

(89) Bogan, R.H. A Treatment Process for Removing Phosphorus from Sewage and Industrial Wastes, (mimeografía do), E.U.A.

(90) Bogan, R.H., 1961. The Use of algae in roving nutrients from domestic sewage. Algae and Metropolitan Wastes. U.S. Department of Health, Education, and Welfare, E.U.A.

(91) Oswald, W.J., 1960. The Coming Industry of Controlled Photosynthesis, (mimeografiado), E.U.A.

(92) Sena, O.L.S., 1963, A Lagoa de Estabilizacão de Esgotos. Início do seu Uso no Brasil e a Teoria da Nova Agricultura das Algas, (mimeografiado), Escola de Engenharia da Universidade da Bahia, Salvador-Brasil.

(93) Montgomery, H.A.C.; Thom, N.S.; Cockburn, A., 1964. Determination of dissolved oxygen by the Winkler method and the solubility of oxygen in pure water and sea-water. Journal of Applied Chemistry, 5: 53-62, Inglaterra.

(82) Kuntz, R.R. & Nesbit, J.B., 1956. A bacterium looks at anaerobic digestion. Biological Treatment of Sewage and Industrial Wastes, 2: 44-47, Reinhold Publishing Corporation, E.U.A.

(83) Connel, C.H. & Garrett Jr., M.T., 1953. Destabilization effectiveness of heat drying of sludge. Journal of Water Pollution Control Federation, 35: 1262-1268, E.U.A.

(84) Branco, B.M., 1960. Os sais minerais como fatores de poluição. Revista D.A.E., 31 (36): 49-51, São Paulo, Brasil.

(85) Lackey, J.B. & Sawyer, C.N., 1945. Plankton productivity of certain south-eastern Wisconsin lakes as related to fertilization. 1-Survey. Sewage Works Journal, 17: 573-582, E.U.A.

(86) Sawyer, C.N., 1956. Bacterial nutrition and synthesis. Biological Treatment of Sewage and Industrial Wastes, 1: 3-17, Reinhold Publishing Corporation, E.U.A.

(87) Metzler, D.T. et al., 1958. Emergency use of reclaimed water for potable supply at Charlotte, Kan. Journal of American Water Works Assn., 50: 1021-1026, E.U.A.

(88) Lee, W.J.; Rohlich, G.A. & Kean, W.J., 1954. Removal of phosphates from treated sewage. Sewage and Industrial Wastes, 26: 561-575, E.U.A.

TECNICAS GENERALES PARA LA TOMA DE MUESTRAS, RECUESTO E

IDENTIFICACION DE ALGAS DE INTERES SANITARIO

Se han seleccionado, en este Capítulo, solamente las técnicas más simples y los aparatos más sencillos de los que se emplean generalmente en hidrobiología sanitaria. Pero, para fines de investigación limnológica se pueden emplear muchos otros métodos que se encuentran descritos en los tratados especiales.

7.1. Toma de Muestras.

La toma de muestras, para fines de hidrobiología, no ofrece ninguna dificultad. No son necesarios frascos esterilizados ni tampoco otras precauciones que son obligatorias en la técnica bacteriológica. La recolección se hace en un sitio señalado y a una profundidad determinada previamente. Si la muestra tomada no es analizada en un plazo de 24 horas, ésta debe ser mantenida en una caja con hielo (o un refrigerador) o conservada añadiéndole formaldehído, en una concentración de 4 por ciento. Cuando se desea una mayor concentración de los microorganismos, para estudios sistemáticos, es necesario el empleo de una red de plancton, que es como un embudo hecho de una tela de seda muy fina (Bolting Silk N°20 a 25, o sea, con 173 a 200 mallas por pulgada). En cualquier caso, no se debe llenar totalmente el frasco, con la muestra, pero se debe dejar 1/3 de su volumen con aire, para la respiración de los microorganismos.

