



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería Escuela de
Ingeniería Química



Universidad Nacional de Catamarca
Facultad de Ciencias Agrarias
Laboratorio de Microbiología Agrícola
Laboratorio de Edafología

ESTUDIO DEL EFECTO DE INOCULACIÓN DE BACTERIAS EN UN SUELO EXTREMADAMENTE SALINO

Carlos Roberto Calderón del Cid

Asesorado por el Ing. Juan Carlos Fuentes Montepeque, Licda. Susana
Pernasetti e Inga. Olga Pernasetti

Guatemala, junio de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE
GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
CATAMARCA



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**ESTUDIO DEL EFECTO DE INOCULACIÓN DE BACTERIAS
EN UN SUELO EXTREMADAMENTE SALINO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

CARLOS ROBERTO CALDERÓN DEL CID

ASESORADO POR EL ING. JUAN CARLOS FUENTES MONTEPEQUE,
LICDA. SUSANA PERNASSETI E INGA. OLGA PERNASSETTI

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO AMBIENTAL

GUATEMALA, JUNIO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

| | |
|------------|--|
| DECANO | Ing. Angel Roberto Sic García |
| VOCAL I | |
| VOCAL II | Ing. Pablo Christian de León Rodríguez |
| VOCAL III | Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa |
| VOCAL IV | Br. Narda Lucía Pacay Barrientos |
| VOCAL V | Br. Walter Rafael Véliz Muñoz |
| SECRETARIO | Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez |

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

| | |
|-------------|--------------------------------------|
| DECANO | Ing. Murphy Olympto Paiz Recinos |
| EXAMINADOR | Ing. Jorge Mario Estrada Asturias |
| EXAMINADORA | Inga. María Alejandra Má Villatoro |
| EXAMINADOR | Ing. Jaime Domingo Carranza González |
| SECRETARIO | Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez |

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

ESTUDIO DEL EFECTO DE INOCULACIÓN DE BACTERIAS EN UN SUELO EXTREMADAMENTE SALINO

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 24 de octubre de 2014.

Carlos Roberto Calderón del Cid



Universidad Nacional de Catamarca
Facultad de Ciencias Agrarias

San Fernando del Valle de Catamarca, 19 de Diciembre de 2014

Sres. Académicos de la Escuela de Ingeniería Química

Universidad de San Carlos de Guatemala

S/D,

Por medio del presente informe se hace constar que el estudiante Carlos Roberto Calderón del Cid, con DPI 2122-17399, de la Licenciatura en Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos, ha concluido satisfactoriamente su trabajo de investigación "Estudio del efecto de la inoculación de bacterias en un suelo extremadamente salino". Desarrollando dicho trabajo en los laboratorios de Microbiología Agrícola y Edafología, de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Catamarca, República Argentina.

La investigación fue efectuada dentro del periodo de septiembre a diciembre del 2014. Considerando su participación dentro del Marco del Programa de Movilidad PIMA (Red de Medioambiente y Desarrollo sostenible).

Saludo a Ud. con atenta consideración

**Ing. Agr. Mgter. Eduardo A.
de la Orden**

Secretario de vinculación
Institucional
Y Relaciones Internacionales
Universidad Nacional de
Catamarca

Ing. Agr. Olga Pernasetti

Prof. Adjunta de Edafología
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad Nacional de Catamarca

Lic. Susana Pernasetti

Prof. Titular de Microbiología
Agrícola
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad Nacional de
Catamarca

Ing. Agr. JESUS MARIA AGUERO
SECRETARIO ACADEMICO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CATAMARCA

Guatemala, 18 de febrero de 2015

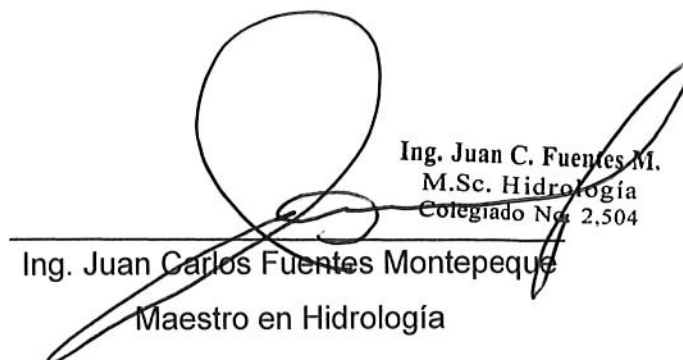
Ingeniero Víctor Monzón
Director Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala

Estimado Ingeniero

Por este medio certifico que fui asesor en Guatemala de la investigación titulada: **“Estudio del efecto de la inoculación de bacterias en un suelo extremadamente salino”**, por parte del estudiante *Carlos Roberto Calderón del Cid, carnet #2010-21231*. La misma fue realizada en la Universidad Nacional de Catamarca, República de Argentina, a través del intercambio académico dentro del marco del Programa de Movilidad PIMA (Red de Medioambiente y Desarrollo Sostenible).

Ejerciendo mi función de asesor aprobé la mencionada investigación el día 19 de diciembre del 2014, estando el estudiante aún en Catamarca, Argentina.

Sin otra particular, me es grato suscribirme,



Ing. Juan C. Fuentes M.
M.Sc. Hidrología
Colegiado No. 2,504

Ing. Juan Carlos Fuentes Montepeque
Maestro en Hidrología



Guatemala, 11 de junio de 2015.
Ref. EIQ.TG-IF.035.2015.

Ingeniero
Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **018-2015** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN
-Modalidad Intercambio Académico y Movilidad Estudiantil-

Solicitado por el estudiante universitario: **Carlos Roberto Calderón del Cid**.
Identificado con número de carné: **2010-21231**.
Previo a optar al título de **INGENIERO AMBIENTAL**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE BACTERIAS EN UN SUELO
EXTREMADAMENTE SALINO

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por el Ingeniero Agrónomo: **Juan Carlos Fuentes Montepeque**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Carlos Salvador Wong Davi
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo



Ref.EIQ.TG.085.2015

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación, de la carrera, **Ingeniería Ambiental** de la **-Modalidad Intercambio Académico y Movilidad Estudiantil-** del estudiante, **CARLOS ROBERTO CALDERÓN DEL CID** titulado: **"ESTUDIO DEL EFECTO DE INOCULACIÓN DE BACTERIAS EN UN SUELO EXTREMADAMENTE SALINO"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

"Id y Enseñad a Todos"



Ing. Víctor Manuel Muñoz Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, junio 2015

Cc: Archivo
VMMV/ale



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **ESTUDIO DEL EFECTO DE INOCULACIÓN DE BACTERIAS EN UN SUELO EXTREMADAMENTE SALINO**, presentado por el estudiante universitario: **Carlos Roberto Calderón del Cid**, como parte de la política de Internacionalización y el Programa de Intercambio de Movilidad Académica de la Facultad de Ingeniería, con la Universidad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional de Catamarca, Argentina y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:

Ing. Angel Roberto Sic García
Decano



Guatemala, 26 de junio de 2015

/gdech

ACTO QUE DEDICO A:

- Mis padres** Claudia del Cid y Carlos Calderón; quienes a través de su esfuerzo y amor me brindaron una vida digna, llena de oportunidades.
- Mi hermano** Mario Calderón del Cid; mi mejor amigo, quien con su forma peculiar de ser me enseñó a compartir y el valor de la risa.
- Mis abuelos** Supieron transmitirme su sabiduría; mostrándome el respeto que se debe ejercer ante la vida.
- Mis tíos y primos** De quienes aprendí la incondicionalidad que debe tener una familia hacia sí misma. Gracias por quererme como un hijo o un hermano.
- Mis amigos** Los de antes y los de ahora, los de aquí y los de allá. Son la familia que me falta; me mostraron lo que implica la lealtad y empatía.
- Dios** Aunque haya cambiado la forma de concebir la espiritualidad; siempre me sentí acompañado y resguardado.

AGRADECIMIENTOS A:

| | |
|--|---|
| Universidad de San Carlos de Guatemala | En sus aulas aprendí el valor del conocimiento en libertad. Gracias por instruirme y formarme cada día de mi carrera. |
| Universidad Nacional de Catamarca | Institución que me proporcionó el material humano y científico que precisaba para esta investigación. |
| Benemérita Universidad Autónoma de Puebla | En ella aprendí a valorar mi cultura y la del prójimo. Ahí conocí a los catedráticos que inspiraron esta investigación. |
| Mis asesores | Las hermanas Pernasetti; quienes además de ser mis asesoras, me hicieron sentir parte de su familia. Al Ing. Juan Carlos Fuentes, quien supo apoyarme a la distancia. |
| Mis catedráticos | A los que supieron encantarme con la ingeniería ambiental. Gracias por mostrarme la dignidad que implica la profesión. |
| Pueblo de Guatemala | Pese a que la mayoría de los suyos padece violencia y hambre, financió mi educación y formación profesional. Ojalá esta pueda ser una herramienta para servirle. |

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|------|
| ÍNDICE DE ILUSTRACIONES..... | V |
| LISTA DE SÍMBOLOS | VII |
| GLOSARIO | IX |
| RESUMEN..... | XI |
| OBJETIVOS..... | XIII |
| Hipótesis | XIV |
| INTRODUCCIÓN | XV |
| | |
| 1. ANTECEDENTES | 1 |
| | |
| 2. MARCO TEÓRICO..... | 5 |
| 2.1. Suelo salino..... | 5 |
| 2.1.1. Suelo sódico | 6 |
| 2.1.2. Suelo salino sódico..... | 6 |
| 2.2. Naturaleza de las sales solubles | 7 |
| 2.2.1. Solubilidad de las sales | 8 |
| 2.2.2. Fuentes de sales solubles | 9 |
| 2.3. Salinización de los suelos..... | 10 |
| 2.3.1. Dinámica de las sales en el suelo..... | 11 |
| 2.3.2. Diagnóstico y medidas de la salinidad y sodicidad | 12 |
| 2.3.3. Efecto de las sales en suelos y en las plantas..... | 13 |
| 2.4. Bacterias del suelo | 15 |
| 2.4.1. Distribución y abundancia..... | 16 |
| 2.4.2. Influencias ambientales | 17 |

| | | |
|----------|---|----|
| 2.4.3. | Relación ambientes salinos y bacterias halófilas nativas..... | 20 |
| 2.5. | Características de la sequía en Centroamérica | 22 |
| 2.5.1. | Municipios potencialmente afectados en grado severo de sequía en Guatemala | 24 |
| 2.5.2. | Causas de vulnerabilidad | 26 |
| 3. | DISEÑO METODOLÓGICO..... | 29 |
| 3.1. | Variables | 29 |
| 3.1.1. | Variables microbiológicas..... | 29 |
| 3.1.2. | Variables edáficas | 29 |
| 3.2. | Delimitación del campo de estudio..... | 30 |
| 3.3. | Recursos humanos disponibles | 32 |
| 3.4. | Recursos materiales disponibles..... | 32 |
| 3.5. | Técnica cualitativa o cuantitativa..... | 34 |
| 3.6. | Recolección y ordenamiento de la información..... | 34 |
| 3.7. | Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información..... | 41 |
| 3.7.1. | Tabulación de la información..... | 41 |
| 3.8. | Análisis estadístico..... | 42 |
| 3.8.1. | Plan de muestreo | 42 |
| 3.8.1.1. | Ubicación..... | 44 |
| 3.8.1.2. | Órdenes del suelo salino | 44 |
| 3.8.1.3. | Grupos del suelo salino | 45 |
| 3.8.2. | Tratamiento estadístico de datos | 47 |
| 3.8.2.1. | Cálculos estadísticos..... | 47 |
| 4. | RESULTADOS..... | 49 |
| 4.1. | Determinaciones analíticas | 49 |

| | | |
|----------|--|----|
| 4.1.1. | Generales; todos los parámetros edáficos | 49 |
| 4.1.2. | pH..... | 50 |
| 4.1.2.1. | Análisis de varianza del pH..... | 53 |
| 4.1.3. | Conductividad eléctrica..... | 54 |
| 4.1.3.1. | Análisis de varianza de conductividad eléctrica | 56 |
| 4.1.4. | Sodio elemental | 57 |
| 4.1.4.1. | Análisis de varianza de sodio elemental | 59 |
| 4.1.5. | Potasio elemental | 60 |
| 4.1.5.1. | Análisis de varianza de potasio elemental | 64 |
| 4.1.6. | Materia orgánica | 65 |
| 4.1.6.1. | Análisis de varianza de la materia orgánica..... | 68 |
| 4.1.7. | Textura | 69 |
| 4.2. | Determinación microbiológica..... | 69 |
| 4.2.1. | Recuento de viables, muestra inicial (UFC)..... | 69 |
| 4.2.2. | Recuento microscópico en cámara Neubauer (inóculo)..... | 70 |
| 4.2.3. | Recuento de viables; suelo testigo a las 5 semanas (UFC) | 71 |
| 4.2.4. | Recuento de viables; suelo, 5 semanas a partir del inóculo (UFC)..... | 71 |
| 4.2.5. | Descripción microbiológica | 72 |
| 4.2.5.1. | Descripción de las colonias | 72 |
| 4.2.5.2. | Descripción de la morfología de las bacterias | 73 |

| | |
|---------------------------------|-----|
| 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS..... | 77 |
| CONCLUSIONES..... | 85 |
| RECOMENDACIONES | 87 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 89 |
| APÉNDICES..... | 93 |
| ANEXOS..... | 107 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

| | | |
|-----|---|----|
| 1. | Áreas de Guatemala afectadas por distintos grados de sequía | 26 |
| 2. | Delimitación del campo de estudio..... | 31 |
| 3. | Extracción de la muestra a partir de una floración salina | 35 |
| 4. | Macetas conteniendo muestras de suelo extremadamente salino | 36 |
| 5. | Medios nutritivos agarizados NaCl (1, 2 y 3 %)..... | 37 |
| 6. | Recuento de viables de la muestra inicial | 38 |
| 7. | Conductímetro y batidora de textura | 39 |
| 8. | Fijación y observación microscópica de bacterias | 40 |
| 9. | Floración salina en Fray Mamerto Esquíú | 42 |
| 10. | Localización punto exacto de la extracción de la muestra | 43 |
| 11. | Medición de pH | 52 |
| 12. | Línea de tendencia de pH | 52 |
| 13. | Medición conductividad eléctrica..... | 55 |
| 14. | Línea de tendencia de la conductividad eléctrica (Ce) | 55 |
| 15. | Medición de sodio elemental (Na)..... | 58 |
| 16. | Línea de tendencia de sodio elemental (Na)..... | 59 |
| 17. | Medición de potasio elemental (K) | 62 |
| 18. | Línea de tendencia de potasio elemental (k)..... | 63 |
| 19. | Medición de materia orgánica (MO %) | 66 |
| 20. | Línea de tendencia de la materia orgánica (MO %) | 67 |
| 21. | Colonias en agar nutritivo (3 % NaCl) | 73 |

TABLAS

| | | |
|--------|--|----|
| I. | Denominación del suelo según salinidad y sodio | 7 |
| II. | Solubilidad en agua de las siguientes sales a 20 °C, gramos/litro | 8 |
| III. | Clasificación de los suelos atendiendo a los efectos de la salinidad en los cultivos | 13 |
| IV. | Microorganismos halófilos | 21 |
| V. | Grados de sequía, superficie afectada (hectáreas) y porcentaje | 24 |
| VI. | Variables microbiológicas de especificación | 29 |
| VII. | Variables edáficas de especificación | 30 |
| VIII. | Coordenadas geográficas del sitio de extracción | 43 |
| IX. | Características físicas de los suelos del departamento de Fray Mamerto Esquiú, Catamarca | 45 |
| X. | Características químicas de los suelos del departamento de Fray Mamerto Esquiú, Catamarca | 46 |
| XI. | Parámetros generales..... | 49 |
| XII. | Resultados de pH | 51 |
| XIII. | Análisis de varianza del pH..... | 53 |
| XIV. | Resultados de la conductividad eléctrica (Ce) | 54 |
| XV. | Análisis de varianza conductividad eléctrica | 56 |
| XVI. | Resultados de sodio elemental (Na) | 57 |
| XVII. | Análisis de varianza sodio elemental | 60 |
| XVIII. | Resultados de potasio elemental (K) | 61 |
| XIX. | Análisis de varianza de potasio elemental | 64 |
| XX. | Resultados de materia orgánica (MO %) | 65 |
| XXI. | Análisis de varianza de la materia orgánica..... | 68 |
| XXII. | Composición porcentual del suelo | 69 |
| XXIII. | Morfología de las bacterias encontradas | 74 |

LISTA DE SÍMBOLOS

| Símbolo | Significado |
|--------------------------|--|
| ARN | Ácido ribonucleico |
| CIC | Capacidad de intercambio catiónico |
| K^+ | Catión de potasio |
| Na^+ | Catión de sodio |
| NaCl | Cloruro de sodio |
| Ce | Conductividad eléctrica |
| CSC | Corredor Seco Centroamericano |
| dS/m | DeciSiemens/metro |
| DQO | Demanda química de oxígeno |
| H | Humedad |
| meq/100gr | Miliequivalente/100 gramos de sustancia |
| mm/año | Milímetros de precipitación/año hidrológico |
| meq/Lt | Miliequivalente/Litro |
| N | Normalidad |
| NMP | Número más probable |
| CO% | Porcentaje de carbono orgánico |
| MO% | Porcentaje de materia orgánica |
| PSI | Porcentaje de sodio intercambiable |
| RAS | Relación de adsorción de sodio |
| UFC/gr | Unidades formadoras de colonias/gramo de suelo |

GLOSARIO

| | |
|----------------------------|--|
| Bacterias halófilas | Bacterias cuyas adaptaciones evolutivas les permiten sobrevivir a altas concentraciones de salinidad. |
| Biorremediación | Cualquier proceso que implique un organismo biológico (o lo que se derive de él) para retornar un ambiente contaminado a su condición natural. |
| Biosorción | La adsorción de sustancias específicas por el metabolismo de un organismo biológico. |
| Carga microbiana | Número de microorganismos presentes en una muestra de una sustancia específica. |
| Desertificación | Proceso por el cual un área con producción agrícola o ecosistémica padece un proceso de degradación que implica pérdida total o parcial de su biomasa. |
| Endospora | Célula especializada que asegura la supervivencia de algunas bacterias bajo condiciones ambientales extremas. |
| Floración salina | Capa permeable o temporal del suelo, formada por sales cristalizadas que inhiben el crecimiento de plantas. |

| | |
|----------------------------|--|
| Inoculación | Introducir en un medio específico microorganismos que desarrollarán su metabolismo, es decir, crecerán y se multiplicarán. |
| Intemperización | Es el proceso mediante el cual se forman los suelos, a través de la degradación física y química de la roca madre. |
| pH | Medida logarítmica de la acidez o alcalinidad de una solución. Las siglas significan potencial de hidrógeno. |
| Presión osmótica | Presión que sucede entre dos soluciones con distinta salinidad, separadas por una membrana semipermeable, con el fin de igualar concentraciones entre ambas. |
| Recuento de viables | Método físico mediante el cual se conocen el número total de microorganismos presentes en un medio específico. |
| Salinización | Es el proceso de acumulación de sales en el suelo. Puede ser por causas naturales o antropogénicas. Implica la reducción del potencial biótico del medio. |

RESUMEN

El presente proyecto de investigación a nivel de trabajo de graduación consistió en el estudio del efecto de la inoculación de bacterias en un suelo extremadamente salino.

Al inicio se efectuó una extracción de 15 kilogramos de suelo en el departamento de Fray Mamerto Esquiú, Catamarca, República de Argentina. Este suelo perteneció a una de las floraciones presentes en el área. Luego se procedió a llevar la muestra al laboratorio donde fue distribuida en macetas de 500 gramos. Asimismo, se separó una porción para realizar un recuento de viables del suelo con el propósito de determinar su carga microbiana inicial. Se efectuó una siembra a gran escala de los microorganismos nativos del suelo para preparar el inóculo que se agregó a 20 macetas con muestra. Posteriormente se realizaron determinaciones edáficas de variables puntuales (pH, conductividad eléctrica, sodio y potasio elemental) en testigos (inicial y tres semanas) y en muestras inoculadas a 2, 3, 4 y 5 semanas a partir de la agregación del mismo. A las 5 semanas se efectuó sobre una muestra testigo y otra inoculada el recuento de viables para definir nuevamente la carga microbiana.

A continuación se realizó un análisis sobre la variación de los parámetros edáficos y microbiológicos, con el propósito de definir cuál fue el efecto de la inoculación sobre el suelo extremadamente salino. A través de ello se comprobó que la variación del pH no fue significativa a lo largo del tiempo experimental; la conductividad eléctrica y el sodio inicialmente padecieron un incremento imprevisto debido a las condiciones de confinamiento, sin embargo,

sus valores luego decayeron probablemente debido a la biosorción de las bacterias; el potasio mostró una variación discreta causada por su estabilidad dentro de la estructura del suelo; la variación en la materia orgánica puso de manifiesto los procesos de inmovilización-mineralización dentro del suelo, así como que la actividad biológica, en términos de esta variable, no se halla en función a la carga microbiana; la disminución drástica de la población bacteriana final evidencia el aumento de las condiciones salinas durante del experimento, así como la alta resistencia y adaptación que tienen las pocas especies de microorganismos que logran sobrevivir en este medio.

Se demuestra así que el aumento de la microbiota nativa no implica un efecto considerable sobre las sales disueltas de un suelo extremadamente salino, al menos, en el tiempo experimental estipulado en la presente investigación.

OBJETIVOS

General

Determinar el efecto de la inoculación de bacterias sobre un suelo salino extremadamente salino.

Específicos

1. Caracterizar fisicoquímicamente (pH, conductividad eléctrica, sodio elemental, potasio elemental, materia orgánica) el suelo salino seleccionado.
2. Analizar la presencia de formas nativas de microorganismos en el suelo seleccionado; clasificándolas según morfología y tinción de Gram.
3. Evaluar la permanencia y cantidad de bacterias halófilas en un suelo extremadamente salino a lo largo de la experimentación.

Hipótesis

La inoculación de bacterias nativas tendrá un efecto de reducción de sales en el suelo extremadamente salino seleccionado.

Hipótesis nula:

La inoculación de bacterias nativas no tendrá un efecto de reducción de sales en el suelo extremadamente salino seleccionado.

Hipótesis alternativa:

Según los efectos del inóculo de bacterias sobre el suelo extremadamente salino; este será empleado como medida de biorremediación.

INTRODUCCIÓN

La salinidad ocurre donde el equilibrio entre la precipitación, riego y la evaporación se desplaza hacia esta última, ocasionando que las sales precipiten en los horizontes del suelo más cercanos a la superficie. El aumento de los niveles de sal en el suelo puede ocasionar la muerte en las plantas, a través de la deshidratación y la presión osmótica (Pernasetti, 2010).

