

Tolerancia de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) a elevadas concentraciones de amonio en la solución nutritiva*

Tolerance of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn) to high ammonium concentrations in nutrient solution

Armando Hernández-Pérez¹, Oscar Gabriel Villegas-Torres^{1§}, Luis Alonso Valdez-Aguilar², Irán Alia-Tejagal¹, Víctor López-Martínez y Martha Lilia Domínguez-Patiño³

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, ³Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería-Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Av. Universidad 1001, Colonia Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México, C. P. 62209. Tel: 017773297046. (hernandez865@hotmail.com; ijac96@yahoo.co.mx; vilomar.leo@gmail.com; martha_ldp@yahoo.com.mx). ²Departamento de Horticultura-Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. C. P. 25315. Tel. 018444110200. (luisalonso_valdez@uaaan.mx). [§]Autor para correspondencia: voscar66@yahoo.com.mx.

Resumen

Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) es una especie ornamental que se cultiva para producir flores de corte o plantas en maceta y que tiene potencial de comercialización por su variedad de colores. El uso de la tecnología de cultivos sin suelo en las especies ornamentales permite definir y precisar la demanda y los niveles óptimos de nutrición. En el presente estudio se planteó el objetivo de evaluar el efecto de la relación $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva, manteniendo constante la concentración total de nitrógeno, para definir la máxima tolerancia al NH_4^+ en función de la etapa fenológica. Las soluciones que se estudiaron consistieron en cuatro relaciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$: 100:0, 75:25, 50:50 y 25:75%. La mayoría de las variables respuesta evaluadas permitió definir una relación óptima de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ entre los 75:25 y 50:50% en la fase vegetativa y reproductiva, intervalo que en la mayoría de especies vegetales serían tóxicas a estos niveles de NH_4^+ . Lo anterior fue observado en parámetros como la altura de planta, el diámetro de tallo, el área foliar y peso seco total de planta. La concentración excesiva de NH_4^+ (75%) provocó una disminución en la altura de la planta, diámetro de flor y peso seco total de la planta. El aumento de la proporción de NH_4^+ estuvo relacionado a un incremento de las concentraciones

Abstract

Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn) is an ornamental species grown to produce cut flowers or potted plants and has a trade potential for its variety of colors. The use of soilless cultivation technology in ornamental species allows defining and clarifying the demand and optimal levels of nutrition. The present study aimed to evaluate the effect of the relationship $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ in the nutrient solution, keeping constant total concentration of nitrogen to define the maximum tolerance to NH_4^+ in function of the phenological stage. The solutions under study consisted on four ratios of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$: 100:0, 75:25, 50:50 and 25:75%. Most variables responses allowed defining an optimal ratio of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ between 75:25 and 50:50% in vegetative and reproductive stage, interval that in most plant species would be toxic at these levels of NH_4^+ . This was observed in parameters such as plant height, stem diameter, leaf area and total dry weight of plant. Excessive concentration of NH_4^+ (75%) caused a reduction in plant height, flower diameter, and total dry weight of plant. The increase in ratio of NH_4^+ was associated with increased concentrations of N, P, K, Ca and Mg in leaf and stem, but in flower was less marked for K and Mg. The extraction of these macronutrients showed the same trend.

de N, P, K Ca y Mg en la hoja y tallo, pero en la flor fue menos marcada para K y Mg. La extracción estos macronutrientes presentó la misma tendencia.

Palabras clave: nitrato/amonio, nutrición, ornamentales, solución nutritiva, tezontle, toxicidad.

Introducción

El crecimiento de las plantas hortícolas y ornamentales depende en gran medida de una adecuada nutrición mineral. El nitrógeno (N) es el nutriente mineral requerido en más elevadas cantidades y su disponibilidad es un factor importante para el crecimiento y el desarrollo de las plantas (Kraiser *et al.*, 2011). Las diferentes formas de N, ya sea nitrato (NO_3^-) o amonio (NH_4^+), tienen impacto en algunos procesos fisiológicos y bioquímicos (Guo *et al.*, 2007). La sensibilidad de las plantas al NO_3^- y NH_4^+ es afectada por las condiciones ambientales como temperatura, intensidad luminosa, contenido de agua del suelo, pH y iones del medio de crecimiento (Kotsiras *et al.*, 2005). La adición de NH_4^+ a una solución nutritiva (SN) que contenga NO_3^- maximiza la eficiencia de absorción de N y promueve un mejor crecimiento cuando las condiciones son favorables (Bugarin *et al.*, 1998).

El crecimiento vegetativo y reproductivo de plantas de berenjena se puede manipular sin causar daños mediante el suministro de N a base de NH_4^+ , siempre y cuando la edad de las plantas, las reservas de carbohidratos de las raíces, la cantidad de NH_4^+ suministrado y el pH del medio de crecimiento sean favorables (Claussen y Lenz, 1995). La mayor energía requerida para la asimilación de NO_3^- al parecer disminuye el transporte de electrones en las mitocondrias de las células de la raíz, lo que implica que los requerimientos energéticos para la absorción y asimilación del NO_3^- y NH_4^+ constituyen una porción significativa de la respiración por parte de las raíces de plantas de cebada (Bloom *et al.*, 1992).

Plantas de tomate mostraron una reducción en el crecimiento de hojas y raíces, así como una disminución en el peso fresco de fruto y un aumento de la pudrición apical cuando la proporción de NH_4^+ fue aumentada; asimismo, el contenido de N aumentó y el de calcio (Ca), fósforo (P), potasio (K) y magnesio (Mg) en las hojas disminuyó (Razi y Aziz, 1995). En plantas de cebollín se incrementó el área foliar y la producción de biomasa total con una relación $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ de 100:0%.

Keywords: nitrate /ammonium, nutrition, nutrient solution, ornamental, tezontle, toxicity.

Introduction

The growth of horticultural and ornamental plants depends largely on proper mineral nutrition. Nitrogen (N) is the mineral nutrient required in higher quantities and their availability is an important factor for growth and development of plants (Kraiser *et al.*, 2011). The different forms of N, either nitrate (NO_3^-) or ammonium (NH_4^+), have impact on some physiological and biochemical processes (Guo *et al.*, 2007). The sensitivity of plants to NO_3^- and NH_4^+ is affected by environmental conditions such as temperature, light intensity, soil water content, pH and ions in growth medium (Kotsiras *et al.*, 2005). The addition of NH_4^+ to a nutrient solution (SN) containing NO_3^- maximizes the efficiency of N uptake and promotes better growth when conditions are favorable (Bugarin *et al.*, 1998).

Vegetative and reproductive growth of eggplants can be manipulated without causing damage by providing N based on NH_4^+ , as long as plant age, carbohydrate reserves of the roots, amount of NH_4^+ supplied and pH of growth medium are favorable (Claussen and Lenz, 1995). The greater energy required for the assimilation of NO_3^- apparently decreases electron transport in the mitochondria of the cells of the root, which means that the energy requirements for the absorption and assimilation of NO_3^- and NH_4^+ constitute a significant portion of the respiration on behalf of the roots of barley plants (Bloom *et al.*, 1992).

Tomato plants showed a reduction in growth of leaves and roots, as well as a decrease in fresh weight of fruit and an increase of apical rotting when the rate of NH_4^+ was increased; also, the N content increased and calcium (Ca), phosphorus (P), potassium (K) and magnesium (Mg) in leaves decreased (Razi and Aziz, 1995). In chives plants leaf area and total biomass production increased with a $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ ratio of 100: 0%.

Anthurium showed an improvement in growth, development and flowering, when the concentration of NH_4^+ was increased to a 1/3 of total N (Dufour and Guérin, 2005). In chrysanthemum, by raising the supply NO_3^- from 10.5 to 13.5 meq L^{-1} in combination with a high ratio of NH_4^+ , the concentration of K, Mg and manganese (Mn) were higher in basal leaves and total

El anturio mostró una mejora en crecimiento, desarrollo y en la floración cuando se incrementó la concentración de NH_4^+ a un 1/3 parte del N total (Dufour y Guérin, 2005). En crisantemo, al elevar el suministro de NO_3^- de 10.5 a 13.5 meq L^{-1} en combinación con una relación alta de NH_4^+ , la concentración de K, Mg y manganeso (Mn) fueron mayores en hojas basales y la absorción total en las hojas se incrementó significativamente; asimismo, las diferentes concentraciones de NH_4^+ (1.5, 3 y 4.5 meq L^{-1}) permitieron obtener diferencias estadísticas en la concentración de P, K, Ca, Mg, Mn y Zn (Bugarín *et al.*, 1998).

Se ha señalado que para lograr un mayor rendimiento y mejor calidad de productos hortícolas se requiere aplicar la fertilización de acuerdo a las exigencias nutricionales del cultivo y en la época adecuada (Coraspe-León *et al.*, 2008), por lo que es necesario realizar estudios de nutrición óptima de acuerdo a las etapas fenológicas. Sin embargo, existen pocos estudios que determinen la forma en la cual un nutrimento como en N debe ser suministrado, ya sea como NO_3^- o como NH_4^+ , en función de la etapa fenológica de un cultivo; lo anterior es de importancia ya que si el N es suplementado con una alta proporción en forma de NH_4^+ , este puede ocasionar toxicidad en las plantas. El lisianthus pasa por tres fases de desarrollo: desarrollo radicular, alargamiento de tallo y emisión de tallos secundarios y aparición y desarrollo de los botones florales (Aguilar, 1996); sin embargo, también se ha reportado que lisianthus tiene dos fases de desarrollo: vegetativo y reproductivo (Akubuda *et al.*, 2005).