7.2. Recuento.

El recuento de microorganismos, para la evaluación de su concentración en 1 ml de agua, se hace por varios procedimientos. Los más usuales son los que utilizan la celda contadora de Sedgwick-Rafter. Esta celda es un porta objeto que contiene un recipiente rectangular, con dimensiones de 20 x 50 mm, con una profundidad de 1 mm (volumen total de 1 ml). La colocación de la muestra de agua en la celda de Sedgwick-Rafter se hace como se ve en la figura. En general, se emplea para la observación, un objetivo 10 x. Objetivos más potentes no pueden ser empleados con la celda de recuento, pues ésta tiene un espesor muy grande. El número de microorganismos enfocados en un campo visual debe ser multiplicado por el número de campos existente en toda la celda (o sea, en un área de 20 x 50 mm, o mejor dicho, en 1 ml de muestra). Hay dos procedimientos principales, para conocer el número de campos existente en la superficie de la celda.

a) Método de Whipple. En este método se mide el área del campo visual (el cual es variable para cada objetivo y ocular utilizado) con auxilio del micrómetro ocular de Whip

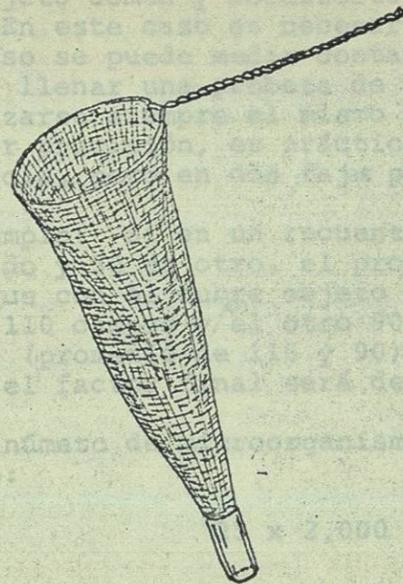
ple. Este es un disco de vidrio, que contiene un retículo grabado que divide el campo en cien partes o cuadraditos iguales. El valor, en micras, del área de cada uno de esos cuadraditos varía según el objetivo utilizado. Por ese motivo, dicho valor debe ser previamente medido, para cada objetivo del microscopio, con auxilio de un micrómetro de objetivo, o sea, una lámina de vidrio que contiene, en el centro, una línea con 1 mm de longitud, dividida en 100 partes iguales (10 micras). Se coloca ese micrómetro en la platina del microscopio, del mismo modo como se colocaría un porta objetos. Se focaliza la línea, colocándose el micrómetro de Whipple en el ocular, se hace la superposición de ambos y, de esa manera se puede medir el lado de uno de los cuadraditos. Una vez conocida el área del cuadradito, se obtiene el área del campo, multiplicando ese valor por 100, y por lo tanto, el número de campos comprendido en toda la celda de Sedgwick-Rafter.

Por ejemplo, si el cuadradito mide 10 divisiones, o sea, 100μ de lado, se tiene que su área es de $100 \times 100 = 10,000 \mu^2$ y el área del campo será: $100 \times 10,000 \mu^2 = 1,000,000 \mu^2$. La celda de Sedgwick-Rafter mide $2 \times 5 \times 10^8 \mu^2 = 1,000,000,000 \mu^2$, o sea, que contiene 1,000 campos. Luego se multiplica el número de microorganismos promedio, contado digamos en 10 campos, por el número de campos que hay en la celda:

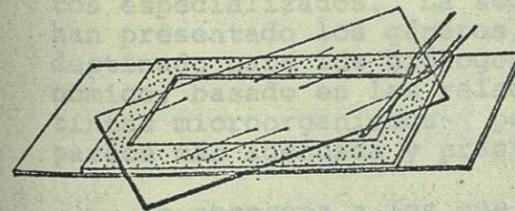
Nº promedio por campo $\times 1000 =$ número de microorganismos en la celda, o sea, en un mililitro de la muestra.

Cuando el número de algas por campo es muy pequeño, el resultado será poco aproximado al real. Para ello se concentra el contenido de algas, empleándose una centrifugadora continua, de Foerst, o el embudo de Sedgwick-Rafter. Este último es el método más conocido. La muestra contenida en el embudo (500 ml) es filtrada a través de la arena fina, que retiene solamente los microorganismos, eliminando toda el agua por succión. Después de separada el agua, se agregan 5 ml de agua limpia y se obtiene una suspensión de los mismos microorganismos, pero en un volumen 100 veces menor de agua. Esto es equivalente a elevar en 100 veces la concentración de microorganismos. El resultado final del recuento será, pues, dividido por 100, para que se obtenga la concentración real de microorganismos por ml de muestra.

