

# Influence of Halophilic Bacteria on the Recovery of Saline Soils

María Fernanda Carolina Beltran Bazan<sup>1</sup> ; Arianna Zavaleta Figueroa<sup>1</sup> ; Raul Ericson Castro Angulo<sup>1</sup> ; Jessica Marleny Lujan<sup>1</sup> , Flor Calvanapón Alva<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Privada del Norte -UPN – Perú N00231567@upn.pe; N00232168@upn.pe; raul.castro@upn.pe; jessica.lujan@upn.pe; flor.calvanapón@upn.pe

*Abstract- The objective of this study was to analyze the influence of halophilic bacteria for the recovery of saline soils, applying the ANOVA statistical model with multiple contrast of means. The research was divided into two phases, in phase one, tests of isolation, selection and replication of halophilic bacteria were carried out, in addition to bacterial growth and viability in liquid medium with different doses of sodium chloride (3%, 6%, 9% and 12%); on the other hand, phase 2 of laboratory analysis consisted of the determination of point edaphic variables (pH, electrical conductivity) in the sowing of the 7 treated samples. The results showed that a direct effect of halophilic bacteria in the decrease of the (Ce) of the soil, going from 5.3 ds/m to 2.8 ds/m (A1), 2.2 ds/m (C2), 3.2 ds/m (E3), values that correspond to very light salinity (< 2 ds/m). In relation to the variables, improvements in the evaluated characteristics were evidenced, according to this, it is evident that the halophilic bacteria used in this research have potential for the rehabilitation of salinized soils.*

**Keywords--** Halophilic bacteria, Saline soils, Recovery, Electrical conductivity, Salinization.

**Digital Object Identifier:** (only for full papers, inserted by LACCEI).  
**ISSN, ISBN:** (to be inserted by LACCEI).  
**DO NOT REMOVE**

# Influencia de las Bacterias Halófilas para la Recuperación de Suelos Salinos

María Fernanda Carolina Beltran Bazan<sup>1</sup> ; Arianna Zavaleta Figueroa<sup>1</sup> ; Raul Ericson Castro Angulo<sup>1</sup> ; Jessica Marleny Lujan<sup>1</sup> , Flor Calvanapón Alva<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Privada del Norte -UPN – Perú N00231567@upn.pe; N00232168@upn.pe; raul.castro@upn.pe; jessica.lujan@upn.pe; flor.calvanapón@upn.pe

**Resumen**– El objetivo de este estudio fue analizar la influencia de las bacterias halófilas para la recuperación de suelos salinos, aplicando el modelo estadístico de ANOVA con contraste múltiple de medias. La investigación se dividió en dos fases, en la fase uno se realizaron pruebas de aislamiento, selección y replique de bacterias halófilas, además de crecimiento bacteriano y viabilidad en medio líquido con distintas dosis de cloruro de sodio al (3 %, 6 %, 9 % y 12 %); por otro lado, la fase 2 de análisis de laboratorio consistió en la determinación de variables edáficas puntuales (pH, conductividad eléctrica) en la siembra de las 7 muestras tratadas. Los resultados mostraron que un efecto directo de las bacterias halófilas en la disminución de la (Ce) del suelo, pasando de 5.3 ds/m a 2.8 ds/m (A1), 2.2 ds/m (C2), 3.2 ds/m (E3), valores que corresponden a salinidad muy ligera (< 2 ds/m). En relación con las variables, se evidenciaron mejoras en las características evaluadas, de acuerdo con esto, se evidencia que las bacterias halófilas utilizadas en esta investigación tienen potencial para la rehabilitación de suelos salinizados.

**Palabras clave**-- Bacterias Halófilas, Suelos Salinos, Recuperación, Conductividad Eléctrica, Salinización.

## I. INTRODUCCIÓN

Desde el inicio de la agricultura, la humanidad se ha visto afectada por la salinidad, la salinización de los suelos cultivables ha provocado migraciones que han sido documentadas a lo largo de la historia. La extensión de las áreas salinizadas se ha incrementado debido a la actividad antropológica en actividades agrícolas. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura [1], en la actualidad, la salinización y el endurecimiento del suelo es una de las amenazas globales más graves para las regiones áridas, semiáridas y las tierras agrícolas en las zonas costeras y el riego con aguas residuales en todos los climas.

Es así, como la salinización del suelo es un factor que impide el desarrollo efectivo de las plantas y es el principal causante de la erosión del suelo. Como se mencionó anteriormente [1], se estima que la salinidad global afecta a más de 833 millones de hectáreas de tierra, o el 8.7 % de la superficie de la Tierra. Se encuentran principalmente en ambientes naturalmente áridos o semiáridos de África, América Latina y Asia, la tierra irrigada en los continentes presentan alrededor del 20 % y el 50 % presencia de una alta salinidad, lo que significa que más de 1 500 millones de personas en todo el mundo enfrentan importantes problemas para cultivar alimentos debido a la degradación del suelo.

En efecto, los suelos salinos, se encuentran generalmente en zonas secas, bajas y con mal drenaje, como a lo largo del Nilo en el norte de Sudán y Egipto. En las zonas húmedas, la precipitación supera la evaporación. Los ríos y arroyos fluyen continuamente, llenando estanques o lagos y luego desembocando en arroyos de drenaje. Pero en las regiones áridas la evaporación supera a las precipitaciones. En lugar

de llenar y luego salir de la piscina existente, el agua se acumula y luego se evapora, dejando rastros de minerales recogidos del suelo alrededor de la piscina. Con el tiempo [2], estos minerales se acumulan hasta que las plantas halófilas (tolerantes a la sal) no pueden sobrevivir y se forman "salinas".

Es así, como también en el Perú, la salinización de las tierras es el problema más grave en la degradación de los suelos. Según el MINAGRI [3] se pierden unas 3 000 hectáreas por año a causa de un drenaje inadecuado, lo que hace que el agua salada que se acumule bajo tierra y eventualmente suba a la superficie destruyendo las tierras de cultivo. Esto sucede en zonas cercanas al cultivo de arroz porque al cultivar este producto los agricultores inundan el terreno y el agua que contiene sodio no se vierte al mar como debería, sino que se acumula en el suelo bajo tierra, subiendo hasta quedarse en el suelo capilar.

