

Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**ENCAPSULAMIENTO DE BACTERIAS Y ARQUEAS HALÓFILAS Y SU EFECTO EN LA
DESALINIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS, EN CONDICIONES *in vitro***

TESIS QUE PRESENTA:

Ana Karen Pérez Bohórquez

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS

DIRECTORA:

Dra. Gisela M. Santiago Martínez

CODIRECTOR:

Dr. Alfonso Vásquez López



Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**ENCAPSULAMIENTO DE BACTERIAS Y ARQUEAS HALÓFILAS Y SU EFECTO EN LA
DESALINIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS, EN CONDICIONES *in vitro***

TESIS QUE PRESENTA:

Ana Karen Pérez Bohórquez

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS

DIRECTORA:

Dra. Gisela M. Santiago Martínez

CODIRECTOR:

Dr. Alfonso Vásquez López

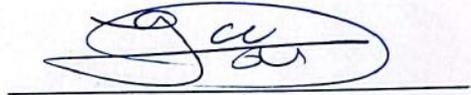
Diciembre de 2024.

La presente tesis titulada: **ENCAPSULAMIENTO DE BACTERIAS Y ARQUEAS HALÓFILAS Y SU EFECTO EN LA DESALINIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS, EN CONDICIONES *in vitro*** fue realizada bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS

DIRECTORA:

DRA. GISELA M. SANTIAGO MARTÍNEZ.



CO-DIRECTOR:

DR. ALFONSO VÁSQUEZ LÓPEZ



ASESOR:

DR. GERARDO RODRÍGUEZ ORTIZ



ASESOR:

DR. ERNESTO CASTAÑEDA HIDALGO



ASESOR:

DR. CARLOS I. CORTÉS MARTÍNEZ



| | | |
|---|--|---------------------------------|
|  | Nombre de la Información Documentada: Formato Autorización de DEPI para entrega de Tesis. | Código: ITVO-AC-PR-08-03 |
| | Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.2.1, 8.2.2, 8.2.3, 8.5.2 | Revisión: 1 |
| | | Página 1 de 1 |

EXPEDIENTE: 20DIT0009G

No. DE OFICIO: DEPI/1256/2024

Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca: 21/Noviembre/2024

ASUNTO: Autorización de entrega de Tesis.

C. ANA KAREN PÉREZ BOHÓRQUEZ
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAestrÍA EN CIENCIAS
EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS
PRESENTE

Con base en los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México, respecto a la presentación del examen de grado, me es muy grato comunicarle que esta División de Estudios de Posgrado e Investigación a mi cargo, **AUTORIZA** la entrega del documento final de su tesis en formato digital (PDF) titulada: "ENCAPSULAMIENTO DE BACTERIAS Y ARQUEAS HALÓFILAS Y SU EFECTO EN LA DESALINIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS, EN CONDICIONES In vitro".

Cuyo contenido ha sido revisado y aprobado por su Comité Tutorial y cumple en lo general con el formato establecido para este documento, como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias en Productividad en Agroecosistemas.

Sin más por el momento le felicito cordialmente por el logro de esta meta y le reitero el respaldo institucional de su Alma Mater.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®.
 Ciencia y Tecnología para el Campo*



DR. YURI VILLEGAS APARICIO
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



C.p. Expediente.

YVA/mhz

ITVO-AC-PR-08-03

Toda copia en PAPEL es un "Documento No Controlado" a excepción del original

REV.1

| | | |
|---|---|--------------------------|
|  | Nombre de la Información Documentada: Formato Autorización del comité para entrega de tesis. | Código: ITVO-AC-PR-08-02 |
| | Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.2.1, 8.2.2, 8.2.3, 8.5.2 | Revisión: 1 |
| | | Página 1 de 1 |

EXPEDIENTE: 20DIT0009G

Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca: 21/Noviembre/2024

ASUNTO: Autorización del comité para entrega de Tesis.

C. ANA KAREN PÉREZ BOHÓRQUEZ
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN PRODUCTIVIDAD EN AGROECOSISTEMAS
PRESENTE

Los que suscriben, miembros de su Comité Tutorial, le comunicamos que hemos revisado el contenido de su tesis "ENCAPSULAMIENTO DE BACTERIAS Y ARQUEAS HALÓFILAS Y SU EFECTO EN LA DESALINIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS, EN CONDICIONES *In vitro*", por lo que, con base en los Lineamientos para la Operación de Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México vigente, se le otorga la **AUTORIZACIÓN** para que proceda a la entrega del documento final de la misma en formato digital [PDF] para continuar con su trámite y asignarle la fecha de su examen de grado.

Sin más por el momento nos permitimos reconocer su esfuerzo y felicitarle por el logro de su documento de tesis.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®.
 Ciencia y Tecnología para el Campo*


 DRA. GISELA M. SANTIAGO MARTÍNEZ
 DIRECTORA DE TESIS


 DR. ALFONSO VÁSQUEZ LÓPEZ
 CO-DIRECTOR


 DR. GERARDO RODRÍGUEZ ORTÍZ
 ASESOR


 DR. ERNESTO CASTAÑEDA
 HIDALGO
 ASESOR


 DR. CARLOS I. CORTÉS
 MARTÍNEZ
 ASESOR


 DR. YURI VILLEGAS APARICIO
 JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
 DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

C.p. Comité Tutorial.
 Expediente.

YVA/mhz

INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL VALLE DE OAXACA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
 POSGRADO E INVESTIGACIÓN

El presente trabajo se llevó a cabo con el apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), a través del número de becario (1153657), con el tema de investigación: ENCAPSULAMIENTO DE BACTERIAS Y ARQUEAS HALÓFILAS Y SU EFECTO EN LA DESALINIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS, EN CONDICIONES *in vitro*.

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|---|---------------|
| ÍNDICE DE CUADROS | xii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xiii |
| ÍNDICE DE ANEXOS | 1 |
| RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| CAPITULO I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| | |
| CAPITULO II. MARCO TEÓRICO | 4 |
| 2.1 Arqueas halófilas..... | 4 |
| 2.1.1 Clasificación taxonómica..... | 5 |
| 2.1.2 Mecanismos de acción..... | 6 |
| 2.2 Bacterias halófilas | 7 |
| 2.3 Ambientes salinos | 7 |
| 2.4 Salinidad en México | 8 |
| 2.5 Suelos | 8 |
| 2.5.1 Clasificación Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (WRB) | 8 |
| 2.5.2 Suelos salinos | 9 |
| 2.5.3 Parámetros estimadores de salinidad..... | 11 |
| 2.6 Arqueas y bacterias como desalinizadoras de suelos..... | 11 |
| 2.7 Formulados | 12 |
| 2.7.1 Tipos de formulados | 13 |
| 2.7.2 Importancia del uso de formulados | 13 |
| 2.8 Alginato | 14 |

| | |
|---|----|
| 2.9 Uso, aplicación y beneficios de bacterias halófilas en la agricultura..... | 15 |
| CAPITULO III. BACTERIAS HALÓFILAS COMO BIORREMIADORES DE SUELOS SALINOS | 17 |
| RESUMEN | 18 |
| ABSTRACT | 19 |
| 3.1 Introducción..... | 20 |
| 3.2 Materiales y métodos | 22 |
| 3.3 Resultados | 23 |
| 3.3.1 Bacterias halófilas reportadas en artículos y patentes | 23 |
| 3.3.2 Incubación | 26 |
| 3.3.3 Inoculación | 27 |
| 3.3.4 Mecanismo de acción..... | 28 |
| 3.3.5 Biorremediación de suelos | 29 |
| 3.3.6 Especies de halófilos..... | 31 |
| 3.3.7 Enzimas hidrolasas | 32 |
| 3.4 Conclusiones..... | 33 |
| 3.5 Literatura citada | 34 |
| CAPITULO IV. ENCAPSULAMIENTO DE BACTERIAS Y ARQUEAS HALÓFILAS Y SU EFECTO EN LA DESALINIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS, EN CONDICIONES <i>in vitro</i> | 41 |
| RESUMEN | 42 |
| ABSTRAC | 43 |
| 4.1 INTRODUCCIÓN | 44 |
| 4.2 MATERIALES Y MÉTODOS..... | 46 |
| 4.2.1 Material biológico | 46 |
| 4.2.2 Reactivación de las cepas..... | 46 |
| 4.3 RESULTADOS..... | 53 |
| 4.5 CONCLUSIÓN | 73 |
| 4.6 REFERENCIAS..... | 74 |
| CONCLUSIONES GENERALES..... | 79 |
| RECOMENDACIONES..... | 80 |
| CAPITULO V. BIBLIOGRAFÍA GENERAL | 81 |

CAPITULO VI.ANEXOS..... 91

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | Página |
|--|---------------|
| 1. Grupos de suelos del Sistema de clasificación Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (WRB). | 9 |
| 2. Valores de conductividad eléctrica (CE) en suelo salinos NOM-021-RECNAT-2000. | 10 |
| 3. Bacterias halófilas aplicadas como desalinizadoras de suelos. Reportadas en artículos científicos..... | 24 |
| 4. Bacterias halófilas aplicadas como desalinizadoras de suelos que han sido reportadas en patentes. | 25 |
| 5. Tratamientos establecidos para la evaluación del efecto de la desalinización de suelos. | 51 |
| 6. Promedio de peso y tamaño de las microcápsulas por tratamiento. | 56 |
| 7. Resumen del análisis de varianza para pH y conductividad eléctrica (CE) en diferentes fechas de muestreo..... | 59 |
| 8. Comparación de medias de los tratamientos del día 15 al día 135..... | 62 |
| 9. Comparación de medias entre tratamientos para la variable altura de planta..... | 66 |
| 10. Comparación de medias entre tratamientos para la variable Diámetro de planta..... | 68 |
| 11. Comparación de medias entre tratamientos para la variable Numero de hojas..... | 69 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Página |
|---|---------------|
| 1. Porcentaje de sodio capturado clasificado por especie de bacteria halófila..... | 30 |
| 2. Conductividad eléctrica (CE) de suelos salinos por efecto de la inoculación de seis cepas de bacteria halófilas..... | 30 |
| 3. Obtención de la masa bacteriana de las cajas de resguardo..... | 47 |
| 4. a) balanza Pioneer™ Semi-Micro PX225DM, b) vernier digital | 49 |
| 5. a) Montaje de muestras, b) Evacuación preliminar a alto vacío (4.8 x 10 ⁻² torr). | 50 |
| 6. Crecimiento de cepas de bacterias halófilas. a) cepa B6, b) cepa B7, c) cepa B9..... | 53 |
| 7. Crecimiento de cepas de arqueas halófilas a) Cepa A1, b) Cepa A4, c) Cepa A5..... | 53 |
| 8. Resultados de la formulación con alginato al 0.5% en tres tiempos de solidificación. | 54 |
| 9. Resultados de la formulación con alginato al 0.75% en tres tiempos de solidificación. | 55 |
| 10. Resultados de la formulación con alginato al 1% en tres tiempos de solidificación. | 55 |
| 11. Microcapsulas observadas en el SEM a) 30X b)300X C)3000X | 57 |
| 12. Homogeneidad de la mezcla vista en el microscopio óptico de barrido. . | 57 |

| | | |
|-----|--|----|
| 13. | Bacilos observados en la estructura de la microcápsula. | 58 |
| 14. | Conductividad eléctrica inicial en todos los tratamientos..... | 64 |
| 15. | Conductividad eléctrica final en todos los tratamientos. | 64 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| Anexo | Página |
|---|---------------|
| 1. Preparación del medio de cultivo para arqueas halófilas 15% NaCl (Leal- Ferrández, 2017) | 91 |
| 2. Preparación del medio de cultivo para bacterias halófilas 10% NaCl (Castro- Piña et al., 2011)..... | 93 |

RESUMEN

La biorremediación de suelos salinos a base de microorganismos halófilos, es innovadora y aún más siendo estos microorganismos encapsulados. Se realizó un artículo de revisión en el que describen tres artículos de investigación y tres patentes en los que realizó la desalinización de suelos con microorganismos halófilos en los que se destaca el uso de bacteria halófilas suspendidas en medio líquido. Resultando de esta recopilación fueron 32 especies de bacterias halófilas con potencial para la biorremediación de suelos salinos. También se realizó un trabajo de investigación El objetivo fue formular consorcios de bacterias y arqueas halófilas y evaluar su efecto sobre parámetros de salinidad de un suelo agrícola; así como en el crecimiento de plántulas de papaya sembradas en suelo inoculado con los consorcios, en condiciones *in vitro*, se llevó a cabo en Laboratorio de Fitopatología del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca. En el cual los resultados fueron los siguientes, en la primera fase dio como resultado que la formulación idónea se realizó con alginato de sodio al 1% con 30 minutos en la solución solidificante, en la segunda fase el mejor tratamiento fue CAML con un pH inicial de 9.45 y un pH final de 8.53. En la tercera se evaluó el crecimiento de plántulas de papaya (*Carica papaya* L.) de dos meses de edad. Para altura destacó el tratamiento CBACFB (40.3) siendo 459% mayor con respecto al testigo, en cuanto a diámetro de planta CAYBFB (30.8) mostró incremento de 152% con relación al testigo CFB . Y CBACTD (41.39) registró el mayor número de hojas.

Palabras clave: biorremediacion, crecimiento, encapsulados, tratamiento.

ABSTRACT

The bioremediation of saline soils based on halophilic microorganisms is innovative and even more so since these microorganisms are encapsulated. A review article was carried out in which it describes three research articles and three patents in which the desalination of soils with halophilic microorganisms was carried out, highlighting the use of halophilic bacteria suspended in a liquid medium. The result of this compilation were 32 species of halophilic bacteria with potential for the bioremediation of saline soils. Research work was also carried out. The objective was to formulate consortia of halophilic bacteria and archaea and evaluate their effect on salinity parameters of an agricultural soil; as well as in the growth of papaya seedlings planted in soil inoculated with the consortia, under in vitro conditions, was carried out in the Phytopathology Laboratory of the Interdisciplinary Research Center for Regional Integral Development, Oaxaca Unit. In which the results were the following, in the first phase it resulted that the ideal formulation was made with 1% sodium alginate with 30 minutes in the solidifying solution, in the second phase the best treatment was CAML with an initial pH of 9.45 and a final pH of 8.53. In the third, the growth of two-month-old papaya (*Carica papaya* L.) seedlings was evaluated. For height, the CBACFB treatment (40.3) stood out, being 459% greater with respect to the control, in terms of plant diameter CAYBFB (30.8) showed an increase of 152% in relation to the CFB control. And CBACTD (41.39) recorded the highest number of leaves.

Keywords: bioremediation, growth, encapsulates, treatment.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La salinidad es un problema que afecta a la agricultura en todo el mundo, de acuerdo con La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2022) 833 millones de ha de suelos son afectados por salinidad en todo el mundo, esto es, el 8.7% del planeta. La mayoría de ellos se pueden encontrar en entornos naturalmente áridos o semiáridos en África, América Latina y Asia.

En México la afectación por salinidad abarca el 60% de la zona agrícola con sistema de riego presentándose así en 5.86 mill ha, de las cuales 3.43 mill ha presentan sodicidad leve y 2.43 mill ha presentan salinidad leve. En cuanto a la agricultura de temporal, el 19.7% (5.18 mill ha) presentan algún grado de salinidad Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER, 2021)

La salinidad se refiere a la concentración excesiva de sales en el suelo, este tipo de suelos se caracterizan por ser tóxicos para las plantas, ya que carecen de los nutrientes esenciales para su crecimiento y su capacidad de absorber agua es baja trayendo efectos como sequía y reducción de la germinación, crecimiento y rendimiento hasta en 50%. Este tipo de suelos poseen características como pH ácido o alcalino (6 y 8) y conductividad eléctrica (CE) superior a 2 dS m^{-1} (Lamz y González, 2013; Paz-Pellat et al., 2018; Meena et al. 2019; Rodríguez y Dufour, 2021; SADER, 2021). Se pueden definir dos tipos de salinidad, la salinidad primaria que se da por procesos naturales, características geológicas y edafoclimáticas. A diferencia de la secundaria que se origina por actividades humanas como el mal uso del agua de riego y el uso indiscriminado de fertilizantes. El manejo de este tipo de suelos actualmente es a base de lavado de suelos, aplicación de yesos o sulfatos o bien el empleo de especies resistentes a la salinidad (Allbed y Kumar, 2013; Rodríguez-Moreno et al, 2017).

Las arqueas halófilas o también llamadas haloarqueas y las bacterias halófilas son microorganismos extremófilos, pertenecientes al dominio Archaea que se encuentran en ambientes altamente salinos y bajo condiciones extremas de pH, temperatura y radiación solar (González y Peña, 2002; Madigan et al., 2015). Las haloarqueas sobreviven en ambientes con altas concentraciones salinas, gracias a ello la regulación osmótica es un mecanismo de adaptación dado el nivel de estrés al que son sometidas (Wood, 2011).

Dado que la regulación osmótica es la clave para la supervivencia de estos organismos, de acuerdo con Amoozegar et al. (2017) utilizan dos estrategias que les permiten conservar este equilibrio osmótico (Kraegeloh ,2005; Kanekar et al., 2012; Edbeib et al., 2016). Estas características aportan a estos microorganismos potencial para la biorremediación de suelos salinos (Ramírez et al.,2004; Sánchez-Leal y Arguello-Arias, 2006). El objetivo de la investigación fue evaluar diferentes formulaciones con variación de materiales para la formulación, así como tiempos en la solución solidificante y porcentaje de alginato de sodio. Una vez determinada la formulación, se realizaron dos bioensayos, el primero consistió en evaluar el efecto de desalinización aplicando 100 pellets (formulados) por tratamiento, elaborados a base de materiales accesibles y permitidos por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) para la agricultura orgánica (fibra de celulosa, tierra de diatomeas y caolín), variando porcentaje de alginato y tiempo en la solución solidificante. Estos formulados contienen consorcios de bacterias y arqueas halófilas en una concentración de 1×10^8 UFC. Las muestras de suelo utilizadas en la investigación fueron tomadas en el municipio de Asunción Ixtaltepec, Oaxaca, se estableció un experimento con nueve tratamientos y dos testigos en los que se inoculó durante seis meses en periodos de 15 días. en el laboratorio de Fitopatología del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Oaxaca del Instituto Politécnico Nacional.

En una segunda etapa se evaluó el efecto de la salinización en el crecimiento de papaya (*Carica papaya* L.), en suelo inoculados con formulados de bacterias y arqueas halófilas.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Arqueas halófilas

De acuerdo con la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO, 2020) las arqueas son organismos unicelulares carentes de núcleo, poseen características que las diferencian de las bacterias, como por ejemplo su alimentación y estructura.

Las arqueas halófilas o también llamadas haloarqueas son microorganismos extremófilos, pertenecientes al dominio Archaea, se encuentran en ambientes altamente salinos y bajo condiciones extremas de pH, temperatura y radiación solar (Madigan et al., 2015; González-Hernández y Peña et al., 2020).

2.1.1 Clasificación taxonómica

Las arqueas halófilas se incluyen en el filo Euryarchaeota y en la clase Halobacteria, dividida en tres órdenes: Halobacteriales, Haloferacales y Natrabales (Garzon-Pinto, 2017).

De acuerdo con Kushner & Kamekura (1988) se clasifican en cuatro grupos tomando en cuenta la concentración en la que habitan:

1. No halófilos: son aquellas que se encuentran en hábitats con una concentración de NaCl de 0.2M (1%). Dentro de este grupo se encuentran las halotolerantes y son aquellas que toleran concentraciones de NaCl superiores. Sin embargo, existen organismos que toleran concentraciones de 2.5 M y se les conoce como halotolerantes extremos.
Halófilos débiles: Estos organismos presentan crecimiento óptimo en ambientes cuya concentración está entre 0.2 M y 0.5 M (1-3%).
2. Halófilos moderados: Para estos organismos el ambiente idóneo presenta una concentración de 0.5-2.5 M (3-15%).
3. Halófilos extremos: el crecimiento óptimo de estos organismos se da en concentraciones de 2.5-5.2 M (15-32%) de NaCl.

2.1.2 Mecanismos de acción

Las haloarqueas sobreviven en ambientes con altas concentraciones salinas, es por ello que la regulación osmótica es un mecanismo de adaptación dado el nivel de estrés al que son sometidas (Wood, 2011). Debido a que la regulación osmótica es la clave para la supervivencia de estos organismos, utilizan dos estrategias que les permiten conservar este equilibrio osmótico (Kanekar et al., 2011; Edbeib et al., 2016 Amoozegar et al. 2017).

La primera estrategia se le llama Salt-in, es utilizada por arqueas extremadamente halofílicas (haloarchaea), es un proceso de acumulación de iones de sodio y potasio en el citoplasma a concentraciones de salinidad similares a las que existen en el exterior.

