

DEPARTAMENT DE BIOLOGIA ANIMAL
FACULTAT DE BIOLOGIA
UNIVERSITAT DE BARCELONA

ESTUDI DELS PROTOZOUS CILIATS EN PLANTES DE
TRACTAMENT BIOLÒGIC DE LES AIGÜES RESIDUALS

Vist i Plau del Director de la
memòria Dra M^a del Pilar
Graça Royo, Catedràtic del
Departament de Biologia Animal
de la Universitat de Barcelona

Memòria Presentada per
Humbert Salvadó i Cabré
per a Optar al grau de Doctor
en Ciències Biològiques per
la Universitat de Barcelona

Barcelona setembre de 1990

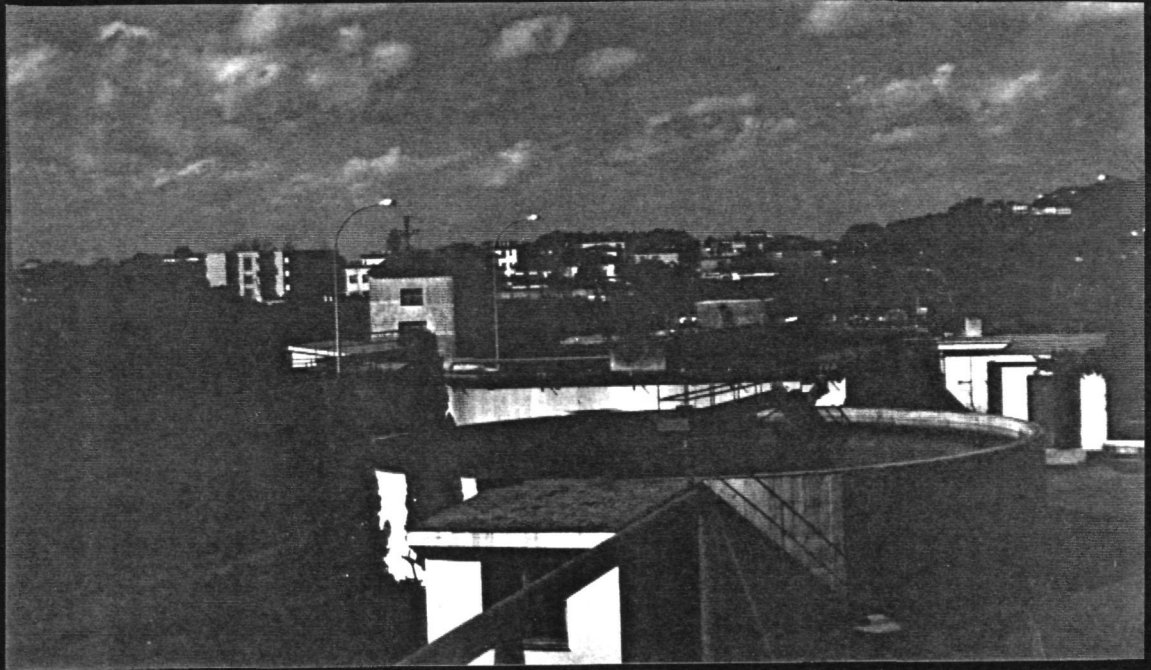
11. FOTOGRAFIES

11. FOTOGRAFIES

- 1.- Estació depuradora d'aigües residuals de Gavà, vista panoràmica.
- 2.- Estació depuradora d'aigües residuals de Castelldefels. S'observa el decantador primari i al fons els tancs d'aireació.
- 3.- Estació depuradora d'aigües residuals de Ciutat Badia, vegeu el decantador primari.



1



2



3

- 4.- Aspecte general d'un flòcul de microorganismes filamentosos, observeu la xarxa tridimensional que es forma.

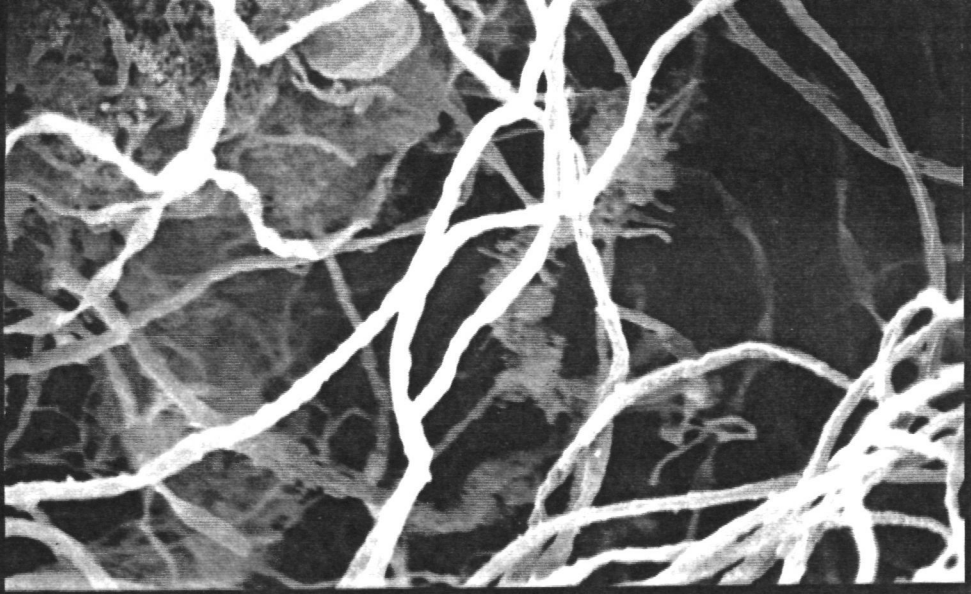
Microscòpia electrònica de rastreig.

- 5.- Aspecte general d'un flòcul, observeu els flòculs, s'hi observen microorganismes filamentosos i petits flagel.lats.

Microscòpia electrònica de rastreig.

- 6.- Gimnameba, les Gimnamebes són molt freqüents als fangs, però sovint difícils de visualitzar.

Microfotografia aconseguida amb llum obliqua.
(x 648).