En ese sentido, la costa Libertena no está exenta de sufrir las consecuencias de la salinidad, en el distrito de Virú la actividad agrícola en sus valles es limitada por la escasa disponibilidad de agua para riego y presentan un grave problema de drenaje especialmente en las zonas aisladas, según ANA [4], se ha registrado que una extensión de 2 460 hectáreas son afectadas de manera ligera por la salinidad y que 390 hectáreas se han visto perjudicadas de manera grave, estos suelos se encuentran ubicados en áreas depresionadas, circundadas por pequeñas elevaciones y huacas salinas que dificultan la evacuación de los excesos de agua. A raíz de este problema se han realizado estudios en distintos países para la mejora o rehabilitación de los suelos salinos, según [5], surgió la necesidad de desarrollar alternativas sostenibles que ayuden a reducir la salinización del suelo para evitar un aumento de la superficie degradada de esta condición. Se considera una opción con gran potencial, por ejemplo, el uso de microorganismos como bacterias, algas, hongos y halófilos puede convertirse en un método de tratamiento adicional para un manejo más integral y sustentable de suelos problemáticos. Los estudios in vitro y en invernadero descriptos muestran que las bacterias halófilas tienen la capacidad de acumular y transportar sal, similar al conocido potencial de bioacumulación de las plantas.

Cabe mencionar que tras un análisis se identificó como variable independiente a las bacterias halófilas y como variable dependiente a los Suelos Salinos, la línea de investigación es perteneciente a la sub línea Remediación Ambiental, así como a la de desarrollo sostenible y gestión empresarial, debido a que es uno de los mejores métodos para reducir el porcentaje de sodio intercambiable y la conductividad, es seguro, económico y fácilmente disponible para su uso.

Es por ello que esta investigación se ha considerado una alternativa innovadora al dilema que enfrentamos, la salinización, es así que se pretende analizar la influencia de las bacterias halófilas para la recuperación de estos suelos salinos en Virú, La Libertad. Así mismo la Ref. [6], se enfatizó que la salinización puede alterar la estructura, permeabilidad, aireación e infiltración en el suelo y que llega a causar dificultades vinculadas con la disponibilidad de alimentos, la fertilidad del suelo y la biodiversidad, por lo que es de suma importancia preservar la calidad del suelo y encontrar métodos y medidas de mejorarlo. Dentro de este contexto surge la siguiente interrogante: ¿Cómo influye la aplicación de bacterias halófilas para la recuperación de suelos salinos de Virú, La Libertad?

Ante estas circunstancias de salinización, es inevitable formar

**Digital Object Identifier:** (only for full papers, inserted by LACCEI).  
**ISSN, ISBN:** (to be inserted by LACCEI).  
**DO NOT REMOVE**

técnicas que restablezcan el suelo para reducir el contenido de sal. Se han desarrollado diferentes técnicas con el fin de mejorar el estado del suelo y la producción agrícola. Los poblados rurales pobres de los países en desarrollo son las más vulnerables a los desafíos globales de la salinización del suelo, la degradación de la tierra y la sequía [7], es así como la descomposición de la materia orgánica en el suelo es una actividad que realizan organismos como bacterias y hongos, que permiten que las raíces de las plantas absorben los minerales que están disponibles para ser absorbidos nuevamente. La función es importante porque muchos compuestos contaminados en el suelo pueden ser cambiados por microorganismos.

Por lo cual se puede mencionar [8] que las bacterias halófilas, son los microorganismos más eficaces para restaurar suelos salinos, ayudando con aquellas tierras agrícolas donde aún se es imposible sembrar, además, para acumular y transportar sales ha sido demostrada tanto en estudios in vitro como en invernadero, de forma similar a como se conoce el potencial de bioacumulación de las plantas, ayudando económicamente la calidad del suelo en futuras plantaciones agrícolas.

Es por ello que en esta investigación se plantea como objetivo general determinar la influencia de las bacterias halófilas para la recuperación de suelos salino de Virú, La Libertad, asimismo, diagnosticar la situación actual de salinidad de los suelos del valle de Virú, La Libertad, analizar la resistencia de las bacterias a diferentes concentraciones de salinidad y determinar la eficiencia de los tratamientos en las muestras de suelos, así mismo se planteó la siguiente hipótesis, las bacterias halófilas influyen en el efecto remediador en los suelos salinos de Virú, La Libertad. Y, una hipótesis nula, las bacterias halófilas no influyen en el efecto remediador en los suelos salinos de Virú, La Libertad.

## II. METODOLOGÍA

Para el desarrollo de la investigación se determinó la siguiente secuencia: El diseño de la investigación, la revisión del estado del arte, y el modelo de gestión de procesos comerciales.

### A. Diseño de la investigación

#### A.1 Tipo de investigación

El enfoque considerado para esta investigación es un enfoque cuantitativo, según la Ref. [9] estos “se basan en un enfoque lógico y bien fundamentado para formular preguntas e hipótesis de investigación para su posterior validación”. Debido a que, este estudio utiliza estadísticas numéricas para analizar la influencia de bacterias halófilas para la recuperación de suelos salinos de Virú, La Libertad.

Así mismo, es aplicada debido a que se encarga de “manipular una variable observable y observar el fenómeno que la controla creando controles” [10]. También, este estudio se enmarca en el tipo de correlación, según la Ref.[10], que se refiere a la variable grado de correlación, es decir, “la población estudiada se mide por correlación con coeficientes que a veces son causales, a veces no causales”. Por lo tanto, esta investigación es correlacional porque trabaja en analizar la influencia de bacterias halófilas para la recuperación de suelos salinos de Virú, La Libertad. Dentro del propósito de la investigación, es de tipo aplicada, como se mencionó anteriormente [10], es utilizada por investigadores de la industria para la investigación aplicada, además busca directamente generar conocimiento aplicado problemáticas sociales. A nivel de producción, basado en la tecnología entre teoría y producto”.

Además, este estudio es un diseño experimental porque según la Ref. [10] “es un proceso cuya característica principal es la prueba cuantitativa de una relación causal entre una sola variable, que implica la manipulación o control de variables independientes, lo que requiere

un plan de acción que puede crearse en etapas, como una intervención procedimental”. Es decir, muestran el efecto de aumentar o disminuir la variable de control. Además, este estudio proporciona un enfoque transversal, específico de tiempo y lugar, que da como resultado calificaciones grupales y la información se puede recopilar sin observaciones repetidas, por lo tanto, en conclusión este trabajo de investigación tiene un diseño factorial en bloques al azar, por manejar más de una variable.