La segunda estrategia se le llama Salt-out, esta estrategia es utilizada principalmente por bacterias y microorganismos eucariotas halófilos. Consiste en la acumulación de moléculas orgánicas como aminoácidos, azúcares y polioles, son moléculas pequeñas y altamente solubles por lo que pueden acumularse en grandes cantidades dentro de las células sin causar efectos negativos (Dennis y Shimmin, 1997).

2.2 Bacterias halófilas

Las bacterias halófilas son un grupo de microorganismos que habitan ambientes cuyas concentraciones de cloruro de sodio van desde los 25 g L⁻¹ hasta los 250 g L⁻¹. Las bacterias halófilas constituyen un grupo muy heterogéneo de microorganismos con diferentes actividades metabólicas, composición de la pared celular, morfología, respiración (desde aerobias hasta anaerobias estrictas) y metabolismo (desde fotótrofas a heterótrofas) (Oren, 2008; Ventosa, 2006; De la Haba et al., 2011).

Las bacterias halófilas se encuentran clasificadas en el dominio Bacteria: Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Spirochaetes, Bacteroidetes, Thermotoga, Cyanobacteria y Tenericutes (De la Haba et al., 2011).

2.3 Ambientes salinos

La FAO (2022) determinó que 833 millones de ha de suelos son afectados por salinidad en todo el mundo, esto es, el 8.7% del planeta. La mayoría de ellos se pueden encontrar en entornos naturalmente áridos o semiáridos en África, América Latina y Asia. Existen ambientes salinos naturales en todo el mundo entre ellos: Mar Rojo, Mar Báltico, Mar Caspio, Mar Muerto, así como las principales salineras del mundo que se encuentran en China, Estados Unidos y Alemania, pero en América Latina, se puede catalogar a México como el país

con mayor producción de sal, que se concentra en los estados de Yucatán, Veracruz, Monterrey y Sonora.

2.4 Salinidad en México

En México la afectación por salinidad abarca el 60% de la zona agrícola con sistema de riego, presentándose así en 5.86 mill ha, de las cuales 3.43 mill ha presentan sodicidad leve y 2.43 mill ha presentan salinidad leve. En cuanto a la agricultura de temporal el 19.7% (5.18 mill ha) presentan algún grado de salinidad (SADER, 2021).

2.5 Suelos

La ONU (2022) define al suelo como el producto final de la influencia del tiempo combinado con el clima, topografía y organismos (flora, fauna y ser humano), de materiales parentales (rocas y minerales originarios). Como resultado, el suelo difiere de su material parental en su textura, estructura, consistencia, color, propiedades químicas, biológicas y físicas.

2.5.1 Clasificación Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (WRB)

La WRB está basada en la Leyenda FAO-UNESCO (1974) y la Leyenda Revisada FAO (1988) del Mapa Mundial de Suelos (FAO-UNESCO, 1971-

1981). En 2014 se publicó la tercera edición de la WRB, donde se proponen 32 grupos de suelo en general (Cuadro 1).

Cuadro 1. Grupos de suelos del Sistema de clasificación Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (WRB).

| Grupo de suelo | Características |
|--|---|
| Histosoles. | Suelos con capas orgánicas gruesas. |
| Antrosoles, Tecnosoles. | Suelos con fuerte influencia humana. |
| Criosoles, Leptosoles, | Suelos con enraizamiento limitado. |
| Solonetz, Vertisoles, Solonchacks | Están o han estado fuertemente influenciados por el agua. |
| Gleysoles, Andosoles, Podzoles, Plintosoles, Nitisoles, Ferralsoles, Planosoles, Stagnosoles | Suelos regulados por la química de Fe/Al. |
| Chernozems, Kastanozems, Phaeozems, Umbrisoles. | Acumulación pronunciada de materia orgánica en el suelo mineral superficial |
| Durisoles, Gipsisoles, Calcisoles. | Suelos de regiones áridas con acumulación de yeso, sílice y carbonato de calcio, respectivamente. |
| Retisoles, Acrisoles, Lixisoles, Alisoles, Luvisoles | Suelos enriquecidos en arcillas en la parte sub-superficial. |
| Cambisoles, Arenosoles, Fluvisoles, Regosoles | Suelos relativamente jóvenes con muy poco o ningún desarrollo de perfil. |

Fuente: FAO (2014); INTAGRI (2014).

2.5.2 Suelos salinos

La salinidad es un problema que amenaza la calidad de los suelos agrícolas en todo el mundo, tan sólo en América Latina 31,000,000 ha presentan este problema, destacando México, Perú, Colombia, Ecuador y Chile, entre los más

afectados. Éste es un factor limitante en la producción de alimentos pues los cultivos pierden su potencial de rendimiento en estas condiciones.

La salinidad afecta directamente a los cultivos y vegetación en general, esta condición limita cualquier actividad realizada en campo, ya que trae consigo repercusiones negativas como absorción deficiente de los nutrimentos, afecta la translocación y el reciclado de iones en la planta, el exceso de ciertos iones puede provocar toxicidad en las plantas, acumulación de Cl, Na y B en partes de las plantas, como las semillas, los tallos y las hojas, producen una serie de modificaciones debido a las variaciones de pH, que afectan a la disponibilidad de los nutrimentos (Castellanos, 2004).

La NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, define que suelos salinos son aquellos que presentan una conductividad eléctrica (CE) entre 1.1 y mayor de 16 de acuerdo al nivel de salinidad (cuadro 2).

Cuadro 2. Valores de conductividad eléctrica (CE) en suelo salinos NOM-021-RECNAT-2000.

| CE dS m⁻¹ a 25°C | Efectos |
|------------------------------------|---------------------------------------|
| < 1.0 | Efectos despreciables de la salinidad |
| 1.1 - 2.0 | Muy ligeramente salino |
| 2.1 - 4.0 | Moderadamente salino |
| 4.1 - 8.0 | Suelo salino |
| 8.1 - 16.0 | Fuertemente salino |
| > 16.0 | Muy fuertemente salino |

2.5.3 Parámetros estimadores de salinidad

Courel (2019) indica que la salinidad se mide por medio de la conductividad eléctrica (CE) en la solución intermicelar o solución del suelo y el umbral para considerar que un suelo es salino se ha establecido en $CE > 4 \text{ dS m}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. En un estudio realizado por Pulido et al. (2010) se describe el procedimiento para el monitoreo de la salinidad en suelos mediante sensores remotos y establece que el indicador principal en su estudio es la conductividad eléctrica.

Chavira y Castellanos (1987), consideran que la salinidad del suelo se mide mediante la CE en el extracto de saturación o bien una relación suelo: agua 1:2. De acuerdo con el Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura (INTAGRI, 2022), el pH (potencial de hidrógeno) y la CE son dos parámetros cuya medición es fundamental para tener un cultivo agrícola de alto rendimiento. El pH indica el grado de acidez o de alcalinidad de un medio, se mide en una escala entre 0 y 14; un pH de 7 es un valor neutro.

2.6 Arqueas y bacterias como desalinizadoras de suelos

En la actualidad existen muy pocos estudios sobre estos organismos como desalinizadores de suelos, los más relacionados a este trabajo de investigación son los reportados por Rodríguez-Aristizabal et al. (2019) quienes realizaron un estudio con seis bacterias halófilas para medir el potencial como

desalinizadoras de suelos en Sáchica-Boyacá, Colombia. El estudio concluye que mostraron un efecto directo de las bacterias halófilas en la disminución de la CE del suelo, pasando de 5.2 a 0.8 ds m⁻¹ (T1), 0.7 ds m⁻¹ (T2), 0.8 ds m⁻¹ (T3), 0.6 ds m⁻¹ (T4), 0.7 ds m⁻¹ (T5), 0.7 ds m⁻¹ (T6), 3.0 ds m⁻¹ (testigo), valores que corresponden a salinidad muy ligera (< 2 ds m⁻¹). Indicando así los autores que es posible usar bacterias halófilas aisladas de ambientes salinos como una posible alternativa de rehabilitación de suelos salinizados para la producción agrícola y agropecuaria.

Sánchez-Leal y colaboradores (2006) realizaron un estudio en la Universidad Nacional de Colombia con cinco especies de bacterias halófilas para capturar iones de sodio *in vitro*. La captura del sodio la demostró comparando la concentración inicial de la solución de sodio sin inocular y la concentración de esta con la bacteria inoculada a través de la técnica de espectroscopia de absorción atómica. Este estudio culminó con cuatro bacterias que demostraron la capacidad de captura de sodio *in vitro* fueron: *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio metschnikovii*, *Flavimonas oryzihabitans* y *Agrobacterium tumefaciens*.

2.7 Formulados

Los formulados o también conocidos como encapsulados son una técnica que consiste en envolver un principio activo con el fin de protegerlo frente a condiciones ambientales deletéreas (Shoji et al., 2013). Se emplea para proteger o proporcionar una cubierta a sustancias inestables, para enmascarar

sabores, almacenar sustancias y transformar productos de uso tradicional en desarrollos tecnológicos avanzados (Hernández-Mendoza, 2018).

Los formulados consisten en una membrana esférica resistente que rodea un núcleo, ya sea sólido o líquido, el tamaño puede variar sin embargo el tamaño ideal de acuerdo con González-Cuello et al. (2015) es de 1 mm.

2.7.1 Tipos de formulados

De acuerdo con Ghosh (2006) las microcápsulas pueden clasificarse en tres categorías de acuerdo a su morfología: mononucleares, que poseen una cubierta alrededor del núcleo; polinucleares con varios núcleos dentro de la pared; y tipo matriz donde el material del núcleo se distribuye homogéneamente en el material de la pared, y puede presentarse en forma de espuma, donde el material se distribuye en toda la capsula y cubierta. Así también puede presentarse en forma de red con una estructura abierta o microcápsula.

2.7.2 Importancia del uso de formulados

Para Nava-Reyna et al. (2015) y Bah et al. (2020), la formulación abarca una amplia gama de campos como la liberación controlada de sabores, colores, aromas, perfumes, fármacos y fertilizantes; esta liberación controlada depende en gran medida del rompimiento de las micropartículas, la solubilización, el pH o la acción enzimática (Luna et al., 2016).

La elaboración de formulados facilita labores como almacenamiento, transporte y aplicación de estos microorganismos, protege al microorganismo de condiciones ambientales adversas, permite realizar aplicaciones localizadas, reducir el consumo de agua y extender su vida útil (San-Blas, 2013; Hiltpold, 2015; Bogantes et al., 2018).

2.8 Alginato

El alginato es un polisacárido proveniente de las algas pardas pertenecientes a la clase *Phaeophyceae* u obtenido mediante un cultivo microbiano. Está principalmente compuesto por los ácidos β -D-manurónico (M) y α -L-gulurónico (G). Existe una amplia gama de alginatos que cumplen con requerimientos según el área en la que se va a utilizar (Hernández-Carmona et al., 2012; Hurtado et al., 2020; Ayaviri-Pérez, 2022).

La biocompatibilidad del alginato permite su aplicación en distintas industrias como por ejemplo la industria química y textil, farmacéutica, biotecnológica, gastronómica y agropecuaria (Hernández-Carmona et al., 2012; Hurtado et al., 2020). El alginato de sodio es una de las presentaciones más comercializadas del alginato. Méndez-Reyes et al. (2014), indicaron que la extracción del alginato de sodio comprende dos etapas en las que se realiza la conversión de sales insolubles en alginato de ácido algínico. En la primera mediante un medio alcalino se extrae alginato de sodio soluble, que posteriormente pasa a una fase de separación líquido-sólido, precipitación y secado.

2.9 Uso, aplicación y beneficios de bacterias halófilas en la agricultura

Las bacterias halófilas son un grupo diverso de microorganismos que se caracterizan por habitar en ambientes con altas concentraciones de sal. En la agricultura la salinidad en suelos representa una limitante en la producción de cultivos, dado que los cultivos sufren diversos daños como, por ejemplo: disminución del área foliar, grosor y necrosis (Rahneshan et al., 2018).

Guerra-Camacho et al. (2024) mencionan que las bacterias halófilas poseen metabolitos secundarios que representan una alternativa para obtener nuevos compuestos antifúngicos. En el estudio menciona que las especies predominantes fueron *Bacillus subtilis*, *Metabacillus* sp. y tres cepas diferentes de *Bacillus* sp.

Rojas-Padilla et al. (2020); de los Santos-Villalobos et al. (2018); Ibarra-Villarreal et al. (2020) mencionan que en los agroecosistemas el empleo de microorganismos en la biorremediación de suelos es sumamente importante, ya que favorece la formación y aireación de agregados del suelo, el secuestro de carbono, la biorremediación xenobiótica, y la tolerancia al estrés abiótico por parte de las plantas.

CAPITULO III

BACTERIAS HALÓFILAS COMO BIORREMIADORES DE SUELOS SALINOS

HALOPHILIC BACTERIA AS BIOREMIATORS OF SALINE SOILS

Ana Karen Pérez-Bohórquez¹ Gisela Margarita Santiago-Martínez*² () , Alfonso Vásquez-López³() , Carlos I. Cortés-Martínez⁴() , Ernesto Castañeda-Hidalgo²() , Gerardo Rodríguez-Ortiz²() .

^{1, 2}Estudiante, investigador, Tecnológico Nacional de México (TecNM); Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO). División de Estudios de Posgrado e Investigación. Ex hacienda de Nazareno Xoxocotlán, Oaxaca, México.C.P.71233. (<https://orcid.org/0000-0002-9202-6317>, <https://orcid.org/0000-0002-0064-7010>, <https://orcid.org/0000-0001-9296-1439>, <https://orcid.org/0000-0003-0963-8046>).

³Instituto Politécnico Nacional, CIDIIR Unidad Oaxaca, Noche Buena, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México (<https://orcid.org/0000-0001-5628-5525>).

⁴TecNM, Instituto Tecnológico del Valle de ETLA (ITVE), Agua Buena, Santiago Suchilquitongo, Oaxaca, C.P. 68230 (<https://orcid.org/0000-0003-1328-3372>).

RESUMEN

La biorremediación de suelos está ganando importancia en los últimos años, sin embargo, los trabajos documentados aún son pocos. Las bacterias halófilas son microorganismos que por su mecanismo de osmoadaptación favorecen su aplicación en diferentes áreas, una de ellas la agricultura. Esta revisión recopila y analiza los resultados científicos y tecnológicos de los últimos 20 años para la aplicación de bacterias halófilas como biorremediadores de suelos agrícolas salinos. La salinidad de los suelos es un problema que se ha abordado químicamente. El objetivo de esta revisión es buscar información sobre trabajos que ofrezcan una alternativa biológica al problema. Se presentan seis trabajos, tres de los cuales son patentes. Se describe el método de aplicación, temperatura y tiempo de siembra del inóculo y, en su caso, las especies que mostraron significación. Para esta revisión se consideraron únicamente artículos publicados en revistas. Según los trabajos realizados, se reportan 32 especies potenciales de bacterias halófilas como potenciales para la biorremediación de suelos. Así como enzimas con capacidad hidrolítica como: amilasa, proteasa, lipasa, DNasa y pululanasa.

Palabras clave: halófilos, salinidad, mecanismo de acción.

ABSTRACT

Soil bioremediation is gaining importance in recent years, however, documented works are still few. Halophilic bacteria are microorganisms that due to their osmoadaptation mechanism favor their application in different areas, one of them being agriculture. This review compiles and analyzes the scientific and technological results of the last 20 years for the application of halophilic bacteria as bioremediators of saline agricultural soils. Salinity in soils is a problem that has been addressed chemically. The objective of this review is to search for information on works that offer a biological alternative to the problem. Six works are presented, three of which are patents. The application method, temperature and time of sowing of the inoculum are described, and, where appropriate, the species that showed significance. For this review, only articles published in journals were considered. According to the works carried out, 32 potential species of halophilic bacteria are reported as potential for soil bioremediation. As well as enzymes with hydrolytic capacity such as: amylase, protease, lipase, DNase and pullulanase.

Key words: halophiles, salinity, mechanism of action.

3.1 INTRODUCCIÓN

La salinidad del suelo es un problema que afecta la producción agrícola. Hasta el año 2021, 833 millones de ha de suelos afectados son por esta condición en todo el mundo (Omuto et al., 2021). La agricultura es una de las actividades económicas más importantes de México, sin embargo, 11.4 millones de ha de suelo agrícola presentan algún grado de salinidad (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER, 2021]).

La salinidad es la acumulación de sales en el suelo. Si bien existen causas naturales (primarias), las actividades antropogénicas (secundarias) han acelerado la salinización de los suelos (Mata-Fernández, 2014; Courel, 2019; Panzardi et al., 2020).

Los microorganismos halófilos poseen características distintivas como bajos requerimientos nutricionales y resistencia a altas concentraciones de sal, con capacidad de equilibrar la presión osmótica del ambiente, estos microorganismos son aeróbicos, pero también hay anaeróbicos. Los microorganismos halófilos son representados principalmente por bacterias y arqueas. Estos microorganismos se distribuyen en todo el mundo, específicamente en ambientes hipersalinos (Trüper et al., 1991). Debido a sus niveles de requerimiento de sodio para su crecimiento y metabolismo, se

clasifican en cuatro categorías: no halófilos (no toleran la sal); leve (1-3 %); moderado (3-15 %) y extremo (15–30 %) (Kamekura et al., 1988; Oren, 2008; de la Haba et al., 2011).

Las bacterias y arqueas halófilas son productoras de pigmentos carotenoides, como bacteriorrodopsina y halorrodopsina (Flores et al., 2010). Estos compuestos se encuentran en su membrana provocando así una coloración rojiza y purpura (Tindall, 1990; Daoud y Ben Ali, 2020). Las bacterias halófilas son productoras de enzimas, polímeros y solutos compatibles que son de gran importancia en diferentes áreas de la industria cosmética, nutricionista, petrolera, entre otros (Tindall, 1990; Fernández et al., 2007).

Por la producción de estos compuestos, las bacterias halófilas son de gran importancia ambiental, principalmente porque producen la enzima deshalogenasa que es utilizada en la biorremediación de ambientes contaminados (Rodríguez-Aristizabal et al., 2019; Fariq y Yasmin, 2020; Oyewusi et al., 2020).

El objetivo de este trabajo fue la recopilación y análisis de información con resultados científicos y tecnológicos de los últimos 20 años para la aplicación de bacterias halófilas como agentes biorremediadores de suelos agrícolas salinos.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

La búsqueda de información se realizó en bases de datos bibliográficas de resúmenes y citas de artículos de revistas científicas, como Scopus, Scielo y Redalyc, en el período de agosto de 2022 a marzo de 2023, mediante el uso de descriptores como: halophiles, bacterias halófilas, extremófilos, soli biorremediation, saline soils, sodic solils, saline soil treatment etc. Los registros oscilaron entre 34 y 50 documentos. Al igual se realizó una búsqueda en Google Académico y Google Patents.

Se seleccionaron aquellos documentos que brindaran información específica de las bacterias halófilas como su estructura, clasificación y aplicaciones. La estructura de la información se realizó tomando en cuenta el tipo de documento, ya sea artículo científico o patente.

Posteriormente, se realizó una categorización de la información en tablas de Excel®, tales como: condiciones de incubación (medio de cultivo, temperatura y tiempo) e inoculación (forma de aplicación, concentración y especie) enfatizando en áreas como Agricultura, Fitopatología, Biología Experimental.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Bacterias halófilas reportadas en artículos y patentes

La biorremediación de suelos salinos es un tema amplio, sin embargo, el uso de bacterias halófilas se encuentra muy poco explorado. Se enlistan los trabajos de investigación sobre estos microorganismos, publicados en los últimos años en revistas indizadas en Scopus (Cuadro 3), así como invenciones reportadas en patentes (Cuadro 4).

Se encontraron seis estudios que reportan la aplicación de bacterias halófilas como biorremediadores de suelos salinos, de los cuales, tres son reportados como artículos científicos y tres son patentes en estatus de pendientes. De los artículos científicos se extrajo información importante sobre la incubación e inoculación de estos microorganismos.