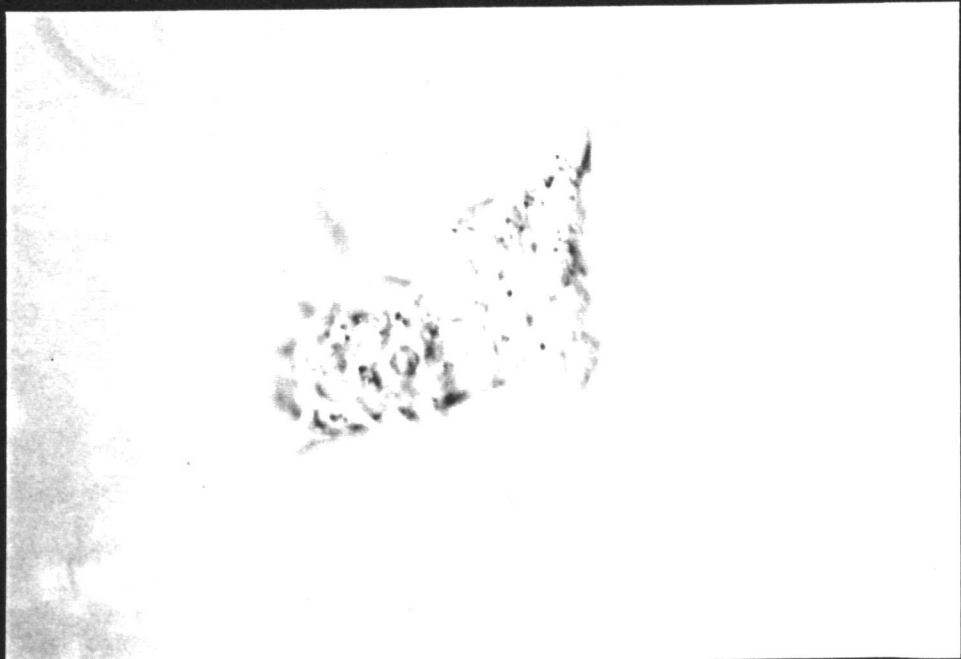
x2.0k 1640 15kV 20µm

4



x1.5k 1639 15kV 20µm

5



6

- 7.- Litonotus lamella, Aspecte general d'un exemplar de dimensions reduïdes. S'observen les cinèties somàtiques (CS), el cinetossoma (CIT) i els toxicists (TX).

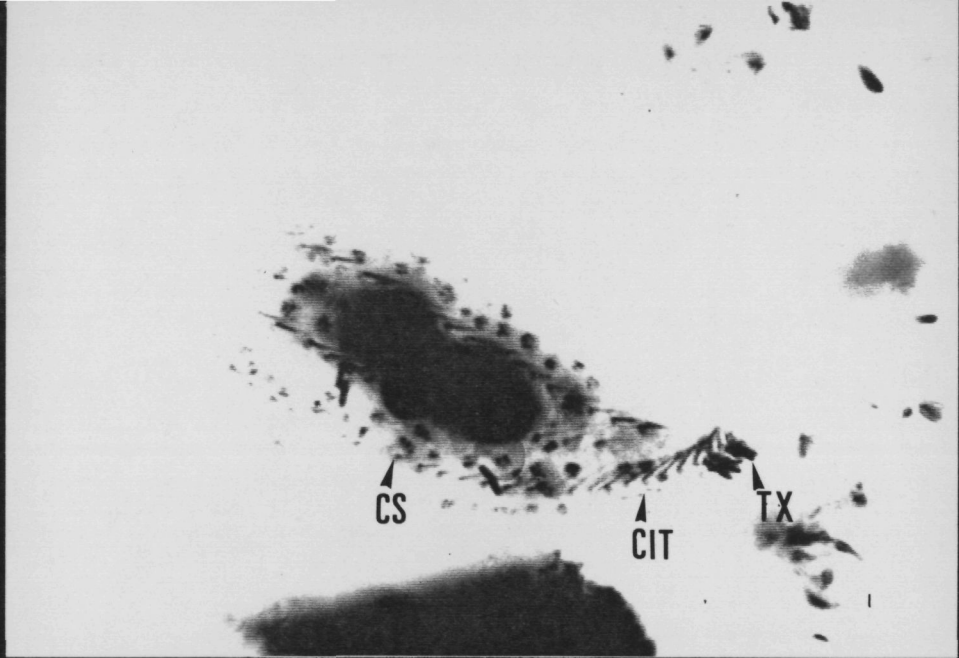
Impregnació argèntica amb carbonat de plata amoniacal de Fernandez-Galiano. (x 1507).

- 8.- Litonotus lamella, Aspecte general d'un exemplar de dimensions reduïdes. Observeu els toxicistes (TX) a la regió anterior, disposats en una certa inclinació.

Impregnació argèntica amb carbonat de plata amoniacal de Fernandez-Galiano. (x 1720).

- 9.- Litonotus lamella, Aspecte general d'un exemplar de dimensions reduïdes. Observeu els toxicistes (TX).

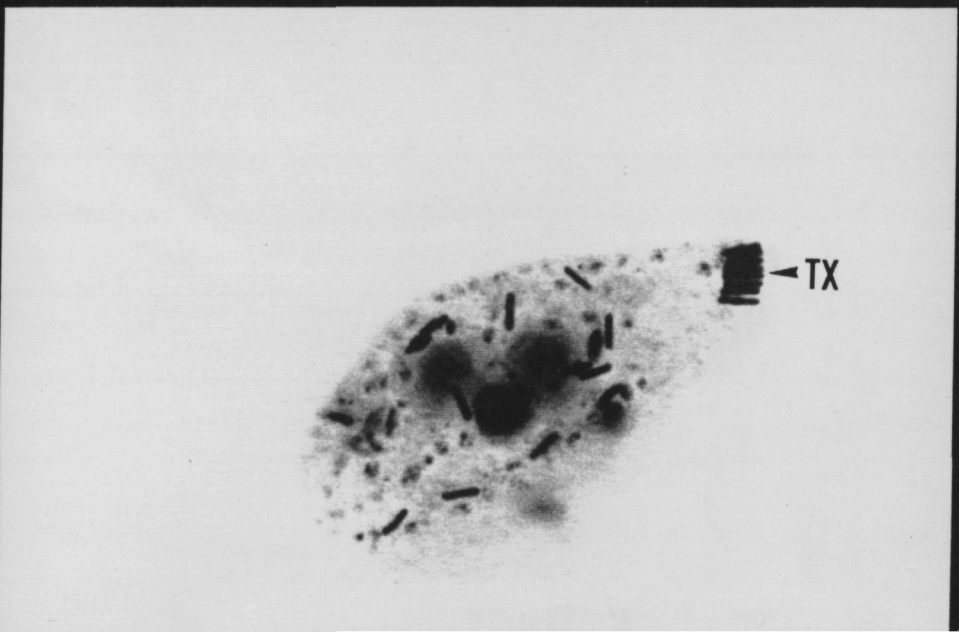
Impregnació argèntica amb carbonat de plata amoniacal de Fernandez-Galiano. (x 1720).



7



8



- 10.-Podophrya fixa, Aspecte general d'un exemplar adult, observeu les estries del peduncle (PE) i els tentacles (TE).

Amb la il·luminació utilitzada per aquesta microfotografia i amb les dues següents s'observen diferents possibilitats de la microscòpia òptica per l'estudi d'organismes "in vivo".

