



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**“Uso de bacterias de los géneros *Thiobacillus* y *Acidithiobacillus* como
mejoradores de salinidad en compostas de la Ciudad de México”**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

PRESENTA:

ANAITÉ DAFNE VACA VELASCO

COMITÉ TUTORAL

**DIRECTOR
Dr. Fidel Payán Zelaya**

**CO-DIRECTORA
Dra. Anidia Blanco Jarvío**

**ASESORA
Dra. María Jesús Ferrara Guerrero**

Ciudad de México, 2022.



ASAMBLEEA ALȚIȘTEIJA METROPOLITANA
REPUBLICA MOLDOVA

Ministerul Sănătății

Una cu cetățenii din plin: încredere și înțelegere sunt condițiile care asigură de
succes un tratament în Clinici de Medicină

La personalitate este vorba de joia în experiența și cunoștințele medicilor și medicamentelor
și profesionalismul rezultatelor dintr-un grup pentru un rezultat și pentru via

EXEMPLU DE COMUNICARE CU CLIENTII

GRUPUL TITLARI:

Minister

Dr. Nicolai Bărbulescu

Dr. Ștefan

Dr. Andrei Bărbulescu

Minister

Dr. Nicolai Bărbulescu 2019

Ministerul Sănătății al RM, Str. Ștefan cel Mare nr. 10, Chișinău, Republica Moldova. Telefon: +373-22-222222, www.msa.gov.md

Financiamiento

Esta investigación y tesis fueron realizados gracias al financiamiento otorgado por el Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias para la compra de insumos y por el Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT) con la beca doctoral número 46914 periodo 2014 -2017.

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma Metropolitana.

A los miembros de mi comité tutorial que me acompañaron y motivaron durante todo este proceso. Gracias porque a pesar de las dificultades, siguieron confiando en mí:

Dr. Fidel Payán

Dra. Anidia Blanco

Dra. María Jesús Ferrara

A los miembros del jurado por sus valiosas aportaciones que me han ayudado a crecer académicamente:

Dr. Gilberto Vela

Dra. Norma García

Dr. Bruno Chávez

Dra. Rocío Alcántara

A todos los investigadores que me ayudaron a resolver y avanzar con las diferentes fases del proceso metodológico. Sin su ayuda esta tesis no sería posible:

M en C. Olivia Aparicio Osorio

Ing. Cesar Jesús de Anda Bonilla

Dr. Roberto Ángeles Vázquez

M en C. Oscar Cano Flores

Dr. Félix Aguirre Garrido

Dra. María Eugenia de la Torre Hernández

Al Dr. Felipe Campos Cerda por su apoyo con la traducción del artículo que deriva de esta tesis.

*Esta tesis está dedicada para mi pedacito de cielo: **Evan Mateo**.*

Fue un periodo difícil, con muchos cambios y nuevos retos, pero acá seguimos dándole.

Gracias por ser mi motivación.

Te amo

Gracias infinitas a todas las personas que me acompañaron durante este periodo:

A Leonor y Olivia por estar siempre allí, por ser mi salvavidas en la nueva casa, por brindarme su amistad y confianza, porque con su ejemplo soy cada día una mejor versión de mí.

A mi familia Vaca y Velasco por motivarme cada día a crecer y ser una mejor persona.

A mis primos Velasco que siempre tienen las palabras adecuadas para hacerme recordar que la vida es bien bonita y no queda más que disfrutarla. Por tantas risas, abrazos y aventuras.

A mis amigos, los nuevos y los permanentes, con los que siempre encontré confort y alivio en las dificultades, que supieron motivarme y darme las palabras adecuadas para que siguiera creyendo en mí: Rocío, Felipe, Rox, César.

A todos... Gracias totales!

Índice

Resumen

Abstract

1. Introducción	1
2. Justificación	3
3. Hipótesis	4
4. Objetivo General	4
4.1 Objetivos particulares.....	4
5. Bibliografía	5

Capítulo I. CALIDAD DE LAS COMPOSTAS PRODUCIDAS EN LA CDMX.	10
1. Introducción	10
2. Marco teórico	11
2.1 Manejo integral de residuos	11
2.2 Los Residuos Orgánicos (RO) en la Ciudad de México.....	12
2.3 Producción de composta.....	13
2.4 Uso agrícola de la composta.....	14
3. Justificación	16
4. Objetivo general.....	16
4.1 Objetivos particulares	16
5. Metodología	16
5.1 Muestreo y conservación de las muestras.....	17
5.2 Caracterización de las compostas producidas en la CDMX.....	17
5.2.1 Parámetros analizados	18
5.3 Determinación de salinidad	20
5.4 Determinación de calidad de las compostas	20
6. Resultados y discusión.....	20
6.1 Origen de los Residuos Orgánicos.....	21
6.2 Caracterización del proceso de compostaje en las plantas muestreadas.....	22
6.2.1 Características físicas y químicas de las compostas de la Ciudad de México	25
6.2.2 Nutrientes	27
6.2.3 Metales pesados	29
6.3 Determinación de calidad.....	30
7. Conclusiones.....	33
8. Recomendaciones	33
9. Bibliografía	34

Capítulo 2. USO DE BACTERIAS COMO MEJORADORES DE SALINIDAD DURANTE UN PROCESO DE COMPOSTAJE	43
1. Introducción	43
2. Marco teórico	44
2.1 Materia Orgánica	44
2.2 Humificación	44
2.3 Compostaje.....	46
2.4 Control del compostaje.....	47
2.4.1 Relación Carbono/Nitrógeno.....	47
2.4.2 Temperatura.....	48
2.4.3 Oxígeno.....	50
2.4.4 Humedad.....	50
2.4.5 pH.....	51
2.4.6 Conductividad Eléctrica	51
2.5 Problemática de la salinidad en composta	52
2.6 Microorganismos como mejoradores de salinidad sódica.....	52
2.6.1 Bacterias oxidantes de azufre.....	53
2.6.1.1 <i>Thiobacillus thioparus</i>	54
2.6.1.2 <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	55
3. Justificación	56
4. Objetivo general.....	57
4.1 Objetivos particulares	57
5. Metodología	57
5.1 Montaje de la pila.....	57
5.2 Proceso de Compostaje.....	59

5.3	Análisis microbiano	59
5.3.1	Cultivo de microorganismos a partir de muestras ambientales	59
5.3.2	Extracción y secuenciación de ADN	60
5.3.3	Análisis de secuencias 16S ADNr e identificación de cepas	61
5.3.4	Activación y propagación de cepas de referencia	62
5.3.5	Inóculo.....	62
5.4	Diseño experimental	63
5.5	Procesamiento de las muestras	64
5.6	Análisis estadístico.....	65
6.	Resultados y Discusión	65
6.1	Inicio del compostaje.....	65
6.2	Aislamiento bacteriano	67
6.2.1	Análisis de secuencias	69
6.2.2	Identificación de los aislados bacterianos	69
6.3	Monitoreo del compostaje	71
6.3.1	Temperatura.....	71
6.3.2	Registro de pH.....	73
6.3.3	Registro de la Conductividad Eléctrica.....	75
6.4	Estabilización y madurez.....	77
7.	Conclusiones.....	79
8.	Recomendaciones	79
9.	Bibliografía	80

Capítulo 3. EVALUACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA <i>A. thiooxidans</i> COMO MEJORADORA DE LA SALINIDAD EN COMPOSTAS.	93
1. Introducción	93
2. Marco teórico	94
2.1 Salinidad.....	94
2.2 Degradación del suelo por sales	95
2.3 Salinidad de suelos agrícolas en México.....	96
2.4 Estrategias de remediación de suelos afectados por sales	96
2.4.1 Composta.....	97
2.5 Microorganismos biorremediadores de salinidad sódica	98
2.5.1 <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	99
2.6 Importancia ecológica del Azufre	101
3. Justificación	102
4. Objetivo.....	103
5. Metodología	103
5.1 Obtención de composta	103
5.2 Montaje de microcosmos	104
5.3 Inóculo	105
5.4 Diseño experimental y tratamientos	106
5.5 Análisis químico de la composta	108
5.6 Análisis microbiológico de la composta.....	108
5.6.1 Extracción y amplificación de ADN	108
5.6.2 Análisis de comunidades	110
5.7 Análisis estadístico.....	110
6. Resultados y Discusión.....	111

6.1	Caracterización química de la composta.....	111
6.1.1	Nutrientes	111
6.1.1.1	Carbono/Nitrógeno	111
6.1.1.2	Azufre.....	115
6.1.2	Evaluación de pH durante el proceso de incubación.....	116
6.1.3	Conductividad eléctrica y sodio intercambiable durante el periodo de incubación	119
6.2	Comunidades bacterianas.....	122
7.	Conclusiones.....	125
8.	Recomendaciones	125
9.	Bibliografía	127
ANEXO 1. Modificado de DSMZ 36. <i>Thiobacillus</i> MEDIO		139
ANEXO 2. ATCC Medium: 290 S6 Medium for <i>Thiobacilli</i>.....		140
ANEXO 3. <i>Thiobacillus</i> Medium #125. Modificado de ATCC.....		141

Índice de Tablas y Figuras

Capítulo I. CALIDAD DE LAS COMPOSTAS PRODUCIDAS EN LA CDMX

Tabla 1. Método empleado para la determinación de nutrimentos y metales pesados en compostas.	10
Tabla 2. Origen de los RO de las compostas en la Ciudad de México	19
Tabla 3. Características generales de las compostas analizadas en la CDMX	241
Tabla 4. Propiedades químicas de las compostas producidas en la CDMX	264
Tabla 5. Porcentaje de nutrimentos incluidos en las compostas producidas en diferentes zonas de la CDMX.....	286
Tabla 6. Análisis de metales pesados en compostas producidas en la CDMX.....	28

Capítulo 2. USO DE BACTERIAS COMO MEJORADORES DE SALINIDAD DURANTE UN PROCESO DE COMPOSTAJE

Tabla 1. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación.....	61
Tabla 2. Determinación Carbono/Nitrógeno de RO utilizados	65
Figura 1. Método de inoculación por aspersión en litterbags.....	63
Figura 2. Diseño experimental.	64
Figura 3. Esquema de muestras.....	644
Figura 4. Pila de RO de 5.76 m ³	66
Figura 5. Observación microscópica (100X) de bacilos en muestras de agua azufrada (A); y en muestras de suelo Tlalpan (B).....	67
Figura 6. Observación macroscópica de colonias puras identificadas en cultivo sólido....	68
Figura 7. Observación microscópica (100X). Comparación de formas celulares cepa de referencia vs forma celular obtenidas mediante asilamiento de muestras ambientales....	68
Figura 8. Árbol filogenético inferido a partir del método Neighbor-Joining que muestra la posición de 3 secuencias (rectángulos rojos), en conjunto con sus secuencias más similares recuperadas de la base de datos del geneBank. Se utilizaron 1000 repeticiones en la prueba de bootstrap. Los análisis evolutivos se analizaron en MEGA X.....	70
Figura 9. Registro de temperatura durante el proceso de compostaje.....	72
Figura 10. Registro de pH durante las tres fases identificadas del proceso de compostaje [Termofilia (T), Mesofilia (M), Estabilización (E)] de siete tratamientos [<i>Advenella</i>	

kashmirensis (A), ATCC *Thiobacillus thioparus* (B), ATCC *Acidithiobacillus thiooxidans* (C), A+B, B+C, A+C, A+B+C] y un control (CNTRL). Los resultados se muestran como la media, las barras de error representan el error estándar y las letras indican diferencias significativas de cada tratamiento en el tiempo.....73

Figura 11. Respuesta del pH de siete tratamientos en el tiempo [*Advenella kashmirensis* (A), ATCC *Thiobacillus thioparus* (B), ATCC *Acidithiobacillus thiooxidans* (C), A+B, B+C, A+C, A+B+C] y un control (CNTRL) (a) y respuesta del pH en cada fase de compostaje [Termofilia (1), Mesofilia (2), Estabilización (3)] (b). Las barras verticales expresan el 0.95 de intervalo de confianza.....74

Figura 12. Registro de CE durante las tres fases identificadas del proceso de compostaje [Termofilia (T), Mesofilia (M), Estabilización (E)] de siete tratamientos [*Advenella kashmirensis* (A), ATCC *Thiobacillus thioparus* (B), ATCC *Acidithiobacillus thiooxidans* (C), A+B, B+C, A+C, A+B+C] y un control (CNTRL). Los resultados se muestran como la media, las barras de error representan el error estándar y las letras indican diferencias significativas de cada tratamiento en el tiempo.....76

Figura 13. Respuesta de CE de siete tratamientos en el tiempo [*Advenella kashmirensis* (A), *Thiobacillus thioparus* (B), *Acidithiobacillus thiooxidans* (C), A+B, B+C, A+C, A+B+C] y un control (CNTRL) (a) y respuesta de CE en cada fase de compostaje [Termofilia (1), Mesofilia (2), Estabilización (3)] (b). Las barras verticales denotan el 0.95 de intervalo de confianza.....77

Capítulo 3. EVALUACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA *A. thiooxidans* COMO MEJORADOR DE SALINIDAD EN COMPOSTAS

Tabla 1. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación.....	109
Tabla 2. Programa utilizado para amplificar fragmentos 16S ADNr.....	109
Tabla 3. Caracterización química de la composta utilizada como sustrato.....	111
Tabla 4. Relación C/N de la composta al final del periodo de incubación.....	114
Figura 1. Vías de oxidación de H ₂ S	100
Figura 2. Ciclo del azufre	102
Figura 3. Composta al inicio y final del proceso de compostaje	104
Figura 4. Método empleado para el montaje de microcosmos	105
Figura 5. Obtención de inóculo	106
Figura 6. Diseño experimental	107
Figura 7. Evaluación de Cot de la composta.....	113
Figura 8. Evaluación de Nt de la composta.....	114
Figura 9. Evaluación de St de la composta.....	115
Figura 10. Registro de pH de la composta	117
Figura 11. Respuesta del pH con respecto al azufre añadido y con respecto a la esterilización.....	118
Figura 12. Registro de Na ⁺ intercambiable de la composta durante el tiempo de incubación bajo condición estéril y no estéril de dos tratamientos	120
Figura 13. Registro de CE de la composta durante el tiempo de incubación bajo condición estéril y no estéril de dos tratamientos.....	120
Figura 14. Respuesta del Na ⁺ intercambiable con respecto al azufre añadido y con respecto a la esterilización	121
Figura 15. Respuesta del CE con respecto al azufre añadido y con respecto a la esterilización.....	122
Figura 16. Imagen DGGE del 16S rADN bacteriano de muestras de composta al final del experimento.....	123
Figura 17. Dendrograma construido con a logaritmo UPGMA basado en la similitud de los tratamientos con respecto al análisis de DGGE.....	124

Resumen

El problema de degradación por salinidad de los suelos es un tema en busca de soluciones efectivas. Entre las metodologías desarrolladas para la recuperación de suelos afectados por sales está el aprovechamiento de los residuos orgánicos agrícolas mediante el compostaje. A pesar de los grandes beneficios indicados en la utilización de composta, se ha reportado que el contenido de sales en la composta ha aumentado la salinidad del suelo en algunas zonas agrícolas. En esta investigación se aplicaron las especies bacterianas *Thiobacillus thioparus* y *Acidithiobacillus thiooxidans* en una composta salina-sódica para evaluar su efecto sobre la reducción de parámetros asociados con salinidad-sodicidad a lo largo del proceso de producción y maduración en microcosmos. Se encontró que el inóculo de *A. thiooxidans* suplementado con azufre aumentó el pH y la conductividad eléctrica durante el proceso de compostaje, mientras que al aplicarse en microcosmos redujo el pH y los niveles de sodio intercambiable, al tiempo que aumentó la conductividad eléctrica después de 720 h. Los resultados de los análisis genéticos no revelaron diferencias en el tratamiento suplementado con azufre o no, sugiriendo que la inoculación con cepas bacterianas del género *A. thiooxidans* en compostas salinas-sódicas podría ser una valiosa herramienta biotecnológica para remediar suelos con alta concentración de sales.

Abstract

Soil degradation due to increased salinity is a problem that demands an effective solution. The current methods for the recovery of soils affected by salts include the use of organic agricultural waste obtained by composting. Despite its great benefits, the use of compost has been reported to increase soil salinity in some agricultural areas, due to its salt content. In this work, the bacterial species *Thiobacillus thioparus* and *Acidithiobacillus thiooxidans* were added to a saline-sodium compost to evaluate their effect on sodium-salinity associated parameters during the compost production and maturation processes (in microcosms). A sulfur-supplemented *A. thiooxidans* inoculum was found to increase pH and electrical conductivity values during composting, while it reduced pH and the levels of exchangeable sodium, increasing electrical conductivity after 720 h in microcosms. Genetic analysis showed no differences between sulfur-supplemented and sulfur-free treatments, suggesting that inoculation with bacterial strains of the genus *Acidithiobacillus* in sodium-saline compost could be a valuable biotechnological tool to remediate high-salts concentration soils.

1. Introducción

La salinidad de los suelos es un problema mundial, según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) afecta a 1 100 millones de hectáreas (ha) en el mundo, de las cuales el 19 % (209 millones de ha) se enfrentan a problemas de elevada salinidad (Omuto et al. 2021).

Los efectos deletéreos de la salinidad en las plantas se atribuyen a la presión osmótica, iónica y oxidativa en las células (Qadir et al. 2001; Jalali et al. 2014; Darko et al. 2017; Mansour y Ali 2017). El estrés osmótico, provocado incluso por niveles de salinidad relativamente moderados, disminuye el potencial hídrico del suelo, reduce la capacidad de las plantas para absorber agua y puede causar deshidratación celular, cierre estomático y una disminución en la asimilación de Carbono (C), Nitrógeno (N), Potasio (K) y Fósforo (P), disminuyendo el crecimiento de las plantas (Ashraf et al. 2010; Namratha y Crohn Namratha y Crohn 2012). Al causar estrés iónico, la célula pierde selectividad de las membranas plasmáticas y modifica la captación y la homeostasis de los iones esenciales, lo que altera varios procesos enzimáticos y metabólicos. También puede contribuir a la disminución de la fotosíntesis, degradación de la clorofila, así como el suministro en enzimas y hormonas (Gupta y Huang 2014; Darko et al. 2017). Los efectos adversos de la salinidad en los cultivos en general, es la reducción del rendimiento así como la disminución de tierras cultivables, lo cual va contra la actual demanda de alimentos en el mundo (Rengasamy 2006; Biswas y Biswas 2014).

En México existen 600 000 hectáreas con diversos grados de salinidad, lo cual representa un problema serio (Mata-Fernández et al. 2014). Las zonas agrícolas del centro y norte del país son las más afectadas. En estas zonas predomina el clima árido y semiárido con una elevada tasa de evapotranspiración que, sumado al riego con aguas salinas (>1 dS m^{-1}) y manejo inadecuado del riego, aceleran el proceso de salinización, acumulando sales en la superficie del suelo (González 2003; Padilla 2017; Barnett et al. 2019).

Adicionalmente, en los suelos de las zonas agrícolas del centro y norte del país que son regados con agua residual tratada, se incrementa la saturación de sodio en las capas superficiales del suelo (Gloaguen et al. 2007; Oliveira et al. 2016; Leogrande y Vitti 2019; Salgado et al. 2019). La principal preocupación es el deterioro progresivo de estos suelos, pues el ensalitramiento de estas zonas ha adquirido magnitudes de 600 000 ha y avanza a un ritmo de 10 000 ha por año (Feucher 2000; Villanueva et al. 2001; Maldonado 2012).

La recuperación y conservación de los suelos afectados por sales es de gran importancia para la producción agrícola nacional, genera pérdidas económicas debido a que la mayoría de las plantas de importancia agrícola son sensibles a las sales, lo que provoca disminución de su productividad y baja calidad de las cosechas. (Villanueva et al. 2001; Barkla et al., 2007; Ruiz Cerda et al. 2007; Maldonado 2012; Padilla 2017). Diversas investigaciones han determinado que aparte de la mala calidad del agua y de las malas prácticas de riego, la causa principal de salinización en estas zonas agrícolas son en primer lugar los materiales geológicos sobre los que se desarrollan estos suelos y las malas condiciones de drenaje (Porta 2003; Munns 2005; Maldonado 2012; FAO e ITPS 2015; Padilla 2017; Mateo-Sagasta et al. 2018; Barnett et al. 2019; Leogrande y Vitti 2019).

El alto contenido de sales en los suelos, especialmente de sodio (Na^+), afecta sus propiedades físicas y químicas, así como los procesos microbiológicos y, por consiguiente, el crecimiento y rendimiento de los cultivos al no permitir que las plantas tomen suficiente agua de la zona de la raíz (Ayers y Wescot 1994; Parvaiz y Satyawati 2008; Rivas et al. 2018; Leogrande y Vitti 2019). Se considera que los efectos del cambio climático podrían acentuar el problema, ya que el aumento de temperatura y de las fluctuaciones en las precipitaciones, aumentarán la evapotranspiración y reducirán la lixiviación de las sales, lo cual promoverá una mayor acumulación de sal en la zona radicular (Kang et al. 2009; Leogrande y Vitti 2019).

Se ha planteado que la materia orgánica (MO) puede ser un factor clave en el aumento de la fertilidad de los suelos, la producción de los cultivos y la protección de la tierra contra la contaminación, la degradación, la erosión y la desertificación, especialmente en áreas semiáridas y áridas (Araújo et al. 2008; Leogrande y Vitti 2019). Estudios previos enfatizan que la entrada de materia orgánica exógena como estiércol o composta puede ser una forma viable de recuperar suelos con graves problemas de salinidad. La MO puede mejorar las propiedades físicas (estructura, permeabilidad, capacidad de retención de agua, etc.) y químicas (pH, capacidad de intercambio de cationes, etc.), del suelo, favoreciendo así el crecimiento de las plantas y la actividad microbiana, sin riesgos para el medio ambiente (contaminación del subsuelo y de las aguas subterráneas). Además, favorece el secuestro de carbono y con ello, contribuye en la mitigación de la emisión de gases de efecto invernadero (Kremen y Miles 2012; Mahmoodabadi y Heydarpour 2014; Lehmann y Kleber 2015). Sin embargo, uno de los posibles inconvenientes del uso de enmiendas orgánicas en la agricultura, incluso si son útiles para reducir el contenido de Na⁺ en el suelo, es que en su proceso de producción se puede incrementar la conductividad eléctrica (CE) y las aplicaciones repetidas de enmiendas orgánicas con estas características pueden afectar negativamente la calidad del suelo y consecuentemente la productividad de cultivos (Chong 2005; Pérez-Gimeo et al. 2016; Chunping et al. 2007; Leogrande y Vitti 2019). Por ello, diversos autores resaltan la importancia de caracterizar los residuos orgánicos (RO) antes de su uso en la agricultura, para evitar una mayor degradación de la tierra (Romero 2013; Leogrande y Vitti 2019).

En las últimas décadas, es cada vez más común la adición de materiales orgánicos a los suelos afectados por sales; ya que además de ser un importante método de recuperación de suelos, también se considera un método para reciclar residuos orgánicos.

La producción de residuos orgánicos urbanos e industriales está aumentando en todo el mundo, por lo que deben desarrollarse estrategias para su eliminación evitando contaminación en suelo, agua y aire (Lal 2008). Una alternativa atractiva para el reciclaje de estos residuos es el compostaje. Este proceso de estabilización aeróbica es un método bien conocido para aprovechar los RO y evitar que estos lleguen a los rellenos sanitarios, al mismo tiempo que se produce un material

adecuado para fines agrícolas a un costo relativamente bajo (Cai et al. 2007). La ventaja de la composta es que puede mantener el nivel de materia orgánica más alto que los residuos orgánicos frescos, ya que contiene componentes más estables que se mineralizan más lentamente, por lo que puede ser de gran valor, especialmente cuando el contenido de materia orgánica del suelo es bajo (Pascual et al. 1999; Leogrande y Vitti 2019).

La producción y utilización de enmiendas orgánicas como la composta en la recuperación de suelos salinos también implica un estudio sobre los microorganismos involucrados en el proceso de compostaje, pues estos desempeñan un papel crucial en la mineralización de la materia orgánica y en el reciclaje de los nutrientes. Al ser incorporadas al suelo, la carga microbiana de las enmiendas orgánicas va a ayudar a la estabilidad y función de los agroecosistemas, pues contribuyen en la fertilidad del suelo y con ello, en la productividad de los cultivos (Leogrande y Vitti 2019).

Estudios previos han mostrado que las comunidades microbianas y los procesos bioquímicos esenciales para el mantenimiento de la calidad del suelo, son afectados negativamente por la salinidad, en particular en condiciones áridas (Chandra et al. 2002; Sardinha et al. 2003; Yuan et al. 2007). Por otra parte, también se ha documentado que la aplicación de cepas bacterianas sobre suelos salinos, ayuda a mejorar las propiedades físico-químicas de estos suelos (Lynch 1981; Gouzo et al. 1993; Rao y Sharma 1995; Stamford et al. 2003). Las bacterias oxidantes de azufre (SOB, por sus siglas en inglés) pueden formar ácido sulfúrico, lo que aumenta la disponibilidad de nutrientes y mejora las características físicas y químicas de los suelos (Suzuki et al. 1992; El-Tarabily et al. 2006; Pokorna y Zabranzka 2015). En particular, los experimentos de Stamford et al. (2003; 2007; 2015), demostraron que las cepas bacterianas de los géneros *Thiobacillus* y *Acidithiobacillus* combinados con azufre son eficientes en la reducción de Na^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} intercambiables, el pH y la conductividad eléctrica de suelos salino-sódicos de regiones semiáridas, incluso se ha asociado a una mayor producción de leguminosas; y que la adición de estas bacterias muestra mayor eficiencia que la aplicación de yeso o azufre.

En la Ciudad de México sólo el 16 % de los residuos orgánicos producidos son enviados a las plantas de composta y el resto se envían a rellenos sanitarios. El origen de estos residuos es diverso y va desde casas, mercados, escuelas, establecimientos mercantiles y de servicios, hasta los derivados de la poda de árboles en parques y jardines de la Ciudad. Una vez colectados, los RO son transportados hasta una de las cinco plantas de composta de la Ciudad de México, dentro de las que destaca la de Bordo Poniente que recibe el 98% del total de residuos orgánicos (IRS 2018). Es por ello que disminuir el volumen de residuos orgánicos que se envían a los diversos rellenos sanitarios es uno de los mayores retos ambientales que enfrenta la Ciudad de México, ya que exige acciones concretas para evitar impactos negativos al medio ambiente y a la calidad de vida de sus habitantes.

2. Justificación

En la ciudad de México se generan alrededor de 99,803 Mg/año de composta, de ésta únicamente el 6.3 % de utiliza en áreas verdes y de agricultura. Considerando lo anterior resulta imperativo implementar estrategias que nos permitan un mayor aprovechamiento de las compostas para ayudar a reducir el volumen que reciben los diversos rellenos sanitarios de la Ciudad. Al mismo tiempo es necesario hacer más sostenible el recurso suelo, por ello, determinar la calidad de las compostas permitirá promover su uso entre los agricultores locales, además de identificar los posibles riesgos a la calidad del suelo en donde estas se incorporan.

Recientes investigaciones señalan que, en algunas zonas agrícolas, el contenido de sales en la composta aumenta la salinidad del suelo. Para combatir esta problemática se han propuesto métodos biológicos que implican el uso de cepas bacterianas de los géneros *Thiobacillus* y *Acidithiobacillus* las cuales son efectivas en la remoción de sodio, calcio, e incluso en la reducción del sodio intercambiable. Sin embargo, hasta ahora se desconoce si el tratamiento con estas bacterias resulta efectivo para disminuir los parámetros asociados con la salinidad

en composta, además de que no se cuenta con el conocimiento respecto a si la disminución de salinidad en composta a partir de estos microorganismos puede afectar los beneficios nutricionales y físicos asociados con el uso de estos materiales en el suelo. Esta investigación busca contribuir en el conocimiento respecto a la capacidad de *Thiobacillus* y *Acidithiobacillus* para disminuir parámetros asociados con salinidad en una composta.

3. Hipótesis

La aplicación de cepas bacterianas oxidantes de azufre de los géneros *Thiobacillus* y *Acidithiobacillus* en compostas salinas disminuirá la concentración de los parámetros asociados con salinidad. De esta manera se reduce el potencial impacto de la aplicación prolongada de enmiendas orgánicas sobre el suelo, además de ayudar en la recuperación de suelos con problemas de sales.

4. Objetivo General

Evaluar el efecto de la aplicación de dos cepas bacterianas *Thiobacillus thioparus* y *Acidithiobacillus thiooxidans* en una composta salina sobre la reducción de parámetros asociados con salinidad sódica a lo largo del proceso de producción y maduración.

4.1 Objetivos particulares

- Caracterizar la calidad de las compostas que se producen en las plantas de composta de la CDMX.
- Caracterizar la calidad química de una composta producida con diferentes residuos orgánicos durante un proceso de compostaje a partir de la inoculación de las cepas bacterianas *Thiobacillus thioparus* y *Acidithiobacillus thiooxidans*.
- Evaluar el efecto de la inoculación de la cepa bacteriana *Acidithiobacillus thiooxidans* sobre la disminución de parámetros asociados con salinidad sódica y disponibilidad de nutrientes en una composta madura en microcosmos.

5. Bibliografía

- Araújo, A. S. F., Santos, V. B., Monteiro, R. T. R. (2008). Responses of soil microbial biomass and activity for practices of organic and conventional farming systems in piauí state, Brazil. *European Journal of Soil Biology*, 44 (2), 225–30.
- Ayers, R.S.; Westcot, D.W. (1994). *Water Quality for Agriculture; Irrigation and Drainage Paper*, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Rome, Italy.
- Barkla, B. J., Vera-Estrella, R., Balderas, E., Pantoja, O. (2007). Mecanismos de tolerancia la salinidad en plantas. *Biotecnología*, 14, 263-272.
- Barnett, K., Hassett, I., Platt, E., Laiveling, A., Bradford, E. (2019). The impact of soil salinity on maize agriculture: An experimental archaeology approach. *North American Archaeologist*, 40(1), 36-48. 0197693119840086.
- Cai, Q., Mo, C., Wu, Q., Zeng, Q., Katsoyiannis, A. (2007). Concentration and speciation of heavy metals in six different sewage sludge-composts. *Journal of Hazardous Materials*, 147 (3), 1063–72.
- Chandra, S., Joshi, H. C., Pathak, H., Jain, M. C., Kalra, N. (2002). Effect of potassium salts and distillery effluent on carbon mineralization in soil. *Bioresource Technology*, 83(3), 255-257.
- Chong, C. (2005). Experiences with Wastes and Compost in Nursery Substrates. *HortTechnology*, 15(4), 739-747.
- Chunping, L., Guoxue, L., Yuchun, L., Yanfu, L., Lingyang, P. (2007). Fuzzy mathematics-based evaluation of Municipal Solid Waste compost maturities in different spaces in static tunnel from Nangong compost plant. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, (2), 201–206.
- El-Tarabily, K. A., Soaud, A. A., Saleh, M. E., Matsumoto, S. (2006). Isolation and characterisation of sulfur-oxidising bacteria, including strains of *Rhizobium*, from calcareous sandy soils and their effects on nutrient uptake and growth of maize (*Zea mays L.*). *Australian Journal of Agricultural Research*, 57(1): 101-111.
- FAO and ITPS. (2015). *Status of the world's Soil Resources*. Main Report. Rome, Italy.
- Feucher, F. R. (2000). Transferencia de tecnología para el rescate de suelos mediante la integración ganadera. Recuperación de suelos salinos agrícolas, mediante el establecimiento de praderas bajo riego y cultivos alternativos. Diez acciones propuestas de Bioingeniería sostenible. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*, 1(3).

- Gloaguen T. V., Forti, C. M., Lucas, Y., Montes, C. R., Gonçalves, A. B., Herpin, U., Melfi, A. J. (2007) Soil solution chemistry of a Brazilian oxisol irrigated with treated sewage effluent. *Agricultural Water Management*, 88,119–131.
- González Medrano, F. (2003). *Las comunidades vegetales de México*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. 81p.
- Gouzou, L., Burtin, G., Philippy, R., Bartoli, F., Heulin, T. (1993). Effect of inoculation with *Bacillus polymyxa* on soil aggregation in the wheat rhizosphere: preliminary examination. *Geoderma*, 56(1), 479-491.
- Inventario de Residuos Sólidos (IRS) CDMX, 2017. (2018). Secretaría del Medio Ambiente del Gobierno de la Ciudad de México.
- Kang, Y., Khan, S., Ma, X. (2009). Climate change impacts on crop yield, crop water productivity and food security – a review. *Progress in Natural Science*, 19 (12), 1665–74.
- Kremen, C., Miles, A. (2012). Ecosystem services in biologically diversified versus conventional farming systems: benefits, externalities, and trade-offs. *Ecology and Society*, 17(4):40. <http://dx.doi.org/10.5751/ES-05035-170440>
- Lal, R. (2008). Soils and sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 28 (1), 57–64.
- Lehmann, J., Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528(7580), 60.
- Leogrande, R., Vitti, C. (2019). Use of organic amendments to reclaim saline and sodic soils: a review. *Arid Land Research and Management*, 33(1), 1-21.
- Lynch, J. M. (1981). Promotion and inhibition of soil aggregate stabilization by microorganisms. *Journal of General Microbiology*, 126(2), 371-375.
- Mahmoodabadi, M., Heydarpour, E. (2014). Sequestration of organic carbon influenced by the application of straw residue and farmyard manure in two different soils. *International Agrophysics*, 28,169–76.
- Maldonado, M. (2012). *Tolerancia a la salinidad de especies dominantes en suelos salinos de maguey blanco*, Hidalgo. Tesis Licenciatura. UNAM.
- Mata-Fernández, I., Rodríguez-Gamiño, M., López-Blanco, J., Vela-Correa, G. (2014). Dinámica de la salinidad en los suelos. *Revista Digital E-Bios del Departamento El Hombre y su Ambiente*, UAM-X, 1(5), 26-35.

- Mateo-Sagasta, J., Zadeh, S. M., Turrall, H. (Eds.). (2018). *More people, more food, worse water?: a global review of water pollution from agriculture*. Rome, Italy: FAO Colombo, Sri Lanka: International Water Management Institute (IWMI). CGIAR Research Program on Water, Land and Ecosystems (WLE).
- Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *The New Phytologist*, 167 (3), 645–63.
- Oliveira, P., Gloaguen, T. V., Gonçalves, R., Santos, D. L., Couto, C. F. (2016). Soil chemistry after irrigation with treated wastewater in semiarid climate. *Revista Brasileira Ciencia da Solo*, 40,1–13.
- Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2019). Portal de Suelos. <http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/manejo-de-suelos-problematicos/suelos-afectados-por-salinidad/more-information-on-salt-affected-soils/es/> Revisado 5.6.2019.
- Padilla, L. (2017). *Variabilidad Espacial de la Salinidad en Suelos del Distrito de Riego 014, Mexicali Baja California*. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Parvaiz, A., Satyawati, S. (2008). Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review. *Plant, Soil and Environment*, 54 (3), 89–99.
- Pascual, J. A., Garcia, C., Hernández, T. (1999). Lasting microbiological and biochemical effects of the addition of municipal solid waste to an arid soil. *Biology and Fertility of Soils*, 30 (1–2), 1–6.
- Pérez-Gimeo, A., Navarro-Pedreño, J., Almendro-Candel, M. B., Gómez, I., Jordán, M. M. (2016). Environmental consequences of the use of sewage sludge compost and limestone outcrop residue for soil restoration: salinity and trace elements pollution. *Journal of Soils and Sediments*, 16(3), 1012-1021. doi:10.1007/s11368-015-1288-y
- Pokorna, D., Zabranska, J. (2015). Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnology Advances*, 33(6), 1246-1259.
- Porta, J., López-Acevedo, M., Roquero, C. (2003). *Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente*. Ediciones Mundi-Prensa. España. 929p.
- Programa de Gestión Integral de Residuos Sólidos (PGIRS) 2016-2020. Secretaría del Medio Ambiente.

- 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.
- Rao, D. L. N., Sharma, P. C. (1995). Alleviation of salinity stress in chickpea by *Rhizobium* inoculation or nitrate supply. *Biologia plantarum*, 37(3), 405-410.
- Rivas Lucero, B., Gutiérrez, M., Magaña Magaña, J., Márquez Salcido, F., Márquez Fierro, W. (2018). Salt content of dairy farm effluents as an indicator of salinization risk to soils. *Soil Systems*, 2(4), 61.
- Romero, J. C. (2013). *Relación Carbono Nitrógeno en el proceso de lombricompostaje y su potencial nutrimental en jitomate y menta*. Tesis Maestría, Colegio de Postgraduados, México. <https://1library.co/document/7qvj04gq-relacion-carbono-nitrogeno-proceso-lombricompostaje-potencial-nutrimental-jitomate.html>
- Ruiz-Cerda, E., Aldaco, R., Montemayor, J., Hernández, M., Ramírez, J., Villagómez, J. C. (2007). Exploitation and improvement of saline soils through the establishment of forage grasses. *Técnica Pecuaria en México*, 45(1).
- SAGARPA (2001). *Evaluación de la Alianza para el Campo. Informe Nacional. Programa Recuperación de Suelos Salinos*. FAO-SAGARPA-NAL-RSS. 53p.
- Salgado-Méndez, S., Gilabert-Alarcón, C., Daesslé, L. W., Mendoza-Espinosa, L., Avilés-Marín, S., Stumpp, C. (2019). Short-Term effects on agricultural soils irrigated with Reclaimed water in Baja California, México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 102(6), 829-835.
- Sardinha, M., Müller, T., Schmeisky, H., Joergensen, R. G. (2003). Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. *Applied Soil Ecology*, 23 (3), 237-44.
- Stamford, N. P., Figueiredo, M. V., da Silva Junior, S., Freitas, A. D. S., Santos, C. E. R., Junior, M. A. L. (2015). Effect of gypsum and sulfur with *Acidithiobacillus* on soil salinity alleviation and on cowpea biomass and nutrient status as affected by PK rock biofertilizer. *Scientia Horticulturae*, 192, 287-292.
- Stamford, N. P., Freitas, A. D. S., Ferraz, D. S., Montenegro, A., Santos, C. E. R. S. (2003). Nitrogen fixation and growth of cowpea (*Vigna unguiculata*) and yam bean (*Pachyrhizus erosus*) in a sodic soil as affected by gypsum and sulphur inoculated with *Thiobacillus* and rhizobial inoculation. *Tropical Grasslands*, 37(1), 11-19.

- Stamford, N. P., Ribeiro, M. R., Cunha, K. P. V., Freitas, A. D. S., Santos, C. E. R. S., Dias, S. H. L. (2007). Effectiveness of sulfur with *Acidithiobacillus* and gypsum in chemical attributes of a Brazilian sodic soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(10), 1433-1439.
- Suzuki, I., Chan, C. W., Takeuchi, T. L. (1992). Oxidation of elemental sulfur to sulfite by *Thiobacillus thiooxidans* cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(11), 3767-3769.
- Villanueva, J., Juárez, A., Hernández, A. (2001). *Problemas de salinidad de suelos irrigados de las zonas media y antiplano de San Luis Potosi*. Folleto técnico No. 11. SAGARPA. Inifap
- Yuan, B. C., Li, Z. Z., Liu, H., Gao, M., Zhang, Y. Y. (2007). Microbial biomass and activity in salt affected soils under arid conditions. *Applied Soil Ecology*, 35 (2), 319–28.

Capítulo I. CALIDAD DE LAS COMPOSTAS PRODUCIDAS EN LA CDMX.

