

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



**IMPORTANCIA DE MICROORGANISMOS DEL CICLO
DEL AZUFRE EN EL SUELO Y SU POSIBLE APLICA-
CION EN LA RECUPERACION DE SUELOS SALINOS**

**TRABAJO MONOGRAFICO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A:**

ISABEL RODRIGUEZ AREVALO

MEXICO, D. F.

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

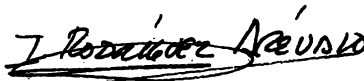
Jurado asignado:

Presidente: Prof. Lilia Vierna García
Vocal: Prof. Alfredo Echegaray Alemán
Secretario: Prof. Rosa Ma. Ramírez Gama
1er. Suplente: Prof. Jorge Soto Soria
2do. Suplente: Prof. Beatriz Luna Millán

Sitio donde se desarrollo el tema:

Centro de Información Científica y Humanística
de la UNAM. Bibliotecas de: Facultad de Química,
Facultad de Medicina, Facultad de Veterinaria,
Instituto de Biología, Instituto de Investiga-
ciones Biomédicas, Escuela Nacional de Agri-
cultura, Centro de Ciencias del Mar y Limnol-
ogía.

Sustentante:



Isabel Rodríguez Arévalo

Asesor:



M. en C. Rosa María Ramírez Gama



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA

Con amor y agradecimiento a mis padres:

Francisco Rodríguez Menéndez y

Betzabé Arévalo de Rodríguez.

A mis queridos Hermanos:

Delis

Francisco

Vicenta y

Betzabé

A Ernesto

Con todo mi amor

**A mi inolvidable cuñado
José Antonio García
y a su hermano Carlos.**

**A todos mis maestros
y
A todos mis amigos.**

C O N T E N I D O

I.- Introducción

II.- Generalidades

- 1.- Importancia del azufre en el ecosistema
- 2.- Fuentes naturales del azufre y formas en que se encuentra en el suelo
- 3.- Efectos del azufre en el suelo
- 4.- Adición y pérdidas
- 5.- Reacciones químicas y biológicas
 - 5.1 Ciclo del azufre en el suelo
 - 5.2 Inmovilización.
 - 5.3 Mineralización
 - 5.4 Oxidación
 - 5.5 Reducción

III. Revisión de Literatura

- 1.- Ecología de las bacterias oxidantes y reductoras del azufre
- 2.- Efecto de las condiciones ambientales
- 3.- Actividad bioquímica de las bacterias del ciclo del azufre en suelos bajo diferentes condiciones climáticas

**4.- Aplicación de bacterias del ciclo del
azufre en la recuperación de suelos salinos.**

IV.- Análisis de los resultados

V.- Conclusiones

VI.- Bibliografía

I.- INTRODUCCION

Existen en el mundo grandes extensiones de tierra - que no son aptas para la agricultura debido al elevado pH que poseen, así como al alto contenido de sales.

En México se estima que alrededor de un 30 a 40% de los distritos de riego se ven seriamente afectados con exceso de sales, lo que impide su manejo en la explotación agrícola. Este porcentaje representa cientos de miles de hectáreas, que sumadas a otras zonas sin riego que presentan también este problema hacen un total de más de 4,500,000 ha en todo el territorio nacional.

Estas zonas están fuera de la explotación agrícola, ya que sus rendimientos bajísimos o nulos no permiten ni justifican los créditos que se invierten en ellos.

Los problemas de salinidad han tratado de corregirse mediante tratamientos físicos que incluyen obras mecánicas y de ingeniería agrícola tales como drenes, nivelaciones, lavado; tratamientos químicos en los que se ha empleado la adición de ácido sulfúrico, yeso, sulfato ferroso, sulfato de aluminio y azufre; y mediante tratamientos biológicos que

consisten en la inoculación de Thiobacillus.

El presente escrito trata de explicar la importancia de aplicar a los suelos además de azufre elemental, bacterias oxidantes del azufre para obtener con mayor rapidez y -- eficacia la transformación de este elemento a sulfato, eliminando de esta forma la alcalinidad de los suelos.

Intenta aportar de alguna forma conocimientos sobre el tratamiento biológico que utiliza estos microorganismos en la restauración de los suelos salinos para incorporarlos a la agricultura.

Para ello es necesario conocer los efectos e importancia de azufre en el suelo como nutrientes de los vegetales superiores y de microorganismos, así como sus interacciones -- con las propiedades fisicoquímicas del suelo, las transformaciones que sufre y las formas en que se encuentra en el sistema.

Debe explicarse además la actividad de las bacterias oxidantes del azufre en el suelo, las reacciones que --- efectúan transformando el azufre a una forma aprovechable por las plantas y el efecto de este elemento sobre la absorción -- de otros nutrientes al variar las propiedades del suelo.

Se menciona el género de los microorganismos más im

portantes en la oxidación del azufre: Thiobacillus Los experimentos encontrados en la literatura son realizados con estos microorganismos, [utilizando una especie u otra según las propiedades de los suelos en estudio y su temperatura.]

II.- GENERALIDADES

1. Importancia del azufre en el ecosistema.

La importancia del azufre en los procesos vitales - de las plantas y animales, ha aumentado la necesidad de entender el comportamiento de este elemento con relación al suelo. Este interés ha nacido por la necesidad de incrementar la producción y de preservar la calidad ambiental.

↳ En el ciclo del azufre se observa claramente las -- formas disponibles de este elemento en el suelo. Su estudio- en los suelos ha sido enfocado hacia el uso del mismo como nutriente o elemento esencial y su determinación se efectúa en- la forma aprovechable por las plantas. ↳

El azufre como elemento esencial en las plantas y - animales tiene un ciclo complejo en el sistema biológico. Este ciclo sugiere que la esencia natural de un elemento en el- sistema ecológico, es un resultado directo de su relación ne- cesaria en la estructura y función de las células que forman- a los organismos (20)

MB

2. Fuentes del azufre presente en el suelo y formas en que se encuentra.

(El azufre del suelo procede del agua, rocas ígneas y sedimentarias, minerales sulfurosos (yeso, pirita, marcasita, calcopirita, galena, arsenopirita), de arcillas en las cuales se encuentra en muy poca cantidad, así como de fertilizantes, bióxidos y materia orgánica que son incorporados al suelo.)

(El azufre existe en el suelo en diferentes estados de óxido reducción que corresponde a los iones:
 S^{2-} , S^0 , $S_2O_3^{2-}$, $S_4O_6^{2-}$, SO_3^{2-} y SO_4^{2-})

El contenido de azufre inorgánico y orgánico varía en los diferentes suelos y se han reportado cantidades de 0.01% a 0.06% para la forma inorgánica, mientras que para la forma orgánica el contenido es superior a 0.5%. Estos valores son generalmente más bajos en suelos de origen sedimentario.

A) AZUFRE INORGANICO EN EL SUELO.

(La forma predominantes es como sulfato, algunos autores reportan que la cantidad de sulfato inorgánico presente en la superficie de los suelos de las regiones húmedas, repre

senta una fracción menor del 25% del azufre total. Sin embargo en el subsuelo pueden ser encontradas cantidades apreciables de sulfato inorgánico como sales precipitadas.

Los suelos deficientes en azufre generalmente contienen menos de 10 ppm de sulfato soluble y el nivel varía grandemente con la profundidad, este nivel es a menudo muy bajo en subsuelos arenosos y es alto en suelos calcáreos o de yeso y en los suelos impermeables donde la filtración es restringida. Esta fracción soluble de azufre corresponde a la aprovechable por las plantas.

(Las formas inorgánicas del azufre son consideradas en las siguientes categorías (7).

- a)- Sulfato fácilmente soluble
- b)- Sulfato adsorbido
- c)- Sulfato insoluble precipitado con CaCO_3
- d)- Sulfato insoluble
- e)- Compuestos de azufre inorgánico reducido.

Y se considera que la fracción que corresponde al sulfato fácilmente soluble es la aprovechable en los suelos, debido a que es en esta la forma como el elemento es absorbido por los vegetales.)

El sulfato adsorbido es una fracción importante en los suelos húmedos que contienen óxidos de aluminio y otros iones.

