

Evaluación de Soportes Alternativos para la Formación de Biopelículas en Humedales Artificiales de Flujo Subsuperficial

Evaluation of Alternative Supports for Biofilm Formation in Subsurface Flow Constructed Wetlands

Rodriguez Zúñiga Diana Patricia^{***}, González Duque María Elena*,
Quintero García Kelly Leani^{**}, Ríos Sánchez Deicy Andrea*,
Mateo Montes Vanegas*, Villa Cardona Faber^{**}

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v27n2.119648

RESUMEN

Los humedales artificiales son ecotecnologías que se utilizan para la eliminación de contaminantes de las aguas residuales, lo cual permite mitigar el impacto ambiental de estas en los ecosistemas acuáticos, por ello, en este estudio evaluamos la formación de biopelículas de tres materiales de soporte, resina epóxica catalizada (RE), concreto reciclado (GR) y grava natural (GN) y la remoción de contaminantes. Se construyeron seis humedales utilizando *Heliconia psittacorum* como macrofitas. Se evaluó remoción de turbidez, oxígeno disuelto, conductividad, potencial de óxido-reducción y bioindicadores de contaminación fecal. El concreto reciclado presentó la mayor eficiencia en la remoción de coliformes totales (99.9 %) y mesófilos (94.9 %), además de ser el único material donde todas las cepas identificadas formaron biopelícula. La grava natural, aunque tradicional, logró la mayor remoción de coliformes fecales (100 %) y albergó la mayor diversidad microbiana. En contraste, la resina epóxica mostró baja eficiencia en la remoción microbiana, pero favoreció condiciones fisicoquímicas estables y oxigenadas. Estos resultados evidencian la importancia del material de soporte en los humedales artificiales, tanto en parámetros microbiológicos como fisicoquímicos.

Palabras claves: Humedales artificiales, biopelículas, remoción de contaminantes y material de soporte.

ABSTRACT

Constructed wetlands are ecotechnologies used for the removal of pollutants from wastewater, helping to mitigate their environmental impact on aquatic ecosystems. In this study, we evaluated biofilm formation on three support materials catalyzed epoxy resin (ER), recycled concrete (RC), and natural gravel (NG) as well as their effectiveness in contaminant removal. Six wetlands were constructed using *Heliconia psittacorum* as the macrophyte. We assessed the removal of turbidity, dissolved oxygen, conductivity, oxidation-reduction potential, and fecal contamination bioindicators. Recycled concrete showed the highest efficiency in removing total coliforms (99.9 %) and mesophilic bacteria (94.9 %) and was the only material on which all identified strains formed biofilms. Although traditional, natural gravel achieved the highest removal of fecal coliforms (100 %) and supported the greatest microbial diversity. In contrast,

* Facultad de Ciencias de la Salud, Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia.

** Facultad de Arquitectura e Ingeniería, Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia.

*** Departamento de biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, México
Correo de correspondencia: d-zuniga@uadec.edu.mx

epoxy resin demonstrated low efficiency in microbiological removal but promoted stable and oxygenated physico-chemical conditions. These results highlight the importance of the support material in constructed wetlands, influencing both microbiological and physicochemical parameters.

Key words: Constructed wetlands, biofilms, contaminant removal and support material.

Recibido: enero 4 de 2025

Aprobado: 12 de octubre de 2025

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, aproximadamente el 70 % del agua dulce extraída se destina a la agricultura, cerca del 20 % se emplea en la industria y alrededor del 12 % al uso doméstico o municipal. Lo cual evidencia como el crecimiento en la demanda hídrica ha sido impulsado, principalmente por el desarrollo socioeconómico y los cambios en los patrones de consumo (UNESCO, 2024). Este aumento en la demanda de recursos hídricos se concentra especialmente en ciudades, países y regiones con un rápido crecimiento económico, particularmente en economías emergentes. En la gran mayoría de países en desarrollo, más del 80 % del agua utilizada es vertida en fuentes receptoras sin tratamiento previo, lo que contamina las fuentes de agua dulce y representa una grave amenaza para la salud pública (UNESCO, 2024).

Esta problemática demanda la búsqueda de tecnologías emergentes para el tratamiento de las aguas residuales, que sean económicas y eficientes. En este contexto los humedales artificiales, se han consolidado como una alternativa prometedora especialmente en comunidades descentralizadas, debido a su bajo costo de operación y alta eficiencia en la remoción de contaminantes (Ross *et al.*, 2023).

En los humedales artificiales, la remoción de materia orgánica e inorgánica depende en gran medida de las comunidades microbianas que colonizan el sistema. Estas comunidades forman biopelículas adheridas a los materiales de soporte del humedal y a la rizosfera de las plantas (Ji *et al.*, 2022). Por tanto, la eficiencia de estos sistemas está estrechamente ligada con el tipo de material de soporte, por cuanto este influye en la retención de contaminantes, la actividad microbiana y el desarrollo de la vegetación, factores clave en el proceso de depuración del agua residual (Cui *et al.*, 2023).

Si bien, la grava y la arena son los materiales comúnmente utilizados, se han identificado limitaciones que han motivado la búsqueda de materiales alternativos y más eficientes. Actualmente se exploran materiales naturales, residuos agrícolas e industriales y materiales sintéticos (Wang *et al.*, 2020). La selección de materiales de soporte para los humedales artificiales debe considerar

no solo la remoción de nutrientes y la formación de biopelículas, sino también su viabilidad económica. Teniendo en cuenta los criterios de gasto de capital (CAPEX), que contempla los costos de adquisición, traslado, triturado y gastos operativos (OPEX), relacionados con el mantenimiento del material en el humedal, reemplazo y durabilidad (Rizzo *et al.*, 2021).

En su trabajo Khalifa *et al.*, (2020) evaluaron una mezcla de grava, plástico y caucho con la adición de espuma de poliestireno como medio de soporte para un humedal artificial, observando un aumento en la eficiencia de remoción de demanda química de oxígeno (DQO) del 71 % al 88 % y de sólidos suspendidos totales (SST) del 83 % al 88 %. También se registraron mejoras en la remoción de amoníaco del 66 % al 78 %, para fosfatos del 78 % al 85 % y para coliformes totales del 97 % al 99 %.

Por su parte Sandoval Herazo *et al.*, (2023) encontraron como el uso de tereftalato de polietileno (PET) como medio de soporte en humedales artificiales; permite alcanzar eficiencias de remoción para DQO del 87 %, para demanda biológica de oxígeno (DBO) del 81 %, para SST del 65%, para fósforo total (PT) del 85 % y para nitrógeno total (NT) del 52 %.