### A.2 Población y muestra

En el estudio el área de muestra fue de 1.5 kilos de tierra obtenida de 6 puntos del terreno salino de Virú. Cabe mencionar que la investigación se divide en dos procesos: descriptivo y experimental, el análisis descriptivo trata sobre las propiedades de los suelos salinos, especialmente los suelos muy afectados, y por otro lado, el proceso experimental al que serán sometidas las bacterias en las muestras de suelo.

### A.3 Procedimiento

Dentro del trabajo de gabinete realizado para la presente investigación se conoce los métodos para muestreo de suelos, se afianza de la ficha de muestreo de suelos que se encuentra dentro de la guía del muestreo de los suelos MINAM - 2014 como instrumento para el proyecto. Además, se obtiene la metodología para analizar las diferentes propiedades del suelo, como textura, estructura, consistencia, color, materia orgánica etc. como un indicador del estado de calidad para la observación. Uno de los principales es el Método Sistema de Notación Munsell [11], este método nos permite determinar el color del suelo, es una herramienta útil, económica y fácil de usar para la evaluación del color del suelo en campo y en laboratorio. Así mismo el método de Walkey y Black [12], para la determinación de la materia orgánica presente en las muestras de suelo este se basa en “la oxidación del carbono orgánico con ( $K_2Cr_2O_7$ ), que reacciona con el carbono del suelo y lo oxidará transformándolo en  $CO_2$ . Después se determinará la cantidad de oxidante que no ha reaccionado y se podrá estimar así la cantidad que ha reaccionado con el carbono”.

Por otro lado, como parte del trabajo de campo de la investigación, la selección de las muestras de suelo fueron tomadas en Virú, región La Libertad, se recolectaron las muestras de 6 puntos del área evaluada (0.5 hectáreas), 2 muestras de fondo y 4 de los límites, cada una obtenida a 15 cm de profundidad con un peso de 250 gr por cada una, utilizando una pequeña pala, teniendo una muestra de 1.5 kilos en total para, llenando así mismo la ficha de muestreo de suelos, de esta muestra se evalúan las bacterias presentes para su cultivo y posterior crecimiento. Luego se recolectaron 9 kilos de tierra a través de calicatas a 40 cm en el mismo sitio, esto para separarlo en 6 muestras con 3 repeticiones cada una, que llevan 0.5 kilos de tierra, a las cuales se le aplican las diferentes bacterias para su observación.

Luego, como parte del trabajo en laboratorio se realiza el análisis físico de las muestras obtenidas, a través de las herramientas como el pH metro y conductímetro, diluyendo la tierra en agua destilada en proporción 1:2 se obtuvo el valor del pH y la conductividad eléctrica respectivamente, a esta última se le realizaron conversiones para hallar el nivel de salinidad en dS/m. Por otro lado, dentro del análisis biológico de las muestras se trata de identificar y recuperar el máximo número de bacterias halófilas y prevenir el crecimiento de microorganismos no interesantes, el aislamiento de cepas bacterianas se realiza en Plate Count Agar (PCA) modificado con NaCl al 1.5 %, esto colocando 3 gr de NaCl en 200 ml de agua destilada y 4.7 gr de PCA, mezclándolo en la estufa para evitar los grumos y llevarlo luego al autoclave eléctrico vertical para esterilizar el agar; una vez pasado el tiempo se preparan las placas que deben estar previamente

esterilizadas, se coloca 15 ml de PCA modificado en cada placa y se deja enfriar, luego se prepara la tierra, previamente homogeneizada y tamizada, en una relación de 1:100 con agua destilada para realizar la técnica de siembra por estrías en 8 placas petri, según la Ref. [13] en “condiciones de crecimiento durante el período de incubación son 24 horas a 37 °C”.

Luego, se realiza la identificación de los tipos de bacterias presentes en las placas y se hallan similitudes de manera morfológica, se identificó un total de 24 bacterias en las 8 placas, de las cuales se pudieron agrupar en 7 clases. Después, se preparan placas con el medio de cultivo de Agar Nutritivo para evaluarlas de manera microscópica, identificando su forma, color, morfología, gram y bordes. Así pues, las cepas recuperadas se siembran en placas de PCA con diferentes concentraciones de NaCl al 3 %, 6 %, 9 % y 12 %, donde se evalúa si la bacteria logró crecer o no en todas las concentraciones, de ellas se incluyen las que lograron sobrevivir a las concentraciones más altas.

Por otro lado, para la evaluación de la tierra con salinidad, la muestra se esteriliza en la estufa para eliminar cualquier microorganismo presente que pueda afectar los resultados, en 18 baldes se coloca 0.5 kilos de tierra de los suelos salinos de Virú y se le aplica  $10^{-2}$  UMT de las diferentes bacterias que hay en las 6 placas para realizar la evaluación de pH y conductividad eléctrica de manera semanal.

Para la realización del muestreo, incubación y análisis de las características de los suelos salinos antes, durante y después de la aplicación de los microorganismos halófilos y se necesitará:

TABLA I  
MATERIALES Y MAQUINARIA

| Materiales  | Maquinaria   |
|---|--|
| <b>MUESTREO</b>   | <b>MUESTREO</b>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Ficha de muestreo de suelos</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Pala</li> <li>Balanza digital</li> </ul>  |
| <b>ANÁLISIS FÍSICO</b>  | <b>ANÁLISIS FÍSICO</b>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Muestras de los suelos de Virú</li> <li>Agua destilada</li> <li>Probeta</li> <li>Pisetas</li> <li>Vasos de precipitación</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>pH metro</li> <li>Conductímetro</li> <li>Balanza analítica</li> <li>Tamiz</li> </ul>                                  |
| <b>ANÁLISIS DE MICROORGANISMOS</b>  | <b>ANÁLISIS DE MICROORGANISMOS</b>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Probeta de vidrio</li> <li>Plate Count Agar (PCA)</li> <li>Agar Nutritivo</li> <li>Caldo de cultivo</li> <li>NaCl</li> <li>Varillas</li> <li>Bandeja</li> <li>Envase de vidrio de 200 ml para almacenar el agar</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Incubadora</li> <li>Balanza analítica</li> <li>Tamiz</li> <li>Estufa</li> <li>Autoclave eléctrico vertical</li> </ul> |

Asimismo, de acuerdo a la validez y confiabilidad de los resultados de la investigación, se tiene en cuenta que los instrumentos utilizados para el levantamiento estuvieron dentro de la validez y confiabilidad, teniendo en cuenta los procedimientos a seguir, se evaluó su pH, salinidad, presencia de materia orgánica,

elementos biológicos, que fueron validados por expertos en ingeniería ambiental en el Instituto de Estudios Avanzados Trujillo-San Isidro. Una vez obtenido los resultados se implementó un análisis de varianza ANOVA con contraste múltiple de medias, utilizando el programa estadístico de Statgraphics, esto permite establecer que, en todos los tratamientos con bacterias halófilas, hay un efecto directo en la disminución de la conductividad eléctrica del suelo, indicando que sí influye en el nivel de salinidad.

