

IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS AISLADOS APARTIR DE LODOS RESIDUALES DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE UN SECTOR CURTIDOR DEL QUINDÍO

IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM SWEAGE SLUDGE OF A TANNERY WASTEWATER TREATMENT PLANT

Manuel Alejandro Herrera-López¹, Fabiana M. Lora-Suarez¹, Nelsy Loango-Chamorro¹

¹ Grupo de Investigación en Ciencias Básicas y Educación, Programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Universidad del Quindío

Recibido: Agosto 1 de 2017

Aceptado: Octubre 2 de 2017

*Correspondencia del autor: Manuel Alejandro Herrera López, Grupo de investigación en ciencias básicas y educación, Programa de biología, Facultad de ciencias básicas y tecnologías, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia. E-mail: maherrera_1@uqvirtual.edu.co

RESUMEN

La producción de lodos residuales generados por las plantas de tratamiento de agua residual (PTAR) de las curtiembres del Quindío pueden llegar a superar la cantidad de 64 toneladas al mes, como disposición de estos las opciones son limitadas ya que se envían al relleno sanitario de la región o se comercializan como abono artesanal para cultivos agrícolas pero el mayor problema se encuentra en la presencia de metales pesados como el cromo y a su vez los microorganismos con potencial patógeno que al llegar al sistema agrícola (por medio de la transmisión por alimentos) pueden afectar la salud pública. Es por esto que se realiza el aislamiento e identificación de microorganismos viables y cultivables asociados a los lodos residuales producidos por la PTAR del sector curtidor del Quindío. Para el estudio se tomaron en cuenta dos tipos de lodos generados por la PTAR, donde se distinguen los orgánicos e inorgánicos de acuerdo a su composición fisicoquímica y biológica. Para el aislamiento de los microorganismos se realizaron técnicas de siembra en medios de cultivo para hongos y bacterias, mientras que para los parásitos y las micro algas se procesaron con la técnica de Ritchie. La identificación microbiana se enfoca en caracteres macroscópicos de las colonias, microscópicos con tinciones diferenciales, bioquímicos y productos metabólicos y micrometría. En total se identificaron 76 microorganismos donde las micro algas fueron las más frecuentes seguidas de los parásitos, bacterias y finalmente hongos. El lodo orgánico presenta 41 especies a diferencia del inorgánico que presenta 35, la reducción en número de microorganismos se debe al tratamiento que se realiza en la PTAR para las aguas que producen el lodo de tipo inorgánico. Como conclusión se establece que los lodos son una gran fuente de microorganismos que pueden llegar a ser patógenos para los animales y las plantas como por ejemplo la mayoría de bacterias, hongos y parásitos identificados en el estudio y que por lo tanto su uso como abonos artesanales puede verse limitado en caso de no realizarse tratamiento alguno para estos.

Palabras claves: Microorganismos, Lodos residuales, PTAR, Curtiembres.

ABSTRACT

The production of residual sludge generated by the wastewater treatment plants (WWTP) of Quindío's tanneries can exceed the amount of 64 tons per month, as final disposal are sold as organic fertilizer for agricultural crops, the biggest problem is in the presence of heavy metals and the microorganisms with the potential to be pathogen, which reach the agricultural system can affect public health. This is why the identification of the microorganisms associated with the sludge produced by the WWTP of the Quindío's tanner sector is important for the treatment. Two types of sludge were taken, where the organic and inorganic are distinguished according to their biological composition. The isolation techniques were performed in culture media for fungi and bacteria, and for parasites and micro algae were processed using the Ritchie's technique. Microbial identification focuses on characters like: macroscopic of the colony, microscopic morphological, biochemical and micrometric. In total, 76 microorganisms were identified where micro algae were the most frequent followed by parasites. The organic sludge presents 41 species unlike the inorganic one that presents 35, the reduction in number of microorganisms is due to the treatment that is realized in the WWTP for the waters that produce the sludge of inorganic type. It is established that sludge is a source of microorganisms that can become pathogens and therefore their use as artisanal fertilizers can be limited if no treatment is carried out.

Keywords: microorganisms, Residual sludge, WWTP, Tannery.

INTRODUCCIÓN.

El estudio de las comunidades microbianas toma cada día mayor fuerza puesto que se estima que tan solo se conoce alrededor del 0.1 al 10% de las bacterias del medioambiente (Torsvik *et al.* 2002) y así mismo para otros microorganismos asociados como los hongos, las algas y parásitos.

El conocimiento de la comunidad microbiana es el componente principal para comprender el papel que juegan los microorganismos en los ecosistemas; Estos ecosistemas pueden ser una gran variedad de ambientes tanto naturales como artificiales (productos derivados del ser humano), los cuales se producen de manera secundaria. Hoy en día es un tema de preocupación para el planeta pues a medida que el tiempo avanza, las sociedades cambian sus estructuras y sus esquemas de producción y consumo, por lo cual se aumenta la producción de desechos, que de no procesarse adecuadamente se incurre en un riesgo de contaminación para las poblaciones tanto plantas como animales y otros (Lopez-Jimenez, 2014). El desarrollo tecnológico y los patrones presentes de consumo han traído, como consecuencia, un au-

mento en los volúmenes de residuos generados en todos los continentes (Minambiente- Colombia, 2007).

De acuerdo con el plan de gestión ambiental regional del Quindío (2003-2012) se determina que los residuos o desechos peligrosos con mayor generación en el departamento lo componen, en mayor cantidad, los lodos residuales de las curtiembres al igual que los residuos hospitalarios y el aceite residual usado en la ciudad (PGAR, 2012).

Se consideran residuos o desechos un producto, un material o una sustancia no procesada, que cumpla con las características de haber sido descartado, rechazado o entregado por resultar inservible, uno de estos residuos son los lodos, los cuales son una mezcla de sólidos en suspensión que constituyen grandes volúmenes, humedad considerable y aroma desagradable. Los lodos residuales de las curtiembres, son un subproducto resultante de los procesos de tratamiento de las estaciones depuradoras de agua residual, teniendo dos problemas particulares: los metales pesados y la presencia de microorganismos patógenos (Torres, *et al.* 2008). Por este motivo deben ser tratados, ya que su contenido de

agentes perjudiciales podría afectar la salud pública de la comunidad (García-Zarza, 2003). De acuerdo con el PGAR (2012), la cantidad producida en el Quindío es de 64 toneladas mensuales.

Las plantas de tratamiento de agua residual (PTAR) del sector industrial curtiembres generan dos tipos de residuos: las aguas y los lodos, estos últimos tienen dos variaciones, los lodos orgánicos y los inorgánicos, cada uno es clasificado dependiendo de su formación o tratamiento. Los lodos orgánicos surgen principalmente de la filtración realizada de las aguas depositadas por el descarnado, recorte de pieles, raspado y lijado de los cueros, es decir que sus componentes son un gran contenido de material orgánico en condiciones de putrefacción; El lodo inorgánico, está formado por la acumulación de los residuos ejercidos en el tratamiento del agua residual a lo largo de la PTAR, aquí se involucran agentes fisicoquímicos y biológicos donde se incluyen los materiales residuales que se agregan para tratar las aguas por ejemplo el Anhídrido fosfórico (P₂O₅), Oxido de Potasio (K₂O), Carbonato de Calcio y el Cromo trivalente y hexavalente que se utiliza en la industria del curtido del cuero.

Por otro lado, autores como Merizalde y Mujica (2004) describen que los lodos no son del todo inservibles, ya que pueden llegar a ser utilizados como abono orgánico, siempre y cuando, el contenido de cromo lo permita. Andrade (1985) también determina que los lodos residuales provenientes del tratamiento de aguas servidas tienen la factibilidad de implementarse en el suelo como abonos agrícolas, esto, con resultados satisfactorios, por lo cual se estaría resolviendo, desde el punto de vista ambiental el problema del aislamiento y el almacenamiento de los lodos; sin embargo, Juárez (1987), Metcalf y Eddy (1991), determinan que la presencia de microorganismos patógenos como bacterias y parásitos, puede limitar su potencial como insumo agrícola. Esto se apoya con lo mencionado por Sahlströma *et al.* (2005), que determina que están compuestos de alto contenido de material putrefacto y que por lo tanto hay altas concentraciones de microorganismos (bacterias, helmintos, virus y otros) es por esto que los lodos pueden ser perjudiciales para la salud puesto que serían una de las vías de transmisión de agentes infecciosos para los organismos, contaminando particularmente, los alimentos cosechados que fueron cultivados con abonos de lodo residual.