Cuadro 3. Bacterias halófilas aplicadas como desalinizadoras de suelos reportadas en artículos científicos.

| Autor | Año | país | Modalidad | Título | medio | Siembra | | | Aplicación | | | Resultados | |
|--------------------------------|------|----------|---------------------|--|--|-----------|------|-------|----------------------------------|-----------------------------|---|--|---|
| | | | | | | Sodio (%) | T °C | C/A | F/A | Cepas Bacterianas aplicadas | Parámetros iniciales | Parámetros finales | |
| Dastgheib et al. | 2011 | Irán | Artículo científico | Un <i>Alcanivorax</i> sp. halotolerante. cepa con aplicación potencial en la remediación de suelos salinos | Una solución de sal mineral (MSS) complementado con NaCl | 20 % | 28 | 2 sem | 106 UFC por gramo | Caldo nutritivo | cepa Qtet3 (<i>Alcanivorax</i> sp.) | 65250 $\mu\text{S cm}^{-1}$ | 8072 $\mu\text{S/cm}^{-1}$ |
| Sánchez Arguello-Arias. | 2006 | Colombia | Artículo científico | Capacidad de bacterias halófilas para capturar sodio in vitro y su posible aplicación en la biorremediación de suelos Salino-sódicos | Caldo nutritivo | 3 % | 35.5 | 24 h | 1.2 x 10 ⁸ ufc/100 mL | Caldo nutritivo | <i>Vibrio alginolyticus</i> <i>Vibrio metschnikovii</i> <i>Flavimonas oryzihabitans</i> | Concentración inicial de Na (%) 5.65 | Concentración Final de Na (%) 5.26 3.8 3.12 |
| Rodríguez - Aristizabal et al. | 2019 | Colombia | Artículo científico | Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia | Agar nutritivo | 1.5 | 37 | 24 h | 108 UFC/ml ⁻¹ | Caldo nutritivo | cepa 1 cepa 2 cepa 3 cepa 4 cepa 5 cepa 6 | CE Inicial 5.2 5.2 5.2 5.2 5.2 5.2 | CE Final 0.8 0.7 0.8 0.6 0.7 0.7 0.7 |

°C=Temperatura, T=tiempo, CA=concentración de aplicación, FA=forma de aplicación

Cuadro 4. Bacterias halófilas aplicadas como desalinizadoras de suelos reportadas en patentes.

| Autor | A ño | P aís | Título de la patente | Cultivo | | | Aplicación | | |
|--------------------|---------|----------|---|--|------------------|------------|---|----|---|
| | | | | Medio | Temperatura (°C) | Tiempo (h) | Forma aplicación | de | Especie |
| Jiang-Lihua et al. | 2020 | China | Inóculo microbiano de remediación microbiana para suelo salino-alcalino, así como método de preparación y aplicación de inóculo microbiano de remediación microbiana. | - | 30-37 | 24-26 | inoculo mixto que comprende 20-30 partes de salvado, torta y turba de hierba. | | <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus mucilaginosus</i> |
| Xu-Jun et al. | 2013 | China | Método para preparar un agente microbiano tolerante a la sal. | Solución nutritiva | 20 -30 | 24-48 | inoculo mixto | | - |
| Weiguo et al. | 2014 | China | Método de cotratamiento para la salinización del suelo. | - | - | - | Polvo en conjunto con otros componentes | | - |
| Xu-Jun et al. | 2015 | China | Agente bacteriano compuesto halófilo- microorganismo y aplicación del mismo. | Medio de enriquecimiento de cultivo mixto y sal inorgánica | - | - | Compuesto halófilo (alcohol metílico, fenol, glucosa, licor de maíz seco, Polvo, melaza, polvo de lixiviación de levadura para fuente de carbono) | | (¿?) |

3.3.2 Incubación

Sánchez y Arguello-Arias (2006) indican que para el crecimiento óptimo de los microorganismos utilizó medio de cultivo nutritivo con 3% de NaCl y lo incubó a 35.5 °C durante 24 h previo a la inoculación, mientras que Rodríguez-Aristizábal et al. (2019) utilizaron agar nutritivo con 6% de NaCl como medio de cultivo y se incubó a 37 °C durante 24 h.

Dastgheib et al. (2011) incubaron las cepas en agar nutritivo suplementado con NaCl al 20% y purificado en una solución de sal mineral (MSS) complementado con NaCl. En cambio, Xu-Jun et al. (2013) incubaron en una solución nutritiva a base de sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), fosfato dipotásico (K_2HPO_4), cloruro de magnesio (MgCl_2), cloruro de calcio (CaCl_2), sulfato de hierro (FeSO_4), glucosa, fenol, extracto de levadura y oligoelemento, pH 7.5-8.5.

En el estudio de Xu-Jun et al. (2015) realizaron la incubación en un medio de enriquecimiento de cultivo mixto y sal inorgánica. El medio de agar selectivo usado fue de 10 a 200 g L⁻¹, la sal inorgánica utilizada fue muriato, vitriolo, carbonato, sal de ácido fosfórico y nitrato.

Los hallazgos de los artículos mencionados permiten conocer otras técnicas de incubación, la capacidad de adaptación de estos microorganismos en ambientes salinos y la concentración de NaCl en el medio de cultivo, la cual

puede variar del 3 a 20% y obtener una propagación exitosa de estos microorganismos.

3.3.3 Inoculación

En cuanto al método de aplicación, Dastgheib et al. (2011) utilizaron matraces que con 100 ml de medio mineral suplementado en un 10%, y se inocularon NaCl y 100 ppm del hidrocarburo y se incubaron a 30 °C y 120 rpm durante 2 semanas. Donde evaluaron el efecto de diferentes concentraciones de NaCl (0%, 1%, 5%, 10%, 15% y 17%). Además, se evaluó la tasa de biodegradación del fenantreno midiendo el crecimiento y el consumo de sustrato en medios minerales después de 12 días de incubación.

Mientras que Sánchez y Arguello-Arias (2006) realizaron la inoculación en concentración de 1.2×10^8 ufc/100 ml, la inoculación se realizó en soluciones de agua peptonada al 0.1% (27 tubos por bacteria) solución a la que se evaluó concentración inicial y final de sodio esto mediante el método de espectroscopia de absorción atómica en el equipo Perkin Elmer Analyst 300.

Rodríguez-Aristizabal et al. (2019) reportan estudios donde la inoculación fue mediante suspensión en caldo nutritivo (6% NaCl) con una concentración de 108 UFC/ml. La inoculación se realizó en macetas de 3 kg con suelo moderadamente salino, para la evaluación de la salinidad realizaron 10 mediciones de CE. En una segunda fase en los suelos inoculados evaluaron

plantas de tomate para las variables altura de la planta y número de hojas, clorosis y marchitez del área foliar.

En cambio, Jiang-Lihua et al. (2020) realizaron la inoculación mediante una sinergia que se compone de 40-50 partes de residuos de hongos comestibles, 20-30 partes de polvo de ácido húmico, 6-10 partes de azufre y 10-20 partes de un inóculo microbiano compuesto (inóculo microbiano compuesto comprende *Streptomyces jingyangensis*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus mucilaginosus* líquido bacteriano mixto).

Las inoculaciones se realizaron con diferentes concentraciones, lo que claramente influye en los resultados presentados en cada estudio. La inoculación en cada caso fue diferente en cuanto a la concentración bacteriana, sin embargo, la mayoría la inoculación la realizaron en forma de solución bacteriana (suspensión en medio líquido). Así mismo, es importante enfatizar que estos estudios son realizados en laboratorio, sin evidencias de estudios realizados en campo.

3.3.4 Mecanismo de acción

Las halobacterias sobreviven en ambientes con altas concentraciones salinas, es por ello que la regulación osmótica es un mecanismo de adaptación ante el nivel de estrés al que son sometidas (Kraegeloh et al., 2005; Fernández et al., 2007; Wood, 2011). Dado que la regulación osmótica es la clave para la supervivencia de estos microorganismos, de acuerdo con algunos autores

(Lanyi, 1974; González-Hernández & Peña, 2002; Amoozegar et al., 2017) utilizan dos estrategias que les permiten conservar este equilibrio osmótico (Dutta y Bandopadhyay, 2022).

La primera estrategia se le llama salt-in y es utilizada por arqueas extremadamente halófilas (haloarchaea). En este proceso se acumulan iones Na^+ y K^+ en el citoplasma a concentraciones similares a las que existen en el exterior de la pared celular. La segunda estrategia se le denomina salt-out y es utilizada principalmente por bacterias y microorganismos eucariotas halófilos. Consiste en la acumulación de moléculas orgánicas como aminoácidos, azúcares y polioles, son moléculas pequeñas y altamente solubles por lo que pueden acumularse en grandes cantidades dentro de las células sin causar efectos negativos (Larsen, 1986; Dennis y Shimmin, 1997).

Las bacterias halófilas también son de gran interés por ser degradadoras de hidrocarburos en una salinidad del 30% (McGenity, 2010).

3.3.5 Biorremediación de suelos

Sánchez y Arguello-Arias (2006) demostraron que las bacterias halófilas son capaces de capturar iones de sodio en un 7%. En este estudio destacan tres especies que son potenciales para la biorremediación de suelos *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio metschnikovii* y *Flavimonas oryzihabitans* (Figura 1). En este estudio, tomaron como variables la concentración de Na inicial y final.

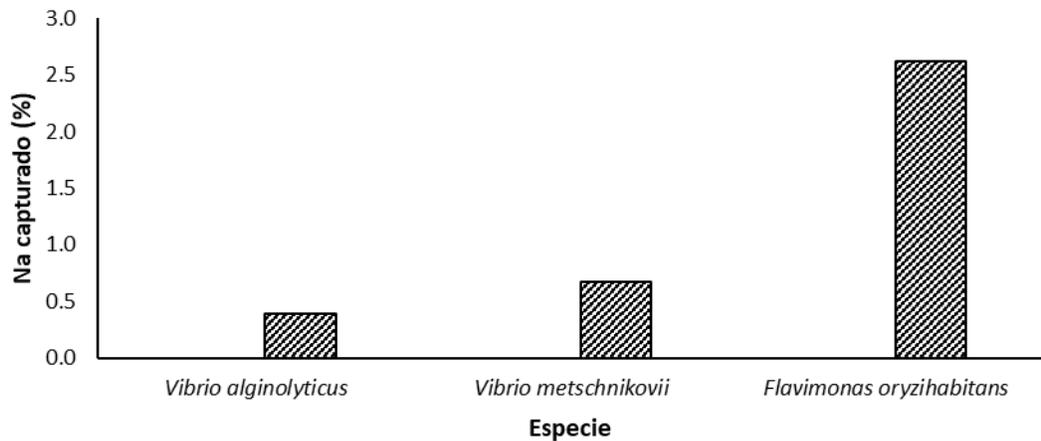


Figura 1. Porcentaje de sodio capturado clasificado por especie de bacteria halófila.

Rodríguez-Aristizábal et al. (2019) realizaron un estudio *in vitro* en el que evaluaron la conductividad eléctrica (CE) del suelo, donde no fueron identificadas ninguna de las especies. En los tratamientos las cepas fueron identificadas como: 1, 2, 3, 4, 5 y 6. La cepa 4 fue la más sobresaliente porque logró disminuir la CE de 5.2 a 0.6 dS m⁻¹ (Figura 2).

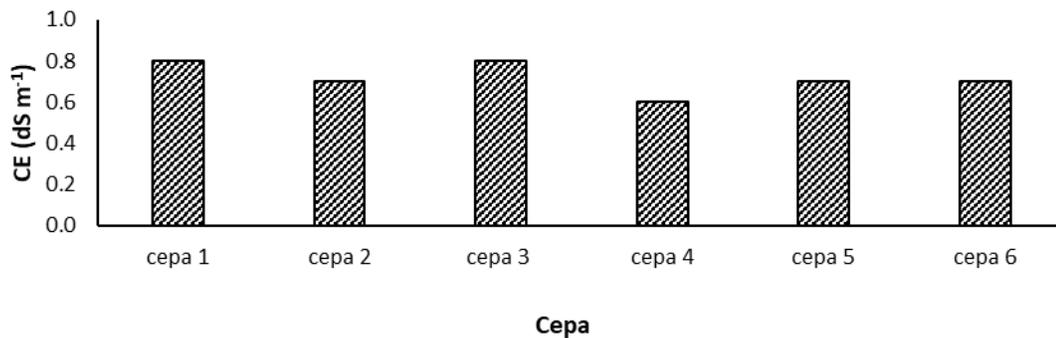


Figura 2. Conductividad eléctrica (CE) de suelos salinos por efecto de la inoculación de seis cepas de bacteria halófilas.

Asimismo, Dastgheib et al. (2011) en su estudio tomaron como parámetro de seguimiento la CE en la que se obtuvo un valor inicial de 65250 $\mu\text{S cm}^{-1}$ y una final de 8072 $\mu\text{S cm}^{-1}$, obteniendo una reducción de salinidad del 12.37%.

En cuanto a las patentes registradas, ninguna ofrece información acerca de las condiciones de incubación y no reporta resultados en pruebas de viabilidad del experimento. La forma de aplicación varia, ya que Xu-Jun et al. (2013), Jiang-Lihua et al. (2020) y Xu-Jun et al. (2015) aplican en forma de inóculo mixto, y aplica a procesos de aguas residuales con alto contenido de sal, remediación de aguas en ambientes hipersalinos y reparación de suelos afectados por sales.

Weiguo et al. (2014) aplican en forma de polvo en sinergia con otros componentes. Si bien estos procedimientos pueden favorecer el mecanismo de acción de las bacterias halófilas, no se pueden discutir los resultados por la falta de datos experimentales.

3.3.6 Especies de halófilos

Las especies potenciales para la biorremediación se suelos salinos reportados en los estudios citados recopilan 32 especies. En el estudio realizado por Xu-Jun et al. (2013) utilizaron 26 especies de bacterias halófilas, las cuales se mencionan a continuación: *Halomonas alkaliphila*, *H. venusta*, *Halobacillus locisalis*, *Halobacillus trueperi*, *Halobacillus* sp., *H. aquamarina*, *H. axialensis*, *Marinobacter daepoensis*, *M. alkaliphilus*, *Microbacterium aquimaris*, *M. esteraromaticum*, *Marinobacterium halophilum*, *Marinbacter sediminum*, *M. salsuginis*, *M. lipolyticus*, *M. flavimaris*, *M* sp., *Flavobacterium kamogawaensis*., *Citricella* sp., *Bacillus firmus*, *B. flexus*, *B. litoralis*, *B. marisflavi* y *Bacillus* sp.

Mientras que en el estudio realizado por Jiang-Lihua et al. (2020) se reportaron dos especies *Bacillus subtilis* y *B. mucilaginosus*. Si bien no son bacterias halófilas ofrecen una alternativa para la biorremediación de suelos salinos. En el estudio de Sánchez y Arguello-Arias (2006) destacan tres especies que son potenciales para la biorremediación de suelos *Vibrio alginolyticus*, *V. metschnikovii* y *Flavimonas oryzihabitans*, y en el estudio realizado por Dastgheib et al. (2011) lo enfocaron solo a la especie *Alcanivorax* sp.

3.3.7 Enzimas hidrolasas

Las bacterias halófilas han incrementado su potencial debido a sus propiedades catalíticas e hidrolíticas, como, por ejemplo: formulación de detergentes, elaboración de productos dietéticos, procesamiento de cuero, papel y alimentos cárnicos; así como también en la síntesis de enantiómeros puros de fármacos, biodegradación de residuos tóxicos y contaminantes industriales etc. (Gosh et al., 2019; Corral et al. 2019; Contreras-Castro et al., 2020; Santhaseelan et al., 2022).

Dentro de las enzimas hidrolíticas se encuentran las lipasas que son una de las enzimas hidrolíticas más importantes con potencial en la agricultura. Son enzimas que hidrolizan enlaces éster presentes en los acilgliceroles o síntesis de un grupo amplio de ésteres carboxílicos (Bornscheuer et al. 1994; Ruiz et al., 2007). Las lipasas se encuentran en gran diversidad de halófilos moderados y extremos (Boutaiba et al., 2006; Amoozegar et al., 2008; Ozcan et al., 2009).

También se encuentran las amilasas, DNasa y pululanasa (Enache y Kamekura, 2010; Flores et al., 2010; Babavalian et al., 2013).

3.4 CONCLUSIONES

Las bacterias halófilas son potenciales para la biorremediación de suelos debido a capacidad hidrolítica y su mecanismo de osmorregulación, estos microorganismos al ser halotolerantes habitan en gran parte del mundo. De acuerdo a los autores citados, el método de incubación influye en el crecimiento y proliferación de las cepas, en cuanto al método de inoculación influyen de manera directa en la recuperación de suelos salinos, esto debido a la concentración de UFC la que potencializa a en una concentración de 10^6 - 10^8 UFC/ml⁻¹. La forma de aplicación demostró ser eficaz cuando se aplica en caldo nutritivo. La diversidad de bacterias halófilas que han sido identificadas ofrece un sin fin de oportunidades de estudio, para brindar soluciones en la biorremediación de suelos de forma biológica y con inversiones al alcance de los agricultores.

3.5 LITERATURA CITADA

- Amoozegar, M. A., Siroosi, M., Atashgahi, S., Smidt, H., & Ventosa, A. (2017). Systematics of haloarchaea and biotechnological potential of their hydrolytic enzymes. *Microbiology*, 163(5), 623–645. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000463>
- Amoozegar, M.A., Salehghamari, E., Khajeh, K., Kabiri, M. y Naddaf, S. (2008). Producción de una lipasa termohalófila extracelular a partir de una bacteria moderadamente halófila, *Salinivibrio* sp. cepa SA-2. *J. Microbiol Basico*, 48, 160-167.
- Babavalian, H., Amoozegar, M.A., Pourbabae, A.A., Moghaddam, M.M. & Shakeri, F. (2013). Isolation and identification of moderately halophilic bacteria producing hydrolytic enzymes from the largest hypersaline playa in Iran. *Microbiology*. 82(4), 466-47.
- Bornscheuer, U., Reif, O. W., Lausch, R., Freitag, R., Scheper, T., Kollis, F. N., Menge, U. (1994). Lipase of *Pseudomonas cepacia* for biotechnological purposes: purification, crystallization and characterization. *Biochim Biophys*, 1201, 55-60.
- Boutaiba, S., Bhatnagar, T., Hacene, H., Mitchell, D.A. y Baratti, J.C. (2006). Caracterización preliminar de la actividad lipolítica de una arqueona extremadamente halófila, *Natronococcus* sp. *Revista de Catálisis Molecular B-enzimática*, 41, 21-26. doi: 10.1016/J.MOLCATB.2006.03.010.
- Contreras-Castro L., Martínez-García S., Cancino-Díaz J.C., Maldonado L.A., Hernández-Guerrero C.J., Martínez-Díaz S.F. (2020). Marine Sediment

- Recovered *Salinispora* sp. Inhibits the Growth of Emerging Bacterial Pathogens and other Multi-Drug-Resistant Bacteria. *Pol J Microbiol*, 69(3), 321-30.
- Corral, P., Amoozegar, M.A., Ventosa, A. (2019). Halophiles and their biomolecules: Recent Advances and Future Applications in Biomedicine. *Mar Drugs*, 18(1), 33.
- Courel, G. F. (2019). Guía de estudio suelos salinos y sódicos. *Inst. Universidad de Tucumán, Facultad de Agronomía y Zootecnia*, 89 p.
- Daoud, L., & Ben Ali, M. (2020). Halophilic microorganisms: Interesting group of extremophiles with important applications in biotechnology and environment. *Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles*, 51–64. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818322-9.00005-8>
- Dastgheib, S.M., Amoozegar, M.A., Khajeh, K., Ventosa, A. (2011). A halotolerant *Alcanivorax* sp. strain with potential application in saline soil remediation. *Microbiol Biotechnol*, 90(1), 305-12. doi: 10.1007/s00253-010-3049-6
- De la Haba, R.R., Sánchez-Porro, C., Márquez, M.C., & Ventosa, V. (2011). *Taxonomy of halophiles*. Horikoshi, K. (eds) *Extremophiles Handbook*. Springer, Tokyo.
- Dennis, P. P., & Shimmin, L. C. (1997). Evolutionary divergence and salinity-mediated selection in halophilic archaea. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61(1), 90–104. <https://doi.org/10.1128/membr.61.1.90-104>.

- Dutta, B., & Bandopadhyay, R. (2022). Biotechnological potentials of halophilic microorganisms and their impact on mankind. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1), 75. <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00252-w>
- Enache, M., Kamekura, M. (2010). Hydrolitic enzymes of halophilic microorganisms and their economic values. *Romanian Journal of Biochemistry*. 47(1):47-59.
- Fariq, A. & Yasmin, A. (2020). Production, characterization and bioactivities of biosurfactants from newly isolated strictly halophilic bacteria. *Process Biochemistry*, 98, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.07.011>
- Fernández J., Zavaleta, A. L., & Arahall, D. R. (2007). Bacterias halófilas moderadas aisladas de las minas salinas de Atacocha-Ayacucho. *Ciencia e Investigación*, 10(2), 59–63. <https://doi.org/10.15381/ci.v10i2.4955>
- Flores, M. L., Zavaleta, A. I., Zambrano, Y., Cervantes, L., & Izaguirre, V. (2010). Moderately halophilic bacterias producing hydrolytic biotechnological enzymes. *Ciencia e Investigación*, 13(1):42-46.
- Ghosh, S., Gnaim, R., Greiserman, S., Fadeev, L., Gozin, M., & Golberg, A. (2019). Macroalgal biomass subcritical hydrolysates for the production of polyhydroxyalkanoate (PHA) by *Haloferax mediterranei*. *Bioresource Technology*, 271, 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.108>
- González-Hernández, J., & Peña, A. (2002). Estrategia de adaptación de microorganismos halófilos y *Debaryomyces hansenii* (Levadura halófila). *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 44, 3-4.