Dado que los materiales convencionales presentan una superficie limitada para la formación de biopelículas. Se ha propuesto el uso de sustratos con mayor área superficial y propiedades hidrofílicas que mejoren la adhesión de los microorganismos y, en consecuencia, mejorar la eficiencia del tratamiento mediante el aumento de la asimilación de nutrientes (Zaboon *et al.*, 2022).

En este contexto el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia de tres tipos de materiales de soporte en humedales artificiales de flujo subsuperficial (RE, GR y GN) en la formación de biopelículas y la remoción de contaminantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio.

El experimento se realizó en la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, en Medellín, Colombia.

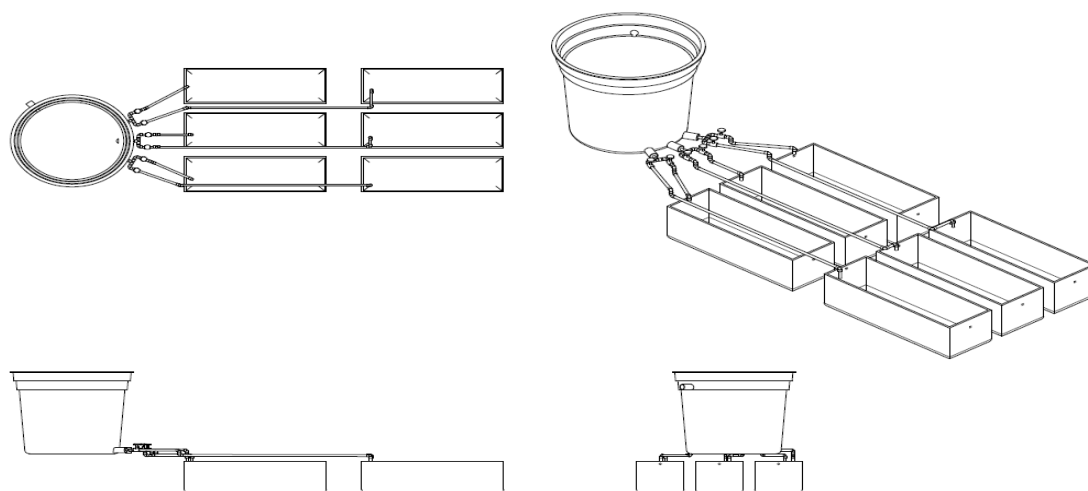


Figura 1. Configuración del sistema de humedales artificiales.

Características del agua residual.

Los humedales artificiales fueron alimentados dos veces por semana con aguas residuales domésticas, recolectadas de una caja de inspección conectada a los desagües de los baños de la zona administrativa y de la cafetería principal de la institución. Las aguas residuales fueron previamente tratadas mediante sedimentación primaria, posteriormente fueron diluidas, adicionando 10 % de agua residual y 90 % de agua potable; esto con el fin de simular bajas concentraciones de carga orgánica.

Para la caracterización del agua residual, se evaluaron parámetros físico-químicos y microbiológicos como turbidez (NTU), conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$), pH, potencial redox (mV), oxígeno disuelto (mg/L), DQO (mg/L) y bioindicadores de contaminación fecal (NMP/100 mL).

Construcción del sistema de humedales.

Se construyeron humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal, empleando estructuras de concreto con dimensiones internas de 93 cm de largo, 35 cm de ancho y 23 cm de alto (Figura 1). Cada humedal fue impermeabilizado adecuadamente para evitar filtraciones y garantizar el control del flujo hidráulico (Figura 2a). El volumen operativo del agua dentro de los humedales fue ajustado a una altura de 18 cm.

El sistema fue diseñado para operar con un caudal constante de 253 ± 5 mL/min, equivalente a un volumen diario de aproximadamente 364 L/día. Este caudal fue distribuido de forma controlada mediante un sistema de tuberías de PVC conectado a un tanque de almacenamiento de 500 L, el cual permitió el almacenamiento, pretratamiento y distribución del agua residual doméstica, la cual había pasado por procesos de sedimentación primaria. Para el ensayo, se utilizaron diluciones del

afluente para alcanzar una concentración de DQO de $80 \text{ mg/L O}_2 \pm 5$.

Se instalaron dos humedales por cada tipo de material soporte, (GN, GR y RE). Desde el punto de vista hidráulico, cada humedal presentó un volumen efectivo de tratamiento de aproximadamente 59 L, lo que permitió estimar un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 4 horas. Además, considerando una concentración media de DQO en el afluente de $80 \text{ mg/L O}_2 \pm 5$, se calculó una carga orgánica superficial de aproximadamente $90 \text{ g DQO/m}^2/\text{día}$ (Yu et al., 2022).

Como macrofitas se utilizó en este experimento *Heliconia psittacorum*, plantada en los humedales con una densidad de 10 plantas en cada humedal, las plantas contaban con $20 \text{ cm} \pm 3$ de alto. Durante la experimentación, se realizaron observaciones del buen estado de las plantas.

Formación de Biopelículas.

La capacidad de formación de biopelículas se evaluó mediante dos métodos. El primer método evaluado fue la adhesión a placas de poliestireno con cristal violeta y el segundo fue el crecimiento en caldo de Papa Dextrosa (PDC) (ver Figura 7 y Figura 8d). Se tomaron muestras de la biopelícula formada directamente de cada soporte del humedal con la ayuda de un hisopo de algodón estéril y se pasó a un Erlenmeyer con 25 mL de solución salina estéril al 0.85 %. Se mezcló por 20 minutos a 80 rpm con el fin de eliminar las células no adheridas; se descartó el sobrenadante y se procedió a la siembra de las muestras realizando diluciones seriadas de las muestras en agua destilada estéril desde 10^{-1} hasta 10^{-6} (esto depende de la concentración de la biopelícula en muestra), posteriormente se sembraron las diluciones en medios selectivos y diferenciales; para realizar la caracterización fenotípica de



Figura 2. Construcción de los humedales artificiales: a) Construcción de humedales en concreto e impermeabilización. b) Sistema de humedales con materiales de soporte.

las bacterias formadoras de biopelícula (Restrepo Sierra *et al.*, 2021).

Caracterización morfológica y bioquímica de los aislamientos bacterianos.

