

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Riego con Efluentes Residuales y Calidad Microbiológica de Rábano (*Raphanus sativus* L.) var. Champion en Invernadero

Por:

**EVA CARMONA RODRÍGUEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Riego con Efluentes Residuales y Calidad Microbiológica de Rábano (*Raphanus  
Sativus* L.) var. Champion en Invernadero

Por:

**EVA CARMONA RODRÍGUEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

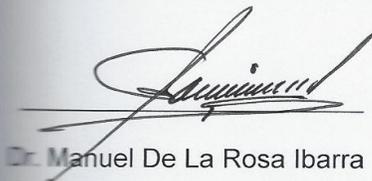
**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dra. Silvia Yudith Martínez Amador

Asesor Principal



Dr. Manuel De La Rosa Ibarra

Coasesor



Dr. Miguel Ángel Pérez Rodríguez

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México. Coordinación  
División de Agronomía

Junio, 2016

## DEDICATORIA

### *A MIS PADRES:*

#### **HERLINDA RODRÍGUEZ E. Y BRUNO CARMONA R.**

*Con mucho cariño por el gran apoyo que me brindaron durante toda mi formación tanto académica como personal, por sus grandes y sabios consejos que me han dado, por el sacrificio y esfuerzo realizado para apoyarme a alcanzar mis objetivos y recibirme como Ing. en Agrobiología. Gracias por depositar su confianza en mí, se los agradeceré toda la vida y sobre todo porque pero gracias a ustedes he aprendido a luchar y esforzarme para cumplir mis sueños y seguir adelante.*

### *A MIS HERMANOS:*

#### **FELIPA, IDELFONSO, AGUSTIN LEOBARDO.**

*Con mucho cariño para todos ustedes que a pesar de la distancia, siempre me dieron consejos y ánimos de seguir adelante, gracias a todos ustedes, por ser parte de mi vida.*

### *A MI NOVIO GILBERTO ABDON A.:*

*Para ti mi querido y adorado amor que siempre estás conmigo, gracias por apoyarme incondicionalmente, por tus consejos y tus palabras que a pesar de que pase el tiempo seguirán estando aquí en mi corazón por siempre.*

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS:**

*Porque siempre ha cuidado mi camino cada vez que he regresado a la universidad y adonde quiera que voy, por las fuerzas para afrontar los problemas que se me presentan gracias.*

### **A LA UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"**

*Por recibirme, abrirme sus puertas y por brindarme un hogar gracias. Por formarme profesionalmente y por generar en mí nuevos conocimientos. Pondré en práctica esos conocimientos para poner en alto a la universidad.*

### **A MIS ASESORES:**

*Principal mente a la Dra. Silvia Yudith Martínez Amador por haberme dado la oportunidad de participar en su grupo de trabajo y por su apoyo en la elaboración de la tesis, por sus consejos y dedicación al trabajo de investigación gracias.*

*Al Dr. Manuel De la Rosa Ibarra por contribuir en el desarrollo de esta investigación de tesis, por la motivación y críticas para mejorar este trabajo de investigación gracias*

*Al Dr. Miguel Ángel Pérez Rodríguez por contribuir en la revisión críticas para mejorar este trabajo de investigación gracias*

*A la Dra. Iveth Dalila Carmona por siempre asesorarme y por su apoyo en la elaboración de la tesis, por sus consejos y dedicación al trabajo de investigación gracias.*

### **A MIS AMIGOS:**

*Gracias a todos ustedes amigos que siempre estuvieron conmigo en cada uno de mis momentos difíciles y felices, siempre los recordare especialmente a ustedes mis queridas amigas: Octavia Sanchez Zarate y Angélica López García por estar conmigo durante toda la carrera incondicionalmente.*

*Mariana Pérez García y Elizabeth Sanchez Zacateco por ser un gran quipo de trabajo y sobre todo porque siempre supieron cómo sacarme una sonrisa cuando estaba triste, las extrañare mucho.*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	III
ÍNDICE DE TABLAS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
RESUMEN.....	VII
I. INTRODUCCION.....	1
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos.....	3
Hipótesis.....	3
II. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 Importancia del agua para el riego.....	4
2.1.1 Uso de las aguas residuales en los cultivos hortícolas.....	4
2.1.2 Origen de las aguas residuales utilizadas en cultivos de hortalizas.....	5
2.1.3 Tipos de agua utilizada en el riego de hortalizas.....	6
2.2. Contaminantes presentes en aguas residuales que son utilizadas en el riego hortícola.....	6
2.2.1 La eutrofización como consecuencia de la contaminación.....	8
2.3 Tipos de tratamientos aplicados al agua residual.....	9
2.3.1 Eficiencia de diferentes tratamientos aplicados al agua residual.....	12
2.4. Normas oficiales mexicanas sobre calidad microbiológica del agua residual.....	13
2.4.1 Calidad microbiológica del agua residual utilizada en el riego de hortalizas. ...	14
2.4.2 Indicadores microbiológicos para determinar contaminación del agua residual.....	15
2.4.3 Métodos para determinar la calidad microbiológica del agua residual.....	16
2.5 Calidad de hortalizas regadas con agua residual.....	17

2.5.1 Determinación de calidad microbiológica en hortalizas regadas con agua residual.....	18
2.5.2 Métodos para determinar calidad microbiológica en hortalizas. ....	19
III. MATERIALES Y METODOS. ....	21
3.1. Descripción del sitio. ....	21
3.2. Características climáticas.....	21
3.3. Procedimiento. ....	21
3.3.1 Variables dependientes consideradas en este trabajo. ....	23
3.3.1.1 Determinación de coliformes fecales en el agua residual utiliza como tratamientos.....	23
3.3.1.2 Análisis de presencia de huevos de helminto en el agua residual utiliza como tratamientos.....	26
3.4 Análisis microbiológico referente a coliformes totales, coliformes fecales y huevos de helmintos contenidos en el rábano regado con los tres tratamientos.....	28
3.4.1 Determinación de coliformes fecales y totales. ....	28
3.4.2 Determinación de huevos de helmintos.....	30
3.5 Diseño experimental.....	31
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	33
4.1 Resultados de concentración de coliformes obtenidos en las muestras de los efluentes.....	33
4.2 Resultados del análisis de coliformes en muestras de rábano regadas con efluentes residuales. ....	34
4.3. Resultados de la identificación de huevos de helmintos en muestras de agua residual.....	36
4.4 Resultados de presencia de huevos de helminto en las muestras del rábano. ....	38
V. CONCLUSIONES. ....	40
VI. LITERATURA CITADA.....	41

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Coliformes presentes en los efluentes aplicados utilizados para riego de un cultivo de rábano ( <i>Raphanus sativus</i> L.) var. Champion. ....	33
Tabla 2. Valores promedio de coliformes en muestras de hoja y raíz de rábano ( <i>Raphanus sativus</i> L.) var. Champion regados con efluentes residuales.....	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Procedimiento de la primera fase del experimento: a) acondicionamiento de cajones para el acomodo de tratamientos, b) preparación de sustrato, c) tratamientos para el riego, d) distribución de tratamientos, e) plantas a los 30 días.....23
- Figura 2. Determinación de coliformes fecales en el agua residual utilizada como tratamientos: a) preparación de CLSS, b) llenado de campana Durham y tubos con CLSS y muestra de agua residual, c) observación de burbuja en la campana de Durham y turbidez en el medio, d) llenado de tubos con CVBB y MEC con campana Durham invertida, e) tubos con CVBB y MEC inoculados con muestra de tubos de la prueba presuntiva, f ) observación de burbuja en la campana de Durham y turbidez en ambos medios.....25
- Figura 3. Metodología para el análisis de presencia de huevos de helmintos en el agua residual utiliza como tratamientos: a) sedimentación y eliminación sobrenadante, b) ART y c) ARC sedimentos centrifugados, d) ART y e) ARC sedimentos suspendidos con buffer (ácido acetoacético y acetato de etilo), f) ART y g) ARC sedimentos transferidos a tubos de centrifugación, h) ART y i) ARC separación de muestra en tres fases después de la centrifugación, j) observación de muestra en microscopio.. .....27
- Figura 4. Determinación de coliformes fecales y totales contenidos en el rábano regado con los tres tratamientos: a) rábano a los treinta días y material estéril, b) lavado del rábano, c) pesado de unidades (hojas y raíces) por separado, d) y e) unidades de rábano en mortero estéril, machacado y adición de agua estéril, f) mezcla homogénea en frascos estériles, g) y h) llenado de campana Durham y tubos con CLSS, i) adición de muestra de rábano, j) observación de burbuja en la campana de Durham y turbidez en el medio, k) tubos con CVBB y MEC con campana Durham invertida, inoculados con muestra de tubos de la prueba presuntiva, l) observación de burbuja en la campana de Durham y turbidez en ambos medios.....29
- Figura 5. Determinación de huevos de helmintos contenidos en el rábano regado con los tres tratamientos: a) sedimentación y eliminación sobrenadante, b) transferencia de sedimentos a tubos de centrifugación, c) sedimentos centrifugados y suspendidos con buffer (ácido acetoacético, d) homogenización en vórtex, e) adición de acetato de etilo y separación de muestra en tres fases después de la centrifugación, j) suspensión con solución de sulfato de zinc y de observación en microscopio. ....30
- Figura 6. Huevos de helmintos encontrados en el agua residual: a) *Hymenolepis sp.*, b) *Ascaris lumbricoides (maduro)*, c) *Enterobius vermicularis*.....36
- Figura 7. Huevos de especies de helmintos encontrados en muestras de rábano: a) *Metastrongylus sp*, b) *Ascaris* (no fertilizado),c) *Diphyllobothrium latum*.....38

## RESUMEN

### Riego con Efluentes Residuales y Calidad Microbiológica de Rábano (*Raphanus sativus* L.) var. Champion en Invernadero

La presente investigación fue realizada en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero y análisis en laboratorio. El presente trabajo tuvo como objetivo principal evaluar la calidad microbiológica del cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.) regado con agua residual y la calidad de los efluentes empleados como riego, para determinar presencia y concentración de coliformes y huevos de helminto. Se realizó un análisis al agua residual antes de ser aplicada como riego y en raíces y hojas del rábano después de su cosecha, para el análisis de datos se sacaron medias y promedios en base a la NOM-003-ECOL-1997, con tres tratamientos y cuatro repeticiones. Los resultados de concentración (Número Más Probable; NMP/100ml) de coliformes en los efluentes, en el agua residual tratada (ART) fue menor que en el agua cruda, se encontró presencia de huevos de *Hymenolepis* sp, *Ascaris lumbricoides* (maduro) y *Enterobius vermicularis*. En muestras de rábano la concentración de coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) regadas con ART mostró mayor concentración en hoja y con agua residual cruda ARC en raíz. Se detectó presencia de *Metastrongylus* sp en muestras de hojas regadas con ART y *Ascaris* (no fertilizado) y *Diphyllobothrium latum* en hoja y raíz regadas con ARC. Los resultados del presente trabajo permiten concluir que después de tratar las aguas residuales fue posible disminuir en ellas, la concentración de microorganismos de origen fecal, sin embargo, no se encuentra completamente libre de patógenos para su utilización como riego de hortalizas.