1. Introducción

Las enmiendas orgánicas son un producto cuya definición de calidad resulta subjetivo debido a que esta definición se relaciona con la aptitud de las mismas para ser utilizadas. Sin embargo, el término calidad sí está estandarizado en cuanto a su aspecto, olores aceptables, higienización correcta, buen nivel de nutrimentos, bajo contenido de impurezas y sustancias tóxicas. En general, se considera que una enmienda de buena calidad cumple con la normatividad establecida para compostas. En el caso de México está se encuentra en la NADF-020-AMBT-2011; sin embargo, en parámetros como conductividad eléctrica (CE) se omite la especificación de niveles máximos permitidos, lo que podría generar consecuencias negativas importantes en los sistemas en los que se depositan estas enmiendas, como por ejemplo el suelo. Al respecto, Soliva y López (2004) sugirieron que el planteamiento de las normativas debe enfocarse en lograr una armonía entre objetivos del tratamiento y gestión, con los objetivos de producción de la composta. En consecuencia, la calidad debe incluir los intereses de productores y usuarios, que en conjunto beneficien al medio ambiente y a la sociedad.

El uso de composta como acondicionador en suelo representa una estrategia de aprovechamiento que ayuda a hacer más sostenible el recurso suelo, y que reduce el volumen en los diversos rellenos sanitarios de la CDMX. Actualmente en México, tanto la degradación por salinidad en suelos, como el incremento en la demanda de alimentos, siguen siendo problemas vigentes en busca de soluciones, por lo tanto es necesario implementar estrategias que reviertan el problema de salinización del suelo, así como promover prácticas de manejo ecológicamente sostenibles en el tiempo.

En este estudio, se presenta una caracterización física y química de compostas producidas en las cinco plantas de compostaje con que cuenta la CDMX, lo que permitirá conocer las condiciones iniciales de las mismas así como su calidad nutricional. Los resultados se presentan en términos de una caracterización química y organoléptica que en conjunto representan la estabilidad de la composta.

2. Marco teórico

2.1 Manejo integral de residuos

La creciente demanda de alimentos ha propiciado el aumento de áreas deforestadas, así como el uso indiscriminado de agroquímicos, con el consecuente daño ambiental y los posibles riesgos a la salud humana. En los últimos años, el vínculo agricultura-ambiente ha cobrado importancia debido al entendimiento de que, aunque la agricultura es una actividad antropogénica que se comporta de forma independiente dentro del ecosistema, es en este ecosistema que repercuten todas las actividades que involucran su manejo. Ante dicho panorama se han buscado soluciones integrales, como la gestión integral de la utilización de insumos naturales que recuperen la fertilidad del suelo y devuelvan la salud al ecosistema.

La gestión integral es el conjunto de acciones normativas, operativas, financieras, administrativas, sociales, y de evaluación de los residuos desde su origen hasta su disposición final. La finalidad de la gestión integral es lograr beneficios ambientales, así como la optimización económica de su manejo y su aceptación social. La gestión integral busca responder a las necesidades y circunstancias de cada localidad, debido a que está asociada a los niveles de consumo, estilos de vida, educación, desarrollo económico, capacidad técnica, así como a la identificación de valores ambientales y de conservación de la sociedad implicada (Rojas-Valencia y Macías 2013; DOF 2018). Por lo que, la gestión integral requiere de un plan de manejo que promueva una responsabilidad compartida entre sociedad civil, productores y gestores del recurso. Esto debido a que implica actividades de separación, tratamiento biológico, químico, físico o térmico, además de almacenamiento y transporte que cumplan objetivos ambientales, tecnológicos, económicos y sociales (PROFEPA 2016).

En el caso de los residuos orgánicos (RO) se plantea que su manejo sostenible puede lograrse a través del compostaje, el cual se refiere al aprovechamiento de los RO como medio eficiente de reciclaje racional de nutrientes mediante su transformación en abonos orgánicos como la composta para ayudar a mejorar o mantener muchas propiedades del suelo, contribuir al desarrollo de plantas y

además, forma parte de las acciones para la sostenibilidad del agro-ecosistema. En los últimos años, la producción y aplicación de composta se ha reducido debido a la necesidad de una agricultura intensiva, lo que ha generado problemas ambientales por aplicación de fertilizantes inorgánicos (Neher et al. 2013; Ramos y Alfonso 2014).

2.2 Los Residuos Orgánicos (RO) en la Ciudad de México

En la ciudad de México se generan más de 12 mil 500 Mg de residuos sólidos, de los cuales el 40% es de carácter orgánico (ALDF 2012; Flores 2012; Gutiérrez 2006). La producción de residuos orgánicos se distribuye en centros como la Central de Abasto, los 318 mercados públicos, tiendas de autoservicio y en los hogares, generando diariamente un aproximado de 1,690 Mg de residuos sólidos orgánicos (SEDEMA-CDMX 2017). Para evitar un importante problema ambiental y sanitario; a finales de los 60s y principios de los 70s se construyeron las primeras plantas de compostaje, cuyo objetivo fue recuperar materias primas para la industria del reciclaje, prolongar la vida útil de los sitios de disposición final, y mejorar la calidad de vida de los pepenadores (Rodríguez y Córdova 2006). En 1993, la Dirección General de Servicios Urbanos elaboró un diseño experimental de producción de composta que hoy conocemos como planta de composta Bordo Poniente, cuyo propósito fue reciclar los desechos de poda generados en el mantenimiento de las áreas verdes de la Ciudad (González 2000). Actualmente existen cinco grandes plantas de composta, ubicadas en Bordo Poniente, Álvaro Obregón, Iztapalapa, Milpa Alta y Xochimilco; además de otras trece de menor capacidad, entre las que destacan las ubicadas en Ciudad Universitaria, Instituto Politécnico Nacional, Parque Ecoguardas, UAM Iztapalapa e Instituto Tecnológico de Monterrey (ITESM) (Rodríguez y Córdova 2006; Cantero et al. 2007; Flores 2012; SMADF 2016).

En las plantas de composta se trabaja mayoritariamente con residuos de poda que incluye: ramas, troncos, flores, malezas, hojarasca, pasto; además de excretas de ganado vacuno, bovino, equino y aves de corral; incluyendo también residuos de comedor y cocina (GDF 2010). De estos residuos se generaron 99,803 t de composta durante 2017, de las cuales 6,356 se entregaron a la Dirección General de Servicios Urbanos (DGSU) para su distribución principalmente en áreas verde y de agricultura de la ciudad, aunque también se utilizó en vialidades primarias, viveros, parques, jardines, camellones, y otras áreas de conservación, además de que se utiliza por público en general y productores locales (GDF 2010; Flores 2012; SMADF 2015; SEDEMA-CDMX 2017).

2.3 Producción de composta

Una de las técnicas que permite el aprovechamiento integral de RO y su biodegradación controlada previo a su integración al suelo, es el compostaje. Esta técnica conjunta los residuos provenientes de áreas urbanas, rurales e industriales (Jaramillo y Zapata 2008; Füleky y Benedek 2010; Barrena et al. 2014). Se trata de un proceso de fermentación en estado sólido, que se caracteriza por el predominio del metabolismo microbiano aerobio que conduce a fases sucesionales térmicas: mesofilia (45 °C), termofilia (70 °C) y enfriamiento o estabilización (temperatura ambiente), que a su vez conducen a cambios químicos y microbianos en el tiempo. El resultado final es la transformación de los materiales orgánicos originales en otras formas químicas, y se conoce como composta (Sztern y Pravia 1999). El aspecto final de la composta es un sustrato color marrón oscuro a negro con pequeñas partículas que son consistentes y con una estructura similar a la del suelo (Misra et al. 2003).

Un compostaje exitoso debe considerar factores como el destino del producto, la protección del entorno, así como requerimientos de mercado. Debido a que éstos, en conjunto con las características del producto determinan su calidad, y con esto se favorece la conservación del suelo en donde la composta se aplica (Soliva y López 2004).

2.4 Uso agrícola de la composta

La composta tiene la ventaja de que su contenido de compuestos orgánicos mejoran la fertilidad del suelo, lo que puede reducir las necesidades de pesticidas y fertilizantes químicos (Silva et al. 2013; Barrena et al. 2014; Pergola et al. 2018). Se considera útil para la producción agrícola y la tecnología más amigable con el ambiente, cuyo efecto principal no es enriquecer inmediatamente el suelo con elementos esenciales para el crecimiento y desarrollo de plantas, sino retener el agua y los nutrientes disponibles, además de mantener la estructura del suelo. Por su acción amortiguadora, mantiene una reacción uniforme en el suelo y aumenta el intercambio de cationes (Misra et al. 2003; Lehmann y Kleber 2015; Alidadi et al. 2016; Sánchez et al. 2017). Estas ventajas se deben principalmente a la acumulación de materia orgánica (MO), cuyo contenido de carbono orgánico proporciona la energía necesaria para la actividad microbiana, además los materiales orgánicos estimulan las actividades enzimáticas vinculadas a los ciclos de C, N, P y S (Chaoui, Zibilske y Ohno 2003; Tejada et al. 2006, Ouni et al. 2013, Meena et al. 2016; Leogrande y Vitti 2018).

Para el uso agrícola de la composta es importante determinar su estabilidad y madurez, además de considerar su calidad (Alidadi et al. 2016). La estabilidad se refiere a la resistencia de la materia orgánica a una mayor degradación, la cual se determina en función de la respirometría (producción de CO₂ y adsorción de O₂), o con la producción de calor que indica el nivel de actividad microbiana. Un producto estabilizado evitará la fijación de nutrientes y mantendrá o mejorará la disponibilidad de oxígeno (Fourti 2013). La madurez se refiere al grado de descomposición de los compuestos fitotóxicos producidos durante la fase inicial del compostaje y describe la aptitud de una composta para un uso particular. En su descripción se incluyen factores físicos como: color, olor, temperatura, tamaño de partícula, material inerte; y factores químicos como: Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC), pH, CE, Amonio/Nitrato (NH₄⁺/NO₃⁻), lignina, carbohidratos, e índice de humificación (Sullivan y Miller 2001; Alidadi et al. 2016).

Una composta inmadura puede crear condiciones anaerobias para los microorganismos del suelo, esto debido a que aprovechan la disponibilidad de O_2 de este para degradar materiales y producir ácidos orgánicos. Al mismo tiempo, representa un bloqueo biológico del nitrógeno asimilable del suelo por las poblaciones microbianas, lo que puede generar graves deficiencias de N en la planta y por tanto influir negativamente en el rendimiento de los cultivos (Alidadi et al. 2016). La calidad, por su parte, esta influenciada por la naturaleza de la materia prima utilizada, así como de la tecnología utilizada, y considera parámetros como que el contenido de metales pesados, la madurez, y la relación C/N (Fourti 2013; Silva et al. 2013; Barrena et al. 2014). De acuerdo con Alidadi et al. (2016), una relación C/N ideal es de < 20 , mientras que Guo et al. (2012) sugieren una relación C/N de 18.

Al ser utilizada correctamente y en cantidades adecuadas, una composta de buena calidad: a) fomenta la fertilidad del suelo, y por tanto la productividad agrícola; b) protege al medio ambiente ya que opera sin pesticidas, herbicidas y fertilizantes inorgánicos, con lo que mejora la calidad del agua de los acuíferos; c) promueve los servicios ecosistémicos, lo que contribuye en buena medida a resolver la necesidad de alimentos en el mundo (Mäder et al. 2002; Gómez-Tovar y Gómez-Cruz 2004; Bengtsson et al. 2005; FAO 2011; Kremen y Miles 2012). Desde el punto de vista económico, la composta tiene un valor agregado debido a que en los últimos años ha aumentado la demanda de productos producidos con base en enmiendas orgánicas que están libres de compuestos tóxicos, sin modificaciones genéticas, aplicación de aguas negras y radiaciones (Padel 2001; Sundrum 2001; Gómez-Tovar y Gómez-Cruz 2004).

3. Justificación

Existe evidencia de que una pequeña parte de las compostas producidas en la Ciudad de México es utilizada como abono orgánico por los productores de las alcaldías de Xochimilco y Milpa Alta. Por ello, resulta necesario vigilar que se cumplan con las especificaciones de calidad con base en la composición química que marca la normativa mexicana, así como indicar que su utilización no representa riesgos en la calidad del suelo debido a su riego con aguas tratadas. En consecuencia, evaluar la composición química de las compostas y determinar los beneficios de su uso puede incentivar a más productores a utilizar este recurso y con ello tener un mejor aprovechamiento de las compostas producidas.

4. Objetivo general

Evaluar la calidad de las compostas que se producen en las plantas de composta de la Ciudad de México.

4.1 Objetivos particulares

- Determinar la concentración de sales presentes en las compostas que se producen en las plantas de composta de la CDMX.
- Caracterizar de forma física y química las compostas que se producen en las plantas de composta de la CDMX.

5. Metodología

Se realizó una evaluación del proceso de compostaje, así como un muestreo de composta en los centros de compostaje de la Ciudad de México de acuerdo con las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana (NADF-020-AMBT-2011). Las muestras fueron sometidas a diversos estudios físicos y químicos para determinar su calidad.

5.1 Muestreo y conservación de las muestras

En febrero de 2014 se realizó un muestreo en cada Planta de Composta de la Ciudad de México ubicadas en Bordo Poniente (BP), Álvaro Obregón (AO), Iztapalapa (Iz), Milpa Alta (MA) y Xochimilco (Xo). La toma de muestras se efectuó siguiendo la metodología recomendada en la Norma Oficial Mexicana “que establece los requerimientos mínimos para producción de composta a partir de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, agrícolas, pecuarios y forestales, así como las especificaciones mínimas de calidad de la composta producida y/o distribuida en el Distrito Federal”. Se consideraron puntos equidistantes horizontal y verticalmente para tomar 10 submuestras de cada pila o parva de composta de volumen variable, hasta completar 1 kg.

Cada muestra se mantuvo a 4 °C en bolsas de plástico hasta su procesamiento siguiendo lo descrito en los *Test Method for the Examination of Composting and Compost* (TMECC) (Sadzawka et al. 2005).

5.2 Caracterización de las compostas producidas en la CDMX

Se realizó una descripción del tipo de compostaje que sigue cada planta de composta, incluyendo condición de oxigenación, volumen, disponibilidad de espacio, tipo de montaje, material inicial, tiempo de compostaje, así como de factores que intervienen en el proceso de compostaje, como temperatura, humedad, aireación.

La determinación de madurez se realizó sobre características sensoriales como: color, olor, volumen, temperatura final, mezcla inicial de compuestos orgánicos (realizado *in situ* con la finalidad de conocer las características iniciales). También se consideraron los siguientes parámetros: pH, CE, nutrimentos como nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), hierro (Fe), y metales pesados que incluyen: cobre (Cu), zinc (Zn) y manganeso (Mn).

5.2.1 Parámetros analizados

Los análisis químicos se realizaron sobre muestras homogéneas, secas (60 °C/ 48 h) y tamizadas (1,190 mm). Los parámetros pH y CE, se determinaron según Sadzawka *et al.* (2005) en el Laboratorio de Edafología y Absorción Atómica de la UAM Xochimilco; mientras que las determinaciones de nutrimentos y metales pesados se realizaron en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos y Química Ambiental del Colegio de Postgraduados (COLPOS). En la Tabla 1 se describe el proceso metodológico empleado en cada parámetro para la obtención de resultados.

Tabla 1. Metodología empleada para la determinación de nutrientes y metales pesados en compostas.

Parámetros	Método
pH	Suspensión 1:5 de composta con agua desionizada (v:v). Por triplicado: Se tamizaron 5 g de muestra seca en una malla de 16 mm. Este volumen se mezcló y agitó con agua desionizada en una relación 1:5 para finalmente medir el pH utilizando un potenciómetro (pH Benchtop, Thermo-Orion 3 Star) (Sadzawka et al. 2005).
Temperatura	Toma directa en pila de composta. Se introduce un termómetro bimetálico de bolsillo al centro de la pila de composta en 5 puntos equidistantes.
Conductividad Eléctrica	Extracto 1:5. Por triplicado. Se tomaron 5 g de muestra húmeda tamizada en malla de 16 mm, después se mezcló y agitó con agua desionizada en una relación 1:5. La suspensión fue centrifugada y en el extracto se midió la CE utilizando un conductímetro (HI 8819N. Hanna Instruments) Sadzawka et al. (2005).
Nutrientes	La determinación de nutrientes se realizó en una muestra compuesta de 10 g tamizada con malla de 1,190 mm. N: Determinación por digestión en húmedo con H ₂ SO ₄ y K ₂ Cr ₂ O ₇ (Etchevers 1992). P: Determinación por Método de Bray (Etchevers 1992). K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn: Digestión: HNO ₃ +HClO ₄ 2:1 (Flamometría) (Etchevers 1992).
Metales pesados	Cu y Zn fueron medidos mediante absorción atómica (Etchevers 1992).

5.3 Determinación de salinidad

Para la determinación de salinidad se consideraron las recomendaciones propuestas por Allaire et al. (2012). Estos autores indican que aunque la CE no proporciona información específica sobre la clase de sales presentes, si es un excelente indicador de la presencia de sales solubles que existen en la composta.

5.4 Determinación de calidad de las compostas

La determinación de calidad se realizó siguiendo las especificaciones de Fourti (2013); Silva et al. (2013) y Alidadi et al. (2016) anteriormente descritas (Ver Sección 2.4). Se consideró que las compostas cumplieran con las etapas del compostaje descritas por Ryckeboer et al. (2003): Fase mesófila inicial (10 – 42 °C), fase termófila (45 – 70 °C), segunda fase mesófila, y fase de maduración y estabilización. Esto fue determinado haciendo una medición de temperatura en diferentes pilas de composta. También se evaluaron características organolépticas como color, olor, y textura como se indica en Hernández (2003). El resultado de estos parámetros se comparó con la normatividad nacional (NADF-020-AMBT-2011).

La importancia de determinar la calidad de las compostas radica en que éstas no sólo se utilizan para camellones y jardines, sino que también se vende, dona o intercambia con agricultores locales por lo que de no estar madura puede ser inestable y fitotóxica para el desarrollo de las plantas y afectar la producción agrícola local (Wu et al. 2000).

6. Resultados y discusión

Encontramos que en todos los casos se apilan los RO en sitios expuestos a la intemperie, pese a que la norma oficial antes referida, así como diversos autores indican que es recomendable hacerlo en un lugar protegido del sol y del viento, y paralelo a la dirección del viento. El volumen de cada pila de RO varía en función del área disponible, del volumen de residuos recibidos, así como de la técnica de volteo utilizada.

6.1 Origen de los Residuos Orgánicos

Los RO utilizados como materia prima para la elaboración de composta, varían en cada planta en función de su localidad, lo cual es común en procesos de compostaje local, ya que la idea central del compostaje es aprovechar los RO que se producen en la misma localidad (Defrieri et al. 2005; Pergola et al. 2018). En este caso, cada centro recibe los residuos que la misma alcaldía genera. La excepción es BP que al disponer de mayor área, recibe lo generado en la alcaldía Azcapotzalco, el excedente de plantas como la de Milpa Alta, además de los RO vegetales provenientes de la Central de Abastos, del mercado de Jamaica, de panteones y de casas-habitación de las colonias aledañas a la zona.

En todas las plantas se destaca la ausencia de materiales inapropiados para el compostaje, siendo común los residuos de poda que provienen en su mayoría de parques, jardines y camellones, seguido por residuos de alimentos que provienen de mercados municipales y/o comedores industriales. En casos como Xo y AO, es común la utilización de estiércol de vaca y caballo como activadores, respectivamente, e incluso en Iz se utiliza suelo como inóculo. Esto coincide con experiencias previas de compostaje, en las que resalta el uso mezclas de RO con estiércol (Defrieri et al. 2005; Pergola et al. 2018), con suelo (Cantero et al. 2007) y mezcla triturada de frutas y verduras del mercado (Roy et al. 2017). En la tabla 2 resume el contenido de RO que recibe cada planta de compostaje.

Tabla 2. Origen de los RO de las compostas en la Ciudad de México

Localidad	Id	Residuos orgánicos
Iztapalapa	Iz	Residuos de poda: pino, acacia, palma y pasto, además de suelo.
Xochimilco	Xo	Residuos de poda, pasto, residuos de comedores industriales y estiércol de vaca.
Alvaro Obregón	AO	Residuos de poda: pino, encino, jacaranda, pirúl, eucalipto, palma, pasto, y estiércol de caballo.
Milpa Alta	MA	Residuos de poda, flor de panteón, residuo de mercado, nopal y residuo doméstico.
Bordo Poniente	BP	Residuos orgánicos de la ciudad: mercados, domésticos, panteones, comedores industriales y zonas agrícolas.

6.2 Caracterización del proceso de compostaje en las plantas muestreadas

En todos los casos se pretende trabajar con un compostaje aeróbico con montaje de pilas o parvas como es referido en Defrieri et al. (2005) y Pergola et al. (2018). Sin embargo, encontramos que en plantas como BP este compostaje se complica debido al inmenso volumen de RO recibidos que se apilan en grandes volúmenes (ver Tabla 2), y que propician un ambiente anóxico en la parte central de la pila, lo cual se evidencia por los olores nauseabundos que se perciben al excavar estas pilas para tomar muestras. Este proceso anaerobio se pretende solucionar con volteos regulares realizados en su mayoría cada tercer día. Aunque esto depende de la disponibilidad de equipo (volteadora). Lo anterior, pone de manifiesto la excesiva carga de RO que llegan a esta planta de composta y que hace poco sostenible el manejo adecuado de dichos residuos para lograr una composta madura de buena calidad en un menor tiempo.

El resto de las plantas de composta maneja un volumen mucho menor de RO para el montaje de la pila, por lo que se considera que el proceso es totalmente aerobio, con volteos mecánicos regulares, cuya frecuencia varía dependiendo de la disponibilidad de equipo (volteadora y/o mezcladora), siendo común que se realice cada tercer día en Iz y Xo; mientras que, en AO y MA se realiza cada quince días. Los volteos son necesarios para mantener una adecuada oxigenación y así mantener activos a los microorganismos aerobios. Junto con la oxigenación, el control de humedad es indispensable y se realiza en la mayoría de los casos a través del riego con agua tratada, cuya frecuencia es dependiente no sólo de la necesidad de humedad sino también de la disponibilidad de pipas. Esto ha propiciado que cada planta implemente estrategias que le permitan mantener la humedad. Es así que en plantas como AO y BP se utilizan también los lixiviados resultantes del proceso de compostaje, e incluso en esta última refieren además, la utilización de agua salina de lo que aún es la cuenca del lago de Texcoco (comunicación personal). Lo anterior puede derivar en un producto de mala calidad para su uso agrícola por exceso de sales. Por su parte, MA utiliza nopal como

suministro de humedad, pues de acuerdo con Maki-Díaz et al. (2015), el nopal tiene un contenido de humedad de más del 90 %. Otra fuente de humedad que se presenta en todos los casos es el agua de lluvia, ya que como se mencionó, ninguna de las plantas cuenta con techado o protección.

La duración del proceso es de tres meses para tres de las cinco plantas, tiempo que es mayor a los 75 días de compostaje de RO reportado por Alidadi et al. (2016). Sin embargo, existen reportes sobre compostaje de RO que indican que la extensión del proceso depende tanto del material como del tamaño inicial de partícula (Sztern et al. 1999; Fernández et al. 2004; Baffi et al. 2007). En este caso encontramos que en MA el tiempo se extiende a 6 meses, lo cual puede estar asociado con la utilización de nopal, cuyo elevado contenido de lignina lo hace altamente resistente a la degradación microbiana (Richards 1993; Misra et al. 2003). Mientras que en BP la extensión del proceso resulta de la sobre carga de RO que propicia pilas de un volumen hasta tres veces mayor que el resto de las plantas (Tabla 3).

En las compostas de PB, AO, y Xo se indicó la utilización de inóculo para acelerar el proceso, este consiste en la adición de un volumen de composta madura a la pila de RO que provee de microorganismos que actuarán rápidamente sobre los RO.

Independiente a la duración del proceso, hay una producción constante de aproximadamente 71 Mg de composta en promedio por día, siendo la excepción BP con 250 Mg. En el caso de Iz no se indicó el dato.

Tabla 3. Características generales de las compostas analizadas en la C

	Iztapalapa	Xochimilco	Álvaro Obregón	Milpa A
Volumen de pila de composta	15 m ³	20 m ³	1260 m ³	60 m ³
Número de pilas	4	10	5	10
Tempertura final	25 °C	30 °C	30 °C	32 °C
Control de aireación	Mecánico cada tercer día	Mecánico cada tercer día	Mecánico cada quince días	Mecánico cada quince días
Control de humedad	Riego (agua tratada)	Riego (agua tratada)	Riego (agua tratada) y lixiviados	Riego (agua tratada) y lixiviados incorporados
Tiempo de compostaje	3 meses	3 meses	3 meses	6 meses
Volumen producido	NI*	45 Mg / d	48 Mg / d	120 Mg / d

*NI . Dato no indicado.

6.2.1 Características físicas y químicas de las compostas de la Ciudad de México

Al finalizar el proceso, las compostas revelaron una temperatura final estable, semejante a la temperatura ambiental, lo que indica que se encuentran estabilizadas (Sztern et al. 1999; Fourti 2013; Silva et al. 2013) (Tabla 4). La CE de la mayoría de las compostas se ubican arriba de los 4 dS m⁻¹ reportados por Biswas and Biswas (2014) y Mata-Fernández *et al.* (2014) como límite, lo que las clasifica como salinas, e incluso de acuerdo con la norma oficial mexicana son clasificadas como material no apropiado para su uso agrícola al ubicarse sobre los 8 dS m⁻¹. Lo anterior puede ser debido al contenido de sales en los residuos de alimentos; así como al riego de material vegetal con aguas residuales, pues de acuerdo con Domínguez et al. (2001) y Sarabia-Mlendez et al. (2011) esta agua está asociada con un alto contenido de sales solubles.

En el caso de la composta de Xo el valor de CE puede resultar del contenido de estiércol de vaca ya que Hao and Chang (2003) y Tran (2015) reportaron que el estiércol de vaca contiene sales derivadas del alimento consumido, lo que inducen un aumento en la CE. Mientras que en BP la CE puede deberse al riego con agua de la cuenca del Lago de Texcoco que se caracteriza por su elevada salinidad (Michler 2013).

Aunque la normatividad nacional no indica un límite máximo permitido de CE, si se establecen rangos que determinan su uso final. La composta de AO está muy cerca de la clasificación "A" que indica que puede ser utilizada como sustituto de suelo. La composta de Iz se ubicó en la clasificación "C" adecuada para su uso en áreas verdes urbanas, paisaje y reforestación agricultura. Finalmente, las compostas de Xo, MA y BP se ubican arriba de los 12 dS/m por lo que no entran en los rangos de clasificación indicados en la norma. Esto último es de resaltar ya que se ha reportado que las compostas de Xochimilco y Milpa Alta son utilizadas por una pequeña población de productores.

Existen reportes que demuestran que una composta con una alta CE puede ser fitotóxica para algunas semillas cuando se usa en grandes cantidades (Manios 2004), por lo que su uso en áreas de reforestación debe ser regulado, asegurándose de que las tasas de aplicación sean las adecuadas (Reddy y Crohn 2012).

Tabla 4. Propiedades químicas de las compostas producidas en la CDMX

	Temperatura (°C)	CE (dS/m)	pH 2:1
Iztapalapa	30	9.2	7.68
Xochimilco	29	13.1	7.37
Álvaro Obregón	30	4.1	7.80
Milpa Alta	32	12.8	8.90
Bordo Poniente	32	12.2	7.09

En todos los casos se identificó un compostaje que cumple con las fases de compostaje aerobio descritas por Ryckeboer et al. (2003), pues las temperaturas registradas *in situ* en las pilas en proceso de compostaje fueron termófilas en todos los casos (45 – 70 °C), mientras que las temperatura alcanzada en fase de estabilización fueron cercanas al ambiente (Tabla 4), lo que de acuerdo con Iglesias-Jiménez and Pérez-García (1989), es una temperatura considerada como un buen indicativo de madurez de la composta.

Los valores de pH (Tabla 4) de todas las compostas van de neutro a alcalino, ubicándose en el rango de 6.7 – 8 recomendado por la NADF-020-AMBT-2011 (GODF 2012), y, en la mayoría de los casos cercanos al 7.3 de la OMS (Sztern y Pravia 1999). También, son similares a los valores indicados por Lakhdar et al. (2009) y Barrena et al. (2014). El pH en la composta de MA fue mayor a lo indicado en la norma, así como al 8.2 indicado por Aguilera (1989), lo que en conjunto con su CE podría considerarse como material salino-sódico, sin embargo hace falta un análisis de sodio intercambiable para respaldar esta idea. Este resultado de pH en la composta de MA puede estar relacionado, como ya se mencionó, con el contenido de sales provenientes de los residuos de alimentos, el contenido de sales en el agua

de riego y en particular, el contenido de sales en el nopal. Diversos autores han señalado que el nopal contiene minerales como calcio, magnesio y sodio (Zúñiga-Tarango et al. 2009; Fernández-Pavía et al. 2015; Santiago-Lorenzo et al. 2016), que aumentan el pH (Behera y Shukla 2015; Kim et al. 2016). Aunque el contenido de minerales puede variar dependiendo de la composición química del suelo, existen reportes que indican que elementos como fósforo, boro, calcio, magnesio, azufre provienen del suelo y constituyen aprox del 2 a 8 % del peso seco de las plantas (Flores, 2015). Además, se ha reportado que el nopal crece mayoritariamente sobre materiales con contenidos de carbonato de calcio >40 % (Nobel 2002).

6.2.2 Nutrimientos

Los nutrimentos N, P, K son considerados esenciales debido a que el nitrógeno al ser el elemento más dinámico se mueve constantemente hacia dentro y fuera del sistema de varias maneras, contribuye en la resistencia a plagas y favorece el crecimiento aéreo. El fósforo por su parte, es un nutrimento primario que se asocia con un buen desarrollo de raíces, maduración de flores, semillas y frutos. Mientras que el potasio es un elemento esencial que fortalece raíces y tallos, participa en la activación de muchas enzimas, transpiración, absorción de nitrógeno y en la síntesis de proteínas (CORPIOCA 2002).

En la Tabla 5 se observa que los nutrimentos esenciales se encuentran dentro de las especificaciones establecidas por las Normas Mexicanas (NTEA-006-SMA-2006 y NADF-020-AMBT-2011). Sin embargo, difieren de las especificaciones de Sztern y Pravia (1999); principalmente en que las concentraciones de P son menores y las de K son mayores. En esta investigación tomamos en cuenta además de las normas nacionales e internacionales, las indicaciones reportadas previamente en trabajos de investigación con compostas elaboradas a partir de RO. Entre ellos destaca Barrena et al. (2014) quienes registraron valores mayores a los encontrados en esta investigación con 2.2 % de N, 0.8 % de P y valores de K cercanos al 1.4 %.

Tabla 5. Porcentaje de nutrimentos incluidos en las compostas producidas en diferentes zonas de la CDMX

	Izapalapa	Xochimilco	Álvaro Obregón	Milpa Alta	Bordo Poniente	Valor de referencia		
						A	B	C
N	1.34	1.43	1.39	1.55	1.67	<3		1.54
P	0.44	0.56	0.44	0.81	0.58	<3	>0.10	1.10
K ↑ %	1.00	1.70	1.10	1.40	1.20	<3	>0.25	0.70
Ca ↓	3.7	8.70	2.90	5.30	5.50			1.03
Mg	2.00	2.00	0.90	1.30	0.80			0.91
Na	0.30	0.30	0.20	0.50	0.40			0.18

A, NADF-020-AMBT-2011; B, NTEA-006-SMA-2006; C, OMS. Sztern y Pravia 1999.

El calcio y el magnesio forman parte de los llamados nutrimentos secundarios que, aunque son tan esenciales como los nutrimentos primarios, son consumidos en menor proporción. El Ca está involucrado en la formación de paredes celulares de las plantas y en la regulación de nutrientes al mantener la integridad de la membrana. Mientras que el Mg, forma parte de la clorofila y es necesario para la actividad de muchas enzimas (CORPIOCA 2002). Al respecto, los valores de Ca obtenidos en las compostas analizadas se encuentran por arriba del 1.03 % indicado por Sztern y Pravia (1999) siendo mayor el registrado en Xo y menor en AO. Lo mismo sucede con el Mg, en donde la mayoría de las compostas presentaron un valor mayor al 0.91 % indicado por Sztern y Pravia (1999). Los valores más cercanos se encontraron en AO y BP (Tabla 4). El Na también presentó valores superiores al 0.18 % indicado por Sztern y Pravia (1999), encontrándose en MA y BP los más altos. Los resultados obtenidos también fueron superiores a los reportes de Navarro (2003) y Gutiérrez y Fimbres (2012).

El resultado del análisis de nutrimentos es distinto a lo reportado por Gildemesiter (2002) quien indicó que una composta bien elaborada y madura tiene niveles bajos de nutrimentos; sin embargo, no especifica un límite máximo.

6.2.3 Metales pesados

Uno de los parámetros clave en la calidad de la composta, que limita su uso como enmienda orgánica, es el contenido de metales pesados (Silva et al. 2013). Aunque muchos de estos son considerados como micronutrientes debido a que son esenciales para la nutrición de las plantas, se ha reportado que altas concentraciones pueden resultar tóxicos para las plantas (Fance y Tay 1986; Silva et al. 2013). Al respecto, la norma nacional NADF-020-AMBT-2011 solo considera al Cu y Zn, que en este caso se encuentran en su mayoría por debajo de lo indicado en ésta; sin embargo, en este estudio consideramos también al Fe pues es un elemento considerado por la Organización Mundial de la Salud como metal pesado (Sztern y Pravia 1999). En la tabla 6 se observa que la concentración de Fe representa casi tres veces más el valor límite recomendado por Sztern y Pravia (1999), e incluso la composta de Iz presentó un contenido catorce veces mayor al valor de referencia. Este resultado puede deberse al contenido de Fe en las hojas de árboles y arbustos de los camellones de la alcaldía de Iztapalapa ya que diversas investigaciones señalan que en la Ciudad de México (CDMX) las concentraciones de Fe provienen de partículas en suspensión de fuentes como humos metálicos de la industria, así como de aguas subterráneas y superficiales, y agua de lluvia (DGCS 2018). Además, en un estudio de calidad de aire realizado por el Instituto de Geofísica, se encontraron altas concentraciones de Fe en partículas en suspensión atribuido a fuentes naturales (DGCS 2018).

Lo anterior resulta importante debido a que la alta concentración de Fe en la composta podría ocasionar problemas en la vegetación en donde sea aplicada la enmienda. Al respecto Fance y Tay (1986) realizaron un estudio foliar en donde destacaron que una concentración desde 600 ppm en hojas y tallos de *Uromyces fabae* provoca síntomas de roña.

Tabla 6. Análisis de metales pesados en compostas producidas en la CDMX

	Iztapalapa	Xochimilco	Álvaro Obregón	Milpa Alta	Bordo Poniente	a	b	c
Fe	27377	19908	22071	21525	22323		1872	
Cu ppm	42	45	18	72	94	<30		150
Zn	51	60	51	154	183	< 90	231	500

a. NTEA-006-SMA-2006

b. OMS. Sztern y Pravia (1999).

c. (Kraus and Grammel 1992).

Con respecto a la concentración de Cu, únicamente AO se ubica dentro de lo especificado por la NTEA-006-SMA-2006. Mientras que el resto, se encuentra por encima de esta especificación. Destaca BP con una concentración dos veces mayor a la indicada por la norma, lo que puede estar asociada con la gran cantidad de RO de los mercados, que se utilizan como materia prima en la elaboración de esta composta, ya que Noll (2003) indica que el cobre es un componente común en pesticidas y fertilizantes y por lo tanto contamina los desechos verdes y de cocina. Además, de acuerdo con el Informe No. 2 de la Secretaría de Ciencias, Tecnología e Innovación (SECITI) (2017), en la CDMX los metales pesados como Cu y Zn rebasan las concentraciones permitidas en las normas mexicanas, cuya posible fuente, además de las actividades antrópicas, es la ceniza del volcán Popocatepetl (CCA, UNAM 2016).

En cuanto a la concentración de Zn, los valores en MA y BP se encuentran por encima de la concentración especificada por la norma, pero debajo de la indicación de Sztern y Pravia (1999) y de los estándares Alemanes (Brinton 2000). Entre las posibles fuentes de Zinc (Zn) se encuentran el agua de lluvia de la CDMX y la ceniza del volcán Popocatepetl (CCA UNAM 2016; DGCS 2018).

La alta concentración de Fe registrada en las compostas evaluadas enciende un foco de alerta debido a que puede pasar a disposición de las plantas, y resultar tóxico (Soliva y López 2004; Sanz 2017). Al respecto Blume y Brümmer (1991) indicaron los que valores de pH alcalinos o neutros (como los registrados) retienen a los metales pesados, impidiendo su solubilización y, por lo tanto, no están disponibles para las plantas. Sin embargo, quedarán acumulados en el suelo y pueden pasar a disposición de las plantas cuando las condiciones de pH varíen y se acidifiquen.

6.3 Determinación de calidad

La calidad de las compostas se basó no solo en la composición y naturaleza de los materiales utilizados (Ver Tabla 2), sino que también se consideró su destino final. En la composición inicial, se encontró que materiales como estiércol de vaca, o utilización de agua salada para el riego del material orgánico pueden alterar

significativamente la calidad de la composta al incrementar la CE a valores por encima de lo recomendado por la norma nacional, como en los casos de Xochimilco y Bordo Poniente. Con relación a los nutrimentos (Ver Tabla 5) se encontró que todas las compostas cumplen con las normas nacionales e internacionales anteriormente descritas, sin embargo, la elevada concentración de Fe en la composta de Iztapalapa enciende un foco de atención debido a que puede poner en riesgo a la vegetación de los suelos en donde la composta sea aplicada. De acuerdo con Silva et al. (2013) una composta de alta calidad debe evitar efectos nocivos cuando se aplica a los suelos, por ello se considera que las compostas de Bordo Poniente e Iztapalapa que presentaron los valores más altos de CE y Fe respectivamente, tienen una menor calidad y pueden representar un riesgo para suelo y agua, e incluso para las plantas.

Las temperaturas registradas cumplen con las especificaciones de Ryckeboer et al. (2003). Las compostas se consideran maduras cuando las temperaturas fueron cercanas al ambiente (Iglesias-Jiménez and Pérez-García 1989) (Ver Tabla 4). Se identificaron malas prácticas de compostaje que pueden ser debidas a una mala planeación del proceso, ya que como se mencionó, ninguna de las plantas cumple con un plan de manejo de agua de lluvia o el control en la mitigación de olores desagradables. Todas están expuestas a la interperie, y parámetros como control de aireación y humedad dependen de factores externos como la disponibilidad del equipo y agua, así como de la temporada del año (lluvia o secas), lo que ocasiona una alternancia accidental entre procesos aerobios y anaerobios generando malos olores y un muy prolongado tiempo de compostaje como sucede en BP.

Al final del proceso y pese a la falta de control estricto, todas las compostas cumplen con criterios de madurez como: desaparición de olores desagradables, al perderse todos los ácidos grasos de bajo peso molecular (Iglesias-Jiménez y Pérez-García 1989). De acuerdo con el Método 5.03-A (TMECC) la composta de AO se clasifica en el #5 que corresponde con “fuerte olor a pino”, mientras que el resto de las compostas se clasifican en el #1 que indica “terroso, similar al suelo, sin olor”. Esto último debido a la excreción de geosmina y 2-metilisoborneol producido por actinomicetos mesófilos (De Bertoldi et al. 1983; Iglesias-Jiménez y Pérez-García 1989; Hernández 2003).

Otro punto considerado fue la coloración final, en el cual todas las compostas presentaron oscurecimiento gradual o melanización dando como resultado un producto color pardo oscuro a negro. Esto se atribuye a la formación de grupos cromóforos, fundamentalmente de compuestos con dobles enlaces conjugados y a la síntesis de melanoidinas (Iglesias-Jiménez y Pérez-García 1989).