La caracterización microbiológica de los aislamientos bacterianos se realizó mediante análisis macroscópico de las colonias, análisis microscópico, pruebas bioquímicas y finalmente VITEK® 2. Para la caracterización macroscópica, se evaluaron aspectos como forma, tamaño, elevación, superficie, textura y color de las colonias (Funari & Shen, 2022). En el análisis microscópico, se empleó la tinción de Gram para determinar la morfología celular, su agrupación y la presencia de esporas; esta coloración se verificó con la prueba de KOH al 3 %. Para determinar en las colonias la relación con el oxígeno, se realizó la incubación en agar sangre bajo condiciones aerobias y anaerobias; para estas últimas, se usó una jarra de anaerobiosis con sobres generadores e indicadores de la ausencia de oxígeno, manteniendo las muestras en incubación durante 8 días (Yang *et al.*, 2023).

La identificación bioquímica incluyó pruebas enzimáticas para detectar catalasa y oxidasa, así como análisis bioquímicos en medios selectivos y diferenciales: Sulfuro-Indol-movilidad (SIM), tripe azúcar hierro (TSI), urea, citrato Simmons y reducción de nitratos a nitritos. Estas pruebas fueron incubadas a 35 ± 2 °C, con lecturas a las 18, 48 y 72 horas. Finalmente, se empleó el sistema VITEK® 2 para la identificación de bacterias mediante tarjetas para cocos Gram positivos (GP), bacilos Gram negativos (GN) y bacilos Gram positivos esporulados (BCL) (Tunlid & White, 2021).

Métodos analíticos. El muestreo de la calidad del agua se realizó de acuerdo con las instrucciones para el muestreo

de aguas residuales del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM, 2007). Se realizaron mediciones de parámetros fisicoquímicos como turbidez, medida con turbidímetro portátil HF Scientific Micro Tpw, las mediciones de conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$), pH, potencial redox (mV), oxígeno disuelto (mg/L) se realizaron con multiparámetro HACH. Los análisis microbiológicos de indicadores de contaminación fecal y de proceso, se cuantificaron mediante el método de filtración por membrana y número más probable (NMP).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Turbidez.

En el humedal con grava natural (Figura 3), se observó una disminución de la turbidez desde 2.3 NTU en el primer muestreo hasta 1.3 NTU en el segundo, lo que sugiere una mejor estabilización del sistema con el paso del tiempo. Aunque la grava es un material tradicionalmente empleado en sistemas de tratamiento, puede presentar limitaciones en su capacidad de adsorción y filtración en comparación con otros materiales (Rizzo *et al.*, 2021).

Por su parte, el humedal con resina epóxica catalizada mostró una tendencia opuesta. La turbidez aumentó de 1.1 NTU en el primer muestreo a 5.0 NTU en el segundo, lo que indica una disminución en la eficiencia del sistema. Este comportamiento podría estar relacionado con problemas operativos, como colmatación, desprendimiento de biopelícula o alteraciones en el flujo hidráulico, que afectaron el desempeño del humedal.

Con respecto al humedal con concreto reciclado, se observó una estabilidad en los niveles de turbidez en ambos muestreos, con valores de aproximadamente 1.4 y 1.2

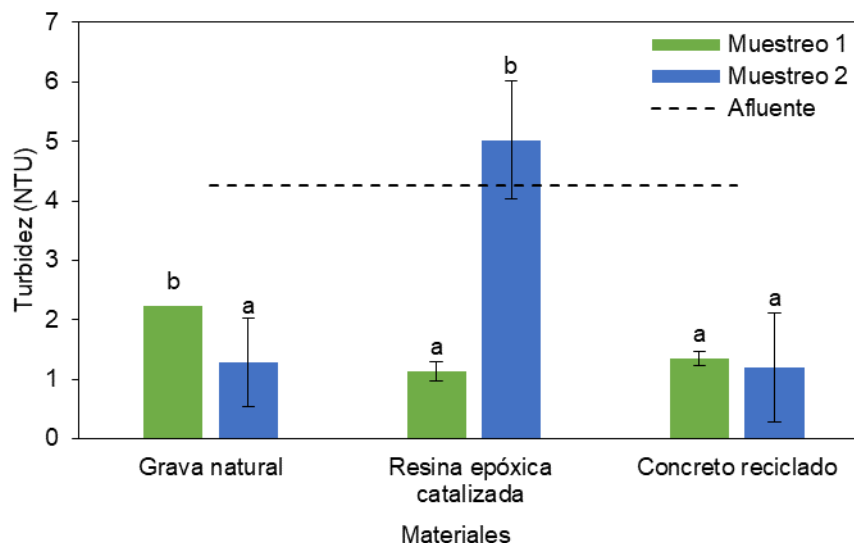


Figura 3. Remoción de turbidez de los humedales artificiales con los diferentes materiales de soporte en los dos muestreos realizados.

NTU, sin diferencias significativas. Este comportamiento refleja un desempeño consistente del sistema, lo que posiciona al concreto reciclado como una alternativa eficiente y confiable para la remoción de turbidez en aguas residuales. Este material, proveniente de residuos de construcción, puede ofrecer una mayor superficie específica y características fisicoquímicas favorables que mejoran la adsorción y retención de partículas. Su textura rugosa y porosa facilita estos procesos, y además puede influir positivamente en fenómenos como la coagulación y floculación, contribuyendo a una mayor eficiencia en la remoción de sólidos suspendidos (Fluet-Chouinard *et al.*, 2023).

En general, todos los materiales evaluados lograron una reducción considerable de la turbidez en comparación con el afluyente. Sin embargo, el análisis comparativo de medias ($p < 0.05$) muestra como los humedales con grava natural y concreto reciclado presentaron mejores resultados, a diferencia de la resina epóxica catalizada, cuyo desempeño fue variable.

Parámetros fisicoquímicos.

Los resultados de la Figura 4, muestran cómo los diferentes materiales de soporte en los humedales artificiales influyen en los parámetros fisicoquímicos del agua residual tratada; en cuanto a la conductividad eléctrica (Figura 4a) se muestra que el concreto reciclado presenta la mayor conductividad eléctrica, especialmente en el muestreo 2, superando los 22 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Esto podría deberse a la posible liberación de sales u otros compuestos iónicos desde el material hacia el agua.

En cambio, la resina epóxica catalizada mostró los valores más bajos de conductividad en ambos muestreos, por debajo del valor del afluyente, lo cual sugiere una posible capacidad de retención de iones o una menor interacción iónica con el agua. La grava natural tuvo un comportamiento intermedio, con una ligera disminución respecto al afluyente en el muestreo 1 y un leve aumento en el muestreo 2.