### III. RESULTADOS

A continuación, se presentarán los resultados de las evaluaciones realizadas sobre la influencia de las bacterias halófilas para la recuperación de los suelos salinos. Se obtuvieron 4 muestras con sus respectivas repeticiones a evaluar (P0, P1, P2, P3), siendo P0 el testigo y las demás poseen diferentes concentraciones de cepas bacterianas halófilas, se evaluaron por un periodo de 4 semanas evaluando el nivel de salinidad del suelo. Esto para lograr el cumplimiento del objetivo general de la presente investigación, se realizó un análisis de varianza ANOVA con contraste múltiple de medias para ver la influencia que tuvieron las bacterias halófilas sobre la salinidad de los suelos.

TABLA II  
ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA DE LOS TRATAMIENTOS DE SUELO PROVENIENTE DE VIRÚ

| Fuente        | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre grupos  | 100.304           | 2  | 50.1519        | 27.26   | 0.0000  |
| Intra grupos  | 607.125           | 33 | 1.8397         |         |         |
| Total (Corr.) | 161.016           | 35 |                |         |         |

TABLA III  
CONTRASTE MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA DE LAS CUATRO SEMANAS EVALUADAS DE NUESTRA MUESTRA DE SUELOS, SIGUIENDO EL MÉTODO DE MÍNIMA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA HONESTA CON PROBABILIDAD DE ERROR PE1 0.05

| Repeticiones | Casos | Media   | Grupos Homogéneos |
|--------------|-------|---------|-------------------|
| 3            | 12    | 2.55833 | X                 |
| 2            | 12    | 3.71667 | X                 |
| 1            | 12    | 6.53333 | X                 |

TABLA IV  
ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA DEL pH DE LOS TRATAMIENTOS DE SUELO PROVENIENTE DE VIRÚ

| Fuente        | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre grupos  | 589.622           | 2  | 2.94811        | 5.48    | 0.0088  |
| Intra grupos  | 177.585           | 33 | 0.538135       |         |         |
| Total (Corr.) | 236.547           | 35 |                |         |         |

TABLA V

CONTRASTE MÚLTIPLE DE MEDIAS PARA EL PH DE LAS CUATRO SEMANAS EVALUADAS DE NUESTRA MUESTRA DE SUELOS, SIGUIENDO EL MÉTODO DE MÍNIMA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA HONESTA CON PROBABILIDAD DE ERROR PEI 0.05

| Repeticiones | Casos | Media | Grupos Homogéneos |
|--------------|-------|-------|-------------------|
| 3            | 12    | 7.36  | X                 |
| 1            | 12    | 8.06  | X                 |
| 2            | 12    | 8.32  | X                 |

Esto permite identificar un efecto directo sobre la conductividad del suelo en todas las muestras y sus repeticiones, lo que indica que el tratamiento tiene un efecto. Además, los resultados de mediciones repetidas confirmaron la ausencia de diferencias significativas entre cepas.

Otro punto tomado para la investigación, es la caracterización de los suelos salinos obtenidos de Virú como parte del primer objetivo, evaluando el pH, conductividad eléctrica para determinar la salinidad de las muestras de tierra obtenida a 0 cm, 5 cm y 15 cm de profundidad.

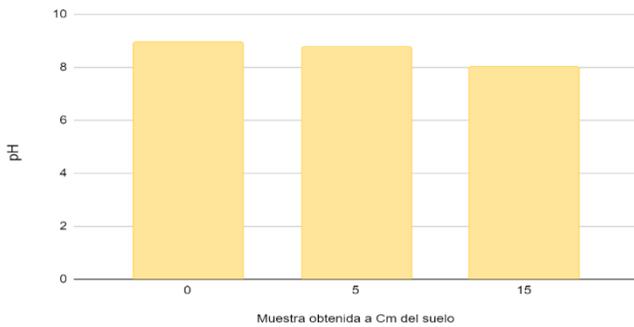


Fig. 1 Modelo de gestión aplicado

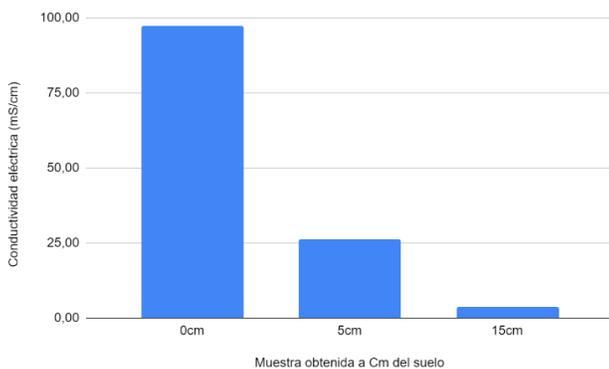


Fig. 2 Niveles de Conductividad eléctrica en las muestras obtenidas a distintos cm de suelo.

Por otro lado, de la primera muestra recolectada en Virú, se prepararon 8 placas de petri (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8), donde se inocularon las bacterias, esto para el desarrollo del

segundo objetivo, se cultivaron con el medio de crecimiento PCA modificado a 1.5 % de NaCl el crecimiento fue abundante para las 8 placas en menos de 24 horas a 37 °C. En la tabla 3 se ve la clasificación morfológica de las bacterias halladas en cada placa identificando las similitudes de cada una para excluir la presencia de bacterias repetidas, se hallaron un total de 24 colonias en las 8 placas, de las cuales se identificaron a 7 bacterias diferentes.