Con base en las especificaciones anteriores se determinó que la composta de Álvaro Obregón presenta la mejor calidad al tener el valor más bajo de CE, pH y nutrientes dentro del rango recomendado por la norma NADF-020-AMBT-2011, olor a pino debido probablemente a la abundante cantidad de pino y eucalipto utilizados como material inicial, así como un oscurecimiento del material a pardo oscuro.

Al final del proceso y pese a la calidad que presentan algunas compostas, se refiere que su utilización es en buena parte contraria al objetivo de la norma, ya que se utiliza para rehabilitación de espacios públicos que no corresponden con espacios agrícolas o forestales, además estas compostas carecen de un análisis previo a la incorporación del producto en su destino, por lo que su inocuidad no está garantizada.

La gran cantidad de RO generados en la CDMX hace que muchas de las plantas de composta como BP se vean rebasadas. Esto genera una acumulación masiva de RO que produce condiciones anaerobias, resultando en malos olores, contaminación atmosférica y una contribución de gases de efecto invernadero que podría mitigarse si se destinan los recursos necesarios para la producción controlada de composta (que garantice su calidad e inocuidad), así como para la promoción del uso de la composta producida entre los agricultores locales y foráneos.

7. Conclusiones

Las compostas de Xochimilco, Milpa Alta y Bordo Poniente son las más salinas de acuerdo con su CE, incluso las dos últimas presentaron además las concentraciones más altas de Na.

Todas las compostas evaluadas presentaron una concentración de Na superior a lo indicado por la OMS.

Las compostas obtenidas en cada una de las plantas presentaron características de madurez basada en sus propiedades organolépticas, ya que cumplen con características como color, olor y aspecto.

La calidad que presentaron las compostas no se considera buena en la mayoría de los casos debido a la alta concentración de Fe.

Se considera que la composta de Álvaro Obregón presenta la mejor calidad, seguida de Iztapalapa y Xochimilco ya que cumplen con las especificaciones de las normas nacionales.

8. Recomendaciones

Es necesario realizar determinaciones microbiológicas que aseguren la calidad fitosanitaria de la composta.

Se debe mejorar la calidad de las compostas de Xochimilco, Milpa Alta y Bordo Poniente con respecto a su CE y contenido de Na para evitar problemas de degradación del suelo por salinidad.

Se debe divulgar la producción de composta así como su uso entre los agricultores locales. Esto con la finalidad de evitar acumulación de composta y eficientizar el proceso en las plantas para así favorecer un compostaje adecuado que garantice la madurez de la composta y evite riesgos en su aplicación al suelo.

Es necesario que las normas nacionales establezcan límites más estrictos en parámetros asociados con salinidad.

9. Bibliografía

- Aguilera, N. (1989). *Tratado de Edafología de México*. UNAM, Facultad de Ciencias, México. 222p.
- Alidadi, H., Hosseinzadeh, A., Najafpoor, A. A., Esmaili, H., Zanganeh, J., Takabi, M. D., Piranloo, F. G. (2016). Waste recycling by vermicomposting: Maturity and quality assessment via dehydrogenase enzyme activity, lignin, water soluble carbon, nitrogen, phosphorous and other indicators. *Journal of Environmental Management*, 182, 134-140.
- Allaire, S. E., Lange, S. F., Lafond, J. A., Pelletier, B., Cambouris, A. N., Dutilleul, P. (2012). Multiscale spatial variability of CO₂ emissions and correlations with physico-chemical soil properties. *Geoderma*, 170, 251-260.
- Baffi, C., Dell'Abate, M. T., Nassisi, A., Silva, S., Benedetti, A., Genevini, P. L., Adani, F. (2007). Determination of biological stability in compost: A comparison of methodologies. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(6), 1284-1293.
- Barrena, R., Font, X., Gabarrell, X. Sánchez, A. (2014). Home composting versus industrial composting: influence of composting system on compost quality with focus on compost stability. *Waste Management*, 34(7), 1109-1116.
- Behera, S. K., Shukla, A. K. (2015). Spatial distribution of surface soil acidity, electrical conductivity, soil organic carbon content and exchangeable potassium, calcium and magnesium in some cropped acid soils of India. *Land Degradation and Development*, 26(1), 71-79.
- Bengtsson, J., Ahnström, J., Weibull, A. C. (2005). The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 42(2), 261-269.
- Biswas, A., Biswas, A. (2014). Comprehensive approaches in rehabilitating salt affected soils: a review on Indian perspective. *Open Transactions on Geosciences*, 1(1), 13-24.
- Blume, H.-P and Brümmer, G. (1991). Prediction of heavy metal behavior in soil by means of simple field tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 22 (2), 164-174.
- Brinton, W. F. (2000). *Compost quality standards & guidelines: An International View*. New York State Association of Recyclers.
- Cantero, A., Domínguez, L., Robles, F. (2007). Optimización y control de la planta de producción de composta del Instituto Politécnico Nacional. *Sistemas Ambientales*, (1)1, 34-45.

- Centro de Ciencias de la Atmosfera de la Universidad Nacional Autónoma de México (CCA, UNAM). (2016). *Diagnóstico sobre la calidad del aire en cuencas atmosféricas de México*. SEMARNET, INECC. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/208883/Informe_Final_AECAME_2016_1230.pdf
- Chaoui, H. I., Zibilske, L. M., Ohno, T. (2003). Effects of earthworm casts and compost on soil microbial activity and plant nutrient availability. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(2), 295-302.
- CORPOICA. (2002). Producción de abonos orgánicos de buena calidad. Boletín Técnico. [Fuzzy mathematics-based evaluation of Municipal Solid Waste compost maturities in different spaces in static tunnel from Nangong compost plant. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, (2), 201–206.
- De Bertoldi, M., Vallini, G., Pera, A. (1983). The biology of composting: a review. *Waste Management. Research*, 1, 157–176.
- Defrieri, R. L., Jimenez, M. D. L. P., Efron, D., Palma, M. (2005). Utilización de parámetros químicos y microbiológicos como criterios de madurez durante el proceso de compostaje. *Agriscientia*, 22(1), 25-31.
- DGCS-670, Boletín UNAM. 15 Octubre (2018). *Agua de lluvia de la CDMX, no apta para consumo humano directo*. http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2018_670.html
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2018). *Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos*.
- Domínguez, R., Del Campillo, C., Pena, F., Delgado, A. (2001). Effect of soil properties and reclamation practices on phosphorus dynamics in reclaimed calcareous marsh soils from the Guadalquivir Valley, SW Spain. *Arid Land Research and Management*, 15(3): 203-221. <http://dx.doi.org/10.1080/15324980152119775>.
- Etchevers Barra, J. D. (1992). *Manual de Métodos para análisis de suelos, plantas, aguas y fertilizantes. Análisis rutinarios en estudios y programas de fertilidad*. Laboratorio de Fertilidad, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. México. Pp. 12-16
- Fernández Pavía, Y. L., García Cué, J. L., López Jiménez, A., Mora Aguilera, G. (2015). Inducción de deficiencias nutrimentales en nopal verdura *Opuntia ficus indica?* (L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(6), 1417-1422.

- Fernández, R. M., Gómez, J. M., Estrada, I. B. (2004). COMPOST LEGISLATION: SANITIZATION VS. BIOLOGICAL QUALITY. In *International Conference Soil and Compost Eco-biology, Abstract Book* (pp. 1-16).
- Flores, L. M. (2015). *El impacto económico y social de la producción sustentable de nopal en la delegación Milpa Alta, D.F.* Tesis Maestría. IPN.
- Flores, N. (2012). *Composta, alternativa para el manejo de residuos orgánico del DF: UAM Iztapalapa*. Comunicado de prensa 002. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa.
- Fourti, O. (2013). The maturity tests during the composting of municipal solid wastes. *Resources, Conservation and Recycling*, 72, 43-49.
- France, I., Tay, U. (1986). Nutritional problem in lentils (*Lens culinaris Med*) associated with high levels of manganese and iron. *Agricultura Tecnica, (Chile)*.
- Füleky, G., Benedek, S. (2010). Composting to recycle biowaste. In: Lichtfouse, E. (Ed.), *Sociology, Organic Farming, Climate Change and Soil Science*. Springer, Netherlands, pp. 319–346.
- Gaceta Oficial del Distrito Federal (GODF). (2012). *Norma Ambiental para el Distrito Federal NADF-020-AMBT-2011* que establece los requerimientos mínimos para la producción de composta a partir de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, agrícolas, pecuarios y forestales, así como las especificaciones mínimas de calidad de la composta producida y/o distribuida en el distrito federal.
- Gildemeister, H. (2002). *Mediterranean gardening: a waterwise approach*. Univ of California Press. USA. 208p.
- Gobierno del Distrito Federal (GDF). (2010). Inventario de residuos sólidos del Distrito Federal. <https://www.sedema.cdmx.gob.mx/storage/app/media/IRS-2016.pdf>
- Gómez Tovar, L. y Gómez Cruz, M. A. (2004). La agricultura orgánica en México y en el mundo. CONABIO. *Biodiversitas*, 55: 13-15.
- González, C. (2000). *Diseño y operación de la planta de composta de la Alameda Oriente. Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales; AIDIS. Ciencia y conciencia compromiso nacional con el medio ambiente: memorias técnicas. México, D.F.* <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/resisoli/mexicon/R-0002.pdf>

- Guo, R., Li, G., Jiang, T., Schuchardt, F., Chen, T., Zhao, Y., Shen, Y. (2012). Effect of aeration rate, C/N ratio and moisture content on the stability and maturity of compost. *Bioresource technology*, 112, 171-178.
- Gutiérrez, M. A., Fimbres, R. A. (2012). *Caracterización de un extracto de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón*. Instituto Tecnológico de Sonora. Sonora, México. 31p.
- Gutiérrez, V. (2006). *Diagnóstico básico para la gestión integral de residuos*. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT. 49p.
- Hao, X., Chang, C. (2003). Does long-term heavy cattle manure application increase salinity of a clay loam soil in semi-arid southern Alberta?. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 94(1), 89-103.
- Hernández, A. (2003). *La Composta, su Elaboración y Beneficio*. Monografía. Agronomía, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1265/LA%20COMPOSTA%2C%20SU%20ELABORACION%20Y%20BENEFICIO.pdf?sequence=1>
- Iglesias-Jiménez, E., Pérez García, V. (1989). Evaluation of city refuse compost maturity: a review. *Biological Wastes*, 27, 115-142.
- Jaramillo, G., Zapata, L. M. (2008). *Aprovechamiento de los Residuos Orgánicos en Universidad de Antioquia*, Medellín, Colombia, Facultad de Ingenierías, p. 116.
- Kim, J. M., Roh, A. S., Choi, S. C., Kim, E. J., Choi, M. T., Ahn, B. K., Lee, S. A. (2016). Soil pH and electrical conductivity are key edaphic factors shaping bacterial communities of greenhouse soils in Korea. *Journal of Microbiology*, 54(12), 838-845.
- Kremen, C., Miles, A. (2012). Ecosystem services in biologically diversified versus conventional farming systems: benefits, externalities, and trade-offs. *Ecology and Society*, 17(4), 40. <http://dx.doi.org/10.5751/ES-05035-170440>
- Lakhdar, A., Rabhi, M., Ghnaya, T., Montemurro, F., Jedidi, N., Abdelly, C. (2009). Effectiveness of compost use in salt-affected soil. *Journal of Hazardous Materials*, 171(1), 29-37.
- Lehmann, J., Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528(7580), 60.

- Leogrande, R., Vitti, C. (2019). Use of organic amendments to reclaim saline and sodic soils: a review. *Arid Land Research and Management*, 33(1), 1-21.
- Li, H. F., Imai, T., Ukita, M., Sekine, M., Higuchi, T. (2004). Compost Stability Assessment Using a Secondary Metabolite: Geosmin. *Environmental Technology*, 25 (11) 1305–1312.
- Mäder, P., Fliessbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., Niggli, U. (2002). Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*, 296(5573), 1694-1697.
- Maki-Diaz, G., Pena-Valdivia, C. B., Garcia-Nava, R., Arévalo-Galarza, M. L., Calderon-Zavala, G., Anaya-Rosales, S. (2015). Physical and chemical characteristics of cactus stems (*Opuntia ficus-indica*) for exportation and domestic markets. *Agrociencia (Montecillo)*, 49(1), 31-51.
- Manios, T. (2004). The composting potential of different organic solid wastes: experience from the island of Crete. *Environment International*, 29, 1079–1108.
- Mata-Fernández, I., Rodríguez-Gamiño, M., López-Blanco, J., Vela-Correa, G. (2014). Dinámica de la salinidad en los suelos. *Revista Digital E-Bios del Departamento El Hombre y su Ambiente*, UAM-X, 1(5), 26-35.
- Meena, M. D., Joshi, P. K., Jat, H. S., Chinchmalatpure, A. R., Narjary, B., Sheoran, P., Sharma, D. K. (2016). Changes in biological and chemical properties of saline soil amended with municipal solid waste compost and chemical fertilizers in a mustard–pearl millet cropping system. *Catena*, 140, 1-8.
- Michler, L. (2013). *Assessment of Compost Produced from Organic Urban Residues by the Processing Plant of Mexico City*. Bachelor Thesis. Universidad de Hohenheim, Alemania.
- Misra, R. V., Roy R. N., Hiraoka, H. (2003). *On-farm composting methods*. Food and Agriculture Organizations of the United Nations. Rome.
- Navarro, G. (2003). *Química Agrícola. El Suelo y los Elementos Químicos Esenciales para la Vida Vegetal*. 2ª, Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 487p
- Neher, D. A., Weicht, T. R., Bates, S.T., Leff, J.W., Fierer, N. (2013). Changes in bacterial and fungal communities across compost recipes, preparations methods, and composting times. *PLoS One*, 8, e79512.
- Nobel, P.S. 2002. Cactus physiological ecology, emphasizing gas exchange of *Platyopuntias* fruit. *Acta Horticulturae*, 58: 143–150

- Noll, M. R. (2003). Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. *Journal of Environmental Quality*, 32(1), 374.
- Norma Técnica Estatal Ambiental. (2006). NTEA-006-SMA-2006. Que establece los requisitos para la producción de los mejoradores de suelos elaborados a partir de residuos orgánicos.
http://sma.edomex.gob.mx/sites/sma.edomex.gob.mx/files/files/sma_pdf_ntea_006_sma_rs_2006.pdf
- Organización de las Naciones Unidas para al Alimentación y la Agricultura (FAO). (2018). *Ecología del Cultivo, Manejo y Usos de Nopal*. Inlgese P, Mondragon C, Nefzaoui A, Sáñez C (editores). Organización de las Naciones Unidas para al Alimentación y la Agricultura. Centro Internacional de Investigaciones Agrícolas en Zonas Áridas. Roma.
- Organización de las Naciones Unidas para al Alimentación y la Agricultura (FAO). (2011). *Organic Agriculture and Climate Change Mitigation. A Report of the Round Table on Organic Agriculture and Climate Change*. Natural Resources Management and Environment Departament. 82 p. <http://www.fao.org/docrep/015/i2537e/i2537e00.pdf>
- Ouni, Y., Lakhdar, A., Scelza, R., Scotti, R., Abdelly, C., Barhoumi, Z., Rao, M. A. (2013). Effects of two composts and two grasses on microbial biomass and biological activity in a salt-affected soil. *Ecological engineering*, 60, 363-369.
- Padel, S. (2001). Conversion to organic farming: a typical example of the diffusion of an innovation?. *Sociologia Ruralis*, 41(1), 40-61.
- Pergola, M., Persiani, A., Palese, A. M., Di Meo, V., Pastore, V., D'Adamo, C., Celano, G. (2018). Composting: The way for a sustainable agriculture. *Applied Soil Ecology*, 123, 744-750.
- Procuraduría General de Protección al Ambiente (PROFEPA). (2016). *Ley General para la Prevención y Gestión integral de los Residuos*.
http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/263_190118.pdf
- Ramos, A., Alfonso, E. T. (2014). Generalities of the organic manures: Bocashi's importance like nutritional alternative for soil and plants. *Cultivos Tropicales*, 35(4), 52-59.
- Reddy, N., Crohn, D. M. (2012). Compost induced soil salinity: a new prediction method and its effect on plant growth. *Compost Science and Utilization*, 20(3), 133-140.

- Richards, L. A. (1993). *Diagnóstico y Rehabilitación de suelos salinos y sódicos*. LIMUSA. México. 172p.
- Rodríguez, M., Córdova, A. (2006). *Manual de Compostaje Municipal*. Tratamiento de Residuos Sólidos Urbanos. SEMARNAT. INE. México.
- Rojas-Valencia, M. N. y Macías, D. (2013). *La ingeniería y el manejo sustentable de residuos sólidos urbanos*. IC Ingeniería Civil Órgano oficial del Colegio de Ingenieros Civiles de México I Núm. 528.
- Roy, R. L. B., Al Rejah, R., Baruah, K., Saikia, R., Dey, S. (2017). Decentralized composting of vegetable market waste through pit composting: An alternative for urban city waste. *International Journal of Environmental Science and Development*, 8(4), 295.
- Ryckeboer, J., Mergaert, J., Vaes, K., Klammer, S., De Clercq, D., Coosemans, J., Swings, J. (2003). A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiology*, 53(4), 349-410.
- Sadzawka, A., Carrasco, M. A., Grez, E., de la L. Mora, M. (2005). *Métodos de Análisis de Compost*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Serie Actas INIA N° 30. Chile.
- Sánchez, Ó. J., Ospina, D.A., Montoya, S. (2017). Compost supplementation with nutrients and microorganisms in composting process. *Waste Management*, 69, 136-156.
- Santiago-Lorenzo, M., López-Jiménez, A., Saucedo-Veloz, C., Cortés-Flores, J. I., Jaén-Contreras, D., Suárez-Espinosa, J. (2016). Composición nutrimental del nopal verdura producido con fertilización mineral y orgánica. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(4), 403-407.
- Sanz, M. (2017). *Selección y caracterización de mutantes de Arabidopsis alterados en la respuesta a metales pesados*. Tesis Doctorado. Universidad de Granada.
- Sarabia-Meléndez, I. F., Cisneros Almazán, R., Aceves de Alba, J., Durán García, H. M., Castro Larragoitia, J. (2011). Calidad del agua de riego en suelos agrícolas y cultivos del Valle de San Luis Potosí, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(2), 103-113.
- Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación (SECITI). 2017. *Informe 2. Sistema de monitoreo de la contaminación por metales pesados en polvos urbanos de la Ciudad de México*.

http://data.seciti.cdmx.gob.mx/transparencia/sites/default/files/articulosnuevo/1er_Trim_Informe_Ejecutivo_SECITI_051_2016_2.PDF

Secretaría del Medio Ambiente del Distrito Federal (SMADF). (2016). *Inventario de Residuos Sólidos del Distrito Federal. México.*
<https://www.sedema.cdmx.gob.mx/storage/app/media/IRS-2016.pdf>

Secretaría del Medio Ambiente del Gobierno de la Ciudad de México (SEDEMA-CDMX). (2017). *Inventario de Residuos Sólidos (IRS) CDMX.*
https://www.sedema.cdmx.gob.mx/storage/app/media/IRS_2017_FINAL_BAJA.pdf

Silva, M. E. F., Lemos, L. T., Bastos, M. M., Nunes, O. C., Cunha-Queda, A. C. (2013). Recovery of humic-like substances from low quality composts. *Bioresource Technology*, 128, 624-632.

Soliva, M., López, M. (2004). Calidad del compost: Influencia del tipo de materiales tratados y de las condiciones del proceso. En: *Formación de técnicos para el tratamiento y gestión de lodos de depuradora*. Valsaín. CENEAM/MIMAM. 20p.

Sullivan, D. M., O. Miller, R. (2001). Compost quality attributes, measurements and variability. In: Stoffella P. J. and B. A. Kahn (Eds). *Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems*. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp. 95 – 120.

Sundrum, A. (2001). Organic livestock farming: a critical review. *Livestock Production Science*, 67(3), 207-215.

Sztern, D., Pravia, M. A. (1999). *Manual para la Elaboración de Compost: Bases Conceptuales y Procedimientos*. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud.

Tejada, M., García, C., González, J. L., Hernández, M. T. (2006). Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation: influence on the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(6), 1413-1421.

Test Method for the Examination of Composting and Compost (TMECC) Methods 05.02. 2002. Indicator ratios. In: *The United States Composting Council. Test Methods for the Examination of Composting and Compost*, N.Y., USA.

- Tran, Q. T. (2015). 7-2-5 Salinity and nutrient effects of cattle manure ash on shoot and root growth at the seedling stage of Komatsuna. In *Abstracts of the Annual Meetings, Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition*, 61 (p. 148).
- Wu, L., Ma, L. Q., Martinez, G. A. (2000). Comparison of methods for evaluating stability and maturity of biosolids compost. *Journal of Environmental Quality*, 29(2), 424-429.
- Zúñiga-Tarango, R., Orona-Castillo, I., Vázquez-Vázquez, C., Murillo-Amador, B., Salazar-Sosa, E., López-Martínez, J. D., de Santa Rita, C. P. P. (2009). Desarrollo radical, rendimiento y concentración mineral en nopal *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en diferentes tratamientos de fertilización. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 11(3), 53-68.

Capítulo 2. USO DE BACTERIAS COMO MEJORADORES DE SALINIDAD DURANTE UN PROCESO DE COMPOSTAJE

1. Introducción

La recuperación de suelos salino-sódicos es un tema que acentúa la necesidad de desarrollar prácticas de manejo que mantengan al recurso suelo (Lu et al. 2015). Una de las técnicas más utilizadas para la recuperación de suelos salinos-sódicos es el aprovechamiento de los residuos orgánicos (RO) agrícolas a través de la técnica de compostaje (Sánchez et al. 2017). La composta representa una alternativa para agricultores con bajos recursos debido a su bajo costo y gran aporte nutricional (Rodríguez et al. 2012; Neher et al. 2013; Ramos y Alfonso 2014; Sánchez et al. 2017). Otras alternativas de recuperación de estos suelos, son la aplicación de enmiendas químicas como el azufre, así como también, el uso conjunto de enmiendas químicas con enmiendas biológicas como los microorganismos (Stamford et al. 2015; Sánchez et al. 2017). Sin embargo, el uso de enmiendas químicas puede resultar costoso; por ello, su uso en conjunto con microorganismos (entre los que destacan las bacterias oxidantes de azufre (SOB, por sus siglas en inglés)), puede reducir los costos económicos y ambientales asociados con el uso individual de enmiendas químicas (Sahin et al. 2011; Biswas y Biswas 2014; Stamford et al. 2015; Meena et al. 2016).

Respecto a la composta, Leogrande y Vitti (2019) indicaron que su contenido de sales aumenta la salinidad del suelo, limitando la producción agrícola a causa de la reducción en la producción de biomasa vegetal debido a la inhibición de la absorción de nutrientes por las raíces, particularmente nitrógeno, potasio y fósforo (Chong 2005; Lakhdar et al. 2009; Illera-Vives et al. 2012; Shrivasta y Kumar 2015; Pérez-Gimeo et al. 2016; Sattar et al. 2017). Por ello, el propósito de esta investigación fue obtener una composta con alta concentración de sales y probar, si la aplicación de un método biológico como el uso de bacterias de los géneros *Thiobacillus* y *Acidithiobacillus* es eficiente para disminuir algunos parámetros asociados con la salinidad sódica durante un proceso de compostaje, pues se ha reportado que estas bacterias promueven la lixiviación de sales solubles y disminuyen el pH, logrando un efecto significativo sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de suelos salinos sódicos (Seyyedi et al. 2015; Stamford et al. 2015).

2. Marco teórico

2.1 Materia Orgánica

La descomposición de los vegetales hasta los productos finales de mineralización va acompañada de la transformación de sustancias de naturaleza orgánica que se conoce como materia orgánica del suelo (MOS). Estas sustancias forman parte de un sistema que se renueva continuamente como resultado de la neoformación y descomposición de las sustancias que la integran, e incluyen hidratos de carbono, celulosa, hemicelulosa, lignina, taninos, proteínas y lípidos que provienen de plantas, animales, microorganismos y sus productos. Los procesos de neoformación y descomposición de estas sustancias dependen de la cantidad y naturaleza de los restos orgánicos, la actividad de los microorganismos, así como de los regímenes hídricos y térmicos. Los restos vegetales se humifican más rápidamente entre mayores componentes de fácil descomposición tengan (carbohidratos, proteínas) y menos componentes estables (en especial, lignina). Los residuos orgánicos (RO) que se incorporan al suelo se someten a múltiples procesos de transformación hasta los componentes elementales de las proteínas, carbohidratos y otros. Los productos resultantes pueden ser objeto de nuevos procesos de síntesis y polimeración dando lugar a ácidos húmicos (Kononova 1982; Fassbender y Bornemisza 1994; Porta et al. 2003).

Todos los materiales vegetales pueden descomponerse por microorganismos hasta los productos finales de mineralización y participar a través de complejas transformaciones en la formación de sustancias húmicas. El proceso de humificación de restos vegetales se acompaña por mineralización parcial de carbono (C) hasta dióxido de carbono (CO₂), H₂O, amoníaco (NH₃) y otros (Kononova 1982; Fassbender y Bornemisza 1994).

2.2 Humificación

Durante el compostaje, la materia orgánica (MO) original se convierte en diversos productos que se clasifican de acuerdo a su grado de descomposición, como a su unión con la fracción mineral; así tenemos MO no humificada y MO humificada. La primera es considerada la materia prima para la formación de las sustancias

húmicas, se compone por la biomasa vegetal senescente junto con restos, deyección y secreciones de animales, también contiene a la biomasa microbiana y microfauna, está muy poco o nada alterada y no se encuentra unida a la fracción mineral por lo que es fácilmente degradable por enzimas específicas y por tanto permanece poco tiempo en el suelo. (Schnitzer y Khan 1989; Kononova 1982).

La MO humificada, es también conocida como humus e incluye quelatos y moléculas de bajo y alto peso molecular, que aportan al suelo micro y macronutrientes. Estas sustancias son el resultado de los procesos de humificación de la materia orgánica por acción microbiana y procesos abióticos, y se encuentran constituidas por los exudados derivados de la síntesis de plantas y microorganismos por lo que tienen uniones débiles con la fracción mineral; tienen incidencia sobre las propiedades físicas, químicas, biológicas y dan lugar a múltiples interrelaciones. Constituyen la fracción más activa de la materia orgánica y representa entre un 60 y un 80% de la materia orgánica del suelo (Kononova 1982; Aguilera 1989; Porta et al. 2003).

La humificación se define como el conjunto de procesos de síntesis, resíntesis y polimerización que conducen a la formación de sustancias húmicas (Fassbender y Bornemisza 1994; Sztern y Pravia 1999). Sus productos son: ácidos fúlvicos, ácidos húmicos y huminas. Los primeros se caracterizan por ser fuertemente ácidos, lo que les confiere la capacidad de meteorización de minerales, tienen una coloración (amarillento-rojo) debido a su menor contenido de carbono y mayor de oxígeno, además tienen una buena solubilidad en agua por lo que permanecen en solución después de que se acidifican los extractos alcalinos acuosos. Los segundos son polímeros entrelazados formando coloides, pueden ser de coloración marrón-rojiza, pardos o grises, son materiales de humus solubles en soluciones acuosas alcalinas pero que precipitan cuando el pH se ajusta a 1–2. Finalmente las huminas, son un conjunto de sustancias húmicas que no se extraen con soluciones alcalinas, muy parecida a los ácidos húmicos pero descalcificadas y difíciles de aislar (Kononova 1982; Porta et al. 2003). Estos productos son considerados ecológicamente útiles ya que proporcionan capacidad de intercambio catiónico, además de ser químicamente reactivas, por lo que interactúan con hierro, aluminio y otros elementos; también son inherentemente estables contra descomposición adicional (Fassbender y Bornemisza 1994; Lehmann y Kleber 2015).

La fracción más o menos estable de la MO que se obtiene después de la descomposición y transformación de la mayor parte de sustancias orgánicas de residuos vegetales y animales por acción microbiana, se llama humus. Éste es una asociación supramolecular de naturaleza coloidal autoensamblada de pequeñas moléculas heterogéneas que se mantienen unidas principalmente por enlaces hidrofóbicos débiles. A diferencia de los coloides minerales del suelo es amorfo y no cristalino por lo que su superficie y capacidad de adsorción son más grandes que las arcillas, lo que le permite adsorber y dejar en reserva cationes como el NH_4^+ , que es esencial para la nutrición vegetal. Sus micelas están compuestas por C, O, H, N, y comunmente es de color oscuro (Fassbender y Bornemisza 1994; Hartz and Bottoms 2010; Sen et al. 2020).

De acuerdo con la clasificación canadiense, el humus incluye tres órdenes: mor, moder, mull. Cada uno de estos se caracteriza por un conjunto específico de propiedades químicas. Sin embargo, debido a la gran variabilidad de la MOS, es posible encontrar dentro del mismo taxón de clasificación del suelo varias formas de humus. Estas formas reflejan la especificidad del funcionamiento de la biota del suelo así como como la naturaleza dinámica de la formación de humus, que determina la tasa de renovación biológica y el desarrollo de la vegetación, así como sus relaciones con los factores ambientales (Chertov y Nadporozhskaya 2018).

2.3 Compostaje

El compostaje es un proceso aerobio de transformación sólida, en el cual los materiales orgánicos son transformados por microorganismos a compuestos estables (Sánchez et al. 2017). Este proceso está regido por la actividad microbiana, por lo que el Nitrógeno (N), Carbono (C), Oxígeno (O) y agua son indispensables para una óptima degradación de la materia orgánica. Durante el proceso, los microorganismos consumen oxígeno y generan CO_2 , calor y elementos mineralizados (Romero 2013).

Los cambios de temperatura durante el proceso de compostaje aceleran la descomposición de proteínas, grasas, además de carbohidratos complejos como la celulosa y hemicelulosa, transformando los compuestos en moléculas más estables (Füleky y Benedek 2010; Alidadi et al. 2016). Durante el proceso de compostaje la reducción de tamaño es esencial para facilitar el ataque microbiano al incrementar la

superficie expuesta (Misra et al. 2003). Además, altas temperaturas destruyen microorganismos patógenos, así como semillas de malas hierbas (Jaramillo y Zapata 2008; Füleky y Benedek 2010).

Existen investigaciones que señalan que el uso de compostas puede ser una alternativa para combatir la salinidad en el suelo, debido a que aumenta la capacidad de intercambio catiónico, así como el potasio soluble e intercambiable, limitando de esta manera la entrada de sodio en el complejo de intercambio del suelo. Además de que facilita la solubilidad de las sales de calcio precipitadas en el suelo (Salinas 2002; Walker y Bernal 2008; Lakhdar et al. 2008; 2009). Sin embargo, también se ha reportado que el uso de composta puede tener efectos negativos en sistemas agrícolas debido a su elevada salinidad (Pérez-Gimeo et al. 2016; Leogrande y Vitti 2018).

2.4 Control del compostaje

El control del compostaje inicia con la selección de material que se va a compostar. Como ya se mencionó, los restos vegetales se humifican más rápido entre más elementos de fácil descomposición tengan, y más lento si contienen elementos estables. Por ello, se recomienda utilizar leguminosas, hierbas vivaces y gramíneas por ser de rápida mineralización y por lo tanto, mejor fuente de humus (Kononova 1982; Soliva y López 2004). Esto, en conjunto con las condiciones del proceso, determina la calidad de la composta. Además, durante el proceso de degradación se requiere del control y monitoreo del contenido de N, C, O, así como también de temperatura, pH, agua, entre otros (Rodríguez y Córdova, 2006), mismos que se detallan a continuación.

2.4.1 Relación Carbono/Nitrógeno

Se considera a los elementos C y N como esenciales, debido a que los microorganismos los requieren tanto para la obtención de energía, como para la síntesis de proteínas. En el caso del compostaje, estos deben encontrarse en proporciones adecuadas para una buena acción microbiana (Kononova 1982; Misra et al. 2003; Ndegwa y Thompson 2000). El parámetro que mide esta proporción se llama relación carbono/nitrógeno (C/N) y se refiere a la riqueza relativa de la

composta en nitrógeno. Éste es un importante parámetro agronómico, que sugiere un valor inicial entre 20 y 40, con un óptimo entre 25 y 30, y con valores finales de entre 10 y 25. Se considera que un rango de 12-15 es apropiado para uso agronómico (Sztern y Pravia 1999; Misra et al. 2003; Rodríguez y Córdova 2006; Romero 2013; Soliva y López 2004; Nakhshiniev et al. 2014).

Cuando los valores iniciales no cumplen con el intervalo indicado, se puede impulsar los procesos microbianos con la adición de N para eliminar el déficit que limita el crecimiento microbiano ($C:N > 40$). Mientras que, cuando está por debajo ($C:N < 20$), el exceso de N se pierde en forma de amoníaco u óxido nitroso, lo que puede generar problemas de olor, además de la emisión de gases con efecto invernadero (Labrador et al. 1993; Misra et al. 2003).

2.4.2 Temperatura

El aumento de temperatura durante el compostaje, es consecuencia tanto de la actividad metabólica de los diferentes microorganismos como de la relación superficie/volumen de las pilas, ya que la reducción de tamaño facilita el ataque microbiano al incrementar la superficie expuesta y por tanto eleva la temperatura (Sztern 1999). El control de este parámetro es clave durante el proceso ya que marca el compostaje debido a la sucesión y actividad de los microorganismos que participan y que establecen efectos sintróficos y de nutrición cruzada, causando variaciones de temperatura que permiten una buena maduración de la composta (Sztern 1999; Soliva y López 2004; Rodríguez y Córdova 2006; GDF 2010).

Diversos autores coinciden en que, en condiciones óptimas, el proceso de compostaje se puede dividir en cuatro fases principales, aunque Sztern (1999) incluye una fase adicional inicial:

1. Latencia o etapa inicial de descomposición. Considerada desde la formación de la pila hasta el incremento de temperatura. La duración de esta etapa depende de la relación C/N, del pH y de la concentración parcial de oxígeno, así como de la humedad, que en conjunto afectan la carga microbiana presente (Sztern 1999).

2. Primera Mesofilia. Se caracteriza por temperaturas entre 10 - 40 °C. La actividad de bacterias y hongos produce fermentaciones facultativas, procesos de nitrificación y oxidación de compuestos reducidos de S, P, entre otros, que elevan la temperatura hasta el punto en que sus propias actividades se suprimen. Esta fase es particularmente sensible al binomio humedad-aireación y puede durar sólo unas horas o hasta un par de días (Sztern 1999; Álvarez 2003; Ryckeboer et al. 2003).
3. Termofilia. Fase en donde ocurre la mayor tasa de descomposición de la materia orgánica como consecuencia de la mayor actividad bioquímica de los microorganismos que favorece oxidaciones biológicas exotérmicas (Misra et al. 2003; GDF 2010). Se caracteriza por temperaturas de 40 – 75 °C, con una humedad entre 60 - 80 % de la capacidad hídrica total. En este rango de temperatura los hongos y bacterias termófilas degradan ceras, polímeros y hemicelulosa; además, se eliminan microorganismos patógenos, esporas y semillas (Kononova 1982; Álvarez 2003). Hay generación de vapor de agua, así como CO₂ que resulta letal para larvas de insectos (Sztern 1999). Esta etapa puede durar unos pocos días o hasta varias semanas dependiendo del material composteado (Ryckeboer et al. 2003).
4. Segunda Mesofilia. Fase caracterizada por el agotamiento de compuestos de fácil descomposición como glúcidos, proteínas, péptidos, aminoácidos, grasas, ceras, poliésteres y ácidos orgánicos de bajo peso molecular; y el descenso de la temperatura. Rebasado el umbral de los 40 °C se da paso al desarrollo de microorganismos mesófilos que degradan celulosas y ligninas (Sztern 1999; Porta 2003).
5. Fase de maduración y estabilización. Esta etapa se identifica cuando la oxigenación ya no calienta la pila y eventualmente, la temperatura presenta valores cercanos a la temperatura ambiente (Misra et al. 2003). Hay estabilización y polimerización del carbono orgánico a temperatura ambiente, descende el consumo de oxígeno y desaparece la fitotoxicidad. Esta etapa puede durar de varias semanas a varios meses (Ryckeboer et al. 2003). Este proceso resulta esencial para la obtención de una composta de buena calidad que contribuye al mejoramiento de la nutrición y estructura del suelo.

2.4.3 Oxígeno

Si bien es cierto que el contenido de oxígeno está estrechamente relacionado con la temperatura, ya que el aumento de la población microbiana durante la fase inicial de la descomposición necesita una mayor cantidad de oxígeno y al mismo tiempo provoca el aumento de la temperatura. También es cierto que es necesario el suministro y control de aire para eliminar el calor excesivo, el vapor de agua y otros gases atrapados en la pila. De lo contrario hay una descomposición más lenta debido al crecimiento limitado de microorganismos aeróbicos, propiciando una condición anaerobia que genera olores nauseabundos especialmente de amoníaco, y ácido sulfhídrico (Sztern y Pravia 1999; Misra et al. 2003; Rodríguez y Córdova 2006; GDF 2010).

Para asegurar un compostaje eficiente, es necesario asegurar una frecuencia adecuada de volteo, así como controlar la calidad física de los materiales (tamaño de partícula, contenido de humedad y tamaño de pila (Misra et al. 2003).

2.4.4 Humedad

La humedad es otro parámetro importante durante el compostaje, considerada un elemento crítico para lograr la optimización del compostaje. Esto se debe a que la presencia de agua es imprescindible para cubrir las necesidades fisiológicas de los microorganismos que intervienen en la descomposición, además de ser el medio de transporte tanto de las sustancias solubles que sirven de alimento a las células como de los productos de desecho de esa reacción (Misra et al. 2003; Rodríguez y Córdova 2006).

Un déficit de humedad restringe el proceso debido a que disminuye la actividad microbiana; mientras que, un exceso de humedad favorece una degradación anaerobia por desplazamiento del aire en los espacios libres existentes entre las partículas; lo que origina escurrimientos, malos olores, disminuye la velocidad del proceso y puede favorecer la disminución de la temperatura (Rodríguez et al. 1995; Sztern y Pravia 1999; Álvarez 2003; GDF 2010; GODF 2012; Han et al. 2014).

De acuerdo con Misra et al. (2003) la humedad óptima para el crecimiento microbiano se encuentra entre 40 - 60 %, con una buena aireación. Aunque Kononova (1982) indicó mayor abundancia de microorganismos con humedad cercana a la higroscopía máxima, es decir, la mayor cantidad de agua que se puede retener. En la práctica, es aconsejable comenzar la pila con un contenido de humedad del 50 - 60 %, finalizando en alrededor del 30 % (Misra et al. 2003; GODF 2012).

2.4.5 pH

El pH es otro parámetro indicador del proceso de compostaje. Al igual que la temperatura, el pH presenta cambios como consecuencia de la sucesión de los grupos fisiológicos (Sztern y Pravia, 1999). El descenso inicial se debe a la formación de ácidos orgánicos producidos por microorganismos. Este evento representa la fase acidogénica del compostaje que promueve el crecimiento de hongos que atacan lignina y celulosa, y coincide con el paso de la fase mesofílica a la fase termofílica (Brinton et al. 1995; Álvarez 2003; Rodríguez y Córdova 2006). A medida que aumenta la temperatura, estos ácidos se volatilizan e inicia la fase de alcalinización, que se caracteriza por el aumento de pH de 6 a 8.5 debido a la producción de NH_4^+ , así como a la liberación de amoníaco como consecuencia de la degradación de aminas procedentes de proteínas y bases nitrogenadas. Este aumento favorece la actividad bacteriana que aprovecha el N liberado para su crecimiento, dando paso a la siguiente fase de maduración (Yang et al. 2015; Alidadi et al. 2016; Sánchez et al. 2017; Jorge et al. 2018).

La fase denominada estacionaria se da al finalizar el proceso. Se caracteriza por un pH cercano a la neutralidad con valores entre 5.5 – 8.5, en donde la MO se estabiliza y se dan reacciones lentas de policondensación (Álvarez 2003; Rodríguez y Córdova 2006; Gutiérrez y Fimbres 2012; Nakhshiniev et al. 2014).

