CRECIMIENTO DE *Limnobium laevigatum* (HYDROCHARITACEAE) BAJO CUATRO PROPORCIONES DIFERENTES DE NO₃⁻ : NH₄⁺ EN CONDICIONES DE LABORATORIO

GROWTH OF *Limnobium laevigatum* (HYDROCHARITACEAE) UNDER FOUR DIFFERENT NO₃⁻ : NH₄⁺ PROPORTIONS UNDER LABORATORY CONDITIONS

Campos-Cuellar, R. y H. Aponte

CRECIMIENTO DE *Limnobium laevigatum* (HYDROCHARITACEAE) BAJO CUATRO PROPORCIONES DIFERENTES DE NO₃⁻ : NH₄⁺ EN CONDICIONES DE LABORATORIO
GROWTH OF *Limnobium laevigatum* (HYDROCHARITACEAE) UNDER FOUR DIFFERENT NO₃⁻ : NH₄⁺ PROPORTIONS UNDER LABORATORY CONDITIONS

CRECIMIENTO DE *Limnobium laevigatum* (HYDROCHARITACEAE) BAJO CUATRO PROPORCIONES DIFERENTES DE $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ EN CONDICIONES DE LABORATORIO

GROWTH OF *Limnobium laevigatum* (HYDROCHARITACEAE) UNDER FOUR DIFFERENT $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ PROPORTIONS UNDER LABORATORY CONDITIONS

Campos-Cuellar, R.
y H. Aponte

CRECIMIENTO DE
Limnobium laevigatum
(HYDROCHARITACEAE)
BAJO CUATRO
PROPORCIONES
DIFERENTES DE $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$
EN CONDICIONES DE
LABORATORIO

GROWTH OF
Limnobium laevigatum
(HYDROCHARITACEAE)
UNDER FOUR DIFFERENT
 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ PROPORTIONS
UNDER LABORATORY
CONDITIONS

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 50: 97-107 Agosto 2020

DOI:
10.18387/polibotanica.50.7

R. Campos-Cuellar / rebeca_campos_cuellar@outlook.es

Carrera de Biología Marina, Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas.
Universidad Científica del Sur. Carr. Panamericana Sur 19, Villa El Salvador, Perú.

H. Aponte

Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas. Universidad Científica del Sur.
Carr. Panamericana Sur 19, Villa El Salvador, Perú.
Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
Av. Arenales 1256, Jesús María, Perú.

RESUMEN: *Limnobium laevigatum* es una planta acuática flotante con un gran potencial para su uso como forraje y como planta captadora de carbono. A fin de optimizar su crecimiento es fundamental conocer las condiciones de cultivo óptimas para su propagación, siendo uno de estos parámetros la proporción de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$. El objetivo del presente artículo fue el de evaluar el crecimiento de *Limnobium laevigatum* probando cuatro diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ bajo condiciones de laboratorio. El experimento tuvo una duración de 28 días en las que las plantas fueron sometidas a cuatro tratamientos con diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (6:1, 3:1, 1:1, 1:3). Se analizaron parámetros de crecimiento como la longitud de la raíz, número de hojas, número de rametos, área foliar, peso húmedo, peso seco, tasa de crecimiento relativo (TCR), porcentaje de clorosis y porcentaje de hojas muertas. Los resultados nos indican que el tratamiento con mayor cantidad de nitratos (6:1) fue el que presentó la mayor longitud de raíz, número de hojas, rametos, área foliar, peso húmedo, peso seco y TCR. El tratamiento con mayor cantidad de amonio (1:3) tuvo mayor porcentaje de clorosis y hojas muertas. Se discuten las razones por las que los tratamientos con más amonio tuvieron menor rendimiento, entre las que se encuentran los cambios negativos en el funcionamiento enzimático ocasionados por esta molécula.

Palabras clave: Influencia del nitrógeno, amonio, nitrato, condiciones de cultivo, propagación.

