

<https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop..v73i1.59675>

## Protozoos y metazoos presentes en dos sistemas de tratamiento de agua residual y su relación con el Índice Biológico de Lodos

Margarita Loria-Naranjo<sup>1\*</sup>;  <https://orcid.org/0000-0003-4396-7388>

1. Maestría académica en Manejo de Recursos Naturales con énfasis en Gestión Ambiental, Universidad Estatal a Distancia, Sabánilla, Costa Rica; [maggie.loria@gmail.com](mailto:maggie.loria@gmail.com) (\*Correspondencia)

Recibido 25-IV-2024. Corregido 24-X-2024. Aceptado 04-II-2025.

### ABSTRACT

#### Protozoos and metazoos present in two wastewater treatment systems and their relationship with the Sludge Biotic Index

**Introduction:** Sludge Biotic Index (SBI) is one of the most used indices for the characterization of the community of microorganisms present in the activated sludge of wastewater treatment systems. However, this index takes into consideration only the density of the predominant functional groups of protozoa that inhabit this sludge.

**Objective:** To evaluate whether the SBI value can be directly related to the number of protozoos and metazoos species found in the activated sludge of two wastewater treatment systems.

**Methods:** This study was carried out on the wastewater generated by the San Vicente de Paul Hospital in Heredia Province, Costa Rica, during the months of February, March, and April 2022. Physicochemical, environmental, operational, and biological parameters were analyzed in a total of 36 samples from a Conventional activated sludge wastewater treatment system and from a Membrane Bioreactor (MBR) (n = 18 for each treatment system).

**Results:** All the parameters evaluated are related to the abundance of microorganisms in the samples analyzed. The SBI value had an important effect on the number of organisms and can be related to the performance of the treatment system in terms of the percentage of Biochemical Oxygen Demand (BOD) and Chemical Oxygen Demand (COD) removal, especially for the MBR system.

**Conclusions:** The SBI can be improved so its calculation not only considers functional groups but also includes genus and species of protozoos and metazoos present in the activated sludge. Which in turn would refine its bioindication potential by being more specific in terms of abundance, behavior and specific requirements of each species.

**Key words:** flocs; activated sludge; ciliates; amoebas; rotifers; nematodes.

### RESUMEN

**Introducción:** El Índice Biológico de Lodos (IBL) es uno de los índices más utilizados para la caracterización de la comunidad de microorganismos presentes en el lodo activado de los sistemas de tratamiento de agua residual. Sin embargo, este índice toma en consideración únicamente la densidad de los grupos funcionales de protozoos predominantes que habitan este lodo.

**Objetivo:** Evaluar si el valor del IBL puede relacionarse directamente con la cantidad de las especies de protozoos y metazoos encontradas en el lodo activado de dos sistemas de tratamiento de aguas residuales.

**Métodos:** Esta investigación se realizó en las aguas residuales generadas por el Hospital San Vicente de Paul en la provincia de Heredia, Costa Rica, durante febrero, marzo y abril del 2022. Se analizaron parámetros fisicoquímicos, ambientales, operacionales y biológicos en un total de 36 muestras de un sistema de tratamiento por lodos activados Convencional y de un Biorreactor de Membrana (MBR) (n= 18, para cada sistema de tratamiento).



**Resultados:** Todos los parámetros fisicoquímicos, ambientales y operacionales evaluados se encuentran relacionados con la abundancia de microorganismos en las muestras analizadas. El valor del IBL ejerció un efecto importante en la cantidad de organismos, y puede relacionarse con el desempeño del sistema de tratamiento en cuanto al porcentaje de remoción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO), sobre todo para el sistema MBR.

**Conclusiones:** El IBL puede ser mejorado de manera que en su cálculo no solo considere grupos funcionales, sino que se incluya el género o especie de los protozoos y metazoos presentes en el lodo activado. Lo cual a su vez afinaría su potencial de bioindicación al ser más específico en cuanto a la abundancia, comportamiento y requerimientos específicos de cada especie.

**Palabras clave:** flóculos; lodo activado; ciliados; amebas; rotíferos; nemátodos.

## INTRODUCCIÓN

Los microorganismos bioindicadores son aquellos cuya existencia, reacciones o características estructurales de sus poblaciones dependen del medio en el que se desarrollan, y cambian al modificarse las condiciones ambientales en las que habitan (López-Arias et al., 2012). Es por esto por lo que las poblaciones de microorganismos en los lodos activados de los sistemas de tratamientos de aguas residuales pueden reflejar, de una manera integral, el nivel en que parámetros fisicoquímicos y operacionales influyen sobre el proceso de tratamiento del agua residual (Montusiewicz et al., 2010); orientando hacia posibles soluciones para mejorar las condiciones del sistema.

El Índice Biológico de Lodos (IBL) desarrollado por Madoni (1994) es uno de los índices más utilizados para la caracterización de la comunidad de microorganismos presentes en el lodo activado de los sistemas de tratamiento de agua residual (Foissner, 2016; Kepec et al., 2020; Zornoza et al., 2010). Sin embargo, el IBL toma en consideración únicamente a los grupos funcionales de protozoos que habitan este lodo; dejando de lado otros grupos de microorganismos como pueden ser los metazoos. Aunque el IBL es una herramienta útil para evaluar el estado del lodo activado, es recomendable que se utilice en conjunto con la consideración de parámetros adicionales de operación y de un análisis más específico de cada especie (Kepec et al., 2020), de forma que se pueda afinar su utilidad como herramienta de bioindicación para la calidad del lodo activado y del efluente (Foissner, 2016, Martín-Cerceda et al., 1996).

En general, los protozoos son organismos comunes en ecosistemas acuáticos (Román et al., 2022); conforman entre el 4 y 2 % de la biomasa presente en el lodo activado (Foissner, 2016). Estos protozoos, especialmente los ciliados, resultan ser bioindicadores importantes debido a su asociación con ciertas características fisicoquímicas y operacionales de los sistemas de tratamiento. Además, estos microorganismos, mediante la depredación de bacterias, influyen en la formación de flóculos y en el mejoramiento de la calidad del efluente generado (Martín-Cerceda et al., 1996; Román et al., 2022).

A diferencia de los protozoos, los metazoos son organismos pluricelulares que generalmente se presentan con baja frecuencia en los lodos activados (Arregui et al., 2013). Metazoos como los nematodos también pueden ejercer un efecto sobre la forma y densidad de los flóculos (Derlon et al., 2013). Por otro lado, los rotíferos son metazoos aerobios estrictos, condición que los hace sensibles a parámetros operacionales como el nivel de oxígeno disuelto en el reactor. Adicionalmente, los rotíferos son más sensibles a los compuestos tóxicos que las bacterias (Marín & Osés, 2013).

Se ha demostrado que ciertas especies de rotíferos son eficientes en la remoción de la bacteria filamentososa 021N, lo que puede considerarlos un grupo de control biológico para evitar la proliferación descontrolada de esta bacteria (Kocerba-Soroka et al., 2013). A pesar de esta ventaja, un exceso de rotíferos en las muestras de lodos activados puede evidenciar condiciones de sobre oxigenación y edades de

lodo altas (Bento et al., 2005; Colorado et al., 2012; López-Arias et al., 2012; Marín & Osés, 2013; Rodríguez et al., 2019).

