

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Departamento de Ambiente y Desarrollo**  
**Ingeniería en Ambiente y Desarrollo**



Proyecto Especial de Graduación

**Efecto de la adición de *Azospirillum sp.* en la productividad de lechuga (*Lactuca sativa* var. Kristine) dentro de un sistema acuapónico con tilapia gris (*Oreochromis niloticus*)**

Estudiantes

Ana Julia Rivera Figueroa

Natacha Nallelys De Gracia Fuentes

Asesores

Erika Tenorio Moncada, M.Sc.

Patricio E. Paz, Ph. D.

José Fernando Tercero Iglesias, M.Sc.

Honduras, junio 2022

**Autoridades**

**TANYA MÜLLER GARCÍA**

Rectora

**ANA M. MAIER ACOSTA**

Vicepresidenta y Decana Académica

**ERIKA TENORIO MONCADA**

Directora del Departamento de Ambiente y Desarrollo

**HUGO ZAVALA MEMBREÑO**

Secretario General

## Contenido

Índice de Cuadros.....	5
Índice de Figuras .....	6
Índice de Anexos.....	7
Resumen .....	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos .....	17
Localización del Proyecto.....	17
Descripción del Sistema Acuapónico .....	18
Producción Acuícola.....	18
Hidroponía .....	19
Diseño Experimental .....	21
Tratamientos Evaluados.....	21
Control .....	21
Azospirillum sp. – 1 .....	21
Análisis de Variables Hortícolas .....	22
Análisis de Calidad de Agua .....	23
Análisis de Variables Acuícolas .....	24
Análisis Estadístico .....	25
Resultados y Discusión.....	26
Indicadores de Productividad Hortícola.....	26
Largo de Raíz .....	26
El Peso Fresco de Raíz .....	26
Peso Fresco Foliar .....	27

Peso Fresco Total .....	27
Clorofila.....	27
Mantenimiento de los Organismos Experimentales.....	28
Potencial de Hidrógeno (pH).....	28
Temperatura .....	29
Conductividad Eléctrica, Sólidos Totales Disueltos y Salinidad .....	29
Indicadores Ambientales .....	31
Nitrógeno Amónico.....	32
Nitritos .....	34
Nitratos .....	36
Indicadores de Productividad Acuícola.....	38
Sobrevivencia.....	38
Ganancia Diaria de Peso .....	39
Índice de Conversión Alimenticia (ICA).....	39
Conclusiones .....	41
Recomendaciones.....	42
Referencias.....	43
Anexos.....	48
Anexo F .....	53

## Índice de Cuadros

Cuadro 1 Tratamientos usados en un sistema acuapónico de tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) y lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) inoculada con <i>Azospirillum</i> sp. ....	22
Cuadro 2 Variables hortícolas analizadas en un sistema acuapónico de tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) y lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) inoculada con <i>Azospirillum</i> sp. ....	23
Cuadro 3 Métodos para medir parámetros de calidad de agua en un sistema acuapónico de tialpia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) y lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) inoculada con <i>Azospirillum</i> sp. ....	24
Cuadro 4 Variables acuícolas analizadas en el sistema acuapónico con tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) en asocio con lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) inoculada con <i>Azospirillum</i> sp. ....	25
Cuadro 5 Parámetros métricos de la producción de lechuga Kristine dentro de un sistema acuapónico. ....	28
Cuadro 6 Indicadores ambientales de monitoreo .....	30
Cuadro 7 Conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos y salinidad entre tratamientos.....	31
Cuadro 8 Pesos promedios, ganancia diaria de peso (GDP), índice de conversión alimenticia (ICA) y sobrevivencia de tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) en un sistema acuapónico con lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) en Zamorano, Honduras.....	38

## Índice de Figuras

Figura 1 Ubicación geográfica del sistema acuapónico donde se realizó el experimento con <i>Azospirillum</i> sp. en la Unidad de Agricultura Orgánica.....	17
Figura 2 Esquema de la estructura del sistema acuapónico utilizado en el estudio .....	20
Figura 3 Ubicación de la lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) en cada unidad experimental del sistema acuapónico bajo la técnica de raíz flotante. ....	20
Figura 4 Funcionamiento del ciclo del nitrógeno en un sistema acuapónico.....	32
Figura 5 Comportamiento del nitrógeno amoniacal a lo largo de los muestreos semanales de calidad de agua en un sistema acuapónico con tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) en asocio con lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) inoculada con <i>Azospirillum</i> sp. ....	33
Figura 6 Fases del proceso de nitrificación que ocurre en un sistema acuapónico .....	34
Figura 7 Comportamiento de nitritos a lo largo de los muestreos de calidad de agua semanales en un sistema acuapónico con tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) en asocio con lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) inoculada con <i>Azospirillum</i> sp. ....	35
Figura 8 Comportamiento de nitratos a lo largo de los muestreos de calidad de agua en el tiempo en un sistema acuapónico con tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) en asocio con lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) inoculada con <i>Azospirillum</i> sp. ....	36

## Índice de Anexos

Anexo A Tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) de los tanques acuícolas infectado con saprolegniasis.....	48
Anexo B Sistema acuapónico de raíz flotante de lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) y tilapia gris ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) en asocio con la rizobacteria <i>Azospirillum</i> sp. ....	49
Anexo C Postura a tres bolillos de la Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. kristine) en cada unidad experimental del sistema acuapónico.....	50
Anexo D Análisis del margen de utilidad, margen bruto porcentual y relación costo-beneficio de la comercialización de lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) con la adición de <i>Azospirillum</i> sp. y con la ausencia de esta.....	51
Anexo E Rendimiento de lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) en peso fresco de raíz, foliar y total por cada tratamiento. ....	52
Anexo F Análisis de nutrientes, pH y conductividad eléctrica del agua y fertilizante orgánico utilizado en el ensayo. ....	53
Aexno G Diferencia del sistema radicular en las unidades experimentales de los tratamientos en el sistema acuapónico con lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> var. Kristine) y tilapia ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	54

## Resumen

La creciente demanda alimenticia y de productos pesqueros han propiciado la búsqueda de alternativas de producción sostenible. La acuaponía atiende a diversos desafíos socioambientales dado que permite combinar la producción acuícola con la hortícola en un sistema integrado de recirculación. No obstante, en los sistemas acuapónicos puede ocurrir deficiencia de ciertos nutrientes. Rizobacterias como *Azospirillum* sp., pueden aumentar la biodisponibilidad de nutrientes y fijar nitrógeno. Los objetivos del presente estudio fueron analizar el efecto del *Azospirillum* sp. en el rendimiento de lechuga, caracterizar la calidad de agua recirculada y evaluar el rendimiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) dentro del sistema acuapónico. Se trasladaron al sistema 56 tilapias de 238 gramos promedio y lechugas variedad Kristine de 27 días, colocando 28 por unidad experimental. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar compuesto por un control y dos tratamientos con tres repeticiones cada uno. Los tratamientos inoculados con *Azospirillum* sp. mostraron mayor rendimiento en peso fresco foliar, peso fresco de raíz y largo de raíz en comparación con el control. La asimilación de nitrógeno en los tratamientos con *Azospirillum* sp., presentaron una mayor absorción y aprovechamiento de nutrientes lo cual resultó en mejores indicadores de calidad de agua. Dentro de los parámetros productivos de tilapia se obtuvo un índice de conversión alimenticia de 2.62 con una sobrevivencia de 62.5% y ganancia de peso diaria de 1.15 gramos. Finalmente, la interacción *Azospirillum*-planta representa una alternativa tecnológica en sistemas acuapónicos estimulando el crecimiento vegetal y la biodisponibilidad de minerales.

*Palabras clave:* Rizobacteria, fijación del nitrógeno, acuaponía, inoculación.

### Abstract

The growing demand for food and fish products has led to the search for sustainable production alternatives. Aquaponics addresses several socio-environmental challenges since it allows combining aquaculture and horticulture production in an integrated recirculation system. However, deficiencies of certain nutrients can occur in aquaponic systems. Rhizobacteria such as *Azospirillum* sp. can increase nutrient bioavailability and fix nitrogen. The objectives of the present study were to analyze the effect of *Azospirillum* sp. on lettuce yield, characterize the quality of recirculated water, and evaluate the yield of tilapia (*Oreochromis niloticus*) within the aquaponic system. Fifty-six tilapias of 238 grams average and lettuce variety Kristine of 27 days old were transferred to the system, placing 28 per experimental unit. A completely randomized experimental design composed of one control and two treatments with three replicates each was used. The treatments inoculated with *Azospirillum* sp. showed higher yields in leaf fresh weight, root fresh weight, and root length compared to the control. Nitrogen assimilation in the treatments with *Azospirillum* sp. showed a greater absorption and utilization of nutrients, which resulted in better water quality indicators. Within the production parameters of tilapia, a feed conversion ratio of 2.62 was obtained with a survival rate of 62.5% and a daily weight gain of 1.15 grams. Finally, the *Azospirillum*-plant interaction represents a technological alternative in aquaponic systems, stimulating plant growth and mineral bioavailability.

*Keywords:* Rhizobacteria, nitrogen fixation, aquaponics, inoculation.

## Introducción

La creciente población global plantea la necesidad de la búsqueda de alternativas que garanticen la seguridad alimentaria. Según estimaciones de la Organización de las Naciones Unidas, se espera que para el año 2050 la población mundial alcance los 9,700 millones de habitantes. Es de suma importancia destacar que cada individuo genera una alta demanda de recursos naturales y de sus derivados y se espera que esta demanda se triplique en los próximos 30 años (Fukase y Martin, 2020). Por lo tanto, la búsqueda de alternativas productivas sostenibles y de alta eficiencia en el uso de recursos en el sector agrícola es prioritaria, especialmente bajo los severos escenarios de cambio climático y degradación ambiental (Comisión Europea, 2013). Particularmente, cuando este no solo es uno de los rubros más importantes, sino también, uno de los que tiene mayores implicaciones ambientales (Food and Agriculture Organization [FAO], 2002).

Secuencialmente, la demanda mundial de productos pesqueros ha ido en aumento en los últimos años, particularmente, para Latinoamérica y el Caribe se espera un aumento de 33% en el consumo de pescado. Para el año 2030 se prevé un consumo per cápita de 21.5 kg de pescado, una cifra muy prometedora frente a los 11 kg que se consumían en 1970 y a los casi 16 kg del año 2000 (Food and Agriculture Organization [FAO], 2018). La acuicultura mundial ha crecido en gran escala en los últimos 50 años, de una producción menor a 1 millón de toneladas a principios de 1950 a 52.5 millones de toneladas en el 2008, con un valor de USD 98,400 millones de dólares. Con estos resultados estadísticos se evidencia un aumento a un ritmo tres veces mayor que la producción mundial de carne (2.7% contabilizando el ganado avícola y vacuno juntos). Un escenario contrario se ha presentado para la pesca de captura, dado que desde 1980 no ha experimentado crecimiento alguno, mientras que, el sector acuícola ha mantenido un índice de crecimiento medio anual del 8.3% en todo el mundo. Siendo este uno de los rubros con mayor demanda, sus impactos ambientales consecuentemente también se han intensificado.

La producción acuícola genera, junto con el producto final, importantes cantidades de materia fecal, excreciones y alimento no consumido. Según estimaciones más de un 60% de fósforo y hasta el 80% del nitrógeno administrado, quedan disueltos en la columna de agua de los cuerpos receptores como ríos y lagos (Buschmann, 2001). Estos nutrientes generan problemas de eutroficación, afectando ecosistemas acuáticos y parámetros de calidad de agua como el oxígeno disuelto, variaciones de pH, conductividad eléctrica y turbidez. El potencial de acumulación de materia orgánica está ligada a factores como la especie cultivada, composición del alimento, manejo de la granja y características físicas del cuerpo receptor. Sin embargo, los sedimentos provenientes de la acuicultura contienen mayores niveles de carbono, nitrógeno y fósforo en comparación con los que no han recibido efluentes. Estos sedimentos cambian en cuanto a su composición química, actividad microbiológica y registran alteración en sus funciones. Esto genera condiciones anaeróbicas en donde los ciclos de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo se ven desequilibrados produciendo metano y ácido sulfhídrico (Buschmann, 2001).

Esta necesidad de encontrar una solución ha representado una llamada hacia el sector acuícola para adoptar un desarrollo estratégico y planificado donde las interacciones negativas de su producción se minimicen (Fundación Observatorio Español de Acuicultura [FOESA], 2013). En respuesta a estos retos, se ha incursionado en nuevas técnicas productivas que sean factibles y eficientes en cuanto a optimización de los recursos hídricos y de manejo de desechos en este sector.

Es así como la acuaponía representa un manejo que se adapta al actual escenario ambiental, económico y social que enfrenta la producción. Básicamente, es una combinación de un sistema de cultivo acuícola (cría de peces) con hidroponía (cultivo sin suelo). Este sistema combinado trabaja por medio de la recirculación de agua desde estanques hasta donde se encuentran camas de cultivo flotando en el medio acuoso, este mismo medio es proporcionado por los tanques acuícolas, a los cuales posteriormente regresa el agua con una mejor calidad de agua óptima para el cultivo de peces. Los recambios de aguas en las pilas o tanques donde se encuentren los peces son necesarios por el

hecho de que, la calidad física y química cambia la sedimentación de residuos de alimentos, restos de algas, materia orgánica en descomposición y residuos fecales. Estos nutrientes son necesarios para nutrir a las plantas de una forma orgánica y no sintética como normalmente se hace en la plantación extensiva de medios de cultivo en tierra. Los recipientes donde se encuentran las camas flotantes de las plantas también requieren recambios de agua semanalmente, ya que la planta absorbe todo el abono orgánico proporcionado por los peces y, por ende, se necesita agua con más sedimentos y nutrientes para ser aprovechada. La recirculación del agua evita la contaminación de aguas superficiales y subterráneas y optimiza el uso del recurso. En términos económicos, se tiene un gasto menor en el transcurso del mantenimiento del sistema y desde la perspectiva ambiental, se aprovechan todos los residuos dejando así solo agua en baja carga de sedimentos para su tratamiento. (Barahona y Castillo, 2011).