ABSTRACT: *Limnobium laevigatum* is a floating aquatic plant with great potential for use as forage and as a carbon capture plant. In order to optimize its growth, it is essential to know the optimal culture conditions for its propagation, being one of these parameters the proportion of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$. The aim of this article was to evaluate the growth of *Limnobium laevigatum* by testing four different $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ proportions under laboratory conditions. The experiment lasted 28 days in which the plants were subjected to four treatments with different $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ proportions (6:1, 3:1, 1:1, 1:3). Growth parameters were analyzed, such as root length, number of leaves, number of ramets, leaf area, wet weight, dry weight, relative growth rate (TCR), percentage of chlorosis and percentage of dead leaves. The results indicate that the treatment with the highest amount of nitrates (6:1) was the one with the greatest length of root, number of leaves, ramets, foliar area, wet weight, dry weight and TCR. The treatment with the highest amount of ammonium (1:3) had a higher percentage of chlorosis and dead leaves. The reasons why the treatments with more ammonium had lower performance

are discussed, among which the negative changes in the enzymatic functioning are caused by this molecule.

Key words: Influence of nitrogen, ammonium, nitrate, growing conditions, propagation.

INTRODUCCIÓN

Las plantas pueden utilizar distintas formas de nitrógeno (N), molécula muy importante en el crecimiento vegetal. Diferentes experimentos han mostrado que las plantas acuáticas presentan un mejor crecimiento bajo mezclas de amonio (NH_4^+) y nitratos (NO_3^-) (Clostre & Suni, 2007; Raven *et al.*, 1992). Algunas especies tienen un mejor crecimiento con mayores concentraciones del NH_4^+ , pues su asimilación requiere menos energía que el NO_3^- (Zuluaga-González, 2017). Otras especies manifiestan síntomas de toxicidad cuando hay concentraciones altas de NH_4^+ , presentando un mejor crecimiento cuando NO_3^- predomina como fuente esencial de N (Britto *et al.*, 2001). Conocer las proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ para el crecimiento de especies útiles es fundamental para lograr una producción a gran escala de las mismas (Holzschuh *et al.*, 2009; Houdusse *et al.*, 2005; Rao *et al.*, 2018; Van Beusichem *et al.*, 1988).

Limnobium laevigatum (Familia Hydrocharitaceae) (Humb. & Bonpl. ex Willd.) es una planta acuática que se encuentra frecuentemente en las regiones costeras del continente americano, habiendo registros desde México Central hasta Argentina (Cook & Urmi-König, 1983). Esta especie, que en Perú se distribuye en los departamentos de Loreto, Ucayali y Lima (Ramírez & Cano, 2011), se caracteriza por tener un gran potencial para su uso como forraje (hasta 30% de proteínas en biomasa seca) pudiéndose implementar en dietas para peces por su bajo contenido en fibra y alto valor proteico (Aponte *et al.*, 2013). *L. laevigatum* presenta una propagación rápida y capta cantidades importantes de carbono durante su crecimiento (1.79 T/ha/año); por ello, en los últimos años, se han realizado esfuerzos por optimizar su crecimiento, ya sea bajo diferentes condiciones lumínicas, diferentes concentraciones de nutrientes, así como la influencia de la aireación y salinidad; demostrando que esta especie presenta un crecimiento óptimo a mayores cantidades de luz, bajas concentraciones de nutrientes de soluciones hidropónicas comerciales (25% Solución San Marcos), ausencia de aireación y bajas concentraciones de salinidad (Aponte, 2016, 2017; Aponte & Pacherrres, 2013; Troncoso-Gómez & Aponte, 2020). Un factor aun no estudiado en el crecimiento de esta planta es cómo la proporción $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva para su cultivo puede afectar su crecimiento. Dicha proporción, correctamente administrada, ha mejorado el crecimiento de muchas plantas acuáticas como *Vallisneria spiralis* (L.) Hara, *Lemna gibba* (L.) Moench, *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Cao *et al.*, 2007; Clostre & Suni, 2007; Reddy & Tucker, 1983) y podría ser benéfica en el crecimiento de esta especie. Por esta razón, el presente estudio buscó evaluar el crecimiento de *Limnobium laevigatum* probando diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ bajo condiciones de laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Periodo de aclimatación