**Palabras clave:** coliformes fecales, coliformes totales, huevos de helminto.

Correo electrónico; Eva Carmona Rodríguez, [eva.carmonargz@hotmail.com](mailto:eva.carmonargz@hotmail.com)

## I. INTRODUCCIÓN

En algunas regiones de México, como el estado de Morelos se utiliza agua residual sin algún tratamiento para el riego y producción de alimentos (Cuenca-Adame *et al.*, 2001). La actividad humana, ha provocado que aumente el ingreso de la materia orgánica al sistema hídrico, acelerando el proceso de eutrofización (García y Iannacone, 2014). La eutrofización modifica la calidad del agua, provocando la descomposición y el crecimiento de microorganismos de origen fecal, convirtiéndose en un riesgo para la salud humana (Arcos *et al.*, 2005).

Existen evidencias que demuestran que el uso de agua de riego contaminada puede incrementar la frecuencia de microorganismos patógenos, y que el agua puede transmitir diversos microorganismos como es el caso de *Escherichia coli*, especies de *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, especies de *Shigella*, así como *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, *Cyclospora cayetanensis*, los virus de Norwalk y de la hepatitis (Díaz-Sobac y Vernon-Carter, 1999). Por otra parte Hernández-Acosta *et al.* (2014), al evaluar la calidad biológica de aguas residuales utilizadas para riego de cultivos forrajeros, obtuvieron como resultado altas concentraciones de coliformes fecales, las cuales fueron  $2 \times 10^{10}$  número más probable (NMP)  $100 \text{ mL}^{-1}$  de agua,  $10^9$  NMP· $100 \text{ g}^{-1}$  de suelo,  $10^9$  NMP· $100 \text{ g}^{-1}$  de raíz y  $3 \times 10^9$  NMP· $100 \text{ g}^{-1}$  de tallo. Rivera *et al.* (2009), analizaron 85 muestras de hortalizas, para determinar el nivel de coliformes fecales y la incidencia de *E. coli*, en los principales mercados de Cajamarca, Perú; obteniendo como resultado un 40% de muestras con presencia de coliformes fecales, *E. coli* y helmintos.

Vega *et al.* (2005), seleccionaron nueve hortalizas regadas con agua residual sin tratamiento, que son utilizadas en la dieta del habitante del Distrito Federal, en la cual incluyen al rábano (*Raphanus sativus* L.); las hortalizas fueron muestreadas por mes y al analizar detectaron la presencia de coliformes fecales en las nueve hortalizas. Puig *et al.* (2013), al hacer un análisis de 100 muestras de hortalizas incluyendo rábano (*Raphanus sativus* L.), con riego de diferente calidad, obtuvieron como resultado presencia de parásitos en 6% de las muestras, *E. coli* en un 18%, y bacterias patógenas como: *Salmonella weltevreden* y *Listeria spp* en dos muestras en hortalizas regadas con aguas residuales sin tratamiento. Las hortalizas regadas con agua residual tratada mostraron mejor calidad.

El uso y la calidad inadecuada del agua residual en los cultivos son causantes de problemas y daños a la salud, ya que el agua residual puede estar contaminada con bacterias patógenas, protozoarios y otros microorganismos provenientes de las heces fecales de humanos y animales.

La presente investigación fue desarrollada con el fin de obtener información sobre la calidad microbiológica del cultivo de rábano regado con diferentes tipos de efluentes.

### **OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar la calidad microbiológica (coliformes fecales y huevos de helmintos) de un cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.) irrigado con efluentes residuales.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Establecer un cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.) en invernadero regado con efluentes residuales.
2. Comparar los resultados obtenidos con los datos establecidos en la NOM-003-ECOL-1997 en cuanto a concentración de coliformes fecales y huevos de helmintos en raíces y hojas del cultivo de rábano establecido.

### **HIPÓTESIS:**

El cultivo de rábano regado con agua residual tratada tendrá la calidad microbiológica para reúso con contacto directo.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA:

### 2.1 Importancia del agua para el riego

El desarrollo del agua es la base de la seguridad alimentaria, el sustento de los pueblos, el crecimiento industrial y la sostenibilidad ambiental en el todo el mundo. En 1995, en el mundo se extrajeron 3,906 km<sup>3</sup> de agua para dichos fines. Se ha proyectado que para el año 2025 la extracción de agua para diversos usos (doméstico, industrial, ganadero) habrá aumentado en al menos un 50%, esto limitará gravemente la extracción de agua para riego, que aumentará solamente un 4%, lo que restringirá a su vez la producción de alimentos (*Rosegrant et al., 2002*).

El sector agrícola es el mayor consumidor de agua en la mayoría de los países, utiliza más del 80% de toda el agua extraída y desde 1950 el área de riego mundialmente se ha incrementado al triple, siendo esto de importancia ya que actualmente, casi la mitad del alimento a nivel mundial se produce en solo el 18% de las tierras regadas (*Arreguín et al., 1999*).

#### 2.1.1 Uso de las aguas residuales en los cultivos hortícolas

El agua residual es considerada como un recurso importante que se puede utilizar para riego agrícola, el uso del agua tratada y su tipo de tratamiento determina la calidad de la misma y a la vez tiene un efecto sobre las propiedades biológicas del suelo demostrado en un estudio realizado en la Llanura de Coro, Venezuela (*Ramón et al., 2009*).

En México sólo un bajo porcentaje de aguas residuales son tratadas adecuadamente y son utilizadas para riego agrícola sin un tratamiento previo, esto representa un serio peligro para la salud humana y de los animales debido al contenido de materia orgánica e inorgánica contaminante (Rivas *et al.*, 2003).

En San Luis Potosí y Soledad de Graciano Sánchez, algunos productores utilizan el agua residual provenientes de descargas domésticas e industriales para el riego de la zona agrícola periurbana en la cual incluyen los cultivos de hortalizas con una extensión aproximada de 5000 ha en total (Sarabia *et al.*, 2011).

### **2.1.2 Origen de las aguas residuales utilizadas en cultivos de hortalizas**

Ortega y Orellana (2007), mencionan que las ciudades y los centros de cría de animales son fuentes de aguas negras, y se caracterizan por un alto poder contaminante de heces fecales. Estudios realizados en la región atlixquense del estado de Puebla señalan que el agua contaminada de ríos, manantiales y pozos es calificada como agua residual que genera problemas, en forma directa o a través de la cadena trófica, y por las fuentes de generación, se define como la combinación de líquidos procedentes de residencias, instituciones públicas, establecimientos industriales y comerciales (Silva *et al.*, 2002).

El agua de origen urbano es generada por el incremento de la población, se infiltra a los mantos acuíferos y los contamina, como es el caso del Estado de San Luis Potosí que al no tener suficiente agua limpia emplean agua de origen urbano para el riego de hortalizas de los mercados urbanos (Contreras y Galindo, 2008).

### **2.1.3 Tipos de agua utilizada en el riego de hortalizas**

Fasciolo *et al.* (2005), mencionan la importancia del uso de efluentes domésticos e industriales en la agricultura ya que cobra mayor importancia día a día debido a la creciente escasez hídrica en las regiones áridas del mundo, pero también hacen referencia a que contienen microorganismos que pueden llegar a ser patógenos, y de acuerdo con un estudio hecho en el cultivo de ajo al analizar los resultados se considera que los ajos pueden ser aceptables para consumo crudo.

Silva *et al.* (2008), proponen el aprovechamiento de aguas residuales domésticas crudas, diluidas o tratadas como un recurso alternativo, hacen énfasis sobre el someter este tipo de agua a un tratamiento antes de su utilización, y tener en cuenta los requerimientos del cultivo a irrigar y el tipo de suelo. Segura *et al.* (2006), destacan la importancia del agua en la agricultura de zonas áridas y semiáridas, como es el caso de Almería, que depende casi exclusivamente del riego, convirtiendo a las aguas residuales municipales en una importante fuente de abastecimiento que puede compensar en parte a esta limitación y utilizarla en el riego de hortalizas.

### **2.2. Contaminantes presentes en aguas residuales que son utilizadas en el riego hortícola**

Alfredo *et al.* (2013), destacan que la contaminación del agua es un problema importante a nivel mundial, los nitritos, nitratos, fosfatos, materias orgánicas, detergentes, hidrocarburos, agentes patógenos, metales, y sustancias conservativas que forman parte de los efluentes cloacales son una de las mayores fuentes contaminantes del agua. Siebe (1994), al hacer un estudio en el Distrito de Riego 03,

Tula, México, en aguas provenientes de la Ciudad de México habla sobre la acumulación de metales pesados presentes en las aguas residuales sin tratamiento alguno, y hace énfasis en el tiempo de uso ya que después de 80 años de irrigación con agua residual las cantidades de metales son 3 a 6 veces mayores que en suelos regados con agua de pozo o cultivo de temporal. Veliz *et al.* (2009), mencionan que el riego con aguas residuales domésticas no tratadas representa un serio riesgo, pues constituyen una importante fuente de agentes patógenos como bacterias, virus, protozoarios y helmintos (lombrices) que causan infecciones gastrointestinales en los seres humanos y que también contienen toxinas químicas muy peligrosas que provienen de fuentes industriales y destaca la importancia de someter el agua residual a un tratamiento eficiente, para su reúso en el riego agrícola, la cual resulta sin menos contaminantes y daños a la salud.

Pérez-Cordón *et al.* (2008), al analizar agua de pozos y acequias de riego destinada al consumo y al riego de cultivos recolectados en diferentes distritos de la provincia de Trujillo, Perú., lograron identificar *G. lamblia*, *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli*, *C. cayetanensis*, *Cryptosporidium spp*, y *Balandidium coli*.

La concentración de contaminantes básicos, metales pesados y cianuros para las descargas de aguas residuales a aguas y bienes nacionales, no debe exceder el valor indicado como límite máximo permisible. El rango permisible del potencial hidrógeno (pH) es de 5 a 10 unidades (NOM-001-SEMARNAT-1996).

**Para determinar la contaminación por patógenos:**

Se debe tomar como indicador a los coliformes fecales. El límite máximo permisible para las descargas de aguas residuales vertidas a aguas y bienes nacionales, así

como las descargas vertidas a suelo (uso en riego agrícola) son de 1,000 y 2,000 como número más probable (NMP) de coliformes fecales por cada 100 ml para el promedio mensual y diario, respectivamente. (NOM-001-SEMARNAT-1996)

**Para determinar la contaminación por parásitos se tomará como indicador los huevos de helminto:**

El límite máximo permisible para las descargas vertidas a suelo (uso en riego agrícola), es de un huevo de helminto por litro para riego no restringido (forrajes, granos, frutas, legumbres y verduras), y de cinco huevos por litro para riego restringido (productos agrícolas excepto legumbres y verduras que se consumen crudas), lo cual se llevará a cabo de acuerdo a la técnica establecida en esta Norma (NOM-001-SEMARNAT-1996)

**2.2.1 La eutrofización como consecuencia de la contaminación**

Arcos *et al.* (2005), hablan de la eutrofización como la modificación de la calidad del agua, que ocasiona la descomposición y el crecimiento de microorganismos de origen fecal, provocando un riesgo para la salud humana. Por otro lado Ávila y Estupiñán (2013), hacen referencia a la eutrofización como el aumento en la carga orgánica e inorgánica de los cuerpos de agua debido al crecimiento de la población, las industrias, la urbanización, las actividades agropecuarias y el cambio climático y que estos a la vez influyen en la calidad, reduciendo los usos potenciales de los recursos hídricos que inducen la muerte de especies.

Roa y Cañizares (2012), señalan que en diversos informes se habla sobre la mortandad de ganado vacuno y aves silvestres que abrevaron en lagunas con floraciones de *Anabaena spiroides*, *Nodularia spugina*, y otras cianobacterias debido

a que en ellas se encuentran altas concentraciones de toxinas, motivo por el cual en Australia se han establecido ciertos límites de acuerdo a la calidad del agua, siendo la concentración de cianobacterias tóxicas a un máximo de 15000 cél/ml, que equivale aproximadamente a 5-10 µg/l de clorofila-a.

