

CRECIMIENTO DE *SCENEDESMUS QUADRICAUDA* EN EFLUENTES CLOACALES DE LA CIUDAD DE TRELEW, CHUBUT, ARGENTINA

Lizeth Méndez Suaza,³ Isabel Albarracín,^{1,2} Marcela Cravero¹ y Ruth Salomón¹

¹ Facultad de Ciencias Naturales – UNPSJB – Roca 115 – 1er. Piso - Trelew. Chubut. Argentina.

² Estación de Fotobiología. CONICET - Playa Unión. Chubut. Argentina,

E-mail: fames@ar.inter.net

³ Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, Colombia

RESUMEN

La creciente problemática frente al tratamiento de aguas residuales y su posible reuso ha planteado sistemas biológicos que remuevan los contaminantes manteniendo el ecosistema y disminuyendo costos. Este trabajo consiste en un ensayo de biorremediación evaluando la tasa de crecimiento de *Scenedesmus quadricauda* cultivada en efluentes domiciliarios de la ciudad de Trelew, Chubut, Argentina. Diariamente se determina conductividad, pH y densidad celular. Al inicio y al final de ensayo se obtienen valores para fosfato, fósforo total, sulfuro, amoníaco, nitrito, nitrato, detergentes, DBO₅, DQO y número más probable de coliformes totales y fecales. Se observa una disminución en amoníaco, fósforo, fósforo total, DBO₅ y DQO lo que confirma la efectividad en la remoción de nutrientes en aguas residuales de naturaleza orgánica. Por ello, *S. quadricauda* se plantea como una posible alternativa de bajo costo para la descontaminación de aguas residuales urbanas.

Palabras clave: Argentina, *Scenedesmus quadricauda*, crecimiento, efluentes cloacales, depuración.

SCENEDESMUS QUADRICAUDA GROWTH IN SEWAGE EFFLUENTS OF TRELEW CITY, CHUBUT, ARGENTINA

ABSTRACT

The growing problem against the waste water treatment and its possible reuse has raised biological systems that remove the polluting agents preserving the ecosystem and diminishing costs. This work consists of a bioremediation test evaluating the growth rate of *Scenedesmus quadricauda* cultivated in Municipal Wastewater of Trelew city, Chubut, Argentina. Conductivity, pH and cellular density are determined daily. Values for phosphate, total phosphorus, sulfide, ammonia, nitrite, nitrate, detergents, DBO₅, DQO and more probable number of total and faecal coliforms are obtained at the beginning and the end of the test. A diminution is observed in ammonia, phosphorus, total phosphorus, DBO₅ and DQO which confirms its effectiveness in nutrient removal of organic nature waste water. So, *S. quadricauda* is presented as a possible alternative of low cost for urban water residual decontamination.

Key words: Argentina, *Scenedesmus quadricauda*, growth, waste water, purification

INTRODUCCIÓN

En los problemas de contaminación ambiental y reciclaje de residuos, se comprueba que las microalgas pueden desempeñar un papel importante en la transformación de la materia orgánica e inorgánica de las aguas residuales en biomasa y agua tratada que puede utilizarse para riego. (Shelef y col., 1978)

Las aguas residuales son ricas en todo tipo de compuestos que permiten sostener el metabolismo de ciertos microorganismos fotosintéticos; esta es la base de la depuración, donde la digestión aerobia de la materia orgánica mediada por bacterias se mantiene gracias al oxígeno producido por las microalgas, las cuales incorporan los compuestos residuales de la oxidación generando un proceso depurativo eficaz. (Riquelme y Avendaño, 2003; Khowaja, 2000)

Las microalgas son capaces de remover microorganismos patógenos, metales pesados, y compuestos orgánicos tóxicos mediante procesos aún en vías de estudio. (Oswald, 1988a y b; De Philippis y col., 2002; Choonawala and Swalaha, 2002; Larsdotter y col., 2002; Hanuk and Acoul-Gyun, 2002)

