



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“Caracterización de la actividad fotoquímica
y el crecimiento de *Arthrospira maxima*
cultivada en NH_4Cl ”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

MARIA FERNANDA ROMERO REYES



DIRECTOR DE TESIS: DR. HUGO VIRGILIO
PERALES VELA

ASESORA: M. en C. LLARÁI CAROLINA GAVIRIA
GONZÁLEZ

TLALNEPANTLA DE BAZ, EDO. DE MÉXICO, 2025.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*“Dulce es el fruto de la adversidad que, como el sapo feo y venenoso,
lleva en la cabeza una preciosa joya”.*

-William Shakespeare

Dedicatoria

A mi mamá.

Agradecimientos

Sin duda esta sección representa para mí el punto más culminante, emotivo y complejo de este trabajo, también es la que más me costó escribir porque es el resultado del esfuerzo de muchas personas que han caminado conmigo.

A todas y cada una de las personas con las que coincidí en este largo camino, gracias por brindarme su apoyo y por creer en mí incluso cuando yo misma dudé. A quienes han sido testigos y cómplices de mi andar en la búsqueda de mi titulación de licenciatura y mi camino de vida, gracias por su presencia. De cada una de ustedes guardo un recuerdo, un momento, un gesto que atesoraré en mí por siempre. Esta tesis es la culminación de un esfuerzo en conjunto. Su incidencia en mi vida trascendió estas páginas. Gracias infinitas, las llevo por siempre en mi alma.

Resulta imposible expresar en unas cuantas líneas la gratitud que siento por quienes han formado parte de mi vida y, por lo tanto, de este trabajo. No será suficiente este espacio, por lo que seguramente me quedaré corta, por lo que me queda confiar en que cada una conozca el impacto de su vida en la mía.

A mi mamá, a quien admiro profundamente y considero una de las mujeres más fuertes, valientes y amorosas que conozco. Gracias por tu amor infinito, por ser ejemplo de fortaleza por enseñarme a no rendirme, y sostenerme en mis mejores y peores momentos. Gracias por brindarme la oportunidad de decidir mi propio camino. A mi papá, quien decidió romper patrones y ser una persona diferente. Gracias por darme lo mejor que pudiste, en donde quiera que estés, te mando amor. A mi tía Carmen, quien me ha cuidado desde el inicio de mis días, gracias por tu amor y por demostrarme que se puede seguir adelante. Les amo infinitamente.

A mis incondicionales, a quienes agradeceré en orden cronológico de aparición en mi vida:

A Saúl Saldaña, por permanecer en mi vida después de tantos años, por los viajes, las enseñanzas y una amistad invaluable. A Eunice Olivares, porque la fotografía y la cultura nos unieron. Gracias por las caminatas, los consejos, los museos, La Cineteca Nacional, y por crecer juntas mientras aprendemos a ser adultas.

A Alberto Espinosa, mi primer amigo en la carrera. Gracias por confiar en mí, por las risas, y los llantos, por permanecer a pesar del tiempo y la distancia. A Sarah Vázquez, quien es para mí un ejemplo de resistencia. Admiro tu determinación para seguir sus sueños a pesar de las adversidades.

A Iris Martínez, quien fue testigo de todas las transformaciones que este proyecto, y yo, hemos atravesado a lo largo del tiempo. Gracias por permanecer, por acompañarme, por ser mi incondicional, mi hermana, por sostenerme en los momentos más oscuros y celebrar conmigo los más luminosos. Porque cuando más lo necesito, me recuerdas quién soy.

A Leonardo Salinas, por haber sido mi mejor amigo, por ver en mí la magia que llevo dentro y por todos los momentos que compartimos juntos.

A Alexis Flores, por su paciencia y cariño, por convertirse en un amigo sin igual. A Brenda Montaña, por escucharme, apoyarme y sostenerme cuando más lo necesité.

A Carlos Guevara, por transmitirme su pasión por el maravilloso mundo de la física y las matemáticas, por las charlas de múltiples temas, por creer en mí y por las tazas de té.

A Esteban Santibañez, por lo que somos y lo que aún nos falta ser, por tu amor, por las aventuras, por tu apoyo en la última etapa de este proceso, y por enseñarme a contemplar la belleza de las flores y lo verde de las hojas.

A Viridiana Nuñez, por permitirme entrar a tu mundo y compartir conmigo momentos invaluable

A Raúl Florencia, quien se ha convertido en mi guía del árido mundo de la adultez y también en mi gran amigo, agradezco el apoyo incondicional, por los consejos y las conversaciones matutinas, así como por compartir el sushi y las hamburguesas de godín. A Karen Galindo, por ser mi amiga en un ambiente hostil, por las pláticas, las risas, los llantos y por aprender a ser adultas funcionales. También por ayudarme a realizar el mapa contenido en este trabajo.

A todas las profesoras y profesores que han contribuido en mi formación académica y personal, que con el paso del tiempo se han convertido en grandes amistades y colegas, que han creído en mí, que me han inspirado y me han hecho amar la biología y el cuidado de la naturaleza.

A Vania Villanueva, por su apoyo incondicional, por enseñarme que “todo pasa”, por convertirse en mi amiga y permitirme ser parte de su hogar. A Francisco Ochoa, por escucharme, darme palabras de aliento y por siempre creer en mí. A Héctor Godínez, por enseñarme el fascinante mundo de la ecología de cactáceas y enseñarme la importancia de las matemáticas en la biología.

A Llará Gaviria, quien se convirtió en una persona clave para que este trabajo pudiera concluirse, por todo su apoyo y por confiar en que lo lograría, por enseñarme que “saber te permite decidir”. A Hugo Perales, por abrirme las puertas del maravilloso mundo de la bioquímica vegetal, por las pláticas, los consejos y las risas en el Laboratorio de Bioquímica y en la Jefatura de Carrera. A las mujeres integrantes de mi comité Martha Salcedo y Josefina Vázquez, por todo su apoyo, su retroalimentación y su escucha.

También quiero agradecer a Lucero Peña y Jimena Beltrán, quienes han sido mujeres clave en mi crecimiento personal. Gracias por enseñarme auto conocerme a través del tiempo, a ser más flexible conmigo, y por brindarme herramientas que me permitan gestionar mis emociones de una manera más saludable.

Para concluir, quiero agradecerme a mí, por aferrarme a continuar el camino cuando no tenía certeza, por el autocuidado que procuro mantener día con día, por dejarme sentir, por reponerme de las caídas, por escuchar a mi niña interior, por aprender a confiar en mí.

Índice general

Resumen	1
1. Introducción.....	2
2. Marco teórico.....	4
2.1 Generalidades de las aguas residuales	4
2.1.1 Definición y clasificación.....	4
2.1.2 Aguas residuales domésticas/ municipales.....	4
2.1.3 Aguas residuales industriales.....	5
2.1.4 Escorrentía de aguas pluviales.....	5
2.2 Contaminantes presentes en las aguas residuales	5
2.2.1 Contaminantes orgánicos.....	6
2.2.2 Contaminantes inorgánicos.....	6
2.2.3 Contaminantes biológicos	6
2.3 Tratamiento de aguas residuales.....	7
2.4 El nitrógeno como contaminante ambiental	8
2.4.1 Características generales del nitrógeno	8
2.4.2 Fuentes de emisión de contaminantes nitrogenados.....	10
2.4.3 Contaminación de ecosistemas acuáticos por compuestos nitrogenados inorgánicos presentes en aguas residuales.....	12
2.4.4 Impacto de la contaminación por compuestos nitrogenados en ecosistemas acuáticos: efectos ecológicos.....	13
2.5 El papel del nitrógeno en las cianobacterias.....	13
2.5.1 Metabolismo de asimilación de nitrógeno: rutas principales	13
2.5.2 Toxicidad del sistema amonio/amoniaco	15
2.6 Remoción de compuestos nitrogenados presentes en aguas residuales mediante el uso de microalgas y cianobacterias	16
2.7 El género <i>Arthrospira</i>	17
2.7.1 Biología	17
2.7.2 Taxonomía.....	18
2.8.1 Marco Legal y Normativo	20
2.8.2 Plantas de tratamiento de aguas residuales.....	22
2.8.3 Tratamientos utilizados en el saneamiento de aguas residuales	22

2.8.4 Ubicación de México en el contexto mundial del tratamiento de aguas residuales	23
3. Justificación	24
4. Hipótesis	25
5. Objetivos.....	25
5.1 General.....	25
5.2 Particulares	25
6. Materiales y métodos.....	25
6.1 Organismo	25
6.2 Condiciones de crecimiento	25
6.3 Diseño experimental.....	26
6.4 Variables de respuesta	26
6.4.1 Medición del crecimiento	26
6.4.2 Análisis de pigmentos fotosintéticos: clorofila <i>a</i> y carotenoides	27
6.4.3 Determinación de la actividad metabólica por oximetría.....	27
6.4.4 Determinación de la actividad fotosintética por emisión fluorescencia de la clorofila <i>a</i> del fotosistema II: cinética rápida de fluorescencia prueba OJIP	28
6.5 Análisis estadístico	30
7. Resultados y discusión	30
7.1 Crecimiento	30
7.2 Pigmentos fotosintéticos.....	34
7.3 Análisis de la actividad metabólica a través del consumo y liberación de oxígeno en presencia de NH ₄ Cl.....	39
7.4 Análisis de la actividad fotosintética por emisión polifásica de la fluorescencia de la clorofila <i>a</i> del PSII: cinética rápida de fluorescencia prueba OJIP y análisis de decaimiento de la fluorescencia.....	47
8. Conclusiones.....	58
9. Bibliografía.....	59
10. Anexos	76

Índice de tablas y figuras

Tabla 1. Estados de oxidación del nitrógeno bajo condiciones ácidas y básicas.

Tabla 2. Límites permisibles de nitrógeno total en la NOM-001-SEMARNAT-2021.

Tabla 3. Parámetros y relaciones de flujo para el análisis de la fluorescencia.

Figura 1. Geometría molecular del NO_3^- (a), el NH_4^+ (b) y el NH_3 (c).

Figura 2. Principales rutas de asimilación del nitrógeno en cianobacterias.

Figura 3. Diferencias morfológicas entre los géneros *Spirulina* y *Arthrospira*.

Figura 4. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre el crecimiento de *A. maxima* a los cinco días de exposición.

Figura 5. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre la tasa de crecimiento relativo de *A. maxima* a los cinco días de exposición.

Figura 6. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre la tasa de duplicación de *A. maxima* a los cinco días de exposición.

Figura 7. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre la cantidad de clorofila *a* por peso seco de *A. maxima* a los cinco días de exposición.

Figura 8. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre la cantidad de carotenoides totales por peso seco de *A. maxima* a los cinco días de exposición.

Figura 9. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre el consumo de oxígeno (respiración) de *A. maxima* a los cinco días de exposición.

Figura 10. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre la liberación de oxígeno (fotosíntesis) de *A. maxima* a los cinco días de exposición.

Figura 11. Diagrama esquemático del transporte electrónico fotosintético y respiratorio en la membrana tilacoidal de *A. maxima*

Figura 12. Representación gráfica de un tricoma de *A. maxima* que ilustra el desacoplamiento del ΔpH en el lumen tilacoidal, provocado por la conversión del NH_4^+ en NH_3 debido a variaciones del pH dentro y fuera de la célula.

Figura 13. Relación entre el crecimiento y la estimulación de la liberación de oxígeno fotosintético en *A. maxima* creciendo en presencia de NH_4Cl .

Figura 14. Relación entre el crecimiento y la estimulación del consumo de oxígeno fotosintético en *A. maxima* creciendo en presencia de NH_4Cl .

Figura 15. Relación entre la tasa de consumo de oxígeno y la tasa de liberación de oxígeno fotosintético respiratorio en *A. maxima* creciendo en presencia de NH_4Cl .

Figura 16. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) en la cinética de fluorescencia variable de la clorofila *a* del PSII a los cinco días de exposición.

Figura 17. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) en la fluorescencia variable relativa ($V_t = F_m - F_o / F_t - F_o$) a los cinco días de exposición.

Figura 18. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre el número de RC activos del PSII a los cinco días de exposición.

Figura 19. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) en la fracción de complejos liberadores de oxígeno (CLO) a los cinco días de exposición.

Figura 20. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre el producto cuántico máximo para la fotoquímica primaria del PSII (ϕP_o) los cinco días de exposición.

Figura 21. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre la eficiencia para que un fotón atrapado mueva un electrón después de Q_A (Ψ_o) a los cinco días de exposición.

Figura 22. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre el producto cuántico máximo para la reducción de los aceptores intermedios de la cadena (ϕE_o) a los cinco días de exposición.

Figura 23. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre la eficiencia para el transporte electrónico desde los acarreadores intermedios hasta los finales (δR_o) a los cinco días de exposición.

Figura 24. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre el producto cuántico máximo para la reducción de los aceptores finales en el PSI ($\phi R E_o$) a los cinco días de exposición.

Figura 25. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) en el índice de conservación de la energía para el transporte electrónico fotosintético.

Figura 26. Relación entre el crecimiento y el índice de conservación de la energía para el transporte electrónico fotosintético en presencia de NH_4Cl .

Figura 27. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) en el ΔV_t de la fluorescencia variable a los cinco días de exposición.

Lista de abreviaturas

- CLO - Complejo liberador de oxígeno
- Chl *a* - Clorofila *a*
- Car- Carotenoides
- Cyt b₆/f – Complejo citocromo b₆/f
- Fo - Fluorescencia a los 50 μs
- Fi - Fluorescencia a los 20 ms
- Fj - Fluorescencia a los 2 ms
- Fk - Fluorescencia a los 300 μs
- Fm- Fluorescencia máxima
- Fv - Fluorescencia variable
- Gln - Glutamina
- Glu - Glutamato
- N - Nitrógeno
- N₂ - Nitrógeno molecular
- N_r - Nitrógeno reactivo
- NH₃ - Amoniac
- NH₄⁺ - Ion amonio
- NH₄Cl - Cloruro de amonio
- NO₂⁻ - Ion nitrito
- NO₃⁻ - Ion nitrato
- NOM - Norma Oficial Mexicana
- PQ - Plastoquinona
- PSI - Fotosistema I
- PSII - Fotosistema II
- Q_A - Quinona “A”
- Q_B - Quinona “B”
- RC - Centro de reacción
- ROS – Especies reactivas de oxígeno
- TN- Nitrógeno total

Resumen

La eutrofización por nitrógeno es un problema de contaminación ambiental que genera impactos negativos en múltiples escalas temporales y espaciales. La descarga incontrolada de aguas residuales contribuye a que esta situación se agrave. Uno de los procesos que se ve afectado es el ciclo del nitrógeno. No obstante, nuestro país únicamente trata el 40% de las aguas residuales generadas, aunado a ello carece de sistemas de tratamiento terciario. En esta investigación, se estudió el metabolismo y crecimiento de la cianobacteria *Arthrospira maxima* para evaluar su viabilidad en la aplicación de tratamientos terciarios de aguas residuales con alto contenido de amonio. Los resultados obtenidos muestran que concentraciones de 400 y 500 mg. L⁻¹ de NH₄Cl en el medio de cultivo afectan significativamente el crecimiento celular. En contraste, a las mismas concentraciones se observó una estimulación de la actividad fotosintética y respiratoria, así como de la eficiencia en el transporte electrónico. Tales hallazgos sugieren un desacoplamiento metabólico en respuesta al estrés inducido por el sistema NH₄⁺/NH₃. La correlación entre la disminución del crecimiento y la estimulación en la actividad metabólica puede explicarse por la interconversión del sistema NH₄/NH₃ en diferentes sitios dentro y fuera de la célula. Este proceso consume el ΔpH que se formó tanto por el transporte electrónico fotosintético como por el respiratorio, lo que redujo la formación de ATP. Para compensar esta disminución, la actividad de los transportes electrónicos fotosintético y respiratorio se estimuló. Ambos procesos tuvieron como objetivo restablecer la fuerza protón-motriz (*pmf*) necesario para la síntesis de ATP. A pesar de los efectos negativos antes mencionados, podemos concluir que la cepa *Arthrospira maxima* aislada en el municipio de Texcoco, Estado de México, posee tolerancia a la presencia de NH₄⁺/NH₃, lo que la posiciona como una candidata factible para aplicaciones y protocolos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de amonio.

1. Introducción

El agua es una sustancia esencial para la vida en nuestro planeta. Su disponibilidad garantiza el equilibrio y funcionamiento óptimo de los ecosistemas, además de permitir la ejecución de actividades esenciales para la humanidad como el autoconsumo, el riego agrícola, la producción industrial y la generación de energía (Chaitee *et al.*, 2021; Sostmeyer *et al.*, 2021).

A pesar de su relevancia, la sobreexplotación y distribución inequitativa de los recursos hídricos en las últimas décadas a nivel mundial han propiciado la contaminación de cuerpos de agua y la formación de áreas con severa escasez hídrica (Mogollón, 2020; Pratap *et al.*, 2023). En este contexto, México no es la excepción. La gestión ineficiente de los recursos naturales, el desarrollo industrial, el crecimiento poblacional, la expansión de la urbanización, el incremento de la superficie agrícola y el cambio de uso de suelo son los principales factores que contribuyen a la contaminación física, química y biológica del agua (Mora *et al.*, 2021).

En 2018, se estableció que el 71% de los cuerpos de agua disponibles en el país presentan algún grado de contaminación (Mogollón, 2020). Esta problemática se agrava por el aumento en la descarga de aguas residuales, que es impulsada por el crecimiento exponencial de los sectores industrial, agrícola y residencial y por la falta de infraestructura adecuada para su tratamiento (Libutti *et al.*, 2018).

Las aguas residuales se definen como cualquier tipo de agua cuya composición química y/o física ha sido alterada debido a la previa exposición a contaminantes (López-Pacheco *et al.*, 2019). Están constituidas por una amplia variedad de elementos que incluyen agua dulce, sedimentos, patógenos, metales pesados, contaminantes orgánicos, inorgánicos y emergentes y nutrientes, entre los que destacan el nitrógeno (N), el fósforo (P) y el potasio (K) (Zinicovscaia, 2016; Häder *et al.*, 2020; Aguilar- Aguilar, *et al.*, 2023).

De los componentes presentes en las aguas residuales, el nitrógeno destaca por su capacidad para perturbar los ecosistemas acuáticos cuando se encuentra en concentraciones elevadas. Su exceso contribuye a la contaminación de arroyos, ríos, lagos, aguas subterráneas y océanos (Kanter y Searchinger 2018).

El efecto perjudicial del nitrógeno en el medio ambiente guarda una relación intrínseca con las alteraciones en el ciclo del nitrógeno, un proceso biogeoquímico que describe el movimiento del nitrógeno a través de diferentes reservorios y su interconversión en múltiples formas químicas a escala planetaria durante su tiempo de circulación a través de sistemas vivos y no vivos (Holland y Wetiz, 2003; Prasad *et al.*, 2017; Aczel, 2019). Desde la Revolución Industrial, las actividades humanas han modificado este ciclo para cubrir la demanda de alimentos y energía (Kanter y Searchinger 2018).

Tales modificaciones tienen un impacto directo sobre los cuerpos de agua. Por ejemplo, el aumento en la concentración de nitrógeno proveniente de la generación y descarga incontrolada de aguas residuales propicia la eutrofización (Pratap *et al.*, 2023). Dicho proceso

desencadena una serie de alteraciones en el equilibrio de los sistemas acuáticos, como la formación de zonas hipóxicas, el crecimiento excesivo de algas, la pérdida de la biodiversidad y la generación de sustancias nocivas para la salud humana (Xia *et al.*, 2018; Groffman *et al.*, 2021; Rout *et al.*, 2021).

Actualmente, contrarrestar la eutrofización es uno de los desafíos ambientales de calidad del agua más relevante del siglo XXI a nivel mundial, pues representa una amenaza multifacética y creciente tanto para el medio ambiente como para la humanidad (Smith y Schindler, 2009).

Previo a la descarga de las aguas residuales en cuerpos de agua, es necesario someterlas a un tratamiento apropiado que reduzca la mayor cantidad de contaminantes (Hasan *et al.*, 2023). Los sistemas convencionales de tratamiento consisten en dos etapas: la primaria, que elimina sólidos en suspensión y materiales flotantes, y la secundaria, que descompone la materia orgánica biodegradable y reduce la carga de patógenos a través de procesos biológicos (Ramalho, 1977; Templeton y Butler, 2011). En regiones donde la normatividad exige una mayor calidad de los efluentes, se aplica el tratamiento terciario, cuyo objetivo es eliminar nutrientes, compuestos orgánicos, metales y patógenos que los métodos biológicos convencionales no logran remover (Rahimi *et al.*, 2020).

Sin embargo, nuestro país carece de sistemas de tratamiento terciario (CONAGUA, 2022). Además, aproximadamente solo el 40% de aguas residuales reciben tratamiento (Mogollón, 2020), lo que implica que más de la mitad del volumen producido se vierte directamente a ríos, arroyos y mares, exacerbando los problemas de contaminación y escasez hídrica.

Con el fin de subsanar esta deficiencia, es necesario implementar opciones biotecnológicas asequibles que no solo mitiguen los efectos adversos de la contaminación por nitrógeno, sino que también conviertan las aguas residuales en un recurso valioso. La ecotecnología basada en microalgas y cianobacterias aplicada en el tratamiento terciario de aguas residuales ofrece una propuesta innovadora, eficaz y sustentable para reducir la concentración de nutrientes (López-Pacheco *et al.*, 2019).

Asimismo, algunos de estos organismos son versátiles pues su funcionalidad no se limita a la eliminación de nutrientes, también remueven metales pesados y patógenos, entre otros contaminantes (Udaiyappan *et al.*, 2017). Este enfoque integral ofrece un resultado dual al mejorar la calidad del agua y generar productos de valor agregado a partir de la biomasa producida, como biocombustibles, fertilizantes, productos farmacéuticos y suplementos alimenticios (Ashour *et al.*, 2021) todos susceptibles de ser aprovechados por el ser humano.

La implementación de tecnologías innovadoras en el tratamiento de aguas residuales que reduzcan la carga de nitrógeno en los efluentes favorece la regulación del ciclo del nitrógeno, previene de eutrofización, promueve la economía circular, mejora la calidad del agua, y fortalece la salud pública.

2. Marco teórico

2.1 Generalidades de las aguas residuales

2.1.1 Definición y clasificación

Las aguas residuales se refieren a cualquier tipo de agua que ha tenido cambios en su composición química y/o física debido a la previa exposición a contaminantes (López-Pacheco *et al.*, 2019). Las Normas Oficiales Mexicanas NOM-001-SEMARNAT-1996, NOM-002-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1996 las definen como aguas de composición variada provenientes de descargas municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, así como de fraccionamientos habitacionales y otros usos, que pueden encontrarse de forma individual o combinada según las fuentes involucradas.

Su calidad puede caracterizarse en términos de demanda de oxígeno (OD), demanda química de oxígeno (COD), carbono orgánico total (TOC), nitrógeno total (TN) y fósforo total (TP) (Zhang *et al.*, 2015). Según su lugar de origen y composición química, generalmente se clasifican de la siguiente manera (Pratrap *et al.*, 2023):

2.1.2 Aguas residuales domésticas/ municipales

Las aguas residuales domésticas o municipales son los efluentes generados por complejos residenciales y oficinas, resultantes del consumo de agua de los habitantes para llevar a cabo actividades cotidianas como cocinar, bañarse, lavarse las manos, utilizar el inodoro y lavar la ropa (Manasa y Mehta, 2020; Tomás y Thomas *et al.*, 2022).

Su contenido consiste en una combinación de material sólido orgánico e inorgánico, que se encuentra en forma suspendida y disuelta a bajas concentraciones. Esta mezcla incluye heces, orina, desechos de alimentos, basura sólida, plantas, tejidos animales, grasas y aceites (Gerba y Pepper, 2019; Hasan *et al.*, 2023). Las sustancias orgánicas presentes incluyen proteínas, carbohidratos, lípidos, jabones y algunos detergentes sintéticos, mientras que el contenido inorgánico comprende principalmente amoníaco (NH_3), sales de cloruro, fosfatos (PO_4), K y metales pesados (Bwapwa *et al.*, 2020).

Además de estos componentes, también contienen patógenos microbianos como virus, bacterias, hongos, parásitos y helmintos (Jaramillo y Restrepo, 2017). Asimismo, son una fuente importante de nutrientes en los ciclos biogeoquímicos globales, incluidos C, N y P y, representan el tipo de aguas residuales más abundante (Hasan *et al.*, 2023).

2.1.3 Aguas residuales industriales

Las aguas residuales industriales consisten en subproductos de diferentes industrias, tales como agrícolas, petroleras, químicas, mineras, procesadoras de alimentos y bebidas, textiles, automovilísticas, entre otras (Wang *et al.*, 2016). Su composición varía según la industria de la que provengan. Generalmente, los residuos industriales contienen materia orgánica y nutrientes inorgánicos en altas concentraciones, así como colorantes y metales pesados (Hasan *et al.*, 2023).

Las aguas residuales agrícolas, se generan como resultado del uso de agua dulce en actividades de riego. Entre sus constituyentes se encuentran grandes cantidades de compuestos químicos como plaguicidas, fertilizantes y reguladores del crecimiento vegetal (Goswami *et al.*, 2021). Paralelamente, las agroindustrias producen grandes volúmenes de efluentes durante el procesamiento de materias primas agrícolas y ganaderas, que generalmente son canalizadas hacia los ecosistemas sin un tratamiento integral (Chinnasamy *et al.*, 2010). Sus características fisicoquímicas varían dependiendo de las propiedades de las materias primas utilizadas (Velho *et al.*, 2012), pero de manera general, contienen altas concentraciones de materia orgánica y nutrientes como N y P (Hasan *et al.*, 2023).

2.1.4 Escorrentía de aguas pluviales

Este fenómeno se refiere al flujo que se origina cuando el agua proveniente de precipitaciones ya sea en forma de lluvia, granizadas o nevadas, cae sobre superficies impermeables que impiden o reducen significativamente su infiltración.

Al no ser absorbida por el terreno, el agua se acumula y comienza a desplazarse sobre la superficie, arrastrando consigo una variedad de contaminantes que se encuentran en las calles, zonas de construcción y suelos erosionados, como excrementos animales, plaguicidas, fertilizantes, detergentes, aceites y grasas. El agua contaminada se dirige hacia los sistemas de drenaje a través de las alcantarillas y, teniendo en cuenta que estos sistemas carecen de un tratamiento previo, se libera directamente en los cuerpos de agua más cercanos (Jaume, 2016).

2.2 Contaminantes presentes en las aguas residuales

Los contaminantes que se encuentran en las aguas residuales pueden organizarse en múltiples categorías. Según su naturaleza, se clasifican de la siguiente forma:

2.2.1 Contaminantes orgánicos

Los contaminantes orgánicos presentes en las aguas residuales se pueden dividir en dos grupos principales: los biodegradables, que tienen estructuras simples y son hidrofílicos, y los persistentes, que presentan baja solubilidad en agua, alta capacidad de acumulación y propiedades potencialmente cancerígenas, teratogénicas y neurotóxicas (Zinicovscaia, 2016).

Dichos contaminantes provienen de aguas residuales municipales, agrícolas e industriales, y abarcan una variedad de compuestos, ya sean colorantes, plaguicidas, fertilizantes, hidrocarburos, detergentes, grasas, aceites, proteínas, lignina y productos farmacéuticos (Manasa y Mehta, 2020; Saxena *et al.*, 2020). También incluyen compuestos orgánicos volátiles, hidrocarburos poliaromáticos, alcoholes, aldehídos, cetonas, amidas aromáticas, ácido húmico (Mohammadi *et al.*, 2022).

2.2.2 Contaminantes inorgánicos

Los contaminantes inorgánicos que forman parte de las aguas residuales incluyen sustancias químicas que no contienen carbono en su estructura molecular. Ejemplo de ello son metales, radionúclidos, nutrientes y sales.

La contaminación por metales pesados representa un problema, pues al ser compuestos que no se degradan mediante ningún proceso, sea natural o artificial, se acumulan en las redes tróficas. Las principales fuentes de metales en las aguas residuales son las prácticas industriales, específicamente, los sectores del carbón y del acero, seguidos por la galvanoplastia, metalurgia, química, producción de fertilizantes, fabricación de baterías y de armas nucleares.

En cuanto a las fuentes de contaminación radiactiva del agua, se encuentran reactores y desechos nucleares, aplicaciones médicas de diagnóstico, y la producción y ensayo de armas nucleares. Durante una explosión atómica, se liberan al medio ambiente isótopos radiactivos, con vidas medias cortas y medias largas, que llegan a ser perjudiciales para el ambiente y la salud humana.

El nitrógeno y el fósforo son los nutrientes más comunes en las aguas residuales. Pueden presentarse en diversos compuestos químicos, como nitratos, sulfatos, fosfatos, fluoruros, cloruros y oxalatos (Manasa y Mehta, 2020).

2.2.3 Contaminantes biológicos

Se consideran contaminantes biológicos a aquellos organismos vivos o sus productos, capaces de causar enfermedades en humanos, animales y plantas. La mayoría son diferentes tipos de microorganismos, como bacterias, algas, hongos, plancton, amebas, virus y parásitos. Los sistemas fisicoquímicos en los que pueden encontrarse son coloidal, suspendida o solvatada (Manasa y Mehta, 2020).

2.3 Tratamiento de aguas residuales

El objetivo principal del tratamiento de aguas residuales es eliminar y degradar eficientemente la materia orgánica, los contaminantes o cualquier sustancia dañina bajo condiciones controladas. El tratamiento convencional consta de tres etapas principales: tratamiento primario, secundario y terciario (Zinicovskaia, 2016; Gerba y Pepper, 2019). Sin embargo, el grado de tratamiento requerido para un agua residual depende de los límites de vertido permitidos establecidos en la normatividad y/o marco legal vigente de cada país (Manasa y Mehta, 2020).

La separación física de sólidos orgánicos e inorgánicos, partículas y objetos flotantes de gran tamaño como madera, papel, plásticos, neumáticos, pañales, arena, materia coloidal, grasas, entre otros, constituye el objetivo principal de la etapa primaria, en la que se depuran minuciosamente las aguas residuales de estas impurezas visibles (Tabla- Vázquez *et al.*, 2020; Hasan *et al.*, 2023). El proceso, generalmente, se lleva a cabo en tanques de sedimentación o clarificadores, donde el agua se deja reposar durante cierto período de tiempo para permitir que los sólidos más pesados se depositen al fondo del tanque, formando lodos primarios, mientras que los materiales flotantes como aceites y grasas se acumulen en la superficie y se eliminen. Las fases secuenciales que intervienen en esta etapa son: proceso primario, primario avanzado, tanque Imhoff y tanque séptico (Tabla-Vázquez *et al.*, 2020).

El efluente procedente del tratamiento primario se suele someter a una segunda etapa, la cual consiste en un tratamiento biológico que degrada los remanentes de residuos sólidos orgánicos y pequeñas cantidades de nutrientes disueltos a través de microorganismos. Esta etapa integra una serie de procesos complejos que se complementan entre sí. Por una parte, los microorganismos descomponen las sustancias orgánicas biodegradables que se encuentran en solución o en suspensión y, por otra, se extraen las partículas sólidas de la mezcla (Marguti *et al.*, 2018; Hasan *et al.*, 2023).