Con respecto al potencial redox (Figura 4b), la resina epóxica catalizada mantuvo el potencial redox más alto en ambos muestreos, incluso por encima del valor del afluyente, lo que indica un ambiente más oxidante favorable para ciertos procesos aerobios. La grava natural mostró una reducción del potencial redox en el muestreo 2 respecto al afluyente, aunque en el muestreo 1 se mantuvo relativamente cerca del valor del afluyente y el concreto reciclado exhibe una notable disminución del potencial redox en el muestreo 2, lo que puede indicar condiciones más reductoras, posiblemente asociadas a acumulación de materia orgánica o menor oxigenación.

En la Figura 4c se puede observar que todos los materiales mostraron valores de pH ligeramente superiores al del afluyente en el muestreo 1. En el muestreo 2, el pH se mantuvo constante o ligeramente por debajo del valor del afluyente, especialmente en el caso de la grava natural y el concreto reciclado. La resina epóxica mostró una mayor estabilidad en los valores de pH entre los muestreos.

Con respecto al oxígeno disuelto (Figura 4d). Se observó en el muestreo 2, en todos los casos un aumento res-

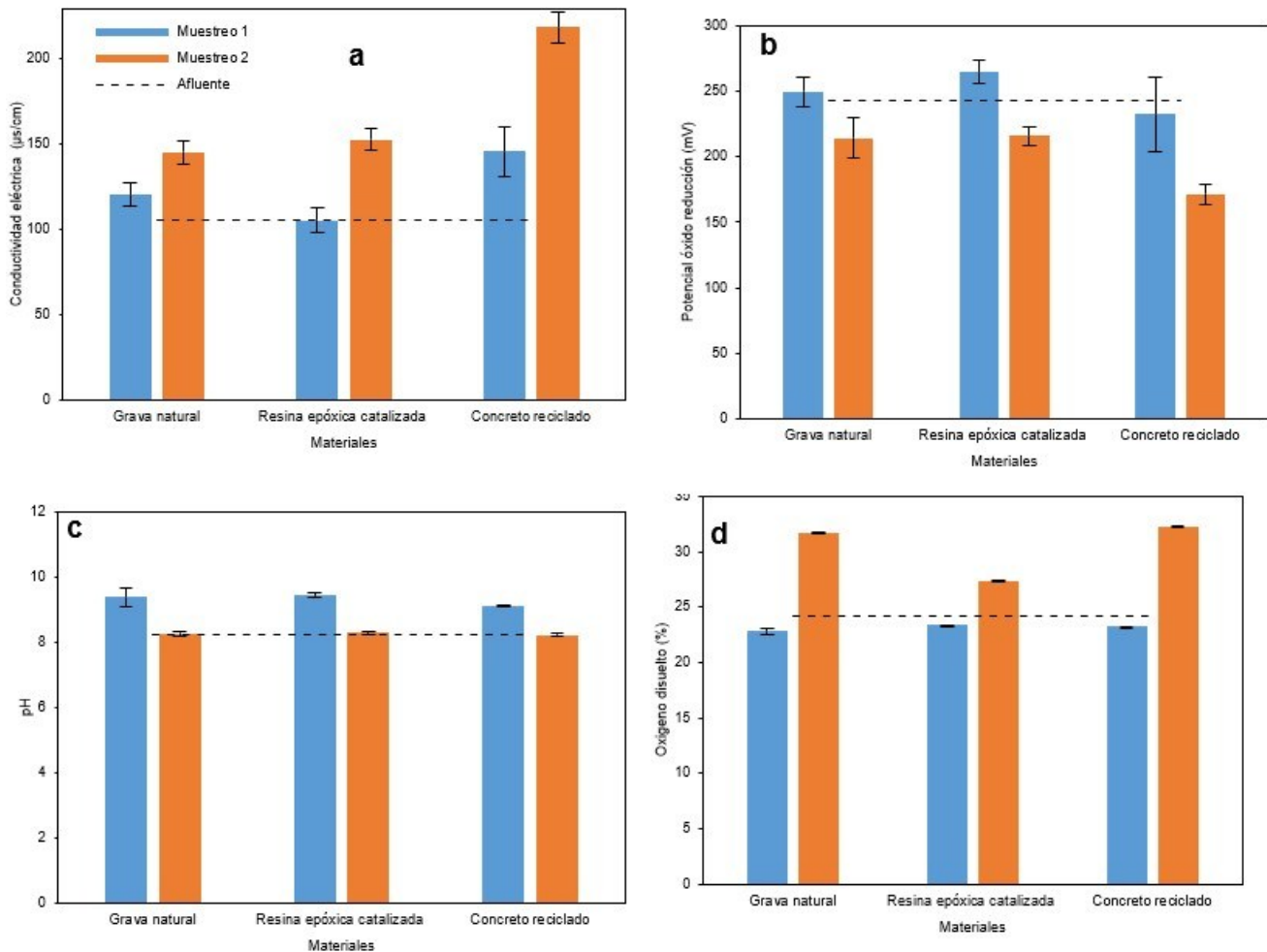


Figura 4. Parámetros fisicoquímicos evaluados en los humedales artificiales con los diferentes materiales de soportes: a) conductividad eléctrica, b) potencial de óxido reducción, c) pH y d) oxígeno disuelto.

pecto al afluente, siendo el concreto reciclado el que logró el mayor valor. En el muestreo 1, los valores de oxígeno disuelto fueron menores en todos los materiales, lo que puede estar relacionado con la etapa de adaptación del sistema o menor actividad microbiana. La resina epóxica catalizada y el concreto reciclado mostraron una recuperación importante del oxígeno disuelto en el muestreo 2.

Estos resultados evidencian que el tipo de material de soporte influye en los parámetros fisicoquímicos del agua tratada. La resina epóxica catalizada parece favorecer condiciones más estables y oxigenadas, mientras que el concreto reciclado aumenta significativamente la conductividad eléctrica y reduce el potencial redox. La grava natural, aunque es el material tradicional, mostró un comportamiento intermedio en la mayoría de los parámetros.

Eficiencia de remoción de bioindicadores de contaminación fecal y de proceso.

La mayor eficiencia de remoción para coliformes totales, se observa en el humedal con concreto reciclado (99.9 %), seguido por el humedal con grava (99.7 %) y humedal con resina epóxica (56.9%). Los residuos de concreto reciclado parecen ser más efectivos en la remoción de coliformes totales comparados con la grava y los residuos de resina epóxica.

