



Ingeniería agrícola y biosistemas

ISSN: 2007-3925

ISSN: 2007-4026

Universidad Autónoma Chapingo

Gallegos-Rodríguez, Jessica; López-Ocaña, Gaspar; Bautista-Margulis, Raúl German; Torres-Balcázar, Carlos Alberto
Evaluation of free flow constructed wetlands with *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* in domestic wastewater treatment
Ingeniería agrícola y biosistemas, vol. 10, no. 2, 2018, July-December, pp. 49-65
Universidad Autónoma Chapingo

DOI: <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2017.03.005>

Available in: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=688672143001>

- How to cite
- Complete issue
- More information about this article
- Journal's webpage in redalyc.org

redalyc.org

Scientific Information System Redalyc

Network of Scientific Journals from Latin America and the Caribbean, Spain and Portugal

Project academic non-profit, developed under the open access initiative

Evaluation of free flow constructed wetlands with *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* in domestic wastewater treatment

Evaluación de humedales artificiales de flujo libre con *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* en el tratamiento de aguas residuales domésticas

Jessica Gallegos-Rodríguez; Gaspar López-Ocaña*; Raúl German Bautista-Margulis; Carlos Alberto Torres-Balcázar

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas. Carretera Villahermosa-Cárdenas km 0.5, Entronque a Bosques de Saloya, Tabasco, C. P. 86150, MÉXICO.

*Corresponding author: ocanagl77@hotmail.com, tel. 045 993 193 3824.

Abstract

Introduction: Constructed wetlands (CWs) have been widely used in domestic wastewater treatment, and plants are the main component in pollutant removal.

Objective: To evaluate the efficiency of *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* in the removal of basic pollutants in nine free flow constructed wetlands (FFCWs).

Methodology: Nine FFCWs were established, three without vegetation (FFCW-Control), three with *Sagittaria lancifolia* (FFCW-S-Lan) and three with *Sagittaria latifolia* (FFCW-S-Lat); for each of them, temperature, pH, total suspended solids (TSS), biochemical oxygen demand (BOD₅), chemical oxygen demand (COD), fecal coliforms (FCs), and bacterial and plant biomass were determined.

Results: *Sagittaria latifolia* presented 21.4 ± 1.90 mg·L⁻¹ of TSS, 14.6 ± 4.44 mg·L⁻¹ of BOD₅, 29.55 ± 10.80 mg·L⁻¹ of COD and 1000 MPN·100 mL⁻¹ of FCs, while *Sagittaria lancifolia* had 12.6 ± 3.80 mg·L⁻¹ of TSS, 24.4 ± 2.09 mg·L⁻¹ of BOD₅, 59.62 ± 5.87 mg·L⁻¹ of COD and 100 MPN·100 mL⁻¹ of FCs. The removal efficiency of *Sagittaria latifolia* in TSS, BOD₅, COD and FCs was 94, 97, 96 and 99 %, respectively, while for *Sagittaria lancifolia* it was 97, 94, 93 and 99.9 %, respectively.

Study limitations: The behavior of *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* within the CWs is documented for only one year, whereas it is known that most of the macrophytes used reach their maximum pollutant removal efficiency between two and three years.

Originality: There are few reports on the ability of *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* to remove basic pollutants when used in a CW as a primary or secondary treatment.

Conclusions: The treated water meets the discharge criteria of NOM-001-SEMARNAT-1996 and NOM-003-SEMARNAT-1997, and can be reused for other purposes.

Keywords: macrophytes, BOD₅, biomass, removal efficiency.

Resumen

Introducción: Los humedales artificiales (HA) han sido utilizados ampliamente en el tratamiento de aguas residuales domésticas, y las plantas son el principal componente en la eliminación de contaminantes.

Objetivo: Evaluar la eficiencia de *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* en la remoción de contaminantes básicos en nueve humedales artificiales de flujo libre (HAFL).

Metodología: Se establecieron nueve HAFL, tres sin vegetación (HAFL-Control), tres con *Sagittaria lancifolia* (HAFL-S-Lan) y tres con *Sagittaria latifolia* (HAFL-S-Lat); a los cuales se les determinó temperatura, pH, sólidos suspendidos totales (SST), demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅), demanda química de oxígeno (DQO), coliformes fecales (CF), y biomasa microbiana y vegetal.

Resultados: *Sagittaria latifolia* presentó 21.4 ± 1.90 mg·L⁻¹ de SST, 14.6 ± 4.44 mg·L⁻¹ de DBO₅, 29.55 ± 10.80 mg·L⁻¹ de DQO y 1000 NMP·100 mL⁻¹ de CF, mientras que *Sagittaria lancifolia* tuvo 12.6 ± 3.80 mg·L⁻¹ de SST, 24.4 ± 2.09 mg·L⁻¹ de DBO₅, 59.62 ± 5.87 mg·L⁻¹ de DQO y 100 NMP·100 mL⁻¹ de CF. La eficiencia de remoción de *Sagittaria latifolia* en SST, DBO₅, DQO y CF fue de 94, 97, 96 y 99 %, respectivamente, mientras que para *Sagittaria lancifolia* fue de 97, 94, 93 y 99.9 %, respectivamente.

Limitaciones del estudio: Solo se presenta el comportamiento de *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* de un año dentro de los HA, y se sabe que la mayoría de las macrófitas utilizadas alcanzan su eficiencia máxima de remoción de contaminantes entre los dos y tres años.

Originalidad: Hay pocos reportes de *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* en la remoción de contaminantes básicos cuando se utilizan en HA como tratamiento primario o secundario.

Conclusiones: El agua tratada cumple con criterios de descarga de las normas NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997, y puede ser reutilizada para otros fines.

Palabras clave: macrófitas, DBO₅, biomasa, eficiencia de remoción.

Please cite this article as follows (APA 6): Gallegos-Rodríguez, J., López-Ocaña, G., Bautista-Margulis, R. G., & Torres-Balcázar, C. A. (2018). Evaluation of free flow constructed wetlands with *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* in domestic wastewater treatment. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 10(2), 49–65. doi: 10.5154/r.inagbi.2017.03.005

Received: March 1, 2017 / Accepted: April 23, 2018



Ingeniería Agrícola
y Biosistemas

www.chapingo.mx/revistas/inagbi

Introduction

Water pollution resulting from anthropogenic activities has made wastewater treatment increasingly difficult and costly, since it requires physical, chemical and biological processes in conventional plants or those that use natural processes to comply with the discharge level established by current environmental regulations. Conventional systems, in most cases, are not accessible to many communities, mainly due to the construction, operating and maintenance costs, so it is necessary to apply affordable and environmentally friendly technologies (Comisión Nacional del Agua [CONAGUA], 2016). In this sense, constructed wetlands (CWs) comply with these characteristics because they have low effluent treatment costs, do not require chemical additives to remove pollutants, do not generate bad odors, have minimal greenhouse gas emissions, are aesthetic, are simple to operate and maintain with minimum electricity consumption, and can be applied in rural and urban areas (Arias & Brix, 2003; Ayaz, 2008; CONAGUA, 2014).

CWs imitate the processes that occur in natural wetlands (Ghosh & Gopal, 2010), through the cultivation of rooted macrophytes (emergent, floating or submerged) on a support medium (gravel, sand or others) and the presence of microorganisms in the root zone (Delgadillo, Camacho, Pérez, & Andrade, 2010). The plants absorb and assimilate pollutants, provide a large surface area for bacterial growth (nitrifiers), favor oxygen transport through the rhizosphere, stimulate organic matter degradation, and retain suspended solids by sedimentation and filtration. Some plant species are more dominant and have greater pollutant removal efficiency (Brix, 1994; Fernández-González, de Miguel-Beascoechea, de Miguel-Muñoz, & Fernández-de la Mora, 2004; Xiao, Peng, Yue, & Wen, 2007).

Romero-Aguilar, Colín-Cruz, Sánchez-Salinas, and Ortiz-Hernández (2009) evaluated the organic load removal from an institution's domestic wastewater in three horizontal flow CWs with *Phragmites australis* and *Typha dominguensis*, install sed after a primary treatment. Their results indicate that chemical oxygen demand (COD) was reduced by 90.2 to 95.73 %, total phosphorus (TP) by 3.13 to 40.35 %, and bacteria associated with the system by 1×10^5 CFU·mL⁻¹ in wastewater and 1×10^7 CFU·g⁻¹ in rhizosphere and substrate.

On the other hand, Amabilis-Sosa, Siebe, Moeller-Chávez, and Durán-Domínguez-de Bazúa (2016) determined the accumulation and distribution of mercury in wastewater with *Phragmites australis*, as a biological barrier, in nine CWs, of which three were inoculated with heavy metal-tolerant bacteria, three without inoculum and three without plants or

Introducción

La contaminación del agua por actividades antropogénicas ha hecho cada vez más difícil y costoso el tratamiento de aguas residuales, ya que requiere de procesos físicos, químicos y biológicos, en plantas de tipo convencional o que usan procesos naturales para cumplir con la descarga establecida por la norma ambiental vigente. Los sistemas convencionales, en la mayoría de los casos, no son accesibles para muchas comunidades debido, principalmente, a los costos de construcción, operación y mantenimiento, por lo que es necesario aplicar tecnologías accesibles y amigables con el ambiente (Comisión Nacional del Agua [CONAGUA], 2016). En este sentido, los humedales artificiales (HA) cumplen con dichas características, pues presentan bajo costo en el tratamiento de efluentes, no requieren aditivos químicos para eliminar los contaminantes, no generan malos olores, presentan mínima emisión de gases de efecto invernadero, son estéticos, la operación y el mantenimiento son sencillos con un consumo mínimo de energía eléctrica, y tienen aplicación en zonas rurales y urbanas (Arias & Brix, 2003; Ayaz, 2008; CONAGUA, 2014).

Los HA imitan los procesos que ocurren en humedales naturales (Ghosh & Gopal, 2010), a través del cultivo de macrófitas enraizadas (emergentes, flotantes o sumergidas) sobre un medio de soporte (grava, arena u otros) y la presencia de microorganismos en la zona de raíces (Delgadillo, Camacho, Pérez, & Andrade, 2010). Las plantas absorben y asimilan los contaminantes, proporcionan una extensa superficie para el crecimiento bacteriano (nitrificantes), favorecen el transporte de oxígeno a través de la rizosfera, estimulan la degradación de la materia orgánica, y retienen sólidos en suspensión por sedimentación y filtración. Algunas especies vegetativas son más dominantes y presentan mayor eficiencia de remoción de contaminantes (Brix, 1994; Fernández-González, de Miguel-Beascoechea, de Miguel-Muñoz, & Fernández-de la Mora, 2004; Xiao, Peng, Yue, & Wen, 2007).

Romero-Aguilar, Colín-Cruz, Sánchez-Salinas, y Ortiz-Hernández (2009) evaluaron la remoción de la carga orgánica de aguas residuales domésticas de una institución en tres HA de flujo horizontal con *Phragmites australis* y *Typha dominguensis*, instalados después de un tratamiento primario. Sus resultados indican que la demanda química de oxígeno (DQO) se redujo de 90.2 a 95.73 %, el fósforo total (PT) de 3.13 a 40.35 %, y las bacterias asociadas al sistema disminuyeron 1×10^5 UFC·mL⁻¹ en el agua residual y 1×10^7 UFC·g⁻¹ en la rizósfera y el sustrato.