Como algunos antecedentes del estudio en lodos resi-

duales asociados a curtiembres se establece que no se han realizado en el departamento del Quindío y tampoco en el país. Se cuenta con una caracterización de microorganismos ambientales a partir de lodos residuales procedentes de una PTAR (urbana) en la Tebaida (Quindío, Colombia), donde se encontró *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Staphylococcus* sp., *Aspergillus* sp., *Trichosporon* sp. y *Entamoebacoli* (López-Jiménez, 2014); A nivel internacional se han realizado numerosos trabajos asociados a las PTAR provenientes de curtiembres, siendo estudios específicos para aguas (Pacheco, *et al.* 2008; Rabah y Ibrahim, 2010; Desta *et al.* 2014), por lo cual se propone el presente trabajo como uno de los primeros estudios atendiendo al objetivo principal de identificar los microorganismos (micro algas, bacterias, hongos, protozoos y helmintos) viables cultivables presentes en los lodos residuales específicamente de una PTAR para empresas curtidoras del Quindío.

RESULTADOS.

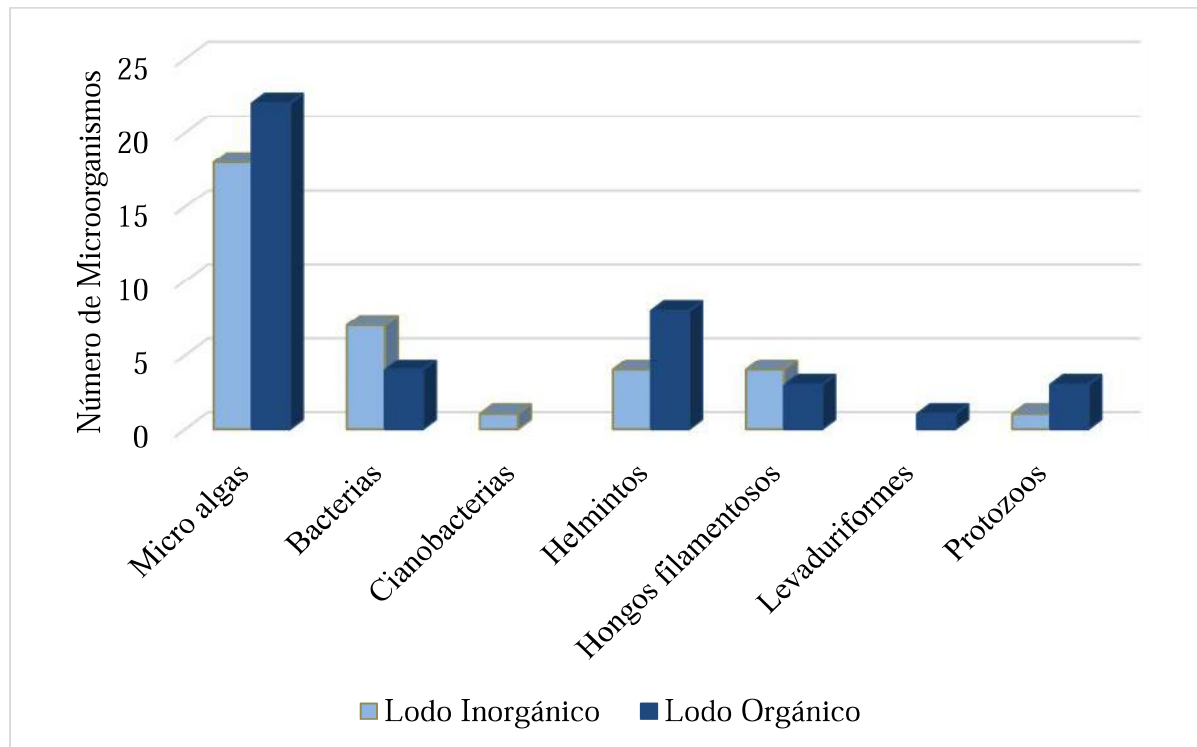
Análisis general.

De acuerdo a la cantidad de especies identificadas se establece que las micro algas son las más frecuentes en cuanto a su número, seguido por los helmintos y posteriormente las bacterias, hongos y protozoos (gráfica 1). Comparando las dos muestras, el lodo orgánico tiene mayor abundancia de especies con excepción de las microalgas donde son los inorgánicos que contienen más número de especies de microalgas. Finalmente se identificó una cianobacteria en los lodos orgánicos y un levaduriforme en los lodos inorgánicos.

Identificación de Bacterias.

En los lodos residuales de tipo orgánico se identificaron cuatro especies de bacterias viables cultivables las cuales fueron identificadas como: *Moraxella* sp., *Citrobacter* sp., *Proteus* sp 1. y *Proteus* sp 2., estas dos últimas diferenciadas por caracteres metabólicos.

A partir de los lodos inorgánicos se identificaron siete especies de bacterias viables cultivables: *Klebsiella* sp., *Morganella* sp., *Serratia* sp., *Veillonella* sp. *Proteus* sp 3. *Providencia* sp. y *Pasteurella* sp. en la tabla 1 se establecen las características macroscópicas, microscópicas y metabólicas de cada especie bacteriana.



Grafica 1. Número de microorganismos identificados por cada lodo residual

Identificación de Hongos Filamentosos y Levaduriformes.

A partir de los lodos residuales se identificaron ocho especies de hongos, en el lodo orgánico se aíslan e identifican cuatro, tres filamentosos y un levaduriforme, los tres primeros se identificaron como: *Rhizopus* sp., *Mucor* sp.1 y *Penicillium* sp. La levadura es identificada como *Candida krusei*.

De los lodos de tipo inorgánico se aisló e identificó un total de cuatro hongos filamentosos identificados como *Mucor* sp.2, *Scopulariopsis* sp., *Fusarium* sp. y *Talaromyces* sp. En la tabla 2 se encuentran los caracteres macroscópicos y microscópicos de cada hongo identificado.

Identificación de Micro algas, Protozoos y helmintos.

Se identificaron en total 41 micro algas pertenecientes a 13 familias, siendo Bacillariophyceae la de mayor frecuencia con un total de 20 especies, las otras familias son: Coscinodiscophyceae con cuatro especies, Fragilariophyceae con tres especies, Coscinodiscophyceae, Fragilariaceae, Oocystaceae y Spirulinaceae con dos especies cada una y finalmente Cryptomonadae, Neidiaceae, Plagiogrammaceae, Surirellaceae, Syne-

chococcaceae y Zygnemaceae con una especie respectivamente. Además, se identifica una cianobacteria del género *Aphanotheceen* los lodos inorgánicos.

Para los lodos orgánicos se identificaron 22 micro algas, mientras que el lodo inorgánico presentó 18 y una cianobacteria. Las fotografías de las especies identificadas se encuentran en las figuras 1 y 2.

En el lodo de tipo orgánico se evidencia la presencia de tres formas resistentes similares a las protozoarias, entre estos posibles quistes de *Entamoeba* sp., *Chilomastix* sp. y un trofozoíto testáceo de *Trinema* sp., En cuanto a los helmintos se determinan ocho morfológicamente similares a huevos y adultos de Strongyloides, junto con otros huevos de *Bertiella* sp., *Clonorchis* sp., *Metagonimus* sp. e *Hymenolepis* sp. Las fotografías de las especies identificadas se encuentran en la figura 3.

El lodo inorgánico presenta un posible protozoo, un trofozoíto testáceo de *Euglypha* sp. Y entre los helmintos se encuentra la presencia de cuatro formas similares a huevos, entre ellos *Inermicapsifer* sp., *Hymenolepis* sp., *Enterobius* sp. y *Strongyloides* sp. Las fotografías de las especies identificadas se encuentran en la figura 4.

Tabla 1. Resultados de los caracteres morfológicos y metabólicos de las bacterias aisladas en cada muestra de lodo residual.

