

# Lixiviados de biosólidos sobre la biota dulceacuícola

Francisco José Flores Tena <sup>1</sup>, Lizbeth Flores Pardavé <sup>1</sup>,  
Iris del Carmen Valenzuela Cárdenas <sup>1</sup>, Eduardo Andrés Flores Salinas <sup>2</sup>

## RESUMEN

El objetivo de este estudio es conocer los efectos que producen los lixiviados de los biosólidos sobre diversos representantes de la biota dulceacuícola. Los efectos sobre el crecimiento o la mortalidad ( $CL_{50}$ ) en las diferentes especies se evalúan a través de diversos bioensayos. *Nannochloris oculata* resultó afectada en su crecimiento por concentraciones mayores a 500 ppm de lixiviados. Las  $CL_{50}$ , a las 48 h., para las especies de la fauna fueron 8.6%, 42.4% y >80% para *Oreochromis niloticus*, *Lecane quadridentata* y *Limnodrilus hoffmeisteri*, respectivamente. Los drenajes del suelo adicionado con biosólidos también afectaron a *N. oculata*, mientras que las  $CL_{50}$ , a las 48 h; para la fauna acuática fueron 90 t/ha, 206 t/ha y 432 t/ha para las especies ya mencionadas. Las concentraciones obtenidas en los bioensayos son altas y difícilmente se presentarán en la naturaleza, a menos que por descuido en el manejo de los biosólidos se concentren los lixiviados en el campo, lleguen y permanezcan en los ecosistemas dulceacuícolas.

**Palabras clave:** Biosólidos, bioensayos, *Nannochloris oculata*, *Lecane quadridentata*, *Oreochromis niloticus*, *Limnodrilus hoffmeisteri*.

**Key words:** biosolids, bioassays, *Nannochloris oculata*, *Lecane quadridentata*, *Oreochromis niloticus*, *Limnodrilus hoffmeisteri*.

Recibido: 22 de julio de 2009, aceptado: 22 de septiembre de 2009

<sup>1</sup> Departamento de Biología, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes, fforest@correo.uaa.mx, lfloresp@correo.uaa.mx, irdelca@hotmail.com.

<sup>2</sup> Estudiante de Biología, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes, jumanji\_kp@hotmail.com.

## ABSTRACT

The goal of this study is to know the effects of biosolid leachates on freshwater biota. Several bioassays were conducted in order to evaluate the effects on the growth and mortality ( $LC_{50}$ ) in selected species. For *Nannochloris oculata* 500 ppm or more of elutriates inhibited their growing. Elutriates  $LC_{50}$ , values elutriates at 48 h; for *Oreochromis niloticus*, *Lecane quadridentata* and *Limnodrilus hoffmeisteri* were 8.6%, 42.4% and >80%, respectively. Soil drainages amended with biosolids affected to *N. oculata*. Drainages  $LC_{50}$ , values at 48 h; for aquatic fauna were 90 t/ha, 206 t/ha and 432 t/ha, for species mentioned previously.  $LC_{50}$  values obtained are higher and they are not common in nature, only with an accident a high leachate concentration and its draining reach to fresh water ecosystems.

## INTRODUCCIÓN

Los biosólidos, subproducto del tratamiento de las aguas residuales, constituyen una fuente importante de materia orgánica y de minerales que pueden utilizarse como fertilizante y mejorador de suelo (Girovich, 1996). Los beneficios en la productividad agrícola ha sido ampliamente reportada (Salcedo-Pérez et al., 2007). Sin embargo, en algunos de ellos se presentan altas concentraciones de varios elementos como los metales, compuestos orgánicos tóxicos y patógenos que pueden disminuir su uso benéfico (Epstein, 2003).

Recientemente, la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA) ha realizado diversos estudios con el objetivo de conocer y evaluar los efectos adversos de los biosólidos provenientes de la planta tratadora de aguas residuales en

Aguascalientes (Flores y Flores, 2005; Flores, *et al.*, 2008), de los cuales se ha obtenido información importante para su uso.

