

**UNIVERSIDAD NACIONAL
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ANTEPROYECTO
Proyecto de graduación**

**Fitodepuración de aguas residuales domésticas en humedales artificiales de flujo
horizontal subsuperficial utilizando tres especies de plantas ornamentales**

Estudiante: Paola Herrera Montero (401890041)

**Tutor: M.Sc Carola Scholz
Asesores: Ph.D. Ricardo Jiménez Montealegre
M.Sc Roy Pérez Salazar**

**Campus Omar Dengo
Heredia, Costa Rica
2015**

Introducción

El agua es un recurso indispensable para la vida y el desarrollo de un país. Es el compuesto químico más abundante del planeta (Romero *et al.* 2009), sin embargo, su calidad y disponibilidad se ha visto deteriorada debido al acelerado crecimiento poblacional y a la rápida expansión urbana e industrial. La demanda y uso ejercido sobre el agua para el consumo humano y demás actividades socioeconómicas (Abalos y Agostini 2010, Saeed y Sun 2012) genera volúmenes sustanciales de residuos líquidos, conocidos como aguas residuales, las cuales cuando se liberan con escaso o nulo tratamiento al ambiente, provocan grandes focos de contaminación en los cuerpos de agua receptores (Paredes 2014).

Los ecosistemas acuáticos tienen la capacidad que regresar a su estado original luego de sufrir cambios producto de perturbaciones naturales o por actividades humanas, lo cual se conoce como resiliencia (Cuevas 2010). El problema surge cuando la cantidad de polución presente en los cuerpos de agua excede la capacidad de resiliencia del ecosistema (Díaz 2009), ya que se dejan de asimilar los agentes externos nocivos que son vertidos y por consiguiente, quedan en el medio sin tratar, tal como sucede con los contaminantes orgánicos, inorgánicos y/o bacteriológicos (Abalos y Agostini 2010) presentes en las aguas residuales. Estos al permanecer en el agua, disminuyen su calidad, provocan pérdida de biodiversidad y desequilibrio ecosistémico, transmisión y propagación de enfermedades, así como disminución del rendimiento productivo de actividades dependientes de este recurso para su desarrollo (Pidre 2010, Montoya *et al.* 2010). Ante esta situación, resulta indispensable su previo tratamiento antes de ser liberados al ambiente (Loan *et al.* 2014).

Las principales tecnologías de saneamiento ambiental para aguas residuales convencionalmente empleadas han sido los tanques sépticos, redes de alcantarillado y sistemas de tratamiento, sin embargo, se ha comprobado que éstas no constituyen opciones reales en países en vías de desarrollo, ya que los elevados costos de inversión y mantenimiento, o bien la carencia de personal técnico capacitado y legislación ambiental pertinente, han provocado su deficiente o nulo funcionamiento (Kantawanichkul *et al.* 2009). Costa Rica no escapa a esta realidad, solo el 4% de las aguas generadas reciben tratamiento adecuado, por lo tanto, resulta prioritario desarrollar nuevas tecnologías

alternativas o complementarias, que sean eficientes y que constituyan soluciones viables como parte del saneamiento sostenible (Romero *et al.* 2009, Marín y Correa 2010).

El saneamiento ecológico o sostenible es considerado un enfoque alternativo a los sistemas tradicionales de tratamiento y disposición de aguas residuales. Esta nueva tendencia se caracteriza porque son sistemas que además de ser accesibles y aceptados desde el punto de vista social y socioeconómico (Langergraber 2013), protegen el ambiente y la salud humana (Moreno 2009); además, generan aguas residuales tratadas de alta calidad, que pueden ser reutilizadas en diversas actividades como riego de jardín y áreas verdes, producción agrícola y acuacultura, lavado de instalaciones, vehículos y maquinaria, entre otras (Marín 2010, Programa Estado de la Nación 2013). Es indispensable que cumplan con la definición de saneamiento sostenible dada por la Alianza de Saneamiento Sostenible, para ello, debe tomarse en consideración la salud e higiene, el medio ambiente y los recursos naturales, la tecnología y el funcionamiento, cuestiones financieras y económicas, así como aspectos socioculturales e institucionales (Moreno 2009).

Una de las tecnologías alternativas efectivas que cumplen con los conceptos del saneamiento sostenible es el uso de humedales artificiales (HAs), los cuales constituyen un sistema de tratamiento biológico, basado en la implementación de métodos de depuración natural a través del uso de sustratos, microorganismos y plantas adaptadas a condiciones de humedad y/o inundación (Loan *et al.* 2014). En las últimas décadas su implementación ha ido creciendo a nivel mundial, debido a que representa una tecnología simple, ecoamigable (Naz *et al.* 2009) y con un balance costo-beneficio positivo (Yang *et al.* 2012). Los beneficios se incrementan al emplearse plantas ornamentales para la fitodepuración, debido a que brindan belleza escénica, fomentan la integración y diversidad del paisaje y representan una potencial fuente generadora de ingresos económicos al comercializarse las plantas (Delgadillo *et al.* 2010, Suarez *et al.* 2014). Es por ello que actualmente resulta cada vez más común encontrar este tipo de sistemas de tratamiento en sitios de interés público, comunal o turístico (Konnerup *et al.* 2009), así como en zonas rurales con baja densidad poblacional o con población dispersa (Morales *et al.* 2013).

Antecedentes

El saneamiento ambiental ha sido considerado a lo largo de la historia de la humanidad un tema prioritario a tratar, con el fin de reducir la contaminación ambiental del entorno, mejorar la calidad de vida y disminuir la transmisión de enfermedades mortales (AyA 2009). En el siglo XXI se ha presentado un gran auge en este ámbito, siendo uno de los esfuerzos más relevantes la inclusión del tema de sostenibilidad ambiental dentro de los objetivos de la Declaración del Milenio de las Naciones Unidas (Cumbre del Milenio del año 2000). Los 189 países firmantes de dicha declaración se propusieron entre sus principales metas reducir a la mitad el porcentaje de personas sin acceso a saneamiento básico para el año 2015, tomando como base las cifras obtenidas en 1990 (Mora *et al.* 2012).

Costa Rica, como ente participante de la Declaración del Milenio, ha realizado importantes esfuerzos para el mejoramiento en el saneamiento básico, alcanzando para el año 2012 el 99,38% a nivel nacional. Diversos datos recolectados por el Censo Nacional del 2011 y proyecciones realizadas por el Laboratorio Nacional de Aguas en el año 2012, indican que los sistemas de tratamiento ambiental más utilizados en el país han sido los tanques sépticos (entre el 72,3 y 75,1% de la población) y los sistemas de alcantarillado (cerca del 24,1 % de los costarricenses) (Mora *et al.* 2011, Programa Estado de la Nación 2013).

Los tanques sépticos a pesar de ser la tecnología más usada a nivel nacional carecen de reglamento de operación y mantenimiento; la normativa vigente es deficiente (Programa Estado de la Nación 2013). Su implementación ha generado grandes problemas ambientales, como por ejemplo, infiltraciones de agua contaminada en los cuerpos de agua subterráneos (Pérez *et al.* 2013) o contaminación de ríos por descarga ilegal de los lodos finales generados (Alfaro *et al.* 2013). Por otra parte, en los últimos años se ha dado un incremento en el sistema de redes de alcantarillado sanitario como mecanismo de recolección de aguas residuales, más aún, se ha evidenciado un estancamiento en el tratamiento efectivo en las plantas centralizadas (Programa Estado de la Nación 2013), lo que lleva a pensar que se están recolectando más aguas residuales mediante estos sistemas de alcantarillado, pero que están siendo vertidas sin previo tratamiento en los ríos u otros

cuerpos de agua (Alfaro *et al.* 2013). Aunado a esta situación, los sistemas de alcantarillado sanitario instalados en décadas pasadas ya cumplieron su vida útil o han colapsado (Moreno 2009).

