



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS



**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Bacillus* spp.: EFECTO EN LA
MINERALIZACIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS Y EVALUACIÓN
DE APORTES NUTRICIONALES EN UN SISTEMA ACUAPÓNICO
(*Oreochromis niloticus* - *Solanum lycopersicum* L.)**

Por:

Bióloga Edna Rocio Riaño Castillo

**Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en
Ciencias Agropecuarias**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS



**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Bacillus* spp.: EFECTO EN LA
MINERALIZACIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS Y EVALUACIÓN
DE APORTES NUTRICIONALES EN UN SISTEMA ACUAPÓNICO**
(*Oreochromis niloticus* - *Solanum lycopersicum* L.).

Por:

Bióloga Edna Rocío Riaño Castillo

Asesores:

Co-director: Dr. Juan Carlos Rodríguez Ortiz

Co-director: Dr. Pablo Delgado Sánchez

Asesor: Dr. Jorge Alonso Alcalá Jáuregui.

**Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en
Ciencias Agropecuarias**

El trabajo “AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Bacillus* spp.: EFECTO EN LA MINERALIZACIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS Y EVALUACIÓN DE APORTES NUTRICIONALES EN UN SISTEMA ACUAPÓNICO (*Oreochromis niloticus* - *Solanum lycopersicum* L.)” fue realizado por **Edna Rocío Riaño Castillo** como requisito parcial para obtener el grado de **Maestra en Ciencias Agropecuarias**. Fue revisado y aprobado por el suscrito comité de tesis.

Dr. Juan Carlos Rodríguez Ortiz

Co-director

Dr. Pablo Delgado Sánchez

Co-director

Dr. Jorge Alonso Alcalá Jáuregui

Asesor

Ejido Palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P., a los 13 días del mes de Febrero de 2019.

DEDICATORIA

A Dios. A mis padres Gloria Ines Castillo León y Jose de Jesus Riaño Chagüala, A mis hermanas Angie Lorena Riaño Castillo y Jenny Paola Riaño Castillo; y a mis sobrinos Santiago Almonacid Riaño, Augusto almonacid Riaño y Felipe Almonacid Riaño, porque ustedes son los seres más importantes y valiosos de mi vida. Ustedes me han enseñado “a darle valor a las cosas, no por lo que valen sino por lo que significan; me han enseñado la sencillez, lo importante que es decir un te quiero y un te amo; me han enseñado a vivir enamorada del amor; a entender que uno tiene derecho a mirar a otro hacia abajo, cuando vamos a ayudarlo a levantarse; y me han enseñado que la verdadera felicidad no esta en la cima de la montaña, si no en la forma de subir la escarpada”. Con todo esto, puedo decir que gracias a Dios y a ustedes aprendo cada día a no ser una Marioneta de trapo (Gabriel Garcia Márquez).

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por su amor incondicional, por darme la oportunidad de vivir esta experiencia y por brindarme la sabiduría para llevar a cabo este proyecto. Gracias a él he aprendido que es posible mezclar la ciencia y la religión.

A todos los directivos de la Facultad de Agronomía y Veterinaria (FAyV) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por el apoyo y por brindarme la oportunidad de realizar mi proyecto en sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por autorizarme la beca para realizar los estudios de maestría (CVU: 787859, número de apoyo: 634137) y también por brindarme la beca mixta para realizar la estancia en Purdue University.

Al Fondo de Apoyo a la investigación (FAI 2017), por el financiamiento en la construcción de los sistemas acuapónicos, el cual, fue obtenido bajo el proyecto de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, otorgado al Dr. Juan Carlos Rodríguez Ortiz.

Al Dr. Pablo Delgado Sánchez por financiar la primera parte de la tesis, por permitirme trabajar en el laboratorio de Biotecnología de la FAyV y tener acceso a los equipos y reactivos, los cuales me permitieron llevar a cabo los experimentos del proyecto de investigación. Pero lo más importante por brindarme su apoyo incondicional, por sus valiosos consejos y por instruirme en el mundo de la biología molecular y microbiología.

Al Dr. Juan Carlos Rodríguez Ortiz por permitirme trabajar en el laboratorio de Suelos y en el invernadero del Centro de Capacitación en Agricultura Protegida de la FAyV. Pero, lo más importante por brindarme su votó de confianza, por su gran apoyo y consejos a lo largo del proyecto, qué sin lugar a duda fueron muy importantes para haber culminado satisfactoriamente la investigación

Al Dr. Jorge Alonso Álcala Jáuregui por financiar la compra de los gases que permitieron realizar el análisis nutrimental de las muestras de agua.

Al Dr. Fernando Alberto Muños Tenería, que dirige la línea de investigación de Inmunología básica y aplicada, de la Facultad de Veterinaria (UASLP) por permitir realizar trabajos en conjunto enfocados en la inmunología de los peces.

Al Dr. Francisco Javier Pérez Vázquez, Investigador del Centro de Bio-ciencias y Docente de la UASLP, y a Karen Méndez por su apoyo y asesoría en algunas pruebas químicas que lleve a cabo en la tesis.

A la Dra. María de la Luz Guerrero González, por sus consejos y recomendaciones en los experimentos realizados.

Al L. Q. Miguel Ángel Cortina Rangel. Jefe del laboratorio de Geoquímica del Instituto de Geología de la UASLP, y al técnico Adrian del laboratorio de Suelo de la UASLP por asesorarme en los protocolos y métodos implementados para llevar a cabo el análisis de las muestras de agua.

A la Dra. Hye-Ji Kym, Investigadora y Docente de “Purdue University” por recibirme en su laboratorio, guiarme y asesorarme en la elaboración de los manuscritos de la tesis. No queda duda que fue una de las mejores experiencias que viví durante la maestría.

A los técnicos (José, Francisco, Mariano, Celso, Joel y Chuy) del Centro de Capacitación en Agricultura Protegida de la UASLP, por su ayuda incondicional. Ustedes fueron un eslabón muy importante y valioso que permitió llevar a cabo el desarrollo de los sistemas acuapónicos.

A todos mis compañeros del laboratorio de Biotecnología. A mis amigos Emmanuel Martínez, Emmanuel Ortiz, Ignacio Tovar, Mizraim Carreón, Jose Maria, Azucena, Idrisshe Diedhiou por brindarme su apoyo y compañía en el transcurso de la maestría; y especialmente, a Nydia Suarez y Armando de la Cueva por el apoyo, los momentos compartidos y por la gran amistad que me brindaron durante estos dos años de estudio.

A mi hermana Angie Riaño y su esposo Antonio Hernández por su apoyo y ayuda incondicional. Por estar presentes en todo momento, convirtiendo esta experiencia en dos años llenos de aventuras y alegría. A ustedes muchas gracias.

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
Hipótesis.....	5
Objetivo General.....	5
Objetivos específicos	5
REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
Sistemas Acuapónicos.....	7
Unidad tanque de peces.....	7
Biofiltro y unidad hidropónica.....	8
Ventajas y Desventajas de los Sistemas Acuapónicos.....	8
Presencia de Nutrientes en Sistemas Acuapónicos.....	10
Plantas Cultivadas en Sistemas Acuapónicos.....	10
Control de Plagas y Enfermedades de Plantas en Acuaponía.....	12
Calidad de Agua en Sistemas Acuapónicos	13
Ciclo del nitrógeno en el agua de un sistema acuapónico.....	13
pH.....	15
Temperatura.....	16
Oxígeno disuelto	16
Dureza del agua	16
Mineralización de Residuos Sólidos generados en Acuicultura.....	17
Presencia de Fósforo en los Residuos Sólidos generados en Acuicultura	19
Ácido fítico o Fitato	20
Bacterias Mineralizadoras de Fósforo Orgánico	21
Funciones fisiológicas de microorganismos solubilizadores y mineralizadores de fósforo.....	22
Fitasas.....	23

Clasificación de las enzimas fitasas.....	23
Aplicación actual de las fitasas.....	24
<i>Bacillus</i> sp.....	25
LITERATURA CITADA.....	26
CAPITULO I.....	32
Aislamiento e Identificación de <i>Bacillus</i> spp. y su Efecto como Bacteria Mineralizadora de Fitato en un Sistema Acuapónico.....	32
INTRODUCCIÓN.....	32
MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
Aislamiento e Identificación de Bacterias Mineralizadoras de Fitato.....	35
Identificación Bioquímica de Bacterias productoras de Fitasa.....	35
Identificación Taxonómica de las Bacterias Mediante 16S.....	36
Prueba de Mineralización in vitro en los Sólidos Recolectados de Sistemas Acuapónicos (SA).....	36
Determinación de los nutrientes presentes en los sólidos recolectados del SA..	37
Determinación de los nutrientes liberados durante la mineralización de los sólidos recolectados del SA.....	38
Análisis estadístico.....	39
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
Identificación de Bacterias Mineralizadoras de Fitato.....	40
Mineralización de Fitato en Sólidos Sedimentables Recolectados de Sistemas Acuapónicos y su Efecto en la Liberación de Fósforo Inorgánico.....	45
CONCLUSIONES.....	57
LITERATURA CITADA.....	58
CAPITULO II.....	63
Evaluación de Complementos Nutricionales en un Sistema Acuapónico (<i>Oreochromis niloticus</i> - <i>Solanum lycopersicum</i> L.): Solución Orgánica Mineralizada con <i>Bacillus</i> sp. y Solución Hidropónica.....	63

INTRODUCCIÓN.....	63
MATERIALES Y MÉTODOS.....	66
Diseño Experimental.....	66
Complemento Nutricional de las Plantas con Solución Orgánica Mineralizada e inoculación de la cepa pura de <i>Bacillus</i> sp. (CSOM).	69
Complemento Nutricional de Plantas con Solución Hidropónica (CSH).....	70
Variables de Estudio para el Cultivo de Tomate.	71
Variables de Estudio para Tilapia.....	75
Medición de Eficiencia del Agua en Sistemas Acuapónicos.	77
Medición del uso Equivalente del Uso de Área o Espacio.	78
Análisis estadístico.....	78
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	79
Altura de la planta, unidades SPAD y contenido de clorofila en <i>S. Lycopersicum</i> , var Anibal.....	79
Rendimiento de <i>Solanum lycopersicum</i> L. var Anibal.	83
Análisis parámetros de calidad del fruto de tomate.....	86
Dinámica de macro y micronutrientes en el sistema acuapónico.....	92
Concentración nutrimental de las hojas en tomate cultivado en un sistema acuapónico.....	100
Producción y crecimiento de tilapia (<i>O. niloticus</i>).....	101
Eficiencia del agua y uso equivalente de terreno en sistemas acuapónicos.....	105
CONCLUSIONES.....	110
LITERATURA CITADA.....	111
CONCLUSIÓN GENERAL	119
RECOMENDACIONES	120

ÍNDICE DE TABLAS

Revisión de literatura

Tabla		Páginas
1	Principales plantas de hortalizas cultivadas en sistemas acuapónicos.....	12
2	Bacterias productoras de fitasas de diferentes fuentes bibliográficas.....	22
3	Compuestos promotores de crecimiento generados por microorganismos solubilizadores y mineralizadores de fósforo.....	22

Capitulo I: Aislamiento e identificación de *Bacillus* spp. y su efecto como bacteria mineralizadora de fitato en un sistema acuapónico.

Tabla		Página
1	Tratamientos para la evaluación <i>in vitro</i> del efecto de <i>Bacillus</i> spp. sobre el proceso de mineralización de los sólidos recolectados en sistemas acuapónicos.....	34
2	Características morfológicas y microscópicas de las cepas aisladas de las muestras de sólidos obtenidos en granjas acuapónicas de Guadalajara-Jálisco.....	38
3	Identificación de bacterias mineralizadoras de fitato basado en el análisis de las secuencias parciales obtenidas del gen 16s rRNA....	41
4	Concentración promedio inicial de macro y micronutrientes en el agua.....	46
5	Efecto de <i>Bacillus</i> sp. en la liberación de macronutrientes durante la mineralización de residuos sólidos generados en sistemas acuapónicos.....	47
6	Efecto de <i>Bacillus</i> sp. en la liberación de micronutrientes durante la mineralización.....	48

Capítulo II: Evaluación de complementos nutricionales en un sistema acuapónico (*Oreochromis niloticus* - *Solanum lycopersicum* L.): solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. y solución hidropónica.

Tabla		Página
1	Descripción de los tratamientos evaluados en el experimento.....	60
2	Porcentaje de proteína cruda y porcentaje de alimentación implementadas durante el experimento para <i>O. niloticus</i>	62
3	Composición nutricional de la solución generada del proceso de mineralización con <i>Bacillus</i> sp.....	63
4	Preparación de 200 L de complemento de solución de macronutrientes, concentrada 10 veces.....	64
5	Formúlas para calcular los parámetros productivos de <i>O. niloticus</i> ...	69
6	Rendimiento de tomate, variedad Anibal y tilapia (<i>O. niloticus</i>) cultivada en sistemas acuapónicos.....	78
7	Valores de Firmeza, diámetro ecuatorial y polar del fruto de tomate durante 7 cortes en sistemas acuapónicos evaluados con complementos nutricionales.....	80
8	Concentraciones de macro y micronutrientes en las soluciones mineralizadas con <i>Bacillus</i> sp. en los biorreactores.....	91
9	Concentración de macro y micronutrientes en tejido vegetal en tomate cultivado en sistemas acuapónicos a los 15 días después de trasplante.....	94
10	Rendimiento en tilapia cultivada en sistemas acuapónicos con diferentes complementos nutricionales para el crecimiento del tomate.....	96
11	Parámetros hematológicos en tilapia cultivada en sistemas acuapónicos.....	98
12	Uso eficiente de agua en la producción de tilapia – tomate en sistemas acuapónicos.	100
13	Comparación de uso eficiente de agua en diferentes métodos de producción o sistemas de cultivos.....	100
14	Estimación del uso equivalente del área de o espacio (UES) en sistemas acuapónicos.....	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Revisión de literatura

Figura		Páginas
1	Proceso de maduración; niveles de amonio, nitrito y nitrato durante las primeras semanas en un sistema de recirculación acuícola o acuapónico.....	30
2	Ácido fítico e interacción con los otros iones (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} Cu^{2+} y Mn^{2+}).....	36
3	Hidrolisis de fitato por la enzima fitasa en inositol, fosfato y otros elementos divalentes.....	39

Capitulo I: Aislamiento e identificación de *Bacillus* spp. y su efecto como bacteria mineralizadora de fitato en un sistema acuapónico.

Figura		Página
1	Descripción microscópica de las cepas aisladas en muestras de residuos sólidos sedimentables recolectados en granjas acuapónicas, Guadalajara-Jálisco.....	53
2	Descripción microscópica de coccus y micrococcus aisladas de residuos sólidos sedimentables recolectados engranjas acuapónicas..	53
3	Prueba bioquímica de bacterias mineralizadoras de fitato.....	55
4	Cinética de crecimiento de cepas puras de <i>Bacillus</i> spp. mineralizadoras de fitato.....	55
5	Electroforesis de gel de agarosa al 1.2%.....	56
6	Los cambios de concentración relativa (%)materia orgánica (A), nitrógeno total (B) y fitato en concentración iniciales y después de la inoculación sin y con cepas puras de <i>Bacillus</i> spp.....	58
7	Efecto de la inoculación de cepas puras de <i>Bacillus</i> spp. mineralizadoras de fitato sobre la disponibilidad de P inorgánico (PO_4^-) en sólidos generados de un sistema acuapónico.....	59

8	Análisis de correlación entre las variables de fosfato y fitato.....	60
9	Cambios de conductividad eléctrica (CE), incremento relativo de CE (%), y pH en condiciones anaeróbicas (A, C, E) y aeróbicas (B, D, F) durante 12 días de mineralización con <i>Bacillus</i> spp.....	68

Capítulo II: Evaluación de complementos nutricionales en un sistema acuapónico (*Oreochromis niloticus* - *Solanum lycopersicum* L.): solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. y solución hidropónica.

Figura		Página
1	Diseño del sistema acuapónico implementado en el experimento.....	77
2	Descripción medición de longitud total y estándar en peces.....	84
3	Crecimiento de tomate variedad Anibal en sistemas acuapónicos.....	88
4	Unidades SPAD y contenido estimado total de clorofila en plantas de tomate, variedad Anibal cultivadas en sistemas acuapónicos.....	90
5	Contenido de nitrógeno total (%) en hojas de tomate durante las etapas fenológicas de floración y fructificación en sistemas acuapónicos.....	91
6	Análisis de los componentes de rendimiento en tomate.....	93
7	Calidad del fruto en contenido de ° Brix , acidez titulable, proporción entre azúcar/ácido y contenido de fenoles totales en tomate cultivado en sistemas acuapónicos.....	97
8	Concentraciones de conductividad eléctrica a la entrada del subsistema hidropónico y a la salida del subsistema de peces en el sistema acuapónico tilapia - tomate.....	99
9	Niveles de NO ₃ ⁻ en el agua durante el cultivo de tilapia-tomate en un sistema acuapónico.....	101
10	Dinámica de macronutrientes a la entrada y salida del subsistema hidropónico durante el ciclo de cultivo de tomate en acuaponía.....	102

11	Comparación de síntomas por deficiencias nutricionales en las hojas del tomate.....	105
12	Comparación de síntomas por deficiencias nutricionales en fruto de tomate.....	106
13	Dinámica de Cu y Mo a la entrada y salida del subsistema hidropónico durante el ciclo de cultivo de tomate.....	106
14	Crecimiento de tilapia cultivada en sistemas acuapónicos, bajo diferentes complementos nutricionales.....	111
15	Concentraciones promedio de Nitrógeno amoniacal total (NAT), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-); pH y Oxígeno disuelto (OD) en el agua durante la producción tilapia-tomate en sistemas acuapónicos..	113
16	Cantidad total de agua utilizada durante 5 meses de producción de tilapia-tomate en sistemas acuapónicos.....	115

RESUMEN

La producción comercial de hortalizas con fruto en sistemas acuapónicos ha presentado problemas en deficiencias nutricionales, debido a su alta exigencia nutricional. En esta investigación se propuso aislar e identificar *Bacillus* spp. como bacteria mineralizadora de fitato, y evaluar dos aportes nutricionales: solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. y solución hidropónica en un sistema acuapónico tilapia (*Oreochromis niloticus*) – tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Para ello, las bacterias fueron aisladas de los sólidos sedimentables de un sistema acuapónico comercial implementando diluciones seriadas en medio líquido LB e identificadas molecularmente a través de la amplificación del gen 16 sRNA; posteriormente se evaluó *in vitro* su capacidad de mineralizar el fitato en diferentes condiciones de oxígeno (0 rpm y 200 rpm) y temperatura (24 y 37 °C). En la segunda fase, la solución mineralizada por *Bacillus* sp. fue evaluada como complemento nutricional junto con la solución hidropónica de fertilizantes y sin complemento nutricional. Los resultados indican que 2 cepas puras de *Bacillus* sp. poseen capacidad de mineralizar fitato, en condiciones de 200 rpm y 24 °C, aumentando la mineralización de PO_4^- y Ca, principalmente. La condición 0 rpm y 24°C favorece el incremento de K, mientras que la condición de 200 rpm y 24°C, con y sin *Bacillus* sp., favorece el incremento de S, Mg y Fe. En la fase se campo, los complementos nutricionales (solución orgánica con *Bacillus* sp. cepa Sp-6 y solución hidropónica) incrementaron el crecimiento y rendimiento en tomate indeterminado en un periodo de cultivo de 103 días (siete cortes), sin haber diferencias significativas entre ambos. Además, la calidad comercial y nutracéutica fue similar entre los tres tratamientos. A partir de los resultados, se concluye que la liberación de dichos elementos puede ser utilizados en solución para complementar la nutrición de las plantas de tomate indeterminado cultivadas en sistemas acuapónicos, que lo harán más productivo y eficiente en el uso del agua, en comparación a un sistema sin complemento nutritivo. Sin embargo, es posible mejorar la nutrición de las plantas de tomate al aplicar Fe, K y Mg en la solución nutritiva, sin afectar la producción y salud de la tilapia.

Palabras clave: Mineralización, fitato, dinámica de nutrientes, tilapia, y tomate.

SUMMARY

The commercial production of vegetables with fruit in aquaponic systems has presented problems in nutritional deficiencies, due to its high nutritional requirement. In this research, we have proposed to isolate and identify *Bacillus* spp. as a phytate mineralizing bacterium, and evaluate two nutritional contributions: mineralized organic solution with *Bacillus* sp. and hydroponic solution in an aquaponic tilapia system (*Oreochromis niloticus*) - tomato (*Solanum lycopersicum* L.). For this, the bacteria were isolated from the sedimentable solids of a commercial aquaponic system, implementing serial dilutions in LB broth medium and identified molecularly through the amplification of the 16 sRNA gene; Subsequently, its ability to mineralize phytate in different oxygen conditions (0 rpm and 200 rpm) and temperature (24 and 37 °C) was evaluated *in vitro*. In the second phase, the solution mineralized by *Bacillus* sp. It was evaluated as a nutritional supplement together with the hydroponic fertilizer solution and without nutritional supplement. The results indicate that 2 pure strains of *Bacillus* sp. have the capacity to mineralize phytate, in conditions of 200 rpm and 24°C, increasing the mineralization of PO₄⁻ and Ca, mainly. The condition 0 rpm and 24°C favors the increase of K, while the condition of 200 rpm and 24°C, with and without *Bacillus* sp., favors the increase of S, Mg and Fe. In the field phase, the nutritional complements (solution organic with *Bacillus* sp. strain Sp-6 and hydroponic solution) increased the growth and yield in indeterminate tomatoes in a culture period of 103 days (seven cuts), without significant differences between them. In addition, the commercial and nutraceutical quality was similar among the three treatments. From the results, it is concluded that the release of these elements can be used in solution to supplement the nutrition of indeterminate tomato plants grown in aquaponic systems, which will make it more productive and efficient in the use of water, compared to a system without nutritional supplement. However, it is possible to improve the nutrition of the tomato plants by applying Fe, K and Mg in the nutrient solution, without affecting the production and health of the tilapia.

Keywords: Mineralization, phytate, nutrient dynamics, tilapia, tomato.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el número de habitantes en nuestro planeta está alrededor de 7.600 millones de personas, y se estima que llegará a 9.700 millones de habitantes en el año 2050 (FAO, 2017; ONU, 2018). Este incremento acelerado de la población a nivel mundial está dando como consecuencia el crecimiento de la industria, la urbanización, la sobreexplotación de los recursos naturales y la contaminación química, los cuales están afectando la calidad del suelo y la disponibilidad del agua para el consumo humano y agrícola (Asatryan *et al.*, 2015). Así mismo, las consecuencias del cambio climático, como las sequías, temperaturas extremas e inundaciones están causando pérdida de cosechas a nivel global afectando la producción y calidad del alimento (FAO, 2017).

México, con una extensión de 197.3 millones de hectáreas, está considerado como uno de los países con mayor superficie de zonas áridas, semiáridas y subhúmedas secas, con un total de 101.5 millones de hectáreas, de las cuales, el 15.7% corresponde a zonas áridas, el 58% a semiáridas y el 26.3% a subhúmedas secas (Díaz *et al.*, 2011). Además, el 43% de la extensión total de dichas tierras están siendo afectadas a causa de la degradación del suelo, siendo las zonas subhúmedas secas las más afectadas a causa de la degradación química por el uso excesivo de agroquímicos (fertilizantes, herbicidas, pesticidas y fungicidas) y productos químicos industriales; seguido de las zonas semiáridas y áridas afectadas principalmente a causa de la degradación por erosión eólica (Díaz *et al.*, 2011).

Dicha degradación junto con las precipitaciones escasas, poco frecuentes e irregulares; temperaturas extremas entre el día y la noche; y suelos con bajos contenidos de materia orgánica y agua, incrementa la desertificación del suelo en estas zonas y por consiguiente genera una alteración de los ciclos biológicos e hidrológicos y una pérdida de las funciones productivas del suelo que afecta significativamente la producción agrícola (Díaz *et al.*, 2011).

Adicionalmente, la baja precipitación que se presentan en dichas zonas, siendo las zonas áridas y semiáridas las que presentan menor precipitación anual (200 a 450 mm),

México es catalogado como un país de baja disponibilidad de agua y vulnerable a las sequías (Gaona, 2006; Díaz *et al.*, 2011). Esta problemática está afectando significativamente y tiene mayor relevancia en el sector agrícola, pecuario y acuícola, el cual consumen el 76.8% del agua total disponible; el restante se distribuye en otras actividades como el sector público para consumo doméstico (14%), el sector industrial (4.1%) y el sector para las termoeléctricas (5.1%) (FAO, 2013).

En este contexto, debido al cambio climático, la degradación de los suelos y la mala calidad del agua dulce que limita su aprovechamiento es esencial desarrollar sistemas de producción dirigidos a la sostenibilidad y a la producción de alimento con uso eficiente del suelo y el agua (Villarreal *et al.*, 2011). Una alternativa de producción hortícola que ha surgido debido a esta problemática, es la acuaponía, sistema que combina las ventajas de la producción acuícola en sistemas de recirculación cerrada para la producción de peces con la producción de sistemas hortícolas hidropónicos, donde sus principales objetivos son reutilizar y aprovechar los nutrientes liberados en el subsistema acuícola para el crecimiento y desarrollo de las plantas; a la vez aumentar la producción por m²; y ser implementados en áreas donde el uso del suelo para fines agrícolas es restringido o de mala calidad (Schamutz, 2015).

En los sistemas acuícolas, la mayoría de los peces metaboliza del 20 al 30% del alimento dado en la dieta, lo que significa que acerca del 70-80% es liberado como residuos dentro del agua, conformados en su mayoría por carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P) (Roosta & Mohsenian, 2012). Estos residuos están constituidos principalmente por las heces y el alimento no consumido por los peces, por lo que se generan tres tipos de residuos sólidos: disueltos, suspendidos y sedimentables (Goddek *et al.*, 2016). Los residuos disueltos y suspendidos corresponden a las sustancias inorgánicas y orgánicas menores a 0.45 micrómetros que se encuentran presentes en el agua en forma molecular o ionizada, en el cual una parte de estas sustancias disueltas son nutrientes aprovechables y disponibles para las plantas; mientras que los sólidos sedimentables, que se acumulan en mayor proporción en el sistema, se componen principalmente de residuos orgánicos, los

cuales pueden ser una fuente potencial de nutrientes inorgánicos al mineralizarse (Rafiee & Saad, 2005).

Por otra parte, dentro de los ingredientes utilizados en la elaboración del alimento de los peces se implementa como suplemento de proteína vegetal la harina de soya, trigo y maíz, en el cual, estudios estiman que por pellet de este alimento el 67% del fósforo se encuentra en forma de ácido fítico o fitato, principal compuesto almacenado en las semillas de las plantas. Esta molécula tiene una característica importante dentro de su estructura molecular, y es la presencia de seis grupos PO_4^- con capacidad de quelarse, por su carga negativa, con elementos 2^+ como: Cu^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} y Mn^{2+} (Cerozi & Fitzsimmons, 2016; Villalobos & Gonzáles, 2016).

La asimilación de dichos elementos en la nutrición de peces no se puede llevar a cabo, debido a la ausencia de la enzima fitasa en su tracto digestivo, quedando de esta manera la molécula libre en los residuos sólidos acumulados en el sistema. No obstante, tampoco pueden ser asimilados por las plantas, ya que el fósforo y los demás elementos no se encuentra en su forma iónica o inorgánica (Goddek *et al.*, 2015). Estudios reportan al género *Bacillus* sp. como una bacteria mineralizadora de fósforo, principalmente en la aplicación en cultivos extensivos en suelo, y algunos muy escasos en la aplicación en cultivos acuícolas (Olazarán *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2009; Dhanchar *et al.*, 2013; Maitra *et al.*, 2014; Maougal *et al.*, 2014; Corrales *et al.*, 2014; Abbad *et al.*, 2015; Martínez *et al.*, 2015; Maitra *et al.*, 2015). Estos reportes muestran que *Bacillus* posee actividad enzimática de fitasas, con un papel importante en el aumento de la disponibilidad de fosfatos (PO_4^-) en el suelo para el cultivo hortícola; y en la reducción del contenido de fitato en alimentos para peces monogástricos en cultivos acuícolas.

Por otro lado, para la producción de peces en acuaponía se ha trabajado con: tilapia, catfish, largemouth bass, crappies, trucha arcoíris, pacu, carpa común, carpa koi y goldfish, siendo la tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) una de las especies más implementadas en estos sistemas, debido a que presenta alta tolerancia a diferentes condiciones ambientales; rápido crecimiento y se adapta fácilmente a dietas comerciales

basada en fuentes de proteína vegetal y animal (Rakocy *et al.*, 2006). En cuanto a las hortalizas cultivadas en acuaponía, la producción a nivel comercial de hortalizas con fruto ha presentado problemas en deficiencias nutricionales debido a su alta exigencia nutricional, siendo el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) un ejemplo de dichas hortalizas. La importancia de este producto a nivel mundial es crucial, debido a su riqueza en vitaminas, elementos minerales como el potasio y antioxidantes como el licopeno que ayuda a la prevención de problemas cardiovasculares y de cáncer, principalmente de próstata (Bastida, 2012).

En acuaponía se han realizado diversos estudios para resolver problemas técnicos y algunos científicos, en los cuales, a nivel técnico han sido enfocados principalmente en la evaluación de diferentes diseños del subsistema hidropónico con diferentes tipos de sustrato sobre el crecimiento y producción de hortalizas (Dunwoody, 2013; Silva *et al.*, 2015); y a nivel científico se han enfocado en la evaluación de la dinámica de nutrientes; en la relación planta-peces; y en el efecto de tipo de alimento, concentración de proteína cruda, talla del pez y especie del pez sobre la acumulación de nutrientes (Rafiee & Saad, 2005; Tyson, 2007; Villarroel *at al.*, 2011; Roosta & Hamidpour, 2013; Schamutz, 2015; Villalobos & González, 2016). Sin embargo, a la fecha, son muy poco los estudios experimentales y publicaciones reportadas sobre la mineralización en acuaponía; el efecto de procesos aeróbicos y anaeróbicos e inoculación de bacterias en la degradación de los residuos sólidos sedimentables para la liberación de nutrientes asimilables para la planta (Rakocy *et al.*, 2007; Nelson & Pade, 2014; Cerozi & Fitzsimmons, 2016; Goddek *et al.*, 2016); así como tampoco está bien estudiado sobre los procesos bioquímicos de solubilización y mineralización de los microorganismos involucrados en el sistema (Goddek *et al.*, 2015).

Por tal razón, es importante realizar estudios enfocados en la evaluación de *Bacillus* sp. sobre la mineralización de los residuos sólidos orgánicos generados en un sistema acuapónico para optimizar y/o aumentar la disponibilidad de algunos minerales en el agua, mediante la degradación o hidrólisis de fitato presente en los sólidos, los cuales puedan ser aprovechados para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Así mismo, es importante evaluar las soluciones obtenidas del proceso de mineralización inducida biológicamente y las soluciones hidropónicas con fertilizantes químicos sintéticos como complementos

nutricionales sobre el crecimiento, rendimiento y calidad del tomate, debido a que pertenece a una de las hortalizas con alta exigencia nutricional en acuaponía. Todo esto en conjunto, con el fin de aprovechar los nutrientes reciclados en el sistema, disminuir el uso de fertilizantes químicos sintéticos y desarrollar un sistema de recirculación de descarga cero, con rendimientos que puedan ser competitivos con la producción comercial de otros cultivos hortícolas.

Hipótesis

En sistemas acuapónicos, la producción de hortalizas de fruto, con alta demanda nutricional, como el tomate, requiere de complementos nutricionales, los cuales se pueden proveer a partir de soluciones orgánicas mineralizadas con *Bacillus* sp. aislada de un sistema acuapónico y soluciones hidropónicas con fertilizantes químicos sintético; dichas soluciones mejorarán el crecimiento, la producción y calidad de tomate, sin afectar el crecimiento y la producción de tilapia.

Objetivo General

Aislar e identificar *Bacillus* spp. como bacteria mineralizadora de fitato; y evaluar dos aportes nutricionales: solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. y solución hidropónica en un sistema acuapónico tilapia (*Oreochromis niloticus*) – tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

Objetivos específicos

1. Aislar e identificar bacterias del género *Bacillus* spp. de un sistema acuapónico.
2. Determinar en condiciones *in vitro* bacterias mineralizadoras de fitato del género *Bacillus* spp.
3. Evaluar de manera *in vitro* el efecto de cepas puras de *Bacillus* spp. en diferentes condiciones de temperatura y oxígeno sobre la mineralización de residuos sólidos orgánicos generados de un sistema acuapónico.

4. Evaluar en condiciones *in situ* dos complementos nutricionales: solución orgánica mineralizada con *Bacillus* spp. y solución hidropónica sobre el crecimiento, calidad y producción de tomate (*Solanum lycopersicum*) en un sistema acuapónico.
5. Evaluar la dinámica de nutrientes en los sistemas acuapónicos tilapia – tomate (*Oreochromis niloticus* y *Solanum lycopersicum* L.), bajo diferentes complementos nutricionales.
6. Evaluar los parámetros de crecimiento y hematológicos (contenido de hematocritos y proteína plasmática total) en tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivada en sistemas acuapónicos, bajo diferentes complementos nutricionales.
7. Evaluar la eficiencia del uso del agua y uso equivalente del área del suelo del sistema acuapónico.

REVISIÓN DE LITERATURA

Sistemas Acuapónicos

El sistema acuapónico esta conformado por la integración de un subsistema de recirculación cerrada para la producción de peces (SRC) con el subsistema hidropónico (SH), en el cual consta de los siguientes elementos: tanque de peces, unidad de remoción de sólidos, unidad de biofiltración, unidad hidropónica o unidad de plantas y sumidero (Nelson, 2008). El funcionamiento de estos sistemas consiste en que el alimento no consumido y la excreción de heces por los peces generan en el agua tres tipos de sólidos: disueltos, suspendidos y sedimentables, los cuales pasan por gravedad a la unidad de remoción o clarificación, donde se retienen los sólidos, permitiendo de esta manera el paso del agua con menor cantidad de partículas a la unidad de biofiltro, en el cual las bacterias realizan el proceso de nitrificación. Posteriormente, el agua recorre la unidad hidropónica, donde las plantas asimilan como fuente de nutrientes el NO_3^- y los demás minerales no tóxicos, y desciende finalmente al sumidero donde la bomba retorna el agua al tanque de peces, manteniendo una recirculación cerrada y constante (Dunwoody, 2013).

Unidad tanque de peces

Para la instalación del tanque de peces se debe considerar principalmente la forma y el material del tanque, siendo la forma redonda la más recomendada, ya que el agua circula uniformemente, permitiendo una distribución homogénea de oxígeno disuelto y un transporte de residuos sólidos hacia el centro del sistema, que facilitará su paso por gravedad a la unidad de remoción (Rakocy *et al.*, 2006). El material recomendado puede ser geomembrana, plástico y/o fibra de vidrio, por su alta durabilidad y porque no libera sustancias tóxicas que puede afectar la salud de los organismos (Rakocy *et al.*, 2006).

Remoción de sólidos

Para la remoción de residuos sólidos se puede implementar diferentes tipos de filtración mecánica, encargados de separar los diferentes tamaños de partículas presentes en el

sistema, los cuales son: tanque de sedimentación (hidrociclón), clarificador de flujo radial y filtro de arena (Somerville *et al.*, 2014).

Estos residuos deben ser removidos antes de entrar a la unidad hidropónica y deben ser extraídos del sistema cuando sus niveles de acumulación son altos, ya que puede generar lugares anóxicos disminuyendo el oxígeno disuelto, y a su vez causando la producción de dióxido de carbono, sulfuro de hidrogeno y amonio, que a altas concentraciones afectan la salud de los peces (Rakocy *et al.*, 2006). Además, pueden acumularse en las raíces vegetales y crear zonas anaeróbicas que podrían afectar la asimilación de los nutrientes (Rakocy *et al.*, 2006).

Biofiltro y unidad hidropónica

El biofiltro, es la unidad encargada de mantener las bacterias nitrificantes que convierten el nitrógeno amoniacal total (NAT) a nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-). Las bacterias encargadas de hacer dicho proceso de nitrificación no son móviles y requieren de algún sustrato inerte donde puedan desarrollar el biofilm. Por tal razón, es importante implementar sustratos porosos y con pequeñas áreas superficiales, con el fin de aumentar la colonización de las bacterias; en acuaponía se implementa principalmente las biobolas o Bioballs®; sin embargo, es común implementar en sistemas de pequeña escala otros tipos de material inerte como grava y tubo corrugado de PVC (Somerville *et al.*, 2014).

Con respecto a la unidad hidropónica utilizada para la siembra de plantas hay cuatro diseños que pueden ser implementados: i). unidad de cama de plantas con sustrato; ii). “nutrient film technique” (NFT); iii) unidad hidropónica vertical y iv) cultivo de cama flotante o aguas profundas (“deep water culture”: DWC). (Somerville *et al.*, 2014).

Ventajas y Desventajas de los Sistemas Acuapónicos.

Los sistemas acuapónicos comparado al sistema tradicional de acuicultura (producción en estanque) y al sistema tradicional de agricultura (producción en suelo) presentan las siguientes ventajas:

1. Disminución del uso de fertilizantes químicos sintéticos, debido al aprovechamiento de nutrientes generados en el sistema por la descomposición del alimento no consumido y las heces; la excreción de productos nitrogenados y de iones por los peces, y el proceso de nitrificación de las bacterias (Somerville *et al.*, 2014).
2. Disminución de la eutrofización en ecosistemas acuáticos, el cual es generado por altas concentraciones de N y P presentes en el agua residual de los sistemas acuícolas (Dunwoody, 2013).
3. Eficiencia del uso del suelo, ya que estos sistemas se pueden construir en lugares donde la tierra es limitada o de mala calidad (Dunwoody, 2013).
4. Mayor producción por m² en comparación a los cultivos tradicionales en suelo (Rakocy et al, 2007; Nelson, 2008).
5. Producción limpia de hortalizas, debido a la disminución de la presencia de plagas del suelo y por ende disminución del uso de plaguicidas en comparación a los cultivos tradicionales (Rakocy et al, 2007; Nelson, 2008).
6. Eficiencia del uso de agua, ya que el proceso de nitrificación realizado por las bacterias y la toma de nutrientes por las plantas disminuye los recambios de agua en el sistema y por ende el gasto del recurso hídrico es menor en comparación a los cultivos tradicionales de plantas y peces. Se calcula que el uso de agua en la Agricultura a nivel mundial es alrededor del 56%, mientras que en promedio el 90% del agua en sistemas acuapónicos es reciclada (Al-Hafedh *et al.*, 2008). La entrada periódica de agua es generalmente utilizada para reponer agua perdida por evapotranspiración, que equivale a un 5-11% (Al-Hafedh *et al.*, 2008).

