



Universidad Autónoma de Querétaro
 Facultad de Ingeniería
 Maestría en Ciencias línea terminal Ingeniería en Biosistemas



Cultivo Acuapónico Carpa Koi (*Cyprinus carpio* L., 1758) – *Cuphea* spp.
 con potencial nutracéutico

Opción de titulación
Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
 Maestría en Ciencias

Presenta:
 Priscila Sarai Flores Aguilar

Dirigido por:
 Dr. Juan Fernando García Trejo

Dr. Juan Fernando García Trejo
 Presidente

Firma

Dr. Genaro Martín Soto Zarazúa
 Secretario

Firma

Dr. Ramón Gerardo Guevara
 Vocal

Firma

M. en C. Adán Mercado Luna
 Suplente

Firma

Dr. Manuel Toledano Ayala
 Suplente

Firma

Dr. Aurelio Domínguez González
 Director de la Facultad de Ingeniería

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
 Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario Querétaro, Qro.
 Febrero 2017 México

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un sistema acuapónico de recirculación continua (SAQ,) de *Cuphea spp.* con *Cyprinus carpio* L. para incrementar la producción de metabolitos especializados (ME) en plantas con el enfoque de uso ornamental en interiores. Se probaron tres variedades, *C. hyssopifolia*, *C. ignea* y *C. cyanea* con sus controles en tierra durante 90 días bajo sistema protegido con un microclima específico de la zona de Amazcala, el Marqués, Querétaro, México. La variedad *C. ignea* no mostró tener las características adecuadas para ser introducida en el SAQ. Se observó que la variedad *C. hyssopifolia* contenía la mayor concentración de ME y se mantuvo con un valor de 63.39 mg/g respecto del control al final del tratamiento del SAQ. Su CAO mediante método DPPH fue de 28.81 mg/g y por método de FRAP 19.66 mg/g. Los análisis estadísticos (Fisher LSD, 95% de confianza) mostraron diferencia significativa (DS) en la concentración de Fenoles Totales (FT) y en su capacidad antioxidante (CAO) entre la *Cuphea spp.* al ser introducidas en un SAQ. Una comparación de *C. cyanea* en SAQ y en un sistema Hidropónico tradicional (SH) reveló que existieron DS al final de 90 días, la variedad en el SAQ mostró mantenerse 1.25 mg/g mayor respecto del control y 1.41 mg/g respecto del SH en la concentración de FT. Su CAO por DPPH fue 7.94 mg/g respecto del control inicial y 2.72 respecto del SH. Estos resultados se confirmaron mediante UPC².

Palabras clave: *Biosistemas, Cultivo en Interiores, Nutraceuticos, Acuaponía, plantas medicinales.*

SUMMARY

The aim of this work was to develop an aquaponic continuous recirculation system (SAQ) of *Cuphea spp.* with *Cyprinus carpio* L. to increase the production of specialized metabolites (ME) in plants with ornamental indoor use. Three varieties, *C. hyssopifolia*, *C. ignea* and *C. cyanea* were tested with their controls on soil for 90 days under a protected system with a specific microclimate from the Amazcala, Marques, Queretaro, Mexico area. The *C. ignea* variety did not show adequate characteristics to be introduced into the SAQ. It was observed that the variety *C. hyssopifolia* contained the highest concentration of ME and was maintained with a value of 63.39 mg / g with respect to the control at the end of the SAQ treatment. Its CAO by DPPH method was 28.81 mg / g and by the FRAP method 19.66 mg / g. Statistical analyzes (Fisher LSD, 95% confidence) showed significant difference (DS) in the concentration of Total Phenols (FT) and in its antioxidant capacity (CAO) between *Cuphea spp.* when introduced into an SAQ. A comparison of *C. cyanea* in SAQ and a traditional hydroponic system (SH) revealed that DS existed at the end of 90 days, the SAQ variety showed to be 1.25 mg / g higher than control and 1.41 mg / g to SH In the FT concentration. Their CAO per DPPH was 7.94 mg / g from the initial control and 2.72 from the SH. These results were confirmed by UPC2.

Keywords: *Biosystems, Indoor growing, Nutraceuticals, Aquaponics, Medicinal plants.*

DEDICATORIA

A mi Dios y Padre, por permitirme vivir hasta hoy.

A mis padres (Jesús y Luzma); por apoyarme, instruirme y guiarme en un camino lleno de gracia y de la vida de iglesia, que es el tesoro más precioso que llevaré conmigo.

A mi hermana Keila por prepararme mentalmente para todo este arduo y al final, satisfactorio trabajo, y a mis dos hermanos con sus familias por hacerme los momentos pesados más divertidos.

A mi esposo Edgar, porque mis logros también son suyos y por toda la comida que preparó especialmente para cada situación difícil.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis (el Profe Fer), por compartir su experiencia y guía.

A mis dos compañeras de Generación (Julieta y Brenda), por ser cuidadosas de mi persona y por todos los desvelos que pasamos juntas.

A mis compañeros de Laboratorio de Bioingeniería (los bodegos y los del Lab), en especial a Isabel, por su guía en los procedimientos y uso de los programas, por acompañarme en cada técnica y explicarme tantas veces las mismas cosas.

A mis maestros, por su paciencia y dedicación en impartir cada tema.

A Raúl, a los técnicos del Laboratorio y de los invernaderos de Bioingeniería Acuícola, por toda su ayuda para realizar el proyecto.

Al CONACyT, por la confianza y apoyo financiero con número de registro 334856, y de igual manera a mi querida Universidad Autónoma de Querétaro por la beca otorgada para realizar este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	2
SUMMARY	3
DEDICATORIA.....	4
AGRADECIMIENTOS	5
TABLA DE CONTENIDOS	6
ÍNDICE DE TABLAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS	11
INTRODUCCIÓN	16
a) Justificación	17
b) Descripción del problema.....	17
c) Hipótesis	18
d) Objetivos	18
General	18
Particulares	18
ANTECEDENTES	19
a) Técnicas de Cultivo: Hidropónia	19
b) Cultivo sin suelo	19
c) Nutricultura.....	19
d) Técnica de Cultivo en Capa (Nutrient Film Technique –NFT)	20
e) Cultivo en tanques y sistemas de recirculación (SR)	22
f) Los estudios más recientes en Acuapónia.....	22
g) Efectos del cultivo entre las diferentes variedades	23

h)	Organismo acuático Carpa Koi (<i>Cyprinus carpio</i> L., 1758)	24
	Taxonomía del Género <i>Cyprinus</i> (<i>FIGURA 3</i>).....	24
	Historia de la Carpa Koi	24
	Grado de acidez o basicidad en el agua (pH)	26
	Conductividad.....	26
i)	Organismos vegetales	27
	Taxonomía del género <i>Cuphea</i>	27
	Variedades <i>Cuphea</i> spp. (<i>FIGURA 4</i>).....	27
	Fitoquímicos aislados de <i>Cuphea</i> spp. y actividades en general	29
	Requerimientos nutricionales de las plantas	29
j)	Metabolismo y estrés Oxidativo	30
MATERIALES Y MÉTODOS		32
k)	Diseño Experimental	32
l)	Diagrama de flujo para la búsqueda del aumento de nutraceuticos	33
m)	Sitio experimental.....	34
n)	Diseño del Sistema	34
	Prototipo I.....	35
	Prototipo II.....	35
o)	Material Vegetal	37
p)	Material Animal	37
	Densidad	37
q)	Montaje de Biosistemas en invernadero e inicio del experimento	38
r)	Pre-tratamiento	41
s)	Determinaciones	41
	Preparación del Extracto	41

Determinación de Nitrógeno Total.....	41
Determinación de Fenoles Totales.....	42
Determinación de Flavonoides Totales	42
Determinación de capacidad antioxidante (CAO).....	43
Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos cromatografía de convergencia (UPC2: Ultra-performance convergence chromatography) .	43
t) Análisis Estadístico	45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46
a) Diseño y Caracterización del sistema de cultivo Acuapónico de <i>Cuphea spp.</i> con carpa Koi.....	46
Prototipo I.....	46
Prototipo II.....	47
Caracterización de los estimadores de Temperatura, Radiación y calidad de agua dentro del sistema protegido.....	50
b) Monitorear el comportamiento del sistema de los cultivos tradicional y Acuapónico.....	52
Valores de concentraciones en la calidad de agua inicial	52
Monitoreo de calidad del agua a través del tiempo en las <i>Cuphea spp.</i> con su control (1)	56
Monitoreo de calidad del agua a través del tiempo en las <i>Cuphea spp.</i> con su control (2)	57
Monitoreo de calidad del agua a través del tiempo en las <i>Cuphea spp.</i> con su control (3)	58
c) Determinar diferencias significativas en el contenido de nutraceuticos por los diferentes tratamientos.	61
CONCLUSIÓN	72
BIBLIOGRAFÍA	73

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 Método para detección de los compuestos de <i>Cuphea spp.</i> con el UPC ² . Condiciones en las que se introdujeron las muestras: Volumen de inyección: 10 µL, Flujo: 1.5 mL/min, Columna: Viridis BEH 5µm, 4.6 X 100 mm, Temperatura de columna: 40 °C, ABPR: 1500 psi. *CO ₂ grado Coleman.	44
Tabla 2 Valores de radiación Máximos alcanzados en los diferentes meses que se llevó a cabo el experimento.	51
Tabla 3 Porcentajes de Humedad Relativa de una semana representativa en los meses de Diciembre y Marzo.	51
Tabla 4 Temperaturas Máximas y mínimas registradas dentro del invernadero y sus respectivos promedios.	51
Tabla 5 Valores de porcentaje de humedad obtenidos de las variedades al inicio del proceso de aclimatación y al término del experimento (90 días)	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Representación general de los sistemas acuapónicos cerrados. Usados normalmente para la producción intensiva dentro de sistemas protegidos.	20
Figura 2 Transformación de los compuestos por los diferentes microorganismos y sus desechos para asimilación de las plantas. Las flechas azules indican que tener baja concentración de amonio y nitritos y altas concentraciones de nitratos, es lo ideal en éstos sistemas.	21
Figura 3 Organismo Acuático utilizado para los Biosistemas. Variedades obtenidas de acuario, líneas genéticas impuras.	24
Figura 4 Especies utilizadas en los sistemas acuapónicos. <i>Cuphea cyanea</i> , <i>Cuphea ignea</i> y <i>Cuphea hyssopifolia</i> respectivamente.	27
Figura 5 Tipos de metabolismo de las plantas y agentes de pueden inducir la formación de metabolitos especializados.	30
Figura 6 Diseño experimental de los sistemas acuapónicos con sus controles. El experimento se realizó dentro de un sistema protegido.	32
Figura 7 Diagrama de Flujo con tiempos para cada parte del experimento. Previo a los 90 días de experimento, fueron necesarios más de 150 días para poder llegar al paso de la introducción de las especies nativas en los sistemas de recirculación cerrados.	33
Figura 8 Vista aérea del sitio experimental. UAQ Campus Amazcala, El Marqués, delimitado por la línea roja.	34
Figura 9 Materiales utilizados para la construcción del diseño del prototipo II:	36
Figura 10 Algunos de los equipos que se ocuparon para obtener los valores de calidad de agua y las concentraciones de los compuestos fenólicos.	39
Figura 11 Pasos que se llevaron a cabo para obtener la Biometría de las <i>Cuphea spp.</i> y sus concentraciones de metabolitos especializados	40
Figura 12 Problemas encontrados al probar el prototipo I. Se muestran las fugas, y dobleces que causó el agua en las camas de plástico vulcanizado.	46

Figura 13 Prototipo II. Ensamblado, pruebas de resistencia y pruebas de caudal hechos previamente al tiempo de 90 días de los sistemas Acuapónicos. .	47
Figura 14 Pruebas de caudal, drenaje y sedimentación de agua sin organismo acuático y de agua con organismo acuático. Duración 15 días.....	48
Figura 15 Etapas de aclimatación de las <i>Cuphea spp.</i> 15 días antes del tiempo cero con la introducción de las mismas a los sistemas Acuapónicos.....	49
Figura 16 Cinética del flujo de Temperatura obtenida de una semana representativa dentro del invernadero.....	50
Figura 17 Cinética de la Radiación en el Invernadero de una semana representativa de los meses de Diciembre y Marzo.....	52
Figura 18 VALORES OBTENIDOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD DE AGUA –pH-	52
Figura 19 VALORES OBTENIDOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD DE AGUA –oxígeno disuelto-	53
Figura 20 VALORES OBTENIDOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD DE AGUA –conductividad	55
Figura 21 Dinámica de la acumulación de Nutrientes –Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Potasio (K) y Cloro (Cl)- a lo largo del tiempo.	56
Figura 22 Dinámica de la acumulación de Nutrientes -Amonio (NH ₄), nitratos (NO ₃), nitritos (NO ₂)- a lo largo del tiempo.....	57
Figura 23 Dinámica de la acumulación de Nutrientes -Fosfatos (PO ₄) y sulfatos (NO ₃) a lo largo del tiempo.....	58
Figura 24 Diferencias en la sedimentación de los desechos interna de las camas de cultivo.a lo largo del experimento. Las primeras tres muestran una progresión en el tiempo al inicio, al mes y al final. Las últimas dos muestran un acercamiento en la entrada del agua al canal.....	49
Figura 25 Cambios obtenidos en la concentración de fenoles totales (mg/g eq. Á. Gálico) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05) entre la media de la concentración de FENOLES entre un nivel y otro en <i>C. cyanea</i> con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. Razón-F= 19.92, Valor-P=0.0000.....	63

Figura 26 Cambios obtenidos en la concentración de fenoles totales (mg/g eq. Á. Gálico) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de FENOLES entre un nivel y otro en *C. cyanea* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. Razón-F= 19.92, Valor-P=0.0000..... **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 27 Cambios obtenidos en la concentración de flavonoides totales (mg/g eq. Catequina) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de FLAVONOIDES entre un nivel y otro en *C. hyssopifolia* (A) y entre un nivel y otro en *C. cyanea* (B) con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (A) Razón-F= 43.74, Valor-P=0.0000. (B) Razón-F=244.33, Valor-P=0.0000..... 63

Figura 28 Cambios obtenidos en la concentración en la capacidad antioxidante (CAO) por el método de DPPH (1) y FRAP (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de CAO entre un nivel y otro en *C. hyssopifolia* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=29.44, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=5.91, Valor-P=0.0082..... 64

Figura 29 Cambios obtenidos en la concentración en la capacidad antioxidante (CAO) por el método de DPPH (1) y FRAP (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de CAO entre un nivel y otro en *C. cyanea* (B) con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F= 317.57, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F= 138.83, Valor-P=0.0000. 64

Figura 30 Comparación de resultados obtenidos en Cultivo Acuapónico (A) y entre pruebas realizadas en cultivo Hidropónico (H) con las mismas condiciones climáticas y de calidad de agua dentro del mismo sistema protegido. Valores obtenidos de las diferencias en la concentración de fenoles totales (mg/g eq. Á. Gálico) en su toma INICIAL (1) y FINAL (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de FENOLES sólo con respecto al control (1) y entre un nivel y otro (2) en *C. cyanea* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=33.54, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=5.54, Valor-P=0.0105. 66

Figura 31 Comparación de resultados obtenidos en Cultivo Acuapónico (A) y entre pruebas realizadas en cultivo Hidropónico (H) con las mismas condiciones climáticas y de calidad de agua dentro del mismo sistema protegido. Valores obtenidos de las diferencias en la concentración de flavonoides (mg/g eq. Catequina) en su toma INICIAL (1) y FINAL (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de FLAVONOIDES sólo con respecto al control (1) y entre un nivel y otro (2) en *C. cyanea* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=490.07, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=60.36, Valor-P=0.0000 66

Figura 32 Comparación de resultados obtenidos en Cultivo Acuapónico (A) y entre pruebas realizadas en cultivo Hidropónico (H) con las mismas condiciones climáticas y de calidad de agua dentro del mismo sistema protegido. Valores obtenidos de las diferencias en la capacidad antioxidante (CAO) por el método de DPPH en su toma INICIAL (1) y FINAL (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración CAO por DPPH sólo con respecto al control (1) y entre un nivel y otro (2) en *C. cyanea* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=100.49, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=439.18, Valor-P=0.0000 67

Figura 33 Comparación de resultados obtenidos en Cultivo Acuapónico (A) y entre pruebas realizadas en cultivo Hidropónico (H) con las mismas condiciones climáticas y de calidad de agua dentro del mismo sistema protegido. Valores obtenidos de las diferencias en la capacidad antioxidante (CAO) por el método de FRAP en su toma INICIAL (1) y FINAL (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración CAO por FRAP sólo con respecto al control (1) y entre un nivel y otro (2) en *C. cyanea* con un nivel del 9.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=338.31, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=111.68, Valor-P=0.0000 67

Figura 34 Contenido de Apigenina en mg/g en peso seco detectado mediante cromatografía de convergencia (UPC²: Ultra-performance convergence chromatography) para los tres tipos de tratamientos dentro de sistema protegido. 68

Figura 35 Perfil cromatográfico de <i>C. hyssopifolia</i> inicial (azul) y <i>C. hyssopifolia</i> final (negro) realizado mediante cromatografía de convergencia (UPC ² : Ultra-performance convergence chromatography).....	69
Figura 36 . Perfil cromatográfico de <i>C.cyanea</i> control (rojo), <i>C. cyanea</i> acuapónico (azul) y <i>C. cyanea</i> hidropónica (negro) al final de los 90 días, realizado mediante cromatografía de convergencia (UPC ² : Ultra-performance convergence chromatography).....	70
Figura 37 Co-elución <i>C. cyanea</i> con estándar de apigenina realizado mediante cromatografía de convergencia (UPC ² : Ultra-performance convergence chromatography).....	70
Figura 38 Espectros UV del estándar de apigenina (cuadro superior) y de <i>C. cyanea</i> (cuadro inferior).....	71

INTRODUCCIÓN

Desde hace algunas décadas, lograr un mejor uso del agua ha sido un aspecto primordial de los sistemas para producción de comida. De ahí los cambios progresivos y las revisiones constantes en los métodos de riego. Nos hemos dado cuenta que la mejor manera de optimizar el cultivo tanto de organismos vegetales como de animales, es la técnica combinada de Acuaponía. En ésta técnica se ocupa tanto hidropónia y también técnicas acuícolas para aprovechar principalmente el amoníaco de los peces para el uso de las plantas (Rakocy, Masser y col. 2006). El uso de sistemas acuapónicos ha demostrado la presencia de relaciones sinérgicas que se ven reflejadas en la productividad del cultivo, en el ambiente y de manera económica. Vemos que la tendencia del mercado va en aumento hacia lo orgánico, libre de pesticidas y con valor agregado. Masser (2006) indica que esto se debe a las ventajas que tienen dichos sistemas y entre las que se incluyen: El prolongado re-uso del agua y la minimización de las descargas (incluyendo la evaporación). Por lo tanto la integración de los sistemas de producción de peces y plantas permite un ahorro de costos con lo que se mejora la rentabilidad de los sistemas de acuicultura y horticultura.

El principal enfoque de los sistemas acuapónicos es la producción intensiva y eficientar el uso del agua principalmente. En éstos se busca la producción de organismos vegetales o producción de organismos acuáticos, tomando alguno de los dos como el producto principal y el otro como un producto secundario para el aprovechamiento de los recursos. En la actualidad, los principales cultivos han sido hortalizas como jitomate, lechuga y otros. Hasta ahora no se ha considerado el uso de plantas del género *Cuphea* ni sus variedades *hyssopifolia* o *cyanea*. En México no se tenía caracterizado el uso de estas plantas nativas en un sistema de recirculación, por lo que no había conocimiento de qué condiciones pueden aumentar o disminuir la producción de metabolitos especializados.

a) Justificación

La técnica de Acuaponía presenta ventajas en la producción de organismos. Es cierto que no todos los organismos vegetales son candidatos para crecer dentro de estos sistemas, ni todos los organismos acuáticos pueden adaptarse o mantenerse en un sistema de recirculación cerrado. Estudios previos nos dieron el soporte para ocupar organismos acuáticos con características de resistencia a extremos climáticos y de esta manera poder investigar el comportamiento que tendrían especies nativas con propiedades medicinales. Es posible que sea aumentado el conocimiento sobre las técnicas y la respuesta de estas especies de plantas. En la actualidad no se había considerado el uso de plantas del género *Cuphea* ni sus variedades *hyssopifolia*, *cyanea* o *ignea* en sistemas acuapónicos, de igual manera no se había contemplado usar estos sistemas para medir la potenciación del contenido nutracéutico en plantas medicinales.

Este tipo de estudios son necesarios para conocer las características de plantas nativas de México, que además son consideradas valiosas para utilizarse en enfermedades como dolores estomacales, sífilis y cáncer (CONABIO 2006).

b) Descripción del problema

Los estudios que se han realizado hasta este momento sólo se limitaban a garantizar un producto de buena calidad, pero garantizaban la calidad alimentaria al contener niveles mayores de contenido nutracéutico. No se conocía el sinergismo que estas variedades de plantas podían mostrar dentro de un sistema sin biofiltro y en un microclima extremo. No se sabía si el Diseño del sistema podría garantizar un flujo adecuado y constante para el caso particular de sistema Acuapónico vertical *Cuphea spp.*, *Cyprinus carpio*, o si la disposición de la estructura, el material y las dimensiones ofrecerían un cultivo abundante y con valor agregado.

c) Hipótesis

El uso de Sistemas Acuapónicos CARPA KOI-CUPHEA aumenta la producción de metabolitos especializados en las plantas respecto a un cultivo en tierra.

d) Objetivos

General

Aumentar la producción de metabolitos especializados en *Cuphea spp.* mediante la implementación de un sistema acuapónico con carpa Koi.

Particulares

Diseñar y caracterizar un sistema de cultivo acuapónico de *Cuphea spp.* con carpa Koi, y determinar la especie que presente mejor adaptación dentro del sistema.

Monitorear el comportamiento del sistema de los cultivos tradicional y acuapónico.

Determinar diferencias significativas en el contenido de metabolitos especializados por los diferentes tratamientos.

ANTECEDENTES

a) Técnicas de Cultivo: Hidropónia

La hidropónia es un método utilizado para cultivar plantas usando soluciones minerales en vez de suelo agrícola. En este sistema las raíces reciben una solución nutritiva equilibrada disuelta en agua con todos los microelementos químicos esenciales para el desarrollo de las plantas. Pueden crecer en una solución mineral únicamente, o bien en un medio inerte, ejemplos de este último son la arena lavada, grava o perlita, entre otras.

b) Cultivo sin suelo

La primera aproximación experimental pertenece a Jean Baptiste Van Helmont (1577-1644), quien aplica las ideas de Krebs y manifiesta que el agua es el factor de crecimiento más importante de los vegetales. La primera publicación científica sobre cultivo sin suelo pertenece al científico Robert Boyle (1627-1691). El estudio de esta época culmina con la generación de productos químicos industriales de los cuales el nitrato de potasio descubierto por Johan Glauber (1604-1668) ha sido fundamental para los estudios que le precedieron (Woodward 1699).

c) Nutricultura

En 1840 Justus Von Liebig comprueba experimentalmente que las plantas pueden crecer en un medio diferente al suelo natural. Para el año de 1860 dos científicos alemanes, Julius Von Sachs y Wilhelm Knop, fueron los primeros en hacer crecer plantas en una solución que contenía los minerales esenciales para el crecimiento vegetal con lo que se obtiene el primer medio de crecimiento vegetal (Aguilar y Baixauli 2002, Arano 2007). En 1928, el profesor William Frederick Gericke de la Universidad de Berkeley, en California fue el primero en sugerir que los cultivos en solución se utilizaran para la producción vegetal agrícola (Gericke 1938, Hoagland y Arnon 1950, Barbado 2005).

d) Técnica de Cultivo en Capa (Nutrient Film Technique –NFT)

Durante la década de los 60's Allen Cooper, en Inglaterra, desarrollo una técnica de cultivo a la que llamo Técnica de capa nutriente (Nutrient Film Technique, NFT), que consiste en generar una corriente de solución con los nutrientes apropiados que pase de manera continua sobre la raíz de las plantas a cultivar (Cooper 1996). En 1969 John y Nancy Todd junto con William McLarney fundaron el Instituto Nueva Alquimia (New Alchemy Institute), y deciden comenzar la investigación sistemática sobre la irrigación de vegetales con agua proveniente de los sistemas acuícolas (McLearney 1972). Lewis en 1976 implementa los sistemas de recirculación (SR) y filtros para mantener las condiciones adecuadas del agua (Lewis y Buynak 1976). Para el año 1982 aparece una modificación al sistema donde se observa la productividad del sistema de acuerdo a la temperatura (Sutton y Lewis 1982).