Ante esta alarmante situación, se requiere impulsar a nivel nacional, especialmente en zonas rurales, en comunidades de escasos recursos económicos y/o en zonas con reducida accesibilidad a las tecnologías convencionales (García 2010), la aplicación de nuevas políticas e implementar tecnologías de saneamiento ambiental novedosas alternativas, eficientes y accesibles para la población costarricense, de manera que sean sistemas funcionales a largo plazo (Alfaro *et al.* 2013).

Dentro de los sistemas alternativos para el tratamiento de aguas residuales, se encuentran los HAs, conocidos popularmente como biojardineras (Marín 2010). Su origen se remonta a los años cincuenta, y desde entonces su implementación ha crecido exponencialmente a nivel mundial, llegando a expandirse de manera más amplia a partir de los años 90; principalmente su uso ha sido impulsado por países pioneros en la investigación y desarrollo de este tipo de tecnología, como lo han sido Estados Unidos y Alemania (Moncada 2011). Actualmente su implementación también se está haciendo popular en países en vías de desarrollo, países con climas calientes y tropicales (Konnerup *et al.* 2009) y en pequeñas comunidades ubicadas en áreas rurales (Marín y Correa 2010, Langergraber 2013).

En 1996, se desarrolló en Nicaragua uno de los primeros modelos de biojardineras para Centroamérica, con el fin de investigar la viabilidad técnica y económica en regiones tropicales y así generar una base de datos sobre el comportamiento de los HAs que fuera útil para el resto de la región (Moncada 2011). A partir de esta iniciativa, desde el año 2005 en Costa Rica se ha implementado este tipo de sistemas de tratamiento, promovidos por la Asociación Centroamericana para la Economía, la Salud y el Ambiente (ACEPESA), en coordinación con universidades estatales y organizaciones internacionales enfocadas en investigación y alternativas de ecosaneamiento ambiental (Programa Programa Estado de la Nación 2013).

Los HAs constituyen sistemas integrales, eficientes y seguros de fitodepuración, diseñados y contruidos para utilizar las funciones naturales de los ecosistemas de humedal

para el tratamiento de contaminantes en aguas residuales (Hoffmann y Winker 2011). Bajo condiciones controladas buscan imitar y optimizar sus características y procesos químicos, físicos y biológicos (Montoya *et al.* 2010, Montiel 2014).

La tecnología de humedales artificiales puede ser considerada como un ecosistema complejo, integrado por varios componentes como agua, plantas, sustrato y población microbiana (Sarafraz *et al.* 2009, Shelef *et al.* 2013), los cuales interactúan entre sí y con otros elementos como la energía solar, aire, temperatura y la humedad para realizar sus funciones depuradoras (Espinoza 2014). El sustrato impermealizado puede estar constituido de diversos materiales como arena o grava y sirve de lecho para el enraizamiento de las macrófitas emergentes (Pidre 2010). Ambos componentes a su vez propician el establecimiento de organismos microbianos, los cuales contribuyen activamente con la remoción y transformación de materia orgánica y nutrientes (Romero *et al.* 2009, Espinoza 2014).

Según el tipo de plantas que se utilizan, los HAs pueden clasificarse en: sistemas basados en macrófitas flotantes libres, macrófitas emergentes enraizadas, macrófitas sumergidas. Los sistemas más prometedores para la depuración de aguas residuales son los que están sembrados con plantas emergentes enraizadas (Pidre 2010), éstos se clasifican de acuerdo al régimen del flujo del agua en: 1. Humedales de flujo superficial libre y 2. Humedales de flujo subsuperficial. (Kadlec y Wallace 2009, Delgadillo *et al.* 2010).

Los humedales de flujo superficial libre son sistemas que se asemejan a los humedales naturales con menor profundidad (Naz *et al.* 2009, García 2010), en donde el agua se encuentra directamente expuesta a la atmósfera, y circula a través de los tallos de las plantas (EPA 2000). Por el contrario, en los humedales de flujo subsuperficial el agua fluye entre el medio granular/poroso, por debajo de la superficie, de manera que circula por entre el sistema radicular de las macrofitas (Arias 2008, Montiel 2014). Con este sistema se evita la cría de mosquitos y malos olores (Marín y Correa 2010).

Los HAs de flujo subsuperficial a su vez pueden clasificarse en dos tipos: 1. HAs de flujo vertical subsuperficial y 2. HAs de flujo horizontal subsuperficial (Delgadillo *et al.* 2010). En los primeros el agua es cargada desde arriba de manera intermitente, el medio granular se inunda temporalmente por lo que hay alternancia de periodos de saturación e

insaturación que permiten la aireación del sistema. Por el contrario, en los humedales de flujo horizontal el agua del afluente fluye lateralmente y de manera continua a través del medio granular, manteniéndose permanentemente inundado (Vymazal 2009).

En general, estos sistemas pueden tolerar tanto grandes y pequeños volúmenes de agua así como diferentes niveles de contaminantes, provenientes de variadas fuentes, tales como: aguas domésticas negras y grises, aguas residuales municipales y nacionales, (Hoffmann y Winker 2011), escorrentía de aguas pluviales urbanas, aguas residuales agrícolas, efluentes industriales, pecuarios (Sabas 2011, Vymazal 2009, Ong *et al.* 2010), aguas superficiales contaminadas en los ríos (Sim 2003), lixiviados de vertederos, explotación minera y petrolera (Moncada 2011, Alfaro *et al.* 2013), entre otras.

Pueden ser utilizados como tratamiento alternativo para el saneamiento ambiental, o bien, emplearse como tratamiento secundario y/o terciario en los efluentes de plantas de tratamiento convencional (Pidre 2010, Alfaro *et al.* 2013). Se recomienda utilizar los HAs con un sistema previo de tratamiento, principalmente cuando la naturaleza de los contaminantes presentes en las aguas residuales pueden colapsar el humedal, por ejemplo, la presencia de grandes concentraciones de metales pesados o tóxicos pueden envenenar las plantas (Arias 2008).

Algunos de los principales procesos y/o interacciones físico, químicos y biológicos para la depuración del agua dentro del humedal son: filtración, sedimentación, precipitación, volatilización, adsorción, absorción, intercambio iónico, reacción oxido/reducción, reacciones ácido/base, asimilación por las plantas, reacciones bioquímicas de anaerobios/aerobiosis y demás transformaciones microbianas (Arias 2008, Morales *et al.* 2013).

Diversos estudios en el mundo han comprobado que mediante estos procesos se logra la remoción eficiente de una gran variedad de contaminantes presentes en el agua residual, entre ellos: microorganismos patógenos, materia en suspensión, contaminantes orgánicos, nutrientes (como nitrógeno y fósforo), trazas de metales pesados y otros químicos orgánicos e inorgánicos (Marín y Correa 2010, Saeed y Sun 2012, Suarez *et al.* 2014). Las interacciones pueden ocurrir de manera secuencial y simultánea (Ong *et al.* 2010) y permiten la depuración progresiva y lenta del agua (Espinoza 2014).

La eficiencia de remoción de contaminantes varía según el tipo de agua residual a tratar, así como de las características específicas del humedal, vegetación seleccionada para su tratamiento, de la antigüedad del sistema y de las condiciones climáticas locales (Paredes 2014). Para los sistemas de HAs horizontales se han registrado porcentajes de remoción entre el 80 % y 90 % para la Demanda Bioquímica de Oxígeno; entre 80 % y 95 % para los sólidos suspendidos totales, y entre 15 % y 40 % para el nitrógeno total (Alfaro *et al.* 2013). Para el fósforo total se han registrado porcentajes de remoción menor, alrededor del 32% (Espinoza 2014), ya que depende del tipo de material y de la antigüedad del sistema (Alfaro *et al.* 2013), además su eliminación es difícil debido a la escasa movilidad que presentan los compuestos que contienen fósforo (Moncada 2011).