Dado que una gran variedad de estos microorganismos crecen en medios completamente inorgánicos, confiriéndoles capacidades para remover nutrientes y al mismo tiempo producir material celular potencialmente útil, se iniciaron estudios sobre su aplicación en el tratamiento de aguas residuales desde la década de los 40, al respecto se citan los trabajos de Cadwell (Cadwell, 1946) y más tarde de Oswald y Gotaas (Oswald y Gotaas, 1957), quienes introdujeron un nuevo concepto en la producción masiva de microalgas, demostrando que los cultivos a gran escala podrían ser simultáneamente utilizados para el tratamiento de aguas residuales y la producción de biomasa para la obtención de proteína vegetal.

Desde los años 60, el tratamiento de las aguas residuales se convirtió en prioridad a nivel mundial ya que los vertidos indiscriminados, entre otros de nitrógeno y fósforo, en los cursos de agua dulce y aguas costeras provocaron la eutrofización con graves consecuencias sanitarias y ecológicas. (Shelef y col., 1978; Thaer, 2002; Hu y Sommerfeld, 2004)

Los trabajos de Wong y Lay, Moscoso, Peinador, González y col., Kumar y Sierp, Romero, Salazar, Kamilya y col. y Chindah y col. demostraron que los sistemas algales pueden ser utilizados para el tratamiento biológico de aguas residuales, mediante la conversión de los nutrientes presentes en dichas aguas, en biomasa algal. (Wong y Lay, 1980; Moscoso, 1993; Peinador, 1999; González y col., 2001; Kumar y Sierp, 2003; Romero, 2005; Salazar, 2006; Kamilya y col, 2006 y Chindah y col, 2007) Otros trabajos como los de Charpy y col. y Olguín y col. sugieren el uso de efluentes como suplemento reutilizable para cultivo de microalgas. (Charpy y col., 2004 y Olguín y col, 1994)

Lavoie y col., Yi-xiong y col., Kaya y col., Voltonina y col. y Chacón y col. trabajaron con cultivos de *Scenedesmus* sp. como una alternativa de tratamiento biológico para efluentes cloacales. (Lavoie y De la Noue, 1985; Yi-xiong y Bo-zen, 1987; Kaya y col., 1995; Voltonina y col., 1998 y Chacón y col, 2006)

La biomasa algal permite la extracción de metabolitos secundarios aprovechables como materia prima en la industria agrícola y como fuente alternativa de energía. (Thajuddin y Subramanian, 2005; Chisti, 2007)

En Chubut, Argentina se han llevado a cabo algunos estudios referidos a la depuración de efluentes de plantas pesqueras, (Ciccarone, 1997) a la evaluación de la tasa de crecimiento de *Chlorella vulgaris* en efluente cloacales de la ciudad de Trelew (Albarracín y col., 2005) y la potencialidad de *Chlorella vulgaris* como biofertilizante. (Gigena, 2003)

En el caso específico de la ciudad de Trelew (Fig. 1), ubicada en el valle inferior del Río Chubut, en Argentina, vierte sus aguas residuales domésticas y parte de sus pluviales a un sistema de lagunas. Estos cuencos naturales, que funcionan como lagunas de estabilización, proveen tratamiento biológico a los efluentes de la ciudad.

Las aguas residuales son impulsadas desde una planta de bombeo ubicada en zona céntrica de la ciudad, donde se realiza un tratamiento primario mediante rejillas. Luego por un entubamiento de casi 5 km, llega a la denominada "laguna 3" que se comunica con la "laguna 4" unida actualmente a la "laguna 5" con las últimas lluvias del invierno de 1992 (Fig. 2). (Esteves, 1996)