Gusanos como los anélidos y nematodos forman parte de los grupos de metazoos que pueden encontrarse en los sistemas de tratamiento de aguas residuales. La presencia de anélidos colabora con la reducción del lodo activado producido, potenciando su mineralización (Rensink & Rulkens, 1997); mientras que se ha confirmado que los nematodos tienen influencia sobre la eficiencia de sistemas de tratamiento de aguas que utilizan membranas y filtración (Derlon et al., 2013). Sin embargo, debe considerarse que la sobre mineralización del lodo colabora con el aumento en las concentraciones de nitrato y fosfato en el agua residual (Rensink & Rulkens, 1997).

Se debe de tener presente que la composición de la comunidad de protozoos y metazoos no necesariamente es la misma entre las distintas tecnologías de tratamiento de aguas residuales existentes (Arregui et al., 2013; Pérez-Uz et al., 2010). Investigadores como Sobczyk et al. (2021) afirman que la composición de la comunidad de protozoos y metazoos del lodo activado depende principalmente de la configuración del reactor estudiado (tipo de tecnología, volumen, etc).

El objetivo de esta investigación es evaluar si el valor del Índice Biológico de Lodos (IBL) puede relacionarse directamente con la cantidad las especies de protozoos y metazoos encontradas, más allá de considerar únicamente la predominancia de ciertos grupos funcionales de protozoos en el lodo activado. Además, se busca evaluar la influencia que pueden tener ciertos parámetros ambientales, fisicoquímicos y operacionales de los reactores, en la abundancia de protozoos y metazoos presentes en el lodo activado en dos sistemas de tratamiento de aguas residuales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Sitio de muestreo:** El sitio de muestreo fue el Hospital San Vicente de Paul, Heredia, Costa Rica (9°59'30.6" N & 84°07'19.5" W),

el cual brinda servicios médicos en todas las especialidades para una población adscrita de aproximadamente 560 000 personas (Caja Costarricense del Seguro Social, 2021).

En este hospital funciona regularmente una planta de tratamiento de aguas residuales de lodo activado con aireación extendida (Convencional), y con un caudal de diseño de 300 m<sup>3</sup>/día. Además, de enero a abril del año 2022 funcionó un sistema de tratamiento de aguas residuales de Biorreactor de Membrana (MBR), con un caudal de diseño de 15 m<sup>3</sup>/día. La membrana se da con disposición sumergida, con un tamaño de poro que permite la ultrafiltración.

**Muestreos:** Los muestreos se llevaron a cabo dos veces por semana entre el 15 de febrero y el 21 de abril, para un total de 36 muestreos en cada uno de los sistemas de tratamiento (Convencional y MBR).

**Toma de muestras y análisis de los parámetros fisicoquímicos:** El laboratorio acreditado, CEQIATEC, del Instituto Tecnológico de Costa Rica, tomó muestras compuestas de los parámetros fisicoquímicos en el agua cruda que ingresa (afluente) y en el agua tratada que sale del sistema (efluente); esto con el fin de evaluar la eficiencia de remoción de los parámetros analizados en cada uno de los sistemas bajo estudio. La fórmula mediante la cual se estimó el porcentaje de remoción para cada parámetro fisicoquímico analizado es la siguiente:

Ecuación 1:

$$E = \left( \frac{C_o - C_e}{C_o} \right) \cdot 100$$

Donde,

E = Eficiencia de remoción (%).

Co = concentración del contaminante en el afluente (agua cruda) (mg/l).

Ce = concentración del contaminante en el efluente (agua tratada) (mg/l).

El afluente fue el mismo para ambos sistemas de tratamiento, ya que el origen del agua residual con que se alimentan es el mismo;



mientras que existen dos efluentes, uno para el sistema Convencional y otro para el MBR. En ambos puntos se muestrearon los siguientes parámetros fisicoquímicos: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Sólidos Suspendedos Totales (SST), Nitrógeno (N) y Fósforo (P).

El muestreo fue compuesto de seis horas, y basado en *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Baird, et al., 2017). El laboratorio acreditado CEQIATEC tomó una submuestra por hora con un volumen de 1 400 ml cada una, y posteriormente mezcló estas seis submuestras para formar una muestra cada día por parámetro.

Una vez con los resultados para cada parámetro, se calculó el porcentaje de remoción (%) de cada uno de los parámetros (DBO, DQO, SST, Nitrógeno y Fósforo), y con esto fue posible comparar el desempeño de cada sistema de tratamiento.

**Toma de muestras de los parámetros ambientales:** En el reactor de aireación de cada uno de los sistemas de tratamiento se llevó a cabo el análisis de los siguientes parámetros ambientales: pH, temperatura y oxígeno disuelto. La toma de los parámetros ambientales se realizó dos veces a la semana.

**Toma de muestras y cálculo de los parámetros operacionales:** Se calcularon los siguientes parámetros operacionales: relación Alimento/Microorganismos (A/M) y edad del lodo. Para poder calcular el valor del A/M y edad del lodo, es necesario contar con el dato de la concentración de Sólidos Suspendedos en el Licor de Mezcla (SSLM) y de Sólidos Suspendedos Volátiles en el Licor de Mezcla (SSVLM) en cada tanque de aireación. Por lo tanto, el laboratorio acreditado que realizó los muestreos de parámetros fisicoquímicos, tomó una muestra compuesta en cada tanque de aireación con el fin de determinar la concentración de SSLM y SSVLM. El muestreo y análisis de estos parámetros se realizó utilizando como referencia el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters* (Baird, et al., 2017).

Los valores de la relación A/M y de la edad del lodo se determinaron mediante las siguientes ecuaciones:

Ecuación 2:

$$A/M = \frac{(Q_a) * (KgDBO)}{(V_r) * (SSVLM)}$$

Donde,

Qa = Caudal de ingreso del agua cruda al sistema (afluente).

Vr = Volumen del reactor de aireación.

SSVLM = Sólidos Suspendedos Volátiles en Lodo Activado.

Ecuación 3:

$$\theta_c = \frac{(V_r) * (SSVLM)}{(SSVLD)(Q_d) + (SSV_e) * (Q_e)}$$

Donde,

$\theta_c$  = Tiempo medio de retención celular (edad del lodo).

Vr = Volumen del reactor de aireación.

SSVLM = Sólidos Suspendedos Volátiles en Lodo Activado.

SSVLD = Sólidos Suspendedos Volátiles del lodo de purga.

SSVe = Sólidos Suspendedos Volátiles en el efluente.

Qd = Caudal de purga.

Qe = Caudal del agua tratada (efluente).

**Toma de muestras biológicas:** El protocolo para la toma de muestras, así como su transporte y análisis, se realizó según Rodríguez et al. (2019). La toma de muestras se llevó a cabo en el reactor de aireación (lodo activado) de cada sistema de tratamiento, mediante el uso de un muestreador con vara larga. La toma de estas muestras se hizo los mismos días que los muestreos fisicoquímicos, dos veces a la semana.

Durante cada muestreo, se recolectó una muestra compuesta en botellas plásticas de un litro. El punto de muestreo fue en donde la agitación del reactor de aireación era homogénea. Se transportaron las muestras hasta el laboratorio en hielera con oxigenación mediante un motor de pecera que transmite el oxígeno por una manguera hasta una piedra porosa,

teniendo en cuenta que, es aceptable el análisis de una muestra bajo aireación incluso hasta 48 horas después de que ha sido recolectada. Se utilizó un microscopio marca Motic, modelo BA310, de contraste, para observar tres réplicas de 25  $\mu$ l. Para el conteo de flagelados, se observaron tres réplicas de 3.5  $\mu$ l de cada muestra utilizando una placa Neubauer mejorada.