Técnica de cultivo: Acuaponía

El término acuaponía se refiere al cultivo de peces y plantas en un sistema de recirculación cerrado (FIGURA 1), siendo entonces el resultado de la integración de técnicas utilizadas en la hidroponía y la acuicultura (Rakocy 1999a, Rakocy 1999b).

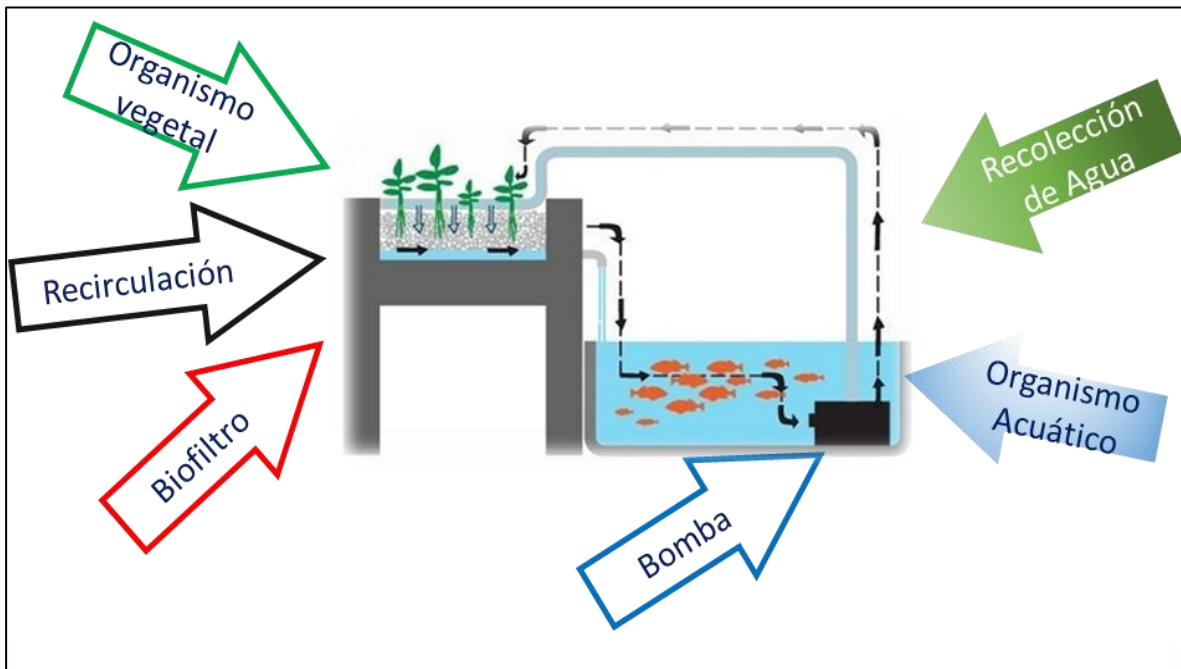


Figura 1 Representación general de los sistemas acuapónicos cerrados. Usados normalmente para la producción intensiva dentro de sistemas protegidos.

Desde luego que esto requiere de la acción de organismos intermediarios como bacterias nitrificantes que facilitan el flujo de nutrientes esenciales como el nitrógeno. Las plantas a su vez toman estos nitratos, limpian el agua evitando la eutrofización del cultivo acuático, es esta parte se da un efecto conocido como biofiltración que cumple con dos objetivos en el sistema acuapónico obtenidos a partir de un mismo proceso: la nitrificación.

Lo primero que busca es transformar el nitrógeno amoniacal (NAT) excretado por los peces como desecho metabólico, a un compuesto menos tóxico para ellos y la obtención de un compuesto asimilable por las plantas. Dichos procesos, son realizados por un grupo de bacterias que se alojan en los filtros biológicos (así como en cualquier superficie del sistema) obteniendo al final de la transformación, nitratos (NO_3^-). Este componente inorgánico nitrogenado, es el menos tóxico para el Koi, (hasta 300 mg/l, DL50, según la especie) y constituye la forma de nitrógeno asimilable por las plantas (FIGURA 2) (Caló 2011).

En 1986 Zweig R diseñó un cultivo integrado de pez, en un sistema Hidropónico de producción Vegetal, todo esto basado en el mejorar el desempeño

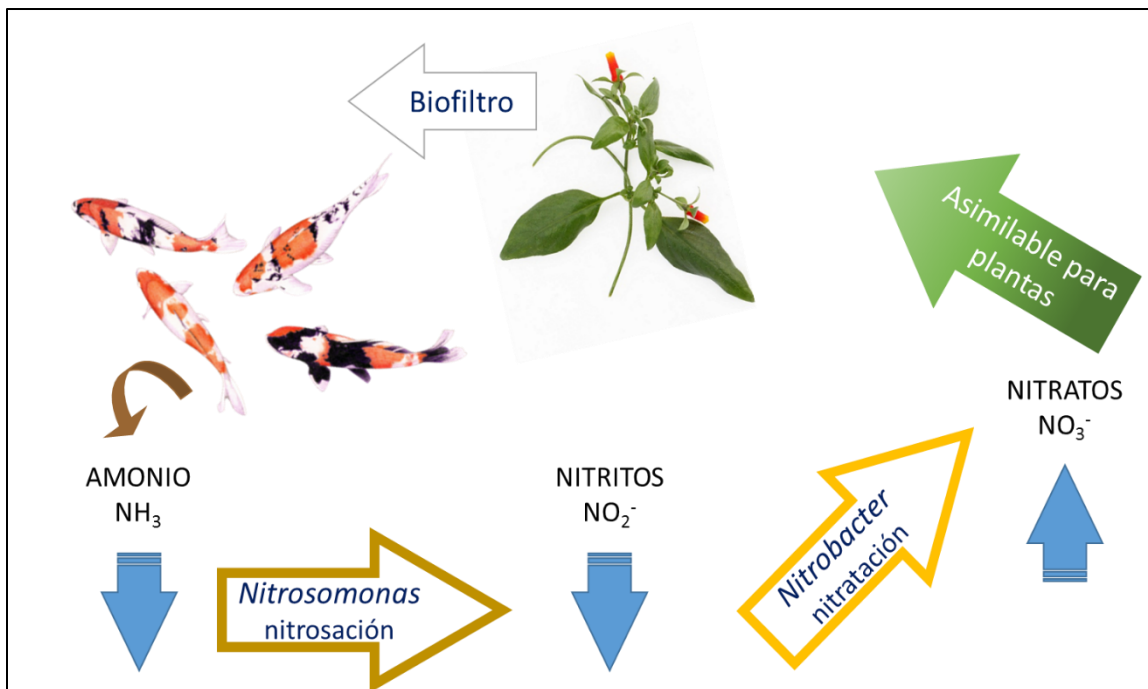


Figura 2 Transformación de los compuestos por los diferentes microrganismos y sus desechos para asimilación de las plantas. Las flechas azules indican que tener baja concentración de amonio y nitritos y altas concentraciones de nitratos, es lo ideal en éstos sistemas.

económico. Su diseño se basaba en minimizar la inversión capital y los costos de operación mientras se mantenía una producción estable de alimentos fiables, económicamente viables. En 1977 se describió un sistema de recirculación en producción combinada de peces y plantas. El propósito era usar los nutrientes del agua de pez, combinada con una desnitrificación microbiana para una máxima purificación y tener como resultado una producción de pez bajo condiciones controladas de agua en recirculación (Naegel 1977).

e) Cultivo en tanques y sistemas de recirculación (SR)

Ya cerca de la década de los 90's se comienza a mencionar la ventaja del cultivo en tanques y se integran la producción de plantas y los SR (Rakocy 1989, Rakocy y Hargreaves 1993, Rakocy, Hargreaves y col. 1993, Losordo 1998, Rakocy, Masser y col. 2006).

f) Los estudios más recientes en Acuapónica

Aunque en inicios, los sistemas de recirculación Acuapónicos (SAQ) empezaron de manera horizontal, la disposición vertical presenta ventajas sobre los primeros, al aprovechar de manera eficaz el espacio aéreo (Montero y Milena 2004). También permiten situar la misma cantidad de plantas de un sistema tradicional en suelo, dentro de un cuarto con menor superficie (Diaz 2007). Siendo esta una de las causas de pretender ocupar este tipo de disposición para cultivo doméstico.

Hasta ahora se han probado más de 60 tipos de cultivos entre los que se encuentran plantas que producen fruto. Dentro de los cultivos que se han probado en SAQ se encuentran las aromáticas como albahaca (Ronzón-Ortega, Hernández-Vergara y col. 2012), menta (Cuthberg 2008, Campos-Pulido, Alonso-López y col. 2013), y orégano (Cifuentes-Torres y Torres-Mesa 2012), además de algunas variedades de lechuga como la vulcan y la mantequilla (Peter 2001).

Los estudios más recientes muestran que los SAQ tienen una orientación hacia la producción intensiva en pequeña escala y que además sean sostenibles (Lazur, McIntosh y col. 2006, Lazur y Leteux 2004). En algunos casos se sugiere el uso de aguas residuales para cultivar vegetales (Graber y Junge 2009) o de abono de vacas y cerdos (Jha y Barat 2005). Se han hecho pruebas del sinergismo entre especie vegetal y acuática (*Ocimum basilicum*-*Macrobrachium rosenbergii*), en

donde se probó la eficiencia en la producción de ambos (Ronzón-Ortega, Hernández-Vergara y col. 2012).

g) Efectos del cultivo entre las diferentes variedades

Conocemos que ciertas variedades de cada especie, tienen una concentración propia de nutraceuticos, llámense antioxidantes, ácidos fenólicos, etc. Se han descrito diferencias significativas, en la concentración total y la concentración individual de antocianinas dependiendo de los métodos de cultivo entre la misma especie y sus variedades. A pesar de que existe una concentración propia para cada variedad, el modo de cultivo afecta a la concentración de antocianinas. Nuestro interés se enfoca en los cambios significativos que esperamos obtener de los diferentes métodos de cultivo, así como se han descrito estos resultados. También se dio a conocer que se pueden presentar variaciones substanciales en el perfil de las antocianinas predominantes por estos mismos eventos (Flannigan y Niemeyer 2014), aunque no se manifiesta estos resultados para los niveles totales de fenoles, si cambia para algunos ácidos fenólicos puntuales, llevando todo esto a un cambio en el potencial antioxidante de la variedad. Se han hecho otros experimentos sobre la influencia que el potasio añadido en el método de cultivo tiene sobre los niveles fenólicos y de antioxidantes. Mientras mayor cantidad de potasio se encuentre en la solución nutritiva de riego, mayor será la producción de fenol total en la planta. Esta concentración como es de esperarse, afectará directamente a la capacidad antioxidante (Nguyen, Kwee y col. 2010).

h) Organismo acuático Carpa Koi (*Cyprinus carpio* L., 1758)



Figura 3 Organismo Acuático utilizado para los Biosistemas. Variedades obtenidas de acuario, líneas genéticas impuras.

Taxonomía del Género *Cyprinus* (FIGURA 3)

Reino: Animalia,

Filo: Chordata,

Subfilo: Vertebrata,

Clase: Actinopterygii,

Subclase: Neopterygii,

Infraclase: Teleostei,

Superorden: Ostariophysi,

Orden: Cypriniformes,

Familia: Cyprinidae,

Género: *Cyprinidus*,

Especie: *Cyprinus carpio*,

Variedad: Koi. (Blasiola 1995).

Historia de la Carpa Koi

Su ancestro, la carpa común (*Cyprinus carpio*) continúa siendo un pez que se explota para consumo humano, a diferencia de la carpa Koi, que debido a sus patrones y colores brillantes, se coloca dentro de la Acuariofilia. Un término para aquellos que aprecian más un pez por sus características que por su sabor. El nombre Koi proviene de: "Nishikigoji", designado comúnmente "Koi" es el pez nacional de Japón, por lo tanto el nombre del pez se deriva de la lengua japonesa.

"Hishiki" es la palabra japonesa usada para describir un paño altamente coloreado. "Goior Koi" es el nombre japonés para la carpa. La mezcla de estos dos produce el nombre por el que se conoce.

El interés moderno en estos peces, empezó en el S. XVII en los campos arroceros de la región de Niigata, Japón, cuando los agricultores descubrieron que en ocasiones, mostraban diferentes colores y patrones en el cuerpo. Cuando se lleva la apertura de los acuarios en Londres (1853), París (1861), Berlín (1869), comienzan a considerarse las especies tropicales como ornamentales. Aunque se presentaba el problema de la mortandad debido al desconocimiento del requerimiento de oxígeno. Pero en el S. XVIII este problema fue resuelto casi por completo. Una de estas teorías sitúa la existencia de esta carpa en tiempos remotos, ya que puede rastrearse su presencia en Asia y Extremo Oriente en forma de pinturas, cerámica (Blasiola 1995). En el Oeste se empezaron a hacer populares a principios del año 1950.

Es una especie que muestra crecimiento rápido, amplia resistencia a enfermedades y en general tolera condiciones que otras especies no podrían, además, excreta grandes cantidades de desecho debido a que no tiene estómago y solo tiene tracto intestinal. Esto hizo que se le considerara como una especie adecuada para el uso dentro de SAQ. Los Koi son carpas domesticadas de agua dulce y de hábitad de fondo. Se alimentan de plantas, insectos, gusanos, etc. Son peces longevos, el color de los peces Koi está en función de la distribución de los pigmentos en su piel. Dentro de algunas de las células dérmicas hay pequeños sacos que guardan los pigmentos, incluyendo melanina y carotenoides, los cuales debido a los cambios en el medio ambiente, se movilizan y crean los diferentes colores y patrones que los caracterizan.

En cuanto a la calidad de agua en la que viven, el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, ha descrito rango óptimo de temperatura de 18°-24°C pero nuevos datos sugieren que su temperatura necesaria para un óptimo desempeño varía entre los 12.78 °C a los 26.6 °C, su tolerancia de salinidad llega hasta 9000 mg/l. Entre los niveles de dureza o concentración de iones de calcio (Ca) y magnesio (Mg) como elementos principales, la clasificación en mg/l es la siguiente: 0 – 75 blanda, 76 – 150 moderada, 151 – 300 dura y mayor a 300 muy dura. Los niveles

más adecuados para los Koi van desde 20 a 300 mg/l. Sus requerimientos de comida son una dieta del 31 al 38% de proteína y de 3-8% de grasas. Su talla comercial es de 7 – 30 cm (Parker 2011)

Grado de acidez o basicidad en el agua (pH)

El pH se define como el logaritmo negativo de la concentración del ión hidrógeno y marca el carácter ácido o básico de las soluciones acuosas.

Generalmente se ocupa un potenciómetro para medir, y el resultado de esta medición es la cantidad relativa de los iones hidrógeno e hidroxilo libres en el agua.

Para la parte de sistemas acuapónicos e hidropónicos generalmente se trabaja con pH de 5,5 a 5,8. Los extremos letales en pH están por debajo de 4 y por encima de 11

La importancia de medir el pH radica en que cada medición representa un cambio en base logarítmica 10. Lo que quiere decir que un agua con pH 5 es diez veces más ácida que un agua con pH 6. Esto nos manifiesta la necesidad de mantener un nivel adecuado a fin de que haya un buen funcionamiento del de la carpa Koi en los sistemas de recirculación. Debido a que el pH nos indica la solubilidad y la disponibilidad de los nutrientes en el agua (fosforo, nitrógeno y carbono) y de metales pesados (plomo, cobre, cadmio, etc.). Estos últimos se vuelven tóxicos cuando existe disminución en el pH debido a que se vuelven más solubles y por lo tanto más disponibles. Aunque la mayor parte de las plantas pueden crecer en soluciones nutritivas con pH comprendidos entre 5 y 7 (Department of the Interior and Geological Survey 2016)

Conductividad

La conductividad eléctrica (CE) mide la concentración de sales disueltas en el agua y el valor se expresa en miliSiemens/cm (mS/cm), este valor multiplicado por un factor de corrección 0,7 o 0,9 en función de la calidad del agua, nos permite conocer de forma aproximada la cantidad de sales disueltas en g/L.

$2 \mu\text{S/cm} = 1 \text{ ppm}$ (partes por millón de CaCO_3), donde $1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg/L}$ es la unidad de medida para sólidos disueltos.

i) Organismos vegetales

Taxonomía del género *Cuphea*

Reino: Plantae,

Subreino: Traqueobionta,

Superdivisión: Spermatophyta,

División: Magnoliophyta,

Clase: Magnoliopsida,

Subclase: Rosidae,

Orden: Myrtales.

Familia: Lythraceae

Género: *Cuphea*

(Graham 1991, Vibrans y Lezama 2000).



Figura 4 Especies utilizadas en los sistemas acuapónicos. *Cuphea cyanea*, *Cuphea ignea* y *Cuphea hyssopifolia* respectivamente.

Pequeña planta arbustiva, atractivo, siempre verde y por lo general florea permanentemente. Se cultiva ampliamente y su principal función actual es ornamental. Normalmente se da en márgenes de arroyos y ríos. Se ha descrito que prefiere los caminos de paso. Resistentes a heladas que alcanzan alturas de 70 cm hasta 150 cm.

Variedades *Cuphea* spp. (FIGURA 4)

La Sociedad Mundial de la Salud estima que alrededor del 80% de la población mundial cura con hierbas sus síntomas y malestares como primer recurso (Food and Agriculture Organization of the United Nations 2014). La familia a la que

pertenecen las *Cuphea* (Lythraceae) tiene propiedades medicinales, entre ellas, semillas que contienen altos porcentajes de ácidos grasos además de tener actividades citotóxicas, antivirales, antimicrobianas, cardiovasculares, anti-diuréticas y antioxidantes (Elgindi, Ayoub y col. 2011). Es una familia de 32 géneros y casi 260 especies distribuidas desde el Este de EUA hasta el sur de Argentina, la mayoría de los géneros se encuentran localmente en hábitats húmedos con climas templados. En Veracruz se han reportado 9 géneros y 40 especies (Graham 1991).

El “Falso Brezo” (*Cuphea hyssopifolia*) es nativo de México, parte de Guatemala y Honduras. Se ha descrito también en partes del Caribe, Hawaii y Oceanía (U S Forest Service 2007). La Real Sociedad de Horticultura (The Royal Horticultural Society 2016) en Reino Unido declaró declaró en 1993 al Falso Brezo como ganadora del “Premio al Mérito de Jardín”, AGM® (RHS Award of Garden Merit®), el cual establece que las plantas deben presentar las siguientes características:

1. Excelente para el uso ordinario en condiciones adecuadas.
2. Buena constitución.
3. Esencialmente estable en forma y color.
4. Razonablemente resistentes a plagas y enfermedades.

Este premio se otorga sólo después de una evaluación por expertos designados en dicha sociedad que valoran la prueba según su área de especialización. Después pasa a ser ratificado por un Comité de plantas al ser juzgado y evaluado ya sea en uno de los cuatro jardines de la RHS o alguno de la propiedad de “Confianza Nacional” (National Trust) o en Viveros Comerciales.

En 1998 C.C. Wang y col. reportaron algunos de los beneficios de la *C. hyssopifolia* demostrando igual que los otros miembros de su familia actividades antivirales, antimicrobianas, antioxidantes, hematoprotectivas y antitumorales (Wang, Chen y col. 1998, Chen, Wang y col. 1999). Además en 2012 el Gobierno Federal en colaboración con SAGARPA y el INIFAP, describieron al “Falso Brezo” como una de las 52 plantas ornamentales que se comercializan en la Huasteca Potosina (Arredondo, Avila y col. 2012).

Otra planta de la misma familia que ya es desde hace tiempo conocida pero no ha sido ganadora de ningún premio internacional es *Cuphea aequipetala* o “hierba del Cáncer”, se ha reportado mucha información acerca de sus compuestos químicos y sus funciones biológicas, se trabaja con ella para propagación por esquejes, para técnicas de extracción, cuantificación y estandarización de compuestos, cuestiones de etnobotánica, etc. (Rojas-Martínez, Aguilar-Salinas y col. 2012) (Aguilar Rodríguez, Echeveste Ramírez y col. 2012, Martínez-Bonfil, Pineda-Montero y col. 2013)

Además de las mencionadas existen muchas más variedades con diversas funciones específica ya conocidas por medicina tradicional y por estudios científicos. A continuación mencionamos algunos de los fitoquímicos reportados para las diferentes variedades de *Cuphea*.

Fitoquímicos aislados de *Cuphea* spp. y actividades en general

Los extractos acuosos de las partes desecadas y las aéreas de *Cuphea carthagenensis* fueron partidas e introducidas en solventes inmiscibles. Al realizarse pruebas de cromatografía y de espectro, se identificó quercetina-3-sulfato. De *Cuphea pinetorum* se extrajeron 4 flavonoides glicosídicos. *Cuphea wrightii* contiene friedelan-3- β -ol principalmente. Dos nuevos elligitaninos diméricos, cuphina D1 y D2, además de seis compuestos ya conocidos se extrajeron de la *Cuphea hyssopifolia*. De 16 especies de *Cuphea* se extrajeron 35 flavonoides. *C. hyssopifolia* presenta actividades citotóxicas. *Cuphea carthagenensis* combate efectivamente el virus del Herpes Simple y polivirus tipo 2. Esta misma presenta actividad antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhimurium*. *Cuphea mesostemon* muestra efecto anti-diurético (Elgindi, Ayoub y col. 2011).

Requerimientos nutricionales de las plantas

Los requerimientos de las plantas varían según su funcionalidad, las plantas verdes en general requieren más nitratos que las plantas que producen fruto. Estos se presentan principalmente en la forma de macronutrientes como C, H, O, N, K, Ca, Mg, P y S o bien como micronutrientes como Cl, Fe, Mn, B, Zn, Cu y Mo (Rakocy, Masser y col. 2006).

j) Metabolismo y estrés Oxidativo

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células en los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples. Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa (FIGURA 5). Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos especializados. Se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Reciben también la denominación de productos naturales o nutraceuticos que en realidad es la función de los metabolitos especializados. (Rico-García, Casanova-Villareal y col. 2009).