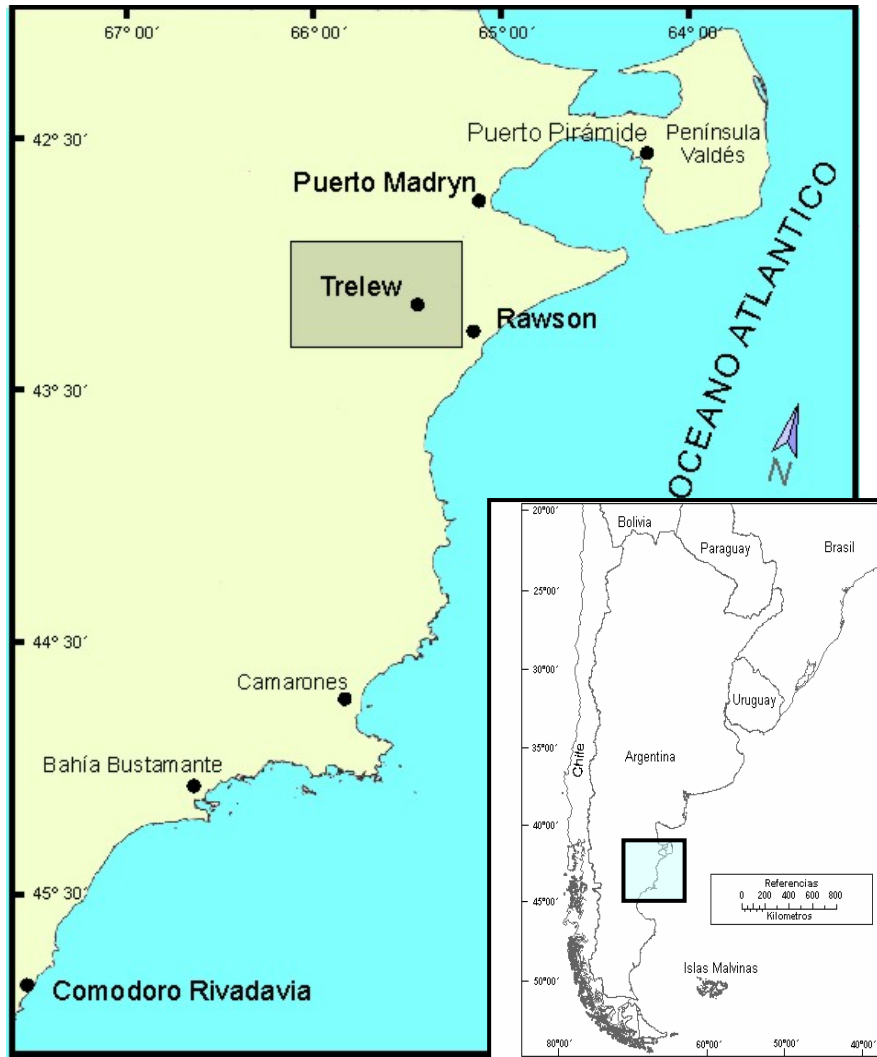


Fig. 1 Ubicación geográfica de la ciudad de Trelew.



Fig. 2 Lagunas de estabilización.

Partiendo de la creciente problemática local referente a las descarga de los efluentes domiciliarios y el destino final de esas aguas cloacales el uso de microalgas es una alternativa para tratar aguas negras de naturaleza orgánica,

provenientes de la ciudad de Trelew posibilitando la obtención de subproductos con un costo de producción bajo. (Romero y col., 2001; Romero y col., 2000; Suárez y Romero, 1990; Suárez y col., 1992; Olvera y col., 2000) Teniendo en consideración las posibilidades que brindan las microalgas en el tratamiento de los residuales de naturaleza orgánica y la disponibilidad de lagunas en la ciudad de Trelew, se diseñó la presente investigación, con el objetivo de evaluar la tasa de crecimiento de *Scenedesmus quadricauda* en los efluentes cloacales de la ciudad como método alternativo para solucionar el problema de contaminación existente.

MATERIALES Y MÉTODOS

La microalga utilizada, *Scenedesmus quadricauda*, LMPA41, proveniente del cepario del Laboratorio de Microalgas de la Facultad de Ciencias Naturales de la sede Trelew de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), fue mantenida en medio Detmer modificado (Accorinti, 1960) en cámara bajo condiciones controladas de temperatura ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) e iluminación con fotoperíodo 16:8 (2 800 lux).