Por otro lado, Amabilis-Sosa, Siebe, Moeller-Chávez, y Durán-Domínguez-de Bazúa (2016) determinaron la acumulación y distribución de mercurio en aguas

inoculum. After 304 days of operation, systems with vegetation and metal-tolerant bacteria removed 73 % of the total mercury.

At the *Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia* (IUCMA) in Colombia, two subsurface flow CWs (SFCWs) were implemented for the treatment of wastewater with *Typha latifolia* and *Cyperus papyrus*, both macrophytes. The results obtained for COD, biochemical oxygen demand (BOD_5), total suspended solids (TSS) and TP with *T. latifolia* were 53.9, 83.2, 95.5 and 97.2 %, while with *C. papyrus* they were 47.9, 82.9, 40.3 and 95.9 %, respectively (Bedoya-Pérez, Ardila-Arias, & Reyes-Calle, 2014). It is important to note that each region of the world evaluates native macrophyte species to determine their phytoremediation potential in wastewater. Some of the most studied macrophytes are: *Typha angustifolia* (Park & Polprasert, 2008), *Typha angustata* (Ghosh & Gopal, 2010), *Typha angustifolia* (Arivoli & Mohanraj, 2013), *Cyperus difformis* and *Dracaena sanderiana* (Saeed, Al-Muyeed, Afrin, Rahman, & Sun, 2014).

In southeastern Mexico, particularly in Tabasco, there is a great diversity of swamp flora that has not been evaluated in wastewater treatment (Bueno, Álvarez, & Santiago, 2005). Among the species little studied in a CW are *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* (Novelo, 2003); the latter has been evaluated in SFCWs as a tertiary treatment, but not as a primary or secondary one (Zachritz & Fuller, 1993). This species has also been used to remove nutrients from rainwater effluents (Lenhart, Hunt, & Burchell, 2012). Both species have the advantage of being smaller (better management and transport) than those used in the region's wetlands, and they are abundant in the Tabasco wetlands. In urban areas they are regarded as weeds, and it has been reported that certain varieties of these species are efficient in organic matter and nutrient removal (Lenhart et al., 2012; Zachritz & Fuller, 1993); therefore, it is important to generate more information on the ability of these plants to assimilate and remove pollutants.

Considering the above, the aim of this study was to evaluate the efficiency of *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* in removing basic pollutants such as TSS, BOD_5 , COD and fecal coliforms (FCs) in nine free flow constructed wetlands (FFCWs).

Materials and methods

Wastewater treatment system (WTS). The system used is located in the *División Académica de Ciencias Biológicas* (DACBiología) of the *Universidad Juárez Autónoma de Tabasco* (UJAT), located in Villahermosa, Tabasco, Mexico (17° 59' 26" and 17° 59' 17" North latitude; 92° 58' 16" and 92° 58' 37" West longitude). It consists of nine independent FFCWs measuring 2.5 m long,

residuales con *Phragmites australis*, como barrera biológica, en nueve HA, de los cuales tres se inocularon con bacterias tolerantes a metales pesados, tres sin inóculo y tres sin plantas ni inóculo. Después de 304 días de operación, los sistemas con vegetación y bacterias metalotolerantes removieron 73 % del mercurio total.

En la *Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia* (IUCMA), Colombia, se implementaron dos HA de flujo subsuperficial (HAFS) para el tratamiento de agua residual con *Typha latifolia* y *Cyperus papyrus*, ambas macrófitas. Los resultados obtenidos para DQO, demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), sólidos suspendidos totales (SST) y PT, con *T. latifolia* fueron 53.9, 83.2, 95.5 y 97.2 %, mientras que con *C. papyrus* fueron 47.9, 82.9, 40.3 y 95.9 %, respectivamente (Bedoya-Pérez, Ardila-Arias, & Reyes-Calle, 2014). Es importante resaltar que cada región del mundo evalúa especies macrófitas nativas para determinar su potencial de fitorremediación en aguas residuales. Algunas de las macrófitas más estudiadas son: *Typha angustifolia* (Park & Polprasert, 2008), *Typha angustata* (Ghosh & Gopal, 2010), *Typha angustifolia* (Arivoli & Mohanraj, 2013), *Cyperus difformis* y *Dracaena sanderiana* (Saeed, Al-Muyeed, Afrin, Rahman, & Sun, 2014).

En el sureste de México, particularmente en Tabasco, existe una gran diversidad de flora de pantanos que no ha sido evaluada en el tratamiento de aguas residuales (Bueno, Álvarez, & Santiago, 2005). Entre las especies poco estudiadas en HA se encuentran *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* (Novelo, 2003), esta última ha sido evaluada en HAFS como tratamiento terciario, y no como primario o secundario (Zachritz & Fuller, 1993); esta especie también se ha empleado en la remoción de nutrientes en efluentes pluviales (Lenhart, Hunt, & Burchell, 2012). Ambas especies tienen la ventaja de ser más pequeñas (mejor manejo y transporte) que las utilizadas en los humedales de la región, aunado a su abundancia en los humedales de Tabasco. En las áreas urbanas son consideradas como malezas, y se ha reportado que variedades de estas especies son eficientes en la remoción de materia orgánica y nutrientes (Lenhart et al., 2012; Zachritz & Fuller, 1993); por lo que es importante generar más información sobre la capacidad de asimilación y eliminación de contaminantes de estas plantas.

Considerando lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* en la remoción de contaminantes básicos como SST, DBO_5 , DQO y coliformes fecales (CF), en nueve humedales artificiales de flujo libre (HAFL).

Materiales y métodos

Sistema de tratamiento de aguas residuales (STAR). El sistema empleado se encuentra en la *División Académica de Ciencias Biológicas* (DACBiología) de la

1.2 m wide and 1 m high, with a water operating level of 0.5 m. They are made of 10-gauge carbon steel sheet metal. The exterior is covered with anticorrosive alkylid enamel and the interior is protected with elastomeric sealant, with five layers of textile fiber. All are equipped with hydraulic PVC piping (0.05 m) to distribute the wastewater flow. They have a gravel bed 0.1 m deep and particle size between 2.36 and 19 mm, porosity of $n = 49.6 \pm 0.7$ and permeability > 1000 , which works as a support for the vegetation. They have a distribution tank with a capacity of 200 L, which is fed by pumping from a cistern through a hydraulic PVC pipe. During this study, the FFCWs operated with a flow rate of $0.26 \pm 0.1 \text{ m}^3 \cdot \text{day}^{-1}$ and a hydraulic retention time (HRT) of 6.05 ± 2.1 days.

Collection, planting and stabilization of vegetation.

Sagittaria latifolia plants were collected in a flooded area in Villahermosa, Tabasco, Mexico ($17^\circ 59.219'$ North latitude and $92^\circ 57.588'$ West longitude), while *Sagittaria lancifolia* was extracted from the Pantanos de Centla Biosphere Reserve, Tabasco ($18^\circ 18.952'$ North latitude and $92^\circ 32.376'$ West longitude). Whole young plants, including flowers and fruits, were collected for subsequent planting and taxonomic identification according to Zepeda-Gómez and Lot (2005).

The collected specimens were placed in 20 L containers with water from the natural environment, to avoid stress. Both types of vegetation were planted in a wastewater canal, in order to adapt to the new environment, where they remained for 10 days. Subsequently, they were transplanted to the FFCWs. Fifteen individuals were planted for each FFCW. Water depth was kept at 0.3 m for 14 days to decrease the growth and propagation time. At 24 days after planting, the water level in the FFCWs was increased to 0.5 m to start the stabilization period, which is not achieved until the vegetation reaches maturity and the bacterial film is formed in the rhizosphere and support medium, a process that can last up to three months (Valles-Aragón, & Alarcón-Herrera, 2014).

The entire process was carried out from August to September 2015, and the evaluation phase began in September 2016. This is because the best efficiency in wetlands is achieved between the first and second year of operation (Amabilis-Sosa et al., 2016; Torres-Bojorges, Hernández-Razo, Fausto-Urquieta, & Zurita-Martínez, 2017).

Wastewater analysis. The wastewater used in the experiments was obtained from the DACBiol-UJAT domestic wastewater concentrator sump (storage tank), which generates a flow of $120 \text{ m}^3 \cdot \text{day}^{-1}$. Thirty-six samplings were carried out over the September-November period of 2016. In each sampling, ten samples were taken at 12:00 hours, one from the distribution

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), ubicada en Villahermosa, Tabasco, México ($17^\circ 59' 26''$ y $17^\circ 59' 17''$ latitud norte; $92^\circ 58' 16''$ y $92^\circ 58' 37''$ longitud oeste). Consta de nueve HAFL independientes de 2.5 m de largo, 1.2 m de ancho y 1 m de alto, con un tirante operativo de 0.5 m. Están fabricados de lámina de acero al carbón calibre 10. El exterior está cubierto por esmalte alquidálico anticorrosivo y el interior está protegido con impermeabilizante elastomérico, con cinco capas de fibra textil. Todos están equipados con tubería hidráulica de PVC (0.05 m), para distribuir el flujo del agua residual. Tienen un lecho de grava de 0.1 m de profundidad y tamaño de partícula entre 2.36 y 19 mm, porosidad de $n = 49.6 \pm 0.7$ y permeabilidad > 1000 , que funciona como soporte de la vegetación. Cuentan con un tanque de distribución con capacidad de 200 L, el cual se alimenta por bombeo desde una cisterna a través de una tubería hidráulica de PVC. Durante este estudio, los HAFL operaron con un caudal de $0.26 \pm 0.1 \text{ m}^3 \cdot \text{día}^{-1}$ y tiempo de retención hidráulica (TRH) de 6.05 ± 2.1 días.

Colecta, siembra y estabilización de la vegetación. Las plantas de *Sagittaria latifolia* se colectaron en una zona inundable en Villahermosa, Tabasco, México ($17^\circ 59.219'$ latitud norte y $92^\circ 57.588'$ longitud oeste), mientras que *Sagittaria lancifolia* se extrajo de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, Tabasco ($18^\circ 18.952'$ latitud norte y $92^\circ 32.376'$ longitud oeste). Se colectaron plantas jóvenes completas, incluyendo flores y frutos, para su posterior siembra e identificación taxonómica según Zepeda-Gómez y Lot (2005).

Los ejemplares recolectados se colocaron en contenedores de 20 L con agua del medio natural, para evitar el estrés. Ambas vegetaciones se sembraron en un canal de aguas residuales, con la finalidad de que se adaptaran al medio nuevo, donde permanecieron 10 días. Posteriormente, se trasplantaron a los HAFL. Se sembraron 15 individuos por cada HAFL. La lámina de agua se mantuvo a 0.3 m durante 14 días, para disminuir el tiempo de crecimiento y propagación. A los 24 días de la siembra, se aumentó el nivel del agua en los HAFL a 0.5 m para iniciar el período de estabilización, el cual se logra hasta que la vegetación alcanza su madurez y se forma la película bacteriana en la rizosfera y medio de soporte, esto puede durar hasta tres meses (Valles-Aragón, & Alarcón-Herrera, 2014).