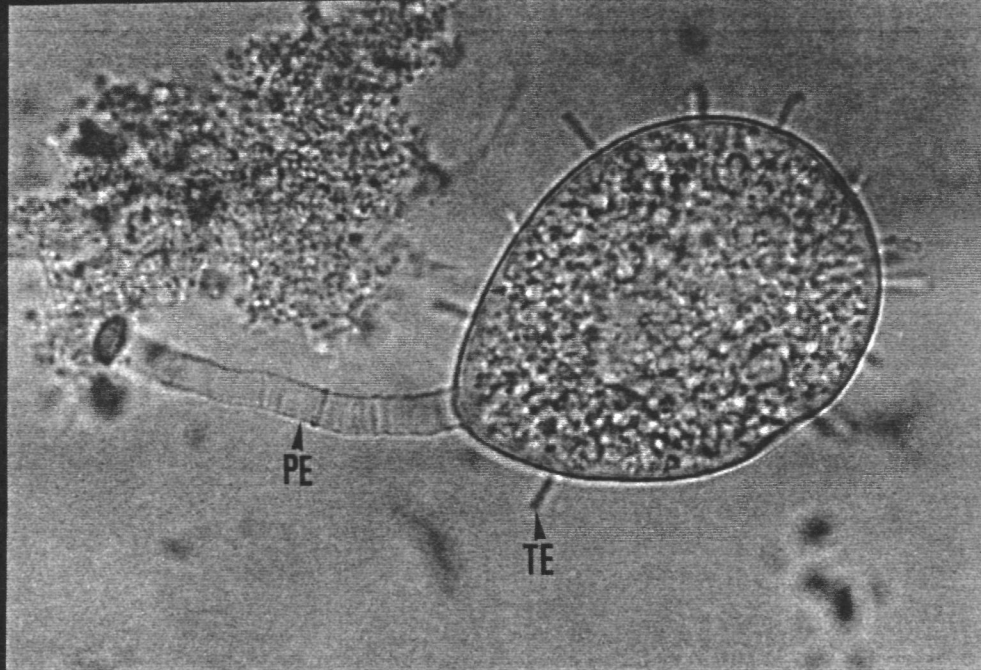
Microfotografia amb llum convencional. (x 872).

- 11.-Podophrya fixa, Aspecte general d'un exemplar adult, observeu les estries del peduncle i els tentacles.

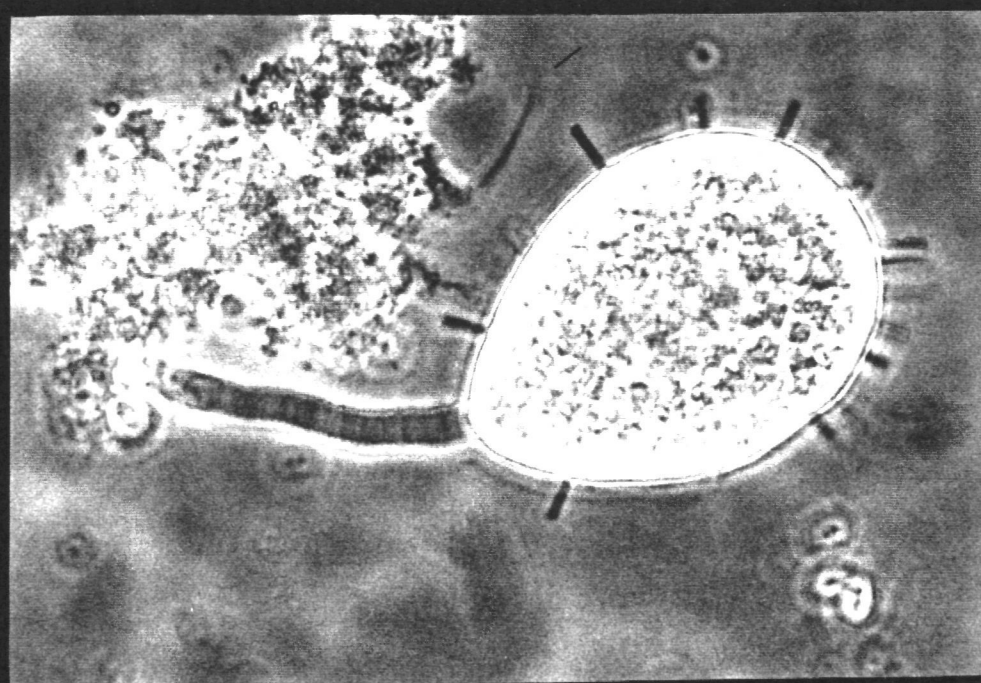
Microfotografia amb contrast de fases. (x 872).

- 12.-Podophrya fixa, Aspecte general d'un exemplar adult, observeu les estries del peduncle i els tentacles.

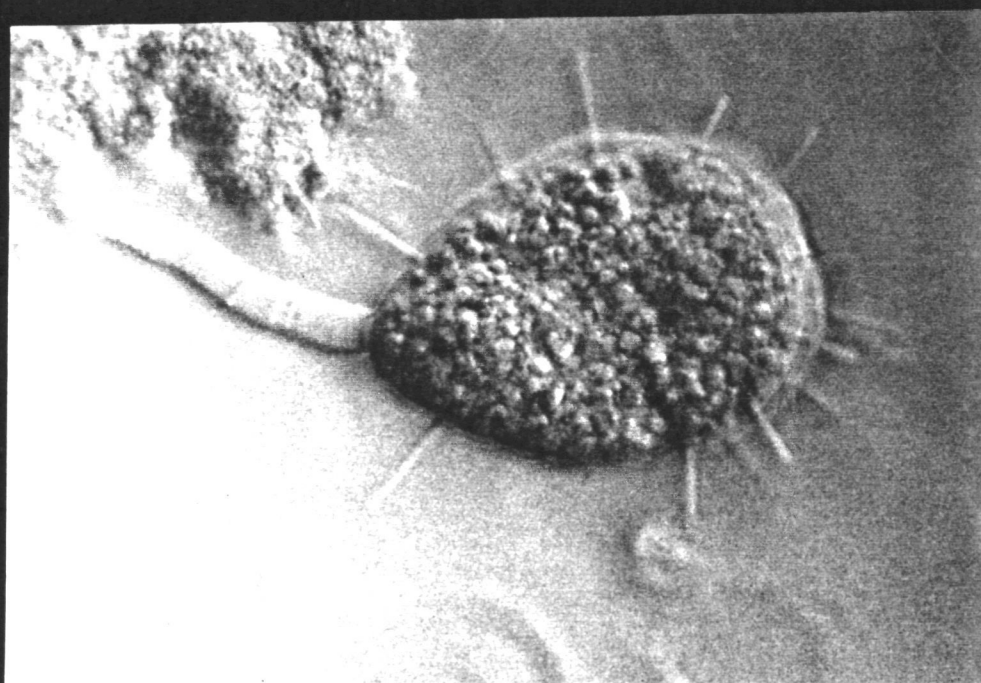
Microfotografia amb llum obliqua. (x 872).



10



11



12

- 13.-Acineta tuberosa, Aspecte general d'un exemplar adult. Observeu els tentacles (TE) distribuïts en dos feixos.

Impregnació argèntica de carbonat de plata amoniacal de Fernández-Galiano. Microfotografia realitzada a 1000 augments. (x 1700).

- 14.-Uronema marinum, Aspecte general, en aquest individu s'observa la infraciliació bucal, la membrana paroral (MP), el macronucli (MA), i les cinèties somàtiques (CS).

