



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA IZTAPALAPA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

**Evaluación de la capacidad remediadora de la
vegetación en un humedal artificial**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN BIOLOGÍA

Presenta:

Biol. Asmaveth Solís Ibarra

Codirectora: Dra. Margarita E. Gallegos Martínez

Codirector: Dr. Mariano Gutiérrez Rojas

Asesor: Dr. Oscar Monroy Hermosillo

México, D.F. junio de 2014

La Maestría en Biología de la
Universidad Autónoma Metropolitana
pertenece al Padrón de
Postgrados de Calidad del CONACyT.

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

ASMAVETH SOLIS IBARRA

El día 26 de junio del año de 2014

Comité Tutorial:

Codirectora: Dra. Margarita E. Gallegos Martínez

Codirector: Dr. Mariano Gutiérrez Rojas

Asesor: Dr. Oscar Monroy Hermosillo

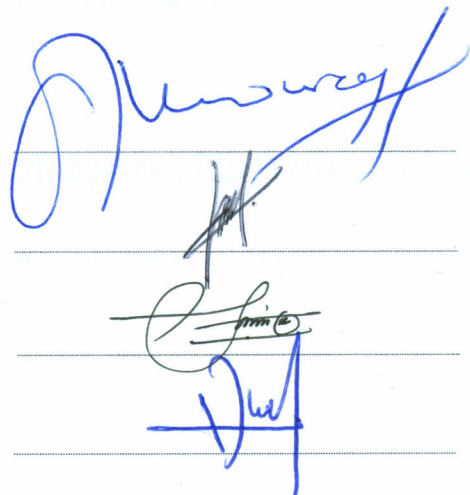
Miembros del jurado:

Presidente: Dr. Oscar Monroy Hermosillo

Secretaria: Dra. María Flores Cruz

Vocal: Dra. Fortunata Santoyo Tepole

Vocal: Dr. Juan Gabriel García Maldonado



Handwritten signatures in blue ink on horizontal lines. The top signature is large and cursive, likely belonging to Oscar Monroy Hermosillo. Below it are three smaller signatures, likely belonging to María Flores Cruz, Fortunata Santoyo Tepole, and Juan Gabriel García Maldonado.

A mi esposo, Luis

Por tu paciencia, comprensión y amor, por tu apoyo en cumplir mi sueño y postergar el tuyo.

Por tu bondad y ayuda, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de ti, gracias por estar siempre a mi lado

A mis padres, Amada y Carlos

Con todo mi amor y cariño a las personas que dedicaron su vida a la mía cumpliéndome mis sueños, a ustedes por siempre mi agradecimiento y amor

A mis hermanos Ana, Carlitos y Arely

Agradezco su compañía, apoyo, su buena vibra y ayuda incondicional

A mis suegros Martha y Toño

Gracia por su comprensión y apoyo en esta etapa de mi vida

Gracias Dios por cumplirme otro anhelo en mi vida...

AGRADECIMIENTOS

La realización de esta tesis fue posible gracias al apoyo de muchas personas a las cuales quiero agradecer.

En primer lugar quiero dar las gracias a mi comité tutorial por la realización de esta investigación. De especial manera al Dr. Mariano Gutiérrez Rojas por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la tesis, gracias Dr. Marianito por su apoyo, por su ejemplo, por la paciencia que me tuvo y la motivación que finalmente logró generar en mí. Agradezco al Dr. Oscar Monroy por su disponibilidad en atender mis dudas cuando lo necesite. Gracias a la Dra. Margarita Gallegos por sus aportaciones y observaciones.

Quiero agradecer también a la Dra. María Flores, la Dra. Tita Santoyo y el Dr. Juan Gabriel García por fungir como sinodales, por su disposición en revisar mi trabajo y sus comentarios. De manera especial agradezco a la Dra. María Flores por todo su apoyo y ayuda, gracias María por compartir lo que sabes y por tu ejemplo.

Agradezco la asesoría recibida por el Dr. Isaías Salgado Ugarte, Mtro. José Fernando López.

Agradezco a la Dra. Tania Volke, Dra. Nancy Velazco, Mtra. Adriana Gómez, Biol. Guille Avelino, Dra. Alejandra Serratos, Dra. Florina Vives y Beatriz Salazar por sus opiniones, sugerencias, por los ánimos que me dieron y su apoyo moral.

Gracias también a mis queridos compañeros y amigos de los laboratorios W-108, W-103 y W-106, que siempre estuvieron dispuestos para ayudarme. Gracias Nemi, Blanca, Caliope, Cesar y Pepe, por su amistad, por su ayuda y por ser parte de mi historia. Gracias a Edith, Moni, Alan, Omar, Yasser y Gina por su amistad y su buena vibra y por compartir momentos dentro y fuera del aula.

Agradezco a la UAM-Iztapalapa, al posgrado en Biología por permitirme formar parte de sus estudiantes y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo financiero durante la realización de este trabajo, a través de la beca otorgada con número de becario CVU: 275532.

A todos ellos, muchas gracias

RESUMEN

En la actualidad, el uso de humedales artificiales (HA) se considera como una alternativa para tratar aguas residuales (AR), que contribuye al control de la contaminación ambiental que éstas representan. La aplicación de HA es una tecnología económica que implica la interacción entre plantas macrófitas, microorganismos y el material filtrante para lograr la depuración de las AR. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de la vegetación presente en un HA para remover los contaminantes contenidos en el AR y su relación con el crecimiento vegetal y la cuenta bacteriana de la rizosfera. El estudio se realizó de febrero de 2012 a enero de 2013, en un HA de 160 m³ como un pos-tratamiento de las AR generadas en la UAM Iztapalapa, pretratadas en un reactor UASB. Los contaminantes estudiados fueron nitrógeno amoniacal (NH₄⁺), nitrato (NO₃⁻), fosfatos (PO₄³⁻) y materia orgánica (DQO). La planta evaluada en el HA fue *Cyperus papyrus*, en la cual se determinó el crecimiento vertical (longitud de vástagos) y el horizontal (longitud de rizomas y producción de vástagos). La cuenta bacteriana se cuantificó con muestras de raíz. El HA tuvo una mayor eficiencia para la remoción de materia orgánica (45% de DQO) y de NH₄⁺ (36%), eliminando un total de 81.6 g NH₄⁺/ (m²·año) y 96.5 g DQO/ (m²·año). Durante la etapa en la que se registró la máxima tasa de crecimiento de las plantas y de producción de vástagos (entre agosto y octubre), la tasa de remoción de NH₄⁺ aumentó significativamente (2.9 veces). Esta misma tendencia coincidió con un aumento tanto en la cuenta bacteriana (2 órdenes de magnitud) como en la tasa de remoción de materia orgánica (3.6 veces). Los resultados indican que la remoción de NH₄⁺ y de materia orgánica, así como la cuenta bacteriana de la rizosfera, dependen del ciclo de crecimiento de las plantas.

ABSTRAC

Nowadays, the use of constructed wetlands (CW) has been considered as an alternative for treating wastewater (WW), contributing to the control of environmental pollution they represent. The application of CW is an inexpensive technology that involves the interaction among macrophytes, microorganisms and the filter material to achieve the WW purification. The aim of this study was to evaluate the efficiency of the present vegetation in a CW to remove the pollutants contained in WW and its relation to plant growth and rhizosphere bacterial count. The study was conducted from February 2012 to January 2013 in a CW of 160 m³ as a post-treatment of WW generated in the UAM Iztapalapa, which was pretreated in an UASB reactor. The studied pollutants were ammonia nitrogen (NH₄⁺), nitrate (NO₃⁻), phosphate (PO₄³⁻) and organic matter (COD). The plant that was studied in the CW was *Cyperus papyrus*, in which the vertical (stem length) and horizontal (rhizome length and production stems) growth was determined. The bacterial count was quantified in samples from root. The CW had a higher efficiency for the removal of organic matter (45% COD) and NH₄⁺ (36%), eliminating a total of 81.6 g NH₄⁺/(m² year) and 96.5 g COD/(m² year). During the stage where the maximum rate of plant growth and production stems (from August and October) was recorded, the NH₄⁺ removal rate was significantly increased (2.9 times). This trend coincided with an increase in both the bacterial count (2 orders of magnitude) and the removal rate of organic matter (3.6 times). The results indicate that removal of NH₄⁺ and organic matter, as well as the rhizospheric bacteria count depend on the cycle of plant growth.

CONTENIDO

RESUMEN.....	i
ABSTRAC.....	ii
INDICE DE FIGURAS.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. <i>Sistemas de depuración de tratamiento de aguas residuales</i>	6
2.2. <i>Humedales artificiales como depuradores de aguas residuales</i>	7
2.2.1. Eliminación de nitrógeno y fósforo.....	8
2.2.2. Componentes principales de los humedales artificiales.....	11
2.2.3. Tipos de humedales artificiales.....	12
2.3. <i>Función depuradora de los humedales artificiales</i>	14
2.3.1. Papel de las macrófitas en los humedales artificiales.....	16
2.3.2. Plantas de uso común en humedales artificiales.....	18
2.3.3. Planta en estudio: <i>Cyperus papyrus</i> L.....	19
2.3.4. El crecimiento de las plantas modulares.....	21
2.3.5. El papel de las bacterias en la depuración de las aguas residuales.....	23
3. JUSTIFICACIÓN.....	26
4. HIPÓTESIS.....	28
5. OBJETIVOS.....	30
6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	32
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
7.1. <i>Humedal artificial en estudio</i>	35
7.1.1. Descripción y características.....	35
7.1.2. Proceso de depuración en el humedal artificial en estudio.....	35
7.1.3. Separación del humedal artificial por zonas para su evaluación.....	36
7.1.4. Determinación del caudal y TRH.....	37
7.2. <i>Colecta y filtración de las muestras de agua residual</i>	38
7.3. <i>Cuantificación de contaminantes en el agua residual</i>	38
7.3.1. Determinación de la concentración de nitrógeno amoniacal (NH_4^+).....	39
7.3.2. Determinación de la concentración de nitrato (NO_3^-).....	40
7.3.3. Determinación de la concentración de fosfato (PO_4^{3-}).....	40
7.3.4. Determinación de la concentración de la materia orgánica (DQO).....	40
7.4. <i>Estudio demográfico de <i>Cyperus papyrus</i> por zonas en el humedal artificial</i>	41
7.4.1. Densidad de plantas y distribución de la vegetación.....	41

7.4.2.	Selección de plantas a muestrear y estudio demográfico.....	41
7.4.3.	Determinación de los parámetros de crecimiento.....	41
7.4.4.	Tasa de crecimiento vertical y horizontal.....	42
7.4.5.	Tasa finita de crecimiento (demografía de poblaciones).....	43
7.4.6.	Montaje de plantas testigo.....	44
7.5.	<i>Cuenta bacteriana de la rizosfera por zonas en el humedal artificial.....</i>	<i>44</i>
7.5.1.	Muestras de la rizosfera y preparación de la suspensión inicial.....	44
7.5.2.	Colecta de muestras testigo sin plantas.....	45
7.5.3.	Medio de cultivo y cuenta en placa.....	45
7.6.	<i>Análisis estadístico.....</i>	<i>45</i>
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
8.1	<i>Variación en el caudal y tiempo de retención hidráulica.....</i>	<i>47</i>
8.2	<i>Eficiencia y tasa de remoción de contaminantes en el humedal artificial.....</i>	<i>48</i>
8.2.1.	Remoción de nitrógeno amoniacal (NH_4^+) global.....	49
8.2.2.	Remoción de nitrógeno amoniacal (NH_4^+) por zonas.....	54
8.2.3.	Remoción de nitrato (NO_3^-) global.....	55
8.2.4.	Remoción de nitrato (NO_3^-) por zonas.....	57
8.2.5.	Remoción de fosfato (PO_4^{3-}) global.....	57
8.2.1.	Remoción de fosfato (PO_4^{3-}) por zonas.....	59
8.2.2.	Remoción de la materia orgánica (DQO) global.....	60
8.2.3.	Remoción de la materia orgánica (DQO) por zonas.....	64
8.3	<i>Crecimiento de las plantas.....</i>	<i>64</i>
8.3.1.	Tasa de crecimiento vertical y horizontal.....	65
8.3.2.	Tasa de reclutamiento y mortalidad.....	68
8.3.3.	Tasa finita de crecimiento (<i>lambda</i> λ).....	69
8.3.4.	Respuesta del crecimiento de las plantas testigo con agua de llave.....	71
8.4	<i>Variación en el tiempo de la cuenta bacteriana de la rizosfera por zonas.....</i>	<i>73</i>
8.4.1.	Determinación de número de bacterias en la rizosfera.....	73
8.5	<i>Relación de variables.....</i>	<i>75</i>
8.5.1.	Remoción de nitrógeno amoniacal y crecimiento de las plantas.....	75
8.5.2.	Remoción de materia orgánica y la cuenta bacteriana de la rizosfera.....	77
9.	CONCLUSIONES.....	79
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general del funcionamiento y elementos de un humedal artificial de flujo superficial. Estructuras de entrada, salida de agua y representación del flujo de agua. Tubería de entrada (1), lámina de agua expuesta (2), arena (3), geomembrana (4), plantas hidrófitas (5) y salida de agua (6).	13
Figura 2. Esquema general de los tipos de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical (A) y horizontal (B). Se observa el funcionamiento, elementos que los componen y representación del flujo de agua. Entrada de agua (1), geomembrana (2), medio filtrante (3), hidrófitas (4), salida de agua (5), tubería interna (6).	14
Figura 3. Fotografías de <i>Cyperus papyrus</i> L. en el HA. Planta completa, se distingue su crecimiento modular (izquierda). Umbrela que soporta las inflorescencias (derecha arriba), vástagos juveniles y muertos (derecha abajo).	20
Figura 4. Estrategia general de las cuatro etapas experimentales. Etapa 1: Remoción de contaminantes en un humedal artificial (global y por zonas), Etapa 2; análisis demográfico de las plantas (en cada zona), Etapa 3; Cuenta bacteriana de la rizosfera (por zonas) y Etapa 4; relación de variables.	33
Figura 5. Humedal artificial de la UAM-I. Distribución de las plantas.	35
Figura 6. Esquema general de la planta de tratamiento de aguas de la UAM-I. La cual se compone de un cárcamo de bombeo donde se recibe el agua residual generada en la Unidad Iztapalapa, un desarenador centrífugo, un medidor de flujo Parshall, un reactor UASB de 60 m ³ , un humedal de 210 m ³ (H1) y otro de 160 m ³ (H2), un homogeneizador de efluente para cada humedal, un ozonificador y una cisterna de 70 m ³ . Solo el humedal 2 fue evaluado en este estudio.	36
Figura 7. Separación del humedal artificial por zonas A, B y C; sitios de colecta de agua y ubicación de las plantas muestreadas.	37
Figura 8. <i>Cyperus papyrus</i> planta propia del humedal artificial, vástagos que conforman un <i>Cyperus</i> (izquierda); marcaje de plantas en rizomas para crecimiento horizontal y la cuenta de vástagos nuevos (derecha abajo) y muertos (derecha arriba).	43
Figura 9. Variación en el caudal (○) y el TRH (■) en el humedal artificial durante el tiempo de muestreo. Los resultados son la media y las barras son el error estándar de la media (n=3-10). Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05).	48
Figura 10. Variación en el tiempo de la carga de NH ₄ ⁺ (◆), y el % de eficiencia (□) (A). Tasa de remoción (●) (B). Los resultados son la media por mes y las barras de error representan el error estándar de la media (n = 3 - 10). Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05).	50
Figura 11. Remoción de NH ₄ ⁺ por zonas: zona B (●) y zona C (■). Los resultados son la media por mes y las barras de error representan el error estándar de la media (n = 3 - 10).	55
Figura 12. Variación en el tiempo de la concentración de NO ₃ ⁻ en la entrada y salida (A) y tasa de remoción de nitrato (B). Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n = 3 - 10). Letras diferentes son diferencias significativas (p < 0.05).	56
Figura 13. Variación de la concentración de PO ₄ ³⁻ en la entrada y salida del HA (A) y la tasa de remoción (B) durante el periodo de muestreo. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n = 3 - 10).	60

Figura 14. Variación en el tiempo de la concentración de la materia orgánica (DQO) en la entrada y salida del HA (A). Carga orgánica y porcentaje de eficiencia (B). Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n = 3 - 10).). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).....	61
Figura 15. Variación de la tasa de remoción de la materia orgánica con respecto al tiempo en el humedal artificial. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n = 3 - 10). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).	63
Figura 16. Variación en el tiempo de la tasa de remoción de la DQO por zonas. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n=3-10).	64
Figura 17. Tasa de crecimiento vertical (A) y horizontal (B) de <i>Cyperus papyrus</i> en el tiempo, Zona B (-○-) y Zona C (-◆-) del humedal artificial. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n=87-230). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).	66
Figura 18. Tasa de crecimiento vertical (●) y horizontal (○) de plantas testigo. Tabla: Tasa de reclutamiento y mortalidad de las plantas testigo en un periodo de agosto de 2012 a enero de 2013. Los resultados son la media, \pm son el error estándar de la media. Las letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$).	72
Figura 19. Conteo bacteriano de la rizosfera, zona B (□) y zona C (■), zona sin planta (▣) en el tiempo que abarcó febrero de 2012 a enero 2013. Los resultados son la media, las barras son el error estándar de la media (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).	74
Figura 20. Relación de la tasa de remoción NH_4^+ y la tasa de crecimiento (vertical y horizontal) de las plantas (A) y cuenta bacteriana de la rizosfera (B) en el humedal artificial, durante el tiempo de evaluación. Los resultados son la media, las barras son el error estándar de la media (n = 3-10).	76
Figura 21. Relación de la tasa de remoción de la DQO y la cuenta bacteriana (A) y la tasa de remoción de DQO y tasa de crecimiento de las plantas (B).	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Procesos que contribuyen a la depuración de aguas residuales en: humedales de flujo libre (HFS); humedales de flujo subsuperficial horizontal (HFH); humedales de flujo subsuperficial vertical (HFV) (Fuente: Arias y Brix, 2003).....	15
Tabla 2. Principales grupos bacterianos de los humedales artificiales. Fuente: Kadlec y Knigh (1995).	25
Tabla 3. Comparacion de las eficiencias de remoción de NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} obtenidas en este estudio y otras investigaciones. Entrada (mg/L) y eficiencia (%).	52
Tabla 4. Remoción de NH_4^+ , NO_3^- y PT por <i>Miscanthidim violaceaum</i> en un HA de diseño lineal, en Uganda. Los resultados son el promedio, \pm la desviación estándar.	54
Tabla 5. Remoción de NO_3^- y PO_4^{3-} por zonas en el HA. Los resultados son la media,	57
Tabla 6. Comparacion de la eficiencia de remoción obtenida en este estudio con respecto a otras investigaciones, en diferentes HA de flujo subsuperficial para tratamiento de AR durante un año de monitoreo. Los resultados son la media \pm desviación estándar.	62
Tabla 7. Tasa de reclutamiento y de mortalidad en <i>Cyperus papyrus</i> durante el año de evaluación. Los resultados son la media, \pm el error estándar de la media (n=8). Las letras indican diferencias significativas. De febrero a octubre es 2012 y enero 2013.	69
Tabla 8. Tasa finita de crecimiento de la vertical en <i>Cyperus papyrus</i> en el año de evaluación en el humedal artificial. Los resultados son la media, \pm el error estándar de la media (n=67-230).	70
Tabla 9. Tasa finita de crecimiento de la horizontal en <i>Cyperus papyrus</i> en el año de evaluación en el humedal artificial. Los resultados son la media, \pm el error estándar de la media (n=67-230).	71

1. INTRODUCCIÓN

El aumento de las descargas de aguas residuales (AR) ha afectado severamente la calidad de cuerpos de agua y suelos receptores, pues generalmente son descargadas sin previo tratamiento, en México el 31.7 % de los sitios receptores tienen algún grado de contaminación, de los cuales 208 sitios están clasificados como fuertemente contaminados en algún indicador, en dos de ellos o en todos (CONAGUA, 2013). Hasta el momento solamente el 99.8 m³/s de 210 m³/s que representan el 47.5 % de las AR, que cuenta con sistema de drenaje y alcantarillado, recibe tratamiento antes de llegar a su destino final (CONAGUA, 2013). Las AR representan un riesgo por el aporte de altas concentraciones de contaminantes como materia orgánica (soluble, y suspendida), nutrientes (amonio, nitrógeno, fosfatos, sulfatos), entre otros, que se derivan de la materia orgánica en descomposición o de compuestos químicos de origen antropogénico (Curt, 2005). Las AR no tratadas pueden ocasionar graves problemas ambientales, como la eutrofización de aguas, y sanitarios, como infecciones bacterianas (fiebres tifoideas, salmonelosis, cólera, gastroenteritis), infecciones víricas (gastroenteritis, hepatitis A), parasitosis (coccidios, amebas, hidatidosis, cisticercosis, nematodosis), además de que suelen contener vectores y hospedadores (moluscos, crustáceos, artrópodos hematófagos) (De Miguel, 2005).

Con el fin de solucionar estos problemas de contaminación, recientemente se ha incrementado el interés en utilizar tecnologías alternativas e innovadoras que proporcionen a la sociedad aguas tratadas, libres de contaminantes, con bajos costos de mantenimiento y de operación (Ulate, 2002). Un ejemplo de estos sistemas de tratamiento de aguas son los humedales artificiales (HA). Los HA han despertado un mayor interés en las últimas décadas y representa una aceptada e interesante alternativa de tratamiento (Hadad y col., 2006).

Los HA consisten normalmente en un cultivo de plantas macrófitas dispuestas en lagunas, tanques o canales poco profundos. El efluente, normalmente después de recibir un

pretratamiento, pasa a través del humedal durante un tiempo de retención estimado, donde es tratado a través de varios procesos físico-químicos y bacteriológicos (Fernández, 2005).

El papel que juegan las plantas para remover nutrientes ha sido de gran interés (Brix, 1997), ya que la utilización de éste tipo de macrófitas en humedales se caracteriza por extraer diversos compuestos del agua, tales como el nitrógeno, el fósforo y los metales pesados solubles que son contaminantes comunes de AR (Rosales, 2002). Las macrófitas filtran los sólidos a través del entramado que forma su sistema radicular, estas actúan de barrera física para el flujo del AR, reducen la velocidad del influente, lo que favorece la floculación y la sedimentación de partículas en suspensión (Curt, 2005). Otro aspecto importante es que estas mismas plantas pueden servir de superficie de contacto o sustrato, en especial sus raíces, para la colonización de diversos grupos bacterianos (Rheinheimer, 1987).

Los microorganismos utilizan a las plantas simplemente como sustratos o se alimentan de sus productos metabólicos o principios nutritivos parcial o totalmente como comensales (Grant, y Long, 1989). Ellos toman la materia orgánica presente en las aguas de desecho y la transforman a nutrientes. Los microorganismos usan los detritos como fuente de carbono y les añaden nitrógeno y fósforo que obtienen del agua y los sedimentos circundantes (Curt, 2005). Ésta acumulación de los nutrientes en el material descompuesto ayuda a la retención de N y P en el humedal, donde permanecen disponibles para las plantas emergentes y de otros tipos (Smith y Smith, 2001). Los humedales artificiales constituyen delicados ecosistemas (conjunto de especies que interaccionan en un área determinada) donde la interacción de sus componentes favorece la eliminación de una gama de contaminantes, es por ello que son considerados tratamientos eficientes para la depuración de aguas residuales.

Dado que las plantas cumplen funciones importantes como fitodepuradoras en un humedal artificial, los cambios en su crecimiento (volumen y características en un momento o ciclo), logran influir en la remoción de contaminantes. El crecimiento de las plantas puede influir en la eficiencia del sistema (Hadad y col., 2006).

Por lo tanto, bajo este contexto se decidió evaluar la capacidad de las plantas para remover contaminantes en un humedal artificial instalado y en operación desde 2010 en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. La evaluación de la capacidad de las plantas se realizó a través de su tasa de crecimiento y la cuenta bacteriana de su rizosfera, así como identificar las relaciones entre plantas-microorganismos y sustrato, que provocan la remoción de contaminantes.