Guatemala, de acuerdo a los índices de evapotranspiración registrados en el territorio, no posee regiones áridas extendidas o en proceso evidente de salinización. Sin embargo, el cambio climático y las malas prácticas agrícolas han aproximado a una región en el suroriente del país, denominada recientemente como Corredor Seco por los meteorólogos, a condiciones de una desertificación pasajera que compromete la seguridad alimentaria del área (una de las áreas que padece más pobreza y desnutrición crónica infantil del país). Estos cambios radicales en la periodicidad de las lluvias entre un año y otro, pueden desarrollar en un futuro a mediano plazo una salinidad edáfica nociva para los cultivos predominantes (maíz, arroz, frijol, maicillo) no adaptados a semejantes condiciones (Van der Zee Arias, 2012).

Debido a que la última década la metodología de ingeniería ambiental ha evolucionado, desde sus inicios con un enfoque remediador de problemas hasta el ataque a las causas y prevención de los mismos antes de que aparezcan; este estudio propone una alternativa para mitigar la salinidad desde que los cultivos empiecen a manifestar en sus estructuras herbáceas la presión osmótica. Asimismo, es una opción biológica de bajo presupuesto, que no implica un agotamiento del recurso hídrico en lavado de suelos.

Esta investigación tiene como propósito inaugurar una brecha de estudios no realizados anteriormente en Guatemala, proponiendo una medida preventiva para la mitigación en suelos salinos o en proceso de salinización. De esta manera, con la comprobación o refutación de la hipótesis planteada en este trabajo, se insta a la exploración y aprovechamiento de las alternativas biológicas para la prevención y remediación de los problemas edáficos que repercutan en la agricultura y en el sostén de los ecosistemas naturales.

1. ANTECEDENTES

Debido a las características meteorológicas y edáficas de Guatemala, la salinización como tal no ha sido considerada como un problema, pese a los indicadores que muestra la región denominada Corredor Seco cada vez que ocurre el fenómeno atmosférico El Niño. Como es un problema cíclico se ha desestimado cualquier inversión en el ámbito de la investigación, no solo sobre el problema de forma general sino de sus causas directas de modo específico. La remediación de la salinidad ha pasado desapercibida en la investigación agrícola guatemalteca.

Sin embargo, otros países siendo consecuentes con su realidad han invertido en la investigación de la remediación y prevención de brotes salinos y sódicos en áreas agrícolas. No se han limitado a los métodos tradicionales, es decir, al lavado de suelos y al uso de correctores de sulfato de calcio, sino han desarrollado la investigación biológica, que varían desde la implantación de cultivos halófitos hasta técnicas de biorremediación.

En 1996, H. H. Zahran del Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencia, Beni-Suef, Egipto publica: *Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline environments*. En el resalta el protagonismo que posee la flora bacteriana en la economía de los hábitats salinos, ya que la evidencia demuestra su actividad en la degradación de desechos herbáceos, la fijación de nitrógeno y la producción de metabolitos. Asimismo, describe las tácticas de adaptación que exhiben estas bacterias en los medios salinos. Las bacterias son capaces de osmorregular a través de la síntesis de osmolitos orgánicos compatibles como glutamina, prolina y glicina betaína; muy pocas de ellas son

capaces de acumular solutos inorgánicos como Na^+ , K^+ y Mg^{+2} . La morfología de la bacteria suele modificarse; las células son más alargadas y delgadas, así como se disminuye el volumen del citoplasma. Sin embargo, no se han reportado cambios radicales en su estructura.

En el 2001, Rosa Margesin y Franz Schinner de la Universidad de Innsbruck en Austria; publican un artículo denominado *Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology*. Este es un artículo de carácter exploratorio, donde se apertura un abanico de posibilidades en la industria y en la ciencia, a partir de las características biológicas y morfológicas de las bacterias halófilas. Estas posibilidades son enumeradas: inserción en la industria óptica y holográfica, estabilizadores de biomoléculas y células enteras, antagonistas salinos y agentes protectores contra el estrés. También se mencionan las enzimas que producen para la creación de biopolímeros y la síntesis de químicos orgánicos. Asimismo, su rol esencial en la industria alimenticia y en su posibilidad teórica de actuar en la biorremediación en múltiples circunstancias. Aquí marca una pauta para futuras investigaciones más específicas.

En el 2003, un grupo de investigadores del Departamento de Ciencia del Suelo de la Universidad Federal de Lavras, Brasil, publica el siguiente artículo: *Tolerância de bactérias diazotróficas simbióticas á salinidade in vitro*. El objetivo de la experimentación era la búsqueda de bacterias diazotróficas en distintas regiones de Brasil, para establecer relaciones simbióticas con plantas determinas y así aumentar la productividad vegetal en condiciones de estrés salino.

En el 2005, Deyvison Clacino Barbosa, de la Universidad Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, publica su tesis de maestría titulada:

Identificação de bactérias halofílicas/halotolerantes com potencial uso no tratamento de água de produção. En ella obtiene varias cepas de bacterias halófilas de las raíces de la planta halofílica *Blutaparon portulacoides*. En la experimentación se demostró que 3 cepas tenían un índice de reducción del 70 % de la demanda química de oxígeno (DQO) sobre las aguas residuales de la industria petrolera.

En el 2006, Ligia Sánchez Leal y Heliodoro Arguello del Programa de Biología Aplicada de la Universidad Militar Nueva Granada en Colombia publican *Capacidad de bacterias halófilas para capturar sodio in Vitro y su posible aplicación en biorremediación en suelos salinos-sódicos*. En este artículo se caracterizaron bacterias halófilas procedentes de aguas marinas, las mismas fueron inoculadas en soluciones extraídas de suelos sódico-salinos, y se comprobó que retenían el sodio, proponiendo para una futura investigación el diseño de un consorcio microbiano que sea inoculado en suelos sódico-salinos y así remediarlos.

En el 2011, Laura Castillo-Carvajal y Blanca E. Barrgán Huerta del Laboratorio de Residuos Peligrosos del Instituto Politécnico Nacional, México, publicaron: *Aplicaciones Biotecnológicas de microorganismos halófilos*. En este artículo se enumeran los microorganismos halófilos encontrados hasta la fecha. Asimismo, se hace un enfoque especial en la oportunidad de emplearlos en la biorremediación, sobre todo en ambientes extremos, como a pH alcalinos, temperaturas altas y salinidad concentrada.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Suelo salino

Se define por suelo salino aquel que posee una cantidad de sales solubles que afectan desfavorablemente su capacidad de producción agrícola o ecosistémica. La salinidad es determinada a través de la conductividad eléctrica que se mide en una solución extraída del suelo en saturación. Las plantas sensibles a la salinidad son afectadas por una conductividad eléctrica de 2 dS/m. Las plantas tolerantes soportan el triple o más de salinidad. Debido a esto la salinidad de los suelos es uno de los factores que más restringe la productividad biótica, afectando a escala mundial alrededor de 800 millones de hectáreas (Rengasamay, 2006) de las cuales 129 millones se localizan en América del Sur (Personal del Laboratorio de salinidad de los E.U.A, 1977).

El territorio continental de la República Argentina se extiende desde 22° hasta casi 56° de latitud sur. De acuerdo con la precipitación pluvial, se reconocen tres grandes áreas: húmeda, subhúmeda-semiárida y árida. Si bien hay diferencias según los índices utilizados y los autores, se puede estimar que el 25 % del país es húmedo, el 25 % es subhúmedo a semiárido y el 50 % restante es árido. Este modelo de distribución climática, sumado a características geográficas y causas antropogénicas genera innumerables situaciones de suelos afectados por sales. En ese sentido cabe recordar que Argentina es, según FAO-UNESCO, el tercer país con mayor superficie de suelos afectados por sales, después de Rusia y Australia (R. Lavado, FA UBA, 2009).

2.1.1. Suelo sódico

Suelos cuyo contenido de sales es bajo, pero poseen una concentración de sodio intercambiable capaz de afectar adversamente a la producción de cultivos y a la estructura del suelo (Personal del Laboratorio de Salinidad de los EUA, 1977).

Los parámetros para definir los problemas de sodicidad es la relación de adsorción de sodio del extracto de saturación de suelo (RAS) y el porcentaje de sodio intercambiable (PSI). La RAS debe ser mayor a 13 para ser sódico. La RAS es la relación entre el sodio y los cationes divalentes solubles, expresados en meq/litro y el PSI es la relación entre el sodio intercambiable y la capacidad de intercambio catiónico, expresados en meq/100 gr de suelos (Pernasetti, 2010).

$$RAS = \frac{Na}{\frac{\sqrt{Ca + Mg}}{2}} \qquad PSI = \frac{Na}{CIC} * 100$$

Donde:

Na = sodio elemental

Ca = calcio elemental

Mg = magnesio elemental

CIC = capacidad de intercambio catiónico

2.1.2. Suelo salino sódico

Se refiere a un suelo que contiene suficiente cantidad de sodio intercambiable y apreciable cantidad de sales solubles para interferir con el crecimiento de la mayoría de cultivos. El PSI es mayor a 15, la conductividad

del extracto de saturación es mayor que 4 dS/m y el pH del suelo es usualmente 8,5 o menor (Pernasetti, 2010). Estos son los umbrales para definir la salinidad y sodicidad de los suelos:

Tabla I. **Denominación del suelo según salinidad y sodio**

| Denominación del suelo | Cond. Eléctrica del extracto saturado a 25 °C; (dS/m) | % de sodio intercambiable (PSI) | RAS | pH del suelo saturado |
|------------------------|---|---------------------------------|-----|-----------------------|
| Suelo salino | >4 | <15 | <13 | ≤8,5 |
| Suelo salino sódico | >4 | >15 | ≤13 | ≤8,5 |
| Suelo sódico | <4 | >15 | ≥13 | >8,5 |

Fuente: PERNASETTI, Olga B. *Salinidad y sodicidad de los suelos: cátedra de Edafología*.

p. 68.

2.2. Naturaleza de las sales solubles

Las sales pueden encontrarse en dos estados: disueltas en solución dentro de los espacios disponibles en la estructura del suelo o precipitadas en forma de cristales. El contenido y los tipos de sales cambia de acuerdo a la humedad edáfica, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y el pH. Durante el periodo húmedo aumentan las sales en solución, disminuyen las cristalizadas y adsorbidas. Durante el periodo seco el comportamiento es inverso (Pernasetti, 2010).

Las sales más abundantes están formadas por cuatro cationes: Na^{+1} , K^{+1} , Ca^{+2} , Mg^{+2} y cuatro aniones Cl^{-1} , SO_4^{-2} , CO_3^{-2} , HCO_3^{-1} .

Las sales más frecuentes son:

- Cloruros: $NaCl$, $CaCl_2$, $MgCl_2$, KCl .

- Sulfatos: $MgSO_4, Na_2SO_4$
- Nitratos: $NaNO_3, KNO_3$
- Carbonatos: Na_2CO_3
- Bicarbonatos: $NaHCO_3$

2.2.1. Solubilidad de las sales

La solubilidad determina la movilidad y precipitación, así como regula la máxima concentración posible en una solución del suelo. Las sales más tóxicas presentan solubilidades más elevadas y por ende, concentraciones más altas. Las sales de baja solubilidad presentan o poco o ningún riesgo para la agricultura (Pernasetti, 2010).

En el siguiente cuadro se aprecia que los cloruros y nitratos son los más solubles; siendo los menos solubles los carbonatos. Por lo tanto serían los primeros en precipitar ante condiciones bajas de humedad (Pernasetti, 2010).

Tabla II. **Solubilidad en agua de las siguientes sales a 20 °C, gramos/litro**

| Sal | Solubilidad |
|--------------------|-------------|
| $CaCO_3$ | 0,01 |
| $MgCO_3$ | 0,10 |
| $CaSO_4 * 2H_2O$ | 2,40 |
| Na_2CO_3 | 71,00 |
| $Na_2SO_4 * 7H_2O$ | 195,00 |
| $MgSO_4$ | 262,00 |

Continuación de la tabla II.

| | |
|------------------|----------|
| $Ca(HCO_3)_2$ | 262,00 |
| KNO_3 | 316,00 |
| $NaCl$ | 360,00 |
| $MgSO_4 * 7H_2O$ | 710,00 |
| $NaNO_3$ | 921,00 |
| $MgCl_2 * 6H_2O$ | 1 670,00 |
| $CaCl_2 * 6H_2O$ | 2 790,00 |

Fuente: PERNASETTI, Olga B. *Salinidad y sodicidad de los suelos*: cátedra de Edafología.
p. 89.

2.2.2. Fuentes de sales solubles

La mayoría de sales solubles en el suelo consisten en cationes de sodio, calcio y magnesio, y de los aniones cloruro y sulfato. La fuente original de sales son los minerales primarios que se encuentran en el material parental. Durante el proceso de intemperización química estos constituyentes salinos paulatinamente son liberados, adquiriendo mayor solubilidad (Pernasetti, 2010).

Pese a que la intemperización del material parental es la fuente indirecta de la mayoría de sales solubles, existen pocos casos donde las sales acumuladas por esta vía hayan causado la salinización de un suelo. Este proceso ocurre cuando un área recibe a través del agua u otros factores, sales de otras localidades. La sal cíclica es la sal acarreada por la brisa marina del océano hacia los suelos cercanos a las orillas. Asimismo, el océano pudo haber proporcionado las sales para aquellos suelos cuyo material original es constituido por depósitos marinos de antiguos periodos geológicos. Sin embargo, es más frecuente que el suministro principal de sales sean las aguas subterráneas y superficiales, ya que estas llevan las sales disueltas de los

materiales rocosos con que estuvieron en contacto durante su transcurrir. Estas aguas aportan a la salinización de un suelo cuando son empleadas para el riego del mismo, o cuando por causas naturales sucede una anegación del área o el ascenso de la napa freática (Pernasetti, 2010).

2.3. Salinización de los suelos

En zonas con condiciones de aridez se encuentran la mayoría de suelos salinos. Esto se debe a que el ritmo de evapotranspiración es mucho mayor al de precipitación, lo que implica que las sales no son lixiviadas del suelo, sino se acumulan en los horizontes más superficiales y en cantidades nocivas para la sobrevivencia herbácea (Personal del Laboratorio de Salinidad de los EUA, 1977).

Una napa freática poco profunda o en proceso de ascenso y la baja permeabilidad del suelo, puede contribuir a la formación de un drenaje restringido que posteriormente ocasione la salinización del suelo. La topografía del terreno define las características y el comportamiento de la napa freática. La baja permeabilidad se debe por la misma estructura y textura del suelo; los suelos arcillosos son los menos permeables (Personal del Laboratorio de Salinidad de los EUA, 1977).

El mayor problema de salinidad sucede cuando un suelo no salino se vuelve salino. Suelos planos ubicados en valles son escogidos para la producción agrícola, sin considerar que su drenaje no es apropiado para la irrigación intensiva. El drenaje deficiente provoca que la napa freática ascienda a los horizontes más superficiales, asimismo, las aguas de riego pueden llegar a contener de 0,1 a 5 toneladas de sal por hectárea en una lámina de 30 cm. De esta forma, en un lapso breve, es posible introducirle al suelo una cantidad

considerable de sales nocivas para los cultivos (Personal del Laboratorio de salinidad de los EUA, 1977).

2.3.1. Dinámica de las sales en el suelo

La carga negativa de los coloides del suelo retiene a los cationes en una película de agua adherida a la superficie de las partículas. Esto disminuye la pérdida de Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ , y Na^+ por lixiviación, manteniéndolos disponibles para la absorción vegetal. Los cationes alcalinos y alcalinotérreos, debido a su tamaño y carga, tienen poca oportunidad de precipitar. Estos son considerados como los macronutrientes esenciales de las plantas. Debido a las condiciones del suelo, estos cationes pueden ser fácilmente intercambiables por otros iones. Esta condición de cationes intercambiables permite su manipulación para y por la fertilización de los suelos, así como para la remediación de los problemas agrícolas, especialmente la salinización (Bohn, Hinrich, et al., 1985).

Existen tres categorías de cationes en el suelo. Algunos iones tienden a reprecipitar como minerales formadores de suelo (fase sólida); otros tienden a permanecer en la solución, estando en constante asociación con las superficies de fase sólida (iones intercambiables); otros son pobres competidores de carga superficial y son lixiviados fácilmente (iones solubles) (Bohn, Hinrich, et al., 1985).

La distribución de los cationes intercambiables principales en los suelos agrícolas productivos tiene la siguiente secuencia: $Ca^{2+} > Mg^{2+} > K^+ = NH_4^+ = Na^+$. La composición de cationes intercambiables en suelos diferentes tiende a ser mucho más uniforme que la composición del material parental de los cuales se derivan dichos cationes (Bohn, Hinrich y otros, 1985).

Cambios a gran escala de los factores formadores del suelo sí repercuten en la distribución de los cationes intercambiables. El sodio puede acumularse en regiones áridas, pero en la mayoría de los suelos del mundo es uno de los cationes intercambiables con menor concentración. Naturalmente las reacciones en el suelo conducen a la disminución de diferencias en los contenidos químicos de los suelos, creando una distribución relativamente uniforme de iones intercambiables para el crecimiento agrícola (Bohn, Hinrich y otros, 1985).

2.3.2. Diagnóstico y medidas de la salinidad y sodicidad

La salinidad de un suelo puede cuantificarse a través de la medición de la conductividad eléctrica del líquido filtrado a partir del suelo saturado. Se emplea un conductímetro. Para determinar la conductividad se sumerge el conductímetro en el extracto del suelo, aquel establece un potencial eléctrico y las sales disueltas conducen la corriente eléctrica que es proporcional a su concentración. La conductancia media se asocia directamente con la concentración de las sales disueltas. Según el sistema internacional la unidad de conductividad es el Siemens (Pernasetti, 2010).

$$1 S = 1\text{mhos}, \text{ de manera que } 1 \frac{dS}{m} = 1 \frac{\text{mmhos}}{\text{cm}}$$

Donde:

$S = \Omega^{-1}$ (medida de la conductancia eléctrica)

dS/m = define la conductividad de un material; es inversa a la resistividad

Tabla III. **Clasificación de los suelos atendiendo a los efectos de la salinidad en los cultivos**

| Ce del extracto acuoso del suelo (dS/m) | Contenido total de sales en porcentaje (%) | Clases de salinidad |
|--|---|--|
| 0 - 2 | 0 – 0,075 | No salino Efectos despreciables de salinidad |
| 2 - 4 | 0,075 – 0,15 | Ligeramente salino Rendimiento de cultivos muy sensibles pueden ser restringidos |
| 4 - 8 | 0,15 – 0,35 | Medianamente salinos Los rendimientos de muchos cultivos son restringidos |
| 8 - 16 | 0,35 – 0,65 | Fuertemente salino Sólo los cultivos tolerantes rinden satisfactoriamente |
| >16 | >0,65 | Extremadamente salino Muy pocos cultivos tolerantes rinden satisfactoriamente |

Fuente: PERNASETTI, Olga B. *Salinidad y sodicidad de los suelos*: cátedra de Edafología.
p. 89.

2.3.3. Efecto de las sales en suelos y en las plantas

Los efectos a describir se hallan íntimamente relacionados entre sí:

- Relaciones hídricas: el fenómeno de la ósmosis sucede cuando dos soluciones de distintas concentraciones salinas se hallan interactuando con una membrana de por medio; su tendencia es la de igualar las concentraciones, es decir, las presiones osmóticas que ejercen ambas.

Para lograr esto el agua tiende a pasar de la solución menos concentrada hacia la más concentrada, con el propósito de concentrar la primera y diluir la segunda. Si la solución del suelo posee más sales que el medio interno de las células que constituyen las raíces, el agua tenderá a salir de estas últimas, causando sequedad fisiológica en las plantas. Así, aunque haya exceso de humedad las plantas padecen estrés hídrico, pues pierden agua en vez de ganarla (Pernasetti, 2010).

- Balance energético: las plantas se adaptan a las condiciones salinas; invirtiendo parte de su energía en la toma del agua, esto se hace a expensas del crecimiento de la planta misma. Se puede identificar una planta que padece presión osmótica por el engrosamiento de las paredes celulares, resumiéndose en la pigmentación más oscura de las hojas (Pernasetti, 2010).
- Nutrición: se producen importantes modificaciones en el aspecto nutricional. Esto es causado por las variaciones de pH y a las interacciones ocasionadas por la presencia en exceso de determinados elementos. Dicho efecto sucede con los cloruros y nitratos y fosfatos, el calcio y el sodio o los del potasio y sodio. La dominancia de calcio provoca antagonismos sobre la mayoría de cationes (Pernasetti, 2010).

Los cloruros, el sodio y el boro son los iones más tóxicos, incluso en concentraciones bajas. Estos se acumulan en distintas partes de las plantas, matándolas de a poco. Asimismo, las sales de sodio además de ser tóxicas elevan el pH, alcalinizando el suelo y comprometiendo la sobrevivencia de los cultivos (Pernasetti, 2010).

2.4. Bacterias del suelo

El suelo posee cinco grupos de microorganismo: bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios. La cantidad de microorganismos en el suelo varía entre 10^7 y 10^9 . Las bacterias sobresalen porque hay muchas poblaciones en un determinado suelo y porque son el grupo cuyo número de individuos sobrepasa a los otros cuatro juntos. Debido al diminuto tamaño de las bacterias, estas representan menos de la mitad de la masa microbiana del suelo total. (Alexander, 1980)

En suelos aireados predominan bacterias y hongos, mientras que en los medios anaerobios las bacterias son responsables de la mayoría de procesos bioquímicos. Las poblaciones bacterianas sobresalen por su crecimiento rápido y la descomposición de variedad de sustratos naturales (Alexander, 1980).

Existen dos grandes grupos en las bacterias del suelo: las nativas (autóctonas) y los invasores (alóctonos). Las poblaciones nativas están adaptadas a las condiciones del suelo y pueden perdurar por largos períodos sin tener actividad metabólica, sin embargo, en un determinado momento toman protagonismo en las actividades bioquímicas del ecosistema edáfico. Las especies alóctonas o zimógenas no participan de manera significativa en las actividades del ecosistema. Entran en este por medio de la precipitación y material de adición, permaneciendo inactivas e incluso crecer por períodos cortos, pero nunca contribuyendo a las interacciones ecológicas.

Entre las poblaciones nativas hay especies que crecen rápidamente cuando hay un excedente nutricional de fácil degradación, disminuyendo de igual forma cuando este se agota. Otras poblaciones nativas crecen usando como fuente nutricional material orgánica de ardua degradación; debido a esto

tales organismos crecen lentamente y su población no registra dramáticas fluctuaciones (Alexander, 1980).

La morfología celular se emplea de igual forma para caracterizar a las poblaciones bacterianas. Los principales tipos morfológicos en el suelo son: los bacilos (forma de bastón); los cocos (forma esférica); y los espirilos. Los bacilos son los más abundantes. La mayoría de ellos persisten por su capacidad de formar endosporas en condiciones desfavorables como la falta de nutrientes, desecación o temperaturas extremas. Es decir, las endosporas pueden permanecer en estado de latencia mucho después de que las células vegetativas hayan muerto por las condiciones ambientales. Cuando se restablecen las condiciones favorables al crecimiento vegetativo la espora germina y emerge un nuevo organismo (Alexander, 1980).

