



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA
MAESTRIA TERMINAL**

**Remoción de nutrientes por *Schoenoplectus californicus* (C.A.
Mey.) Soják (totora) en una isla flotante y un humedal**

Lic. Wilma Alicia Arce Salamanca

Ph. D. Darío Achá
TUTOR

M. Sc. Jorge Quezada
TRIBUNAL

Ph. D. Carla Maldonado
TRIBUNAL

M. Sc. Winder Canezo
JEFE DE CARRERA DE BIOLOGÍA

**Octubre 2023
La Paz-Bolivia**

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en coordinación con el “Ministerio de Ambiente y Agua – Bolivia” y con el apoyo del Fondo para el Medio Ambiente Mundial (FMAM) a través del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD). Esto fue en el marco del Proyecto Piloto Boliviano 03-B-03 PNUD/GEF “Biorremediación de las áreas de Huatajata y Bahía Cohana del Lago Titicaca y revalorización cultural-económica del Totorá”. La Cuenca Hidrológica Titicaca – Poopó – Coipasa Salina sistema. Este trabajo también contó con el apoyo del Instituto de Investigación para el Desarrollo (IRD), a través del proyecto TITICACA "Equipo Joven Asociado al IRD" (JEAI).

Agradezco al M. Sc. Jorge Quezada y su equipo en la unidad de “Biotecnología Vegetal” del “Instituto de Biología Molecular y Biotecnología” de la Universidad de San Andrés por toda su ayuda para completar esta investigación.

Agradezco a la Dra. Carla Maldonado por su apoyo revisando el artículo que dio lugar a esta tesis de licenciatura y por su apoyo constante.

Agradezco muy profundamente a mi tutor por su dedicación y paciencia, gracias por su guía y todos sus consejos, los llevaré grabados conmigo.

1. Índice general

2.	ABSTRACT	5
3.	RESUMEN.....	6
4.	INTRODUCCION	7
4.1.	HIPÓTESIS	10
4.2.	OBJETIVOS	10
4.2.1.	Objetivo general	10
4.2.2.	Objetivos específicos.....	10
5.	METODOLOGÍA	10
5.1.	ÁREA DE ESTUDIO.....	10
5.2.	MÉTODOS	11
5.2.1.	Diseño experimental.....	11
5.2.2.	Multiplicación in vitro.....	11
5.2.3.	Aclimatación	12
5.2.4.	Humedal artificial.....	13
5.2.5.	Relaciones alométricas	13
5.2.6.	Contenido de nutrientes en tejidos	15
5.2.7.	Monitoreo de humedales construidos.....	16
5.2.8.	Incubación	16
5.2.9.	Análisis isotópico	17
6.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	17
6.1.	Relaciones alométricas.....	17
6.3.	Contenido de nutrientes en tejidos	23
6.4.	Monitoreo de humedales construidos.....	26
6.4.1.	Humedal	26
6.4.2.	Islas flotantes.....	29
6.5.	Análisis isotópico	32
7.	CONCLUSIONES	34
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
9.	ANEXO 1	45

1.1. Índice de figuras y tablas

FIGURA 1. ESQUEMA DE HUMEDALES ARTIFICIALES.....	13
FIGURA 2. A. BIOMASA TOTAL PORCIONES AÉREAS Y SUBTERRÁNEAS. B. RELACIÓN RAÍZ:TALLO DE MUESTRAS A TRAVÉS DE LAS TALLAS MEDIDAS.	19
FIGURA 3. RELACIÓN ENTRE LA BIOMASA ESTIMADA DEL MUESTREO DESTRUCTIVO Y EL MUESTREO NO DESTRUCTIVO: A. MODELO NO DESTRUCTIVO SOBRE EL SUELO, B. MODELO SUBTERRÁNEO NO DESTRUCTIVO, C. MODELO SUBTERRÁNEO CON CONTENIDO DE NUTRIENTES.....	21
FIGURA 4. RELACIÓN ENTRE EL CONTENIDO DE N, P Y CA EN TEJIDOS DE <i>S. CALIFORNICUS</i> : A. CALCIO Y NITRÓGENO, B. FÓSFORO Y NITRÓGENO.	25
FIGURA 5. CAMBIO EN LA BIOMASA AÉREA DE <i>S. CALIFORNICUS</i> EN CUATRO TANQUES DEL HUMEDAL CONSTRUIDO DE JUNIO A DICIEMBRE.	27
FIGURA 6. DIAGRAMA DE CAJA DE LA DENSIDAD Y DE LA BIOMASA AÉREA Y SUBTERRÁNEA DE <i>S. CALIFORNICUS</i> EN CUATRO UNIDADES DEL HUMEDAL ARTIFICIAL.	27
FIGURA 7. CAMBIO EN LA BIOMASA A. AÉREA Y B. SUMERGIDA DE <i>S. CALIFORNICUS</i> EN LOS TRES SISTEMAS FLOTANTES DEL HUMEDAL CONSTRUIDO DE JULIO A DICIEMBRE.....	31
FIGURA 8. VALORES $\Delta^{13}\text{C}$ PARA LAS PORCIONES EMERGENTE Y SUMERGIDA DEL TALLO.	34
TABLA 1. ECUACIONES DE <i>SCHOENOPLECTUS CALIFORNICUS</i> PARA LA ESTIMACIÓN DE BIOMASA.....	18
TABLA 2. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN (R) Y PROBABILIDAD (P) QUE RELACIONAN LAS CONCENTRACIONES DE NUTRIENTES EN LA BIOMASA DE <i>S. CALIFORNICUS</i>	25
TABLA 3. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN (R) Y PROBABILIDAD (P) QUE RELACIONAN LAS CONCENTRACIONES DE NUTRIENTES EN LA BIOMASA DE <i>S. CALIFORNICUS</i> EN HUMEDALES. ...	28
TABLA 4. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN Y NIVEL DE SIGNIFICANCIA RELACIONANDO LA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES CON LA BIOMASA DE <i>S. CALIFORNICUS</i> EN ISLAS FLOTANTES	32
TABLA 5. RESULTADOS $\Delta^{13}\text{C}$ EN PORCIONES EMERGENTES Y SUMERGIDAS DE LOS TALLOS EN (‰) VPDB.....	32

2. ABSTRACT

Research on *Schoenoplectus californicus* focus on the development of aboveground biomass estimations. However, belowground estimations are important for net primary productivity monitoring in wetlands. This study aims to monitor nutrient assimilation by developing allometric models for above and belowground biomass estimation of *S. californicus* in constructed wetlands. The plants we evaluated were grown *in vitro*, allowing us to control the experimental conditions. The results show shoot length and apex diameter as the significant parameters for building our models. Two nondestructive allometric equations were established to predict above and belowground biomass. The models were highly significant for both above and belowground ($R^2 = 0.79$ and 0.49 , $p < 0.001$) and performed adequately for biomass predictions. During active growth, both the aboveground and belowground components are essential for removing nutrients from the water, according to the nutrient content analysis in tissues. Although *S. californicus* can assimilate carbon from water in its submerged portions, its isotopic signal is consistent with preferential assimilation of atmospheric carbon. Both nondestructive equations allowed the monitoring of biomass accumulation in constructed wetlands for seven months, demonstrating that this low-cost method can be used to evaluate the performance of wetlands for wastewater.

Key words: non-destructive sampling, *Schoenoplectus californicus*, aboveground biomass, allometric models, belowground biomass, floating wetlands, $\delta^{13}\text{C}$.

3. RESUMEN

La investigación sobre *Schoenoplectus californicus* se ha centrado en desarrollar estimaciones de biomasa aérea. Sin embargo, las estimaciones subterráneas son importantes para el monitoreo de la productividad primaria neta en los humedales. Este estudio tiene como objetivo monitorear la asimilación de nutrientes mediante el desarrollo de modelos alométricos para la estimación de la biomasa aérea y subterránea de *S. californicus* en humedales construidos. Las plantas evaluadas fueron cultivadas in vitro, lo que permitió controlar las condiciones experimentales. Los resultados muestran que la longitud de los brotes y el diámetro del ápice son parámetros significativos para construir los modelos. Se establecieron dos ecuaciones alométricas no destructivas para predecir la biomasa aérea y subterránea. Los modelos fueron altamente significativos en ambos casos ($R^2=0,79$ y $0,49$, $p<0,001$ respectivamente) y funcionaron adecuadamente para las predicciones de biomasa. Durante el crecimiento activo, tanto los componentes aéreos como subterráneos son esenciales para eliminar los nutrientes del agua, según el análisis del contenido de nutrientes en los tejidos. Aunque *S. californicus* puede asimilar el carbono del agua en sus porciones sumergidas, su señal isotópica es consistente con la asimilación preferencial del carbono atmosférico. Ambas ecuaciones no destructivas permitieron monitorear la acumulación de biomasa en humedales artificiales durante siete meses, lo que demuestra que este método de bajo costo se puede utilizar para evaluar el desempeño de los humedales para las aguas residuales.

Palabras clave: muestreo no destructivo, *Schoenoplectus californicus*, biomasa aérea, modelos alométricos, biomasa subterránea, humedales flotantes, $\delta^{13}\text{C}$.

4. INTRODUCCION

La fitorremediación es una estrategia sostenible, eficiente y de bajo costo que permite que las plantas capturen contaminantes en sus tejidos (Miglioranza *et al.*, 2004; Jiang *et al.*, 2016). Es así como los humedales artificiales se han utilizado en diferentes lugares del mundo para este fin (Scholz & Lee 2005). No obstante, su desempeño depende de factores como el diseño y el tipo de aplicación (Jiang *et al.* 2016).

Con frecuencia se utilizan dos tipos de humedales artificiales: superficiales y sub-superficiales (Scholz & Lee 2005). El primero se asemeja más a un humedal natural con macrófitas enraizadas en el sedimento y flujo de agua entre ellas (Brix 1994). Mientras que en el de flujo sub-superficial, el agua pasa a través de un medio poroso donde se encuentran enraizadas las plantas (Brix 1994).

Otro tipo de humedal artificial corresponde a los sistemas de islas flotantes (Tanner & Headley 2011, Wang & Sample 2014, Yeh *et al.* 2015). Estos consisten en una estera orgánica flotante que sostiene a un sustrato y a macrófitas con las raíces suspendidas dentro del agua (Wang & Sample 2014, Yeh *et al.* 2015). Las raíces proveen una superficie importante para el desarrollo de biofilms que coadyuvan al proceso de remoción y retención de contaminantes (Wang & Sample 2014, Yeh *et al.* 2015). La rizósfera suspendida es también ventajosa en relación a la fluctuación de agua (Pavlineri *et al.* 2017). Estos sistemas tienen la capacidad de inducir pH más neutros, reducir las concentraciones de oxígeno en el agua y de esta manera restringir el crecimiento de fitoplancton en aguas eutrofizadas (Borne *et al.* 2013, Jones *et al.* 2017).

Uno de los componentes principales de los humedales son las macrófitas (Brix 1997). Estas plantas se encuentran adaptadas a medios acuáticos con partes sumergidas que proveen una superficie de adherencia para la formación de biofilms (Brix 1997). Las macrófitas obtienen los nutrientes que necesitan para crecer al absorberlos en sus tejidos (Brix 1997). Las plantas enraizadas obtienen sus nutrientes mayormente del sedimento y en menor medida de los tallos y hojas sumergidos (Barko & Smart 1981, Vymazal 2007). Por otra parte, las plantas en sistemas flotantes obtienen los

nutrientes directamente de la columna de agua optimizando la remoción en comparación con las plantas enraizadas (Vymazal 2007, Tanner & Headley 2011).

La relación directa entre la circulación del agua y la productividad primaria neta en los humedales (Brinson *et al.* 1981) se puede estimar a través de la biomasa vegetal (Zhao *et al.* 2016, Yue *et al.* 2021). Muchas técnicas de monitoreo de biomasa para la vegetación acuática en humedales consisten en muestreo destructivo y no destructivo. Aunque las ventajas y desventajas de ambos métodos se han discutido extensamente (Dai & Wiegert 1996, Daoust & Childers 1998), varios autores coinciden en que los métodos no destructivos pueden proporcionar estimaciones valiosas con ventajas en comparación con los métodos destructivos (Daoust & Childers 1998, Thursby *et al.* 2002, Gouraud *et al.* 2008, Silva *et al.* 2010, Wood *et al.* 2012).