La tesis tiene la siguiente estructura. En el primer capítulo se desarrolla una breve introducción al tema. En el segundo capítulo, se describen los antecedentes generales acerca de los humedales artificiales, su clasificación, los mecanismos de eliminación de contaminantes, la importancia de las macrófitas y los microorganismos, características del crecimiento de las plantas y la relevancia de la demografía. En los capítulos 3, 4 y 5 se menciona la justificación, hipótesis, objetivos. En el capítulo 6 se describe la estrategia experimental, aquí se señalan cuatro etapas del trabajo: 1) determinación de la eficiencia de remoción de contaminantes, 2) crecimiento de las plantas (análisis demográfico), 3) cuenta bacteriana de la rizosfera, y 4) análisis de las posibles interacciones (planta, microorganismo y medio de soporte) que favorecieron a la remoción de contaminantes en el humedal artificial. En el séptimo capítulo, se describen los métodos y materiales utilizados para cubrir cada una de las etapas descritas anteriormente. En el octavo capítulo, se presenta el análisis de los resultados y la discusión de los mismos. Por último, se dan las conclusiones generales del trabajo y la bibliografía citada.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Sistemas de depuración de tratamiento de aguas residuales

Los sistemas de depuración de las aguas residuales consisten en una serie de procesos que tratan de contribuir a disminuir el impacto que se tiene al verter las aguas residuales crudas a los cuerpos receptores, a través de métodos físicos, químicos y biológicos (Ramahlo, 1991), y se clasifican en función del nivel de tratamiento aplicado en: pretratamiento; tratamientos primario, secundario y terciario.

El pretratamiento es la separación de sólidos en suspensión o materiales flotantes de gran tamaño y densidad. Los procesos iniciales en una depuradora se denominan pre-tratamientos, y pueden realizar las siguientes operaciones: desbaste y eliminación de arenas (materia inorgánica fácilmente sedimentables) y grasas. Estos procesos separan el material grueso existente en las aguas residuales (De Miguel, 2005).

El tratamiento primario, es la segunda etapa de un sistema de tratamiento de residuos líquidos incluye normalmente la separación de sólidos y material no disuelto (ej.: grasas, coloides), neutralización de pH, regulación de caudal y estabilización térmica (Ramahlo, 1991). Una parte del material se sedimenta o flota, separándolas del agua que se está depurando. Este tratamiento está basado en fenómenos físicos (De Miguel, 2005).

El tratamiento secundario utiliza normalmente sistemas biológicos habilitados con microorganismos aerobios o anaerobios, que descomponen la mayor parte de la materia orgánica y retienen entre un 20% y un 30% de los nutrientes, eliminando hasta el 75% del amonio contenido en las aguas residuales. Generalmente, consiste en un tratamiento biológico, en el que se produce la estabilización (oxidación) parcial de la materia orgánica no eliminada por los procesos anteriores y favoreciendo su eliminación en procesos posteriores (De Miguel, 2005).

El tratamiento terciario incluye métodos avanzados, complementarios o alternativos realizados para extraer materia orgánica suplementaria no eliminada anteriormente o para reducir nutrientes como N, P y sus compuestos: sales inorgánicas disueltas que se retienen por procesos de filtración, decantación o biológicos (Ramahlo, 1991). Dentro de los tratamientos terciarios no convencionales (de bajo costo), destaca el uso de humedales artificiales como depuradores de aguas residuales.

2.2. Humedales artificiales como depuradores de aguas residuales

La observación generalizada de la mejora en la calidad del agua en los humedales naturales llevó al desarrollo de los humedales artificiales, tratando de reproducir, en ecosistemas contruidos artificialmente, los beneficios de calidad del agua y hábitat pero con condiciones controladas sobre el régimen hidráulico del sistema (Rojas, 2005). Por tanto, los HA son sistemas de ingeniería, diseñados y contruidos para tomar ventaja de los procesos que ocurren en los humedales naturales, basados en una simbiosis biológica existente entre la vegetación y los microorganismos; y sus interacciones con la química del suelo con el principal objetivo de remover contaminantes de aguas residuales (Hua y col., 2008).

Se trata de una tecnología no convencional para la depuración de AR, por lo cual es de bajo impacto ambiental, bajo costo, operación y mantenimiento sencillo comparados con tecnologías convencionales. Preferentemente opera bajo un régimen “natural”, sin aporte de energía (Romero, 2004) eliminan sólidos en suspensión, materia orgánica, elementos eutrofizantes y microorganismos patógenos. Es una solución para el tratamiento de las AR en los pequeños núcleos de población con escasos recursos económicos, entre otros (Curt, 2005).

Sin embargo, se observan algunas desventajas como por ejemplo: (i) mayores requerimientos de área comparado con sistemas convencionales (Chang y col., 2012); (ii)

baja eficiencia en su funcionamiento durante el invierno en ciertas regiones por la muerte de las plantas hidrófitas, (iii) la operación puede requerir de dos a tres periodos de crecimiento antes de que se logren las eficiencias óptimas (Curt, 2005).

En el campo de las aplicaciones, los HA son usados frecuentemente para tratamiento de aguas residuales urbanas, industriales y agrícolas, para remoción de nutrientes de aguas domésticas (Kadlec, y Knight, 1996), aguas de ganado y también para la remoción de metales pesados (Maine y col., 2007).

2.2.1. Eliminación de nitrógeno y fósforo

La presencia de compuestos de nitrógeno y fósforo en un efluente contaminan la corriente de agua que los recibe causando eutrofización, y es necesario remover dichos compuestos en el tratamiento de AR. Los compuestos de nitrógeno se pueden eliminar de las aguas residuales por medio de tratamientos químicos, físicos y biológicos, pero el proceso biológico es todavía de los más económicos (Eckenfelder y Argaman, 1978). Los compuestos de nitrógeno se presentan en las corrientes residuales como nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-), amonio (NH_4^+), compuestos orgánicos solubles y materia orgánica en suspensión o en forma de partículas (Winkler, 1986).

Todas estas formas químicas, incluido el nitrógeno gaseoso (N_2), forman parte del ciclo del nitrógeno porque están interrelacionadas bioquímicamente (Winkler, 1986), de manera que los HA juegan un papel importante y son de gran influencia en los ciclos de los elementos (Mitsch y Gosselink, 2000) especialmente para los casos de los ciclos del nitrógeno y del fósforo. La concentración de nitrógeno total en el influente del humedal, procedente de un tratamiento primario, suele estar en el rango de 8 a 85 mg/L, correspondiendo en general los valores más bajos a los efluentes de un pre tratamiento de lagunaje, y los valores más altos a los de un pre tratamiento convencional. El nitrógeno amoniacal (1-40 mg/L) y el nitrógeno

orgánico son las dos formas químicas predominantes en el influente. En cambio, el nitrato suele presentarse en concentraciones muy bajas (0-1 mg/L), correspondiendo los valores más altos a los efluentes del pre tratamiento por lagunaje (Curt, 2005).

En relación a los procesos biológicos, o procesos en los que media la intervención de organismos vivos, es necesario mencionar los siguientes: amonificación, nitrificación, desnitrificación, fijación de nitrógeno y asimilación por las plantas (Curt, 2005). Diferentes investigadores (Huang y col., 2000; Mitsch y col., 2001) han demostrado el potencial de HA para reducir el nitrógeno de las aguas residuales a través de estos procesos biológicos.

El amonio es una de las principales formas del nitrógeno que se puede encontrar en la mayoría de AR, además juega un papel principal en la degradación, por lo tanto, es un elemento clave para establecer el diseño de un humedal para tratamiento de las aguas residuales (Kadlec y Knight, 1995). Aunque parte del amonio se asimila a la biomasa en los sistemas biológicos de tratamiento, el proceso biológico más significativo para la remoción del amonio es la oxidación bacteriana de amonio a nitritos y nitratos conocida como nitrificación. Los nitritos y nitratos producidos o presentes se pueden eliminar por reducción microbiológica a nitrógeno gaseoso mediante la desnitrificación (García y Corzo, 2008). La eliminación de nitrógeno mediante nitrificación-desnitrificación es más compleja, pero es viable con un diseño apropiado considerando condiciones de oxígeno y condiciones anóxicas (Brix, 1993).

El fósforo se encuentra en las AR ya sea disuelto o en partículas suspendidas en forma de: 1) ortofosfatos (fosfatos (PO_4^{3-}), fosfato monoácido (HPO_4^{2-}), fosfato ácido (H_2PO_4) y ácido fosfórico no ionizado (H_3PO_4) (Winkler, 1986), 2) los fosfatos condensados (polifosfatos) y 3) fosfatos en compuestos orgánicos (fósforo orgánico). El rango de valores de fósforo total en

el influente del humedal es de 3-15 mg/L, en su mayoría como ortofosfatos (2-12 mg/L) (Curt, 2005).

El principal mecanismo de remoción de fósforo de las AR necesariamente está basado en la acumulación en sedimentos y biomasa (Curt, 2005). El fósforo que está en forma de partículas (sólidos) puede depositarse por sedimentación en el fondo del humedal, o bien quedar atrapado entre las raíces de las plantas y adherirse en la superficie que forman las biopelículas, y desde allí quedar susceptible a sufrir otros procesos de tipo biológico. Con respecto al fósforo soluble, hay que indicar que su dinámica es compleja, e incluye procesos físico-químicos de adsorción/absorción, intercambio, precipitación, solubilización y redox. La adsorción/absorción se efectúa sobre biopelículas en raíces de plantas y sobre los sedimentos del humedal. Los fosfatos pueden formar precipitados insolubles de hierro, calcio y aluminio, o ser adsorbidos por las arcillas, materia orgánica y algunos compuestos inorgánicos (Curt, 2005).

El fósforo orgánico disuelto, suspendido en partículas e insoluble debe ser transformado en fósforo inorgánico soluble para que pueda ser asimilado por las plantas. En el humedal estas transformaciones pueden ocurrir por la intervención de microorganismos que estén suspendidos y en biopelículas sobre superficies de plantas emergentes y en los sedimentos. Una vez solubilizado, puede ser asimilado por plantas y otros organismos como bacterias y algas, y por tanto, ser temporalmente retirado del agua (Curt, 2005).

Algunos autores reportan que la cantidad de fósforo en el efluente, es prácticamente igual que en el influente en la mayoría de los casos. La cantidad de fósforo asimilado por la vegetación o fijada al sedimento es pequeña con relación a la aportada por el agua residual (Gómez y col., 2001). La remoción de fósforo en la mayoría de los humedales no es muy eficaz debido a las limitadas oportunidades de contacto entre el agua residual y el terreno.

Para aumentar la remoción de fósforo, se necesitará un área de terreno muy grande o métodos de tratamiento alternativos (Lara, 1999).

En general, se estima que la cantidad neta de nutrientes que extraen las plantas emergentes oscila entre 1.8 y 18 (g/m²/año) de fósforo y 12 - 120 (g/m²/año) de nitrógeno (Reedy y DeBusk, 1985), esta extracción sucede durante el periodo de crecimiento de las plantas. Para contener con estos compuestos que contaminan las aguas domésticas, los HA están provistos de los diversos componentes que se describen a continuación.

2.2.2. Componentes principales de los humedales artificiales

Los principales componentes que influyen sobre el proceso depurador que se lleva a efecto en los humedales construidos son: (i) agua residual, es la fase móvil dentro del humedal, la encargada del transporte de los contaminantes y en la que se produce la mayoría de las reacciones responsables de la depuración; (ii) suelo y/o medio de soporte, actúan como barrera primaria de tamizado, como estructura de soporte para las plantas y como superficie para el crecimiento y desarrollo de la masa microbiana; (iii) vegetación, proporciona condiciones para la filtración, el área superficial para el crecimiento de la biopelícula microbiana activa, facilita la filtración y la adsorción de los constituyentes del agua residual que se deben incorporar a los ciclos de asimilación de nutrientes y carbono, actúan como canales de transporte de gases como CO₂ y CH₄, entre otros hacia la atmósfera y O₂ hacia el seno del lecho, toman el carbono, nutrientes, y elementos traza y los incorporan a los tejidos de la planta; (iv) microorganismos, muchas de las transformaciones de los nutrientes y del carbono son debidas al metabolismo microbiano y están directamente relacionadas con el crecimiento de los microorganismos. Éstos incluyen, principalmente, bacterias, hongos, y protozoarios. Con estos componentes se han desarrollado diferentes tipos de humedales artificiales.

2.2.3. Tipos de humedales artificiales

Los humedales artificiales consisten en estanques o canales poco profundas (< 1 m), se encuentran revestidos mediante una geomembrana para prevenir la infiltración, con suelo u otro medio que soporte la vegetación emergente y al agua con poca profundidad fluyendo a baja velocidad. Poseen estructuras de entrada y salida para asegurar una distribución uniforme del agua residual aplicada y su recolección (García y Corzo, 2008).

Un aspecto diferencial con respecto a los humedales naturales, son el hecho de que el flujo de agua es más estable y no está sometido necesariamente a fluctuaciones estacionales, el tiempo de retención está controlado por el operador, y la carga contaminante es más elevada. Sin embargo, y a semejanza de lo que ocurre en los humedales naturales, la influencia de los parámetros climáticos como precipitación, radiación, temperatura es también muy importante.

Se han propuesto diversos diseños de HA a lo largo de su desarrollo tecnológico. Las variables de diferenciación pueden hacer referencia al sustrato o lecho utilizado, la vegetación acuática adecuada, ya sea emergente, sumergida, o flotante según el sistema utilizado y al sistema de flujo del agua residual (Fernández, 2005), de este se derivan dos subtipos:

- a) Humedales de flujo superficial (HFS).** Son los humedales artificiales de flujo libre (Figura 1). Presentan una lámina de agua no muy profunda (<1 m) que fluye por encima del sustrato, está expuesta directamente a la atmósfera y el tratamiento se produce durante la circulación del agua a través de los tallos y raíces de las macrofitas, se les aplica agua residual pretratada en forma continua (García y Corzo, 2008).

b) Humedales de flujo subsuperficial (HFSS). Se diseñan con el objeto de proporcionar tratamiento secundario o avanzado y consisten, como se muestra en la Figura 2, en canales rellenos de material granular donde el agua se mantiene por debajo de la superficie de la grava y se encuentra en contacto con los rizomas y las raíces de las macrofitas. El medio granular sirve como filtro donde su porosidad tiene una relación directa con la degradación microbiana y permite una mayor tasa de reacción de manera que genera los mismos rendimientos con un área menor. Dentro de este tipo de humedales se han desarrollado, a su vez, dos modalidades diferentes: humedales con flujo vertical y humedales con flujo horizontal. (Vymazal, 2005). El tipo de humedal esta en funcion del sentido de flujo.

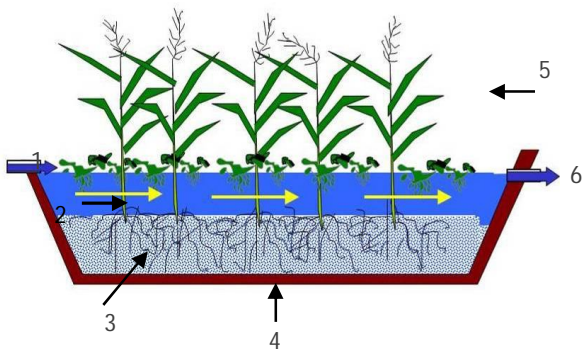


Figura 1. Esquema general del funcionamiento y elementos de un humedal artificial de flujo superficial. Estructuras de entrada, salida de agua y representación del flujo de agua. Tubería de entrada (1), lámina de agua expuesta (2), arena (3), geomembrana (4), plantas hidrófitas (5) y salida de agua (6).

Humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical (HFV): el agua circula verticalmente a través del sustrato de manera intermitente. Se suelen incluir chimeneas de aireación para favorecer las condiciones aerobias. Se pueden desarrollar procesos de nitrificación, entre otros (Figura 2A).

Humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal (HFH): el agua circula horizontalmente a través del sustrato de manera continua. Se favorecen las condiciones anaerobias al mantenerse el nivel del agua por debajo del sustrato. Se suelen desarrollar procesos de desnitrificación, entre otros (Figura 2B).

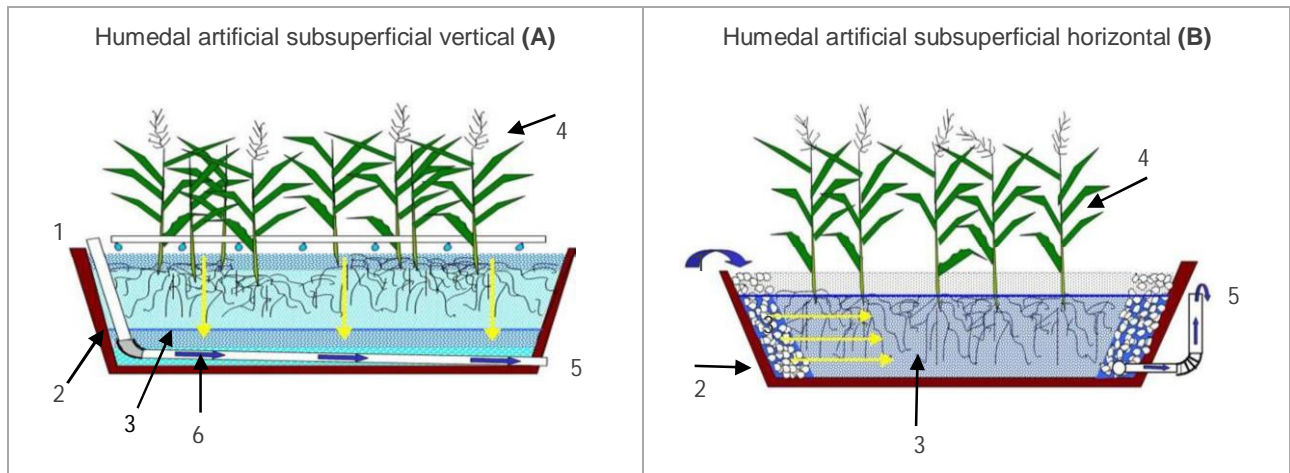


Figura 2. Esquema general de los tipos de humedales artificiales de flujo subsuperficial vertical (A) y horizontal (B). Se observa el funcionamiento, elementos que los componen y representación del flujo de agua. Entrada de agua (1), geomembrana (2), medio filtrante (3), hidrófitas (4), salida de agua (5), tubería interna (6).

2.3. Función depuradora de los humedales artificiales

Los humedales artificiales remueven los contaminantes de las aguas residuales a través de procesos físicos químicos y biológicos. Los principales mecanismos de remoción son de dos tipos: separaciones líquido/sólido y transformaciones de los componentes del agua residual. En el primer grupo de mecanismos se incluyen los procesos de sedimentación, filtración, absorción, adsorción, intercambio iónico, y lixiviación. En el segundo, reacciones de oxidación/reducción, ácido/base, precipitación y reacciones bioquímicas en anaerobiosis/aerobiosis. De manera global en la Tabla 1, se resumen los principales mecanismos de depuración de las aguas residuales en humedales artificiales.

Sólidos suspendidos. Se denominan sólidos en suspensión a aquellos sólidos que quedan retenidos en un filtro estandarizado de tamaño de poro 1.2 μm . La eliminación de sólidos se realiza a través de los procesos de sedimentación, floculación y adsorción, que tienen lugar entre el sustrato y las raíces. La sedimentación de sólidos ocurre por efecto de la gravedad.

Materia orgánica. La remoción puede ser física y biológica. La materia orgánica está en forma de partículas, coloides, supracoloides o disuelta. En las tres primeras la eliminación es física por mecanismos de floculación y sedimentación. Además, pueden darse procesos de adsorción y absorción en la materia orgánica disuelta. En los procesos de remoción biológica intervienen organismos vivos micro y macroscópicos e influyen de manera drástica factores como la disponibilidad de oxígeno, el pH del medio, y la temperatura. En estos procesos se pueden dar reacciones de oxidación/reducción, hidrólisis y fotólisis, que conducen a la biodegradación de la materia orgánica. Los microorganismos que se desarrollan pueden ser aerobios (con presencia de O₂) o anaerobios (en ausencia de O₂).

Tabla 1. Procesos que contribuyen a la depuración de aguas residuales en: humedales de flujo libre (**HFS**); humedales de flujo subsuperficial horizontal (**HFH**); humedales de flujo subsuperficial vertical (**HFV**) (Fuente: Arias y Brix, 2003).

Contaminante	MECANISMO DE ELIMINACIÓN QUE OCURRE EN UN HUMEDAL ARTIFICIAL		
	HFS	HFSS	HFV
Materia orgánica	Degradación bacteriana aerobia, facultativa y anaerobia que crece en la superficie de las plantas y sobre los detritos. La DBO particulada se elimina por adsorción, filtración y sedimentación	Degradación bacteriana por intervención de bacterias aerobias, facultativas y anaerobias adheridas a las superficies de las plantas y los detritos del medio granular	Degradación bacteriana por medio de bacterias facultativas, aerobias y anaeróbicas adheridas a las superficies de las plantas y detritos
Materia en suspensión		Filtración y sedimentación	
Nitrógeno	Nitrificación/desnitrificación, amonificación, absorción por plantas y volatilización		
Fósforo	Sedimentación y asimilación por plantas y microorganismos	Filtración, sedimentación, adsorción y asimilación por plantas y microorganismos	Fijación, sedimentación y adsorción, asimilación por plantas y microorganismos
Metales pesados	Absorción por plantas, adsorción por superficie de detritos y por sedimentación	Absorción a las raíces de las plantas y en los detritos, sedimentación. Intercambio catiónico	Absorción a las raíces de las plantas, sedimentación y fijación. Intercambio catiónico
Patógenos	Muerte natural, depredación, sedimentación, secreción de antibióticos desde la raíz de las plantas	Muerte natural, depredación, sedimentación, secreción de antibióticos desde la raíz de las plantas	Muerte natural, depredación, sedimentación, secreción de antibióticos desde la raíz de las plantas

Nitrógeno. En relación a los procesos biológicos, o procesos en los que intervienen organismo vivos, hay que mencionar: amonificación, nitrificación, desnitrificación, fijación de nitrógeno y asimilación por las plantas. Dentro de los procesos físicos están la filtración, floculación y sedimentación que ocurren principalmente en la fracción de nitrógeno orgánico, ya que, como constituyente de materia orgánica, está asociado con sólidos en suspensión. Además, en las biopelículas que existen asociadas a las plantas emergentes y a restos vegetales, se dan procesos de sorción de nitrógeno.

Fósforo. El principal mecanismo de remoción de fósforo de las aguas residuales necesariamente está basado en la acumulación en sedimentos mediante fenómenos de adsorción sobre los componentes del sustrato. El mecanismo biológico se debe a la absorción directa por las plantas.

Patógenos. La eliminación de patógenos se obtiene mediante la adsorción sobre partículas del sustrato, la toxicidad producida por las raíces de las plantas y la acción depredadora de bacteriófagos y protozoos.

Metales pesados. Los procesos biológicos de remoción de metales se basan en la extracción por plantas, algas y bacterias. Los procesos de remoción de metales de tipo físico-químico son: el intercambio catiónico y formación de quelatos con el sustrato o con los sedimentos, la unión con materiales húmicos y la precipitación de sales insolubles como sulfatos o carbonatos.

2.3.1. Papel de las macrófitas en los humedales artificiales

Las macrófitas en los HA utilizados como sistemas de tratamiento de AR, desempeñan varios papeles en el buen funcionamiento del sistema, tratándose tanto de actuaciones activas derivadas de la actividad fisiológica de la vegetación como actuaciones pasivas, en

las que no intervienen éstos (Pérez-Olmedilla y Rojo, 2000). En primer lugar pueden ejercer funciones de desbaste, reteniendo los sólidos gruesos arrastrados por el agua residual, reducen la velocidad del influente, lo que favorece la floculación y la sedimentación de partículas en suspensión (Coleman y col., 2001). Por otro lado, las partes de las plantas que están en contacto con el influente, actúan como soporte pasivo de microorganismos y crean en sus proximidades ambientes propicios para el desarrollo de éstos; una enorme área superficial para el desarrollo de 'bio-películas', en las que crecen adheridas bacterias y protozoos (Rodríguez-Monroy y Durán de Bazúa, 2006).