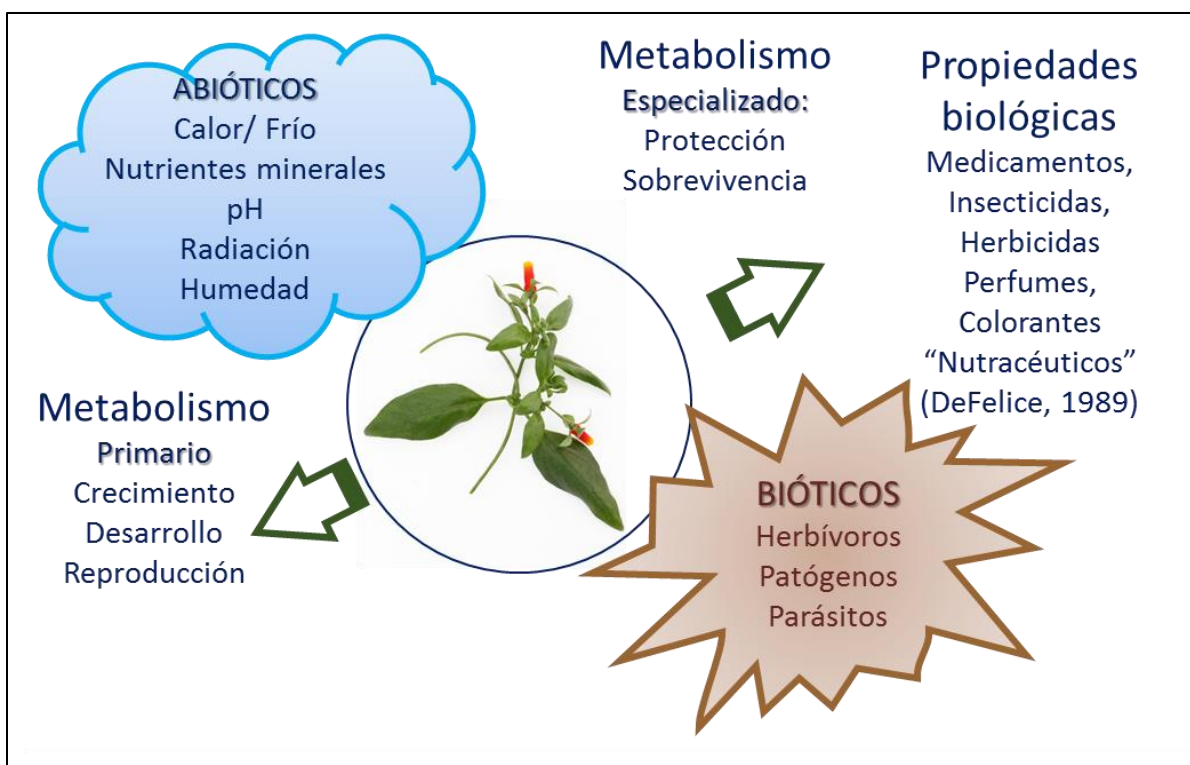


Figura 5 Tipos de metabolismo de las plantas y agentes de pueden inducir la formación de metabolitos especializados.

A diferencia de los compuestos producidos en el metabolismo primario de las plantas, los producidos en el especializado no participan directamente en el crecimiento, desarrollo y/o reproducción. Esta es la razón principal de que no se encuentren en todas las especies vegetales (García 2004); y también es el enfoque principal de investigar las llamadas “plantas medicinales”, plantas que producen mayor cantidad de metabolitos especializados benéficos para la salud.

Como se sabe, la atmósfera contiene oxígeno como molécula central y diferencial. Este elemento es indispensable para la vida de los seres humanos, animales y plantas. Pero junto con radiación solar y otros factores, causan efectos oxidativos en los seres vivos. La oxidación se refiere principalmente a eliminar electrones. Las moléculas orgánicas en su mayoría están compuestas de carbono, hidrógeno y oxígeno. Los primeros dos elementos inicialmente se encuentran en estado reducido (rico en electrones), y cuando se metabolizan a sus formas más estables (CO_2 y H_2O), pierden o ceden electrones y se encuentran entonces de forma muy oxidada. La respiración celular consume oxígeno y genera ATP (molécula de energía para el cuerpo), y deja residuos de especies reactivas de oxígeno (ERO) y radicales libres (RL), moléculas y/o átomos muy agresivos que causan reacciones en cadena dentro de las células causando daños a la vida de ésta y por lo tanto al organismo vivo. Existen estudios donde estos fitoquímicos o metabolitos de las plantas causan efectos benéficos en la salud del hombre debido a su poder reductor de radicales libres: hidroxil (*OH), azida (*N_3), anión superóxido ($\text{O}_2^{\text{*}}$), lípido peroxil ($\text{LOO}^{\text{*}}$) entre otros (Rice-Evans, Miller y col. 1997). En 1989 el Dr. Stephen DeFelice, Presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina (Foundation for Innovation in Medicine, FIM), en Cranfor, Nueva Jersey, Estados Unidos, acuñó el término Nutracéutico, que es la unión de las palabras “nutrición” y “farmacéutico”. Este término empezó a utilizarse desde entonces, y nos brinda la idea de fitoquímicos que pueden aumentar las propiedades en los alimentos, tanto para propósitos nutricionales como para proveer y conservar los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

k) Diseño Experimental

Diseño experimental de Sistemas Acuapónicos bajo invernadero

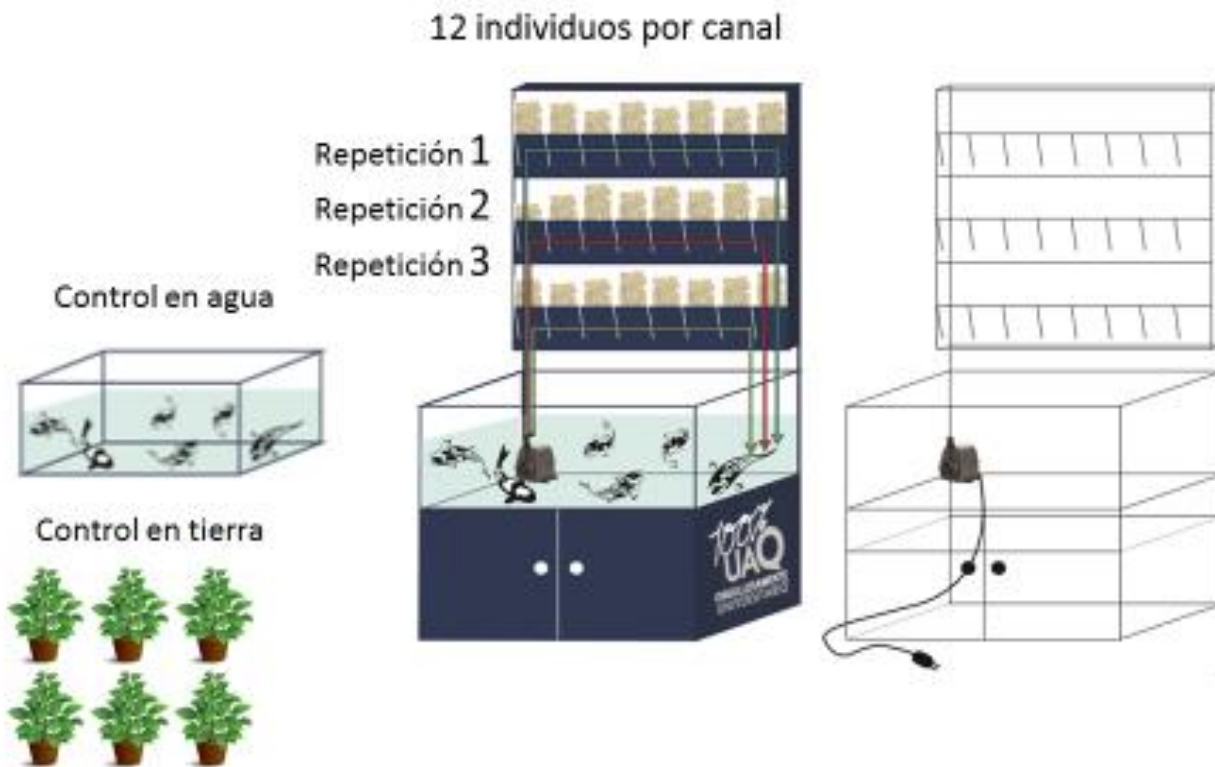


Figura 6 Diseño experimental de los sistemas acuapónicos con sus controles. El experimento se realizó dentro de un sistema protegido.

l) Diagrama de flujo para la búsqueda del aumento de nutraceuticos

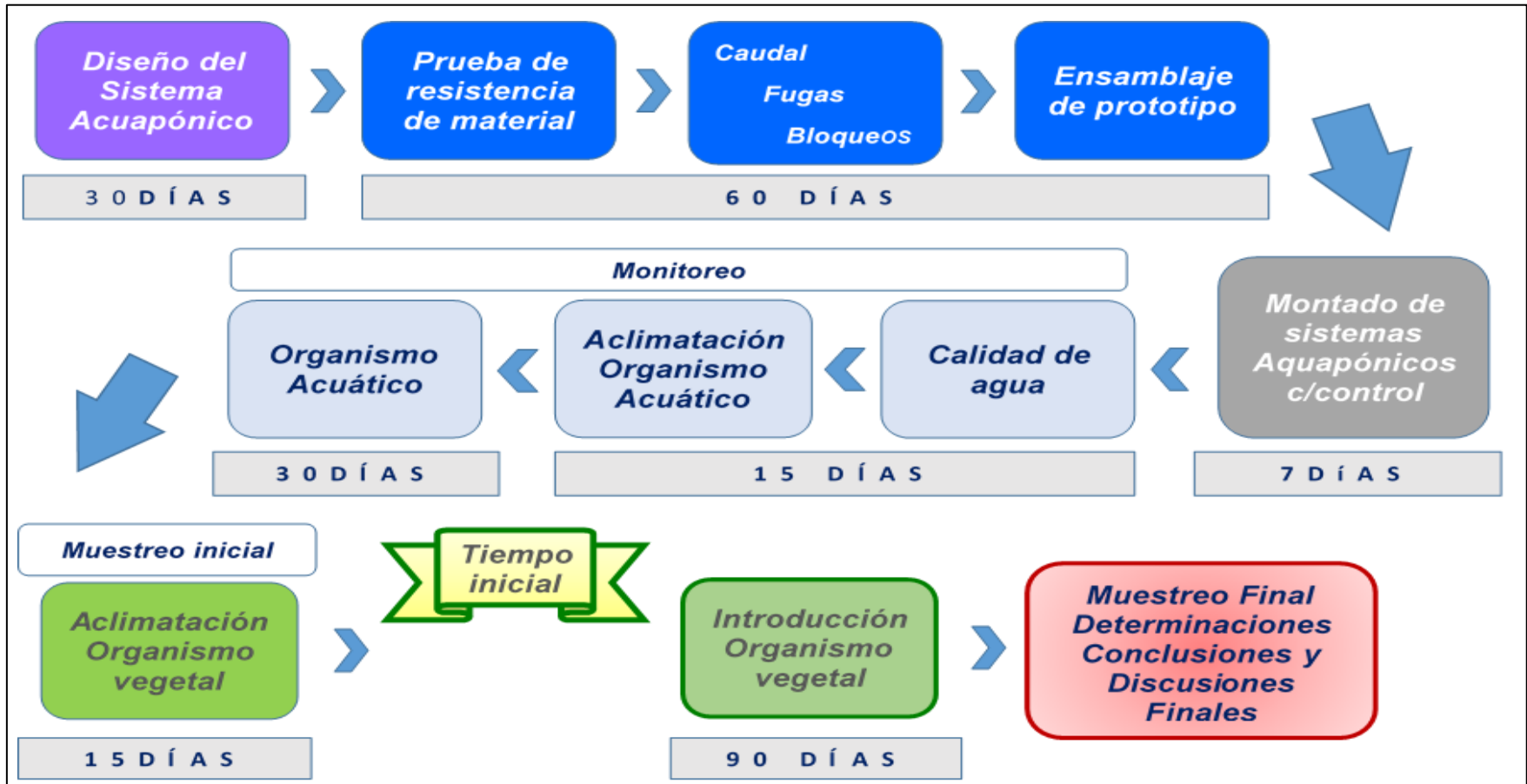


Figura 7 Diagrama de Flujo con tiempos para cada parte del experimento. Previo a los 90 días de experimento, fueron necesarios más de 150 días para poder llegar al paso de la introducción de las especies nativas en los sistemas de recirculación cerrados.

m) Sitio experimental

El trabajo se llevó a cabo en la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro, en el poblado de Amazcala, el cual pertenece al municipio del Marqués, Querétaro. Se localiza en el sector Suroeste del estado, entre $20^{\circ} 31'$ y $20^{\circ} 58'$ de latitud Norte. Su longitud se encuentra entre $100^{\circ} 09'$ y los $100^{\circ} 24'$ del Oeste, a 1,850m sobre el nivel del mar. Colinda al Oeste con el municipio de Querétaro, al Norte con el estado de Guanajuato, al Este con el municipio de Colón y al Sur con los municipios de Huimilpan y Pedro Escobedo (FIGURA 8)

Aunque el objetivo del experimento es ser funcional dentro de interiores, las pruebas se llevaron dentro de un invernadero de 504 m² tipo multitunnel, con estructura metálica galvanizada, cubierto con plástico de polietileno, y con ventanas de malla, sin calefacción y con un sistema de ventilación pasivo. Esto se consideró para observar condiciones extremas y analizar los límites del sistema.



Figura 8 Vista aérea del sitio experimental. UAQ Campus Amazcala, El Marqués, delimitado por la línea roja.

n) Diseño del Sistema

Los sistemas de cultivo que se usaron son: Sistema de Recirculación Acuapónico (SAQ) y el Cultivo Tradicional (CT).

Prototipo I

Para SAQ se usaron 4 peceras de 6 mm de grosor, con capacidad de 160 L, adaptadas a una estructura de acero galvanizado. Sus dimensiones son de 95 cm de largo por 40 cm de ancho por 40 cm de alto. El proveedor: “Vidriera la Queretana” ubicado en Calle 15 No. 219 Col. Lomas de Casa Blanca, Querétaro, Qro. Cada pecera contenía seis carpas de variedad Koi con una longitud aproximada de 5 cm de largo al inicio del experimento.

El sistema CAV usó los siguientes elementos de manera idéntica:

Una pecera de vidrio tipo acuario (descrita anteriormente) con 160 L y seis carpas Koi para nutrir el agua con la que se regará las plantas. Una bomba sumergible de marca EVANS (30 W) con capacidad de 56 litros por minuto y 1 Hp. Cama de crecimiento vertical de 100 cm por 100 cm. Tres hileras con alimentación independiente para soportar 12 plantas.

El CT fue el control y arcilloso. La estructura de madera en la que se instaló una vez terminadas las pruebas para sostener el CAV, se diseñó en forma de “L”. De una altura total desde el suelo hasta el techo de 200 cm y 100 cm de ancho. En la parte inferior se pusieron cuatro ruedas para facilitar su transporte. Se dispuso un espacio de 100 cm de largo por 40 cm de ancho por 50 cm de alto, con dos puertas, una base y una repisa, para guardar enseres o en su caso el alimento para las carpas. El sistema de recirculación usó tres mangueras de plástico de ½” de diámetro por donde pasó el agua siendo empujada por una bomba sumergible EVANS (30 W, capacidad de 56 L/min y sube una altura Max. de 1.36 m), de la pecera a la fila de la planta y se recolectó en la parte final cayendo por gravedad para ingresar en la pecera. (FIGURA 9 i).

Prototipo II

La estructura de madera para sostener el CAV fue la misma. Altura total desde el suelo hasta el techo de 200 cm y 100 cm de ancho. El sistema de recirculación en lugar de la cama vertical de Fibra de Poliéster 100% de botellas de PET, se substituyó por tres tubos de PVC de 100 cm de largo por 10 cm de diámetro (medida comercial 4”, tubo para sistema de riego color verde). Cada tubo se cerró con tapa en ambos extremos y selló con pegamento para PVC. En la parte superior

del tubo se hizo un corte de punta a punta en forma rectangular de 7 cm de ancho para introducir 20 plantas y garantizar un buen desarrollo de raíces y de la parte aérea. En cada parte trasera del tubo se hicieron 2 agujeros de 1.5 cm con broca, el punto tomando coordenadas X= 10 cm, Y= 5 cm al origen del tubo. El otro agujero se hizo en la parte de abajo a 10 cm antes de llegar al final del tubo (X=90 cm, Y=0 cm). En éstos agujeros se colocaron empaques, y después se introdujeron conectores, de medida comercial de ½", se ocuparon válvulas para regular el flujo en el primer y segundo tubos (de abajo hacia arriba), para que el flujo llegara de manera equitativa al tubo más alejado de la bomba. De la misma manera que el Prototipo I, las camas de cultivo son independientes, con alimentación de flujo independiente y capacidad para 12 plantas (FIGURA 6).

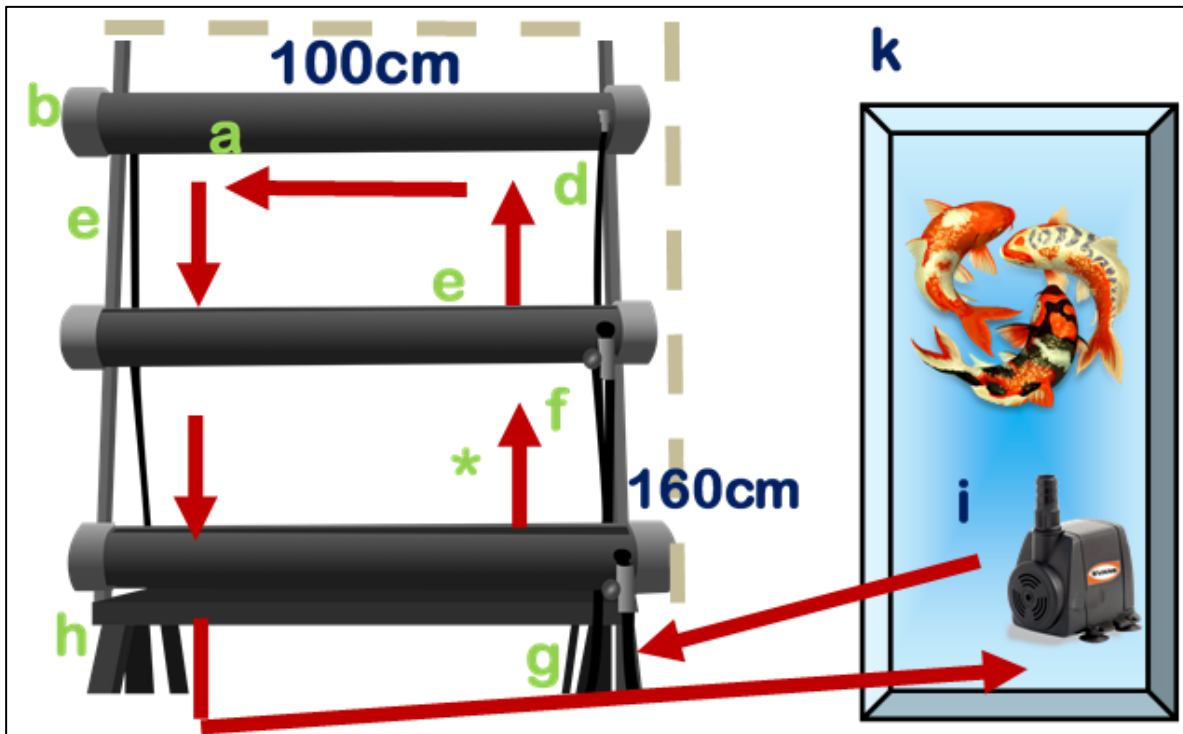


Figura 9 Materiales utilizados para la construcción del diseño del prototipo II:

a) Tubo 4", b) Tapa de tubo PVC, c) Corte superior para introducir plantas, d) Conectores para manguera, e) Colector (Drenaje) por gravedad, f y g) Válvulas de bola, h) Estructura de acero, i) Bomba Sumergible, j) organismo acuático seis carpas por sistema,, k) pecera de con 160 L, medidas de pecera 100 cm x 40 cm x 40 cm, *) Flujo del caudal.

o) Material Vegetal

Cuphea hyssopifolia, *Cuphea cyanea* y *Cuphea ígnea* fueron obtenidas de la empresa “Red Viverista, S.A de C.V.” ubicada en Av. Zapata 127, Col. Tlaltenango Cuernavaca, Morelos, C.P 62170. Se ocuparon 150 plantas de cada especie de un tamaño aproximado entre 10-15 cm, 25-30 cm y 20-25 cm respectivamente. Todas las muestras fueron puestas dentro del invernadero durante una semana para aclimatación.

Esta cantidad de plantas será suficiente para que después de ser aclimatizadas una semana bajo las mismas condiciones, se hagan análisis de Nitrógeno total y Compuestos fenólicos iniciales, al mes de iniciado el proyecto y una vez terminado la corrida experimental.

p) Material Animal

Los peces fueron de variedad *Cyprinus carpio* L. o carpa Koi, los cuales se adquirieron del acuario “Biotopic & Garden” ubicado en General Mariano Reyes 22, Colonia Conjunto Habitacional Universidad, Querétaro, Querétaro, en una talla de 9cm promedio, en temperatura ambiente sin calentador. Antes de empezar el experimento se pusieron en aclimatación dentro de las mismas instalaciones en el SAQ y en la pecera control, a temperatura ambiente sin las plantas. Pecera tipo acuario: capacidad total de 160 L.

Densidad

La densidad influye en la respuesta del organismo al gran número de individuos en un área o volumen determinados. Además, según Colt y Montgomery, (1991), mencionan que la densidad, puede traducirse como el rendimiento del cultivo, descrito de la siguiente forma:

$$D_a = M/A$$

Dónde:

Da = Densidad del área del cultivo animal (Kg/m²)

M = masa del cultivo animal (Kg)

A= Unidad del área del cultivo (m²)

Para el caso de la carpa Koi, el acuario debe ser de grandes dimensiones, un acuario ideal sería de una capacidad de 100 litros para mantener a 6 peces adultos (10 a 15 cm. de largo corporal) en excelentes condiciones y si hablamos de peces aun no desarrollados (3 a 5 cm. de largo corporal) el número podría ser 10 o 12 dependiendo todo del tipo de filtrado, aireación y cuidados suministrados. Debido a que las peceras que utilizaremos son de 160 L, podemos incluir esta cantidad de peces sin ningún problema con la densidad, además que nuestro propósito de tener estos peces es sólo obtener el desecho de amonio para poder alimentar la línea de plantas.

q) Montaje de Biosistemas en invernadero e inicio del experimento

El área del invernadero fue despejada y se ocupó un área de 350 cm por 200cm de ancho para montar los sistemas. Las peceras se pusieron encima de tarimas de madera para dar más estabilidad y evitar rupturas porque el piso es terroso y con piedra pulverizada y se llenó a un nivel de 160 L. Las bombas sumergibles se conectaron a luz directa de 120 V y los sistemas se dejaron encendidos desde su inicio hasta el término del experimento, se anotaron las mediciones antes descritas para cada día según los tiempos descritos anteriormente en el diagrama de flujo (FIGURA 7) Después de dos semanas se introdujo el organismo vegetal, las carpas se mantuvieron en aclimatación a las condiciones de invernadero durante una semana, dentro del sistema en recirculación sin organismos vegetales que limpiaran el agua de las algas y desechos de amoniaco de la carpa. Las carpas se alimentaron a una razón diaria del 4 % de la biomasa total de cada pecera repartida en 1 o 2 raciones al día, es decir 6 peces de 11 a 13g de peso por individuo nos dan un requerimiento de 5g de comida. La comida cumple con los requerimientos de la carpa; marca comercial AZOO GROWTH PLUS, 'KOI FOOD', de pellet de 3 mm.