Todo el proceso de operación se realizó de agosto a septiembre de 2015, y la fase de evaluación se inició en septiembre de 2016. Lo anterior debido a que la mejor eficiencia en los humedales se alcanza entre el primer y segundo año de operación (Amabilis-Sosa et al., 2016; Torres-Bojorges, Hernández-Razo, Fausto-Urquieta, & Zurita-Martínez, 2017).

Análisis del agua residual. El agua residual empleada en los experimentos se obtuvo del cárcamo concentrador de aguas residuales domésticas de la DACBiol-UJAT,

tank tributary and nine from the FFCW effluent, giving a total of 360 simple samples. Temperature and pH (field parameters) were measured three times a week with a multiparameter instrument (HI 9828, Hanna Instrument^{MR}, US). On the other hand, the TSS, BOD₅, COD and FCs (laboratory parameters) were determined in accordance with Mexican standards (Table 1), for which the minimum number of samplings was considered, which was one per week, giving 120 simple samples. Pollutant removal efficiency was determined in accordance with Torres-Bojorges et al. (2017).

Harvest. This activity is part of the routine maintenance and control of the process in the FFCWs. It consists of removing vegetation that is deteriorated or dead, since it no longer assimilates pollutants. If this action is not taken, it has a negative effect on removal efficiency, as there is free decomposition of pollutants previously processed, which increases the BOD₅ concentration in the effluent from the treatment units (Lot, Olvera, Flores, & Díaz, 2015; Vera et al., 2010).

At the beginning of the vegetation assessment phase, the stem was manually pruned to 0.1 m above water level (0.5 m). This process was carried out again at the end of the period to account for the biomass generated. The collected vegetation was deposited in 20 L containers for weighing with a spring balance with a capacity of 20 kg. In addition to weight, the height (cm), moisture (%), and leaf width and length (cm) were determined. Also, the bacterial biomass adhering to the support medium (on the rocks) was quantified by gravimetry (volatile matter), by the SVT-adapted method (NMX-AA-034-SCFI-2001); this was done in duplicate for each CW (giving a total of 18 samples).

Experimental design and statistical analysis. In this study, a one-factor design with three treatments was used: FFCW without vegetation (FFCW-Control), CW with *Sagittaria lancifolia* (FFCW-S-Lan) and CW with *Sagittaria latifolia* (FFCW-S-Lat), with three replicates each (Figure 1).

To find differences among treatments (FFCW-Control, FFCW-S-Lan and FFCW-S-Lat), the Kruskal Wallis test was performed, followed by the Mann-Whitney test for

la cual genera un gasto de 120 m³·día⁻¹. Se realizaron 36 muestreos distribuidos en el periodo septiembre - noviembre de 2016. En cada muestreo se tomaron diez muestras a las 12:00 horas, una del afluente del tanque de distribución y nueve del efluente de los HAFL, dando un total de 360 muestras simples. La temperatura y el pH (parámetros de campo) se midieron tres veces a la semana con un multiparamétrico (HI 9828, Hanna Instrument^{MR}, EUA). Por su parte, los SST, la DBO₅, la DQO y los CF (parámetros de laboratorio), se determinaron bajo lo establecido en las normas mexicanas (Cuadro 1); para lo cual se consideró el mínimo número de muestreos, que fue uno por semana, dando un total de 120 muestras simples. La eficiencia de remoción de contaminantes se determinó de acuerdo con lo establecido por Torres-Bojorges et al. (2017).

Cosecha. Esta actividad es parte del mantenimiento rutinario y control del proceso en los HAFL. Consiste en retirar la vegetación que se encuentra deteriorada o muerta, pues ya no asimila los contaminantes. Si no se realiza esta acción, se tiene un efecto negativo en la eficiencia de remoción, ya que hay descomposición libre de los contaminantes antes procesados con lo que se incrementa la concentración de DBO₅ de salida en el efluente de las unidades de tratamiento (Lot, Olvera, Flores, & Díaz, 2015; Vera et al., 2010).

Al iniciar la fase de evaluación de la vegetación, se podó el tallo de manera manual a 0.1 m sobre el nivel del agua (0.5 m). Este proceso se realizó nuevamente al término del periodo para contabilizar la biomasa generada. La vegetación recolectada se depositó en contenedores de 20 L para pesarla con una balanza de resorte con capacidad de 20 kg. Adicional al peso se determinó la altura (cm), humedad (%), ancho y largo de la hoja (cm). Aunado a lo anterior, se cuantificó la biomasa bacteriana adherida al medio de soporte (sobre las rocas) mediante gravimetría (materia volátil), por el método adaptado de SVT (NMX-AA-034-SCFI-2001); esto se realizó por duplicado para cada HA (dando un total de 18 muestras).

Diseño experimental y análisis estadístico. En este trabajo se realizó un diseño de un factor con tres tratamientos: HAFL sin vegetación (HAFL-Control), HA

Table 1. Methods used for the parameters evaluated.

Cuadro 1. Métodos empleados de acuerdo con los parámetros evaluados.

Variable	Method / Método
Temperature / Temperatura	In accordance with ISO 7027 / Conforme a la ISO 7027
pH	EPA 9040B / SM 4500 H+B
Total suspended solids / Sólidos suspendidos totales	NMX-AA-034-SCFI-2001
Biochemical oxygen demand / Demanda bioquímica de oxígeno	NMX-AA-028-SCFI-2001
Chemical oxygen demand / Demanda química de oxígeno	NMX-AA-030-SCFI-2001
Fecal coliforms / Coliformes fecales	NMX-AA-042-SCFI-1987

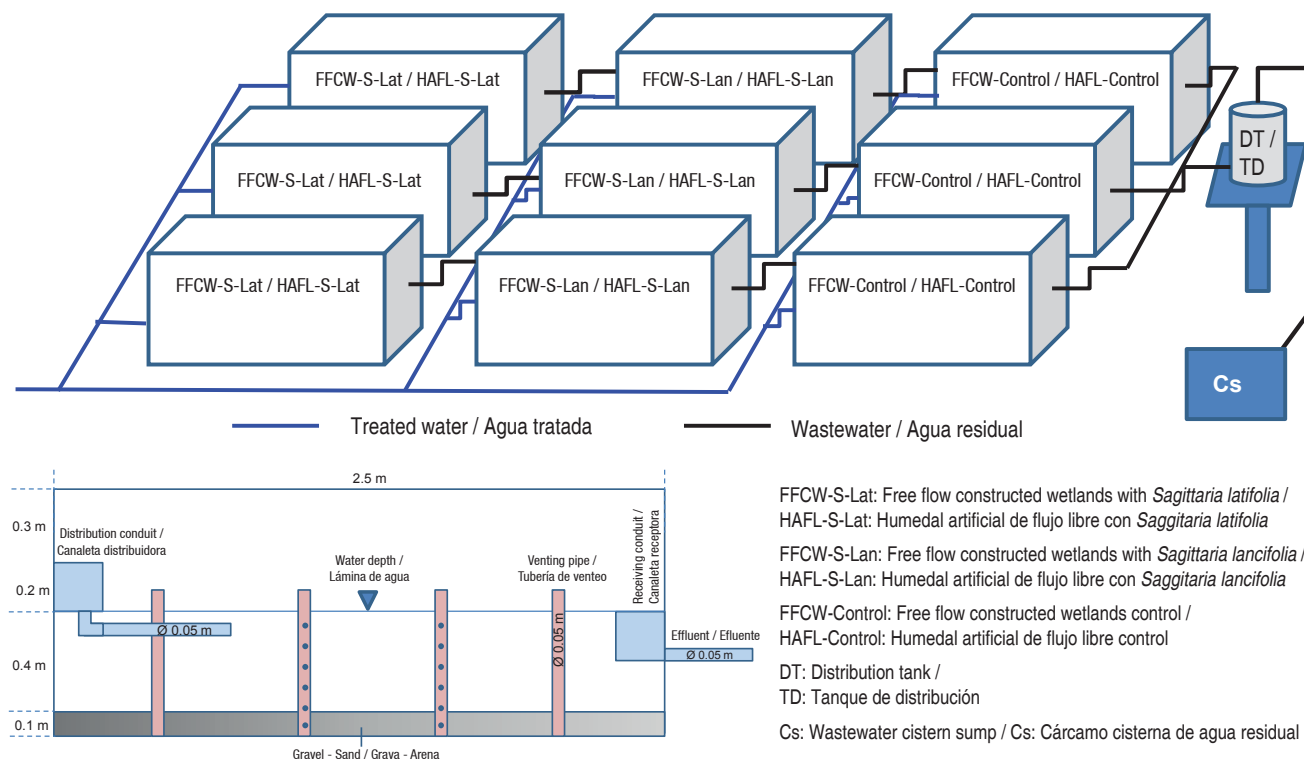


Figure 1. Experimental arrangement of free flow constructed wetlands.

Figura 1. Arreglo experimental de humedales artificiales de flujo libre.

median comparison for the variables TSS, BOD₅, FCs and plant biomass. For COD a one-way analysis of variance was performed and then Tukey's test ($P \leq 0.05$). The data were analyzed in the Statgraphics 7.0^{MR} statistical package.

Results and discussion

Temperature. The average wastewater temperature at the end of the experiment was 26.2 ± 0.9 , 27.3 ± 0.5 and 26 ± 0.8 °C, for the FFCWs-S-Lat, FFCWs-S-Lan and FFCWs-Control, respectively (Table 2), values that are below that set out by NOM-001-SEMARNAT-1996 (40 °C) for the protection of aquatic life. This parameter remains constant among treatments, and is an important factor in the growth of mesophilic microorganisms that favor the process of assimilation of pollutants by plants and their decomposition (Vymazal, 2007). It is known that high temperatures affect fauna, aquatic flora and decomposition of organic matter by reducing dissolved oxygen; if it is greater than 50 °C, aerobic digestion and bacterial nitrification are stopped, and if it is less than 5 °C, microbial activity is inhibited (Crites & Tchobanoglous, 2000). Therefore, the recorded temperatures are considered to be optimal for pollutant removal.

Hydrogen potential (pH). The average pH of the wastewater in the FFCWs-S-Lat, FFCWs-S-Lan and FFCWs-Control was 7.7 ± 0.1 , 7.5 ± 0.1 and 8.0 ± 0.2 , respectively

con *Sagittaria lancifolia* (HAFL-S-Lan) y HA con *Sagittaria latifolia* (HAFL-S-Lat), con tres réplicas cada uno (Figura 1).

Para encontrar diferencias entre tratamientos (HAFL-Control, HAFL-S-Lan y HAFL-S-Lat), se realizó un análisis de Kruskal Wallis, seguido de un contraste de mediana de Mann-Whitney para las variables de SST, DBO₅, CF y biomasa vegetal. Para la DQO se realizó un análisis de varianza simple y después un contraste múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$). Los datos se analizaron en el paquete estadístico Statgraphics 7.0^{MR}.