El procedimiento completo se puede realizar en diferentes sistemas, como un lecho de filtro percolador, un tanque de aireación o una laguna de aguas residuales. Independientemente del método utilizado, las condiciones para el metabolismo celular pueden ser aeróbicas, anaeróbicas o anóxicas (Tabla-Vázquez *et al.*, 2020). Por lo general, el tratamiento finaliza con un paso de desinfección (Gerba y Pepper, 2019).

Sin embargo, aún después de pasar por las primeras dos etapas, es posible que quede cierta cantidad de material suspendido y disuelto junto con una proporción importante de nutrientes (Rout *et al.*, 2021).

Por esta razón, la última etapa, que se conoce como tratamiento terciario, tiene la finalidad de ofrecer una calidad de efluente superior a la que se alcanza con los sistemas de tratamiento secundario (Barbosa *et al.*, 2016; Fito y Van Hulle, 2021). Este proceso busca eliminar nutrientes, compuestos orgánicos, metales y patógenos mediante procesos físicos, químicos y biológicos, así como combinaciones entre ellos (Gerba y Pepper, 2019). No obstante, la implementación de prácticas y tecnologías de tratamiento avanzadas suele ser voluntaria, ya que no está regulada en la mayoría de los países a nivel mundial, y su aplicación depende de

la eficacia del tratamiento secundario, así como de las características y calidad de las aguas residuales tratadas. Los métodos de tratamiento terciario de aguas residuales que más se utilizan incluyen la oxidación avanzada, la adsorción, las tecnologías de membranas, la filtración, los humedales artificiales, el intercambio iónico, la aplicación de microalgas y cianobacterias, la floculación/precipitación, la ósmosis inversa y el tratamiento anaeróbico de alta velocidad (Pratap *et al.*, 2023).

2.4 El nitrógeno como contaminante ambiental

2.4.1 Características generales del nitrógeno

El N es considerado el elemento puro más abundante en nuestro planeta, pues constituye el 78.1% del volumen total de la atmósfera (Greenwood y Earnshaw, 1998; Klopogge *et al.*, 2021). Es uno de los seis elementos esenciales conocidos como “CHONPS”, y se posiciona en cuarto lugar dentro de los componentes de la biomasa celular. Además, es el segundo elemento más importante para la vida en la Tierra, después del carbono (C). A pesar de ello, las concentraciones en la corteza terrestre son relativamente bajas, encontrándose 0.002% en tejidos vivos y materia orgánica detrítica, 0.00005% en el agua de mar y 0.000024% en arroyos (Howarth, 2008; Ohyama, 2010). Referente a los combustibles fósiles, ya sean sólidos o líquidos, la cantidad de N que contienen es bastante limitada (<0.1-2%), mientras que el gas natural puede contener mayores concentraciones de este elemento (<5%). En contraste, los suelos son los reservorios de N más activos en la litósfera, sus concentraciones oscilan en función de varios parámetros edafológicos, geográficos y fisicoquímicos (Johnson y Goldblatt 2015; Fenice, 2021).

Tanto organismos procariotas como eucariotas requieren este elemento en un porcentaje elevado para llevar a cabo la síntesis de biomoléculas esenciales utilizadas para funciones estructurales, metabólicas, hereditarias, entre otras. El nitrógeno es un componente principal de las proteínas, los ácidos nucleicos, algunos lípidos de membrana, las coenzimas, las vitaminas, los pigmentos fotosintéticos, los metabolitos secundarios y otros compuestos indispensables (Ohyama, 2010; Rout *et al.*, 2021). En cuanto a los humanos, la concentración de nitrógeno es aproximadamente de 2.6% por peso (Emsley, 2011).

El nitrógeno puede presentarse en estructuras químicas inorgánicas y orgánicas (Mandal, *et al.*, 2018). Normalmente, en un entorno acuoso, estas moléculas pueden manifestarse en diversas combinaciones. Por ejemplo, el amoníaco (NH₃), el ion amonio (NH₄⁺), el nitrito (NO₂⁻), el nitrato (NO₃⁻) y el gas dinitrógeno (N₂) son compuestos de nitrógeno inorgánico, mientras que aminoácidos, urea y ácido úrico, se encuentran dentro del grupo de compuestos nitrogenados orgánicos (Bernhard, 2010; Varjani y Upasani, 2017).

Las propiedades químicas anómalas características del nitrógeno son resultado de la facultad que posee para hibridarse orbitalmente de manera sencilla. Tiene una electronegatividad alta, aproximadamente de 3, lo que conlleva una gran capacidad para atraer electrones. Sus estados de oxidación son: -3, -2, -1, +1, +2, +3, +4, +5 (Greenwood y Earnshaw, 1998; Ohyama, 2010; Fenice, 2021; Klopogge *et al.*, 2021).

A temperatura y presión estándar, el nitrógeno molecular (N_2) es un gas diamagnético, incoloro, inodoro e insípido. Tiene un punto de fusión de -210°C y un punto de ebullición de -195.795°C . La distancia interatómica corta (109.76 pm) y la energía de disociación muy alta ($945.41 \text{ kJmol}^{-1}$) son consistentes con enlaces múltiples. Se combina con muy pocos elementos a temperatura ambiente, debido a la gran fuerza del enlace triple $N\equiv N$ y la enorme brecha de energía entre los orbitales moleculares ocupados más altos (HOMO) y los orbitales moleculares desocupados más bajos (LUMO). Otros factores que contribuyen son la distribución de electrones muy simétrica en la molécula y la ausencia de polaridad de enlace. Sin embargo, se encuentra combinado con casi todos los elementos de la tabla periódica excepto con los gases nobles más ligeros. Este fenómeno aparentemente contradictorio se debe a que el N_2 se vuelve significativamente más reactivo a medida que aumenta la temperatura. Además, varios catalizadores que se encuentran en la naturaleza pueden superar la inercia del N_2 a bajas temperaturas (Emsley, 2011; Greenwood y Earnshaw, 1998; Kloprogge *et al.*, 2021).

La forma más oxidada del N (+5) es el ácido nítrico (HNO_3) o el ion nitrato (NO_3^-). Mientras que su forma más reducida (-3) se puede encontrar como NH_3 o NH_4^+ (Dixon y Khan, 2004; Ohyama, 2010).

Tabla 1. Estados de oxidación del N bajo condiciones ácidas y básicas.

Estado de oxidación	+5	+4	+3	+2	+1	0	-1	-2	-3
Notación	NO_3^-	N_2O_4	NO_2^- *	NO	N_2O	N_2	NH_2O H *	N_2H_4^*	$\text{NH}_4^+ *$ NH_3
Nombre	Ion nitrato	Óxido de nitrógeno (IV)	Ion nitrito	Óxido nítrico	Óxido nitroso	Nitrógeno molecular	Hidroxilamina	Hidrazina	Ion amonio

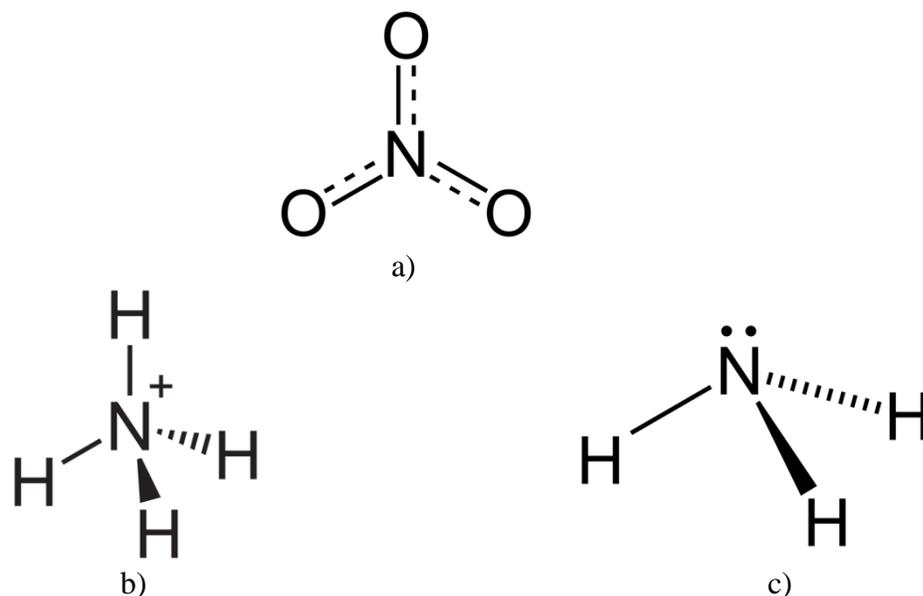


Figura 1. Geometría molecular del ion nitrato a), ion amonio b) y el amoniaco c).

2.4.2 Fuentes de emisión de contaminantes nitrogenados

En el contexto de la contaminación antropogénica, se han determinado dos fuentes principales de contaminación: las puntuales y las difusas. Las primeras se refieren a los contaminantes que provienen de una sola fuente cuya ubicación es específica y fija, mientras que las segundas comprenden los contaminantes emitidos por múltiples fuentes (Zinicovscaia, 2016; Crini y Lichtfouse, 2019).

Como ya se mencionó anteriormente, el nitrógeno circula activamente entre la hidrósfera, la atmósfera y el suelo en diferentes concentraciones y formas. En primera instancia, es conveniente distinguir las formas de nitrógeno en dos grupos principales: el N_2 se denomina nitrógeno no reactivo (o "fijo"), y la suma de todas las demás formas de nitrógeno biológica, fotoquímica y radiactivamente activos se denomina "nitrógeno reactivo" (Nr) (Reis *et al.*, 2009; Melillo, 2021).

A pesar de que el N_2 constituye el mayor porcentaje dentro de los componentes de la atmósfera, para que otros organismos puedan aprovecharlo primero se debe "fijar", es decir, convertir en otras formas de nitrógeno, particularmente en NH_3 / NH_4^+ , a través de la acción de organismos diazotróficos pertenecientes a los dominios Archaea y Bacteria (Dixon y Khan, 2004).

Este proceso ocurre a través del ciclo del nitrógeno, el cual consiste en una serie de transformaciones biológicas complejas debido a las diversas formas que puede adoptar el nitrógeno (gas, particulada, disuelta) (Galloway, 2003).

Sin embargo, el nitrógeno tiene propiedades químicas peculiares que le permiten cambiar fácilmente su estructura molecular y alternar entre partículas disueltas, a gaseosas, lo que puede generar un problema. Denominada como “cascada de nitrógeno”, implica que, en el medio ambiente, una molécula de nitrógeno pasa a través de numerosas vías, lo que puede modificar negativamente la dinámica de múltiples procesos a diferentes escalas temporales y espaciales, contribuyendo a un incremento de la contaminación atmosférica, terrestre y acuática, a la pérdida de biodiversidad, y acelerando el cambio climático por la producción de gases de efecto invernadero (Groffman *et al.*, 2021).

Si bien las actividades humanas han perturbado numerosos procesos biogeoquímicos globales, nuestros impactos negativos en este ciclo posiblemente sean los más rápidos y dramáticos (Groffman *et al.*, 2021). A escala mundial, su alteración tiene origen en la producción desmedida de Nr, pues una mayor disponibilidad de nitrógeno aumenta la productividad y acumulación de biomasa de compuestos nitrogenados, lo que cambia las tasas y las vías del ciclo, afectando indirecta y/o directamente la calidad del aire, del agua y de la biósfera (Kanter *et al.*, 2020), y por consiguiente ocasiona una serie de problemas ambientales a escalas locales, regionales y globales tales como la eutrofización de aguas dulces y zonas costeras, la acidificación del suelo y la reducción de la diversidad biológica de los ecosistemas afectados (Vitousek *et al.*, 1997; Reis *et al.*, 2009; Lehnert *et al.*, 2021).

Antes de la Revolución Industrial, los únicos mecanismos mediante los cuales el N₂ se convertía en Nr biológicamente disponible eran la fijación de nitrógeno realizada por bacterias y/o arqueas, y la reacción química con oxígeno a altas temperaturas asociado con relámpagos y volcanes (Galloway, 2003). Actualmente, la tasa total de Nr biológicamente disponible creada por procesos naturales que se libera a la biósfera a nivel mundial oscila en el rango de 300 a 500 Tg N año⁻¹ (Vitousek *et al.*, 1997; Howarth, 2008).

Sin embargo, desde las últimas cuatro décadas del siglo XX las actividades antropogénicas han generado Nr adicional a medida que compite con el ritmo natural de creación mediante tres mecanismos: 1) la promoción de la fijación biológica de N₂ atmosférico asociada con la agricultura de cultivos fijadores de nitrógeno; 2) la producción de fertilizantes nitrogenados sintéticos para incrementar la productividad de los cultivos; y 3) su creación inadvertida a través de la combustión de combustibles fósiles y biomasa para cubrir la demanda energética y de transporte de las urbes (Vitousek *et al.*, 1997; Howarth, 2008; Voss *et al.*, 2011; Melillo, 2021).

Se calcula que las actividades humanas a nivel mundial provocan la fijación biológica de aproximadamente 190 Tg N año⁻¹. De este total, el 57.8% es fertilizante nitrogenado sintético, el 22.6% proviene de cultivos fijadores de nitrógeno, y el 20% se origina de la combustión de combustibles fósiles (Galloway *et al.*, 2008; Battye *et al.*, 2017). Estimaciones recientes sugieren que la producción mundial de Nr es de aproximadamente 200 Tg N año⁻¹, siendo el uso de fertilizantes la vía de entrada dominante (Battye *et al.*, 2017; Melillo, 2021).

El incremento de Nr ha sido fundamental para satisfacer las necesidades de una población mundial en crecimiento. Sin embargo, también ha perturbado el ciclo natural del nitrógeno, provocando inestabilidad en ecosistemas terrestres y acuáticos, lo que se traduce en graves

problemas socioambientales, como la pérdida de biodiversidad, contaminación de cuerpos de agua y aceleración del cambio climático.

El cambio en las entradas y salidas de nitrógeno dentro de un sistema es un proceso que está intrínsecamente relacionado con uno de los nueve límites planetarios, que es el de los ciclos biogeoquímicos. Estos límites constituyen un marco conceptual que establece las fronteras biofísicas críticas dentro de las cuales la humanidad debería operar para garantizar la estabilidad y resiliencia del sistema terrestre (Willett *et al.*, 2019; Bjørn *et al.*, 2020).

En este contexto, Willett *et al.* en 2019 propusieron el valor más reciente para definir el límite planetario el ciclo del nitrógeno, en el que la variable de control utilizada fue la aplicación de nitrógeno. El límite se estableció en 65 Tg N año⁻¹. No obstante, según Mellillo en 2021, estableció que tal cifra ya se rebasó, lo que evidencia la transgresión de umbrales ecológicos necesarios para garantizar el funcionamiento de los ecosistemas a largo plazo.

Las alteraciones en ciclo del nitrógeno han generado graves daños ambientales cuyas repercusiones podrían perdurar durante siglos si no se planifican e implementan estrategias sustentables (Canfield *et al.*, 2010; Fenice, 2021). La regulación de este ciclo representa un desafío fundamental para la humanidad, ya que su desequilibrio afecta directamente procesos clave como la biodiversidad, el clima global y la salud de los océanos.

2.4.3 Contaminación de ecosistemas acuáticos por compuestos nitrogenados inorgánicos presentes en aguas residuales

Los iones NH_4^+ , NO_3^- y NO_2^- constituyen los compuestos nitrogenados inorgánicos más comunes en ecosistemas acuáticos (Rabalais, 2002). Se encuentran de manera frecuente como resultado de la deposición atmosférica, la escorrentía de aguas superficiales y subterráneas, la disolución de depósitos geológicos ricos en nitrógeno (Follett y Hatfield, 2001), la fijación de N_2 por arqueas y bacterias y la degradación de materia orgánica (Cervantes, 2009).

No obstante, tanto la disponibilidad como la movilidad del nitrógeno han aumentado en diferentes regiones del planeta debido a la alteración antropogénica de su ciclo. En consecuencia, además de las fuentes naturales, el nitrógeno inorgánico puede ingresar a los ecosistemas acuáticos a través de fuentes puntuales y difusas derivadas de actividades como la agricultura, las deposiciones atmosféricas y la producción de aguas residuales provenientes de distintos sectores (Camargo y Alonso, 2006). Del mismo modo, los aportes de nitrógeno particulado y nitrógeno orgánico al medio ambiente pueden generar contaminación por nitrógeno inorgánico (Smil, 2001).

Específicamente, el NH_4^+ , además de ser un componente integral en el ciclo del nitrógeno y una fuente de nitrógeno libre (Ashour *et al.*, 2021), es uno de los contaminantes más comunes en las aguas residuales. Existen diversas industrias que aprovechan sus propiedades químicas para múltiples aplicaciones, que van desde la mejora en el rendimiento de los cultivos, la producción de colorantes, el procesamiento de carne y fabricación de productos lácteos, hasta

la síntesis de productos químicos especializados como antibióticos, antipiréticos y analgésicos (Bamba *et al.*, 2017). Las aguas residuales generadas por las industrias mencionadas contienen elevadas concentraciones de NH_4^+ que, si no se tratan adecuadamente, pueden causar muchos efectos negativos al medio ambiente y a la salud pública.

2.4.4 Impacto de la contaminación por compuestos nitrogenados en ecosistemas acuáticos: efectos ecológicos

Los principales problemas ambientales causados por contaminantes nitrogenados en ecosistemas acuáticos incluyen la acidificación de cuerpos de agua dulce, la eutrofización, y la alteración en el equilibrio del sistema hídrico (Camargo y Alonso, 2006).

La eutrofización de los ecosistemas acuáticos asociada con el enriquecimiento de nutrientes como N y P se ha convertido en un problema ambiental con relevancia a nivel mundial. Este fenómeno es resultado del acelerado crecimiento económico y poblacional, así como la urbanización de las últimas seis décadas (Chislock *et al.*, 2013; Alexander *et al.*, 2017). Se caracteriza por el aumento de compuestos orgánicos en cuerpos de agua lénticos relativamente cerrados, lo que estimula la proliferación excesiva de algas, cianobacterias y fitoplancton. Esto conlleva a una disminución en la concentración de oxígeno disuelto a causa del enturbiamiento del agua provocado por la formación de una capa de limo sobre la superficie.

El recubrimiento que se genera reduce la penetración de la luz y ocasiona la muerte de los organismos fotosintéticos que, a su vez, son aprovechados por organismos que agotan el oxígeno durante el proceso de descomposición de la materia orgánica. Esta secuencia de eventos genera condiciones de anoxia, promoviendo una severa degradación y deterioro de las interacciones ecológicas y los recursos hídricos (Khan y Ansari, 2005; Ansari *et al.*, 2015; Romanelli *et al.*, 2020).

En particular, el NO_3^- , y el NH_4^+ son las principales formas de nitrógeno que contribuyen a la eutrofización, especialmente el alto contenido de nitrógeno amoniacal desempeña un papel significativo.

2.5 El papel del nitrógeno en las cianobacterias

2.5.1 Metabolismo de asimilación de nitrógeno: rutas principales

Las cianobacterias son capaces de asimilar diversas formas de nitrógeno presentes en su entorno, las cuales pueden constituir hasta un 11% de su peso (Flores y Herrero, 1994). Los principales compuestos de nitrógeno inorgánico que utilizan para satisfacer sus requerimientos incluyen NH_4^+ , NH_3 , NO_3^- , NO_2 . Además, algunas especies también pueden asimilar compuestos nitrogenados orgánicos como la urea, y algunos aminoácidos como la

arginina (Arg) y la glutamina (Gln) (Oliver *et al.*, 2012). Así mismo, muchos tipos de cianobacterias son capaces de sintetizar la enzima nitrogenasa para llevar a cabo la fijación de N₂ atmosférico, un rasgo que los separa de los eucariotas autótrofos (Herrero *et al.*, 2004; Issa *et al.*, 2014).

En general, el metabolismo de asimilación de nitrógeno en las cianobacterias sigue dos rutas principales (Fig. 2): la ruta del NH₄⁺ y la ruta del NO₃⁻. Es importante señalar que cualquier forma de nitrógeno distinta de NH₄⁺ primero se va a metabolizar en este ion ya que es la forma molecular energéticamente menos costosa para la asimilación de los átomos de nitrógeno (Zhang *et al.*, 2018). Por lo tanto, el NH₄⁺ que se obtuvo de la absorción directa, o que se produjo a partir de la conversión de otras fuentes de nitrógeno, se incorpora a esqueletos de carbono a través de la acción secuencial de las enzimas glutamina sintetasa (GS) y glutamato sintasa (GOGAT), constituyendo el ciclo GS-GOGAT (Muro-Pastor, *et al.*, 2005).

Desde el punto de vista energético, el NH₄⁺ es preferencial al NO₃⁻, ya que el primero sólo requiere un NAD(P)H o ferredoxina (Fd) y un adenosín trifosfato (ATP) para asimilarse en glutamato (Glu), mientras que el segundo requiere nueve moléculas reductoras, un ATP y dos enzimas adicionales (Zhang *et al.*, 2018). La captación de NO₃⁻/NO₂⁻, urea y la mayoría de los aminoácidos suele implicar permeasas, mientras que la captación de NH₄⁺ involucra transportadores secundarios. Dentro de la célula, el NO₃⁻ se convierte en NO₂⁻ por la nitrato reductasa (Nar) y luego el NO₂⁻ se convierte en NH₄⁺ por la nitrito reductasa (Nir). La Arg es catabolizada por una combinación del ciclo de la urea y la vía de la arginasa, mientras que la urea es degradada por una ureasa dependiente de Ni²⁺; ambas vías también producen NH₄⁺ (Flores y Herrero 2005).

El ciclo GS/GOGAT constituye la vía principal en cianobacterias para la asimilación de NH₄⁺, y por lo tanto juega un papel central en el metabolismo del nitrógeno, y también del carbono. La GS asimila NH₄⁺ usando Glu y ATP para sintetizar Gln, mientras que GOGAT cataliza la formación de Glu usando Gln, 2-oxoglutarato (2-OG) y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH). El Glu y la Gln que se producen en esta ruta metabólica son los principales donantes de grupos amino intracelulares para la síntesis de otros aminoácidos, y también para bases nitrogenadas como purina y pirimidina, así como otros compuestos que contienen nitrógeno (Zhang *et al.*, 2018). Por ejemplo, el Glu es un precursor del 5-aminolevulinato, que es el precursor inmediato de la biosíntesis de porfirinas, ficobilinas y clorofilas. Finalmente, los aminoácidos Arg y aspartato (Asp) forman cianoficina, un depósito de almacenamiento único de nitrógeno y carbono que se encuentra en muchas cianobacterias (Flores y Herrero 1994).

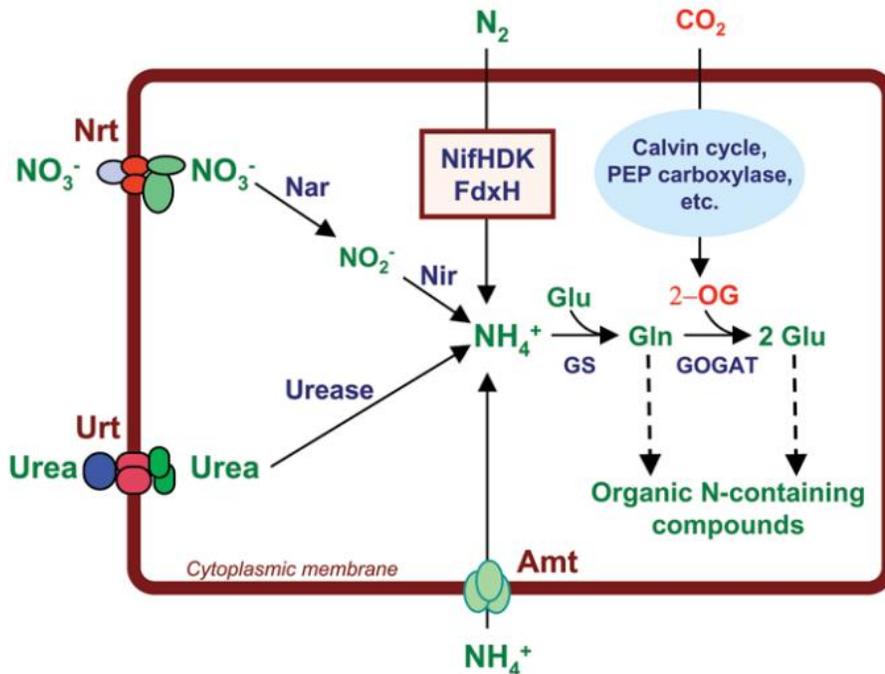


Figura 2. Principales rutas de asimilación del nitrógeno en cianobacterias. Nrt, transportador de nitrato/nitrito tipo-ABC; Urt, transportador de urea tipo-ABC; Amt, permeasa de amonio; Nar, nitrato reductasa; Nir, nitrito reductasa; NifHDK, complejo nitrogenasa; FdxH, ferredoxina específica para heterocistos; PEP carboxilasa, fosfoenolpiruvato carboxilasa. Tomado de Flores y Herrero, 2005.

2.5.2 Toxicidad del sistema amonio/amoniaco

En disoluciones acuosas, el NH_4^+ y el NH_3 coexisten en equilibrio. Este estado, así como su concentración relativa, dependen principalmente del pH, y en menor proporción de la temperatura y la salinidad. El equilibrio dinámico entre $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ es conocido como el sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ (Markou *et al.*, 2016).

La constante de disociación del equilibrio iónico (pKa) del sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ es de 9.25, lo que significa que el NH_4^+ predomina a valores de pH inferiores a este punto, mientras a valores de pH superiores de 9.25 prevalece el NH_3 (Markou *et al.*, 2016). Por lo tanto, en condiciones con un pH aproximadamente de 9, la toxicidad se atribuye al NH_3 , mientras que a un pH menor a cualquier efecto tóxico se asocia con el NH_4^+ .

Esta variación en función del pH es crucial, pues el NH_3 se considera la forma más tóxica del sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ debido a que no tiene carga y es soluble en lípidos, lo que le permite difundirse fácilmente a través de la membrana celular sin un mecanismo de regulación que controle su tasa de absorción. Esto provoca concentraciones intracelulares elevadas de NH_3 que afectan el crecimiento y la viabilidad celular (Markou *et al.*, 2016). Además, al ser un gas volátil puede perderse en la atmósfera, especialmente en cultivos con aireación activa.

Aunque la toxicidad del sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ ha sido ampliamente investigada en plantas, peces y animales, existe una escasez de investigaciones en donde hayan utilizado bacterias, fitoplancton y levaduras como modelos de estudio. En plantas, algunos de los mecanismos propuestos para explicar la toxicidad causada por altas concentraciones de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ incluyen variaciones en el equilibrio iónico de los tejidos, cambios en el equilibrio hormonal, saturación de los lípidos de la membrana y alteración del pH intracelular (Markou *et al.*, 2016). También se ha observado interferencia en la fotosíntesis y la homeostasis celular, acidificación extracelular y alcalinización intracelular, aumento en la demanda de energía, estrés oxidativo, e inhibición de la absorción de microelementos como K, magnesio (Mg) y calcio (Ca) (Esteban *et al.*, 2016).

2.6 Remoción de compuestos nitrogenados presentes en aguas residuales mediante el uso de microalgas y cianobacterias

El concepto “biotecnología” aplicado en microalgas y cianobacterias se refiere al uso de su maquinaria fotosintética para la obtención de biomasa y compuestos bioactivos, así como su aplicación en la industria bioenergética y en el tratamiento de aguas residuales (Hamed, 2016).

El uso de microalgas y cianobacterias en el tratamiento de aguas residuales fue propuesto por Oswald *et al.* en 1957 (Young *et al.*, 2017). Desde entonces, múltiples investigaciones han explorado la factibilidad y aplicación de estos procariontes en el sector biotecnológico, con un enfoque particular para la remoción de nitrógeno y fósforo. Además, esta tecnología es una alternativa más amigable con el ambiente en comparación con los métodos físicos y químicos, los cuales son más costosos y contribuyen a la contaminación secundaria.

Respecto a la capacidad de las microalgas para asimilar compuestos nitrogenados, los principales organismos empleados como modelos biológicos han sido *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus* sp.

Chlorella vulgaris fue cultivada en aguas residuales y se obtuvo una eficiencia de remoción de nitrógeno total (TN) de alrededor del 50% (Kim *et al.*, 2010). Aslan y Kapdan, (2006) concluyeron que esta misma cepa puede remover NH_4^+ por completo de las aguas residuales, así mismo se demostró que el porcentaje de remoción en aguas residuales porcinas fue de 56.52% para el NH_4^+ y del 95-99% para el TN (Nam *et al.*, 2017; Cao *et al.*, 2018).

Referente a *Scenedesmus* sp., al cultivarse en un medio con NO_3 , NH_4^+ y urea como fuentes de nitrógeno, las eficiencias de remoción de TN fueron del 90.4 %, 31.1 % y 87.8 %, respectivamente (Xin *et al.*, 2010). Con relación al NH_4^+ , la eficiencia de remoción de esta cepa en efluentes domésticos fue de 99.1% (Zhang *et al.*, 2008).

En cuanto a las cianobacterias, *Arthrospira platensis* (*A. platensis*) se ha utilizado como modelo biológico en una gran cantidad de investigaciones para tratar distintos tipos de aguas residuales debido a su alto rendimiento en la asimilación de N, su valor económico y su potencial ambiental (Chang *et al.*, 2013; Araujo *et al.*, 2021). Los resultados obtenidos por

Araujo *et al.*, en 2021 demostraron que la remoción de NH_3 , NO_2^- y NO_3^- provenientes de aguas residuales del procesamiento de yuca fue del 100% para los dos primeros y del 91% para el último.

En contraste, pocas investigaciones han utilizado *Arthrospira maxima* (*A. maxima*) como modelo biológico para evaluar la eficiencia de remoción de compuestos nitrogenados. En una combinación de nejayote y agua residual porcina, se obtuvo una reducción del TN del 92% (López-Pacheco *et al.*, 2019), mientras que el porcentaje de remoción de NH_4^+ presente en efluentes contaminados con salsa de soya fue de 93.86% (Han *et al.*, 2021). También, en efluentes secundarios se demostró una reducción del contenido de nitrógeno del 100% (Kosaric *et al.*, 1974), mientras que para el NH_4^+ fue del 92% (Cañizarez *et al.*, 1994).

Esta tecnología presenta numerosas ventajas sobre los tratamientos químicos y fisicoquímicos (Chaitee *et al.*, 2021), un rasgo distintivo es su eficiencia energética, lo que establece una diferencia significativa respecto a los procesos convencionales de lodos activos, cuyo metabolismo bacteriano demanda altos niveles de oxigenación (Hasan, 2023).

Además, este enfoque destaca por su capacidad para consumir CO_2 y generar O_2 a través del proceso fotosintético, el cual puede ser aprovechado por poblaciones bacterianas que descomponen los desechos orgánicos en moléculas inorgánicas simples. También, puede utilizarse para la reducción de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), o para promover la oxidación del NH_4^+ (El-Sheekh *et al.*, 2021).

2.7 El género *Arthrospira*

2.7.1 Biología

Arthrospira es un género de cianobacterias multicelulares filamentosas, también conocidas como “algas verde-azules”, que se caracteriza por tener células cilíndricas no heterocísticas más anchas que largas. Estas células contienen una gran cantidad de vesículas de gas denominadas “aerotopos”, que se encuentran organizadas en un tricoma helicoidal envuelto en una fina vaina mucilaginosa. Bajo el microscopio óptico, los tricomas muestran paredes transversales fácilmente visibles (Tomaselli, 1997; Grewe & Pulz, 2012; Vo *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2016).