Se analizaron los siguientes aspectos: cantidad de organismos, grupo dominante, densidad total de organismos, número de taxones identificados y recuento de flagelados (Madoni, 1994, Rodríguez et al., 2019). Además, se identificaron a nivel de género las especies de protozoos con la utilización de guías ilustradas (Berger & Foissner, 2014; Isac et al., 2004; Rodríguez et al., 2019); para el caso de los metazoos, se diferenciaron entre rotíferos y gusanos nematodos o anélidos.

**Índice Biológico de Lodos (IBL):** Se calculó el Índice Biológico de Lodos (IBL) con base en el procedimiento establecido por Madoni (1994). Para entonces asignarle un valor del 1 al 10 al IBL calculado, y a su vez clasificar este valor en clases. Estas clases se asocian al desempeño del sistema de tratamiento.

La interpretación del IBL se obtuvo a partir de dos matrices elaboradas por Madoni (1994).

Para el resultado obtenido del IBL se debe de considerar únicamente los organismos cuya frecuencia relativa de aparición en las muestras biológicas sea superior a 20 % (Zornoza, 2015).

**Análisis de datos:** Se llevó a cabo un análisis de redundancia (RDA) para establecer el efecto que tienen las variables respuesta (parámetros fisicoquímicos, parámetros ambientales y parámetros operacionales), y el IBL sobre la composición de la cantidad de organismos encontrados (matriz de la abundancia de las especies por muestra) en cada sistema de tratamiento. Con el criterio de colinealidad entre los parámetros predictores, se descartaron aquellos parámetros evaluados que no aportaran al modelo de RDA realizado. Esto por medio del índice de inflación de la varianza (VIF), el cual debe ser menor a 10. De esta manera con el

análisis constreñido del RDA se pudo obtener un valor de Inercia, el cual cuantifica la proporción de la varianza de la matriz biológica que es explicada por el modelo que contiene las variables predictoras (Quinn & Keough, 2002).

Relacionar el IBL con la cantidad de organismos encontrados durante los muestreos permite evaluar la funcionalidad de este índice incluyendo tanto a los protozoos como a los metazoos presentes. La significancia de los parámetros evaluados sobre la cantidad de organismos se obtuvo al aplicar un análisis de ANOVA al RDA según cada tipo de parámetro y al RDA completo (Quinn & Keough, 2002).

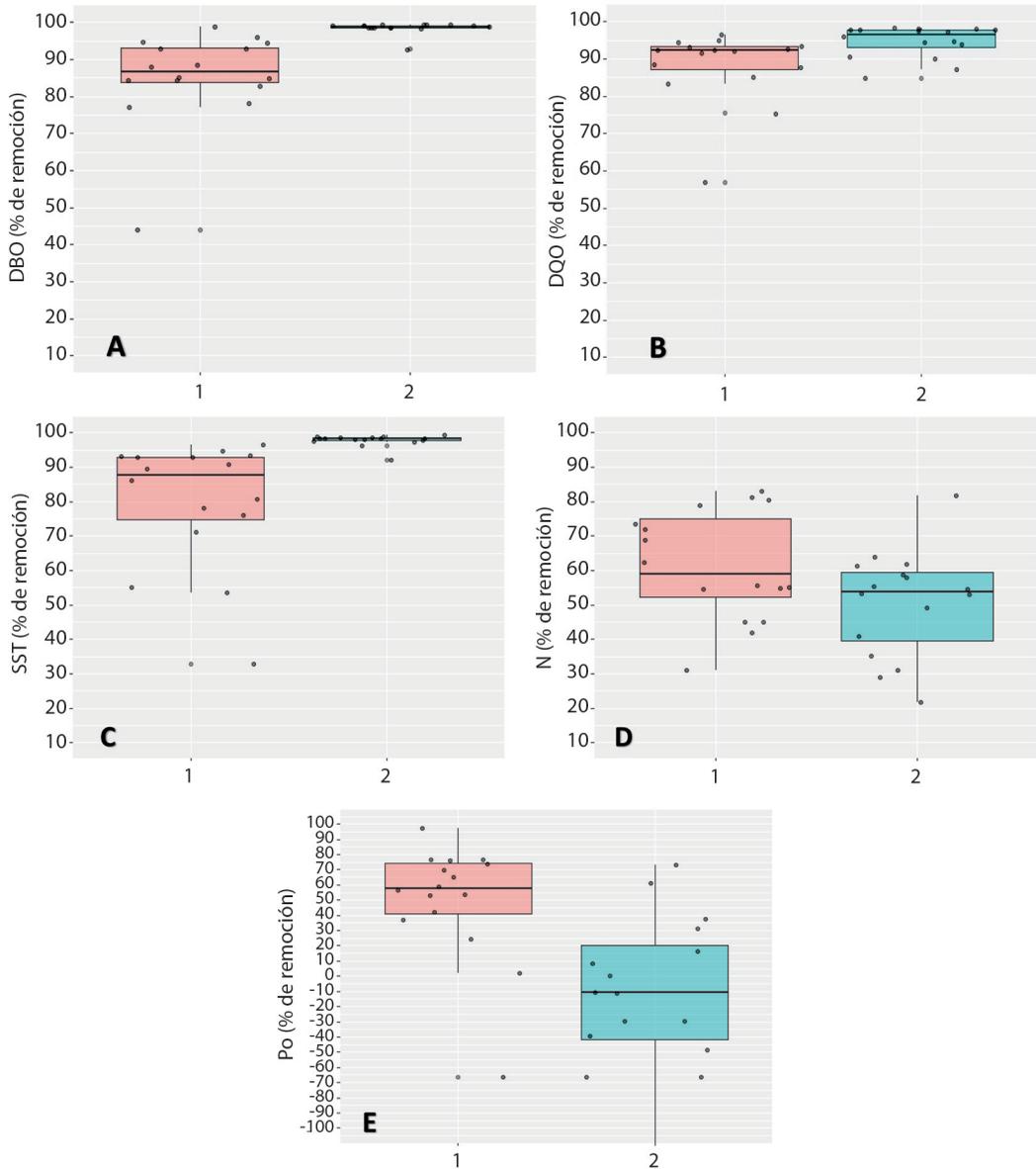
Para todos estos análisis de datos y la interpretación de resultados se usó Rstudio 4.2.3 (R Core Team, 2021) con el paquete “vegan”.

## RESULTADOS

**Parámetros fisicoquímicos:** En promedio, los porcentajes de remoción del DBO, DQO y SST fueron mayores al 85 % en ambos tipos de tratamiento. Los promedios de la remoción de nitrógeno y fósforo no fueron igual de altos que los parámetros anteriores, siendo incluso negativo para el caso del fósforo en el MBR (-12.21 %) (Fig. 1).