El material total que se ocupó fue el siguiente (FIGURA 9):

Tres tubos PVC de 4" color verde. Seis tapas para tubo de PVC para 4" color blanco. Treinta metros de manguera de 1/2". Cinco conectores macho de 1/2" con rosca, color negro. Un conector hembra 1/2", color blanco. Tres conectores niple, color negro.

Tres conectores de codo con rosca 1/2", color negro. Dos válvulas de bola ROSCAR de 1/2". Un conector codo rosca con salida a tubo PVC 1/2", color blanco. Tres cople T lisos de ambos lados con salida a tubo PVC 1/2", color blanco. Tapa tipo "Hongo" liso, color verde. Cada conector ocupó un empaque de goma para evitar fugas. Una pecera con 4 vidrios de 6 mm, sellada con silicón por dentro. Orillas revestidas con aluminio color natural.

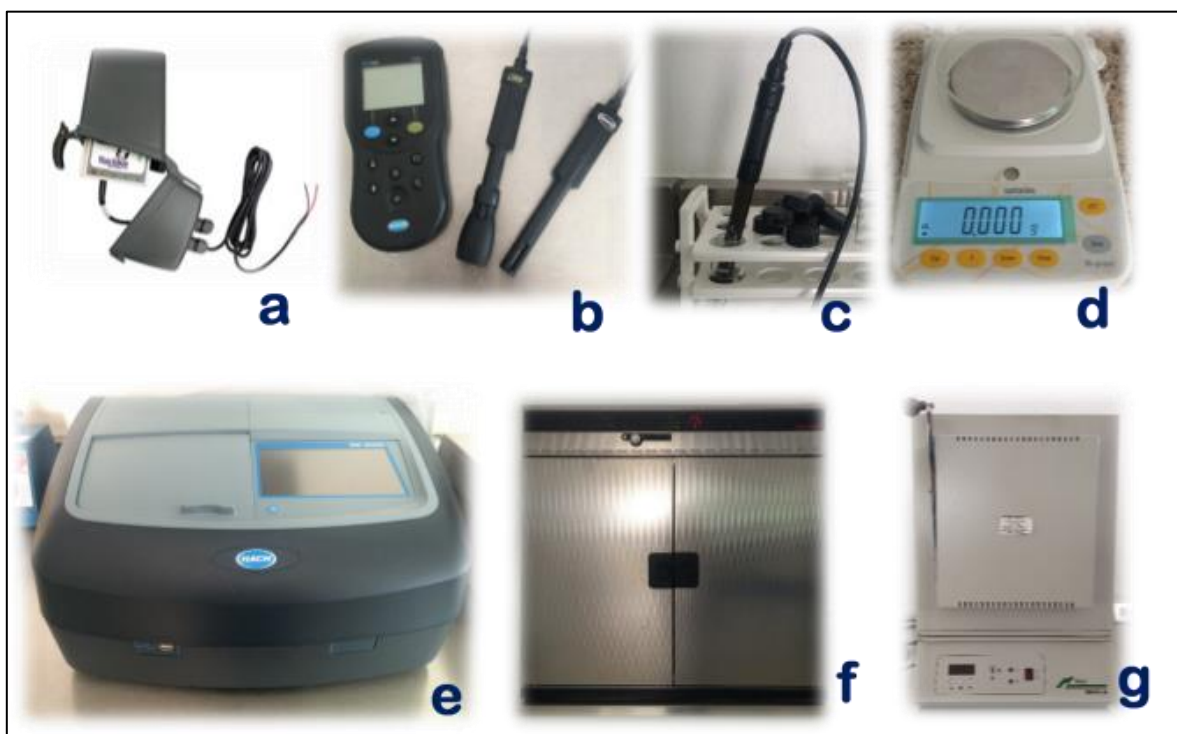


Figura 10 Algunos de los equipos que se ocuparon para obtener los valores de calidad de agua y las concentraciones de los compuestos fenólicos.

a) Watchdog, b)Hq40d HACH, c) pH-metro sensor, d) balanza, e) Espectrofotómetro, f) Estufa, g) Mufla.

Se utilizó para monitorear (FIGURA 10.a-c) el micro-clima dentro del invernadero un equipo (Watchdog serie 1000, a través de sensores Spectrum Technologies, Inc. para obtener datos de Humedad relativa -%-, Temperatura ambiental -°C- y Temperatura de agua, para el monitoreo de la calidad de agua un aparato de medición portátil de Conductividad (CON), pH y Oxígeno disuelto (LDO) H170C H-serie (HACH). La temperatura y el LDO del agua en los sistemas se monitorearon dos veces por semana, con un medidor multiparamétrico HQ40D de la (HACH, USA) con el sensor LDO101-03 (°C y LDO) y CON (serie-H, °C y $\mu\text{S}/\text{cm}$);

el pH se midió con el sensor water proof pH tester 10 (EUTECH, USA Instruments). A los 20 días. que inició el experimento se realizó un análisis de la calidad del agua (amonio, nitrato, nitrito, fósforo y potasio) por medio de un espectrofotómetro DR/6000 (HACH) utilizando el método 380 N de Hach, El caudal que se procuró tener en cada cama de riego fue de $0.56 \text{ cm}^3/\text{s}$, para dar un caudal total de $1.73 \text{ cm}^3/\text{s}$ que regresaban por gravedad a la pecera oxigenándola por la caída tipo cascada.



Figura 11 Pasos que se llevaron a cabo para obtener la Biometría de las *Cuphea spp.* y sus concentraciones de metabolitos especializados

a) Medición del crecimiento de las plantas, b) Recolección de muestra, c) Molienda, d) Tamizado, e) Pesado, f) Preparación de Solución extractora, g) Obtención de extractos y, h) Realización de curvas para diferentes determinaciones.

r) Pre-tratamiento

Se hizo una recolección inicial de las muestras. Estas Las muestras se dejaron secar en bolsas cerradas de papel por 4 días en un horno de marca MEMMERT a 35 °C bolsas de papel para evitar su contaminación (FIGURA 10.f-g; FIGURA 11 a-b). Después del secado se atemperó la muestra y se pesó para sacar el % de peso húmedo. Se realizó la molienda en licuadora con un vaso de plástico, el material orgánico visible se retiró al ser tamizado, y se guardó en frascos de plástico ámbar para evitar la degradación de los compuestos fotosensibles. La cuantificación del porcentaje de cenizas se hizo en una mufla a 500 °C por 3 días, en crisoles de porcelana previamente secos y pesados (FIGURA 11 c-f).

s) Determinaciones

Preparación del Extracto

Se ocupó un compuesto extractor con 80% de Metanol (grado reactivo), 18% de agua destilada, 2% de ácido fórmico (grado reactivo) de la siguiente manera (FIGURA 11 f):

Se pesó 500 mg de la muestra vegetal (previamente deshidratada, molida y tamizada), se colocó en un tubo falcon protegido de la luz con aluminio. Se adicionó 5 ml de solución extractora (80%-18%-2%). Medio minuto de agitación en vortex. Se sonicó 30 minutos a Temperatura Ambiente (Ta). Después se centrifugó a 8500 rpm por 15 min a 4 °C. Se recuperó el sobrenadante en tubo nuevo. Nuevamente se agregó 5 ml al pellet que se recuperó. Se agitó medio minuto en vortex. Se sonicó 30 min. a Ta. Se centrifugó a 8500 rpm durante 15 minutos. Y se recuperó el sobrenadante con el anterior. Una vez juntos se midió el volumen final y se filtró en aerodisco (FIGURA 11 g).

Determinación de Nitrógeno Total

Esta determinación se realizó por el método Kjeldahl (Bremner y Mulvaney 1982) que se refiere a la combinación de amonio y nitrógeno orgánico. Sin embargo, solo los compuestos orgánicos de nitrógeno que aparecen en el estado trinegativo son los determinados por esta prueba. El nitrógeno en esta forma es convertido en sales de amonio por la acción del ácido sulfúrico y el peróxido de hidrógeno. El

amoníaco es entonces analizado a partir de esta fase por el método modificado de Nessler. La determinación se llevó a cabo a una longitud de onda de 460 nm para el espectrofotómetro DR6000 (FIGURA 10 e).

Determinación de Fenoles Totales

La determinación de fenoles totales se hizo por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Dewanto, Wu y col. 2002) utilizando ácido gálico como estándar. Las soluciones para curva se prepararon de la siguiente manera: se preparó la solución "A" pesando 5 mg de ácido gálico y se aforó a 5 mL con agua destilada (FIGURA 11 h). Después se tomó 1 mL de esta solución y se aforó a 10 mL para tener la solución "B".

En tubos de 2 ml se adicionó 100 μ L de cada extracto, 400 μ L del solvente con 250 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu (1 N), y después de 5 min se puso 1.25 mL de Na_2CO_3 para neutralizar, se incubó 2 h sin agitación fuera del alcance de la luz. Se midió la absorbancia contra el blanco a 765 nm en un lector de micoplaca Spectra Max (de Pascual-Teresa, Moreno y col. 2010), (Molecular Devices Co., Sunnyvale, USA). Las concentraciones se dan en miligramos equivalentes de ácido gálico (Eq G) por mL de extracto. Todos los ensayos se realizaron por triplicado en tubos eppendorf de 2 mL.

Determinación de Flavonoides Totales

La determinación de flavonoides totales se llevaron a cabo mediante el método descrito por Liu y Hu (2002) y como estándar (+)-catequina. El método consiste en mezclar 300 μ L de las disoluciones con 120 μ L de agua destilada y agregar 90 μ L de una solución de NaNO_2 al 5%, después de 5 min adicionar 90 μ L de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ al 10%, dejar reposar por 6 min. Se continúa adicionando una solución de 600 μ L de NaOH (1M) y aforar con agua destilada hasta un volumen de 2.5 mL, se mezcló la solución. La absorbancia se mide a 510 nm en un lector de micoplaca Spectra Max (Molecular Devices Co., Sunnyvale, USA). Las concentraciones se dan en miligramos equivalentes de (+)-catequina por mL de extracto.

Determinación de capacidad antioxidante (CAO)

DPPH

La determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH se preparó en reactivo DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) con metanol. Se preparó en reactivo DPPH con metanol. Se colocaron alícuotas de 1.865 ml del reactivo en microtubos de 2 ml y 0.135 ml del extracto metanólico de cada muestra. Se dejó reposar por 30 min protegido de la luz y se realizó la lectura a una longitud de onda de 480 nm.

FRAP

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de FRAP se preparó el reactivo con la mezcla de una solución 20 mM de Tricloruro de hierro (FeCl_3), buffer de acetatos con acetato de sodio anhidro y acetato de sodio trihidratado a un pH de 3.7 y por último se preparó TPTZ (tripiridil-2-tiazide) a 10 mM disuelto en ácido clorhídrico al 40 mM. Se colocó 1.865 ml del reactivo FRAP y 0.135 ml del extracto metanólico de las muestras en microtubos de 2 ml. Se dejó reaccionar por 30 min bajo protección de la luz. Se utilizó trolox para la curva de calibración. La lectura de la absorbancia se realizó a una longitud de onda de 630 nm.

Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos cromatografía de convergencia (UPC2: Ultra-performance convergence chromatography)

Se emplearon estándares grado HPLC de la marca sigma de cuatro flavonoides (apigenina, kaempferol, catequina y quercetina) y dos ácidos fenólicos (ácido cafeico y ácido p-coumárico) cada uno con una pureza $\geq 95\%$. Para la extracción se utilizó metanol grado HLPC.

Extracción

Para el análisis de compuestos fenólicos se pesaron 200 mg de muestra seca y finamente molida. A cada una de ellas se le agregó 1 mL de metanol (grado HPLC) y se agitó en Vortex durante 30 segundos. Posteriormente las muestras se colocaron en un baño ultrasónico durante 30 minutos, a temperatura ambiente y

protegidas de la luz. Pasado este tiempo, las muestras se centrifugaron a 9500 rpm (revoluciones por minuto) por 5 minutos. El sobrenadante fue recuperado y el residuo sólido fue sometido al mismo procedimiento de extracción por cuatro veces consecutivas. Los sobrenadantes fueron juntados y aforados a 5 mL. El extracto obtenido se filtró con un acrodisco (0.45 µm) y fueron almacenados en viales color ámbar (a -20 °C) hasta su análisis.

Análisis de compuestos fenólicos

El análisis de compuestos fenólicos se llevó a cabo mediante cromatografía de convergencia (UPC²: Ultra-performance convergence chromatography). Se utilizó un cromatógrafo HPLC Waters System (Waters Corporation, Milford, MA, USA) el cual consiste en una bomba cuaternaria (modelo 600), un detector de arreglo de diodo (modelo 996), un desgasificador de vacío en línea (MetaChem Technologies Inc.) y un inyector Rheodyne (4793). El control del equipo, el proceso y el manejo de la información cromatográfica se realizó con el programa Millennium (Waters).

Las muestras previamente preparadas fueron inyectadas en el UPC² de acuerdo a las condiciones de análisis para conocer su perfil cromatográfico (TABLA 1). Posteriormente, se inyectó cada uno de los estándares para determinar su tiempo de retención y obtener su espectro de UV. Los tiempos de retención y los espectros UV de los diferentes picos en las muestras fueron comparados con los de los estándares para encontrar aquellos picos de la muestra que coincidieran con los estándares. Los picos coincidentes fueron sometidos a una co-elución (por adición de estándar a tres diferentes concentraciones) para confirmar la correspondencia de los compuestos.

Aquellos compuestos que fueron identificados se cuantificaron empleando curvas de calibración del estándar correspondiente.

TABLA 1 Método para detección de los compuestos de *Cuphea spp.* con el UPC². Condiciones en las que se introdujeron las muestras: Volumen de inyección: 10 µL, Flujo:

1.5 mL/min, Columna: Viridis BEH 5 μ m, 4.6 X 100 mm, Temperatura de columna: 40 °C, ABPR: 1500 psi. *CO₂ grado Coleman.

Condiciones específicas para la detección de los compuestos mediante UPC²

Tiempo (minutos)	*CO₂ (%)	Metanol (%)
0	95	5
8	70	30
9	70	30
10	95	5
11	95	5

t) **Análisis Estadístico**

Se realizaron un análisis de varianza de un factor a los valores encontrados a través de las diferentes determinaciones y se compararon los valores medios de los mismos valores. Se hizo mediante el programa STATGRAPHICS Centurion XV, versión 15.2.06. Los resultados del programa nos proveen una tabla de ANDEVA donde se muestra una tabla de análisis de varianza y prueba-F para la igualdad de medias. Una tabla de Medias que muestra las medias de nivel con estimados de intervalo y, una prueba de Varianza que prueba si hay diferencias significativas entre las varianzas de los niveles (n=3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- a) Diseño y Caracterización del sistema de cultivo Acuapónico de *Cuphea spp.* con carpa Koi

Prototipo I

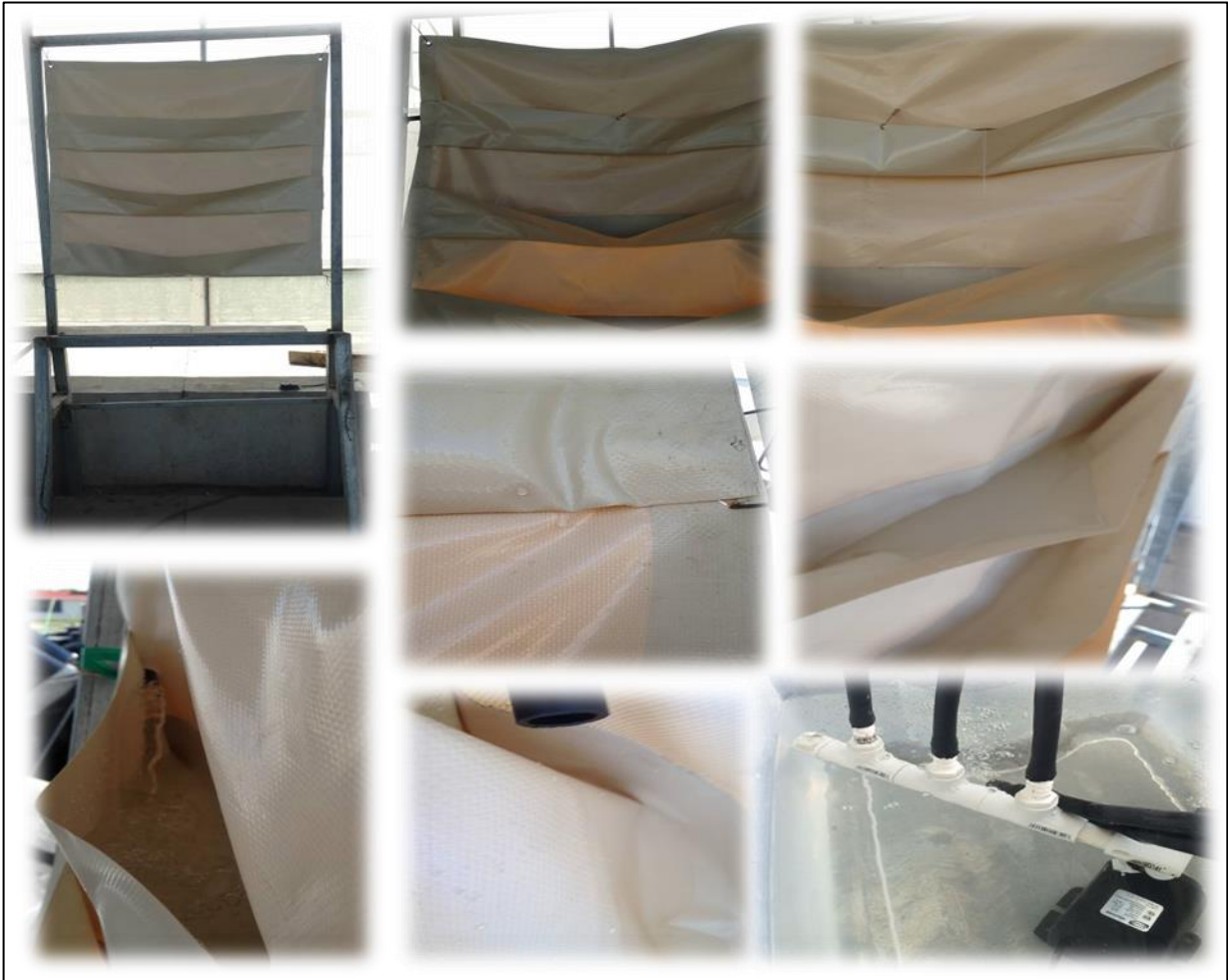


Figura 12 Problemas encontrados al probar el prototipo I. Se muestran las fugas, y dobleces que causó el agua en las camas de plástico vulcanizado.

El prototipo I consideraba el uso de bolsas de PET reciclado, vulcanizadas, cuando se hicieron las pruebas de resistencia del material se observó que el soporte de las camas de plástico independiente no fue adecuado al ser encendida la bomba, la razón fue debido a que el material estaba instalado sin un soporte, y no presentaba suficiente rigidez y esto dio como resultado dobleces en las bolsas de PET. También no se mantuvieron las mangueras conectadas en los orificios que se hicieron. Debido al peso del agua, la bolsa comenzó a abrirse de la parte media

hasta que el agua se desbordó. El agua caía desde la primera bolsa a la segunda y ésta a la tercera, impidiendo esto un flujo independiente y evitando que se pusieran las plantas para la siguiente etapa. Estos resultados se debieron al proceso de vulcanización que se le dio a la lona para formar los espacios en donde iría la planta. Por lo que este prototipo no fue aceptado.

Prototipo II

Tomando en cuenta los sucesos anteriores, se consideraron otros aspectos: Se tomó en cuenta el peso aproximado que generaría el agua junto con las plantas una vez que los tubos estuvieran llenos. Se prosiguió al montaje del sistema hidráulico que consistió en montado de los tubos, mangueras y conectores (FIGURA 13).



Figura 13 Prototipo II. Ensamblado, pruebas de resistencia y pruebas de caudal hechos previamente al tiempo de 90 días de los sistemas Acuapónicos.

Se hizo una adaptación en la bomba para lograr 3 salidas para que los flujos fueran independientes. Los materiales que se usaron están descritos en la parte de materiales y métodos de éste documento. Se observó que el material era adecuado

para soportar las plantas con un nivel de agua suficiente para cubrir las raíces. El sistema mostró estabilidad en lo que lleva de vida. El flujo óptimo independiente de cada línea de cultivo fue de $0.56 \text{ cm}^3/\text{s}$, para dar un caudal total de $1.73 \text{ cm}^3/\text{s}$ por los tres canales, el cuál regresaba por gravedad a la pecera oxigenándola por la caída tipo cascada (FIGURA 14).

Se observó que el sedimento que se bombeaba a los canales se acumulaba debido al caudal que se ocupó. La caída del agua oxigenó a niveles deseables la pecera (FIGURA 18) y la cantidad de comida que se les daba (5g) fue la indicada para que no sobrepasara los niveles máximos permisibles de los desechos de las carpas en el agua, evitando así provocar un ambiente tóxico para los organismos acuáticos (FIGURA 14).



Figura 14 Pruebas de caudal, drenaje y sedimentación de agua sin organismo acuático y de agua con organismo acuático. Duración 15 días.

Se hizo la aclimatación de las plantas según el tiempo descrito previamente (FIGURA 15), y la especie *C. ignea* no pudo sobrevivir. Las otras dos especies mostraron buen crecimiento, pero al final del experimento solo la especie *C. hyssopifolia* mostró crecimiento floral, foliar y a lo largo de las ramas. La *C. cyanea* primero mostró muerte de flores, y luego de hojas. Pero tuvo crecimiento en la parte superior derecha del sistema donde había más incidencia de luz.



Figura 15 Etapas de aclimatación de las *Cuphea spp.* 15 días antes del tiempo cero con la introducción de las mismas a los sistemas Acuapónicos.

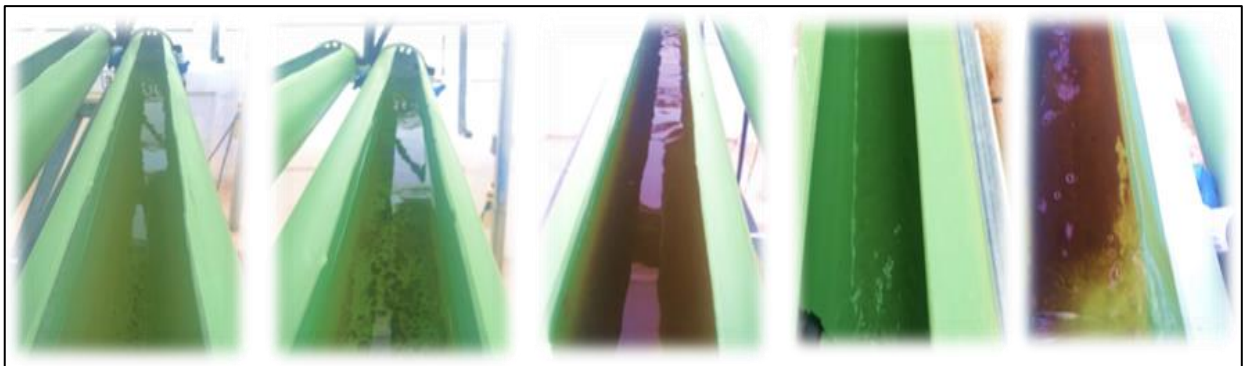


Figura 16 Diferencias en la sedimentación de los desechos interna de las camas de cultivo a lo largo del experimento. Las primeras tres muestran una progresión en el tiempo al inicio, al mes y al final. Las últimas dos muestran un acercamiento en la entrada del agua al canal.