Tanto el grado de inclinación como el diámetro de la hélice varía según la cepa. En *A. maxima* oscila de 12 a 72 μm , mientras que en *A. platensis* va de 30 a 70 μm (Pelosi *et al.*, 1982; Tomaselli, 1997). La reproducción ocurre mediante la fragmentación de un tricoma maduro en varios segmentos más cortos, a través de la destrucción de múltiples células intercaladas especializadas llamadas "necridia". Los segmentos cortos que están compuestos por unas pocas células se alargan por fisión binaria en un solo plano perpendicular al eje largo del filamento (Balloni *et al.*, 1980; Tomaselli, 1997).

Las principales características morfológicas distintivas entre las especies más importantes del género, que son *A. maxima* y *A. platensis*, se centran en estructuras como los filamentos, pues incluso cuando estos flotan libremente en ambas especies y están densamente granulados en las paredes transversales debido a la presencia de aerotopos, los de la *A. platensis* muestran una disposición más regular de esta granulación.

Referente a los tricomas, en *A. maxima* al contrario que en *A. platensis*, son cortos y no están, o están muy poco contraídos en las paredes transversales. Además, tienen un diámetro mayor y se encuentran atenuados en los extremos. La vaina que los envuelve es más gruesa en *A. maxima* que en *A. platensis*, de modo que la superficie del tricoma en la primera aparece cubierta con costillas profundas, mientras que en *A. platensis* muestra costillas anastomosadas y menos profundas.

Si bien *A. platensis* parece ser una especie de amplia distribución, presente en África, Asia y América del Sur, *A. maxima* se encuentra restringida a América Central, específicamente en México, donde fue el principal componente del fitoplancton que habitaba en el extinto Lago de Texcoco (Sinetova *et al.*, 2024). Este cuerpo de agua podría considerarse el hábitat original de la especie (Tomaselli, 1997).

2.7.2 Taxonomía

La continua designación de “*Spirulina*” para referirse a las especies del género *Arthrospira*, especialmente a las de importancia comercial responde a una tradición más práctica y tecnológica que a una clasificación taxonómica precisa (Tomaselli, 1997). No obstante, esta designación a menudo genera confusión, ya que *Arthrospira* y *Spirulina* son géneros diferentes y filogenéticamente distantes, aunque ambos comparten la estructura helicoidal de los tricomas y la distribución de algunas especies en los mismos hábitats selectivos. La distinción entre ambos se estableció mediante estudios ultraestructurales de los tricomas y análisis de la secuencia del ARNr 16S (Sili *et al.*, 2012).

Morfológicamente, *Arthrospira* se caracteriza por presentar una disposición de sus tricomas cilíndricos multicelulares en forma de hélice abierta (como un resorte estirado), generalmente con un ancho celular relativamente amplio (6 a 12 μm), a veces atenuado en los extremos y con paredes transversales visibles con microscopio óptico. Por el contrario, *Spirulina* presenta un tricoma en forma de tornillo, generalmente con una hélice casi cerrada (es decir, espiral con forma de resorte), uniforme y un ancho celular estrecho (2 a 4 μm), células con paredes transversales generalmente invisibles al microscopio óptico, sin vacuolas de gas y con gránulos prominentes. En cuanto a la reproducción, *Arthrospira* se fragmenta formando células necríticas, mientras que en *Spirulina* la fragmentación de los tricomas ocurre sin originar este tipo de células (Sili *et al.*, 2012; López- Rodríguez *et al.*, 2021; Sinetova *et al.*, 2024).

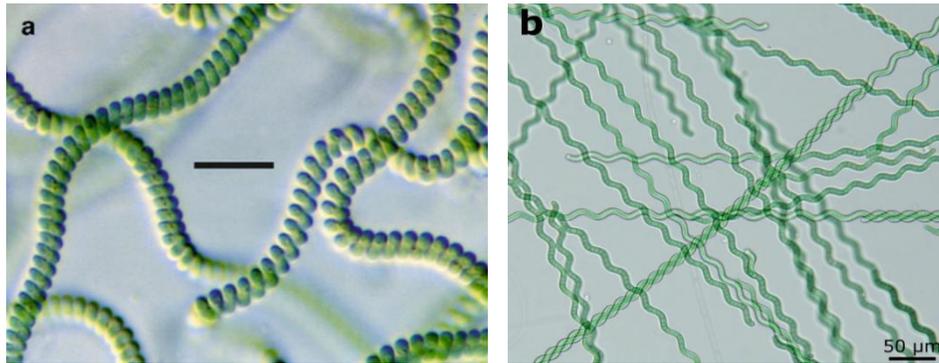


Figura 3. Diferencias morfológicas entre los géneros a) *Spirulina* y b) *Arthrospira*. Castenholz en 1989, los diferenció taxonómicamente. *Arthrospira* pertenece al orden Oscillatoriales, mientras que *Spirulina* se clasifica en el orden Spirulinales.

Actualmente, gracias a una amplia gama de estudios, la taxonomía moderna reconoce a *Arthrospira* como un género distinto *Spirulina*. No obstante, con frecuencia algunas investigaciones continúan usando los nombres tradicionales, aunque erróneos, para referirse a las especies de *Arthrospira*, como *Spirulina platensis* y *Spirulina maxima* (Tomaselli, 1997). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que las cepas comercialmente relevantes (*A. maxima*, *A. fusiformis* y *A. platensis*) difieren significativamente de la especie tipo (*A. jengeri*). Como resultado, se ha propuesto el género *Limnospira* para designar las especies de interés industrial, por lo que la espirulina comercializada actualmente se conoce científicamente como *Limnospira* spp. (Nowicka-Krawczyk *et al.*, 2019; Sinetova *et al.*, 2024).

La clasificación taxonómica de *Arthrospira* según la página *Algaebase* (<https://www.algaebase.org/> consultado el 15 de enero de 2025) es la siguiente:

- **Dominio:** Bacteria
- **Reino:** Bacteria
- **Filo:** Cyanobacteria
- **Clase:** Cyanofíceae
- **Orden:** Oscillatoriales
- **Familia:** Microcoleaceae
- **Género:** *Arthrospira*

Entre las aproximadamente 35 especies descritas, destacan:

- *A. maxima* Setchell y NLGardner 1917
- *A. platensis*

2.8.1 Marco Legal y Normativo

En lo que respecta a la gestión, descarga y eliminación segura de aguas residuales, existen pocas regulaciones o directrices en México. Las principales leyes, reglamentos, y normas oficiales buscan regular y controlar la gestión y el tratamiento de aguas residuales para proteger la salud pública y el medio ambiente. A continuación, se describen las principales leyes y normas que forman parte del marco legal y normativo. Autoridades como la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) y la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), junto con las secretarías estatales y municipales, son responsables de la implementación y supervisión de estas regulaciones.

Ley de Aguas Nacionales (LAN)

Establece los principios para la gestión integrada de los recursos hídricos y define los derechos y obligaciones de los usuarios que utilizan el agua, incluyendo el tratamiento de aguas residuales. Esta Ley regula la gestión de aguas residuales en varios artículos, con énfasis en el Artículo 88 BIS, que establece las obligaciones para las personas físicas o morales que realizan descargas de aguas residuales.

Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LGEEPA), en su Capítulo III- “Prevención y Control de la Contaminación del Agua y de los Ecosistemas Acuáticos

Los artículos 118-133 de este capítulo abordan la prevención y control de la contaminación del agua y los ecosistemas acuáticos. En él se establecen criterios para la regulación de descargas de aguas residuales, tanto industriales como municipales, y se definen responsabilidades de los gobiernos estatales y municipales en la vigilancia y control de normativas. Se sujetan a regulación diversas actividades que pueden causar contaminación del agua, se establecen condiciones para la descarga e infiltración de aguas residuales, y se promueve el uso adecuado de aguas residuales tratadas en la industria y la agricultura.

Normas Oficiales Mexicanas (NOM)

Cuerpo receptor

Debido a que el nitrógeno es un nutriente esencial para organismos fotosintéticos, es importante el monitoreo y control de descargas de este en ecosistemas acuáticos.

Según la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021, que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación, el nitrógeno total está considerado dentro de los parámetros básicos y se define como la suma de las concentraciones del nitrógeno total *Kjeldahl**, nitrógeno de nitritos y nitrógeno de nitratos.

Tabla 2. Límites permisibles de Nitrógeno Total en la NOM-001-SEMARNAT-2021

Ríos, arroyos, canales y drenes			Embalses, lagos y lagunas			Zonas marinas mexicanas			Suelo cárstico		
P.D.	P.M.	V.I.	P.D.	P.M.	V.I.	P.D.	P.M.	V.I.	P.D.	P.M.	V.I.
30	25	35	25	15	30	30	25	35	25	15	30
<p>En donde: P.D. es el valor que resulta del análisis de una muestra compuesta o el resultado del promedio ponderado en función del caudal o de la media geométrica o del promedio aritmético, según corresponda al parámetro conforme a esta NOM. P.M. es el valor que resulta de calcular el promedio ponderado en función del caudal de los valores que resulten del análisis de al menos dos muestras compuestas (Promedio Diario) colectadas en un mismo mes calendario. V.I. es el resultado obtenido del análisis de laboratorio a una muestra simple de agua residual recolectada en la descarga con motivo de una verificación realizada por CONAGUA o la PROFEPA del cumplimiento de los parámetros de calidad establecidos en esta norma. *Nitrógeno total Kjeldahl Es definido como la suma del nitrógeno amoniacal y nitrógeno orgánico (NMX-AA-026-SCFI-2010, 2010).</p>											

Establece que en ríos arroyos, canales y drenes, el parámetro diario (P.D.) es 30, el parámetro mensual (P.M.) es de 25 y el valor instantáneo (V.I.) es de 35. En embalses, lagos y lagunas, el P.D. es 25, el P.M. es 15 y el V.I. es 30. En zonas marinas mexicanas el P.D. es 30, el P.M. es 25 y el V.I. es 35. Por último, en suelo cárstico el P.D. es 25, el P.M. es 15 y el V.I. es 30. Todos los valores expresados en miligramos por litro (mg. L⁻¹).

Plantas de tratamiento

La Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEMARNAT-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público, considera como contaminantes básicos aquellos compuestos o parámetros que pueden ser removidos o estabilizados mediante procesos convencionales.

En lo que respecta a esta NOM, sólo se consideran los siguientes: grasas y aceites, material flotante, demanda bioquímica de oxígeno y sólidos suspendidos totales.

Alcantarillado

La Norma Oficial Mexicana NOM-002-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas

de alcantarillado urbano o municipal, plantea como parámetros de referencia que determinan la calidad física, química y biológica del agua a las siguientes variables: grasas y aceites, sólidos sedimentables, arsénico total, cadmio total, cianuro total, cobre total, cromo hexavalente, mercurio total, níquel total, plomo total, y zinc total.

2.8.2 Plantas de tratamiento de aguas residuales

Históricamente en México, el número de PTAR en operación ha aumentado considerablemente. Mientras que en 1996 solo existían 595 plantas en operación que trataban un caudal de 33.7454 m³/s de aguas residuales, al cierre de 2022 el número de plantas de tratamiento instaladas y en operación aumentó a 2,774, proporcionando saneamiento para un volumen de 143.7567 m³/s de aguas residuales (CONAGUA, 2022). Aunque este incremento es alentador, sigue siendo insuficiente, ya que únicamente alrededor del 40% del total de aguas residuales generadas a nivel nacional son tratadas (Mogollón, 2020; Tabla-Vázquez *et al.*, 2020).

Además, del total de PTAR existentes, aproximadamente solo el 65% se encuentran en funcionamiento (Nuñez-García *et al.*, 2023), el resto permanecen abandonadas o trabajan en condiciones precarias debido a los altos costos de mantenimiento, energía de bombeo y operación, así como a la escasez de personal capacitado (Zurita *et al.*, 2009).

Por otro lado, la cantidad de PTAR por entidad federativa difiere significativamente respecto a la distribución de la población en el territorio. Por ejemplo, en los estados del norte del país, como Sinaloa (3 millones de habitantes), Coahuila (3.1 millones de habitantes) y Zacatecas (1.6 millones de habitantes) se encuentran el mayor número de PTAR a nivel nacional, contando con 314, 27 y 52 PTAR, respectivamente (CONAGUA, 2022). En contraste, las entidades federativas con el mayor número de habitantes como el Estado de México (16.9 millones de habitantes), Ciudad de México (9.2 millones de habitantes) y Jalisco (8.3 millones de habitantes) (INEGI, 2020), tienen en operación 125, 30 y 130 PTAR, respectivamente (CONAGUA, 2022).

2.8.3 Tratamientos utilizados en el saneamiento de aguas residuales

Según datos de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), los tratamientos de aguas residuales que más se utilizan en México son el primario y el secundario (CONAGUA, 2022). El tratamiento primario se lleva a cabo en 212 PTAR, de las cuales el 67.9% son tanques sépticos y el 24.5% tanques Imhoff (CONAGUA, 2022). Ambos sistemas atienden a pequeñas comunidades (hasta 5,000 habitantes que cuentan con pocos servicios de alcantarillado) o instalaciones como edificios, condominios y hospitales. Sin embargo, aunque son útiles, estos procesos generan olores desagradables y no eliminan eficazmente la materia orgánica ni los microorganismos del efluente para su vertido, lo que supone un potencial foco de infección (Tabla-Vázquez *et al.*, 2020).

El tratamiento secundario se realiza en 2,562 PTAR, y se basa principalmente en sistemas de lagunas de estabilización de residuos (32.2%), y lodos activados (30.7%) (CONAGUA, 2022). Las lagunas de estabilización no sólo son la tecnología más utilizada en los procesos secundarios, sino que también lo son en el total de tratamientos utilizados en el país.

Respecto al tratamiento anaerobio, el 14.1% de las tecnologías utilizadas corresponde al manto anaeróbico de lodos de flujo ascendente (R.A.F.A). Por otra parte, los humedales representan el 8.9%. Otros procesos como filtros biológicos, reactores enzimáticos, lagunas aireadas y biodiscos, se encuentran entre los menos utilizados, en conjunto representan el 8.2% de las tecnologías disponibles (CONAGUA, 2022).

En cuanto al tratamiento terciario, hasta finales de 2019 únicamente existían 4 PTAR instaladas y en operación. No está especificado que tipo de procesos eran utilizados (CONAGUA, 2019). Sin embargo, desde 2020 y hasta la fecha, ya no se cuenta con ninguna planta especializada en este tipo de tratamiento en nuestro país (CONAGUA, 2022).

2.8.4 Ubicación de México en el contexto mundial del tratamiento de aguas residuales

En México, la eficiencia actual del tratamiento de aguas residuales es incierto. Todos los datos sobre los parámetros de calidad son parciales, probablemente debido a una falta de seguimiento estricto.

A pesar de contar con una infraestructura de PTAR municipales mayor que la de varios países de altos ingresos, como Reino Unido (1,856 PTAR), Japón (2,184 PTAR), Polonia (1,574 PTAR) y Canadá (1,265 PTAR), paradójicamente los sistemas mexicanos solo tratan alrededor del 30 o 40% del total de aguas residuales generadas (Mogollón, 2020; Tabla-Vázquez *et al.*, 2020). Las principales razones detrás de esta deficiencia incluyen los altos costos de instalación, operación y mantenimiento de las plantas de tratamiento, la falta de personal capacitado, y la ausencia de políticas públicas y regulaciones estrictas (Nuñez-García *et al.*, 2023).

La carencia de instalaciones de tratamiento terciario agrava la situación al impedir que mejore la calidad de agua tratada, lo que contribuye a la contaminación. Los efluentes secundarios ricos en nutrientes que no reciben un tratamiento más avanzado son la principal fuente de contaminación por nutrientes (Rout *et al.*, 2021).

El tratamiento de aguas residuales está fallando en todo el mundo (Casiano-Flores, 2023). Históricamente, los países de América Latina, incluido México, han priorizado la inversión en el abastecimiento de agua potable sobre el saneamiento de aguas residuales (. Tal situación se origina dado que únicamente la perciben como un desecho y no como una oportunidad para generar recursos con potencial para reinsertarse en el mercado (Nuñez-García *et al.*, 2023).

La gobernanza y los esquemas políticos juegan un papel crucial en estos desafíos. La falta de un marco institucional adecuado y la centralización del poder en organismos como CONAGUA han limitado la efectividad de las políticas de tratamiento de aguas residuales en México. Para mejorar la situación, se requiere una mayor participación y capacidad de los gobiernos con un enfoque contextualizado y que se adapte a las realidades locales (Casiano Flores, 2023).

3. Justificación

Múltiples factores interrelacionados, como la gestión inadecuada de los recursos naturales, el crecimiento demográfico, el aumento en la industrialización y el cambio climático han propiciado la contaminación sobreexplotación, y distribución inequitativa del agua a nivel mundial (Tabla-Vázquez *et al.*, 2020). Entre las principales consecuencias ambientales de esta crisis hídrica se encuentra la eutrofización (Wang *et al.*, 2023), un proceso causado por exceso de nutrientes, como el nitrógeno, que altera los ciclos biogeoquímicos y compromete el equilibrio de los ecosistemas.

En México, la disparidad entre la cantidad de aguas residuales generadas y el número de instalaciones de tratamiento existentes (Mogollón, 2020), sumada a la ausencia de normativas y políticas públicas que establezcan el tratamiento terciario como obligatorio, exacerban la eutrofización de los cuerpos de agua (Casiano-Flores, 2023).

Ante esta problemática, es imprescindible replantear los enfoques tradicionales de tratamiento de aguas residuales, sobre todo si consideramos el papel fundamental que los ecosistemas acuáticos desempeñan en la regulación del clima global, la provisión de agua potable, el saneamiento y el sustento de diversas actividades humanas, como la industria y el transporte (Häder *et al.*, 2020).

La tecnología basada en microalgas y cianobacterias para el tratamiento de aguas residuales surge como una propuesta innovadora que ofrece numerosas ventajas en comparación con los métodos físicos y químicos que se ocupan usualmente.

Considerando lo anterior, caracterizar el efecto del NH_4Cl sobre la actividad fotoquímica y el crecimiento de *A. maxima* es fundamental para obtener información valiosa sobre su tolerancia y capacidad de adaptación en sistemas con altas concentraciones de amonio. Dicho análisis permitirá evaluar la viabilidad de esta cianobacteria para ser utilizada en el tratamiento terciario de aguas residuales que contengan altas concentraciones de nitrógeno inorgánico en forma de amonio.

Los resultados de esta investigación pueden impulsar el desarrollo de estrategias biotecnológicas dirigidas a mejorar la gestión de aguas residuales en México, lo que a su vez propiciaría un manejo más efectivo de los recursos hídricos, contribuiría a la protección del medio ambiente y tendría un impacto positivo en la salud pública.

4. Hipótesis

La exposición de *A. maxima* a diferentes concentraciones de NH_4Cl afectará el metabolismo fotosintético y respiratorio, así como el crecimiento de esta cianobacteria.

5. Objetivos

5.1 General

Caracterizar el metabolismo fotosintético y evaluar el crecimiento de *A. maxima* cultivada en medio Zarrouk adicionado con NH_4Cl .

5.2 Particulares

1. Determinar la velocidad de crecimiento y la tasa de duplicación poblacional de *A. maxima* después de ser cultivada en medio Zarrouk adicionado con NH_4Cl .
2. Cuantificar y analizar el contenido de pigmentos fotosintéticos: clorofila *a* y carotenoides totales en *A. maxima* después de ser cultivada en medio Zarrouk adicionado con NH_4Cl .
3. Analizar el efecto del NH_4Cl en la actividad fotosintética y respiratoria de *A. maxima* mediante oximetría.
4. Caracterizar la actividad fotosintética por emisión de fluorescencia de *A. maxima* después de ser cultivada en medio Zarrouk adicionado con NH_4Cl como fuente de nitrógeno.

6. Materiales y métodos

6.1 Organismo

Se utilizó la cianobacteria *A. maxima*, aislada durante un muestreo de agua en un sitio cercano a la presa Nabor Carrillo, ubicado sobre la autopista Peñón-Texcoco. El sitio de muestreo se encuentra en las coordenadas geográficas 19. 464240° N, 99.018620° W, en el municipio de Texcoco, Estado de México.

6.2 Condiciones de crecimiento

Los cultivos semilla, así como los tratamientos experimentales, se cultivaron en medio Zarrouk (1966) cuya composición fue la siguiente (g. L^{-1}): Macroelementos: NaHCO_3 16.4; Na_2CO_3 1.03; K_2HPO_4 0.50; NaNO_3 2.50; KSO_4 1.0; NaCl 0.20; $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05; Microelementos: H_3BO_3 2.86; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.81; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22; $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.39; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.079; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.049; (mg. L^{-1} agua

destilada) VO SO₄5 H₂O 49.6; K₂Cr₂ (SO₄)₄ 2 H₂O 96.0; NiSO₄ 7 H₂O 47.8; Na₂WO₄ 2 H₂O 17.9; TiOSO₄ 33.3; Co (NO₃)₂ 6 H₂O 44.0.

Las células se mantuvieron en un régimen de cultivo en lote con las siguientes condiciones: temperatura de 30-35 °C, iluminación bajo luz blanca artificial con una intensidad lumínica de 250 $\mu\text{moles. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$, un fotoperiodo de 12 h luz/12 h oscuridad, y flujo de aire a 200 mL. m^{-1} . Como unidades experimentales de cultivo, se utilizaron botellas cilíndricas de plástico de 1.5 L con una trayectoria de luz (diámetro) de 8.7 cm y un volumen de trabajo de 1 L.

6.3 Diseño experimental

Cada unidad experimental de 1 L de volumen de trabajo se inoculó con un volumen de células suficientes para obtener una absorbancia de 0.2 unidades a 750 nm, equivalente a una concentración de 100 mg de peso seco por litro de medio Zarrouk. Posteriormente, se preparó la disolución stock de NH₄Cl equivalente a 5g de NH₄Cl por 100 mL de agua destilada. Las células se expusieron a las siguientes concentraciones de NH₄Cl: 100, 200, 300, 400, 500 mg. L⁻¹ manteniéndose en las condiciones de cultivo previamente descritas durante cinco días. Transcurrido el tiempo de exposición y cultivo, se determinaron las variables de respuesta.

6.4 Variables de respuesta

6.4.1 Medición del crecimiento

El crecimiento se determinó a través del peso seco. Se tomaron alícuotas de 50 mL de cultivo en el tiempo inicial (t_1) y 25 mL de cada tratamiento experimental en el tiempo final (t_2). Todas las muestras se filtraron al vacío utilizando filtros Whatman No.1, que previamente se llevaron a peso constante mediante el secado a 50 °C por 24 h para eliminar la humedad. Después del filtrado, la biomasa retenida en los filtros se secó a 50 °C por 48 h. Finalmente, se determinó el peso seco utilizando una balanza analítica (n=4).

La tasa de crecimiento relativo (μ) se calculó a partir de la diferencia entre los logaritmos naturales del peso seco final (X_2) y el peso seco inicial (X_1), dividida entre la diferencia del tiempo en horas de tiempo inicial (t_1) y tiempo final de cada tratamiento experimental (t_2) (Golterman, 1975):

$$\mu = (\ln X_2 - \ln X_1) / (t_2 - t_1)$$

La tasa de duplicación celular (T_d) se calculó dividiendo el logaritmo natural de 2 entre la tasa de crecimiento relativo (Golterman, 1975): $T_d = \ln(2) / \mu$

6.4.2 Análisis de pigmentos fotosintéticos: clorofila *a* y carotenoides

El contenido específico de clorofila *a* (Chl *a*) y carotenoides (Car) por biomasa seca se cuantificó tomando 1 mL de cada unidad experimental, la cual se mezcló con 5 mL de agua destilada en tubos Falcon de plástico. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante fue desechado y la pastilla de cada tubo se resuspendió en 3 mL de metanol al 100% con arena para garantizar la lisis celular, los cuales se agitaron vigorosamente utilizando un vortex durante 1 minuto.

La mezcla metanólica de cada tubo se incubó durante 10 min a 60 °C en baño maría; transcurrido este tiempo, las muestras se centrifugaron nuevamente a 3,000 rpm por 5 minutos a temperatura ambiente para recuperar el sobrenadante de cada tubo, el cual fue decantado en una probeta de 10 mL y aforado a 4 mL con metanol al 100%. Por último, se midió la absorbancia a 666 y 470 nm en un espectrofotómetro UV/VIS marca Perkin Elmer, modelo Lambda 25. El contenido específico de clorofila *a* y carotenoides se determinó utilizando las fórmulas de coeficiente de extinción reportadas por Herniques *et al.* en 2007:

$$\text{Clorofila } a \text{ } (\mu\text{g/mL}) = \text{ABS } 666\text{nm} * 15.65$$

$$\text{Carotenoides totales } (\mu\text{g/mL}) = [((1000 * \text{ABS } 470\text{nm})) - ((44.76 * \text{ABS } 666\text{nm}) / (222))]$$

6.4.3 Determinación de la actividad metabólica por oximetría

La determinación de la actividad metabólica se realizó con un oxímetro de la marca Oxygraph, Hansatech®, U.K a 30 °C mediante un baño de agua circulante. Transcurrido el tiempo de exposición al NH₄Cl, se tomó una muestra directa de 3 mL de células de *A. maxima* de cada tratamiento experimental, la cual se diluyó en 10 mL de medio Zarrouk ½, para después centrifugarse a 3,000 rpm por 1 minuto. El sobrenadante se eliminó y la pastilla se resuspendió en 2 mL de medio Zarrouk completo.

La tasa fotosintética se calculó como liberación de oxígeno y se obtuvo iluminando la muestra con luz blanca actínica (400-700 nm) durante 1 minuto, utilizando con flujo fotónico de 200 $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$, mientras que la tasa respiratoria se determinó como consumo de oxígeno inmediatamente después de haber transcurrido en tiempo de iluminación, apagando la luz por 1.5 min. La velocidad de producción de oxígeno se registró como una pendiente positiva, mientras que la velocidad de consumo de oxígeno se registró como una pendiente negativa. Estas pendientes se obtuvieron en un intervalo de tiempo de 10 minutos para cada tratamiento experimental (n=4). Una vez obtenidos los valores de las pendientes, se relacionaron con el volumen tomado y el contenido volumétrico de clorofila total para obtener los nanomoles de oxígeno por mg de clorofila total liberados o consumidos por 1 minuto (nmoles O₂/mgChl total. min).

6.4.4 Determinación de la actividad fotosintética por emisión fluorescencia de la clorofila *a* del fotosistema II: cinética rápida de fluorescencia y parámetros de la prueba OJIP

La emisión polifásica de la fluorescencia de la Chl *a* en el fotosistema II (PSII) de muestras acondicionadas a la oscuridad (n=4) se midió utilizando un fluorómetro portátil marca Handy-PEA, acoplado a la cámara para fase líquida HPEA/LPA (Hansatech ®, UK). Los parámetros medidos, así como su interpretación, se obtuvieron mediante el análisis de la prueba de OJIP (Van Heerden *et al.*, 2007; Stirbet *et al.*, 2020). A partir de las señales experimentales, se recabaron distintos valores de flujo de energía y productos cuánticos para el análisis del transporte electrónico en la cadena fotosintética (Tabla 1). La interpretación de estos datos se realizó con el programa Handy-PEA desarrollado por la compañía Hansatech ®, U.K.

Para el análisis, se realizaron diez diluciones ajustadas a una absorbancia de 0.5 a 750 nm y con un volumen de 2 mL por tratamiento experimental (n=4). Las muestras se dejaron 30 minutos en la oscuridad para provocar la oxidación de todos los componentes de la cadena transportadora de electrones fotosintética. Posteriormente, se irradiaron con luz roja saturante (660 nm, 3000 $\mu\text{moles. m}^{-2}\text{s}^{-1}$), y la emisión de fluorescencia se registró a través de un detector con filtro de corte para emisión a 685 nm. Los valores de la fluorescencia mínima (F_0 a los 50 μs), la fluorescencia máxima (F_m) y la fluorescencia variable ($F_v = F_m - F_0$) se registraron automáticamente por el fluorómetro. Los datos se interpretaron a través de diferentes parámetros (Tabla 1) según el análisis de la prueba de OJIP (Van Heerden *et al.*, 2007; Stirbet *et al.*, 2020).

Los datos registrados en el fluorómetro se procesaron con el programa PEA-Plus (Hansatech ®, U. K), y posteriormente se exportaron en un archivo de Excel con todos los parámetros calculados, así como con los valores de fluorescencia de la cinética, y también con una extensión “.han” para ser procesados en el programa BioLyzerHP3.

Los flujos de energía se calcularon utilizando los centros de reacción (RC), los cuales se miden a partir del inicio de la emisión de la fluorescencia en el tiempo cero. Esto implica tomar en cuenta la pendiente inicial de la cinética de la fluorescencia (M_0) y el valor de la fluorescencia variable a los 2 ms (V_j). Cuando estos flujos específicos son expresados considerando la velocidad inicial de la fluorescencia (M_0), el valor de la fluorescencia variable, y los valores de la fluorescencia variable ($F_v = F_0 - F_m$) y máxima (F_m), de acuerdo con el modelo de flujo de energía (Strasser y Strasser, 1995), se obtienen los productos cuánticos máximos y las probabilidades de transporte entre cada componente de la cadena transportadora de electrones:

ϕP_0 - Producto cuántico máximo de la fotoquímica primaria. $\phi P_0 = (1 - F_0/F_m)$.

Ψ_0 - Probabilidad de que un excitón atrapado mueva un electrón del fotosistema II (Q_A) a los acarreadores intermedios (Q_B -Citb₆/f-PC). $\Psi_0 = 1 [(F_j - F_0) / (F_m - F_0)]$

ϕE_0 - Producto cuántico máximo para la reducción de los acarreadores intermedios
 $\phi E_0 = (1 - F_0/F_m)$.

δRo - Probabilidad de que un excitón atrapado mueva un electrón después de los acarreadores intermedios (Q_B-Cit b₆/f-PC) a los finales PSI-Fd

$$\Psi_0 = 1 [(F_j - F_0) / (F_M - F_0)]$$

φEo - Producto cuántico máximo para la reducción de los acarreadores finales

$$\delta R_o = [1 - ((F_1 - F_0) / (F_M - F_0))] / [1 - ((F_j - F_0) / (F_M - F_0))]$$

φDIo - Producto máximo de disipación energética como calor φDIo = (1 - φPo)

Tabla 3. Parámetros y relaciones de flujo para el análisis de la fluorescencia

Parámetro	Abreviación	Fórmula
Parámetros técnicos		
Fluorescencia a 50 μm	F₀	_____
Fluorescencia máxima	F_M	_____
Fluorescencia variable	F_V	F _M - F ₀
Pendiente desde el origen de la fluorescencia	M₀	4*(F _{300μs} - F ₀) / (F _M - F ₀)
Fluorescencia variable a 2 ms	V_J	(F _J - F ₀) / (F _M - F ₀)
Fluorescencia variable a 20ms	V_I	(F _I - F ₀) / (F _M - F ₀)
Productos cuánticos y eficiencias		
Producto cuántico máximo de la fotoquímica primaria	φPo	TR _o /ABS = (F _M - F ₀) / F _M
Eficiencia para que un excitón atrapado en Q _A mueva un electrón hacia Q _B	Ψ₀	ET _o /TR _o = 1 - V _J
Producto cuántico máximo para el transporte de electrones del PSII hacia acarreadores intermedios	φEo	φPo*Ψ ₀
Eficiencia para el transporte electrónico desde los acarreadores intermedios a los finales en PSI	δRo	(1 - V _I) / (1 - V _J)
Producto cuántico máximo para el transporte de electrones desde PSII hasta los acarreadores finales en PSI	φRo	1 - (F ₀ /F _M)
Índices vitales		
Índice de rendimiento total	PI_{total}	= [RC/ABS] [φPo/(1 - φPo)] [Ψ ₀ /1 - Ψ ₀] [δRo/1 - δRo]
Número de centros de reacción activos de PSII	RC/ABS	= (1 - F ₀ /F _M) / (M ₀ /V _J)
Fracción de complejos liberadores de oxígeno	CLO	= [1 - (V _K /V _J)] _{experimental} / [1 - (V _K /V _J)] _{testigo}

6.5 Análisis estadístico

Las variables de respuesta se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) unifactorial y las pruebas de Tukey para conocer las diferencias estadísticamente significativas utilizando el paquete estadístico SAS®.