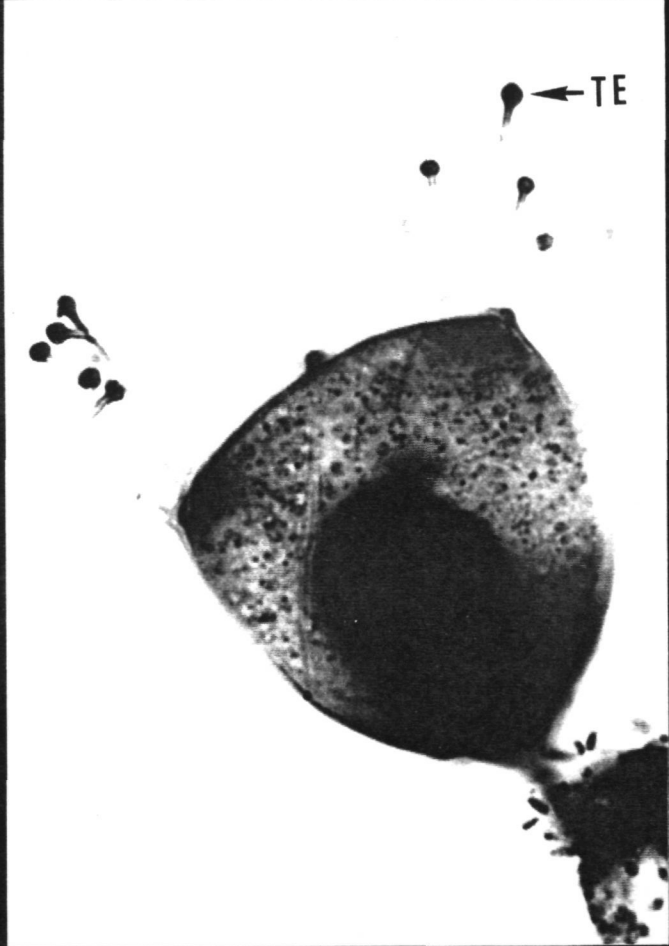
Impregnació argèntica de carbonat de plata amoniacal de Fernández-Galiano. (x 1595).

- 15.-Paramecium aurelia. Aspecte general, s'observa l'espessa ciliació, ciliació somàtica (CS) que els permet desplaçar. L'obertura bucal (OB) situada a la meitat anterior.

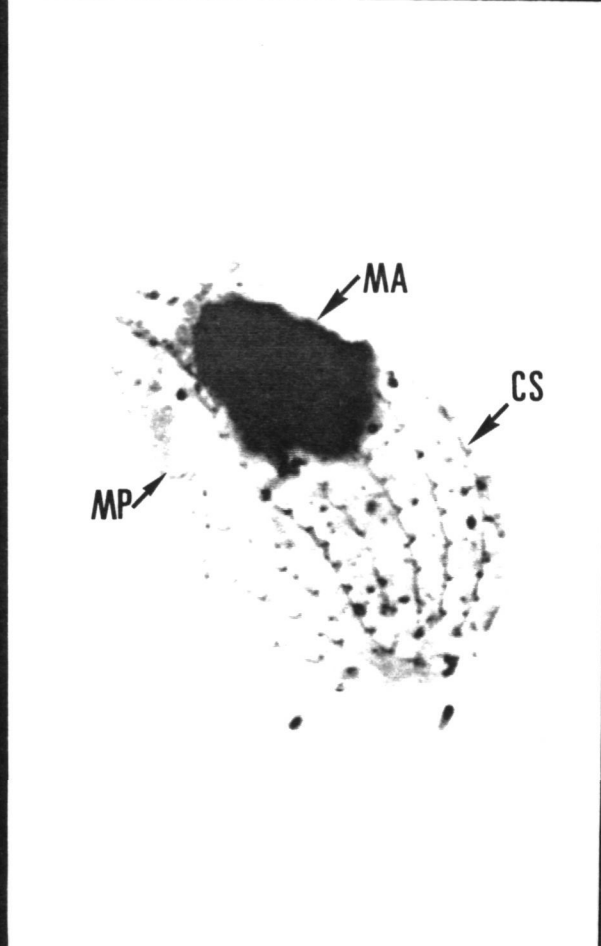
Microscòpia electrònica de rastreig.

- 16.-Uronema marinum, Aspecte general, en aquest individu s'observa la infraciliació bucal. Amb aquesta tècnica es visualitza l'argiroma, part superficial argiròfila constituïda principalment per plegaments de la superfície cel·lular.

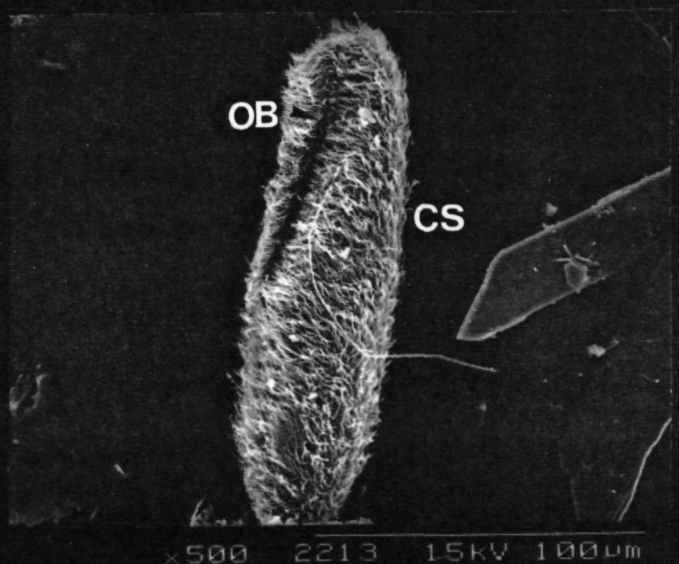
Impregnació argèntica de Klein. (x 1550).



13



14



15



16

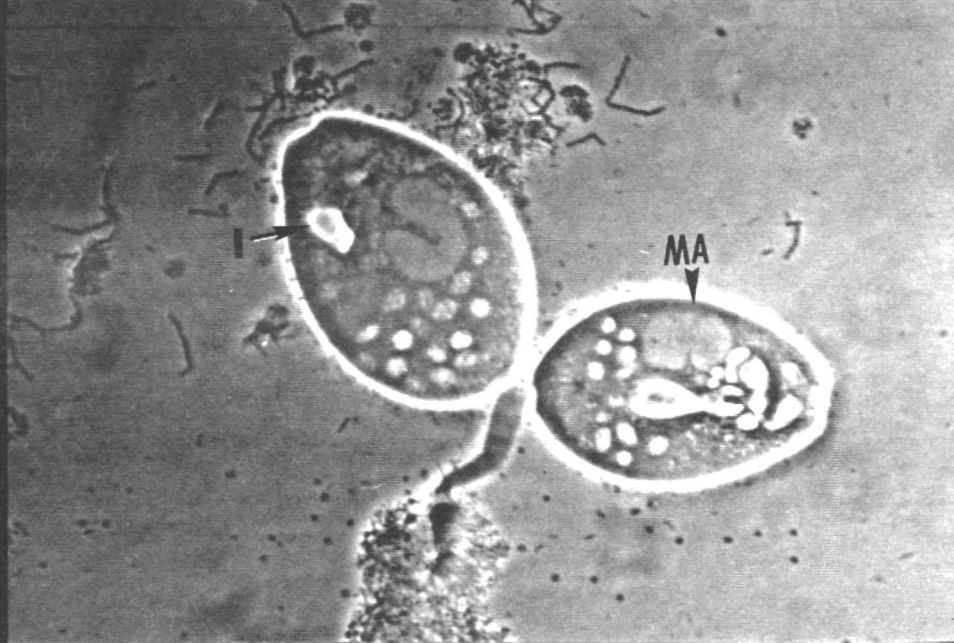
17.-Opercularia coarctata. Aspecte general d'una colònia de 2 individus. Utilitzant la tècnica d'il·luminació de contrast de fases i reduint l'espai entre el portaobjectes i cobreobjectes eliminant l'aigua, podem visualitzar el macronucli (MA) i l'infundibulum (I).