Para conocer de una manera más completa los efectos del uso de los biosólidos, se consideró pertinente evaluar su acción sobre la biota del medio acuático, realizando bioensayos con lixiviados de biosólidos y de drenajes agrícolas simulados, adicionados con biosólidos en especies representativas de ecosistemas dulceacuícolas: *Nannocloris oculata*, especie fitoplanctónica, *Lecane quadridentata*, representante del zooplancton, *Oreochromis niloticus*, especie neotónica exótica que, junto con otras especies también exóticas, conforman el 80% de la ictiofauna en los cuerpos de agua de la entidad (Martínez y Rojas, 2008), y *Limnodrilus hoffmeisteri*, habitante del bentos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de 5 kg de biosólidos en peso húmedo de la planta tratadora de aguas residuales de la ciudad de Aguascalientes. Los elutriados se obtuvieron con la técnica propuesta por la Environmental Protection Agency (EPA), en 1998. Para obtener los drenajes agrícolas a un matraz de 1 L se le agregaron 100 g de suelo seco, proveniente de la Posta Zootécnica de la UAA del tipo planosol eútrico, 20 g de biosólidos y 520 ml de agua destilada (representa 600 t/ha de biosólidos) y se siguió el procedimiento señalado por la EPA para la obtención de elutriados. Tanto a los lixiviados como a los drenajes agrícolas se les determinaron las siguientes características químicas: pH, Sólidos Disueltos Totales (SDT), conductividad, nitratos, sulfatos, nitrógeno amoniacal, fosfatos, cloruros, alcalinidad, dureza, Demanda Química de Oxígeno (DQO) y los metales pesados Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb y Zn.

Los organismos planctónicos seleccionados para este estudio fueron la clorofita *N. oculata* y el rotífero *L. quadridentata*, ambos proporcionados por el Laboratorio de Toxicología a cargo del Dr. Roberto Rico; las crías de tilapia (*O. niloticus*) se obtuvieron de la estación piscícola de Pabellón de Hidalgo, Ags. y el tubificido *L. hoffmeisteri* se obtuvo de la localidad de Mangas, Hgo. Todos los organismos fueron sometidos a las condiciones de laboratorio mínimo dos semanas. La cepa de *N. oculata* fue criada en medio Bold con 12 h luz (1700 Lux) y 12 h oscuridad durante 14 días. Concluido este período, se añadieron los

lixiviados en la cantidad necesaria para obtener concentraciones de 50, 200, 500 y 1000 ppm y los drenajes agrícolas para probar las dosis de 400 y 800 t/ha. Se realizaron dos experimentos con dos réplicas cada uno; el tiempo de exposición fue de una semana. Para conocer la densidad (células/ml) se realizaron conteos con el microscopio a diferentes densidades ópticas para construir una curva, posteriormente, se interpolaron los resultados obtenidos colorimétricamente bajo las diferentes condiciones experimentales, obteniendo de esta manera la densidad poblacional bajo las diferentes condiciones experimentales. La concentración de clorofila fue evaluada de acuerdo a la técnica descrita por Vollenweider (1974). También se realizaron bioensayos con medio Bold diluido un 50% y concentraciones mayores de lixiviados (1000, 2000 y 5000 ppm) y de drenajes agrícolas (2000 y 4500 t/ha).

Los bioensayos con *L. quadridentata* consistieron en tres repeticiones con lixiviados y tres con drenajes agrícolas con cada una de las siguientes concentraciones: 0, 6.25, 12.5, 25 y 50% y 0, 37.5, 75, 150, y 300 t/ha para el caso de drenajes agrícolas. También se utilizó un control negativo (tres gotas de metil paratión). Se colocaron diez rotíferos en cada pocillo para cada concentración, se expusieron durante 48 h después de las cuales se cuantificaron el número de organismos sobrevivientes. Con los resultados de los bioensayos se calcularon las CL50 para lo cual se utilizó el software de la Universidad de Montpellier (1983). De la misma manera para *L. hoffmeisteri* se realizaron tres repeticiones con lixiviados y tres con drenajes agrícolas en cada una de las siguientes concentraciones: 0, 10, 20, 40 y 80%, para el caso de los elutriados 0, 200 y 600 t/ha para los drenajes agrícolas. Se colocaron diez tubificidos en cada frasco de 250 ml que contenían 15 g de arena y 185 ml de solución. El bioensayo duró cuatro días; a las 48h, 72h y 96h se realizaron los conteos para determinar el número de sobrevivientes. Con los resultados obtenidos se calcularon las CL50 para cada uno de los tiempos y para cada bioensayo.

