



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE  
MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA



# **Caracterización de microorganismos oxidantes del azufre y su potencial para la recuperación de suelo sódico con la aplicación de azufre**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA  
MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

AUTORAS:

Bach. Lisbeth María del Milagros Acosta Piscocoya

Bach. Deborah Mariel Bustamante Tantaleán

ASESORA:

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán

**LAMBAYEQUE, PERÚ**

**2020**

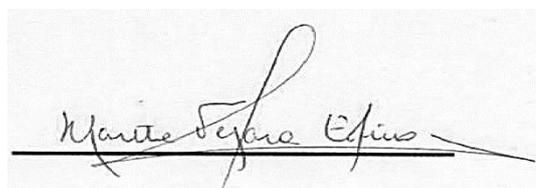
**Caracterización de microorganismos oxidantes del azufre y su potencial para la recuperación de suelo sódico con la aplicación de azufre**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADAS EN BIOLOGÍA  
MICROBIOLOGÍA - PARASITOLOGÍA

**APROBADA POR:**

Dra. Martha Vergara Espinoza



**PRESIDENTE**

Dra. Gianina Llontop Barandiarán



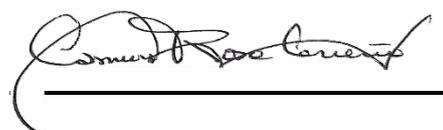
**SECRETARIO**

M.Sc. Eleazar Rufasto Campos



**VOCAL**

Dra. Carmen Rosa Carreño Farfán



**ASESORA**

LAMBAYEQUE, PERÚ

2020

## **AGRADECIMIENTO**

Primeramente agradezco a Dios por ser el guía en cada paso que dimos en el desarrollo de este trabajo.

Agradezco también a mi asesora de tesis Dra. Carmen Carreño Farfán por habernos tenido toda la paciencia de mundo y por el tiempo dedicado para guiarnos durante todo el desarrollo de la presente investigación.

Al distinguido jurados

Dra. Martha Vergara Espinoza

Dra. Gianina Llontop Barandiarán

M.Sc. Eleazar Rufasto Campos

Que con sus observaciones y sugerencias nos ayudaron a mejorar y culminar este trabajo.

A nuestros familiares por su confianza, consejos e incondicional apoyo.

## **DEDICATORIA**

A Dios por guiar, mi camino y permitirme lograr mis metas y seguir creciendo profesionalmente.

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy ahora, por su confianza puesta en mí, su paciencia y dedicación la cual me llevaron a lograr muchas metas.

A mi hermano por ser el mejor ejemplo a seguir y enseñarme que con esfuerzo y dedicación se pueden lograr muchas cosas.

**LisbethMaríaDelMilagrosAcosta**

**Piscoya**

La presente tesis se la dedico a Dios ya que gracias a él he logrado concluir mi carrera.

A mis padres y hermanos por su apoyo, confianza y amor. Gracias por ayudarme a cumplir mis objetivos como persona y estudiante.

A mi padre por brindarme los recursos necesarios y estar a mi lado apoyándome y aconsejándome siempre.

A mi madre por hacer de mí una mejor persona a través de sus consejos, enseñanzas y amor.

A mis hermanos por estar siempre presente, cuidándome y brindándome su apoyo siempre.

**DeborahMarielBustamanteTantaleán**

## Índice

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	MARCO TEÓRICO.....	3
	2.1 Antecedentes.....	3
	2.2 Base teórica.....	4
	2.2.1 El suelo: Salinidad.....	6
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
	3.1 Materiales.....	9
	3.1.1 Material biológico.....	9
	3.1.2 Población y muestra.....	9
	3.2 Métodos.....	9
	3.2.1 Variable de la fase descriptiva.....	9
	3.2.2 Variable de la fase explicativa.....	9
	3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis.....	9
	3.2.4 Lugar de muestreo y obtención de las muestras.....	10
	3.2.5 Aislamiento de microorganismos de un suelo salino - sódico.....	15
	3.2.6 Comparación <i>in vitro</i> de la actividad oxidante del azufre.....	17
	3.2.7 Potencial de microorganismos oxidantes del azufre en la recuperación de suelo salino-sódico con la aplicación de azufre.....	19
	3.2.8 Análisis estadístico de los datos.....	22
IV.	RESULTADOS.....	23
	4.1 Comparación <i>in vitro</i> de la actividad oxidante del azufre de los microorganismos aislados de suelo salino-sódico en Lambayeque, 2018.....	23
	4.2 Potencial de bacterias oxidantes en la recuperación de suelo salino-sódico con la aplicación de azufre.....	29
V.	DISCUSIÓN.....	37
VI.	CONCLUSIONES.....	41
VII.	RECOMENDACIONES.....	42
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
	ANEXOS.....	49

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b>	Ubicación del distrito de San José en Lambayeque, 2018 .....	11
<b>Figura 2.</b>	Medición del campo experimental en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.....	11
<b>Figura 3.</b>	Puntos de muestreo de suelo en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina de San José en Lambayeque, 2018....	12
<b>Figura 4.</b>	Recolección de muestra de suelo en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.....	14
<b>Figura 5.</b>	Recolección de muestra de suelo radicular en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.....	14
<b>Figura 6.</b>	Microorganismos aislados de suelo salino-sódico cultivados en caldo Starkey modificado.....	18
<b>Figura 7.</b>	Tratamientos para determinar el potencial de microorganismos oxidantes en la recuperación de suelo salino-sódico con la aplicación de azufre en Lambayeque, 2018.....	20
<b>Figura 8.</b>	Obtención del inóculo microbiano por el método de siembra a gran escala para la determinación del potencial de microorganismos oxidantes en la recuperación de suelo salino- sódico con la aplicación de azufre en Lambayeque, 2018.....	21
<b>Figura 9.</b>	Colonias de microorganismos aislados de suelo salino-sódico en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.....	24
<b>Figura 10.</b>	Colonias de microorganismos aislados de suelo radicular de <i>Distichlis spicata</i> en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.....	24

<b>Figura 11.</b>	Curva patrón para determinar la concentración de sulfatos por el método nefelométrico.....	27
<b>Figura 12.</b>	Conductividad eléctrica de suelo salino-sódico, 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre.....	32
<b>Figura 13.</b>	Porcentaje de sodio intercambiable de suelo salino-sódico, 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre.....	35

### **Índice de tablas**

<b>Tabla 1.</b>	Plantas de procedencia del suelo radicular en La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.....	13
<b>Tabla 2.</b>	Análisis físico - químico de suelo en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2019.....	16
<b>Tabla 3.</b>	Número de cultivos de microorganismos aislados de suelo salino-sódico, en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José de Lambayeque, 2018.....	25
<b>Tabla 4.</b>	Número de cultivos de microorganismos aislados de suelo radicular, en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José de Lambayeque, 2018.....	26
<b>Tabla 5.</b>	Absorbancia (650nm) de diferentes concentraciones de sulfatos.....	27
<b>Tabla 6.</b>	Bacterias oxidantes de azufre aisladas de suelo salino-sódico según el rango de la concentración de sulfatos en caldo Starkey con tiosulfato de sodio en Lambayeque, 2018.....	28
<b>Tabla 7.</b>	Valores de pH y acidez en caldo Starkey con tiosulfato de sodio cultivado con bacterias oxidantes del azufre aisladas de suelo salino-sódico en Lambayeque, 2018.....	30
<b>Tabla 8.</b>	Características fenotípicas diferenciales de bacterias oxidantes del azufre aisladas de suelo salino-sódico en Lambayeque, 2018.....	31
<b>Tabla 9.</b>	Conductividad eléctrica de suelo salino-sódico a los 60 días	

	después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre.....	32
<b>Tabla 10.</b>	Análisis de varianza de la conductividad eléctrica de un suelo salino-sódico 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre.....	33
<b>Tabla 11.</b>	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la conductividad eléctrica de un suelo salino-sódico con y sin bacterias oxidantes del azufre.....	33
<b>Tabla 12.</b>	Porcentaje de sodio intercambiable de suelo salino-sódico a los 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre.....	35
<b>Tabla 13.</b>	Análisis de varianza del porcentaje de sodio intercambiable de un suelo salino-sódico 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre.....	36
<b>Tabla 14.</b>	Prueba de t para las medias del porcentaje de sodio intercambiable de un suelo salino-sódico con y sin azufre.....	36
<b>Tabla 15.</b>	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey del porcentaje de sodio intercambiable de un suelo salino-sódico con y sin bacterias oxidantes del azufre.....	36

## RESUMEN

El potencial para la recuperación de suelo salino-sódico se investigó en microorganismos oxidantes del azufre. Éstos se aislaron, en agar Starkey con 5% NaCl y 0,5% p/v de azufre y se comparó su actividad oxidante cuantificando el sulfato producido después de 7 días en caldo Starkey con 5% NaCl y 1% de azufre. Los dos microorganismos con la mayor concentración de sulfatos se identificaron fenotípicamente. En 18 macetas se depositaron 6kg de suelo salino-sódico (Conductividad eléctrica,  $CE_e = 120,67 dSm^{-1}$ ; porcentaje de sodio intercambiable,  $PSI = 25,93\%$ ) y se determinó el efecto de estos microorganismos en la recuperación del suelo bajo un diseño experimental completamente aleatorio con arreglo factorial:  $2 \times 3$ . El factor A correspondió a la aplicación de azufre (0 y  $0,328 g kg^{-1}$ ) y el factor B a los microorganismos oxidantes del azufre (B1, B2), incluyendo un testigo sin microorganismos (B3). El 23,5% de las bacterias aisladas demostraron ser oxidantes del azufre, cuantificándose  $0,12236287$  a  $21,1350211 mgL^{-1}$  de sulfatos. *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454 con la aplicación de azufre disminuyeron la  $CE_e$  del suelo ( $86,53 - 87,23\%$ ) y el PSI ( $20,87 - 56,58\%$ ), en comparación con  $79,65$  y  $0\%$  respectivamente con el testigo con azufre y sin bacterias, se demostró el potencial de estos microorganismos para la recuperación de suelo salino-sódico.

Palabras clave: suelo salino-sódico, oxidantes del azufre, conductividad eléctrica, microorganismos

### ABSTRACT

The potential for the recovery of saline-sodium soil was investigated in sulfur oxidizing microorganisms. These were isolated on Starkey agar with 5% NaCl and 0,5% w/v sulfur and their oxidative activity was compared by quantifying the sulfate produced after 7 days in Starkey broth with 5% NaCl and 1% sulfur. The two microorganisms with the highest sulfate concentration are phenotypically identified. In 18 pots, 6kg of saline-sodium soil was deposited (electrical conductivity,  $CE_e = 120.67dSm^{-1}$ ; exchangeable sodium percentage,  $PSI = 25.93\%$ ) and the effect of these microorganisms on the recovery of the soil under a completely randomized experimental design with factorial arrangement:  $2 \times 3$ . Factor A corresponds to the application of sulfur (0 and  $0,328g\ kg^{-1}$ ) and factor B to sulfur oxidizing microorganisms (B1, B2), including a control without microorganisms (B3). 23,5 % of the isolated bacteria proved to be sulfur oxidants, quantifying 0,12236287 to  $21,1350211\ mgL^{-1}$  of sulfates. *Paracoccus* sp. 305 and *Burkholderia* sp. 454 with the application of sulfur decreased the  $CE_e$  of the soil (86,53 – 87,23 %) and the PSI (20,87 – 56,58 %), compared to 79,65 and 0% respectively with the control with sulfur and without bacteria, the potential of these microorganisms for the recovery of saline-sodium soil was demonstrated.

Key words: sodium-saline soil, sulfur oxidants, electrical conductivity, microorganisms

## I. INTRODUCCIÓN

La salinidad y sodicidad en los suelos limitan el crecimiento, disminuyen el rendimiento de los cultivos y constituyen un problema muy serio que enfrenta la agricultura y la seguridad alimentaria (Zúñiga et al., 2011). La salinidad o concentración elevada de sales solubles en el suelo (Lamz y Gonzáles, 2013), ocasiona el estrés osmótico e iónico en las plantas, afectando de manera adversa el crecimiento y desarrollo (Rodríguez et al., 2019). La sodicidad o concentración excesiva de sodio ( $\text{Na}^+$ ) adsorbido en los lugares de intercambio catiónico del suelo (Hernández, 2011), afecta en forma directa las propiedades físicas y químicas de éste y de manera indirecta a los cultivos agrícolas (Marchese, 2015).

A nivel mundial existen 4 400 millones de hectáreas (ha) de suelo apto para la agricultura; sin embargo, el 19%, correspondiente a 831 millones de ha, están afectadas por salinidad (Hasanuzzaman et al., 2014). En la costa del Perú, la salinidad afecta el 40% de la superficie cultivable, principalmente la costa norte: Tumbes, Piura y Lambayeque (Soca et al., 2016; Ministerio del Ambiente del Perú, 2011). En la región Lambayeque aproximadamente el 50% del área total cultivada se encuentra afectada por sales en diferentes grados (Santamaría, 2013).

La recuperación de suelos afectados por la sodicidad y salinidad-sodicidad se realiza por métodos químicos como la aplicación de mejoradores (Jiménez, 2013), con el objetivo de intercambiar el sodio por el calcio en la solución del suelo y posteriormente eliminar mediante lavado el producto del proceso de intercambio (Lázaro et al., 2010). El azufre al igual que el yeso es uno de los mejoradores más utilizados por su bajo costo (Rodríguez, 2015). El azufre es oxidado por los microorganismos para formar ácido sulfúrico o sulfuros, que posteriormente reaccionan con la caliza, liberando el calcio; no obstante, la reacción de oxidación microbiológica es lenta y el calcio liberado en el suelo superficial puede ser lavado con los riegos, afectando de esta manera en forma negativa la efectividad (Lázaro et al., 2010).

La investigación de tratamientos microbiológicos para la recuperación de suelos sódicos en Lambayeque es escasa y no ha sido reportada. La comunidad campesina de San José en Lambayeque, tiene problemas de salinidad y sodicidad en los suelos. Los resultados de la presente investigación constituirán la base para el establecimiento de tecnologías biológicas que junto a las físicas y químicas permitan la recuperación de suelos sódicos en la región Lambayeque, en beneficio de los agricultores y del ambiente en general. En este contexto, se planteó la siguiente investigación cuyo problema fue: ¿Cuál es el potencial de microorganismos oxidantes del azufre en la recuperación de suelo sódico con la aplicación de azufre?. La hipótesis planteada fue: Los microorganismos oxidantes del azufre tienen potencial para la recuperación de suelo sódico con la aplicación de azufre.

El objetivo general de la investigación fue: Determinar las características de los microorganismos oxidantes y su potencial en la recuperación de suelo salino-sódico con la aplicación de azufre. Los objetivos específicos fueron: Comparar *in vitro* la actividad oxidante del azufre de los microorganismos aislados de suelo salino-sódico en la Comunidad Campesina San José de Lambayeque y comparar el potencial de dos cultivos de microorganismos oxidantes para la recuperación de suelo salino-sódico con la aplicación de azufre.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de la investigación

Rojas et al. (2013) seleccionaron microorganismos oxidantes en suelo, agua y residuos industriales con alto contenido de azufre, con el objetivo de determinar su potencial biotecnológico. Los microorganismos se aislaron en medio Starkey con 1% de azufre y se seleccionaron siete de ellos para determinar el efecto de la concentración de azufre (1, 3, 4, 5, 7, 9%) y pH (3, 4, 5, 6, 7). Se obtuvieron 75 aislamientos de microorganismos, entre los que 72% presentó actividad oxidante del azufre y se cuantificaron  $380 \text{ mgL}^{-1}$  de sulfatos con las bacterias y  $11 \text{ mgL}^{-1}$  con los hongos. Tres bacterias desarrollaron con 1-9 % de azufre en un rango de pH de 3 a 7. Se evidenció el potencial de estas bacterias para el tratamiento de ambientes contaminados con azufre.

Zúñiga et al. (2011) investigaron las tecnologías no convencionales biofertilizantes (T1), biopolímeros (T2), electromagnetismo (T3) y la tecnología convencional enmienda química yeso-azufre (T4) para la recuperación de un suelo sódico ( $\text{PSI} > 15\%$ ) y ligeramente salino ( $\text{CE}_e = 4\text{-}8 \text{ dSm}^{-1}$ ) en comparación con un testigo absoluto (T5). Los tratamientos se aplicaron al inicio del período de cultivo de maíz y cada 45 días en T1 y T3. A la cosecha se determinó que T1 fue el más efectivo en la respuesta fisiológica y productividad del maíz y junto a T2 disminuyeron la compactación del suelo. Con T3 se alcanzó el mayor rendimiento ( $402 \text{ gm}^{-2}$ ), sin diferencias significativas con T4 y T1, pero sin con T5. Se demostró la efectividad de T3, T4 y T5 en la recuperación de suelos sódicos.