Jiang-Lihua, Shi Jing,Wang Mei,Li Hongmei,Xu Yu,Yang Yan,Li Ni,Hu Bin.
(2020). Microbial remediation microbial inoculum for saline-alkaline soil,
as well as method of preparation and application of microbial remediation
microbial inoculum.

<https://patents.google.com/patent/CN111499432A/en?q=CN111499432>

[A](#)

Kamekura, M., Oesterhelt, D., Wallace, R., Anderson, P., & Kushner, D. J.
(1988). Lysis of halobacteria in bacto-peptone by bile acids. *Applied and
Environmental Microbiology*, 54(4), 990–995.

<https://doi.org/10.1128/aem.54.4.990-995.1988>

Kraegeloh, A., Amendt, B., & Kunte, H. J. (2005). Potassium transport in a
halophilic member of the bacteria Domain: Identification and
Characterization of the K⁺ Uptake Systems TrkH and TrkI from
Halomonas elongata DSM 2581T. *Journal of Bacteriology*, 187(3), 1036–
1043. <https://doi.org/10.1128/JB.187.3.1036-1043.2005>

Lanyi, J. K. (1974). Salt-dependent properties of proteins from extremely
halophilic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 38(3), 272–290.

<https://doi.org/10.1128/br.38.3.272-290.1974>

Larsen, H. (1986). Halophilic and halotolerant microorganisms-an overview and
historical perspective. *FEMS Microbiology Letters*, 39(1–2), 3–7.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1986.tb01835.x>

Mata-Fernández I., Rodríguez-Gamiño, M.L., López-Blanco, J., Vela-Correa G.
(2014). Dinámica de la salinidad en los suelos. *Revista Digital del
Departamento El Hombre y su Ambiente*. 1 (5): 26-35.

- McGenity, T.J. (2010). Degradadores de hidrocarburos halófilicos. En: Timmis KN (ed) Manual de microbiología de hidrocarburos y lípidos. *Springer*, Berlín. doi:10.1007/978-3-540-77587-4_123
- Omuto, C. T., Vargas, R. R., el Mobarak, A. M., Mohamed, N., Viatkin, K. & Yigini, Y. (2021). *Mapeo de suelos afectados por salinidad. Manual técnico*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). <https://doi.org/10.4060/ca9215es>
- Oren, A. (2008). Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Systems*, 4(1), 2. <https://doi.org/10.1186/1746-1448-4-2>
- Oyewusi, H. A., Wahab, R. A., & Huyop, F. (2020). Dehalogenase-producing halophiles and their potential role in bioremediation. *Marine Pollution Bulletin*, 160. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111603>
- Ozcan, B., Ozyilmaz, G., Cokmus, C. y Caliskan, M. (2009). Caracterización de las actividades esterasa y lipasa extracelular de cinco cepas de arqueas halófilas. *Microbiol. Biotecnología*, 36, 105-110.
- Panzardi, C. A., Quiroz, N. C., & Erkia, S. (2020). Recuperación de suelos sódicos. *Agrotecnia*, 29, 73. <https://doi.org/10.30972/agr.0294523>
- Rodríguez-Aristizabal, M.A., Higuera-Mora, N.C. y Sanjuanelo-Corredor, D.W. (2019). Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 67 (3), 621-632. <https://doi.org/10.15517/RBT.V67I3.32942>

- Ruiz, C., Falcocchio, S., Pastor, F. I., Saso, L., Díaz, P. (2007). *Helicobacter pylori* EstV: identification, cloning, and characterization of the first lipase isolated. *Appl Environ Microbiol*, 73(8), 2423-31.
- SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). (2021). *Mapa agrícola de afectación por salinidad en México*. <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/mapa-agricola-de-afectacion-por-salinidad-en-mexico>.
- Sánchez, L. C., & Arguello-Arias, H. (2006). Capacidad de bacterias halófilas para capturar sodio in Vitro y su posible aplicación en biorremediación en suelos salinos-sódicos. *Nova*, 4(6), 19. <https://doi.org/10.22490/24629448.357>
- Sanjay, A., Meghna, J. V., Riddhi, M., Chirag, B., & Purvi, N. P. (2014). Halophilic microbes for bio-remediation of salt affected soils. *African Journal of Microbiology Research*, 8(33), 3070–3078. <https://doi.org/10.5897/ajmr2014.6960>
- Santhaseelan, H., Dinakaran, V.T., Dahms, H.U., Ahamed, J.M., Murugaiah, S.G., Krishnan, M., Hwang, J.S. & Rathinam, A.J. (2022). Recent Antimicrobial Responses of Halophilic Microbes in Clinical Pathogens. *Microorganisms*. 10(2), 417.
- Tindall, B. J. (1990). Lipid composition of *Halobacterium lacusprofundi*. *FEMS Microbiology Letters*, 66(1–3), 199–202. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1990.tb03996.x>

Trüper, H.G., Severin, J. Wolhfarth, A., Müller, E. & Galinski, E.A. (1991). Aspectos generales y aplicados del halofilismo. *Halofilia, Taxonomía, Filogenia y Nomenclatura*, 3–7.

Weiguo, I., Chen Qinghui, Sun Xuelin. (2014). Co-treatment method for soil salinization.

<https://patents.google.com/patent/CN104190703A/en?q=CN+101844148+B>.

Wood, J. M. (2011). Bacterial osmoregulation: A Paradigm for the Study of Cellular Homeostasis. *Annual Review of Microbiology*, 65(1), 215–238.

<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090110-102815>

Xu-jun, Wang Kai Chun, Dong Zibin, zhao yan, dry cloudli-kun, Li Xuezi, Liu Zhikui. (2015). Compound halophilous-microorganism bacterium agent and application thereof. <https://patents.google.com/patent/CN105062936A/en?q=CN105062936A>.

Xu-Jun, Wang Kaichun, Dong Zibin, Li Xuezi, Yungan, Zhao Yan, Yang Zhilin, Liu Zhikui. (2013). Method for preparing a salt-tolerant microbial agent.

<https://patents.google.com/patent/CN103540555A/en?q=CN105062936A>.

CAPÍTULO IV

ENCAPSULAMIENTO DE BACTERIAS Y ARQUEAS HALÓFILAS Y SU EFECTO EN LA DESALINIZACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS, EN CONDICIONES *in vitro*

ENCAPSULATION OF HALOPHILE BACTERIA AND ARCHEA AND ITS EFFECT ON THE DESALINATION OF AGRICULTURAL SOILS, UNDER *in vitro* CONDITIONS

Ana Karen Pérez-Bohórquez¹ Gisela Margarita Santiago-Martínez*² () , Alfonso Vásquez-López³() , Carlos I. Cortés-Martínez⁴() , Ernesto Castañeda-Hidalgo²() , Gerardo Rodríguez-Ortiz²() .

^{1, 2}Estudiante, investigador, Tecnológico Nacional de México (TecNM); Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO). División de Estudios de Posgrado e Investigación. Ex hacienda de Nazareno Xoxocotlán, Oaxaca, México.C.P.71233. (<https://orcid.org/0000-0002-9202-6317>, <https://orcid.org/0000-0002-0064-7010>, <https://orcid.org/0000-0001-9296-1439>, <https://orcid.org/0000-0003-0963-8046>).

³Instituto Politécnico Nacional, CIDIIR Unidad Oaxaca, Noche Buena, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México (<https://orcid.org/0000-0001-5628-5525>).

⁴TecNM, Instituto Tecnológico del Valle de Etla (ITVE), Agua Buena, Santiago Suchilquitongo, Oaxaca, C.P. 68230 (<https://orcid.org/0000-0003-1328-3372>).

RESUMEN

Las bacterias y arqueas halófilas son microorganismos que ofrecen una alternativa para la biorremediación de suelos salinos, son pocos los estudios que se han realizado, ya que se ve limitado por su aplicación, almacenamiento y su eficiencia. Al formular estos microorganismos los protege de factores bióticos y abióticos que resulten dañinos para los microorganismos, la presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, del 20 de agosto de 2022 al 15 de agosto de 2023. El objetivo fue formular consorcios de bacterias y arqueas halófilas y evaluar su efecto sobre parámetros de salinidad de un suelo agrícola; así como en el crecimiento de plántulas de papaya sembradas en suelo inoculado con los consorcios, en condiciones *in vitro*. Se realizó en tres fases experimentales, en la primera se probó el contenido de alginato de sodio y el tiempo de permanencia en la solución solidificante, en el cual se obtuvo como resultado que las microcápsulas más firmes y aparentemente más uniformes fueron las elaboradas a base de alginato de sodio al 1% en tres tiempos de solidificación. En la segunda se probaron nueve tratamientos y seis testigos el mejor tratamiento fue CAML con un pH inicial de 9.45 y un pH final de 8.53. En la tercera se evaluó el crecimiento de plántulas de papaya (*Carica papaya* L.) de dos meses de edad. Para altura destacó el tratamiento CBACFB (40.3) siendo 459% mayor con respecto al testigo, en cuanto a diámetro de planta CAYBFB (30.8) mostró incremento de 152% con relación al testigo CFB y CBACTD (41.39) registró el mayor número de hojas.

Palabras clave: plántulas, crecimiento, desalinización, encapsulación.

ABSTRAC

Halophilic bacteria and archaea are microorganisms that offer an alternative for the bioremediation of saline soils. Few studies have been carried out since they are limited by their application, storage, and efficiency. Formulating these microorganisms protects them from biotic and abiotic factors that are harmful to microorganisms. This research was carried out at the Phytopathology Laboratory of the Interdisciplinary Research Center for Integral Regional Development, Oaxaca Unit, from August 20, 2022 to August 15, 2023. The objective was to formulate consortia of halophilic bacteria and archaea and evaluate their effect on salinity parameters of an agricultural soil; as well as in the growth of papaya seedlings planted in soil inoculated with the consortia, under in vitro conditions. It was carried out in three experimental phases, in the first the sodium alginate content and the residence time in the solidifying solution were tested, in which it was obtained as a result that the firmest and apparently most uniform microcapsules were those made from 1% sodium alginate at three solidification times. In the second, nine treatments and six controls were tested, the best treatment was CAML with an initial pH of 9.45 and a final pH of 8.53. In the third, the growth of two-month-old papaya seedlings (*Carica papaya* L.) was evaluated. For height, the CBACFB treatment (40.3) stood out, being 459% higher with respect to the control, in terms of plant diameter CAYBFB (30.8) showed an increase of 152% in relation to the CFB control. And CBACTD (41.39) recorded the highest number of leaves.

Index words: seedlings, growth, desalination, encapsulation

4.1 INTRODUCCIÓN

En la agricultura se han utilizado diversas técnicas convencionales y uso desmedido de agroquímicos, para control de plagas y enfermedades, incluso para la biorremediación de suelos, lo que repercute en la acidificación de suelos, pérdida de flora y fauna y sobre todo, la generación de suelos no productivos. En los últimos años el control biológico ha cobrado importancia debido a los buenos resultados y su bajo impacto ambiental (Vinchira-Villarraga y Moreno, 2019; Zelaya-Molina et al., 2022). Sin embargo, el estrés biótico y abiótico representa una limitante, ya que reduce la eficiencia de los agentes activos, por lo que la formulación (encapsulación) es una alternativa de importancia para contrarrestar dicha limitante (Pino y Aragüez, 2021).

La formulación es una técnica que consiste en envolver un principio activo y protegerlo de condiciones adversas (Han, 2020; Huang et al., 2024; Bu et al., 2025). Esta técnica resulta de importancia ya que incrementa la estabilidad, actividad biológica y funcional, así como controla la liberación de microorganismos y, posee una vida útil larga (Mokhtarnejad et al., 2011); esto también hace que su manejo sea más fácil y su tiempo de almacenamiento se incremente (Anal y Singh, 2007; Leggett et al., 2011; López-Fernández et al., 2019).

En la agricultura existe un problema que se incrementa con el tiempo, la salinidad de suelos. Estos suelos se caracterizan por ser tóxicos para las plantas, ya que carecen de nutrientes, baja capacidad de absorber agua por ende se presentan problemas como sequía, reducción de la germinación y crecimiento (Meena et al. 2019; Rodríguez y Dufour, 2021).

En el mundo 833 millones de ha de suelos son afectados por salinidad en todo el mundo (Omuto et al., 2021). La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER, 2021) informó que en México la afectación por salinidad abarca el 60% de la zona agrícola con sistema de riego presentándose así en 5.86 mill ha.

En este sentido las bacterias halófilas son microorganismos caracterizados por habitar en ambientes con altas concentraciones de sales, estos microorganismos han desarrollado múltiples mecanismos de adaptación para sobrevivir, entre ellas, la producción de metabolitos que funcionan como defensa frente a organismos competidores, lo que supone una fuente importante de nuevos compuestos antifúngicos, (Oren, 2015, Corral, 2019). Así mismo, poseen dos mecanismos de osmoadaptación salt-in y salt-out; el primero consiste en almacenar iones inorgánicos, principalmente K^+ y Cl^- en el citoplasma (Dennis y Shimmin, 1997); y el segundo consiste en almacenar solutos compatibles como azúcares, polioles, aminoácidos (Kunte, 2005; Kanekar et al., 2011; Edbeib et al., 2016). Esta adaptación al estrés salino y la capacidad de almacenar sales en el citoplasma convierte a las bacterias y

arqueas halófilas en una potencial estrategia para la biorremediación de suelos salinos.

El objetivo de la investigación en una primera fase fue formular pellets, variando el tipo de material portador, proporción de gelificante y tiempo de solidificación, para encapsular consorcios de arqueas y bacterias halófilas, en una segunda fase fue evaluar el efecto de consorcios de bacterias y arqueas halófilas sobre parámetros (pH y CE) indicadores de salinidad de un suelo agrícola, y en una tercera fase evaluar su efecto en el crecimiento en plántulas de papaya (*Carica papaya* L.) de dos meses de edad.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Material biológico

Para el estudio se utilizaron tres cepas de arqueas (A1, A4, A5) y tres bacterias (B6, B7 y B9) resguardadas en el laboratorio de Fitopatología del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Oaxaca del Instituto Politécnico Nacional. Las cepas fueron aisladas de las salineras de Salina Cruz, Oaxaca y resguardadas en medio de cultivo nutritivo líquido (Piña et al., 2011; Leal- Ferrández, 2017) al 20% y 25% de NaCl, respectivamente.

4.2.2 Reactivación de las cepas

La reactivación de cepas se realizó transfiriendo la masa bacteriana existente en las cajas de resguardo a cajas de Petri con medio de cultivo nutritivo sólido con una concentración de 20% de NaCl para arqueas (Piña et al., 2011) (Anexo 1) y 25% para bacterias (Leal-Ferrández, 2017) (Anexo 2). Posteriormente se incubaron a 37 °C durante 48 h (Figura 3). La siembra se realizó por triplicado mediante la técnica de estriado fino.



Figura 3. Obtención de la masa bacteriana de las cajas de resguardo.

FASE 1.

Objetivo: formular pellets, variando el tipo de material portador, proporción de gelificante y tiempo de solidificación, para encapsular consorcios de arqueas y bacterias halófilas.

Se utilizaron tres materiales portadores: caolinita, fibra de celulosa (Fibra-Cel[®] 7F) y tierra de diatomeas (marca CELITE[®] 209). Glicerol como osmoprotectante, como gelificante se agregó alginato de sodio y como solidificante se utilizó una solución de 2.5 g de cloruro de calcio (CaCl₂) en 500 ml de agua destilada (2H₂O). Todos los materiales se esterilizaron a 120 °C por 20 min. Para obtener una suspensión homogénea de los materiales, se mezcló

utilizando un agitador magnético que inicio a 1200 rpm y descendió a 500 rpm en un lapso de 1 h. Además, se estableció la temperatura a 35 °C.

Se evaluaron nueve tratamientos en los cuales los factores de variación fueron el contenido de alginato de sodio y el tiempo de permanencia en la solución solidificante. Los niveles de contenido de alginato de sodio fueron 0.50, 0.75 y 1%. En cuanto al tiempo de permanencia en la solución solidificante los niveles fueron 10, 20 y 30 min.

Los pellets se elaboraron por gelificación iónica siguiendo la metodología propuesta por Thiele y Cordes (1967), que consiste en la gelificación de gotas de una suspensión microbiana cuando se pone en contacto con una solución de cloruro de calcio 0.5% (p/v). Gotas de 0.1 mL se depositaron en la solución solidificante.

Para la deposición de gotas se utilizó un frasco con salida lateral inferior conectado a una maguera y en el extremo una punta de micropipeta de 1 mL. Para obtener la microcápsula de 1 mm se utilizó una punta de micropipeta de 1 ml con un diámetro de salida de 2 mm. Una vez en la solución de 2.5 g de cloruro de calcio (CaCl_2) en 500 ml de agua destilada ($2\text{H}_2\text{O}$), se secaron y se incubaron a 37 °C durante 4 días.

Medición de pellets

Con el fin de obtener el tamaño y la pérdida de humedad se realizó la toma de peso inicial, peso final y circunferencia inicial y final. Para ello se tomó una muestra de 20 pellets por tratamiento. La toma de peso se realizó en una balanza Pioneer™ Semi-Micro PX225DM (Figura 4a). Las medidas se tomaron con un Vernier Digital De 6in/150mm (Figura 4b).



Figura 4. a) balanza Pioneer™ Semi-Micro PX225DM, b) vernier digital

La preparación de muestras se realizó en un sistema de preparación Denton Vacuum, modelo DESK V, para el análisis de las muestras, se seleccionaron pellets con tierra diatomea como material portador y que contenían consorcios de arqueas, bacterias y un consorcio de bacterias y arqueas. Se realizó un montaje de tres pellets de los tratamientos seleccionados sobre la base con cinta doble cara. Después se sometieron a una evacuación preliminar a alto vacío (4.8×10^{-2} torr). Luego fueron recubiertas con una capa de oro palario (Figura 5 a y b).

Se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido JSM-IT300LV, en el cual se observaron las imágenes a x30, x200, 18 000 y x40,000.



Figura 5. a) Montaje de muestras, b) Evacuación preliminar a alto vacío (4.8×10^{-2} torr).

FASE 2

Objetivo: Evaluar el efecto de consorcios de bacterias y arqueas halófilas sobre parámetros (pH y CE) indicadores de salinidad de un suelo agrícola.

Se elaboraron pellets para inocular las unidades experimentales, se utilizaron macetas con 4 kg de suelo salino sódico proveniente del municipio de Asunción Ixtaltepec, Oaxaca.

Para ello, se establecieron nueve tratamientos y seis testigos (Cuadro 5) con tres repeticiones cada uno. Para la inoculación se realizaron pellets con tres materiales portadores caolinita, fibra-cel® 7F y tierra de diatomeas CELITE® 209. Como protectante se utilizó alginato de sodio (1%), como gelificante se utilizó glicerol y como solidificante se utilizó una solución de 2.5 g de cloruro de calcio (CaCl_2) en 500 ml de agua destilada ($2\text{H}_2\text{O}$). Se le adicionó una solución bacteriana compuesta por consorcios de bacterias, arqueas y una mezcla de

bacterias y arqueas de acuerdo con los tratamientos. Para los consorcios se utilizaron tres cepas de cada microorganismo.

Cuadro 5. Tratamientos establecidos para la evaluación del efecto de la desalinización de suelos.

| MP | CONS | MP | ALGINATO | GLICEROL | SUS BAC | AD |
|-------|------|------|----------|----------|---------|-----|
| TD | CAR | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |
| TD | CBAC | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |
| TD | CBYA | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |
| FB | CAR | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |
| FB | CBAC | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |
| FB | CBYA | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |
| CAO | CAR | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |
| CAO | CBAC | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |
| CAO | CBYA | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |
| EXTRA | | 0.25 | 0.05 | 0.45 | 0.75 | 3.5 |

MP=Material portador, CB=consorcio bacteriano, SB=suspensión bacteriana, AD=agua destilada, SCB=sin carga bacteriana, MCNL=medio de cultivo nutritivo líquido, TD=tierra de diatomeas, FB=fibra de celulosa, CAO=caolín.

