	7.96	5.71	5.71
5	30	8.42	7.51	2.10	1.88
10	26	8.24	8.08	5.64	5.41
15	28	8.64	8.21	6.39	5.86
20	27	8.45	8.31	7.66	5.03

Tabla V. Concentraciones de Oxígeno disuelto registrados durante el periodo experimental y las respectivas pruebas estadísticas aplicadas en el tratamiento con los tapetes microbianos y el control.

TRATAMIENTOS	D Í A S				
	0	5	10	15	20
Tratamiento 1 (mgO ₂ /l)	5.86	2.25	5.64	6.54	7.66
Tratamiento 2 (mgO ₂ /l)	5.64	2.03	5.64	6.31	7.66
Tratamiento 3 (mgO ₂ /l)	5.64	2.03	5.64	6.31	7.66
Media (mg/l)	5.71	2.10	5.64	6.39	7.66
Desv. Estándar ±	0.13	0.13	0.00	0.13	0.00
Varianza	0.01	0.01	0.00	0.01	0
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.01	0.01	0.01	0.01	0
Control 1 (mgO ₂ /l)	5.64	1.80	5.41	5.86	5.18
Control 2 (mgO ₂ /l)	5.86	2.03	5.64	5.86	4.96
Control 3 (mgO ₂ /l)	5.64	1.80	5.18	5.86	4.96
Media (mg/l)	5.71	1.88	5.41	5.86	5.03
Desv. Estándar ±	0.13	0.13	0.23	0.00	0.13
Varianza	0.01	0.01	0.05	0.00	0.01
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00
Prueba de "t" 0.05 (gl)	0	2.12	1.73	7	35
gl=(3+3-2) p>0.05	2.776	2.776	2.776	2.776	2.776
Se acepta H ₀	✓	✓	✓		
Se acepta H ₁				✓	✓

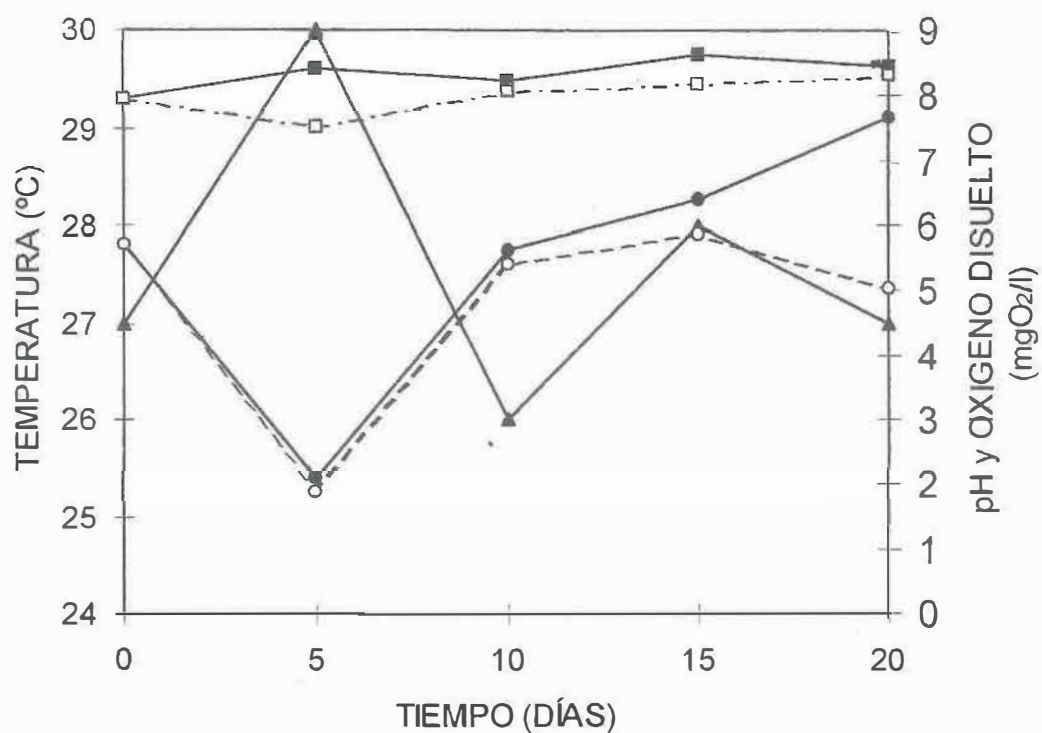


Fig. 9 Relación entre: (▲)temperatura, (■)pH tratamiento; (□) pH Control; (●) Oxígeno del Tratamiento; (○) Oxígeno del control, durante el periodo experimental.

III. 2. 3. Demanda bioquímica de oxígeno.

Los análisis realizados en las unidades experimentales reaccionales revelaron una tendencia global de disminución en los niveles de la materia orgánica oxidable a lo largo del experimento. El valor mínimo detectado fue de 0.30 y el máximo 3.46 mgO_2/l . Se presentaron los valores máximos de DBO al inicio del estudio y al décimo día de tratamiento, disminuyendo paulatinamente hasta 0.30 mgO_2/l al final de la experimentación. Los resultados registrados con sus respectivas réplicas, desviación estándar y varianza, se muestran en tabla VI. La mayor demanda bioquímica de oxígeno se estimó al inicio y la menor, al final del experimento (Fig. 10). Estadísticamente existieron diferencias significativas entre el tratamiento y el control. La figura 10 muestra la relación existente entre la concentración y el porcentaje de remoción. La figura 11 y la tabla VI muestran los porcentajes de remoción entre las muestras del tratamiento y del control. A los 10 días de tratamiento aumentó el valor de la demanda a 1.88 mg/l disminuyendo paulatinamente hasta lograr una eficiencia del remoción de 88 % entre muestras del tratamiento y cero por ciento entre muestras del control. En cuanto al porcentaje de reducción entre el tratamiento y control (R), se obtuvo un porcentaje final de 91%.

Tabla VI. Concentraciones de la demanda bioquímica de oxígeno registrados durante el periodo experimental y las respectivas pruebas estadísticas aplicadas.

TRATAMIENTOS	D Í A S				
	0	5	10	15	20
Tratamiento 1 (mgO ₂ /l)	2.48	1.80	1.80	0.90	0.23
Tratamiento 2 (mgO ₂ /l)	2.71	1.58	2.03	0.90	0.45
Tratamiento 3 (mgO ₂ /l)	2.71	1.58	1.80	0.90	0.23
Media (mg/l)	2.63	1.65	1.88	0.90	0.30
Desv. Estándar ±	0.13	0.13	0.13	0.00	0.13
Varianza	0.01	0.01	0.01	0	0.01
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.00	0.00	0.00	0	0.00
% de Remoción	0.00	37.14	28.57	65.71	88.57
Control 1 (mgO ₂ /l)	2.25	1.58	3.38	3.83	3.61
Control 2 (mgO ₂ /l)	2.93	1.80	3.83	4.06	3.38
Control 3 (mgO ₂ /l)	2.71	1.58	3.61	4.06	3.38
Media (mg/l)	2.63	1.65	3.61	3.98	3.46
Desv. Estándar ±	0.34	0.13	0.23	0.13	0.13
Varianza	0.11	0.02	0.05	0.01	0.01
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.04	0.01	0.02	0.00	0.00
% de Remoción	0	0	0	0	0
Prueba de "t" 0.05 (gl)	0	2.1E-15	-11.5	-41	-29.69
gl=(3+3-2) p>0.05	2.776	2.776	2.776	2.776	2.776
Se acepta H ₀	✓	✓			
Se acepta H ₁			✓	✓	✓

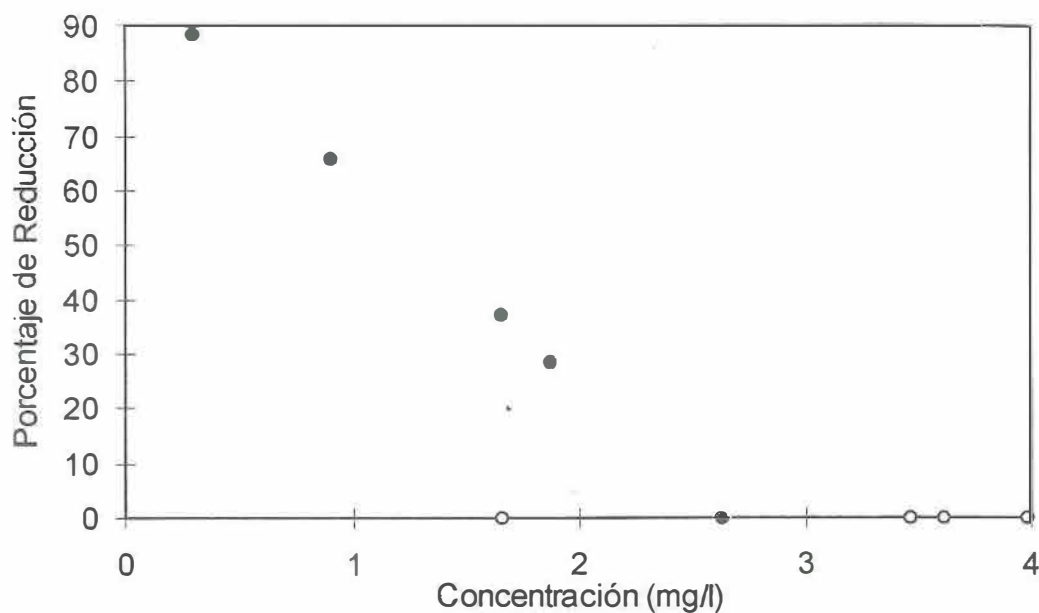


Fig. 10. Relación entre el porcentaje de reducción y la concentración de la demanda bioquímica de oxígeno, en el tratamiento del efluente con los tapetes microbianos (●) y en el control (○).