En cuanto a la remoción de coliformes fecales (*E. coli*), los humedales con resina epóxica y concreto reciclado presentaron una eficiencia de remoción igual del 98.3% y el humedal con grava natural logró remover el 100 % de coliformes fecales, lo cual sugiere que la grava convencional es más eficiente para los procesos de remoción de coliformes fecales (Zhong *et al.*, 2024). Para mesófilos el humedal con concreto reciclado remueve un 94.88 % logrando las mayores eficiencias, seguido del humedal

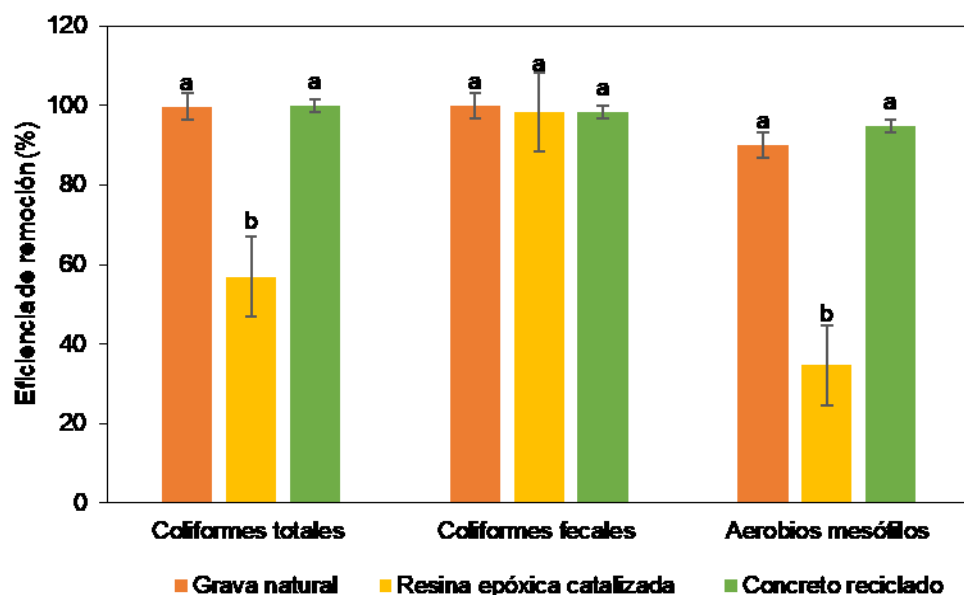


Figura 5. Eficiencia de remoción de bioindicadores en los humedales con los diferentes materiales de soporte.

con grava natural con un 90 % y por último el humedal con resina epóxica con un 34.6 %. Según el análisis estadístico de varianzas no hay diferencias significativas entre la grava natural y el concreto reciclado para la remoción de coliformes totales y aerobios mesófilos.

La elección del material de soporte en humedales artificiales debe considerar el tipo específico de microorganismos que se desea remover; para remoción en general de coliformes y mesófilos, los residuos de concreto pueden ser la mejor opción (Suárez *et al.*, 2023).

Identificación de microorganismos y formación de biopelículas. Durante el análisis microbiológico de los humedales con distintos materiales de soporte, se logró la identificación de un total de 21 cepas microbianas. La distribución de estas cepas mostró una variabilidad asociada al tipo de material utilizado en los humedales artificiales. El humedal con grava natural fue el que albergó la mayor diversidad microbiana, con un 29 % de las cepas identificadas; por su parte, la resina epóxica catalizada presentó un 24 % de las cepas identificadas y el material con menor cantidad de microorganismos identificados fue el concreto reciclado con un 14 % (Figura 7).

Estos resultados sugieren que la grava natural favorece una mayor colonización microbiana, posiblemente debido a su estructura porosa. La resina epóxica, a pesar de ser un material sintético, también mostró una capacidad intermedia para soportar crecimiento microbiano (Jiang

et al., 2024). En contraste, el concreto reciclado presentó una menor diversidad de cepas, lo que podría deberse a características fisicoquímicas menos favorables para la fijación y desarrollo microbiano, como su alcalinidad o textura superficial.

En la Tabla 1 se presentan las cepas microbianas aisladas de los diferentes materiales de soporte utilizados en los humedales artificiales. En el afluente se identificaron dos cepas *Klebsiella pneumoniae* (algunas cepas no forman biopelícula) y *Acinetobacter radioresistens* (formadora de biopelícula). Esto muestra que ya existen bacterias con potencial para colonizar los sistemas antes del ingreso al humedal, algunas de las cuales pueden establecerse en los materiales de soporte.

En el humedal que contiene concreto reciclado se identificaron seis cepas, entre las cuales destacan *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Staphylococcus aureus* y una muestra sin identificación (NO ID). Todas las cepas aisladas en este material mostraron capacidad para formar biopelícula, lo que indica que el concreto reciclado proporciona condiciones favorables para la adherencia y crecimiento microbiano. Esta propiedad podría estar asociada a su textura rugosa y porosidad, que favorecen la colonización bacteriana.

En el humedal con grava natural, se aislaron siete cepas, entre ellas *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aeromonas sobria*, *Pseudomonas mendocina*,

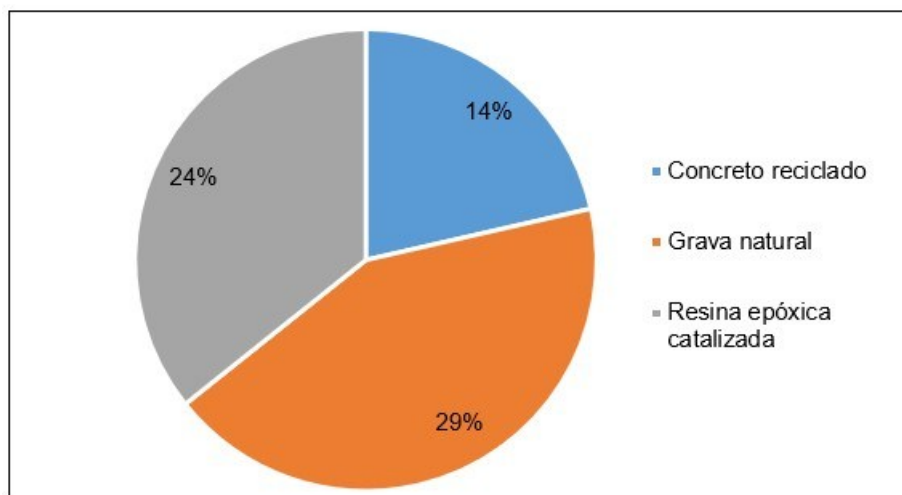


Figura 6. Porcentaje de microorganismos en los humedales con los diferentes materiales de soporte.