7. Resultados y discusión

7.1 Crecimiento

La Fig. 4, muestra el efecto del NH_4Cl en el crecimiento de *A. maxima* a los 5 días de exposición. Como se puede observar, hay una tendencia al incremento en valor medio del crecimiento expresado en g.PS. L^{-1} , sin diferencias significativas respecto al control en la concentración de 100 mg. L^{-1} . Sin embargo, a partir de 200 mg. L^{-1} el valor medio del crecimiento comienza a disminuir sin diferencias significativas hasta 300 mg. L^{-1} . Las diferencias significativas ($p < 0.05$) se encontraron a partir de 400 mg. L^{-1} , en donde el crecimiento disminuyó 16.66%, mientras que en la máxima concentración probada de NH_4Cl , disminuyó 33.55%,

A. maxima tiene la capacidad de crecer en condiciones autotróficas, heterotróficas y mixotróficas. Las condiciones autotróficas utilizadas en este experimento establecen que el crecimiento depende exclusivamente de la actividad fotosintética. El CO_2 en cada una de las unidades experimentales fue suplementando a través del flujo la aeración continua (200 mL/minuto). Además, se agregaron 16 g. L^{-1} de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) en el medio de cultivo.

En este sentido, *A. maxima* utiliza el CO_2 , que proviene de la reacción química del NaHCO_3 , como fuente de carbono, y lo incorpora a moléculas orgánicas para formar azúcares y con ello generar biomasa. Las células absorben energía luminosa, la transforman en energía química, y luego la utilizan para fijar el CO_2 suplementado en el medio de cultivo

Marquez *et al.* en 1993 y Vonshak *et al.* en el 2000, mencionan que el crecimiento de *A. platensis* es resultado de la combinación del crecimiento fotoautótrofo por la actividad fotosintética en la fase fotoquímica, y la actividad respiratoria heterótrofa dependiente del carbono orgánico en la fase biosintética, lo cual está directamente relacionado con la concentración de pigmentos fotosintéticos (Prabhath *et al.*, 2022).

El NaHCO_3 es incorporado al interior de la célula a través de un transportador específico para que la enzima anhidrasa carbónica (EC 4.2.1.1) descomponga el bicarbonato (HCO_3^-) en $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (Supuran, 2016). Cuando el NaHCO_3 ingresa a la célula, el ion sodio (Na^+) se disocia y queda en el medio intracelular como parte del equilibrio iónico de la célula.

Una molécula de CO₂ resultante se combina con una de ribulosa-1,5-disfosfato (RuBP). Este paso produce un compuesto de seis carbonos altamente inestable que se divide casi de inmediato en dos moléculas de 3- fosfoglicerato (3-PGA) mediante la acción de la enzima Ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCo-EC 4.1.1.39). Las moléculas de 3-PGA se convierten en gliceraldehído-3-fosfato (G3P) a través de una serie de reacciones que utilizan el ATP y el NADPH producidos en la fase fotoquímica de la fotosíntesis.

Parte del G3P sintetizado se emplea para dar origen a carbohidratos complejos, como la glucosa, y otras biomoléculas necesarias para la formación de nuevas células, mientras que el resto se reutiliza para generar RuBP, que es la molécula aceptora del CO₂ en la etapa inicial.

Esta serie de reacciones constituyen el Ciclo de Calvin-Benson. Una de las funciones más importantes de este proceso es el almacenamiento de energía en los carbohidratos, la cual utilizan para aumentar biomasa, que se refleja como crecimiento (Fig. 4) (Stirbet *et al.*, 2020).

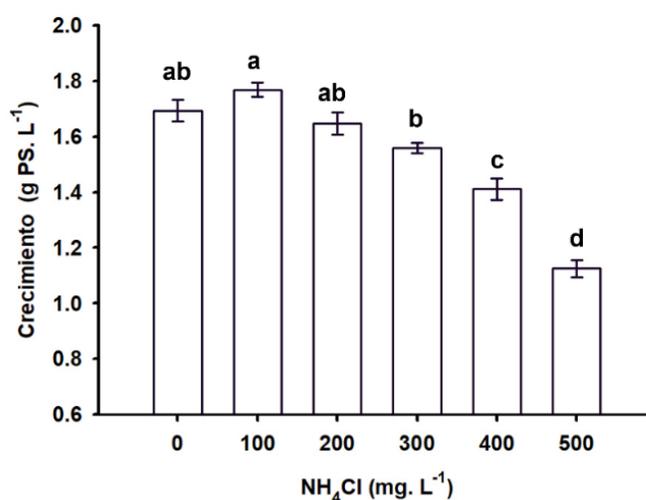


Figura 4. Efecto de las concentraciones de NH₄Cl (mg. L⁻¹) sobre el crecimiento de *A. maxima* a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ (n=4).

El efecto del NH₄Cl en la tasa de crecimiento relativo se muestra en la Fig. 5. Este parámetro representa el incremento de biomasa por unidad de masa (g) a las 120h de exposición de *A. maxima* a las diferentes concentraciones de NH₄Cl. Como se puede observar, *A. maxima* es capaz de crecer sin tener un cambio significativo en el valor medio de la tasa de crecimiento relativo respecto al control en el intervalo de 100 a 300 mg. L⁻¹ de NH₄Cl. No obstante, a partir de 400 mg. L⁻¹ hay una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en el valor medio de la tasa de crecimiento respecto al control de 9.2%, mientras que para 500 mg. L⁻¹ la velocidad de crecimiento disminuye 20.85% ($p < 0.05$) respecto al control.

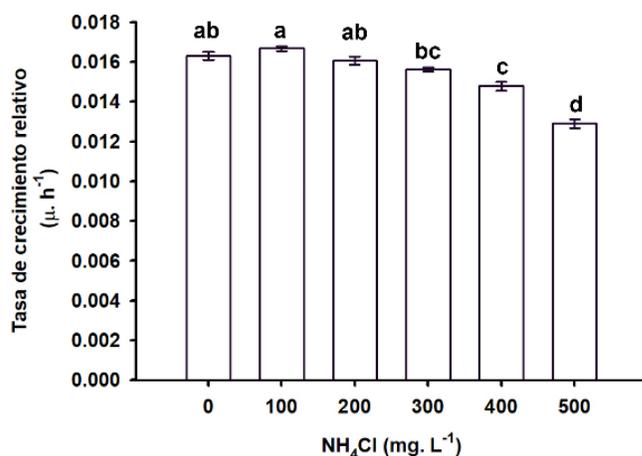


Figura 5. Efecto de las concentraciones de NH₄Cl (mg. L⁻¹) sobre la tasa de crecimiento relativo (μ) de *A. maxima* a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ (n=4).

Así mismo, el efecto negativo del NH₄Cl se manifiesta en un aumento significativo ($p < 0.05$) en el valor medio del tiempo de duplicación poblacional (Fig. 6) a partir de 400 mg. L⁻¹, de 10.30%, mientras que en 500 mg. L⁻¹ el valor promedio del tiempo de duplicación poblacional aumentó significativamente 26.48% respecto a control. En el intervalo de 100 a 300 mg. L⁻¹ de NH₄Cl, el valor medio del tiempo de duplicación poblacional no tuvo un cambio significativo respecto al control.

El valor medio de duplicación en las muestras control fue de 42.5 horas, mientras que a 400 mg. L⁻¹ de NH₄Cl, aumentó a 46.9 horas, es decir un incremento de 4.38 horas equivalente al 10.3% con respecto al control, mientras que en 500 mg. L⁻¹ el valor promedio aumentó a 53.78 horas, es decir 11.26 horas, equivalente a un incremento del 26.48%.

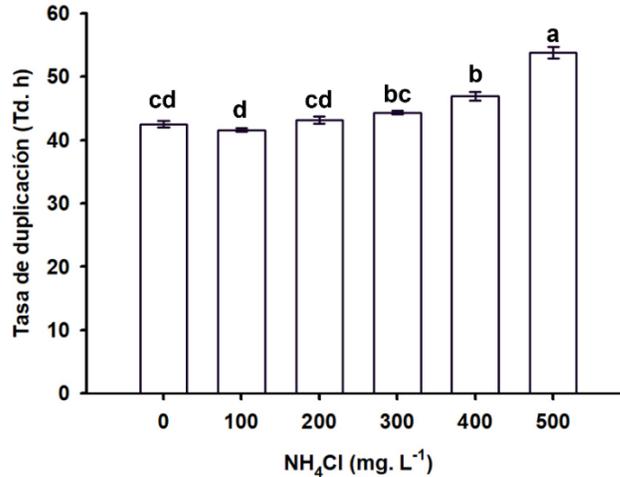


Figura 6. Efecto de las concentraciones de NH₄Cl (mg. L⁻¹) sobre la tasa de duplicación de *A. maxima* a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ (n=4).

Las respuestas fisiológicas y bioquímicas de cualquier organismo, incluidas las cianobacterias, están muy influenciadas por los parámetros fisicoquímicos y nutricionales de su entorno (Singh *et al.*, 2021). La biosíntesis de distintos metabolitos depende de la especie de cianobacteria y está influenciada por las condiciones impuestas en el medio de cultivo, como las desviaciones en los valores de salinidad, temperatura, disponibilidad de nitrógeno e intensidad lumínica (Gouveia *et al.*, 1996; Prabhath *et al.*, 2022).

Es importante mencionar que, en el presente estudio, no se eliminó el NO₃⁻ del medio de cultivo Zarrouk de ninguno de los tratamientos experimentales, por lo que ambas fuentes de nitrógeno inorgánico estuvieron disponibles para su asimilación. Agregar fuentes exógenas de nitrógeno ayuda a contrarrestar los efectos de ciertos tipos de estrés abiótico. Además, se tiene evidencia de que el uso de una fuente de nitrógeno en forma de NO₃ evita la deficiencia de este elemento en el medio de cultivo, mientras que el NH₄Cl reduce las demandas de este nutriente y mejora el crecimiento celular (Rodrigues *et al.*, 2010).

Sin embargo, la respuesta de las cianobacterias al NH₄⁺ es variable ya que, dependiendo de su disponibilidad en el medio de cultivo, el crecimiento puede incrementar o disminuir. Por esta razón, se categoriza como un nutriente paradójico (Britto y Kronzucker 2002).

Una revisión de la literatura sobre el efecto del NH₄⁺ en el crecimiento de la clase Cyanophyceae sugiere que la concentración media óptima de este ion es de 133.72 mg. L⁻¹, mientras que su tolerancia a niveles tóxicos alcanza hasta los 695.37 mg/L (Collos y Harrison, 2014). Esto se debe a que las cianobacterias son relativamente tolerantes a altas concentraciones de NH₄⁺ en comparación con algas eucariotas (Errat *et al.*, 2018).

Tan *et al.* en 2019, descubrieron que las tasas de crecimiento de *M. aeruginosa* y *Synechococcus sp.* fueron más rápidas cuando se cultivaron en NH_4Cl en comparación a las que se cultivaron en nitrato de sodio (NaNO_3), particularmente para *Synechococcus sp.*

Se ha demostrado que las cianobacterias prefieren utilizar el NH_4^+ como fuente de nitrógeno inorgánico (Dokulil y Teubner, 2000; Herrero *et al.*, 2001; Finlay *et al.*, 2010; Glibert *et al.*, 2016) debido a la baja demanda energética que representa su metabolización intracelular (Dugdale *et al.*, 2007; Paerl *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2018). Sin embargo, concentraciones elevadas inhiben su crecimiento, pues a una mayor disponibilidad funciona como un agente de señalización negativa, lo que ocasiona un efecto adverso en la absorción y asimilación de sí mismo (Britto y Kronzucker, 2002; Collos y Harrison, 2014; Dai *et al.*, 2012).

También, se ha demostrado que la cianobacteria *Synechocystis 6803*, puede crecer en concentraciones de hasta $1,250 \text{ mg NH}_4^+\text{-L}^{-1}$ en cuyo caso hubo una disminución en la tasa de crecimiento del 52%, mientras que para las concentraciones de 750 y 500 $\text{mg NH}_4^+\text{-L}^{-1}$, las tasas de crecimiento disminuyeron 18% y 4% respectivamente (Canizales *et al.*, 2021).

Este hallazgo coincide con los resultados obtenidos en la presente investigación, donde la concentración más alta de NH_4Cl aplicada fue de 500 mg. L^{-1} , bajo una intensidad lumínica de $250 \text{ } \mu\text{moles fotones. m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y utilizando botellas cilíndricas de 8.7 cm de diámetro. Los cambios tanto en la intensidad de luz como en su trayectoria ejercen un efecto sobre el grado de inhibición en el cultivo. Es importante señalar que la inhibición inducida por amonio puede incrementar con la intensidad de luz (Drath *et al.*, 2008).

La inhibición del crecimiento o incluso la muerte celular pueden producirse cuando se utilizan el NO_3^- y NH_4^+ como fuentes de nitrógeno a altas concentraciones, debido a la toxicidad del amonio (Carvalho *et al.*, 2004). De acuerdo con Canizales *et al.* en 2021, las altas concentraciones de nitrógeno inorgánico en forma de NH_4^+ pueden inhibir el crecimiento de *A. maxima*. ya que, cuando hay un exceso de este ion en la célula, es expulsado al medio externo creando periódicamente condiciones ácidas inadecuadas para el crecimiento (Mackerras y Smith, 1986; Sakamoto *et al.*, 1998).

7.2 Pigmentos fotosintéticos

Después de 5 días de crecimiento en presencia de NH_4Cl , se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de pigmentos fotosintéticos únicamente en la concentración de 500 mg. L^{-1} .

La Fig.7 muestra el efecto del NH_4Cl en contenido específico de Chl *a* (mg. g^{-1} PS). Como se puede observar, este parámetro no mostró cambios en el rango de concentraciones 100 - 400 mg. L^{-1} . Sin embargo, se notó una disminución significativa ($p < 0.05$), de 17.42% en comparación al control cuando se aplicaron 500 mg. L^{-1} de NH_4Cl .

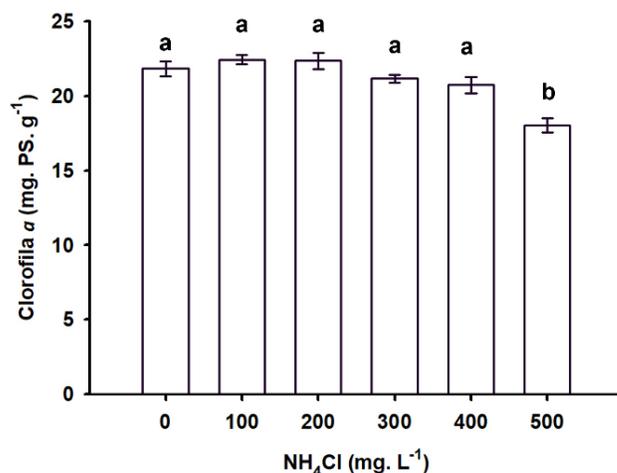


Figura 7. Efecto de las concentraciones de NH₄Cl (mg. L⁻¹) sobre la cantidad de Chl *a* por peso seco de *A. maxima* a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n = 4$).

El contenido específico de carotenoides totales (mg. g⁻¹ PS) se muestra en la Fig.8. El efecto del NH₄Cl en esta variable es similar al que se obtuvo en el contenido de Chl *a*. A los cinco días de exposición, el valor medio de este pigmento por biomasa seca permanece estable en el rango de concentraciones de 100 - 400 mg. L⁻¹, mientras que en la concentración de 500 mg. L⁻¹ disminuye significativamente ($p < 0.05$) 10.61% respecto al control.

Los resultados sobre efecto del NH₄Cl en el contenido celular de Chl *a* y carotenoides totales sugieren que su síntesis o incorporación en los sistemas recolectores de luz (ficobilisomas y complejos antena) de *A. maxima* únicamente se ve afectada por la máxima concentración de NH₄Cl probada.

Sin embargo, esta forma de nitrógeno es ligeramente más tóxica para el contenido de Chl *a* que para el contenido de carotenoides totales, lo cual nos indica que las rutas metabólicas de ambos pigmentos o su incorporación en los sistemas recolectores de luz son afectadas de manera distinta por el NH₄Cl.

La Chl *a* es el principal pigmento tetrapirrólico cíclico que contribuye a la fotosíntesis en cianobacterias, ya que está presente tanto en los complejos antena como en los RC de los PSII y PSI (Pandey *et al.*, 2022). Sus funciones principales incluyen la captura y transferencia lumínica. Un par especial participa en el primer evento de transferencia de electrones hacia los fotosistemas (Fujita y Yamakawa, 2017) y la separación de cargas dentro de los fotosistemas. (Sobotka, 2014). Su concentración rara vez cambia si se tienen condiciones lumínicas adecuadas que suplan el requerimiento fotónico (Luimstra *et al.*, 2019).

Por su parte, los Car son moléculas tetraterpenoides lipofílicas compuestas por una cadena hidrocarbonada de C40 formada por ocho unidades de isoprenoides y una serie de dobles enlaces conjugados (Hirschberg y Chamovitz, 1994 ;Pagels *et al.*, 2021) que desempeñan diversas funciones en la fotosíntesis, entre las que destacan la captación de luz, la protección contra el daño fotooxidativo (Prabhath *et al.*, 2022), y la estabilización y ensamblaje de complejos proteicos en la membrana tilacoidal (Domonkos *et al.*, 2013). No obstante, sus atribuciones más relevantes incluyen la capacidad para disipar el exceso de energía lumínica y combatir las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Pagels *et al.*, 2021; Pandey *et al.*, 2022)

Aunque la síntesis de Chl *a* y Car en cianobacterias ocurre en la membrana tilacoidal, ambos procesos siguen distintas rutas metabólicas. La formación de Chl *a* es un proceso altamente conservado y regulado que comienza con la producción de ácido 5-aminolevulínico (ALA), un precursor clave que se comparte en la fabricación de varios pigmentos tetrapirrólicos (Sobotka, 2014). El ALA se sintetiza mediante la vía C5 a partir del Glu (Fujita y Yamakawa, 2017). En contraste, los terpenoides, como los carotenoides, se sintetizan a partir de la vía del del metileritritol-fosfato (MEP), en la que el G3P y el piruvato (Pyr) producidos en la fotosíntesis se utilizan como sustratos (Pattanaik y Lindberg, 2015).

Para la formación del ALA, el Glu se reduce a glutamil-tRNA, seguido por su conversión a glutamato-1-semialdehído mediante la catálisis de la enzima glutamil- tRNA reductasa (HemA). Finalmente, el glutamato-1-semialdehído se transforma en ALA a través de una reacción de transaminación (Fujita y Yamakawa, 2017).

A partir del ALA, la ruta progresa en tres etapas principales: (1) la formación del uroporfirinógeno III (Urogen), (2) la conversión de esta molécula a protoporfirina IX (Proto), y (3) la incorporación de Mg en la protoporfirina IX para formar la base de clorofila (Mg-protoporfirina IX) (Yamatani *et al.*, 2022). En este último paso, más de 20 enzimas específicas como la Mg quelatasa (MgCh) y la protoclorofilida oxidoreductasa (LPOR) completan la síntesis de Chl *a* (Sobotka, 2014).

La vía del MEP comienza con la condensación de G3P y Pyr. Este paso inicial da lugar a una serie de reacciones enzimáticas dependientes de NADPH y ATP que forman de manera secuencial cinco intermediarios clave. Como resultado de este proceso, se forman los dos precursores isoprenoides fundamentales para la síntesis de terpenoides: el pirofosfato isopentenilo (IPP) y el pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP) (Domonkos *et al.*, 2013; Pattanaik y Lindberg, 2015). Posteriormente, IPP y DMAPP se combinan a través de reacciones de elongación de cadena para generar diferentes polímeros hasta formar pirofosfato de geranylgeranilo (GGPP) (Liang *et al.*, 2006). A partir de este punto, comienza la ruta biosintética compleja conocida como carotenogénesis, la cual está regulada por genes que codifican cuatro grupos de enzimas: sintasas, desaturasas, ciclasas e hidroxilasas (Pagels *et al.*, 2021).

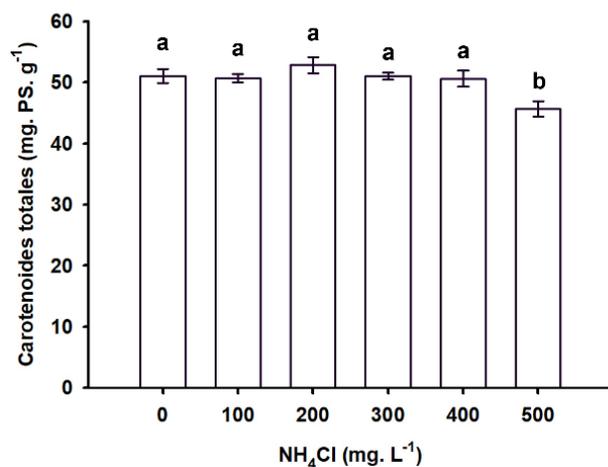


Figura 8. Efecto de las concentraciones de NH₄Cl (mg. L⁻¹) sobre la cantidad de carotenoides totales por peso seco de *A. maxima* a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ (n= 4).

Tanto la temperatura como el pH ejercen una gran influencia en el metabolismo de las cianobacterias afectando la absorción de nutrientes y la solubilidad del CO₂ en el medio de cultivo. Estos factores también pueden modificar la actividad enzimática y, en consecuencia, las vías metabólicas del organismo (Pagels *et al.*, 2021). Además, en plantas, algas y cianobacterias, el contenido de Chl *a* y Car varía considerablemente según las condiciones de crecimiento (Hirschberg y Chamovitz, 1994).

En una investigación realizada por Tian *et al.* en 2021, se observó una inhibición significativa en la densidad poblacional y en la síntesis de pigmentos de *Rhodospseudomonas palustris* con una concentración de NH₄-N de 6,000 mg. L⁻¹. Como resultado de estos hallazgos, se sugirió añadir como máxima concentración en el medio de cultivo hasta 1,000 mg. L⁻¹ de NH₄-N.

En otro estudio realizado por Wang *et al.* en 2014, donde probaron el efecto del NH₄⁺-N en el contenido de clorofila y Car de *Lemna minor*, los resultados mostraron que concentraciones entre 280 y 840 mg. L⁻¹ de NH₄⁺-N contribuyeron a una disminución significativa en el contenido de estos pigmentos.

Singh *et al.* en 2021, observaron que las concentraciones de NH₄Cl 53.49 mg. L⁻¹ y 267.45 mg. L⁻¹ resultaron tóxicas para *Anabaena* sp. HKAR-7, por lo que tuvieron un efecto negativo en el contenido de Chl *a*. En contraste, en el presente estudio *A. maxima* mostró tolerancia a concentraciones de 100-500 mg. L⁻¹. Esto puede atribuirse a la eficiencia en la utilización de nitrógeno o a la producción de pigmentos como la ficocianina, que puede tener un efecto protector frente al estrés oxidativo inducido por el exceso de amonio (Yao *et al.*, 2022).

Diversas investigaciones han demostrado que la reducción del contenido de Chl *a* en condiciones ambientales adversas puede estar asociada a tres factores principales: la sustitución del átomo de Mg, la inhibición de las enzimas responsables de su biosíntesis y el aumento de (ROS) (Chittora *et al.*, 2020).

La síntesis de Chl *a* es un proceso complejo que implica la coordinación de precursores tetrapirrólicos, cofactores y enzimas sensibles tanto al estrés oxidativo como a la alteración en el gradiente electroquímico. Dado que el nitrógeno es un componente fundamental de la molécula de clorofila, su disponibilidad desempeña un papel crucial en la síntesis de este pigmento. Rodrigues *et al.* en 2010 reportaron que el contenido de clorofila de la biomasa de *A. platensis* depende de la composición del medio, particularmente del tipo y cantidad de la fuente de nitrógeno disponible.

El exceso de NH₄Cl puede desencadenar alteraciones metabólicas al inducir estrés oxidativo y cambios en el pH intracelular, lo que genera un incremento en la demanda energética con el fin de reparar daños celulares y mantener o restablecer el gradiente electroquímico. Esto afecta la disponibilidad de intermediarios metabólicos necesarios para la síntesis de Glu y glicina (Gly), ambos compuestos clave en la vía tetrapirrólica.

Además, el NH₄Cl es capaz de interferir con la regulación enzimática y con la incorporación de Mg en la molécula de Chl *a*, ya que enzimas como la HemaA y la MgCh dependen de un pH intracelular óptimo para funcionar eficientemente (Rissler *et al.*, 2002).

La producción de ROS es una consecuencia inherente al transporte electrónico fotosintético y respiratorio (Robles-Rengel *et al.*, 2019). No obstante, el exceso de estas moléculas inestables tiende a dañar proteínas involucradas en la síntesis de clorofila o en su ensamblaje dentro de los ficobilisomas y los complejos antena (Chittora *et al.*, 2020).

La exposición a concentraciones elevadas de NH₄Cl representa un desafío fisiológico, ya que puede afectar procesos fundamentales como el transporte electrónico y el metabolismo del nitrógeno. Ambas alteraciones están relacionadas con el incremento en la generación de ROS.

Por un lado, la interconversión de NH₄⁺/NH₃ modifica los gradientes electroquímicos. Tal situación compromete el equilibrio energético y perturba la eficiencia en la transferencia de electrones. Un ejemplo es la reducción inadecuada del O₂ puede conducir la formación de ROS, como el anión superóxido (O₂⁻).

Por otro lado, el exceso de NH₄⁺ incrementa la actividad de enzimas que intervienen en el metabolismo del nitrógeno, como la GS y la Nar. La GS aumenta su actividad para intentar asimilar todo el NH₄⁺. Esta mayor demanda energética tiende a desestabilizar el funcionamiento óptimo de ambas cadenas transportadoras de electrones, lo cual promueve un desequilibrio redox que potencia la generación de ROS (Liu y von Wirén, 2017). A su vez, la Nar contribuye al estrés oxidativo al producir subproductos redox, incluidos ROS, durante su funcionamiento.

En las condiciones antes descritas, el sistema metabólico prioriza el uso de NADPH y ATP hacia la producción de antioxidantes, lo que limita su disponibilidad para la síntesis de pigmentos fotosintéticos y otras moléculas.

Esta redirección, sumada a la acumulación de mecanismos de estrés asociados afecta negativamente el crecimiento celular al disminuir la eficiencia metabólica y la capacidad biosintética. Como resultado, se ven comprometidos comprometiendo procesos fundamentales como la síntesis de pigmentos fotosintéticos, la fotosíntesis, la respiración celular y el ensamblaje de proteínas funcionales.

La diferencia en la disminución de las concentraciones de Chl *a* y Car (10.61% en Chl *a* y 17.42% en Car), se puede atribuir a sus vías de síntesis y funciones. En comparación con la Chl *a*, los Car se sintetizan a partir de la ruta del MEP, que es más directa y menos dependiente de la disponibilidad de nitrógeno. Además, los Car desempeñan una función clave como antioxidantes no enzimáticos. Esta propiedad le confiere mayor resistencia al daño oxidativo, lo que podría explicar su menor afectación bajo las mismas condiciones experimentales.

7.3 Análisis de la actividad metabólica a través del consumo y liberación de oxígeno en presencia de NH₄Cl

El efecto del NH₄Cl en la actividad respiratoria determinada por consumo de oxígeno se muestra en la Fig. 9.

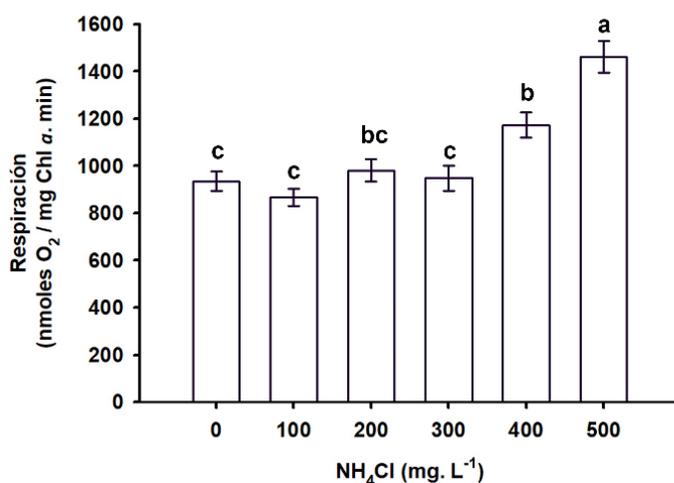


Figura 9. Efecto de las concentraciones de NH₄Cl (mg. L⁻¹) sobre el consumo de oxígeno (respiración) de *A. maxima* a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n = 4$).

Los resultados señalan que en el intervalo de 100 a 300 mg. L⁻¹, no se presentaron diferencias significativas en el valor medio del consumo de oxígeno respecto al control. La respiración

aumentó significativamente ($p < 0.05$) 25.31% y 56.37% en 400 y 500 mg. L⁻¹ respectivamente después de cinco días de exposición.

En cuanto al efecto del NH₄Cl en la actividad fotosintética determinada por liberación de oxígeno y representada en la Fig. 10 como producción de oxígeno entre unidad de Chl *a* y tiempo. Se observa un aumento progresivo ($p < 0.05$) en el valor medio correspondiente a la liberación de oxígeno a partir de la dosis de 400mg/L conforme incrementó la concentración de NH₄Cl en el medio de cultivo: 24.04% y 57.35% para 400 y 500 mg. L⁻¹ respectivamente. En contraste, para los tratamientos experimentales de 100, 200 y 300 mg. L⁻¹, no se encontró un cambio estadísticamente significativo en el valor medio de la liberación de oxígeno respecto al control después de cinco días de exposición.

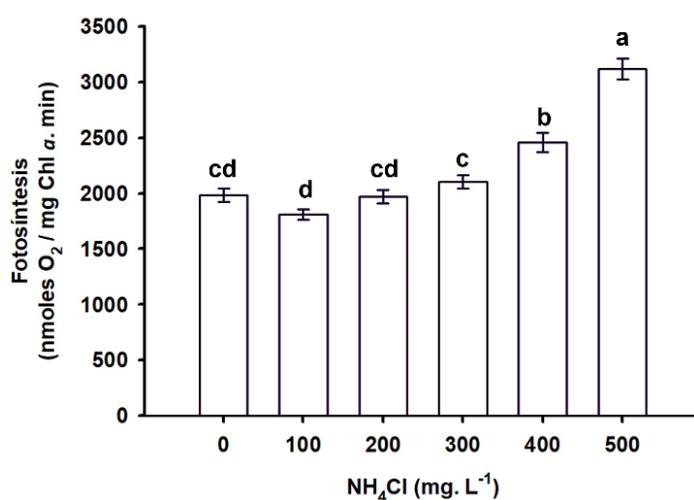


Figura 10. Efecto de las concentraciones de NH₄Cl (mg. L⁻¹) sobre la liberación de oxígeno (fotosíntesis) de *A. maxima* a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n = 4$).

