

Caracterización microalgal en lagunas finales de tratamiento de efluentes de tipo cloacal e industrial de la ciudad de Trelew

Práctica Profesional

Licenciatura en Protección y Saneamiento
Ambiental

Laboratorio de Fitoplancton, Instituto de Investigación
de Hidrobiología

2022



ALUMNO:

BETTI, Franco Gaspar

PROFESORA ASESORA:

Dra. Norma Santinelli

PROFESORA
INSTRUCTORA:

Dra. Noelia Uyua

ASESORA CIENTÍFICA:

Lic. Alicia Viviana Sastre



AGRADECIMIENTOS

A mis profesoras asesoras Norma, Noelia y Viviana por guiarme y aconsejarme durante este trabajo.

A María Eva, directora del Instituto de Investigación de Hidrobiología (IIH) de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB) sede Trelew.

A Analía, personal de la Unidad Ejecutora Provincial y Aluar, por su buena predisposición.



RESUMEN

En el presente informe se presenta un análisis cuali-cuantitativo del fitoplancton de dos sistemas lagunares de tratamiento de efluentes, cloacal e industrial, de la ciudad de Trelew durante el periodo noviembre 2021 – febrero 2022. El trabajo se fundamenta en la vital importancia de este recurso, ya que se encuentra en una zona árida con importante déficit hídrico.

La mayor parte de esta región corresponde a tierras áridas donde las precipitaciones son inferiores a los 300 mm anuales. Las lagunas estudiadas son ambientes relativamente escasos en la Patagonia extra andina o esteparia, razón por la cual juegan un papel clave en el mantenimiento de un hábitat, en particular durante los periodos de sequía, cuando los cuerpos de agua temporales desaparecen.

Para el estudio de los cuerpos de agua se realizaron muestreos quincenales. Además, se midieron parámetros físicos químicos (Temperatura, pH y Electro-conductividad). Las muestras fueron analizadas bajo microscopio óptico invertido en el Laboratorio de Fitoplancton del Instituto de Investigación de Hidrobiología (IIH) de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), sede Trelew, y con microscopio electrónico de barrido (MEB) en las instalaciones de Aluar en la ciudad de Puerto Madryn. Se llevó a cabo un registro taxonómico y posteriormente un conteo en cámara circular de 1ml.

Entre los grupos hallados, destacan por su abundancia e importancia ecológica la familia Scenedesmaceae, y los géneros *Microcystis*, *Chaetoceros* y distintas especies del género *Nitzschia*.

Durante el período de estudio, dos lagunas del sistema de tratamiento de líquidos cloacales, laguna de la base (laguna 2) y laguna del caño (laguna 3), se caracterizaron por la presencia de floraciones algales registrándose blooms de los géneros *Chaetoceros* y *Nitzschia* en la laguna 2, mientras que en la laguna 3 se destacó el género *Microcystis* y la familia Scenedesmaceae. Por otro lado, en las lagunas de efluentes industriales se registró la presencia de una forma afín a la bacteria del azufre *Thiopedia rosea*.



CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	4
OBJETIVOS	9
MATERIALES Y MÉTODOS	10
Área de estudio.....	10
<i>Lagunas de efluentes industriales</i> :.....	10
<i>Lagunas de efluentes cloacales urbanos</i> :.....	11
Conteo e Identificación de microalgas.....	16
<i>Análisis cualitativo</i>	16
<i>Análisis cuantitativo</i>	21
RESULTADOS	24
Características generales de las lagunas.....	24
<i>Lagunas del PIT</i>	24
<i>Lagunas de efluentes cloacales urbanos</i>	24
A-Tablas de parámetros fisicoquímicos, organolépticos y ambientales de cada sistema lagunar.....	26
B-Tabla cualitativa de géneros y especies.....	29
C-Tablas cuantitativas.....	31
Gráficos:.....	39
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	43
ANEXO I	47
Protocolo básico para desarrollar actividades en los laboratorios de biología. Sede Trelew, Facultad de Ciencias Naturales, UNPSJB.....	47
ANEXO II	50
Diatomeas: Identificación, importancia ecológica y como bioindicador.....	50
ANEXO III	55
Fichas taxonómicas de los grupos de microalgas más relevantes por su abundancia e importancia ecológica durante el estudio.....	55
BIBLIOGRAFÍA	61



INTRODUCCIÓN

La eutrofización es el proceso de deterioro de la calidad del agua, originado por el enriquecimiento de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo. Esto condiciona el uso del recurso, además de producir impactos ecológicos, sanitarios y económicos. Como consecuencia de este incremento de nutrientes se produce un desequilibrio en la multiplicación de materia vegetal, que al descomponerse provoca la disminución del oxígeno disuelto (OD) en el agua provocando serios problemas para la vida acuática. Este proceso, cuando se produce de forma natural, es gradual y lento, a diferencia de cuando es producto de la civilización, en este caso ocurre de forma acelerada imposibilitando que la biomasa generada sea incorporada al sistema acuático a la misma velocidad con la que se produce; provocando así un desequilibrio ecológico. Entre las causas que aceleran el proceso de eutrofización se encuentra la descarga de residuos industriales y municipales a los cuerpos de agua (Miranda y Rosales, 2018).

Para determinar las condiciones de un cuerpo de agua es necesario contar con índices que, mediante la evaluación de determinadas variables físicas y químicas (concentración de nutrientes, clorofila a fitoplanctónica, turbidez y concentración de oxígeno disuelto), dan una idea del estado trófico del recurso. Estos índices son importantes para establecer clasificaciones tróficas y brindar información de utilidad para establecer un uso apropiado del recurso (Miranda y Rosales, 2018). Además, permiten clasificar a los lagos, lagunas y embalses como oligotróficos (con bajos niveles de nutrientes), eutróficos (niveles de nutrientes aumentados) e hipertróficos (con gran abundancia de nutrientes) (Conny et al., 2014).

Las lagunas de estabilización son cuerpos de agua residual o de desechos industriales, naturales o artificiales, en los cuales se dan una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que conducen a una acción depurativa natural del recurso por medio de procesos de oxidación aerobia y fotosíntesis (Guevara y Calix, 2018). Estos sistemas funcionan como un reactor biológico de grandes proporciones que emplean la luz y los compuestos orgánicos como fuente de energía para llevar a cabo dichos procesos depurativos (Sastre y Santinelli, 1996).

Algunas aguas residuales son ricas en nutrientes, esto permite sostener el metabolismo de ciertos microorganismos fotosintéticos. Las microalgas producen el oxígeno necesario para la digestión aerobia de la materia orgánica por medio de las bacterias, a la vez que incorporan los compuestos residuales de la oxidación generando así un proceso depurativo eficaz. Las microalgas son capaces de remover microorganismos patógenos, metales pesados, y compuestos orgánicos tóxicos mediante procesos aún en vías de



estudio (Suaza et al., 2010). En las últimas décadas las microalgas se han utilizado como bioindicadoras de las condiciones ecológicas de diferentes ecosistemas acuáticos, gracias a la gran diversidad que comprende este grupo (Seeligmann et al., 2001).

La instalación y crecimiento del parque industrial en la ciudad de Trelew en las décadas del 70' y 80' trajo aparejado una explosión demográfica y con ello el aumento de los caudales de efluentes domiciliarios y por ende de las redes pluviales y cloacales urbanas de la ciudad. Dichos cloacales domiciliarios son vertidos en un sistema de lagunas, el cual está formado por un total de seis, donde podemos mencionar: Laguna I o Cacique Chiquichano, Laguna II o de la base, Laguna III o del caño, Laguna IV o del basural, Laguna V o laguna negra, y Laguna VI o salitral; esta última situada en el ejido Rawson (Alcarraz et al., 2008). Hoy, las lagunas III, IV y V, funcionan como lagunas de estabilización que proveen tratamiento biológico a los efluentes de Trelew (Alcarraz et al., 2008).

Estas aguas (cloacales domiciliarias), son impulsadas desde la planta de bombeo - planta Carrasco - ubicada en inmediaciones del área central de la ciudad, donde se realiza un tratamiento primario mediante rejas y trituradores de sólidos gruesos. Luego, por un entubamiento, llegan a la denominada laguna III, que se comunica por un canal artificial (Canal Romer) con la laguna V (Alcarraz et al., 2008), esta última unida actualmente a la laguna IV.

Con el pasar de los años, se ha visualizado un avance del efluente sobre el terreno (Fig. 1, 2, 3 y 4). La primera figura (Fig. 1), corresponde a una fotografía aérea de la zona en el año 1969, las siguientes, (Fig. 2, 3 y 4) corresponden a registros satelitales tomados de Google Earth correspondiente a los años 1985 (primer registro satelital), 2002, y 2021, respectivamente.

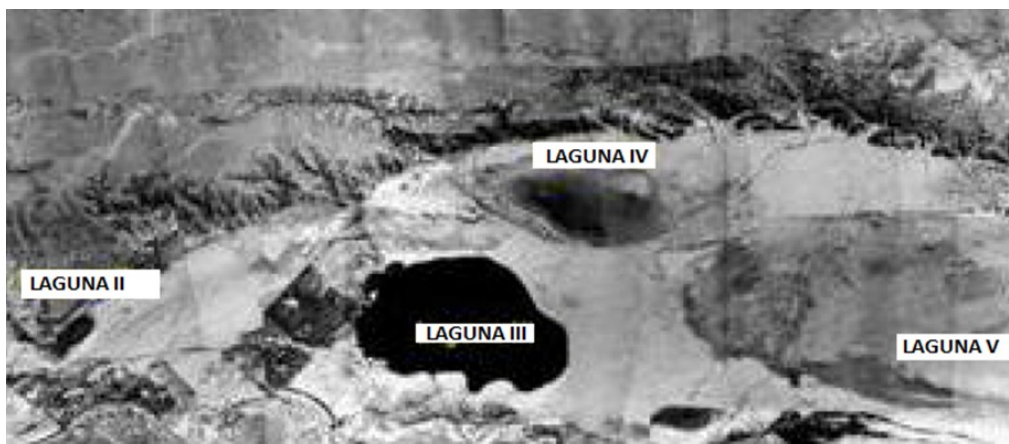


Fig.1: Sistema lagunar de Trelew, año 1969. Fuente: INTA.



Fig.2: Sistema lagunar de Trelew, año 1985. Fuente: Google Earth.



Fig.3: Sistema lagunar de Trelew, año 2002. Fuente: Google Earth.



Fig.4: Sistema lagunar de Trelew, año 2021. Fuente: Google Earth.

Por otro lado, los efluentes generados por el parque industrial pesado de Trelew (PIT) son tratados mediante otro sistema de lagunas de estabilización y evaporación. La planta de tratamiento de efluentes industriales (PTEI) se radicó en Trelew en 1973 para tratar residuos de empresas textiles y tintorerías (González et al., 2016). Paulatinamente se fueron sumandolavaderos de lana, empresas alimenticias (pesqueras y gaseosas), curtiembres y metalúrgicas, entre otras. Muchas de ellas dejaron de funcionar y otras crecieron. En la década de 1980 se registraron grandes volúmenes de efluentes diarios (10000 m³/día) con los mayores registros de contaminación (González et al., 2016).



Actualmente existe una aglomeración territorial de pequeñas y medianas empresas y pequeñas y medianas industrias de distintos rubros (pesquero, construcción, metalmecánico, alimenticio, químico, plástico, cerámico, servicios, y otros). El volumen de efluente generado diariamente es variable, el valor mínimo hasta el mes de julio del año 2021 fue de 1500 m³/ día y el valor máximo de 5384 m³/ día (Prensa Ministerio de Ambiente, Ganadería Industria y Comercio, 2022).

A continuación, se presentan una serie de imágenes satelitales (Fig. 5, 6 y 7) tomadas de Google Earth. Las mismas corresponden a los años 1985 (primer registro satelital), 2002, y 2021, respectivamente. En ellas se puede observar la variación espacio temporal de las lagunas.



Fig.5: Sistema lagunar del PIT 1985. Fuente: Google Earth.

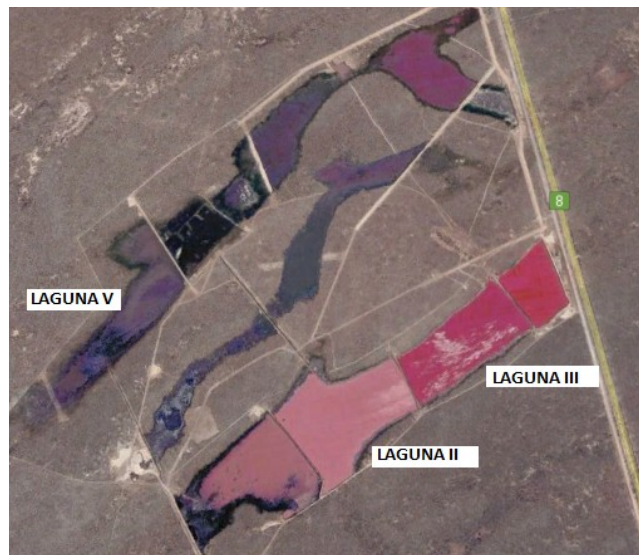


Fig.6: Sistema lagunar del PIT 2002. Fuente: Google Earth.



Fig.7: Sistema lagunar del PIT2021. Fuente: Google Earth.



OBJETIVOS

General:

- Realizar la caracterización microalgal como indicador de la calidad de agua de las lagunas de estabilización de efluentes cloacales de la ciudad de Trelew y de las lagunas de efluentes industriales del PIT correspondiente a la Unidad Ejecutora Provincial (UEP), Ex CORFO (Corporación de Fomento).

Específicos:

- Recolectar información visual y fotográfica de las zonas de trabajo (lagunas).
- Determinar zonas de muestreo apropiadas.
- Adquirir experiencia en la toma y conservación de muestras de microalgas.
- Adquirir experiencia en el reconocimiento de especies de microalgas.
- Caracterizar las comunidades microalgales de ambos sistemas lagunares a lo largo de un período de tiempo.
- Adquirir experiencia de trabajo en laboratorio de microalgas.
- Identificar posibles especies microalgales bioindicadoras de calidad de agua de los sistemas lagunares elegidos.
- Relacionar los parámetros físico químicos de las lagunas con posibles especies bioindicadoras.



MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio se divide en dos, la primera correspondiente a los efluentes industriales del PIT y la segunda a los de tipo cloacal de la ciudad de Trelew.

Lagunas de efluentes industriales:

Las lagunas del PIT son manejadas por la Unidad Ejecutora Provincial del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Industria y Comercio (UEP-MAGIC), ex CORFO (Corporación de Fomento) y se encuentran ubicadas a una distancia aproximada de 5 Km al Noroeste de la ciudad de Trelew (S 43° 12' 36" y O 65° 21' 54"), departamento Rawson, Chubut. En dicha área actualmente se realiza el vuelco de efluentes del PIT (González et al., 2016).

Los muestreos se llevaron a cabo en 3 zonas puntuales de las lagunas que se encuentran actualmente en funcionamiento (Fig.8). Estos puntos fueron seleccionados debido a que permitían un fácil acceso durante todo el periodo de estudio. Cabe destacar que el predio cuenta con 8 lagunas, pero debido al escaso caudal que aporta hoy el parque industrial de la ciudad, solo se encuentran en funcionamiento las lagunas N° 2, 3 y 5; sobre las cuales se trabajó.

Las lagunas no funcionan con una periodicidad estipulada. Estas funcionan de forma individual; es decir, al llenarse una laguna, el efluente es desviado por canales cementados (Fig.9) hacia otra que tiene un nivel de agua bajo. Esto no permite que el sistema funcione encadenadamente con tiempos de permanencia adecuados, y hace que existan grandes diferencias de nivel de agua entre muestreos.

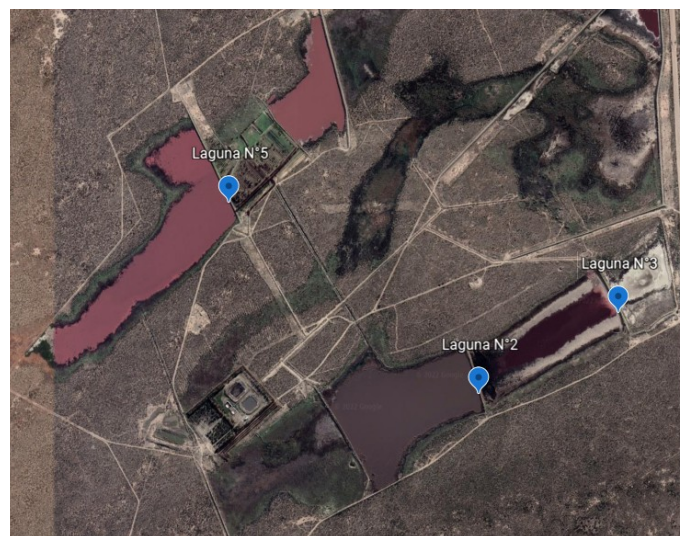


Fig.8: Sistema lagunar del PIT y puntos de muestreo. Fuente: Google Earth.



Fig.9: Canal cementado que comunica el centro de bombeo del PIT con cada laguna.

En la siguiente tabla (tabla 1) se detallan las coordenadas de los puntos de muestreo (marcados en Fig.8):

Tabla 1: Coordenadas de muestreo en lagunas del PIT.

LAGUNA	GPS
2	S 43°12'32.5'' O 65°21'14.8''
3	S 43°12'23.5'' O 65°20'52.2''
5	S 43°12'10,8'' O 65°21'53.9''

Lagunas de efluentes cloacales urbanos:

Originalmente estas lagunas eran cuencas naturales, algunas permanentes y otras temporarias, alimentadas por aguas subterráneas, precipitaciones, cañadones que drenan la terraza intermedia y eventualmente, desbordes del Río Chubut. Actualmente son lagunas permanentes que aportan agua en forma constante al sistema freático (Alcarraz et al., 2008).

Estas lagunas (Fig.10) reciben el aporte constante de líquidos cloacales y pluviales de la ciudad de Trelew, además de aportes intermitentes directos y por escorrentías de lluvias ocasionales que fluyen por las cuencas de las citadas lagunas. Los primeros son impulsados desde una planta de bombeo ubicada en inmediaciones del área central de la ciudad, donde se realiza un



tratamiento primario mediante rejas y trituradores de sólidos gruesos, llegando a la laguna del caño por medio de un entubamiento de casi 5 km (Fig.11). Por otro lado, parte de los líquidos pluviales de la ciudad también son enviados a este sistema lagunar por un entubamiento (pluvial Owen) de poco más de 3 kilómetros, siendo la laguna de la basela que recibe estos efluentes y los de la laguna Cacique Chiquichano, además de efluentes cloacales de la base Almirante Zar y de lavado de filtros de la planta potabilizadora de Puerto Madryn (Servicoop), haciendo que tenga elevadas variaciones en su nivel.