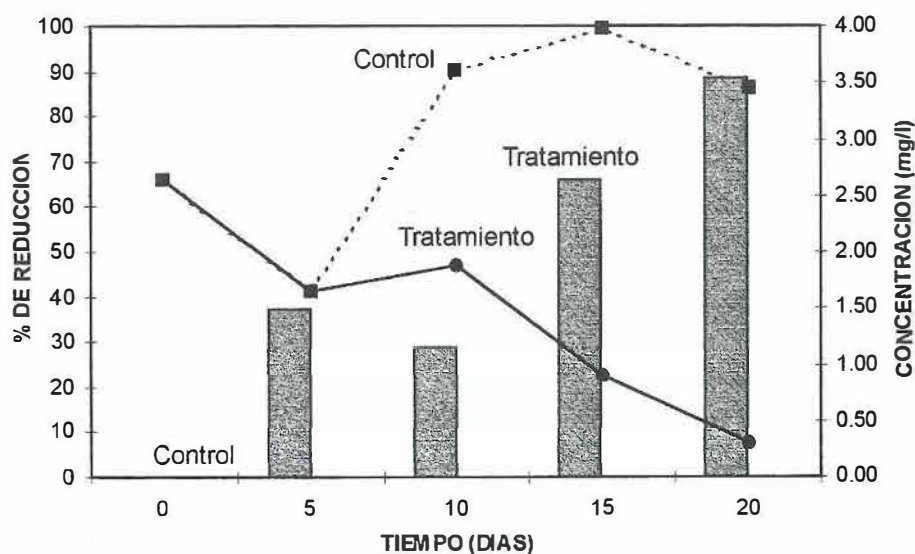


Fig. 11. Relación entre el porcentaje de reducción (barras): (■) tratamiento y (□) control y la concentración de la demanda bioquímica de oxígeno (líneas): (■) tratamiento y (●) control durante el tiempo de experimentación.

III. 2. 4. Demanda química de oxígeno.

Los análisis realizados en las unidades experimentales reaccionales revelaron una tendencia general de disminución en los niveles de la demanda química la cual es producto de la oxidación de la materia orgánica (por medios no biológicos). A diferencia de la demanda biológica de oxígeno la cual es producto de la utilización del oxígeno por vía bacteriana. Se presentaron las concentraciones máximas de 4.37 mg O_2/l de DQO al inicio de la experimentación, disminuyendo a 0.15 mg/l después de 20 días de tratamiento (tabla VII). Las concentraciones máximas del control se registraron al décimo día de tratamiento (4.67 mg O_2/l), oscilando generalmente entre 4.56 mg O_2/l durante el resto del experimento. Las pruebas estadísticas revelaron diferencias significativas entre el tratamiento y el control al 95% de confianza (fig. 12 y tabla VII). En cuanto a los porcentajes de remoción entre muestras, las figuras 12 y 13 revelan que disminuyó considerablemente la demanda química de oxígeno, dándose una remoción de 96.61 % entre muestras del sistema con tapetes microbianos y 1.63 % entre muestras del control. El porcentaje de reducción (R) fue de 97 %.

Tabla VII. Valores de la demanda química de oxígeno registrados durante el periodo experimental y las pruebas estadísticas aplicadas.

TRATAMIENTOS	DÍAS				
	0	5	10	15	20
Tratamiento 1 (mgO ₂ /l)	4.56	4.00	3.45	1.56	0.11
Tratamiento 2 (mgO ₂ /l)	4.56	4.23	2.89	1.67	0.22
Tratamiento 3 (mgO ₂ /l)	4.00	4.00	2.89	1.33	0.11
Media (mg/l)	4.37	4.08	3.08	1.52	0.15
Desv. Estándar	0.32	0.13	0.32	0.17	0.06
Varianza	0.10	0.02	0.10	0.03	0.00
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.03	0.01	0.03	0.01	0.00
% de Remoción	0.00	6.78	29.66	65.25	96.61
Control 1 (mgO ₂ /l)	4.56	4.56	4.67	4.56	4.78
Control 2 (mgO ₂ /l)	4.56	4.56	4.67	4.56	4.56
Control 3 (mgO ₂ /l)	4.56	4.56	4.67	4.56	4.56
Media (mg/l)	4.56	4.56	4.67	4.56	4.63
Desv. Estándar	0.00	0.00	0.00	0.00	0.13
Varianza	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
% de Remoción	0	0	0	0	1.63
Prueba de "t" 0.05 (gl)	-1	-6.5	-8.6	-30.93	-54.11
gl=(3+3-2) p>0.05	2.776	2.776	2.776	2.776	2.776
Se acepta Ho	✓				
Se acepta H1		✓	✓	✓	✓

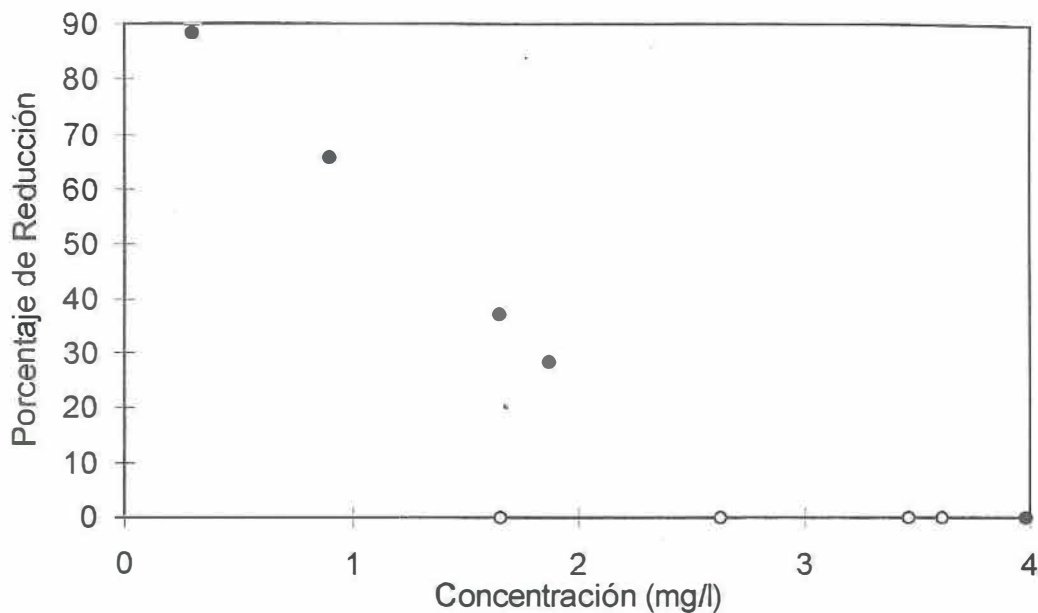


Fig.12. Relación entre el porcentaje de reducción y la concentración de la demanda química de oxígeno, en el tratamiento del efluente con los tapetes microbianos (●) y en el control(○).