2.4.1. Distribución y abundancia

Las técnicas de conteo microbiológico convencionales solo estiman parte del número total de bacterias en un ecosistema heterogéneo como el suelo. Ningún medio nutritivo es adecuado para todas las especies, ya que las necesidades de cada cepa varían. Se ha estimado que solo 1 % de la población bacteriana del suelo pueden ser cultivadas en condiciones estándares de laboratorio. Sin embargo, se han desarrollado métodos de reconocimiento genético, denominado *Fingerprints*, el cual emplea el gen ARN16r para caracterizar la comunidad microbiana (Silberman, 2013). Asimismo, las bacterias viven en el suelo asociadas a colonias, por lo que la presencia de restos vegetales, puede significar un cambio microbiológico suficiente para aumentar 100 veces los cálculos. Debido a esto, la microflora debe ser interpretada en términos generales, ya que variación en la humedad, el pH o la

materia orgánica puede influir drásticamente en la población bacteriana, (Alexander, 1980 y Frioni, 1999).

Las fuerzas electrostáticas presentes entre las libres en la fase líquida del suelo. La adsorción causa una disminución considerable de las bacterias que se encuentran en suspensión; así como una mayor retención de estas en condiciones de anegación o saturación. Las actividades bioquímicas se ven afectadas cuando la adsorción del suelo hacia las bacterias es elevada (Alexander, 1980).

El tipo de suelo y las prácticas de cultivo determinan la cantidad y tipos de bacterias. La temperatura también es un factor importante, encontrándose más abundancia de microorganismos en las zonas más cálidas. Asimismo, el contenido de materia orgánica define la densidad bacteriana. Suelos ricos en humus poseen un número mayor de microorganismos porque su aporte nutricional es mayor. Suelos de pastura poseen mayor densidad microbiana que suelos dedicados a la producción agrícola, ya que estos primeros poseen mayor masa proveniente de la descamación y exudación de las plantas gramíneas (Alexander, 1980 y Frioni, 2011).

Las bacterias también están presentes en suelos desérticos. En ellos predominan los bacilos formadores de esporas, ya que las condiciones para células vegetativas son ampliamente desfavorables (Alexander, 1980).

2.4.2. Influencias ambientales

Las variables ambientales principales que influyen en el desarrollo bacteriano son: humedad, aireación, temperatura, materia orgánica, pH y

suministro de nutrientes inorgánicos (Alexander, 1980; Frioni, 2011; Madigan, et al., 2004).

- **Humedad:** el principal componente del protoplasma es el agua, por lo que un buen suministro generará desarrollo microbiano. Sin embargo, el exceso de humedad detiene el crecimiento, ya que disminuye el suministro de oxígeno y el ambiente se torna anaeróbico. En ese ambiente se desarrollan únicamente microorganismos anaeróbicos o anaeróbicos facultativos. El nivel óptimo de humedad edáfica para el desarrollo bacteriano oscila entre 50 y 75 % de la capacidad de retención del suelo. Las variaciones periódicas del tamaño de las comunidades microbianas están ligadas directamente con la presencia de humedad en el suelo (Alexander, 1980 y Frioni 1999).
- **Temperatura:** rige toda la actividad biológica. Existe una relación directa entre la temperatura y el tamaño de las colonias. La temperatura determina la velocidad de los procesos bioquímicos; la tendencia al aumento de calor favorece estos procesos efectuados por la comunidad microbiana. Cada microorganismo tiene una temperatura óptima de desarrollo (Alexander, 1980; Frioni, 1999; Madigan, et al, 2004).
- **Materia orgánica:** en suelos ricos en humus las bacterias son numerosas. La adición de material orgánico incita una rápida respuesta microbiológica, que tarda los primeros meses, desapareciendo luego del año de iniciado su proceso de descomposición (Alexander, 1980 y Frioni 2011).
- **pH:** las variaciones extremas de pH tienen a inhibir a la mayoría de bacterias, ya que estas crecen mejor en la neutralidad. Mientras más

bajo es el pH la comunidad bacteriana es menor. Debido a esto el encalado de suelos ácidos aumenta considerablemente la población microbiana. Incluso así, hay una variedad de cepas que crece en suelos con pH menores de 4. El pH también rige la asimilación de compuestos nutritivos por parte de las bacterias (Alexander, 1980; Frioni, 2011).

- Suministro de nutrientes inorgánicos: estas sustancias afectan tanto a las plantas como a los microorganismos. En la mayoría de suelos el abasto de nutrientes en el suelo excede la demanda biológica. A esto responde la aplicación de fertilizantes nitrogenados para activar el ciclo del nitrógeno protagonizado por bacterias (Alexander, 1980; Madigan, et al., 2004).

La agricultura altera la estructura y porosidad del suelo, favoreciendo la aireación y el alcance del agua. Expone mayor cantidad de humus a la degradación bacteriana, aumentando la población. El uso de herbicidas afecta algunos procesos microbianos, sobre todo los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno y el fósforo (Frioni, 1999).

Los cambios de estación influyen en la flora microbiana en función a los factores descritos en los incisos anteriores; ya que las estaciones modifican la temperatura y humedad (condiciones íntimamente ligadas al desarrollo bacteriano). Asimismo, condicionan la vegetación superficial, que al final de cuentas resulta ser los nutrientes carbonados para la microflora. Es preciso mencionar, que los cambios poblacionales en bacterias ocurren en pocas horas (Alexander, 1980; Frioni, 2011).

Otra variable secundaria es la profundidad del suelo. Esta también se halla en función de los factores principales, es decir, los microorganismos suelen

escasear en la superficie del suelo debido a la inadecuada humedad y a la acción bactericida del sol. Existe un incremento en la población conforme se va de la superficie a unos cuantos centímetros abajo. La mayor densidad se presenta, generalmente, a los 20 centímetros de profundidad. No obstante, a mayores profundidades escasea el oxígeno y la materia orgánica, por lo que las comunidades microbianas empiezan a disminuir (Alexander, 1980; Madigan, et al, 2004).

2.4.3. Relación ambientes salinos y bacterias halófilas nativas

Los ambientes salinos naturales (su salinidad oscila entre 4-30 % NaCl equivalentes) son acuáticos o terrestres. Estos poseen una microflora nativa, la cual es pieza clave para los ecosistemas. Los ambientes salinos poseen una diversidad de grupos bacterianos, los cuales poseen adaptaciones evolutivas en su plano fisiológico y estructural, que les permite sobrevivir a estas condiciones extremas. Las bacterias halófilas obligadas solo pueden desarrollarse en una concentración de 1,5 M de NaCl equivalentes. Asimismo, toleran bien las altas temperaturas, ya que los ambientes cálidos donde se desarrollan (suelos áridos y agua de lagunas endorreicas) pueden llegar a los 50 °C.

La mayoría de las bacterias halófilas desarrolla una adaptación llamada osmoregulación; la cual se resume como la síntesis de osmolitos (glutamina, prolina y glicina betaína). La minoría ha evolucionado para acumular solutos inorgánicos que se encuentran en el ambiente (Na^+ , K^+ y Mg^{2+}). Asimismo, la morfología frecuentemente se halla ligeramente modificada. Las células consiguen el equilibrio osmótico manteniendo la concentración de sales intracelular similar a la exterior. El citoplasma se halla a merced de fuerzas iónicas, por lo ha padecido adaptaciones estructurales, que consisten en

sustituciones de aminoácidos y disminución de los residuos hidrofóbicos (Plachy, 1974).

Sin embargo, no se han reportado modificaciones estructurales radicales en las bacterias halófilas; así como los cambios sustanciales en las propiedades celulares solo ocurren por encima de 2 M de NaCl equivalente. Las bacterias halófilas se han definido como quimiheterótrofos, adaptándose a la disponibilidad de nutrientes que se encuentran en el medio. Pese a esto, se han registrado casos de bacterias halófilas que han fijado el CO_2 en un principio de fotosíntesis. La actividad de las bacterias halófilas involucra degradación de materia orgánica, fijación de nitrógeno y producción de metabolitos que son cedidos para otros microorganismos o para las plantas mismas. (Castillo y Carvajal, 2011; Frioni, 2011).

Tabla IV. **Microorganismos halófilos**

| Dominio | Género | Referencia |
|----------------|------------------------------|-------------------------|
| Arquea | <i>Halobacterium sp.</i> | Oren, 1999 |
| | <i>Methanohalobium sp.</i> | Zhilina y Zavarin, 1987 |
| | <i>Methanohalophilus sp.</i> | Paterek y Smith, 1988 |
| Bacteria | <i>Acetohalobium sp.</i> | Zhilina y Zavarin, 1990 |
| | <i>Halorhodospira sp.</i> | Imhoff y Süling, 1996 |
| | <i>Actinopolyspora sp.</i> | Skerman, et al., 1980 |
| | <i>Salinibacter sp.</i> | Antón, et al., 2002 |
| | <i>Halanaerobium sp.</i> | Rainey, et al., 1995 |
| | <i>Haloferox sp.</i> | Rainey, et al. 1995 |
| | <i>Halocella sp.</i> | Rainey, et al. 1995 |
| | <i>Halobacteroides sp.</i> | Rainey, et al. 1995 |
| | <i>Haloanaerobacter sp.</i> | Rainey, et al. 1995 |
| | <i>Salibacillus sp.</i> | Mota, et al., 1997 |
| | <i>Halobacillus sp.</i> | Mota, et al., 1997 |
| | <i>Marinococcus sp.</i> | Mota, et al., 1997 |
| | <i>Salinococcus sp.</i> | Mota, et al., 1997 |
| | <i>Tetragenococcus sp.</i> | Mota, et al., 1997 |

Continuación de la tabla IV.

| | | |
|----------|-----------------------------|--------------------------------|
| Bacteria | <i>Chromohalobacter sp.</i> | Ventosa, et al., 1989 |
| | <i>Salipiger sp.</i> | Martínez-Cánovas, et al., 2004 |
| | <i>Palleronia sp.</i> | Martínez-Cánovas, et al., 2005 |

Fuente: CASTILLO, Laura; CARVAJAL, Blanca. *Aplicaciones biotecnológicas de microorganismos halófilos*. p. 90.

2.5. Características de la sequía en Centroamérica

La sequía en Centroamérica es distinta a las sequías en otras partes del mundo, debido a que esta es cíclica y se haya vinculada con el fenómeno atmosférico El Niño de la Oscilación Sur (ENOS).(Van der Zee, et al., 2012).

La sequía en Centroamérica en realidad no se debe a la ausencia de precipitación, sino a la distribución anormal de la misma; especialmente durante la época lluviosa cuando es interrumpida por una canícula extensa. La mayoría de las veces la sequía dura 2 meses o menos, sin embargo, esto es suficiente para afectar fuertemente a la agricultura y ganadería. Debido a que el inicio de las lluvias rige los períodos de siembra, una interrupción de la precipitación compromete el desarrollo de los cultivos y la seguridad alimenticia de la región. La ausencia de precipitación puede llevar al punto de marchitez a los cultivos, ahí se denomina sequía agrícola; sin embargo, no es lo suficientemente acentuada para convertirse en sequía hidrológica severa. Vale mencionar que los efectos también se hallan relacionados con un mal manejo de cuenca (Van der Zee, et al., 2012).

Características de las zonas con distintos niveles de sequía en el Corredor Seco Centroamericano (CSC):

- Zona de efecto severo: precipitación pluvial baja (800-1200 mm/año) de 4 a 6 meses secos, evaporación promedio mayor de 200 mm/mes. Vegetación: arbustales, sabana de gramínoideas con arbustos deciduos, bosques de hojas compuestas microfoliadas (Van der Zee, et al., 2012).
- Zona de efecto alto: precipitación pluvial media (1 200-1 600 mm/año) de 4 a 6 meses secos, evapotranspiración promedio alrededor de 130 mm/mes. Vegetación: sabana de gramínoideas, pinares, bosques mixtos. (Van der Zee et. al., 2012)
- Zona de efecto bajo: precipitación pluvial alta (1 600-2 000 mm/año), de 4 a 6 meses secos, evapotranspiración promedio menor de 100 mm/mes. Vegetación: bosques deciduos, bosques siempre verde estacional, algunos pinares, bosques mixtos y bosques ribereños (Van der Zee, et al., 2012).

De acuerdo a la tabla que se muestra a continuación, 11,8 % del área en Guatemala (54 municipios) entran en la clasificación de zona de afectación severa. En El Salvador solo un 4 % del área total del corredor (25 municipios) es afectada potencialmente en grado severo por la sequía. En Honduras el 3,9 % del territorio (33 municipios) puede ser afectado de forma severa. En Nicaragua la sequía puede afectar de forma severa el 11,5 % del área (28 municipios). (Van der Zee, et al., 2012).

Tabla V. **Grados de sequía, superficie afectada (hectáreas) y porcentaje**

| Países | Bajo | % | Alto | % | Severo | % | Total | % |
|--------------|------------------|-------------|------------------|-------------|------------------|------------|-------------------|------------|
| Guatemala | 1 470 685 | 38,3 | 1 917 015 | 49,9 | 453,044 | 11,8 | 3 840,743 | 24,1 |
| El Salvador | 665 728 | 33,7 | 1 231 529 | 62,3 | 78,649 | 4,0 | 1 975,905 | 12,4 |
| Honduras | 2 799 376 | 41,7 | 3 643 828 | 54,3 | 263,643 | 3,9 | 6 706,847 | 42,1 |
| Nicaragua | 1 749 109 | 51,5 | 1 253 616 | 36,9 | 392,050 | 11,5 | 3 394,775 | 21,3 |
| Total | 6 684 899 | 42,0 | 8 045 987 | 50,5 | 1 187,385 | 7,5 | 15 918,271 | 100 |

Fuente: VAN DER ZEE ARIAS, Ambaro, et al. *Estudio de caracterización del Corredor Seco Centroamericano*. p. 98.

2.5.1. **Municipios potencialmente afectados en grado severo de sequía en Guatemala**

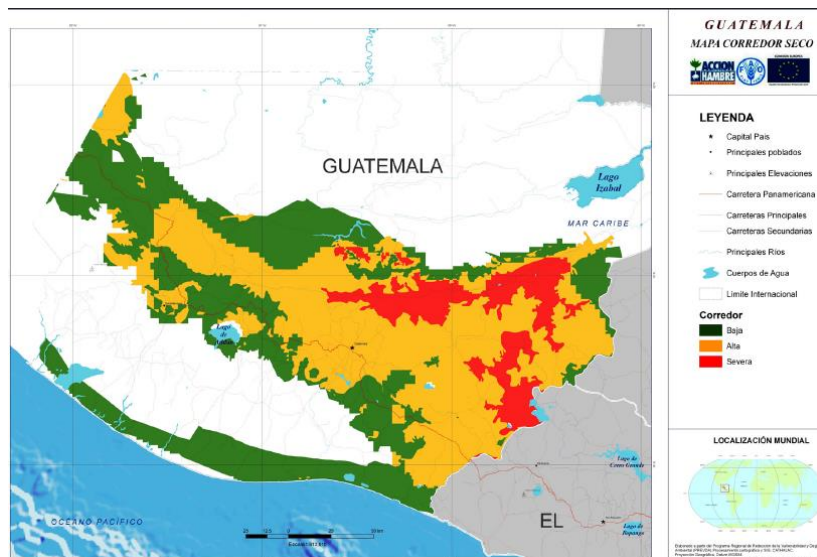
En Guatemala el 11,8 % del área del corredor seco se clasifica de afectación severa, integrando los 54 municipios siguientes (Van der Zee, et al., 2012):

Estanzuela, Asunción Mita, Huité, Guastatoya, Cabaos, San Manuel Chaparrón, San Agustín, Gualán, Jerez, Cabañas, El Progreso, Cubulco, Zapotitlán, San Pedro Pínula, Comapa y San Pedro Ayampuc, Sanarate (centro-norte), El Jícaro, Zacapa (centro-notoeste), Morazán (centro-sur), San José del Golfo (centro-norte), San Luis Jilotepeque (centro-este), Ipala (noroeste y noreste), Chuarrancho (norte y este), Sansare (noreste), Agua Blanca (sur), Teculután (sur), Pachalum (centro-sureste), Usumatlán (sureste), Chiquimula (este), Santa Catarina Mira (este y porción noreste), Monjas (centro-este), San José La Arada (suroeste y porción noreste), Granados (sur),

Atescatempa (noreste), San Antonio La Paz (noroeste), San Diego (centro y oeste), Río Hondo (sur), Salamá (sur y centronorte), El Chol (sur), Jocotán (centro de este a oeste), Rabinal (centro), Camotán (diagonal de suroeste a noreste), San Jerónimo (noroeste), San Jacinto (este), Quetzaltepeque (centro-noreste), San Raymundo (porción norte), San Miguel Chicaj (porciones centro este y centro oeste), San Juan Ermita (porción oeste), San Juan Sacatepéquez (porción norte) y en muy pequeñas áreas afecta a los municipios de: Acasaguastlán (sur), Jutiapa (porción noreste), San Martín Jilotepeque (porción noreste), Cubulco (porción centro este).

El 49,9 % del área de Guatemala que se clasifica en grado de sequía Alto contiene 109 municipios. En el resto de los 148 municipios que conforman el 38,3 % de la superficie del corredor seco de Guatemala, el grado de afectación por sequía es potencialmente bajo. Un municipio puede aparecer en dos categorías cuando sus condiciones orográficas exponen a un área a una sequía baja (parte alta, con más precipitación pluvial), y a otra a una sequía alta (parte baja, sequía orográfica) (Van der Zee y otros, 2012).

Figura 1. **Áreas de Guatemala afectadas por distintos grados de sequía**



Fuente: VAN DER ZEE ARIAS, Ambaro. *Estudio de caracterización del Corredor Seco Centroamericano*. p. 67.

2.5.2. Causas de vulnerabilidad

La vulnerabilidad en la zona está definida por: lluvias irregulares, inundaciones, degradación ambiental, bajos rendimientos de los cultivos, deslizamientos. Como puede verse la mayoría de las causas provienen de un mal manejo de cuenca, ya que la deforestación en las partes altas de la misma causa erosión y degradación de los suelos (disminuyendo su capacidad de producción agrícola), aumento de las áreas de inundación y de potencial deslizamiento, sedimentación de los ríos. Los efectos que se dependen del manejo de las cuencas hacen que el área sea más susceptible y vulnerable al impacto de las canículas (González, 2012).

Los alarmante niveles de pobreza y desnutrición afectan principalmente a las poblaciones rurales, las cuales en países como Guatemala y Honduras tienen una eminente base indígena. Los niños son los más vulnerables, ya que en Guatemala, más de la mitad sufre de desnutrición crónica, en Honduras el 29 %, en Nicaragua afecta al 22 %, y en El Salvador afecta al 19 % de los niños menores de 5 años (González, 2012).

Los países de la región mesoamericana son los que presentan la disminución más grande de cobertura boscosa. Como porcentaje del territorio nacional (período 2005-2010): 2,1 % en Nicaragua, 2 % en Honduras, 1,5 % en Guatemala y 1,5 % en El Salvador. La deforestación es producida por los procesos no controlados de desarrollo, principalmente la ampliación de la frontera agrícola; por lo que áreas del Corredor Seco Centroamericano con vocación forestal han pasado a la producción agropecuaria, volviéndolas más susceptibles a los impactos de las sequías cíclicas. La mayor vulnerabilidad a la sequía la presenta la agricultura de subsistencia y pequeñas comunidades rurales afectadas por la reducción considerable de las fuentes de agua potable. La degradación del 12 % del territorio guatemalteco ha tenido un costo económico para el país que supera los 2 000 millones de dólares americanos, afectando principalmente a la región donde se ubica la mayor parte de la población en condiciones de pobreza extrema (González, 2012).

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

Las variables de esta investigación tienen dos aspectos: microbiológicos y edáficos.

3.1.1. Variables microbiológicas

A continuación se muestra las variables microbiológicas en la tabla VI.

Tabla VI. **Variables microbiológicas de especificación**

| Variable | Unidad |
|---------------------|--|
| Recuento microbiano | <ul style="list-style-type: none">• UFC/gr• Nro. de microorganismos por mililitro |
| Tipos Morfológicos | <ul style="list-style-type: none">• Cocos• Bacilos• Espirilos |

Fuente: elaboración propia, según las variables requeridas en el laboratorio de microbiología.

3.1.2. Variables edáficas

El trabajo se materializa en el análisis de una serie de variables edáficas estudiadas a varias escalas y diferentes esquemas.

Tabla VII. **Variables edáficas de especificación**

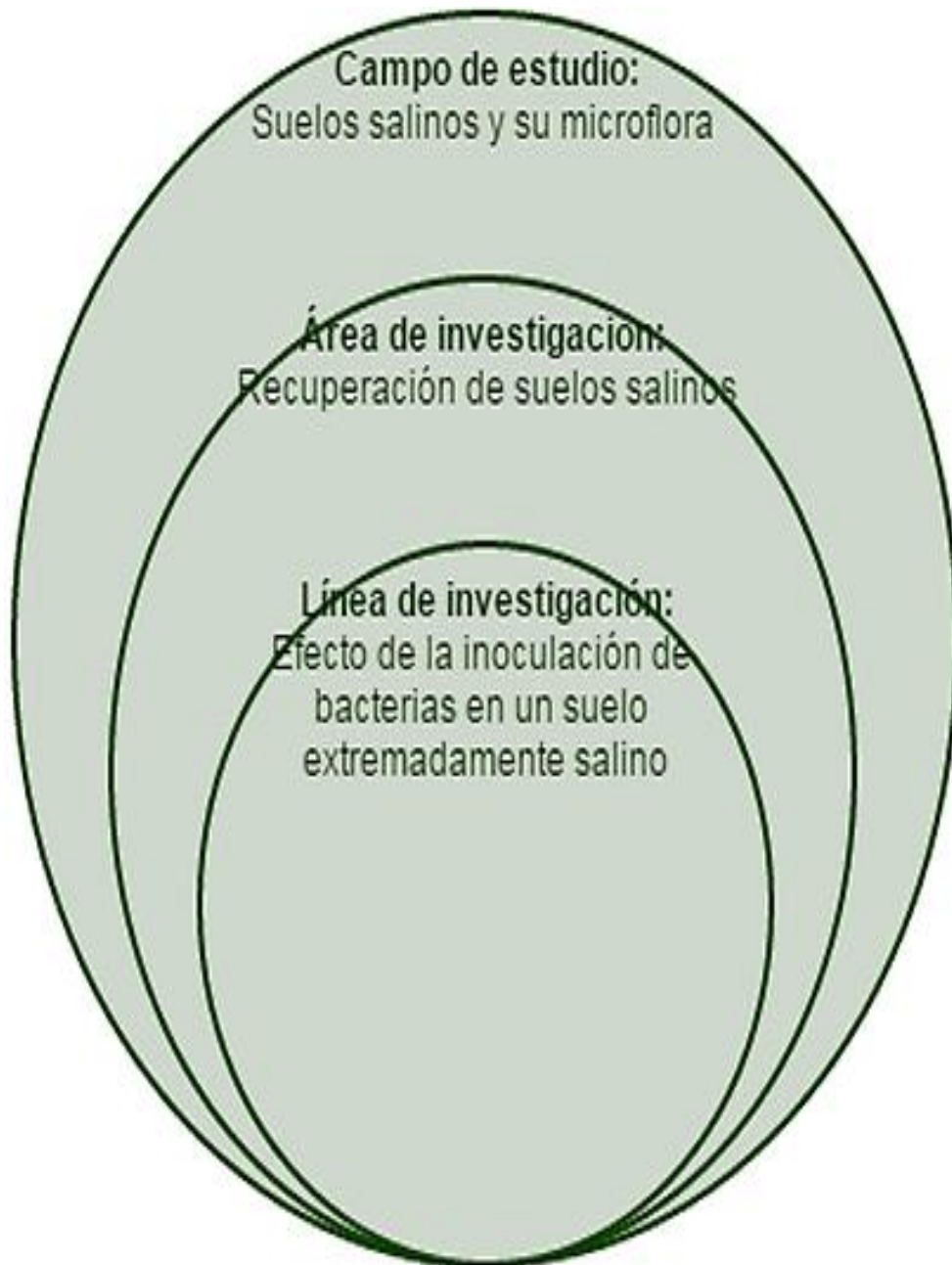
| Variable | Unidad |
|-------------------------|---------------|
| Conductividad eléctrica | dS/m |
| %Carbono orgánico | % |
| %Materia orgánico | % |
| pH | - |
| Na | (meq/L) |
| K | (meq/L) |
| Arena | % |
| Limo | % |
| Arcilla | % |

Fuente: elaboración propia, según variables requeridas en el laboratorio de edafología.