✓ La adsorción del sulfato y de otros iones está íntimamente relacionada con el pH, la química de los iones OH y los polímeros de aluminio. En general la adsorción del sulfato es negativa en un pH mayor de 6.0 pero se incrementa con el descenso del pH.

La cantidad de sulfato adsorbido depende también de la concentración de sulfato en solución, en esta adsorción influyen también, la presencia de aniones y cationes.

El sulfato es un anión débilmente unido con fuerte retención en el orden de: hidroxil > fosfato > sulfato = acetato > nitrato = cloruro; el fosfato compite por los sitios de adsorción del sulfato y por lo tanto reduce la adsorción del mismo pero este tiene muy poco efecto sobre el fosfato y los cloruros tienen efecto muy pequeño sobre la retención de sulfato (7)(8)

✓ Los efectos del pH sobre la adsorción de sulfato se relacionan con la química de los polímeros de fierro y aluminio. La hidratación de los grupos hidroxil unidos a los complejos poliméricos ocurre cuando la acidez aumenta, dando co-

mo resultado una carga positiva mayor del complejo; esta -- carga es balanceada ~~por~~ iones contrarios. La penetración del anión dentro de la coordinación del complejo ocasiona un desplazamiento de grupos hidroxilo- ($-M-OH$) ó aquo- ($-M-OH_2$). Este giro disminuye o neutraliza la carga; esto sugiere que ambos, anión y catión deberían ser retenidos en el proceso de adsorción. La penetración de iones sulfato puede ocurrir -- con un incremento del pH debido al desplazamiento de grupos $-OH^-(7)$.

{ La capacidad que tienen algunos suelos de adsorber sulfato, determina que este compuesto se encuentre en la superficie de estos suelos en grandes cantidades. }

Sulfato precipitado con $CaCO_3$. Constituye una fracción significativa del azufre total en los suelos calcáreos. (7). Se presenta como una impureza en el carbonato de calcio y se considera químicamente combinado con el carbonato de calcio antes de ser adsorbido u ocluido o por él. Este generalmente no es aprovechable por las plantas, especialmente si -- está asociado con partículas de cuarzo o material de carbonato. Puede ser extraído con ácido pero los resultados son muy bajos si se encuentra bario presente.

Algunos suelos de Escocia y Australia muestran que menos del 93% del azufre total se presenta en forma precipi-

tada con CaCO_3 ; en general el nivel de sulfato precipitado -- aumenta con el incremento de niveles de Ca CO_3 . Otros factores que influyen en esta fracción de azufre en el suelo son -- las partículas de carbonato, el suelo mezclado, el efecto de iones y la resistencia iónica. (6)

Otras formas de sulfato insoluble corresponden a -- sulfatos de estroncio y bario reportadas en algunos suelos -- (7) y formas cristalinas de yeso (selenita) se han detectado en suelos poco drenados, así como otros sulfatos de menor importancia.

Otras formas de azufre inorgánico.- De acuerdo con Williams (8) las formas de azufre inorgánico de estado de oxidación bajo, es menor del 1% del azufre total en el suelo seco normal y son de pequeña importancia como fuente de azufre aprovechable. El sulfuro sin embargo es la principal forma estable del azufre bajo condiciones anaeróbicas en suelos húmedos.

El H_2S procede de la degradación de materia orgánica o de la reducción de sulfato y puede ser acumulado en presencia de hierro formándose sulfato ferroso. En trabajos citados por Beaton (7) han mostrado que varias formas de sulfato de fierro se encuentran presentes y que el FeS_2 y el Fe_2S_3

son mas frecuentes que el FeS.

B) AZUFRE ORGANICO EN EL SUELO

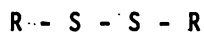
Generalmente la mayor parte del azufre en la superficie de los suelos agrícolas, tanto de regiones secas como de húmedas, está asociado a compuestos orgánicos. La proporción de azufre orgánico en el subsuelo es por lo general más bajo que en la superficie; este azufre es considerado como una importante fuente de reserva aprovechable para las plantas. El azufre orgánico se encuentra en el suelo en dos formas diferentes: como éster o sulfato orgánico y en compuestos con uniones C-S; en adición estas formas se ha sugerido una tercera categoría que son los compuestos heterocíclicos de azufre.

Los tipos de uniones más importantes en cada una de estas categorías son dadas a continuación:

Uniones carbono:

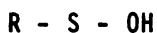


thiol

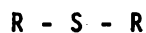


disulfuro

n = 2

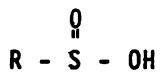


ácido sulfénico

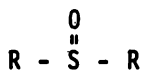


sulfuro

n = 2

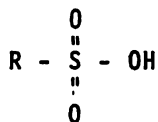


ácido sulfínico

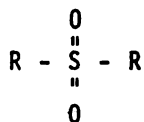


sulfóxido

n = 4



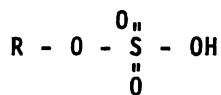
ácido sulfónico



sulfon

n = 6

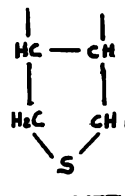
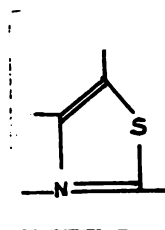
Uniones oxígeno:



éster sulfato

n = 6

Heterocíclicos. ej. en vitaminas



El sulfato orgánico está en una proporción variable en el total del azufre del suelo y constituye del 40% al 60% del azufre orgánico total. Sin embargo otros autores afirman que esta fracción de azufre orgánico, se encuentra en un rango de 33% - 63% del total del azufre.

Los compuestos que contienen uniones C-S incluyen - los aminoácidos y proteínas sulfuradas. Los aminoácidos cistina, cisteína y metionina son indudablemente componentes importantes de esta fracción, comprendiendo cerca del 90% del contenido de azufre en muchas plantas y en otros organismos.- Los aminoácidos que contienen azufre parecen estar ligados de alguna manera a la fracción de humus, aunque solo pequeñas -- cantidades han sido aisladas de suelos con presencia de plantas. Estas formas de azufre son transformadas por actividad microbiana a formas aprovechables por vegetales.

3. Efectos del azufre en suelos.

(Como nutriente el azufre es un elemento esencial en el desarrollo de las plantas, por lo que se requiere en concentraciones adecuadas en el suelo, estas concentraciones varían con los diferentes tipos de cultivos y las características del suelo.)

Como elemento tóxico su efecto, es muy raro aunque-

✓ se han reportado acumulaciones de sulfatos solubles en suelos ácidos y poco drenados o bién acumulaciones de H_2S en condiciones de anaerobiosis. Más que efectos tóxicos del azufre sobre el desarrollo de las plantas, se han reportado efectos sobre otras propiedades del suelo particularmente el pH, la disponibilidad de nutrientes y acumulación de iones que afectan el desarrollo de los vegetales.

✓ El azufre depositado da un carácter a veces demasiado ácido al suelo, el cual perjudica a los cultivos. Este exceso de ácido incrementa la lixiviación de otros nutrientes importantes dentro del suelo. (20)

L Los problemas por exceso de azufre se presentan generalmente en áreas cercanas a las zonas industriales. Sin embargo se ha visto que es mayor el efecto de fertilización que el de contaminación de azufre en estas áreas.

En estudios hechos acerca de los efectos de la oxidación del azufre en el suelo, se determinó que se requiere una libra de azufre elemental para neutralizar tres libras de carbonato de calcio.

✓ El efecto del azufre sobre el pH del suelo es muy variable dependiendo de la capacidad amortiguadora, filtración a través del sistema, inmovilización de los compuestos de

azufre, etc.

✓ Los suelos que están en contacto con bióxido de azufre por períodos prolongados, presentan un incremento en la acidez y en el contenido de sulfatos solubles del suelo con una reducción de calcio y otras bases reduciendo así la actividad de los microorganismos, aumentando la concentración de iones particularmente tóxicos (aluminio y manganeso), reduciendo el aprovechamiento de otros nutrientes (fósforo) y otros efectos nocivos. } Quizá uno de los resultados más serios de la adición excesiva de SO_2 atmosférico al suelo es la erosión de estos suelos seguida por la muerte de las plantas.