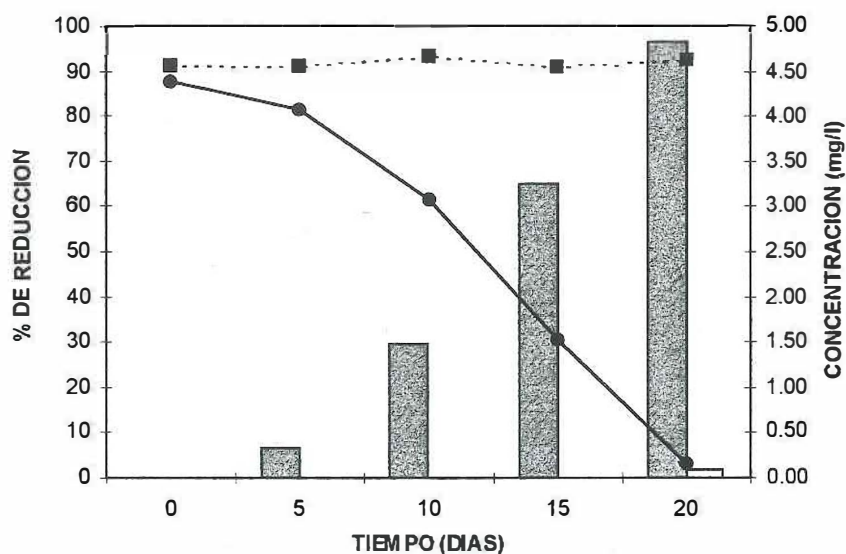


Fig. 13. Relación entre el porcentaje de reducción (barras): (▨) tratamiento y (□) control y la concentración de la demanda química de oxígeno (líneas): (■) tratamiento y (●) control durante el tiempo de experimentación.

III. 2. 5. Amonio.

La concentración inicial de Amonio fue de 0.37 mg/l disminuyendo gradualmente durante todo el tratamiento hasta no detectar amonio. En el control las concentraciones oscilaron entre 0.37 al inicio y 0.35 mg/l como mínimo al final del experimento. (Fig. 15 y tabla VIII). Los porcentajes de remoción entre muestras tratadas aumentaron a un 100 % lo largo del estudio a diferencia de las muestras control en las cuales sólo se dio una remoción de 3%. El porcentaje de reducción en el tratamiento fue del 100 % (Fig. 16).

Tabla VIII. Niveles de amonio (NH_3) registrados durante la investigación en los análisis de los tratamientos con los tapetes microbianos y el control.

TRATAMIENTOS	D Í A S				
	0	5	10	15	20
Tratamiento 1 (mg/l)	0.37	0.18	0.16	0.05	0.00
Tratamiento 2 (mg/l)	0.37	0.28	0.24	0.10	0.00
Tratamiento 3 (mg/l)	0.37	0.22	0.20	0.06	0.00
Media (mg/l)	0.37	0.23	0.20	0.07	0.00
Desv. Estándar	0.00	0.05	0.04	0.03	0.00
Varianza	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.00	0.00	0.00	0.00	0
% de Remoción	0.00	37.78	45.56	81.11	100
Control 1 (mg/l)	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37
Control 2 (mg/l)	0.37	0.37	0.34	0.34	0.34
Control 3 (mg/l)	0.37	0.37	0.37	0.35	0.35
Media (mg/l)	0.37	0.37	0.36	0.35	0.35
Desv. Estándar	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01
Varianza	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
% de Remoción	0	0	2.22	3.33	3.33
Prueba de "t" 0.05 (gl)	0	-4.86	-6.09	-17.5	-50.22
gl=(3+3-2) p>0.05	2.776	2.776	2.776	2.776	2.776
Se acepta Ho	✓				
Se acepta H1		✓	✓	✓	✓

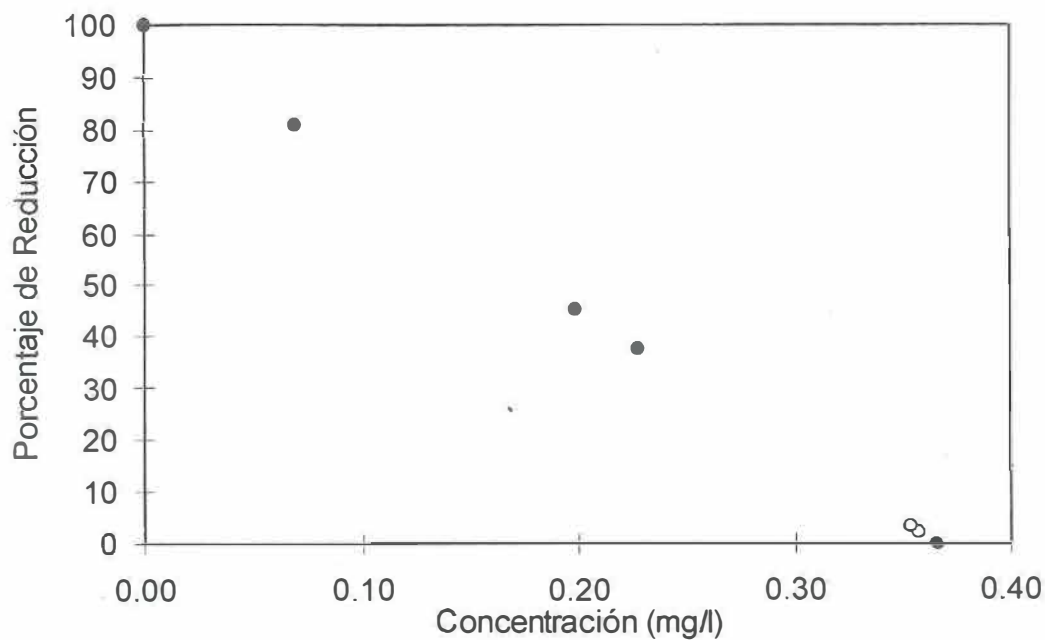


Fig. 14 Relación entre el porcentaje de reducción y la concentración de amonio en. El tratamiento del efluente con los tapetes microbianos (●) y en el control (○).

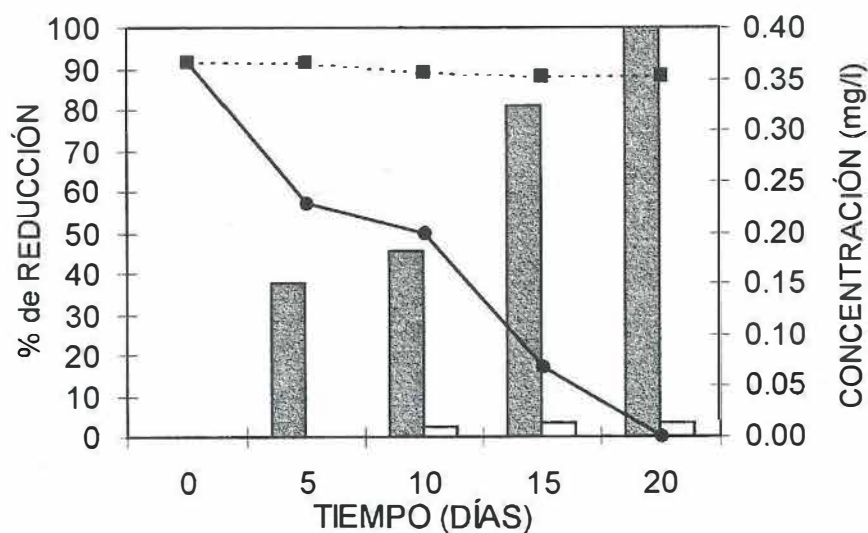


Fig. 15. Relación entre el porcentaje de reducción (barras): (▨) tratamiento y (□) control y la concentración de amonio (líneas): (▣) tratamiento y (●) control durante el tiempo de experimentación.

III. 2. 6. Nitratos

La concentración inicial de nitratos en el efluente fue de 1.03 mg/l el cual disminuyó gradualmente durante todo el tratamiento hasta 0.03. En el control las concentraciones oscilaron entre 1.18-1.53 mg/l. En las pruebas estadísticas, se reveló una diferencia de amonio removido entre el efluente tratado contra el control (Fig. 16 y tabla IX). Los porcentajes de remoción entre muestras aumentaron gradualmente a lo largo de todo el estudio con una eficiencia de remoción de 97.14% en el sistema con tapetes y 0.5% en el control. La figura 17 muestra el porcentaje de 98 % de reducción final del tratamiento.

Tabla IX. Estimaciones de nitratos (NO_3) registrados durante el estudio.