Tabla 1. Microorganismos identificados en los humedales artificiales con diferentes materiales de soporte.

Muestra	Microorganismo	Formación de biopelícula
Afluente	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
	* <i>Acinetobacter radioresistens</i>	+
Concreto reciclado	* <i>Bacillus cereus</i>	+
	<i>Bacillus anthracis</i>	+
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+
Grava natural	<i>Bacillus anthracis</i>	+
	NO ID	+
	<i>Bacillus cereus</i>	+
	* <i>Enterobacter aerogenes</i>	+
	* <i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
	* <i>Aeromonas sobria</i>	-
	* <i>Rautella planticola</i>	-
	* <i>Pseudomonas mendocina</i>	-
	NO ID	+
	* <i>Rautella planticola</i>	-
Resina epóxica catalizada	* <i>Klebsiella pneumoniae</i>	+
	* <i>Pantoea agglomerans</i>	-
	* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+
	* <i>Enterobacter asburrae</i>	+
	* <i>Rautella planticola</i>	+
	* <i>Pseudomonas putida</i>	+

* Microorganismos identificados mediante VITEK® 2.

+ Cepas formadoras de biopelículas,

- Cepas que no tienen la capacidad de formación de biopelículas.

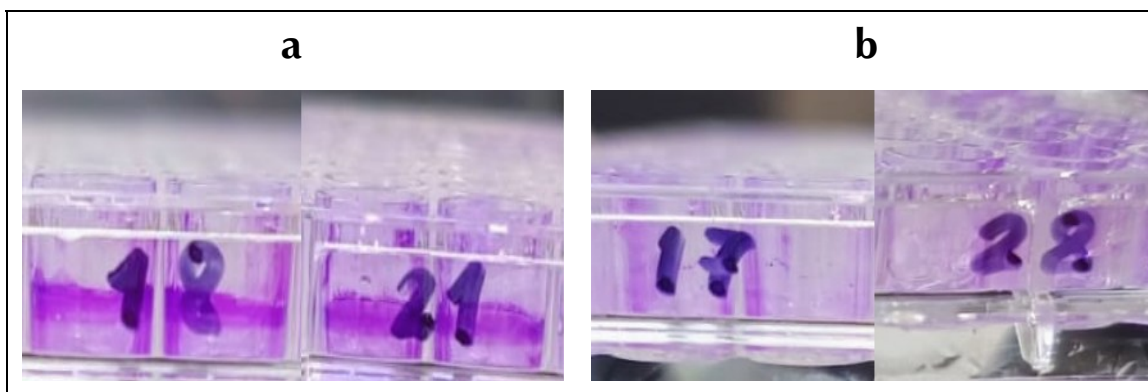


Figura 7. Placa de poliestireno teñida con cristal violeta al 0.25 %: a) aislados productores de biopelículas, b) aislados no productores de biopelículas. Se señala con flecha de color negro en la imagen 7a la adhesión del colorante a las células formadoras de biopelícula.

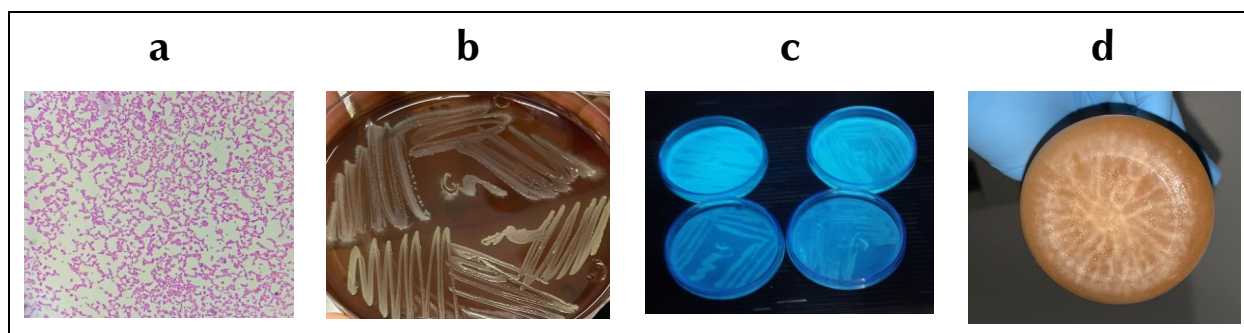


Figura 8. Cepa de *Pseudomonas putida* aislada del humedal con concreto reciclado: a) Tinción de Gram, b) crecimiento en agar sangre, c) crecimiento en agar selectivo para *Pseudomonas* sp., (agar cetrímide) y d) formación de biofilm en agar papa dextrosa.

Raoultella planticola y una muestra sin identificación. A diferencia del concreto reciclado, solo dos cepas formaron biopelícula, mientras que cinco no lo hicieron (Tabla 1). Este resultado sugiere que, aunque la grava natural permite la colonización por una diversidad de microorganismos, no todos presentan capacidad para formar estructuras adheridas en este sustrato, posiblemente debido a características superficiales menos propicias.

Del humedal que contenía como material de soporte resina epóxica catalizada, se aislaron seis cepas, incluyendo *Pantoea aglomerans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Raoultella planticola* y *Enterobacter asburrae*. De estas, cuatro cepas mostraron capacidad de formar biopelícula. La resina epóxica, a pesar de ser un material sintético, parece ofrecer una superficie adecuada para la adhesión bacteriana, especialmente en los géneros *Pseudomonas* y *Raoultella*.

El concreto reciclado fue el único material donde todas las cepas aisladas formaron biopelícula, lo cual puede representar una ventaja para procesos de tratamiento

biológico. La grava natural, a pesar de presentar una mayor diversidad de cepas, mostró la menor proporción de cepas formadoras de biopelícula y la resina epóxica catalizada presentó un equilibrio entre diversidad microbiana y formación de biopelícula, con una predominancia de bacterias del género *Pseudomonas*, comúnmente asociadas a biofilms activos en ambientes acuáticos.