Monitoreo de parámetros indicadores

Una vez establecido el experimento las variables se midieron cada 15 días durante cinco meses. Las variables pH y CE se midieron mediante una suspensión con agua destilada en una relación suelo-agua 1:2 con un potenciómetro (Marca Hanna, Modelo hi98129)-

Análisis de datos

Se estableció un diseño completamente aleatorizado (3x3) tres materiales portadores y tres consorcios de bacterias con dos repeticiones cada uno.

Una vez terminados los bioensayos, se procesaron los datos en paquete estadístico SAS 9.4, aplicando pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas (Shapiro-Wilk y Bartlett, $\alpha = 0.05$), análisis de varianza y prueba de medias (Tukey, 0.05)

FASE 3

Determinar índices de crecimiento de plántulas de papaya cv. Maradol sembradas en suelo inoculado con consorcios bacterianos y de arqueas halófilas.

Se sembraron plántulas de papaya cv. Maradol de dos meses de edad, se estableció un diseño completamente al azar con 45 unidades experimentales, nueve tratamientos y seis testigos con tres repeticiones, las variables evaluadas fueron, altura de planta, diámetro de tallo y número de hojas. Las mediciones se realizaron cada 15 días durante el periodo de mayo a agosto de 2023.

Análisis de datos

Para las variables altura, diámetro de planta y número de hojas se realizó prueba de Kruskal-Wallis, con el fin de evaluar el crecimiento de las plantas con relación a los tratamientos.

4.3 RESULTADOS

FASE 1

Reactivación de cepas

La reactivación de cepas transcurrido 15 días se observó un crecimiento importante para las cepas (A1, A4, A5 y B6, B7, B9). En la figura 6 se muestra el crecimiento de las cepas de arqueas halófilas reactivadas con una concentración de 15% de NaCl. Y en la figura 7 se muestra el crecimiento de las tres cepas bacterias halófilas reactivadas con una concentración de 10% de NaCl.

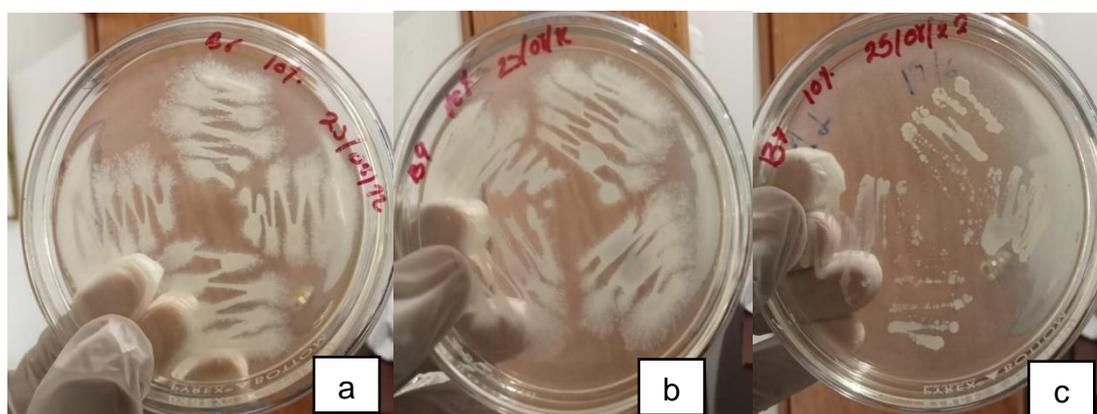


Figura 6. Crecimiento de cepas de bacterias halófilas. a) B6, b) B7, c) B9.

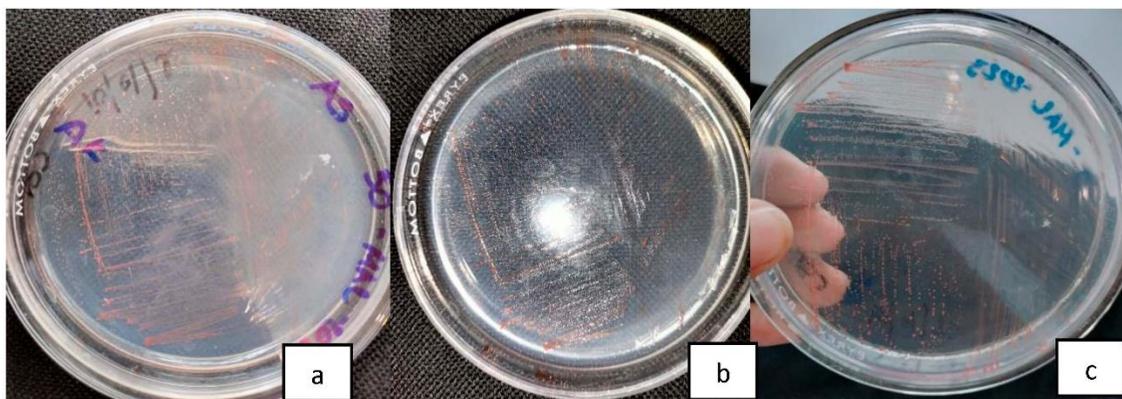


Figura 7. Crecimiento de cepas de arqueas halófilas a) A1, b) A4, c) A5.

Formulación

La formulación dio como resultado microcápsulas a base de tres materiales portadores fibra de celulosa, caolín y tierra de diatomeas, los tres materiales resultaron ser eficaces para la formulación. En cuanto al contenido de alginato de sodio, las microcápsulas con alginato al 1% fueron las que se formaron de forma idónea (Figura 10), ya que como se puede muestra en las figuras 8 y 9, las que contienen alginato al 0.5% y al 0.75% no formaron microcápsulas en ningún tiempo en la solución solidificante, en cambio las microcápsulas con alginato al 1% se formaron aun cuando solo pasaron 10 min en la solución solidificante.

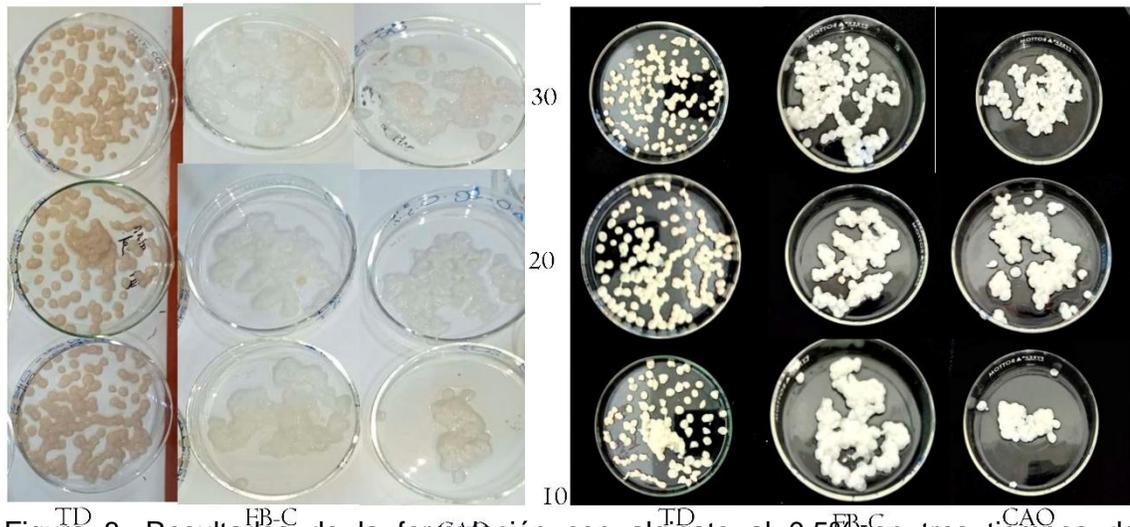


Figura 8. Resultados de la formulación con alginato al 0.5% en tres tiempos de solidificación.

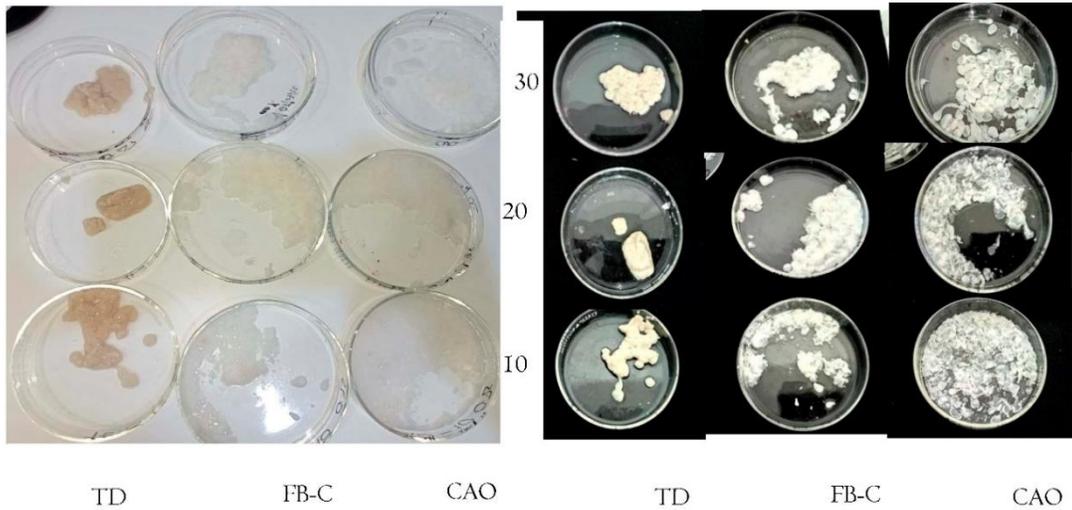


Figura 9. Resultados de la formulación con alginato al 0.75% en tres tiempos de solidificación.

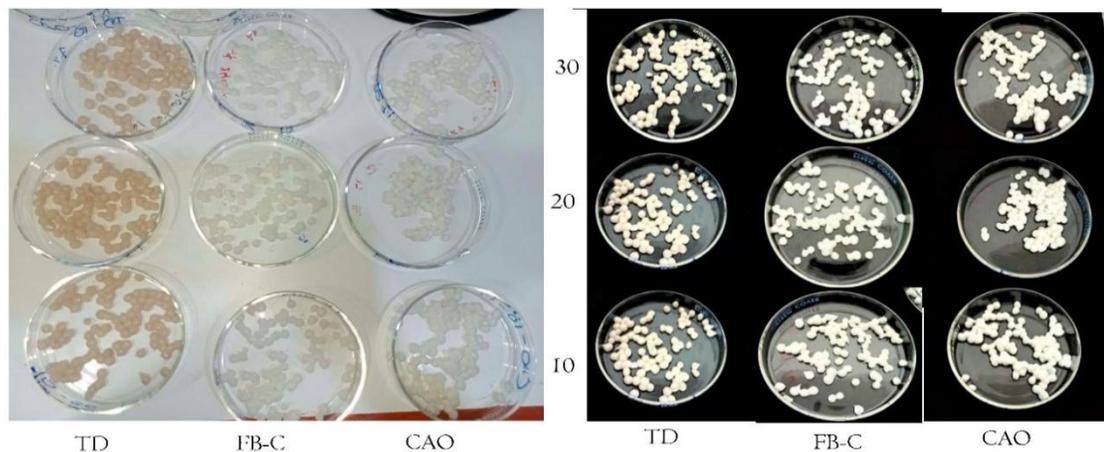


Figura 10. Resultados de la formulación con alginato al 1% en tres tiempos de solidificación.

Medición de pellets

La medición de los pellets arrojó que los pellets realizados con fibra de celulosa conteniendo agua destilada, es decir, sin carga bacteriana fueron aquellos que tuvieron una mayor pérdida de humedad (0.07 g) (Cuadro 6) y los pellets realizados con caolín conteniendo un consorcio de arqueas fueron los que

perdieron menos humedad (0.03 g). En promedio las microcápsulas poseen un tamaño de 2.3 mm y un peso de 0.01 g.

Cuadro 6. Promedio de peso y tamaño de las microcápsulas por tratamiento.

| TRAT | PI | TI | PF | TF | PHUM |
|--------|------|------|------|------|------|
| TDARQ | 0.06 | 4.30 | 0.01 | 2.56 | 0.05 |
| FBARQ | 0.05 | 3.56 | 0.01 | 2.44 | 0.04 |
| CAOARQ | 0.04 | 3.32 | 0.01 | 2.20 | 0.03 |
| TDBAC | 0.06 | 3.87 | 0.01 | 2.45 | 0.05 |
| FBBAC | 0.06 | 4.32 | 0.01 | 2.18 | 0.06 |
| CAOBAC | 0.06 | 3.93 | 0.01 | 1.86 | 0.05 |
| TDAYB | 0.06 | 3.96 | 0.01 | 2.54 | 0.05 |
| FBAYB | 0.05 | 3.97 | 0.01 | 2.43 | 0.05 |
| CAOAYB | 0.06 | 4.04 | 0.01 | 2.03 | 0.06 |
| TDSN | 0.05 | 4.06 | 0.01 | 2.40 | 0.04 |
| FBSN | 0.08 | 4.04 | 0.01 | 2.29 | 0.07 |
| CAOSN | 0.05 | 4.26 | 0.01 | 2.03 | 0.04 |

PI=peso inicial, TI= tamaño inicial, PF=peso final, TF=Tamaño final, PHUM=pérdida de humedad.

Observación en el microscopio óptico de barrido

La microfotografía es una herramienta útil para observar la estructura de las microcápsulas, en la figura 11 se aprecia como las microcápsulas a pesar de parecer totalmente esféricas a simple vista, en la microfotografía se observa que adquiere una forma irregular, así mismo como en la figura 11 b y c se pueden observar estructuras de fósiles que contiene en este caso la tierra de

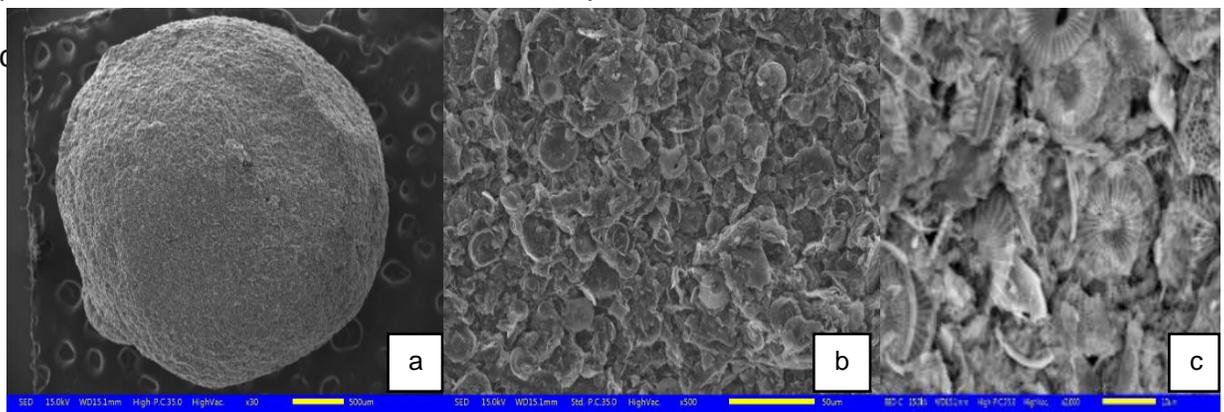


Figura 11. Microcapsulas observadas en el SEM a) 30X b)300X C)3000X

En la figura 12 se puede observar que la mezcla no es totalmente homogénea, ya que muestra fragmentos de los que se podría decir ser un cúmulo de microorganismos atrapados por el alginato. Por lo que se sugiere ampliar el tiempo de homogeneización de la mezcla.

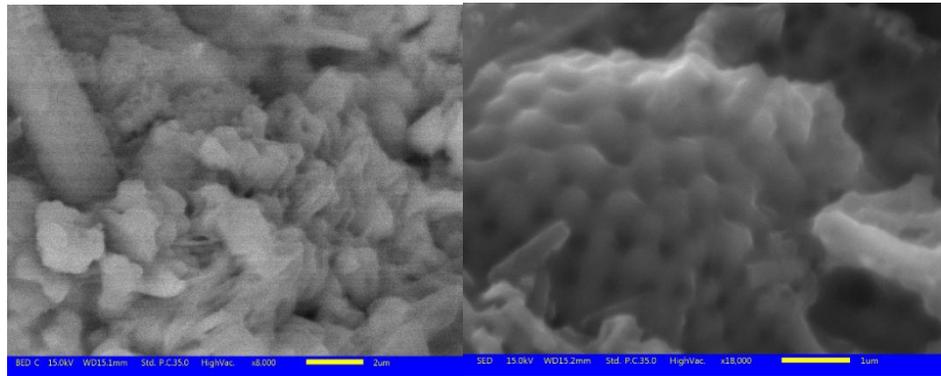


Figura 12. Homogeneidad de la mezcla vista en el microscopio óptico de barrido.

En la figura 13 observada a 8.000x, 18000x y 4000x se pueden apreciar estructuras en forma de bacilos, esto indica la presencia de los microorganismos, no solo en el interior de la capsula, sino también en el exterior.

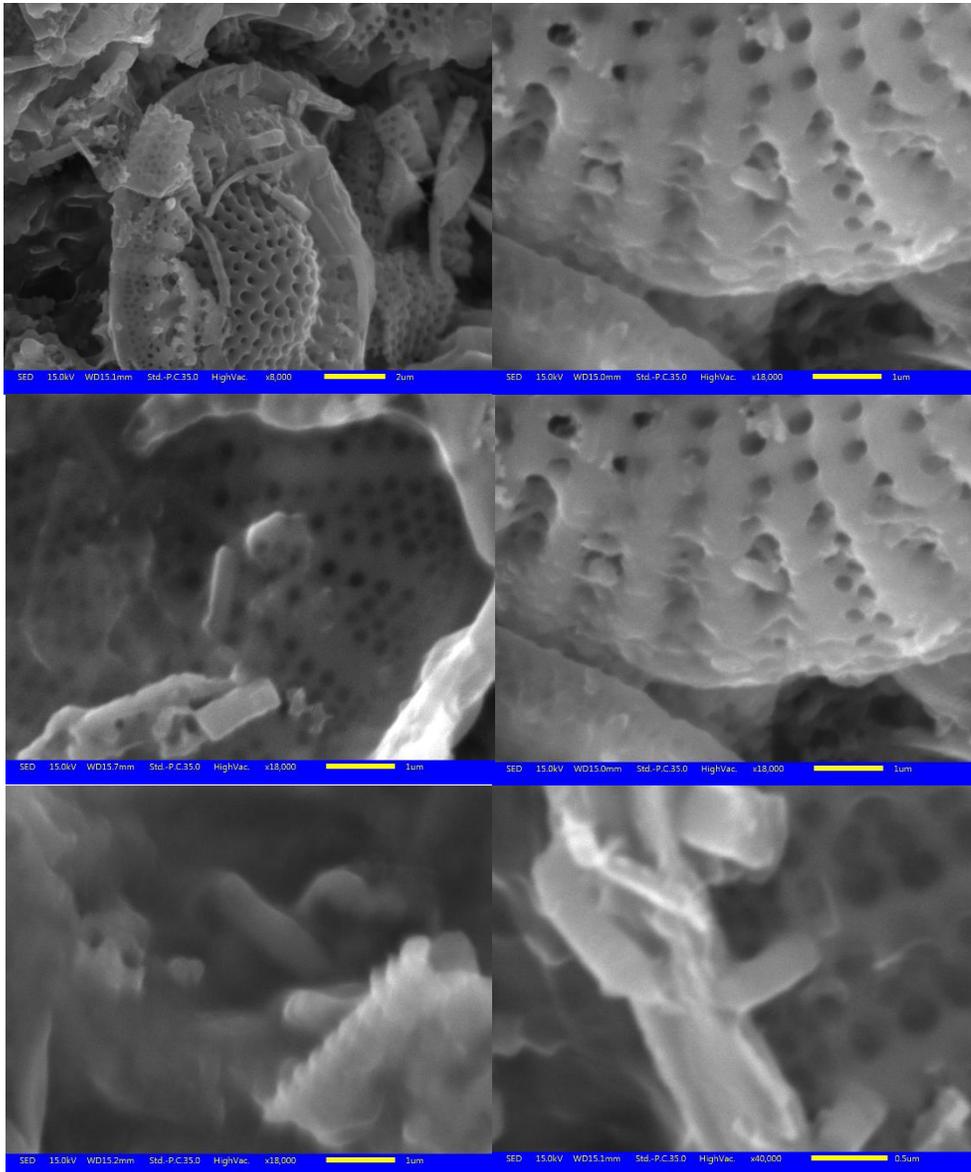


Figura 13. Bacilos observados en la estructura de la microcápsula.

Evaluación del efecto de desalinización

El pH y CE se diferenciaron entre tratamientos ($p \leq 0.05$) en todas las fechas de muestreo, excepto a los 90 días para pH y 105 días para CE ($p > 0.05$). La variable de menor variación fue pH a los 30 días (CV = 33.3), indicativo de mayor homogeneidad del material experimental, pero en general, la variación fue alta, incluso superando el 100% (CE a 90 y 105 días) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Resumen del análisis de varianza para pH y conductividad eléctrica (CE) en diferentes fechas de muestreo.

| Variable | GL | | CV | |
|----------|-------|--------------------|------|-------|
| | error | CM | RCME | (%) |
| PH15 | 14 | 0.23** | 0.22 | 68.1 |
| CE15 | | 0.09* | 0.30 | 86.0 |
| PH30 | | 0.22** | 0.23 | 33.3 |
| CE30 | | 0.19* | 0.37 | 65.3 |
| PH45 | | 0.11** | 0.26 | 39.9 |
| CE45 | | 0.27** | 0.26 | 47.3 |
| PH60 | | 0.16* | 0.27 | 58.1 |
| CE60 | | 0.19* | 0.30 | 57.9 |
| PH75 | | 0.13** | 0.30 | 41.9 |
| CE75 | | 0.28** | 0.52 | 95.5 |
| PH90 | | 0.07 ^{ns} | 0.30 | 51.8 |
| CE90 | | 0.45* | 0.60 | 126.0 |
| PH105 | | 0.12* | 0.31 | 49.2 |
| CE105 | | 0.20 ^{ns} | 0.59 | 103.8 |
| PH120 | | 0.34** | 0.28 | 94.4 |
| CE120 | | 0.34** | 0.27 | 74.5 |
| PH135 | | 0.14** | 0.24 | 40.8 |
| CE135 | | 0.09* | 0.20 | 55.6 |

GL =grados de libertad, RCME = raíz del cuadrado medio del error , CV =coeficiente de variación.

El mejor tratamiento registrando el pH más bajo a los 15 días fue CADBAC (7.95) sin embargo, esto no significa que el tratamiento muestre resultados satisfactorios, ya que se debe a que fue inoculado con agua destilada. Para los 30 días el mejor tratamiento fue CADAR (7.16), sin embargo, a partir del día 30 todos los tratamientos mostraron una reducción de pH (Cuadro 8).

En general el mejor tratamiento fue CAML con un pH inicial de 9.45 y un pH final de 8.53, este tratamiento fue inoculado con un consorcio de arqueas halófilas suspendidas en medio líquido, seguido del tratamiento CAYBCAO con una variación del pH de 0.75.

En cuanto a la CE a los 45 días, el mejor tratamiento fue CBML registrando los valores más bajos, este tratamiento fue inoculado con un consorcio de bacterias halófilas suspendidas en medio líquido.

Para el día 75 el valor más bajo lo registró el tratamiento CAYBTD (0.36) en comparación con el testigo CADAR (19.36) que registró un aumento de 437%.

Para el día 105 el mejor tratamiento fue CBACTD (1.08) inoculado con pellets elaborados de tierra diatomea conteniendo un consorcio de bacterias halófilas, el cual comparado con el testigo (CADAR) mostró una reducción en el CE de 896%.

Cuadro 8. Comparación de medias de los tratamientos del día 15 al día 135

| Tratamiento | pH15 | pH30 | CE30 | pH45 | CE45 | pH60 | CE60 | pH75 |
|-------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| CAML | 9.45(-0.03)±0.07 ^a | 8.23(0.88)±0.24 ^{abcd} | 0.97(0.63)±0.21 ^C | 8.14(0.79)±0.43 ^a | 1.17(0.70)±0.49 ^b | 8.65(0.67)±0.19 ^{ab} | 0.89(0.77)±0.13 ^{bc} | 7.35(0.87)±0.07 ^{ab} |
| CARFB | 9.42(0.00)±0.11 ^a | 8.90(0.47)±0.26 ^{abc} | 1.08(0.78)±0.33 ^C | 8.96(0.43)±0.21 ^a | 1.02(0.55)±0.59 ^b | 8.91(0.44)±0.32 ^a | 0.37(0.36)±0.09 ^c | 8.91(0.30)±0.57 ^{ab} |
| CARTD | 9.33(0.08)±0.23 ^a | 8.39(0.67)±0.50 ^{abcd} | 0.78(0.65)±0.26 ^C | 8.58(0.65)±0.4 ^{abc} | 1.43(0.53)±0.72 ^b | 8.76(0.54)±0.33 ^a | 1.31(0.12)±1.02 ^{bc} | 8.69(0.53)±0.45 ^{ab} |
| CAYBML | 9.25(0.17)±0.03 ^a | 8.81(0.58)±0.07 ^{abc} | 0.49(0.45)±0.18 ^C | 8.62(0.69)±0.2 ^{abc} | 0.93(0.72)±0.33 ^b | 9.09(0.33)±0.09 ^a | 0.50(0.48)±0.04 ^c | 8.32(0.82)±0.29 ^{ab} |
| CAYBCAO | 9.25(0.17)±0.05 ^a | 9.01(0.40)±0.04 ^{abc} | 0.82(0.73)±0.01 ^C | 8.99(0.41)±0.1 ^a | 0.52(0.48)±0.15 ^b | 8.79(0.57)±0.22 ^a | 0.94(0.69)±0.38 ^{bc} | 7.99(0.91)±0.29 ^{ab} |
| CAYBFB | 9.24(0.18)±0.29 ^a | 9.38(0.05)±0.13 ^a | 0.34(0.33)±0.03 ^C | 8.77(0.58)±0.23 ^{ab} | 0.88(0.73)±0.23 ^b | 8.93(0.42)±0.32 ^a | 1.24(0.56)±0.65 ^{bc} | 8.37(0.77)±0.33 ^{ab} |
| CAYBTD | 9.18(0.24)±0.08 ^a | 9.11(0.31)±0.07 ^{ab} | 0.36(0.35)±0.07 ^C | 9.14(0.27)±0.18 ^a | 0.72(0.65)±0.1 ^b | 9.48(-0.05)±0.08 ^a | 0.45(0.43)±0.08 ^c | 8.85(0.53)±0.16 ^{ab} |
| CBACCAO | 9.09(0.32)±0.04 ^a | 7.79(0.99)±0.06 ^{cd} | 3.78(0.48)±1.39 ^{bc} | 8.50(0.75)±0.25 ^{abc} | 1.07(0.84)±0.2 ^b | 9.18(0.24)±0.11 ^a | 0.51(0.48)±0.04 ^c | 8.63(0.57)±0.44 ^{ab} |
| CBML | 9.08(0.34)±0.11 ^a | 8.55(0.73)±0.22 ^{abc} | 0.97(0.66)±0.45 ^c | 8.78(0.79)±0.09 ^{ab} | 0.46(0.44)±0.09 ^b | 8.43(0.82)±0.15 ^{ab} | 1.30(0.92)±0.22 ^{bc} | 7.55(0.93)±0.15 ^b |
| CBACTD | 9.08(0.33)±0.18 ^a | 8.28(0.80)±0.35 ^{abcd} | 1.54(0.53)±0.73 ^c | 8.69(0.67)±0.05 ^{abc} | 0.77(0.68)±0.16 ^b | 8.76(0.61)±0.08 ^a | 0.33(0.32)±0.04 ^c | 9.11(0.31)±0.04 ^a |
| CADAYB | 8.96(0.44)±0.11 ^{ab} | 8.34(0.82)±0.28 ^{abcd} | 0.98(0.74)±0.34 ^c | 8.66(0.64)±0.31 ^{abc} | 0.55(0.51)±0.14 ^b | 7.55(0.83)±0.36 ^{bc} | 5.37(0.02)±2.26 ^b | 7.78(0.89)±0.33 ^{ab} |
| CARCAO | 8.95(0.44)±0.21 ^{ab} | 7.79(0.99)±0.09 ^{cd} | 1.66(0.98)±0.13 ^c | 8.85(0.53)±0.12 ^a | 0.90(0.75)±0.21 ^b | 8.61(0.64)±0.37 ^{ab} | 1.28(0.63)±0.61 ^{bc} | 8.43(0.68)±0.45 ^{ab} |
| CBACFB | 8.83(0.55)±0.09 ^{abc} | 7.85(0.99)±0.10 ^{bcd} | 1.52(0.64)±0.63 ^c | 8.23(0.93)±0.06 ^{abc} | 1.00(0.84)±0.05 ^b | 9.14(0.28)±0.04 ^a | 0.74(0.66)±0.15 ^{bc} | 8.39(0.85)±0.12 ^{ab} |
| CADAR | 8.08(0.95)±0.15 ^{bc} | 7.16(0.75)±0.17 ^b | 14.61(-0.12)±1.47 ^a | (7.54(0.95)±0.04 ^c | 5.22(-0.35)±0.78 ^b | 6.64(0.34)±0.17 ^c | 11.92(0.88)±2.25 ^a | 7.49(0.93)±0.06 ^{ab} |
| CADBAC | 7.95(0.83)±0.42 ^c | 7.84(0.80)±0.46 ^{bcd} | 8.34(0.58)±4.08 ^{ab} | 7.62(0.92)±0.23 ^{bc} | 2.44(0.19)±0.84 ^b | 9.01(0.39)±0.17 ^a | 0.57(0.52)±0.15 ^c | 8.56(0.67)±0.37 ^{ab} |
| Tratamiento | CE75 | pH90 | CE90 | pH105 | CE105 | pH120 | CE120 | pH135 |
| CAML | 1.51(0.99)±0.06 ^b | 8.48(0.76)±0.25 ^{ab} | 3.12(-0.02)±0.59 ^{ab} | 8.45(0.80)±0.18 ^a | 2.55(0.50)±0.31 ^b | 9.43(-0.01)±0.14 ^a | 0.51(0.48)±0.09 ^c | 8.53(0.75)±0.19 ^{ab} |
| CARFB | 1.53(-0.02)±1.2 ^b | 8.99(0.38)±0.29 ^a | 0.73(0.61)±0.27 ^b | 8.95(0.39)±0.38 ^a | 2.17(0.32)±1 ^b | 9.07(0.34)±0.12 ^{ab} | 0.49(0.46)±0.11 ^c | 9.30(0.12)±0.17 ^a |

| | | | | | | | | |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| CARTD | 1.53(0.47)±0.79 ^b | 8.77(0.51)±0.38 ^a | 2.28(0.20)±1.37 ^b | 8.8(0.53)±0.32 ^a | 2.19(0.35)±0.91 ^b | 9.07(0.31)±0.29 ^{ab} | 0.47(0.44)±0.11 ^c | 8.94(0.42)±0.29 ^a |
| CAYBML | 1.16(0.76)±0.41 ^b | 8.92(0.47)±0.13 ^a | 1.81(0.87)±0.32 ^b | 8.42(0.82)±0.18 ^a | 2.56(0.51)±0.28 ^b | 9.44(-0.02)±0.03 ^a | 0.54(0.50)±0.15 ^c | 8.67(0.68)±0.03 ^{ab} |
| CAYBCAO | 1.03(0.78)±0.32 ^b | 9.13(0.28)±0.12 ^a | 1.12(0.79)±0.34 ^b | 8.57(0.75)±0.03 ^a | 1.99(0.78)±0.37 ^b | 9.35(0.07)±0.14 ^a | 0.47(0.44)±0.14 ^c | 8.50(0.76)±0.22 ^{ab} |
| CAYBFB | 1.06(0.79)±0.32 ^b | 8.72(0.58)±0.31 ^{ab} | 1.59(0.82)±0.43 ^b | 8.56(0.74)±0.17 ^a | 2.00(0.65)±0.57 ^b | 9.42(0.01)±0.07 ^a | 0.49(0.47)±0.05 ^c | 8.84(0.55)±0.08 ^{ab} |
| CAYBTD | 0.36(0.35)±0.06 ^b | 8.28(0.81)±0.34 ^{ab} | 2.48(0.21)±0.93 ^b | 9.01(0.40)±0.09 ^a | 1.12(0.90)±0.02 ^b | 9.54(-0.11)±0.1 ^a | 0.27(0.27)±0.02 ^c | 9.03(0.38)±0.11 ^a |
| CBACCAO | 1.01(0.79)±0.26 ^b | 8.71(0.62)±0.24 ^{ab} | 1.17(0.85)±0.28 ^b | 8.99(0.38)±0.34 ^a | 1.43(0.86)±0.37 ^b | 8.83(0.53)±0.23 ^{ab} | 0.34(0.33)±0.01 ^c | 8.96(0.44)±0.13 ^a |
| CBML | 1.30(0.81)±0.41 ^b | 8.48(0.80)±0.13 ^{ab} | 2.84(0.29)±0.24 ^{ab} | 8.5(0.80)±0.03 ^a | 2.06(0.88)±0.09 ^b | 9.52(-0.10)±0.01 ^a | 0.48(0.46)±0.04 ^c | 8.50(0.80)±0.05 ^{ab} |
| CBACTD | 0.72(0.66)±0.04 ^b | 9.04(0.37)±0.13 ^a | 0.75(0.67)±0.12 ^b | 9.1(0.29)±0.25 ^a | 1.08(0.77)±0.35 ^b | 8.92(0.46)±0.22 ^{ab} | 0.67(0.61)±0.12 ^c | 8.88(0.50)±0.2 ^a |
| CADAYB | 12.98(0.30)±5.7 ^a | 7.88(0.45)±0.81 ^{ab} | 1.47(0.80)±0.45 ^b | 8.8(0.53)±0.31 ^a | 2.65(0.07)±1.14 ^b | 9.33(0.09)±0.22 ^a | 0.59(0.53)±0.2 ^c | 8.90(0.48)±0.2 ^a |
| CARCAO | 2.4(0.22)±1.25 ^b | 8.67(0.62)±0.32 ^{ab} | 2.07(0.16)±1.23 ^b | 8.53(0.72)±0.26 ^a | 3.62(0.85)±1.73 ^{ab} | 8.51(0.65)±0.43 ^{ab} | 1.33(0.59)±0.64 ^{bc} | 8.45(0.73)±0.36 ^{ab} |
| CBACFB | 1.17(0.22)±0.29 ^b | 8.66(0.67)±0.19 ^{ab} | 1.40(0.95)±0.19 ^b | 8.67(0.67)±0.12 ^a | 2.36(0.47)±0.66 ^b | 8.65(0.68)±0.16 ^{ab} | 0.86(0.67)±0.32 ^c | 8.99(0.42)±0.04 ^a |
| CADAR | 19.36(0.42)±0.41 ^a | 7.50(0.66)±0.55 ^{ab} | 5.70(0.28)±2.41 ^{ab} | 7.89(0.99)±0.09 ^a | 10.76(0.28)±2.2 ^a | 7.97(0.97)±0.16 ^b | 4.15(-0.60)±0.53 ^a | 7.83(0.98)±0.13 ^b |
| CADBAC | 2.29(0.08)±1.03 ^b | 6.99(0.65)±0.02 ^a | 9.79(-0.33)±4.04 ^a | 8.23(0.76)±0.46 ^a | 8.5(0.34)±4.48 ^{ab} | 8.59(0.64)±0.41 ^{ab} | 2.87(0.23)±1.1 ^{ab} | 8.40(0.76)±0.35 ^{ab} |

CARTD=consorcio arqueas con tierra diatomea, CARFB=consorcio arqueas con fibra-cel CARCAO=consorcio arqueas con caolín, CBACTD=consorcio bacterias con tierra diatomea, CBACFB=consorcio bacterias con fibra-cel, CBACCAO=consorcio bacterias con Caolín, CAYBTD=consorcio arqueas y bacterias con tierra diatomea, CAML=control arqueas medio líquido, CBML=control bacterias medio líquido, CAYBML=control arqueas y bacterias con tierra diatomea, CADAR=control agua destilada arqueas, CADBAC=control agua destilada bacterias, CADAYB=control agua destilada arqueas y bacterias. Las medias representan el valor original y entre paréntesis el valor transformado, ± valor estándar

Al realizar una comparación de la CE inicial y final (Figura 14 y 15), destaca CBACTD como el mejor tratamiento al reportar una CE inicial de 4.93 de y una final de 1.96.

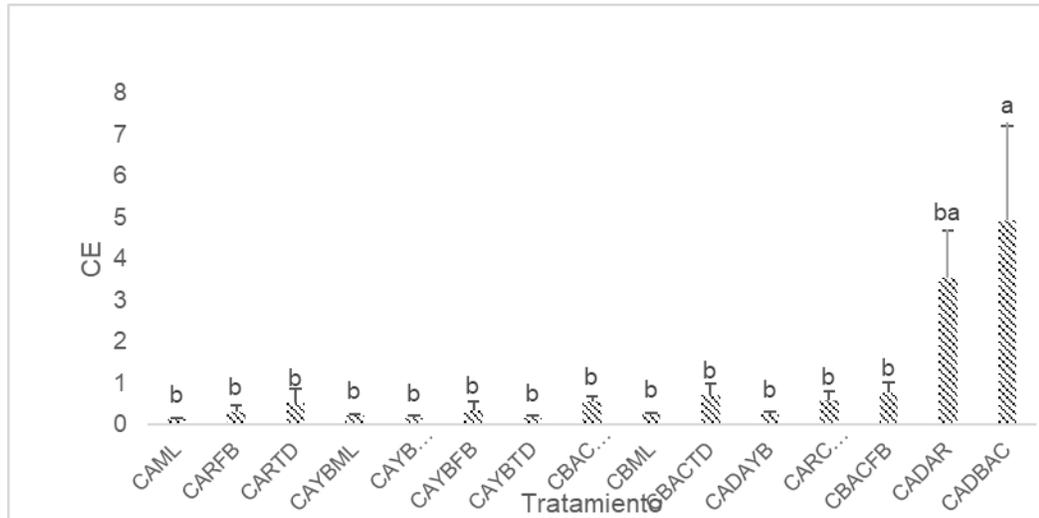


Figura 14. Conductividad eléctrica inicial en todos los tratamientos.

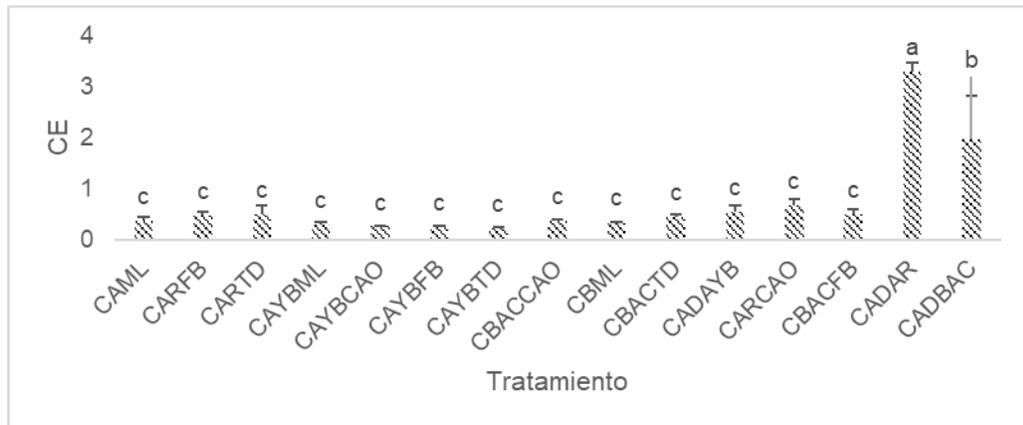


Figura 15. Conductividad eléctrica final en todos los tratamientos.

Evaluación del crecimiento de plántulas de papaya cv Maradol

En los análisis de varianza se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos en el día 15, de tal manera que el tratamiento CBACFB (39.8) incrementó 485% la altura de planta en relación al testigo (CTD, control

de tierra diatomea sin carga bacteriana) (Cuadro 9). Para el día 30 el tratamiento CBACFB (40.3) se posiciona nuevamente como el mejor tratamiento al alcanzar la mayor altura durante el registro de datos, siendo 459% mayor con respecto al testigo (CTD inoculado con pellets elaborados de tierra diatomea sin carga bacteriana) y 374% mayor respecto al CFB (inoculado con pellets elaborados de fibra de celulosa sin carga bacteriana).

En todos los tratamientos se observa una disminución en altura, esto se debe a que las condiciones del suelo en las que fueron sembradas las plántulas no son óptimas para esta especie. Sin embargo, tomando como referencia la altura final los mejores tratamientos fueron CBACFB (15.2), CAYBTD (14.8), en comparación con los testigos CTD, CFB, CCAO, los cuales al no ser inoculados con microorganismos murieron antes de terminar el experimento.

Cuadro 9. Comparación de medias entre tratamientos para la variable altura de planta.

| Tratamiento | AP1 | AP15 | AP30 | AP45 | AP60 | AP75 | |
|-------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------|
| CARTD | 35.2(14)±1.5 ^a | 29.3(21.7)±0.4 ^{ab} | 28(23)±0.6 ^{abcde} | 24.5(24.7)±0.9 ^{abcd} | 20.5(27.3)±1.2 ^a | 13.5(29.7)±0.9 ^{ab} | |
| CARFB | 19.8(11.3)±0.3 ^{ba} | 28.3(21.5)±0.5 ^{ab} | 28.3(23)±1.0 ^{abcde} | 31.5(26)±1.0 ^{abc} | 19.5(27)±1.0 ^a | 10(28.5)±0.5 ^{ab} | |
| CARCAO | 22.5(11.7)±0.7 ^{ba} | 24.5(20.7)±2.0 ^{abc} | 23.2(22)±1.0 ^{abcdef} | 29.3(25.7)±0.3 ^{abcd} | 15(23)±4.6 ^a | 9(25)±4.6 ^{ab} | |
| CBACTD | 26.2(12)±0.6 ^{ba} | 21.3(19.5)±2.5 ^{abc} | 37.2(24.5)±0.5 ^{ab} | 33.3(26.3)±0.7 ^{ab} | 18.5(26.7)±1.2 ^a | 4.7(27.4)±0.3 ^{ba} | |
| CBACFB | 30.2(12.6)±0.9 ^{ba} | 39.8(23.7)±0.3 ^a | 40.3(25.3)±0.3 ^a | 37.2(27.1)±0.4 ^a | 27.8(29)±0.5 ^a | 15.2(29.8)±0.4 ^a | |
| CBACCAO | 28.8(12.4)±0.8 ^{ba} | 27.5(21.3)±0.9 ^{abc} | 30.1(23.6)±1.1 ^{abc} | 27.5(25.3)±1.3 ^{abcd} | 20.5(27.3)±0.7 ^a | 8.7(28.2)±0.42 ^{ba} | |
| CAYBTD | 34.7(13)±0.6 ^a | 28.7(21.7)±2.0 ^{ab} | 21.7(21.6)±1.2 ^{bcdef} | 12.3(21.3)±1.2 ^{cd} | 14.8(22.5)±6.5 ^a | 14.5(30)±0.30 ^{ba} | |
| CAYBFB | 27.3(12.1)±0.7 ^{ba} | 31.7(22)±1.0 ^{ab} | 27.8(22.8)±0.9 ^{abcde} | 21.8(24)±1.2 ^{abcd} | 11.5(25) ^a | 2.5(27)±0.40 ^b | |
| CAYBCAO | 32.5(12.7)±0.3 ^a | 22.2(20.3)±0.8 ^{abc} | 23(20.8)±2.9 ^{abcdef} | 21.5(22)±4.0 ^{abcd} | 6.7(21.3)±2.03 ^a | | |
| CTD | 19(11.4)±0.6 ^{ba} | 6.8(16.7)±0.7 ^c | 7.2(17.4)±0.3 ^f | 10(20) ^d | 11.5(25) ^a | | |
| CFB | 21.3(11.3)±1.2 ^{ba} | 15.8(19.0)±1.2 ^{bc} | 8.5(17.7)±2.0 ^f | 11.8(21)±2.0 ^{cd} | 19(27) ^a | | |
| CCAO | 8.2(10)±0.6 ^b | 29(25)±5.1 ^{ab} | 29.5(25.2)±4.1 ^{abcd} | 15.3(21.3)±2.6 ^{bcd} | 7(22) ^a | | |
| CMLARQ | 13.7(10.5)±0.8 ^{ba} | 12.5(18)±1.5 ^{bc} | 12.3(19.1)±1.5 ^{cdef} | 10.3(20.3)±1.5 ^d | 8.5(23)±2.0 ^a | | |
| CMLBAC | 17.3(11.2)±1.4 ^{ba} | 12(17)±1.6 ^{bc} | 11.5(18.8)±1.7 ^{def} | 10.8(20.3)±1.9 ^d | 13.3(23.5)±4.5 ^a | | |
| CMLAYB | 8.3(10.3)±0.2 ^b | 10(17.7)±0.7 ^{bc} | 10.8(18.5)±1.5 ^{ef} | 10.8(19.3)±2.9 ^d | 8(24) ^a | | |
| Chi-Square | | 18.97 | 22.35 | 27.58 | 23.98 | 14.48 | 9.18 |
| DF | | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 7 |

AP1=altura de planta del día uno de establecido el experimento, AP15= altura de planta a los 15 días de establecer el experimento, AP30= altura de planta a los 30 días de establecer el experimento, AP45= altura de planta a los 45 días de establecer el experimento, AP60= altura de planta a los 60 días de establecer el experimento, AP75= altura de planta a los 60 días de establecer el experimento. Las medias representan el valor en rangos y entre paréntesis el valor original, ± valor estándar

Para el diámetro de planta a los 15 días de establecer el experimento el tratamiento CAYBFB (30.8) mostró incremento de 152% con relación al testigo CFB (inoculado con pellets elaborados con fibra de celulosa sin carga bacteriana); también este tratamiento fue 108% mayor con relación al testigo CTD (inoculado con pellets elaborados con tierra diatomea) y 55% mayor al testigo CCAO (inoculado con pellets elaborados a base de caolín sin carga bacteriana) (Cuadro 10).

Al final del experimento todos los testigos murieron, sin embargo, todos los tratamientos inoculados con pellets con carga bacteriana llegaron al final del experimento (CARTD, CARFB, CARCAO, CBACTD, CBACFB, CBAC CBACCAO, CAYBTD, CAYBFB, CAYBCAO); si bien a los 75 días las plántulas mostraban retrocesos en su crecimiento, cabe destacar que el tratamiento CBACTD (13) fue el que logró mayor diámetro.

Cuadro 10. Comparación de medias entre tratamientos para la variable Diámetro de planta.

| Tratamiento | DP1 | DP15 | DP30 | DP45 | DP60 | DP75 |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| CARTD | 30.3(4.8)±0.23 ^{abc} | 29.5(9.8)±1.14 ^a | 25.7(10.0)±1.07 ^{ab} | 19.8(10.9)±1.82 ^{abcde} | 19.5(13.5)±1.37 ^a | 11.5(14.3)±1.76 ^a |
| CARFB | 24(4.6)±0.37 ^{abc} | 25.5(9.4)±0.35 ^a | 27.8(10.4)±0.15 ^a | 35.8(14.4)±0.85 ^{ab} | 17.3(13.1)±1.95 ^a | 10.75(13.4)±1.90 ^a |
| CARCAO | 37(5.1)±0.25 ^a | 22.8(8.8)±1.47 ^a | 25.2(9.8)±0.93 ^{ab} | 22.8(11.8)±0.58 ^{abcde} | 13.3(12.4)±1.47 ^a | 7(12.2)±1.53 ^a |
| CBACTD | 11.7(4.0)±0.10 ^{bc} | 28.2(9.8)±0.87 ^a | 30.7(10.7)±0.93 ^a | 21.5(11.8)±1.03 ^{abcde} | 23.3(14.7)±0.09 ^a | 13(15.1)±0.12 ^a |
| CBACFB | 19.2(4.3)±0.09 ^{abc} | 28(9.6)±1.44 ^a | 19.5(9.1)±1.22 ^{ab} | 24.3(12.2)±1.23 ^{abcde} | 19.8(13.4)±2.25 ^a | 9.3(13.4)±2.19 ^a |
| CBACCAO | 18.7(4.3)±0.53 ^{abc} | 23.7(9.1)±0.30 ^a | 32.7(11.1)±0.35 ^a | 30.2(13.3)±0.61 ^{abcde} | 15.7(12.8)±1.55 ^a | 9.3(13.3)±1.51 ^a |
| CAYBTD | 31.3(4.8)±0.23 ^{abc} | 26.5(9.8)±1.91 ^a | 25.3(10.2)±1.44 ^{ab} | 6.2(8.7)±0.74 ^e | 17(13.8)±0.25 ^a | 10(14.7) ^a |
| CAYBFB | 15.8(4.2)±0.58 ^{abc} | 30.8 (10.3)±1.33 ^a | 31.2(10.8)±1.02 ^a | 17.5(11.0)±0.88 ^{bcde} | 15(13.2) ^a | 8(13.9) ^a |
| CAYBCAO | 20.7(4.4)±0.35 ^{abc} | 15.5(9.1)±0.44 ^a | 25(10)±1.71 ^{ab} | 24.2(11.6)±2.47 ^{abcde} | 10(11.5)±1.68 ^a | |
| CTD | 34.5(5.1)±0.44 ^{ab} | 14.8(7.5)±1.72 ^a | 22(9.5)±1.31 ^{ab} | 30.5(13.3)± ^{abc} | 13(12.6) ^a | |
| CFB | 7.8(3.8)±0.12 ^c | 12.2(7.3)±0.99 ^a | 2.8(5.7)±0.88 ^b | 15.3(10.5)±0.45 ^{cde} | 12(12.5) ^a | |
| CCAO | 16(4.1)±0.22 ^{abc} | 19.8(8.2)±1.76 ^a | 12.3(8.1)±0.71 ^{ab} | 39.5(15.2)±0.42 ^a | 5(10.5) ^a | |
| CMLARQ | 26.8(4.6)±0.18 ^{abc} | 22.8(8.9)±0.96 ^a | 23(9.7)±0.86 ^{ab} | 14.8(10.4)±0.61 ^{cde} | 14.5(13)±1.15 ^a | |
| CMLBAC | 24.3(4.6)±0.59 ^{abc} | 24.2(9.6)±1.99 ^a | 24.3(9.8)±1.18 ^{ab} | 12.2(10.1)±0.55 ^{cde} | 16(12.3)±2.90 ^a | |
| CMLAYB | 26.8(4.6)±0.15 ^{abc} | 14.2(7.6)±1.00 ^a | 11.8(9.2)±0.97 ^{ab} | 9.8(9.1)±1.12 ^{de} | 17(13.9)± ^a | |
| Chi-Square | 17.182 | 9.0685 | 16.5957 | 23.483 | 6.4419 | 2.1683 |
| DF | 14 | 14 | 14 | 14 | 14 | 7 |

DP1= diámetro de planta del día uno de establecido el experimento, DP15= diámetro de planta a los 15 días de establecer el experimento, DP30= diámetro de planta a los 30 días de establecer el experimento, DP45= diámetro de planta a los 45 días de establecer el experimento, DP60= diámetro de planta a los 60 días de establecer el experimento, DP75= diámetro de planta a los 75 días de establecer el experimento. Las medias representan el valor en rangos y entre paréntesis el valor original, ± valor estándar.

El número de hojas mostró diferencias significativas, a los 15 días el tratamiento, de tal manera que CBACTD (35.8) registró el mayor número de hojas las cuales fueron 477% mayor en comparación con el testigo CTD (6.2). El mayor número de hojas lo registro el tratamiento CBACTD (41.3) a los 30 días de establecer el experimento. Seguido del tratamiento CMLARQ (34.2) inoculado con un consorcio de arqueas halófilas suspendidas en medio líquido (Cuadro 11).

Cuadro 11. Comparación de medias entre tratamientos para la variable Numero de hojas.

| . Tratamiento | NH1 | NH15 | NH30 | NH45 | NH60 | NH75 | |
|---------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----|
| CARTD | 32.5(14)±0.58 ^a | 24.3(10.7)±1.76 ^{ab} | 28.3(10)±1.15 ^{abc} | 21.5(9.3)±0.33 ^{ab} | 18.8(7.7)±2.85 ^{ab} | 11.7(6.3)±2.19 ^a | |
| CARFB | 34.5(11.3)±0.33 ^a | 19.8(9.0)±3.00 ^{ab} | 22.3(9.0)±1.00 ^{abcd} | 22.8(9.5)±0.50 ^{ab} | 13.5(6.5)±0.50 ^{ab} | 5.8(4.5)±0.50 ^a | |
| CARCAO | 34.5(11.7)±0.33 ^a | 14.3(8.3)±1.45 ^{ab} | 28.3(10)±1.15 ^{abc} | 28.2(11.7)±2.19 ^{ab} | 17.8(7.7)±0.33 ^{ab} | 9.7(5.7)±0.33 ^a | |
| CBACTD | 31.2(12)±0.88 ^{ab} | 36.8(12.3)±0.33 ^a | 41.3(12.1)±0.10 ^a | 32.5(11)±0 ^a | 21.7(9.0)±0.58 ^{ab} | 12.7(6.3)±0.33 ^a | |
| CBACFB | 41.3(12.6)±0.67 ^a | 36(12.3)±0.88 ^a | 24.7(10)±2.00 ^{abc} | 26.3(10.3)±1.76 ^{ab} | 19.8(8.3)±2.19 ^{ab} | 13.5(7.3)±1.67 ^a | |
| CBACCAO | 30(12.4)±0.33 ^{ab} | 27.8(11)±1.53 ^{ba} | 28.5(9.8)±0.92 ^{abc} | 19.7(9.0)±0.58 ^{ab} | 11.8(5.7)±1.67 ^{ab} | 6.5(4.3)±1.33 ^a | |
| CAYBTD | 39.7(13)±0.67 ^a | 14(8.7)±0.88 ^{ab} | 17.3(8.3)±0.67 ^{bcd} | 11.8(6.7)±1.76 ^{ab} | 15.5(7.0)±0 ^{ab} | 7(5.0) ^a | |
| CAYBFB | 20.7(12.2)±0.58 ^a | 26(11)±1.53 ^{ab} | 26.8(9.7)±0.33 ^{abc} | 12(7.7)±0.33 ^{ab} | 11.5(6.0)± ^{ab} | 11(6.0) ^a | |
| CAYBCAO | 16.7(12.7)±0.33 ^{cd} | 19.5(9.7)±0.33 ^{ba} | 21.2(8.8)±0.91 ^{abcd} | 18(6.7)±3.33 ^{ab} | 11.5(6.0)± ^{ab} | | |
| CTD | 14(11.4)±0 ^{cd} | 6.2(6.0)±1.73 ^b | 3.2(3.0)±1.15 ^d | 9(7.0) ^{ab} | 7(4.0)± ^{ab} | | |
| CFB | 7.3(11.3)±0.58 ^d | 22.8(9.7)±3.18 ^{ba} | 15.3(6.3)±2.73 ^{bcd} | 20.3(8.0)±4.50 ^{ab} | 28(11)± ^a | | |
| CCAO | 8.7(10)±0.33 ^d | 14.8(9.0)±0.58 ^{ba} | 11.5(6.7)±1.45 ^{cd} | 26.7(10.3)±1.67 ^{ab} | 11.5(6.0)± ^{ab} | | |
| CMLARQ | 11.3(10.5)±0.33 ^{cd} | 29.5(11)±0.58 ^{ba} | 34.2(10.7)±0.33 ^{ab} | 21.5(9.3)±0.33 ^{ab} | 15.8(7.0)±3.0 ^{ab} | | |
| CMLBAC | 12.7(11.2)±0.88 ^{cd} | 22.5(10)±0 ^{ba} | 13.2(7.7)±0.67 ^{cd} | 7.2(5.7)±1.20 ^b | 2(0.0)±0.0 ^b | | |
| CMLAYB | 10(10.3)±0.88 ^{cd} | 22.2(10)±0.58 ^{ba} | 21.3(8.7)±1.45 ^{abcd} | 24.5(12.0)±5 ^{ab} | 2(0.0)± ^b | | |
| Chi-Square | | 37.1 | 17.9 | 23.7 | 14.9 | 15.2 | 4.6 |
| DF | | 14.0 | 14.0 | 14.0 | 14.0 | 14.0 | 7.0 |

NH1=número de hojas de la planta el día uno de establecido el experimento, NH15= número de hojas de la planta a los 15 días de establecer el experimento, NH30= número de hojas de la planta a los 30 días de establecer el experimento, NH45= número de hojas de la planta a los 45 días de establecer el experimento, NH60= número de hojas de la planta a los 60 días de establecer el experimento, NH75= número de hojas de la planta a los 75 días de establecer el experimento. Las medias representan el valor en rangos y entre paréntesis el valor original,± valor estándar.

4.4 DISCUSIÓN

La formulación de bacterias y arqueas halófilas es novedosa, en el área de la microbiología dirigida específicamente para la biorremediación de suelos no se ha realizado.

Es este estudio se evaluó efecto efecto de consorcios de bacterias y arqueas halófilas sobre parámetros (pH y CE) indicadores de salinidad de un suelo agrícola, tanto en medio líquido como formulados en pellets de tierra de diatomeas, fibra de celulosa, y caolín. En los estudios que se han realizado sobre la biorremediación de suelos salinos con bacterias halófilas se han realizado en condiciones de laboratorio y en ellos reportan que estos microorganismos además de ser opción prometedora para desalinizar suelos, también actúan como promotores de crecimiento vegetal y fijadores de nitrógeno (Sánchez-Leal y Arguello-arias,2006; Rodríguez -Aristizabal et al. 2019; Orhan y Gormez,2023).

Con respecto a las variables evaluadas en plántulas de papaya, se puede deducir que todos los tratamientos se vieron afectadas por el estrés salino, algunos en mayor medida como por ejemplo CTD, CFB, CCAO. Que fueron inoculados con pellets sin carga bacteriana. El estrés salino en las plantas limita la disponibilidad y calidad del agua, así como inhibe el crecimiento el crecimiento de las plántulas. Como evidencia de esto la disminución en altura, diámetro y número de hojas (Munns, 2011, Mahouachi, 2018; Habib,2020).

4.5 CONCLUSIÓN

La formulación se realizó con materiales que, de acuerdo a los resultados, disminuyen la pérdida de humedad, favorecen la liberación prolongada de los microorganismos. Facilita la aplicación y controla concentración de microorganismos.

Se mostraron diferencias relevantes comparando valores iniciales y finales para pH, si hubo un tratamiento para CE esto refuerza la investigación al ser bacterias halófilas las que mostraron mayor reducción en estas variables. La presencia de bacterias y arqueas halófilas se considera que, si bien en algunos casos no hubo una reducción en estos valores, si lograron mantener sin aumentar abruptamente en comparación con los tratamientos sin presencia de microorganismos.

Así mismo, prologan la vida de las plantas en suelos salinos, como se demostró en el experimento, siendo todas las plantas inoculadas las que llegaron al final del experimento. En cambio, aquellas que no fueron inoculadas aumento la mortandad de estas plantas.

4.6 REFERENCIAS

- Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 18(5), 240–251.
- Bu, W., McClements, D. J., Zhang, Z., Zhang, R., Jin, Z., & Chen, L. (2025). Encapsulation method of probiotic embedded delivery system and its application in food. *Food Hydrocolloids*, 159(110625), 110625. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110625>
- Corral, P., Amoozegar, M. A., & Ventosa, A. (2019). Halophiles and their biomolecules: Recent advances and future applications in biomedicine. *Marine Drugs*, 18(1), 33. <https://doi.org/10.3390/md18010033>
- Dennis, P.P. y Shimmin, L.C. (1997). Divergencia evolutiva y selección mediada por salinidad en arqueas halófilas. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR* , 61(1), 90–104. <https://doi.org/10.1128/membr.61.1.90-104.1997>
- Edbeib, M. F., Wahab, R. A., & Huyop, F. (2016). Halophiles: biology, adaptation, and their role in decontamination of hypersaline environments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(8), 135. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2081-9>
- Habib, N., Ali, Q., Ali, S., Javed, M. T., Zulqurnain Haider, M., Perveen, R., Shahid, M. R., Rizwan, M., Abdel-Daim, M. M., Elkelish, A., & Bin-Jumah, M. (2020). Use of nitric oxide and hydrogen peroxide for better yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under water deficit conditions: Growth, osmoregulation, and antioxidative defense mechanism. *Plants*, 9(2), 285. <https://doi.org/10.3390/plants9020285>
- Habib, N., Ali, Q., Ali, S., Javed, M. T., Zulqurnain Haider, M., Perveen, R., Shahid, M. R., Rizwan, M., Abdel-Daim, M. M., Elkelish, A., & Bin-Jumah,

- M. (2020). Use of nitric oxide and hydrogen peroxide for better yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under water deficit conditions: Growth, osmoregulation, and antioxidative defense mechanism. *Plants*, 9(2), 285. <https://doi.org/10.3390/plants9020285>
- Han, C., Xiao, Y., Liu, E., Su, Z., Meng, X., & Liu, B. (2020). Preparation of Calcium alginate-whey protein isolate microcapsules for protection and delivery of *L. bulgaricus* and *L. paracasei*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1361–1368. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.247>
- Huang, X., Wang, J., Liu, R., Yang, C., Shao, Y., Wang, X., Yi, H., & Lu, Y. (2024). An effective potential *Bifidobacterium animalis* F1-7 delivery strategy: Supramolecular hydrogel - sodium alginate/tryptophan-Sulfobutylether- β -cyclodextrin (Alg/Trp-SBE- β -CD). *Food Hydrocolloids*, 155(110217), 110217. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110217>
- Kanekar, P., Kanekar, S., Kelkar, A., & Dhakephalkar, P. (2011). Halophiles - taxonomy, diversity, physiology and applications. En T. Satyanarayana, B. Narain, & J. A. Prakash (Eds.) *Microorganisms in Environmental Management* (pp. 1-34). New York, USA: Springer.
- Kunte, H. J. (2005). K⁺ transport and its role for osmorgultation in a halophilic member of the bacteria domain: characterization of the K⁺ uptake systems from *Halomonas elongate*. En N. Gunde-Cimerman, A. Oren, & A. Plemenitas, *Adaptation to life at high salt concentrations in Archaea, Bacteria, and Eukarya Section III Bacteria* (pp. 287-300). Nueva York, USA: Springer.
- Leal- Ferrández, M.F. (2017). Producción de Halocina L3 y estudio de sus posibles aplicaciones médicas. Tesis de grado licenciatura. Universitas Miguel Hernández. Alicante- España
- Leggett, M., Leland, J., Kellar, K., & Epp, B. (2011). Formulation of microbial biocontrol agents – an industrial perspective. *Canadian Journal of Plant*

- Pathology. Revue Canadienne de Phytopathologie*, 33(2), 101–107.
<https://doi.org/10.1080/07060661.2011.563050>
- López-Fernández, S. G., Fernández-Michel, S. G., Armenta-Corral, R. I., García-Galaz, A., Moreno-Rivas, S. C., Vázquez-Moreno, L., & Ramos-Clamont Montfort, G. (2019). Caracterización del co-encapsulamiento de *Lactobacillus plantarum* y ácidos grasos omega-3 en una matriz de alginato-pectina. *Biotecnia*, 21(2), 38–46.
<https://doi.org/10.18633/biotecnia.v21i2.904>
- Mahouachi, J. (2018). Long-term salt stress influence on vegetative growth and foliar nutrient changes in mango (*Mangifera indica* L.) seedlings. *Scientia Horticulturae*, 234, 95–100. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.028>
- Meena M.D., Yadav R.K., Narjary B., Gajender Yadav H.S., Jat, P. Sheoran, M.K. Meena, R.S. Antil, B.L. Meena, H.V. Singh, Vijay Singh Meena, P.K. Rai, Avijit Ghosh, Moharana P.C. (2019). Municipal solid waste (MSW): Strategies to improve salt affected soil sustainability: A review, *Waste Management*, 84. ISSN 0956-053X, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.11.020>
- Mokhtarnejad, L., Etebarian, H. R., Fazeli, M. R., & Jamalifar, H. (2011). Evaluation of different formulations of potential biocontrol yeast isolates efficacy on apple blue mold at storage condition. *Archiv Für Phytopathologie Und Pflanzenschutz*, 44(10), 970–980.
<https://doi.org/10.1080/03235400903461021>
- Munns, R. (2011). Plant Adaptations to Salt and Water Stress. En *Advances in botanical research* (pp. 1-32). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-387692-8.00001-1>
- Omuto, C. T., Vargas, R. R., el Mobarak, A. M., Mohamed, N., Viatkin, K., & Yigini, Y. (2021). *Mapeo de suelos afectados por salinidad - Manual técnico*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). <https://doi.org/10.4060/ca9215es>

- Oren, A. (2015). Halophilic microbial communities and their environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.02.005>
- Orhan, F., Efe, D., & Gormez, A. (2023). Advantages of using halotolerant/halophilic bacteria in agriculture. En *Unravelling Plant-Microbe Synergy* (pp. 133–149). Elsevier.
- Piña, L., Flores, Gallegos, A. C., Rodríguez, Vidal1, A., Aguilar, González, M. A., Aguilar, González, C. N., & Rodríguez, Herrera, R. (2011) Aislamiento y caracterización de microorganismos halófilos de suelos salinos de cuatro Ciénegas Coahuila, México. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila. Coahuila-México. Volumen 3, No. 5/ 2011*
- Pino, J.A., & Aragüez, Y. (2021). Conocimientos actuales acerca de la encapsulación de aceites esenciales. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 52 (1), 010-025.
- Rodríguez, O. Y, Dufour R.(2021). Suelos salinos y sódicos: Identificación, Mitigación y Consideraciones de Manejo. <https://attra.ncat.org/publication/suelos-salinos-y-sodicos-identificacion-mitigacion-y-consideraciones-de-manejo/>
- Rodríguez-Aristizabal, M.A., Higuera-Mora, N.C. y Sanjuanelo-Corredor, D.W. (2019). Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 67 (3), 621-632. <https://doi.org/10.15517/RBT.V67I3.32942>
- Sánchez, L. C., & Arguello-Arias, H. (2006). Capacidad de bacterias halófilas para capturar sodio in Vitro y su posible aplicación en biorremediación en suelos salinos-sódicos. *Nova*, 4(6), 19. <https://doi.org/10.22490/24629448.357>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). 2021. *Mapa agrícola de afectación por salinidad en México*.

<https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/mapa-agricola-de-afectacion-por-salinidad-en-mexico>

Vinchira-Villarraga, D. & Moreno, N. (2019). Control biológico: Camino a la agricultura moderna. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 21. 2-5. 10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860.

Zelaya-Molina, L. X., Chávez-Díaz, I. F., de los Santos-Villalobos, S., Cruz-Cárdenas, C. I., Ruíz-Ramírez, S., & Rojas-Anaya, E. (2022). Control biológico de plagas en la agricultura mexicana. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 13,69-79.. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i27.3251>

CAPITULO V

CONCLUSIONES GENERALES

La desalinización de suelos es un tema poco estudiado si bien en este trabajo de investigación se desglosan seis trabajos de investigación aún falta mucho trabajo por realizar en esta área.

La formulación de bacterias y arqueas halófilas es algo novedoso, al ser la primera vez en realizarse se obtuvieron resultados satisfactorios. Esto abre diferentes líneas de investigación. Los materiales resultaron idóneos para la elaboración de las capsulas.

Lo mas importante es destacar que es el primer trabajo en el que se reporta a las arqueas halófilas como desalinizadoras de suelos. Existen trabajos citados en este documento que reportan bacterias halófilas, pero no arqueas. Esto es un parte aguas en la investigación en este rubro.

CAPITULO VI

RECOMENDACIONES

Se recomienda que, al trabajar con microorganismos halófilos, y en laboratorio se utilice equipo de seguridad.

Al formular todo el material debe ser esterilizado.

Una recomendación que es importante recalcar es que a la hora de formular el alginato de sodio y el glicerol solo debe ser esterilizado una vez, ya que en cada esterilización pierden sus propiedades.

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Allbed, A. & Kumar, L. (2013). Soil salinity mapping and monitoring in arid and semi-arid regions using remote sensing technology: a review. *Advances in remote sensing*. 2:373-385.
- Amoozegar, M.A, Siroosi, M., Atashgahi, S., Smidt, H. y Ventosa, A. (2017). Sistemática de haloarchaea y potencial biotecnológico de sus enzimas hidrolíticas. *Microbiología*, 163 (5), 623-645.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.000463>
- Ayaviri-Pérez, R. C. Y Bustamante C. G. (2022). ALGINATO. *Rev. Act. Clin. Med, La Paz*. Disponible <http://www.revistasbolivianas.ciencia.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682013000300004&lng=pt&nrm=iso>.
- Bah, M.G., Bilal, H.M. y Wang, J. (2020). Fabricación y aplicación de microcápsulas complejas: una revisión. *Materia Blanda*, 16(3), 570-590.

- Bogantes, D., Flores, L., Castellón, E., & Uribe, L. (2018). Encapsulamiento de nematodos entomopatógenos en materiales basados en biopolímeros y su efecto sobre. *Galleria mellonella*. *Agronomía Costarricense*, 42(2). <https://doi.org/10.15517/rac.v42i2.33774>
- Castellanos J. Z. (2004). Manual de interpretación de análisis de suelos y aguas. Ed. INTAGRI. 130-140. México.
- Chavira, J.G. y Castellanos, J. Z. (1987). Sales solubles. En: Análisis químicos para evaluar la fertilidad del suelo. Eds. Soc. Mex. Ciencias del Suelo. 109-125. México.
- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad).(2020). La gran familia Disponible en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gfamilia/archea/index>.
- Courel, G. F.(2019).Suelos salinos y sódicos. Catedra de edafología. Facultad de Agronomía y Zootecnia.Universidad Nacional de Tucumán.
- De la Haba, R.R., Sánchez-Porro, C., Marquez, M.C., Ventosa, A. (2011). Taxonomy of Halophiles. In: Horikoshi, K. (eds) Extremophiles Handbook. Springer, Tokyo. https://doi.org/10.1007/978-4-431-53898-1_13.
- Dennis, P & Shimmin, L. (1997). Evolutionary Divergence and Salinity-Mediated Selection in Halophilic Archaea. *Microbiology and molecular biology reviews* : MMBR. 61. 90-104. 10.1128/.61.1.90-104.1997.
- Edbeib, M.F., Wahab, R.A. y Huyop, F. (2016). Halófilos: biología, adaptación y su papel en la descontaminación de ambientes hipersalinos. *World J Microbiol Biotechnol* 32 , 135. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2081-9>

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).(2022). Suelos afectados por salinidad.Portal de Suelos de la FAO. <https://www.fao.org/soils-portal/soil-management/manejo-de-suelos-problematicos/suelos-afectados-por-salinidad/es/>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).(2015). Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Roma, Italia.pp218 .
- Garzon-Pinto, N .(2017). Filogenia de los Seres vivos: Dominio Archaea. Departamento de Microbiología y Parasitología . (Trabajo Fin de Grado Inédito). Universidad de Sevilla, Sevilla.<http://hdl.handle.net/11441/66487>
- Ghosh, S.K. (2006). Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective Functional Coatings.1-28. S.K. Ghosh (Ed.). <https://doi.org/10.1002/3527608478.ch1>
- González, J. y Peña, A. (2002). Estrategia de adaptación de microorganismos halófilos y *Debaryomyces hansenii* (levadura halófila). *Rev Latinoam Microbiol*, 1958, 44–5.
- González-Cuello, R. E., Pérez-Mendoza, J., & Morón-Alcázar, L. B.(2015). Efecto de la Microencapsulación sobre la Viabilidad de *Lactobacillus delbrueckii* sometido a Jugos Gástricos Simulados. *Información tecnológica*, 26(5), 11-16. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000500003>

- González-Hernández J.C. y Peña A. (2020). Estrategias de adaptación de microorganismos halófilos y *Debaryomyces hansenii* (Levadura halófila). *Microbiología*. 44(3-4),137-156.
- Guerra-Camacho, M. Á., Magaña-Tzuc, M. C., Vargas-Díaz, A. A.,Silva-Rojas, H. V., Gamboa-Angulo,M.(2024)Identificación y actividad antifúngica de bacterias halófilas aisladas de suelos salinos en Campeche, México.*Revista Argentina de Microbiología*.
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2024.02.004>
- Hernández-Carmona, G., Rodríguez-Montesinos, Y.E., Arvizu-Higuera, D.L., Reyes-Tisnado, R., Murillo-Álvarez, J.I., & Muñoz-Ochoa, M.. (2012). Avances tecnológicos en la producción de alginatos en México. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 13(2), 155-168. Recuperado en 01 de septiembre de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-77432012000200003&lng=es&tlng=es.
- Hernández-Mendoza, J. L., Hinojosa-López, P. L., Salazar -Bravo, Á, García-Olivares, J. G., Rodríguez- Castillejos, G. C., & Quiroz-Velásquez, J. D. C.(2018) Conservación por microencapsulación de bacterias de uso agrícola: *Azospirillum Brasilense*. *Revista Boliviana de Química*, 35(4), 117-122.
http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602018000400002&lng=es&tlng=es.
- Hiltbold, I. (2015). Prospects in the Application Technology and Formulation of Entomopathogenic Nematodes for Biological Control of Insect Pests. In:

Campos-Herrera, R. (eds) Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests. Sustainability in Plant and Crop Protection. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-18266-7_7

Hurtado,A., Selgas R., Serrano, A. A. (2020). El alginato y sus inmensas aplicaciones industriales. Nereis. Interdisciplinary Ibero-American Journal of Methods, Modelling and Simulation.. 12. 137. 10.46583/nereis_2020.12.573.

Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura.INTAGRI. 2017. Clasificación del Suelo: WRB y Soil Taxonomy. Serie Suelos. Núm. 28. Artículos Técnicos de INTAGRI. México.

Kanekar, P.P., Kanekar, S.P., Kelkar, A.S., Dhakephalkar, P.K. (2012). Halophiles – Taxonomy, Diversity, Physiology and Applications. In: Satyanarayana, T., Johri, B. (eds) Microorganisms in Environmental Management. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2229-3_1

Kraegeloh, A., Amendt, B., & Kunte, H. J. (2005). Potassium transport in a halophilic member of the bacteria domain: identification and characterization of the K⁺ uptake systems TrkH and TrkI from Halomonas elongata DSM 2581T. *Journal of bacteriology*, 187(3), 1036–1043. <https://doi.org/10.1128/JB.187.3.1036-1043.2005>

- Kushner, D.J. and Kamekura, M. (1988) Physiology of halophilic eubacteria, in "Halophilic Bacteria" vol. 1 (Rodriguez-Valera, F., Ed.), pp.109–140. CRC Press, Boca Raton.
- Lamz, P. A. y González, C.M.(2013). La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Tropicales*. 34(4), 31-42.
- Luna, J. J., López, J. M., Jiménez, O. & Luna, L. (2016). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión / Microencapsulation of some bioactive compounds through spray drying. *CIBA Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 5(10), 39. <https://doi.org/10.23913/ciba.v5i10.5>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H, Stahl, D.A. (2015). Brock: biología de los microorganismos. 14ª ed. Madrid: Pearson.
- Manzano, B.J.I, Rivera, O. P., Briones E.F. & Zamora, T., C. (2014). Rehabilitación de suelos salino-sódicos: estudio de caso en el distrito de riego 086, Jiménez, Tamaulipas, México. *Terra Latinoamericana*, 32(3), 211-219. Recuperado en 25 de septiembre de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792014000300211&lng=es&tlng=es
- Meena M.D., Yadav R.K., Narjary B., Gajender Yadav H.S., Jat, P. Sheoran, M.K. Meena, R.S. Antil, B.L. Meena, H.V. Singh, Vijay Singh Meena, P.K.

- Rai, Avijit Ghosh, Moharana P.C..(2019). Municipal solid waste (MSW): Strategies to improve salt affected soil sustainability: A review,Waste Management,84,ISSN 0956-053X,<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.11.020>.
- Méndez-Reyes, D.A., Quintero-Cerón J.P., Váquiro-Herrera, H.A. Y Solanilla-Duque, J.F.2014.Alginato de sodio en el desarrollo de películas comestibles. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 5(2), 089-113.
- Nava-Reyna, E., Michelena-Álvarez, G., Iliná, A., Martínez-Hernández, J. L. (2015). Microencapsulación de componentes bioactivos. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. 66,64-70.
- NOM-021-RECNAT-2000 (NORMA Oficial Mexicana). (2000). Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D. F. <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69255.pdf>
- Oren A.(2008). Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. *Saline Syst.* 4(1),2. Available from: <http://aquaticbiosystems.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-1448-4-2>
- Panzardi, C.A., Quiroz, N.C., Erkia, S.(2020). Recuperación de suelos sódicos. *Agrotecnia* 29: 73-76 <http://dx.doi.org/10.30972/agr.0294523>
- Parra-Cota, FI, Yepez, EA, Gutiérrez-Coronado, MA, Valdez-Torres, LC, y de los Santos-Villalobos, S. (2020). Impacto de un cambio del cultivo

- convencional al orgánico de trigo en las comunidades fúngicas cultivables en el suelo en el Valle del Yaqui, México. *Agrociencia* , 54 (5).
- Paz-Pellat, F., Palacios-Sánchez L. A. y Ramírez- Ayala C.(2018). Efecto de las sales solubles del suelo sobre las reflectancias de los cultivos y sus implicaciones en el diseño experimental. *Terra Latinoamericana*, 36(4), 355-368. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i4.400>
- Pulido-Madrigal, L., González-Meraz, J., Wiegand, C. L., Infante-Reyes, J., & Delgado, J. M.. (2010). Monitoreo de la salinidad mediante sensores remotos. *Terra Latinoamericana*. 28(1), 15-26. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792010000100002&lng=es&tlng=es.
- Rahnesan, Z., Nasibi, F., & Moghadam, A. A. (2018). Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Journal of plant interactions*, 13(1), 73-82.
- Ramírez, N, Sandoval, AH, & Serrano, JA. (2004). Las bacterias halófilas y sus aplicaciones biotecnológicas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 24(1-2),123. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562004000100004&lng=es&tlng=es.
- Rodríguez, O. Y Dufour R.(2021). Suelos Salinos y Sódicos: Identificación, Mitigación y Consideraciones de Manejo. <https://attra.ncat.org/publication/suelos-salinos-y-sodicos-identificacion-mitigacion-y-consideraciones-de-manejo/>

- Rodríguez-Aristizabal, M. A., Higuera-Mora, N C., & Sanjuanelo-Corredor, D W. (2019). Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 67(3), 621-632. <https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v67i3.32942>
- Rodríguez-Moreno, V. M., Ruíz-Corral, J. A., Padilla-Ramírez, J. S, Y Silva-Serna, M. M.. (2017). Mapeo espacial de la salinidad del suelo a través de sensores remotos. Estudio de caso norte de Tamaulipas. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, (13), 2577–2587. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i13.484>
- Rojas Padilla, J., Chaparro Encinas, LA, Robles Montoya, RI, & de los Santos Villalobos, S. (2020). Promoción del crecimiento de trigo (*Triticum turgidum* L. subsp. durum) mediante co-inoculación de cepas nativas de *Bacillus* aisladas del Valle del Yaqui, México. *Nova Scientia* , 12 (24). <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2136>
- SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). (2021). Mapa Agrícola de afectación por salinidad en México. <https://www.gob.mx/agricultura/acciones-y-programas/mapa-agricola-de-afectacion-por-salinidad-en-mexico>
- San-Blas, E.(2013(. Progress on entomopathogenic nematology research: A bibliometric study of the last three decades: 1980–2010. *Biological Control*. 66,102-124
- Sánchez-Leal MSC, L. C., & Arguello-Arias, PhD, H. (2006). Capacidad de bacterias halófilas para capturar sodio in Vitro y su posible aplicación en

bioremediación en suelos salinos-sódicos. *Nova*, 4(6), 19-32. <https://doi.org/10.22490/24629448.357>

Santos-Villalobos, S. D. L., Parra-Cota, F. I., Herrera-Sepúlveda, A., Valenzuela-Aragón, B., y Estrada-Mora, J. C. (2018). Colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos para contribuir a la seguridad alimentaria nacional. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(1), 191-202.

Shoji, A. S., Oliveira, A. C., Balieiro, J. C. de C., Freitas, O. Thomazini, M., Heinemann, R. J. B. (2013). Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. *Food and Bioprocess Processing*, 91(2), 83-88. doi:10.1016/j.fbp.2012.08.009

Ventosa, A. (2006). Unusual micro-organisms from unusual habitats: Hypersaline environments. *Prokaryotic Diversity: Mechanisms and Significance*: Published for the Society for General Microbiology. 223-254. 10.1017/CBO9780511754913.015.

Wood, J. M. (2011). Bacterial Osmoregulation: A Paradigm for the Study of Cellular Homeostasis. *Annual Review of Microbiology*, 65(1), 215–238. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090110-102815>

CAPÍTULO VIII

ANEXOS

Anexo 1. Preparación del medio de cultivo para arqueas halófilas 15% NaCl (Leal- Ferrández, 2017)

| Medio de Cultivo Arqueas halófilas | |
|---------------------------------------|---------|
| Componente | g/L |
| HNaCO ₃ | 0.04175 |
| NaBr | 0.1625 |
| CaCl ₂ | 0.2395 |
| KCl | 1.25 |
| MgCl ₂ • 6H ₂ O | 8.65 |
| MgSO ₄ • 7H ₂ O | 12.375 |
| NaCl | 37.5 |
| Agar | 5 |
| Agua destilada | 250 |

Anexo 2. Preparación del medio de cultivo para bacterias halófilas 10% NaCl
(Castro- Piña et al., 2011).

| Medio de Cultivo Bacterias halófilas | |
|--------------------------------------|-------|
| Composición | g/L |
| Extracto de carne | 0.25 |
| Levadura | 0.5 |
| Peptona | 1.875 |
| NaCl | 25 |
| Agar | 5 |
| Agua destilada | 250 |