Caracterización de los estimadores de Temperatura, Radiación y calidad de agua dentro del sistema protegido

Las condiciones climáticas son importantes para el crecimiento adecuado de las plantas, debido a que el sistema era de ventilación pasiva y no se modificaban los aspectos climáticos como humedad relativa (%HR), temperatura (°C) o incidencia de radiación (w/m^2) dentro del sistema protegido, los valores que obtenidos dejaron ver que al principio del tiempo de aclimatación de las carpas, los cambios en la temperatura tenían picos mayores entre los máximos por el día y picos mínimos por la noche. Estas diferencias de temperatura permitieron dar referencia para hacer un ajuste en el volumen de las peceras a fin de reducir los cambios en la temperatura. La incidencia de radiación más alta se obtuvo en el mes de diciembre. También se muestra la tendencia del %HR a mantenerse entre el 50%, siendo esto un dato para la introducción de las plantas, dando una base de que se tendrían niveles permisibles para las *Cuphea spp.* y su crecimiento.

Los valores de temperatura ambiental y del agua se presentan en las FIGURAS 16 y 17, y en las tablas 2 y 3.

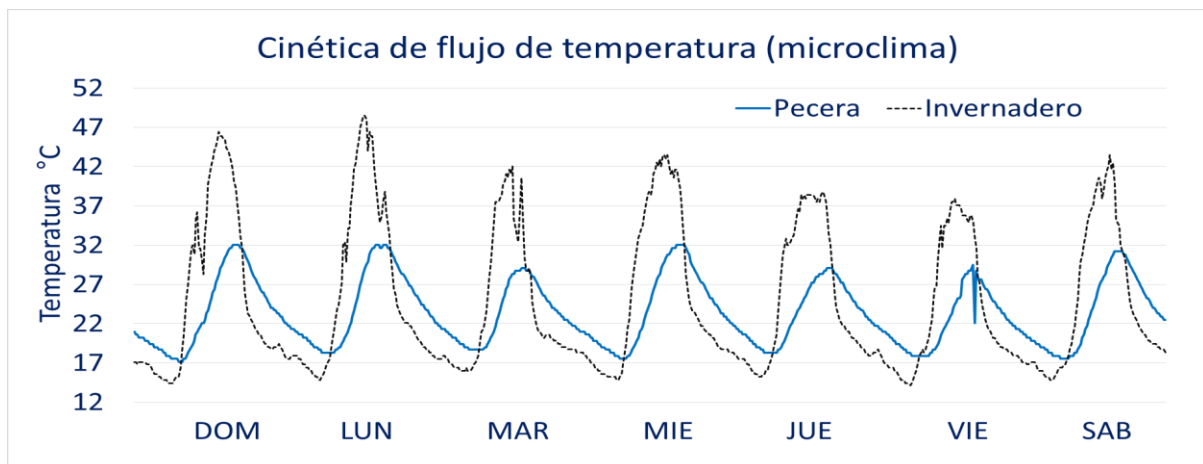


Figura 17 Cinética del flujo de Temperatura obtenida de una semana representativa dentro del invernadero.

Tabla 2 Valores de radiación Máximos alcanzados en los diferentes meses que se llevó a cabo el experimento.

Radiación Máxima alcanzada durante el tiempo de aclimatación hasta el término de los 90 días del experimento

Mes	W/m ²
Diciembre	114
Enero	133
Febrero	167
Marzo	221
Abril	183

Tabla 3 Porcentajes de Humedad Relativa de una semana representativa en los meses de Diciembre y Marzo.

Porcentaje Humedad Relativa (%HR) 20-25 Dic '15			Porcentaje Humedad Relativa (%HR) 13-18 Mar '16		
Max %HR	Min %HR	Promedio	Max %HR	Min %HR	Promedio
75.2	33	57.91 ± 9.09	73.7	36.5	53 ± 8.05

Tabla 4 Temperaturas Máximas y mínimas registradas dentro del invernadero y sus respectivos promedios.

	Temperatura °C				
	Máxima de Nov	Mínima de Nov	Diferencia	Promedio max/día 1-7 nov 15	Promedio min/día 1-7 nov 15
Aire	48	14	34	42.94 ± 3.8	14.87 ± 0.6
Agua	31	17	14	30.7 ± 1.41	17.9 ± 0.57

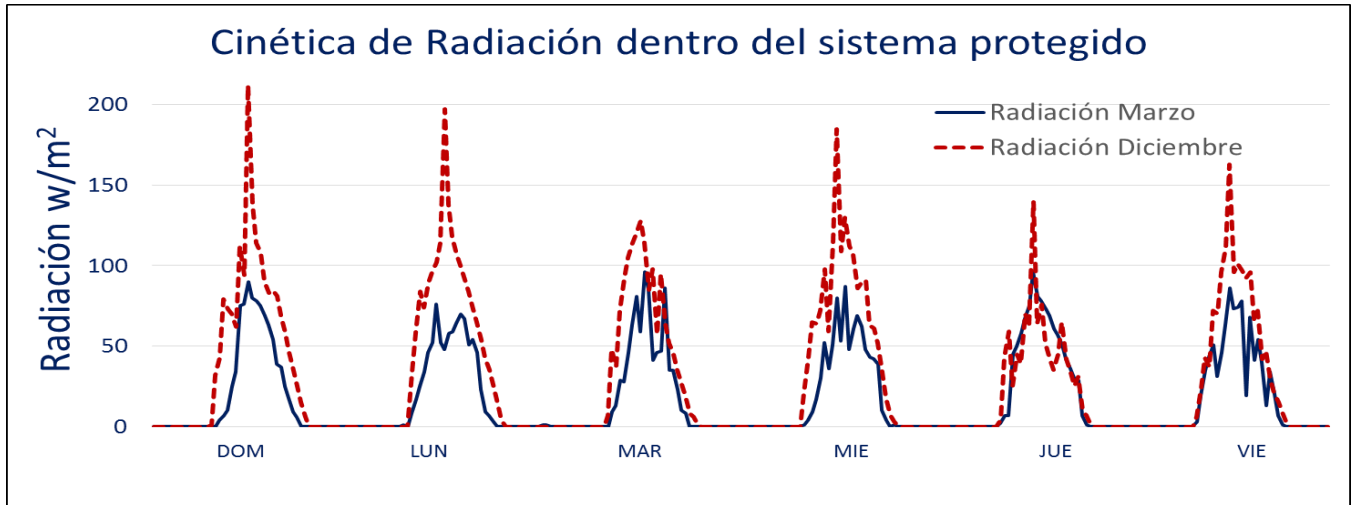


Figura 18 Cinética de la Radiación en el Invernadero de una semana representativa de los meses de Diciembre y Marzo

- b) Monitorear el comportamiento del sistema de los cultivos tradicional y Acuapónico

Valores de concentraciones en la calidad de agua inicial

En las Figuras 18, 19 y 20 se muestran los cambios propios de la maduración del agua, según lo descrito por Rakocy (2000) y por comunicación personal *com. per.* (García-Trejo, 2015), el sistema tiende a desequilibrarse para llegar a un punto constante de adaptación.

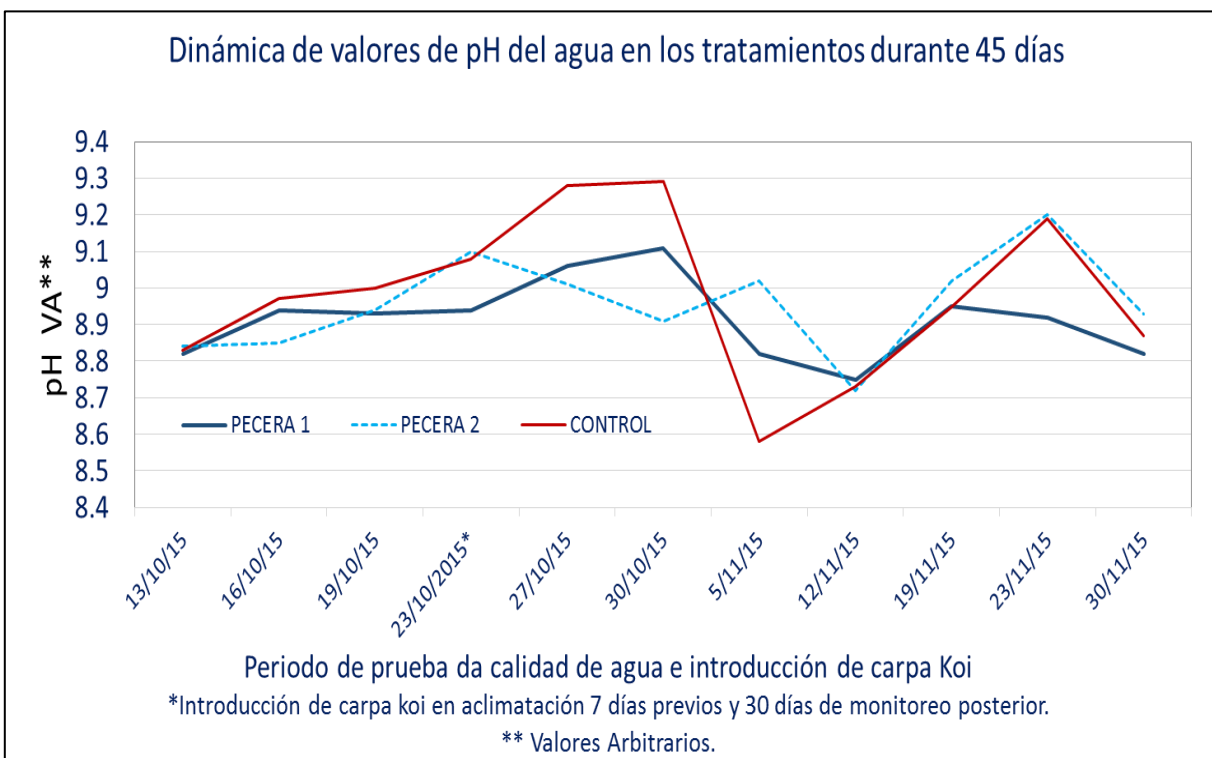


Figura 19 VALORES OBTENIDOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD DE AGUA -pH-

Lo que se observa es que el cambio en las concentraciones de sales ($\mu\text{S}/\text{cm}$) fue modificándose para llegar a un punto estable. De la misma manera que se observa la concentración de oxígeno disuelto (mg/l) y el pH. Aunque se han descrito muchos tiempos de maduración y muchos tipos de sistemas acuapónicos como los mencionados por Montero (2004), Díaz (2007) y Rozón-Ortega (2012), todos estos son enfocados en uso intensivo de producción y se basan en plantas muy estudiadas como lechuga, orégano, albahaca, jitomate, entre otras y aunque sí son a escala, siguen siendo modelos de volúmenes mayores que los mencionados en este trabajo, se observa que al igual que sus sistemas, el sistema se adapta y equilibra incluso en volúmenes pequeños.

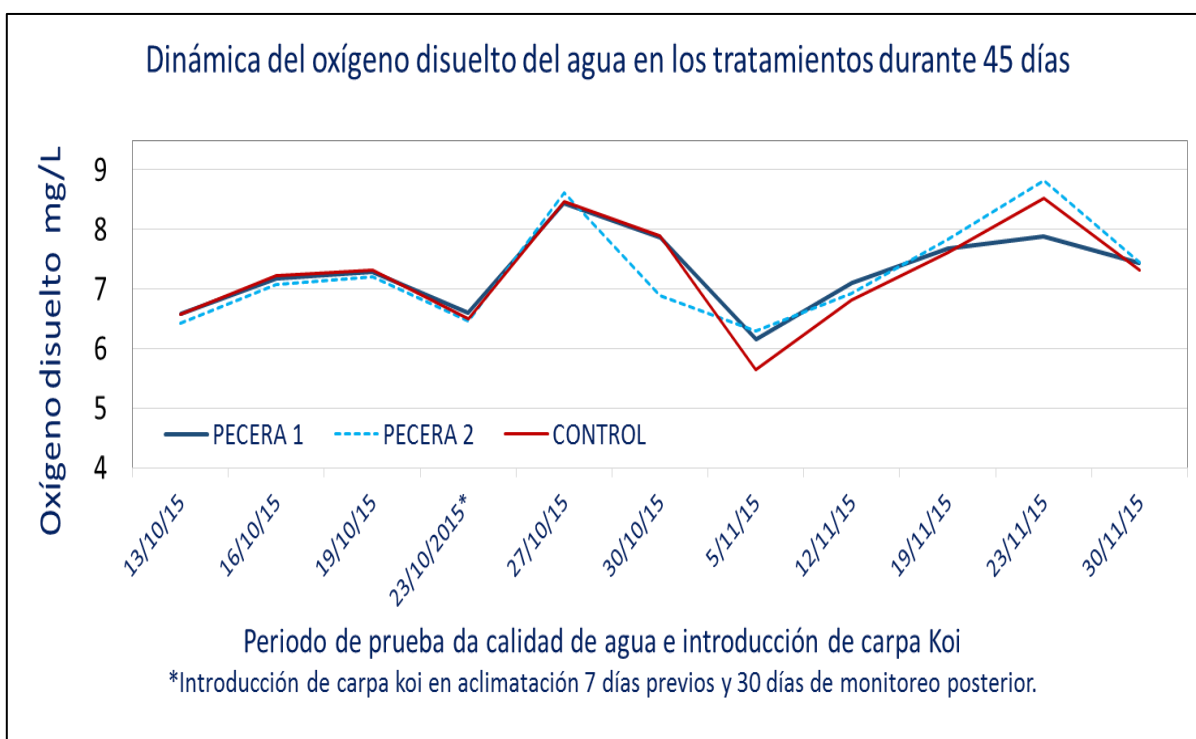


Figura 20 VALORES OBTENIDOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD DE AGUA –oxígeno disuelto-

Es importante recalcar que el pH para las plantas según lo describe el Departamento del interior y encuestas geológicas de E.U (2016), no se tiene un nivel óptimo para la total absorción de los nutrientes, pero debido a que esos eran los valores inherentes del agua de la zona, seguimos adelante con el proyecto y a pesar de estas condiciones, las plantas mostraron crecimiento floral y foliar.

Las Figuras 21, 22 y 23 muestran los cambios que ocurrieron a través del tiempo en los diferentes nutrientes que se encontraban en el agua. La dureza del agua (Ca y Mg) solo tuvo cambios en la pecera 1 que contenía a la variedad *C. hyssopifolia*, debido a que el prototipo no incluía biofiltro como menciona Rakocy (1999a. 1999b) y la adaptación de esta variedad al sistema acuapónico llevó más tiempo que las otras.

Como ha descrito Neagel (1977) y Caló (2011), es necesaria una desnitrificación para que la planta tenga una buena absorción del nitrógeno en forma de nitratos (NO_3) y no se generen niveles tóxicos para el organismo acuático. Los datos obtenidos en los 90 días del experimento muestran que no existió para las carpas una intoxicación de amonio (NH_4), y los nitritos (NO_2) aumentaron debido a que no existía una absorción completa por parte de las plantas, esto debido a los niveles de pH y conductividad que se generaron en el biosistema dentro del sistema protegido. En la pecera de control se observó un incremento mayor de nitritos que en las demás pues no había plantas que lo absorbieran. Las concentraciones de nitratos se observaron mínimas como describe Caló (2011) pues es la forma de nitrógeno asimilable de las plantas. Durante todo el experimento los niveles de cloro (Cl) estuvieron por debajo de los límites permisibles en el sistema acuapónico mientras que los fosfatos (PO_4) mostraron un incremento al final del periodo experimental como ya se mencionó debido a que no se ocupó filtro ni plantas para que lo absorbieran, y el recambio parcial de agua que se hacía cada dos semanas no fue suficiente para removerlos. Se muestran picos mayores y menores entre las tomas de sulfatos (SO_4) pues se sabe que estos nutrientes al igual que los fosfatos (PO_4) contribuyen en la formación de las diferentes partes de la planta *com. per.* (García-Trejo, 2016).

La figura 24 muestra que el sistema retenía por sí solo los sedimentos de la carpa ayudando esto a que cuando se introdujo la planta pudiera absorber los nutrientes y también hubiera espacio para la colonización de las bacterias desnitrificantes, pues tampoco se ocuparon sustratos para detener las plantas dentro del sistema.

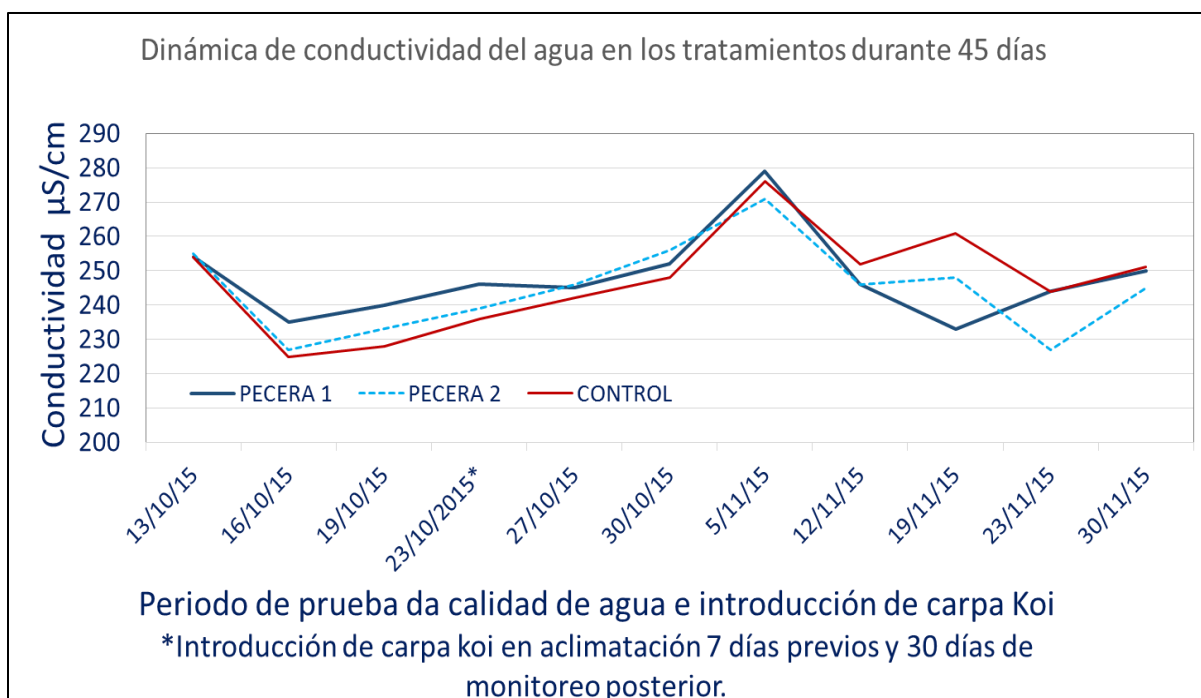


Figura 21 VALORES OBTENIDOS DEL MONITOREO DE LA CALIDAD DE AGUA –conductividad

Monitoreo de calidad del agua a través del tiempo en las *Cuphea spp.* con su control (1)

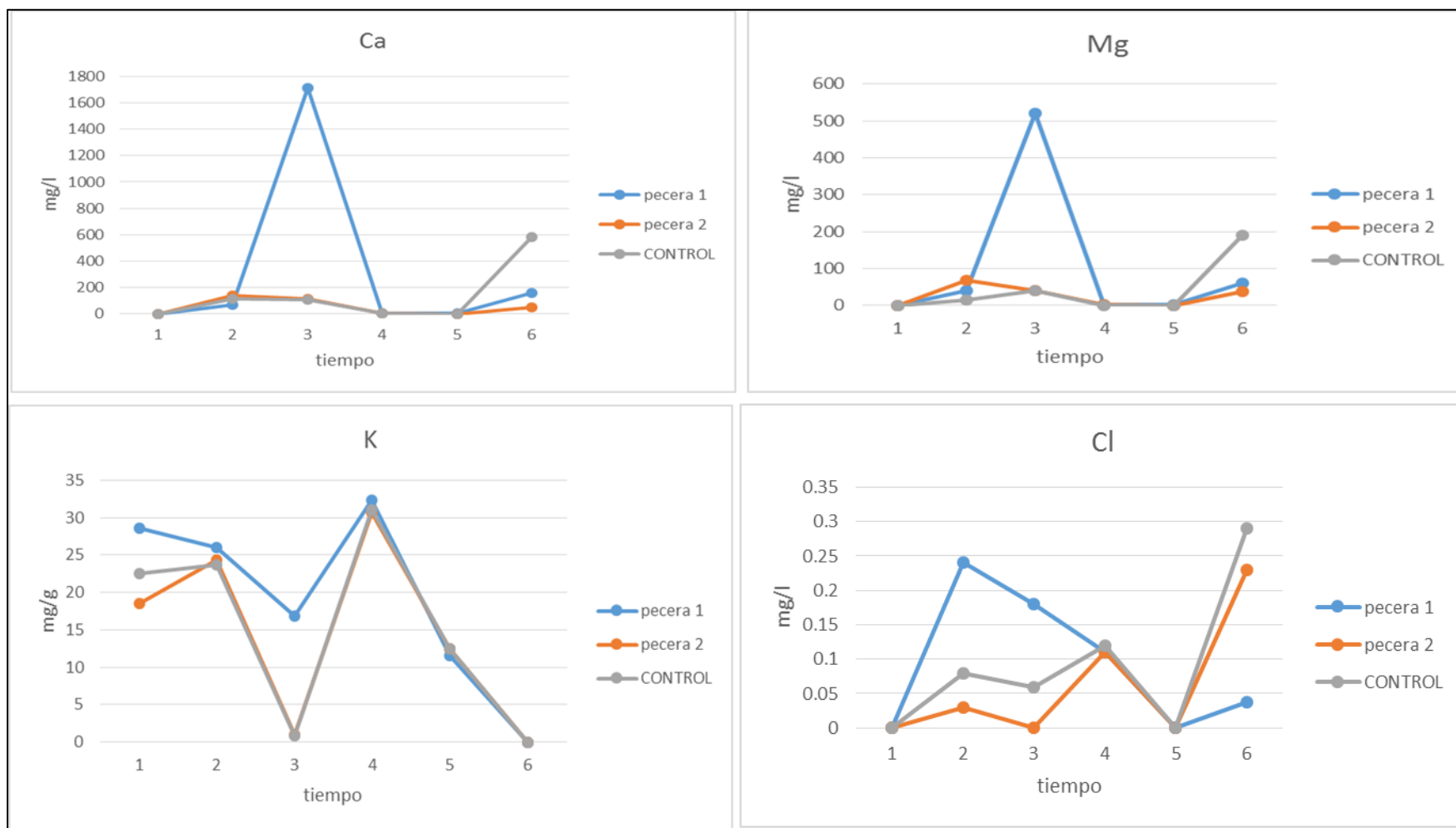


Figura 22 Dinámica de la acumulación de Nutrientes –Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Potasio (K) y Cloro (Cl)- a lo largo del tiempo.

La Pecera 1 contenía la variedad *C. hyssopifolia*, y la Pecera 2 *C. cyanea*. 1- muestra de agua sola, 2 y 3- muestras de agua con carpa koi, 4,5 y 6 muestras de agua con sistema acuapónico completo.