TABLA VI  
IDENTIFICACIÓN INICIAL DE BACTERIAS OBTENIDAS DE UNA MUESTRA DE SUELO SALINO

| Mx 1.5 % |    | Tamaño  | Forma       | Borde       | Color    | Mismas Características |
|----------|----|---------|-------------|-------------|----------|------------------------|
| M1       | 1  | Pequeña | Puntiforme  | Entero      | Blanco   | A                      |
|          | 2  | Mediana | Fusiforme   | Entero      | Amarillo | F                      |
|          | 3  | Grande  | Filamentosa | Filamentoso | Blanco   | G                      |
|          | 4  | Grande  | Irregular   | Ondulado    | Amarillo | H                      |
| M2       | 5  | Pequeña | Puntiforme  | Entero      | Verdoso  | C                      |
|          | 6  | Grande  | Filamentosa | Filamentoso | Blanco   | G                      |
|          | 7  | Mediana | Irregular   | Ondulado    | Blanco   | E                      |
| M3       | 8  | Pequeña | Puntiforme  | Entero      | Blanco   | A                      |
|          | 9  | Mediana | Irregular   | Ondulado    | Blanco   | E                      |
| M4       | 10 | Grande  | Filamentosa | Filamentoso | Amarillo | I                      |
|          | 11 | Mediana | Fusiforme   | Entero      | Amarillo | F                      |
| M5       | 12 | Grande  | Irregular   | Filamentoso | Amarillo | I                      |
|          | 13 | Grande  | Irregular   | Ondulado    | Amarillo | H                      |
| M6       | 14 | Pequeña | Puntiforme  | Entero      | Verdoso  | C                      |
|          | 15 | Grande  | Irregular   | Ondulado    | Blanco   | E                      |
| M7       | 16 | Mediana | Puntiforme  | Entero      | Blanco   | A                      |
|          | 17 | Grande  | Irregular   | Ondulado    | Blanco   | E                      |
|          | 18 | Grande  | Irregular   | Ondulado    | Blanco   | E                      |
| M8       | 19 | Pequeña | Puntiforme  | Entero      | Verdoso  | C                      |
|          | 20 | Pequeña | Irregular   | Ondulado    | Amarillo | H                      |
|          | 21 | Grande  | Filamentosa | Filamentoso | Blanco   | G                      |
| M8       | 22 | Pequeña | Puntiforme  | Entero      | Verdoso  | C                      |
|          | 23 | Grande  | Irregular   | Ondulado    | Blanco   | E                      |
|          | 24 | Grande  | Filamentosa | Filamentoso | Blanco   | I                      |

NOTA: Se agruparon las diferentes cepas por letras y colores para a partir de ellas trabajar

Luego, estas 7 bacterias halladas se cultivaron en Agar Nutritivo modificado al 1.5 % en incubadora por 24 horas a 37 °C. para realizar un análisis microscópico, obteniendo así una clasificación más exacta de cada una, teniendo en cuenta principalmente la tinción gram y el tipo de bacteria presente como se puede observar en la tabla VII.

TABLA VII

IDENTIFICACIÓN INICIAL DE BACTERIAS OBTENIDAS DE UNA MUESTRA DE SUELO SALINO

| Cepa | Muestra | Morfología | Gram | Forma       | Borde       | Pigmento |
|------|---------|------------|------|-------------|-------------|----------|
| A1   | Suelo   | Bacillus   | +    | Puntiforme  | Entero      | Blanco   |
| C2   | Suelo   | Bacillus   | +    | Puntiforme  | Entero      | Verde    |
| E3   | Suelo   | Bacillus   | +    | Irregular   | Ondulado    | Blanco   |
| F4   | Suelo   | Bacillus   | +    | Fusiforme   | Entero      | Amarillo |
| G5   | Suelo   | Bacillus   | +    | Filamentosa | Filamentoso | Blanco   |
| H6   | Suelo   | Bacillus   | +    | Irregular   | Ondulado    | Amarillo |
| I7   | Suelo   | Bacillus   | +    | Irregular   | Filamentoso | Amarillo |

Mientras tanto, las 7 bacterias identificadas se sometieron a una evaluación de resistencia a diferentes concentraciones de NaCl (3 %, 6 %, 9 % y 12 %), de las cuales solo 6 lograron crecer en la concentración de 3% y 2 en las de 6 % de salinidad. En la figura 8 se muestra el crecimiento de las bacterias en cada placa.

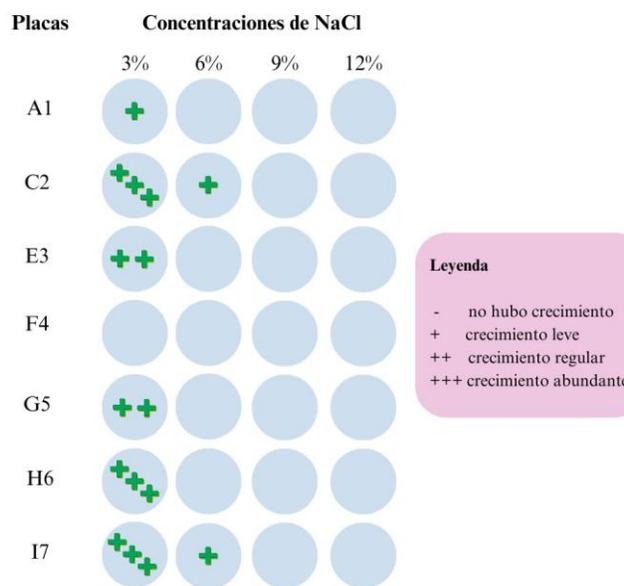


Fig. 3 Crecimiento de colonias a diferentes concentraciones de NaCl de las placas que contaron con la misma característica

Por otro lado, se hace el uso de las bacterias correctamente identificadas, aisladas y aumentadas, que se añade a las muestras de tierra salinas para el tercer objetivo, se realizaron 4 experimentos teniendo en cuenta 4 repeticiones con 0.5 kilos de tierra cada una: blanco, T1, T2, T3 para tener un resultado confiable, de estos se evalúa de manera semanal el nivel de conductividad eléctrica para conocer la salinidad presente y el pH de las muestras.

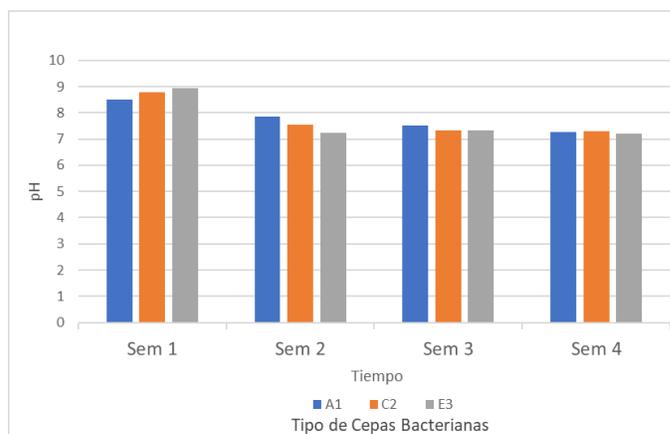


Fig. 4 Variación promedio del parámetro ph para tres cepas bacterianas, durante 4 semanas