A diferencia de los cloroplastos y las mitocondrias de las algas eucariotas, donde las cadenas transportadoras de electrones fotosintéticas y respiratorias se encuentran separadas por sus respectivos organelos, en cianobacterias como las del género *Arthrospira*, ambos procesos se realizan en su membrana interna, denominada membrana tilacoidal. Esta configuración permite que interactúen y compartan varios componentes (Fig. 11) como el acarreador plastoquinona (PQ), el complejo Cyt *b*₆/*f*, y transportadores solubles en el lumen tales como la plastocianina (PC) y el citocromo *c*₆ (Cyt *c*₆) (Vermaas, 2001; Stirbet *et al.*, 2019; Pandey *et al.*, 2024).

Por ende, las dos rutas metabólicas se ven afectadas si hay alteraciones en la membrana tilacoidal o en alguno de los transportadores electrónicos que comparten (Manoj *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2022).

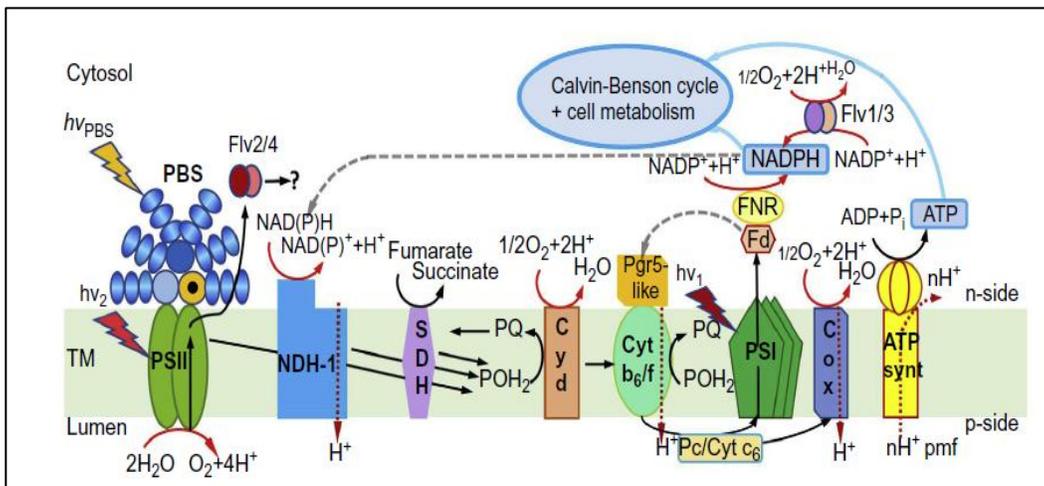


Figura 11. Diagrama esquemático del transporte electrónico fotosintético y respiratorio en la membrana tilacoidal de *A. maxima* (Adaptado de Stirbet *et al.*, 2019).

Los resultados de esta investigación referentes al consumo de oxígeno coinciden con lo obtenido por Dai *et al.* en 2008, donde encontraron un aumento significativo en la tasa respiratoria al exponer por 96 horas a *Nostoc* sp. a concentraciones de 267.45 mg. L⁻¹ y 534.91 mg. L⁻¹ de NH₄Cl. El aumento de la tasa fue de 246% y 384% respectivamente en esta cianobacteria. Resultados similares fueron descubiertos en el alga verde *Selenastrum minutum* (Turpin *et al.*, 1990; Mohanty *et al.*, 1991) y en la planta de cebada (Britto *et al.*, 2001; Kronzucker *et al.*, 2001), donde la asimilación de NH₄⁺ incrementó la respiración celular.

Con la finalidad de encontrar una explicación al incremento en la tasa respiratoria se presentan tres hipótesis: (1) La primera propone que el NH₃ se acumula internamente como NH₄⁺ y posteriormente se utiliza para acelerar la síntesis de aminoácidos, lo que aumenta el suministro de NADH₂, que es el sustrato para la actividad respiratoria (Post, 1993). (2) La segunda plantea que este fenómeno surgió para satisfacer el aumento en la demanda de esqueletos de carbono necesarios para la asimilación de NH₄⁺, la síntesis de aminoácidos y otros compuestos nitrogenados, y la eliminación del exceso de NH₄⁺. (Dai *et al.*, 2008). (3) La última hipótesis sugiere que la entrada de NH₃ a la membrana tilacoidal podría ser responsable del aumento en la tasa de consumo de O₂, al actuar como un agente desacoplante del potencial electro-protón motriz. Esto se debe a que la energía generada por el gradiente se utiliza en la conversión de NH₃ en NH₄⁺ (Post, 1993).

Post en 1993 demostró que las tasas de consumo de oxígeno por *Chlorella vulgaris* se estimularon al adicionar 534.91 mg. L⁻¹ en el medio de cultivo. Aparentemente, la creciente conversión de NH₄⁺ en NH₃ a pH más alcalino (pK 9.3) ocasionó una mayor actividad respiratoria. Las células pueden regular su pH interno cuando el medio externo es alcalino a través de una bomba de protones (H⁺) impulsada por una ATP synthase, la cual se ubica en

la membrana citoplasmática. Dicha bomba debe funcionar como un sistema antiporte. El principal candidato para este mecanismo es Na^+/H^+ , que crearía una configuración similar a la encontrada en *E. coli* (Schuldiner, 1993 y Padan), donde un antiportador Na^+/H^+ introduce dos protones (H^+) por cada Na^+ (Taglicht *et al.*, 1993). En tal configuración, la adición de NH_4^+ se acumula en el citoplasma provocando un colapso en el gradiente de pH. Como resultado, la actividad respiratoria se incrementa para restaurarlo (Post, 1993). Aparentemente, la creciente conversión de NH_4^+ en NH_3 a pH más alcalino (pK 9.3) ocasionó una mayor actividad respiratoria.

No obstante, de manera contrastante con los resultados obtenidos en esta investigación, la literatura consultada respecto al efecto del $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ en la liberación de oxígeno sugiere una disminución en la tasa fotosintética al agregar NH_4Cl en medio de cultivo.

Markou *et al.* en 2016, señalan que, en medios acuosos empleados para el cultivo de microalgas o cianobacterias, el amonio se encuentra en dos formas: el catión protonado (amonio) NH_4^+ y el gas NH_3 (amoniaco libre). El equilibrio entre ambas depende principalmente del pH de la disolución. En cultivos sin regulación de este parámetro, las variaciones de pH pueden ser rápidas, especialmente durante el día debido a la actividad fotosintética, que aumenta la alcalinidad del medio.

Lo anterior está relacionado con el pKa del sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ que es 9.25. Esto significa que a $\text{pH} < 9.25$ predomina el NH_4^+ , mientras que a $\text{pH} > 9.25$ es el NH_3 . Así, a un pH aproximadamente de 9, la toxicidad se atribuye al NH_3 , mientras que a un pH menor cualquier efecto tóxico se asocia con el NH_4^+ .

Entre el NH_4^+ y el NH_3 , este último se considera como el tipo de nitrógeno amoniacal más tóxico, y tiene un impacto directo en el aparato fotosintético. Una de las razones que explican su toxicidad es que se difunde pasivamente por la membrana celular y su tasa de absorción no puede ser regulada, lo que genera altas concentraciones intracelulares de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$. En contraste, el NH_4^+ no se difunde a través de la membrana celular y su tasa de absorción puede ser regulada por las células (Markou *et al.*, 2016).

Referente al mecanismo de toxicidad del sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ sobre el metabolismo fotosintético, se identifican dos principales formas de acción: 1) el NH_3 afecta al complejo liberador de oxígeno (CLO) del PSII cuando se une competitivamente como un análogo estructural del agua. Esta interacción provoca que un ligando de agua sea desplazado del complejo $\text{Mn}_4\text{O}_5\text{Ca}$ por el NH_3 , lo cual reduce la tasa de oxidación del agua e interfiere con la formación de O_2 (Pérez *et al.*, 2013; Oyala *et al.*, 2015); 2) el NH_3 se difunde a través de la membrana al interior del tilacoide, y afecta el componente ΔpH perteneciente a la fuerza protón-motriz (*pmf*) (Markou *et al.*, 2016).

La *pmf* es un gradiente electroquímico que acopla las reacciones del transporte electrónico con la síntesis de ATP. Está constituida por dos componentes, uno es el gradiente de protones (ΔpH), y el otro es el potencial eléctrico ($\Delta\Psi$). Este último se produce por la acumulación de cargas positivas resultado la entrada de protones (H^+) y la salida de iones negativos del lumen

del tilacoide (Markou *et al.*, 2016; Lyu y Lazár, 2017; Stirbet *et al.*, 2020; Nikkanen *et al.*, 2021).

En cianobacterias, el ΔpH de la membrana tilacoidal se genera mediante tres mecanismos principales: 1) la fotólisis del agua, 2) el bombeo de protones (H^+) durante el transporte electrónico a través del complejo Cyt b_6/f , específicamente en el Ciclo Q, donde los electrones se transfieren desde el plastoquinol (PQH_2) hacia el Cyt b_6/f , y 3) el bombeo de protones (H^+) que realiza el complejo NDH-1 y la citocromo c oxidasa (Cox) (Lyu y Lazár, 2017; Nikkanen *et al.*, 2021).

Adicionalmente, el consumo de protones (H^+) en el citoplasma provocado por procesos como el ciclo de Mehler y el consumo respiratorio de O_2 por oxidasas terminales respiratorias (RTO), contribuyen a la formación de ΔpH (Nikkanen *et al.*, 2021). Sin embargo, el ciclo de Mehler está estrechamente relacionado con la generación de ROS (Latifi *et al.*, 2009).

La Fig. 12. ilustra el proceso de desacoplamiento metabólico. En esta investigación, las cianobacterias se cultivaron en medio Zarrouk durante 120 h sin control de pH, lo que ocasionó que este parámetro alcanzara valores de hasta 9.85. De acuerdo con el pK_a del sistema NH_4/NH_3 , el NH_4^+ se transformó en NH_3 al ser agregado al medio Zarrouk bajo las condiciones antes mencionadas y probablemente se difundió libremente hacia el citoplasma celular. Posteriormente, en respuesta a un pH citoplasmático de entre 7 y 8, parte de ese NH_3 se convirtió nuevamente en NH_4^+ , mientras que el NH_3 restante atravesó sin restricciones la membrana tilacoidal (Belkin y Boussiba, 1991; Markou *et al.*, 2016).

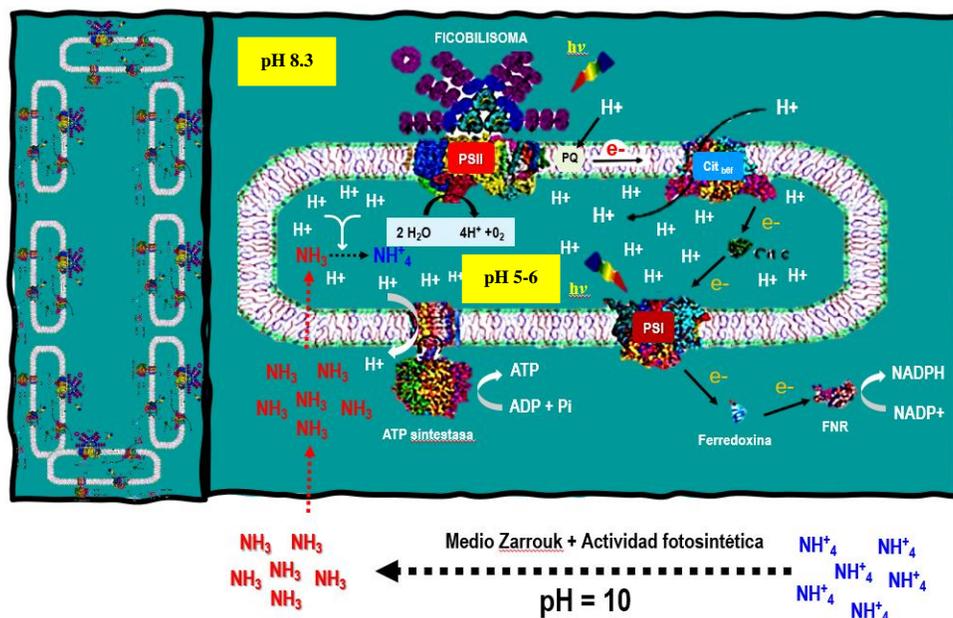


Figura 12. Representación gráfica de un tricoma de *A. maxima* que ilustra el desacoplamiento del ΔpH en el lumen tilacoidal, provocado por la conversión del NH_4^+ en NH_3 debido a variaciones del pH dentro y fuera de la célula.

Una vez que el NH_3 ingresó al lumen del tilacoide, donde el pH es ácido debido a las condiciones de iluminación (valores entre 5 y 6, según Belkin y Boussiba, 1991), se transformó de nuevo en NH_4^+ . Esta conversión consume el gradiente electroquímico de protones generado por el transporte electrónico, lo que ocasionó una disminución en la síntesis de ATP (Markou *et al.*, 2016). En respuesta a la reducción del ΔpH , la *pmf*, se vio afectada, por lo que la velocidad del transporte electrónico incrementó para compensar la deficiencia de protones (H^+) y restituir la síntesis de ATP.

El efecto del NH_4Cl encontrado en nuestra investigación, repercutió negativamente en el crecimiento a partir de 400 mg. L^{-1} , pues se observó una reducción estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en el valor medio de este parámetro en 400 y 500 mg. L^{-1} , comparado con el control (Fig. 4). En contraste, la actividad fotosintética se incrementó ($p < 0.05$) a estas mismas concentraciones (Fig. 9).

Para establecer una correlación entre el crecimiento, medido por peso seco y la actividad fotosintética, medida por liberación de oxígeno, se elaboró un análisis de regresión lineal. Los resultados revelaron una correlación lineal negativa significativa, con un coeficiente de determinación (R^2) de 0.983. Este hallazgo confirma que el efecto del NH_4Cl en la actividad fotosintética está relacionado con el desacoplamiento del ΔpH .

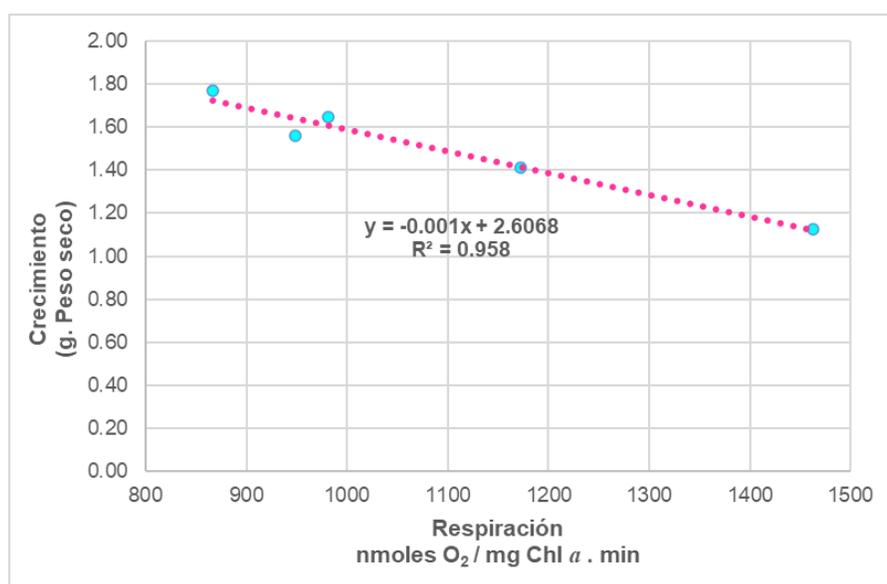


Figura 13. Relación entre el crecimiento y la estimulación de la liberación de oxígeno fotosintético en *A. maxima* creciendo en presencia de NH_4Cl .

Asimismo, se observó que conforme aumentó la concentración del NH_4Cl en los tratamientos experimentales, la actividad respiratoria incrementó ($p < 0.05$) en 400 y 500 mg. L^{-1} . Para establecer una correlación entre el crecimiento, medido por peso seco y la actividad respiratoria, medida por consumo de oxígeno, se elaboró un análisis de regresión lineal. Los

resultados mostraron una correlación lineal negativa significativa, con un R^2 de 0.958, lo que sugiere que el incremento en la actividad respiratoria podría ser una respuesta celular utilizada para contrarrestar el desacoplamiento del ΔpH necesario para la síntesis de ATP.

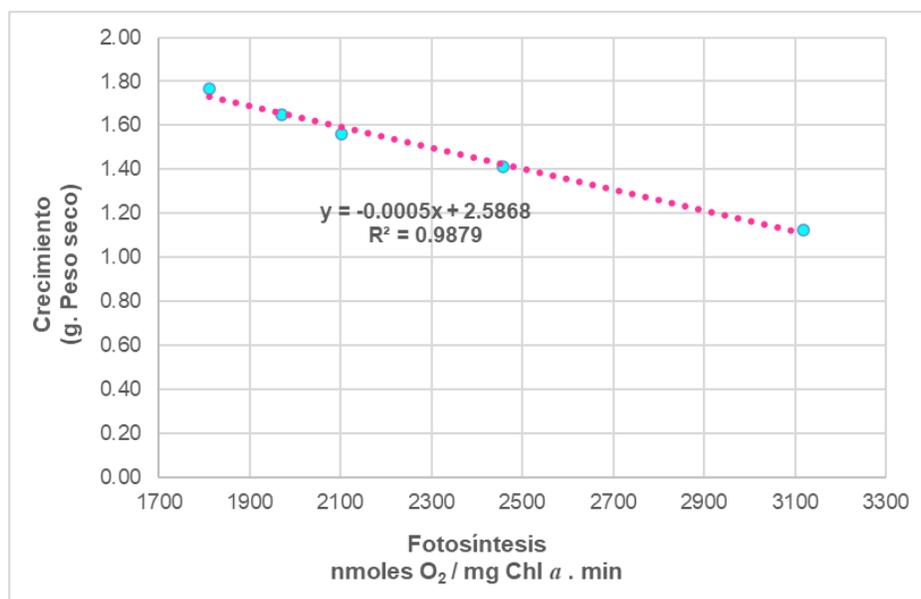


Figura 14. Relación entre el crecimiento y la estimulación del consumo de oxígeno fotosintético en *A. maxima* creciendo en presencia de NH_4Cl .

La exposición a NH_4Cl en concentraciones de 400 a 500 mg. L^{-1} aceleró tanto la respiración como la fotosíntesis en *A. maxima*. Este fenómeno se atribuye a que, en las cianobacterias, ambos procesos ocurren en la membrana tilacoidal, por lo que se afectan simultáneamente cuando existe algún tipo de daño en el aparato fotosintético, en la membrana del tilacoide o en el ΔpH que se formó por el transporte electrónico (Fig. 12).

Para corroborar lo anterior, se realizó un análisis de regresión lineal entre la actividad fotosintética y la actividad respiratoria (Fig. 15), encontrándose una correlación positiva con un R^2 de 0.981. Esto sugiere que la exposición a NH_4Cl acelera ambos procesos metabólicos de manera similar, y apoya la premisa de que el consumo de protones (H^+) provocado por la conversión de NH_3 en NH_4^+ en el lumen del tilacoide, tiene un efecto desacoplante que acelera la respiración y la fotosíntesis en un esfuerzo por restablecer el ΔpH necesario para la síntesis de ATP mediante la fotofosforilación y la fosforilación oxidativa. No obstante, este incremento en la actividad metabólica no se ve reflejando en un aumento de la biomasa.

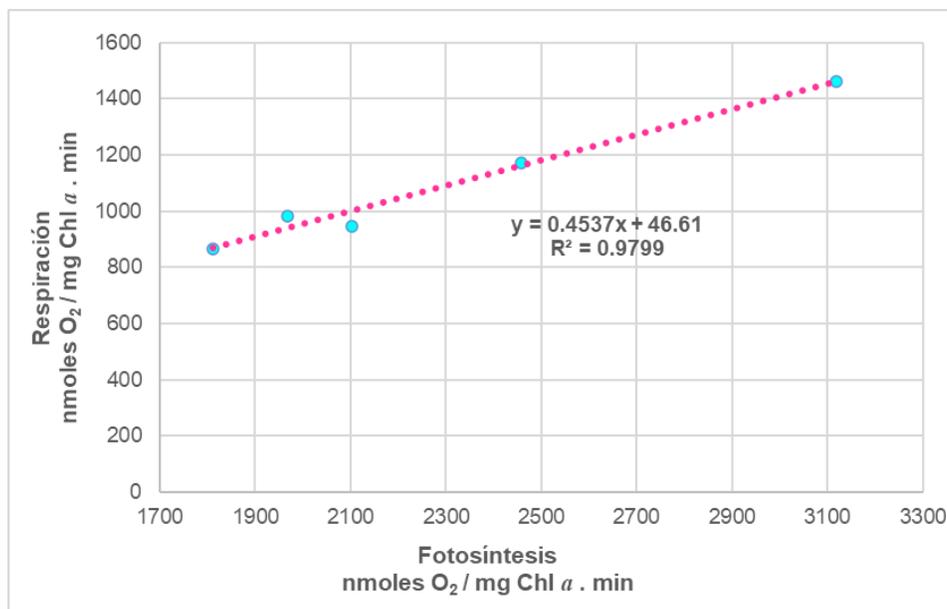


Figura 15. Relación entre la tasa de consumo de oxígeno respiratorio y la tasa de liberación de oxígeno fotosintético en *A. maxima* creciendo en presencia de NH_4Cl .

Las condiciones de cultivo autotrófico utilizadas en esta investigación garantizaron que el crecimiento sería óptimo siempre y cuando la actividad fotosintética fuera eficiente, pues el incremento de la biomasa celular dependió exclusivamente de este proceso metabólico.

La disminución en la síntesis de ATP tiene repercusiones directas en el ciclo de Calvin-Benson, pues la fijación de una molécula CO_2 requiere 3 ATP y 2 NADPH (Bhatla y Lal, 2023). La reducción de la fijación de CO_2 , conlleva a una disminución en la producción de carbohidratos, lo cual a su vez reduce la disponibilidad de sustratos oxidables para la respiración, y, por ende, afecta el crecimiento (Fig. 4).

Además, incluso con la presencia de sustratos oxidables disponibles para la respiración, la deficiencia en la formación correcta del ΔpH necesario para la fosforilación oxidativa ocasiona una falta de ATP, impidiendo el correcto desempeño de las funciones celulares. Esta observación coincide con la disminución del crecimiento registrada en las mismas concentraciones de NH_4Cl donde se observó una aceleración de la respiración. Se asume que dicha aceleración es el resultado del desacoplamiento del ΔpH que se requiere para la síntesis de ATP (Fig. 4).

La caracterización del efecto del NH_4Cl en la actividad fotosintética de *A. maxima* se realizó utilizando la liberación de oxígeno fotosintético y el crecimiento determinado por biomasa seca, como indicadores principales de este proceso metabólico. No obstante, esta producción de oxígeno fotosintético es un proceso que está directamente relacionado con la absorción de la energía electromagnética y el transporte electrónico en la membrana tilacoidal, por lo cual esta actividad puede ser monitoreada a través de la emisión de la fluorescencia de la Chl *a* del PSII.

7.4 Análisis de la actividad fotosintética por emisión polifásica de la fluorescencia de la clorofila *a* del PSII: cinética rápida de fluorescencia y parámetros de la prueba OJIP

Con el objetivo de evaluar el efecto del NH_4Cl sobre el transporte electrónico en la cadena fotosintética, se midió la emisión de fluorescencia de la Chl *a* del PSII en muestras pre acondicionadas a la oscuridad para observar la eficiencia del transporte electrónico y la reducción de la cadena transportadora de electrones.

En la Fig. 16, se muestra el promedio de las curvas polifásicas en escala de tiempo logarítmico frente a las unidades de fluorescencia de la Chl *a* del PSII obtenidas de células expuestas a NH_4Cl por cinco días. El incremento en emisión de fluorescencia de la Chl *a* es el reflejo del cierre (reducción) transitorio de los RC en el tiempo.

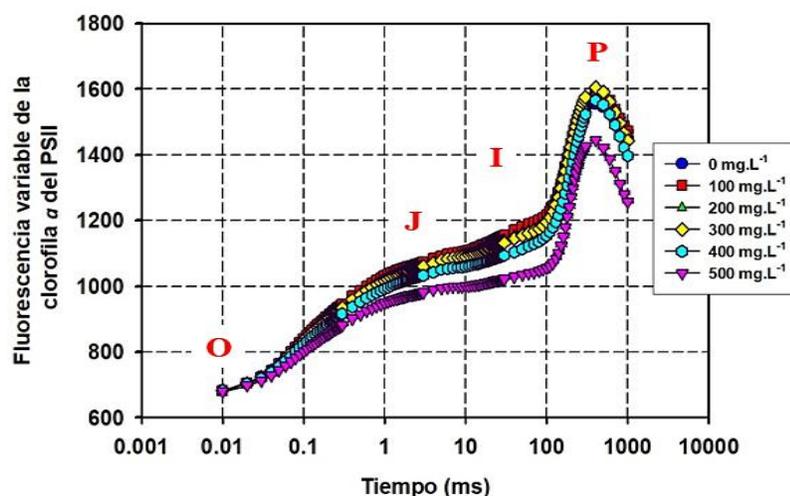


Figura 16. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) en la cinética de la fluorescencia variable de la Chl *a* del PSII a los cinco días de exposición. Se indica con letras el nombre de cada fase de acuerdo con el modelo desarrollado por Strasser y Strasser en 1995. Las curvas representan el promedio de diez mediciones para cada tratamiento experimental. El tiempo se encuentra graficado en escala logarítmica.

Como se puede observar en la Fig. 16, el valor de la fluorescencia variable en las diferentes fases OJIP según el modelo de Strasser y Strasser en 1995, se reduce ligeramente con el incremento de NH_4Cl en el medio de cultivo.

De ambas fases, el nivel de fluorescencia inicial o mínima (F_0) está relacionada con la fracción energética disipada por parte de la antena de manera basal, ya que esta se produce cuando los RC se encuentran abiertos en un momento tan breve que aceptan excitones sin que haya una limitante en esta dirección. En tanto, la fluorescencia máxima (F_m) representa la capacidad de los fotosistemas para la utilización de la energía, y se alcanza cuando el total de RC se cierran como resultado de la cantidad excesiva de energía que entra al sistema.

Uno de los principios básicos de la prueba OJIP es que la fluorescencia variable (que es el incremento observado entre la F_0 y la F_m) es equivalente a la reducción de la quinona a (Q_A) en el tiempo. En consecuencia, los valores intermedios para las fases J e I suelen evaluarse realizando normalizaciones entre los extremos (que corresponden a F_0 y F_m), donde se indica que la fluorescencia variable en J (V_j) muestra la proporción de Q_A que acepta electrones a los 2 ms respecto del total de Q_A que puede ser reducida en el punto máximo por el sistema.

Por lo tanto, con el propósito de caracterizar el efecto del NH_4Cl en cada fase de la cinética de la emisión de fluorescencia, y conocer la velocidad de reducción de la cadena, se hizo un ajuste matemático y las curvas fueron graficadas como la fluorescencia variable relativa a cualquier tiempo V_t de acuerdo con lo establecido en la Tabla 3 (Fig. 17). Esta expresión experimental se toma como medida de la fracción reducida del primer aceptor estable del PSII, que es Q_A .

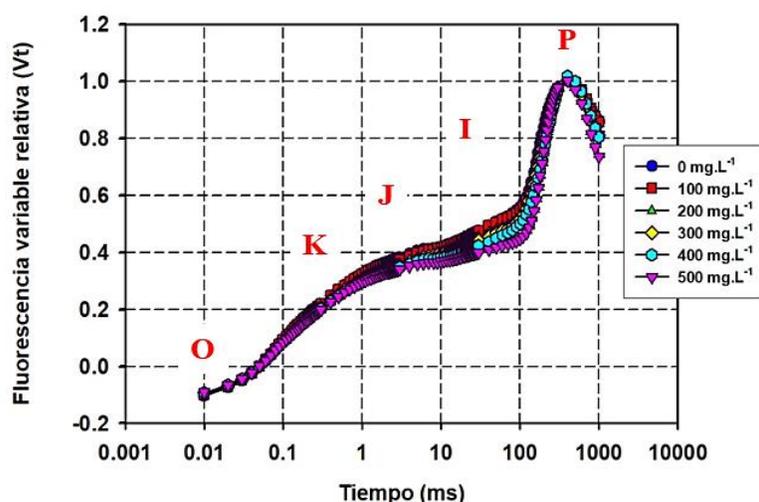


Figura 17. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl ($mg. L^{-1}$) en la fluorescencia variable relativa ($V_t = F_m - F_0 / F_t - F_0$) a los cinco días de exposición.

En este sentido, el gráfico permite la comparación de muestras considerando sólo la acumulación dinámica de Q_A en su forma reducida Q_A^- . Es decir, la fluorescencia variable relativa nos permite establecer cómo va cambiando la reducción de la cadena a través de toda la cinética de fluorescencia y con qué velocidad lo hace. En la Fig. 17 se observa que la velocidad de F_0 no cambia, respecto al incremento total.

Utilizando los valores de la fluorescencia variable (V) en las fases O, K, J, I y P, así como los valores de la fluorescencia variable relativa (V_t), la F_0 y la F_m , se calcularon los productos cuánticos máximos y las eficiencias para el transporte electrónico de *A. maxima* a los 5 días en presencia de NH_4Cl (Tabla 3), de acuerdo con el modelo del flujo de energía a través del PSII (Strasser y Strasser, 1995; Tsimilli-Michael y Strasser, 2008). Este análisis permitió observar el efecto del NH_4Cl en la cadena de transporte electrónico fotosintético.

La Fig. 18 muestra el efecto del NH_4Cl sobre el número de centros de reacción activos del PSII (RC/ABS). A una concentración de 200 mg L^{-1} , se observa un incremento significativo del 2.36% ($p < 0.05$) en RC/ABS. De manera contrastante, a la máxima concentración probada de NH_4Cl se registra una disminución significativa ($p < 0.05$) del 5.63% en este parámetro.

El resultado anterior sugiere que la fuente para el transporte de electrones, el PSII, incluyendo el complejo liberador de oxígeno (CLO), no presentan un daño estructural. Esta observación puede ser respaldada más adelante por los resultados obtenidos tanto en los productos cuánticos como en las eficiencias para el transporte electrónico en toda la cadena.

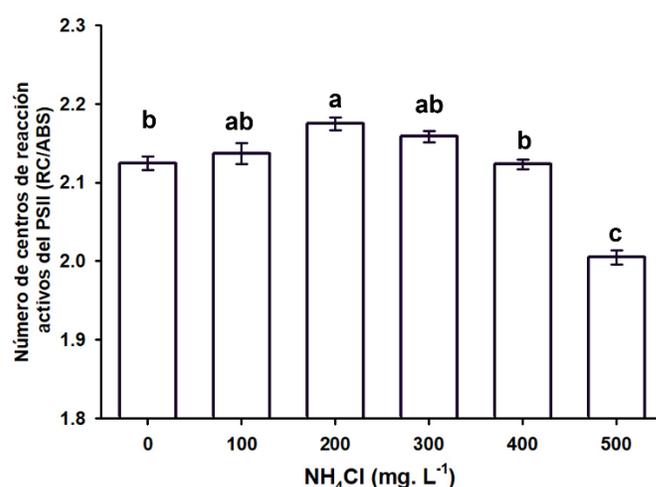


Figura 18. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre el número de RC activos del PSII a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n=4$).