Los ensayos se hicieron con un volumen de 1 000 mL de efluente crudo (pretratado con filtración gruesa utilizando algodón y gasa como medio filtrante) y cantidad suficiente del cultivo, previamente aclimatado en el efluente, para obtener una densidad inicial en el ensayo de $2,5 \times 10^4$ células/mL. Para la aclimatación se realizaron diluciones del efluente al 25, 50 y 75 % con Detmer modificado hasta alcanzar el 100 %.

Los ensayos fueron realizados por triplicado en las mismas condiciones de mantenimiento del cultivo. Los recipientes se agitaron diariamente en forma manual.

El ensayo se llevó a cabo durante 12 días, en los cuales se controlaron diariamente parámetros fisicoquímicos y biológicos tales como: recuento celular (en cámara de Neubauer), pH (con equipo Luftman P300) y conductividad (con conductímetro de campo marca ORION). Los crecimientos celulares fueron comparados mediante un análisis de varianza simple, con una significación del 95 %, después de comprobar que eran normales. La velocidad de crecimiento en div/día se estimó utilizando el método de regresión lineal por mínimos cuadrados. (Wood y col., 2005 y Guillard, 1973)

Al inicio y al final del ensayo se determinaron los siguientes parámetros: DBO (Sension 6 de HACH), sulfuro, amoníaco, nitrito, nitrato y detergentes (equipo HACH DR/2010), fosfatos y el fósforo total (Método colorimétrico de Aquamerck, Phosphat-Test 11138), DQO (equipo HACH/COD Reactor), número más probable de coliformes totales y fecales a partir de una dilución 1:10 000 con la técnica de NMP. (APHA, 1989)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El agua residual utilizada en el ensayo presentaba una apariencia turbia con olor fuerte que fue disminuyendo gradualmente en el transcurso del mismo. Los olores desagradables en aguas residuales están determinados por la presencia de bacterias anaerobias productoras de ácido sulfhídrico; el bajo oxígeno disuelto encontrado ($0,50\text{ mg/L de O}_2$) y el pH disminuido (7,87) influyen en la proliferación de éstas bacterias productoras de sulfuro. Al final del ensayo se obtuvo una baja del 99% en los valores del sulfuro en los cultivos con la microalga respecto al valor inicial del agua residual ($1,645\text{ mg/L sulfuro}$); demostrando que la inoculación microalgal resultó ser efectiva en la generación del oxígeno necesario para la presencia de bacterias aeróbicas que degradan la materia orgánica. (Oswald, a y b, 1988)

Analizando el crecimiento de *S. quadricauda* (Fig. 3) se observa un desarrollo celular prácticamente sin etapa de adaptación motivado posiblemente por la aclimatación de la cepa al efluente realizada previamente al ensayo y por haber utilizado un inóculo en crecimiento exponencial, alcanzando un recuento de $5,9 \times 10^5$ células/mL en el día 12. La figura 4 confirma el crecimiento exponencial del cultivo. Con el valor de la pendiente se obtiene un valor de velocidad de crecimiento de $0,425\text{ div/día}$.

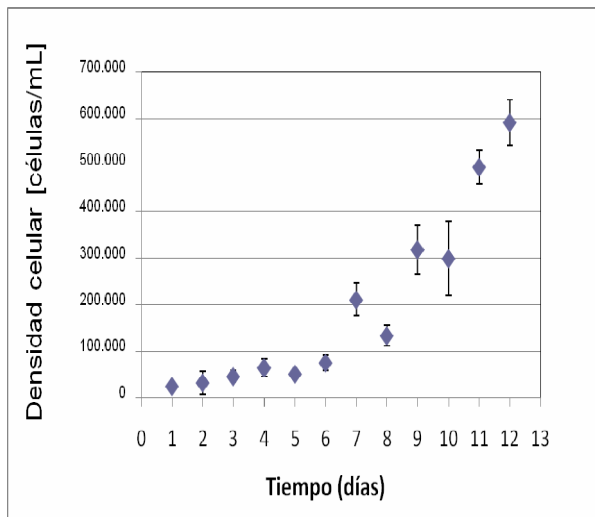


Fig. 3 Crecimiento de *Scenedesmus quadricauda* en el efluente.