✓ En agricultura las deficiencias de azufre son de gran importancia y se presentan con mayor frecuencia en suelos drenados, de textura ligera (arenosos) y suelos bajos en materia orgánica. Los suelos deficientes en azufre se encuentran localizados en muchas partes del mundo, especialmente en las regiones tropicales y subtropicales.

4. Adición y pérdidas de azufre en el suelo.

Las fuentes de azufre que contribuyen el suministro de este elemento al suelo incluyen aquellas de la atmósfera, }>

fertilizantes, pesticidas y aguas de riego/

[La cantidad de azufre que entra al suelo de origen atmosférico depende de la proximidad de áreas industriales, - la costa del mar, pantanos, también del viento y precipitación pluvial de las distintas regiones. > Los reportes indican que las cantidades de azufre que proviene de la atmósfera pueden tener valores menores de 1 kg/ha/año en áreas internas y más de 100 kg/ha/año en la vecindad inmediata a las ciudades industriales (20).

✓ La aplicación de azufre a los suelos se efectúa a través de fertilizantes o bien como agente mejorador en suelos neutros o alcalinos en forma de yeso, sulfato de aluminio, ácido sulfúrico, los que son usados para restaurar los suelos alcalinos. }

El azufre es también aplicado al suelo como abono orgánico, además forma parte del sistema biológico original del suelo, encontrándose principalmente en el estado orgánico combinado en material de plantas, desechos y excremento, --- mientras en la orina la forma principal es de compuestos inorgánicos de azufre tales como sulfato.

✓ El azufre usado como fertilizante contribuye al me-

✓ Joramiento de las propiedades de cultivo y cosecha, aumenta la tolerancia a la sequía, ayuda al control de enfermedades de las plantas, acelera la descomposición de residuos de cultivos y ayuda a la maduración de las cosechas. }

✓ El azufre es también introducido al suelo por el manejo de pesticidas y de la irrigación, además de algunos fungicidas e insecticidas que contienen compuestos de azufre, en su molécula cantidades variables de este elemento al suelo. - Estos compuestos sufren varias transformaciones en plantas y animales entrado así al sistema biológico del azufre. }

La adición de azufre a los suelos por aguas de riego es significativa en muchas áreas del mundo. } En regiones áridas el sulfato contenido en el agua es generalmente alto y suficiente para el suministro de las necesidades del cultivo, - en las áreas más húmedas el contenido de azufre en las aguas varía marcadamente con la estación, los tipos de drenaje y -- profundidad. Los productos de azufre con frecuencia son agregados a las aguas de riego por largos períodos para bajar el pH de los suelos de cultivo; las cantidades aplicadas en esta forma son difíciles de calcular en grandes áreas, pero en un estudio reciente determinó que un volumen de agua de 3000 m³ ha con 50 ppm de sulfato suministra 50 kg/ha de azufre.(20).

(Pérdidas de azufre.- Las pérdidas de azufre por --
 filtración en muchos suelos han sido muy discutidas, la canti-
 dad de azufre lixiviado en un suelo dado depende de la precipi-
 tación, el estado de oxidación del azufre y la textura del --
 suelo.) Bajo condiciones de filtración el sulfato es retenido
 en la forma insoluble, el S y los compuestos orgánicos de azu-
 fre resisten la filtración mientras son oxidados.

En suelos irrigados el azufre de los fertilizantes-
 se desplaza a través del perfil por efecto del agua, pero no-
 existen evidencias de que haya desplazamiento lateral.

Otra forma de pérdida del azufre contenido en el --
 suelo es a través de la formación de compuestos volátiles de -
 azufre por descomposición microbiana de aminoácidos; los que-
 constituyen una fracción importante del azufre orgánico de -
 los suelos. Se sabe que existen microorganismos que pueden -
 degradar metionina, cisteína y otros aminoácidos que son ---
 agregados para la restauración de los suelos, presentándose -
 así el problema de la pérdida de azufre lo que evita el mejo-
 ramiento de los suelos en tratamiento.

5. (Reacciones químicas y biológicas del azufre en el suelo.

Las transformaciones químicas y biológicas son de -
 gran importancia en el ciclo del azufre y existen muchos factores re-

lacionados con la determinación de cantidades, formas y aprovechamiento del azufre en el suelo. } Existen dudas sobre si las transformaciones biológicas son más importantes que las transformaciones químicas o no. (20)

Los sulfuros, azufre elemental y tiosulfatos pueden ser oxidados en el suelo por medios no biológicos. La oxidación de los sulfuros es lenta y requiere de gran acidez. El ácido sulfuroso y las sales de sulfito son agentes reductores -- activos en estos procesos. Ciertos autores indican que las condiciones favorables para las oxidaciones no biológicas, se presentan raras veces en el suelo, en cambio las condiciones necesarias para que ocurran las oxidaciones biológicas de los compuestos de azufre son casi constantes.

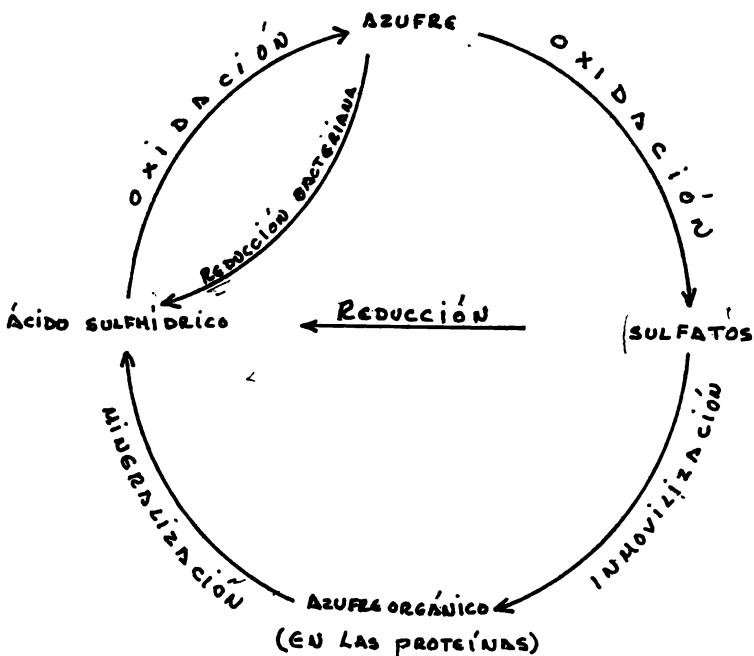
Las transformaciones de azufre en el suelo son afectadas por numerosos factores, la presencia de microorganismos es el principal requisito; en este aspecto el suelo contiene menor número de bacterias reductoras del azufre que oxidantes.

El número de microorganismos que metabolizan el azufre varía grandemente en los diferentes suelos, así como con la adición de fertilizantes con azufre o compuestos como el azufre elemental, polisulfuros, tiosulfatos que incrementan la población de estas bacterias. La actividad de esta población es también influida por factores ambientales del suelo,-

tales como contenido de humedad, temperatura, pH, textura y nutrientes requeridos. (20)

En el esquema siguiente se aprecian los diferentes estados de oxidación del azufre y los procesos mediante los cuales es transformado.

Ciclo del azufre.



Este ciclo es uno de los más importantes en el aspecto biológico, por su aportación de nutrientes a las plantas y sus efectos en el suelo.) En él intervienen un número considerable de microorganismos, los cuales utilizan azufre como fuente de energía en su metabolismo, o bien como aceptor final de electrones en la respiración.

El ciclo del azufre se divide en cuatro procesos que son:

- | | |
|--------------------|--------------------------|
| 1)- Inmovilización | } biológica
} química |
| 2)- Mineralización | |
| 3)- Oxidación | |
| 4)- Reducción | |

Procesos de inmovilización y mineralización.- La fracción orgánica constituye la fuente primaria de azufre para las plantas después que se ha efectuado la mineralización. Los microorganismos liberan el sulfuro el que es utilizado -- por los microorganismos para efectos de síntesis de protefna-celular (inmovilización microbiana) y solo el excedente de -- azufre es utilizado por los vegetales superiores.