18.-Opercularia minima. Aspecte general d'una colònia que ha estat sotmesa a una concentració elevada de Zn de (260 mg/L). Vegeu la formació de cistes, la regió oral (OR) del cist que està invaginada, s'observa el macronucli (MA).

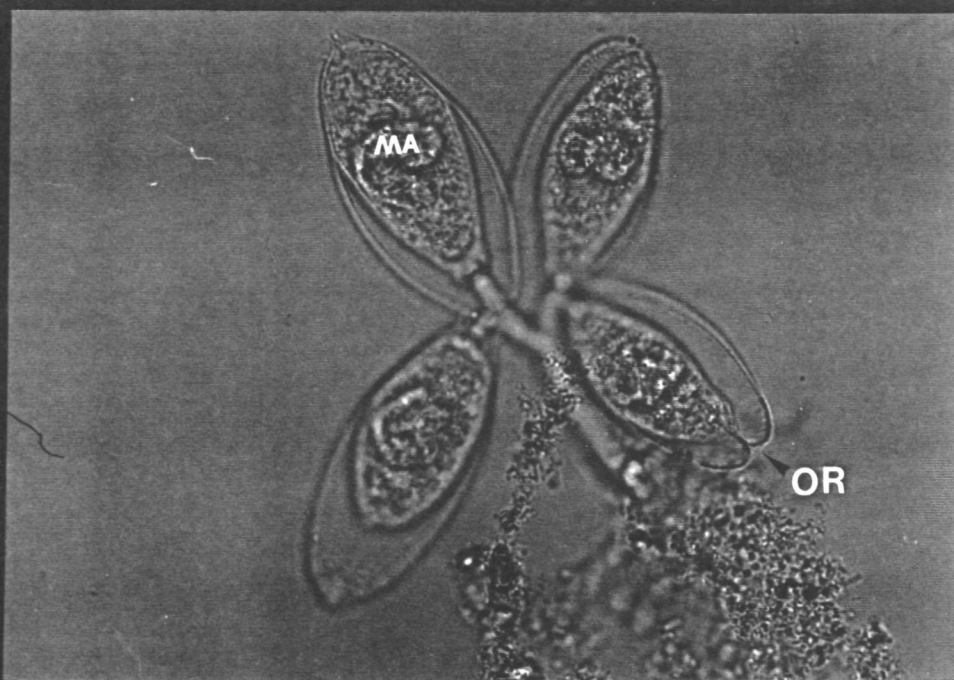
Microfotografia realitzada a 400 augments. (x 540).

19.-Opercularia minima. Aspecte general d'una colònia que ha estat sotmesa a una concentració elevada de Zn de (260 mg/L). Observeu els cistes (CTS) formats, la regió oral (OR) del cist invaginada a la (foto. 18) passa a tenir una forma de protuberància (foto. 19).

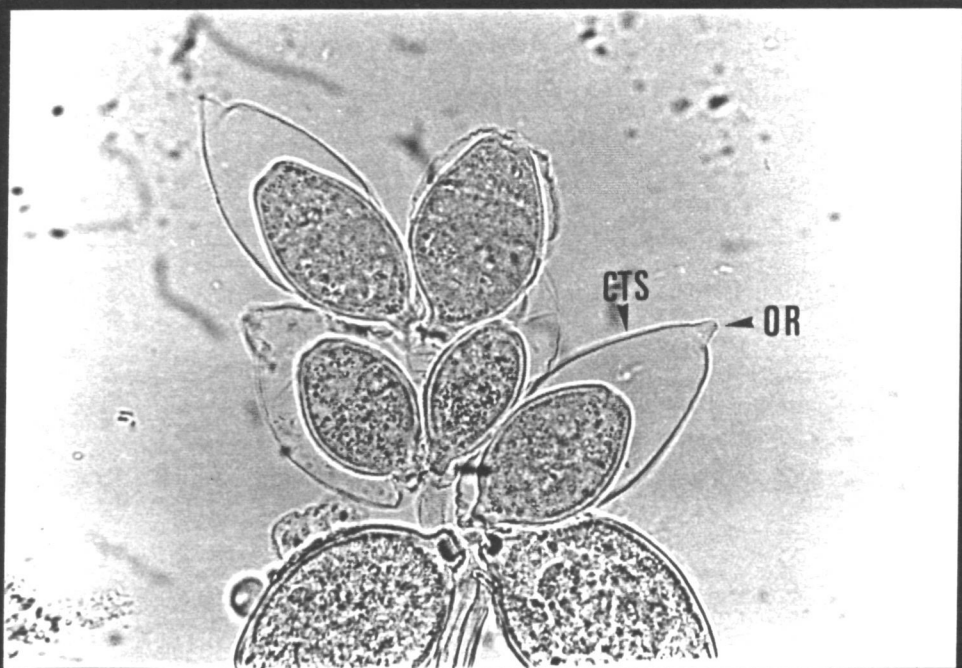
Microfotografia realitzada a 400 augments. (x 540).



17



18



19

20.-Epistilis plicatilis. Aspecte general d'una colònia, la visualització tridimensional dóna més idea de la seva disposició que la microscòpia òptica.

Microscòpia electrònica de rastreig.

21.-Epistilis plicatilis. Detall d'una cèl.lula, observeu l'aparell bucal.

Microscòpia electrònica de rastreig.

22.-Epistilis plicatilis. Aspecte general d'una colònia, observeu les ramificacions i l'aparell nuclear: macronucli (MA) i micronucli (MI).

Impregnació argèntica de carbonat de plata amoniacal de Fernandez-Galiano. (x 162).