Resultados y discusión

Temperatura. La temperatura promedio del agua residual al finalizar el experimento fue de 26.2 ± 0.9 , 27.3 ± 0.5 y 26 ± 0.8 °C, para los HAFL-S-Lat, HAFL-S-Lan y HAFL-Control, respectivamente (Cuadro 2); valores que se encuentran por debajo de lo establecido por la NOM-001-SEMARNAT-1996 (40 °C) para la protección de vida acuática. Dicho parámetro se mantiene constante entre los tratamientos, y es un factor importante en el crecimiento de los microorganismos mesófilos que favorecen el proceso de asimilación de contaminantes por las plantas y la degradación de estos (Vymazal, 2007). Se sabe que las temperaturas altas afectan a la fauna, flora acuática y degradación de la materia orgánica, al disminuir el oxígeno disuelto; si es mayor a 50 °C, la digestión aerobia y nitrificación bacteriana se detienen, y si es menor a 5 °C la actividad microbiana se inhibe

Table 2. Average weekly values of the parameters evaluated in the different treatments.

Cuadro 2. Valores promedio semanal de los parámetros evaluados en los diferentes tratamientos.

Treatment / Tratamiento	Day / Día	TSS ¹ (mg·L ⁻¹) / SST ¹ (mg·L ⁻¹)	BOD ₅ (mg·L ⁻¹) / DBO ₅ (mg·L ⁻¹)	COD (mg·L ⁻¹) / DQO (mg·L ⁻¹)	Temperature (°C) / Temperatura (°C)	pH
Sump / Cárcamo	09/09/2016	329.4	254.2	635.6	25.9	7.3
	16/09/2016	324	375.5	938.8	25.5	7.4
	23/09/2016	353.7	369.4	923.4	25.7	7.4
	30/09/2016	383.4	437.1	979.3	25.9	7.3
	07/10/2016	343.6	391.7	1008	26.9	8.2
	14/10/2016	357.7	403.2	1019.3	28.3	8
	21/10/2016	223	407.7	1092.7	28.3	8
	28/10/2016	308.1	400.9	1040	27.83	8.07
	04/11/2016	345	400	1010	23.8	8
	11/11/2016	367	387	1035	24	8.4
	18/11/2016	370	365	998	24.9	8.6
	25/11/2016	310	409	970	24.8	8
FFCW-Control / HAFL-Control	09/09/2016	91	150	220	25.8	8
	16/09/2016	94	168	250	25	8.1
	23/09/2016	100	170	289	25.8	8
	30/09/2016	103	165	198	25.8	7.5
	07/10/2016	110	178	194	26.5	8
	14/10/2016	97	169	238	26	7.9
	21/10/2016	89	175	270	27.5	7.9
	28/10/2016	110	160	195	27.5	8
	04/11/2016	98	175	175	25.7	7.8
	11/11/2016	88	187	188	25.8	8.2
	18/11/2016	90	172	200	25.3	8.4
	25/11/2016	120	164	210	25	7.9
FFCW-S-Lan / HAFL-S-Lan	09/09/2016	13.1	21.1	52.7	26.8	7.5
	16/09/2016	12.7	23.3	58.2	27	7.5
	23/09/2016	12.9	18	45.1	27	7.5
	30/09/2016	12.9	23.5	58.7	26.9	7.5
	07/10/2016	7	24.3	60.6	27	7.5
	14/10/2016	2.3	24.6	61.6	27	7.4
	21/10/2016	7.3	24.6	61.6	28	7.8
	28/10/2016	5.53	24.5	61.27	27.33	7.57
	04/11/2016	11.9	24.8	59.9	28	7.4
	11/11/2016	12.5	23.9	62.7	27	7.7
	18/11/2016	13.5	25	65.8	28	7.5
	25/11/2016	13.1	25.5	67.3	27	7.5

¹TSS = total soluble solids; BOD₅ = biochemical oxygen demand; COD = chemical oxygen demand; FFCW-Control = free flow constructed wetlands without vegetation; FFCW-S-Lan = free flow constructed wetlands with *Sagittaria lancifolia*; FFCW-S-Lat = free flow constructed wetlands with *Sagittaria latifolia*.

¹SST = sólidos suspendidos totales; DBO₅ = demanda bioquímica de oxígeno; DQO = demanda química de oxígeno; HAFL-Control = humedal artificial de flujo libre sin vegetación; HAFL-S-Lan = humedal artificial de flujo libre con *Sagittaria lancifolia*; HAFL-S-Lat = humedal artificial de flujo libre con *Sagittaria latifolia*.

Table 2. Average weekly values of the parameters evaluated in the different treatments. (cont.)
Cuadro 2. Valores promedio semanal de los parámetros evaluados en los diferentes tratamientos. (cont.)

Treatment / Tratamiento	Day / Día	TSS ¹ (mg·L ⁻¹) / SST ¹ (mg·L ⁻¹)	BOD ₅ (mg·L ⁻¹) / DBO ₅ (mg·L ⁻¹)	COD (mg·L ⁻¹) / DQO (mg·L ⁻¹)	Temperature (°C) / Temperatura (°C)	pH
FFCW-S-Lat / HALF-S-Lat	09/09/2016	18.5	14.9	37.3	25	7.8
	16/09/2016	20.4	14.5	36.2	24.9	7.8
	23/09/2016	15.8	14.7	36.8	25.1	7.8
	30/09/2016	20.6	14.7	36.8	25	7.6
	07/10/2016	21.3	7.9	19.9	26.9	7.7
	14/10/2016	21.6	2.6	6.5	26.4	7.7
	21/10/2016	21.6	8.3	20.8	27.3	7.7
	28/10/2016	21.5	6.27	15.73	26.87	7.7
	04/11/2016	20.8	14.4	35.7	26.87	7.7
	11/11/2016	22.7	15.5	33.9	26.86	7.7
	18/11/2016	21.8	14.9	37.8	26.86	7.7
	25/11/2016	22.5	15.2	37.2	26.86	7.7

¹TSS = total soluble solids; BOD₅ = biochemical oxygen demand; COD = chemical oxygen demand; FFCW-Control = free flow constructed wetlands without vegetation; FFCW-S-Lan = free flow constructed wetlands with *Sagittaria lancifolia*; FFCW-S-Lat = free flow constructed wetlands with *Sagittaria latifolia*.

¹SST = sólidos suspendidos totales; DBO₅ = demanda bioquímica de oxígeno; DQO = demanda química de oxígeno; HAFL-Control = humedal artificial de flujo libre sin vegetación; HAFL-S-Lan = humedal artificial de flujo libre con *Sagittaria lancifolia*; HAFL-S-Lat = humedal artificial de flujo libre con *Sagittaria latifolia*.

(Table 2). These values comply with the level stipulated in NOM-001-SEMARNAT-1996, since it establishes that the maximum permissible pH limit is 5 to 10. On the other hand, the results obtained agree with the findings reported by Allen, Hook, Biederman, and Stein (2002), who state that the microbial nitrification processes release H⁺, which causes the pH to decrease. However, the decrease in pH is not greater, mainly due to the interactions between the substrate and the biofilm, the presence of plants and the action of the CaCO₃ present in the substrate (Kadlec & Wallace, 2009).

Total suspended solids (TSS). The removal of solids within wetlands occurs due to sedimentation and filtration, as the roots of the macrophytes and the support medium reduce the velocity of the water within the CW. Much of the removal occurs in the first few centimeters of the inlet area, due to the calm conditions and shallowness of the water in the system (Delgadillo et al., 2010; Karathanasis, Potter, & Coyne, 2003). In this study, the sump effluent presented on average 334.58 mg·L⁻¹, and with the treatments the values were 99.2 ± 10, 10.4 ± 3.8 and 20.8 ± 1.9 mg·L⁻¹ with 70, 97 and 94 % removal efficiency for the FFCWs-Control, FFCWs-S-Lan and FFCWs-S-Lat, respectively (Table 2). These results comply with the maximum permissible limits of NOM-001-SEMARNAT-1996 and NOM-003-SEMARNAT-1997, which are 40 mg·L⁻¹ for the protection of aquatic life and 30 mg·L⁻¹ for indirect or occasional public contact.

The FFCWs in this study achieved greater removal efficiencies than those reported by Pérez-Salazar,

(Crites & Tchobanoglous, 2000). Por lo anterior, se considera que las temperaturas registradas son óptimas para la remoción de contaminantes.

Potencial de hidrógeno (pH). El pH promedio del agua residual en los HAFL-S-Lat, HAFL-S-Lan y HAFL-Control fue de 7.7 ± 0.1, 7.5 ± 0.1 y 8.0 ± 0.2, respectivamente (Cuadro 2). Dichos valores cumplen con lo reportado en la NOM-001-SEMARNAT-1996, ya que establece que el límite permisible máximo de pH es de 5 a 10. Por otra parte, los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Allen, Hook, Biederman, y Stein (2002), quienes exponen que los procesos de nitrificación microbiana liberan H⁺, lo cual hace que el pH disminuya. No obstante, la disminución del pH no es mayor, debido, principalmente, a las interacciones entre el sustrato y la biopelícula, a la presencia de plantas y a la acción del CaCO₃ presente en el sustrato (Kadlec & Wallace, 2009).

Sólidos suspendidos totales (SST). La remoción de sólidos dentro de los humedales se da por sedimentación y filtración; ya que las raíces de las macrófitas y el medio de soporte reducen la velocidad del agua dentro del HA. Gran parte de la remoción ocurre en los primeros centímetros de la zona de entrada, debido a las condiciones tranquilas y a la poca profundidad del agua en el sistema (Delgadillo et al., 2010; Karathanasis, Potter, & Coyne, 2003). En este estudio, el efluente del cárcamo presentó en promedio 334.58 mg·L⁻¹, y con los tratamientos los valores fueron 99.2 ± 10, 10.4 ± 3.8 y 20.8 ± 1.9 mg·L⁻¹ con 70, 97 y 94 % de eficiencia de remoción para los HAFL-Control, HAFL-S-Lan y

Alfaro-Chinchilla, Sasa-Marín, and Agüero-Pérez (2012), who treated domestic wastewater from an industrial sector in a tropical area of Costa Rica using FFCWs with *Cyperus papyrus*, and achieved 73 % TSS removal. Another pilot scale FFCW system, proposed by Valipour, Raman, and Ghole (2009), with emergent vegetation of *Phragmites* sp., presented 86 % TSS removal.

The Kruskal-Wallis test proved that the treatments have a statistically significant effect ($P < 0.0016$) on the decrease of TSS, with 95 % reliability. FFCWs-S-Lan had the lowest value ($12.6 \pm 3.80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), followed by FFCWs-S-Lat ($21.4 \pm 1.90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). On the other hand, the Mann-Whitney test indicated statistically significant differences ($P < 0.05$) among the treatment medians, with a 95 % confidence level (Figure 2).

Biochemical oxygen demand (BOD_5). The sump wastewater had an average value of $383.39 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ in BOD_5 ; after the treatments the values obtained were 23.59 and $11.99 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ with FFCWs-S-Lan and FFCWs-S-Lat, respectively. Both treatments comply with NOM-001-SEMARNAT-1996 and NOM-003-SEMARNAT-1997, which establish as maximum limits $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BOD_5 for the protection of aquatic life and $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for service to the public with indirect or occasional contact.

BOD_5 found in soluble form is removed by biological degradation (aerobic and anaerobic) carried out by microorganisms adhering to the surface of plants, detritus, the water column (as in the FFCWs) and the support medium; therefore, the level of BOD_5 removal in CWs is generally high (Abidi, Kallali, Jedidi, Bouzaiane, & Hassen, 2009).