Consecuentemente el tipo de residuos vegetales y animales tienen una marcada influencia en relación al azufre disponible, dependiendo del contenido del azufre en el mate-

rial orgánico, y su disponibilidad esta asociada con las proporciones de C,N y P de la materia orgánica del suelo, así -- como material parenteral del suelo y condiciones ambientales.

Para suelos de Australia se han reportado proporciones de C:N:S del orden de 108:8:1 que permiten disponibilidad del azufre; en tanto que en los suelos cafés de Saskatchewan la proporción es de 58:6:4. (8)

✓ Las prácticas de fertilización afectan la disponibilidad del azufre en suelos; por ejemplo: la adición de fertilizantes nitrogenados sin azufre causa que el total de azufre disponible sea inmovilizado por los microorganismos.

Inmovilización biológica. Consiste en la asimilación y síntesis de protefnas por microorganismos y plantas -- superiores. La inmovilización química se lleva a cabo mediante la adsorción del azufre por coloides orgánicos o precipitación de sulfato con los iones Ca^{2+} y Ba^{2+} , lo que determina que no sea disponible.

Mineralización. El azufre de la materia orgánica -- del suelo es liberado como S^- por la degradación efectuada -- por numerosos microorganismos heterótrofos.

La producción de ácido sulfhídrico se lleva a cabo-

por dos vías: En una de ellas se obtiene a partir de la hidrólisis de las proteínas sulfuradas por acción bacteriana bajo condiciones anaeróbicas, el azufre aparece en el estado reducido como: H_2S , $\text{C}_2\text{H}_5\text{SH}$ o tioalcoholes. El mecanismo de formación a partir de la cisteína es explicado por la aparición de -- ácido sulfhídrico, amoníaco, ácido acético y ácido fórmico; -- los que se obtienen a partir de dos moléculas del compuesto original. El ácido acético se supone que es descompuesto aún en hidrógeno y bióxido de carbono.

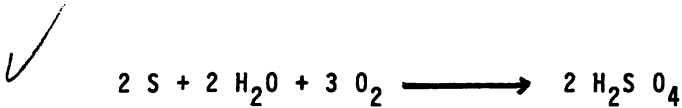
Oxidación.- El sulfuro de hidrógeno formado en el suelo es oxidado por las bacterias presentes, dando como resultado moléculas de agua y azufre elemental de acuerdo con la siguiente reacción:



✓ Entre los microorganismos que toman parte en la oxidación del sulfuro de hidrógeno, se encuentran diferentes especies del género Thiobacillus tales como T.thioparus y T.denitrificans.

✓ El azufre elemental puede ser oxidado también por ciertas bacterias a ácido sulfúrico y sulfatos. Estas bacterias que poseen la capacidad de tal oxidación pertenecen también al género Thiobacillus. La reacción que se lleva a cabo

en el metabolismo de T. thiooxidans es la siguiente:



La oxidación de azufre es un proceso aeróbico y muchos de estos microorganismos son autótrofos, no requieren de compuestos orgánicos para su crecimiento.

Esto es muy importante en los suelos porque ayuda a renovar los compuestos inorgánicos del medio. El ácido sulfúrico y los sulfatos formados de la oxidación del azufre por las bacterias, disueltos en el suelo son tomados favorablemente por las plantas para incorporarlos en su metabolismo. Estos sulfatos son absorbidos y acumulados, pasando así el azufre a formar parte de las proteínas vegetales.

Oxidación de azufre en suelos.- El azufre se presenta en diferentes formas, con valencia del rango de -2 a + 6 -- El sulfuro y el sulfato representan estos extremos. El elemento tiene seis electrones de valencia y pueden existir en estado libre o en muy diversos compuestos orgánicos e inorgánicos.

En suelos arados, la oxidación biológica de azufre es llevada a cabo por microorganismos autótrofos y heterótrofos, esta oxidación puede ser impedida solo en condiciones de

congelación, inundación o severas sequías. Las bacterias oxidantes del azufre más importantes en el suelo son las especies de Thiobacillus. Las reacciones llevadas a cabo por estos microorganismos están comprobadas, pero el camino de oxidación bacteriana no está completamente resuelto. El oxígeno es la fuente usual para la oxidación por las bacterias aerobias, aunque varias especies de Thiobacillus pueden usar nitrato cuando el suministro de oxígeno no es suficiente. La pirita es oxidada bajo condiciones ácidas (pH 1.0 - 4.0) por combinación de ataques químicos y bacterianos. Al igual que los microorganismos químicos autótrofos, existen otras bacterias capaces de oxidar compuestos inorgánicos de azufre, y son las bacterias fotolíticas. Este grupo es de gran importancia en las aguas de los lagos, fango y posiblemente en los suelos inundados tales como los campos de cultivo de arroz. Existen también bacterias heterótrofas las cuales utilizan compuestos orgánicos como fuentes de energía para oxidar los compuestos inorgánicos de azufre; el mecanismo de esta oxidación es relativamente desconocido aunque, la presencia de una enzima oxidante ha sido o demostrada en algunos microorganismos del suelo. Si bien la importancia de las bacterias heterótrofas relacionadas con las autótrofas en la oxidación de azufre inorgánico en el suelo no es muy conocida, se cree que puedan ser tan importante como las especies de Thiobacillus.

✓ Reducción.- La otra vía de formación del ácido sulfúrico es por la reducción de sulfatos presentes en el suelo. La reducción de sulfatos no es una característica común entre las bacterias, solo un pequeño número de microorganismos tienen la facultad de reducir los sulfatos, entre los que se mencionan especies de D.desulfuricans y M.aestauri, D.thermodesulfúricans las que son capaces de efectuar esta reducción a altas temperaturas.

III. REVISION DE LITERATURA

En las páginas anteriores se expone en forma general la importancia del azufre en el suelo, los procesos de transformación a los que se ve sometido así como los microorganismos que interviene en estos procesos por lo que a continuación se analizan algunos de los resultados obtenidos por diferentes investigadores en estudios referentes a la distribución de los microorganismos del ciclo del azufre, la influencia de los factores ambientales sobre la actividad bioquímica de este tipo de microorganismo y su posible aplicación como fertilizante biológico .

1. Ecología de las bacterias oxidantes del azufre.

Bacterias oxidantes del azufre han sido detectadas en condiciones extremas y se han aislado de regiones termales ácidas, reportándose en Japón desde 1933, Nueva Zelanda en 1956 y en Estados Unidos en 1972. Fliermans y Brock (17) realizaron estudios sobre la actividad y la distribución de estas bacterias en los suelos de solfataras, los cuales presentan las siguientes características: son regiones ácidas, de temperaturas elevadas especialmente en las zonas donde hay ascenso de vapor de agua, abundancia de cristales de azufre -

Los que se forman como resultado de la oxidación espontánea de ácido sulfhídrico presente en el sistema. La acidez de las solfataras es debida al ácido sulfúrico, procedente de la oxidación microbiana del azufre.

La oxidación de azufre por autótrofos desarrollados a temperatura de 55°C tales como T. thiooxidans, se ha comprobado aislando a este acidófilo de las regiones térmicas. Recientemente Brock, Belly y Weiss (14) aislaron miembros de un nuevo género de bacteria acidófila oxidante del azufre llamado Sulfolobus del cuál se conoce la especie S. acidocaldarius.

El estudio de Fliermans y Brock (17) sobre la distribución de Thiobacillus y Sulfolobus fué realizado en función de la temperatura del suelo y del pH del mismo. Y determinaron que hay una correlación positiva entre el pH el suelo y el sulfato contenido observándose que en el medio donde la acidez se debe al ácido sulfúrico, los valores del pH varían desde 0.7 hasta 5.1.

Reportaron la presencia de Thiobacillus en muestras con un rango de temperatura de 30 a 55°C, en tanto que Sulfolobus fue aislado de muestras cuyas temperaturas fluctúan entre 50 y 85°C registrándose las poblaciones más abundantes de Thiobacillus a 25°C y de Sulfolobus a 70°C, observándose

se una mayor cantidad del primer género. Solamente a 55°C - ambos microorganismos están presentes aunque a ésta temperatura ninguno es activo.