Las descargas domésticas contienen una gran cantidad de materia orgánica y nutrientes, que al llegar a los cuerpos receptores los eutrofican, es decir, producen una sobre nutrición que contribuye al crecimiento de algas, microorganismos, plancton y animales bentónicos. Esto puede originar que todo el oxígeno del cuerpo de agua sea consumido y se produzca la anoxia, lo cual implica la muerte de peces y malos olores (Arreguín *et al.*, 1999).

### **2.3. Tipos de tratamientos aplicados al agua residual**

El tratamiento de las aguas residuales comenzó a fines de 1800 y principios del actual siglo para evitar diversos problemas, se idearon y llevaron a la práctica nuevos métodos de tratamiento intensivo, como digestión de fangos, filtración intermitente en arena, filtración en lechos de contacto, aeración de aguas residuales y proceso de lodos (Rojas, 2002).

Para el reúso de aguas residuales se aconseja realizar siempre un tratamiento preliminar y primario; el tratamiento secundario, además de remover de manera eficiente materia orgánica y sólidos suspendidos, influye directamente sobre la estructura de algunos compuestos, como los de nitrógeno, según sean los requerimientos del cultivo a irrigar y el tipo de suelo (Silva *et al.*, 2008).

**Los métodos y tecnologías de tratamiento pueden dividirse en dos grandes grupos:** los de tecnología sencilla o apropiada y los de alta tecnología o sofisticada. El calificativo “sencilla” no implica baja eficiencia, sino que tales plantas tengan consumos bajos de energía y utilicen sistemas basados en las transformaciones naturales, por ejemplo las lagunas de estabilización y algunos sistemas de infiltración en suelos, o sistemas acuáticos y vegetales en los denominados humedales (Arreguín *et al.*, 1999 y Peasey *et al.*, 2000).

El proceso anaerobio es llevado a cabo por un consorcio de microorganismos especializados. Este proceso permite eliminar, al más bajo costo, hasta el 80% de la carga orgánica contaminante del agua (Antonio, 2002).

El tratamiento anaerobio–aerobio ha tenido una gran atención en las últimas décadas debido a sus numerosas ventajas: bajo consumo de energía, bajo consumo químico, baja producción de lodo, gran potencial de recuperación de recursos, menor requerimiento de equipo y fácil operación. Sin embargo tiene algunas limitaciones en cuanto a altos tiempo de retención hidráulica, requerimiento de espacio y la captura de gas (Chan *et al.*, 2009).

La aplicación de técnicas de inmovilización de células para los procesos de tratamiento de agua residual ha tenido mucha atención últimamente, esto ha conllevado a la evaluación de distintos tipos de inmovilización y una amplia variedad de “soportes” (Srinu, 2012; Tommaso, 2002).

La inmovilización por unión puede lograrse mediante la adhesión espontánea de la biomasa al soporte favoreciendo la remoción de materia orgánica. Se han aplicado

varios materiales naturales (agar, colágeno, alginatos, quitosán, coyonoxtle) y materiales sintéticos (poliacrilamida, poliuretano, polietilenglicol, alcohol polivinílico) como medio de soporte. Entre los distintos materiales disponibles, el prolipropileno es el más sencillo de usar, de bajo costo, poca toxicidad y alta estabilidad operacional. Debido a estas características, hay un interés creciente en el desarrollo de nuevas aplicaciones. Este soporte provee una alta concentración celular en el reactor (Srinu, 2012; Tommaso, 2002).

Una investigación detallada sobre los principales procesos de tratamiento empleados en México reveló que las plantas de tratamiento, sin importar el sistema, eran ineficientes debido a los problemas tanto operacionales como de mantenimiento. Sin embargo, un tratamiento convencional es generalmente más caro y menos eficiente que el tratamiento no convencional. Se concluyó que esto se debía a una falta de entendimiento del sistema, temas de seguridad e higiene, y un laboratorio pobremente equipado y personal no calificado. Se han propuesto algunos planes para asegurar la calidad del efluente juntos con estándares microbiológicos para su descarga o uso en irrigación (Peasey *et al.*, 2000).

La mayoría de los sistemas de tratamiento de efluentes de granjas porcinas a escala real presentan bajas eficiencias de remoción de contaminantes debido a que se han aplicado sistemas que no toman en cuenta la gran variación de concentración de contaminantes de los efluentes de diferentes procesos productivos (Garzón-Zúñiga y Buelna, 2013).

### **2.3.1 Eficiencia de diferentes tratamientos aplicados al agua residual**

Moreno *et al.* (1992), en un trabajo con muestras de agua con distinto grado de contaminación (con tratamiento primario y biológico), aplicaron diez diferentes dosis de radiación gamma de Co-60 en el intervalo de 6 a 37 kCy, a una razón de dosis de 25 kCy/h para definir la radiación que podía remover contaminantes químicos y biológicos, ya que la mayoría de las muestras sin irradiar presentaban poblaciones de  $10^6$  a  $10^7$  microorganismos en 100 ml, obtuvieron como resultado que con 6 a 10 kGy se elimina hasta 5 órdenes de magnitud de coliformes.

Garzón-Zúñiga y Buelna (2013), presentan una investigación sobre la variación en la composición de 14 efluentes de granjas porcinas en México y la eficiencia de cinco diferentes procesos de tratamiento aplicados provenientes de: fosa de homogeneización o cárcamo de almacenamiento; fosa con adición de enzimas; digester anaerobio de líquidos y sólidos (dalys); fosa de homogeneización + digester dalys; dalys + dos lagunas en serie, determinaron que el sistema que presento la mejor eficiencia fue el digester anaerobio de líquido y sólidos (dalys) operado con un tiempo de retención hidráulico (TRH)  $\leq 60$  d, obtuvieron eficiencias de remoción de: dos unidades logarítmicas de CF, sin embargo, la calidad del efluente no es adecuada para ser descargado en cuerpos de agua ni para ser reutilizado en riego agrícola, por lo cual recomiendan un sistema aerobio.

Por otro lado Lahora (1998), realizó un trabajo en la EDAR de los Gallardos, municipio de Almería, para de determinar si el sistema de agua proveniente de una laguna de maduración que pasaba por un humedal con carrizos era apto para reutilizar sus efluentes en riego agrícola, sin incrementar el aporte de sales por agua

aplicada, al analizar observó reducciones de coliformes fecales del 97% (dos órdenes logarítmicos) y no detecto nematodos intestinales ni a la entrada ni a la salida del humedal.

El uso de dos unidades de humedales construidos bajo la configuración flujo vertical - horizontal presentando altas tasas de remoción y permiten que el efluente tratado cumpla con los estándares establecidos para reutilización, remueven coliformes totales (3 unidades log), *E. Coli* (4 unidades log) y huevos de helmintos 90%. (Riascos, 2014)

Empleando el tratamiento secundario con aireación intermitente y el tratamiento secundario + desinfección con cloro, se logró una calidad bacteriológica aceptable para el riego de cultivos de rábano, lechuga, acelga, y garantiza agua bacteriológicamente segura, sin embargo, el cloro es un elemento que genera problemas de toxicidad en el cultivo (Cisneros-Estrada y González-Meraz, 2001).

Al utilizar un tratamiento de cuatro pasos: sedimentador (aceite, grasas, sólidos sedimentables), dos barriles con grava y un receptor, el agua residual tratada cumple con los estándares de calidad pero no para vegetales que no se cuecen (Al-Hamaiedeh y Bino, 2010).

#### **2.4. Normas oficiales mexicanas sobre calidad microbiológica del agua residual**

Las normas oficiales mexicanas, son regulaciones técnicas de observancia obligatoria que establecen reglas, especificaciones, atributos, directrices, características o prescripciones aplicables a un producto, proceso, instalación, sistema, actividad, servicio o método de producción u operación, así como aquellas

relativas a terminología, simbología, embalaje, marcado o etiquetado. Estas son algunas de las normas oficiales que norman actualmente (CONAGUA, 2015).

Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997, “Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público”.

Norma Mexicana NMX-AA-42-1987, Calidad del agua, determinación del Número Más Probable (NMP) de coliformes totales, coliformes fecales (termotolerantes) y *E. coli* presuntiva.

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.

#### **2.4.1 Calidad microbiológica del agua residual utilizada en el riego de hortalizas**

Torres *et al.* (2009), indican que debido el deterioro de los cuerpos de agua se debe hacer una evaluación de la calidad biológica y así tomar acciones de control y mitigación del nivel de riesgo, tomando siempre en cuenta los índices de calidad del agua (ICA) y así darle un tipo de uso, siguiendo una serie de parámetros para su determinación.

Díaz-Sobac y Vernon-Carter (1999), informan sobre la existencia de evidencias, que demuestran que el uso de agua de riego contaminada puede incrementar la frecuencia de microorganismos patógenos, y que el agua puede transmitir diversos microorganismos como es el caso de *E. coli*, especies de *Salmonella*, *V. cholerae*,

especies de *Shigella*, así como *C. parvum*, *G. lamblia*, *Cyclospora cayetanensis*, los virus de *Norwalk* y de la hepatitis.

Hernández *et al.* (2011), estudiaron parámetros microbiológicos y químicos del agua de riego de la zona agrícola de Barbacoas, estado Aragua, Venezuela, para determinar calidad del agua de riego usada con fines agrícolas, obtuvieron como resultado, concentraciones de coliformes totales y coliformes fecales entre  $3 \times 10^3$  –  $4 \times 10^9$  NMP/g o mL, y con respecto a los protozoarios, la concentración en agua fue de  $10^6$  protozoarios/mL, sobrepasando los límites establecidos por la norma oficial para la calidad de agua en Venezuela.

#### **2.4.2 Indicadores microbiológicos para determinar contaminación del agua residual**

Arcos *et al.* (2005), destacan que los microorganismos indicadores son aquellos que tienen un comportamiento similar a los patógenos, y que estos deben responder al ambiente y principalmente que reúnan ciertas características y sean de fácil identificación.

Gil *et al.* (2011), utilizaron microorganismos indicadores (Coliformes Totales, Coliformes Fecales, *E. coli* y *Salmonella*) y otros microorganismos (protozoarios y helmintos) asociados a la calidad del agua para poder saber qué tipo de contaminación sufría laguna de toda la zona central de Venezuela, al analizar obtuvieron como resultado presencia de helmintos y coliformes fecales provenientes del agua de desagüe, presencia de *E. coli*, y protozoarios en la totalidad de las muestras de aguas analizadas, con valores de 4333 a 5750 microorganismos/L.

Campos-Pinilla *et al.* (2008), debido a problemas que causan los residuos tanto de origen doméstico como industrial a nivel ambiental y de salud pública, proponen el uso de indicadores de contaminación fecal (bacterias, virus y parásitos), y para conocer la presencia, concentración y comportamiento de indicadores bacterianos (coliformes fecales), virales (fagos somáticos y fagos específicos) y parasitarios (huevos de helminto, *Giardia spp.*, y *Cryptosporidium spp.*) para lo cual se realizaron varios muestreos en aguas superficiales, subterráneas, sistemas de potabilización y depuración en la Sabana de Bogotá (Colombia), al terminar obtuvieron como resultado presencia de los indicadores propuestos en todas las muestras de agua y concentraciones similares a las encontradas en otros países con condiciones ambientales diferentes.