HAFL-S-Lat, respectivamente (Cuadro 2). Estos resultados cumplen con los límites permisibles máximos de la NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997, los cuales son de $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para la protección de vida acuática y de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para contacto público indirecto u ocasional.

Los HAFL en este estudio alcanzaron eficiencias de remoción mayores a las reportadas por Pérez-Salazar, Alfaro-Chinchilla, Sasa-Marín, y Agüero-Pérez (2012), quienes trataron aguas residuales domésticas de un sector industrial en un área tropical de Costa Rica utilizando HAFLS con *Cyperus papyrus*, y alcanzaron 73 % de remoción de SST. Otro sistema de HAFL a escala piloto, propuesto por Valipour, Raman, y Ghole (2009), con vegetación emergente de *Phragmites* sp. presentó una remoción de 86 % de SST.

El análisis de Kruskal-Wallis probó que los tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo ($P < 0.0016$) en la disminución de SST, con un 95 % de confiabilidad. Los HAFL-S-Lan presentaron el valor más bajo ($12.6 \pm 3.80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), seguidos de los HAFL-S-Lat ($21.4 \pm 1.90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Por su parte, la prueba de Mann-Whitney indicó diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre la mediana de los tratamientos, con un nivel de confianza de 95 % (Figura 2).

Demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5). El agua residual del cárcamo presentó un valor promedio de $383.39 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en DBO_5 , después de los tratamientos los valores obtenidos fueron 23.59 y $11.99 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ con HAFL-S-Lan y HAFL-S-Lat, respectivamente. Ambos tratamientos cumplen con las NOM-001-SEMARNAT-1996

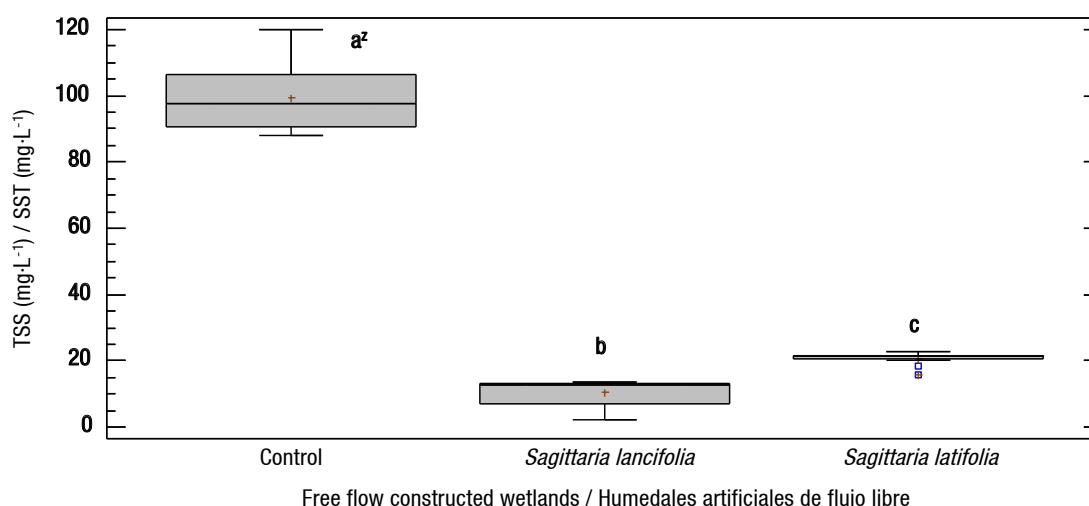


Figure 2. Median values (\pm standard deviation) of total suspended solids (TSS) obtained from the different constructed wetland treatments evaluated. ^aMeans with the same letter between treatments do not differ statistically (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

Figura 2. Valores de la mediana (\pm desviación estándar) de sólidos suspendidos totales (SST) de los diferentes tratamientos de humedales artificiales evaluados. ^aMedias con la misma letra entre tratamientos no difieren estadísticamente (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

BOD₅ removal efficiency in the FFCWs-S-Lan was 94 % and in the FFCWs-S-Lat it was 97 %. These averages are higher than those reported by Valipour et al. (2009), who establish that CWs with *Phragmites* sp. vegetation have a BOD₅ removal efficiency of 86 %. Solís-Silvn, López-Ocana, Bautista-Margulis, Hernández-Barajas, and Romelln-Cerino (2016) assessed surface and subsurface flow CW at pilot scale with *T. dominguensis* vegetation for domestic wastewater treatment, and found that FFCWs have higher BOD₅ removal efficiency (97 %) than SFCWs, results similar to the efficiencies obtained in this research.

The Kruskal-Wallis test indicated that the treatments have a statistically significant effect ($P < 0.0146$) with respect to the decrease in BOD₅, with 95 % reliability. FFCWs-S-Lat recorded the lowest median value ($14.6 \pm 4.44 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), followed by FFCWs-S-Lan ($24.4 \pm 2.09 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and FFCWs-Control ($169.5 \pm 9.38 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). The Mann-Whitney test showed statistically significant differences ($P < 0.05$) among the treatment medians, with a 95 % confidence level (Figure 3).

Chemical oxygen demand (COD). Verhoeven and Meuleman (1999) point out that high COD removal rates are caused by sedimentation of suspended solids, and by rapid decomposition processes in the water and upper substrate layers. This is evident in this work, since the average COD value of the sump wastewater was $970.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and at the conclusion of the treatment the FFCWs-S-Lan had $59.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and the FFCWs-S-Lat $29.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, with a removal efficiency of 93 and 96 % respectively. These percentages are higher than those obtained by Mexico's *Secretaría de*

y NOM-003-SEMARNAT-1997, que establecen como límites máximos $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de DBO₅ para la protección de vida acuática y $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para servicio al público con contacto indirecto u ocasional.

La DBO₅ que se encuentra en forma soluble se remueve mediante la degradación biológica (aerobia y anaerobia) realizada por los microorganismos adheridos a la superficie de las plantas, a los detritos, a la columna de agua (como en los HAFL) y al medio de soporte, por ello la remoción de DBO₅ en los HA es generalmente alta (Abidi, Kallali, Jedidi, Bouzaiane, & Hassen, 2009).

La eficiencia de remoción de DBO₅ en los HAFL-S-Lan fue de 94 % y en los HAFL-S-Lat fue de 97 %. Dichos promedios son mayores a los reportados por Valipour et al. (2009), quienes establecen que los HA con vegetación *Phragmites* sp. tienen una eficiencia de remoción de DBO₅ de 86 %. Solís-Silván, López-Ocana, Bautista-Margulis, Hernández-Barajas, y Romelln-Cerino (2016) evaluaron HA de flujo superficial y subsuperficial a escala piloto con vegetación *T. dominguensis* para el tratamiento de aguas residuales doméstica, y encontraron que los HAFL tienen mayor eficiencia de remoción de DBO₅ (97 %) que los HAFS; resultados similares a las eficiencias obtenidas en esta investigación.

El análisis de Kruskal-Wallis indicó que los tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo ($P < 0.0146$) con respecto a la disminución de DBO₅, con un 95 % de confiabilidad. Los HAFL-S-Lat presentaron el valor menor de la mediana ($14.6 \pm 4.44 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), seguidos de los HAFL-S-Lan ($24.4 \pm 2.09 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y los HAFL-Control ($169.5 \pm 9.38 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). La prueba de Mann-Whitney mostró

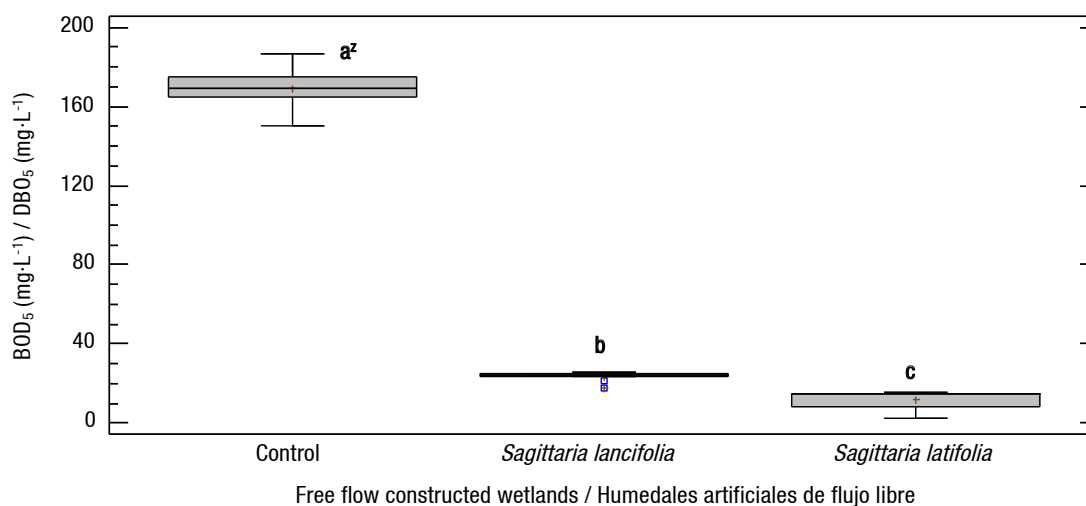


Figure 3. Median biochemical oxygen demand (BOD₅) values (\pm standard deviation) of the different constructed wetland treatments analyzed. ²Means with the same letter between treatments do not differ statistically (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

Figura 3. Valores de la mediana (\pm desviación estándar) de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) de los diferentes tratamientos de humedales artificiales analizados. ²Medias con la misma letra entre tratamientos no difieren estadísticamente (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT, 2012) in a CW for the treatment of wastewater generated by rural communities, where 60 and 75 % COD removal efficiencies were obtained. For their part, Romero-Aguilar et al. (2009) obtained COD removal efficiencies of 90.2 % with a pilot scale CW with *Phragmites australis* and *Typha dominguensis*. Bedoya-Pérez et al. (2014) conducted a study with a SFCW for waters similar to those of this study (institutional) and achieved a COD decrease with an HRT of nine days for *T. latifolia* and seven days for *C. papyrus* (79.4 and 68.1 % respectively).

The BOD_5/COD ratio obtained in this study in the sump wastewater was 0.39, so it can be stated that this effluent is difficult to degrade; that is, most of the organic and inorganic matter present cannot be biochemically oxidized, so other processes such as oxidation, reduction, volatilization, adsorption, absorption, sedimentation and filtration intervene (Bedoya-Pérez et al., 2014; Crites & Tchobanoglous, 2000; Karathanasis et al., 2003).

The one-way analysis of variance showed that the treatments have a statistically significant effect ($P < 0.002$) in the reduction of COD, with 95 % reliability. This allowed determining that the FFCWs-S-Lat had the lowest average ($29.5 \pm 10.80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), followed by the FFCWs-S-Lan ($59.62 \pm 5.87 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and the FFCWs-Control ($218.91 \pm 35.42 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Tukey's *a posteriori* multiple comparison test indicated statistically significant differences among the different types of treatments evaluated ($P < 0.05$), with a 95 % confidence level (Figure 4).

diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre las medianas de los tratamientos, con un nivel de confianza de 95 % (Figura 3).