Se colectaron rametos (copias de la planta reproducida vegetativamente) de *Limnobium laevigatum* ubicados en la zona de amortiguamiento del Refugio de Vida Silvestre Los Pantanos de Villa (18L 284263.97 O – 8649114.35 S, 5 m sobre nivel del mar), provincia de Lima, Perú, con la autorización N°AUT-IFL-2018-004 de SERFOR. Luego, las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Investigación de la Universidad Científica del Sur. Se limpiaron los rametos y se distribuyeron en tanques de 20 L para su propagación y aclimatación durante 30 días con una solución hidropónica (solución 6:1 de tabla 1; recomendada en Aponte, 2017). Durante este periodo, se evaluó las condiciones bajo las cuales crecieron los ejemplares (temperatura, humedad, iluminación y fotoperiodo) tres veces al día durante los 30 días de aclimatación (tabla 2).

Tabla 1. Valores de los elementos en partes por millón (ppm), pH y conductividad (mS/cm) de las soluciones nutritivas utilizadas en cada tratamiento ($\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$)

Elemento	6:1	3:1	1:1	1:3
NO_3^-	42.5	37.8	24.8	12.2
NH_4^+	7	13	24.8	37.1
K	69.52	69.52	69.52	69.52
P	10.4	10.4	10.4	10.4
Mg	27.47	27.47	27.47	27.47
S	54.22	54.22	54.22	54.22
Ca	116.2	116.2	116.2	116.2
Fe	0.39	0.39	0.39	0.39
Mn	0.13	0.13	0.13	0.13
Zn	0.14	0.14	0.14	0.14
Cu	0.04	0.04	0.04	0.04
B	0.77	0.77	0.77	0.77
Mo	0.02	0.02	0.02	0.02
pH	8.2	8.1	8.03	8
Conductividad	3.83	3.86	3.86	3.94

Diseño Experimental

Se evaluó cuatro tratamientos de diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (6:1; 3:1; 1:1; 1:3) con 20 repeticiones (unidades experimentales, UE) por tratamiento (Aponte & Pacherres, 2013); el contenido de cada solución se encuentra en la tabla 1. Las UE fueron constituidas por un rameto obtenido en la etapa de aclimatación, estos fueron situados en un vaso de precipitado de 600ml cubiertos por un plástico negro que evitaba el ingreso lateral de luz para impedir el crecimiento de microalgas. Cada UE contuvo 300ml de la solución hidropónica del respectivo tratamiento. Las UE fueron distribuidas aleatoriamente. Al inicio del experimento, cada rameto tenía en promedio ($\pm$ Desviación Estándar) 2.27 ± 0.45 hojas, un peso de $0.16 \pm 0.04\text{g}$, una longitud máxima de la raíz de $0.74 \pm 0.31\text{cm}$ y un área foliar de $2.23 \pm 0.44\text{ cm}^2$. Cada siete días se tomaron los siguientes parámetros de crecimiento en las plantas: número de rametos, hojas totales, hojas cloróticas, hojas muertas, peso húmedo total (g), tamaño de la raíz más larga (cm) y área foliar (cm^2). Cada tres días se limpiaron las UE y se hizo el recambio de la solución hidropónica, con el objetivo de mantener las mismas condiciones de nutrientes durante el experimento y evitar la contaminación por presencia de microalgas. Al finalizar el experimento, se obtuvo el peso seco total (g) y la tasa de crecimiento relativa (TCR) definida por la fórmula desarrollada en Hoffmann & Poorter (2002):

$$TCR = \frac{\overline{\ln WFl} - \overline{\ln WIl}}{t2 - t1}$$

Donde WF y WI , corresponden al peso húmedo final e inicial de cada UE (i), y la diferencia de tiempos ($t2-t1$) fue el número de días que duró el experimento.