Fig.10: Sistema lagunar de la ciudad de Trelew. Fuente: Google Earth.



Fig.11: Entubamiento, descarga de líquidos cloacales en laguna del caño.

En la siguiente tabla (tabla 2) se detallan las coordenadas de los puntos de muestreo (marcados en Fig.10).



Tabla 2: Coordenadas de muestreo en lagunas de tratamiento de efluentes cloacales de Trelew.

LAGUNA	GPS
2 (DE LA BASE)	S 43°14'18.9'' O 65°15'04.9''
3 (DEL CAÑO)	S 43°14'37.1'' O 65°14'28.5''
5 (NEGRA)	S 43°15'01.9'' O 65°10'56.5''

Toma y conservación de muestras

Setomaron muestras quincenales entre noviembre de 2021 y marzo de 2022. En ambos casos se establecieron puntos fijos de muestreo detallados anteriormente. En el lugar se midió la temperatura del agua. Las muestras fueron tomadas y recolectadas en bidones y transportadas al laboratorio de fitoplancton del Instituto de Investigación de Hidrobiología (IIH) de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB) donde, siguiendo los protocolos de seguridad del laboratorio (ANEXO I), se llevó a cabo la medición de parámetros físico químicos (pH y Conductividad eléctrica) y la posterior subdivisión de las muestras en dos sub muestras para su fijación con lugol y formol; la primera guardada en frascos de vidrio color caramelo y la segunda en frascos plásticos debidamente rotulados (sitio y fecha).

La fijación del material con solución de lugol tuvo como objetivo la realización de recuentos celulares. Estos se realizaron en cámara circular de 1ml debido a la gran abundancia celular, teniendo que, en ocasiones, diluir la muestra al 50% para poder llevar un conteo adecuado.

La muestra fijada con formol tuvo como principio la observación e identificación de especies.

Elementos utilizados para la toma y conservación de muestras (Fig. 12):

- Guantes de seguridad largos
- Guantes de látex
- Tarro con soga
- Bidones debidamente rotulados
- Botas de goma
- Lentes de seguridad
- Barbijo KN 95
- Pulverizador con solución de hipoclorito de sodio (lavandina) al 5%
- Frascos de vidrio color caramelo
- Frascos de plástico



- Piseta con agua destilada
- Cámara fotográfica
- Libreta de campo

Elementos para la medición de parámetros fisicoquímicos

- Peachímetro Gralf PH-107
- Conductímetro y termómetro TDS&EC1

Soluciones utilizadas para la fijación de muestras

- Solución de lugol (4%)
- Solución de formol (5%)

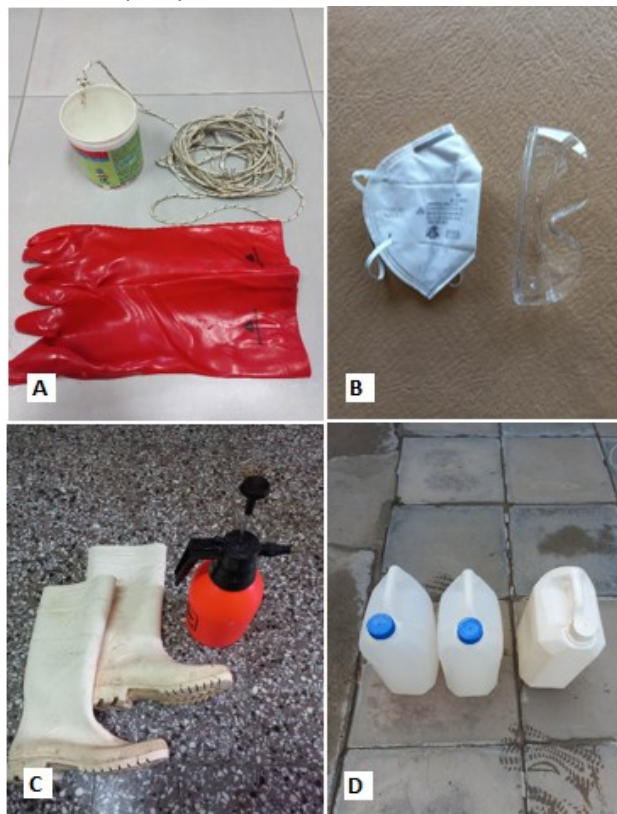


Fig.12: Elementos utilizados para la toma de muestras. A) Guantes de seguridad y recolector con soga. B) Barbijo y lentes de seguridad. C) Botas de goma y pulverizador de agua con lavandina. D) Bidones.

Previo a la recolección de muestras, se analizaron los sitios y los tipos de muestras que se pueden obtener, siendo estas:

Muestra puntual: Es una muestra discreta, tomada en un lugar representativo, en un determinado momento. El conjunto del volumen que constituye la muestra es extraído de una sola vez (decreto provincial 1540/16). Los resultados de esta muestra serán representativos de las características del agua en ese sitio y en ese momento específico (Lozano-Rivas, 2013).



Muestra compuesta: Es la mezcla de varias muestras puntuales de una misma fuente, tomadas a intervalos de tiempo durante un periodo determinado (Lozano-Rivas, 2013). Las muestras compuestas dependientes del tiempo, se componen de muestras puntuales, de volumen constante, tomadas a intervalos de tiempo constantes durante el período de muestreo. Se utilizan para determinar la calidad media del efluente (decreto provincial 1540/16).

Muestra integrada: Es aquella que se obtiene por la mezcla de muestras puntuales tomadas de diferentes puntos simultáneamente, o lo más cerca posible (Lozano-Rivas, 2013).

Dada la ubicación y forma de las lagunas, es prácticamente imposible contar con distintos puntos de muestreos alrededor de las mismas y/o en la superficie, es por esto que se optó por llevar a cabo muestreos simples de cada una de ellas en el periodo determinado entre septiembre 2021 y febrero 2022.

La recolección de agua se realizó con un tarro plástico (de esta manera se evita la oxidación y contaminación de la muestra) atado a una soga. En la mayoría de las lagunas estudiadas el uso de la soga no fue necesario, no así el caso de la laguna del caño; aquí la toma de la muestra se realizó en altura.

Para el transporte de dichas muestras se utilizaron bidones plásticos debidamente rotulados.

Finalizado cada muestreo y antes de proseguir con la laguna siguiente, los elementos utilizados fueron desinfectados con un aspersor con agua y lavandina para evitar contaminación e infecciones.

Los bidones fueron llevados al laboratorio de fitoplancton del IIH de la UNPSJB, donde se midieron parámetros fisicoquímicos y se subdividieron las muestras.

En el laboratorio se midieron los parámetros pH y Electroconductividad con un Peachimetro Graf PH-107 y; Conductímetro y termómetro TDS&EC1. (Fig.13)



Fig.13: Medidores de pH, TDS y EC



Las muestras fueron subdivididas, una en frasco color caramelo de 250ml para ser fijada con solución de lugol, y la otra en recipiente plástico para ser fijada con solución de formol.

Conteo e Identificación de microalgas

Análisis cualitativo

La observación de las microalgas se realizó bajo un microscopio óptico invertido Olympus CKX 41 colocando una gota de muestra en un porta objetos y utilizando un cubreobjetos. Para la identificación de las diferentes taxase utilizó bibliografía y páginas webs especializadas.

Para los casos donde no se pudieron reconocer las especies, las microalgas fueron dibujadas con sus medidas y codificadas con un prefijo y una letra en orden alfabético. De esta manera se elaboró una guía (Fig.14 y 15) con el objetivo facilitar el conteo y posterior clasificación taxonómica.

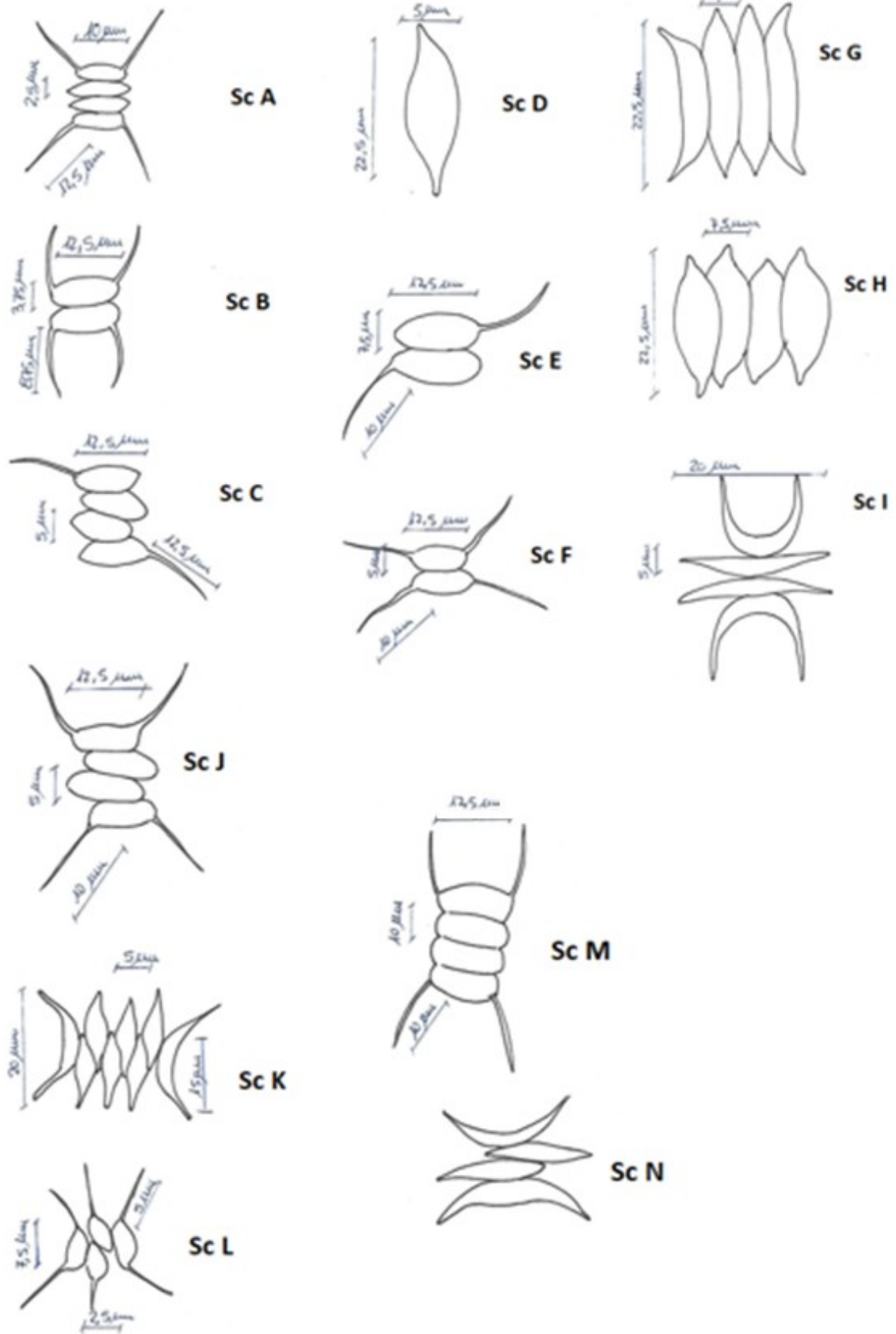


Fig.14: Guía codificada de microalgas (Familia Scenedesmaceae)

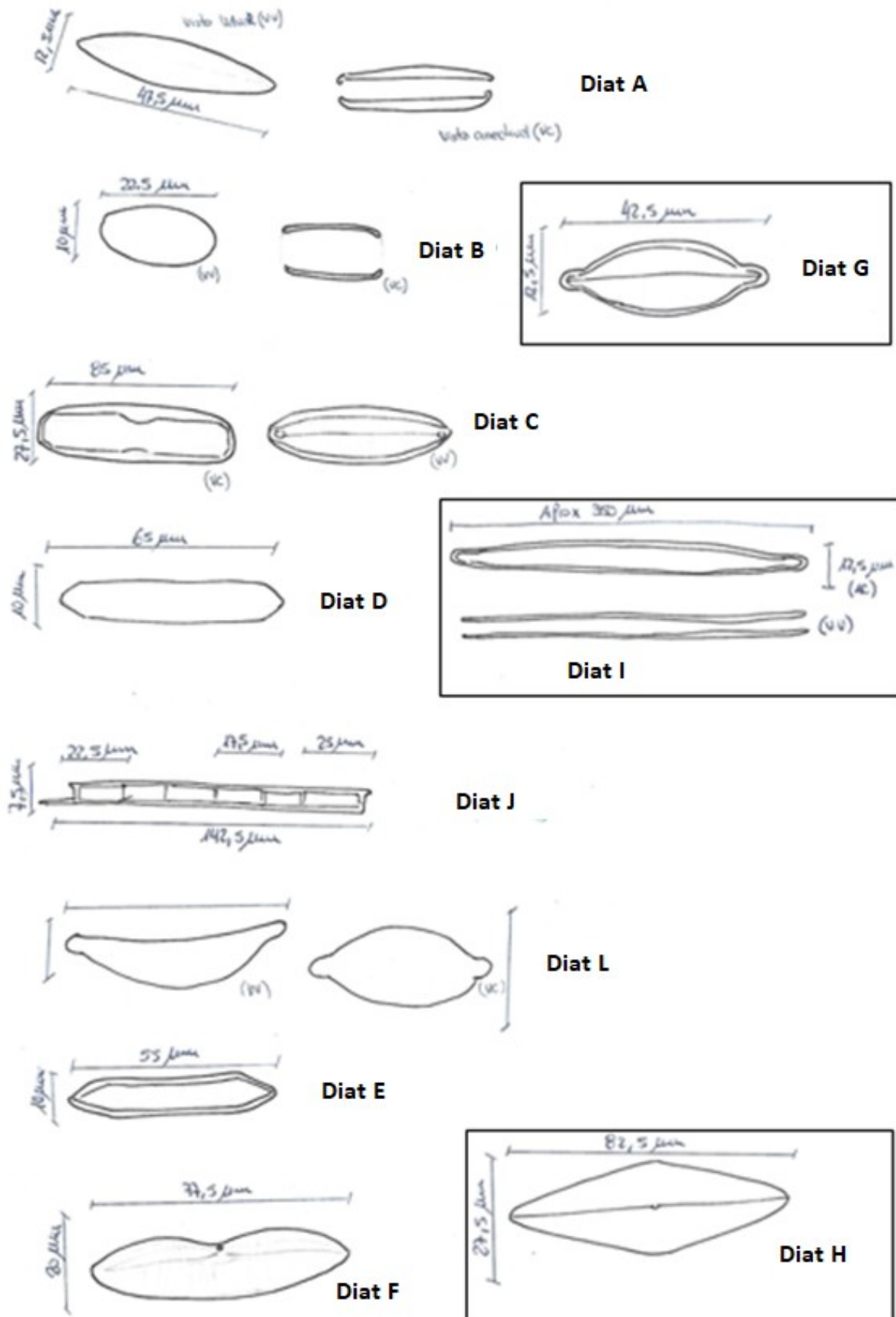


Fig.15: Guía codificada de microalgas (Diatomeas)



La morfología del frústulo de las diatomeas es fundamental para la identificación de especies dentro del grupo (ANEXO II). Por esto, se llevó a cabo la oxidación de la materia orgánica de las muestras a fin de lograr una mejor visualización de las estructuras y ornamentaciones de la cubierta celular silíceas (Alveal et al., 1995). Se realizó la oxidación de las muestras correspondiente a la laguna de la base, ya que en ésta predomina este grupo de microalgas, utilizando el método de Hasle y Fryxell (1970).

Método de oxidación de Hasle y Fryxell (1970) con modificaciones:

Recomendaciones y precauciones:

- La muestra debe ser lavada con agua destilada para eliminar el preservante, previo a la aplicación de cualquier técnica.
- Se recomienda trabajar directamente en tubos de centrífuga, la ventaja es que se evitará trasvasar la muestra con reactivos para realizar las centrifugaciones, ahorrando pérdida del material y eventuales accidentes.
- Agregado de reactivos con pipetas largas en pequeñas proporciones.

Lavado de la muestra

- Colocar una alícuota de muestra en un tubo para centrífuga.
- Balancear los tubos con un balanceador para tal fin antes de llevar a centrífuga.
- Centrifugar por 5 minutos a 2000 rpm.
- Utilizando una micropipeta, quitar el sobrenadante con cuidado de no agitar o tocar el sedimento.
- Agregar agua destilada, 1 ml aproximadamente, balancear los tubos y volver a repetir la operación, al menos 6 veces.

Protocolo de oxidación

- Colocar una alícuota de muestra libre de preservante en un tubo de centrífuga.
- Adicionar el mismo volumen de ácido sulfúrico (95-97% v/v) y agitar. Debe tomarse la precaución de trabajar bajo campana o por lo menos en sitio con buena ventilación.
- Agregar solución saturada de permanganato de potasio recién preparada en pequeñas cantidades, agitando luego de cada adición hasta que la muestra tome color púrpura. En este paso se observa burbujeo.
- Adicionar solución saturada de ácido oxálico, recién preparada, en pequeñas cantidades, agitando suavemente luego de cada adición, hasta que la muestra se decolore.
- Centrifugar y descartar el sobrenadante. En este punto debe procederse cuidadosamente a fin de no perder parte del material.



- Adicionar agua destilada, centrifugar y descartar el sobrenadante. Esta operación de lavado se repite hasta que la muestra alcanza $\text{pH} > 6$.
- Alcanzado el pH deseado, las muestras tratadas se preservan con una gota de formol para evitar la contaminación por hongos.

Habiendo oxidado las muestras, éstas se prepararon para ser observadas bajo microscopio electrónico de barrido (MEB) marca Sigma 300 VP, en Aluar de Puerto Madryn (Fig. 16). Para poder realizar estudios con MEB se procede al montaje de los materiales según la siguiente rutina:

- Montar 1 gota de material sobre un porta especímenes de vidrio de 1 cm x 1 cm. Estos fueron fabricados cortando porta objetos.
- Dejar secar la gota a temperatura ambiente o bajo lámpara, evitando contaminación por polvo.
- Montar los tacos de vidrio sobre un portaobjetos, fijándolos por medio de una cinta doble faz.
- Metalizar con oro-paladio. Esta parte del proceso es llevada a cabo por el técnico encargado del MEB en Aluar con un equipo marca Dentomvacuum (Fig. 17).