Demanda química de oxígeno (DQO). Verhoeven y Meuleman (1999) señalan que las altas tasas de eliminación de DQO son causadas por la sedimentación de sólidos en suspensión, y por procesos de descomposición rápida en el agua y en las capas superiores del sustrato. Lo anterior queda de manifiesto en este trabajo, ya que el valor promedio de DQO del agua residual del cárcamo fue de $970.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, y al concluir el tratamiento los HAFL-S-Lan tuvieron $59.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y los HAFL-S-Lat $29.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, con eficiencia de remoción de 93 y 96 % respectivamente. Dichos porcentajes son mayores a los obtenidos por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT, 2012) en un HA para el tratamiento de aguas residuales generadas por comunidades rurales, donde alcanzaron una eficiencia de remoción de 60 y 75 % en DQO. Por su parte, Romero-Aguilar et al. (2009) obtuvieron eficiencias de remoción de DQO de 90.2 % con HA a escala piloto con *Phragmites australis* y *Typha dominguensis*. Bedoya-Pérez et al. (2014) realizaron una investigación con HAFS para aguas similares a las de este estudio (institucionales) y lograron la disminución de DQO con un TRH de nueve días para *T. latifolia* y de siete días para *C. papyrus* (79.4 y 68.1 % respectivamente).

La relación DBO_5/DQO obtenida en este estudio en el agua residual del cárcamo fue de 0.39, por lo que se puede afirmar que este efluente es de difícil degradación; es decir, la mayor cantidad de materia

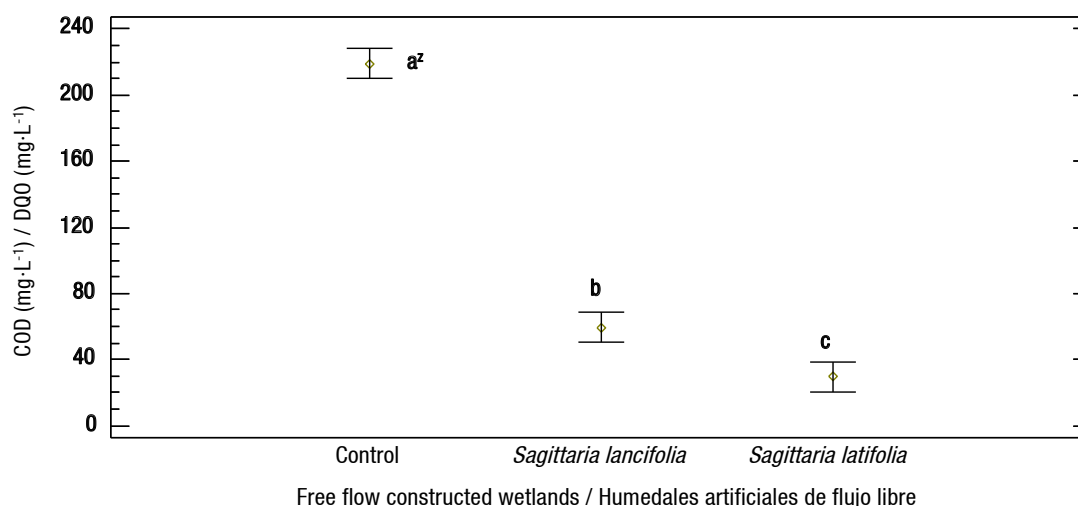


Figure 4. Average chemical oxygen demand (COD) values of the different constructed wetland treatments evaluated.

^aMeans with the same letter between treatments do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 4. Valores promedio de la demanda química de oxígeno (DQO) de los diferentes tratamientos de humedales artificiales evaluados. ^aMedias con la misma letra entre tratamientos no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

Fecal coliforms (FCs). The sump wastewater presented an average of 100 000 MPN·100 mL⁻¹, and at the end of treatment it was 100 MPN·100 mL⁻¹ in the FFCWs-S-Lan and 1 000 MPN·100 mL⁻¹ in the FFCWs-S-Lat. Based on the results obtained, it was determined that the maximum permissible limit established by NOM-003-SEMARNAT-1997 (1 000 MPP·100 mL⁻¹ for public service with indirect or occasional contact) is met. The FC removal efficiency was 99.9 % in the FFCWs-S-Lan and 99 % in the FFCWs-S-Lat. Keith et al. (2003) state in their study that the main microorganisms in CWs, such as FCs, enterococci, Salmonella, Shigella, Yersinia and coliphages, are removed with efficiencies of 80 to 99 % with *Typha latifolia*, *Effusus* and *Scirpus validus*. In addition to the extensive vegetation, processes that contribute to bacterial removal in CWs are sedimentation, aggregation, oxidation, filtration, solar irradiation, antibiosis, predation and competition (Gersberg, Lyon, Brenner, & Elkins, 1987).

The Kruskal-Wallis test indicated that the treatments have a statistically significant effect ($P < 0.02$) with respect to the reduction of FCs, with 95 % reliability. The FFCWs-S-Lat had the lowest FC amount in terms of the median value (1 000 MPN·100 mL⁻¹), followed by the FFCWs-S-Lan (100 MPN·100 mL⁻¹) and the CWs-Control (100 000 MPN·100 mL⁻¹). The Mann-Whitney test indicated statistically significant differences ($P < 0.05$) among treatment medians, with a 95 % confidence level (Figure 5).

Bacterial biomass. Microorganisms adhering to the support medium are also responsible for the degradation of organic matter; for this reason, the production of

orgánica e inorgánica presente no se puede oxidar bioquímicamente, por lo que intervienen otros procesos como la oxidación, reducción, volatilización, adsorción, absorción, sedimentación y filtración (Bedoya-Pérez et al., 2014; Crites & Tchobanoglous, 2000; Karathanasis et al., 2003).

El análisis de varianza simple mostró que los tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo ($P < 0.002$) en la disminución de DQO, con un 95 % de confiabilidad. Esto permitió identificar que los HAFL-S-Lat tuvieron el promedio más bajo (29.5 ± 10.80 mg·L⁻¹), seguidos de los HAFL-S-Lan (59.62 ± 5.87 mg·L⁻¹) y los HAFL-Control (218.91 ± 35.42 mg·L⁻¹). La prueba de contraste *a posteriori* de Tukey indicó diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tipos de tratamientos evaluados ($P < 0.05$), con un nivel de confianza de 95 % (Figura 4).

Coliformes fecales (CF). El agua residual del cárcamo presentó un promedio de 100 000 NMP·100 mL⁻¹, y al finalizar el tratamiento en los HAFL-S-Lan y HAFL-S-Lat fue de 100 y 1 000 NMP·100 mL⁻¹, respectivamente. Con base en los resultados obtenidos, se determinó que se cumple con el límite permisible máximo establecido por la NOM-003-SEMARNAT-1997 (1 000 NMP·100 mL⁻¹ para servicio al público con contacto indirecto u ocasional). La eficiencia de remoción de CF en los HAFL-S-Lan fue de 99.9 % y en los HAFL-S-Lat fue de 99 %. Keith et al. (2003) establecen en su estudio que los principales microorganismos en los HA como CF, enterococos, Salmonella, Shigella, Yersinia y colifagos, se remueven con eficiencias de 80 a 99 % con *Typha latifolia*, *Effusus* y *Scirpus validus*. Además de la

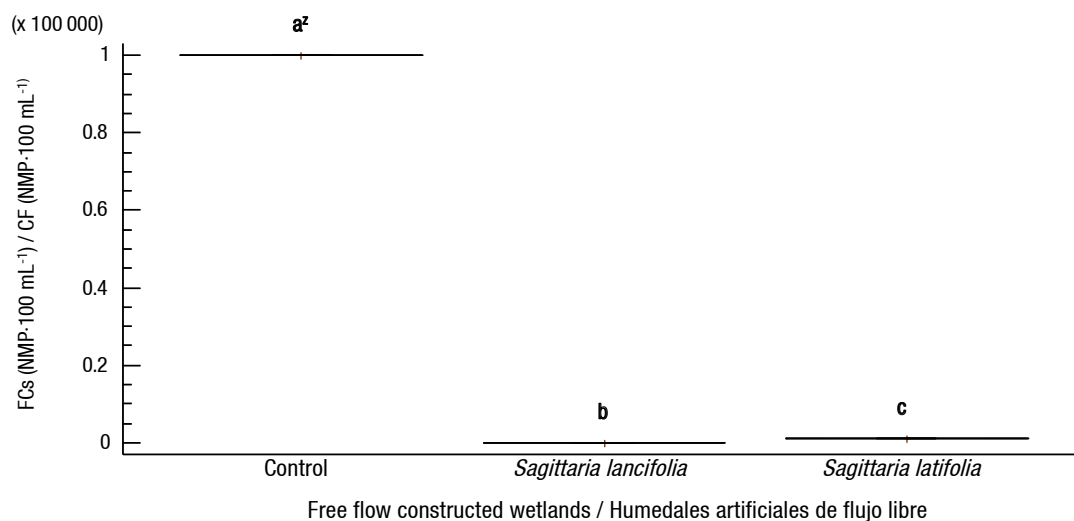


Figure 5. Median fecal coliform (FCs) values (\pm standard deviation) of the different constructed wetland treatments evaluated. ^aMeans with the same letter between treatments do not differ statistically (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

Figura 5. Valores de la mediana (\pm desviación estándar) de coliformes fecales (CF) de los diferentes tratamientos de humedales artificiales evaluados. ^aMedias con la misma letra entre tratamientos no difieren estadísticamente (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

microorganisms per unit mass of the support medium was determined. In this sense, the FFCWs-Control had a production of 4638.0 mg·kg⁻¹, the FFCWs-S-Lan of 29940.0 mg·kg⁻¹ and the FFCWs-S-Lat of 8541.83 mg·kg⁻¹.

The Kruskal-Wallis test indicated that the treatments have a statistically significant effect ($P < 0.05$) on the presence of microorganisms, with 95 % reliability. The FFCWs-Control had fewer microorganisms, with a median of 5033.0 ± 1196.36 mg·kg⁻¹, followed by the FFCWs-S-Lat with 7702.5 ± 2766.28 mg·kg⁻¹ and the FFCWs-S-Lan with 27458.5 ± 13135.6 mg·kg⁻¹. The Mann-Whitney test indicated statistically significant differences ($P < 0.05$) among treatment medians, with a 95 % confidence level (Figure 6).

Plant biomass. The growth of *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* may vary according to the environmental conditions where they are found. The main parameters influencing plant growth and propagation are temperature, organic matter, available nutrients and water quantity, as excessive water will affect vegetation development (Delgadillo et al., 2010).

For *Sagittaria latifolia*, the stems reached an average height of 114.5 ± 0.8 cm, and the leaves were 23.10 ± 8.4 cm long and 20.67 ± 2.3 cm wide. At the beginning of the treatment, the biomass was 24.3 ± 1.6 kg and at the end it was 55 ± 1.5 kg, with 61 % moisture. In the case of *Sagittaria lancifolia*, the stems had a height of 145.7 ± 3.4 cm, and its leaves were 54 ± 5.4 cm long and 17.8 ± 3.4 cm wide. The initial biomass of the planted vegetation was 30.5 ± 0.5 kg and at the end of the

vegetación extensa, los procesos que contribuyen a la remoción bacteriana en los HA son la sedimentación, la agregación, la oxidación, la filtración, la irradiación solar, la antibiosis, la depredación y la competencia (Gersberg, Lyon, Brenner, & Elkins, 1987).