Por otro lado, las desventajas o principales debilidades de la producción de alimento en acuaponía (Dunwoody, 2013; Somerville *et al.*, 2014) son las siguientes:

- I. El costo inicial es alto, en comparación a la producción de plantas en suelo y en hidroponía.
- II. Se requiere conocimiento en áreas de microbiología, producción de peces y plantas, lo que en ocasiones es un limitante, ya que la mayoría de acuicultores no

tienen conocimiento y experiencia en horticultura, así como los horticultores no tienen conocimiento en acuicultura.

- III. Se requiere de personal calificado, ya que un mal manejo puede afectar la producción del alimento en el sistema.
- IV. Los sistemas son 100% demandantes de energía para controlar aireación y temperatura.
- V. Finalmente, la acuaponía aún no se puede definir como sostenible, debido a que la proteína del alimento de los peces puede provenir de los peces capturados en medio silvestre, afectando al ecosistema.

Presencia de Nutrientes en Sistemas Acuapónicos

Los nutrientes son medidos colectivamente como sólidos disueltos totales (TDS) expresado como ppm, o a través de la conductividad eléctrica en mmho/cm y/o $\mu\text{S}/\text{cm}$ que indica la concentración de sales. En solución hidropónica generalmente se maneja TDS de 1000 a 1500 ppm (1.5 a 3.5 mmho/cm); mientras que en sistemas acuapónicos se ha reportado bajos niveles de TDS (200 a 400 ppm) o CE (0.3 a 0.6 mmhol/cm) durante la producción de hortalizas (Rakocy *et al.*, 2006).

Los macro y micronutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de la planta son: N, P, Ca, K, SO_4^- , Mg, Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , B^{3+} , Zn^{2+} y Mo^{6+} . El N es aportado principalmente en forma de nitrato producto del proceso de nitrificación; los otros se encuentran disueltos en el agua, pero la mayoría permanecen en estado sólido no disponible para las plantas (Rafiee & Saad, 2005). En acuaponía se ha reportado deficiencias principalmente en potasio, calcio e hierro, los cuales usualmente son suplementados con hidróxido de potasio (KOH), hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) y quelato de hierro Fe-DTPA, soluble a pH 7.0 (Rakocy *et al.*, 2006).

Plantas Cultivadas en Sistemas Acuapónicos

Se han cultivado diferentes variedades de hortalizas (verduras y legumbres) en sistemas acuapónicos (**Tabla 1**). Sin embargo, en sistemas a escala comercial se produce

principalmente verduras de hojas (lechuga, acelga, espinaca, cilantro, albahaca y demás), debido a dos razones: i) la producción de verdura de hojas permite obtener un mayor nivel de ingresos por unidad de área y por unidad de tiempo y ii) son hortalizas menos exigentes nutricionalmente y presentan menor problema de plagas y enfermedades, en comparación a las hortalizas de fruto tales como tomate, pimiento, pepino cohombro y berenjena (Rakocy *et al.*, 2006).

Para la producción vegetal hay tres estrategias de producción, que consisten en: realizar cultivos escalonados, cultivos discontinuos y cultivos intercalados controlado (Rakocy *et al.*, 2006). El cultivo escalonado consiste en cultivar plantas de diferentes estadios de crecimiento simultáneamente; este tipo de producción permite cosechar regularmente y mantener la absorción de nutrientes del cultivo relativamente constante, y son sistemas efectivos donde los cultivos se pueden realizar continuamente como en áreas tropicales, subtropicales o invernaderos con ambiente controlado (Rakocy *et al.*, 2006).

El cultivo discontinuo es más apropiado para especies que se cultivan estacionalmente o su crecimiento es más prolongado (>3 meses) como el tomate y el pepino cohombro (Rakocy *et al.*, 2006). Por otro lado, el cultivo intercalado consiste en cultivos de diferentes especies de hortalizas, que permiten obtener una producción y cosecha constante; por ejemplo, cultivo intercalado de lechuga con tomate (Rakocy *et al.*, 2006).

Tabla 1. Principales plantas de hortalizas cultivadas en sistemas acuapónicos (Nelson, 2008).
AHDHD

Especie	Distancia de siembra (cm) / No plantas/m ²	pH	Temperatura	Tiempo de cosecha	Sistema acuapónico recomendado
Albahaca	15-25 / 8-40	5.5-6.5	18-30; óptima: 20-25°C	5-6 semanas	NFT y DWC
Coliflor	45 / 5	6.0-6.5	10-15°C	2-3 meses	DWC
Lechuga	18-30 / 20-25	6.0-7.0	15-22°C	3-4 semanas	NFT y DWC
Pepino cohombro	30-60 / 2-5	5.5-6.5	22-28°C día y 18-20°C noche.	55-65 días	Medio en sustrato y DWC
Berenjena	40-60 / 3 a 5	5.5-7.0	22-26°C día y 15-18°C noche.	90-120 días	Medio en sustrato.
Pimiento	30-60 / 3-4	5.5-6.5	22-30 °C día; 14-16°C noche.	60-95 día	Medio en sustrato
Tomate (Var determinada)	40-60 / 3 -5	5.5-6.5	22-26°C día 13-16°C noche	90-120 días	Sistema en sustrato y DWC.
Frijoles y guisantes	10-30 / 20 a 45	5.5-7.0	22-26 ° día y 16-18°C noche.	50-110 días	Medio de sus trato.
Repollo	60-80 / 4-8	6.0-7.2	15-20°C	45-70 días	Medio de sus trato.
Brocoli	40-70 / 3-5	6.0-7.0	13-18°C	60-100 días	Medio de sus trato.
Acelga	20-30 /15-20	6.0-7.5	16-24°C	25-35 días	Medio de sustrato, NFT y DWC

NFT: nutrient film technique; DWC: Cultivo de cama flotante o aguas profundas (“deep water culture”).

Control de Plagas y Enfermedades de Plantas en Acuaponía.

Para controlar plagas y enfermedades en sistemas acuapónicos no se pueden usar plaguicidas ya que representaría una amenaza para los peces; de igual manera para el control de parásitos y enfermedades en peces no se debe usar antibióticos ya que estos pueden ser absorbidos y acumulados en el tejido de las plantas (Rakocy *et al.*, 2006). Por esta razón se debe implementar un manejo integrado de plagas a través del uso de diferentes métodos complementarios: físicos, mecánicos, químicos, biológicos, genéticos y cultural (Rakocy *et al.*, 2006).

La prohibición del uso de pesticidas hace que el cultivo en sistemas acuapónicos sea más difícil, por lo cual aún faltan estudios que ayuden a implementar un buen manejo

integrado para el control de enfermedades y plagas, logrando optimizar la producción en dichos sistemas (Goddek *et al.*, 2015).

Calidad de Agua en Sistemas Acuapónicos

El manejo de calidad de agua en sistemas de recirculación acuícola y acuapónicos es esencial para asegurar la producción y salud de peces y plantas cultivadas. Los parámetros más esenciales son: pH, alcalinidad, oxígeno disuelto, temperatura, dióxido de carbono, conductividad eléctrica, nitrógeno amoniacal total (NAT), nitrito y sólidos suspendidos totales (Goddek *et al.*, 2015).

El nitrógeno dentro del sistema deriva de los residuos de los peces a través de los procesos de difusión branquial, intercambio de cationes, descomposición por las heces y el exceso del alimento acumulado en el sistema; las formas de nitrógeno presentes en el agua son: NAT, nitrito y nitrato (Goddek *et al.*, 2015).

Ciclo del nitrógeno en el agua de un sistema acuapónico

Uno de los procesos biológicos más importantes en acuaponía es el proceso de nitrificación, el cual es un paso esencial del ciclo del nitrógeno en la naturaleza. Parte del nitrógeno se encuentra presente en los aminoácidos que conforman la proteína del alimento del pez, la cual es excretado por el organismo en forma no ionizada NH_3^- ; y otra parte es liberado como forma ionizada NH_4^+ durante la descomposición de las heces y el alimento no consumido. La sumatoria de estas dos formas de amonio en el agua se denomina nitrógeno amoniacal total ($\text{NAT} = \text{NH}_3^- + \text{NH}_4^+$) (Timmons & Ebeling, 2010).

El proceso biológico que transforma el NAT en nitrito y nitrato es realizado por bacterias nitrificantes, las cuales viven en diferentes condiciones ambientales, como el suelo, agua y aire. El género *Nitrosomonas* es la bacteria más común que oxida el NAT para transformarlo en NO_2^- y el género *Nitrobacter* es el más común que oxida el NO_2^- para transformarlo en NO_3^+ (Timmons & Ebeling, 2010). Para iniciar la nitrificación el sistema se realiza un proceso llamado “maduración del sistema” que se demora

aproximadamente de 3 a 5 semanas. Este proceso es un ciclo, en el cual consiste en generar NAT al sistema, ya sea de manera química (adición de sulfato de amonio) o natural (alimentar a los peces) para establecer la colonización de las *Nitrosomonas* y a partir de aproximadamente 5 a 7 días los niveles de nitrito incrementan, empezando a establecer las colonias de *Nitrobacter*, en el cual permitirá la disminución de nitrito e incremento de nitrato en el agua (Timmons & Ebeling, 2010) (**Figura 1**).

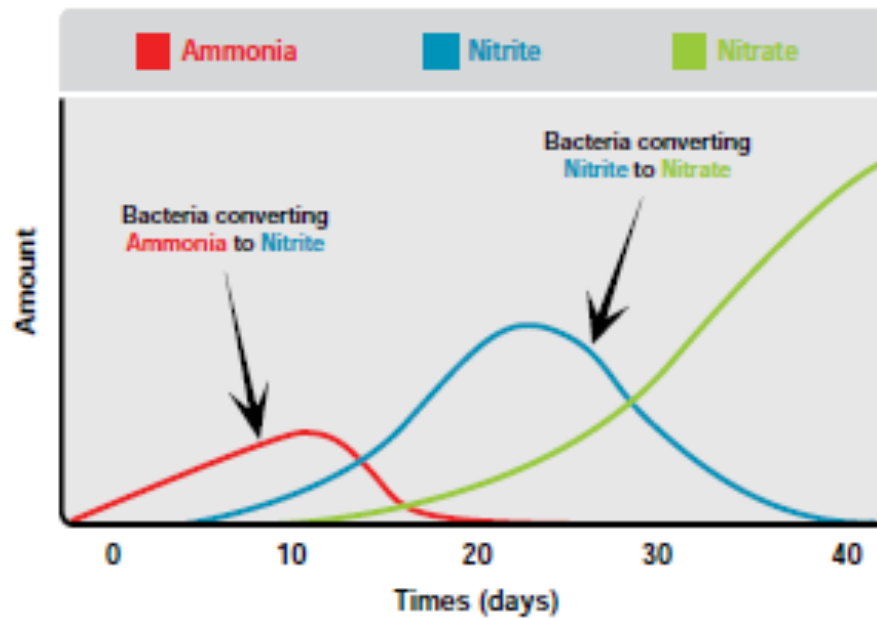


Figura 1 Proceso de maduración; niveles de amonio, nitrito y nitrato durante las primeras semanas en un sistema de recirculación acuícola o acuapónico (Ruff, 2009).

Toxicidad del NAT en peces

Exposición prolongada a niveles superiores de 1.0 mg L^{-1} puede causar daños en el sistema nervioso central y en las branquias de los peces. Los síntomas pueden ser coloración roja e inflamación en las branquias; presencia de estrías rojas a lo largo del cuerpo y estado letárgico en la superficie del agua (Timmons & Ebeling, 2010).

Toxicidad del Nitrito en peces

Los niveles recomendados de nitrito para mantener la calidad del agua son de 0.25 mg L⁻¹. Niveles tóxicos de este compuesto disminuye el transporte de oxígeno por la metahemoglobina causando una enfermedad conocida como “enfermedad de sangre café” (Timmons & Ebeling, 2010).

pH

El pH es la concentración de hidrogeniones (H⁺) en una solución que indica la acidez o alcalinidad. El nivel del pH del agua tiene un impacto en la actividad biológica de las bacterias nitrificantes y en su capacidad de convertir el amonio a nitrito; también tiene un efecto en la absorción de nutrientes en las plantas y en el crecimiento del pez. Se ha reportado que para las bacterias nitrificantes el rango tolerable es de 6 a 8.5, siendo ideal para *Nitrosomonas* spp. un pH de 7.2-7.8 y *Nitrobacter* spp. un pH de 7.2 a 8.2 (Timmons & Ebeling, 2010).

Además, el pH tiene un efecto directo sobre la toxicidad del NAT presente en el agua; pH a concentraciones altas aumenta la presencia de la forma tóxica del amonio (NH₃⁺) en los peces. Por otra parte, en plantas el pH es uno de los parámetros más importantes en la toma de absorción de nutrientes, presentando su mayor absorción a pH 5.5-6.0; sin embargo, las plantas tienen un rango de tolerancia de 5.5 a 7.0 donde todos los nutrientes se encuentran a una concentración adecuada para su asimilación (Timmons & Ebeling, 2010).

En este contexto, debido a la diferencia de pH entre los organismos cultivados en acuaponía se recomienda manejar un pH de 6.5 a 7.0, el cual es un rango tolerable para el crecimiento de cada uno de los organismos (Timmons & Ebeling, 2010).

Así mismo, se recomienda implementar hidróxido de potasio (KOH), hidróxido de calcio, carbonato de calcio o carbonato de potasio para incrementar el pH; ácido fosfórico

(H_3BO_4), ácido sulfúrico (H_2SO_4) y ácido nítrico (HNO_3) para disminuirlo (Timmons & Ebeling, 2010).

Temperatura

La temperatura en el agua también es un parámetro ideal para todos los organismos presentes en el sistema acuapónico, principalmente para peces y bacterias. El rango ideal para las bacterias es de 17-34°C y para los peces depende la especie cultivada. Adicionalmente, es importante controlarla, ya que altas temperaturas afectan la concentración de oxígeno disuelto y aumenta la toxicidad del NAT en el agua (Ruff, 2009).

Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto (OD) describe la cantidad de oxígeno molecular dentro del agua y es un parámetro indispensable en los sistemas acuapónicos requerido por las plantas, peces y bacterias para llevar a cabo sus procesos metabólicos (Timmons & Ebeling, 2010).

La principal fuente de oxígeno para organismos acuáticos en medios naturales se da por el intercambio gaseoso en la superficie del agua-atmosfera; por las corrientes de agua y durante el proceso fotosintético realizada por las plantas. Sin embargo, en sistemas de recirculación cerrada para la producción semi-intensiva e intensiva de peces, la cantidad de oxígeno es insuficiente para la demanda de peces, plantas y bacterias; por tal razón estos sistemas dependen del uso de bombas de agua, aireadores y/o blowers que produzcan movimiento o burbujas en el agua que generen el oxígeno requerido por los organismos. Los niveles óptimos para las bacterias nitrificantes son de 4-8 mg L^{-1} ; para las plantas >3 mg L^{-1} y en peces >3 y 4 mg L^{-1} , según la especie (Timmons & Ebeling, 2010).

Dureza del agua

Hay dos tipos de dureza: dureza general (GH) y dureza de carbonatos (KH). La dureza general es una medida de los iones presentes en el agua; mientras que la dureza de carbonatos (CO_3^{2-}) y bicarbonatos (H CO_3^-), también conocida como alcalinidad, es la

medida de capacidad buffer del agua. Para acuaponía entre los dos parámetros el de mayor importancia es el KH, ya que tiene una relación directa con el pH; y se considera concentraciones ideales de 60 a 140 mg L⁻¹ (Timmons & Ebeling, 2010).

Mineralización de Residuos Sólidos generados en Acuicultura.

En términos generales, la mineralización es el proceso biológico y bioquímico mediante el cual los microorganismos, principalmente bacterias y hongos obtienen la energía necesaria para realizar sus procesos metabólicos, mediante la degradación o rompimiento de las moléculas orgánicas conduciendo a la formación de sales minerales (Burns *et al.*, 2013; Monsalve *et al.*, 2017). Entre los procesos que realizan los microorganismos se encuentran la producción de enzimas extracelulares capaces de romper los enlaces de moléculas orgánicas provenientes de los residuos acumulados en la acuicultura, de los residuos de plantas, hojarasca, la necromasa microbiana y los exudados orgánicos de las raíces, para transformarlos en moléculas inorgánicas de bajo peso molecular, que posteriormente, a través de reacciones químicas de oxidación e hidrólisis, son oxidadas catabólicamente a compuestos inorgánicos, donde pueden ser absorbidos por plantas y microorganismos (Burns *et al.*, 2013; Monsalve *et al.*, 2017).

Los residuos sólidos generados en la acuicultura durante el cultivo de peces se clasifican principalmente en: i) sólidos sedimentables (partículas >100 µm que se depositan en el fondo de la columna de agua; ii) sólidos en suspensión (partículas < 100 µm, los cuales tienen mayor problema en asentarse) y iii) sólidos disueltos (Cripps & Bergheim, 2000). En los sólidos acumulados, la composición de las heces depende principalmente en la especie, en cuanto a la fisiología, hábitos alimenticios, asimilación de nutrientes y digestibilidad de los ingredientes del alimento por parte del pez (Galasso *et al.*, 2017). Por otra parte, se ha reportado que la mayoría de peces solo ingieren una fracción del alimento consumido, generalmente entre el 20 y 30%. Por ejemplo, del alimento total introducido en un cultivo de Salmon (*Salmo salar* L.) y trucha (*Oncorhynchus mykiss*) el 80% del carbono (C), 76% de nitrógeno (N) y 82% de fósforo (P) es perdido como residuos sólidos en el sistema (Lazzari & Baldisserotto, 2008; Wang *et al.*, 2013). Otro estudio realizado en lobina (*Micropterus salmoides*) reporta que la

proporción de nutrientes asimilados por el pez fue de: 15-20 % de N; 50% de P y 22% de C. Además, estimaron que del 60-86% de N y 15% de P fue perdido como nutrientes disueltos principalmente en forma de N amoniacal y ortofosfato; del 6 al 15% fue perdido a través de la producción de heces como partículas orgánicas; el 20% como fósforo particulado y 25% como carbono orgánico particulado.

En tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) se ha reportado que del alimento suministrado en el sistema durante la fase final de crecimiento del pez (569-660 g) 133 Kg se encontraba en forma de Nitrógeno total (NT) y 28 Kg de fósforo total (PT), de las cuales el 26% del NT y 45% de PT fue acumulado en biomasa del pez; 74% de NT y 55% de PT se generó como residuos sólidos en el sistema (Osti *et al.*, 2016). Otro estudio realizado por Montanhini & Ostrensky (2015) reporta que, en la producción de 1000 Kg de biomasa, el alimento suministrado al sistema presentó 82Kg de NT y 25 Kg de PT, de las cuales 35% de NT y 28% de PT fueron asimilados por el pez; 18% de NT y PT se perdió en el alimento no consumido; 33% de NT y 17% de PT se generó como producto de excreción; y 13% de NT y 37% de PT se encontró en las heces de los peces cultivados.

El exceso de estos dos elementos en los residuos, junto con la materia orgánica y otros nutrientes presentes en los efluentes puede generar impacto en el ambiente como eutrofización, acidificación y consecuentemente cambios en el ecosistema acuático (Lazzari & Baldisserotto, 2008). La descomposición de materia orgánica de los sólidos recolectados en acuicultura es descompuesta por microorganismos usando condiciones aeróbicas o anaeróbicas, y dependiendo las condiciones óptimas de desarrollo del microorganismo se generan determinados productos (Beristain, 2005). Son muy poco los estudios y publicaciones realizadas sobre la mineralización en acuaponía y tampoco está bien estudiado los procesos bioquímicos de solubilización y mineralización de los microorganismos involucrados en el sistema (Goddek *et al.*, 2015). Sin embargo, algunos estudios se han realizado sobre la mineralización de nutrientes, reducción de materia orgánica y relación de C/N en la descomposición de materia orgánica de los sólidos de sistemas de recirculación acuícola (Beristain *et al.*, 2005; Raffie & Saad, 2004; Rakocy *et al.*, 2007; Delaide, 2017). Otros estudios reportan que las descomposiciones de los sólidos

en condiciones anaeróbicas conducen a la actividad de cierta población microbiana que degrada o hidrolizan ciertos componentes orgánicos en ácido acético y el ácido carboxílico, y también generan la producción de biogas y metano (Conroy & Couturier, 2010; Gaddek *et al.*, 2016).

Presencia de Fósforo en los Residuos Sólidos generados en Acuicultura

El fósforo es un componente que se encuentra presente de diferentes formas o compuestos químicos en el alimento comercial de los peces (Hua & Bureau, 2006). Las formas químicas de estos compuestos se deben a los diferentes tipos de ingredientes implementados en el alimento, las cuales pueden ser clasificadas en las siguientes categorías químicas: Hidroxiapatita presente en la harina de hueso; el fitato y fósforo orgánico presente en los ingredientes de origen vegetal (harina de soja, maíz y trigo) y el suplemento de fósforo inorgánico como fosfato monosódico, fosfato monocálcico, fosfato dicálcico y fosfato tricálcico (Hua & Bureau, 2006). El uso de proteína de origen vegetal en dietas comerciales para tilapia del Nilo cada vez es más implementado como remplazo a la harina de pescado y se ha reconocido como una práctica importante para reducir el costo en la producción del alimento y apoyar al uso de una agricultura sostenible (Kumar *et al.*, 2011).

En cuanto a la digestibilidad de los compuestos, la hidroxiapatita es digerible por los peces, mientras que el ácido fítico o fitato que se encuentra presente en los ingredientes de origen vegetal es parte del P no disponible, ya que los peces no poseen la enzima fitasa en su tracto digestivo (Hua & Bureau, 2006). Se estima que el 67% del fósforo presente en el pellet del alimento de peces se encuentran en forma de ácido fítico. Por esta razón, generalmente el alimento contiene más fósforo del requerido por el pez, ya que no todo se encuentra de la forma que es asimilable por el organismo y por ende la dieta es complementada con una variedad de fuentes de fósforo inorgánico (Ferraris *et al.*, 2006).

El fósforo orgánico no digerido es excretado por las heces y representa entre el 60 y 90% como forma particulada $> 100 \mu\text{m}$, siendo la mayor parte de residuos sólidos generados en el cultivo de los peces (Yeo *et al.*, 2004). Por otro lado, el fósforo que es

digerible excede a lo requerido en la dieta del pez y la mayoría es excretado a través de la orina y representa la producción de fósforo soluble disuelto en el cultivo de peces (Hua & Bureau, 2006; d'Orbcastel *et al.*, 2008). Los sólidos generados en el sistema comúnmente pueden llevar de 7% al 32% de Nitrógeno total y del 30 al 84% del fósforo total (Cripps & Bergheim, 2000). Por ejemplo, para trucha arcoíris se ha reportado que el residuo de fósforo total se encuentra desde 1.4 a 25.5 g/kg de la ganancia de peso del pez (Green *et al.*, 2002).

Ácido fítico o Fitato

El Ácido fítico es la principal forma de almacenamiento de fósforo en semillas de leguminosas y cereales, representando aproximadamente del 70 al 80% del fósforo total (Makkar *et al.*, 2007). Su descripción química es myo-inositol 1,2,3,4,5,6 hexadihidrogeno fosfato ($C_6H_{18}O_{24}P_6$) con peso molecular de 660.04 g/mol; en su molécula presenta 6 grupos fosfato cargados negativamente, lo que le permite tener una alta afinidad con algunos iones metales formando quelato (denominado fitato) con Ca^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} y Mn^{2+} (**Figura 2**) (Makkar *et al.*, 2007).

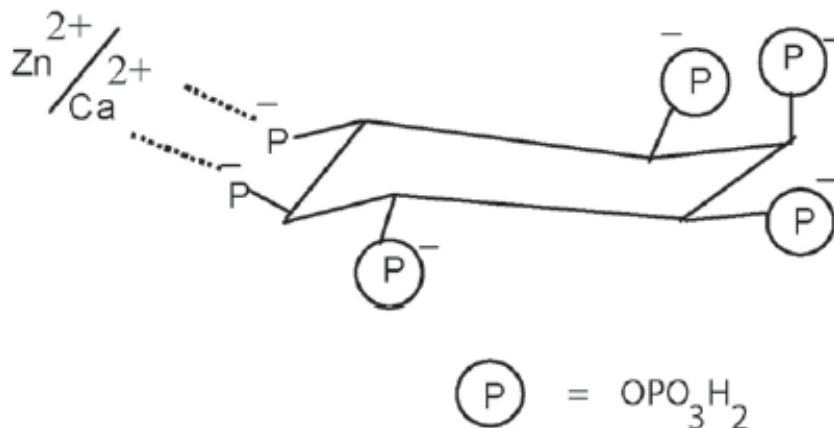


Figura 2 Ácido fítico e interacción con los otros iones (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} y Mn^{2+}).

La función de las grandes cantidades de fitato presentes en las plantas aún no está bien claro (Castro, 2005). Sin embargo, varias funciones fisiológicas han sido sugeridas como explicación de su almacenamiento en semillas y granos de plantas. Estas funciones

incluyen: i) formación de fitato como almacenamiento de fósforo y energía para ser utilizados durante la germinación de la semilla; ii) como fuente de cationes también utilizados durante la germinación; iii) como fuente de myo-inositol glucoronato (precursor de la pared celular); iv) como regulación de la concentración de fosfato inorgánico para la síntesis y acumulación de almidón (Castro, 2005; Kumar *et al.*, 2011).

Bacterias Mineralizadoras de Fósforo Orgánico

La disponibilidad de fósforo está controlada por la mineralización realizada por enzimas liberadas por microorganismos, en el cual una vez el fósforo orgánico es degradado al P soluble, este es fácilmente usado como fuente de nutrientes por plantas, algas, cianobacterias y bacterias autotróficas y así mismo podría ser inmovilizado en macromoléculas celulares orgánicas como ADN, ARN y ATP (Cuervo, 2010; Khan *et al.*, 2014).

La producción de fitasas por microorganismos ha sido detectada en varias especies de bacterias gram positiva y gram negativa (**Tabla 3**). Hasta el momento se ha reportado que *Bacillus* sp. y *Enterobacter* muestran actividad de enzima extracelular; *Escherichia coli* y las demás bacterias gram-negativas son reportadas como producción de enzima intracelular (Choi, 2004). Las enzimas extracelulares se pueden ubicar en el espacio periplásmico y en la superficie de las células, así como en la solución del suelo o los sólidos asociados con materia orgánica (Burns *et al.*, 2013).

La actividad de la enzima varía según la especie y pH óptimo. La mayoría de fitasas microbianas, especialmente de origen fúngico, tienen un pH óptimo de 4.5 a 5. Algunas fitasas bacterianas, especialmente las de *Bacillus* tiene un pH óptimo de 6.5 a 7.5 y el pH óptimo de las fitasas de origen vegetal esta entre 4.5 a 7.5 (Kerovuo, 2000).

Tabla 1 Bacterias productoras de fitasas de diferentes fuentes bibliográficas.

Bacteria (Género y especie)	Actividad de fitasa (U mg⁻¹) a (37°C)	pH óptimo	Referencia
<i>Citrobacter braakii</i>	3457	4	Kumar <i>et al.</i> , 2012
<i>Echerichia coli</i>	811-1800	4.5	Kumar <i>et al.</i> , 2012
<i>Klebsiella terrigena</i>	205	5	Kumar <i>et al.</i> , 2012
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	-	5	Kumar <i>et al.</i> , 2012
<i>Pantoea agglomerans</i>	23	4.5	Kumar <i>et al.</i> , 2012
<i>Pseudomonas syringae</i>	1210	4.6	Kumar <i>et al.</i> , 2012
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	20	7.0-8.0	Kumar <i>et al.</i> , 2012
<i>Bacillus subtilis</i>	9.0-15	6.5-7.5	Kerovuo, 2000
<i>Bacillus megaterium</i>	-	6.0	Dechavez <i>et al.</i> , 2011
<i>Bacillus phaericus</i>	-	7.0-8.0	Romani, 2014
<i>Bacillus licheniformis</i>	-	6.0-8.0	Choi, 2004

Funciones fisiológicas de microorganismos solubilizadores y mineralizadores de fósforo.

Los microorganismos solubilizadores y mineralizadores de fósforo incrementen los niveles de fósforo soluble, sin embargo, también se ha descrito que realizan otras funciones fisiológicas, como: i) realizar la síntesis de sideroforos y ácido indolacético (IAA); ii) generar antibióticos que ayudan a proveer protección a las plantas contra patógenos (biocontrol) y iii) liberación de cianuro de hidrógeno (HCN), un metabolito secundario ecológicamente importante (Vassilev *et al.*, 2006; Taurian *et al.*, 2010). En la **tabla 4** se resume las sustancias producidas como promoción de crecimiento de diferentes organismos microbianos con capacidad de solubilizar y mineralizar fósforo.

Tabla 2 Compuestos promotores de crecimiento generados por microorganismos solubilizadores y mineralizadores de fósforo.

Organismo	Regulador de crecimiento	Referencia
<i>Pseudomonas</i> sp.	Síntesis de la enzima –aminociclopropano– carboxilato (ACC); Síntesis de IAA, sideroforos, amonio y HCN.	Taurian <i>et al.</i> , 2010
<i>Bacillus</i> sp. <i>Azotobacter</i>	Síntesis de ACC, IAA, sideroforos y HCN. Síntesis de IAA y sideroforo.	Kumar <i>et al.</i> , 2012 Farajzadeh <i>et al.</i> , 2012.
<i>Pantoea</i>	Síntesis de IAA, sideroforos y HCN.	Khan <i>et al.</i> , 2014.

Fitasas.

Las fitasas (hexafosfato de mio-inositol fosfohidrolasas) son enzimas ampliamente producidas en la naturaleza por bacterias, hongos, levaduras animales y algunas plantas en el estado de germinación (Cao *et al.*, 2005).

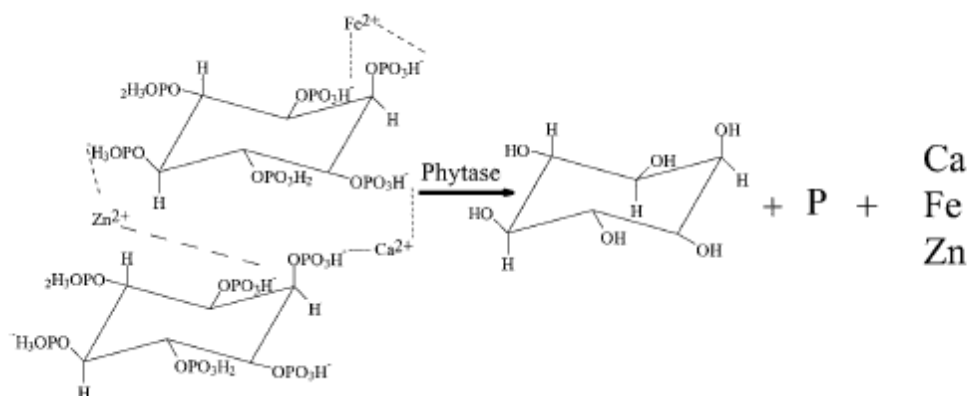


Figura 3 Hidrolisis de fitato por la enzima fitasa en inositol, fosfato y otros elementos divalentes. El fitato es mio-inositol 1,2,3,4,5,6 hexakis dihidrogeno fosfato que contiene aproximadamente del 14 al 28% de fósforo. La fitasa es la única enzima hasta el momento capaz de hidrolizar el fitato en el carbono 1,3 o 6 en el anillo inositol del fitato (Kumar *et al.*, 2011).

La fitasa cataliza una reacción de desfosforilación o hidrolisis enzimático de los enlaces fosfodiéster del ácido fítico (mio-inositol IP₆- IP₅- IP₄- IP₃- IP₂- IP₁), liberando grupos ortofósforo inorgánico (**Figura 3**). La actividad de la enzima es normalmente expresada en unidades de actividad de fitasa (UFT) siendo 1 UFT la cantidad de 1 μmol de P inorgánico liberado por un minuto (Kumar *et al.*, 2011).

Clasificación de las enzimas fitasas.

Las fitasas pueden ser clasificadas en fitasas ácidas (con pH óptimo entre 2.5 y 6.0) y fitasas alcalinas (con pH óptimo entre 6.0 y 8.0), dependiendo su pH óptimo para la actividad catalítica (Choi, 2004). También, se clasifican por su diferencia estructural y catalítica, las cuales se dividen principalmente en tres clases: histidine acid phosphatase (HAP); β-hélice phytase (FBH); purple acid phosphatase (PAP) y β-propeller phytase

(BPP) (Mullaney & Ullah, 2003; Leong *et al.*, 2007). Las fitasas FBH son principalmente aislada de microorganismos del género *Bacillus* las cuales exhibe una actividad enzimática máxima en pH de 6.0 a 8.0. Mientras que la mayoría de las demás enzimas microbianas degradan el fitato en medio ácido (Mullaney & Ullah, 2003).

Aplicación actual de las fitasas.

Actualmente la fitasa se ha utilizado principalmente como suplemento alimenticio en dietas principalmente para animales monogástricos. Se ha reportado que aproximadamente de 500 a 1000 unidades de fitasa pueden reemplazar 1 g de suplemento de fósforo inorgánico y reducir en total el 30 al 50% de la excreción de fósforo orgánico. Por lo tanto, el uso de la fitasa como suplemento genera dos ventajas: i) ahorrar el recurso de fósforo inorgánico caro y no renovable en las dietas formuladas de los animales y ii) disminuir la contaminación ambiental por los efluentes excesivos de fósforo en el estiércol y heces de los animales (Gen Lei & Porres, 2003).

También, se ha estado implementando la fitasa para mejorar la nutrición mineral en humanos, ya que la población mundial ingiere altos niveles de fitato del alimento básico de origen vegetal. Estudios se han enfocado en implementar la fitasa como suplemento para aumentar la liberación de hierro en trigo y arroz (Lucca *et al.*, 2001; Gen Lei & Porres, 2003).

Finalmente, otro enfoque implementado en los últimos años es la producción de plantas genéticamente modificadas capaces de expresar el gen encargado de la síntesis de fitasas y la implementación de microorganismos mineralizadores de fitato en suelos deficientes de fósforo para optimizar la producción de plantas y disminuir la contaminación ambiental y el uso de fertilizantes inorgánicos no renovables (Lucca *et al.*, 2001; Maougal *et al.*, 2014; Martínez *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2014; Abbad *et al.*, 2015)

Bacillus sp.

El género *Bacillus* sp. pertenece a la familia *Bacillaceae*; son microorganismos Gram positivos formadores de endosporas con morfología oval o cilíndrica; son quimiheterotrofos móviles y rodeados de flagelos periticos; son aerobios o anaerobio facultativos con catalasa positivos y son particularmente activos en sedimentos (Layton *et al.*, 2011). Tienen una amplia distribución en diferentes tipos de ambientes como el suelo, los ecosistemas de agua dulce y marinos con un crecimiento activo en un rango de pH de 5.5 a 8.5 Layton *et al.*, 2011).

Bacillus sp. son capaces de secretar proteínas homologas directamente al medio de cultivo en concentración de gramos/litro, en particular durante la fase de crecimiento post exponencial (Kerovuo, 2000). Además, tiene alta capacidad de crecer rápidamente a altas densidades en medios con baja fuente de carbono y nitrógeno y han sido usadas ampliamente para la producción de enzimas a manera industrial, tales como amilasas y proteasas (Kerovuo, 2000).

Entre las especies más representativas del género *Bacillus* en la agricultura se encuentran: *B. subtilis*; *B. amyloquifaciens*; *B. subtilis*; *B. megaterium*; *B. phaericus*; *B. licheniformis*; *B. brevis*; *B. firmus*; *B. thurigiensis*; *B. pumilus*. Los estudios demuestran que son considerados microorganismos capaces de sintetizar sustancias que son benéficas para las plantas, entre esas sustancias se encuentra la producción de hormonas que promueven el crecimiento vegetal como ácido indol-acético (IAA), producción de enzimas para la solubilización y mineralización de fósforo; ayudar a la fijación de nitrógeno y al biocontrol de enfermedades y patógenos (Kumar *et al.*, 2012).

Dentro de las especies más representativas de este género con propiedades de antagonismo celular contra patógenos se encuentra *Bacillus brevis*; *Bacillus subtilis* y *Bacillus thurigiensis*. La acción biocontroladora esta mediada por la producción de metabolitos antibióticos capaces de actuar sobre algunos microorganismos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora capsici*, y *Pythium* spp. (Layton *et al.*, 2011). Otros *Bacillus* son eficientes como

controladores biológicos de larvas de *Anopheles pseudopunctipennis* y de varios lepidópteros (Tejera *et al.*, 2011).

LITERATURA CITADA

- Abbad, M., Musa, N., Manzoor, M. 2015. Mineralization of soluble P fertilizers and insoluble rock phosphate in response to phosphate solubilizing bacteria and poultry manure and their effect on the growth and P utilization. *Biogeosciences*, 12, 4607-4619.
- Al-Hafedh, Y., Alam, A., Belgari, S. 2008. Food production and water conservation in a recirculating aquaponic system in Saudi Arabia at different ratios of fish feed to plants. *Journal of the World Aquaculture Society* 39(4):510-520.
- Asatryan, M., Aghabyan, K., Ohanyan, N., Arushanyan, T., Tamamyian, G. 2015. Assessment of opportunities for development of aquaponics systems in Armenia. National Academy of Sciences of RA Electronic. *Journal of Natural Sciences* 2(25); 7-12.
- Bastida O. 2012. Métodos de cultivo hidróponico de jitomate (*Solanum lycopersicum* L) bajo invernadero basados en doseles escaleriformes. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de fitotecnia, Instituto de horticultura. Tesis.
- Beristain, B. 2005. Organic matter decomposition in simulated aquaculture ponds. Wageningen Universiteit. Thesis. 146 pp.
- Burns, R., DeForest, J., Marxsen, J., Sinsabaugh, R., Stromberger, M., Wallenstein, M., Weintraub, M., Zoppini, A. 2013. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology & Biochemistry* 58, 216-234.
- Cao, L., Wang, W., Yang, C., Yang, Y., Yskupitiyage, A., Luo, Z., Li, D. 2005. Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme and microbial technology*. Science direct.
- Choi, W., Park, S., Kilm, Y., Oh, T. 2004. Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. *Microbiology Biotechnology* 63: 362-372.
- Conroy, J., Couturier, M. 2010. Dissolution of minerals during hydrolysis of fish. *Aquaculture* 298 (2010) 220-225.