**Parámetros ambientales:** Para el sistema de tratamiento de aguas residuales Convencional, el promedio del pH fue de 7.09 ( $\pm 0.29$ ), mientras que en el MBR fue ligeramente más ácido ( $6.38 \pm 0.49$ ). Por otro lado, el promedio de la temperatura en el sistema Convencional fue de  $27.91 (\pm 0.84) ^\circ\text{C}$  y en el MBR de  $25.55 (\pm 1.53) ^\circ\text{C}$ . Por último, el valor promedio del oxígeno disuelto fue mucho menor en el sistema Convencional ( $0.30 \pm 0.25 \text{ mg/l}$ ) en comparación con el MBR ( $2.31 \pm 1.70 \text{ mg/l}$ ) (Fig. 2). Además, se confirmó que los parámetros ambientales estudiados ejercieron un efecto sobre la composición de la cantidad de organismos (RDA, ANOVA,  $p = 0.045$ ).

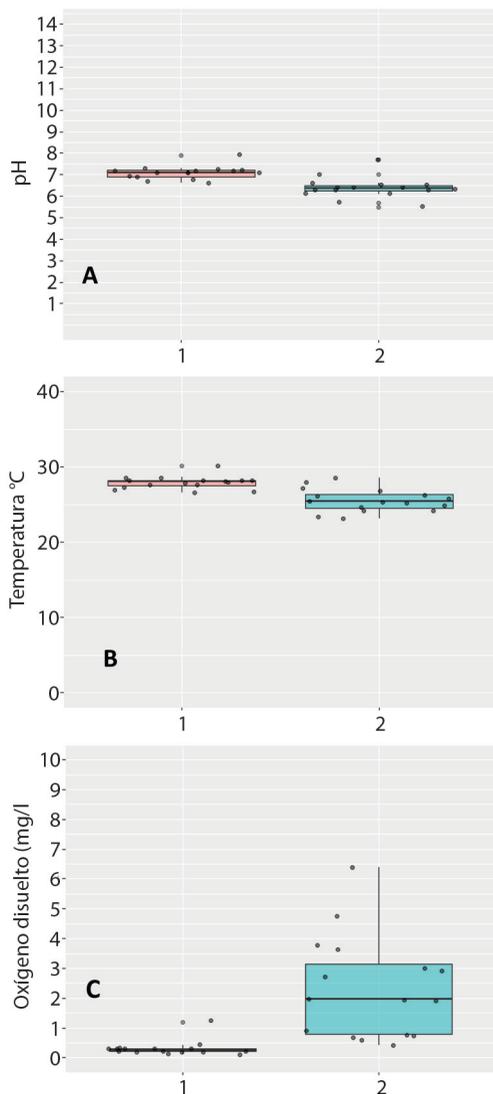
**Parámetros operacionales:** La relación A/M obtuvo un valor promedio de 0.43 ( $\pm 0.87$ ) en el sistema de tratamiento de aguas residuales



**Fig. 1.** Gráficos boxplot de distribución de datos para. **A.** Porcentajes de remoción del DBO. **B.** Porcentajes de remoción del DQO. **C.** Porcentajes de remoción del SST. **D.** Porcentajes de remoción del nitrógeno. **E.** Porcentajes de remoción del fósforo. 1 = Tratamiento de lodos activado convencional, 2 = MBR. / **Fig. 1.** Boxplot graphs, data distribution for. **A.** BOD removal percentages. **B.** COD removal percentages. **C.** SST removal percentage. **D.** Nitrogen removal percentages. **E.** Phosphorus removal percentages. 1 = Conventional treatment system, 2 = MBR.

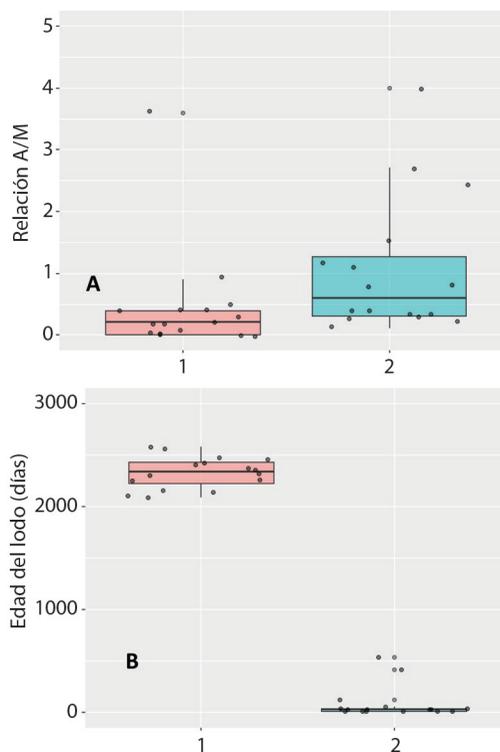
convencional, mientras que en el MBR este valor fue de  $1.04 (\pm 1.09)$ . Además, la edad del lodo fue mucho mayor en el sistema Convencional ( $2\,329.56 \pm 153.89$  días) en comparación con el MBR ( $86.73 \pm 157.44$  días) (Fig. 3).

Por otro lado, estos parámetros operacionales (relación A/M y edad del lodo) si tuvieron un efecto sobre la cantidad de microorganismos encontrados en las muestras (RDA, ANOVA,  $p = 0.003$ ).



**Fig. 2.** Gráficos boxplot de distribución de datos para. **A.** pH. **B.** Temperatura (°C). **C.** Oxígeno disuelto (mg/l). 1 = Tratamiento de lodos activado convencional, 2 = MBR. / **Fig. 2.** Boxplot graphs, data distribution for. **A.** pH. **B.** Temperature. **C.** Dissolved oxygen values. 1 = Conventional treatment system, 2 = MBR.

**Muestras biológicas e Índice Biológico de Lodos (IBL):** En la totalidad de las muestras, para el sistema de tratamiento Convencional, se contaron un total de 4 349 microorganismos, mientras que en el sistema de tratamiento por biorreactor de membrana (MBR) un total de



**Fig. 3.** Gráficos boxplot de distribución de datos para. **A.** Relación A/M. **B.** Edad del lodo (días). 1 = Tratamiento de lodos activado convencional, 2 = MBR. / **Fig. 3.** Boxplot graphs, data distribution for. **A.** F/M relationship. **B.** Sludge Age values (days). 1 = Conventional treatment system, 2 = MBR.

15 288 microorganismos. El número de taxones en el sistema Convencional fue de 21, mientras que en el MBR 22. Los organismos que presentaron la mayor abundancia total en alguno de los dos sistemas de tratamiento se presentan en la Tabla 1.

En cuanto al grupo de metazoos, además de rotíferos, en las muestras encontré nematodos, pero en muy baja frecuencia. Durante todos los muestreos, el número total de nematodos que contabilicé en el sistema de tratamiento Convencional fue de 22, mientras que en el MBR fue de 19.

El valor promedio del IBL que se obtuvo para el sistema de tratamiento Convencional fue de 7.62, mientras que en el MBR fue de 8.44. El valor más bajo de IBL se presentó durante el

**Tabla 1**

Microorganismos con mayor abundancia total encontrados en el lodo activado de cada sistema de tratamiento. / **Table 1.** Microorganisms with highest total abundance found in the activated sludge of each treatment system.