En relación con el pH, Thiobacillus fué encontrado - en un rango de 0.9 a 4.5 manifestando estas bacterias su mayor actividad a un pH de 2.5. El pH al cuál Sulfolobus crece y oxida azufre elemental es de 2.5 y 3.0 con un valor hasta - de 5.9.

Estos datos sugieren que el principal agente de la - formación de ácido sulfúrico en suelos de solfataras es - Thiobacillus y que la formación de ácido es más rápida a temperaturas bajas. La actividad reducida de Sulfolobus comparada con Thiobacillus muestra que el primero es menos adaptable al suelo.

Las bacterias oxidantes del azufre también se encuentran en hojas, desperdicios y suelos contaminados. Especialmente en las hojas, desperdicios y suelos adyacentes a fuentes - de contaminación atmosférica, con productos de la oxidación - del azufre, tiosulfato, tetratiónato y sulfato; las hojas y - desperdicios contienen en la superficie concentraciones elevadas de iones de azufre presentándose un decremento en el pH - de los suelos debajo de estos árboles, comparados con muestras de suelo a diferentes distancias. Wainwright (46).

Se supone que la mayoría de estos contaminantes fueron derivados de la oxidación atmosférica del bióxido de azufre; aunque también los procesos microbianos son involucrados, siendo las bacterias del género Thiobacillus los microorganismos más importantes, aunque se considera que los microorganismos heterótrofos también oxidan este elemento en menor proporción. Las bacterias oxidantes del azufre fueron halladas en la superficie de las hojas en un rango de 12 a 125 x 10² células y en una proporción de 219 a 444 x 10² células en los desperdicios. El número de hongos oxidantes del azufre es generalmente más alto en los desperdicios que en la superficie de las hojas siendo el número total de estos menor que el de las bacterias.

Es significativo el número de bacterias del género Thiobacillus presentes en el suelo debajo de los árboles en zonas de contaminación, sin embargo después de 20 mm de profundidad el número de estas disminuye. Los hongos fueron similarmente aislados en gran número de suelos contaminados y hubo una cantidad mayor en las muestras de suelo debajo de las contaminadas, comparadas con las muestras tomadas a 2m de distancia.

Estos microorganismos capaces de oxidar el azufre en la superficie de las hojas fueron aislados y caracterizados por Postgate en 1966. Las bacterias aisladas resultaron -

sensibles a los ácidos son autotróficas obligadas y fueron identificadas como T. thioparus. En los desperdicios la bacteria predominante fué un autótrofo facultativo, tolerante a los ácidos: T. novellus. Los hongos aislados con mayor frecuencia de las hojas contaminadas y desperdicios fueron Alternaria tenuis, Aureobasidium pullulans, Cephalosporium sp. y Epico--ccum nigrum; los predominantes en suelos son algunas especies de Penicillium (46).

Todos estos microorganismos oxidantes del azufre fueron aislados de hojas, desperdicios y suelos con contaminación atmosférica de azufre. La presencia de autótrofos obligados indica que alguna oxidación microbiana ocurre en la superficie de las hojas, mientras la presencia de autótrofos facultativos indica el potencial de oxidación.

En suelos alcalinos a los cuales se ha aplicado tratamientos químicos para su restauración e incorporación a la agricultura, se han hecho estudios sobre la determinación del número y tipos de bacterias presentes (36). Los tratamientos han sido a base de yeso, ácido sulfúrico diluido, sulfato ferroso y azufre elemental; aislándose bacterias del ciclo del azufre, en número reducido y en donde predominan dos especies del género Thiobacillus, las que corresponden por su morfología y características fisiológicas a T.thiooxidans y T. novelus. La primera crece en un rango de pH de 3.0 a 8.0,-

siendo su pH de máxima actividad de 5.0, la otra especie se desarrolla en un pH de 5.0 a 11.0, siendo o el óptimo de 8.0. Se reportó que la temperatura óptima de crecimiento y actividad para T. thiooxidans está entre 25 y 30°C, mientras que T. novellus presenta su mayor actividad entre 35 y 31°C.

En un estudio hecho por Tirado y Echegaray (44) de los suelos del lago de Texcoco, se encontró que la flora bacteriana reductora de sulfatos no existe a pesar de que algunos suelos poseen cierta cantidad de sulfatos, pero la materia orgánica es baja y no se encuentra en forma que pueda ser metabolizada por los microorganismos. Estos suelos son de textura arcillo-arenosa con un pH que va desde 7.6 hasta 10.6 y con una concentración de sulfato de 1.6 meq./l hasta 42.6 m.e./l.

2. Efecto de las condiciones ambientales

Los efectos del clima sobre la actividad de oxidación de azufre en los suelos ha sido objeto de varias investigaciones. Swaby y Fedel (41) hicieron estudios utilizando 360 suelos de Australia; los resultados muestran que la oxidación de azufre que se presentó en el 50% de los suelos subtemplados fué alta, llegando hasta 0 en las zonas áridas calientes. Así en la estación húmeda es mayor la incidencia de altos niveles de oxidación, mientras que en los meses de sequía

esta oxidación es mínima. Tabla No. 1.

En relación con la incidencia de T. thiooxidans y acuerdo al clima, se encontró que de los 315 suelos en los cuales se hizo la investigación, el crecimiento de este microorganismo en 13% de ellos fué abundante, presentandose en mayor número en los suelos templados. La persistencia de T. thiooxidans fué relacionada con la humedad, mostrando en la estación de sequía una deshidratación de las células proporcional al tiempo que dura la estación. Tabla No. 2.

TABLA No. 1. Influencia del clima sobre la oxidación de azufre en suelos. Resultados expresados en %.

Actividad	Todos los climas	Tropical Lluvioso	Húmedo	Templado seco	Subtemplado Lluvioso	Húmedo	Arido Caliente
Alta	18	17	24	3	59	44	0
Moderada	27	33	35	16	30	37	24
Baja	27	25	27	31	7	19	45
Ninguna	27	25	14	50	4	0	31
No. de suelos	360	60	96	121	27	27	29

Tabla No. 2. Influencia del clima sobre la incidencia de T. thiooxidans en suelos. Resultados expresados en %.

Incidencia	Todos los climas	Tropical lluvioso	Templado Húmedo	Seco	Subtemplado Lluvioso	Húmedo	Arido Caliente
Abundante	12	3	15	8	44	22	0
Común	30	53	39	13	38	33	17
Rara	24	13	32	21	11	33	28
Ninguna	34	28	14	58	7	12	55
No. de suelos	375	60	102	130	27	27	29

Los microorganismos esporulados y otras bacterias - se mantienen viables por largos períodos en suelos secos y con otras inclemencias ambientales. Poco se conoce sobre esta - habilidad de retener sus actividades metabólicas tales como - nitrificación, oxidación de azufre y descomposición de materia orgánica durante este letargo.

Vitolins y Swaby (45) hicieron estudios de microorganismos oxidantes del azufre en suelos de Australia incluyendo suelos de regiones desértico-arenosas y desértico-margosas. En contraron que el azufre fué oxidado no solo por el bacilo autótrófico Thiobacillus sino que también por heterótrofos tales - como Arthrobacter aurences, Bacillus licheniformis y especies de Flavobacterium, Alcaligenes y Mycobacterium. Abbot en --

1923 muestra que Penicillium luteum otro heterótrofo es capaz de oxidar azufre a sulfato después de varios años de vida ~~l~~ente.

Walter B. Bollen (11) realizó estudios sobre la habilidad de muchas bacterias de sobrevivir en ambientes altamente desfavorables por largo tiempo y asumir los procesos de vida activa bajo el restablecimiento de condiciones favorables, entre ellos la oxidación de azufre. Todas las muestras de suelos almacenadas durante 54 años retuvieron la capacidad de oxidar azufre con un marcado descenso del pH. Bajo condiciones favorables los suelos oxidados perdieron 1g/kg del azufre adicionado. No fué determinada satisfactoriamente si T. thiooxidans u otras especies de este género son las responsables de la oxidación.