- Corrales, L., Arévalo, Z., Moreno, E. 2014. Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *NOVA*, 2014; 12(21): 67-79 p.
- Castro, G. 2005. Evaluación de harinas de arveja (*Pisum sativum* L.) de tres cultivares, como sustituto parcial de harina de pescado, en la formulación de alimento para salmónidos. Universidad Austral de Chile. Tesis. 72 pp.
- Cerozi, B., Fitzsimmons, K. 2016. Use of *Bacillus* spp. To enhance phosphorus availability and serve as a plant growth promoter in aquaponics systems. *Scientia Horticulturae*, 211 (2016), 277-282 p.
- Cripps, S., Bergheim, A. 2000. Solids management and removal for intensive land-based aquaculture production systems. *Aquaculture, Eng.* 2000, 22, 33-56.
- Cuervo, J. 2010. Aislamiento y caracterización de *Bacillus* spp como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de ciencias Básicas. 35 pp.
- Delaide, B. 2017. A study on the mineral elements available in aquaponics, their impact on lettuce productivity and the potential improvement of their availability. Universite de liege. Thesis. 101 pp.
- Dhankhar, R., Sheoran, S., Dhaka, A., Soni, R. 2013. The role of phosphorus solubilizing bacteria (PSB) in soil management an overview. *Internacional Journal of Development Research*, Vol 3, 31-36 p.
- Díaz, G., Sánchez, I., Guajardo, R., Del Ángel, A., Ruíz, A., Medina, G., Ibarra, D. 2011. Mapero del índice de aridez y su distribución poblacional en México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente Vol XVII, Edición especial: 267-275.*
- d'Orbcastel, E., Blancheton, J., Boujard, T., Aubin, J., Moutounet, Y., Przybyla, C., Belaud, A. 2008. Comparison of two methods for evaluating waste of a flow through trout farm. *Aquaculture*, 274 (1): 72-79.
- Dunwoody, R. 2013. Aquaponics and hydroponics: the effects of nutrient source and hydroponic subsystem design on sweet basil production. University of Centra Missouri, Thesis. 141 pp.
- FAO. 2017. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. ISBN 978-92-5-309873-6.
- FAO. 2013. Afrontar la escasez de agua. Un marco de acción para la agricultura y seguridad alimentaria. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. ISBN 978-92-5-307304-7.

- Ferraris, R., Coloso, R., Sugiura, S., Flimlin, G. 2006. Phosphorus in effluents from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) aquaculture. *World Aquaculture*. 16-20.
- Galasso, H., Callier, M., Bastianelli, D., Blancheton, J., Aliaume, C. 2017. The potential of near infrared spectroscopy (NIRS) to measure the chemical composition of aquaculture solid waste. *Aquaculture* 476: 134-140.
- Gaona, R. 2006. *El agua en México: Lo que todas y todos debemos saber*. Primera edición. México D.F. 96 pp.
- Gen Lei, X., Porres, J. 2003. Phytase enzymology, applications and biotechnology. *Biotechnology Letter* 25: 1787-1794.
- Goddek, S., Schmutz, Z., Scott, B., Delaide, B., Keesman, K., Wuertz, S., Junge, R. 2016. The effect of anaerobic and aerobic fish supernatant on hydroponic lettuce. *Agronomy*, 6, 37. 1-12p.
- Goddek, S., Delaide, B., Mankasingh, U., Ragnarsdottir, K., Jijakli, H., Thorarinsdottir, R. 2015. Challenges of sustainable and commercial aquaponics. *Sustainability*, 7, 4199-4224 p.
- Green, J.A., Hardy, W., Brannon, E. 2002. Effects of dietary phosphorus and lipid levels on utilization and excretion of phosphorus and nitrogen by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture, Nutri.* 8: 279-290.
- Hua, K., Bureau, D. 2006. Modelling digestible phosphorus content of salmonid fish feeds. *Aquaculture*. 254 (1-4). 455-465.
- Kerovuo, J. 2000. A novel phytase from *Bacillus* characterization and production of the enzyme. University of Helsinki. Thesis. 66 p.
- Khan, A., Jilani, G., Saleem, M., Saqlan, S., Rasheed, M. 2009. P hosphorus solubilizing bacteria: Ocurrance, mechanisms and their role in crop production. *Journal Agricola Biological Science*, 1(1): 48-58 p.
- Kumar, V., Sinha, A., Makkar, H., Boeck, D., Becker, K. 2011. Phytate and phytase in fish nutrition. *Animal Physiology and animal nutrition*, 96: 335-364.
- Layton, C., Maldonado, E., Monroy, C., Corrales, L., Sánchez, L. 2011. *Bacillus* spp, perspectiva de su efecto biocontrolador medianteosis antibiosis en cultivos. *Publicación científica en ciencias biomédicas*, Vol 9, No 15: 177-187.
- Lazzari, R., Baldisserotto, B. 2008. Nitrogen and phosphorus waste in fish farming. *B. Inst. Pesca*, Sao Paulo, 35(4): 591-600.
- Lucca, P., Hurrel, R., Potrykus, I. 2001. Approaches to improving the bioavailability and level of iron in rice seeds. *Theory. Applicata. Genetic.* 102: 392-397.

- Makkar, H., Siddhuraju, P., Becker, K. 2007. Plant secondary metabolites. Methods in molecular biology. Chapter 5: Acid phytic. Human press, totowa, New Jersey. 129 pp.
- Maitra, N., Whitman, W., Ayyampalayam, S., Samanta, S., Sarkar, K., Bandopadhyay, C., Aftabuddin, M., Sharma, A., Manna, S.. 2014. Draft genome sequence of the aquatic phosphorus solubilizing and mineralizing Bacterium Bacillus sp. Strain CPSM8. Genome Announcements, vol 2. No 1. 0,1265-13.
- Maitra, N., Manna, S., Samanta, S., Sarkar, K., Debnath, D., Bandopadhyay, C., Kumar, S., Prakash, A.. 2015. Ecological significance and phosphorus release potential of phosphate solubilizing bacteria in freshwater ecosystems. Hydrobiologia, Vol 745, Issue 1, pp 69-83.
- Maougal, R., Brauman, A., Plassard, C., Abadie, J., Djekoun, A., Drevon, J. 2014. Bacterial capacities to mineralize phytate increase in the rhizosphere of nodulated common bean (*Phaseolus vulgaris*) under P deficiency. European Journal of Soil Biology, 62 (2014) 8-14.
- Martínez, O; Crowley, D., Mora, M., Jorquera, M. 2015. Short-term study shows phytate mineralizing rhizobacteria inoculation affects the biomass, phosphorus (P) uptake and rhizosphere properties of cereal plants. Journal of soil science and plant nutrition, 2015, 15 (1): 156-166.
- Monsalve, O., Gutiérrez, J., Cardona, W. 2017. Factores que intervienen en el proceso de mineralización de nitrógeno cuando son aplicadas enmiendas orgánicas al suelo. Una revisión. Revista Colombiana de Ciencias hortícolas, Vol 11, No 1: 200-209.
- Montanhini, R., Ostrensky, A. 2015. Nutrient load estimation in the waste of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) reared in cages in tropical climate conditions. Aquaculture Research, 2015, 46, 1309-1322.
- Mullaney, E., Ullah, A. 2003. The term phytase comprises several different classes of enzymes. Biochemical and Biophysical Research Communications 312(2003) 179-184.
- Nelson, R. 2008. Aquaponic food production: growing fish and vegetables for food and profit. USA, 217 p.
- Nelson, R., Pade, N. 2014. High production, minimal discharge aquaponic systems and methods. U.S. Patent, Sheet 1 to 2. US 8,67,686B1.
- Olazarán, G., Treviño, C., Suárez, C., Marie, R., Contreras-Torres, K., Gallegos-López, J., Barrera. 2008. Desarrollo de una Fitasa Bacteriana Recombinante para su aplicación en la Nutrición Acuícola. Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León. 470-491.

- Osti, J., Moraes, M., Carmo, C., Mercante, C. 2016. Nitrogen and phosphorus flux from the production of Nile Tilapia through the application of environmental indicators. *Brazilian Journal of Biology*, vol 78, No 1: 25-31.
- Rakocy, J., Losordo, T., Masser, M. 2006. *Recirculating Aquaculture Tank Production Systems: Aquaponics - Integrating Fish and Plant Culture*. SRAC Southern Regional Aquaculture Center. No.454.1-16.
- Rakocy, JE., Bailey, DS., Shultz, RC. Danaher, J. 2007. Preliminary evaluation of organic waste from two aquaculture systems as a source of inorganic nutrients for hydroponics. *Acta Hort.* 742, 201-207.
- Rafiee, G., Saad, C. 2005. Nutrient cycle and sludge production during different stages of red tilapia (*Oreochromis sp*) growth in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture* 244 (2005), 109-118 p.
- Roosta, H., Hamidpour, M. 2013. Mineral nutrient content of tomato plants in aquaponic and hydroponic system: effect of foliar application of some macro and micro nutrients. *Journal of plant Nutrition*. 36: 2070-2083 p.
- Schmautz, Z. 2015. *Mass balance and nutrient recycling in aquaponics*. University of Ljubljana. Thesis, 173 pp.
- Silva, L., Gasca-Leiva, E., Escalante, E., Fitzsimmons, K., Valdés, D. 2015. Evaluation of Biomass yield and water treatment in two aqc root floating uaponic systems using the dynamic technique (DRF). *Sustainability*, 7, 15384-15399 p.
- Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A., Lovatelli, A. 2014. *Small-scale aquaponic food production. Integrated fish and plant farming*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO.
- Taurian, T., Anzuay, MS., Angelini, JG., Tonelli, ML., Luduea, L., Pena, D., Ibaez, F., Fabra, A .2010. Phosphate-solubilizing peanut associated bacteria: screening for plant growth-promoting activities. *Plant Soil* 329:421–431.
- Tejera, B., Rojas, M., Heydrich, M. 2011. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *CENIC Ciencias biológicas*, Vol 422, No 3: 131-138.
- Timmons & Ebeling. 2010. *Recirculating Aquaculture*. 2nd Edition. USDA. 489 pp.
- Tyson, R. 2007. *Reconciling pH for ammonia biofiltration cucumber/tilapia aquaponics systems using perlite medium*. University of Florida. Tesis. 120 pp.
- Villarroel, M., Alvariño, J., Duran, M. 2011. Aquaponics: Integrating fish feeding rates and ion waste production for strawberry hydroponics. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2011 9(2), 537-545.

- Vassilev, N., Vassileva, M., Nikolaeva, I. 2006. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Appl Microbiol Biotechnol* 71:137–144.
- Villalobos, S., González, E. 2016. Determinación de la relación pez planta en producción de *Lycopersicon sculentum* L.) en sistema de acuaponía. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol 7 Núm 5. 983-992 p.
- Wang, X., Andresen, K., Handa, A., Jensen, B., Reitan, K., Olsen, Y. 2013. Chemical composition and release rate of waste discharge from an Atlantic salmon farm with an evaluation of IMTA feasibility. *Aquaculture environment interactions*, Vol 4: 147-162.
- Yeo, S., Binkowski, F., Morris, J. 2004. Aquaculture effluents and waste by products characteristic potential recovery and beneficial reuse. *NCRAC Technical bulletins*,6.

CAPITULO I

Aislamiento e Identificación de *Bacillus* spp. y su Efecto como Bacteria Mineralizadora de Fitato en un Sistema Acuapónico.

INTRODUCCIÓN

La acuaponía es un sistema integrado de producción de peces y plantas en un sistema de recirculación (Tyson, 2007), en el cual su principal objetivo es reutilizar y aprovechar los nutrientes acumulados en el sistema para el crecimiento de las plantas (Schamutz, 2015). En sistemas acuícolas, incluyendo la acuaponía, la mayoría de los peces metabolizan del 20 al 30% del alimento suministrado, y del 70 al 80% es liberado en el sistema como residuos sólidos (disueltos, suspendidos y sedimentables), compuestos principalmente de las heces excretadas y el alimento no consumido (Goddek *et al.*, 2015). Una parte de los nutrientes disueltos en el agua puede ser asimilados por las plantas (presentes en forma inorgánica); mientras que los desechos sólidos suspendidos y sedimentables, compuestos principalmente por desechos orgánicos (forma no asimilable) pueden ser una fuente potencial de nutrientes inorgánicos para las plantas al ser mineralizados (Rafiee & Saad, 2005).

Por otro lado, en la dieta de los peces gran parte de los componentes, como suplemento de proteína vegetal, utilizan ingredientes vegetales provenientes de la soya, trigo y maíz, plantas que pertenecen al grupo de leguminosas y gramíneas, las cuales almacenan del 70 al 80% del fósforo total en forma de ácido fítico o fitato (Cao et al. 2007). Sin embargo, se estima que durante la elaboración del alimento de peces el 67% del fósforo presente en el pellet se encuentra en forma de ácido fítico (Vásquez, 2004).

Esta molécula es de carga negativa y presenta alta afinidad con algunos iones metales formando quelato con Ca^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} y Mn^{2+} , lo cual reduce la absorción de estos

minerales en los animales monogástricos, como los peces, ya que en su tracto digestivo no producen la enzima fitasa (Cao *et al.*, 2007; Cerozi & Fitzsimmons, 2016). Por lo tanto, excretan el fitato ingerido a través de las heces quedando depositado en los sedimentos (Cerozi & Fitzsimmons, 2016) y por ende parte del fósforo contenido en los sistemas acuapónicos no queda disponible como nutriente para las plantas, ya que no se encuentra en su forma iónica como ortofosfato (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}).

La fitasa es una enzima meso-inositol hexofosfato fosfohidrolasa que cataliza la hidrólisis de los enlaces fosfosdiéster del fitato, liberando grupos ortofosfato (PO_4^-) (Makkar *et al.*, 2007). En algunos estudios, se ha encontrado que las bacterias con capacidad de producir fitasas también tienen la capacidad de ser promotoras del crecimiento vegetal a través de la producción de ácido indol acético (IAA) y sideróforos (Singh *et al.*, 2014). En diversos estudios se han evaluado fitasas bacterianas en diferentes condiciones para inducir la actividad de la enzima como: pH y requerimiento de Ca^{2+} en el caso de *Bacillus*; limitación de fuente de carbono para *Klebsiella terrigena* (Mittal *et al.*, 2012); fase estacionaria y en condiciones anaeróbicas para *Escherichia coli*; fuente óptima de nitrógeno y carbono para la producción de la enzima en *Pseudomonas* sp. y *Bacillus* sp., y otros estudios en *Raoultella* sp., *Citrobacter braakii* y *Enterobacter* (Jorquera *et al.*, 2008; Demirkan, 2014). Dichos trabajos han sido enfocados principalmente en la identificación y caracterización de bacterias solubilizadoras y mineralizadoras de fósforo en el suelo; y en la producción y purificación de la enzima para implementar su uso como suplemento en el alimento de animales monogástricos y en la nutrición humana (Kumar *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2015; Balaban *et al.*, 2017). Sin embargo, a la fecha son pocos los estudios que se han llevado a cabo en hábitats acuáticos (Maitra *et al.*, 2014; Maitra *et al.*, 2015), y en la mineralización y degradación de fitato de los sólidos sedimentables obtenidos en sistemas acuícolas y acuapónicos (Cerozi & Fitzsimmons, 2016; Goddek *et al.*, 2018).

En este contexto, la identificación de bacterias productoras de fitasa puede jugar un papel importante en la mineralización del fitato presente en los sólidos sedimentables generados en el sistema para la liberación del fósforo y posiblemente de otros nutrientes

que se quelan con dicha molécula los cuales puede ser una fuente importante de nutrientes para las plantas. Así mismo, puede ser una alternativa para reducir el impacto causado en la acuicultura tradicional y en los sistemas de recirculación cerrada (SCR), los cuales liberan al medio ambiente los sólidos generados en el sistema con una alta carga de N y P, elementos que en concentraciones excesivas estimulan la eutrofización de los cuerpos de agua receptores (Lazzari & Baldisserotto, 2008; Goddek *et al.*, 2016). Por lo anterior, se plantea como hipótesis que la inoculación de *Bacillus* spp. aislada de sólidos sedimentables de un sistema acuapónico favorecerá la mineralización para la liberación de nutrientes, especialmente ortofosfatos (PO_4^-) proveniente de la molécula fitato, lo cual podrán ser aprovechables para el crecimiento y desarrollo de las hortalizas cultivadas. Así, el objetivo de este trabajo fue aislar e identificar bacterias productoras de fitasa del género *Bacillus* spp. y evaluar el efecto de inoculación de cepas puras en diferentes condiciones de oxígeno y temperatura sobre la mineralización y liberación de nutrientes en sólidos generados de un sistema acuapónico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento e Identificación de Bacterias Mineralizadoras de Fitato.

Muestras de sólidos sedimentables fueron colectados del hidrociclón y cama de plantas de un sistema acuapónico (instalaciones de granjas acuapónicas, Guadalajara-Jalisco, México), donde fueron transportadas y almacenadas a 4°C a el laboratorio de biotecnología de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP). Cada muestra fueron pesadas a 1 g y fueron homogenizadas en medio líquido LB (Luria Bertani Broth); se realizó diluciones seriadas de cada stock para obtener diluciones de 10^1 a 10^6 . Las muestras fueron incubadas a 37°C; posteriormente a las 24h y 72h del crecimiento bacteriano se tomó 0.1 mL de cada una de las diluciones y fueron sembradas en medio agar sólido de LB e incubadas a 37°C durante 24 a 48 horas.

A partir de dichas siembras se realizaron aislamientos secundarios hasta la obtención de cepas puras y se llevó a cabo pruebas macroscópicas para identificar las características morfológicas de las colonias (color, forma, elevación, márgenes, diámetro, superficie y textura); pruebas microscópicas para definir Gram (+) o Gram (-); y pruebas de capacidad hemolítica en agar-sangre, descartando las cepas con capacidad de hemolisis. Estas pruebas se realizarón, con el fin de identificar cepas puras con características del género *Bacillus* spp., las cuales fueron posteriormente conservadas en glicerol al 15% y guardadas a -80°C. Adicionalmente, se les realizó la prueba de cinética de crecimiento por medio de la medición de densidad óptica (600 nm) en medio LB cada dos horas, durante 56 horas.

Identificación Bioquímica de Bacterias productoras de Fitasa.

Las cepas con características microscópicas de *Bacillus* spp. fueron evaluadas individualmente por triplicado en el medio phytase screening medium (PSM: glucosa 10 g l⁻¹, fitato de sodio 4 g l⁻¹, CaCl₂ 2 g l⁻¹, NH₄NO₃ 5 g l⁻¹, KCl 0,5 g l⁻¹, MgSO₄ H₂O 0,5 g l⁻¹, FeSO₄ 7H₂O 0,01 g l⁻¹, MnSO₄ H₂O 0,01 g l⁻¹, y Agar 15 g l⁻¹) descrito por Kerovuo *et al.*, 2000. Las cepas fueron incubadas a 37°C durante cuatro días y se seleccionaron las

cepas que presentaron formación de halo alrededor de su colonia indicando la producción de fitasa extracelular. El diámetro de dicho halo fue medido en mm a los dos días de incubación y se calculó el índice de solubilización o mineralización (IS) con la siguiente formula (Sadia *et al.*, 2002):

$$IM = \frac{\text{Diámetro de la colonia} + \text{Diámetro de la zona del halo}}{\text{Diámetro de la colonia}}$$

Identificación Taxónomica de las Bacterias Mediante 16S.

La identificación molecular a nivel de género de las cepas puras con capacidad de mineralizar el fitato fueron obtenidas mediante la amplificación y secuenciación parcial del gen 16s rRNA. Para ello se realizó la extracción de ADN genómico usando el método CTAB de Wilson (1997). La amplificación se realizó por la técnica de PCR usando los primers: QUGP-F1 (5'-AGTTTGATCCTGGCTCTCAG-3') y QUGP-R1b (5'-TACCTTGTTACGACTTC-3'). Las condiciones de amplificación para la PCR fueron de: 94°C por 3 min; 94°C por 1 min; 60.7°C por 35 s; 72°C por 1 min para 35 ciclos; al final se realizó una extensión de 72°C por 5 min. La calidad del ADN genómico y del producto de PCR fueron evaluados por electroforesis al 1 y 1.5% de agarosa, respectivamente. Los productos de PCR fueron purificados con el protocolo de PCR clean-up de Wizard® (Promega) y fueron secuenciados y analizados para su clasificación taxonómica a nivel de género en la base de datos GenBank usando BLAST (<http://www.dna.affrc.go.jp>).

Prueba de Mineralización *in vitro* en los Sólidos Recolectados de Sistemas Acuapónicos (SA).

Se evaluó el efecto de inoculación de dos cepas puras de bacterias productoras de fitasa en diferentes condiciones de oxígeno y temperatura sobre la mineralización en residuos sólidos de un sistema acuapónico. Para ello, se implementó un diseño factorial 2 × 2 × 3, donde se evaluó los siguientes factores: factor A: temperatura (25° y 37°C); factor B: condiciones anaeróbicas (0 rpm) y aeróbicas (200rpm); factor C: testigo (sin

inoculación de cepa), inoculación cepa Sp-5 e inoculación cepa Sp-6, que presentaron capacidad de hidrolizar el fitato. En total se evaluaron 12 tratamientos (**Tabla 1**), cada uno con tres repeticiones (36 unidades experimentales, UE).

Cada UE consistió en un matraz de 250 mL, con 200 mL de sólidos obtenidos de sistemas acuapónicos. En los tratamientos con inoculación de bacteria, se realizó 48 horas antes un precultivo de la cepa usando medio LB. Pasado las 48h cada una de las unidades experimentales fueron inoculadas al 4% (Demirkan *et al.*, 2014) con una $OD_{600} = 0.3$ y con unidades formadoras de colonia (UFC) de 2.7×10^7 /mL.

Tabla 1. Tratamientos para la evaluación in vitro del efecto de *Bacillus* sp. sobre el proceso de mineralización de los sólidos recolectados en sistemas acuapónicos, bajo diferentes condiciones de oxígeno y temperatura.

Inoculación de bacteria ^a	Temperatura	Oxígeno ^b
Testigo	24°C	0 rpm
		200 rpm
	37°C	0 rpm
		200 rpm
Cepa Sp-5	24°C	0 rpm
		200 rpm
	37°C	0 rpm
		200 rpm
Cepa Sp-6	24°C	0 rpm
		200 rpm
	37°C	0 rpm
		200 rpm

^aLos tratamientos incluyen sin inoculación de bacteria (testigo) e inoculación de cepas puras de *Bacillus* sp. Sp-5 y Sp-6.

^bDos niveles de oxígeno fueron evaluados en combinación con la inoculación de bacteria y temperatura, en el cual 0 rpm indica condiciones anaeróbicas y 200 rpm indica condiciones aeróbicas.

Determinación de los nutrientes presentes en los sólidos recolectados del SA.

Al inicio y final de experimento se tomaron muestras por duplicado, las cuales fueron secadas a 70 °C durante 72 h; posteriormente fueron digeridas con ácido nítrico (HNO₃) al 3.2 N para el análisis del contenido de nutrientes en fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca),

azufre (S), magnesio (Mg), hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo) y zinc (Zn) por medio de espectrofotometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (iCAB 6000, Thermo Fisher Scientific).

Adicionalmente, se realizó un análisis por duplicado de fitato implementando el método de Wheelery Ferrel, 1971; nitrógeno total (%) implementando el método de Kjeldahl utilizando una relación de 1:1:1.5 de la muestra, con el catalizador (Sulfato de potasio + Oxido de mercurio) y con ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado, respectivamente; y porcentaje (%) de materia orgánica fue analizado por el método de calcinación, siguiendo el manual para análisis de materia orgánica de Paneque *et al.* (2010).

Determinación de los nutrientes liberados durante la mineralización de los sólidos recolectados del SA.

En la solución líquida se realizaron mediciones al inicio y cada dos días del experimento (durante 12 días) de las siguientes variables: pH y conductividad eléctrica en $\mu\text{S cm}^{-1}$, analizados por medio de un Medidor multiparamétrico de pH (Thermo Scientific™) y conductividad, Orion Star™ A215, con exactitud de ± 0.002 ; y el fósforo P (PO₄⁻ en mg l⁻¹) por espectrofotometría UV-vis (Genesys 20 de Thermo Spectronic) a una longitud de onda de 470 nm, implementando el método de amarillo vanadato molibdato descrito por Rodríguez & Rodríguez (2002).

Por otro lado, al inicio y cada dos días se tomaron 10 mL de muestra por UE, las cuales fueron conservadas a -20°C. Al final del experimento fueron seleccionadas las muestras iniciales (tiempo 0 días) y las muestras tomadas a los 10 días para el análisis en mg L⁻¹ de K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, Mo, Cu y Zn por espectrofotometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente. (iCAB 6000, Thermo Fisher Scientific). El tiempo de los 10 días fue seleccionado porque fue el tiempo donde estadísticamente presentó mayores concentraciones de P (PO₄⁻ en mg L⁻¹).

Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos fueron presentados como el promedio \pm desviación estándar, analizados por la prueba de normalidad, de ANOVA y por la prueba de comparación de media de tukey “hostly significant difference (HSD)”, al nivel de significancia del 5% ($p \leq 0.05$). También se realizó un análisis factorial de $2 \times 2 \times 3$ con sus respectivas interacciones, implementando el paquete estadístico de Statistic7 (StatSoft, I. SS I., “Statistica”, Data analysis software system, versión 7).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de Bacterias Mineralizadoras de Fitato.

En ecosistemas acuáticos factores como: O₂, CO₂, pH, N inorgánico, alcalinidad y acumulación de materia orgánica influyen en la actividad microbiana; y se reporta que hay una gran diversidad de grupos bacterianos en la interface agua-sedimentos en condiciones óxicas- anóxicas de ecosistemas acuáticos y en sistemas de producción acuícola (Brune *et al.*, 2000).

En las muestras de sólidos sedimentables, obtenidas en granjas acuapónicas en Guadalajara-Jalisco, se aislaron 60 cepas de bacterias, de las cuales 6 cepas presentaron capacidad de causar hemólisis parcial (alfa) y hemólisis total (beta) de los glóbulos rojos, siendo una prueba indicadora de patogenicidad (cepas descartadas); 47 cepas restantes presentaron características microscópicas de bacterias Gram negativas y positivas en forma de coco y micrococos (**Figura 1**) y sólo 7 cepas presentaron características microscópicas del género *Bacillus* (**Figura 2**), que corresponde a bacterias Gram positivas en forma de bastón dispuestas en pares o cadenas con forma redondeada o cuadrada (Slepecky & Hemphil, 2006). En la **tabla 2** se expone las características morfológicas en la formación de la colonia de las cepas con características de *Bacillus*.

La presencia de este género en las muestras de sólidos es apoyada con el estudio de Schamautz *et al.*, (2016), donde reportó que el 93.2% de las lecturas moleculares obtenidas en muestras de sólidos en sistemas acuapónicos son bacterias del phylum Firmicutes, el cual comprende la familia *Bacillaceae*, perteneciente al género *Bacillus* sp.

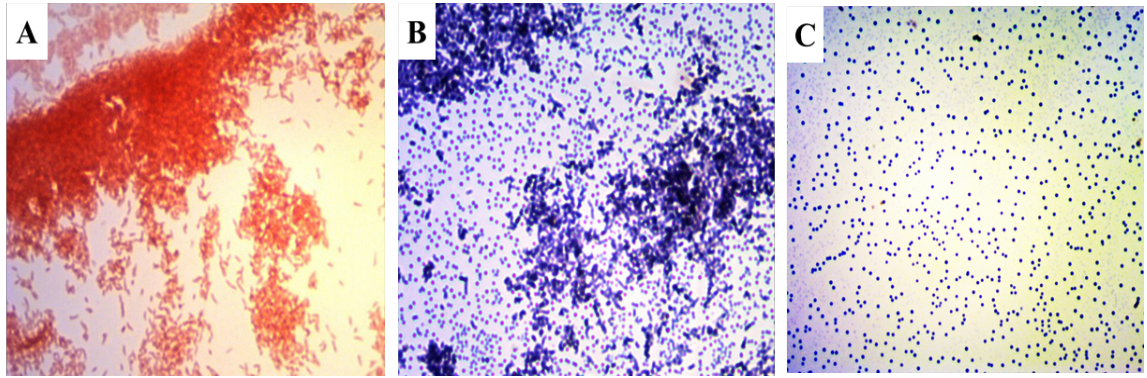


Figura 1. Descripción microscópica de las cepas aisladas en muestras de residuos sólidos sedimentables recolectados en granjas acuapónicas en Guadalajara-Jálisco. **A.** Cepas Gram negativas (micrococcus); **B.** Cepas Gram positiva micrococcus; y **C.** Cepa Gram positiva coccus.

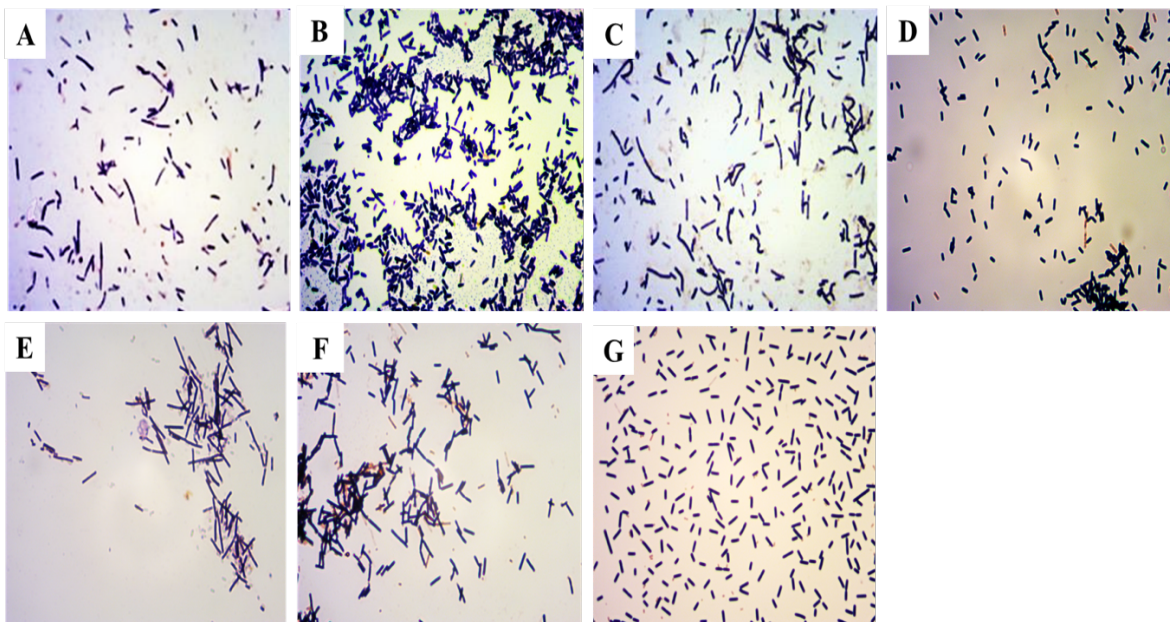


Figura 2. Descripción microscópica de cepas aisladas en muestras de residuos sólidos sedimentables recolectados en granjas acuapónicas en Guadalajara-Jálisco. **A.** Sp-1; **B.** Sp-2; **C.** Sp-3; **D.** Sp-4; **E.** Sp-5; **F.** Sp-6; and **G.** Sp-7

Tabla 1. Características morfológicas y microscópicas de las cepas aisladas de las muestras de sólidos obtenidos en granjas acuapónicas de Guadalajara-Jálico.

Cepa	Características morfológicas	Identificación microscópica	Capacidad hemolítica
Sp-1	Coloración crema de crecimiento uniforme con morfología ondulada y superficie convexa.	Gram (+)	gamma
Sp-2	Colonias de color crema, morfología ondulada, filamentosa y superficie convexa.	Gram (+)	gamma
Sp-3	Coloración café, de morfología irregular y convexa.	Gram (+)	gamma
Sp-4	Coloración crema de morfología ondulada con superficie plana.	Gram (+)	gamma
Sp-5	Coloración crema, con morfología lobulada y superficie convexa.	Gram (+)	gamma
Sp-6	Coloración café, de morfología rizoide	Gram (+)	gamma
Sp-7	Coloración café, de morfología irregular	Gram (+)	gamma

Cepa Sp-2 y Sp-5 fueron aisladas de las muestras del hidrociclón y las demás fueron aisladas de los sólidos recolectados en el subsistema hidropónico.

Las siete cepas fueron evaluadas con la prueba bioquímica de mineralización *in vitro* para la formación del halo (zona clara) en mm, usando el medio sólido PSM, de las cuales, sólo 2 cepas (Sp-5 y Sp-6) presentaron formación del halo durante el periodo de 36 a 48 horas que corresponde a la fase estacionaria (**Figura 3 y 4**). La bacteria Sp-6 presentó mayor índice de mineralización con un valor de 3.2 ± 0.3 mm, y la cepa Sp-5 un menor índice con un valor de 2.1 ± 0.3 a pH 7.0.

La capacidad de degradar el fitato se lleva a cabo principalmente por la producción extracelular de la enzima fitasa, el cual hidroliza los enlaces fosfodiéster del fitato liberando grupos ortofósforo o fosfato inorgánico asimilable para las plantas (Mullaney & Ullah, 2003; Balaban *et al.*, 2017). Dicha degradación del fitato coincide con el estudio de Demirkan *et al.*, (2014), donde obtuvieron la mayor actividad enzimática (210 U/mL) a las 48 h, durante la fase de crecimiento estacionaria de *Bacillus* sp.

Algunas de las especies de este género son reportadas con capacidad de mineralizar el fitato (Oh *et al.*, 2004; Dechavez *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2012) mostrando actividad enzimática extracelular en pH de 6.5 a 7.5, lo cual es una ventaja para ser implementada

en los sistemas acuapónicos, pues a este rango son condiciones estables para el crecimiento de peces, plantas y bacterias nitrificantes (Somerville *et al.*, 2014; Rakocy *et al.*, 2006).

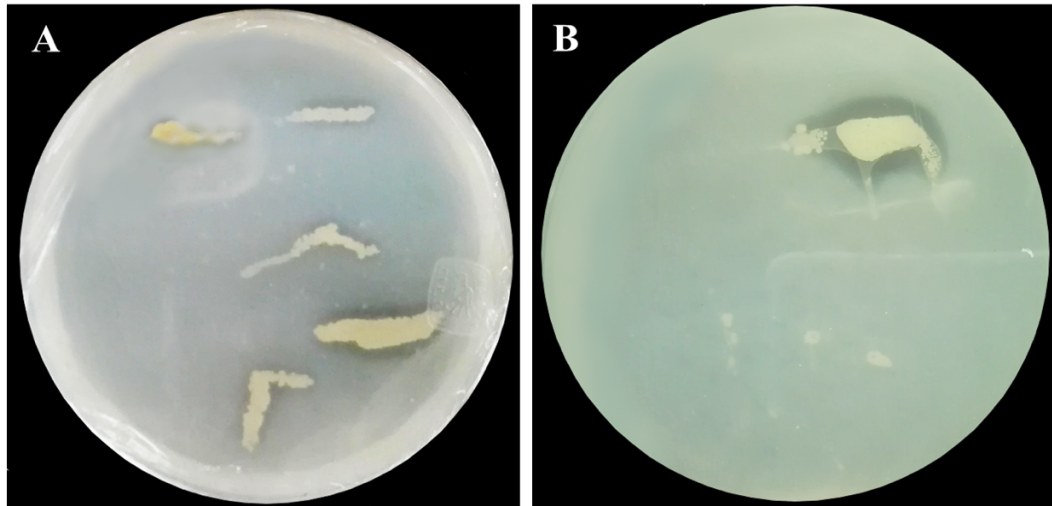


Figura 3. Formación de halo por mineralización de fitato con cepas puras de bacterias Sp-5 (A) y Sp-6 (B) en “phytase screening médium” (PSM).

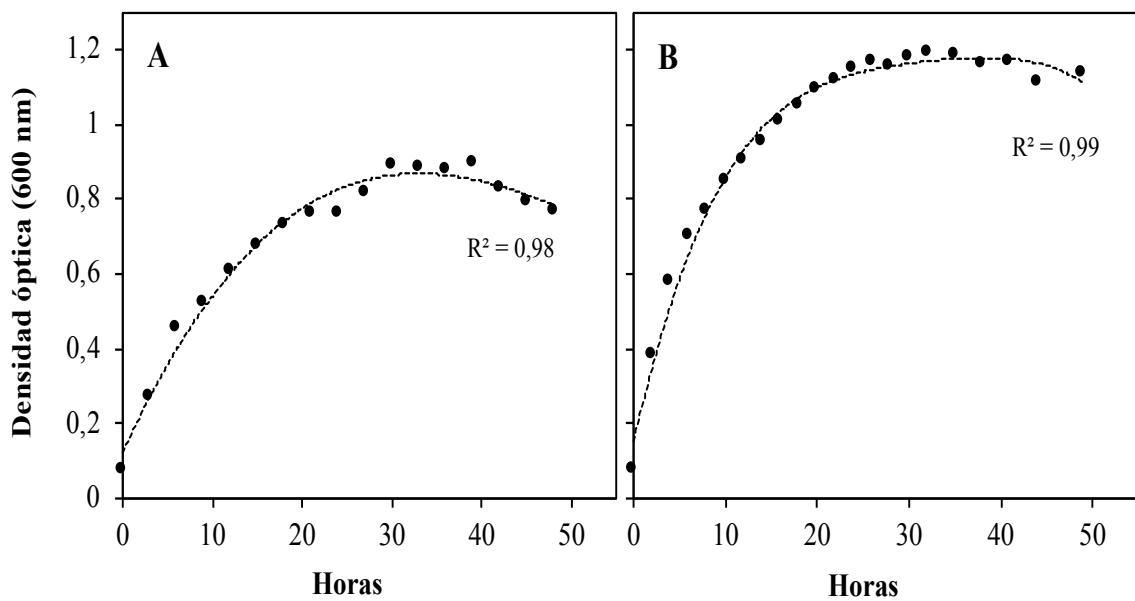


Figura 4. Cinética de crecimiento de cepas puras de *Bacillus sp.* mineralizadoras de fitato. A. Cepa pura Sp-5; B. Cepa pura Sp-6.