La utilización de sistemas acuapónicos da la solución a mayor producción alimentaria y a su vez al uso eficiente de los recursos naturales; reduciendo la cantidad que se extrae y aumentando productividad. Aplica la reutilización de recursos para la producción en el mismo sistema. A su vez, esta tecnología es una solución para aquellas zonas áridas en donde la producción en suelo se hace complicada por los requerimientos nutricionales exigidos por las plantas.

Por lo tanto, una producción a mediana escala en sistemas acuapónicos es una de las principales alternativas para mitigar los impactos ambientales ocasionados por la producción agrícola. Dentro de este se permite la interacción entre un cultivo de peces de una determinada especie, y plantas de una variedad que sea resistente a la climatización dependiendo del sitio donde sea implementado el sistema. Es así como estos sistemas contribuyen a la seguridad alimentaria de la población, ya que se pueden llevar a la comercialización varios productos generados simultáneamente (García y Pérez, 2019).

Conjuntamente los beneficios ambientales generados por la acuaponía son diversos. Los sistemas acuapónicos permiten reducir y sacarles provecho a los efluentes de los tanques acuícolas

que convencionalmente se verterían a los cuerpos de agua. En segundo lugar, las plantas pueden obtener una importante cantidad de nutrientes disueltos en el agua residual y el cultivo utilizado en el sistema tiene la capacidad de filtrar el agua pudiendo retornar al sistema haciendo un uso eficiente del agua (Muñoz, 2012).

La oferta de productos como; pescado, vegetales, frutas, hierbas, plantas; producidos en el sistema acuapónico son también de gran cotización por los consumidores orgánicos, ya que son producidos en un sistema productivo libre de químicos. Ayudando de esta manera a que los consumidores lleven una dieta sostenible. Por otra parte, se disminuye el mercado de fertilizantes sintéticos y su utilización en el suelo. Estos sistemas permiten optimizar el uso del agua por medio de la recirculación donde solo se repone el agua perdida por evaporación, ayudando así a la disminución de la demanda hídrica por cultivo en la producción agrícola y acuícola (Munguia, 2019).

En acuaponía la fuente que proporciona los nutrimentos es el alimento que se les brinda los peces. Los efluentes que circulan por el sistema acuapónico contienen nutrientes disueltos que excretan los peces por medio de las branquias como es el nitrógeno (en forma de amoníaco) y fósforo por las heces fecales y la orina. Estos contienen compuestos orgánicos que necesitan mineralizarse y solubilizarse en forma iónica en el agua para que estén disponibles para las plántulas (Goddek et al., 2015). Los desechos excretados por los peces no contiene los nutrimentos esenciales en cantidades idóneas para el rendimiento y calidad productiva de ciertos cultivos, como lo es el tomate (Sainju, 2003).

El pH óptimo en sistemas acuapónicos es entre 7 y 8 para aumentar la nitrificación (Tyson et al., 2008). Es por lo que, para satisfacer las deficiencias de algunos nutrimentos en las plántulas, es recomendable la fertilización foliar para suplir la demanda de potasio (K), maganesio (Mg), hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn) y cobre (Cu), que no se encuentran presente en la planta ya que es disponible en condiciones alcalinas. La aplicación de estos nutrientes en el cultivo de tomate dio resultados benéficos en cuanto a la absorción y transporte de nutrientes se incrementó la

concentración de los sólidos solubles totales y licopeno. De esta forma, la fertilización es un método eficaz para mejorar el rendimiento en sistemas acuapónicos donde las concentraciones de nutrientes son menores y no se da abasto para la demanda nutritiva del cultivo (Sandoval et al., 2020).

La bacteria *Azospirillum sp.* es una rizobacteria promotora de crecimiento que permite tener un aumento en el rendimiento de los cultivos porque tiene una capacidad elevada para la fijación de nitrógeno en el sistema radicular de las plantas. Investigaciones previas con esta bacteria evidencian que la adición de esta misma estimula a la germinación de la semilla y repercute positivamente en un aumento de la longitud, peso y volumen de la raíz, así como también peso foliar (Gabbarini et al., 2005).

La inoculación de plantas con la bacteria *Azospirillum* pueden dar resultados significativos en parámetros de crecimiento que se pueden ver reflejados en la cosecha. La mayor parte de los estudios sobre la asociación *Azospirillum*-planta fueron llevados a cabo en pastos y cereales (Cortés Jiménez, 2013). También se han registrado observaciones de incremento en el desarrollo del sistema de raíces, en los parámetros métricos de longitud y volumen (Bashan y Bashan, 2008).

Dentro de los efectos que más sobresalen de la inoculación vegetal con *Azospirillum* son los distintos cambios morfológicos que se atisban en el sistema radicular. Estos cambios característicos se encuentran directamente relacionados con la concentración del inóculo. El nivel de inoculación sugerido para rendimientos óptimos en cultivos de semillas, vegetales y cereales se ha observado que se encuentra alrededor de 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL). Una concentración de inóculo de 10<sup>8</sup>-10<sup>10</sup> UFC/mL por lo general inhibe el desarrollo radicular (Barbieri et al., 1986). Estos datos no han dado a conocer cuantas células bacterianas por plántula o semilla se exige para obtener un requerimiento vegetal positivo (De-Bashan et al., 2007).

Se han incursionado diversos estudios en suelo de distintas regiones donde se ha llevado como objeto de estudio la importancia de asociación de la bacteria *Azospirillum sp.* con distintos cultivos agrícolas, destinados para consumo humano y animal u otros ámbitos como lo es el área

medicinal. La capacidad para fijar nitrógeno y producir sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, han llevado al *Azospirillum sp.* a ser probado en inoculación con gramíneas como el maíz y el sorgo. Los resultados han dado un nivel más alto o igual en cuanto al rendimiento productivo esperado con la aplicación de la bacteria en competencia con los cultivos convencionales. Una observación importante que se han notado en los estudios son las variabilidades en las cepas aisladas de *Azospirillum sp.* en lo que comprende su actividad nitrogenasa y producción de ácido indol-3-acético.

En México, en las zonas áridas del norte; se realizaron estudios referentes a la variabilidad simbiótica de las cepas nativas de *Azospirillum sp.* y se llegó a la conclusión que en la colonización de las raíces no hay una garantía si se utilizan cepas provenientes de otras regiones donde las condiciones ambientales varían. Se realizaron aplicaciones en las zonas áridas de *Azospirillum brasilense*, realizando una comparación entre cepas *A. brasilense* en cultivo de caña de azúcar en un clima tropical en competencia con *Azospirillum. sp* al norte de México. Se dio a conocer que la adhesión a la rizosfera de la raíz e invasión de la planta fueron similares en ambas regiones de origen nativo de la cepa, en cuanto a la incorporación de *Azospirillum brasilense* en suelo árido no obtuvo la asimilación esperada. Por lo tanto, un punto clave es la variabilidad en las características simbióticas según la cepa y la región en que se encuentra, ya que el tipo de suelo puede tener un mayor impacto en el genoma de *Azospirillum* independientemente sea la dosificación u concentración (Lugo et al., 2001).

En la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, a través de la Maestría en Agricultura Tropical Sostenible, se desarrolló una investigación basada en la implementación de un sistema acuapónico. En el estudio realizado se evaluaron distintas rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal entre ellas *Azospirillum sp.*, utilizando una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/L (Osorio, 2020) . Se identificó que favorecen la estabilidad de pH en las plantas, peces y bacterias, además de la adición de macro y micronutrientes por medio de fertilizantes orgánicos. Estos ayudaban a suplir los requerimientos nutricionales de las plantas. Adicionalmente se estableció un protocolo para la producción acuapónica de vegetales orgánicos en sistemas con la Técnica de Película de Nutrientes y Raíz Flotante.

Debido a la necesidad de profundizar en el conocimiento sobre los sistemas acuapónicos y su optimización para posterior aplicación, el objetivo de la investigación es evaluar la producción de lechuga (*Lactuca sativa* var. Kristine) dentro un sistema acuapónico en asocio con *Azospirillum* sp. Los objetivos específicos del estudio son: i) Analizar el efecto del *Azospirillum* sp. en el rendimiento de lechuga (*Lactuca sativa* var. Kristine) dentro del sistema acuapónico, ii) caracterizar la calidad de agua recirculada en el sistema acuapónico con el fin de conocer el efecto del tratamiento en los nutrientes disueltos en el agua y iii) evaluar el rendimiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en el sistema acuapónico.

## Materiales y Métodos

### Localización del Proyecto

El proyecto experimental se llevó a cabo en los meses de abril a junio del año 2022 en el Lote No.4 de la Unidad de Agricultura Orgánica (Figura 1) de la Escuela Agrícola Panamericana, ubicada en el Valle del Yegüare, del departamento de Francisco Morazán,  $14.009130^{\circ}$  y  $-87.003508^{\circ}$ , a una elevación de 8000 msnm. La temperatura media anual de la zona es de  $24^{\circ}\text{C}$ , en donde las partes más altas varía de  $15$  y  $18^{\circ}\text{C}$  y en partes bajas oscila de entre  $20$  y  $35^{\circ}\text{C}$ . La zona posee una precipitación promedio al año de 1900 mm en sitios bajos y de 2000 mm en puntos altos (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura [IICA], 2018)

### Figura 1

*Ubicación geográfica del sistema acuapónico donde se realizó el experimento con *Azospirillum* sp. en la Unidad de Agricultura Orgánica*



*Nota.* Elaboración propia. Rectángulo rojo indica ubicación del sistema

## Descripción del Sistema Acuapónico

### *Producción Acuícola*

El estudio se realizó mediante el uso de dos tanques acuícolas de fibra de vidrio de 2 m de diámetro x 0.50 m de altura para un volumen de 1.50 m<sup>3</sup>. Se realizó una siembra de 56 peces (28 en cada tanque). Los peces permanecieron en los tanques acuícolas 51 días que se dividen en 36 correspondientes a la duración del ciclo productivo de la lechuga (*Lactuca sativa*) y 15 días previos al trasplante de acondicionamiento para los peces y la respectiva producción de materia orgánica.

El agua de los tanques fluía mediante un sistema de bombeo a un tanque sedimentador y de recolección que posee una capacidad de 1,1 m<sup>3</sup>. El agua recirculada pasaba a tres tanques, cada uno correspondía a un tratamiento, tenían una capacidad de 450 L y cumplía una función de filtrador biológico, ya que en su interior contenían grava de río en un 25% de su capacidad.

En el sistema acuícola se trabajó con tilapia gris (*Oreochromis niloticus*), la cual fue proporcionada por la Unidad de Acuicultura. La tilapia fue incorporada a los seis meses de edad con un peso en promedio de 238 g/pez. El alimento proporcionado a los peces fue el concentrado comercial ALCON para tilapia de 32% de proteína cruda, suministrando el pienso en dos tiempos al día (mañana, tarde). Los peces recibieron alimento de forma continua durante el ciclo de cultivo de la lechuga (36 días) y los días previos al traslado de las plántulas al sistema (15 días). El sistema de oxigenación constaba de un blower de 0.5 hp, con un periodo de operación de 24 h. El agua que se utilizó para el llenado de los tanques acuícolas y que luego comenzó a recircular en los distintos tratamientos fue de la laguna de riego de la zona productiva conocida como Zona II a la cual se le realizó análisis de calidad de agua previos a su incorporación al sistema, asegurando de esta forma las características fisicoquímicas aptas para los peces y plantas de la investigación.

## **Hidroponía**

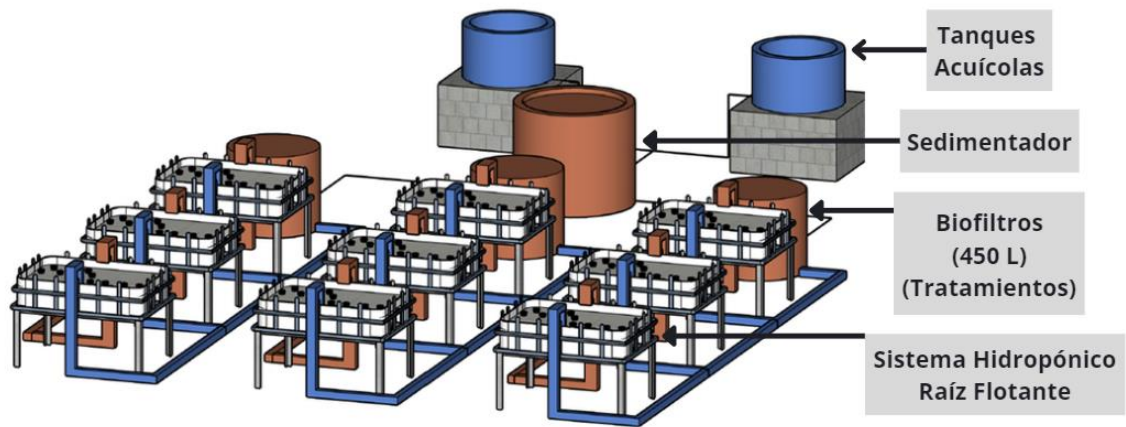
### **Sistema de Raíz Flotante.**

El sistema hidropónico estaba formado por 12 estructuras metálicas de 1 m de largo x 1 m de ancho x 1 m de altura (Figura 2). En cada estructura se colocó un contenedor plástico de 1 m de largo x 1 m de ancho x 0.30 m de alto. Cada recipiente mantuvo una película de agua de 0.25 m de altura, la cual tuvo en la parte superior una lámina de poliestireno expandida de un grosor de 1.5 pulgadas. Se utilizó una postura de siembra de 0.20 m a tres-bolillo, teniendo en una totalidad de 28 plantas por cada estructura (Figura 3). La recirculación de la solución fue impulsada por bombas periféricas de 0.5 hp, haciendo cambios periódicos cada cinco días.