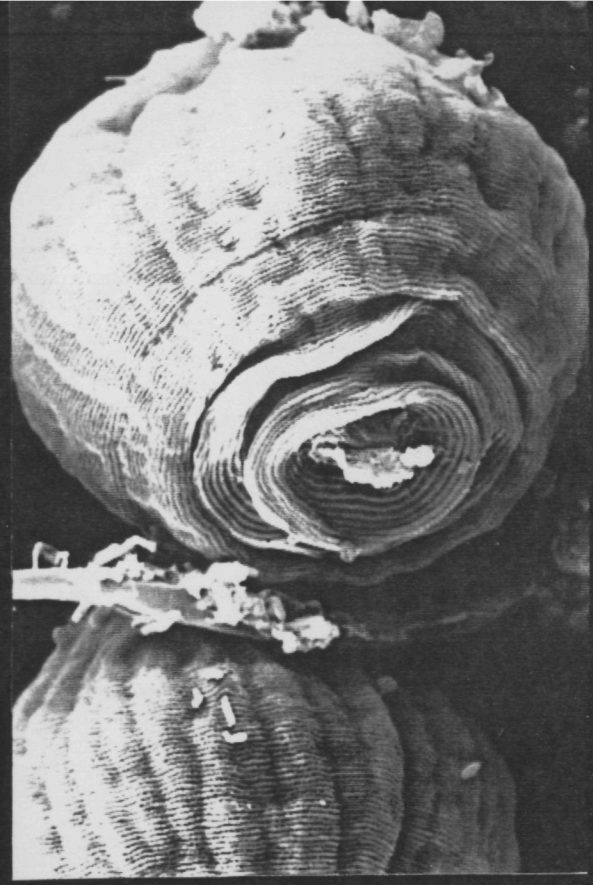
23.-Epistilis plicatilis. Detall de la colònia, observeu l'aparell nuclear: macronucli (MA) i micronucli (MI). i les estries longitudinals del peduncle (PE).

Impregnació argèntica de carbonat de plata amoniacal de Fernandez-Galiano. (x 162)



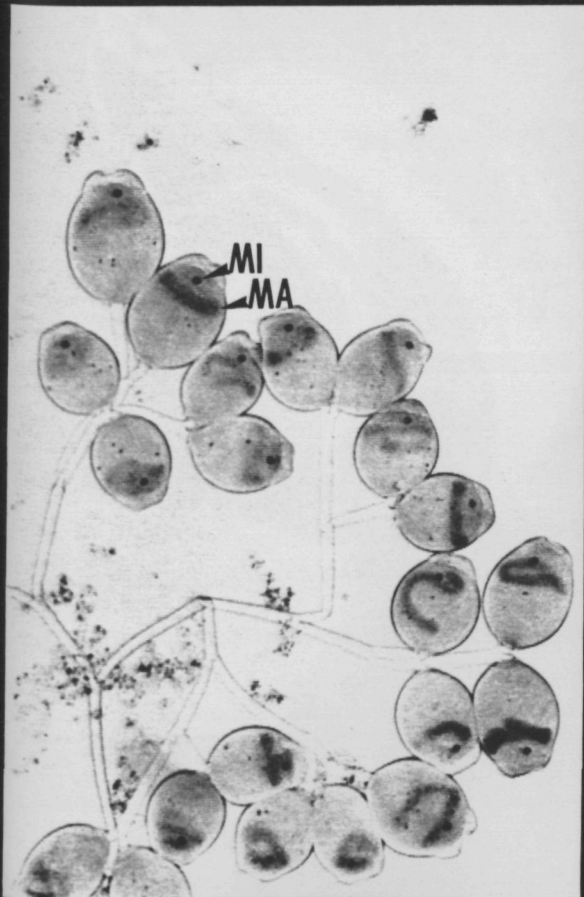
800 6689 15kV 50µm

20



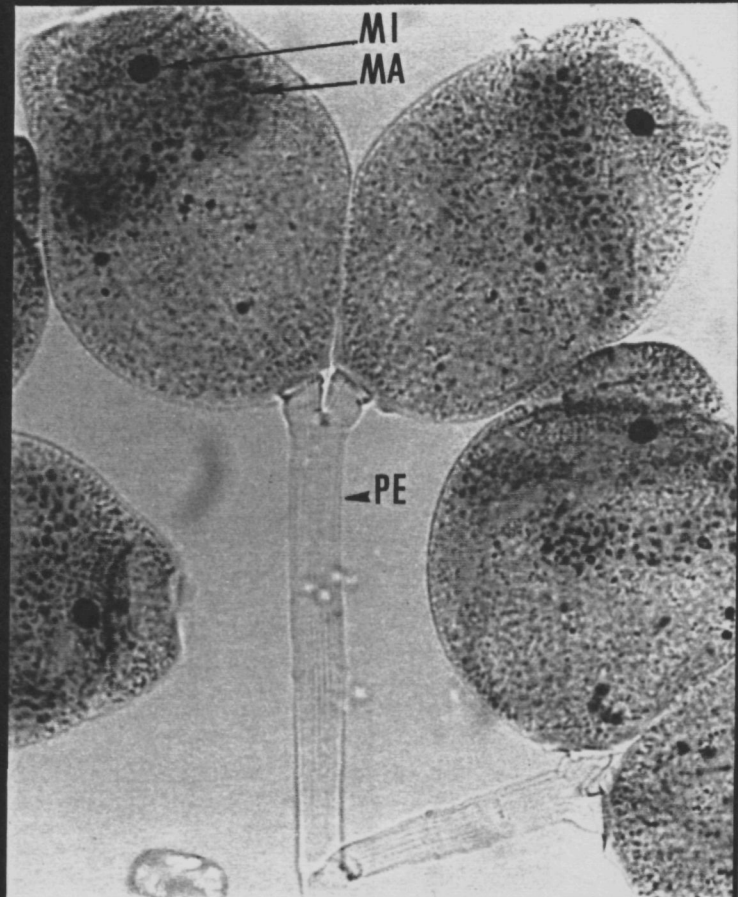
10µm WD12

21



MI
MA

22



MI
MA

PE

23

24.-Aspidisca cicada. Individu vist des de la cara dorsal, observeu-ne les costelles (CO).

Microscòpia electrònica de rastreig.

25.-Aspidisca cicada. Cara dorsal d'un individu que comença la divisió cel.lular, vegeu que les costelles són més allargades que en l'individu de la fotografia 24.

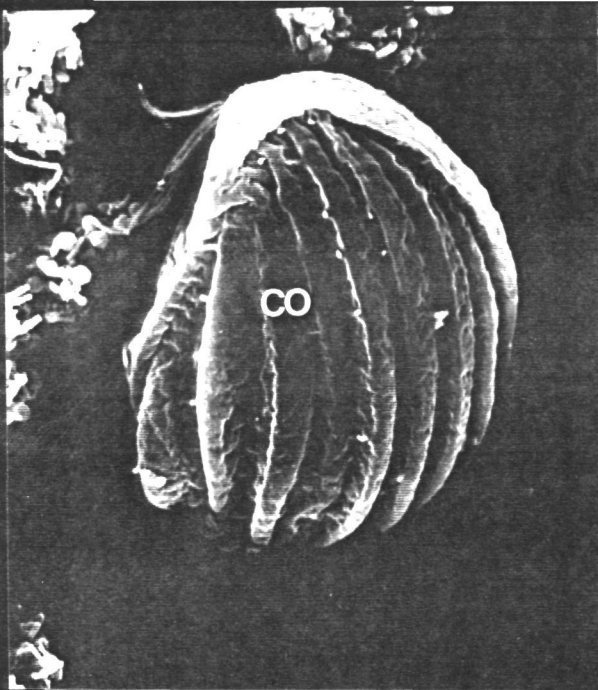
Microscòpia electrònica de rastreig.

26.-Aspidisca cicada. Cara ventral d'un individu s'observen els cirrus (CI) i la Zona Adoral de Membranel·les (ZAM).

Microscòpia electrònica de rastreig.