Los resultados de la identificación molecular de las cepas mineralizadoras de fitato basado en la amplificación de la secuencia 16S rRNA (**Figura 5**) y en el análisis BLAST de las secuencias (**Tabla 3**) revelan una alta similaridad con las bacterias del género *Bacillus* sp., *Bacillus phaericus* y *Bacillus cereus*. El género de *Bacillus* sp. ha sido identificado en la mayoría de estudios como uno de los predominantes en la producción extracelular de la fitasa en suelo y en medios acuáticos, reportando actividades enzimáticas de 39 U mL⁻¹; 60-120 U mL⁻¹ y 69 U mL⁻¹ en *B. cereus*, *Bacillus* sp. y *B. shaericus* respectivamente (Oh *et al.*, 2004; Joseph & Raj, 2007; Gulati *et al.*, 2007; Anis Sobirin *et al.*, 2009; Jain & Chauhan, 2014; Ramani, 2014), lo cual son especies que pueden ayudar a la mineralización de los sólidos generados en acuaponía.

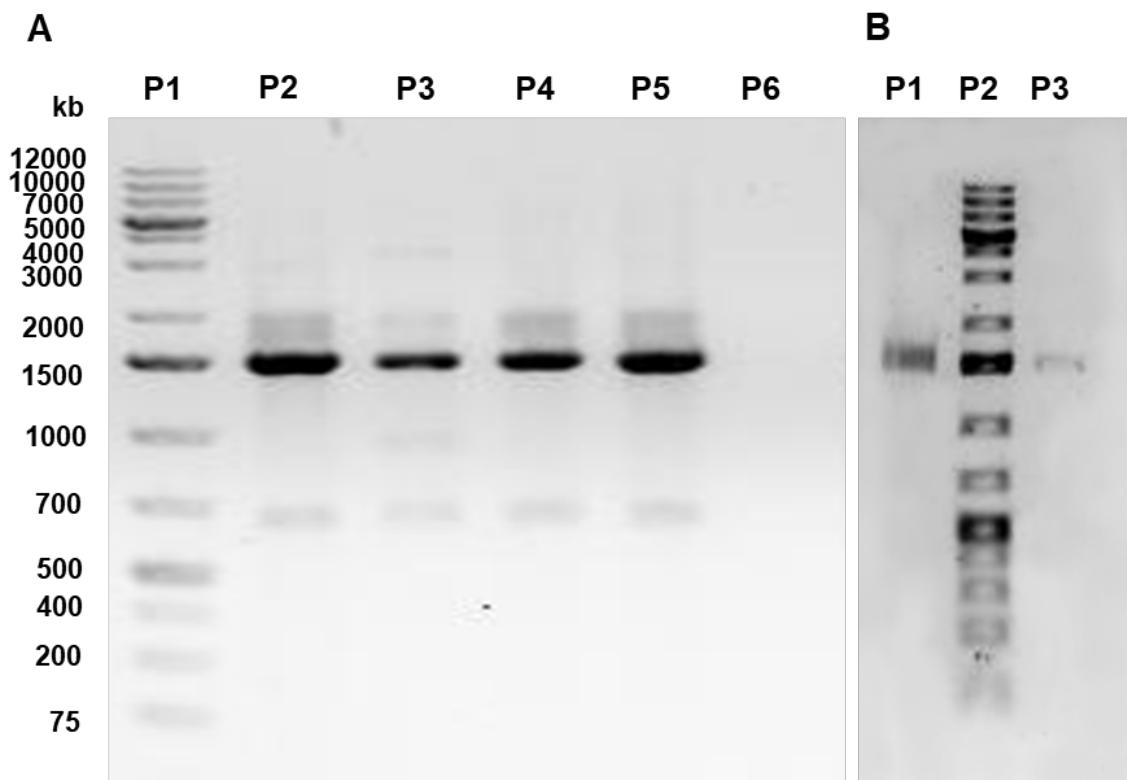


Figura 5. Electroforesis de gel de agarosa al 1.2%. **A.** Muestras de PCR de la amplificación del gen 16S rRNA. Pozo 1 marcador de 1 kb; pozo 2 y 3: muestras de ADN de la cepa Sp-5. Pozo 3 y 4: muestras de ADN de la cepa Sp-6. Pozo 6: blanco. Las muestras fueron amplificadas a 60.7°C de temperatura de alineación. **B.** Producto de PCR (fragmento de 1500 pb) purificado con el protocolo de PCR clean-up de Wizard® en cada una de las cepas. Pozo 1 fragmento purificado de la cepa Sp-5. Pozo 2 marcador de 1 Kb. Pozo 3 fragmento purificado de la cepa Sp-6.

Tabla 2. Identificación de bacterias mineralizadoras de fitato basado en el análisis de las secuencias parciales obtenidas del gen 16s rRNA en la base de datos GenBank (BLAST).

Cepa aislada	Género	% de identidad
Sp-5	<i>Bacillus cereus</i>	90
	<i>Bacillus shaericus</i>	91
Sp-6	<i>Bacillus cereus</i>	91
	<i>Bacillus sp.</i>	91
	<i>Bacillus shaericus</i>	91

Mineralización de Fitato en Sólidos Sedimentables Recolectados de Sistemas Acuapónicos y su Efecto en la Liberación de Fósforo Inorgánico.

Algunos estudios reportan que los nutrientes presentes en el alimento no consumido y heces de los peces en sistemas acuapónicos se encuentran en mayor proporción en forma orgánica e insoluble, los cuales no son fácilmente disponibles para las plantas (Scheider *et al.*, 2005; Neto & Ostrensky, 2015). Así mismo, son pocos los estudios recientes realizados sobre la mineralización en acuaponía, mostrando pequeñas diferencias en condiciones aeróbicas y anaeróbicas (Monsees *et al.*, 2017; Goddek *et al.*, 2018). Por este motivo, el objetivo de esta parte del estudio fue evaluar el efecto de la inoculación de las cepas puras de *Bacillus* spp. con capacidad de degradar el fitato (Sp-5 y Sp-6) en diferentes condiciones de temperatura (24 °C y 37 °C) y oxígeno (aneróbico y aeróbico) sobre la mineralización de los sólidos, con el fin de dejar los nutrientes más disponibles para las plantas.

El contenido relativo de materia orgánica y nitrógeno total de los sólidos a los 12 días de mineralización fue significativamente menor con respecto al contenido inicial tanto en condiciones anaeróbicas y aeróbicas a 24 y 37 °C, presentando contenidos finales de 60 a 80% de MO y 48 a 84% de NT (**Figura 5.6**). Esta degradación es dada principalmente por los diferentes procesos bioquímicos mediados por los microorganismos heterótrofos presentes en los sólidos, donde una parte de la descomposición de materia orgánica libera nutrientes que pueden ser utilizados por los microorganismos para realizar sus procesos

metabólicos y otra parte, principalmente el carbono y nitrógeno es metabolizado para el crecimiento bacteriano (Beristain, 2005; Goddek *et al.*, 2018).

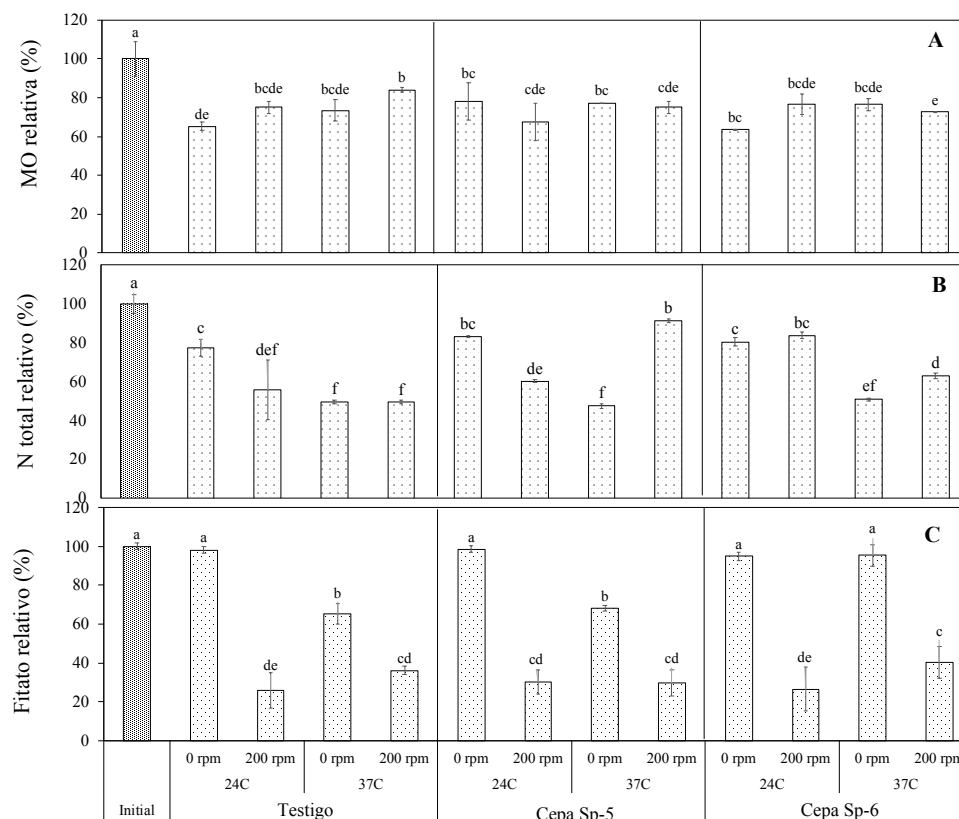


Figura 6. Los cambios de concentración relativa (%) de materia orgánica (A), nitrógeno total (B) y fitato en concentraciones iniciales y después de la inoculación sin y con cepas puras de *Bacillus sp.* colectadas en sistemas acuapónicos durante 12 días. Los datos representan el promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas de $p \leq 0.05$.

La capacidad de las diferentes especies de *Bacillus* spp. en producir fitasa depende de la cepa y de las condiciones presentes en el cultivo (Kerovuo, 2000; Singh *et al.*, 2014). Esto coincide con los datos obtenidos en nuestro experimento, donde se observó diferencias significativas a partir del día 2 del proceso de mineralización, presentando altas concentraciones de fosfato (PO_4^-) en los tratamientos inoculados con cepas puras de *Bacillus* sp. (Sp-6), seguido de la Sp-5, en comparación al testigo (**Figura 7A**). Con respecto a las condiciones evaluadas no se presentó un efecto de temperatura sobre la liberación de PO_4^- (**Figura 7B**), mientras que condiciones aeróbicas afectaron significativamente la mineralización de fitato a partir del día 6, independiente de la cepa bacteriana (**Figura 7C**).

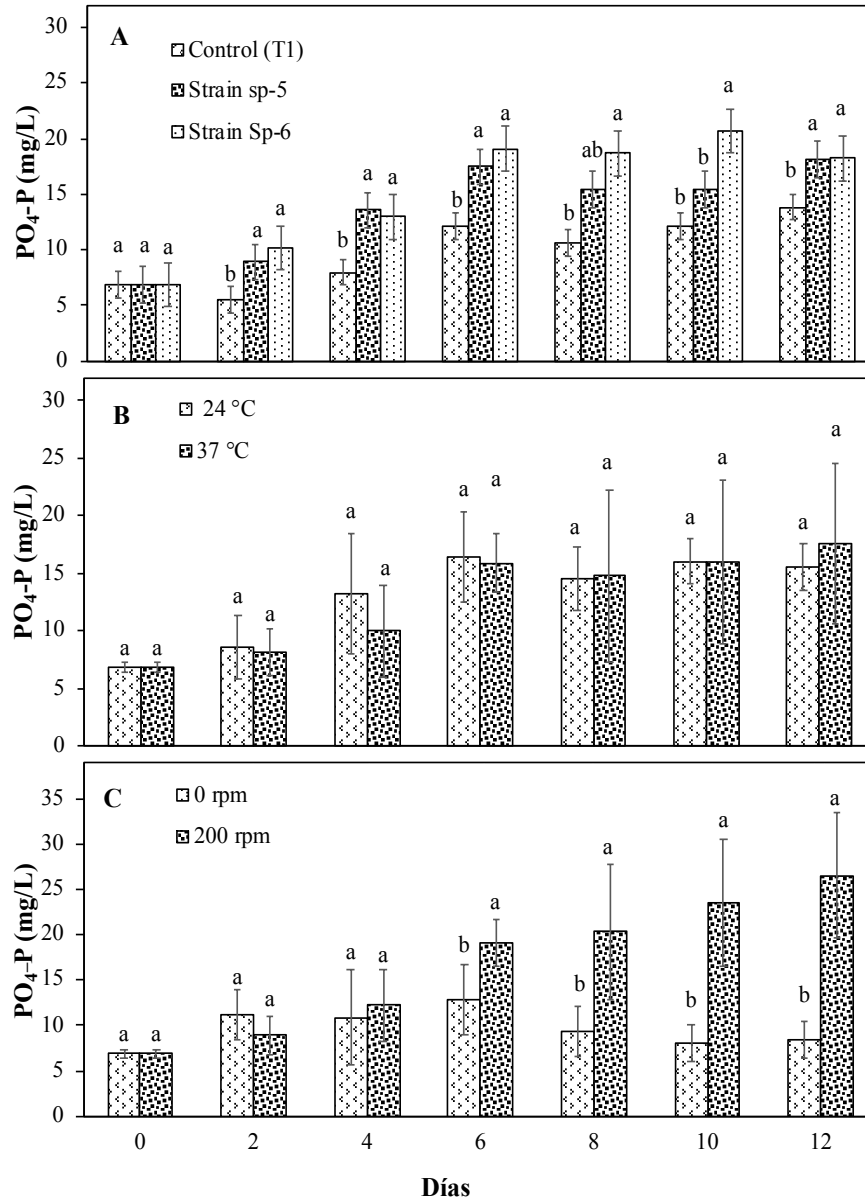


Figura 7. Efecto de la inoculación de cepas puras de *Bacillus* sp. mineralizadoras de fitato sobre la disponibilidad de P inorgánico (PO_4^-) en la solución mineralizada de los sólidos generados en acuaponía. **A.** Efecto de cepas de *Bacillus* sp. mineralizadoras de fitato sobre la mineralización de sólidos del sistema. **B.** Efecto de *Bacillus* mineralizadoras de fitato en diferentes condiciones de temperatura (24 y 37 °C). **C.** Efecto de *Bacillus* mineralizadoras de fitato en diferentes condiciones de oxígeno. Los datos representan el promedio \pm la desviación estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas de $p \leq 0.05$ en cada tiempo.

Este incremento de PO_4^- coincide con la disminución del contenido relativo de fitato a los 12 días de mineralización, con respecto al contenido relativo inicial de fitato (100%: 2.87 ± 0.17 mg/100 g de muestra), donde se observó menor contenido relativo en los tratamientos con condiciones aeróbicas presentando diferencias significativas de $p \leq 0.05$ (**Figura 6C**). Así mismo, el análisis de correlación confirma la importancia de las condiciones aeróbicas para el proceso de mineralización o degradación del fitato, ya que el análisis presenta una baja correlación entre los tratamientos con condiciones anaeróbicas y una alta correlación en condiciones aeróbicas con un R^2 de 0.74; 0.81, y con un coeficiente de correlación negativo de -0.86 y -0.90 a 24°C y 37°C respectivamente (**Figura 8**). Por otro lado, la presencia de fitato en los sólidos generados en el sistema por el alimento no consumido y las heces coincide con los resultados obtenidos en otros estudios (Cripps & Bergheim, 2000; Green *et al.*, 2002; Yeo *et al.*, 2004). La presencia de esta molécula en los residuos se debe a la ausencia de la enzima fitasa en el intestino de los peces, el cual tiene como capacidad degradar el fitato presente en el alimento que proviene principalmente de los ingredientes de origen vegetal implementados en la formulación de la dieta como proteína vegetal (Hua & Bureau, 2006).

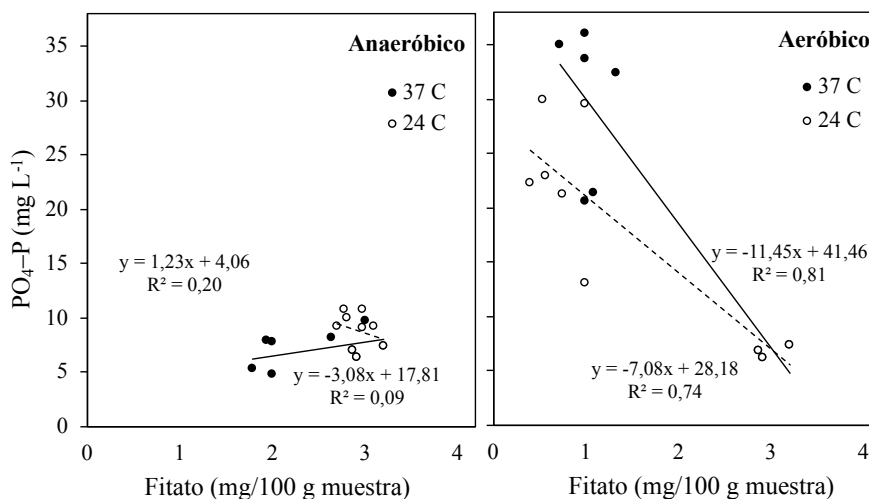


Figura 8. Análisis de correlación entre las variables de fosfato y fitato. **A.** análisis de correlación en condiciones anaeróbicas y **B.** análisis de correlación en condiciones aeróbicas.

Las concentraciones bajas de fitato en el testigo frente a los tratamientos inoculados con las cepas puras de *Bacillus* sp. no presentaron diferencias significativas (**Figura 6C**).

Sin embargo, las concentraciones de PO_4^- fueron estadísticamente mayores en los tratamientos inoculados frente al testigo (**Figura 7A**). Una posible explicación puede ser dada por dos razones: 1ra. Las condiciones aeróbicas fueron ideales para permitir la actividad enzimática de las poblaciones microbianas con capacidad de degradar el fitato que se encontraban presentes naturalmente en los sólidos (testigo) y 2da. Las bacterias inoculadas (Sp-5 y Sp-6) ayudaron a degradar el fitato presente en los sólidos y posiblemente también a solubilizar otras formas de fósforo no asimilable como la hidroxiapatita, fosfato monocálcico, fosfato dicálcico y fosfato tricálcico las cuales también se puede encontrar en el alimento de los peces y por ende en los sólidos acumulados en los sistemas (Hua & Bureau, 2006; Henao & Vanegas, 2008).

Recientemente la aplicación de P como fertilizantes en la producción agrícola esta siendo un tema de discusión debido a la preocupación en el agotamiento de las reservas de roca fosfórica (recurso no renovable) y en la poca disponibilidad de este elemento en el suelo (Dillow, 2008). Así mismo, en acuicultura tradicional y en sistemas cerrados de recirculación estos sólidos liberados al ambiente están causando problemas de contaminación y eutrofización (Lazzari & Baldisserotto, 2008). Por lo cual, dichos resultados pueden ser importantes para su aplicación en agricultura o para la optimización de mineralización en acuaponía.

Efecto de *Bacillus* sp. Sobre la Mineralización de los Sólidos y la Liberación de Macro y Micronutrientes.

Con respecto a los resultados obtenidos en la variable de PO_4^- , como principal elemento liberado en la hidrolisis del fitato se realizó un análisis factorial de los macro y micronutrientes a los 10 días del proceso de mineralización, ya que fue el tiempo donde se observó mayores concentraciones de fósforo entre los tratamientos inoculados, presentando diferencias significativas de $p \leq 0.05$ el tratamiento inoculado con la cepa Sp-6 frente al testigo y al tratamiento inoculado con la cepa Sp-5 (**Figura 7A**).

El análisis factorial nos muestra el análisis de las interacciones de los factores, las cuales permiten mostrar la correlación entre las variables analizadas. Tres interacciones dobles (Temp×Oxígeno, Temp×Inoculación y Oxígeno×Inoculación) y una interacción triple

(Temp×Oxígeno×Inoculación) fueron evaluadas. La interacción triple mostró diferencias altamente significativas de $p \leq 0.0001$ (**Tabla 4**), indicando que la interacción de la inoculación de la cepa Sp-6 bajo condiciones aeróbicas (200 rpm) y a 24°C generó un efecto positivo en el incremento de las concentraciones de fosfato ($33.4 \pm 0,96 \text{ mg L}^{-1}$).

Además el análisis realizado en macro y micronutrientes con respecto al tiempo inicial del experimento (**Tabla 4**) muestra diferencias significativas de $p \leq 0.05$ entre las condiciones evaluadas en oxígeno, temperatura e inoculación de bacterias (**Tabla 5 y 6**). Estos resultados nos indican que hay un efecto importante de las condiciones evaluadas sobre la liberación de nutrientes, lo cual es apoyado con estudios donde reportan que la degradación de la materia orgánica esta influenciada por diferentes factores como pH, temperatura, oxígeno, actividad biológica y relación C:N (Beristain, 2005).

Tabla 3. Concentración promedio inicial de macro y micronutrientes en el agua, antes de realizar la inoculación de las bacterias.

K	S	Ca	Total P	P (PO ₄ ⁻)	Mg mg g ⁻¹	Fe	Zn	Cu	Mn	Mo
56.8±13.0	36.02±6.2	54.2±5.7	28.3±7.8	6.85±0.45	16.7±1.5	0.14±0.14	0.1±0.01	0.04±0.01	0.04±0.02	0.8±0.12

Tabla 4. Efecto de *Bacillus* sp. en la liberación de macronutrientes durante la mineralización de residuos sólidos generados en sistemas acuapónicos.

Inoculación	Temp.	Oxígeno	K	S	Ca	Total P	P (PO ₄)	Mg
			mg L ⁻¹					
Testigo	24 °C	0 rpm	189.5 ± 52.1 a	306.2 ± 20.7 de	90.9 ± 6.9 e	262.8 ± 3.5 cd	7.3 ± 1.4 fg	25.9 ± 0.9 c
		200 rpm	114.6 ± 42.2 e	470.4 ± 9.4 a	200.0 ± 3.4 d	73.6 ± 32.2 f	18.3 ± 1.4 c	30.9 ± 0.9 a
	37 °C	0 rpm	139.7 ± 52.7 b	359.7 ± 17.6 bc	55.0 ± 3.6 f	82.9 ± 9.8 f	6.4 ± 0.6 g	22.5 ± 0.1 d
		200 rpm	86.6 ± 30.2 e	329.1 ± 18.2 cde	55.0 ± 3.2 f	72.2 ± 10.3 f	16.8 ± 0.4 cd	22.3 ± 1.8 d
Cepa Sp-5	24 °C	0 rpm	147.1 ± 41.7 bed	296.6 ± 3.7 cde	41.7 ± 3.8 fg	320.9 ± 71.1 cd	7.3 ± 2.5 g	22.7 ± 2.0 d
		200 rpm	122.3 ± 3.79 bed	465.9 ± 8.1 a	301.9 ± 8.1 a	534.1 ± 6.0 de	15.0 ± 4.8 d	31.7 ± 1.1 a
	37 °C	0 rpm	149.9 ± 31.2 bc	329.2 ± 11.7 cf	39.5 ± 11.7 gh	149.3 ± 29.5 cf	9.8 ± 1.3 cf	19.5 ± 0.6 e
		200 rpm	102.4 ± 5.5 cde	364.6 ± 4.8 bc	277.7 ± 4.8 b	872.9 ± 114.5 b	27.8 ± 2.7 b	28.7 ± 0.1 b
Cepa Sp-6	24 °C	0 rpm	125.2 ± 2.4 bed	269.0 ± 5.8 q	33.5 ± 5.8 gh	356.3 ± 39.2 cd	10.9 ± 1.3 e	23 ± 1.0 d
		200 rpm	124.9 ± 6.4 bed	473.0 ± 4.5 a	302.8 ± 4.5 a	1193.9 ± 70.7 a	33.4 ± 1.6 a	31.9 ± 0.8 a
	37 °C	0 rpm	141.5 ± 4.1 b	303.0 ± 1.2 f	31.3 ± 1.2 h	143.9 ± 19.9 ef	8.1 ± 1.0 g	19.0 ± 1.0 e
		200 rpm	92.1 ± 14.6 de	323.0 ± 34.8 bed	238.3 ± 34.8 c	638.9 ± 1.0 b	27.01 ± 1.0 b	26.1 ± 2.8 b
ANOVA			***	***	***	***	***	***
Temp × Oxígeno			ns	*	ns	ns	ns	ns
Temp × Inoculación			ns	ns	*	***	***	*
Oxígeno × Inoculación			*	ns	***	***	***	***
Temp × Oxígeno × Inoculación			ns	*	**	***	***	**

¹Concentración promedio de minerales en el tiempo inicial, antes de realizar la inoculación. ² Concentración promedio de minerales a los 12 días de mineralización.

Valores representan promedio ± desviación estándar.

ND significa valores no determinados.

ns, *, **, ***, **** significa no hay diferencias significativas, p ≤ 0.05, 0.01, o 0.001, respectivamente.

Tabla 5. Efecto de *Bacillus* sp. en la liberación de micronutrientes durante la mineralización de residuos sólidos generados en sistemas acuapónicos.

Inoculation	Temp.	Oxígeno	Fe	Zn	Cu	Mn	Mo
Testigo	24 °C	0 rpm	0.7 ± 0.3 a	0.7 ± 0.1	ND	ND	0.1 ± 0.9
		200 rpm	0.9 ± 0.1 abc	1.0 ± 0.2	0.03 ± 0.01	ND	0.2 ± 0.2
	37 °C	0 rpm	0.3 ± 0.1 de	0.8 ± 0.01	ND	ND	0.3 ± 0.03
Cepa Sp-5	24 °C	200 rpm	0.1 ± 0.1 e	0.6 ± 0.02	0.02 ± 0.03	ND	0.5 ± 0.2
		0 rpm	0.4 ± 0.06 cde	0.6 ± 0.01	ND	ND	ND
	37 °C	200 rpm	1.0 ± 0.05 a	0.8 ± 0.3	0.04 ± 0.02	0.3 ± 0.2	0.6 ± 0.4
Cepa Sp-6	24 °C	0 rpm	0.9 ± 0.08 ab	0.3 ± 0.2	0.06 ± 0.02	ND	0.2 ± 0.1
		200 rpm	1.0 ± 0.1 a	0.9 ± 0.4	0.02 ± 0.05	0.4 ± 0.02	0.3 ± 0.2
	37 °C	200 rpm	0.4 ± 0.07 bcde	0.7 ± 0.09	0.05 ± 0.09	ND	0.2 ± 0.3
ANOVA	Temp × Oxígeno	Temp × Oxígeno	0.9 ± 0.2 a	0.5 ± 0.05	0.04 ± 0.07	0.4 ± 0.06	0.2 ± 0.3
		Temp × Inoculación	0.3 ± 0.1 de	0.8 ± 0.3	0.06 ± 0.03	ND	0.2 ± 0.02
	Oxígeno × Inoculación	0.6 ± 0.03 abcd	0.5 ± 0.1	0.02 ± 0.08	0.3 ± 0.1	ND	
Temp × Oxígeno × Inoculación							

¹Concentración promedio de minerales en el tiempo inicial, antes de realizar la inoculación. ² Concentración promedio de minerales a los 12 días de mineralización.

Valores representan promedio ± desviación estandar.

ND significa valores no detectados. Limite de detección: Cu < 0.05; Mn < 0.01; Mo < 0.01.

ns, *, **, ***, **** significa no hay diferencias significativas, p ≤ 0.05, 0.01, o 0.001, respectivamente.

El efecto de las condiciones evaluadas sobre la liberación de nutrientes es confirmado con el análisis factorial, donde se observó que la interacción de algunos factores muestra un incremento significativo sobre la mineralización de los elementos estudiados. En Ca y Mg se obtuvo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las interacciones triple (**Tabla 5**), donde condiciones aeróbicas, con temperatura de 24°C e inoculación de las bacterias Sp-5 y Sp-6 incrementaron la disponibilidad de estos elementos alcanzando concentraciones de 301.9 y 302.8 mg L⁻¹ de Ca y 31.7 y 31.9 mg L⁻¹ en Mg respectivamente. Estos resultados coinciden con los tratamientos que presentaron mayor degradación de fitato y liberación de PO₄⁻, lo cual puede ser una posible explicación, donde parte de la liberación de estos elementos puede ser dada por la actividad biológica de *Bacillus* sp. en la degradación del fitato que se encuentra quelado con estos elementos, debido a su carga catiónica ²⁺.

En S, también se obtuvo diferencias significativas en la interacción triple, donde condiciones aeróbicas, con temperatura de 24 °C y con o sin inoculación de bacteria influyen en el incremento de este elemento, donde se alcanzó concentraciones de 470.4 mg L⁻¹ y 473.4 mg L⁻¹ durante los 10 días de mineralización. Una posible explicación a la mineralización de este elemento puede ser debido a la degradación de la proteína presente en los sólidos, ya que el S se encuentra presente en la estructura de algunos aminoácidos, principalmente de la metionina, uno de los aminoácidos esenciales e importantes para el inicio de la síntesis de proteínas que son implementados como aditivo en el alimento de los peces, debido a que el organismo no puede sintetizarlo por sí mismo (Vásquez, 2004).

A diferencia de estos elementos, para el K se observó diferencias significativas en la interacción doble, en el cual la interacción de condiciones anaeróbicas y sin inoculación de bacteria incrementan la mineralización, alcanzando concentraciones de 189.5 mg L⁻¹. Son pocos los estudios realizados en mineralización enfocados en acuaponía; sin embargo, esta diferencia en el incremento de macronutrientes coincide con el estudio de Delaide (2017) y Monsees (2017), donde reportan pequeñas diferencias de la concentración de macronutrientes liberados durante la mineralización, presentando un incremento de minerales en condiciones aeróbicas, a excepción del K.

En una solución hidropónica se reporta que las concentraciones de macronutrientes ideales para el crecimiento de hortalizas son de 30 a 60 mg L⁻¹ de P en forma de PO₄⁻, 240 a 350 mg L⁻¹ de K; 140 a 240 mg L⁻¹ de Ca; y 45 a 55 mg L⁻¹ de Mg (Castellanos, 2009). Lo anterior comparado con lo obtenido indica que el PO₄⁻ estuvo dentro del rango requerido; Mg presentó 15 mg L⁻¹ menor a lo requerido; las concentraciones de Ca fueron 60 mg L⁻¹ superior a lo recomendado y las concentraciones de K estuvieron 50 a 160 mg L⁻¹ menores a las requeridas en hidroponía. Con respecto al K, algunos investigadores reportan que el K puede ser un elemento obligatorio que debe ser suplementado en los sistemas acuapónicos, ya que han encontrado que el contenido de este elemento presente en los sólidos generados en los peces es bajo y por ende deducen que la mineralización total de los sólidos no permitirá alcanzar las concentraciones requeridas por hidroponía (Delaide, 2017). No obstante, en el presente estudio la concentración final de K en los sólidos a los 12 días de mineralización fue de 5.7 a 7.2 mg g⁻¹ (**Tabla 7**), mayor a lo reportado por Delaide (2017) con 0.2 mg g⁻¹ y menor a lo reportado por Raffie & Roos (2007) con 7.31 %, por lo cual, esto indica que aún faltan estudios que comprueben la baja disponibilidad de potasio en los sólidos generados en el sistema; así como, evaluar procesos biológicos que optimicen la degradación de los sólidos en condiciones anaeróbicas.

Por otro lado, en el análisis de micronutrientes se observó un incremento de los elementos evaluados, con respecto al tiempo inicial (**Tabla 6**). Zn, Cu, Mn y Mo no presentaron diferencias entre tratamientos y tampoco entre las interacciones de los factores, lo cual posiblemente los factores evaluados no influyen significativamente en su liberación o mineralización. Mientras, que Fe presentó diferencias significativas entre los tratamientos y el análisis factorial mostró una interacción significativa entre interacciones dobles de inoculación de bacteria × temperatura e inoculación de bacteria × oxígeno (**Tabla 6**), presentando concentraciones significativamente altas de Fe en el testigo (0.96 mg L⁻¹) y en los tratamientos inoculados con la cepa Sp5 y Sp-6 en condiciones aeróbicas (1.03 y 0.92 mg L⁻¹), con respecto a las condiciones anaeróbicas. En comparación a la interacción de los tratamientos inoculados en condiciones de 24 y 37 °C fue estadísticamente igual, lo cual indica que para la liberación de Fe las condiciones

aeróbicas son más importantes o significativas que la temperatura. No obstante, aún faltan realizar estudios que comprueben que los elementos que conforman los macro y micronutrientes con carga 2^+ , sí puedan ser liberados durante la degradación o mineralización de fitato por *Bacillus* sp.

En la fisiología de las plantas, los micronutrientes son necesarios en menores cantidades, pero su función es importante para el desarrollo del cultivo, ya que son utilizados como activadores de reacciones enzimáticas e involucrados en diferentes procesos fisiológicos de la planta (Barker & Pilbeam, 2006); se reporta que la planta requiere de 1 a 2 mg L⁻¹ de Fe; 0.3 mg L⁻¹ de Zn; 0.05 mg L⁻¹ de Cu; 0.5 a 1.0 mg L⁻¹ de Mn y 0.05 mg L⁻¹ de Mo (Castellanos, 2009). Lo anterior comparado con lo obtenido en el proceso de mineralización muestra que el Fe, Cu y Mn a los 10 días de mineralización no alcanza las concentraciones requeridas para la planta, permaneciendo presentes en los sólidos orgánicos con concentraciones de 2.9 a 5.0 mg g⁻¹ de Fe; 0.2 mg g⁻¹ de Cu y 0.5 a 0.7 mg g⁻¹ de Mn (**Tabla 7**). Por lo cual, esto indica que faltan realizar más estudios para evaluar otros factores que puedan influir en la liberación y por ende optimicen la mineralización de estos elementos en el sistema.

Por otra parte, las concentraciones de conductividad eléctrica e incremento relativo fue diferente en condiciones anaeróbicas y aeróbicas (**Figura 9**), donde en condiciones anaeróbicas solo se presentó un incremento relativo significativo durante los 4 días del proceso de mineralización; mientras que el incremento relativo en condiciones aeróbicas fue significativamente mayor en los tratamientos inoculados *Bacillus* sp. frente al testigo durante los 12 días de mineralización (**Figura 9B**). Esto coincide con el incremento nutricional en la solución, donde las condiciones aeróbicas e inoculación de bacteria favorecieron la liberación del Fe y los macronutrientes a excepción del K.

Finalmente, durante el proceso de mineralización en condiciones anaeróbicas el pH aumentó de 7.6 a 8.3 y 8.5; mientras que en condiciones aeróbicas el pH disminuyó de 7.6 a 6.5 (Testigo) y 5.9 (Sp-5 y Sp-6) (**Figura 9C**). La diferencia en el comportamiento de esta variable puede ser debido a los diferentes procesos físicos, químicos y biológicos que

se pueden llevar a cabo en condiciones anaeróbicas y aeróbicas durante la degradación de materia orgánica (Krachler et al. 2009; McCauley *et al.*, 2017).

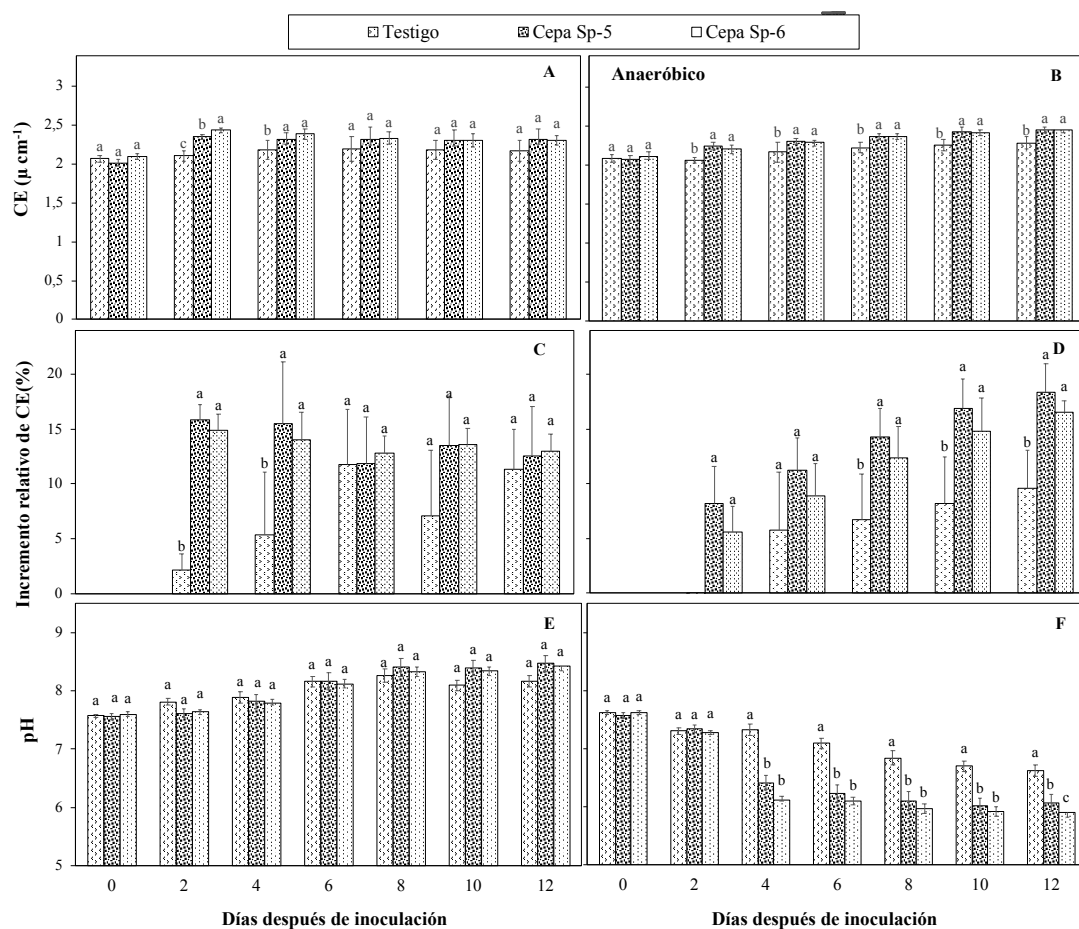


Figura 9. Cambios de conductividad eléctrica (CE), incremento relativo de CE (%), y pH en condiciones anaeróbicas (A, C, E) y aeróbicas (B, D, F) durante 12 días de mineralización con *Bacillus sp.* de sólidos recolectados en sistemas acuapónicos. Los datos representan el promedio \pm la desviación estándar. Letras diferentes representan diferencias significativas en el tiempo de $p \leq 0.05$.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que la actividad de las bacterias aisladas e identificadas del hidrociclón de un sistema acuapónico, como mineralizadoras de fitato requieren de oxígeno para llevar a cabo su función, en el cual la cepa pura de *Bacillus* sp. denominada Sp-6 en condiciones de oxígeno y a temperatura de 24 °C favoreció la degradación del fitato causando un incremento significativo en la liberación de fosfato y Ca durante el proceso de mineralización, en comparación al testigo y a la cepa Sp-5. Esta información es importante y útil para su aplicación en la agricultura y en la optimización de la mineralización en sistemas acuapónicos.