2.4.6 Conductividad Eléctrica

La CE está regulada por la liberación y estabilización de iones nutrientes durante el proceso de mineralización de la materia orgánica, en particular, la formación de NH_4^+ al inicio del proceso, así como por la precipitación y disolución de sales de nitratos y carbonatos después de la fase termofílica (Jorge et al. 2018). Es

un parámetro al que se debe dar seguimiento debido principalmente a que su exceso puede relacionarse con un mal control del proceso, con materiales contaminados o un uso excesivo de lixiviados o aguas salinas, lo que representa una alta presión osmótica para los microorganismos que puede ser letal y causar problemas al detener o retardar el proceso (Soliva y López 2004; Han et al. 2014; Alidadi et al. 2016).

2.5 Problemática de la salinidad en composta

Es bien conocido que las condiciones químicas, físicas y biológicas del suelo pueden mejorarse mediante la incorporación de composta, sin embargo, existe una preocupación creciente en torno a una alta concentración de sales solubles en la composta, generando fitotoxicidad que puede alterar el equilibrio de los sistemas agrícolas.

Se sabe que bajas concentraciones de sal estimulan la mineralización del carbono, elevando la intensidad de la descomposición, mientras que altas concentraciones pueden convertirse en tóxicas para los organismos y promueven el empeoramiento de las propiedades físicas y químicas del suelo, y de los procesos microbiológicos (Kononova 1982; Abad et al. 2001; Chandra et al. 2002; Wander 2004; Chong 2005; Lakhdar et al. 2009).

2.6 Microorganismos como mejoradores de salinidad sódica

En la actualidad se considera que el uso de microorganismos es una excelente estrategia para recuperar suelos con altas concentraciones de sales (El-Tarabily et al. 2006; Stamford et al. 2007). Se sabe que algunos microorganismos aumentan la conductividad hidráulica del suelo promoviendo la lixiviación de sales (Sahin et al. 2011); otros microorganismos producen exopolisacáridos (EPS) que se unen al Na^+ haciendo que se encuentre menos disponible para la absorción de las plantas (Abokoraan 2016). Stamford et al. (2007; 2015) mencionaron que las SOB tienen una función importante en la oxidación de formas reducidas de S, como el azufre elemental hasta ácido sulfúrico, tal como señalan Suzuki et al. (1992) y Pokorna y Zabranzka (2015), con lo cual se promueve la remoción del exceso de sales solubles, así como del Sodio (Na) intercambiable.

2.6.1 Bacterias oxidantes de azufre

Las SOB pueden ser fotoautotróficas, que obtienen energía a partir de la luz, o quimiolitótroficas que obtienen energía de reacciones oxidantes. Entre las bacterias fototróficas, se encuentran las bacterias verdes y las púrpuras. Las bacterias quimiolitótrofas oxidantes de azufre conocidas como bacterias incoloras de azufre se clasifican de acuerdo a su fuente de carbono y su fuente de energía, por lo que pueden ser quimiolitótrofas obligadas o quimiolitótrofas facultativas. Las primeras usan CO_2 como fuente de carbono y diferentes compuestos de azufre inorgánicos para obtener energía. Las segundas utilizan CO_2 para construir nuevo material celular y compuestos inorgánicos para obtener energía, pero además pueden usar compuestos orgánicos de forma heterótrofa para obtener Carbono y energía (Pokorna y Zabranzka 2015). Estas bacterias presentan una membrana extra alrededor de la capa de peptidoglicanos, llamada espacio periplásmico o periplasma que tiene un papel vital para el crecimiento celular, ya que es allí donde se oxida el H_2S (Ferguson 1991; Kuenen et al. 1992; Alcántara 2000; Kelly y Wood 2000; Cancino 2003; Juárez 2004; Atlas y Bartha 2005; Robertson y Kuenen 2006, Espinosa et al. 2010).

Las SOB tienen un papel ecológico significativo en la naturaleza, en especial aquellas que tienen un metabolismo quimiolitótrofo, pues la acidez producida durante la oxidación de S^0 aumenta la disponibilidad de nutrientes como P, Mn, Mg, Cu, Fe y SO_4 en los suelos, lo que puede mejorar las características físicas y químicas de los mismos (El-Tarabily et al. 2006). De acuerdo con Zhi-Hui et al. (2010), la oxidación biológica de S^0 comprende los siguientes pasos de oxidación: $\text{S}^0 \rightarrow \text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{S}_4\text{O}_6^{2-} \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$. En presencia de hidrógeno molecular, la ruta puede continuar hasta la formación de ácidos como el ácido sulfúrico (H_2SO_4) (Kappler et al. 2000; Madigan et al. 2003; Stamford et al. 2008; Pokorna y Zabranzka 2015).

Las bacterias oxidantes de azufre se encuentran distribuidas ampliamente en los suelos, aunque son relativamente menos abundantes en los suelos agrícolas, por lo tanto, para obtener un efecto satisfactorio en la recuperación del suelo salino, se deben adicionar cepas en el suelo o incluir algún sustrato que les sea favorable para su desarrollo (Stamford et al. 2015).

Aunque los quimiolitótrofos exhiben una extraordinaria diversidad de sustratos, morfología y hábitat (Kelly y Wood 2013). Las bacterias oxidantes del azufre quimiolitotróficas consisten en dos grupos morfológica y taxonómicamente distintos. Un grupo son bacilos cortos del género *Thiobacillus*, y otro grupo son bacterias filamentosas de los géneros *Beggiatoa* y *Thiothrix* (Pokorna y Zabranzka 2015).

En el siglo pasado, el genero *Thiobacillus* estaba constituido por un grupo heterogéneo que incluía especies con una amplia gama de condiciones físico-químicas de crecimiento, además de una gran diversidad biológica y morfológica (Holt et al. 1994; Flores 2008; Tang et al. 2007). En el año 2000 con base en el análisis de sus secuencias genéticas 16S ARNr e hibridación ADN-ADN, fue reclasificado en los géneros: *Thiobacillus*, *Acidithiobacillus*, *Halothiobacillus* y *Termithiobacillus* (Kelly y Wood 2000).

Algunos estudios han descrito que mezclas de azufre inoculado con bacterias oxidantes el género *Acidithiobacillus* aumenta la disponibilidad de nutrientes debido a la acidez generada por el ácido sulfúrico producido, que actúa para liberar nutrientes de los minerales (Stamford et al. 2015). Otros estudios han demostrado que con la oxidación de S⁰, las poblaciones de especies como *Thiobacillus* aumentan en el suelo (Zhi-Hui et al. 2010).

2.6.1.1 *Thiobacillus thioparus*

Esta especie fue estudiada por Nathansohn (1902) y descrita en 1904 por Beijerinck (Kelly y Wood 2000). Es considerada la especie tipo, razón por la cual, tras la modificación de Kelly y Wood (2000) conserva el nombre de la especie. Son miembros de las β proteobacterias y pertenece al grupo de las bacterias incoloras del azufre que no acumulan azufre dentro de sus células pero que deposita grandes cantidades de azufre molecular. Se trata de quimiolitótrofos aerobios estrictos que

oxidan compuestos reducidos de azufre o hierro a sulfatos, crecen a valores de pH cercanos a 7, y a 30 °C de temperatura. Se caracterizan por ser bacilos de 0.5 x 1-4µm, Gram negativos, móviles (con flagelos polares), formadores de colonias lechosas a amarillas en medio de cultivo selectivo y se encuentran comúnmente en suelo, lodos y agua (Waksman y Joffe 1922; Kuenen et al. 1992; Kelly y Wood 2000; Vidyalakshmi et al. 2009).

La oxidación de S⁰ por *Thiobacillus* es un proceso complejo que involucra la formación de productos como tiosulfato, tetrionato y sulfito, que finalmente se oxidan a sulfato (Suzuki 1999; Pokorna y Zabranzka 2015).

2.6.1.2 *Acidithiobacillus thiooxidans*

Las *Acidithiobacillus* son bacterias acidófilas, aerobias y quimiolitótrofas que utilizan compuestos reducidos de azufre como fuente de energía, y fijan CO₂ como única fuente de carbono para su biomasa por medio del ciclo de Calvin-Benson-bassham (Chen et al. 2004; Khan et al. 2012). Pertenecen a las γ-proteobacterias incoloras que no acumulan azufre ni dentro ni fuera de sus células (Kuenen et al. 1992; Kelly and Wood 2000; Khan et al. 2012). De acuerdo con Vidyalakshmi et al. (2009) existe mucha controversia con respecto a su tamaño, así como a su indentificación Gram. Sin embargo, diversas investigaciones reportan bacilos cortos de entre 0.5 x 1-2 µm, Gram negativos, móviles por uno o más flagelos polares; que se adhieren a las superficies por medio de glicocalix (Kuenen et al. 1992; Kelly and Wood 2000; Khan et al. 2012; Starosvetsky et al. 2013).

Crecen de forma óptima a una temperatura de 28 – 30 °C, y un pH de 2.0–3.5, aunque también puede crecer en condiciones extremas de pH 1 (Kelly y Wood 2000; Seidel et al. 2001; Khan et al. 2012; Pokorna y Zabranzka 2015). Son importantes en la catálisis microbiana de sulfuro, comúnmente considerado como el proceso mas importante de oxidación de S⁰ en suelos Zhi-Hui et al. (2010).

3. Justificación

México presenta problemas de degradación del suelo por salinidad en una parte importante de su territorio, principalmente en zonas agrícolas como consecuencia del riego con agua con potencial riesgo sódico y uso excesivo de fertilizantes, cuyo contenido de cloruros y sulfatos de sodio, calcio y magnesio pueden causar daños por exceso de salinidad en condiciones semiáridas; sumado a una mala condición del drenaje interno del suelo. Las plantas de cultivo son las más afectadas, ya que la mayoría de ellas son sensibles a las sales. Lo anterior en conjunto con el aumento en la demanda de alimentos, hace necesario realizar estudios relacionados con la disminución de salinidad en sistemas agrícolas para mitigar el efecto de esta problemática en los suelos.

En este proyecto se plantea que algunos microorganismos oxidadores de azufre como *Thiobacillus thioparus* y *Acidithiobacillus thiooxidans* pueden contrarrestar los efectos de la acumulación de sales, debido a que el ácido sulfúrico producido contribuye con la hidrólisis calcio (Ca) y carbonato de calcio (CaCO_3), produciendo un intercambio de calcio por sodio.

Debido a que ambos microorganismos son aerobios que crecen de forma óptima a temperaturas alrededor de los 30 °C y a valores de pH ácidos (*A. thiooxidans*) y neutros (*T. thioparus*), se plantea que MO en proceso de compostaje puede ser un sustrato adecuado para favorecer procesos de sulfo-oxidación y así contrarrestar los efectos de la acumulación de sales. El proceso de compostaje se caracteriza por presentar fases de temperatura mesófilas, pH ácido, y requiere contenido de humedad cercana a la capacidad de campo con buena aireación, lo cual, sumado a tamaños adecuados de partícula y el contenido de materia orgánica con humedad adecuada, pueden favorecer la actividad de estos microorganismos y con ello los procesos de oxidación de azufre.

4. Objetivo general

Evaluar la modificación de la composición de una composta producida con diferentes residuos orgánicos durante un proceso de compostaje a partir de la inoculación de las cepas bacterianas *Thiobacillus thioparus* y *Acidithiobacillus thiooxidans*.

4.1 Objetivos particulares

- Determinar la calidad química de una composta producida a base de restos de poda y estiércol bovino.
- Determinar la concentración de parámetros asociados a salinidad durante un proceso de compostaje.
- Caracterizar el efecto de la inoculación de las bacterias *Thiobacillus thioparus* y *Acidithiobacillus thiooxidans* en composta, sobre la disminución de parámetros asociados con salinidad.

5. Metodología

5.1 Montaje de la pila

La investigación se llevó a cabo durante 91 días entre los meses de agosto a noviembre de 2016, en el Centro de Investigación Biológica y Acuícola de Cuemanco (CIBAC). La selección del material fue realizada considerando la facilidad de su obtención, su degradabilidad, costos, así como fuente de C y N. Para esto último se consideró lo indicado por Kononova (1982) y Labrador (1993). Estos autores sugieren que la mejor fuente de humus son las leguminosas verdes, que en conjunto con estiércoles, aportan nitrógeno. Mientras que el carbono lo aportan residuos pajosos, hierbas secas, así como residuos leñosos de restos de poda.

Con el propósito de favorecer las condiciones adecuadas de degradación, se buscó iniciar con una relación C/N cercana a 25, pues diversos autores afirman que el rango óptimo para lograr un correcto equilibrio de estos nutrientes al inicio del compostaje es de 25 – 30, además de que promueve que el desarrollo microbiano sea eficientemente impulsado (Fourti 2013; Nakhshiniev et al. 2014). Para lograrlo, la composta fue elaborada a partir de estiércol de vaca, así como restos frescos y

secos de plantas de *Acacia retinodes*, *Fraxinus uhdei*, así como de *Erythrina coralloides* y *Cynodon dactylon*. El contenido de Nt, Cot de cada material se determinó utilizando un analizador elemental Thermo Scientific, modelo Flash 2000 siguiendo las indicaciones del fabricante con la finalidad de determinar las proporciones de material orgánico necesarias para una buena relación C/N. Una vez obtenidos los datos se aplicó la fórmula:

$$R = \frac{Q_1(C_1 \cdot (100 - M_1) + Q_2(C_2 \cdot (100 - M_2) + Q_n)}{Q_1(N_1 \cdot (100 - M_1) + Q_2(N_2 \cdot (100 - M_2) + Q_n)}$$

Donde R= C/N; Q=masa del material; C= %C; N= %N; M= Contenido de humedad

Una vez identificadas las proporciones necesarias, se inició el compostaje con la técnica de montaje de pila. En una plancha de concreto se colocó una rejilla de madera gruesa para facilitar una buena aireación del material. Sobre esta se apilaron los RO en las proporciones obtenidas y en capas alternadas comenzando con una capa de material vegetal verde seguida de material vegetal seco y después una capa de estiércol. Las dimensiones finales de la pila fueron 6 m de largo x 1.2 m de ancho x 0.8 m de alto. En paralelo a la formación de la pila, se insertaron tubos de PVC de 20 cm de diámetro a cada metro, con la finalidad de tener fuentes de aireación a lo largo de la pila de RO. Estos tubos se quitaron una vez montada la pila.

Para revisar el contenido de humedad de la pila montada, *in situ* se realizó una prueba de puño como se indica en De Luna-Vega et al. (2011) y Román *et al.* (2013). Para este procedimiento se toma una porción de la mezcla con el puño y se oprime con la finalidad de expulsar el exceso de agua. Posteriormente este dato se verificó en laboratorio con la técnica de peso constante (ISO 11465, 1993).

5.2 Proceso de Compostaje

Para dar seguimiento al proceso de compostaje e identificar cada una de sus fases, fueron monitoreados una vez por semana: temperatura, humedad y aireación, considerando como parámetro clave el primero de éstos, y asegurando que los dos parámetros restantes se mantuvieran en condiciones óptimas a través de volteos manuales una vez por semana. La temperatura se midió de forma manual en 6 puntos distintos de la pila con un termómetro bimetálico de bolsillo Tel-Tru, a una profundidad de 20 cm desde la superficie. De estos seis datos se obtuvo un promedio, como sugieren Sztern et al. (1999). La humedad se mantuvo alrededor del 60 % CC, monitoreada con la prueba de puño y el método de humedad constante, agregando agua desionizada cuando fue necesario. La determinación química (pH, CE) así como la determinación de Cot y Nt se realizó sobre muestras sacrificables (litterbag) de cada tratamiento, cuadrante y fase de compostaje identificada. La determinación de elementos sólo se realizó al inicio y final del compostaje.

5.3 Análisis microbiano

5.3.1 Cultivo de microorganismos a partir de muestras ambientales

Se realizó un aislamiento y caracterización de microorganismos a partir de muestras de suelo del bosque de Nativitas, CDMX; suelo de camellón en Tlalpan, CDMX y agua azufrada de la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán, Puebla. La selección de muestras ambientales se realizó de acuerdo con las especificaciones de Kuenen et al. (1992); Kelly y Wood (2000); Madigan et al. (2003) y Dick et al. (2008) sobre depósitos de azufre en agua y suelo a partir de los cuales es posible aislar especies como *Thiobacillus*. En general, el azufre y los óxidos de hierro son ubicuos en el suelo, sedimentos, agua fresca y sedimentos marinos, por lo que es relativamente fácil encontrarlos en la naturaleza (Robertson y Kuenen 2006).

Se utilizaron 0.5 g de suelo de 0 – 20 cm de profundidad, el cual fue previamente secado al aire durante 48 h y tamizado con malla de 2 mm. Este suelo fue mezclado con solución salina 8 % en frascos ámbar de 50 mL e incubados con agitador rotatorio vertical (30 °C/150 rpm) durante 7 días para activar las células presentes. La muestra de agua azufrada se mantuvo en refrigeración (4 °C) hasta su incubación.

Se tomó un inóculo de 10 mL de muestra líquida y se colocó en 250 mL de medio de cultivo descrito por Carter y Gregorich (2007) y otro en medio de cultivo DSMZ (36. Thiobacillus medium) (Anexo 1) descritos para el cultivo de Thiobacillus. Los medios inoculados se mantuvieron a (30 °C/150 rpm) durante 10 días en oscuridad de acuerdo con lo especificado por Sattley y Madigan (2006). A partir del séptimo día, los medios de cultivo se monitorearon hasta observar un cambio en la coloración, ya que Flores (2008) indicó que la producción de ácido sulfúrico causa un cambio en la coloración del medio de azul a amarillo a consecuencia del cambio de pH.

Una vez registrado el cambio de coloración, se tomó 1 mL de medio de cultivo previamente homogeneizado y se inoculó en caja Petri con los medios mencionados anteriormente pero adicionados con agar bacteriológico. Este procedimiento fue realizado por triplicado para su posterior incubación durante 48 h. Una vez obtenido el crecimiento se procedió a la caracterización y purificación a través de una observación colonial y celular con un microscopio estereoscópico Olympus S2-CTV con cámara CoolSNAP-Pro de Media Cybernetics y digitalizado con software Image Por Plus 4.1, así como con la ayuda de un microscopio óptico Olympus BX60 acondicionado con cámara Evolution MP y digitalizadas con Software QCapture Pro 6.0 a un objetivo de 100X.

5.3.2 Extracción y secuenciación de ADN

Una vez que la cepa fue aislada y purificada, esta se cultivó nuevamente por 24 h. Posteriormente, una muestra de 150 mL de medio de cultivo de cada cepa pura fue centrifugada a 8,500 rpm /4 °C /10 min hasta obtener un botón celular. El ADN total se extrajo usando el kit de extracción PowerSoil® DNA Isolation Kit by MO BIO Laboratories Inc., siguiendo con las instrucciones del fabricante. Posteriormente se realizó la amplificación mediante la técnica de PCR con los oligonucleótidos 27F y

1385R (Tabla 1), que son específicos de una región del 16S ADNr. Las reacciones se realizaron a un volumen final de 50 µl con una concentración final de 1X de amortiguador, 2 mM MgCl₂, 0.5 mM de dNTP's, 0.2 µM de cada oligonucleótido, 1 U de polimerasa y 50 ng de ADN. El protocolo de amplificación consistió en un paso de desnaturalización a 95 °C (4 min), seguido de 30 ciclos de 94 °C (1 min), 55 °C (1 min), 74 °C (1 min) y una extensión final a 74 °C (5 minutos) (Blanco-Jarvio et al. 2014). Los productos de PCR se corrieron en geles de agarosa al 1 % y fueron revelados con la tinción GelRed (Biotium). Los resultados se observaron en un transiluminador UltraSlim LED Illuminator MestroGen® (No. SLB-01W). Una vez obtenidos los amplicones de cada muestra, (ca, 1400 pb), se corrieron en geles de agarosa al 1 % y se cortaron las bandas obtenidas para posteriormente purificar el producto utilizando un kit de purificación marca Vivantis® bajo las indicaciones del fabricante. Posteriormente el ADN purificado fue secuenciado por el método *Dideoxy chain-termination* en el Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad del CINVESTAV, Campus Guanajuato.

Tabla 1. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación

Gen	Primer	Secuencia (5'-3')
16S DNAr	27F*	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG
	1385R*	TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACTT

*Oligonucleótidos basados en Huber et al. (2016) y Ma et al. (2008).

5.3.3 Análisis de secuencias 16S ADNr e identificación de cepas

Las secuencias obtenidas se analizaron a través del portal del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) de los Estados Unidos comparando las secuencias obtenidas con las secuencias depositadas en la base de datos GenBank utilizando el algoritmo BLAST para determinar semejanzas con alguna secuencia depositada en GenBank.

Del listado arrojado por el BLAST se tomaron 10 secuencias de cepas con el mayor porcentaje de identidad y se guardaron en formato FASTA. El conjunto de secuencias

aisladas, así como las secuencias encontradas con BLAST se analizaron con el programa MEGA-X con la finalidad de alinear las secuencias y obtener un árbol que indicara las relaciones filogenéticas entre ellas. De esta forma logramos identificar las cepas aisladas.

5.3.4 Activación y propagación de cepas de referencia

Debido a que las cepas aisladas no corresponden con las especies *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Thiobacillus thioparus*, fue necesario cultivar estas especies a partir del cepario de American Type Culture Collection (ATCC), y corresponden con *Acidithiobacillus thiooxidans* (8085) y, *Thiobacillus thioparus* (23646). Las cepas fueron recibidas en un vial de vidrio sellado al vacío con 0.11 g de microorganismos liofilizados y en un tubo con 5 mL de medio de cultivo, respectivamente.

De las cepas identificadas previamente, se seleccionó *A. kashmirensis* para continuar el trabajo. Consecuentemente, un total de tres cepas fueron propagadas: la aislada e identificada previamente y las dos cepas de referencia ATCC. La propagación fue realizada utilizando medio mineral ATCC#290 S6 para *T. thioparus* y *A. kashmirensis* (ANEXO 2), y ATCC#125 para *A. thiooxidans* (ANEXO 3). Los cultivos fueron incubados a 30 °C a 180 rpm por 5 días para la producción de biomasa.

5.3.5 Inóculo

Una vez obtenida la biomasa, se tomó una alícuota de 1 mL de cada cultivo líquido y se inoculó en medio mineral nuevo siguiendo las mismas características de incubación. Las células fueron cosechadas en la fase exponencial (densidad 8×10^8 células / mL) de acuerdo con la lectura de densidad óptica a 540 nm con espectrofotómetro Shimadzu UV-160. Las muestras de medio líquido fueron centrifugadas a (8,500 rpm, a 4 °C y durante 10 min). La pastilla celular fue re-suspendida y homogeneizada en 2,000 mL de medio de cultivo ATCC previamente descrito.

Se utilizaron un total de 96 unidades experimentales (bolsas de tela de nylon de 10 x 15 cm con 2 mm de abertura de malla denominadas litterbag). Cada litterbag fue rellena con 100 g de composta y asperjada con 50 mL de medio mineral para llegar al 80 % capacidad de campo (CC). Se buscó humedecer el mayor porcentaje de la masa, para lo cual se alternaron capas de composta con inóculo hasta terminar con los 100 g de composta (Figura 1). Cada litterbag fue introducida en cada bloque y tratamiento correspondiente en la pila de composta (Ver Figura 2).



Figura 1. Método de inoculación por aspersión en litterbags

5.4 Diseño experimental

Se trabajó con base en un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial, con triplicados (Figura 2), en donde los factores fueron: 1. Presencia o ausencia de cada inóculo (50 mL) solo o mezclado; 2. Fase de compostaje: primera mesofilia, termofilia, segunda mesofilia, estabilización. Los tratamientos se identificaron como sigue:

Tratamiento 1. Sin inóculo (control)

Tratamiento 2. Inóculo *Advenella kashmirensis* (A)

Tratamiento 3. Inóculo ATCC *Thiobacillus thioparus* (B)

Tratamiento 4. Inóculo ATCC *Acidithiobacillus thiooxidans* (C)

Tratamiento 5. Inóculo A+B

Tratamiento 6. Inóculo B+C

Tratamiento 7. Inóculo A+C

Tratamiento 8. Inóculo A+B+C

Se procesaron un total de 96 muestras durante el compostaje, de las cuales 24 fueron muestras de sacrificio por fase de compostaje identificada (Figura 3).



Figura 2. Diseño experimental. Los recuadros marrones delimitan los tres bloques utilizados. La posición de los tratamientos con respecto a la longitud de la pila y bloque, se señalan en números y colores respectivos indicados a la izquierda de la imagen.

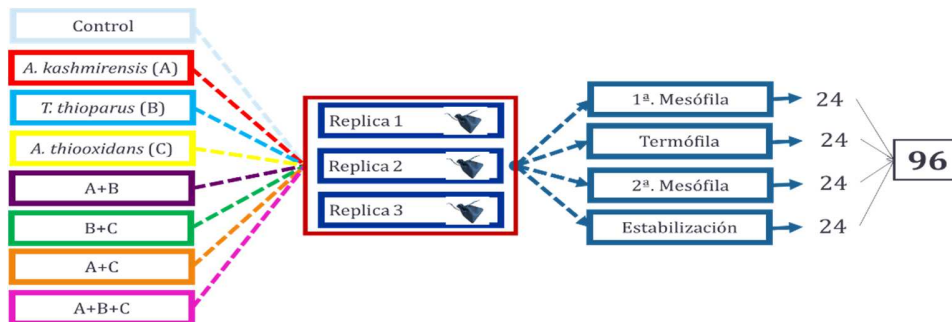


Figura 3. Esquema de muestras. Se indica en recuadros de colores el número de tratamientos utilizados, cada uno con tres replicas para cuatro fases de compostaje.

5.5 Procesamiento de las muestras

Cada muestra sacrificada de cada tratamiento por bloque fue caracterizada considerando parámetros como pH, CE, además de los criterios de estabilidad previamente indicados, mismos que fueron analizados en cada fase identificada de compostaje. Todas las mediciones fueron realizadas sobre muestras sacrificables (litterbags) de cada tratamiento por bloque. El contenido de Cot y Nt de las muestras de composta fue determinado antes del compostaje y al final del proceso.

La obtención de datos químicos se realizó sobre las muestras secas a 60 °C durante 48 h. Después del secado, las muestras fueron tamizadas con malla de 1,190 mm para determinación de pH y CE de acuerdo con Sadzawka et al. (2005) utilizando un potenciómetro Thermo-Orion 3 Star y un conductímetro Hanna Instruments Modelo HI 8819N, respectivamente. El Cot, Nt y azufre total (St) fueron determinados posterior a un tamizado con malla de 0.025 mm con un analizador elemental Thermo Scientific, modelo Flash 2000 siguiendo las indicaciones del fabricante. Todos los parámetros fueron realizados por triplicado y presentados como el valor promedio con su Error Estándar correspondiente.

5.6 Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y se utilizó la prueba de Tukey para comparar las medias ($p < 0.05$), utilizando el paquete Statistica 7.0.

6. Resultados y Discusión

6.1 Inicio del compostaje

La relación C/N de cada material utilizado se presenta en la Tabla 2. A partir de estos datos, se determinó una proporción estiércol/residuos vegetales de 2:1, y con ellos se estableció una relación C/N inicial de 22.5.

	<i>Fraxinus uhdei</i>	<i>Acacia retinodes</i>	<i>Erythrina coralloides</i>	<i>Cynodon dactylon</i>	Estiércol
C/N	21.12	15.58	17.20	16.57	25

Tabla 2. Determinación Carbono/Nitrógeno de RO utilizados.

La relación C/N obtenida se encuentra debajo de las especificaciones de algunos autores que recomiendan que la materia prima de una composta tenga una relación C/N inicial de al menos 30 (Zhu 2007; An et al. 2012; Han et al. 2014). Sin embargo, Labrador (1993) indicó que la relación obtenida permite una buena velocidad del proceso de compostaje, así como una buena calidad del humus que se va formando. Por otra parte, se considera que, aunque los residuos en sí mismos suministran nutrimentos como C y N, es recomendable que se encuentren en el equilibrio correcto para que el proceso proceda de manera eficiente y el nitrógeno se encuentre disponible para el proceso de degradación biológica (Fourti 2013).

Siguiendo con las proporciones establecidas, el montaje finalizó con una pila de RO de 5.76 m³ (Figura 4), la cual se dividió en tres partes iguales con la finalidad de establecer los bloques de diseño experimental indicado previamente. Una vez montada la pila, se realizó el registro de temperatura y humedad. Estos dos parámetros fueron considerados clave al inicio del compostaje debido a que ambos afectan a la actividad microbiana, así como la estructura física de la composta, y por lo tanto tiene una influencia central en la biodegradación de materiales orgánicos (Ahn et al. 2008). A su vez, el factor que determina el contenido de humedad es la aireación, que es favorecida a través de los volteos y de la porosidad de la pila. De acuerdo con Ruggieri et al. (2009) y Pergola et al. (2018), la porosidad es un importante factor que determina la actividad microbiana pues afecta directamente la disponibilidad de O₂ dentro de las pilas de compost. En este experimento la porosidad se logró al inicio del compostaje con ramas cortas de los restos de poda frescos.



Figura 4. Pila de RO de 5.76 m³

El primer registro de temperatura fue a los 7 días, e indicó 45 °C, lo que de acuerdo con Sztern (1999) se ubica cerca del rango de termofilia (Figura 8). El contenido de humedad se consideró óptimo de acuerdo con De Luna-Vega et al. (2011). Estos autores describen que se debe apretar una porción de RO con el puño, y si escurren un par de gotas de agua, entonces tiene su contenido de humedad es adecuado. Posteriormente, en laboratorio se realizó el registro de humedad a peso constante

registrando una humedad del 53.91 %. Esto es importante ya que se ha informado que la actividad microbiana se inhibe cuando el contenido de humedad cae por debajo del 25 %, y que la aireación se puede restringir cuando el contenido de humedad es superior al 70 % por lo que se considera que un contenido de humedad del 50 % al 70 % es ideal para el compostaje (Haug 1993; Rodríguez et al. 1995; Richard et al. 2002; Cronje et al. 2004; Han et al. 2014).

El rápido incremento de la temperatura, así como el óptimo contenido de humedad, son atribuidos al contenido de estiércol, debido a su alto contenido de N y microorganismos que producen el aumento de temperatura (Fourti 2013).

6.2 Aislamiento bacteriano

De forma paralela al montaje de la pila de RO se realizó el aislamiento bacteriano. Para la selección de cepas para su identificación se realizaron observaciones microscópicas de frotis de cultivos sólidos en los que se identificó un cambio en la coloración del medio de cultivo. Al respecto, investigaciones como las de Flores (2008) y Starosvtsky et al (2013) indicaron el cambio de coloración de azul a amarillo debido a un cambio de pH como consecuencia de la producción de ácido. Se encontraron formas bacilares acorde a lo indicado por Bergey's para las cepas *T. thioparus* y *A. thiooxidans* (Holt 1994). (Figura 5). A partir de estas muestras se inició el proceso de purificación de las cepas.

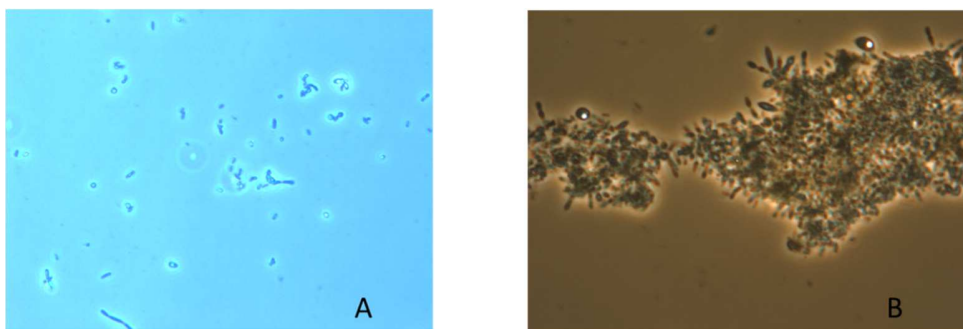


Figura 5. Observación microscópica de bacilos en muestras de agua azufrada (A); y en muestras de suelo Tlalpan (B) (100X).

La purificación de los aislados bacterianos se determinó cuando las colonias presentaron misma forma y coloración. En este caso fueron colonias blanquecinas y amarillas (Figura 6), lo que coincide con Khan et al. (2012) y Starosvetsky et al. (2013).

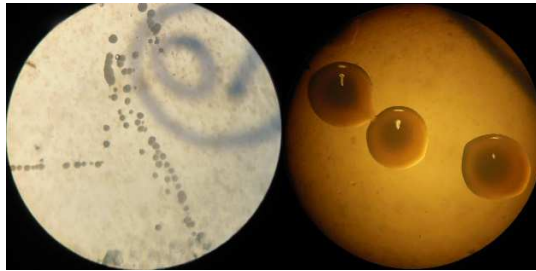


Figura 6. Observación macroscópica de colonias puras identificadas en cultivo sólido de suelo de Tlalpan (der), agua azufrada (izq).

Una vez identificadas las colonias puras se realizó una observación microscópica que respaldara que el aislado estaba puro. Los resultados de microscopía sugieren que las colonias eran puras, al encontrar un solo tipo celular de tamaño correspondiente con lo indicado por Bergey's para *T. thioparus* y *A. thiooxidans* (Figura 7).

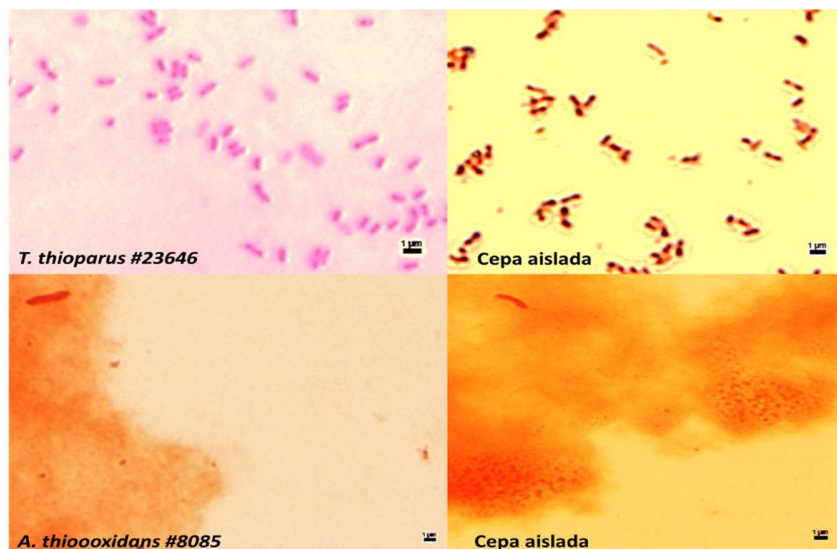


Figura 7. Observación microscópica. Comparación de formas celulares cepa de referencia *T. thioparus* (ATCC#23646) y *A. thiooxidans* (ATCC#8085) vs forma celular obtenidas mediante asilamiento de muestras ambientales (Cepa aislada) (100X).

6.2.1 Análisis de secuencias

Se obtuvieron tres secuencias de las cepas aisladas. Secuencia F identificada como (78 p27F) para la cepa con características similares a *T. thioparus*, y secuencias F y R, identificadas como (77 p27F, 77 p1385R) para la cepa con características similares a *A. thiooxidans*.

6.2.2 Identificación de los aislados bacterianos

El análisis de las secuencias realizado con el Software MEGA-X indicó que las cepas aisladas (77 p27F, 77 p1385R y 78 p27F) se encuentran emparentadas con los géneros *Advenella* y *Rhodococcus* respectivamente, como se muestra en el árbol filogenético obtenido (Figura 8).

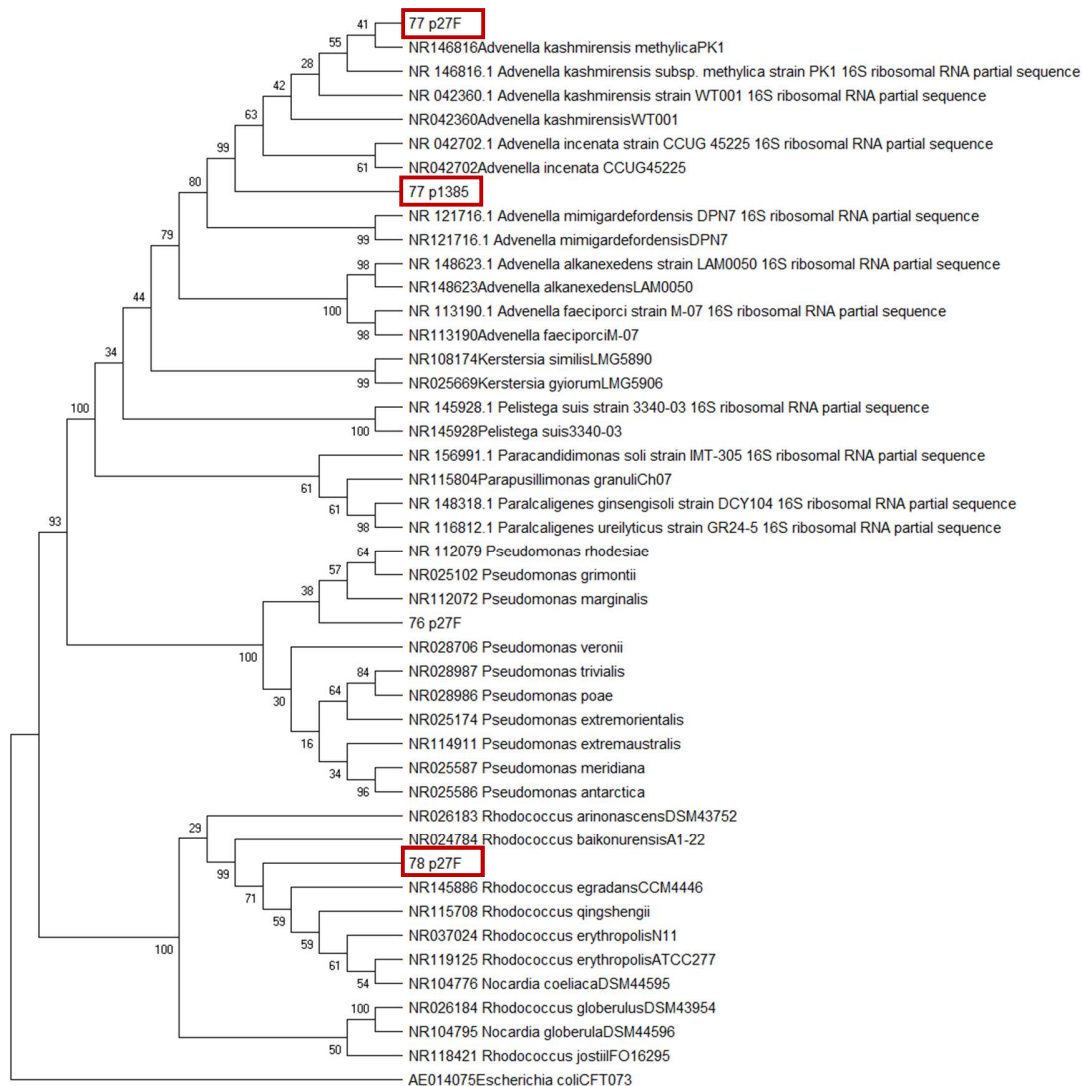


Figura 8. Árbol filogenético inferido a partir del método Neighbor-Joining que muestra la posición de 3 secuencias (rectángulos rojos), en conjunto con sus secuencias más similares recuperadas de la base de datos del geneBank. Se utilizaron 1000 repeticiones en la prueba de bootstrap. Los análisis evolutivos se analizaron en MEGA X.