Gomah et al. (2014) investigaron el efecto de la solarización (T1), bacteria oxidante del azufre *Thiobacillus* sp. (T2), materia orgánica (T3) y azufre elemental (T4) en las propiedades físicas y químicas de suelos arenoso y arcilloso. El ensayo se realizó en condiciones de invernadero y se mantuvo en capacidad de campo. Los tratamientos se aplicaron al suelo: cobertura con bolsas de plástico (T1), inoculación de la bacteria:  $10^6$  células viables por mL (T2), 2% de residuos de la industria azucarera (T3) y 1

tonelada de azufre elemental (T4). Después de 8 semanas la solarización redujo en forma significativa la materia orgánica y aumentó el sodio soluble. Todos los tratamientos incrementaron el azufre, fósforo, calcio, magnesio, potasio y disminuyeron el pH del suelo, destacando T4 en el suelo arcilloso y T3 en el suelo arenoso.

Bao et al. (2016) investigaron la capacidad de bacterias oxidantes del azufre para recuperar suelos salinos-alcálinos. *Thiobacillus thioparus* se incrementó en medio tiosulfato de sodio, pH 7,0-7,2 a 28 - 30°C, durante 7-10 días. *T. thiooxidans* se cultivó en agua de mina pH 4,5 - 5,0 a 28 - 30°C, durante 7 días. En un suelo con salinidad se obtuvieron ocho muestras a profundidades de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 70 y 100 cm con un rango de pH de 9,0 a 7,6. En recipientes de vidrio se depositaron 600 g de suelo, se añadieron 400 mL de agua y 15 a 100 mL de inóculo bacteriano. Después de 20 días se determinó que el esquema más efectivo en la disminución del pH correspondió al pH inicial de 7,5 a 8,0 con 50 mL de *T.thiooxidans*, demostrándose la efectividad de estas bacterias para recuperar suelos salino-alcálinos.

Nisha et al. (2017) investigaron el efecto de dos consorcios de bacterias en la recuperación de un suelo salino ( $CE_e = 13,5 \text{ dSm}^{-1}$ ). El suelo se distribuyó en macetas, se sembraron semillas de *Panicum miliaceum* "mijo" y después de 90 días *Triticum aestivum* "trigo". Las cianobacterias *Nostoc ellipsosporum* y *N. punctiformum* se aplicaron al estado de plántula y floración, a razón de 0,3 g por maceta, equivalentes a 100 kg ha<sup>-1</sup>. Las cianobacterias disminuyeron la concentración de Na<sup>+</sup> (7 - 11%) y la CE<sub>e</sub> (14 - 27%). Por el contrario, incrementaron la conductibilidad hidráulica (46-56%), nitrógeno (7-16%), carbono orgánico total (32 - 36%) y fósforo disponible (17%), área foliar (24 - 49 %) y el rendimiento en grano (31 - 52%), evidenciándose el potencial para la recuperación de suelos salinos.

## 2.2 Base teórica

Las formas reducidas de azufre inorgánico, sulfuro de hidrógeno (HS<sup>-</sup>), azufre elemental (S<sup>0</sup>), tiosulfato (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>-2</sup>) y sulfito (HSO<sub>3</sub><sup>-2</sup>) pueden ser oxidadas por bacterias fotosintéticas o pigmentadas y no fotosintéticas o bacterias incoloras del azufre (Rawat y Rawat, 2015). Las bacterias fotoautotróficas (bacterias rojas y verdes) oxidan el sulfuro de hidrógeno en anaerobiosis, en presencia de la luz. Las bacterias incoloras del azufre en su mayoría utilizan el oxígeno y algunas el nitrato como aceptor terminal de electrones (Rawat y Rawat, 2015).

Las bacterias quimiolitotórfas obligadas obtienen su energía por oxidación de los componentes sulfurados inorgánicos y utilizan el dióxido de carbono como fuente de carbono, incluyendo especies de los géneros *Acidithiobacillus*, *Halothiobacillus*, *Thioalkalimicrobium*, *Thiohalomonas* y *Thioalkalivibrio*, entre otros. Los quimiolitótrofos facultativos crecen autotróficamente, pero también heterotróficamente utilizando los compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía como por ejemplo especies de los géneros *Thiobacillus*, *Thiofasa*, *Dyella* y *Pandoraea*. Los quimiolitoheterótrofos como *Beggiatoa* sp., *Leucothrix* sp. y *Titanospirillum* no pueden fijar el dióxido de carbono (Rawat y Rawat, 2015; Reis y Rodrigues, 2012).

En el dominio Bacteria, los autótrofos quimiolitótrofos obligados oxidantes del azufre más estudiados son *Acidithiobacillus thiooxidans* y *A. ferrooxidans* (Gammaproteobacteria) y *Thiobacillus* spp. (Betaproteobacteria). También se encuentran los mixótrofos del género *Paracoccus* (Alphaproteobacteria) y los quimiolitoheterótrofos de los Phylum Actinobacteria y Firmicutes. Se mencionan especies de los géneros *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azospirillum*, *Pseudoxanthomonas*, *Xanthobacter*, *Bosea*, *Delftia*, *Achromobacter* y *Methylobacterium*. Asimismo, destaca el crecimiento quimiolitótrofo, heterótrofo y mixotrófico con tiosulfato de *Burkholderia* y *Alcaligenes* (Alphaproteobacteria), *Pandoraea* (Betaproteobacteria), *Dyella* y *Halothiobacillus* (Gammaproteobacteria) y las Actinobacterias *Microbacterium* y *Leifsonia* (Reis y Rodrigues, 2012).

El tiosulfato se encuentra en diferentes ambientes y constituye una fuente de electrones para la generación de energía en procesos fotosintéticos y respiratorios de una diversidad bacteriana (Reis y Rodrigues, 2012). El tiosulfato se utiliza como fuente de azufre para el aislamiento de microorganismos de suelo rizosférico (Anandham et al., 2008) y lodos activados (Liu et al., 2006). El tiosulfato puede ser oxidado con producción de tetrionato como intermediario (*Acidithiobacillus* spp.), en forma directa (*Paracoccus* sulfur oxidation, PSO) hasta sulfato (*Paracoccus* spp.) y mediante la vía ramificada de oxidación en anaerobiosis por bacterias foto y quimiolitótrofas que depositan gránulos de azufre intracelulares (Reis y Rodrigues, 2012).

Entre las bacterias oxidantes del azufre identificadas en el suelo se encuentran especies de *Dyella*, *Burkholderia*, *Alcaligenes*, *Microbacterium*, *Leifsonia* y *Pandoraea*

(Rawat y Rawat, 2015). Según Reis y Rodríguez (2012) entre las bacterias oxidantes del tiosulfato y azufre elemental aisladas del suelo se identifican en forma predominante quimiolitótrofos facultativos o microorganismos heterótrofos más que quimiolitótrofos obligados como *Acidithiobacillus* spp. El tiosulfato puede ser oxidado en forma directa hasta sulfato (*Paracoccus* spp.), con formación del intermediario tetratioanato (*Acidithiobacillus* spp., *Thiobacillus* spp.) o con acumulación de gránulos intracelulares en las bacterias anaerobias fotótrofas y quimiolitótrofas.

### 2.2.1 El suelo: Salinidad

El suelo es el sustrato para el crecimiento de las plantas y está constituido por minerales, materia orgánica, agua y aire. La arcilla mineralógica es el componente más importante del suelo y su carga eléctrica superficial le confiere el estado coloidal. La fuerza de atracción entre las partículas de arcilla depende de la composición del complejo de intercambio del suelo. El calcio, magnesio y aluminio son más fuertemente atraídos por las partículas de arcilla que el sodio y el potasio, tal que los agregados son más fuertes y el suelo tiene una mejor estructura (Lázaro et al., 2010).

El proceso de salinización del suelo es la concentración de sales más solubles que el yeso, principalmente cloruros, sulfatos y bicarbonatos de sodio, calcio y magnesio. Cuando el  $\text{Na}^+$  constituye la mitad o más de los cationes solubles en la solución del suelo y ésta se concentra, los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , que son menos solubles, precipitan, quedando el  $\text{Na}^+$  como único catión en la solución. En la sodificación del suelo, aumenta el contenido de sodio intercambiable, debido a que el  $\text{Na}^+$  de las sales de la solución del suelo reemplaza a otros cationes del complejo absorbente, es decir el sodio desplaza el calcio y al magnesio del complejo arcillo-húmico con dispersión de las partículas del suelo, alteración de la estructura y la capacidad de aireación e infiltración del suelo (Terrazas, 2019).

El sistema de clasificación propuesto con base a la concentración de sales solubles en agua (conductividad eléctrica,  $\text{CEe} = \text{dSm}^{-1}$ ) y el porcentaje de sodio intercambiable (nivel en que el complejo de intercambio del suelo está saturado con sodio,  $\text{PSI}=\%$ ) considera suelos normales ( $\text{CEe} < 4 \text{ dSm}^{-1}$ ,  $\text{PSI} < 15\%$ ), salinos ( $\text{CEe} > 4 \text{ dSm}^{-1}$ ,  $\text{PSI} < 15\%$ ), sódicos ( $\text{CEe} < 4 \text{ dSm}^{-1}$ ,  $\text{PSI} > 15\%$ ) y salino-sódicos ( $\text{CEe} > 4 \text{ dSm}^{-1}$ ,  $\text{PSI} > 15\%$ ). En el suelo salino, el sodio no representa más de la mitad del total de cationes solubles. En los suelos sódicos, el sodio es el

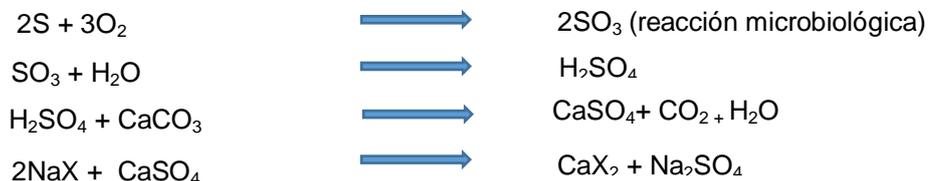
cación soluble dominante en la solución del suelo y sustituye a otros cationes en el complejo de intercambio (Lázaro et al., 2010). El pH también es considerado como un indicador químico de suelos salinos y sódicos, diferenciándose suelos salinos (pH <8,5; CEe > 4 dSm<sup>-1</sup>; PSI < 15 %), sódicos (pH > 8,5; CEe < 4 dSm<sup>-1</sup>; PSI > 15 %) y salino -sódicos con un pH < 8,5; CEe > 4 dSm<sup>-1</sup> y PSI > 15 % (Terrazas, 2019).

La cantidad total de cationes intercambiables que un suelo puede retener se denomina capacidad de intercambio catiónico y se expresa como miliequivalentes/100g de suelo. Existe una relación entre los cationes de la solución del suelo y los que de forma intercambiable están ligados a las partículas de arcilla. En suelos normales se tiene 80% de predominancia de calcio en los cationes intercambiables. El resto son el magnesio, potasio y el sodio. Este último está en muy baja concentración: 1 – 5 % (Lázaro et al., 2010).

Los métodos de manejo para los suelos con salinidad son hidrotécnicos (lavado), físicos (labranza, nivelación), químicos y biológicos (Pernús y Sánchez, 2015). El método más utilizado para recuperar suelos salinos es el lavado o lixiviación de las sales solubles, aplicando una lámina de agua para disolver las sales y removerlas de la zona radicular (Serrato et al., 2002). El método químico utiliza los mejoradores como las sales de calcio solubles (cloruro de calcio, yeso), ácidos o sustratos formadores de ácidos (ácido sulfúrico, azufre, sulfato ferroso, sulfato de aluminio, polisulfuro de calcio) y sales de calcio poco solubles como la calcita y dolomita para intercambiar el sodio en el complejo coloidal por el calcio (Pernús y Sánchez, 2015; Lázaro et al., 2010).

El yeso (CaSO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O) es el mejorador químico más utilizado, pero tiene baja solubilidad en agua; el ácido sulfúrico mejora la infiltración, pero es corrosivo; el cloruro de calcio y los sulfatos de fierro y aluminio son solubles, pero costosos; el polisulfuro de calcio se oxida e hidrata y forma el ácido sulfúrico en un tiempo muy prolongado y la caliza y dolomita presentan baja solubilidad. A su vez, el azufre debe ser oxidado por las bacterias para formar ácido sulfúrico o sulfuros que posteriormente reaccionan con la caliza, liberando el calcio; sin embargo, el proceso microbiano de oxidación es lento (Lázaro et al., 2010), porque la transferencia de oxígeno en el suelo no es la adecuada (Terrazas, 2019).

Las reacciones de oxidación del azufre detalladas por Terrazas (2019) son:



La recuperación de suelos salino-sódicos y sódicos, donde el sodio está adsorbido a las micelas, requiere la aplicación de mejoradores químicos (yeso o azufre), que proporcionan directamente calcio o lo liberan cuando está en el suelo (carbonatos alcalino térreos). Las bacterias oxidan el azufre hasta sulfito, el cual junto al agua forma ácido sulfúrico, que a su vez libera el calcio. Éste tiene mayor fuerza de atracción por las partículas de arcilla y por tanto desplaza el sodio del complejo de intercambio hacia la solución y luego éste es lixiviado como sulfato de sodio ( $Na_2SO_4$ ) mediante el lavado (Terrazas, 2019).

La tecnología convencional utilizada por los agricultores para disminuir los niveles de salinidad en el suelo es la aplicación de yeso y azufre, seguido de riego abundante para eliminar las sales. Estos mejoradores, floculan las partículas de arcilla, aumentan el porcentaje de poros y por tanto aumentan la permeabilidad del suelo (Zúñiga et al., 2011).

El tratamiento biológico para recuperar suelos salinos corresponde al uso de acondicionadores orgánicos y biopolímeros (Torres et al., 2015), biofertilizantes (Zúñiga et al., 2011), micorrizas (Medina, 2016) y cianobacterias (Nisha et al., 2017). Los suelos salinos también pueden ser cultivados con plantas que toleran e inclusive disminuyen la concentración de sales (Ruiz et al., 2007). El desarrollo de estas plantas puede ser incrementado por los microorganismos promotores de crecimiento en plantas, PGPR (Egamberdieva et al., 2015).

La materia orgánica aporta  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ , cationes que favorecen la sustitución del  $Na^+$  intercambiable de la matriz del suelo. Asimismo, promueve la floculación de los minerales arcillosos y como consecuencia la formación de agregados, el incremento del espacio poroso y el lavado del  $Na^+$  (Torres et al., 2015). En la

descomposición de la materia orgánica los microorganismos liberan dióxido de carbono, el cual junto al agua forma ácido carbónico que solubiliza las sales de calcio precipitadas en el suelo (Serrato et al., 2002).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Materiales

##### 3.1.1 Material biológico

Suelo, suelo radicular y microorganismos oxidantes del azufre.

##### 3.1.2 Población y muestra

En la etapa descriptiva de la investigación, la población correspondió al suelo salino-sódico de un campo experimental de 8 000 m<sup>2</sup> y se colectaron 54 muestras probabilísticas de suelo (Anexo A) durante diciembre de 2018. El número de muestras fue calculado, considerando una prevalencia de 90 %, determinada por las investigadoras en un muestreo piloto (Alvitres, 2000). En la etapa explicativa de la investigación, la población y muestra de estudio estuvo constituida por 108 kg de suelo sódico distribuidos en 18 macetas (seis tratamientos) bajo un diseño completamente aleatorio con arreglo factorial (Hernández et al., 2014).

#### 3.2 Métodos

##### 3.2.1 Variable de la fase descriptiva

Variable cuantitativa: Concentración de sulfatos

##### 3.2.2 Variable de la fase explicativa

Variables independientes: Aplicación de azufre (0 y 0,328g kg<sup>-1</sup>)

Cultivos (2) de microorganismos oxidantes del azufre

Variable dependiente: Recuperación de suelo sódico (conductividad eléctrica, porcentaje de sodio intercambiable)

##### 3.2.3 Tipo de estudio y diseño de contrastación de hipótesis

En la investigación explicativa, la hipótesis se contrastó con el diseño experimental completamente aleatorio, DCA (Hernández et al., 2014), con arreglo factorial (AxB+1): 2x3+3. El factor A correspondió a la aplicación de azufre (0 y 0,328g kg<sup>-1</sup>) y el factor B a los cultivos de microorganismos oxidantes del azufre (B1, B2), incluyendo un testigo sin microorganismos (B3). Los tratamientos fueron seis, cada uno con tres repeticiones y un total de 18 unidades experimentales.