Para la realización de los bioensayos con la tilapia (*O. niloticus*) se colocaron 20 peces de una talla de  $5 \pm 1$  cm en cada pecera de 20 l de capacidad. Se seleccionaron las concentraciones de 0, 5, 10, 15 y 20% para el caso de los lixiviados y de 0, 60, 120, 180, 240 y 300 t/ha para los drenajes agrícolas (Figura 3). Cada 24 horas se revisaron las peceras y se retiraron los ejemplares muertos. Con los datos recabados a las 48 h, 72

h y 96h se calcularon las CL50 para los diferentes bioensayos. Para los análisis estadísticos se utilizó el paquete estadístico *Minitab* (2008).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características químicas de los lixiviados de los biosólidos y de los drenajes agrícolas utilizados para los bioensayos se presentan en la **Tabla 1**, en ellos se aprecia que el contenido de metales pesados es muy bajo en ambos casos, al menos, un orden de magnitud inferior a lo establecido en la NOM-001-ECOL-1996 para la protección de la vida acuática (SEMARNAP, 1996), hecho que indica que no existe contaminación por parte de estos elementos.

La composición química de los lixiviados mostró una cantidad importante de sales minerales: Nitratos, fosfatos, sulfatos, cloruros, bicarbonatos,

mismos que pueden ser utilizados por los vegetales para su crecimiento, en este caso la clorofila, hecho que ya ha sido reportado por otros autores como Bell y Elmeteri (2007). Los bioensayos con *N. oculata* mostraron que dosis de 50 ppm de lixiviados producen un mayor crecimiento que cuando no se agrega lixiviado, la dosis de 200 ppm produjo un crecimiento similar al testigo y solamente dosis de 500 y 1000 ppm produjeron un decremento con respecto a él. Ya que el medio *Bold* contiene todos los elementos en concentraciones óptimas, un exceso de sales como las dosis superiores produjeron una disminución en el crecimiento. Cuando se diluyó al 50% el medio *Bold* sólo la adición de 5000 ppm de lixiviados y de 4500 t/ha de drenaje causaron efecto negativo en la especie, concentraciones menores proporcionaron parte de los minerales faltantes, debido a la dilución, y que son necesarios para su crecimiento (Reynolds *et al.*, 1988). La concen-

**Tabla 1.** Caracterización química de elutriados de biosólidos y de drenajes agrícolas utilizados en los bioensayos de toxicidad

Parámetro	Elutriados	Drenaje agrícola 600 t/ha	Elutriados*	Drenaje agrícola 600 t/ha*
pH	8.92	7.37	8.29	7.22
SDT (g/L)	0.436	1.034	1.059	0.933
Conductividad (µS/cm <sup>2</sup> )	671	1590	1629	1435
Nitratos (mg/L)	12	186	36.3	161.3
Sulfatos (mg/L)	30	186	80	123
Nitrógeno Amoniacal (mg/L)	70	64	142	5
Fosfatos (mg/L)	0.19	52	86.5	45.5
Cloruros (mg/L)	23.9	2.39	14.39	4.79
Alcalinidad (mg/L)	180	160	386	750
Dureza (mg/L)	480	940	880	460
DQO (mg/L)	138	168	131	55
Metales (mg/L)				
Cd	0.04	0.04		
Cr	0.61	0.01		
Cu	0.02	0.7		
Fe	<0.05	6.84		
Ni	<0.01	<0.01		
Pb	<0.01	<0.01		
Zn	<0.01	0.03		

\* Utilizados solamente con *O. niloticus*

tración de clorofila solamente aumentó significativamente cuando se agregó 50 ppm de lixiviado y disminuyó significativamente cuando se utilizó el medio *Bold* diluido y se agregó 5000 ppm de

lixiviado y 4500 t/ha de drenaje. Lo anterior coincide con la disminución en la densidad bajo estas mismas condiciones (**Tabla 2**).