Lodo	Genero bacteriano	Morfología	Gram	Ziehl Neelsen	Respiración	Indol	SIM	Citrato	Urea	LIA	TSI	Perox.	Oxid.	Hemo.																
O r i g i n a l	<i>Moraxella</i> sp.	Diplococo	Neg	Neg	Anaerobia facultativa	Pos	Pos / H2S	Pos débil	Pos	A/H2S	K/H2S /A	Neg	Neg	Beta																
															Morfología macroscópica: Puniforme, elevada, redondas, de borde entero y superficial, dada su cantidad parecen invasivas. La superficie rugosa, brillante y cremosa. la interacción con el medio coloreaba el agar sangre a una tonalidad amarilla															
															Bacilo	Neg	Neg	Aerobia	Pos	Neg	Pos débil	Pos débil	Pos débil	K/A	K/A	Pos	Neg	Beta		
	Morfología macroscópica: Puniforme, elevada, redondas, de borde entero y superficial, dada su cantidad parecen invasivas. La superficie rugosa, brillante y cremosa. la interacción con el medio coloreaba el agar sangre a una tonalidad rosada.																													
	<i>Proteus</i> sp. 1	Bacilo	Neg	Neg	Anaerobia facultativa	Pos	Pos / H2S	Pos	Pos	Pos	R/A	A/H2S	Neg	Neg	Beta															
																Morfología macroscópica: Forma irregular, de borde ondulado, elevada y de superficie elevada por sectores y entre brillante y cremosa. Es invasiva de crecimiento centrifugo. Su comportamiento se mantiene en el agar sangre, pero con un mayor crecimiento de invasión.														
																Bacilo	Neg	Neg	Anaerobia facultativa	Pos	Pos / H2S	Neg	Pos	Pos	R/A	A/H2S	Pos	Neg	Gamma	
	<i>Proteus</i> sp. 2	Bacilo	Neg	Neg	Aerobia	Neg	Neg	Pos débil	Pos fuerte	K/K	A/A gas	Pos	Neg	Beta	Beta															
																Morfología macroscópica: Forma redonda, de borde entero, elevada y de superficie elevada por sectores y entre brillante y cremosa. Es superficial de crecimiento centrifugo. Su comportamiento se mantiene en el agar sangre, pero con un mayor crecimiento de invasión.														
																Morfología macroscópica: Superficial e irregular de borde ondulado, acumulada, lisa, brillante y cremosa. al pasar de agar sangre al agar nutritivo ella aumenta de tamaño y se vuelve convexa con puntos blancos en medio de esta.														
	<i>Klebsiella</i> sp.	Bacilo	Neg	Neg	Anaerobia facultativa	Pos	Pos / H2S	Pos débil	Pos fuerte	K/K	K/H2S	Pos	Neg	Gamma	Gamma															
																Morfología macroscópica: Inicialmente era de color rojo, circular, de borde entero, elevación convexa, superficie lisa, brillante y cremosa además de ser superficial. En agar nutritivo cambia su color a amarillo pálido														
Bacilo																Neg	Neg	Aerobia	Pos débil	Neg	Neg	Neg	K/K	K/K	Neg	Neg	Beta			
<i>Morganella</i> sp.	Bacilo	Neg	Neg	Aerobia	Pos débil	Neg	Neg	Neg	K/K	K/K	K/K	Neg	Neg	Beta																
															Morfología macroscópica: Forma circular, con borde entero, elevación elevada y con superficie lisa, brillante, cremosa y superficial. En agar nutritivo no se aprecia ningún cambio particular.															
															Coco	Neg	Neg	Aerobia	Pos débil	Neg	Pos débil	Pos fuerte	K/K	A/A	Pos	Neg	Beta			
<i>Proteus</i> sp. 3	Bacilo	Neg	Neg	Anaerobia facultativa	Pos	Pos	Pos débil	Pos	Pos	R/A	K/A	Neg	Neg	Alfa																
															Morfología macroscópica: Forma irregular, de borde ondulado, con elevación acumulada, y de superficie lisa, brillante, cremosa y superficial. En agar sangre aumenta su tamaño considerablemente y tiene aspecto más cremoso.															
															Morfología macroscópica: Colonia puniforme de borde entero y con elevación convexa, su superficie es lisa, mate y cremosa. Se considera superficial. En agar sangre mantiene sus características morfológicas.															
<i>Providencia</i> sp	Bacilo	Neg	Neg	Aerobia	Pos	Neg	Pos débil	Pos fuerte	K/K	A/A	Pos	Neg	Neg	Beta																
															Morfología macroscópica: Forma irregular, de borde ondulado, con elevación acumulada, y de superficie lisa, mate y cremosa. Es una colonia superficial. En el agar sangre tiene capacidad hemolítica y su crecimiento se mantiene en morfología.															
															Bacilo	Neg	Neg	Aerobia	Pos	Neg	Neg	Pos débil	Pos débil	K/K	K/K	Pos débil	Neg	Beta		
<i>Pasteurella</i> sp.	Bacilo	Neg	Neg	Aerobia	Pos	Neg	Pos débil	Pos fuerte	K/K	A/A	Pos	Neg	Neg	Beta																
															Morfología macroscópica: Colonia de forma puniforme con borde irregular, elevada y de superficie lisa, mate y cremosa. Es una colonia superficial. En el agar sangre tiene capacidad hemolítica y su crecimiento se mantiene en morfología.															
															Morfología macroscópica: Colonia de forma puniforme con borde irregular, elevada y de superficie lisa, mate y cremosa. Es una colonia superficial. En el agar sangre tiene capacidad hemolítica y su crecimiento se mantiene en morfología.															

Neg.= Negativo, Pos.= Positivo, Perox.= Peroxidasa, Oxid.= Oxidasa, Hemo.= Hemolisis, H2S= Producción de ácido sulfhídrico, K= alcalino, A= ácido.

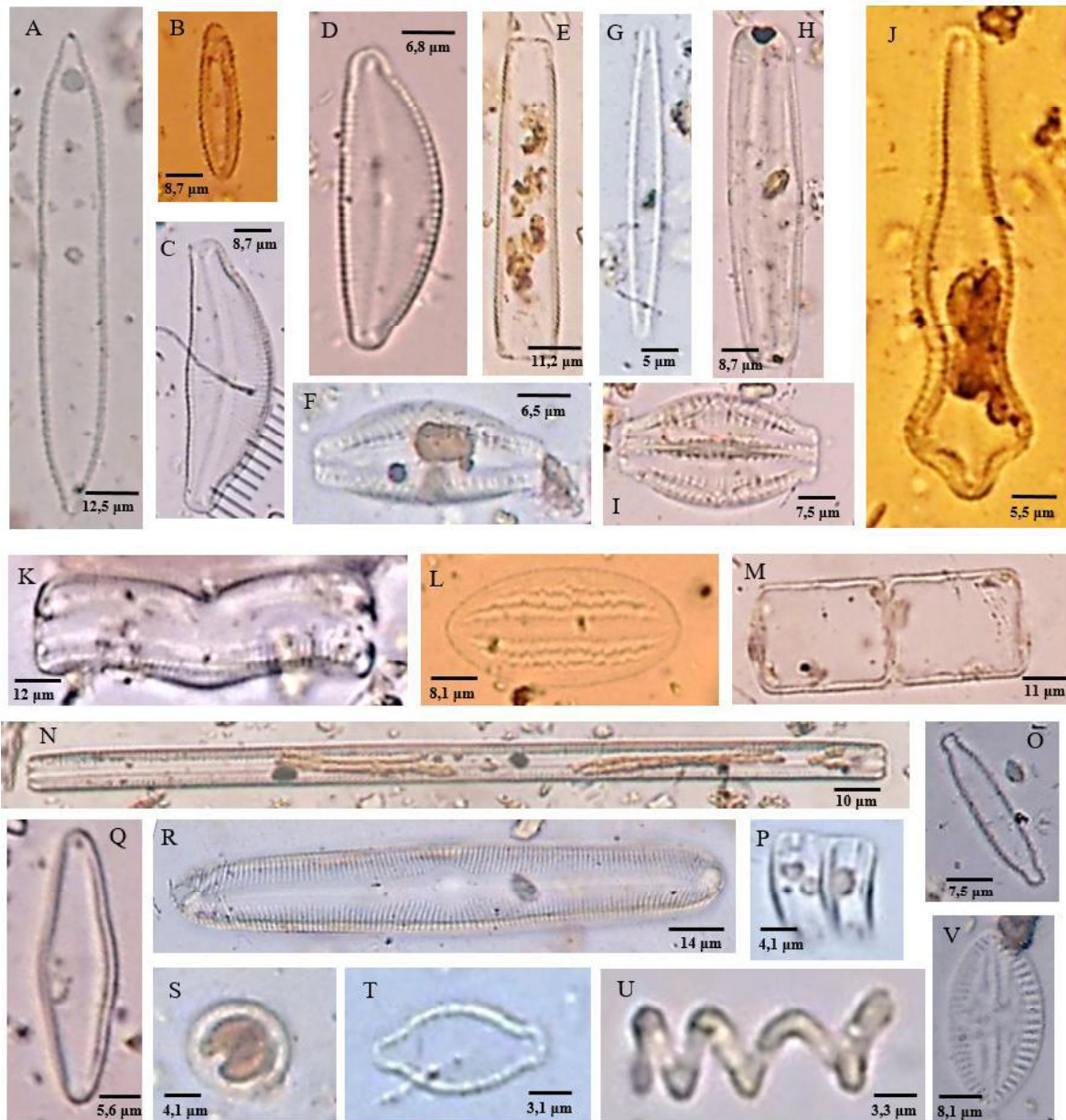


Figura 1. Fotografías de las micro algas identificadas en los lodos orgánicos. Vistas en el objetivo de 40X.