### 3.2.4 Lugar de muestreo y obtención de las muestras

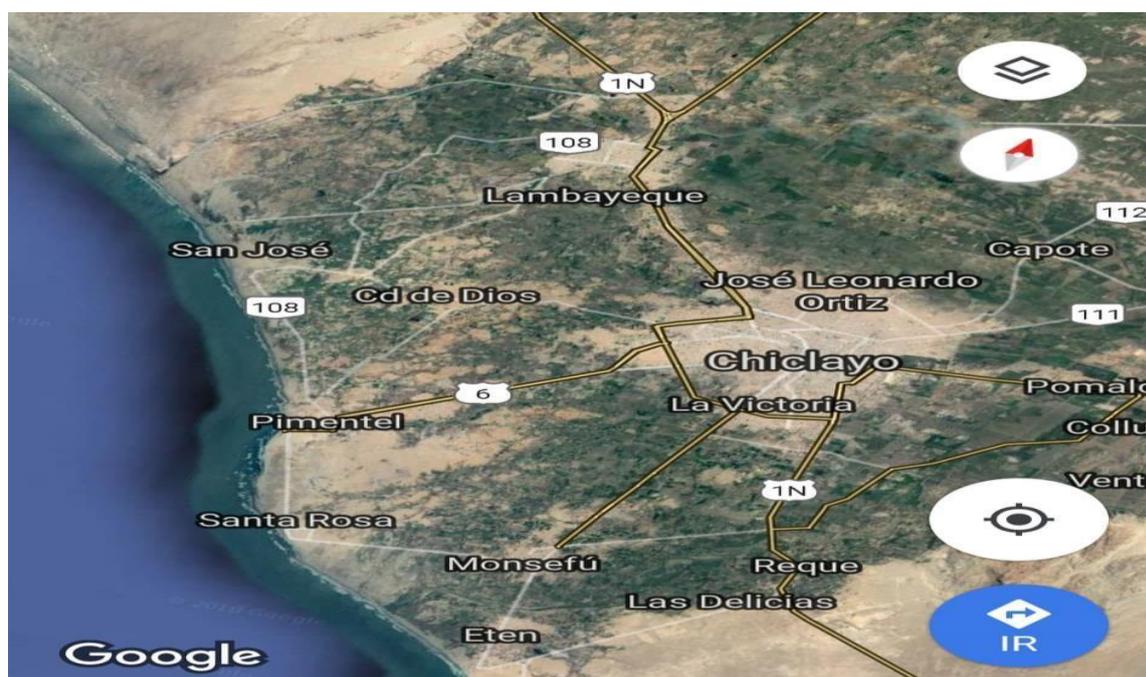
En el sector de riego La Compuerta de la Comunidad Campesina San José en el distrito de San José, Lambayeque se colectó 54 muestras de suelo salino-sódico. El distrito de San José está comprendido entre las coordenadas geográficas 6°45'35.65" de latitud sur y 79°57'41.35" de longitud oeste. El distrito limita: por el norte con el distrito de Lambayeque, por el sur con Pimentel, por el este con José Leonardo Ortiz y Chiclayo y por el oeste con el Océano Pacífico (Figura 1).

En un campo comercial de 8 000 m<sup>2</sup> (80 x 100 m) sin cultivo establecido, pero con presencia de *Distichlis spicata* L. "grama salada", *Portulaca oleracea* L. "verdolaga" y *Prosopis limensis* L. "algarrobo" se colectaron las 54 muestras probabilísticas de suelo salino-sódico (Hernández et al., 2014), cada una de 4kg de suelo. Previamente, en un croquis, el campo se dividió en cuatro partes (25 x 80 m) y las muestras de suelo o suelo radicular se colectaron en zigzag: 26 muestras en las dos partes laterales y 28 en las dos partes centrales (Figuras 2,3, tabla 1).

En cada punto de muestreo, se delimitó un área de 1 m<sup>2</sup>, con una palana se retiraron los 2 cm superficiales, se realizó una excavación (Buendía et al., 2014), a 20 cm de profundidad y se colectó el suelo, depositándolo en un bolsa de polietileno debidamente identificada. En los puntos con plantas, la muestra se colectó en la zona radicular (Figuras 4,5).

**Figura 1**

*Ubicación del distrito de San José en Lambayeque, 2018 (<https://www.google.com/maps/@6.7551488,79.9077431,22633m/data=!3m1!1e3>).*



F  
i  
g  
u  
r  
a  
2  
M

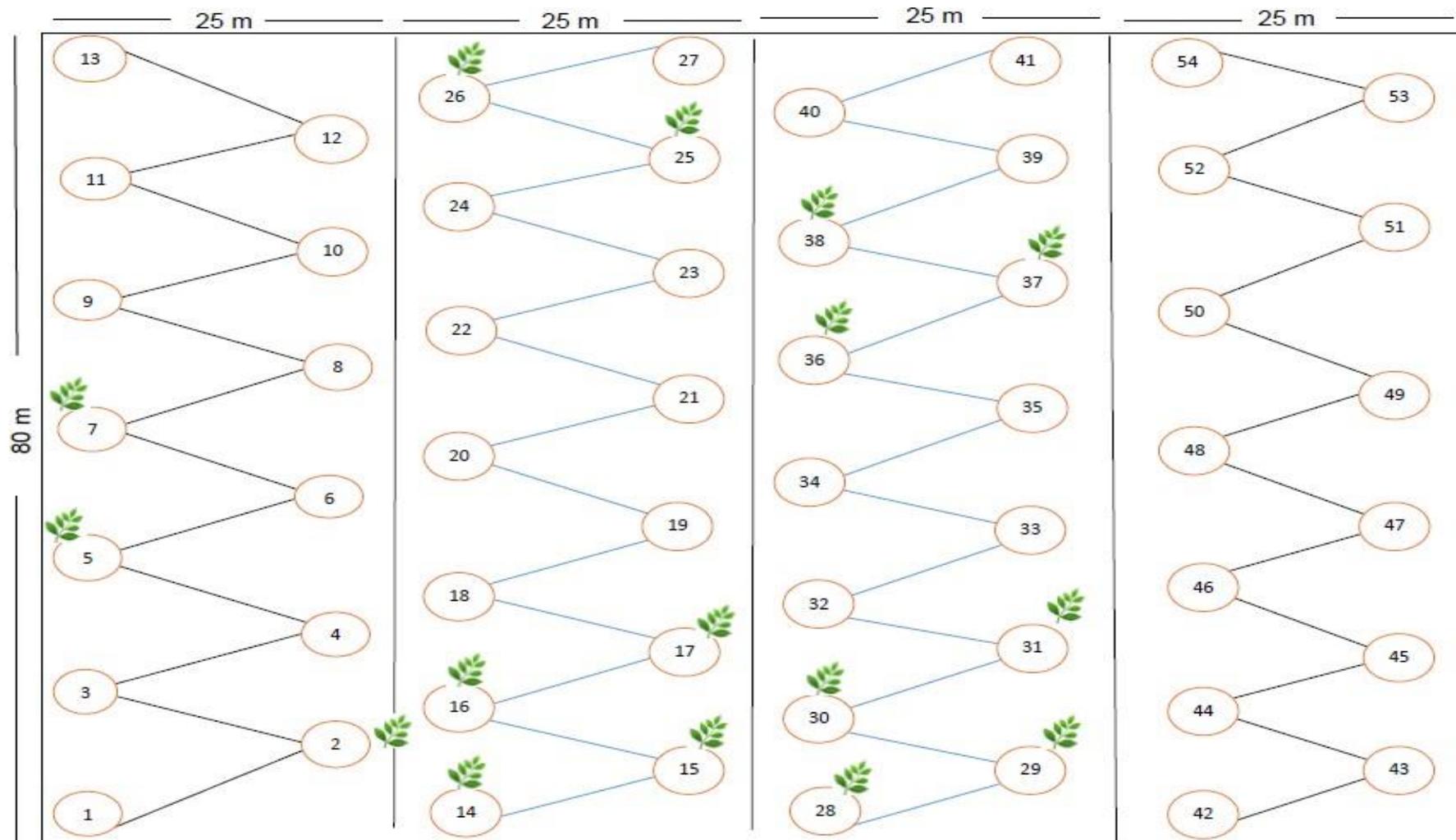
*edición del campo experimental en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina*



*San José en Lambayeque, 2018.*

**Figura 3**

*Puntos de muestreo de suelo en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina de San José en Lambayeque, 2018.*



**Tabla 1**

*Plantas de procedencia del suelo radicular en La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018*

Muestra (N°)	Planta			
	Nombre científico	Nombre común	Clase	Familia
2	<i>Portulaca oleracea</i>	Verdolaga	Magnoliopsida	Portulacaceae
5	<i>Portulaca oleracea</i>	Verdolaga	Magnoliopsida	Portulacaceae
7	<i>Portulaca oleracea</i>	Verdolaga	Magnoliopsida	Portulacaceae
14	<i>Distichlis spicata</i>	Grama salada	Liliopsida	Poaceae
15	<i>Distichlis spicata</i>	Grama salada	Liliopsida	Poaceae
16	<i>Distichlis spicata</i>	Grama salada	Liliopsida	Poaceae
17	<i>Distichlis spicata</i>	Grama salada	Liliopsida	Poaceae
25	<i>Prosopis limensis</i>	Algarrobo	Dicotiledónea	Fabaceae
26	<i>Prosopis limensis</i>	Algarrobo	Dicotiledónea	Fabaceae
28	<i>Distichlis spicata</i>	Grama salada	Liliopsida	Poaceae
29	<i>Prosopis limensis</i>	Algarrobo	Dicotiledónea	Fabaceae
30	<i>Prosopis limensis</i>	Algarrobo	Dicotiledónea	Fabaceae
31	<i>Distichlis spicata</i>	Grama salada	Liliopsida	Poaceae
36	<i>Distichlis spicata</i>	Grama salada	Liliopsida	Poaceae
37	<i>Distichlis spicata</i>	Grama salada	Liliopsida	Poaceae
38	<i>Distichlis spicata</i>	Grama salada	Liliopsida	Poaceae

**Figura 4**

*Recolección de muestra de suelo en el sector La Compuerta, Comunidad*



*Campesina San José en Lambayeque, 2018.*

**Figura 5**

*Recolección de muestra de suelo radicular en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.*



Las muestras de suelo se llevaron al invernadero de la Facultad de Ciencias Biológicas, donde se mantuvieron bajo sombra a temperatura ambiente (28°C) durante 72 horas para disminuir la humedad. Cada muestra de suelo se homogenizó mediante el método del "cuarteo" (Ramos y León, 2016), que consistió en formar un cerro o "montón", aplanarlo lo más homogéneo posible, dividirlo en cuatro cuadrantes iguales y aleatoriamente de uno de ellos se tomaron 5 g para el aislamiento microbiano.

El resto del suelo se depositó sobre una manta de polietileno, se homogenizó mediante el método del cuarteo y se tomaron 2 kg para el análisis físico y químico en el laboratorio del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Estación Experimental Vista Florida de Chiclayo. Según los resultados, el suelo presentó una textura franco-arenosa y un nivel muy alto de sales solubles ( $CEe = 120,67 \text{ dSm}^{-1}$ ), con 3,574 mg/100g de sodio intercambiable; 13,78 mg/100g de capacidad de intercambio catiónico (CIC) y un porcentaje de sodio intercambiable (PSI) de 25,93 %, sales que caracterizan el suelo como muy salino sódico con deficiencias de nutrientes y una baja capacidad de intercambio catiónico (Tabla 2).

### **3.2.5 Aislamiento de microorganismos de un suelo salino-sódico**

El enriquecimiento de las muestras de suelo se realizó depositando 5g en erlenmeyers de 125 mL de capacidad con 30 mL de caldo Starkey suplementado con 5% NaCl y 0,5% p/v de azufre, correspondiente a  $5 \text{ g Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ L}^{-1}$  (Anexo B). Los erlenmeyers se incubaron a 30°C, con agitación manual diaria (10 minutos en la mañana y en la tarde), durante 15 días y el crecimiento microbiano se denotó por la turbidez observada.

Después de 11 y 15 días se realizó el aislamiento por duplicado en placas de Petri con agar Starkey suplementado con 5% NaCl y se incubó a 30°C, durante 10 días. En las colonias microbianas desarrolladas a los 5 y 10 días se determinaron los morfotipos, se seleccionó una colonia representativa de cada uno de ellos y se cultivó en agar Starkey con 5% NaCl a 30°C, durante 48 horas, constituyendo los cultivos puros de microorganismos que se llevaron a refrigeración (8°C), subcultivándolos cada 2 meses.

**Tabla 2**

*Análisis físico - químico de suelo en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2019*

Características	Unidades	Valores
Textura	%	Fo Ao
Arena	%	35,00
Limo	%	16,00
Arcilla	%	49,00
Materia orgánica	%	0,18
Fósforo	ppm	6,70
Potasio	ppm	670,00
Calcáreo	%	3,35
Conductividad eléctrica (CE)	dSm <sup>-1</sup>	120,67
Sodio intercambiable	meq/100g	3,57
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	meq/100g	13,78
Porcentaje de sodio intercambiable (PSI)	%	25,93

### 3.2.6 Comparación in vitro de la actividad oxidante del azufre

Los microorganismos previamente aislados se cultivaron por dos veces consecutivas en tubos de 13 x 10 cm con 2 mL de caldo Starkey modificado (Figura 6) con 1% p/v de azufre ( $10 \text{ g Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ L}^{-1}$ ) y 5% NaCl y se incubaron a 30°C por 48 horas (primer subcultivo) y 72 horas o tiempo requerido para alcanzar la turbidez del tubo 1 del nefelómetro de Mc Farland.

A continuación 0,5 mL de cada cultivo se inocularon en tubos de 16 x 150 cm con 5 mL de caldo Starkey modificado (1% S p/v y 5% NaCl), descartando los cultivos que no alcanzaron la turbidez requerida (Rojas et al., 2013). Transcurrida la incubación a 30°C, con agitación manual diaria (10 minutos en la mañana y en la tarde) durante 7 días, los cultivos se centrifugaron a 3 000 rpm durante 5 minutos y el sedimento o biomasa bacteriana se eliminó. En el sobrenadante se determinó la concentración de sulfatos mediante el método nefelométrico, según el cual los sulfatos precipitaron en ácido clorhídrico y se observó turbidez por el sulfato de bario formado.

El precipitado obtenido se estabilizó con una solución de Tween 20 y la absorbancia se determinó en el espectrómetro de luz visible (Model Terso Med NV-203) a 650nm (Rodier y Rodi, 1981; anexo C). Los microorganismos oxidantes del S se agruparon según el rango de la concentración de sulfatos: > 0,120 – 5,000; 5,100 – 10,000; 10,100 – 15,000 y 15,100 – >21,100  $\text{mgL}^{-1}$  y a continuación se escogieron 16 caldos cultivados con los ocho microorganismos que alcanzaron la menor y mayor concentración de sulfatos, para determinar el pH de los 16 caldos y el porcentaje de acidez de los tres caldos con el menor pH (Anexo D).

Los dos microorganismos en cuyos caldos cultivados se alcanzó la mayor concentración de sulfatos y el menor pH se identificaron fenotípicamente (Bolivar et al., 2016; Liu et al., 2006) y se seleccionaron para la etapa explicativa de la investigación.

**Figura 6**

*Microorganismos aislados de suelo salino-sódico cultivados en caldo Starkey modificado.*



### **3.2.7 Potencial de microorganismos oxidantes del azufre en la recuperación de suelo salino-sódico con la aplicación de azufre**

El ensayo se realizó en el invernadero de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, en Lambayeque, entre el 12 de enero al 11 de marzo de 2020, registrándose las temperaturas máximas (23 - 36°C), mínimas (15 - 18°C) y medias (18 - 22°C), valores obtenidos por la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en Lambayeque.

En 18 macetas de arcilla de 8 kg de capacidad se depositaron 0,500 kg de grava (3 cm) para facilitar el drenaje y sobre ésta 6 kg del suelo salino-sódico. En nueve de las macetas el suelo se mezcló con 1,97 g de azufre: 44,72 mL de Saltrad para 6 kg de suelo (Figura 7, anexo E). En todas las macetas el suelo fue humedecido con agua previamente dechlorada en cantidad suficiente como para mantener la capacidad de campo (Gomah et al., 2014; anexo F).

#### **a) Obtención del inóculo microbiano**

Los dos microorganismos oxidantes del azufre, previamente seleccionados por la actividad in vitro, se cultivaron por dos veces consecutivas en caldo Starkey modificado, a 30°C, hasta alcanzar la turbidez del tubo 3 del nefelómetro de Mc Farland ( $9,0 \times 10^8$  células mL<sup>-1</sup>) en el segundo subcultivo. El inóculo microbiano definitivo (1 800mL de cada microorganismo) se obtuvo por el método de siembra a gran escala (Díaz y Sánchez, 2008), trabajando por duplicado con tres volúmenes de cultivo: madre, intermedio y definitivo.