En el país los HAs han sido empleados para diferentes fines, entre ellos en la remoción de carga orgánica y nutrientes presentes en aguas grises y negras de hogares ubicados en diversas zonas rurales y urbanas, como por ejemplo, en San José, Puntarenas, Heredia y Limón (Díaz 2009, Moncada 2011, Alfaro *et al.* 2013). También se han utilizado en el tratamiento de aguas residuales de empresas turísticas (Mora 2013) e industrias (Pérez *et al.* 2013), así como en la eliminación de fármacos como ibuprofeno (Cervantes 2015), entre otros. Según reportes operacionales y estudios efectuados por el Laboratorio de Gestión de Desechos (LAGEDE) de la Escuela de Química de la Universidad Nacional, las biojardineras instaladas en el hotel Diuwak en Dominical, la instalada en el Museo de Cultura Popular en Heredia y las biojardineras residenciales y comunal en Amagro de Arancibia en Miramar de Puntarenas son ejemplos de módulos de tratamiento efectivos que cumplen con el decreto 33601-S de Vertido y Reuso de Aguas Residuales, representando de esta manera sistemas de tratamiento efectivos (Programa Estado de la Nación 2013).

Es importante destacar que dentro de los HAs, las plantas son un componente primordial en los procesos de depuración (Lai *et al.* 2011, Lian *et al.* 2011, Liu *et al.* 2011) debido a la amplia gama de funciones, entre las que se encuentran: mantenimiento o restablecimiento de la conductividad hidráulica y canal de flujo (Espinoza 2014, Montiel 2014), controlan el crecimiento de algas al limitar el paso de luz al sustrato (Rudaman 2012), contribuyen con el asentamiento, filtración y retención de partículas en suspensión, proporcionan superficie para el establecimiento de biopelículas microbianas y relación

simbiótica con las mismas (Romero *et al.* 2009, Konnerup *et al.* 2009), transfieren gases entre la atmósfera y los sedimentos (Moncada 2011), transportan oxígeno a la zona radicular para la inoculación de oxígeno en el agua y para la eliminación microbiana de algunos contaminantes y degradación de materia orgánica (Orozco *et al.* 2006), incorpora Carbono, nutrientes como nitrógeno y fósforo, elementos traza (Jing y Hu 2010, Shelef *et al.* 2013) y metales pesados a sus tejidos (Abalos y Agostini 2010), entre otros.

Para que las plantas realicen a cabalidad sus funciones dentro del humedal deben presentar una amplia variedad de características y adaptaciones morfológicas y fisiológicas específicas (Vymazal 2013) entre las que se encuentran: capacidad de tolerar condiciones climáticas locales (Hoffmann y Winker 2011) y de estrés producto de la presencia de diversos contaminantes; fluctuaciones tanto en las cargas hidráulicas, como en las concentraciones de carga orgánicas y de nutrientes (Peña *et al.* 2103). A la vez deben tener un alto potencial de crecimiento y supervivencia (Londoño y Marín 2009), ser capaces de desarrollar una biomasa aérea elevada para la asimilación de nutrientes, poseer tejido aerenquima (Vymazal 2013), raíces y rizomas bien desarrollados, incluso bajo cierto nivel de anoxia y/o anaerobiosis (Vymazal y Kröpfelová 2005, Morales *et al.* 2013) con el fin de tolerar vivir en ambientes inundados o con bastante humedad (Moncada 2011).

A nivel mundial, las macrófitas más utilizadas han sido principalmente especies de los géneros: *Phragmites*, *Typha*, *Schoenoplectus*, *Scirpus* y *Carex*, (Londoño y Marín 2009, Pérez *et al.* 2013). Sin embargo, existe un amplio rango de especies que podrían ser utilizadas en HAs para la depuración de aguas residuales, se ha documentado la utilización de más de 60 especies ornamentales y locales (Morales *et al.* 2013).

Actualmente, se está buscando fomentar más el uso de plantas ornamentales en HAs, debido a que además de los beneficios ambientales que generan como especies depuradoras de aguas residuales, incrementan el valor estético y proveen beneficios económicos adicionales al cosecharse y comercializar su floración (Konnerup *et al.* 2009). Algunos países tropicales como Tailandia están utilizando estas especies en áreas de parques locales para aumentar la percepción pública sobre el tratamiento de aguas residuales (Konnerup *et al.* 2009). Se prevé que las personas demuestran más interés en la

operación y mantenimiento cuando los sistemas de tratamiento tienen un aspecto agradable y que por lo tanto, podría beneficiar a la operación a largo plazo.

En Costa Rica también se ha venido promoviendo la utilización de plantas ornamentales en los sistemas de fitodepuración, principalmente por parte de ACEPESA; para ello elaboró un Manual para la Construcción y Mantenimiento de Biojardineras en donde enumeran una lista de especies adecuadas para utilizar en estos sistemas, entre las que se recomiendan están especies de las familias Araceae (calas), Cannaceae (platanillas), Costaceae (caña agria), Cyperaceae (papiros), Heliconiaceae (platanillas y avecillas), Musaceae (antorchas y banano de bronce), Poaceae (Lágrimas de San Pedro) y Zingiberaceae (gengibres, lirios blancos y collar de la reina) (Marin 2010).

Existe una relación estrecha entre los rendimientos de los porcentajes de remoción de contaminantes y las condiciones climáticas locales (Pidre 2010), por lo tanto, el uso de especies nativas del trópico americano o naturalizadas como las calas (*Zantedeschia aethiopica*), avecillas (*Heliconia psittacorum*) o platanillas (*Cana indica*) (Gutiérrez *et al.* 2010) podrían incrementar los resultados positivos en estas regiones al ser especies tropicales adaptadas a las condiciones climáticas, y por ende, podrían aumentar de manera significativa la asimilación, absorción, acumulación de nutrientes y materia orgánica. En climas tropicales al presentarse mayor productividad biológica (mayores tasas de crecimiento y actividad microbiana) durante todo el año (Marín y Correa 2010), la captación de nutrientes podría ser más significativa que en climas templados, siempre y cuando se den periodos de cosecha, con el fin de que los nutrientes absorbidos no sean reincorporados al agua por descomposición de la biomasa (Konnerup *et al.* 2009), principalmente porque la degradación de contaminantes y de biomasa en los trópicos se acelera (Montoya *et al.* 2010).

Justificación

En la actualidad la utilización de HAs para el tratamiento de aguas residuales es un tema prioritario como parte del saneamiento sostenible. La demanda del agua es cada día mayor, sus fuentes de obtención se van agotando y el volumen de residuos que son

vertidos a los cuerpos de agua va en aumento, por lo tanto, se requiere la implementación de sistemas de tratamiento eficientes a bajo costo (Londoño y Marín 2009).

Los HAs se encuentran entre los sistemas más productivos del mundo, en gran parte por la combinación de factores como la luz solar, el medio filtrante, agua, nutrientes, presencia de plantas y microorganismos con adaptaciones morfológicas y bioquímicas para obtener ventajas en las condiciones del medio en el que se desarrollan (García 2010). Los microorganismos y las plantas remueven diversos contaminantes presentes en el agua residual, los cuales utilizan dentro de sus procesos biológicos naturales. Las macrófitas captan materia orgánica (carbono) y nutrientes esenciales (nitrato, amonio y fosfato) y los incorporan en sus tejidos (Llagas y Gomez 2006), lo cual contribuye a minimizar el efecto de toxicidad y eutrofización que provocan estos agentes en los ecosistemas (Díaz 2009).

Es importante señalar que la reutilización de las aguas residuales mediante la implementación de HAs ha cobrado gran relevancia a nivel mundial debido a que no solo constituye una solución a la problemática ambiental, sino, porque incrementa la disponibilidad del recurso hídrico sin tener la necesidad de seguir explotando las fuentes tradicionales para el suministro de agua (Arias 2008).