A) *Nitzschia* sp.,1. B) *Pinnularia* sp 1., C) *Cymbella* sp 1., D) *Cymbella* sp 2., E) *Pinnularia* sp 2., F) *Cymbella* sp 3., G) *Nitzschia* sp 2., H) *Sellaphora* sp. I) *Cymbella* sp 4., J) *Gomphonema* sp. K) *Achnanthisidium* sp., L) *Cocconeis* sp., M) *Melosira* sp., N) *Fragilaria* sp., O) *Pseudostaurosira* sp., P) *Mastogloia* sp 1., Q) *Mastogloia* sp 2., R) *Neidiomorpha* sp., S) *Chlorella* sp., T) *Dimeregramma* sp., U) *Glaucoospira* sp., V) *Surirella* sp.

DISCUSIÓN.

En general, las PTAR son un ambiente ideal que promueven el crecimiento de microorganismos ya que están compuestos por material animal en putrefacción y otros, que nutren las poblaciones de microorganismos especialmente de bacterias y protozoos (Sahlströma *et al.* 2005), en su mayoría inofensivos y que pueden utilizarse como tratamiento biológico de la misma planta

o en el tratamiento de otros productos alternos contaminantes como el cromo, aunque, por otro lado, también se establece que puede contener microorganismos patógenos, siendo esta la mayor preocupación (Abdel-Raouf, *et al.* 2012).

Todd y Josephson (1996) establecen que el resultado de la riqueza de especies resulta de la complejidad y diversidad de componentes presentes en el ecosistema,

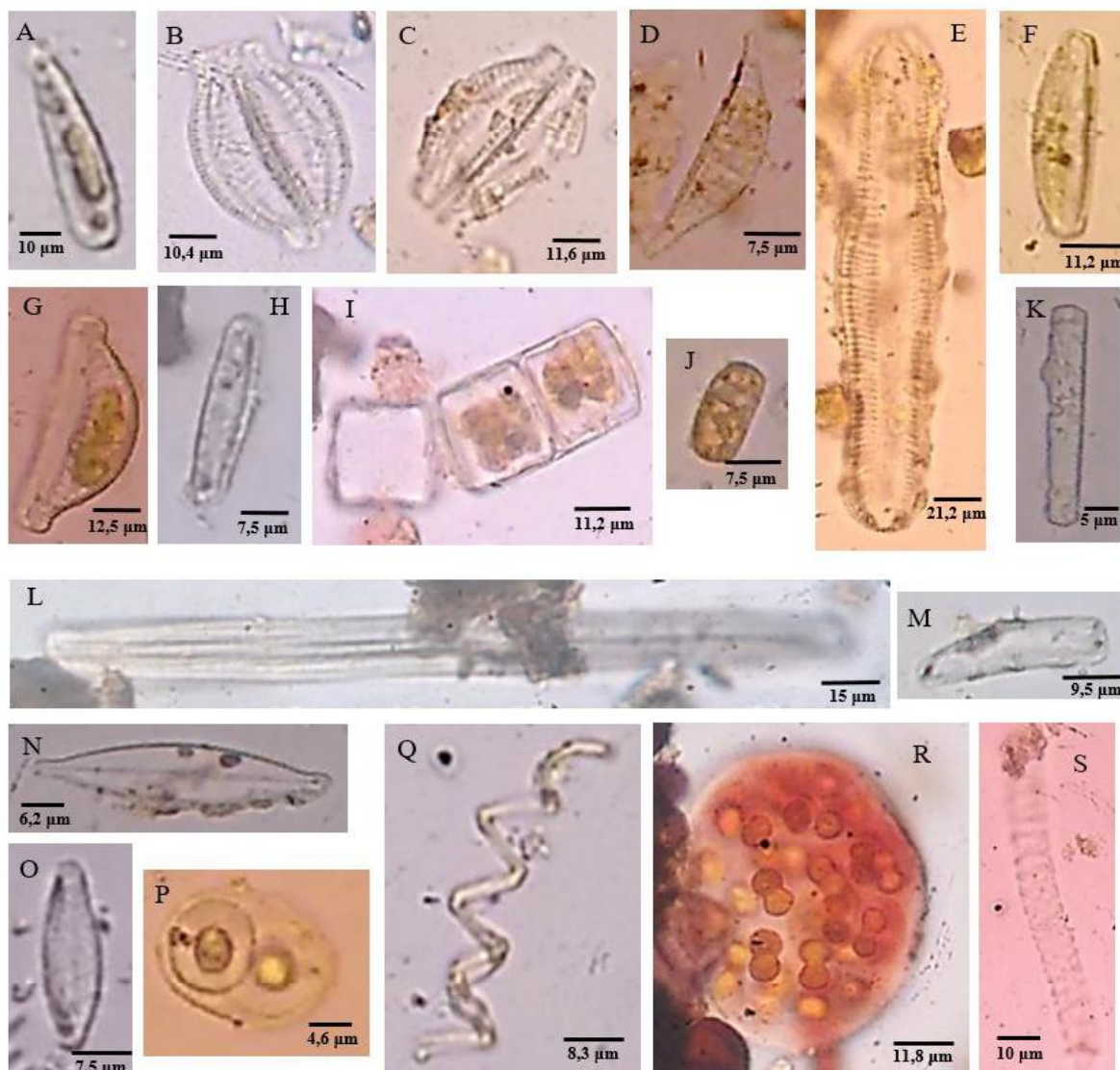


Figura 2. Fotografías de las algas identificadas en los lodos inorgánicos. Vistas en el objetivo de 40X.

A) *Gomphonema* sp., B) *Epithemia* sp., C) *Cymbella* sp 1., D) *Rhopaloidia* sp 1., E) *Rhopaloidia* sp 2., F) *Cymbella* sp 2., G) *Cymbella* sp 3., H) *Pinnularia* sp., I) *Melosira* sp., J) *Rhodomonas* sp., K) *Synedra* sp 1., L) *Synedra* sp 2., M) *Pseudostaurosira* sp., N) *Mastogloia* sp 1., O) *Mastogloia* sp 2., P) *Oocystis* sp., Q) *Glaucospira* sp., R) *Aphanothece* sp. (cianobacteria), S) *Spirogyra* sp.

entre estos componentes se encuentra la disponibilidad de nutrientes cuyo caso se encuentran en la matriz donde están presentes los microorganismos, estos pueden ser minerales que posteriormente serán utilizados como fuente primaria para componentes celulares. En general los microorganismos utilizan carbonatos, fosfatos, metales y otros minerales vitales para sus procesos metabólicos y/o como reservas nutricionales.

Los gradientes ejercidos por algunos procesos naturales del metabolismo también influyen en la presencia de las especies como lo son las variables fisicoquímicas, tales como el oxígeno disuelto, el potencial oxido-reductor,

el pH, la temperatura, la humedad y los metales presentes (Todd y Josephson, 1996). Además, las relaciones intra e inter específicas como en algunos casos de parásitos que reducen la flora bacteriana alimentándose de ellas; los hongos que producen enzimas y/o toxinas que colaboran en la inhibición del crecimiento de las algas y bacterias, entre otras.

El estudio de las comunidades microbianas siempre estará sesgado al momento de realizar estudios de caracterización e identificación ya que la mayoría no pueden ser aislados porque en general, tienen condiciones nutricionales muy estrictas, por lo cual los métodos

tradicionales no dan la posibilidad de estudiar este grupo más a fondo principalmente por sus condiciones de crecimiento (Ravenshlag, *et al.* 2001; Domingo, *et al.* 2011).

Las bacterias Grampositivas no fueron identificadas en las muestras de lodo, esto posiblemente está dado por los nutrientes esenciales del medio ambiente los cuales podrían estar limitados y a su vez por los requerimientos osmóticos presentes en este mismo (Ryan, *et al.* 2011), estableciendo que se cultivaron las bacterias que naturalmente se han seleccionado por el ambiente como las Gramnegativas.

En el caso particular de las bacterias hay un sesgo muy grande al momento de identificarlas ya que metabólicamente son muy diversas y los medios de cultivo no son suficientes para permitir acercarse al valor total de las posibles especies aisladas del medio, esperando que entre las bacterias no cultivadas se encuentren los aerobios estrictos, extremófilos o cuyos requerimientos nutricionales son muy específicos (Winn *et al.* 2008).

Teniendo en cuenta que solo las bacterias viables culti-

vables fueron identificadas, de estas se puede decir que su presencia puede estar dada por las pieles de los animales que provienen de un ambiente donde pudo tener contacto como los alimentos, aguas, suelos, el estiércol del ganado, etc (Laujová, 2000; Manganello, *et al.* 2001; Peterson-Wolfe, 2011).

De acuerdo con la microbiología médica de Ryan *et al.* (2011) las bacterias identificadas como potencialmente patógenas en la presente investigación son *Moraxella* sp., *Citrobacter* sp., *Proteus* spp., *Klebsiella* sp., *Morganella* sp., *Serratia* sp., y *Providencia* sp. En el caso de *Veillonella* sp. son consideradas comensales que no tiene efecto sobre la salud (Hungate, 1996).