Organismo	Cantidad total de individuos / 1.2 ml	
	Sistema Convencional	MBR
<i>Euglypha</i> sp.	540	1 947
<i>Entosiphon</i> sp.	60	376
<i>Arcella</i> sp.	127	2 744
<i>Centropyxis</i> sp.	612	3 483
<i>Pyxidicula</i> sp.	58	902
<i>Euplotes</i> sp.	1 334	553
<i>Aspidisca</i> sp.	319	4 772
<i>Vorticella</i> sp.	967	389
<i>Rotifera</i>	9	1 336

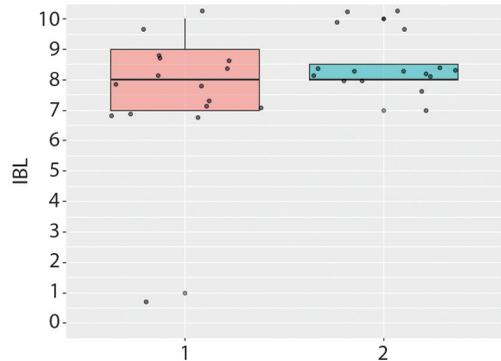
último muestreo en el sistema de tratamiento Convencional (Fig. 4). Además, se estableció que los valores de IBL obtenidos si ejercieron un efecto sobre la composición de la cantidad de organismos (RDA, ANOVA,  $p = 0.008$ ).

#### Composición de organismos respecto a condiciones de las plantas de tratamiento:

Los porcentajes de remoción no tuvieron una relación con la cantidad de organismos (RDA, ANOVA,  $p = 0.083$ ). El porcentaje de remoción de los sólidos sedimentables (SST), así como la Edad del lodo fueron dos parámetros que no aportaron al modelo de análisis de redundancia (RDA) elaborado (valor de VIF mayor a 10).

La edad del lodo es un reflejo del estado del sistema de tratamiento, y al eliminar la edad del lodo y los sólidos suspendidos totales del análisis, e incluir el resto de parámetros estudiados, se determinó que el análisis de RDA (Fig. 5) logra explicar el 68 % de los microorganismos que cuantifiqué a lo largo de esta investigación. Al eliminar el parámetro SST se observó que las remociones si actúan sobre la composición de la cantidad de organismos encontrados ( $p = 0.019$ ).

Existió una separación clara entre los sistemas de tratamiento y los porcentajes de remoción de los parámetros fisicoquímicos considerados. Parámetros ambientales como la



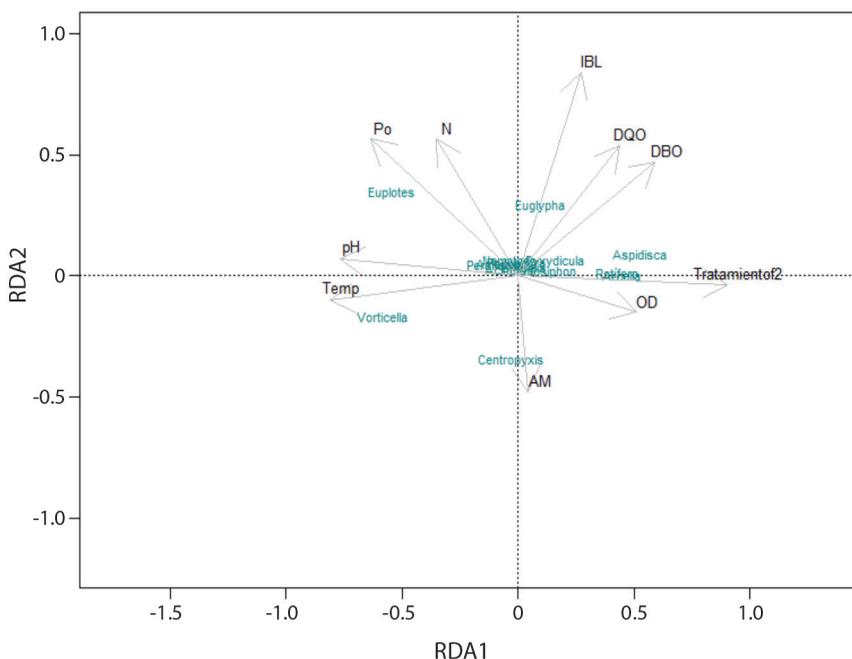
**Fig. 4.** Gráficos boxplot de distribución de datos para los valores de Índice Biológico de Lodos (IBL) obtenidos. 1 = Tratamiento de aguas residuales Convencional, 2 = MBR. / **Fig. 4.** Boxplot graphs, data distribution for Sludge Biological Index values (SBI) values. 1 = Conventional treatment system. 2 = MBR.

temperatura y el pH se encuentran muy relacionados entre sí, con valores mayores en la planta de tratamiento Convencional en comparación con el MBR. *Aspidisca* y los rotíferos encontrados se vieron favorecidos en su abundancia por el nivel de oxígeno presente en el sistema MBR. Por otro lado, *Euplotes* sp. y *Vorticella* sp. tendieron a ser más abundantes en el sistema de tratamiento Convencional. *Euplotes* sp. estuvo más relacionada a la remoción del fósforo, mientras que *Vorticella* sp. a la temperatura y al pH. *Centropyxis* sp. se encontró sumamente asociada al parámetro operacional de la relación A/M (Fig. 5, Fig. 6).

A pesar de no considerar a los metazoos en su cálculo, el valor del IBL ejerció un efecto importante en la cantidad de microorganismos, y puede relacionarse con el desempeño del sistema de tratamiento en cuanto al porcentaje de remoción del DBO y DQO, sobre todo para el sistema MBR (Fig. 6). Microorganismos como *Euglypha* sp., *Aspidisca* sp. y *Euplotes* sp. se asocian a esta tendencia (Fig. 6).

## DISCUSIÓN

En general, se ha encontrado que las tasas de reducción de DBO, DQO y Nitrógeno se asocian a la comunidad de protozoos y



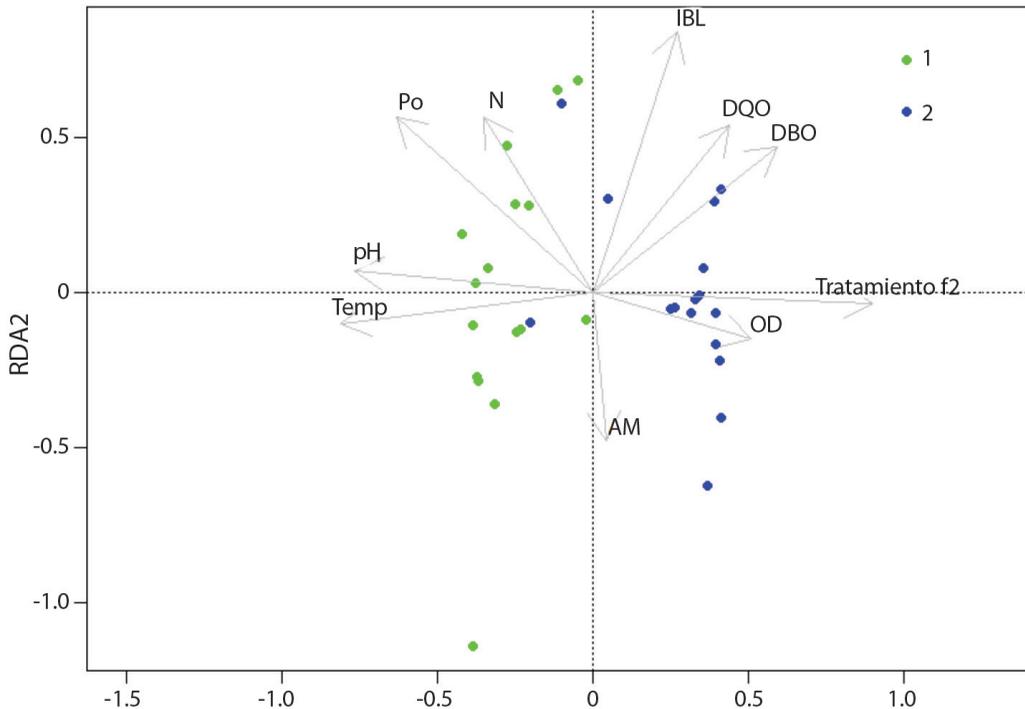
**Fig. 5.** Gráfico del análisis de redundancia (RDA) por microorganismo. / **Fig. 5.** Redundancy Analysis graph per microorganism.