TRATAMIENTOS	DÍAS				
	0	5	10	15	20
Tratamiento 1 (mg/l)	1.33	0.31	0.31	0.09	0.04
Tratamiento 2 (mg/l)	0.88	0.40	0.35	0.13	0.00
Tratamiento 3 (mg/l)	0.88	0.40	0.31	0.09	0.04
Media (mg/l)	1.03	0.37	0.32	0.10	0.03
Desv. Estándar	0.26	0.05	0.03	0.03	0.03
Varianza	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
% de Remoción	0	64.29	68.57	90	97.14
Control 1 (mg/l)	1.33	1.33	1.33	1.55	1.55
Control 2 (mg/l)	1.33	1.33	1.33	1.33	1.59
Control 3 (mg/l)	0.88	1.33	1.55	1.33	1.46
Media (mg/l)	1.18	1.33	1.40	1.40	1.53
Desv. Estándar	0.26	0.00	0.13	0.13	0.07
Varianza	0.07	0.00	0.027	0.02	0.00
n	3	3	3	3	3
Varianza/n	0.02	0.00	0.01	0.01	0.00
% de Remoción	0	1	1	0.5	0.5
Prueba de "t" 0.05 (gl)	-0.71	-32.5	-14.31	-17.25	-36.06
gl=(3+3-2) p>0.05	2.776	2.776	2.776	2.776	2.776
Se acepta Ho	✓				
Se acepta H1		✓	✓	✓	✓

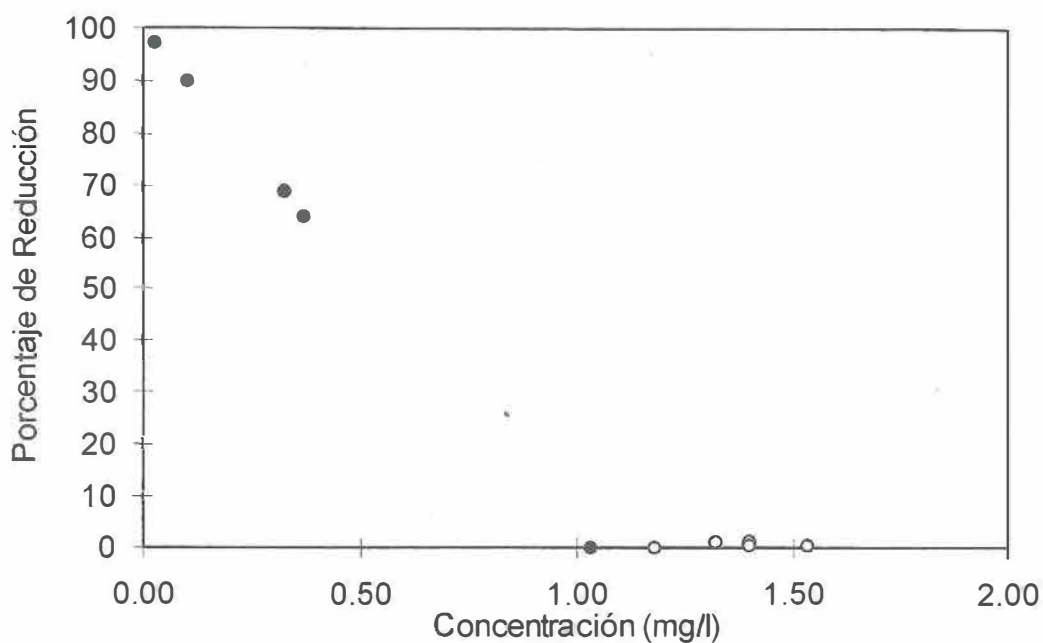


Fig.16 Relación entre el porcentaje de reducción y la concentración de nitratos en el tratamiento del efluente con los tapetes microbianos (●) y en el control(○).

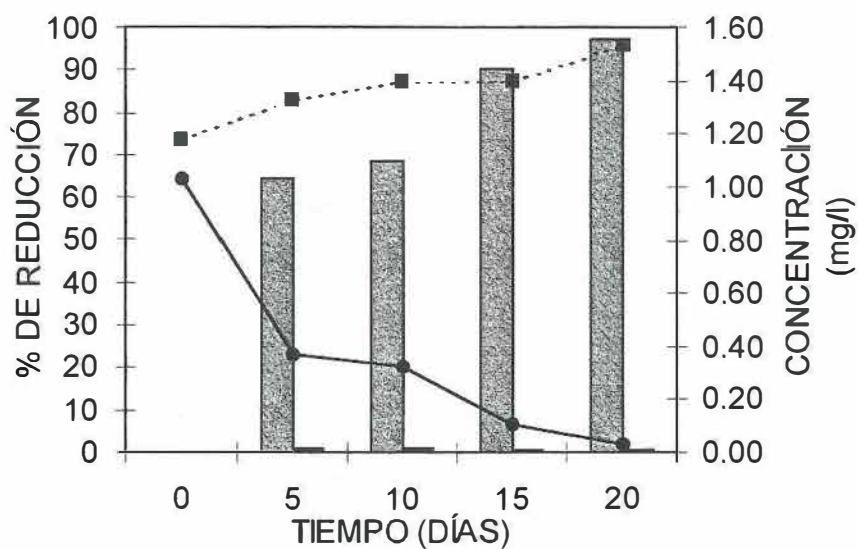


Fig. 17. Relación entre el porcentaje de reducción (barras): (▨) tratamiento y (□) control y la concentración de nitratos (líneas): (■) tratamiento y (●) control durante el tiempo de experimentación.

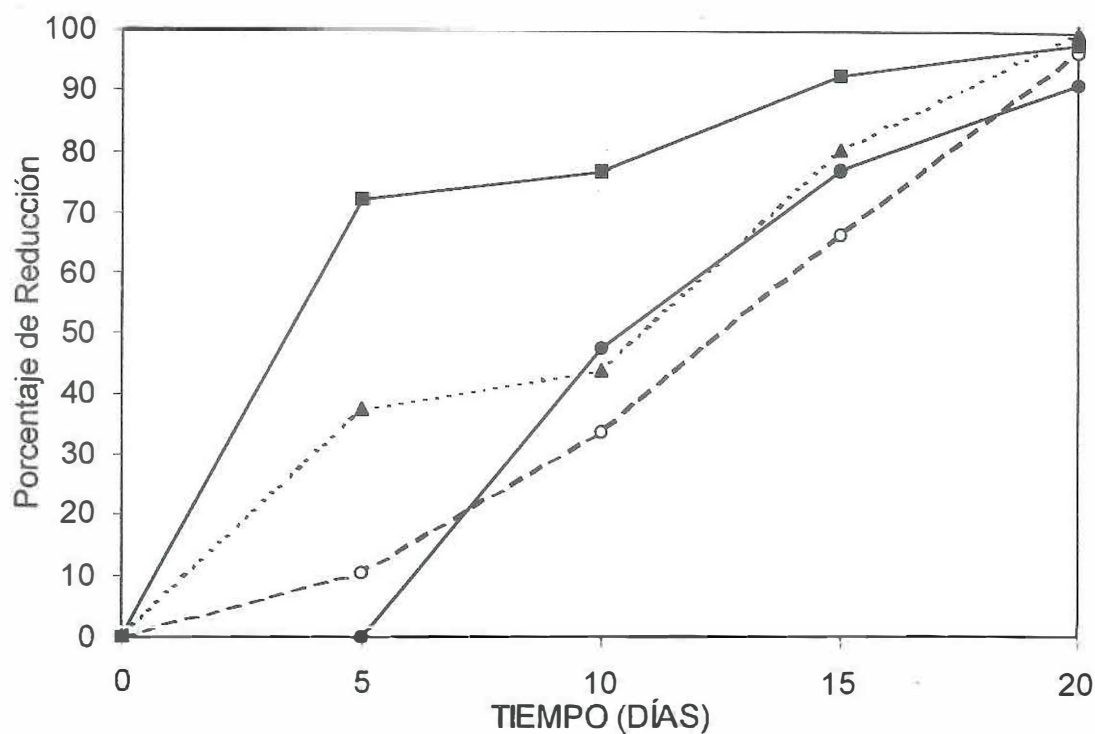


Fig. 18 Relación entre: (●) demanda bioquímica de oxígeno; (○) demanda química de oxígeno; (▲) amonio y (■) nitratos contra el tiempo de experimentación.

Tabla X. Porcentajes de reducción (R) obtenidos con los datos de cada parámetro en las muestras del tratamiento y del control a lo largo del periodo de estudio.