Las relaciones alométricas o fenométricas se usan comúnmente como método no destructivo para calcular la biomasa de plantas en humedales (Hardisky 1980, Gross *et al.* 1991, Daoust & Childers 1998, Thursby *et al.* 2002, Miao *et al.* 2008, Pätzig *et al.* 2020). El desarrollo de la planta se puede medir como una relación de escala entre rasgos específicos y el tamaño corporal total debido a la falta de teorías generales para las tendencias alométricas (West *et al.* 1997, Niklas 2004). No existen rasgos comunes para las plantas de los humedales porque las variables climáticas las influyen (Pan *et al.* 2020) y estos rasgos, a su vez, modifican la asignación de biomasa. Las plantas tienden a disminuir el desequilibrio en la adquisición de recursos mediante la distribución de biomasa a diferentes órganos, lo que altera la relación raíz:tallo (Shiple & Meziane 2002, Mensah *et al.* 2016, Yin *et al.* 2019). Como resultado, se deben establecer ecuaciones alométricas para cada humedal y especie (Giroux & Bédard 1988, Thursby *et al.* 2002, Gouraud *et al.* 2008).

Las macrófitas también se pueden relacionar con su ecosistema a través del análisis de isótopos estables (Middelburg 2014). La forma en que el carbono asimilado se asigna a los tejidos no fotosintéticos se ha estudiado utilizando ^{14}C radiactivo y luego

^{13}C para estudios de productividad (Coleman & Fry 1991, Hama *et al.* 1993, Pimenov *et al.* 2008, Bouillon *et al.* 2012).

La absorción de carbono en la biosfera depende de factores bióticos. Los autótrofos absorben carbono a través de la fotosíntesis. La firma del isótopo de carbono estable $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas acuáticas está influenciada por varios factores. La fuente de carbono y la resistencia a la difusión afectan la discriminación del carbono (Keeley & Sandquist 1992, de Carvalho *et al.* 2009). Otro factor que influye en la forma en que las plantas acuáticas asimilan el carbono es la vía metabólica (Pate 1999).

Las macrófitas de agua dulce adquieren dióxido de carbono de la atmósfera, de la columna de agua y del agua sedimentaria (LaZerte & Szalados 1982, Madsen & Sand-Jensen 1991, Winkel & Borum 2009, de Carvalho *et al.* 2009). La utilización de dióxido de carbono de cualquiera de esas fuentes es un proceso flexible que depende de las etapas de desarrollo y las necesidades metabólicas del organismo (Prins & Elzenga 1989). Las macrófitas emergentes usan carbono inorgánico de la atmósfera mientras que las macrófitas sumergidas pueden usar HCO_3^- . Se encontró además que las plantas con hojas sumergidas y emergentes usan ambas alternativas dependiendo de la disponibilidad de CO_2 disuelto (Hemminga & Mateo 1996, Yu *et al.* 2015).

Una de las macrófitas más comunes y utilizada ampliamente para fitorremediación es la totora (*Schoenoplectus californicus*) (Vymazal 2011), de la que se conoce su contribución en humedales para reducir la biodisponibilidad de metales pesados como el cobre (Murray-Gulde *et al.* 2005). La totora también contribuye a la degradación y volatilización de hidrocarburos y al secuestro de pesticidas organoclorados (Haberl *et al.* 2003, Miglioranza *et al.* 2004b). Adicionalmente, se la ha utilizado en tratamientos de aguas residuales domésticas mostrando su eficiencia en la remoción de nutrientes (Rojas *et al.* 2013, López *et al.* 2016).

En este sentido, este estudio pretende comprender los procesos de adaptación de totora a sistemas de islas flotantes al igual que su eficiencia en la captura de nutrientes de la columna de agua y acumulación de biomasa. En base a los anteriores argumentos, se ha formulado la siguiente pregunta: ¿Cómo varía la eficiencia de

remoción de nutrientes de la columna de agua por totora en una isla flotante y en un humedal?

4.1. HIPÓTESIS

Las totoras de la isla flotante son más eficientes en la remoción de nutrientes de la columna de agua que las totoras del humedal.

4.2. OBJETIVOS

4.2.1. Objetivo general

Evaluar la eficiencia de remoción de nutrientes de la columna de agua por *Schoenoplectus californicus* (C.A. Mey.) Soják (totora) en una isla flotante y un humedal.

4.2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el crecimiento y desarrollo de totoras en humedales construidos que simulen la isla flotante y un humedal.
- Cuantificar la producción de biomasa y crecimiento de totora en una isla flotante y un humedal.
- Determinar la remoción de nutrientes de la columna de agua alrededor de la isla y el humedal.
- Evaluar la asimilación de carbón de totoras en la porción emergente y sumergida.

5. METODOLOGÍA

5.1. ÁREA DE ESTUDIO

El experimento se llevó a cabo en la ciudad de La Paz, en la región occidental de Bolivia en las instalaciones del campus de la Universidad Mayor de San Andrés en Cota Cota (16°32'S, 68°03'W, 3450 m). Esta zona del Valle de La Paz pertenece a la ecorregión Interandina Seca (Beck & Zenteno-Ruiz 2015). El clima se caracteriza por

tener dos estaciones: seca (mayo-julio) y húmeda (diciembre-marzo) (Miranda *et al.* 2015). La temperatura media anual es de 14°C y la precipitación media anual es de 596,4 mm.

5.2. MÉTODOS

5.2.1. Diseño experimental

Para medir con precisión la biomasa y el crecimiento de *S. californicus*, elegimos al azar 30 plantas de cinco categorías de tamaño (de 4 a 15 cm, > 15 hasta 30 cm, > 30 hasta 50 cm, > 50 hasta 70 cm y > 70 hasta 90 cm) para pesar y medir las características morfométricas en las partes aérea y subterránea. Este muestreo destructivo facilitó el desarrollo de relaciones alométricas entre la biomasa aérea y subterránea en modelos de regresión múltiple. Se desarrollaron dos ecuaciones alométricas no destructivas para predecir la biomasa aérea y subterránea, y utilizamos la estimación no paramétrica de Duan para las predicciones. La estimación se comparó con los datos medidos utilizando la prueba de clasificación con signos de Wilcoxon. Cada planta se tomó como indicador de fijación de carbono y consumo de nutrientes como fósforo y nitrógeno medidos en los tejidos de las plantas. Mediante un experimento de disolución isotópica en condiciones cerradas, se midió la incorporación de ^{13}C en los tejidos de las plantas después de un período de translocación de seis horas. Se aplicaron ambas ecuaciones alométricas y la densidad de plantas en el humedal construido para explicar los cambios y diferencias en el crecimiento y adaptación de *S. californicus* durante siete meses.

5.2.2. Multiplicación in vitro

Todas las plantas fueron generadas por cultivo in vitro y fueron proporcionadas por la unidad de Biotecnología Vegetal del Instituto de Biología Molecular y Biotecnología de la Universidad de San Andrés. Las semillas recolectadas se separaron en grupos de 50 y se colocaron en pequeñas bolsas de papel. La desinfección se realizó sumergiendo las semillas en etanol al 70% (v/v) durante 1 minuto, luego se transfirieron a una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante

15 minutos y finalmente a Benomyl al 0,2% durante 10 minutos. Después de la exposición a los agentes desinfectantes, las semillas se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril dentro de una cabina de flujo laminar. Las semillas se inocularon en tubos de ensayo (25 * 150 mm) con medio MS (Murashige & Skoog 1962) suplementado con 20 g/l de azúcar, 0,5 ml·L⁻¹ de PPM, 50 ml/l de leche de coco y gelificadas con 3,5 g/l de agar, el pH del medio de cultivo se ajustó a $5,7 \pm 0,1$. El material vegetal en tubos de ensayo se tapó y se mantuvo en una cámara de crecimiento con fotoperíodo 16/8 (luz/oscuridad).

Cuando las plántulas germinaron, los brotes mayores de 3 cm se transfirieron a tubos de ensayo (25 * 150 mm), con medio MS (Murashige & Skoog 1962) suplementado con 0,75 mg/l BAP, 30 g/l azúcar y 0,5 ml/l de PPM, el pH de los medios de cultivo se ajustó a $5,7 \pm 0,1$. Una vez inoculadas, las probetas se mantuvieron en una cámara de crecimiento hasta la siguiente etapa.

Para el enraizamiento in vitro, los brotes se agruparon en manojos (3-6 brotes) y se transfirieron a frascos que contenían el mismo medio de cultivo líquido en condiciones similares a las descritas anteriormente. Los brotes permanecieron en esta etapa hasta que las plantas in vitro alcanzaron una longitud total de 7 cm o más, con una longitud de brote mayor a 5 cm y una longitud de raíz mayor a 2 cm.

5.2.3. Aclimatación

Las vitroplantas se lavaron suavemente con agua corriente para eliminar el medio de cultivo de las raíces y se transfirieron a tubos de ensayo con agua corriente durante un día. Más tarde, las plantas fueron llevadas a un invernadero, en transición gradual antes de ser transferidas al sistema de humedales artificiales. En esta zona se monitorearon las plantas en cuanto a temperatura, riego y plagas en contenedores impermeables. Cada bandeja se rellenó con arena-grava gruesa (1:1). Las plantas in vitro se colocaron cuidadosamente en el sustrato y se regaron diariamente durante una semana con solución nutritiva FAO (Marulanda & Izquierdo 2003) al 50% de concentración. Durante los siguientes 30 días, se realizaron riegos cada 48 horas con la misma solución nutritiva. Después, las bandejas se regaron con agua corriente tres

veces por semana hasta que fueron lo suficientemente grandes para transferirlas al humedal artificial.

5.2.4. Humedal artificial

Las plantas del invernadero se trasladaron al sistema de humedales artificiales, que constaba de nueve unidades llenas de sustrato de arena y grava gruesa. De las nueve unidades instaladas, se utilizaron solamente cuatro para esta investigación como se observa en la figura 1 (1, 3, 6 y 9). Los nitritos, nitratos, fosfatos, sulfatos, sulfuros, acetato y amonio se alimentaban a la primera unidad y a partir de ahí cada unidad recibía el restante de los nutrientes a través de una tubería distribuidora, finalmente, la unidad nueve recibía el residual.

Para las islas flotantes, se armaron aros con mallas, para dar espacio al crecimiento de las raíces, que se encontraban unidos a botellas plásticas para ayudar a la flotación. Se trasladaron plantas del invernadero con el mismo sustrato sobre las mallas y se dispusieron en tres unidades (A, B, C) con cantidades distintas de nutrientes.

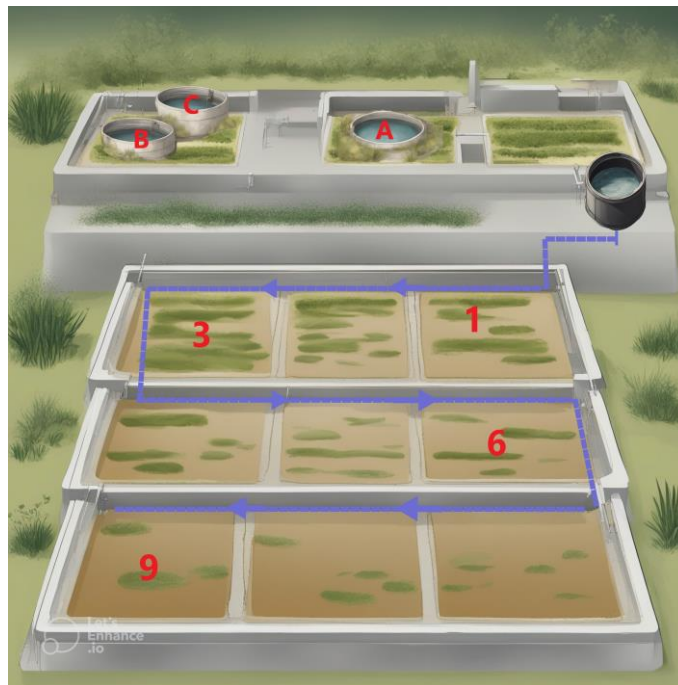


Figura 1. Esquema de humedales artificiales.

5.2.5. Relaciones alométricas

Treinta plantas de diferentes tamaños fueron seleccionadas al azar durante la aclimatación en el invernadero. Se dividieron en cinco categorías según la altura de la planta: a) de 4 a 15 cm, b) > 15 hasta 30 cm, c) > 30 hasta 50 cm, d) > 50 hasta 70 cm y e) > 70 hasta 90 cm. La porción aérea de las plantas se midió manualmente con regla graduada en cm y un vernier digital. Las medidas morfométricas tomadas fueron: longitud del brote desde la base hasta el ápice, diámetro basal y diámetro del ápice. Las plantas se lavaron con agua destilada para eliminar partículas, separando la porción aérea (brote) y la porción subterránea (raíces y rizomas). Cada porción se pesó para obtener el peso fresco. Posteriormente, cada porción se deshidrató a 105°C durante 24 horas y se pesó para obtener el peso seco (Neubauer *et al.* 2012). Usamos el peso para establecer la asignación de biomasa y las proporciones raíz:tallo para explicar la productividad de las plantas a lo largo de sus etapas de desarrollo (Monk 1966). Luego, todos los parámetros morfométricos se incorporaron a modelos de regresión múltiple para establecer la mejor ecuación alométrica como método no destructivo que permitió la conservación de plantas y generó predicciones.