Por otro lado, calculamos la fracción de complejos liberadores de oxígeno activos (CLO) (Fig. 19). Al observar la gráfica, no hay cambios estadísticamente significativos respecto al control en las concentraciones de 200, 400 y 500 mg. L^{-1} . En cuanto a 100 y 300 mg. L^{-1} , se encontró una disminución ($p < 0.05$) en el valor medio de la fracción de CLO respecto al control de 2.56% y 2.48% respectivamente. Por lo tanto, según los valores obtenidos por la técnica de fluorescencia de la prueba OJIP, se concluye que los CLO no están siendo afectados significativamente por la presencia de NH_4Cl .

Este resultado descarta el mecanismo de toxicidad del $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ mencionado anteriormente, donde el NH_3 afecta el CLO al actuar como un análogo estructural del agua y unirse competitivamente (Pérez *et al.*, 2013; Oyala *et al.*, 2015). Hay más elementos que indican que el mecanismo por el que la actividad fotosintética se vio incrementada fue por un desacoplamiento que afectó el ΔpH tilacoidal.

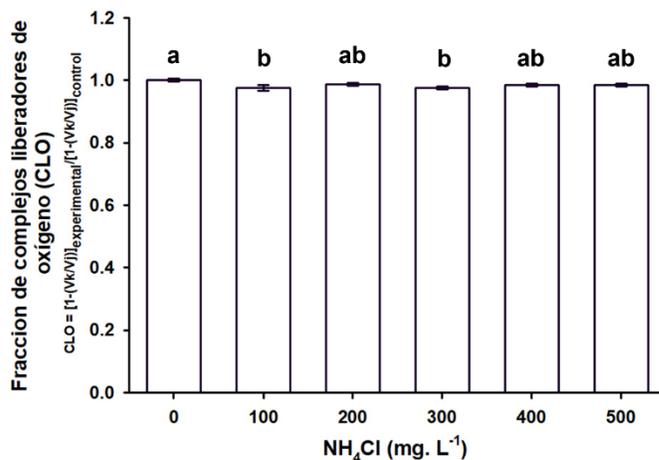


Figura 19. Efecto de las concentraciones de NH₄Cl (mg. L⁻¹) en la fracción de complejos liberadores de oxígeno (CLO) a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n=4$).

De acuerdo con el modelo de Strasser y Strasser en 1995, se calcularon los productos cuánticos máximos para el movimiento de electrones a partir de los complejos antena del PSII hacia Q_A. Se midió la transferencia de electrones desde el PSII hasta los acarreadores intermedios, así como su posterior transporte hacia los acarreadores finales. Además, se midieron las eficiencias para transportar electrones desde el lado donador del PSII hacia los acarreadores intermedios y desde estos hacia los acarreadores finales.

El transporte de electrones desde el RC hasta Q_A se refleja en el producto cuántico máximo potencial para la fotoquímica primaria del PSII (ϕP_o). Cabe mencionar que este movimiento se considera potencial porque no toda la energía disponible se ocupará para realizar trabajo.

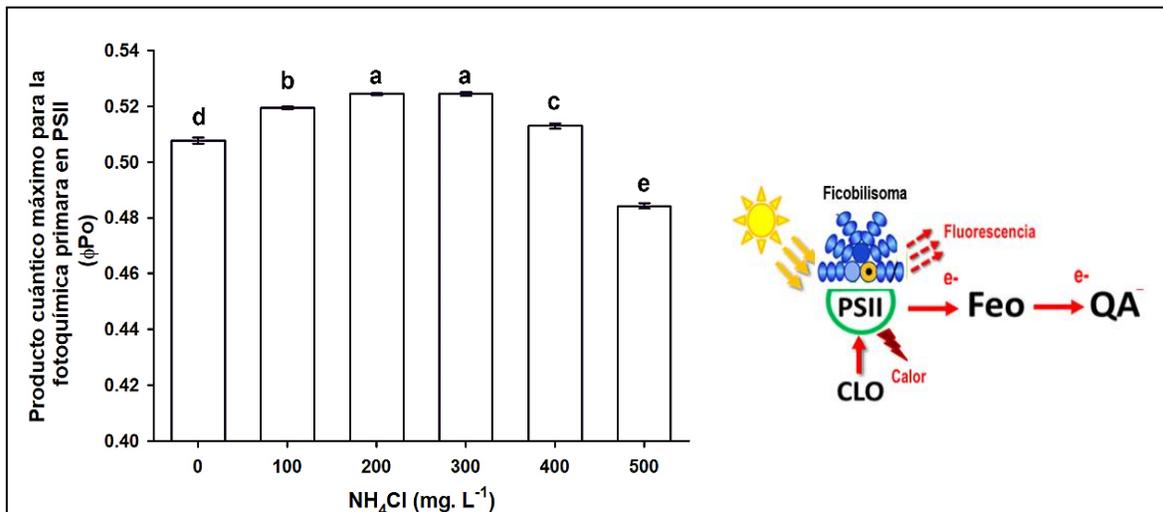


Figura 20. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre el producto cuántico máximo para la fotoquímica primaria del PSII (ϕPo) los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n=4$).

Como se muestra en la Fig. 20, conforme aumenta la concentración de NH_4Cl , el valor de ϕPo tiende a incrementar con variaciones significativas ($p < 0.05$) de 2.3%, 3.29%, 3.27% y 1.02% en las concentraciones de 100, 200, 300 y 400 mg. L^{-1} respectivamente. La diferencia en el valor medio de ϕPo entre las concentraciones de 200 y 300 mg. L^{-1} no es significativa según la prueba de Tukey ($p > 0.05$). Sin embargo, a partir de 400 mg. L^{-1} se observa una tendencia a disminuir hasta que en la concentración de 500 mg. L^{-1} se presenta una reducción significativa ($p < 0.05$) del 4.6% en el valor medio de ϕPo con respecto al grupo control.

La eficiencia con la que se mueve un electrón del PSII hacia los acarreadores intermedios (Ψ_0), tiene una tendencia a incrementar significativamente ($p < 0.05$) de manera gradual conforme aumenta la concentración de NH_4Cl (Fig. 21). En la concentración de 100 mg. L^{-1} aumenta 0.95%, mientras que en 200 y 300 mg. L^{-1} aumenta 3.25% y 3.95% respectivamente. No obstante, entre estas dos concentraciones se muestra un valor estadísticamente similar. Por último, en las concentraciones de 400 y 500 mg. L^{-1} , se observan diferencias significativas en el valor medio del movimiento electrónico de Q_A a Q_B respecto al control ($p < 0.05$), con aumentos del 5.10% y 5.80% respectivamente. Sin embargo, el valor de Ψ_0 entre estas dos concentraciones resulta estadísticamente similar.

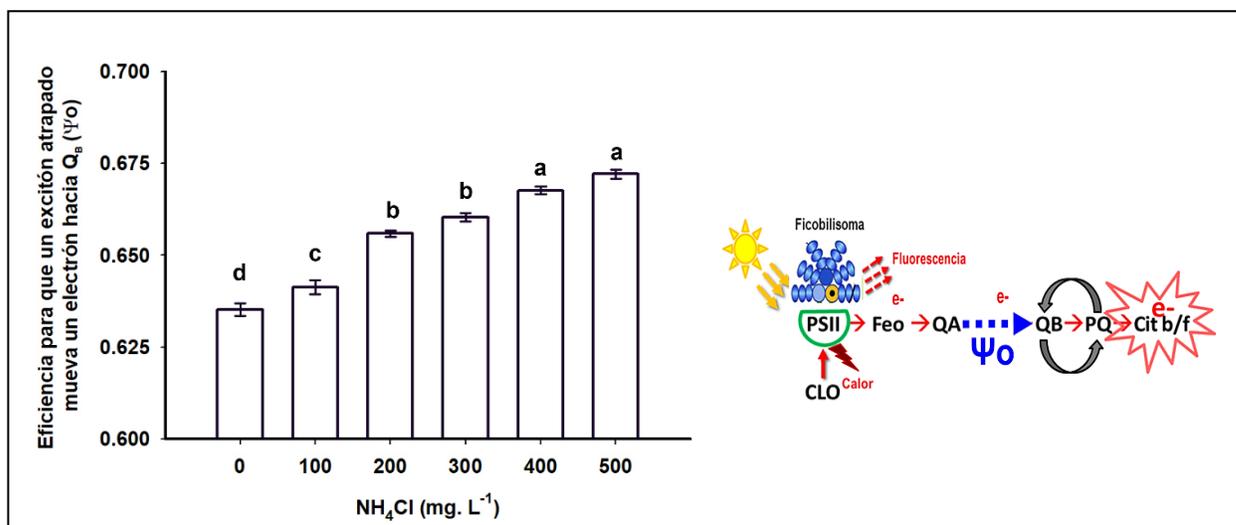


Figura 21. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre la eficiencia para que un fotón atrapado mueva un electrón después de Q_A (Ψ_o) a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n=4$).

La Fig. 22 muestra el producto cuántico máximo para la reducción de los aceptores intermedios (ϕ_{Eo}), que es la multiplicación entre el producto cuántico máximo para la fotoquímica primaria (ϕ_{Po}) y la probabilidad de que un electrón atrapado se mueva más allá de Q_A (Ψ_o). Este parámetro explica con qué capacidad potencial se mueven los electrones desde el PSII hacia los acarreadores intermedios (Cyt b_6/f) con base en la energía fotónica absorbida (ABS) (Tsimilli-Michael y Strasser, 2008).

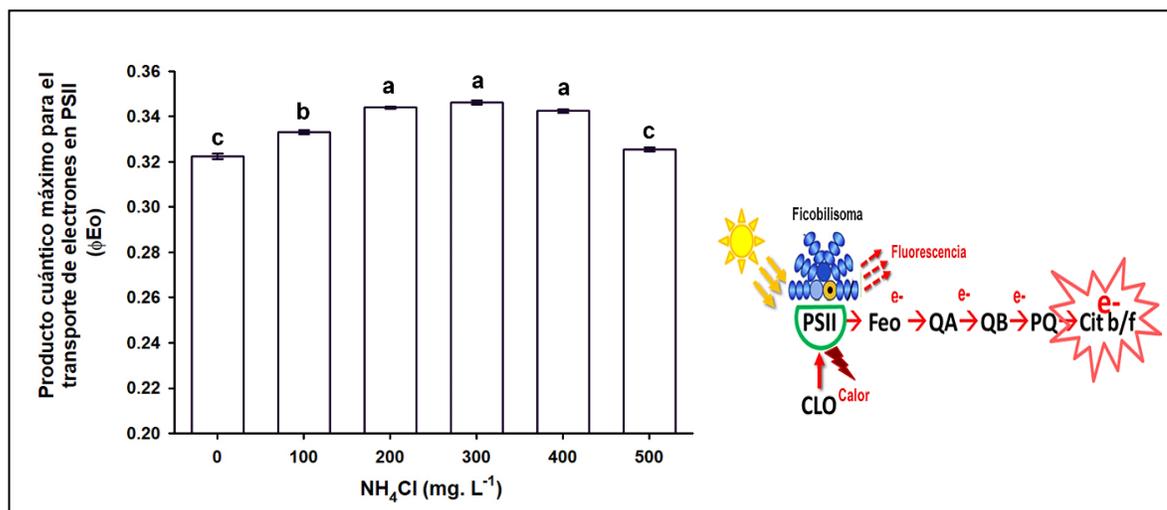


Figura 22. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) sobre el producto cuántico máximo para la reducción de los aceptores intermedios de la cadena (ϕ_{Eo}) a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n=4$).

Como se puede observar, el movimiento de electrones desde el PSII hasta los acarreadores intermedios tiene una tendencia a incrementar significativamente ($p < 0.05$) con respecto al control, en las concentraciones de 100 a 400 mg. L⁻¹ 3.27%, 6.65% 7.36% y 6.18% respectivamente. Es importante señalar que las concentraciones de 200 a 400 mg. L⁻¹ no presentan diferencias significativas entre sí. Sin embargo, en 500 mg. L⁻¹ el transporte electrónico del PSII al Cyt b₆/f disminuye hasta alcanzar un valor estadísticamente igual al control. Esto quiere decir que el NH₄Cl no afecta el movimiento de electrones desde el lado donador hasta el lado aceptor de PSII en la máxima concentración probada (Tsimilli-Michael y Strasser, 2008).

La eficiencia con la que un excitón transportado mueva un electrón desde los acarreadores intermedios, (Q_B- Cyt b₆/f -PC) hacia el PSI (δRo), iniciando por la PC, hasta el final de la cadena transportadora de electrones (Fd), se muestra en la Fig. 23.

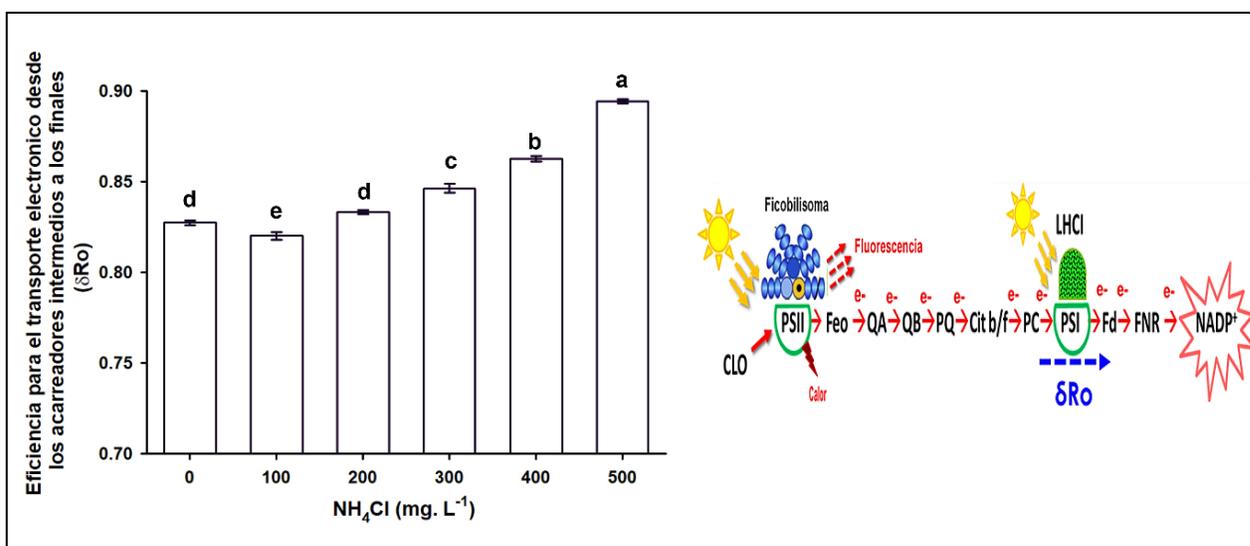


Figura 23. Efecto de las concentraciones de NH₄Cl (mg. L⁻¹) sobre la eficiencia para el transporte electrónico desde los acarreadores intermedios hasta los finales (δRo) a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ (n=4).

En esta gráfica se puede observar que el valor medio del movimiento de electrones en este punto de la cadena transportadora de electrones fotosintética presenta una disminución significativa ($p < 0.05$) en la concentración de 100 mg. L⁻¹ de 0.88%. No obstante, en 200 mg. L⁻¹ el valor medio de δRo aumenta con respecto a la concentración de 100 mg. L⁻¹ y alcanza un valor estadísticamente igual al control.

A partir de 300 mg. L⁻¹ hay una tendencia significativa a incrementar ($p < 0.05$) con respecto al control 2.30%, 4.25% y 8.07% para 300, 400 y 500 mg. L⁻¹ respectivamente.

Al comparar el grupo control con la concentración más alta de NH_4Cl probada, se observó un aumento en el transporte electrónico de los acarreadores finales. Este incremento podría atribuirse al flujo cíclico de electrones, en el que la Fd regresa los electrones al complejo Cyt b_6/f , en lugar de transferirlos a la Ferredoxina oxido-reductasa (FNR) para producir NADPH, con el fin de contribuir al restablecimiento del gradiente de protones previamente reducido.

Otro mecanismo que pudo haber coadyuvado a recuperar el gradiente de protones fue la transferencia de electrones hacia el O_2 , lo que provocaría la formación de ROS como el O_2^- . Este a su vez se transforma en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por la enzima superóxido dismutasa (SOD). Finalmente, el H_2O_2 se neutraliza y degrada a H_2O por la enzima catalasa (Post, 1993).

En condiciones normales, los electrones se utilizan para la producción de NADPH, una molécula que actúa como portadora de electrones para la fijación de CO_2 en el Ciclo de Calvin-Benson. Sin embargo, en el contexto de las alteraciones observadas con la presencia de NH_4Cl , las reacciones descritas, conocidas como el Ciclo de Mehler o ciclo agua-agua, podrían haber ayudado a estabilizar el ΔpH mediante la liberación de protones (H^+) provenientes de la descomposición del H_2O_2 en el lumen del tilacoide.

El movimiento de electrones desde el PSII al PSI se puede calcular a través del producto cuántico máximo para la reducción de los aceptores finales del PSI (ϕREo), y es el resultado del producto entre la fotoquímica primaria del PSII (ϕPo), la probabilidad de que un electrón se mueva más allá de Q_A (Ψ_0), y la probabilidad de que un electrón proveniente de los acarreadores intermedios reduzca los acarreadores del lado aceptor del PSI (δRo) (Tsimilli-Michael y Strasser, 2008).

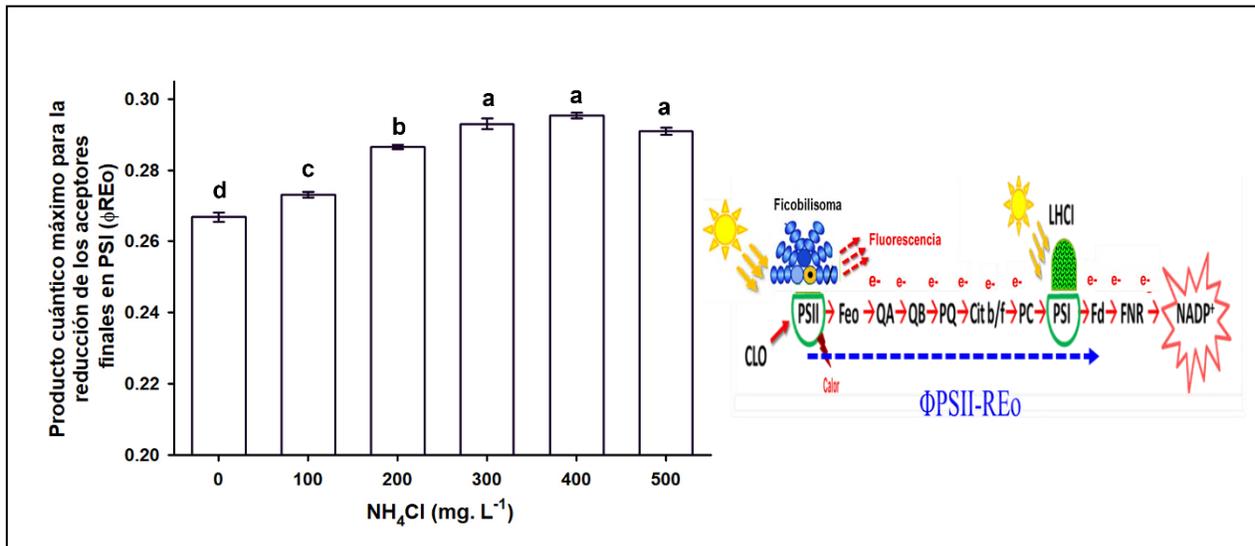


Figura 24. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L⁻¹) sobre el producto cuántico máximo para la reducción de los aceptores finales en el PSI (ϕREo) a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n=4$).

Los resultados del efecto de NH_4Cl sobre este parámetro (Fig. 24) muestran una tendencia a aumentar significativamente en el valor medio de las concentraciones de 100 a 300 mg. L^{-1} 2.36%, 7.38% y 9.83% respectivamente.

Las concentraciones de 400 y 500 mg. L^{-1} tienen una diferencia significativa respecto al control de 10.68% y 9.06% respectivamente. No obstante, no hay una diferencia significativa entre estos tratamientos experimentales. El aumento en la capacidad de transporte electrónico en toda la cadena ($\text{PSII} \rightarrow \text{PSI}$), fue similar al incremento en la tasa de liberación de oxígeno fotosintético en presencia NH_4Cl (Fig. 10); sin embargo, este aumento es contrario a la reducción encontrada en el crecimiento (Fig. 4).

Según el modelo de la prueba OJIP (Strasser y Strasser, 1995), a partir de la relación entre el número de centros de reacción activos (RC/ABS), el producto cuántico máximo potencial de PSII para el transporte electrónico (ΦPo), y las eficiencias en la transferencia de electrones desde el PSII a los acarreadores intermedios (Ψo) y de estos al final de la cadena en el PSI (δRo), se puede calcular el índice de conservación de energía para el transporte electrónico fotosintético (P.I. total) (Tsimilli-Michael y Strasser, 2008).

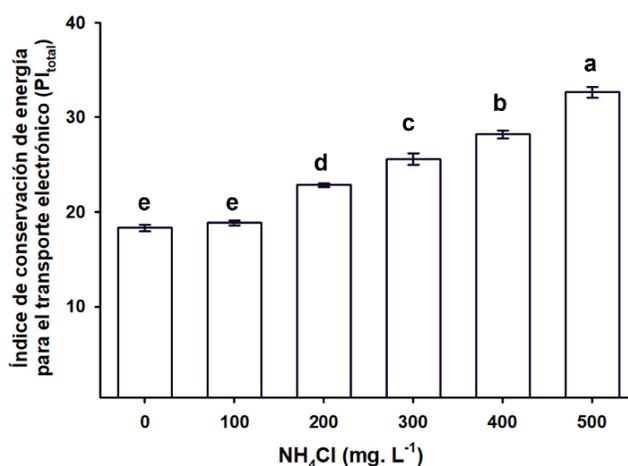


Figura 25. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg. L^{-1}) en el índice de conservación de la energía para el transporte electrónico fotosintético a los cinco días de exposición. Las letras sobre cada barra indican diferencias significativas según la prueba Tukey $p < 0.05$ ($n=4$).

La Fig. 25 muestra que conforme se incrementó el NH_4Cl en el medio de cultivo, el índice de conservación de energía presenta una tendencia a aumentar. Sin embargo, este aumento no es significativo en la concentración de 100 mg. L^{-1} respecto al control. En las concentraciones de 200 a 500 mg. L^{-1} , el aumento fue de 24.63%, 39.62%, 53.99%, 78.18% respectivamente ($p < 0.05$).

La relación entre el crecimiento (Fig. 4) y el PI total determinado por emisión de fluorescencia de la Chl *a* del PSII en muestras pre acondicionadas a la oscuridad (Fig. 26), tienen una tendencia lineal negativa, con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.92$.

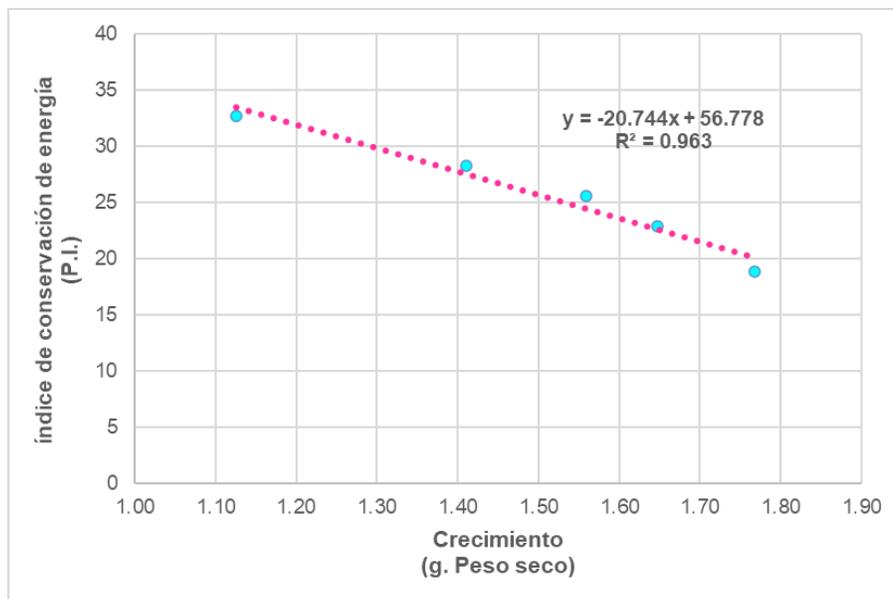


Figura 26. Relación entre el crecimiento y el índice de conservación de la energía para el transporte electrónico fotosintético en presencia de NH_4Cl .

Como resumen de las observaciones anteriores, y con la finalidad de visualizar el efecto del NH_4Cl en las diferentes etapas del transporte electrónico, los valores calculados de fluorescencia variable relativa (Fig. 27) fueron graficados como ΔV_t , restándole al valor experimental de V_t de cada tratamiento experimental, el valor de V_t del control. En la Fig. 28 se observa que conforme aumentó el NH_4Cl en el medio de cultivo se incrementó la estimulación del transporte electrónico, desde el PSII hasta el final de la cadena. A la máxima concentración, la actividad fotosintética se incrementa significativamente 15% respecto al control. Estos cambios en la cinética de crecimiento indican que el transporte electrónico fotosintético se estimula en *A. maxima* al crecer en presencia de NH_4Cl .

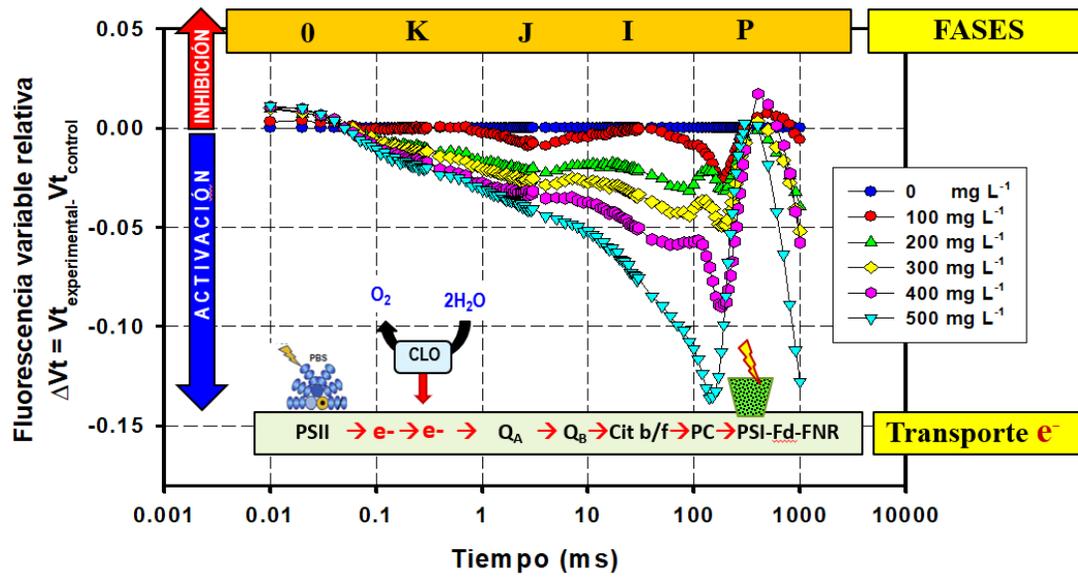


Figura 27. Efecto de las concentraciones de NH_4Cl (mg L^{-1}) en el ΔV_t de la fluorescencia variable a los cinco días de exposición ($n=4$).

8. Conclusiones

En este estudio, se determinó y caracterizó el efecto del NH_4Cl en el crecimiento y metabolismo de *A. maxima* bajo condiciones controladas. Los resultados indican que concentraciones elevadas de NH_4Cl en el medio de cultivo impactan significativamente el crecimiento celular, reduciéndolo hasta un 33.5% en la concentración más alta. En contraste, se observó una estimulación ($p < 0.05$) de la actividad fotosintética y respiratoria, así como la eficiencia en el transporte electrónico. Este comportamiento sugiere un desacoplamiento metabólico como respuesta al estrés ocasionado por el sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$.

Los pigmentos fotosintéticos también se vieron afectados; los contenidos de Chl *a* y Car disminuyeron ($p < 0.05$) únicamente en la concentración de 500 mg. L^{-1} . Sin embargo, el NH_4Cl fue ligeramente más tóxico para el contenido de Chl *a* que para el contenido de carotenoides totales. Procesos como la interconversión de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, el incremento en la actividad enzimática y la utilización de rutas alternativas como el ciclo de Mehler, que contribuye a restablecer el ΔpH , están asociados con la formación de ROS en cianobacterias. En este contexto, los Car mostraron mayor resistencia al daño oxidativo, posiblemente debido a su función como antioxidantes no enzimáticos, lo que podría explicar su menor afectación en comparación con la Chl *a* bajo las mismas condiciones experimentales.

La correlación observada entre la disminución en el crecimiento y la estimulación en la actividad metabólica puede explicarse por la interconversión del sistema $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ en diferentes sitios dentro y fuera de la célula. Este proceso consume el ΔpH que se formó durante el transporte electrónico fotosintético y el transporte electrónico respiratorio, lo que redujo la formación de ATP. Para compensar esta pérdida, se estimula tanto el transporte electrónico fotosintético, liberando más oxígeno, como el transporte electrónico respiratorio, consumiendo más oxígeno, con el objetivo de restablecer la *pmf* necesario para la síntesis de ATP.

La reducción en la síntesis de ATP a través de la fotofosforilación afecta negativamente la fijación de CO_2 y, por ende, la producción de carbohidratos esenciales para la fabricación de biomoléculas y sustratos oxidables por la respiración, lo que resulta en una disminución del crecimiento. Asimismo, la disminución en la producción de ATP mediante la fosforilación oxidativa reduce la energía necesaria para que se realicen adecuadamente las actividades metabólicas e impacta negativamente en el crecimiento. Esto se evidenció en las concentraciones de 400 y 500 mg. L^{-1} de NH_4Cl .

A pesar de los efectos negativos antes mencionados, podemos concluir que la cepa *A. maxima* aislada en el municipio de Texcoco, Estado de México, posee tolerancia a la presencia de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, lo que la posiciona como una candidata factible para aplicaciones y protocolos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de amonio. No obstante, se recomienda replicar la parte experimental para corroborar estos hallazgos.

Esta investigación destaca la importancia de entender los mecanismos bioquímicos y fisiológicos que regulan la respuesta de las cianobacterias frente a condiciones ambientales variables, lo que a su vez facilita su aplicación en biotecnología ambiental.

9. Bibliografía

Aczel, M. R. (2019). What is the nitrogen cycle and why is it key to life? *Frontiers for Young Minds*, 7, 41.