El análisis de Kruskal-Wallis indicó que los tratamientos tienen efecto estadísticamente significativo ($P < 0.02$) con respecto a la disminución de CF, con 95 % de confiabilidad; en donde los HAFL-S-Lat presentaron menor cantidad de CF en el valor de la mediana ($1000 \text{ NMP} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$), seguidos de los HAFL-S-Lan ($100 \text{ NMP} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$) y los HA-Control ($100000 \text{ NMP} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$). La prueba de Mann-Whitney indicó diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre las medianas de los tratamientos, con un nivel de confianza de 95 % (Figura 5).

Biomasa bacteriana. Los microorganismos adheridos al medio de soporte también son responsables de la degradación de la materia orgánica; por esta razón, se determinó la producción de microorganismos por unidad de masa del medio de soporte. En este sentido, los HAFL-Control presentaron una producción de 4638.0 mg·kg⁻¹, los HAFL-S-Lan de 29940.0 mg·kg⁻¹ y los HAFL-S-Lat de 8541.83 mg·kg⁻¹.

El análisis de Kruskal-Wallis indicó que los tratamientos tienen efecto estadísticamente significativo ($P < 0.05$) con respecto a la presencia de microorganismos, con 95 % de confiabilidad. Los HAFL-Control presentaron menor cantidad de microorganismos, con una mediana de 5033.0 ± 1196.36 mg·kg⁻¹, seguidos de los HAFL-S-Lat

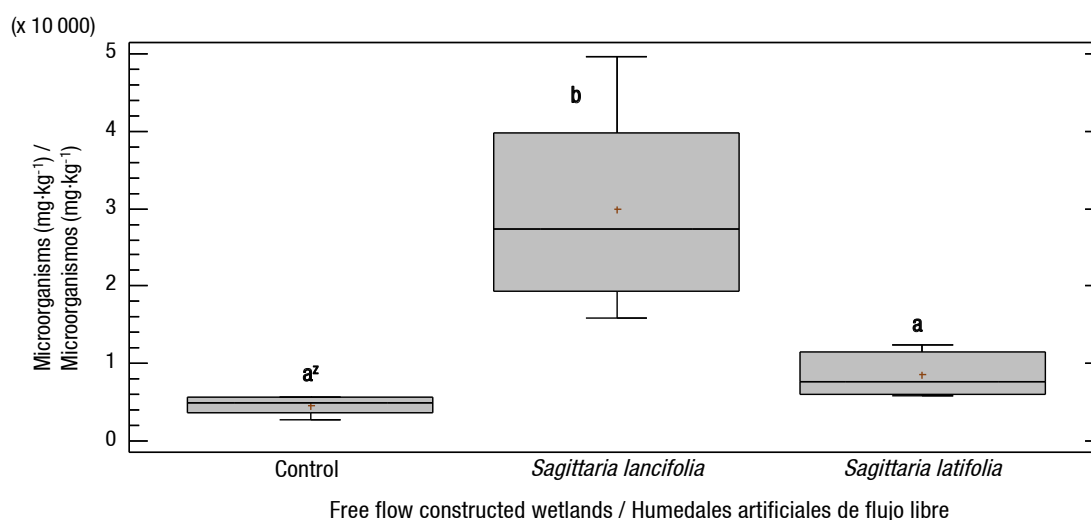


Figure 6. Median bacterial biomass values (\pm standard deviation) of the different constructed wetland treatments evaluated. ^aMeans with the same letter between treatments do not differ statistically (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

Figura 6. Valores de la mediana (\pm desviación estándar) de la biomasa microbiana de los diferentes tratamientos de humedales artificiales evaluados. ^aMedias con la misma letra entre tratamientos no difieren estadísticamente (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

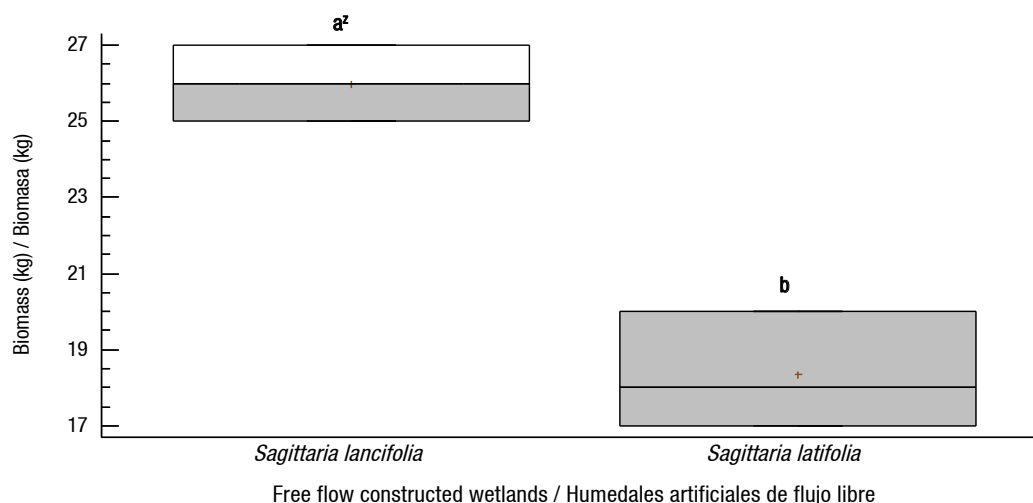


Figure 7. Median biomass generation values (\pm standard deviation) of each vegetation evaluated in the constructed wetlands. zMeans with the same letter between columns do not differ statistically (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

Figura 7. Valores de la mediana (\pm desviación estándar) de la generación de biomasa de cada vegetación evaluada en los humedales artificiales. ²Medias con la misma letra entre columnas no difieren estadísticamente (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

experiment it was 78 ± 1 kg. It should be noted that at the end of the experiment the plant had an average of 68 % moisture.

These results show that there is a direct relationship between plant biomass and microorganism establishment, as *Sagittaria lancifolia* presented more plant biomass and more microorganisms in the support medium. These results are different from those of Romero-Aguilar et al. (2009), who assert that the microorganisms present as biofilm on the support medium and in plant roots do not show a correlation between the number of bacteria and the species of the plant; however, the vegetation that attains the highest biomass achieves greater nutrient uptake and has a vigorous root system that facilitates the growth of the biofilm and the plant itself (Crites, Gunther, Kruzic, Pelz, & Tchobanoglous, 1988).

The Kruskal-Wallis test indicated that the treatments have a statistically significant effect ($P < 0.04$) on the generation of plant biomass, with 95 % reliability. The results show that the lowest median value was recorded in the FFCWs-S-Lat (18 ± 1.5) and the highest in the FFCWs-S-Lan (26.5 ± 1). The Mann-Whitney test indicated statistically significant differences ($P < 0.05$) among the treatment medians, with a 95 % confidence level (Figure 7).

Conclusions

The pilot scale FFCWs with *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* vegetation are efficient in the removal of basic pollutants from domestic wastewater.

con 7702.5 ± 2766.28 mg·kg⁻¹ y los HAFL-S-Lan con 27458.5 ± 13135.6 mg·kg⁻¹. La prueba de Mann-Whitney indicó diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre las medianas de los tratamientos, con un nivel de confianza de 95 % (Figura 6).

Biomasa vegetal. El crecimiento de *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* puede variar de acuerdo con las condiciones ambientales donde se encuentren. Los principales parámetros que influyen en el crecimiento y propagación de las plantas son la temperatura, la materia orgánica, nutrientes disponibles y cantidad de agua, pues si esta última es excesiva afectará el desarrollo de la vegetación (Delgadillo et al., 2010).

Para *Sagittaria latifolia*, los tallos alcanzaron en promedio una altura de 114.5 ± 0.8 cm, y las hojas fueron de 23.10 ± 8.4 cm de largo y 20.67 ± 2.3 cm de ancho. Al iniciar el tratamiento, la biomasa fue de 24.3 ± 1.6 kg y al finalizar fue de 55 ± 1.5 kg, con 61 % de humedad. En el caso de *Sagittaria lancifolia*, los tallos tuvieron una altura de 145.7 ± 3.4 cm, y sus hojas 54 ± 5.4 cm de largo y 17.8 ± 3.4 cm de ancho. La biomasa inicial de la vegetación plantada fue de 30.5 ± 0.5 kg y al finalizar el experimento fue de 78 ± 1 kg. Cabe mencionar que al final la planta tuvo en promedio 68 % de humedad.

Dichos resultados muestran que existe una relación directa entre la biomasa vegetal y el establecimiento de los microorganismos, pues *Sagittaria lancifolia* presentó mayor biomasa vegetal y mayor cantidad de microorganismos en el medio de soporte. Estos resultados son diferentes a los de Romero-Aguilar et al. (2009), quienes afirman que la presencia de

The water treated in the FFCWs complied with the maximum permissible limits established by standards NOM-001-SEMARNAT-1996 and NOM-003-SEMARNAT-1997, so the treated wastewater can be reused. It is important to highlight that the removal efficiencies obtained may vary according to the climatic conditions of the area where CWs are developed, the HRT, the type of support used and the characteristics of the raw wastewater.

The potential observed in the FFCWs with *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* is that the use of these species could be implemented with a sustainable management system in natural wetlands to reduce the organic and nutrient load, which through residual and agricultural inputs reach the lotic or lentic water bodies in urban or rural areas.

Finally, the use of *Sagittaria latifolia* and *Sagittaria lancifolia* can be recommended for the establishment of CWs in the tropical areas of Mexico or geographical areas with similar conditions to those of this region.

Acknowledgments

The authors thank the *Universidad Juárez Autónoma de Tabasco*, especially the *División Académica de Ciencias Biológicas*, for allowing us to conduct the research part of this project in its facilities; the *Secretaría de Educación Pública*, through the *Programa de Mejoramiento del Profesorado*, for providing the resources to carry out this project, and colleagues at the *Instituto Tecnológico de Villahermosa* for the support provided in each activity performed.

End of English version

References / Referencias

- Abidi, S., Kallali, H., Jedidi, N., Bouzaiane, O., & Hassen, A. (2009). Comparative pilot study of the performances of two constructed wetland wastewater treatment hybrid systems. *Desalination*, 246(1-3), 370-377. doi: 10.1016/j.desal.2008.03.061
- Allen, W. C., Hook, P. B., Biederman, J. A., & Stein, O. R. (2002). Temperature and wetland plant species effects on wastewater treatment and root zone oxidation. *Journal of Environmental Quality*, 31(3), 1010-1016. doi: 10.2134/jeq2002.1010
- Amabilis-Sosa, L. E., Siebe, C., Moeller-Chávez, G., & Durán-Domínguez-de Bazúa, M. C. (2016). Remoción de mercurio por *Phragmites australis* empleada como barrera biológica en humedales artificiales inoculados con cepas tolerantes a metales pesados. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 32(1), 47-53. Retrieved from

microorganismos como biopelícula sobre el medio de soporte y en las raíces de las plantas no presenta una correlación entre el número de bacterias y la especie de la planta; sin embargo, la vegetación que alcanza la mayor biomasa consigue mayor asimilación de nutrientes y posee un sistema radicular vigoroso que facilita el crecimiento de la biopelícula y de la propia planta (Crites, Gunther, Kruzic, Pelz, & Tchobanoglous, 1988).