El cultivo seleccionado para el ensayo fue lechuga (*Lactuca sativa*, Aesteraceae). Su producción consta de tres fases, las primeras dos son de formación y la tercera de reproducción. En la primera fase se desarrolla una roseta de hojas, en la segunda se forma el cogollo compacto y luego el tallo floral (Lardizabal y Medicott, 2010). Este es un cultivo muy adaptable a condiciones distintas de temperatura, pero su mayor rendimiento oscila en una temperatura promedio de 18 °C y altitud mayor a los 1,000 msnm. Para la obtención de rendimientos altos se recomienda un pH de 5.5 y 6.5 dado que es en donde están disponibles los nutrientes para ser aprovechados por la planta (Blanchard et al., 2020).

**Figura 2**

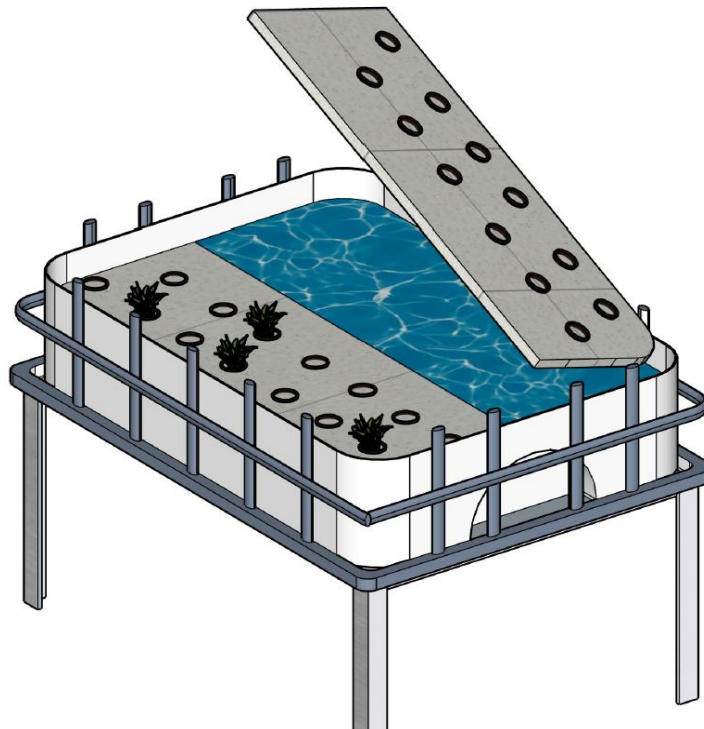
*Esquema de la estructura del sistema acuapónico utilizado en el estudio*



*Nota.* Elaboración propia con Sketchup.

**Figura 3**

*Ubicación de la lechuga (*Lactuca sativa* var. *Kristine*) en cada unidad experimental del sistema acuapónico bajo la técnica de raíz flotante.*



*Nota.* Elaboración propia con SketchUp.

## **Diseño Experimental**

La evaluación de las variables se hizo de forma independiente. El sistema utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos (donde uno era el control) y tres repeticiones, para un total de nueve unidades experimentales por tratamiento. Cada unidad experimental constó de 28 observaciones.

## **Tratamientos Evaluados**

El sistema se integró por tres tratamientos en donde se llevaron a cabo diferentes aplicaciones de *Azospirillum sp.*, a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/L (Osorto, 2021). Todos los tratamientos contaron con la incorporación de una mezcla de un té de abonos orgánicos por humus de lombriz (25%), compost (50%) y bocashi (25%); en una porción de 3:1:1 (v/v) (Cuadro 1). En total se depositaron 27.27 kg de la mezcla de abonos dentro de un saco el cual fue amarrado en una regla de madera dentro de un tanque con 100 L agua el cual se dejó reposar durante tres días. El té de abonos se aplicó en una dosis de 5 L de fertilizante por cada 100 L de agua residual de peces, cada 5 días.

### **Control**

El control fue un sistema acuapónico de lechuga con adición de té de abonos orgánicos cada cinco días, pero sin aplicación de *Azospirillum sp.*

### ***Azospirillum sp.* – 1**

En este tratamiento se replicaron las condiciones de fertilización del control y se llevó a cabo la inoculación de *Azospirillum sp.* en el sustrato de la plántula cuando se encontraba en su estadía de invernadero a los 14 días. Para esto se añadió 1.5 mL de bacteria a cada plántula de lechuga (*Lactuca sativa* var. Kristine).

### ***Azospirillum sp.* – 2**

En este tratamiento se realizó la inoculación inicial en el sustrato a los 14 días posteriores a la siembra mientras se encontraban en invernadero en forma de plántulas. Para realizar la inoculación

se le agregaron 1.5 mL de bacteria *Azospirillum* sp, luego se realizó una segunda aplicación de la bacteria en cuestión al día 27 cuando fueron trasplantadas al sistema acuapónico. En esta segunda aplicación se remojo el pilón durante 15 segundos para embeber todo el sistema radicular. En este tratamiento se le replicaron las condiciones de fertilización del control.

### **Cuadro 1**

*Tratamientos usados en un sistema acuapónico de tilapia gris (Oreochromis niloticus) y lechuga (Lactuca sativa var. Kristine) inoculada con Azospirillum sp.*

Tratamiento	Descripción
Control	TAO (50% compost, 25% humus y 25% bocashi)
<i>Azospirillum</i> sp. – 1	Una inoculación con <i>Azospirillum</i> sp. al sustrato + TAO
<i>Azospirillum</i> sp. – 2	Una inoculación con <i>Azospirillum</i> sp. al sustrato + remojo a los 27 días + TAO

*Nota.* TAO: Té de abonos orgánicos

### **Análisis de Variables Hortícolas**

Las variables analizadas en la lechuga fueron el crecimiento radicular en largo (cm), peso fresco de raíz, peso fresco foliar y peso total de la planta. Se realizó por medio de un muestreo sistemático, incorporado por 10 observaciones de la segunda y tercera de cada unidad experimental del sistema. En donde se llevó a cabo un proceso de separación de la raíces y follaje para pesarlos individualmente en una balanza. Este procedimiento se realizó al momento de la cosecha, cuando las lechugas ya cumplían un periodo de 31 días dentro del sistema acuapónico.

Por otra parte, los análisis de clorofila se llevaron a cabo por medio de un muestreo sistemático que comprende la toma de 10 muestras ubicadas en las dos filas de en medio de la unidad experimental. Se analizaron tres hojas de cada muestra, en donde se seleccionó una hoja de la parte baja, media y alta. Se promediaron estas tres mediciones por muestra para obtener el dato final de clorofila por observación. En total se analizaron 30 hojas por unidad experimental, para esto se utilizó el equipo MC-100 Chlorophyll Concentration Meter de la marca Apogee Instruments.

## Cuadro 2

*VARIABLES HORTÍCOLAS ANALIZADAS EN UN SISTEMA ACUAPÓNICO DE TILAPIA (Oreochromis niloticus) Y LECHUGA (Lactuca sativa var. Kristine) INOCULADA CON AZOSPIRILLUM SP.*

Variable	Unidad
Largo de raíz	cm
Peso fresco raíz	g/planta
Peso fresco foliar	g/planta
Peso total	g/planta
Clorofila	SPAD

*Nota.* SPAD: Soil plant analysis development

### Análisis de Calidad de Agua

Se evaluaron diariamente los siguientes parámetros fisicoquímicos para el control de mantenimiento de los organismos experimentales: pH, conductividad eléctrica, salinidad, sólidos disueltos totales y temperatura. De igual forma también se realizaron análisis de nutrientes programados semanalmente como: nitrito, nitrato, nitrógeno amoniacal y clorofila; teniendo un total de cuatro muestras durante el experimento. El pH en conjunto con la temperatura da determinación del porcentaje de amonio no ionizada del total de nitrógeno amoniacal, también interviene en lo que compete a la disponibilidad de nutrientes disueltos en el agua que serán prontamente absorbidos por el sistema radicular de las plántulas. Se recomienda que en sistemas acuapónicos el pH sea de 7 para una neutralidad, aunque es dependiendo de la selección de especies hortícolas y acuícolas (Mesa, 2021). Estos parámetros proporcionaron un control óptimo de calidad de agua. Las mediciones se realizaron semanalmente. La recolección de muestras se hizo en botes de plásticos de 500 mL y se trasladaron en refrigeración hasta el Laboratorio del departamento de Ambiente y Desarrollo en Zamorano.

**Cuadro 33**

*Métodos para medir parámetros de calidad de agua en un sistema acuapónico de tialpia gris*

*(Oreochromis niloticus) y lechuga (Lactuca sativa var. Kristine) inoculada con Azospirillum sp.*

Parámetro	Método	Unidad	Equipo
pH	4500-H <sup>+</sup> B. Electrometric Method	pH	Multiparámetro Oakton
Conductividad eléctrica	2510 B. Laboratory Method	μS/cm	Multiparámetro Oakton
Salinidad	2520 B. Electrical Conductivity Method	ppt	Multiparámetro Oakton
Sólidos totales disueltos	2520 B. Electrical Conductivity Method	ppm	Multiparámetro Oakton
Temperatura	2550 B. Laboratory and Field Methods	°C	Multiparámetro Oakton
Nitrito	4500-NO <sub>2</sub> B. Colorimetric Method	mg/L N	Espectrofotómetro visible Lovibond
Nitrato	4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> C. Second-Derivative Ultraviolet Spectrophotometric Method (PROPOSED)	mg/L N-NO <sub>3</sub>	Espectrofotómetro UV-visible Agilent
Nitrógeno Amoniacal	4500-NH <sub>3</sub> C. Titrimetric Method	mg/L NH <sub>3</sub> -N	Destilador Buchi

*Nota.* Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23rd edition 2017

**Análisis de Variables Acuícolas**

En la tilapia se midieron los parámetros de peso (g), ganancia de diaria de peso, índice de conversión alimenticia y sobrevivencia. Para la variable peso se utilizó una balanza de precisión marca Ohaus, modelo SPX223 con una precisión de 220-0.001 g.

Ganancia diaria de peso (GDP): Este indicador permite conocer la cantidad de gramos de peso que incremento cada animal durante los días de duración del experimento. Para calcular este indicador se utilizó la Ecuación 1:

$$GDP = \frac{\text{Peso final}(g) - \text{Peso inicial}(g)}{\text{Edad}(días)} \quad [1]$$

Índice de conversión alimenticia (ICA): Denominado también ICA, este es la cantidad de alimento representada en unidades de peso que se transforma en peso vivo (Martinez Turcios y Chávez Chávez, 2017), calculado con la Ecuación 2:

$$ICA = \frac{\text{Cantidad de alimento suministrado}(g)}{\text{Peso final}(g) - \text{Peso inicial}(g)} \quad [2]$$

Sobrevivencia (S): Se tiende a hacer el cálculo de sobrevivencia para poder terminar la mortalidad de los peces en el transcurso de tiempo entre la siembra y la cosecha (Pérez et al., 2015), calculado con la Ecuación 3:

$$S = \frac{\text{Peces cosechados}}{\text{Peces sembrados}} \times 100 \quad [3]$$

#### Cuadro 44

*Variables acuícolas analizadas en el sistema acuapónico con tilapia gris (Oreochromis niloticus) en asocio con lechuga (Lactuca sativa var. Kristine) inoculada con Azospirillum sp.*

Variable	Unidad
Peso	g
Longitud	cm
Crecimiento diario	g/día
ICA	g:g
Sobrevivencia	%

#### Análisis Estadístico

Para conocer la normalidad y homogeneidad de variables del estudio se aplicó la prueba de Q-Q plot y la prueba de Shapiro-Wilk utilizando los residuales. Se utilizó un nivel de significancia de  $P \leq 0.05$ . Seguidamente se aplicó un Análisis de Varianza (ANDEVA) con medidas repetidas en el tiempo para las variables de nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos utilizando un modelo lineal general y mixto. En casos que se encontró diferencias significativas se aplicó una prueba de “Least Significant Difference” LSD para la separación de medias. Para las variables hortícolas y de parámetros de calidad de agua diarios se aplicó un ANDEVA de una vía y posteriormente la prueba Duncan para separación de medias, excepto para las variables peso fresco foliar y peso fresco de raíz dado que no contaban con una distribución normal, en este caso los datos se fueron analizados aplicando un modelo lineal generalizado mixto y utilizando la transformante de Varldent para corregir la distribución de los residuales. Para el análisis de datos se utilizó el programa InfoStat versión 2020.

## Resultados y Discusión

### Indicadores de Productividad Hortícola

Un total de 252 plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* var. *Kristine*), se trasplantaron del invernadero de la unidad de propagación de plantas al sistema acuapónico. Se ubicaron en las láminas de poliestireno expandido colocadas en las nueve unidades experimentales. Al finalizar el ensayo se cosecharon las 252 lechugas, dando indicio a una producción óptima.