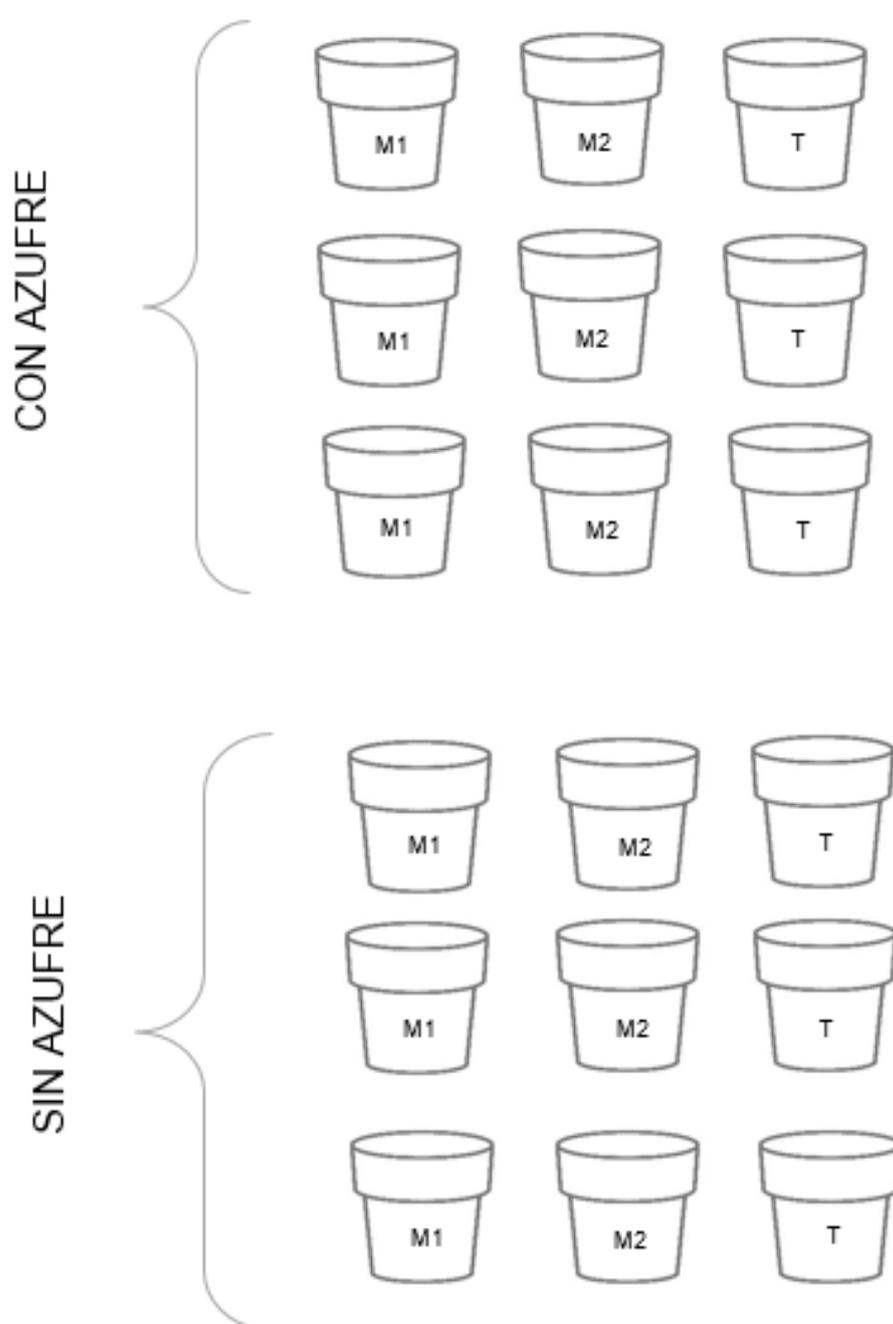
Para la obtención de los cultivos “madre” 1,8 mL de cada cultivo bacteriano se inocularon en matraces de 50mL de capacidad con 16,2 mL de caldo Starkey modificado y se incubaron a 30°C, por el tiempo requerido para alcanzar la turbidez del tubo 3 del nefelómetro de Mc Farland.

El cultivo “intermedio” se obtuvo inoculando los 18 mL del cultivo “madre” en matraces de 250 mL de capacidad con 162 mL de caldo Starkey modificado y se incubaron a 30°C, hasta alcanzar la turbidez del tubo 3 del nefelómetro de Mc

Farland. El cultivo “definitivo” se obtuvo depositando los cultivos “intermedios” en matraces de 2 L de capacidad con 1 620 mL de caldo Starkey modificado y se incubaron a 30°C con agitación manual diaria hasta alcanzar la turbidez del tubo 3 del nefelómetro de Mc Farland (Figura 8).

### Figura 7

*Tratamientos para determinar el potencial de microorganismos oxidantes en la recuperación de suelo salino-sódico con la aplicación de azufre en Lambayeque, 2018.*



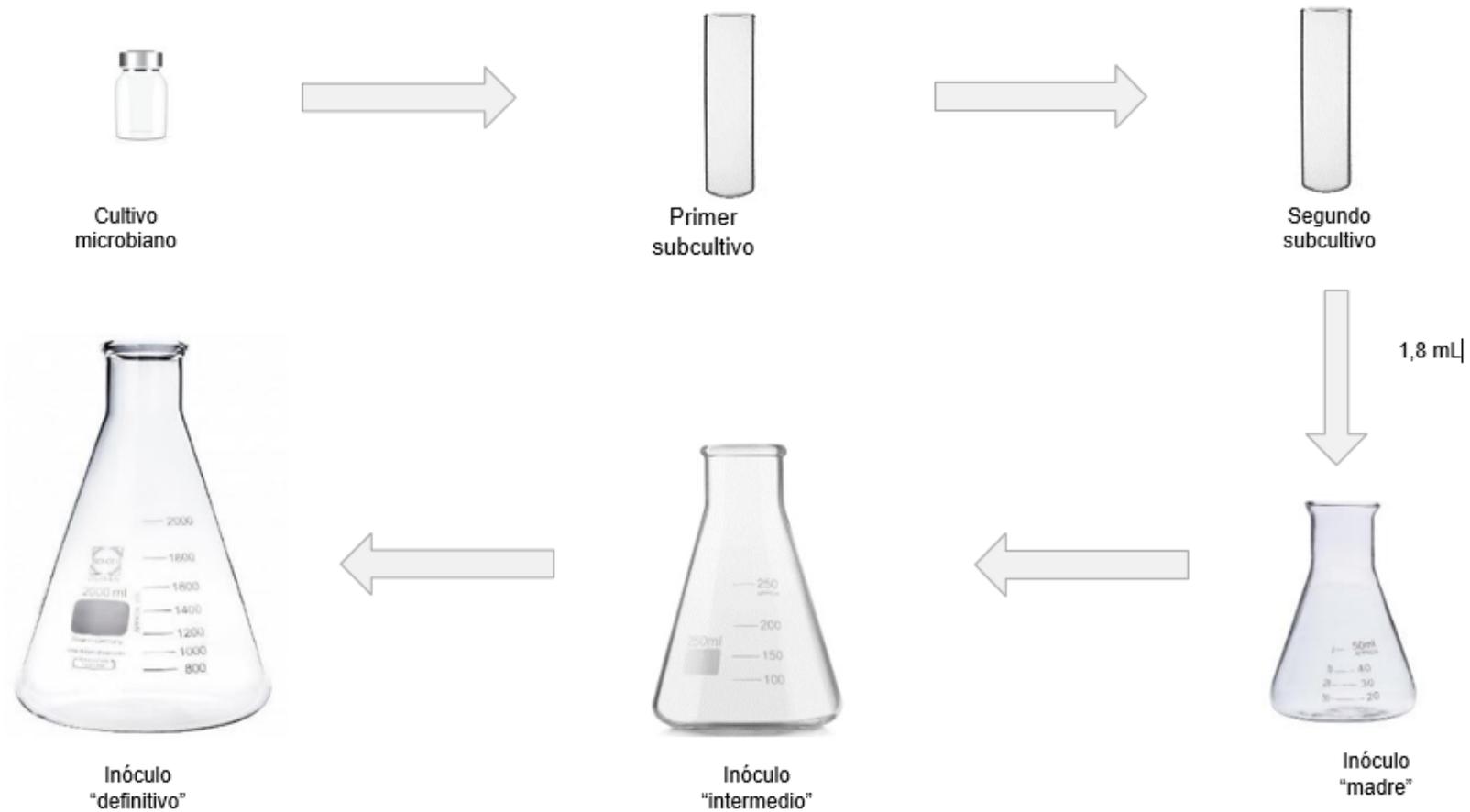
M= Microorganismos

T=

Testigo

**Figura 8**

*Obtención del inóculo microbiano por el método de siembra a gran escala para la determinación del potencial de microorganismos oxidantes en la recuperación de suelo salino-sódico con la aplicación de azufre en Lambayeque, 2018.*



## **b) Inoculación del suelo y monitorización del proceso**

En el suelo de los tratamientos con azufre se vertieron 3 L de una solución de Saltrad (44,72 mL del corrector salino Saltrad más 2 L 955,28 mL de agua) y en los tratamientos sin azufre se aplicaron 3 L de agua previamente declorada. Transcurridas 3 horas se realizaron cinco agujeros de 1,5 cm de diámetro y 5 cm de profundidad, uno en el centro y cuatro equidistantes con una separación de 5 cm y en cada uno de ellos se vertieron 40 mL del inóculo bacteriano. A continuación, el suelo se mezcló durante 5 minutos con una palaneta de mano y luego se homogenizó para repetir la inoculación de las bacterias por dos veces consecutivas (200 mL por vez).

Las macetas se mantuvieron en condiciones de invernadero y el suelo de cada una se removi6 de forma manual durante 10 minutos, dos veces por semana, así como también en todos los tratamientos, incluyendo los testigos, se aplicaron riegos para mantener la capacidad de campo (intervalos de 4 días). Transcurridos 60 días se aplicó en el suelo de todos los tratamientos una lámina de agua de 5 cm, se drenó y secó hasta por 7 días para después tomar muestras representativas (método del “cuarteo”) en cada maceta para determinar la conductividad eléctrica (CEe) y el PSI en el Laboratorio Agrícola Análisis de Suelo y Agua, CYSAG.

### **3.2.8 Análisis estadístico de los datos**

Con los valores de la conductividad eléctrica y porcentaje de sodio intercambiable se realizó el análisis de varianza, para determinar las diferencias entre los tratamientos y las pruebas de comparaciones de t y Tukey para establecer la significancia entre ellos:  $p = 0,05$  (Hernández et al., 2014). Se utilizaron los programas Microsoft Office Word y Excel versión 2013.

## IV. RESULTADOS

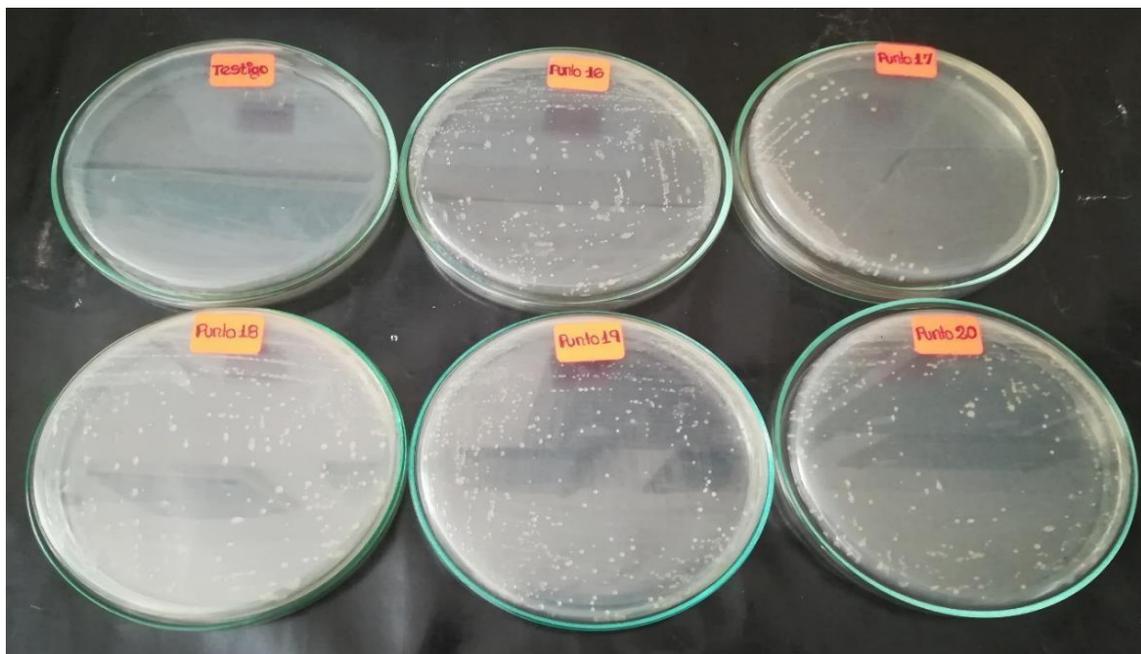
### 4.1 Comparación in vitro de la actividad oxidante del azufre de los microorganismos aislados de suelo salino-sódico en Lambayeque, 2018

En el suelo salino-sódico de la Comunidad Campesina San José de Lambayeque se obtuvieron 580 cultivos puros de bacterias y siete de hongos filamentosos, entre los que el 71,9% (422) se aisló del suelo y el 28,1% (165) del suelo radicular de malezas (Figuras 9, 10, Tablas 3,4). El 23,5% (138) de las bacterias aisladas (88 de suelo y 50 de suelo radicular) desarrolló por tres veces consecutivas en caldo Starkey modificado, por lo que se caracterizaron como oxidantes del azufre. En el medio de cultivo se observó turbidez (87,7%), pellets con turbidez (7,2%) y filamentos (5,1%). El 66,7% (92) de las bacterias oxidantes del azufre fueron Gram positivas y 33,3% (46) Gram negativas. Las Gram positivas presentaron formas de cocos (55,7%), bacilos (5,8%) y filamentos ramificados (5,1%). Las bacterias Gram negativas correspondieron a 6,5% de cocos y 26,8% de bacilos (Anexo G).

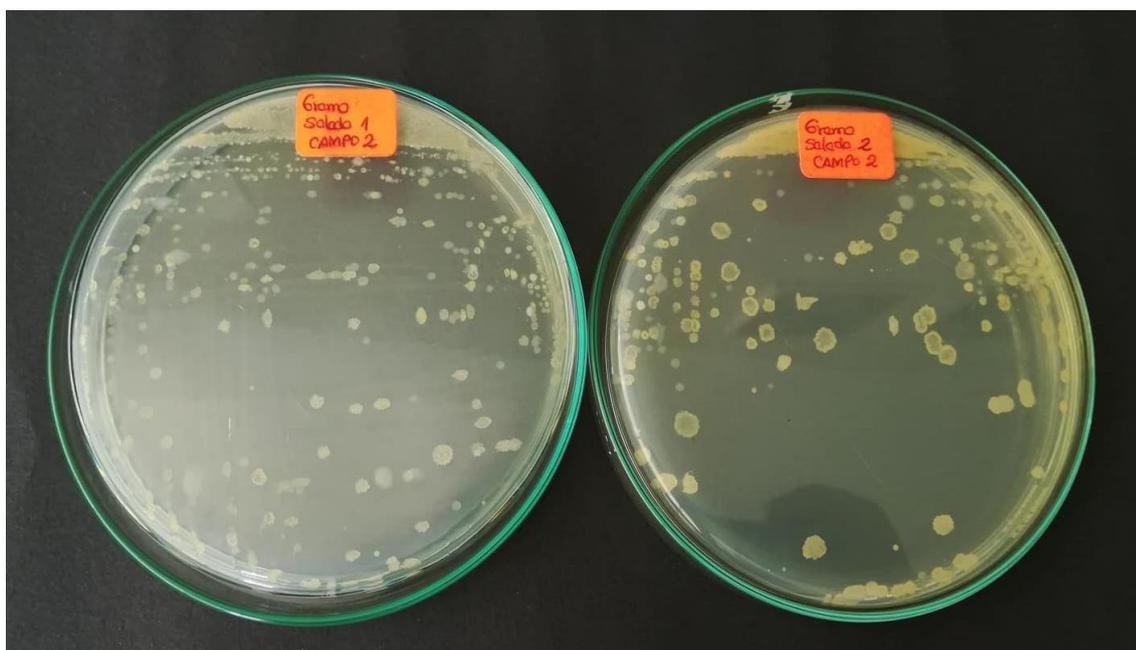
Con los valores de absorbancia obtenidos con diferentes concentraciones de sulfato se obtuvo la ecuación  $Y = 0,0237 X + 0,0001$  (Tabla 5, figura 11) y debido a que el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue mayor de 0,9 se aceptó como patrón de referencia, para el cálculo de la concentración de sulfatos (Mantilla, 2007). La concentración de sulfatos en los caldos cultivados con las bacterias oxidantes del azufre osciló entre  $> 0,120$  a  $> 21,000 \text{ mgL}^{-1}$ . El mayor porcentaje (45%) de bacterias alcanzó un rango de  $> 0,120$  a  $5,000 \text{ mgL}^{-1}$  (Tabla 6, anexo H).