Independientemente del tipo de lodo del cual se aislaron los hongos, todos los filamentosos y levaduriformes hacen parte de la microfiora natural del suelo, son saprofitos generalistas (*Rhizopus* sp., *Mucor* spp., *Scopulariopsis* sp. y *Talaromyces* sp.) o saprofitos facultativos (*C. krusei*) (Yuthika, 1994), ellos interactúan con todo tipo de organismos, desde plantas como *Fusarium* sp y *Penicillium* sp. hasta animales (mayea, *et al.* 1991; Giti, *et al.* 2005; Frisvad, *et al.* 2013). Otros estudios (Mo-

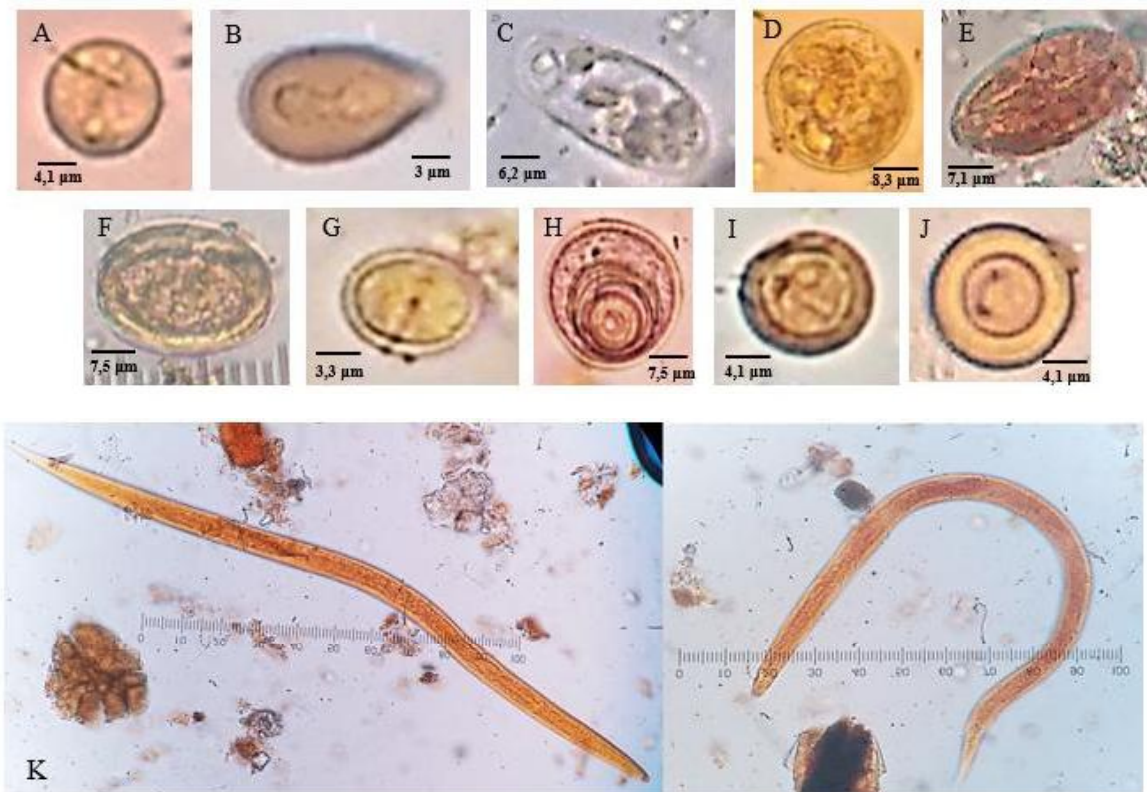


Figura 3. Fotografías de los parásitos identificados en los lodos inorgánicos. Vistas en el objetivo de 40X.

A) *Entamoeba* sp., B) *Chilomastix* sp., C) *Trinema* sp., D) *Bertiella* sp., E) *Clonorchis* sp., F) *Metagonimus* sp., G) *Strongyloides* sp., H) *Hymenolepis diminuta* L., I) *Hymenolepis*

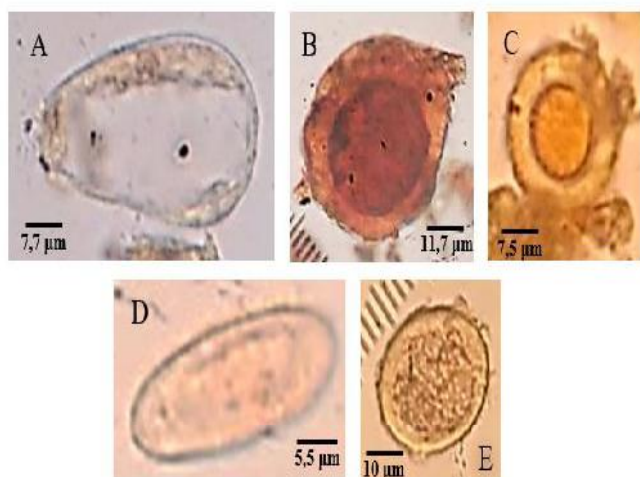


Figura 4. Fotografías de los parásitos identificados en los lodos inorgánicos. Vistas en el objetivo de 40X.

A) *Euglypha* sp., B) *Inermicapsifer* sp., C) *Hymenolepis* sp., D) *Enterobius* sp., E) *Strongyloides* sp.

reira, *et al.* 2012) determinan que algunos de los hongos aislados se consideran hongos comunes del suelo y se encuentran en casi todos los estudios realizados en dicho ambiente, aunque Jimenez *et al.* (2011) establece que las especies del género *Scopulariopsis* pueden ser agentes causales de la onicomiosis; *Candidakrusei* encuentra asociada a infecciones oculares y otras de tipo sistémico. Y Castro-Caisedo *et al.* (2000) establecen que *Penicilium* sp. y *Fusarium* sp. son fitopatógenos importantes de cultivos frutales como los cítricos.

Los hongos tienen distinta forma de dispersión, con la cual posiblemente hayan llegado a los lodos, ya sea directamente de las pieles del ganado que transportaron las esporas desde distintos ambientes donde haya tenido interacción, o inclusive pudieron llegar desde otros puntos diferentes como por ejemplo por propagación anemócora (De la rosa, *et al.* 2002). El hecho de que se encuentren algunos hongos posiblemente patógenos tanto para plantas como para animales genera un riesgo para la utilización de los lodos como abono artesanal ya que, por medios indirectos y mecánicos, estos podrían llegar a transmitirse y generar enfermedades que afectan a los beneficiados u asociados del sistema agrícola. El mayor porcentaje de las micro algas aisladas e identificadas pertenecen a la familia Bacillariophyceae, que se caracterizan por ser de los grupos fotosintéticos más abundantes en hábitats de agua dulce (Vyverman *et al.* 2010; Pla-Rabés, *et al.* 2016) esto se debió a que poseen ensamblajes ecológicos de gran valor como bioindicadores con una tolerancia ambiental muy estrecha a nivel de presiones ambientales (Kopalova *et al.* 2013). Tam-


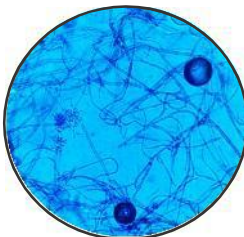







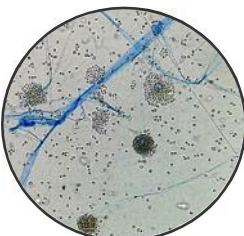

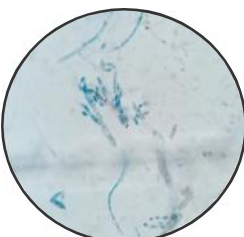
bién se revela que las Chlorophyta son las micro algas más diversas y abundantes, seguidos por Cyanophyta, Bascillariophyta y Euglenophyta, pero como se evidencia en los resultados de la presente investigación, en los lodos las más abundantes son las diatomeas (Pla-Rabés, *et al.* 2016).





Desde hace 30 años se ha estudiado e identificado especies para su utilización en la respuesta de las algas frente a las perturbaciones medioambientales, como organismos indicadores de la calidad de agua (Mohamed, 1994). Abdel-Raouf *et al.* (2012), ratifican que algunas micro algas como *Euglena*, *Oscillatoria*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Chlorella*, *Nitzschia* y *Navicula*, están asociadas con agua contaminada mientras que *Pinnularia*, *Meridiony* *Surirellapodría*n indicar aguas no contaminadas.