El incremento de los nutrientes durante la mineralización no solo fue causado debido a la actividad bacteriana por *Bacillus* sp., si no también podría ser por la actividad biológica de otros microorganismos y/o reacciones químicas generadas durante la mineralización en las diferentes condiciones de oxígeno y temperatura, en el cual, se encontró que las condiciones anaeróbicas favorece el incremento de K y la interacción de las condiciones aeróbicas, temperatura de 24 °C con y sin inoculación de *Bacillus* sp. favorece el incremento de la disponibilidad de S, Mg y Fe.

LITERATURA CITADA

- Anis Shobirin, MH., Farouk, A., Greiner, R. 2009. Potential phytate-degrading enzyme producing bacteria isolated from Malaysian maize plantation. *Journal Biotechnoly*. 8: 3540-35.
- Balaban, Nelly P., Aliya D. Suleimanova, Lia R. Valeeva, Inna B. Chastukhina, Natalia L. Rudakova, Margarita R. Sharipova, and Eugene V. Shakirov. 2017. "Microbial Phytases and Phytate: Exploring Opportunities for Sustainable Phosphorus Management in Agriculture." *American Journal of Molecular Biology* 07 (01): 11–29. <https://doi.org/10.4236/ajmb.2017.71002>.
- Barker, A., Pillbeam, D. 2006. Handbook of plant nutrition. Taylor & Francis. 662 pp.
- Beristain, B. 2005. Organic matter decomposition in simulated aquaculture ponds. Wageningen Universiteit. Thesis. 146 pp.
- Brune, Andreas, Peter Frenzel, and Heribert Cypionka. 2000. "Life at the Oxidic–Anoxic Interface: Microbial Activities and Adaptations." *FEMS Microbiology Reviews*, 20.
- Cao, Ling, Weimin Wang, Chengtai Yang, Yi Yang, James Diana, Amararatne Yakupitiyage, Zhi Luo, and Dapeng Li. 2007. "Application of Microbial Phytase in Fish Feed." *Enzyme and Microbial Technology* 40 (4): 497–507. <https://doi.org/10.1016/j.enzmitec.2007.01.007>.
- Castellanos, J. 2009. Manual de producción de tomate en invernadero. Intagri, S.C. Primera edición. 456 p.
- Cerozi, Brunno da Silva, and Kevin Fitzsimmons. 2016. "Use of Bacillus Spp. to Enhance Phosphorus Availability and Serve as a Plant Growth Promoter in Aquaponics Systems." *Scientia Horticulturae* 211 (November): 277–82. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.09.005>.
- Cripps, Simon J., and Asbjørn Bergheim. 2000. "Solids Management and Removal for Intensive Land-Based Aquaculture Production Systems." *Aquacultural Engineering* 22 (1–2): 33–56. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(00\)00031-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(00)00031-5).
- Dechavez, Rande B, Augusto E Serrano Jr, Sharon Nuñal, and Christopher M A Caipang. 2011. "Production and Characterization of Phytase from Bacillus Spp. as Feed Additive in Aquaculture" 4 (3): 10.
- Delaide, Boris. n.d. "A Study on the Mineral Elements Available in Aquaponics, Their Impact on Lettuce Productivity and the Potential Improvement of Their Availability.," 101.
- Demirkan, Elif, Eren Baygin, and Alev Usta. 2014. "Screening of Phytate Hydrolysis Bacillus Sp. Isolated from Soil and Optimization of the Certain Nutritional and

- Physical Parameters on the Production of Phytase.” *Turkish Journal of Biochemistry* 39 (2): 206–14. <https://doi.org/10.5505/tjb.2014.26817>.
- Dillow, Robin K. 2008. “International Institute for Sustainable Development (IISD).” In *Encyclopedia of Global Warming and Climate Change*, by S. Philander. 2455 Teller Road, Thousand Oaks California 91320 United States: SAGE Publications, Inc. <https://doi.org/10.4135/9781412963893.n343>.
- Ferraris, Ronaldo P, Relicardo Coloso, Shozo Sugiura, and Gef Flimlin. 2006. “Phosphorus in Effluents from Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Aquaculture.
- Goddek, Simon, Boris Delaide, Utra Mankasingh, Kristin Ragnarsdottir, Haïssam Jijakli, and Ragnheidur Thorarinsdottir. 2015. “Challenges of Sustainable and Commercial Aquaponics.” *Sustainability* 7 (4): 4199–4224. <https://doi.org/10.3390/su7044199>.
- Goddek, Simon, Boris P.L. Delaide, Alyssa Joyce, Sven Wuertz, M. Haïssam Jijakli, Amit Gross, Ep H. Eding, et al. 2018. “Nutrient Mineralization and Organic Matter Reduction Performance of RAS-Based Sludge in Sequential UASB-EGSB Reactors.” *Aquacultural Engineering* 83 (November): 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2018.07.003>.
- Goddek, Simon, Zala Schmutz, Ben Scott, Boris Delaide, Karel Keesman, Sven Wuertz, and Ranka Junge. 2016. “The Effect of Anaerobic and Aerobic Fish Sludge Supernatant on Hydroponic Lettuce.” *Agronomy* 6 (2): 37. <https://doi.org/10.3390/agronomy6020037>.
- Green, J.A., Hardy, W., Brannon, E. 2002. Effects of dietary phosphorus and lipid levels on utilization and excretion of phosphorus and nitrogen by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture, Nutrition*. 8: 279-290.
- Gulati, HK., Chadha, BS., Saini, HS. 2007. Production and characterization of thermostable alkaline phytase from *Bacillus laevolacticus* isolated from rhizosphere soil. *Microbiology Biotechnoly*. 34: 91-98.
- Heno, Catalina Bobadilla, and Sandra Carolina Rincón Vanegas. 2008. “Aislamiento y produccion de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost.”.
- Hua, K. 2005. Modeling phosphorus utilization salmonid fish species. Thesis, The University of Guelph, 227 pp.
- Jain, U., Chauhan, N. 2014. *Bacillus cereus* 10072 Phytase - Detection, purification, characterization and physiological role. *Internal Journal Science Research Development*. 2: 14- 19.
- Jorquera, Milko A., Marcela T. Hernández, Zed Rengel, Petra Marschner, and María de la Luz Mora. 2008. “Isolation of Culturable Phosphobacteria with Both Phytate-

- Mineralization and Phosphate-Solubilization Activity from the Rhizosphere of Plants Grown in a Volcanic Soil.” *Biology and Fertility of Soils* 44 (8): 1025–34. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0288-0>.
- Joseph, I., Raj, RP. 2007. Isolation and characterization of phytase producing *Bacillus* strains from mangrove ecosystem. *Mar Biol Assoc India*. 49: 177- 182.
- Kerovuo, J. 2000. A novel phytase from *Bacillus* characterization and production of the enzyme. University of Helsinki. Thesis. 66 p.
- Krachler, R. F., R. Krachler, A. Stojanovic, B. Wielander, and A. Herzig. 2009. “Effects of PH on Aquatic Biodegradation Processes.” *Biogeosciences Discussions* 6 (1): 491–514. <https://doi.org/10.5194/bgd-6-491-2009>.
- Kumar, V., A. K. Sinha, H. P. S. Makkar, G. De Boeck, and K. Becker. 2012. “Phytate and Phytase in Fish Nutrition: Phytate and Phytase in Fish Nutrition.” *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 96 (3): 335–64. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2011.01169.x>.
- Kumar, S., Nandi, A., Banerjee, G., Ghosh, P. 2015. Purification and characterization of extracellular phytase from *Bacillus licheniformis* isolated from fish gut. *Science India Sect. Biology science*. 12 pp.
- Lazzari, Rafael, and Bernardo Baldisserotto. 2008. “Nitrogen and phosphorus waste in fish farming.” *São Paulo*, 11.
- Maitra, N., Whitman, W., Ayyampalayam, S., Samanta, S., Sarkar, K., Bandopadhyay, C., Aftabuddin, M., Sharma, A., Manna, S.. 2014. Draft genome sequence of the aquatic phosphorus solubilizing and mineralizing Bacterium *Bacillus* sp. Strain CPSM8. *Genome Announcements*, vol 2. No 1. 0,1265-13.
- Maitra, N., Manna, S., Samanta, S., Sarkar, K., Debnath, D., Bandopadhyay, C., Kumar, S., Prakash, A. 2015. Ecological significance and phosphorus release potential of phosphate solubilizing bacteria in freshwater ecosystems. *Hydrobiologia*, Vol 745, Issue 1, pp 69-83.
- Makkar, Harinder P. S., Perumal Siddhuraju, and Klaus Becker. 2007. *Plant Secondary Metabolites*. *Methods in Molecular Biology* 393. Totowa, NJ: Humana Press.
- McCauley, Ann, Clain Jones, and Kathrin Olson-Rutz. 2017. “Soil PH and Organic Matter,” 16 p.
- Mittal, A., Singh, G., Goyal, V., Yadav, A., Kumar, N., Aggarwal. 2012. Production of phytase by acido-thermophilic strain of *Klebsiella* sp. DB-3FJ711774 using orange peel flour under submerged fermentation. *Innovative romanian food biotechnology*. Vol 10.

- Monsees, H, J Keitel, M Paul, W Kloas, and S Wuertz. 2017. "Potential of Aquacultural Sludge Treatment for Aquaponics: Evaluation of Nutrient Mobilization under Aerobic and Anaerobic Conditions." *Aquaculture Environment Interactions* 9 (January): 9–18. <https://doi.org/10.3354/aei00205>.
- Mullaney, Edward J, and Abul H.J Ullah. 2003. "The Term Phytase Comprises Several Different Classes of Enzymes." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 312 (1): 179–84. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.09.176>.
- Neto, RM., Ostrensky, A. 2015. Nutrient load estimation in the waste of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) reared in cages in tropical climate conditions. *Aquaculture. Res.* 46, 1309–1322.
- Oh, B.-C., W.-C. Choi, S. Park, Y.-o. Kim, and T.-K. Oh. 2004. "Biochemical Properties and Substrate Specificities of Alkaline and Histidine Acid Phytases." *Applied Microbiology and Biotechnology* 63 (4): 362–72. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1345-0>.
- Paneque, V., Calaña, J., Calderón, M., Borges, Y., Hernández, T., Caruncho, M. 2010. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Departamento de biofertilizantes y nutrición de las plantas. INCA. La Habana, Cuba. 160 pp.
- Rakocy, J., Losordo, T., Masser, M. 2006. Recirculating Aquaculture Tank Production Systems: Aquaponics - Integrating Fish and Plant Culture. SRAC Southern Regional Aquaculture Center. No.454.1-16.
- Rafiee, Gholamreza, and Che Roos Saad. 2005. "Nutrient Cycle and Sludge Production during Different Stages of Red Tilapia (*Oreochromis* Sp.) Growth in a Recirculating Aquaculture System." *Aquaculture* 244 (1–4): 109–18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.10.029>.
- Ramani, Vimal. 2014. "Organic Phosphate Mineralization by *Bacillus Sphaericus* and *Pseudomonas Cepacia*" 10: 9.
- Rodríguez, H., Rodríguez, J. 2002. Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de interpretación. 80 p.
- Schmautz, Zala, Andreas Graber, Sebastian Jaenicke, Alexander Goesmann, Ranka Junge, and Theo H. M. Smits. 2017. "Microbial Diversity in Different Compartments of an Aquaponics System." *Archives of Microbiology* 199 (4): 613–20. <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1334-1>.
- Singh, Prashant, Vinod Kumar, and Sanjeev Agrawal. 2014. "Evaluation of Phytase Producing Bacteria for Their Plant Growth Promoting Activities." *International Journal of Microbiology* 2014: 1–7. <https://doi.org/10.1155/2014/426483>.

- Slepecky, Ralph A., and H. Ernest Hemphill. 2006. "The Genus *Bacillus*—Nonmedical." In *The Prokaryotes*, edited by Martin Dworkin, Stanley Falkow, Eugene Rosenberg, Karl-Heinz Schleifer, and Erko Stackebrandt, 530–62. New York, NY: Springer US. https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_16.
- Somerville, Christopher, and Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. *Small-Scale Aquaponic Food Production: Integrated Fish and Plant Farming*.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2010. *Plant physiology*. Sinauer associates. 5th ed. 782 p.
- Tyson, R. 2007. Reconciling pH for ammonia biofiltration cucumber/tilapia aquaponics systems using perlite medium. University of Florida. Tesis. 120 pp.
- Torres D., Hurtado, V. 2012. Requerimientos nutricionales para Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Orinoquía. Universidad de los Llanos-Villavicencio, Meta-Colombia. Vol 16, No 1.
- Vásquez, W. 2004. Principios de nutrición aplicada al cultivo de peces. Primera edición. Editorial Juan XVIII Ltda. Los llanos-Colombia. 101 pp.
- Yeo, Steven E, Frederick P Binkowski, and Joseph E Morris. 2004. "Aquaculture Effluents and Waste By-Products Characteristics, Potential Recovery, and Beneficial Reuse," 63 p.

CAPITULO II

Evaluación de Complementos Nutricionales en un Sistema Acuapónico (*Oreochromis niloticus* - *Solanum lycopersicum* L.): Solución Orgánica Mineralizada con *Bacillus* sp. y Solución Hidropónica.

INTRODUCCIÓN

La acuaponía, son sistemas biointegrados que combinan un sistema de recirculación cerrada (SCR) para la producción de animales acuáticos (principalmente peces) con la hidroponía, para la producción de hortalizas (Rakocy, 2006). Estos sistemas están siendo implementados desde los últimos años como una alternativa en la producción de alimento con el uso eficiente del agua y suelo, en el cual, su principal objetivo es reutilizar los nutrientes generados en el SCR para el crecimiento de las plantas, con el fin de minimizar el uso de fertilizantes químicos sintéticos; y disminuir la contaminación y eutrofización en ambientes acuáticos causada por el uso excesivo de agroquímicos y la descarga de sólidos con alta carga de nitrógeno y fósforo causada por sistemas acuícolas (Nelson, 2008; Edwards, 2015; Goddek *et al.*, 2015; Delaide, 2017).

En términos generales, las plantas necesitan macronutrientes (C, H, O, N, P, K, Ca, S y Mg) y micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, B y Mo) para cumplir las actividades fisiológicas requeridas para el buen crecimiento (Taiz & Zeiger, 2010). En hidroponía, estos elementos son proporcionados a través de la fertilización química sintética, a excepción del C, H y O los cuales son disponibles en el aire y el agua (Taiz & Zeiger, 2010); mientras que en acuaponía el aporte de nutrientes para las plantas proviene principalmente de los sólidos disueltos en el agua; de la excreción branquial por parte de los peces y del proceso de nitrificación llevado a cabo por las bacterias nitrificantes, especialmente del género *Nitrobacter* y *Nitrosomonas* (Rakocy *et al.*, 2006; Schmutz, 2015).

Rakocy *et al.*, (2007); Roosta & Hamidpour, (2013); Schmautz, (2015); y Delaide (2017) reportan que los sistemas acuapónicos son deficientes principalmente en K, Ca, Fe; y recomiendan que los sistemas requieren la suplementación de fertilizantes inorgánicos que complemente la nutrición requerida por la especie de hortaliza cultivada, especialmente las hortalizas con fruto que presentan mayor exigencia nutricional. Así mismo, Rakocy *et al.* (2007) y Goddek *et al.* (2015) reportan que los residuos sólidos generados por los peces (alimento no consumido y heces) están compuestos por residuos orgánicos, los cuales pueden ser una fuente importante de nutrientes si son mineralizados o degradados a forma inorgánica.

Varios estudios se han realizado en la evaluación de diferentes diseños acuapónicos sobre el rendimiento y producción de hortalizas; en la evaluación de la relación óptima entre plantas y peces; y en el efecto del tipo de alimento, concentración de proteína cruda, talla del pez y especie del pez sobre la acumulación de nutrientes en el sistema (Rafiee & Saad, 2005; Tyson, 2007; Licamele, 2009; Endut *et al.*, 2010; Villarroel *at al.*, 2011; Dunwoody, 2013; Roosta & Hamidpour, 2013; Silva *et al.*, 2015; Schamutz, 2015; Villalobos & González, 2016). Sin embargo, son muy escasos los estudios reportados sobre la mineralización de los residuos sólidos generados en acuaponía (Delaide, 2017; Goddek *et al.*, 2018); un estudio previo realizado en esta investigación (capítulo I) reporta la liberación de macro y micronutrientes que pueden ser aprovechables para el cultivo de hortalizas, durante la mineralización inducida biológicamente con *Bacillus* spp.

Así mismo, ha sido muy poco estudiado la evaluación del efecto de la suplementación nutricional a través de soluciones orgánicas mineralizadas biológicamente y soluciones hidropónicas sobre la composición y dinámica de nutrientes en el sistema, y su efecto en el crecimiento, rendimiento y calidad de la especie de pez y hortaliza cultivada, por lo cual, es importante profundizar y enfocar este tipo de estudio, con el fin de generar información que pueda ser útil para la optimización en la producción de hortalizas con fruto en acuaponía. (Licamele, 2009; Roosta & Hamidpour, 2013; Schmautz, 2015; Delaide, 2017; Nozzi *et al.*, 2018).

En la presente investigación se trabajó con tomate, debido a que es una de hortaliza de alta exigencia nutricional, de mayor producción y comercialización en México por su riqueza en vitaminas y antioxidantes, como el licopeno, un compuesto importante para la salud humana que ayuda a la prevención de problemas cardiovasculares y de cáncer. Además, se trabajó con Tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*), ya que es una de las especies más implementadas en estos sistemas, debido a su alta tolerancia a diferentes condiciones ambientales; rápido crecimiento y fácil adaptación a dietas comerciales basada en fuentes de proteína vegetal y animal (Torres *et al.*, 2012).

En este contexto, se plantea como hipótesis que utilizar solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. y solución hidropónica, como complementos nutricionales en un sistema acuapónico, aumentará los niveles de nutrientes en el agua, mejorando el crecimiento, la producción y calidad de tomate, sin afectar el crecimiento y la producción de tilapia. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1. Evaluar en condiciones *in situ* dos complementos nutricionales: solución mineralizada con *Bacillus* sp. y solución hidropónica sobre el crecimiento, calidad y producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en un sistema acuapónico. 2. Evaluar la dinámica de nutrientes en los sistemas acuapónicos de tilapia-tomate (*Oreochromis niloticus* y *Solanum lycopersicum* L.). 3. Evaluar los parámetros de crecimiento y parámetros hematológicos en tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivada en sistemas acuapónicos. 4. Evaluar la eficiencia del uso del agua y uso equivalente de terreno de los sistemas acuapónicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevo a cabo en un invernadero del Centro de Capacitación en Agricultura Protegida (CECAP) de la Universidad Autónoma San Luis Potosí (UASLP), México, ubicada a 14.5 Km de la carretera San Luis Potosí-Matehuala.

Diseño Experimental

Se evaluaron tres tratamientos, cada uno con tres repeticiones, en total 9 unidades experimentales (UE) distribuidos en bloques completamente al azar (**Tabla 1**).

Tabla 1. Descripción de los tratamientos evaluados en el experimento.

Tratamiento	Descripción
T1	Testigo: Sistema acuapónico sin complemento nutricional de solución mineralizada con <i>Bacillus</i> sp. y solución hidropónica.
T2	Sistema acuapónico con complemento nutricional de solución orgánica mineralizada con <i>Bacillus</i> sp (CSOM).
T3	Sistema acuapónico con complemento nutricional de solución hidropónica (CSH)

Cada UE del sistema acuapónico (SA) estuvo compuesto del subsistema de peces de recirculación cerrada (SCR) y el subsistema hidropónico (SH), los cuales estuvieron conformados de los siguientes componentes: tanque de peces (1000 L), sedimentador o hidrociclón (150 L), biofiltro (150 L), unidad hidropónica (18 macetas de 10L, cada una), sumidero (100 L) y unidad de inyección (5L). En el tanque de peces se instaló tres termostatos de 300 Watts, marca RESUN®, para controlar la temperatura del agua. En el interior del biofiltro se colocaron fragmentos de tubo corrugado, con un área superficial específica total de 300 m²/m³, los cuales fueron implementados como biobolas para el alojamiento de las bacterias nitrificantes. En la unidad hidropónica, se adicionó en cada maceta 7 litros de sustrato de tezontle, con las siguientes propiedades físicas: porosidad total del 55%, capacidad de aireación del 46%, y capacidad de retención de agua del 8%; las propiedades químicas iniciales del sustrato fueron pH de 6.92 ± 0.91 y conductividad eléctrica de 959 µS cm⁻¹. El sumidero fue utilizado para recolectar el agua lixiviada de

cada maceta, donde se instaló en su interior una bomba de 1700 L h⁻¹ marca RESUN®, con el fin de retornar el agua nuevamente al tanque de peces y así mantener recirculando el sistema constantemente, durante las 24 horas. La unidad de inyección fue instalada únicamente en los tratamientos 2 y 3, con el fin de adicionar el complemento nutricional de solución mineralizada con *Bacillus* sp. y solución hidropónica (**Figura 1**).

Por otro lado, se instaló dentro del invernadero una turbina de ½ HP. En está, se conectó una línea de tubo PVC de 1 pulgada que abarcaba el área total de los 9 sistemas. En el tubo de PVC se realizaron 6 conexiones por sistema, en las primeras cinco se instalaron cinco mangueras, con su correspondiente piedra difusora, con el propósito de aportar oxígeno al tanque de peces; en la última conexión se instaló una salida de tubo PVC de 1 pulgada que aportaba oxígeno al biofiltro.

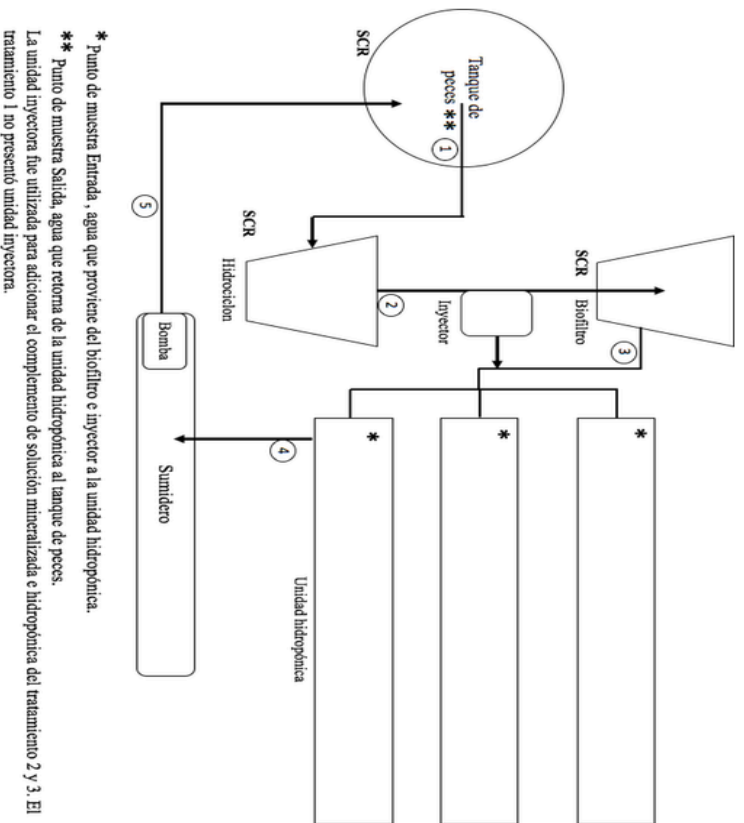


Figura 1. Diseño del sistema acuapónico implementado en el experimento.

Los números corresponden al orden del flujo del sistema. El complemento adicionado a la unidad inyectora fue instalada de tal modo que la solución con nutrientes pasará directamente a la unidad hidropónica.

Las especies cultivadas fueron tilapia (*Oreochromis niloticus*) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.). El peso promedio inicial de los peces fue de 43 a 52 gramos, con una talla de 12 a 16 cm de longitud total. La variedad de tomate fue Anibal F1, de crecimiento indeterminado, fruto tipo saladette y ciclo de 8 a 10 meses, los cuales, fueron obtenidas de la empresa de semillas Harris Moran. El cultivo se realizó bajo condiciones de invernadero, donde la temperatura del agua se mantuvo en un rango de 20 a 29°C y las condiciones de temperatura ambiental fluctuaron en temperaturas mínimas de 7 a 14°C y máximas de 21 a 37°C durante el mes de Abril y Mayo; y en temperaturas mínimas de 10 a 16°C y máximas de 33 a 48°C durante los meses de Junio, Julio y Agosto.

En el subsistema de peces de SCR se manejó una densidad de siembra de 40 peces/m³ y en el SH una densidad de 18 plantas por sistema acuapónico (UE). Los peces fueron alimentados 3 veces al día con alimento comercial Purina®, ajustando la ración diaria y el porcentaje (%) de proteína cruda según su biomasa (**Tabla 2**). Pasado tres semanas de la siembra de peces, cuando las concentraciones de nitrato (NO₃⁻) en el agua fueron superiores a 80 mg L⁻¹, las plantas que presentaban de 4 a 5 hojas verdaderas fueron trasplantadas al subsistema hidropónico del sistema.

Tabla 2. Porcentaje de proteína cruda y de alimentación implementadas durante el experimento para el crecimiento de *O. niloticus*.

Talla	PC (%)	Tasa de alimentación (%)	Diámetro del pellet
11 a 60 g	40	4	Desarrollo 2.4 mm
60 a 170 g	32	3.5	Engorda 4.8 mm
170 a 450 g	32	2	Engorda 4.8 mm

*PC: Porcentaje de proteína cruda en el alimento

Complemento Nutricional de las Plantas con Solución Orgánica Mineralizada e inoculación de la cepa pura de *Bacillus* sp. (CSOM).

Para realizar el proceso de mineralización y obtener la solución complementaria del T2 se siguió el proceso de mineralización publicado en el capítulo I del presente estudio

(condiciones aeróbicas, temperatura de 24°C e inoculación cepa pura de *Bacillus* sp.-Sp-6). Para ello, se implementó un biorreactor que consistió en 2 tanques de 200L, cada uno con una entrada de oxígeno proporcionada por una salida de tubo PVC de ½ pulgada, la cual estaba conectada a la turbina de ½ HP. Para llevar a cabo el proceso, los sólidos fueron recolectados de los sistemas acuapónicos del T2 y fueron almacenados en cada uno de los tanques hasta complementar un volumen de 150 L con el agua de los mismos sistemas.

Después de finalizar la recolección de los sólidos se ajustó el oxígeno a una concentración $> 4 \text{ mg L}^{-1}$ y el pH a 7.0 utilizando ácido nítrico (HNO_3^-). Posteriormente, se realizó la inoculación de la cepa pura de *Bacillus* sp. (Sp-6); el tamaño del inóculo implementado fue de 4% a $2,7 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ unidades formadoras de colonia (UFC).

La mineralización de los sólidos/tanque fue realizada de manera intercalada, con el fin de asegurar el complemento de la solución durante toda la fase experimental. El tiempo de mineralización se llevó a cabo durante 10 días iniciando la inyección del complemento en los sistemas al día 11 del proceso de mineralización. Este complemento se realizó diariamente inyectando 5L de solución/sistema. Adicionalmente, cada 8 días se adicionó los micronutrientes de manera foliar ($4 \text{ g } 100 \text{ L}^{-1}$). La concentración inicial de nutrientes presente en la solución orgánica mineralizada se expone en la **tabla 3**.

Tabla 3. Composición nutricional de la solución generada del proceso de mineralización con *Bacillus* sp. en los sólidos sedimentables del sistema.

P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Cu	Mn	Mo
mg L⁻¹									
33.05	5.21	62.72	7.01	16.80	0.018	0.13	0.03	0.03	2.38

Complemento Nutricional de Plantas con Solución Hidropónica (CSH)

En el T3 del sistema acuapónico se implementó como complemento nutricional una solución hidropónica propuesta por Castellanos, (2009). Para ello, se preparó una solución

de macronutrientes 10 veces concentrada en 200L de agua (**Tabla 4**), la cual fue utilizada para inyectar diariamente 5L de solución, asegurando que el paso del agua hacia las plantas oscilara en conductividades de 2 a 2.1 mS cm⁻¹. Adicionalmente, cada 8 días se adicionó de manera foliar la solución de micronutrientes (4 g 100 L⁻¹).

Tabla 4. Preparación de 200 L de complemento de solución de macronutrientes, concentrada 10 veces.

Elemento	Concentración mg L ⁻¹	Fuente de fertilizante	Formúla	Peso (g) 200 L ⁻¹
N	176	Nitrato de Calcio	Ca(NO ₃) ₂ +4H ₂ O	*
		Nitrato de potasio	KNO ₃	
Ca	180	Nitrato de Calcio	Ca(NO ₃) ₂ +4H ₂ O	1152
K	272	Nitrato de potasio	KNO ₃	1328.7
P	31	Fosfato monopotásico	KH ₂ PO ₄	272
S	67	Sulfato de magnesio	MgSO ₄ +7H ₂ O	763
Mg	48	Sulfato de magnesio		

* No se registra el peso para el elemento del N porque se aportó al momento de añadir la cantidad reportada para nitrato de calcio y nitrato de potasio.

Variabes de Estudio para el Cultivo de Tomate.

Altura de la planta (*S. Lycopersicum*, var Anibal).

Fueron seleccionadas 4 plantas del sistema y se realizó semanalmente un registro de longitud del tallo en cm utilizando una cinta métrica, desde la base del tallo hasta la zona apical de la planta.

Medición valores SPAD y estimación del contenido de clorofila.

A las plantas seleccionadas para la medición de altura, semanalmente se realizó el registro de unidades SPAD con el equipo Minolta SPAD-502 DL. El valor SPAD de cada hoja fue el promedio obtenido de 5 lecturas realizadas. A partir de los datos SPAD se

estimó el contenido de clorofila en la hoja, mediante la ecuación $Y = 0.0647X - 1.4543$ reportadas en el estudio de Jiang *et al* (2017).

Rendimiento en tomate (*S. Lycopersicum*, var Anibal).

Cada 10 días se realizaron observaciones de las 4 plantas seleccionadas para la medición de altura y se registró los siguientes componentes de rendimiento: número de racimos, número de flores y frutos por planta; número de frutos por racimo y peso de fruto por planta. Para el peso del fruto se utilizó la balanza digital marca Pioner®, modelo PA84C, con un margen de error ± 0.01 .

Así mismo, se registró el rendimiento (Kg m^{-2}) tomando el peso total de los frutos de todas las plantas/sistema. Este rendimiento fue calculado tomando el área total del sistema acuapónico (20m^2) y el área del subsistema hidropónico (9m^2), el cual corresponde al rendimiento individual del sistema.

Parámetros calidad del fruto de tomate.

A partir de las cuatro plantas seleccionadas para el análisis de las variables de crecimiento y de componentes de rendimiento, se realizó un muestreo de 8 tomates por tratamiento y repetición para el análisis de calidad de fruto, los cuales fueron cosechados en madurez comercial, cuando el fruto presentó externamente un color rojo característico. Las variables de calidad evaluadas en el fruto fueron: diámetro del fruto, firmeza, grados Brix °, acidez titulable, proporción entre azúcar y acidez, y contenido de fenoles totales.

Diámetro y firmeza del fruto.

El diámetro del fruto se realizó tomando la longitud polar (cm), que corresponde de la punta del fruto a la parte de inserción del pedículo y la longitud del ecuatorial (cm), que corresponde a los dos extremos del pericarpio. Posteriormente, se realizaron mediciones de firmeza implementando el Sclerometer GY-1.

Grados Brix °

Los frutos seleccionados por tratamiento fueron lavados, cortados y triturados para la obtención del jugo, en el cual 1mL de la extracción fue utilizada para la medición de grados Brix ° implementando el Refractometro marca ATAGO (0-32%).

Acidez titulable

Los valores de acidez titulable se realizaron implementando la metodología reportada en el régimen de la Organización de cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE, 2014). Se tomó 5 mL de muestra (jugo de tomate) y se añadió en un vaso precipitado de 250 mL con 50 mL de agua destilada. De la mezcla obtenida se añadió tres gotas de fenolftaleina (indicador) y se titulo agregando lentamente gotas de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N hasta alcanzar del color incoloro a color rosa. La acidez se expresó como porcentaje de ácido cítrico utilizando la fórmula:

$$\text{Porcentaje de acidez titulable (\%)} = \frac{\text{Titulación promedio}}{5 \text{ mL de jugo}} \times 0.64$$

A partir de la determinación de grados Brix ° y acidez titulable se realizaron los cálculos de proporción de azúcares y acidez implementando la siguiente formula:

$$\text{Proporción entre azúcar y acidez} = \frac{\text{Valor Brix } ^\circ}{\text{Porcentaje de acidez titulable}}$$

Contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales fue analizado implementando el método de Folin-Ciocalteu, usando ácido gálico para preparar la curva de calibración (Martínez *et al.*, 2015). El ensayo se realizó tomando 2 mL de jugo de tomate; se adicionaron 0.4 mL de solución extractora compuesta por metanol, cloroformo y agua (2:1:1) y se centrifugó 15 min a 2500 rpm. Terminado el proceso de centrifugación, se extrajo 500 µl de sobrenadante, los cuales fueron colocados en matraces aforados de 25 mL. Posteriormente, se añadió 15 mL de agua destilada y 1.25 mL del reactivo Folin-

Ciocalteu; se homogenizó la muestra y se dejó reposar a oscuridad durante 8 min. Pasado el tiempo se adicionó a la mezcla 3.75 mL de la solución de carbonato sódico al 7.5 % (Na_2CO_3) y se completó el volumen total del matraz (25 mL) con agua destilada. Finalmente, las muestras fueron homogenizadas; se dejaron a oscuridad durante 2 horas a temperatura ambiente y se realizó la lectura de la muestra a una absorbancia de 765 nm en un espectrofotómetro modelo Genesys 20 Thermo Spectronic. La concentración de contenido de fenoles totales en el extracto fue calculada a partir de la fórmula obtenida en la curva de calibración de ácido gálico ($Y = 0.0558X + 0.0165$ $R^2 = 0.9909$). Los datos fueron expresados en base a mg equivalentes de ácido gálico / 100 g de muestra ($\text{mg GAE } 100 \text{ g}^{-1}$).

Dinámica de nutrientes en el SA

Al inicio del experimento y cada 10 días, por tratamiento se colectaron muestras de agua durante 103 días en 2 puntos del sistema: 1. Entrada de agua al subsistema hidropónico (SH) y 2. Salida o retorno del agua del SH al tanque de peces del SCR (**Figura VI.1**). Para el caso del T2 y T3 con complemento nutricional se realizó un muestreo adicional en la entrada del agua del subsistema hidropónico antes de realizar la inyección de la solución orgánica mineralizada y/o hidropónica.

A cada uno de los puntos de muestreo se analizó concentraciones en mg L^{-1} de los siguientes elementos: fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), azufre (S), magnesio (Mg), hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo) y zinc (Zn) por medio de espectrofotometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente.

En los Biorreactores, donde se llevó a cabo el proceso de mineralización se realizaron muestreos al inicio y a los 10 días de los siguientes elementos: P, K, Ca, S, Mg, Fe, Cu, Mn, Mo y Zn, implementando el espectrofotómetro de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente; el pH, conductividad eléctrica (CE en $\mu\text{S cm}^{-1}$), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y oxígeno disuelto (OD) fueron registrados por medio de la zona multiparamétrica HANNA HQ40D.

Concentración de nutrientes en tejido vegetal

En la etapa de floración de la planta se realizó un muestreo por tratamiento y repetición de una hoja completa joven, las cuales fueron secadas a 70°C durante 72 horas. Posteriormente, fueron procesadas y molidas hasta obtener polvo, donde 0.5 g fueron implementados para realizar el análisis de nitrógeno total por el método de Kjeldahl, utilizando una relación de 1:1:1.5 de la muestra con el catalizador (Sulfato de potasio + Oxido de mercurio) y ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado respectivamente. Adicionalmente, se peso 0.5 g del peso seco y fueron calcinados en mufla a 450°C, y posteriormente fueron digeridos con ácido nítrico concentrado, diluidos a 25 mL con agua destilada y finalmente las muestras fueron analizadas en espectrofotometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente para obtener las mediciones de P, K, Ca, S, Mg, Fe, Cu, Mn, Mo y Zn.

Variables de Estudio para Tilapia

Parámetros de producción y crecimiento en tilapia (*O. niloticus*).

Mensualmente se selecciono al azar 10 peces por sistema y se registro el peso (P), longitud total (LT) y longitud estándar (LS). Para el peso se utilizó una balanza digital Lexus Star 3000, con capacidad de 600 g x 0.01 g. La LT del pez se registró a partir de la medición con una cinta métrica de la cabeza hasta el final de la aleta caudal y la LS desde la cabeza hasta el comienzo de la aleta caudal (**Figura 2**). Los datos de peso fueron utilizados para ajustar el alimento según la biomasa del sistema.

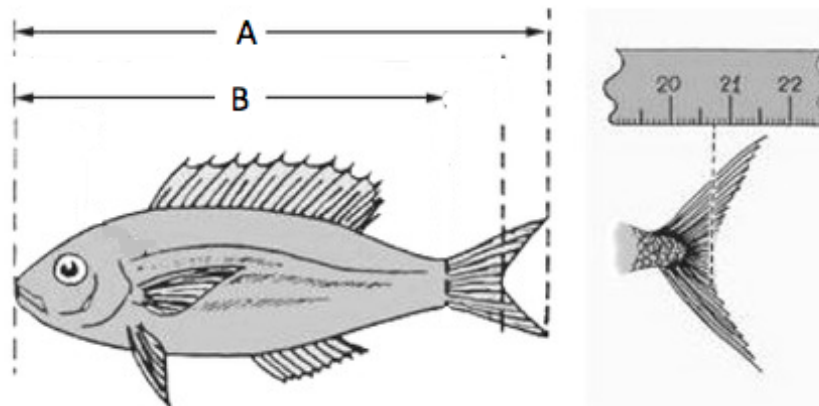


Figura 2. Descripción medición de longitud total (A) y estándar (B) en *O. niloticus*.

A partir de los datos de crecimiento (P, LT y LS) se calcularon los siguientes parámetros productivos (**Tabla 5**): factor de conversión alimenticia (FCA), ganancia de peso (GP), Ganancia de peso diario, factor de condición de Fulton (K) y supervivencia (S).

Tabla 5. Formulas para calcular los parámetros productivos en *O. niloticus* (Alatorres-Jacome et al., 2012).