Cada parámetro morfométrico fue promediado y multiplicado por el número de brotes de cada planta. Se utilizaron ecuaciones lineales generales de la forma $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \epsilon$ para predecir la biomasa aérea y subterránea. Los análisis de regresión se realizaron con el software estadístico R versión 4.1.1 (R Core Team 2021). Los supuestos para el método de regresión lineal de mínimos cuadrados se verificaron probando los parámetros para valores atípicos, colinealidad y residuos para normalidad y homocedasticidad. Dado que las medidas morfométricas se tomaron de las plántulas en el invernadero, hubo características de desarrollo limitadas para medir. Por lo tanto, algunos parámetros se eliminaron después de probar la colinealidad. Todas las variables se transformaron logarítmicamente (base 10) y todos los modelos se estimaron con modelos de regresión lineal múltiple log-log.

Los modelos de biomasa aérea y subterránea se ajustaron de forma independiente y también se ajustó un modelo con contenido de nutrientes (tabla 1). Las relaciones alométricas se seleccionaron con base en el nivel de significación del coeficiente y el R^2 . Se eliminaron los parámetros con coeficientes no significativamente diferentes de cero ($p > 0,05$) (Silva *et al.* 2010).

Dado que los modelos son útiles para la predicción, la transformación inversa podría dar lugar a estimaciones sesgadas en la escala no transformada. Por lo tanto, aplicamos la estimación no paramétrica de Duan (Duan 1983) mediante la función `predictDuan()` del paquete `smwrStats` (Lorenz in press). La estimación de biomasa de los modelos se comparó con el método destructivo (Giroux & Bédard 1988, Gouraud *et al.* 2008) mediante la prueba clasificada firmada de Wilcoxon en el software Stata 16 (StataCorp 2019) y el análisis de correlación en el software R versión 4.1.1 (R Core Team 2021).

5.2.6. Contenido de nutrientes en tejidos

Se separó una muestra seca de cada planta recolectada para analizar el contenido de nutrientes.

El nitrógeno total (N) se analizó utilizando el método micro-Kjeldahl modificado de Cochrane & Barber (1993). Primero, el material vegetal se oxidó con ácido fosfórico, ácido sulfúrico y selenio. Luego, la muestra se digirió en ácido sulfúrico para convertir el nitrógeno orgánico en sulfato de amonio. El amoníaco se destiló de la solución resultante en condiciones alcalinas con ácido bórico. El ácido no consumido se valoró con una solución estándar donde se consume hasta alcanzar el punto de equivalencia que permite calcular la cantidad de nitrógeno en la muestra en forma de amoníaco.

El fósforo (P) y el calcio (Ca) se determinaron por el método de calcinación de Cochrane & Barber 1993. Una muestra molida de la planta se incineró a 470°C durante al menos dos horas. Después de enfriar, se diluyó 1 ml de la muestra en HCl 1:1 y se calentó a 100°C hasta que se secó. Las cenizas se disolvieron en HCl 0,2 M

y se centrifugaron. Para el calcio, la concentración se determinó por espectroscopía de absorción atómica, se diluyeron 4 ml del extracto con 1 ml de solución estándar.

Para la determinación de fósforo, se prepararon tres tubos con 1 ml de extracto de muestra de solución estándar, 1 ml de extracto de muestra y 1 ml de solución de blanco agregado a los tubos de ensayo. Luego, se agregaron a cada tubo 2 ml de ácido bórico al 1% y 3 ml del reactivo mixto (molibdeno) y se mezcló bien. La solución mixta se dejó reposar durante una hora hasta que el color azul fue intenso y se procedió a las lecturas de espectrofotometría (UV-Vis).

Las pruebas T midieron la diferencia entre el contenido de nutrientes en la porción aérea y subterránea, y la relación entre los nutrientes y la biomasa se evaluó mediante un análisis de correlación de Spearman en el software R versión 4.1.1 (R Core Team 2021).

5.2.7. Monitoreo de humedales construidos

Monitoreamos la biomasa utilizando los modelos alométricos y la densidad de plantas durante siete meses (Neubauer *et al.* 2012). Veinte plantas fueron seleccionadas al azar en cuatro unidades del sistema de humedales construidos. Se midió la altura y el diámetro del ápice y se contaron todas las plantas en cada unidad. Mientras que para islas flotantes, se midieron y contaron todas las plantas en las bandejas. Los nutrientes en la columna de agua fueron monitoreados mensualmente. Usamos datos de nitrato y fosfato para evaluar la relación con la biomasa predicha usando un análisis de correlación en el software R versión 4.1.1 (R Core Team 2021).

5.2.8. Incubación

Se instalaron cuatro microcosmos de vidrio con cuatro plantas de *S. californicus* que se aclimataron durante cuatro meses. Cada sistema se selló con vaselina líquida, uno de los microcosmos fue el control y en los otros tres se introdujo la solución de bicarbonato marcada con ^{13}C (pureza >98 %, Isotec). Después de seis horas de asimilación, retiramos la vaselina y las plantas se recolectaron separando la parte

sumergida del brote de la parte emergente. Se enjuagaron varias veces con agua milli Q para eliminar el isótopo y la vaselina de la superficie. Luego se secaron durante 72 horas a 55,5°C y se molieron.

5.2.9. Análisis isotópico

Todas las muestras fueron analizadas en la plataforma de Geoquímica-Mineralogía de ISTERre con un (CM-CRDS) Cavity Ring-Down Spectroscopy (Picarro Inc. ®) acoplado a un Módulo de Combustión (Costech Inc.®). El carbono total y la composición isotópica se midieron utilizando métodos analíticos, calibración y preparación de muestras de Paul *et al.* (2007), Balslev-Clausen *et al.* (2013) y Cossa *et al.* (2021). Los valores de isótopos de carbono se informaron en relación con el estándar de referencia internacional VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite) y en términos de porcentaje atómico (‰) con la abundancia isotópica como notación delta (δ).

Se utilizó Anova para probar los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de brotes emergentes y sumergidos en la versión 4.1.1 del software R (R Core Team 2021).

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Relaciones alométricas

El montaje experimental permitió trabajar con plantas in vitro en fase de aclimatación, por lo que solo se disponía de características vegetativas. La altura y el diámetro de los brotes a menudo se miden para las métricas generales de *Schoenoplectus* spp. y plantas de humedales. Como Giroux y Bédard (1988), Gouraud et al. (2008) y Daniels et al. (2010), se pudo medir el diámetro en la base de la planta (a nivel del suelo). Sin embargo, se eligió el diámetro del ápice porque la relación lineal seguía siendo significativa para las estimaciones (tabla 1) por encima ($p < 0,001$, $R^2 = 0,793$) y por debajo del suelo ($p < 0,001$, $R^2 = 0,494$), y es más fácil tomar como medida de campo. Mientras que el nitrógeno total y el peso seco del brote explican el modelo subterráneo destructivo ($p < 0,001$, $R^2 = 0,615$).

Sin embargo, las plantas de los humedales muestreadas con frecuencia son individuos maduros con características morfométricas adicionales. Silva et al. (2010) y Weller et al. (2015) midieron el número de hojas, el ancho y el largo y utilizaron estas variables como parámetros para sus fórmulas de biomasa. Weller et al. (2015) también midieron características reproductivas como flores y semillas que sirvieron para ajustar ecuaciones con y sin estas variables.

Tabla 1. Ecuaciones de *Schoenoplectus californicus* para la estimación de biomasa seca aérea (A) y subterránea (B); donde H: altura del brote, D: diámetro del ápice en mm; N: nitrógeno total en %, s^2 : error estándar, R^2 : coeficiente de determinación ajustado, P: probabilidad.

Ecuación	R^2	P	s^2
$\log_{10}(A) = 0.937(\log_{10}AD) + 1.736(\log_{10}H) - 6.685$	0.793	<0.001	0.283
$\log_{10}(B) = 1.685(\log_{10}AD) - 1.018$	0.494	<0.001	0.356
$\log_{10}(B) = 0.173 + 0.482(\log_{10}A) - 0.933(\log_{10}N)$	0.615	<0.001	0.316

6.2. Biomasa aérea y subterránea

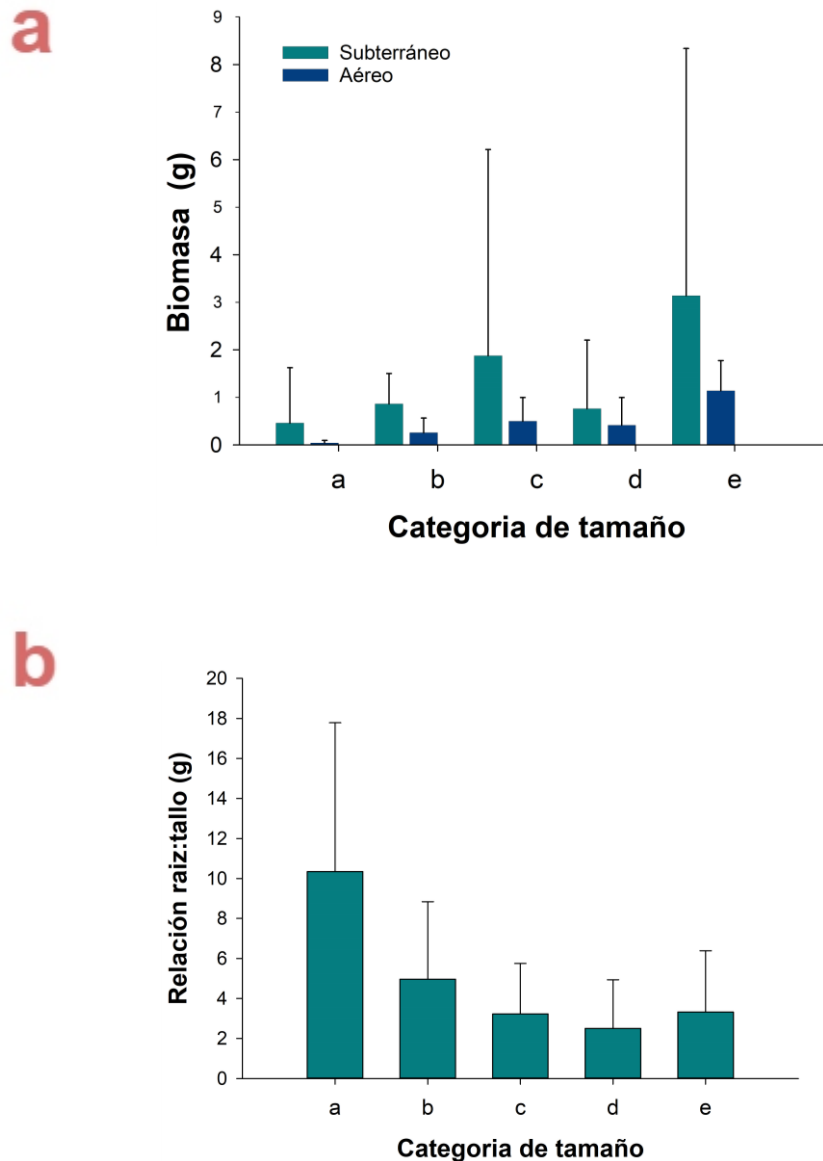


Figura 2. a. Biomasa total porciones aéreas y subterráneas. b. Relación raíz:tallo de muestras a través de las tallas medidas.

El muestreo destructivo muestra que el contenido de biomasa en las porciones aérea y subterránea no es significativamente diferente ($t_8 = 1.8103$, $p = 0.108$). Sin embargo, más del 75% de la biomasa total se encuentra bajo tierra, especialmente en las primeras etapas de desarrollo (figura 2a). Los resultados contradicen las afirmaciones de Tanner (2001), quienes encontraron solo el 23% de la producción

primaria neta bajo tierra. Dagmar *et al.* (1971) y (Neubauer *et al.* 2012) también observaron más producción primaria aérea.

Naturalmente, las plantas no tienen acceso a todos los recursos necesarios para su adecuado crecimiento. Como resultado, la partición de la biomasa y su respuesta a los nutrientes del sustrato dependen en gran medida de los recursos de las semillas (Mašková & Herben 2018). Dada la contribución de las raíces al secuestro de nutrientes, la asignación de biomasa en dichos órganos aumenta como respuesta a una disminución de los recursos (Mašková & Herben 2018). Estos factores podrían haber contribuido a la asignación de biomasa subterránea ya que nuestra muestra estaba compuesta por individuos más jóvenes que aún no se habían establecido en el sedimento y buscaban parches de nutrientes en el sustrato que además estaba constituido por arena y grava que no proveen muchos nutrientes. Sin embargo, existen contradicciones (Figiel *et al.* 1995, Poorter & Nagel 2000, Lynch *et al.* 2012, Morris *et al.* 2013, Mašková & Herben 2018, Garcia *et al.* 2019). Las proporciones de raíz: brote en *S. acutus* se vieron afectadas por la baja concentración de nitrógeno foliar, lo que aumentó la asignación de biomasa subterránea (O'Connell *et al.* 2015). Sin embargo, (Garcia *et al.* 2019) demostraron que la concentración de nutrientes en el agua no afectó los cambios en la asignación de biomasa en las plantas emergentes.