Fig. 16. MEB utilizado en Aluar

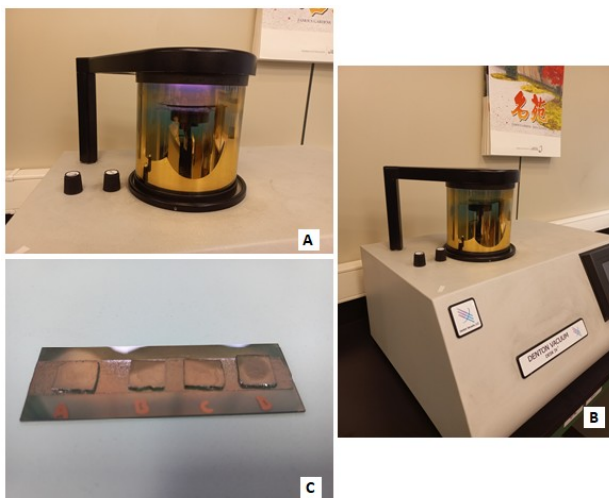


Fig. 17. A) B) Equipo utilizado en Aluar para llevar a cabo la metalización con oro-paladio. C) Muestra metalizada lista para ser observada en el MEB.



Montaje de preparados permanentes

Una vez que se constata que el material ha quedado debidamente limpio luego de oxidarlo, se puede realizar el montaje del mismo en preparados permanentes de acuerdo con el siguiente procedimiento:

- Se colocan cubre-objetos en una placa de cobre, o en una tela de amianto.
- Se colocan en cada cubre-objeto entre 1 y 4 gotas de muestra en función de la concentración de material de la muestra.
- Se deja secar y se añaden 1 o 2 gotas de medio de montaje. Una resina con buen índice de refracción y de fácil manejo es el Naphrax. En el laboratorio se utiliza la marca Depex.
- Se invierte el cubre-objeto sobre un porta-objeto, previamente calentado, una vez que la resina se ablanda.
- Se ubica el preparado en placa caliente, hasta que la resina se funde y se esparce evitando la ebullición.
- Se eliminan las burbujas de aire que puedan haber quedado en la preparación, por calentamiento y suave presión.

Análisis cuantitativo

El conteo de células individuales dentro de una muestra de fitoplancton no es sencillo ya que algunas formas se presentan como colonias o filamentos. Antes de realizar el conteo de células o colonias de una muestra es necesario concentrarlas sobre una superficie, esto puede hacerse por filtración o sedimentación (de Infante, 1988).

Utermöhl (1958) ideó un modelo para el conteo de células que requiere de la concentración del material por sedimentación. La sedimentación se realiza en cámaras (cubas) que pueden ser de distintas capacidades (1, 5, 10, 25, 50 y 100 ml) y diseños. Las más usadas, constan de una placa base con una depresión cilíndrica y un fondo de vidrio muy delgado (Fig.18). Sobre la placa base se coloca la cuba, cuidando que quede perfectamente centrada y pegada sobre la depresión cilíndrica, esto puede hacerse con agua o vaselina, según sea más conveniente. La muestra se debe homogeneizar cuidadosamente antes de verterla en la cámara y ésta debe seleccionarse según la densidad de plancton en la muestra (esto se realiza de manera objetiva realizando observaciones al MO). Si la muestra contiene una densidad fitoplanctónica muy alta, es preciso emplear una cámara de pequeño volumen o diluir la muestra. Las cámaras de 50 y 100 ml son adecuadas para las muestras pobres en fitoplancton. Las cámaras se llenan desde arriba y luego se cubren dejando que el plancton sedimente durante un tiempo medido en horas que corresponde aproximadamente a la altura de la cámara en centímetros, multiplicada por tres. Una vez sedimentada la muestra, se desplaza la parte



tubular hacia un lado de la placa, manteniéndola firmemente presionada hacia abajo para evitar que el líquido se derrame (Fig. 19). En la depresión cilíndrica de la base queda un pequeño volumen del líquido conocido (1ml) con las microalgas sedimentadas sobre el fondo, las cuales pueden entonces identificarse y contarse con ayuda de un microscopio óptico invertido (de Infante, 1988).

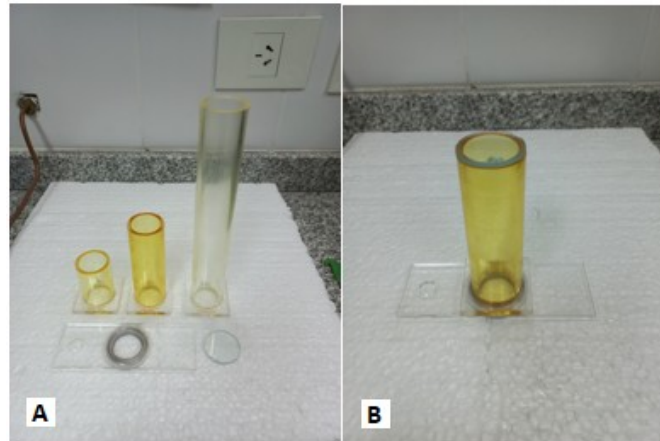


Fig.18:A) Cámara circular, cubetas de 25, 50,100 ml y tapa de vidrio para método de Uteröhl. B) Dispositivo armado.

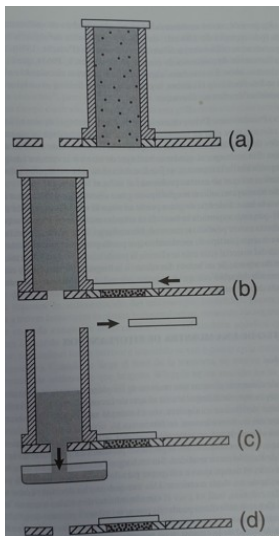


Fig. 19: Se muestra el proceso de sedimentación de una muestra de fitoplancton y el desarme del dispositivo. A) La muestra se coloca en el cilindro de sedimentación y éste se tapa. B) Deslizamiento de la cuba hacia el orificio pequeño de la base. C) El cilindro se destapa para eliminar el agua. D) La cámara contiene ahora solamente el material sedimentado. Fuente: Alveal et al., 1995.

A modo de práctica, otro método utilizado en el laboratorio fue el de conteo por cámara de Sedgwick – Rafter (Fig.20). En este caso, se coloca un mililitro de la muestra (previamente homogeneizada) en la cámara que mide 50mm de longitud, 20mm de ancho y 1 mm de profundidad, siendo el volumen total de 1 ml. Es necesario tener el campo ocular dividido en cuadrados iguales. El valor en micras del área de cada uno de los cuadrados varía según el ocular y objetivo utilizado. El recuento se realiza por campos y se cuentan las células presentes en 10 o más campos al azar. La expresión de los resultados es células/ml.



Fig.20: Cámara de Sedgwick – Rafter. Fuente: Alveal et al., 1995

Habiendo probado ambos métodos disponibles en el laboratorio se decidió por realizar el conteo con la cámara circular del método de Üthermol pero sin la cuba vertical, ya que la densidad de microalgas es tan alta que al decantar se forma una película que impide la penetración de la luz e imposibilita el conteo; por esta razón lo que se hizo fue utilizar la cámara circular con una alícuota de 1ml para las muestras menos concentradas y diluciones al 50%, es decir, 0,5 ml de muestra y 0,5 de agua destilada; para las muestras con alta densidad fitoplanctónica.

Conociendo el número de campos que abarca el ocular sobre la cámara circular utilizada, en ciertos aumentos y marca y modelo del microscopio utilizado, se calcula el factor para los posteriores cálculos. Entonces, con un microscopio marca Olympus CKX 41 y un ocular de 20X, el número de campos totales es de 1197,7; y con un ocular de 40X, el número de campos totales es de 4791.

Sabiendo estos valores y la cantidad de campos contados, determinamos el factor según la siguiente ecuación.

$$F = \frac{\text{N}^\circ \text{ campos totales}}{\text{N}^\circ \text{ campos contados}}$$

Calculado el factor, se multiplica éste por el número de células contadas para cada especie obteniendo el resultado en cel/ml.



RESULTADOS

En este apartado se presentan las características generales de las lagunas analizadas y los resultados cuali-cuantitativos obtenidos del reconocimiento y recuento de células.

Características generales de las lagunas

Lagunas del PIT:

El color varía entre rosado intenso en la laguna N°5 y marrón grisáceo opaco en las lagunas N° 2 y 3 (Fig.21). Se observa presencia de grasa en la superficie del líquido, principalmente en la laguna N°5. Con bajos niveles de agua también se observa grasa sobre el canto rodado en las demás lagunas. El olor es el característico a lana de oveja.



Fig.21: Coloración de las lagunas del PIT. A y B) Laguna N°5. C) Laguna N°2. D) Laguna N°3.

Lagunas de efluentes cloacales urbanos:

Laguna de la base: presenta elevadas variaciones del nivel del agua (Fig.22) luego de lluvias ocasionales o altas temperaturas ambientales, haciendo a veces imposible la recolección de muestras. Prácticamente sin olor, a veces suave olor a cloaca. Color marrón. A veces presencia de grasa en la superficie.

Laguna del caño: niveles del agua más estables, con menos variaciones, en ocasiones de altas temperaturas se puede observar una bajante. Color verde intenso con floraciones de microalgas del género *Microcystis* (Fig.23).



Fuerte olor a cloacas, a veces olor a pescado (posiblemente por vuelco de camiones atmosféricos).

Laguna negra: niveles de agua estables, la coloración varía de acuerdo a la intensidad de los vientos, desde un marrón claro en días de poco viento a verde los días de vientos fuertes. Sin olor apreciable. No se ha observado grasa en suspensión, pero si espuma en la orilla. También se ha observado floración microalgal del género *Microcystis* (Fig.24).

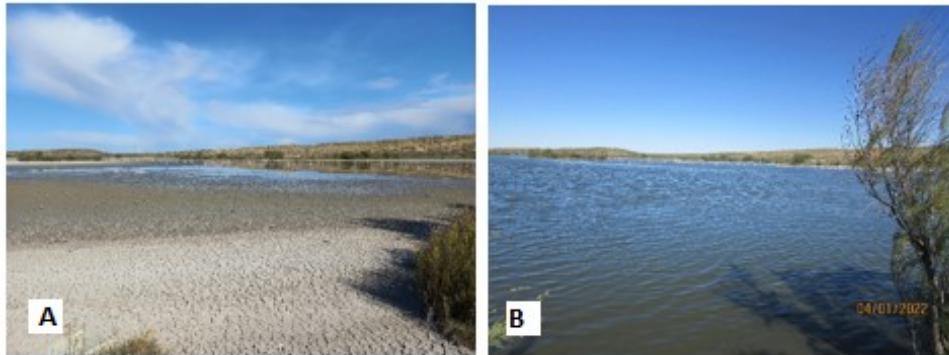


Fig.22: Diferencia de nivel del agua en la laguna de la base entre dos muestreos consecutivos.

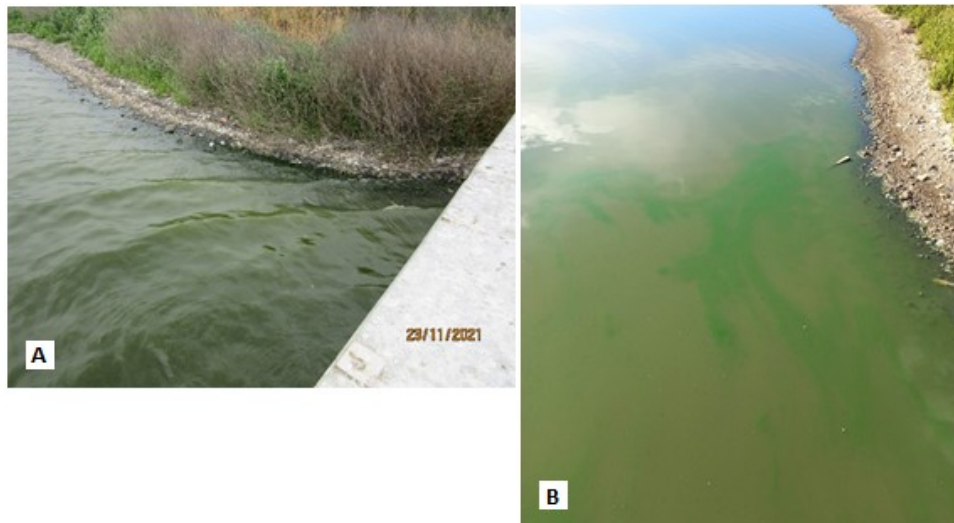


Fig.23: Coloración del agua en la laguna del Caño. En B se observan vetas de color verde intenso por floración de *Microcystis*.



Fig.24: Coloración del agua en laguna Negra. En C se observa floración de *Microcystis*.

Tablas de parámetros fisicoquímicos, organolépticos y ambientales de cada sistema lagunar.

A-Tablas de parámetros fisicoquímicos, organolépticos y ambientales de cada sistema lagunar

Los datos correspondientes a las Tablas 11 y 12 comienzan a partir de la adquisición de los elementos de medición. Es por esto que no hay datos que correspondan a los días de muestreo anteriores.

Tabla 9: Parámetros ambientales. **Sistema lagunar del PIT.**

AMBIENTE	4/11/2021	18/11/2021	3/12/2021	16/12/2021	30/12/2021	13/1/2022	27/1/2022	10/2/2022	4/3/2022
Temperatura ambiente (°C)	13	14	19	24	17	26	20	20	17
Presión atmosférica (hPa)	1009	1011	1017	1009	1007	1003	1014	1005	1005
Viento	OSO 38 km/h	SSE 14 km/h	NO 14 km/h	SE 9 km/h	SO 40 km/h	OSO 8 km/h	N 9 km/h	SO 32 km/h	OSO 29 km/h
Lluvias pasadas	NO	SI	SI	NO	NO	NO	SI	NO	SI

Tabla 10: Parámetros ambientales. **Sistema lagunar cloacal de Trelew.**

AMBIENTE	9/11/2021	23/11/2021	7/12/2021	21/12/2021	4/1/2022	18/1/2022	1/2/2022	15/2/2022	28/2/2022
Temperatura ambiente (°C)	17	18	30	22	18	15	20	25	15
Presión atmosférica (hPa)	1020	1004	1003	1007	1009	1026	1023	1001	1005
Viento	NE 28 km/h	NNO 27km/h	NO 33 km/h	SSE 33 km/h	SO 33km/h	SE 9 km/h	O 22km/h	ONO 22 km/h	OSO 37 km/h
Lluvias pasadas	NO	SI	NO	SI	NO	NO	SI, abundante la semana anterior	NO	SI, lluvias abundantes la semana anterior

Tabla 11: Parámetros fisicoquímicos y organolépticos. **Sistema lagunar del PIT.**

LAGUNA 2	13/1/2022	27/1/2022	10/2/2022	4/3/2022
LAGUNA				
Grasa o aceite en superficie. Espuma	SI	SI	SI	SI
Color	Marrón oscuro. Ladrillo	Rosa oscuro-marrón	Marrón oscuro	Rosa oscuro, color ladrillo
Olor	Lana	Lana	Lana	Lana
MUESTRA				
Temperatura (°C)	16,5	23,3	15,6	14,9



pH	8,5	8,6	8,4	8,5
Conductividad (μS)	1.740x10	1.739x10	1.743x10	1.737x10
LAGUNA 3	13/1/2022	27/1/2022	10/2/2022	4/3/2022
LAGUNA				
Grasa o aceite en superficie. Espuma	SI	SI	SI	SI
Color	Marrón oscuro	Marrón oscuro	Rojo opaco - marrón	Marrón oscuro
Olor	Lana	Lana	Lana	Lana
MUESTRA				
Temperatura (°C)	15,9	19,9	13,8	13,9
pH	8,7	9,1	8,4	8,5
Conductividad (μS)	1.846x10	1.864x10	1.830x10	1.518x10
LAGUNA 5	13/1/2022	27/1/2022	10/2/2022	4/3/2022
LAGUNA				
Grasa o aceite en superficie. Espuma	SI	SI	SI	SI
Color	Rosado intenso	Rosado intenso	Rosado intenso	Rosado intenso
Olor	Lana, intenso	Lana, intenso	Lana, intenso	Lana, intenso
MUESTRA				
Temperatura (°C)	15,7	23,6	15,6	13,9
pH	8,9	8,8	8,6	8,4
Conductividad (μS)	1.743x10	1.840x10	1.736x10	1.737x10

Presencia de grasa en la superficie del agua y cantos rodados. El color del agua varía entre marrón grisáceo y rosado intenso. El olor del sistema es el característico a curtiembres, olor a lana de oveja. Las variaciones de temperaturas de las muestras son muy amplias, van desde 13,9 °C a 23,6°C, esto se debe a la variación del nivel del agua en las lagunas y a las elevadas temperaturas ambientales durante el periodo de estudio. El pH del sistema es básico, entre 8,4 y 8,6 siendo superado en ocasiones. La EC es relativamente constante en las lagunas N°2 y 5, no así en la laguna N°3, ésta fue la que mayores variaciones del nivel del agua presentó.



Tabla 12: Parámetros fisicoquímicos y organolépticos. **Sistema lagunar cloacal de Trelew.**

LAGUNA DE LA BASE	4/1/2022	18/1/2022	1/2/2022	15/2/2022	28/2/2022
LAGUNA					
Grasa o aceite en superficie. Espuma	NO	NO	NO	SI	NO
Color	Verde oscuro	NO	Marrón claro	Gris-marrón	Marrón
Olor	NO	NO	NO	Cloaca, suave. Estancamiento	NO
MUESTRA					
Temperatura (°C)	13,7	NO	18	17	15
pH	8,5	NO	8,5	8,5	8,6
Conductividad (µS)	1.328x10	NO	8.900	1.168x10	1.020x10
LAGUNA DEL CAÑO	4/1/2022	18/1/2022	1/2/2022	15/2/2022	28/2/2022
LAGUNA					
Grasa o aceite en superficie. Espuma	NO	NO	NO	NO	NO
Color	Verde claro, intenso	Verde con vetas verde intenso	Vetas verdes	Verde intenso	Verde oscuro
Olor	Cloaca	Cloaca	Cloaca	Cloaca	Cloaca
MUESTRA					
Temperatura (°C)	16	14	18	18	15
pH	8,1	8,7	8,9	9,1	8,1
Conductividad (µS)	6.558	5.896	5.602	6.786	5.560
LAGUNA NEGRA	4/1/2022	18/1/2022	1/2/2022	15/2/2022	28/2/2022
LAGUNA					
Grasa o aceite en superficie. Espuma	NO	NO	NO	Espuma	NO
Color	Verde - marrón claro	Verde, con vetas más intensas	Verde	Vede claro bastante transparente	Marrón claro
Olor	NO	Cloaca, suave	NO	NO	NO



MUESTRA					
Temperatura (°C)	14	14	18,3	17	15
pH	7,5	8,8	9,1	8,8	8
Conductividad (µS)	1.072x10	1.327x10	1.333x10	1.523x10	1.330x10

Generalmente no se observa grasa en la superficie del agua, con excepción de la laguna de la base, en la laguna negra se observó espuma sin olor en la orilla. El color del agua en la laguna de la base fue mayormente marrón claro, mientras que las lagunas restantes tuvieron coloraciones verdes con variaciones en su intensidad, a veces con floraciones microalgales visibles a simple vista que otorgaban colores más intensos. En la laguna de la base y laguna negra no hubo presencia de olores prácticamente, mientras que la laguna del caño presentaba un fuerte olor a cloaca.