### Largo de Raíz

Se encontró un rango de 35.52 a 20.60 cm en las nueve unidades experimentales en cuanto al largo del sistema radicular de las lechugas ( $P \leq 0.0001$ ). Dio como resultado que el *Azospirillum* sp. – 1 se posicionó con una media de 35.52 cm dando a indicar que sus raíces eran más largas y ramificada. El control obtuvo 26.89 cm en cuanto a largo sus raíces se caracterizaban por ser más finas en comparación a los otros dos tratamientos. Por otra parte, el *Azospirillum* sp. – 2 resulto con 20.60 cm siendo el más bajo en el largo de raíz, pero teniendo las raíces más gruesas y ramificadas. La raíz de la lechuga es pivotante con una longitud que no sobrepasa los 30 cm de profundidad; dando origen a ramificaciones enlazadas que proporcionan un tallo corto y cilíndrico. Las hojas se forman en roseta y luego se entrelazan unas con otras para formar un cogollo. Un borde ondulado y liso pueden tener los limbos, en la inflorescencia se ven capítulos florales amarillos posicionados como racimos (Scaturro, 2019)

### El Peso Fresco de Raíz

Este parámetro fue medido en gramos obteniendo una media de 21.95 g para el *Azospirillum* sp. – 1 ( $P < 0.0001$ ). Paralelo al *Azospirillum* sp. – 2 con 17.95 g y al control con una media de 12.93 g se puede observar que la diferencia es muy notoria entre tratamientos (Anexo G), posicionando al *Azospirillum* sp. – 1 como el tratamiento con mayor ganancia de peso radicular. En ensayos hidropónicos de lechuga híbrida Rosabella roja con aplicación de microorganismos eficaces, se puede

encontrar valores de 25.6 g a 20.2 g que fue el más bajo; se puede establecer una comparación con (Roncagliolo Manrique, 2015) en su investigación; el *Azospirillum* sp. – 1 da un resultado similar en este parámetro.

### ***Peso Fresco Foliar***

En este análisis el peso fresco foliar ( $P = 0.0001$ ) se obtuvieron resultados en el *Azospirillum* sp. – 1 de 60.65 g en conjunto con el *Azospirillum* sp. – 2 con una media de 67.56 g se catalogan estadísticamente como iguales, ya que no se encontraron diferencias significativas. Según estudios de aplicaciones de nutrientes como calcio y silicio a ciclos de lechuga para requerimientos altos de cosecha, se encontró pesos frescos foliares en un rango de 57.65 g a 56.56 g (Aplicaciones Foliares De Calcio Y Silicio En La Incidencia De Mildiu En Lechuga, 2006); Este estudio comprende la aplicación de *Azospirillum* sp. como promotor del sistema radicular en la plántula para mayor requerimiento de cosecha, dando a conocer que la producción acuapónica vinculada con esta rizobacteria cumple con los estándares hortícolas productivos en peso foliar, dejando por debajo al control con 43.94 g en requerimiento foliar que no cuenta con la incorporación de la bacteria.

### ***Peso Fresco Total***

Se observa un total de peso fresco de 85.51 g en el *Azospirillum* sp. – 2 y de 82.60 g en el *Azospirillum* sp. – 1, ambos posicionándose como estadísticamente iguales en este parámetro. Por otra parte, el control obtiene un 56.87 g de peso fresco foliar quedando como el menos productivo en comparación a los otros tratamientos.

### ***Clorofila***

En los vegetales, la clorofila se debe a la disponibilidad de N en el sistema. La suficiente cantidad de este nutriente en las células estimula las enzimas que generan una diversidad de proteínas que dan paso a la actividad fotosintética (Carnicer et al., 2020). Los resultados muestran que los tres tratamientos son estadísticamente iguales al no tener diferencias significativas en cuanto a clorofila

( $p = 0.1789$ ). Los valores promedio oscilan en el rango 12 SPAD. Declarando que las plantas llegaron a un nivel óptimo de absorción de N en cuanto a la diversidad de proteínas que se encuentran en las hojas, ya que los tres tratamientos incluyendo el control obtuvieron los mismos resultados en cuanto a la disponibilidad de clorofila.

### Cuadro 55

*Parámetros métricos de la producción de lechuga Kristine dentro de un sistema acuapónico.*

Tratamientos	Largo de raíz (cm)	Peso fresco			Clorofila (SPAD)
		Raíz (g)	Foliar (g)	Total (g)	
Control	26.89 ± 5.47 <sup>B</sup>	12.93 ± 5.03 <sup>C</sup>	43.94 ± 21.03 <sup>B</sup>	56.87 ± 25.52 <sup>B</sup>	12.86 ± 1.86 <sup>A</sup>
<i>Azospirillum</i> sp.-1	32.52 ± 5.13 <sup>A</sup>	21.93 ± 8.22 <sup>A</sup>	60.65 ± 14.48 <sup>A</sup>	82.60 ± 21.84 <sup>A</sup>	12.73 ± 1.77 <sup>A</sup>
<i>Azospirillum</i> sp.-2	20.60 ± 9.07 <sup>C</sup>	17.95 ± 6.12 <sup>B</sup>	67.56 ± 24.16 <sup>A</sup>	85.51 ± 28.50 <sup>A</sup>	12.04 ± 1.85 <sup>A</sup>
P	<0.0001	<0.0001	0.0001	<0.0001	0.1789

*Nota.* Medias con la misma letra no son significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ )

### Mantenimiento de los Organismos Experimentales

#### *Potencial de Hidrógeno (pH)*

A lo largo del experimento el nivel de pH se mantuvo en  $7.67 \pm 0.40$  oscilando en un rango de 6.7-8.6 (Cuadro 6). De acuerdo con la Somerville et al. (2022), el rango óptimo de pH en sistemas acuapónicos es entre 6 y 7. El pH promedio del sistema favoreció la actividad de las bacterias nitrificantes que tienen una función en la descomposición del amoníaco y del nitrito que, según French et al. (2012), debido a que son alcalinófilas tienen un mejor desarrollo entre un rango de 7 a 8. A partir de niveles menores puede verse inhibido el metabolismo de las bacterias.

Por otro lado, los dos componentes del sistema que son la lechuga y las tilapias tienen un mejor desarrollo en pH de 6.0-7.0 y de 6.5-9.0, respectivamente. Por tanto, es importante mantener un equilibrio entre los niveles óptimos dado que no se puede favorecer a uno directamente, sin afectar alguno de otros componentes. Sin embargo, como indican Da Cerozi y Fitzsimmons (2016) conforme

aumenta el valor de pH, nutrientes como el fósforo decrecen en disponibilidad dado que este elemento se une con otros cationes dejando menos iones de fosfato libres para absorción.

### **Temperatura**

El rango de temperatura se mantuvo dentro del rango ideal a lo largo de todo el experimento. Se reportó un rango de temperatura entre los 21.4 °C y los 29.1 °C (Cuadro 6). Mostrando el ambiente óptimo para el desarrollo de las poblaciones de bacterias y de las tilapias. Este parámetro es clave para garantizar colonias de bacterias nitrificantes saludables, que pueden soportar un rango de temperatura entre 17 y 34 °C; las tilapias pueden crecer idealmente entre 20 y 30 °C, soportando un mínimo 10 °C y máximo de 42 °C (Saavedra, 2006). Mantener el monitoreo de la temperatura es importante puesto que también afecta la ionización del amoníaco de modo que, a mayor temperatura el amoníaco se vuelve más tóxico afectando a los demás componentes del sistema.

Para cultivos como la lechuga, las bajas temperaturas son más favorables mostrando los mejores rendimientos desde los 18 °C hasta los 26 °C, no obstante, el crecimiento de la bacteria *Azospirillum* sp. puede verse comprometida. Diversos estudios como el de Sangoquiza et al. (2017), reportaron que esta bacteria se ve afectada por la temperatura y que temperaturas entre los 22 y 25 °C no favorecen su crecimiento.

### **Conductividad Eléctrica, Sólidos Totales Disueltos y Salinidad**

La conductividad eléctrica es un parámetro que se suele utilizar para indicar el grado de mineralización del agua. Durante el experimento se obtuvo una media de  $344.36 \pm 84.86 \mu\text{S/cm}$  (Cuadro 6). En hidroponía este indicador es útil para estimar la cantidad total de nutrientes en forma de sales contenida en el agua. Este parámetro se encontró relacionado con la salinidad y la concentración de sólidos disueltos lo cual concuerda con Boyd (2017), quien enuncia que esto se debe a que la salinidad mide el total de iones concentrados en el agua y los sólidos disueltos aproximadamente en un 95% provienen de los iones disueltos. Para el estudio la conductividad

eléctrica y los sólidos totales disueltos se mantuvieron en un promedio de 344.26  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y 243.99 ppm (Cuadro 6).

Estos indicadores son particularmente importantes en los sistemas acuapónicos cerrados en donde el agua de las plantas regresa a los peces. Particularmente, la salinidad afecta la osmorregulación del pez causando que este tenga gastos de energía extra para mantenerse. Estos influyen directamente en el crecimiento del pez, porque a medida que aumenta la salinidad, el crecimiento del pez disminuye (Boyd, 2017). En el caso de la tilapia es una especie que puede tolerar y desarrollarse entre diversos rangos de salinidad. La especie *Oreochromis niloticus* puede tener un crecimiento adecuado hasta los 24 g/L (ppt), sin embargo, los cambios bruscos si pueden perjudicarlo (Saavedra, 2006; Carranza y Aceituno, 2019).

Para el desarrollo del experimento, esta variable no afectó el desarrollo de los peces dado que se encontró muy por debajo del nivel máximo, registrando un promedio de 0.15 g/L  $\pm$  0.06 (Cuadro 6). Se obtuvieron diferencias entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ) para las variables de conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos y salinidad. El control presentó mayores niveles para las tres variables.

### Cuadro 66

#### *Indicadores ambientales de monitoreo*

Parámetro	Promedio	$\pm$ D.E.	Rango
pH	7.67	$\pm$ 0.40	6.7-8.6
Temperatura	24.49	$\pm$ 1.57	21.40-29.10
Conductividad eléctrica	344.26	$\pm$ 84.86	88.80-575
Sólidos totales disueltos	243.99	$\pm$ 59.88	62.70-405.00
Salinidad	0.15	$\pm$ 0.06	0.00-0.20

Los tratamientos dos y tres que cuentan con la presencia de la bacteria *Azospirillum* sp., no mostraron diferencias significativas entre ellos para las variables de sólidos totales disueltos y salinidad. Únicamente se registró diferencias significativas entre el *Azospirillum* sp. – 1 y *Azospirillum* sp. – 2 para el nivel de conductividad eléctrica, en donde el *Azospirillum* sp. – 1 registró una mayor

conductividad eléctrica de  $343.70 \pm 8.99$  ppm en comparación con el *Azospirillum* sp. – 2 que mantuvo un nivel de  $317.68 \pm 9.15$  ppm.

En cuanto a la conductividad eléctrica (CE) según indican Helbel Junior et al. (2008), una mayor conductividad eléctrica cuenta con una mayor capacidad de conducir corriente eléctrica. Los principales iones positivos que se encuentran disueltos son sodio ( $\text{Na}^+$ ), calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), potasio ( $\text{K}^+$ ) y magnesio ( $\text{Mg}^{+2}$ ). Por otro lado, los negativos son cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), sulfato ( $\text{SO}_4^{-2}$ ), carbonato y bicarbonato. La CE puede ser un indicador del flujo de nutrientes en un cultivo (Barzan et al., 2020). El control mostró un mayor nivel de CE en comparación a los tratamientos que contaban con *Azospirillum* sp., por lo tanto, se puede atribuir que la bacteria contribuye a una mejor absorción de nutrientes. Esto puede ser respaldado con Cavins et al. (2008), quienes concluyeron que una mayor CE indica que la planta no está absorbiendo los nutrientes al mismo ritmo que está los recibe. Es decir, el contenido de nutrientes suministrados es superior a lo que la planta está asimilando. Estudios previos que han analizado el *Azospirillum* afirman que, la inoculación con esta bacteria mejora la capacidad de la planta para absorber minerales y agua. Particularmente para los elementos como  $\text{PO}_4^{-2}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{+2}$  y  $\text{Rb}^+$  (Parra et al., 2002).