La diferencia en la biomasa aérea y subterránea también se refleja en la relación raíz: tallo (figura 2b). La asignación de biomasa está regulada por procesos metabólicos en la planta que representan estrategias de adaptación y supervivencia al medio ambiente (Ning *et al.* 2014, O'Connell *et al.* 2015, Garcia *et al.* 2019). A medida que las condiciones ambientales cambian a lo largo del ciclo de vida de una planta, la asignación de biomasa modifica su morfología (O'Connell *et al.* 2015, Pan *et al.* 2020, Qun *et al.* 2021). Esto se refleja en la tendencia de las proporciones raíz: tallo que cambian con la ontogenia, donde hay un aumento temprano de la asignación debajo del suelo que disminuye con la edad (Gedroc *et al.* 1996), lo cual es consistente con nuestros hallazgos.

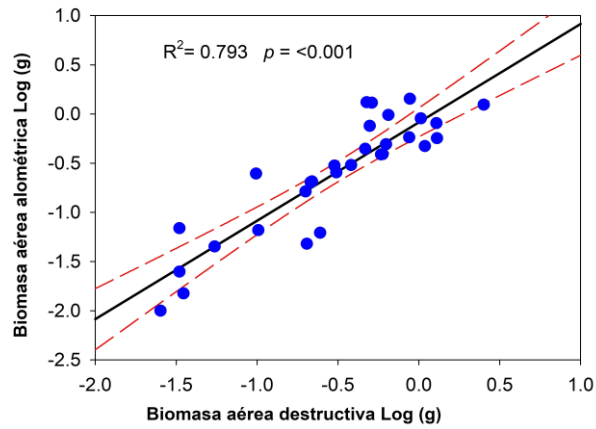
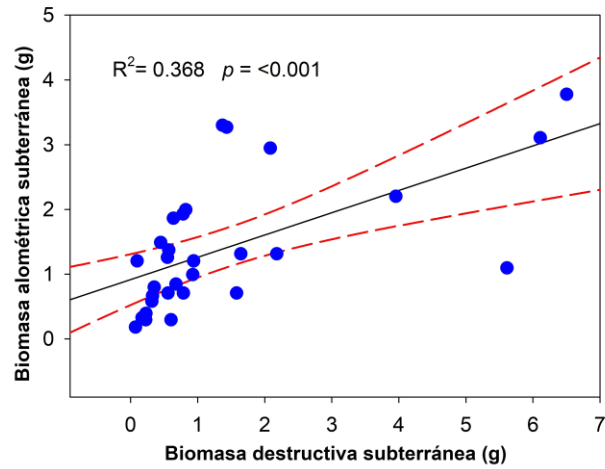
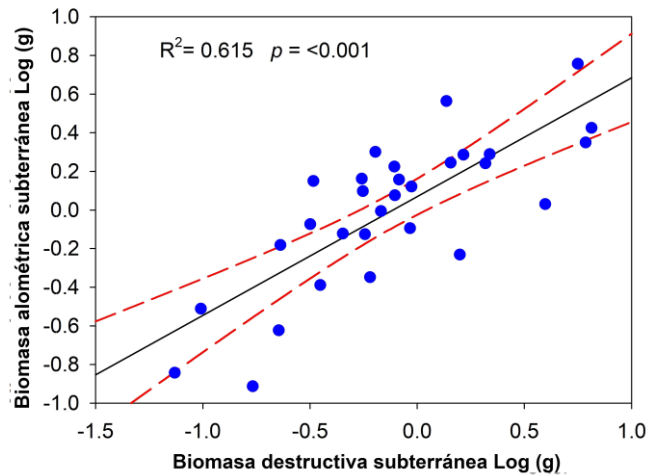
a**b****c**

Figura 3. Relación entre la biomasa estimada del muestreo destructivo y el muestreo no destructivo: a. modelo no destructivo sobre el suelo, b. modelo subterráneo no destructivo, c. modelo subterráneo con contenido de nutrientes.

Las relaciones entre las estimaciones de biomasa y las mediciones reales están altamente correlacionadas positivamente ($R^2_{\text{aérea}}=0.793$, $R^2_{\text{subterránea}}=0.368$, $R^2_{\text{nutrientes}}=0.615$) y son significativas ($p<0.001$), como se muestra en la figura 3. Una prueba de rango con signo de Wilcoxon, no reveló diferencias significativas entre las estimaciones de biomasa aérea de la ecuación y las mediciones del muestreo destructivo, $Z=1.656$, $p=0.098$. Los mismos resultados se obtuvieron para la biomasa subterránea a partir de las estimaciones obtenidas con la ecuación no destructiva ($Z=1.183$, $p=0.237$) y el modelo con contenido de nutrientes ($Z=1.676$, $p=0.094$).

Desarrollamos los modelos para predecir la biomasa en humedales construidos con nuestras plantas *in vitro*. Dado que los modelos utilizan relaciones logarítmicas, las ecuaciones obtenidas pueden sobreestimar o subestimar la biomasa al retrotransformarla a las unidades originales ya que la relación no es lineal. Para evitar este error multiplicativo al usar logaritmos, Daniels *et al.* (2010) utilizaron la regresión por cuantiles para realizar estimaciones; la pendiente cuantil no es diferente de la regresión OLS y sus intervalos de confianza en la mayoría de los cuantiles. Por esta razón, utilizamos estimaciones de regresión lineal.

Para evitar sesgos, se utilizó la estimación de Duan (Duan 1983) como corrección. Aun así, la relación observada para la biomasa aérea (figura 3a) se sobrestima a medida que aumenta la biomasa. Una situación similar se observa en las estimaciones de biomasa subterránea (figura 3 b, c), donde la biomasa tiende a ser subestimada. Giroux & Bédard (1988) y Gouraud *et al.* (2008) reportaron sobreestimación y subestimación de acuerdo con los resultados. El primero proponía tres posibles fuentes de error: (1) número de brotes contados, (2) estimación de altura media y (3) estimación de biomasa a partir de los modelos alométricos. Debido a que la configuración experimental permitió tomar toda la planta, se contaron todos los brotes correctamente y se midió con precisión todas las alturas de los brotes de cada planta. A medida que aumentaba el tamaño de la planta, había demasiada diferencia entre los brotes más pequeños y los más altos (en cada planta). Esta diferencia en tamaños, podría haber influido en la estimación.

La altura del culmo y el diámetro, son parámetros que ayudaron a establecer relaciones alométricas robustas para biomasa aérea tanto en este estudio, con 79% de la variación explicada con la ecuación obtenida (tabla 1), así como en otros estudios (Neubauer *et al.* 2012 & Gouraud *et al.* 2008).

En contraste, el modelo subterráneo no destructivo tuvo el valor R^2 ajustado más bajo de 0.49 (tabla 1). Incluir la longitud del brote (o cualquier otra variable) en esta ecuación no incrementó el valor de R^2 pero incrementó el error estándar; por lo tanto, no se consideró ninguna otra variable. Se registraron valores similares de R^2 en modelos fenométricos donde la longitud y el diámetro del tallo también se usaron como parámetros morfológicos. Sin embargo, la mayoría de los modelos que estiman la biomasa solo tienen en cuenta la parte superior, y la parte subterránea generalmente se deja fuera de este análisis (Silva *et al.* 2010, Wood *et al.* 2012). O'Connell *et al.* (2014), por otro lado, pudieron establecer una fuerte relación entre la biomasa subterránea de los órganos aéreos en plantas con proporciones isométricas de raíces y brotes. La precisión del modelo subterráneo podría estar influenciada por las proporciones raíz: tallo en la muestra, que no fueron constantes (figura 2).

6.3. Contenido de nutrientes en tejidos

El contenido total de N, P y Ca difiere significativamente entre las porciones aéreas y subterráneas (anexo 1: tabla A1). La concentración de estos nutrientes en macrófitos emergentes depende de la disponibilidad de nutrientes en el agua (Shardendu & Ambasht 1991, Tanner 2001). Por lo tanto, esto ilustra la capacidad de absorción de nutrientes de *S. californicus*, donde el N, P y Ca sobre el suelo variaron de 0.32 a 2.2%, de 552 a 1776 mg/kg y de 11107 a 24910 mg/kg, respectivamente, y el contenido en tejido subterráneo fue menor que en tejido sobre el suelo. Los valores variaron de 0,14 a 1,4%, de 424 a 1332 mg/kg y de 1256 a 2212 mg/kg para N, P y Ca en consecuencia. Los valores varían entre las plantas en los cinco tamaños, como se muestra en los valores de desviación estándar (anexo 1: tabla A1). Publicaciones anteriores (Gerloff & Krombhok 1966, Ho 1979, Fernández-Aláez *et al.* 1999) documentaron la variabilidad de las concentraciones de nutrientes entre diferentes especies de macrófitas, dentro de la misma especie y órganos de la misma planta.

Varios autores (Kao *et al.* 2003, Neubauer *et al.* 2012, Weller *et al.* 2015) también observaron un mayor contenido de N en la parte superficial que en la subterránea en las especies de *Schoenoplectus*. Este patrón refleja la alta actividad de la enzima nitrato reductasa en los órganos aéreos, que juega un papel clave en la asimilación de N en las plantas emergentes (Munzarova *et al.* 2006). De la misma manera, los niveles de concentración de P y Ca registrados en los tejidos aéreos fueron más altos que los subterráneos, lo que confirma las afirmaciones de Ho (1979), Shardendu & Ambasht (1991), Tanner (1996), Tanner (2001) y Neubauer *et al.* (2012). Aunque hay un menor contenido de N en raíces y rizomas, este tejido nitrogenado podría actuar como una reserva de N para una estación o etapa de desarrollo diferente (Ho 1979, Davis & van der Valk 1983, Tanner 2001, Kao *et al.* 2003).

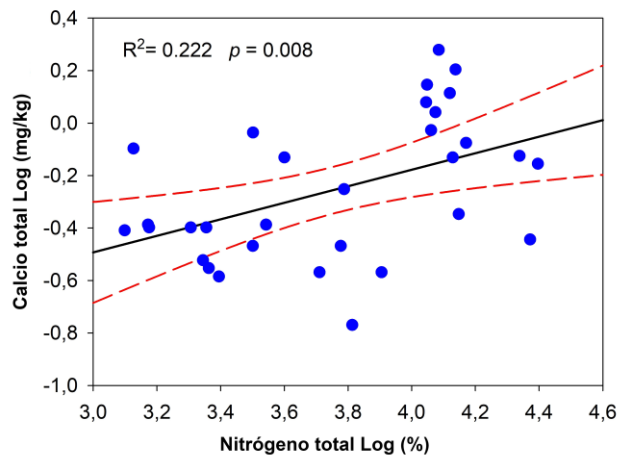
Los valores altos de N y P en el tejido aéreo que se encuentran en nuestras plantas son evidencia de períodos de crecimiento rápido y activo (Duarte 1992, Hoagland *et al.* 2001). Ambos nutrientes tienen un papel metabólico que controla el crecimiento de las plantas dependiendo de si crecen de forma natural o en humedales de tratamiento. En consecuencia, respaldan la medición de la limitación de nutrientes (Duarte 1992). Según Gerloff & Krombhok (1966), las concentraciones mínimas de nutrientes para el crecimiento máximo de macrófitas son 1.3 % N y 0.13 % P. Nuestras plantas tuvieron valores de concentración para tejidos aéreos de 1.09 % N, 0.12 % P y para tejidos subterráneos de 0.49 % N, 0.08% P, validando la adecuada respuesta de nuestras plantas *in vitro* al proceso de aclimatación para asegurar su supervivencia y crecimiento para las fases posteriores.

El análisis de correlación (tabla 2) entre la biomasa y el contenido de nutrientes no mostró una correlación significativa entre N, P y Ca en ambas porciones. La falta de relación entre el contenido de nutrientes en los tejidos y la tendencia negativa observada para N y P, sugiere la importancia estructural del Carbono en estos órganos. Aunque no fue medido, el carbono constituye el macronutriente más importante en las plantas, y ambos nutrientes podrían diluirse a medida que aumenta la biomasa como tejido estructural de carbono (Davis & van der Valk 1983, Duarte 1992, Fernández-Aláez *et al.* 1999).

Tabla 2. Coeficientes de correlación (R) y probabilidad (p) que relacionan las concentraciones de nutrientes en la biomasa de *S. californicus*.