metazoos (Bento et al., 2005; Sobczyk, et al., 2021). Sobczyk et al. (2021) encuentran que la abundancia de amebas testáceas como *Arcella* sp. y de ciliados como *Aspidisca cicada* está directamente relacionada con la tasa de reducción del DBO. Dichas afirmaciones coinciden con esta investigación, sobre todo tratándose de *Aspidisca* sp., que fue el ciliado más abundante en las muestras del MBR, y es uno de los ciliados más comúnmente asociado a sistemas de tratamiento de aguas residuales con buen desempeño y eficientes en la remoción del DBO y el DQO (Arregui et al 2013; Martín-Cerceda et al. 1996; Román et al., 2022). Sin embargo, existen investigaciones que afirman que *Aspidisca* cuenta con un alto nivel de resiliencia, al lograr sobrevivir a lo largo de variaciones que puedan ocurrir en los sistemas de tratamiento (Leal et al., 2013; Siqueira-Castro et al., 2016).

Otros ciliados presentes en las muestras estudiadas también pueden ser indicadores de

buen desempeño del sistema de tratamiento de aguas residuales, como lo es *Euplotes* sp. (Isac et al., 2004; López-Arias et al., 2012). Sin embargo, la abundancia de la especie *Euplotes aediculatus* ha sido relacionada con contaminación de níquel en las aguas residuales (Arregui et al., 2013). En esta investigación, si bien los porcentajes de remoción de nitrógeno no superaron el 80 %, en el análisis de redundancia realizado se logra apreciar que organismos como el ciliado reptante, *Euplotes* sp., se encuentra muy cercano a los porcentajes de remoción de fósforo y nitrógeno.

Pérez-Uz et al. (2010), afirman que la actividad de las bacterias nitrificantes aumenta con la presencia de las poblaciones de protozoos. *Centropyxis* sp. y *Euglypha* sp. son géneros de amebas testáceas, que, junto con *Aspidisca* sp., se asocian a procesos de nitrificación y subsecuente desnitrificación en el lodo activado (Achmadulina et al., 2017; Siqueira-Castro



**Fig. 6.** Gráfico del análisis de redundancia (RDA) según el tipo de sistema de tratamiento. 1 = Tratamiento de aguas residuales Convencional. 2 = MBR. Po = Fósforo, N = Nitrógeno, IBL = Índice Biológico de Lodos, DQO = Demanda Química de Oxígeno, DBO = Demanda Bioquímica de Oxígeno, pH = pH, Temp = Temperatura, OD = Oxígeno Disuelto, AM = Relación A/M, Tratamiento 2 = MBR. / **Fig. 6.** Redundancy Analysis graph, per treatment system type. 1 = Conventional treatment system. 2 = MBR. Po = Phosphorus, N = Nitrogen, IBL = Sludge Biotic Index, DQO = Chemical Oxygen Demand, DBO = Biological Oxygen Demand, pH = pH, Temp = Temperature, OD = Dissolved Oxygen, AM = Food/Microorganisms relation, Treatment, 2 = MBR.

et al., 2016). Durante los análisis de redundancia realizados, no se encontraron amebas testáceas asociadas a la remoción de nitrógeno.

La temperatura es uno de los parámetros que ejerce una variación sobre la estructura de la comunidad de protozoos y metazoos (Zornoza et al., 2010), la abundancia total de metazoos como los rotíferos tiende a ser mayor a altas temperaturas y la de ciliados sésiles a bajas temperaturas (Sobczyk et al., 2021). Esto coincide con los resultados de esta investigación, en donde se observa a la temperatura muy asociada al eje 2 del análisis de RDA realizado (Fig. 2), y al ciliado sésil *Vorticella* sp. cercano a esta. *Vorticella* sp. es, después de *Euplotes* sp., el organismo más abundante en las muestras del sistema de tratamiento Convencional.

Por otro lado, la predominancia de metazoos como ciertos anélidos puede reflejar un

exceso de oxígeno disuelto (Bento et al., 2005). Sin embargo, durante ninguno de los muestreos realizados fue posible determinar un exceso de oxígeno disuelto en los tanques de aireación, lo cual coincide con la no predominancia de anélidos en ninguna de las muestras biológicas. Por el contrario, la predominancia de amebas testáceas como *Arcella* sp. y *Euglypha* sp. sí es un reflejo de condiciones de oxigenación favorables (Bento et al., 2005). La presencia del ciliado *Aspidisca* sp. también resulta ser indicativo de buena oxigenación en los tanques de aireación (Bento et al., 2005; Román et al., 2022).

Para el caso de *Vorticella* spp., Román et al. (2022) afirman que, al ser un género con poca tolerancia a condiciones de bajo nivel de oxígeno, resulta ser un buen indicador del nivel de oxígeno disuelto en los tanques de aireación. A pesar de esto, la alta presencia de algunas

especies de *Vorticella* en específico, como *Vorticella microstomata*, se encuentra asociada a lodos activados biológicamente empobrecidos o afectados por sustancias tóxicas (Arregui et al., 2013; Kepec et al., 2020; López-Arias et al., 2012; Salvadó et al., 1995).

En este estudio, las amebas libres y los microflagelados o flagelados no se ubican entre los grupos más abundantes. Esto puede tener que ver con la estabilidad del lodo y de los sistemas de tratamiento en general, ya que la predominancia de los flagelados tiene que ver con flóculos livianos y dispersos (Román et al., 2022), que son el tipo de flóculo típico en los inicios de puesta en marcha de los sistemas de tratamiento, es decir, sistemas con baja edad del lodo.

La ocurrencia de *Arcella* sp., *Euglypha* sp. y *Aspidisca* sp. en altas frecuencias indican un alto grado de estabilidad biológica del sistema y alta edad del lodo (Román et al., 2022). Dado que los metazoos cuentan con un ciclo de vida mayor en comparación con los protozoos, la alta concentración de rotíferos en el lodo activado evidencia sistemas de tratamiento que cuentan con un tiempo de retención celular alto y lodo activado estable (Aidan Al-Hussieny, 2018; Colorado et al., 2012; Román et al., 2022).

A pesar de que el promedio de la relación A/M para el sistema Convencional estuvo dentro de los valores aceptados (von Sperling et al., 2007), para el caso del MBR esta relación fue mayor a 1; lo que implica que existen una mayor cantidad de carga orgánica, que la que los microorganismos pueden consumir. Es decir, a pesar de que, en comparación con el sistema Convencional, el MBR tiene la mayor cantidad de microorganismos, este tipo de tratamiento tendría la capacidad de contener aún más biomasa (microorganismos) (Hai et al., 2014; von Sperling, 2007).