**Tabla 2.** Densidad y concentración de clorofila "a" de *N. oculata* bajo diferentes condiciones experimentales

Condición	Densidad (10 <sup>5</sup> células/ml)	Clorofila "a" (mg/l)
Testigo	8.64 ± 1.12 <sup>a</sup>	7.29 ± 0.28 <sup>a</sup>
50 ppm lixiviado	10.72 ± 0.22 <sup>b</sup>	8.29 ± 0.73 <sup>b</sup>
200 ppm lixiviado	8.36 ± 0.40 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.51 <sup>ab</sup>
500 ppm lixiviado	6.50 ± 0.36 <sup>c</sup>	7.23 ± 0.09 <sup>a</sup>
1000 ppm lixiviado	6.23 ± 0.31 <sup>c</sup>	7.10 ± 0.10 <sup>a</sup>
MB (50%) + 1000 ppm lixiviado	9.34 ± 0.24 <sup>ab</sup>	7.47 ± 0.43 <sup>ab</sup>
MB (50%) + 2000 ppm lixiviado	8.19 ± 0.57 <sup>a</sup>	6.51 ± 0.52 <sup>a</sup>
MB (50%) + 5000 ppm lixiviado	6.78 ± 0.26 <sup>c</sup>	3.83 ± 0.31 <sup>c</sup>
Drenaje 400 t/ha	7.12 ± 0.22 <sup>a</sup>	6.90 ± 0.16 <sup>a</sup>
Drenaje 800 t/ha	7.22 ± 0.25 <sup>a</sup>	7.03 ± 0.21 <sup>a</sup>
MB (50%) + Drenaje 2,000 t/ha	7.67 ± 0.42 <sup>a</sup>	6.93 ± 0.42 <sup>a</sup>
MB (50%) + Drenaje 4,500 t/ha	6.42 ± 0.36 <sup>c</sup>	4.54 ± 0.28 <sup>c</sup>

Diferente literal significa diferencia significativa  $\alpha = 0.05$ .

MB = Medio *Bold*.

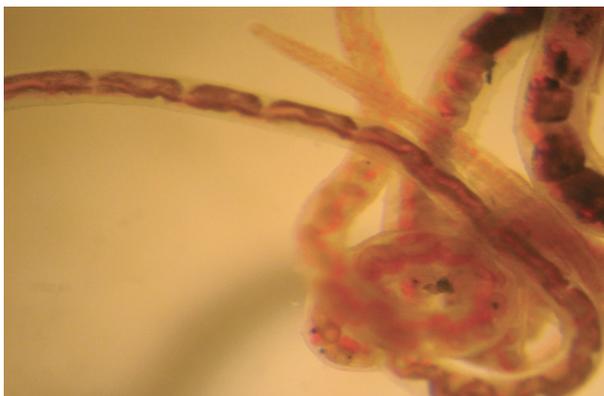
Los valores de las CL<sub>50</sub> obtenidas de los bioensayos con la fauna dulceacuícola se muestran en el Cuadro 3, en el que se observa que la especie más sensible en este estudio fue *O. niloticus* y la más resistente *L. hoffmeisteri*.

El número de organismos muertos de *L. quadridentata* se incrementó en la medida en que se aumentó la concentración de lixiviados y de drenaje agrícola. La mortalidad pudo deberse, entre otros factores, al pH y la salinidad; Wallace *et. al.*, (1993) mencionan que el pH óptimo para esta especie oscila entre 6.5 y 8.5, y el pH de lixiviados fue de 8.92.