Con respecto a las funciones que desempeñan las macrófitas activamente se destaca: el intercambio gaseoso desde las hojas hacia la zona radicular en contacto con el agua residual, y la extracción de contaminantes del agua (Pérez-Olmedilla y Rojo, 2000).

Varios autores (Thorén y col., 2004; Hadad y col., 2006; Ko y col., 2011) reportan la importancia de la vegetación en la eliminación de nutrientes y otros contaminantes del agua, atribuyen que la remoción está estrictamente relacionada con factores intrínsecos de la planta. Las plantas acuáticas son muy productivas, por lo que la extracción de nutrientes por incorporación al tejido vegetal, puede llegar a ser muy significativa. Dentro de los elementos indispensables para la vida de las macrófitas se encuentra el nitrógeno, fósforo, potasio, cuya proporción en la composición de la planta es del orden de 1-2%, 0.1-1% y 0.5-1% del peso seco de la biomasa respectivamente. Por lo tanto las macrófitas pueden ejercer una depuración directa por la absorción de iones contaminantes, tanto metales pesados como aniones eutrofizantes (nitratos y fosfatos principalmente) cómo macronutrientes (N, P, K), micronutrientes (S, Ca, Mg) y oligoelementos (Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo) que se encuentran en proporciones muy pequeñas en sus tejidos.

Tanto las raíces como las partes aéreas de las plantas necesitan compuestos nitrogenados, por lo que utilizan como fuente de nitrógeno principalmente nitratos y amonio, y, en algunos casos, puede ser el nitrógeno atmosférico el que se aprovecha. La absorción de nitratos (NO_3^-), esta mediada por un mecanismo de simporte (paso de una sustancia de interés para la célula como NO_3^- pero que debe "entrar" acompañada de otra molécula como el ión hidronio), por cada mol de nitrato que entra a través de la membrana celular, son necesarios 2 mol de ión hidronio (H^+) y el gasto de energía correspondiente a un ATP y un mol de ión H^+ . Dentro de la célula vegetal los nitratos se reducen en las vacuolas donde mediante la nitrato reductasa se transforma a nitrito y finalmente a amonio. El amonio finalmente seguirá la ruta de formación de aminoácidos y proteínas y otros compuestos nitrogenados (Salisbury y Ross, 1994).

2.3.2. Plantas de uso común en humedales artificiales

De acuerdo a Trelaghi (2002) las características de las plantas macrófitas que las hacen convenientes para ser utilizadas en los procesos de fitodepuración son las siguientes:

- a) Capacidad de desarrollo en suelos sumergidos o saturados con partículas de diferentes tamaños.
- b) Resistencia a altas cargas orgánicas y posibles sustancias tóxicas presentes en los desechos.
- c) Sistema de raíces muy desarrollado.
- d) Presencia de un tejido, ausente en las plantas terrestres, y definido como parénquima aéreo, que permite la presencia de oxígeno dentro de las partes sumergidas.

Un tipo especial de macrófitas son las plantas helófitas emergentes enraizadas al fondo, plantas capaces de arraigar en suelos anegados, con una parte sumergida y otra aérea emergente. Las helófitas de uso común en los HA son los carrizos (*Phragmites*), espadaña (*Typhas*) (Brix y col., 2001), juncos (*Juncus*), Scirpus (Lahora, 2003; Mena, 2000) y papiros (*Cyperus*), entre otros.

2.3.3. Planta en estudio: *Cyperus papyrus* L.

El papiro (*Cyperus papyrus*) es un especie de planta palustre, del género *Cyperus*, de la familia de las ciperáceas (Figura 3). Los papiros caracterizan a la mayoría de las zonas de humedales tropicales de África oriental y central, se encuentran en gran parte, en pantanos, en lagos poco profundos, y a lo largo de riberas de los ríos en toda África. La vegetación de papiros es altamente productiva bajo temperaturas favorables, régimen hidrológico, disponibilidad de nutrientes. Esta especie vegetal se encuentran en ambientes calurosos y secos, requieren altas cantidades de luz y agua, y ha sido reportada como eficiente en la utilización de nutrientes (Saunders y col. 2007). *Cyperus papyrus* tiene un potencial para extraer nutrientes de las aguas residuales debido a la delgada capa de raíces adventicias que permite la interacción del agua con la planta. Durante su crecimiento los papiros absorben nutrientes del agua y sedimentos especialmente nitrógeno y fósforo (Kyambadde y col., 2004). Durante la senescencia, las plantas de papiro tienden a acumular nutrientes en la zona de sus raíces y la descomposición de los papiros libera nutrientes en el agua (Asaeda y col., 2002). Aproximadamente un tercio de la biomasa muerta se deposita de nuevo en el humedal, el resto se pierde con la elución, la lluvia y la descomposición. La zona rizosférica de *C. papyrus* ha sido reportada como la mejor colonizada por las bacterias fijadoras de N₂ y se han registrado altas tasas de fijación de nitrógeno en el sistema intacto de raíces de papiros (Mwaura, 1981).

Descripción morfológica. Planta herbácea perenne provista de un grueso rizoma rastrero y con tallos de 3-5 m de altura. Robusto, liso, trígono en la parte superior donde en el ápice sostienen una umbela de hojas obiongolanceoladas y cartilaginosas; y rodeada en la base con vainas coriáceas, acuminadas grandes. Umbela de numerosos filamentos filiformes de 10-45 cm de largo, cada una rodeada en la base de una estrecha cubierta color marrón,

cilíndricas, de hasta 3 cm de largo. Umbelas secundarias 3-5 rayos (reunidas en pequeñas espigas), con el apoyo de brácteas estrechas y alargadas. Puntas de 1-2 cm de largo, 6-10 mm de ancho. Espiguillas 6-10 mm de largo, 1 mm de ancho, 6-16 flores. Tiene 50 a 100 espiguillas, cuando maduran, se forma un arquenio (fruto seco, unseminado, con semilla pegada a la pared del fruto), fruto trígono (semilla) (Tiner, 1999).



Figura 3. Fotografías de *Cyperus papyrus* L. en el HA. Planta completa, se distingue su crecimiento modular (izquierda). Umbela que soporta las inflorescencias (derecha arriba), vástagos juveniles y muertos (derecha abajo).

Vive sobre terrenos arenosos y colmados de humedad, con abundante insolación durante todo el año, pudiendo tener el pie de su tronco totalmente sumergido en el agua. El papiro se multiplica principalmente a través de sus rizomas, de las que brotan nuevos troncos a intervalos regulares. Produce también semillas que pueden ser transportadas por el viento. Tolerancia temperaturas de 20 a 33 °C, y pH entre 6 y 8.5. Dado que *Cyperus papyrus* presenta crecimiento modular, a continuación se describen conceptos básicos de esta característica (Tiner, 1999).

2.3.4. El crecimiento de las plantas modulares

Casi todas las especies como individuos atraviesan una serie de etapas a lo largo de su ciclo vital en la naturaleza, por su forma de crecimiento, existen los organismos unitarios y modulares. En los organismos unitarios la forma, el desarrollo, el crecimiento y la longevidad son predecibles y vienen determinados desde la concepción, el cigoto formado mediante la reproducción sexual, se convierte en un organismo genéticamente único. En los organismos modulares ni la sucesión temporal de las fases ni la forma son predecibles. El cigoto se desarrolla produciendo una unidad de construcción (el módulo, por ejemplo una hoja) que da lugar más tarde a otros módulos igual que el primero. Los individuos se hallan formados por un número variable de dichos módulos y su programa de desarrollo se encuentra fuertemente determinado por su interacción con el medio ambiente. El producto casi siempre es ramificado (Begon y col., 1999).

Generalmente se puede dividir a los organismos que concentran sus módulos en el crecimiento vertical y en aquellos que extienden sus módulos lateralmente sobre el sustrato o dentro de él. Muchas plantas producen nuevos sistemas asociados a la expansión lateral del tallo, se trata de las plantas rizomatosas y estaloníferas. Los módulos con el potencial para una existencia separada reciben el nombre de "rametos". Las especies modulares (clonales) forman más de un individuo con la misma composición genética, conocidos como gentos, lo que dificulta la definición de individuo (Mandujano y col., 2001).

En los organismos modulares el potencial para generar diferencias individuales es superior a los organismos unitarios, debido a la plasticidad genotípica que presentan ya que cada parte del vegetal tiende a tener distintas tasas de natalidad y mortalidad. La muerte se produce a menudo a causa de un aumento excesivo del tamaño, de una enfermedad, de carencia de nutrientes, o de cambios ambientales, más que a consecuencia de una senescencia

programada. A nivel modular las cosas son diferentes. Las raíces, las yemas, las flores y todos los módulos de los organismos modulares atraviesan fases de juventud, madurez, senescencia y muerte. Por tanto, el cuerpo de un organismo modular individual posee una estructura de edades: está compuesto por partes verdes y en desarrollo, con un funcionamiento activo y por partes senescentes.

Si se pretende estudiar la natalidad, la mortalidad y el crecimiento modular, como análisis poblacional, es indispensable cuantificarlos. Muchos estudios de poblaciones se interesan no sólo por la natalidad y mortalidad si no por sus consecuencias como el número total de individuos presentes y por la manera en que este número varía con el tiempo. Es habitual utilizar el término de población para describir un grupo de individuos de una especie que se está investigando. Se entenderá a las poblaciones como un conjunto de individuos de la misma especie que comparten un espacio y un tiempo determinados y se reproducen entre sí (Begon y col., 1999). En general, las poblaciones son analizadas por estudios demográficos.

La demografía es la ciencia que tiene como objetivo el estudio de las poblaciones y que trata su dimensión, estructura, evolución y características generales, considerados desde un punto de vista cuantitativo. Algunas contribuciones de estudios demográficos son: i) Permite ver si las características de la población cambian, analiza su volumen, crecimiento

y características en un momento o ciclo, ii) Estudia la estructura (sexo y edad) y dinámica (variación en el tiempo) de las poblaciones, iii) Es posible obtener información sobre el impacto de diversas actividades humanas sobre la flora y la fauna, iv) es posible conocer, prever y reaccionar a los impactos ambientales, control de plagas, conservación de especies, apreciar fenómenos evolutivos.

El objetivo de las dinámicas poblacionales es obtener proyecciones, la cuantificación de una población puede realizarse mediante las medidas de la adecuación (r = tasa intrínseca de crecimiento, λ = tasa finita de crecimiento y R_0 = crecimiento per cápita) y a través de parámetros demográficos como natalidad, mortalidad, tasa intrínseca de crecimiento (r) o capacidad de carga del hábitat (K).

2.3.5. El papel de las bacterias en la depuración de las aguas residuales

Hasta ahora, se creía que gran parte del poder depurador de los humedales se debía a las plantas; sin embargo, recientes estudios que comparan el rendimiento de humedales plantados y no plantados, indican que se ha sobreestimado la capacidad de transporte de oxígeno de las hidrófitas hacia las zonas sumergidas (U.S. Environmental Protection Agency, 2000). Otros estudios, realizados en condiciones de laboratorio, indican que el oxígeno transportado por las hidrófitas puede ser utilizado por los microorganismos que crecen sobre ellos en forma de biopelícula. En las capas de esta biopelícula más próximas a los rizomas tienen lugar los procesos aerobios, mientras que en las capas más alejadas, al no difundir el oxígeno los procesos serían predominantemente anaerobios, esta situación teóricamente permitirá el proceso de nitrificación y desnitrificación (Brix, 1997). La magnitud del efecto oxigenador de las macrofitas acuáticas ha sido muy debatido en la comunidad científica, entre otras razones por las dificultades experimentales y por la incertidumbre de la extrapolación. Por ejemplo, se indica que *Phragmites* puede liberar hasta 4.3 ($\text{gO}_2/\text{m}^2\cdot\text{día}$) y las plantas flotantes de 0.25 a 9.6 ($\text{gO}_2/\text{m}^2\cdot\text{día}$).

Sobre la superficie de numerosas plantas, en especial sobre sus raíces los microorganismos pueden colonizarlas, al menos temporalmente. Los microorganismos presentes en las partes superficiales se alimentan principalmente de excreciones de las plantas (Rheinheimer, 1987).

Las bacterias intervienen en procesos esenciales para el buen comportamiento del sistema. Así pues, son responsables de la degradación de la materia orgánica y de la remoción de la contaminación orgánica por intervenir en la liberación de compuestos gaseosos del carbono hacia la atmósfera (anhídrido carbónico, metano). También desempeñan una función esencial en el ciclo del nitrógeno, ya que hidrolizan el nitrógeno orgánico y lo transforman hacia formas asimilables para las plantas (ión amonio y nitrato); además, la actividad de ciertas bacterias anaerobias conduce a la desnitrificación, que consiste en la reducción del ion nitrato a nitrógeno gaseoso, que se libera hacia la atmósfera. La disponibilidad del fósforo para las plantas, que es otro elemento esencial para su nutrición, también depende en cierta medida de la actividad microbiana, al transformar formas insolubles de fósforo a formas solubles fácilmente asimilables por las plantas. Otros procesos en los que participan bacterias son la reducción de compuestos de azufre a sulfuros y la oxidación de sulfuros (Curt, 2005). A medida que progresa la autodepuración de las aguas, se modifica también la población microbiana, al haber menor cantidad de materia orgánica hay menor proporción de bacterias y con esta, igualmente el déficit de O_2 a consecuencia de la reducción paulatina de consumo (Rheinheimer, 1987).

Según Kadlec y Knight (1995) los grupos más importantes de bacterias que intervienen en los humedales para la depuración del agua se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Principales grupos bacterianos de los humedales artificiales. Fuente: Kadlec y Knigh (1995).

Grupo	Generos representativos	Características
Bacterias fototróficas	<i>Rhodospirillum, Chlorobium</i>	Miembros de este genero son no simbioticos fijadores de N
Bacterias deslizantes	<i>Beggiatoa, Flexibacter, Thiothrix</i>	Bacterias filamentosas encontradas en lodos
Bacterias filamentosas	<i>Sphaerotilus</i>	Bacterias filamentosas comunes en aguas contaminadas
Bacterias de superficies	<i>Caulobacter, Hyphomicrobium</i>	Bacterias acuáticas que crecen en superficies
Bacilos y cocos negativos y aerobios	<i>Pseudomonas, Zooglea, Azotobacter, Rhizobium</i>	<i>Pseudomona</i> sp desnitrifica el NO_2 a N_2 bajo condiciones anaerobias y puede oxidar el gas hidrogeno. <i>Azotobacter</i> sp es fijador no simbiotico de N y <i>Rhizobium</i> sp son bacterias simbioticas fijadoras de N
Bacilos negativos anaerobios facultativos	<i>Escheriquia, Klebsiella, Enterobacter, Aeromonas</i>	<i>Klebsirilla</i> y <i>enterobacter</i> son fijadores de N no simbioticos
Bacterias Gram negativas anaerobias	<i>Desulfovibrio</i>	Reducen el sulfato a hidrógeno de sulfato
Bacterias quimiolitotroficas	<i>Nitrosomonas, Nitrobacter, Thiobacillus</i>	<i>Nitrosomonas</i> catalizan la conversion de NH_4 a NO_2 , <i>nitrobacter</i> oxida el NO_2 a NO_3
Bacterias productoras de metano	<i>Metanobacterium</i>	Bacterias anaerobias de sedimentos tranasforman el carbono a metano
Cocos gram positivos	<i>Streptococcus</i>	Bacterias productoras de algunas infecciones
Bacilos productores de endosporas y cocos	<i>Clostridium, Bacilus</i>	Algunos <i>clostridium</i> spp son fijadores de nitrógeno no simbioticos
Actinomicetos y organismos relacionados	<i>Nocardia, Frankia, Streptomyces</i>	Bacterias filamentosas que estan tanto en el agua como en el suelo de los humedales, son fijadores de nitrógeno

3. JUSTIFICACIÓN

A pesar del amplio conocimiento de los efectos de la contaminación sobre la salud y el medioambiente, la disposición final de las AR, en algunos casos, se realiza sin ningún tipo de tratamiento; en unos, debido al alto costo que implican las tecnologías convencionales y avanzadas, en otros, debido a la falta de conciencia en cuanto al peligro que esto representa para la naturaleza y, por tanto, para la humanidad. Por ello, resulta indispensable la búsqueda de técnicas de bajo costo de inversión y bajo consumo energético que solucionen de forma óptima este problema (Mena, 2000).

En el caso particular de este proyecto, con el uso de humedales artificiales se pretende principalmente contribuir a mejorar el tratamiento de las aguas residuales de la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana mediante el desarrollo de estudios relacionados con las especies vegetales. Los estudios buscan, por una parte, generar información científica que permita contribuir a la toma de decisiones para la aplicación de humedales artificiales como depuradores de aguas residuales, y por otra parte se pretende aportar información que ayude a la optimización en la aplicación de estos tratamientos en nuestra Universidad.

4. HIPÓTESIS

La vegetación del humedal artificial tiene la capacidad para depurar las aguas residuales pretratadas que produce la UAM-I.

5. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la eficiencia de la vegetación presente en un humedal artificial para remover los contaminantes contenidos en el agua residual pre-tratada y su relación con el crecimiento vegetal y la cuenta bacteriana de la rizosfera en un ciclo anual.

Objetivos particulares

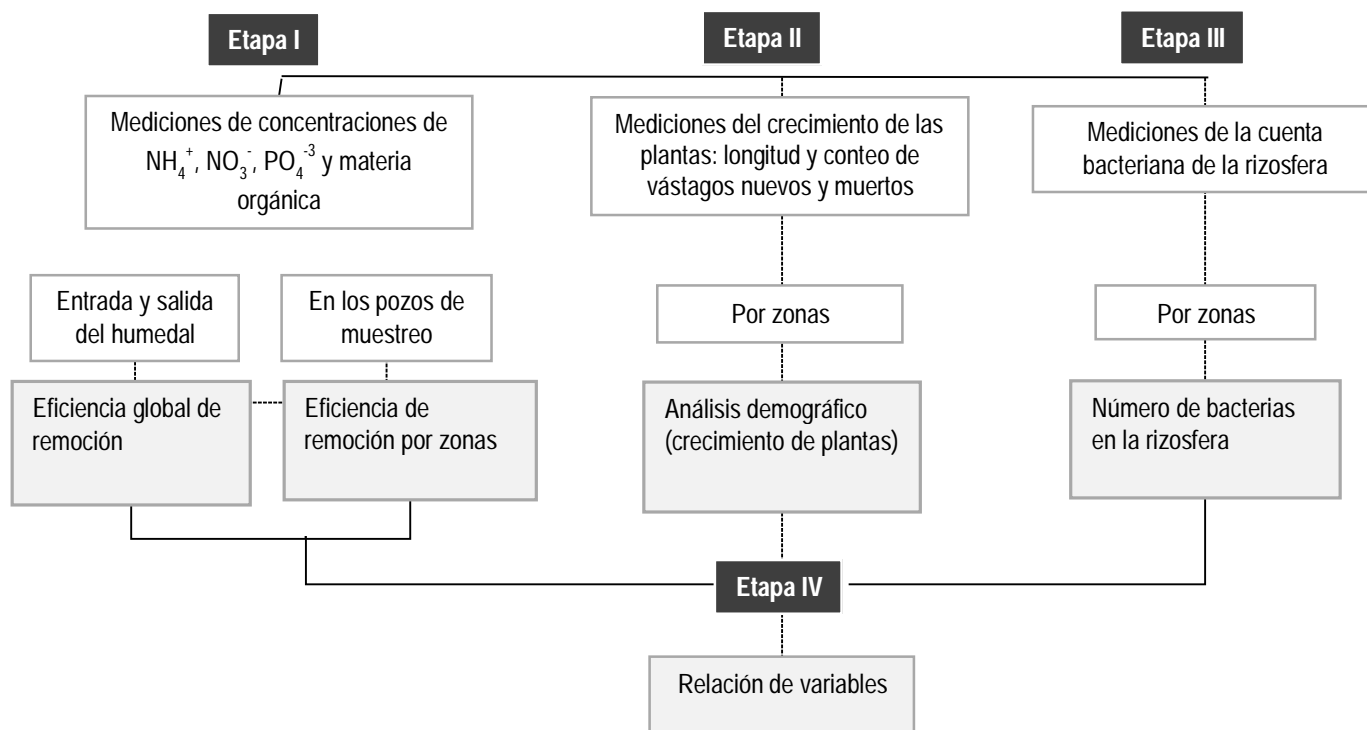
- a) Cuantificar concentración en la entrada, salida y a lo largo del humedal de los contaminantes disueltos: nitrógeno amoniacal (NH_4^+), nitrato (NO_3^-), fosfato (PO_4^{3-}) y materia orgánica (DQO).
- b) Determinar el crecimiento de *Cyperus papyrus* a lo largo del humedal a través de un estudio demográfico.
- c) Registrar la cuenta bacteriana de la rizosfera a lo largo del humedal.
- d) Relacionar la remoción de contaminantes con el crecimiento de las plantas y la cuenta bacteriana de la rizosfera.

6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

El trabajo experimental se organizó en cuatro etapas: en la 1a se evaluó la remoción de contaminantes en un HA, global y por zonas. En la 2a, se estimó el crecimiento de las plantas a través de un análisis demográfico. En la 3a, se determinó la cuenta bacteriana de la rizosfera. Finalmente en la 4a se analizó la relación de las variables. Las tres primeras etapas se desarrollaron en paralelo en un HA, al término de éstas, se realizó la 4a etapa con la integración de los resultados. Las evaluaciones fueron realizadas durante un año de monitoreo. Las variables de respuesta fueron: remoción de contaminantes (NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} y DQO), tasa de crecimiento de las plantas (vertical y horizontal) y producción de nuevos vástagos, cuenta bacteriana de la rizosfera y relación de las variables. En la Figura 4, se muestra de manera esquemática la estrategia general del trabajo.

Figura 4. Estrategia general de las cuatro etapas experimentales. **Etapa 1:** Remoción de contaminantes en un humedal artificial (global y por zonas), **Etapa 2;** análisis demográfico de las plantas (en cada zona), **Etapa 3;** Cuenta bacteriana de la rizosfera (por zonas) y **Etapa 4;** relación de variables.

ESTRATEGIA DE TRABAJO



7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Humedal artificial en estudio

7.1.1. Descripción y características

El HA en estudio es de tipo subsuperficial horizontal, su área superficial es de 200 m², con dimensiones de 50 x 6 x 2 m (con forma trapezoidal), tiene un volumen de 160 m³, y un lecho rocoso de 0.8 m de profundidad ocupados por tezontle con una porosidad de 40% y un espejo de agua permanente de 0.5 m. Las plantas que se desarrollan en el HA son *Cyperus papyrus* y *Phragmites australis*. Como se puede apreciar en la Figura 5, en la zona próxima a la entrada (lado derecho) se encuentran ubicados los *Phragmites australis* y posterior a estos, se encuentran distribuidos los *Cyperus* hasta el final del HA (lado izquierdo).



Figura 5. Humedal artificial de la UAM-I. Distribución de las plantas.

7.1.2. Proceso de depuración en el humedal artificial en estudio

El humedal artificial forma parte de la Planta Piloto 9 (PP9) de la UAM-Iztapalapa, donde se lleva a cabo el tratamiento de aguas residuales generadas por la comunidad del *campus* universitario y tiene como objetivo reutilizar el agua tratada para riego de áreas verdes de la misma Universidad. En una primer etapa el agua pasa a través de un reactor de lecho de lodos anaerobios de flujo ascendente (UASB: upflow anaerobic sludge blanket), como segunda etapa un tratamiento con el HA (Figura 6). El HA es alimentado en forma continua, por gravedad, desde un tanque elevado, con el efluente proveniente del UASB.