En el presente estudio se planteó el objetivo de evaluar el efecto de la relación $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ en la SN, manteniendo constante la concentración total de N, para definir la máxima tolerancia al NH_4^+ en función de la etapa fenológica en lisianthus de flor de corte, bajo la hipótesis de que la tolerancia a una alta proporción de NH_4^+ puede variar en función del estado fenológico.

Materiales y métodos

El experimento se llevó a cabo en 2012 en un invernadero tipo túnel en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Estado de Morelos, en Cuernavaca, Morelos. El invernadero, con una altura 3 m en la parte más alta y de 2 m en las paredes laterales, tenía una estructura metálica y el techo cubierto con una película plástica difusora con 75% de transmisión

absorption in leaves increased significantly; Also, different concentrations of NH_4^+ (1.5, 3 and 4.5 meq L^{-1}) allowed to obtain statistical differences in the concentration of P, K, Ca, Mg, Mn and Zn (Bugarín *et al.*, 1998).

It has been noted that achieving higher yield and better quality of horticultural products is necessary to apply fertilizer according to the nutritional needs of the crop and at the right time (Coraspe-León *et al.*, 2008), so it is necessary to perform studies on optimal nutrition according to phenological stages. However, there are few studies that determine the way in which a nutrient like N must be supplied, either as NO_3^- or NH_4^+ , depending on the phenological stage of the crop; the latter is of importance because if N is supplemented with a high proportion as NH_4^+ , this may cause toxicity in plants. Lisianthus passes through three stages of development: root development, stem elongation and emission of secondary stems and appearance and development of flower buds (Aguilar, 1996); however, it has also been reported that lisianthus has two stages of development: vegetative and reproductive (Akubuda *et al.*, 2005).

The present study aimed at evaluating the effect of the ratio $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ in the SN, keeping constant the total concentration of N, to define the maximum tolerance to NH_4^+ depending on the phenological stage of lisianthus for cut flower, under the hypothesis that tolerance to a high ratio of NH_4^+ may vary depending on the growth stage.

Materials and methods

The experiment was conducted in 2012 in a Quonset greenhouse in the experimental field of the Faculty of Agricultural Sciences at the University of Morelos, Cuernavaca, Morelos. The greenhouse, with a height of 3m at the highest point and 2 m in the sidewalls, had a metal frame and covered with a plastic film ceiling diffuser with 75% light transmission and walls covered with an anti-insect black mesh. The environmental conditions during the experiment included a minimum and maximum average temperature of 13.7 and 34.7 °C respectively, whereas the relative humidity ranged between 55% and 73%. Photosynthetically active radiation during daytime averaged 203 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Seedlings with two or three true leaves well spread of lisianthus cv. ABC Blue, were used; transplanted on May 28 in black polyethylene containers with a volume of 10 L. The

de luz y las paredes cubiertas con una malla anti-insecto de color negro. Las condiciones ambientales durante el experimento incluyeron una temperatura mínima y máxima promedio de 13.7 y 34.7 °C respectivamente, mientras que la humedad relativa osciló entre 55% y 73%. La radiación fotosintéticamente activa incidente diurna fue en promedio de 203 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Se utilizaron plántulas con dos y tres hojas verdaderas bien extendidas de *Lisianthus* cv. ABC Blue, las cuales fueron trasplantadas el 28 de Mayo en contenedores de polietileno negro con un volumen de 10 L. Los contenedores se llenaron con un sustrato a base de tezontle rojo cernido con partículas de 0.5-1 mm de diámetro. La unidad experimental consistió en un contenedor con cuatro plantas cada uno, para lo cual se plantaron cuatro plántulas cubriendo totalmente el cepellón; la distancia entre plantas fue de 12 cm y entre contenedor de 30 cm, obteniéndose así 64 plantas en cada fase crecimiento y un total de 128 plantas.

Las SN evaluadas fueron preparadas con agua de pozo considerando las propiedades químicas de la misma para la formulación. Los tratamientos consistieron en cuatro relaciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (100:00, 75:25, 50:50 y 25:75%). El pH de las soluciones se ajustó a 5.5 ± 0.1 con H_2SO_4 1N y la conductividad eléctrica varió entre 2.3 a 2.5 dS m^{-1} . Las cuatro relaciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ se diseñaron a partir de modificaciones de la solución universal de Steiner (1961). La solución de Steiner original no incluye el NH_4^+ como fuente de N, por lo que la modificación consistió en la adición de una determinada concentración de esta forma de N reduciendo una cantidad equivalente a la concentración total de N en forma de NO_3^- (12 me L^{-1}). Sin embargo, lo anterior disminuyó la concentración de relativa de los aniones (NO_3^- , H_2PO_4^- y SO_4^{2-}), dichos aniones deben de conservar la concentración total como la solución de Steiner (20 me L^{-1}), por lo que se incrementaron las concentraciones de H_2PO_4^- y SO_4^{2-} hasta igualar la concentración de NH_4^+ , manteniéndose la relación mutua de H_2PO_4^- y SO_4^{2-} .

La adición de NH_4^+ incrementó la concentración relativa de los cationes (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} y NH_4^+), por lo que la cantidad de NH_4^+ añadido se restó a las concentraciones de K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} , lo que permitió mantener la concentración total de los cationes (20 me L^{-1}), siempre manteniendo la relación mutua entre K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} . Las modificaciones anteriores provocaron un cambio en la presión osmótica de la SN, por lo que se ajustaron las concentraciones de los iones mediante un factor de corrección (0.024) propuesta por Steiner. La

containers were filled with a substrate based on red tezontle sifting particle diameter of 0.5-1 mm. The experimental unit consisted of a container with four plants each, for which four seedlings were planted covering completely the rootball; plant spacing was 12 cm and 30 cm between containers, thus obtaining 64 plants in each growth stage, with a total of 128 plants.

The assessed nutrient solutions were prepared with well water considering the chemical properties of the same for the formulation. Treatments consisted of four ratios $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (100:00, 75:25, 50:50 and 25:75%). The pH of the solutions was adjusted to 5.5 ± 0.1 with 1N H_2SO_4 and electrical conductivity ranged from 2.3 to 2.5 dS m^{-1} . The four ratios $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ were designed from modifications of the Steiner universal nutrient solution (1961). The original Steiner solution does not include NH_4^+ as source for N, so that the modification consisted in the addition of a given concentration of N reducing an amount equivalent to the total concentration of N as NO_3^- (12 me L^{-1}). However, the above decreased the relative concentration of anions (NO_3^- , H_2PO_4^- and SO_4^{2-}), these anions must retain the total concentration as the Steiner solution (20 me L^{-1}), so the concentration of H_2PO_4^- and SO_4^{2-} were increased to equal the concentration of NH_4^+ , maintaining the mutual relationship of H_2PO_4^- and SO_4^{2-} .

The addition of NH_4^+ increased the relative concentration of cations (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} and NH_4^+), so that the amount of NH_4^+ added was subtracted to concentrations of K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} , which allowed to maintain the total concentration of cations (20 me L^{-1}), always maintaining mutual relationship between K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} . The above modifications caused a change in the osmotic pressure of SN, so that ion concentrations were adjusted by a correction factor (0.024) proposed by Steiner. The concentration of the four SN results of the ratios $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ is shown in Table 1, while micronutrients were (mg L^{-1}), iron (Fe) 5, copper 0.02, Zn 0.11, molybdenum 0.05, Mn 0.65 and boron 0.5. Fe was supplied as Fe-EDTA. Nutrient sources used for the preparation of the nutrient solutions were fertilizer grade, using calcium nitrate (which was considered the percentage of NH_4^+ that provides this fertilizer) and calcium sulfate dihydrate as a source for Ca^{2+} .

Irrigation was carried out manually according to water needs of plants, which was determined visually by the color change of the substrate from wet to dry, applying a sufficient volume of SN to keep a fraction of 25% of leachate;

concentración de las cuatro SN resultado de la relación $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ se muestra en el Cuadro 1, en tanto que la de micronutrientes fue (mg L^{-1}): hierro (Fe) 5, cobre 0.02, Zn 0.11, molibdeno 0.05, Mn 0.65 y boro 0.5. El Fe se aportó como Fe-EDTA. Las fuentes de los nutrientes utilizados para la preparación de las soluciones nutritivas fueron grado fertilizante, empleándose nitrato de calcio (el cual se consideró el porcentaje de NH_4^+ que aporta este fertilizante) y sulfato de calcio dihidratado como fuentes del Ca^{2+} .

irrigation frequency was every other day. On the third day after transplantation the corresponding irrigation with SN for each treatment initiated.

The experiment finished at 100 days after transplantation; the evaluation of the vegetative phase (45 days) was performed when the flower bud emerged and growth of lateral buds was detected. Three plants from each container were taken and were subjected to a washing root system with water to

Cuadro 1. Concentración de macronutrientes de las soluciones nutritivas evaluadas.

Table 1. Concentration of macronutrients in the nutrient solutions evaluated.