3.2. Delimitación del campo de estudio

El estudio del efecto de la inoculación de bacterias nativas en un suelo extremadamente salino posee un carácter experimental cuantitativo; ya que los objetivos requieren una interpretación de la variación de los parámetros edáficos, con el propósito de determinar si existió o no un efecto sobre las sales disueltas de un suelo extremadamente salino.

Figura 2. **Delimitación del campo de estudio**



Fuente: elaboración propia.

3.3. Recursos humanos disponibles

- Investigador: Carlos Roberto Calderón del Cid
- Asesora: licenciada Susana Pernasetti
- Asesora: licenciada Olga Pernasetti
- Asesor: Juan Carlos Montepeque
- Laboratorista: Juan Carlos Barros
- Auxiliar de investigación: Julia Fernández Santos

3.4. Recursos materiales disponibles

- Insumos y equipo empleado para la obtención de suelo salino
 - Suelo salino del departamento de Fray Mamerto Esquiú
 - Pala de excavación
 - Tamiz #10
 - Macetas plásticas de medio kilogramo
 - Balanza analítica marca Sartorius
- Insumos y equipo empleados para la fabricación de medios de cultivo
 - Balanza analítica marca Sartorius
 - Refrigerador marca Conqueror HCO-C1200/1
 - Matraces Earlenmeyer de 250 mL
 - Drogas y reactivos
 - Vasos de precipitación
 - Tubos de ensayo
 - Pipetas

- Insumos y equipo empleados en el recuento de viables:
 - Soluciones fisiológicas (ver anexo)
 - Espátula de Drigalsky
 - Estufa de incubación marca ELIBET
 - Medio de cultivo Caldo Agar (ver anexo)
 - Cámara de flujo laminar marca ESCO Airstream
 - Solución de pirofosfato de sodio al 1:1000. $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$
 - Tubos de ensayo
 - Cajas de Petri
 - Probetas
 - Pipetas
 - Contador de colonias marca Mauricio Mossé

- Insumos y equipo empleados en el recuento directo en cámara de Neubauer:
 - Inóculo preparado
 - Tubos de ensayo
 - Cámara de Neubauer
 - Microscopio marca Leitz Wetzlar

- Insumos y equipo empleado en la determinación de características fisicoquímicas del suelo salino:
 - 500 gramos de suelo salino
 - Tamiz #20
 - Conductímetro
 - Potenciómetro

- *Beakers* de 100 mililitros
- Fotómetro de llama
- Dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$
- Ácido sulfúrico. H_2SO_4
- Sal de Mohr. $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 * 6H_2O$
- Ferroína

3.5. Técnica cualitativa o cuantitativa

Ambos enfoques serán empleados durante la investigación. El enfoque cualitativo está vinculado con la apreciación y obtención de muestras de suelo salino en el departamento de Fray Mamerto Esquiú. Asimismo, se empleará para el reconocimiento de diferentes tipos de colonias y microorganismos en el medio de cultivo salinizado. El enfoque cuantitativo se utilizará en la determinación de las propiedades fisicoquímicas del suelo salino a lo largo de la experimentación. También se empleará para determinar el número efectivo de microorganismos en el suelo y en el inóculo que se verterá en el suelo.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

Se extrajeron 15 kilogramos de suelo salino localizado en el departamento de Fray Mamerto Esquiú, Catamarca, Argentina. La extracción se efectuó con pala, a una profundidad aproximada entre 0 y 20 centímetros.

Figura 3. **Extracción de la muestra a partir de una floración salina**



Fuente: departamento de Fray Mamerto Esquiú.

Inmediatamente en el laboratorio se tamizó la muestra (tamiz Nro 10) para separar grava y restos vegetales.

Se separaron 500 gramos de suelo para realizar los estudios microbiológicos y se lo colocó en refrigeración (8 °C).

Con el resto de material tamizado se llenaron macetas de 500 gramos cada una. En total se obtuvieron 30 macetas, que conformaron el universo muestral. A lo largo del tiempo experimental se mantuvieron con humedad a capacidad de campo.

Figura 4. **Macetas conteniendo muestras de suelo extremadamente salino**



Fuente: departamento de Fray Mamerto Esquiú.

Inmediatamente se realizaron pruebas pilotos de siembra, en el medio de cultivo caldo agar con distintas concentraciones de NaCl (1, 2 y 3 %) para observar crecimiento microbológico. Se determinó que el crecimiento colonial en las 3 concentraciones no presentaba grandes diferencias por lo que se eligió el medio con 3 % de NaCl.

Figura 5. **Medios nutritivos agarizados NaCl (1, 2 y 3 %)**

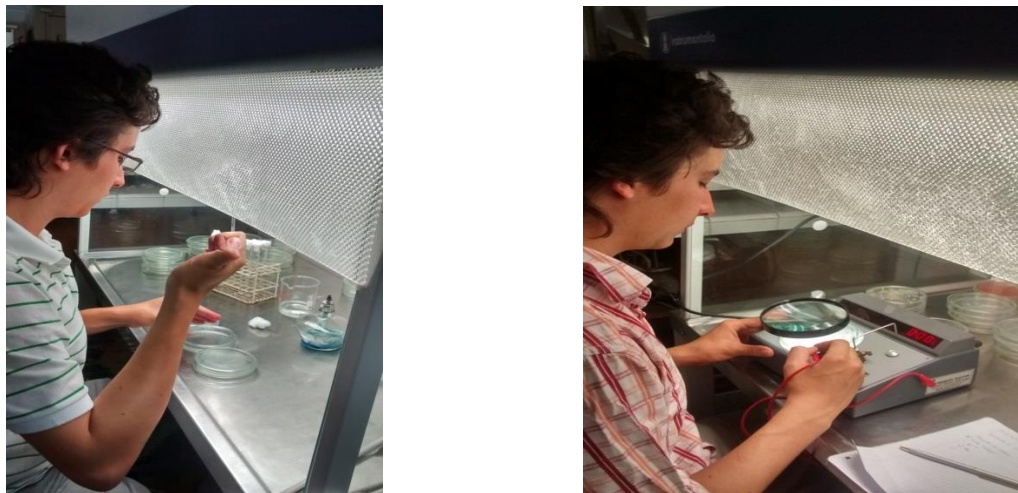


Fuente: departamento de Fray Mamerto Esquiú.

Medio escogido: caldo extracto de carne agarizado con NaCl 3 %.

Para determinar el número de microorganismos nativos del suelo en estudio se realizó un recuento de viables con tres repeticiones en caldo agarizado con una concentración de NaCl del 3 %.

Figura 6. **Recuento de viables de la muestra inicial**



Fuente: Laboratorio de edafología.

Se preparó un inoculante a partir de colonias crecidas en dicho medio a través de cosecha directa. Al inoculante se le realizó un recuento microscópico en cámara de Neubauer. Inmediatamente se inoculó 50 mililitros en cada una de las macetas; separando 10 macetas testigos sin inocular.

Simultáneamente a la inoculación de las macetas se efectuaron los análisis de las propiedades fisicoquímicas de las macetas testigos en el laboratorio de edafología. Los resultados de los mismos se emplearon como parámetro de comparación para los posteriores estudios.

Los análisis efectuados fueron:

- Determinación de la conductividad eléctrica.
- Medición del porcentaje de materia orgánica por el método de Walkey y Black.

- Determinación de la textura.
- Determinación del pH.
- Determinación de la cantidad de sodio y potasio elemental a través de fotómetro de llama.

Figura 7. **Conductímetro y batidora de textura**



Fuente: Laboratorio de edafología.

Los mismos análisis se efectuaron sobre las muestras inoculadas en el siguiente lapso a partir del día de la inoculación:

- 2 semanas
- 3 semanas
- 4 semanas
- 5 semanas

A partir de la muestra testigo se realizaron siembras en el medio mencionado para su determinación colonial y observación microscópica de los mismos.

Figura 8. **Fijación y observación microscópica de bacterias**



Fuente: Laboratorio de edafología.

Al final del tiempo experimental se volvió a efectuar un recuento de viables en una muestra de suelo testigo y en una muestra de suelo inoculado.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

El proceso de tabulación consiste en el recuento de los datos que están contenidos en los cuestionarios.

3.7.1. Tabulación de la información

Las tablas para la tabulación de la información obtenida en la investigación se hallan en la sección de anexos. Inmediatamente se exponen las tablas disponibles empleadas para la tabulación de resultados.

- Resumen análisis de varianza pH
 - Apéndice núm. 3
- Resumen análisis de varianza Conductividad eléctrica
 - Apéndice núm. 4
- Resumen análisis de varianza Sodio elemental
 - Apéndice núm. 5
- Resumen análisis de varianza Potasio elemental
 - Apéndice núm. 6
- Resumen análisis de varianza Porcentaje Materia Orgánica
 - Apéndice núm. 7
- Recuento de viables; muestra inicial
 - Apéndice núm. 8
- Recuento microscópico en Cámara de Neubauer (inóculo)
 - Apéndice núm. 9
- Recuento de viables; suelo testigo 5 semanas
 - Apéndice núm. 10
- Recuento de viables; suelo inoculado 5 semanas
 - Apéndice núm. 11

3.8. Análisis estadístico

La estadística es una ciencia formal y una herramienta que estudia el uso y los análisis provenientes de una muestra representativa de datos.

3.8.1. Plan de muestreo

El objetivo de este trabajo de investigación no implica un análisis de los distintos suelos salinos del área. La satisfacción del mismo se llevó a cabo a través de una única extracción de suelo salino. Para esto se eligió el departamento de Fray Mamerto Esquiú, Catamarca, ya que este cuenta con múltiples floraciones salinas a lo largo y ancho de toda su extensión. En la siguiente fotografía es apreciable este fenómeno.

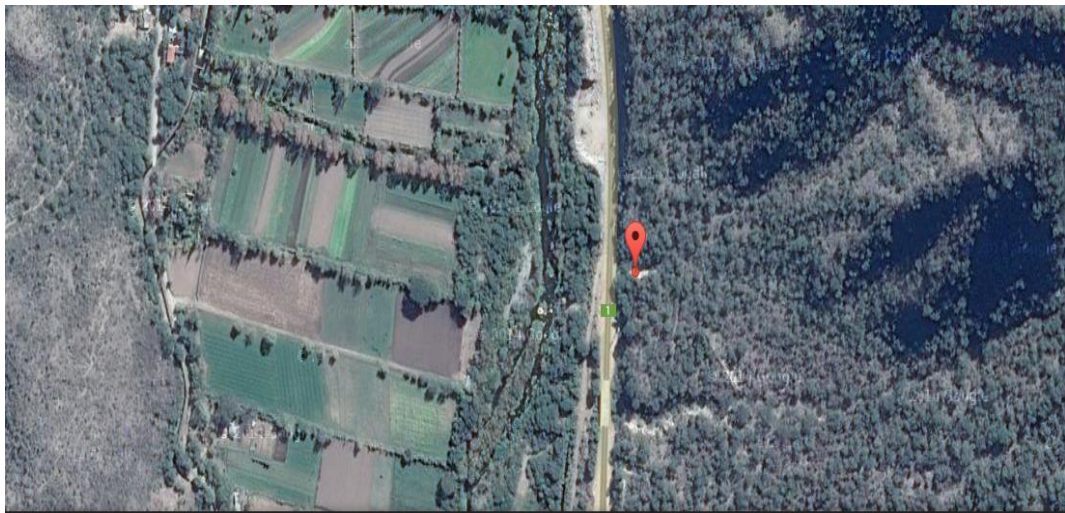
Figura 9. **Floración salina en Fray Mamerto Esquiú**



Fuente: Catamarca, Argentina.

A continuación se muestra la ubicación exacta de la extracción de la muestra de suelo. Como puede apreciarse, esta extracción se hizo a la orilla de la carretera.

Figura 10. **Localización punto exacto de la extracción de la muestra**



Fuente: elaboración propia, a través de Google Maps.

Tabla VIII. **Coordenadas geográficas del sitio de extracción**

| | |
|-----------------|------------------------------|
| Latitud | 28° 17' 37.2" S (-28,293680) |
| Longitud | 65° 43' 19.7" W (-65,722138) |

Fuente: elaboración propia, según directrices de Google Maps.

Se hará una breve reseña de las áreas salinizadas del departamento de Fray Mamerto Esquiú, Catamarca:

3.8.1.1. Ubicación

Se ubica bajo las coordenadas geográficas de 28° 17' a 28° 25' latitud sur; y de 65° 42' a 65° 44' longitud oeste. Esta llanura presenta suelos con problemas de anegamientos por elevación de napas freáticas, salinización y aumentos de los contenidos de sodio soluble e intercambiable. Las causas de tales problemas son naturales y antropogénicas. La tendencia de la napa freática a ascender causa que los horizontes superiores se humedezcan con el agua subterránea, y que al evaporarse se depositen las sales y los iones de sodio en los horizontes más próximos a la superficie (Watkins y Roca, 2006).

3.8.1.2. Órdenes del suelo salino

- Orden Molisol: suelos básicos, ricos en nutrientes, de color oscuro. Soporte de pastizales en zonas templadas. Casi todos poseen un epipedón mólico y muchos tienen un horizonte Argílico (rico en arcilla), nátrico (saturado con sodio) o cálcico. En general se han formado en el pleistoceno tardío u holoceno (Watkins y Roca, 2006).
- Orden Aridisol: se presentan en ambientes áridos. Escasa humedad. Tienen un contenido elevado de sales alcalinas y alcalinotérreas. La morfología del perfil es muy variada; puede poseer un horizonte argílico, o nátrico, o cálcico, o petrocálcico, o gypico, o petrogypico, o duripán, o alguna combinación de ellos. Pueden haberse formado en el clima actual o de una época previa (Watkins y Roca, 2006).

3.8.1.3. Grupos del suelo salino

- Gran Grupo Calciustol oxiácuico. pipedón mólico de 31 cm de espesor. Texturas francoarenosas finas en superficie, alcanzando arenosas francas en profundidad. Carbono orgánico moderado en superficie. Los pH son fuertemente alcalinos en superficie aunque disminuye en función de la profundidad. La conductividad eléctrica es muy alta en superficie pero baja a profundidad. Los valores RAS son altos. Nitrógeno superficial moderado, fósforo bajo y disponibilidad de potasio muy buena. La CIC es alta (Watkins y Roca, 2006)
- Gran Grupo Calciorthid ácuico. Texturas francoarenosas. Estructura de bloques medios y finos. Calcáreo alto en superficie disminuyendo en profundidad. Los pH moderadamente alcalinos. Conductividad eléctrica moderada. Nitrógeno y fósforo muy bajos. CIC moderada. Humedad por encima del 30 %.

Tabla IX. **Características físicas de los suelos del departamento de Fray Mamerto Esquiú, Catamarca**

| Características | Descripción |
|-----------------|---|
| Textura | Francoarenosa; Arena entre 55 y 70 %. Arcilla entre 1 y 15 %. Limo entre 25 a 35 %. |
| Estructura | Bloques angulares medios y finos. Ausencia de estructura columnar típica de suelos sódicos. |
| Consistencia | En húmedo, friable. Ligeramente adhesivos. De no plásticos a ligeramente plásticos. |
| Concreciones | Tipo "muñeca". Rango de tamaños entre 2 a 10 mm. |

Fuente: WATKINS, Pablo Hernán; ROCA, Nuria. *Mapa de suelos detallado de las áreas salinizadas del departamento Fray Mamerto Esquiú*. p. 78.

Tabla X. **Características químicas de los suelos del departamento de Fray Mamerto Esquiú, Catamarca**

| Características | Descripción |
|---|---|
| Potencial de hidrógeno (pH) | Oscilan entre 7,5 a 8,5. Existen de 9 cuando prevalece un alto nivel de sodio. |
| Conductividad eléctrica (dS/m) | 10 % de suelos menor a 4 dS/m 30 % de suelos entre 4 y 8 dS/m 30 % de suelos entre 8 y 16 dS/m 30 % de suelos mayor a 16 dS/m A medida que se profundiza la conductividad decae |
| Carbonato de calcio libre (%) | Fluctúan entre 6 y 16 %; por lo que el contenido de calcio oscila entre alto y excesivo. |
| Capacidad de intercambio catiónico (meq/100 gr suelo) | Oscila entre 10 y 20 meq/100 gr suelo. Oscila entre moderada y alta. |
| Relación de Absorción de Sodio (RAS) | Supera el valor límite de 13. Los suelos son sódicos. |
| Materia orgánica (%) | El contenido de materia orgánica varía ampliamente de un suelo a otro. De 3,8 a menores de 1,3 %. Por lo que el contenido oscila de bueno hasta muy bajo. |
| Nitrógeno total (%) | Se asocia con la materia orgánica. Debido a esto oscila significativamente. Varía de 0.3% hasta 0.075%. |
| Potasio Disponible (índice delta F) | Los niveles obtenidos para este indicador se han calificado como excelentes y muy buenos. |

Fuente: WATKINS, Pablo Hernán; ROCA, Nuria. *Mapa de suelos detallado de las áreas salinizadas del departamento Fray Mamerto Esquiú*. p. 56.

3.8.2. Tratamiento estadístico de datos

Los datos obtenidos a lo largo de la experimentación fueron tratados de la siguiente forma:

3.8.2.1. Cálculos estadísticos

- Cálculo de la media muestral

Media muestral:
$$\bar{X}_i = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i$$

Donde:

- \bar{X} Media muestral.
- X_i Valor de la repetición i .
- N Número total de datos x_i .

- Cálculo del análisis de varianza

El análisis de varianza es una técnica estadística que es empleada para determinar si las diferencias que existen entre las medias de tres o más grupos son estadísticamente significativas. Para su cálculo se emplearon las funciones del software Excel 2007.

Siendo P= Probabilidad y alfa= 0,05:

Si valor P < alfa rechazo H_0 (es decir, sí hay diferencia significativa entre los valores).

Si valor de $P > \alpha$ acepto H_0 (es decir, no hay diferencia significativa entre los valores).

$$H_0 = \mu_{\text{Test.1}} = \mu_{\text{Test.3}} = \mu_{\text{Sem.2}} = \mu_{\text{Sem.3}} = \mu_{\text{Sem4}} = \mu_{\text{Sem5}}$$

4. RESULTADOS

4.1. Determinaciones analíticas

A diferencia del análisis técnico, las determinaciones analíticas, tienen por objetivo obtener un verdadero valor de contenido.

4.1.1. Generales; todos los parámetros edáficos

Parámetros edáficos como indicadores de calidad, debido a que es un componente fundamental, a continuación en la tabla XI se muestran parámetros generales.

Tabla XI. Parámetros generales

| | | pH | Ce (dS/m) | Na (meq/L) | K (meq/L) | %MO |
|------------------|---|-------|-----------|------------|-----------|-------|
| Testigo inicial | 1 | 10,55 | 71,3 | 767,2 | 47,23 | 1,23 |
| | 2 | 10,62 | 65,5 | 743,4 | 54,12 | 1,32 |
| | 3 | 10,73 | 70,1 | 755,9 | 39,56 | 0,82 |
| | 4 | 10,90 | 65,90 | 747,90 | 40,37 | 0,80 |
| | x | 10,7 | 68,20 | 753,60 | 45,32 | 1,043 |
| Testigo 3 semana | 1 | 10,8 | 75,4 | 835,6 | 55,3 | 2,32 |
| | 2 | 10,73 | 85,6 | 817,3 | 47,64 | 2,41 |
| | 3 | 10,59 | 82,5 | 824,1 | 39,45 | 2,78 |
| | 4 | 10,88 | 86,9 | 812,6 | 54,01 | 2,89 |
| | x | 10,75 | 82,60 | 822,40 | 49,10 | 2,60 |

Continuación de la tabla XI.

| | | | | | | |
|-----------|---|-------|-------|--------|-------|-------|
| 2 semanas | 1 | 10,67 | 73,80 | 834,90 | 56,46 | 1,38 |
| | 2 | 10,35 | 78,20 | 807,40 | 53,26 | 2,36 |
| | 3 | 10,78 | 81,90 | 884,40 | 57,26 | 1,79 |
| | 4 | 10,77 | 80,90 | 843,10 | 52,46 | 1,60 |
| | x | 10,64 | 78,70 | 84,45 | 54,86 | 1,783 |
| 3 semanas | 1 | 10,20 | 88,20 | 90,.53 | 66,65 | 2,45 |
| | 2 | 10.32 | 85.80 | 862.50 | 61.58 | 2.87 |
| | 3 | 10.64 | 94.90 | 901.03 | 69.48 | 2.76 |
| | 4 | 10.53 | 84.80 | 852.08 | 51.44 | 2.47 |
| | x | 10.42 | 88.43 | 880.54 | 62.29 | 2.638 |
| 4 semanas | 1 | 10,56 | 75,20 | 755,40 | 47,93 | 1,71 |
| | 2 | 10,65 | 82,50 | 841,40 | 61,19 | 1,79 |
| | 3 | 10,66 | 92,60 | 773,0 | 68,21 | 1,98 |
| | 4 | 10,66 | 77,80 | 790,0 | 51,44 | 1,98 |
| | x | 10,63 | 82,03 | 790,5 | 57,19 | 1,87 |
| 5 semanas | 1 | 10,07 | 69,60 | 754,0 | 65,09 | 1,95 |
| | 2 | 10,80 | 68,60 | 805,90 | 55,4 | 1,84 |
| | 3 | 10,77 | 72,50 | 768,90 | 58,6 | 1,25 |
| | 4 | 10,87 | 91,20 | 889,90 | 69,7 | 1,41 |
| | x | 10,63 | 75,48 | 804,90 | 62,17 | 1,61 |

Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

4.1.2. pH

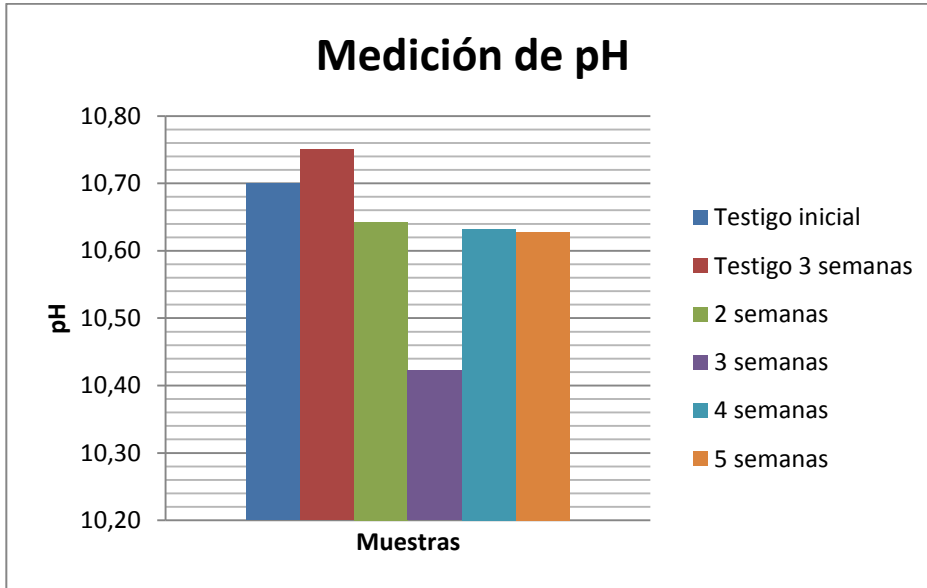
El pH es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución.