#### **2.4.3 Métodos para determinar la calidad microbiológica del agua residual**

Sánchez-Pérez *et al.* (2000), realizaron un estudio en la región fronteriza de Chiapas para determinar la calidad bacteriológica del agua (CBA) estimada mediante métodos directos, utilizando la técnica de filtración por membrana, con pruebas presuntivas y confirmatorias (NMP), para la identificación de coliformes totales, dando como resultado que un 31% de las muestras analizadas fueron de buena calidad bacteriológica en la cual destacan que en las 36 muestras de agua (de un total de 46 muestras de agua que dieron positivo al grupo de coliformes fecales).

Ramírez *et al.* (2009), para determinar la calidad microbiológica (coliformes totales, coliformes fecales y amibas de vida libre) del acuífero de Zacatepec, Morelos, utilizaron la técnica de filtración con membranas, obteniendo como resultado que todos los pozos presentaban contaminación por coliformes totales, aislaron 22

especies pertenecientes a 16 géneros; el más frecuente fue *Hartmannella* con 38% asociado a infecciones oculares y cerebrales en humanos.

Arnedo *et al.* (2008), al evaluar la aplicación de técnicas de tinción de Kinyoun e inmunofluorescencia, para el monitoreo periódico de la calidad parasitológica del agua residual del sistema de lagunas de estabilización "Planta de Tratamiento de Aguas Servidas Sur" de la ciudad de Maracaibo, Venezuela, detectaron *Cryptosporidium sp.* en 100% de las muestras analizadas debido a esto se llegó a la conclusión de que este tipo de agua no puede ser utilizada con fines de irrigación.

## **2.5. Calidad de hortalizas regadas con agua residual**

Los cultivos presentan distintos tipos de peligros a la salud tomando en cuenta el uso del cultivo, el tiempo que pasó entre la cosecha y el consumo y el proceso que sigue a la cosecha. Aquellos que son consumidos sin cocer, pelar u otro proceso poseen ser los más peligrosos. Además, las áreas de riego de paisaje a los cuales el ser humano está frecuentemente expuesto, tales como parques y césped, poseen un peligro alto de transferir patógenos a los humanos (Trooien y Hills, 2007; Peasey *et al.*, 2000).

Rivera-Vázquez *et al.* (2007), en un estudio realizado informan sobre la importancia del consumo de hortalizas para la salud humana y que a la vez algunos de estos productos están expuestos a contaminación de tipo biológico y químico, situación que genera un riesgo para la salud. Díaz-Sobac y Vernon-Carter (1999), indican que la calidad está directamente relacionada con el cumplimiento de las leyes correspondientemente establecidas, donde un producto será de buena calidad cuando se acoja a la legislación vigente, cubra los requisitos establecidos por el

cliente, reúna las características esperadas por los consumidores e incorpore, a lo largo del tiempo, todas las nuevas y cambiantes exigencias y que la pérdida de dicha calidad en frutas y hortalizas.

Puig *et al.* (2013), hacen énfasis sobre el consumir frutas y hortalizas, pero en este caso señalan que sí estas son consumidas sin ningún tipo de cocción, son potencialmente peligrosas en caso de que exista contaminación, y que los riesgos biológicos asociados a los productos hortícolas están relacionados con las malas prácticas de producción, como por ejemplo el empleo de agua de riego contaminada, el uso de desechos biológicos sólidos como fertilizante sin tratamiento o con tratamiento inapropiado, entre otros, y que las hortalizas dependen de estos factores para su calidad.

### **2.5.1 Determinación de calidad microbiológica en hortalizas regadas con agua residual**

Cisneros-Estrada y González-Meraz (2001), en una investigación en invernadero, incluyen la calidad sanitaria en cultivos agrícolas regados con agua residual de distinta calidad, reportan concentraciones promedio de C.F. de  $1.3 \times 10^3$  NMP/100 ml de agua, es decir concentración ligeramente superior a lo que marca la NOM-001-ECOL-1996. Debido a esto recomiendan aplicar una desinfección para que el promedio de coliformes fecales sea menor.

Rivera *et al.* (2009), determinaron el nivel de coliformes fecales y la frecuencia de *E. coli* en 85 muestras de hortalizas, obtenidas de los principales mercados de Cajamarca, al hacer esto obtuvieron como resultado que el 40% de muestras

presentaron coliformes fecales, con elevado número más probable por gramo (NMP/g) e importante frecuencia de *E. coli* en perejil y lechuga.

Villanueva y Silva (1998), al analizar 165 verduras de 11 especies diferentes, empleando los métodos de concentración por flotación de Faust (examen coproparasitario cualitativo de concentración por centrifugación y flotación) y de filtración simple (agua de lavado, pasado por una serie de filtros con el fin de retener los quistes, huevos y larvas de parásitos). En el filtrado obtenido se buscaron los parásitos y se obtuvieron 77.57 y 73.33% de contaminación, respectivamente. *E. coli* registró frecuencias de 58.18% y 44.84%, *G. lamblia* de 25.45% y 21.21%, *Ascaris sp.* de 13.93% y 18.18%, *T. trichiura* de 9.69% con el método de filtrado simple.

### **2.5.2 Métodos para determinar calidad microbiológica en hortalizas**

Camacho *et al.* (2009), destacan la importancia del tamaño de las poblaciones microbianas las cuales pueden estar presentes en un alimento y que van desde algunos miles hasta varios millones de células por gramo, ya que para su determinación cuantitativa se requiere la preparación de diluciones conocidas de la muestra.

Anderson *et al.* (2010), para analizar 30 muestras de vegetales utilizaron las técnicas de Hoffman, Pons y Janer (HPJ) y Faust (F), obtuvieron como resultado que de las muestras analizadas el 46.6 % resultó positivo, observaron *Balantidium coli* (20.0% de la contaminación), *Entamoeba coli* (21.6%), *Entamoeba histolytica* (5.0%), *Trichuris trichiura* (3.3%) y *Strongyloides stercoralis* (2.5%), destacando que la técnica HPJ fue más eficaz en la detección de huevos, larvas de helmintos y quistes de protozoos en las hortalizas estudiadas.

Vega et al. (2005), analizaron nueve hortalizas que son utilizadas comúnmente en la dieta del habitante del Distrito Federal durante el periodo octubre 2003 a marzo 2004, utilizaron el método del número más probable (NMP), descrito en la norma NOM-112-SSA1-1994. Dicho método consta de una prueba presuntiva y una confirmativa, los resultados mostraron que febrero de 2004 fue el mes en donde se presentó la mayor cantidad de estas bacterias en las hortalizas, cinco de ellas superaron el valor permitido de coliformes fecales ( $>110$  NMP/g). En los meses de enero y marzo de 2004 se detectaron el mismo número de hortalizas con esta característica (cuatro); le siguen octubre con tres y noviembre con una, que superan el valor permitido de estas bacterias, diciembre de 2003 es un mes en donde la cantidad de coliformes fecales en las hortalizas disminuyó notablemente, ya que el número más alto de estos microorganismos fue de 2.8 NMP/g y ninguna de las nueve hortalizas analizadas superó el valor permitido

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS:**

#### **3.1. Descripción del sitio:**

La presente investigación se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. El trabajo se llevó a cabo en dos fases, las cuales se realizaron en el invernadero número uno perteneciente al Departamento de Horticultura y en el Laboratorio de Biología perteneciente al Departamento de Botánica, ubicados en la misma Institución. El invernadero cuenta con una dimensión de 160 m<sup>2</sup>, con orientación Sur - Norte, estructura de perfil tubular rectangular (PTR) galvanizada de dos pulgadas y cubierta de polietileno calibre 6000 transparente.

#### **3.2. Características climáticas:**

El invernadero cuenta con dos extractores al frente, muro húmedo en la parte posterior, dos calentadores tipo centinela que mantienen la temperatura a 32°C durante el día y 16 a 17°C durante la noche y una humedad relativa máxima de 45%.

#### **3.3. Procedimiento:**

En la primera fase de este experimento se prepararon 20.4 kg de sustrato total antes del llenado de las bolsas 80% peat moss con fibra de coco y 20% de perlita, se humedeció hasta alcanzar el nivel máximo de saturación y se dejó durante un día antes del llenado de las bolsas, se analizó el pH, haciendo la prueba con 50 ml del sustrato, al cual se le agrego 100 ml de agua destilada, se mezcló muy bien, se dejó reposar 30 minutos y se pasó por un colador, después de esto se obtuvo como resultado un pH de 4.9 se hizo un ajuste, con la aplicación de 6.4 g de bicarbonato

de sodio, se volvió a tomar el dato y el pH final fue 5.59 con una conductividad eléctrica de 0.384 S/cm; (siemens por centímetro), se utilizaron 24 bolsas de polietileno color negro de 1kg de capacidad que se llenaron con 850 g de sustrato cada una, se colocaron 3 semillas de Rábano (*Raphanus Sativus L.*) var. Champion por bolsa y se acomodaron en cajones subdivididos en tres secciones cada uno, siguiendo un diseño de bloques completamente al azar. El primer riego se aplicó, antes de la siembra con 20 ml de agua destilada para conservar la humedad de cada bolsa.

Se aplicaron tres tratamientos: agua residual municipal sin tratar (con ajuste de nutrientes), proveniente de la planta tratadora del Bosque Urbano “Ejército Mexicano” localizada en Saltillo, Coahuila, México, agua residual municipal tratada por un sistema anaerobio/aerobio/humedal (con ajuste de nutrientes) proveniente de la Universidad Autónoma Agraria Antonino de Narro y (testigo) solución nutritiva (Steiner) preparada en la misma universidad. Los diferentes tratamientos utilizados como riego fueron preparados y medidos en un volumen igual (4.5 L de cada tratamiento), se aplicaron 150 ml por bolsa cada tercer día durante todo el ciclo vegetativo del cultivo de manera manual y directamente al tallo. Se analizó pH de cada tratamiento y se realizó un ajuste si era necesario. Después de la emergencia se hizo un aclareo con el cual se dejó solo una planta por cada bolsa, y al concluirse los 30 días se llevó a cabo la cosecha, para posteriormente trasladar las plantas al laboratorio y realizar el análisis de coliformes y huevos de helmintos

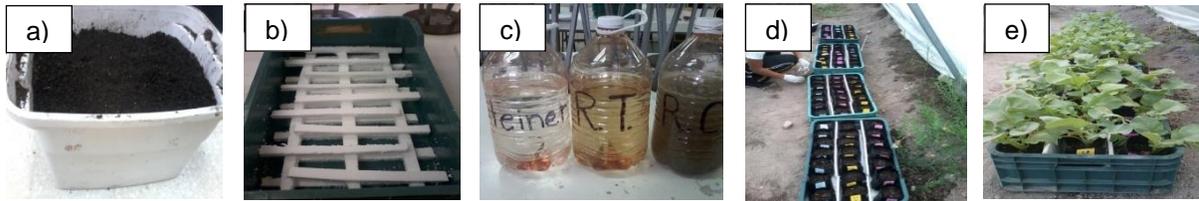


Figura 1. Procedimiento de la primera fase del experimento: a) acondicionamiento de cajones para el acomodo de tratamientos, b) preparación de sustrato, c) tratamientos para el riego, d) distribución de tratamientos, e) plantas a los 30 días.