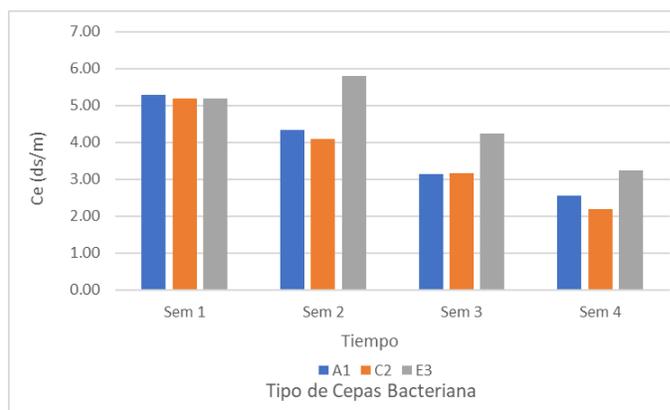


Fig. 5 Variación promedio del parámetro Ce para tres cepas bacterianas, durante 4 semanas

#### IV. DISCUSIÓN

La presente investigación se basa en el uso de bacterias halófilas para la recuperación de suelos salinos utilizando microorganismos, abordando las preocupaciones sobre la pérdida de tierras con potencial agrícola, ecosistemas y biodiversidad que contribuyen a este problema. Según [14], dichos microorganismos halófilos producen enzimas que sintetizan exopolisacáridos, hormonas vegetales y compuestos quelantes que ayudan a algunas plantas a crecer en este entorno y a desalinizar estos suelos. Tiene una gran adaptabilidad y potencial de aplicación en diversos procesos biológicos. Siendo fundamento para [15] quien comprueba que tanto la parte biológica y química tiene un efecto beneficioso sobre el suelo y abre la posibilidad de rehabilitar suelos con problemas de salinidad y/o alcalinidad mediante procesos biológicos que generan materias primas a base de microorganismos halófilos, lo que tendrá un impacto significativo en el sector agrícola. Así también lo asevera [16], quien aplicó de manera in vitro 39 cepas bacterianas, las cuales permitieron ser utilizadas a futuro como biofertilizante en el cultivo de maíz bajo

condiciones de estrés por salinidad.

Referente al objetivo general, analizar la influencia de bacterias halófilas para la recuperación de suelos salinos de Virú, La Libertad, se analizó la salinidad de las muestras de suelo a distintos tipos de cepas bacterianas y a distintas concentraciones de cloruro de sodio, esto para poder verificar cual actuó de manera más eficaz. Nuestro análisis de varianza nos muestra que la cepa A1 tuvo mayor eficiencia en la disminución de la conductividad eléctrica (salinidad) de 5.3 dS/m a 2.2 dS/m en la misma muestra de suelo en las 4 semanas evaluadas, por tal motivo se considera lo indicado por la Ref. [18], ya que según su análisis de varianza para la segunda experimentación con dosis ajustadas de biol muestra que existió una disminución paulatina de la conductividad eléctrica, siendo el mejor.

De forma similar en la Ref. [8], confirman que las cepas usadas en su estudio pertenecen al grupo de bacterias moderadamente halófilas, ya que pueden tolerar un amplio rango de concentraciones de sal, evidenciado en su crecimiento en diferentes concentraciones de NaCl. A diferencia de la Ref. [16] quien nos dice que el proceso les resultó un poco lento, y tardaron en obtener resultados. Así mismo, se realizó el análisis de varianza y prueba de comparación de ANOVA que permitieron establecer que, en todos los tratamientos con las cepas bacterianas halófilas, hubo un efecto directo en la disminución de la conductividad eléctrica del suelo ( $P = 7.279$ ) y disminución del pH ( $P = 9.197$ ), lo que indica que sí hay influencia de los tratamientos sobre el suelo.

A partir de ello, con respecto al primer objetivo específico fue caracterizar fisicoquímicamente y morfológicamente los microorganismos hallados, se sometieron 8 placas con agar modificado al 1.5 % de NaCl, para poder obtener el tamaño, forma, borde y color de las bacterias evaluadas, para a partir de ello poder trabajar con aquellas bacterias que cuenten con las mismas características, de acuerdo con la Ref. [8], en base en las características morfológicas a nivel macroscópico teniendo en cuenta la forma, color, borde, elevación y superficie de las colonias; y, a nivel microscópico se seleccionaron las cepas que crecieron en la mayor concentración a 37 °C, (era necesaria esta temperatura ya que las bacterias normalmente crecen a ciertas temperaturas, si se hubiera cambiado esta temperatura, posiblemente no hubieran crecido,) durante 24 horas - como las que mayor potencial podrían tener para disminuir la Ce.

Así mismo a partir de ellos quedaron seleccionadas 7 tipos de bacterias, se observaron los análisis que se hicieron en el laboratorio para poder saber qué tipo de bacteria es y clasificación gram de cada bacteria, se reconoció que las todas las cepas pertenecen al grupo de bacillus, coincidiendo con la Ref. [17] donde se tomaron los 114 Bacillus Gram positivos por ser reportadas como bacterias capaces de tolerar gran cantidad de salinidad y ayudar a la promoción del crecimiento vegetal.

Por otro lado, como segundo objetivo se somete a prueba a las bacterias halófilas a distintas concentraciones de salinidad para observar su comportamiento en estos ambientes, estas se obtuvieron del distrito de Virú - La Libertad, los organismos halófilos tienen como principal característica la capacidad de adaptación a ambientes hipersalinos, entornos con concentraciones de al menos 10 % de NaCl, sin embargo existen organismos que pueden tener respuestas diferentes en estos medios poco habituales, por ejemplo los llamados halotolerantes pueden crecer en zonas extremas, pero su óptimo crecimiento será en condiciones moderadas. En cambio,

los conocidos como extremófilos requieren de manera tajante mantenerse en esas condiciones no habituales para un buen desarrollo, como anteriormente se menciona en la Ref. [18], realizaron aislamientos de bacterias halófilas obtenidas de muestras de suelos, se cultivaron en agar nutritivo modificado al 1.5 %, 3 %, 6 %, 9 % y 12 % de NaCl por 24 horas a 37 °C, de los cuales tuvieron un desarrollo más óptimo al 6 %.