### Cuadro 77

*Conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos y salinidad entre tratamientos.*

	Conductividad eléctrica ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Sólidos totales disueltos (ppm)	Salinidad (ppt)
Control	$370.78 \pm 9.04^A$	$262.00A \pm 6.42^A$	$0.18 A \pm 0.01^A$
<i>Azospirillum</i> sp. – 1	$343.70 \pm 8.99^B$	$242.00B \pm 6.38^B$	$0.15B \pm 0.01^B$
<i>Azospirillum</i> sp. – 2	$317.68 \pm 9.15^C$	$228.00B \pm 6.42^B$	$0.14B \pm 0.01^B$
P	0.0003	0.001	<0.0001

Nota. Medias con la misma letra no son significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ )

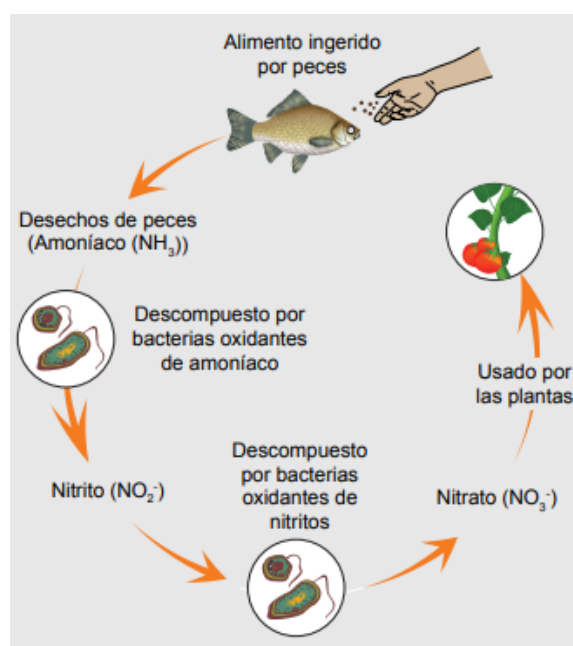
### Indicadores Ambientales

El ciclo del nitrógeno es uno de los procesos clave para el correcto funcionamiento de un sistema acuapónico donde compuestos como el amoníaco y nitritos son tóxicos para la vida acuática. Como se ilustra en la Figura 5, la principal fuente de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) en la acuaponía proviene del

alimento suministrado a los peces y de los desechos. Las bacterias oxidantes de amoníaco (BOA) mediante la adición de oxígeno al  $\text{NH}_3$  permite la conversión a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ). Este a su vez es oxidado por las bacterias oxidantes de nitritos (BON) quienes finalmente dan conversión al nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Siendo las bacterias las responsables de ciclo del nitrógeno mantener colonias saludables.

#### Figura 4

Funcionamiento del ciclo del nitrógeno en un sistema acuapónico



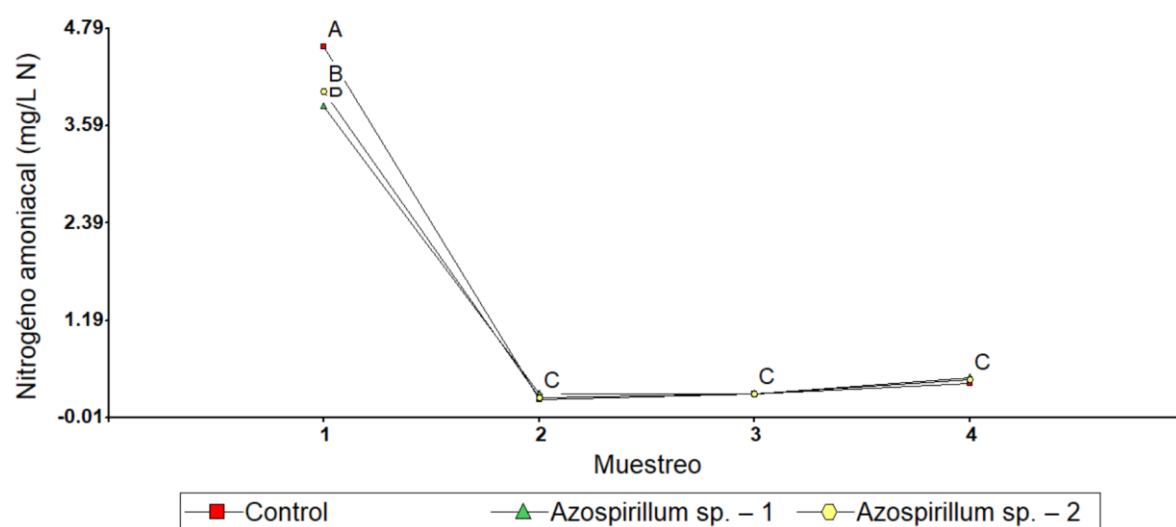
Nota. Tomado de Food and Agriculture Organization (2002).

#### Nitrógeno Amoniacal

En el muestreo 1 se encontraron los mayores niveles de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) para todos los tratamientos. No se encontró diferencias en cuanto a la interacción entre tiempo y tratamientos, sin embargo, existen diferencias entre muestreos en donde los tratamientos *Azospirillum* sp. – 1 y *Azospirillum* sp. – 2 muestran que hay diferencias significativas con el control y con los muestreos dos, tres y cuatro (Figura 5). Sin embargo, para dichos muestreos no hay diferencias entre tratamientos. No obstante, el pico en el muestreo uno se atribuye a la fertilización realizada dos días previos al muestreo. A partir del muestreo dos se estabilizan los niveles de  $\text{NH}_3$  mantiene en el rango óptimo que es entre 0-1 mg/L N.

Figura 5

Comportamiento del nitrógeno amoniacal a lo largo de los muestreos semanales de calidad de agua en un sistema acuapónico con tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) en asocio con lechuga (*Lactuca sativa* var. *Kristine*) inoculada con *Azospirillum* sp.



Nota.  $R^2 = 0.99$

*Azospirillum* sp. siendo un fijador de nitrógeno no simbiótico que se aloja en la raíz de la planta, mostró para el primer muestreo menor cantidad de amoníaco en comparación al control. De acuerdo con Aguilar (2020) esto es debido a que la bacteria logra aumentar la biodisponibilidad de minerales. Asimismo, otro de los mecanismos directos de acción de la bacteria es la producción de fitohormonas como las auxinas, citoquininas y giberelinas. Estas fitohormonas inducen al desarrollo radicular de la planta lo que potencia su capacidad de absorber agua y nutrientes. Entre las auxinas, el ácido indol acético (AIA) es una de las principales moléculas indicadoras puesto que es la forma predominante en plantas. El AIA se encarga de llevar a cabo importantes procesos que son parte del desarrollo de la planta, como el crecimiento, formación y elongación de raíces (Velandia, 2016).

Por otra parte, otra de las razones por las que se explica que la mayoría del nitrógeno se encuentra en forma amoniacal es debido a que las colonias de bacterias oxidantes del amoníaco (BOA) no se han estabilizado en el sistema. Esto se sustenta con la Somerville et al. (2022), puesto que hasta

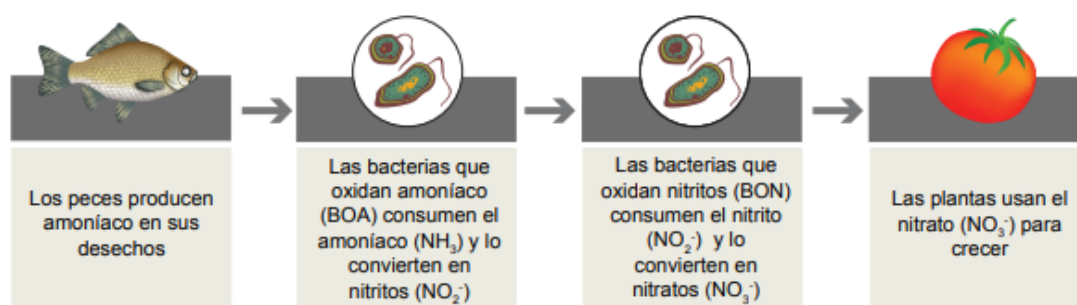
pasados de cinco a siete días las BOA han colonizado la superficie. Una vez el nivel de  $\text{NH}_3$  en el agua haya disminuido y llegado al rango óptimo se puede concluir que las bacterias nitrificantes están metabolizando correctamente el nitrógeno. Esto explica por qué en los muestreos dos, tres y cuatro no hay variaciones en amoníaco, de acuerdo con French et al. (2012), la oxidación del amoníaco al ser la primera fase del ciclo del nitrógeno limita de velocidad de nitrificación.

### Nitritos

Los nitritos corresponden a la segunda fase del ciclo del nitrógeno como se observa en la Figura 6. Los productos nitrogenados residuales de los peces deben ser descompuestos y para esto es importante la recirculación de sistemas acuícolas por la toxicidad del amoníaco, nitrito y nitrato (Timmons et al., 2002). Es importantes mantener los nitritos en valores cercanos al cero, dado que a rangos superiores de 0.25 mg/L provoca una disminución en el oxígeno en sangre del pez (Graber y Junge, 2009; Somerville et al., 2022).

**Figura 6**

*Fases del proceso de nitrificación que ocurre en un sistema acuapónico*



Nota. Tomado de Food and Agriculture Organization (2002).

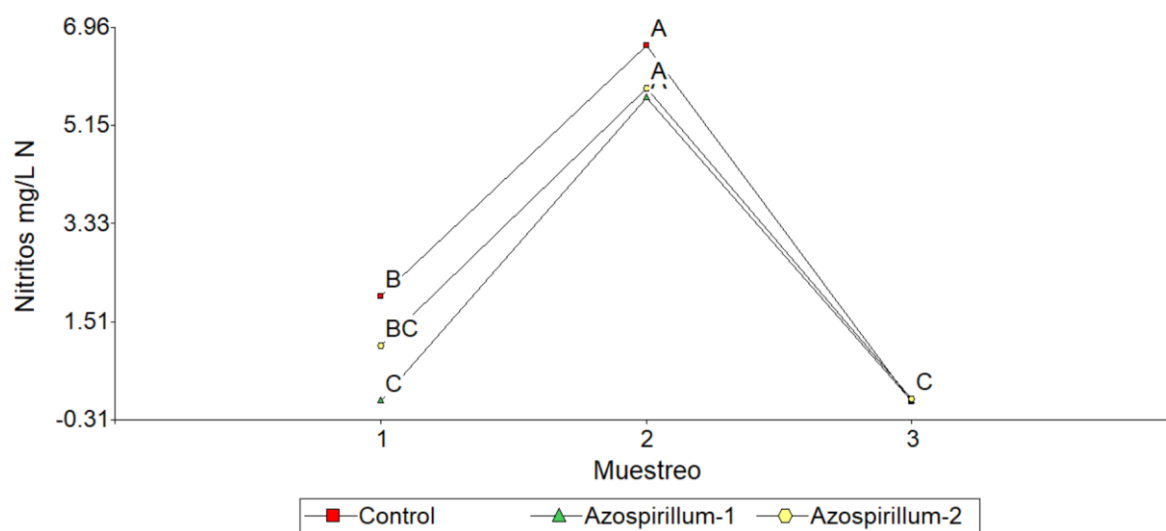
El comportamiento de los nitritos durante el experimento mostró diferencias significativas entre tratamientos para muestreo uno y dos. Se registró diferencias en cuanto a la interacción entre el tiempo y los tratamientos ( $P < 0.05$ ). Para el primer muestreo, el tratamiento *Azospirillum* sp.-1 registró menores niveles de  $\text{NO}_2^-$  en comparación con control. Por su parte, el tratamiento *Azospirillum* sp.-2 no mostró diferencias con el control ni con *Azospirillum* sp.-1.

En la figura 7 se observa que en el segundo muestreo hay un nivel pico de nitritos para todos los tratamientos. Esto es debido principalmente a que el día previo al muestreo de calidad de agua se fertilizaron las unidades experimentales. Por otro lado, también es posible que cierto porcentaje del nitrógeno que se encontraba en amoníaco en el muestreo uno (Figura 5), ha sido oxidado a nitritos. Es decir, poblaciones activas de bacterias nitrificantes como las del género *Nitrosomas spp.* ya se habían logrado estabilizar y metabolizar el amoníaco a una mejor tasa. Esto explica porque en el muestreo dos de nitrógeno amoniacal bajaron los niveles. Durante este muestreo no se registraron diferencias significativas entre tratamientos, pero, se sigue observando una tendencia del control a registrar mayor concentración de nitrógeno.

**Figura 7**

*Comportamiento de nitritos a lo largo de los muestreos de calidad de agua semanales en un sistema acuapónico con tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) en asocio con lechuga (*Lactuca sativa var.**

*Kristine*) inoculada con *Azospirillum sp.*



Nota.  $R^2 = 0.96$

En los muestreos tres no hay diferencias significativas para nitritos entre tratamientos, sin embargo, se encuentran dentro del rango óptimo para sistemas acuapónicos. Esto es un indicador positivo que indica buen funcionamiento de las BOA y del *Azospirillum sp.* para fijar nitrógeno. Para el

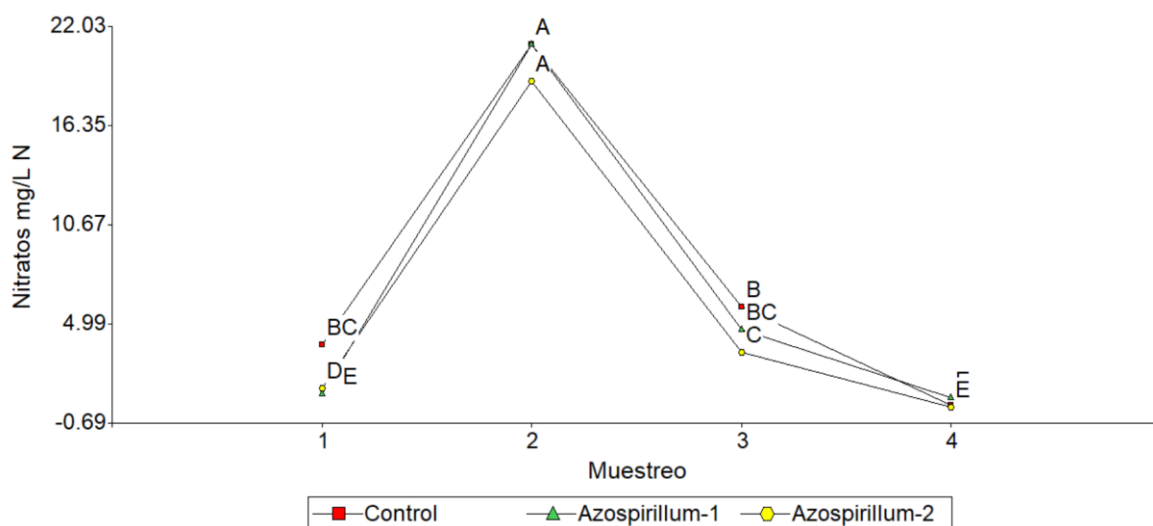
muestreo cuatro, los niveles de nitritos para todos los tratamientos estuvieron debajo del rango de detección del espectrofotómetro ( $<0.01$ ), por lo tanto, el modelo estadístico no lo tomo en cuenta para la separación de medias.