En la atmósfera cercana a los suelos aeróbicos y anaeróbicos a los cuales se añadió azufre elemental para su tratamiento, se detectó la formación de ácido sulfhídrico y pérdida del mismo. Esta actividad es más alta en zonas aeróbicas y no se sabe si se debe a que los microorganismos aeróbicos capaces de reducir el azufre son más comunes que las anaeróbicos o bien a que el ácido sulfhídrico escapa fácilmente por los poros abiertos del suelo.

En suelos australianos estudiados por Swaby y Fedel -

(40) a los que se agrega azufre en concentración de 1% y se les incubó 3 semanas a 25°C presentaron una liberación del sulfuro de 35 ml/100 g de suelo. Y en estos mismos suelos después de un período de doce meses de incubación solamente el 0.06% del suministro fué liberado. Esta actividad se registró en el 80% de los suelos aereados y en el 30% de los suelos húmedos. El rango de liberación fué mantenido en todas partes por incubación en períodos iguales en suelos fertilizados. Los suelos aeróbicos reducen rápidamente el azufre adicionado, pero solo una minoría de los suelos anaeróbicos lo hacen. Después de agregar cistefna el sulfuro es liberado en 41% de los suelos aereados y en 48% de los anaeróbicos. El escape de ácido sulfhídrico depende del pH del suelo, la textura, el contenido de óxido ferroso y la concentración de agua.

En los suelos tropicales húmedos la reducción del sulfato ocurre frecuentemente, en contraste con los suelos templados. Una gran cantidad de desperdicios de plantas en los suelos tropicales al final de la estación húmeda proporcionan el material de descomposición para los microorganismos y se produce una mayor reducción de sulfatos. Según Swaby y Fedel (40) el sulfuro liberado aeróbicamente en todos los suelos tropicales en estudio fué reportado ser el doble que en otras regiones. El pH bajo de muchos suelos tropicales aumenta esta pérdida, pero el alto contenido de óxidos de fierro lo impide. Solamente cerca de la tercera parte de los suelos estudiados -

desprendieron sulfuro en una cantidad de 140 mg en 21 días y - en un año sería esto insignificante.

En otros estudios realizados también por Swaby y Fedel (41) de la influencia del clima sobre la actividad reductora - de azufre en los suelos bajo condiciones de aerobiosis y anaerobiosis observaron que al adicionar azufre al suelo, el 86% - de ellos desprendieron H_2S con gran actividad, señalando que - aeróticamente el azufre es reducido extensamente en los suelos tropicales. La pérdida de H_2S a partir de sulfato fue nula bajo estas condiciones. Usando cistina como sustrato la producción de H_2S fue alta en 61% de los suelos estudiados y nula en 34% de ellos. Esta pérdida de H_2S es alta en todos los suelos tropicales y en 36% de los suelos templadas secas; sin embargo no se liberó en aproximadamente la mitad de los suelos de - áreas templadas. Al utilizar azufre y cistina como sustrato - los suelos húmedos desarrollan más activamente H_2S que suelos secos.

Se reportó que bajo condiciones de anaerobiosis solamente en 24% de los suelos estudiados produjeron H_2S activamente a partir de azufre, diferenciándose así de los suelos - aereados en los que se observó frecuentemente un ennegrecimiento de estos suelos por la presencia de FeS . Los suelos - templados húmedos pierden más H_2S que los suelos de regiones templadas secas. El porcentaje de suelos que no perdió H_2S -

fué mayor bajo las condiciones anaeróbicas comparadas con las condiciones aeróbicas, e igualmente mayor la pérdida de este compuesto en condiciones de sequedad que en las de humedad. La volatilización de H_2S a partir de sulfato es muy alta en 34% de los suelos húmedos estudiados, sin embargo en 66% de ellos no hay pérdida alguna. La volatilización es encontrada con mayor frecuencia en los climas húmedos que en los secos, y nunca excedió del 0.06% del azufre adicionado o del 0.09% en el caso del azufre de cistina.

Los campos arroceros están generalmente bajo condiciones húmedas durante la estación del cultivo de arroz que abarca de primavera a verano, así la capa arada del suelo se mantiene bajo condiciones de anaerobiosis por impedir la difusión de oxígeno y hay reducción activa del metabolismo microbiano. La distribución de bacterias reductoras de sulfato en campos arroceros de Japón fue investigada por Makao y Furusaka (47). Quienes encontraron que la cantidad de bacterias oscila de 94 por 2 mg de suelo seco hasta 837 bacterias por 2 mg. Las características de la distribución de bacterias reductoras de sulfato en los suelos ya drenados no son esencialmente muy diferentes a las de los suelos inundados.

3. Actividad bioquímica de las bacterias del ciclo del azufre.

Se han hecho estudios en varios suelos de Australia por su habilidad de producir sulfatos a partir de azufre y sulfuros presentes en el sistema, proporcionados estos compuestos por los productos con que se tratan los suelos para su restauración tales como cistina, S^o, etc. Se han tomado en cuenta las propiedades del suelo, cantidad y clase de microorganismos detectados y la actividad microbiana. De estos estudios Swaby y Vitolins (45) reportan que el 1% ó menos del azufre agregado al suelo es oxidado lentamente a sulfato. En otras regiones donde se aislaron bacterias del género Thiobacillus la oxidación fué mayor, debido a la actividad de estas bacterias especialmente T. thiooxidans. Sin embargo no se detectaron en más de la mitad de los suelos estudiados.

La relación de los sulfatos como nutrientes de las plantas depende del contenido de azufre, la relación carbono-azufre y muchas veces la relación nitrógeno-azufre. Es considerado que posiblemente los sulfatos y ésteres del humus son resistentes a las hidrólisis enzimáticas y por consiguientes son pobres en el suministro de azufre.

De 56 suelos examinados por Swaby y Fedel (40), cerca de un séptimo de ellos oxidaron el azufre con rapidez en un 13-18%; dos quintos de estos suelos oxidaron con menor

rapidez el azufre a sulfato en la proporción de 4-13%; un tercio de ellos lo hizo lentamente de 0.5-4% y un séptimo de los suelos no presentó oxidación.

Muy pocos de los suelos en estudio fueron deficientes en azufre aprovechable por las plantas, la mayoría de ellos produjo cantidades suficientes. La escasez de azufre es la razón de la baja habilidad de oxidación pero también puede ser la falta de otras fuentes de energía.

TABLA No. 3. Relación de los suelos mostrando diferentes niveles de producción de sulfato.

Nivel de producción de sulfato	Azufre oxidado (%)	Rango de acidez valorable (ml NaOH 0.1 N por 10 g de suelo)	Suelos Examinados (%)
Alto	12.4-17.6	7.6-11.0	14.3
Moderado	4.2-12.0	2.6- 7.5	41.1
Bajo	1.0- 4.0	0.6- 2.5	30.4
Ninguno	0- 0.8	0- 0.5	14.3

Muestras de 100 g de los suelos incubados con 1% de azufre a 25 C, por un período de 10 semanas.

TABLA No. 4. Relación de los suelos mostrando diferente actividad de T. thiooxidans.

Actividad de T. Thiooxidans	Perfodo en relación de pH 4.0 (días)	Suelos examinados (%)
Alta	0 - 21	14.3
Moderada	22 - 42	25.0
Baja	43 - 70	33.9
Ninguna	70	26.8

Muestras de 100 g de los suelos incubados con 1% de azufre a 25 C, por un perfodo de incubación de 10 semanas.

En los suelos que presentaron rápida oxidación se demostró la gran actividad de T. thiooxidans, aunque la cuenta microbiana nunca excedió de 100 células por gramo de suelo. La baja oxidación fué asociada con la ausencia de T. thiooxidans, T. thioparus, y T. denitrificans. En los suelos de los que se detectó escaso número de bacterias fué particularmente en aquellos que se encontró tiosulfato antes que azufre como sustrato. En consecuencia la escasez de Tiobacilos en muchos suelos de Australia explican la incapacidad de oxidar azufre.