Las temperaturas de las muestras son menores a 18°C, variando entre 13 y 18°C. El pH es básico. Las mayores variaciones ocurrieron en la laguna del caño y en la laguna negra, mientras que la laguna de la base se mantuvo relativamente constante.

B-Tabla cualitativa de géneros y especies

En el sistema lagunar de efluentes industriales se ha observado una forma afín a la especie *Thiopedia rosea* Winogradsky, la cual crece en forma de planchas planas formadas por células de 1,5 µm de ancho por 2 µm de largo (Nomdedeu, 2018).

En el sistema lagunar de efluentes cloacales de la ciudad se han observado las microalgas descritas en la tabla 13 las cuales se clasificaron según Guiry y Guiry (2022).

Tabla 13: Taxa de microalgas encontradas en el sistema lagunar de tratamiento de efluentes cloacales de la ciudad de Trelew. Las especies de la familia Scenedesmeaceae pueden visualizarse en la figura 41, Anexo III.

	LAGUNA DE LA BASE	LAGUNA DEL CAÑO	LAGUNA NEGRA
Bacillariophyta			
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	X		
<i>Cyclotella</i> sp.	X		X
<i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) Compère	X		
<i>Gyrodinium aff. tenuatum</i>	X	X	
<i>Chaetoceros</i> sp.	X		X
<i>Navicula</i> sp.	X		X
<i>Diploneis</i> sp.	X		X
<i>Frustulia</i> sp.	X		X



<i>Trybionellaspp</i>	X		X
<i>Naviculaaff. salinarum</i>	X		X
<i>Craticulaaff. cuspidata</i>	X		
<i>Cymbellaspp</i>	X		X
<i>Plagiotropisspp</i>	X		
<i>Pinnulariaspp</i>	X		
<i>Nitzschiaspp A</i>	X	X	X
<i>Nitzschia spp</i>	X		X
<i>Surirellasp</i>	X		X
Chlorophyta			
<i>Pediastrumboryanum</i> (Turpin) Meneghini	X	X	
<i>Pediastrumdúplex</i> Meyen	X		
<i>Desmodesmusaff. communis</i>	X	X	X
<i>Desmodesmusaff. intermediusvaracu</i> <i>tispinus</i>		X	X
<i>Scenedesmus</i> <i>aff. quadricaudavarquadricauda</i>		X	X
<i>Tetrademusacutus</i> G.M. Smith	X	X	X
<i>Tetrademusaff. lagerheimii</i>		X	
<i>Desmodesmusaff. intermedius</i>	X	X	X
<i>Scenedesmus</i> <i>aff. acuminatusformamaximus</i>	X	X	X
<i>Scenedesmus</i> <i>aff. intermediusvar. balatonicus</i>	X	X	
<i>Scenedesmus</i> <i>acuminatus</i> (Lagerheim) Chodat		X	X
<i>Actinastrumsp</i>		X	X
<i>Coelastrummicroporum</i> Nägeli	X	X	X
<i>Tetraedronsp</i>			
<i>Elakatothrixsp</i>		X	X
<i>Kirchneriellasp</i>		X	X
<i>Sphaerocystisspp</i>		X	X
<i>Schroederiaspp</i>		X	
<i>Monoraphidiumspaff. contortum</i>			X
<i>Monoraphidiumminutum</i> (Nägeli) Komárková-Legnerová			X
<i>Ankyrajudayi</i> (G.M. Smith) Fott			X
<i>Micractiniumsp</i>		X	
<i>Golenkiniasp</i>		X	
<i>Dictyosphaeriumsp</i>		X	X
<i>Chodatellasp</i>		X	X
<i>Chlorellavulgaris</i> Beijerinck		X	
<i>Franceiaspp</i>		X	
<i>Oocystisspp</i>	X	X	X
<i>Closteriumsp</i>		X	
<i>Spirogyraspp</i>		X	



<i>Tetraedronmínimum</i> (A.Braun) Hansgirg			X
Cyanobacteria			
<i>Oscillatoriasp</i>	X	X	X
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützing) Kützing		X	X
<i>Microcystis flos-aquae</i> (Wittr.) Kirchner		X	X
<i>Snowellasp</i>		X	
<i>Merismopediasp</i>		X	
<i>Anabaenopsisaff.elenkinii</i>		X	
<i>Planktothrixsp</i>	X		
<i>Anabaenasp</i>		X	
<i>Spirulinasp</i>		X	
<i>Pseudoanabaenasp</i>		X	X
Euglenozoa			
<i>Phacussp</i>		X	
<i>Euglenasp</i>	X		
Dinophyta			
Dinoflagelados/i	X		

Entre las microalgas identificados se destacan por su abundancia e importancia ecológica: la familia Scenedesmaceae (*Desmodesmus* aff. *communis*, *Desmodesmus* aff. *intermedius* var. *acutispinus*, *Tetrademusacutus*, *Desmodesmus* aff. *intermedius* var. *acutispinus*, *Scenedesmus* aff. *quadricauda* var. *quadricauda*, *Tetrademusacutus*, *Tetrademus* aff. *lagerheimii*, *Desmodesmus* aff. *intermedius*, *Scenedesmus* aff. *acuminatus* forma *maximus*, *Scenedesmus* aff. *intermedius* var. *balatonicus*, *Scenedesmus acuminatus*) y los géneros *Microcystis*, *Chaetoceros* y una especie del género *Nitzschia*.

C-Tablas cuantitativas

Los datos correspondientes al sistema lagunar cloacal se presentan por lagunas. El día 18 de enero de 2022 no se registraron datos en la laguna de la base debido a una bajante importante en el nivel del agua por las altas temperaturas y escasas precipitaciones.

Tabla 14: Datos cuantitativos para la Laguna de la base. Los valores están expresados en cel/ml.

LAGUNA DE LA BASE	26/10/2021	9/11/2021	23/11/2021	7/12/2021	21/12/2021	4/1/2022	1/2/2022	15/2/2022	28/2/2022	PORCENTAJE DE OCURRENCIA
BACILLARIOPHYTA										
<i>Cyclotellasp</i>	18.685	11.498	18.206	9.582	5.270	25.871	3.833	958	14.373	100
<i>Giosigma aff. attenuatum</i>	1.437	1.437	1.916	5.993	958	3.833	479	1.916	2.875	100
<i>Chaetocersp*</i>				38.328	34.016				6.707	33,33
<i>Diploneissp</i>	1.916	3.833	958			1.916		479		55,55
<i>Frustuliasp</i>	1.437	1.437	1.916	2.875	479	958	958	479		88,88
<i>Trybionellasp</i>	3.833	4.791	3.832	1.916		958				55,55
<i>Naviculasp</i>	7.666	10.540	13.415	3.833	958	3.833			1.916	77,77
<i>Craticulaaff. ambigua</i>		1.437	2.874	958		958			1.916	55,55
<i>Craticulaaff. cuspidata</i>	1.437	958	2.875			958		479		55,55
<i>Cymbellasp</i>	1.916		958	1.916		958				44,44
<i>Plagiotropissp</i>		479					479	479	1.916	44,44
<i>Nitzschia sp A</i>	457.061	1.908.734	28.746	77.614	151.396	2.251.770	804.888	783.808	42.161	100
<i>Nitzschia spp</i>	20.122	1.437							2.875	33,33
<i>Surirellasp</i>	479	479	1.916	1.916		958	479	479	958	88,88
CHLOROPHYTA										
<i>Pediastrumboryanum</i>							958		958	22,22
<i>Pediastrumduplex</i>	479					958	1.916	479	958	55,55
<i>Desmodesmus aff. communis</i>	1.916									11,11
<i>Tetrademusacutus</i>	1.916		3.833				2.395	2.875	21.080	55,55
<i>Scenedesmus aff. quadricaudavarquadricauda</i>		958								11,11
<i>Desmodesmusaff. intermedius</i>	9.582	3.833			1.916	3.833				44,44



<i>Scenedesmus aff. acuminatus forma maximus</i>					7.666		11.498	19.164	7.666	44,44
<i>Scenedesmus intermedius var. balatonicus</i>	1.916									11,11
<i>Tetradesmus aff. acuminatus</i>							5.749	1.916	3.833	33,33
<i>Coelastrum microporum</i>					1.916	14.373				22,22
<i>Monoraphidium aff. contortum</i>	2.396									11,11
<i>Oocystis</i> sp				958		958	479			33,33
<i>Dictyosphaerium</i> sp*					479					11,11
<i>Closterium</i> sp								958		11,11
<i>Monoraphidium minutum</i>	479									11,11
CYANOBACTERIA										
<i>Anabaenopsis</i> sp					1.437					11,11
<i>Planktothrix</i> sp							479			11,11
<i>Oscillatoria</i> sp						958				11,11
<i>Microcystis aeruginosa</i> *			1.437	6.707		1.915				33,33
EUGLENOZOA										
<i>Euglena</i> sp	479						958	1.437	958	11,11
DINOPHYTA										
Dinoflagelados/i								479		11,11

* Se contaron colonias

Tabla 15: Datos cuantitativos para la Laguna del caño. Los valores están expresados en cel/ml.

LAGUNA DEL CAÑO	26/10/2021	9/11/2021	23/11/2021	7/12/2021	21/12/2021	4/1/2022	18/1/2022	1/2/2022	15/2/2022	28/2/2022	PORCENTAJE DE OCURRENCIA
BACILLARIOPHYTA											
<i>Girosigmaaff attenuatum</i>				958							10
<i>Cyclotellasp</i>	47.910	62.283	100.611	79.531	56.534	62.283	32.098	9.582	1.437	8.624	100
<i>Chaetocersp*</i>					958						10
<i>Naviculasp A</i>	958										10
<i>Cymbellasp</i>									479		10
<i>Nitzschia sp A</i>				1.916	4.791	6.707		958	1.437	958	60
<i>Nitzschia spp</i>	57.492	40.724	70.907	10.540	3.833		479				60
CHLOROPHYTA											
<i>Pediastrumboryanum</i>		958	958	2.875	2.875	5.749	958	1.437	958	1.916	90
<i>Pediastrumduplex</i>			958								10
<i>Elakatothrixsp *</i>	3.833	9.103	11.498	22.997	1.916	2.875					60
<i>Kirchneriellasp *</i>	958			3.833							20
<i>Desmodesmusaff. communis</i>	40.244	26.829	17.247	15.575	11.498	3.833		1.916		7.666	80
<i>Tetrademusacutus</i>	290.334	330.100	622.830	388.071	195.473	19.164		1.916	5.749		80
<i>Desmodesmus aff. intermediusvar. acutispinus</i>	19.164										10
<i>Scenedesmus aff. quadricaudavar. quadricauda</i>	57.492	3.833	13.415	7.666		1.916			958		60
<i>Tetrademusaff. lagerheimii</i>		11.498	61.325	30.662							30



<i>Desmodesmus</i> aff. <i>intermedius</i>	22.997	11.498	26.830	26.830	38.328	11.498					60
<i>Scenedesmus</i> aff. <i>acuminatus</i> formama <i>ximus</i>	22.997	11.498	61.325	107.318	45.994	22.997		7.666			70
<i>Scenedesmus</i> <i>intermedius</i> var. <i>balatonicus</i> .		11.498	11.498	3.833							30
<i>Tetrademus</i> aff. <i>acuminatus</i>				26.830	15.331				1.916		30
<i>Actinastrum</i> sp*			6.707		1.916						20
<i>Coelastrum</i> micropor <i>um</i>				5.749	2.875	1.916			479		40
<i>Micractinium</i> sp		1.916									10
<i>Sphaerocystis</i> sp*	15.331	11.019	4.791				479				40
<i>Schroederiasp</i>		2.875	3.833	1.916	2.875	958					50
<i>Monoraphidium</i> aff. <i>contortum</i>		53.058	3.833			1.916					30
<i>Chodatellasp</i>	958	479	1.916								30
<i>Chlorellavulgaris</i>	76.656										10
<i>Dictyosphaerium</i> sp*		5.749	17.248	6.707	13.415	23.955	479	1.916	958	4.791	90
<i>Oocystis</i> sp	958	3.354	4.791	6.707	9.582	2.875	958	1.437			80
<i>Closterium</i> sp	8.624	3.354	2.875			958	479	479		1.916	70
<i>Monoraphidium</i> minu <i>tum</i>	5.749	3.354	5.749								30
CYANOBACTERIA											
<i>Snowellasp</i> **				P	P	P	P				40
<i>Merismopediasp</i> **	P	P	P	P	P	P	P	P			80
<i>Microcystis</i> <i>aeruginosa</i> *	3.114		4.312	719		2.874	11.019	6.947	2.395	11.498	80
<i>Microcystis</i> flos- <i>aqua</i> *							958	958	479		30



<i>Pseudoanabaenasp</i>				13.415							10
<i>Oscillatoriasp</i>		479	958	5.749	10.540	2.875	1.437				60
EUGLENOZOA											
<i>Euglenasp</i>				958							10

* Se contaron colonias

** Se observó presencia (P)

Tabla 16 Datos cuantitativos para la Laguna Negra. Los valores están expresados en cel/ml.

LAGUNA NEGRA	26/10/202 1	9/11/202 1	23/11/202 1	7/12/202 1	21/12/202 1	4/1/202 2	18/1/202 2	1/2/202 2	15/2/202 2	28/2/202 2	PORCENTAJ E DE OCURRENCI A
BACILLARIOPHYTA											
<i>Chaetocersp *</i>									1.437	16.289	20
<i>Cyclotellasp</i>	16.364	1.437	1.916	479	479	23.955	479	1.437		958	90
<i>Diploneissp</i>			958								10
<i>Frustuliasp</i>						958					10
<i>Trybionellaspp</i>						958					10
<i>Naviculasp</i>		479	2.875	4.312		1.916	1.916		479	958	70
<i>Naviculaaff. salinarum</i>	909										10
<i>Cymbellasp</i>		1.437		479		1.916	479			958	50
<i>Nitzschiaspp</i>	2.727	1.916	958								30
<i>Nitzschiasp A</i>				1.437		1.916		719			30
<i>Surirellasp</i>	909									958	20
CHLOROPHYTA											
<i>Pediastrumboryanum</i>						1.916					10
<i>Desmodesmus aff. communis</i>	14.546	1.916									20
<i>Tetradesmusacutus</i>	111.820	3.832	11.499		1.916	20.122	1.916				60
<i>Desmodesmusaff.intermediusvar.acutispinus</i>			1.916								10
<i>Scenedesmus aff. quadricaudavar. quadricauda</i>	1.818				958						20
<i>Desmodesmusaff.intermedius</i>						3.833					10
<i>Scenedesmus aff. acuminatusformamaximus</i>	7.273					7.666					20



<i>Tetrademusaff. acuminatus</i>						7.666					10
<i>Actinastrum</i> sp*			4.791								10
<i>Coelastrummicroporum</i>						958					10
<i>Elakatothrix</i> sp*			1.916								10
<i>Kirchneriella</i> sp*		479	3.833	1.437							30
<i>Sphaerocystis</i> sp*					2.396						10
<i>Schroederia</i> sp	5.455		1.916						479		30
<i>Monoraphidium</i> spaff. <i>contortum</i>	11.818	8.145	17.248	2.396		958	479				60
<i>Monoraphidium</i> <i>minutum</i>	25.455	2.396	8.624	958	479	958					60
<i>Ankirajudayi</i>									1.437		10
<i>Tetraedron</i> sp									479		10
<i>Dictyosphaerium</i> sp*	909			479		12.457		719			40
<i>Chodatella</i> sp									479		10
<i>Oocystis</i> sp			958	479	2.396	958	479		479	2.876	70
<i>Closterium</i> sp	3.636										10
CYANOBACTERIA											
<i>Oscillatoria</i> sp						1.916					10
<i>Microcystis aeruginosa</i> *				1.198		2.395	1.916	6.228	1.198	13.414	60
<i>Microcystis flos-aqua</i> *		3.833		958		479				958	40

* Se contaron colonias

Gráficos:

Los gráficos 1, 2 y 3 corresponden a la contribución porcentual de Phyla algales de las lagunas de tratamiento de efluentes cloacales de Trelew.

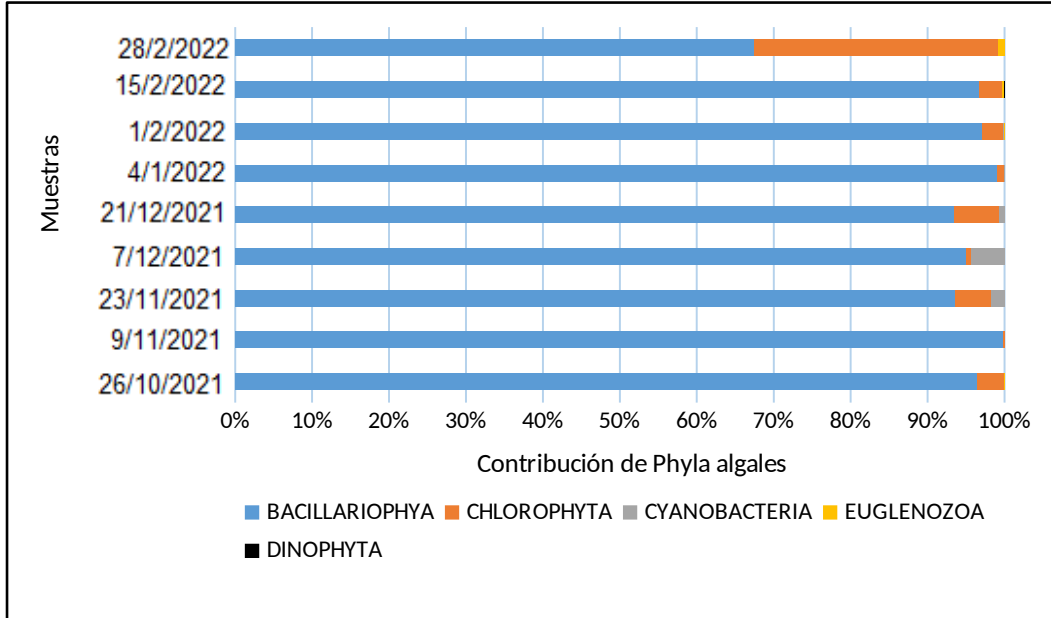


Gráfico 1: Contribución porcentual de Phyla algales al fitoplancton total en la laguna de la base por fecha de muestreo.