La presencia de cepas potencialmente patógenas, como *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus* y *Bacillus anthracis*, resalta la importancia de monitorear los riesgos microbiológicos en estos sistemas, especialmente si se busca una aplicación en ambientes expuestos o reutilización del agua. De las 21 cepas identificadas solo 14 mostraron capacidad de formación de biopelícula en laboratorio, para esta identificación, la micro titulación con cristal violeta demostró ser altamente efectiva en la detección de biopelículas bacterianas (Figura 7). Mediante este método, se observó una marcada formación de biopelículas, evidenciando la capacidad de ciertas cepas bacterianas para desarrollar estas estructuras microbianas en condiciones de laboratorio, este método se muestra eficiente

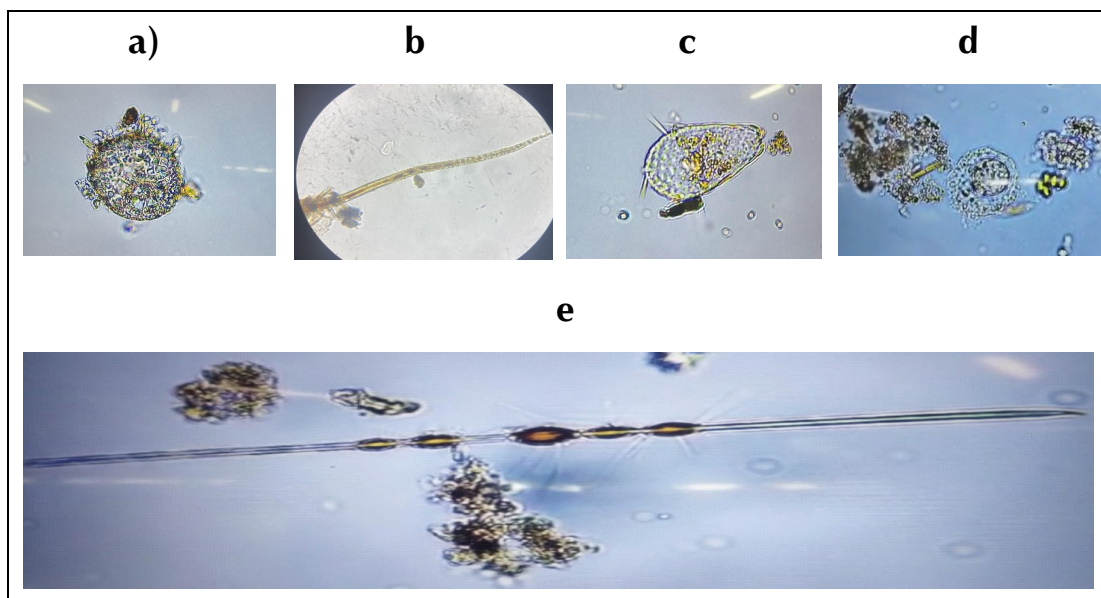


Figura 9. Algas y protozoos identificados en los humedales artificiales mediante microscopía a 40x: a) *Centropyxis* sp., b) Nematodo., c) *Euglypha* sp, d) algas y huevo de *Áscaris lumbricoides* y e) Algas.

debido a su simplicidad, bajo costo y alta reproducibilidad, proporcionando resultados consistentes en todas las réplicas. El caldo papa dextrosa (Figura 8d) también resultó ser un medio efectivo, económico y fácil de usar, mostrando una correlación positiva con los resultados obtenidos con cristal violeta.

Las biopelículas proporcionan a las células microbianas una mayor tolerancia contra condiciones ambientales adversas, patógenos y antimicrobianos, y productos químicos dañinos. Las comunidades de biopelículas bacterianas son más robustas y presentan mayor resistencia a los contaminantes orgánicos, debido a la alta proporción de biomasa microbiana y la capacidad de inmovilización (Mishra et al., 2022); por lo tanto, estas comunidades de biopelículas pueden participar en la sorción y metabolización de contaminantes orgánicos y metales pesados, mediante la producción de enzimas extracelulares a través del patrón de expresión bien controlado de genes gobernado por el sistema de señalización de comunicación celular, conocido como detección de quórum sensing (Rizzo et al., 2021).

Identificación de algas y protozoos.

En la Figura 9 se presentan una serie de imágenes capturadas al microscopio óptico de campo claro con aumento de 40x, correspondientes a distintos microorganismos observados en las muestras tomadas de los humedales artificiales con diferentes materiales de soporte. Estos organismos reflejan la diversidad biológica del sistema y su posible rol en los procesos de depuración.

En la Figura 9a se identificó *Centropyxis* sp. un protozoo ameboide con forma irregular y prolongaciones o pseudópodos. Su presencia indica actividad microbiológica asociada a la descomposición de materia orgánica. En la imagen 9b se observó un nematodo, organismos multicelular, alargado, de movimientos activos. Su presencia sugiere un ecosistema maduro con niveles tróficos más desarrollados, donde los nematodos participan en la regulación de poblaciones bacterianas.

En la Figura 9c se identificó a *Euglypha* sp., ameba testácea con una cápsula silíceas externa en forma de concha, con aberturas terminales. Este organismo es bioindicador de ambientes bien oxigenados y participa activamente en el consumo de bacterias.

En la Figura 9d se aprecian estructuras algales, junto a una forma ovalada compatible con un huevo del helmineto o *Áscaris lumbricoides*. La presencia de algas evidencia actividad fotosintética dentro del sistema, mientras que los huevos parasitarios sugieren contaminación fecal en el afluente. Y en la figura 6d se observan estructuras consistentes con algas.

Estos microorganismos cumplen roles ecológicos clave como la degradación de materia orgánica, el reciclaje de nutrientes y la regulación de poblaciones microbianas. Además, la presencia de huevos de helmintos resalta la necesidad de un monitoreo continuo de contaminantes biológicos en aguas residuales.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Los resultados de este estudio resaltan la importancia de una adecuada selección del material de soporte en humedales artificiales, ya que este factor influye significativamente en la eficiencia de remoción de diversos contaminantes. En particular, el concreto reciclado mostro mayores tasas de remoción de coliformes totales, aerobios mesófilos y turbidez. De hecho, fue el único material donde todas las cepas aisladas presentaron capacidad para formar biopelícula, lo que representa una ventaja potencial en sistemas de tratamiento biológico.

Aunque la grava natural mostró una mayor diversidad microbiana, su proporción de cepas formadoras de biopelícula fue menor. La resina epóxica, podría considerarse una opción viable en escenarios donde se priorice la remoción de material particulado y contaminantes microbiológicos específicos como los coliformes fecales. En conjunto, estos hallazgos aportan información valiosa para el diseño y la optimización de sistemas de tratamiento de aguas residuales mediante humedales construidos.