Monitoreo de calidad del agua a través del tiempo en las *Cuphea spp.* con su control (2)

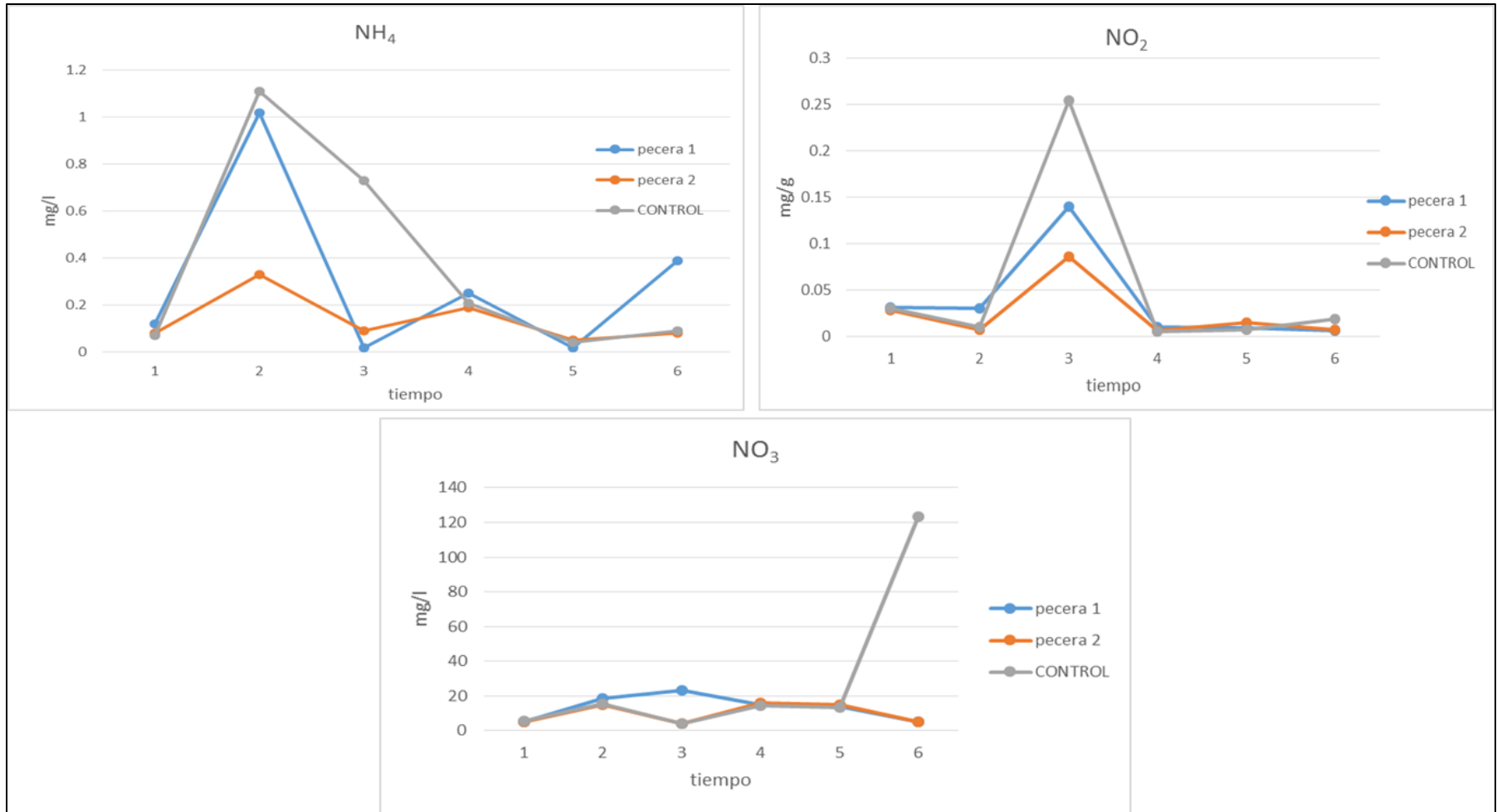


Figura 23 Dinámica de la acumulación de Nutrientes -Amonio (NH₄), nitratos (NO₃), nitritos (NO₂)- a lo largo del tiempo.

La Pecera 1 contenía la variedad *C. hyssopifolia*, y la Pecera 2 *C. cyanea*.- 1- muestra de agua sola, 2 y 3- muestras de agua con carpa koi, 4,5 y 6 muestras de agua con sistema acuapónico completo.

Monitoreo de calidad del agua a través del tiempo en las *Cuphea spp.* con su control (3)

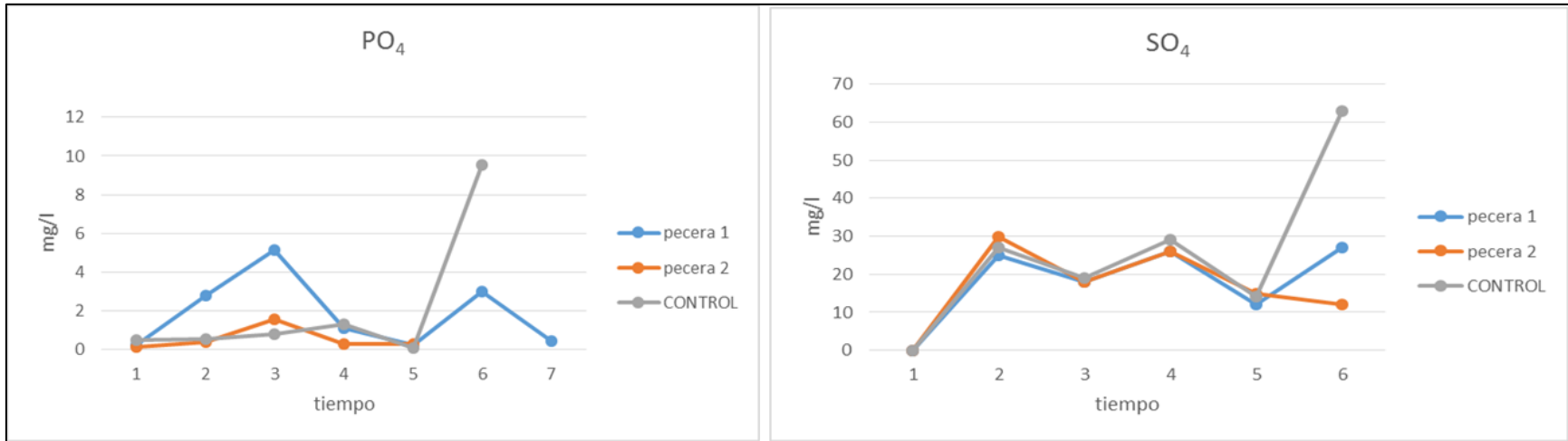


Figura 24 Dinámica de la acumulación de Nutrientes -Fosfatos (PO₄) y sulfatos (NO₃) a lo largo del tiempo

La Pecera 1 contenía la variedad *C. hyssopifolia*, y la Pecera 2 *C. cyanea*. 1- muestra de agua sola, 2 y 3- muestras de agua con carpa koi, 4,5 y 6 muestras de agua con sistema acuapónico completo.

Diferencias en el crecimiento foliar durante el periodo de experimentación

Las figuras 25-28 muestran los cambios que se dieron en el crecimiento de las hojas (largo x ancho) y muestran la tendencia de aumento en área foliar y por consiguiente en biomasa una vez que se introdujeron en el SAQ. Se observa que el aumento más prominente es a lo largo de las ramas. En comparación de crecimiento entre el SAQ y el HD, el mayor aumento foliar fue por el sistema HD.

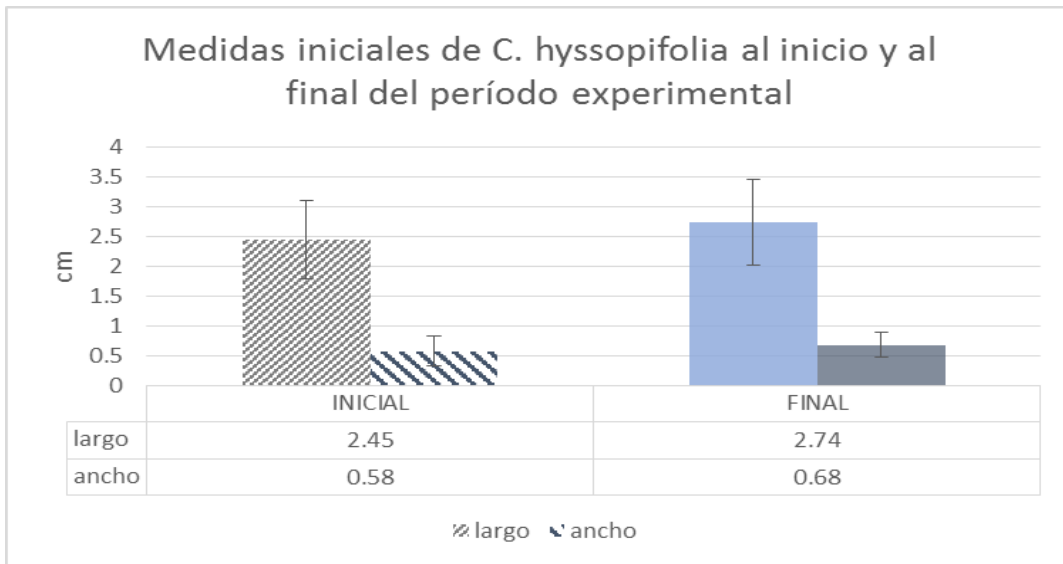


Figura 26 Medidas aleatorias de las hojas de *C. hyssopifolia* (largo por ancho) de etapa inicial y final del periodo de 90 días.

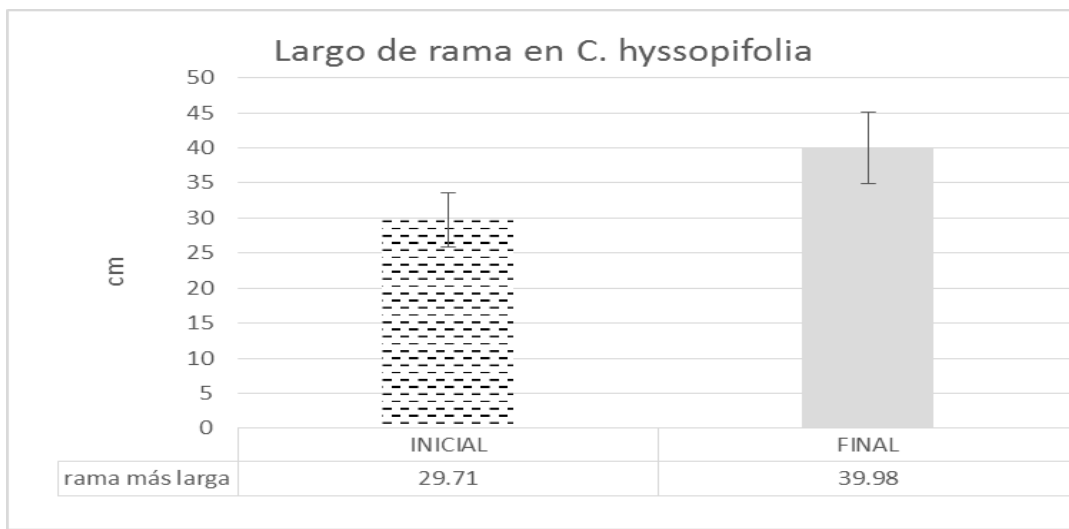


Figura 25 Valores obtenidos de los promedios de la rama más larga en cada planta dentro del sistema acuapónico al inicio y después de 90 días.

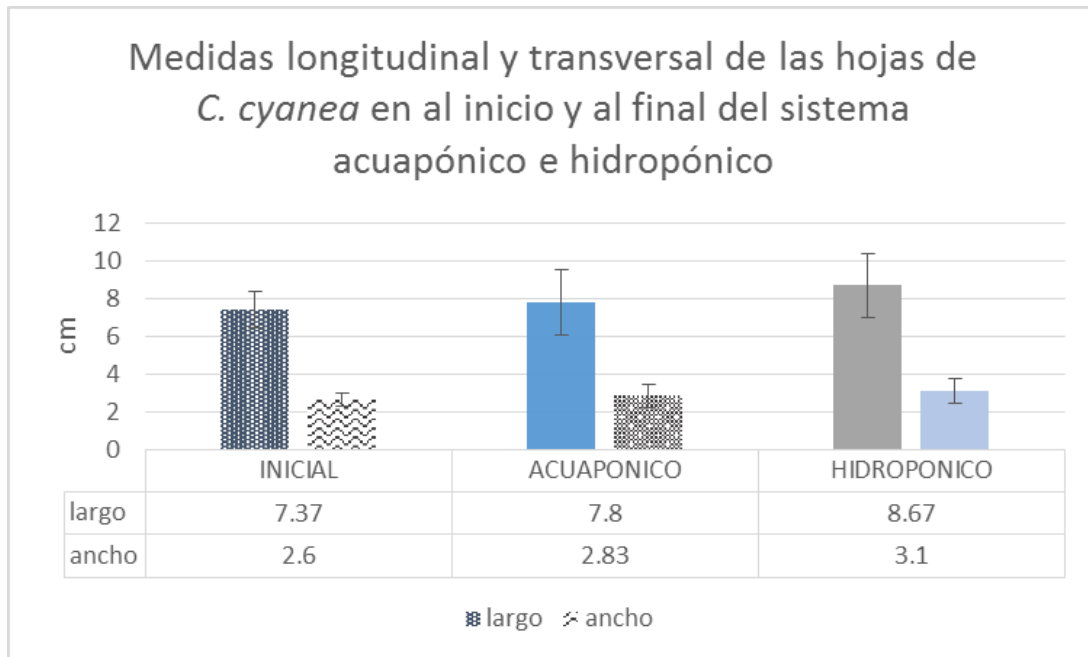


Figura 27 Diferencias en el crecimiento foliar entre los tres tratamientos- en Tierra, Acuapónico e Hidropónico- al inicio del experimento y 90 días después.

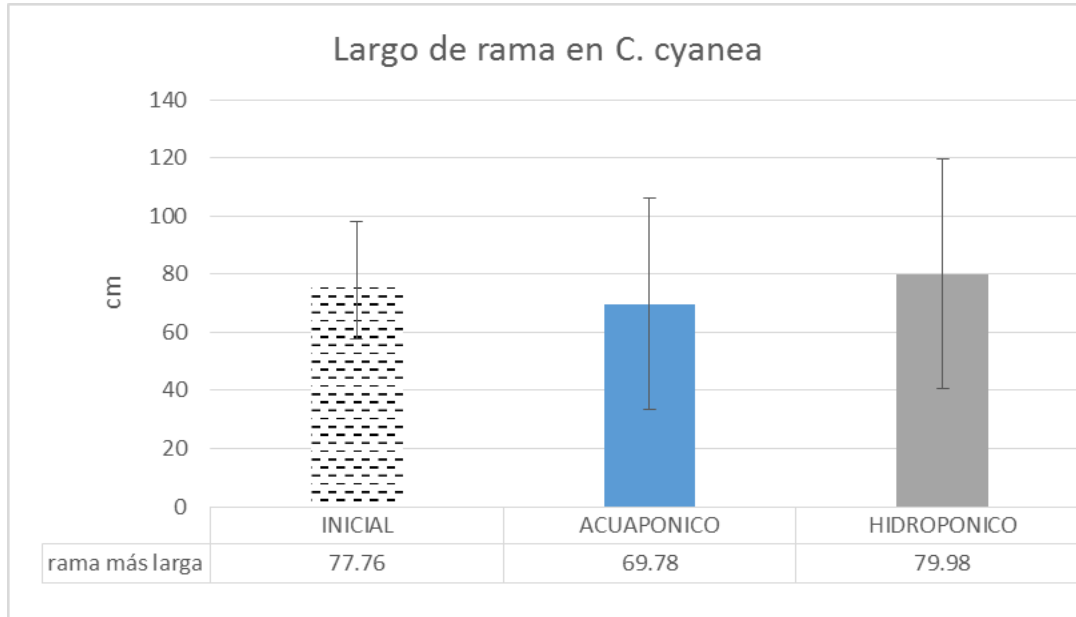


Figura 28 Valores obtenidos de los promedios de la rama más larga en cada planta dentro del sistema acuapónico al inicio y después de 90 días.

- c) Determinar diferencias significativas en el contenido de nutraceuticos por los diferentes tratamientos.

De las muestras tomadas en las diferentes etapas de progreso del experimento, previamente deshidratadas según lo descrito en materiales y métodos en el apartado de pre-tratamientos, los resultados bromatológicos que se obtuvieron fueron los siguientes:

Tabla 5 Valores de porcentaje de humedad obtenidos de las variedades al inicio del proceso de aclimatación y al término del experimento (90 días)

Porcentaje de humedad de *Cuphea* spp.

	INICIAL	FINAL
<i>C. cyanea</i>	81.31	51.92
<i>C. hyssopifolia</i>	59.67	43.26

La tabla 5 muestra el porcentaje de humedad de las especies que mostraron tener las características necesarias para ser introducidas en los SAQ, se observa que hubo un cambio en la absorción de agua entre el inicio y el final del experimento, *C. cyanea* disminuyó un 36% aproximado en su composición de agua mientras que *C. hyssopifolia* sólo disminuyó alrededor de 27% esto debido a sus características fenotípicas, pues la *C. hyssopifolia* muestra ramas leñosas por lo que le es más fácil mantener su humedad en comparación con *C. cyanea* que es de tipo enredadera.

Las Figuras 25, 26 y 27 nos muestran las diferencias que hay en la concentración de fenoles entre *C. cyanea* y *C. hyssopifolia*, se muestra que las concentraciones son mayores en *C. hyssopifolia*. Por un lado hay un aumento de aprox. 60 mg/g en la concentración de fenoles en *C. hyssopifolia* al inicio del experimento que se ve disminuido alrededor de 20 mg/g al final de los 90 días. Esto puede haber ocurrido debido a que estas variedades caen dentro de las plantas medicinales y como menciona García (2004), su respuesta en este caso ante los factores abióticos dentro del invernadero, provocaron un estrés que se vio reflejado en el aumento al inicio. Aunque al final se muestra que hubo una adaptación y su

contenido disminuyó pero no llegó al nivel del control. Por otro lado *C. cyanea* también tuvo la misma tendencia de aumentar al inicio y disminuir su concentración al final, aunque su aumento fue menor que el que mostró *C. hyssopifolia*.

Los análisis estadísticos muestran que los flavonoides inherentes a cada variedad según describe Flannigan (2014) se presentan en menor cantidad lo que sugiere que sistema acuapónico guía hacia la producción de compuestos fenólicos en las variedades *C. cyanea* y *C. hyssopifolia*.

Respecto a los resultados en la capacidad antioxidante (CAO), sabemos que el método de DPPH funciona con un radical que disminuye su concentración al agregar un antioxidante, es decir, es un método basado en la donación de un átomo de hidrógeno o en la formación de complejos (DPPH-H y DPPH-R) mediante la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil., mientras que el método de FRAP es mediante la presencia o ausencia de radicales libres. Las concentraciones de las capacidades antioxidantes para cada planta se determinaron por medio del porcentaje de inhibición (IC₅₀).

Al analizar *C. cyanea* por el método de DPPH se observa que esta aumenta al inicio y vuelve a aumentar al final del experimento. Y por medio del método FRAP se muestra que su CAO se mantiene cercano en sus valores al inicio y al final. Cuando se analiza *C. hyssopifolia*, se observa una disminución en el CAO utilizando el método de DPPH, sin embargo al comparar con el método de FRAP se observa que se mantiene el valor con un mínimo aumento.

Concentración de Fenoles Totales en *C. hyssopifolia*

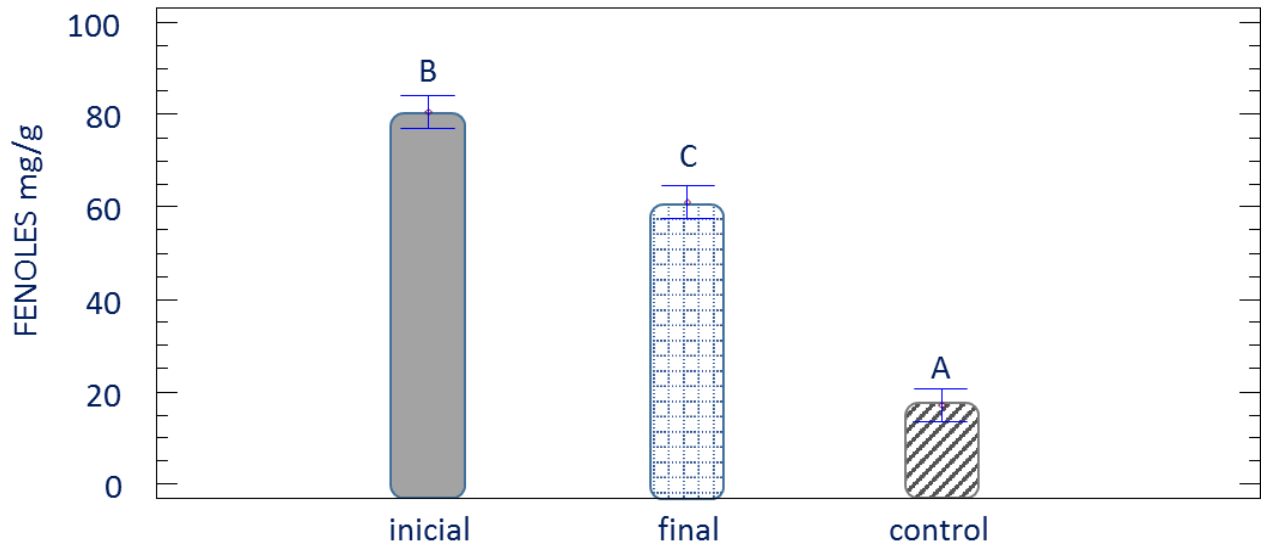


Figura 29 Cambios obtenidos en la concentración de fenoles totales (mg/g eq. Á. Gálico) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de FENOLES en A, B y C en *C. cyanea* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. Razón-F= 19.92, Valor-P=0.0000

Concentraciones de Flavonoides Totales de *C. hyssopifolia* y *C. cyanea*

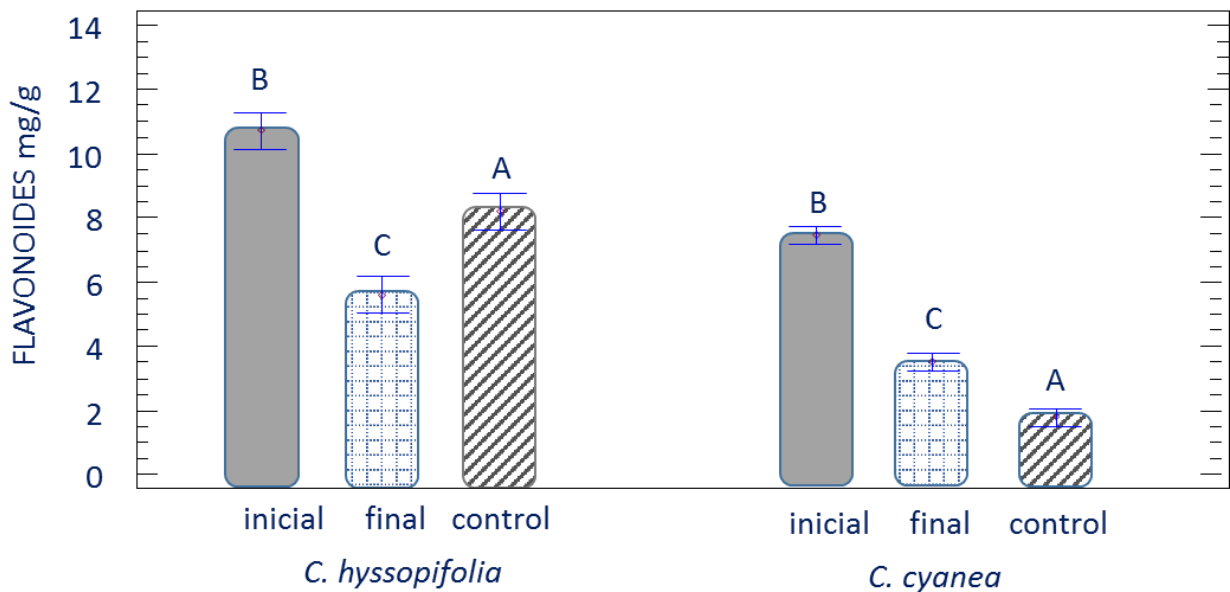


Figura 30 Cambios obtenidos en la concentración de flavonoides totales (mg/g eq. Catequina) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de FLAVONOIDEOS en A, B y C en *C. hyssopifolia* (A) y entre un nivel y otro y en A, B, y C en *C. cyanea* (B) con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (A) Razón-F= 43.74, Valor-P=0.0000. (B) Razón-F=244.33, Valor-P=0.0000