El azufre de los suelos puede perderse através de la formación de compuestos volátiles de azufre, por la descomposición microbiana del azufre contenido en aminoácidos. Esto -

requiere una especial atención porque el azufre orgánico de los suelos y el azufre orgánico en residuos de plantas está en la forma de azufre contenido en aminoácidos y es conocido que algunos microorganismos pueden degradar metionina y otros aminoácidos que contengan azufre con la formación de compuestos volátiles (28).

Duxbury y Alexander (16) observaron la evolución de metil mercaptano, dimetil sulfuro, dimetil disulfuro y butilmercaptano en sedimentos margosos de suelos incubados bajo condiciones anaeróbicas después de tratamientos con metionina, sin embargo no se detectaron estos compuestos cuando este suelo fué incubado en condiciones anaeróbicas después de tratamiento con cistina y cisteína. Barwart y Bremner (2) hicieron estudios sobre los compuestos volátiles de azufre que se forman en los suelos tratados con aminoácidos azufrados, tales compuestos fueron identificados como producto de la descomposición microbiana de los aminoácidos en los suelos bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas. El metil mercaptano, dimetil sulfuro y dimetil disulfuro fueron los productos formados en los suelos tratados con metionina y sulfóxido de metionina; en los suelos tratados con cisteína se desarrolló disulfuro de carbono.

La cantidad de azufre volatilizado de suelos tratados con 14 aminoácidos que contienen este elemento muestra que --

del 0.1% al 50% corresponde al azufre agregado al suelo en aminoácidos. El H_2S no se ha detectado como un producto gaseoso de la descomposición de estos aminoácidos agregados al suelo bajo condiciones de aerobiosis o de humedad.

Utilización de Thiobacillus en suelos alcalinos.

Se han hecho intentos por restaurar grandes áreas de suelos alcalinos, de tierras áridas y semiáridas, y de incorporarlas al cultivo por medio de tratamientos químicos con yeso (Mostafa y Shbasi en Egipto, 1959; Bhumbra y Singh en La India, 1965), ácido sulfúrico diluido, sulfato ferroso (Boras en 1968) o azufre elemental (Hibbard 1921; Thomas, 1936; Mc George, 1945; Branson y Firman, 1960).

La adición de azufre y adaptación de drenajes apropiados han sido los mejores métodos para la restauración de los suelos alcalinos. Sin embargo el tiempo requerido para esta transformación es muy largo debido a que los suelos alcalinos en general contienen pocos microorganismos, por consiguiente existen muy pocas bacterias oxidantes del azufre. El tiempo requerido para la reducción del pH del suelo debido a la aplicación de azufre elemental en los suelos salinos, será determinado por el número y tipo de bacterias que oxidan el azufre presentes en el suelo y también por la cantidad de azufre agregado. (36)

El azufre experimenta una oxidación en los suelos - por medio de microorganismos, principalmente por la acción - de las bacterias pertenecientes al género Thiobacillus que lo transforman en ácido sulfúrico, el cuál neutraliza la alcalinidad de los suelos.

Thomas en 1936 fué el primero en usar cultivos de - Thiobacillus junto con azufre para la restauración de los - suelos alcalinos. Sin embargo no fué muy claro el efecto benéfico debido a que estos microorganismos tienen un crecimiento óptimo a pH de 5.0, aunque existen cepas capaces de efectuar la oxidación de azufre a un pH de 10.2. Este efecto puede ser también impedido por la competencia de la microflora - nativa del suelo. (4)

Se han realizado estudios enfocados a determinar el número de las bacterias oxidantes del azufre en los suelos - alcalinos (36), con el fin de aislar cepas favorable y usarlas en el enriquecimiento de los suelos deficientes en dichas bacterias, después de la aplicación de azufre en su tratamiento de restauración. En Haryana, India se colectaron suelos - con pH entre 8.5 y 10.5. El número de bacterias fué cuantificado por dilución en placas, el aislamiento de Thiobacillus - se hizo de un gramo de muestra de suelo incubado en 100 ml de medio con azufre. La acidez fué cuantificada por titulación del medio de cultivo con hidróxido de sodio 0.1 N.

TABLA No. 5. Propiedades fisicoquímicas de los suelos alcalinos estudiados. (36)

pH	Conductividad eléctrica (mmhos cm)	Sodio cambiabile (meg 100g)	Textura del suelo
8.5	6.8×10^{-4}	3.75	marga arenoso
8.6	4.1×10^{-3}	4.92	"
8.8	3.4×10^{-2}	5.46	"
9.0	8.4×10^{-3}	13.28	"
10.2	1.4×10^{-2}	23.21	"
10.4	4.8×10^{-2}	19.63	"

El rango de oxidación de azufre está dado por el descenso del pH en los suelos, después del tratamiento. La relación de azufre determina un descenso en el pH del suelo. Así los suelos de menor alcalinidad presentan un descenso rápido del pH durante su incubación, en cambio en los de mayor alcalinidad el descenso fué muy lento, casi insignificante.



TABLA No. 6. Descenso de pH en los suelos alcalinos tratados con azufre debido a su oxidación por las bacterias - presentes en dichos suelos.

pH del suelo	Perfodo de incubación (días)				
	7	28	49	70	100
8.5	-0.7	-0.8	-0.5	-0.7	-0.8
8.6	-1.7	-4.5	-5.6	-5.5	-5.5
8.8	-0.1	-0.3	-0.8	-0.4	-0.6
9.0	-0.1	-0.5	-0.8	-0.7	-0.6
10.2	-0.2	-1.6	-1.7	-2.0	-2.2
10.5	-0.1	-0.2	-0.1	-0.1	-0.2

Muestras de 1.5 kg de suelo mezclado con 1% de azufre en polvo, incubadas a 30°C por 100 días, con 50% de humedad.

Se efectuaron inoculaciones bajo condiciones de esterilidad y en condiciones no esteriles con una cepa de T. thiooxidans en muestras de suelos alcalinos (4); y se examinaron los efectos en ciertas propiedades fisicoquímicas de los suelos, observándose lo siguiente:

Propiedades de los suelos en estudio.

pH	9.6
Humedad	31.7%
Conductividad eléctrica	2.8 x 10 milimhos/cm
Sodio intercambiable	40.14%
Carbonato de calcio	1.64%
Tipo	marga arenoso

pH del suelo. Bajo condiciones de esterilidad no - hubo un descenso significativo en el pH de los suelos, porque no hubo forma de vida presente. Sin embargo a las muestras - a las cuales se inoculó T. thiooxidans presentaron un descen - so más o menos significativo. La máxima reducción en el pH - se obtuvo en el experimento que se utilizaron las muestras de suelo más azufre e inoculación. de T. thiooxidans, en este - caso el pH bajo de 9.6 a 8.4 en noventa días de inoculación.

Bajo las condiciones de no esterilidad fué observado un descenso del pH de los suelos tratados con azufre aún sin- la inoculación de Thiobacillus, esta puede ser debido a la - microflora nativa del suelo que posea la capacidad de oxidar- azufre. Con la inoculación de T. thiooxidans a las muestras- de suelo, el descenso del pH fué mayor. Estos resultados con- firman las observaciones ya hechas desde 1921 por Hibbart, en 1945 por Mc George y en 1960 por Branson y Fireman. (4)

TABLA No. 7. Efecto de la inoculación de T. thiooxi
dansen el pH de los suelos alcalinos. (4)

Suelo esterilizado							
Tratamiento	0	15	30	45	60	75	90
Suelo	9.6	9.5	9.6	9.5	9.5	9.6	9.5
Suelo + azufre	9.5	9.5	9.3	9.5	9.2	9.3	9.4
Suelo + S + Thiobacillus	9.5	9.1	8.9	8.9	8.5	8.5	8.4
Suelo + Thiobacillus	9.6	9.5	9.3	9.3	9.3	9.2	9.0
Suelo no esterilizado							
Suelo	9.6	9.6	9.6	9.6	9.5	9.5	9.4
Suelo + azufre	9.5	9.0	9.1	9.0	8.7	8.8	8.8
Suelo + S + Thiobacillus	9.5	9.0	8.8	8.8	8.7	8.5	8.3
Suelo + Thiobacillus	9.6	9.6	9.5	9.4	9.4	9.4	9.4

Como se ha dicho anteriormente los suelos alcalinos-
contienen varios microorganismos aunque en pequeño número -
(15) (9). El descenso del pH en suelos esterilizados es acelera-
do al eliminar a los microorganismos que compiten con las bac-
terias oxidantes del azufre (11). Otro experimento realiza-
do con suelo estéril y suelo no estéril con pH de 10.2 y -
10.5 en ambos casos, tratados con 1% de azufre y una suspen-
sión de bacterias (T. novellus) de aproximadamente 5×10^6 cel/ml

incubadas a 30°C y manteniendo un 50% de humedad; en el caso del suelo esterilizado se usó adición periódica de agua estéril para mantener el nivel húmedo y el recipiente estuvo cubierto durante la incubación evitando así la contaminación. (37).