6.3 Monitoreo del compostaje

Una vez montada e inoculada la pila de RO, se inició el monitoreo del compostaje. Se considera que el seguimiento de parámetros como la temperatura, el pH y la CE son importantes para la determinación de estabilidad, madurez y calidad de la composta. Se ha encontrado que la evolución de la temperatura es un reflejo del metabolismo microbiano, cuya disminución final cercana a una temperatura ambiente que no se recalienta al mezclar puede indicar la fase de maduración; mientras que pH y CE pueden interferir en la calidad del producto final, afectando el crecimiento de las plantas (Tiquia et al. 1996; Tang et al. 2007; Nakhshniev et al. 2014) (Ver Figura 4).

6.3.1 Temperatura

Las variaciones de temperatura registradas durante el proceso de compostaje reflejan tres de las fases características (Figura 9). El pico de 45 °C registrado a los siete días ubica al proceso de compostaje en fase termófila de acuerdo con Sztern (1999). Sin embargo, esta temperatura no aumentó más; es por ello, que aunque se registró este punto como fase termófila, esta fase no se considera exitosa debido a que se ubica en el punto más bajo del rango considerado como termófilo, además de que duró muy poco tiempo en comparación con lo indicado por Sztern (1999). Lo anterior puede poner en riesgo la inocuidad del producto debido a que diversos autores señalan que la inactivación de microorganismos patógenos se logra a temperaturas mayores a 55 °C (Misra 2003). Sin embargo, se ha reportado que para lograr la degradación natural de los patógenos, la MO requiere un tiempo más largo en la pila de composta (Jasmin y Smith 2003).

En la semana cinco se registró una caída hasta 35 °C, considerando a este cambio como la segunda etapa mesófila del compostaje, como señala Ryckeboer et al. (2003). Finalmente en las semanas 12 y 13 la temperatura se estabilizó en 23 °C, la cual fue cercana a la temperatura ambiente, registrando así la etapa de estabilización.

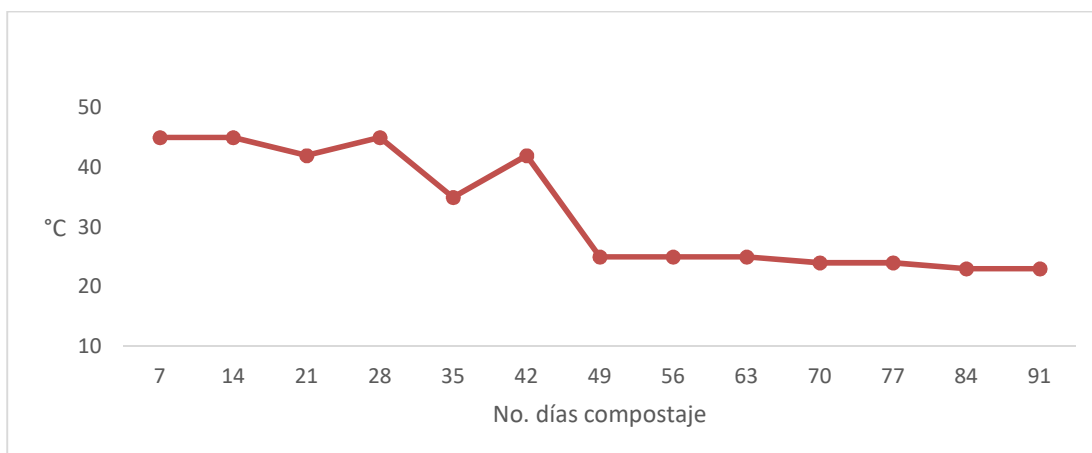


Figura 9. Registro de temperatura durante el proceso de compostaje.

El primer registro de temperatura (45 °C) resultó por la gran cantidad de microorganismos que atacan rápidamente a la MO causando la oxidación exotérmica de la materia orgánica (Fourti 2013; Han et al. 2014). La falta de aumento de temperatura en este experimento, no corresponde con Misra et al. (2003) y Defrieri et al. (2005), quienes reportaron temperaturas entre 48 y 66 °C en las primeras semanas de un proceso de compostaje y que se puede elevar hasta 75 °C cuya duración es de un par de días dependiendo de las condiciones ambientales. Estos mismos autores, indican que posteriormente la temperatura baja y se ubica entre 20 – 45 °C, y de acuerdo con Román et al. (2013) esta fase puede extenderse algunas semanas, como ocurrió en este experimento. Es posible que la falta de monitoreo durante los primeros días impidió el registro de una temperatura mayor a 45 °C. Sin embargo, los resultados obtenidos son similares a Fourti et al. (2013) que registraron temperaturas mesófilas en los primeros 25 días.

6.3.2 Registro de pH

El nivel de pH es una de las características importantes del proceso de compostaje. En este experimento se observó una ligera disminución del inicio a la etapa termófila, que corresponde con lo que indicaron López-Wong (2010) y Bohorquez-Santana (2019) sobre la disminución de pH en la primera fase debido a la producción de ácidos orgánicos por microorganismos. Sin embargo, los valores de pH registrados durante todo el proceso de compostaje fueron alcalinos (Figura 10). Al respecto, Brito et al. (2008) reportan valores alcalinos (7.5 – 8.5) atribuido al efecto de amortiguamiento de los carbonatos presentes en el estiércol de vaca. Resultados similares fueron reportados por Patriquin et al. (1993); Eghball et al (2000) y Sierra et al. (2007). Otra posibilidad es la alcalinización como resultado de la producción amoniacal y la liberación de bases, así como a la descomposición de ácidos orgánicos por microorganismos (Venglovsky et al. 2005; Ruíz 2012; Nakhshiniev et al. 2014). De acuerdo con López-Wong (2010) el pH inicial dependerá del tipo de residuo o mezcla de residuos a compostear, aunque se sugieren valores óptimos entre 5,5 y 8,5 (Silva et al. 2013).

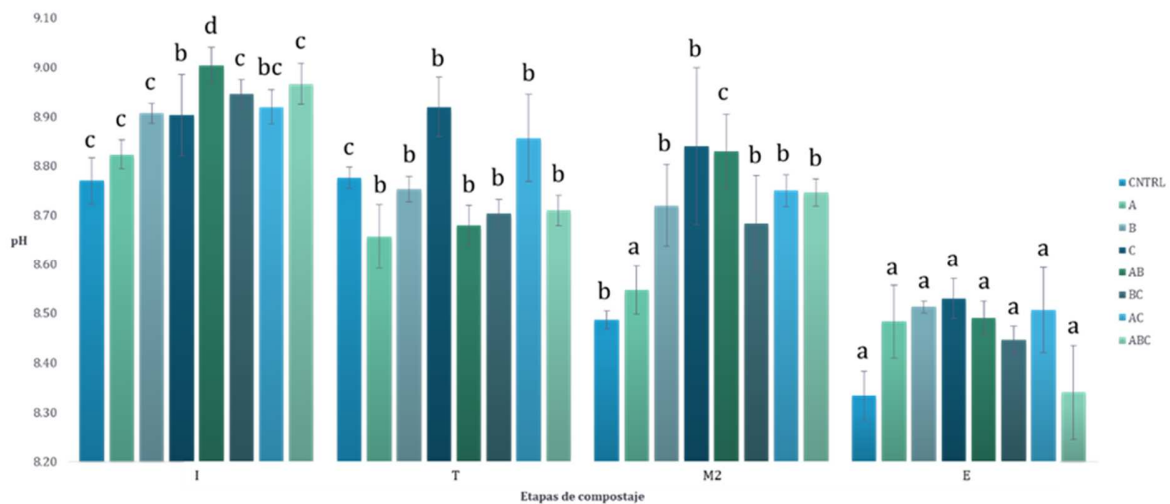


Figura 10. Registro de pH durante las tres fases identificadas del proceso de compostaje [Termofilia (T), Mesofilia (M), Estabilización (E)] de siete tratamientos [*Advenella kashmirensis* (A), ATCC *Thiobacillus thioparus* (B), ATCC *Acidithiobacillus thiooxidans* (C), A+B, B+C, A+C, A+B+C] y un control (CNTRL). Los resultados se muestran como la media, las barras de error representan el error estándar y las letras indican diferencias significativas de cada tratamiento en el tiempo.

Encontramos que el tratamiento C (*A. thiooxidans*) fue el más alcalino en el tiempo con diferencias significativas con respecto al control y al tratamiento A (*A. kashmirensis*) $p < 0.01$ (Figura 11a). Este aumento pudo deberse a la liberación de carbonatos provenientes del estiércol y de las leguminosas utilizadas como materia prima que reaccionaron con el ácido sulfúrico que resulta del metabolismo de *A. thiooxidans* (Patriquin et al. 1993; Eghball 2000; Eghball et al. 2004), así como también a un aumento de N amoniacal derivado probablemente de la sinergia de esta bacteria con respecto al consorcio nativo amonificante (Venglovsky et al. 2005; Nakhshiniev et al. 2014).

Esto resulta particularmente importante debido a que investigaciones previas coinciden en que es importante no exceder un valor de pH de 8, ya que de lo contrario habrá pérdida de nitrógeno hacia la atmósfera en forma de amoníaco, además de problemas de disponibilidad de nutrientes como Zn, Fe, Cu, Mn, y P (Misra et al. 2003; Stofella et al. 2003). Sin embargo, también encontramos que el pH se acidifica en el tiempo (Figura 11b) con diferencias significativas entre el tiempo uno y los tres restantes, así como entre los tres primeros y el último $p = < 0.01$. Esto puede ser debido tanto a la producción ácido sulfúrico derivado de la oxidación biológica de S, como a un aumento de la nitrificación, o a una producción tardía de ácidos orgánicos (Venglovsky et al. 2005; del Pino et al. 2008; Seyyedi et al. 2015).

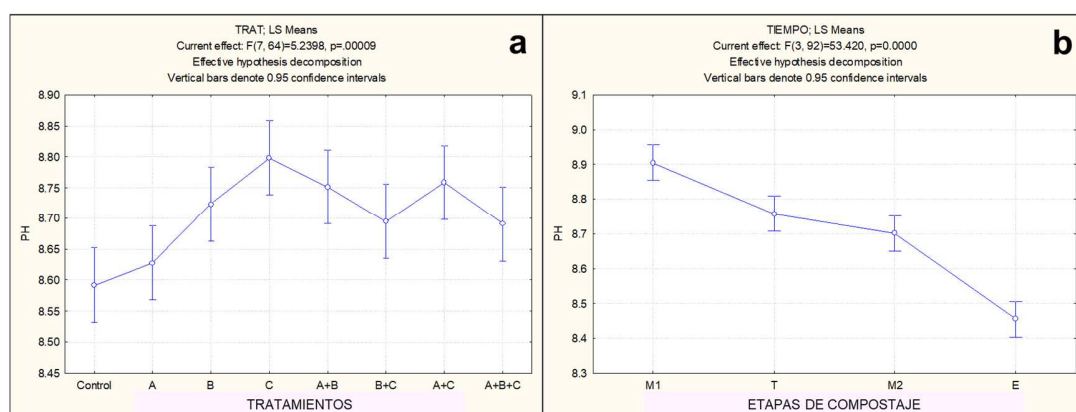


Figura 11. Respuesta del pH de siete tratamientos en el tiempo [*Advenella kashmirensis* (A), ATCC Thiobacillus thioparus (B), ATCC Acidithiobacillus thiooxidans (C), A+B, B+C, A+C, A+B+C] y un control (CNTRL) (a) y respuesta del pH en cada fase de compostaje [Termofilia (1), Mesofilia (2), Estabilización (3)] (b). Las barras verticales expresan el 0.95 de intervalo de confianza.

6.3.3 Registro de la Conductividad Eléctrica

La evolución del registro de CE muestra concentraciones iniciales $< 4 \text{ dS m}^{-1}$ en todos los tratamientos. Posteriormente, en la etapa termófila, los valores aumentan a más de 5 dS m^{-1} , siendo mayor el registro del tratamiento (A) con 6.76 dS m^{-1} (Figura 12). Se observó que las fases termófilas (T) y mesófila 2 (M2) no presentan diferencias significativas en la mayoría de los tratamientos, con excepción de los tratamientos AB y ABC que presentaron valores más bajos en mesófila 2 (M2). Se registraron diferencias significativas entre la fase inicial (I) y la fase de estabilización (E) en todos los tratamientos ($p < 0.01$) (Figura 13b). De acuerdo con Wang et al. (2013) la concentración inicial más baja de CE se debe a que durante la descomposición de MO los microorganismos consumen parte de las sales presentes. Reportes similares fueron presentados por Nakhshiniev et al. (2014). También se puede asociar con procesos de desnitrificación favorecidas por la humedad inicial de la pila de composta (80% CC). Al respecto, Eigenberg et al. (2002) asociaron disminuciones de CE con bajos niveles de NO_3^- , mientras que Parkin et al. (1997) demostraron que se puede perder una cantidad considerable de N del suelo por desnitrificación cuando el contenido de agua del suelo supera el 80 % de saturación relativa, sin embargo, este no es el caso de la composta de este experimento.

El posterior incremento de CE pudo deberse a que durante la descomposición hay pérdida de materia orgánica, pero el contenido de sales permanece, sumado a la formación de elementos como amonio, ácidos grasos volátiles (AGVs), resultado de la misma descomposición (Wang et al. 2013).

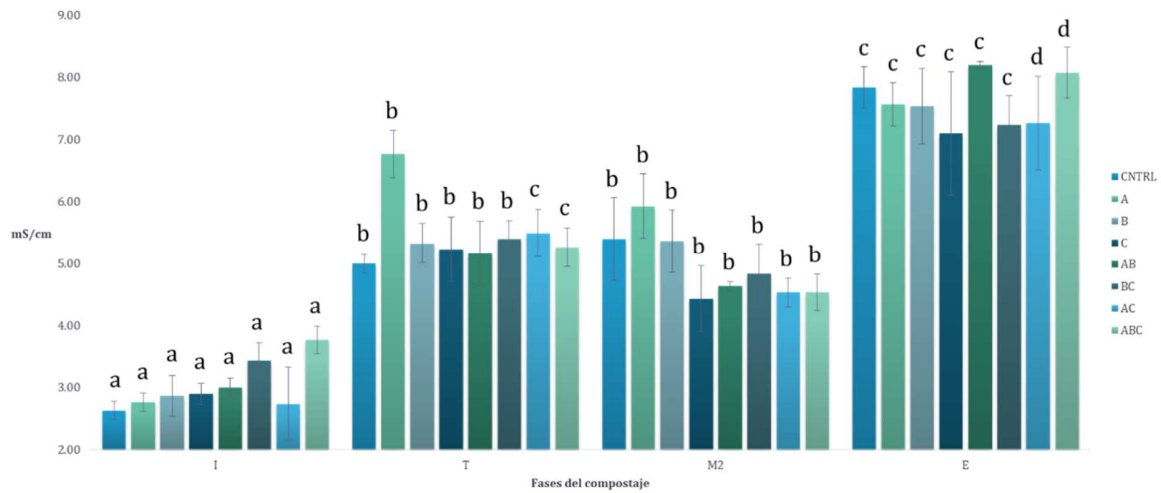


Figura 12. Registro de CE durante las tres fases identificadas del proceso de compostaje [Termofilia (T), Mesofilia (M), Estabilización (E)] de siete tratamientos [*Advenella kashmirensis* (A), ATCC *Thiobacillus thioparus* (B), ATCC *Acidithiobacillus thiooxidans* (C), A+B, B+C, A+C, A+B+C] y un control (CNTRL). Los resultados se muestran como la media, las barras de error representan el error estándar y las letras indican diferencias significativas de cada tratamiento en el tiempo.

Encontramos diferencias significativas entre los tratamientos A (*A. kashmirensis*) y C (*A. thiooxidans*) en el tiempo (Figura 13a). Esta diferencia de CE pudo ser debida a que *A. thiooxidans* presentó un metabolismo oxidante que incremento los niveles de H_2SO_4 , favoreciendo un intercambio de iones y su posterior lixiviación, disminuyendo así la CE, como reportaron Sierra et al. (2007) y Seyyedi et al. (2015).

La elevada CE que se presentó desde la fase de termófila (T) y hasta el final del compostaje pudo ocasionar lisis celular de los microorganismos presentes debido a una alta presión osmótica, y con ello, detener o retrasar el proceso de compostaje (Soliva y López 2004; Han et al. 2014). También se ha indicado que un alto valor de CE puede representar un comportamiento fitotóxico de la composta que afecta la germinación de las semillas y al desarrollo general del cultivo cuando se usa en grandes cantidades (Gutiérrez y Fimbres 2012; Barrena et al. 2014).

Al final del compostaje encontramos una CE de entre 7.1 y 8.2 dS m⁻¹, que es un valor superior a los 1.5 - 4 dS m⁻¹ recomendados por López et al. (2001) y Nakhshiniev et al. (2014), lo que indica que aunque *A. thiooxidans* favorece la disminución de la CE, su actividad no es suficiente para lograr la remoción de sales hasta valores por debajo de los iniciales. Sin embargo, es posible disminuir su CE posterior a un proceso de riego (Chong 2005; Hernández-Apaolaza et al. 2005).

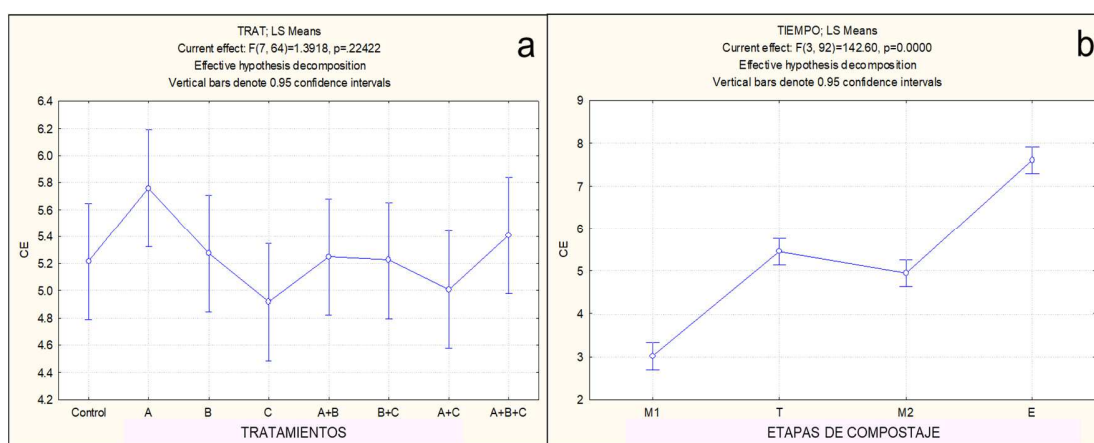


Figura 13. Respuesta de CE de siete tratamientos en el tiempo [*Advenella kashmirensis* (A), *Thiobacillus thioparus* (B), *Acidithiobacillus thiooxidans* (C), A+B, B+C, A+C, A+B+C] y un control (CNTRL) (a) y respuesta de CE en cada fase de compostaje [Termofilia (1), Mesofilia (2), Estabilización (3)] (b). Las barras verticales denotan el 0.95 de intervalo de confianza.

6.4 Estabilización y madurez

Con base en las especificaciones de los parámetros evaluados que se mencionaron anteriormente, se determinó que la composta se estabilizó y alcanzó su madurez a los 91 días de compostaje, ya que el registro de temperatura (23 °C) permaneció estable y cercano a la temperatura ambiente durante las últimas dos semanas, incluso posterior a un volteo manual. También presentó una coloración marrón-oscuro, olor a “tierra mojada”, una relación final C/N <20, pH alcalino, textura suave con agregados que se deshacían fácilmente, apariencia similar a tierra y una humedad cercana al 40 % (Sztern y Pravia1999; Stofella et al. 2011; Gutiérrez y Fimbres 2012).

Otros autores coinciden en que la temperatura es un indicador de madurez cuando la curva de temperatura se estabiliza, no variando con el volteo del material. También se reportó que una composta con adecuado periodo de maduración presenta un color pardo oscuro o casi negro, debido a la formación de grupos cromóforos y a la síntesis de melanoidinas, hay ausencia de olor desagradable, en cambio, se percibe un olor a tierra húmeda probablemente debido a la producción de geosmina y 2-metilsoborneol.

La relación C/N de una composta madura y con calidad agronómica se ubica menor a 15 en el producto final. Esta disminución con respecto al valor inicial es debida a una pérdida de compuestos de carbono (Venglovsky et al. 2005; Pinazza de León, 2008; Fourti 2013). En este experimento la relación C / N de la composta disminuyó considerablemente con respecto al valor inicial de 22.4 a 9.01, lo que puede ser atribuido a la descomposición microbiana del carbono (Nakhshiniev et al. 2014).

Respecto al pH se describió que las compostas que se encuentran en estado maduro tienden a tener valores de pH ligeramente alcalino (8.09 - 8.48) lo que ayuda al control de enfermedades fungosas, ya que su incorporación en los suelos ácidos eleva el pH logrando que se mejoren las condiciones microbiológicas, así como la disponibilidad de nutrientes (Gutiérrez y Fimbres 2012).

La importancia de asegurar la estabilidad de una composta radica en que generalmente ésta se utiliza como acondicionadora de suelos para evitar la degradación del mismo (Barrena et al. 2014). La incorporación al suelo de una composta inmadura puede conducir a la inmovilización del N mineral, ocasionando un bloqueo biológico del nitrógeno asimilable y, dar lugar a deficiencias de N en la planta, y por tanto, causar efectos negativos en el rendimiento de los cultivos (Jiménez y García 1989; Wu et al. 2000). Asimismo, la rápida descomposición de la composta no estabilizada provoca un descenso de la concentración de oxígeno a nivel de la raíz y del Eh (potencial de óxido-reducción) del suelo y en consecuencia crea condiciones reductoras y anaerobias (Jiménez et al. 2008).

7. Conclusiones

Los indicadores de madurez analizados demostraron que 91 días de compostaje fueron suficiente para lograr un producto final estable y maduro.

El incremento de la CE, indica que el metabolismo oxidante favorece la liberación de sales que pueden ser lixiviadas con riegos posteriores a la aplicación de la composta; resultando en una disminución total de la CE de la composta.

El tratamiento más eficiente fue la adición de la cepa bacteriana *A. thiooxidans*.

8. Recomendaciones

Es necesaria la caracterización bacteriana de patógenos, así como de metales pesados para garantizar su inocuidad y determinar de forma más certera la calidad del producto.

Es necesario cuantificar y caracterizar iones solubles e intercambiables, presentes durante todo el proceso de compostaje.

No se recomienda la aplicación en suelo de la composta obtenida debido a los altos niveles de CE. Sin embargo, regar dicha composta puede disminuir los valores de pH y CE y mejorar las condiciones de esta enmienda antes de su aplicación en suelos.

La utilización de una composta madura y estabilizada, requiere una previa detreminación de dosis y frecuencia de aplicación en suelo.

Se debe realizar una prueba de viabilidad antes y después de su aplicación en suelo.

9. Bibliografía

- Abad, M., Noguera, P., Burés, S. (2001). National inventory of organic wastes for use as growing media for ornamental potted plant production: case study in Spain. *Bioresource technology*, 77(2), 197-200.
- Abo-Kora, H. A. and Mohsen, M. (2016). Reducing effect of soil salinity through using some strains of Nitrogen fixers bacteria and compost on sweet basil plant. *International Journal of Pharm Tech Tesearch*, 9(4), 187-214.
- Aguilera, N. (1989). *Tratado de Edafología de México*. UNAM, Facultad de Ciencias, México. 222p.
- Ahn, H.K., Richard, T.L., Glanville, T.D. (2008). Optimum moisture levels for biodegradation of mortality composting envelope materials. *Waste Manage*, 28(8), 1411–1416.
- Alcántara, S. (2000). *Estudio de la oxidación biológica de los compuestos reducidos de azufre utilizando un consorcio de microorganismos sulfoxidantes. Evaluación de los parámetros que determinan la oxidación parcial de tiosulfato en azufre elemental*. Disertación doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana. Iztapalapa, México.
- Alidadi, H., Hosseinzadeh, A., Najafpoor, A. A., Esmaili, H., Zanganeh, J., Takabi, M. D., Piranloo, F. G. (2016). Waste recycling by vermicomposting: Maturity and quality assessment via dehydrogenase enzyme activity, lignin, water soluble carbon, nitrogen, phosphorous and other indicators. *Journal of Environmental Management*, 182, 134-140. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.07.025>
- Álvarez, J. M. (2003). *Manual de Compostaje para Agricultura Ecológica*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 47p.
- An, C. J., Huang, G. H., Li, S., Yu, H., Sun, W., Peng, K. (2012). Influence of uric acid amendment on the in-vessel process of composting composite food waste. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 87(11), 1558-1566.
- Atlas, R., y Bartha, R. (2005). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Pearson educación. 696p.
- Barrena, R., Font, X., Gabarrell, X., Sánchez, A. (2014). Home composting versus industrial composting: influence of composting system on compost quality with focus on compost stability. *Waste Management*, 34(7), 1109-1116.

- Beijerinck, M. W. (1904). Über Bakterien welche sich im Dunkeln mit Kohlensäure ernähren können. *Cent. Bakteriol Parasitenkd. Abt II*, 11, 539-599.
- Biswas, A., Biswas, A. (2014). Comprehensive approaches in rehabilitating salt affected soils: a review on Indian perspective. *Open Transactions on Geosciences*, 1(1), 13-24.
- Blanco-Jarvio, A., Martínez-López, A., Bautista-García, A. (2014). Optimización de un protocolo de extracción de DNA total para la amplificación de marcadores moleculares funcionales específicos de organismos desnitrificantes. *CICIMAR Oceánides*, 29(2), 37-44.
- Bohórquez Santana, W. (2019). El proceso de compostaje. Libros en acceso abierto. 72. Universidad de la Salle. <https://doi.org/10.19052/978-958-5486-67-6>
- Brinton Jr, W. F., Evans, E., Droffner, M. L., Brinton, R. B. (1995). Standardized test for evaluation of compost self-heating. *Biocycle*. 16p.
- Campbell, R. (1987). *Ecología microbiana*. Limusa. México. 268p.
- Cancino, M. A. (2003). *Estudio del crecimiento y respiración de Thiobacillus sp.* Tesis Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia horticultrae*, 196, 15-27.
- Carter, M., Gregorich, E. (Eds.). (2007). *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Canadá: CRC Press. (2nd ed.). pp. 351.
- Chandra, S., Joshi, H. C., Pathak, H., Jain, M. C., Kalra, N. (2002). Effect of potassium salts and distillery effluent on carbon mineralization in soil. *Bioresource Technology*, 83(3), 255-257.
- Chen, B. Y., Liu, H. L., Chen, Y. W., Cheng, Y. C. (2004). Dose-response assessment of metal toxicity upon indigenous *Thiobacillus thiooxidans* BC1. *Process Biochemistry*, 39(6), 737-748.
- Chertov, O. G., Nadporozhskaya, M. A. (2018). Humus forms in forest soils: concepts and classifications. *Eurasian Soil Science*, 51(10), 1142-1153.
- Chong, C. (2005). Experiences with wastes and compost in nursery substrates. *HortTechnology*, 15(4), 739-747.

- CORPOICA. (2002). *Producción de abonos orgánicos de buena calidad*. Boletín Técnico. Promomédios Impresiones. Bogotá, Colombia. 29 p.
- Cronje, A.L., Turners, C., Williams, A.G., Barker, A.J., Guy, S. (2004). The respiration rate of composting pig manure. *Compost Science Utilization*, 12(2), 119–129.
- De Luna Vega, A., Sahagún, M. L. G., Díaz, E. R., Corona, J. P., Esquivias, T. D. J. A., Martínez, R. E., Navarro, J. V. (2011). *Evaluación de diferentes compostas tipo bocashi elaboradas con estiércol de bovino, cerdo, ovino y conejo*. Universidad de Guadalajara. Centro universitario de ciencias biológicas y agropecuarias. División de ciencias agropecuarias. Guadalajara, México, 1-4.
- Defrieri, R. L., Jimenez, M. D. L. P., Effron, D., Palma, M. (2005). Utilización de parámetros químicos y microbiológicos como criterios de madurez durante el proceso de compostaje. *Agriscientia*, 22(1), 25-31.
- Del Pino, A., Repetto, C., Mori, C., Perdomo, C. (2008). Patrones de descomposición de estiércoles en el suelo. *Terra Latinoamericana*, 26(1), 43-52.
- Dick, W. A., Kost, D., Chen, L. (2008). Availability of sulfur to crops from soil and other sources. *Sulfur: A missing link between soils, crops, and nutrition*, (sulfuramissingl), 50, 59-82.
- Eghball, B. J. (2000). Nitrogen mineralization from field applied beef cattle feedlot manure or compost. *Soil Science Society of America Journal*, 64(6), 2024-2030.
- Eghball, B. J., D. Ginting, and J. E. Gilley. (2004). Residual effects of manure and compost applications on corn production and soil properties. *Agronomy Journal*, 96(2), 442-447.
- Eigenberg, R. A., Doran, J. W., Nienaber, J. A., Ferguson, R. B., Woodbury, B. L. (2002). Electrical conductivity monitoring of soil condition and available N with animal manure and a cover crop. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 88(2), 183-193.
- Eigenberg, R. A., Nienaber, J. A., Woodbury, B. L., and Ferguson, R. B. (2006). Soil conductivity as a measure of soil and crop status. A four year summary. *Soil Science Society of America Journal*, 70(5), 1600-1611.
- Eiland, F., Klamer, M., Lind, A.M., Leth, M., Baath, E. (2001). Influence of initial C/N ratio on chemical and microbial composition during long term composting of straw. *Microbial Ecology*, 41(3), 272–280.

- El-Tarabily, K. A., Soaud, A. A., Saleh, M. E., Matsumoto, S. (2006). Isolation and characterisation of sulfur-oxidising bacteria, including strains of *Rhizobium*, from calcareous sandy soils and their effects on nutrient uptake and growth of maize (*Zea mays L.*). *Australian Journal of Agricultural Research*, 57(1), 101-111.
- Espinosa, J., Revah, S., Le Borgne, S. (2010). Rutas metabólicas de oxidación del azufre en bacterias quimiolitotóxicas, relevancia ambiental y biotecnología. *Mensaje Bioquímico*, 34, 101-120.
- Ferguson, S.J. (1991). The periplasm. In *Prokaryotic Structure and Function*. Ed. Mohm C.D. and Coles J.A. pp.310-339.
- Flores, D. M. (2008). *Estandarización de la técnica molecular PCR mediante la amplificación de la secuencia 16s RDNA para la detección de Thiobacillus thioparus e identificación de dos bacterias degradadoras de tiosulfato de plata aisladas del volcán Tungurahua y de la Calera Machachi, Ecuador, 2007* Bachelor's thesis, ESPE/SANGOLQUÍ/2008).
- Fourti, O. (2013). The maturity tests during the composting of municipal solid wastes. *Resources, Conservation and Recycling*, 72, 43-49.
- Füleky, G., Benedek, S. (2010). Composting to recycle biowaste. In: Lichtfouse, E. (Ed.), *Sociology, Organic Farming, Climate Change and Soil Science*. Springer, Netherlands, pp. 319–346.
- Gaceta Oficial del Distrito Federal (GODF). 2012. Norma Oficial Mexicana NADF-020-AMBT-2011. Que establece los requerimientos mínimos para la producción de composta a partir de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, agrícolas, pecuarios y forestales, así como las especificaciones mínimas de calidad de composta producida y/o distribuida en el Distrito Federal.
- GDF. SEMARNAT.SAGARPA, (2010). Salinidad del suelo. https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_12/pdf/Cap3_suelos.pdf
- Gomez Palacios, J., Estrada de Luis, I. (2005). Índices de calidad de suelos y compost desde la perspectiva agro-ecológica. En *II Congreso sobre Residuos Biodegradables y Compost-El reto de fomentar el consumo de los productos finales* (Vol. 20).
- Gutiérrez, M. A., Fimbres, R. A. (2012). *Caracterización de un extracto de composta a partir de residuos del cultivo de champiñón*. Instituto Tecnológico de Sonora. México. 30p.

- Han, W., Clarke, W., Pratt, S. (2014). Composting of waste algae: a review. *Waste management*, 34(7), 1148-1155.
- Hartz, T. K., Bottoms, T. G. (2010). Humic substances generally ineffective in improving vegetable crop nutrient uptake or productivity. *HortScience*, 45(6), 906-910.
- Haug, R.T. (1993). *The Practical Handbook of Compost Engineering*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. 752p.
- Hernández-Apaolaza, L., Gascó, A.M., Gascó, J.M., Guerrero, F. (2005). Reuse of waste materials as growing media for ornamental plants. *Bioresouce Technology*, 96(1), 125-131.
- Holt, J. G. (1994). Group 5. Facultatively anaerobic gram-negative rods. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 175-289.
- Hooper, A., DiSpirito, A. (1985). In bacteria which grow on simple reductants, generation of a proton gradient involves extracitoplasmic oxidation of substrate. *Microbiological Review*, 49(2), 140-157.
- Huang, G.F., Wong, J.W.C., Wu, Q.T., Nagar, B.B. (2004). Effect of C/N on composting of pig manure with sawdust. *Waste Manage*, 24(8), 805–813.
- Huber, B., Herzog, B., Drewes, J. E., Koch, K., Müller, E. (2016). Characterization of sulfur oxidizing bacteria related to biogenic sulfuric acid corrosion in sludge digesters. *BMC microbiology*, 16(1), 1-11.
- Illera Vives, M., López Mosquera, M. E., López Fabal, A., Salas-Sanjuan, M. D. C. (2012). Acondicionamiento de un compost salino para su uso como sustrato de cultivo. IBADER: Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvimento Rural. *Recursos Rurais*, (8), 13-19.
- Jaramillo, G., Zapata, L. M. (2008). Aprovechamiento de los residuos orgánicos en Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, Facultad de Ingenierías, 116p.
- ISO 11465. (1993). *Soil quality—Determination of dry matter and water content on a mass basis—Gravimetric method*. Beuth, Berlin.
- Jasmin, S., Smith, S. (2003). *The Practicability of Home Composting for the management of Biodegradable Domestic Solid Waste*. Doctoral dissertation, Imperial College London. University of London. Centre for Environmental Control and Waste Management, Department of Civil and Environmental Engineering, London.

- Jiménez, E. I., García, V. P. (1989). Evaluation of city refuse compost maturity: a review. *Biological wastes*, 27(2), 115-142.
- Jiménez, E. I., Silva, M. T. B., Egea, F. C. M. (2008). 11. Indicadores de la estabilidad y madurez del compost. *Compostaje*, 243p.
- Juárez, A. (2004). *Biolixiviación de minerales sulfuro-ferrosos en jales: aislamiento y caracterización de cultivos puros y mixtos de microorganismos involucrados*. Tesis Doctorado. Universidad de Colima, México.
- Kappler, U., Bennett, B., Rethmeier, J., Schwarz, G., Deutzmann, R., McEwan, A. G., Dahl, C. (2000). Sulfite: Cytochrome c Oxidoreductase from *Thiobacillus novellus* purification, characterization, and molecular biology of a heterodimeric member of the sulfite oxidase family. *Journal of Biological Chemistry*, 275(18), 13202-13212.
- Kelly, D. P., Wood, A. P. (2000). Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(2), 511-516.
- Kelly, D. P., Wood, A. P. (2013). The chemolithotrophic prokaryotes. In *The Prokaryotes*, 275-287. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Khan, S., Haq, F., Hasan, F., Saeed, K., Ullah, R. (2012). Growth and biochemical activities of *Acidithiobacillus thiooxidans* collected from black shale. *Journal of Microbiology Research*, 2(4), 78-83.
- Kononova, M. (1982). *Materia Orgánica del Suelo*. Barcelona: Oikos-Tau. 365p.
- Kuenen, J., Robertson, L., Tuovinen, O. (1992). Capítulo 138. The Genera *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, and *Thiosphaera*. En: A. Balows et al., 1992. *The Prokaryotes*. Vol II, 2 Edición. 2638-2657p.
- Labrador, J., Guibertau, A., López, L., Reyes, J. L. (1993). *La materia orgánica en los sistemas agrícolas*. Manejo y utilización. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Secretaría General de Estructuras Agrarias. 3/93
- Lakhdar, A., Hafsi, C., Rabhi, M., Debez, A., Montemurro, F., Abdelly, C., Jedidi, N., Ouerghi, Z. (2008). Application of municipal solid waste compost reduces the negative effects of saline water in *Hordeum maritimum* L. *Bioresource Technology*, 99(15), 7160-7167.

- Lakhdar, A., Rabhi, M., Ghnaya, T., Montemurro, F., Jedidi, N., Abdelly, C. (2009). Effectiveness of compost use in salt-affected soil. *Journal of hazardous materials*, 171(1-3), 29-37.
- Lehmann, J., Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528(7580), 60.
- Leogrande, R., Vitti, C. (2019). Use of organic amendments to reclaim saline and sodic soils: a review. *Arid land research and management*, 33(1), 1-21.
- López, M. J., Díaz, E. A., Martínez, R. E., Valdez, C. R. D. (2001). Effect of organic fertilizers on physical-chemical soil properties and corn yield. *Terra*, 19(4), 293-299.
- Lopez Wong, W. (2010). *Estudio del uso de residuos industriales no peligrosos a través del proceso de compostaje y su aplicación para el cultivo de maíz y frijol*. Tesis Matesría. IPN. Tlaxcala, México.
- Lu, H., Lashari, M. S., Liu, X., Ji, H., Li, L., Zheng, J., Pan, G. (2015). Changes in soil microbial community structure and enzyme activity with amendment of biochar-manure compost and pyroligneous solution in a saline soil from Central China. *European Journal of Soil Biology*, 70, 67-76.
- Luo, W., Dijkstra, F. A., Bai, E., Feng, J., Lü, X. T., Wang, C., Jiang, Y. (2016). A threshold reveals decoupled relationship of sulfur with carbon and nitrogen in soils across arid and semi-arid grasslands in northern China. *Biogeochemistry*, 127(1), 141-153.
- Ma, R., Wu, X., Wang, R., Wang, C., Zhu, J. (2008). Identification and phylogenetic analysis of a bacterium isolated from the cloaca of Chinese alligator. *African Journal of Biotechnology*, 7(13).
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. (2003). *Biología de los microorganismos: Brock*. Prentice Hall. 1136p.
- Meena, M. D., Joshi, P. K., Jat, H. S., Chinchmalatpure, A. R., Narjary, B., Sheoran, P., Sharma, D. K. (2016). Changes in biological and chemical properties of saline soil amended with municipal solid waste compost and chemical fertilizers in a mustard-pearl millet cropping system. *Catena*, 140, 1-8.
- Misra, R. V., Roy, R. N., Hiraoka, H. (2003). *On-farm composting methods*. Food and Agriculture Organizations of the United Nations. Rome, Italy. 35p.