Tabla XII. **Resultados de pH**

| | | pH | Promedio |
|-------------------|---|-------|----------|
| Testigo inicial | 1 | 10,55 | 10,70 |
| | 2 | 10,62 | |
| | 3 | 10,73 | |
| | 4 | 10,90 | |
| Testigo 3 semanas | 1 | 10,8 | 10,75 |
| | 2 | 10,73 | |
| | 3 | 10,59 | |
| | 4 | 10,88 | |
| 2 semanas | 1 | 10,67 | 10,64 |
| | 2 | 10,35 | |
| | 3 | 10,78 | |
| | 4 | 10,77 | |
| 3 semanas | 1 | 10,20 | 10,42 |
| | 2 | 10,32 | |
| | 3 | 10,64 | |
| | 4 | 10,53 | |
| 4 semanas | 1 | 10,56 | 10,63 |
| | 2 | 10,65 | |
| | 3 | 10,66 | |
| | 4 | 10,66 | |
| 5 semanas | 1 | 10,07 | 10,63 |
| | 2 | 10,80 | |
| | 3 | 10,77 | |
| | 4 | 10,87 | |

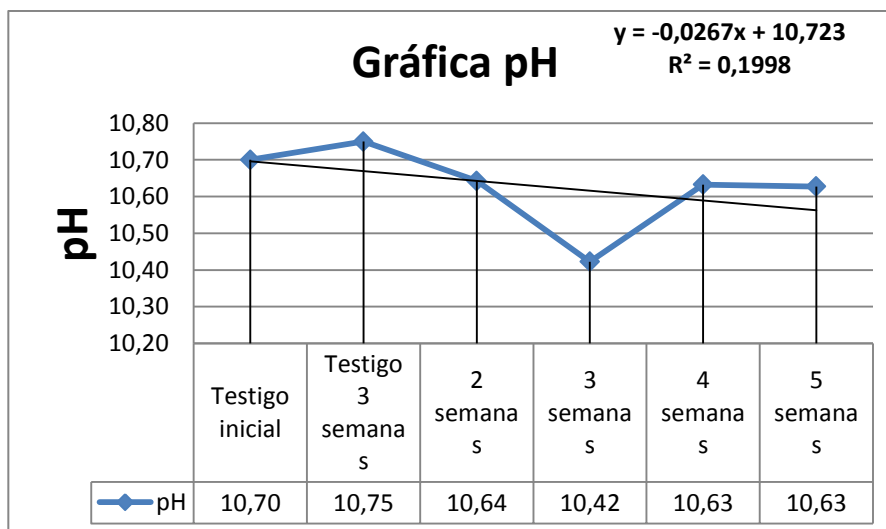
Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 11. Medición de pH



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 12. Línea de tendencia de pH



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

4.1.2.1. Análisis de varianza del pH

Análisis de la varianza es una colección de modelos estadísticos y sus procedimientos asociados.

Tabla XIII. Análisis de varianza del pH

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|---------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 0,250083333 | 5 | 0,050016667 | 1,150837 3 | 0,370498103 | 2,77285315 3 |
| Dentro de los grupos | 0,7823 | 18 | 0,043461111 | | | |
| Total | 1,032383333 | 23 | | | | |

Fuente: elaboración propia, a través de Excel.

Si valor $P < \alpha$ rechazo H_0

Si valor de $P > \alpha$ acepto H_0

$H_0 = \mu_{\text{Test.1}} = \mu_{\text{Test.3}} = \mu_{\text{Sem.2}} = \mu_{\text{Sem.3}} = \mu_{\text{Sem.4}} = \mu_{\text{Sem.5}}$

Valor de P 0,370498103 $>$ alfa 0,05

Según el porcentaje de probabilidad entre los resultados obtenidos (<95,95 %) se puede indicar que "no existen diferencias significativas" entre los valores medios de pH de las diferentes semanas en las que se ha llevado a cabo el análisis.

4.1.3. Conductividad eléctrica

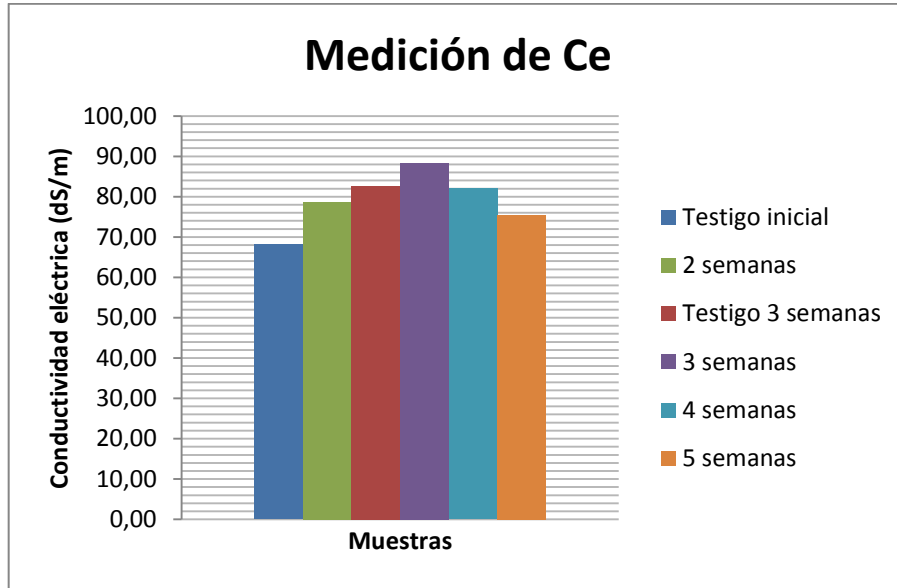
Es la medida de la capacidad de un material para dejar libremente la corriente eléctrica.

Tabla XIV. Resultados de la conductividad eléctrica (Ce)

| | | Ce | Promedio |
|-------------------|---|-------|----------|
| Testigo inicial | 1 | 71,3 | 68,20 |
| | 2 | 65,5 | |
| | 3 | 70,1 | |
| | 4 | 65,90 | |
| 2 semanas | 1 | 73,80 | 78,70 |
| | 2 | 78,20 | |
| | 3 | 81,90 | |
| | 4 | 80,90 | |
| Testigo 3 semanas | 1 | 7,4 | 82,6 |
| | 2 | 85,6 | |
| | 3 | 82,5 | |
| | 4 | 86,9 | |
| 3 semanas | 1 | 88,20 | 88,43 |
| | 2 | 85,80 | |
| | 3 | 94,90 | |
| | 4 | 84,80 | |
| 4 semanas | 1 | 75,20 | 82,03 |
| | 2 | 82,50 | |
| | 3 | 92,60 | |
| | 4 | 77,80 | |
| 5 semanas | 1 | 69,60 | 75,48 |
| | 2 | 68,60 | |
| | 3 | 72,50 | |
| | 4 | 91,20 | |

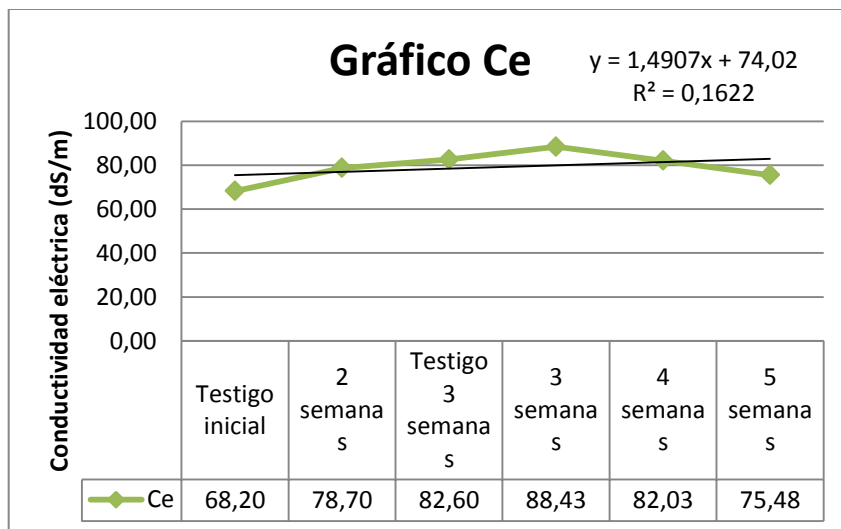
Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 13. **Medición conductividad eléctrica**



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 14. **Línea de tendencia de la conductividad eléctrica (Ce)**



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

4.1.3.1. Análisis de varianza de conductividad eléctrica

A continuación en la tabla XV se describe el análisis de varianza de conductividad eléctrica.

Tabla XV. Análisis de varianza conductividad eléctrica

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-----------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 959,03375 | 5 | 191,80675 | 4,7892985 | 0,005861294 | 2,772853153 |
| Dentro de los grupos | 720,8825 | 18 | 40,04902778 | | | |
| | | | | | | |
| Total | 1 679,91625 | 23 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con programa de Excel.

Si valor $P < \alpha$ rechazo H_0

Si valor de $P > \alpha$ acepto H_0

$H_0 = \mu_{\text{Test.1}} = \mu_{\text{Test.3}} = \mu_{\text{Sem.2}} = \mu_{\text{Sem.3}} = \mu_{\text{Sem.4}} = \mu_{\text{Sem.5}}$

Valor de P 0,005861294 < α 0,05

Según el porcentaje de probabilidad entre los resultados obtenidos (<95,95 %) podemos indicar que "sí existen diferencias significativas" entre los valores medios de conductividad eléctrica de las diferentes semanas en las que se ha llevado a cabo el análisis.

4.1.4. Sodio elemental

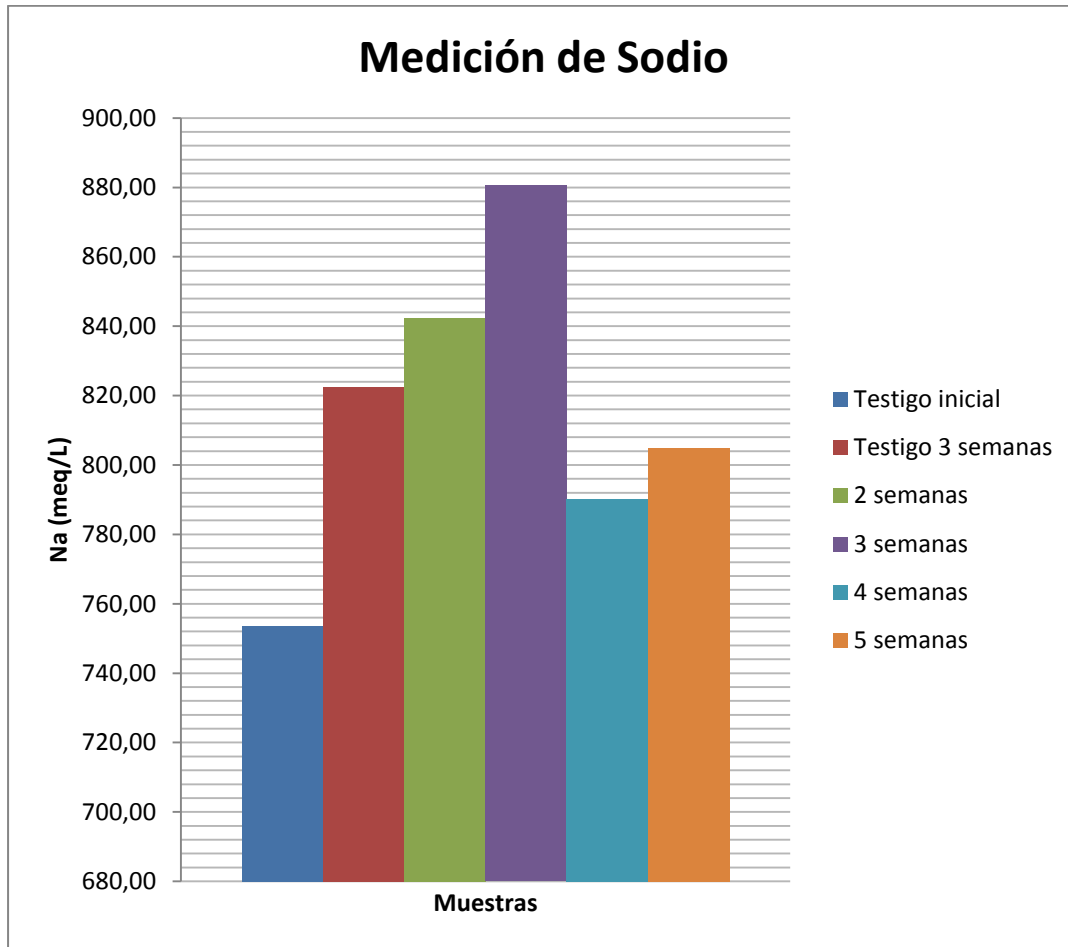
Es un elemento químico, está presente en grandes cantidades en el océano en forma iónica, también es un componente de muchos minerales y un elemento esencial para la vida.

Tabla XVI. Resultados de sodio elemental (Na)

| | | Na | Promedio |
|-------------------|---|--------|----------|
| Testigo inicial | 1 | 767,2 | 753,60 |
| | 2 | 743,4 | |
| | 3 | 755,9 | |
| | 4 | 747,90 | |
| Testigo 3 semanas | 1 | 835,6 | 822,4 |
| | 2 | 817,3 | |
| | 3 | 824,1 | |
| | 4 | 812,6 | |
| 2 semanas | 1 | 834,90 | 842,45 |
| | 2 | 807,40 | |
| | 3 | 884,40 | |
| | 4 | 843,10 | |
| 3 semanas | 1 | 906,53 | 880,54 |
| | 2 | 862,50 | |
| | 3 | 901,03 | |
| | 4 | 852,08 | |
| 4 semanas | 1 | 755,40 | 790,15 |
| | 2 | 841,40 | |
| | 3 | 773,40 | |
| | 4 | 790,40 | |
| 5 semanas | 1 | 754,90 | 804,90 |
| | 2 | 805,90 | |
| | 3 | 768,90 | |
| | 4 | 889,90 | |

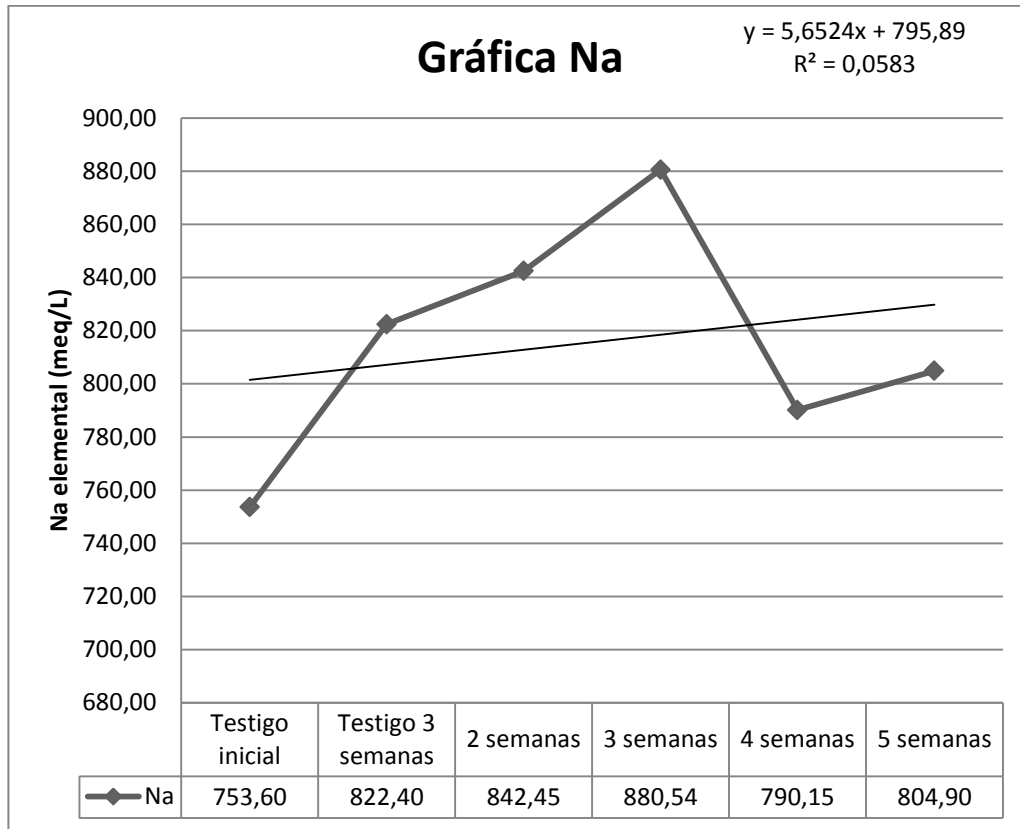
Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 15. Medición de sodio elemental (Na)



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 16. Línea de tendencia de sodio elemental (Na)



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

4.1.4.1. Análisis de varianza de sodio elemental

A continuación en la tabla XVII se muestra el análisis de la varianza de sodio elemental.

Tabla XVII. **Análisis de varianza sodio elemental**

| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>Grados de libertad</i> | <i>Promedio de los cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
|----------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|-----------------|---------------------|-----------------------------|
| Entre grupos | 38 359,51075 | 5 | 7 671,90215 | 6,563672 286 | 0,001218087 | 2,77285 3153 |
| Dentro de los grupos | 21 039,1733 | 18 | 1 168,842961 | | | |
| | | | | | | |
| Total | 59 398,68405 | 23 | | | | |

Fuente: elaboración propia, a través de Excel.

Si valor $P < \alpha$ rechazo H_0

Si valor de $P > \alpha$ acepto H_0

$H_0 = \mu_{\text{Test.1}} = \mu_{\text{Test.3}} = \mu_{\text{Sem.2}} = \mu_{\text{Sem.3}} = \mu_{\text{Sem.4}} = \mu_{\text{Sem.5}}$

Valor de P 0,001218087 < α 0,05

Según el porcentaje de probabilidad entre los resultados obtenidos (<95,95 %) se puede indicar que "sí existen diferencias significativas" entre los valores medios de sodio elemental de las diferentes semanas en las que se ha llevado a cabo el análisis.

4.1.5. Potasio elemental

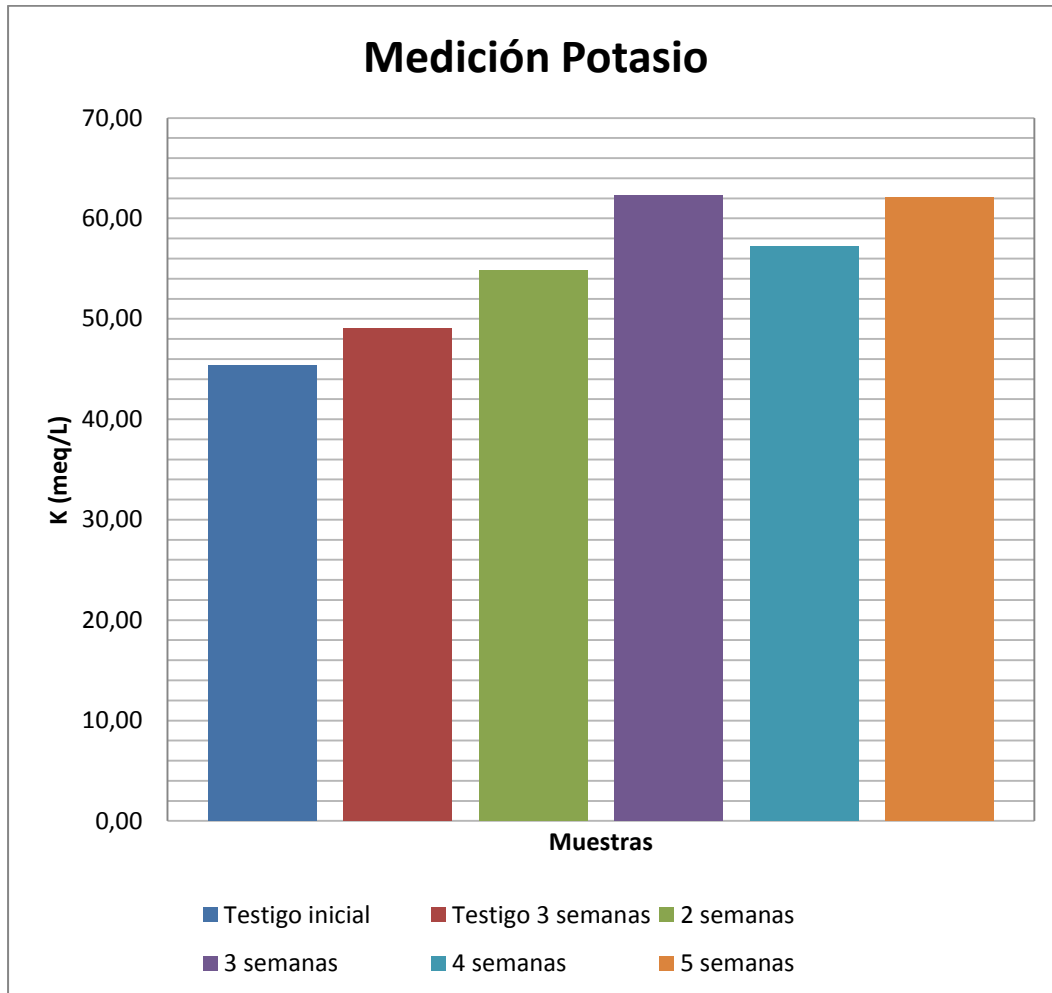
Es un mineral elemental en nuestro organismo debido a que realiza funciones básicas como la regulación del agua dentro y fuera de las células.