Se identifica la necesidad de profundizar en la caracterización fisicoquímica de los materiales de soporte utilizados en humedales artificiales, enfocados en analizar propiedades como la porosidad, rugosidad superficial, composición química y capacidad de intercambio iónico.

Declaración de intereses en conflicto

Los autores declaran que no tienen intereses económicos ni relaciones personales que pudieran haber influido en el trabajo presentado en este artículo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia por la financiación de este proyecto, así como a los estudiantes del curso de Microbiología I durante el semestre 2024-1 y 2024-2 por sus valiosos aportes al desarrollo de este.

REFERENCIAS

- Cui, E., Zhou, Z., Gao, F., Chen, H., & Li, J. (2023). Roles of substrates in removing antibiotics and antibiotic resistance genes in constructed wetlands: A review. *Science of The Total Environment*, 859, 160257. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.160257>
- Fluet-Chouinard, E., Stocker, B. D., Zhang, Z., Malhotra, A., Melton, J. R., Poulter, B., Kaplan, J. O., Goldewijk, K. K., Siebert, S., Minayeva, T., Hugelius, G., Joosten, H., Barthelmes, A., Prigent, C., Aires, F., Hoyt, A. M., Davidson, N., Finlayson, C. M., Lehner, B., ... McIntyre, P. B. (2023). Extensive global wetland loss over the past three centuries. *Nature*, 614(7947), 281–286. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05572-6>
- Funari, R., & Shen, A. Q. (2022). Detection and Characterization of Bacterial Biofilms and Biofilm-Based Sensors. *ACS Sensors*, 7(2), 347–357. https://doi.org/10.1021/ACSSENSORS.1C02722/ASSET/IMAGES/LARGE/SE1C02722_0003.JPEG
- Ji, Z., Tang, W., & Pei, Y. (2022). Constructed wetland substrates: A review on development, function mechanisms, and application in contaminants removal. *Chemosphere*, 286, 131564. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.131564>
- Jiang, X., Wang, M., He, D., Zhu, J., Yang, S., Fang, F., & Yang, L. (2024). Submerged macrophyte promoted nitrogen removal function of biofilms in constructed wetland. *Science of The Total Environment*, 914, 169666. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.169666>
- Khalifa, M. E., El-Reash, Y. G. A., Ahmed, M. I., & Rizk, F. W. (2020). Effect of media variation on the removal efficiency of pollutants from domestic wastewater in constructed wetland systems. *Ecological Engineering*, 143, 105668. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLENG.2019.105668>
- Mishra, S., Huang, Y., Li, J., Wu, X., Zhou, Z., Lei, Q., Bhatt, P., & Chen, S. (2022). Biofilm-mediated bioremediation is a powerful tool for the removal of environmental pollutants. *Chemosphere*, 294, 133609. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.133609>
- Restrepo Sierra, A., Rodríguez Loaiza, D. C., & Peñuela Mesa, G. A. (2021). Eficiencia de un reactor SBR para la remoción de la materia orgánica presente en el agua residual de una industria de teñido de flores. *Revista ION*, 34(1). <https://doi.org/10.18273/revion.v34n1-2021005>
- Rizzo, A., Conte, G., & Masi, F. (2021). Adjusted Unit Value Transfer as a Tool for Raising Awareness on Ecosystem Services Provided by Constructed Wetlands for Water Pollution Control: An Italian Case Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 1531. <https://doi.org/10.3390/IJERPH18041531>
- Ross, T. A., Zhang, J., Wille, M., Ciesielski, T. M., Asimakopoulou, A. G., Lemesle, P., Skaalvik, T. G., Atkinson, R., Jessop, R., Jaspers, V. L. B., & Klaassen, M. (2023). Assessment of contaminants, health and survival of migratory shorebirds in natural versus artificial wetlands – The potential of wastewater treatment plants as alternative habitats. *Science of The Total Environment*, 904, 166309. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.166309>
- Sandoval Herazo, L. C., Marín-Muñiz, J. L., Alvarado-Lassman, A., Zurita, F., Marín-Peña, O., & Sandoval-

- Herazo, M. (2023). Full-Scale Constructed Wetlands Planted with Ornamental Species and PET as a Substitute for Filter Media for Municipal Wastewater Treatment: An Experience in a Mexican Rural Community. *Water* 2023, Vol. 15, Page 2280, 15(12), 2280. <https://doi.org/10.3390/W15122280>
- Suárez, F., Sarabia, A., Sanzana, P., Latorre, C., & Muñoz, J. F. (2023). The Quebrada Negra wetland study: An approach to understand plant diversity, hydrology, and hydrogeology of wetlands. *WIREs Water*. <https://doi.org/10.1002/wat2.1683>
- Tunlid, A., & White, D. C. (2021). Biochemical Analysis of Biomass, Community Structure, Nutritional Status, and Metabolic Activity of Microbial Communities in Soil. *Soil Biochemistry*, 229–262. <https://doi.org/10.1201/9781003210207-7>
- UNESCO. (2024). *Agua para la prosperidad y la paz Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2024*. www.unesco.org/es/open-
- Wang, Y., Cai, Z., Sheng, S., Pan, F., Chen, F., & Fu, J. (2020). Comprehensive evaluation of substrate materials for contaminants removal in constructed wetlands. *Science of The Total Environment*, 701, 134736. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.134736>
- Yang, L. Y., Huang, X. R., Neilson, R., Zhou, S. Y. D., Li, Z. L., Yang, X. R., & Su, X. X. (2023). Characterization of microbial community, ecological functions and antibiotic resistance in estuarine platisphere. *Science of The Total Environment*, 866, 161322. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.161322>
- Yu, Q., Duan, X., Gu, Y., Li, J., Zhang, X., Chen, C., & Zhao, D. (2022). Increasing chemical oxygen demand and nitrogen removal efficiencies of surface-flow constructed wetlands in macrophyte-dominant seasons by adding artificial macrophytes. *Bioresource Technology*, 348, 126755. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2022.126755>
- Zaboon, B. H., Al-Abbawy, D. A. H., & Yaseen, D. A. (2022). Improving Wastewater Reclamation Using Constructed Wetlands by Artificial Plastic Biofilm Carriers. *Journal of Ecological Engineering*, 23(11), 241–253. <https://doi.org/10.12911/22998993/153459>
- Zhong, H., Jiang, C., He, X., He, J., Zhao, Y., Chen, Y., & Huang, L. (2024). Simultaneous change of microworld and biofilm formation in constructed wetlands filled with biochar. *Journal of Environmental Management*, 349, 119583. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2023.119583>