- Morisaki, N., Chae Gun, P., Nakasaki, K., Shoda, M., Kubota, H. (1989). Nitrogen transformation during thermophilic composting. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 67(1), 57–61.
- Nakhshiniev, B., Biddinika, M. K., Gonzales, H. B., Sumida, H., Yoshikawa, K. (2014). Evaluation of hydrothermal treatment in enhancing rice straw compost stability and maturity. *Bioresource technology*, 151, 306-313.
- Ndegwa, P. M., Thompson, S. A. (2000). Effects of C-to-N ratio on vermicomposting of biosolids. *Bioresource technology*, 75(1), 7-12.
- Neher D.A., T.R. Weicht., S.T. Bates., J.W. Leff., N. Fierer. (2013). Changes in bacterial and fungal communities across compost recipes, preparations methods, and composting times. *PLoS One*, 8(11), e79512.
- Oshita, K., Sun, X., Kawaguchi, K., Shiota, K., Takaoka, M., Matsukawa, K., Fujiwara, T. (2016). Aqueous leaching of cattle manure incineration ash to produce a phosphate enriched fertilizer. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 18(4), 608-617.
- Panizza-de-León, A. (2008). Evaluación del compost elaborado a partir de lodos con alto contenido de sulfato de aluminio. *Revista Latinoamericana De Recursos Naturales*, 4(3), 342-348.
- Parkin, T. B., Doran, J. W., Franco-Vizcaino, E. (1997). Field and laboratory tests of soil respiration. *Methods for assessing soil quality*, 49, 231-245.
- Patriquin, D. G., Blaikie, H., Patriquin, M. J., Yang, C. (1993). On-farm measurements of pH, electrical conductivity and nitrate in soil extracts for monitoring coupling and decoupling of nutrient cycles. *Biological Agriculture and Horticulture*, 9(3), 231-272.
- Pérez-Gimeo, A., Navarro-Pedreño, J., Almendro-Candel, M. B., Gómez, I., Jordán, M. M. (2016). Environmental consequences of the use of sewage sludge compost and limestone outcrop residue for soil restoration: salinity and trace elements pollution. *Journal of soils and sediments*, 16(3), 1012-1021. doi:10.1007/s11368-015-1288-y
- Pergola, M., Persiani, A., Palese, A. M., Di Meo, V., Pastore, V., D'Adamo, C., Celano, G. (2018). Composting: The way for a sustainable agriculture. *Applied Soil Ecology*, 123, 744-750.
- Panizza-de-León, A. (2008). Evaluación del compost elaborado a partir de lodos con alto contenido de sulfato de aluminio. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 4(3), 342-348.
- Pokorna, D., Zabranska, J. (2015). Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnology Advances*, 33(6), 1246-1259.

- Porta, J., López-Acevedo, M., Roquero, C. (2003). *Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente*. Ediciones Mundi-Prensa. España. 929p.
- Qadir, M., Ghafoor, A., Murtaza, G. (2001). Use of saline-sodic waters through phytoremediation of calcareous saline-sodic soils. *Agricultural Water Management*, 50(3), 197-210.
- Ramos, A., Alfonso, E. T. (2014). Generalities of the organic manures: Bocashi's importance like nutritional alternative for soil and plants. *Cultivos Tropicales*, 35(4), 52-59.
- Richard, T.L., Hamelers, H., Veeken, A., Silva, T. (2002). Moisture relationships in composting processes. *Compost Science and Utilization*, 10(4), 286-302.
- Robertson, L. A., Kuenen, J. G. (2006). The genus *Thiobacillus*. In *The prokaryotes* (pp. 812-827). Springer, New York, NY.
- Rodríguez, A., Muñiz, O., Calero, B., Martínez, F., Montero, F., Limeres, T., Orphee, M., Aguilar, A. M. (2012). Heavy metals content in organic manures, substrates and plants cultivated in organoponics. *Cultivos Tropicales*, 33(2), 5-12.
- Rodríguez, M. y Córdova, A. (2006). *Manual de compostaje municipal*. Tratamiento de residuos sólidos urbanos. SEMARNAT. INE. México.
- Rodríguez, M., Narros, G.A., Molleda, J.A. (1995). Wastes of multilayer containers as substrate in composting processes. *Journal of Air and Waste Management Association*, 45(3), 156-160.
- Román, P., Martínez, M. P., Pantoja, A. (2013). *Manual de compostaje del agricultor. Experiencias en América Latina*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile. 107p.
- Romero, J. C. (2013). *Relación Carbono Nitrógeno en el proceso de lombricompostaje y su potencial nutrimental en jitomate y menta*. Tesis Maestría, Colegio de Postgraduados, México. <http://text-mx.123dok.com/document/7qvj04gq-relacion-carbono-nitrogeno-en-el-proceso-de-lombricompostaje-y-su-potencial-nutrimental-en-jitomate-y-menta.html>
- Ruggieri, L., Gea, T., Artola, A., Sanchez, A. (2009). Air filled porosity measurements by air pycnometry in the composting process: a review and a correlation analysis. *Bioresource Technology*, 100(10), 2655-2666.
- Ryckeboer, J., Mergaert, J., Vaes, K., Klammer, S., De Clercq, D., Coosemans, J., Swings, J. (2003). A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiology*, 53(4), 349-410.

- Sadzawka, A., Carrasco, M. A., Grez, E. y Mora, M de la L. (2005). *Métodos de Análisis de Compost*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Serie Actas INIA N° 30. Chile.
- Sahin, U., Eroğlu, S., Sahin, F. (2011). Microbial application with gypsum increases the saturated hydraulic conductivity of saline–sodic soils. *Applied Soil Ecology*, 48(2), 247-250.
- Salinas, F. (2002). *Evaluación de la salinización y sodificación de los suelos de la zona lacustre de San Gregorio, Xochimilco, D.F.* Tesis Maestría, Universidad Nacional Autónoma México.
- Sánchez Ó.J., Ospina, D.A., Montoya, S. (2017). Compost supplementation with nutrients and microorganisms in composting process. *Waste Management*, 69, 136-156.
- Sattar, A., Cheema, M. A., Abbas, T., Sher, A., Ijaz, M., Hussain, M. (2017). Separate and combined effects of silicon and selenium on salt tolerance of wheat plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 64(3), 341-348.
- Sattley, W. M., Madigan, M. T. (2006). Isolation, characterization, and ecology of cold-active, chemolithotrophic, sulfur-oxidizing bacteria from perennially ice-covered Lake Fryxell, Antarctica. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(8), 5562-5568.
- Schnitzer, M., Khan, S. U. (1989). *Soil Organic Matter*. Vol. 8. Elsevier Scientific Publishing Company. 319p.
- Seidel, A., Zimmels, Y., Armon, R. (2001). Mechanism of bioleaching of coal fly ash by Thiobacillus thiooxidans. *Chemical Engineering Journal*, 83(2), 123-130.
- Sen, D. O. U., Jun, S. H. A. N., Xiangyun, S. O. N. G., Rui, C. A. O., Meng, W. U., Chenglin, L. I., Song, G. U. A. N. (2020). Are humic substances soil microbial residues or unique synthesized compounds? A perspective on their distinctiveness. *Pedosphere*, 30(2), 159-167.
- Seyyedi, S. M., Moghaddam, P. R., Khajeh-Hosseini, M., Shahandeh, H. (2015). Influence of phosphorus and soil amendments on black seed (*Nigella sativa L.*) oil yield and nutrient uptake. *Industrial Crops and Products*, 77, 167-174.
- Shrivastava, P., Kumar, R. (2015). Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 123-131.

- Sierra, C. B., Lancelloti, A. M., Vidal, I. P. (2007). Elemental sulphur as pH and soil fertility amendment for some Chileans soils of Regions III and IV. *Agricultura técnica*, 67(2), 173-181.
- Silva, M.E.F., Lemos, L.T., Bastos, M.M.S.M., Nunes, O.C. (2013). Recovery of humic-like substances from low quality composts. *Bioresource Technology*, 128, 624–632.
- Soliva, M., López, M. (2004). Calidad del compost: Influencia del tipo de materiales tratados y de las condiciones del proceso. *En Formación de técnicos para el tratamiento y gestión de lodos de depuradora*, 1-20.
- Stamford, N. P., Figueiredo, M. V., da Silva Junior, S., Freitas, A. D. S., Santos, C. E. R., Junior, M. A. L. (2015). Effect of gypsum and sulfur with *Acidithiobacillus* on soil salinity alleviation and on cowpea biomass and nutrient status as affected by PK rock biofertilizer. *Scientia Horticulturae*, 192, 287-292.
- Stamford, N. P., Freitas, A. D. S., Ferraz, D. S., Montenegro, A., Santos, C. E. R. S. (2003). Nitrogen fixation and growth of cowpea (*Vigna unguiculata*) and yam bean (*Pachyrhizus erosus*) in a sodic soil as affected by gypsum and sulphur inoculated with *Thiobacillus* and rhizobial inoculation. *Tropical Grasslands*, 37(1), 11-19.
- Stamford, N. P., Ribeiro, M. R., Cunha, K. P. V., Freitas, A. D. S., Santos, C. E. R. S., Dias, S. H. L. (2007). Effectiveness of sulfur with *Acidithiobacillus* and gypsum in chemical attributes of a Brazilian sodic soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(10), 1433-1439.
- Stamford, N. P., Santos, C. E. R. S., Junior, S. S., Junior, M. L., Figueiredo, M. V. B. (2008). Effect of rhizobia and rock biofertilizers with *Acidithiobacillus* on cowpea nodulation and nutrients uptake in a tableland soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(9), 1857-1865.
- Starosvetsky, J., Zukerman, U., Armon, R. H. (2013). A simple medium modification for isolation, growth and enumeration of *Acidithiobacillus thiooxidans* (syn. *Thiobacillus thiooxidans*) from water samples. *Journal of Microbiological Methods*, 92(2), 178-182.
- Stoffella, P. J., He, Z. L., Wilson, S. B., Ozores-Hampton, M., Roe, N. E. (2011). Compost utilization in subtropical horticultural cropping systems. *En I International Symposium on Organic Matter Management and Compost Use in Horticulture*, 1018, 95-108.
- Suzuki, I. (1999). Oxidation of inorganic sulfur compounds: chemical and enzymatic reactions. *Canadian Journal of Microbiology*, 45(2), 97-105.

- Suzuki, I., Chan, C. W., Takeuchi, T. L. (1992). Oxidation of elemental sulfur to sulfite by *Thiobacillus thiooxidans* cells. *Applied and environmental microbiology*, 58(11), 3767-3769.
- Sztern, D., Pravia, M. A. (1999). *Manual para la elaboración de compost*. Bases conceptuales y procedimientos. Organización Panamericana de la Salud. 65p.
- Tang, J. C., Shibata, A., Zhou, Q., Katayama, A. (2007). Effect of temperature on reaction rate and microbial community in composting of cattle manure with rice straw. *Journal of bioscience and bioengineering*, 104(4), 321-328.
- Tartoura, K. A., Youssef, S. A., Tartoura, E. S. A. (2014). Compost alleviates the negative effects of salinity via up-regulation of antioxidants in *Solanum lycopersicum L.* plants. *Plant growth regulation*, 74(3), 299-310.
- Tiquia, S. M., Tam, N. F. Y., Hodgkiss, I. J. (1996). Microbial activities during composting of spent pig-manure sawdust litter at different moisture contents. *Bioresource Technology*, 55(3), 201-206.
- Tran, Q. T. (2015, September). 7-2-5 Salinity and nutrient effects of cattle manure ash on shoot and root growth at the seedling stage of Komatsuna. In *Abstracts of the Annual Meetings, Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition 61* (p. 148). Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition.
- Venglovsky, J., Sasakova, N., Vargova, M., Pacajova, Z., Placha, I., Petrovsky, M., Harichova, D. (2005). Evolution of temperature and chemical parameters during composting of the pig slurry solid fraction amended with natural zeolite. *Bioresource technology*, 96(2), 181-189.
- Vidyalakshmi, R., Paranthaman, R., Bhagyaraj, R. (2009). Sulphur Oxidizing Bacteria and Pulse Nutrition- A review. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(3), 270-278.
- Vishniac, W., Santer, M. (1957). The *thiobacilli*. *Bacteriological reviews*, 21(3), 195.
- Waksman, S. A., Joffe, J. S. (1922). The chemistry of the oxidation of sulfur by microorganisms to sulfuric acid and transformation of insoluble phosphates into soluble forms. *Journal of Biological Chemistry*, 50(1), 35-45.
- Walker, D. J., Bernal, M. P. (2008). The effects of olive mill waste compost and poultry manure on the availability and plant uptake of nutrients in a highly saline soil. *Bioresource technology*, 99(2), 396-403.

- Wander, M. (2004). Soil organic matter fractions and their relevance to soil function. *Soil organic matter in sustainable agriculture*. CRC Press, Boca Raton, FL, 67-102.
- Wang, X., Selvam, A., Chan, M., Wong, J. W. (2013). Nitrogen conservation and acidity control during food wastes composting through struvite formation. *Bioresource technology*, 147, 17-22.
- Wu, L., Ma, L. Q., Martinez, G. A. (2000). Comparison of methods for evaluating stability and maturity of biosolids compost. *Journal of Environmental Quality*, 29(2), 424-429.
- Yang F., Shi, G. Li, H., Wang, Y. (2015). Effects of phosphogypsum and superphosphate on compost maturity. *Waste Management*, 36, 70-76
- Zhi-Hui, Y. A. N. G., Stöven, K., Haneklaus, S., Singh, B. R., Schnug, E. (2010). Elemental sulfur oxidation by *Thiobacillus* spp. and aerobic heterotrophic sulfur-oxidizing bacteria. *Pedosphere*, 20(1), 71-79.
- Zhu, N. (2007). Effect of low initial C/N ratio on aerobic composting of swine manure with rice straw. *Bioresource Technology*, 98(1), 9-13.

Capítulo 3. EVALUACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA *A. thiooxidans* COMO MEJORADORA DE LA SALINIDAD EN COMPOSTAS.

1. Introducción

El problema de la degradación de los suelos por exceso de sales es un tema en busca de soluciones. Entre las metodologías desarrolladas para la recuperación de suelos salino-sódicos está el uso de emmiendas orgánicas como la composta (Sánchez et al. 2017). A pesar de los grandes beneficios indicados en la utilización de composta, investigaciones previas de Chunping et al. (2007) y Leogrande y Vitti (2019) indicaron que en algunas zonas agrícolas el contenido de sales en la composta aumenta la salinidad del suelo. Al respecto, se ha documentado que con la aplicación de cepas bacterianas del género *Acidithiobacillus*, se logra una efectiva remoción de Sodio (Na), Calcio (Ca), e incluso Na intercambiable (Stamford et al. 2015).

A pesar de lo anterior, se desconoce el punto en que la utilización de este género bacteriano resulta efectiva para disminuir parámetros asociados a salinidad y sodicidad en compostas. Igualmente, no se sabe con certeza si la disminución de estos parámetros en composta mediante el uso de estos microorganismos puede afectar los beneficios nutricionales y físicos asociados al uso de estas emmiendas orgánicas. Por lo que, conocer la dinámica de las poblaciones de bacterias oxidantes de azufre en el proceso de compostaje, como por ejemplo *Acidithiobacillus*, puede contribuir a implementar estrategias que permitan disminuir la sales en compostas y por consecuencia, reducir la degradación de los suelos en los que sean aplicadas. Esto potencialmente, puede ayudar a aumentar la sostenibilidad de los sistemas agrícolas.

2. Marco teórico

2.1 Salinidad

El término salinidad se refiere a la presencia en el suelo de una elevada concentración de sales. La situación más frecuente de salinidad en los suelos es por NaCl pero los suelos salinos suelen presentar distintas combinaciones de sales, siendo comunes los cloruros y los sulfatos de Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} (Jenks y Hasegawa 2005; Rengasamy 2006). Se considera que un suelo es salino cuando contiene un exceso de sales más solubles que el yeso lo que reduce su productividad, y que no es alcalino (Fassbender y Bornemisza 1994). De acuerdo con el Manual de Agricultura del USDA, los suelos afectados por la sal se caracterizan por una conductividad eléctrica en el extracto de saturación $> 4 \text{ dS m}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, un $\text{pH} < 8$, y un porcentaje de Na^+ intercambiable < 15 (Aguilera 1989; Hanay et al. 2004; Conklin 2005; Rengasamy 2006; Juan 2011; Padilla 2017; Omuto 2021). Más recientemente, los suelos se consideraron afectados por la sal a partir de un nivel de CE más bajo de 2 dS m^{-1} a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, ya que varios cultivos de frutas, hortalizas y ornamentales sufren de salinidad dentro del intervalo de CE de 2 a 4 dS m^{-1} (Omuto 2021).

La salinización en el suelo es consecuencia de la cercanía y la altura sobre el nivel del mar, así como de la intemperización de los minerales del suelo. También resulta de prácticas agrícolas incorrectas y del mal manejo del agua para el riego (Lamz y González 2013). Lo anterior se suma a las condiciones climáticas que prevalecen en algunas regiones. En regiones áridas y semiáridas, la acumulación de sales es favorecida por la alta demanda evaporativa y debido a que la precipitación anual es insuficiente, no es posible eliminarlas por arraste o lavado superficial. Consecuentemente, se produce la salinización como un problema serio que es difícil contrarrestar, a menos que existan condiciones apropiadas de drenaje para la lixiviación de sales (Richards 1954; Fassbender y Bornemisza 1994; Porta et al. 2003; Flowers 2004; PNUMA 2004; Lakhdar et al. 2009; Maldonado 2012; Petrone 2013; Shrivastava y Kumar 2015; Oshita et al. 2016; Padilla 2017; Omuto et al. 2021).

Aquellos suelos cuya agua de riego contiene grandes cantidades de Na^+ intercambiable, este sodio se incorpora al suelo, se hidroliza y el pH aumenta (> 8.5). Si además este Na^+ se acumula en cantidades significativas, con un valor igual o superior a 15 de porcentaje de sodio intercambiable (PSI), y con una $\text{CE} < 4 \text{ dS m}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$), entonces se considera un suelo sódico (Richards 1954). Los suelos sódicos se desarrollan cuando las sales solubles son lixiviadas y/o cuando los cationes divalentes son precipitados fuera del complejo de intercambio seguidos por el correspondiente aumento en los iones de sodio (Omuto et al. 2021).

De acuerdo con Álvarez et al. 2008, la vulnerabilidad de los suelos a las condiciones de salinidad depende de las condiciones topográficas y las propiedades físico-químicas del perfil del suelo, como son: la textura, la estructura, la porosidad, la permeabilidad, la capacidad de retención de humedad y de intercambio catiónico, así como a los procesos antropogénicos.

2.2 Degradación del suelo por sales

La salinización es un fenómeno de degradación química que influye la fertilidad de los suelos. Es reconocido por su efecto sobre la mayoría de los ecosistemas en el mundo de manera histórica (Hernández 2000; Domínguez et al. 2001). En 2021 la organización mundial de la salud (FAO) reportó que a nivel mundial, la superficie total de suelos afectados por sales es de 1 100 millones de ha de acuerdo con Cherlet et al. (2018), lo cual está reduciendo la superficie cultivada entre 1 y 2 % al año, con mayor intensidad en regiones áridas y semiáridas (Omuto et al. 2021). Por ello, se considera que la degradación del suelo por sales es un grave problema para la producción de alimentos, y un tema clave para el desarrollo económico. Frenar su avance y desarrollar cultivos tolerantes a salinidad son temas relevantes (Porta et al. 2003; Hanay et al. 2004; Campos-Villareal 2014).

Cuando el suelo es sódico, el exceso de sodio intercambiable y el pH alto causan la dispersión de los agregados. Como resultado, la aireación y la conducción del agua empeoran y el crecimiento de las plantas se reduce (Richards 1954).

2.3 Salinidad de suelos agrícolas en México

En México la salinización/alcalinización de suelos afecta el 3.2 % de su territorio y avanza intermitentemente en la mayoría de los distritos de riego (Petroni 2013; Mata-Fernández et al. 2014; SEMARNAT 2019). De los 29.3 millones de ha utilizadas para la actividad agrícola, alrededor de 600 mil ha son actualmente abandonadas, deficientes, e improductivas siendo las zonas áridas y semiáridas las más afectadas. Esto representa un serio problema si consideramos que aproximadamente 60 % del territorio nacional está conformado por zonas áridas (Manzano et al. 2014; Ruíz et al. 2007; Maldonado 2012; Mata-Fernández et al. 2014).

El problema de salinización de los suelos, disminuye la productividad de zonas agrícolas, debido a que la mayoría de las plantas de importancia agrícola son sensibles a la salinidad. Esto se convierte en un tema de importancia ya que las zonas agrícolas producen cerca del 40 % de los alimentos (Rengasamy 2006; Manzano et al. 2014). A nivel nacional, esta problemática se centra en el norte del país con un 10% de suelos regados afectados por sales (SAGARPA 2001; PNUMA 2004; Ruíz et al. 2007; SEMARNAT 2009). Esto implica un marcado deterioro ecológico además de una disminución significativa en la economía de los agricultores y de la nacional (Mata-Fernández et al. 2014). Al tratarse de un proceso que está en aumento, y sumado a las estimaciones hechas por Kremen y Miles (2012) que indican que las necesidades alimenticias serán incrementadas al doble para el 2050, se hace necesario que las prácticas de manejo en producción de alimentos sean ecológicamente sostenibles en el tiempo (Feucher 2000; Bronwyn et al. 2007; Petroni 2013).

2.4 Estrategias de remediación de suelos afectados por sales

Para la recuperación y rehabilitación de los suelos salinos es necesario eliminar el exceso de sales solubles presentes en la zona de las raíces. Esto se logra mediante un lavado para disolver y eliminar estas sales mediante lixiviación. Sin embargo, es conveniente verificar primero si el suelo tiene buena conductividad hidráulica y buen drenaje, así como considerar los aspectos climáticos. La

aplicación de coberturas vegetales reduce la evaporación promoviendo la percolación del agua, ayudando al lavado del suelo (Fassbender y Bornemisza 1994; Biswas y Biswas 2014).

La recuperación de suelos sódicos requiere un conjunto de medidas para reemplazar el contenido de Na de los sitios de intercambio catiónico y su posterior lixiviación (Fassbender y Bornemisza 1994; Biswas y Biswas 2014). En la práctica, es común el uso de mejoradores físicos, químicos y biológicos que reemplacen el exceso de Na por Ca de los sitios de intercambio de cationes.

Los mejoradores químicos como la aplicación de yeso, ácidos, o sustancias formadoras de estos como el azufre elemental, disminuyen pH al reaccionar con los carbonatos presentes como indicaron Porta et al. (2003), con la siguiente reacción: $\text{NaCO}_3 + \text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$. Sin embargo, tienen el defecto de que algunos pueden resultar costoso para los agricultores de bajos recursos, principalmente cuando son aplicados en amplias extensiones debido a la gran cantidad de material que se requiere, los costos de su aplicación, así como el equipo especializado que puede requerirse (Deng 1990; Qadir et al. 2001; Tejada et al. 2006; Ruíz et al. 2007; Sierra et al. 2007; Mata-Fernández et al. 2014; Ahmed et al. 2016; Skwierawska et al. 2016). Por ello, la implementación de técnicas más amigables con el medio ambiente como la adición de abonos orgánicos de tipo composta, está en aumento.

2.4.1 Composta

La composta es definida como la recuperación de la materia orgánica biotransformable que es degradada por comunidades microbianas en condiciones controladas (Reyna 2002; Ryckeboer et al. 2003; Sánchez et al. 2017). Mientras que, el compostaje es un proceso termofílico, aeróbico y biooxidativo, mediado por microorganismos nativos de los propios residuos orgánicos, en el cual diferentes materiales orgánicos se transforman en materia orgánica estabilizada, un compuesto precursor de sustancias húmicas (Navarro et al. 1995; Neher et al. 2013; Sánchez et al. 2017). Durante este proceso se genera calor como consecuencia de la actividad microbiana, el cual determina la degradabilidad y energía disponible de los sustratos, la humedad, el oxígeno y la forma en cómo se conserva la energía (Ryckeboer et al. 2003; Sánchez et al. 2017).

Se ha destacado que la agricultura orgánica, en particular el uso de compostas, puede ser una alternativa para combatir la salinidad en el suelo debido a que aumenta la capacidad de intercambio catiónico, así como el K soluble e intercambiable, limitando la entrada de Na en el complejo de intercambio. Además, facilita la solubilidad de las sales de Ca precipitadas en el suelo propiciando que mejoren su estructura así como la movilización de los nutrientes hacia las plantas (Salinas 2002; Walker y Bernal 2008; Lakhdar et al. 2008; 2009; Sahin et al. 2011; Sánchez et al. 2017).

Existen estudios que señalan que, en algunas zonas agrícolas, el contenido de sales en la composta puede causar efectos negativos en el suelo por dispersión de los agregados dañando su estructura, como resultado empeoran la aeración y la conducción del agua (Chong 2005; Illera-Vives et al. 2012; Mata-Fernández et al. 2014; Pérez-Gimeo et al. 2016; Leogrande y Vitti 2019). El alto contenido de Na⁺ intercambiable afecta negativamente la disponibilidad de nutrientes, aumenta el pH y limita el crecimiento de las plantas (Qadir et al. 2001; Lakhdar et al. 2008; Jalali et al. 2014; Stamford et al. 2015; Darko et al. 2017). Lo anterior puede deberse a las propiedades en las materias primas utilizadas y/o por el grado de descomposición por lo que es importante asegurar su madurez (Grebus et al. 1994; Sánchez-Monedero 2001; Romero 2013).

2.5 Microorganismos biorremediadores de salinidad sódica

En la recuperación de suelos salinos sódicos, la restauración de la actividad microbiana es un paso básico (Meena et al. 2016). El impacto del incremento de sales en los microorganismos conduce a cambios metabólicos así como estrés osmótico, afectando la actividad enzimática y limitando el crecimiento microbiano, lo cual puede alterar significativamente la capacidad de almacenamiento de carbono y materia orgánica en los suelos, así como el ciclo de nutrimentos (Weston et al. 2011; Yang et al. 2015; Chambers et al. 2016; Rath et al. 2016). Por lo tanto, el uso de métodos biológicos de biorremediación de suelos salinos sódicos ha cobrado importancia, ya que se consideran técnicas auxiliares para aumentar la eficiencia de las técnicas físico-químicas (Hernández 2000).

Se ha reportado que los microorganismos pueden secretar grandes cantidades de ácidos orgánicos que pueden disolver yesos y carbonato de calcio, lo que facilita el reemplazo de sodio por calcio (Qadir et al. 2001; Sahin et al. 2011). Al respecto Seyyedi et al. (2015) y Stamford et al. (2015) demostraron que bacterias del género *Acidithiobacillus* (Kelly y Wood 2000), tienen un efecto significativo sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de suelos salinos sódicos, ya que lograron una mayor lixiviación de sales solubles, disminución de pH y aumento en la concentración de sulfatos. Stamford et al (2003; 2004; 2007) mencionan que estas mismas bacterias tienen una función importante en la oxidación de azufre desde su forma elemental hasta su forma oxidada como ácido sulfúrico, siendo efectivas en la remoción de sodio, calcio e incluso en la reducción del Na^+ intercambiable, por lo que pueden ser utilizadas en la recuperación de suelos con problemas de salinidad (Deng 1990; Sierra et al. 2007).

2.5.1 *Acidithiobacillus thiooxidans*

Las bacterias de la especie *Acidithiobacillus thiooxidans* destacan entre las especies oxidantes de azufre (SOB) más importantes para la oxidación de azufre elemental (S^0). Se caracterizan por ser mesófilas, aerobias, quimiolitotrofas y acidófilas (Kelly y Wood 2000; Chen et al. 2004; Espinosa et al. 2010; Khan et al. 2012; Starosvetsky et al. 2013; Pokorna y Zabranska 2015). La principal ruta de oxidación de *A. thiooxidans* inicia con la transformación de S^0 en sulfato (SO_4^{2-}), con sulfito (SO_3^{2-}) como intermediario. Esta ruta es fundamental debido a que el SO_4^{2-} es un intermediario en la producción de aminoácidos azufrados. En presencia de oxígeno molecular, la ruta puede continuar hasta la formación de ácidos (Stamford et al. 2008), primero ácido sulfuroso (H_2SO_3) y posteriormente este se oxida hasta ácido sulfúrico (H_2SO_4) (Figura 1) (Suzuki et al. 1992; Suzuki 1999; Navarro-Gracia 2003; Espinosa et al. 2010; Harada et al. 2009; Akerman et al. 2013; Anantharaman et al. 2014).

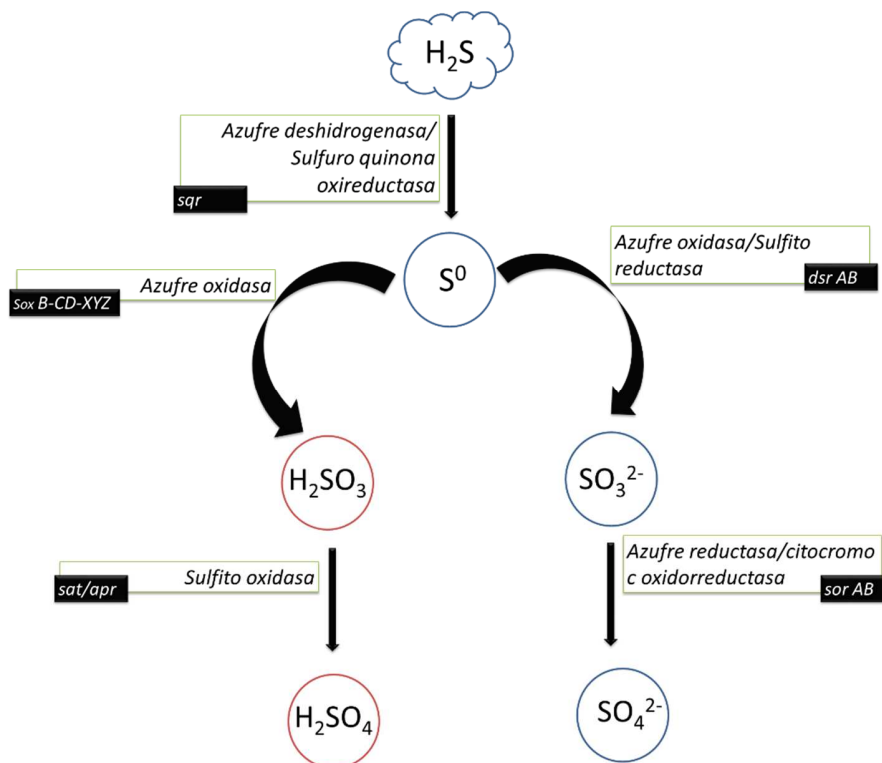


Figura 1. Vías de oxidación del H₂S. Las flechas indican la transformación que sufre el sulfuro de hidrógeno en el suelo, mediante la acción de diversas enzimas (cuadrado blanco), con los nombres respectivos de los genes que codifican la actividad de cada enzima (cuadrado negro).

Este proceso resulta fundamental para la nutrición de las plantas debido a su papel facilitador para la disponibilidad de azufre, así como por su contribución en la solubilización y movilización de nutrientes minerales debido al ácido producido. Es por ello que se considera que estas bacterias tienen un impacto ecológico significativo en la naturaleza (Navarro 2003; El-Tarabily et al. 2006; Moharana et al. 2015). Aunque se encuentra de forma natural en el suelo, tienen el inconveniente de no presentar un número significativo de individuos en muchos suelos agrícolas. Sin embargo, es posible aumentar la población de thiobacilos con la incorporación de S⁰ (Gupta et al. 1988; Lawrence y Germida, 1991; Yang et al. 2008; Stamford et al. 2015).

2.6 Importancia ecológica del Azufre

El azufre es uno de los diez elementos más abundantes en la Tierra, que en raras ocasiones llega a ser un nutriente limitante (Atlas y Bartha 2005). Se caracteriza por ser un elemento reactivo que presenta diferentes estados de oxidación que van de -2 a +6, por lo que forma diversos compuestos que se intercambian por procesos químicos o biológicos de óxido-reducción (Kuen et al. 1992; Takakuwa 1992; Steudle 2000). Siendo los más comunes el sulfuro de hidrógeno (H_2S), el S^0 y el tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), cuyo producto final en la mayoría de los casos es el SO_4^{2-} (Friedrich 1998; Madigan et al. 2003; Juárez 2004).

En el suelo, se considera un elemento clave en procesos de formación debido a que los sulfuros son transformados por microorganismos en sulfatos y otras formas orgánicas que eventualmente se convierten en parte del humus del suelo (Figura 2) (Schnitzer y Khan 1978). Además, las transformaciones bacterianas del azufre en el suelo así como la reducción asimilativa del sulfato, son esenciales para mantener sin formas tóxicas la disponibilidad del elemento para que pueda ser asimilado por plantas y microorganismos. También provee la energía necesaria para el crecimiento de las SOB debido a que el S^0 generado por las bacterias sulfooxidantes puede ser depositado dentro de sus células permitiéndoles tener una reserva de energía en caso de que el H_2S se agote (Navarro 2003; Sorokin 2003; Chen et al. 2004; Conklin 2005; Espinosa et al. 2010; Jalali et al. 2014; Moharana et al. 2015).

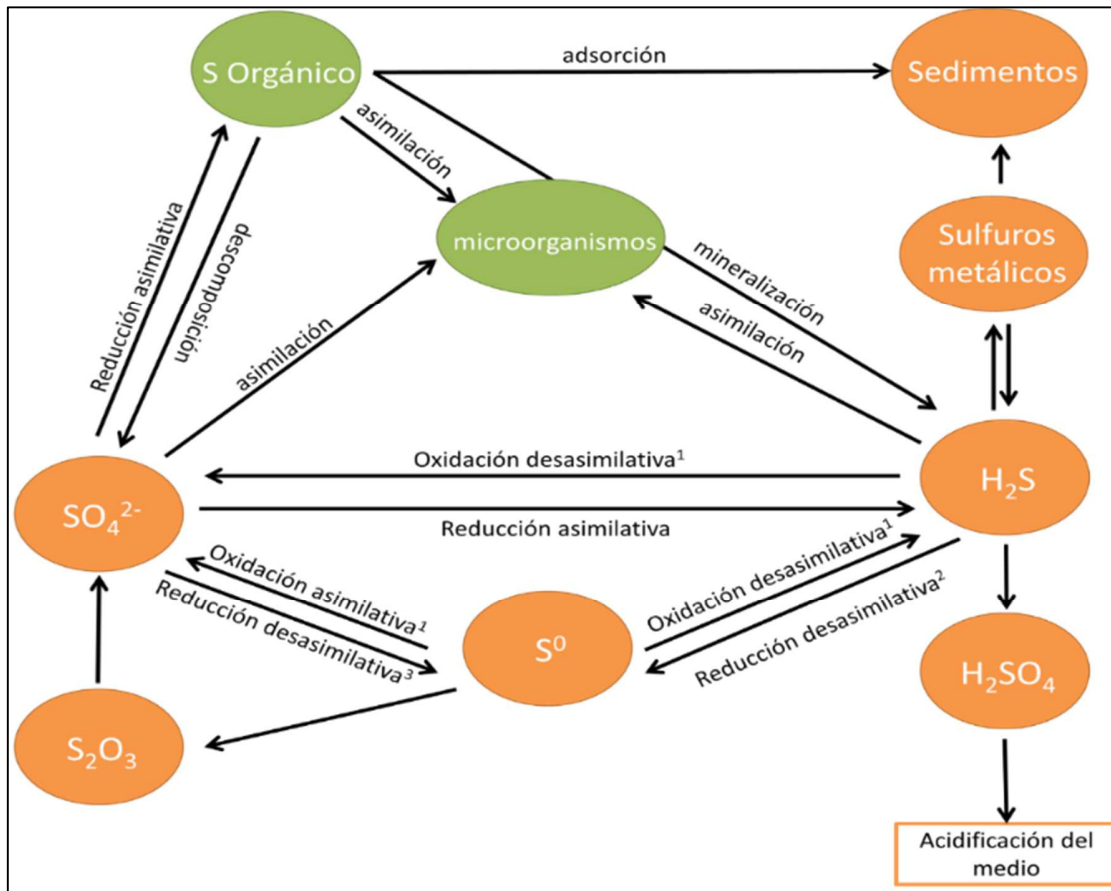


Figura 2. Ciclo del azufre (adaptado de Campbell 1987).

3. Justificación

La salinidad en los sistemas agrícolas del mundo está en aumento, se estima que este problema presenta un crecimiento anual del 10 %, lo que pone en riesgo la producción de alimentos, así como la salud de los ecosistemas.

Aunque se considera que enmiendas orgánicas como la composta aportan muchos beneficios al suelo y por tanto pueden ayudar a combatir la salinidad en el suelo, el exceso de sales de las mismas puede afectar al suelo. Lo anterior hace necesario buscar soluciones integrales que permitan evaluar, conservar y utilizar el recurso suelo sin que se produzcan desequilibrios en el ecosistema.

Para resolver este problema, se han empleado diversos métodos químicos como la aplicación de yeso, que tienen la desventaja de que pueden resultar costosos. Por ello, en los últimos años se han utilizado métodos biológicos como la aplicación de bacterias sulfoxidantes del género *Acidithiobacillus*, las cuales mejoran significativamente las propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo salino sódico como son el pH, la CE, y la disponibilidad de nutrientes. Sin embargo, el conocimiento sobre esta problemática se ha centrado particularmente en los suelos, por lo que hasta ahora, no existe evidencia de que la especie *Acidithiobacillus thiooxidans* tenga la capacidad de disminuir la concentración de sales en composta. Por otra parte, tampoco se cuenta con un conocimiento claro respecto a si esta disminución de salinidad utilizando bacterias sulfato oxidantes pueda afectar los beneficios nutricionales y físicos asociados al uso de composta y su posterior incorporación al suelo. Por ello, en esta investigación se planteó la hipótesis de que al inocular una composta salina con *A. thiooxidans* se obtendrían los mismos beneficios que en suelo.

4. Objetivo

Evaluar el efecto de la inoculación de la cepa bacteriana *Acidithiobacillus thiooxidans* sobre la disminución de parámetros asociados con salinidad sódica y disponibilidad de nutrientes en una composta madura en microcosmos.

5. Metodología

5.1 Obtención de composta

Se preparó una composta mezclando residuos de *Acacia retinodes*, *Fraxinus uhdei*, así como de *Erythrina coralloides* y *Cynodon dactylon*, además de estiércol de vaca, cuya relación C/N inicial fue de 22.4 (Los detalles del montaje se describen en el capítulo 2, sección 5.1). El compostaje duró 91 días, durante este tiempo se realizaron volteos manuales una vez por semana para mantener las condiciones aerobias y se monitoreó la temperatura con termómetro bimetálico de bolsillo en 6 puntos equidistantes, y la humedad, la cual se mantuvo al 60 % de la capacidad de campo (CC), agregando agua desionizada cuando fue necesario.

La madurez de la composta se determinó considerando el tamaño de partícula, volumen final de la pila, olor, color, así como una relación C/N de 9.01 (Figura 3).



Figura 3. Composta al inicio y final del proceso de compostaje.

5.2 Montaje de microcosmos

Para el montaje de microcosmos se tomó una muestra homogénea de 5 kg de composta madura y se mantuvo en bolsa de plástico a temperatura ambiente por 7 meses, posteriormente, esta muestra fue homogeneizada durante 30 minutos con volteos regulares y dividida en dos partes. La primera parte fue esterilizada en autoclave (120 °C, 1.5 PSI /20 min), mientras que la segunda se conservó sin esterilizar. Cada parte fue homogeneizada y distribuida en 36 frascos de vidrio de 250 mL de capacidad, con cierre hermético (microcosmos). A cada frasco se le agregó 80 g de composta homogeneizada hasta completar 72 unidades experimentales (Figura 4), las cuales se mantuvieron a 30 °C de temperatura.



Figura 4. Método empleado para el montaje de los microcosmos. Las flechas indican la secuencia metodológica empleada.

5.3 Inóculo

En paralelo al montaje de los microcosmos, se cultivó la cepa bacteriana *Acidithiobacillus thiooxidans* (8085) del cepario *American Type Culture Collection* (ATCC). La cepa fue cultivada en 125 mL de medio mineral indicado por ATCC#125 (Anexo 3) e incubada 30 °C /180 rpm /24 h para su activación y producción de biomasa (Figura 5[1]). Posteriormente, se tomó una alícuota de un mililitro del cultivo y se inoculó en 125 mL de medio mineral nuevo 30 °C /180 rpm / 120 h (Figura 5[2]). La fase exponencial de las células se determinó de 0 a 120 h mediante una curva de crecimiento, la cual se realizó utilizando un espectrofotómetro Shimadzu UV-1601 a una longitud de onda de 540 nm. La obtención de las células fue a los 5 días a (8×10^8 células / mL) mediante centrifugación 8,500 rpm /4 °C /10 min (Figura 5[3]). El botón celular fue resuspendido y homogeneizado en 1000 mL de medio mineral ATCC#125, el cual fue incubado 30 °C /180 rpm /24 h (Figura 5[4]). Cada microcosmos fue rociado con 30 mL de medio mineral inoculado utilizando un aspersor manual para llegar al 80 % capacidad de campo (CC) (Figura 5.5). Se requirieron 2160 mL para 72 unidades experimentales.