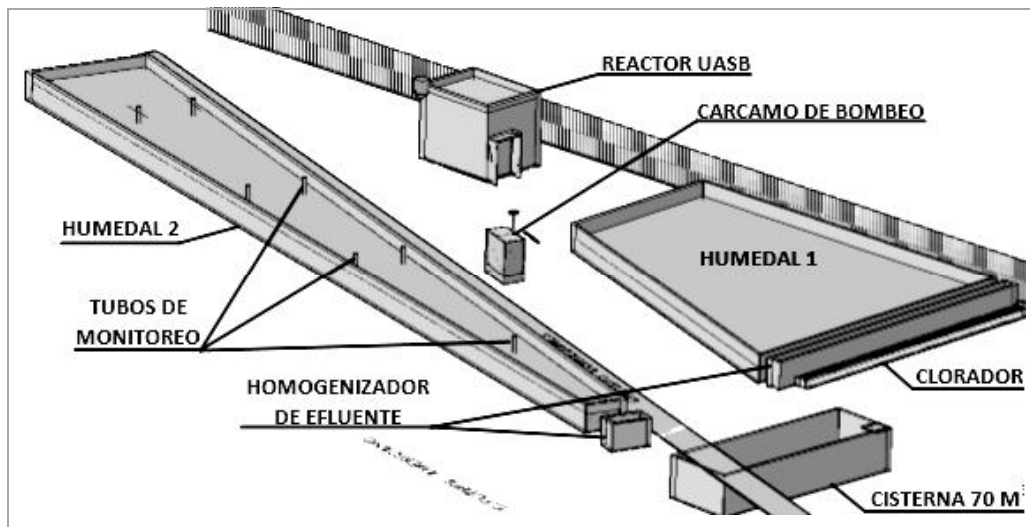


Figura 6. Esquema general de la planta de tratamiento de aguas de la UAM-I. La cual se compone de un cárcamo de bombeo donde se recibe el agua residual generada en la Unidad Iztapalapa, un desarenador centrífugo, un medidor de flujo Parshall, un reactor UASB de 60 m³, un humedal de 210 m³ (H1) y otro de 160 m³ (H2), un homogeneizador de efluente para cada humedal, un ozonificador y una cisterna de 70 m³. Solo el humedal 2 fue evaluado en este estudio.

7.1.3. Separación del humedal artificial por zonas para su evaluación

La evaluación del HA fue realizada solamente para el humedal 2 (HA 2) de la PP9, por lo tanto, los análisis y los resultados presentados en este estudio corresponden a este.

El HA consta de una entrada, una salida y siete pozos de muestreo distribuidos a lo largo del humedal. Para la evaluación del sistema, el humedal fue dividido en tres zonas identificadas como A, B y C. En la Figura 7, se muestra esquemáticamente esta división. Para los objetivos del presente estudio, la zona A del humedal no fue analizada ya que esta plantada con *Phragmites* y este trabajo solo contempla la evaluación con *Cyperus papyrus*. Los resultados se presentan de manera global y por zonas. Cuando se hace referencia a los resultados globales se trata de los resultados del análisis entre la entrada y la salida de agua del humedal, y los resultados por zonas se refieren a la evaluación determinada en los pozos de muestreo seleccionados que corresponden a la zonas B y C que se muestran en la Figura

7. Asimismo, fueron analizados el crecimiento de las plantas y la cuenta bacteriana de la rizosfera de forma global y por zonas.

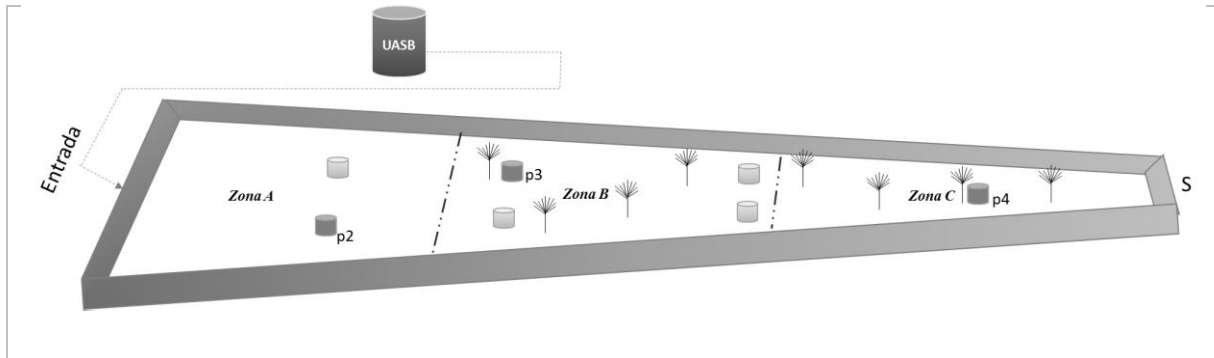


Figura 7. Separación del humedal artificial por zonas **A, B y C**; sitios de colecta de agua y ubicación de las plantas muestreadas.

7.1.4. Determinación del caudal y TRH

Cada vez que se tomaba la muestra de agua en los diferentes pozos de muestreo, así como en el influente y efluente de humedal, se realizaban lecturas del caudal de entrada y salida, expresadas en L/s. Considerando el caudal y el volumen del tratamiento del humedal fue calculado el tiempo de retención hidráulica (TRH). El TRH es la edad promedio de las partículas de un fluido en un volumen, y se calcula como el cociente entre el volumen del reactor $V=L^3$ y el caudal del influente $Q=L^3/h$. Por lo que:

$$TRH = \frac{V}{Q}$$

Donde:

- TRH Tiempo de retención hidráulica (d^{-1})
- V Volumen del humedal (m^3)
- Q Caudal (L/h)

El concepto de TRH es equivalente al tiempo que se permiten reaccionar los sustratos, las plantas y microorganismos, por lo tanto la transferencia de hidrógeno, la remoción de la materia orgánica, entre otros, se ven afectadas por este parámetro (Nadais y col., 2001).

7.2. *Colecta y filtración de las muestras de agua residual*

La cuantificación de la concentración de contaminantes del agua residual, se realizó a partir de la toma de muestras en la entrada y salida del HA para las evaluaciones globales y la toma de muestra de AR de los pozos de muestreo p2, p3 y p4 ubicados a lo largo del humedal. Las muestras se colectaron a una misma hora tres veces a la semana durante un periodo de un año de febrero de 2012 a enero de 2013.

Para el análisis de las muestras se tomaron 50 mL de agua residual de la entrada, salida y pozos de muestreo. Cada muestra fue filtrada con membranas de nitrocelulosa (0.2 µm de poro). La muestra fue analizada inmediatamente después de la filtración.

7.3. *Cuantificación de contaminantes en el agua residual*

Para la evaluación del sistema se usaron las siguientes ecuaciones que permiten determinar la eficiencia de remoción en un humedal artificial. Las ecuaciones fueron aplicadas con los datos obtenidos de cada contaminante

Eficiencia de remoción (E). La eficiencia de remoción o conversión del sustrato se calculó como sigue:

$$E = \frac{(S_o - S)}{S_o}$$

Donde:

S _o	Concentración del sustrato en la entrada (mg/L)
S	Concentración del sustrato en la salida (mg/L)
E	Eficiencia

Carga orgánica volumétrica (CO_v), es el cociente entre la cantidad de sustrato introducida entre el volumen del reactor.

$$CO_v = \frac{(Q * S_o)}{V}$$

Donde:

Q	Caudal influente (L/h)
S _o	Concentración del sustrato en el entrada (mg/L)
V	Volumen del reactor (m ³)
CO _v	Carga orgánica volumétrica (mg/h m ³)

Tasa de remoción (V_x)

$$V_x = \frac{(S_0 - S)(Q)}{V}$$

$$V_x = (S_0 - S) \cdot Q$$

Donde:

V	Volumen (m^3)
Q	Caudal (L/h)
S_0	Concentración del sustrato en el entrada (mg/L)
S	Concentración del sustrato en la salida (mg/L)
V_{xv}	Tasa de remoción volumétrica ($mg/m^3 \cdot h$)
V_x	Tasa de remoción (g/h)

7.3.1. Determinación de la concentración de nitrógeno amoniacal (NH_4^+)

La cuantificación de nitrógeno amoniacal se realizó por el método espectrofotométrico descrito por Solórzano (1969) el cual está basado en la reacción con hipoclorito de sodio en presencia de fenol, formando primero monocloramina y después un compuesto azul de indofenol a un pH alto.

Reacción: En una solución ligeramente alcalina, el amonio reacciona con el hipoclorito formando monocloramina: $NH_3 + NaOCl \rightarrow NH_2Cl$ (cloramina). En presencia de *fenol* y *nitroprusiato de sodio* ($Na_2 Fe (CN)_5 NO \cdot 2H_2O$) como catalizador la monocloramina se transforma en un compuesto azul de indofenol.

Para la determinación de NH_4^+ se tomaron 5 mL de agua previamente filtrada (con dilución 1:250), se adicionaron 0.2 mL de fenol y 0.2 mL de nitroprusiato de sodio y 0.5 mL de solución oxidante. La mezcla se dejó reaccionar por 2 horas en oscuridad y posteriormente se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 640 nm en un espectrofotómetro (Ultravioleta/Visible, Spectronic 20D+). La curva de calibración se determinó con el mismo procedimiento por triplicado a partir de la solución patrón de amonio (2.97 g de cloruro de amonio en 1 L de agua destilada con concentraciones de 0.2 a 1.0 mg/L).

7.3.2. Determinación de la concentración de nitrato (NO_3^-)

La determinación de nitrato se realizó por el método espectrofotométrico ultravioleta selectivo descrito en el APHA (2005), la técnica es utilizada para muestras con bajo contenido en materia orgánica, el nitrato reacciona en presencia de HCl (1N). La lectura de las muestras fue determinada en un espectrofotómetro (Varian: modelo Cary 50; Australia) a una longitud de onda de 220 y 275 nm.

La técnica utiliza dos longitudes de onda (220 y 275 nm), la primera permite la determinación de nitrato, la segunda determina una medida relativa sólo a nitratos debido a que la materia orgánica también puede absorber a esta longitud. La absorbancia final se consideró con: $\text{Abs final} = \text{abs } 220 - 2 (\text{abs } 275)$.

7.3.3. Determinación de la concentración de fosfato (PO_4^{3-})

Los fosfatos fueron determinados a través de la técnica del ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) descrita por Murphy y Riley (1962) descrito en Contreras (1984). El Molibdato de amonio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) junto con el tartrato antimonil potásico ($(\text{SbO}) \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O} \text{KC}_4\text{O}_6\text{H}_4$) reaccionan (en medio ácido con ortofosfato) para formar un ácido heteropoliácido -ácido fosfomolibdico- el cual, en presencia de ácido ascórbico, se reduce a fosfomolibdeno, de color azul, este se determina fotométricamente.

Para la determinación de fosfatos se tomaron 5 mL de AR filtrada (con dilución 1:10) se adicionaron 0.5 mL de la solución digestora. La mezcla se dejó reaccionar durante 15 min y posteriormente se realizó la lectura a 885 nm en un espectrofotómetro (Spectronic 20D+).

7.3.4. Determinación de la concentración de la materia orgánica (DQO)

La DQO es un parámetro que mide la materia orgánica total de una muestra de agua residual. Se define como los mg O_2/L consumidos en la oxidación química de la muestra

empleando dicromato de potasio. Este ensayo se realizó en un medio fuertemente acidificado utilizando sulfato de plata como catalizador. La determinación se realizó por espectrofotometría mediante el método descrito en el APHA, 2005. En un tubo de ensayo se agregaron 2 mL de muestra de agua (sin filtrar), posteriormente se adicionó 0.2 mL de ácido sulfúrico y 0.1 mL de dicromato de potasio. La mezcla se dejó digerir durante 2 horas en una estufa a 150 °C y posteriormente se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 620 nm en un espectrofotómetro (Spectronic 20D+).

7.4. Estudio demográfico de *Cyperus papyrus* por zonas en el humedal artificial

7.4.1. Densidad de plantas y distribución de la vegetación

Se realizaron cuadrantes de 4x4 m en el HA para determinar la densidad y la ubicación de las plantas. La distribución inicial de las plantas en el HA se encontró de la siguiente manera: los *P. australis* se ubican en los primeros 16 m próximos a la entrada, inmediatamente después se distribuyen los *C. papyrus* abarcando los 34 m restantes. Esta misma distribución se conservó hasta el momento de escribir este documento.

7.4.2. Selección de plantas a muestrear y estudio demográfico

La selección de plantas se realizó a través del método de cuadrantes con una $n = 8$. La planta fue seleccionada por el método aleatorio en cada cuadrante a lo largo del humedal. Las plantas seleccionadas se sometieron a un estudio demográfico y a la determinación de comunidades bacterianas en sus raíces. Cabe aclarar que los *Cyperus* se encontraban ubicados solamente en las zonas B y C del HA.

7.4.3. Determinación de los parámetros de crecimiento

Los *Cyperus* al estar constituidos por módulos crecen por la iteración secuencial de estas unidades de construcción. Los módulos se desarrollan a partir de los rizomas y tienen

crecimiento vertical de sus hojas e inflorescencias. El crecimiento, natalidad (reclutamiento) y mortalidad son en gran parte un reflejo del ciclo vital de los organismos. Con el objeto de registrar y examinar los cambios en el crecimiento de las plantas del humedal en su ciclo de vida se realizó un análisis demográfico que está basado en un estudio de poblaciones, donde una población es un grupo de individuos de una especie que ocupan un espacio particular en un tiempo determinado (Begon y col., 1999).

7.4.4. Tasa de crecimiento vertical y horizontal

Los principales parámetros para determinar la demografía de las plantas del humedal fueron: crecimiento, reclutamiento y mortalidad. La estimación del crecimiento se realizó a través de su velocidad o tasa de crecimiento, calculada como sigue:

$$TC = \frac{(L_f - L_i)}{t}$$

Donde:

TC	Tasa de crecimiento (cm/d)
L_i	Longitud inicial (cm)
L_f	Longitud final (cm)
t	Tiempo transcurrido (d)

Las tasas de crecimiento estimadas fueron: (i) *Tasa de crecimiento vertical* es la longitud lograda en un tiempo, se determinó a través de la elongación de cada vástago. (ii) *Tasa de crecimiento horizontal* es la longitud lograda en un tiempo, se determinó a través de la longitud del rizoma, (iii) *Tasa de reclutamiento* es el número proporcional de nacimientos que tiene lugar en una población y periodo determinados. Se determinó mediante el conteo de nuevos vástagos. (iv) *Tasa de mortalidad* es el número de muertes de una población durante un periodo determinado. Se determinó mediante el conteo vástagos muertos.

Las mediciones en el crecimiento se realizaron aproximadamente cada dos meses durante un año de febrero de 2012 a enero de 2013. En cada tiempo de medición se colocaban

marcas en los rizomas para identificar el número de nuevos vástagos en el siguiente periodo de medición (Figura 8).



Figura 8. *Cyperus papyrus* planta propia del humedal artificial, vástagos que conforman un *Cyperus* (izquierda); marcaje de plantas en rizomas para crecimiento horizontal y la cuenta de vástagos nuevos (derecha abajo) y muertos (derecha arriba).

7.4.5. Tasa finita de crecimiento (demografía de poblaciones)

El análisis de poblaciones fue determinado mediante la tasa finita de crecimiento a través de *lambda* ($\lambda = N_{t+1}/N_t$), explica cómo crece la población con respecto a ella misma, es posible expresarla en porcentaje y es una medida de la adecuación (eficiencia biológica). Para poder aplicar este concepto es necesario detallar algunos supuestos, como los que se enumeran a continuación: i) Poblaciones cerradas, ii) Nada limita el crecimiento (crecimiento exponencial), iii) Tasas de natalidad y mortalidad constantes, iv) Todos los individuos tienen la misma probabilidad de sobrevivir y reproducirse, sin importar la clase, tamaño o edad.

La determinación de *lambda* se realizó a partir de:

$\lambda = \frac{N_{t+1}}{N_t}$	N_{t+1} Longitud final	Indicadores de <i>lambda</i> (λ): $\lambda = 1$ Población constante ($N_{t+1} = N_t$) $\lambda < 1$ Población disminuyendo ($N_{t+1} < N_t$) $\lambda > 1$ Población creciendo ($N_{t+1} > N_t$)
	N_t Longitud inicial	
	λ Tasa finita de crecimiento	

El crecimiento en porcentaje = $(\lambda - 1) \cdot 100$

7.4.6. Montaje de plantas testigo

Fueron evaluadas en macetas plantas de *Cyperus*, como testigo, con el objetivo de evaluar el efecto del agua de llave en el crecimiento de las plantas para tener un punto de comparación con el crecimiento de las plantas del humedal que estuvieron expuestas a altas concentraciones de nutrientes que contiene el AR del HA. Las plantas fueron colocadas en macetas con material filtrante (tezontle) a un costado del HA, con la finalidad de mantenerlas expuestas a los mismos factores ambientales del HA. Para la evaluación de su crecimiento se utilizaron los mismos procedimientos que los empleados en las plantas del HA. El experimento se inició en agosto de 2012 y terminó en enero de 2013. A las macetas se les agregaba agua de llave y solución nutritiva Long Asthon una vez a la semana. Las mediciones de crecimiento fueron evaluadas semanalmente.

7.5. Cuenta bacteriana de la rizosfera por zonas en el humedal artificial

7.5.1. Muestras de la rizosfera y preparación de la suspensión inicial

Se colectó una fracción de la raíz de las plantas situadas en la zona B y C del humedal, a una profundidad de 20 centímetros. Las muestras se tomaron una vez al mes durante un año de muestreo de febrero de 2012 a enero 2013.

Posteriormente, en el laboratorio, se pesó 1 g de raíz de cada muestra. Cada muestra de raíz se mezcló, bajo condiciones asépticas, con una solución isotónica (NaCl) y se agitó vigorosamente hasta tener todo homogenizado. Se prepararon diluciones decimales a partir de la solución isotónica de 10^{-1} a 10^{-8} . tomando alícuotas de 1 mL (previamente agitado) de la suspensión anterior.

7.5.2. Colecta de muestras testigo sin plantas

Al mismo de tiempo de colecta y preparación de la muestra de la raíz de las plantas, se realizó la colecta de la muestra sin planta, en la zona B y C del humedal. Que consistía en tomar una fracción del medio filtrante (en un lugar sin planta) a la misma profundidad que las muestras de raíz. En el caso de la preparación isotónica se agregó 1 gramo del medio filtrante. Posteriormente se realizaron las diluciones decimales.

7.5.3. Medio de cultivo y cuenta en placa

Se utilizó agar soya tripticaseína (AST) como medio de cultivo, el medio fue esterilizado y posteriormente vertido en cajas de Petri (28 mL por caja) bajo condiciones asépticas, se dejó reposar durante 24 horas para solidificar.

La siembra de bacterias se realizó con diluciones de 10^{-2} a 10^{-8} tomando alícuotas de 100 μ L para cada caja de petri, por triplicado. Una vez sembradas las bacterias fueron incubadas durante 48 horas a 25°C. Finalmente, se determinó el número de unidades formadoras de colonias (UFC) / por gramo de raíz.

7.6. Análisis estadístico

Para determinar efectos significativos entre las medias de los tratamientos, los datos se analizaron por ANOVA y una prueba de Duncan ($P < 0.05$) con el paquete estadístico SPSS (PASW Statistics 18). Se empleó la correlación de Person para determinar r^2 . En todos los casos se usó el error estándar de la media como medida de dispersión (Streiner, 1996).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Variación en el caudal y tiempo de retención hidráulica

La carga hidráulica y el consecuente tiempo de retención hidráulico (TRH) son importantes en los procesos de depuración de los humedales. A bajas cargas hidráulicas el TRH es grande, mientras que a altas cargas el agua pasa rápidamente hasta la salida del humedal, reduciendo el tiempo de contacto entre el agua residual y los microorganismos del humedal encargados de los procesos de degradación. Los humedales suelen necesitar una baja carga hidráulica y un elevado TRH, motivo por el cual necesitan mucha superficie para alcanzar unos buenos rendimientos en el tratamiento (Fountoulakis y col., 2009). Por lo antes mencionado, fue determinada la variación en el caudal y TRH en el HA en estudio.

Se sabe que el caudal o flujo de agua en la entrada del reactor UASB tiene una variación de 2 a 20 m³/h (durante un día normal de labores de 8 a 20 horas). Dicha variación repercute en la entrada de agua al HA observando un aporte irregular en el tiempo (Figura 9) en donde a partir del mes de julio, aumentó el caudal tres veces con respecto a los primeros meses de muestreo. El aumento en el caudal de 393 ± 74 a 1208 ± 73 (L/h), provocó una disminución significativa en el TRH de 49 ± 8 a 17 ± 0.4 días. Estos resultados sugieren que la variación en el caudal y TRH pueden deberse en parte a los cambios estacionales del año, debido a que el aumento en el caudal se presentó en verano (julio) lo que coincide con Hua y col., (2008) reportan una disminución en el TRH en periodos de alta precipitación y una alta variación en las concentraciones de SS, N y P.

Por otro lado, pequeños cambios en la hidrología pueden tener efectos importantes en el humedal y en la efectividad del tratamiento (Lara, 1999). Cargas hidráulicas muy elevadas pueden exceder la capacidad de los humedales (Fountoulakis y col., 2009). Es relevante aclarar que tanto el caudal y TRH, así como todos los parámetros evaluados en este estudio, fueron altamente variables; sin embargo, los resultados alcanzados de septiembre a enero

(como se mostrará en los próximos apartados), se mantuvieron constantes sin cambios significativos, incluyendo el caudal y TRH, lo que permitió obtener agua tratada de calidad constante. Lo anterior se puede deber a que los sistemas de humedales artificiales pueden tolerar volúmenes inestables de agua y variación en los niveles de contaminantes con respuestas estables (Hua y col., 2008).

Con base en estos resultados y en los cambios significativos de los mismos en el tiempo, se decidió separar el periodo de muestreo en dos etapas. La primera etapa de febrero a julio y la segunda etapa de septiembre a enero.

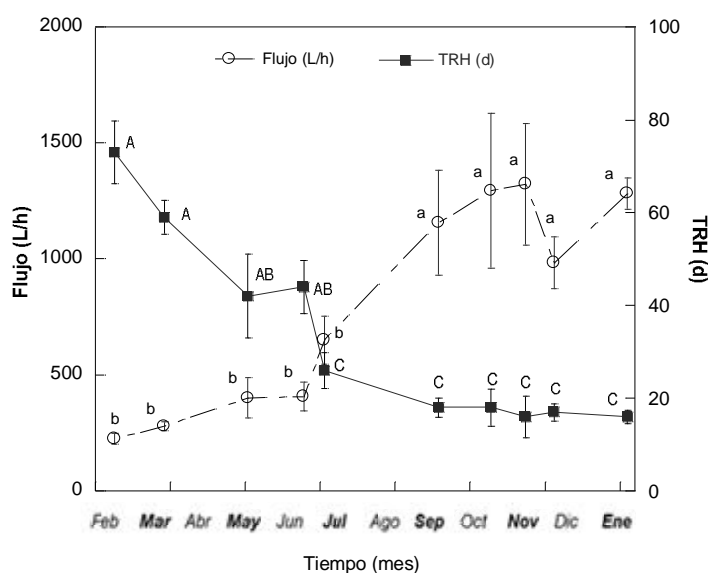


Figura 9. Variación en el caudal (○) y el TRH (■) en el humedal artificial durante el tiempo de muestreo. Los resultados son la media y las barras son el error estándar de la media (n=3-10). Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05)

8.2 Eficiencia y tasa de remoción de contaminantes en el humedal artificial

Los subcapítulos siguientes están divididos en eficiencia de remoción global y eficiencia por zonas, para cada contaminante. En la primera, se describen los resultados del sistema de manera global que fueron determinados con la cuantificación en la concentración de contaminantes a la entrada y salida del HA. En la segunda, se evaluó la remoción por zonas, donde se describe en que zona se remueven mejor los contaminantes mediante la cuantificación de los mismos en los pozos de muestreo (Figura 7).