Concentración de capacidad Antioxidante por dos métodos en *C. hyssopifolia*

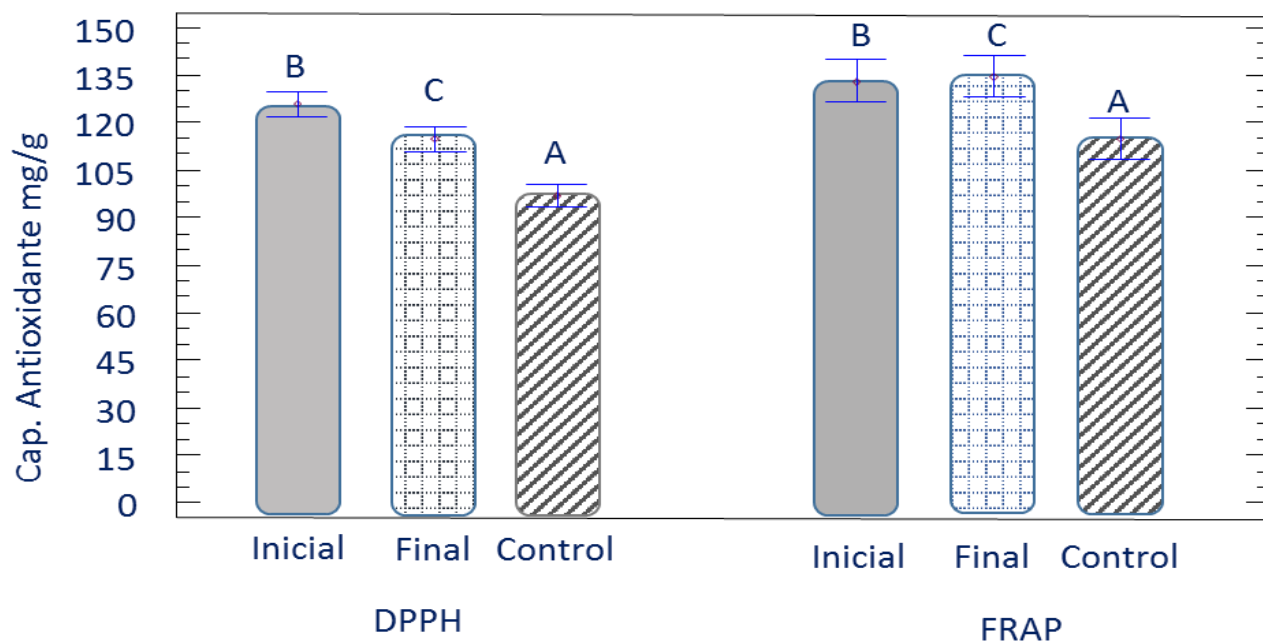


Figura 31 Cambios obtenidos en la concentración en la capacidad antioxidante (CAO) por el método de DPPH (1) y FRAP (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de CAO entre un nivel y otro en *C. hyssopifolia* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=29.44, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=5.91, Valor-P=0.0082

Concentración de capacidad Antioxidante por dos métodos en *C. cyanea*

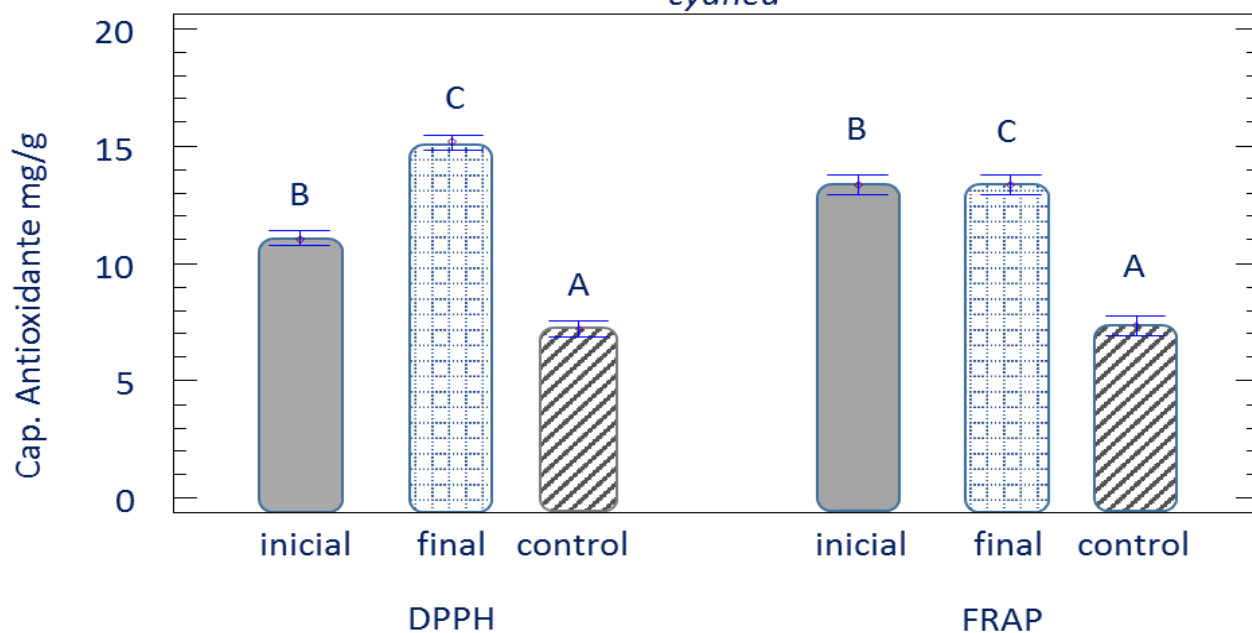


Figura 32 Cambios obtenidos en la concentración en la capacidad antioxidante (CAO) por el método de DPPH (1) y FRAP (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de CAO entre un nivel y otro en *C. cyanea* (B) con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F= 317.57, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F= 138.83, Valor-P=0.0000.

La tendencia en todos los casos es bajar su concentración al final, con respecto al control se vio aumentada. Según lo reportado por Nguyen (2010), era de esperarse que entre los diferentes tratamientos se generara una diferencia entre el contenido de metabolitos especializados.

En una prueba adicional con un sistema hidropónico con la especie *C.cyanea*.se obtuvieron datos que confirman que los sistemas acuapónicos generan estrés sobre las *Cuphea spp*. Los resultados entre las muestras finales del sistema acuapónico (Aq) y el Sistema hidropónico (Hd) muestran diferencias significativas con respecto al control pues fueron mayores. Sin embargo al final del experimento la concentración de fenoles y de flavonoides disminuyó en el Aq y en el Hd los niveles disminuyeron hasta llegar cerca de los niveles del control. Por otra parte la CAO por el método de FRAP mostró la misma tendencia que los flavonoides y los fenoles pero por el método de DPPH se observó un incremento en los dos sistemas Aq e Hd, siendo el mayor incremento en el Aq.

La Figura 34-37 muestran las mediciones que se hicieron mediante mediante cromatografía de convergencia (UPC²: Ultra-performance convergence chromatography). Los picos muestran el valor de absorbancia máximo dónde el estándar de apigenina ocurre y mediante un proceso de co-elución del estándar con la muestra (FIGURA 35 y 37), se puede ver que los máximos, mínimos y el tiempo de elución concuerdan con la presencia de apigenina. Debido a que todas las muestras se trataron de la misma manera, los resultados obtenidos en la concentración puntual de compuestos flavonoides muestran una disminución de apigenina y no se detectan los demás estándares con los que se comparó, sin embargo se observan picos de absorbancia mayores en otros compuestos fenólicos que no se tienen identificados. Esta es la razón de que en los análisis estadísticos se observe la tendencia de aumentar la concentración de metabolitos especializados y de mantener y/o aumentar su CAO para el caso específico de *Cuphea spp*.

No se tienen datos de que se haya realizado experimentos para aumentar la concentración de metabolitos especializados en plantas medicinales de *Cuphea spp*. por lo que los valores que se observan son los únicos datos al momento que se pueden comparar.

Concentraciones de Fenoles Totales en el muestreo Inicial y Final de Tratamientos en *C. cyanea*

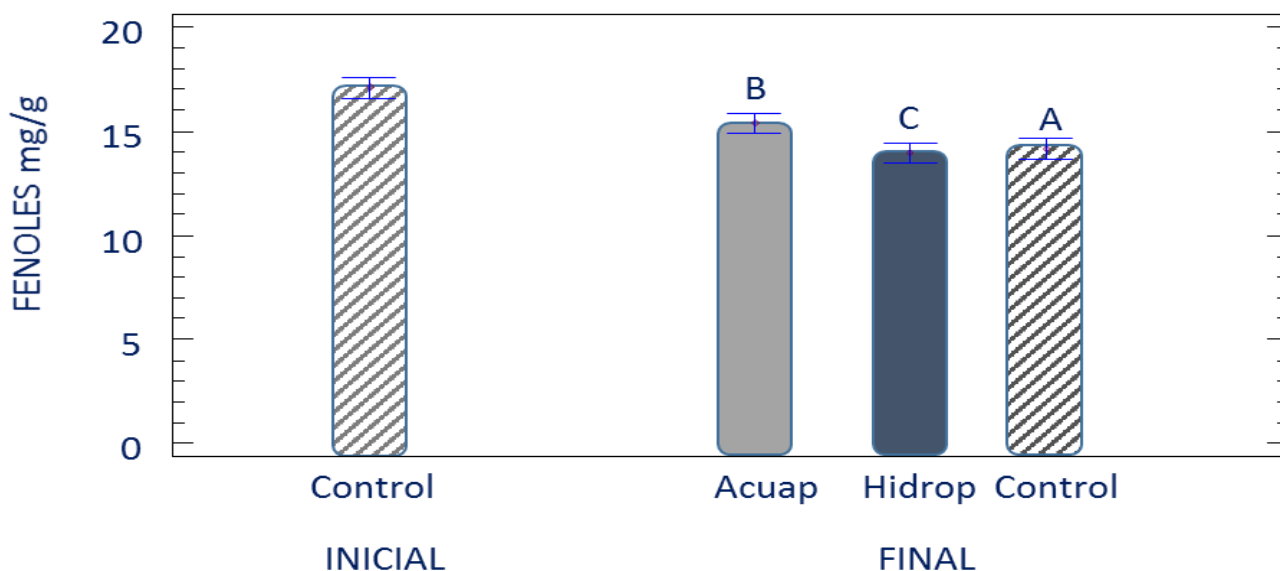


Figura 33 Comparación de resultados obtenidos en AQ y entre pruebas realizadas en cultivo HD con las mismas condiciones climáticas y de calidad de agua dentro del mismo sistema protegido. Valores obtenidos de las diferencias en la concentración de fenoles totales (mg/g eq. Á. Gálico) en su toma INICIAL (1) y FINAL (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de FENOLES B y CA respecto del control en *C. cyanea* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=33.54, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=5.54, Valor-P=0.0105.

Concentraciones de Flavonoides Totales en el muestreo Inicial y Final de Tratamientos en *C. cyanea*

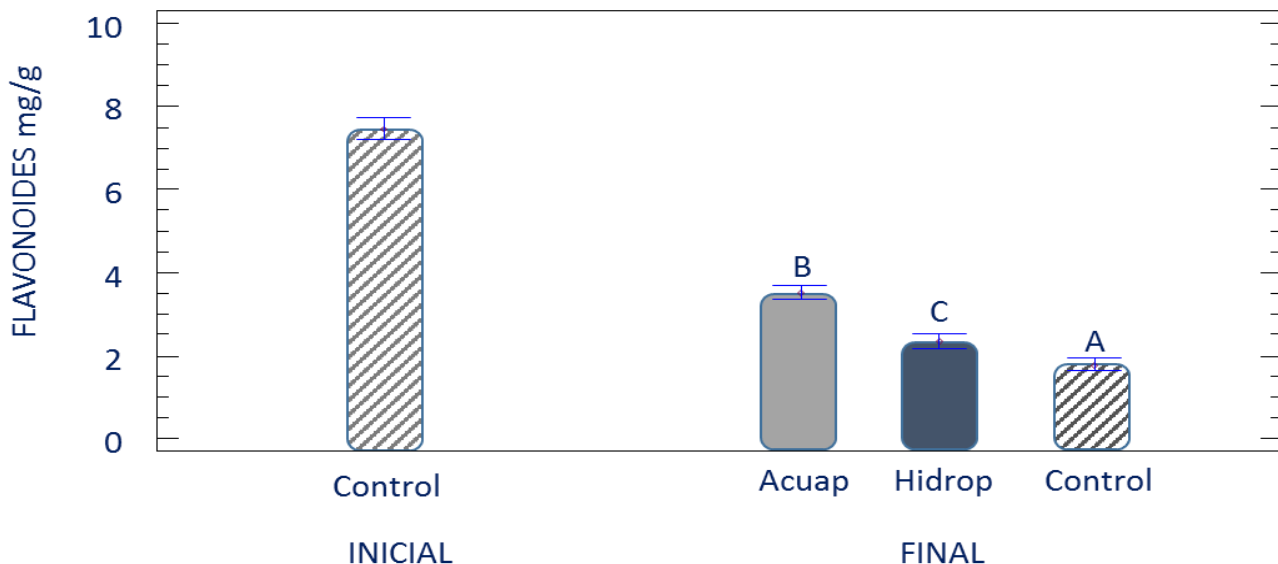


Figura 34 Comparación de resultados obtenidos en Cultivo Acuapónico (A) y entre pruebas realizadas en cultivo Hidropónico (H) con las mismas condiciones climáticas y de calidad de agua dentro del mismo sistema protegido. Valores obtenidos de las diferencias en la concentración de flavonoides (mg/g eq. Catequina) en su toma INICIAL (1) y FINAL (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración de FLAVONOIDES sólo con respecto al control (1) y entre un nivel y otro (2) en *C. cyanea* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=490.07, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=60.36, Valor-P=0.0000

Concentraciones de Capacidad Antioxidante (FRAP) en el muestreo Inicial y Final de Tratamientos en *C. cyanea*

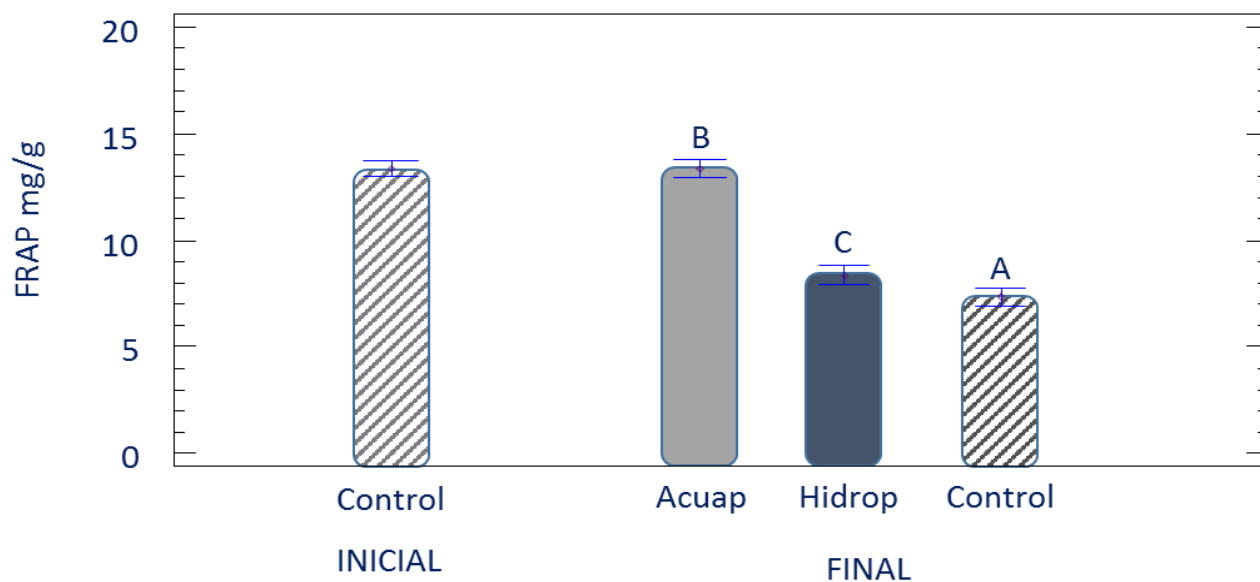


Figura 36 Comparación de resultados obtenidos en Cultivo Acuapónico (A) y entre pruebas realizadas en cultivo Hidropónico (H) con las mismas condiciones climáticas y de calidad de agua dentro del mismo sistema protegido. Valores obtenidos de las diferencias en la capacidad antioxidante (CAO) por el método de FRAP en su toma INICIAL (1) y FINAL (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración CAO por FRAP sólo con respecto al control (1) y entre un nivel y otro (2) en *C. cyanea* con un nivel del 9.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=338.31, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=111.68, Valor-P=0.0000

Concentraciones de Capacidad Antioxidante (DPPH) en el muestreo Inicial y Final de Tratamientos en *C. cyanea*

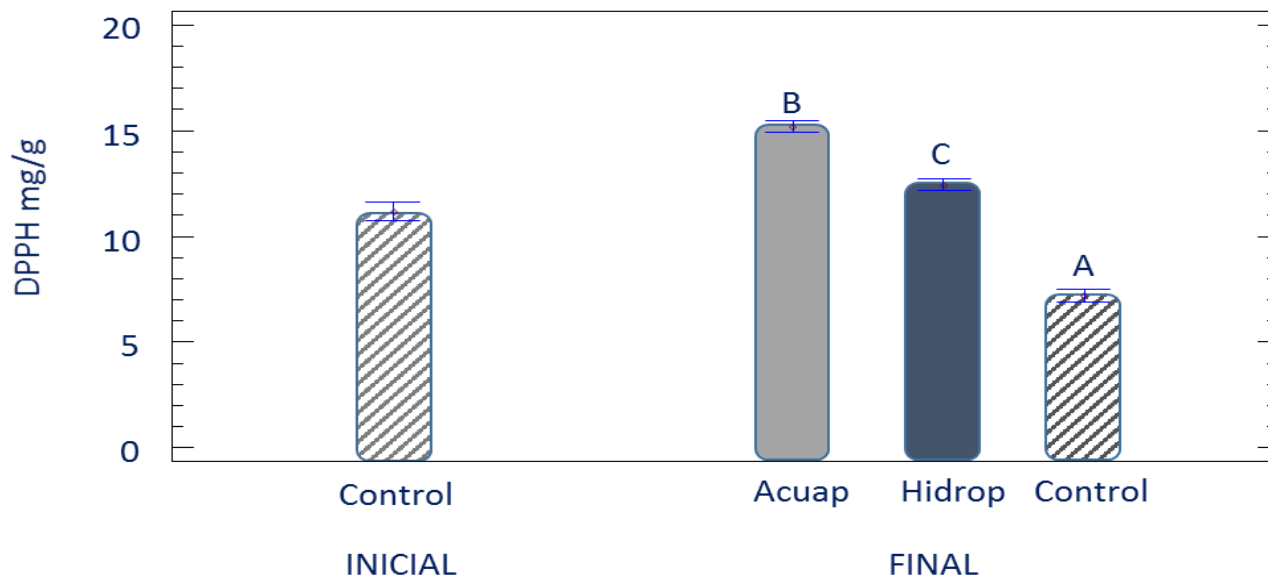


Figura 35 Comparación de resultados obtenidos en Cultivo Acuapónico (A) y entre pruebas realizadas en cultivo Hidropónico (H) con las mismas condiciones climáticas y de calidad de agua dentro del mismo sistema protegido. Valores obtenidos de las diferencias en la capacidad antioxidante (CAO) por el método de DPPH en su toma INICIAL (1) y FINAL (2) respecto al control en tierra. Existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre la media de la concentración CAO por DPPH sólo con respecto al control (1) y entre un nivel y otro (2) en *C. cyanea* con un nivel del 95.0% de confianza prueba de Fisher LSD. (1) Razón-F=100.49, Valor-P=0.0000. (2) Razón-F=439.18, Valor-P=0.0000

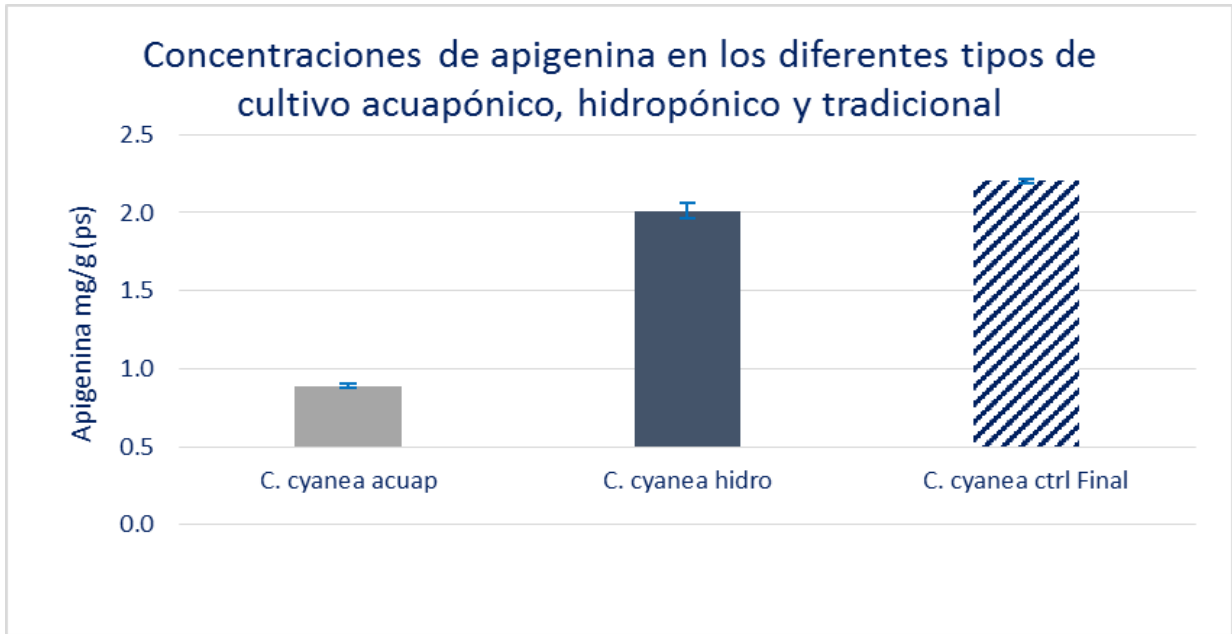


Figura 37 Contenido de Apigenina en mg/g en peso seco detectado mediante cromatografía de convergencia (UPC²: Ultra-performance convergence chromatography) para los tres tipos de tratamientos dentro de sistema protegido.