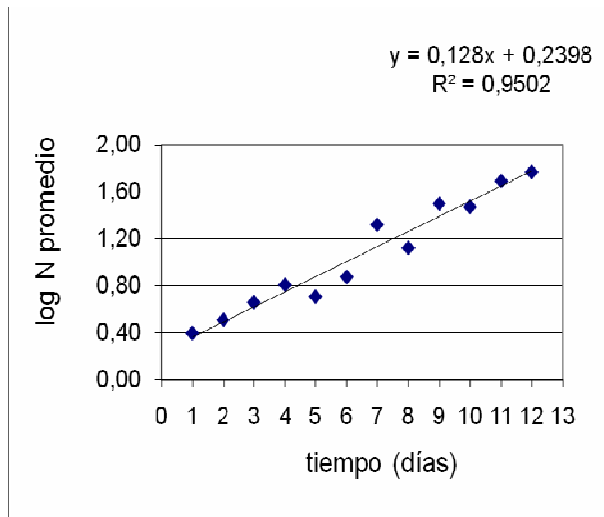


Fig. 4 Estimación de la velocidad de crecimiento *Scenedesmus quadricauda*.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos y biológicos diarios (valores medios)

| Tiempo (día) | pH | Conductividad (mS/cm) | Cel/mLx10 ⁴ |
|--------------|------|-----------------------|------------------------|
| 1 | 7,87 | 2,73 | 2,50 |
| 2 | 8,37 | 2,80 | 3,27 |
| 3 | 8,42 | 2,72 | 4,60 |
| 4 | 8,55 | 2,71 | 6,47 |
| 5 | 8,68 | 2,73 | 5,17 |
| 6 | 8,76 | 2,77 | 7,57 |
| 7 | 8,84 | 2,71 | 21,04 |
| 8 | 8,91 | 2,73 | 13,33 |
| 9 | 8,96 | 2,67 | 31,79 |
| 10 | 9,00 | 2,66 | 29,88 |
| 11 | 9,15 | 2,74 | 49,53 |
| 12 | 9,25 | 2,69 | 59,07 |

La conductividad no mostró diferencias significativas durante el ensayo. El pH aumentó desde valores de 7,87-9,25 debido a un mayor consumo de CO₂ coincidiendo con una elevada densidad algal (Tabla 1).

Los parámetros físico-químicos y biológicos (excepto conductividad y pH) luego de la inoculación y transcurridos los 12 días se relacionan en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros físico-químicos y biológicos al inicio y al final del ensayo

| Parámetros | Inicio del ensayo | Final del ensayo |
|--------------------|---|--|
| Fosfato | 16,725 mg/ L de PO ₄ ³⁻ | 1,045 mg/ L de PO ₄ ³⁻ |
| Fósforo total | 5,464 mg/L | 0,341 mg/L |
| Sulfuro | 1,645 mg/L de sulfuro | 0,018 mg/L sulfuro |
| Amoníaco | 63,7 mg/L NH ₃ | 3,5 mg/L NH ₃ |
| Nitrito | 0,1 mg/L NO ₂ ⁻ | 0,9 mg/L NO ₂ ⁻ |
| Nitrato | 2,5 mg/L NO ₃ ⁻ | 1,5 mg/L NO ₃ ⁻ |
| Detergentes | 2,98 mg/L | 0,08 mg/L |
| DBO | 236 mg/L | 31mg/L |
| DQO | 312 mg/L | 82 mg/L |
| Coliformes totales | 23 000 NMP/100 mL | 3 500 NMP/100 mL |
| Coliformes fecales | 7 800 NMP/100 mL | 1 100 NMP/100 mL |

Las concentraciones de nitrógeno inorgánico en el líquido cloacal: bajo nitrato y elevado amonio fueron de 2,5 y 63,7 mg/L respectivamente. En el día 12 disminuyeron las concentraciones de ambos (1,5 y 3,5 mg/L respectivamente). La disminución de amoníaco, nitrato, fosfato y fósforo total fueron del 94 %, 40 % y 94 %.