**3.3.1 Variables dependientes consideradas en este trabajo:** determinación de presencia y concentración de coliformes y huevos de helmintos en el agua residual antes de ser aplicada como riego, en raíces y hojas del rábano después de su cosecha, las cuales se realizaron de la siguiente manera:

**3.3.1.1 Determinación de coliformes fecales en el agua residual utiliza como tratamientos.**

Para la determinación de coliformes fecales en el agua residual se utilizó la técnica de los tubos múltiples establecida por la UNAM (2015) y la NMX-AA-42-1987, que está dividida en dos pruebas: para realizar este método se basa en la inoculación de alícuotas de la muestra, diluida o sin diluir, en una serie de tubos de un medio de cultivo líquido conteniendo lactosa.

**Prueba presuntiva:** se utilizaron 15 tubos de ensaye, a 5 tubos se les agrego 10 ml de caldo lauril sulfato de sodio (CLSS) a doble concentración (2x), y a los 10 tubos restantes se les agrego 10 ml de CLSS a concentración 1x. A cada tubo se le inserto una campana Durham invertida, las cuales se llenaron de este mismo medio. Estos tubos se esterizaron durante 12 minutos, a 121°C. Los primeros 5 tubos se inocularon con 10 ml de la misma muestra, previamente homogenizada; a los cinco

siguientes tubos se les agrego 1ml (c/u), y para los últimos cinco se les adiciono 0.1ml de la muestra (c/u). Se incubaron a  $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  por 48 horas (incubadora HACH modelo 205), para posteriormente observar turbidez y presencia de burbujas (fermentación de la lactosa).

**Interpretación:** si se observa burbuja en la campana de Durham y turbidez en el medio, los tubos serán positivos. Si solo se presenta una de estas condiciones, o ninguna, se consideran como negativos, solo se anotan los tubos positivos. Si el total de los tubos son negativos, el examen se da por terminado, reportando la ausencia de coliformes totales y fecales en la muestra analizada. Si hubiera uno solo positivo, se realiza la prueba confirmatoria

**Prueba confirmativa:** se colocaron 5 ml de caldo verde bilis brillante (CVBB) al 2% en 15 tubos de ensaye junto con su campana Durham invertida y previamente llena con este mismo medio. También se prepararon 15 tubos de ensaye con 5 ml de Medio EC (MEC), cada uno, junto con su campana Durham invertida y previamente llena con este mismo medio. Ambos se esterilizaron a  $121^{\circ}\text{C}$  por 15 min. Ya a temperatura ambiente, cada uno de los tubos de la prueba presuntiva se inoculo (60  $\mu\text{l}$  c/u) tanto en tubos con CVBB y en un tubos con MEC. Los 15 tubos con CVBB se incubaron a  $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  por 48 horas; los 15 tubos con MEC se incubaron a  $44\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Al término este tiempo, solamente se tomaron en cuenta los tubos que presentaron tanto turbidez como burbuja en la campana Durham.

**Interpretación:** si se observa turbidez y producción de gas: la prueba se considera positiva, debiendo anotar el número de tubos positivos para posteriormente hacer el cálculo del NMP.

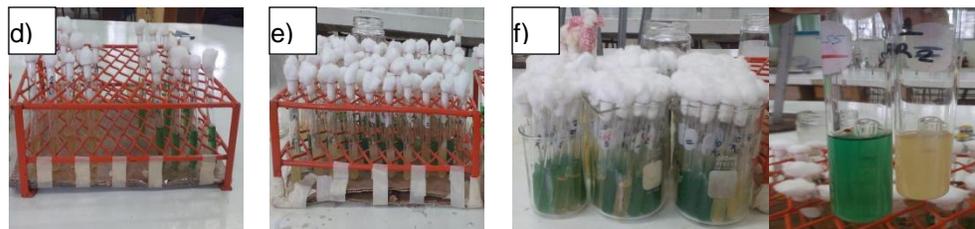
**Técnica de las diluciones:** se utilizaron 10 tubos de ensaye que contenían 9 ml CLSS, a los cuales se les colocó una campana de Durham llena e invertida, se esterilizaron como se indicó en el procedimiento anterior, y posteriormente se hicieron las diluciones seriadas, esta prueba se realizó por triplicado, los tubos se incubaron 48 horas y se reportaron los datos obtenidos. Como se indicó en la técnica de los tubos múltiples, se prepararon de igual manera 10 tubos con CVBB y 10 tubos con MEC. Para la prueba confirmativa en esta técnica, se inoculó cada uno de los tubos que dieron positivos tanto para turbidez como para burbuja, y se inocularon 60  $\mu$ l en un tubo con CVBB y 60  $\mu$ l en un tubo con MEC. Se incubaron y se reportaron los resultados positivos (NMX-AA-42-1987).

### Técnica de los tubos múltiples

#### Prueba presuntiva:



#### Prueba confirmativa:

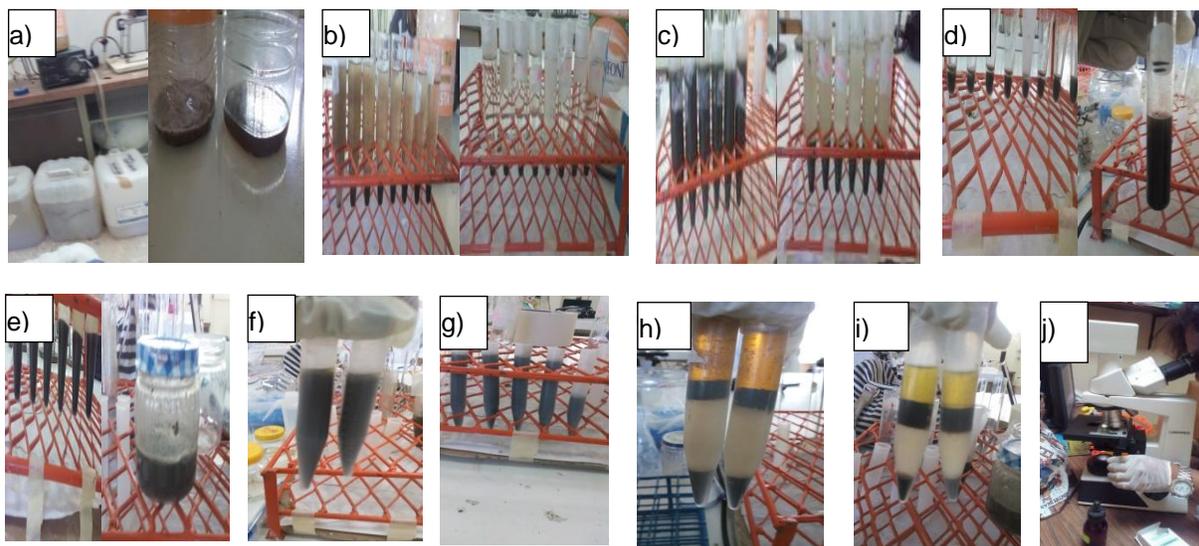


**Figura 2. Determinación de coliformes fecales en el agua residual utilizada como tratamientos:** a) preparación de CLSS, b) llenado de campana Durham y tubos con CLSS y muestra de agua residual, c) observación de burbuja en la campana de Durham y turbidez en el medio, d) llenado de tubos con CVBB y MEC con campana Durham invertida, e) tubos con CVBB y MEC inoculados con muestra de tubos de la prueba presuntiva, f) observación de burbuja en la campana de Durham y turbidez en ambos medios.

### **3.3.1.2 Análisis de presencia de huevos de helmintos en el agua residual utiliza como tratamientos**

Para el análisis de presencia de huevos de helmintos en el agua residual se utilizó la técnica de WHO (OMS), escrito por Ayres *et al.* (1996). A continuación se describe los pasos de esta técnica: se recolectaron 20 litros de agua residual en un contenedor, y permitió la sedimentación por 1 – 2 horas (contenedor con abertura en la parte superior, de paredes rectas ya que esto permite una remoción más sencilla del sobrenadante y permite enjuagar bien el contenedor). Para posteriormente se eliminó 90% de materia sobrenadante con una bomba peristáltica (marca Simón, modelo U.A. de C.), después de esto el sedimento se transfirió a uno o más tubos de centrifugación según el volumen obtenido, posteriormente los tubos se colocaron en una centrifuga (DAMON/IEC DIVISION, modelo IEC HN-SII), para ser centrifugados a 1000 revoluciones por minuto (RPM), durante 20 minutos, (enjuagar con solución detergente si quedan residuos), después de esto se transfirieron todos los sedimentos a un solo tubo y se volvió a centrifugar bajo las mismas condiciones (a 1000 revoluciones por minuto (RPM), durante 20 minutos), después de haber sido centrifugados se suspendió el sedimento en un volumen igual del tampón (volumen de sedimento obtenido) con buffer de ácido acetoacético ( $C_4H_6O_3$ ), (sí el sedimento es de menos de 2 ml, se añade hasta 4 ml), posteriormente se le agregaron dos volúmenes de acetato de etilo ( $C_4H_8O_2$ ) o de éter, se homogenizó en un vórtex (SCIOLOGEX, MX-S) y nuevamente se centrifugó durante 20 minutos y por consiguiente la muestra se separó en tres fases distintas. Se registró el volumen del sedimento, el cual contenía los huevos de helmintos, se retiró el material sobrenadante y se suspendió nuevamente el sedimento en cinco volúmenes de

solución de sulfato de zinc ( $ZnSO_4$ ) (ej. si el volumen de sedimento es 1 ml, agregar 5 ml de solución). Se registró el volumen del producto final. Se mezcló la muestra vigorosamente con el vórtex. Rápidamente se removió una alícuota con una pipeta Pasteur y se transfirió a una cámara McMaster para observación (se requiere al menos un volumen de 1.5 ml para llenar una cámara). Se dejó reposar la cámara en una superficie plana por 5 minutos. Esto permitió que los huevos de helmintos flotaran hacia la superficie. Se colocó la cámara en el microscopio y se usaron los objetivos con los aumentos de 10x y 40x. Para la identificación de los huevos helmintos solo se observó (densidad) dentro de la cuadrícula en ambas cámaras en base al manual de Ayres y Duncan (1996), Espinosa y Ríos (2014) así como de información publicada por la Dra. Uribarren (2015)



**Figura 3. Metodología para el análisis de presencia de huevos de helmintos en el agua residual utilizada como tratamientos:** a) sedimentación y eliminación sobrenadante, b) ART y c) ARC sedimentos centrifugados, d) ART y e) ARC sedimentos suspendidos con buffer (ácido acetoacético y acetato de etilo), f) ART y g) ARC sedimentos transferidos a tubos de centrifugación, h) ART y i) ARC separación de muestra en tres fases después de la centrifugación, j) observación de muestra en microscopio.