También como se vio en la Ref. [18] optó por utilizar como medio Agar Nutritivo modificado a 3 %, 6 %, 9 % y 12 % de NaCl por 24 horas a 37 °C; por otro lado, [16] utilizó 7.65 gr/Lt de NaCl para modificar el medio de cultivo PCA por 24 horas a 35 °C, sin embargo no tuvo un crecimiento óptimo, para mejorarlo le agregó 1ml de Biol; siguiendo, [20] aisló las bacterias con TSA modificado al 5 % de NaCl por 24 horas a 37 °C y [19] aisló en TSA modificado con 0.5 M de NaCl por 24 horas a 37 °C. En la presente investigación se optó como medio aislante el agar PCA modificado al 1.5 %, 3 %, 6 %, 9 % y 12 % al igual que los primeros autores y el agar nutritivo al 1.5 % para caracterización de las bacterias. La condición óptima para el crecimiento de las bacterias fue de 1.5 % en un periodo de incubación de 24 horas a 37 °C donde 6 cepas de las 7 lograron desarrollarse hasta la máxima concentración de 6 % coincidiendo con lo que menciona Fandiño que solo algunas son verdaderamente halófilas halotolerantes pues no se adaptaron las concentraciones, para poder confirmar esto se inocularon 7 cepas al 1.5 % y todas pudieron crecer, luego se forzó a las bacterias a someterse 4 concentraciones superiores consecutivamente de cloruro de sodio, confirmando que algunas bacterias no pueden soportar un ambiente muy salino, ya que de las 6 de las 7 cepas sólo crecieron al 3 % y 6 %, una de ellas no creció, solo se quedó al 1.5 %.

Otro punto importante en la investigación con respecto a nuestro tercer objetivo específico es la determinación de la eficiencia de los tratamientos de las cepas en las muestras de suelos. Las bacterias halófilas [6], poseen mecanismos de adaptación a los niveles extremos de salinidad, disminuye sus concentraciones de aminoácidos hidrofóbicos, la síntesis de proteínas, lípidos y ácidos grasos, hay más alteraciones morfológicas a concentraciones mayores a 2 M de NaCl, aumentan sus actividades al aumentar la concentración de NaCl, otro mecanismo es la acumulación de compuestos orgánicos, como polioles, azúcares, aminoácidos y/o derivados, que no afectan el metabolismo celular. Por lo cual, se mantiene de hipótesis que a través de estos mecanismos de adaptación las bacterias logran reducir las concentraciones de salinidad en los suelos; de manera semanal se analizó los niveles de salinidad en cada muestra observando que a lo largo de 4 semanas para todas las muestras hubo una reducción de al menos el 50 % de conductividad eléctrica y la estabilización del pH a 7. Igualmente en la Ref. [8] evidenciaron una disminución en su conductividad eléctrica en sus muestras de suelos salinos pasando de 5.2 ds/m (salinidad moderada) a valores menores que < 1.0 ds/m - salinidad muy ligera.

Otro punto importante en la investigación con respecto a nuestro tercer objetivo específico es la determinación de la eficiencia de los tratamientos de las cepas en las muestras de suelos. Las bacterias halófilas poseen mecanismos de adaptación a los niveles extremos de salinidad [6], disminuye sus concentraciones de aminoácidos hidrofóbicos, la síntesis de proteínas, lípidos y ácidos grasos, hay más alteraciones morfológicas a concentraciones mayores a 2 M de NaCl, aumentan sus actividades al aumentar la concentración de NaCl, otro mecanismo es la acumulación de compuestos orgánicos, como polioles, azúcares, aminoácidos y/o derivados, que no afectan el metabolismo celular. Por lo cual, se mantiene de hipótesis que a través

de estos mecanismos de adaptación las bacterias logran reducir las concentraciones de salinidad en los suelos; de manera semanal se analizó los niveles de salinidad en cada muestra observando que a lo largo de 4 semanas para todas las muestras hubo una reducción de al menos el 50% de conductividad eléctrica y la estabilización del pH a 7. Igualmente en la Ref. [8] evidenciaron una disminución en su conductividad eléctrica en sus muestras de suelos salinos pasando de 5.2 ds/m (salinidad moderada) a valores menores que < 1.0 ds/m - salinidad muy ligera. En cuanto a las limitaciones e implicancias, fueron sobre todo la poca experiencia en los laboratorios, por ello a la hora de empezar con los resultados fue complicado la manipulación de algunos equipos. Así mismo, los laboratorios de la Universidad Privada del Norte - Trujillo, no permite el ingreso todos los días para evaluar las muestras y existieron ciertos retrasos en la obtención de los resultados, pues el laboratorio no contaba con el agar que se necesitaba para poder aislar las bacterias, entonces tomó tiempo adquirirlo en otra ciudad. Como implicancia la investigación es una alternativa que resulta ser viable y económica, así mismo puede ser replicada por otros estudiantes, y a la vez pueda servir como base para otros resultados.

## V. CONCLUSIONES

Finalmente se concluye que, el uso de bacterias halófilas tiene un efecto remediador en aquellos suelos con una salinidad alta - extrema, los resultados en las diferentes muestras son precisos y exactos como señala el análisis de varianza por lo cual los resultados son totalmente confiables.

De la misma manera, se logró evaluar que los suelos del valle de Virú se encuentran con una salinidad clasificada como extrema demostrada en su conductividad eléctrica de 90 mS/cm y un pH regular que se mantiene en 8.

También se analizaron la resistencia de las 7 cepas bacterianas halladas de los suelos de Virú a lo cual sólo 6 de ellas lograron desarrollarse en las concentraciones de 3 %, 6 % de NaCl, estas fueron las placas A1, B3, C3, F5, H6 e I7 las cual se usaron para la remediación de los suelos. Se logró determinar que los tratamientos por bacterias halófilas fueron efectivas hasta en un 50 % de disminución de conductividad eléctrica en un periodo de 4 semanas y mantener un pH saludable en 7.