### Nitratos

Se registraron diferencias en cuanto a la interacción entre el tiempo y los tratamientos para lo cual en el muestreo uno existe diferencias significativas entre todos los tratamientos ( $P<0.05$ ), en donde en control contiene mayores niveles de nitratos (Figura 8). El *Azospirillum* sp. – 1 y *Azospirillum* sp. – 2 no muestran diferencias significativas entre sí, sin embargo, se mantiene la tendencia de *Azospirillum* sp.–1 a registrar menor concentración de nitrógeno puesto que no tiene diferencias con el muestreo cuatro quien registró los menores niveles de nitratos en todo el experimento.

### Figura 8

*Comportamiento de nitratos a lo largo de los muestreos de calidad de agua en el tiempo en un sistema acuapónico con tilapia gris (Oreochromis niloticus) en asocio con lechuga (Lactuca sativa var. Kristine) inoculada con Azospirillum sp.*



Nota.  $R^2 = 0.99$

En el muestreo dos no existen diferencias significativas entre el control y los tratamientos, siendo este muestreo en el cual se registraron los máximos valores de nitratos. Estos valores se atribuyen al hecho de que un día previo al análisis de calidad de agua se añadió fertilizante. Además,

se suma el factor de que, en esta etapa del ciclo del nitrógeno, el amoníaco ha disminuido (Figura 3) y los valores de nitritos aumentaron (Figura 4), sin embargo, la fase predominante es la de nitratos (Figura 5). En este muestreo no se observa mayor acción de *Azospirillum* sp. para la absorción de nitrógeno. En efecto, esto puede ser explicado por el estudio de Díaz-Saez et al. (2013) quienes establecieron que las temperaturas en el rango de 22-25 °C no resultan favorables para el desarrollo de bacterias diazotróficas como *Azospirillum* sp., debido a que reducen la tasa de crecimiento disminuyendo su metabolismo basal. Otros estudios como el de Romero et al. (2015), afirman que la temperatura es un factor que ejerce influencia en la viabilidad de la bacteria, mostrando un mejor desarrollo a los 30 °C. Es decir, la bacteria pudo entrar en estrés debido a la baja temperatura del medio en que se encontraba, los datos de temperatura recolectados a lo largo del ensayo demuestran una media de 24.49 °C, lo cual influyó en su capacidad de absorber nutrientes.

Consecuentemente en el muestreo 3, se registran diferencias significativas entre el control y el *Azospirillum* sp. – 2, teniendo este último menor nivel de nitratos. El *Azospirillum* sp. – 1 por su parte no presenta diferencias con el control y ni con *Azospirillum* sp. – 2. Para este muestreo se fertilizó tres días antes del análisis de calidad de agua, es decir las raíces habían tenido más tiempo para absorber los nutrientes en el agua, esto explica porque los niveles de nitrato descienden desde el muestreo dos. Particularmente, para los muestreos uno y tres la presencia de *Azospirillum* sp., reduce la concentración de nitratos, esto concuerda con Sangoquiza et al. (2017) quienes mencionan que esta bacteria tiene la capacidad de reducir nitratos por lo cual tiene un gran potencial de ser utilizado como biofertilizante logrando cosechar productos agrícolas de calidad con un bajo impacto ambiental.

Finalmente, en el muestreo cuatro no hay diferencias entre ningún tratamiento. Cabe recalcar que la lechuga se encontraba en su última semana dado que había llegado a punto de cosecha. Por lo tanto, no se le aplicó fertilización ni entrada de agua de los tanques acuícolas, para que las raíces pudieran metabolizar los nutrientes que se encontraban en el agua. Como se observa en la Figura 8, el muestreo cuatro reflejó la menor concentración de nutrientes para todos los tratamientos.

## Indicadores de Productividad Acuícola

Los parámetros acuícolas fueron recolectados al finalizar el proyecto, se midieron los parámetros de longitud y peso en veintidós peces correspondientes al tanque cuatro y trece peces pertenecientes al tanque cinco.

### ***Sobrevivencia***

La sobrevivencia promedió fue de 62.5% (Cuadro 8) durante los 36 días que se mantuvieron en los tanques del sistema acuapónico. Estudios previos en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano han reportado un nivel de sobrevivencia de 74% para la zona (Criollo, 2015). El promedio de sobrevivencia del experimento estuvo 11.5% debajo de los niveles reportados para la zona. Esto se atribuye, al hecho de que en el censo final se observaron manchas blancas y el deterioro de las aletas, escamas y branquias. Esta afectación se debió a la presencia de hongos (Anexo A).

### **Cuadro 88**

*Pesos promedios, ganancia diaria de peso (GDP), índice de conversión alimenticia (ICA) y sobrevivencia de tilapia gris (Oreochromis niloticus) en un sistema acuapónico con lechuga (Lactuca sativa var. Kristine) en Zamorano, Honduras*

No. Peces Final	Peso promedio (g)		GDP (g)	ICA	Sobrevivencia (%)
	Inicial	Final			
35	238.33	279.6	1.15	2.62	62.5

*Nota.* GDP: Ganancia diaria de peso, ICA: Índice de conversión alimenticia

Algunos hongos Oomycetos, como *Saprolegnia parasítica* que se emparenta con las algas cafées pertenecientes al reino Chromista o Stramenolepis pueden causar enfermedades en los cultivos de peces de agua dulce (Parra Laca et al., 2006). Una de estas enfermedades es la saprolegniasis, la cual se reconoce por la aparición de parches blancos o grises que se observan a simple vista, se conforman de micelio filamentoso que se posiciona en las aletas, superficie del cuerpo y ovas de peces. Estos hongos oportunistas son saprofitos ubicuos que atacan peces cuando se producen

cambios repentinos en las condiciones medioambientales. Generalmente, un cambio brusco de temperatura con niveles altos de amonio y un animal en estrés dan cabida al género *Saprolegnia* como un patógeno primario que desencadena una serie de efectos como la inmunosupresión ocasionando la muerte de los peces (González et al., 2001).

### ***Ganancia Diaria de Peso***

La ganancia diaria de peso (GDP) fue 1.15 g/pez. Este resultado está dentro de una normalidad en escalas productivas de tilapia gris, teniendo en cuenta la adversidad de la constante de variación de temperaturas en los tanques acuícolas. Los peces son animales de sangre fría y su temperatura corporal varía con la del agua. A temperaturas más altas el metabolismo del pez se acelera resultando en un mejor crecimiento o ganancia de peso (Medina Flores, 2009).

### ***Índice de Conversión Alimenticia (ICA)***

El ICA promedió fue de 2.62 para todos los peces del ensayo (Cuadro 4). En buenas condiciones las tilapias oscilan entre un ICA de 1.4-1.8; lo que indicia que para cultivar una tilapia de 1.0 kg se requiere entre 1.4 y 1.8 kg de alimento (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2022). Un valor superior a 2 demuestra baja eficiencia de los peces para convertir el concentrado a biomasa. Muchos factores influyen en el ICA; en el caso del cultivo de tilapia están: la falta de alimento y la temperatura del agua (Meyer, 2004). A lo largo del experimento las condiciones ambientales no fueron constantes en los tanques acuícolas, ya que los recambios continuos estresaban las tilapias y por ende dejaban de alimentarse. Por otra parte, durante el experimento el sistema eléctrico de la unidad de Orgánica experimentó fallas, lo que resultó en fallos en el sistema de oxigenación que debía ser constante en los tanques; provocando alteraciones de temperatura en los peces e induciendo a estos al estrés y no se alimenten correctamente. El oxígeno en el agua es uno de los parámetros más relevantes en la piscicultura, cuando el oxígeno es mayor a 6 mg/l la tilapia se encuentra en las condiciones ambientales favorables para su crecimiento. Niveles

bajos de oxígeno disuelto (1,0 mg/l), provocan estrés; siendo una causa principal para el origen de infecciones patológicas y consumo desbalanceado en los peces. Al estar infectados y no consumir la ración alimentaria estipulada por el rango de peso y edad. Se obtiene como resultado una conversión alimenticia en las piletas (Cárnica Huaman, 2007).

Durante el estudio, fue necesario realizar recambios de agua de los tanques acuícolas cada cuatro días durante todo el experimento, en cada recambio se hacía un vaciado del 80%, ya que, dentro de los principios básicos para la realización de recambios de estanques, acuarios, tanques. Se considera vaciar un porcentaje máximo del 80%, ya que no se debe sustituir totalmente el agua de los tanques. En dado caso que se haya producido una contaminación en el agua si se debe realizar un recambio total acompañado de una desinfección de tanque y a la vez de los mismos peces. El agua vieja impide la aparición de ciertas enfermedades que son proliferadas por hongos y evita las variaciones de dureza y pH en el agua, si estos parámetros muestran una variabilidad constante se debe hacer una sustitución total del agua (Fontanillas Pérez, 2017).

## Conclusiones

Los tratamientos inoculados con *Azospirillum* sp. mostraron un mayor rendimiento en largo de la raíz, peso fresco foliar y peso fresco de raíz en comparación con el control. De este modo, la interacción *Azospirillum*-planta representa una alternativa biotecnológica en los sistemas acuapónicos que estimula el crecimiento vegetal mejorando su nutrición por biodisponibilidad de minerales y fijación del nitrógeno.

Los tratamientos con presencia de *Azospirillum* sp. mostraron una mejor calidad de agua con menor concentración de nutrientes. Lo cual demuestra que la inoculación de la bacteria mejora tanto el rendimiento de los cultivos como optimización en la absorción de nutrientes disueltos.

La tilapia gris *Oreochromis niloticus* dentro del sistema acuapónico con lechuga (*Lactuca sativa* var. Kristine) obtuvo una GDP de 1.15 gramos, ICA de 2.62 y una sobrevivencia de 62.5%. Estos parámetros dentro de estándares productivos para tilapia, no obstante, no cumplen con los niveles óptimos reportados para la zona.

### Recomendaciones

Realizar una única aplicación de *Azospirillum* sp., al sustrato de las plántulas de lechuga durante la fase de invernadero para incrementar rendimientos en la producción.

Evaluar diferentes dosis de inoculación de *Azospirillum* sp., para analizar si existen diferencias en la efectividad de la bacteria para fijar nitrógeno y absorber nutrientes.

Se recomienda reubicar el sistema acuapónico bajo un invernadero en una zona con menos fluctuaciones en la energía eléctrica, con mejor acceso a una tubería de agua para los recambios y realizar las reparaciones y mantenimiento tanto de la infraestructura como de las bombas.

Implementar sistemas acuapónicos en las regiones áridas que no tienen abastecimiento de agua para riego. Como a su vez; a medianos productores orgánicos que buscan la producción de un doble cultivo, como lo es la lechuga y los peces.

En un sistema acuapónico con recirculación abierta se sugiere el fertirriego de plantaciones agrícolas cercanas al sistema para dar un segundo aprovechamiento al agua proveniente de los recambios periódicos de las panas en donde se ubican las plantas.

## Referencias

- Aguilar, L. (2020). *Producción masiva de Azospirillum spp., formulación, control de calidad y su uso en la agricultura: Revisión de Literatura* [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/b300293e-14dd-4b8d-9a08-60578e467891/content>
- Aplicaciones foliares de calcio y silicio en la incidencia de mildiu en lechuga* (24ª ed.). (2006). Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C.
- Barahona, A. y Castillo, J. (2011). *Producción de tomate y tilapia en un sistema acuapónico con 50, 100, 150 y 200 ppm de nitrógeno*. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4368/1/T3209.pdf>
- Barbieri, P., Zanelli, Tiziano, Galli, Enrica y Zanetti, G. (1986). Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. *FEMS Microbiology Letters*, 36, 87–90. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378109786901369>
- Barzan, R. R., Takahashi, H. W., Fregonezi, G. A. d. F., Di Sampaio, M. L. Y., Firmano, R. F. y Contreras, H. A. S. (2020). Manejo de nutrientes en solución basado en la conductividad eléctrica y concentración de iones en lixiviados de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Acta Agronómica*, 69(3). <https://doi.org/10.15446/acag.v69n3.81441>
- Bashan, Y. y Bashan, L. E. de. (2008). Plant growth-promoting bacteria and green microalgae: a convenient model for basic studies of plant-bacterium interactions. En F. D. Cassan y I. Garcia de Salamone (Eds.), *Azospirillum sp.: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina* (pp. 37–48). Asociación Argentina de Microbiología. [https://www.researchgate.net/publication/255484261\\_Plant\\_growth-promoting\\_bacteria\\_and\\_green\\_microalgae\\_a\\_convenient\\_model\\_for\\_basic\\_studies\\_of\\_plant-bacterium\\_interactions](https://www.researchgate.net/publication/255484261_Plant_growth-promoting_bacteria_and_green_microalgae_a_convenient_model_for_basic_studies_of_plant-bacterium_interactions)
- Blanchard, C., Wells, D., Pickens, J. y Bleresch, D. (2020). Effect of pH on Cucumber Growth and Nutrient Availability in a Decoupled Aquaponic System with Minimal Solids Removal. *Horticulturae*, 6(1), 10. <https://doi.org/10.3390/horticulturae6010010>
- Boyd, C. (2017). *Conductividad eléctrica del agua, parte 2 - Responsible Seafood Advocate*. Global Seafood Alliance. <https://www.globalseafood.org/advocate/conductividad-electrica-del-agua-parte-2/>
- Buschmann, A. (2001). *Un análisis bibliográfico de los avances y restricciones para una producción sustentable en los sistemas acuáticos*. Universidad de Los Lagos. <https://siar.minam.gob.pe/puno/documentos/impacto-ambiental-acuicultura-estado-investigacion-chile-mundo>
- Cárnica Huaman, F. (2007). *Crecimiento óptimo de tilapia roja Oreochromis spp. a diferentes densidades de cultivo en agua de mar* [Tesis]. Universidad Nacional del Callao, Callao, Perú. <http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/344/T.639.2.C26.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Carnicer, S., M.S, S., M.R, D. y M.C, L. (2020). *Contenido de antioxidantes totales y clorofila en lechuga bajo fertilización orgánica con compost*. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/9265>