**Figura 9**

Colonias de microorganismos aislados de suelo salino-sódico en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.

**Figura 10**

Colonias de microorganismos aislados de suelo radicular de *Distichlis spicata* en el



*sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José en Lambayeque, 2018.*

**Tabla 3**

*Número de cultivos de microorganismos aislados de suelo salino-sódico, en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José de Lambayeque, 2018*

Muestras (N°)	Enriquecimiento			
	11 días		15 días	
	Número de cultivos de microorganismos			
	5 días	10 días	5 días	10 días
1	3	1	2	2
3	4	0	2	3
4	5	0	1	2
6	5	1	3	1
8	5	0	2	2
9	3	0	2	2
10	4	1	1	2
11	5	0	2	3
12	4	1	2	2
13	2	2	2	4
18	2	2	2	3
19	1	0	2	4
20	3	1	2	3
21	2	0	3	5
22	2	1	2	2
23	2	0	2	1
24	3	1	3	2
27	1	0	2	3
32	2	2	2	3
33	2	1	2	1
34	3	1	3	5
35	2	0	4	4
39	2	0	2	2
40	2	0	3	1
41	4	2	3	3
42	5	2	4	5
43	4	2	4	4
44	5	2	4	5
45	5	1	3	5
46	5	3	4	4
47	5	3	4	5
48	5	3	5	5
49	4	3	4	4
50	5	3	4	4
51	6	3	4	4
52	5	3	5	5
53	5	3	4	4
54	5	3	5	5
Total	137	51	110	124

**Tabla 4**

*Número de cultivos de microorganismos aislados de suelo radicular, en el sector La Compuerta, Comunidad Campesina San José de Lambayeque, 2018*

Muestras (N°)	Enriquecimiento			
	11 días		15 días	
	Número de cultivos de microorganismos			
	5 días	10 días	5 días	10 días
2	4	2	3	3
5	3	0	4	3
7	6	6	2	3
14	3	2	3	3
15	3	1	3	3
16	3	3	4	2
17	3	1	3	3
25	3	3	2	3
26	3	3	3	2
28	3	3	3	2
29	3	0	2	3
30	2	0	3	2
31	3	1	4	4
36	2	0	3	2
37	3	1	3	3
38	2	0	2	2
Total	49	26	47	43

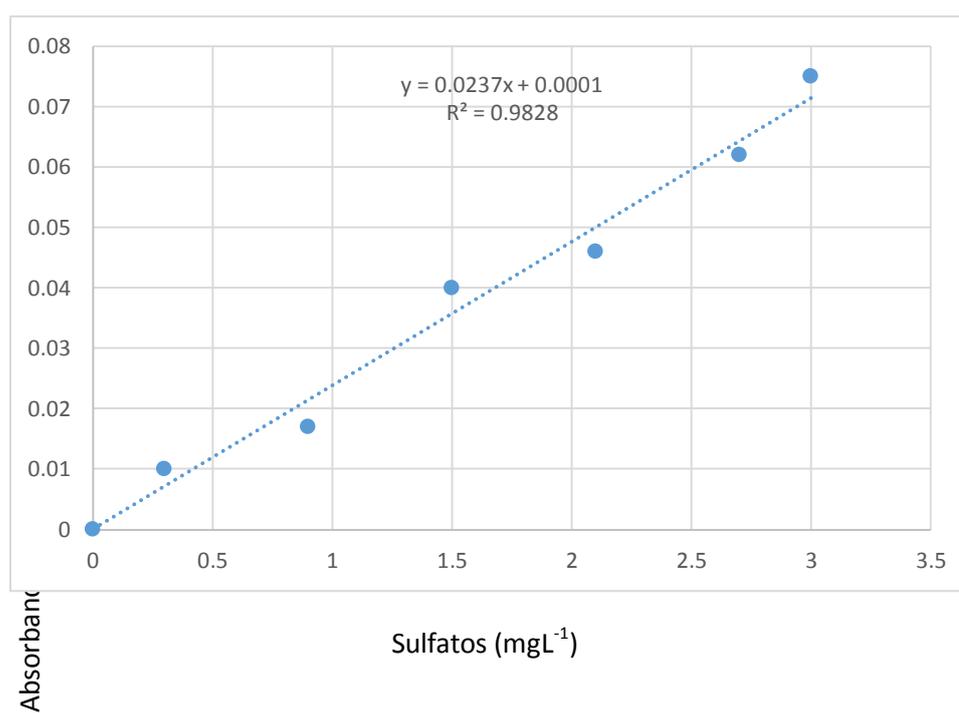
**Tabla 5**

*Absorbancia (650nm) de diferentes concentraciones de sulfatos*

Nº de tubos	Sulfato (mgL <sup>-1</sup> )	Absorbancia	Absorbancia corregida
T	0	0,125	0
1	0,3	0,135	0,010
2	0,9	0,142	0,017
3	1,5	0,165	0,040
4	2,1	0,171	0,046
5	2,7	0,187	0,062
6	3.0	0,200	0,075

**Figura 11**

*Curva patrón para determinar la concentración de sulfatos por el método nefelométrico.*



**Tabla 6**

*Bacterias oxidantes de azufre aisladas de suelo salino-sódico según el rango de la concentración de sulfatos en caldo Starkey con tiosulfato de sodio en Lambayeque, 2018*

Cultivos de bacterias oxidantes del azufre		Rango de sulfatos (mgL <sup>-1</sup> )
N°	%	
62	45	> 0,120 – 5,000
40	29	5,100 – 10,000
19	14	10,100 – 15,000
17	12	15,100 – >21,100
138	100	

Entre las bacterias seleccionadas para determinar el pH en los caldos cultivados, ocho correspondieron al menor rango de sulfatos y ocho al mayor rango. El pH osciló entre 5 a 8 en los caldos Starkey cultivados por 5 días con las bacterias que alcanzaron 16,4936709 a 21,1350211mgL<sup>-1</sup> de sulfatos. El pH osciló entre 8 a 10 en los caldos cultivados con las bacterias que alcanzaron 0,12236287 a 0,79746835mgL<sup>-1</sup> de sulfatos. Las dos bacterias seleccionadas presentaron morfología bacilar (454) y cocoide (305), el

caldo cultivado un pH de 5 y 2°D de acidez y se identificaron los géneros *Burkholderia* y *Paracoccus*, respectivamente (Tablas 7, 8).

#### 4.2 Potencial de bacterias oxidantes en la recuperación de suelo salino-sódico con la aplicación de azufre

Todos los tratamientos en el suelo salino-sódico, incluyendo los testigos, disminuyeron la conductividad eléctrica (CEe) alcanzando 79,65 a 87,23% de reducción en los tratamientos con azufre y 82,98 a 89,54% en los tratamientos sin azufre. Con la aplicación de azufre la CEe osciló entre 15,42 a 16,26 dSm<sup>-1</sup> con *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454, respectivamente, en comparación con 24,56 dSm<sup>-1</sup> en el testigo sin bacterias. En los tratamientos sin azufre, la CEe osciló entre 12,63 a 19,27 dSm<sup>-1</sup> con *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454, respectivamente, en comparación con 20,54 dSm<sup>-1</sup> en el testigo sin bacterias (Tabla 9, figura 12).

El análisis de varianza de la conductividad eléctrica (CEe) en el factorial 2x3 demostró alta significancia para el factor bacterias (B), pero no para el factor aplicación de azufre (A), ni para la interacción AxB (Tabla 10). Respecto al factor bacterias (B) los menores valores en la CEe correspondieron a los tratamientos con *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454, no diferenciándose significativamente entre ellos, pero si del testigo sin bacterias (Tabla 11).

#### Tabla 7

Valores de pH y acidez en caldo Starkey con tiosulfato de sodio cultivado con bacterias oxidantes del azufre aisladas de suelo salino-sódico en Lambayeque, 2018

Bacterias Código	Sulfato (mgL <sup>-1</sup> )	pH	Acidez (°D)
---------------------	---------------------------------	----	----------------

155	0,122	10	ND*
285	0,207	9	ND*
49	0,207	9	ND*
574	0,502	8	ND*
158	0,502	8	ND*
289	0,713	9	ND*
362	0,755	8	ND*
164	0,797	9	ND*
383	16,494	8	ND*
28	16,620	8	ND*
257	17,253	6	ND*
396	17,844	8	ND*
380	18,139	6	ND*
389	19,658	5	2
305	20,713	5	2
454	21,135	5	2

\*ND= No determinado

### Tabla 8

*Características fenotípicas diferenciales de bacterias oxidantes del azufre aisladas de suelo salino-sódico en Lambayeque, 2018*

Características	Código de bacterias	
	305	454

Forma de células	Cocoide	Bacilar
Tinción de Gram	Negativa	Negativa
Prueba de oxidasa	+	+
Prueba de catalasa	+	+
Prueba de ureasa	ND	+
Prueba de motilidad	-	+
Crecimiento en agar MacConkey	V	+
Reducción de NO <sub>3</sub> a NO <sub>2</sub>	+	+
Utilización de:		
Sucrosa	+	ND
D- fructosa	+	ND
Inositol	+	ND
D-manitol	+	ND
Manosa	+	ND
Lactosa	+	ND
Arabinosa	+	ND
Compuestos de S utilizados para la energía:		
Tiosulfato	+	ND
Sulfuro	+	ND
Solubilización de fosfatos	ND	+
Sensibilidad a la Polimixina	ND	R
Género	<i>Paracoccus</i> sp.	<i>Burkholderia</i> sp.

\*ND= No determinado

## Tabla 9

*Conductividad eléctrica de suelo salino-sódico a los 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre*

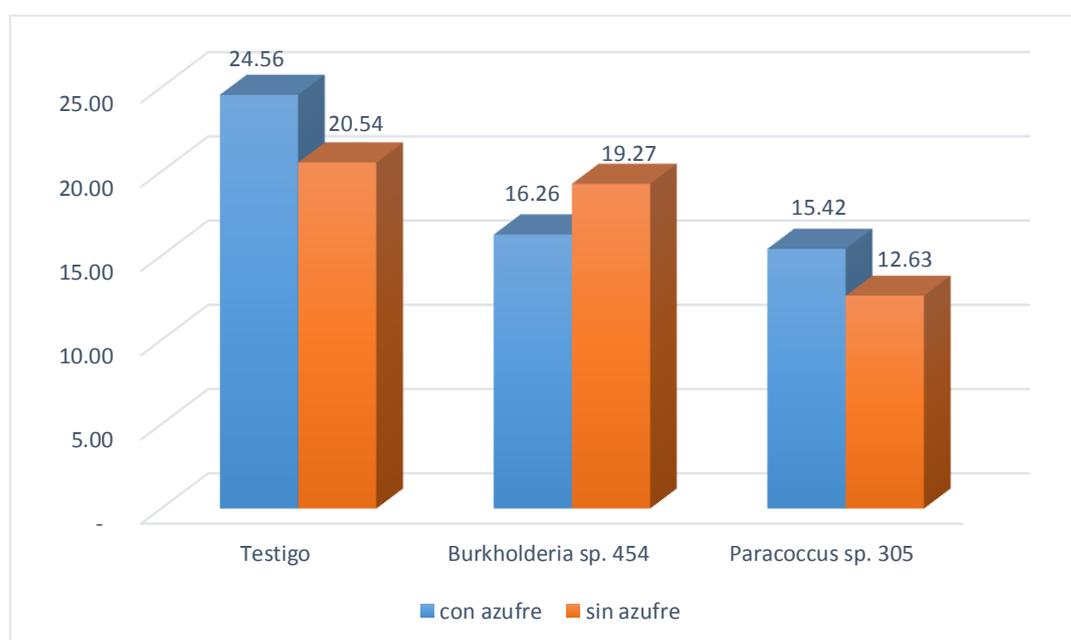
Tratamientos	CE <sub>e</sub> (dSm <sup>-1</sup> )*
--------------	---------------------------------------

	Promedio	Disminución (%)
Testigo - Con azufre	24,56	79,65
<i>Burkholderia</i> sp. 454 - Con azufre	16,26	86,53
<i>Paracoccus</i> sp. 305 - Con azufre	15,42	87,23
Testigo - Sin azufre	20,54	82,98
<i>Burkholderia</i> sp. 454 - Sin azufre	19,27	84,04
<i>Paracoccus</i> sp. 305 - Sin azufre	12,63	89,54

\* 0 días  $CE_e = 120,67 \text{ dSm}^{-1}$

**Figura 12**

*Conductividad eléctrica de suelo salino-sódico, 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre.*



**Tabla 10**

*Análisis de varianza de la conductividad eléctrica de un suelo salino-sódico 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre*

Tratamientos	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc	P	Sign
--------------	-------------------	----	------------------	----	---	------

Aplicación de azufre (A)	7,207	1	7,207	1,056	0,324	NS
Bacterias (B)	219,009	2	109,505	16,044	0,000	**
Interacción AxB	42,272	2	21,136	3,097	0,082	NS
Error	81,903	12	6,825			
Total	350,391	17				

**Tabla 11**

*Prueba de comparaciones múltiples de Tukey de la conductividad eléctrica de un suelo salino-sódico con y sin bacterias oxidantes del azufre*

Bacterias	CE <sub>e</sub> (dSm <sup>-1</sup> )	Sign.
<i>Paracoccus</i> sp. 305	14,0233	A
<i>Burkholderia</i> sp. 454	17,7683	A
Testigo sin bacteria	22,5467	b

Todos los tratamientos del suelo con azufre (con y sin bacterias) y *Paracoccus* sp. 305 - sin azufre disminuyeron el porcentaje de sodio intercambiable (PSI), alcanzando 7,29 a 56,58% de reducción. Con la aplicación de azufre el PSI osciló entre 11,26 a 20,52% con *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454, respectivamente, en comparación con 27,78% en el testigo sin bacterias. En el tratamiento con

*Paracoccus* sp. 305 sin azufre el PSI fue de 24,04%, en comparación con 34,42% en el testigo sin bacterias (Tabla 12, figura 13).

El análisis de varianza del porcentaje de sodio intercambiable (PSI) en el factorial 2x3 demostró alta significancia para el factor aplicación de azufre (A) y el factor bacterias (B), pero no para la interacción AxB (Tabla 13). En cuanto al factor azufre (A) los menores valores en el PSI correspondieron a los tratamientos con azufre y respecto al factor bacterias (B) los menores valores se alcanzaron con *Paracoccus* sp. 305, diferenciándose estadísticamente de los otros tratamientos (Tablas 14, 15).