Se observa una clara dominancia del Phylum Bacillariophyta por sobre el resto de los Phyla encontrados en esta laguna, sin embargo, hacia el verano aumentan las clorófitas, siendo la contribución de cianobacterias muy escasa y sólo a principios de diciembre.

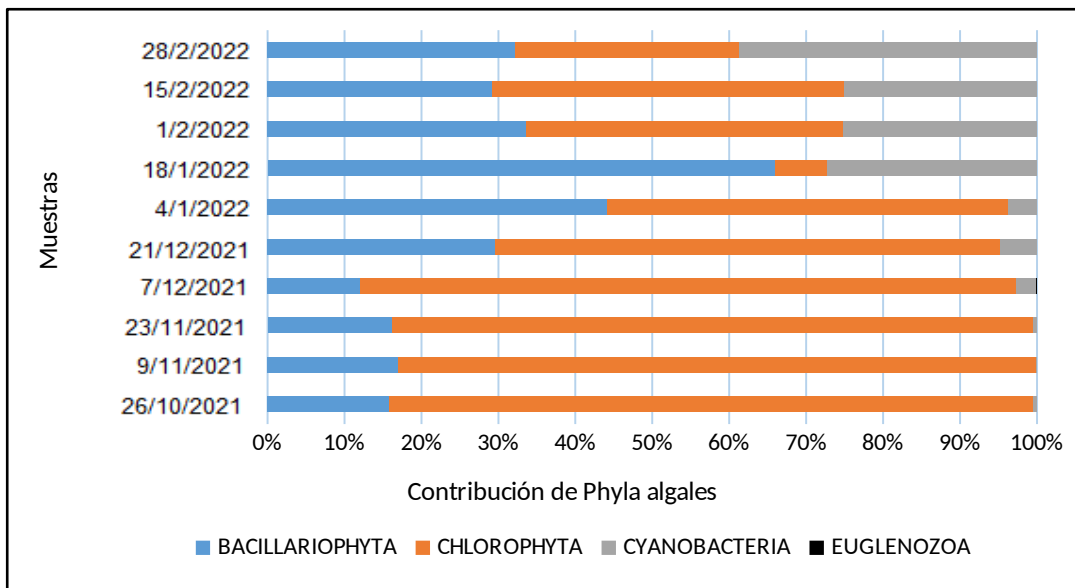


Gráfico 2: Contribución porcentual de Phyla algales al fitoplancton total en la laguna del caño por fecha de muestreo.



Se observa una dominancia del Phylum Chlorophyta, seguido por el Phylum Bacillariophyta, durante la primavera, hacia los meses de verano se observa un aumento de las diatomeas y cianobacterias, observándose una variación en la estructura de la comunidad donde los tres grupos aportan porcentajes similares.

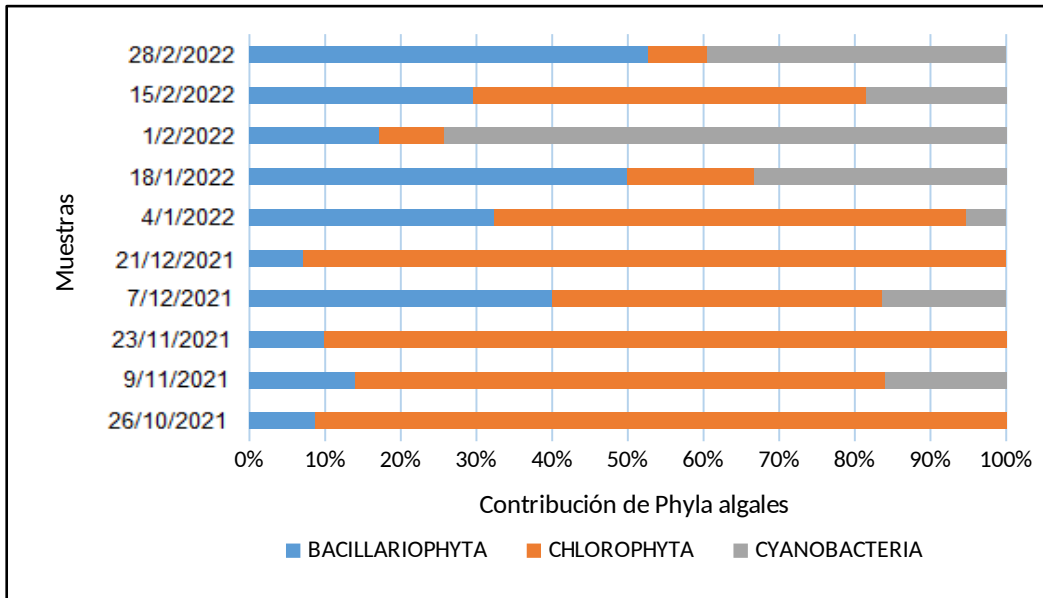


Gráfico 3: Contribución porcentual de Phyla algales al fitoplancton total en la laguna negra por fecha de muestreo.

Se observa una dominancia del Phylum Chlorophyta durante la primavera, reduciendo el porcentaje a medida que avanza el verano. A la misma vez se observa un aumento en los porcentajes de diatomeas y cianobacterias.

Los gráficos 4,5 y 6 corresponden al porcentaje de ocurrencia mayor del 50% de las especies en las muestras de las lagunas de estabilización de Trelew.

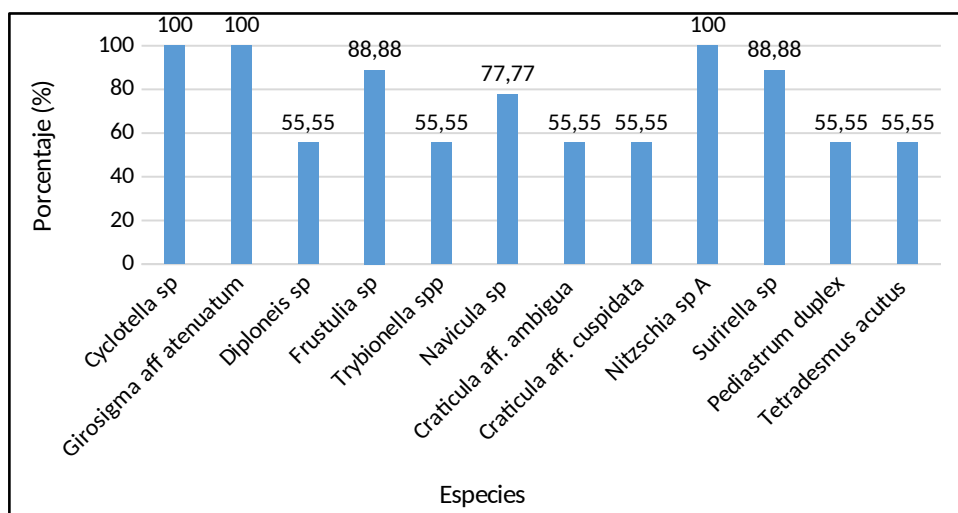


Gráfico 4. Porcentaje de ocurrencia de especies en muestras de la laguna de la base.

La laguna de la base está caracterizada en todo el estudio por diatomeas. *Cyclotella* sp, *Gyrosigma* aff. *atenuatum* y *Nitzschia* sp A estuvieron presentes durante todo el periodo. *Frustulia* sp y *Surirella* sp lo hicieron en aproximadamente el 90 % de las muestras (88,88%), mientras que *Diploneis* sp, *Tryblionella* sp, *Craticula* aff. *ambigua* y *Craticula* aff. *cuspidata* lo hicieron el 55,55 % de las veces.

Las clorófitas estuvieron presentes en el 55,55% de las muestras, representadas por las especies *Pediastrum dúplex* y *Tetrademus acutus*

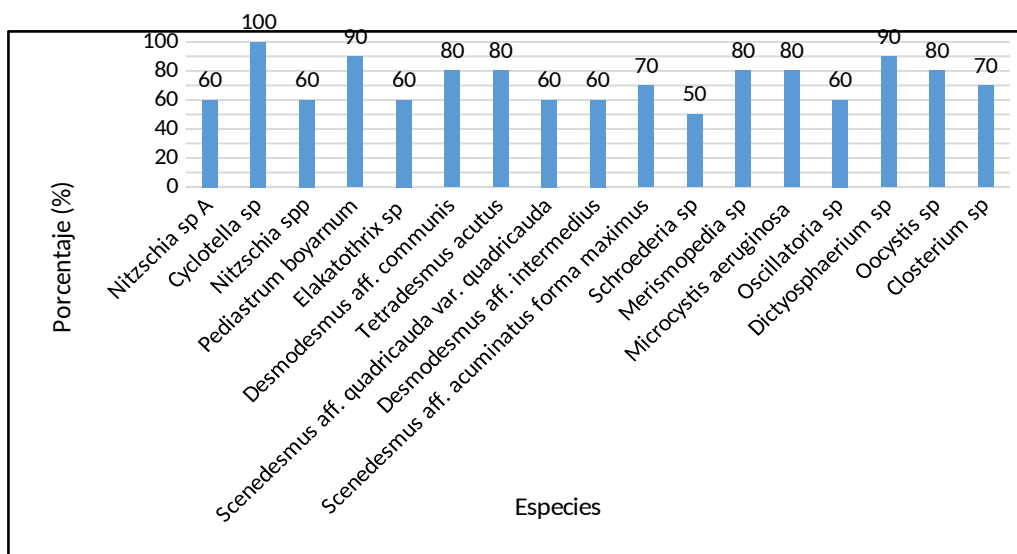


Gráfico 5. Porcentaje de ocurrencia de especies en muestras de la laguna del caño.

La laguna del caño se caracterizó por el Phylum Chlorophyta. *Pediastrum boyarnum* y *Dictyosphaerium* sp estuvieron presentes en el 90% de las muestras. *Desmodesmus* aff. *communis*, *Tetrademus acutus*, *Merismopediasp*, *Microcystis aeruginosa* y *Oocystis* sp lo hicieron en el 80% de las muestras. *Scenedesmus* aff. *acuminatus* forma máxima y *Closterium* sp estuvieron presentes en el 70% de las muestras. *Elakatotrix* sp, *Scenedesmus* aff. *quadricauda* var. *quadricauda* y *Oscillatoria* sp lo hicieron en el 60% de los casos. *Schroederia* sp estuvo presente en el 50% de las muestras.

El Phylum Bacillariophyta estuvo representado por *Cyclotella* en el 100% de los muestreos, mientras que *Nitzschia* spp y *Nitzschia* sp A lo hicieron en el 60%.

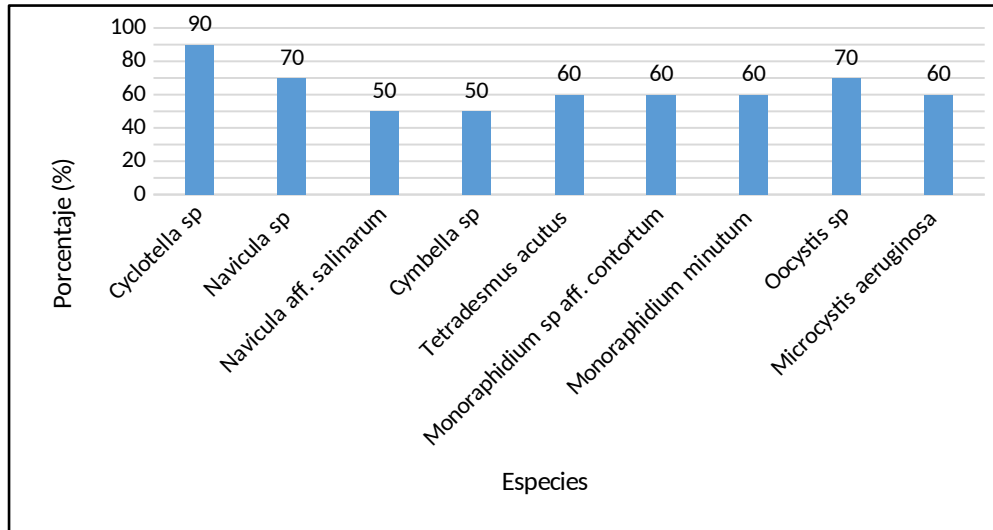


Gráfico 6. Porcentaje de ocurrencia de especies en muestras de la **laguna negra**.

En la laguna negra estuvo presente la especie *Cyclotella* sp en el 90% de las muestras, y *Navicula* sp en el 70% de los casos, mientras que *Navicula* aff. *salinarum* y *Cymbella* sp lo hicieron en el 50% de los casos. El Phylum Chlorophyta, se encontró representado por *Oocystis* sp en el 70% de las muestras, mientras que *Tetrademus* acutus, *Monoraphidium* sp aff. *contortum* y *Monoraphidium* minutum lo hicieron en el 60% de los casos. Las cianobacterias estuvieron representadas por la especie *Microcystis aeruginosa* en el 60% de las muestras.



DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La calidad de las aguas superficiales está determinada por sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Las propiedades físicas y químicas dan, por su variabilidad, una imagen limitada de la calidad en un momento determinado, mientras que la biota actúa como monitores continuos durante un periodo de tiempo. Esto se ve reflejado en los tipos y densidad de organismos presentes en los cuerpos de agua (Džeroski et al., 2000). Es por esto que las aguas naturales se monitorean mediante el uso de organismos indicadores (bioindicadores) con requisitos ecológicos conocidos y se seleccionan por su tolerancia o sensibilidad a perturbaciones por contaminación (Džeroski et al., 2000). La relación entre los parámetros biológicos y químicos del agua es importante, por ejemplo, desde el punto de vista económico, ya que la supervisión periódica de contaminantes químicos es muy costosa. Mientras que, por otro lado, las muestras biológicas son menos costosas y pueden reflejar variaciones en los niveles de contaminación (Džeroski et al., 2000).

La laguna de la base presentó un pH relativamente constante durante los muestreos, entre 8,5 y 8,6. Durante uno de los muestreos presentó grasa en superficie. La electro-conductividad fue entre 8.900 μS y $1.328 \times 10^4 \mu\text{S}$. En esta laguna los organismos dominantes fueron las diatomeas, con densidades entre 3.353 y 6.506.178 cel/ml. Entre éstas, *Nitzschia* sp A fue la más distintiva por su abundancia presentando concentraciones entre 28.746 cel/ml y 2.251.770 cel/ml. El pico de densidad celular máxima de *Nitzschia* sp A corresponde al día 4 de enero de 2022. Las características físico-químicas del agua en este muestreo fueron: temperatura 13,7°C, conductividad $1.328 \times 10^4 \mu\text{S}$ y pH 8,5. Esta diatomea generadora de blooms en la laguna de la base solo pudo ser identificada a nivel de género (para diferenciarla, se identificó con la letra A), pudiendo deberse a que no está descrita aún, por lo que se procedió a su descripción morfológica y morfométrica (ANEXO III) para futuros trabajos de investigación. Es de gran importancia ya que se trata de una diatomea, y estas son reconocidas por ser buenas bioindicadoras de calidad del agua. Es bien conocido que el género *Nitzschia* tiene afinidad a aguas salobres, orgánicamente contaminadas, ricas en nutrientes y pobres en oxígeno. Es utilizada como indicadora de aguas fuertemente contaminadas por su alta tolerancia a la contaminación (González, 2012). Además, las diatomeas que alcanzan elevadas densidades celulares se pueden considerar potencialmente nocivas. Esto debido a la alta demanda de oxígeno requerido, produciendo déficit de OD (Moreira, 2013). Durante el periodo de estudio no se observaron impactos negativos sobre la fauna del lugar (principalmente aves).

En esta laguna (laguna de la base) también se ha observado la aparición de especies del género *Chaetoceros*, un grupo de diatomeas planctónicas de amplia distribución. En la acuicultura, especies del género *Chaetoceros* son



utilizadas para suministrar aporte nutricional a larvas de bivalvos y crustáceos. Las colonias de *Chaetoceros* sirven como una importante fuente de alimento dentro de la columna de agua y un importante contribuyente de carbono en el ambiente bentónico (Gallardo, 2019). Sin embargo, según Cuellar y Mariona (2007), estas microalgas también pueden dañar los tejidos branquiales de los peces causando la asfixia, y eventualmente la muerte; el daño histológico se produce por las prolongaciones filamentosas espinosas o setas que presenta el género, pudiendo cubrir y tapar las branquias de los peces, evitando el intercambio gaseoso.

La laguna del caño presentó, al igual que la laguna negra, elevadas variaciones de pH, entre 8,1 y 9,1; y 7,5 y 9,1, respectivamente. La primera presentó los valores de electro-conductividad más bajos en relación a las otras dos lagunas del sistema, entre 5.602 μS y 6.786 μS . Se observó presencia de aves en todos los muestreos, sin registro de fauna muerta por presencia de cianobacterias productoras de toxinas.

El Phylum Chlorophyta fue el dominante en la laguna del caño durante la primavera y primeros días del verano, con una densidad que varió entre las 958 cel/ml y 1.631.335 cel/ml y con el mayor número de especies con porcentajes de ocurrencia por encima del 50%. Dentro de este grupo la familia Scenedesmaceae fue la distintiva con densidades celulares entre 19.164 cel/ml y 1.631.335 cel/ml. La especie *Tetrademus acutus* fue la especie dominante con densidades entre 0 cel/ml y 622.830 cel/ml. Sin embargo, *Cyclotella* sp fue la especie que estuvo presente en todas las muestras de esta laguna.