Aguilar-Aguilar, A., de Leon-Martinez, L. D., Forgianny, A., Soto, N. Y. A., Mendoza, S. R., & Zarate-Guzman, A. I. (2023). A systematic review on the current situation of emerging pollutants in Mexico: A perspective on policies, regulation, detection, and elimination in water and wastewater. *Science of the Total Environment*, 167426. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167426>

Alexander, T. J., Vonlanthen, P., & Seehausen, O. (2017). Does eutrophication-driven evolution change aquatic ecosystems? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1712), 20160041. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0041>

Ansari, A. A., Trivedi, S., Khan, F. A., Gill, S. S., Perveen, R., Dar, M. I., ... & Rehman, H. (2015). Phytoremediation of eutrophic waters. *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants, Volume 2*, 41-50. https://doi.org/10.1007/978-3-319-10969-5_4

Araujo, G. S., Santiago, C. S., Moreira, R. T., Neto, M. P. D., & Fernandes, F. A. (2021). Nutrient removal by *Arthrospira platensis* cyanobacteria in cassava processing wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 40, 101826.

Ashour, M., Alprol, A. E., Heneash, A. M., Saleh, H., Abualnaja, K. M., Alhashmialameer, D., & Mansour, A. T. (2021). Ammonia bioremediation from aquaculture wastewater effluents using *arthrospira platensis* niof17/003: Impact of biodiesel residue and potential of ammonia-loaded biomass as rotifer feed. *Materials*, 14(18), 5460. <https://doi.org/10.3390/ma14185460>

Aslan, S., & Kapdan, I. K. (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological engineering*, 28(1), 64-70. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2006.04.003>

Ayala, D. A. Z., Peláez, M. L. S., & Zamora, U. R. (2023). ¿Qué son los tratamientos descentralizados y por qué pueden ser una solución a la gestión hídrica en la Ciudad de México? *Contactos, Revista de Educación en Ciencias e Ingeniería*, (131), 38-48.

Balloni, W., Tomaselli, L., Giovannetti, L., & Margheri, M. C. (1981). Biologia fondamentale del genere *Spirulina*. In *Atti del convegno Prospettive della coltura di Spirulina in Italia*. (pp. 48-85).

Bamba, D., Coulibaly, M., & Robert, D. (2017). Nitrogen-containing organic compounds: origins, toxicity and conditions of their photocatalytic mineralization over TiO₂. *Science of the Total Environment*, 580, 1489-1504. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.130>

Barbosa, M. O., Moreira, N. F., Ribeiro, A. R., Pereira, M. F., & Silva, A. M. (2016). Occurrence and removal of organic micropollutants: An overview of the watch list of EU Decision 2015/495. *Water research*, 94, 257-279. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.047>

Battye, W., Aneja, V. P., & Schlesinger, W. H. (2017). Is nitrogen the next carbon?. *Earth's future*, 5(9), 894-904. <https://doi.org/10.1002/2017EF000592>

Belkin, S., & Boussiba, S. (1991). High internal pH conveys ammonia resistance in *Spirulina platensis*. *Bioresource technology*, 38(2-3), 167-169. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(91\)90149-E](https://doi.org/10.1016/0960-8524(91)90149-E)

Bernhard, A. (2010). The nitrogen cycle: processes. *Players, and Human*, 3(10), 25.

Bhatla, S. C., & Lal, M. A. (2023). *Plant physiology, development and metabolism*. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-981-99-5736-1>

Bjørn, A., Sim, S., King, H., Margni, M., Henderson, A. D., Payen, S., & Bulle, C. (2020). A comprehensive planetary boundary-based method for the nitrogen cycle in life cycle assessment: Development and application to a tomato production case study. *Science of The Total Environment*, 715, 136813. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136813>

Britto, D. T., & Kronzucker, H. J. (2002). NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of plant physiology*, 159(6), 567-584. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-0774>

Britto, D. T., Siddiqi, M. Y., Glass, A. D., & Kronzucker, H. J. (2001). Futile transmembrane NH_4^+ cycling: a cellular hypothesis to explain ammonium toxicity in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(7), 4255-4258. <https://doi.org/10.1073/pnas.061034698>

Bwapwa, J. K., Akash, A., & Trois, C. (2020). Jet fuel from domestic wastewater treatment using microalgae: a review. *Green Materials for Wastewater Treatment*, 321-360. https://doi.org/10.1007/978-3-030-17724-9_14

Camargo, J. A., & Alonso, Á. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. *Environment international*, 32(6), 831-849. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.002>

Canfield, D. E., Glazer, A. N., & Falkowski, P. G. (2010). The evolution and future of Earth's nitrogen cycle. *Science*, 330(6001), 192-196. [DOI: 10.1126/science.1186120](https://doi.org/10.1126/science.1186120)

Canizales, S., Sliwzcinka, M., Russo, A., Bentvelzen, S., Temmink, H., Verschoor, A. M., ... & Janssen, M. (2021). Cyanobacterial growth and cyanophycin production with urea and ammonium as nitrogen source. *Journal of Applied Phycology*, 33(6), 3565-3577. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02575-0>

- Cañizares, R. O., Rivas, L., Montes, C., Dominguez, A. R., Travieso, L., & Benitez, F. (1994). Aerated swine-wastewater treatment with K-carrageenan-immobilized *Spirulina maxima*. *Bioresource technology*, 47(1), 89-91. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(94\)90035-3](https://doi.org/10.1016/0960-8524(94)90035-3)
- Cao, L., Zhou, T., Li, Z., Wang, J., Tang, J., Ruan, R., & Liu, Y. (2018). Effect of combining adsorption-stripping treatment with acidification on the growth of *Chlorella vulgaris* and nutrient removal from swine wastewater. *Bioresource Technology*, 263, 10-16. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.094>
- Carvalho, J. C. M., Francisco, F. R., Almeida, K. A., Sato, S., & Converti, A. (2004). Cultivation of *arthrospira (spirulina) platensis* (cyanophyceae) by fed-batch addition of ammonium chloride at exponentially increasing feeding rates 1. *Journal of Phycology*, 40(3), 589-597. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2004.03167.x>
- Casiano Flores, C. (2023). Toward a contextualized research agenda: Governance challenges of the wastewater treatment policy in Mexico and the role of subnational governments. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, 10(1), e1617. <https://doi.org/10.1002/wat2.1617>
- Castenholz, RW Subsección III, orden Oscillatoriales. En *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*; Staley, JT, Bryant, MP, Pfennig, N., Holt, JG, Eds.; Williams and Wilkins Co.: Baltimore, MD, EE. UU., 1989, (3), 1771–1780.
- Cervantes, F. J. (2009). Anthropogenic sources of N-pollutants and their impact on the environment and on public health. *Environmental technologies to treat nitrogen pollution*, 1-17.
- Chaitee, S. N., Biswas, R. P., & Kabir, M. I. (2021). Removal of excessive nitrogen and phosphorus from urban wastewater using local microalgal bloom. *Journal of Engineering Science*, 12(3), 19-27. <https://doi.org/10.3329/jes.v12i3.57476>
- Chang, Y., Wu, Z., Bian, L., Feng, D., & Leung, D. Y. (2013). Cultivation of *Spirulina platensis* for biomass production and nutrient removal from synthetic human urine. *Applied energy*, 102, 427-431. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.07.024>
- Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., Hunt, R. W., & Das, K. C. (2010). Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *Bioresource technology*, 101(9), 3097-3105. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.026>
- Chislock, M. F., Doster, E., Zitomer, R. A., & Wilson, A. E. (2013). Eutrophication: causes, consequences, and controls in aquatic ecosystems. *Nature Education Knowledge*, 4(4), 10. <http://www.nature.com/scitable/knowledge/library/eutrophication-causes-consequences-and-controls-in-aquatic-102364466>

- Chittora, D., Meena, M., Barupal, T., Swapnil, P., & Sharma, K. (2020). Cyanobacteria as a source of biofertilizers for sustainable agriculture. *Biochemistry and biophysics reports*, 22, 100737. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100737>
- Cid, A., Herrero, C., Torres, E., & Abalde, J. (1995). Copper toxicity on the marine microalga *Phaeodactylum tricornutum*: effects on photosynthesis and related parameters. *Aquatic toxicology*, 31(2), 165-174. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(94\)00071-W](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00071-W)
- Collos, Y., & Harrison, P. J. (2014). Acclimation and toxicity of high ammonium concentrations to unicellular algae. *Marine pollution bulletin*, 80(1-2), 8-23. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.006>
- CONAGUA: Comisión Nacional del Agua. *Inventario Nacional de Plantas Municipales de Potabilización y de Tratamiento de Aguas Residuales en Operación. Diciembre 2022*. Insurgentes Sur No. 2416 Col. Copilco El Bajo C.P. 04340, Coyoacán, Ciudad de México. <https://files.conagua.gob.mx/conagua/publicaciones/Publicaciones/SGAPDS-8-23.pdf>
- Crini, G., & Lichtfouse, E. (2019). Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment. *Environmental chemistry letters*, 17, 145-155. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0785-9>
- Dai, G. Z., Shang, J. L., & Qiu, B. S. (2012). Ammonia may play an important role in the succession of cyanobacterial blooms and the distribution of common algal species in shallow freshwater lakes. *Global Change Biology*, 18(5), 1571-1581. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02638.x>
- Dai, G., Deblois, C. P., Liu, S., Juneau, P., & Qiu, B. (2008). Differential sensitivity of five cyanobacterial strains to ammonium toxicity and its inhibitory mechanism on the photosynthesis of rice-field cyanobacterium Ge-Xian-Mi (Nostoc). *Aquatic Toxicology*, 89(2), 113-121. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.06.007>
- Dixon, R., & Kahn, D. (2004). Genetic regulation of biological nitrogen fixation. *Nature Reviews Microbiology*, 2(8), 621-631. <https://doi.org/10.1038/nrmicro954>
- Dokulil, M. T., & Teubner, K. (2000). Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia*, 438, 1-12. <https://doi.org/10.1023/A:1004155810302>
- Domonkos, I., Kis, M., Gombos, Z., & Ughy, B. (2013). Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis. *Progress in lipid research*, 52(4), 539-561. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.07.001>
- Drath, M., Kloft, N., Batschauer, A., Marin, K., Novak, J., & Forchhammer, K. (2008). Ammonia triggers photodamage of photosystem II in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Plant physiology*, 147(1), 206-215. <https://doi.org/10.1104/pp.108.117218>

- Dugdale, R. C., Wilkerson, F. P., Hogue, V. E., & Marchi, A. (2007). The role of ammonium and nitrate in spring bloom development in San Francisco Bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73(1-2), 17-29. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.12.008>
- Emsley, J. (2011). *Nature's building blocks: an AZ guide to the elements* (pp. 359- 367). Oxford University Press.
- Erratt, K. J., Creed, I. F., & Trick, C. G. (2018). Comparative effects of ammonium, nitrate and urea on growth and photosynthetic efficiency of three bloom-forming cyanobacteria. *Freshwater Biology*, 63(7), 626-638. <https://doi.org/10.1111/fwb.13099>
- Esteban, R., Ariz, I., Cruz, C., & Moran, J. F. (2016). Mechanisms of ammonium toxicity and the quest for tolerance. *Plant Science*, 248, 92-101. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.04.008>
- Fenice, M. (2021). The Nitrogen Cycle: An Overview. En: González-López, J., & Gonzalez-Martinez, A. (Eds.). (2021). *Nitrogen Cycle: Ecology, Biotechnological Applications and Environmental Impacts* (pp. 1-21). CRC Press.
- Finlay, K., Patoine, A., Donald, D. B., Bogard, M. J., & Leavitt, P. R. (2010). Experimental evidence that pollution with urea can degrade water quality in phosphorus-rich lakes of the Northern Great Plains. *Limnology and Oceanography*, 55(3), 1213-1230. <https://doi.org/10.4319/lo.2010.55.3.1213>
- Fito, J., y Van Hulle, S. W. (2021). Wastewater reclamation and reuse potentials in agriculture: towards environmental sustainability. *Environment, Development and Sustainability*, 23(3), 2949-2972. <https://doi.org/10.1007/s10668-020-00732-y>
- Flores, E., & Herrero, A. (1994). Assimilatory nitrogen metabolism and its regulation. In *The molecular biology of cyanobacteria* (pp. 487-517). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0227-8_16
- Flores, E., y Herrero, A. (2005). Nitrogen assimilation and nitrogen control in cyanobacteria. *Biochem Soc Trans*, 33 (1): 164–167. <https://doi.org/10.1042/BST0330164>
- Follett, R. F., y Hatfield, J. L. (2001). Nitrogen in the environment: sources, problems, and management. *The Scientific World Journal*, 1, 920-926. <https://doi.org/10.1100/tsw.2001.269>
- Force, L., Critchley, C., & Van Rensen, J. J. (2003). New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynthesis research*, 78, 17-33. <https://doi.org/10.1023/A:1026012116709>

Fujita, Y., & Yamakawa, H. (2017). Biochemistry of chlorophyll biosynthesis in photosynthetic prokaryotes. *Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes: Metabolism, Bioenergetics, and Omics*, 67-122.

Galloway, J. N. (2003). The global nitrogen cycle. *Treatise on geochemistry*, 8, 682. <https://doi.org/10.1016/B0-08-043751-6/08160-3>

Galloway, J. N., Townsend, A. R., Erisman, J. W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J. R., ... & Sutton, M. A. (2008). Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 320(5878), 889-892. DOI: [10.1126/ciencia.1136674](https://doi.org/10.1126/ciencia.1136674)

Gerba, C. P., & Pepper, I. L. (2019). Municipal wastewater treatment. In *Environmental and pollution science* (pp. 393-418). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814719-1.00022-7>

Glibert, P. M., Wilkerson, F. P., Dugdale, R. C., Raven, J. A., Dupont, C. L., Leavitt, P. R., ... & Kana, T. M. (2016). Pluses and minuses of ammonium and nitrate uptake and assimilation by phytoplankton and implications for productivity and community composition, with emphasis on nitrogen-enriched conditions. *Limnology and Oceanography*, 61(1), 165-197. <https://doi.org/10.1002/lno.10203>

Goswami, R. K., Mehariya, S., Verma, P., Lavecchia, R., & Zuorro, A. (2021). Microalgae-based biorefineries for sustainable resource recovery from wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 40, 101747. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101747>

Gouveia, L., Veloso, V., Reis, A., Fernandes, H., Novais, J., & Empis, J. (1996). Evolution of pigment composition in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 57(2), 157-163. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00058-2](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00058-2)

Greenwood, N. y Earnshaw, A. (1998). *Chemistry of the Elements*, 2^a ed., pp. 406-471. Elsevier Butterworth-Heinemann, Oxford UK.

Grewe, C. B., & Pulz, O. (2012). The biotechnology of cyanobacteria. In *Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in space and time* (pp. 707-739). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_26

Groffman, P. M., Rosi, E. J., & Fulweiler, R. W. (2021). The nitrogen cycle. In *Fundamentals of ecosystem science* (pp. 161-188). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812762-9.00008-3>

Häder, D. P., Banaszak, A. T., Villafañe, V. E., Narvarte, M. A., González, R. A., & Helbling, E. W. (2020). Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. *Science of the Total environment*, 713, 136586. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136586>

Hamed, I. (2016). The evolution and versatility of microalgal biotechnology: A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(6), 1104-1123. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12227>

Han, P., Lu, Q., Zhong, H., Xie, J., Leng, L., Li, J., ... & Zhou, W. (2021). Recycling nutrients from soy sauce wastewater to culture value-added *Spirulina maxima*. *Algal Research*, 53, 102157. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102157>

Hasan, H. A., Muhamad, M. H., Ji, B., Nazairi, N. A., Jiat, K. W., Sim, S. I. S. W. A., & Poh, A. F. M. S. (2023). Revolutionizing wastewater treatment with microalgae: Unveiling resource recovery, mechanisms, challenges, and future possibilities. *Ecological Engineering*, 197, 107117. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2023.107117>

Herrero, A., Muro-Pastor, A. M., & Flores, E. (2001). Nitrogen control in cyanobacteria. *Journal of bacteriology*, 183(2), 411-425. <https://doi.org/10.1128/jb.183.2.411-425.2001>

Herrero, A., Muro-Pastor, A. M., Valladares, A., & Flores, E. (2004). Cellular differentiation and the NtcA transcription factor in filamentous cyanobacteria. *FEMS microbiology reviews*, 28(4), 469-487. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.04.003>

Hirschberg, J., & Chamovitz, D. (1994). Carotenoids in cyanobacteria. In *The molecular biology of cyanobacteria* (pp. 559-579). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0227-8_18

Holland, E. A., y Weitz, A. M. (2003). Nitrogen cycle, biological. *Encyclopedia of Physical Science y Technology*, 441-448.

Hong, M., Ma, Z., Wang, X., Shen, Y., Mo, Z., Wu, M., ... & Zhang, T. (2021). Effects of light intensity and ammonium stress on photosynthesis in *Sargassum fusiforme* seedlings. *Chemosphere*, 273, 128605. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128605>

Howarth, R. W. (2008). Coastal nitrogen pollution: a review of sources and trends globally and regionally. *Harmful algae*, 8(1), 14-20. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.015>

Howarth, R. W. (2008). Coastal nitrogen pollution: a review of sources and trends globally and regionally. *Harmful algae*, 8(1), 14-20. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.015>

Ismail, M. M. S., El-Ayouty, Y. M., & Piercey-Normore, M. (2016). Role of pH on antioxidants production by *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*. *Brazilian journal of microbiology*, 47, 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.003>

Issa, A. A., Abd-Alla, M. H., & Ohyama, T. (2014). Nitrogen fixing cyanobacteria: future prospect. En: *Advances in biology and ecology of nitrogen fixation*, 2, 24-48. <http://dx.doi.org/10.5772/56995>

- Jaramillo, M. F., & Restrepo, I. (2017). Wastewater reuse in agriculture: A review about its limitations and benefits. *Sustainability*, 9(10), 1734. <https://doi.org/10.3390/su9101734>
- Jaume, A. T. (2016). Gestión de las aguas pluviales en entornos urbanos mediante técnicas de Drenaje Sostenible. *Journal of Engineering and technology*, 5(2), 26-40. <https://doi.org/10.22507/jet.v5n2a1>
- Johnson, B., & Goldblatt, C. (2015). The nitrogen budget of Earth. *Earth-Science Reviews*, 148, 150-173. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2015.05.006>
- Kanter, D. R., & Searchinger, T. D. (2018). A technology-forcing approach to reduce nitrogen pollution. *Nature Sustainability*, 1(10), 544-552. <https://doi.org/10.1038/s41893-018-0143-8>
- Kanter, D. R., Chodos, O., Nordland, O., Rutigliano, M., & Winiwarter, W. (2020). Gaps and opportunities in nitrogen pollution policies around the world. *Nature Sustainability*, 3(11), 956-963. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-0577-7>
- Khan, F. A., & Ansari, A. A. (2005). Eutrophication: an ecological vision. *The botanical review*, 71(4), 449-482. [https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2005\)071\[0449:EAEV\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2005)071[0449:EAEV]2.0.CO;2)
- Kim, J., Lingaraju, B. P., Rheume, R., Lee, J. Y., & Siddiqui, K. F. (2010). Removal of ammonia from wastewater effluent by *Chlorella vulgaris*. *Tsinghua science and technology*, 15(4), 391-396. [10.1016/S1007-0214\(10\)70078-X](https://doi.org/10.1016/S1007-0214(10)70078-X)
- Klopprogge, J. T., Ponce, C. P., & Loomis, T. (2020). *The Periodic Table: Nature's Building Blocks: An Introduction to the Naturally Occurring Elements, Their Origins and Their Uses*. Elsevier.
- Kosaric, N., Nguyen, H. T., & Bergougnou, M. A. (1974). Growth of *Spirulina maxima* algae in effluents from secondary waste-water treatment plants. *Biotechnology and Bioengineering*, 16(7), 881-896. <https://doi.org/10.1002/bit.260160703>
- Kronzucker, H. J., Britto, D. T., Davenport, R. J., & Tester, M. (2001). Ammonium toxicity and the real cost of transport. *Trends in plant science*, 6(8), 335-337. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02022-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02022-2)
- Latifi, A., Ruiz, M., & Zhang, C. C. (2009). Oxidative stress in cyanobacteria. *FEMS microbiology reviews*, 33(2), 258-278. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00134.x>
- Lehnert, N., Musselman, B. W., & Seefeldt, L. C. (2021). Grand challenges in the nitrogen cycle. *Chemical Society Reviews*, 50(6), 3640-3646. <https://doi.org/10.1039/D0CS00923G>
- Liang, C., Zhao, F., Wei, W., Wen, Z., & Qin, S. (2006). Carotenoid biosynthesis in cyanobacteria: structural and evolutionary scenarios based on comparative genomics. *International journal of biological sciences*, 2(4), 197. doi: [10.7150/ijbs.2.197](https://doi.org/10.7150/ijbs.2.197)

- Libutti, A., Gatta, G., Gagliardi, A., Vergine, P., Pollice, A., Beneduce, L., ... & Tarantino, E. (2018). Agro-industrial wastewater reuse for irrigation of a vegetable crop succession under Mediterranean conditions. *Agricultural Water Management*, 196, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.10.015>
- Liu, Y., & von Wirén, N. (2017). Ammonium as a signal for physiological and morphological responses in plants. *Journal of Experimental Botany*, 68(10), 2581-2592. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx086>
- López-Pacheco, I. Y., Carrillo-Nieves, D., Salinas-Salazar, C., Silva-Núñez, A., Arévalo-Gallegos, A., Barceló, D., ... & Parra-Saldívar, R. (2019). Combination of nejayote and swine wastewater as a medium for *Arthrospira maxima* and *Chlorella vulgaris* production and wastewater treatment. *Science of the total environment*, 676, 356-367. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.278>
- López-Pacheco, I. Y., Carrillo-Nieves, D., Salinas-Salazar, C., Silva-Núñez, A., Arévalo-Gallegos, A., Barceló, D., ... & Parra-Saldívar, R. (2019). Combination of nejayote and swine wastewater as a medium for *Arthrospira maxima* and *Chlorella vulgaris* production and wastewater treatment. *Science of the total environment*, 676, 356-367. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.278>
- López-Rodríguez, A., Mayorga, J., Flaig, D., Fuentes, G., Cotabarren, J., Obregón, W. D., & Gómez, P. I. (2021). Comparison of two strains of the edible cyanobacteria *Arthrospira*: Biochemical characterization and antioxidant properties. *Food Bioscience*, 42, 101144. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101144>
- Luimstra, V. M., Schuurmans, J. M., de Carvalho, C. F., Matthijs, H. C., Hellingwerf, K. J., & Huisman, J. (2019). Exploring the low photosynthetic efficiency of cyanobacteria in blue light using a mutant lacking phycobilisomes. *Photosynthesis Research*, 141, 291-301. <https://doi.org/10.1007/s11120-019-00630-z>
- Lyu, H., & Lazár, D. (2017). Modeling the light-induced electric potential difference ($\Delta\Psi$), the pH difference (ΔpH) and the proton motive force across the thylakoid membrane in C3 leaves. *Journal of Theoretical Biology*, 413, 11-23. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2016.10.017>
- Mackerras, A. H., & Smith, G. D. (1986). Urease activity of the cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *Microbiology*, 132(10), 2749-2752. <https://doi.org/10.1099/00221287-132-10-2749>
- Manasa, R. L., & Mehta, A. (2020). Wastewater: sources of pollutants and its remediation. *Environmental Biotechnology Vol. 2*, 197-219. https://doi.org/10.1007/978-3-030-38196-7_9

- Mandal, S., Shurin, J. B., Efrogmson, R. A., & Mathews, T. J. (2018). Functional divergence in nitrogen uptake rates explains diversity–productivity relationship in microalgal communities. *Ecosphere*, 9(5), e02228. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2228>
- Manoj, K. M., Gideon, D. A., Parashar, A., Haarith, D., & Manekkathodi, A. (2020). Role of thylakoid membranes in oxygenic photosynthesis: A comparative perspective using murburn concept. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1953607>
- Marguti, A. L., Ferreira Filho, S. S., & Piveli, R. P. (2018). Full-scale effects of addition of sludge from water treatment stations into processes of sewage treatment by conventional activated sludge. *Journal of Environmental Management*, 215, 283-293. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.03.072>
- Markou, G., Depraetere, O., & Muylaert, K. (2016). Effect of ammonia on the photosynthetic activity of *Arthrospira* and *Chlorella*: A study on chlorophyll fluorescence and electron transport. *Algal Research*, 16, 449-457. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.039>
- Marquez, F. J., Sasaki, K., Kakizono, T., Nishio, N., & Nagai, S. (1993). Growth characteristics of *Spirulina platensis* in mixotrophic and heterotrophic conditions. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 76(5), 408-410. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(93\)90034-6](https://doi.org/10.1016/0922-338X(93)90034-6)
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of experimental botany*, 51(345), 659-668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>
- Melillo, J. M. (2021). Disruption of the global nitrogen cycle: A grand challenge for the twenty-first century: This article belongs to *Ambio's* 50th Anniversary Collection. Theme: Eutrophication. *Ambio*, 50(4), 759-763. <https://doi.org/10.1007/s13280-020-01429-2>
- Mogollón, H. M. (2020). Water resources in Mexico: Some proposals for the future. *Water Resources of Mexico*, 117-132. https://doi.org/10.1007/978-3-030-40686-8_7
- Mohammadi, S. A., Najafi, H., Zolgharnian, S., Sharifian, S., & Asasian-Kolur, N. (2022). Biological oxidation methods for the removal of organic and inorganic contaminants from wastewater: A comprehensive review. *Science of The Total Environment*, 843, 157026. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157026>
- Mohanty, N., Bruce, D., & Turpin, D. H. (1991). Dark ammonium assimilation reduces the plastoquinone pool of photosystem II in the green alga *Selenastrum minutum*. *Plant physiology*, 96(2), 513-517. <https://doi.org/10.1104/pp.96.2.513>
- Mora, A., García-Gamboa, M., Sánchez-Luna, M. S., Gloria-García, L., Cervantes-Avilés, P., & Mahlknecht, J. (2021). A review of the current environmental status and human health implications of one of the most polluted rivers of Mexico: The Atoyac River, Puebla. *Science of the Total Environment*, 782, 146788. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146788>

- Muller, P., Li, X. P., & Niyogi, K. K. (2001). Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant physiology*, 125(4), 1558-1566. <https://doi.org/10.1104/pp.125.4.1558>
- Muro-Pastor, M. I., Reyes, J. C., & Florencio, F. J. (2005). Ammonium assimilation in cyanobacteria. *Photosynthesis research*, 83, 135-150. <https://doi.org/10.1007/s11120-004-2082-7>
- Nam, K., Lee, H., Heo, S. W., Chang, Y. K., & Han, J. I. (2017). Cultivation of *Chlorella vulgaris* with swine wastewater and potential for algal biodiesel production. *Journal of Applied Phycology*, 29, 1171-1178. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.081>
- Nikkanen, L., Solymosi, D., Jokel, M., & Allahverdiyeva, Y. (2021). Regulatory electron transport pathways of photosynthesis in cyanobacteria and microalgae: Recent advances and biotechnological prospects. *Physiologia Plantarum*, 173(2), 514-525. <https://doi.org/10.1111/ppl.13404>
- Nowicka-Krawczyk, P., Mühlsteinová, R., & Hauer, T. (2019). Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (Cyanobacteria). *Scientific reports*, 9(1), 694. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36831-0>
- Núñez-García, U., Navarro-Gómez, H. I., del Refugio González-Sandoval, M., & Flores-Badillo, J. (2023). Tratamiento biológico de aguas residuales con perspectiva de economía circular. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 11(Especial3), 112-122. <https://doi.org/10.29057/icbi.v11iEspecial3.11486>
- Ohyama, T. (2010). Nitrogen as a major essential element of plants. *Nitrogen Assim. Plants*, 37, 1-17.
- Oliver, R. L., Hamilton, D. P., Brookes, J. D., & Ganf, G. G. (2012). Physiology, blooms and prediction of planktonic cyanobacteria. In *Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in space and time* (pp. 155-194). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_6
- Oswald, W. J., Gotaas, H. B., Golueke, C. G., Kellen, W. R., Gloyne, E. F., & Hermann, E. R. (1957). Algae in waste treatment [with discussion]. *Sewage and industrial wastes*, 29(4), 437-457. <https://www.jstor.org/stable/25033322>
- Oyala, P. H., Stich, T. A., Debus, R. J., & Britt, R. D. (2015). Ammonia binds to the dangler manganese of the photosystem II oxygen-evolving complex. *Journal of the American Chemical Society*, 137(27), 8829-8837. 10.1021/jacs.5b04768
- Paerl, H. W., Xu, H., McCarthy, M. J., Zhu, G., Qin, B., Li, Y., & Gardner, W. S. (2011). Controlling harmful cyanobacterial blooms in a hyper-eutrophic lake (Lake Taihu, China):

the need for a dual nutrient (N & P) management strategy. *Water research*, 45(5), 1973-1983. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.09.018>

Pagels, F., Vasconcelos, V., & Guedes, A. C. (2021). Carotenoids from cyanobacteria: Biotechnological potential and optimization strategies. *Biomolecules*, 11(5), 735. <https://doi.org/10.3390/biom11050735>

Pandey, A., Singh, G., Pandey, N., Patel, A., Tiwari, S., & Prasad, S. M. (2022). Impacts of environmental stress on physiology and biochemistry of cyanobacteria. In *Ecophysiology and Biochemistry of Cyanobacteria* (65-89). Singapore: Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-4873-1_4

Pandey, A., Mahawar, L., Pandey, S., Verma, N., & Prasad, S. M. (2024). Cyanobacterial respiration. In *Cyanobacteria* (69-83). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13231-5.00008-8>

Pattanaik, B., & Lindberg, P. (2015). Terpenoids and their biosynthesis in cyanobacteria. *Life*, 5(1), 269-293. <https://doi.org/10.3390/life5010269>

Pelosi, E., Margheri, M. C., & Tomaselli, L. (1982). Characteristics and significance of Spirulina morphology. In *Caryologia*,(35) 1, 157-158.