8.2.1. Remoción de nitrógeno amoniacal (NH_4^+) global

El nitrógeno (N) se puede encontrar en la naturaleza de diferentes formas: nitrógeno orgánico, nitrógeno amoniacal (NH_4^+) o nitrógeno oxidado (NO_2^- y NO_3^-). Los compuestos de nitrógeno y fósforo son nutrientes clave para el crecimiento de los sistemas vivos. El uso como nutriente de los componentes de las AR, por parte de microorganismos y plantas es uno de los mecanismos clave del tratamiento biológico de las AR (Winkler, 1986). Por su parte, las plantas asimilan el nitrógeno como NO_3^- y NH_4^+ y lo incorporan a su biomasa (Salisbury y Ross, 1994). Con la remoción de N y P en el HA se determinó la capacidad de las plantas para eliminar estos contaminantes y poder relacionar dicha remoción con el crecimiento de las plantas y la cuenta bacteriana de la rizosfera. En la Figura 10A se muestra la variación en el tiempo, por mes, de la carga y el porcentaje de eficiencia de remoción de NH_4^+ . Se observó un aumento gradual en el tiempo de la carga de NH_4^+ (r^2 0.83) a la entrada del HA, el aumento fue de 4.7 veces con respecto a los primeros meses (2.0 ± 0.9 a 9.7 ± 1.9 mg/L-d), a partir de septiembre se mantuvo sin cambios el resto del tiempo de evaluación. El aumento en la carga de NH_4^+ al HA provocó una disminución notable en el porcentaje de eficiencia de 82 a 36% (Figura 10A), este último valor de eficiencia se mantuvo durante el resto del tiempo de la evaluación, lo que significa que el HA remueve el 36% de nitrógeno amoniacal inicial.

Con respecto al N eliminado, los resultados indican que en promedio la masa removida de nitrógeno amoniacal fue de 46.6 ± 6.4 (g/h), con una concentración promedio de entrada y salida de 157 ± 19 y 105 ± 17 mg/L, respectivamente. La cantidad total de nitrógeno amoniacal que se extrajo en el HA fue de $81.6 \text{ g/m}^2\cdot\text{año}$, valor que se encuentra dentro de lo estimado de acuerdo con Reedy y DeBusk (1985), las plantas emergentes extraen nitrógeno con valores que oscilan entre 12 - 120 ($\text{g/m}^2\cdot\text{año}$). Con este dato podemos observar que el

humedal remueve altas cantidades de nitrógeno amoniacal con respecto a las plantas emergentes que solo remueven 12 g/m²·año. En la Figura 10B, se puede observar como la tasa de remoción de nitrógeno amoniacal aumentó progresivamente en el transcurso del tiempo, no obstante, el cambio significativo se presentó a partir del mes de septiembre con un aumento de 3 veces, que paso de 19.6 ± 5.9 (g/h) a 57.9 ± 4.6 (g/h), con una r² de 0.97, los datos corresponden a la primera y segunda etapa, respectivamente. Esto es, la tasa de remoción volumétrica (productividad) del humedal se incrementó aproximadamente de 122 a 362 mg/(m³·h). El aumento en la remoción de NH₄⁺ se relacionó con el aumento en la tasa de crecimiento de las plantas (estos datos se detallan más adelante en la sección 8.3) y el incremento en la cuenta bacteriana de la rizosfera (sección 8.4).

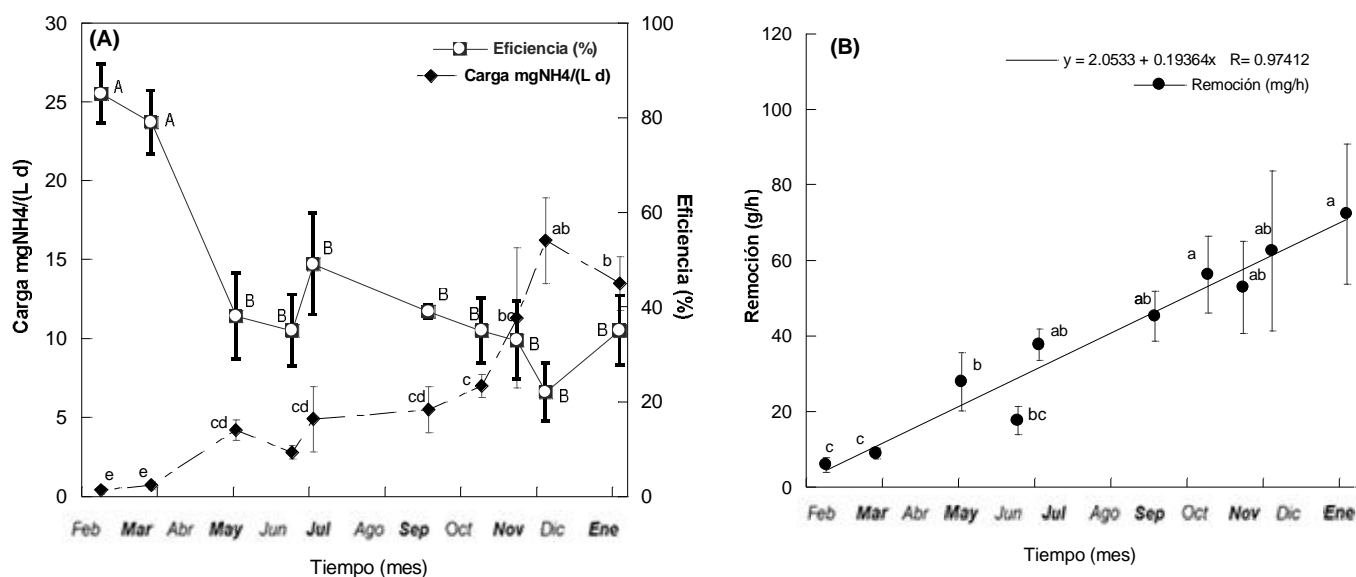


Figura 10. Variación en el tiempo de la carga de NH₄⁺ (♦), y el % de eficiencia (□) (A). Tasa de remoción (●) (B). Los resultados son la media por mes y las barras de error representan el error estándar de la media (n = 3 - 10). Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05).

Con base en los resultados obtenidos se puede decir que la remoción de nitrógeno amoniacal observada en este estudio fue baja (de 36 %) con respecto a otras eficiencias reportadas en donde la mayoría de los trabajos consiguen remociones < 60 % (Tabla 3 y 6).

Sin embargo aunque la carga de nitrógeno amoniacal aumentó (Figura 10), la eficiencia siempre se mantuvo constante logrando soportar hasta 20 mg/(L·d). Otras eficiencias de remoción de NH_4^+ que obtienen diversos autores en el tratamiento de AR utilizando humedales artificiales, cabe decir que estuvieron bajo diferentes condiciones y que las concentraciones de entrada fueron menores a la observada en este estudio, reportan: un 95% de eficiencia con concentraciones de entrada de 1.9 mg/L (Martín y col., 2013); 75.3% de eficiencia con una entrada promedio de 28.9 ± 0.3 (mg/L) (Kyambadde y col., 2004); 26% de eficiencia con una entrada promedio de 33.1 mg/L (Batchelor y Loots, 1997); 33% de eficiencia con una entrada de 27.8 mg/L (Ansola y col., 2003). Si bien como en este estudio, las eficiencias reportadas indican alta variabilidad en la remoción de N en humedales, debido a que la eficiencia depende de las condiciones del sistema como la concentración de entrada de contaminantes y la especie vegetal a utilizar (Curt, 2005). Esto puede justificarse con lo mencionado por Hadad y col., (2006) el conocimiento del funcionamiento de los HA no es tan avanzado como para proporcionar modelos predictivos detallados, ya que dependen de las características biológicas, tales como la competencia interespecífica y la tolerancia a un líquido residual de características cambiantes. Esto significa que aunque se tenga un buen diseño para eliminación de contaminantes en un HA, existen factores naturales no controlados que pueden afectar la eficiencia del sistema.

Es posible que el aumento en el caudal afectó la eficiencia del HA en estudio, lo que coincide con lo reportado por Chang y col., (2012) mencionan que una de las limitaciones de los HA es el requerimiento de grandes áreas para remover contaminantes debido a las bajas cargas de flujo a la que debe de operar. Estos mismos autores, reportan nula remoción de amonio en un HA que evaluaron, sin embargo la eficiencia promedio de NT fue de 16.5% con concentraciones en la entrada de 30.69 ± 4.08 y de salida de 25.6 ± 3.3 (mg/L), los

autores afirman que la baja remoción que obtienen de NT se debe a la alta carga hidráulica (250 mm/d).

Una sobrecarga de contaminantes al HA en estudio pudo haber sido otra causa por la cual la eficiencia de remoción se observó baja ya que los microorganismos y plantas pueden ser afectados, de acuerdo a lo mencionado con Winkler (1986), si los nutrientes disueltos entran al agua a una tasa tal que el oxígeno disuelto se consume más rápidamente de lo que se puede reponer, el agua se desoxigena. Las poblaciones microbianas pueden aumentar con un exceso de nutrientes y por lo tanto aumenta la demanda de oxígeno disuelto, si el oxígeno se agota, los microorganismos aerobios pueden morir, por lo tanto la eficiencia del sistema se puede ver afectada.

Las concentraciones altas de nitrógeno amoniacal a la entrada del HA de nuestro estudio, con respecto a las reportadas en otros trabajos, se pueden explicar por el previo tratamiento de las AR en el reactor UASB, donde la amonificación de la materia nitrogenada presente en la materia orgánica del agua residual (Tandukar y col., 2007) puede generar un aumento en el NH_4^+ a la salida del UASB.

Tabla 3. Comparación de las eficiencias de remoción de NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} obtenidas en este estudio y otras investigaciones. Entrada (mg/L) y eficiencia (%).

Lugar	NH_4^+		NO_3^-		PO_4^{3-}		Referencia
	mg/L	%	mg/L	%	mg/L	%	
UAMI México	157 ± 19	36 ± 3	2 ± 1	---	26 ± 2	10 ± 3	En este estudio
China	31 ± 4	16	2 ± 1	79	3 ± 0.4	52	Chang y col., 2012
Argentina	2	----	27	89	1	70	Hadad y col., 2006
Uganda	29	75, 61*	0.2	----	15.5	83, 48*	Kyambadde y col., 2004
España	2	95			0.6	77	Martín y col., 2013

* Indica que la evaluación se realizó en sistemas por separados distinguiéndose uno de otro por la especie de planta. En este estudio ± representa el error estándar de la media.

La literatura menciona que el proceso biológico más significativo para la remoción del N es la oxidación bacteriana del amonio a nitritos y nitratos (nitrificación-desnitrificación) (Matheson y

col., 2010). En los humedales de flujo horizontal, dado que la transferencia de oxígeno es baja y hay pocas zonas aerobias, la nitrificación no es destacable (Lahora, 2003). Por lo tanto, el aumento en la tasa de remoción de nitrógeno amoniacal que se observó, puede estar asociado con el aumento en la tasa de crecimiento de las plantas (apartado 8.3). Como se sabe, el nitrógeno es un macronutriente indispensable para las plantas; cuanto mayor es la tasa de crecimiento de la planta mayor es la extracción de nitrógeno (Curt, 2005).

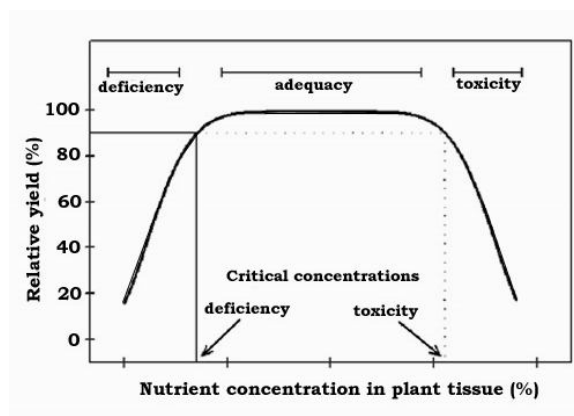


Ilustración A. Curva idealizada de crecimiento. Concentración ideal de nutrientes en el tejido vegetal.

Se ha reportado en la literatura que el consumo de nutrientes por parte de las plantas constituye del 2 a 10% de la remoción de NT (Chang y col., 2012), otros autores mencionan que es el 10 a 20% (García y Corzo, 2008). Pero Vymazal y col., (2005) menciona que la asimilación de nutrientes por la vegetación, en el mejor de los casos, elimina del 10 % del fósforo y el 25% del nitrógeno. A nivel fisiológico, las plantas tienen concentraciones internas de micro y macronutrientes, que se consideran adecuadas para su buen crecimiento. En el caso del N las plantas necesitan 15,000 mg/kg peso seco (1.5 %) y del P requieren 2,000 mg/kg peso seco (0.2%), respectivamente. De acuerdo a la curva idealizada de crecimiento (Ilustración A) las plantas solo asimilan las proporciones necesarias para su crecimiento y almacenamiento, lo contrario puede ser contraproducente (Salisbury y Ross, 1994).

Otros procesos que intervienen en la eliminación del nitrógeno en los HA, además de la asimilación por plantas y la nitrificación-desnitrificación, son la volatilización del NH_3 y la adsorción al material granular (Kadlec y Knight, 1996). Para que se lleve a cabo la

volatilización del NH_3 se requiere un pH de 9 en el sistema, en nuestro estudio, la volatilización, no se realizó o fue mínima debido a que el pH nunca aumentó más de pH 8. La saturación de NH_4^+ en los sitios de adsorción puede beneficiar la remoción de contaminantes, (Vymazal, 2007) es posible que el TRH grande (52 d) en los primeros meses de muestreo provocaría sitios de saturación en el material de soporte del HA por ello la alta eficiencia en los primeros meses (80 %) y la posterior tasa de remoción.

8.2.2. Remoción de nitrógeno amoniacal (NH_4^+) por zonas

Los sistemas de HA pueden ser considerados como reactores biológicos y su rendimiento puede ser estimado mediante una cinética de primer orden de flujo a pistón para la remoción de DBO y N (Lara, 1999). Con la hipótesis de que existe un gradiente de concentración de contaminantes dentro del HA fue determinada la tasa de remoción por zonas. En la Figura 11 se puede apreciar que la tasa de remoción en ambas zonas fue constante, la Zona B con 19.07 ± 3.2 (g/h) y la Zona C con 16.9 ± 4.9 (g/h), no se observaron diferencias entre zonas. Las concentraciones promedio de entrada fueron de 150 mg/L para la zona B y de 102 mg/L para la zona C, con esto se puede observar que si hay una eliminación de contaminantes de manera longitudinal ya que la concentración va disminuyendo a lo largo del humedal.

Tabla 4. Remoción de NH_4^+ , NO_3^- y PT por *Miscanthidim violaceaum* en un HA de diseño lineal, en Uganda. Los resultados son el promedio, \pm la desviación estándar.

Nutriente (mg/L)	Humedal artificial (diseño lineal)						Eficiencia (%)
	I	II	III	IV	V	VI	
NH_4^+	28.9 \pm 0.3	26.7 \pm 1.5	16.9 \pm 0.5	15.3 \pm 0.7	12.4 \pm 1.1	11.1 \pm 1.7	61.5
NO_3^-	0.23 \pm .001	0.34 \pm 0.001	0.14 \pm 0.001	0.13 \pm 0.001	0.11 \pm 0.001	0.07 \pm 0.001	69.5
PT	15.5 \pm 1.1	14.8 \pm 0.4	10.4 \pm 1.0	10.1 \pm 1.1	8.7 \pm 1.1	8 \pm 1.1	48.4

I entrada de agua, VI salida de agua

Los valores de la tabla están dados en mg/L con excepción de la columna de eficiencia que está en %.

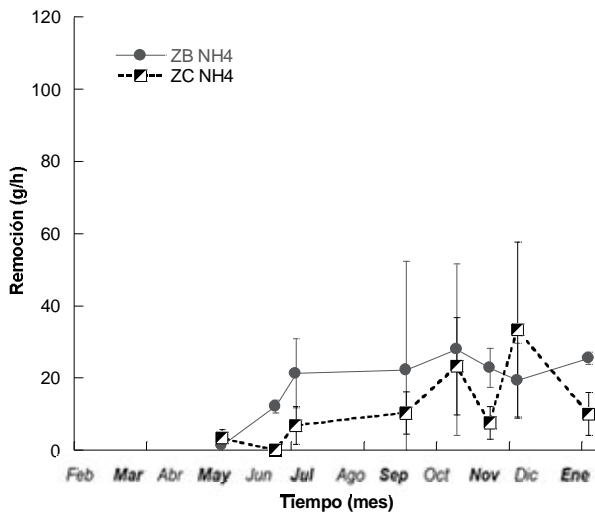


Figura 11. Remoción de NH₄⁺ por zonas: zona B (●) y zona C (■). Los resultados son la media por mes y las barras de error representan el error estándar de la media (n = 3 - 10).

8.2.3. Remoción de nitrato (NO₃⁻) global

En los humedales, los procesos biogeoquímicos pueden retener o transformar el nitrato incluyendo procesos de desasimilación de NO₃⁻ para reducirlo a NH₄⁺ y la inmovilización por parte de microorganismos o plantas (Matheson y col., 2010). Por lo cual fue determinada la concentración de nitrato en el humedal con la finalidad de conocer su remoción y saber si esta se debió a la asimilación de las plantas. En promedio la concentración de entrada y salida fue de 0.9 ± 0.3 (mg/L) y 0.5 ± 0.3 (mg/L), respectivamente, para febrero-julio. Para septiembre-enero, las concentraciones a la entrada cambiaron a 4.1 ± 2.2 (mg/L) y la salida de 1.5 ± 0.6 (mg/L) (Figura 12A). Con base en lo anterior en el humedal se observó una baja aportación de NO₃⁻, lo cual se puede deber a lo mencionado por Lara (1999), “los sistemas de tratamiento primario normalmente no contienen NO₃⁻, pero pueden tener niveles significativos de N orgánico y amoniacal”, en nuestro estudio, el tratamiento primario del AR a través del UASB como proceso anaerobio genera NH₄⁺ pero no NO₃⁻ debido a que la producción de nitrato requiere la presencia de oxígeno. El ambiente que mayoritariamente prevalece en los HA de flujo horizontal es el de tipo anaerobio, como consecuencia de que

los sistemas, por lo general, se encuentran inundados y a que el influente, por su grado de contaminación, exhiben baja disponibilidad de oxígeno (Tanner y Kadlec, 2002).

No obstante se observa un aumento en la carga de nitrato y tasa de remoción al final del periodo de evaluación (Figura 12 A y B), lo que puede estar relacionado con el cambio en el caudal ya que cuando el caudal era bajo (394 ± 74 L/h), la carga fue pequeña (0.02 mg/L-d) y al aumentar el caudal a 1208 ± 73 (L/h), aumentó la carga volumétrica (0.28 mg/L-d) y la tasa de remoción 13 veces de 0.2 ± 0.1 (g/h) a 3.3 ± 1.7 (g/h). Esto es, la tasa de remoción volumétrica del humedal aumentó de 1.2 a 20.6 mg/(m³·h). (Figura 12B), este aumento puede estar relacionado con una oxigenación del agua a la entrada y a lo largo del HA (por el aumento en el caudal) facilitándose la remineralización de nutrientes secuestrados dentro de la planta y sedimento por niveles de agua fluctuantes (Kroger y col., 2007). Estos resultados coinciden con lo reportado con Yang y col., (2001) encuentran que las concentraciones de entrada y salida más bajas, tendieron a ocurrir en los flujos bajos en un HA de flujo subsuperficial. En general no se observó una tendencia clara en los resultados.

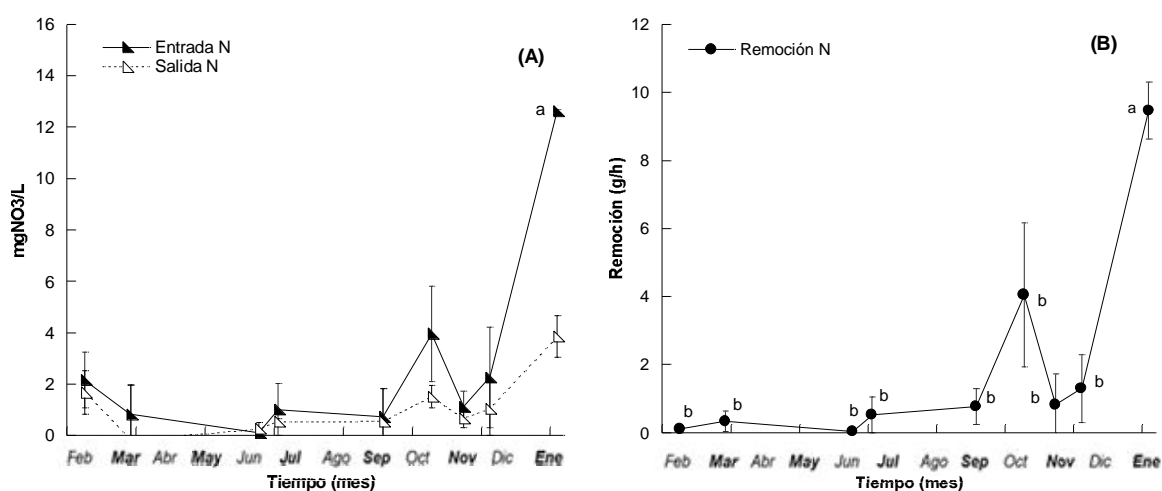


Figura 12. Variación en el tiempo de la concentración de NO₃⁻ en la entrada y salida **(A)** y tasa de remoción de nitrato **(B)**. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n = 3 - 10). Letras diferentes son diferencias significativas (p < 0.05).

8.2.4. Remoción de nitrato (NO_3^-) por zonas

Con los resultados de remoción por zonas, además de conocer si existe una zona más productiva, se puede saber si la degradación se efectúa de manera longitudinal. La concentración y tasa de remoción de NO_3^- , evaluado por zonas, fue altamente variable sin observar una tendencia clara, los resultados se muestran en la Tabla 5. Los valores promedio indican que la zona B removió 5 veces más que la zona C, dicha remoción fue a partir de octubre.

Tabla 5. Remoción de NO_3^- y PO_4^{3-} por zonas en el HA. Los resultados son la media, \pm son el error estándar de la media, $n = 3 - 10$. *Indica diferencias significativas.

Tiempo	NO_3^-		PO_4^{3-}	
	Zona B	Zona C	Zona B	Zona C
May-12	0.00 (± 0.00)	0.00 (± 0.00)	9.6 (± 1.5)*	8.0 (± 5.2)
Jun-12	0.15 (± 0.00)	0.00 (± 0.07)	3.3 (± 1.8)	0.9 (± 0.4)
Jul-12	4.90 (± 0.03)*	2.50 (± 4.90)*	4.0 (± 4.4)	2.7 (± 2.7)*
Sep-12	0.74 (± 0.80)	1.36 (± 0.74)	5.7 (± 1.8)	0.9 (± 0.7)
Oct-12	4.13 (± 0.03)*	0.06 (± 1.92)	5.3 (± 2.1)	0.0 (± 0.0)*
Nov-12	1.48 (± 0.80)*	1.04 (± 1.15)	3.5 (± 1.6)	2.2 (± 1.4)
Dic-12	3.62 (± 0.00)*	0.00 (± 3.33)	0.2 (± 0.2)*	5.1 (± 5.1)
Ene-13	2.91 (± 0.00)*	0.00 (± 1.15)	3.6 (± 0.3)	0.2 (± 0.2)
Global por zona	2.6 (± 0.7)	0.6 (± 0.4)	4.5 (± 1)	2.5 (± 1)

8.2.5. Remoción de fosfato (PO_4^{3-}) global

Fue determinada la remoción de fosfatos en el HA para conocer si el crecimiento de las plantas del HA y microorganismos se debió, en parte, a la asimilación de fosfato. En la Figura 13A, se observa la variación en el tiempo de la concentración de entrada y salida de PO_4^{3-} . La concentración de entrada y salida osciló entre 12 y 34 (mg/L) con un promedio de entrada de 26 ± 2.4 (mg/L) y de salida de 23 ± 2.4 (mg/L), los valores promedio se mantuvieron constantes en el tiempo sin mostrar diferencias significativas, cabe decir que estos valores son altos con respecto a otros reportados en diversos estudios que se representan en la Tabla 3, y por lo mencionado por Curt (2005), el rango de valores de

ortofosfatos en el influente de humedales generalmente oscila de 2 - 15 mg/L, dependiendo del caudal y la carga hidráulica asociada.