Parámetros productivos		Fórmula
Factor de conversión alimenticia (Kg Kg⁻¹)	FCA	Cantidad de alimento suministrado (Kg) en un periodo de tiempo (t) / Ganancia de peso o incremento de biomasa (Kg) en el período (t)
Ganancia de peso (g)	GP	Peso final – Peso inicial
Ganancia promedio de peso diario (g día⁻¹)	GPd	Peso promedio final (g) – Peso promedio inicial (g) / Número de días en el cultivo (t)
Factor de condición de Fulton (K)	K	100 x (Peso promedio final (g) / longitud total cm ³)
Supervivencia (%)	S	Número de peces final / Número de peces inicial x 100.

Parámetros hematológicos: hematocrito y proteína total plasmática en tilapia.

Al final del experimento (120 días) fueron colectadas muestras de sangre de cinco individuos de tilapia por tratamiento y repetición. De cada individuo se extrajo de la vena

caudal 1 mL de sangre utilizando jeringas heparinizadas de 5 mL y tubos de BD vacutainer® con solución de heparina y anticoagulante.

Las muestras de sangre de cada tubo BD vacutainer® fueron colocadas en tubos de hematocrito, los cuales fueron centrifugados a 10.000 ×g por 5 minutos. Para el análisis de hematocritos los tubos fueron analizados mediante una escala estandar de lectura EZ Reader Microhematocrit y los valores fueron expresados en %; posteriormente el plasma de cada tubo de hematocrito fue analizado en un refractómetro clínico para determinar el contenido de proteínas totales plasmáticas (g dL⁻¹).

Parámetros fisicoquímicos de calidad de agua en el subsistema de peces del SCR.

Cada diez días, a la salida del biofiltro se realizaron mediciones de nitrato (NO₃⁻) implementando el método espectrométrico ultravioleta selectivo en muestras con concentraciones altas de NO₃⁻, y el método colorimétrico API® para agua dulce en muestras con bajas concentraciones de NO₃⁻. Además, en el tanque de peces se realizaron mediciones de nitrógeno amoniacal total (NAT), amonio no ionizada (NH₃⁻) y nitrito (NO₂⁻) por medio del Kit colorimétrico marca API®; también se realizaron mediciones de pH, CE (μS cm⁻¹), temperatura (°C) y oxígeno disuelto en mg L⁻¹ por medio de la sonda multi-paramétrica HANNA HQ40D.

Medición de Eficiencia del Agua en Sistemas Acuapónicos.

La eficiencia del agua es la relación existente entre la biomasa presente en un cultivo por unidad de agua utilizada en un determinado momento (Salazar *et al.*, 2014). El agua utilizada fue estimada considerando el agua adicionada en el sistema por pérdidas de evapotranspiración, fugas y recambios de agua debido a altas concentraciones de nitrito. Este valor estimado junto con el valor de rendimiento fue usado para calcular un promedio estimado de uso de agua de L Kg⁻¹ de producto (Salazar *et al.*, 2014), implementando la siguiente fórmula:

$$\text{Ef Agua} = \frac{\text{Producción (Kg)}}{\text{Agua utilizada (m}^3\text{)}}$$

Medición del uso Equivalente del Uso de Área o Espacio.

El uso equivalente del terreno (UET) es una variable implementada para evaluar la eficiencia del suelo a partir del rendimiento obtenido en el cultivo (Enciso & Esponzoa, 2010). Esta variable se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$x = \frac{Y_{ac}}{Y_{sub}}$$

“Yac” corresponde al rendimiento del sistema acuapónico (producción de tilapia-tomate) y “Ysub” corresponde al rendimiento del subsistema de peces (SCR) o del subsistema hidropónico (SH).

Así mismo, se estimó la ganancia total en pesos (\$) de la producción total del sistema acuapónico vs la producción de sólo peces en SCR o de plantas en hidroponía, contemplando el área total que ocupa un sistema acuapónico.

Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos fueron presentados como el promedio \pm desviación estándar y analizados por la prueba de normalidad, análisis de varianza ANOVA y la prueba de comparación de medias entre los tratamientos por tukey, al nivel de significancia del 5% ($p \leq 0.05$), utilizando el paquete estadístico Statistic-7 (StatSoft, I.S.S I., “Statística”, sistema de software de análisis de datos, versión 7).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Altura de la planta, unidades SPAD y contenido de clorofila en *S. Lycopersicum*, var Anibal.

La longitud total del tallo en las plantas del tomate esta representado en la **figura 3**. El crecimiento fue mayor en el tratamiento con complemento de solución hidropónica (T3) y en el tratamiento con solución mineralizada con *Bacillus* (T2) en comparación al testigo (T1), presentando diferencias significativas de $p \leq 0.05$ (T3= 4.0 m; T2=3.61 m; T1= 3.26 m). Esta diferencia de crecimiento en el T3 se puede atribuir al complemento adicional de nutrientes aportado por la solución hidropónica, en el cual K, N, Mg y P son los principales elementos que intervienen en el crecimiento vegetativo y desarrollo del tallo en las plantas (Taiz& Zeiger, 2007). Mientras, que en el T2 la concentración de nutrientes durante todo el crecimiento fue similar al testigo (**Figura 10**), lo cual, posiblemente la diferencia de crecimiento de altura pudo ser debido por la presencia de fitohormonas liberadas por *Bacillus* sp, ya que estudios demuestran que este género tiene la capacidad de producir auxinas, como ácido indolacético, el cual ejerce efecto positivo en el crecimiento vegetal de la planta (Agrawal & Agrawal, 2013; Wahyudi *et al.*, 2011; Cabra *et al.*, 2017). Sin embargo, aún falta realizar estudios moleculares y bioquímicos que compruebe la presencia de *Bacillus* sp. y el efecto de la inoculación de este género sobre el crecimiento de la planta en el sistema.

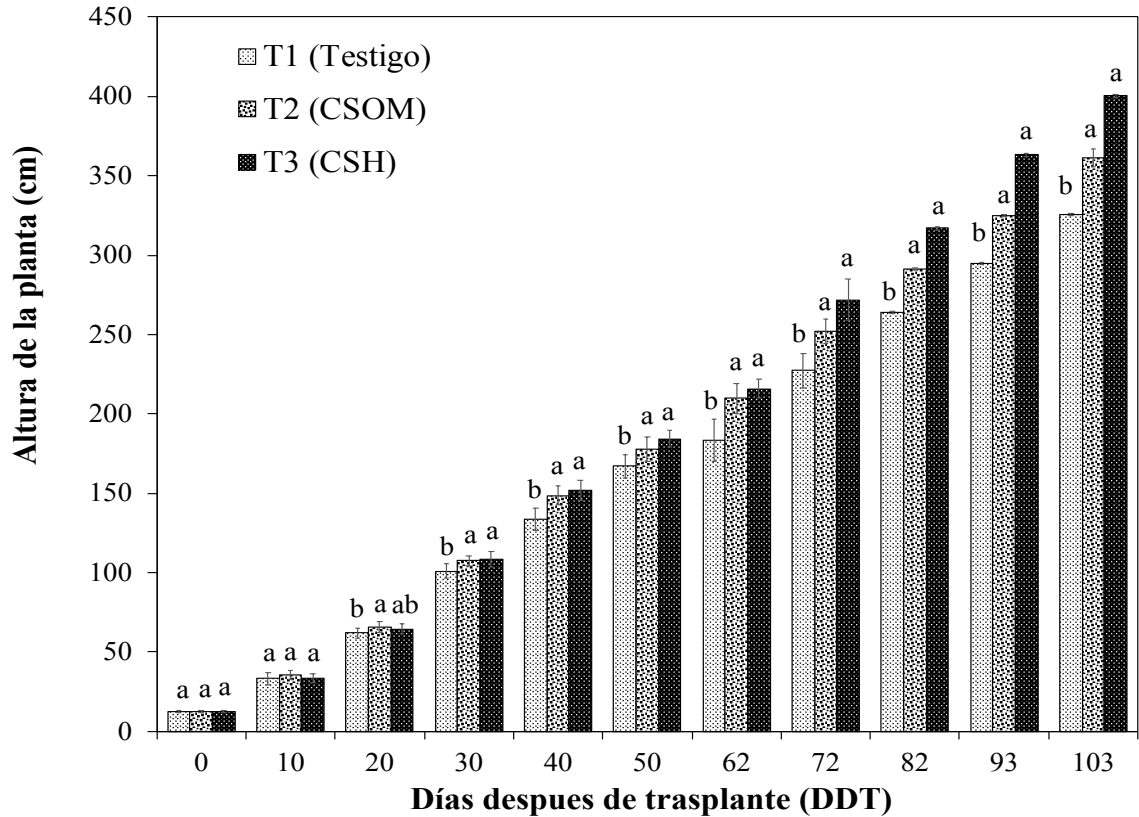


Figura 1. Crecimiento de tomate variedad Anibal en sistemas acuapónicos. Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3). Los datos representan el promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes corresponde a diferencias entre tratamientos de $p \leq 0.05$.

Por otro lado, las unidades SPAD y el contenido de clorofila son índices que puede ser usado para la evaluación de salud y estado nutricional de la planta, ya que las unidades SPAD esta correlacionado positivamente con el contenido de clorofila, una de las biomoléculas importantes utilizada durante el proceso de la fotosíntesis que se encarga de transformar la energía lumínica a energía química, necesario en el desarrollo y crecimiento de la planta (Tei & Guiducci, 2002; Xiong *et al.*, 2015; Jiang *et al.*, 2017).

El T3 con complemento de solución hidropónica presentó mayores unidades SPAD y contenido de clorofila, con respecto a lo obtenido en el testigo; mientras que el T2 con complemento mineralizado fue estadísticamente igual frente al testigo y al T3 (**Figura 4**). Además, los resultados muestran una disminución de unidades SPAD y clorofila a los 40

días después de trasplante (24 Mayo) presentando diferencias significativas entre los tratamientos (**Figura 4**). Esta disminución se presentó en la formación del quinto racimo, durante la etapa de fructificación del cultivo, lo cual puede atribuirse por su actividad fisiológica durante la producción del fruto debido a la acumulación de clorofila responsable de la coloración verde antes de la maduración del fruto (Wu & Kubota, 2008; Vicente *et al.*, 2011; Cocaliadis *et al.*, 2013). Por otro lado las unidades SPAD obtenidas en el experimento fue mayor a lo reportado por Roosta & Hamidpour (2011) y Suhl *et al.*, (2016), donde evaluaron la producción de tomate variedad indeterminada en sistemas acuapónicos, bajo condiciones de invernadero.

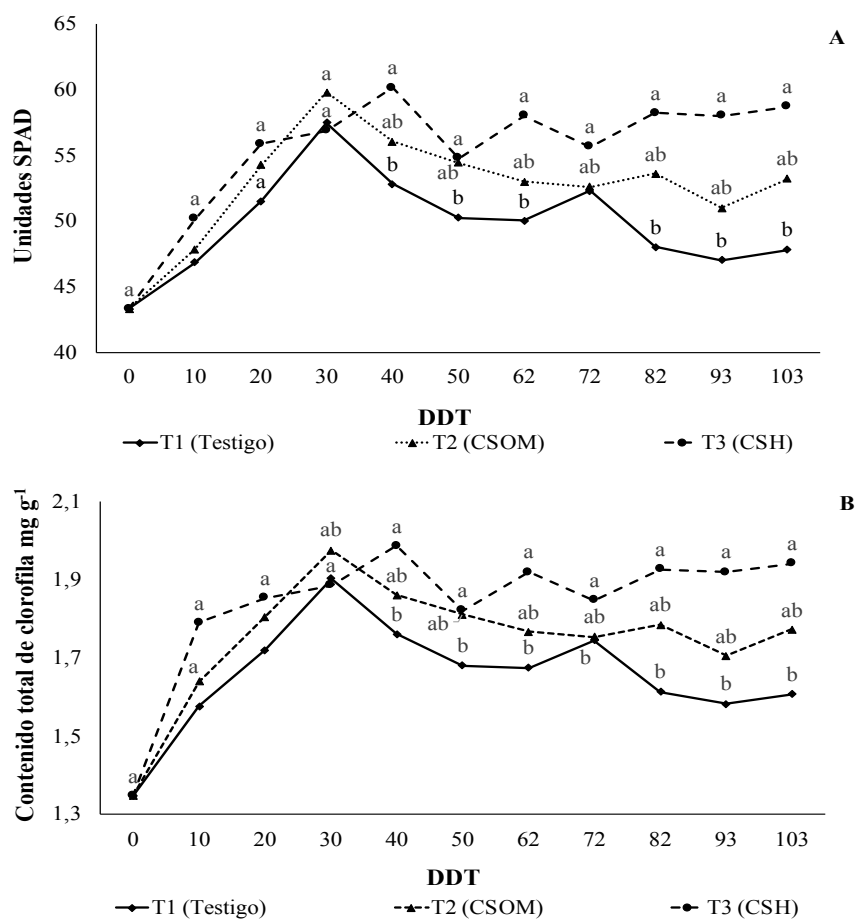


Figura 2. Unidades SPAD (A) y contenido estimado total de clorofila (B) en plantas de tomate, variedad Anibal cultivadas en sistemas acuapónicos. Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3). Los datos representan el promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes corresponde a diferencias entre tratamientos de $p \leq 0.05$.

Además, el N en hoja presenta una relación con la concentración de clorofila, en el cual, para el cultivo de tomate Castellanos (2008) reporta que la concentración óptima de %N en hojas durante la floración es de 4.0 a 4.5 y durante la maduración del fruto es de 3.3 a 3.7. Mientras, Tei *et al* (2002) reporta concentraciones sub-óptimas < 3.72% y óptimas entre 3,72% y 4.81%. Lo anterior comparado con los resultados obtenidos, muestra que en los tres tratamientos se presentaron concentraciones menores a los niveles óptimos reportados por dichos autores con porcentajes de 1.7 ± 0.1 y 1.8 ± 0.05 en el T1; 2.7 ± 0.1 y 2.5 ± 0.54 en el T2 y 2.1 ± 0.1 y 2.7 ± 0.51 en el T3, durante las épocas de floración y fructificación respectivamente, siendo significativamente menor el % de N presente en el testigo (**Figura 5**). Aunque el T2 y T3 presentaron niveles bajos de N no se observaron síntomas externos en la hoja por deficiencia de nitrógeno en las plantas y son concentraciones similares a lo obtenido en otros estudios con sistemas acuapónicos e hidropónicos (Kempen, 2015). En cuanto al testigo, a partir de los 72 DDT se observó una diferencia en el desarrollo foliar y las hojas viejas presentaban un color más palido con respecto a los otros dos tratamientos, lo cual es reflejado en las unidades SPAD donde alcanzó a los 82 días después de trasplante valores de 47.8 unidades (**Figura 4**). Lo anterior coincide con Bénard *et al.*, (2009), donde obtuvo una disminución significativa en el desarrollo vegetativo de tomate al disminuir la fuente de N de 12 meq (162 mg L^{-1}) a 4 meq (56 mg L^{-1}).

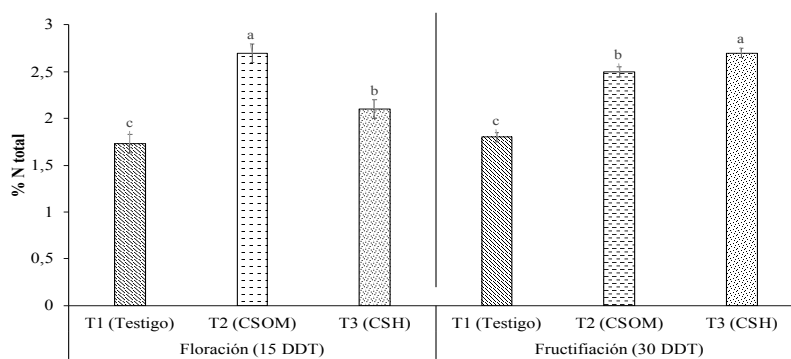


Figura 3. Contenido de nitrógeno total (%) en hojas de tomate durante las etapas fenológicas de floración y fructificación en sistemas acuapónicos. Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3). Los datos representan el promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes corresponde a diferencias entre tratamientos de $p \leq 0.05$.

Rendimiento de *Solanum lycopersicum* L. var Anibal.

El número de frutos y racimo/planta, y el número de frutos/racimo fue mayor en el T3 con complemento de solución hidropónica presentando diferencias significativas de $p \leq 0.05$. El peso promedio del fruto durante los siete cortes fue significativamente mayor en el corte 1,3,4 y 5 del T2 y T3 (**Figura VI. 6**). Así mismo, estos tratamientos presentaron mayor rendimiento por m^2 (10.5 y 13 $Kg\ m^{-2}$) con diferencias significativas ($p \leq 0.05$), en comparación al testigo (**Tabla 6**). Algunos estudios realizados en producción de tomate en hidroponía, con variedad indeterminada y cultivada bajo invernadero (componentes similares evaluados en el SA) reportan rendimientos de 12.6 $Kg\ m^{-2}$ (Ortega, 2016), 13.0 y 15.3 $Kg\ m^{-2}$ (Sánchez *et al.*, 2014) a los 92 DDT, los cuales son rendimientos mayores a lo obtenido en el T2, con solución mineralizada con *Bacillus* sp., pero similares a lo obtenido en el T3, con solución hidropónica.

Por otro lado, esta investigación reporta el rendimiento contemplando el área total del sistema acuapónico ($20\ m^2$) y el área del subsistema hidropónico ($9\ m^2$). Sin embargo, los resultados obtenidos por subsistema hidropónico fueron contemplados para la comparación con otras investigaciones en acuaponía, ya que los pocos estudios realizados en tomate no contemplaron el área total del sistema (**Tabla 6**). Un estudio realizado por Roosta & Hamidpour, (2011) donde evaluaron el efecto de la aplicación foliar de macro y micronutrientes en la producción de tomate, variedad indeterminada y cultivada bajo invernadero reportan a los 106 DDT una producción de 6 a 10 racimos $planta^{-1}$ y un rendimiento de 1.2 $Kg\ planta^{-1}$ ($7.2\ Kg\ m^{-2}$), valores inferiores a lo obtenido en el tratamiento con complemento de solución hidropónica (T3) y mineralizada con *Bacillus* sp. (T2).

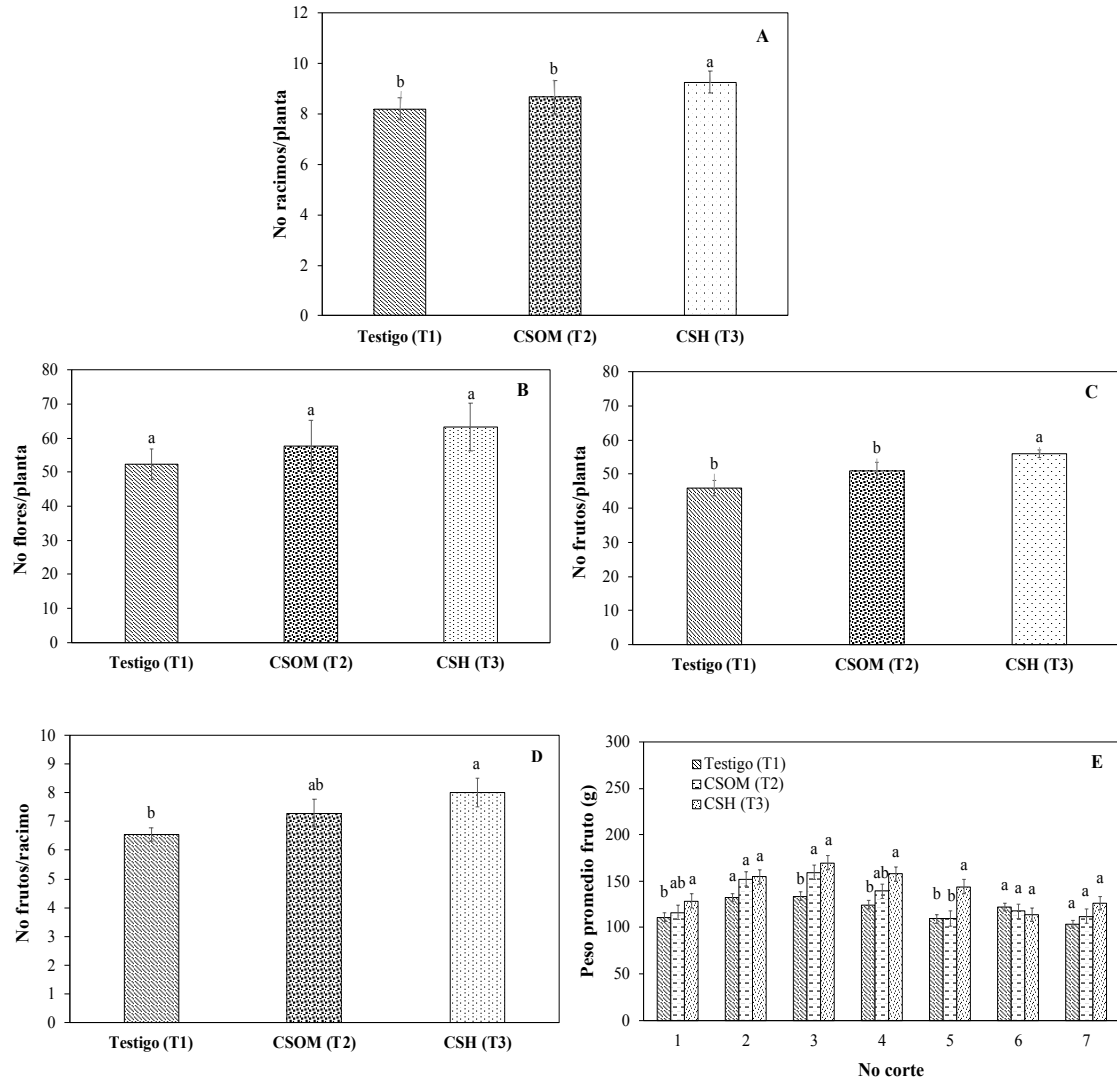


Figura 4. Análisis de los componentes de rendimiento en tomate. Número de racimos/planta (A); número de flores/planta (B); número de frutos/planta (C); número de frutos/racimo (D); peso promedio del fruto/planta (E). Los datos representan el promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes corresponde a diferencias entre tratamientos de $p < 0.05$. Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con Bacillus (T2); CSH: complemento de solución hidropónica (T3).

Otro estudio realizado por Suhl *et al.* (2016) reporta un rendimiento de 12.5 Kg m^{-2} , el cual es superior a lo obtenido en el T2 (10.5 Kg m^{-2}), pero similar a lo obtenido en el T3 (13.0 Kg m^{-2}). Este estudio manejó un diseño acuapónico de doble recirculación, donde la unidad hidropónica esta separada con el sistema de recirculación cerrada (SCR) o unidad de los peces, y el aporte o complemento de solución hidropónica que se adiciona

al agua extraída del hidrociclón no retorna a la unidad de los peces. Una de las desventajas de este sistema es que no optimiza la construcción, ni la relación pez-planta en el sistema, lo cual no funciona como un sistema biointegrado, si no como dos sistemas independientes, generando un mayor número de recambios de agua en comparación a un sistema cerrado (Kloas *et al.*, 2015). A diferencia de este sistema, el presente trabajo implementó una unidad de inyección instalada después del biofiltro, donde se adicionó un complemento de solución hidropónica, obteniendo un rendimiento similar a lo reportado por Suhl *et al.* (2016).

A partir de las comparaciones realizadas con otros estudios en hidroponía y acuaponía que presentaban componentes similares al presente experimento, en cuanto al cultivo en invernadero, variedad indeterminada y tiempo de cosecha, nos permite dar una idea de la productividad obtenida en el sistema, lo cual, nos muestra que aportar una solución equilibrada al agua del sistema puede ayudar a optimizar la producción de tomate en sistemas acuapónicos biointegrados con recirculación cerrada.

Tabla 1. Rendimiento de tomate, variedad Anibal y tilapia (*O. niloticus*) cultivada en sistemas acuapónicos.

	Unidad	Testigo (T1)	CSOM (T2)	CSH (T3)
Rendimiento de tomate Kg m⁻² en el subsistema hidropónico (9 m²)	m ²	9.4 ^b	10.5 ^{ab}	13.0 ^a
Rendimiento de tilapia en el subsistema de recirculación cerrada (11 m²)	m ²	1.03 ^a	1.03 ^a	1.02 ^a
	m ³	11.3 ^a	11.3 ^a	11.2 ^a
Rendimiento total de tilapia-tomate en un sistema acuapónico (20 m²) *	m ²	10.4 ^b	11.5 ^{ab}	14.1 ^a

Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con Bacillus (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3). Los datos representan el promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes corresponde a diferencias entre tratamientos de $p \leq 0.05$ *

Análisis parámetros de calidad del fruto de tomate.

El diámetro polar y ecuatorial determinan el tamaño de los frutos de jitomate y es un indicador de calidad utilizado para su comercialización. El tamaño ecuatorial de los frutos cosechados durante los 7 cortes no presentó diferencias significativas entre los tratamientos; mientras que el tamaño polar de los frutos en el corte 1,3,4 y 5 fueron significativamente mayores ($p \leq 0.05$) en el tratamiento 2 y 3 con respecto al testigo (**Tabla 7**). La norma mexicana NMX-FF-099 clasifica al tomate variedad saladette por el diámetro ecuatorial, que comparado con lo obtenido en este estudio el tomate se puede clasificar en un tamaño mediano-grande. Estos resultados son mayores a lo obtenido por Rodríguez *et al.*, (2016), donde reporta un diámetro polar de 6.2 cm y un diámetro ecuatorial de 5 cm en tomate saladette, variedad “El Cid”.

Los valores de acidez titulable se mantuvieron en 0.5, 0.6 y 0.7 % entre cada corte del cultivo sin presentar diferencias significativas entre los tratamientos (**Figura 7**), mayor a lo obtenido por Rodríguez *et al.*, (2016) en producción de tomate indeterminado, variedad “El Cid” con 0.32 % ; por Rivas *et al.*, (2012) con 0.42% y por Porto *et al.*, (2016) con 0.4 %. Estos altos porcentajes de acidez explican que la proporción del contenido de azúcar/acidez: 4.6 a 6.6 (T1), 4.3 a 7.2 (T2) y de 4.1 a 7.2 (T3) fueran menores a lo obtenido en otros estudios (Rivas & Moratinos, 2012). Además, Porto *et al.*, (2016) encontró una correlación negativa entre el N y % de acidez del fruto, donde obtuvo una reducción del % de acidez al incrementar las dosis de N de 100 a 450 Kg ha⁻¹, lo cual puede ser una posible explicación a los altos % de acidez, ya que las concentraciones de N en hoja estuvieron menores a lo reportado como óptimo en tomate (**Figura 5**) y las concentraciones de NO₃⁻ se mantuvieron en concentraciones bajas (**Figura 9**). Sin embargo, aún no es clara esta relación, ya que otros autores han encontrado que la dosis de N no influye en el % de acidez (Ferreira *et al.*, 2006; Bénard *et al.*, 2009).

Tabla 2. Valores de Firmeza, diámetro ecuatorial y polar del fruto de tomate durante 7 cortes en sistemas acuapónicos evaluados con diferentes complementos nutricionales.

Corte	Tratamiento	Diametro polar fruto (cm)	Diametro ecuatorial fruto (cm)	Firmeza (Kg cm ⁻³)
1	Testigo (T1)	10.5±1.6 ^a	8.4 ±0.9 ^b	4.6±0.9 ^a
	CSOM (T2)	9.9±2.0 ^{ab}	9.3±1.5 ^a	5.6±1.1 ^a
	CSH (T3)	10.8±1.0 ^a	9.0±0.9 ^{ab}	5.3±1.2 ^a
2	Testigo (T1)	10.9±1.4 ^a	8.7±1.2 ^a	7.1±0.1 ^a
	CSOM (T2)	11.4±1.3 ^a	9.3±1.3 ^a	7.3±0.2 ^a
	CSH (T3)	11.6±1.0 ^a	9.3±0.8 ^a	7.5±0.2 ^a
3	Testigo (T1)	10.7±2.8 ^b	9.2±1.5 ^a	7.0±0.3 ^a
	CSOM (T2)	11.6±1.3 ^a	9.5±1.3 ^a	7.1±0.1 ^a
	CSH (T3)	11.8±0.8 ^a	9.7±0.8 ^a	7.1±0.3 ^a
4	Testigo (T1)	10.7±1.8 ^b	8.8±1.3 ^a	6.7±0.3 ^a
	CSOM (T2)	11.3±1.3 ^{ab}	9.2±1.3 ^a	6.7±0.2 ^a
	CSH (T3)	11.6±1.1 ^a	9.4±0.9 ^a	6.5±0.3 ^a
5	Testigo (T1)	10.3±2.2 ^b	8.5±1.5 ^a	6.6±0.2 ^a
	CSOM (T2)	10.3±1.8 ^b	8.5±1.3 ^a	6.6±0.2 ^a
	CSH (T3)	11.4±1.7 ^a	9.2±1.0 ^a	6.5±0.3 ^a
6	Testigo (T1)	10.6±1.7 ^a	8.9±1.3 ^a	6.4±0.2 ^a
	CSOM (T2)	10.0±1.6 ^a	9.0±2.0 ^a	6.5±0.4 ^a
	CSH (T3)	10.3±1.5 ^a	8.7±1.2 ^a	6.6±0.2 ^a
7	Testigo (T1)	9.9±1.8 ^a	8.4±1.6 ^a	6.7±0.2 ^a
	CSOM (T2)	9.9±1.9 ^a	8.9±1.5 ^a	6.6±0.2 ^a
	CSH (T3)	10.7±1.1 ^a	8.9±1.1 ^a	6.62±0.2 ^a

Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con Bacillus (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3). Los datos representan el promedio ± desviación estándar. Letras diferentes en columna, entre cada corte, corresponde a diferencias significativas entre tratamientos de $p \leq 0.05$ para cada una de las variables.

La firmeza del fruto fue similar entre los tratamientos ($p > 0.05$) con valores de 4.6 a 7.1 Kg cm⁻³ (**Tabla 7**), superior a lo reportado por Arellano & Gutiérrez, (2006). Esta variable es afectada por la etapa de maduración, ya que la actividad enzimática que desnaturaliza las sustancias que dan rigidez al fruto (sustancias pécticas) es menor cuando los frutos se cosechan en grados tempranos de maduración (Porto *et al.*, 2016), lo cual

puede explicar la diferencia de firmeza obtenidos en el experimento con respecto a los otros estudios.

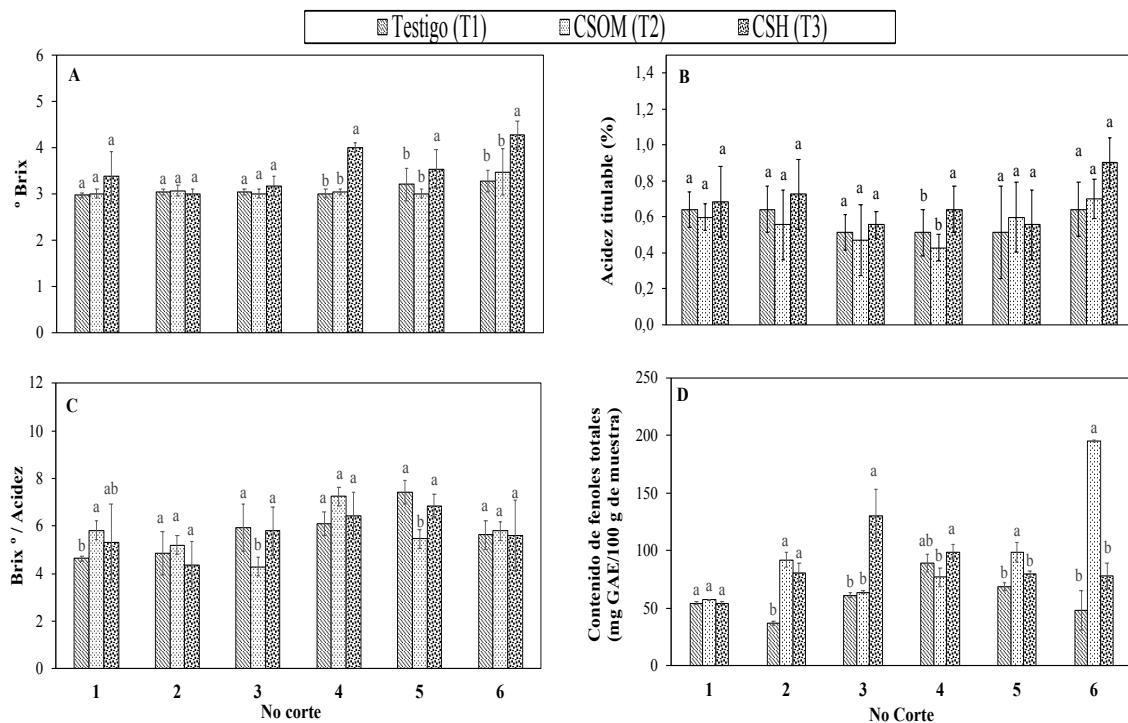


Figura 5. Calidad del fruto en contenido de ° Brix (A), acidez titulable (B), proporción entre azúcar/ácido (C) y contenido fenólico o de ácido gálico (D) durante 6 cortes de tomate cultivados en sistemas acuapónicos con diferentes complementos nutricionales. Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con *Bacillus* (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3). Los datos representan el promedio ± desviación estándar. Letras diferentes corresponde a diferencias entre tratamientos de $p \leq 0.05$.

Por otro lado, los grados Brix están relacionados con el contenido de glucosa y fructuosa, y por ende con el sabor de los frutos (Kempen *et al.*, 2015). Los resultados obtenidos muestran un incremento significativo ($p \leq 0.05$) de los grados Brix a partir del cuarto corte (52 DDT), alcanzando valores de 3.7 y 4.3, mayores a lo obtenido en el testigo y en el T2, donde presentaron valores de 3.0 y 3.2 en cada uno los cortes (Figura VI. 7). Estos resultados fueron inferiores en comparación con otros estudios, donde reportan valores mayores de 4.5 ° Brix en diferentes variedades de tomate de crecimiento determinado e indeterminado bajo condiciones de invernadero (Rivas *et al.*, 2012; Kempen *et al.*, 2015; Rodríguez *et al.*, 2016).

Una posible explicación del bajo contenido de grados Brix en el testigo y T2, puede ser debido a las bajas concentraciones de fósforo, potasio, magnesio e hierro que estuvieron presentes en el agua del sistema durante todo el ciclo del cultivo (**Figura 10 y 11**). Varios autores reportan una relación entre el incremento de los grados Brix con el incremento en los niveles de cada uno de estos elementos, debido a su función fisiológica en la planta durante la fotosíntesis (Hao & Papadopoulos, 2003; Çolpan *et al.*, 2013). Se reporta que el fósforo forma parte del adenosín difosfato (ADP) y adenosín trifosfato (ATP), moléculas esenciales para llevar a cabo los procesos de transferencia de energía requeridos durante la fotosíntesis; el potasio juega un papel importante en el transporte de los productos fotosintéticos (fotosintatos) de la hoja al fruto a través del floema; el magnesio es un componente básico de la clorofila, el cual es una molécula esencial requerida en el proceso de fotosíntesis para transformar la energía lumínica en energía química; y el hierro interviene en la síntesis de clorofila y en la captación y transferencia de electrones en la fotosíntesis a través de la proteína Ferredoxina (Taylor & Francis, 2006; Juárez *et al.*, 2015). En términos generales, estos elementos intervienen directa o indirectamente durante el proceso fotosintético y por ende la producción de azúcares que contribuyen al aumento de los sólidos solubles totales o grados Brix en frutos (Hao & Papadopoulos, 2003; Çolpan *et al.*, 2013; Johkan *et al.* 2014; Woldemariam *et al.*, 2018).

Con respecto, a los altos valores obtenidos en el T3, a partir del cuarto corte, frente al testigo y al T2 puede ser debido al suplemento hidropónico, en el cual, incrementó la conductividad eléctrica (CE) y a su vez aumentó significativamente los niveles de P, K y Mg. Wu & Kubota, (2008) reporta que los grados Brix en el fruto incrementa la CE, debido a un proceso osmótico, donde la alta concentración de sales causa una disminución del flujo del agua al interior del fruto aumentando de esta manera la concentración de azúcares. Esto coincide con lo obtenido en este estudio, donde se presentó un aumento de la CE a partir de los 10 DDT, mostrando un incremento significativo de los grados Brix cuando la conductividad se mantuvo constante de 2000 a 2100 $\mu\text{S cm}^{-1}$, a partir de los 52 DDT (**Figura 7 y 8**).

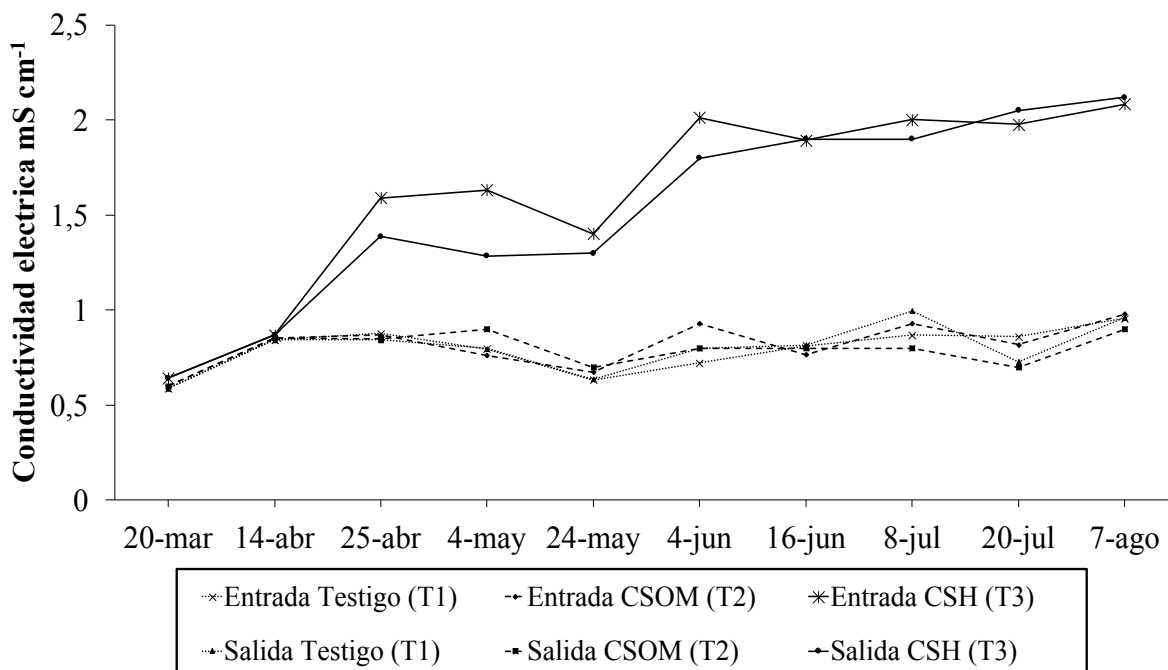


Figura 6. Concentraciones de conductividad eléctrica a la entrada del subsistema hidropónico (A) y a la salida del subsistema de peces, SCR (B) en el sistema acuapónico tilapia - tomate. Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con Bacillus (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3).