Días	DBO	DQO	NH ₃	NO ₃
0	0	0	0	0
5	0	11	38	72
10	48	34	44	77
15	77	67	80	93
20	91	97	100	98

IV. DISCUSIÓN

IV. 1 Tapete microbiano.

Los tapetes microbianos históricamente han ocupado los ambientes más inhóspitos de la Tierra (Weber, *et al.* 1989). Este antecedente es indicativo de la gran capacidad de aclimatación que mostraron los tapetes microbianos estudiados. Estos consorcios microbianos resistieron una disminución de 50% (36-40 ‰) de su salinidad original (70 ‰). Respecto a la temperatura, los valores del orden 18 a 22 °C se mantuvieron durante todo el periodo de estudio (ocasionalmente en alcanzó un valor de 30 °C). No obstante, pueden soportar temperaturas más extremas, ya que la salinidad y temperatura en la localidad de Guerrero Negro oscila entre 60-120‰ y 18 a 25°C respectivamente, Javor, 1984; Jorgensen, 1987; Des Marais, 1989. Sin embargo, los tapetes empleados en esta investigación permanecieron en condiciones de salinidad inferiores y temperaturas mayores a esos intervalos. Los tapetes crecidos antes y durante el experimento se mantuvieron en óptimas condiciones de salud al igual que lo encontrado por Bender (1994).

Los organismos encontrados del género *Microcoleus* resultaron ser los predominantes en los tapetes construidos utilizados, al igual que los registrados para tapetes microbianos de Laguna Figueroa, B.C., (Javor *et al.*, 1984;

Palmisano, 1989; Stolz 1990). Estos organismos se caracterizan por vivir en ambientes con salinidades que van desde 35 hasta 120 ‰. Este amplio intervalo de salinidad explica posiblemente la gran capacidad de aclimatación descrita anteriormente. D'Amelio y colaboradores en 1991 demostraron la similitud estructural en la estratificación de especies entre Guerrero Negro y Egipto. En otros sitios *Microcoleus chthonoplastes*, fue la especie dominante. En este estudio la identificación de los organismos sólo se hizo hasta nivel de género, no obstante lo anterior coincide con la descripción de este género encontrado anteriormente por tales autores. Javor (1979) realizó un estudio de marcado y remoción de tapetes, observando que la estratificación laminar de los consorcios se mantiene constante. Estas observaciones concuerdan con la estratificación que se observó y el registro fotográfico realizado durante el crecimiento de los tapetes, además del patrón de coloración característico. De todas las investigaciones realizadas con tapetes microbianos de Guerrero Negro, BCS, se ha concluido que en general son dominantes las especies de diatomeas del género *Nitzschia* y *Navicula* spp. y Cianobacterias filamentosas como *Oscillatoria* sp. esto también coincide con los organismos identificados hasta nivel de género, específicamente para este tapete utilizado (Javor, 1981 y Rodríguez-Eaton, 1994).

IV. 2. Sistema de tratamiento.

Los valores de pH mostraron la tendencia del efluente tratado a hacerse alcalino al final del experimento excepto en el décimo día cuando el valor disminuyó. Hirayama (1974), mencionó que el pH tiende a ser ácido debido a la acumulación de nitritos; esto coincide con los resultados de pH donde el medio generalmente se mantuvo alcalino ya que el nivel de nitratos del agua disminuyó al ser incorporado por los tapetes para su metabolismo. Los valores de pH tuvieron poca variación (0.2 a 0.5 unidades de fluctuación como máximo en promedio). Al igual que lo encontrado por Bender (1994), los tapetes mantuvieron un sistema eficiente de regulación de pH gracias a sus zonas óxido-reductoras.

Los valores de oxígeno disuelto de ambos efluentes (tratamiento y control) fueron diferentes estadísticamente, sin embargo presentaron una concentración y tendencia similar. La tasa de oxigenación fue mayor en el efluente con presencia de tapetes microbianos. Esto se debe a que los consorcios microbianos formados por cianobacterias, diatomeas y halobacterias posiblemente tuvieron la capacidad de oxigenación del agua. El oxígeno se vió influenciado por la temperatura ya que cuando ésta se incrementó, los valores disminuyeron debido a la solubilidad de los gases que afecta a esta variable, (Arbiv, 1995; y Allan 1991). Sin embargo, cuando los valores de ésta disminuyeron, el oxígeno disuelto se incrementó gradualmente a lo largo de todo el experimento. Weber (1985), mencionó que la nitrificación está influenciada por el oxígeno disuelto en los sistemas de tratamiento terciarios; estos

procesos también se observaron en el estudio donde los tapetes producen oxígeno vía organismos fotoautótrofos. Esto apoya los resultados de Bender (1994) quien encontró que los tapetes microbianos generan niveles altos de oxígeno durante el periodo con exposición luminosa. Esto se observó continuamente a lo largo del de estudio, por lo tanto éstas tasas elevadas de oxigenación dieron como consecuencia altas proporciones de reducción de amonio y nitrificación. Los niveles de oxígeno fueron similares a los obtenidos por Bender *op cit.*; sin embargo los resultados de pH presentaron diferencias (6.4 a 7.17) respecto a lo encontrado en esta investigación (7.96-8.45). Simultáneamente se observó que durante el periodo fotosintético, se formaron burbujas de oxígeno y permanecieron atrapadas en los tapetes, y este oxígeno formado continuó disponible durante la noche. Esto es indicativo de que los tapetes además de tener la capacidad de producir oxígeno pueden mantenerlo en un nivel generalmente constante.

El comportamiento de la demanda biológica de oxígeno tuvo una tendencia de disminución gradual en la cantidad de materia orgánica oxidada por vía biológica. El porcentaje de reducción de la DBO en este estudio es superior a lo registrado por otras investigaciones convencionales como el de Fair (1954 y 1984) quien obtuvo un rendimiento relativo del 50-80% con sistemas de filtración, lodos activados y lagunas de estabilización. Ignjatovic (1986) observó porcentajes de remoción de DBO_5 del orden de 85% de aguas residuales domésticas utilizando macrófitas, siendo ese porcentaje menor que el obtenido en este estudio. De manera similar Szpyrkowicz (1991), alcanzó una eficiencia de 99 % de remoción de

DBO con un sistema de lodos activados. Estos resultados son ligeramente inferiores a los obtenidos por Lo (1993) quien obtuvo una eficiencia de 95-98 % con reactores a 10°C y 22°C. Los resultados obtenidos confirman que los tapetes no obstante de haber realizado un porcentaje de remoción del 88 % por debajo del valor de los sistemas de tratamiento convencionales, pueden ser considerados como una alternativa viable. En este estudio no se necesitó de aireación externa del agua y el sistema de regulación de pH permitió tener condiciones lo suficientemente estables para realizar los procesos de remoción.

La tendencia de la demanda química de oxígeno fue disminuyendo gradualmente a lo largo del experimento, al quinceavo día se observó una disminución del 65 % en la cantidad de ésta. La remoción máxima (95 %) se logró al final del estudio a diferencia de otros sistemas como el de Prakasam (1972) donde los porcentajes de remoción de la demanda química de oxígeno fueron del 85 y 90 por ciento. De igual modo los resultados superan a los de Fair *op cit.* quien registró una remoción de la DQO de 50-80% con sistemas de filtración de lodos activados y lagunas de estabilización. Por lo anterior se verifica que el sistema de tapetes microbianos construidos es factible para la reducción de la demanda química de oxígeno en un período de 20 días al menos para este estudio.

Hopkins (1993) publicó que el impacto producido por las granjas de camarón puede reducirse drásticamente por el intercambio y recirculación del agua. Por lo anterior, se recomienda que los tapetes se incorporen en granjas en sitios donde exista una alta recirculación del agua para reducir la eutroficación de

los ecosistemas, además permitirían más tiempo de contacto de los tapetes con el agua, aumentando con ello la transformación de la materia orgánica.

El sistema de tratamiento con tapetes microbianos resultó estar dentro de los mejores porcentajes de remoción de acuerdo a lo estudiado por Ignjatovic *op cit.*, Szpyrkowicz *op cit.*, Lo *op cit.*, Prakasam *op cit.*, y Fair *op cit.* Ferhan (1995) resaltó que los tapetes por sí mismos aportan oxígeno al medio y esto afecta la proporción de remoción de amonio e influye directamente en los procesos de nitrificación. A diferencia de otros autores como Prakasam (*op cit.*), quien estudió los procesos microbianos de nitrificación y denitrificación en descargas residuales, los cuales realizaron una oxidación incompleta del amonio. Ignjatovic (*op cit.*) empleó macrofitas para remover nutrientes de aguas residuales domésticas, reportando porcentajes de remoción de amonio del orden de 88%, porcentaje que se sitúa por debajo del casi cien por ciento de reducción obtenido en este estudio.