Es natural encontrar micro algas asociadas a plantas de tratamiento de agua tanto potable como residual (Abdel-Raouf, *et al.* 2012), su presencia podría estar relacionada con los lodos residuales se debe a los procesos de filtración y sedimentación que se llevan a cabo en la PTAR, además, se presume el uso directo de agua del río para los procesos de curtido de pieles y para tratar las aguas residuales, lo que conlleva el transporte de las micro algas a la zona de obtención del material analizado. De acuerdo con Toddy Josephson (1996), las algas en las PTAR se encuentran presentes en las aguas, flotando en cada uno de los tanques utilizados en los distintos tratamientos realizados.

De los protozoos identificados en los lodos orgánicos se puede decir que en su mayoría se han identificado como potencialmente patógenos para los animales (mamíferos y aves) como *Entamoeba* sp. y *Chilomastix* sp. (INSHT, 2015), Estos parásitos están asociados a los sistemas digestivos de algunos mamíferos, principalmente del ser humano, a diferencia de *Trinema* sp el cual es una ameba natural de ecosistemas acuáticos y hace parte del plancton presente en estos lugares (Isac, *et al.* (S.F.)). Los huevos de *Bertiella* sp. *Clonorchis* sp., *Metagonimus* sp. e *Hymenolepis diminuta* e *H.nana* son helmintos que también se asocian al sistema digestivo de los mamíferos y tienen el potencial de ser patógenos. Se encuentra también el adulto de *Strongyloides* sp. el cual permite establecer que los lodos orgánicos son un ambiente cuyos componentes promueven el proceso de desarrollo del parásito que en debido caso es quien tiene mayor potencial infectante de los helmintos identificados.

Tabla 2. Caracteres macroscópicos y microscópicos de los hongos encontrados con las respectivas fotografías: Vistas microscópicas a 40X.

Lodos	Hongo	Morfología macroscópica		Morfología microscópica	
O r g á n i c o	<i>Rhizopus</i> sp.		Colonia pulverulenta, negro con blanco, oscurece el medio, de crecimiento lento		Hifas septadas con esporangios y esporas redondas.
	<i>Mucor</i> sp. 1		Colonia pulverulenta, verde que cambia color del medio en amarillo y de crecimiento lento		Hifas no septadas con esporangios y esporas redondas
	<i>Penicillium</i> sp.		Colonia pulverulenta de color verde con borde blanco. La colonia al crecer rompe el medio de cultivo y es de crecimiento lento.		Hifas hialinas septadas y con presencia de conidios en forma de pincel. Esporas redondas.
	<i>Candida krusei</i>		Colonia de color rojo intenso, de borde enteros, elevada, brillante y cremosa. La colonia es superficial.		Células individuales con interacción positiva en azul de lactofenol algunas en proceso de gemación
I n o r g á n i c o	<i>Mucor</i> sp. 2		Colonia pulverulenta, de color naranja; Cambia el medio de cultivo de color naranja y con crecimiento lento		Hifas no septadas con esporangios y esporas redondas.
	<i>Scopulariopsis</i> sp.		Colonia pulverulenta de color blanca sin cambios considerables en el medio de cultivo. Crecimiento lento.		Hifas hialinas y no hialinas a lo largo del micelio, septadas y con presencia de conidios en estructura compleja. Esporas ovaladas.

<i>Fusarium</i> sp.		Colonia de color blanca, pulverulenta y de crecimiento invasiva y rápida. El medio cambia de color al amarillo oscuro.		Hifas no hialinas con septos. Conidios y conidiosporas en media luna ubicadas en racimo.
<i>Talaromyces</i> sp.		Colonia de color blanco pulverulenta y con producción de exudado amarillo claro. Crecimiento lento.		Hifas no hialinas septadas y con conidios conformados en pinceles y esporas redondas.

En los lodos de tipo inorgánico no se encontraron protozoos que se según la literatura tienen el potencial de ser patógenos, solo se identifica un trofozoíto testáceo de *Euglypha* sp. quien tiene similitud ecosistémica con *Trinema* sp. (Isac, *et al.* (S.F.)). Sin embargo, se identifican huevos de helmintos que se asocian a su vez con patologías del sistema digestivo de mamíferos como lo son *Inermicapsifer* sp., *Hymenolepis* sp., *Enterobius* sp. y *Strongyloides* sp.

La presencia de protozoos y helmintos en los lodos residuales se determina por transporte de material animal asociado como son las pieles y residuos del ganado que llegan junto con las aguas residuales que se tratan en la PTAR del sector industrial curtiembres. Aunque teniendo en cuenta la probabilidad de la utilización directa de agua procedente del río, es posible que estos microorganismos hayan llegado por acción de este como es el caso de las micro algas.

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES.

Diseño del estudio descriptivo.

La obtención de las muestras se realizó en la PTAR de un sector industrial curtidor del departamento del Quindío, Colombia.

Se realizaron dos intervenciones en la PTAR, donde se tomaron dos muestras con cinco repeticiones por muestra de lodo (orgánico e inorgánico) con un intervalo de 6 meses de recolección. la obtención del material se basó en un muestreo aleatorio simple dividiendo la zona en un cuadrante de 2x2 donde se retiró la capa superficial de los lodos y se realizó una homogenización para así

tomar 45 mL de muestra con espátulas estériles; Los lodos fueron guardados en tubos falcon de 50 mL, luego fueron almacenados en bolsas resellables y transportados en una nevera de icopor portátil a una temperatura de 4°C hasta llegar a las instalaciones de la universidad del Quindío donde fueron procesadas.

Aislamientos Microbiológicos.

Se miden 10 g de lodos y se llevaron a un matraz que contenía 90 mL de agua peptonada estéril (APE), esta se homogenizó durante 10 minutos y de esta mezcla se tomó 1 mL en un tubo de ensayo tapa rosca con 9 mL de APE y se homogeniza nuevamente realizando una dilución de 10⁻². Posteriormente se centrifuga a 3000 rpm por 20 minutos y se re-suspende en 1 ml de solución salina estéril al 0.8% realizando la siembra directa por agotamiento en medios de cultivo artificiales usando agar chocolate para las bacterias y agar V8 para los hongos (levaduras y filamentosos. Finalmente, los medios de cultivo fueron dispuestos a temperatura ambiente verificando a diario el crecimiento microbiano.

Aislamiento e identificación de bacterias

Los criterios de identificación para las bacterias se basaron en su crecimiento con medios de cultivo convencionales (agar chocolate, agar nutritivo y CHROMagar orientation), teniendo en cuenta las características macroscópicas donde se describe la morfología de la colonia, las características microscópicas de acuerdo a su morfología celular y las tinciones diferenciales de Gram y Ziehl Neelsen; las características bioquímicas que incluyen las pruebas metabólicas (SIM, Citrato

Simmons, Urea, LIA, TSI, Indol, tipo de respiración, presencia de peroxidasas, oxidasas y capacidad hemolítica en agar sangre) además de pruebas API 20E. Los caracteres metabólicos permitieron la identificación de acuerdo a las bases de datos del API, el CHROMagar-orientation, y claves taxonómicas como las de Cowan y Steel (1993) y el texto guía de diagnóstico microbiológico (Winn, *et al.* 2008).

Aislamiento e identificación de hongos filamentosos y levaduriformes.

Los hongos se dividieron en dos grandes grupos, los filamentosos y los levaduriformes, siendo los primeros, identificados con técnicas de crecimiento en medio de cultivo donde se utilizó agar V8 y se determinó la interacción de ellos con el medio, la morfología macroscópica de la colonia junto con su coloración y en particular, los hongos filamentosos se cultivaron con la técnica de micro-cultivo. Finalmente se detallan las características celulares como las hifas, conidióforos, esporangióforos y esporas observadas con azul de lactofenol bajo el microscopio óptico.

Los hongos levaduriformes fueron identificados con las características macroscópicas de la colonia, la morfología celular observada en el microscopio óptico y finalmente los caracteres metabólicos con los sustratos presentes en el API 20C Aux. Se utilizaron las bases de datos del API y para los hongos filamentosos la clave taxonómica de Carrillo (2003) y detalles del registro fotográfico de la universidad de Antioquia.

Microalgas, protozoos y helmintos.