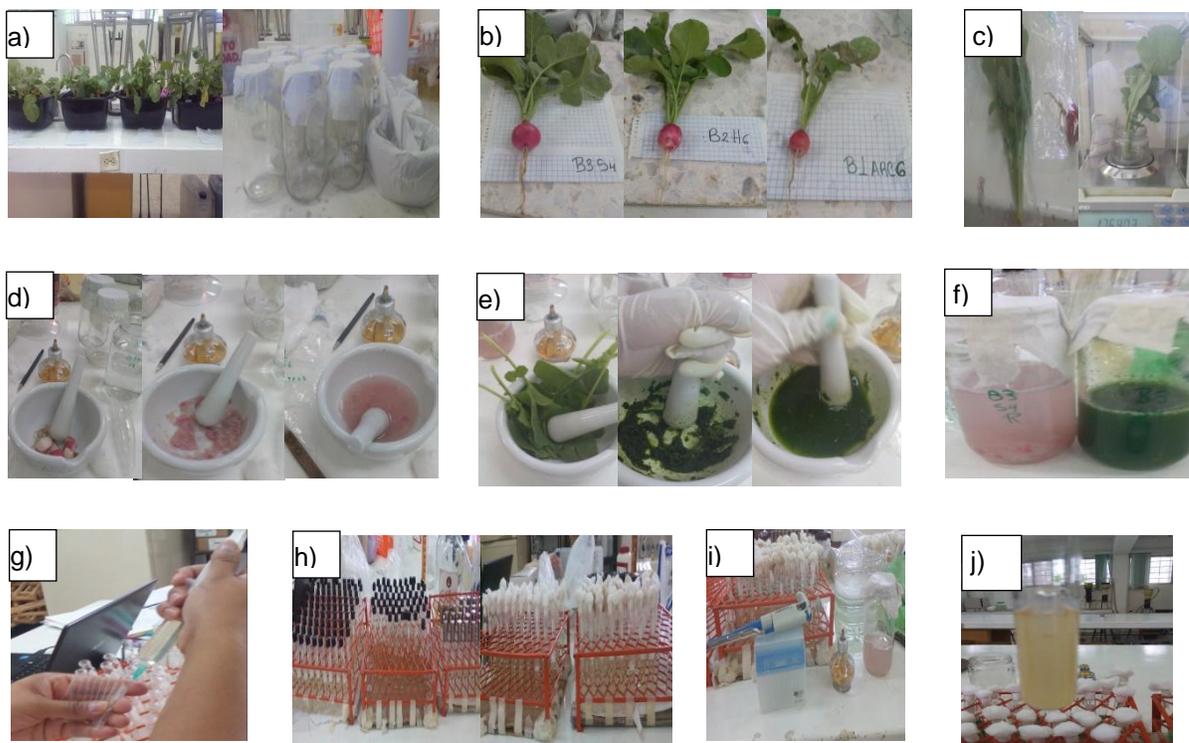
### **3.4 Análisis microbiológico referente a coliformes totales, coliformes fecales y huevos de helmintos contenidos en el rábano regado con los tres tratamientos**

**3.4.1 Determinación de coliformes fecales y totales:** el análisis microbiológico se hizo al final de los treinta días que le lleva al rábano desarrollarse. Se hizo una relación peso – volumen para determinar la cantidad de agua para cada unidad de rábano de acuerdo a su peso, en la cual se tomó como base que por cada 10g de muestra se le adicionan 90 ml de agua estéril. Se lavaron raíces y hojas con agua destilada para quitar el sustrato y posteriormente se pesaron las unidades de rábano, que consistió en hojas y raíces por separado y se colocaron en una bolsa plástica ziploc.

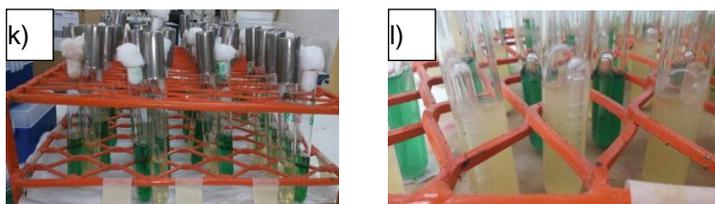
Se cortó cada muestra en trozos pequeños con un cuchillo estéril y se colocaron en un mortero que previamente fue esterilizado, se le adiciono un volumen de agua estéril y se machacó la muestra hasta obtenerse una suspensión completa y homogénea. Esta suspensión se colocó en frascos previamente esterilizados y etiquetados, se dejó reposar la muestra durante 30 min, ya lista esta solución se procedió determinar coliformes fecales utilizando la técnica de los tubos múltiples y la de diluciones que anteriormente fueron descritas en la determinación de coliformes fecales en agua residual antes de ser aplicada como riego (Camacho, 2009).

## Técnica de los tubos múltiples

### Prueba presuntiva:

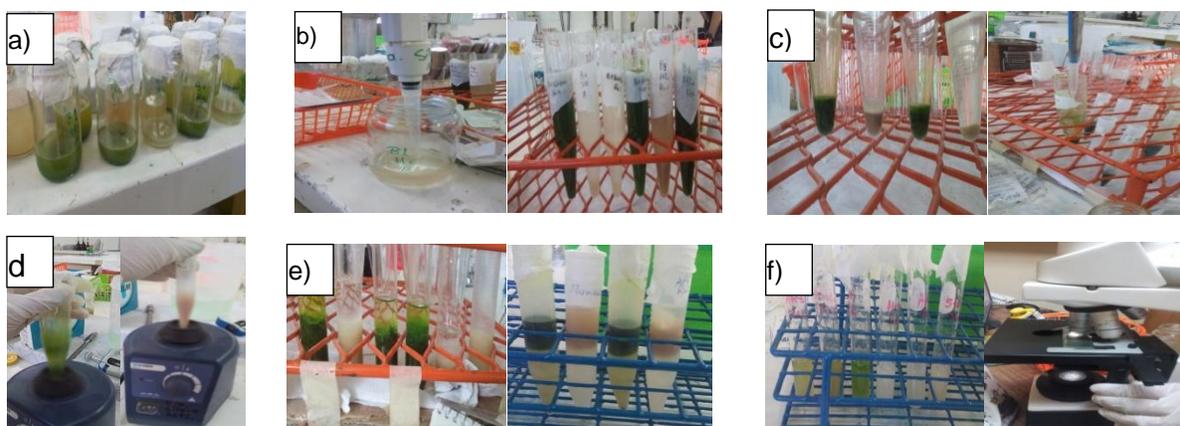


### Prueba confirmativa:



**Figura 4. Determinación de coliformes fecales y totales contenidos en el rábano regado con los tres tratamientos:** a) rábano a los treinta días y material estéril, b) lavado del rábano, c) pesado de unidades (hojas y raíces) por separado, d) y e) unidades de rábano en mortero estéril, machacado y adición de agua estéril, f) mezcla homogénea en frascos estériles, g) y h) llenado de campana Durham y tubos con CLSS, i) adición de muestra de rábano, j) observación de burbuja en la campana de Durham y turbidez en el medio, k) tubos con CVBB y MEC con campana Durham invertida, inoculados con muestra de tubos de la prueba presuntiva, l) observación de burbuja en la campana de Durham y turbidez en ambos medios.

**3.4.2 Determinación de huevos de helmintos:** se hizo una relación peso – volumen para determinar la cantidad de agua para cada unidad de rábano de acuerdo a su peso, en la cual se tomó como base que por cada 10 g de muestra se le adicionan 90 ml de agua estéril. Se lavaron raíces y hojas con agua destilada para quitar el sustrato y posteriormente se pesaron las unidades de rábano, que consistió en hojas y raíces por separado y se colocaron en una bolsa plástica ziploc. Se cortó cada muestra en trozos pequeños con un cuchillo estéril y se colocaron en un mortero que previamente fue esterilizado, se le adiciono un volumen de agua estéril y se machacó la muestra hasta obtenerse una suspensión completa y homogénea, se agregó en frascos previamente esterilizados y etiquetados, se dejó reposar la muestra durante 30 min, ya lista esta solución se procedió a realizar la misma metodología de la técnica de WHO (OMS), escrito por Ayres *et al*, (1996). Al tener las soluciones se procedió a observar en el microscopio e identificar los tipos de huevos presentes tanto en hojas como en raíz para cada uno de los tratamientos.



**Figura 5. Determinación de huevos de helmintos contenidos en el rábano regado con los tres tratamientos:** a) sedimentación y eliminación sobrenadante, b) transferencia de sedimentos a tubos de centrifugación, c) sedimentos centrifugados y suspendidos con buffer (ácido acetoacético, d) homogenización en vórtex, e) adición de acetato de etilo y separación de muestra en tres fases después de la centrifugación, j) suspensión con solución de sulfato de zinc y de observación

### 3.5 Diseño experimental:

Se utilizaron tres tratamientos y cuatro repeticiones.

Los tratamientos utilizados fueron:

T1= agua residual municipal sin tratar (con ajuste de nutrientes).

T2= agua residual municipal tratada por un sistema anaerobio/aerobio/humedal (con ajuste de nutrientes).

T3= (testigo) solución nutritiva (Steiner).

Para el análisis de datos en cuanto a concentración de coliformes fecales y totales se estimaron medias y promedios en base a la NOM-003-ECOL-1997. Esto se hace mediante tablas estadísticas establecidas por la NMX-AA-42-1987 (tabla de índice del NMP y límite confiable de 95% para varias combinaciones de resultados positivos y negativos cuando se usan: 5 tubos con porciones de 10 cm<sup>3</sup> en cada uno, 5 con porciones de 1cm<sup>3</sup> y con 5 porciones de 0.1 cm<sup>3</sup>), para calcular el número más probable (NMP) de organismos coliformes, organismos coliformes termo tolerantes y E. coli que pueda estar presente en 100 cm<sup>3</sup> de muestra, a partir de los números de los tubos que dan resultados positivos. Si se observa turbidez y producción de gas: la prueba se considera positiva, y se anota el número de tubos positivos, utilizando un código por ejemplo [5, 3, 3,] para efecto del cálculo del NMP. Si en ninguno de los tubos se observa producción de gas, aun cuando se observe turbidez se consideran negativos. Esos 3 números se obtienen al anotar el número de tubos positivos de la primera serie de 5 tubos, la segunda serie y la tercera serie.

Para el análisis de datos de la determinación de presencia de huevos de helmintos solo se observó (densidad) dentro de la cuadrícula en ambas cámaras y se identificaron utilizando la técnica de WHO (OMS), escrito por Ayres y Duncan (1996), así como en base al manual de Espinosa y Ríos (2014) y de información publicada por Uribarren (2015).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Resultados de concentración de coliformes obtenidos en las muestras de los efluentes

Los resultados de concentración de coliformes obtenidos en las muestras de los efluentes antes de establecer el cultivo y utilizados como tratamientos se muestran en la Tabla 1. Se observa que el tratamiento Steiner no presenta ni coliformes ni huevos de helmintos y era de esperarse, debido a que esta solución fue preparada con nutrientes minerales y agua destilada. En cambio el agua residual cruda (ARC), muestra altas concentraciones de coliformes fecales (CF) y coliformes totales (CT), valores que son superiores a los valores de CT y CF del agua residual tratada (ART).

**Tabla 1. Coliformes presentes en los efluentes aplicados utilizados para riego de un cultivo de rábano (*Raphanus sativus* L.) var. Champion.**

Tratamientos	Coliformes totales (NMP/100 ml)	Coliformes Fecales (NPM/100 ml)
ARC	$7 \times 10^7$	$1 \times 10^6$
ART	$1 \times 10^4$	46
Solución Steiner	0	0

ARC: Agua residual cruda

ART: Agua residual tratada (humedal)

NMP: Número Más Probable.

El resultado de concentración de C F en ARC de esta investigación es menor a comparación de los datos reportados por Rivera *et al.* (2007), reportan datos de  $1.6 \times 10^4$  a  $2.4 \times 10^7$  NMP /100 mL<sup>-1</sup> para CT y de  $1 \times 10^4$  a  $2.4 \times 10^7$  para CF en aguas residuales no tratadas, descargadas en ríos de Texcoco.

Por otra parte los resultados de la concentración de CT en ART es inferior a la obtenida por Ramón *et al.* (2009), ya que ellos reportaron una concentración de  $1.6 \times$

$10^7$  NMP/100ml (agua de lagunas de oxidación en serie); otro estudio realizado en agua proveniente de lagunas de estabilización presento concentraciones de  $4.02 \times 10^6$  NMP/100ml para CT y  $1.09 \times 10^5$  NMP/100ml para CF (Valbuena *et al.*, 2002).