Van Rijn *et al.* (1990) utilizó sistemas de depuración por biofiltración aeróbica y anaeróbica no simultánea, registrándose una remoción tan solo de 14% de amonio al 60% de saturación con aire y 6% en sistemas anaeróbicos. Estos porcentajes de depuración igualmente no coinciden a los obtenidos en este trabajo. De igual modo Lo (*op cit.*) registró un 61 % de remoción de amonio quien además menciona que esto se debe a la aireación del agua y a la incorporación celular. A diferencia de los métodos anteriores, este sistema removió el 96.67% bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas al mismo tiempo y sin ningún sistema de aireación, generándose material celular mediante el crecimiento de los

componentes del consorcio microbial del tapete. Además fue incorporando simultáneamente los nitratos producto de la oxidación de amonio a su propio sistema durante todo el periodo de experimentación ya que los niveles disminuyeron notablemente hasta un 96.64 %.

Los procesos de nitrificación del agua vía tratamiento representaron una eficiencia del 96%, remoción similar al 89-98 % publicado por Polprasert (1986). También los resultados son similares a los de Goldman (1974) quien encontró niveles de 95% de remoción con algas marinas y ostras. Sin embargo el nitrógeno removido por su sistema regeneró un 16-18 por ciento de amonio, hecho que no se observó en este trabajo. Van Rijn *op. cit.* con los sistemas que emplearon, obtuvieron una remoción del 97 y 48 por ciento de amonio en condiciones anaeróbicas y una nitrificación del 3% en condiciones de aire saturado. Estos resultados no se presentaron ni coincidieron en este estudio ya que el sistema de tapetes construidos realizó simultáneamente procesos tanto aeróbicos como anaeróbicos mediante nutrición fotoautótrofa y heterótrofa.

Rusten (1995a y b) utilizó reactores de biocapas móviles para tratar descargas diluidas, éstas removieron los nitratos sólo un 20 a 25 %, valores muy inferiores a los resultados obtenidos con el tratamiento con tapetes microbianos construidos. Boni *et al.* (1991), informó que después de un tratamiento terciario, los efluentes contienen la concentración ideal de nutrientes para el crecimiento de las microalgas. Este proceso es benéfico para la reducción de sustancias que en

ciertas condiciones pueden ser tóxicas, tal es el caso de la eutroficación de los cuerpos de agua que reciben las descargas de las granjas camaronícolas.

Por tales motivos, los tapetes igualmente representan una alternativa para incorporarlos en granjas de agricultura y entrar en contacto con las descargas para realizar la remoción dentro de los tratamientos de tipo terciario. Prakasam *op cit.* resaltó que cuando ocurre una nitrificación, los valores de pH disminuyen, esto concuerda con los resultados obtenidos donde los procesos de denitrificación se llevaron a cabo en ambientes con pH básico. Osada (1991) encontró que la denitrificación se favorece en presencia de materia orgánica como donadora de electrones, tal es el caso de este trabajo donde existió materia orgánica propia de los tapetes.

Por lo tanto, el sistema de tratamiento con estos consorcios representan una gran alternativa para la remoción de nitratos ya que debido a sus procesos metabólicos, son capaces de incorporarlos a su material celular para el crecimiento del tapete. Además, la remoción de nitratos es factible debido a los procesos combinatorios de tratamiento aeróbico y anaeróbico del tapete, Arbiv *op cit.* Este sistema es capaz de realizar ambos procesos de manera simultánea ya que la capa superior de los tapetes está compuesta por cianobacterias y diatomeas las cuales fijan tanto carbono como oxígeno, y esto sustenta a las bacterias heterotróficas que colonizan las capas inferiores del tapete, (Pearl, 1989). Las bacterias púrpura autotróficas generalmente ocupan las regiones por debajo de las

cianobacterias donde las intensidades de luz y concentraciones de oxígeno son bajas (Bender, 1994).

Se cree que estas bacterias compuestas principalmente por organismos halofílicos y sulfatoreductores realizan mayor tratamiento de materia orgánica que no es tratada en las zonas fotoautótrofas del tapete.

Los procesos de bio-remediación del efluente tratado en relación a los compuestos nitrogenados, se basan en los procesos de nitrificación y denitrificación que se realizan en los consorcios microbianos del tapete como se indica en la figura 19.

Debido a que los tapetes microbianos mixtos se desarrollaron bajo condiciones hostiles, similares a aquéllas que han sido altamente contaminadas, las adaptaciones de supervivencia de esos ecosistemas pueden ser directamente aplicables a la biotecnología ambiental, específicamente a la bio-remediación (Bender *op cit.*).

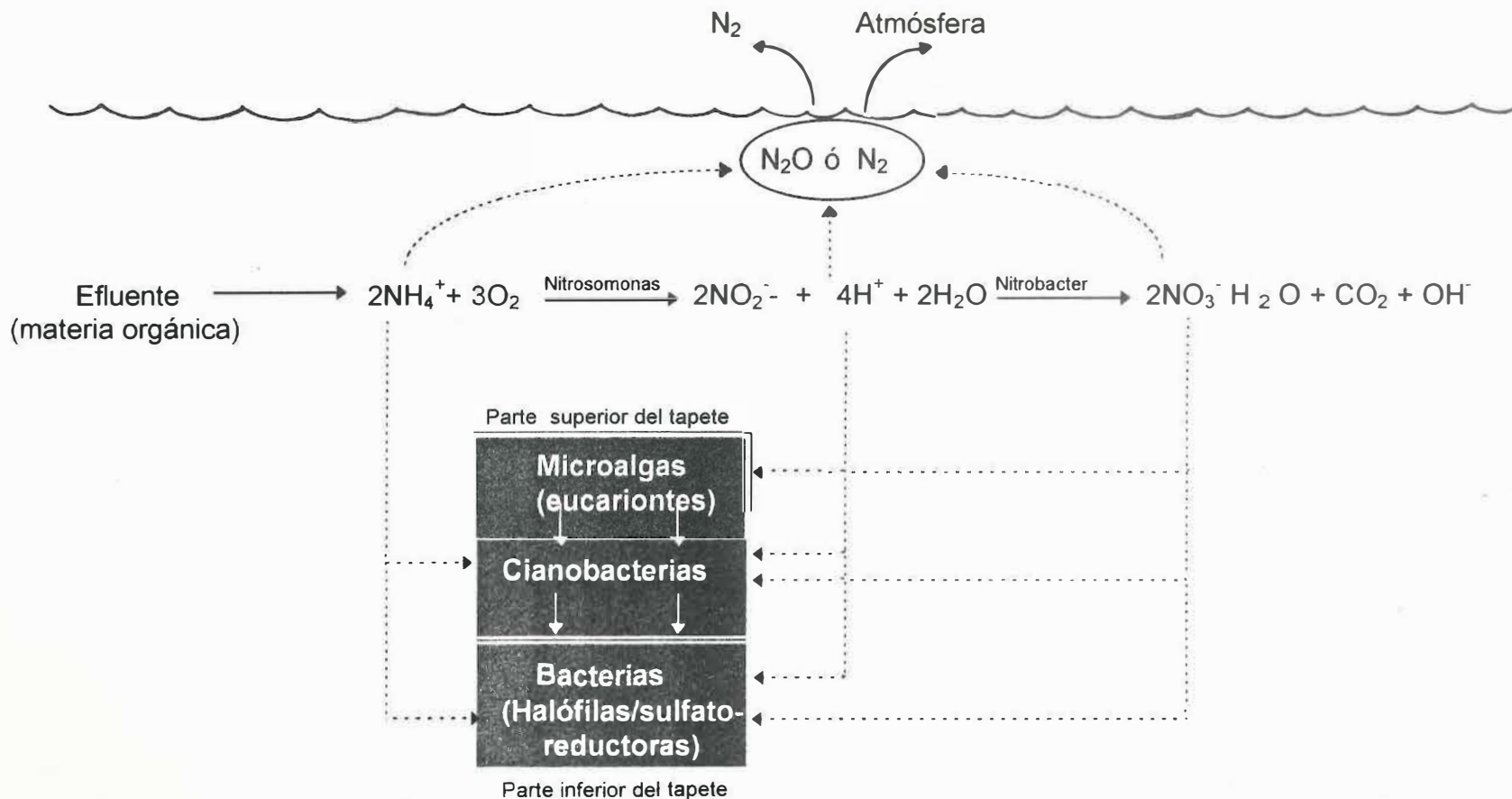


Fig. 19. Procesos de nitrificación y reciclado de nitrógeno en los tapetes microbianos construidos.

V. CONCLUSIONES

- Los tapetes microbianos naturales pueden utilizarse como sustrato para la construcción y colonización de tapetes específicos de efluentes contaminados.
- Los tapetes microbianos representan una alternativa de reducción de la materia orgánica y de reciclado de nitrógeno para los tratamientos biológicos terciarios de un efluente acuacultural en este caso de una granja camaronícola.
- Al utilizarse los tapetes se reduce el impacto ambiental que provocan los efluentes de las granjas de cultivo debido a la capacidad de remoción del nitrógeno en las formas de amoníaco, nitritos y nitratos.
- Con el empleo de los tapetes puede re-utilizarse el agua para fines acuaculturales.