Tabla XVIII. **Resultados de potasio elemental (K)**

| | | K | Promedio |
|--------------------------|---|----------|-----------------|
| Testigo inicial | 1 | 47,23 | 45,32 |
| | 2 | 54,12 | |
| | 3 | 39,56 | |
| | 4 | 40,37 | |
| Testigo 3 semanas | 1 | 55,3 | 49,1 |
| | 2 | 47,64 | |
| | 3 | 39,45 | |
| | 4 | 54,01 | |
| 2 semanas | 1 | 56,46 | 54,86 |
| | 2 | 53,26 | |
| | 3 | 57,26 | |
| | 4 | 52,46 | |
| 3 semanas | 1 | 66,65 | 62,29 |
| | 2 | 61,58 | |
| | 3 | 69,48 | |
| | 4 | 51,44 | |
| 4 semanas | 1 | 47,93 | 57,19 |
| | 2 | 61,19 | |
| | 3 | 68,21 | |
| | 4 | 51,44 | |
| 5 semanas | 1 | 65,09 | 62,17 |
| | 2 | 55,34 | |
| | 3 | 58,46 | |
| | 4 | 69,77 | |

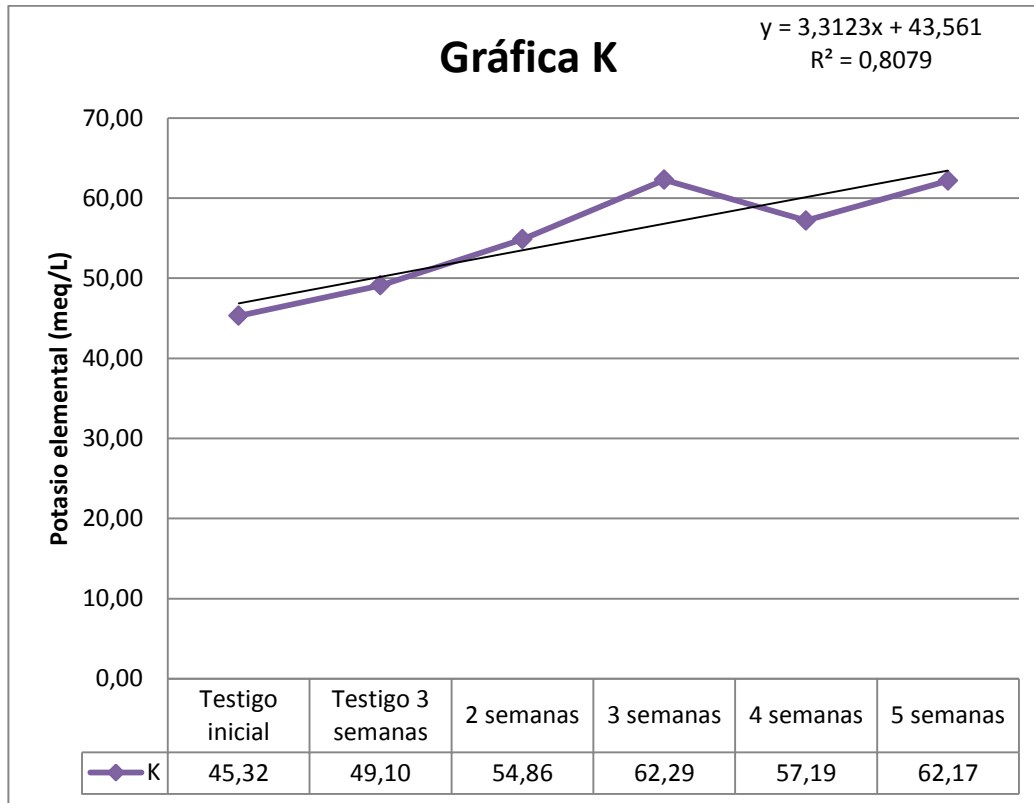
Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 17. **Medición de potasio elemental (K)**



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 18. Línea de tendencia de potasio elemental (k)



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

4.1.5.1. Análisis de varianza de potasio elemental

A continuación en la tabla XIX se muestra el análisis de varianza de potasio elemental.

Tabla XIX. Análisis de varianza de potasio elemental

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-----------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 950,565333 3 | 5 | 190,1130667 | 3,8663026 | 0,014829642 | 2,772853153 |
| Dentro de los grupos | 885,09245 | 18 | 49,17180278 | | | |
| Total | 1835,65778 3 | 23 | | | | |

Fuente: elaboración propia, a través de Excel.

Si valor $P < \alpha$ rechazo H_0

Si valor de $P > \alpha$ acepto H_0

$H_0 = \mu_{\text{Test.1}} = \mu_{\text{Test.3}} = \mu_{\text{Sem.2}} = \mu_{\text{Sem.3}} = \mu_{\text{Sem.4}} = \mu_{\text{Sem.5}}$

Valor de P 0,014829642 < α 0,05

Según el porcentaje de probabilidad entre los resultados obtenidos (<95,95 %) indica que "sí existen diferencias significativas" entre los valores medios de potasio elemental de las diferentes semanas en las que se ha llevado a cabo el análisis.

4.1.6. Materia orgánica

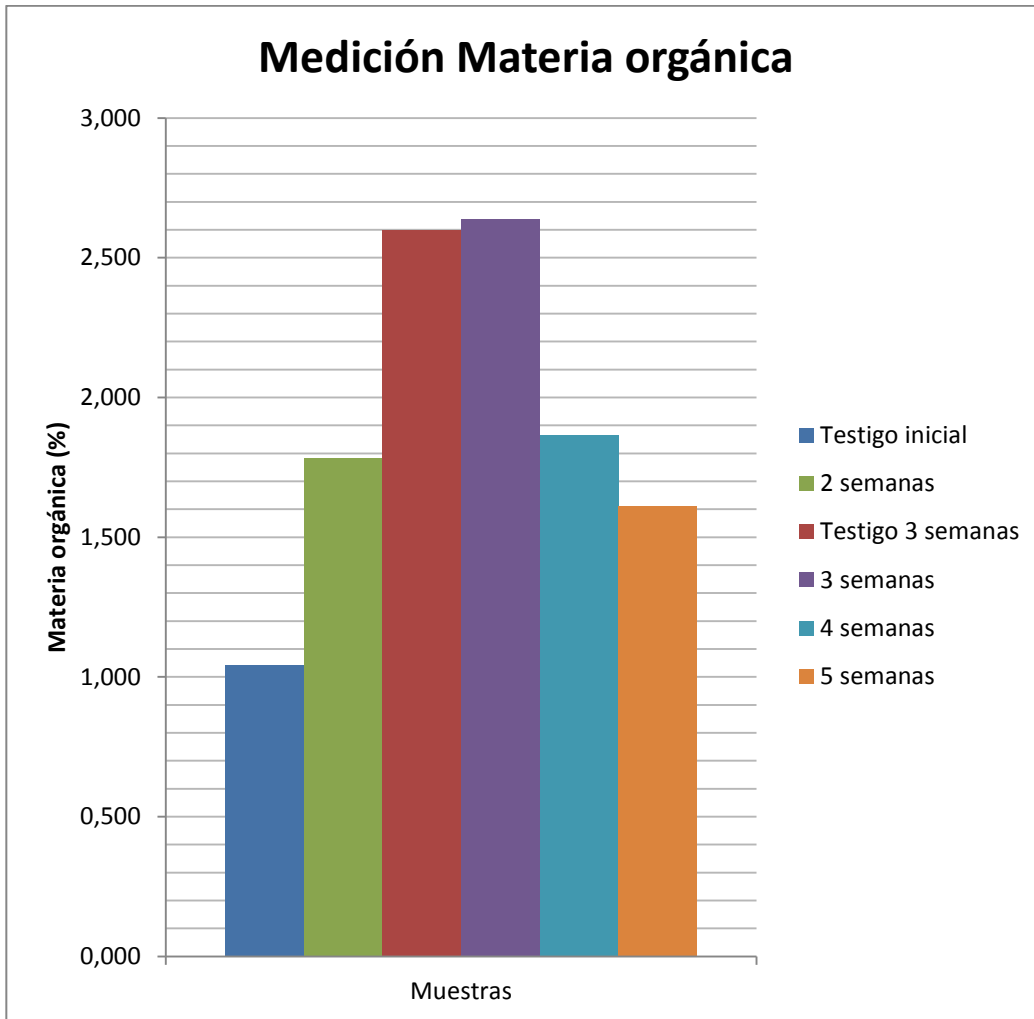
Es materia de compuestos orgánicos que provienen de los restos de organismos que alguna vez estuvieron vivos.

Tabla XX. Resultados de materia orgánica (MO %)

| | | MO % | Promedio |
|-------------------|---|------|----------|
| Testigo inicial | 1 | 1,23 | 1,043 |
| | 2 | 1,32 | |
| | 3 | 0,82 | |
| | 4 | 0,80 | |
| 2 semanas | 1 | 1,38 | 1,78 |
| | 2 | 2,36 | |
| | 3 | 1,79 | |
| | 4 | 1,60 | |
| Testigo 3 semanas | 1 | 2,32 | 2,6 |
| | 2 | 2,41 | |
| | 3 | 2,78 | |
| | 4 | 2,89 | |
| 3 semanas | 1 | 2,45 | 2,64 |
| | 2 | 2,87 | |
| | 3 | 2,76 | |
| | 4 | 2,47 | |
| 4 semanas | 1 | 1,71 | 1,87 |
| | 2 | 17,9 | |
| | 3 | 1,98 | |
| | 4 | 1,98 | |
| 5 semanas | 1 | 1,95 | 1,61 |
| | 2 | 1,84 | |
| | 3 | 1,25 | |
| | 4 | 1,41 | |

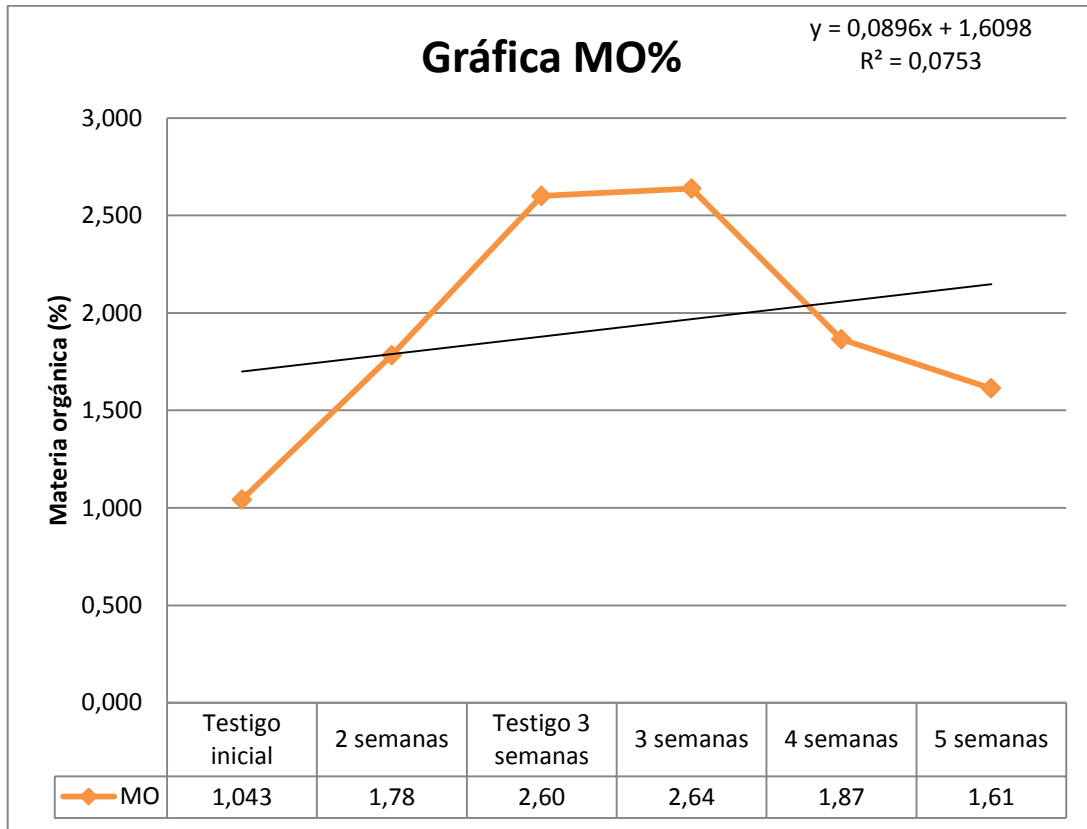
Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 19. **Medición de materia orgánica (MO %)**



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

Figura 20. Línea de tendencia de la materia orgánica (MO %)



Fuente: elaboración propia, según datos obtenidos.

4.1.6.1. Análisis de varianza de la materia orgánica

A continuación en la tabla XXI se muestra el análisis de la varianza de la materia orgánica.

Tabla XXI. Análisis de varianza de la materia orgánica

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Proabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|-------------|----------------------|
| Entre grupos | 7,454533333 | 5 | 1,490906667 | 17,8101407 | 2,07221E-06 | 2,772853153 |
| Dentro de los grupos | 1,5068 | 18 | 0,083711111 | | | |
| Total | 8,961333333 | 23 | | | | |

Fuente: elaboración propia, a través de Excel.

Si valor $P < \alpha$ rechazo H_0

Si valor de $P > \alpha$ acepto H_0

$H_0 = \mu_{\text{Test.1}} = \mu_{\text{Test.3}} = \mu_{\text{Sem.2}} = \mu_{\text{Sem.3}} = \mu_{\text{Sem.4}} = \mu_{\text{Sem.5}}$

Valor de P 2,07221E-06 < α 0,05

Según el porcentaje de probabilidad entre los resultados obtenidos (<95,95 %) indica que "sí existen diferencias significativas" entre los valores medios de materia orgánica de las diferentes semanas en las que se ha llevado a cabo el análisis.

4.1.7. Textura

Es la proporción en la que se encuentran distribuidas variadas partículas elementales que pueden conformar un sustrato.

Tabla XXII. **Composición porcentual del suelo**

| Componente | Porcentaje |
|-------------------|-------------------|
| Arena | 28 % |
| Arcilla | 24,4 % |
| Limo | 47,6 % |

Fuente: elaboración propia, a través de datos de laboratorio.

Textura del suelo según composición porcentual: Textura Franca

4.2. Determinación microbiológica

Ciencia encargada del estudio de los microorganismos, seres vivos no visibles al ojo humano.

4.2.1. Recuento de viables, muestra inicial (UFC)

$$\text{Unidades formadoras de colonia} = \bar{x} * f_d * d_o$$

Donde:

- \bar{x} = promedio del conteo
- f_d = factor de dilución
- d_o = dilución inicial en pirofosfato de sodio

Por lo tanto:

$$\text{Unidades formadoras de colonia} = \bar{x} * f_d * d_o = 51 * 10^4 * 10 = 5,1 * 10^6$$

Entonces se obtuvo:

$$\mathbf{5,1 * 10^6 \text{ UFC/ gramo de suelo}}$$

4.2.2. Recuento microscópico en cámara Neubauer (inóculo)

$$\text{Nro. de microorganismos en el inóculo} = \bar{x} * f_c * f_d$$

Donde:

- \bar{x} = promedio de los cuadrantes de la cámara
- f_c = factor de la cámara de Neubauer (50 000)
- f_d = factor de dilución

Por lo tanto:

$$\begin{aligned} \text{Nro. de microorganismos en el inóculo} &= \bar{x} * f_c * f_d = 41 * 50\,000 * 10^2 \\ &= 2,05 \times 10^8 \end{aligned}$$

Entonces se obtuvo:

$$2,05 \times 10^8 \frac{\text{Número de microorganismos}}{\text{mL de inóculo}}$$

4.2.3. Recuento de viables; suelo testigo a las 5 semanas (UFC)

$$\text{Unidades formadoras de colonia} = \bar{x} * f_d * d_o$$

Donde:

- \bar{x} = promedio del conteo
- f_d = factor de dilución
- d_o = dilución inicial en pirofosfato de sodio

Por lo tanto:

$$\text{Unidades formadoras de colonia} = \bar{x} * f_d * d_o = 97 * 10^2 * 10 = 9,7 * 10^4$$

Entonces se obtuvo:

$$9,7 * 10^4 \text{ UFC/ gramo de suelo testigo}$$

4.2.4. Recuento de viables; suelo, 5 semanas a partir del inóculo (UFC)

$$\text{Unidades formadoras de colonia} = \bar{x} * f_d * d_o$$

Donde:

- \bar{x} = promedio del conteo
- f_d = factor de dilución
- d_o = dilución inicial en pirofosfato de sodio

Por lo tanto:

$$\text{Unidades formadoras de colonia} = \bar{x} * f_d * d_o = 118 * 10^4 * 10 = 1,18 * 10^7$$

Entonces se obtuvo:

$$\mathbf{1,18 * 10^7 \text{ UFC/ gramo de suelo inoculado}}$$

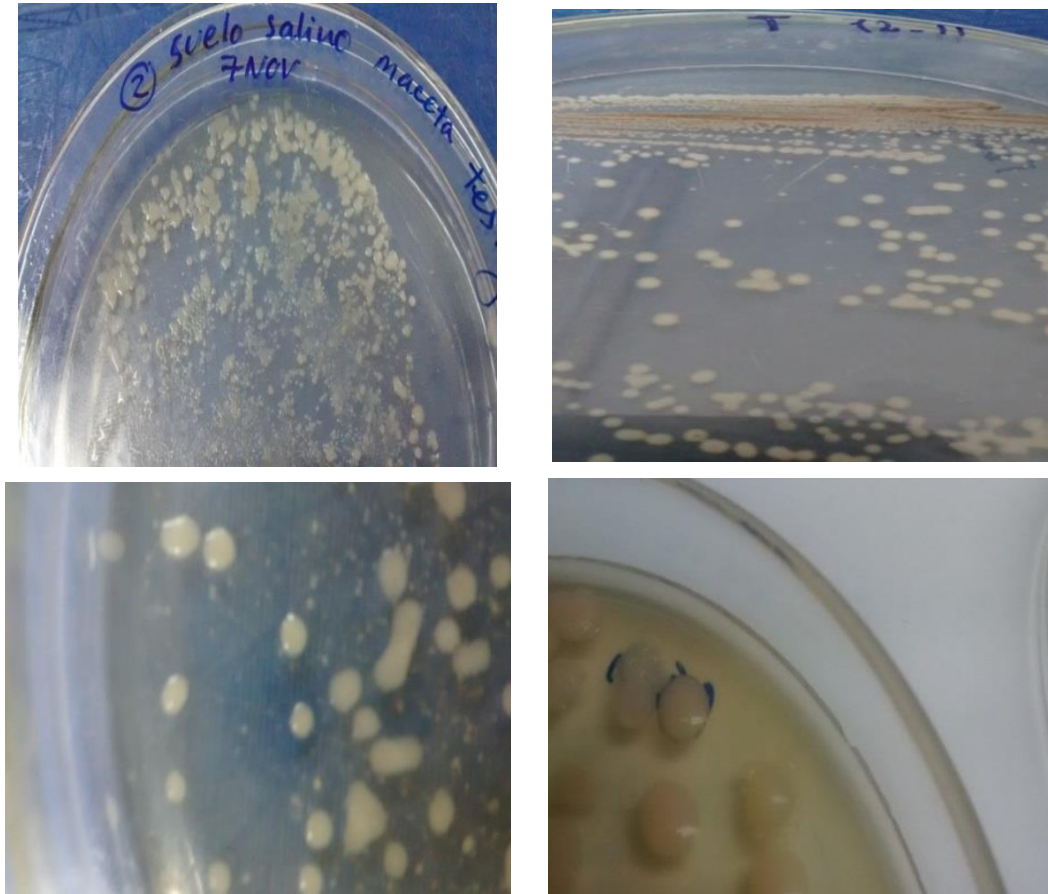
4.2.5. Descripción microbiológica

Organismos que son solo visibles a través del microscopio, son considerados microbios todos aquellos seres vivos microscópicos.

4.2.5.1. Descripción de las colonias

En general las colonias mostraban formas redondeadas, más o menos globosas, de bordes lisos, salvo algunas más chatas entremezcladas entre ellas. A continuación se aprecian algunas fotografías de colonias sembradas durante el tiempo experimental:

Figura 21. **Colonias en agar nutritivo (3 % NaCl)**

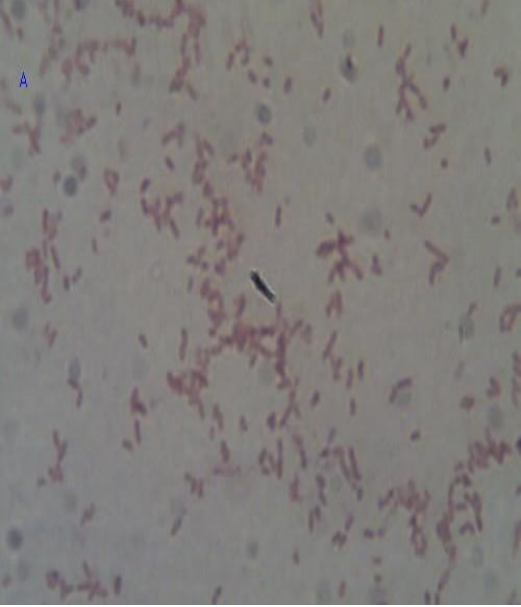
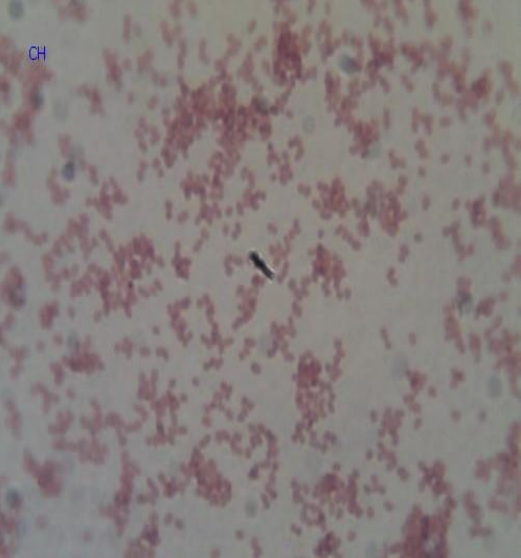


Fuente: Laboratorio de edafología.