### **Tabla 12**

*Porcentaje de sodio intercambiable de suelo salino-sódico a los 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre*

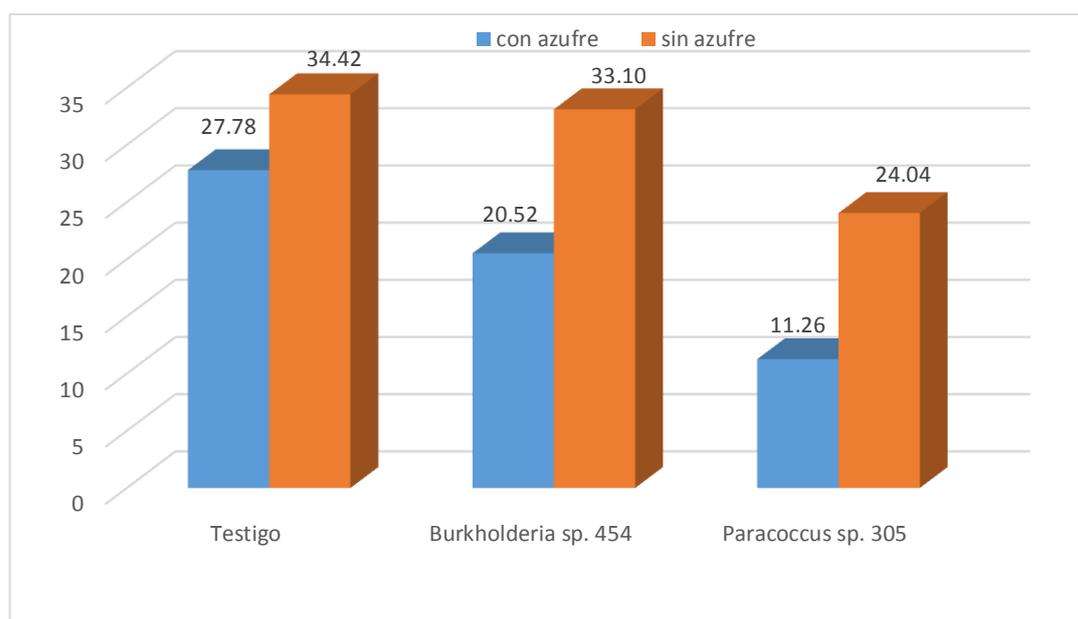
Tratamientos	PSI (%)*
--------------	----------

	Promedio	Disminución (%)
Testigo - Con azufre	27,78	0
<i>Burkholderia</i> sp. 454 - Con azufre	20,52	20,87
<i>Paracoccus</i> sp. 305 - Con azufre	11,26	56,58
Testigo - Sin azufre	34,42	0
<i>Burkholderia</i> sp. 454 - Sin azufre	33,10	0
<i>Paracoccus</i> sp. 305 - Sin azufre	24,04	7,29

\* 0 días PSI= 25,930%

**Figura 13**

*Porcentaje de sodio intercambiable de suelo salino-sódico, 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre.*



**Tabla 13**

Tratamientos	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	Fc	p	Sign
--------------	-------------------	----	------------------	----	---	------

Aplicación de azufre (A)	511,893	1	511,893	98,519	0,000	**
Bacterias (B)	566,306	2	283,153	54,496	0,000	**
Interacción AxB	36,552	2	18,276	3,517	0,063	NS
Error	62,350	12	5,196			
Total	1177,102	17				

*Análisis de varianza del porcentaje de sodio intercambiable de un suelo salino-sódico 60 días después de la aplicación de bacterias oxidantes con y sin azufre*

**Tabla 14**

*Prueba de t para las medias del porcentaje de sodio intercambiable de un suelo salino-sódico con y sin azufre*

Aplicación de azufre	Medias	Diferencia entre medias	p	Sign.
Con azufre	19,8533	10,66556	0,003	**
Sin azufre	30,5189			

**Tabla 15**

*Prueba de comparaciones múltiples de Tukey del porcentaje de sodio intercambiable de un suelo salino-sódico con y sin bacterias oxidantes del azufre*

Bacterias	PSI (%)	Sign.
<i>Paracoccus</i> sp. 305	17,6500	a
<i>Burkholderia</i> sp. 454	26,8100	b
Testigo sin bacteria	31,0983	c

## V. DISCUSIÓN

El crecimiento de los microorganismos por tres veces consecutivas en medio Starkey con tiosulfato de sodio demostró la capacidad para oxidar este compuesto reducido del azufre, tal como lo reportó Pacheco et al. (2012). Los microorganismos oxidantes del azufre quimiótrofos utilizan como donadores de electrones al sulfuro de hidrógeno (Pacheco et al., 2012), azufre elemental (Rubiano et al., 2018; Rojas et al., 2013) o el tiosulfato (Pacheco et al., 2012; Anandham et al., 2008).

La predominancia de bacterias entre los microorganismos oxidantes del azufre aislados del suelo, coincide con Reis y Rodrigues (2012), quienes concluyeron que las formas reducidas del azufre pueden ser oxidadas por bacterias quimiolitotróficas autótrofas y heterótrofas, bacterias fotoautotróficas anoxigénicas (púrpuras y verdes) y por bacterias y hongos que obtienen su energía y carbono de sustancias orgánicas; no obstante, en los suelos bien drenados prevalecen las bacterias quimiolitótropas heterótrofas.

El porcentaje (23,52%) de bacterias oxidantes del azufre entre los microorganismos aislados del suelo salino-sódico es inferior a 74,6% registrado por Rojas et al. (2013) en microorganismos aislados de suelo, agua y residuos industriales con un rango de CEE de 1,13 a 14,25  $\text{dSm}^{-1}$  y pH de 2,6 a 5,3. Los microorganismos oxidantes del azufre están ampliamente distribuidos en el suelo, agua y residuos sulfurados y pueden ser aislados de ambientes con pH ácido, neutro y alcalino (Siddike et al., 2010), pero los más estudiados desarrollan a pH neutro (Rawat y Rawat, 2015).

Las bacterias Gram positivas predominaron entre los microorganismos oxidantes del azufre, a diferencia de la investigación de Rojas et al. (2013) en la que prevalecieron las bacterias Gram negativas. Este resultado puede ser explicado por la diferencia en la salinidad del suelo investigado con valores en la CEE de 120,67 y 14,252  $\text{dSm}^{-1}$ , respectivamente. Según Szymanska et al. (2016) a nivel molecular en los suelos salinos predominan las bacterias Gram negativas; no obstante, con las técnicas dependientes de cultivo, se aíslan mayoritariamente formas Gram positivas, aseveración que coincide con

los resultados de la presente investigación, en la que las bacterias se aislaron en medio de cultivo.

La mayor concentración de sulfato en el caldo cultivado fue el criterio utilizado para seleccionar las bacterias oxidantes del azufre, al igual que Rubiano et al. (2018) y Rojas et al. (2013). La oxidación microbiana del tiosulfato se realiza por tres vías, en la primera se oxida completamente hasta sulfato, en la segunda el tiosulfato se oxida a través del tetrionato como intermediario y en la tercera el tiosulfato es hidrolizado a sulfito y azufre (Espinosa et al., 2010; Friedrich et al., citados por Ponce, 2007). Al respecto, Pacheco et al. (2012) caracterizaron el metabolismo del azufre (tiosulfato de sodio, azufre elemental, sulfuro de hidrógeno) en bacterias previamente aisladas de humedales artificiales y cuantificaron azufre elemental, sulfito y tetrionato, pero no sulfato.

La máxima concentración ( $21,135 \text{ mgL}^{-1}$ ) de sulfatos en el caldo Starkey con tiosulfato de sodio cultivado con las bacterias del azufre aisladas de suelo salino-sódico fue superior a  $15,3 \text{ mgL}^{-1}$  determinada por Rubiano et al. (2018) con bacterias oxidantes del azufre provenientes de aguas de manantiales y termales y aguas residuales de explotaciones mineras e industrial metalmeccánica. Por el contrario, la máxima concentración de sulfatos es muy inferior a  $380 \text{ mgL}^{-1}$ , reportada por Rojas et al. (2013) con bacterias aisladas de suelo, agua y residuos industriales con alto contenido de azufre y cultivadas en caldo Starkey con azufre elemental.

La concentración de sulfatos en el caldo Starkey cultivado con las bacterias oxidantes del azufre, presentó una relación inversa con el pH. Al respecto, Reis y Rodrigues (2012) manifestaron que el proceso de oxidación del azufre genera  $\text{H}^+$  y el grado de acidificación varía según el compuesto reducido investigado y la capacidad metabólica de los microorganismos. En la presente investigación, el pH disminuyó de 7 a 5, en los tres caldos Starkey en los que se cuantificaron las mayores concentraciones de sulfato. De igual manera Rojas et al. (2013) observaron disminución del pH inicial del medio de cultivo de 3 a 1,1 – 1,6 con las bacterias productoras de altas concentraciones de sulfatos; no obstante, no determinaron correlación entre la producción de sulfatos y la disminución del pH.

Los géneros de bacterias oxidantes del azufre identificadas en la presente investigación fueron reportadas previamente por Rawat y Rawat, 2015 y Anandham et al., 2008 (*Burkholderia* spp.) y Liu et al., 2016 y Reis y Rodrigues, 2012 (*Paracoccus*

spp.). Las especies del género *Paracoccus* están ampliamente distribuidas en el suelo (Reis y Rodrigues, 2012), sedimentos y lodos activados (Liu et al., 2016). Son bacterias Gram negativas, quimiolitotróficas facultativas, aerobias, reducen el nitrato en heterotrofia y desarrollan con sustratos orgánicos e inorgánicos como donadores de electrones (Friedrich et al., 2000).

La oxidación del azufre es influenciada por la temperatura, humedad, aireación, pH y diversidad microbiana (Reis y Rodrigues, 2012). En este contexto, durante el ensayo de recuperación de suelo salino-sódico se aplicaron bacterias y el suelo se removió y regó. La humedad óptima para la oxidación del azufre está cerca a la capacidad de campo. Solbeerg et al., citados por Reis y Rodrigues (2012) recuperaron 32 - 53% de sulfato en el suelo a 40% de capacidad de campo y 72 - 106 % a 90 % CC.

La disminución de la CEE y PSI observada en todos los tratamientos es consecuencia del riego aplicado, coincidiendo con Manzano et al. (2014), quienes investigaron el efecto del lavado del suelo junto a la aplicación de estiércol bovino, yeso y ácido sulfúrico sobre la CEE y PSI en un suelo 1 salino-sódico moderado (CEE=7,75 dSm<sup>-1</sup>; PSI=18,4 %) y un suelo 2 salino-sódico alto (CEE=22 dSm<sup>-1</sup>; PSI=34 %). Después de 45 días y cuatro lavados subsecuentes se determinó que con el lavado del suelo la CEE disminuyó a 2-3 dSm<sup>-1</sup> y el PSI a menos de 4 % en el suelo 1 y 7 % en el suelo 2, independientemente de la aplicación de estiércol, yeso y ácido sulfúrico.

La disminución del PSI con la aplicación de azufre coincide con Yildiz et al. (2017), quienes aplicaron 2,0 - 2,4 kgm<sup>2</sup> de azufre elemental (98% pureza) en suelos salino-sódicos (CEE= 6-10 dSm<sup>-1</sup>, PSI= 36-43%) y determinaron que el segundo año de la aplicación el PSI disminuyó a 15% y el pH a 7,7. La mayor disminución del PSI en el suelo con la aplicación de azufre y las bacterias *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* spp. 454, demostró que éstas, tienen potencial para la recuperación de suelo salino-sódico. En estos suelos la concentración de sales es muy elevada (CEE>4 dSm<sup>-1</sup>) y el sodio ha desplazado el calcio y magnesio del complejo de intercambio de la arcilla: PSI >15% (Lázaro et al., 2010).

Las bacterias investigadas oxidan el azufre hasta sulfito, el cual junto al agua forma ácido sulfúrico que libera el calcio de los carbonatos y éste a su vez desplaza el sodio que es lixiviado como sulfato de sodio mediante el lavado del suelo (Terrazas, 2019). La oxidación de los compuestos azufrados por las bacterias oxidantes del tiosulfato

contribuye a la reducción del pH en el suelo y tiene efecto benéfico con suelos calcáreos sódicos y salinos, pero no en suelos ácidos (Anandham et al., 2008).

## VI. CONCLUSIONES

- 6.1** Las bacterias con mayor capacidad *in vitro* oxidante del azufre, aisladas de un suelo salino-sódico (CEe= 120,67 dSm<sup>-1</sup>, PSI= 25,93%) fueron identificadas como *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454 y demostraron potencial en la recuperación del suelo salino-sódico con y sin la aplicación de azufre al disminuir la CEe y el PSI.
- 6.2** El 23,5% de las bacterias aisladas del suelo salino-sódico demostró ser oxidantes del azufre, cuantificándose 0,12236287 a 21,1350211 mgL<sup>-1</sup> de sulfatos.
- 6.3** *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454 con la aplicación de azufre disminuyeron la CEe del suelo (86,53-87,23%) y el PSI (20,87-56,58%), en comparación con 79,65 y 0%, respectivamente en el testigo con azufre y sin bacterias.

## VII. RECOMENDACIONES

- Identificar a nivel molecular *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454.
- Determinar el efecto de diferentes dosis de azufre en la recuperación de suelos salino-sódicos y sódicos por *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454.
- Determinar el efecto de *Paracoccus* sp. 305 y *Burkholderia* sp. 454 en la recuperación de suelos salino-sódicos y sales a nivel de parcelas demostrativas.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anandham, R., Ganchi, I., Madhaiyan, M., y Sa, T. (2008). Potential plant growth promoting traits and bioacidulation of rock phosphate by thiosulfate oxidizing bacteria isolated from crop plants. *Journal of Basic Microbiology*, 48, 439 - 447. <https://doi.org/10.1002/jobm.200700380>.
- Alvitres, V. (2000). *Método Científico. Planificación de la Investigación*. (2da ed.). Editorial Ciencia.
- Bao, S., Wang, Q., Bao, X., Li, M., y Wang, Z. (2016). Biological treatment of saline-alkali soil by sulfur-oxidizing bacteria. *BIOENGINEERED*, 7(5), 372-375. <https://doi.org/10.1080/21655979.2016.1226664>.
- Beretta A., Bassahun D., Musselli R., y Torres D. (2015). Medición del pH del suelo con papel reactivo. *Agrociencia Uruguay*, 19 (2), 68 – 74. <http://www.scielo.edu.uy/pdf/agro/v19n2/v19n2a09.pdf>.
- Buendía, H., Cruz, F., Meza, C., y Arévalo, J. (2014). Fitorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos de petróleo. *Alma Mater Segunda Época*, 1 (1), 113 - 121. <file:///C:/Users/USER/Downloads/11873-Texto%20del%20art%C3%ADculo-41331-1-10-20160608.pdf>.
- Bolivar, H., Contreras, M., y Teherán, L. (2016). *Burkholderia tropica* una bacteria con gran potencial para su uso en la agricultura. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 19 (2), 102 – 108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.recqb.2016.06.003>.
- Díaz, Z., y Sánchez, H. (2008). *Temperatura y tiempo de fermentación en la elaboración de encurtidos de hortalizas con cepas nativas de Lactobacillus plantarum y Leuconostoc mesenteroides ssp. Mesenteroides* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].
- Egamberdieva, D., Li, L., Lindström, K., y Räsänen, L. (2015). A synergistic interaction between salt-tolerant *Pseudomonas* and *Mesorhizobium* strains improves growth and symbiotic performance of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fish.) under salt

stress. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(6), 2829-2841. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7147-3>.

Espinosa, J., Revah, S., y Le Borgne, S. (2010). Rutas metabólicas de oxidación del azufre en bacterias quimiolitotróficas, relevancia ambiental y biotecnología. *Mensaje bioquímico*, 34, 101 – 120.

Friedrich, C., Quentmeier, A., Bardischewsky, F., Rother, D., Kraft, R., Kostka, S., y Prinz, H. (2000). Novel genes coding for lithotrophic sulfur oxidation of *Paracoccus pantotrophus* GB17. *Journal of Bacteriology*, 182 (17), 4677 – 4687. <https://doi.org/10.1128/jb.182.17.4677-4687.2000>.

García, M., Puppo, L., Hayashi, R., y Morales, P. (2012). Metodología para determinar los parámetros hídricos de un suelo a campo. [http://www. Fagro. Edu.uy/hidrología/paisajismo/AGUA% 20EN% 20EL% 20SUELO. pdf](http://www.Fagro.Edu.uy/hidrología/paisajismo/AGUA%20EN%20EL%20SUELO.pdf).

Gomah, H., Mahmoud, S., El-Rewainy, H., y Abdraubou, M. (2014). Soil solarization and inoculation with sulphur oxidizing bacteria and their effects on some soil properties. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, S3: 005. <https://doi:10.4172/1948-5948.S3-005>.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M., Bhowmik, P., Hossain, M., Rahman, M., Prasad, M., Ozturk, M., y Fujita, M. (2014). Potential use of halophytes to remediate saline soils. *BioMed Research International*, 2014, 12. <https://doi.org/10.1155/2014/589341>.

Hernández, J. (2011). *Biorrecuperación de suelos salinos con el uso de materiales orgánicos* [tesis de doctorado, Universidad Politécnica de Madrid]. <http://oa.upm.es/14869/>

Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación* (6<sup>ta</sup> ed.). Hill Interamericana Editores S.A.

Jiménez, R. (2013). Estrategias para la producción agrícola en suelos salinos de Venezuela. *INIA Divulga*, 25, 5-7. [http://sian.inia.gob.ve/inia\\_divulga/divulga\\_25/rid25\\_solorzano\\_5-7.pdf](http://sian.inia.gob.ve/inia_divulga/divulga_25/rid25_solorzano_5-7.pdf).

- Lamz, A., y Gonzáles, M. (2013). La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos tropicales*, 34, 31 – 42. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193228546005>.
- Lázaro, P., Saucedo, H., y Namuche, R. (2010). Salinidad del Suelo. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, *Fundación Produce Nayarit A.C.* [https://www.academia.edu/27437179/SALINIDAD\\_DEL\\_SUELO\\_SAGARPA\\_SEDE R](https://www.academia.edu/27437179/SALINIDAD_DEL_SUELO_SAGARPA_SEDE_R).
- Liu, X., Wang, B., Jiang, Ch., y Liu, S. (2006). *Paracoccus sulfuroxidans* of. nov., a sulfur oxidizer from activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, 2693 – 2695. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64548-0>.
- Mantilla, M. (2007). *Evaluación de la acción de un bioinoculante sobre un cultivo de crisantemo (Chrysanthemum morifolium var. Yoko ono) en período de enraizamiento* [tesis de pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio institucional. <http://hdl.handle.net/10554/8381>.
- Manzano, J., Rivera, P., Briones, F., y Zamora, C. (2014). Rehabilitación de suelos salino-sódicos: Estudio de caso en el distrito de riego 086, Jiménez, Tamaulipas, México. *Terra Latinoamericana*, 32 (3), 211 – 219. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v32n3/2395-8030-tl-32-03-00211.pdf>.
- Marchese, A. (2015). *Estudio físico y químico de suelos agrícolas para la estimación deGI nivel de salinización en el sector bajo de San Pedro de Lloc* [tesis de pregrado, Pontificia Universidad Católica del Perú]. Repositorio institucional. <http://hdl.handle.net/20.500.12404/6442>.
- Medina, L. (2016). La agricultura, la salinidad y los hongos micorrízicos arbusculares: Una necesidad, un problema y una alternativa. *Cultivos Tropicales*, 37(3), 42-49. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.1117.9765>.
- Ministerio del Ambiente del Perú. (2011). La desertificación en el Perú, Cuarta Comunicación Nacional del Perú a la Convención de Lucha contra la Desertificación y la Sequía. [http://www.euroclimaplus.org/images/Publicaciones/Suelos/Peru\\_4Inf\\_Desertificacion1.pdf](http://www.euroclimaplus.org/images/Publicaciones/Suelos/Peru_4Inf_Desertificacion1.pdf).