## VI. REFERENCIAS

[1] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2021, dic. 22). “*Día Mundial del Suelo: la FAO pone de manifiesto la amenaza de la salinización del suelo para la seguridad alimentaria mundial*” 22 de dic. De 2021, Disponible en: <https://www.fao.org/global-soil-partnership/resources/highlights/detail/es/c/1461054/>

[2] J. Gonzales, J. Fernández, M. Mercado, S. Eisa, D. Gonzales, A. Hussin, G. Ponnasa, A. Samad y M. Rejas. “*Contenido mineral en granos de quinoa cultivada en suelos salinos y no salinos de Egipto*”. 2019, marzo 22. Disponible en: [https://digital.csic.es/bitstream/10261/191916/1/Gonzalez-contenido\\_mineral\\_quinoa\\_Egipto-VII\\_CongMundQuinoa\\_2019-resumen.pdf](https://digital.csic.es/bitstream/10261/191916/1/Gonzalez-contenido_mineral_quinoa_Egipto-VII_CongMundQuinoa_2019-resumen.pdf)

[3] MINAGRI “*Minagri busca que consumo per cápita de papa en nuestro país alcance los 92 kilos al 2021*”. 2020, mayo 29. Disponible en: <https://agraria.pe/noticias/minagri-busca-que->

consumo-per-capita-de-papa-en-nuestro-pais-21626#:~:text=%C3%97-,Minagri%20busca%20que%20consumo%20oper%20c%C3%A1pita%20de%20papa%20en%20nuestro,al%20a%C3%B1o%20hacia%20el%202021.

[4] ANA. “*Ministerio de Desarrollo Agrario*”. 2017. Disponible en: <https://www.ana.gob.pe/contenido/la-autoridad-nacional-del-agua>

[5] M. Rodríguez, G. Hernandez y P. Busa. “*Perspectivas en Biorremediación para la recuperación de suelos salinos*”. *Revista Guarracuco Sostenible*. Vol. 1, n.º 1, pp. 2981-3220. 2022. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/369062747\\_Perspectivas\\_en\\_Biorremediacion\\_para\\_la\\_recuperacion\\_de\\_suelos\\_salinos#fullTextFileContent](https://www.researchgate.net/publication/369062747_Perspectivas_en_Biorremediacion_para_la_recuperacion_de_suelos_salinos#fullTextFileContent)

[6] M. Rodríguez, N. Higuera y D. Sanjuanelo. “*Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia*”. *Revista de Biología Tropical*. Vol. 67, n.º 3, pp. 621-632. 2019. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/333613738\\_Bacterias\\_halofilas\\_con\\_potencial\\_para\\_la\\_recuperacion\\_de\\_suelos\\_salinizados\\_en\\_Sachica-](https://www.researchgate.net/publication/333613738_Bacterias_halofilas_con_potencial_para_la_recuperacion_de_suelos_salinizados_en_Sachica-)

[7] I. Fernández, M. Rodríguez, J. López y G. Vela. “*Dinámica de la salinidad en los suelos*”. *Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente*. Vol. 1, n.º 5, pp. 26-35. 2014.

[8] S. Vargas y B. Viera, *Recuperación de suelos salinos mediante el vermicompost y las bacterias halófilas en el distrito de San Bartolo*, Tesis BA, Facultad De Ingeniería Y Arquitectura. Universidad César Vallejo, Perú, 2019. Disponible en: [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCVV\\_3db04d4b41989a3c647f142b109a83a2](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCVV_3db04d4b41989a3c647f142b109a83a2)

[9] R. Hernandez. “*Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*”. *Revista Mexicana Edamsa*. 2018. Disponible en: <http://repositorio.uasb.edu.bo/handle/54000/1292>

[10] J. Lozada, *Investigación Aplicada: Definición, Propiedad Intelectual e Industria*, Tesis MA, Universidad Tecnológica Indoamericana, Ecuador, 2014. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6163749.pdf>

[11] J. Domínguez, A. Roman, F. Prieto y O. Acebedo. “*Sistema de Notación Munsell y CIELab como herramienta para evaluación de color en suelos*”. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol. 3, n.º 1, pp. 2007-0934. 2012. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342012000100010](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342012000100010)

[12] I. Carrillo, “*Manual de Laboratorio de suelos*”. 1985.. Disponible en: <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/803>

[13] D. Carreira. *Carbono oxidable. Una forma de medir la materia orgánica del suelo*, Argentina: L Marbán & S Ratto (eds), Pp. 91-102. (2005).

[14] D. Sánchez, R. Gómez, M. Garrido y R. Bonilla. “*Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero*”, *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol. 3, n.º 7, pp. 1401-1415. 2012. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342012000700009](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342012000700009)

[15] J. Guevara. “*Suelos salinos: fuente de microorganismos halófilos asociados a plantas y resistentes a metales*”, *Alianzas Y Tendencias BUA*. [Internet]. Vol. 5, n.º 17, pp. 29-51. 2020. Disponible en: <http://www.google.com/url?q=http%3A%2F%2Fdoi.org%2F10.5281%2Fzenodo.5093123&sa=D&sntz=1&usq=AOvVawIizL-IKJS2ihh74BveHGKU>

[16] M. Moncada, *Efecto De La Aplicación De Biofertilizante Con Bacterias Halófilas Y Yeso Sobre Características Químicas Y Biológicas De Un Suelo Salino-Sódico*, Tesis BA, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor De San Andrés, Bolivia, 2018. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/20142>

- [17] O. Guevara, *Aislamiento e Identificación de Bacterias Halófilas Para la Biorremediación de Suelos Salinos*, Tesis BA, Facultad De Ingeniería Y Arquitectura, Universidad César Vallejo, Perú, 2021. Disponible en: [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/62668/Guevara\\_OIA-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/62668/Guevara_OIA-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- [18] S. Ballesteros. “Aislamiento e identificación de bacterias halófilas a partir de suelos salinos”, *Revista Agricolae & Habitat*.2022.. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.17095.37284>
- [19] M. Magaña, *Potencial biofertilizante de bacterias halófilas aisladas de suelos salinos obtenidos de la reserva de la biósfera de los Petenes*, Tesis M.S., Departamento de ciencias agrícolas, Colegio de Postgraduados, México, 2021. Disponible en: [http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/4606/Magana\\_Tzuc\\_MC\\_MC\\_Bioprospeccion\\_Sustentabilidad\\_Agricola\\_Tropico\\_2021.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/4606/Magana_Tzuc_MC_MC_Bioprospeccion_Sustentabilidad_Agricola_Tropico_2021.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- [20] G. Chan, *Efecto De La Inoculación De Bacterias Halófilas Sobre El Crecimiento Vegetal De Zea Mays Bajo Condiciones De Estrés Por Salinidad*, Tesis M.S., Departamento de ciencias agrícolas, Colegio de Postgraduados, México, 2023. Disponible en: [http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/5049/Ayil\\_Chan\\_GA\\_MC\\_BIOSAT\\_2023.pdf;jsessionid=6E5508FD4BCDB93749D61CCBE5603050?sequence=1](http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/5049/Ayil_Chan_GA_MC_BIOSAT_2023.pdf;jsessionid=6E5508FD4BCDB93749D61CCBE5603050?sequence=1)