$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (%)	NO_3^- (me L^{-1})	H_2PO_4^- (me L^{-1})	SO_4^{2-} (me L^{-1})	Ca (me L^{-1})	K (me L^{-1})	Mg (me L^{-1})	NH_4^+ (me L^{-1})	PO (atm)
100:00	12	1	7	9	7	4	0	0.72
75:25	9.102	1.391	9.735	7.74	6.02	3.44	3.03	0.72
50:50	6.138	1.79	12.532	6.445	5.013	2.864	6.138	0.72
25:75	3.103	2.199	15.395	5.123	3.984	2.277	9.314	0.72

PO= presión osmótica.

Los riegos se efectuaron manualmente según las necesidades hídricas de las plantas determinándose de manera visual por el cambio de color del sustrato húmedo a seco aplicando un volumen suficiente de la SN para mantener una fracción de lixiviado de 25%; la frecuencia de riego fue cada tercer día. Al tercer día después del trasplante se iniciaron los riegos con la SN correspondiente a cada uno tratamientos.

El experimento finalizó a los 100 días después del trasplante; la evaluación de la fase vegetativa (45 días) se realizó cuando se detectó la aparición del botón floral y el crecimiento de las yemas laterales. Se tomaron tres plantas en cada contenedor y fueron sometidas a un lavado del sistema radicular con agua potable para eliminar el exceso de sustrato; posteriormente las plantas se separaron en raíz, tallo y hojas. Los órganos separados se introdujeron en un horno de secado a 65 °C durante 72 h para posteriormente registrar el peso de la materia seca utilizando una balanza digital marca Scientech®. Otras variables evaluadas fueron: altura de planta y diámetro de tallo (entre el tercero y cuarto par de hojas), el área foliar (LI-3100, LI-COR, Lincoln, Nebraska) y índice de contenido relativo de clorofila (SPAD-Minolta).

En la fase reproductiva, la cual tuvo una duración de 55 días, las mediciones se efectuaron cuando se detectó la apertura floral completa de dos botones florales por planta en 95% de las plantas. Se estudiaron las variables mencionadas en la fase anterior más el diámetro de flor y se determinó la concentración de macronutrientes en hojas, tallos y flores

remove excess of substrate; then the plants were separated into root, stem and leaves. The separate organs were placed in a drying oven at 65 °C for 72 h to record the weight of dry matter on a digital scale Scientech®. Other variables evaluated were: plant height and stem diameter (between the third and fourth pair of leaves), leaf area (LI-3100, LI-COR, Lincoln, Nebraska) and relative index of chlorophyll content (SPAD-Minolta).

In the reproductive phase, which lasted 55 days, measurements were made when full floral opening of two buds per plant on 95% of the plants was detected. These variables were studied in the previous phase plus the diameter of flower and macronutrient concentration in leaves, stems and flowers was determined in this stage. Tissues were digested in a mixture 2:1 H_2SO_4 : HClO_4 and 2 ml of H_2O_2 at 30% and the digested samples were analyzed for N with Micro-Kjeldahl (Bremner, 1996), while the concentration of P, K, Ca and Mg was performed through inductively couple plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES, model Liberty, VARIAN, Santa Clara, CA) (Soltanpour *et al.*, 1996). Extraction of macronutrients was determined considering the dry matter and the concentration of these in the different organs of the aerial part of the plant, the sum of the extraction of the different organs of the aerial part represented the total extraction per plant.

The experimental design was a randomized complete block with four replicates per treatment; each replication consisted of a container with four plants. The data was subjected

en esta fase. Los tejidos se digitaron en una mezcla de 2:1 de $\text{H}_2\text{SO}_4\text{:HClO}_4$ y 2 ml de H_2O_2 al 30% y las muestras digeridas fueron analizadas para N con el procedimiento de Micro-Kjeldahl (Bremner, 1996), mientras que la concentración de P, K, Ca y Mg se realizó con espectrómetro de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES, model Liberty, VARIAN, Santa Clara, CA) (Soltanpour *et al.*, 1996). La extracción de macronutrientes se determinó considerando la materia seca y la concentración de estos en los diferentes órganos de la parte aérea de la planta, la sumatoria de la extracción de los diferentes órganos de la parte aérea representó la extracción total por planta.

El diseño experimental utilizado fue el de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones por cada tratamiento; cada repetición consistió de un contenedor con cuatro plantas. Los datos obtenidos se sometieron en un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias fue de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha \leq 0.05$) utilizando el programa Statistical Analysis Systems (SAS) versión 9.2.

Resultados

Crecimiento

El crecimiento fue afectado por la proporción de NO_3^- y NH_4^+ en la SN. En la fase vegetativa (FV), las plantas nutridas con soluciones conteniendo 50:50 y 25:75 de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ no mostraron diferencias significativas y se observó una mayor altura que las plantas que recibieron otra proporción (Cuadro 2). Sin embargo, en la fase reproductiva (FR) con la proporción de 25:75 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ las plantas mostraron una disminución de la altura (Cuadro 2). El diámetro de los tallos fue mayor en plantas nutridas con soluciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ iguales a 75:25 en la FV, mientras que en la FR esta misma variable no fue afectada por los tratamientos (Cuadro 2).

El área foliar si mostró efectos negativos al aumentar la concentración de NH_4^+ en las soluciones ya que fue menor en plantas nutridas con soluciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ igual a 25:75 en la FV, mostrando la misma tendencia en la FR (Cuadro 2). Las plantas nutridas con soluciones testigo (100:00) fueron las que presentaron mayor diámetro de las flores (Cuadro 2). El índice de contenido relativo de clorofila fue afectado por los tratamientos pues las plantas nutridas con soluciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ igual a 75:25 registraron valores altos en la FV, pero en la FR no fueron afectados por las diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (Cuadro 2).

to analysis of variance (ANOVA) and mean comparison was according to Tukey test ($\alpha \leq 0.05$) using the Statistical Analysis Systems (SAS) version 9.2.

Results

Growth

Growth was affected by the ratio NO_3^- and NH_4^+ in SN. In the vegetative stage (FV), the plants fed with solutions containing 50:50 and 25:75 of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ showed no significant differences and greater height was observed than plants that received another ratio (Table 2). However, in reproductive phase (FR) with ratio 25:75 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ plants showed a decrease in height (Table 2). The diameter of the stems was higher in plants fed with solutions $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ equal to 75:25 in FV, while in FR the same variable was not affected by the treatments (Table 2).

Leaf area did show negative effects by increasing the concentration of NH_4^+ in the solutions, as it was lower in plants fed with solutions of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ equal to 25:75 in FV, showing the same trend in FR (Table 2). Plants fed with control solution (100:00) were those that showed higher diameter of flowers (Table 2). The relative index of chlorophyll content was affected by the treatments because the plants fed with solutions of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ equal to 75:25 recorded high values in FV, but in FR were not affected by the different ratios of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (Table 2).

Dry matter

Total dry matter and from the different organs was significantly affected by the ratio NH_4^+ was in SN (Figure 1). In FV, leaves showed a tendency to increase the dry matter (MSH) as the ratio of NH_4^+ increased, recording a greater weight when the ratio was equal to 75:25 and showing a quadratic relationship with an increase of the ratio of NH_4^+ (Figure 1). However, in FR, leaf dry matter showed no significant differences with the increase of the ratio of NH_4^+ , but this was quadratic associated with the concentration of NH_4^+ in the solutions (Figure 1).

Stem dry matter (MST) was higher with the increase of the ratio of NH_4^+ , showing its peak in the ratio 50:50 in FV (Figure 1). In FR this variable increased with the increase of the ratio of NH_4^+ reaching its highest value in 75:25 and

Cuadro 2. Efecto de la proporción de NO_3^- y NH_4^+ en la solución nutritiva aplicadas durante la fase vegetativa (V, desarrollo de raíces y alargamiento de tallo) o reproductiva (R, aparición y crecimiento de botón floral) en *lisianthus* cv. ABC Blue.
Table 2. Effect of the ratio NO_3^- and NH_4^+ in the nutrient solution applied during the vegetative phase (V, root development and stem elongation) or reproductive (R, emergence and growth of flower bud) in *lisianthus* cv. ABC Blue.

Tratamiento $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (%)	Altura de planta (cm)		Diámetro de tallo (mm)		Área foliar (cm^2)		Diámetro de flor (mm)	ICRC ^z (SPAD)	
	V	R	V	R	V	R	R	V	R
100:00	25.2b ^y	83.4a	2.5bc	4.3	190.4a	554.5a	100.6a	59.2b	71.5
75:25	25b	83.7a	2.9a	4.1	190.1a	496.2ab	98.7b	64a	71.2
50:50	28.5a	82.6a	2.6b	4.3	195.3a	479.5ab	95.3b	59.7b	70.7
25:75	31.2a	76.4b	2.3c	4.3	162.5b	448.4b	88.5c	60.4b	70.4
Anova ^x = $p \leq$	0.001	0.001	0.001	NS	0.001	0.01	0.001	0.001	NS
CV ^w (%)	5.4	1.9	4.5	12.5	1.6	7.5	1.7	1.9	3.5
DMS ^u	3.3	3.3	0.26	1.2	6.7	81.5	3.5	2.5	5.4

^zICRC= índice de contenido relativo de clorofila; ^ymedias con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de Tukey con $p \leq 0.05$. NS= no significativo. ^xANOVA= análisis de varianza. ^wCV= coeficiente de variación. ^uDMS= diferencia mínima significativa.