LITERATURA CITADA

- Allan, G.L., G. B Maguire. 1991. Lethal levels of low dissolved oxygen and effects of short-term oxygen stress on subsequent growth of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. **94**:27-37.
- Allen M.B. y D.I. Arnon. 1955. Studies on nitrogen-fixing blue-green algae. *Lemn. Pl. Physiol.* **30**:362-372.
- APHA 1992. Standard Methods for examination of Water and Wastewater. 18th ed. American Public Health Associaton. Washington, D.C.
- Aquafarms news*. 1995. Aquaculture wastes, a threat to the environment. **13**(2):1-13.
- Arbiv, R. y J. Van Rijn. 1995. Performance of a Treatment System for Inorganic Nitrogen Removal in Intensive Aquaculture Systems. *Aquacultural Engineering*. **14**:189-203.
- Bender, J. 1984. An integrated system of aquaculture, vegetable production and solar heating in an urban environment. *Aquacultural engineering*. **3**: 141-152.
- Bender J. y P. Phillips. 1994. Implementation of microbial mats for bioremediation. En: Means J.L. y R.E. Hinchee. (eds). Emerging Technology for Bioremediation of metals. Lewis Publishers. Ohio. pp 85-98.
- Bender, J. y Y. Vatcharapijarn. 1989. Fish feeds from grass clippings. *Aquacultural engineering*. **8**:470-419.

- Bender, J., J.P. Gould, Y. Vatcharapijarn, J.S. Young y P. Phillips. 1994a. Removal of Zinc and manganese from contaminated water with cyanobacteria mats. *Water Environ. Res.* **66**:679-683.
- Bender, J., R.F. Lee y P. Phillips. 1995. Uptake and transformations of metals and metalloids by microbial mats and their use in bioremediation. *Journal of Industrial Microbiology.* **14**:113-118.
- Bender, J., R. Murray y P. Phillips. 1994b. Microbial mat degradation of chlordanes. En: Means J.L. y R.E. Hinchey. (eds). *Emerging Technology for Bioremediation of metals.* Lewis Publishers. Ohio. pp 135-139.
- Bishop, P.L. y M. Farmer. 1978. Fate of nutrients during aerobic digestion. *J. Environ. Eng. Div. EE5*:967-979.
- Boni, L., L. Coccagna y D. Ferrari. 1991. The trophic potential of sewage effluent resulting from various levels of treatment. *Wat. Res.* **25**(10):1255-1261.
- Briggs, M.R.P. y S.J. Funge-Smith. 1994. A nutrient budget of some intensive marine shrimp ponds in Thailand. *Aquacult. Fish. Manage.* **25**(8):789-811.
- Canfield, D.E. y D.J. Des Marais. 1991. Aerobic sulfate reduction in Microbial mats. *Science.* **251**:1471-1473.
- Canino, H.S.R. y Z.J.A. Segovia. 1993. Manual de prácticas de Contaminación marina. *Facultad de Ciencias Marinas. UABC.* pp. 7-9.
- Cohen, Y. y E. Rosenberg. 1989. Microbial mats. *Physiological Ecology of Benthic Microbial Communities.* American Association for Microbiology. Washington D.C. USA.

- D'Amelio, E. D., Y. Cohen, y D. J. Des Marais. 1989. Comparative functional ultrastructure of two hypersaline submerged cyanobacterial mats: Guerrero Negro, Baja California Sur, México, and Solar Lake, Sinai, Egypt. En: Cohen, Y. y E. Rosenberg (eds.), *Microbial mats, Physiological ecology of benthic microbial communities*. American society for microbiology. Washington D. C. 97-113 pp.
- De la Noüe, J., G. Laliberté y D. Proulx. 1992. Algae and Wastewater *J.Appl.Phycolology*. 4:247-254.
- Des Marais, D. J., Y. Cohen, H. Nguyen, M. Cheatham, T. Cheatham, and E. Munoz. 1989. Carbon Isotopic trends in the hypersaline ponds and microbial mats at Guerrero Negro, Baja California Sur, México: Implications for precambrian stromatolites. En: Cohen, Y. y E. Rosenberg (eds.), *Microbial mats, Physiological ecology of benthic microbial communities*. American society for microbiology. Washington D. C. 191-213 pp.
- Dosdat, A., F. Gaumet. y H. Chartois. 1995. Marine Aquaculture Effluent Monitoring: Methodological Approach to the Evaluation of Nitrogen and Phosphorus Excretion by Fish. *Aquacultural Engineering*. 14:59-84.
- Fair, G.M., J. C. Geyer y J.C. Morris. 1954 *Water supply and wastewater disposal*. John Wiley and Sons. Inc. New York
- Fair, G.M., J.C. Geyer y D.A.Okun. 1984. *Purificación de aguas y tratamiento y remoción de aguas residuales*. Vol. 2. LIMUSA. México.

- Ferhan, C. y I.E. Gonenc. 1995. Criteria for nitrification and denitrification of high-strength wastes in two upflow submerges filters. *Wat. Environ.Res.* **67**,132.
- Goldman, J. C., K.R. Tenore, J.H. Rhyter y N. Corwin. 1974. Inorganic Nitrogen Removal in a combined tertiary treatment-Marine aquaculture system-I. Removal efficiencies. *Wat. Res.* **8**:45-54.
- Gray, N.F. 1995. Wastewater treatment Biology. Encyclopedia of Environmental Biology. **3**:463-477.
- Griffin, W. A., J. A. D. Lambregts, M. W. Yates y A. García. 1993. The impact of aquaculture pond engineering design on the returns to shrimp farms. *Journal of the world aquaculture society.* **24**(1):23-30.
- Hach Company. 1992. Water analysis handbook. 2nd. Ed., Loveland, Colorado. 831 p.
- Hirayama, K. 1974. Water control by filtration in closed culture systems. *Aquaculture.* **4**:369-385.
- Hopkins, J.S., R.D. Hamilton, P.A. Sandifer, C.L. Browdy y A.D.Stokes. 1993. Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *J. World Aquacult. Soc.* **24**(3):304-320.
- Hopkins, J.S., P.A. Sandifer, C. L. Browdy. 1994. Sludge management in intensive pond culture of shrimp: effect of management regime on water quality, sludge characteristics, Nitrogen extinction, and shrimp production. *Aquacultural Engineering.* **13**:11-30.

- Hum, H.J. y S.R. Wicks. 1980. Introduction and guide to the marine bluegreen algae. John Wiley and sons. New York. 194 pp.
- Ignjatovic, L. y P. Marjanovic. 1986. A low cost method for nutrient removal from domestic wastewaters. *Wat. Sci. Tech.* **18**:49-56.
- Javor, B.J., Brassell, S.C. y G. Eglinton. 1979. A Laboratory/field method for radiolabelled incubation studies in algal-bacterial mats and other microbial ecosystems. *Oceanologica Acta.* **2**(1):19-22.
- Javor, B.J. y R.W. Castenholz. 1981a. Invertebrate grazers of microbial mats, laguna Guerrero Negro, Mexico. En: Cohen, Y. y R.W. Castenholz, (eds.). *Microbial Mats: Stromatolites* Vol.3. Haluorson. New York. 85-94p.
- Javor, B.J. y R.W. Castenholz. 1981b. Laminated Microbial Mats, Laguna Guerrero Negro, México. *Geomicrobiology Journal.* Vol 2, No.3.
- Javor, B.J. y R.W. Castenholz. 1984. Productivity studies of microbial mats, Laguna Guerrero Negro Mexico. En: Cohen, Y. y R.W. Castenholz, (eds.). *Microbial Mats: Stromatolites* Vol.3. Haluorson. New York. 149-170p.
- Javor, B. 1989. Hypersaline Environments Microbiology and Biogeochemistry. Berlin Springer-Verlag. pp.135-146.
- Joregensen, B.B., N. P. Revsbech, T. H. Blackburn y Y. Cohen. 1979. Diurnal cycle of oxygen and sulfide microgradients and microbial photosynthesis in a cyanobacterial mat sediment. *Appl. Environ. Microb.* **38**(1):46-58.