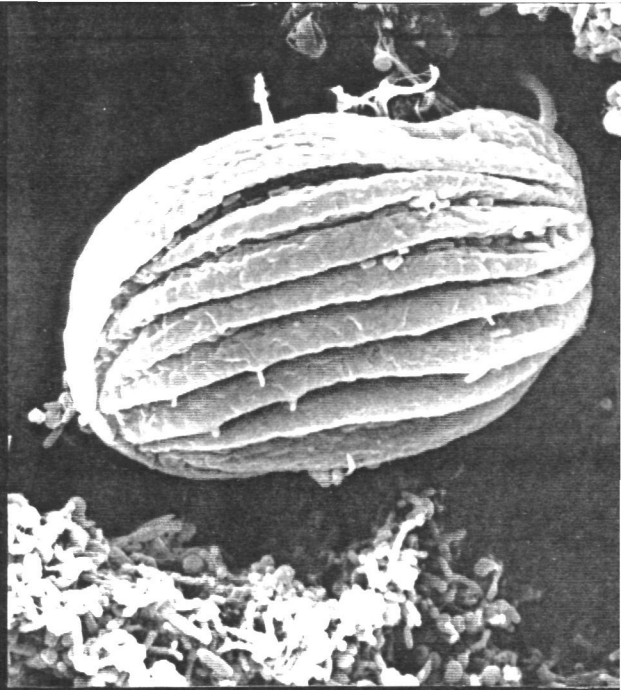
27.-Vaginicola cristallina. Teca, la teca els serveix per protegir-se davant de qualsevol canvi sobtat es contrauen i permaneixen dins la teca. A l'hora de fixar-los, molt probablement es van contraure.

Microscòpia electrònica de rastreig.



x3.0k 6683 15kV 10um

24



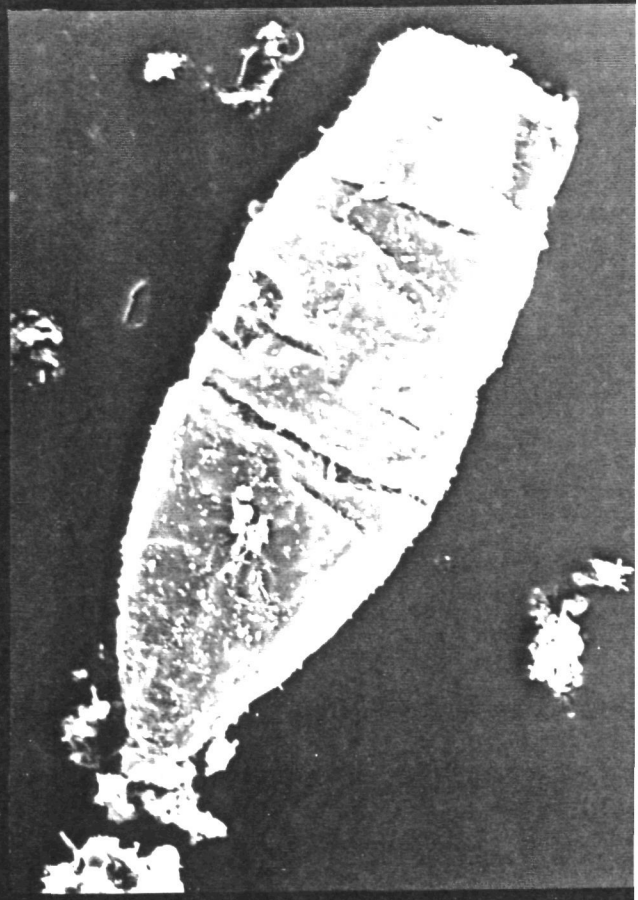
10um WD12

25



10um WD12

26



x600 6688 15kV 50um

27

CONCLUSIONS

L'estudi dels microorganismes i específicament dels ciliats dels fangs actius de diferents estacions depuradores d'aigües residuals ens aporta valuosa informació en dos camps: El primer és la sistemàtica, i ecologia de les espècies del sistema que constitueix els fangs actius. El segon és el funcionament biològic de les plantes de fangs actius.

L'estudi de les metodologies emprades en aquest camp ens ha portat a aprofundir-les per treure'n més informació. Hem elaborat noves metodologies i hem efectuat modificacions a d'altres ja existents que són interès en l'estudi de la biologia dels fangs actius. Podem establir les següents conclusions:

- 1). S'han determinat faunísticament: 33 espècies de ciliats distribuïdes sistemàticament en 3 classes, 8 ordres, 19 famílies i 21 gèneres, segons la classificació de Levine et al. 1980.

El nombre d'espècies sedentàries és superior a les altres formes i cal destacar l'Ordre Peritrichida. En nombre d'individus els ordres Peritrichida i Hypotrichida són els més abundants i en algun cas l'abundància de Scutocociliatida corresponent a elevats creixements d'Uronema marinum.

- 2). S'ha desenvolupat una equació matemàtica per tal de poder quantificar els microorganismes filamentosos dels fangs a nivell específic. Després de la realització de nombroses observacions s'ha arribat a la conclusió que existeix una relació molt estreta entre la longitud d'un segment i el nombre d'interseccions que s'obté creuant aquest segment amb una mostra de línies disposades a l'atzar i independentment de la forma d'aquestes línies o filaments. S'obté que el nombre d'interseccions obtingudes és directament proporcional a la longitud total dels filaments d'una mostra.

La rapidesa i facilitat del comptatge dels microorganismes filamentosos en fresc, amb aquesta tècnica, fa que puguem quantificar els microorganismes filamentosos. Podent tenir un paràmetre biològic més, a l'hora d'estudiar la dinàmica de poblacions dels fangs.

3).L'estudi de l'edat dels fangs és factible quan tenim una planta experimental, i comencem a comptar els dies des del inici de la formació dels fangs. En termes d'enginyeria EDAT DELS FANGS s'utilitza per designar la relació de les purgues. Hem efectuat una variació de l'equació de l'EDAT DELS FANGS utilitzada en enginyeria i que tingués relació amb el temps mig que porten els fangs a l'estació depuradora. Aquesta equació l'hem anomenat EDAT DE FANGS BIOLÒGICA.

L'esmentada equació ens permet d'estudiar l'edat dels fangs en plantes depuradores no experimentals. L'estudi amb dades reals ens mostra que els coeficients de correlació bivariants de l'edat de fangs (convencional) són molt més petits que els de l'edat de fangs biològica. Per tant queda demostrada la utilitat de la fórmula de l'edat de fangs biològica. A més el coeficient de correlació multivariant respecte les microorganismes i l'edat dels fangs biològica és de 0.94 a l'estació de Gavà, valor també significatiu.

4).L'estudi de la velocitat de divisió cel.lular dels protozous dels fangs actius ens porta a una equació, els resultats de la qual són comparables a anàlisis de laboratori, però efectuats directament al camp. Ens permet per tant l'estudi de la velocitat de divisió cel.lular en plantes no experimentals i en condicions reals de treball.