Materia seca

La materia seca total y de los diferentes órganos fue significativamente afectada por la proporción de NH_4^+ fue en la SN (Figura 1). En la FV, la hoja mostró una tendencia a aumentar la materia seca (MSH) conforme aumentó la proporción de NH_4^+ , registrándose un mayor peso cuando la relación fue igual a 75:25 y presentando una relación cuadrática con el incremento de la proporción de NH_4^+ (Figura 1). Sin embargo, en la FR la materia seca de hoja no presentó diferencias significativas con el aumento de la proporción de NH_4^+ , pero éste estuvo asociado cuadráticamente con la concentración de NH_4^+ en las soluciones (Figura 1).

La materia seca de tallo (MST) fue mayor con el incremento de la proporción de NH_4^+ , mostrando su valor máximo en la relación 50:50 en la FV (Figura 1). En la FR ésta variable aumentó con el incremento de la proporción de NH_4^+ alcanzando su valor máximo en las relaciones 75:25 y 50:50, presentándose una relación cuadrática con la proporción de NH_4^+ (Figura 1). Con el aumento de la proporción de NH_4^+ en 75% disminuyó la materia seca de raíz, la cual estuvo asociada a una relación cuadrática con la proporción de NH_4^+ en la FV (Figura 1), mientras que en la FR la mayor materia seca se obtuvo con la proporción de 50:50, misma que mostró una asociación cuadrática con la proporción de NH_4^+ (Figura 1). La materia seca de la flor (MSF) en la FR fue mayor cuando la proporción de amonio fue de 50:50 mostró una tendencia cuadrática (Figura 1). En la FV la materia seca total de planta aumentó con una relación de 50:50 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$, en la FR la MST incrementó con forme aumento el amonio en la SN de 0, 25 y 50%, observándose la menor MST cuando se incrementó

50:50 ratio, having a quadratic relationship with the ratio of NH_4^+ (Figure 1). With the increase of the ratio of NH_4^+ in 75%, decreased root dry matter, which was associated with a quadratic relationship with the ratio NH_4^+ in FV (Figure 1), while in FR the highest dry matter was obtained with a ratio 50:50, same that showed a quadratic association with the ratio NH_4^+ (Figure 1). Dry matter of the flower (MSF) in FR was greater when the ammonium ratio was 50:50, showed a quadratic trend (Figure 1). In FV total dry matter of plant increased with a ratio of 50:50 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$, in FR, MST increased as ammonium increased in SN from 0, 25 and 50%, with the lower MST when increased the concentration in the SN to 75%, both phases showing a quadratic trend (Figure 1). The regression models are shown in Table 3.

Nutrient concentration

Stem

The concentration of macronutrients in plant stem was affected by the different ratios of NO_3^- and NH_4^+ in SN (Table 4). An increase of N concentration in stem occurred when the plants were fed with solutions containing a ratio of 75:25, however, when the proportion was equal to 50:50 and 25:75, the N concentration decreased (Table 4). The highest concentration of P, K and Mg in the stem was observed in treatments containing a ratio of NH_4^+ , there is no difference between them and being the control solution 100: 00 of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ which presented a lower concentration of these nutrients (Table 4).

la concentración en la SN al 75%, mostrando ambas fases una tendencia cuadrática (Figura 1). Los modelos de regresión se muestran en el Cuadro 3.

Calcium concentration in the stem tends to increase as the ratio of NH_4^+ was increased in SN, plants that were fed with a ratio of $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 50:50 and 25:75 had the highest

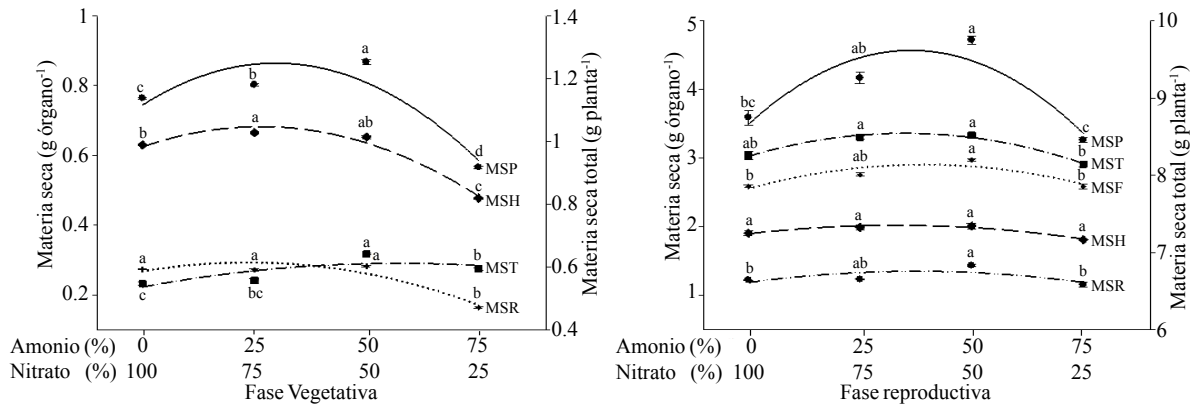


Figura 1. Efecto de las proporciones de NO_3^- y NH_4^+ en la solución nutritiva aplicadas durante la fase vegetativa o reproductiva en la acumulación de materia seca en los diferentes órganos de la planta de lisianthus y en la materia seca total. Las barras indican el error estándar de la media. Las letras a, b y c son las categorías obtenidas de la comparación de media con Tukey ($\alpha \leq 0.05$). MSP= materia seca de planta; MSH= materia seca de hoja; MST= materia seca de tallo MSF= materia seca de flor; MSR= materia seca de raíz.

Figure 1. Effect of ratios of NO_3^- and NH_4^+ in the nutrient solution applied during the vegetative or reproductive phase in dry matter accumulation in different organs of lisianthus and in total dry matter. Bars indicate standard error of the mean. Letters a, b and c are the categories obtained from mean comparison with Tukey ($\alpha \leq 0.05$). MSP= dry matter of plant; MSH= leaf dry matter; MST= stem dry matter, MSF= flower dry matter, MSR= root dry matter.

Cuadro 3. Modelos de regresión estimados para la producción de materia seca en los diferentes órganos de la planta y materia seca total.

Table 3. Estimated regression models for the production of dry matter in different plant organs and total dry matter.

Fase vegetativa			Fase reproductiva		
Variable	Modelo	r ²	Variable	Modelo	r ²
MSH	$= 0.62 + 0.0044 * x - 8.40E^{-5} * x^2$	0.97	MSH	$= 1.90 + 0.0075 * x - 0.0001 * x^2$	0.95
MST	$= 0.22 + 0.0024 * x - 2.10E^{-5} * x^2$	0.62	MST	$= 3.03 + 0.019 * x - 0.0003 * x^2$	0.98
MSR	$= 0.27 + 0.0022 * x - 4.40E^{-5} * x^2$	0.9	MSR	$= 1.19 + 0.009 * x - 0.0001 * x^2$	0.48
MSP	$= 1.12 + 0.095 * x + 0.0002 * x^2$	0.85	MSF	$= 2.56 + 0.018 * x - 0.0002 * x^2$	0.8
			MSP	$= 8.66 + 0.05 * x - 0.0007 * x^2$	0.84

MSH= materia seca de hoja; MST= materia seca de tallo; MSR= materia seca de raíz; MSF= materia seca de Flor; MSP= materia seca total de planta, en los modelos, X corresponde a la proporción de NH_4^+ en la solución nutritiva.

Concentración nutrimental

Tallo

La concentración de macronutrientos en el tallo de la planta fue afectada por las diferentes proporciones de NO_3^- y NH_4^+ en la SN (Cuadro 4). Un aumento de la concentración de N en el tallo se presentó cuando las plantas se nutrieron con soluciones que contenían una proporción de 75:25, sin embargo, cuando la proporción fue igual a 50:50 y 25:75, la concentración de N decreció (Cuadro 4). La mayor concentración de P, K y Mg en el tallo se observó en los tratamientos que contenía una

concentration of this nutrient, showing no significant differences between these (Table 4). S concentration was not affected by the different ratios of $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ (Table 4).

Leave

The highest concentration of N and P was presented in sheet fed plants with solutions having a ratio 25:75 and the lowest concentration of these nutrients when SN did not have ammonium (Table 5). K concentration was higher when the plants were fed with solutions with a ratio

proporción de NH_4^+ , no existiendo una diferencia entre ellos y siendo la solución testigo 100:00 de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ la que presentó una menor concentración de estos nutrientes (Cuadro 4).

La concentración de Ca en el tallo tiende a aumentar conforme la proporción de NH_4^+ se incrementó en la SN, las plantas que fueron nutridas con una relación de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ de 50:50 y 25:75 presentaron la mayor concentración de este nutriente no existiendo diferencias significativas entre estos (Cuadro 4). La concentración de S no fue afectada por las diferentes proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (Cuadro 4).