Por otra parte, el tomate es una de las hortalizas importantes para la dieta humana, ya que aporta diferentes antioxidantes y metabolitos secundarios, tales como carotenoides, licopeno y fenoles (Luthria *et al.*, 2006). El contenido fenólico (ácido gálico) en el T2 fue significativamente mayor en el corte 2, 5 y 6; y en el T3 fue mayor en el corte 2, 3 y 4 (Figura 7). Las concentraciones en el T2 y T3 fueron mayores a lo obtenido por Warinporn & Geoffrey (2017) con 38 a 49 mg 100 g⁻¹ y Porto *et al.*, (2016) con 68 mg 100 g⁻¹; pero menores a lo reportado en otros estudios con rangos de 409 mg 100 g⁻¹ (Toor *et al.*, 2006), 350 mg 100 g⁻¹ (Luthria *et al.*, 2006), 200-600 mg 100 g⁻¹ (Toor *et al.*, 2006b) y 380 mg 100 g⁻¹ (Toor *et al.*, 2005). Esta diferencia de concentraciones puede ser debido a que el contenido de antioxidantes incluyendo los compuestos fenólicos en tomate se ven afectados por la genética de la especie, métodos de extracción y condiciones ambientales como temperatura, luz y disponibilidad de agua (Dumas *et al.*, 2003).

Además, no se observó una relación del contenido de fenoles totales con la concentración eléctrica o el contenido nutricional en el agua, por lo cual, esta variable pudo estar relacionada con otro tipo de factor abiótico. Uno de los factores que pudo intervenir en la acumulación de compuestos fenólicos es la temperatura ambiental y la disponibilidad de agua en la planta. Rivero *et al.* (2001) reporta un incremento de la acumulación de contenidos fenólicos en tomate bajo condiciones de estrés térmico (15 y 35° C); mientras que Sánchez *et al.* (2012) y Warinporn & Geoffrey (2017) reportan mayores concentraciones de contenidos fenólicos en tomate bajo condiciones de estrés hídrico. Este incremento se atribuye a la actividad de fenilalanina amonio liasa (PAL) como principal enzima de la biosíntesis de compuestos fenólicos, lo cual se ha reportado que su actividad es afectada por diferentes factores abióticos como la luz, estrés térmico, reguladores de crecimiento, la sequía y la nutrición mineral, que inducen a la producción del contenido fenólico (Rivero *et al.*, 2001). En el presente estudio se obtuvieron durante los meses de mayo a julio temperaturas máximas de 40 a 45 °C y mínimas de 12 a 15 °C, que corresponden a condiciones no óptimas para el tomate, ya que se reporta que su temperatura ambiental óptima es de 25 °C y su rango de tolerancia es de 15 a 32 °C (Adams 2001; Shamshiri *et al.*, 2018), lo cual, esto pudo haber generado un estrés térmico que favoreciera la producción de compuestos fenólicos; Sin embargo, no se cree que haya afectado significativamente en la biosíntesis de fenoles, ya que el riego de agua fue constante en el sistema acuapónico, sin causar algún estrés hídrico en las plantas.

Por último, otra posible explicación de la diferencia de contenido fenólicos puede ser por el método empleado para la extracción de los contenidos fenólicos, ya que se utilizó el reactivo Folin-Ciocalteu, el cual se reporta que este reactivo puede detectar otros agentes reductores como ácido ascórbico, aminas, Fe²⁺ y Cu²⁺, generando interferencia con la medida del contenido fenólico en las frutas (Barbagallo *et al.*, 2013).

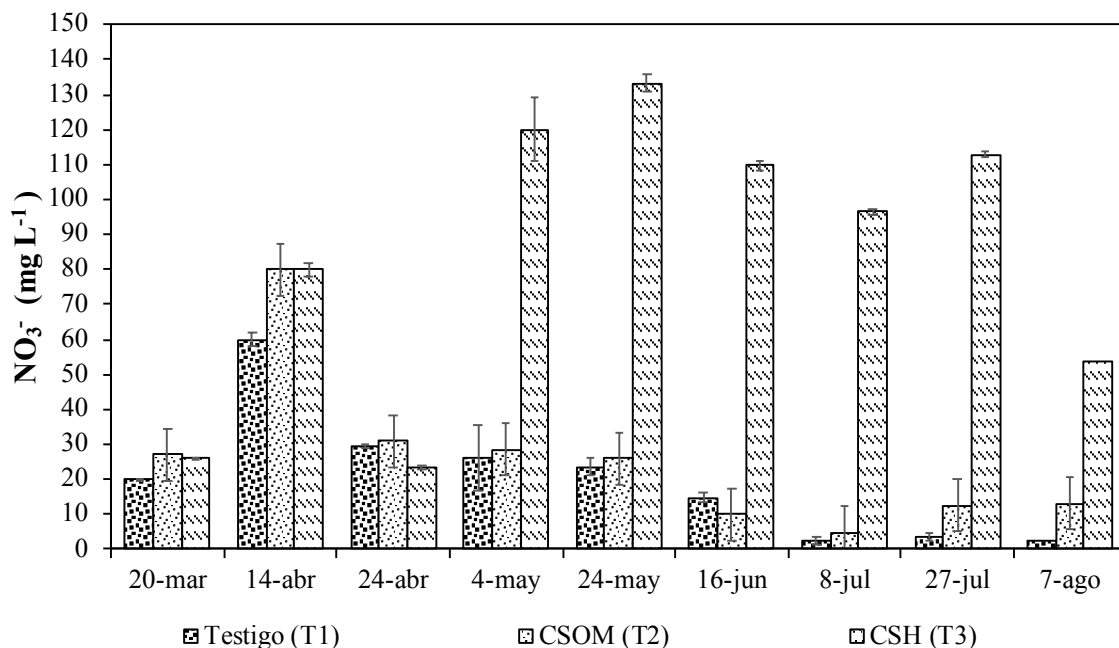


Figura 7. Niveles de NO_3^- en el agua durante el cultivo de tilapia-tomate en un sistema acuapónico. Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con *Bacillus* (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3). Los datos representan el promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes corresponde a diferencias entre tratamientos de $p \leq 0.05$.

Dinámica de macro y micronutrientes en el sistema acuapónico.

La figura 10 muestra la concentración de macronutrientes a la entrada y salida del sistema en cada uno de los tratamientos, en el cual, se observó que la dinámica de nutrientes fue similar entre el testigo y el tratamiento con complemento de solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. (T2), donde, a partir de la semana del 14 al 24 mayo se evidencio una disminución en la concentración de cada uno de los elementos, permaneciendo en niveles bajos durante todo el ciclo de cultivo; mientras que, en el T3 con complemento de solución hidropónica se observó, a partir del 25 de Abril (10 DDT) hasta finalizar el experimento, un incremento significativo de los nutrientes y la conductividad eléctrica, alcanzando valores de conductividad de 2 a 2.1 mS cm^{-1} .

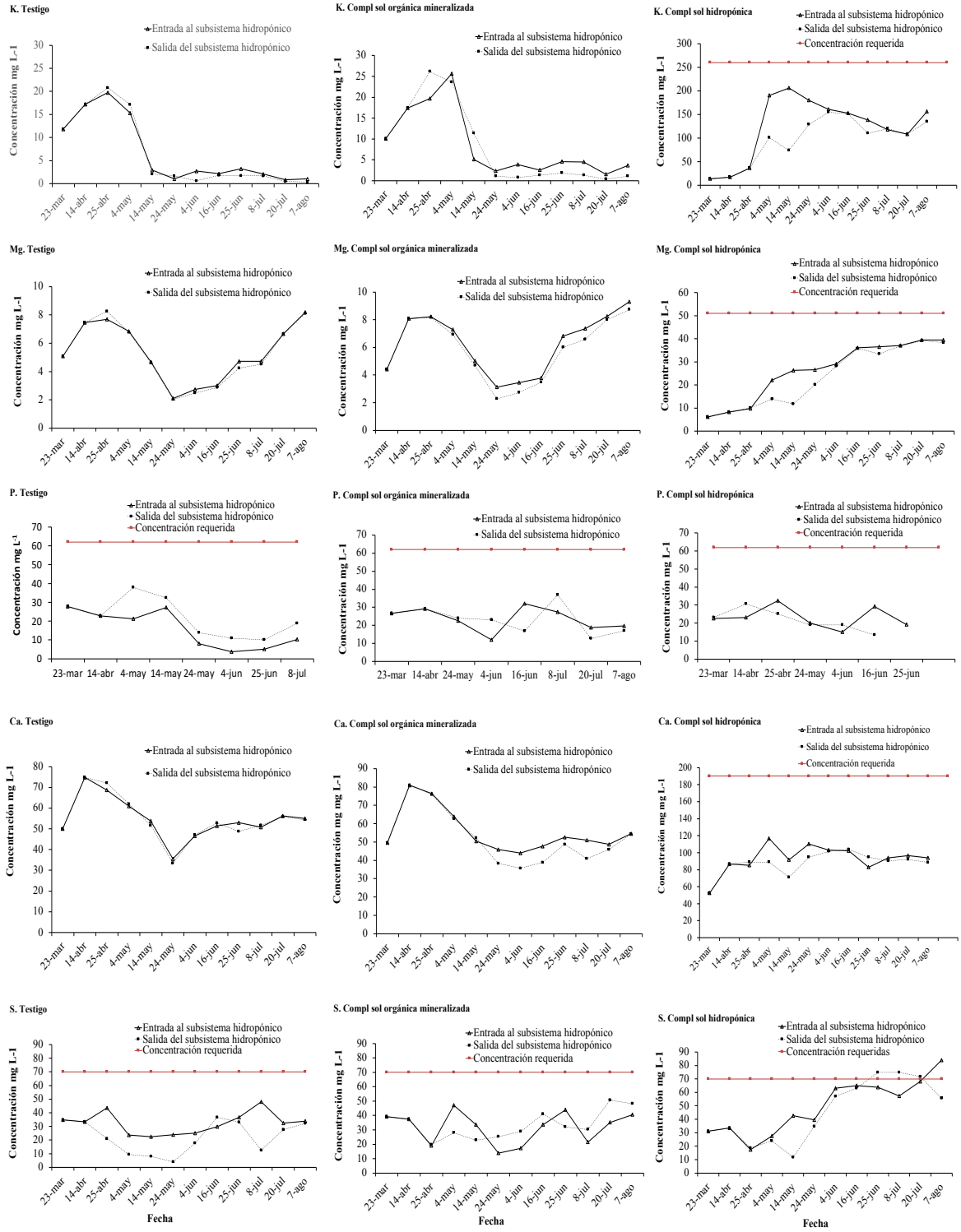


Figura 8. Concentración de macronutrientes a la entrada y salida del subsistema hidropónico durante el ciclo de cultivo de tomate en acuaponía. La línea roja corresponde a la concentración requerida para el tomate reportada por Castellanos (2009).

Así mismo, la línea roja que se ilustra en cada uno de los elementos por tratamiento (**Figura 10**) indica la concentración recomendada para la producción de tomate por Castellanos (2009), en el cual, se observó que la concentración de cada elemento en el testigo y en el T2, fueron significativamente bajos, en comparación al T3, principalmente en K y Mg, que se mantuvieron en concentraciones menores de 5 y 10 mg L⁻¹, respectivamente. Según Maruo *et al.* (2004) reporta que niveles menores de 2 meq L⁻¹ (78 mg L⁻¹) en K y 1 meq L⁻¹ (12 mg L⁻¹) en Mg corresponden a niveles críticos para tomate. Por lo tanto, se considera que estas bajas concentraciones ocasionaron el desarrollo de los síntomas por deficiencias nutricionales en las hojas y fruto del tomate, los cuales también coinciden con los síntomas reportados por Castellanos (2009) en deficiencias de K y Mg. Estos síntomas se evidenciaron a partir de los 40 DDT (24 de Mayo), donde las hojas jóvenes y viejas presentaron clorosis intervenal; enrollamiento de las hojas hacia el envés, marchitamiento marginal; y aparición de puntos necróticos dentro de las áreas cloróticas. También, se evidenció en los últimos cortes del fruto (80 – 106 DDT) la fisiopatía conocida como “Jaspeado del tomate” o “Blotchy ripening” (**Figura 11 y 12**).

Además, en el testigo y sistemas con aporte nutricional de solución mineralizada se observó bajos niveles de Ca (50 y 60 mg L⁻¹) y S (25 a 40 60 mg L⁻¹), en comparación al otro tratamiento, sin evidenciar síntomas por deficiencia nutricional en las hojas, lo cual pudo ser debido a que no estuvieron dentro de los niveles críticos para la nutrición del tomate, pues el estudio realizado por Maruo *et al.*, (2004) demuestra que los niveles críticos para la absorción de Ca ocurre en 1 meq L⁻¹ que corresponde a 20 mg L⁻¹. Estos valores no alcanzaron a estar presente en el agua, debido a que la recirculación cerrada del sistema permitió mantener concentraciones superiores a 40 mg L⁻¹ durante el ciclo de cultivo (**Figura 10**).

Con respecto al fósforo, en el testigo se observó una disminución de este elemento, presentando al final del cultivo niveles de 5 a 14 mg L⁻¹; mientras que, los sistemas con aporte de solución mineralizada mostraron concentraciones mayores y similares al tratamiento con solución hidropónica, oscilando los niveles en concentraciones de 20 a 35 mg L⁻¹ (**Figura 10**). Esta diferencia pudo ser debido al aporte de la solución mineralizada

con *Bacillus* sp., ya que posiblemente la población microbiana de esta bacteria se estableció en el sistema acuapónico, favoreciendo la mineralización y solubilización del P presente dentro del sistema. Por lo tanto, esto puede atribuir a la duda planteada en el estudio de Cerozi & Fitzsimmons (2016), donde reportan que en sus resultados no fue claro si *Bacillus* afectó la dinámica de P en el cultivo de lechuga en un sistema acuapónico, debido a la presencia de trazas de P en el producto comercial de *Bacillus*.

De igual manera, los niveles de macronutrientes en los sistemas con aporte de solución hidropónica se mantuvieron en concentraciones menores a los propuestos por Castellanos (2009). Sin embargo, las concentraciones permanecieron en niveles superiores a los niveles críticos reportados por Maruo *et al.*, (2004), sin presentar síntomas por deficiencias nutricionales. (**Figura 11 y 12**), lo cual, esto permite deducir que el suplemento hidropónico generó un efecto positivo sobre el desarrollo y crecimiento de la planta, como lo demostró también el crecimiento, rendimiento y el contenido de clorofila que fue estadísticamente igual a los sistemas con aporte nutricional mineralizada con *Bacillus* sp. pero significativamente mayor al testigo.

Los resultados obtenidos en micronutrientes en el agua mostraron datos no detectados en Fe y Mn, ya que el equipo presenta límites de detección < 0.01 en cada elemento. Esto indica que probablemente las concentraciones de este elemento estuvieron menores a 0.01, y por ende estos datos pueden coincidir con los síntomas de clorosis intervenal que se observaron en las hojas jóvenes (hojas apicales) de la planta (**Figura 11 y 13**), que comparado con lo reportado por Castellanos (2009), pudieron deberse a la deficiencia de hierro principalmente. Para Zn, Cu y Mo se observó una dinámica similar entre los tres tratamientos, presentando concentraciones de 0.01 a 0.4 mg L⁻¹ en Zn; 0.1 y 1.6 mg L⁻¹ en Mo y 0.01 a 0.2 en Cu respectivamente (**Figura 13**), los cuales se encuentran en niveles similares y mayores a lo recomendado para el cultivo de tomate (0.2 en Zn mg L⁻¹ y 0.05 mg L⁻¹ en Cu y Mo).

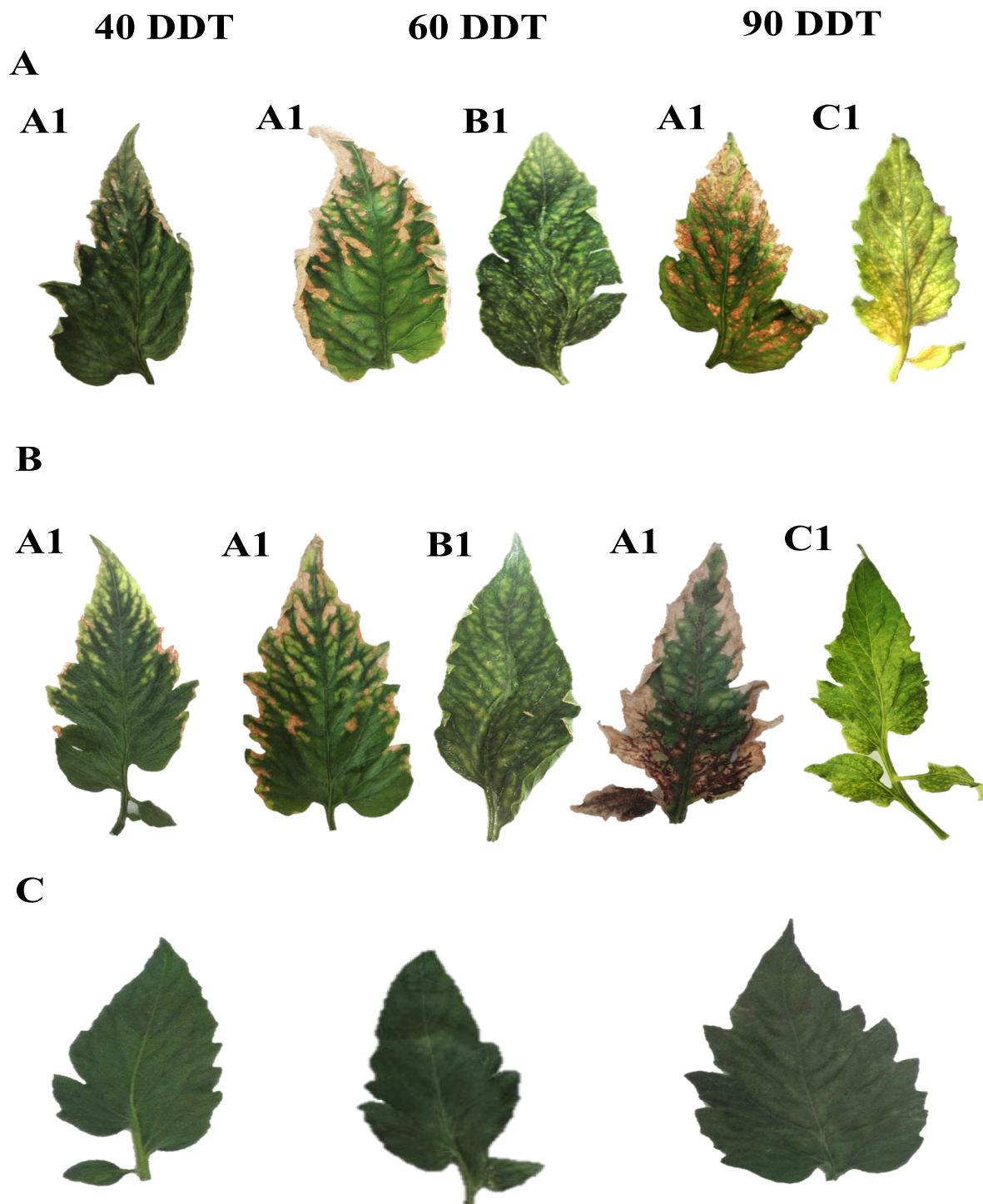


Figura 9. Comparación de síntomas por deficiencias nutricionales en las hojas del tomate. El testigo (A) y el tratamiento con complemento de solución mineralizada con *Bacillus sp.* (B) presentaron síntomas por deficiencia de potasio (A1), magnesio (B1) y hierro (C1). El tratamiento con complemento de solución hidropónica (C) no presentó síntomas.



Figura 10. Comparación de síntomas por deficiencias nutricionales en fruto de tomate. El testigo (A) y el tratamiento con complemento de solución mineralizada con *Bacillus sp.* (B) presentaron síntomas por deficiencia de potasio, desarrollando la fisiopatía conocida como “Jaspeado del tomate”. El tratamiento con complemento de solución hidropónica (C) no presentó síntomas.

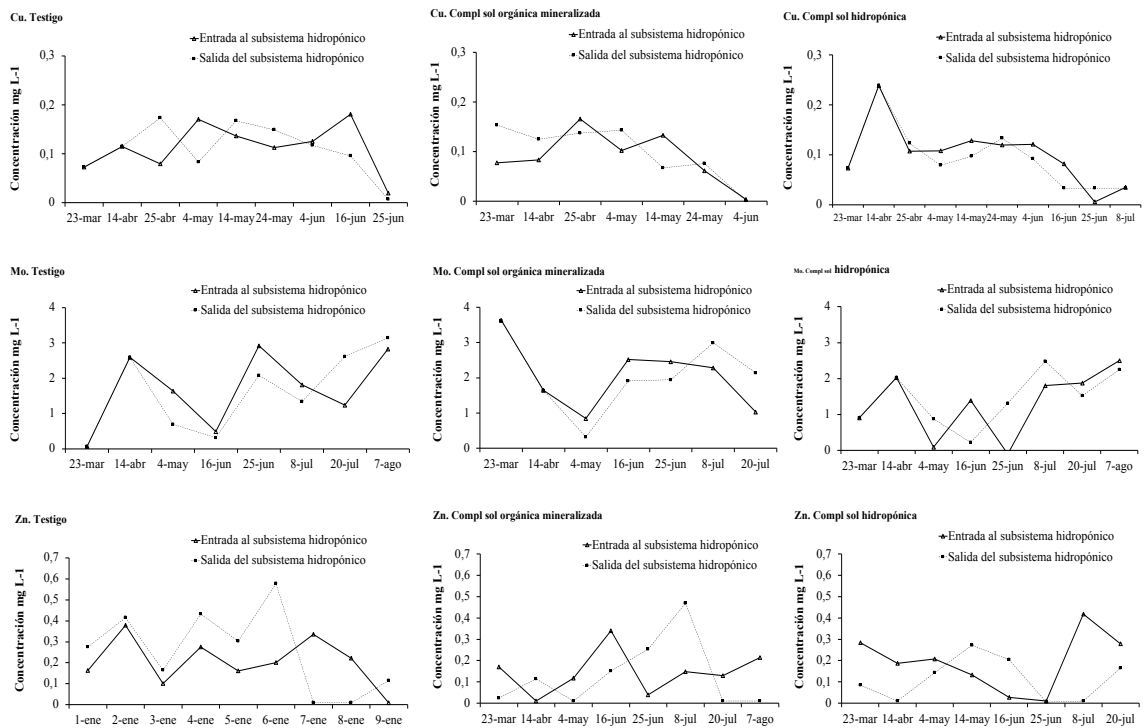


Figura 11. Concentración Cu y Mo a la entrada y salida del subsistema hidropónico durante el ciclo de cultivo de tomate. Los datos representan el promedio.

Adicionalmente, la **tabla 8** muestra las concentraciones de macro y micronutrientes en la solución mineralizada en el biorreactor, analizadas cada 10 días, durante el ciclo de cultivo; es importante señalar que cada análisis corresponde a diferentes soluciones

generadas durante el proceso de mineralización. Estos resultados mostraron un aporte mayor de macronutrientes, principalmente en P (12 a 81 mg L⁻¹), Ca (52 a 87 mg L⁻¹), y S (18 a 55 mg L⁻¹); mientras que el aporte de micronutrientes fue muy bajo, y la mayoría de los datos no fueron detectados; el Mg estuvo siempre menor a 10 mg L⁻¹ y el aporte de K fluctuó, donde algunas aplicaciones presentaron concentraciones de 17 a 25 mg L⁻¹ y otras fueron menores con concentraciones de 3 a 6.9 mg L⁻¹, siendo todavía concentraciones muy bajas. Estos resultados explican el efecto nulo que se presentó en el incremento de nutrientes en el agua del sistema, sin presentar diferencias frente al testigo, incluso con los niveles críticos y con la presencia de síntomas en la planta por deficiencias nutricionales de Fe, K y Mg. Una posible explicación a los bajos niveles de micronutrientes y Mg puede deberse a que los microorganismos presentes en el biorreactor utilizaron estos nutrientes como fuente de energía para llevar a cabo todos los procesos metabólicos Madigan *et al.*, 2010).

Tabla 3. Concentraciones de macro y micronutrientes en las soluciones mineralizadas con *Bacillus sp.* en los biorreactores.

Fecha	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Cu	Mn	Mo
mg L ⁻¹										
25-abr	34.7	17.7	78.6	7.6	32.6	0.01	ND	ND	0.05	3.24
4-may	15.3	24.7	57.6	8.9	46.7	ND	0.4	0.16	ND	0.31
14-may	27.7	17.3	74.8	8.2	27.1	ND	ND	0.16	0.02	ND
24-may	56.8	6.9	70.3	6.3	ND	ND	ND	0.19	0.03	0.43
4-jun	11.6	3.1	58.8	4.2	22.1	ND	ND	0.27	0.01	0.24
16-jun	42.6	2.7	52.5	3.8	31.3	ND	ND	ND	0.05	1.08
25-jun	54.0	5.9	74.0	7.6	54.9	0.01	0.5	ND	0.11	0.20
8-jul	80.7	6.8	76.4	8.2	33.2	0.01	ND	ND	0.14	0.75
20-jul	14.7	22.9	87.0	9.4	18.3	ND	ND	0.31	0.10	2.07
7-ago	21.0	6.9	76.3	9.8	45.0	ND	1.2	0.01	0.02	2.06

ND significa valores no detectados. Limite de detección: Fe < 0.01, Zn < 0.01, Cu < 0.05, Mn < 0.01 y Mo < 0.01

Las muestras fueron tomadas cada diez días del experimento a partir de los 10 DDT (25 Abril).

Con respecto a los bajos niveles de potasio, pudo ser debido a que las condiciones aeróbicas presentes en el biorreactor no fueron las adecuadas, ya que el estudio realizado

en el capítulo I del presente trabajo demostró un incremento significativo de este elemento en condiciones anaeróbicas. También, posiblemente la población microbiana pudo utilizar este elemento para sus procesos metabólicos, ya que se reporta que este elemento es necesario para la activación de algunas enzimas, y en las bacterias Gram-positivas su concentración en la célula está influenciada por el contenido de ácidos teicoicos de la pared celular (Madigan *et al.*, 2010).

Por otra parte, se observó que este aporte nutricional no afectó la dinámica de los macronutrientes en el sistema, ya que su concentración a la entrada y salida del subsistema hidropónico fue similar al testigo, a excepción del P; y la conductividad eléctrica de cada solución se mantuvo de 900 a 1200 $\mu\text{S cm}^{-1}$, lo cual, fue significativamente menor al aportado en la solución hidropónica, donde presentaron mayor concentración nutrimental y conductividades finales de 2 a 2.1 mS cm^{-1} (**Figura 8, 10 y 13**). El manejo que se implementó en el sistema, donde se adicionó diariamente un volumen de 5 L de solución nutrimental, pudo ser el principal causante de no ver un efecto positivo en los sistemas con complemento de solución mineralizada, ya que implementar un biorreactor desacoplado al sistema; la inyección de solo una dosis al día, y esto sumado con el poco tiempo del pasó de la solución del inyector al subsistema hidropónico, que era aproximadamente de 2 a 3 horas cada día, fueron posiblemente las razones que afectaron la disponibilidad nutrimental en este sistema.

Además, otro factor o error de manejo que pudo influir significativamente fue las condiciones no controladas de temperatura que se mantuvieron en el biorreactor, ya que se presentaron temperaturas mínimas de 7°C y máximas de 43°C. Esta fluctuación de temperatura pudo afectar la actividad de *Bacillus* sp. y la actividad de los demás microorganismos presentes en los sólidos, generando una menor mineralización, en comparación a lo obtenido en la prueba *In vitro*, con condiciones controladas (Capítulo I)

Por tal razón, se considera que aún faltan más estudios aplicados en la evaluación de biorreactores acoplados al sistema acuapónico de recirculación cerrada, en condiciones anaeróbicas y aeróbicas, con temperatura controlada y con la inoculación de *Bacillus* sp.

y otros microorganismos que ayuden a la optimización en la mineralización de los residuos sólidos generados, con el fin de determinar si el biorreactor acoplado al sistema permite la liberación constante de nutrientes al agua que pueda afectar la dinámica de nutrientes y por ende favorecer positivamente al crecimiento y desarrollo de hortalizas cultivadas de alta exigencia nutricional. Así mismo, falta realizar otro tipo de estudio, donde se acople o fusione el aporte nutricional de soluciones mineralizadas e hidropónicas, y así implementar menos fertilizantes, en comparación a un sistema sin biorreactor o a un sistema con solo complemento de solución hidropónica.

Concentración nutrimental de las hojas en tomate cultivado en un sistema acuapónico.

A los 15 DDT, en períodos de floración, se analizó la concentración nutrimental en las hojas de tomate, en el cual, se encontró que las concentraciones de macronutrientes fueron menores a lo reportado por Castellanos (2009); mientras que las concentraciones de micronutrientes, a excepción del Cu, se presentaron dentro del rango o los niveles de referencia postulados por el mismo autor (**Tabla 9**), siendo similar entre los tratamientos, incluso el T3 con complemento de solución hidropónica. Un factor que pudo influir en la similitud de las concentraciones entre los tratamientos pudo ser la fecha de recolección, ya que a los 15 DDT las condiciones nutricionales en los sistemas eran similar, debido a que el aporte nutrimental en el T3 se inicio a los 12 DDT, lo que coincide con la fecha de incremento de la conductividad eléctrica en el sistema (**Figura 8**).

Tabla 4. Concentración de macro y micronutrientes en tejido vegetal en tomate cultivado en sistemas acuapónicos a los 15 días después de trasplante.

	K %	Ca %	P %	Mg %	S %	Fe mg L ⁻¹	Zn mg L ⁻¹	Cu mg L ⁻¹	Mn mg L ⁻¹	Mo mg L ⁻¹
Testigo (T1)	2.2±0.5	1.4±0.07	0.1±0.01	0.3±0.01	0.1±0.02	59.3±7.5	87.6±3.6	3.9±1.0	141.5±0.4	42.0±32.7
CSOM (T2)	1.3±0.3	1.1±0.06	0.07±0.02	0.2±0.05	0.08±0.03	25.9±5.4	38.0±0.5	ND	85.5±19.7	93.8±30.3
CSH (T3)	2.1±0.6	0.8±0.2	0.09±0.01	0.2±0.02	0.08±0.01	41.0±8.8	24.9±0.5	2.5±1.0	45.9±18.6	35.5±43.9
Niveles de referencia	3.5 - 5.0	2.0 - 3.0	0.5 - 0.8	0.5 - 0.7	0.5 - 0.9	80 - 150	20 - 50	5 - 15.	60 - 200	-

Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con *Bacillus* (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3).

Los datos representan el promedio ± desviación estándar.

ND significa valores no detectados. Limite de detección: Fe < 0.01, Zn < 0.01, Cu < 0.05, Mn < 0.01 y Mo < 0.01.

*Niveles de referencia reportado por Castellanos (2009)

Producción y crecimiento de tilapia (*O. niloticus*).

El peso (P), longitud total (LT) y estándar (LS) de los peces incrementó en el tiempo, sin presentar diferencias significativas entre los tratamientos (**Figura 14**). A los 136 días de cultivo los peces alcanzaron un peso promedio de 335 ± 46.5; 323 ± 46.5; 334 ± 28 g y una longitud total de 26 cm en el tratamiento 1, 2 y 3 respectivamente. Así mismo el desempeño productivo fue similar entre los tratamientos, sin presentar diferencias significativas en cada una de las variables evaluadas (**Tabla 10**).

La ganancia de peso entre los tratamientos: 301 g (T1); 297 g (T2); 289 g (T3) y el incremento de peso diario g día⁻¹: 2.9(T1); 2.5(T2); y 2.4(T3) fueron similares a lo obtenido por Effendi *et al.* (2017) en sistemas acuapónicos y por Mesa (2017) en sistemas cerrados de recirculación, los cuales trabajaron con tilapia niloticus, bajo la misma densidad de siembra (40 peces m⁻³). El factor de conversión alimenticia es una de las variables más importantes de rendimiento, ya que nos indica cuantos kg de alimento se requiere para incrementar 1 kg de pez. (Vásquez, 2004). Los resultados obtenidos presentaron valores de 0.7, 0.7 y 0.8 Kg Kg⁻¹, siendo menores a lo reportado en los estudios nombrados anteriormente, lo que indica que en el presente trabajo los

rendimientos fueron mejores, pues se utilizó menos alimento para incrementar 1 kg de biomasa (**Tabla 10**).

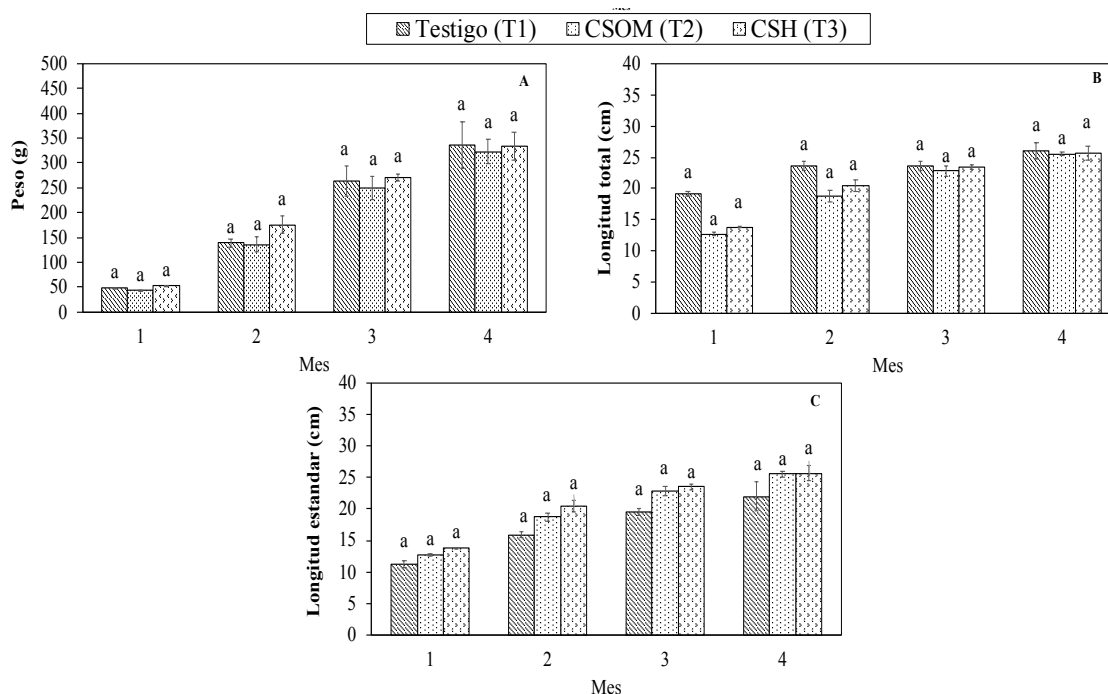


Figura 12. Crecimiento de tilapia en sistemas acuapónicos. **A.** Peso promedio del pez; **B.** Longitud total y **C.** Longitud estándar del pez. Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con *Bacillus* (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3). Los datos representan el promedio \pm desviación estándar. Letras iguales significan no diferencias significativas entre los tratamientos.

El factor de condición de Fulton (K) es un indicador que relaciona la longitud del pez con respecto al peso, proporcionando información indirecta del crecimiento, madurez, estado nutricional y reproducción de la especie cultivada (Cifuentes et al. 2012). Los datos obtenidos en esta variable se encontraron dentro de los rangos reportados como condiciones favorables que indican buen estado nutricional para *O. niloticus* (Ighwela et al., 2011; Getso et al., 2018)

Tabla 5. Rendimiento en tilapia cultivada en sistemas acuapónicos con diferentes complementos nutricionales para el crecimiento del tomate.

	Testigo (T1)	CSOM (T2)	CSH (T3)
Peso promedio inicial g pez⁻¹	48.3 ^a	43.2 ^a	53.2 ^a
Densidad de siembra (No de peces m⁻³)	40 ^a	40 ^a	40 ^a
Densidad inicial de peces (Kg m⁻³)	1.9 ^a	1.7 ^a	2.1 ^a
Ganancia total de peso (g)	301 ^a	297 ^a	289 ^a
Ganancia de peso diario (g día⁻¹)	2.91 ^a	2.5 ^a	2.4 ^a
Factor de conversión alimenticia (Kg Kg⁻¹)	0.7 ^a	0.7 ^a	0.8 ^a
Factor de condición de Fulton (K)	1.98 ^a	1.96 ^a	2.02 ^a
Rendimiento de tilapia Kg m⁻³	11.3 ^a	11.3 ^a	11.2 ^a
Sobrevivencia	93 ^a	95 ^a	97 ^a

Testigo (T1); CSOM: complemento de solución orgánica mineralizada con Bacillus (T2) y CSH: complemento de solución hidropónica (T3).

Letras iguales indican no diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamiento, los datos en cada fila.

Por otro lado, el buen estado fisiológico de los peces se puede corroborar con los resultados de calidad de agua y parámetros hematológicos (**Figura 15 y Tabla 11**). La temperatura mínima (18 ± 1.5 °C) y máxima (29 ± 1.9 °C) del agua; las concentraciones de NAT (0.3 a 0.8 mg L⁻¹); amonio no ionizado (0.001 a 0.060 mg L⁻¹ NH₃-N); nitrito (0.5 a 0.8 NO₂-N); y oxígeno disuelto (3.6 a 5.7 mg L⁻¹), permanecieron dentro de los rangos óptimos y tolerables para el crecimiento de la tilapia niloticus (CENDEPESCA, 2008; Gullian & Arámburu, 2013). Los valores de OD demostraron una disminución en su concentración durante los últimos meses de cultivo, lo cual se atribuye a la acumulación de los sólidos en el sistema, ya que se ha demostrado que disminuye el oxígeno disponible a causa de la descomposición de la materia orgánica; también la reproducción de los peces que ocasionó el incremento en la densidad poblacional y por ende el consumo de oxígeno pudo atribuir a la disminución en la concentración de esta variable (Tomála *et al.*, 2014).