La variació paramètrica de la velocitat de divisió cel.lular enfront a la concentració d'individus ens dona un nou valor de judici tan o més important per valorar la seva relació amb un determinat paràmetre, i el rang òptim de desenvolupament de cada espècie. El coneixement d'aquestes velocitats de divisió respecte la variació paramètrica de factors ambientals creiem que són un primer pas per actuar sobre el tractament dels fangs actius.

Els valors de la velocitat de divisió cel.lular no tenen perquè anar lligats amb el nombre més elevat d'individus trobats en les mostres de les plantes. Es pot observar com exemple Uronema marinum, que la seva velocitat de reproducció és més elevada a l'estació de Gavà i les concentracions més elevades es troben a la planta Castelldefels. Aquest tipus d'observacions també és fàcil d'observar-los dins d'un mateix paràmetre físico-químic. Per aquest motiu hem de considerar la velocitat de divisió cel.lular com un paràmetre independent de la concentració cel.lular i d'elevat valor de diagnòstic.

5).L'estudi de l'afinitat de les espècies de ciliats ens permet concloure que la interdependència que existeix respecte l'afinitat entre les espècies és efímera i canvia d'una estació a una altra. Motiu pel qual es desprèn que podem donar la mateixa importància a cadascuna de les espècies, i així considerar-les independents en les anàlisis estadístiques.

6).En una de les estacions depuradores estudiades, l'estudi de regressions lineals ens reflecteix que existeix una estreta relació inversament proporcional entre la diversitat específica de ciliats i la càrrega massica. Aquesta relació és molt útil per predir la capacitat de depuració del sistema abans de transcórrer els 5 dies necessaris per efectuar la DBO₅.

7).De l'estudi de l'acció dels metalls pesats sobre les poblacions de ciliats en bioassatjos es dedueix que l'estudi de metalls pesats ha d'anar acompanyat de l'estudi i anàlisi en paral·lel de la concentració de metall soluble, això es dedueix perquè s'observa:

-La disponibilitat de Zn pot variar al llarg del Tractament d'aigües residuals i l'abocament puntual provoca un alliberament lent donant valors superiors al DS que al DP.

-Considerant que les concentracions administrades en els bioassatjos estan suficientment per sobre de les dosis tòxiques als protozous, podem afirmar així que la disponibilitat del plom en estat soluble és essencial per arribar a ser tòxic. No havent-se detectat toxicitat de 0.05 a 550 mg/L de Pb, pel fet d'insolubilitzar-se ràpidament.

8).La presència de concentracions letals de Zn al medi per a Opercularia minima, provoca la formació de cistes. La presència d'aquest tipus de cistes als fangs són testimoni de toxicitat. Considerem que el desencistament dels individus sobrevivents són importants com a primers colonitzadors un cop disminueixi els nivells de toxicitat.

Més recentment hem observat cistes Opercularia coarctata al planta de Ciutat Badia, la qual cosa significa que podria ser generalitzables dins del gènere Opercularia.

- 9).L'anàlisi de la concentració d'oxigen dissolt és el mètode més ràpid per detectar la toxicitat. L'augment de la concentració d'oxigen a la superfície del decantador secundari respecte el fons confirma també presència del tòxic.
- 10).Es determinen per a cada espècie estudiada la variació tant de les concentracions com les velocitats de divisió de les espècies estudiades al llarg del temps dels valors dels paràmetres físico-químics següents: Oxigen dissolt, Edat dels fangs, Càrrega màssica, DBO₅ del decantador primari, i DBO₅ del decantador secundari. Considerem l'estudi de la velocitat de divisió com una aportació inèdita.
- 11).La concentració d'oxigen dissolt és un factor limitant de la velocitat de divisió que depèn a la vegada del medi. Podem afirmar que la concentració d'oxigen dissolt (entre 0.9-5 ppm.) és un factor clarament limitant de la velocitat de divisió cel.lular a la planta de Ciutat Badia, on les DBO₅ del Decantador Primari mitjanament són elevades i per sobre de 250 ppm. La diferència de retenció hidràulica de les plantes i de demanda d'oxigen dissolt, fa que a la planta de Gavà la concentració d'O₂ no sigui un factor limitant de caràcter general, dins el mateix rang de concentració d'oxigen dissolt i per les mateixes espècies.

De l'estudi específic respecte la concentració d'oxigen dissolt trobem que el gènere que necessita una concentració d'oxigen més elevada per a un bon desenvolupament és Vorticella i específicament Vorticella microstoma. S'observen espècies amb comportament microaeròfil com les espècies que pertanyen al gènere Euplotes sp. i Acineta tuberosa i Opercularia minima, amb nivells òptims entre 0.5 i 1.5 ppm d'O₂. Espècies en nivells un mica superiors entre 1 a 3 ppm. com Epistylis plicatilis. Finalment hem trobat espècies com Aspidisca cicada, la concentració d'oxigen dissolt és un factor limitant a l'estació de Ciutat Badia, mentre que a l'estació de Gavà solament és limitant per sota de 1 ppm.

12). El rendiment de DBO_5 en certes estacions (estació Ciutat Badia) augmenta conjuntament quan augmenta la velocitat de divisió cel.lular dels ciliats, mentre que en altres estacions el màxim rendiment es produeix en una velocitat de divisió força inferior a la màxima (estacions de Castelldefels i a Gavà, però en els tres casos la velocitat que correspon al màxim rendiment de DBO_5 (97%) és similar i de 0.3-0.4 divisions/dia. Una explicació d'aquest fet es deu a que a les estacions de Castelldefels i a Gavà els ciliats tenen les velocitats de divisió superiors a l'estació de Ciutat Badia i abans arriben a tenir una població estable. Considerem que a l'estació de Ciutat Badia les elevades DBO_5 del DP provoquen un creixement continu, on la població mai arriba a créixer prou com per establitzar-se i tenir una població estable. A resultes d'això a l'estació de Ciutat Badia qualsevol augment de població de ciliats, és beneficiós i augmenta el rendiment, fet que es pot corroborar amb totes les espècies.

13). L'augment de la concentració de ciliats significa una reducció de la DBO_5 del DS, si bé per disminuir-la per sota dels 15 ppm, ha d'augmentar molt el quocient (Concentració de ciliats/Càrrega màssica). Així que la relació (Concentració de ciliats/Càrrega màssica) respecte la DBO_5 del DS té una forma semblant a una exponencial inversa.

14). Entre 5 i 10 dies d'edat de fangs biològica s'observen les concentracions més elevades de Ciliats a les tres plantes. Tant els valors superiors com els inferiors a (5-10 dies) no afavoreixen la presència d'elevades concentracions de ciliats. A l'augmentar l'edat de fangs per sobre de 10 dies va disminuint la concentració de protozous ciliats. A partir de 12 dies el ciliats rarament es desenvolupen més de 0.5 divisions/dia.

El desenvolupament d'elevades concentracions de gimnamebes s'observa entre 4 i 8 dies d'edat de fangs biològica, en les tres plantes.

15). Les taules de relació de les concentracions de microorganismes i els factors físico-químics, i les gràfiques de divisió cel.lular són aplicables per efectuar un diagnòstic del funcionament de les plantes. La utilització de les taules de relació de microorganismes i factors físico-químics, efectuant la "mitjana proporcional" proposada, optimitza la predicció del diagnòstic.