*Euplotes* sp. y *Vorticella* sp. fueron los únicos dos organismos más abundantes en el sistema de tratamiento Convencional en comparación con el MBR, mientras que *Aspidisca* sp. fue el organismo más abundante en el MBR, seguido de *Centropyxis* sp. A pesar de que la cantidad de taxones encontrada en ambos

sistemas de tratamiento fue similar, la cantidad de organismos encontrados en el MBR fue mucho mayor que en el sistema Convencional. *Euplotes* sp. es un ciliado reptante bacterívoro que cuenta con un cuerpo aplanado dorsoventralmente (Isac et al., 2004). *Vorticella* sp. también es bacterívoro, pero es un ciliado sésil que cuenta con un pedúnculo para fijarse en el sustrato, con la capacidad de estirarse y contraerse por medio de una vacuola. Para alimentarse utiliza cilios orales que crean corrientes (Isac et al., 2004; Siqueira-Castro et al., 2016).

*Aspidisca* sp. es un ciliado reptante de cuerpo redondo y con cirros en el lado ventral, con un tamaño de entre 25 y 40  $\mu\text{m}$  (Isac et al., 2004; Walczyńska et al., 2018). Es característico de condiciones de estabilidad en los sistemas de tratamiento y por tanto es reflejo de buena eficiencia de depuración (Achmadulina et al., 2017; Arregui et al., 2013, Isac et al., 2004). Por otro lado, *Centropyxis* sp. son amebas testáceas circulares u ovoides, que pueden alimentarse de algas, flagelados y ciliados presentes en sistemas que reciben aguas poco cargadas (Isac et al., 2004).

En cuanto a los metazoos, tal y como se observa en esta investigación, los rotíferos resultan ser los organismos más abundantes en los lodos activados para sistemas de tratamiento de aguas residuales domésticas (Román et al., 2022). Entre los géneros de rotíferos posibles de encontrar en muestras de lodo activado se encuentran *Lecane*, *Monostyla*, *Philodania* y *Rotaria* (Aida Al-Hussieny, 2018; Kocerba-Soroka et al., 2013; Walczyńska et al., 2018; Zornoza et al., 2010). Los rotíferos, según la estructura de su corona y del mastax (órganos orales), pueden alimentarse de muchas formas distintas, pero por lo general son depredadores que consumen detritos y organismos menores (Isac et al., 2004).

Walczyńska et al. (2018) demuestran una relación y sucesión estrecha entre las poblaciones de *Aspidisca cicada* y el rotífero *Lecane inermis*. En donde *A. cicada* puede estar actuando como una especie que potencia la abundancia de *L. inermis* al moldear a los macroagregados de bacterias que forman los flóculos en el lodo



activado, formando flóculos más grandes y densos en donde posteriormente pueden habitar estos rotíferos. Es importante considerar no sólo el género, sino también la especie de microorganismos presente en el lodo activado, ya que los requerimientos, hábitos y comportamientos pueden variar entre especies distintas de un mismo género (Arregui et al., 2013; Kepec et al., 2020; Leal et al., 2013; Salvadó et al., 1995; Siqueira-Castro et al., 2016). Y esto puede llegar a tener una implicación directa en el desempeño de los sistemas de tratamiento de aguas residuales. Además, saber más sobre la ecología y comportamiento de estas especies, es un insumo que brinda material adicional para conocer la dinámica de la comunidad de microorganismos que moldean los flóculos y el lodo activado que se forma en los tanques de aireación.

Los grupos de protozoos y metazoos predominantes pueden variar según el tipo de sistema de tratamiento empleado (Aida Al-Hussieny, 2018; Pérez Uz et al., 2010). Por ejemplo, Puigagut et al. (2007) encontraron un mayor porcentaje de nematodos en humedales artificiales, que los que se encuentran en otro tipo de sistemas de tratamiento de aguas residuales como los Contactores Biológicos Reactivos. En el análisis del RDA según el sistema de tratamiento, se observa una clara separación entre el sistema Convencional y el MBR.

Al observar el análisis del RDA por especie, efectivamente puede apreciarse que *Aspidisca* sp. y los rotíferos están estrechamente unidos en el MBR, y justamente estas especies son muy abundantes en este tipo de sistema de tratamiento. Lo cual es consistente con lo planteado por Walczyńska et al. (2018), presentando una relación cercana entre las poblaciones de *Aspidisca cicada* y el rotífero *Lecane inermis*. Por otro lado, al igual que ha sido demostrado por Sobczyk et al. (2021); el eje del RDA de este estudio que se encuentra relacionado principalmente con la temperatura demuestra que *Vorticella* sp. se asocia negativamente con este parámetro, mientras que los rotíferos y otros metazoos pueden verse favorecidos en

abundancia conforme aumentan los valores de temperatura.

El sistema MBR presenta una comunidad de microorganismos más diversa que en la planta de tratamiento Convencional, donde la cantidad de organismos está dominada por *Euplotes* sp. y *Vorticella* sp., principalmente. El sistema MBR tiene mayor abundancia total y un mejor reparto de esa abundancia entre los organismos que finalmente contribuyen con la degradación de la materia orgánica presente.

El IBL es un parámetro muy presente en el análisis de RDA y cercano a los parámetros de remoción del DBO y el DQO, lo que confirma su potencial como herramienta de bioindicación para la valoración del desempeño de los sistemas de tratamiento de aguas residuales (Bento et al., 2005; Martín-Cerceda et al., 1996). Su predominancia en el modelo de análisis implicara su potencial de ser afinado para la inclusión en su cálculo de microorganismos a nivel de género o especie, y no sólo dejarlo a nivel de grupos funcionales, lo cual es bastante general. Además, puede ser adecuado de manera tal que considere también a los metazoos, según el tipo de sistema de tratamiento bajo estudio.

**Declaración de ética:** los autores declaran que todos están de acuerdo con esta publicación y que han hecho aportes que justifican su autoría; que no hay conflicto de interés de ningún tipo; y que han cumplido con todos los requisitos y procedimientos éticos y legales pertinentes. Todas las fuentes de financiamiento se detallan plena y claramente en la sección de agradecimientos. El respectivo documento legal firmado se encuentra en los archivos de la revista.

## REFERENCIAS

- Achmadulina, F. Y., Zakirov, R. K., Balyмова, E. S., Denisova, V., Brovdvová, T., Trögl, J., & Neruda, M. (2017). Comparison of bioindicator eukaryotes of activated sludge biocenoses on two water-treatment plants: A case study. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 16(1), 54–60. <https://doi.org/10.1515/nbec-2017-0008>