- Carranza, E. O. y Aceituno, C. A. (2019). Evaluación de la tolerancia a la salinidad de la tilapia roja (*Oreochromis spp*) en diferentes densidades de siembra en la región sur de Honduras. *Revista Ciencia Y Tecnología*(24), 49–63. <https://doi.org/10.5377/rct.v0i24.7876>
- Cavins, T. J., Whipker, B. E. y Fonteno, W. C. (2008). Pourthru: a method for monitoring nutrition in the greenhouse. *Acta Horticulturae*(779), 289–298. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.779.35>
- Comisión Europea. (2013). *Una agricultura sostenible para el futuro que queremos*. Unión Europea. <http://santic.rds.hn/wp-content/uploads/2013/06/Una-agricultura-sostenible-para-el-futuro-que-qieremos.pdf>
- Cortés Jiménez, D. (2013). *Potencial de *Chorella Vulgaris* y *Azospirillum Brasilense* como biofertilizantes en cultivos hidropónicos de tomate (*Solanum Lycopersicum*)* [Tesis profesional que para obtener el grado de Doctor en Ingeniería]. Universidad Autónoma de Baja California. 10.13140/2.1.2166.5926
- Criollo, V. (2015). *Tiempo óptimo de cosecha de la tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) en Zamorano, Honduras* [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/cc2dea73-06c5-4152-98b2-cd5b404452ec/content>
- De-Bashan, L. E., Holguin, G., Glick, B. y Bashan, Y. (Eds.). (2007). *Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales*. Editorial Trillas, Ciudad de México.
- Díaz-Saez, Y., Díaz-de los Ríos, M., Casas, M., Nuñez-Caraballo, A. y Martínez-Mora, M. (2013). Crecimiento de *Azospirillum brasilense* en presencia de disacáridos: sacarosa y lactosa. *ICIDCA. Sobre Los Derivados De La Caña De Azúcar*, 47(2), 23–30. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223128548004.pdf>
- Fontanillas Pérez, J. C. (2017). *Acuariofilia: Enfermedades y Tratamientos en peces de Acuario*. Universidad Complutense de Madrid. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6024603>
- Food and Agriculture Organization. (2002). *Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030*. <https://www.fao.org/3/y3557s/y3557s11.htm>
- Food and Agriculture Organization. (2018). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018*. <https://www.fao.org/3/i9540es/i9540ES.pdf>
- French, E., Kozlowski, J. A., Mukherjee, M., Bullerjahn, G. y Bollmann, A. (2012). Ecophysiological characterization of ammonia-oxidizing archaea and bacteria from freshwater. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(16), 5773–5780. <https://doi.org/10.1128/AEM.00432-12>
- Fukase, E. y Martin, W. (2020). Economic growth, convergence, and world food demand and supply. *World Development*, 132, 104954. <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2020.104954>
- Fundación Observatorio Español de Acuicultura. (2013). *Estrategia para el desarrollo sostenible de la acuicultura española*. Madrid, España. Fundación Observatorio Español de Acuicultura, Madrid. [https://www.observatorio-acuicultura.es/sites/default/files/images/adjuntos/libros//edsae\\_corregido\\_web2.pdf](https://www.observatorio-acuicultura.es/sites/default/files/images/adjuntos/libros//edsae_corregido_web2.pdf)
- Gabbarini, L., Goñi, S., Ripoll, G., Wagner, J. y Zinni, M. A. (2005). *Hidroponía y promoción del crecimiento de plántulas Hidroponía y promoción del crecimiento de plántulas de tomate*

- inoculadas con bacterias PGPR.* Serie Digital.  
<http://www.unq.edu.ar/advf/documentos/4fe9cb613942a.pdf#page=65>
- García, G. y Pérez, D. (2019). *Sistema acuaponico como alternativa sustentable para la agricultura y la piscicultura actual.*  
[https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12840/2438/Gabriela\\_Trabajo\\_Bachillerato\\_2019.pdf?sequence=4&isAllowed=y](https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12840/2438/Gabriela_Trabajo_Bachillerato_2019.pdf?sequence=4&isAllowed=y)
- Goddek, S., Delaide, B., Mankasingh, U., Ragnarsdottir, K., Jijakli, H. y Thorarinsdottir, R. (2015). Challenges of Sustainable and Commercial Aquaponics. *Sustainability*, 7(4), 4199–4224.  
<https://doi.org/10.3390/su7044199>
- González, M. L., Bosco Ortiz, J., González del Valle, Manuel A. y Sarasquete, C. (2001). Saprolegniasis en poblaciones naturales de peces. *Ciencias Marinas*, 27(1), 125–137.  
<https://www.redalyc.org/pdf/480/48027108.pdf>
- Graber, A. y Junge, R. (2009). Aquaponic Systems: Nutrient recycling from fish wastewater by vegetable production. *Desalination*, 246(1-3), 147–156.  
<https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.03.048>
- Helbel Junior, C., Rezende, R., Freitas, P., Andrade, A. y Frizzone, J. (2008). Influência da condutividade elétrica, concentração iônica e vazão de soluções nutritivas na produção de alface hidropônica. *Ciência E Agrotecnologia*, 32(4), 1142–1147.  
<https://www.scielo.br/j/cagro/a/MZTMDtRVktnTgjmX4hcqT6C/?format=pdf&lang=pt>
- Plan de desarrollo y programa de inversiones: Territorio de Yeguaré.* (2018). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
- Lardizabal, R. y Medlicott, A. (2010). *Compendio de manuales de producción de frutas y Compendio de manuales de producción de frutas y hortalizas.* La Lima, Cortés, Honduras: MCA- Honduras.
- Lugo, B., García, J., Mendoza, A. y Barrera-Saldaña, H. (Eds.) (2001). *Variabilidad simbiótica de cepas nativas de Azospirillum spp. en maíz y sorgo en zonas áridas del norte de Tam.*  
[https://smbb.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA\\_IV/CIV-31.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA_IV/CIV-31.pdf)
- Martínez Turcios, A. D. y Chávez Chávez, J. I. (2017). *Producción de tilapia en la etapa de engorde con dos estrategias de alimentación* [Tesis], Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/login>
- Medina Flores, G. M. (2009). *Comparación del pre-engorde de alevines de tilapia del Nilo e híbrido rojo de tilapia en tres ambientes en Zamorano, Honduras* [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. <https://bdigital.zamorano.edu/login>
- Mesa, L. (2021). *Evaluación de la eficiencia de un sistema de acuaponía por biofiltración en el sistema RAS* [Trabajo de grado para optar por título de zootecnista]. Unilasallista Corporación Universitaria, Caldas-Antioquia. <http://hdl.handle.net/10567/3185>
- Meyer, D. E. (2004). *Introducción a la Acuicultura.*
- Munguía, P. (2019). *Metagenómica de un sistema acuaponico.* <http://ring.uaq.mx/bitstream/123456789/2026/1/143239-MUNGUIA%20FRAGOZO%20PERLA%20VALERIA%20%20-A.pdf>
- Sistemas de recirculación acuapónicos.* (2012).

- Organización de las Naciones Unidas. (2020). *Población: Una población en crecimiento*. Naciones Unidas. <https://www.un.org/es/global-issues/population>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2022). *Producción de alimentos en acuaponía a pequeña escala – Cultivo integral de peces y plantas*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). <https://doi.org/10.4060/i4021es>
- Osorto, E. (2020). *La acuaponia como un sistema sostenible para la producción de alimentos*. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. <https://www.zamorano.edu/2020/12/17/la-acuaponia-como-un-sistema-sostenible-para-la-produccion-de-alimentos/>
- Osorto, E. (2021). *Producción de lechuga en acuaponía con adición de fertilizantes orgánicos líquidos y bacterias promotoras de crecimiento*. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano.
- Parra, Yanet, Cuevas y F (2002). Potencialidades de Azospirillum como inoculante para la agricultura. *Cultivos Tropicales*, 23(3), 31–41. <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193218120004.pdf>
- Parra Laca, R., García-Gil de Muñoz, F., Borrego Enríquez, L. y Mendoza, H. (2006). Detección de hongos y oomycetos en cultivos de peces dulceacuícolas empleando el kit BIAADETECT, producto desarrollado a partir del homóptero *Dactylopius coccus*. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria*, 5(5). <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2986635.pdf>
- Pérez, M., Sáenz, M. y Martínez, E. (2015). Crecimiento de las tilapias *Oreochromis niloticus* en cultivo Monosexual y Ambos sexos, en sistemas de producción semi - intensivos. *Revista Científica De La UNAH-León*, 6, Artículo 1, 72–79. 10.22004/ag.econ.232908
- Romero, F., Camelo, M., Criollo, P. y Bonilla, R. (2015). Efecto de la temperatura y el pH en la producción de biomasa de *Azospirillum brasilense* C16 aislada de pasto guinea. *Pastos Y Forrajes*, 38(3), 171–175. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269141594003>
- Roncagliolo Manrique, J. A. (2015). *Efectos de Sistemas Hidropónicos con aplicación de Microorganismos Eficaces (EM), en el rendimiento de lechuga híbrida rosabella roja (Lactuca sativa L.), en condiciones de la Unidad de Hidroponía UNHEVAL - Huánuco 2014 [Tesis]*. Universidad Nacional Hermilio Valdizan, Huanuco, Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.13080/1613>
- Saavedra, M. (2006). *Manejo del cultivo de tilapia*. <https://www.crc.uri.edu/download/MANEJO-DEL-CULTIVO-DE-TILAPIA-CIDEA.pdf>
- Sainju, U. (2003). Mineral nutrition of tomato. *Food, Agriculture & Environment*. [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/45511371/Mineral\\_nutrition\\_of\\_tomato20160510-9844-joed8i-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1657854318&Signature=MDcld1-jpgoINt5Y8cbM46fgoL4g0S2Jz1u3Fpd0wpeYtBLnYcjFpqp96~ti7-qbojU~9ii3qOKTGj2fyt3E99b~9W8HkobXJzYkzNID2zm~Un5btOJKremoOySdWc-azIfOlcLjfQsVdNtBr4ZV6oHT2DK7gabMTf9~d1cjbwKCiSm9CT10wcnQgqkYLkBWgVq~T8X28CxxMMx2Chc3eNmOTtNINLJRde-fwe4nUT-J~8tj9CrkPFgzFLKMu9tj7nW61RrUJ7ViRnVd4Hd3e3~OjjOVZIDJsX3VRtFMWN~ks919SrUu-FchdHfxRoRBR~Sqo-OIZA9fzT2YxVWg\\_\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/45511371/Mineral_nutrition_of_tomato20160510-9844-joed8i-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1657854318&Signature=MDcld1-jpgoINt5Y8cbM46fgoL4g0S2Jz1u3Fpd0wpeYtBLnYcjFpqp96~ti7-qbojU~9ii3qOKTGj2fyt3E99b~9W8HkobXJzYkzNID2zm~Un5btOJKremoOySdWc-azIfOlcLjfQsVdNtBr4ZV6oHT2DK7gabMTf9~d1cjbwKCiSm9CT10wcnQgqkYLkBWgVq~T8X28CxxMMx2Chc3eNmOTtNINLJRde-fwe4nUT-J~8tj9CrkPFgzFLKMu9tj7nW61RrUJ7ViRnVd4Hd3e3~OjjOVZIDJsX3VRtFMWN~ks919SrUu-FchdHfxRoRBR~Sqo-OIZA9fzT2YxVWg__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)
- Sandoval, M., Reyes-Flores, M., Rodríguez-Mendoza, M. d. I. N. y Trejo-Téllez, L. I. (2020). Calidad de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) producido en acuaponía complementado con fertilización

foliar de micronutrientes. *Agro Productividad*, 13(5).  
<https://doi.org/10.32854/agrop.vi.1635>