$\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ equal to 100:00, 50:50 and 25:75, however, when the ratio was equal to 75:25, the concentration of this nutrient was minimal (Table 5). The increase in Ca concentration in leaves was obtained when plants were fed with a ratio equal to 25:75, while with a 50:50 ratio, the lowest Ca concentration in leave of *lisianthus* (Table 5) was recorded. Mg concentration was higher when plants were fed with a ratio 25:75, when the ratio was lower to this, Mg concentration decreased (Table 5). As for sulfur concentration in leave showed no significant differences between treatments (Table 5).

Cuadro 4. Efecto de la proporción de NO_3^- y NH_4^+ en la concentración de macronutrientes de tallos de plantas de *lisianthus* cv. ABC Blue.

Table 4. Effect of the ratio NO_3^- and NH_4^+ in the concentration of macronutrients in stems *lisianthus* cv. ABC Blue.

Tratamiento $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (%)	Tallo					
	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Potasio (%)	Calcio (%)	Magnesio (%)	Azufre (%)
100:00	2.31 ^a _y	0.124 ^b	1.36 ^b	0.107 ^c	0.270 ^b	0.229
75:25	2.54 ^a	0.208 ^a	2.77 ^a	0.122 ^b	0.329 ^a	0.239
50:50	1.98 ^b	0.208 ^a	2.63 ^a	0.136 ^a	0.317 ^a	0.232
25:75	2.27 ^{ab}	0.215 ^a	2.63 ^a	0.140 ^a	0.327 ^a	0.234
ANOVA ^x = $p \leq$	0.01	0.001	0.001	0.001	0.001	NS
CV ^w (%)	4.93	4.01	3.08	2.41	2.08	2.81
DMS ^u	0.293	0.02	0.209	0.008	0.017	0.017

^ymedias con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de Tukey con $p \leq 0.05$. NS= no significativo. ^xAnova= análisis de varianza con $p \leq 0.01$. ^wCV= coeficiente de variación. DMS= diferencia mínima significativa.

Hoja

La mayor concentración de N y P en hojas se presentó en plantas nutridas con soluciones que tenían una proporción 25:75 y la menor concentración de estos nutrientes se tuvo cuando en la SN no había amonio (Cuadro 5). La concentración de K fue mayor cuando las plantas fueron nutridas con soluciones con la proporción de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ igual a 100:00, 50:50 y 25:75, sin embargo, cuando la proporción fue igual a 75:25, la concentración de este nutriente fue mínima (Cuadro 5). El aumento en la concentración de Ca en las hojas se obtuvo cuando las plantas fueron nutridas con una proporción igual a 25:75, mientras que con una proporción de 50:50 se registró la menor concentración de Ca en hoja de *lisianthus* (Cuadro 5). La concentración de Mg fue más alta cuando las plantas fueron nutridas con una proporción 25:75, cuando la proporción fue inferior a esta la concentración de Mg decreció (Cuadro 5). En cuanto a la concentración de azufre en la hoja no se mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 5).

Flower

On this plant organ the highest concentration of N was present, when these were fed with solutions having ratios equal to 75:25 and 50:50 ($\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$); however, when SN did not contain ammonium, the lowest concentration of N in the flower occurred (Table 6). The highest concentration of phosphorus in the flower were obtained when the plants were fed with solutions having a ratio 75:25 and 25:75, meantime a 50:50 ratio caused the concentration of this nutrient was lower (Table 6).

The concentration of K in the flower was higher when plants were irrigated with solutions having a ratio 75:25, but when the ratio was 50:50 and 25:75 the concentration of this nutrient decreased (Table 6). Ca and S concentration was not affected by the different ratios of NO_3^- and NH_4^+ . An increase of the ratio $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (75:25) in the solution results in an increase in Mg concentration, however, between treatments 100: 00, 50:50 and 25:75

Cuadro 5. Efecto de la proporción de NO_3^- y NH_4^+ en la concentración de macronutrientos de la hoja de *lisianthus cv. ABC Blue*.

Table 5. Effect of the ratio NO_3^- and NH_4^+ in the concentration of macronutrients on leaf of *lisianthus cv. ABC Blue*.

Tratamiento $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (%)	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Potasio (%)	Hoja		
				Calcio (%)	Magnesio (%)	Azufre (%)
100:00	4.09c ^y	0.289d	3.38a	0.676ab	1.080b	1.414
75:25	4.75b	0.378c	2.18b	0.674ab	1.109b	1.438
50:50	4.89b	0.521b	3.13a	0.665 b	1.172b	1.529
25:75	5.16a	0.62a	3.31a	0.725a	1.368a	1.467
ANOVA ^x = $p \leq$	0.001	0.001	0.001	0.03	0.001	NS
CV ^w (%)	1.75	5.41	4.73	3.01	3.97	7.01
DMS ^u	0.216	0.064	0.371	0.054	0.123	0.268

^ymedias con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de Tukey con $p \leq 0.05$. NS=No significativo. ^xANOVA= análisis de varianza. ^wCV= coeficiente de variación. DMS= diferencia mínima significativa.

Flor

En este órgano de la planta la mayor concentración de N se presentó cuando estas fueron nutridas con las soluciones que tenían las proporciones igual a 75:25 y 50:50 ($\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$); sin embargo, cuando la SN no contenía amonio se presentó la menor concentración de N en la flor (Cuadro 6). Las concentraciones más altas de P en la flor se obtuvieron cuando las plantas fueron nutridas con soluciones que tenían una proporción 75:25 y 25:75, mientras tanto una proporción 50:50 causó que la concentración de este nutrimento fuera menor (Cuadro 6).

showed no highly significant differences and decreased the concentration of this nutrient in the flower (Table 6).

Nutrient extraction in the aerial part

The increase of the ratio $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (25:75, 50:50 and 25:75) in SN significantly affected the extraction of N in the aerial part, however, when the ratio was equal to 100:00 the extraction of this nutrient was lower (Table 7). P extraction was greater when plants were fed with solutions having ratios $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ equal to 50:50 and 25:75, but when the

Cuadro 6. Efecto de la proporción de NO_3^- y NH_4^+ en la concentración de macronutrientos de la flor de *lisianthus cv. ABC Blue*.

Table 6. Effect of the ratio NO_3^- and NH_4^+ in the concentration of macronutrients in flower of *lisianthus cv. ABC Blue*.

Tratamiento $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (%)	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Potasio (%)	Flor		
				Calcio (%)	Magnesio (%)	Azufre(%)
100:00	2.06b ^y	0.381ab	1.45b	0.161	0.397b	0.28
75:25	2.5a	0.385a	1.68a	0.158	0.427a	0.271
50:50	2.63a	0.358b	1.39b	0.16	0.376b	0.279
25:75	2.32ab	0.392a	1.4b	0.155	0.379b	0.269
Anova ^x = $p \leq$	0.01	0.01	0.001	NS	0.001	NS
CV ^w (%)	5.05	2.39	2.68	1.5	2.32	2.24
DMS ^u	0.31	0.024	0.104	0.006	0.024	0.016

^ymedias con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de Tukey con $p \leq 0.05$. NS= no significativo. ^xAnova= análisis de varianza. ^wCV= coeficiente de variación. DMS= diferencia mínima significativa.

La concentración de K en la flor fue mayor cuando las plantas fueron irrigadas con soluciones que tenían una proporción 75:25, pero cuando la proporción fue 50:50 y 25:75 la concentración de este nutrimento decreció (Cuadro 6). La concentración de Ca y S no fue afectada por las

ratios were lower than these, the extraction of this nutrient was lower (Table 7). Most K extractions were obtained when the plants were fed with solutions having a ratio 50:50; however, when the ratio was 25:75, the extraction of this nutrient decreased (Table 7).

diferentes proporciones de NO_3^- y NH_4^+ . Un aumento de la proporción de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (75:25) en la solución resulta en un aumento en la concentración de Mg, sin embargo, entre los tratamientos 100:00, 50:50 y 25:75 no existieron diferencias altamente significativas y disminuyó la concentración de este nutriente en la flor (Cuadro 6).

Extracción nutrimental en la parte aérea

El aumento de la proporción de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (25:75, 50:50 y 25:75) en las SN afectó considerablemente la extracción de N en la parte aérea, sin embargo, cuando la proporción fue igual a 100:00 la extracción de este nutriente fue menor (Cuadro 7). La extracción de P fue mayor cuando las plantas fueron nutridas con soluciones que tenían proporciones de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ iguales a 50:50 y 25:75, pero, cuando las proporciones fueron menores a estos, la extracción de este nutriente fue inferior (Cuadro 7). La mayor extracción de K se obtuvo cuando las plantas fueron nutridas con soluciones que tenían una proporción 50:50; sin embargo, cuando la proporción fue 25:75 la extracción de este nutriente disminuyó (Cuadro 7).

The concentration of NH_4^+ in SN affected the extraction of calcium in the aerial part, observing the highest values when supplied to plants a SN with a ratio 50:50 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$, the lowest extraction of calcium was when plants were supplied with a solution of 100: 0 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (Table 7). The same trend occurred with the removal of Mg + 2 in the aerial part (Table 7). The highest extraction of S was obtained in plants that were fed with solutions having a ratio 50:50, however, the solutions whose ratios were 75:25 and 25:75 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ the extraction of S decreases (Table 7).