Porción de la planta		N (%)	P (mg/kg)	Ca (mg/kg)
Aérea	R	-0.22	-0.35	0.071
	p	0.24	0.24	0.82
Subterránea	R	0.11	-0.38	-0.2
	p	0.58	0.12	0.43

a



b

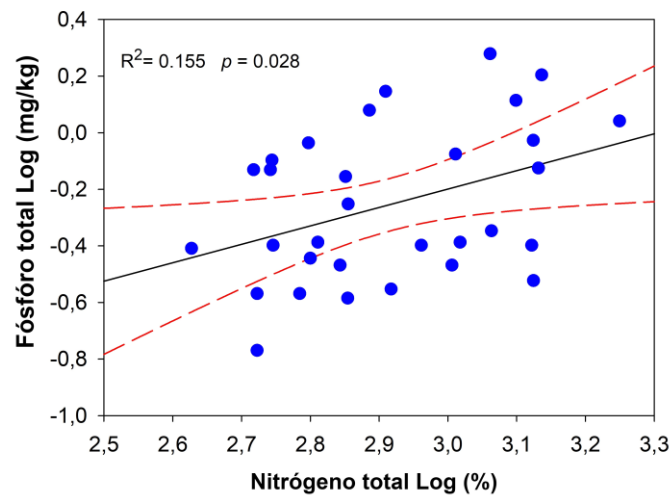


Figura 4. Relación entre el contenido de N, P y Ca en tejidos de *S. californicus*: a. Calcio y Nitrógeno, b. Fósforo y Nitrógeno.

Un análisis de correlación adicional entre nutrientes (figura 4, anexo 1: tabla A2) mostró una asociación significativa entre N-Ca y N-P, lo que probablemente representa el papel de cada nutriente en la planta (Duarte 1992). La interacción de N y Ca sugiere de manera similar el papel metabólico de Ca en la formación de aminoácidos y la multiplicación celular. Como resultado, podríamos plantear la hipótesis de una correlación negativa entre Ca y C al explorar tejidos estructurales. La correlación moderada de N y P evidencia la relación metabólica que tienen para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos.

Independientemente de la relación, el crecimiento continuo de los tejidos vegetales (brotes, raíces, rizomas) y el contenido estable de Ca, P y N exponen la existencia de recursos disponibles para ellos en los sedimentos y la columna de agua en lugar de las reservas de las plantas (Ho 1979, Davis & van der Valk 1983, Shardendu & Ambasht 1991, Xing *et al.* 2015) y que también respondían al medio ambiente en el invernadero (Poorter *et al.* 2012, Mašková & Herben 2018).

6.4. Monitoreo de humedales construidos

6.4.1. Humedal

Se calculó la biomasa aérea de cuatro unidades (figura 5) con la ecuación no destructiva obtenida (tabla 1). La biomasa aumentó de manera sostenida en todas las unidades. Este patrón fue más evidente en las unidades 1 y 3, que recibieron más nutrientes que la 6 y la 9. En nuestro diseño, el primer tanque es el que recolecta el agua rica en nutrientes que luego pasa por otro tanque antes de llegar al tanque 3. Los tanques 6 y 9 reciben muchos menos nutrientes, en el tanque 9, no había fosfato mensurable en el agua.

En julio (temporada seca e invierno), la biomasa disminuyó temporalmente en las unidades 3, 6 y 9. A lo largo de julio, las plantas de estas unidades se secaron y se encontraron numerosos brotes de plántulas, aumentando así la densidad (figura 5). A partir de agosto, los brotes de las plántulas se redujeron, la altura y la densidad de las

plantas aumentaron, y en septiembre (finales de la estación seca y la primavera) las plantas comenzaron a producir/desarrollar flores en las unidades 1 y 2.

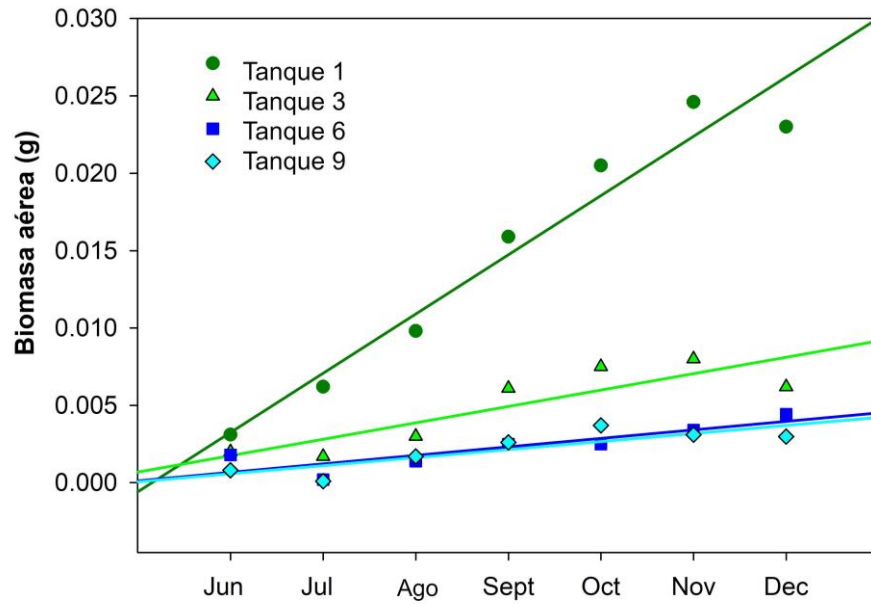


Figura 5. Cambio en la biomasa aérea de *S. californicus* en cuatro tanques del humedal construido de junio a diciembre.

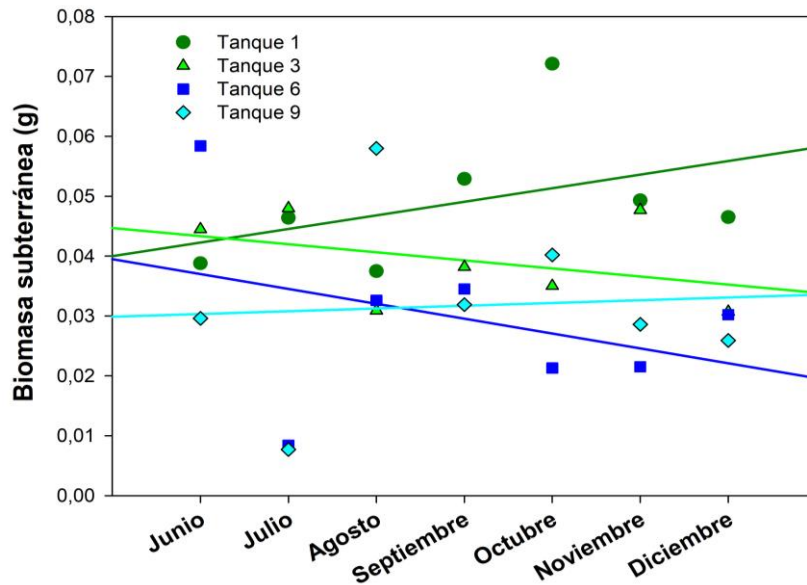


Figura 6. Cambio en la biomasa subterránea de *S. californicus* en cuatro tanques del humedal construido de junio a diciembre.

Este lento aumento inicial de brotes, crecimiento y establecimiento después de la colonización son relacionados con la disponibilidad de nutrientes (Tanner 1996, An et al. 2018, Overbeek et al. 2020). El ciclo de crecimiento y senescencia observado estuvo dentro de los rangos estacionales del invierno austral cuando se presentan las temperaturas más frías, a las que *S. californicus* es susceptible (Neubauer et al. 2012, López et al. 2016).

La ecuación no destructiva (tabla 1) para la biomasa subterránea también se aplicó en las cuatro unidades del humedal artificial. A diferencia de la estimación aérea, la biomasa subterránea no aumentó de manera constante (figura 6). De junio a agosto, las estimaciones de biomasa subterránea varían dentro de cada unidad; de septiembre a diciembre la biomasa aumentó en las unidades que recibieron más nutrientes.

Las estimaciones de biomasa no fueron tan altas como de humedales maduros y establecidos obtenidos después de varios años (Dykyjová et al. 1971, Neubauer et al. 2012, López et al. 2016). La figura 6 muestran una mayor biomasa subterránea, lo que ilustra la importancia de los órganos subterráneos para la propagación vegetativa y la supervivencia en *Schoenoplectus*. Estudios previos mostraron que los rizomas y las raíces de *Schoenoplectus* viven de 18 a 24 meses y almacenan reservas de polisacáridos (Dykyjová et al. 1971, Tanner 2001).

Tabla 3. Coeficientes de correlación (R) y probabilidad (p) que relacionan las concentraciones de nutrientes en la biomasa de *S. californicus* en humedales.

Porcion de la planta		Nitrato	Fosfato
Aérea	R	0.15	0.74
	p	0.43	<0.001
Subterránea	R	0.12	0.45
	p	0.51	0.059

No existe una correlación entre la biomasa pronosticada y el nitrato en la columna de agua en el sistema de humedales, junto con la biomasa subterránea y el fosfato (tabla 3). En el caso del nitrato, el efecto de la fijación de N atmosférico por bacterias y algas (Canestraci *et al.* en prep.) puede haber distorsionado la relación entre dicho nutriente y *S. californicus*. Sin embargo, existe una fuerte correlación entre el fosfato y la biomasa aérea. Como se discutió previamente, existe una relación entre el carbono estructural en los tejidos y la importancia de los nutrientes en el metabolismo y desarrollo de la planta que afecta el secuestro y translocación de nutrientes (Ho 1979, Davis & van der Valk 1983, Tanner 2001, Kao *et al.* 2003).

Los datos de correlación contribuyen a comprender los ensamblajes microbianos asociados a los humedales construidos. La población de *S. californicus* en el humedal artificial proporcionó una superficie adherente para formar perifiton en las partes sumergidas y el sustrato rocoso (Brix 1997). En consecuencia, (Dodds 2003, Liu *et al.* 2017, Wu *et al.* 2018, Wang *et al.* 2021) confirman la participación de microalgas y bacterias en el secuestro de N y P y su papel en los procesos de transformación que mejoran la utilización de nutrientes para las plantas acuáticas.

6.4.2. Islas flotantes

A diferencia de las plantas enraizadas en el humedal, las plantas flotantes inicialmente incrementaron el número de plantas casi al doble y a lo largo de los 6 meses de monitoreo, la cantidad de plantas incrementó levemente y se mantuvo relativamente estable, excepto para el tanque B donde se observó una disminución del número de plantas a la mitad durante septiembre y octubre (figura 7). Las islas flotantes presentaron numerosos brotes de plántulas y poca mortandad demostrando que se establecieron rápidamente a los tanques con nutrientes.

Se puede observar en la figura 7 que la biomasa aérea es menor que la sumergida, en este tipo de sistemas que crecen hidropónicamente se espera este comportamiento. A esta característica, raíces de crecimiento constante, se le atribuye la remoción de nutrientes en humedales flotantes (Weragoda *et al.* 2012).

La eficiencia de remoción de humedales flotantes varía mucho (Pavlineri *et al.* 2017), y depende de muchos factores como la presencia de especies (Weragoda *et al.* 2012, Spangler *et al.* 2019), las condiciones climáticas (Choudhury *et al.* 2019) o la carga de nutrientes. No obstante, la absorción de nutrientes en islas flotantes es significativa incluso en periodos cortos menor a 4 meses (Pavlineri *et al.* 2017). Sin importar la especie plantada, se ha demostrado que se remueve hasta el 80% de nitrógeno y fósforo (Benvenuti *et al.* 2018).

Existe una correlación negativa entre los tejidos aéreos y los nutrientes en el agua, mientras que los tejidos sumergidos no tienen ninguna correlación (tabla 4). Los tejidos aéreos tienden a tener mayores concentraciones de nutrientes mientras crecen (Vymazal 2007, Choudhury *et al.* 2019) y cuando maduran se traslocan a los tejidos sumergidos (Pavlineri *et al.* 2017). De manera similar, a medida que las plantas se establecen, también se establecen comunidades bacterianas asociadas a las raíces, lo que se relaciona con una mayor actividad de desnitrificación y una menor acumulación de nitrógeno en los tejidos (Hallin *et al.* 2015, Choudhury *et al.* 2019). La presencia de bacterias impulsa la eficiencia de remoción de los sistemas flotantes sin importar la especie plantada, señalando que la mayor remoción de nitrógeno se debe a la presencia de bacterias más que a la asimilación de las plantas (Shahid *et al.* 2019).

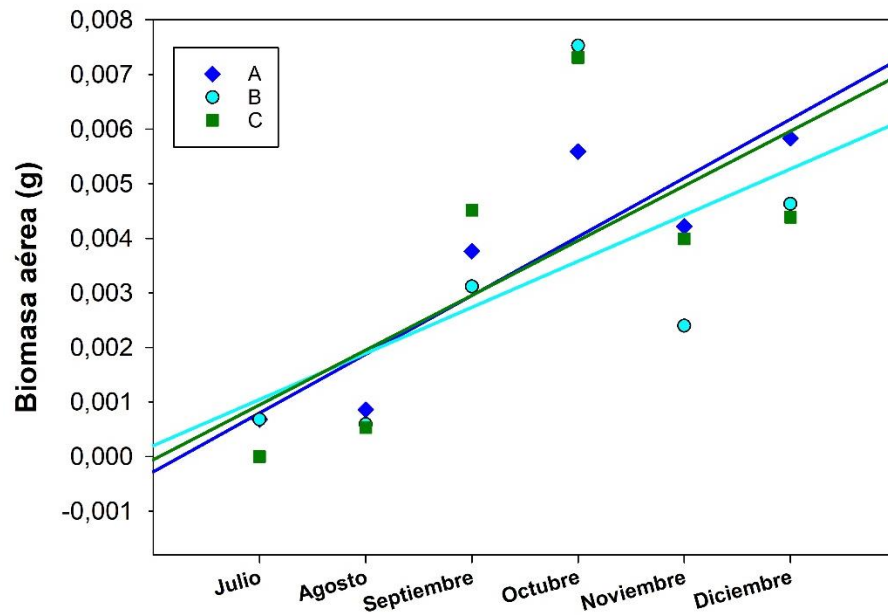
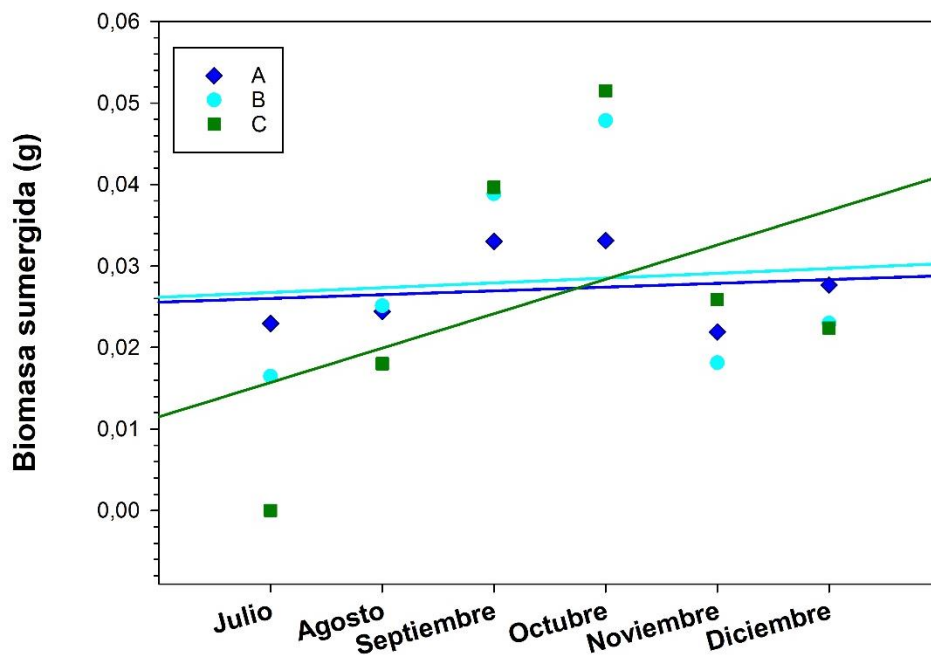
a**b**

Figura 7. Cambio en la biomasa a. aérea y b. sumergida de *S. californicus* en los tres sistemas flotantes del humedal construido de julio a diciembre.

Tabla 4. Coeficientes de correlación y nivel de significancia relacionando la concentración de nutrientes con la biomasa de *S. californicus* en islas flotantes

Porción de la planta	Variable	Coefficiente de correlación	Nivel de significancia
Aérea	Nitrato	-0.537 ^a	0.023
	Fosfato	-0.801 ^b	<0.001
Sumergida	Nitrato	-0.450 ^a	0.067
	Fosfato	-0.490 ^b	0.046

^aSpearman correlation

^bPearson correlation after log transformation

6.5. Análisis isotópico

Tabla 5. Resultados $\delta^{13}\text{C}$ en porciones emergentes y sumergidas de los tallos en (‰) VPDB.

	EMERGENTE					SUMERGIDA				
	a	b	c	d	Promedio	a	b	c	d	Promedio
Control	-31.74	-31.57	-31.61	-32.01	-31.733	-28.93	-30.35	-30.16	-29.38	-29.705
1	-29.32*	-28.57*	-29.29*	-31.54	-31.54	-26.29	-24.71	-32.03	-28.68*	-27.928
2	-32.37	-32.06	-32.13	-32.37	-32.233	-27.61	-28.57	-30.97	-27.84	-28.748
3	-32.08	-32.37	-32.95	-	-32.467	-24.73	-22.75	-27.24	-29.59	-26.078

*% de alto contenido de carbono debido a masa insuficiente

Los valores obtenidos corresponden a plantas C3 (Ehleringer 1989). Las firmas isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ de las porciones emergente y sumergida son diferentes (tabla 5). Se realizó un análisis de varianza unidireccional para determinar las diferencias en la absorción media de carbono entre las porciones emergentes y sumergidas; se encontró diferencia significativa en la parte emergente entre la muestra 3 y el control

(F2=8.612, P<0.008). Mientras que, para la porción sumergida, no se encontró diferencia significativa (F3=1.74, P=0.212). Se observa que las porciones sumergidas (1, 2 y 3) han asimilado el bicarbonato marcado por eso son más enriquecidas que las porciones emergentes. Sin embargo, la variación de $\delta^{13}\text{C}$ entre el control y las 3 muestras en la porción sumergida es de -2.12 ‰ mostrando firmas de $\delta^{13}\text{C}$ más enriquecidas en las muestras con bicarbonato marcado con ^{13}C (figura 8) lo que sugiere una asimilación de carbono del agua en la porción sumergida (Osmond *et al.* 1981). Thompson *et al.* (2018) mostró también ésta mínima diferencia de señal isotópica entre los tejidos emergentes y sumergidos en *Hippuris vulgaris* exponiendo la fijación preferencial de ^{12}C en la fotosíntesis que ^{13}C .

Si observamos ambos controles (figura 8), el control de porción emergente es más ligero demostrando que absorbe carbono de la atmósfera. Este resultado es consistente con otros estudios donde las plantas emergentes muestran una señal isotópica más depletada que las plantas sumergidas que tienen la capacidad de absorber carbono del agua (Chappuis *et al.* 2017, Liu *et al.* 2020, Gong *et al.* 2021). Los factores que afectan la absorción de $\delta^{13}\text{C}$, son las condiciones ambientales pues determinan el origen de la fuente de carbono, sin embargo, la fisiología de las plantas es el factor principal para la absorción de carbono (Chappuis *et al.* 2017, Liu *et al.* 2020, Velázquez-Ochoa *et al.* 2022).

Las macrófitas flotantes tienen la habilidad de absorber y utilizar bicarbonato para la fotosíntesis cuando las fuentes de carbón son limitadas (Liu *et al.* 2020). Esta variabilidad en la absorción de carbono que presenta *S. californicus* se ha estudiado más en macrófitas sumergidas y flotantes, pero demuestra que la especie no es adecuada para monitorear descargas antropogénicas (Heredia *et al.* 2022).

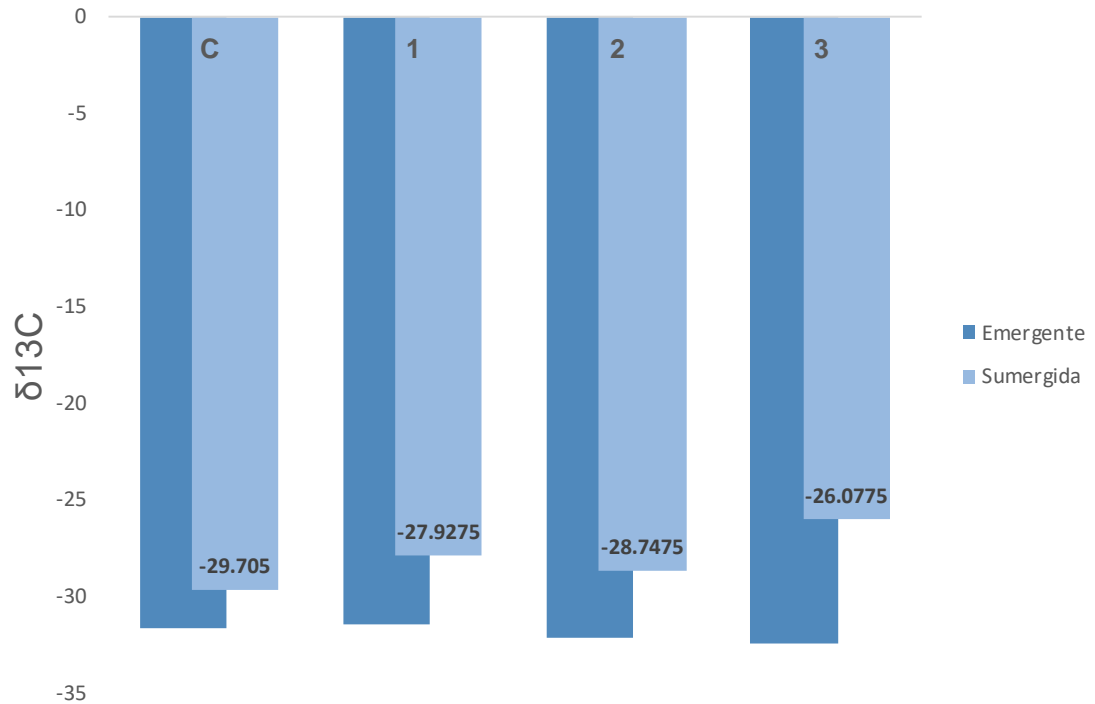


Figura 8. Valores $\delta^{13}\text{C}$ para las porciones emergente y sumergida del tallo.

7. CONCLUSIONES

El enfoque alométrico ayudó a evaluar el patrón de asignación de biomasa y el contenido de nutrientes, ya que un análisis indirecto del contenido de tejido permitió obtener información complementaria sobre la importancia de N, P y Ca para los procesos metabólicos y el tejido estructural. Los valores de concentración de N y P proporcionaron información sobre la asimilación de los recursos disponibles en lugar de las reservas de las plantas, lo que validó que tanto las porciones aéreas como las subterráneas son importantes para la eliminación de nutrientes del agua durante el crecimiento activo.

Los modelos alométricos estimados fueron útiles para predecir la biomasa aérea y subterránea de *S. californicus*. Los valores más altos de biomasa subterránea ilustran la importancia de los órganos subterráneos para la propagación vegetativa y las etapas reproductivas. El breve período de observación de siete meses no es suficiente para extrapolar la producción de biomasa y la absorción de nutrientes a un sistema de

humedales real, sin embargo, se demostró la alta capacidad de asimilación de nutrientes de *S. californicus* en función a su disponibilidad y permitió comprender la eficiencia de *S. californicus* entre la producción de tejidos y la asimilación de nutrientes de las aguas residuales. Este último podría haber sido influenciado por las biopelículas adheridas a las superficies sumergidas.

La totora tiene capacidad de asimilación de carbono inorgánico disuelto bajo ciertas condiciones, sin embargo, su señal isotópica es consistente con la asimilación preferencial de carbono atmosférico.

Las totoras de las islas flotantes se adaptaron más rápido a los sistemas artificiales que las totoras enraizadas y se mostraron menos susceptibles a los cambios de temperatura y carga de nutrientes.

Los resultados presentan modelos de biomasa específicos para ayudar en el manejo de humedales de *S. californicus* por encima de los 3400 m de altitud. Estos se pueden aplicar adecuadamente para monitorear las reservas de carbono y la eliminación eficiente de nutrientes de las porciones aéreas (emergentes y sumergidas) y subterráneas con un método de bajo costo y ahorro de tiempo para los enfoques de fitorremediación. Se sugiere que estas ecuaciones se ajusten para otros humedales, pues desconocemos la influencia de los efectos de la altitud en los modelos. Se recomiendan más estudios sobre la estructura y dinámica de las poblaciones periféricas asociadas.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- An, Y., Y. Gao & S. Tong, 2018. Emergence and growth performance of *Bolboschoenus planiculmis* varied in response to water level and soil planting depth: Implications for wetland restoration using tuber transplantation. *Aquatic Botany*, 148: 10–14. Elsevier B.V.
- Balslev-Clausen, D., T. W. Dahl, N. Saad & M. T. Rosing, 2013. Precise and accurate $\delta^{13}\text{C}$ analysis of rock samples using Flash Combustion-Cavity Ring Down Laser Spectroscopy. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 28: 516–523.

- Barko, J. W. & R. M. Smart, 1981. Sediment-based nutrition of submersed macrophytes. *Aquatic Botany*, 10: 339–352.
- Beck, S. & F. S. Zenteno-Ruiz, 2015. Las plantas del valle de La Paz. Pages 304–372 *in* M. I. Moya, R. I. Meneses, & J. Sarmiento (eds.) *Historia Natural de un valle en Los Andes: La Paz* Second. Museo Nacional de Historia Natural, La Paz.
- Benvenuti, T., F. Hamerski, A. Giacobbo, A. M. Bernardes, J. Zoppas-Ferreira & M. A. S. Rodrigues, 2018. Constructed floating wetland for the treatment of domestic sewage: A real-scale study. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6: 5706–5711. Elsevier Ltd.
- Borne, K. E., E. A. Fassman & C. C. Tanner, 2013. Floating treatment wetland retrofit to improve stormwater pond performance for suspended solids, copper and zinc. *Ecological Engineering*, 54: 173–182.
- Bouillon, S., R. M. Connolly & D. P. Gillikin, 2012. Use of Stable Isotopes to Understand Food Webs and Ecosystem Functioning in Estuaries. Pages 143–173 *Treatise on Estuarine and Coastal Science*. Elsevier Inc.
- Brinson, M. M., A. E. Lugo & S. Brown, 1981. Primary Productivity, Decomposition and Consumer Activity in Freshwater Wetlands. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 12: 123–161. Annual Reviews.
- Brix H, 1994. Use of constructed wetlands in water pollution control: historical development, present status and future perspectives. *Water Science Technology*, 30: 209–223.
- Brix, H., 1997. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? *Water Science and Technology*, 35: 11–17.
- Chappuis, E., V. Serriñá, E. Martí, E. Ballesteros & E. Gacia, 2017. Decrypting stable-isotope ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) variability in aquatic plants. *Freshwater Biology*, 62: 1807–1818. Blackwell Publishing Ltd.
- Choudhury, M. I., J. Segersten, M. Hellman, B. G. Mckie, S. Hallin & F. Ecke, 2019. Importance of plant species for nitrogen removal using constructed floating wetlands in a cold climate. *Ecological Engineering*, 138: 126–132. Elsevier B.V.
- Cochrane, T. T. & R. G. Barber, 1993. *Análisis de suelos y plantas tropicales*. Centro de Investigación Agrícola Tropical/Misión Británica en Agricultura Tropical, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.
- Coleman, D. C. & Brian. Fry, 1991. *Carbon isotope techniques*. Academic Press.
- Cossa, D., A. Mucci, S. Guédron, M. Coquery, O. Radakovich, R. Escoube, S. Campillo & S. Heussner, 2021. Mercury accumulation in the sediment of the Western Mediterranean abyssal plain: A reliable archive of the late Holocene. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 309: 1–15. Elsevier Ltd.

- Dai, T. & R. G. Wiegert, 1996. Ramet Population Dynamics and Net Aerial Primary Productivity of *Spartina Alterniflora*. *Ecology*, 77: 276–288.
- Daniels, J. S., B. S. Cade & J. J. Sartoris, 2010. Measuring bulrush culm relationships to estimate plant biomass within a southern California treatment wetland. *Wetlands*, 30: 231–239.
- Daoust, R. J. & D. L. Childers, 1998. Quantifying aboveground biomass and estimating net aboveground primary production for wetland macrophytes using a non-destructive phenometric technique. *Aquatic Botany*, 62: 115–133.
- Davis, C. B. & A. G. van der Valk, 1983. Uptake and release of nutrients by living and decomposing *Typha glauca* Godr. tissues at Eagle Lake, Iowa. *Aquatic Botany*, 16: 75–89.
- de Carvalho, M. C., K. I. Hayashizaki & H. Ogawa, 2009. Short-term measurement of carbon stable isotope discrimination in photosynthesis and respiration by aquatic macrophytes, with marine macroalgal examples. *Journal of Phycology*, 45: 761–770.
- Dodds, W. K., 2003. The role of periphyton in phosphorus retention in shallow freshwater aquatic systems. *J. Phycol.*, 39: 840–849.
- Duan, N., 1983. Smearing Estimate: A Nonparametric Retransformation Method. Source: *Journal of the American Statistical Association*, 78: 605–610.
- Duarte, 1992. Nutrient concentration of aquatic plants: Patterns across species. *Limnology and Oceanography*, 37: 882–889.
- Dykyjová, D., Věber Karel & Karel Pribán, 1971. Productivity and Root/Shoot Ratio of Reedswamp Species Growing in Outdoor Hydroponic Cultures. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*, 6: 233–254.
- Ehleringer, J. R., 1989. Carbon Isotope Ratios and Physiological Processes in Aridland Plants. Pages 41–54 in J. R. and N. K. A. Rundel P. W. and Ehleringer (ed.) *Stable Isotopes in Ecological Research*. Springer New York, New York, NY.
- Fernández-Aláez, M., C. Fernández-Aláez & E. Becares, 1999. Nutrient content in macrophytes in Spanish shallow lakes. *Hydrobiologia*, 408/409: 317–326.
- Figiel, C. R., B. Collins & G. Wein, 1995. Variation in Survival and Biomass of Two Wetland Grasses at Different Nutrient and Water Levels Over a Six Week Period. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 122: 24–29.
- Garcia, L. M., S. C. van Brunt, J. C. Majsztrik & S. A. White, 2019. Short- and long-term dynamics of nutrient removal in floating treatment wetlands. *Water Research*, 159: 153–163. Elsevier Ltd.
- Gedroc, J. J., K. D. M. McConnaughay, J. S. Coleman & J. S. Coleman, 1996. Plasticity in Root/Shoot Partitioning: Optimal, Ontogenetic, or Both? *Functional Ecology*, 10: 44–50.

- Gerloff, G. C. & P. H. Krombhok, 1966. Tissue analysis as a measure of nutrient availability for the growth of angiosperm aquatic plants. *Limnology and Oceanography*, 11: 529–537.
- Giroux, J.-F. & J. Bédard, 1988. Estimating above-and below-ground macrophyte production in *Scirpus* tidal marshes. *Canadian Journal of Botany*, 66: 368–374.
- Gong, X., Z. Xu, Q. Peng, Y. Tian, Y. Hu, Z. Li & T. Hao, 2021. Spatial patterns of leaf $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of aquatic macrophytes in the arid zone of northwestern China. *Ecology and Evolution*, 11: 3110–3119. John Wiley and Sons Ltd.
- Gouraud, C., J.-F. Giroux, F. Mesléard & L. Desnouhes, 2008a. NOTE NON-DESTRUCTIVE SAMPLING OF *SCHOENOPLECTUS MARITIMUS* IN SOUTHERN FRANCE.
- Gouraud, C., J.-F. Giroux, F. Mesléard & L. Desnouhes, 2008b. Non-destructive sampling of *Schoenoplectus maritimus* in southern France. *Wetlands*, 28: 532–537.
- Gross, M. F., M. A. Hardisky, P. L. Wolf & V. Klemas, 1991. Relationship Between Aboveground and Belowground Biomass of *Spartina alterniflora* (Smooth Cordgrass). *Estuaries*, 14: 180–191.
- Haberl, R., S. Grego, G. Langergraber, R. H. Kadlec, A.-R. Cicalini, S. Martins Dias, J. M. Novais, S. Aubert, A. Gerth, H. Thomas & A. Hebner, 2003. Constructed Wetlands for the Treatment of Organic Pollutants. *Review Articles Constructed Wetlands*, 109: 109–124.
- Hallin, S., M. Hellman, M. I. Choudhury & F. Ecke, 2015. Relative importance of plant uptake and plant associated denitrification for removal of nitrogen from mine drainage in sub-arctic wetlands. *Water Research*, 85: 377–383. Elsevier Ltd.
- Hama, T., J. Hama & N. Handa, 1993. ^{13}C Tracer Methodology in Microbial Ecology with Special Reference to Primary Production Processes in Aquatic Environments. Pages 39–83 in J. G. Jones (ed.) *Advances in Microbial Ecology*. Springer, Boston, MA.
- Hardisky, M. A., 1980. A comparison of *Spartina alterniflora* primary production estimated by destructive and nondestructive techniques. Pages 223–234 in V. S. Kennedy (ed.) *Estuarine Perspectives*. Academic Press.
- Hemminga, M. A. & M. A. Mateo, 1996. Stable carbon isotopes in seagrasses: Variability in ratios and use in ecological studies. *Marine Ecology Progress Series*, 140: 285–298. Inter-Research.
- Heredia, C., S. Guédron, D. Point, V. Perrot, S. Campillo, C. Verin, M. E. Espinoza, P. Fernandez, C. Duwig & D. Achá, 2022. Anthropogenic eutrophication of Lake Titicaca (Bolivia) revealed by carbon and nitrogen stable isotopes fingerprinting. *Science of the Total Environment*, 845.
- Ho, Y. B., 1979. Chemical composition studies on some aquatic macrophytes in three scottish lochs. II Potassium, Sodium, Magnesium and Iron. *Hydrobiologia*, 64: 209–213.

- Hoagland, C. R., L. E. Gentry, M. B. David & D. A. Kovacic, 2001. Plant nutrient uptake and biomass accumulation in a constructed wetland. *Journal of Freshwater Ecology*, 16: 527–540.
- Jiang, Y., E. Martinez-Guerra, V. G. Gude, B. Magbanua, D. D. Truax & J. L. Martin, 2016. *Wetlands for Wastewater Treatment*. *Water Environment Research*, 88: 1160–1191. Wiley.
- Jones, T. G., N. Willis, R. Gough & C. Freeman, 2017. An experimental use of floating treatment wetlands (FTWs) to reduce phytoplankton growth in freshwaters. *Ecological Engineering*, 99: 316–323. Elsevier B.V.
- Kao, J. T., J. E. Titus & W.-X. Zhu, 2003. Differential nitrogen and phosphorus retention by five wetland plant species. *WETLANDS*, 23: 979–987.
- Keeley, J. E. & D. R. Sandquist, 1992. Carbon: freshwater plants. *Plant, Cell and Environment*, 15: 1021–1035.
- LaZerte, B. D. & J. E. Szalados, 1982. Stable carbon isotope ratio of submerged freshwater macrophyte. *Limnol. Oceanogr*, 27: 413418.
- Liu, J., L. Cheng, S. Yao & B. Xue, 2020. Variations in stable carbon isotopes in different components of aquatic macrophytes from Taihu Lake, China. *Ecological Indicators*, 118. Elsevier B.V.
- Liu, J., Y. Wu, C. Wu, K. Muylaert, W. Vyverman, H. Q. Yu, R. Muñoz & B. Rittmann, 2017. Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: A review. *Bioresource Technology*, 241: 1127–1137. Elsevier Ltd.
- López, D., M. Sepúlveda & G. Vidal, 2016. *Phragmites australis* and *Schoenoplectus californicus* in constructed wetlands: Development and nutrient uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 16: 763–777.
- Lorenz, D. L., (in press). smwrStats—An R package for the analysis of hydrologic data. U.S. Geological Survey Open File Report.
- Lynch, J., P. Marschner & Z. Rengel, 2012. Effect of Internal and External Factors on Root Growth and Development. Pages 331–346 *in* P. Marschner (ed.) *Marschner’s Mineral Nutrition of Higher Plants: Third Edition*. Academic Press.
- Madsen, T. V. & K. Sand-Jensen, 1991. Photosynthetic carbon assimilation in aquatic macrophytes. *Aquatic Botany*, 41: 5–40.
- Marulanda, C. & J. Izquierdo, 2003. *La Huerta Hidropónica Popular*. Santiago.
- Mašková, T. & T. Herben, 2018. Root:shoot ratio in developing seedlings: How seedlings change their allocation in response to seed mass and ambient nutrient supply. *Ecology and Evolution*, 8: 7143–7150. John Wiley and Sons Ltd.

- Mensah, S., T. Seifert & R. Glèlè Kakai, 2016. Patterns of biomass allocation between foliage and woody structure: The effects of tree size and specific functional traits. *Annals of Forest Research*, 59: 49–60. Editura Silvica.
- Miao, S. L., E. Sindhøj & C. Edelstein, 2008. Allometric relationships of field populations of two clonal species with contrasting life histories, *Cladium jamaicense* and *Typha domingensis*. *Aquatic Botany*, 88: 1–9.
- Middelburg, J. J., 2014. Stable isotopes dissect aquatic food webs from the top to the bottom. *Biogeosciences*, 11: 2357–2371. European Geosciences Union.
- Miglioranza, K. S. B., J. E. A. de Moreno & V. J. Moreno, 2004. Organochlorine pesticides sequestered in the aquatic macrophyte *Schoenoplectus californicus* (C.A. Meyer) Soják from a shallow lake in Argentina. *Water Research*, 38: 1765–1772. Elsevier Ltd.
- Miranda, G., S. Campero-Marín & O. Chura- Mamani, 2015. Caracterización del clima del valle de la ciudad de La Paz. Pages 40–61 in M. I. Moya, R. I. Meneses, & J. Sarmiento (eds.) *Historia Natural de un Valle en los Andes: La Paz*. Museo Nacional de Historia Natural, La Paz.
- Monk, C., 1966. Ecological importance of root/shoot ratios. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 93: 402–406.
- Morris, J. T., G. P. Shaffer & J. A. Nyman, 2013. Brinson review: Perspectives on the influence of nutrients on the sustainability of coastal wetlands. *Wetlands*, 33: 975–988.
- Munzarova, E., B. Lorenzen, H. Brix, L. Vojtiskova & O. Votrubova, 2006. Effect of $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ availability on nitrate reductase activity and nitrogen accumulation in wetland helophytes *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*. *Environmental and Experimental Botany*, 55: 49–60.
- Murashige, T. & F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473–497.
- Murray-Gulde, C. L., G. M. Huddleston, K. v Garber & J. H. Rodgers, 2005. Contributions of *Schoenoplectus californicus* in a Constructed Wetland System Receiving Copper Contaminated Wastewater. *Water, Air, and Soil Pollution*, 163: 355–378.
- Neubauer, M. E., C. Plaza De Los Reyes, G. Pozo, C. A. Villamar & G. Vidal, 2012. Growth and nutrient uptake by *Schoenoplectus californicus* (C.A. Méyer) Soják in a constructed wetland fed with swine slurry. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12: 421–430.
- Niklas, K. j., 2004. Plant allometry: is there a grand unifying theory? *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 79: 871–889.
- Ning, Y., Z. X. Zhang, L. J. Cui & C. L. Zou, 2014. Adaptive Significance of and Factors Affecting Plasticity of Biomass Allocation and Rhizome Morphology: a Case Study of the Clonal Plant *Scirpus planiculmis* (Cyperaceae). *Polish Journal of Ecology*, 62: 77–88. Museum and Institute of Zoology at the Polish Academy of Sciences.

- O'Connell, J. L., K. B. Byrd & M. Kelly, 2014. Remotely-sensed indicators of N-related biomass allocation in *Schoenoplectus acutus*. *PLoS ONE*, 9: 1–9. Public Library of Science.
- O'Connell, J. L., K. B. Byrd & M. Kelly, 2015. A hybrid model for mapping relative differences in belowground biomass and root: Shoot ratios using spectral reflectance, foliar N and plant biophysical data within coastal marsh. *Remote Sensing*, 7: 16480–16503. MDPI AG.
- Osmond, C. B., N. Valaane, S. M. Haslam, P. Uotila & Z. Roksandic, 1981. Comparisons of $\delta^{13}\text{C}$ Values in Leaves of Aquatic Macrophytes from Different Habitats in Britain and Finland; some Implications for Photosynthetic Processes in Aquatic Plants. *Oecologia (Berl)*, 50: 117–124.
- Overbeek, C. C., S. F. Harpenslager, J. P. van Zuidam, E. E. van Loon, L. P. M. Lamers, M. B. Soons, W. Admiraal, J. T. A. Verhoeven, A. J. P. Smolders, J. G. M. Roelofs & H. G. van der Geest, 2020. Drivers of Vegetation Development, Biomass Production and the Initiation of Peat Formation in a Newly Constructed Wetland. *Ecosystems*, 23: 1019–1036. Springer.
- Pan, Y., E. Cieraad, B. R. Clarkson, T. D. Colmer, O. Pedersen, E. J. W. Visser, L. A. C. J. Voesenek & P. M. van Bodegom, 2020. Drivers of plant traits that allow survival in wetlands. *Functional Ecology*, 34: 956–967. Blackwell Publishing Ltd.
- Pate, J. S., 1999. Stable Isotope Techniques in the Study of Biological Processes and Functioning of Ecosystems. Page (M. Unkovich, J. Pate, A. McNeill, & D. J. Gibbs, Eds.). Springer Netherlands, Dordrecht.
- Pätzig, M., F. Geiger, D. Rasche, P. Rauneker & A. Eltner, 2020. Allometric relationships for selected macrophytes of kettle holes in northeast Germany as a basis for efficient biomass estimation using unmanned aerial systems (UAS). *Aquatic Botany*, 162. Elsevier B.V.
- Paul, D., G. Skrzypek & I. Fórizs, 2007. Normalization of measured stable isotopic compositions to isotope reference scales - A review. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 21: 3006–3014.
- Pavlineri, N., N. T. Skoulikidis & V. A. Tsihrintzis, 2017. Constructed Floating Wetlands: A review of research, design, operation and management aspects, and data meta-analysis. *Chemical Engineering Journal*, 308: 1120–1132. Elsevier B.V.
- Pimenov, N. v., A. M. Zyakun, T. S. Prusakova, O. N. Lunina & M. v. Ivanov, 2008. Application of ^{13}C mineral carbon for assessment of the primary production of organic matter in aquatic environments. *Microbiology*, 77: 224–227.
- Poorter, H. & O. Nagel, 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO_2 , nutrients and water: A quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27: 595–607.

- Poorter, H., K. J. Niklas, P. B. Reich, J. Oleksyn, P. Poot & L. Mommer, 2012. Biomass allocation to leaves, stems and roots: Meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, 193: 30–50.
- Prins, H. B. A. & J. T. M. Elzenga, 1989. Bicarbonate utilization: Function and mechanism. *Aquatic Botany*, 34: 59–83.
- Qun, L., C. Z. Zhao, M. P. Kang & X. Y. Li, 2021. The relationship of the main root-shoot morphological characteristics and biomass allocation of *Saussurea salsa* under different habitat conditions in Sugan lake wetland on the northern margin of the Qinghai-Tibet Plateau. *Ecological Indicators*, 128. Elsevier B.V.
- R Core Team, 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.
- Rojas, Vera I & Vidal G, 2013. Influencia de la estación y de las especies *Phragmites australis* y *Schoenoplectus californicus* en la eliminación de materia orgánica y nutrientes contenidos en aguas servidas durante la operación de puesta en marcha de humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial. *Revista de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Antioquia*, 69: 289--299.
- Scholz, M. & B. H. Lee, 2005. Constructed wetlands: A review. *International Journal of Environmental Studies*, 62: 421–447.
- Shahid, M. J., M. Arslan, M. Siddique, S. Ali, R. Tahseen & M. Afzal, 2019. Potentialities of floating wetlands for the treatment of polluted water of river Ravi, Pakistan. *Ecological Engineering*, 133: 167–176. Elsevier B.V.
- Shardendu & R. S. Ambasht, 1991. Relationship of nutrients in water with bionias and nutrient accumulation of submerged macrophytes of a tropical wetland. *New Phytol*, 117: 493–500.
- Shipley, B. & D. Meziane, 2002. The balanced-growth hypothesis and the allometry of leaf and root biomass allocation. *Functional Ecology*, 16: 326–331.
- Silva, M. P. F. Costa & J. M. Melack, 2010. Assessment of two biomass estimation methods for aquatic vegetation growing on the Amazon Floodplain. *Aquatic Botany*, 92: 161–167.
- Spangler, J. T., D. J. Sample, L. J. Fox, J. S. Owen & S. A. White, 2019. Floating treatment wetland aided nutrient removal from agricultural runoff using two wetland species. *Ecological Engineering*, 127: 468–479. Elsevier B.V.
- StataCorp, 2019. Statistical software for data science.
- Tanner, C. C., 1996. Plants for constructed wetland treatment systems-A comparison of the growth and nutrient uptake of eight emergent species. *Ecological Engineering*, 7: 59–83.

- Tanner, C. C., 2001. Growth and nutrient dynamics of so-stem bulrush in constructed wetlands treating nutrient-rich wastewaters. *Wetlands Ecology and Management*, 9: 49–73.
- Tanner, C. C. & T. R. Headley, 2011. Components of floating emergent macrophyte treatment wetlands influencing removal of stormwater pollutants. *Ecological Engineering*, 37: 474–486.
- Thursby, G. B., M. M. Chintala, D. Stetson, C. Wigand & D. M. Champlin, 2002. A rapid, non-destructive method for estimating aboveground biomass of salt marsh grasses. *Wetlands*, 22: 626–630.
- Velázquez-Ochoa, R., M. J. Ochoa-Izaguirre & M. F. Soto-Jiménez, 2022. An analysis of the variability in $\delta^{13}\text{C}$ in macroalgae from the Gulf of California: Indicative of carbon concentration mechanisms and isotope discrimination during carbon assimilation. *Biogeosciences*, 19: 1–27. Copernicus GmbH.
- Vymazal, J., 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment*, 380: 48–65.
- Vymazal, J., 2011. Plants used in constructed wetlands with horizontal subsurface flow: A review. *Hydrobiologia*, 674: 133–156.
- Wang, C., Z. Wei, Z. Yan, C. Wang, S. Xu, L. Bai, H. Jiang & N. Yuan, 2021. The feasibility of recycling drinking water treatment residue as suspended substrate for the removal of excess P and N from natural water. *Journal of Environmental Management*, 280. Academic Press.
- Wang, C. Y. & D. J. Sample, 2014. Assessment of the nutrient removal effectiveness of floating treatment wetlands applied to urban retention ponds. *Journal of Environmental Management*, 137: 23–35.
- Weller, N. A., D. L. Childers, L. Turnbull & R. F. Upham, 2015. Aridland constructed treatment wetlands I: Macrophyte productivity, community composition, and nitrogen uptake. *Ecological Engineering*, 97: 649–657. Elsevier B.V.
- Weragoda, S. K., K. B. S. N. Jinadasa, D. Q. Zhang, R. M. Gersberg, S. K. Tan, N. Tanaka & N. W. Jern, 2012. Tropical application of floating treatment wetlands. *Wetlands*, 32: 955–961.
- West, G. B., J. H. Brown & B. J. Enquist, 1997. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science*, 276: 122–126.
- Winkel, A. & J. Borum, 2009. Use of sediment CO₂ by submersed rooted plants. *Annals of Botany*, 103: 1015–1023.
- Wood, K. A., R. A. Stillman, R. T. Clarke, F. Daunt & M. T. O’Hare, 2012. Measuring submerged macrophyte standing crop in shallow rivers: A test of methodology. *Aquatic Botany*, 102: 28–33.

- Wu, Y., J. Liu & E. R. Rene, 2018. Periphytic biofilms: A promising nutrient utilization regulator in wetlands. *Bioresource Technology*, 248: 44–48. Elsevier Ltd.
- Xing, W., H. Wu, Q. Shi, B. Hao, H. Liu, Z. Wang & G. Liu, 2015. Multielement stoichiometry of submerged macrophytes across Yunnan plateau lakes (China). *Scientific Reports*, 5: 1–9. Nature Publishing Group.
- Yeh, N., P. Yeh & Y. H. Chang, 2015. Artificial floating islands for environmental improvement. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 47: 616–622. Elsevier Ltd.
- Yin, Q., T. Tian, X. Han, J. Xu, Y. Chai, J. Mo, M. Lei, L. Wang & M. Yue, 2019. The relationships between biomass allocation and plant functional trait. *Ecological Indicators*, 102: 302–308. Elsevier B.V.
- Yu, H., Y. Liu, J. Xu & Y. Niu, 2015. Variations in stable carbon isotopic compositions of aquatic macrophytes in eutrophic lakes in China. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24: 1–9.
- Yue, K., D. A. Fornara, W. Li, X. Ni, Y. Peng, S. Liao, S. Tan, D. Wang, F. Wu & Y. Yang, 2021. Nitrogen addition affects plant biomass allocation but not allometric relationships among different organs across the globe. *Journal of Plant Ecology*, 14: 361–371. Oxford University Press.
- Zhao, N., G. Yu, N. He, F. Xia, Q. Wang, R. Wang, Z. Xu & Y. Jia, 2016. Invariant allometric scaling of nitrogen and phosphorus in leaves, stems, and fine roots of woody plants along an altitudinal gradient. *Journal of Plant Research*, 129: 647–657. Springer-Verlag Tokyo.

9. ANEXO 1

Tabla A1. Diferencias entre el contenido de nutrientes por encima y por debajo del suelo en tejidos de *S. californicus* por prueba t. Valores medios \pm SD mostrados, estadística T y valor p.

Nutriente	Aérea	Subterránea	t	p
N (%)	1.087 \pm 0.464%	0.487 \pm 0.326%	-3.841	0.014
P (mg/kg)	1068.846 \pm 357.681	754.389 \pm 269.954	-2.797	0.044
Ca (mg/kg)	15182 \pm 4874.853	3472.111 \pm 2050.924	-6.39	0.0004

Tabla A2. Coeficientes de correlación y probabilidad que relacionan el contenido de N, P y Ca en tejidos de *S. californicus*.

	P-Ca	Ca-N	P-N
R	0.29	0.44	0.41
p	0.11	0.014	0.024