- Sangoquiza, C., Tamayo, Y. y Yáñez, C. (2017). Respuesta biológica de aislados de *Azospirillum* spp. frente a diferentes tipos de estrés. *Centro Agrícola*, 45(1).  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-57852018000100005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852018000100005)
- Scaturro, G. N. (2019). *Evaluación de dos sistemas de producción de lechuga en hidroponía y un cultivo tradicional bajo cubierta* [Tesis]. Universidad Nacional de Luján, Luján, Buenos Aires, Argentina. <http://ri.unlu.edu.ar/xmlui/handle/rediunlu/674>
- Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A. y Lovatelli, A. (2022). *Producción de alimentos en acuaponía a pequeña escala: Cultivo integral de peces y plantas*. FAO. <https://www.fao.org/3/i4021es/i4021es.pdf>
- Timmons, M. B., Ebeling, J. M., Wheaton, F. W., Summerfelt, S. T. y Vinci, B. J. (2002). *Sistemas de Recirculación para la Acuicultura* (2ª ed.). Fundación Chile.
- Tyson, R., Simonne, E. y Treadwell, D. D. (2008). Reconciling pH for Ammonia Biofiltration and Cucumber Yield in a Recirculating Aquaponic System with Perlite Biofilters. *HortScience*, 43(3).  
<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.3.719>
- Velandia, K. (2016). *Aislamiento y caracterización de bacterias diazotróficas en cultivos de caña panelera de las regiones del occidente de Cundinamarca y la hoya del Río Suarez* [Tesis]. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/59546/karenavesavelandiaprieto.2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**Anexos****Anexo A**

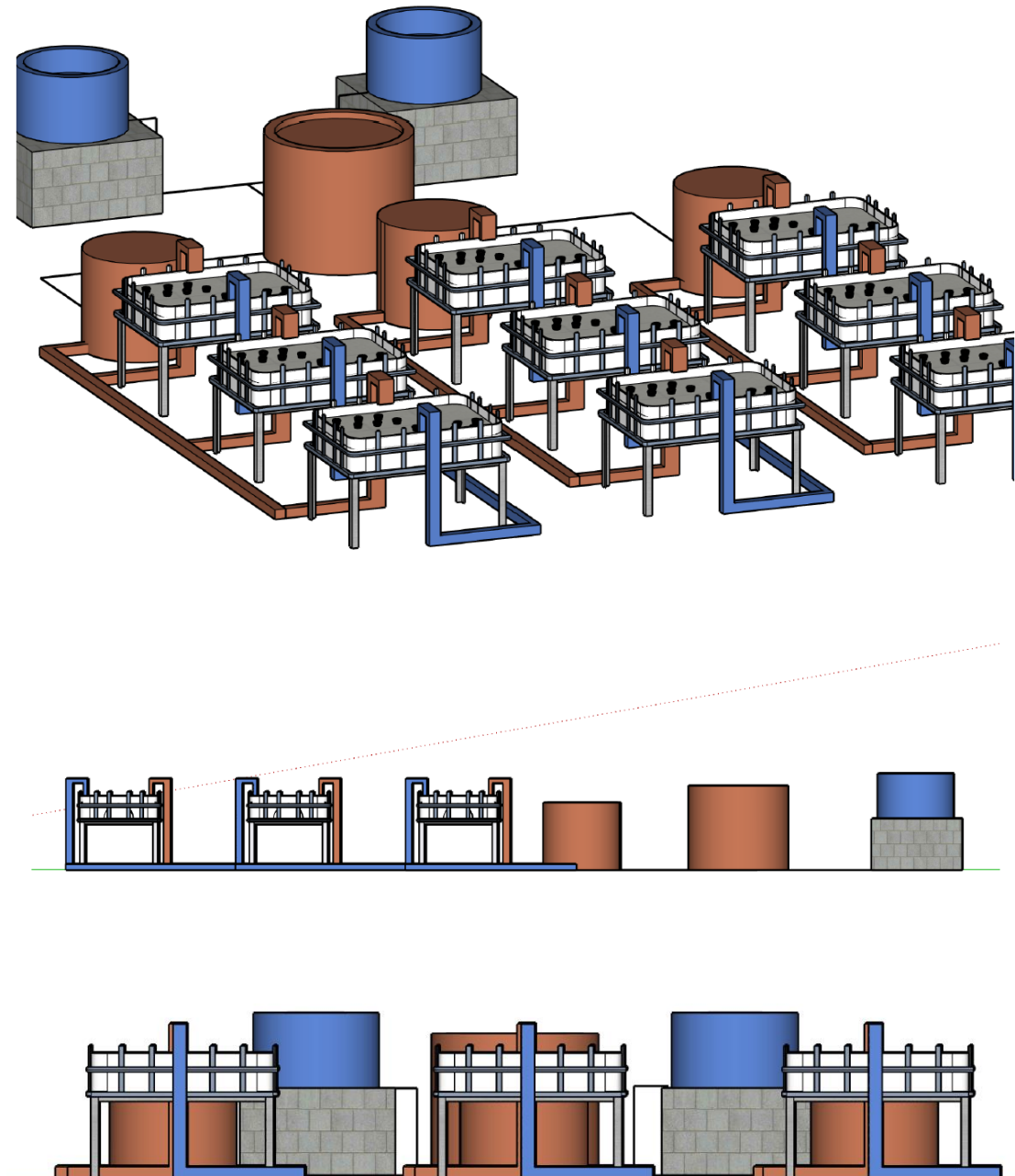
*Tilapia (Oreochromis niloticus) de los tanques acuícolas infectado con saprolegniasis*



**Anexo B**

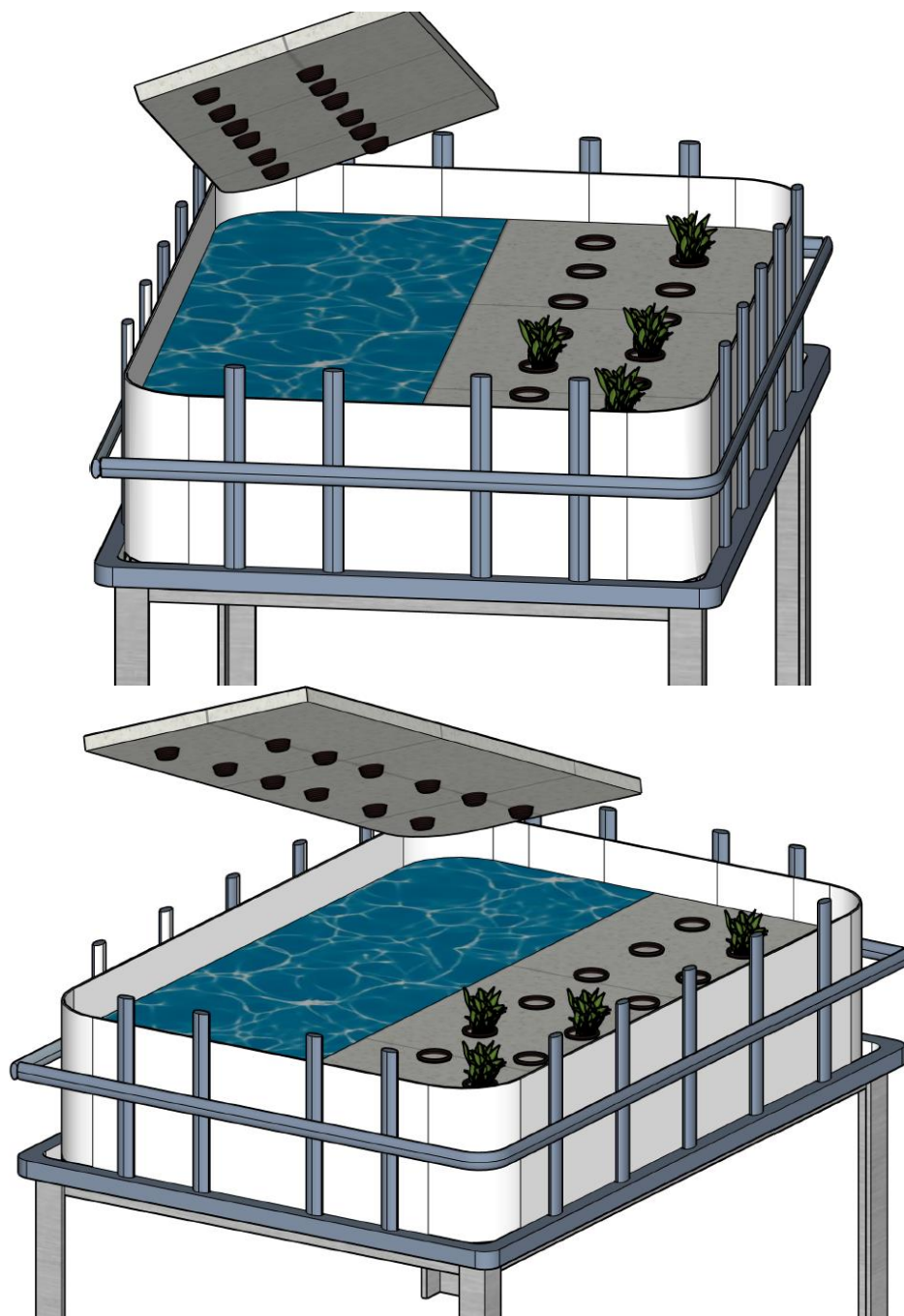
*Sistema acuapónico de raíz flotante de lechuga (*Lactuca sativa* var. *Kristine*) y tilapia gris (*Oreochromis niloticus*) en asocio con la rizobacteria *Azospirillum* sp.*

SketchUp



**Anexo C**

*Postura a tres bolillos de la Lechuga (Lactuca sativa var. Kristine) en cada unidad experimental del sistema acuapónico.*



*Nota.* Elaboración propia con el programa SketchUp.

### Anexo D

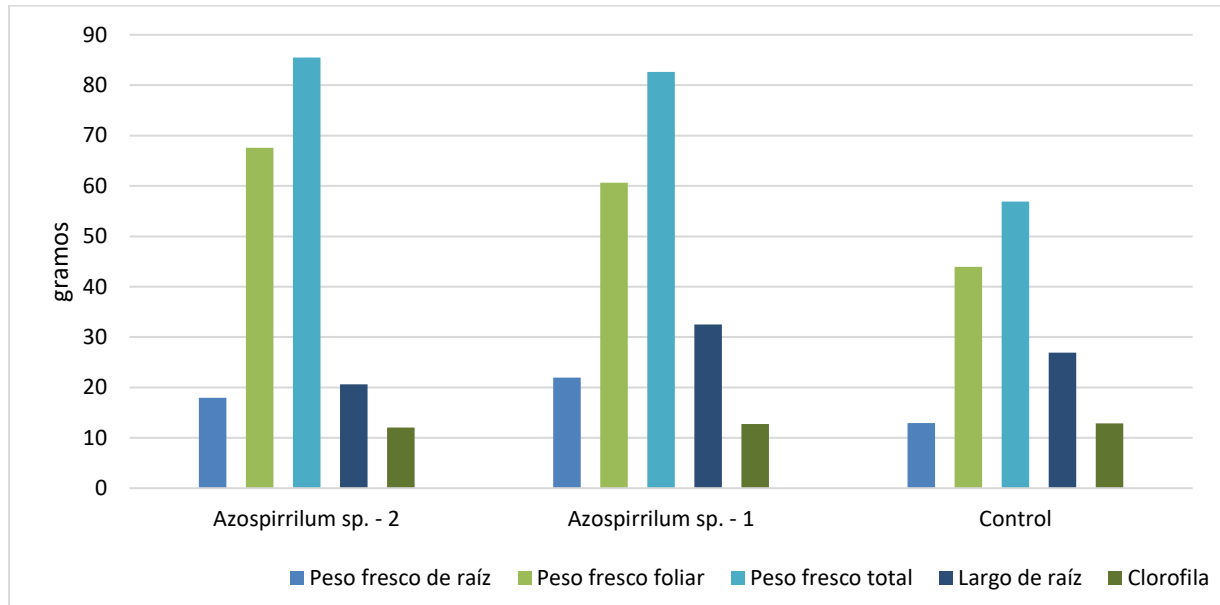
*Análisis del margen de utilidad, margen bruto porcentual y relación costo-beneficio de la comercialización de lechuga (Lactuca sativa var. Kristine) con la adición de Azospirillum sp. y con la ausencia de esta.*

Costos de producción para un mes	Con bacteria	Sin bacteria
Total semillas	73.87	73.87
Total fertilizantes	368.57	368.57
Total tilapias	139.13	139.13
Bacteria	181.440	-
Mano de obra	513.000	513.00
Costo total	1,276.01	1,094.57
Ingreso total	2,636.63	1,703.39
Utilidad neta	1,360.62	608.82
RCB	2.07	1.56

Costos de producción para un año	Con bacteria	Sin bacteria
Total semillas	886.39	886.39
Total fertilizantes	4,422.86	4,422.86
Total tilapias	1,669.59	1,669.59
Bacteria	2,177.280	-
Mano de obra	6,156.000	6,156.00
Costo total	15,312.12	13,134.84
Ingreso total	31,639.60	20,440.64
Utilidad neta	16,327.48	7,305.80
RBC	2.07	1.56

**Anexo E**

*Rendimiento de lechuga (Lactuca sativa var. Kristine) en peso fresco de raíz, foliar y total por cada tratamiento.*



## Anexo F

*Análisis de nutrientes, pH y conductividad eléctrica del agua y fertilizante orgánico utilizado en el ensayo.*

Descripción	pH	CE	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Ca	Mg	Fe	K
		mS/cm				ppm			
Agua	7.01	0.12	1.14	0	0	4.16	1.81	0.46	4.88
Té de abonos orgánicos	6.33	4.18	123	60.6	0.03	63.01	53.31	85.18	750

*Nota.* Tomado de Osorto, 2021, CE: Conductividad eléctrica, ppm: partes por millón.

**Anexo G**

*Diferencia del sistema radicular en las unidades experimentales de los tratamientos en el sistema acuapónico con lechuga (*Lactuca sativa* var. *Kristine*) y tilapia (*Oreochromis niloticus*)*



*Nota.* Enraizamiento en el Control



*Nota.* Enraizamiento en el *Azospirillum* sp. – 1



Nota. Enraizamiento en el *Azospirillum* sp. - 2