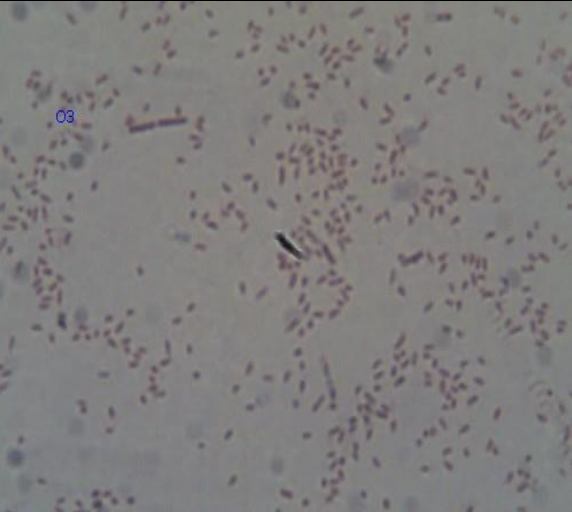
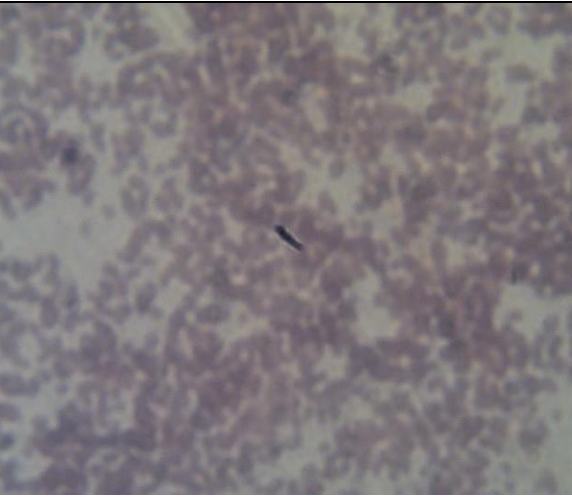
4.2.5.2. **Descripción de la morfología de las bacterias**

Las bacterias presentan una amplia variedad de tamaños y formas, la mayoría presentan un tamaño diez veces menor que el de las células eucariotas.

Tabla XXIII. **Morfología de las bacterias encontradas**

| Fotografía | Descripción |
|--|--------------------------------|
|  <p>A micrograph showing numerous Gram-negative bacilli. The bacteria are rod-shaped and appear pinkish-red against a light background. A small black arrow points to one of the bacilli. The letter 'A' is visible in the top left corner of the image.</p> | <p>Bacilos, Gram negativos</p> |
|  <p>A micrograph showing numerous Gram-negative cocci. The bacteria are spherical and appear pinkish-red against a light background. A small black arrow points to one of the cocci. The letters 'CH' are visible in the top left corner of the image.</p> | <p>Cocos; Gram negativos</p> |

Continuación de la tabla XXIII.

| | |
|--|---|
|  <p>A light micrograph showing numerous Gram-negative filamentous bacilli. The bacteria appear as thin, pinkish-purple, thread-like structures scattered across the field of view. A small blue '03' is visible in the upper left corner.</p> | <p>Bacilos filamentosos; Gram negativos</p> |
|  <p>A light micrograph showing Gram-positive bacilli. The bacteria are stained a deep purple color and appear as numerous, somewhat irregular, rod-shaped structures densely packed in the field of view.</p> | <p>Bacilos; Gram positivos</p> |

Fuente: Laboratorio de edafología.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente proyecto de investigación consistió en determinar los efectos de la inoculación de microorganismos nativos en un suelo salino.

La muestra fue extraída en el departamento de Fray Mamerto Esquiú, Catamarca, Argentina. Este suelo perteneció a una de las floraciones salinas que abundan en el área.

Luego de la extracción de la muestra se procedió a llevarla al laboratorio para su análisis microbiológico y para su separación en macetas de 500 gramos. Con los mismos microorganismos del suelo se preparó un inóculo que fue introducido en 20 macetas. Se hizo análisis edáfico de las variables pertinentes (pH, conductividad eléctrica, sodio y potasio elemental) en testigos (inicial y a las 3 semanas) y sobre las muestras inoculadas a 2, 3, 4 y 5 semanas a partir de la introducción del mismo. Al final del tiempo experimental se volvieron a efectuar los análisis microbiológicos del inicio para determinar la modificación en la microbiota de un suelo testigo y uno inoculado a las 5 semanas.

En las figuras 16 y 17 es posible apreciar la variación del pH a través del tiempo experimental. Según la pendiente de la ecuación calculada a partir de la recta que interpreta la tendencia de la variación del pH, se puede vislumbrar que este no varió significativamente. Esto mismo es ratificado a partir del análisis de varianza (Tabla XIII), donde se define que las medias no variaron significativamente entre sí. De antemano se esperaba que el pH no fuera modificado por el inóculo, ya que es inusual encontrar microorganismos que

acidifican o alcalinizan su medio a través de sus procesos metabólicos (Alexander, 1980). Además por las condiciones donde fue extraído el suelo (alta evapotranspiración, baja precipitación) se espera que haya una presencia considerable de carbonatos, especialmente Na_2CO_3 , el cual, a través de la hidrólisis, alcaliniza el suelo donde está inmerso (Pernasetti, 2010). El pH se mantuvo alcalino porque no se introdujo ninguna sustancia o agente acidificante, y era improbable que la microbiota afectara el comportamiento de los carbonatos.

Las figuras 18 y 19 manifiestan la variación de la conductividad eléctrica del extracto líquido de las muestras de suelo. Esta era uno de los parámetros que se pretendía disminuir a través del agregado del inóculo, ya que una disminución en la conductividad eléctrica implica una disminución de las sales solubles en el suelo, y por lo tanto una alternativa viable para la adecuación de estos suelos para un posterior uso en la agricultura (Bohn, Hinrich y otros, 1985). Sin embargo, los resultados obtenidos no expresan precisamente que el aumento de la microbiota nativa implique una reducción considerable de sales disueltas en el suelo. Cuestión que no se debe afirmar rotundamente, ya que una de las recomendaciones de este proyecto de investigación es prolongar el tiempo experimental, debido a que en las últimas semanas se apreció un descenso significativo en la conductividad eléctrica.

A pesar de eso, la disminución de las sales no fue una tendencia. Esto se manifiesta en la pendiente de la ecuación, que siendo positiva señala un aumento de la conductividad eléctrica. Este comportamiento se hace más evidente en la tercera semana a partir del ingreso del inóculo; en esa muestra hubo un aumento considerable de la salinidad, aproximadamente de un 23 % respecto a la conductividad del testigo inicial. Si se considera que no ingresaban sales del ambiente externo y que los microorganismos halófilos de

acuerdo a sus procesos metabólicos no aportarían al suelo semejante cantidad, que haya un incremento en la conductividad resulta extraño. No obstante, se evaluaron las condiciones experimentales y se determinó que la conductividad (y las cantidades de sodio) aumentó porque el uso de macetas implicó un confinamiento, donde sucedió la evaporación mas no el lavado de las sales hacia horizontes inferiores (Bohn, Hinrich y otros, 1985; Pernasetti, 2010).

Es probable que debido al aumento de la salinidad muchos microorganismos hayan perecido o entrado en condiciones de latencia, esto es evidenciado en los recuentos microbiológicos que se efectuaron al final del tiempo experimental. Asimismo, se logró apreciar una disminución paulatina de la conductividad eléctrica en la 4ta y 5ta semana. Situación que no bastó para lograr que la tendencia de la recta fuese negativa. Pese a que no se logró regresar a la conductividad eléctrica inicial es posible suponer que entró en acción el metabolismo de biosorción de sales por parte de la microbiota nativa. De otro modo no se explicaría el descenso de las concentraciones salinas, ya que esto no se debió a una cuestión intrínseca del suelo. Según el análisis de varianza (tabla XV) se establece que hay diferencias significativas para las medias de las conductividades eléctricas de las muestras. Esto implica que el proceso experimental sí tuvo un efecto sobre el suelo salino.

De acuerdo a lo descrito en el párrafo anterior se puede señalar que sucedieron dos fenómenos durante el experimento. El primero e imprevisto fue el aumento de sales intercambiables debido al confinamiento y alto ritmo de evaporación ocasionado por introducir las muestras dentro de macetas. El segundo fue la aparente asimilación de sales por parte de los microorganismos nativos, habiendo mejorado su táctica biológica a través del agregado del inóculo.

Con el sodio elemental sucedió lo mismo que con la conductividad eléctrica. No fue sorpresa, ya que el sodio fungió como el representante principal de las sales intercambiables debido a sus altas concentraciones. Además la variación en la cantidad de cationes influye directamente en la conductividad eléctrica del extracto de solución (Pernasetti, 2010). A través de la determinación del sodio elemental se denominó al suelo extraído como un suelo salino sódico, con la peculiaridad de poseer un pH elevado (10,63 promedio general). Este comportamiento fue definido por el alto contenido de Na_2CO_3 ; cuya presencia causa hidrólisis, alcalinizando el medio.

Es posible apreciar en las figuras 20 y 21 que el sodio tuvo un aumento radical en la tercera semana; aproximadamente 17 % respecto al sodio calculado en el testigo inicial. Pese a que la pendiente de la ecuación de la recta es positiva e implica una tendencia de aumento del sodio; la semana 4 y 5 marcaron una disminución drástica respecto a la semana 3 (aproximadamente del 10 %). Esto alude una asimilación microbiana de este catión monovalente. El sodio no logró regresar al valor del testigo inicial. Según el análisis de varianza (tabla XVII) sí existen diferencias significativas entre las medias del sodio elemental de las muestras. Lo que implica que el proceso experimental sí tuvo un efecto sobre el sodio elemental del suelo salino.

La variación del potasio elemental, de acuerdo a las figuras 22 y 23 fue moderada. La pendiente positiva de la recta denota que el potasio aumentó, pero no drásticamente como en el caso del sodio. Los niveles de potasio no manifestaron una reducción considerable, lo que indica que la microbiota no biosorbió el catión. Si el suelo hubiese sido parte activa de un ecosistema estable, se esperaría que la cantidad de potasio fuese mayor a la de sodio. No obstante, por la naturaleza sódica del suelo y su pH, la cantidad de sodio

sobrepasaba por mucho los niveles de potasio. Un pH elevado contribuye a la fijación del potasio en la estructura del suelo (Bohn, Hinrich y otros, 1985).

Asimismo, existe una preferencia por parte de los cristales de silicatos para incluir al potasio en su estructura (Bohn, Hinrich y otros, 1985). Estos comportamientos del suelo definen al potasio como un catión estable, explicando por qué no varió demasiado a lo largo de la experimentación. Pese a esto, al momento de realizar el análisis de varianza (tabla XIX) se comprobó que las medias de las muestras poseen una diferencia significativa. Cabe mencionar que fue el parámetro cuya probabilidad más se aproximó al valor de alfa.

La poca uniformidad de los resultados de materia orgánica está manifestada por el análisis de varianza (tabla XXI) cuya probabilidad es la más baja de todas las variables, pudiéndose deducir a través de alfa que las medias de las muestras poseen una diferencia significativa entre sí. Según la figura 25 la materia orgánica tuvo un comportamiento de pico, en la cual al inicio se manifiesta un rápido incremento alcanzando un zenit, para luego precipitarse en un descenso marcado. En este caso es reveladora la similitud entre la media del testigo a la tercera semana y la media del suelo a las 3 semanas de inoculación, ya que indica que la variación de la materia orgánica no está ligada al agregado del inóculo. Pese a que se aumentó considerablemente la carga microbiana, la actividad biológica, en términos de materia orgánica, no aumentó. La materia orgánica es un parámetro muy dinámico, el cual es muy difícil predecir su variación a lo largo del tiempo, ya que se halla condicionado a multitud de variables como: humedad, actividad biológica, temperatura, entre otros (Bohn, Hinrich y otros, 1985).

La variación de la figura 25 ilustra perfectamente el proceso microbiano de inmovilización-mineralización. Durante la inmovilización, los microorganismos asimilan del suelo las fuentes de carbono, así como los nutrientes elementales (nitrógeno, fósforo, potasio y azufre), para generar energía y formar material celular, es decir, un aumento considerable de la población microbiana y por ende de la materia orgánica del suelo. (Alexander, 1980). Luego, cuando empiezan a escasear los nutrientes y las fuentes de carbono, empieza a decrecer la población microbiana, liberando los elementos ya mineralizados hacia el suelo, disminuyendo la materia orgánica del medio (Froni, 2011), marcando la tendencia negativa al final del tiempo experimental.

Las determinaciones microbiológicas expresaron un antes y un después del experimento en la carga microbiana del suelo. Éstas no solo fueron influidas por el agregado del inóculo, sino también por el incremento de sales debido a las condiciones de confinamiento y ritmo de evaporación. Se contabilizaron $5,1 \times 10^6$ UFC en la muestra inicial de suelo. Pese a que existen 10 veces menos carga microbiana a la esperada en un suelo con condiciones normales (Alexander, 1980), el número de microorganismos es considerable teniendo en cuenta las condiciones extremadamente salinas de la muestra. Con el ingreso del inóculo ($2,05 \times 10^8$ microorganismos por mL) se aumentó aproximadamente 4 veces la población microbiana inicial de ese suelo. Esto implicaría un mejoramiento en la táctica microbiana de biosorción de sales (Sánchez, Ligia y Arguello, Heliodoro, 2006).

Al finalizar el tiempo experimental, es decir a las 5 semanas de haber implantado el inóculo, se efectuaron dos determinaciones microbiológicas: sobre una muestra testigo y una inoculada. Se supondría que el conteo microbiano en la muestra testigo a las 5 semanas sería similar al de la muestra inicial, debido a que las condiciones a las se mantuvo aquel estuvieron

controladas dentro del laboratorio, asimismo, se procuró que el suelo se mantuviera a capacidad de campo. Sin embargo, el conteo microbiano del testigo a las 5 semanas disminuyó drásticamente ($97\ 000\ UFC / gr\ de\ suelo$), aproximadamente 53 veces menos respecto a la muestra inicial. Este descenso marcado en la población puede ser explicado a través del aumento de las sales en solución evidenciado por los resultados de las variables edáficas.

Especialmente a la tercera semana se comprobó un aumento drástico en la conductividad eléctrica y en el sodio elemental; estas condiciones extremas comprometieron la sobrevivencia de los microorganismos dentro de las muestras de suelo, tanto el testigo como las inoculadas. De esto queda evidencia en el recuento de viables del suelo inoculado a las 5 semanas. Su población microbiana ($1,18 \times 10^7 UFC\ por\ gramo$) fue aproximadamente 2,3 veces mayor a la de la muestra inicial. Se esperaba que la carga microbiana del suelo inoculado fuera $5,31 \times 10^8 UFC\ por\ gramo\ de\ suelo$; sin embargo, luego del aumento de la salinidad esta disminuyó 45 veces. Pese a esta reducción, es preciso mencionar la alta resistencia de los microorganismos a las condiciones extremas, ya que la carga microbiana del suelo inoculado a las 5 semanas entra en el parámetro definido para un suelo con condiciones normales de salinidad y con alto desempeño ecológico (Alexander, 1980).

Cabe mencionar que las colonias observadas en los medios de caldo agarizado fueron solamente de tres o cuatro tipos, lo que implica la poca variedad de microorganismos que resisten a las condiciones extremadamente salinas (Plachy, 1974).

CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos no expresaron que el aumento de la microbiota nativa implique una reducción considerable de sales disueltas en el suelo extremadamente salino.
2. El pH no varió significativamente porque el inóculo no fue un agente acidificante; asimismo, la microbiota inoculada probablemente no afectó la dinámica de los carbonatos del suelo.
3. El incremento de la salinidad fue causada por las condiciones de confinamiento, donde se mantuvo la evaporación mas no el lavado de sales hacia horizontes inferiores del suelo.
4. La reducción de salinidad en la 4ta y 5ta semana probablemente implicó la entrada en acción del metabolismo de biosorción de sales por parte de la microbiota nativa del suelo.
5. El aumento de la carga microbiana, a través del inóculo, no aumentó la actividad biológica en términos de materia orgánica.
6. El presente estudio demuestra que a pesar de las condiciones extremadamente salinas del suelo existen poblaciones bacterianas resistentes.

RECOMENDACIONES

1. Extender el tiempo experimental del presente estudio (aproximadamente 4 semanas más) con el fin de evaluar si se mantiene la disminución de sales comprobada en las últimas semanas.
2. Realizar investigaciones sobre la inoculación de microorganismos nativos de suelos extremadamente salinos en suelos agrícolas ligeramente salinizados.
3. Continuar estudios de investigación sobre la aplicación de biotecnología para la recuperación de suelos salinos en Argentina.
4. Impulsar evaluaciones edafogeográficas en Guatemala con el propósito de aplicar técnicas preventivas en suelos con procesos de salinización. Disminuyendo así la vulnerabilidad agrícola, especialmente del Corredor Seco guatemalteco.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALEXANDER, Martin. *Introducción a la microbiología del suelo*. Traducción por Peña, Juan José. 2a ed en inglés. México: AGT, 1980. 89 p.
2. BARBOSA, Deyvison Clacino. *Identificação de bactérias halofílicas/halotolerantes com potencial uso no tratamento de água de produção*. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2005. 99 p.
3. BOHN, Hinrich; MCNEAL, Brian and O'CONNOR, George. *Soil Chemistry*. 2a ed. País: Alemania, Wiley-Interscience, 1985. Capítulo 9.
4. CASTILLO, Laura; CARVAJAL, Blanca. *Aplicaciones biotecnológicas de microorganismos halófilos*. México: Laboratorio de Residuos peligrosos. Departamento de Ingeniería en Sistemas Ambientales. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. 2011. 102 p.
5. COOKE, Rodney; GRAINGER-JONES, Elwyn. *Desertificación, un problema del mundo*. País: Alemania, Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola (FIDA); Organización de las Naciones Unidas (ONU), 2010.

6. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América Personal del Laboratorio de salinidad de los EUA. *Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos*. México: Limusa, 1977. 89 p.
7. FRIONI, Lillian. *Procesos microbianos*. Tomo I. Argentina: Editorial de la Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto, 1999. 67 p.
8. _____. *Microbiología: básica, ambiental y agrícola*. Buenos Aires: Orientación Gráfica Editora, 2011. 89 p.
9. GONZÁLEZ FIGUEROA, Alan. *marco estratégico regional para la gestión de riesgos climáticos en el sector agrícola del Corredor Seco Centroamericano*. Honduras: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), 2012. 56 p.
10. LACERDA, Marcelino Adán, otros. *Tolerância de bactérias diazotróficas simbióticas á salinidade in vitro*. Brasil: Departamento de ciencia del suelo de la Universidad Federal de Lavras, Brasil, 2003.
11. MADIGAN, Michael; MARTINKA, John; Parker, Jack.. *Brock. Biología de los microorganismos*. 10 ed. Madrid España: Pearson Educación, 2004. 78 p.
12. MARGESIN, Rosa; SCHINNER, Franz. *Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology*. Austria: Instituto de Microbiología, Universidad de Innsbruck, 2001. 11 p.

13. PERNASETTI, Olga B. *Cátedra de salinidad y sodicidad de los suelos*. Catamarca Argentina: Universidad Nacional de Catamarca, 2010. 56 p.
14. PLACY, William; LANYI, Janos; MORRIS, Kates. *Lipid interactions in membranes of extremely halophilic bacteria*. 1. Electron Spin resonance and dilatometric studies of bilayer structure". Departamento de química. USA: Universidad de San Francisco, California, 1974. 89 p.
15. SÁNCHEZ, Ligia; ARGUELLO, Heliodoro. *Capacidad de bacterias halófilas para capturar sodio in Vitro y su posible aplicación en biorremediación en suelos salinos-sódicos*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2006. 90 p.
16. SILBERMAN, Juan, et al. *Procedimientos microbiológicos modernos aplicados al estudio de comunidades microbianas del suelo*. Instituto de Suelos. Artículo tomado del libro: "Microbiología Agrícola; Un aporte de la investigación en Argentina" 2a ed. Buenos Aires: Ediciones Magna, 2013 p. 123-144.
17. VAN DER ZEE ARIAS, Ambaro; et al, *Estudio de caracterización del Corredor Seco Centroamericano*. Honduras: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2012. 78 p.
18. WATKINS, Pablo Hernán; Roca, Nuria. *Mapa de suelos detallado de las áreas salinizadas del departamento Fray Mamerto Esquiú*. Argentina: Universidad Nacional de Catamarca; Facultad de

Ciencias Agrarias, Producciones científicas, sección: ambiente y recursos naturales, 2006. 78 p.

19. ZAHARAN, H. H. *Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline environments*. Artículo de revista. Departamento de Botánica; Facultad de Ciencia, Beni-Suef, Egipto, 1996. p. 211-223.

APÉNDICES

1. Fórmula caldo extracto de carne (3% NaCl)

| Sustancia | Cantidad |
|-------------------|-----------------|
| Agua destilada | 1000 mililitros |
| Extracto de carne | 3 gramos |
| Peptona | 5 gramos |
| NaCl | 30 gramos |
| Agar-Agar | 15 gramos |

Fuente: elaboración propia; según pautas del laboratorio de Microbiología Agrícola.

2. Fórmula solución fisiológica

| Sustancia | Cantidad |
|----------------|-----------------|
| Agua destilada | 1000 mililitros |
| NaCl | 58.5 gramos |

Fuente: elaboración propia; según pautas del laboratorio de Microbiología Agrícola.

3. Resumen análisis de varianza pH

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|-------------------|--------|-------|----------|----------|
| Testigo inicial | 4 | 42.8 | 10.7 | 0.023267 |
| Testigo 3 semanas | 4 | 43 | 10.75 | 0.015133 |
| 2 semanas | 4 | 42.57 | 10.6425 | 0.040492 |
| 3 semanas | 4 | 41.69 | 10.4225 | 0.039625 |

Continuación del apéndice 3.

| | | | | |
|-----------|---|-------|---------|----------|
| 4 semanas | 4 | 42.53 | 10.6325 | 0.002358 |
| 5 semanas | 4 | 42.51 | 10.6275 | 0.139892 |

Fuente: diagramado por Excel 2007, en su función de análisis de varianza.

4. Resumen análisis de varianza de la Conductividad Eléctrica

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|-------------------|---------------|-------------|-----------------|-----------------|
| Testigo inicial | 4 | 272.8 | 68.2 | 8.6 |
| 2 semanas | 4 | 314.8 | 78.7 | 13.1133333 |
| Testigo 3 semanas | 4 | 330.4 | 82.6 | 26.4466667 |
| 3 semanas | 4 | 353.7 | 88.425 | 20.6691667 |
| 4 semanas | 4 | 328.1 | 82.025 | 58.8291667 |
| 5 semanas | 4 | 301.9 | 75.475 | 112.635833 |

Fuente: diagramado por Excel 2007, en su función de análisis de varianza.

5. Resumen análisis de varianza de sodio elemental

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|-------------------|---------------|-------------|-----------------|-----------------|
| Testigo inicial | 4 | 3014.4 | 753.6 | 108.9266667 |
| Testigo 3 semanas | 4 | 3289.6 | 822.4 | 99.72666667 |
| 2 semanas | 4 | 3369.8 | 842.45 | 1015.243333 |
| 3 semanas | 4 | 3522.14 | 880.535 | 743.5777667 |
| 4 semanas | 4 | 3160.6 | 790.15 | 1371.583333 |
| 5 semanas | 4 | 3219.6 | 804.9 | 3674 |

Fuente: diagramado por Excel 2007, en su función de análisis de varianza.