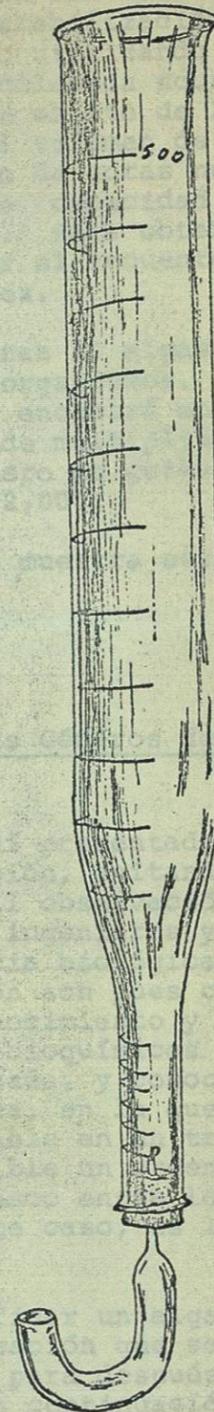
b) Método del Recuento por Hileras. En este método se cuentan todos los microorganismos que se encuentran en una faja del ancho del campo, en toda la longitud de la celda de Sedgwick-Rafter. La concentración de microorganismos por ml se obtiene simplemente multiplicando el número obtenido de microorganismo por el número de campos existente en el ancho de la celda. El número de campos puede ser contado directamente, al microscopio, sin auxilio de retículos o de micrómetros.



RED DE PLANCTON



CELDA DE SEDGWICK - RAFTER



EMBUDO DE SEDGWICK - RAFTER

c) Para muestras que contienen una gran concentración de microorganismos (por ej. en lagunas de estabilización) se puede emplear el mismo método anterior, pero utilizando solamente una gota de la muestra, la cual es colocada sobre un porta objeto común y recubierto por un cubre objeto de 22 x 22 mm. En este caso es necesario conocer el volumen de la gota. Eso se puede medir contando el número de gotas necesario para llenar una probeta de 10 ó 50 ml de capacidad. Debe utilizarse siempre el mismo cuenta-gotas. Para obtener una mayor precisión, es práctica común hacer el recuento no en una sola, pero en dos fajas perpendiculares.

Ejemplo: Si en un recuento se encuentran 20 algas en un sentido y 30 en otro, el promedio es 25 organismos. Suponiendo que con el cubre objeto empleado, se encontró en un sentido 110 campos y el otro 90, el factor de multiplicación será 100 (promedio de 110 y 90). Si el número de gotas es 20 por ml, el factor final será de $100 \times 20 = 2,000$.

El número de microorganismos por ml de muestra será, en ese caso:

$$25 \times 2,000 = 50,000/\text{ml.}$$

7.3. Identificación de los Principales Géneros de Algas de Importancia Sanitaria. (*)

Para la descripción de los géneros aquí presentados se buscó la forma más sencilla de caracterización, evitando la utilización de detalles que no sean de fácil observación, o de terminología técnica no accesible a los ingenieros y otros profesionales no especializados en la ciencia biológica. Los caracteres señalados para la identificación son pues caracteres de morfología externa, de fácil reconocimiento y no los caracteres de reproducción, o detalles bioquímicos y morfológicos que exigen técnica más perfeccionada, y conocimientos especializados. La secuencia alfabética, en la que se han presentado los géneros, no sería aceptable en un trabajo destinado para los biólogos -sería preferible un orden taxonómico, basado en las relaciones de parentesco entre los distintos microorganismos- pero en el presente caso, es la que parece más adecuada y práctica.

Se aconseja a los que pretendan clasificar un alga, ubicarla primeramente en la clave de identificación que se presenta en la sección 7.4, de este Capítulo, para después confirmarlo con las descripciones que siguen a continuación.

(*) Reproducción modificada de un trabajo del autor y colaboradores, publicado en la Revista D.A.E., en 1963 (2).

1. ACHNANTHES

Grupo sistemático: Diatomea.

Descripción: En vista valvar presenta una forma elíptica generalmente con contorno ondeado simétricamente en relación a un plano longitudinal de simetría. En vista pleural posee una curva saliente en la valva superior y otra curva entrante, correspondiente al anterior, en la valva inferior. Esas dos curvas dan a la frústula, un aspecto sigmoide u ondeado. No existe, pues, simetría bilateral según un plano longitudinal, en esta vista. Se pueden encontrar flotando libremente. Sin embargo, es más frecuente encontrarlas fijas a un cuerpo sólido por un pedúnculo gelatinoso. Pueden formar colonias de varios individuos ligados por las valvas.

Significado sanitario: Proliferan fijas en las paredes de los reservorios. Son resistentes a la presencia de desagues industriales que contienen cobre, compuestos fenólicos o hidrógeno sulfurado.

Acción de los algicidas: Son resistentes al sulfato de cobre. Muy sensibles al cloro (0.25 mg/l, en general). Sensibles al 2,3 dicloro naftoquinona, al DAC y a las rosinaminas.

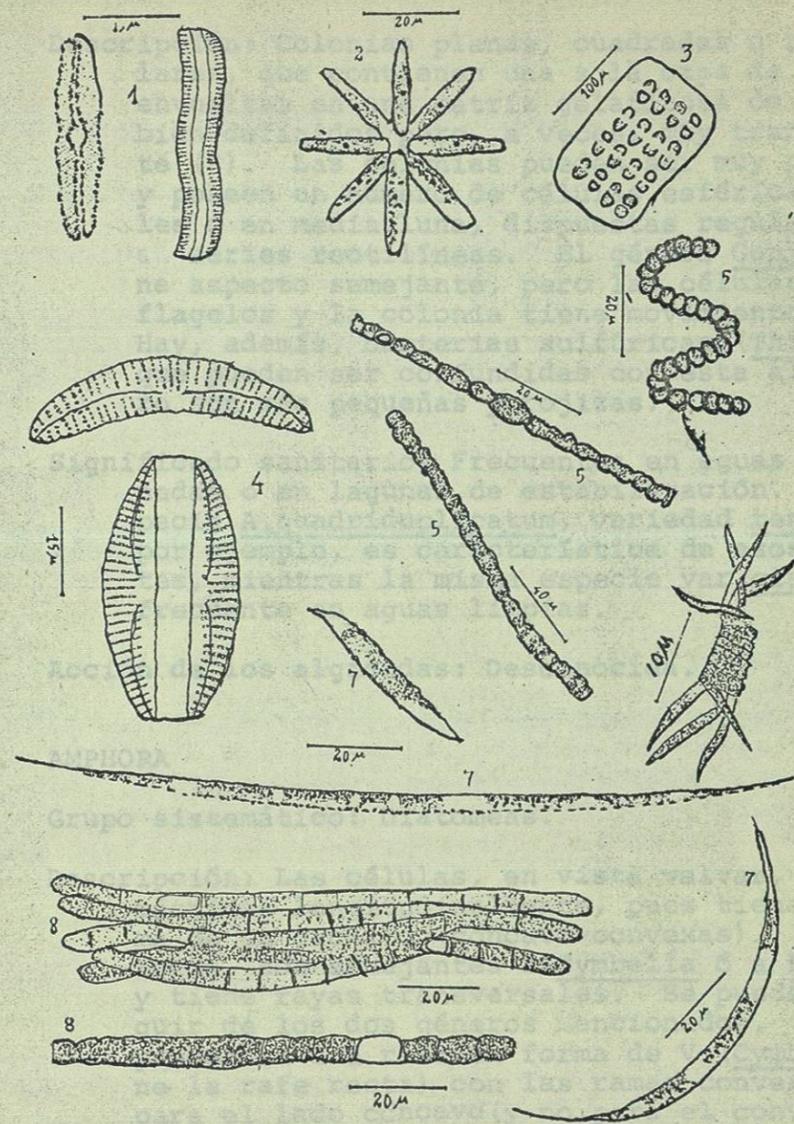
2. ACTINASTRUM

Grupo sistemático: Algas verdes.

Descripción: Células ovaladas, alargadas o fusiformes, formando cenobios con número variable de individuos (4 ó 8, generalmente) los cuales se disponen radialmente en relación a un punto central, pero en distintos planos. Cada célula posee un solo cloroplasto, en forma de cinta. Viven libremente en la superficie del agua.

Significado sanitario: Son frecuentes en las lagunas de estabilización, así como en ambientes de salinidad elevada. Resisten al agua salobre y, por lo tanto, pueden ser empleadas como indicadores de polución por agua de mar.

Acción de los algicidas: Desconocida.



1 — Achnantes — 2 — Actinastrum — 3 — Agmenellum — 4 — Amphora — 5 — Anabaena — 7 — Ankistrodesmus — 8 — Aphanizomenon.