- Joregensen, B.B., Y. Cohen y D.J. Des marais. 1987. Photosynthetic action spectra and adaptation to spectral light distribution in a benthic cyanobacterial mat. *Appl. Environ. Microb.* **53**(4):879-886.
- Kim, B. R., G. Anderson, J F. Zemla, 1990. Effect of biological treatments on COD adsorption. *Wat. Res.* **24**(4):457-461.
- Lin, Li-Yin., 1995. Wastewater treatment for inorganics. *Encyclopedia of Environmental Biology.* **3**:479-484.
- Lo, K.V. y H. Liao. 1993. Treatment of hatchery wastewater by a sequencing batch reactor process. *Aquacultural Engineering* **12**:191-202.
- Liu, S and J. M. Suflita. 1993. Ecology and evolution of microbial populations for bioremediation. In: *Trends in Biotechnology. Tibtech.* **11**, No.8(115):344-352.
- Metcalf, Eddy inc. 1991. *Wastewater Engineering: Treatment Disposal Reuse.* Mc.Graw-Hill., Inc. Boston. 1344 pp.
- Mearns, A.J. 1993. Appropriate technologies for marine pollution control. *Sea Technology.* **34**(10):31-37.
- Metcalf, M.R. 1995. Investing in Aquacultural wastewater techniques for improved water quality: a Coastal community case study. *Coastal Management.* **23**:327-335.
- Mondecar, M., J. Bender, J. Ross, W. George y J. Preslan. 1994. Removal of 2,4,6-trinitrotoluene from contaminated water with microbial mats. En: Hincsee, R. E., D.B. Anderson y G.D. Sayles. (eds). *Applied Biotechnology for site remediation.* Lewis Publishers. E.U.A. pp. 342-345.

- Osada, T., K. Haga y Y. Harada. 1991. Removal of nitrogen and phosphorus from swine wastewater by the activated sludge units with the intermittent aeration process. *Wat. Res.* **25**(11):1377-1388.
- Palmer, C.M. 1962. Algae in water supplies. An illustrated manual on the identification, significance, and control of algae in water supplies. U.S. Department of Health, Education, and Welfare Public Health Service. Washington. 88 pp.
- Palmisano, A. C., S. E. Cronin, E. D. D'Amelio, E. Munoz y D. J. Des Marais. 1989. Distribution and survival of lipophilic pigments in a laminated microbial mat community near Guerrero Negro, México. En: Cohen, Y. y E. Rosenberg (eds.), *Microbial mats, Physiological ecology of benthic microbial communities*. American society for microbiology. Washington D. C. 138-152 pp.
- Pearl, H.W., B.M. Bebout y L.E. Prifert. 1989. Naturally occurring patterns of oxygenic photosynthesis and N_2 Fixation in a marine Microbial Mat: Physiological and ecological ramifications. En: Cohen, Y. y E. Rosenberg (ed), *Microbial Mats*. American society for microbiology. Washington D. C. pp. 326-341.
- Pearson, S. 1989. Deciding on a treatment alternative. En: Huntley, M. (ed.). *Biotreatment of agricultural Wastewater*. CRC Press. Florida. pp.15-33.

- Phillips, M.J., C. Kwei-Lin y M.C.M. Beveridge, Shrimp culture and the environment: Lessons from the world's most rapidly expanding warm water aquaculture sector. En: Pullin, R.S.V., H. Rosenthal y J.L.Mclean. (eds.) *Environment And Aquaculture In Developing Countries. International Cent. for Living Aquatic Resources Management, Manila-Philippines. No. 31 pp. 171-198.*
- Phillips, P., J. Bender, J. Word, D. Niyogi y B. Denovan. 1994. Mineralization of naphthalene, phenanthrene, chrysene, and hexadecane with a constructed silage microbial mat. En: Hinchee, R. E., D.B. Anderson y G.D. Sayles. (eds). *Applied Biotechnology for site remediation. Lewis Publishers. E.U.A. pp. 305-309.*
- Polprasert, C. y H. S. Park. 1986. Effluent denitrification with anaerobic filters. *Wat. Res. 20(8):1021-1021*
- Prakasam, T.B.S. y R.C. Loehr. 1972. Microbial nitrification and denitrification in concentrated wastes. *Wat.Res. 6:859-869.*
- Pruder, G.D. 1992a. Marine shrimp pond effluent: Characterization and environmental impact. *Aquaculture' 92 Growing Toward The 21st Century. 1992. p. 189*
- Pruder, G.D. E. O. Duerr, W. A. Walsh, A. L. Lawrance, W. A. Bray. 1992b. The technical feasibility of pond liners for rearing pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) in terms of survival, growth, water exchange rate and effluent water quality. *Aquacultural Engineering. 11:183-201*

- Rodriguez-Eaton, S., U. Ekanemesang y J. Bender. 1994. Release of metal-binding flocculents by microbial mats. En: Means J.L. y R.E. Hinchee. (eds). *Emerging Technology for Bioremediation of metals*. Lewis Publishers. Ohio. pp 118-123.
- Rodier, J. 1989. *Análisis de las aguas*. Ediciones Omega, S.A., Barcelona. 1056 pp.
- Rusten, B., J.H. Lors y O. Hallvard. 1995a. Nitrification of municipal wastewaters in moving-bed biofilm reactors. *Water Environ. Res.* **67**:81-90.
- Rusten, B., J.H. Lors y O. Hallvard. 1995b. Nitrogen removal from dilute wastewater in cold climate using moving-bed biofilm reactors. *Water Environ. Res.* **67**:65-78.
- Sorkhoh, N.; Al-Hasan, R. y S. Radwan. 1992. Self-cleaning Gulf. *Nature*. **359**:(6301):109.
- Steel, R.G.D. y J. H. Torrie. 1988. *Bioestadística*. Mc Graw-Hill, México.
- Stolz, J. F. 1990. Distribution of phototrophic microbes in the flat laminated microbial mat at Laguna Figueroa, Baja California, México. *BioSystems*. **23**:345-357
- Sundararaj, V. y M.J.P. Jeyasseelan. 1993. Treatment of shrimp aquaculture effluent. *Fish. Chimes*. **13**(8):60-62.
- Szpyrkowicz, L., S. Rigoni-Stern y F. Z. Grandi. 1991. Nitrification and Denitrification of tannery Wastewaters. *Wat. Res.* **25**(11):1351-1356.

- Thorhaugh, A. 1990. Restoration of Mangroves and seagrasses-Economic benefits for fisheries and mariculture. En: Berger, J. (ed.). *Environmental Restoration*. Island Press, Washington, D.C. pp. 265-281.
- Van Heurck, H. 1962. *A treatise on the Diatomaceae*. Wheldon and Wesley and Verlag. 556 pp.
- van Rijn, J., y G. Rivera. 1990. Aerobic and anaerobic biofiltration in an aquaculture unit-nitrite accumulation as a result of nitrification and denitrification. *Aquacultural Engineering*. **9**:217-234.
- Vatcharapijarn, Y., B.Graves, y J. Bender. 1994. Remediation of mining water with microbial mats. En: Means J.L. y R.E. Hinchee. (eds). *Emerging Technology for Bioremediation of metals*. Lewis Publishers. Ohio. pp 124-129.
- Vinyard, W.C. 1975. Key to the genera of marine planktonic diatoms of the Pacific coast of North America. Mad River Press. California. 27 pp.
- Wang, J. K., 1990. Managing shrimp pond water to reduce discharge problems. *Aquacultural Engineering*. **9**:61-73
- Ward, D.M., R. Weller, J. Shiea, R.W. Castenholz, y Y. Cohen. 1989. Hot springs Microbial mats: anoxygenic and oxygenic mats of possible evolutionary significance. En Y. Cohen and E. Rosenberg (eds), *Microbial Mats*. American society for Microbiology, Washington, D.C. pp. 3-15.
- Weber, A.S. y Tchobanoglous. 1985. Nitrificación in water hyacinth treatment systems. *Environ. Eng.* **14**(5):699-713.

Wheaton, F.W. 1977. Diseño y construcción de sistemas. AGT. Editor. México. pp 217-219.

WPCF. 1975. Simplified laboratory procedures for wastewater examination. Water pollution control federation. Washington, D. C. 56 pp

Yocum, P.S., R.L.Irvine y J.A. Bumpus. 1995. Bioremediation of water contaminated with jet fuel-4 in a modified sequencing batch reactor. *Wat. Environ. Res.* **67**(2): 174-180.

Zar, J. H., 1984. Biostatistical analysis. Second edition. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J. London. 718 pp.

Zmora, O. y E. Avital. 1993. The use of fish culture effluent as a food source for intensive and extensive rearing of *Artemia*. En: Carrillo, M., L. Dahle, J. Morales. P. Sorgeloos, N. Svennevig y J. Wyban.(eds). Spec. Publ. *Eur. Aquacul. Soc. No. 19* p. 184.