La laguna negra presentó electro-conductividades entre 1.072x10 μS y 1.330x10 μS . En esta también dominó el Phylum Chlorophyta con densidades celulares entre 479 cel/ml y 147.273 cel/ml. Sin embargo, la especie con mayor porcentaje de ocurrencia fue *Cyclotella* sp con el 90%, seguida de las especies *Navicula* sp y *Oocystis* sp con el 70%. Es importante destacar que *Microcystis aeruginosa* estuvo presente en el 60% de las muestras analizadas, ya que es productora de toxinas, pudiendo generar impactos sobre la salud humana, de aves y demás animales. En la laguna negra se observó presencia de aves y perros durante todo el periodo de muestreo, pero no se registraron animales muertos.

La presencia de especies de la familia Scenedesmaceae es importante de destacar. Estas especies han sido utilizadas para la reducción, en aguas residuales, de cromo, nitrógeno, lípidos, carbohidratos, fósforo; y se determinó que puede remover hasta en un 99% los coliformes totales y hasta en un 91% los cloruros, además de tolerar alrededor de 0,5 mg/L a 2 mg/L de cobre, níquel, cadmio y zinc (López, 2016). Esto es importante de destacar dada la funcionalidad del sistema de lagunas estudiado, ya que la depuración natural (en este caso biológica) está contribuyendo al tratamiento de las aguas. También, se ha determinado que especies de esta familia pueden utilizarse para producir



energía y suplementos alimenticios para animales a partir de su biomasa, además de reducir aún más los niveles de contaminación en las aguas residuales (López, 2016). Este género ha sido también muy atractivo para la aplicación de tecnologías innovadoras como la hidrólisis enzimática para la obtención de aminoácidos libres y su posible aplicación como biofertilizantes en la agricultura (Carvajal, 2017).

En la laguna del caño y la laguna negra también se ha observado que el género *Microcystis* presentó floraciones, que a simple vista se observaban de coloración verde en las lagunas. Este género tiene importancia ecológica debido a la capacidad para secretar sustancias tóxicas o inhibitorias. En los sistemas de agua dulce, se reconoce que algunas cianobacterias son tóxicas, especialmente los géneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* y *Dolichospermum*, entre otras. Entre los organismos que pueden verse afectados por las toxinas algales figuran otras algas, invertebrados planctónicos, peces y animales terrestres, como aves y mamíferos. En poblaciones acuáticas el envenenamiento es frecuente luego de la formación de densos “blooms” (de Infante, 1988). Entre las especies más comúnmente implicadas en los envenenamientos encontramos: *Dolichospermum flos-aquae* y *Microcystis aeruginosa* (de Infante, 1988). Esta última, presentó blooms en los muestreos que se realizaron. Las sustancias secretadas por las especies de este género son alcaloides y polipéptidos de bajo peso molecular. Los primeros provocan un bloqueo neuromuscular en minutos mientras que los segundos causan daño hepático y su efecto se deja sentir más lentamente (de Infante, 1988). Si bien no se observó fauna afectada por esta toxina, es importante tener en cuenta la presencia de esta especie en la laguna si se piensa en futuros proyectos que impliquen el uso del efluente.

Basado en las características biológicas de las lagunas de tratamiento de efluentes cloacales de la ciudad de Trelew y teniendo en cuenta que el índice sapróbico está basado en la presencia de ciertas especies de bacterias, algas, flagelados, ciliados y rotíferos indicadores de polución, podemos estimar la calidad del agua de estas lagunas. Dentro de las microalgas que indican un índice beta Mesosaprobico (contaminación moderada) se encuentran: *Scenedesmus* spp, *Pediastrum* spp y *Merismopediapunctata*, entre otras. Las microalgas que indican un índice alfa Mesosaprobico (alta contaminación) son: *Oscillatoria tenuis*, *Euglena próxima*, *Nitzschia palea* y *Naviculacryptocephala*, entre otras. Y dentro de las que indican un índice Oligosaprobico (aguas poco contaminadas), encontramos *Sphaerocystis schroeteri* (Salvador y Luisa, 2018). Si bien no se ha alcanzado el nivel taxonómico de especie en todos los casos vistos en las lagunas, podemos decir que, las lagunas de estabilización de Trelew tienen en general un índice de saprobiedad Mesosaprobico, indicando una contaminación moderada/fuerte. La laguna del caño presentó porcentajes de ocurrencia del 90% para *Pediastrum boyarnum*, del 80% para *Merismopediasp*, 60% para *Oscillatoriasp* y varias especies de la familia Scenedesmaceae, confirmando en cierta medida un índice sapróbico alfa Mesosaprobico para esta laguna.



Las lagunas del PIT se caracterizan por su coloración rosada y fuerte olor a lana de oveja. Presentan pH básico entre 8,4 y 8,6 para la laguna 2; entre 8,4 y 8,9 para la laguna 3; y entre 8,4 y 8,9 para la laguna 5. Las electroconductividades varían entre $1.737 \times 10 \mu\text{S}$ y $1.743 \mu\text{S}$ para la laguna 2, entre $1.518 \times 10 \mu\text{S}$ y $1.864 \times 10 \mu\text{S}$ para la laguna 3; y entre $1.736 \times 10 \mu\text{S}$ y $1.840 \times 10 \mu\text{S}$ para la laguna 5.

La laguna 3 del PIT es la que mayor variación del nivel del agua presentó durante el periodo de estudio. Se observaron aves y no hay registro de animales muertos a orillas de las lagunas.

En las muestras de agua de las lagunas del PIT se observó una especie afín al género *Thiopedia*. Éstas son bacterias fotosintéticas púrpuras del azufre. Crecen en forma de planchas planas formadas por células de $1,5 \mu\text{m}$ de ancho por $2 \mu\text{m}$ de largo. Son anaeróbicos estrictos y soportan altas concentraciones de ácido sulfhídrico. Viven en zonas anóxicas iluminadas, y utilizan sulfuro de hidrógeno, azufre elemental y otros compuestos del azufre, depositando gránulos de azufre en su interior. Suelen estar presentes en lagunas de estabilización con un funcionamiento deficiente, caracterizadas por deficiencia de oxígeno disuelto y presencia de sustancias grasas. Generalmente aparecen con mucha abundancia cuando las temperaturas son elevadas (Nomdedeu, 2018). También se observaron pequeños flagelados en muy bajas concentraciones celulares que no pudieron ser identificados. Estos podrían indicar concentraciones de oxígeno disuelto, aunque se requieren de estudios complementarios para determinarlo.



ANEXO I

Protocolo básico para desarrollar actividades en los laboratorios de biología. Sede Trelew, Facultad de Ciencias Naturales, UNPSJB.

A continuación, se exponen una serie de criterios aplicables a los diferentes tipos de riesgos que pueden estar relacionados con tareas que se llevan a cabo en los laboratorios de Biología, en la Sede Trelew de la UNPSJB.

No se puede trabajar en el laboratorio sin tomar las siguientes medidas de seguridad.

- Localizar dispositivos de seguridad más próximos (extintores, salidas de emergencia, etc.).
- Existe a disposición de los usuarios un botiquín de primeros auxilios en el laboratorio. Cuando se utilice, ponerlo en conocimiento del encargado del laboratorio para su reposición.
- Leer las etiquetas de seguridad. Las botellas de reactivos contienen pictogramas y frases que informan sobre su peligrosidad, uso correcto, y medidas a tomar en caso de ingestión, inhalación u otros incidentes. Algunos aparatos pueden contener información del mismo tipo.
- Informarse sobre las medidas básicas de seguridad y las específicas para las tareas encomendadas. Utilizar los equipos de protección individual (EPI) tales como guardapolvo, guantes, y barbijos.

Protección durante el desarrollo de la actividad de laboratorio.

- Cuidado de los ojos. Usar anteojos de seguridad cuando la tarea así lo requiera.
- Ropa de laboratorio. Es obligatorio el uso del guardapolvo en el laboratorio preferentemente de algodón. Llevar zapatos cerrados.
- El cabello largo supone un riesgo, por lo que debe evitarse manteniéndolo siempre sujeto.
- Es recomendable el uso de guantes y barbijo si fuese necesario.

Normas básicas para trabajar con seguridad.

- No comer ni beber en el laboratorio ya que es posible que los alimentos o bebidas se contaminen. O bien puede ensuciarse y deteriorarse equipo valioso.
- Entrar en el laboratorio sólo con lo imprescindible. Depositar cosas personales (abrigos, mochilas, bolsos, etc.) en el lugar destinado para ello. Siempre alejados del material óptico u otro equipo de laboratorio.



- Lavado de manos siempre después de realizar una actividad y antes de salir del laboratorio.
- No inhalar, probar u oler productos químicos. Nunca acercar la nariz a un tubo de ensayo o a algún recipiente que contenga un reactivo. Cerrar los frascos o botellas de reactivo inmediatamente después de utilizarlos.
- No devolver los sobrantes de los reactivos utilizados a los frascos de origen.
- No pipetear con la boca. Utilizar siempre las peras, pro-pipetas, etc.
- No utilizar, ni limpiar frascos de reactivos que no tengan etiqueta.
- Nunca utilizar un equipo o aparato sin conocer perfectamente su funcionamiento.
- Trabajar con orden y limpieza. Mantener el área de trabajo ordenada y únicamente con los útiles necesarios. Mantener la mesa y la campana extractora siempre limpias. Se tienen que limpiar inmediatamente todos los productos químicos derramados. Limpiar siempre perfectamente el material y aparatos utilizados después de su uso.

Manejo de Reactivos.

El manejo de reactivos requiere de mucho cuidado y atención. Leer detenidamente las etiquetas de seguridad de los reactivos que se vayan a usar.

- Manipulación de productos químicos.
 - Los productos químicos pueden ser tóxicos, corrosivos, inflamables o explosivos.
 - Trabajar en una campana extractora siempre que se usen sustancias volátiles.
 - Evitar el contacto de los productos corrosivos o tóxicos con la piel, para esto, utilizar guantes de látex o nitrilo.

Clasificación y manejo de residuos.

Seleccionar los residuos generados: El depósito indiscriminado de residuos peligrosos, vidrio roto (frascos, material de laboratorio, portaobjetos, cubreobjetos) agujas hipodérmicas, agujas histológicas rotas, alfileres, ansas y hojas de bisturí en la papelera provoca frecuentes accidentes entre el personal de limpieza.

- El material de vidrio roto se tirará en un recipiente contenedor preparado para tal efecto.
- Las agujas hipodérmicas, agujas histológicas rotas, alfileres, ansas y las hojas de bisturí. A fin de prevenir accidentes el material citado anteriormente debe desecharse al recipiente dispuesto para al fin dentro de la campana de gases.



- Los papeles se depositan en el contenedor de papel. En caso de que estén contaminados con agua, aceite, reactivos o líquidos provenientes de material fijado o fresco, desecharlos en el depósito “Sólidos absorbentes contaminados” junto a las campanas de gases.
- Gestión de residuos químicos. Los productos químicos tóxicos se tirarán en contenedores especiales para este fin.
 - No tirar directamente por las piletas del laboratorio productos que reaccionen con el agua (sodio, hidruros, halogenuros de ácido) productos que sean inflamables (disolventes) o que huelan mal (derivados de azufre).
 - No tirar directamente por las piletas del laboratorio yerba, te o café.

Manejo de equipos.

Todos los equipos de los laboratorios están a disposición de los usuarios, salvo aquellos reservados exclusivamente para investigación. Utilízalos siguiendo las siguientes normas:

- Antes de utilizar un equipo debe conocerse su funcionamiento. El uso incorrecto de los equipos es perjudicial para todos, impidiendo el desarrollo de los trabajos prácticos y de investigación.
- Cuando se termina el trabajo, todos los equipos utilizados deben de dejarse en condiciones óptimas de limpieza para su posterior utilización.

SEDRONAR

En la Facultad de Ciencias Naturales de la UNPSJB, la compra de drogas y reactivos, así como de equipamiento y material fungible se realizan a través de formularios electrónicos.

Los datos de los productos a comprar, volcados a dicho formulario, son extraídos de la página Argentina Compras. Posteriormente son remitidos a través de la Delegación Académica a la Sede Trelew al Decanato en Comodoro Rivadavia, lugar donde se centralizan las compras de todas las Sedes de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad.

Trimestralmente se presenta al Decanato, un detalle de las adquisiciones (si las hubiere), y de los consumos y stocks de reactivos de uso común en laboratorio. Estos datos son registrados en una planilla Excel, enviada por el SEDRONAR, que se encuentra en el Manual de Procedimientos-RENPRES, anexo 14.



ANEXO II

Diatomeas: Identificación, importancia ecológica y como bioindicador.

Las diatomeas son un grupo de microalgas bentónicas muy diverso que suele constituir el 80-90% de la compleja matriz que recubre diversos sustratos (Blanco et al., 2012). Esta compleja matriz (perifiton) es fundamental para las comunidades bióticas acuáticas ya que cumple un importante rol en los procesos de transferencia de energía, materia e información a través de las cadenas tróficas. Su estudio es importante para comprender el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos, pues su composición y estructura pueden servir como indicadores de la calidad del agua y de procesos que, como la contaminación, puedan estar afectando a los ecosistemas (Moreno y Aguirre, 2013).

Las diatomeas son útiles para la detección y el seguimiento de contaminación, incrementos de materia orgánica, salinidad y acidificación ya que responden rápidamente a las perturbaciones ambientales (Fig. 25). Estas perturbaciones suelen manifestarse en cambios a nivel de la estructura y dinámica de la comunidad (Apumaita et al., 2019). Además de ser cosmopolitas (están presentes en todos los sistemas acuáticos, desde los hielos polares hasta las aguas termales, desde las salinas hasta los lagos ultraoligohalinos; en suelos, con luz o en la oscuridad, en forma libre y hasta viviendo como endosimbiontes dentro de otros organismos) y su distribución estar muy relacionada con la química del agua, la estacionalidad y la geología; tienen requerimientos ecológicos conocidos. Por todo esto se consideran un buen elemento biológico para la determinación del estado ecológico de un cuerpo de agua (Blanco et al., 2012).

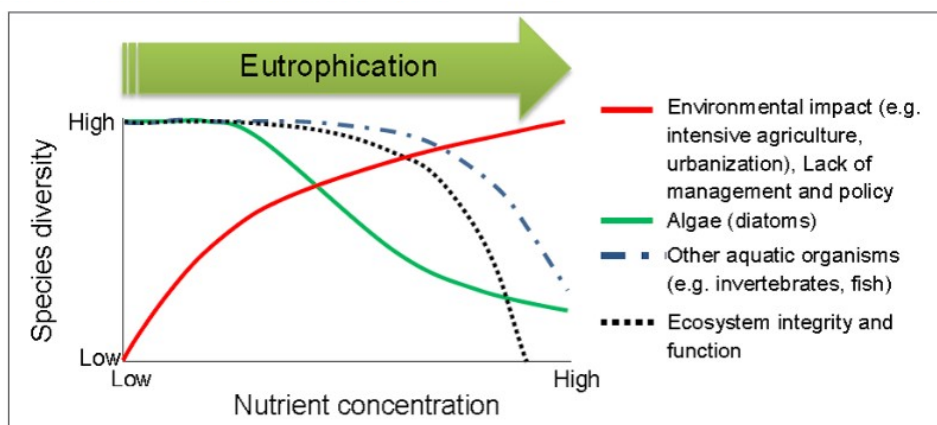


Fig.25: Se observa como las diatomeas (marcadas en color verde) reaccionan antes que los demás organismos ante una perturbación en el medio (marcado en color rojo). Fuente: Datum et al., 2016.

Las diatomeas son algas microscópicas, eucariotas y unicelulares de color generalmente marrón-dorado debido a los pigmentos fotosintéticos accesorios (β -

caroteno, fucoxantina y diatoxantina) contenidos en cloroplastos (Apumaita et al., 2019). Estas poseen un caparazón (frústulo) compuesto en un 60% por sílice (SiO_2) que le confiere dureza y resistencia. El frústulo se compone de dos mitades que encajan entre sí llamadas tecas, la superior (epiteca) es siempre mayor y envuelve parcialmente a la inferior (hipoteca). Cada una está formada por una valva (respectivamente epi-e hipovalva) y un cíngulo (epi-e hipocíngulo) (Fig. 26).

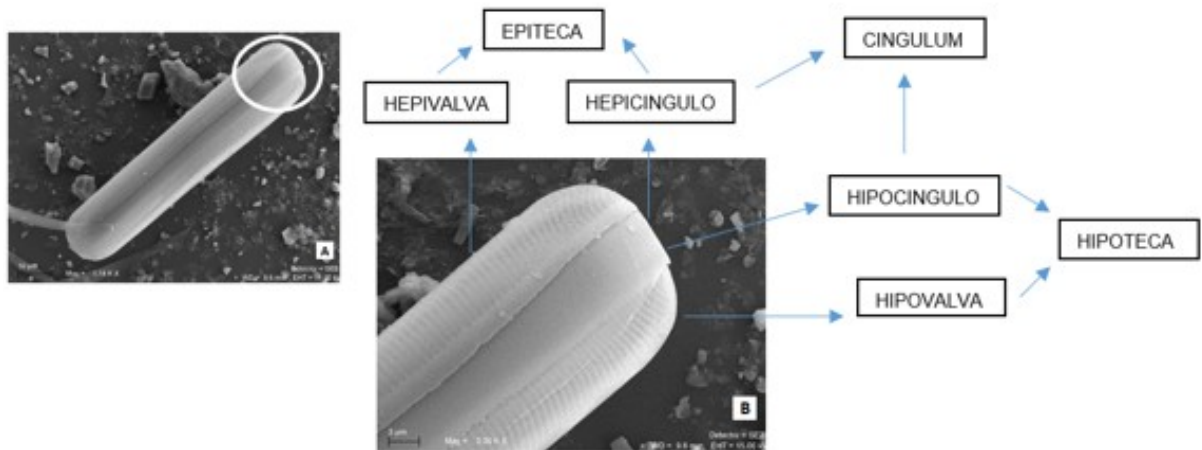


Fig. 26: A) Estructura del frústulo. B) Zoom de A con sus partes.

La estructura y ornamentación de la valva son caracteres importantes para la clasificación de estos organismos, así como sus vistas (Fig. 27).

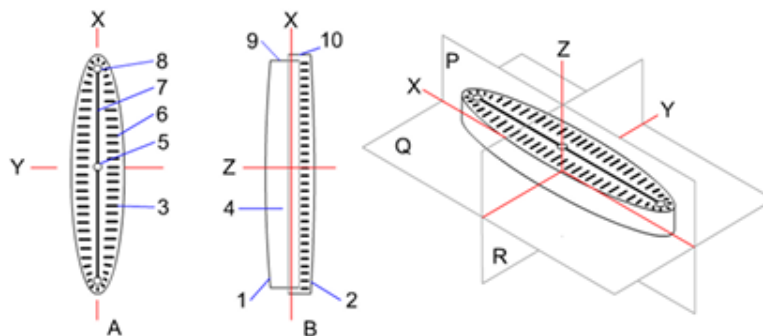


Fig. 27: Perfil de las valvas. A) Vista valvar. B) Vista pleural.