Aunque la concentración estimada de fosfatos en el humedal fue alta, se estimó una remoción del 10% del fosfato que entra al HA, de acuerdo con por Martin y col., (2013) mencionan que al igual que los sistemas convencionales de depuración, la eliminación del fósforo es complicada, obteniendo en los diseños más habituales un 10 y 20 % de eliminación del fósforo inicial. Sin embargo, la remoción observada fue baja en comparación con otros estudios descritos en la Tabla 3 (Hadad y col., 2006; Chang y col., 2012), lo que puede deberse a diversas situaciones. Por una parte, debido a que la masa removida está en función del área superficial del HA y de la concentración de P en el AR (Lara, 1999), la tendencia es el requerimiento de grandes áreas para remover contaminantes ya que los HA operan a bajas cargas hidráulicas (Chang y col., 2012). Bajo este enfoque es probable que el área superficial del HA en nuestro estudio es pequeña para eliminar la alta cantidad de fosfato que se observó.

De acuerdo con Gómez y col., (2001) mencionan que la cantidad de fósforo en el efluente es prácticamente igual que en el influente, en la mayoría de los casos de humedales artificiales debido a que la cantidad de fósforo asimilado por las plantas o fijada al sedimento es pequeña en relación a la aportada por el agua residual. Los resultados en nuestro estudio cumplen por lo dicho con este autor, ya que siempre se observaron concentraciones de fosfato parecidas en la entrada y salida del HA en estudio.

Por otro lado, la tasa de remoción promedio de fosfatos estimada fue de 3.2 ± 0.8 (g/h), esto es, la tasa de remoción volumétrica del humedal fue aproximadamente de $20 \text{ mg}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$. En la Figura 13B, se puede observar alta variación en la tasa de remoción y un aumento a partir de septiembre, solo que los resultados no son estadísticamente significativos. En el caso de

nuestros resultados la remoción de fosfato que se observó coincidió con el aumento en el crecimiento de las plantas, es por ello que se cree que la eliminación de fosfato se debió a la asimilación por las plantas y microorganismos. Esta tendencia también es reportada por Zhang y col., (2007) ellos evaluaron un HA piloto con baja y alta concentración de nutrientes en cuatro tratamientos: (i) sin planta, (ii) monocultivo de *Canna indica*, (iii) policultivo con dos especies (*C. indica* + *Scirpus validus*) y (iv) monocultivo de *S. validus*, logrando eficiencias de remoción de P, de 56 ± 5 %; 85 ± 2 %; 82 ± 2 %; y 77 ± 3 %, respectivamente en concentraciones bajas de nutrientes; y eficiencias de remoción en concentraciones altas de nutrientes de 42 ± 5 %; 88 ± 2 %; 83 ± 2 %, y 76 ± 3 %, en los tratamientos antes mencionados. Los autores concluyen que la asimilación por parte de las plantas fue el principal mecanismo de eliminación de P y N; además, las concentraciones altas de nutrientes en el agua provocaron un mayor aumento en el crecimiento de las plantas.

Contrario a este estudio Arias y col., (2001) reportan una eficiencia de remoción total del 90%, del cual el 75% se fijó en el lecho filtrante y el resto fue asimilado por las plantas. Esto es debido a que el principal mecanismo de remoción de P es la acumulación en el sedimento, para lo cual tiene lugar la precipitación y adsorción en el lecho rocoso y raíz de las plantas. En este caso, no se hicieron estudios para demostrar que tanto de fosfato era precipitado.

8.2.1. Remoción de fosfato (PO_4^{3-}) por zonas

Los resultados de remoción de PO_4^{3-} por zonas se muestran en la Tabla 5. Cabe decir que los resultados fueron muy variables, sin mostrar diferencias claras. Puede deberse a que el sistema en estudio es muy cambiante y posiblemente a que el TRH entre zonas es corto.

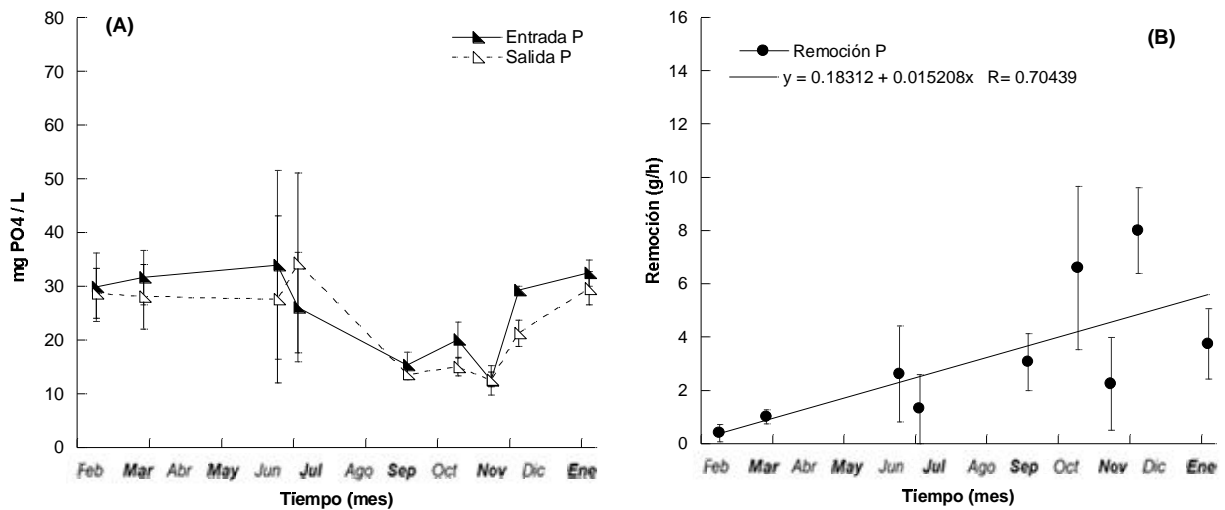


Figura 13. Variación de la concentración de PO_4^{3-} en la entrada y salida del HA **(A)** y la tasa de remoción **(B)** durante el periodo de muestreo. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media ($n = 3 - 10$).

8.2.2. Remoción de la materia orgánica (DQO) global

Los humedales artificiales tienen potencial para remover la materia orgánica presente en el agua residual en donde participan directamente los microorganismos involucrados en este proceso de degradación. Los sistemas de flujo horizontal son muy eficaces en la eliminación de la materia orgánica y sólidos en suspensión, y por lo general cumplen con los criterios de calidad del efluente (Vymazal y col., 2006). Debido a que las AR están constituidas en gran parte por materia orgánica, se decidió evaluar la eficiencia de remoción de este contaminante como DQO, además de observar alguna posible relación con las poblaciones bacterianas. En la Figura 14A, se muestra la variación en el tiempo de la concentración de entrada y salida de la DQO.

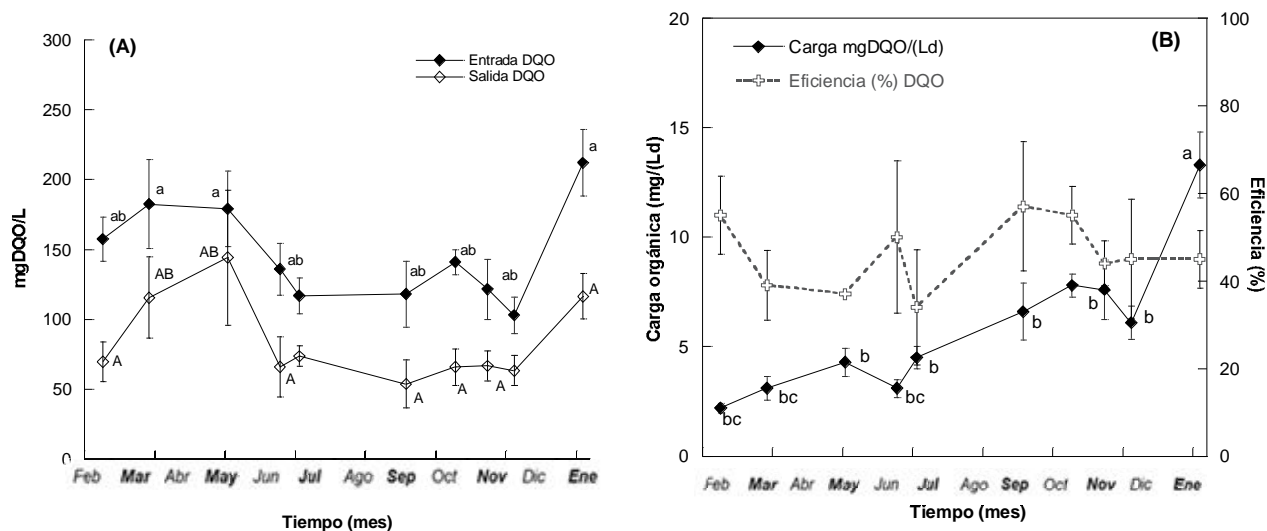


Figura 14. Variación en el tiempo de la concentración de la materia orgánica (DQO) en la entrada y salida del HA **(A)**. Carga orgánica y porcentaje de eficiencia **(B)**. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n = 3 - 10). Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05).

De acuerdo con los resultados la concentración de la materia orgánica no presentó diferencias significativas durante el periodo de muestreo con excepción del mes de enero donde se observa un aumento significativo. La concentración promedio de entrada y salida fue de 147 ± 11 (mg/L) y 84 ± 10 (mg/L), respectivamente. La eficiencia promedio en el HA fue de 46 ± 3 %, dicha cantidad se mantuvo en el tiempo de muestreo (Figura 15B).

En nuestro estudio las concentraciones de entrada de DQO fueron parecidas a las reportadas por otros autores y la eficiencia (46 ± 3 %) fue relativamente baja con respecto a las remociones reportadas en la Tabla 6 y al siguiente análisis comparativo. Por un lado se reportan valores altos de remoción de DQO en humedales de flujo horizontal para tratamiento de aguas residuales: Fountoulakis y col., (2009) reportan 75% de remoción con concentraciones de entrada de 99.6 ± 49.4 (mg/L); Kouki y col., (2009) en un sistema de humedal de flujo subsuperficial obtienen eficiencias de remoción de 90% con promedios de entrada de $1,339 \pm 352$ (mg/L). Por otro lado también se reportan eficiencias relativamente

bajas de DQO obtenidas en humedales de flujo horizontal con *P. australis* u otras macrófitas de 73 % con entradas promedio de 228 ± 54 (mg/L) (Mina y Ferreira, 2006), 70 % de eficiencia con entradas de 226 ± 20 (mg/L) (Badkoubi y col., 1998) y 60 % de eficiencia con promedios de entrada de 430 ± 86 (mg/L) (Krasnits y col., 2009).

Tabla 6. Comparacion de la eficiencia de remoción obtenida en este estudio con respecto a otras investigaciones, en diferentes HA de flujo subsuperficial para tratamiento de AR durante un año de monitoreo. Los resultados son la media \pm desviación estándar.

Entrada (mg/L)	Salida (mg/L)	Eficiencia (%)	Referencia
147 ± 11	84 ± 9.6	46 ± 3	En este estudio
288 ± 27	111 ± 50	63 ± 23	Chang y col., 2012
157 ± 51	88 ± 42	44	Aguiar-Pinto, 2011
100	30	90	Bernal y col., 2003
43	23	46	Hadad y col., 2006
1142	775	32	Fonkou y col., 2011
122	110	90.9	Ramírez-Carrillo, 2009
284	72	74.6	Vymazal y col., 2006
182	37	79.7	Vymazal y col., 2006

Como se observa en los resultados de este estudio y en los trabajos antes citados existe una alta variación en la concentración de entrada pero la eficiencia reportada en otras investigaciones siempre es mayor al 60. Lo cual coincide con lo mencionado por Kadlec, (2006) menciona que la eliminación de la materia orgánica en HA genera eficiencias entre el 75 y 95 %, alcanzando fácilmente concentraciones en el efluente hasta de 60 mg/L para la DQO. Este antecedente sugiere que la eficiencia de remoción de la materia orgánica en el HA en estudio fue relativamente baja, sin embargo ésta eficiencia se mantuvo constante, en todo el año de monitoreo, a pesar del aumento en la carga orgánica (Figura 14B) y el caudal lo que indica gran capacidad del HA para soportar alta variación. La baja eficiencia puede deberse a que se rebasa la capacidad de carga del HA en estudio, ya que la eficiencia de remoción para cada parámetro depende del diseño del sistema (Brix y col., 2003) y a lo mencionado por García y Corzo., (2008) el rendimiento de eliminación de la materia orgánica

en sistemas de humedales horizontales y verticales es óptimo si están bien diseñados, contruidos y explotados.

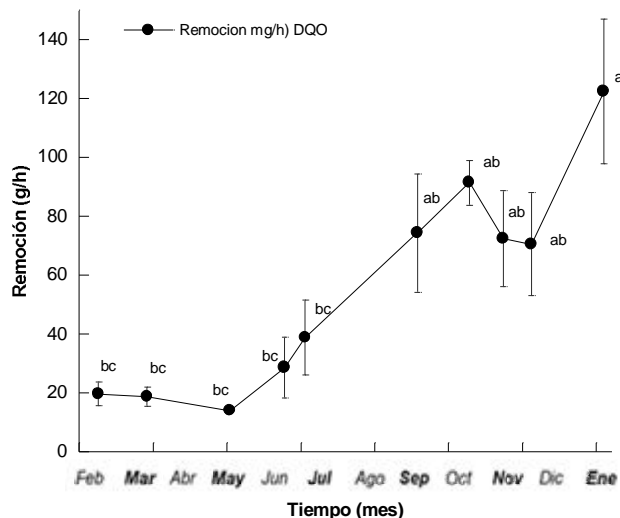


Figura 15. Variación de la tasa de remoción de la materia orgánica con respecto al tiempo en el humedal artificial. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n = 3 - 10). Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05).

Aunque las concentraciones iniciales no cambiaron significativamente, la carga orgánica y la tasa de remoción de la DQO sí mostraron un aumento en el tiempo. La carga orgánica (CO_v) cambio de 3.4 ± 0.4 (mg/L·d) a 7.0 ± 0.8 (mg/L·d), es decir 2 veces a partir de septiembre (Figura 14B), con excepción de enero que se elevó hasta 13.3 mg/(L·d), es decir 3.8 veces con respecto a los primeros meses. En cuanto a la tasa de remoción de la materia orgánica se obtuvo un aumento de 23.9 ± 9.8 a 86.2 ± 9.8 (g/h), es decir, 3.6 veces en la primera y segunda etapa, respectivamente (Figura 15). Esto es, la tasa de remoción volumétrica del humedal se incrementó aproximadamente de 149.4 a 538.7 mg/(m³·h). El aumento en la remoción coincidió con un incremento en las poblaciones bacterianas (apartado 8.4), se sabe que los procesos microbiológicos son mejorados por la existencia de macrófitas y consecuentemente la remoción de contaminantes comunes como la materia orgánica es notablemente efectiva (Brix y col., 2003). En general se obtuvo una remoción total de materia orgánica de 96.5 g/m²·año.

8.2.3. Remoción de la materia orgánica (DQO) por zonas

Se observa que ambas zonas remueven en promedio la misma cantidad de materia orgánica con una tasa de 31.4 ± 7 (g/h) para la Zona B y 33.8 ± 9 (g/h) para la Zona C. En la Zona C se aprecia un aumento progresivo en el tiempo (Figura 16); sin embargo en la zona B no se observan diferencias significativas en la tasa de remoción. Con estos resultados se puede sugerir que el humedal remueve cantidades similares de materia orgánica, a lo largo del HA. Contrario a lo encontrado por Lara (1999), que menciona que en los humedales de flujo subsuperficial la carga influente (de entrada) es reducida rápidamente a la entrada del humedal. Ya que la remoción en nuestro HA no fue gradual.

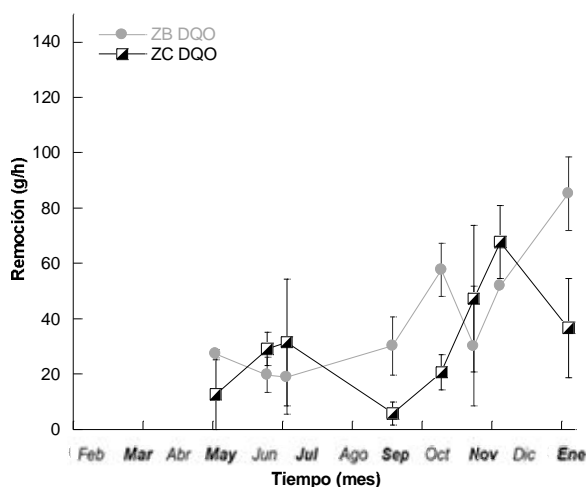


Figura 16. Variación en el tiempo de la tasa de remoción de la DQO por zonas. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n=3-10).

8.3 Crecimiento de las plantas

El crecimiento vegetal requiere la incorporación de aquellos elementos esenciales para los materiales que constituyen a las plantas (Salisbury y Ross, 1994), el crecimiento puede ser anual, bienal o perene dependiendo del ciclo de vida de la planta. Los organismos unitarios tienen un ciclo de vida bien definido a diferencia de los organismos modulares que su crecimiento está dado por la iteración de sus módulos. *Cyperus papyrus* es una planta de

crecimiento modular y por lo tanto tiene crecimiento vertical por la elongación de los vástagos (módulos) y horizontal por el elongamiento en el rizoma y a su vez por la producción de nuevos vástagos por reproducción vegetativa. La evaluación en el crecimiento de las plantas del humedal fue determinado mediante estas dos variables a través de su tasa de crecimiento (TC). La determinación en el crecimiento de las plantas fue realizada durante un ciclo anual al igual que la concentración de NH_4^+ y PO_4^{3-} y el conteo bacteriano de la rizosfera. Los resultados se muestran a continuación para las zonas B y C.

8.3.1. Tasa de crecimiento vertical y horizontal

La elevada capacidad de absorber nutrientes de las especies acuáticas se ha reconocido desde hace mucho. La facilidad de recolección, la alta productividad de algunas de estas especies y el alto contenido en N y P de sus tejidos, hacen que estas plantas resulten muy adecuadas para reducir el nivel de nutrientes de los efluentes (Curt, 2005). Bajo este panorama fue determinado el crecimiento vertical y horizontal de las plantas del humedal para buscar una relación con la disminución de nitrógeno amoniacal, nitrato, y fosfatos en el HA evaluado. Los resultados de la TC vertical son los siguientes. En la Figura 17A, se observa la TC vertical de las plantas de la zona B y C del HA, se observa claramente que durante el mes de octubre ambas zonas tuvieron un aumento significativo en la TC de 2.1 veces (0.5 a 1.1 cm/d) en las plantas de la zona B y de 3.4 veces (0.4 a 1.5 cm/d) en las plantas de la zonas C, posteriormente la TC vertical disminuyó. Cabe mencionar que las plantas de la zona C en octubre tuvieron una TC vertical de 0.4 cm/d más con respecto a las plantas de la zona B.

Dado que el alargamiento del rizoma requiere de nutrientes para la formación de nudos y producción de vástagos, puede relacionarse la remoción de nutrientes en el HA con dicho aumento. En la Figura 17B, se puede observar la TC horizontal de las plantas a través del

tiempo. En la TC horizontal se observa la misma tendencia que la TC vertical, es decir, tuvo un aumento significativo de 2.3 veces (de 0.34 ± 0.04 a 0.78 ± 0.21 cm/d) en la zona B y, de 2.7 veces (de 0.24 ± 0.02 a 0.66 ± 0.23 cm/d) en la zona C. Posteriormente, la TC horizontal disminuyó en ambas zonas con un valor de 0.14 ± 0.03 (cm/d) en la zona B y de 0.09 ± 0.04 (cm/d) en la zona C.

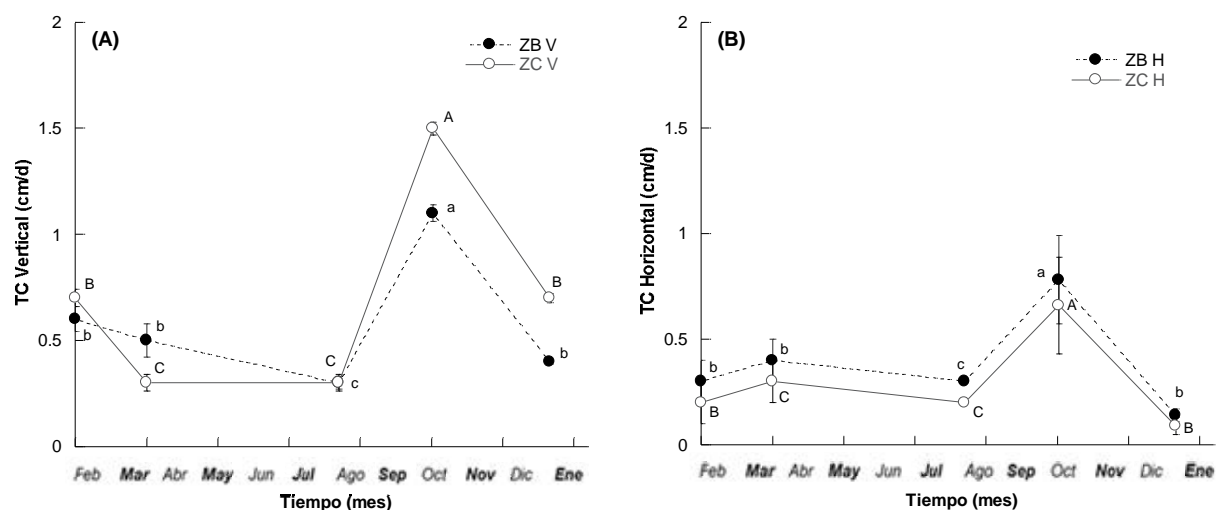


Figura 17. Tasa de crecimiento vertical (A) y horizontal (B) de *Cyperus papyrus* en el tiempo, Zona B (-○-) y Zona C (-●-) del humedal artificial. Los resultados son la media y las barras el error estándar de la media (n=87-230). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

De acuerdo a los resultados se observó una máxima tasa de crecimiento en *C. papyrus* en octubre, lo cual coincide con lo reportado en otros estudios de macrófitas en humedales, donde generalmente la mayor tasa observada en las plantas correlaciona con la mayor remoción de nitrógeno (Hadad y col., 2006; Ko y col., 2011). Así mismo, Villar y col., (1996) mencionan que las macrófitas emergentes muestran una variación estacional en su crecimiento, logrando su máxima biomasa al final del periodo de crecimiento (marzo - octubre) y la mínima biomasa al final del invierno (noviembre - enero). En nuestro trabajo es destacable mencionar que la máxima tasa de crecimiento en *C. papyrus* se relacionó con el aumento en la remoción de NH_4^+ . Con respecto a la disminución de la TC vertical y horizontal

observada en diciembre-enero se puede deber a una respuesta fisiológica de las plantas ante la baja temperatura de las épocas invernales. El enfriamiento modifica el metabolismo celular, ya que son afectadas las reacciones enzimáticas, la velocidad a la que las sustancias se mueven dentro de las células, la fluidez de las membranas, con lo que el transporte de agua y nutrientes a través de las mismas puede variar y afectar la producción de la planta (Salisbury y Ross, 1994).