Todos los días se registró los datos de temperatura, humedad, iluminación y fotoperiodo, para corroborar que los parámetros físico-químicos fueron homogéneos durante este periodo. Estos datos fueron registrados, tres veces al día, hasta culminar el experimento luego de 28 días, tiempo en el cual *Limnobium laevigatum* presenta un crecimiento exponencial y cubre el espacio superficial de la unidad experimental (evitando de esta manera una sobreposición de los rametos; Aponte, 2017). Los datos de esta etapa se encuentran en la tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de Humedad, Temperatura, Iluminación y Fotoperiodo durante la etapa de aclimatación (30 días) y experimentación (28 días). Los datos serán mostrados como Promedio $\pm$ DE (Min-Max).

Parámetros	Aclimatación	Experimentación
Humedad Relativa (%)	48.62 $\pm$ 8.73 (23-76)	45.07 $\pm$ 7.17 (33-62)
Temperatura del agua (°C)	21.23 $\pm$ 1.07 (18-24.4)	22.02 $\pm$ 1.81 (18.1-28.3)
Temperatura laboratorio (°C)	24.40 $\pm$ 1.65 (20.1-30.2)	24.34 $\pm$ 1.41 (21.3-27.4)
Iluminación ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)	130.41 $\pm$ 78.81 (21.28-394.05)	181.19 $\pm$ 173.76 (32.93-743.7)
Fotoperiodo (horas/día)	12.35 $\pm$ 0.06 (12.24-12.45)	12.14 $\pm$ 0.05 (12.05-23.23)

Procesamiento de datos y análisis estadístico

Se realizaron estadísticos descriptivos para cada variable evaluada por tratamiento (Promedio $\pm$ Desviación Estándar). Se obtuvo el porcentaje de hojas cloróticas (% CL) en función al número total de hojas vivas contadas; el porcentaje de hojas muertas (% HM) se obtuvo en función al número total de hojas, considerando las vivas (incluyendo cloróticas) y muertas vistas en el momento del conteo.

Posteriormente, se comprobó la normalidad de los datos (prueba de Shapiro-Wilk) y al no cumplir el requisito ($p < 0.05$), se procedió a realizar la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, seguida de la prueba a posteriori de Mann-Whitney. Todos estos análisis y los gráficos se realizaron en el software PAST V. 2.14c. (Hammer *et al.*, 2009) y Excel 2013 (©Microsoft).

RESULTADOS

En el periodo de aclimatación y experimentación no hubo diferencias significativas en los datos de temperatura, humedad, iluminación y fotoperiodo, estos resultados demostraron ser homogéneos sin que puedan influir significativamente durante la etapa de experimentación (tabla 2).

Durante el periodo de experimentación el tratamiento 6:1 ($\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$), fue el que presentó mayor número de hojas, número de rametos, peso húmedo, área foliar y longitud de raíz; el tratamiento 1:3 presentó los valores más bajos para todos estos parámetros (figs. 1 y 2). Con respecto a la clorosis y hojas muertas, el tratamiento 6:1 fue el que presentó menor porcentaje para ambos parámetros, y el tratamiento 1:3 fue el que presentó mayor porcentaje. Al finalizar el experimento, el tratamiento 6:1 fue el que obtuvo la mayor TCR (0.08; fig. 3a) y ganancia de peso seco (0.17 g; fig. 3b), y el tratamiento 1:3 la menor TCR (-0.04; fig. 3a) y pérdida de peso seco (-0.006 g; fig. 3b).