X) eje apical. Y) eje trasapical. Z) eje perivalvar. 1) Hipoteca. 2) Epiteca. 3) Cara valvar. 4) Cara pleural. 5) Nódulo central. 6) Estrías. 7) Rafe. 8) Nódulo polar. 9) Hipocíngulo. 10) Epicíngulo. Fuente: Tormo (2014)

Otro de los elementos que puede o no estar presente en el frústulo y que es de importancia para la determinación y clasificación de las diatomeas es el "rafe" (Fig. 28).

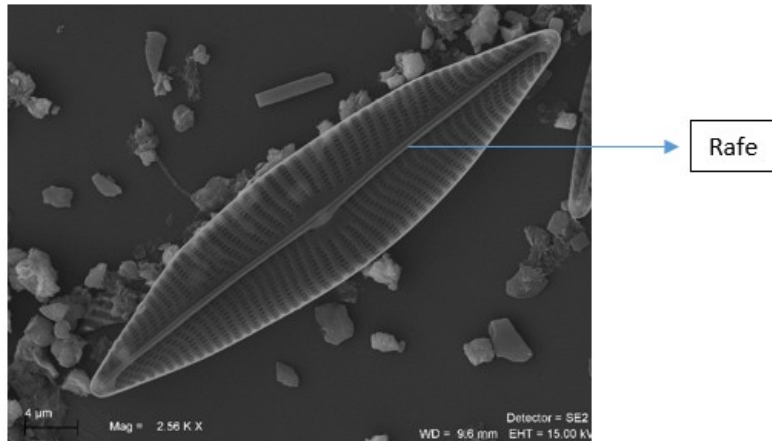


Fig. 28: Rafe.

Este elemento consiste de una o dos ranuras que atraviesan la valva longitudinalmente desde un polo hacia el otro. La posición, que puede ser central o excéntrica, así como la extensión y forma de sus terminaciones apicales y centrales, son caracteres taxonómicos de interés para la identificación taxonómica. La terminación del rafe en la zona polar se curva hacia la parte interior de la valva formando una lengua, y se denomina helictoglosa; esta puede variar en tamaño y estructura (Fig. 29). En algunos géneros el rafe se ve interrumpido en la región central por un puente de sílice más delgado y poco ornamentado que el resto de la valva, llamado nódulo central (Fig. 30). La terminación central del rafe en el nódulo es importante para la determinación de los géneros (Fig. 31). En algunos géneros de diatomeas, podemos encontrar pequeñas estructuras llamadas en su conjunto fíbulas (Fig. 32). Esta estructura tiene un efecto sobre el rafe, elevándolo ligeramente por encima del nivel normal de la valva (Herrera, 2014). Perpendiculares al rafe, se encuentran varias series de líneas llamadas estrías compuestas por perforaciones llamadas areolas o poros (Fig. 33). Estas estrías también son parte importante a la hora de identificar especies ya que su posición es característica (Fig. 34). Uniendo las dos tecas se encuentra la cintura que está formada por una cantidad variable de cópulas o anillos que envuelven la célula y que poseen el mismo contorno que ésta (Confederación Hidrográfica del Duero, 2010).



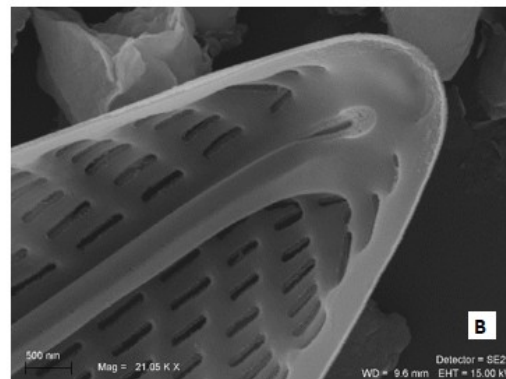
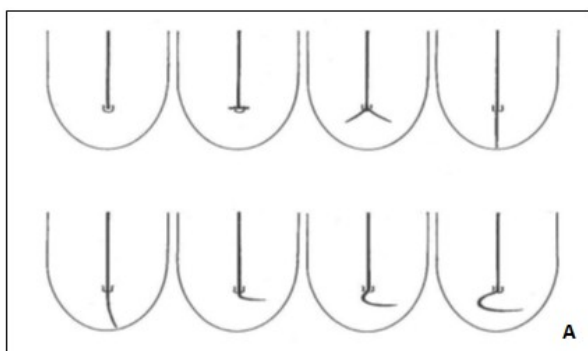


Fig. 29:A)Diferentes tipos de terminación de la Rafe en el nódulo polar. Vista interna de la valva. Fuente: Herrera(2014). B) Imagen de MEB, interior de la valva, se observa terminación del rafe en zona polar.

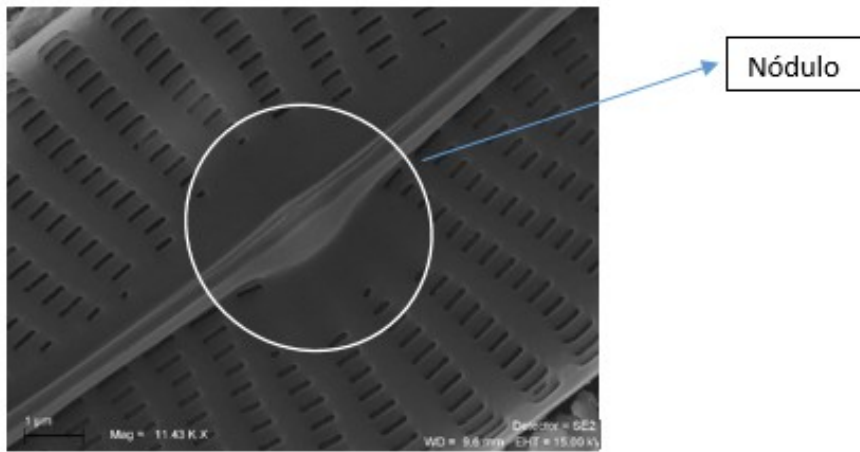


Fig. 30. Imagen de MEB, vista interna marcado el nódulo central.

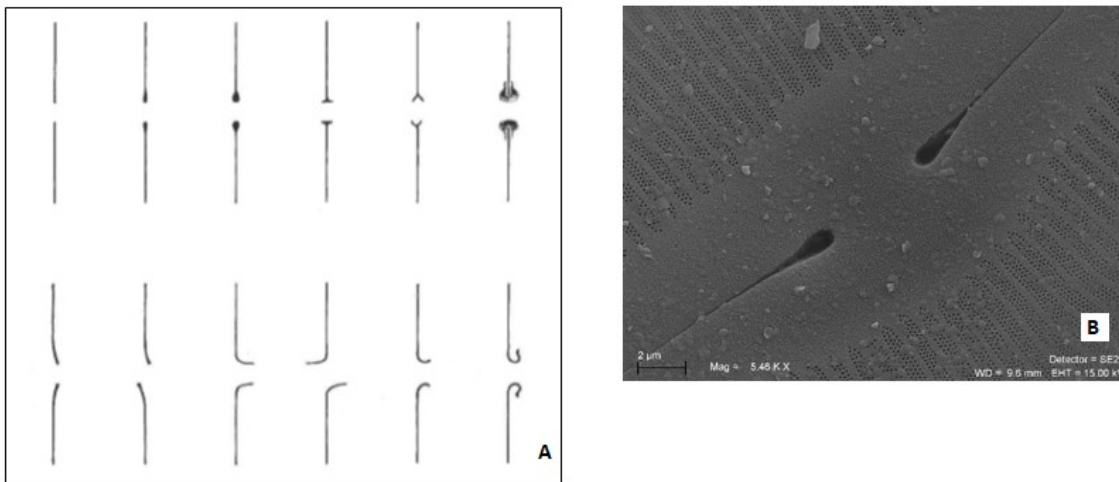


Fig. 31: A) Diferentes tipos de terminación del rafe en el nódulo central vista desde el interior de la valva. Fuente: Herrera (2014). B) Imagen de MEB, se observa terminación central del rafe desde exterior de la valva.

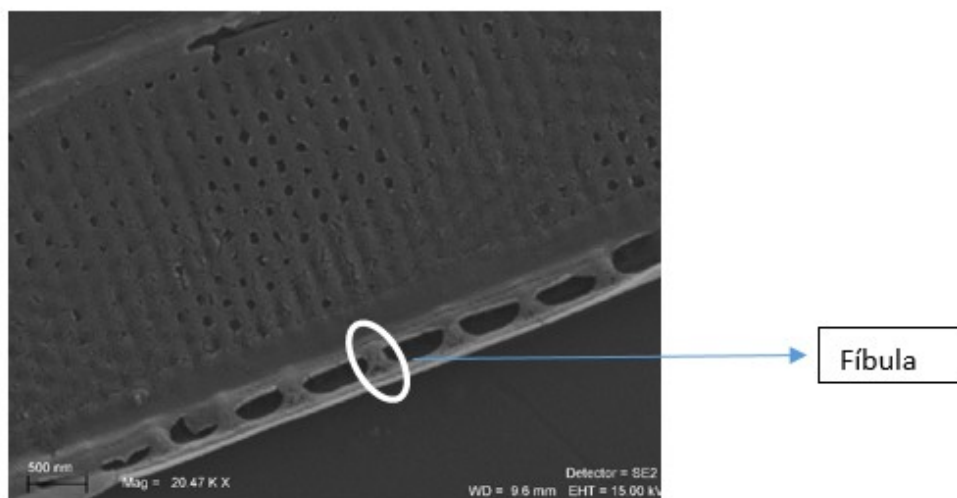


Fig. 32: imagen de MEB, se observan fíbulas

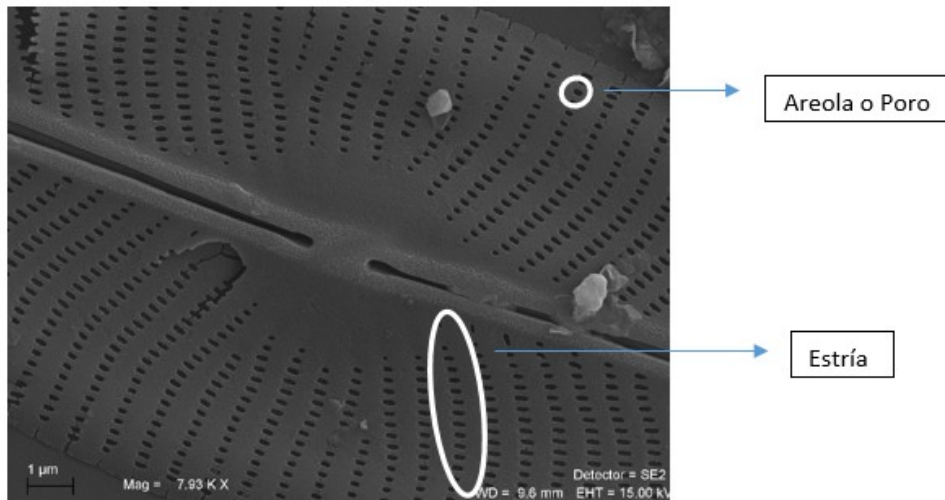


Fig. 33: imagen de MEB, marcado areolas y estrías

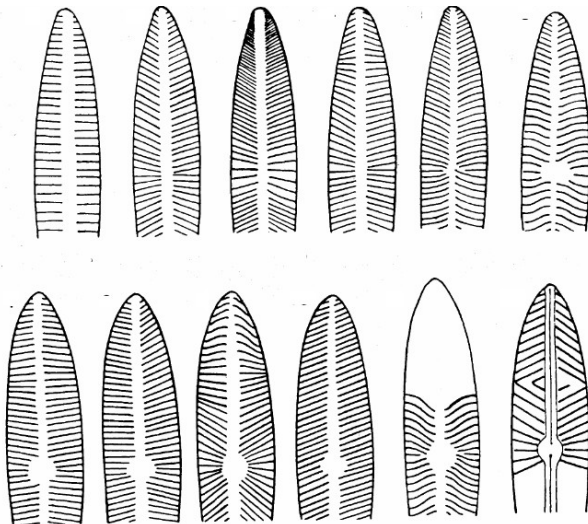


Fig. 34: Patrón de estrías en Diatomeas: Fuente: Romero, O.

ANEXO III

Fichas taxonómicas de los grupos de microalgas más relevantes por su abundancia e importancia ecológica durante el estudio.

- Imperio: Eucariota
- Reino: Plantae
- Subreino: Viridiplantae
- Infrareino: Infrareino de Chlorophyta
- Filo: Clorofita
- Subfilo: Clorofitina
- Clase: Clorofíceas
- Orden: Esferopleales



- Familia: Scenedesmaceae

Descripción: Talos unicelulares o coloniales, generalmente formando de 2 a 32 células, aunque también se los puede encontrar de forma solitaria; matriz mucilaginosa circundante presente o ausente. Células dispuestas linealmente, alternando o en 2-3 filas, tocando con las paredes laterales o sólo en la región subpolar. Células de 3-78µm x 2-10 µm, casi esféricas a elipsoidales, alargadas o fusiformes a fusiformes alargadas; polos celulares de forma variada, capitados, obtusos, agudos o ahusados largos. Células uninucleadas; cloroplasto único y parietal con pirenoide único (Fig. 35)(Guiry y Guiry ,2022).

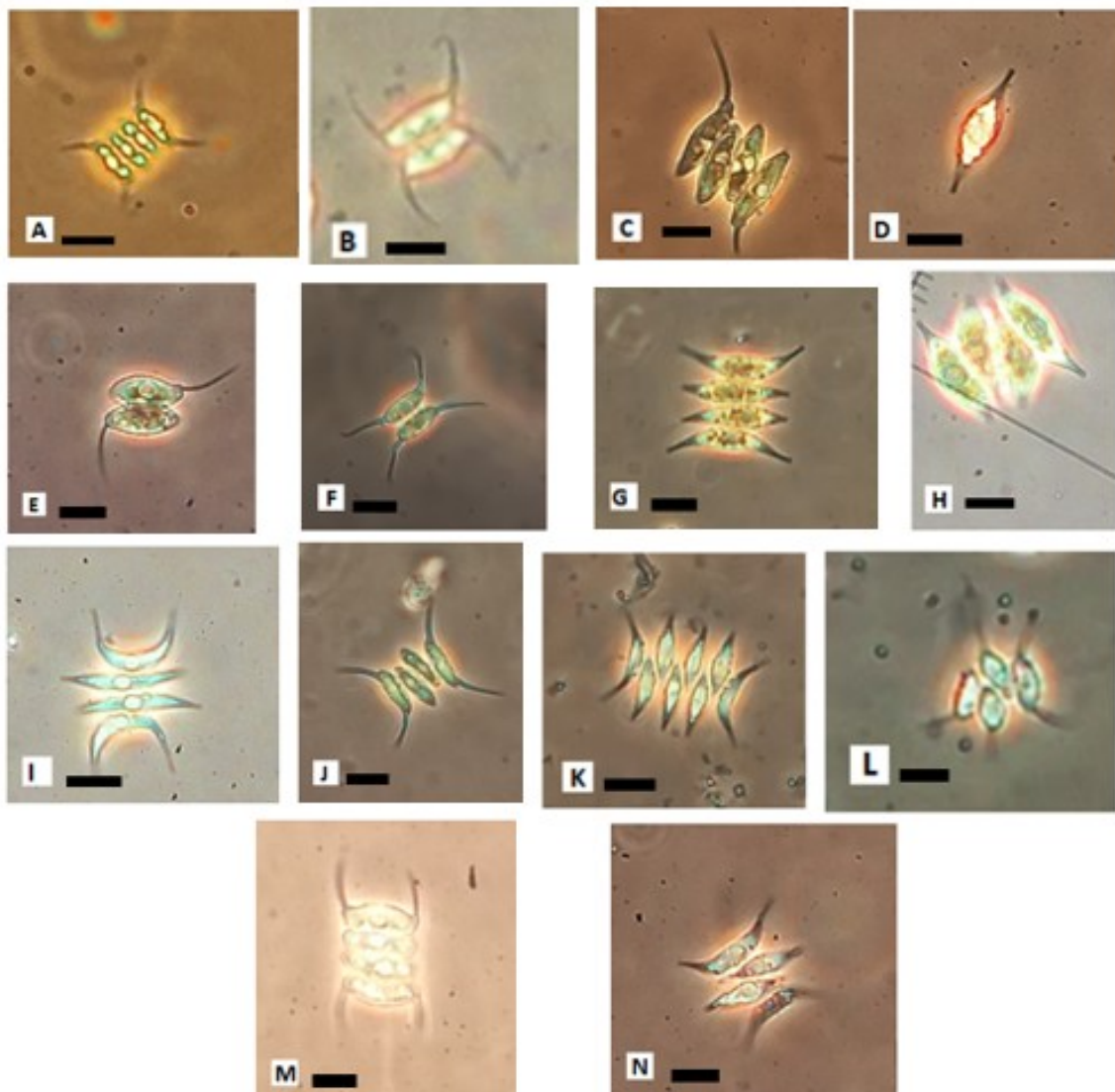


Fig. 35. Familia Scenedesmaceae

Escala: 10 µm. A - B - M) *Desmodesmus* aff. *communis* (sinónimo *Scenedesmus quadricauda*). C - E) *Desmodesmus* aff. *intermedius* var. *acutispinus*. D - G - H) *Tetradesmus acutus* (Sinónimo *Scenedesmus* aff. *acutus*). N) *Tetradesmus* aff. *acuminatus* (Wynne, M y Hallan, J. 2015). F) *Scenedesmus*



aff. *quadricauda* var. *quadricauda*.

I) *Tetradesmus* aff. *lagerheimii*.

J) *Desmodesmus* aff. *intermedius*. K) *Scenedesmus* aff. *acuminatus* forma *maximus*.

Escala: 5 μ m. L) *Scenedesmus intermedius* var. *balatonicus*.