Estos sistemas constituyen importantes complementos de las tecnologías convencionales, y se han utilizado efectivamente como tratamiento secundario o terciario de los sistemas de depuración de aguas residuales (Hoffman y Winker 2011). Asimismo, son opciones alternativas recomendadas para zonas rurales, pequeñas comunidades e instalaciones ganaderas, agrícolas, industriales y de ocio (Konnerup *et al.* 2009), en donde los sistemas de alcantarillado y tratamiento son complicados de instalar o mantener, en gran parte debido a las grandes distancias a las fuentes de aguas residuales, las limitaciones topográficas y/o los altos costos (García 2010). Para estos casos, el tratamiento descentralizado de aguas residuales se convierte en una alternativa viable y un criterio para la selección de tecnologías (Calheiros *et al.* 2015). En América Latina resulta prioritario tomarlo en consideración, ya que en casi la totalidad de los países los sistemas de tratamiento de aguas residuales están distantes de lo requerido en materia ambiental (Montoya *et al.* 2010). En general, la elección de las opciones tecnológicas para el

saneamiento ambiental debe evaluarse desde el punto de vista técnico, económico y social. (Alfaro *et al.* 2013).

Dentro de la tendencia en el uso de HAs, el de flujo subsuperficial horizontal ha sido uno de los sistemas más utilizados, al ser una tecnología económica, efectiva y fácil de utilizar, siendo ampliamente desarrollada en Europa (Espinoza 2014) y una de las instalaciones preferidas en países en vías de desarrollo (Hoffmann y Winker 2011). No obstante, su uso no se ha extendido lo suficiente debido a los pocos conocimientos sobre su funcionamiento y el papel de la vegetación (Peña *et al.* 2013), especialmente bajo condiciones locales en climas tropicales (Kantawanichkul *et al.* 2009, García 2010), donde erróneamente se han adoptado los modelos estadounidenses y europeos, sin las modificaciones metodológicas-científicas necesarias, generándose así mal funcionamiento de los humedales ó bajas eficacias respecto a las estimadas (C. Alfaro, comunicación personal, 20 de agosto de 2015).

Al no existir un criterio específico y único para el diseño de humedales de flujo subsuperficial (Lara y Vega 2005), la calidad y eficiencia de los procesos de depuración obtenidos dependerá en gran medida del tipo de tecnología seleccionada (García 2010), de su diseño, modo de operación y mantenimiento, de la naturaleza de las aguas residuales a tratar, de los componentes del sistema (el tipo de sustrato y de vegetación) así como las adaptaciones a las condiciones climáticas, entre otros (Paredes 2014). Por consiguiente, es indispensable estudiar estos criterios como parte de los procesos internos involucrados en la transformación de los contaminantes, con el fin de optimizar el desempeño de los HAs (Peña *et al.* 2013).

Actualmente el LAGEDE en conjunto con el Laboratorio de Botánica de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional se encuentra ejecutando un proyecto denominado “Evaluación del comportamiento de los factores que determinan la efectividad en el tratamiento de aguas residuales por medio de humedales artificiales en C.R.”, con el cual pretenden estudiar la relación entre diferentes diseños de humedales artificiales y su efectividad para dar tratamiento a las aguas residuales, para así generar y divulgar información sobre el funcionamiento efectivo de sistemas construidos en el país (Alfaro *et al.* 2013).

A nivel mundial existe una nueva tendencia de incentivar el uso de plantas ornamentales en HAs, que permita además de la depuración de aguas residuales, generar belleza escénica y beneficios económicos de la comercialización de su floración (Konerrup *et al.* 2009). El uso de plantas ornamentales provee un valor agregado a los negocios de turismo rural, ya que no solo se logra integrar de manera armoniosa los sistemas de tratamiento de aguas residuales empleados, sino que las flores producidas dentro de los humedales pueden ser utilizadas para decoración de las instalaciones (Calherios *et al.* 2015).

A pesar de que existen muchos estudios a nivel mundial sobre el rol significativo que tiene la presencia de vegetación en la remoción de nutrientes de aguas residuales dentro de los HAs, son pocos las investigaciones disponibles sobre la acumulación de nitrógeno y fósforo en la biomasa de las plantas (Gautam y Greenway 2014). Debido a que las especies vegetales utilizadas presentan características y adaptaciones morfológicas y fisiológicas específicas (Vymazal 2013), los porcentajes de remoción y absorción de nutrientes varían entre ellas (Gautam y Greenway 2014).

En Costa Rica se ha evaluado el funcionamiento y diseño de biojardineras que utilizan varias especies de plantas ornamentales para la depuración de aguas residuales domésticas (Moncada 2011), sin embargo, dichas investigaciones no se enfocan en el rol específico de la vegetación utilizada. Por lo tanto dada la importancia de incentivar el uso de plantas ornamentales dentro de los sistemas de saneamiento ambiental, se pretende con este trabajo evaluar mediante el uso de HAs de flujo subsuperficial horizontal, la capacidad fitodepuradora de tres especies comúnmente utilizadas como plantas ornamentales en Costa Rica: (*Heliconia psittacorum*, *Cyperus haspan*, *Canna indica*). La evaluación se hará en términos de remoción de nutrientes (nitrógeno y fósforo) y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) dado que sirven como indicadores de la calidad de respuesta de las plantas y de la eficiencia en general de los HAs como tratamientos de depuración (Peña *et al.* 2013). Asimismo, la observación del desarrollo y el registro de las variaciones sintomatológicas permitirán evaluar la adaptabilidad que presenten ante las condiciones locales específicas a las cuales serán sometidas. Los resultados obtenidos servirán como base para futuras investigaciones en este ámbito y contribuirán en la toma de decisiones de ecosaneamiento y manejo de recursos naturales.

Objetivo general

Evaluar el potencial fitorremediador de tres especies de plantas ornamentales mediante la implementación de HAs de flujo horizontal subsuperficial de pequeña escala, alimentados con agua residual sintética, para optimizar del tratamiento de aguas residuales domésticas.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto de *Heliconia psittacorum*, *Cyperus haspan* y *Canna indica* en la remoción de DBO, nitrógeno total y fósforo soluble, mediante el uso de humedales artificiales alimentados con agua residual sintética.
- Cuantificar el crecimiento y desarrollo de las macrófitas con el fin de evaluar su adaptabilidad en HAs de pequeña escala en condiciones de invernadero.
- Comparar el potencial de absorción del nitrógeno y fósforo en los tejidos de las tres especies de plantas ornamentales utilizadas en los HAs de flujo horizontal subsuperficial para la depuración del agua residual sintética.

Metodología

Área de estudio

El trabajo se realizará en las instalaciones del Campus Omar Dengo de la Universidad Nacional de Costa Rica, específicamente en el Laboratorio de Recursos Naturales y Vida Silvestre (LARNAVISI) de la Escuela de Biología, donde se encuentra instalado un sistema de HAs de flujo horizontal subsuperficial el cual será utilizado para evaluar durante un periodo de 3 meses la capacidad depuradora de tres especies de plantas expuestas a agua residual sintética.

Características del sistema de humedales

El sistema de tratamiento de aguas residuales que se utilizará está compuesto por 12 HAs contruidos con cajas plásticas negras rectangulares con las siguientes dimensiones: 0.66m de largo, 0.425m de ancho y 0.37m de altura. El lecho filtrante de cada humedal está conformado por 0,076m³ de grava o piedra “cuarta”, la cual posee diámetro 1.5- 2.5 cm (Pérez *et al.* 2013) y una porosidad de 50% (Arias 2008).

Los humedales están sembrados con tres especies de plantas con adaptaciones a condiciones tropicales: Avecilla (*Heliconia psittacorum*, Familia Heliconiaceae), Papiro enano (*Cyperus haspan*, Familia Cyperaceae) y Platanilla o Bandera (*Canna indica*, Familia Cannaceae).

El sistema de humedales está protegido por una infraestructura de hierro con plástico y serán para controlar o mitigar el efecto de las fluctuaciones en las condiciones atmosféricas especialmente en cuanto a precipitación, y evitar el ingreso de algunos agentes externos, especialmente de animales como insectos que puedan alterar las condiciones internas del sistema. Por lo anterior, se considera que se encuentran bajo condiciones de invernadero.

Los humedales funcionan como sistemas independientes entre sí y están conectados a un tanque de 200L por un sistema de mangueras plásticas, el cual proporciona mediante un mecanismo uniforme y homogéneo de bombeo, el afluente de agua residual que ingresa a cada uno de los humedales. Para un mejor control de las concentraciones de carga orgánica y de nutrientes que ingresan al sistema los humedales serán alimentados de manera continua y constante con agua residual sintética (Figura 1).