Se encontró diferencias significativas entre los tratamientos 6:1 y 1:3, para el peso húmedo, longitud de raíz, número de hojas, número de rametos, número de hojas muertas, área foliar, tasa de crecimiento y peso seco ($p < 0.05$, $p=5.98 \times 10^{-8}$, $p=5.56 \times 10^{-8}$, $p=5.82 \times 10^{-8}$, $p=5.59 \times 10^{-8}$, $p=8.59 \times 10^{-8}$, $p=6.02 \times 10^{-8}$, $p=3.1 \times 10^{-6}$, $p=5.73 \times 10^{-8}$, respectivamente), a excepción del porcentaje de hojas cloróticas (%CL) ($p > 0.05$, $p=0.12$). Sin embargo, los tratamientos 3:1 y 1:1 no presentaron diferencias estadísticamente soportadas entre ellos para ninguno de los parámetros mencionados: peso húmedo, longitud de raíz, número de hojas, número de rametos, número de hojas cloróticas, número de hojas muertas, área foliar y peso seco ($p > 0.05$, $p=0.24$, $p=0.88$, $p=0.17$, $p=0.21$, $p=0.12$, $p=0.32$, $p=0.37$, $p=0.16$, respectivamente), a excepción de la tasa de crecimiento ($p < 0.05$, $p=0.02$) (fig. 2).

Fig. 1. *Limnobium laevigatum* sometida a cuatro tratamientos de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (6:1, 3:1, 1:1, 1:3) durante el periodo de experimentación. El tratamiento 6:1 es el que presenta mayor número de hojas y número de rametos. A diferencia del tratamiento 1:3, el cual presenta menor número de hojas y rametos.

Fig. 2. Evolución del Peso Húmedo (a), Longitud de la Raíz (b), Número de Hojas (c), Número de rametos (d), Área Foliar (e), Porcentaje de hojas cloróticas (f), Porcentaje de hojas muertas (g) durante los 28 días del experimento. Tratamientos: ◆=6:1, ■=3:1, ▲=1:1 y ×=1:3 para la proporción $\text{NO}_3:\text{NH}_4^+$. Las letras en las figuras representan el resultado del análisis estadístico a posteriori de Mann-Whitney.

Fig. 3. (a) Tasa de crecimiento relativo (TCR) por tratamiento. (b) Ganancia de peso seco por tratamiento a los 28 días de experimento. Las letras en las figuras representan el resultado del análisis estadístico a posteriori de Mann-Whitney.

DISCUSIÓN

La presente investigación muestra el efecto de las diferentes proporciones $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ en el crecimiento de *Limnobium laevigatum*, donde altas concentraciones de NO_3^- favorecieron su desarrollo (fig. 2a, 1b, 1c, 1d, 1e; fig. 3) y altas concentraciones de NH_4^+ se mostraron negativas, generando una mayor mortalidad foliar (fig. 2g). Resultados similares fueron obtenidos por Reddy & Tucker (1983) en *Eichhornia crassipes* y Clostre & Suni (2007) en *Lemna gibba*, donde se usaron proporciones similares a las del presente experimento.

En los primeros siete días del experimento, el tratamiento con mayor concentración de NH_4^+ (1:3) no presentó diferencias con los otros tratamientos (en todos los parámetros excepto longitud de raíz y peso húmedo; fig. 2). Esto, pudo deberse a un mecanismo de defensa intracelular que tienen las plantas acuáticas y que genera una mayor producción de enzimas antioxidantes: por ejemplo, catalasa, glutatión-S-transferasa y guaiacol peroxidasa; las cuales impiden la inducción al estrés oxidativo causado por el NH_4^+ (Díaz *et al.*, 2010; Peralta-Pérez & Volke-Sepúlveda, 2012). Esta actividad ha sido reportada en plantas acuáticas como *Potamogeton crispus* L. y *Myriophyllum mattogrossense* Hoehne (Cao *et al.*, 2004; Nimptsch & Pflugmacher, 2007).