Los datos obtenidos confirman su efectividad en la remoción de nutrientes y su relación con el crecimiento. (Salazar, 2006) La determinación de detergentes en agua residual permitió establecer la disminución de estos compuestos durante el ensayo en un 97,3 %. Evaluando la carga orgánica del cultivo se observa que la DBO disminuyó de 236 a 31 mg/L al finalizar el ensayo, lo que implica que el proceso produjo una remoción del 86,8 % de la materia orgánica inicial. Albarracín y col. trabajaron con el mismo residual obteniendo una remoción del 80 % al cabo de 12 días utilizando *Chlorella vulgaris*. (Albarracín y col., 2005) Los valores de DQO presentan una disminución del 73,7 %, mayor al citado en un estudio similar de remoción de nutrientes donde la disminución fue de 55,7 %. (Chacón y col., 2006)

Los coliformes totales y fecales presentan una disminución al final del ensayo, siendo en los fecales del 86 %; indicativo de la efectividad del proceso en la eliminación de microorganismos patógenos (Tabla 2).

El aprovechamiento de *S. quadricauda* en procesos de depuración, resuelve un problema medio ambiental y mejora la calidad del efluente a la vez que permite obtener productos aplicables en diferentes usos como acuicultura, agricultura o fertilizantes. De esta manera este proceso permite poner un valor agregado al cultivo de microalgas en aguas residuales. (Salazar, 2006)

CONCLUSIONES

1. *S. quadricauda* tuvo un buen crecimiento en el agua residual en la cual la actividad depuradora estuvo presente evidenciada en la disminución de la carga orgánica según los resultados obtenidos en este estudio. Por lo tanto la especie puede ser utilizada en la depuración de aguas residuales domésticas con buenos resultados.
2. Dada la creciente problemática con el tratamiento y disposición de aguas residuales *S. quadricauda* se plantea como una posible alternativa de bajo costo para la descontaminación de aguas residuales urbanas.
3. Se recomienda ensayar con otras especies microalgales para evaluar sus capacidades depurativas en aguas residuales domésticas a fin de comparar eficiencias.