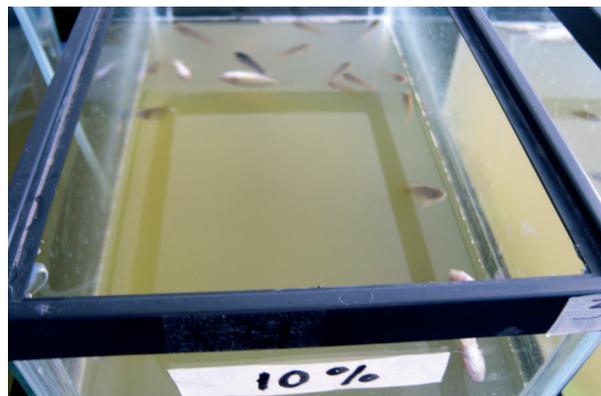
*L. hoffmeisteri* mostró una gran tolerancia a los lixiviados (**Figura 1**), ya que aún a una concentración del 80%, sólo se registró un 6% de mortalidad, probablemente, la concentración de los diversos componentes de los lixiviados no produjo cambio importante en la fisiología de los animales, o bien, no contenían algún componente tóxico que les causara daño. El contenido de salinidad en la concentración del 80% (400 mg/l) estuvo cercano al límite inferior de las aguas salobres de 500 mg/l (Lewis, 1980), sin embargo, de acuerdo con Kennedy (1965) y Berezina (2003) estos organismos son resistentes a cambios en la salinidad. Cuando se utilizaron drenajes agrícolas sí se observaron efectos negativos en la concen-

**Tabla 3.** Valores de CL<sub>50</sub> en bioensayos con lixiviados y drenajes agrícolas en *O. niloticus*, *L. quadridentata* y *L. hoffmeisteri*

Especie	Lixiviados (%)			Drenaje agrícola (t/ha)		
	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
<i>O. niloticus</i>	8.6	7.9	7.6	90	90.5	121
<i>L. quadridentata</i>	42.4			206		
<i>L. hoffmeisteri</i>	>80	>80	>80	432	388	373



**Figura 1.** Ejemplar de *L. hoffmeisteri* expuesto a una concentración de 80% de elutriados durante 96 h.



**Figura 1.** Bioensayo de elutriados con *O. niloticus*. Se aprecian ejemplares muertos a una concentración de 10%.

tración de 600 t/ha, la cual puede ser una dosis recomendada para suelos pobres en minerales como litosoles y planosoles, comunes en la entidad, para ciertos cultivos forrajeros como el maíz (Flores y Flores, 2005); en esta concentración se registraron muertes significativas a las 48h, 72h y 96h, debido a un posible factor como mayor salinidad del drenaje agrícola (1.1 g/l). Lo anterior, indica que existe un límite de tolerancia al contenido de sales para la especie, a pesar de reconocerse como resistente a la salinidad (Lin y Yo, 2008).

Si bien la tilapia (*O. niloticus*) es muy resistente a la variación de los parámetros físico-químicos del hábitat (El-Shafai *et al.*, 2007), las concentraciones que presentan los lixiviados, específicamente la salinidad y la DQO, pudieron contribuir de manera importante para incrementar la mortalidad a concentraciones del 10% o superiores (Figura 2). En el bioensayo con drenaje agrícola, no hubo mucha mortalidad ya que la salinidad y, sobretudo, la DQO fueron menores. Un hecho que desconcertó fue que la mayor mortalidad ocurrió a concentraciones intermedias (180 t/ha), en periodos de exposición relativamente cortos (48 h).

## CONCLUSIONES

Los lixiviados y los drenajes agrícolas adicionados con biosólidos contienen sales que pueden servir

como fertilizante para el desarrollo de *N. oculata*. Aunque con las concentraciones utilizadas se observaron efectos negativos, en condiciones naturales, la concentración de sales en los cuerpos de agua suele ser menor a la del medio Bold utilizado en este estudio.