- Aidan Al-Husseyen, A. (2018). Study of sludge and comparison for various wastewater treatment. *International Journal of Advanced Research*, 2(6), 1056–1060.
- Arregui, L., Liébana, R., Calvo, P., Pérez-Uz, B., Salvadó, H., & Serrano, S. (2013). Bioindication in activated sludge wastewater treatment plants. In C. J. Valdez, & E. M. Maradona (Eds.), *Handbook of wastewater treatment: biological methods, technology and environmental impact* (pp. 277–291). Nova Science Publishers.
- Baird, R. B., Eaton, A. D., & Rice, E. W. (Eds.). (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (23th ed.). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Bento, A. P., Sezerino, P. H., Philippi, L. S., Reginatto, V., & Lapolli, F. R. (2005). Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados: Um instrumento de avaliação e controle do processo. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 10(4), 329–338. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522005000400009>
- Berger, H., & Foissner, W. (2014). Illustrated guide and ecological notes to ciliate indicator species (Protozoa, Ciliophora) in running waters, lakes, and sewage plants. In W. Calmano, M. Hupfer, H. Fischer, & H. Klapper (Eds.), *Handbuch angewandte limnologie: Grundlage, gewässerbelastung, restaurierung, aquatische ökotoxikologie, bewertung, gewässerschutz* (pp. 11–60). Wiley-VCH Verlag GmbH y Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/9783527678488.hbal2003005>
- Caja Costarricense del Seguro Social. (2021). *Estudio integral sobre la gestión de las aguas residuales y lodos en la CCSS con visión innovadora*. Caja Costarricense del Seguro Social, Costa Rica.
- Colorado, S. L., Leal, M. T., Castillo, E., & González, A. (2012, 07-09 de noviembre). *Análisis microbiológico en el arranque de una planta de lodos activados* [Conferencia]. XXII Congreso Nacional de Hidráulica. Acapulco, Guerrero, México.
- Derlon, N., Koch, N., Eugster, B., Posch, T., Perntaler, J., Pronk, W., & Morgenroth, E. (2013). Activity of metazoa governs biofilm structure formation and enhances permeate flux during Gravity-Driven Membrane (GDM) filtration. *Water Research*, 47(6), 2085–2095. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.033>
- Foissner, W. (2016). Protists as bioindicators in activated sludge: Identification, ecology and future needs. *European Journal of Protistology*, 55, 75–94. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2016.02.004>
- Hai, F. I., Yamamoto, K., & Lee, C. H. (Eds.). (2014). *Membrane biological reactors: Theory, modeling, design, management and applications to wastewater reuse*. IWA Publication.
- Isac, L., Rodríguez, E., Salas, M. D., & Fernández, N. (2004). *Protozoos en el fango activo*. Grupo de Bioindicación Sevilla, Tecnología del Agua.
- Kepec, M., Matoničkin-Kepčija, R., Vlaičević, B., Kepec, S., & Gulín, V. (2020). The applicability of the Sludge Biotic Index in a facility treating sugar refinery effluents and municipal wastewater. *Water Environment Research*, 93(7), 1087–1096. <https://doi.org/10.1002/wer.1500>
- Kocerba-Soroka, W., Fialkowska, E., Pajdak-Stós, A., Klimmek, B., Kowalska, E., Drzewicki, A., Salvadó, H., & Fyda, J. (2013). The use of rotifers for limiting filamentous bacteria Type 021N, a bacteria causing activated sludge bulking. *Water Science and Technology*, 67(7), 1557–1563. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.028>
- Leal, A. L., Schmidt-Dalzochio, M., Strogulski-Flores, T., Scherer-de Alves, A. S., Macedo, J. C., & Valiati, V. H. (2013). Implementation of the sludge biotic index in a petrochemical WWTP in Brazil: Improving operational control with traditional methods. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 40(12), 1415–1422. <https://doi.org/10.1007/s10295-013-1354-7>
- López-Arias, T., Moretuzzo, C., Ahrens, M., & Ude, R. (2012). Identificación de organismos bioindicadores presente en lodos activos de plantas de tratamiento de aguas residuales. *Investigaciones y Estudios de la UNA*, 7(1), 51–72.
- Madoni, P. (1994). A Sludge Biotic Index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. *Water Research*, 28(1), 67–75. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90120-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90120-1)
- Marín, A., & Osés, M. (2013) *Operación y mantenimiento de plantas de tratamiento de aguas residuales con el proceso de lodos activados* (Tomo I). Comisión Estatal del Agua de Jalisco.
- Martín-Cerceda, M., Serrano, S., & Guinea, A. (1996). A comparative study of ciliated protozoa communities in activated-sludge plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 21(4), 267–276. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1996.tb00123.x>
- Montusiewicz, A., Chomczynska, M., Malicki, J., & Łagód, G. (2010). Biofilm sampling for bioindication of municipal wastewater treatment. In L. Pawlowski, M. R. Dudzinska, & A. Pawlowski (Eds.), *Environmental engineering III* (pp. 491–496). CRC Press.
- Puigagut, J., Salvadó, H., García, D., Granés, F., & García, J. (2007). Comparison of microfauna communities in full scale subsurface flow constructed wetlands used as secondary and tertiary treatment. *Water Research*, 41(8), 1645–1652. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.01.036>



- Pérez-Uz, B., Arregui, L., Calvo, P., Salvadó, H., Fernández, N., Rodríguez, E., Zornoza, A., & Serrano, S. (2010). Assessment of plausible bioindicators for plant performance in advanced wastewater treatment systems. *Water Research*, 44(17), 5059–5069. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.024>
- Quinn, G. P., & Keough, M. J. (2002). *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press.
- Rensink, J. H., & Rulkens, W. H. (1997). Using metazoa to reduce sludge production. *Water Science Technology*, 36(11), 171–179. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00679-3](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00679-3)
- R Core Team. (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. R foundation for statistical computing. R Development Core Team. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Rodríguez, E., Isac, L., Fernández, N., & Salas, M. D. (2019). *Manual de trabajo para análisis biológicos en fangos activados*. Grupo de Bioindicación Sevilla.
- Román, M. D., Sava, C., Iluțiu-Varvara, D. A., Mare, R., Pruteanu, L. L., Pică, E. M., & Jäntschi, L. (2022). Biological activated sludge from wastewater treatment plant before and during the COVID-19 pandemic. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(18), 11323. <https://doi.org/10.3390/ijerph191811323>
- Salvadó, H., Gracia, M. P., & Amigó, J. M. (1995). Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. *Water Research*, 29(4), 1041–1050. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00258-9](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00258-9)
- Siqueira-Castro, I. C. V., Greinert-Goulart, J. A., Rossetto, R., Guimarães, J. R., & Bueno-Franco, R. M. (2016). Ciliated protozoa community of a combined UASB-activated sludge system in southeastern Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(23), 23804–23814. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7591-3>
- Sobczyk, M., Pajdak-Stós, A., Fiałkowska, E., Sobczyk, Ł., & Fyda, J. (2021). Multivariate analysis of activated sludge community in full-scale wastewater treatment plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(3), 3579–3589. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10684-5>
- von Sperling, M. (2007). *Activated sludge and aerobic film reactors*. IWA Publishing.
- Walczyńska, A., Sobczyk, M., Fiałkowska, E., Pajdak-Stós, A., Fyda, J., & Wiąckowski, K. (2018). Interaction between a bacterivorous ciliate *Aspidisca cicada* and a rotifer *Lecane inermis*: Doozers and fraggles in aquatic flocs. *Microbial Ecology*, 75(3), 569–581. <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1036-5>
- Zornoza, A., Alonso, J. L., Serrano, S., Fajardo, V., Zorrilla, F., Bernácer, I., & Morenilla, J. J. (2010, 28-29 de octubre). *Estudio integrado del proceso de fangos activados I. Análisis descriptivo de factores fisicoquímicos y biológicos implicados en su dinámica*. VII Jornadas de transferencia tecnológica sobre microbiología del Fango Activo, Sevilla, España.
- Zornoza, A. (2015). *Metodología para la búsqueda de microorganismos bioindicadores en fangos activos: La desesperación en la búsqueda del modelo*. Curso teórico-práctico: El papel de los protistas en los procesos de depuración de las aguas residuales. Sevilla, España.