REFERENCIAS

- Accorinti, J. (1960): Cultivo unialgal y masivo de "*Scenedesmus obliquus*" turp.ktz. Técnicas de obtención. Museo Argentino de Ciencias Naturales, Ciencias Botánicas, t. 1, Nº 9.
- APHA, AWWA, WPCF (1989): Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. 17. ed. Madrid: Diaz de Santos.
- Albarracín, I.; M. Cravero y T. Romero (2005): Observaciones preliminares sobre crecimiento de *Chlorella vulgaris* en efluentes cloacales de la ciudad de Trelew, Chubut, Argentina. Revista Agua, 155: 63-70.
- Berry, W.; V. Youngner and A. Woffinden (2008): A three article series on the characteristics and use of effluent water. Disponible en: http://ohric.ucdavis.edu/Newsltr/CTC/ctcv24_4.pdf
- Cadwell, D. (1946): Sewage oxidation ponds performance, operation and design. Sewage Works J., 18: 433-458.
- Chacón C. *et al.* (2006): Uso de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en la remoción de nitrógeno, fósforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela. Scielo, 38: 1-13.
- Charpy, L.; M. Langlade and N. Vicente (2004): International symposium "Cyanobacteria for health, science and development". Embiez Island, pp. 1-5.
- Chindah, A. C.; S. A. Braide, J. Amakiri and E. Izundu (2007): Succession of phytoplankton in a municipal waste water treatment system under sunlight. UDO Agrícola, 7: 258-273.
- Chisti, Y. (2007): Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances, 25: 294-306.
- Choonawala, B. B. and F. M. Swalaha (2002): Characterisation of the effects of pre-treatments on the marine alga, *Anthophycus longifolius* to enhance lead and cadmium biosorption. Book of Abstracts of the 1st Congress of the International Society for applied Phycology/9th International Conference on Applied Algology. Rosquetas de Mar, Almería, España, p. 183.
- Ciccarone, P. (1997): Uso de microalgas para depuración de efluentes de plantas pesqueras en Rawson, Chubut, Argentina. Rawson, Trabajo de grado (Licenciado en Ciencias Naturales). Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Facultad de Ciencias Naturales.
- De Philippis, R.; R.Paperi, C. Sili and M. Vincenzini (2002): Bioremoval of copper by two exopolisaccharide-producing cyanobacteria, *Cyanospira capsulate* and *Nostoc PCC 7936*. Book of Abstracts of the 1st Congress of the International Society for applied Phycology/9th International Conference on Applied Algology. Rosquetas de Mar, Almería, España, p. 182.
- Esteves, J. (1996): Funcionamiento y evolución de las lagunas de estabilización de Trelew. Informe final. Municipalidad de Trelew. Chubut. Argentina.
- Gigena, M. (2003): Detección de la capacidad bioestimulante de extractos de *Chlorella vulgaris* en la germinación de semillas de *Avena sativa*. [Tesis doctoral].
- González, J.; E. Bécares y E. Luis (2001): Limnología de sistemas experimentales de lagunaje para el tratamiento de aguas residuales. Limnetica, 20: 267-277.
- Guillard, R. (1973): División rates. In: Janet R. Stein (eds): Handbook of Phycological Methods. Culture methods and growth measurements. Cambridge University press, Cambridge, pp. 303-306.
- Hanuk, K. and L. Choul-Gyun (2002): Eutrophic compounds by microalgae from wastewater. Book of Abstracts of the 1st Congress of the International Society for applied Phycology/9th International Conference on Applied Algology. Rosquetas de Mar, Almería, España, p. 209.
- Hu, Q. and M. Sommerfeld (2004): Selection of high performance microalgae for bioremediation of nitrate contaminated groundwater. Disponible en: <http://www.ag.arizona.edu/AZWATER/research/2004/Hu.pdf>
- Kamilya, D. *et al.* (2006): Growth and nutriente removal rates of *Spirulina platensis* and *Nostoc muscorum* in fish culture effluent: a laboratory-scale study. Aquaculture Research, 37: 1594-1597.
- Kaya, V.; J. De la Noue and G. Picard (1995): A comparative study of four systems for tertiary wastewater treatment by *Scenedesmus bicellularis*: New technology for immobilization. Journal of Applied Phycology, 7: 85-95.