Increasing N concentration in leaves was related linearly with leaf area, since as N concentration increases in the tissue, leaf area decreased (Figure 2). Also, the increase in availability of NH_4^+ in SN was associated with an increase of N concentration considering the aerial part of the plant since the solution without NH_4^+ showed the lowest concentration of N; in addition, had a quadratic effect on the concentration of this nutrient (Figure 3). However, the increased availability of NH_4^+ in SN had a negative effect on the concentration of K, overall, with a ratio of 75:25 had

Cuadro 7. Efecto de la proporción de NO_3^- y NH_4^+ de la extracción de macronutrientos de la parte aérea de plantas de lisianthus cv. ABC Blue.

Table 7. Effect of the ratio of NO_3^- and NH_4^+ on macronutrient extraction of the aerial part of lisianthus cv. ABC Blue.

Tratamiento $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (%)	Nitrógeno (mg planta ⁻¹)	Fósforo (mg planta ⁻¹)	Parte aérea de planta			
			Potasio (mg planta ⁻¹)	Calcio (mg planta ⁻¹)	Magnesio (mg planta ⁻¹)	Azufre (mg planta ⁻¹)
100:00	204.25c ^y	19.37c	176.25bc	20.57b	39.65b	41.8ab
75:25	249.05a	25.21b	182.74b	21.92ab	45.03ab	44.24b
50:50	245.57a	28.35a	194.66a	23.43a	46.1a	47.74a
25:75	217.96b	27.5ab	171.14c	21.24ab	44.04ab	40.38b
Anova ^s = <i>p</i> ≤	0.001	0.001	0.001	0.02	0.05	0.05
CV ^w (%)	1.55	4.12	1.9	3.87	5.5	6.24
DMS ^u	9.27	2.7	9.01	2.2	6.29	7.1

^ymedias con la misma letra en cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de comparación múltiple de Tukey con *p*≤0.05. NS=no significativo. ^sAnova= análisis de varianza. ^wCV= coeficiente de variación. DMS= diferencia mínima significativa.

La concentración de NH_4^+ en la SN afectó la extracción de calcio en la parte aérea observándose los mayores valores cuando se suministró a las plantas una SN con una relación de 50:50 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$, la menor extracción de calcio fue cuando se suministró a las plantas una solución de 100:0 $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ (Cuadro 7). La misma tendencia ocurrió con la extracción de

a marked decrease in the concentration of K but it was higher the concentration of this with 50:50 and 25:75 and also had a quadratic effect (Figure 3). Likewise, Ca and Mg concentration in tissues were affected quadratic with increasing the proportion of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ in SN (Figure 4).

Mg⁺² en la parte aérea (Cuadro 7). La mayor extracción de S se obtuvo en plantas que fueron nutridas con soluciones que tenía una proporción 50:50; sin embargo, con las soluciones cuyas proporciones eran 75:25 y 25:75 de NO₃⁻:NH₄⁺ la extracción de S disminuye (Cuadro 7).

El aumento de la concentración de N en las hojas estuvo asociada linealmente con el área foliar, ya que a medida que aumenta la concentración de N en el tejido disminuyó el área foliar (Figura 2). Así mismo, el aumento de la disponibilidad de NH₄⁺ en la SN estuvo relacionado con un incremento en la concentración de N considerando la parte aérea de la planta ya que la solución sin NH₄⁺ mostró la menor concentración de N; además tuvo un efecto cuadrático sobre la concentración de este nutrimento (Figura 3). Sin embargo, el incremento de la disponibilidad de NH₄⁺ en la SN tuvo un efecto negativo en la concentración de K, en general, con una proporción de 75:25 presentó una notoria disminución en la concentración de K pero fue mayor la concentración de este con una proporción de 50:50 y 25:75 y también tuvo un efecto cuadrático (Figura 3). De igual manera las concentraciones de Ca y Mg en los tejidos fueron afectados cuadráticamente con el incremento de la proporción de NO₃⁻:NH₄⁺ en la SN (Figura 4).

Discusión

El NH₄⁺ es la forma de N de más fácil asimilación, ya que los NO₃⁻ y nitritos primero tienen que ser reducidos a NH₄⁺ antes de la asimilación; asimismo, es la única fuente de N que generalmente tiene efectos nocivos sobre el crecimiento de las plantas y puede resultar en síntomas de toxicidad en muchas de ellas (Britto y Kronzucker, 2002). La respuesta de las plantas a una continua nutrición con NH₄⁺ depende de la especie, lo cual se traduce a una disminución en el crecimiento y la calidad de las plantas. La mayoría de las variables de respuesta evaluadas en el presente estudio, muestran que el aumento de la proporción de NH₄⁺ no mayor a 50% afecta positivamente el crecimiento y la calidad de las plantas de *lisianthus*.

Esta concentración de NH₄⁺ se ubica por arriba del nivel que soportan la mayoría de las especies de plantas; Coraspe-León *et al.* (2009) y Furlani *et al.* (1999) señalan que para evitar toxicidad de NH₄⁺ no debe sobrepasar 20% de la cantidad total de N en la formulación. Lo anterior fue observado en la fase vegetativa en mayor altura de planta (50:50 y 25:75),

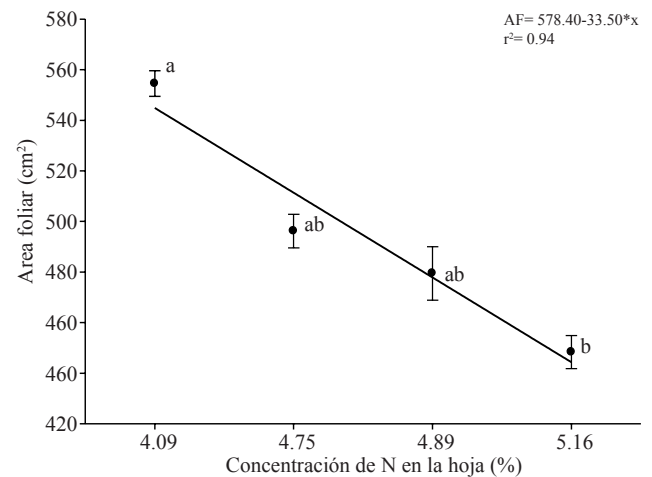


Figura 2. Efecto de la concentración de N en la hoja de *lisianthus* cv. ABC Blue en la fase reproductiva sobre el área foliar. Las barras indican el error estándar de la media. Las letras a y b son las categorías obtenidas de la comparación de media con Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

Figure 2. Effect of N concentration in leaf of *lisianthus* cv. ABC Blue, in the reproductive phase on leaf area; bars indicate standard error of the mean. Letters a and b are the categories obtained from mean comparison with Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

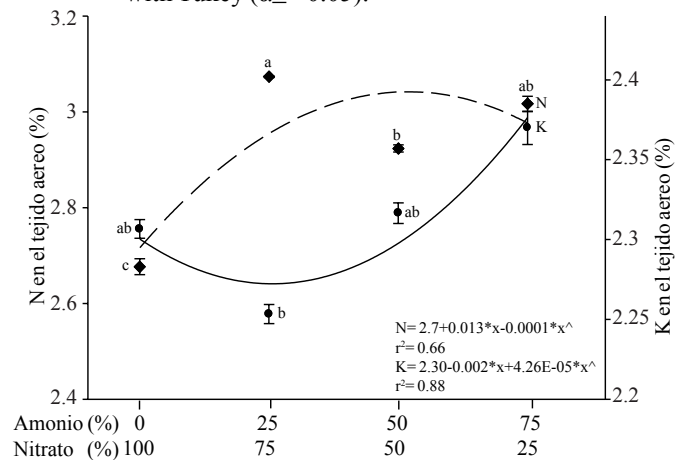


Figura 3. Efecto de la concentración de NO₃⁻:NH₄⁺ en la solución nutritiva sobre la concentración de N y K en *lisianthus* cv. ABC blue considerando tallo, hoja y flor. En el modelo X corresponde a las concentraciones de NH₄⁺. Las barras indican el error estándar de la media. Las letras a y b son las categorías obtenidas de la comparación de media con Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

Figure 3. Effect of the concentration of NO₃⁻:NH₄⁺ in nutrient solution on the concentration of N and K in *lisianthus* cv. ABC Blue, considering stem, leaf and flower; in the model X corresponds to the concentrations of NH₄⁺; bars indicate standard error of the mean; letters a and b are the categories obtained from mean comparison with Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

mayor diámetro de tallo (75:25), mayor área foliar (50:50), mayor peso seco de planta (50:50) y el mayor contenido relativo de clorofila (75:25). Resultados similares han sido reportados en plantas de fresa cv. Seolhyang con una relación 60:40 (Choi *et al.*, 2011).

En la fase reproductiva fue observado un aumento en la proporción del NH_4^+ hasta 75% se traduce en plantas con menor altura de planta, área foliar y diámetro de flor, y hasta de 50% resulta en un mayor peso seco de planta. Estos resultados coinciden con los reportados por Coraspe-León *et al.* (2009) en papa ya que esta especie absorbe el N en su fase inicial de desarrollo en forma de NH_4^+ y en la formación de tubérculos en forma de NO_3^- . El mayor peso seco de planta en las dos fases de desarrollo con una relación de 50:50 puede ser debido a una mayor actividad fotosintética, lo que beneficia el crecimiento y rendimiento, como se ha reportado en fresa (Tabatabaei *et al.*, 2006). Sin embargo, las altas concentraciones de NH_4^+ redujeron el crecimiento de las plantas (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2006), lo cual es un síntoma de toxicidad por NH_4^+ .