Figura 1. Esquema del sistema de HAs de flujo horizontal subsuperficial

Condiciones hidráulicas de los humedales

La pendiente hidráulica que posee cada humedal es de 1% para garantizar el gradiente hidráulico del sistema (Moncada 2011). El tiempo de retención hidráulico que se utilizará para el agua de afluente será de 6 días (García y Leal 2006), por tanto, tomando en consideración un flujo continuo para los humedales, el caudal hidráulico que se aplicará para cada uno de los humedales es de 4.88L/día, es decir, 3,39 mL/min. El ingreso del caudal a cada humedal será regulado por llaves de paso individuales. El cálculo del caudal hidráulico se obtuvo mediante la siguiente fórmula (Arias 2008):

$$\text{Tiempo de retención hidráulico (Trh)} = \frac{(h * L * d) * n}{Q}$$

En donde: Q es el caudal (m³/día), n es la porosidad del lecho (%), h es la profundidad (m), d es el ancho del caudal (m) y L corresponde a la longitud (m).

Diseño Experimental

El sistema de humedales está dividido en tres bloques con 4 humedales cada uno. Cada bloque consta de tres tratamientos distintos más un humedal control (sin plantas). Cada uno de estos tratamientos consiste en 4 a 6 plantas de una misma especie, por lo tanto, existen tres humedales con tres especies distintas por bloque. La distribución de los diferentes tratamientos y humedales control en cada bloque ha sido al azar. Los humedales sin plantar servirán de control para evaluar la influencia de las plantas sembradas en la eliminación de materia orgánica y nutriente.

Siembra y distribución de las plantas

La densidad de siembra recomendada de las plantas de una especie por humedal es entre 16 y 17 plantas/m² (Kantawanichkul *et al.* 2009), por consiguiente, acorde con las dimensiones de cada unidad experimental existen sembradas 4 plantas. Las plantas poseen un tamaño similar y ninguna presenta floración.

Evaluaciones sintomatológicas

Una vez que se inicie la irrigación de los humedales con el agua residual sintética artificial se llevará a cabo un registro cualitativo de la sintomatología de las plántulas sembradas en cada tratamiento, con el fin de monitorear cualitativamente deficiencias nutricionales potenciales u otros síntomas de estrés y/o agentes patógenos evidentes en las plantas expuestas al flujo de agua residual. Las observaciones se tomarán un día específico a la semana, en el transcurso de la mañana, dando inicio a las 8:00 am. Se realizará un registro fotográfico y se utilizará una plantilla para la toma de datos (Cuadro 1).

Cuadro 1.Registro sintomatológico de las plantas presentes en cada uno de los HAs

Fecha / Hora	Humedal / Especie	Número de planta	Coloración	Agentes patógenos visibles	Floración	Otras observaciones

Crecimiento y producción de biomasa

Una vez a la semana se medirá el crecimiento de la biomasa presente sobre el sustrato. Se registrarán los nuevos brotes de cada una de las plantas así como su crecimiento. Los parámetros que se evaluarán serán: longitud total (m) y área foliar (m²). Las medidas de longitud se tomarán en todas las plantas así como en sus brotes, desde el tallo a nivel de la piedra hasta el ápice. Para las medidas de área foliar en *Canna indica* y *Heliconia psittacorum* se escogerán dos hojas en cada planta, que sean juveniles pero desarrolladas, a las cuales se les medirá el largo y ancho y se hará un registro fotográfico, el cual posteriormente será analizado mediante el software libre de procesamiento de imagen digital IMAGE J (Morandeira 2014). Con los datos registrados se obtendrán valores promedio del área foliar y la longitud total para cada especie.

Para la determinación de la biomasa total se cosecharán todas las plantas al final del periodo de estudio y se pesarán en una balanza granataria (precisión de 0,01g); posteriormente se secarán a 65°C hasta un peso constante (Vymazal y Kröpfelová 2005, Konnerup *et al.* 2009, Ling *et al.* 2011). Los datos obtenidos se analizarán y se compararán contra los valores iniciales de biomasa (peso inicial) que habían sido registrados en el momento de la siembra de las plántulas, así se obtendrá el promedio de biomasa total producida por especie.

Estimación del contenido de clorofila foliar (SPAD)

Se determinará el contenido de clorofila por unidades de SPAD de superficie foliar presente en las especies *Canna indica* y *Heliconia psittacorum* por medio de un medidor

portátil de clorofila (Spad 502, Minolta Corporation, Ltd., Osaka, Japan). En cada planta se seleccionarán dos hojas al azar, y cada una de estas se les hará 5 mediciones en distintas secciones transversales, evitando la nervadura. Este es un método no destructivo que permite estimar por espectroscopía la concentración de clorofila por unidad de superficie foliar y que además permite el monitoreo de la cantidad de nitrógeno presente en las hojas de las plantas, ya que se ha comprobado que existe una estrecha relación entre las unidades SPAD y el nitrógeno foliar total, debido a los compuestos nitrogenados presentes en la clorofila (Morandeira 2014).

Concentración de nitrógeno y fósforo en las plantas

Para la concentración de nitrógeno y fósforo total en las plantas, se realizarán estimaciones finales de la cantidad total de ambos nutrientes en las plantas por unidad de masa seca expresada en mg/L. Para ello al final del periodo de estudio se cosecharán todas las plantas, se pondrán a secar en un horno a 65°C hasta un peso constante. Para el nitrógeno total se aplicará el análisis de nitrógeno total en materiales orgánicos por método modificado Kjeldahl ASTM E258 mediante procesos de digestión, destilación y lectura espectrofotométrica. Por consiguiente el fósforo extraíble se aplicará la metodología descrita por Díaz y (Díaz y Hunter 1982) en: “Metodología de suelos, análisis químicos y tejido vegetal y de investigaciones en invernadero”, que propone una digestión y luego una detección espectrofotométrica.

Preparación del agua residual sintética

Según el decreto N° 33601-MINAE-S, Reglamento de Vertido y Re-uso de Aguas Residuales, el agua residual se clasifica en: agua residual de tipo ordinario (generada por las actividades domésticas del ser humano) y en agua residual de tipo especial (agua de tipo diferente al ordinario). La composición del agua residual ordinaria, conocida también como doméstica, puede diferir según sus fuentes de origen, sin embargo, se existen estudios que han determinado composiciones típicas de distintas aguas residuales. Por lo tanto, en esta

investigación se preparará agua residual sintética que se asemejará a la composición típica del agua residual doméstica bruta descrita en el Programa Estado de la Nación (2013), con valores de Demanda Química de Oxígeno (DQO) entre 250 y 500 mg/L.

El agua residual artificial se preparará en el Laboratorio de Botánica, de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional, siguiendo la propuesta planteada por Rodríguez y Lozano (2012) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición del agua residual sintética propuesto por Rodríguez y Lozano (2012)

Compuesto	Cantidad (mg/L)
Leche en polvo	100
Gelatina sin sabor	35
Almidón	170
Sal común	7
Azúcar	3
Úrea	3
Fosfato de calcio	40
Sulfato de magnesio	2,5
Inóculo de microorganismos	10 a 15 g SSV / L* o 70 mL/L
Jabón de tocador	3 gotas
Aceite de Soya	15 gotas

*Sólidos Suspendidos Volátiles

Análisis fisicoquímicos del agua residual

Para analizar los porcentajes de remoción de nutrientes del agua residual se tomarán quincenalmente muestras del agua del afluente y del efluente de cada humedal durante los 3 meses de análisis y se evaluarán los parámetros fisicoquímicos de DBO_5 mediante el método manométrico con el sistema Oxitop, el fósforo soluble y nitrógeno total Kjeldahl. El método de Kjeldahl (SM 4500) a emplearse consta de tres etapas: digestión, destilación y valoración, descritas en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. En el caso del nitrógeno se utilizará este método debido a que es la suma de nitrógeno orgánico y el nitrógeno amoniacal, que son formas importantes de interés del nitrógeno en aguas residuales (Marín y Correa 2010). Los análisis se llevarán a cabo en el Laboratorio de Gestión de Desechos de la Escuela de Química, Universidad Nacional de Costa Rica. Las unidades serán expresadas en mg/L.