El análisis de Kruskal-Wallis indicó que los tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo ($P < 0.04$) con respecto a la generación de biomasa vegetal con 95 % de confiabilidad. Los resultados muestran que el valor menor de la mediana se registró en los HAFL-S-Lat (18 ± 1.5) y los de mayor valor en los HAFL-S-Lan (26.5 ± 1). La prueba de Mann-Whitney indicó diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre las medianas de los tratamientos, con un nivel de confianza de 95 % (Figura 7).

Conclusiones

Los HAFL a escala piloto con vegetación *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* son eficientes en la remoción de contaminantes básicos de las aguas residuales domésticas.

El agua tratada en los HAFL cumplió con los límites permisibles máximos establecidos por las normas NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997, con lo que el agua residual tratada puede ser reutilizada. Es importante resaltar que las eficiencias de remoción obtenidas pueden variar de acuerdo con las condiciones climatológicas de la zona donde se desarrollen los HA, los TRH, el tipo de soporte utilizado y las características del agua residual cruda.

El potencial observado en los HAFL con *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* es que se podría implementar el uso de estas especies con un manejo sostenible en humedales naturales para reducir la carga orgánica y de nutrientes, que por aportes residuales y agropecuarios llegan a los cuerpos de agua lóticos o lénticos en áreas urbanas o rurales.

Finalmente, se puede recomendar el uso de *Sagittaria latifolia* y *Sagittaria lancifolia* para el establecimiento de los HA en las zonas tropicales de México o áreas geográficas con condiciones similares a las de esta región.

Agradecimientos

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, en especial a la División Académica de Ciencias Biológicas por permitirnos desarrollar la investigación de este proyecto en sus instalaciones. A la Secretaría de Educación Pública, a través del Programa de Mejoramiento del Profesorado,

- <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/45493/46549>
- Arias, I., & Brix, H. (2003). Humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 13, 17-24. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/911/91101302.pdf>
- Arivoli, A., & Mohanraj, R. (2013). Efficacy of *Typha augustifolia* based vertical flow constructed wetland system in pollutant reduction of domestic wastewater. *International Journal of Environmental Sciences*, 3(5), 1497-1508. doi: 10.6088/ijes.2013030500020
- Ayaz, S. (2008). Post-treatment and reuse of tertiary treated wastewater by constructed wetlands. *Desalination*, 226(1-3), 249-255. doi: 10.1016/j.desal.2007.02.110
- Bedoya-Pérez, J. C., Ardila-Arias, A. N., & Reyes-Calle, J. (2014). Evaluación de un humedal artificial de flujo subsuperficial en el tratamiento de las aguas residuales generadas en la institución universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Colombia. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(3), 275-283. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37031522004>
- Bueno, J., Álvarez, F., & Santiago, S. (2005). *Biodiversidad del Estado de Tabasco*. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Brix, H. (1994). Functions of macrophytes in constructed wetlands. *Water Science & Technology*, 29(4), 45-53. doi: 10.2166/wst.1994.0160
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2014). *Inventario nacional de plantas municipales de potabilización y de tratamiento de aguas residuales en operación*. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Retrieved from http://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/108923/Inventario_2014.pdf
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2016). *Manual de agua potable, alcantarillado y saneamiento: Diseño de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales: humedales artificiales*. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Retrieved from <http://mapasconagua.net/libros/SGAPDS-1-15-Libro30.pdf>
- Crites, R., Gunther, D., Kruzic, A., Pelz, J., & Tchobanoglous, G. (1988). *Design manual: constructed wetlands and aquatic plant systems for municipal wastewater treatment*. Washington, D.C.: United States Environmental Protection Agency.
- Crites, R., & Tchobanoglous, G. (2000). *Sistemas de manejo de aguas residuales para núcleos pequeños y descentralizados*. Colombia: McGraw-Hill.
- Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L., & Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Cochabamba, Bolivia: Centro Andino para la Gestión y Uso del Agua (Centro AGUA).
- Fernández-González, J., de Miguel-Beascoechea, E., de Miguel-Muñoz, J., & Fernández-de la Mora, M. (2004). *Fitodepuración. Filtros de macrófitas en flotación*. Madrid: Edita. Retrieved from <https://www.fundacionglobalnature.org/macrophytes/documentacion/Cap%EDtulos%20Manual/Cap%EDtulos%201%20a%202.pdf>
- por haber proporcionado los recursos para llevar a cabo este proyecto, y a los compañeros del Instituto Tecnológico de Villahermosa por el apoyo brindado en cada actividad realizada.

Fin de la versión en español

- Gersberg, R. M., Lyon, S. R., Brenner, R., & Elkins, B. V. (1987). Fate of viruses in artificial wetlands. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(4), 731-736.
- Ghosh, D., & Gopal, B. (2010). Effect of hydraulic retention time on the treatment of secondary effluent in a subsurface flow constructed wetland. *Ecological Engineering*, 36(8), 1044-1051. doi: 10.1016/j.ecoleng.2010.04.017
- Kadlec, R. H., & Wallace, S. D. (2009). *Treatment wetlands*. New York, USA: CRC Press - Taylor & Francis Group. Retrieved from https://www.sswm.info/sites/default/files/reference_attachments/KADLEC%20WALLACE%202009%20Treatment%20Wetlands%202nd%20Edition_0.pdf
- Karathanasis, A. D., Potter, C. L., & Coyne, M. S. (2003). Vegetation effects on fecal bacteria, BOD, and suspended solid removal in constructed wetlands treating domestic wastewater. *Ecological Engineering*, 20(2), 157-169. doi: 10.1016/S0925-8574(03)00011-9
- Keith, R. H., Gary, K. B., Alan, J. S., Jerry, G. C., Keith, G., & Jeffrey, G. S. (2003). Fate of physical, chemical, and microbial contaminants in domestic wastewater following treatment by small constructed wetlands. *Water Research*, 37(4), 921-927. doi: 10.1016/S0043-1354(02)00377-9
- Lenhart, H. A., Hunt, W. F., & Burchell, M. R. (2012). Harvestable nitrogen accumulation for five storm water wetland plant species: trigger for storm water control measure maintenance? *Journal of Environmental Engineering-Asce*, 138(9), 972-978. doi: 10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000550
- Lot, A., Olvera, M., Flores, C., & Díaz, A. (2015). *Guía ilustrada de campo: plantas indicadoras de humedales*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Retrieved from http://www.academia.edu/27155774/GUIA_ILUSTRADA_DE_CAMPO_Plantas_Indicadoras_de_Humedales
- NMX-AA-028-SCFI-2001. (06 de julio de 1981). *Análisis de agua. Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas*. México: Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
- NMX-AA-030-SCFI-2001. (17 de abril de 2001). *Análisis de agua. Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales*. México: Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
- NMX-AA-034-SCFI-2001. (03 de julio de 1981). *Análisis de agua. Determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas*. México: Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
- NMX-AA-042-SCFI-1987. (22 de junio de 1987). *Calidad del agua. Determinación del número más probable (NMP) de coliformes*

- totales, coliformes fecales (termotolerantes) y *Escherichia coli* presuntiva. México: Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
- NOM-001-SEMARNAT-1996. (1996). *Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales*. México: Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- NOM-003-SEMARNAT-1997. (1997). *Establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público*. México: Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Novelo, A. (2003). *Flora del bajío y de regiones adyacentes. Alismatacea*. México: Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de <http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/FLOBA/Alismataceae111.pdf>
- Park, W. H., & Polprasert, C. (2008). Roles of oyster shells in an integrated constructed wetland system designed for P removal. *Ecological Engineering*, 34(1), 50-56. doi: 10.1016/j.ecoleng.2008.05.014
- Pérez-Salazar, R., Alfaro-Chinchilla, C., Sasa-Marín, J., & Agüero-Pérez, J. (2012). Evaluación del funcionamiento de un sistema alternativo de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. *Uniciencia*, 27(1), 332-340. Retrieved from <http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/uniciencia/article/view/4958/4752>
- Romero-Aguilar, M., Colín-Cruz, A., Sánchez-Salinas, E., & Ortiz-Hernández, M. L. (2009). Tratamiento de aguas residuales por un sistema piloto de humedales artificiales: evaluación de la remoción de la carga orgánica. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 25(3) 157-167. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992009000300004
- Saeed, T., Al- Mueyed, A., Afrin, R., Rahman, H., & Sun, G. (2014). Pollutant removal from municipal wastewater employing baffled subsurface flow and integrated surface flow-floating treatment wetlands. *Journal of Environmental Sciences*, 26(4), 726-736. doi: 10.1016/S1001-0742(13)60476-3
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2012). *Humedales artificiales*. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua - Coordinación de Hidráulica Subcoordinación de Tecnología Apropriada e Industrial. Retrieved from
- Solís-Silván, R., López-Ocaña, G., Bautista-Margulis, R. G., Hernández-Barajas, J. R., & Romellón-Cerino, M. J. (2016). Evaluación de humedales artificiales de flujo libre y subsuperficial en la remoción de contaminantes de aguas residuales utilizando diferentes especies de vegetación macrófita. *Interciencia*, 41(1), 40-47. Retrieved from <http://ffeee.redalyc.org/articulo.oa?id=33943362007>
- Torres-Bojorges, A. X., Hernández-Razo, N. A., Fausto-Urquieta, A. A., & Zurita-Martínez, F. (2017). Evaluación de tres sistemas de humedales híbridos a escala piloto para la remoción de nitrógeno. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(1), 37-47. doi: 10.20937/RICA.2017.33.01.03
- Valipour, A., Raman, V. K., & Ghole, V. S. (2009). A new approach in wetland systems for domestic wastewater treatment using *Phragmites* sp. *Ecological Engineering*, 35(12), 1797-1803. doi: 10.1016/j.ecoleng.2009.08.004
- Valles-Aragón, M. C., & Alarcón-Herrera, M. T. (2014). Retención de arsénico en humedales construidos con *Eleocharis macrostachya* y *Schoenoplectus americanus*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(2), 143-148. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992014000200002
- Vera, A., Andrade, C., Flores, E., Núñez, M., Cárdenas, C., & Morales, E. (2010). Remoción de nutrientes y materia orgánica en un humedal construido en función del desarrollo de la macrófita *Typha dominguensis*. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 33(2), 153-163.
- Verhoeven, J. T. A., & Meuleman, A. F. M. (1999). Wetlands for wastewater treatment: opportunities and limitations. *Ecological Engineering*, 12(1-2), 5-12. doi: 10.1016/S0925-8574(98)00050-0
- Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment*, 380(1-3), 48-65. doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.09.014
- Xiao, B. Z., Peng, L., Yue, S. Y., & Wen, R. C. (2007). Phytoremediation of urban wastewater by model wetlands with ornamental hydrophytes. *Journal of Environmental Sciences*, 19(8), 902-909. doi: 10.1016/S1001-0742(07)60150-8
- Zachritz, W. H., & Fuller, J. W. (1993). Performance of an artificial wetlands filter treating facultative lagoon effluent at Carville, Louisiana. *Water Environment Research*, 65(1), 46-52. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/25044261>
- Zepeda-Gómez, C., & Lot, A. (2005). Distribución y uso tradicional de *Sagittaria macrophylla* Zucc. y *S. latifolia* Willd en el Estado de México. *Ciencia Ergo Sum*, 12(3), 282-290. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10412308>