El aumento de la concentración de NH_4^+ en la SN estuvo relacionado con un incremento de las concentraciones de los macronutrientes, a excepción de S, en todos los órganos de la parte aérea de la planta. En la flor, la tendencia a aumentar la concentración de macronutrientes es menos marcada, principalmente de K y Mg, con altos niveles de NH_4^+ en la SN, mientras que en tallo y hoja el incremento de las concentraciones de K, Ca y Mg fue lineal con el aumento de la proporción de NH_4^+ . Sin embargo, el aumento predominantemente lineal en la absorción de los macronutrientes, observado en *lisianthus* es algo inesperado ya que se ha reportado que normalmente se presenta un antagonismo en la absorción de K, Ca y Mg con el NH_4^+ . En concordancia con los presentes resultados, en cítricos se ha reportado que se incrementan la concentración de P, Mg, Fe y Cu con el aumento de las proporciones de NH_4^+ en la SN (Camañes *et al.*, 2009) y de P, K, Ca, Mg en crisantemo (Bugarín *et al.*, 1998), sin embargo, en contraste se reporta que la absorción y acumulación excesiva de NH_4^+ puede causar toxicidad y concentración baja de Ca y Mg en tomate (Gallegos-Vázquez *et al.*, 2000).

El no antagonismo del NH_4^+ en la SN con la absorción de K, Ca y Mg puede ser debido a la concentración de aminoácidos y amidas en la raíz, ya que de acuerdo con Atilio y Causin (1996), una de las funciones de estos es la regulación de la absorción de NO_3^- y NH_4^+ . Los cambios

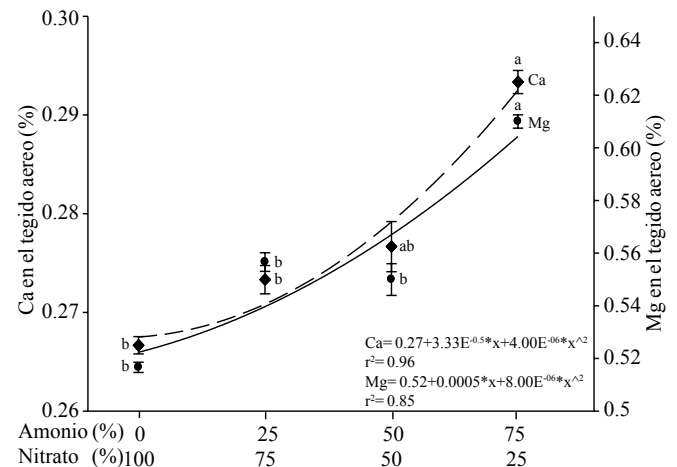


Figura 4. Efecto de la concentración de $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ en la solución nutritiva sobre la concentración de Ca y Mg en *lisianthus* cv. ABC blue considerando tallo, hoja y flor. En el modelo X corresponde a las concentraciones de NH_4^+ . Las barras indican el error estándar de la media. Las letras a y b son las categorías obtenidas de la comparación de media con Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

Figure 4. Effect of the concentration of $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ in the nutrient solution on the concentration of Ca and Mg in *lisianthus* cv. ABC, considering blue stem, leaf and flower. In the model X corresponds to the concentrations of NH_4^+ ; bars indicate standard error of the mean. Letters a and b are the categories obtained from mean comparison with Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

Discussion

NH_4^+ is the simplest form of N assimilation, since NO_3^- and nitrites, first must be reduced to NH_4^+ before assimilation; also, is the sole source of N which generally has harmful effects on plant growth and can result in toxicity in many of them (Britto and Kronzucker, 2002). The response of plants to a continuous nutrition with NH_4^+ depends on the species, which translates to a decrease in growth and quality of plants. Most variables evaluated in this study show that increasing the ratio of NH_4^+ no more than 50% positively affects the growth and quality of *lisianthus* plants.

This concentration of NH_4^+ is located above the level that most species of plants stand; Coraspe-León *et al.* (2009) and Furlani *et al.* (1999) indicate that to avoid toxicity of NH_4^+ this should not exceed 20% of the total amount of N in the formulation. This was observed in the vegetative stage in plant height (50:50 and 25:75), larger stem diameter (75:25),

en las concentraciones de aminoácidos en el citoplasma también pueden estar involucrados en la regulación del crecimiento y absorción de iones (Causin y Barneix, 1993) cuando la planta realizan un almacén eficiente de NH_4^+ en las raíces, principalmente en la vacuola, lo cual se considera como un mecanismo adicional que contribuye la tolerancia al suministro de NH_4^+ (Cruz *et al.*, 2006).

La actividad de la glutamina sintetasa (GS) y glutamato deshidrogenasa es mayor en las raíces que en las hojas de trigo (altamente sensible al NH_4^+) y cuando la asimilación de NH_4^+ es a nivel radicular las plantas son más tolerantes a este (Horchani *et al.*, 2011). La especie tolerantes al NH_4^+ como el lisianthus de acuerdo a nuestros resultados, no presentan disminución de la actividad de la GS, lo cual podría tener un efecto positivo en la absorción de cationes, pues las especies sensibles, como el caso de *Cucumis sativus*, presentan una saturación en la actividad de la GS así como una acumulación de glutamina y arginina por el incremento de NH_4^+ en los tejidos, repercutiendo en concentraciones bajas de Ca y Mg (Roosta y Schjoerring, 2007). Por otra parte, Lasa *et al.* (2002) señalan que plantas de chícharo tolerante y de espinaca sensible al NH_4^+ muestran distintas actividades enzimáticas para la asimilación de NH_4^+ ; en chícharo es a través de fosfoenolpiruvato carboxilasa (fosfato: oxaloacetato-carboxi-lias) o oxaloacetato, y en espinaca a través de piruvato quinasa (ATP: piruvato-2-O-fosfotransferasa) o piruvato. El mecanismo de estas dos enzimas es principalmente la regulación al pH óptimo del citosol de las células en presencia de NO_3^- (alcaliniza) o NH_4^+ (acidifica), donde oxaloacetato funciona cuando el pH es alto y piruvato funciona cuando el pH es bajo (Britto y Kronzucker, 2005).

Conclusión

Las plantas de lisianthus toleran hasta 75% de N en forma de NH_4^+ en la fase vegetativa, mientras que en la fase reproductiva este nivel ya fue tóxico. Con una relación $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ de 50:50 se logra obtener el máximo crecimiento de las plantas, así como la mayor producción de biomasa en ambas fases de desarrollo.

El NH_4^+ no tuvo un efecto antagónico con K, Ca y Mg, ya que las concentraciones de estos en el tejido vegetal aumento conforme se incrementó la proporción de NH_4^+ en la SN. En general la mayor extracción de macronutrientes en el tejido

larger leaf area (50:50), higher plant dry weight (50: 50) and the highest relative content of chlorophyll (75:25). Similar results have been reported in strawberry cv. Seolhyang with a ratio 60:40 (Choi *et al.*, 2011).

In the reproductive phase there was an increase in the ratio of NH_4^+ up to 75%, resulting in plants with reduced plant height, leaf area and flower diameter and up to 50% resulting in higher plant dry weight. These results coincide with those reported by Coraspe-León *et al.* (2009) in potato because this species absorbs N in its initial stage of development in the form of NH_4^+ and in tuber formation in the form of NO_3^- . The highest dry weight of plant in both phases of development with a ratio 50:50 may be due to higher photosynthetic activity, which favors growth and yield, as reported in strawberry (Tabatabaei *et al.*, 2006). However, high concentrations of NH_4^+ reduced plant growth (Cardenas-Navarro *et al.*, 2006), which is a symptom of toxicity by NH_4^+ .

Increasing the concentration of NH_4^+ in SN was associated with an increase of macronutrients concentrations, except S, in all organs of the aerial part of the plant. In the flower, the tendency to increase the concentration of macronutrients is less marked, mainly K and Mg, with high levels of NH_4^+ in SN, whereas in stem and leaf the increase of K, Ca and Mg concentrations was linear with the increase ratio of NH_4^+ . However, the predominantly linear increase in absorption of macronutrients, observed in lisianthus is unexpected, as it has been reported that it presents an antagonism in the absorption of K, Ca and Mg with NH_4^+ . In agreement with these results, in citrus has been reported that the concentration of P, Mg, Fe and Cu increases with increasing ratios of NH_4^+ in SN (Camañes *et al.*, 2009) and of P, K, Ca, Mg in chrysanthemum (Bugarín *et al.*, 1998), however, in contrast it is reported that absorption and excessive accumulation of NH_4^+ can cause toxicity and low concentration of Ca and Mg in tomato (Gallegos-Vázquez *et al.*, 2000).

The no antagonism of NH_4^+ in SN with the absorption of K, Ca and Mg may be due to the concentration of amino acids and amides in the root, according to Atilio and Causin (1996), one of the functions of these is to regulate the absorption of NO_3^- and NH_4^+ . Changes in amino acid concentrations in the cytoplasm may also be involved in growth regulation and absorption of ions (Causin and Barneix, 1993) when the plant efficiently stores NH_4^+ in the roots, mainly in the vacuole, which is considered as an additional mechanism contributing to the tolerance of NH_4^+ supply (Cruz *et al.*, 2006).

vegetal aéreo se obtuvo con el aumento de la proporción de NH_4^+ en la SN, pero fue más marcada la extracción en plantas nutridas con la relación 50:50.