A partir de la segunda semana del experimento, se evidenció que el crecimiento de *L. laevigatum* era menor bajo la proporción 1:3 de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$. Este tratamiento, al poseer mayor concentración de amonio, pudo afectar la actividad enzimática del nitrato y nitrito reductasas provocando una inhibición en la asimilación del nitrato (Martínez, 2003; Rodríguez & Piñeros, 2007). Asimismo, pudo haber un mayor gasto energético en la respiración, correlacionándose a una disminución en el crecimiento de esta especie, como ocurrió en *Hordeum vulgare* L., cultivada en un medio hidropónico (Britto *et al.*, 2001); si bien esta última especie no es una planta acuática, los resultados son reportados para su crecimiento bajo condiciones semejantes a las de *Limnobium laevigatum* en esta investigación.

Es oportuno recordar el rol que juegan los nitratos en el metabolismo de iones importantes como el potasio (K^+). La recirculación de cationes como el K^+ dentro de la planta, depende de la presencia y reducción del NO_3^- ; estas moléculas absorbidas por las raíces son trasladadas a las hojas, donde ocurre este proceso; por cada ion reducido de NO_3^- se forma un ion malato, el cual junto al K^+ es transportado nuevamente a las raíces, donde el malato libera OH^- y genera una mayor absorción de NO_3^- (Zioni *et al.*, 1971). Debido a este mecanismo, la recirculación del K^+ es favorecida; sin embargo, cuando hay bajas concentraciones de nitrato reducido en las hojas, la circulación del K^+ es menor. Bajo este contexto, el mayor crecimiento de *L. laevigatum* en la proporción 6:1 probablemente se debe a que; existe una mejor absorción de cationes como el potasio (K^+) y también otros iones como magnesio (Mg^{2+}) y calcio (Ca^{2+}), lo cual no se cumple cuando el amonio predomina en el medio, impidiendo la eficaz recirculación de cationes en la planta, generando un desequilibrio nutricional (Van Beusichem *et al.*, 1988).

Los resultados del presente estudio muestran cómo la disponibilidad y proporciones de nutrientes en la columna de agua influyen en la abundancia de las plantas acuáticas. A fin de continuar esta línea de investigación será importante conocer en próximos estudios las cantidades adecuadas de otros elementos esenciales para la mayor propagación de *L. laevigatum*, entre los cuales están: el magnesio (Mg), el fósforo (P) o el potasio (K); nutrientes que forman parte de procesos esenciales como la fosforilación y desfosforilación, funcionamiento de enzimas (ATPasa, fosfatasa y carboxilasas), o promueven la síntesis, translocación y almacenamiento de carbohidratos (Navarrete, 2017; Samborska *et al.*, 2018; Thiébaud, 2005). Este trabajo permite conocer la mejor proporción de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (6:1) para la propagación de *L. laevigatum* en laboratorio, sumándose a los resultados previamente descritos de concentración de nutrientes, intensidad lumínica, salinidad y aireación (Aponte, 2016; Aponte & Pacherras, 2013; Troncoso-Gómez & Aponte, 2020). Estos conocimientos contribuyen para lograr establecer las mejores condiciones de cultivo de esta planta acuática.

CONCLUSIONES

El mejor crecimiento de *Limnobium laevigatum* se obtuvo bajo la proporción 6:1 ($\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$), donde hubo mayor número de hojas, rametos, peso húmedo, área foliar y longitud de raíz. Estos resultados indicaron que mayores concentraciones de nitratos favorecen el rendimiento de esta especie, optimizando sus condiciones de cultivo en laboratorio.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos profundamente a la Universidad Científica del Sur por brindarnos las instalaciones y materiales utilizados en este trabajo. Asimismo agradecemos el valioso apoyo de Edgar López, Chiemi Oki y Yesenia Quelopana durante el desarrollo experimental. Finalmente agradecemos al profesor Alfredo Rodríguez y al ingeniero Rolando Pachas por su fundamental guiado en la preparación de las soluciones hidropónicas usadas en el experimento.