Pérez Navarro, M., Ames, W. M., Nilsson, H., Lohmiller, T., Pantazis, D. A., Rapatskiy, L., ... & Cox, N. (2013). Ammonia binding to the oxygen-evolving complex of photosystem II identifies the solvent-exchangeable oxygen bridge (μ -oxo) of the manganese tetramer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(39), 15561-15566. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304334110>

Post, A. F. (1993). Ammonia enhanced dark respiration in *Chlorella vulgaris* is related to collapse of a transmembrane pH gradient. *FEMS microbiology letters*, 113(1), 9-13. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1993.tb06480.x>

Prabhath, G. P. W. A., Shukla, S. P., Srivastava, P. P., Kumar, K., Sawant, P. B., Verma, A. K., ... & Nuwansi, K. K. T. (2022). Downstream processing of biomass produced in aquaculture wastewater for valuable pigments from the cyanobacterium *Spirulina (Arthrospira) platensis*: a green and sustainable approach. *Aquaculture International*, 30(6), 3081-3106. <https://doi.org/10.1007/s10499-022-00949-w>

Prasad, C. S., Gowda, N. K. S., Anandan, S., Sharma, K., & Mohini, M. (2017). Reactive Nitrogen in Environment vis-à-vis Livestock Production System: Possible Remedies. In *The Indian Nitrogen Assessment*. 235-247. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811836-8.00016-1>

Pratap, B., Kumar, S., Nand, S., Azad, I., Bharagava, R. N., Ferreira, L. F. R., & Dutta, V. (2023). Wastewater generation and treatment by various eco-friendly technologies: Possible

- health hazards and further reuse for environmental safety. *Chemosphere*, 313, 137547. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137547>
- Rabalais, N. N. (2002). Nitrogen in aquatic ecosystems. *AMBIO: a Journal of the Human Environment*, 31(2), 102-112. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-31.2.102>
- Rahimi, S., Modin, O., & Mijakovic, I. (2020). Technologies for biological removal and recovery of nitrogen from wastewater. *Biotechnology Advances*, 43, 107570. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107570>
- Ramalho, R. (1977). *Introduction to wastewater treatment processes*. Elsevier/Academic Press Inc.
- Reis, S., Pinder, R. W., Zhang, M., Lijie, G., & Sutton, M. A. (2009). Reactive nitrogen in atmospheric emission inventories. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9(19), 7657-7677. <https://doi.org/10.5194/acp-9-7657-2009>
- Rissler, H. M., Collakova, E., DellaPenna, D., Whelan, J., & Pogson, B. J. (2002). Chlorophyll biosynthesis. Expression of a second chl I gene of magnesium chelatase in Arabidopsis supports only limited chlorophyll synthesis. *Plant physiology*, 128(2), 770-779. <https://doi.org/10.1104/pp.010625>
- Robles-Rengel, R., Florencio, F. J., & Muro-Pastor, M. I. (2019). Redox interference in nitrogen status via oxidative stress is mediated by 2-oxoglutarate in cyanobacteria. *New Phytologist*, 224(1), 216-228. <https://doi.org/10.1111/nph.15979>
- Rodrigues, M. S., Ferreira, L. S., Converti, A., Sato, S., & Carvalho, J. C. M. D. (2010). Fed-batch cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*: Potassium nitrate and ammonium chloride as simultaneous nitrogen sources. *Bioresource technology*, 101(12), 4491-4498. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.054>
- Romanelli, A., Soto, D. X., Matiatos, I., Martínez, D. E., & Esquiús, S. (2020). A biological and nitrate isotopic assessment framework to understand eutrophication in aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment*, 715, 136909. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136909>
- Rout, P. R., Shahid, M. K., Dash, R. R., Bhunia, P., Liu, D., Varjani, S., ... & Surampalli, R. Y. (2021). Nutrient removal from domestic wastewater: A comprehensive review on conventional and advanced technologies. *Journal of Environmental Management*, 296, 113246. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113246>
- Sakamoto, T., Delgaizo, V. B., & Bryant, D. A. (1998). Growth on urea can trigger death and peroxidation of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7002. *Applied and environmental microbiology*, 64(7), 2361-2366. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.7.2361-2366.1998>

- Saxena, R., Saxena, M., & Lochab, A. (2020). Recent progress in nanomaterials for adsorptive removal of organic contaminants from wastewater. *ChemistrySelect*, 5(1), 335-353. <https://doi.org/10.1002/slct.201903542>
- Schuldiner, S., & Padan, E. (1993). Molecular Analysis of the Role of Na⁺/H⁺ Antiporters in Bacterial Cell Physiology. *Molecular Biology of Receptors and Transporters: Pumps, Transporters and Channels*, 137, 229.
- Sili, C., Torzillo, G., & Vonshak, A. (2012). Arthrospira (Spirulina). In *Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time* (pp. 677-705). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_25
- Sinetova, M. A., Kupriyanova, E. V., & Los, D. A. (2024). Spirulina/Arthrospira/Limnospira—Three names of the single organism. *Foods*, 13(17), 2762. <https://doi.org/10.3390/foods13172762>
- Singh, D. K., Pathak, J., Pandey, A., Singh, V., Ahmed, H., Kumar, D., ... & Sinha, R. P. (2021). Response of a rice-field cyanobacterium Anabaena sp. HKAR-7 upon exposure to ultraviolet-B radiation and ammonium chloride. *Environmental Sustainability*, 4(1), 95-105. <https://doi.org/10.1007/s42398-020-00146-6>
- Smil, V. (2004). *Enriching the earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the transformation of world food production*. MIT press.
- Smith, V. H., & Schindler, D. W. (2009). Eutrophication science: where do we go from here?. *Trends in ecology & evolution*, 24(4), 201-207. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.11.009>
- Sobotka, R. (2014). Making proteins green; biosynthesis of chlorophyll-binding proteins in cyanobacteria. *Photosynthesis research*, 119, 223-232. <https://doi.org/10.1007/s1120-013-9797-2>
- Song, K., Baumgartner, D., Hagemann, M., Muro-Pastor, A. M., Maaß, S., Becher, D., & Hess, W. R. (2022). Atp Θ is an inhibitor of F₀F₁ ATP synthase to arrest ATP hydrolysis during low-energy conditions in cyanobacteria. *Current Biology*, 32(1), 136-148. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.10.051>
- Sostmeyer, J. M., da Silva, J. A. G., Fachineto, J. M., Carvalho, I. R., Lucchese, O. A., Basso, N. C. F., ... & da Silva, L. G. (2023). Water: A fundamental resource for ensuring sustainability. *Revista De Gestão Social E Ambiental*, 17(7), e03661-e03661.10.24857/rgsa.v17n7-013
- Stirbet, A., Lazár, D., & Papageorgiou, G. C. (2019). Chlorophyll a fluorescence in cyanobacteria: relation to photosynthesis. In *cyanobacteria* (pp. 79-130). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814667-5.00005-2>

Stirbet, A., Lazár, D., Guo, Y., & Govindjee, G. (2020). Photosynthesis: basics, history and modelling. *Annals of botany*, 126(4), 511-537. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz171>

Strasser, B. J., & Strasser, R. J. (1995). *Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test* (pp. 977-980).

Supuran, C. T. (2016). How many carbonic anhydrase inhibition mechanisms exist?. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 31(3), 345-360. <https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1122001>

Tabla-Vázquez, C. G., Chávez-Mejía, A. C., Orta Ledesma, M. T., & Ramírez-Zamora, R. M. (2020). Wastewater Treatment in Mexico. *Water Resources of Mexico*, 133-155. https://doi.org/10.1007/978-3-030-40686-8_8

Tabla-Vázquez, C. G., Chávez-Mejía, A. C., Orta Ledesma, M. T., & Ramírez-Zamora, R. M. (2020). Wastewater Treatment in Mexico. En: *Water Resources of Mexico*, 133-155. https://doi.org/10.1007/978-3-030-40686-8_8

Taglicht, D., Padan, E., & Schuldiner, S. (1993). Proton-sodium stoichiometry of NhaA, an electrogenic antiporter from *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 268(8), 5382-5387. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)53333-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)53333-0)

Tan, X., Gu, H., Ruan, Y., Zhong, J., Parajuli, K., & Hu, J. (2019). Effects of nitrogen on interspecific competition between two cell-size cyanobacteria: *Microcystis aeruginosa* and *Synechococcus* sp. *Harmful Algae*, 89, 101661. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101661>

Templeton, M. R., & Butler, D. (2011). *Introduction to wastewater treatment*. Bookboon.

Thomas, O., & Thomas, M. F. (2022). Urban wastewater. In *UV-Visible Spectrophotometry of Waters and Soils*, 347-383. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90994-5.00005-8>

Tian, Y., Donde, O. O., Tian, C., Feng, B., Wu, X., & Xiao, B. (2021). Ammonium Inhibits Performance of *Rhodospirillum rubrum* in Cyanobacterial Substrate. *Polish Journal of Environmental Studies*, 30(1). <https://doi.org/10.15244/pjoes/122165>

Tomaselli, L. (1997). Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* and *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*, 1-16.

Tsimilli-Michael, M., & Strasser, R. J. (2008). Experimental resolution and theoretical complexity determine the amount of information extractable from the chlorophyll fluorescence transient OJIP. In *Photosynthesis. Energy from the Sun: 14th International*

Congress on Photosynthesis (pp. 697-701). Springer Netherlands.
https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6709-9_156

Turpin, D. H., Botha, F. C., Smith, R. G., Feil, R., Horsey, A. K., & Vanlerberghe, G. C. (1990). Regulation of carbon partitioning to respiration during dark ammonium assimilation by the green alga *Selenastrum minutum*. *Plant Physiology*, *93*(1), 166-175.
<https://doi.org/10.1104/pp.93.1.166>

Udaiyappan, A. F. M., Hasan, H. A., Takriff, M. S., & Abdullah, S. R. S. (2017). A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. *Journal of Water Process Engineering*, *20*, 8-21.
<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.09.006>

Van Heerden, P. D. R., Swanepoel, J. W., & Krüger, G. H. J. (2007). Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C3-mode CO₂ assimilation. *Environmental and Experimental Botany*, *61*(2), 124-136.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.005>

Varjani, S. J., & Upasani, V. N. (2017). A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *120*, 71-83. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113246>

Velho, V. F., Mohedano, R. A., Filho, P. B., & Costa, R. H. (2012). The viability of treated piggery wastewater for reuse in agricultural irrigation. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, *1*, 1-9. <https://doi.org/10.1186/2251-7715-1-10>

Vermaas, W. F. (2001). Photosynthesis and respiration in cyanobacteria. *Arizona State University*, Tempe, Arizona, USA.

Vitousek, P. M., Aber, J. D., Howarth, R. W., Likens, G. E., Matson, P. A., Schindler, D. W., ... & Tilman, D. G. (1997). Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecological applications*, *7*(3), 737-750. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(1997\)007\[0737:HAOTGN\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(1997)007[0737:HAOTGN]2.0.CO;2)

Vo, T. S., Ngo, D. H., & Kim, S. K. (2015). Nutritional and pharmaceutical properties of microalgal *Spirulina*. In *Handbook of marine microalgae* (pp. 299-308). Academic Press.
<https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150476>

Vonshak, A., Cheung, S. M., & Chen, F. (2000). Mixotrophic growth modifies the response of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Cyanobacteria) cells to light. *Journal of Phycology*, *36*(4), 675-679. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2000.99198.x>

Voss, M., Wannicke, N., Deutsch, B., Bronk, D., Sipler, R., Purvaja, R., ... & Rixen, T. (2011). Internal cycling of nitrogen and nitrogen transformations. *Academic Press*.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374711-2.00508-8>

- Wang, D., Gan, X., Wang, Z., Jiang, S., Zheng, X., Zhao, M., ... & Du, L. (2023). Research status on remediation of eutrophic water by submerged macrophytes: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 169, 671-684. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2022.11.063>
- Wang, W., Yang, C., Tang, X., Gu, X., Zhu, Q., Pan, K., ... & Ma, D. (2014). Effects of high ammonium level on biomass accumulation of common duckweed *Lemna minor* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 14202-14210. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3353-2>
- Wang, Y., Ho, S. H., Cheng, C. L., Guo, W. Q., Nagarajan, D., Ren, N. Q., ... & Chang, J. S. (2016). Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 222, 485-497. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.106>
- Willett, W., Rockström, J., Loken, B., Springmann, M., Lang, T., Vermeulen, S., ... & Murray, C. J. (2019). Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on healthy diets from sustainable food systems. *The lancet*, 393(10170), 447-492. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31788-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31788-4)
- Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímová, B., Wan, D., & Kuča, K. (2016). The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. *Archives of toxicology*, 90, 1817-1840. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1744-5>
- Xia, X., Zhang, S., Li, S., Zhang, L., Wang, G., Zhang, L., ... & Li, Z. (2018). The cycle of nitrogen in river systems: sources, transformation, and flux. *Environmental science: Processes & impacts*, 20(6), 863-891. <https://doi.org/10.1039/C8EM00042E>
- Xin, L., Hong-ying, H., Ke, G., & Jia, Y. (2010). Growth and nutrient removal properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. LX1 under different kinds of nitrogen sources. *Ecological Engineering*, 36(4), 379-381. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.11.003>
- Yamatani, H., Ito, T., Nishimura, K., Yamada, T., Sakamoto, W., & Kusaba, M. (2022). Genetic analysis of chlorophyll synthesis and degradation regulated by BALANCE of CHLOROPHYLL METABOLISM. *Plant physiology*, 189(1), 419-432. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiac059>
- Yao, T., Huang, J., Su, B., Wei, L., Zhang, A. H., Zhang, D. F., ... & Ma, G. (2022). Enhanced phycocyanin production of *Arthrospira maxima* by addition of mineral elements and polypeptides using response surface methodology. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1057201. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1057201>

- Young, P., Taylor, M., & Fallowfield, H. J. (2017). Mini-review: high rate algal ponds, flexible systems for sustainable wastewater treatment. *World journal of microbiology and biotechnology*, 33, 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2282-x>
- Zhang, C. C., Zhou, C. Z., Burnap, R. L., & Peng, L. (2018). Carbon/nitrogen metabolic balance: lessons from cyanobacteria. *Trends in Plant Science*, 23(12), 1116-1130. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.09.008>
- Zhang, E., Wang, B., Wang, Q., Zhang, S., & Zhao, B. (2008). Ammonia–nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Scenedesmus* sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment. *Bioresource technology*, 99(9), 3787-3793. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.011>
- Zhang, Y., Sun, Q., Zhou, J., Masunaga, S., & Ma, F. (2015). Reduction in toxicity of wastewater from three wastewater treatment plants to alga (*Scenedesmus obliquus*) in northeast China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 119, 132-139. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.034>
- Zinicovscaia, I. (2016). Water quality: A major global problem. *Cyanobacteria for Bioremediation of Wastewaters*, 5-16. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26751-7_2
- Zurita, F., De Anda, J., & Belmont, M. A. (2009). Treatment of domestic wastewater and production of commercial flowers in vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Ecological engineering*, 35(5), 861-869. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.026>
- Zurita, F., Roy, E. D., & White, J. R. (2012). Municipal wastewater treatment in Mexico: current status and opportunities for employing ecological treatment systems. *Environmental technology*, 33(10), 1151-1158. <https://doi.org/10.1080/09593330.2011.610364>

10. Anexos

La fluorescencia de la clorofila *a* en el estudio de la fotosíntesis

Existe una relación directa entre la emisión de fluorescencia de la Chl *a* del PSII y el proceso fotosintético. La energía fotónica que es absorbida por las moléculas de Chl *a* puede emplearse de tres maneras: (1) Para impulsar la fotosíntesis mediante la transferencia de la energía de excitación al complejo antena más cercano, hasta alcanzar el RC y realizar trabajo fotoquímico. (2) La Chl* excitada puede regresar a su estado fundamental y liberar energía en forma de calor, en un proceso conocido como disipación térmica. (3) La energía absorbida puede reemitirse como energía electromagnética con una longitud de onda más larga, conocida como fluorescencia. La fluorescencia de Chl *a* se refiere a la emisión de una pequeña fracción de energía de Chl *a* por el PSII.

Estos tres procesos ocurren simultáneamente y, por lo tanto, compiten entre ellos. Así, el incremento en la eficiencia de uno de ellos provocará una disminución de la eficiencia de los otros dos (Maxwell y Johnson, 2000; Müller *et al.*, 2001). La medición de la emisión de fluorescencia de la Chl *a* del PS II en cianobacterias intactas, proporciona información sobre la influencia en los flujos de energía y el transporte de electrones, así como de la absorción, distribución y utilización de la energía electromagnética para llevar a cabo el proceso fotosintético (Cid *et al.*, 1995).

En células de cianobacterias adaptadas a la oscuridad, la cadena transportadora de electrones queda vacía, con los RC abiertos y las Q_A están completamente oxidadas. Sin embargo, cuando se aplica un pulso de luz saturante, se produce la transición de los componentes de la cadena de un estado oxidado a un estado reducido, mediante el transporte electrónico impulsado por la luz. Esta transición se manifiesta en un aumento rápido de la emisión de fluorescencia de la Chl *a* del PS II, que es el reflejo del cierre transitorio de los RC del PSII en el tiempo y la reducción de Q_A, lo que proporciona información de la actividad fotoquímica del PSII, así como de la reducción de toda la cadena transportadora de electrones. La cinética de fluorescencia de la Chl *a* (también conocida como “cinética de Kautsky”) tiene una figura compuesta de cuatro inflexiones nombradas OJIP:

- 1) O representa el valor mínimo de la fluorescencia (F_o). Aparece alrededor de los 50 μ s y en ese momento todos los RC están oxidados o abiertos.
- 2) J es el valor de fluorescencia (F_j) que aparece a los 2 ms. Está relacionado con la reducción parcial de la Q_A.
- 3) I es el valor de fluorescencia que aparece a los 20 ms y corresponde a la reducción parcial de Q_A y los Q_B- Complejo Citocromo b₆/f-plastocianina (FI).
- 4) P representa el valor máximo de la fluorescencia (F_m). Se alcanza cuando los acarreadores finales y toda la cadena están reducidos. El tiempo en que esto ocurre depende del protocolo experimental. El valor de F_m corresponde al valor de fluorescencia en P (FP), momento en el cual todos los RC se encuentran cerrados.

El análisis de la cinética de la fluorescencia de la Chl *a* del PSII según la prueba OJIP (Strasser y Strasser, 1995) se puede modelar estableciendo el destino del flujo de energía luminosa atravesando el PSII (Force *et al.*, 2003):

1. Flujo de energía absorbido (ABS): Es la energía absorbida por los pigmentos fotosintéticos.
2. Flujo de energía atrapado (TRo): Se refiere a la energía que se utiliza para reducir Q_A a Q_B.
3. Flujo de energía utilizado para el transporte electrónico (ETo): Es la energía asociada con el transporte de electrones.
4. Flujo de energía utilizado para la reducción de los acarreadores finales (REo): Es la energía que reduce los aceptores finales de electrones.
5. Flujo de energía disipado como calor (Dio): Es la energía disipada en forma de calor.

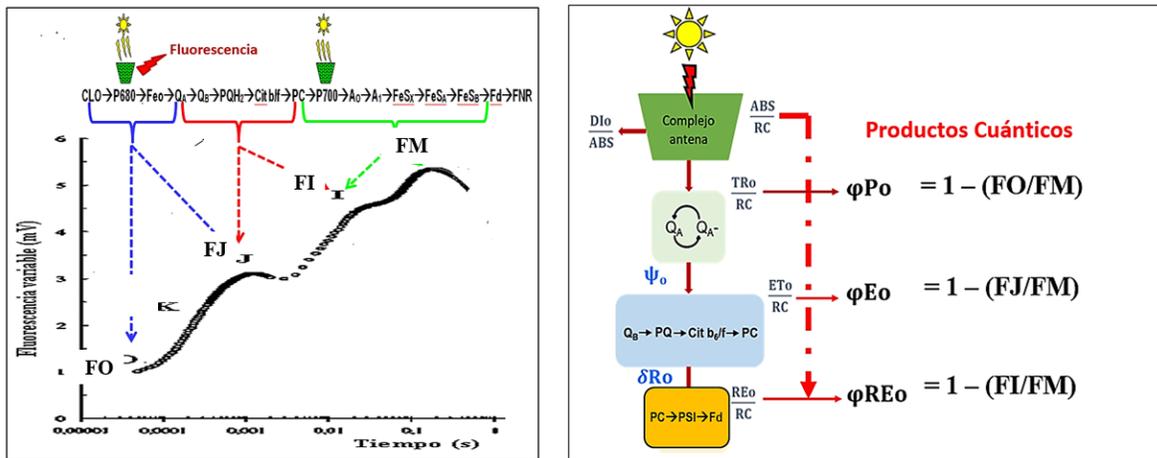


Figura 28. Modelo del flujo de energía a través del PSII, modificado de Strasser y Strasser, 1995.

La prueba OJIP considera cada una de las inflexiones de la curva, los valores extremos (Fo y Fm), así como la pendiente inicial de la emisión de la fluorescencia de la Chl *a* en el PSII. Utilizando estos valores se pueden calcular los parámetros descritos en la Tabla 1 (Van Heerden *et al.*, 2007).

Materiales y métodos

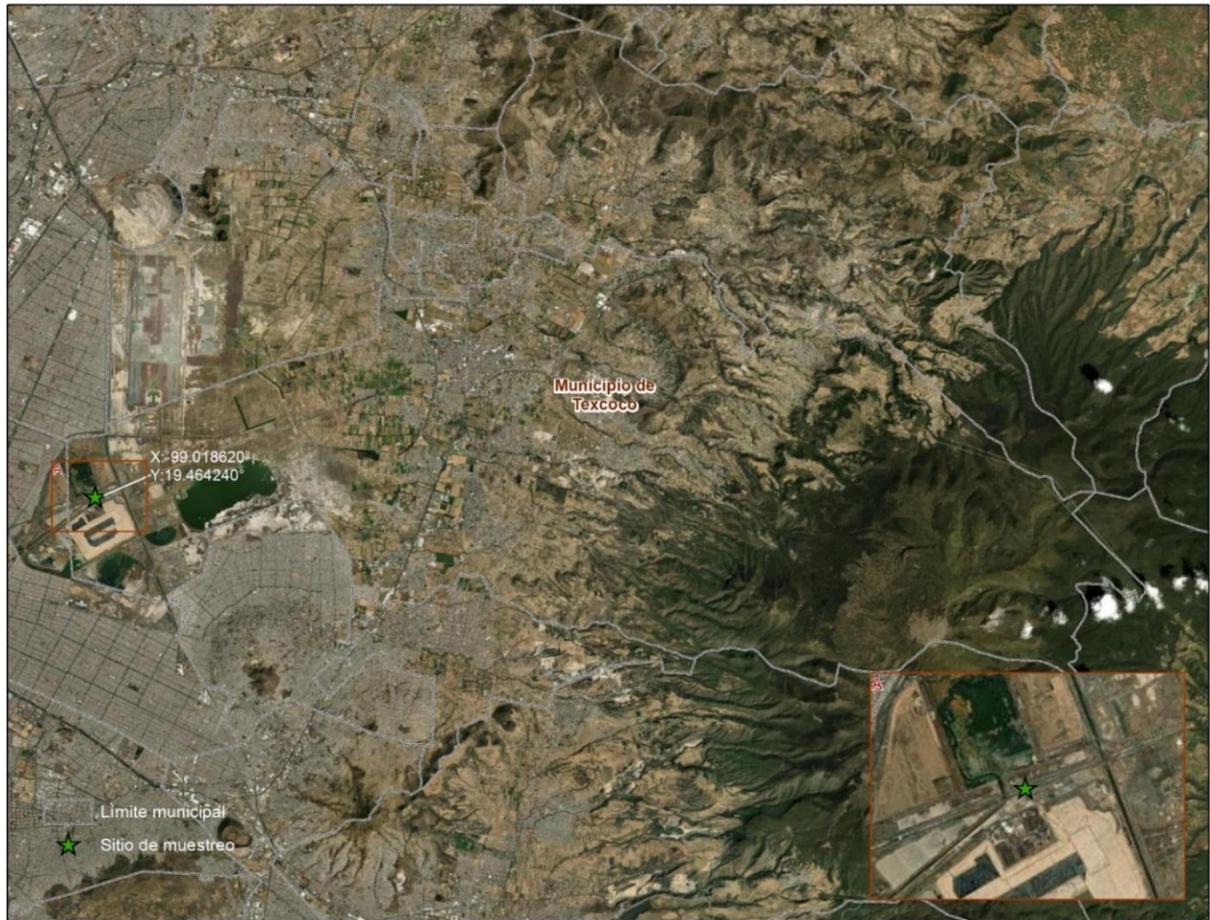


Figura 29. Mapa del sitio de muestreo de *A. maxima* en el Municipio de Texcoco, Estado de México.

Tablas de análisis estadísticos mediante la prueba ANOVA con Tukey.

7.1 Crecimiento - Figura 4.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	1.10336333	0.22067267	51.11	<.0001
Error	18	0.07772400	0.00431800		
Total correcto	23	1.18108733			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.934193	4.284135	0.065711	1.533833

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	1.10336333	0.22067267	51.11	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Y

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	18
Error de cuadrado medio	0.004318
Valor crítico del rango estudentizado	4.49442
Diferencia significativa mínima	0.1477

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	1.76800	4	2
A			
B A	1.69300	4	1
B A			
B A	1.64700	4	3
B			
B	1.55900	4	4
C	1.41100	4	5
D	1.12500	4	6

7.1 Tasa de crecimiento relativo - Figura 5.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.00003908	0.00000782	56.28	<.0001
Error	18	0.00000250	0.00000014		
Total correcto	23	0.00004158			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.939875	2.419987	0.000373	0.015400

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	0.00003908	0.00000782	56.28	<.0001

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	0.0166750	4	2
A			
B A	0.0163500	4	1
B A			
B A	0.0160750	4	3
B A			
B C	0.0156250	4	4
C			
C	0.0148000	4	5
D	0.0128750	4	6

7.1 Tasa de duplicación - Figura 6.

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	406.5147470	81.3029494	59.07	<.0001
Error	18	24.7764895	1.3764716		
Total correcto	23	431.2912365			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.942553	2.585357	1.173231	45.37986

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	406.5147470	81.3029494	59.07	<.0001

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	18
Error de cuadrado medio	1.376472
Valor crítico del rango estudentizado	4.49442
Diferencia significativa mínima	2.6365

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	53.7818	4	6
B	46.9030	4	5
B			
C B	44.3637	4	4
C			
C D	43.1334	4	3
C D			
C D	42.5204	4	1
D			
D	41.5771	4	2

7.2 Contenido específico de clorofila a - Figura 7.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	406.5147470	81.3029494	59.07	<.0001
Error	18	24.7764895	1.3764716		
Total correcto	23	431.2912365			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.942553	2.585357	1.173231	45.37986

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	406.5147470	81.3029494	59.07	<.0001

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	18
Error de cuadrado medio	0.82327
Valor crítico del rango estudentizado	4.49442
Diferencia significativa mínima	2.039

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
â	22.4337	4	2
â	22.3519	4	3
â	21.8292	4	1
â	21.1619	4	4
â	20.7262	4	5
B	18.0276	4	6

7.2 Carotenoides totales - Figura 8.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	117.9607163	23.5921433	4.95	0.0050
Error	18	85.7645841	4.7646991		
Total correcto	23	203.7253004			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.579018	4.337057	2.182819	50.32950

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	117.9607163	23.5921433	4.95	0.0050

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
Á	52.842	4	3
Á	51.072	4	1
Á	51.039	4	4
Á	50.720	4	2
Á	50.651	4	5
B	45.653	4	6

7.3 Respiración - Figura 9.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	117.9607163	23.5921433	4.95	0.0050
Error	18	85.7645841	4.7646991		
Total correcto	23	203.7253004			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.579018	4.337057	2.182819	50.32950

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	117.9607163	23.5921433	4.95	0.0050

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
Á	1462.75	16	6
B	1172.23	16	5
B	981.47	16	3
C	948.27	16	4
C	935.44	16	1
C	866.79	16	2

7.3 Fotosíntesis - Figura 10.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	53.84193346	10.76838669	13.08	<.0001
Error	18	14.81886314	0.82327017		
Total correcto	23	68.66079660			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.784173	4.302566	0.907342	21.08840

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	53.84193346	10.76838669	13.08	<.0001

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	3118.40	16	6
B	2458.37	16	5
C	2102.39	16	4
D	1981.80	16	1
D	1968.73	16	3
D	1811.09	16	2

7.4 Número de centro de reacción activos del PSII (RC/ABS) - Figura 18.

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Y

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	54
Error de cuadrado medio	0.000835
Valor crítico del rango estudentizado	4.17827
Diferencia significativa mínima	0.0382

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	2.17460	10	3
A			
B A	2.15816	10	4
B A			
B A	2.13697	10	2
B A			
B A	2.12448	10	1
B A			
B A	2.12315	10	5
B A			
C	2.00492	10	6

7.4 Fracción de complejos liberadores de oxígeno (CLO) - Figura 19.

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Y

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	54
Error de cuadrado medio	0.000338
Valor crítico del rango estudentizado	4.17827
Diferencia significativa mínima	0.0243

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	1.000130	10	1
A			
B A	0.986550	10	3
B A			
B A	0.984090	10	6
B A			
B A	0.984080	10	5
B A			
B A	0.975370	10	4
B A			
B A	0.974540	10	2

7.4 Producto cuántico máximo para la fotoquímica primaria del PSII (ϕP_o) - Figura 20.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.01148282	0.00229656	385.46	<.0001
Error	54	0.00032173	0.00000596		
Total correcto	59	0.01180455			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.972745	0.476596	0.002441	0.512150

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	0.01148282	0.00229656	385.46	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Y

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	54
Error de cuadrado medio	5.958E-6
Valor crítico del rango estudentizado	4.17827
Diferencia significativa mínima	0.0032

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	0.524400	10	3
A	0.524330	10	4
B	0.519360	10	2
C	0.512870	10	5
D	0.507670	10	1
E	0.484270	10	6

7.4 Eficiencia para que un fotón atrapado mueva un electrón después de Q_A (Ψ_0) - Figura 21

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.01058893	0.00211779	112.89	<.0001
Error	54	0.00101301	0.00001876		
Total correcto	59	0.01160194			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.912686	0.660823	0.004331	0.655427

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	0.01058893	0.00211779	112.89	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Y

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	54
Error de cuadrado medio	0.000019
Valor crítico del rango estudentizado	4.17827
Diferencia significativa mínima	0.0057

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	0.672100	10	6
A	0.667670	10	5
B	0.660350	10	4
B	0.655890	10	3
C	0.641290	10	2
D	0.635260	10	1

7.4 Producto cuántico máximo para la reducción de los aceptores intermedios (ϕE_0) - Figura 22

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.00510098	0.00102020	117.45	<.0001
Error	54	0.00046904	0.00000869		
Total correcto	59	0.00557002			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.915792	0.878147	0.002947	0.335615

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	0.00510098	0.00102020	117.45	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Y

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGMQL.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	54
Error de cuadrado medio	8.686E-6
Valor crítico del rango estudentizado	4.17827
Diferencia significativa mínima	0.0039

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	0.346240	10	4
A	0.343960	10	3
A	0.342440	10	5
B	0.333060	10	2
C	0.325480	10	6
C	0.322510	10	1

7.4 Eficiencia para el transporte electrónico desde los acarreadores intermedios hasta los finales (δRo) - Figura 23

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.03762251	0.00752450	254.25	<.0001
Error	54	0.00159812	0.00002959		
Total correcto	59	0.03922063			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.959253	0.642090	0.005440	0.847252

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	0.03762251	0.00752450	254.25	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Y

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGMQL.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	54
Error de cuadrado medio	0.00003
Valor crítico del rango estudentizado	4.17827
Diferencia significativa mínima	0.0072

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	0.894110	10	6
B	0.862470	10	5
C	0.846360	10	4
D	0.833170	10	3
D	0.827340	10	1
E	0.820060	10	2

7.4 Producto cuántico para la reducción de los aceptores finales del PSI (ϕ REo) - Figura 24

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: Y

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	0.00678230	0.00135646	122.02	<.0001
Error	54	0.00060033	0.00001112		
Total correcto	59	0.00738263			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Y Media
0.918684	1.172693	0.003334	0.284323

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
T	5	0.00678230	0.00135646	122.02	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Y

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	54
Error de cuadrado medio	0.000011
Valor crítico del rango estudentizado	4.17827
Diferencia significativa mínima	0.0044

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	0.295340	10	5
A	0.293070	10	4
A	0.291010	10	6
B	0.286540	10	3
C	0.273140	10	2
D	0.266840	10	1

7.4 Índice de conservación de energía para el transporte electrónico fotosintético (P.I. total)

Procedimiento ANOVA

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Y

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	54
Error de cuadrado medio	1.921517
Valor crítico del rango estudentizado	4.17827
Diferencia significativa mínima	1.8315

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	T
A	32.6398	10	6
B	28.2093	10	5
C	25.5767	10	4
D	22.8296	10	3
E	18.8446	10	2
E	18.3185	10	1

Gracias por llegar hasta acá, sigue así de curiosx. c: