

**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE LENTEJA DE AGUA (*LEMNA MINOR*) EN  
EL MEDIO STANDARD SWEDISH (SIS) CON ADICIÓN DE GLUCOSA**

Isabella Narváez Muñoz; ID:775684

Mariana Cáceres Castaño, ID: 799574

Corporación Universitaria Minuto de Dios  
Facultad de Ingeniería (Buga)  
Ingeniería Agroindustrial  
Guadalajara de Buga, Valle del Cauca, Colombia  
2025.

**Evaluación del Crecimiento de Lenteja de Agua (*Lemna minor*) en El Medio Standard  
Swedish (SIS) con adición de glucosa**

Isabella Narváez Muñoz; ID:775684

Mariana Cáceres Castaño, ID: 799574

Trabajo de investigación para optar al título de Ingeniera Agroindustrial

Directora: Natalia Sofia Vargas Marín, Magíster (M.Sc)

Codirector: Jaime Eduardo Aragón Campo (M.Sc)

Línea de investigación: Procesos Agroindustriales



**UNIMINUTO**  
Corporación Universitaria Minuto de Dios  
Educación de calidad al alcance de todos

Corporación Universitaria Minuto de Dios

Facultad de Ingeniería (Buga)

Ingeniería Agroindustrial

Guadalajara de Buga, Valle del Cauca, Colombia

2025.

## Dedicatoria

*El camino siempre es más valioso cuando se recorre acompañado.*

*Ir de la mano de quienes amamos es un regalo y una bendición que enriquece cada paso.*

*A Dios, por ser mi fortaleza inquebrantable y guiarme con sabiduría y amor.*

*A mis padres, por su amor incondicional, por sostenerme en cada tropiezo y enseñarme con el ejemplo el valor del esfuerzo y la integridad.*

*A mis abuelos, por haber abierto caminos con sacrificio y esperanza, permitiendo que hoy podamos alcanzar oportunidades que ellos soñaron para nosotros.*

*Y a cada uno de mis familiares, gracias por estar presentes con amor, palabras de aliento y apoyo sincero. Hoy, al cumplir uno de mis más anhelados sueños, los llevo en mi corazón con profunda gratitud.*

*Isabella Narváez Muñoz*

*Dedico mi tesis principalmente a Dios, por darme la oportunidad de cumplir una meta tan importante en mi vida. Gracias por darme la fuerza, la sabiduría y la perseverancia necesarias para no rendirme, incluso en los momentos más difíciles. Sin Su guía y compañía, este logro no habría sido posible.*

*A mis padres, quienes han estado siempre para mí, apoyándome y aconsejándome en cada momento. Gracias por su amor incondicional, por su paciencia infinita y por enseñarme a no rendirme, aun cuando el camino se volvía complicado. Cada logro mío es también de ustedes, porque sin su respaldo, su esfuerzo y sus enseñanzas, no estaría donde estoy hoy.*

*Con todo mi amor y gratitud, les dedico este trabajo que no solo representa una meta cumplida, sino también un pedacito de todo lo que me han dado a lo largo de mi vida.*

*Mariana Cáceres Castaño*

## Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

De acuerdo con la normatividad nacional relacionada al respeto de los derechos de autor, esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Asimismo, declaro que he hecho uso de herramientas de inteligencia artificial como apoyo en la redacción de algunos apartados del presente trabajo, garantizando en todo momento la revisión, edición y validación personal del contenido generado, y asegurando su coherencia con los objetivos académicos del documento.

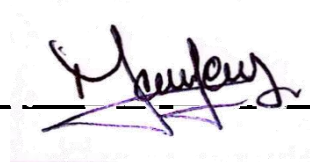
Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica definida por la universidad.



---

Nombre: Isabella Narvaez Muñoz

Fecha:



---

Nombre: Mariana Cáceres Castaño

Fecha:

## **Agradecimientos**

Queremos comenzar expresando nuestro más profundo agradecimiento a Dios, por su infinita bondad, por guiar cada uno de nuestros pasos y por concedernos la salud, la sabiduría, la fortaleza y la constancia necesarias para culminar satisfactoriamente este trabajo de grado y cerrar una de las etapas más significativas de nuestras vidas, tanto académicas como personales. Su presencia ha sido luz en los momentos de incertidumbre y refugio en los días difíciles. Nuestra más sincera gratitud a nuestra directora de trabajo de grado, M.Sc. Ing. Natalia Sofía Vargas Marín, por su invaluable orientación, por compartir generosamente sus conocimientos, por su constante disposición y por el compromiso demostrado en la consolidación de este documento. Su guía ha sido fundamental para el desarrollo de esta investigación. Extendemos también nuestro agradecimiento a todos los docentes de la Facultad de Ingeniería, quienes, a lo largo de nuestra formación, nos brindaron no solo conocimientos técnicos, sino también principios, disciplina y motivación que nos han acompañado hasta alcanzar este logro. A nuestras amadas familias, verdaderos pilares en nuestras vidas, les dedicamos con especial emoción estas palabras. A nuestros padres, quienes han sido nuestra mayor inspiración, gracias por su amor incondicional, por su entrega incansable, por su apoyo firme en cada paso de este camino y por enseñarnos, con el ejemplo, el valor del esfuerzo, la honestidad y la perseverancia. A nuestros abuelos, quienes, con su sabiduría, sus oraciones constantes y su amor entrañable, nos han dado fuerza y aliento en los momentos en que más lo hemos necesitado. A nuestros seres queridos, gracias por su compañía, sus palabras de aliento, por celebrar nuestros logros como propios y por animarnos a no rendirnos. A nuestros amigos, quienes han estado presentes a lo largo de este proceso, les agradecemos profundamente por su apoyo emocional, por sus mensajes de ánimo, por las risas compartidas y por recordarnos, en los momentos de tensión, que no estábamos solos en este recorrido. Finalmente, expresamos nuestro agradecimiento a la Corporación Universitaria Minuto de Dios, por proporcionarnos un entorno académico enriquecedor y por su valioso aporte en recursos humanos, bibliográficos y físicos, que hicieron posible el desarrollo de este trabajo de grado. Su compromiso con la formación integral ha dejado una huella importante en nuestras vidas profesionales y personales.

## Tabla de contenido

Resumen .....	12
Abstract .....	13
Introducción .....	14
Planteamiento del problema .....	16
Objetivos .....	18
Objetivo general .....	18
Objetivos específicos.....	18
Antecedentes .....	19
Justificación.....	21
Marco teórico .....	23
Lenteja de agua ( <i>Lemma Minor</i> ) .....	23
Medios de Cultivo estándar.....	24
Análisis bibliométrico .....	26
Análisis bibliométrico palabra clave “Lemma minor” .....	26
Análisis bibliométrico palabra clave “duckweed AND standard AND media”.....	29
Estado del arte .....	32
Aspectos metodológicos.....	34
Equipos.....	35
Capítulo 1 .....	35
Metodología .....	36
Ecuación de búsqueda .....	37
Análisis de VOSviewer .....	38
Resultados y discusión .....	43

Capítulo 2 .....	44
Metodología .....	44
Protocolo de purificación de la cepa .....	46
Establecimiento de una cepa axénica de <i>Lemna minor</i> .....	48
Incubación en medio mineral con glucosa .....	49
Observaciones morfológicas .....	50
Tratamiento desinfectante .....	53
Análisis de resultados .....	56
Evaluación morfométrica de <i>Lemna minor</i> mediante análisis digital .....	57
Segmentación de color .....	59
Evaluación de frondas tratadas durante el periodo de latencia .....	59
Evaluación de frondas axénicas .....	60
Capítulo 3 .....	63
Metodología .....	63
Diseño Experimental .....	64
Fases del estudio Experimental .....	64
Fase 1, Cultivo Preliminar .....	64
Fase 2, Cultivo Reactores .....	64
Preparación del Medio de cultivo SIS .....	64
Composición del Medio SIS (Basado en OECD 221, Anexo 4) .....	64
Esterilización y conservación .....	65
Preparación del medio .....	66
Suplementación con Glucosa y Nitrógeno .....	66
Preparación del medio suplementado .....	66
Cultivo preliminar .....	67

Diseño Experimental.....	67
Establecimiento del cultivo .....	68
Evaluación del crecimiento .....	69
Cultivo Reactores .....	70
Diseño experimental.....	70
Establecimiento cultivo Reactores .....	71
Evaluación del crecimiento .....	72
Resultados y discusión .....	73
Análisis estadístico .....	73
Resultados y discusión .....	77
Cultivo Reactores .....	77
Análisis estadístico.....	77
Análisis del Ajuste del Modelo para los Reactores.....	80
Modelo logístico.....	80
Resultados y análisis por reactor .....	81
Reactor 1 .....	81
Reactor 2 .....	83
Reactor 3 .....	84
Reactor 4 .....	86
Curvas de crecimiento.....	88
Conclusiones .....	93
Recomendaciones.....	94
Referencias Bibliográficas .....	95

## Figuras

Figura 1 Documentos por año – palabra clave <i>Lemna minor</i> . .....	27
Figura 2 Documentos por país – palabra clave <i>Lemna minor</i> .....	28
Figura 3 Documentos por área – palabra clave <i>Lemna minor</i> .....	28
Figura 4 Documentos por año - palabra clave “duckweed AND standard AND media” .....	29
Figura 5 Documentos por país – palabra clave “duckweed AND standard AND media” .....	30
Figura 6 Documentos por área – palabra clave “duckweed AND standard AND media” .....	31
Figura 7 Documentos por año .....	37
Figura 8 Documentos por autor.....	38
Figura 9 Clusters .....	39
Figura 10 Cluster- Palabras Claves .....	40
Figura 11 Cluster – Conceptos respecto al año .....	42
Figura 12 Cepa <i>Lemna minor</i> -Roldanillo.....	45
Figura 13 Flujograma- Método de Purificación y Propagación Aséptica de Lenteja de Agua.....	47
Figura 14 Selección morfológica y lavado de frondas .....	48
Figura 15 Frondas en medio con glucosa.....	49
Figura 16 Tratamiento desinfectante de <i>Lemna minor</i> .....	54
Figura 17 Período de latencia.....	54
Figura 18 Cultivo axénico <i>Lemna minor</i> .....	55
Figura 19 Evaluación morfométrica <i>Lemna minor</i> .....	57
Figura 20 Segmentación de color - Periodo de latencia.....	59
Figura 21 Cluster Identification Periodo de latencia.....	60
Figura 22 Segmentación de color Frondas axénicas .....	61
Figura 23 Cluster Identification Frondas axénicas.....	61
Figura 24 Cultivo preliminar.....	69

---

Figura 25 Evaluación del Crecimiento.....	70
Figura 26 Reactores.....	71
Figura 27 Evaluación del crecimiento de Reactores .....	72
Figura 28 Pareto .....	74
Figura 29 Superficie de Respuesta Estimada .....	75
Figura 30 Superficie de respuesta estimada .....	79
Figura 31 Ajuste al modelo logístico R1.....	82
Figura 32 Ajuste al modelo logístico R2.....	84
Figura 33 Ajuste al modelo logístico R3.....	86
Figura 34 Ajuste al modelo logístico para Reactor .....	88
Figura 35 Curvas de Crecimiento Experimental .....	90
Figura 36 Curva de Crecimiento Ecuación Ajustada .....	91

### Tablas

Tabla 1 Clasificación de la planta acuática <i>Lemna minor</i> .....	23
Tabla 2 Equipos.....	35
Tabla 3 Materiales y Reactivos .....	35
Tabla 4 Autores más relevantes .....	39
Tabla 5 Conceptos Claves .....	41
Tabla 6 Lavado Preliminar de <i>Lemna minor</i> – Registro Fotográfico (08/05/2025).....	50
Tabla 7 Lavado Preliminar de <i>Lemna minor</i> – Registro Fotográfico (12/05/2025).....	51
Tabla 8 Lavado Preliminar de <i>Lemna minor</i> – Registro Fotográfico (15/05/2025).....	52
Tabla 9 Medición morfométrica de frondas de <i>Lemna minor</i> .....	58
Tabla 10 Frondas tratadas .....	60
Tabla 11 Frondas axénicas .....	62

---

Tabla 12 Medio de crecimiento Swedish Standard (SIS) para <i>Lemna minor</i> .....	64
Tabla 13 Distribución de las muestras cultivo preliminar.....	68
Tabla 14 Distribución de las muestras reactores.....	71
Tabla 15 Análisis de Varianza para N° Frondas Final .....	73
Tabla 16 Análisis de Varianza para suplementos de glucosa y nitrógeno .....	77
Tabla 17 Pareto Reactores.....	78
Tabla 18 Reactor 1 .....	81
Tabla 19 Estimado Reactor 1 .....	81
Tabla 20 Reactor 2 .....	83
Tabla 21 Estimado Reactor 2 .....	83
Tabla 22 Reactor 3 .....	85
Tabla 23 Estimado Reactor 3 .....	85
Tabla 24 Reactor 4 .....	86
Tabla 25 Estimado Reactor 5 .....	87

---

## Resumen

La presente investigación tiene como propósito evaluar el efecto de la suplementación con glucosa en el medio de cultivo Swedish Standard (SIS) sobre el crecimiento de *Lemna minor* bajo condiciones ambientales. Se desarrolló una revisión sistemática de literatura en la base de datos Scopus, con el fin de identificar el impacto de la adición de nutrientes sobre esta especie acuática y establecer protocolos apropiados para la evaluación de tasas de crecimiento y producción de biomasa. Con base en los hallazgos de la revisión, se adaptó un protocolo experimental para la obtención y cultivo de una cepa axénica de *Lemna minor* en condiciones ambientales, utilizando como base el medio SIS. El crecimiento fue evaluado mediante análisis morfométricos con el software ImageJ, empleando imágenes tomadas en el transcurso del experimento para cuantificar el área foliar total como variable de respuesta. El análisis de resultados mostró que la adición de glucosa favorece el crecimiento de *Lemna minor* en términos de número de frondas y área proyectada, con un ajuste al modelo logístico superior al 99,99% en tres de los cuatro reactores (R1, R2 y R4). En estos, el número de frondas aumentó entre 2,1 y 2,6 veces respecto al valor inicial. En contraste, el reactor R3 presentó una caída del 62% en el número de frondas al tercer día, con alta variabilidad (desviación estándar de 41,96), indicando una sensibilidad a condiciones desfavorables. Estos resultados permiten establecer tendencias preliminares sobre el efecto de la suplementación del medio de cultivo, que pueden orientar futuros ensayos con mayor replicación y validación estadística. Los hallazgos aportan información relevante para el diseño de estrategias de cultivo más eficientes y para el aprovechamiento biotecnológico de esta especie acuática.

**Palabras clave:** *Lemna minor*, glucosa, medio SIS, crecimiento vegetal, biomasa.

---

### Abstract

This research aims to evaluate the effect of glucose supplementation in the Swedish Standard (SIS) culture medium on the growth of *Lemna minor* under environmental conditions. A systematic literature review was conducted using the Scopus database to identify the impact of nutrient addition on this aquatic species and to establish appropriate protocols for assessing growth rates and biomass production. Based on the findings, an experimental protocol was adapted for the cultivation of an axenic strain of *Lemna minor* using the SIS medium. Growth was evaluated through morphometric analysis using ImageJ software, with total leaf area quantified from images taken throughout the experiment as the main response variable. The results showed that glucose supplementation promoted the growth of *Lemna minor* in terms of frond number and projected area, with a logistic model fit exceeding 99.99% in three out of four reactors (R1, R2, and R4). In these reactors, the frond count increased by 2.1 to 2.6 times relative to the initial value. In contrast, Reactor R3 showed a 62% decrease in frond number by the third day, with high variability (standard deviation of 41.96), indicating sensitivity to unfavorable conditions. These findings provide preliminary insights into the effects of culture medium supplementation, offering a basis for future experiments with greater replication and statistical validation. The results contribute valuable information for designing more efficient cultivation strategies and for the biotechnological utilization of this aquatic species.

**Keywords:** *Lemna minor*, glucose, SIS medium, plant growth, biomass.

---

## Introducción

Las especies acuáticas del género *Lemna*, y en particular *Lemna minor*, han adquirido gran relevancia en las últimas décadas debido a su alta tasa de reproducción vegetativa, su capacidad de remoción de nutrientes en cuerpos de agua y su potencial como biomasa de interés agroindustrial y ambiental (Jaramillo Jumbo & Flores Campoverde, 2012). En países con interés creciente en procesos de sostenibilidad y bioeconomía circular, como Colombia, su estudio cobra especial importancia frente a problemáticas ambientales derivadas de la contaminación de fuentes hídricas y el aumento de la demanda de insumos agrícolas alternativos (Caviedes Rubio et al., 2016).

El uso de *Lemna minor* no solo ha sido explorado en sistemas de biorremediación (Zambrano Intriago, 2023), sino también como ingrediente funcional para alimentación animal y como material de referencia en bioensayos ecotoxicológicos (Intriago et al., 2024). Sin embargo, diversos autores coinciden en que la productividad de esta planta depende fuertemente de las condiciones de cultivo, particularmente del medio nutritivo utilizado, el cual debe proporcionar macro y micronutrientes en proporciones equilibradas para favorecer una alta tasa de multiplicación y calidad fisiológica (Mohan & Hosetti, 1999).

Por esta razón, distintos organismos internacionales han desarrollado lineamientos y métodos estandarizados para su uso en la evaluación de contaminantes y condiciones ambientales (Ramírez Babativa, 2019). Particularmente, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) recomienda el uso de una variante del medio Swedish Standard (SIS) por su eficacia y estandarización ((SIS), 1995 ; OECD, 2022). Mientras que la norma ISO 20079 sugiere el medio Steinberg modificado. Sin embargo, la eficiencia del medio SIS puede variar según factores ambientales y bioquímicos específicos(ISO, 2005). La elección del medio óptimo puede estar influenciada por la procedencia de la cepa, la calidad del agua base, la temperatura, la disponibilidad de luz y otros factores que varían según el contexto geográfico (Sree & Appenroth, 2022).

Por lo tanto, estudios como el de Van Dyck, resaltan la necesidad de realizar evaluaciones locales que permitan identificar cuál medio de cultivo proporciona mejores condiciones para el crecimiento acelerado y sostenido de *Lemna minor* (Van Dyck et al., 2021). Antes de cualquier evaluación experimental, la selección y purificación de la cepa vegetal constituye un paso fundamental para evitar contaminaciones y sesgos en los resultados (Ortega-Acosta et al., 2017). La depuración de cepas mediante técnicas estandarizadas asegura la homogeneidad del material vegetal y su adecuada respuesta a los tratamientos propuestos. Por tanto, la estandarización de estos procesos contribuye a obtener resultados replicables y confiables en investigaciones aplicadas.

A partir de lo anterior, se plantea una evaluación experimental del crecimiento de *Lemna minor* en el medio Swedish Standard (SIS), suplementado con glucosa como fuente exógena de carbono, con el propósito de analizar su influencia bajo condiciones ambientales (Van Dyck et al., 2023). Esta iniciativa responde a la necesidad de comprender el efecto de una fuente orgánica de carbono sobre la tasa de multiplicación vegetal, en función de mejorar el rendimiento del cultivo. Como lo señalan Demmig-Adams et al. (2022), la mejora en la formulación de los medios nutritivos constituye una estrategia fundamental para incrementar la eficiencia de los sistemas de producción vegetal destinados a aplicaciones agroindustriales, al permitir un uso más racional de los recursos, acortar los ciclos de cultivo e impulsar la incorporación de estas tecnologías en esquemas de sostenibilidad ambiental.

---

## Planteamiento del problema

En los últimos años, el crecimiento de la población mundial, junto con los efectos del cambio climático, han intensificado los desafíos relacionados con la seguridad alimentaria y sostenibilidad ambiental (Graziano da Silva et al., 2021). La creciente demanda de alimentos y forrajes ha ejercido presión sobre los recursos naturales, provocando la degradación de ecosistemas, la escasez de tierras agrícolas y la contaminación de cuerpos de agua. A esto se le suma la malnutrición global, resultados de patrones alimentarios pobres en proteínas y vitaminas, exacerbados por el consumo excesivo de azúcares simples y a la estigmatización de ciertos nutrientes (Rock et al., 2017). Esta situación plantea la necesidad urgente de encontrar alternativas sostenibles y eficiente que contribuyan tanto a la producción de alimentos nutritivos como a la mitigación de los problemas ambientales.

En este contexto, las lentejas de agua han surgido como una alternativa prometedora debido a su versatilidad y capacidad de adaptación. Estas plantas acuáticas flotantes, pertenecientes a la familia Lemnaceae, compuesta por macrófitas monocotiledóneas (Iqbal et al., 2019; Kellaf & Zardoui, 2010). Esta familia incluye cinco géneros (*Spirodela*, *Landoltia*, *Lemna*, *Wolffia*, *Wolffiella*), con un total de 37 especies identificadas (Appenroth et al., 2013; Van Hoeck et al., 2015). Las lentejas de agua destacan por su rápido crecimiento en aguas dulces y su composición nutricional rica en almidón y proteínas (Ishizawa et al., 2020).

Dentro de este grupo, *Lemna minor* es la especie más extendida a nivel mundial, caracterizada por sus frondas flotantes y su raíz única, que la estabiliza en el agua (Landolt, 1987). El alto contenido de nutrientes de *Lemna minor* la convierte en una alternativa prometedora para la alimentación humana y animal, así como en materia prima potencial para la producción de biocombustibles (Ishizawa et al., 2020). Además, esta planta ha demostrado una notable capacidad para la fitodepuración de cuerpos de agua contaminados, absorbiendo metales pesados y otros compuestos tóxicos, mientras libera oxígeno mediante la fotosíntesis (Zambrano Intriago, 2023).

---

En Colombia, se ha evaluado el uso de *Lemna minor* en aguas residuales provenientes del procesamiento de fique y aguas municipales, obteniendo resultados favorables en condiciones controladas (Arias et al., 2016; Cuello et al., 2016). Estas características hacen que su cultivo sea atractivo desde una perspectiva ambiental, ya que requiere bajos costos de producción, no compete con tierras agrícolas y se adapta fácilmente a diversas condiciones ambientales (Jaimes Prada et al., 2024).

La necesidad de mejorar el cultivo de *Lemna minor* ha impulsado investigaciones enfocadas en su desarrollo en medios de cultivo estándar, reconocidos por proporcionar nutrientes esenciales para el crecimiento de plantas acuáticas (Khvatkov et al., 2019). Según Driever, las condiciones óptimas para el cultivo de *Lemna minor* incluyen un pH de 6.5 y 7.5, temperaturas de 18°C a 30°C y un fotoperiodo de 14 horas, parámetros que favorecen su rápido crecimiento y acumulación de biomasa (Driever et al., 2005). Sin embargo, estudios recientes han identificado que la respuesta de *Lemna minor* puede variar según la composición nutricional del medio y las condiciones ambientales específicas (Coughlan et al., 2022). Lo que subraya la importancia de ajustar estos parámetros para potenciar su productividad y contenido nutricional.

El presente estudio busca evaluar el crecimiento de *Lemna minor*, en el medio Swedish Standard (SIS) con y sin suplementación de glucosa con el fin de determinar cuál de ellos potencia mejor las condiciones para su desarrollo. Este enfoque no solo aborda una problemática ambiental, sino que también explora alternativas sostenibles y económicas para la agroindustria al evaluar el potencial de *Lemna minor* como recurso agrícola. Al mejorar su cultivo en medios estándar, se busca ofrecer soluciones viables frente a desafíos como la escasez de recursos, el cambio climático y el aumento de los costos de insumos agrícolas, promoviendo así una agricultura más eficiente y resiliente (Zulfiqar et al., 2024).

En consecuencia, del problema expuesto surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cómo varía la biomasa de *Lemna minor* cultivada bajo condiciones ambientales al comparar el medio Swedish Standard (SIS) con y sin suplementación de glucosa?

## Objetivos

### Objetivo general

Evaluar el efecto de suplementar el medio de cultivo Swedish Standard (SIS) con glucosa en el crecimiento de *Lemna minor* bajo condiciones ambientales.

### Objetivos específicos

**Elaborar** una revisión de literatura para identificar el efecto de adicionar nutrientes al medio de cultivo inicial y determinar los protocolos de evaluación de tasas de crecimiento y biomasa.

**Adaptar** un protocolo experimental para obtención de una cepa axénica de *Lemna minor* a condiciones ambientales.

**Determinar** el efecto de la glucosa como suplemento del medio de cultivo Swedish Standard (SIS) estándar para crecimiento de *Lemna minor*.

### Antecedentes

La especie *Lemna minor* (*lenteja de agua*) es una planta acuática de pequeño tamaño perteneciente a la familia Lemnaceae. Esta planta ha sido ampliamente utilizada en estudios relacionados con la calidad del agua, especialmente por su capacidad para absorber metales pesados (Radic et al., 2010). Actualmente, se considera una de las alternativas más eficaces para el tratamiento de aguas residuales domésticas, destacando por su mayor tolerancia a bajas temperaturas en comparación con otras especies. Asimismo, presenta ventajas prácticas frente a organismos como las algas, ya que es más sencilla de recolectar y posee una alta tasa de reproducción, facilitada por su propagación asexual por división celular (Miranda, 2013, p. 5).

Saha, Banerjee y Sarkar señalan que para que *Lemna minor* pueda desarrollarse de manera rápida y eficiente, es fundamental la presencia de una elevada concentración de nutrientes en su entorno. Esta necesidad nutricional ha permitido que la especie desarrolle una gran capacidad para absorber de forma acelerada los minerales esenciales que se encuentran en el agua donde vive. Así, la lenteja de agua no solo aprovecha los nutrientes disponibles, sino que también contribuye a depurar el medio acuático al reducir la carga orgánica. Los compuestos absorbidos pasan a formar parte de su estructura celular, es decir, se convierten en biomasa, lo que refuerza su utilidad en procesos de fitorremediación (Saha, Banerjee y Sarkar, 2015, p. 13)

Actualmente, la fitorremediación se ha consolidado como una alternativa efectiva para disminuir la contaminación del medio ambiente y, al mismo tiempo, aprovechar las aguas residuales. Sin embargo, a pesar de sus múltiples ventajas, aún se cuenta con información limitada respecto a los factores que pueden optimizar el rendimiento y la productividad de las macrófitas utilizadas en estos procesos.

Según Coughlan et al. (2022, p. 6), se realizó un estudio para analizar cómo las condiciones físicas del flujo de agua influyen en el crecimiento de *Lemna minor*. Se probaron diferentes caudales (0.5, 1.5 y 3.0 litros por minuto) y profundidades de agua (25 mm y 50 mm), evaluando la producción de biomasa como indicador de su capacidad para la fitorremediación. Los resultados mostraron que el mejor desarrollo de la planta se logró con un caudal de 1.5 L/min y una profundidad de 50 mm, lo que representa una velocidad de 0.0012 m/s. Esto indica que *Lemna minor* crece mejor en flujos moderados, ya que flujos más rápidos pueden dañarla físicamente. También se señaló que el crecimiento puede variar según la cantidad de nutrientes disponibles en el agua residual.

En un estudio realizado por (Saha, Banerjee y Sarkar, 2015) se investigó la capacidad de fitorremediación de la planta *Lemna minor* en aguas residuales contaminadas con cloruro y sulfato. El objetivo de esta investigación fue ver la capacidad de remediación de *Lemna minor* y evaluar la calidad del agua a través de la medición los parámetros como pH, DBO, DQO y TDS. Los resultados revelaron que el pH del agua aumentó, lo que es un indicador de una mejoría en la calidad del agua. Además, se observó que *Lemna minor* logró eliminar un 30% de cloruro, un 16% de sulfato y un 14% de los TDS en un período de 21 días. Estos hallazgos sugieren que *Lemna minor* posee la capacidad de eliminar contaminantes y es efectiva para llevar a cabo la fitorremediación.

El uso de *Lemna minor* en procesos de fitorremediación ofrece varias ventajas importantes frente a otras técnicas para tratar aguas residuales. En primer lugar, es una alternativa sostenible y económica, ya que no requiere equipos costosos ni genera grandes volúmenes de lodos. Además, esta planta tiene la capacidad de remover diversos tipos de contaminantes, como nutrientes, metales pesados y compuestos orgánicos persistentes. Finalmente, se ha comprobado que la fitorremediación con *Lemna minor* es altamente efectiva en la eliminación de nutrientes y metales pesados presentes en aguas servidas (Barboza Herrera, R. M., & Ruiz Campos, B. B. 2023).

## Justificación

La lenteja de agua (*Lemna minor*) es una planta acuática flotante reconocida por ser una de las especies con el crecimiento más rápido del mundo. Habita principalmente en cuerpos de agua dulce con poco movimiento, como humedales, y está presente en muchas regiones del planeta. Se caracteriza por su estructura sencilla, sin tallos ni hojas visibles, y por presentar pequeñas raíces delgadas que cuelgan desde su parte inferior. Esta simplicidad le permite reproducirse con facilidad y colonizar grandes superficies de agua en poco tiempo (Jaimes Prada, O., Lora Díaz, O., & Tache Rocha, K. , 2024)

Una de sus ventajas más destacadas es que puede cultivarse fácilmente y a bajo costo, incluso sin utilizar medios de crecimiento ni fertilizantes. Esto se debe a su alta tasa relativa de crecimiento (TRC), lo que significa que puede generar grandes cantidades de biomasa en períodos cortos, utilizando espacios pequeños y con poca profundidad de agua (entre 30 y 50 centímetros). Aunque puede desarrollarse en condiciones variadas, su productividad mejora cuando se respetan ciertos factores ecológicos, como una temperatura moderadamente cálida, buena luz solar y disponibilidad de nutrientes. Estas condiciones, aunque amplias, pueden variar ligeramente dependiendo de la especie (Jaimes Prada, O., Lora Díaz, O., & Tache Rocha, K. , 2024).

Además de su valor como planta de rápido crecimiento, *Lemna minor* ha despertado el interés de la comunidad científica por su capacidad de responder a diferentes sustancias presentes en el agua. En particular, se ha utilizado en pruebas de toxicidad ambiental, ya que puede mostrar cómo ciertos contaminantes afectan a organismos más complejos, incluidos los seres humanos. Su uso en este tipo de estudios ha aumentado debido a la necesidad de encontrar métodos sencillos y económicos para identificar niveles de toxicidad en ambientes acuáticos (Arroyave, M. D. P. 2004)

En Colombia existe una notable biodiversidad de plantas acuáticas, y los estudios sobre este grupo vegetal han cobrado relevancia en los últimos años, especialmente en regiones como la Andina, la Caribe y la Orinoquía. Según el catálogo de Plantas y Líquenes de Colombia, se han registrado 168 especies de macrófitas acuáticas (Atuesta-Ibargüen, 2019), entre ellas *Lemna minor*. Esta planta, además de su uso en el tratamiento de aguas, también ha demostrado ser útil en aplicaciones agroindustriales, gracias al alto contenido de proteínas en su biomasa. De hecho, ya se ha utilizado

en la alimentación de animales como peces, aves y cerdos, e incluso se ha explorado su uso para consumo humano (Tache Rocha, 2021). Estas cualidades la convierten en un recurso valioso para promover sistemas de producción sostenibles, alineados con los principios de la economía circular.

En este contexto, el presente proyecto tiene como objetivo evaluar el crecimiento de *Lemna minor* en el medio Swedish Standard (SIS), comparando las condiciones con y sin la adición de glucosa como fuente externa de carbono. Esta investigación busca analizar si la suplementación con glucosa mejora el desarrollo de la planta en condiciones ambientales. Dado su potencial como alimento y como herramienta para el tratamiento de aguas residuales, los resultados del estudio podrían aportar a nuevas estrategias que reduzcan el impacto ambiental y favorezcan el uso sostenible de los recursos naturales.

## Marco teórico

### Lenteja de agua (*Lemna Minor*)

*Lemna Minor*, también conocida como lenteja de agua, pertenecientes a la familia Aráceas, son plantas acuáticas, consideradas como un tipo de algas, tienen una distribución universal y se encuentran principalmente en la superficie de cuerpos de agua dulce como charcos, ciénagas, lagos y ríos de aguas calmadas, poseen una notable capacidad de reproducción y crecimiento acelerado. Tradicionalmente, *Lemna minor* ha sido utilizada como un agente de biorremediación debido a su habilidad para absorber minerales, sales, compuestos nitrogenados y metales pesados presentes en los cuerpos de agua (Jaimes Prada et al., 2024).

La clasificación de la planta acuática *Lemna minor*, según el Servicio de Conservación de Recursos Naturales del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1 Clasificación de la planta acuática *Lemna minor*

Reino	<i>Plantae</i> – Plantas
Subreino	<i>Tracheobionta</i> – Plantas vasculares
Superdivisión	<i>Spermatophyta</i> – Plantas con semilla
División	<i>Magnoliophyta</i> – Plantas con flores
Clasificación	<i>Liliopsida</i> – Monocotiledóneas
Subclase	<i>Arecidae</i>
Orden	<i>Arales</i>
Familia	<i>Lemnaceae Martinov</i> – Familia de lenteja agua
Género	<i>Lemna L.</i> – Lenteja de agua
Especie	<i>Lemna minor L.</i> – lenteja de agua común

Fuente. Tabla adaptada del catálogo de perfiles de plantas (USDA, 2023)

---

En un estudio realizado por Zayed, se evaluó la capacidad de *Lemna minor* para acumular diversos metales pesados como cadmio, cromo, cobre, níquel, plomo y selenio. Los resultados indicaron que esta planta es un acumulador eficaz de cadmio, selenio y cobre, mientras que tiene una capacidad moderada para acumular cromo y una capacidad limitada para níquel y plomo. Estos hallazgos resaltan el potencial de *Lemna minor* para la remoción de metales pesados en aguas residuales contaminadas, gracias a su capacidad para almacenar altas concentraciones de estos metales y su rápida tasa de propagación, lo que la convierte en una opción prometedora para la fitorremediación (Zayed et al., 1998).

### **Medios de Cultivo estándar**

Los medios de cultivo estándar son soluciones nutritivas específicamente formuladas para proporcionar los elementos esenciales que requieren las plantas acuáticas para su óptimo crecimiento y desarrollo (Ceschin et al., 2019). En el caso de *Lemna minor*, estos medios contienen macronutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre) y micronutrientes (hierro, manganeso, zinc, cobre, molibdeno y boro) en concentraciones controladas (Li et al., 2020). Los medios más utilizados para el cultivo de *Lemna minor* son Murashige & Skoog (MS), desarrollado por (Classic Murashige & Skoog, 1962); Gamborg (B5), formulado por (Gamborg et al., 1968); Schenk & Hildebrandt (SH), diseñado por (Schenk & Hildebrandt, 1972); BOi2Y, propuesto por (Blaydes, 1966); Knop (Kn), creado por (Knop, 1865); Hoagland & Arnon (HA), establecido por (Hoagland & Arnon, 1938); Gorham (Go), elaborado por (Gorham, 1950), Steinberg (St), formulado por (Steinberg, 1946) y Swedish Standard SIS (Swedish Institute for Standards, SIS, 1922). Estos medios permiten estudiar el comportamiento de la planta bajo condiciones controladas y estandarizadas, facilitando la comparación de resultados entre diferentes investigaciones y la evaluación de parámetros específicos de crecimiento (Ziegler et al., 2016).

### **Factores de crecimiento de plantas acuáticas**

Los factores que determinan el crecimiento de las plantas acuáticas, especialmente macrófitas y macroalgas enraizadas, han sido ampliamente estudiados mediante modelos que simulan su producción en ambientes acuáticos. Estos modelos no solo ayudan a formular hipótesis sobre los mecanismos de retroalimentación que afectan su desarrollo, sino que también permiten predecir cómo responderán estas plantas a cambios en la calidad y manejo del agua. Entre los factores ambientales más influyentes se encuentran la intensidad de la luz solar, la temperatura del agua, la velocidad del flujo hídrico y las concentraciones de nutrientes disueltos, particularmente fósforo, nitrógeno y carbono inorgánico. Estos elementos impactan directamente procesos fisiológicos esenciales como la fotosíntesis, la respiración, la pérdida de biomasa por arrastre (lavado) y la descomposición natural de las plantas (Carr, G. M., Duthie, H. C., & Taylor, W. D. 1997)

### **Fisiología vegetal**

Las macrófitas acuáticas sumergidas representan un grupo heterogéneo de organismos fotosintéticos que incluye tanto plantas no vasculares (como algas y briófitas) como vasculares (helechos y angiospermas). Estos organismos muestran una notable diversidad en sus mecanismos de fijación de carbono. A diferencia del ambiente terrestre, en los sistemas acuáticos la disponibilidad de carbono inorgánico es limitada debido a la lenta difusión del  $\text{CO}_2$  en el agua, lo que afecta directamente la fotosíntesis. En estos medios, el bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) es la forma predominante de carbono disponible, aunque su concentración puede variar espacial y temporalmente. Ante estas limitaciones y ante los efectos negativos de la fotorrespiración provocada por altas concentraciones de oxígeno, las macrófitas han desarrollado mecanismos especializados de concentración de  $\text{CO}_2$  (CCM) para optimizar su eficiencia fotosintética en ambientes acuáticos (Madsen et al., 1996)

### **Análisis bibliométrico**

Con el objetivo de establecer la relevancia y el estado actual de las temáticas estudiadas, así como analizar las tendencias de publicación relacionadas con *Lemna minor* y medios de cultivo, se realizó una búsqueda sistemática en la base de datos Scopus. Esta plataforma fue seleccionada por su amplia cobertura de literatura científica revisada por pares y su capacidad para proporcionar análisis bibliométricos detallados.

La metodología empleada consistió en la búsqueda individual de cada término clave, permitiendo identificar no solo el volumen de publicaciones sino también su evolución temporal, las principales áreas de investigación, los países más productivos y las instituciones líderes en cada campo. Este análisis exhaustivo proporciona una visión integral del panorama científico actual y las tendencias emergentes en estas áreas de estudio interconectadas.

#### **Análisis bibliométrico palabra clave “*Lemna minor*”**

Se observa un crecimiento sostenido en la producción científica, con un total de 176 documentos desde 2008. Sin embargo, el aumento más notable ha ocurrido en los últimos años, especialmente a partir de 2020, cuando las publicaciones comenzaron a superar los 10 documentos anuales. El mayor pico se presentó en 2022, con cerca de 20 documentos, mientras que en 2023 y 2024 la producción se mantuvo constante, con aproximadamente 16 publicaciones por año. Esto sugiere una creciente relevancia de *Lemna minor* en estudios ambientales, biotecnológicos y de fitorremediación, como se observa en la Figura 1.

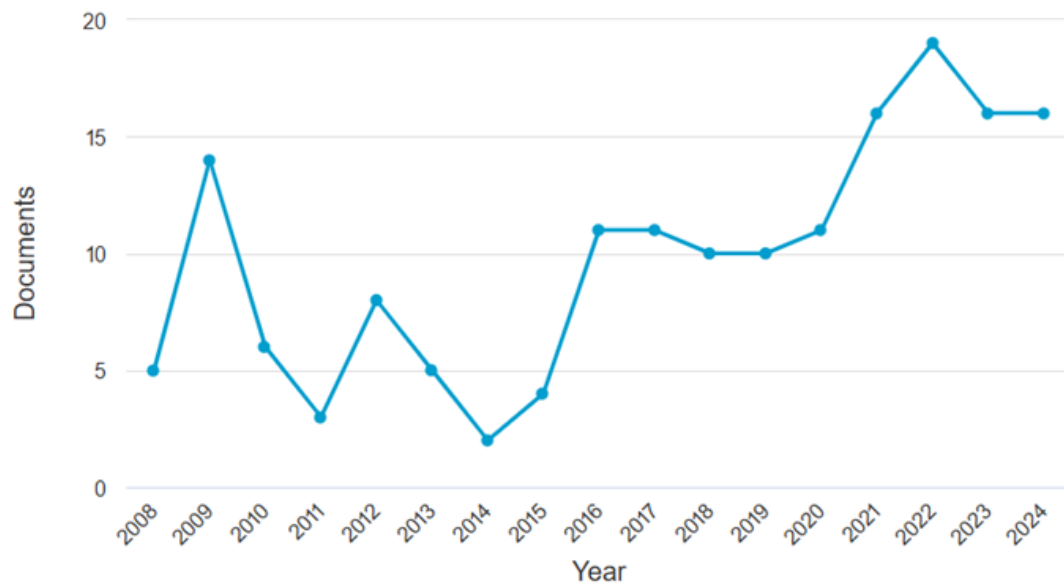
El análisis bibliométrico de *Lemna minor* por país en Scopus revela que Estados Unidos lidera la producción científica con 56 documentos, seguido de China (24) y Canadá (18). En Europa, Alemania (17) y Polonia (14) destacan por su contribución. En América Latina, Colombia registra 10 documentos, ubicándose por encima de países como Israel y la Federación Rusa. Aunque la producción científica colombiana es menor en comparación con potencias como Estados Unidos o

China, su presencia en el análisis demuestra un interés creciente en el estudio de *Lemna minor*, posiblemente en el contexto de la biotecnología y la remediación ambiental, representado en la Figura 2.

Según la Figura 3, los principales campos de interés en los estudios sobre *Lemna minor* son las ciencias ambientales, la agricultura y la bioquímica.

*Figura 1*

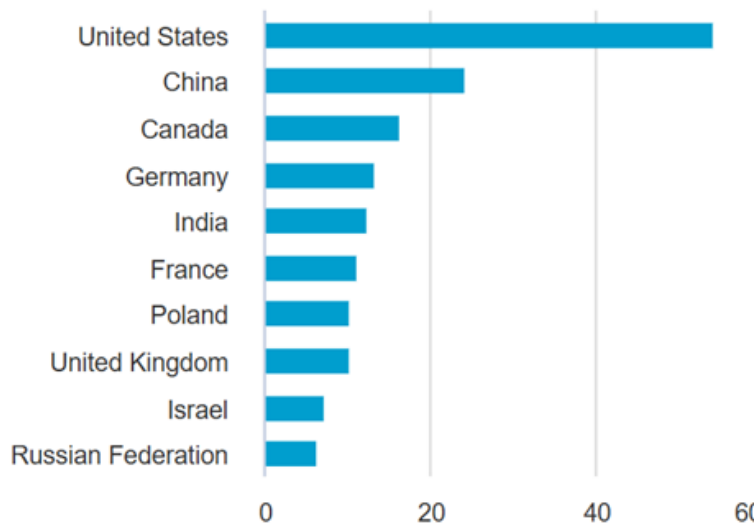
*Documentos por año – palabra clave Lemna minor.*



Fuente. Elsevier (2025). Gráfico elaborado con la herramienta de análisis de datos de Scopus.

*Figura 2**Documentos por país – palabra clave Lemna minor.*

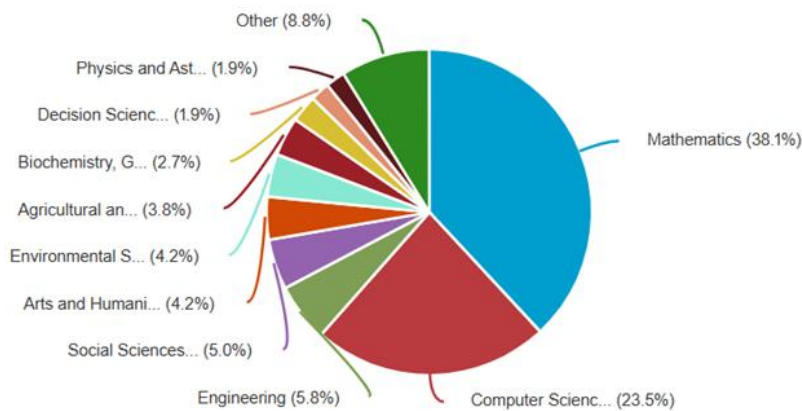
### Documentos por país/territorio



Fuente. Elsevier (2025). Gráfico elaborado con la herramienta de análisis de datos de Scopus.

*Figura 3**Documentos por área – palabra clave Lemna minor*

### Documentos por área temática



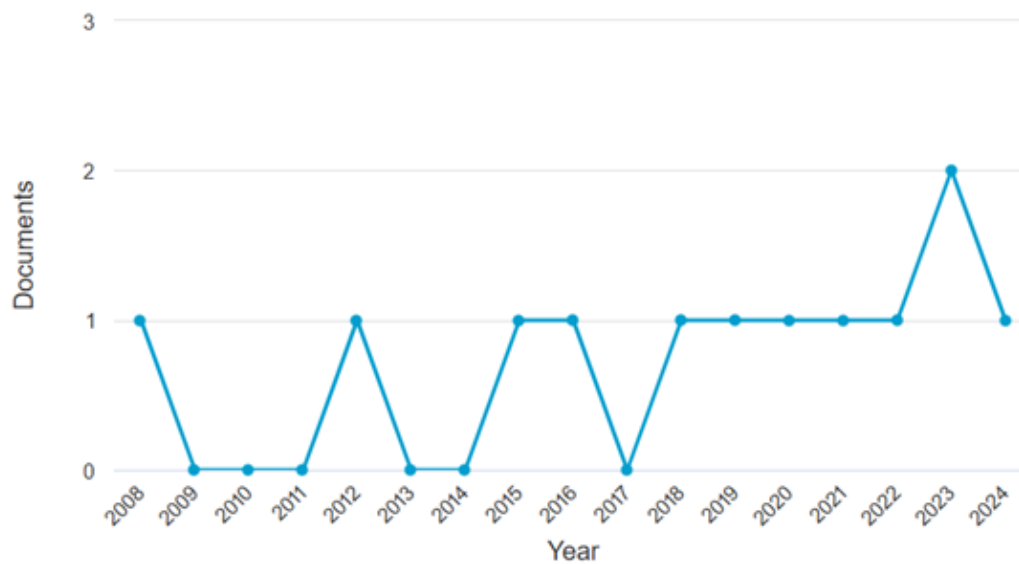
Fuente. Elsevier (2025). Gráfico elaborado con la herramienta de análisis de datos de Scopus.

### Análisis bibliométrico palabra clave “duckweed AND standard AND media”

La búsqueda en Scopus con los términos duckweed AND standard AND media arrojó 12 documentos publicados entre 2008 y 2024. La producción científica en este tema es limitada y no muestra un crecimiento sostenido. En la mayoría de los años recientes, solo se ha registrado un artículo, con excepción de 2023, cuando se publicaron dos. La escasa cantidad de estudios sugiere que, aunque hay interés en el uso de duckweed en medios estándar, el tema aún no ha sido ampliamente explorado en la literatura científica, la información se presenta en la **Figura 4**.

Figura 4

Documentos por año - palabra clave “duckweed AND standard AND media”



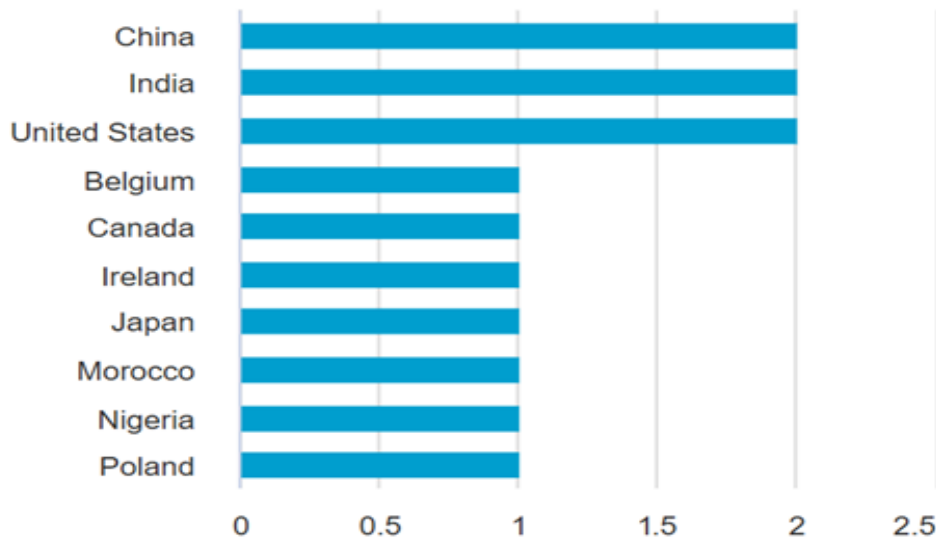
Fuente. Elsevier (2025). Gráfico elaborado con la herramienta de análisis de datos de Scopus.

La distribución geográfica de publicaciones demuestra que la mayor producción científica proviene de Estados Unidos, China e India con dos documentos, mientras que Canadá, Alemania, India, Japón, los Países Bajos cuentan con un documento cada uno. La distribución geográfica de los estudios sugiere que el tema ha sido explorado principalmente en países con tradición en investigación biotecnológica y ambiental, aunque con un alcance limitado a nivel global de acuerdo con lo representado en la Figura 5.

Figura 5

Documentos por país – palabra clave “*duckweed AND standard AND media*”

## Documentos por país/territorio

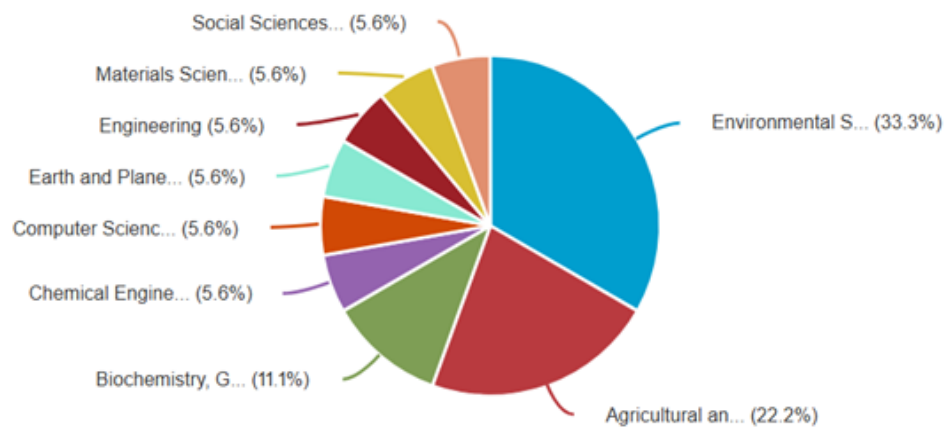


Fuente. Elsevier (2025). Gráfico elaborado con la herramienta de análisis de datos de Scopus.

Al revisar la producción científica por disciplinas la mayoría de los estudios se concentran en las Ciencias Agrícolas y Biológicas (9 documentos) y en Ciencias Ambientales (8 documentos). Otras áreas con menor representación incluyen Bioquímica, Genética y Biología Molecular (4 documentos), Ingeniería (2 documentos) y Química (1 documento). Además, disciplinas como Ciencias de la Computación, Ciencias de la Tierra, Inmunología, Ciencia de Materiales y Ciencias Sociales cuentan con una única publicación cada una. Estos datos reflejan un enfoque predominante en la aplicación de *duckweed* en el ámbito agroambiental, con menor presencia en áreas tecnológicas y sociales, tal como se aprecia en la Figura 5.

*Figura 6**Documentos por área – palabra clave “duckweed AND standard AND media”*

## Documentos por área temática



Fuente. Elsevier (2025). Gráfico elaborado con la herramienta de análisis de datos de Scopus.

## Estado del arte

El estudio de especies acuáticas como *Lemna minor* ha cobrado una creciente importancia por su versatilidad fisiológica y su potencial en la generación de biomasa útil para aplicaciones agroindustriales y ambientales (Chávez et al., 2024). Su uso se ha extendido en diversos campos, desde estudios fisiológicos hasta aplicaciones agroindustriales y ecológicas, dado su rápido desarrollo vegetativo, capacidad de absorción de compuestos orgánicos e inorgánicos, y su eficiencia en la producción de biomasa en tiempos cortos (Herrera Salazar, 2021).

El medio Swedish Standard (SIS) se ha consolidado como una herramienta experimental estandarizada para el cultivo de *Lemna minor* en condiciones controladas, permitiendo evaluar su comportamiento fisiológico frente a diversas variables externas (Horemans et al., 2016). (Benghaffour et al., 2023), emplearon este medio para analizar la toxicidad de soluciones de pesticidas ozonizados en presencia de montmorillonita intercambiada con cationes, evidenciando que la composición del medio modula significativamente la respuesta fisiológica de *L. minor*. Por su parte, (Moody & Miller, 2005) establecen que, para garantizar la validez de ensayos toxicológicos, el medio SIS debe permitir un incremento de al menos ocho veces en el número de frondas de *L. minor* durante el periodo de exposición experimental, reflejando condiciones adecuadas para su crecimiento.

En cuanto a la suplementación con fuentes de carbono exógeno, investigaciones han demostrado que la adición de glucosa puede influir en la acumulación de biomasa en *L. minor* (Rodríguez et al., 2025). En particular, se ha reportado que la adición de glucosa al medio de cultivo incrementa la actividad de enzimas clave vinculadas al crecimiento vegetal, como la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, lo cual favorece procesos metabólicos esenciales para la producción de biomasa (Hesse et al., 2003). Por otra parte, (Tilaki, 2010), evaluó el efecto de estos carbohidratos como la glucosa y la lactosa sobre la absorción de fenol por *L. minor* en condiciones de agua dulce natural contaminada, observando que su presencia reduce significativamente la captación de dicho compuesto. Asimismo, se determinó que la eficiencia de absorción de fenol depende de la densidad de la biomasa, disminuyendo cuando la planta cubre completamente la superficie del agua.

---

La glucosa ha sido asociada con la inhibición de la floración en *L. minor*, lo cual sugiere un papel regulador en el desarrollo reproductivo de la especie (Posner, 1971). Destacando que la suplementación con azúcares exógenos no solo impacta la acumulación de biomasa, sino también la fisiología y el ciclo de vida de la planta, aspectos que requieren ser investigados con mayor profundidad en condiciones ambientales.

En América Latina, la investigación sobre *Lemna minor* ha avanzado hacia aplicaciones prácticas, especialmente en sistemas acuapónicos y como fuente alimentaria alternativa (Palacios-Morales et al., 2018). En Colombia (Feo, 2013), demostró la viabilidad de *L. minor* como fuente local de proteína vegetal para el uso de humedales construidos como una solución eficiente y de bajo costo para tratar aguas residuales y generar biomasa utilizable, especialmente en zonas rurales sin acceso a servicios básicos. (Herawati et al., 2020), evidenciaron en Indonesia que la harina fermentada de *L. minor* puede reemplazar parcialmente a la costosa harina de soja en la alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*), alcanzando los mejores resultados de crecimiento y eficiencia con un 2,5 % de inclusión. Por lo que, la pertinencia de esta especie en escenarios agroecológicos diversos, contribuyendo a la seguridad alimentaria y al manejo sostenible de recursos.

En este sentido, resulta fundamental profundizar en la evaluación del crecimiento de *Lemna minor* en el medio SIS, con y sin suplementación de glucosa, bajo condiciones ambientales propias de Colombia. La generación de información sobre la eficacia de este medio en climas tropicales y el efecto de la glucosa como suplemento podría aportar elementos clave para optimizar la producción de biomasa de *L. minor*, fortaleciendo su potencial aplicación en sistemas sostenibles de producción vegetal y biorremediación en la región.

---

### Aspectos metodológicos

Esta investigación se clasificó como un estudio experimental con enfoque cuantitativo, ya que buscó analizar de forma precisa y objetiva el comportamiento de *Lemna minor* al ser expuesta al medio de cultivo Swedish Standard (SIS). A través de la aplicación de tratamientos definidos en condiciones ambientales, fue posible medir con exactitud los efectos del medio en el desarrollo de la planta, lo que permitió establecer comparaciones entre los resultados y obtener conclusiones basadas en datos verificables. Este tipo de enfoque es útil en estudios biológicos porque permite aislar variables específicas y evaluar su influencia en el organismo de interés.

El trabajo experimental se realizó en el laboratorio de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, donde se utilizaron condiciones ambientales propias del entorno natural del lugar. Durante el periodo de desarrollo del experimento, se registró una temperatura promedio cercana a los 26 °C. Las unidades experimentales se mantuvieron en frascos de vidrio, lo que facilitó la observación del crecimiento de *Lemna minor* en cada uno de los tratamientos. Estas condiciones permitieron el monitoreo constante de los ejemplares sin alterar significativamente su entorno, lo que aseguró una mayor fidelidad en los resultados.

En cuanto a los recursos humanos, el equipo de investigación estuvo conformado por dos ingenieros y dos profesionales en formación de la Corporación Universitaria Minuto de Dios (UNIMINUTO), quienes participaron activamente en el diseño experimental, recolección de datos y análisis de resultados. Para complementar la revisión teórica y contextual del proyecto, se consultaron bases de datos científicas institucionales proporcionadas por UNIMINUTO. Asimismo, se contó con el apoyo técnico del laboratorio de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, donde se utilizaron equipos que permitieron realizar mediciones precisas y garantizar la adecuada recolección de datos, como se presenta a continuación:

## Equipos

Tabla 2 Equipos

**Equipos**  
**Termómetro digital**  
**Autoclave**  
**Balanza analítica**  
**Ph – Metro**  
**THERMO-HYGRO**

*Fuente. Elaboración propia*

## Materiales y reactivos

Tabla 3 Materiales y Reactivos

Material / Instrumental	Reactivo Químico	Fórmula Química
<b>Copas de vidrio</b>	Nitrato de sodio	NaNO <sub>3</sub>
<b>Pinzas</b>	Fosfato monopotásico	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
<b>Pipetas</b>	Sulfato de magnesio heptahidratado	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O
	Cloruro de calcio dihidratado	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O
	Carbonato de sodio	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
	Ácido bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>
	Cloruro de manganeso (II) tetrahidratado	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O
	Molibdato de sodio dihidrato	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O
	Sulfato de zinc	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O
	Sulfato de cobre (II) pentahidratado	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O
	Nitrato de cobalto	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O
	Cloruro férrico hexahidratado	FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O
	EDTA (solución de sal disódica)	Na <sub>2</sub> -EDTA·2H <sub>2</sub> O
	MOPS (buffer)	

*Fuente. Elaboración Propia*

La articulación entre ambas instituciones permitió contar con los recursos físicos, humanos y académicos necesarios para el desarrollo riguroso del estudio.

## Capítulo 1

### Revisión de literatura

## **Metodología**

En este apartado se describe la metodología utilizada para la elaboración de una revisión sistemática de la literatura, con el objetivo de identificar el efecto de la adición de nutrientes al medio de cultivo inicial de *Lemna minor*, así como de establecer los protocolos empleados para evaluar la tasa de crecimiento y la producción de biomasa. Para ello, se aplicaron procedimientos rigurosos de búsqueda, selección y análisis de información, utilizando la base de datos Scopus como fuente principal para la obtención de indicadores descriptivos.

La metodología incluyó la elaboración de gráficos que permitieron visualizar aspectos clave, tales como la evolución temporal de las publicaciones, los países con mayor productividad científica y los autores con mayor número de contribuciones en los años 2010 al 2024. Además, se empleó el software VOSviewer para complementar el análisis mediante una representación de la red bibliográfica, destacando los términos más frecuentemente asociados a los estudios sobre *Lemna minor*.

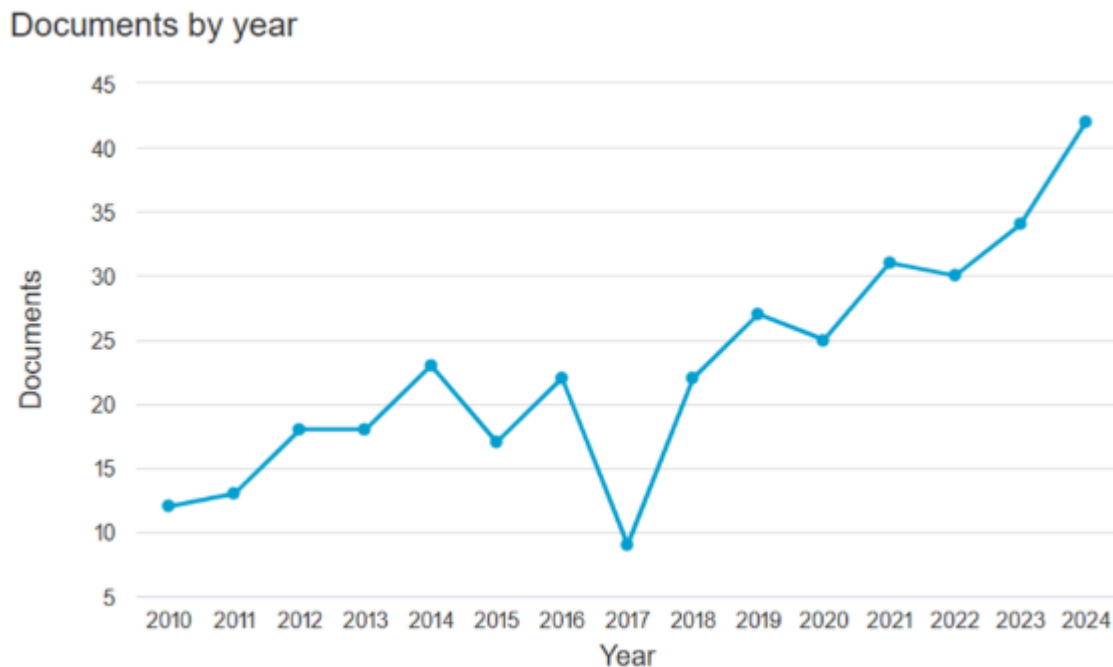
También se identificaron palabras clave presentes en artículos, tesis y documentos académicos disponibles en Google Scholar que mostraban un grado de similitud temática con el presente trabajo. Para la búsqueda de información, se utilizaron los términos *Lemna minor*, biomasa y glucosa como palabras clave principales.

## Ecuación de búsqueda

“*Lemna minor*” AND “Biomass” OR “Glucose”

Figura 7

Documentos por año



Fuente. Elsevier (2025). Gráfico elaborado con la herramienta de análisis de datos de Scopus.

En la Figura 7, se logra evidenciar una evolución ascendente en la producción científica relacionada con el tema entre los años 2010 y 2024. Durante el periodo inicial (2010–2013), la cantidad de publicaciones se mantuvo en niveles moderados, con registros que se situaban entre 12 y 18 documentos por año. A partir de 2014, se observa un incremento gradual en la actividad investigativa, alcanzando un primer punto máximo en 2015 con cerca de 23 publicaciones, seguido por una disminución pronunciada en 2017, año que presenta el menor número de documentos registrados.

A partir de 2018, se percibe una recuperación progresiva, con una tendencia de crecimiento sostenido desde 2019 en adelante. Este comportamiento se intensifica particularmente en el periodo 2022–2024, alcanzando su punto más alto en 2024 con cerca de 43 documentos. Esta evolución

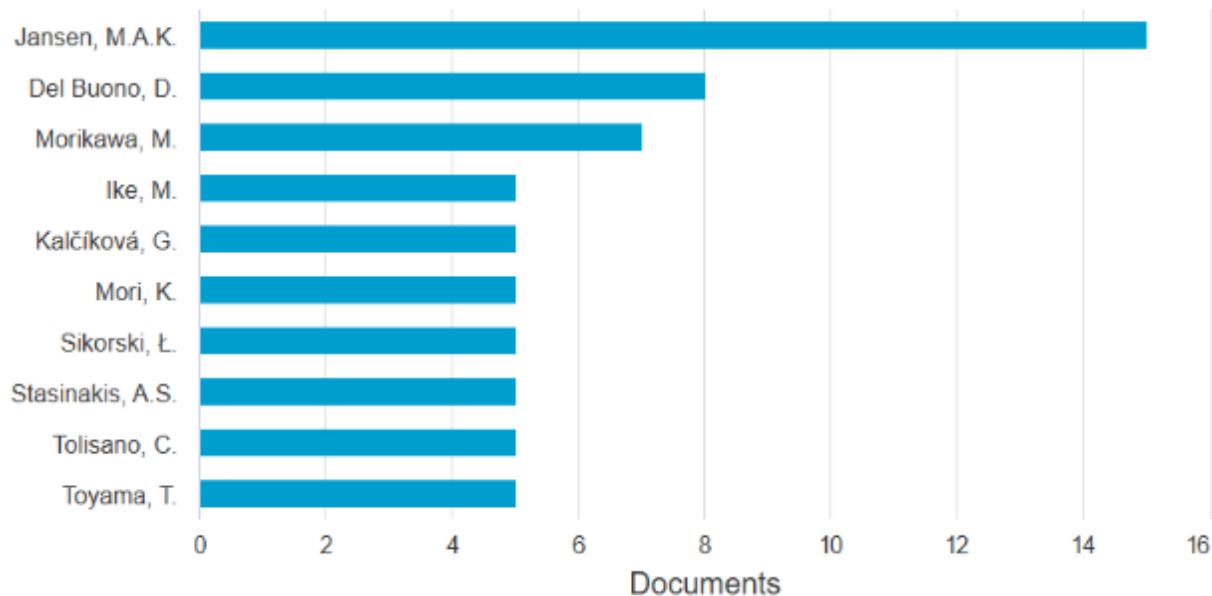
refleja un interés creciente por la temática, posiblemente motivado por su aplicación en campos emergentes como la biotecnología, la fitorremediación y la producción de bioenergía.

*Figura 8*

*Documentos por autor.*

### Documents by author

Compare the document counts for up to 15 authors.



Fuente. Elsevier (2025). Gráfico elaborado con la herramienta de análisis de datos de Scopus.

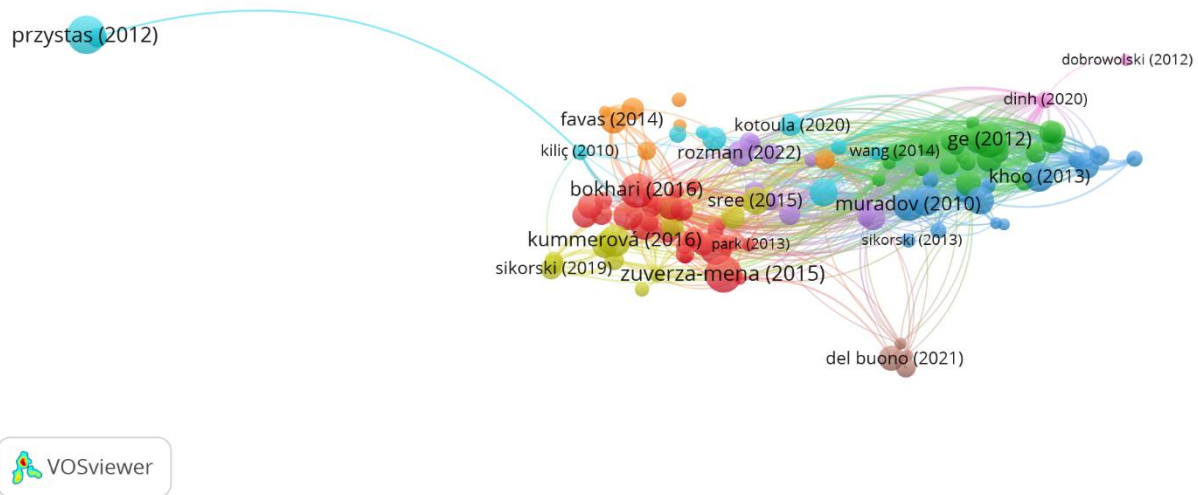
Se destaca a los principales investigadores en la temática analizada, siendo *Jansen, M.A.K.* el autor con mayor número de publicaciones (15 documentos), lo que sugiere una amplia trayectoria y contribución en el área. Le siguen *Del Buono, D.* y *Morikawa, M.*, con 8 y 7 publicaciones respectivamente, posicionándose también como referentes relevantes. Los demás autores incluidos presentan una producción más equilibrada, con 5 documentos cada uno, lo cual refleja una participación constante en el desarrollo del conocimiento sobre el tema.

### Análisis de VOSviewer

VOSviewer es una herramienta utilizada para generar y representar gráficamente redes de información científica, como relaciones entre autores, publicaciones o términos clave. Mediante el uso de clusters, el programa permite agrupar elementos relacionados, facilitando la identificación de líneas de investigación, temas recurrentes y la estructura interna de un campo de estudio (VOSviewer, Visualizing scientific landscapes).

*Figura 9*

*Clusters*



Fuente. (Van Eck, 2022). Gráfico elaborado con la herramienta de análisis bibliométrico *VOSviewer*.

*Tabla 4 Autores más relevantes*

<b>Cluster 1</b>	<b>Bokhari (2016)</b>	<b>La investigación trata sobre el comportamiento fisiológico de</b>
<b>ROJO</b>	<b>Sallah- ud- din (2017)</b>	
	<b>Zuverza- mena (2015)</b>	



Tabla 5 Conceptos Claves

<b><i>Lemna minor</i></b>	Es una planta angiosperma acuática de flotación libre, reconocida por su rápido crecimiento y alta capacidad de reproducción. Se desarrolla principalmente en cuerpos de agua dulce con escasa movilidad, lo que le permite colonizar extensas superficies en periodos cortos. (Jaimes Prada, O., Lora Díaz, O., & Tache Rocha, K. , 2024).
<b>Biomasa</b>	Corresponde a la materia orgánica generada a lo largo del proceso de crecimiento y desarrollo de esta especie acuática (Biller ,2018)
<b>Biorremediación</b>	Es un proceso biotecnológico que emplea organismos vivos para la descontaminación y restauración de entornos afectados, como el agua, suelos o la atmósfera (Kensa, VM ,2011)
<b>Plantas acuáticas</b>	Las plantas acuáticas, también denominadas hidrófitas, macrófitas o higrófilas, son especies que habitan en medios acuáticos, ya sea de forma parcial o completamente sumergidas. Se adaptan a una amplia variedad de ecosistemas acuáticos, como lagos, ríos, lagunas, deltas, estanques, pantanos e incluso charcas (Jaimes Prada, O., Lora Díaz, O., & Tache Rocha, K. , 2024).
<b>Glucosa</b>	Es una fuente energética ampliamente empleada en medios de cultivo, particularmente en el ámbito de la microbiología, donde facilita el desarrollo de microorganismos y contribuye a la diferenciación e identificación de distintas especies (EduLabc, 2021)
<b>Aguas residuales</b>	Son aquellos líquidos contaminados que resultan de descargas de origen doméstico e industrial. Estas aguas suelen contener una variedad de compuestos contaminantes derivados de actividades urbanas o procesos productivos, lo que representa un riesgo potencial para el medio ambiente y la salud si no son tratadas adecuadamente. (Ramalho, R. S. ,2021)
<b>Bioacumulación</b>	La bioacumulación es un proceso mediante el cual los organismos vivos incorporan de forma progresiva y continua sustancias tóxicas en su organismo. Estos compuestos pueden incluir



“biomasa” y “plantas acuáticas”, las cuales actúan como ejes temáticos fundamentales en este campo de estudio.

### **Resultados y discusión**

El análisis en Scopus reveló una evolución en las temáticas investigadas sobre *Lemna minor*. Entre 2010 y 2016, los estudios se concentraban en la toxicidad y respuestas fisiológicas de la planta frente a diferentes compuestos, mientras que a partir de 2018 se observa un cambio hacia investigaciones enfocadas en mejorar su crecimiento. En particular, se destaca el aumento en la frecuencia de términos como *glucosa*, *tasa de crecimiento* y *producción de biomasa*, lo cual refleja un interés por fortalecer su cultivo y productividad con fines ambientales y biotecnológicos. Esta tendencia se alinea con el objetivo del presente estudio, que evaluó el crecimiento de *Lemna minor* al adicionar glucosa en el medio de cultivo. Los resultados obtenidos mostraron que la adición de glucosa incrementó notablemente la tasa de crecimiento y la biomasa fresca respecto a los tratamientos sin glucosa, confirmando así lo reportado en la literatura reciente.

Por otro lado, el análisis de palabras clave y autores mediante VOSviewer permitió identificar cuatro líneas principales de investigación. El primer grupo aborda los aspectos fisiológicos y morfológicos de *Lemna minor*; el segundo, su uso en fitorremediación y recuperación de aguas contaminadas; el tercero se enfoca en los efectos tóxicos de distintos compuestos sobre su desarrollo; y el cuarto trata sobre estrategias para mejorar su rendimiento, incluyendo el uso de nutrientes. Las palabras clave más comunes respaldan la importancia de seguir investigando métodos que optimicen su crecimiento. De este modo, los hallazgos del presente estudio no solo coinciden con estas líneas actuales, sino que aportan evidencia concreta sobre el efecto positivo de la glucosa en el cultivo de *Lemna minor*, lo cual podría potenciar su aplicación en procesos sostenibles.

## Capítulo 2

### **Adaptar un protocolo experimental para obtención de una cepa axénica de *Lemna minor* a condiciones ambientales.**

#### **Metodología**

El estudio se llevó a cabo en el campus de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Esta sede dispone de áreas especializadas para la investigación agrícola y ambiental, así como de laboratorios equipados adecuadamente para el desarrollo de ensayos microbiológicos. Estas instalaciones proporcionan un entorno controlado y propicio para trabajos experimentales con organismos acuáticos y microorganismos. La región presenta un clima tropical húmedo, con temperaturas promedio que oscilan entre los 24 °C y 30 °C, y una humedad relativa entre el 70 % y 80 % (Del Cauca, 2015). La radiación solar promedio anual en Palmira es de aproximadamente 5,2 kWh/m<sup>2</sup>/día, con un fotoperiodo cercano a las 12 horas de luz diaria durante todo el año, lo que favorece notablemente los procesos fotosintéticos (IDEAM 2020). Estas condiciones son ideales para el crecimiento de plantas acuáticas como *Lemna minor*, facilitando su cultivo y estudio en ambientes semicontrolados.

La purificación de cepas microbianas es un proceso fundamental en estudios biotecnológicos, ya que garantiza la obtención de cultivos axénicos y estables para ensayos posteriores (Hernández Paredes, 2011). En esta sección se adaptó un protocolo experimental para la purificación preliminar de una cepa axénica de *Lemna minor*, proveniente de una cepa comercial obtenida de una fuente natural ubicada en el municipio de Roldanillo, Valle del Cauca. La pureza y estabilidad de la cepa fueron evaluadas mediante observación morfológica directa, estableciéndose así un marco metodológico para posteriores análisis de estabilidad estructural y funcional bajo diferentes condiciones de cultivo.

### Obtención y características de la cepa de *Lemna minor*

Figura 12

Cepa *Lemna minor*-Roldanillo



Fuente. Elaboración Propia.

La cepa de *Lemna minor* utilizada en este estudio corresponde a una cepa comercial, obtenida originalmente de una fuente natural ubicada en el municipio de Roldanillo, al norte del departamento del Valle del Cauca, Colombia. Este municipio se encuentra aproximadamente a una altitud de 966 metros sobre el nivel del mar, en las coordenadas geográficas 4°24'00"N y 76°09'00"O. Roldanillo presenta un clima cálido y húmedo, con una temperatura media anual cercana a los 24 °C, una humedad relativa promedio entre el 75 % y el 80 %, y precipitaciones anuales que oscilan entre 1.200 y 1.800 mm (Melo Franco & Ruiz Murcia, 2025). Los cultivos se desarrollaron bajo condiciones ambientales que reproducen parcialmente el entorno natural de la región, en lo que respecta a temperatura, iluminación y humedad. Para los ensayos experimentales se seleccionaron frondas sanas, vigorosas y morfológicamente homogéneas, asegurando la calidad y uniformidad de la población utilizada.

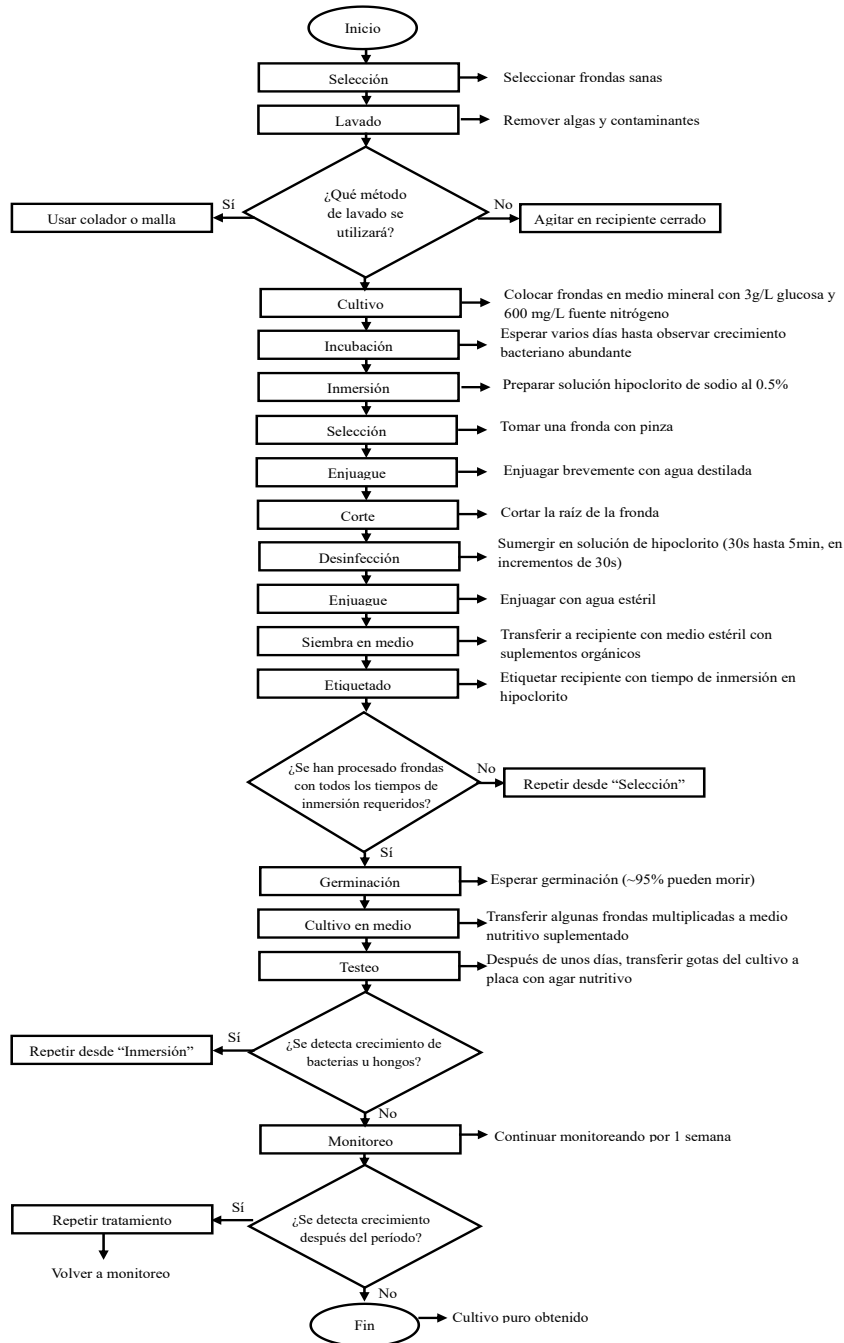
### **Protocolo de purificación de la cepa**

Una cepa axénica se refiere a un cultivo vegetal libre de contaminación microbiana como bacterias, hongos u otros organismos, lo cual es esencial para estudios que requieren una alta rigurosidad experimental (Albertó, 1995). El uso de cepas axénicas garantiza que los efectos observados se deben exclusivamente a las respuestas fisiológicas de la planta, eliminando las posibles interferencias de microorganismos externos (Moronta et al., 2006). En este estudio, se adaptó un protocolo experimental para la purificación preliminar de una cepa axénica de *Lemna minor*, el cual consistió en modificar el medio de cultivo mediante la adición de glucosa como fuente de carbono, lo que permitió mantener la viabilidad de las frondas durante la fase preliminar de purificación.

El protocolo de purificación tiene como objetivo estandarizar el proceso de obtención de una cepa axénica de *Lemna minor* para su uso en condiciones experimentales. Este procedimiento se basa en las metodologías propuestas por (Hillman, 1961) y los lineamientos del Grupo de Procesos Químicos y Bioquímicos de la Universidad Nacional de Colombia, adaptados al contexto local (Godoy Silva, 2025). Para ello, se emplearon frondas sanas y homogéneas, provenientes de cultivos establecidos en Roldanillo, Valle del Cauca.

Figura 13

## Flujograma- Método de Purificación y Propagación Aséptica de Lenteja de Agua



Fuente. Adaptado (Godoy Silva, 2025).

Durante el cultivo se monitorearon variables como temperatura y humedad relativa, garantizando un entorno estable para el crecimiento. La población experimental está compuesta por frondas seleccionadas bajo criterios de uniformidad morfológica. Previo a su utilización, las frondas serán sometidas a un proceso de desinfección superficial mediante lavado con agua estéril y posterior inmersión en agentes descontaminantes como soluciones diluidas de hipoclorito, permitiendo la obtención de ejemplares viables y libres de contaminantes. A partir de una fronda viable y aséptica, se establecerán subcultivos en condiciones estériles que aseguren la propagación clonal continua de la biomasa requerida para los ensayos experimentales como se observa en la Figura 8. Este procedimiento busca obtener cultivos axénicos de *Lemna minor* mediante una secuencia estructurada de selección, descontaminación, cultivo, monitoreo y evaluación microbiológica.

### **Establecimiento de una cepa axénica de *Lemna minor***

El primer paso consistió en la selección de muestras iniciales, donde se escogieron frondas con apariencia saludable, sin signos visibles de daño, necrosis ni contaminación superficial. Estas frondas fueron seleccionadas bajo criterios de uniformidad morfológica y vitalidad, lo cual aseguró una base adecuada para el proceso de purificación. Posteriormente, se realizó un lavado preliminar utilizando agua potable directamente de la llave.

*Figura 14*

*Selección morfológica y lavado de frondas*



*Fuente. Elaboración Propia.*

Nota: Muestra de referencia, acondicionada. Se distribuyen muestras.

Las frondas se colocaron en un colador de poro fino y se enjuagaron de forma vigorosa para remover residuos de algas, restos vegetales y pequeños invertebrados. Se evitó el uso de recipientes cerrados para la agitación, priorizando el lavado abierto que permitió una limpieza más eficiente y controlada.

### **Incubación en medio mineral con glucosa**

*Figura 15*

*Fronδας en medio con glucosa*






*Fuente. Elaboración Propia.*

Las frondas vegetales, previamente lavadas, fueron transferidas a un medio mineral no estéril, suplementado con glucosa 3 g/L. Este medio tuvo como objetivo promover la proliferación de los microorganismos asociados, estimulando su paso a formas vegetativas más susceptibles a los desinfectantes. La incubación se mantuvo durante varios días, observándose turbidez en el medio como indicador del crecimiento microbiano.

## Observaciones morfológicas

Previo a esta etapa, se llevó a cabo un registro fotográfico sistemático de las muestras de *Lemna minor* en su fase de lavado preliminar. Este procedimiento tuvo como objetivo documentar el estado morfológico y sanitario de las frondas antes del tratamiento químico. En la Tablas se presentan las observaciones correspondientes a los días 8, 12 y 15 de mayo de 2025, en donde se evaluaron aspectos como homogeneidad, coloración, presencia de daños visibles, variabilidad morfológica y respuesta al flujo de aire. Las muestras se mantuvieron en agua clara, y en general, se evidenciaron frondas verdes y sanas.



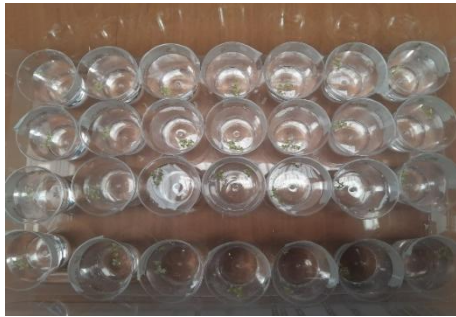
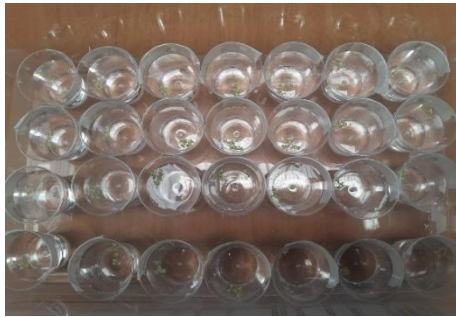
Tabla 6 Lavado Preliminar de *Lemna minor* – Registro Fotográfico (08/05/2025)

Registro de Muestras de Lentejas de Agua ( <i>Lemna minor</i> )	
Fotografía	Descripción de la muestra
	<b>Contenedor</b> CAJA 3
	<b>Hora de la toma</b> 4:40 pm
	<b>Observaciones</b> Muestra de referencia acondicionada. Frondas distribuidas hacia las demás cajas para asegurar homogeneidad experimental.
	<b>Análisis visual</b> Frondas verdes de tamaño uniforme, flotación adecuada, sin evidencia de necrosis. Agua clara.
	<b>Contenedor</b> CAJA 2
	<b>Hora de la toma</b> 4:40 pm
	<b>Observaciones</b> Se identifican diferencias morfológicas entre frondas individuales (forma y número). Leve heterogeneidad en el tamaño.
	<b>Análisis visual</b> Frondas verdes, sin lesiones visibles. Agua clara, sin residuos.
	<b>Contenedor</b> CAJA 1
	<b>Hora de la toma</b> 4:40 pm
	<b>Observaciones</b> Condiciones homogéneas tras lavado. Ausencia de daños físicos. Buen estado general.
	<b>Análisis visual</b> Frondas saludables, verdes, distribución uniforme. Agua clara.

Fuente. Elaboración Propia

En la Tabla 6, las frondas mostraron un aspecto saludable y uniforme. Las condiciones eran estables: frondas verdes, agua clara y sin señales de daño o deterioro, temperatura ambiente 27°C. Esta etapa marcó el punto de partida del experimento, donde las muestras fueron distribuidas equitativamente desde la caja de referencia Caja 3, hacia las otras unidades experimentales.

*Tabla 7 Lavado Preliminar de Lemna minor – Registro Fotográfico (12/05/2025)*


<b>Registro de Muestras de Lentejas de Agua (<i>Lemna minor</i>)</b>	
<b>Fotografía</b>	<b>Descripción de la muestra</b>
	<b>Contenedor</b> CAJA 3
	<b>Hora de la toma</b> 2:30 pm
	<b>Observaciones</b> Muestra de referencia en condiciones estables. No se evidencian alteraciones morfológicas.
	<b>Análisis visual</b> Frondas completamente verdes, sin signos de deterioro. Agua clara.
	<b>Contenedor</b> CAJA 2
	<b>Hora de la toma</b> 2:29 pm
	<b>Observaciones</b> Persisten diferencias morfológicas leves. Presencia de márgenes pálidos en algunas frondas.
	<b>Análisis visual</b> Frondas verdes con ligeras decoloraciones marginales. Agua clara.
	<b>Contenedor</b> CAJA 1
	<b>Hora de la toma</b> 2:29 pm
	<b>Observaciones</b> Se observan hojas blanquecinas y nuevas frondas. Flujo de aire aumentado a 6 L. Respuesta positiva.
	<b>Análisis visual</b> Frondas verdes, desarrollo visible. Agua clara, sin residuos flotantes.

*Fuente. Elaboración Propia*

Los datos presentados en la Tabla 7, evidencian cambios fisiológicos sutiles en las unidades experimentales, observadas bajo una temperatura ambiente constante de 30 °C. En particular, Caja 2, algunas frondas presentaron bordes pálidos, un indicio temprano de variación fisiológica que puede deberse a la disponibilidad de nutrientes o condiciones internas de la planta. Caja 1 mostró

un fenómeno interesante: aparición de nuevas frondas y respuesta positiva al aumento de flujo de aire, lo que sugiere una buena oxigenación y un posible estímulo al crecimiento vegetativo. A pesar de estos cambios, la mayoría de las frondas continuaban verdes y el agua se mantenía clara, lo que indica un entorno controlado.

*Tabla 8 Lavado Preliminar de Lemna minor – Registro Fotográfico (15/05/2025)*

Registro de Muestras de Lentejas de Agua ( <i>Lemna minor</i> )	
Fotografía	Descripción de la muestra
	<p><b>Contenedor</b> CAJA 3</p> <p><b>Hora de la toma</b> 3:30 pm</p> <p><b>Observaciones</b> Muestra de referencia estable. Ligero amarillamiento en frondas más antiguas, posiblemente por agotamiento de nutrientes.</p> <p><b>Análisis visual</b> Frondas mayormente verdes, algunas con bordes amarillos. Agua clara con leve presencia de residuos.</p>
	<p><b>Contenedor</b> CAJA 2</p> <p><b>Hora de la toma</b> 3:27 pm</p> <p><b>Observaciones</b> Variabilidad morfológica entre frondas individuales y múltiples. Algunas hojas con márgenes pálidos.</p> <p><b>Análisis visual</b> Frondas con áreas amarillentas en los bordes, pero sin daño estructural aparente. Agua clara</p>
	<p><b>Contenedor</b> CAJA 1</p> <p><b>Hora de la toma</b> 3:27 pm</p> <p><b>Observaciones</b> Incremento notable en el crecimiento de nuevas frondas. Se observan frondas jóvenes con coloración verde intensa.</p> <p><b>Análisis visual</b> Frondas nuevas y sanas, mostrando vigor.</p>

*Fuente. Elaboración Propia*

---

Finalmente, en la Tabla 8, se evidenciaron transformaciones más marcadas, registradas a una temperatura ambiente de 28°C. Caja 3, la muestra de referencia comenzó a mostrar signos leves de envejecimiento, con algunas frondas más antiguas adquiriendo bordes amarillentos, probablemente debido a una disminución en la disponibilidad de nutrientes disueltos en el agua. Caja 2 mantuvo su patrón de variabilidad, reafirmando la necesidad de monitorear la estabilidad morfológica entre frondas. Por su parte, Caja 1 registró un crecimiento acelerado, con frondas jóvenes y vigorosas, lo cual podría estar asociado al flujo de aire constante y a condiciones internas favorables. El sistema de lavado y mantenimiento de las frondas fue, en términos generales, exitoso para conservar la viabilidad morfológica de *Lemna minor* antes del tratamiento químico.

### **Tratamiento desinfectante**

Una vez alcanzado este punto, se procedió con la preparación de la solución desinfectante, la cual consistió en una dilución 1:10 de hipoclorito de sodio comercial, obteniendo una concentración final del 0,5%. Esta solución fue utilizada en el tratamiento escalonado de las frondas. Con ayuda de pinzas estériles, se tomó una fronda previamente enjuagada con agua destilada estéril. Se eliminó cuidadosamente la raíz con el fin de reducir la carga microbiana, tras lo cual se sumergió la fronda en la solución de hipoclorito durante un intervalo inicial de 30 segundos. Este proceso se repitió aumentando el tiempo en incrementos de 30 segundos, hasta alcanzar un máximo de 5 minutos. Luego del tratamiento, cada fronda fue enjuagada nuevamente con agua estéril para remover los restos de desinfectante.

*Figura 16**Tratamiento desinfectante de Lemna minor**Fuente. Elaboración Propia*

Las frondas tratadas fueron transferidas a un medio mineral estéril, que contenía la misma suplementación de glucosa como se observa en la Figura 16. Los recipientes estériles utilizados se etiquetaron cuidadosamente con la información correspondiente al tiempo de inmersión aplicado, permitiendo así el rastreo detallado de cada lote experimental.

*Figura 17**Período de latencia**Fuente. Elaboración Propia*

Durante las etapas siguientes se observó un período de latencia, caracterizado por una elevada mortalidad de las frondas tratadas. Aproximadamente el 90 % de las frondas murieron durante los primeros días posteriores a la desinfección, lo que evidenció el impacto del tratamiento químico sobre los tejidos vegetales. Sin embargo, cerca del 10 % logró sobrevivir, recuperando su flotabilidad y mostrando signos de crecimiento vegetativo activo. Estas frondas sobrevivientes se consideraron como potencialmente axénicas, dado que lograban desarrollarse en condiciones estériles, sin evidencia visible de contaminación.

*Figura 18*

*Cultivo axénico Lemna minor*



*Fuente. Elaboración Propia*

En lugar de siembra en medios de cultivo con agar, se optó por una evaluación indirecta de la presencia microbiana mediante observación directa y análisis visual. Para ello, se utilizó herramientas de análisis de imágenes como ImageJ (Schneider et al., 2012), con las cuales se monitorearon las características morfológicas y de crecimiento de las frondas. Este análisis incluyó la evaluación de parámetros como el tamaño, la forma, el color y la simetría de las frondas, indicadores indirectos del estado de salud vegetal y de la posible presencia de contaminantes. Durante este monitoreo, no se evidenciaron alteraciones atribuibles a infecciones fúngicas o bacterianas, lo cual reforzó la hipótesis de un cultivo axénico. Finalmente, el protocolo concluyó

con la obtención de un cultivo axénico de *Lemna minor*, listo para ser utilizado en ensayos experimentales bajo condiciones estériles. Este procedimiento permitió establecer una base biológica confiable, garantizando la reproducibilidad y validez de los resultados posteriores en el estudio del efecto de la glucosa sobre el crecimiento de esta especie.

### **Análisis de resultados**

En estudios que involucran organismos vegetales acuáticos, la evaluación morfométrica resulta fundamental para entender su dinámica de crecimiento y adaptación a diferentes tratamientos (Caicedo Tapia, 2024). Según (MERCURY), el análisis del tamaño y la forma foliar permite establecer criterios de selección y calidad fisiológica en especies como *Lemna minor*, ampliamente utilizadas en sistemas de biorremediación y pruebas toxicológicas. En esta investigación, se aplicó un análisis de imágenes mediante el software ImageJ, el cual ha demostrado ser una herramienta eficaz y estandarizada en estudios morfológicos de plantas acuáticas (González, 2018). Las frondas fueron evaluadas en su fase post-lavado, y se midieron parámetros como área, tamaño promedio, longitud y orientación angular.

## Evaluación morfométrica de *Lemna minor* mediante análisis digital

Figura 19

*Evaluación morfométrica Lemna minor*



*Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Imagen tratada con software ImageJ.*

La eficacia de *Lemna minor* como organismo modelo en investigaciones ambientales y fisiológicas ha sido ampliamente documentada, atribuida a su ciclo de vida breve, facilidad de manipulación y elevada sensibilidad a factores exógenos (GONZÁLEZ, 2024). Estos atributos permiten evaluar de manera precisa los efectos de distintos tratamientos, siempre y cuando se garantice la homogeneidad inicial de las frondas utilizadas. Tal como señal (Dimas, 2025), el rango ideal de tamaño para asegurar uniformidad experimental debe mantenerse entre los **3 y 5 mm** de diámetro.

Siguiendo esta recomendación, este trabajo realizó una evaluación morfométrica previa a la aplicación de tratamientos, con el fin de verificar la consistencia en el tamaño y la salud de las frondas seleccionadas. A través del uso de la herramienta ImageJ recomendada por (Gallardo, 2017) y (Botero-Álvarez et al., 2020) por su capacidad para generar mediciones objetivas y replicables se obtuvieron dimensiones detalladas de 10 frondas, cuyos resultados se presentan en la Tabla 4.

Tabla 9 Medición morfométrica de frondas de *Lemna minor*

	Label	Area	Mean	Min	Max	Angle	Length
1		38.000	135.763	80.081	189.000	-130.601	36.878
2		34.000	138.885	103.246	181.107	52.431	32.802
3		45.000	135.062	104.256	190.669	-165.651	44.385
4		39.000	137.423	115.868	194.370	-25.201	37.577
5		38.000	144.279	115.245	183.227	-40.601	36.878
6		40.000	137.394	94.000	189.374	53.427	38.601
7		37.000	135.386	110.778	189.000	-19.440	36.056
8		37.000	142.392	110.259	193.500	37.185	36.401
9		37.000	139.875	109.500	178.095	65.556	36.249
10		42.000	136.267	109.521	205.981	105.376	41.485
11	Mean	38.7	138.57	107.08	189.83	-6.15	37.63
12	SD	2.93	3.27	10.42	7.46	79.55	3.32
13	Min	34.0	135.06	80.08	178.10	-165.65	32.80
14	Max	45.0	144.28	115.87	205.98	105.38	44.39

Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Tabla tratada con software ImageJ.

Los datos obtenidos muestran una homogeneidad morfométrica adecuada entre las frondas seleccionadas, con áreas comprendidas entre 34.0 y 45.0 mm<sup>2</sup>, y longitudes entre 32.80 y 44.39 mm. Estos valores permiten suponer una población vegetal con características estructurales similares. La longitud media fue de 37.63 mm, con una desviación estándar de 3.32 mm, lo que sugiere variabilidad baja en el tamaño.

Las frondas evaluadas superan el umbral de 3 a 5 mm establecido en literatura para frondas jóvenes, lo cual es esperable dada la selección de frondas desarrolladas, propias de ensayos de respuesta a agentes químicos o ambientales. Este criterio coincide con la recomendación de (Osorio et al., 2007), quienes destacan la necesidad de partir de material vegetal estandarizado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

Por otra parte, el uso de ImageJ permitió realizar un análisis digital preciso, minimizando la subjetividad asociada a métodos visuales tradicionales. En consonancia con (Silveira et al., 2018), esta metodología facilita la replicabilidad entre ensayos y contribuye a la calidad del diseño experimental, aspectos fundamentales en estudios de fitorremediación, toxicología vegetal o estrés ambiental en *Lemna minor*.

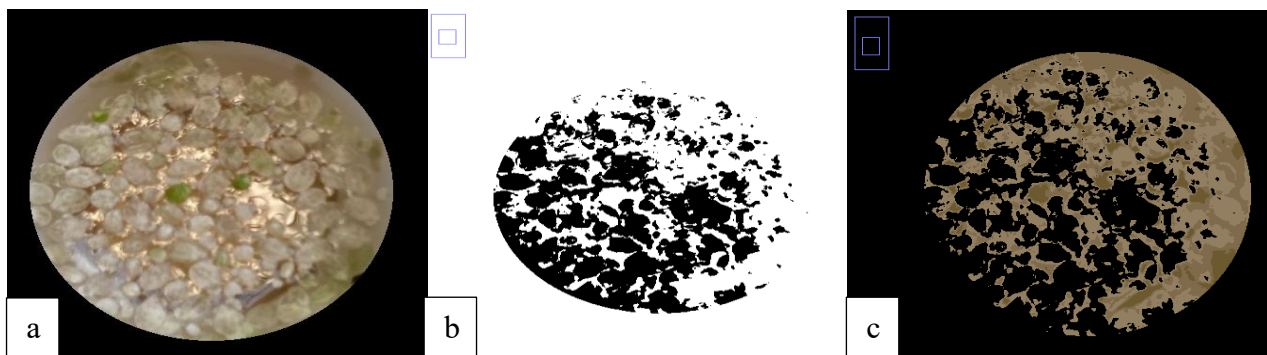
## Segmentación de color

La segmentación de color es una técnica de análisis digital que permite identificar patrones cromáticos en imágenes mediante la agrupación de píxeles con características similares (Rojas Medina, 2024). se utilizó el software ImageJ para realizar el procesamiento de imágenes, el cual consistió en tres etapas principales. Primero, se aplicó la reducción de distorsiones visuales es decir ajuste de contraste, iluminación y eliminación de ruido. Posteriormente, se realizó la segmentación de plantas mediante algoritmos de clústeres basados en los valores RGB “Red, B&W”, y la reconstrucción de la imagen para evaluar cuantitativamente la proporción de tejido vegetal vivo, muerto o sin señal. Este análisis fue aplicado tanto a frondas tratadas durante el periodo de latencia como a frondas axénicas, con el fin de comparar su respuesta fisiológica a través de los patrones de color.

### Evaluación de frondas tratadas durante el periodo de latencia

Figura 20

*Segmentación de color - Periodo de latencia*



Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Imagen tratada con software ImageJ. Procesamiento de imágenes para obtención de datos de segmentación de color; a) reducción de distorsiones visuales, b) segmentación de plantas y c) reconstrucción de la imagen.

Las frondas tratadas evidenciaron cuatro clústeres cromáticos definidos, cuyos valores promedio de color (RGB), desviación estándar (sigma) y área relativa se muestran en la Tabla 3.

Figura 21

## Cluster Identification Periodo de latencia

Cluster Identification							
	R	G	B		$\sigma$		Area
<input checked="" type="radio"/> A	99	108	28	X	7.69	Reset	0.30%
<input checked="" type="radio"/> B	134	123	74	O	4.89	Reset	1.20%
<input checked="" type="radio"/> C	140	122	92	+	5.27	Reset	2.11%
<input checked="" type="radio"/> D	0	0	0	X	0.00	Reset	96.39%

Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Imagen tratada con software ImageJ.

Estos clústeres reflejan la presencia de tejidos diferenciados en función de su estado fisiológico. El área viva total (suma de “dark live” y “light live”) fue de 1,5%, mientras que el área correspondiente a tejido muerto y sin señal fue del 98,5%, con predominancia del clúster negro (96,39%).

Tabla 10 Frondas tratadas

Frondas Tratadas en el periodo de latencia			
Fond color	%Área	Total, live percent	Total, dead percent
Dark live	0,3	41,5512465	58,4487535
Light Live	1,2	Pixel Live	Pixel Dead
Dead	2,11	59833795	84166205
Black	96,39		
Total pixeles	1440000		

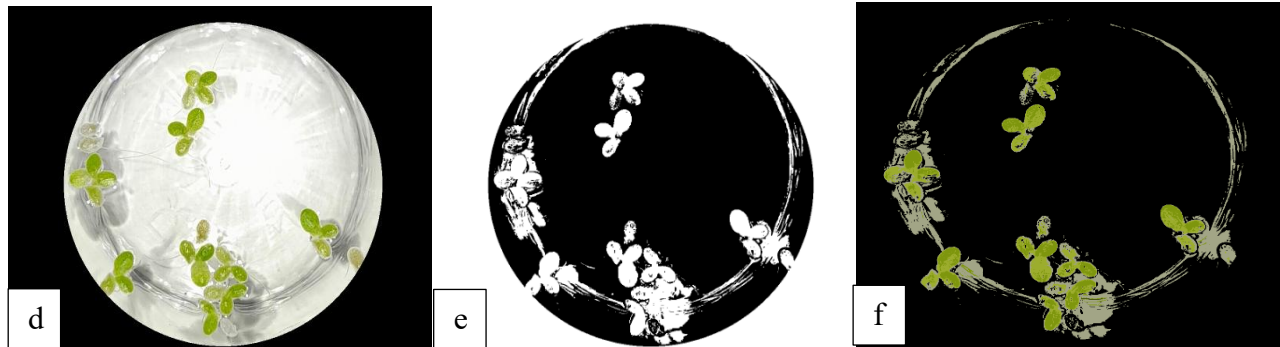
Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Tabla tratada con software ImageJ.

La distribución de estos clústeres se detalla en la Tabla 10, que integra el análisis porcentual por color y los valores totales de píxeles clasificados como vivos o muertos.

### Evaluación de frondas axénicas

Figura 22

## Segmentación de color Frondas axénicas



Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Imagen tratada con software ImageJ. Procesamiento de imágenes para obtención de datos de segmentación de color; d) reducción de distorsiones visuales, e) segmentación de plantas y f) reconstrucción de la imagen.

En contraste, las frondas axénicas presentaron una composición cromática más diversa, como se muestra en la Figura 23.

Figura 23

## Cluster Identification Frondas axénicas

Cluster Identification						
	R	G	B		$\sigma$	Area
<input checked="" type="radio"/> A	118	149	5	X	6.89	Reset 1.29%
<input checked="" type="radio"/> B	160	183	44	O	15.26	Reset 1.70%
<input checked="" type="radio"/> C	180	171	96	+	3.94	Reset 4.45%
<input checked="" type="radio"/> D	0	0	0	X	0.00	Reset 92.56%

Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Imagen tratada con software ImageJ.

Se identificaron también cuatro clústeres, incluyendo dos áreas oscuras con distinta intensidad (C y D), además de zonas vivas y muertas más definidas. A diferencia de las frondas tratadas, las axénicas presentaron una mayor proporción de área viva total 2,99%.

La distribución de colores y condiciones de las frondas axénicas se detalla en la Tabla 6:

Tabla 11 Frondas axénicas

<b>Fronδας axénicas</b>			
<b>Fond color</b>	<b>%Area</b>	<b>Total live percent</b>	<b>Total dead percent</b>
<b>Dark live</b>	1,29	40,188172	59,811828
<b>Light Live</b>	1,7	<b>Pixel Live</b>	<b>Pixel Dead</b>
<b>Dead</b>	4,45	44778143,5	66643056,5
<b>Black</b>	92,56		
	1114212		

Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Tabla tratada con software ImageJ.

El menor porcentaje de área negra y mayor presencia de clústeres pigmentados en las axénicas sugiere una mayor integridad tisular. Además, los valores RGB más elevados como, por ejemplo, R: 160–180 en clústeres vivos) indican una mejor reflectancia, posiblemente asociada a mayor retención de pigmentos como clorofila o carotenoides.

Comparando ambos tratamientos, la adaptación del medio de cultivo mediante la suplementación con glucosa como fuente de carbono buscó ofrecer un entorno más favorable para la estabilidad estructural y funcional de la cepa en condiciones ambientales. Al comparar las frondas tratadas durante el periodo de latencia con las frondas axénicas, se evidencia una mayor susceptibilidad al deterioro en las primeras, reflejada en un aumento del área negra (96,39%) y una reducción de tejidos vivos (1,5%), en contraste con las frondas axénicas, que mostraron un 92,56% de área negra y un 2,99% de área viva. Esta diferencia sugiere que el tratamiento aplicado durante la latencia pudo inducir un estrés fisiológico significativo, posiblemente derivado de desequilibrios metabólicos asociados a la disponibilidad de glucosa o a la transición de condiciones ambientales. Este estrés podría haber comprometido procesos clave como la fotosíntesis o la integridad celular, acelerando la senescencia o la muerte celular programada. Lo anterior concuerda con (Zaro, 2014), quienes explican que condiciones desfavorables incluyendo fluctuaciones térmicas o exposición a compuestos bioactivos afectan negativamente la estabilidad estructural de los tejidos vegetales. La aplicación de segmentación de color en imágenes digitales permitió cuantificar con precisión estas diferencias, aportando una herramienta no invasiva de alto valor para el monitoreo fisiológico.

### Capítulo 3

#### **Determinar el efecto de la glucosa como suplemento en el medio de cultivo Swedish Standard (SIS) estándar.**

##### **Metodología**

Determinar el efecto de la glucosa como suplemento en el medio de cultivo Swedish Standard (SIS) estándar, así como evaluar el comportamiento de *Lemna minor* bajo condiciones ambientales, con y sin fuente de nitrógeno adicional. La evaluación del crecimiento de lenteja de agua (*Lemna minor*) Se trabajaron dos fases experimentales, en la primera, se realizó un cultivo preliminar para adaptar el protocolo de crecimiento de *Lemna minor* al medio Swedish Standard (SIS) suplementado únicamente con glucosa. En la segunda fase, se estableció un cultivo definitivo empleando el mismo medio SIS con suplementación combinada de glucosa y una fuente de nitrógeno.

## Diseño Experimental

### Fases del estudio Experimental

El estudio se desarrolló en dos fases:

#### *Fase 1, Cultivo Preliminar*

Adaptación del protocolo de crecimiento de *Lemna minor* en el medio SIS suplementado únicamente con glucosa. Se busco estandarizar las condiciones del cultivo y verificar la viabilidad del medio.

#### *Fase 2, Cultivo Reactores*

Evaluación del crecimiento de *Lemna minor* en el medio SIS suplementado con glucosa y nitrógeno.

### Preparación del Medio de cultivo SIS

#### Composición del Medio SIS (Basado en OECD 221, Anexo 4)

Para el cultivo de *Lemna minor*, se han sugerido distintos tipos de medios nutritivos. Uno de los recomendados por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico(OECD, 2022) es una variante del medio Swedish Standard ((SIS), 1995 ), cuya formulación detallada se encuentra en la Tabla 12. Por otro lado, la norma ISO 20079 ((ISO), 2005) , sugiere el uso del medio Steinberg modificado. Ambos medios deben prepararse utilizando agua desionizada y reactivos de grado analítico para asegurar su pureza y eficacia.

Tabla 12 Medio de crecimiento Swedish Standard (SIS) para *Lemna minor*

Solución Patrón No.	Sustancia	Concentración en solución patrón [g/L]	Concentración en el medio preparado [mg/L]	Medio preparado	
				Elemento	Concentración [mg/L]
I	NaNO <sub>3</sub>	8,50	85	Na; N	32; 14
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,34	13,4	K; P	6,0; 2,4

<b>II</b>	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	15	75	Mg; S	7,4; 9,8
<b>III</b>	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	7,2	36	Ca; Cl	9,8; 17,5
<b>IV</b>	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	4,0	20	C	2,3
<b>V</b>	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,0	1,00	B	0,17
	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,20	0,20	Mn	0,056
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,010	0,010	Mo	0,0040
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,050	0,050	Zn	0,0011
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,0050	0,0050	Cu	0,0013
	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,010	0,010	Co	0,0020
<b>VI</b>	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,17	0,84	Fe	0,17
	Na <sub>2</sub> -EDTA.2H <sub>2</sub> O	0,28	1,4	-	-
<b>VII</b>	MOPS (buffer)	490	490	-	-

Fuente. Adaptado de ((SIS), 1995 ).

Este medio se compone de varias soluciones patrón (denominadas de I a VII), cada una conteniendo elementos específicos esenciales para el crecimiento de la planta. A continuación, se describe la concentración de cada componente tanto en las soluciones patrón como en el medio final. Las soluciones I a V incluyen compuestos como nitrato de sodio, fosfato monopotásico, sulfato de magnesio heptahidratado, cloruro de calcio dihidratado y carbonato de sodio. Estas soluciones proporcionan elementos clave como nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio, calcio y carbono.

La solución VI aporta hierro en forma de cloruro férrico y un agente quelante (EDTA disódico) para mejorar su disponibilidad. La solución VII contiene MOPS, un agente tamponador que estabiliza el pH del medio, y su uso es opcional.

### **Esterilización y conservación**

Las soluciones I a V pueden esterilizarse mediante autoclave (a 120 °C durante 15 minutos) o mediante filtración con membranas de poro de 0,2 µm. Sin embargo, las soluciones VI y VII solo deben esterilizarse por filtración, ya que el calor puede degradar sus componentes. Todas las soluciones deben almacenarse protegidas de la luz (por ejemplo, en botellas ámbar o envueltas en papel aluminio) y mantenerse refrigeradas. Es importante tener en cuenta que las soluciones I-V se deben usar antes de seis meses, mientras que VI y VII deben ser reemplazadas tras un mes.

### ***Preparación del medio***

Para elaborar un litro del medio SIS, se deben mezclar en 900 mL de agua desionizada las siguientes proporciones de cada solución patrón:

10 mL de la solución I

5 mL de la solución II

5 mL de la solución III

5 mL de la solución IV

1 mL de la solución V

5 mL de la solución VI

1 mL de la solución VII (opcional)

Luego, se ajusta el pH a  $6,5 \pm 0,2$  utilizando soluciones de HCl o NaOH de concentración 0,1 o 1,0 M, según sea necesario. Finalmente, se completa el volumen a 1 L con agua desionizada Godoy Silva, 2025).

### **Suplementación con Glucosa y Nitrógeno**

#### **Preparación del medio suplementado**

El medio fue suplementado con una concentración fija de glucosa 3 g/L y una fuente de nitrógeno concentrada en 38,1 g/L. El protocolo experimental establece que la concentración requerida de nitrógeno en el medio de cultivo es de 600 mg/L es decir el 0,6 g/L. Para alcanzar este nivel, se preparó una solución madre con 38,1 g/L de nitrógeno, equivalente a:

$$C_{fuente} = \frac{38,1g}{1000 mL} = 0,0381 \frac{g}{mL} \quad (1)$$

Con base en esta concentración, el volumen necesario **V** para obtener 0,6 g de nitrógeno por litro de medio se calcula como:

$$V = \frac{0,6 \text{ g/L}}{0,0381 \text{ g/mL}} = 15,75 \frac{\text{mL}}{\text{L}} \quad (2)$$

En la práctica, se realizaron pruebas de suplementación progresiva utilizando volúmenes de la solución madre de nitrógeno en el siguiente orden: **primero 5 mL/L**, luego **2,5 mL/L**, y **finalmente 1,25 mL/L**, que fue la concentración seleccionada para el tratamiento definitivo. Por lo tanto, el medio utilizado contenía **1,25 mL/L de la solución madre** como fuente de nitrógeno. Este volumen corresponde a:

$$\text{Volumen usado} = 1,25 \text{ mL/L} \quad (3)$$

Fuente. Ecuaciones (1) y (3) Adaptado de (De Las Heras, 2001).

## Cultivo preliminar

### Diseño Experimental

Con el fin de evaluar el efecto de la suplementación con glucosa en el crecimiento de *Lemna minor*, se implementó un diseño experimental factorial de tipo multinivel. Este diseño consideró como variable de respuesta el número de frondas desarrolladas bajo diferentes condiciones de cultivo. Se estableció un único factor experimental correspondiente a la composición del medio de cultivo en cuanto a la presencia o ausencia de glucosa, definido en dos niveles: nivel bajo (0, sin glucosa) y nivel alto (1, con glucosa). Adicionalmente, se consideró el número inicial de frondas como segundo factor con dos niveles: bajo (5 frondas) y alto (10 frondas). Por tanto, se trabajó con dos variables medidas: la cantidad de glucosa en gramos por litro (g/L) y el número de frondas, estableciendo un nivel de significancia estadística del 95 %. Para el análisis estadístico de los resultados y la interpretación de los efectos principales e interacciones entre factores, se utilizó el

software Statgraphics Centurion 19, el cual permitió aplicar las pruebas adecuadas y generar los gráficos correspondientes.

### **Establecimiento del cultivo**

A partir de una fronda viable y axénica, se establecieron subcultivos en condiciones estériles, utilizando medios de cultivo estandarizados. El objetivo principal fue asegurar la propagación clonal de biomasa libre de contaminantes, suficiente para los ensayos experimentales posteriores.

Para estructurar el experimento, se diseñó una distribución preliminar de muestras con base en dos variables: la concentración de glucosa (g/L) y el número inicial de frondas. Esta disposición permitió establecer las condiciones iniciales necesarias para evaluar el efecto de la suplementación de glucosa en el desarrollo del cultivo. La distribución de las muestras se detalla en la siguiente tabla:

*Tabla 13 Distribución de las muestras cultivo preliminar*

<b>Muestra</b>	<b>Glucosa</b>	<b>N° Frondas Inicial</b>
	g/L	N° Frondas
<b>1</b>	1	5
<b>2</b>	0	5
<b>3</b>	0	10
<b>4</b>	1	10
<b>5</b>	0	5
<b>6</b>	1	5
<b>7</b>	1	10
<b>8</b>	0	10

*Fuente. (StatPoint Technologies, 2023). Tabla tratada con software Statgraphics*

*Figura 24*  
*Cultivo preliminar*

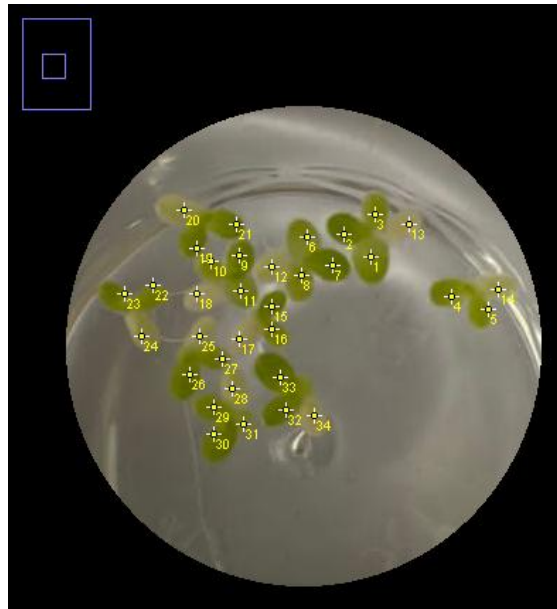


Fuente. Elaboración Propia

Esta etapa permitió generar condiciones controladas para la evaluación del crecimiento de *Lemna minor*, contribuyendo a la confiabilidad de los resultados obtenidos en el diseño experimental posterior como se observa en la distribución de las muestras en la Figura 24.

### **Evaluación del crecimiento**

Para llevar a cabo la evaluación del crecimiento, se empleó la herramienta digital ImageJ, ampliamente utilizada en análisis de imágenes científicas. Esta permitió registrar el número de frondas en cada tratamiento y facilitar la comparación cuantitativa entre las diferentes condiciones experimentales.

*Figura 25**Evaluación del Crecimiento*

Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Imagen tratada con software ImageJ.

El conjunto de estas actividades permitió establecer las condiciones iniciales del experimento definitivo, asegurando la validez del protocolo y la fiabilidad de los resultados obtenidos en fases posteriores del estudio.

## **Cultivo Reactores**

### **Diseño experimental**

Con el objetivo de analizar el impacto de nutrientes clave en el desarrollo del cultivo, se diseñó un experimento factorial multinivel. La variable de respuesta fue el crecimiento de la planta en función de dos factores experimentales: la suplementación con glucosa y la suplementación con nitrógeno. El primer factor correspondió a la glucosa, aplicada en dos niveles, bajo 0 g/L y alto 3 g/L. El segundo factor fue el nitrógeno, también aplicado en dos niveles, bajo 0 g/L y alto 5 g/L. Estableciendo un nivel de significancia estadística del 95 %. Esta configuración experimental permitió evaluar los efectos individuales y combinados de ambos factores sobre el comportamiento del cultivo. Para llevar a cabo el análisis estadístico de los resultados e interpretar tanto los efectos

principales como las interacciones entre factores, se empleó el software Statgraphics Centurion 19, que facilitó la aplicación de las pruebas pertinentes y la elaboración de los gráficos respectivos.

### Establecimiento cultivo Reactores

Para la etapa de cultivo en reactores, se definieron condiciones específicas de suplementación con el objetivo de evaluar el crecimiento de *Lemna minor* bajo diferentes concentraciones de nutrientes. Cada reactor fue inoculado con 70 frondas de lenteja de agua, garantizando homogeneidad en la biomasa inicial utilizada en todos los tratamientos. La distribución experimental se basó en un diseño factorial con dos factores: suplementación con glucosa y suplementación con nitrógeno, cada uno con dos niveles (bajo: 0 g/L, alto: glucosa 3 g/L y nitrógeno 5 g/L). La disposición de las muestras se resume en la siguiente tabla:

Tabla 14 Distribución de las muestras reactores

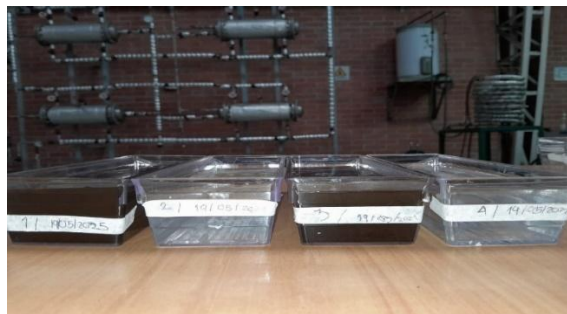
Reactor	Suplementación con glucosa	Suplementación con nitrógeno
	g/L	g/L
1	0	5
2	0	0
3	3	5
4	3	0

Fuente. (StatPoint Technologies, 2023). Tabla tratada con software Statgraphics

La Figura 26 presenta la disposición de los reactores utilizados para el cultivo y seguimiento del experimento.

Figura 26

Reactores



Fuente. Elaboración Propia

Este enfoque experimental permitió observar de manera controlada el efecto de ambos nutrientes en la tasa de crecimiento y duplicación de *Lemna minor*, bajo condiciones reproducibles y estandarizadas.

### Evaluación del crecimiento

Para la evaluación del crecimiento, se utilizó nuevamente el software ImageJ, herramienta que permitió cuantificar el número de frondas en cada reactor durante el transcurso del experimento.

Figura 27

*Evaluación del crecimiento de Reactores*



Fuente. (Schneider, Rasband, & Eliceiri, 2012). Imagen tratada con software ImageJ.

A través de esta metodología se obtuvo información precisa sobre el tiempo de duplicación y la tasa de crecimiento de la lenteja de agua, datos fundamentales para interpretar la influencia de las condiciones nutricionales sobre la biomasa generada.

## Resultados y discusión

### Cultivo preliminar para estandarización del protocolo

#### Análisis estadístico

Tabla 15 Análisis de Varianza para N° Frondas Final

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>A:Glucosa</b>	0,125	1	0,125	0,27	0,6376
<b>B:N° Frondas Inicial</b>	595,125	1	595,125	1298,45	0,0000
<b>AB</b>	1,125	1	1,125	2,45	0,2152
<b>bloques</b>	1,125	1	1,125	2,45	0,2152
<b>Error total</b>	1,375	3	0,458333		
<b>Total (corr.)</b>	598,875	7			

*Fuente. (StatPoint Technologies, 2023). Tabla tratada con software Statgraphics*

*Nota: Nivel de significancia del 5%.*

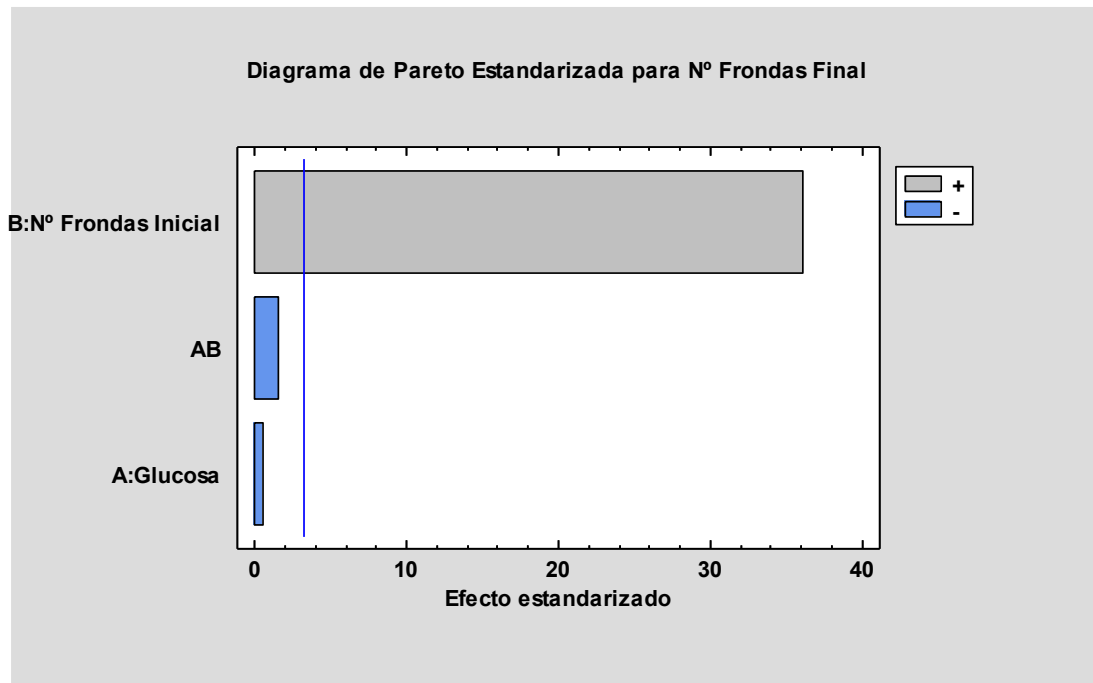
$R^2 = 99,77\%$ ,  $R^2$  ajustado = 99,46%,  $R^2$  predicho = 98,37%

$Error\ estándar = 0,6770$ ,  $Durbin-Watson = 2,045$  ( $p = 0,4245$ )

Las muestras con 10 frondas iniciales Muestras 3, 4, 7 y 8, generaron un crecimiento significativamente mayor, con un F-valor muy elevado (1298,45) y un  $p < 0,001$ , lo que confirma un efecto directo y fuerte del número inicial de frondas sobre el crecimiento final. La suplementación con glucosa presentes en muestras 1, 4, 6 y 7) no mostró un efecto significativo ( $p = 0,6376$ ), lo que indica que, bajo las condiciones de cultivo usadas, la glucosa no aportó ventajas en la propagación. La interacción entre ambos factores no fue significativa ( $p = 0,2152$ ), lo que sugiere que el efecto del número de frondas iniciales es independiente de la presencia de glucosa.

Figura 28

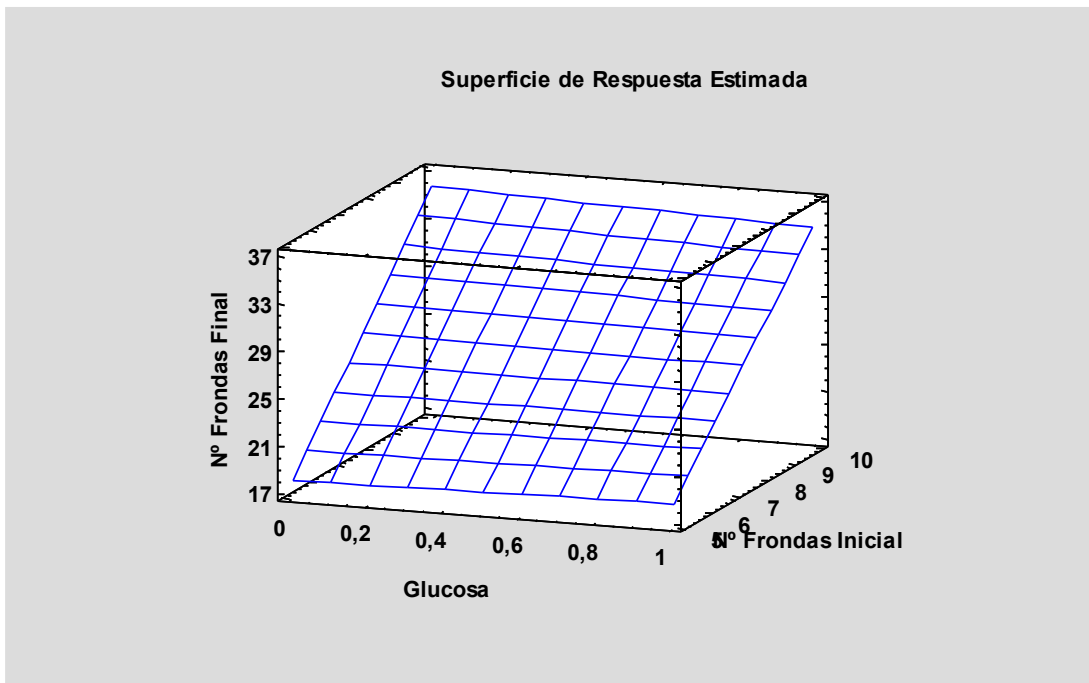
Pareto



Fuente. (StatPoint Technologies, 2023). Figura tratada con software Statgraphics

El diagrama de Pareto estandarizado evidencia que, entre los factores evaluados, únicamente el número de frondas iniciales presenta un efecto estadísticamente significativo sobre el número de frondas final, al superar el umbral correspondiente al 95 % de confianza. Este resultado indica que dicho factor influye de manera considerable en la variable de respuesta. En contraste, ni la concentración de glucosa ni la interacción entre ambos factores (glucosa y frondas iniciales) mostraron efectos significativos, lo que sugiere que su influencia en el crecimiento final de frondas es nula dentro de las condiciones experimentales evaluadas.

Figura 29  
Superficie de Respuesta Estimada



Fuente. (StatPoint Technologies, 2023). Figura tratada con software Statgraphics

La superficie de respuesta en tres dimensiones representa cómo varía el número final de frondas en función de la concentración de glucosa y el número inicial de frondas. En este gráfico, el eje vertical muestra el valor estimado del número final, mientras que los ejes horizontales corresponden a las dos variables independientes mencionadas. La malla azul permite visualizar claramente la interacción entre estas variables y su impacto en el resultado. Se observa que a mayor concentración de glucosa y un mayor número inicial de frondas, el número final tiende a aumentar, lo que indica un efecto positivo combinado de ambos factores sobre el crecimiento de las frondas.

En conjunto, los resultados obtenidos permiten concluir que el número inicial de frondas constituye el factor más influyente en la determinación del crecimiento final de *Lemna minor*, por lo que debe ser considerado como una variable clave en cualquier estrategia de manejo o evaluación del desarrollo de esta especie. Aunque la concentración de glucosa mostró un efecto positivo sobre la variable dependiente, dicho efecto no resultó estadísticamente significativo bajo las condiciones experimentales establecidas, lo que indica que, por sí sola, no ejerce una influencia determinante

---

en el número final de frondas. Por otra parte, la interacción entre la glucosa y el número inicial de frondas presentó un coeficiente negativo, lo cual sugiere que el efecto combinado de ambos factores no es simplemente aditivo. Esto implica que, cuando ambos niveles son elevados, el crecimiento observado puede verse atenuado, posiblemente por una saturación o interferencia en los mecanismos fisiológicos de la planta. Por lo tanto, estos hallazgos subrayan la importancia de considerar no solo los efectos individuales de las variables, sino también sus posibles interacciones, con el fin de comprender de manera más precisa las dinámicas que rigen el crecimiento vegetal en sistemas experimentales controlados.

Por lo tanto, estos resultados concuerdan con estudios previos que señalan que el tamaño inicial de inóculo vegetal impacta fuertemente en el rendimiento final del cultivo. Por ejemplo (Capriotti & Silvina, 2018), encontraron que el número inicial de frondas en *Lemna* sp. está directamente relacionado con la eficiencia fotosintética y el aprovechamiento del espacio superficial, lo que acelera la biomasa en sistemas densos. Este efecto puede atribuirse a una mayor densidad de tejido fotosintético disponible y a una mayor superficie expuesta para absorción de nutrientes.

## Resultados y discusión

### Cultivo Reactores

#### Análisis estadístico

Tabla 16 Análisis de Varianza para suplementos de glucosa y nitrógeno

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>A: Suplemento de glucosa</b>	2601,0	1	2601,0		
<b>B: Suplemento nitrógeno</b>	1681,0	1	1681,0		
<b>AB</b>	7056,0	1	7056,0		
<b>Error total</b>	0,0	0			
<b>Total (corr.)</b>	11338,0	3			

Fuente. (StatPoint Technologies, 2023). Tabla tratada con software Statgraphics

Nota:

*R-cuadrada* = 100,0 por ciento

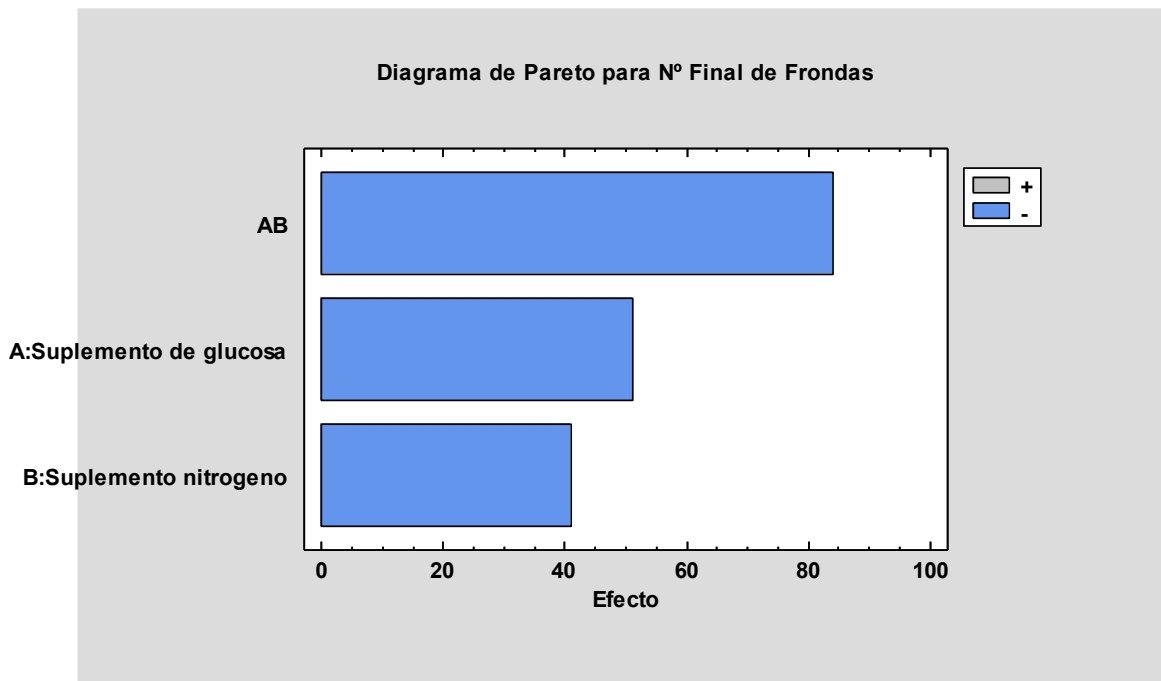
*R-cuadrada (ajustada por g.l.)* = 0,0 por ciento

*R-cuadrado (predicho)* = 100,0 por ciento (*PRESS* = 0,0)

El diseño del modelo tuvo un enfoque exploratorio, con el fin de evaluar preliminarmente los efectos de la suplementación con glucosa y nitrógeno sobre el crecimiento del cultivo en condiciones controladas. Se priorizó observar tendencias de comportamiento más que realizar inferencias estadísticas concluyentes, dado que era la primera fase del cultivo en reactores. La disponibilidad limitada de reactores y recursos materiales restringió el número de tratamientos y repeticiones posibles. Por esta razón, se optó por un diseño factorial 2<sup>2</sup> sin repeticiones, permitiendo al menos observar los efectos combinados de los factores evaluados. Se eligieron los factores glucosa y nitrógeno por su relevancia directa en el metabolismo y crecimiento celular, con base en literatura científica y observaciones del cultivo preliminar. Se aplicaron en niveles extremos (0 g/L y niveles altos) para maximizar el contraste y detectar posibles interacciones fuertes.

Aunque el modelo presenta una R-cuadrada del 100 %, lo cual refleja un ajuste perfecto de los datos observados, esto se debe a la ausencia de variabilidad residual (error). En este contexto, los resultados obtenidos no permiten establecer conclusiones estadísticas definitivas, pero sí ofrecen una **primera aproximación del comportamiento del sistema** ante la combinación de factores evaluados.

Tabla 17 Pareto Reactores



Fuente. (StatPoint Technologies, 2023). Figura tratada con software Statgraphics

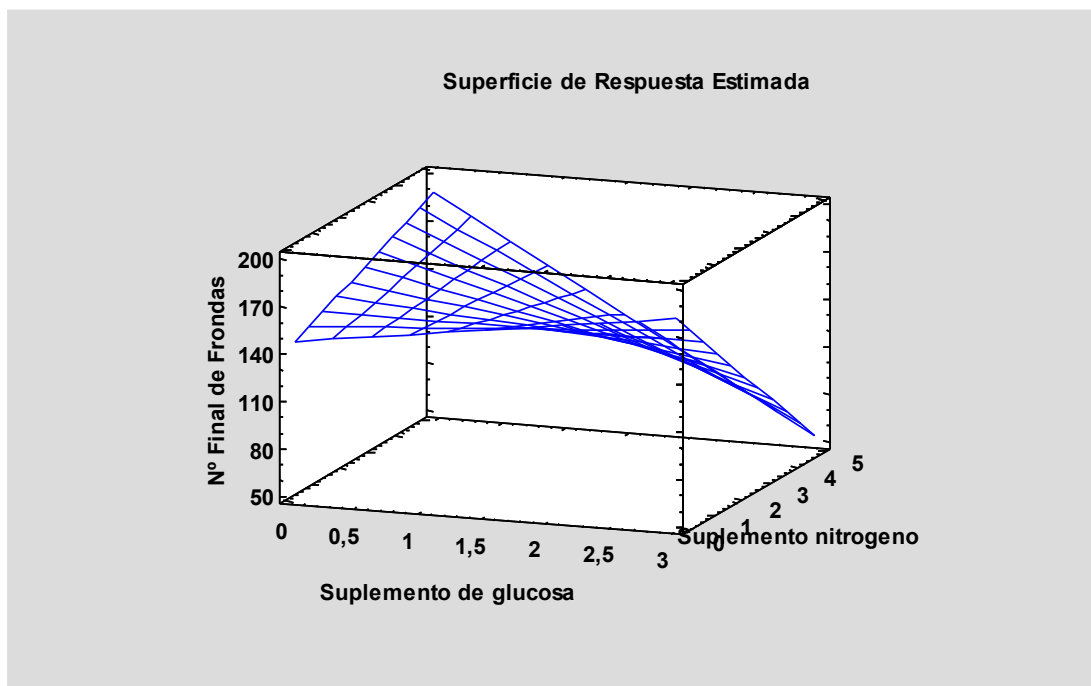
El diagrama de Pareto presenta visualmente los efectos principales y la interacción entre los factores evaluados (glucosa y nitrógeno), ordenados según su magnitud. Aunque en este caso no se dispone de grados de libertad para el error, lo que impide aplicar pruebas de significancia valores-p, el gráfico permite observar tendencias relevantes para el sistema en estudio. En particular, el efecto de la interacción entre la glucosa y el nitrógeno (AB) se muestra como el más destacado, seguido por los efectos individuales de la glucosa (A) y el nitrógeno (B). Esta disposición sugiere que el efecto combinado de ambos nutrientes podría tener un papel sinérgico o modulador sobre el crecimiento final de frondas, lo cual es coherente con principios fisiológicos de la planta, donde el carbono glucosa y el nitrógeno actúan de forma coordinada en procesos

biosintéticos (Pérez-Alonso & Jiménez, 2011). Se observa que la ausencia de error experimental impide establecer una línea de corte para significancia estadística en el gráfico, pero la representación visual sigue siendo útil como herramienta exploratoria.

El gráfico de superficie de respuesta muestra cómo varía la respuesta número final de frondas en función de los niveles de los factores evaluados: suplemento de glucosa y suplemento de nitrógeno. A través de la altura de la superficie, se identifica un gradiente positivo, donde los valores más altos de frondas se asocian con la presencia simultánea de ambos nutrientes.

*Figura 30*

*Superficie de respuesta estimada*



*Fuente. (StatPoint Technologies, 2023). Tabla tratada con software Statgraphics*

Esta representación tridimensional permite visualizar posibles interacciones no lineales entre los factores. Aunque no es posible confirmar estadísticamente estos efectos, la forma de la superficie sugiere que la combinación de glucosa alta (3 g/L) y nitrógeno alto (5 g/L) podría inducir un crecimiento superior al observado cuando se aplican estos nutrientes por separado (Flotats Ripoll, 2021).

## Análisis del Ajuste del Modelo para los Reactores

En esta sesión, se analiza el ajuste del modelo matemático aplicado a los datos de producción de frondas de cuatro reactores experimentales. Se presentan los resultados del modelo para cada reactor, se comparan los valores predichos con los datos observados y se evalúa la calidad del ajuste mediante el cálculo del error cuadrático.

### Modelo logístico

Se empleó un modelo logístico de crecimiento microbiano, cuya expresión matemática es la siguiente:

$$N = \frac{K N_0}{(k - N_0) e^{-rt} + N_0}$$

**N(t)**: Número de frondas en el tiempo.

**K**: Capacidad de carga

**N<sub>0</sub>**: Número inicial de frondas.

**r**: Tasa de crecimiento intrínseca.

**t**: Tiempo en días

**e<sup>-rt</sup>**: Término exponencial que determina cómo cambia el crecimiento con el tiempo.

Se construyeron tablas individuales para los cuatro reactores, registrando el número de frondas observado (*N*), los valores estimados por el modelo, el margen de error y la desviación estándar. Además, para cada reactor se determinaron los parámetros característicos del modelo logístico de crecimiento: la capacidad de carga (**K**), la tasa de crecimiento intrínseco (**r**) y el número inicial de frondas (**N<sub>0</sub>**). A partir de esta información, se elaboró una gráfica que representa la evolución del crecimiento de *Lemna minor* a lo largo del tiempo, bajo condiciones ambientales controladas, con el objetivo de analizar y comparar el patrón de desarrollo de la especie en cada sistema experimental.

## Resultados y análisis por reactor

### Reactor 1

El crecimiento observado en el reactor 1 se mantuvo de forma constante durante el periodo de evaluación, iniciando con 70 frondas y alcanzando un total de 190 al finalizar el experimento. Este comportamiento es indicativo de un desarrollo estable y predecible de *Lemna minor* bajo las condiciones controladas de este reactor.

Tabla 18 Reactor 1

Reactor 1				
	N° Frondas	N predicho	Error	Desviación Estándar
19 de Mayo	70	70	0	0
20 de Mayo	168	168.0002326	5.41033E-08	0.000164474
21 de Mayo	183	182.9996207	1.43837E-07	0.000268176
22 de Mayo	190	70	14400	84.85281374
		Suma error cuadrático	14400	21.2133116

Fuente.(Corporation, 2021). Tabla tratada con Microsoft Excel

0.123

Al aplicar el modelo logístico, se estimaron los parámetros característicos que describen el comportamiento de crecimiento en este reactor:

Tabla 19 Estimado Reactor 1

K	189.347815
R	1.29828684
N0	70

Fuente.(Corporation, 2021). Tabla tratada con Microsoft Excel

La **capacidad de carga (K)** estimada cercana a 189 indica el límite máximo teórico de frondas que el reactor puede soportar bajo las condiciones dadas, mostrando un tope natural para el crecimiento.

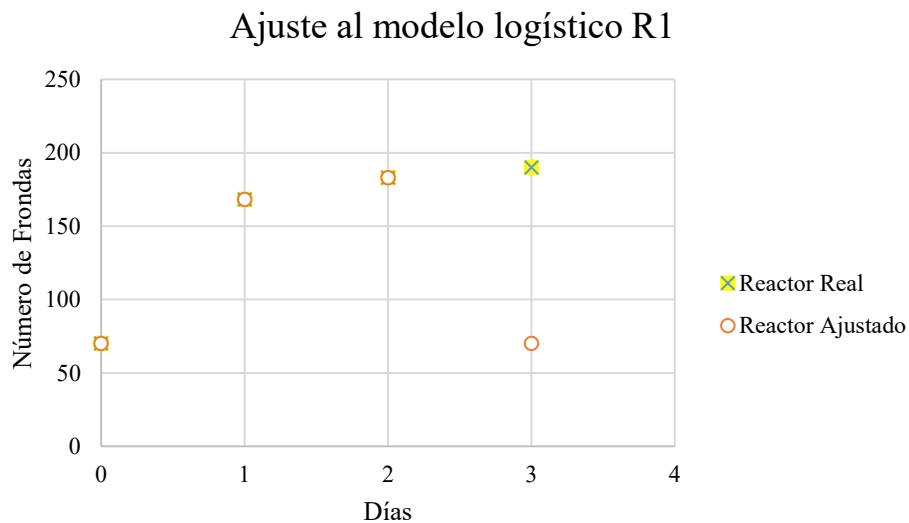
La **tasa de crecimiento intrínseco ( $r$ )** de aproximadamente 1.30 sugiere un crecimiento moderado y constante durante el periodo de observación.

Sin embargo, es importante destacar que en el último día se presentó una desviación significativa en los resultados: aunque el número de frondas observado (190) coincidió con el valor esperado por el modelo, el cálculo del error cuadrático fue extremadamente alto. Esta anomalía puede deberse a una posible inconsistencia en la medición o un dato atípico que afectó la precisión del ajuste en esa fecha específica.

Esta situación se refleja en la gráfica del ajuste al modelo logístico Figura 31, donde se observa que la curva del modelo sigue adecuadamente la tendencia general, pero presenta discrepancias puntuales en el último punto evaluado.

*Figura 31*

*Ajuste al modelo logístico R1*



*Fuente. (Corporation, 2021). Figura tratada con Microsoft Excel*

## Reactor 2

El crecimiento en el Reactor 2 comenzó también con 70 frondas y alcanzó un máximo de 147 frondas al final del periodo evaluado.

*Tabla 20 Reactor 2*

<b>Reactor 2</b>				
	<b>Nº Frondas</b>	<b>N predicho</b>	<b>Error</b>	<b>Desviación Estándar</b>
19 de Mayo	70	70	0	0
20 de Mayo	145	145.000316	1.00057E-07	0.000223671
21 de Mayo	147	146.987132	0.000165586	0.009099072
22 de Mayo	147	147.012545	0.000157377	0.008870645
		Suma error cuadrático	0.000323063	0.004548347

*Fuente.(Corporation, 2021). Tabla tratada con Microsoft Excel*

La estimación mediante el modelo logístico arrojó una capacidad de carga (K) de 147.01, representando el máximo número de frondas que el sistema puede sostener bajo las condiciones experimentales.

*Tabla 21 Estimado Reactor 2*

K	147.01287
r	4.37280895
N0	70

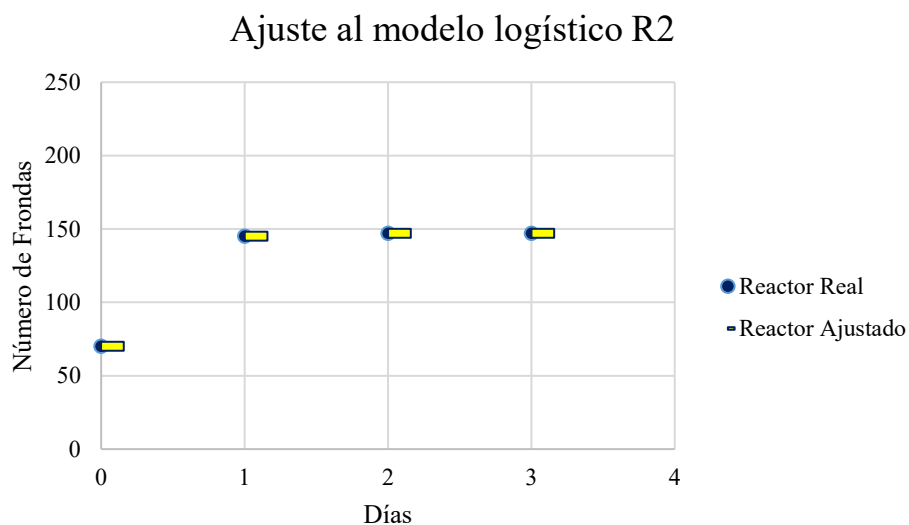
*Fuente.(Corporation, 2021). Tabla tratada con Microsoft Excel*

Por otro lado, la tasa de crecimiento natural (r) fue estimada en 4.37, un valor notablemente mayor que en el Reactor 1, lo que indica un crecimiento mucho más acelerado en esta configuración. Este comportamiento sugiere que el Reactor 2 ofrece condiciones más favorables para el desarrollo rápido de las frondas.

El ajuste del modelo logístico fue altamente preciso, como lo demuestran los errores prácticamente nulos y una desviación estándar muy baja, lo que confirma que el patrón de crecimiento fue estable y predecible durante todo el periodo de evaluación. Esta precisión también se refleja en la gráfica de ajuste (Figura 32), donde la curva teórica se superpone casi perfectamente a los datos experimentales.

*Figura 32*

*Ajuste al modelo logístico R2*



*Fuente. (Corporation, 2021). Figura tratada con Microsoft Excel*

### **Reactor 3**

En el Reactor 3, el número de frondas también inició con 70, y alcanzó un máximo de 147 durante el periodo de análisis. Sin embargo, se observó un comportamiento irregular en el crecimiento. Específicamente, el 22 de mayo se registró una caída abrupta en la cantidad de frondas, descendiendo a 55, lo cual no se corresponde con la tendencia esperada bajo el modelo logístico.

Tabla 22 Reactor 3

<b>Reactor 3</b>				
	<b>N° Frondas</b>	<b>N predicho</b>	<b>Error</b>	<b>Desviación Estándar</b>
<b>19 de Mayo</b>	70	70	0	0
<b>20 de Mayo</b>	141	114.333333	711.111111	18.85618083
<b>21 de Mayo</b>	147	114.333333	1067.11111	23.09882152
<b>22 de Mayo</b>	55	114.333333	3520.44444	41.95500235
		Suma error cuadrático	5298.66667	20.97750118

*Fuente.*(Corporation, 2021). *Tabla tratada con Microsoft Excel*

Debido a esta anomalía atribuida a un factor externo una contaminación en la muestra que provocó la muerte de los microorganismos, el valor del 22 de mayo fue omitido en el cálculo de las constantes del modelo. Por lo tanto, la estimación de la capacidad de carga (K) y la tasa de crecimiento (r) se realizó utilizando únicamente los datos hasta el 21 de mayo, cuando el comportamiento de crecimiento aún era coherente.

Tabla 23 Estimado Reactor 3

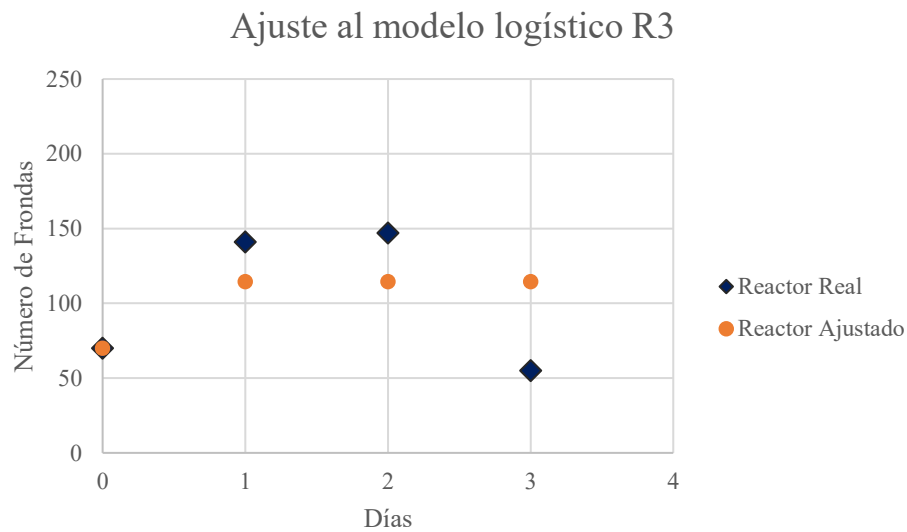
<b>K</b>	<b>114.333333</b>
<b>r</b>	31.3106669
<b>N0</b>	70

*Fuente.*(Corporation, 2021). *Tabla tratada con Microsoft Excel*

El modelo logístico ajustado bajo estas condiciones estimó una **capacidad de carga (K) de 114.33 frondas** y una **tasa de crecimiento natural (r) de 31.31**. Aunque estas cifras reflejan un crecimiento acelerado, el alto valor de r y los errores acumulados indican que el sistema ya presentaba signos de inestabilidad, incluso antes de la falla total observada el último día. Este caso subraya la importancia de mantener condiciones controladas y estables durante experimentos con organismos vivos, ya que factores externos pueden alterar significativamente los resultados y la validez del modelo predictivo demostrado en la Figura 33.

Figura 33

Ajuste al modelo logístico R3



Fuente. (Corporation, 2021). Figura tratada con Microsoft Excel

#### Reactor 4

En el Reactor 4, el crecimiento observado se desarrolló de manera consistente, partiendo de una población inicial de 70 frondas y alcanzando un total de 180 al finalizar el periodo de análisis.

Tabla 24 Reactor 4

Reactor 4				
	Nº Frondas	N predicho	Error	Desviación Estándar
19 de Mayo	70	70	0	0
20 de Mayo	159	158.486261	0.26392767	0.363268266
21 de Mayo	173	175.954344	8.72814976	2.089036831
22 de Mayo	180	177.490717	6.29649901	1.774330721
		Suma error cuadrático	15.2885764	1.056658954

Fuente. (Corporation, 2021). Tabla tratada con Microsoft Excel

La **capacidad de carga (K)** representa el límite superior de frondas que el sistema puede sostener en equilibrio bajo las condiciones ambientales y de recursos impuestas experimentalmente. Un valor de **K = 177.62** sugiere una alta eficiencia del reactor en sostener biomasa antes de alcanzar la fase estacionaria.

*Tabla 25 Estimado Reactor 5*

K	177.622903
R	2.54420122
N0	70

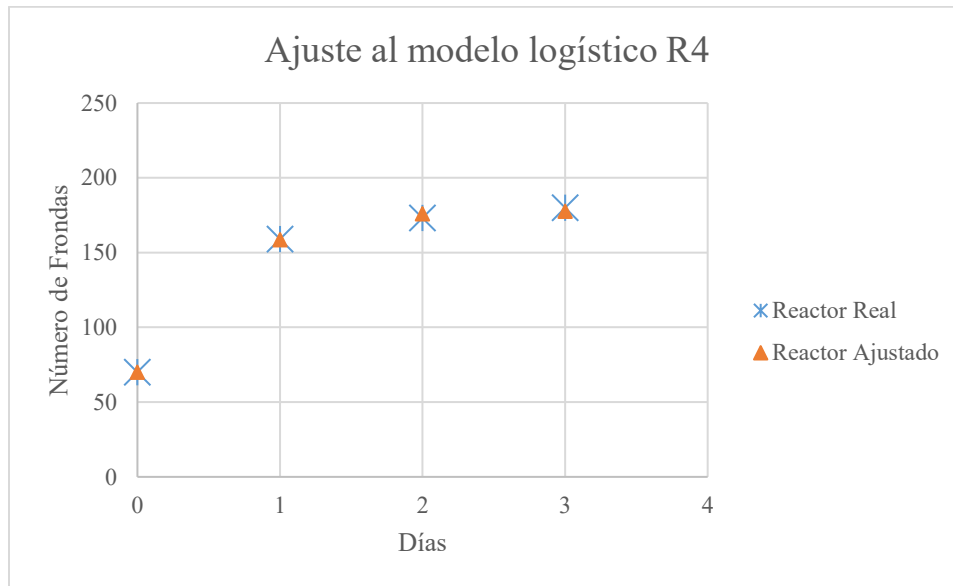
*Fuente.(Corporation, 2021). Tabla tratada con Microsoft Excel*

La tasa de crecimiento intrínseca ( $r = 2.54 \text{ d}^{-1}$ ) indica una velocidad de crecimiento rápida durante la fase exponencial. Este valor está dentro de un rango moderado-alto comparado con los otros sistemas evaluados, lo que implica una favorable disponibilidad de recursos y ausencia de factores limitantes significativos durante la fase de crecimiento activo.

El modelo mostró un ajuste preciso a los datos observados, con un error cuadrático total de 15.29 y una desviación estándar promedio de 1.06, reflejando una baja variabilidad entre los valores observados y predichos. Esto respalda la validez del modelo logístico para describir el crecimiento.

Figura 34

Ajuste al modelo logístico para Reactor



Fuente. (Corporation, 2021). Figura tratada con Microsoft Excel

Al comparar el desempeño de los cuatro reactores, el Reactor 2 destacó por su comportamiento más estable y predecible, con el mejor ajuste al modelo logístico, una tasa de crecimiento elevada ( $r=4.37 \text{ d}^{-1}$ ) y una capacidad de carga moderada ( $K=147$ ), reflejando condiciones experimentales óptimas. El Reactor 4 también mostró un crecimiento sostenido y bien modelado, con una tasa de crecimiento de  $r=2.54 \text{ d}^{-1}$  y una capacidad de carga de  $K=177.62$ , evidenciando un sistema controlado y eficiente.

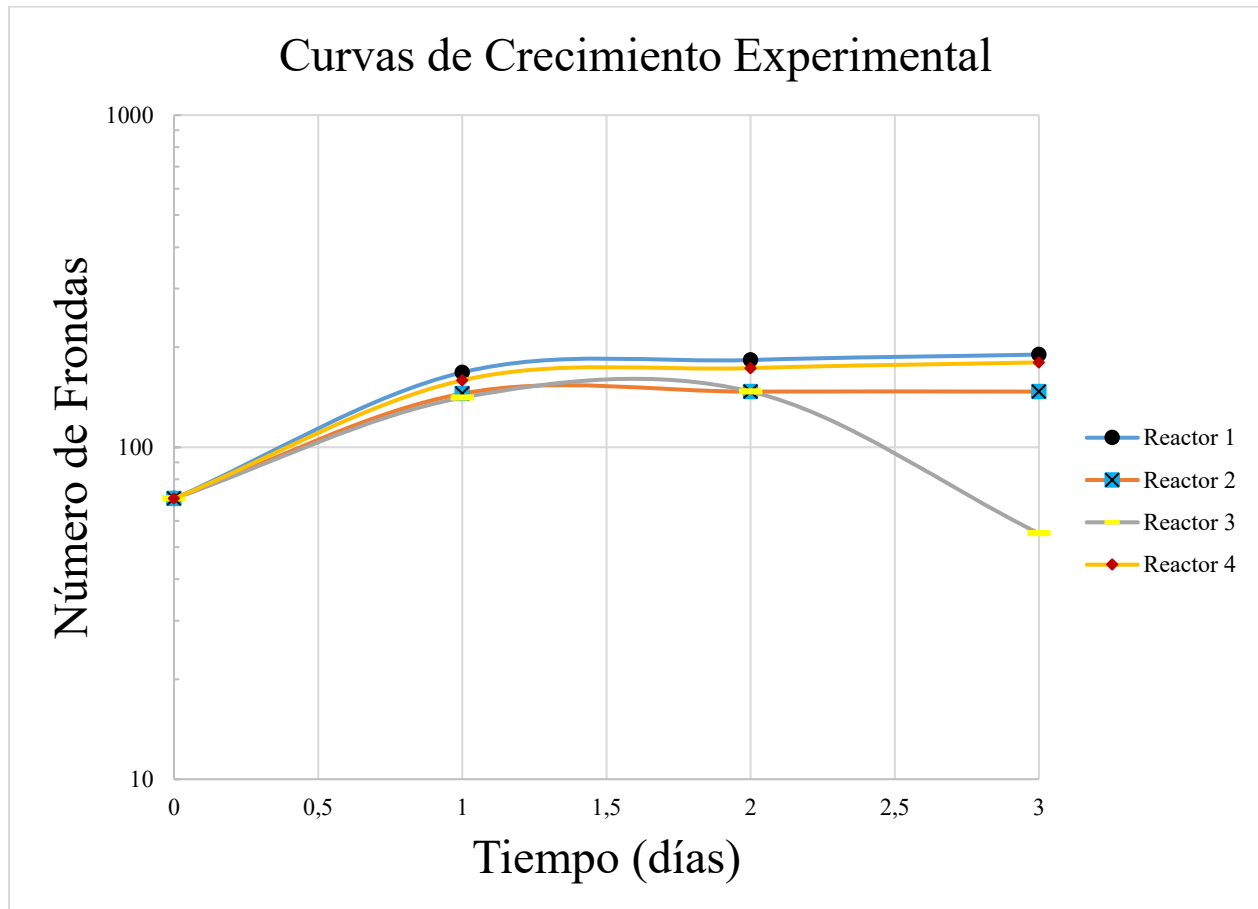
En contraste, el Reactor 1 alcanzó la mayor capacidad de carga estimada ( $K=189.35$ ), aunque con una tasa de crecimiento más moderada ( $r=1.30 \text{ d}^{-1}$ ). Sin embargo, una anomalía significativa en el último día de observación afectó el ajuste del modelo, lo que sugiere posibles perturbaciones externas. Por último, el Reactor 3 presentó los resultados más inestables debido a una contaminación. Aunque su tasa de crecimiento aparente fue la más alta ( $r=31.31 \text{ d}^{-1}$ ), el colapso poblacional observado obligó a excluir el último día del análisis.

### Curvas de crecimiento

En la **curva experimental**, los reactores 1, 2 y 4 evidencian un comportamiento de crecimiento exponencial sostenido hasta el día 3, con una progresión logarítmica en el número de frondas, lo

que sugiere condiciones homogéneas y favorables para la biomasa vegetal. El **reactor 3**, en contraste, presenta una disminución abrupta en la densidad poblacional el día 3, atribuida a un evento de contaminación microbológica. Este evento genera un punto de quiebre en el sistema, interrumpiendo el patrón logístico esperado.

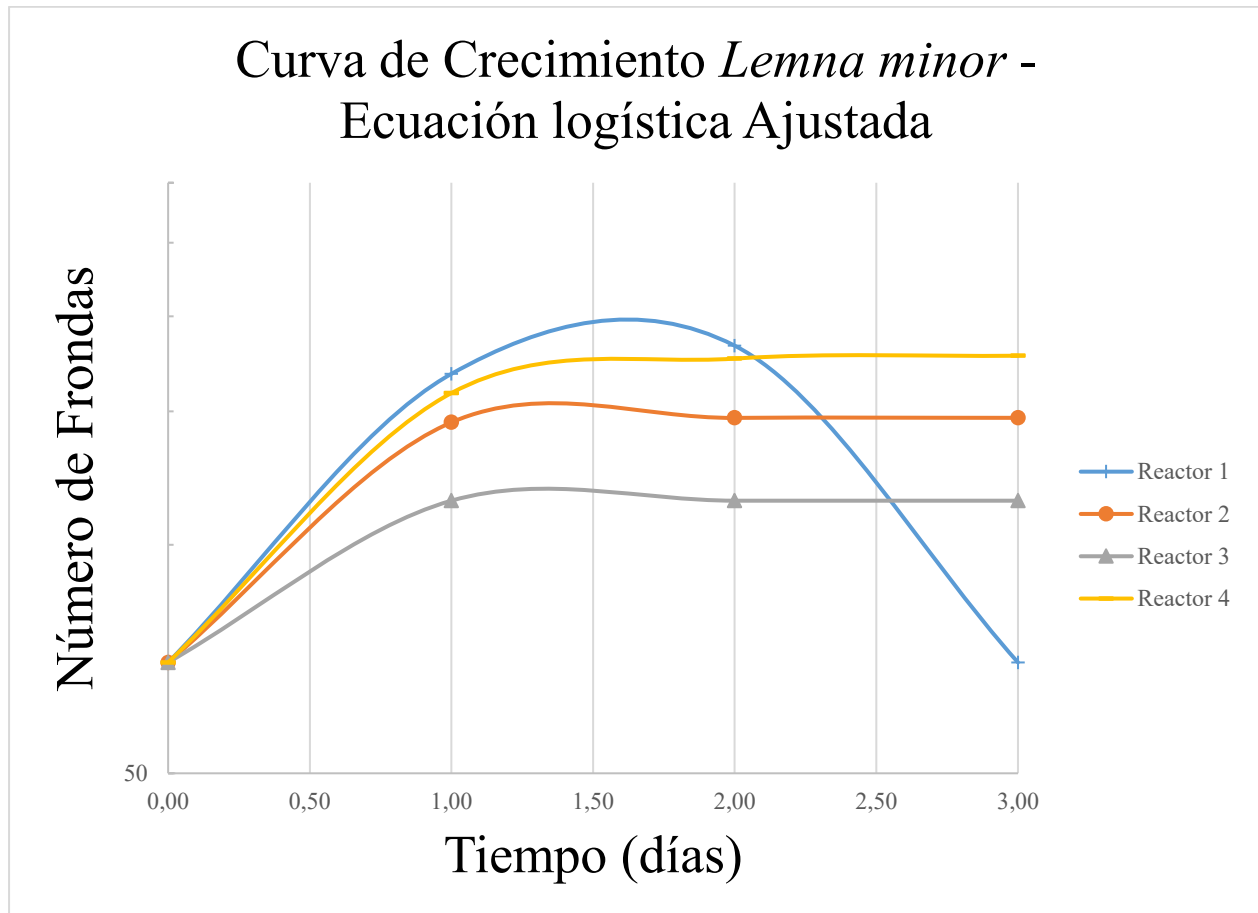
Figura 35

*Curvas de Crecimiento Experimental*

Fuente. (Corporation, 2021). Figura tratada con Microsoft Excel

Figura 36

Curva de Crecimiento Ecuación Ajustada



Fuente. (Corporation, 2021). Figura tratada con Microsoft Excel

La **curva ajustada** al modelo logístico describe con alta precisión la dinámica poblacional en los reactores 1, 2 y 4, reflejando tasas de crecimiento ( $r$ ) y capacidades de carga ( $K$ ) consistentes con los datos observados. En particular, el reactor 2 mostró el mejor ajuste ( $r = 4.37 \text{ d}^{-1}$ ;  $K = 147$ ), seguido del reactor 4 ( $r = 2.54 \text{ d}^{-1}$ ;  $K = 177.62$ ), ambos con errores cuadráticos mínimos. El reactor 1, pese a presentar una alta capacidad de carga ( $K = 189.35$ ), se ve afectado por una anomalía puntual que incrementa el error del modelo. Para el reactor 3, el modelo fue ajustado solo hasta el día 2, obteniéndose un valor de  $r = 31.31 \text{ d}^{-1}$  y  $K = 114.33$ , cuya interpretación debe realizarse con cautela debido a la distorsión provocada por la pérdida poblacional. En conjunto, la comparación entre ambas representaciones evidencia que el modelo logístico es adecuado para describir el crecimiento de *Lemna minor* bajo condiciones controladas, y permite identificar de manera clara

---

los desvíos provocados por eventos externos, como lo ocurrido en el reactor 3. Este análisis respalda la necesidad de una evaluación individualizada de cada sistema experimental para garantizar la fiabilidad de los resultados.

La evolución del número de frondas de *Lemna minor* fue monitoreada en cuatro reactores durante un periodo de tres días, utilizando una escala logarítmica en el eje Y para facilitar la comparación. Todos los reactores iniciaron con 70 frondas ( $\pm 0$ ), lo que garantiza condiciones homogéneas al inicio del experimento (Cayre, M., Vignolo, G., & Garro, O., 2001).

En los reactores 1, 2 y 4 se observó un crecimiento sostenido en el número de frondas. El reactor 1 alcanzó hasta 190 frondas con una desviación estándar máxima de  $\pm 84.85$ , aunque este dato indica una alta variabilidad debido a una caída brusca el último día. Los reactores 2 y 4 mostraron incrementos más estables, alcanzando hasta  $147 \pm 0.009$  y  $180 \pm 1.77$  frondas respectivamente, con errores cuadráticos totales bajos (0.0045 y 1.06), lo que indica un crecimiento saludable y progresivo típico de la fase exponencial del modelo logístico microbiano.

Por otro lado, el reactor 3 presentó una marcada disminución en el número de frondas, con valores que descendieron de 147 a 55 frondas y una desviación estándar de  $\pm 41.95$  en el último día, reflejando una caída abrupta y significativa en el crecimiento. Esta desviación representa un error cuadrático total elevado ( $\approx 5299$ ), sugiriendo factores limitantes como agotamiento de nutrientes o condiciones adversas no controladas.

En conjunto, los resultados evidencian que *Lemna minor* sigue mayormente el patrón esperado del modelo logístico bajo condiciones estables, aunque pequeñas alteraciones en el medio pueden impactar notablemente el desarrollo del cultivo. Esto subraya la importancia de un monitoreo individualizado en cada reactor para detectar y corregir oportunamente cualquier desviación que pueda afectar el crecimiento poblacional.

## Conclusiones

Durante un periodo compuesto por días de evaluación, *Lemna minor* mostró un crecimiento acorde con el modelo logístico en los reactores 1, 2 y 4, con ajustes al modelo superiores al 99,99% ( $R^2 \approx 1$ ). En estos reactores, el número de frondas aumentó en proporciones de 2,6 (R1), 2,1 (R2) y 2,57 (R4) veces respecto al valor inicial.

En contraste, el reactor 3 presentó una caída del 62% en el número de frondas al tercer día, con errores cuadráticos acumulados altos (hasta 3520,44), y desviación estándar final de 41,96, lo que indica una desviación significativa del comportamiento esperado.

La adición de glucosa al medio Swedish Standard (SIS) favoreció el crecimiento en términos de número de frondas y área proyectada en la mayoría de los casos, pero también evidenció efectos de estrés en fases finales, posiblemente relacionados con la acumulación de metabolitos o limitaciones en el nitrógeno disponible.

No se estableció una cuantificación directa del efecto del nitrógeno de forma aislada, pero la combinación de glucosa y nutrientes inorgánicos parece tener un efecto sinérgico en la primera fase del crecimiento. Sin embargo, este efecto no fue sostenible en todos los reactores, lo cual sugiere que su impacto depende de una interacción más compleja de condiciones ambientales.

En términos del ajuste al modelo logístico, los parámetros obtenidos indican que, bajo condiciones controladas, *Lemna minor* puede alcanzar tasas de multiplicación rápida con bajo margen de error (desviaciones estándar  $<0,01$  en R1 y R2), pero con sensibilidad alta a perturbaciones, como se evidenció en R3.

---

## Recomendaciones

Se sugiere implementar una segunda fase del experimento incorporando replicaciones en cada uno de los tratamientos. Esta medida permitirá la estimación del error experimental, el cálculo de valores-p y la validación estadística formal de los efectos observados. De esta manera, se incrementará la solidez del modelo ANOVA utilizado, permitiendo la aplicación de contrastes estadísticos confiables que fortalecerán la interpretación de los resultados y las conclusiones derivadas del estudio.

En concordancia con lo anterior, se recomienda aumentar los grados de libertad del análisis mediante un incremento del número de repeticiones. Así mismo, se plantea la posibilidad de introducir niveles intermedios de los factores evaluados, como glucosa y nitrógeno, con el fin de explorar posibles relaciones no lineales entre los tratamientos y la respuesta del cultivo. Esta estrategia podría conducir a la adopción de un diseño factorial más complejo o a la implementación de un modelo de superficie de respuesta (RSM) que permita una optimización más precisa de las condiciones experimentales. Para complementar y fortalecer la interpretación de la variable de respuesta principal el número final de frondas, se propone incorporar análisis morfológicos a nivel celular. En este sentido, la aplicación de técnicas de microscopía óptica o estereoscópica permitiría observar estructuras internas y detectar posibles diferencias anatómicas derivadas de los tratamientos. Además, se recomienda utilizar herramientas de análisis digital de imágenes, como el software ImageJ, con el propósito de cuantificar variables complementarias como el área de las frondas, la tasa de crecimiento relativa mediante la comparación temporal de imágenes y la densidad de estructuras celulares, en caso de que se realicen cortes histológicos adecuados.

En función de los resultados preliminares obtenidos, se sugiere priorizar en futuras pruebas aquellas combinaciones de tratamiento que involucren niveles altos tanto de glucosa como de nitrógeno, ya que estos mostraron una posible interacción sinérgica favorable para el desarrollo del cultivo. Adicionalmente, se podría considerar la inclusión de nuevos factores experimentales, tales como micronutrientes, intensidad de luz o temperatura, como parte de diseños multifactoriales que permitan una evaluación más integral del sistema biológico en estudio.

## Referencias Bibliográficas

- (ISO), I. O. f. S. (2005). Water quality — Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (*Lemna minor*) — Duckweed growth inhibition test. In *Final draft ISO/DIS 20079*. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- (SIS), S. S. I. (1995). *Water quality — Determination of growth inhibition (7-d) Lemna minor, Duckweed*. In (pp. 15 ). Stockholm, Sweden: Swedish Standards Institute.
- Albertó, E. O. (1995). *Estudio taxonómico, de cultivo axenico y posibilidad de adaptación al cultivo industrial, de las especies silvestres del género Agaricus (basidiomycetes, agaricales)* Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales].
- Appenroth, K. J., Borisjuk, N., & Lam, E. (2013). Telling duckweed apart: genotyping technologies for the Lemnaceae. *Chin. J. Appl. Environ. Biol*, 19(1), 1-10.
- Arias, A., Ramirez, A., Fernandez, V., & Sanchez, N. E. (2016). The use of Common Duckweed (*Lemna mino*) in the treatment of wastewater from the washing of sisal fiber (*Furcraea bedinghausii*). *Ingeniería y competitividad*, 18(2), 25-34.
- Benghaffour, A., Dewez, D., & Azzouz, A. (2023). Correlation of pesticide ecotoxicity with clay mineral dispersion effect on adsorption and ozonation—An approach through impact assessment on *Lemna minor*. *Applied Clay Science*, 241, 107001.
- Blaydes, D. F. (1966). Interaction of kinetin and various inhibitors in the growth of soybean tissue. *Physiologia Plantarum*, 19(3), 748-753.
- Botero-Álvarez, C., Montoya-Moreno, Y., Aguirre-Ramírez, N. J., de Jesús Vélez-Macías, F., & Hernández-Atilano, E. (2020). Vegetación acuática y semiacuática en tres ríos altoandinos y su relación con la fisicoquímica del agua. *Revista politécnica*, 16(31), 138-150.
- Caicedo Tapia, E. M. (2024). *Evaluación morfológica y análisis del estado de la vegetación para la restauración ecológica de la cuenca del río Buenavista Jipijapa-Unesum*].
- Capriotti, G., & Silvina, P. (2018). Evaluación del potencial depurador y fermentativo de ecotipos de lenteja de agua (*Lemna sp.*). In: XXVI Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM. Universidad Nacional de Cuyo.
- Caviedes Rubio, D. I., Delgado, D. R., & Olaya Amaya, A. (2016). Remoción de metales pesados comúnmente generados por la actividad industrial, empleando macrófitas neotropicales. *Producción+ Limpia*, 11(2), 126-149.
- Ceschin, S., Sgambato, V., Ellwood, N. T. W., & Zuccarello, V. (2019). Phytoremediation performance of *Lemna* communities in a constructed wetland system for wastewater treatment. *Environmental and experimental botany*, 162, 67-71.
- Chávez, D. C. N., Barcos, L. L. Z., López, S. Y. M., & Coello, V. U. U. (2024). Evaluación de especies vegetales *Eichhornia Crassipes*; *Lemna minor* L para el tratamiento de lixiviados del relleno sanitario del Cantón Santa Lucía-Guayas. *Pro Sciences: Revista de Producción, Ciencias e Investigación*, 8(51), 59-85.
- Classic Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. plant*, 15, 473-497.
- Corporation, M. (2021). *Microsoft Excel*. In (Version 16.0)
- Coughlan, N. E., Walsh, É., Ahern, R., Burnell, G., O'Mahoney, R., Kuehnhold, H., & Jansen, M. A. (2022). Flow rate and water depth alters biomass production and phytoremediation capacity of *Lemna minor*. *Plants*, 11(16), 2170.

- Cuello, L. F. S., Hernández, L. F. R., & Miranda, J. P. R. (2016). Determinación de la tasa relativa de crecimiento de la *Lemna minor* sp en el tratamiento de efluentes de un sistema de tratamiento de aguas residuales municipales. *I+ D Revista de Investigaciones*, 7(1), 91-97.
- De Las Heras, E. (2001). Disoluciones, diluciones y densidad 9. In: McGraw Hill.
- Del Cauca, G. D. V. (2015). Gobernación del Valle del Cauca. In: Retrieved.
- Dimas, S. (2025). *Lemna minor* In.
- Driever, S. M., van Nes, E. H., & Roijackers, R. M. (2005). Growth limitation of *Lemna minor* due to high plant density. *Aquatic Botany*, 81(3), 245-251.
- Feo, K. O. I. (2013). *Potencial de producción de biomasa para la generación de energía a partir de sistemas de tratamiento de aguas residuales con base a humedales artificiales de medio suspendido (Municipios de Colombia menores a 30.000 habitantes)* Pontificia Universidad Javeriana].
- Flotats Ripoll, X. (2021). La necesidad de una gestión integral de los nutrientes. *RETEMA: revista técnica de medio ambiente*(235), 120-125.
- Gallardo, L. I. (2017). Colectividades de macroinvertebrados asociados a la vegetación acuática y grupos tróficos funcionales en lagunas de Corrientes (Argentina).
- Gamborg, O. L. c., Miller, R. A., & Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental cell research*, 50(1), 151-158.
- Godoy Silva, R. D. (2025). Protocolo de purificación cepa <em data-end="684" data-start="671">*Lemna minor*. In (Documento interno no publicado, disponible en archivos del investigador. ed.). Colombia.
- González, A. M. (2018). ImageJ: una herramienta indispensable para medir el mundo biológico.
- GONZÁLEZ, S. R. (2024). Fitorremediación de la bacteria *E. coli* mediante la planta acuática *Lemna minor* como solución para la contaminación en la barranca Amanalco.
- Gorham, P. R. (1950). Heterotrophic nutrition of seed plants with particular reference to *Lemna minor* L. *Canadian Journal of Research*, 28(3), 356-381.
- Graziano da Silva, J., Jales, M., Rapallo, R., Díaz-Bonilla, E., Girardi, G., del Grossi, M.,...Rodrigues, M. (2021). *Sistemas alimentarios en América Latina y el Caribe: Desafíos en un escenario pospandemia*. Food & Agriculture Org.
- Herawati, V. E., Pinandoyo, P., Darmanto, Y., Rismaningsih, N., Windarto, S., & Radjasa, O. K. (2020). The effect of fermented duckweed (*Lemna minor*) in feed on growth and nutritional quality of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(7).
- Hernández Paredes, A. L. (2011). *Aislamiento, purificación e identificación de cepas de microalgas del litoral Atlántico de Guatemala, como un primer paso para la investigación futura con finos farmacéuticos de los especímenes encontrados*. universidad de san carlos de guatemala ]. Guatemala
- Hesse, H., Trachsel, N., Suter, M., Kopriva, S., von Ballmoos, P., Rennenberg, H., & Brunold, C. (2003). Effect of glucose on assimilatory sulphate reduction in *Arabidopsis thaliana* roots. *Journal of Experimental Botany*, 54(388), 1701-1709.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1938). The water-culture method for growing plants without soil.
- Horemans, N., Van Hees, M., Saenen, E., Van Hoeck, A., Smolders, V., Blust, R., & Vandenhove, H. (2016). Influence of nutrient medium composition on uranium toxicity and choice of the most sensitive growth related endpoint in *Lemna minor*. *Journal of environmental radioactivity*, 151, 427-437.

- Iqbal, J., Javed, A., & Baig, M. A. (2019). Growth and nutrient removal efficiency of duckweed (*Lemna minor*) from synthetic and dumpsite leachate under artificial and natural conditions. *PloS one*, 14(8), e0221755.
- Ishizawa, H., Tada, M., Kuroda, M., Inoue, D., Futamata, H., & Ike, M. (2020). Synthetic bacterial community of duckweed: a simple and stable system to study plant-microbe interactions. *Microbes and environments*, 35(4), ME20112.
- Jaimes Prada, O., Lora Díaz, O., & Tache Rocha, K. (2024). Lenteja de agua (*Lemna minor*): potencial alimentario y ambiental. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 15(2), 404-424.
- Jaramillo Jumbo, M. D. C., & Flores Campoverde, E. D. (2012). Fitorremediación mediante el uso de dos especies vegetales *Lemna minor* (Lenteja de agua), y *Eichornia crassipes* (Jacinto de agua) en aguas residuales producto de la actividad minera
- Kellaf, N., & Zardoui, M. (2010). Growth, photosynthesis and respiratory response to copper in *Lemna minor*: a potential use of duckweed in biomonitoring. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 7(4), 299-306.
- Khvatkov, P., Chernobrovkina, M., Okuneva, A., & Dolgov, S. (2019). Creation of culture media for efficient duckweeds micropropagation (*Wolffia arrhiza* and *Lemna minor*) using artificial mathematical optimization models. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 136, 85-100.
- Knop, W. (1865). Quantitative Untersuchungen uber die Ernahrungsprozesse der Pflanze. *Die Landwirtschaftlichen Versuchs-Stationen*, 7, 93-107.
- Landolt, E. (1987). The family of Lemnaceae-a monographic study. *Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae)*, 2.
- Li, X., Wu, S., Yang, C., & Zeng, G. (2020). Microalgal and duckweed based constructed wetlands for swine wastewater treatment: A review. *Bioresource Technology*, 318, 123858.
- Melo Franco, J. Y. b. d.-e. d.-s., & Ruiz Murcia, J. F. (2025). *Informe de Predicciones Climáticas a Corto, Mediano y Largo Plazo*
- MERCURY, C. N. W. T. EVALUACIÓN DE LA PLANTA *Lemna minor* COMO BIORREMEDIADORA DE AGUAS CONTAMINADAS CON MERCURIO.
- Mohan, B., & Hosetti, B. (1999). Aquatic plants for toxicity assessment. *Environmental research*, 81(4), 259-274.
- Moody, M., & Miller, J. (2005). *Lemna minor* growth inhibition test. In *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations: Toxicity Test Methods* (pp. 271-298). Springer.
- Moronta, R., Mora, R., & Morales<sup>1</sup>, E. (2006). Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 23(1), 28-43.
- OECD, S. (2022). Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). In.
- Ortega-Acosta, O., López-López, E., Rodríguez-Tovar, A. V., Guerrero-Zúñiga, L. A., & Rodríguez-Dorantes, A. M. (2017). Análisis funcional comparativo de fitobacterias productoras de ácido indolacético aisladas de plantas *Lemna gibba* de la zona chinampera de Xochimilco, México. *Hidrobiológica*, 27(2), 153-161.
- Osorio, Y. N., Vázquez, R. d. J. C., Jarero, J. R., & Cervera, J. R. L. (2007). Evaluación del proceso de descomposición aeróbica de *Egeria densa* como alimento potencial para especies acuáticas. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 8(4), 1-12.

- Palacios-Morales, L., Paulin-Barragan, J., González-Lasso, V., & Peñuela-Garzón, E. (2018). Evaluación de un sistema acuapónico en la granja integral del PEAMA Sumapaz. *Ingeniería y Región*, 20, 117-124.
- Posner, H. B. (1971). Inhibitory Effect of Carbohydrate on Flowering in *Lemna perpusilla*: III. Effects of Respiratory Intermediates, Amino Acids, and CO<sub>2</sub>. Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase Activity. *Plant Physiology*, 48(3), 361-365.
- Pérez-Alonso, N., & Jiménez, E. (2011). Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biotecnología vegetal*, 11(4).
- Ramírez Babativa, D. F. (2019). Adaptación del método acreman para la limpieza de plantas en *lemna minuta* (araceae: lemnoideae). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 128-134.
- Rock, B., Suriyan, J., Vijay, B., Thalha, N., Elango, S., & Rajajeyakumar, M. (2017). Organic food and health: a systematic review. *Journal of community medicine & Health Education*, 7(3), 1-7.
- Rodríguez, J. H. V., Gavin-Moyano, C., Aveiga, M. d. R. V., Mata, J. D. O., Carrasco, J. D. S., Vidal, L. R. L., & Mata, B. E. G. (2025). Chemical study of the macrophyte duckweed (*Lemna minor* L.). *REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA*, 42(1).
- Rojas Medina, T. (2024). Uso de ImageJ como herramienta para las ciencias y tecnologías de los alimentos.
- Schenk, R. U., & Hildebrandt, A. (1972). Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Canadian journal of botany*, 50(1), 199-204.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2098>
- Silveira, L. d., Menezes, E. S., Mucida, D. P., Pereira, I. M., Santos, J. d., & Oliveira, M. d. (2018). The use of the ImageJ software in the estimation of exposed substrate after control of invasive grasses.
- Sree, K. S., & Appenroth, K.-J. (2022). Starch accumulation in duckweeds (Lemnaceae) induced by nutrient deficiency. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 34(3), 204-212.
- StatPoint Technologies, I. (2023). *Statgraphics Centurion 19*. In StatPoint Technologies, Inc.
- Steinberg, R. A. (1946). Mineral requirements of *Lemna minor*. *Plant Physiology*, 21(1), 42.
- Tilaki, R. D. (2010). Effect of glucose and lactose on uptake of phenol by *Lemna minor*. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 7(2), 123-128.
- Van Dyck, I., Vanhoudt, N., i Batlle, J. V., Horemans, N., Nauts, R., Van Gompel, A.,...Vangronsveld, J. (2021). Effects of environmental parameters on *Lemna minor* growth: An integrated experimental and modelling approach. *Journal of environmental management*, 300, 113705.
- Van Dyck, I. b. d.-e. d.-s., Vanhoudt, N. b. d.-e. d.-s., Vives i Batlle, J. b. d.-e. d.-s., Horemans, N. b. d.-e. d.-s., Van Gompel, A. b. d.-e. d.-s., Nauts, R. b. d.-e. d.-s., & Vangronsveld, J. (2023). Effects of environmental parameters on starch and soluble sugars in *Lemna minor*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 200((leave blank)), 107755. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107755>
- Van Eck, N. J., Waltam, Ludo. (2022). VOSviewer: A free software for visualizing and exploring bibliometric data. In.

- Van Hoeck, N., Watson, P. D., & Barbey, A. K. (2015). Cognitive neuroscience of human counterfactual reasoning. *Frontiers in human neuroscience*, 9, 420.
- Zambrano Intriago, H. A. (2023). *Diseño de un Biofiltro utilizando Lemna minor (Lenteja de agua) y Eichhornia Crassipes (Jacinto de agua) para la captación de metales pesados (CD, CR Y PB) del Ramal B del estero salado Guayaquil-Ecuador*
- Zaro, M. J. (2014). *Análisis de factores que afectan la acumulación, distribución y estabilidad de antioxidantes de naturaleza fenólica en berenjena (Solanum melongena L.)* Universidad Nacional de La Plata].
- Zayed, A., Gowthaman, S., & Terry, N. (1998). *Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed* (0047-2425).
- Ziegler, P., Sree, K., & Appenroth, K.-J. (2016). Duckweeds for water remediation and toxicity testing. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 98(10), 1127-1154.
- Zulfiqar, F., Moosa, A., Ali, H. M., Bermejo, N. F., & Munné-Bosch, S. (2024). Biostimulants: A sufficiently effective tool for sustainable agriculture in the era of climate change? *Plant Physiology and Biochemistry*, 108699.
- Kensa, VM (2011). Biorremediación: una visión general. *Revista de Control de la Contaminación Industrial* , 27 (2), 161-168.
- Ramalho, R. S. (2021). *Tratamiento de aguas residuales*. Reverté.
- Mare Nostrum (2025) *¿Que podemos aprender de la bioacumulacion y su impacto en el ambiente?*. Mare Nostrum Business School.
- EduLabC (2021) *Medios de cultivo*. Educación sobre laboratorio clínico.
- Cayre, M., VIGNOLO, G., & Garro, O. (2001). Validación y comparación de modelos de crecimiento microbiano. *Universidad Nacional Del Nordeste, Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Argentina*.
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales – IDEAM (2020). Boletín agroclimático regional del Valle del Cauca.