Literatura citada

- Aguilar, C. J. M. 1996. El cultivo de lisianthus (Parte 1). Horticultura. 113:14-16.
- Akbuda, B.; Eris, A. and Kucukahmetler, O. 2005. Normal and modified atmosphere packaging storage of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) grown in saline conditions. New Zealand J. Crop Hortic. Sci. 33:185-191.
- Atilio, J. B. and Causin, F. H. 1996. The central role of amino acids on nitrogen utilization and plant growth. J. Plant Physiol. 149(3-4):358-362.
- Barrera-Aguilar, E.; Valdez-Aguilar, L. A.; Castillo-González, A. M.; Ibarra-Jiménez, L.; Rodríguez-García, R. y Alia-Tejagal, I. 2012. La nutrición potásica afecta el crecimiento y fotosíntesis en *Lilium* cultivado en turba ácida. Rev. Mex. Cienc. Agric. 3(5):1011-1022.
- Bloom, A. J.; Sukrapanna, S. S. and Warner, R. L. 1992. Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. Plant Physiol. 99:1294-1301.
- Bremner, J. M. 1996. Total nitrogen. In: Sparks, D. L. (Ed.). Methods of soil analysis. Part II. Chemical Methods. American Society of Agronomy. Soil Science Society of America. Madison, WI. USA. 1085-1086 pp.
- Britto, D. T. and Kronzucker H. J. 2002. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. Plant Physiol. 159:567-584.
- Britto, D. T. and Kronzucker, H. J. 2005. Nitrogen acquisition, PEP carboxylase, and cellular pH homeostasis: new views on old paradigms. Plant Cell Environ. 28:1396-1409.
- Bugarín-M, R.; Baca-C, G. A.; Martínez-H, J. y Tirado-T, J. L. 1998. Amonio/nitrato y concentración iónica total de la solución nutritiva en crisantemo. ii. extracción nutrimental de hojas. Terra Latinoamericana. 16(2):125-134.
- Camañes, G.; Cerezo, M.; Primo-Millo, E.; Gojon, A. and García-Agustín P. 2009. Ammonium transport and CitAMT1 expression are regulated by N in Citrus plants. Planta. 229(2):331-342.
- Cárdenas-Navarro, R.; López-Pérez, L.; Lobit, P.; Ruiz-Corro, R. and Castellanos-Morales, V. C. 2006. Effects of nitrogen source on growth and development of strawberry plants. J. Plant Nutr. 29:1699-1707.
- Causin, H. F. and Barneix, A. J. 1993. Regulation of NH_4^+ uptake in wheat plants: Effect of root ammonium concentration and amino acids. Plant Soil. 151(2):211-218.
- Choi, J. M.; Latigui, A.; and Lee, C. W.; 2011. Growth and nutrient uptake responses of 'Seolhyang' strawberry to various ratios of ammonium to nitrate nitrogen in nutrient solution culture using inert media. Afr. J. Biotechnol. 10(59):12567-12574.
- Claussen, W. and Lenz, F. 1995. Effect of ammonium and nitrate on net photosynthesis, flower formation, growth and yield of eggplants (*Solanum melongena* L.). Plant Soil. 171:267-274.
- The activity of glutamine synthetase (GS) and glutamate dehydrogenase is higher in roots than in leaves of wheat (highly sensitive to NH_4^+) and when the assimilation of NH_4^+ is at root level, the plants are more tolerant to it (Horchani *et al.*, 2011). Tolerant species to NH_4^+ such as lisianthus according to our results, there is no reduction in the activity of GS, which could have a positive effect on the absorption of cations, since sensitive species such as the case of *Cucumis sativus*, that show a saturation in the activity of GS thus an accumulation of glutamine and arginine by increase of NH_4^+ in tissue, affecting in low concentrations of Ca and Mg (Roosta and Schjoerring, 2007). Moreover, Lasa *et al.* (2002) reports that tolerant plants of pea and spinach sensitive to NH_4^+ show different enzymatic activities for the assimilation of NH_4^+ ; in pea is through phosphoenolpyruvate carboxylase (phosphate: oxaloacetate-carboxylase) or oxaloacetate, and in spinach through pyruvate kinase (ATP: pyruvate 2-O-phosphotransferase) or pyruvate. The mechanism of these two enzymes is primarily the regulation of the optimum pH from cytosol of cells in the presence of NO_3^- (alkaline) or NH_4^+ (acidified), where oxaloacetate works when pH is high and pyruvate works when pH is low (Britto and Kronzucker, 2005).

Conclusion

Lisianthus plants tolerate up to 75% of N in the form of NH_4^+ in the vegetative phase, while in the reproductive phase this level is toxic. With a ratio $\text{NO}_3^-:\text{NH}_4^+$ of 50:50 is achieved the maximize plant growth thus a higher production of biomass in both phases of development.

The NH_4^+ had no antagonistic effect with K, Ca and Mg, because the concentrations of these in plant tissue increased as the ratio of NH_4^+ in SN increased. In general the higher extraction of macronutrients in aerial plant tissue was obtained with the increase of the ratio NH_4^+ in SN, but the extraction was marked in plants fed with the ratio 50:50.

End of the English version



Coraspe-León, H. M.; Muraoka, T. V.; Franzini, I.; Contreras, F. S. E. y Ocheuze, P. C. T. 2009. Absorción de formas de nitrógeno amoniacal y nítrico por plantas de papa en la producción de tubérculo-semilla. Agronomía Tropical. 59(1):45-58.

- Coraspe-León, H. M.; Muraoka, T.; Ide, F. V.; de Stefano, P. S. M. y do Prado, G. N. 2008. Absorción de macronutrientes por plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) en la producción de tubérculo-semilla. *Interciencia*. 34(1):57-63.
- Cruz, C.; Bio, A. F. M.; Domínguez-Valdivia, M. D.; Aparicio-Tejo, P. M.; Lamsfus, C. and Martins-Loução, M. A. 2006. How does glutamine synthetase activity determine plant tolerance to ammonium? *Planta*. 223(5):1068-1080.
- Dufour, L. and Guérin, V. 2005. Nutrient solution effects on the development and yield of *Anthurium andreanum* Lind. in tropical soilless conditions. *Scientia Hortic*. 105:269-282.
- Furlani, P. R.; Bolonhesi, D. L. P.; Silveira, C. y Fanquin, V. 1999. Cultivo hidropónico de plantas. Campinas: Instituto Agronômico. Boletín técnico 180. 52 p.
- Gallegos-Vázquez, C.; Olivares-Sáenz, E.; Vázquez-Alvarado, R. y Zavala-García F. 2000. Nitrate and ammonium uptake by cactus pear in hydroponics. *Terra*. 18(2):133-139.
- Guo, S.; Zhou, Y.; Shen, Q. and Zhang, F. 2007. Effect of ammonium and nitrate nutrition on some physiological processes in higher plants -growth, photosynthesis, photorespiration, and water relations. *Plant Biol*. 9(1):21-29.
- Horchani, F.; Hajri, R. and Aschi-Smiti, S. 2011. Is the sensitivity to ammonium nutrition related to nitrogen accumulation? *Curren Bot*. 2(2):18-22.
- Kotsiras, A.; Olympios, C. M. and Passam, H. C. 2005. Effects of nitrogen form and concentration on yield and quality of cucumbers grown on rockwool during spring and winter in southern Greece. *J. Plant Nutr*. 28(11):2027-2035.
- Kraiser, T.; Gras, D. E.; Gutiérrez, A. G.; González, B. and Gutiérrez, R. A. 2011. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *J. Exp. Bot*. 62(4):1455-1466.
- Lasa, B.; Frechilla, S.; Aparicio-Tejo, P. M. and Lamsfus C. 2002. Role of glutamate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxylase activity in ammonium nutrition tolerance in roots. *Plant Physiol. Biochem*. 40(11):969-976.
- Razi, I. M. and Aziz, O. A. B. D. 1995. Ammonium (NH₄⁺): Nitrate (NO₃⁻) ratio and its relation to the changes in solution pH, growth, mineral nutrition and yield of tomatoes grown in nutrient film technique. *Pertanika J. Trap. Agric. Sci*. 18(3):149-157.
- Roosta, H. R. and Schjoerring, J. K. 2007. Effects of ammonium toxicity on nitrogen metabolism and elemental profile of cucumber plants. *J. Plant Nutrit*. 30(11):1933-1951.
- Soltanpour, P. N.; Johnson, G. W.; Workman, S. M.; Jones, J. B. Jr. and Miller, R. O. 1996. Inductively coupled plasma emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry. *In: Sparks, D. L. (Ed.) Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods. Soil Science Society of America. Madison, WI. 91-139 pp.*
- Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil*. 15(2):134-154.
- Tabatabaei, S. J.; Fatemib, L. S. and Fallahi, E. 2006. Effect of ammonium: nitrate ratio on yield, calcium concentration and photosynthesis rate in strawberry. *J. Plant Nutrit*. 29(7):1273-1285.