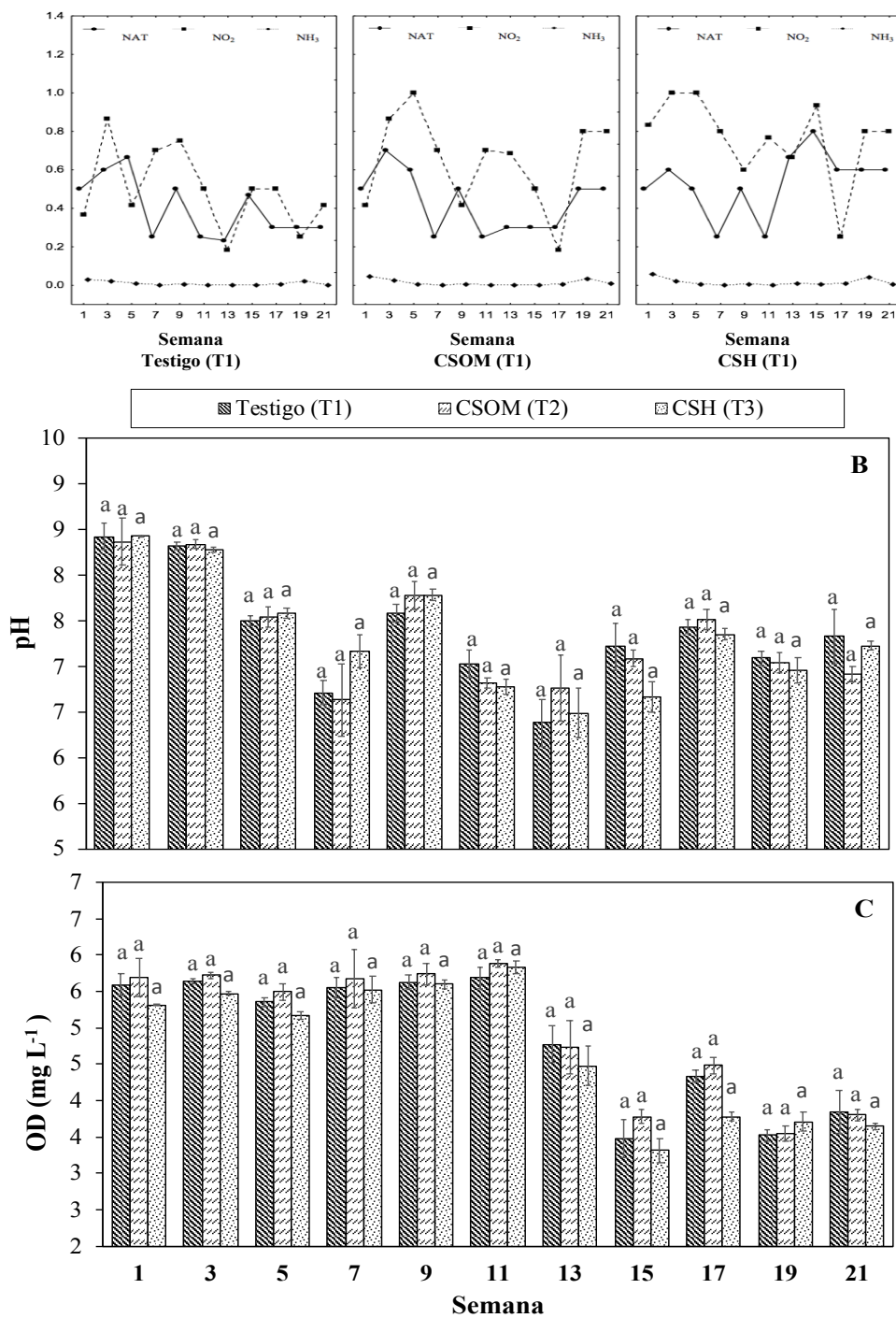


Figura 13. Concentraciones promedio de Nitrógeno amoniacal total (NAT), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) (A); pH (B); y Oxígeno disuelto (OD) (C) en el agua durante la producción tilapia-tomate en sistemas acuapónicos. Testigo (T1), Complemento solución orgánica mineralizada (T2), Complemento solución hidropónica (T3). Los datos representan promedio \pm desviación estándar. Letras iguales significa no diferencias significativas entre tratamientos.

Los valores obtenidos en hematocritos y proteína plasmática total no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (**Tabla 11**), y se encontraron dentro de los rangos reportados por otros estudios como concentraciones saludables para tilapia (Rodrigues *et al.*, 2003; Bailone *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2012; Serani *et al.*, 2012; Hahn-Von *et al.*, 2014). Estos estudios reportan que concentraciones menores a 45% de hematocrito causa una policitemia acompañado con la presencia de altos valores de hemoglobina; concentraciones menores a 20% causa estados anémicos en peces y concentraciones de proteína total menor de 2 g dL⁻¹ indica alteraciones en el contenido plasmático, los cuales son afectadas por condiciones de estrés a causa de concentraciones tóxicas en el agua, temperaturas no tolerables para el crecimiento de la especie, presencia de patógenos y bajas concentraciones de oxígeno disuelto (Karasu & Yavuzcan, 2004; Hahn-Von *et al.*, 2011; Alaye & Morales, 2013).

Tabla 6. Parámetros hematológicos en tilapia cultivada en sistemas acuapónicos.).

Tratamiento	Hematocrito (%)	Proteína total plasmática (g dL⁻¹)
Testigo (T1)	32.2 ±2.4 ^a	4.5 ±0.5 ^a
CSOM (T2)	29.9 ±3.0 ^a	4.2 ±0.4 ^a
CSH (T3)	29.8 ±2.3 ^a	3.9 ±0.3 ^a

Testigo (T1), Complemento solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. (T2), Complemento solución hidropónica (T3).
Letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos, letras de la misma columna.

Eficiencia del agua y uso equivalente de terreno en sistemas acuapónicos

La eficiencia del agua es un indicador importante en el sector agrícola y en el área de recursos hídricos que se debe considerar para garantizar la producción alimentaria y contribuir a disminuir la huella hídrica a nivel mundial. La Figura 16 muestra la cantidad total de agua utilizada durante los 5 meses de producción, el cual se repuso semanalmente del 2 al 5% de agua a causa de pérdidas por evaporación, evapotranspiración, fugas y recambios por altas concentraciones de NO₂⁻ (**Figura 15**). Esta reposición de agua estuvo entre el rango considerado en acuaponía (<10%) (Rakocy, 2006).

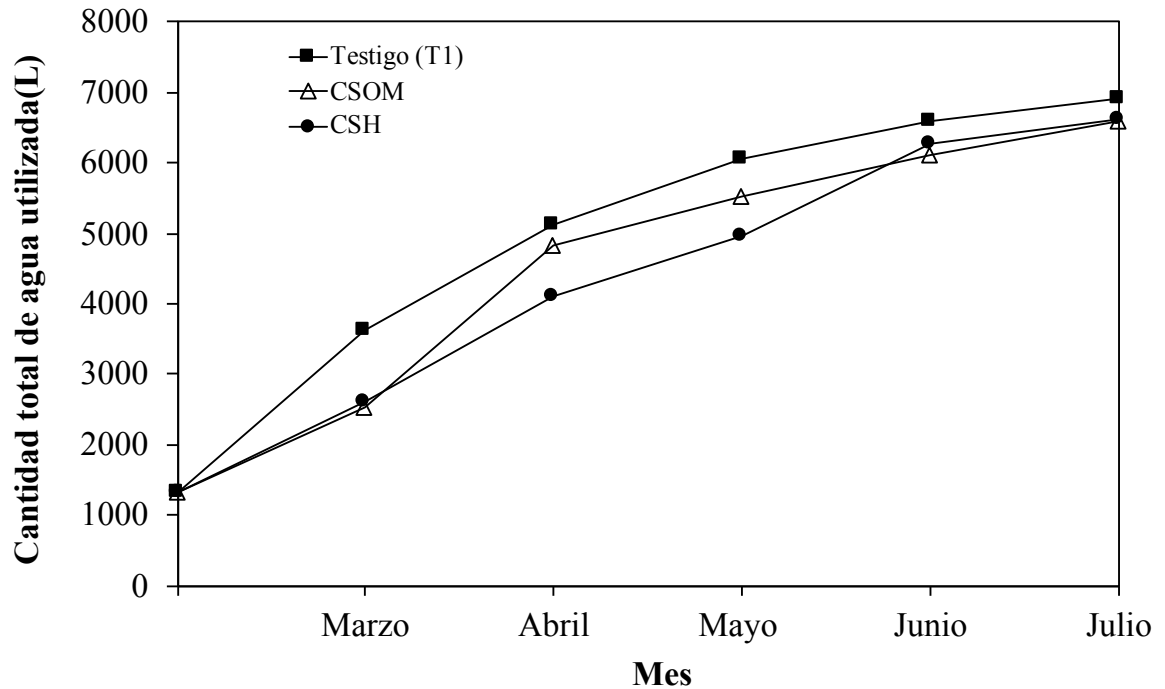


Figura 14. Cantidad total de agua utilizada durante 5 meses de producción de tilapia-tomate en sistemas acuapónicos. Testigo (T1), Complemento solución orgánica mineralizada (T2), Complemento solución hidropónica (T3).

La **tabla 12** y **13** muestra los Kg de tomate y tilapia producidos por m^3 de agua utilizada en sistemas acuapónicos de recirculación cerrada y la comparación con otros sistemas de producción. A la fecha no hay registros de eficiencia de agua en cultivos acuapónicos de tomate, variedad indeterminada, bajo invernadero. Sin embargo, estos resultados muestran la acuaponía como una alternativa viable para incrementar la producción de alimento con uso eficiente del agua, ya que la producción promedio que se obtuvo por m^3 de agua utilizada fue mayor a lo reportado en cultivos convencionales, donde reportan $3.3 \text{ Kg } m^{-3}$ - $5.4 \text{ Kg } m^{-3}$

(Salazar *et al.*, 2014; Taipe *et al.*, 2018); y fue similar a lo reportado en sistemas bajo invernadero con riego por goteo con $16.7 \text{ Kg } m^{-3}$ (**Tabla 13**) (Saha *et al.*, 2008; Salazar *et al.*, 2014).

Tabla 7. Uso eficiente de agua en la producción de tilapia – tomate en sistemas acuapónicos.

	Testigo (T1)	CSOM (T2)	CSH (T3)
Gasto agua total (L)	6913	6913	6627
UEA en tomate fresco (Kg m ⁻³)*	10.2	13.6	17.7
UEA en tilapia (Kg m ⁻³)*	1.6	1.6	1.7
UEA en biomasa total del sistema acuapónico (Kg m ⁻³)*	11.8	15.3	19.4

*Producción de Kg fresco de tomate y tilapia por 1m³ ó 1000 L de agua usada. Testigo (T1), Complemento solución orgánica mineralizada (T2), Complemento solución hidropónica (T3).

También, son pocos los reportes sobre la eficiencia del agua en sistemas acuícolas; un estudio realizado por Pérez Rincón *et al.*, (2017) reporta una producción de tilapia de 0.5 Kg m⁻³ en cultivos tradicionales, lo cual es tres veces inferior a lo producido en sistemas acuapónicos (1.6 y 1.7 Kg m⁻³).

El uso eficiente del agua en acuaponía se puede optimizar evitando recambios de agua durante el proceso de maduración o establecimiento de las bacterias nitrificadoras en el sistema. Esto se puede llevar a cabo a través del proceso de maduración química, antes de introducir los peces al sistema. También, se puede alcanzar una alta eficiencia a través de sistemas más tecnificados con el control óptimo de parámetros de calidad del agua y con el control de condiciones ambientales como temperatura y humedad relativa

Tabla 8. Comparación de uso eficiente de agua en diferentes métodos de producción o sistemas de cultivos

Sistema de producción	UEA (Kg m ⁻³)	Refencia
SA con aporte sol mineralizada	15.3	-
SA con aporte de sol hidropónica	19.4	-
Sistema convencional	3.3 a 5.4	Salazar <i>et al.</i> , 2014 Taípe <i>et al.</i> , 2018
Sistema riego por goteo, bajo invernadero	16.7	Saha <i>et al.</i> , 2008

Por otra parte, la **tabla 14** muestra el uso equivalente del área de suelo, el cual es un parámetro que mide la eficiencia del rendimiento entre dos sistemas de producción. Los resultados obtenidos nos indica que para la población de productores de peces es más eficiente integrar el subsistema hidropónico para la producción en acuaponía, que para la población de productores de hidroponía integrar el subsistema de recirculación cerrada, debido a que los acuicultores alcanzarían altos rendimientos en producción de alimento, así como, alta ganancia total del producto en pesos (\$). No obstante, este valor es relativo, ya que se considera que para la población dedicada a hidroponía no sería rentable implementar acuaponía si instalarán el subsistema de peces, dentro del área destinada para las plantas o si manejarán una baja densidad de peces por m^3 . En otras palabras, instalar el subsistema de peces fuera del invernadero o en un área que no es contemplada para la producción de plantas; así como, incrementar la producción por m^3 , en el cual manejen densidades de un sistema intensivo (40 Kg m^{-3}) o super-intensivo ($>40 \text{ Kg m}^{-3}$) puede incrementar el rendimiento del sistema, logrando obtener valores de UET mayores o iguales a 1. También este valor es relativo, ya que faltan realizar estudios donde se evalúen otros tipos de indicadores de uso eficiente de suelo y energía, contemplando el gasto que implica considerar mantener producciones super-intensivas de peces.

Tabla 9. Estimación del uso equivalente del área de suelo (UES) y costo total de la biomasa producida en acuaponía y en monocultivo de peces y tomate.

	Biomasa total (Kg)			Valor de la Biomasa producida (\$ Kg ⁻¹)			Costo total producto (\$)			UES		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Monocultivo de tilapia en SCR*	22,6	22,6	22,4	30	30	30	678	678	672	4,23	4,67	5,74
Monocultivo de tomate en hidroponía*	168,6	188,6	234,8	7	7	7	1180,2	1320,2	1643,6	0,57	0,56	0,55
Sistema acuaponico tilapia-tomate	11,3 84,3	11,3 94,3	11,2 117,4	30	7	7	929,1	999,1	1157,8			

*El monocultivo de tilapia y tomate se considera como la producción estimada del área total del sistema acuaponico (20 m²). Valores < 1 en UET significa que el rendimiento del sistema acuaponico no produjo más que el subsistema de peces o hidropónico. Valores > 1 significa que el sistema acuaponico es más productivo que el subsistema de peces o hidropónico.

CONCLUSIONES

Los complementos nutricionales (solución orgánica con *Bacillus* sp. y solución hidropónica) en el sistema acuapónico son necesarios para incrementar el crecimiento y rendimiento en tomate indeterminado en un periodo de cultivo de 103 días (siete cortes), sin haber diferencias significativas entre ambos.

La calidad comercial y nutracéutica fue similar entre los tres tratamientos. A excepción de los sólidos solubles, la solución hidropónica generó más grados Brix en los frutos, lo que se relaciona con una mayor conductividad eléctrica comparado con los otros tratamientos.

La dinámica de P en el sistema con solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. fue diferente al tratamiento testigo, induciendo una mayor liberación de este elemento, y la dinámica de los demás nutrientes (K, Ca, S, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn y Mo), permanecieron iguales, donde hojas y frutos manifestaron sintomatología de deficiencias de Fe, K y Mg.

La dinámica de nutrientes en el tratamiento con aporte nutricional de solución hidropónica fue diferente, presentando mayor concentración de nutrientes y conductividad eléctrica, sin provocar síntomas de deficiencias nutricionales.

El crecimiento y las variables hematológicas, que indican la salud de los peces, no fue afectado por los complementos nutricionales.

Los complementos nutricionales (solución orgánica mineralizada con *Bacillus* sp. y solución hidropónica) hicieron más eficiente el uso del agua por efecto del incremento en la producción.

LITERATURA CITADA

- Adams, S. 2001. "Effect of Temperature on the Growth and Development of Tomato Fruits." *Annals of Botany* 88 (5): 869–77. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1524>.
- Agrawal, D Pavan Kumar, and Shruti Agrawal. 2013. "Characterization of Bacillus Sp. Strains Isolated from Rhizosphere of Tomato Plants (*Lycopersicon Esculentum*) for Their Use as Potential Plant Growth Promoting Rhizobacteria," 12.
- Alaye, N., Morales, J. 2013. Parámetros hematológicos y células sanguíneas de organismos juveniles del pescado blanco (*Chirostoma estor estor*) cultivados en Pátzcuaro, Michoacán, México. *Hidrobiológica*, 23 (3): 340-347.
- Arellano-Gil & Gutiérrez-Coronado, M. 2006. Rendimiento y calidad poscosecha de tomate bajo diferentes esquemas de fertilización al suelo. *Revista Chapingo horticultura*. No, 1. 113-118 p.
- Bailone, R.L., Martins, M.L., Mouriño, J.L.P., Vieira., Silva, B.C., 2010.- hematology and agglutination titer after polyvalent immunization and subsequent challenge with *Aeromonas hydrophilum* Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Arch. Med. Vet. Valdivia*, 42 (3): 221-227.
- Bénard, Camille, Hélène Gautier, Frédéric Bourgaud, Dominique Grasselly, Brigitte Navez, Catherine Caris-Veyrat, Marie Weiss, and Michel Génard. 2009. "Effects of Low Nitrogen Supply on Tomato (*Solanum Lycopersicum*) Fruit Yield and Quality with Special Emphasis on Sugars, Acids, Ascorbate, Carotenoids, and Phenolic Compounds." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (10): 4112–23. <https://doi.org/10.1021/jf8036374>.
- Barbagallo, Riccardo N, Isabella Di Silvestro, and Cristina Patanè. 2013. "Yield, Physicochemical Traits, Antioxidant Pattern, Polyphenol Oxidase Activity and Total Visual Quality of Field-Grown Processing Tomato Cv. Brigade as Affected by Water Stress in Mediterranean Climate: Effect of Water Stress on Field-Grown Processing Tomato Cv. Brigade." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93 (6): 1449–57. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5913>.
- Cabra Cendales, Teresa, Cristian Alonso Rodríguez González, Claudia Patricia Villota Cuásquer, Omar Alberto Tapasco Alzate, and Annia Hernández Rodríguez. 2017. "Bacillus Effect on the Germination and Growth of Tomato Seedlings (*Solanum Lycopersicum* L)." *Acta Biológica Colombiana* 22 (1): 37. <https://doi.org/10.15446/abc.v22n1.57375>.
- Cabra Cendales, Teresa, Cristian Alonso Rodríguez González, Claudia Patricia Villota Cuásquer, Omar Alberto Tapasco Alzate, and Annia Hernández Rodríguez. 2017. "Bacillus Effect on the Germination and Growth of Tomato Seedlings (*Solanum*

- Lycopersicum L).” *Acta Biológica Colombiana* 22 (1): 37. <https://doi.org/10.15446/abc.v22n1.57375>.
- Castellanos, J. 2009. Manual de producción de tomate en invernadero. Intagri, S.C. Primera edición. 456 p.
- CENDEPESCA. 2008. Manual sobre “reproducción y cultivo de tilapia”. El salvador, Centroamérica. 68 pp.
- Cerozi, Brunno da Silva, and Kevin Fitzsimmons. 2016. “Use of Bacillus Spp. to Enhance Phosphorus Availability and Serve as a Plant Growth Promoter in Aquaponics Systems.” *Scientia Horticulturae* 211: 277–82. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.09.005>.
- Cifuentes, Roberto, Jorge González, Germán Montoya, Alfonso Jara, Néstor Ortíz, Priscila Piedra, and Evelyn Habit. 2012. “Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (cuenca del río Valdivia, Chile).” *Gayana (Concepción)* 76: 86–100. <https://doi.org/10.4067/S0717-65382012000100009>.
- Cocaliadis, Maria Florencia, Rafael Fernández-Muñoz, Clara Pons, Diego Orzaez, and Antonio Granell. 2013. “Increasing Tomato Fruit Quality by Enhancing Fruit Chloroplast Function. A Double-Edged Sword?” *Journal of Experimental Botany* 65 (16): 4589–98. <https://doi.org/10.1093/jxb/erul65>.
- Delaide, Boris. 2017. “A Study on the Mineral Elements Available in Aquaponics, Their Impact on Lettuce Productivity and the Potential Improvement of Their Availability.,” 101.
- Dumas, Yvon, Mario Dadomo, Giuseppe Di Lucca, and Pascal Grolier. 2003. “Effects of Environmental Factors and Agricultural Techniques on Antioxidant content of Tomatoes.” *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83 (5): 369–82. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1370>.
- Edwards, P. 2015. Aquaculture environment interactions: past, present and likely future trends. *Aquaculture* 447: 2-14.
- Effendi, Hefni, Sri Wahyuningsih, and Yusli Wardiatno. 2017. “The Use of Nile Tilapia (Oreochromis Niloticus) Cultivation Wastewater for the Production of Romaine Lettuce (Lactuca Sativa L. Var. Longifolia) in Water Recirculation System.” *Applied Water Science* 7 (6): 3055–63. <https://doi.org/10.1007/s13201-016-0418-Z>.
- Endut, Azizah, A. Jusoh, N. Ali, W.B. Wan Nik, and A. Hassan. 2010. “A Study on the Optimal Hydraulic Loading Rate and Plant Ratios in Recirculation Aquaponic System.” *Bioresource Technology* 101 (5): 1511–17. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.040>.

- Enciso, A., Espinoza, J. 2010. Evaluación del uso equivalente de terreno y eficiencias de extracción de tres dosificaciones de nutrientes en un sistema de policultivo de maíz dulce, habichuela y pepino en Zamorano, Honduras. *Ciencia de producción agropecuaria*.
- Ferreira, Magna Maria M, Gilvan B Ferreira, Paulo Cezar R Fontes, and José P Dantas. 2006. “Qualidade do tomate em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica em duas estações.” *Horticultura Brasileira* 24 (2): 141–45. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362006000200003>.
- Getso, B.U., J.M. Abdullahi, and I.A. Yola. 2018. “Length-Weight Relationship and Condition Factor of *Clarias Gariepinus* and *Oreochromis Niloticus* of Wudil River, Kano, Nigeria.” *Agro-Science* 16 (1): 1. <https://doi.org/10.4314/as.v16i1.1>.
- Goddek, Simon, Boris Delaide, Utra Mankasingh, Kristin Ragnarsdottir, Haïssam Jijakli, and Ragnheidur Thorarinsdottir. 2015. “Challenges of Sustainable and Commercial Aquaponics.” *Sustainability* 7 (4): 4199–4224. <https://doi.org/10.3390/su7044199>.
- Goddek, Simon, Boris P.L. Delaide, Alyssa Joyce, Sven Wuertz, M. Haïssam Jijakli, Amit Gross, Ep H. Eding, et al. 2018. “Nutrient Mineralization and Organic Matter Reduction Performance of RAS-Based Sludge in Sequential UASB-EGSB Reactors.” *Aquacultural Engineering* 83 (November): 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2018.07.003>.
- Gullian-Klanian, M., Arámburu-Adame, C. 2013. Performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings in a hyper-intensive recirculating aquaculture system with low water exchange. *Aquaculture research*, 41(1): 1-50. 162.
- Hahn-von-hessberg, C., grajales-quintero, A. & Gutiérrez, A.V., 2011.- Parámetros hematológicos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linneaus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas, Vet. Zootec., 5(1): 47-61.
- Hahn-von-Hessberg, C., Quiroz-Buchelr, A., Grajales-Quintero, A. 2014. Caracteres hematológicos en individuos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, *Trewavas 1983*) con pesos entre 50 – 150 g y 150 – 250 g, estación piscícola, universidad de Caldas, Colombia. *Bol, cient, mus, hist, nat.* 18(1), ISSN 0123 – 3068. 142-157.
- Ighwela, Keri Alhadi, Aziz Bin Ahmed, and A B Abol-Munafi. 2011. “Condition Factor as an Indicator of Growth and Feeding Intensity of Nile Tilapia Fingerlings (*Oreochromis Niloticus*) Feed on Different Levels of Maltose.” *Environmental Science.*, 5.
- Jiang, Chengyao, Masahumi Johkan, Masaaki Hohjo, Satoru Tsukagoshi, and Toru Maruo. n.d. “A Correlation Analysis on Chlorophyll Content and SPAD Value in Tomato Leaves,” no. 71: 7.

- Juárez, M., Cerdán, M., Sánchez, A. 2015. Hierro en el sistema suelo-planta. Dpto agroquímica y bioquímica. Facultad de ciencias. Universidad de Alicante. 32 pp.
- Karasu, C., Yavuzcan, H. 2004. Blood parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) spontaneously infected with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research*, 35, 1388-1390.
- Kempen, Estelle. 2015. "nutrient and water use of tomato (*Solanum lycopersicum*) in soilless production systems," 185.
- Kumar, v., makkar, h.p.s., devappa, r.k. & becker, k., 2011.- Isolation of phytate from *Jatropha curcas* kernel meal and effects of isolated phytate on growth, digestive physiology and metabolic changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Food and Chemical Toxicology*, 49: 2144-2156.
- Kloas, W, R Groß, D Baganz, J Graupner, H Monsees, U Schmidt, G Staaks, et al. 2015. "A New Concept for Aquaponic Systems to Improve Sustainability, Increase Productivity, and Reduce Environmental Impacts." *Aquaculture Environment Interactions* 7 (2): 179–92. <https://doi.org/10.3354/aei00146>.
- Licamele, J. 2009. Biomass production and nutrient Dynamics in an aquaponics system. The University of Arizona. Tesis. 173 pp.
- Luthria, Devanand L., Sudarsan Mukhopadhyay, and Donald T. Krizek. 2006. "Content of Total Phenolics and Phenolic Acids in Tomato (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) Fruits as Influenced by Cultivar and Solar UV Radiation." *Journal of Food Composition and Analysis* 19 (8): 771–77. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.04.005>.
- Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. 2010. *Biología de los microorganismos*. Pearson. Preactice Hall. 10ª Ed. 986 pp.
- Martínez, E., Fernández, S., Fuentes, I. 2015. Determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu. Departamento de tecnología de alimento. Universidad Politécnica de Valencia.
- Maruo, M., Takagaki, M., Shinohara, Y. 2004. Critical nutrient concentration for absorption of some vegetables. Faculty of horticulture. *Acta Horticulture* 644, ISHS.
- Mesa, Ana Constanza Torres. 2012. "Dinámica de nutrientes en sistemas cerrados de recirculación en el cultivo de *Piaractus brachipomus*, *Oreochromis* sp y *Cyprinus carpio*, para su aplicación en la acuaponía," 27.
- Nelson, R. 2008. *Aquaponic food production: growing fish and vegetables for food and profit*. USA, 217 p.

- Nozzi, V., Graber, A., Schmautz, Z., Mathis, A., Junge, R. 2018. Nutrient management in aquaponics: Comparison of three approaches for cultivating lettuce, mint and mushroom herb. *Agronomy*, 8, 27.
- Ortega Martínez, Luis Daniel, Carmen Martínez Valenzuela, Juventino Ocampo Mendoza, Engelberto Sandoval Castro, and Beatriz Pérez Armendáriz. 2017. “Eficiencia de Sustratos En El Sistema Hidropónico y de Suelo Para La Producción de Tomate En Invernadero.” *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (3): 643. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i3.324>.
- OCDE, 2014. Régimen de la ocde para la aplicación de normas internacionales relacionadas con frutas y hortalizas. Guía de pruebas objetivas para determinar la madurez de la fruta. 20 pp.
- Pérez Rincón, Mario A, Isabel C. Hurtado, Sergio Restrepo, Sara P. Bonilla, Héctor Calderón, and Andrés Ramírez. 2017. “Metodología Para La Medición de La Huella Hídrica En La Producción de Tilapia, Cachama y Trucha: Estudios de Caso Para El Valle Del Cauca (Colombia).” *Ingeniería y competitividad* 19 (2). <https://doi.org/10.25100/iyc.v19i2.5298>.
- Porto, John Silva, Tiyoko Nair Hojo Rebouças, Maria Olimpia Batista Moraes, Marinês Pereira Bomfim, Odair Lacerda Lemos, and José Magno Queiroz Luz. 2016. Quality and antioxidant activity of tomato cultivated under different sources and doses of nitrogen.” *Revista Caatinga* 29 (4): 780–88. <https://doi.org/10.1590/1983-21252016v29n401rc>.
- Rafiee, Gholamreza, and Che Roos Saad. 2005. “Nutrient Cycle and Sludge Production during Different Stages of Red Tilapia (*Oreochromis* Sp.) Growth in a Recirculating Aquaculture System.” *Aquaculture* 244 (1–4): 109–18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.10.029>.
- Rakocy, James E, Donald S Bailey, R Charlie Shultz, and Eric S Thoman. n.d. “Update on tilapia and vegetable production in the uvi aquaponic system,” 15.
- Rakocy, JE., Bailey, DS., Shultz, RC. Danaher, J. 2007. Preliminary evaluation of organic waste from two aquaculture systems as a source of inorganic nutrients for hydroponics. *Acta Hort.* 742, 201-207.
- Rivas, M B Pérez, M Albarracín, and H Moratinos. 2012. “Nota técnica: Rendimiento y calidad de fruto en cuatro cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) bajo condiciones protegidas.” *Rev. Fac. Agron.*, 18.
- Rivero, Rosa M, Juan M Ruiz, Pablo C García, Luis R López-Lefebvre, Esteban Sánchez, and Luis Romero. 2001. “Resistance to Cold and Heat Stress: Accumulation of Phenolic Compounds in Tomato and Watermelon Plants.” *Plant Science* 160 (2): 315–21. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00395-2](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00395-2).

- Rodrigues, N., Molinari, L., Oliveira, D., Bocchi, R., Vataru, C., Ueda, T., Alves, B., Prado, B. 2003. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Scientiarum Biological Sciences*. Maringá, v.25, no 2, p. 385-389.
- Rodríguez, R., Lara, A., Lozano, J., Padilla, L., Avelar, J., Castañeda, R. 2016. Rendimiento y calidad de tomate en sistemas hidropónicos abierto y cerrado. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Mo 17, 3436-3452 p.
- Roosta, Hamid R., and Mohsen Hamidpour. 2011. "Effects of Foliar Application of Some Macro- and Micro-Nutrients on Tomato Plants in Aquaponic and Hydroponic Systems." *Scientia Horticulturae* 129 (3): 396–402. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.04.006>.
- Roosta, Hamid R., and Mohsen Hamidpour. 2013. "Mineral nutrient content of tomato plants in aquaponic and hydroponic systems: effect of foliar application of some macro- and micro-nutrients." *Journal of Plant Nutrition* 36 (13): 2070–83. <https://doi.org/10.1080/01904167.2013.821707>.
- Saha, Uttam K, Athanasios P Papadopoulos, Xiuming Hao, and Shalin Khosla. 2008. "Irrigation Strategies for Greenhouse Tomato Production on Rockwool" 43: 10.
- Salazar-Moreno, Raquel, Abraham Rojano-Aguilar, and Irineo Lorenzo López-Cruz. 2014. "La eficiencia en el uso del agua en la agricultura controlada," 7.
- Sánchez-Rodríguez, Eva, Juan M. Ruiz, Federico Ferreres, and Diego A. Moreno. 2012. "Phenolic Profiles of Cherry Tomatoes as Influenced by Hydric Stress and Rootstock Technique." *Food Chemistry* 134 (2): 775–82. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.180>.
- Schmautz, Zala, Andreas Graber, Sebastian Jaenicke, Alexander Goesmann, Ranka Junge, and Theo H. M. Smits. 2017. "Microbial Diversity in Different Compartments of an Aquaponics System." *Archives of Microbiology* 199 (4): 613–20. <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1334-1>
- Seriani, R., Ranzani-Paiva, M.J.T., gonzalves, A., Siqueira, S.R. & Lombardi, J.V., 2012.- Determination of selenium toxicity to *Oreochromis niloticus* based on hematological parameters. *Biological Sciences*, Maringá, 34 (2): 125-131.
- Shamshiri, Redmond Ramin, James W. Jones, Kelly R. Thorp, Desa Ahmad, Hasfalina Che Man, and Sima Taheri. 2018. "Review of Optimum Temperature, Humidity, and Vapour Pressure Deficit for Microclimate Evaluation and Control in Greenhouse Cultivation of Tomato: A Review." *International Agrophysics* 32 (2): 287–302. <https://doi.org/10.1515/intag-2017-0005>.
- Suhl, Johanna, Dennis Dannehl, Werner Kloas, Daniela Baganz, Sebastian Jobs, Günther Scheibe, and Uwe Schmidt. 2016. "Advanced Aquaponics: Evaluation of

- Intensive Tomato Production in Aquaponics vs. Conventional Hydroponics.” *Agricultural Water Management* 178 (December): 335–44. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2016.10.013>.
- Silva, L., Gasca-Leiva, E., Escalante, E., Fitzsimmons, K., Valdés, D. 2015. Evaluation of Biomass yield and water treatment in two aqc root floating uaponic systems using the dynamic technique (DRF). *Sustainability*, 7, 15384-15399 p.
- Taipe Velasco, Carina Maribel, Ronnie Xavier Lizano Acevedo, and Bence Mátyás. 2018. “Comparative Study of the Environmental Impact of Models of Conventional Agricultural and Agro-Ecological Agriculture in the Agricultural Phase of Tomato Cultivation.” *F1000Research* 7 (May): 666. <https://doi.org/10.12688/f1000research.14334.1>.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2010. *Plant physiology*. Sinauer associates. 5th ed. 782 p.
- Tei, F., P. Benincasa, and M. Guiducci. 2002. “Critical Nitrogen Concentration in Processing Tomato.” *European Journal of Agronomy* 18 (1–2): 45–55. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(02\)00096-5](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(02)00096-5).
- Tomála, D., Chavarría, J., Ángeles, B. 2014. Evaluación de la tasa de consumo de oxígeno de *Colossoma macropomum* en relación al peso corporal y temperatura del agua. *Aqua. Res.*, 42(5): 971-979.
- Toor, R. K., C.E. Lister, and G.P. Savage. 2005. “Antioxidant Activities of New Zealand-Grown Tomatoes.” *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56 (8): 597–605. <https://doi.org/10.1080/09637480500490400>.
- Toor, R.K., G.P. Savage, and C.E. Lister. 2006. “Seasonal Variations in the Antioxidant Composition of Greenhouse Grown Tomatoes.” *Journal of Food Composition and Analysis* 19 (1): 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.11.008>.
- Toor, R.K., Geoffrey P. Savage, and Anuschka Heeb. 2006. “Influence of Different Types of Fertilisers on the Major Antioxidant Components of Tomatoes.” *Journal of Food Composition and Analysis* 19 (1): 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.03.003>.
- Tyson, Richard V. 2007. “Reconciling ph for ammonia biofiltration in a cucumber/tilapia aquaponics system using a perlite medium,” 120.
- Vicente, R, R Morcuende, and J Babiano. 2011. “Differences in Rubisco and Chlorophyll Content among Tissues and Growth Stages in Two Tomato (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) Varieties,” 7.
- Villalobos, S., González, E. 2016. Determinación de la relación pez planta en producción de *Lycopersicon sculentum* L.) en sistema de acuaponia. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol 7 Núm 5. 983-992 p.

- Villarroel, M., J. M. R. Alvariño, and J. M. Duran. 2011. "Aquaponics: Integrating Fish Feeding Rates and Ion Waste Production for Strawberry Hydroponics." *Spanish Journal of Agricultural Research* 9 (2): 537. <https://doi.org/10.5424/sjar/20110902-181-10>.
- Wahyudi, Aris Tri. 2011. "Characterization of Bacillus Sp. Strains Isolated from Rhizosphere of Soybean Plants for Their Use as Potential Plant Growth for Promoting Rhizobacteria," 7.
- Warinporn Klunklin, and Geoffrey Savage. 2017. "Effect on Quality Characteristics of Tomatoes Grown Under Well-Watered and Drought Stress Conditions." *Foods* 6 (8): 56. <https://doi.org/10.3390/foods6080056>.
- Wu, Min, and Chieri Kubota. 2008. "Effects of High Electrical Conductivity of Nutrient Solution and Its Application Timing on Lycopene, Chlorophyll and Sugar Concentrations of Hydroponic Tomatoes during Ripening." *Scientia Horticulturae* 116 (2): 122–29. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.11.014>.
- Xiong, Dongliang, Jia Chen, Tingting Yu, Wanlin Gao, Xiaoxia Ling, Yong Li, Shaobing Peng, and Jianliang Huang. 2015. "SPAD-Based Leaf Nitrogen Estimation Is Impacted by Environmental Factors and Crop Leaf Characteristics." *Scientific Reports* 5 (1). <https://doi.org/10.1038/srep13389>.

CONCLUSIÓN GENERAL

En este estudio, se concluye que la bacteria *Bacillus* sp., aislada de un sistema acuapónico, tiene la capacidad de mineralizar fósforo a partir del fitato de los sólidos sedimentables, así como otros elementos (Ca, Mg y S), bajo condiciones aeróbicas y con temperatura de 24°C. La liberación de dichos elementos puede ser utilizados en solución para complementar la nutrición de las plantas de tomate indeterminado cultivadas en sistemas acuapónicos, que lo harán más productivo y eficiente en el uso del agua, en comparación a un sistema sin complemento nutritivo. Sin embargo, es posible mejorar la nutrición de las plantas de tomate al aplicar Fe, K y Mg en la solución nutritiva, sin afectar la producción y salud de la tilapia.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar más estudios involucrados en la evaluación de la inoculación directa de *Bacillus* sp. en el sistema para confirmar su efecto en el crecimiento de la planta y en la dinámica de fósforo u otros elementos en el agua; así como estudiar sus procesos bioquímicos durante la solubilización y mineralización de los residuos sólidos generados y acumulados en el sistema.

También, se considera realizar más estudios, donde se evalúe biorreactores de pequeña escala con condiciones controladas de temperatura y oxígeno en la mineralización de los sólidos con la inoculación de *Bacillus* sp. y otros microorganismos que ayuden a incrementar la disponibilidad de los nutrientes para las plantas; y/o estudios donde evalúen la fusión de la mineralización inducida con el aporte de soluciones hidropónicas de manera automatizada que complementen la deficiencia nutricional, principalmente de los elementos que se encontraron en concentraciones críticas en el sistema (K, Mg y Fe).

Por último, se recomienda realizar más estudios, donde evalúen diferentes tipos de indicadores de eficiencia, principalmente en el uso de agua, energía y fertilizantes; así como también en la evaluación costo/beneficio de la producción en sistemas acuapónicos.