Al comparar los resultados de estos autores con los obtenidos en esta investigación indican que el ART utilizada en este caso tiene menor carga de coliformes fecales. Por otro lado González *et al.* (20014), al hacer el recuento de bacterias totales detectaron  $3.9 \times 10^6$  UFC/ ml,  $2.4 \times 10^4$  /100ml coliformes fecales y  $2.1 \times 10^4$  /100 ml enterococos.

Este resultado muestra que el ART puede ser empleada en servicios al público con contacto indirecto u ocasional como lo es el riego de áreas verdes y jardines, pero no para servicios al público con contacto directo como lo es el riego de hortalizas, sobre todo aquellas que se consumen sin cocción, debido a que no sobrepasan las 1,000 NMP/100 ml que establece la NOM-003-ECOL-1997 como límite máximo permisible en cuanto a coliformes fecales.

#### **4.2 Resultados del análisis de coliformes en muestras de rábano regadas con efluentes residuales**

Los valores promedio de la determinación de coliformes contenidos en hoja y raíz de rábano regado con tres diferentes efluentes (dos tratamientos y un testigo) se muestran en la Tabla 2. El rábano regado con el efluente testigo no presento contaminación por coliformes contrario, a los rábanos regados con agua residual tratada y agua residual cruda.

Los resultados obtenidos en esta investigación son similares a los obtenidos por Monge *et al.* (1996), estos autores muestran concentraciones de  $61.5 \times 10^3$  a  $9.6 \times 10^7$  para CF en muestras de hortalizas regadas con ARC.

Por otro lado Cisneros *et al.* (2001), presentan concentraciones de  $1 \times 10^3$  NMP/100 ml para CF, en muestras de rábano y otras hortalizas cultivadas bajo condiciones de invernadero con aplicación de diferentes efluentes: agua potable como testigo; agua residual tratada con desinfección (ATCD) y agua residual tratada sin desinfección (ATSD). En esta investigación a pesar de no realizar una desinfección con cloro, después del tratamiento, se detectaron CF en ordenes de  $10^3$  tanto para rábanos regados con ART como para AC, concentrándose en mayor cantidad en las hojas, lo que pudiera atribuirse al riego manual y al posible contacto debido a que el diseño del experimento fue bloques completamente al azar.

Los resultados de los análisis microbiológicos del rábano (hojas y raíz), muestran que no son aptos para consumo humano, debido a que sobrepasan las 240 NMP/100 ml que establece la NOM-003-ECOL-1997 como límite máximo permisible en cuanto a coliformes fecales.

En el análisis inicial la cantidad de CF de los efluentes era menor a la del análisis del cultivo de rábano, una hipótesis acerca de esto puede ser que se hayan concentrado debido al constante riego y posiblemente a la proliferación de estos microorganismos.

Las coliformes totales constituyen géneros como *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Hafnia*, etc., mientras que las coliformes fecales están constituidas por géneros termoresistentes *E. coli* y algunas cepas de *Enterobacter* y *Klebsiella*. Por tal motivo las CT son más numerosas que las CF.

Los resultados de CT y CF señalan que las coliformes se concentran en mayor cantidad en la raíz, siendo esta la parte comestible del rábano.

De acuerdo a la norma en mención sólo el rábano regado con solución Steiner al 100% cumpliría como agua para riego de hortalizas para consumo humano.

**Tabla 2. Valores promedio de coliformes en muestras de hoja y raíz de rábano (*Raphanus sativus* L.) var. Champion regados con efluentes residuales.**

Tipo de riego	Muestra	Coliformes totales (NPM/100 ml)	Coliformes fecales (NPM/100 ml)
ARC	Hojas	$2.8 \times 10^4$	$3.25 \times 10^3$
	Raíz	$3.25 \times 10^4$	$3.25 \times 10^3$
ART	Hojas	$2.05 \times 10^3$	$2.05 \times 10^3$
	Raíz	$1.825 \times 10^3$	$1.825 \times 10^3$
STEINER	Hojas	0	0
	Raíz	0	0

ARC: Riego con agua residual cruda; ART: Riego con agua residual tratada (humedal); NMP: Número Más Probable.

#### 4.3. Resultados de la identificación de huevos de helmintos en muestras de agua residual

Al analizar agua residual se observó poca abundancia de *Hymenolepis* sp ( $\leq 1$  h/l) en muestras de ART, mientras que en muestras de ARC se encontró muy abundante la presencia de *Ascaris lumbricoides* maduro ( $\leq 5$  h/l) y *Enterobius vermicularis* ( $\leq 1$  h/l) en poca abundancia de acuerdo a la NOM-003-ECOL-1997 (Figura 6).



Figura 6. Huevos de helmintos encontrados en el agua residual: a) *Hymenolepis* sp., b) *Ascaris lumbricoides* (maduro), c) *Enterobius vermicularis*.

Estos datos son similares a los reportados por Valbuena et al. (2002), ya que detectaron *Ascaris sp.* y *Ancylostoma sp.* en muestras de ARC y ART proveniente de lagunas de estabilización. Por otro lado Ortiz (2012), al analizar muestras de ARC y ART de un sistema que comprende tratamiento primario de cribado, desarenado y tratamiento secundario donde se utiliza un zanjón de oxidación y un sedimentador, observó parásitos de *Áscaris sp.*, *Uncinaria sp.*, *Hymenolepis diminuta*, *Tricocéfalo*, *Hymenolepis nana* en ARC, y *Áscaris sp.*, *Uncinaria sp.*, *Tricocéfalo* en ART. Siendo *Áscaris sp.* el parásito más predominante, en un 92,5 % de las muestras de ARC.

Por otra parte en un estudio sobre la eficiencia de remoción Platzer (2002), reportó que en un Sistema de Humedales de Flujo superficial que incluye una tapa de pretratamiento, tratamiento primario y tratamiento secundario (formado por cuatro unidades de biofiltro que operan en paralelo e independientemente), y proporciona un tiempo de sedimentación de dos horas, material de relleno (escorias volcánicas conocidas como hormigón rojo y piedra volcánica negra, piedrín) y diferentes variedades de plantas macrófitas y pastos (*Canna glauca* unidad I, *Pennisetum purpureum* unidad II, *Phragmites australis* unidad III Y *Typha domingüensis*, *Cyperus articulatus L.* y *Phalaris arundinacea* unidad IV) con un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 3.5 días en cada unidad a temperatura ambiente, logró remover 99.6% de huevos de helmintos y solo fueron detectados 2 larvas en todas las muestras analizadas. Estos resultados son similares a esta investigación, las muestras correspondían a agua residual municipal tratada por un sistema anaerobio/aerobio/humedal (con ajuste de nutrientes) con un tiempo de retención

hidráulica (TRH) total de 240 horas (10 días) a temperatura ambiente y solo se encontró un huevo.

#### 4.4 Resultados de presencia de huevos de helminto en las muestras del rábano

Los resultados de las muestras del rábano regado con ART mostraron baja abundancia de *Metastrongylus sp* en muestras de hojas y en las muestras regadas con ARC se encontró alta abundancia de *Ascaris* (no fertilizado) y *Diphyllobothrium latum* tanto en hoja como raíz (Figura 7).



Figura 7. Huevos de especies de helmintos encontrados en muestras de rábano: a) *Metastrongylus sp*, b) *Ascaris* (no fertilizado), c) *Diphyllobothrium*

Los resultados de las muestras de rábano regado con ARC de esta investigación son diferentes a los obtenidos por Monge *et al.*, (1996) ya que reportaron presencia de *Cryptosporidium sp*, *Entamoeba coli* y *Entamoeba histolytica*. En otro estudio se realizaron evaluaciones para determinar la contaminación de lechugas con enteroparásitos que fueron regadas con ARC, se logró identificar *Strongyloides sp.*, *Anquilostomideos*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli*, *Ooquistes de Toxoplasma gondii*, *Toxocara sp.*, *Blastocystis hominis* y *Endolimax nana*, (Travieso-Valles *et al.*, 2004).

Por otro lado los resultados de las muestras de rábano regado con ART difieren de los resultados obtenidos por Cisneros *et al.*, (2001) ya que ellos reportan nula presencia de huevos de helminto en muestras de rábano regado con ART (con previa desinfección por cloro).

## **V. CONCLUSIONES:**

Los resultados de esta investigación demuestran que es posible disminuir la concentración de microorganismos patógenos como las bacterias coliformes y huevos de helmintos de las aguas residuales crudas a través de un tratamiento secuencial biológico.

Se rechaza la hipótesis planteada, “el cultivo de rábano regado con agua residual tratada tendrá la calidad microbiológica para reuso con contacto directo de acuerdo a la NOM-003-SEMARNAT-1997”.

El ART no puede ser empleada para servicios al público con contacto directo ya que sobrepasan las 240 NMP/100 ml que establece la NOM-003-SEMARNAT-1997 como límite máximo permisible en cuanto a coliformes fecales.

## VI. LITERATURA CITADA:

- Alfredo, G., J. Cisneros, J. Dante, J. Plevich y A. R. Sanchez. 2013. Tecnologías verdes para el aprovechamiento de aguas residuales urbanas: análisis económico. *Rev. Ambient. Água*. 8 (3): 119-128.
- Al-Hamaiedeh H., Bino M. 2010. Effect of treated grey water reuse in irrigation on soil and plants. *Desalination*. 256: 115-119.
- Anderson, S, B., R. R. F. Nogueira, E. P. De Carvalho, R. C. G. Ferreira, T. G. G. Brassea, M. C. Zabeu, E. G. S. Lima, P. L. Souza, C. A. Xavier, M. Szamszoryky y C. M. Lara. 2010. Análisis comparativo de los métodos para la detección de parásitos en las hortalizas para el consumo humano. *Rev Cubana Med Trop*. 62 (1): 21-27.
- Antonio C., 2002. Investigación de la biomineralización anaerobia de colorantes contenidos en aguas residuales generadas por la industria textil. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo en la Especialidad de Farmacia Industrial. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coah. México.
- Arcos, M., S. Ávila, S. Estupiñán y A. Gómez. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *NOVA - Publicación Científica*. 3(4):69-79.

- Arnedo, I., M. Bracho, O. Díaz-Suárez y L. Botero. 2008. Técnicas para la detección de *Cryptosporidium* sp. en sistemas de tratamiento de agua residual. *Kasmera*. 36 (2): 121-128.
- Arreguín Cortés F.I., Paz Soldán Córdoba G.A. 1999. El Panorama del Agua en México. 42 Congreso Nacional de ACODAL.Tema: *Hacia la calidad: necesidad para el próximo milenio*. Barranquilla, Col. Septiembre 23-26.
- Ávila, N. S. y S. M. Estupiñán. 2013. Calidad sanitaria del agua del Parque Natural Chicaque. *NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. 11 (20): 45-51.
- Ayres, R. and D. Duncan. 1996. Analysis of Wastewater for use in Agriculture-A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques. World Health Organization, Geneva, Italia. 31 pp.
- Camacho, A., M. Giles, A. Ortégón, M. Palao, B. Serrano y O. Velázquez. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2a edición. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 9 pp.
- Campos-Pinilla, C., M. Cárdenas-Guzmán y A. Guerrero-Cañizares. 2008. Comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en diferente tipo de aguas de la Sabana de Bogotá (Colombia). *Universitas Scientiarum*. 13 (2):103-108.
- Chan Y.J., Chong M.F., Law C.L., Hassel D.G. 2009. A review on anaerobic – aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal*. 155: 1 – 18.