En otros estudios además de observar la misma tendencia en el crecimiento que con *C. papyrus* se observó una dominancia por alguna especie vegetal, como lo reportan Hadad y col., (2006) evaluaron el crecimiento de macrófitas y la remoción de N, P y metales pesados en un HA piloto con un caudal de 1000 L/d (TRH 7d), área superficial 18 m², para tratamiento de AR industriales. Diferentes macrófitas fueron transplantadas al HA, con un periodo de evaluación de julio de 2001 a septiembre de 2002. Los autores obtuvieron eficiencias de remoción de 89% para el nitrato y 70% en remoción de fosfato. En la biomasa de las plantas se observó un aumento significativo en la concentración de fosfato al final del tratamiento. En todas las plantas se observó un crecimiento de mayo a agosto, otras también mostraron crecimiento de mayo a noviembre y la mayoría de las plantas murieron en noviembre y enero. Resaltan que *Typha domingensis* y *P. elephantipes* fueron las dominantes y crecieron significativamente con el tiempo mostrando un mayor incremento de mayo a agosto. Los autores reportan dominancia y desplazamiento de otras plantas por *Typha domingensis*, y establecen que el principal comportamiento competitivo de esta especie destaca en su morfología como planta macrófita provista de rizomas a lo que le asumen gran aumento de biomasa y por lo tanto ventaja competitiva.

Aunque el crecimiento de *C. papyrus* tuvo una respuesta parecida a los estudios realizados no fue determinado el contenido de N en el tejido vegetal, solamente se evaluó su

crecimiento a través de la longitud, la mayoría de las investigaciones reportadas si lo consideran como es el caso de Koa y col., (2011) que evaluaron la correlación entre la eficiencia en el sistema y la remoción de nutrientes por macrófitas en un HA considerado la variación estacional. El HA para tratamiento de AR urbanas, tenía 3.3 ha, con un caudal de 4000m³/d, compuesto de cuatro compartimentos, cada uno tenía diferentes especies de macrófitas. Los autores reportan mayor acumulación de N y P con un aumento en la biomasa en el periodo de marzo a septiembre, y posteriormente en diciembre obtienen una disminución significativa en el contenido de N y P de la biomasa. Observan que la mayor eficiencia de remoción de N y P se presentó cuando la biomasa aumentaba. Concluyen que la remoción de nutrientes de las macrófitas emergentes fue más significativa durante las temporadas de crecimiento (marzo a septiembre).

8.3.2. Tasa de reclutamiento y mortalidad

Un rizoma es un tallo modificado subterráneo que crece de forma horizontal que produce raíces y brotes herbáceos de sus nudos. Los rizomas crecen indefinidamente. En el curso de los años mueren las partes más viejas pero cada año producen nuevos brotes, cubriendo grandes áreas de terreno. Sus ramas engrosadas suelen presentar entrenudos cortos, tienen catáfilos incoloros (hojas modificadas no fotosintéticas) y raíces adventicias y yemas. Cada entrenudo contiene células apicales (células con capacidad de división) que propicia la formación de un nuevo vástago.

Con el fin de conocer si la remoción de nutrientes del agua del humedal es favorecida por la producción de vástagos se determinó la tasa de reclutamiento (natalidad) y mortalidad en las plantas. En la Tabla 7, se muestran los resultados del reclutamiento y la mortalidad obtenida. Se puede apreciar que en ambas zonas, la tasa de reclutamiento aumentó de 2 a 6 vástagos/semana a partir de abril hasta octubre (primavera – verano). En general

C. papyrus recluta 4.7 ± 1.5 (vástagos/semana) en su periodo de crecimiento, al llegar la época invernal solo recluta 1 vástago/semana. La mortalidad se mantuvo constante en el tiempo, se observa que la mortalidad es muy similar a la producción de nuevos vástagos de febrero a octubre, lo que nos indica un equilibrio entre la reproducción y la muerte de los vástagos maduros. La mortalidad rebasa al reclutamiento en diciembre ya que de cada individuo que nace mueren cuatro para la zona B y seis para la zona C (Tabla 7) estos resultados indican claramente un aumento de muertes en la época invernal, esta respuesta nos indica claramente el ciclo de vida de *C. papyrus*.

Tabla 7. Tasa de reclutamiento y de mortalidad en *Cyperus papyrus* durante el año de evaluación. Los resultados son la media, \pm el error estándar de la media ($n=8$). Las letras indican diferencias significativas. De febrero a octubre es 2012 y enero 2013.

TIEMPO (MES)	ZONA B (vástagos/semana)		ZONA C (vástagos/semana)	
	Reclutamiento	Mortalidad	Reclutamiento	Mortalidad
Febrero	2 ± 0.8^b	5 ± 1.2^a	2 ± 0.3^B	2 ± 0.2^C
Abril	5 ± 1.7^a	4 ± 1.4^a	5 ± 0.8^A	4 ± 0.4^B
Agosto	4 ± 1.0^a	2 ± 0.6^b	3 ± 0.5^A	2 ± 0.2^C
Octubre	6 ± 0.6^a	5 ± 1.0^a	5 ± 0.4^A	5 ± 1.3^A
Enero	1 ± 0.4^b	4 ± 0.7^{ab}	1 ± 0.1^C	6 ± 1.0^A

8.3.3. Tasa finita de crecimiento (*lambda* λ)

En la Tabla 8, se muestran los resultados obtenidos de la tasa finita de crecimiento de la parte vertical a través de la determinación de *lambda* ($\lambda=N_{t+1}/N_t$) como medida de la adecuación (eficiencia biológica) y el crecimiento poblacional en porcentaje. Los valores representan el promedio en cada periodo de medición, se muestra también la λ anual.

En general los resultados siempre fueron mayor a la unidad ($\lambda > 1$) lo que significa que la población se encuentra en crecimiento (Tabla 8). La tasa finita de crecimiento vertical fue mucho mayor en febrero y agosto con respecto a los siguientes meses, lo anterior también

se refleja en el porcentaje de crecimiento poblacional, en febrero las plantas aumentaron 248 % y 352 % en la zona B y C, respectivamente.

Tabla 8. Tasa finita de crecimiento de la vertical en *Cyperus papyrus* en el año de evaluación en el humedal artificial. Los resultados son la media, \pm el error estándar de la media (n=67-230).

Periodo de crecimiento	ZONA B		ZONA C	
	λ (N_{t+1}/N_t)	Crecimiento (%)	λ (N_{t+1}/N_t)	Crecimiento (%)
Febrero	3.5 \pm 0.65	248.3	4.5 \pm 0.37	352.8
Abril	1.7 \pm 0.16	72.3	1.4 \pm 0.06	43.7
Agosto	2.5 \pm 0.27	154.9	1.8 \pm 0.13	78.2
Octubre	1.6 \pm 0.07	63.2	2.0 \pm 0.06	100.0
Enero-13	1.9 \pm 0.08	87.4	1.9 \pm 0.03	91.2
Anual	2.4 \pm 0.3	136 \pm 30	2.6 \pm 0.5	162 \pm 54

De febrero a octubre corresponde al año 2012

Si $\lambda = 1$ significa que la población se mantiene constante ($N_{t+1} = N_t$)

Si $\lambda < 1$ indica que la población está disminuyendo ($N_{t+1} < N_t$)

Si $\lambda > 1$ indica que la población está creciendo ($N_{t+1} > N_t$)

La λ obtenida del crecimiento horizontal también fue $\lambda > 1$ en todos los periodos de medición, en este caso no se observan diferencias significativas en el tiempo. Se observa claramente como el porcentaje de crecimiento poblacional va disminuyendo a medida que pasa el tiempo (Tabla 9).

Recientemente, Ko y col., (2011) reportan un incremento en la biomasa de las plantas de marzo a septiembre con un 135 % de su área original, es decir la cobertura se extendió a más del doble de la biomasa inicial, por efecto de la remoción de nutrientes del agua residual en un humedal artificial. Los autores mencionan que la mayor eficiencia de remoción de nutrientes fue obtenida en el primer periodo de estación evaluado (marzo de 2007) con respecto al siguiente año (marzo 2008). Las observaciones fueron consistentes con el periodo de crecimiento de las comunidades macrófitas. Estos resultados coinciden con lo obtenido en nuestro estudio de acuerdo a la tasa finita de crecimiento, se observa una *lambda* significativamente mayor en los primeros meses de evaluación, aunado a una

remoción de 80% de NH_4^+ (cabe recordar que la carga de amonio era pequeña en los primeros meses), por lo que se puede sugerir, que la concentración de amonio en el humedal era la necesaria para que se produjera el mantenimiento de las plantas, ya que este fue disminuido un 80 %. Transcurridos los meses, cuando aumentó la carga, las plantas no fueron afectadas pero la eficiencia disminuyó a 32 % (en la segunda etapa), lo que significa que las plantas asimilaron solamente el nitrógeno amoniacal necesario para su crecimiento y almacenaje, lo que significa que las plantas tienen un límite máximo de asimilación de nutrientes, aunque estos se encuentren disponibles, ya no pueden ser asimilados por éstas.

Tabla 9. Tasa finita de crecimiento de la horizontal en *Cyperus papyrus* en el año de evaluación en el humedal artificial. Los resultados son la media, \pm el error estándar de la media (n=67-230).

Periodo de crecimiento	ZONA B		ZONA C	
	$\lambda (N_{t+1}/N_t)$	Crecimiento (%)	$\lambda (N_{t+1}/N_t)$	Crecimiento (%)
Febrero	1.5 \pm 0.09	48.2	1.6 \pm 0.09	60.8
Abril	1.2 \pm 0.04	19.6	1.2 \pm 0.04	20.1
Agosto	1.2 \pm 0.03	10.0	1.2 \pm 0.03	18.8
Octubre	1.1 \pm 0.02	10.9	1.1 \pm 0.02	12.8
Enero-13	1.1 \pm 0.02	7.7	1.1 \pm 0.02	6.3
Anual	1.2 \pm 0.2	20.5 \pm 7.2	1.2 \pm 0.1	20.5 \pm 7.2

De febrero a octubre corresponde al 2012

8.3.4. Respuesta del crecimiento de las plantas testigo con agua de llave

Las plantas son organismos autótrofos porque generan sus propios alimentos a través de sustancias inorgánicas para su metabolismo. Los organismos autótrofos producen su masa celular y materia orgánica, a partir del dióxido de carbono, como única fuente de carbono, usando la luz o sustancias químicas como fuente de energía (Salisbury y Ross, 1994). De esta manera las plantas pueden crecer y cumplir con su ciclo de vida natural. Con base en lo anterior, se realizaron unas pruebas con la finalidad de determinar si el exceso de nutrientes que contiene el AR del HA pudiera tener un efecto en el crecimiento de las plantas, para lo

cual, se evaluó en macetas con agua de llave y solución nutritiva, Long Asthon, el crecimiento de *C. papyrus* como planta testigo.

En la Figura 18, se observa el crecimiento de las plantas en un tiempo de prueba que abarcó de agosto de 2012 a enero de 2013. Se puede observar que la TC vertical y horizontal se mantuvo constante, con valores de 0.73 ± 0.19 (cm/d) y 0.34 ± 0.07 (cm/d) respectivamente, hasta el tiempo comprendido de agosto a octubre, posterior a estos meses se presentó una disminución en la TC de 2.2 veces menor (0.33 ± 0.04 cm/d) en la vertical y de 4 veces menor (0.08 ± 0.0 cm/d) en la horizontal, lo anterior coincide con la baja TC de las plantas del HA en temporada invernal. La tasa de reclutamiento de las plantas testigo muestran una disminución en invierno (Figura 18).

Es relevante mencionar que las plantas del HA mostraron mayor crecimiento por tener valores más altos en su TC y mayor longitud en vástagos con respecto a las plantas testigo.

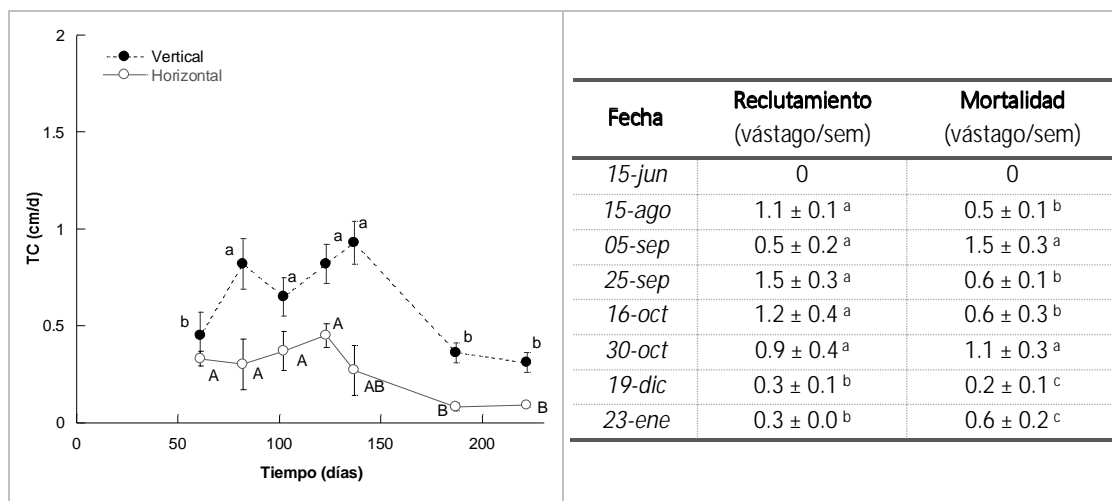


Figura 18. Tasa de crecimiento vertical (●) y horizontal (○) de plantas testigo. **Tabla:** Tasa de reclutamiento y mortalidad de las plantas testigo en un periodo de agosto de 2012 a enero de 2013. Los resultados son la media, \pm son el error estándar de la media. Las letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

8.4 Variación en el tiempo de la cuenta bacteriana de la rizosfera por zonas

Se ha demostrado que parte de las funciones depuradoras de las AR están reguladas por los microorganismos y su metabolismo (Lara, 1999). La biomasa microbiana consume gran parte del carbono orgánico y muchos nutrientes presentes en el AR. Por otro lado, se sabe que las raíces de las plantas son unos de los hábitat propicios para el desarrollo de los microorganismos (Atlas y Bartha, 2002), su interacción satisface requerimientos nutritivos básicos para ambos (Bowen, 1980). La estructura del sistema radical contribuye a establecer la población microbiana en la rizosfera (Lynch, 1982). Con la finalidad de conocer la influencia de los microorganismos en la remoción de los contaminantes del AR y su relación con la biomasa de las plantas, se determinó el número de poblaciones bacterianas presentes en la rizosfera.

8.4.1. Determinación de número de bacterias en la rizosfera

En la Figura 19, se muestra la variación en el tiempo por zonas de la cuenta bacteriana de la rizosfera. El promedio obtenido en la zona B fue de $1.2 \times 10^7 \pm 1.2 \times 10^6$ (UFC/g raíz) en los meses de febrero a octubre. En la zona C, fue de $9.2 \times 10^6 \pm 1.8 \times 10^6$ (UFC/g raíz) para los mismos meses. Posteriormente en diciembre y enero, en ambas zonas del humedal, se observó un aumento significativo de 1 y 2 órdenes de magnitud en la zona B y C, respectivamente.

La cuenta bacteriana de la zona sin planta tuvo un promedio de $1.1 \times 10^5 \pm 1.6 \times 10^4$ (UFC/g raíz) de febrero a octubre y se observó un incremento de 1 orden de magnitud en diciembre.

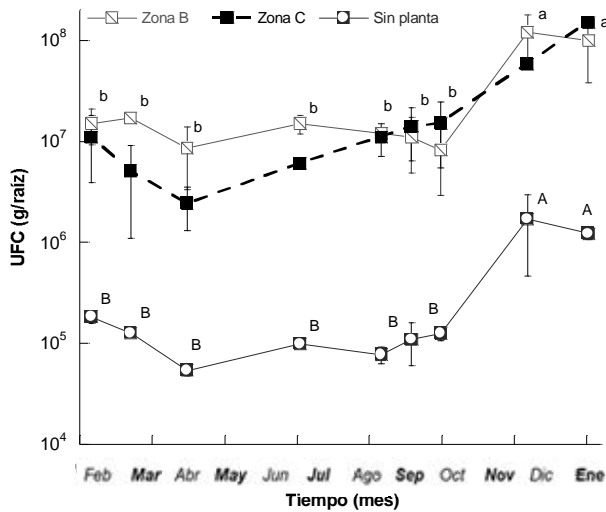


Figura 19. Conteo bacteriano de la rizosfera, zona B (□) y zona C (■), zona sin planta (◻) en el tiempo que abarcó febrero de 2012 a enero 2013. Los resultados son la media, las barras son el error estándar de la media (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0.05).

A pesar de que no se observaron diferencias significativas, en la cuenta bacteriana, entre las zonas, si se obtuvo mayor número en las bacterias asociadas a la rizosfera de 80 veces, con respecto a la zona sin planta. Estos resultados indican que la rizosfera favorece la proliferación de microorganismos. Esto se puede deber a lo mencionado por Alarcón, y Ferrera-Cerrato., (2013) la comunidad microbiana que se establece en la zona aledaña al sistema radical de las plantas, es más abundante y de mayor actividad fisiológica, con respecto a aquella que se desarrolla en el suelo sin influencia del sistema radicular. Lo anterior debido a que la raíz de las plantas estimula la actividad microbiana al proveer diversas sustancias que sirven como fuente de energía y nutrición a microorganismos. En un estudio publicado por Kyambadde y col., (2004) realizaron un conteo bacteriano y la actividad nitrificante en la raíz de dos plantas (*Cyperus* y *Miscanthidium*), en el sedimento y el agua en un HA para tratamiento de AR. Los autores demostraron que la raíz de *Cyperus papyrus* favorece sitios para la producción de bacterias, debido a su morfología de raíz la cual posee un gran número de raíces adventicias y fibrosas que además de aumentar el área superficial (208.6 cm²), aporta mayor oxígeno a la rizosfera y provee sitios de oxígeno para las bacterias, lo cual reduce la competencia de heterótrofos y nitrificantes asociados a la raíz,

también incrementa el tiempo de residencia del agua y retiene partículas de materia orgánica que pueden ser aprovechadas por las bacterias. Además determinaron un valor de $2.15 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^5$ (NMP/g raíz PS) comparado con *Miscanthyidium* ($1.3 \times 10^4 \pm 8.83 \times 10^2$ NMP/g raíz PS) y la columna de agua ($2.93 \times 10^3 \pm 8.83 \times 10^1$ NMP/100 mL), finalmente la actividad nitrificante fue 5 veces mayor en la raíz de *Cyperus*. Lo destacable de este trabajo es que el mayor número de bacterias está en asociación a la rizosfera.

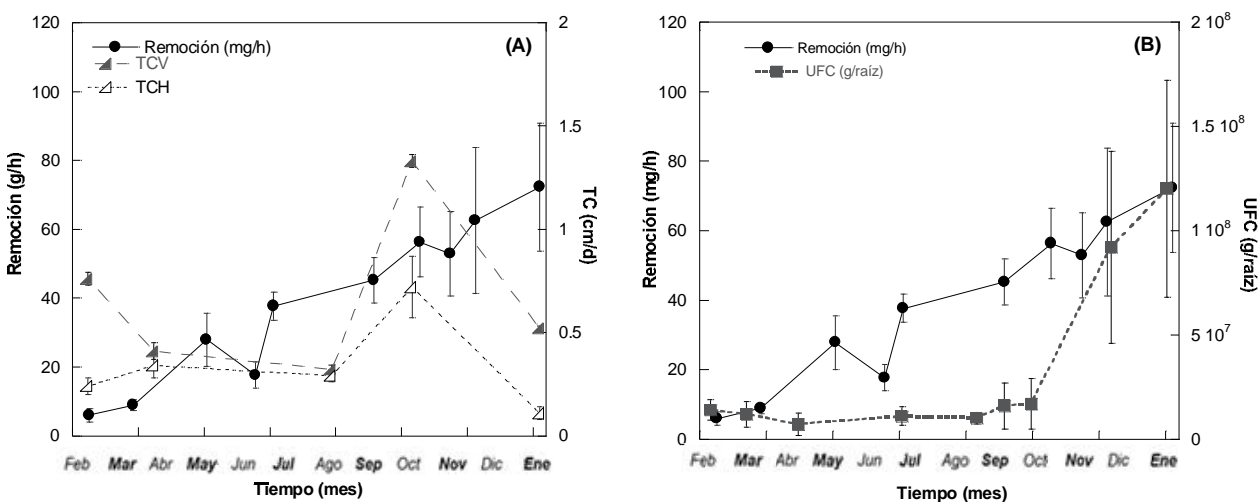
8.5 Relación de variables

Está bien documentado que en un HA la remoción de contaminantes es efectuada por la interacción entre plantas, microorganismos, agua residual y suelo (medio filtrante), a través de procesos físicos, químicos y biológicos, de manera que, si se presenta un cambio en uno de ellos, puede tener impacto en todo el sistema. Por lo tanto, para describir las posibles relaciones ocurridas se analizó la relación entre el crecimiento de las plantas, la cuenta bacteriana y la remoción de contaminantes.

8.5.1. Remoción de nitrógeno amoniacal y crecimiento de las plantas

A partir de los resultados de remoción de nitrógeno amoniacal y TC de las plantas se observó que el incremento significativo en la tasa de remoción de NH_4^+ a partir de septiembre, coincide con el aumento en la TC de las plantas observada en octubre (Figura 20A). Estos resultados sugieren que la remoción de NH_4^+ aumentó cuando las plantas tuvieron su mayor TC debido a que el aumento en su longitud y la producción de vástagos requieren de N para su desarrollo. Esto coincide con lo encontrado por diversos autores que han reportado un incremento en la TC de las plantas aunado a la disminución de nutrientes en el influente del HA (Hadad y col., 2006; Ko y col., 2011). Cabe recordar que la TC de las plantas disminuyó en invierno, contrario a la remoción de amonio que se mantuvo constante hasta el final de la evaluación.

Estos resultados sugieren que la remoción que continuó en el HA, fue con mayor aporte de parte de los microorganismos, ya que las poblaciones aumentaron significativamente en todo el HA, tanto en la rizosfera como en las zonas sin plantas durante enero (Figura 20B).



El incremento en las poblaciones de bacterias puede estar relacionado con el aumento en la carga de nitrógeno amoniacal (Figura 10) y de materia orgánica (Figura 14) registrado a partir de septiembre, incluso la disminución en el TRH (Figura 9) pudo beneficiar a las poblaciones microbianas. Lo anterior basado en lo reportado por Winkler (1986), cuando los nutrientes son descompuestos por procesos aeróbicos, una parte se utiliza en la síntesis de la nueva materia microbiana de las células, o biomasa, de modo que aumenta la población microbiana. Si el suministro de nutrientes se mantiene, pero no con una tasa suficientemente alta como para agotar el oxígeno disuelto, la población microbiana se estabilizará a un nivel más alto. El mayor número de los microorganismos propicia una mayor descomposición de los nutrientes y el proceso se acelerará hasta que se agote el nutriente o el oxígeno disuelto libre (Winkler, 1986). Por lo cual, en el caso de nuestro estudio, puede ser probable que el

aumento en las poblaciones microbianas que se observó en diciembre-enero fue para incrementar a los microorganismos aerobios.

8.5.2. Remoción de materia orgánica y la cuenta bacteriana de la rizosfera

Muchas transformaciones de los nutrientes y del carbono orgánico en humedales son debidas al metabolismo microbiano y están directamente relacionadas con el crecimiento de los microorganismos (bacterias, hongos, y protozoarios).

Cuando se relacionó la cuenta bacteriana y la tasa de remoción de la materia orgánica se observó un incremento en ambas variables en diciembre-enero (Figura 21A), lo que hace suponer como lo menciona Winkler (1986), que a mayor consumo de materia orgánica y nutrientes como fuente de carbono, se observa mayor cantidad de bacterias, ya que según avanza la descomposición de fuentes carbonadas, baja el nivel de nutrientes y por lo tanto mejora la calidad del agua.