LITERATURA CITADA

- Aponte, H. (2016). Crecimiento de *Limnobium laevigatum* (Hydrocharitaceae) bajo diferentes condiciones lumínicas. *The Biologist*, 14(2), 297–305.
- Aponte, H. (2017). Productividad de *Limnobium laevigatum* (Hydrocharitaceae) bajo condiciones de laboratorio Productivity of *Limnobium laevigatum* (Hydrocharitaceae) under laboratory conditions. *Polibotánica*, 0(44), 157–166. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.44.12>
- Aponte, H., & Pacherras, C. O. (2013). Original Article / Artículo Original Growth and Propagation of *Limnobium laevigatum* (Hydrocharitaceae) Under Different Nutrient Concentrations. 69–78.
- Aponte, H., Segura, C., & Francia, J. C. (2013). Análisis químico proximal de *Limnobium laevigatum* y su potencial para su uso como forraje. *Científica*, 10(2).
- Britto, D. T., Siddiqi, M. Y., Glass, A. D. M., & 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 of the United States of America*, 98(7), 4255–4258. <https://doi.org/10.1073/pnas.061034698>
- Cao, T., Ni, L., & Xie, P. (2004). Acute biochemical responses of a submersed macrophyte, *Potamogeton crispus* L., to high ammonium in an aquarium experiment. *Journal of Freshwater Ecology*, 19(2), 279–284. <https://doi.org/10.1080/02705060.2004.9664542>
- Cao, T., Xie, P., Ni, L., Wu, A., Zhang, M., Wu, S., & Smolders, A. J. P. (2007). The role of NH_4^+ toxicity in the decline of the submersed macrophyte *Vallisneria spiralis* in lakes of the Yangtze River basin, China. *Marine and Freshwater Research*, 58(6), 581–587. <https://doi.org/10.1071/MF06090>
- Clostre, G., & Suni, M. (2007). Efecto del nitrógeno, fósforo y potasio del medio de cultivo en el rendimiento y valor nutritivo de *Lemna gibba* L. (Lemnaceae). *Revista Peruana de Biología*, 13(3), 231–235. <https://doi.org/10.15381/rpb.v13i3.2347>
- Cook, C. D. K., & Urmi-König, K. (1983). A revision of the genus *Limnobium* including *Hydromystria* (Hydrocharitaceae). *Aquatic Botany*, 17(1), 1–27. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(83\)90015-3](https://doi.org/10.1016/0304-3770(83)90015-3)
- Díaz, M., Pérez, Y., Cazaña, Y., Prieto, M., Wencomo, H., & Lugo, Y. (2010). Determinación de antioxidantes enzimáticos en variedades e híbridos de *Morus alba*. Determination of enzymatic antioxidants in *Morus alba* varieties and hybrids. 33(3).
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2009). PAST—Palaeontological statistics. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 1–9.
- Hoffmann, W. A., & Poorter, H. (2002). Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of Botany*, 90(1), 37–42. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf140>