- Cisneros-Estrada, O. X y J. González-Meraz. 2001. Reusó del agua en agricultura de invernadero. Memorias del XI Congreso Nacional de Irrigación, Simposio 9. Contaminación, tratamiento y reusó del agua. Del 19 al 21 de Septiembre del 2001. Guanajuato, Guanajuato, México. 56-60
- Comisión nacional del agua (CONAGUA). 2015. Normas Oficiales Mexicanas. Introducción para las nom's del sector agua. Disponible en: <http://www.cna.gob.mx/Contenido.asp>
- Contreras, S. y M. G. Galindo. 2008. Abasto futuro de agua potable, análisis espacial y vulnerabilidad de la ciudad de San Luis Potosí, México. Cuadernos de geografía - Revista Colombiana de Geografía. 17: 128-137.
- Cuenca-Adame, E., D. Riestra-Díaz, J. M. Pérez -Mangas y A. Echegaray-Alemán. 2001. Uso de aguas residuales y control de organismos patógenos en la producción de cebolla. Agrociencia. 35 (3): 255-265.
- Díaz-Sobac, R. y J. Vernon-Carter. 1999. Inocuidad microbiológica de frutas frescas y mínimamente procesadas. Ciencia y Tecnología Alimentaria. 2 (3): 133-136.
- Espinosa, R. B. y E. F. Ríos. 2014. Relevamiento coproparasitario en criaderos familiares de cerdos en Uruguay. Tesis de Grado para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad de La República, Facultad de Veterinaria. 1-55pp
- Fasciolo, G., M. Meca, E. Calderón y M. Rebollo. 2005. Contaminación microbiológica en ajos y suelos regados con efluentes domésticos tratados, Mendoza (Argentina). Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Tomo XXXVII (1): 31-40.

- García, L. y J. Iannacone. 2014. Pseudomonas aeruginosa an additional indicator of drinking water quality: a Southamerican bibliographic analysis. *The Biologist* (Lima). 12 (1): 133-152.
- Garzón-Zúñiga, M. A. y G. Buelna. 2014. Caracterización de aguas residuales porcinas y su tratamiento por diferentes procesos en México. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 30 (1): 65-79
- Gil, P., Y. Espinoza y L. Malpica. 2011. Evaluación microbiológica de las aguas de riego de la zona agrícola de Barbacoas, estado Aragua. *Rev. Fac. Agron.* 37: 20-26.
- González, A.V., M. Pol, C.G. Catracchia, Flores, M. Herrero y D. A. Riascos. 2014. Efecto del riego con efluentes sobre el comportamiento en pastoreo de vacas lecheras. Tesis de Profesionalización para optar el título de Química Industrial. Universidad Tecnológica De Pereira.
- Hernandez, J., Y. Espinoza, L. Malpica y M. De Jesus. 2011. Calidad del agua de riego y parámetros microbiológicos y químicos del suelo de la zona agrícola de Barbacoas, estado Aragua. *Rev. Fac. Agron.* 37 (1): 2-10.
- Hernández-Acosta, E., E. E. Quiñones-Aguilar, D. Cristóbal-Acevedo, J. E. Rubiños-Panta. 2014. Calidad biológica de aguas residuales utilizadas para riego de cultivos forrajeros en Tulancingo, Hidalgo, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente.* XX (1): 90-99. .
- Lahora, A. 1998. Humedales controlados como tratamiento terciario de aguas residuales urbanas. Universidad de Almería. 1-14pp.

- Monge, R., M. Chinchilla y L. Reyes. 1996. Estacionalidad de parásitos y bacterias intestinales en hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 44(2): 369-375.
- Moreno, J., A. Colín y O. Vázquez. 1992. Remoción de fenoles, detergentes y coliformes presentes en aguas residuales por medio de irradiación. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 8 (I), 29-35.
- Norma Mexicana NMX-AA-42-1987. Calidad del agua determinación del número más probable (NMP) de coliformes totales, coliformes fecales (termotolerantes) y *Escherichia. coli* presuntiva. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial.
- 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.
- Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. (Publicada en el D.O.F. el 21 de septiembre de 1998).
- Ortega, S.F. y R.G. Orellana. 2007. El riego con aguas de mala calidad en la agricultura urbana. Aspectos a considerar. II. Aguas residuales urbanas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias.* 16 (3): 25-27.
- Ortiz, C., M. C. López y F. A. Rivas. 2012. Prevalencia de helmintos en la planta de aguas residuales del municipio el Rosal, Cundinamarca. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. *Rev. Salud Pública.* 14 (2): 296-304

- Peasey A., Blumenthal U., Mara D., Ruiz Palacios G. 2000. A Review of Policy and Standards for Wastewater Reuse in Agriculture: A Latin American Perspective. Task No: 68, Part II. London School of Hygiene & Tropical Medicine, UK. WEDC, Loughborough University, UK.
- Pérez-Cordón, G., M. J. Rosales, R.A. Valdez, F. Vargas-Vásquez y O. Cordova. 2008. Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo, Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 25 (1): 144-148.
- Platzer, M., 2002. Investigaciones y Experiencias Con Biofiltros En Nicaragua, Centro América. XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Cancún, México, 27 al 31 de octubre.
- Puig, Y., V. Leyva, A. Rodríguez, J. Carrera, P. Molejón, Y. Pérez y O. Dueñas. 2013. Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 13 (1): 111-119.
- Ramírez, E., E. Robles, M. G. Sainz, R. Ayala y E. Campoy. 2009. Calidad microbiológica del acuífero de Zacatepec, Morelos, México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 25 (4): 247-255.
- Ramón, Z. F., N. J. G. Rodríguez, D. G. R. Torres y H. J. C. Yendis. 2009. Uso de agua residual y contenido de materia orgánica y biomasa microbiana en suelos de la llanura decoro, Venezuela. Agricultura Técnica en México. 35 (2): 212-218.

- Riascos, S. D. A. 2014. Efecto del tipo de flujo en la cinética de remoción de organismos indicadores de contaminación bacteriológica en humedales construidos sembrados con papiro (*Cyperus, sp*) usando agua residual doméstica proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales domesticas de la U.T.P., Tesis de Profesionalización para optar el título de Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira.1-123pp.
- Rivas, B. A. L., G. V. M. Nevárez, R. G. M. Bautista, A. H. Pérez y R. T. Saucedo. 2003. Tratamiento de aguas residuales de uso agrícola en un biorreactor de lecho fijo. *Agrociencia*. 37 (2): 157-166.
- Rivera, J. M., C. U. Rodríguez, J. O. López. 2009. Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*. 26 (1): 45-48.
- Rivera-Vázquez, R., Ó. I. Palacios-Vélez, J. M. Chávez, M. A. Belmont, I. Nikolski-Gaveilov, M. L. B. De la Isla, A. Guzmán-Quintero, L. Terrazas-Onofre y R. Carrillo-González. 2007. Contaminación por coliformes y helmintos en los ríos Texcoco, Chapingo y San Bernardino tributarios de la parte oriental de la cuenca del Valle de México. *Rev. Int. Contam. Ambient*. 23 (2): 70-77.
- Roa, A. L. y V. Cañizares. 2012. Biorremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*. 10 (1): 72-79.
- Rojas, R. 2002. Curso Internacional "Gestión integral de tratamiento de aguas residuales" 25 al 27 de setiembre. Conferencia Sistemas de Tratamiento de

Aguas Residuales. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente.1-19pp.

Rosegrant M.W., Cai X., Cline S.A. 2002. Panorama global del agua hasta el año 2025: Cómo impedir una crisis inminente. Una visión 2020 para la Alimentación, la Agricultura y el Medio Ambiente. Instituto Internacional de Investigación sobre Políticas Alimentarias. Washington, D.C., EE.UU.

Sánchez-Pérez, H. J., M. G. Vargas-Morales, y J. D. Méndez-Sánchez. 2000. Calidad bacteriológica del agua para consumo humano en zonas de alta marginación de Chiapas. Salud Pública de México. 42 (5): 397-406.

Sarabia, M., R. Cisneros, J. Aceves, H. Durán y J. L. Castro. 2011. Calidad del agua de riego en suelos agrícolas y cultivos del Valle de San Luis Potosí, México. Rev. Int. Contam. Ambie. 27 (2): 103-113.

Segura, P. M. L., E. M. Exposito y J. I. P. Contreras. 2006. Reutilización de aguas residuales urbanas para la horticultura. Industria Hortícola. 196: 16-19.

Siebe, C. 1994. Acumulación y disponibilidad de metales pesados en suelos regados con aguas residuales en el distrito de riego 03, Tula, Hidalgo, México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 10 (I): 15-21.

Silva, J., P. Torres y C. Madera. 2008. Reusó de aguas residuales domésticas en agricultura. Una revisión. Agronomía Colombiana. 26(2): 347-359.

Silva, S. E., A. Muñoz, M.L. de la Isla y S. Infante. 2002. Contaminación ambiental en la región de Atlixco: Agua. Terra 20: 243-251.

Srinu Naik. S and Y. Pydi Setty. 2012. A Comparative Study on Low and High Density Polymer as Support Material for Immobilization of Denitrifying Bacteria in

Biological Wastewater Treatment. International Conference on Chemical, Environmental and Biological Sciences. Penang, Malaysia: 34 – 37.

Tommaso G., Varesche M.B., Zaiat M., Vazoller R.F., Foresti E. 2002. Morphological observation and microbial population dynamics in anaerobic polyurethane foam biofilm degrading gelatin. 19, (03): 287 – 292.

Torres, P., C. C. Hernán y P. J. Patiño. 2009. Índices de calidad de agua en fuentes superficiales utilizadas esta Ingenierías Universidad de Medellín. 8 (15): 80-94.

Travieso-Valles, L. J. Dávila, R. Rodríguez, O. Perdomo y J. Pérez. 2004. Contaminación enteroparasitaria de lechugas expandidas en mercados del estado Lara. Venezuela. Parasitol Latinoam. 59: 167-170

Trooien T.P. y Hills D.J. 2007. Microirrigation for Crop Production. Chapter 9: Application of Biological Effluent. Elsevier B.V. U.S.A.

Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). 2015. Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y Escherichia coli por la técnica de diluciones en tubo múltiple (número más probable o NMP). Facultad de Química. Departamento de Programas Audiovisuales. Disponible en: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Analisis\\_Agua\\_NMP\\_22309.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Analisis_Agua_NMP_22309.pdf).

Uribarren, B.T. 2015. Enterobiosis o Enterobiasis. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. berrueta@unam.mx

Valbuena, D., O. Díaz-Suárez, L. Botero-Ledesma y R. Cheng-Ng. 2002. Detección de helmintos intestinales y bacterias indicadoras de contaminación en aguas residuales, tratadas y no tratadas. Interciencia. 27 (12): 27 (12).

- Vega, M., M. Jiménez, R. Salgado y G. Pineda. 2005. Determinación de bacterias de origen fecal en hortalizas cultivadas en Xochimilco de octubre de 2003 a marzo de 2004. Facultad de Ciencia y Tecnología. Investigación Universitaria Multidisciplinaria. 4 (4): 21-25.
- Veliz, L. E., J. O. Llanes, L. F. Asela y M. V. Bataller. 2009. Reúso de aguas residuales domésticas para riego agrícola. Valoración crítica. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 40 (1): 35-44.
- Villanueva, R. C. y M. S. Silva. 1998. Protozoarios y helmintos en hortalizas comestibles que se expenden en los mercados de la ciudad de Ica. Revista Peruana de Parasitología. 13 (1): 84-89.