6. Resumen análisis de varianza de potasio elemental

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|-------------------|---------------|-------------|-----------------|-----------------|
| Testigo inicial | 4 | 181.28 | 45.32 | 46.25607 |
| Testigo 3 semanas | 4 | 196.4 | 49.1 | 52.60073 |
| 2 semanas | 4 | 219.44 | 54.86 | 5.546667 |
| 3 semanas | 4 | 249.15 | 62.2875 | 62.97742 |
| 4 semanas | 4 | 228.77 | 57.1925 | 85.41683 |
| 5 semanas | 4 | 248.66 | 62.165 | 42.2331 |

Fuente: diagramado por Excel 2007, en su función de análisis de varianza.

7. Resumen análisis de varianza de porcentaje de materia orgánica

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|-------------------|---------------|-------------|-----------------|-----------------|
| Testigo inicial | 4 | 4.17 | 1.0425 | 0.073492 |
| 2da semana | 4 | 7.13 | 1.7825 | 0.176292 |
| Testigo 3 semanas | 4 | 10.4 | 2.6 | 0.077 |
| 3ra semana | 4 | 10.55 | 2.6375 | 0.044092 |
| 4ta semana | 4 | 7.46 | 1.865 | 0.0187 |
| 5ta semana | 4 | 6.45 | 1.6125 | 0.112692 |

Fuente: diagramado por Excel 2007, en su función de análisis de varianza.

8. Recuento de viables

| Dilución | Situación microbiana |
|-----------|---|
| 10^{-1} | Excedió las 300 colonias; imposible contarlas |
| 10^{-2} | Excedió las 300 colonias; imposible contarlas |
| 10^{-3} | Excedió las 300 colonias; imposible contarlas |
| 10^{-4} | Se registraron colonias dentro del rango aceptado |
| 10^{-5} | No fue necesario contabilizarlas |
| 10^{-6} | No fue necesario contabilizarlas |
| 10^{-7} | No fue necesario contabilizarlas |
| 10^{-8} | No fue necesario contabilizarlas |

Fuente: elaboración propia; según datos obtenidos.

- Conteo de colonias

| Dilución | Repetición | | Promedio |
|-----------|------------|----|----------|
| 10^{-4} | 1 | 31 | 51 |
| | 2 | 35 | |
| | 3 | 86 | |

Fuente: elaboración propia; según datos obtenidos.

9. Recuento microscópico en cámara Neubauer (inóculo)

| Cuadrante | Microorganismos | Promedio |
|----------------------------|------------------------|-----------------|
| Esquina superior izquierda | 37 | 41 |
| Esquina inferior izquierda | 43 | |
| Central | 40 | |
| Esquina superior derecha | 36 | |
| Esquina inferior izquierda | 47 | |

Fuente: elaboración propia; según datos obtenidos.

10. Recuento de viables, suelo testigo 5 semanas

| Dilución | Situación microbiana |
|-----------------|---|
| 10^{-1} | Excedió las 300 colonias; imposible contarlas |
| 10^{-2} | Se registraron colonias dentro del rango aceptado |
| 10^{-3} | No fue necesario contabilizarlas |
| 10^{-4} | No fue necesario contabilizarlas |
| 10^{-5} | No fue necesario contabilizarlas |
| 10^{-6} | No fue necesario contabilizarlas |
| 10^{-7} | No fue necesario contabilizarlas |
| 10^{-8} | No fue necesario contabilizarlas |

Fuente: elaboración propia; según datos obtenidos.

- Conteo de colonias

| Dilución | Repetición | | Promedio |
|------------------------|------------|-----|----------|
| 10⁻² | 1 | 102 | 97 |
| | 2 | 82 | |
| | 3 | 107 | |

Fuente: elaboración propia; según datos obtenidos.

11. Recuento de viables; suelo inoculado 5 semanas

| Dilución | Situación microbiana |
|------------------------|---|
| 10⁻¹ | Excedió las 300 colonias; imposible contarlas |
| 10⁻² | Excedió las 300 colonias; imposible contarlas |
| 10⁻³ | Excedió las 300 colonias; imposible contarlas |
| 10⁻⁴ | Se registraron colonias dentro del rango aceptado |
| 10⁻⁵ | No fue necesario contabilizarlas |
| 10⁻⁶ | No fue necesario contabilizarlas |
| 10⁻⁷ | No fue necesario contabilizarlas |
| 10⁻⁸ | No fue necesario contabilizarlas |

Fuente: elaboración propia; según datos obtenidos.

- Conteo de colonias

| Dilución | Repetición | | Promedio |
|------------------------|------------|-----|----------|
| 10⁻⁴ | 1 | 186 | 118 |
| | 2 | 111 | |
| | 3 | 57 | |

Fuente: elaboración propia; según datos obtenidos.

12. Técnica de Recuento de Viables

- Se pesaron 10 gramos del suelo en estudio, y se dispersan en 90 mililitros de pirofosfato de sodio. Se considera ésta como la dilución 10^{-1} .
- Se preparan una batería de 7 tubos con solución fisiológica (solución salina) de 9 mL cada una.
- Se realizan las diluciones-suspenciones del suelo en estudio, para lo cual se extraen 1 mL de la solución de pirofosfato de sodio y suelo, y se vierte sobre un tubo de solución fisiológica. Ésta es considerada como la dilución 10^{-2} . Así sucesivamente hasta la dilución 10^{-8} .
- En la Cámara de Flujo Laminar se realizan las siembras por diseminación en superficie sobre Caldo Agar con NaCl al 3%, con 3 repeticiones. Se deja incubar por 72 horas.
- Se determina cuál de las diluciones en las 3 cajas de Petri entra en el rango de 30 a 300 unidades formadoras de colonia.
- Se hace el conteo de las 3 cajas de Petri y se calcula el promedio.
- El promedio se multiplica por el inverso del factor de dilución; obteniéndose las unidades formadoras de colonias por gramo.

13. Preparación del inóculo

- Se preparan 70 cajas de Petri con caldo agarizado a la solución de NaCl determinada.
- Se taran 10 gramos de suelo salino, y se dispersan en 90 mililitros de piro sulfato de sodio.
- Se realiza el cultivo de los microorganismos en las 70 cajas de Petri con caldo agarizado, a través del método de diseminación en superficie. Empleando la muestra de suelo dispersada en pirofosfato de sodio como inóculo.
- Se deja incubar por 72 horas.
- Se cosechan las colonias en agua y vierten en un beacker de dos litros.
- Se agregan 50 mililitros de este inóculo a cada una de las macetas, respetando la proporción 1:10 (50 ml de inóculo en 500 gr de suelo).

14. Técnica de Recuento microscópico en cámara Neubauer

- Se obtiene una muestra aproximadamente de 10 mL del inóculo.
- Se vierte una gota del inóculo en la cámara de Neubauer y se instala un cubreobjetos en la parte superior de la misma.
- Se sitúa la cámara de Neubauer en el microscopio y se elige el lente 40.

- Se hace un recuento de los cuadrantes de las esquinas y el cuadrante central.
- Se obtiene un promedio de los cinco cuadrantes.
- Se emplea la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación} \rightarrow \text{No. de microorganismos en el inóculo} = \bar{x} * F_c * F_d$$

Donde:

- \bar{x} = promedio
 - F_c = Factor de cámara de Neubauer
 - F_d = Factor de dilución
- Se obtiene el número de microorganismos presentes en el inóculo por mL.

15. Determinación del carbono orgánico por Método de Walkey-Black

- Fundamento:

La materia orgánica del suelo es oxidada bajo condiciones normales con dicromato de potasio en solución de ácido sulfúrico, una cantidad en exceso de dicromato de potasio es usada para destruir la materia orgánica, luego de producida la oxidación de ésta, dicho exceso es valorado con sulfato ferroso amoniacal (sal de Mohr) empleando un indicador (ferroína) para detectar la aparición de hierro ferroso sin oxidar.

El método es una combustión húmeda por oxidación con dicromato en medio ácido y sustrae el agua formada en la reacción liberando suficiente calor quien contribuye a que se produzca la digestión de la materia orgánica.

En este método la oxidación del carbono no es completa, dada la falta de calor, por ello se utiliza un factor de oxidación.

Factor de oxidación: Walkley y Black, encontraron que el porcentaje de CO recuperado promediaba el 82%, sugiriendo la utilización de un factor de 1.2 para expresar los resultados de CO en % y a pesar que demostraron que éste factor varía con el tipo de suelo y situaciones de manejo, igualmente es el más usado.

- Materiales

- Balanza de precisión
- Matraces, probetas, pipetas y tubo de ensayos y gradillas
- Aireador de pecera
- Microbureta de 10 mL

- Reactivos

- Ácido sulfúrico concentrado
- Dicromato de potasio 1N
- Sulfato amónico ferroso o Sal de Mohr
- Indicador: Ferroína

- Técnica
 - Pesar 200 mg. De suelo seco y tamizado por tamiz No. 40 de 0.5 mm, colocarlo en un tubo de ensayo por duplicado.
 - Añadir 1.5 mL de dicromato de potasio 1N.
 - Agregar 3 mL de ácido sulfúrico concentrado mediante bureta automática, mezclando suavemente con movimiento de rotación y dejar en reposo durante 20 minutos a temperatura ambiente. Es preferible colocarlo en un caja de telgopor, para no perder temperatura rápidamente.
 - Agregar agua hasta la mitad del tubo, agitar y dejar enfriar en heladera 20 minutos.
 - Agregar 3 gotas de ferroína, homogeneizar y titular con la sal de Mohr. Durante la titulación debe mantenerse constante la agitación con ayuda del aireador hasta el viraje de la coloración verde a rojo ladrillo.
 - Simultáneamente debe realizarse un blanco, el cual lleva todos los reactivos pero sin muestra de suelo y una muestra patrón (muestra de valor conocido).

- Cálculos

Los cálculos para deducir los contenidos de materia orgánica del suelo parten de la base que un equivalente de carbono pesa 3 gr. Es decir:

$$12/4 = 3 \text{ gr./equivalente}$$

Es decir que un equivalente de carbono pesa 3 gr.

En la reacción, un mililitro de dicromato de normalidad 1 N lleva un miliequivalente de esta sal. Como las reacciones se producen equivalente a equivalente (o en miliequivalentes),

1 ml de $K_2Cr_2O_7$ oxida 3 gr. De CO

Debido a que en la reacción la eficiencia de la misma es de alrededor de 82%, se debe dividir en la fórmula por 0.82.

La resta entre el volumen de dicromato titulado en la prueba en blanco (B) y el volumen de dicromato titulado que no se redujo en la titulación de la muestra (G) multiplicada por la normalidad del dicromato es el número de miliequivalentes gastados en oxidar el carbono orgánico de la muestra:

$(B-G)*N$ número de miliequivalentes de dicromato utilizados en oxidar la muestra problema.

El valor obtenido en $(B-G)*N$ al multiplicarse por 3gr. De carbono orgánico es la cantidad total, en gr. De carbono orgánico oxidado en la muestra.

Total de gr. De carbono oxidados en la muestra = $(B-G)*N*3/0.82$

$$X(\% \text{ de carbono orgánico}) = \frac{(B-G)*0.3*300}{P*0.82}$$

Donde:

- B=Gasto de la sal de Mhor en la prueba en blanco.
- G=Gasto de la sal de Mhor de la muestra
- N=Peso muestra (en este caso 0.2g)
- 0.82=eficiencia de oxidación del 82%

El carbono orgánico se puede expresar en % de carbono orgánico por cada 100 gramos de suelo seco a estufa o como % de materia orgánica mediante la multiplicación por el factor 1.724 al % de carbono orgánico.

Esto se basa en la hipótesis de que la materia orgánica tiene un 58% de carbono orgánico ($1/0.58=1.74$)= factor de Van Bemmelen

% de materia orgánica= % de carbono orgánico *1.74

16. Determinación del sodio y potasio elemental

- Principio

Su concentración en la solución se mide nebulizando ésta en un fotómetro de llama. Previo a ello se debe realizar la calibración del equipo con patrones especificados en el manual, realizando una curva con diferentes concentraciones, tanto para Sodio como para Potasio. Estas curvas se desarrollarán anotando las concentraciones de la serie de soluciones patrón en el eje x y la lectura indicada por la aguja del cuadrante indicador del fotómetro en el eje de la Y. Luego nebulizar las muestras con la solución problema, sin modificar ninguno de los controles del aparato.

Se calcula en PC con las curvas de calibración respectivas, así tenemos los meq/lit y luego con los cálculos siguientes lo llevamos a meq/100 gr de suelo o *centimol⁺/kg*

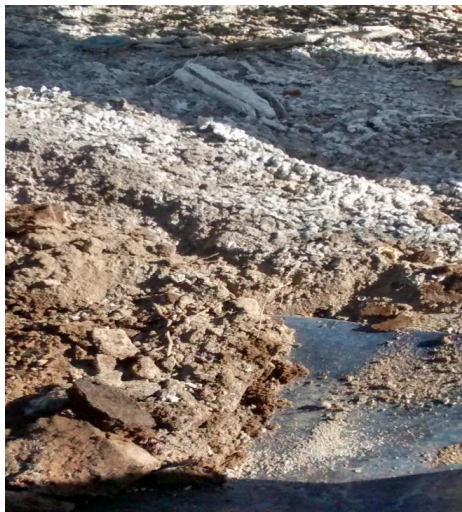
- Cálculos de sodio y potasio

La ecuación de la recta es $Y=bx+/-a$, los valores de a y b los da la curva de calibración del equipo y x es la lectura que da el fotómetro de llama para cada muestra. El valor obtenido se refiere a meq/lt y debemos llevarlo a meq/100gr:

- Meq.....1000ml
- x.....100ml
- meq*(100/1000).....5 gr
- x.....100 gr
- $meq * \frac{100*100}{1000*5} = meq * 2$
- Na y K meq/100gr de suelo= valor de la curva *2

ANEXOS

1. Extracción de la muestra



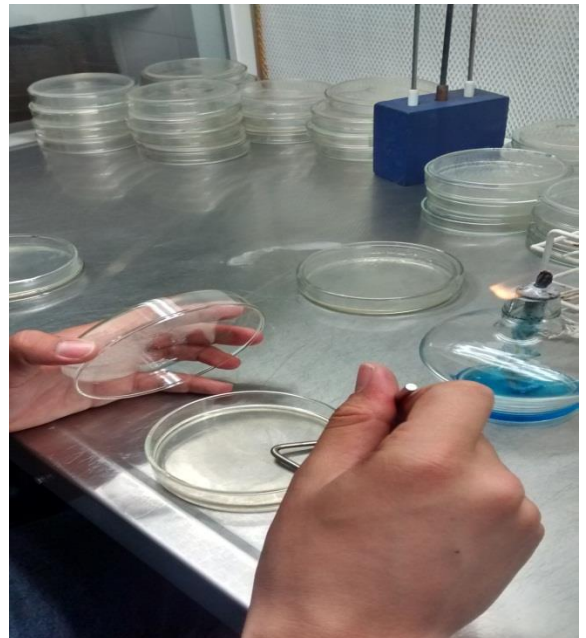
Fuente: fotografías capturadas por el autor y el auxiliar de laboratorio. Fecha 23/09/2014

2. Manejo de las muestras de suelo



Fuente: fotografías capturadas por el autor. Fecha: 24/09/2014 – 01/12/2014

3. Equipo empleado en el laboratorio de microbiología



Continuación Anexo 3.



Fuente: fotografías capturadas por el autor y el auxiliar de laboratorio. Fecha: 29/09/2014 –
01/12/2014

4. Equipo empleado en el laboratorio de edafología

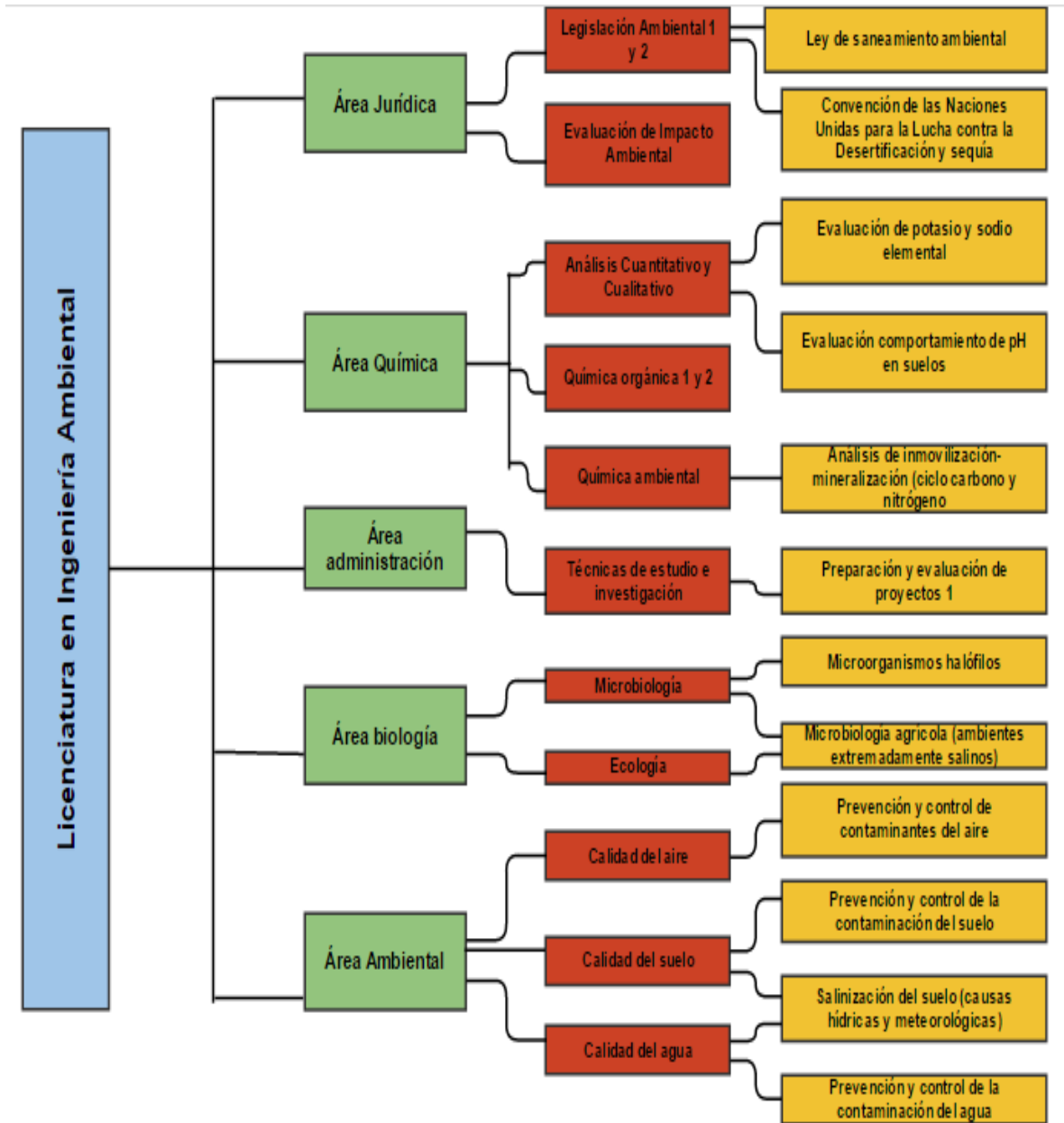


Continuación del anexo 4.



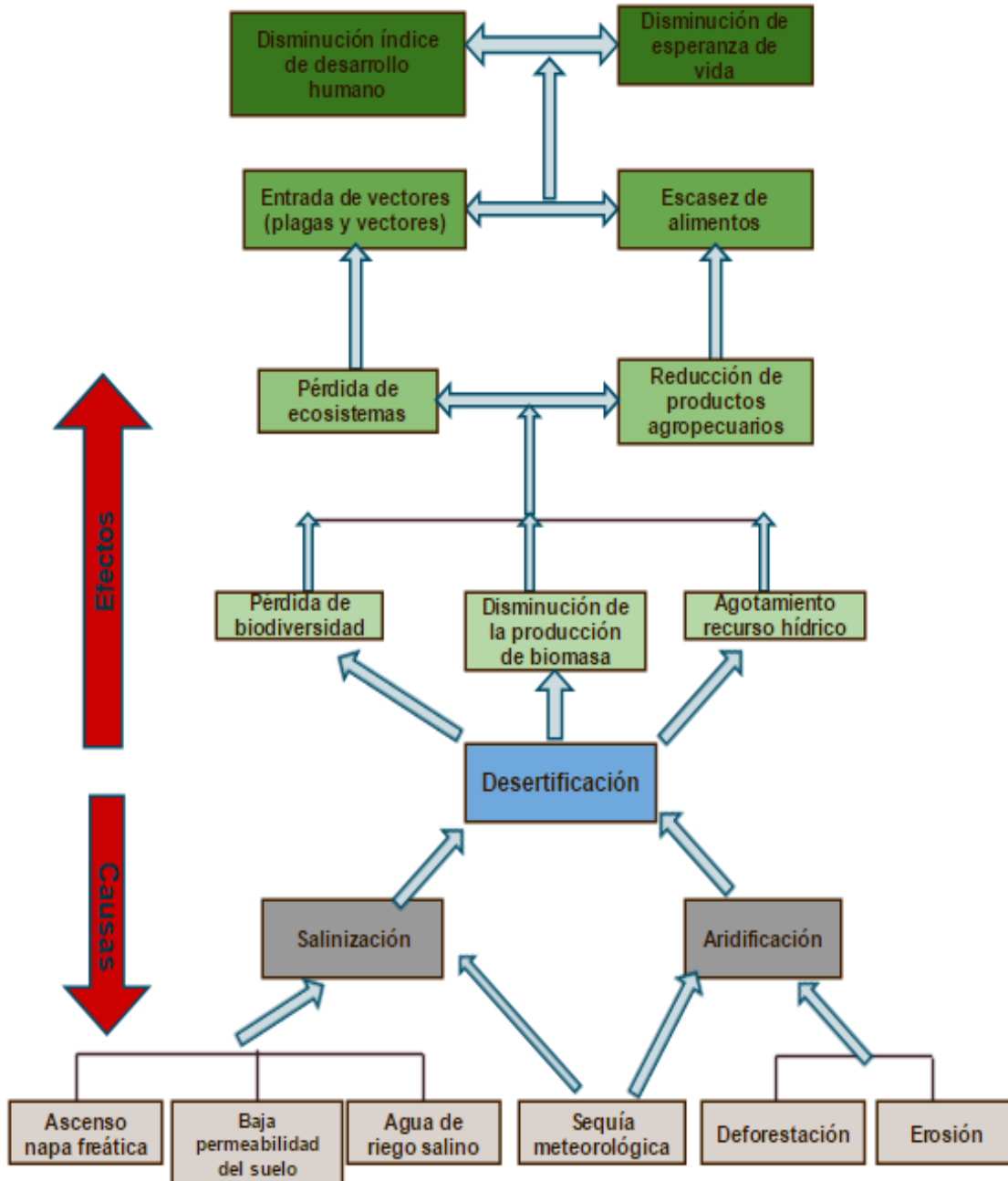
Fuente: fotografías tomadas por el autor. Fecha: 15/10/2014 – 01/12/2014

5. Requisitos académicos



Fuente: Elaboración propia.

6. Árbol del problema



Fuente: Elaboración propia