Se dará seguimiento y control al oxígeno disuelto, pH, conductividad y temperatura del agua residual del afluente y efluente de los humedales. Para el afluente se llevará un registro diario y para el efluente de los humedales se monitoreará cada vez que se tomen las muestras para el análisis de los demás parámetros fisicoquímicos mencionados anteriormente. El registro del oxígeno disuelto, pH, conductividad y temperatura se llevará a cabo in-situ, para ello se utilizarán equipos portátiles de las marcas YSI 63 y Orion Thermo Scientific.

Análisis estadísticos

Se calculará la media y la desviación estándar de cada uno de los parámetros evaluados. Los datos recolectados serán analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) para evaluar el efecto individual y conjunto de dos o más factores (variables independientes) sobre cada variable dependiente cuantitativa. En caso de presentarse datos que no se comporten bajo el criterio de distribución normal deberán transformarse los datos o aplicarse una prueba no paramétrica. Para los cálculos estadísticos se utilizará el programa Statistica Ver 10 (StarSoft, Inc 2011).

Cronograma de actividades

Actividades	Meses					
	1	2	3	4	5	6
Preparación de los humedales	x					
Elaboración del agua residual	x	x	x			
Evaluaciones sintomatológicas y variaciones fenotípicas	x	x	x			
Estimación del crecimiento y producción de biomasa	x	x	x			
Determinación del contenido de clorofila foliar	x	x	x			
Estimación de la concentración de nitrógeno y fósforo en las plantas			x			
Análisis fisicoquímicos del agua residual	x	x	x			
Análisis estadísticos de datos obtenidos	x	x	x	x	x	x
Elaboración del trabajo escrito					x	x

Lista de equipo y materiales

Descripción	Cantidad	Monto (colones)	Disponible	Fuente
Humedales Artificiales				
Cajas negras	12 unidades	12 000	Si	Lab. Botánica*
Sarán	metros	25 000	Si	Lab. Botánica
Plástico protección UV	metros	35 000	Si	Lab. Botánica
Segueta	1 unidad	3 000	Si	Lab. Botánica

Soldadura		25 000	Si	Lab. Botánica
Piedra cuarta	2 metros cuadrados	20 000	Si	Lab. Botánica
Empaques	12 unidades	5 000	Si	Lab. Botánica
<i>Subtotal</i>		<i>125 000</i>	Si	Lab. Botánica
Plantas				
<i>Canna indica</i>	15 unidades	15 000	Si	Lab. Botánica
<i>Cyperus haspan</i>	15 unidades	15 000	Si	Lab. Botánica
<i>Heliconnia psittacorum</i>	15 unidades	15 000	Si	Lab. Botánica
<i>Subtotal</i>		<i>45 000</i>	Si	Lab. Botánica
Sistema Hidráulico				
Tubería PVC	3 unidades	4 000	Si	Lab. Botánica
Uniones	12 unidades	5 000	Si	Lab. Botánica
Codos	24 unidades	5 000	Si	Lab. Botánica
Tubos de hierro	8 unidades	41 000	Si	Lab. Botánica
Estañones	2 unidades	40 000	Si	Lab. Botánica
Bombas sumergibles				Lab. Botánica
Bomba de 2000L/hora	1 unidad	15 000	Si	Lab. Botánica
Bomba de 3000L/hora	1 unidad	45 000	Si	Lab. Botánica
Manguera	1 unidad	20 000	Si	Lab. Botánica
Regleta	1 unidad	2 000	Si	Lab. Botánica
Reloj temporizador	1 unidad	5 000	Si	Lab. Botánica
Extensiones	3 unidades	7 000	Si	Lab. Botánica
Cinta Electrica de vinilo	5 unidades	6 000	Si	Lab. Botánica
Pintura negra Spray	2 unidades	6 000	Si	Lab. Botánica
Pintura blanca spray	2 unidades	6 000	Si	Lab. Botánica
Papel aluminio	1 rollo	2 000	Si	Lab. Botánica
Sellador de silicón	2 unidades	4 500	Si	Lab. Botánica

Blocks	4 unidades	4 000	Si	Lab. Botánica
Duct tape	2 unidades	4 000	Si	Lab. Botánica
Equipo de infusión	15 unidades	6 000	Si	Lab. Botánica
<i>Subtotal</i>		<i>222 500</i>	Si	Lab. Botánica
Reactivos para elaboración del agua residual sintética y análisis fisicoquímicos				
Sacarosa	350 gramos	25 000	Si	Lab. Botánica
Almidón (Maicena)	2 Kilogramos	5 000	Si	Lab. Botánica
Gelatina	400 gramos	1 000	Si	Lab. Botánica
Leche en Polvo	550 gramos	1 000	Si	Lab. Botánica
Aceite de cocina	8 Kilogramos	25 000	Si	Lab. Botánica
Jabón con fosfato	800 gramos	2 500	Si	Lab. Botánica
Cloruro de Sodio (NaCl)	100 gramos	16 200	Si	Lab. Botánica
Cloruro de Calcio (CaCl ₂)	300 gramos	32 000	Si	Lab. Botánica
Sulfato de Magnesio (MgSO ₄)	300 gramos	45 000	Si	Lab. Botánica
Fosfato de Potasio Monobásico (KH ₂ PO ₄)	100 gramos	40 000	Si	Lab. Botánica
Fosfato de Dipotasio (K ₂ HPO ₄)	250 gramos	35 000	Si	Lab. Botánica
Fosfato Disódico Heptahidratado (Na ₂ HPO ₄ * 7 H ₂ O)	370 gramos	45 000	Si	Lab. Botánica
Cloruro de Amonio (NH ₄ Cl)	20 gramos	15 000	Si	Lab. Botánica
Ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄)	6 litros	25 000	Si	Lab. Botánica
Cloruro de Estaño (SnCl ₂)	30 gramos	50 000	Si	LAGEDE**
Ácido clorhídrico (HCl)	6 Litros	35 000	Si	LAGEDE
Molibdato de amonio ((NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄)	50 gramos	45 000	Si	LAGEDE

Ácido Nítrico (HNO ₃)	6 Litros	15 000	Si	LAGEDE
Sulfato de Potasio (K ₂ SO ₄)	100 gramos	25 000	Si	LAGEDE
Óxido de Mercurio (HgO)	10 gramos	35 000	Si	LAGEDE
Hidróxido de Sodio (NAOH)	500 gramos	15 000	Si	LAGEDE
<i>Subtotal</i>		<i>517 700</i>	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Equipo para análisis de laboratorio				
Incubadora	1 unidad	2 700 000	Si	Lab. Botánica
Agitador magnético	1 unidad	1 350 000	Si	Lab. Botánica
Microondas	1 unidad	80 000	Si	Lab. Botánica
Destilador RapidStill I	1 unidad	500 000	Si	LAGEDE
Digestor	1 unidad	1 200 000	Si	LAGEDE
Equipo Oxitop	1 unidad	3 000 000	Si	LAGEDE
Espectrofotómetro	1 unidad	4 320 000	Si	Lab. Botánica
Balanza analítica	1 unidad	1 200 000	Si	Lab. Botánica
Balanza granataria	1 unidad	550 000	Si	Lab. Botánica
Moedor	1 unidad	1 500 000	Si	Lab. Botánica
Refrigeradora	1 unidad	350 000	Si	Lab. Botánica
Horno secador	1 unidad	1 200 000	Si	Lab. Botánica
Micropipeta	1 unidad	250 000	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Puntas de micropipeta	10 unidades	20 000	Si	Lab. Botánica
Papel toalla	10 rollos	8 000	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Cristalería				
Botellas grandes de vidrio	10 unidades	15.000,00	Si	Lab. Botánica / LAGEDE