- Khowaja, M. (2000): Waste stabilization ponds-design guidelines for Southern Pakistan. En: 26 th WEDC Conference: water, sanitation and hygiene: challenges of the millennium. Dhaka, Bangladesh, pp. 282-286.
- Kumar, M. and M. Sierp (2003): Integrated wastewater treatment and aquaculture production. Rural industries research & development corporation. Disponible en: <http://www.rirdc.gov.au/reports/Ras/03-026.pdf>
- Larsdotter, K *et al.* (2002): Phosphorus removal from wastewater by microalgae in greenhouse under Swedish winter conditions. Book of Abstracts of the 1st Congress of the International Society for Applied Phycology/9th International Conference on Applied Algology.. Rosquetas de Mar, Almería, España, p. 208.
- Lavoie, A. and J. De la Noue (1985) : Hyperconcentrated culture of *Scenedesmus obliquus*: a new approach for wastewater biological tertiary treatment. Wat. Res., 19: 1437-1442.
- Moscoso, J. (1993): Acuicultura con aguas residuales tratadas en las Lagunas de Estabilización de San Juan, Lima, Perú. Disponible en: <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsaidis/aresidua/peru/pertar029.pdf>
- Olguín, E. *et al.* (1994): Simultaneous high-biomass protein production and nutrient removal using *Spirulina maxima* in sea water supplemented with anaerobic effluents. World Jour. Microbiol. & Biotechnol., 10: 576-578.
- Olvera, A.; R. Cañizares y E. Ríos (2000): Extracción de pigmentos naturales a partir de microalgas y cianobacterias y su posible aplicación industrial. Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, 46.
- Oswald, W. J. (1988a): The role of microalgae in liquid waste treatment and reclamation. In: Lembi, C. A. & Waaland, JR. (eds.): Algae and Human affairs. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 255-281.
- Oswald, W. J. (1988b): Micro-Algae and waste-water treatment. In: Borowitzka, M. A. & Borowitzka, L. J. (eds.): Micro-algal Biotechnology. Cambridge University press, N. Y., pp. 305-328.
- Oswald, B and H. Gotaas (1957): Photosynthesis in sewage treatment. Trans. Am. Soc. Civ. Eng., 122: 73-105.
- Peinador, M. (1999): Las cianobacterias como indicadores de contaminación orgánica. Rev. Biol. Trop., 47: 381-391.
- Riquelme, C. y R. Avendaño (2003): Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y uso potencial en acuicultura. Revista Chilena de Historia Natural., 76: 725-736.
- Romero, T.; L. Fresneda y D. Hernández (2001): Cultivo semicontinuo de la microalga *Chorella* sp. para el tratamiento de residuales pesqueros. Bol. del Centro de Inv. Biológicas, 35: 42-51.
- Romero, T.; H. Miyashita y N. Kurano (2000): Crecimiento y composición bioquímica de *Chlorella* sp. cultivada en residual pesquero. Bol. del Centro de Inv. Biológicas, 34: 93-110.
- Romero, T. (2005): Uso de la microalga *Chlorella* spp. en la depuración de los residuales líquidos de la industria pesquera y su aprovechamiento. Habana. Cuba, Tesis doctoral. Universidad y facultad. CIH. CUJAE.
- Suárez, G. y T. Romero (1990): Treatment and utilization of wastes from the fish processing industry. Water Resources Management and Protection in Tropical Climates. Stockholm: SERG. pp. 367-376.
- Suárez, G.; T. Romero y E. Parra (1992): Evaluación de una planta piloto para depuración de residuales pesqueros y producción de microalgas en el CPI de Manzanillo. En: XXIII Cong. de la Asoc. Int. de Ing. San. y Amb. CUBAIDIS'92 2da. Parte, pp. 847-856.
- Salazar, M. (2006): Aplicación e importancia de la microalgas en el tratamiento de aguas residuales. Contactos, 59: 64-70.
- Shelf, G.; R. Moraine and G. Oron (1978): Photosynthetic biomass production from sewage. Arch. Hydrobiol. Ergebn. Limnol., 11: 3-14.
- Thaer, K. (2002): Possible use of microgreen algae to remove phosphate and nitrate from wastewater. In: Proceedings of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management; Tunis 7-10 de enero de 2002, pp. 628-632.
- Thajuddin, N. and G. Subramanian (2005): Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology. In: Current Science, 89: 47-57.

- Voltolina, D.; B. Cordero, M. Nieves and L. P. Soto (1998): Growth of *Scenedesmus* sp. in artificial wastewater. *Bioresource Technology*, 68: 265-268.
- Wong, M. and C. Lay (1980): The comparison between soy-bean wastes, used tea-leaves and sewage sludge for growing *Chlorella pyrenoidosa*. *Environmental Pollution Series A.*, 23: 247-259.
- Wood, A.; R. Everroad and L. Wingard (2005): Measuring growth rates in microalgal cultures. In: Robert A. Andersen (eds.): *Algal Culturing Techniques*. Academic press, pp. 271-275.
- World Health Organization. Analysis of wastewater for use in agriculture - A laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques. Disponible en :http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/labmanual.pdf
- Yi-xiong, L. and S. Bo-zen (1987): Accumulation, degradation and biological effects of lindane on *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz. *Hydrobiologia*, 153: 249-252.