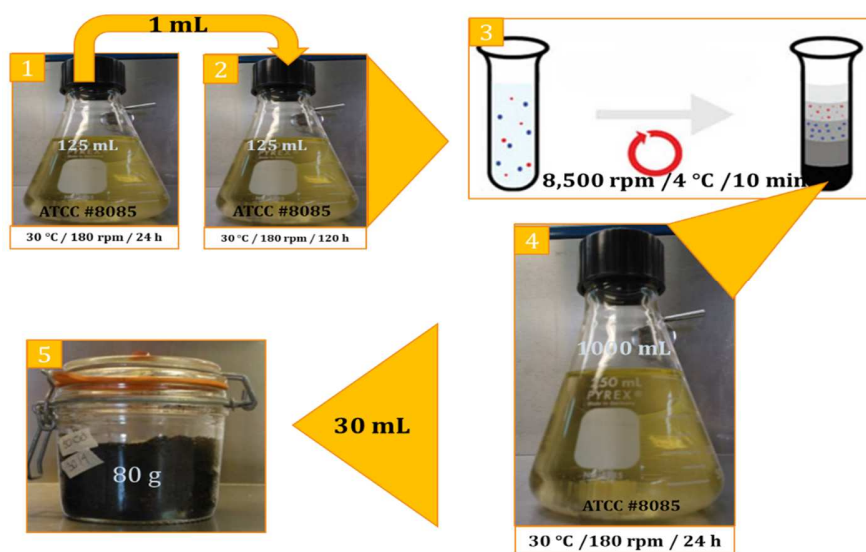


Figura 5. Obtención de inóculo a partir de medio de cultivo líquido centrifugado y posteriormente resuspendido.

5.4 Diseño experimental y tratamientos

Se trabajó con base en un diseño de bloques completos con arreglo factorial, con tres repeticiones, donde los factores fueron: 1) Condición de la composta: estéril (E) y no estéril (NE); 2) presencia o ausencia de *A. thiooxidans*: 30 mL inóculo ATCC #8085 (T); 3) dosis de azufre elemental (S^0): 11.10 g L⁻¹ (S^0), 0.0 g L⁻¹ (S^0) y 4) tiempo: 0, 360, 528 y, 720 h (Figura 6). Para establecer la dosis de S^0 se consideró la cantidad de azufre que contiene el medio de cultivo indicado.

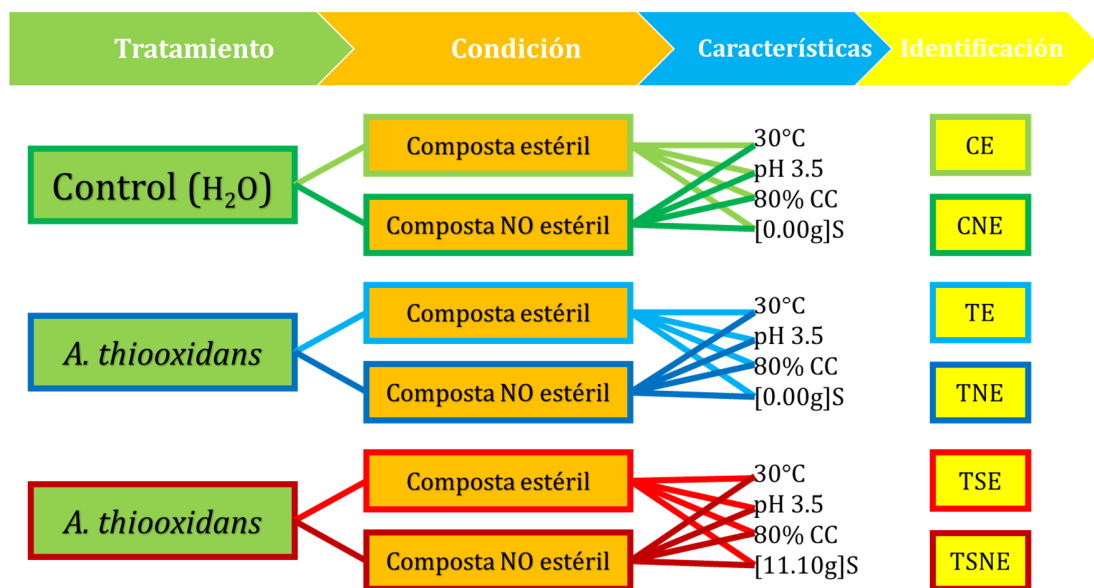


Figura 6. Diseño experimental. En rectángulos de colores se indican las especificaciones de cada tratamiento, así como su identificación. Para los controles (verdes), para la cepa *A. thiooxidans* (azul) y para la cepa *A. thiooxidans* + S⁰ (rojo).

Se establecieron seis tratamientos con 12 microcosmos cada uno. Cada tratamiento se ajustó de acuerdo con las características señaladas en la Figura 6. Se utilizó una incubadora para mantener la temperatura controlada de acuerdo con las especificaciones en el Bergey's Manual (Kelly and Wood 2000) para esta especie bacteriana. Los tratamientos se detallan a continuación:

1. CE. Control en condición estéril, sin *A. thiooxidans* y sin S⁰
2. CNE. Control en condición no estéril, sin *A. thiooxidans* y sin S⁰
3. TE. Tratamiento en condición estéril con *A. thiooxidans*
4. TNE. Tratamiento en condición no estéril con *A. thiooxidans*
5. TSE. Tratamientos en condición estéril con *A. thiooxidans* + S⁰
6. TSNE. Tratamiento en condición no estéril con *A. thiooxidans* + S⁰

5.5 Análisis químico de la composta

El análisis químico de la composta se realizó en muestras secas (60 °C/ 48 h), que posteriormente se tamizaron con malla de 1,190 mm y de 0.025 mm. La determinación de pH y conductividad eléctrica (CE) se realizó de acuerdo con Sadzawka et al. (2005), utilizando un potenciómetro Thermo-Orion 3 Star y un conductímetro Hanna Instruments Modelo HI 8819N respectivamente. El sodio intercambiable se extrajo con acetato de amonio ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 1N de acuerdo con Thomas (1983), y se cuantificó con un fotoflamómetro Cornig 400. Mientras que la determinación del carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (Nt) y azufre total (St) se determinaron con un analizador elemental Thermo Scientific, modelo Flash 2000 siguiendo las indicaciones del fabricante.

La composta fue caracterizada previamente al proceso de inoculación y montaje del experimento. Posteriormente, las muestras fueron evaluadas en cada uno de los tiempos señalados con excepción de la determinación de nutrientes (Cot, Nt, St) que solo se realizó en los tiempos 0 y 720 h de incubación.

5.6 Análisis microbiológico de la composta

El análisis microbiológico de la composta se realizó al final del experimento (720 h) para determinar presencia o ausencia de *A. thiooxidans* en cada una de las unidades experimentales, acorde a los tratamientos empleados.

5.6.1 Extracción y amplificación de ADN

De cada tratamiento se tomó 1 g de composta en cada réplica con la finalidad de tener una muestra compuesta. De esta muestra se utilizaron 0.20 g para su extracción de ADN empleando el kit de extracción Stool DNA Isolation Kit (Norgen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADN obtenido se corrió por electroforesis a 70 V por 30 min en gel de agarosa al 1.2 %, utilizando GelRed (Thermo Cientific) como marcador. El resultado de este procedimiento fue capturado con un fotodocumentador Protein Simple Red utilizando el Software FluorChem® E System para verificar que el producto está en buenas condiciones y en cantidad suficiente.

El ADN obtenido fue amplificado con la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), la cual se realizó con un kit Quiagen utilizando oligonucleótidos bacterianos específicos de una región del 16S ADNr (Tabla 1). Se utilizó un programa de ciclos para amplificar las regiones hipervariables V6 y V8 del 16S ADNr (Abegg et al. 2016). Las condiciones de amplificación se determinaron considerando tiempos de desnaturalización, alineamiento y extensión para el gen 16S en las regiones V6-V8 (Tabla 2). Cada reacción se llevó a cabo usando 25 µl de volumen final, con 1X amortiguador, 1X Solución Q, 200 µM dNTPs, 0.5 µM oligonucleótido, 2.5 U de *Taq* ADN polimerasa, 11.5 µl de H₂O grado molecular y 0.1 µl de ADN. Los productos de PCR se corrieron en gel de agarosa al 1 %.

Tabla1. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación

Oligonucleótidos	Secuencia (5' – 3')
968 F	AAC GCG AAG AAC CTT ACC
1401 R	GCG TGT GTA CAA GAC CC
grapa G-C	GCC CGG GGC GCG CCC CGG GGG CGG GGG CAC GGG GGA ACG CGA AGA ACC TTA CC

* Oligonucleótidos basados en Nübel et al. 1996

Tabla 2. Programa utilizado para amplificar fragmentos 16S ADNr

	Temperatura	Ciclos	Tiempo
	94 °C		5 min
	94 °C		50 s
16S	55 °C	35	50 s
ADNr	72 °C		1 min
	72 °C		7 min
	3 °C		∞

5.6.2 Análisis de comunidades

El análisis de comunidades se realizó para verificar la presencia de *A. thiooxidans* al final del experimento. Se añadió una grapa de GC a los productos de PCR para evitar la desnaturalización total de los fragmentos amplificados y posteriormente se analizaron por Electroforesis en Gel con Gradiente de Desnaturalización (DGGE por sus siglas en inglés) usando gel de poliacrilamida al 20 % (40 % w/v poliacrilamida: acrilamida-bisacrilamida [37.5:1]) en gradiente de desnaturalización de 40 – 60 % usando el Sistema Universal de Detección de Mutaciones DCode (Bio-Rad).

El DGGE fue realizado usando 25 µl de producto de PCR en buffer TAE 1X (40 mM Tris, 40 mM ácido acético, 1 mM EDTA (pH 8.0)), a 60 °C/ 85 V/16 h. Posteriormente el gel fue teñido con nitrato de plata 0.2 % durante 30 min y digitalizado con el programa KODAK 1D Image Analysis Software®. Una vez digitalizado, la imagen obtenida fue procesada con el programa PyElph 1.4 para obtención de un dendrograma a partir del método de pares y grupos no ponderados con análisis de media aritmética (UPGMA), por sus siglas en inglés.

5.7 Análisis estadístico

Los resultados se expresan con las medias de las réplicas, agrupadas primero por condición (E y NE) y posteriormente por tratamientos (Control, T y TS⁰). La interpretación estadística se realizó con un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si las medias eran diferentes significativamente, utilizando el paquete estadístico R Core Team (2017).

6. Resultados y Discusión

6.1 Caracterización química de la composta

De acuerdo con los resultados del análisis químico, se considera que la composta obtenida después de 91 días fue salina de acuerdo con los criterios establecidos para suelos por Aguilera (1989) y Conklin (2005), con un pH de < 8.5 y CE de $> 4 \text{ dS m}^{-1}$, lo cual se debe al abono utilizado como componente inicial (Tabla 3). Al respecto, varios autores han indicado que el estiércol de vaca contiene sales solubles que incrementan la CE (Hao y Chang 2003; Manzano et al. 2014; Tran et al. 2015; Oshita et al. 2016).

Tabla 3. Caracterización química de la composta utilizada como sustrato (Promedio \pm Error Estándar)

Parámetro	Composta	
	No estéril	Estéril
pH H ₂ O (2:1)	8.30 \pm 0.003	7.34 \pm 0.273
CE (dS m ⁻¹)	6.03 \pm 0.384	6.43 \pm 0.176
Na ⁺ (cmol kg ⁻¹)	118.69 \pm 10.69	109.97 \pm 3.61
COT (g kg ⁻¹)	14.91 \pm 0.219	12.43 \pm 0.146
Nt (g kg ⁻¹)	5.33 \pm 0.08	6.63 \pm 0.06
St (g kg ⁻¹)	0.25 \pm 0.046	0.22 \pm 0.008
C/N	2.79	1.90

6.1.1 Nutrientes

6.1.1.1 Carbono/Nitrógeno

La composta sin esterilizar presentó una relación C/N de 2.79. Investigaciones previas reportaron que es común que en un proceso de compostaje la relación C/N baje debido a la utilización de C por los microorganismos, e incluso se considera a la composta como almacén natural de N (Bohórquez 2019; Navarro 2003). Sin embargo, esto representa un dato atípico para este tipo de sustratos, lo cual pudo ser debido a un error metodológico en la homogeneización de la muestra (con alto contenido de estiércol), o durante el procesamiento de la muestra para el

análisis elemental. Aunque se comprobó la precisión del equipo utilizado, la falta de una muestra de referencia que dé exactitud el equipo pudo derivar en una lectura que no corresponde con este tipo de sustratos.

Esta relación es muy inferior a reportes previos de Misra (2003) y Han et al. (2014) que indicaron una relación C/N típica de alrededor de 15 en enmiendas orgánicas. Igualmente, el valor obtenido se encuentra por debajo del rango (12 – 15) considerado óptimo para uso agronómico por Sztern y Pravia (1999) y Romero (2013).

Posterior a su esterilización, la relación C/N de la composta bajo aún más (1.90) debido al aumento de N y pérdida de COT (Tabla 3). De acuerdo con Almendros et al. (1984a) el efecto de las altas temperaturas propicia en el humus un enriquecimiento en los constituyentes de mayor grado de humificación o maduración. Estos autores encontraron que la relación C/N puede disminuir en muestras de suelo forestal poco transformadas, en donde el porcentaje de nitrógeno experimenta un cambio, pues aumentan las formas orgánicas más estables, indicando la gran resistencia de los constituyentes nitrogenados frente a la degradación térmica. La gran estabilidad del N podría ser atribuida al alto grado de aromaticidad y bajo contenido de N hidrolizable en los ácidos húmicos como señalaron Almendros et al. (1984b).

Al finalizar el periodo de incubación (720 h) los tratamientos inoculados con azufre adicionado (TSE y TSNE), aumentaron significativamente su COT respecto a su control (CE y CNE respectivamente) ($p < 0.05$) (Figura 7). Mientras que para el Nt el aumento significativo ($p < 0.05$) sólo fue para el tratamiento (TSNE) respecto de su control (CNE) (Figura 8). Estos aumentos en nutrientes, en particular en el caso del Nt, pueden deberse a la pérdida de masa ocasionada por la oxidación de materia orgánica, a la fijación de nitrógeno en la matriz de RO composteados y su incorporación en los microorganismos, así como a la liberación del nitrógeno fijado por los microorganismos, como señalan Jorge et al. (2018). En relación con esto, Fassbender y Bornemisza (1994), y Navarro (2003) indicaron aumento de N por fijación asimbiótica de nitrógeno atmosférico y su posterior adsorción por las

sustancias húmicas para mantener una reserva de nutrición vegetal. Al respecto, se han documentado que diversas especies bacterianas y de hongos fijadoras de nitrógeno atmosférico que se encuentran en composta (Ryckeboer et al. 2003; Mayz-Figueroa 2004). Por otra parte, Levicán et al. (2008), indicaron que *A. thiooxidans* puede incorporar amoníaco y asimilar nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-). Respecto al COT, el aumento pudo deberse al aumento de la biomasa microbiana, en particular de SOB que se ven favorecidas por la presencia de S.

Lo mismo sucede cuando comparamos el aumento significativo de Nt y COT ($p < 0.05$) del tratamiento con azufre (TSNE) con respecto al tratamiento sin azufre (TNE) en condición no estéril. Es decir, que los consorcios establecidos en los tratamientos no esterilizados con azufre promueven una mayor degradación de MO y menor pérdida de N.

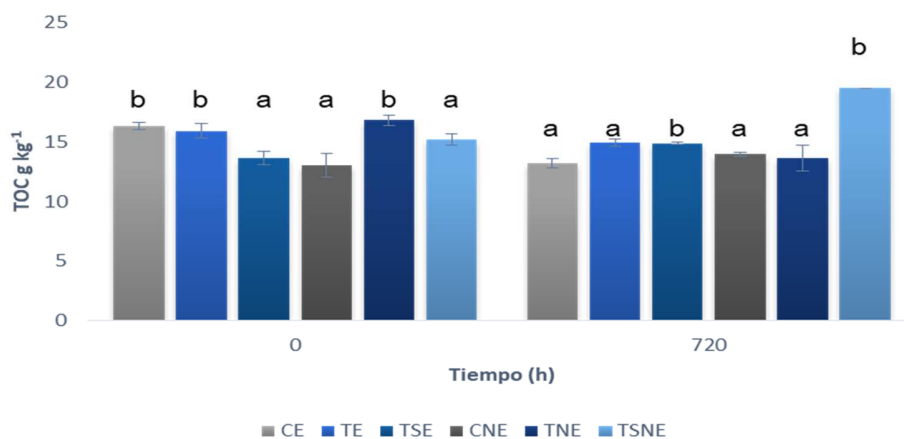


Figura 7. Evaluación de COT de la composta al tiempo inicial y final de dos tratamientos [*A. thiooxidans* inoculado (T), *A. thiooxidans* inoculado + azufre elemental (TS°)] y un control (C), bajo dos condiciones [estéril (E), no estéril (NE)]. Los resultados se muestran como el promedio de tres replicas (\pm ES) y las letras muestran diferencias significativas por tratamiento en el tiempo.

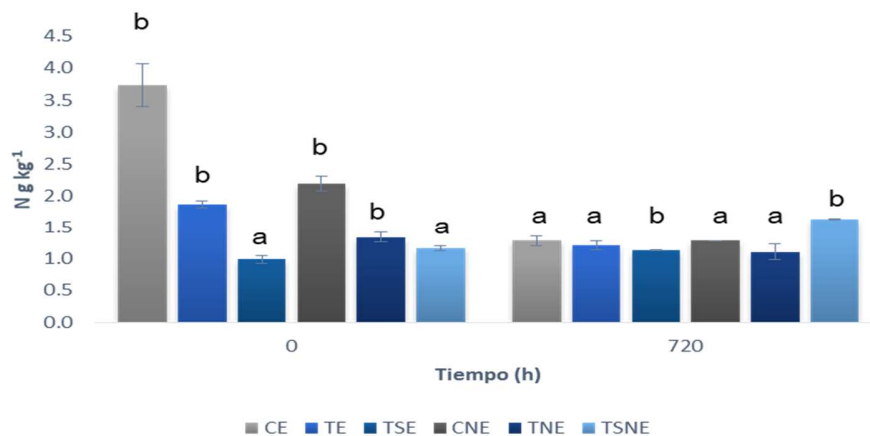


Figura 8. Evaluación de Nt de la composta al tiempo inicial y final de dos tratamientos [*A. thiooxidans* inoculado (T), *A. thiooxidans* inoculado + azufre elemental (TS°)] y un control (C), bajo dos condiciones [estéril (E), no estéril (NE)]. Los resultados se muestran como el promedio de tres replicas (\pm ES) y las letras muestran diferencias significativas por tratamiento en el tiempo.

Al final del proceso encontramos que todos los tratamientos aumentaron significativamente la relación C/N con respecto al valor inicial indicado en la Tabla 3, ubicándose dentro del rango sugerido por Misra et al. (2003) con valores entre 10 y 15 (Tabla 4). Sin embargo, fue el tratamiento (TSE) el que más se acerca al rango reportado por Sztern et al. (1999) y Romero (2013) como adecuado para uso agronómico (15) con una relación final C/N de 13.1, lo que sugiere que este tratamiento presenta mayor estabilidad de la composta, con una buena proporción de nitrógeno disponible para las plantas.

Tabla 4. Relación C/N de la composta al final del periodo de incubación.

Tiempo	Tratamientos					
	CE	TE	TSE	CNE	TNE	TSNE
720	10.3	12.3	13.1	10.8	12.3	11.9

6.1.1.2 Azufre

A las 720 h de incubación los tratamientos con *A. thiooxidans* (TE, TSE) y (TNE, TSNE) aumentaron significativamente la concentración de St con respecto a sus controles ($p < 0.05$) (Figura 9) debido principalmente al azufre agregado, pero también al aumento de SO_4^{2-} como reportó El-Tarabily et al. (2006) atribuido a la adición de $\text{S}^0 + \text{SOB}$.

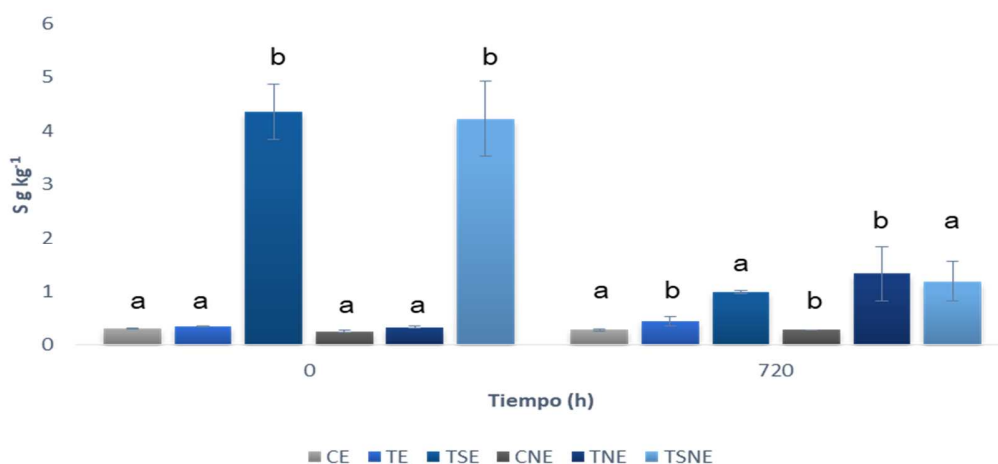


Figura 9. Evaluación de St de la composta al tiempo inicial (T0) y final de la incubación (720 h) de dos tratamientos [*A. thiooxidans* inoculado (T), *A. thiooxidans* inoculado + azufre elemental (TS°)] y un control (C), bajo dos condiciones [estéril (E), no estéril (NE)]. Los resultados se muestran como el promedio de tres replicas (\pm ES), y las letras muestran diferencias significativas por tratamiento en el tiempo.

El tratamiento esterilizado con azufre (TSE) presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al tratamiento esterilizado sin azufre (TE), lo que indica que la presencia de azufre aumenta la tasa de producción de sulfato al incrementar la fuente de energía disponible para *A. thiooxidans*. Sin embargo, los tratamientos no esterilizados con y sin azufre (TSNE y TNE) no presentaron diferencias significativas entre sí, lo que sugiere que se están formando consorcios entre los microorganismos nativos y *A. thiooxidans* que potencializan la producción.

Se observó una disminución del St de 0 a 720 h de incubación que puede ser atribuido a un proceso de reducción no asimilativa de SO_4^{2-} y azufre elemental hasta H_2S , y su posterior volatilización (Kumar et al. 2018), lo que sugiere que la humedad inicial (80 % CC) pudo favorecer una condición anaerobia (Zhou et al. 2005), condición que de acuerdo con Navarro (2003) y Sierra et al. (2007) disminuye la velocidad de oxidación de azufre debido a la falta de oxígeno, ya que los microorganismos oxidantes son aeróbicos. Además, Lucheta y Lambais (2012) indicaron que la humedad óptima para una buena mineralización es aproximadamente 60 % CC. Otra posibilidad es el consumo de S^0 por los microorganismos oxidantes de azufre.

6.1.2 Evaluación de pH durante el proceso de incubación

Los tratamientos con *A. thiooxidans* en condición NE (TNE, TSNE) se acidificaron a las 720 h en comparación con la composta sin inocular (CNE) (Figura 10b). Estos mismos tratamientos se acidificaron de forma significativa ($p < 0.05$) con respecto a su control (CNE) en comparación con los tratamientos esterilizados (TE, TSE) respecto a su control (CE) (Figure 10 ab). Estas diferencias son atribuidas a la producción de ácido sulfúrico (H_2SO_4) por la presencia de *A. thiooxidans* y la **comunidad nativa** que promueve la oxidación biológica de S como documentaron Seyyedi et al. (2015). Mientras que Dick y Chen (2008) y Yang et al. (2008) documentaron que con la aplicación de azufre elemental incrementa la abundancia de *Acidithiobacillus* en suelos, y por tanto disminuye los valores de pH.

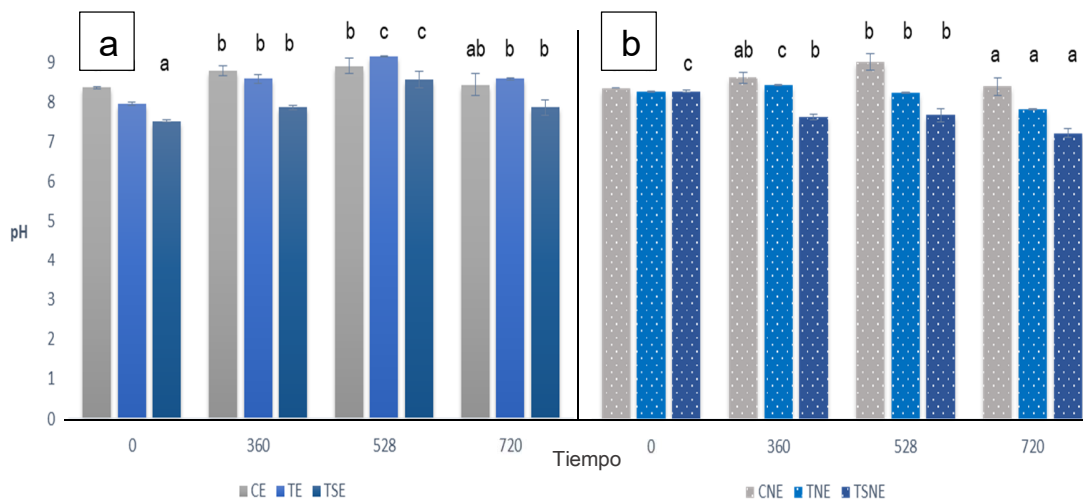


Figura 10. Registro de pH de la composta durante el tiempo de incubación bajo condición estéril (a) y no estéril (b) de dos tratamientos [*A. thiooxidans* inoculado (T), *A. thiooxidans* inoculado + azufre elemental (TS⁰)] y un control (C)]. Los resultados presentados como tiempo de incubación “0” inician al momento de la adición del inóculo. Los resultados se muestran como promedio de triplicados (± ES), y las letras muestran diferencias significativas por tratamiento en el tiempo.

El valor más bajo de pH se obtuvo cuando se aplicó azufre elemental (TS) (Figura 11a) con diferencias significativas respecto al tratamiento sin azufre (TE, TNE) ($p < 0.05$). Lo anterior se explica con lo reportado por Sierra et al. (2007) y Dick et al. (2008) quienes documentan la incorporación de S⁰ como un método químico para disminuir pH de suelos con problemas de salinidad. Además, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) respecto a la condición (E, NE). En la Figura 11b se puede observar que la condición NE mostró una ligera disminución de pH del tiempo 0 al 720, mientras que bajo condición E en el mismo periodo de tiempo no hay disminución de pH. Lo anterior puede ser resultado de procesos metabólicos de producción de sulfatos, debido probablemente a una asociación sinérgica entre *A. thiooxidans* y los SOB nativos como reportaron Ryckeboer et al. (2003), Yang et al. (2008) y Lucheta y Lambais, (2012) quienes encontraron que *Thiobacillus* y otros SOB nativos de composta son responsables de la oxidación de S⁰. En esta investigación se observó que *A. thiooxidans* tuvo una mayor eficiencia metabólica cuando interactuó con el consorcio microbiano nativo de la composta;

mientras que la composta esterilizada presentó una evidente disminución de la comunidad microbiana que restringe la oxidación de S^0 y por tanto la formación de ácido sulfúrico como ha sido reportado por Zhou et al. (2005); Lucheta y Lambais (2012); Kelly y Wood (2013) y Jalali et al. (2014) quienes encontraron que a pesar que la mineralización de SO_4^{2-} puede ocurrir de manera puramente química, esto solo sucede cuando el nivel de SO_4^{2-} es bajo para cubrir las necesidades de la microbiota oxidadora del S^0 .

La poca variación del pH en los tratamientos bajo la condición NE en el tiempo 0 (Figura 10b) se atribuye a la capacidad de amortiguamiento que tiene la composta como reportaron Yang et al. (2008) al verificar que la efectividad de la reducción del valor de pH por oxidación de S^0 depende no sólo de la dosis de S^0 sino también de la capacidad buffer del sustrato. Otro factor que se considera es la humedad inicial (80 %CC), que de acuerdo con Sierra et al. (2007) limita la oxidación por una reducción de aireación del suelo. Al respecto Lucheta y Lambais (2012) y Han et al. (2014), reportaron que las condiciones óptimas de mineralización del S corresponden con 60 % CC, mientras que cuando es superior al 70 % se inhibe la actividad microbiana. En nuestro experimento el efecto la inoculación de *A. thiooxidans* sobre el pH de la composta es más fuerte conforme aumenta el tiempo de incubación debido a pérdida de humedad.

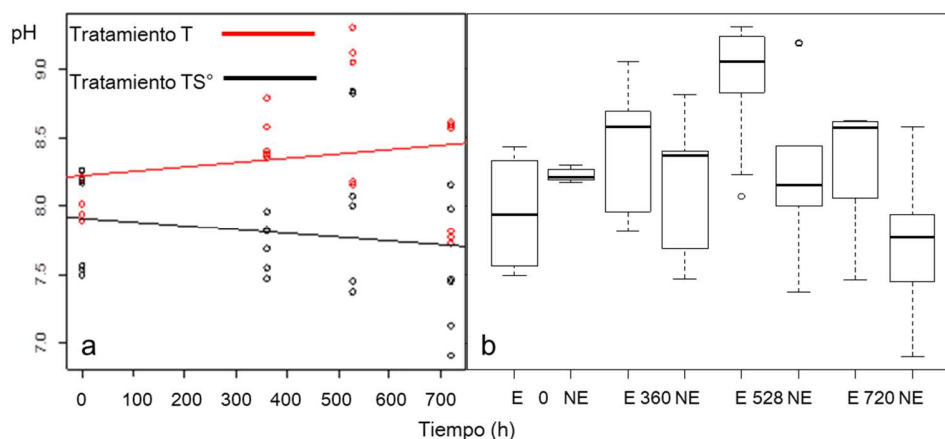


Figura 11. Respuesta del pH con respecto al azufre añadido [con azufre (tratamiento TS), sin azufre (tratamiento T)] en diagrama de dispersión con línea de regresión (a) y respuesta del pH con respecto a la esterilización [estéril (E), no estéril (NE)] en diagrama de caja (b *). * La línea continua en el diagrama de caja indica la media.

6.1.3 Conductividad eléctrica y sodio intercambiable durante el periodo de incubación

Tres de los tratamientos con *A. thiooxidans* (TE, TSE, TSNE) mostraron una menor concentración de Na⁺ intercambiable en comparación con el tratamiento sin inóculo (CE, CNE) a las 720 h de incubación, con diferencias significativas ($p < 0.05$) (Figuras 12 ab). Por su parte, los tratamientos inoculados (TNE, TSNE) en condición NE aumentaron su CE a las 720 h en comparación con su control (CNE), con diferencias significativas ($p < 0.05$) (Figura 13b). La composta esterilizada (E) con inóculo (TE, TSE) no muestran diferencias significativas con su control a las 720 h (Figura 13a). La diferencia de Na⁺ intercambiable así como de CE podría responder a la actividad metabólica sinérgica entre *A. thiooxidans* y el consorcio microbiano nativo, que incrementa la solubilidad de las sales presentes derivado de la oxidación de S⁰ hasta H₂SO₄, que al reaccionar con los carbonatos presentes (derivados del estiércol y de las leguminosas [Fassbender y Bornemisza 1994; Eghball 2000]), favorece la formación de sulfato de calcio. Esto propicia un intercambio entre los iones de Ca²⁺ y Na⁺ dando como resultado una menor concentración de Na⁺ intercambiable y un incremento de CE como ha sido reportado por Qadir et al. (2001), El-Tarabily et al. (2006) y, Sahin et al. (2011). Resultados similares fueron obtenidos por Seyyedi et al. (2015) en suelos calcáreos, registrando una disminución en el pH del suelo y un aumento significativo en la CE.

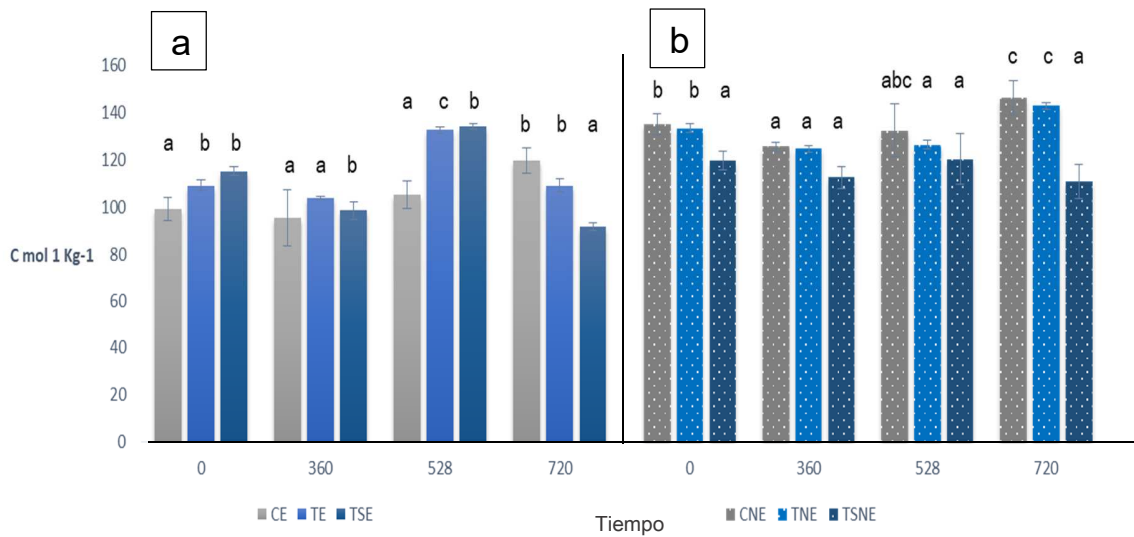


Figura 12. Registro de Na⁺ intercambiable de la composta durante el tiempo de incubación bajo condición estéril (a) y no estéril (b) de dos tratamientos [*A. thiooxidans* inoculado (T), *A. thiooxidans* inoculado + azufre elemental (TS⁰)] y un control (C)]. Los resultados presentados como tiempo de incubación “0” inician al momento de la adición del inóculo. Los resultados se muestran como promedio de triplicados, las barras de error son el error estándar y las letras muestras diferencias significativas por tratamiento en el tiempo.

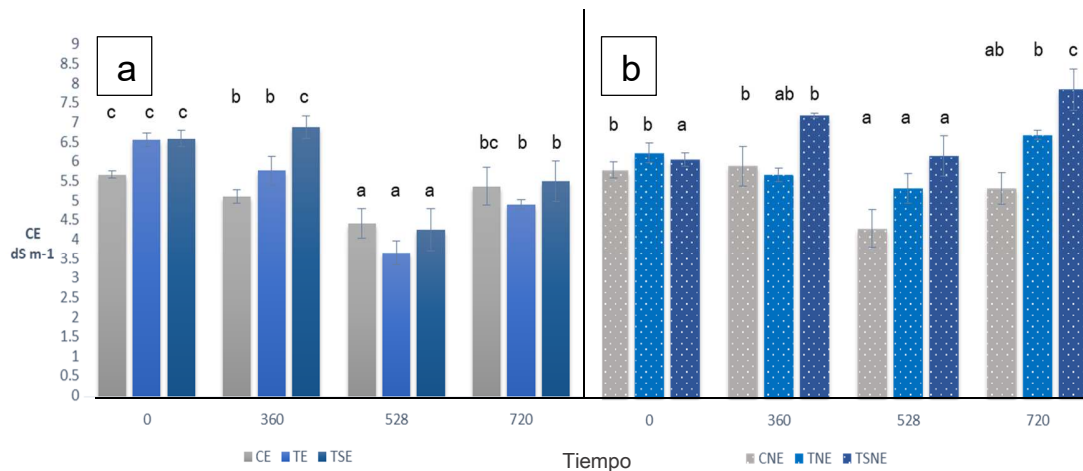


Figura 13. Registro de CE de la composta durante el tiempo de incubación bajo condición estéril (a) y no estéril (b) de dos tratamientos [*A. thiooxidans* inoculado (T), *A. thiooxidans* inoculado + azufre elemental (TS⁰)] y un control (C)]. Los resultados presentados como tiempo de incubación “0” inician al momento de la adición del inóculo. Los resultados se muestran como promedio de triplicados (\pm ES), y las letras muestras diferencias significativas por tratamiento en el tiempo.

Los tratamientos con S^0 (TSE, TSNE) disminuyeron la concentración de Na^+ intercambiable de 0 a 720 h de incubación con diferencias significativas ($p < 0.05$) (Figura 14a). Mientras que, sólo el tratamiento no esterilizado con S^0 (TSNE) incrementó de forma significativa su CE con respecto al tratamiento sin azufre (TNE) ($p < 0.05$) (Figura 15a). Estos resultados sugieren que la incorporación de azufre potencializa el proceso de oxidación bacteriana favoreciendo el intercambio de bases y disminuyendo Na^+ de los sitios de intercambio (Navarro 2003). Lo anterior corresponde con lo indicado por Aguilera (1989), quien reportó que la oxidación de una molécula de azufre hasta H_2SO_4 puede substituir teóricamente a 4 iones de sodio por calcio, propiciando un desplazamiento de sodio de los sitios de intercambio (Qadir et al. 2001). Igualmente, coincide con Stamford et al. (2007, 2008) y, Seyyedi et al. (2015) quienes encontraron que la incorporación de un mejorador químico-biológico disminuye la concentración de Na^+ intercambiable en suelo y aumenta la CE.

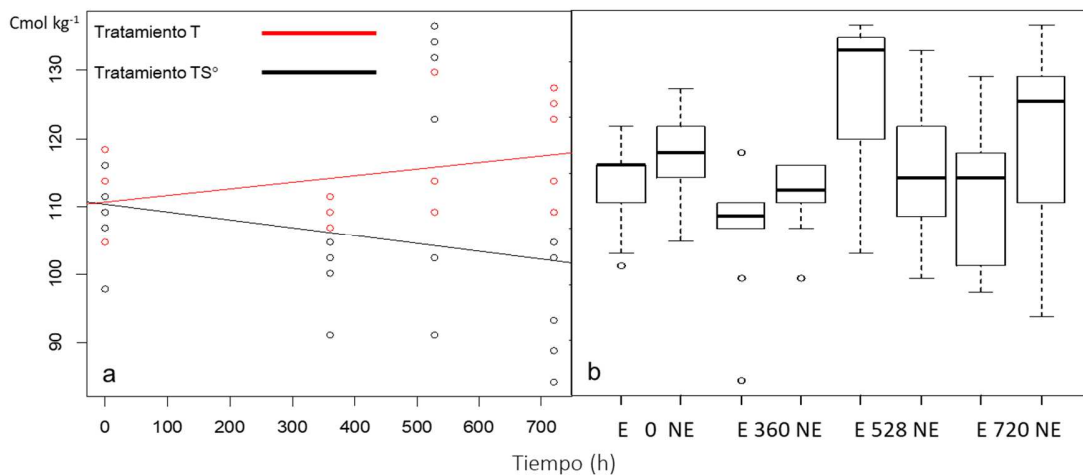


Figura 14. Respuesta del Na^+ intercambiable con respecto al azufre añadido [con azufre (tratamiento TS), sin azufre (tratamiento T)] en diagrama de dispersión con línea de regresión (a) y respuesta del pH con respecto a la esterilización [estéril (E), no estéril (NE)] en diagrama de caja (b *). * La línea continua en el diagrama de caja indica la media.