Perfil cromatográfico de compuestos fenólicos puntuales en *C. hyssopifolia* y *C. cyanea*.

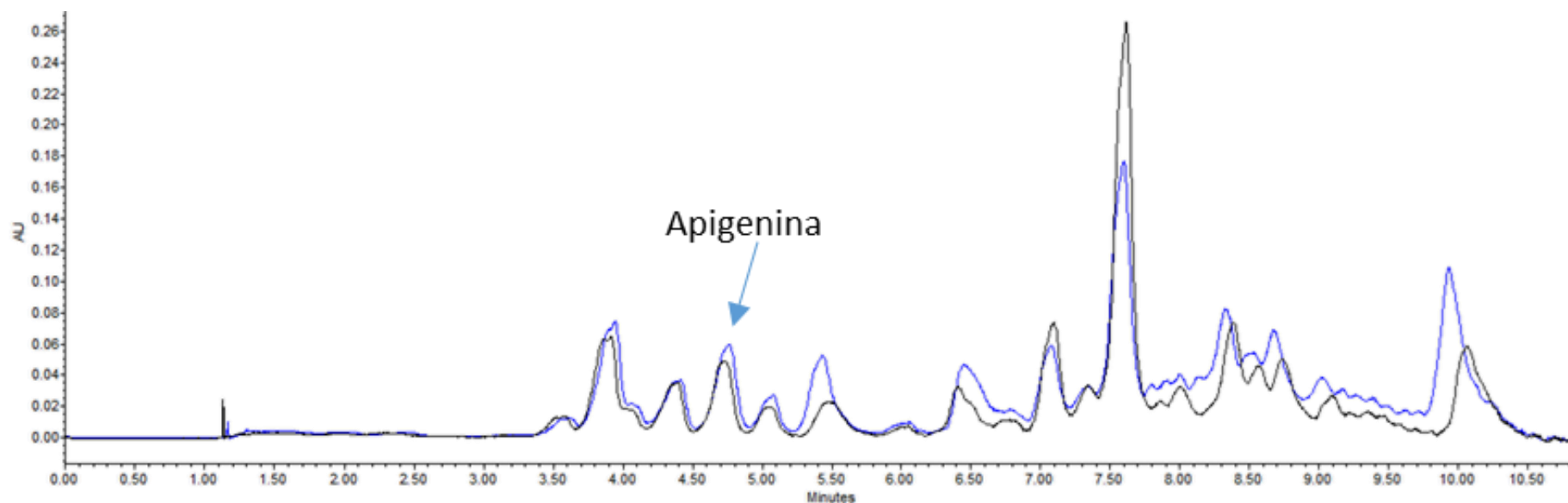


Figura 38 Perfil cromatográfico de *C. hyssopifolia* inicial (azul) y *C. hyssopifolia* final (negro) realizado mediante cromatografía de convergencia (UPC²: Ultra-performance convergence chromatography).

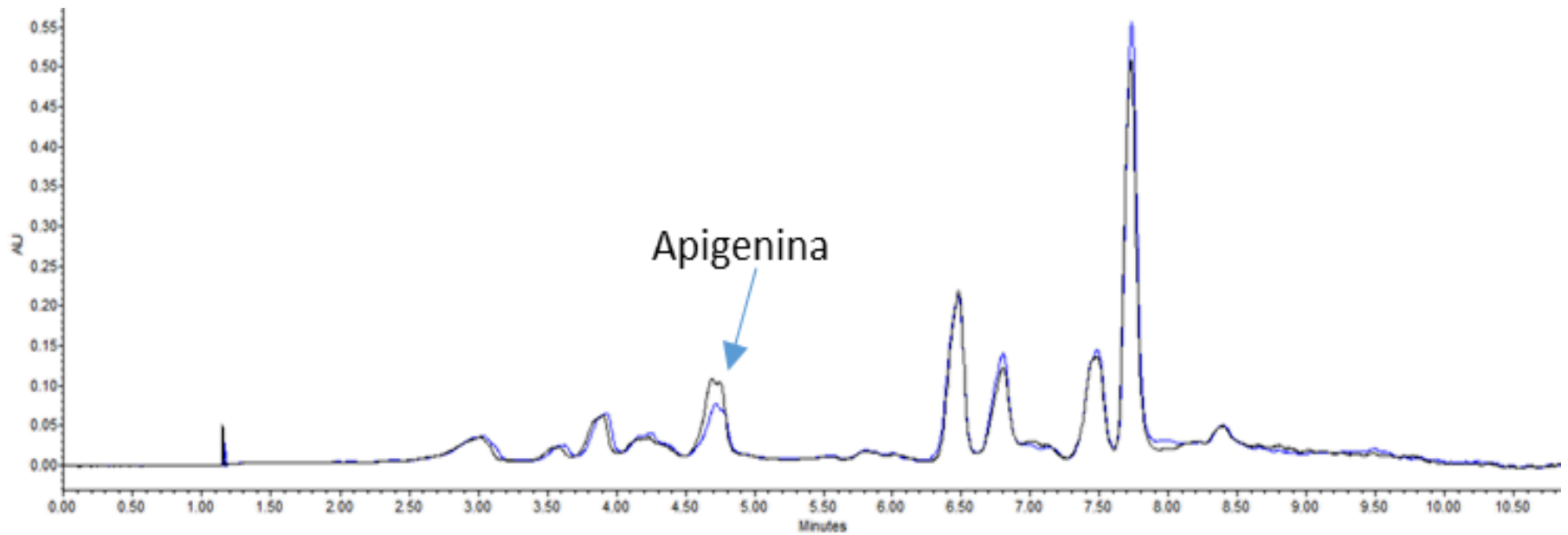


Figura 40 Co-elución *C. cyanea* con estándar de apigenina realizado mediante cromatografía de convergencia (UPC²: Ultra-performance convergence chromatography).

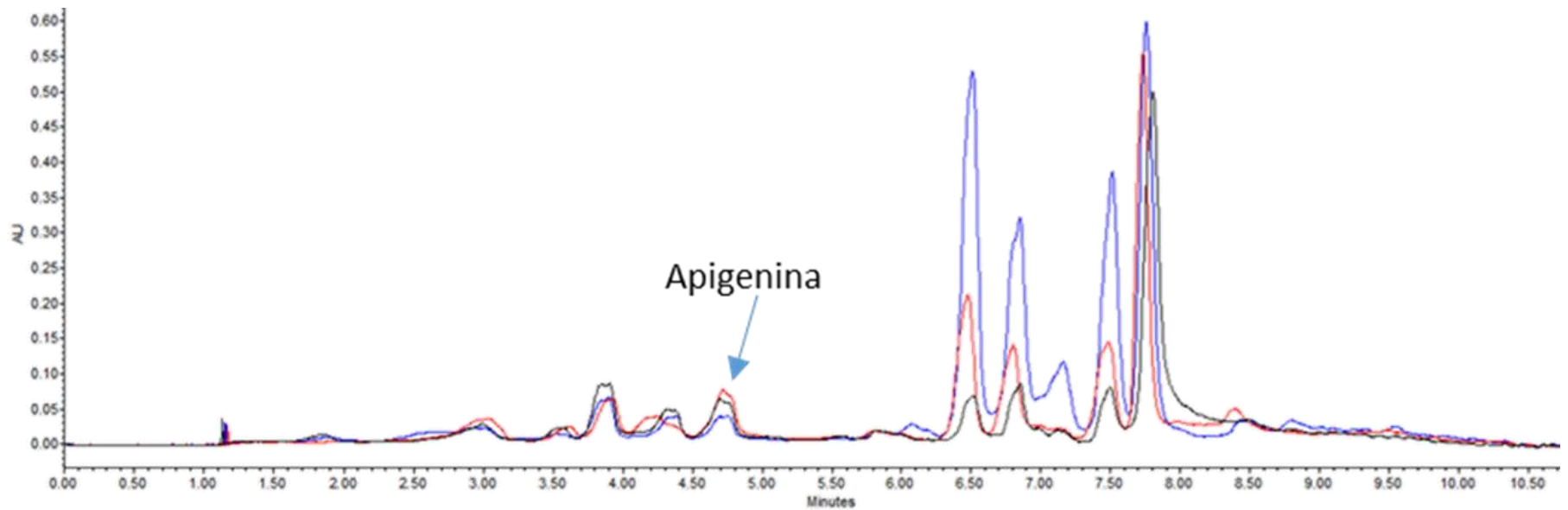


Figura 39 . Perfil cromatográfico de *C. cyanea* control (rojo), *C. cyanea* acuapónico (azul) y *C. cyanea* hidropónica (negro) al final de los 90 días, realizado mediante cromatografía de convergencia (UPC²: Ultra-performance convergence chromatography).

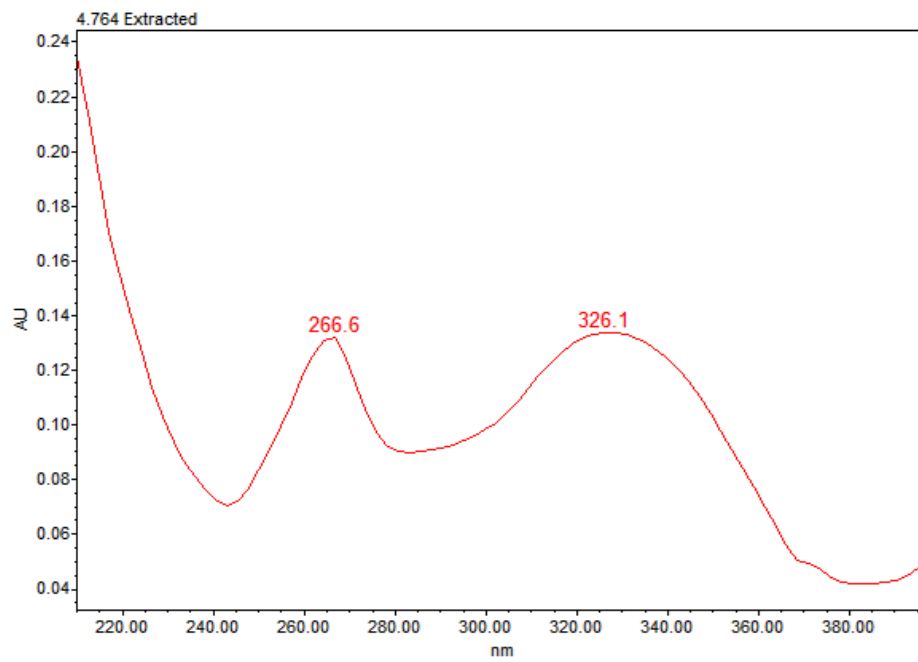
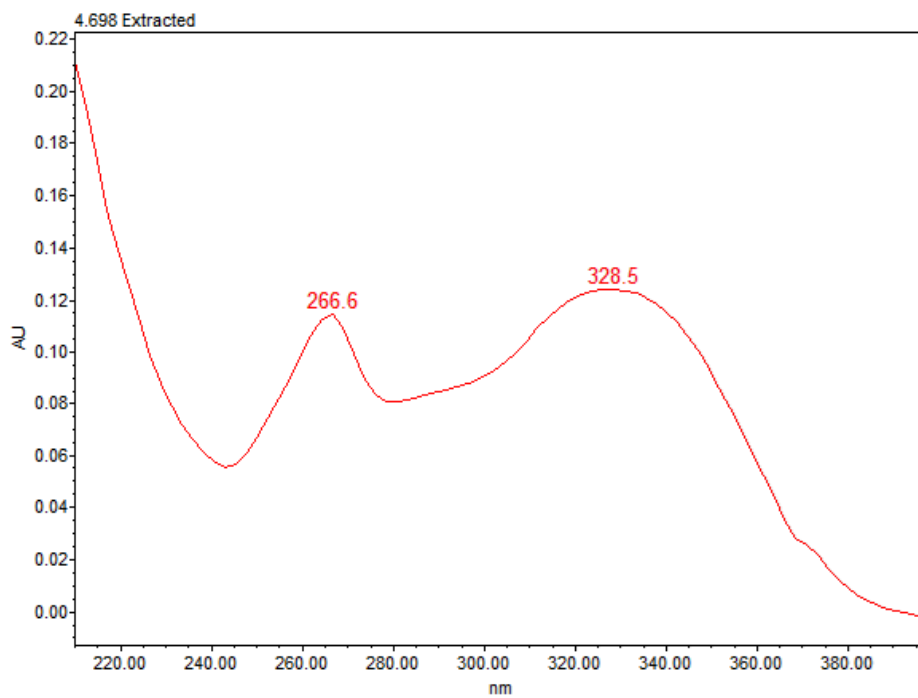


Figura 41 Espectros UV del estándar de apigenina (cuadro superior) y de *C. cyanea* (cuadro inferior)

CONCLUSIÓN

El uso de sistemas acuapónicos para las *Cuphea spp.* con *Cyprinus carpio* aumenta la producción de metabolitos especializados de manera puntual en sistemas protegidos bajo condiciones de microclima específicas de la zona. El diseño del sistema es adecuado para mantener *Cuphea spp.* dentro de interiores pero las condiciones del sistema protegido donde se llevó a cabo el experimento causaron que la vida del sistema fuera de un año. Se observó que la especie *C. ignea* no es buen candidato para ser introducida en sistemas acuapónicos sin filtro y sin suelo inerte en las camas de cultivo, al menos esto mostraron las pruebas encontradas.

De acuerdo a los resultados obtenidos de la calidad del agua de los Sistemas Acuapónicos de recirculación, los niveles que se generan por el re-uso prolongado del agua en el sistema, no representan fenotípicamente algún daño a la carpa. No se observa inhibición aparente en el crecimiento y desarrollo de la carpa.

El Diseño cumple con el objetivo que se buscaba en el proyecto y muchas cosas prometedoras se esperan a futuro de estos hallazgos. Se espera hacer eco a los beneficios encontrados en estas especies, y llevar estos conocimientos y características del sistema al público para que sea aprovechado.

Recomendaciones

Algunas recomendaciones son añadir un filtro a la bomba que se mantenga más tiempo la claridad en el agua, y sea más fácil su limpieza general. Se puede ocupar sustrato para las camas, por ejemplo tezontle, esto para dar más estabilidad a las plantas que no tengan suficiente raíz.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, J. M. y C. Baixauli (2002). Cultivo sin Suelo de Hortalizas Aspectos Técnicos y Experiencias, Generalitat valenciana Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Aguilar Rodríguez, S., y col. (2012). Etnobotánica, micrografía analítica de hojas y tallos y fitoquímica de *Cuphea aequipetala* Cav.(Lythraceae): una contribución a la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM). . Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. **11**.

Arano, C. (2007). "Hidroponía: algunas páginas de su historia." *Horticultura Internacional* **58**: 24-32.

Arredondo, A., y col. (2012). Fichas descriptivas de 52 plantas ornamentales que se comercializan en la Huasteca Potosina. I. N. d. I. Forestales.

Barbado, J. L. (2005). Hidroponia. Buenos Aires, Albatros.

Blasiola, G. C. (1995). Koi: everything about selection, care, nutrition, diseases, breeding, pond design y maintenance, and popular aquatic plants, Barron's Educational Series.

Bremner, J. M. y C. S. Mulvaney (1982). "Nitrogen—total. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties, (methodsofsoiln2)." 595-624.

Caló, P. (2011). Introducción a la Acuaponia. C. N. d. D. A.-. CENADAC. Dirección de Acuicultura, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Presidencia de la Nación.

Campos-Pulido, R., y col. (2013). "Caracterización fisicoquímica de un efluente salobre de tilapia en acuaponia." *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* **5**: 939-950.

Cifuentes-Torres, M. L. y A. C. Torres-Mesa (2012). Evaluación del crecimiento de goldfish (*Carassius auratus*), carpa (*Cyprinus carpio*) y orégano (*Origanum vulgare*) en un Sistema Acuapónico. Facultad de ciencias básicas Bogotá, Universidad Militar de Nueva Granada. **Licenciatura: 72**.

Colt, J. (1991). "Aquacultural production systems." *Journal of Animal Science* **69**(10): 4183-4192.

CONABIO (2006). Capital natural y bienestar social. C. N. p. e. c. y. u. d. I. biodiversidad. México.

Cooper, A. J. (1996). The ABC of NFT: Nutrient Film Technique : the World's First Method of Crop Production Without a Solid Rooting Medium, Casper Publications.

Cuthberg, K. (2008). "A south african system." *Backyard aquaponics* **5**: 5-9.

Chen, L. G., y col. (1999). "Antitumor activity of four macrocyclic ellagitannins from *Cuphea hyssopifolia*. *Cancer letters*, 140(1), 195-200." *Cancer Letters* **140**(1): 195-200.

de Pascual-Teresa, S., y col. (2010). "Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence." *International journal of molecular sciences* **11**(4): 1679-1703.

Department of the Interior, U. S. D. I. y U. S. D. G. S. Geological Survey (2016). U. S. D. o. t. Interior and U. S. G. Survey, Howard Perlman. **2016**: pH, water properties.

Dewanto, V., y col. (2002). "Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity." *Journal of agricultural and food chemistry* **50**(10): 3010-3014.

Diaz, A. (2007). Medio de cosecha para plantaciones de frutilla hidropónica. Facultad de Arquitectura y Urbanismo. Chile, Universidad de Chile.

Elgindi, M. R., y col. (2011). "A comprehensive review of *Cuphea* (Lythraceae)." *Res J Pharm Biol Chem Sci*: 847-855.

Flannigan, P. y E. D. Niemeyer (2014). Effect of cultivar on phenolic levels, anthocyanin composition, and antioxidant properties in purple basil (*Ocimum basilicum* L.). Elsevier, *Food Chemistry*. **164**: 518-526.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, F. (2014). F. a. Aquaculture.

García, D. E. (2004). Los metabolitos secundarios de las especies vegetales Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba DGarcia@indio.atenas.inf.cu. **27**, No. 1.

Gericke, W. F. (1938). "Crop production without soil." *Nature* (141): 536-540.

Graber, A. y R. Junge (2009). "Aquaponic Systems: Nutrient recycling from fish wastewater by vegetable production." *Desalination*(246): 147-156.

Graham, S. A. (1991). Lythraceae. Flora de Veracruz. . Xalapa, Veracruz, México, . Xalapa, Veracruz, Mexico., Instituto de Ecología, University of California.

Hoagland, D. R. y D. I. Arnon (1950). "The water-culture method for growing plants without soil." *California Agricultural Experiment Station Circular* **347**: 1-32.

Jha, P. y S. Barat (2005). "Effect of water exchange on water quality and the production of ornamental carp (*Cyprinus carpio* Var. Koi L.) cultured in concrete tanks manured with poultry excreta." *Archives of Polish Fisheries* **13**(1): 77-90.

Lazur, A. L., y col. (2006). Increasing Economic and Environmental Sustainability of Aquaculture Systems Through Aquatic Plant Culture. Northeast Aquaculture Conference and Exposition, , Groton, C. T.

Lazur, A. M. y F. Leteux (2004). "Integrated aquaculture systems for nutrient reduction in agricultural wastewater: potential and challenges." *Bulletin Fisheries Research Agency*. **1**: 143-151,.

Lewis, W. M. y G. L. Buynak (1976). "Evaluation of a revolving plate type biofilter for use in recirculated fish production and holding units." *Transactions American Fisheries Society* **105**(6): 704-708.

Liu, Y. y M. Hu (2002). "Absorption and metabolism of flavonoids in the caco-2 cell culture model and a perused rat intestinal model." *Drug metabolism and disposition* **30**(4): 370-377.

Losordo, T. (1998). "Recirculating aquaculture tank production systems: a review of components option Part b." SRAC publication: 150-153.

Martínez-Bonfil, B. P., y col. (2013). "A propagation procedure for *Cuphea aequipetala* Cav.(Lythraceae) and antioxidant properties of wild and greenhouse-grown plants." *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* **12**(1): 1-14.

McLearney, W. O. (1972). "Irrigation of garden vegetables with fertile fish pond water." *New alchemy agricultural research* **2**.

Montero, S. y S. Milena (2004). Evaluación de seis estructuras de producción hidropónica diversificada en el trópico húmedo de Costa Rica. Costa Rica, Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda.

Naegel, L. (1977). *Combined Production of Fish and Plants in Recirculating Water. Aquaculture*. Amsterdam, Elsevier Scientific Publishing Company. **10**: 17-24.

Nguyen, P. M., y col. (2010). Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Elsevier, Food Chemistry*. **123**: 1235–1241.

Parker, R. (2011). *Aquaculture science*. Albany, NY, Delmar.

Peter, K. V. (2001). Introduction. *Handbook of herbs and species* K. V. Peter. England, Woodhead Publishing in Food Science and Technology. **1**.

Rakocy, J. (1989). "Tank culture of tilapia." *Southern Regional Aquaculture Center (SRAC)* **282**.

Rakocy, J. (1999a). "The status of aquaponics, part 1." *Aquaculture Magazine* **25**(4): 83-88.

Rakocy, J. (1999b). "The status of aquaponics. Part 2." *Aquaculture Magazine* **25**:: :64–70.

Rakocy, J. y J. A. Hargreaves (1993). Integration of vegetable hydroponics with fish culture: A review. *Techniques for Modern Aquaculture*. St. Joseph, MI: American: 112-136.

Rakocy, J., y col. (1993). Nutrient accumulation in a recirculating aquaculture system integrated with vegetable hydroponic production. *Techniques for Modern Aquaculture*. American Society of Agricultural Engineers. Michigan, St. Joseph, USA, J. K. Wang, ed.: 148-158.

Rakocy, J., y col. (2006). "Recirculating Aquaculture Tank Production Systems: Aquaponics—Integrating Fish and Plant Culture Revisión." Southern Regional Aquacultural Center(454): 24.

Rice-Evans, C. A., y col. (1997). "Antioxidant properties of phenolic compounds." Trends in plants science **2**(4).

Rico-García, E., y col. (2009). "Nitrate content on summer lettuce production using fish culture water." Trends in agriculture economics **2**(1): 1-9.

Rojas-Martínez, R., y col. (2012). Prevalence of obesity and metabolic síndrome components in Mexican adults without type 2 diabetes or hypertension. SciELO Public Health. Mexico. **54**: 7-12.

Ronzón-Ortega, M., y col. (2012). "Producción hidropónica y acuapónica de albahaca (*Ocimum basilicum*) y langostino malayo (*Macrobrachium rosenbergii*)." Tropical and Subtropical Agroecosystems **15**(2): S63-S71.

Sutton, R. J. y W. M. Lewis (1982). "Further Observations on a Fish Production System that Incorporates Hydroponically Grown Plants." The Progressive Fish-Culturist **44**(1): 55-59.

The Royal Horticultural Society, R. (2016). "*Cuphea hyssopifolia*, false heather. AGM Plants." Retrieved 2016, from <https://www.rhs.org.uk/Plants/5036/i-Cuphea-hyssopifolia-i/Details>.

U S Forest Service, P. I. E. a. R. (2007). "Institute of Pacific Islands Forestry. Plant threats to Pacific ecosystems." from <http://www.hear.org/pier/>.

Vibrans, H. y P. T. Lezama (2000). "Malezas de Mexico." from <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>.

Wang, C. C., y col. (1998). "Macrocyclic ellagitannin dimers, cuphiins D1 and D2, and accompanying tannins from *Cuphea hyssopifolia*." Phytochemistry, PERGAMON **50**: 307-312.

Woodward, J. (1699). "Some thoughts and experiments concerning vegetation." Philosophical Transactions of the Royal Society **21**: 193-227.

Zweig, R. D. (1986). An Integrated Fish Culture Hydroponic Vegetable Production System. Aquaculture Magazine: 34-40.