La técnica con la cual se realizó el aislamiento de las micro algas, protozoos y helmintos es conocida como el método de concentración formalin-ether (Ritchie), este método es utilizado comúnmente para muestras de materia fecal humana, agua residual y agua potable (Londoño-Franco *et al.*, 2014; Lora-Suarez, *et al.* 2016) por lo tanto para la aplicación de la técnica en lodos residuales se inició con el procedimiento tomando 3 gramos de lodo los cuales se homogenizaron con solución salina estéril al 0.9%, posteriormente se realizó un proceso de filtración a través de una gasa estéril, al filtrado se le realiza una centrifugación a 2000 r.p.m. durante 2 minutos, para así decantar el sobrenadante y resuspender el sedimento con solución salina y centrifugando nuevamente repitiendo los lavados dos veces más. Posteriormente al pellet se le adicionan 5 mL de

formol salino al 10% y 3 mL de ether etílico al 99%, agitando vigorosamente para centrifugar a 2500 r.p.m. por 5 minutos, a partir de aquí se formaron cuatro capas distintas: (i) un sedimento en el fondo (pellet), (ii) solución de formol salino, (iii) restos de agua con materiales suspendidos y (iv) éter etílico. Se decantaron las tres últimas fases dejando solo el sedimento en el tubo, este se resuspendió en 1 mL de solución salina al 0.85% y a partir de aquí se realizó la observación tiñendo las muestras con lugol parasitológico (lugol al 1%) con un microscopio óptico Olympus el cual cuenta con un micrómetro para medir el tamaño de los microorganismos. La identificación de los parásitos, microalgas y la cianobacteria se realizó con la ayuda de libros como: Géneros de micro algas de aguas continentales de Brasil (BicudoyMenezes, 2006) y el atlas de parasitología humana de AshyOrihel, (2011) donde se incluyen descripciones y claves taxonómicas para su identificación.

CONCLUSIONES.

En los lodos se identificó un total de 76 microorganismos, donde se establece que los lodos orgánicos son aquellos que más especies contiene con un valor de 41. En los lodos inorgánicos se identificaron 35 especies. Por lo tanto, se puede decir que los lodos orgánicos tienen mayor diversidad microbiana con una diferencia de 6 especies.

Se aislaron e identificaron siete bacterias a partir de los lodos inorgánicos las cuales fueron: *Klebsiella* sp., *Morganella* sp., *Serratia* sp., *Veillonella* sp. *Proteus* sp 3. *Providencia* sp. y cuatro especies a partir de los lodos orgánicos donde se aíslan e identifican: *Pasteurella* sp. y *Moraxella* sp., *Citrobacter* sp., *Proteus* sp 1. y *Proteus* sp 2.

A partir de los lodos residuales se identificaron ocho especies de hongos, en el lodo orgánico se aíslan e identifican cuatro: tres hongos filamentosos: *Rhizopus* sp., *Mucor* sp.1 y *Penicillium* sp. y un levaduriforme: *Candidakrusei*. A diferencia del lodo de tipo inorgánico donde se aisló e identificó un total de cuatro hongos filamentosos identificados como *Mucor* sp.2, *Scopulariopsis* sp., *Fusarium* sp. y *Talaromyces* sp.

Se identifican 18 micro algas del lodo orgánico y 22 del inorgánico, siendo estas las especies más frecuentes para ambas muestras de lodo residual. Se logra identificar una cianobacteria a partir de los lodos orgánicos. Los parásitos identificados, los helmintos son los más

frecuentes con un total de 12, los protozoos se establecen con 4 especies. Los lodos orgánicos son aquellos donde más especies se identificaron a lo largo del estudio con un total de 11 parásitos, mientras que los lodos inorgánicos tienen 5 parásitos.

De acuerdo con la literatura la mayoría de las bacterias y parásitos identificados son potencialmente patógenos para el ser humano y otros animales con excepción de *Veillonella* sp., *Trinema* sp. y *Euglypha* sp.

Los resultados obtenidos son el primer estudio realizado en Colombia para la identificación y diversidad microbiana en lodos residuales de una PTAR de un sector curtidor.

FINANCIACIÓN:

Universidad del Quindío, Gobernación del Quindío y Sistema General de Regalías, Convenio especial de cooperación 005 de 2015“

AGRADECIMIENTOS.

Los autores agradecen la colaboración del Grupo de Investigación en Enfermedades Cardiovasculares y Metabólicas del Programa de Medicina, Universidad del Quindío y a la línea de Giardiasis y Parásitos intestinales del Grupo de Investigación en Parasitología Molecular de la Universidad del Quindío y finalmente al Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Quindío.

REFERENCIAS

- Abdel-Raouf, N. Al-Homaidan, A.A. y Ibraheem, I.B.M. (2012). Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* 19, 257–275 pp. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>.
- Agardh, (2016). Ilustración de *Melosira varians*. Publicada en: http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/heterokontophyta/centrales/melosira/variens/sp_10.html.
- Andrade, C. M. L., Iglesias Y O. Guitian. (1985). Características Químicas y Poder Fertilizante de los Lodos Residuales de la Planta Depuradora de Aguas Sanitarias de Santiago de Compostela. *An. Edafol. Agrobiol.* 44 (1-2): 143-156 pp.
- Ash, L. y Orihel, T. 2011. Atlas de parasitología humana 5ta Ed. Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 556 pp.
- Becerril, M.A. (2008). Parasitología medica 2da Ed. Mc Graw Hill. Mexico. 308 pp.
- Bicudo, C.E. y N. Menezes. 2006. Géneros de algas de aguas continentales do Brasil. Chave para identificação e descrições. RIMA, São Paulo, 490 pp.
- Cantonati, M. Lange-Bertalot, H. y Angeli, N. (2010). *Neidiomorpha* gen. nov. (Bacillariophyta): A new freshwater diatom genus separated from *Neidium* Pfitzer. *Botanical Studies*. 51: 195-202 pp.
- Carrillo, L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta, Argentina. Microbiota. 126 pp.
- Castillo, C. (2015). Estudio Taxonómico De Ooquistes De Protozoos En Zorro Gris (*Pseudalopex Grieseus*), En La Xii Región De Magallanes. Tesis. Universidad Austral De Chile. 50 pp.
- Castro-Caisedo, B. L., Timmer, L.W., Leguizamón, J. E., Muller, G. W. y Corrales, J.A. (2000). Enfermedades de los cítricos en Colombia. Fondo nacional de fomento hortifrutícola. 102 pp.
- Cocquyt, C. y Jahn, R. (2007). *Surirella fuellebornii* (Bacillariophyta) and related taxa: lectotypification and distribution. *Syst. Geogr. Pl.* 77: 213-228 pp.
- De La Rosa, M.C. Mosso, M.A. y Ullán, C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. Observatorio medioambiental. (Vol. 5: 375-402).
- Desta, A. F., Assefa, F., Leta, S., Stomeo, F., Wamalwa, M., Njahira, M., y Appolinaire, D. (2014). Microbial community structure and diversity in an integrated system of anaerobic-aerobic reactors and a constructed wetland for the treatment of tannery wastewater in Modjo, Ethiopia. *PLoS ONE*, 9(12), 1–22 pp.
- Domingo JWS, Revetta RP, Iker B, Gomez-Alvarez V, Garcia J, Sullivan J, et al. (2011) Molecular survey of concrete sewer biofilm microbial communities. *Biofouling* 27: 993–1001 pp.
- Ferrer, N. y Caceres, E. (2008). *Spirogyra multiconjugata* sp. nov. (Zygnematophyceae, Chlorophyta), a new species of the *Punctata* group found in Argentina. *Algological studies, stuttgart*. DOI: 10.1127/1864-1318/2008/0128-0001