La concentración de Na^+ intercambiable no arrojó diferencias significativas en cuanto a la esterilización (Figura 14b); sin embargo, si se observaron cambios significativos en la CE ($p < 0.05$), en donde se observó mayor estabilidad en condición NE y aumento de las concentraciones de 0 a 720 h en comparación con los tratamientos esterilizados (Figura 15b). El aumento de CE responde a un incremento tanto de sodio soluble como de nutrientes disponibles debido a una mayor tasa de oxidación de S^0 por actividad sinérgica entre las poblaciones microbianas nativas de la composta y *A. thiooxidans* (El-Tarabily et al. 2006; Sierra et al. 2007).

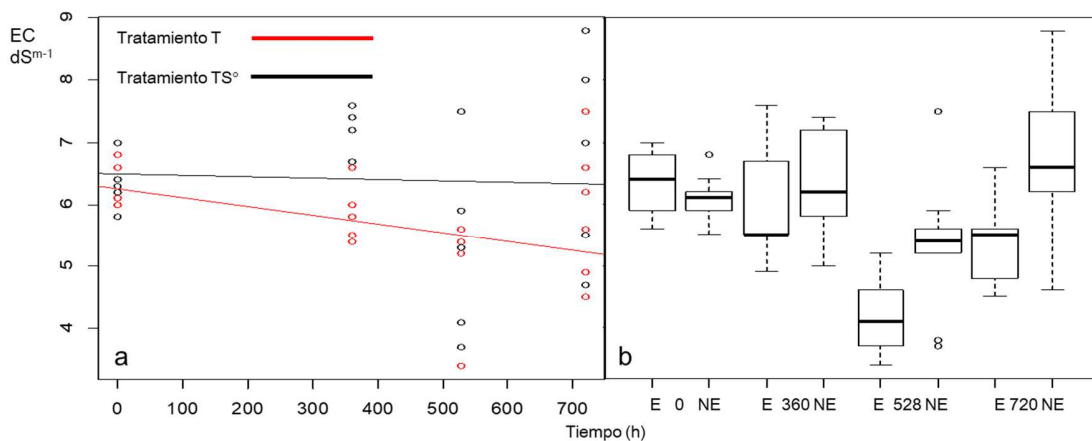


Figura 15. Respuesta de CE con respecto al azufre añadido [con azufre (tratamiento S), sin azufre (tratamiento T)] en diagrama de dispersión con línea de regresión (a) y respuesta del pH con respecto a la esterilización [estéril (E), no estéril (NE)] en diagrama de caja (b *). * La línea continua en el diagrama de caja indica la media.

6.2 Comunidades bacterianas

Se identificaron 36 bandas en el gel de DGGE como resultado de los diferentes ribotipos (Figura 16). Las bandas se agruparon con diferente arreglo de acuerdo con cada tratamiento, lo cual coincide con lo reportado por Poulsen et al. (2008) y Zhou et al. (2009) quienes indicaron que la diferencia de bandas en este tipo de estudios, sugiere una sucesión resultado del cambio en la comunidad bacteriana dada por las condiciones y tratamientos empleados que les proporciona un entorno único. En estas bandas se verificó la ausencia de *A. thiooxidans* (banda 29) en los

tratamientos control para las dos condiciones probadas (CNE, CE) (Figura 16), lo que sustenta que el resultado de los tratamientos empleados puede atribuirse al efecto metabólico de *A. thiooxidans* inoculada así como a las oxidantes de azufre (SOB) presentes en las poblaciones microbianas nativas.

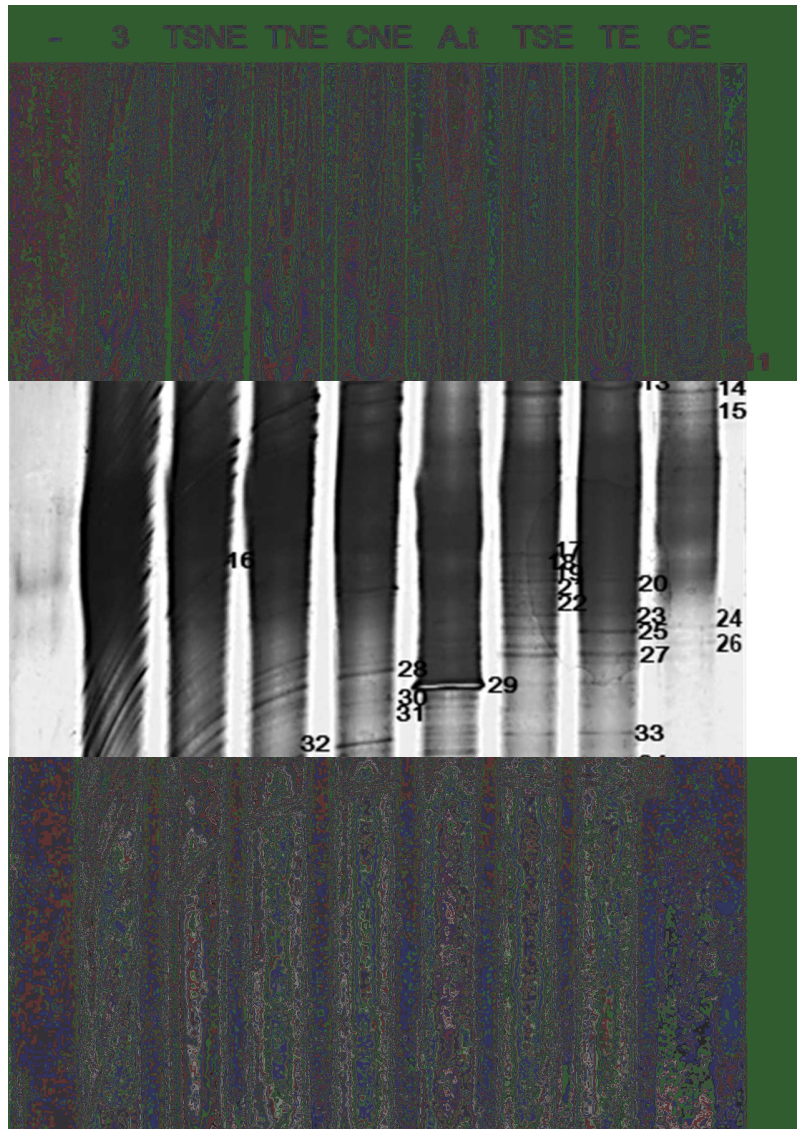


Figura 16. Imagen DGGE del 16S ADN_r bacteriano de muestras de composta al final del experimento. Los carriles corresponden a un control negativo (-), composta estabilizada (3) tratamientos [*A. thiooxidans* inoculado + azufre elemental (TS), *A. thiooxidans* inoculado (T) y un control (C)] bajo condición no estéril (NE); cepa de referencia ATCC *A. thiooxidans* (A.t); tratamientos [*A. thiooxidans* inoculado + azufre elemental (TS), *A. thiooxidans* inoculado (T) y un control (C)] bajo condición estéril (E). El número corresponde con cada banda localizada en diferente peso.

Una vez identificadas y analizadas las bandas se obtuvo un dendrograma de similitud (Figura 17). En él se puede observar que la mayor abundancia de especies bacterianas (ca. 23 y 24 bandas) se presentó en los tratamientos bajo condición no estéril (TNE y TSNE) respectivamente, que se unen al mismo nivel de similitud en el dendrograma. Mientras que, su control (CNE) con alrededor de 17 bandas se separa de ellos formando un grupo con el resto de los tratamientos no estériles. De igual forma los tratamientos bacterianos estériles (TE y TSE) son similares entre sí, con un aproximado de 17 y 22 bandas respectivamente, pero diferentes respecto a su control (CE) (ca. 13 bandas).

Esto coincide con los resultados de los análisis químicos realizados a la composta y enfatiza que la respuesta obtenida en cada tratamiento está determinada por la presencia o ausencia de *A. thiooxidans* y de S^0 , así como de su asociación con el consorcio microbiano nativo de la composta.

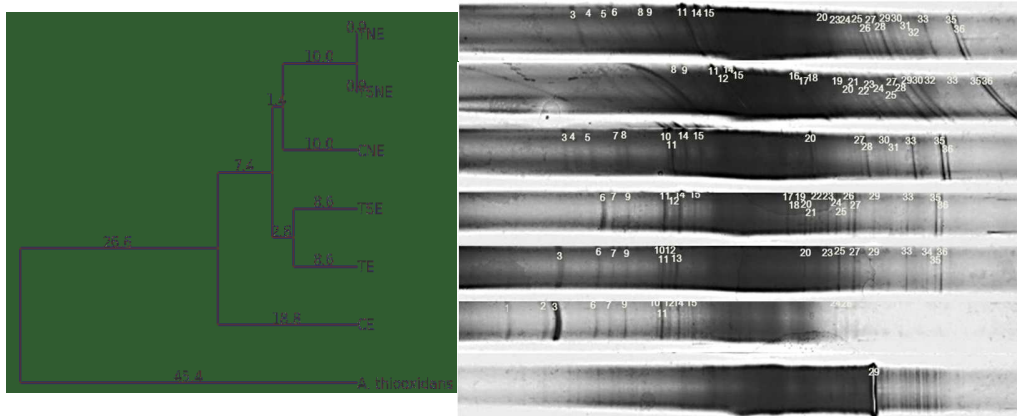


Figura 17. Dendrograma construido con algoritmo UPGMA basado en la similitud de los tratamientos con respecto al análisis de DGGE.

7. Conclusiones

El efecto sobre la concentración de sales en la composta fue más contundente cuando se inoculó con *Acidithiobacillus thiooxidans* y azufre en una dosis de 11.10 gS⁰/ 80 g composta. Esto dio como resultado una disminución del pH y Na⁺ intercambiable, así como un aumento de CE como consecuencia de una mayor actividad metabólica oxidante de S⁰ y la incapacidad del sistema de microcosmos para lixiviar las sales liberadas.

El inóculo aplicado individualmente no fue eficaz en la disminución de sodio intercambiable, pero sí en la reducción del pH y el aumento de CE. Esto sugiere que el contenido de azufre en la composta no es suficiente para favorecer su oxidación y propiciar el intercambio de bases.

Nuestros resultados del tratamiento no estéril, sugieren una relación de cooperación entre *A. thiooxidans* y los consorcios microbianos establecidos en el compost, lo que lleva a una mayor oxidación de S⁰.

8. Recomendaciones

Se requiere incrementar el número de análisis físicos y químicos como Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC), Relación de Absorción de Sodio (RAS), Porcentaje de Sodio Intercambiable (PSI), iones solubles (Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, K⁺), así como también Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ intercambiables. Estos datos permitirán determinar de forma concluyente la eficiencia de *A. thiooxidans* para disminuir parámetros asociados con salinidad sódica.

Se requiere validar la calidad de la composta inoculada con *A. thiooxidans*, de acuerdo con la normatividad vigente para que pueda ser incorporada al suelo.

Es necesario desarrollar una estrategia de aplicación microbiana en suelos salino-sódicos, utilizando como vector una composta enriquecida con *A. thiooxidans*.

Es necesario estandarizar la dosis de *A. thiooxidans* en compostas, así como la dosis de composta enriquecida en suelo.

Se precisa determinar si las huellas digitales obtenidas, corresponden con especies particulares de SOB y cómo interactúan con *A. thiooxidans*.

En caso de incorporar una composta enriquecida en suelo será necesario realizar una caracterización física y química del suelo antes y después de la aplicación para validar la eficiencia de dicha composta. Esta caracterización requiere la determinación de parámetros como Densidad aparente, Densidad real, Porcentaje de porosidad, CIC, RAS, PSI, cationes solubles e intercambiables, así como carbonatos y bicarbonatos.

9. Bibliografía

- Abegg, M. A., Magalhães-Guedes, K. T., Santos, A. E. O., Schwan, R. F. (2016). Microbial community structure and chemical composition from dark earth in a native archaeological site of the lower Amazon. *African Journal of Microbiology Research*, 10(36), 1548-1554.
- Aguilera, N. (1989). *Tratado de Edafología de México*. UNAM, Facultad de Ciencias, México. 222p.
- Ahmed, K., Qadir, G., Jami, A.R., Saqib, Al., Nawaz, M.Q., Kamal, M.A., Haq, E. (2016). Strategies for soil amelioration using sulphur in salt affected soils. *Cercetari Agronomice in Moldova*, 49(3), 5-16.
- Akerman, N. H., Butterfield, D. A., Huber, J. A. (2013). Phylogenetic diversity and functional gene patterns of sulfur-oxidizing subseafloor Epsilonproteobacteria in diffuse hydrothermal vent fluids. *Frontiers in microbiology*, 4, 185.
- Almendros, G., Polo, A., Ibáñez, J. J., Lobo, M. C. (1984a). Contribución al estudio de la influencia de los incendios forestales en las características de la materia orgánica del suelo. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 21(2), 145-160.
- Almendros, G., Polo, A., Ibáñez, J. J., Lobo, M. C. (1984b). Contribución al estudio de la influencia de los incendios forestales en las características de la materia orgánica del suelo. II. Transformaciones del humus por ignición en condiciones controladas de laboratorio. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 21(1), 7-20.
- Álvarez, A.; Baños, R. y Otero, L. (2008). Salinidad y uso de aguas salinas para la irrigación de cultivos y forrajes en Cuba. *Ciencia y Tecnología Ganadera*, 2(1), 1-12.
- Anantharaman, K., Duhaime, M. B., Breier, J. A., Wendt, K., Toner, B. M., Dick, G. J. (2014). Sulfur oxidation genes in diverse deep-sea viruses. *Science*, 344(6185), 757-760.
- Ashraf, M., Akram, N. A., Arteca, R. N., Foolad, M. R. (2010). The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(3), 162-190.
- Atlas, R., y Bartha, R. (2005). *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental*. Pearson educación. 696p.

- Awasthi, M. K., Wang, Q., Chen, H., Wang, M., Ren, X., Zhao, J., Zhang, Z. (2017). Evaluation of biochar amended biosolids co-composting to improve the nutrient transformation and its correlation as a function for the production of nutrient-rich compost. *Bioresource technology*, 237, 156-166.
- Bronwyn J. B., Vera-Estrella, R., Balderas, E., Pantoja, O. (2007). Mecanismos de Tolerancia a la salinidad en plantas. *Biotecnología*, 14, 263-272.
- Campbell, R. (1987). *Ecología microbiana*. Limusa. México. 268p.
- Campos Villareal, A. (2014). *Tolerancia a salinidad de genotipos de Nogal pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenth) K. Koch]*. Tesis Maestria. Universidad Autónoma Chapingo.
- Chambers, L. G., Guevara, R., Boyer, J. N., Troxler, T. G., Davis, S. E. (2016). Effects of salinity and inundation on microbial community structure and function in a mangrove peat soil. *Wetlands*, 36(2), 361-371.
- Chen, B. Y., Liu, H. L., Chen, Y. W., Cheng, Y. C. (2004). Dose–response assessment of metal toxicity upon indigenous *Thiobacillus thiooxidans* BC1. *Process Biochemistry*, 39(6), 737-748.
- Cherlet M., Hutchinson C., Reynolds J., Hill J., Sommer S., von Maltitz G. 2018. World Atlas of Desertification. Publication Office of the European Union, Luxembourg. doi:10.2760/9205.
- Chong, C. (2005). Experiences with Wastes and Compost in Nursery Substrates. *HortTechnology*, 15(4), 739-747.
- Chunping, L., Guoxue, L., Yuchun, L., Yanfu, L., Lingyang, P. (2007). Fuzzy mathematics-based evaluation of Municipal Solid Waste compost maturities in different spaces in static tunnel from Nangong compost plant. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 23(2), 201–206.
- Conklin, A. R. (2005). *Introduction to soil chemistry: Analysis and instrumentation*. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey. 376p.
- Darko, E, Gierczik, K., Hudák, O., Forgó, P., Pál, M., Türkösi, E., Kovács, V., Dulai, S., Meajlát, I., Molnár, I., Janda, T., Molnár-Láng, M. (2017). Differing metabolic responses to salt stress in wheat-barley addition lines containing different 7H chromosomal fragments. *PLoS One*, 12(3), e0174170.

- Deng, S. (1990). *Sulfur oxidation and rhodanese activity in soils*. Tesis Maestría. Oregon State University. USA.
- Dick, W. A., Kost, D., Chen, L. (2008). Availability of sulfur to crops from soil and other sources. *Sulfur: A missing link between soils, crops, and nutrition*, 50, 59-82.
- Domínguez, R., Del Campillo, C., Pena, F., and Delgado, A. (2001). Effect of soil properties and reclamation practices on phosphorus dynamics in reclaimed calcareous marsh soils from the Guadalquivir Valley, SW Spain. *Arid Land Research and Management*, 15(3), 203-221. <http://dx.doi.org/10.1080/15324980152119775>
- Eghball, B. J. (2000). Nitrogen mineralization from field applied beef cattle feedlot manure or compost. *Soil Science Society of America Journal*, 64(6), 2024-2030.
- El-Tarabily, K. A., Soaud, A. A., Saleh, M. E., Matsumoto, S. (2006). Isolation and characterisation of sulfur-oxidising bacteria, including strains of Rhizobium, from calcareous sandy soils and their effects on nutrient uptake and growth of maize (*Zea mays L.*). *Australian Journal of Agricultural Research*, 57(1), 101-111.
- Espinosa, J., Revah, S., Le Borgne, S. (2010). Rutas metabólicas de oxidación del azufre en bacterias quimiolitotórficas, relevancia ambiental y biotecnología. *Mensaje Bioquímico*, 34, 101-120.
- Fassbender, H. W., Bornemisza, E. (1994). *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina*. 2ª. Ed. San José, Costa Rica. 420p.
- Feucher, F. R. (2000). Transferencia de tecnología para el rescate de suelos mediante la integración ganadera. Recuperación de suelos salinos agrícolas, mediante el establecimiento de praderas bajo riego y cultivos alternativos. Diez acciones propuestas de Bioingeniería sostenible. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*, 1(3).
- Flowers, T. J. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 55(396), 307-319.
- Friedrich, C. G., Rother, D., Bardischewsky, F., Quentmeier, A., Fischer, J. (2001). Oxidation of reduced inorganic sulfur compounds by bacteria: emergence of a common mechanism?. *Applied Environmental Microbiology*, 67(7), 2873-2882.

- Grebus, M. E., Watson, M. E., Hoitink, H. A. J. (1994). Biological, chemical and physical properties of composted yard trimmings as indicators of maturity and plant disease suppression. *Compost Science and Utilization*, 2(1), 57-71.
- Gupta, B., Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, 1-18. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/701596>
- Gupta, V.V.S.R., Lawrence, J.R., and Germida, J.J. (1988). Impact of elemental sulfur fertilization on agricultural soils, I: Effects on microbial biomass and enzyme activity. *Canadian Journal of Soil Science*, 68(3), 463– 473.
- Han, W., Clarke, W., Pratt, S. (2014). Composting of waste algae: a review. *Waste management*, 34(7), 1148-1155.
- Hanay, A., Büyüksönmez, F., Kiziloglu, F. M., Canbolat, M. Y. (2004). Reclamation of saline-sodic soils with gypsum and MSW compost. *Compost Science and Utilization*, 12(2), 175-179.
- Hao, X., Chang, Ch. (2003). Does long-term heavy cattle manure application increase salinity of a clay loam soil in semi-arid southern Alberta?. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 94(1), 89-103.
- Harada, M., Yoshida, T., Kuwahara, H., Shimamura, S., Takaki, Y., Kato, C., Maruyama, T. (2009). Expression of genes for sulfur oxidation in the intracellular chemoautotrophic symbiont of the deep-sea bivalve *Calyptogena okutanii*. *Extremophiles*, 13(6), 895-903.
- Hargreaves, J. C., Adl, M. S., Warman, P. R. (2008). A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 123(1-3), 1-14.
- Hernández, O. (2000). *Uso de métodos químicos biológicos como mejoradores de la conductividad hidráulica de un suelo salino sódico*. Tesis Doctorado, Universidad de Colima, México. http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Oneyda%20Hernandez%20Lara.PDF
- Huber, B., Herzog, B., Drewes, J. E., Koch, K., Müller, E. (2016). Characterization of sulfur oxidizing bacteria related to biogenic sulfuric acid corrosion in sludge digesters. *BMC microbiology*, 16(1), 1-11.
- Illera Vives, M., López Mosquera, M. E., López Fabal, A., Salas-Sanjuan, M. D. C. (2012). Acondicionamiento de un compost salino para su uso como sustrato de cultivo. IBADER: Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvimento Rural. *Recursos Rurais*, (8), 13-19.

- Jalali, M., Mahdavi, S., Ranjbar, F. (2014). Nitrogen, phosphorus and sulfur mineralization as affected by soil depth in rangeland ecosystems. *Environmental earth sciences*, 72(6), 1775-1788.
- Jenks, M. A. y Hasegawa, P. M. (2005). *Plant Abiotic Stress*. India. Blackwell Publishing Ltd, p. 270.
- Jiang, T., Schuchardt, F., Li, G., Guo, R., Zhao, Y. (2011). Effect of C/N ratio, aeration rate and moisture content on ammonia and greenhouse gas emission during the composting. *Journal of Environmental Sciences*, 23(10), 1754-1760.
- Juan, P., Mateu, J., Jordan, M. M., Mataix-Solera, J., Meléndez-Pastor, I., Navarro-Pedreño, J. (2011). Geostatistical methods to identify and map spatial variations of soil salinity. *Journal of Geochemical Exploration*, 108(1), 62-72.
- Juárez, A. (2004). *Biolixiviación de Minerales Sulfuro-Ferrosos en Jales: Aislamiento y Caracterización de Cultivos Puros y Mixtos de Microorganismos Involucrados*. Tesis Doctorado. Universidad de Colima, México.
- Kelly, D. P., Wood, A. P. (2013). The chemolithotrophic prokaryotes. In *The Prokaryotes*, 275-287. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Kelly, D. P., Wood, A. P. (2000). Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(2), 511-516.
- Khan, S., Haq, F., Hasan, F., Saeed, K., Ullah, R. (2012). Growth and biochemical activities of *Acidithiobacillus thiooxidans* collected from black shale. *Journal of Microbiology Research*, 2(4), 78-83.
- Kremen, C., Miles, A. (2012). Ecosystem services in biologically diversified versus conventional farming systems: benefits, externalities, and trade-offs. *Ecology and Society*, 17(4).
- Kuenen, J., Robertson, L., Tuovine, O. H. (1992). Chapter 138. In: Balows, A., Trüper, H. G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K. H. (Eds.). *The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*. Vol. III, 2nd Edition. Springer Science & Business Media. USA. 4150p.

- Kumar, U., Panneerselvam, P., Gupta, V. V., Manjunath, M., Priyadarshinee, P., Sahoo, A., Dash, S., Kaviraj, M., Annapurna, K. (2018). Diversity of sulfur-oxidizing and sulfur-reducing microbes in diverse ecosystems. In *Advances in Soil Microbiology: Recent Trends and Future Prospects*, 65-89. Springer, Singapore.
- Lakhdar, A., Hafsi, C., Rabhi, M., Debez, A., Montemurro, F., Abdelly, C., Jedidi, N., Ouerghi, Z. (2008). Application of municipal solid waste compost reduces the negative effects of saline water in *Hordeum maritimum* L. *Bioresource Technology*, 99(15), 7160-7167.
- Lakhdar, A., Rabhi, M., Ghnaya, T., Montemurro, F., Jedidi, N., Abdelly, C. (2009). Effectiveness of compost use in salt-affected soil. *Journal of hazardous materials*, 171(1-3), 29-37.
- Lamz Piedra, A., González Cepero, M. C. (2013). La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos tropicales*, 34(4), 31-42.
- Lawrence, J.R. and Germida, J.J. (1991). Enumeration of sulfur-oxidizing populations in Saskatchewan agricultural soils. *Canadian Journal Soil Science*, 71(1), 127–136.
- Leogrande, R., Vitti, C. (2019). Use of organic amendments to reclaim saline and sodic soils: a review. *Arid land research and management*, 33(1), 1-21.
- Levicán, G., Ugalde, J. A., Ehrenfeld, N., Maass, A., Parada, P. (2008). Comparative genomic analysis of carbon and nitrogen assimilation mechanisms in three indigenous bioleaching bacteria: predictions and validations. *BMC genomics*, 9(1), 1-19.
- Lucheta, A. R., Lambais, M. R. (2012). Sulfur in agriculture. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 36(5), 1369-1379.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. (2003). *Biología de los microorganismos: Brock*. Prentice Hall. Madrid, España. 1136p.
- Maldonado, M. (2012). *Tolerancia a la salinidad de especies dominantes en suelos salinos de Maguey Blanco, Hidalgo*. Tesis Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM.
- Mansour, M. M. F., Ali, E. F. (2017). Evaluation of proline functions in saline conditions. *Phytochemistry*, 140, 52-68.
- Manzano, B., Rivera, O., Briones, E., Zamora, T. (2014). Rehabilitation of saline-sodic soils: a case study in irrigation district 086, Jimenez, Tamaulipas, Mexico. *Terra Latinoamericana*, 32(3), 211-219.

- Mata-Fernández, I., Rodríguez-Gamiño, M., López-Blanco, J., Vela-Correa, G. (2014). Dinámica de la salinidad en los suelos. *Revista Digital E-Bios del Departamento El Hombre y su Ambiente*, 1(5), 26-35.
- Mayz-Figueroa, J. (2004). Fijación Biológica de Nitrógeno. *Revista UDO Agrícola*, 4(1), 1-20.
- Meena, M. D., Joshi, P. K., Jat, H. S., Chinchmalatpure, A. R., Narjary, B., Sheoran, P., Sharma, D. K. (2016). Changes in biological and chemical properties of saline soil amended with municipal solid waste compost and chemical fertilizers in a mustard-pearl millet cropping system. *Catena*, 140, 1-8.
- Misra, R. V., Roy, R. N., Hiraoka, H. (2003). *On-Farm Composting Methods*. Rome, Italy: UN-FAO. 35p.
- Moharana, P. C., Biswas, D. R., Datta, S. C. (2015). Mineralization of nitrogen, phosphorus and sulphur in soil as influenced by rock phosphate enriched compost and chemical fertilizers. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 63(3), 283-293.
- Nakhshiniev, B., Biddinika, M. K., Gonzales, H. B., Sumida, H., Yoshikawa, K. (2014). Evaluation of hydrothermal treatment in enhancing rice straw compost stability and maturity. *Bioresource technology*, 151, 306-313.
- Namratha, R., Crohn, D. (2012). Compost induced soil salinity: A new method and its effect on plant growth. *Compost Science and Utilization*, (20)3, 133-140.
- Navarro Gracia, S. (2003). *Química Agrícola. Química del Suelo y de los Nutrientes Esenciales Para las Plantas*. Madrid: Mundiprensa. 508p.
- Navarro, P., Moral, H., Gómez, L., Mataix, B. (1995). *Residuos Orgánicos y Agricultura*. Universidad de Alicante. Murcia, España. 155p.
- Neher, D. A., Weicht, T. R., Bates, S. T., Leff, J. W., Fierer, N. (2013). Changes in bacterial and fungal communities across compost recipes, preparation methods, and composting times. *PLoS One* 8(11), e79512.
- Omuto, C.T., Vargas, R.R., El Mobarak, A.M., Mohamed, N., Viatkin, K. y Yigini, Y. 2021. Mapeo de suelos afectados por salinidad – Manual técnico. Roma, FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9215es>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2009). *La FAO en México. Más de 60 años de colaboración*. AGROANALISIS AC. 368p.

- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2011) Organic Agriculture and Climate Change Mitigation. *A Report of the Round Table on Organic Agriculture and Climate Change*. Natural Resources Management and Environment Department. 82 p. <http://www.fao.org/docrep/015/i2537e/i2537e00.pdf>
- Oshita, K., Sun, X., Kawaguchi, K., Shiota, K., Takaoka, M., Matsukawa, K., Fujiwara, T. (2016). Aqueous leaching of cattle manure incineration ash to produce a phosphate enriched fertilizer. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 18(4), 608-617.
- Padilla, L. (2017). *Variabilidad espacial de la salinidad en suelos del Distrito de riego 014, Mexicali, Baja California Sur*. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Pérez-Gimeo, A., Navarro-Pedreño, J., Almendro-Candel, M. B., Gómez, I., Jordán, M. M. (2016). Environmental consequences of the use of sewage sludge compost and limestone outcrop residue for soil restoration: salinity and trace elements pollution. *Journal of soils and sediments*, 16(3), 1012-1021. doi:10.1007/s11368-015-1288-y
- Petrone, S. (2013). *Variación funcional relacionada con la tolerancia al estrés salino de Gossypium hirsutum en México*. Tesis Licenciatura, Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Pokorna, D., Zabranska, J. (2015). Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnology Advances*, 33(6), 1246-1259.
- Porta, J., López-Acevedo, M., Roquero, C. (2003). *Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente*. Ediciones Mundi-Prensa. España. 929p.
- Poulsen, P. H., Møller, J., Magid, J. (2008). Determination of a relationship between chitinase activity and microbial diversity in chitin amended compost. *Bioresource technology*, 99(10), 4355-4359.
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). (2004). *Perspectivas del medio ambiente en México. Informe GEO México*. INE, SEMARNAT. México.
- Qadir, M., Ghafoor, A., Murtaza, G. (2001). Use of saline-sodic waters through phytoremediation of calcareous saline-sodic soils. *Agricultural Water Management*, 50(3), 197-210.
- Ramos, A., Alfonso, E. T. (2014). Generalities of the organic manures: Bocashi's importance like nutritional alternative for soil and plants. *Cultivos Tropicales*, 35(4), 52-59.

- Rath, K. M., Maheshwari, A., Bengtson, P., Rousk, J. (2016). Comparative toxicities of salts on microbial processes in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(7), 2012-2020.
- Rengasamy, P. (2006). World salinization with emphasis on Australia. *Journal of Experimental Botany*, 57(5), 1017-1023.
- Reyna, I. (2002). *Análisis del programa piloto "separemos" del Gobierno del Distrito Federal*. Tesis Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Richards, L. A. (1954). *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. Agriculture Handbook No. 60. United States Department of Agriculture. 160p.
- Romero, J. C. (2013). *Relación Carbono Nitrógeno en el proceso de lombricompostaje y su potencial nutrimental en jitomate y menta*. Tesis Maestría, Colegio de Postgraduados, México. <http://text-mx.123dok.com/document/7qvj04gq-relacion-carbono-nitrogeno-en-el-proceso-de-lombricompostaje-y-su-potencial-nutrimental-en-jitomate-y-menta.html>
- Ruíz, E., Aldaco Nuncio, R. A., Montemayor Trejo, J. A., Hernández, M. F., Ramírez, J. O., Villagómez Gamboa, J. C. (2007). Exploitation and improvement of saline soils through the establishment of forage grasses. *Técnica Pecuaria en México*, 45(1), 19-24.
- Ryckeboer, J., Mergaert, J., Vaes, K., Klammer, S., De Clercq, D., Coosemans, J., Swings, J. (2003). A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiology*, 53(4), 349-410.
- Sadzawka, A., Carrasco, M. A., Grez, E., de la L. Mora, M. (2005). *Métodos de Análisis de Compost*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Serie Actas INIA N° 30. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile: Centro Regional de Investigación La Platina, 142.
- SAGARPA (2001). *Evaluación de la Alianza para el Campo. Informe Nacional. Programa Recuperación de Suelos Salinos*. FAO-SAGARPA-NAL-RSS. 53p.
- Sahin, U., Eroğlu, S., Sahin, F. (2011). Microbial application with gypsum increases the saturated hydraulic conductivity of saline-sodic soils. *Applied Soil Ecology*, 48(2), 247-250.
- Salinas, F. U. (2002). *Evaluación de la salinización y sodificación de los suelos de la zona lacustre de San Gregorio, Xochimilco, D.F.* Tesis Maestría, Edafología, Universidad Nacional Autónoma México.

- Sánchez, Ó. J., Ospina, D.A., Montoya, S. (2017). Compost supplementation with nutrients and microorganisms in composting process. *Waste Management*, 69, 136-156.
- Sánchez-Monedero, M. A., Roig, A., Paredes, C., Bernal, M. P. (2001). Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures. *Bioresource Technology*, 78(3), 301-308.
- Schnitzer, M. and Khan, S.U. (1978). *Soil Organic Matter*. Developments in Soil Science 8. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam, Netherlands. 319p.
- SEMARNAT. (Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales). Informe de la Situación del Medio Ambiente en México, edición 2018. Semarnat. México. 2019. https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/tema/pdf/Informe2018GMX_web.pdf
- SEMARNAT. (Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales). (2009). El Medio Ambiente en México: En Resumen 2009. México. Gobierno Federal. (www.semarnat.gob.mx) pp. 20-23.
- Seyyedi, S. M., Moghaddam, P. R., Khajeh-Hosseini, M., Shahandeh, H. (2015). Influence of phosphorus and soil amendments on black seed (*Nigella sativa L.*) oil yield and nutrient uptake. *Industrial Crops and Products*, 77, 167-174.
- Shrivastava, P., Kumar, R. (2015). Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 123-131.
- Sierra, C. B., Lancelloti, A. M., Vidal, I. P. (2007). Elemental sulphur as pH and soil fertility amendment for some Chileans soils of Regions III and IV. *Agricultura Técnica*, 67(2), 173-181.
- Skwierawska M., Benedycka Z., Jankowski K., Skwierawski A. (2016). Sulphur as a fertiliser component determining crop yield and quality. *Journal of Elementology*, 21(2), 609-623. DOI: 10.5601/jelem.2015.20.3.992
- Sorokin, D. Y. (2003). Oxidation of inorganic sulfur compounds by obligately organotrophic bacteria. *Microbiology*, 72(6), 641-653.
- Stamford, N. P., Freitas, A. D. S., Ferraz, D. S., Montenegro, A., Santos, C. E. R. S. (2003). Nitrogen fixation and growth of cowpea (*Vigna unguiculata*) and yam bean (*Pachyrhizus erosus*) in a sodic soil as affected by gypsum and sulphur inoculated with *Thiobacillus* and rhizobial inoculation. *Tropical Grasslands*, 37(1), 11-19.

- Stamford, N. P., Ribeiro, M. R., Cunha, K. P. V., Freitas, A. D. S., Santos, C. E. R. S., Dias, S. H. L. (2007). Effectiveness of sulfur with *Acidithiobacillus* and gypsum in chemical attributes of a Brazilian sodic soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(10), 1433-1439.
- Stamford, N. P., Santos, C. E. R. S., Junior, S. S., Junior, M. L., Figueiredo, M. V. B. (2008). Effect of rhizobia and rock biofertilizers with *Acidithiobacillus* on cowpea nodulation and nutrients uptake in a tableland soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(9), 1857-1865.
- Stamford, N. P., Figueiredo, M. V., da Silva Junior, S., Freitas, A. D. S., Santos, C. E. R., Junior, M. A. L. (2015). Effect of gypsum and sulfur with *Acidithiobacillus* on soil salinity alleviation and on cowpea biomass and nutrient status as affected by PK rock biofertilizer. *Scientia Horticulturae*, 192, 287-292.
- Starosvetsky, J., Zukerman, U., Armon, R. H. (2013). A simple medium modification for isolation, growth and enumeration of *Acidithiobacillus thiooxidans* (syn. *Thiobacillus thiooxidans*) from water samples. *Journal of Microbiological Methods*, 92(2), 178-182.
- Steudle E. (2000). Water uptake by roots: effects of water deficit. *Journal of Experimental Botany*, 51(350), 1531-1542.
- Suzuki, I. (1999). Oxidation of inorganic sulfur compounds: chemical and enzymatic reactions. *Canadian Journal of Microbiology*, 45(2), 97-105.
- Suzuki, I., Chan, C. W., Takeuchi, T. L. (1992). Oxidation of elemental sulfur to sulfite by *Thiobacillus thiooxidans* cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(11), 3767-3769.
- Sztern, D., Pravia, M. A. (1999). *Manual para la elaboración de compost: Bases Conceptuales y Procedimientos*. Organización Panamericana de la Salud. 67p.
- Takakuwa, S., Oae, S., Okuyama, T. (1992). Biochemical Aspects of Microbial Oxidation of Inorganic Sulfur Compounds. *Organic Sulfur Chemistry: Biochemical Aspects*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1-44.
- Tejada, M., García, C., González, J. L., Hernández, M. T. (2006). Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation: influence on the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(6), 1413-1421.

- Thomas G (1983) Exchangeable Cations. En Page AL, Miller RH, Keeney, DR (Eds.) Methods of Soil Analysis. Part 2. Agronomy Monographs N° 9. American Society of Agronomy. Madison, WI, EEUU. pp. 159-165. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.2ed.c9>
- Tran, Q. T., Maeda, M., Oshita, K., Takaoka, M., Fujiwara, T. (2015). Effects of a washing process of cattle manure ash on root and shoot growth of Komatsuna (*Brassica rapa var. perviridis*) at the seedling stage. *Journal of Environmental Science for Sustainable Society*, 8, 15-21.
- Walker, D. J., Bernal, M. P. (2008). The effects of olive mill waste compost and poultry manure on the availability and plant uptake of nutrients in a highly saline soil. *Bioresource technology*, 99(2), 396-403.
- Wang, X., Selvam, A., Chan, M., Wong, J. W. (2013). Nitrogen conservation and acidity control during food wastes composting through struvite formation. *Bioresource technology*, 147, 17-22.
- Weston, N. B., Vile, M. A., Neubauer, S. C., Velinsky, D. J. (2011). Accelerated microbial organic matter mineralization following salt-water intrusion into tidal freshwater marsh soils. *Biogeochemistry*, 102(1), 135-151.
- Yang F., Shi, G. Li, H., Wang, Y. (2015). Effects of phosphogypsum and superphosphate on compost maturity. *Waste Management*, 36, 70-76.
- Yang, Z., Haneklaus, S., Ram-Singh, B., Schnug, E. (2008). Effect of repeated applications of elemental sulfur on microbial population, sulfate concentration, and pH in soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39(1-2), 124-140.
- Zhou, J., Liu, X., Jiang, H., Dong, M. (2009). Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiology*, 26(8), 770-775.
- Zhou, W., He, P., Li, S., Lin, B. (2005). Mineralization of organic sulfur in paddy soils under flooded conditions and its availability to plants. *Geoderma*, 125(1-2), 85-93.

ANEXO 1. Modificado de DSMZ 36. *Thiobacillus* MEDIO

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.10 g

K_2HPO_4 4 g

KH_2PO_4 4. g

$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ 0.10 g

CaCl_2 0.10 g

$\text{FeCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ 0.02 g

$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ 0.02 g

Agar (para medio sólido) 12 g

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ 10 g

Agua destilada 1000 mL

Disolver los ingredientes y ajustar el pH a 6.6.

ANEXO 2. ATCC Medium: 290 S6 Medium for *Thiobacilli*

Na ₂ HPO ₄	1.2 g
KH ₂ PO ₄	1.8 g
MgSO ₄ x 7H ₂ O.....	0.1 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1 g
CaCl ₂	0.03 g
FeCl ₃	0.02 g
MnSO ₄	0.02 g
Na ₂ S ₂ O ₃	10 g
Agar (si es necesario).....	15 g
Agua destilada.....	1000 mL

ANEXO 3. *Thiobacillus* Medium #125. Modificado de ATCC

(NH ₄) ₂ SO ₄	0.2 g
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0.5 g
CaCl ₂	0.25 g
KH ₂ PO ₄	3 g
FeSO ₄	5 mg

*** Azufre (ver más abajo)

Nota: El azufre es insoluble y tiene un bajo punto de fusión (106.8), por lo que debe procesarse por separado.

La cantidad está determinada por el tamaño del recipiente.

Paso 1

Preparación para matraces de 100 ml:

Coloque aproximadamente 1,0 g de polvo de azufre (precipitado) en un matraz seco.

Coloque el matraz bajo luz UV por lapsos de 20 min durante 1 h.

Cubra sin apretar cada matraz con un tapón de rosca. Coloque el matraz en la autoclave 100 °C/ 30 min.