Recibido:
22/agosto/2019

Aceptado:
7/julio/2020

- Holzschuh, M. J., Bohnen, H., Anghinoni, I., Meurer, E. J., Carmona, F. de C., & Costa, S. E. V. G. de A. (2009). Resposta do arroz irrigado ao suprimento de amônio e nitrato. *Revista Brasileira de Ciencia Do Solo*, 33(5), 1323–1331. <https://doi.org/10.1590/s0100-06832009000500025>
- Houdusse, F., Zamarreño, A. M., Garnica, M., & García-Mina, J. (2005). The importance of nitrate in ameliorating the effects of ammonium and urea nutrition on plant development: The relationships with free polyamines and plant proline contents. *Functional Plant Biology*, 32(11), 1057–1067. <https://doi.org/10.1071/FP05042>
- Martínez, R. (2003). Fisiología de la asimilación de nitrógeno en *Haloferax mediterranei*. Purificación y caracterización de Nitrato y Nitrito reductasas asimilativas. *Tesis de Doctorado*. Universidad de Alicante.
- Navarrete, E. (2017). Efecto de tres fuentes de potasio en el control del manchado de grano en el cultivo de arroz (*Oryza sativa L.*). Universidad de Guayaquil.
- Nimptsch, J., & Pflugmacher, S. (2007). Ammonia triggers the promotion of oxidative stress in the aquatic macrophyte *Myriophyllum mattogrossense*. *Chemosphere*, 66(4), 708–714. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.07.064>
- Peralta-Pérez, M. del R., & Volke-Sepúlveda, T. L. (2012). The antioxidant defense in plants: A key tool for phytoremediation. *Revista Mexicana de Ingeniera Química*, 11(1), 75–88.
- Ramírez, D. W., & Cano, A. (2011). Estado de la diversidad de la flora vascular de los Pantanos de Villa (Lima - Perú). *Revista Peruana de Biología*, 17(1), 111–114. <https://doi.org/10.15381/rpb.v17i1.58>
- Rao, Q., Deng, X., Su, H., Xia, W., Wu, Y., Zhang, X., & Xie, P. (2018). Effects of high ammonium enrichment in water column on the clonal growth of submerged macrophyte *Vallisneria spiralis*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(32), 32735–32746. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3146-0>
- Raven, J. A., Wollenweber, B., & Handley, L. L. (1992). A comparison of ammonium and nitrate as nitrogen sources for photolithotrophs. *New Phytologist*, 121(1), 19–32. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb01088.x>
- Reddy, K. R., & Tucker, J. C. (1983). Productivity and nutrient uptake of water hyacinth, *Eichhornia crassipes* L. Effect of nitrogen source. *Economic Botany*, 37(2), 237–247. <https://doi.org/10.1007/BF02858790>
- Rodríguez, I. G., & Piñeros, Y. C. (2007). Production of enzymatic complex in solid state fermentation by *Trichoderma* sp. using palm oil empty fruit bunch (EFB) as substrate. Universidad de Antioquia.
- Samborska, I. A., Kalaji, H. M., Sieczko, L., Goltsev, V., Borucki, W., & Jajoo, A. (2018). Structural and functional disorder in the photosynthetic apparatus of radish plants under magnesium deficiency. *Functional Plant Biology*, 45(6), 668–679. <https://doi.org/10.1071/FP17241>
- Thiébaud, G. (2005). Does competition for phosphate supply explain the invasion pattern of *Elodea* species? *Water Research*, 39(14), 3385–3393. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.05.036>
- Troncoso-Gómez, A., & Aponte, H. (2020). Influence of salinity and aeration on the growth of *Limnobium laevigatum* (HUMB. & BONPL. EX WILLD.) Heine. *Ecol. apl. [online]*, 19(1), 1-7. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v19i1.1440>
- Van Beusichem, M. L., Kirkby, E. A., & Baas, R. (1988). Influence of Nitrate and Ammonium Nutrition on the Uptake, Assimilation, and Distribution of Nutrients in *Ricinus communis*. *Plant Physiology*, 86(3), 914–921. <https://doi.org/10.1104/pp.86.3.914>
- Zioni, A. Ben, Vaadia, Y., & Lips, S. H. (1971). Nitrate Uptake by Roots as Regulated by Nitrate Reduction Products of the Shoot. *Physiologia Plantarum*, 24(2), 288–290. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1971.tb03493.x>
- Zuluaga-González. (2017). Capacidad De Absorción De Amonio De Plantas Acuáticas Como Filtros Biológicos En Sistemas Acuapónicos. *Jovenesenlaciencia.Ugto.Mx*, 1, 112–116. <http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/1685>