Probetas	10 unidades	50 000	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Beakers	20 unidades	45 000	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Tubos de ensayo	35 unidades	25 000	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Balones aforados	25 unidades	300 000	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Espátulas	3 unidades	5 000	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Pipetas	5 unidades	2 500	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Gradilla	2 unidades	50 000	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
<i>Subtotal</i>		<i>18 720 500</i>	Si	Lab. Botánica / LAGEDE
Equipo para mediciones de campo				
Estación meteorológica	1 unidad	1 400 000	Si	Lab. Botánica
Equipo Multiparámetro YSI 63 y Thermo Scientific (pH, O2 disuelto, temperatura, conductividad)		2 500 000	Si	Lab. Botánica
SPAD	1 unidad	2 500 000	Si	Lab. Botánica
Cinta métrica	1 unidad	80 000	Si	Lab. Botánica
Cámara fotográfica	1 unidad	200 000	Si	Estudiante
<i>Subtotal</i>		<i>10 680 000</i>	Si	Lab. Botánica / Estudiante
Equipo de oficina				
Computadora	1 unidad	300 000	Si	Lab. Botánica
Impresora	1 unidad	100 000	Si	Lab. Botánica

Papel bond	1 resma	2 000	Si	Lab. Botánica / Estudiante
Tinta de impresora	3 unidades	20 000	Si	Lab. Botánica / Estudiante
Marcadores permanentes	5 unidades	3 500	Si	Lab. Botánica / Estudiante
Bitácora	1 unidad	1 500	Si	Estudiante
Tijera	1 unidad	2 000	Si	Lab. Botánica
<i>Subtotal</i>		<i>429 000</i>	Si	Lab. Botánica / Estudiante
Impresión y encuadernación de documento final		100 000	Si	Estudiante
Imprevistos		100 000	Si	Lab. Botánica / Estudiante
TOTAL		30 939 700		Lab. Botánica / LAGEDE / Estudiante

*Laboratorio de Botánica, Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional

**Laboratorio de Gestión de Residuos, Universidad Nacional

Bibliografía

- Abalos, C., & R., Agostini. 2010. Metodología para el dimensionamiento de campos de humedales de flujo-subsuperficial contruidos para el tratamiento de aguas residuales. Tesis de Grado. Universidad de Oriente. España. 105 p.
- Alfaro, C., R. Pérez & M. Solano. 2013. Saneamiento de aguas residuales mediante humedales artificiales en el Museo de Cultura Popular de la Universidad Nacional. Ambientales 45: 63-71.
- Arias, M. 2008. Comportamiento del Fósforo y del Nitrógeno en humedales artificiales del flujo vertical y horizontal a escala de laboratorio. Proyecto de Graduación de Licenciatura. Universidad Nacional, Costa Rica. 156 p.
- AyA. 2009. Programa Nacional de Manejo Adecuado de las Aguas Residuales en Costa Rica 2009-2015. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados. 46 p (fecha de consulta: 20 de setiembre del 2015, <http://www.bvs.sa.cr/AMBIENTE/textos/ambiente39.pdf>)

- Calheiros, C., V. Bessa, R. Mesquita, H. Brix, A. Rangel & P. Castro. 2015. Constructed wetland with a polyculture of ornamental plants for wastewater treatment at a rural tourism facility. *Ecological Engineering* 79:1-7
- Cervantes, S. 2015. Evaluación de la remoción de ibuprofeno, mediante humedales de flujo subsuperficial horizontal. Encuentro Universitario de Agua y Saneamiento en Costa Rica. 27 de Agosto del 2015. CONARE, San José, Costa Rica. Poster.
- Cornelissen, J., S. Lavorel, E. Garnier, S. Díaz, N. Buchmann, D. Gurvich, P. Reich, H. Ter Steege, H. Morgan, M. Van der Heijden, J. Pausas & H. Poorter. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 51: 335-380
- Cuevas, P. 2010. Importancia de la resiliencia biológica como posible indicador del estado de conservación de los ecosistemas: implicaciones en los planes de manejo y conservación de la biodiversidad. *Biológicas* 12(1): 1–7
- Delgadillo, O., A. Camacho, L. Pérez & M. Andrade. 2010. Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales. Serie Técnica. Centro Andino para la Gestión y Uso del Agua (Centro AGUA). Universidad Mayor de San Simón, Bolivia. 105 p.
- Díaz, D. 2009. Propuesta de un Modelo de Humedal Construido para depurar Aguas Residuales Domésticas. Proyecto de Graduación de Licenciatura. Universidad EARTH, Costa Rica. 45 p.
- Díaz, R. & A. Hunter. 1982. Metodología de muestreo de Suelos, Análisis Químico de Suelos y Tejido Vegetal y de Investigación en Invernadero. CATIE. Costa Rica. 62 p.
- EPA. 2000. Folleto informativo de tecnología de aguas residuales. Humedales de flujo subsuperficial. EPA 831—F-00-023. United States Enviromental Protection Agency. Office of Water Washington, D.C. 13 p.
- Espinoza, C. 2014. Factibilidad del diseño de un humedal de flujo subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales municipales de 30.000 habitantes. Tesis de Maestría. Escuela Colombiana de Ingeniería-Julio Garavito, Colombia. 81 p.
- García, D. & D. Leal. 2006. Desarrollo de un humedal artificial piloto con especies no convencionales para mitigar la contaminación generada por el vertimiento de aguas residuales provenientes del Centro de Visitantes del Parque Nacional Natural Amacayacu-Amazonas. Proyecto de Grado. Universidad de la Salle, Colombia. 232 p.
- García, J. 2010. Efecto del uso de plantas y configuración de los sistemas en la remoción de organismos patógenos mediante el uso de humedales contruidos para el tratamiento de aguas residuales domésticas en condiciones tropicales. Tesis de Maestría. Universidad Tecnológica de Pereira, España. 76 p.

- Gautam D. & M. Greenway. 2014. Nutrient accumulation in five plant species grown in bioretention systems dosed with wastewater. *Australasian Journal of Environmental Management* 21 (4): 453–462
- Gutiérrez, H., M. Peña & A. Aponte. 2010. Estimación del balance de Nitrógeno en un humedal construido subsuperficial plantado con *Heliconia psittacorum* para el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*. 55:87-89.
- Hoffmann, H. & M. Winker. 2011. Revisión Técnica de Humedales Artificiales de flujo subsuperficial para el tratamiento de aguas grises y aguas domésticas. Agencia de Cooperación Alemana-GIZ, Programa de Saneamiento Sostenible ECOSAN. Eschnorn. 39 p.
- Jing D. & H. Hu. 2010. Chemical Oxygen Demand, Nitrogen, and Phosphorus Removal by Vegetation of Different Species in Pilot-Scale Subsurface Wetlands. *Environmental Engineering Science* 27 (3): 247-253
- Kadlec, R y S. Wallace. 2009. Treatment wetlands. 2nd edition. Ed. The CRC Press. United States of America 5-8pp
- Kantawanichkul, S., S. Kladprasert & H. Brix. 2009. Treatment of high-strength wastewater in tropical vertical flow constructed wetlands planted with *Typha angustifolia* and *Cyperus involucratus*. *Ecological Engineering* 35: 238-247.
- Konnerup, D., T. Koottatep & H. Brix. 2009. Treatment of domestic wastewater in tropical, subsurface flow constructed wetlands planted with *Canna* and *Heliconia*. *Ecological Engineering* 35: 248-257.
- Lai, W., S. Wang, C. Peng & Z. Chen. 2011. Root features related to plant growth and nutrient removal of 35 wetland plants. *Water Research* 45: 3941-3950.
- Langergraber, G. 2013. Are constructed treatment wetlands sustainable sanitation solutions?. *Water Science Technology* 67 (10): 2133-2140.
- Lara, J. & I. Vera. 2005. Implantación y evolución de un humedal artificial de flujo subsuperficial en Cogua, Cundinamarca, Colombia. *Ingeniería y Universidad Bogotá* 9 (1): 47-63.
- Liang M., C. Zhang, C. Peng, Z. Lai, D. Chen & Z. Chen. 2011. Plant growth, community structure, and nutrient removal in monoculture and mixed constructed wetlands. *Ecological Engineering* 37: 309-316.
- Liu, S., B. Yan & L. Wang. The layer effect in nutrient removal by two indigenous plant species in horizontal flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 37: 2101-2104.
- Llagas, W. & E. Gómez. 2006. Diseño de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales en la UNMSM. *Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG* 15 (17): 85-96.

- Loan, N., N. Minh & N. Thi. 2014. The role of aquatic plants and microorganisms in domestic wastewater treatment. *Environmental Engineering and Management Journal*. 8: 2031-2038
- Lodoño, L. & C. Marín. 2009. Evaluación de la eficiencia de remoción de materia orgánica en humedales artificiales de flujo horizontal subsuperficial alimentados con agua residual sintética. Trabajo final para graduarse de tecnólogo. Universidad Tecnológica de Pereira, España. 212 p.
- Marín, J. & J. Correa. 2010. Evaluación de la remoción de contaminantes en aguas residuales en humedales artificiales utilizando *La Guadua angustifolia* Kunth. Tesis de Grado. Universidad Tecnológica de Pereira, España. 100 p.
- Marín, M. 2010. Manual para la construcción y mantenimiento de biojardineras. 2sa Edición. ACEPESA. San José, Costa Rica. 36 p.
- Moncada, S. 2011. Evaluación del diseño de una biojardinera de flujo subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales grises en Zapote, San José. Proyecto Final de Graduación de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. 160 p.
- Montiel, P. 2014. Humedal artificial. Tesis de Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. 61 p.
- Montoya, J., L. Ceballos, J. Casas & J. Morató. 2010. Estudio comparativo de la remoción de materia orgánica en humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial usando tres especies de macrófitas. *Revista EIA* 14: 75-84.
- Mora, C. 2013. Evaluación y optimización de un sistema de humedales artificiales horizontales de flujo subsuperficial como alternativa de tratamiento de aguas residuales ordinarias ubicados en Playa Dominical. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Costa Rica. 121pp.
- Mora, D., A. Mata & C. Portuguese. 2011. Acceso a agua para consumo humano y saneamiento: evolución en el periodo 1990-2010 en Costa Rica. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados, Laboratorio Nacional de Aguas. 28 p.
- Mora, D., A. Mata & C. Portuguese. 2012. Agua para consumo y saneamiento Situación de Costa Rica en el contexto de las Américas: 1960-2011. Laboratorio Nacional de Aguas, Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados, Costa Rica. 27 p
- Morales, G., D. López, I. Vega & G. Vidal. 2013. Humedales construidos con plantas ornamentales para el tratamiento de materias orgánicas y nutrientes contenidos en aguas servidas. *Theoria* 22 (1): 33-46
- Morandeira, N. 2014. Tipos funcionales de plantas en humedales de la planicie de inundación del Bajo Río Paraná (Entre Ríos, Argentina) y su observación con datos polarimétricos de radar. Tesis de Doctorado. Universidad de Buenos Aires. Argentina. 278 p.

- Moreno, M. 2009. Valoración económica del uso de tecnologías de saneamiento ecológico para aguas residuales domiciliarias. *Revista Iberoamericana de Economía Ecológica* 13: 1-13.
- Naz, M., S. Uyanik, M. Yesilnacar & E. Sahinkaya. 2009. Syde-by-side comparison of horizontal subsurface flow and free wáter Surface flow constructed wetlands and artificial neural network (ANN) modelling approach. *Ecological Engineering* 35: 1255-1263.
- Ong, Soon-An., K. Uchiyama, D. Inadama, Y. Ishida & K. Yamagiwa. 2010. Performance evaluation of laboratory scale up-flow constructed wetlands with different designs and emergent plants. *Bioresource Technology* 101: 7239-7244.
- Orozco, C. A. Cruz, M. Rodríguez & A. Pohlan. 2006. Humedal subsuperficial de flujo vertical como sistema de depuración terciaria en el proceso de beneficiado de café. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 6: 190-196
- Paredes, L. 2014. Remoción de contaminantes en la estabilización de humedales construidos de flujo vertical, sembrados con *Heliconia* (sp), para el tratamiento de aguas residuales domésticas. Trabajo de Grado. Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia. 89 p.
- Peña, E., C. Madera, J. Sánchez y J. Medina. 2013. Bioprospección de plantas nativas para su uso en procesos de biorremediación: Caso *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae). *Revista Académica Colombiana Ciencias* 37 (145): 469-481.
- Pérez, R., C. Alfaro, J. Sasa & J. Agüero. 2013. Evaluación del funcionamiento de un sistema alternativo de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. *UNICIENCIA* 27 (1): 332-340.
- Pidre, J. 2010. Influencia del tipo y granulometría del sustrato en la depuración de las aguas residuales por el sistema de humedales artificiales del flujo vertical y horizontal. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz, España. 369 p.
- Programa Estado de la Nación. 2013. Decimonoveno Informe Estado de la Nación en Desarrollo Humano Sostenible. San José, Costa Rica. Programa Estado de la Nación
- Rodríguez, I. & W. Lozano. 2012. Preparación, composición y uso de agua residual sintética para alimentación de reactores prototipo y de laboratorio. *Revista de Didáctica Ambiental* 8 (11): 10-16.
- Romero-Aguilar, M., A., Colín-Cruz, E., Sánchez-Salinas & M., Ortiz-Hernández. 2009. Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: Evaluación de la carga orgánica. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 25 (3): 157-167.
- Rudamán G. 2012. Determinación de parámetros de diseño, puesta en marcha y evaluación de la eficiencia de humedales de flujo subsuperficial en la Planta Piloto Aurora II, para el tratamiento de aguas residuales domésticas. Tesis de Maestría. Universidad de San Carlos de Guatemala. 46 p.

- Sabas, C. 2011. Evaluación hidrodinámica de humedales contruidos a escala de laboratorio. Tesis de Maestría. Universidad Tecnológica de Pereira, España. 189 p.
- Saeed, T. & G. Sun. 2011. A comparative study on the removal of nutrients and organic matter in wetland reactors employing organic media. *Chemical Engineering Journal* 171: 439-447.
- Saeed, T., & G., Sun. 2012. A review on Nitrogen and organics removal mechanims in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on enviromental parameters, operating conditions and supporting media. *Journal of Enviromental Management* 112: 429-448.
- Sanclemente, M. & E. Peña. 2008. Crecimiento y eficiencia fotosintética de *Ludwigia decurrens* Walter (Onagraceae) bajo diferentes concentraciones de nitrógeno. *Acta Biológica Colombiana* 1: 175-186
- Sarafraz, S., T. Ahamad, M. Noor & A. Liaghat. 2009. Wastewater Treatment Using Horizontal Subsurface Flow Constructed Wetland. *American Journal of Environmental Sciences* 5 (1): 99-105.
- Shelef, O., A. Gross & S. Rachmilevitch. 2013. Role of Plants in a Constructed Wetland: Current and New Perspectives. *Water* 5: 405-419.
- Sim, C. 2003. The use of constructed wetlands for wastewater treatment. *Wetlands International- Malaysia Office*. 24 p.
- Suárez, A., N. Agudelo, J. Rincón & N. Millán. 2014. Evaluación de un humedal artificial de flujo subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Mutis* 4 (1): 8-14.
- Vymazal, J. & L. Kröpfelová. 2005. Growth of *Phragmites australis* and *Phalaris arundinaceae* in constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic. *Ecological Engineering* 25: 606-621.
- Vymazal, J. 2009. Review: The use constructed wetlands with horizontal subsurface flow for various types wastewater. *Ecological Engineering* 35: 1-17
- Vymazal, J. 2013. Plants in constructed, restored and created wetlands. *Ecological Engineering* 61P: 501-504.
- Yang, C., H. Zhang, B. Li, D. Wang, Y. Zhao & Z. Zheng. 2012. Effects of influent C/N ratios on CO₂ and CH₄ emissions from vertical subsurface flow constructed wetlands treating synthetic municipal wastewater. *Journal of Hazardous Materials* 203-204: 188-194.