- Nisha, R., Kiran, B., Kaushik., y Kaushik, C. (2017). Biorremediation of salt affected soils using cyanobacteria in terms of physical structure, nutrient status and microbial activity. *International journal of Enviironmental Science and Technology*, 15, 571 - 580. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1419-7>.
- Pacheco, J., Maldonado, M., y Peña, J. (2012). Metabolismo del azufre de aislados bacterianos provenientes de un humedal artificial empleado para el tratamiento de efluentes de la industria curtidora. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28 (3), 195 – 201.
- Pernús, M., y Sánchez, J. (2015). Salinity in Cuba and pre-germination hydration-dehydration treatments of seeds. *Pastos y forrajes*, 38 (4), 379 – 392. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269143377001>.
- Ponce, J. (2007). *Caracterización de una tiosulfato azufre transferasa (rodanasa) del microorganismo quimiolitotrófico Acidithiobacillus ferrooxidans* [tesis de pregrado, Universidad de Chile].
- Polo, L., y Hernández, J. (2016). Capacidad de campo y punto de marchitez permanente. Universidad de Sucre Facultad de educación y ciencias. Programa de Biología Fisiológica Vegetal. 1-7. <https://s3.amazonaws.com/academia.edu/documents/60250337>.
- Ramos, G., y León, S. (2016). *Evaluación del potencial fitorremediador de dos especies vegetales Paspalum millegrana L. y Bidens pilosa L. para remediar suelos contaminados por hidrocarburos provenientes de la lavadora y lubricadora Marifer, Cantón Zamora* [tesis de pregrado, Universidad Nacional de Loja]. Repositorio institucional. <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/17608>.
- Rawat, R., y Rawat, S. (2015). Colorless sulfur oxidizing bacteria from diverse habitats. *Advances in Applied Science Research*, 6(4), 230-235. <https://www.imedpub.com/articles/colorless-sulfur-oxidizing-bacteria-from-diverse-habitats.pdf>
- Reis, A., y Rodrigues, M. (2012). Sulfur in agriculture. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, 36 (5), 1369 – 1379. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832012000500001>.
- Rodier, J., y Rodi, L. (1981). *Análisis de las Aguas*. Ediciones Omega, S.A.

- Rodrigué, M. (2015). *Aplicación de enmiendas en suelos sódicos de Inrville, Córdoba* [tesis de pregrado, Universidad Católica Argentina]. Repositorio institucional. <https://repositorio.uca.edu.ar/handle/123456789/408>.
- Rodríguez, N., Torres, C., y Chaman, M. (2019). Efecto del estrés salino en el crecimiento y contenido relativo del agua en las variedades *IR-43* y amazonas de *Oryza sativa* "arroz" (Poaceae). *Arnaldoa*, 26 (3), 931 – 942. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26305>.
- Rojas, N., Gómez, M., Hernández, R., Aburto, J., y García, R. (2013). Isolation and selection of sulfur-oxidizing bacteria for the treatment of sulfur-containing hazardous wastes. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 27(1), 109-117. <http://silverstripe.fkit.hr/cabeq/assets/Uploads/15.pdf>.
- Rubiano, C., Hurtado, A., y Ignacio, J. (2018). Búsqueda de bacterias oxidadoras de azufre para su potencial uso en la producción de biogás de alta pureza. *Revista de investigación agraria y ambiental*, 9 (2). <http://doi.org/10.22490/21456453.2185>.
- Ruiz, E., Aldaco, G., Montemayor, J., Fortis, M., Olague, J., y Villagómez, J. (2007). Aprovechamiento y mejoramiento de un suelo salino mediante el cultivo de pastos forrajeros. *Técnica Pecuaria en México*, 45 (1), 19 – 24. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61345102>.
- Santamaría, J. (2013). *Evaluación de la salinidad de los suelos de la comunidad campesina San José – Lambayeque, tratados con vinaza, usando la técnica del procedimiento de esquejes de la especie Brachiaria mutica (Forssk) Staff. "gramalote" a nivel de bandejas* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo].
- Siddikee, M., Chauhan, P., Anandham, R., Han, G., y Sa, T. (2010). Isolation, characterization and use for plant growth promotion under salt stress of ACC deaminase – producing halotolerant bacteria derived from Coastal soil. *Journal Microbiology Biotechnology*, 20 (11), 1577 - 1584. <https://doi:10.4014/jmb.1007.07011>.
- Serrato, R., Ortiz, A., Dimas, J., y Ber men S. (2002). Aplicación de lavado y estiércol para recuperar suelos salinos en la comarca Lagunera, México. *Terra*

*Latinoamericana*, 20 (3), 329 – 336.  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57320312>.

Soca, R., Rojas, J., Willems, B., Ocola, L., Fernández, R., y Pérez, J. (2016). Identificación de las tierras degradadas por la salinidad del suelo en los cultivos de caña de azúcar mediante imágenes de satélite. *Revista de Investigación de Física*, 19 (1), 1 - 9.  
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/fisica/article/view/13550/11963>.

Szymánska, S., Plociniczak, T., Piotrowska, Z., y Hryniewicz, K. (2016). Endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Salicornia europaea* L. community structure and metabolic potential. *Microbiological Research*, 192, 37 – 51. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.05.012>.

Terrazas, J. (2019). Aprovechamiento del suelo salino: agricultura salina y recuperación de suelos. *Apthapi*, 5(1), 1539 – 1563.  
<http://www.ojs.agro.umsa.bo/index.php/ATP/article/viewFile/333/321>.

Torres, A., Durán, Z., y Rodríguez, C. (2009). Acidez titulable como control de calidad para la leche humana. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 72 (3), 92 – 96. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=367936950004>.

Torres, D., Pastor, J., Lázaro, Y., Gonzáles, M., López, M., y Yendis, H. (2015). Uso de acondicionadores orgánicos y biopolímeros para biorremediación de suelos salinos-sódicos de la llanura de Coro, Falcón, Venezuela. *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología*, 33, 36-45.  
[https://www.academia.edu/16655642/USO\\_DE\\_ACONDICIONADORES\\_ORG%C3%81NICOS\\_Y\\_BIOPOL%C3%8DMEROS\\_PARA\\_BIORREMEDIACI%C3%93N\\_DE\\_SUELOS\\_SALINOS%C3%93DICOS\\_DE\\_LA\\_LLANURA\\_DE\\_CORO\\_FALC%C3%93N\\_VENEZUELA](https://www.academia.edu/16655642/USO_DE_ACONDICIONADORES_ORG%C3%81NICOS_Y_BIOPOL%C3%8DMEROS_PARA_BIORREMEDIACI%C3%93N_DE_SUELOS_SALINOS%C3%93DICOS_DE_LA_LLANURA_DE_CORO_FALC%C3%93N_VENEZUELA).

Yildiz, O., Altundag, E., Cetin, B., Guner, S., Sarginci, M., y Toprak, B. (2017). Afforestation restoration of saline-sodic soil in the Central Anatolian Region of Turkey using gypsum and sulfur. *Silva Fennica*, 51 (1B).  
<https://doi.org/10.14214/sf.1579>.

Zuñiga, O., Osorio, J., Cuero, R., y Peña, J. (2011). Evaluación de tecnologías para la recuperación de suelos degradados por salinidad. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. Medellín, 64(1), 5769-5779.  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179922364003>.

# ANEXOS

### Anexo A

#### Cálculo de número de muestras para el aislamiento de microorganismos en un suelo salino-sódico (en Alvitres, 2000)

$$n = \frac{Z^2 (p \cdot q)}{T^2}$$
$$n = \frac{(1,96)^2 (0,90 \cdot 0,10)}{(0,8)^2}$$
$$n = 54,02$$

Donde:

n= tamaño de muestra

Z= 1,96 ( $\alpha= 0,05$ ) valor estándar

p= prevalencia o presencia de microorganismos (0,90) en función al muestreo piloto

q= 1-p, ausencia (0,10)

T= error estimado (0,8)

**Anexo B**  
**Medios de cultivo**

a) Caldo Starkey (en Gomah et al., 2014)

Componentes	gL <sup>-1</sup>
NaCl	50,0
NH <sub>4</sub> Cl	0,2
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,4
MgCl <sub>2</sub>	0,1
NaHCO <sub>3</sub>	1,0
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	5,0
FeCl <sub>2</sub>	Trazas
Agua destilada	1000mL
pH	7,0

Para preparar agar Starkey se agregaron 25 gL<sup>-1</sup> de agar agar.

b) Cantidad de S necesaria para preparar 1L de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> a 1000 ppm

$$\text{ppm} = \frac{\text{masa del soluto (mg)}}{\text{(volumen de la solución (L))}}$$

$$1000 = \frac{\text{cantidad de azufre (mg)}}{1\text{L}}$$

$$\text{Cantidad de azufre} = 1000 \text{ mg}$$

El peso molecular  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  es 158 mg y contiene 64 mg de azufre, entonces:

$$\begin{array}{rcl} 158 \text{ mg Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 & \longrightarrow & 64 \text{ mg S} \\ X \text{ mg Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 & \longrightarrow & 1000 \text{ mg} \\ \hline X \text{ mg Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 & \longrightarrow & 2,468.75 \text{ mg S} \end{array}$$

Para preparar un 1L de medio Starkey se necesitan 5g de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Peso del soluto: 5g

Peso del solvente: 1 000g

Peso de la disolución: 5g + 1 000g = 1 005g

$$\% \text{ en peso} = \frac{\text{peso del soluto}}{\text{peso de la disolucion}} \times 100 \qquad \frac{5\text{g}}{1005\text{g}} \times 100 \rightarrow 0,50\%$$

1L de medio Starkey con 5g de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  contiene 0,5% de S

Para preparar 1L de medio Starkey al 1%

$$\begin{array}{rcl} 5\text{g} & \rightarrow & 0,5\% \\ X\text{g} & \rightarrow & 1\% \end{array} \qquad X = 10 \text{ g S}$$

\*Con esta misma formula obtener las concentraciones de azufre requeridas para suplementar los medios de cultivo utilizados durante la investigación.

## Anexo C

### Método nefelométrico para la cuantificación de sulfatos

(en Rodier y Rodi, 1981)

#### a) Principio

Los sulfatos precipitan en ácido clorhídrico formando sulfato de bario. El precipitado así obtenido se estabiliza por medio de una solución de Tween 20 y la absorbancia se determina en el espectrofotómetro a 650nm.

#### b) Reactivos

- Solución patrón de sulfato sódico de 120 mg/L de  $\text{SO}_4^{-2}$ 
  - Sulfato sódico anhidro ..... 0,1775 g
  - Agua destilada hasta enrase ..... 1000 ml
- Solución de ácido clorhídrico 1/10
- Solución de Tween 20 al 25%
- Solución de cloruro bórico estabilizado
  - Cloruro bórico ..... 10 g
  - Solución de Tween 20 ..... 20 ml
  - Agua destilada hasta enrase ..... 100 ml

## c) Preparación de la curva de calibrado

En una serie de tubos de ensayo numerados, introducir sucesivamente

Número de los tubos	T	I	II	III	IV	V	VI
Solución patrón de $\text{SO}_4^{-2}$ (ml)	0	1	3	5	7	9	10
Agua destilada (ml)	39	38	36	34	32	30	29
Ácido clorhídrico 1/10 (ml)	1	1	1	1	1	1	1
Solución de cloruro bórico estabilizado (ml)	5	5	5	5	5	5	5
Correspond. En mg/L $\text{SO}_4^{-2}$	0	3	9	15	21	27	30

Agitar 2 o 3 veces enérgicamente. Después de 15 minutos de reposo, agitar de nuevo y hacer la lectura en el espectrómetro a la longitud de onda de 650nm. Construir la curva de calibración.

## d) Procedimiento

En un tubo de ensayo, introducir sucesivamente:

Agua a analizar .....	39 ml
Ácido clorhídrico 1/10 .....	1 ml
Solución de cloruro de bario + Tween 20 .....	5 ml

Preparar en las mismas condiciones un testigo reemplazando el agua a analizar por agua destilada.

Agitar enérgicamente y dejar en reposo durante 15 minutos. Agitar de nuevo y leer en el espectrómetro a la longitud de onda de 650nm. Tener en cuenta el valor leído para el testigo. Obtener los resultados a partir de la curva de calibración.

e) Expresión de los resultados

Para una muestra de 39 mL, la curva da directamente el contenido de sulfatos expresado en miligramos de  $\text{SO}_4^{-2}$  por litro de agua.

## **Anexo D**

### **a) Determinación del pH del suelo mediante tiras reactivas**

**(en Beretta et al., 2015)**

Preparar una mezcla de suelo y agua destilada en la proporción 1:2,5 p/v y homogenizar durante 3 minutos. Dejar reposar 20 minutos y sumergir la tira reactiva en el sobrenadante por no más de 5 segundos. Dejar la tira reactiva a temperatura ambiente por no más de 10 segundos y realizar la lectura, comparando el color desarrollado con la escala provista por el fabricante (pH 0 a 14).

### **b) Determinación del porcentaje de acidez mediante el método de Dornic**

**(en Torres et al., 2009)**

Para determinar la acidez titulable mediante el método de Dornic, tomar 1mL de la solución investigada y adicionar dos gotas de solución indicadora de fenolftaleína hidroalcohólica al 1% p/v. Posteriormente titular con NaOH N/9 con ayuda de una bureta hasta la aparición de un color rosa pálido que indica el punto final de la reacción. Cada 0,01ml de NaOH usado para neutralizar 1mL de la solución investigada corresponde a 1 grado Dornic (°D).

<b>DESCRIPCION GENERAL</b>	
Composición	Corrector salino (suelos) con Azufre, Calcio y ácidos orgánicos
Aspecto	Suspensión
Color	2,5Y 8/4 2,5Y 6/8. Marrón claro

<b>VALORES TIPICOS FISICO-QUIMICOS</b>					
Parámetro	Unidad	Valor típico	Desviación admitida		Método
			Máxima	Mínima	
Densidad (25°C)	g/cc	1,30	1,40	1,20	EN 7837:2001
pH (Producto líquido)	N/A	5,8	6,8	4,8	Orden 1-12-1981,6
CE (1% disolución acuosa)	mS/cm	3,11			UNE-EN 13038
Materia seca	%	85,1			Orden 17-09-1981,2
Viscosidad	cp	350			

## Anexo E

### Especificaciones técnicas del producto Saltrad

<b>VALORES GARANTIZADOS</b>	
Azufre soluble en agua (SO <sub>3</sub> ) / (S)	11,1% p/v
Calcio soluble en agua (CaO) / (Ca)	9,8 % p/v
Ácidos orgánicos	23,4 % p/v

**Cantidad del mejorador a aplicar:**

PSI = 25,93%

Na<sup>+</sup> intercambiable: 3,574 meq/100g

- $PSI_f = \frac{Naf}{CIC} \times 100$

$$7 = \frac{Naf}{13,786} \times 100$$

- $Na^+_f = 0,965 \text{ meq/ } 100\text{g}$

Na<sup>+</sup><sub>i</sub> – Na<sup>+</sup><sub>f</sub> = Na<sup>+</sup> a reemplazar

$$3,574 - 0,965 = 2,609 \text{ meq/}100\text{g}$$

- 2, 609 meq Na<sup>+</sup> serán reemplazados por 2,609 meq/Ca<sup>+2</sup>/100g

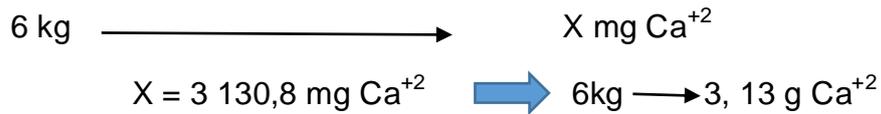
$$100\text{g} \longrightarrow 2,609 \text{ meq Ca}^{+2}$$

$$(1\text{kg})1000\text{g} \longrightarrow X \text{ meq Ca}^{+2}$$

$$X = 26,09 \text{ meq Ca}^{+2}$$

$$\frac{\text{meq X peso atómico} = \text{mg}}{\text{valencia}} \quad \longrightarrow \quad \frac{26,09 \times 40 = \text{mg}}{2} \quad \longrightarrow \quad 521,8\text{mg Ca}^{+2}$$

- $1 \text{ kg} \longrightarrow 521, 8 \text{ mg Ca}^{+2}$



- Saltrad tiene 9,8% de CaO p/v

$$9,8 \% \text{ de CaO} \times 0,715 = 7,007 \% \text{ Ca}^{+2} \text{ p/v} = 70 \text{ g Ca}^{+2}/\text{L}$$

- $70 \text{ g Ca}^{+2} \longrightarrow 1000 \text{ mL (1L de saltrad)}$

$$3,13 \text{ g Ca}^{+2} \longrightarrow X \text{ mL}$$

$$X = 44,72 \text{ mL de Saltrad para 6kg de suelo}$$

- Saltrad tiene 11,1% de  $\text{SO}_3$  p/v

$$11,1 \% \text{ de SO}_3 \times 0,4 = 4,44 \% \text{ S p/v} = 44 \text{ g S/L}$$

- $44 \text{ g S} \longrightarrow 1\,000 \text{ mL (1L de saltrad)}$

$$X \text{ g S} \longrightarrow 44,72 \text{ mL}$$

$$X = 1,97 \text{ g de S en 44,72 mL de Saltrad para 6kg de suelo.}$$

## Anexo F

### Contenido de agua en peso a capacidad de campo (en Polo y Hernández, 2016; García et al., 2012)

La capacidad de campo (CC), es el contenido de agua que tiene un suelo después que se satura y drena libremente por espacio de 24 a 72 horas. En un suelo saturado todos los poros están ocupados por agua. En un suelo a CC los macroporos perdieron el agua y están llenos de aire y los microporos están llenos de agua, la cual es retenida contra la fuerza de gravedad.