- Imperio: eucariota
- Reino: cromista
- Filo: Bacillariophyta
- Subfilo: Bacilariofitina
- Clase: Mediophyceae
- Subclase: Chaetocerotophycidae
- Orden: Quetocerotales
- Familia: Chaetocerotaceae
- Género: *Chaetoceros*

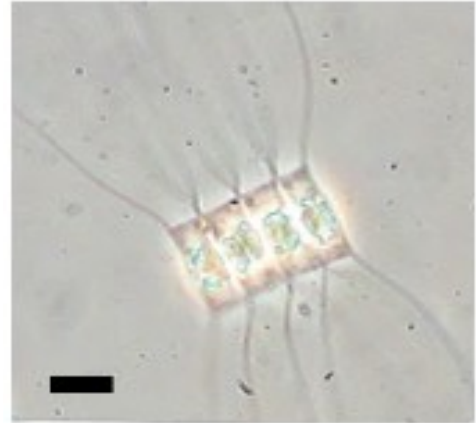


Fig. 36. Genero *Chaetocero*
Escala: 10 μ m

Descripción: Diatomeas céntricas bipolares coloniales. Células cilíndricas de base ovalada o circular que contienen 1-2 o más cloroplastos, estos pueden ser cuadrangulares en vista cingular y elípticos o circulares en vista valvar. El manto es vertical y el cingulo está más o menos desarrollado. De cada ápice emergen procesos llamados setas, de grosor variable. En las coloniales se distinguen las setas terminales que emergen de la última valva de la colonia, y las setas intercalares que emergen de las valvas internas, estas se cruzan y/o fusionan en algún punto permitiendo la formación de colonias de diferente longitud. Algunas especies (*C. compressus*, *C. diversus*, *C. messanensis*) poseen setas intercalares especializadas, estas son diferentes al resto en forma y tamaño. Las células de la colonia son separadas por una abertura que varía en forma y tamaño. La superficie de la valva generalmente tiene costas radiales que se originan en un anillo central hialino/transparente. La rimoportula, cuando está presente, se ubica central o subcentralmente, generalmente con un tubo externo corto. En el cingulo, las bandas intercalares y las pleuras son del tipo abierto o segmentado. Las setas tienen una ornamentación variable, a menudo formada por hileras de espinas o poros de diferentes tamaños (Fig. 36) (Guiry y Guiry, 2022).



- Imperio: Procariota
- Reino: Eubacterias
- Subreino: Negibacterias
- Filo: Cyanobacterias
- Clase: Cianofíceas
- Subclase: Oscillatoriophycidae
- Orden: Croococales
- Familia: Microcistáceas
- Género: *Microcystis*

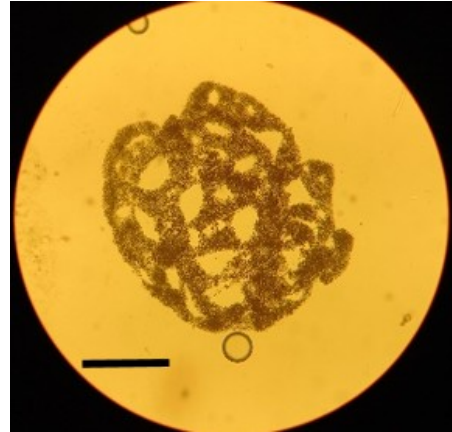


Fig. 37 Especie *Microcystis Aeoruginosa*
Escala: 100 μ m

Descripción: Colonias gelatinosas, flotantes o adheridas al sustrato, irregulares, con numerosas células sin envoltura mucilaginosa propia, irregularmente distribuidas dentro del mucílago, a veces densamente aglomeradas; mucílago colonial incoloro, generalmente homogéneo, fino, difuso, raramente con el margen limitado, a veces refractivo. Células esféricas o (después de la división) hemisféricas, con contenido homogéneo, de color azul verdoso, grisáceo o amarillento, en varias especies planctónicas con numerosos aerotopos; a veces con cromatoplasma visible. Varias cepas tóxicas. Flotación libre en reservorios de agua dulce más o menos eutróficos. Varias especies viven bentónicas en páramos, epífitas o epilípticas en diferentes tipos de aguas estancadas, corrientes y sobre rocas húmedas. Muchas especies tienen una distribución mundial (con excepción de las regiones subpolares), pero varios taxones son ecológicamente y, por lo tanto, también fitogeográficamente limitados(Fig. 37) (Guiry y Guiry ,2022).



- Imperio: Eucariota
- Reino: Cromista
- Filo: Bacillariophyta
- Subfilo: Bacilariofitina
- Clase: Bacillariophyceae
- Subclase: Bacillariophycidae
- Orden: Bacillariales
- Familia: Bacillariaceae
- Género: *Nitzschia*
- Especie: - sin identificar -

Descripción: De agua dulce/salobre. De vida libre, solitaria. Aproximadamente $17,5 \mu\text{m} \times 2,5 \mu\text{m}$. En microscopio óptico invertido no se observa rafe ni estrías. Forma rectangular con bordes redondeados (Fig. 38)

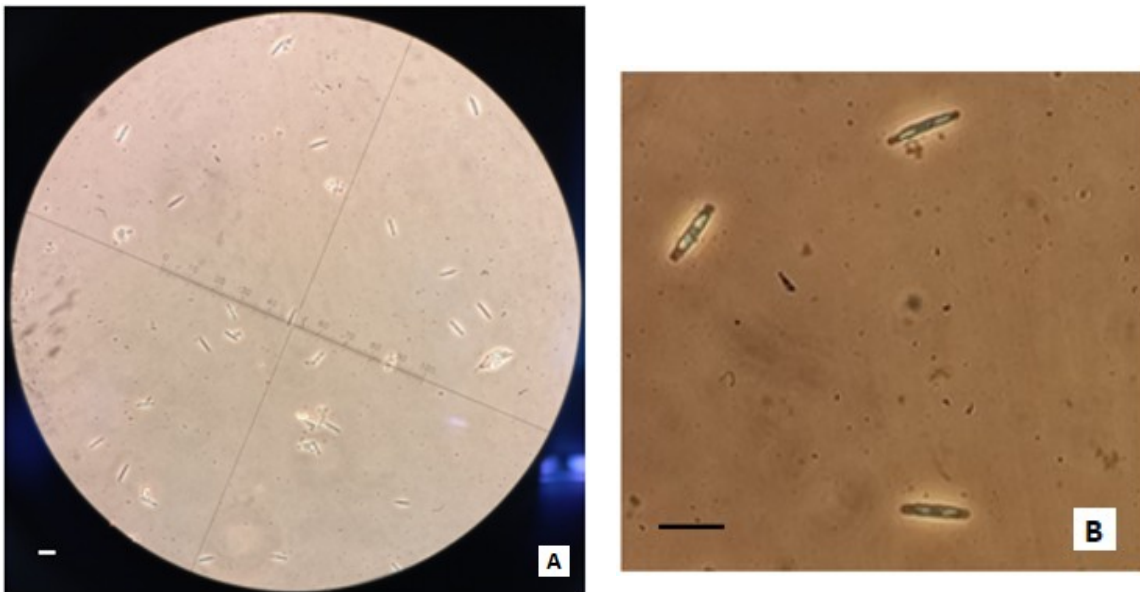


Fig. 38: Escala $15 \mu\text{m}$. A) MO 40X. B) MO 40X aumentado x4 con zoom digital.

En microscopio electrónico (Fig. 39) se observa rafe lateral, poros, estrías y fíbulas. De 47 a 50 estrías cada $10 \mu\text{m}$.

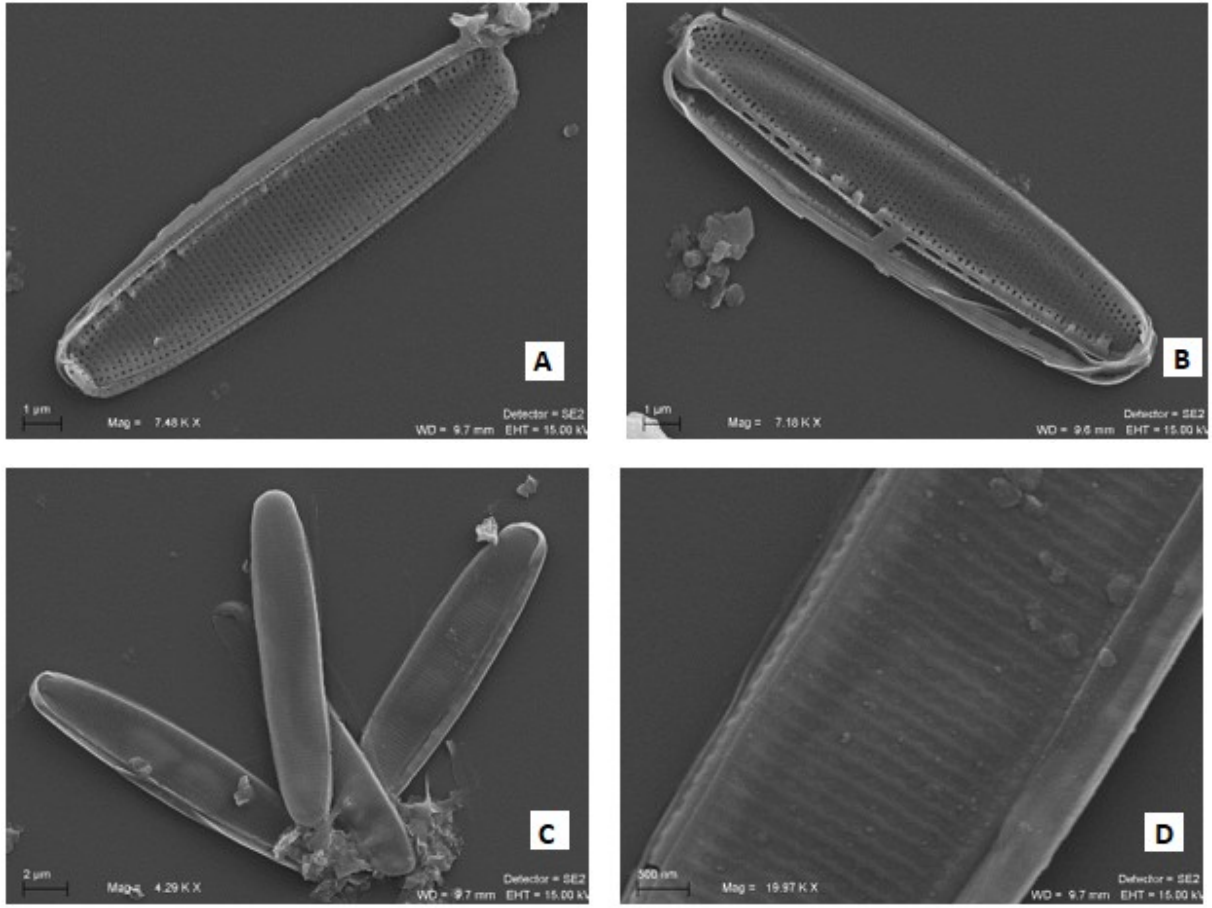


Fig. 39: Fotografías del MEB de *Nitzschia* sp. A donde se pueden observar en detalle sus características morfológicas y morfométricas.



BIBLIOGRAFÍA

- Alcarraz, G; March, M; Weise, E; Schaer, A. (2008): Caracterización socio-ambiental de un paisaje transformado: el caso de la laguna negra. Trelew. Chubut. Argentina. Boletín geográfico. Año XXX N°31 - 2008, pp 141 - 157. Departamento Geografía. Edición especial: VII Jornadas Patagónicas de Geografía. Universidad Nacional del Comahue. Neuquén. ISSN 0326-1735
- Alveal, K; Ferrario, M; Oliveira, E; Sar, E. (1995): Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción. Concepción, Chile.
- Apumaita, T; Maidana, N; Rodríguez, N. (2019): Catálogo de diatomeas del salar de Olaroz.
- Blanco, S; Álvarez, I; Figueiras, C; Bécares, E; Ector, L; Asenjo, C; Muñoz, I. (2010): Guía de las diatomeas de la Cuenca del Duero.
- Blanco, S; Barrios, E; Puig, A; Ruza, J; Alvarez, R; Ventosa, M; Ávila, R; Codorníu, A; Rodríguez, B; Fernández, R. (2012): Id-tax. Catálogo y claves de identificación de organismos fitobentónicos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico. Dirección General del Agua de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid, España.
- Carvajal, G. (2017): Optimización de la hidrólisis enzimática de *Scenedesmus almeriensis* para la aplicación como biofertilizante.
- Cony, L; Ferrer, C; Cáceres, J. (2014): Evolución del estado trófico y estructura del fitoplancton de un lago somero de la Región Pampeana: laguna Sauce Grande (provincia de Buenos Aires, Argentina). Biología Acuática.
- Cronberg, G. (2004): Photo guide to *Cyanobacteria* IOC –Danida Advanced Workshop on HAB. Workshop IV: *Cyanobacteria*.
- Cuellar, T; Mariona, G. (2007). Abundancia y distribución de dinoflagelados (Dinophyceae-Desmophyceae) y diatomeas (Bacillariophyceae) con énfasis en las especies nocivas en tres sitios de la zona costera de El Salvador (Doctoral dissertation, Tesis para optar al grado de Licenciatura en Biología. Universidad de El Salvador).
- Dalu, T; Froneman, P. (2016): Diatom based water quality monitoring in Africa: challenges and future prospects. Water SA 42(4):551–559.
- de Infante, A. (1988): El plancton de las aguas continentales. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Central, Caracas, Venezuela.
- Decreto Provincial de Chubut 1540/16. (2016).
- Džeroski, S; Demšar, D; Grbović, J. (2000): Predicción de parámetros químicos de la calidad del agua del río a partir de datos de bioindicadores. Inteligencia aplicada, 13 (1), 7-17.



Fernández, C. (2010): Caracterización limnológica de un ambiente eutrófico: el embalse paso de las piedras, argentina. Bio-ecología del fitoplancton. Bahía Blanca. Argentina.

Ferrario, M. (1975): Diatomeas del lago Puelo (Prov. Del Chubut, Argentina), I.

Gómez, C. (2019): Bacillariophyta – Diatomeas. Universidad Autónoma del Estado de México Facultad de Ciencias AU Algas y Briofitas.

González, C; Sotto, A; Silva, C; Simon, P; Joffe, M; Lista, A; Banegas, G; Salas, Jenifer, Moreno, F; Aguiar, B; González, J; Nunes, C; Muñoz, M; Furci, M; Marinkovic, R. (2016): Cambios en la estructura vegetal causados por contaminación con efluentes industriales (CORFO Trelew). Boletín informativo para el sector agropecuario agosto 2016.

González, S. (2012): Indicadores biológicos de calidad de las aguas superficiales de la subcuenca del Río Viejo, utilizando Fitobentos (Diatomeas). Universidad y Ciencia, 6(9), 20-23.

Guevara, A; Calix, L. (2018): Dinámica de los grupos de fitoplancton *Clorofitas* y *Cianofitas*, y su relación con los parámetros físico-químicos en las pilas de estabilización San Isidro. Marzo-agosto 2015.

Guiry, M; Guiry, G. (2022). *AlgaeBase*. Publicación electrónica mundial, Universidad Nacional de Irlanda, Galway. <https://www.algaebase.org>.

Hasle, G; Fryxell, G. (1970): Diatoms: cleaning and mounting for light and electron microscopy. Transactions of the American Microscopical Society.

Herrera, O. (2014): Identificación de diatomeas, para determinar la ubicación de zona de muerte, por sumersión, en la zona costera del puerto de Veracruz. Universidad Veracruzana. Instituto de Medicina Forense.

López, I. (2016): Análisis de efectividad de *Chlorococcumlittorale* y *Scenedesmus* sp. en biorremediación de aguas residuales.

Lozano-Rivas, W. (2013): Calidad fisicoquímica del agua: Métodos simplificados para su muestra y análisis. Universidad Piloto de Colombia.

Miranda, F; Rosales, V. (2018): Eutrofización, una amenaza para el recurso hídrico.

Moreira, A. (2013): Florecimiento de la diatomea potencialmente tóxica *Pseudonitzschia cf. multistriata* en aguas cubanas.

Moreno, Y; Aguirre R. (2013): Estado del arte del conocimiento sobre perifiton en Colombia Gestión y Ambiente, vol. 16, núm. 3, pp. 91-117 Universidad Nacional de Colombia Medellín, Colombia.

Nomdedeu, O. (2018): Indicadores Biológicos: Ecología aplicada al tratamiento de líquidos residuales y aguas superficiales. 1° ed. La Plata.



Otaño, S; Santinelli, N. (1995): *Chlorophita* del Río Chubut (Patagonia, Argentina) I. *Chlorococcales*. *PHYSIS* (Buenos Aires), Secc. B, 53 (124-125): 11-20.

Parra, O; Gonzalez, M; Dellarossa, V. (1983): Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales con especial referencia al fitoplancton de Chile. V *Chlorophyceae*. Parte I: *Volvocales*, *Tetrasporales*, *Chlorococcales* y *Ulothricales*.

Prensa Ministerio de Agricultura, Ganadería, Industria y Comercio (MAGIC). (2022): Informe UEP-MAGIC delegación norte.

Romero, O: Diatomeas (Bacillariophyceae) DIATOMEAS. Instituto Andaluz de Cs de la Tierra.

Salvador, P; Luisa, L. (2018): Evaluación de la calidad biótica utilizando los índices de saprobiedad en las aguas del río Tingo de los distritos de Yanacancha, Yarusyacan y Pallanchacra-provincia de Pasco-2017.

Sastre, V; Santinelli, N. (1996): Funcionamiento y evolución de las lagunas de estabilización de Trelew, Chubut, Argentina.

Seeligmann, C; Tracanna, C; De Marco, S; Isasmendi, S. (2001): Algas fitoplanctónicas en la evaluación de la calidad del agua de sistemas lóticos en el noreste argentino. *Limnetica*, 20(1), 123-133 pp.

Suaza, L; Albarracín, I; Cravero, M; Salomón, R. (2010): Crecimiento de *Scenedesmus quadricauda* en efluentes cloacales de la ciudad de Trelew, Chubut, Argentina.

Toledo, L. y Comas, A. (2008): Especies de agua dulce de *Navícula* (Bacillariophyceae) de Cuba. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 29, 171+. <https://link.gale.com/apps/doc/A464982689/IFME?u=anon~900b4949&sid=googleScholar&xid=721e3ef6>

Tormo, M. (2013). *Plantas y hongos*. Universidad de Extremadura.

Wynne, M; Hallan, J. (2015): Reposición de *Tetradismus* GM Smith (Sphaeropleales, Chlorophyta). *Repertorio Feddes*. 126 (3-4), 83-86.

Páginas web consultadas

www.algaebase.org

www.diatombase.org

www.nordicmicroalgae.org

www.diatoms.org