Por otro lado, el cambio en la remoción de materia orgánica se presentó desde septiembre, periodo donde la cuenta bacteriana no mostró cambios, pero el crecimiento horizontal de las plantas si aumentó, lo que se sugiere, es que si los rizomas aumentaron de tamaño (Figura 21B), entonces incrementó el área de contacto que promueve la retención de partículas de materia orgánica, lo anterior basado en reportes de Pérez-Olmedilla y Rojo. (2000): las macrófitas en los humedales utilizados como sistemas de tratamiento de aguas residuales, desempeñan papeles múltiples en el buen funcionamiento del sistema, tratándose tanto de actuaciones activas derivadas de la actividad fisiológica de la vegetación como actuaciones pasivas, en las que no intervienen éstos. En primer lugar pueden ejercer funciones de desbaste, reteniendo los sólidos gruesos arrastrados por el agua residual, reducen la velocidad del influente, lo que favorece la floculación y la sedimentación de partículas en suspensión (Coleman y col., 2001). Por otro lado Alarcón y Ferrera-Cerrato (2013)

mencionan que las interrelaciones que se llevan a cabo entre el sistema radicular y los diversos factores físicos, químicos y biológicos del suelo, afectan la adaptación, el crecimiento y la productividad de las planta.

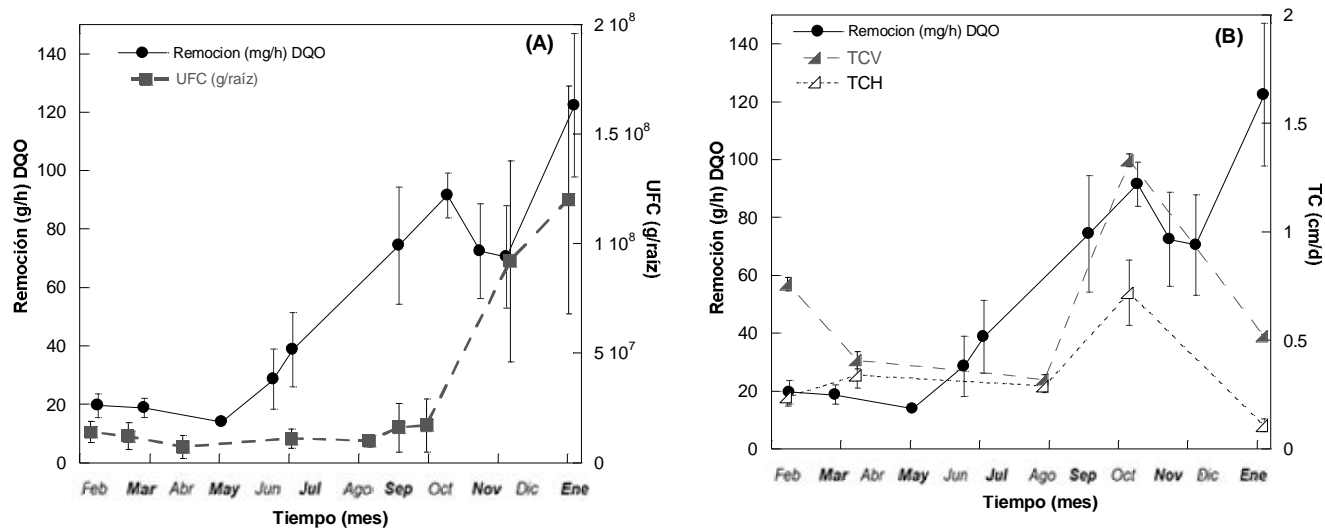


Figura 21. Relación de la tasa de remoción de la DQO y la cuenta bacteriana **(A)** y la tasa de remoción de DQO y tasa de crecimiento de las plantas **(B)**.

9. CONCLUSIONES

- La vegetación presente en el humedal artificial fue eficiente para remover los contaminantes contenidos en el agua residual pre-tratada.
- Las plantas cumplieron con su ciclo de crecimiento natural durante el año de su evaluación a pesar de los cambios en la carga, caudal y variables no controladas observadas en el humedal artificial.
- El humedal artificial fue capaz de mantener su eficiencia de remoción a pesar de los cambios observados y las variables no controladas.
- El área del humedal artificial es pequeña para la cantidad de agua que recibe y la carga de contaminantes a la entrada.
- La remoción de contaminantes en el humedal se vio beneficiada con el aumento en la tasa de crecimiento de las plantas.
- Se observó una relación directa en la remoción de contaminantes, el crecimiento de las plantas y la cuenta bacteriana de la rizosfera.
- No se observaron diferencias en la tasa de remoción por zonas, es decir, los contaminantes son removidos a la misma velocidad en todo el humedal.
- Con base en los resultados obtenidos los humedales artificiales pueden ser una excelente alternativa para tratar el agua residual y pueden ser utilizados en poblaciones de bajos recursos económicos para contribuir a la disminución en la contaminación de agua en nuestro país.

RECOMENDACIONES

Con base en el trabajo realizado y los resultados obtenidos, se recomienda mejorar la eficiencia del humedal artificial y la realización de otros estudios que nos ayuden a entender de mejor manera los procesos biológicos involucrados en la remoción de contaminantes.

- a) Instalar un tanque de regulación y homogeneización para controlar el caudal y ajustar el TRH, con esto se garantiza un flujo constante y un control en el tiempo de residencia. Bajo estas condiciones controladas se incrementaría la eficiencia y se lograría tratar más agua.
- b) Conectar los dos humedales de la planta piloto 9 para aumentar el área superficial, con lo que se lograría mayor eficiencia.
- c) Realizar una poda a las plantas una vez al año para provocar mayor producción de brotes y eliminar toda la materia seca muerta (restos de vegetación) dentro del humedal para evitar el regreso de nutrientes y materia orgánica al humedal.
- d) Realizar pruebas de DBO₅ ya que es el parámetro que pide la NOM-003 y NOM-001 y otras empresas que necesitan conocer la calidad del agua.
- e) Estudiar la hidrodinámica en el humedal artificial en temporada de secas y lluvias con el fin de tener un modelo que nos aproxime a los procesos biológicos involucrados.
- f) Determinar la concentración de N y P en el tejido vegetal y correlacionarla con la remoción de nutrientes en el humedal artificial. Para demostrar de mejor manera el papel de las plantas en la eliminación de nutrientes.
- g) Se sabe que los humedales artificiales son una tecnología de bajo costo operación y mantenimiento, por lo tanto se propone implementar este sistema en zonas del país de bajos recurso económicos que no cuentan con sistema de drenaje o bien en instituciones educativas como una alternativa de tratamiento de aguas residuales y así ayudar a disminuir el problema de contaminación ambiental y de salud.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar-Pinto, M.I., Costa, M., Matos, A., Sousa, Coutinho, C.C. y Castro, P.M.L. 2011. Polishing domestic wastewater on a subsurface flow constructed wetland: organic matter removal and microbial monitoring. *International Journal of Phytoremediation*. 13: 947-958.
- Alarcón, A y Ferrera-Cerrato, R. 2013. Biorremediación de suelos y aguas contaminadas con compuestos orgánicos e inorgánicos. Editorial Trillas. México. 330 p.
- Ansola, G., González, J.M. y Cortijo R. de Luis E. 2003. Experimental and full-scale pilot plant constructed wetlands for municipal wastewater treatment. *Ecology Engineer*. 21: 43-52.
- APHA-AWWA-WPCF. 2005. Standard Methods for the examination of water and wastewater. *American Public Health Association*. 16th edition Washington D.C. E.U.A.
- Arias, C.A., Bubba, M.D., y Brix, H., 2001. Phosphorus removal by sands for use as media in subsurface flow constructed reed beds. *Water Res*. 35: 1159–1168.
- Arias, C. y Brix, H. 2003. Humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*. 13: 17-24.
- Atlas, R. y Bartha, R. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Pearson Educación. S.A. Madrid, España, 677 p.
- Asaeda, T., Nam, L.H., Hietz, P., Tanala, N. y Karunaratne, S. 2002. Seasonal fluctuations in live and dead biomass of *Phragmites australis* as described by growth decomposition model; implications of duration of aerobic conditions from litter mineralization and sedimentation. *Aquat Bot*. 73:223–239.
- Badkoubi, A., Ganjidoust, H., Ghaderi, A. y Rajabi, A. 1998. Performance of a subsurface constructed wetland in Iran. *Water Sci Technol*. 38(1):345–350.
- Batchelor, Allan y Loots, Pierre. 1997. A critical evaluation of a pilot scale subsurface flow wetland: 10 years after commissioning. *Water Science and Technology*. 35 (5): 337–343.
- Begon, Michael., Harper, John L. y Townsend, Colin R. 1999. Ecología: individuos, poblaciones y comunidades. 3a edición. Ed. Barcelona, España: Omega. 886 p.
- Bernal, F. Mosquera, D., Maury, H.A. Gonzalez, D., Guerra, R., Pomare, A. y Silva, M. 2003. Humedales artificiales para el tratamiento de las aguas residuales en la corporación universitaria de la costa. Seminario internacional sobre metodos naturales para el tratamiento de aguas residuales.
- Brix H. 1993. Macrophyte mediated oxygen transfer in wetlands: transport mechanisms and rates. In: *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. Moshiri G.A. (ed.). Lewis Publishers, Boca raton, Florida, 391-398 pp.
- Brix H. 1997. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? *Water Science and Technology*. 35: 11.17.
- Brix, Hans., Sorrell, Brian K. y Lorenzen, Bent. 2001. Are *Phragmites* dominated wetlands a net source or net sink of greenhouse gases? *Aquatic Botany*. 69 (2-4): 313-324.
- Brix, H., Arias, C.A. y Johansen, N. 2003. Experiments in a two stage constructed wetland system: nitrification capacity and effects of recycling of nitrogen removal. In: *Wetlands Nutrients, Metals and Mass Cycling*. Backhuys Publishers, Leiden. *The Netherlands*. pp 237–258.
- Bowen G. D. 1980. Misconceptions, concepts and approaches in rhizosphere biology, en Ellwood D. C., Hedger J. N., Lathan M. J., Lynch J. M. y Slater J. H., *Contemporary in Microbial Ecology*, American Society for Microbiology, Washintong, D.C. 201-207 pp.
- CONAGUA. 2013. Estadísticas del Agua en México, edición 2013. www.conagua.gob.mx
- Chang, Jun-Jun., Su-ying, Wu., Yan-ra, Dai., Wei Liang. y Zhen-bin Wu. 2012. Treatment performance of integrate vertical-flow constructed wetland plots for domestic wastewater. *Ecological engineering*. 44: 152-159.

- Coleman, J., Hench, K., Garbutt, K., Sexstone, A., Bissonnette G. y Skousen J. 2001. Treatment of domestic wastewater by three plant species in constructed wetlands. *Water, Air, and Soil Pollution*. 128:283-295.
- Contreras Francisco. 1984. Manual de Técnicas Hidrobiológicas. México. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. 149 pp.
- Curt Fernández, De la Mora Ma. Dolores. 2005. Fitodepuración en humedales. En: Manual de Fitodepuración. Editores: De Miguel, Beascoechea, E., De Miguel, Muñoz, J., D Fernández, De la Mora Ma. Dolores. Coordinador: Fernández González J. Ed. Editan. Madrid, España. 129 p.
- De Miguel, Muñoz, J. 2005. Componentes de los sistemas convencionales de depuración de aguas residuales. En: Manual de Fitodepuración. Editores: De Miguel, Beascoechea, E., De Miguel, Muñoz, J., Curt Fernández, De la Mora Ma. Dolores. Coordinador: Fernández González J. Ed. Editan. Madrid, España. 129 p.
- Eckenfelder, W.W. y Argaman, Y. 1978. Kinetics of nitrogen removal for municipal and industrial applications. Cap 3 en *Advances in Water and wastewater treatment, Biological Nutrient Removal*, eds. Wanielista, M. P. y Eckenfelder W. W. Ann, Arbor Science, 23-41.
- Fernández, González, J. 2005. Humedales artificiales para depuración. En: Manual de Fitodepuración. Editores: De Miguel, Beascoechea, E., De Miguel, Muñoz, J., Curt Fernández, De la Mora Ma. Dolores. Coordinador: Fernández González J. Ed. Editan. Madrid, España. 129 p.
- Fonkou, T; Ivo, B. S; Lekeufack M; Mekontso T. F. y Amougou A. 2011. Potential of *Cyperus Papyrus* in Yard-Scale Horizontal Flow Constructed Wetlands for Wastewater Treatment in Cameroon. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*. 1(2): 160-168.
- Fountoulakis, M.S., Terzakis, S., Chatzinotas, A., Brix, H., Kalogerakis, N. y Manios T. 2009. Pilot-scale comparison of constructed wetlands operated under high hydraulic loading rates and attached biofilm reactors for domestic wastewater treatment. *Sci Total Environ*. 407(8):2996–3003.
- García, S. J. y Corzo, H. A. 2008. Depuración con Humedales Construidos Guía Práctica de Diseño, Construcción y Explotación de Sistemas de Humedales de Flujo Subsuperficial.
- Gómez, R., Suarez, M. L. y Vidal Abarca, M. R. 2001. The performance of a multi-stage system of constructed wetlands for urban wastewater treatment in a semiarid region og SE Spain. *Ecological Engineering*. 16:501-517.
- Grant, W. y Long, P. 1989. Microbiología ambiental. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 298 p.
- Hadad, H.R., Maine, M. A. y Bonetto, C.A. 2006. Macrophyte grow in a pilot-scale constructed wetland for industrial wastewater treatment. *Chemosphere*. 63: 1744-1753.
- Hua, Cheng Sim., Mohd Kamil, Yusoff., Brian Shutes., Sinn Chye Ho. y Mashhor, Mansor. 2008. Nutrient removal in a pilot and full scale constructed wetland, Putrajaya city, malasiia. *Journal Environmental Managment*. 88: 307-317.
- Huang, Juan., Reneau, J. B. y Agedor, C., 2000. Nitrogen removal in constructed wetland employed to treat domestic wastewater. *Water Res*. 34(9): 2582-2588.
- Kadlec, R. y Knight, R. 1995. Treatment wetlands. University of Michigan and Wetland *Management Services*. 893 p.
- Kadlec, R.H. y Knight, R.L. 1996. Treatment Wetlands . CRC Press, Boca Ratón, 893 p.
- Kadlec, R.H., 2006. Water temperature and evapotranspiration in surface flow wetlands in hot arid climate. *Ecol. Eng*. 26 (4), 328–340.
- Ko, Chun-Han., Lee, Tsai-Ming., Chang, Fang-Chih. y Liao, Shu-Ping. 2011. The correlations between system treatment efficiencies and aboveground emergent macrophyte nutrient removal for the Hsin-Hai Bridge phase II constructed wetland. *Bioresource Technology*. 102: 5431-5437.
- Kouki, S., M'hiri, F., Saidi, N., Belaïd, S. y Hassen, A. 2009. Performances of a constructed wetland treating domestic wastewaters during a macrophytes life cycle. *Desalination*. 246(1–3):452–467.

- Krasnits, E., Friedler, E., Sabbah, I., Beliavski, M., Tarre, S. y Green, M. 2009. Spatial distribution of major microbial groups in a well established constructed wetland treating municipal wastewater. *Ecol Eng.* 35(7):1085–1089.
- Kroger, R., Holland, M.M., Moore, M.T. y Cooper, C.M. 2007. Plant senescence: a mechanism for nutrient release in temperate agricultural wetlands. *Environ. Pollut.* 146: 114–119
- Kyambadde, Joseph., Kansiime, Frank., Gumaelius, Lena. y Dalhammar, Gunnel. 2004. A comparative study of *Cyperus papyrus* and *Miscanthidium violaceum* based constructed wetlands for wastewater treatment in a tropical climate. *Water Research.* 38: 475-485.
- Lahora, Agustín. 2003. Depuración de aguas residuales mediante humedales artificiales: La Hedar de los Gallarados (Almería), en Paracuellos, M. (ed.): Ecología, manejo y conservación de los humedales, pp. 99-112, Colección Actas, 49, Instituto de Estudios Almerienses (Diputación de Almería). Almería.
- Lara, B. J. A. 1999. Depuración de aguas residuales urbanas mediante humedales artificiales. Tesis de Maestría en Ingeniería y Gestión Ambiental del Instituto Catalán de Tecnología. Universidad politécnica Cataluña. Dirección Dr. Miguel Salgot.
- Lynch J. M. 1982. The rhizosphere, en eds. R. G. Burns y J. H. Slater, *Experimental microbial ecology*, Blackwell, Oxford, Inglaterra, 396-411 pp.
- Matheson, Fleur E. y Sukias, James P. 2010. Nitrate removal processes in a constructed wetland treating drainage from dairy pasture. *Ecological Engineering.* 36:1260-1265.
- Maine, M.A., Sune, N., Hadad, H., Sánchez, G. y Bonetto, C. 2007. Removal efficiency of a constructed wetland for wastewater treatment according to vegetation dominance. *Chemosphere.* 68: 1105-1113.
- Mandujano, M. C., C. Montaña, M. Franco, J. Golubov. y Flores-Martínez, A. 2001. Integration of demographic annual variability in a clonal desert cactus. *Ecology.* 82: 344-359.
- Martin, M., Galardo S., Hernández-Crespo, C. y Oliver, N. 2013. Phosphorous and nitrogen removal from tertiary treated urban wastewaters by a vertical flow constructed wetland. *Ecological Engineering.* 61: 34-42.
- Mena, Sanz J. 2000. Depuración de aguas residuales con humedales artificiales: Ventajas de los sistemas híbridos. Institución: Alquimia Soluciones Ambientales.
- Mina, I.A-P. y Ferreira, M.J. 2006. Reviving Kathie Seidels legacy to University of Minho. In: IWA, editor. 2006. Proceedings of the 10th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control. Lisbon (Portugal): MAOTDR (Ministerio do Ambiente, do Ordenamento do Território do Desenvolvimento Regional). 641–649 pp.
- Mitsch, W.J., Day Jr., J.W., Gilliam, J.W., Groffman, P.M., Hey, D.L., Randall, G.W. y Wang, N. 2001. Reducing nitrogen loading to the Gulf of Mexico from the Mississippi River Basin: strategies to counter a persistent ecological problem. *Bioscience.* 51: 373–388.
- Mitsch, W. J. y Gosselink, J.G. 2000. *Wetland*. 3era Ed. Van Nostrand Reinhold. USA.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta.* 27: 31–36.
- Mwaura, F.B. 1981. Nitrogen Fixation in the *Papyrus* Swamps of Lake Naivasha. M.Sc. Thesis, University of Nairobi.
- Nadai, H., Capela, I., Arroja, L. y Duarte, A. 2001. Effect of organic, hydraulic and fat shocks on the performance of UASB reactor with intermittent operation, *Wat. Sci. Tech.* 44(4):49–56.
- Pérez-Olmedilla, M. y Rojo, C. 2000. Función depuradora de los humedales I: una revisión bibliográfica sobre el papel de los macrófitas. *Boletín SEHUMED* Año IV (14).

- Ramírez-Carrillo, M. F.; Luna-Pabello, V. M. y J. L. Arredondo-Figueroa. 2009. Evaluación de un humedal artificial de flujo vertical intermitente, para obtener agua de buena calidad para la acuicultura. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 8(1):93-99.
- Ramahlo, R.S. 1991. Tratamiento de Aguas Residuales. Editorial Reverté, SA, Barcelona.
- Reedy, K. R. y DeBusk, W. F. 1985. Nutrient removal potential of selected aquatic macrophytes. *Journal of Environmental Quality*. 19:261.
- Rheinheimer, G. 1987. Microbiología de las aguas. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 298 p.
- Rojas, Alvarado, J. D. 2005. Diversidad bacteriana en el perifiton de raíces de *Eichornia* sp., *Pistia* sp y *Azola* sp., en un humedal artificial de la universidad Earth. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Biología Ingeniería en Biotecnología.
- Romero, J. 2004. Tratamiento de aguas residuales teoría y principios de diseño. Bogotá. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. 4:1248.
- Rodríguez-Monroy, J., Durán DeBazúa, C. 2006. Remoción de nitrógeno en un sistema de tratamiento de aguas residuales usando humedales artificiales de flujo vertical a escala de banco. Tecnología, Ciencia, Educación. (Instituto Mexicano de Ingenieros Químicos). 21(1): 25-33.
- Rosales, E. 2002. Utilización de lagunas para el tratamiento de de remanentes de granjas porcinas. Centro de Investigación en Vivienda y Construcción (CIVCO). Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 25 p.
- Streiner, D.L. 1996. Maintaining standards: differences between the standard deviation and standard error, and when to use each. *Can J Psychiatry*. (41): 498-502.
- Saunders, M. J., Jones, M. B. y Kansime, F. 2007. Carbon and water cycles in tropical *papyrus* wetlands. From the issue entitled "The wetlands of Lake Victoria (East Africa): Dynamics and challenges". *Wetlands Ecology and Management*. 15 (6): 489-498.
- Salisbury F.B. y Ross C.W., 1994. Fisiología Vegetal. Grupo Ed. Iberoamericana (Traducción de Salisbury F.B., Ross C.W. 1992. Plant Physiology, Wadsworth Publishing Company).
- Smith, R., Smith, T. 2001. Ecología. Pearson Educación, S.A. Madrid, España. 642 p.
- Solórzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenolhypochlorite method. *Limnology and Oceanography*. 14: 799-801.
- Tandukar, M., Ohashi, A. y Harada, H. 2007. Performance comparison of a pilot-scale UASB and DHS system and activated sludge process for the treatment of municipal wastewater. *Water Research*. 41: 2697-2705.
- Tanner, C.C., Kadlec, Robert H., Gibbs, M.M., Sukias, James P.S. y Nguyen, M.L. 2002. Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands-influence of wastewater characteristics. *Ecological Engineering*. 18: 499-520.
- Tiner, Ralph W. 1999. Wetland indicadores: a guide to wetland identification, delincation, clasification and mapping. Editores: Lewis Publishers. 392 p.
- Trelaghi. 2002. Proyecto Tres lagos de la Comisión LIFE AMBIENT, Parque Natural Provincial Lado di Candia (Italia) Comunidad Montana Valle Cavallina y Comunidad Europea.
- Ulate, E. 2002. Evaluación de un sistema de tratamiento terciario con plantas acuáticas mediante un modelo de laboratorio. Universidad de Costa Rica. Proyecto de Graduación. San José, Costa Rica. 113 p.
- U.S. Environmental Protection Agency. 2000. Manual: constructed treatment Wetlands wastewater. EPA/625/R-99/010. US EPA Office of Researchs and Development. Cincinnati.
- Villar, G., De Cabo, I. y Bonetto, G. 1996. Microphytic primary production and nutrient concentrations in a deltaic floodplain marsh of the Lower Parana River. *Hydrobiologia*. 330:59-66.
- Vymazal, J. 2005. Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetlands systems for wastewater treatment. *Ecological Engineering*. 25: 478-490.

- Vymazal, J., Greenway, M., Tondersky, K., Brix, H. y Mander, Ü. 2006. Constructed Wetlands for Wastewater Treatment. *Ecological Studies*. 190: 69-96
- Vymazal, J. 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Sci. Total Environment*. 380: 48-65.
- Winkler, Michael. 1986. Tratamiento biológico de aguas de desecho. Editorial Limusa. 325 p.
- Yang, Lei., Chang, Hui-Ting. y Huang, Mong-Na Lo. 2001. Nutrient removal in gravel and soil based wetland microcosms with and without vegetation. *Ecological Engineering*. 18: 91–105.
- Zhang, X. P., Liu, p., Yang, y. S. y Chen, W.R. 2007. Phytoremediation of urban wastewater by model wetlands with ornamental hydrophytes. *Journal of Environmental Sciences*. 19: 902-909.