En tres macetas de 4kg de capacidad conteniendo 3kg de suelo se agregó suficiente agua (1,5L) hasta que ésta comenzara a salir por las perforaciones de la base. Después de 24 horas de reposo, en cada maceta con ayuda de un tubo de agua (0,5 pulgadas de diámetro) se realizaron tres perforaciones, hasta el fondo de la maceta. El contenido de suelo extraído de las tres perforaciones, en cada maceta se depositó en bolsas de papel Kraft (una por maceta), previamente pesada, se determinó el peso inicial y luego se deshidrataron en estufa a 105°C durante 24 horas.

A continuación, se determinó el peso final y se realizaron los cálculos correspondientes: del contenido de agua en peso (HP%) a CC:

$$HP\% \text{ CC}(\%) = \frac{\text{Peso fresco a CC} - \text{Peso suelo seco}}{\text{Peso suelo seco}} \times 100$$

Tratamientos	Peso de	Peso de suelo		CC
	papel	Húmedo	Seco	(%)

Suelo salino – sódico				
Maceta 1	2,10	407,9	345,0	18,23
Maceta 2	2,10	412,4	350,5	17,66
Maceta 3	2,10	399,9	335,9	19,05

El suelo está en capacidad de campo cuando tiene en promedio 18,3% de humedad.

### Anexo G

#### Características fenotípicas de bacterias oxidantes del azufre

Muestra	Microorganismo Código	Crecimiento	Tinción de Gram	Forma
1-S	1	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
1-S	5	Turbidez	Positiva	Coco
1-S	6	Turbidez	Positiva	Coco
2-SR	13	Turbidez	Positiva	Bacilo
3-S	22	Turbidez	Positiva	Coco
3-S	23	Turbidez	Positiva	Coco
3-S	26	Turbidez	Positiva	Coco
3-S	28	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
3-S	30	Turbidez	Positiva	Bacilo
3-S	31	Turbidez	Positiva	Coco
4-S	34	Turbidez	Positiva	Coco
4-S	35	Turbidez	Positiva	Coco
4-S	39	Turbidez	Positiva	Coco
5-SR	49	Turbidez	Positiva	Coco
6-S	57	Turbidez	Positiva	Coco
6-S	59	Turbidez	Positiva	Coco
6-S	60	Turbidez	Positiva	Coco
8-S	78	Turbidez	Positiva	Coco
10-S	101	Turbidez	Positiva	Coco
11-S	111	Turbidez	Positiva	Coco
12-S	114	Turbidez	Positiva	Coco
12-S	116	Turbidez	Negativo	Coco
12-S	121	Filamentoso	Negativo	Bacilo
12-S	122	Turbidez	Positiva	Coco
13-S	125	Turbidez	Positiva	Coco
13-S	131	Turbidez	Positiva	Coco
14-SR	137	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo

14-SR	140	Turbidez	Negativo	Coco
14-SR	142	Turbidez	Positiva	Coco
14-SR	144	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
15-SR	146	Turbidez	Positiva	Coco
15-SR	148	Turbidez	Positiva	Coco
16-SR	155	Turbidez	Positiva	Coco
16-SR	156	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
16-SR	158	Turbidez	Positiva	Coco
16-SR	160	Turbidez	Positiva	Coco
16-SR	163	Turbidez	Positiva	Coco
17-SR	164	Turbidez	Positiva	Coco
17-SR	166	Turbidez	Positiva	Coco
17-SR	169	Turbidez	Positiva	Coco

Muestra	Microorganismo Código	Crecimiento	Tinción de Gram	Forma
17-SR	170	Turbidez	Positiva	Bacilo
18-S	174	Turbidez	Positiva	Coco
18-S	176	Turbidez	Positiva	Coco
18-S	179	Turbidez	Positiva	Coco
18-S	181	Turbidez	Positiva	Coco
18-S	182	Turbidez	Positiva	Coco
19-S	187	Turbidez	Positiva	Coco
19-S	189	Turbidez	Positiva	Coco
20-S	193	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
20-S	195	Turbidez	Positiva	Coco
20-S	196	Turbidez	Positiva	Coco
20-S	197	Turbidez	Positiva	Coco
20-S	200	Turbidez	Positiva	Coco
21-S	202	Turbidez	Positiva	Coco
21-S	204	Filamentoso	Negativo	Bacilo
21-S	205	Turbidez	Positiva	Coco
21-S	212	Turbidez	Positiva	Coco
22-S	223	Turbidez	Positiva	Coco
23-S	231	Turbidez	Negativo	Coco
24-S	241	Turbidez	Positiva	Coco
25-SR	243	Turbidez	Positiva	Coco
26-SR	257	Turbidez	Positiva	Coco
26-SR	259	Turbidez	Positiva	Coco
27-S	261	Turbidez	Positiva	Coco
27-S	265	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
27-S	268	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
28-SR	270	Turbidez	Negativo	Coco
28-SR	273	Turbidez	Positiva	Coco
28-SR	279	Turbidez	Positiva	Coco
29-SR	282	Turbidez	Positiva	Bacilo

29-SR	285	Turbidez	Positiva	Coco
29-SR	286	Turbidez	Positiva	Coco
29-SR	289	Turbidez	Positiva	Coco
30-SR	294	Turbidez	Positiva	Coco
30-SR	295	Turbidez	Positiva	Coco
30-SR	296	Turbidez	Negativo	Coco
30-SR	298	Turbidez	Positiva	Coco
30-SR	299	Turbidez	Positiva	Coco
31-SR	305	Turbidez	Negativo	Coco
31-SR	306	Turbidez	Positiva	Coco
31-SR	310	Turbidez	Positiva	Coco
31-SR	313	Turbidez	Positiva	Coco
32-S	323	Turbidez	Positiva	Coco

Muestra	Microorganismo Código	Crecimiento	Tinción de Gram	Forma
33-S	325	Turbidez	Positiva	Coco
33-S	328	Turbidez	Positiva	Coco
33-S	330	Turbidez	Positiva	Coco
33-S	331	Turbidez	Positiva	Coco
34-S	343	Turbidez	Positiva	Coco
35-S	346	Filamentoso	Negativo	Bacilo
35-S	347	Turbidez	Negativo	Bacilo
35-S	353	Turbidez	Positiva	Coco
35-S	355	Turbidez	Positiva	Coco
36-SR	356	Turbidez	Positiva	Coco
36-SR	360	Turbidez	Positiva	Coco
36-SR	361	Turbidez	Positiva	Coco
36-SR	362	Turbidez	Positiva	Coco
36-SR	364	Turbidez	Positiva	Coco
36-SR	365	Turbidez	Negativo	Bacilo
37-SR	370	Turbidez	Positiva	Coco
37-SR	375	Turbidez	Positiva	Coco
37-SR	376	Turbidez	Positiva	Coco
38-SR	377	Turbidez	Negativo	Bacilo
38-SR	380	Filamentoso	Negativo	Bacilo
38-SR	382	Turbidez	Positiva	Coco
38-SR	383	Turbidez	Positiva	Coco
38-SR	384	Turbidez	Positiva	Coco
39-S	389	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
39-S	396	Turbidez	Positiva	Coco
39-S	397	Filamentoso	Negativo	Bacilo
39-S	400	Turbidez	Positiva	Coco
40-S	402	Turbidez	Negativo	Bacilo
40-S	403	Turbidez	Negativo	Coco
40-S	404	Turbidez	Negativo	Bacilo

41-S	418	Turbidez	Positiva	Coco
41-S	421	Turbidez	Negativo	Bacilo
44-S	454	Filamentoso	Negativo	Bacilo
44-S	456	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
44-S	457	Turbidez	Positiva	Coco
45-S	464	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
45-S	470	Turbidez	Positiva	Bacilo
46-S	487	Turbidez	Negativo	Bacilo
47-S	493	Turbidez	Positiva	Coco
47-S	494	Turbidez	Negativo	Coco
47-S	495	Turbidez	Positiva	Coco
48-S	502	Turbidez	Positiva	Bacilo
48-S	505	Turbidez	Positiva	Bacilo

Muestra	Microorganismo Código	Crecimiento	Tinción de Gram	Forma
48-S	512	Pellet con turbidez	Positiva	Bacilo
49-S	513	Turbidez	Positiva	Bacilo
49-S	515	Turbidez	Positiva	Coco
49-S	517	Turbidez	Positiva	Coco
50-S	536	Turbidez	Positiva	Coco
51-S	542	Turbidez	Positiva	Bacilo
51-S	543	Turbidez	Positiva	Coco
51-S	544	Filamentoso	Negativo	Bacilo
53-S	566	Turbidez	Positiva	Coco
54-S	574	Turbidez	Positiva	Coco
54-S	582	Turbidez	Positiva	Coco
54-S	587	Turbidez	Negativo	Bacilo

### Anexo H

#### Concentración de sulfatos en caldo Starkey cultivado con microorganismos oxidantes

Microorganismos oxidantes del azufre (código)	Absorbancia	Absorbancia corregida*	Sulfatos (mgL <sup>-1</sup> )
454	1,923	0,501	21,1350211
305	1,913	0,491	20,7130802
389	1,888	0,466	19,6582278
380	1,852	0,430	18,1392405
396	1,845	0,423	17,8438819
257	1,831	0,409	17,2531646
28	1,816	0,394	16,6202532
383	1,813	0,391	16,4936709
1	1,810	0,388	16,3670886
243	1,808	0,386	16,2827004
23	1,808	0,386	16,2827004
457	1,806	0,384	16,1983122
39	1,799	0,377	15,9029536
384	1,794	0,372	15,6919831
189	1,792	0,370	15,6075949
13	1,780	0,358	15,1012658
30	1,780	0,358	15,1012658
22	1,764	0,342	14,4261603
295	1,762	0,340	14,3417722
294	1,760	0,338	14,2573840
512	1,741	0,319	13,4556962
330	1,733	0,311	13,1181435
346	1,733	0,311	13,1181435
268	1,725	0,303	12,7805907

470	1,720	0,298	12,5696203
347	1,709	0,287	12,1054852
131	1,690	0,268	11,3037975
343	1,687	0,265	11,1772152
57	1,681	0,259	10,9240506
328	1,680	0,258	10,8818565
464	1,679	0,257	10,8396624
35	1,678	0,256	10,7974684
204	1,671	0,249	10,5021097
375	1,670	0,248	10,4599156
148	1,664	0,242	10,2067511
181	1,662	0,240	10,1223629
60	1,660	0,238	10,0379747
78	1,659	0,237	9,99578059

Microorganismos oxidantes del azufre (código)	Absorbancia	Absorbancia corregida*	Sulfatos (mgL <sup>-1</sup> )
241	1,654	0,232	9,78481013
174	1,653	0,231	9,74261603
517	1,652	0,230	9,70042194
6	1,642	0,220	9,27848101
144	1,640	0,218	9,19409283
176	1,631	0,209	8,81434599
365	1,630	0,208	8,77215190
402	1,630	0,208	8,77215190
494	1,630	0,208	8,77215190
202	1,629	0,207	8,72995781
286	1,629	0,207	8,72995781
26	1,618	0,196	8,26582278
5	1,613	0,191	8,05485232
377	1,611	0,189	7,97046414
515	1,609	0,187	7,88607595
587	1,604	0,182	7,67510549
137	1,602	0,180	7,59071730
306	1,601	0,179	7,54852321
582	1,601	0,179	7,54852321
169	1,600	0,178	7,50632911
495	1,592	0,170	7,16877637
122	1,583	0,161	6,78902954
502	1,583	0,161	6,78902954
418	1,582	0,160	6,74683544
111	1,581	0,159	6,70464135
361	1,576	0,154	6,49367089
195	1,570	0,148	6,24050633
370	1,570	0,148	6,24050633

400	1,570	0,148	6,24050633
170	1,555	0,133	5,60759494
364	1,555	0,133	5,60759494
212	1,554	0,132	5,56540084
114	1,552	0,130	5,48101266
166	1,552	0,130	5,48101266
279	1,546	0,124	5,22784810
196	1,544	0,122	5,14345992
397	1,543	0,121	5,10126582
310	1,542	0,120	5,05907173
355	1,540	0,118	4,97468354
421	1,537	0,115	4,84810127
536	1,537	0,115	4,84810127
205	1,536	0,114	4,80590717

Microorganismos oxidantes del azufre (código)	Absorbancia	Absorbancia corregida*	Sulfatos (mgL <sup>-1</sup> )
121	1,532	0,110	4,63713080
156	1,532	0,110	4,63713080
331	1,532	0,110	4,63713080
265	1,529	0,107	4,51054852
34	1,528	0,106	4,46835443
273	1,528	0,106	4,46835443
544	1,526	0,104	4,38396624
513	1,525	0,103	4,34177215
403	1,523	0,101	4,25738397
325	1,520	0,098	4,13080169
493	1,516	0,094	3,96202532
543	1,516	0,094	3,96202532
323	1,510	0,088	3,70886076
193	1,509	0,087	3,66666667
566	1,508	0,086	3,62447257
505	1,506	0,084	3,54008439
456	1,501	0,079	3,32911392
182	1,497	0,075	3,16033755
360	1,496	0,074	3,11814346
487	1,495	0,073	3,07594937
163	1,493	0,071	2,99156118
140	1,492	0,070	2,94936709
200	1,492	0,070	2,94936709
125	1,491	0,069	2,90717300
353	1,491	0,069	2,90717300
179	1,488	0,066	2,78059072
142	1,482	0,060	2,52742616
261	1,482	0,060	2,52742616

382	1,482	0,060	2,52742616
101	1,481	0,059	2,48523207
59	1,480	0,058	2,44303797
31	1,479	0,057	2,40084388
116	1,479	0,057	2,40084388
270	1,479	0,057	2,40084388
146	1,474	0,052	2,18987342
231	1,474	0,052	2,18987342
187	1,469	0,047	1,97890295
404	1,468	0,046	1,93670886
298	1,467	0,045	1,89451477
356	1,467	0,045	1,89451477
313	1,465	0,043	1,81012658
542	1,465	0,043	1,81012658
<hr/>			
Microorganismos oxidantes del azufre (código)	Absorbancia	Absorbancia corregida*	Sulfatos (mgL <sup>-1</sup> )
282	1,463	0,041	1,72573840
160	1,462	0,040	1,68354430
223	1,461	0,039	1,64135021
299	1,452	0,030	1,26160338
296	1,451	0,029	1,21940928
197	1,448	0,026	1,09282700
259	1,446	0,024	1,00843882
376	1,445	0,023	0,96624473
164	1,441	0,019	0,79746835
362	1,440	0,018	0,75527426
289	1,439	0,017	0,71308017
158	1,434	0,012	0,50210970
574	1,434	0,012	0,50210970
49	1,427	0,005	0,20675105
285	1,427	0,005	0,20675105
155	1,425	0,003	0,12236287

\* Blanco = 1422