Las  $CL_{50}$  obtenidas para los representantes del zooplancton, del necton y bentos (*L. quadridentata*, *O. niloticus* y *L. hoffmeisteri*) indican diferente grado de susceptibilidad, siendo el pez el más sensible y el tubífido el más tolerante, tanto para los lixiviados como para los drenajes agrícolas con suelo de tipo planosol eútrico de la región.

En general, los resultados obtenidos indican que la biota acuática se ve poco afectada por los biosólidos, por lo que la implementación de este subproducto como fertilizante en los cultivos recomendados, como los forrajes, no debe considerarse como un riesgo ambiental, a menos de que suceda algún derrame accidental de ellos o algún otro suceso que eleve la concentración, de tal manera, que se alcance en los cuerpos de agua las concentraciones que produjeron daño en los bioensayos realizados en este estudio. Por otro lado, también se tiene que considerar que aunque se utilicen concentraciones de 400 y 600 t/ha de biosólidos para la fertilización de los suelos de la región, sólo una fracción alcanza a llegar a los cuerpos de agua y afectar a la biota dulceacuática.

## REFERENCIAS

- BELL, P.R.F. y I. ELMETRI, Some chemical factors regulating the growth of *Lyngbya majuscula* in Moreton Bay, Australia: importance of sewage discharges. *Hidrobiología*, 592, 359-371, 2007.
- BEREZINA, N. A. Tolerance of Freshwater Invertebrates to Changes in Water Salinity. *Russian Journal of Ecology*, 34 (4), 261-266, 2003.
- EL-SHAFI, S.A., *et al.*, Nitrogen recovery in an integrated system for wastewater treatment and tilapia production. *Environmentalist*, 27, 287-302, 2007.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, Evaluation of dredged material proposed for discharge in waters of the U.S. Testing Manual Office of waters (4305). *Inland Testing Manual*, Estados Unidos: E.P.A., 409pp, 1998.
- EPSTEIN, E. *Land application of sewage sludge and biosolids*. Estados Unidos: Lewis Publishers, 201 pp, 2003.
- FLORES, T. F. y P. L. FLORES, Los biosólidos de la planta tratadora de aguas residuales de la ciudad de Aguascalientes: Características y usos. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 33, 4-11, 2005.
- FLORES P. L., *et al.*, Estudio de la biodiversidad de artrópodos en suelos de alfalfa y maíz con la aplicación de biosólidos. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 40, 11-18, 2008.
- GIROVICH, M., Biosolids characterization, treatment and use: An overview in M. J. Girovich, (ed). *Biosolids treatment and Management. Processes for beneficial use*. Estados Unidos: Marcel Dekker, 1-46, 1996.
- KENNEDY, C.R., *The distribution and habitat of Limnodrilus Claparede (Oligochaeta: Tubificidae)*, *Oikos*, 16, 226-238, 1965.
- LEWIS, E.L. Escala práctica de salinidad 1978 y sus antecedentes. *IEEE J. Ocean. Eng.*, 5 (1), 3-8, 1980.
- LIN, K.J. y S.P YO, The effect of organic pollution on the abundance and distribution of aquatic oligochaetes in an urban water basin, Taiwan. *Hydrobiologia*, 596, 213-223, 2008.
- MARTÍNEZ, M. J y P. A. ROJAS, Peces en "La Biodiversidad en Aguascalientes. Estudio de Estado". CONABIO/IMAE/UAA, 132-135, 2008.
- REYNOLDS, C.S. y J.W.G. LUND, The phytoplankton of a fan enrichment, soft water lake subject to intermittent hydraulic flushing (Grasmere, English Lake District). *Freshwater Biology*, 19 (3), 379-404, 1988.
- SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA. Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, 23 de abril de 2003.
- VOLLENWEIDER, A., *A Manual on Methods for measuring Primary Production in Aquatic Environments*. 2. ed, Inglaterra: Blackwell Scientific Publications, 225, 1974.
- WALLACE, R.L., *et al.*, *Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world (Zooplankton guides) 23 Rotifera*, Holanda: Backhuys, 229 pp, 2006.
- Fotografías propiedad del autor.