- Frisvad, J. C., Yilmaz, N., Thrane, U., Rasmussen, K. B., Houbraken, J., y Samson, R. A. (2013). *Talaromyces atrovirens*, a new species efficiently producing industrially relevant red pigments. *PLoS One*, 8(12), [e84102]. DOI: 10.1371/journal.pone.0084102
- García-Zarza, M.A. (2003). *Metodo alternativo para tratar lodos de plantas de agua residual en Mexico*. Tesis de la escuela superior de ingeniería y arquitectura, instituto politecnico nacional. Dir. Chavarria, G. 103 pp.
- Giri, B. H., Kumari, R., Prasad, R., Varma, A. (2005). Microbial diversity in soils. *Soil biology* (3:19-55).
- Hernández-Almeida, Oscar U., Herrera-Silveira, Jorge A., y Merino-Virgilio, Fany. (2013). Nueve nuevos registros de diatomeas bentónicas de los géneros *Climaconeis*, *Cocconeis*, *Licmophora*, *Talaroneis*, *Oestrupia*, *Petroneis* y *Synedrosphenia* en la costa norte de la Península de Yucatán, México. *Hidrobiológica*, 23(2), 154-168 pp.
- Hungate, R. (1996). *The Rumen and its Microbes*. Elsevier. (533).
- Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo (INSHT). (2015). *Notas Técnicas de Prevención*. NTP: 376, 473, 545, 597, 689, 700, 838, 853,858, 938, 1020.
- Isac, L. Rodríguez, E. Salas, L., Fernandez, N. y Zornoza, A. (Sin Fecha). *Atlas de protistas y metazoos presentes en el fango activo*. Universidad de Sevilla. 39 pp.
- Jan Kaštrovský. (2005). Ilustración de *Glaucospira laxissima*. Publicada en http://galerie.sinicearasy.cz/galerie/cyanobacteria/oscillatoriales/glaucospira?image_id=14323.
- Jimenez, J. Cienfuegos, V., Salazar, C.L. y Varela, R. (2011). *Microbiología Médica*, Aprende en línea, Escuela de microbiología, Universidad de Antioquia: <http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/course/view.php?id=743>
- Juárez, M; Sanchez Anderw, J Y Nataix, J. (1987). Interés Agrícola de los Lodos de Depuradoras de Aguas Residuales. *Anal. Edafol. Y Agrobiol.* Pág. 211-228 pp.
- Kautto, A. (2011). *Waste streams for algae cultivation*. Lahti University of Applied Sciences. *Environmental Technology*, Spring. 32 pp.
- Kociolek, P. (2011). *Mastogloia albertii*. In *Diatoms of the United States*. Retrieved July 11, 2016, from http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/species/mastogloia_albertii
- Kopalova, K. Nedbalová, L. Nývlt, D., Elster, J. y Van de Vijver, B. (2013). Diversity, ecology and biogeography of the freshwater diatom communities from Ulu Peninsula (James Ross Island, NE Antarctic Peninsula). *Polar Biol*, 36:933–948 pp. DOI 10.1007/s00300-013-1317-5
- Laujová, A. (2000). *In Vitro Treatment of Different Isolates from Cattle Dung and Pig Slurry by Nisin*. *Acta Vet. Brno*, (69: 147–151).
- Lemes-da-Silva, N., Zanini, L. y Necchi-junior, O. (2010). New aerophytic morphospecies of Cyanobacteria from tropical forest fragments in northwestern São Paulo state, Brazil. *Acta bot. bras.* 24(4): 916-923 pp.
- Londoño-Franco, A.L., Loaiza-Herrera, J., Lora-Suárez, F.M., Gómez-Marín, J.E., (2014). *Blastocystis* sp. frequency and sources among children from 0 to 5 years of age attending public day care centers in Calarcá, Colombia. *Biomedica* 34, 218–27 pp. doi:10.1590/S0120-41572014000200008
- Lopez – Jimenez, L. Y. (2014). *Caracterización de microorganismos ambientales a partir de lodos residuales procedentes de la planta de tratamiento de aguas (PTAR), en la Tebaida, departamento del Quindío, Colombia*. Tesis de grado, Programa de biología, universidad del Quindío. 97 pp.
- Lora-Suarez, F. Rivera, R. Triviño-Valencia, J. Gomez-Marin, J.E. (2016). Detection of protozoa in water samples by formalin/ether concentration method. *Rev. Water Research*. Sep 1; 100:377-81. doi: 10.1016/j.watres.2016.05.038
- Manganello, S. Tayara, A. Perazzi, B. Neira, L. Famiglietti, A. Publiese, L. Santini, P y Vay. C. (2001). *Caracterización y distribución de especies de Citrobacter en un hospital universitario*. (Vol. 19. Núm. 01).
- Mayea, S., Novo, R., Valiño, A. (1991). *Introducción a la microbiología del suelo*. Editorial pueblo y educación. (188)
- Merizalde, J.C. y Mujica, J.R. (2004). *Valorización lodos de curtiembres*. Escuela de ingeniería de Antioquia, ingeniería ambiental. Envigado, Colombia. 26 pp.

- Metcalf W, Eddy P. (1991). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*. 4th Ed, McGraw-Hill, New York, USA, 1823p.
- Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, Dirección de Desarrollo Sectorial Sostenible/Organización de Control Ambiental y Desarrollo Empresarial OCADE Gestión integral de residuos o desechos peligrosos. Bases conceptuales. Bogotá, D.C., Colombia, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2007. 186 p.p
- Mohamed, N.A., (1994). Application of algal ponds for wastewater treatment and algal production. M.Sc. Thesis, Fac.of Sci. (Cairo Univ.) Bani-Sweef Branch
- Moreira, F., E. J. Huising Y D. E. Bignell. (2012). Manual de biología de suelos tropicales. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo suelo. Instituto Nacional de Ecología, México, (337).
- Oyadomari, J. (2011). Ilustración de *Fragilaria capucina*. Publicada en. http://www.keweenawalgae.mtu.edu/gallery_pages/diatoms2.htm.
- Pacheco, J.D; Peña, J.J. y Maldonado, M. (2008). Identification And Characterization Of Sulfur-Oxidizing Bacteria In An Artificial Wetland That Treats Wastewater From A Tannery. *International journal of phytoremediation*. Mexico. 10: 359 – 370 pp.
- Pereira, A. y Pérez, M. (2004). Trematodosis hepáticas, Características de la fasciolosis, la clonorquiasis y la opistoquiasis. *Ambito Farmaceutico - Parasitología*. Vol 23 (4): 116-124 pp.
- Petersson-Wolfe, C. Costello, S. y Currin, J. (2011). *Serratia* spp.: A Practical Summary for Controlling Mastitis. Virginia cooperative extension. (Publication 404-225, 2).
- Plan de gestión ambiental regional PGAR (2003-2012) Cuenca del río la vieja, ajustado al 2019. Gobernación del Quindío. Armenia, Septiembre de 2012. 165 pp.
- Pla-Rabés et al. (2016), The structure and diversity of freshwater diatom assemblages from Franz Josef Land Archipelago: a northern outpost for freshwater diatoms. *PeerJ* 4:e1705; DOI 10.7717/peerj.1705
- Rabah, A.B. y Ibrahim, M.L. (2010). Physico-Chemical and Microbiological Characterization of Soils Laden with Tannery Effluents in Sokoto, Nigeria. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science*, 18(1):65-71 pp.
- Ravenschlag K, Sahm K, Amann R (2001) Quantitative molecular analysis of the microbial community in marine Arctic sediments. *J Appl Environ Microbiol* 67: 387–395 pp.
- Ryan, K. Ray, C.G. Ahmad, N. Drew, L. y Plorde, J. *Microbiología medica*, 5ta Ed. Mc Graw Hill, pages 793.
- Sahlströma, L. Aspana, A. Baggea., E. Danielsson-Thamb M.L. y Albiñna, A. (2004). Bacterial pathogen incidences in sludge from Swedish sewage treatment plants. *Water res*. 38. 1989 – 1994 pp.
- Sánchez, Gloria E, Sarno, Diana, Montresor, Marina, Siano, Raffaele, y Lange, Carina B. (2009). Germinación De Estados De Resistencia De Diatomeas Y Dinoflagelados En Sedimentos Marinos De Dos Áreas De Surgencia De Chile. *Gayana. Botánica*, 66(2), 239-255. <https://Dx.Doi.Org/10.4067/S0717-66432009000200009>
- Siqueiros-Beltrones, David A., Argumedo-Hernández, Uri. y Hernández-Almeida, Oscar U. (2013) Diagnóstico prospectiva sobre la diversidad de diatomeas epilíticas en la laguna Bacalar, Quintana Roo, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 84: 865-875 pp.
- Todd, J. y Josephson, B. (1996). The design of living technologies for waste treatment. *Ecological engineering*, vol 6: 109-136 pp.
- Torres, L. Madera, P. y Martínez, P. (2008). Estabilización alcalina de biosólidos compostados de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas para aprovechamiento agrícola.
- Torsvik V, Ovreas L (2002) Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinión Microbiology* 5: 240-245 pp.
- Venkatachalapathy, R. y Karthikeyan, P. (2015). Application of Diatom-Based Indices for Monitoring Environmental Quality of Riverine Ecosystems: A Review. *Environmental management of river basin ecosystems*. 593-619 pp. DOI: 10.1007/978-3-319-13425-3_28.
- Vounatsou, P., Marti, H., (2010). Microscopic diagnosis of sodium acetate-acetic acid- formalin-fixed stool samples for helminths and intestinal protozoa: a comparison among European reference laboratories. *Clin. Microbiol. Infect.* 16, 267–73 pp. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.02782.x

- Vyverman W, Verleyen E, Wilmotte A, Hodgson DA, Willems A, Peeters K, Van de Vijver B, de Wever A, Leliaert F, Sabbe K (2010) Evidence for widespread endemism among Antarctic micro-organisms. *Polar Sci* 4:103–113
- Winn, W. Allen, S. Janda, W. Koneman, E. Procop, G. Schreckenberger, P. y Woods, G. (2008). *Koneman diagnostico microbiológico*. 6th ed. Editorial medica panamericana S.A. Argentina. 1475 pp.
- You, Q., Liu, Y. Wang, Y. Wang, Q. (2009). Taxonomy and distribution of diatoms in the genera *Epi-themia* and *Rhopalodia* from the Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. *Rev. Nova Hedwigia*. 397-430 pp. DOI: 10.1127/0029-5035/2009/0089-0397
- Yuthika H. Samaranayake And L. P. Samaranayake. (1994). *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. Review Article: *Clinical Mycology*. *J. Med. Microbiol.* - Vol. 41: 295-310 pp.