El pH del suelo esterilizado disminuyó 2.4 unidades en presencia de azufre y T. novellus, y en ausencia del Thiobacillus solo bajo 0.55 unidades. En el experimento con suelo no esterilizado el pH descendió 2.7 unidades en presencia de azufre y bacterias, una disminución de 2.0 unidades se observó cuando fué suplementado solamente con azufre. Prácticamente no hubo cambio en el pH observado en los suelos esterilizado y no esterilizado sin la inoculación con Thiobacillus. Esto indica que bajo condiciones libres de competencia de otros microorganismos, T.novellus no oxidó el azufre en una proporción más alta que en el suelo esterilizado.

La cantidad de azufre sin inoculantes agregado al suelo es generalmente cercano a 2,500-15,000 kg/ha (Yamalkar y Agarwal, 1962; Trzcinski y Farauge, 1964). En tanto que el experimento anterior la cantidad de azufre añadida fue de 22 500-25 000 kg/ha, tales concentraciones no resultan económicas.

La presencia de Thiobacillus en el suelo es necesaria para la reducción rápida del pH. Esto también sugiere que el rango de pH que decrece es dependiente de la concentra---

ción de azufre adicionado al suelo ya que al variar la concentración de 1% a 0.5% la reducción es también significativa.

Los análisis microbiológicos realizados en suelos alcalinos (36), demuestran que el número total de bacterias presentes en las muestras es inversamente proporcional al valor del pH, y la baja capacidad de oxidación de azufre es debida al escaso número de bacterias. El descenso lento del pH en algunos de estos suelos sugiere que existen pocas bacterias oxidantes del azufre y que fueron insuficientes.

TABLA No. 8. Análisis microbiano de los suelos alcalinos en estudio (36).

pH del suelo	Bacterias totales Bacterias que utilizan tiosulfato	
	No. por gramo de suelo seco	
	(x 10)	(x 10)
8.5	13	3.4
8.6	450	560
8.8	31	6.2
9.0	1.9	25
10.2	0.2	29
10.4	0.06	6.5

De estos experimentos se ha propuesto que el uso apropiado de ciertas especies de Thiobacillus puede ser aprovechado por su capacidad de oxidar el azufre y reducir el pH de los suelos salinos, para el enriquecimiento de esta zonas áridas y semiáridas y su incorporación a la agricultura. Sin embargo estas especies deben reunir algunas características para ser eficientes tales como:

Deben tener la capacidad de multiplicarse en este tipo de suelos, es decir a pH alcalino;

Tener una temperatura óptima de crecimiento entre 30-37°C, que es la temperatura de los suelos de regiones áridas;

Tolerar además del pH alto, grandes concentraciones de iones de sodio.

Para obtener una cepa con las características anteriores, Rupela y Tauro (36) realizaron experimentos en el laboratorio con los microorganismos aislados de estos suelos variando sus condiciones de cultivo, se encontró una especie que posee estas características; T. novellus. Este microorganismo es capaz de oxidar el azufre en un medio con pH de 7.5 a 8.0 pero puede tolerar también un pH de 10.0. Su temperatura de crecimiento es de 37°C, y además tolera altas concentraciones de iones de sodio, se sabe que esta cepa es capaz de tolerar hasta 75 meg/l de carbonato de sodio en el medio y

aún concentraciones más altas de cloruro de sodio.

Se han seguido realizando estudios con los microorganismos aislados de los suelos alcalinos para su aplicación en la agricultura (37). Esta prueba es de utilidad para el mejoramiento de los suelos que contienen Thiobacillus con aplicación anterior de azufre.

Con este objetivo se cultivo T. novellus en frascos de 1 litro conteniendo medio de cultivo con azufre a un pH de 8.0 e incubados a 30°C con rotación por cuatro días. Las células se separaron y lavaron con agua destilada estéril y finalmente fueron suspendidas a una concentración aproximada de 5×10^2 cel/ml. Las muestras de suelo fueron mezcladas con azufre y la suspensión de bacterias (5 ml por Kg de suelo) y puestas en recipientes de plástico conteniendo 2 kg cada uno, fueron incubadas a 30°C, manteniendo la humedad al 50%.

Los suelos de pH 10.2 y 10.5 fueron tratados con 1% de azufre, bacterias e incubados. Estas muestras presentaron una disminución en el pH de 2.7 unidades la primera y de 1.5 unidades la segunda en 105 días; sin embargo en ausencia de Thiobacillus la disminución fué solamente de 1.9 y 0.3 unidades respectivamente. En ambos suelos la adición de la bacteria únicamente no dió resultado en el cambio de pH, existe la necesidad de agregar también azufre elemental para reducir el pH del suelo.

Sales solubles totales. Las sales solubles son de gran importancia en el total de nutrientes disponibles presentes en el suelo. En experimentos realizados al respecto (4) se encontró que bajo condiciones de esterilidad no hubo mucha diferencia en el contenido de sales en los distintos tratamientos, excepto en el suelo tratado con azufre e inoculación de Thiobacillus, en el cuál el contenido de sales aumenta hacia los 60 días de incubación, comenzando a descender en ese momento.

Bajo condiciones de no esterilidad en casi todos los tratamientos el contenido de sales solubles decrece con el avance del periodo de incubación, este descenso es atribuido a la inmovilización de diferentes minerales por los microorganismos tomados del sistema.

TABLA No. 9 Efecto de la inoculación de T. thiooxi--
dans sobre el contenido de sales en suelos alcalinos.

Tratamiento	Suelo esterilizado (sales solubles g/100g de suelo)						
	Días de incubación						
	0	15	30	45	60	75	90
Suelo	2.79	2.31	2.20	2.62	2.72	2.70	2.76
Suelo - azufre	2.78	2.48	2.84	2.60	2.64	2.24	2.24
Suelo - S - Thiobacillus	3.10	3.28	3.72	3.64	3.48	2.88	2.60
Suelo - Thiobacillus	3.12	3.12	3.16	3.16	3.28	3.00	2.72

Tratamiento	Suelo no esterilizado						
	0	15	30	45	60	75	90
Suelo	2.79	2.48	2.27	2.24	1.78	1.88	1.44
Suelo - azufre	2.78	2.00	2.08	2.40	2.84	2.84	2.68
Suelo - S - Thiobacillus	3.10	3.40	3.52	3.12	2.56	2.80	2.78
Suelo - Thiobacillus	3.12	3.52	2.00	2.00	2.12	1.86	1.76

Siguiendo la aplicación de Thiobacillus y azufre los suelos experimentan un cambio respecto al pH, lo cuál indica cambio en otras propiedades fisiocoquímicas del suelo (37). - Para valorar estos cambios de sodio y sulfato, 1 Kg. suelo es esterilizado en el contenido adicionado de diversas cantidades de azufre (0 - 1%) fueron mezclados con T. novellus y al final de 105 días de incubación el Na⁺ intercambiable, el Na⁺ soluble y el sulfato fueron determinados.

Las condiciones iniciales fueron: pH 10.2, Na^+ intercambiable 27.80 meg/100g de suelo, Na^+ soluble 14.75 meg/100g de suelo, contenido de sulfato 1890 ppm. Los resultados obtenidos son los siguientes:

TABLA No. 10. Efecto de la adición de azufre e inoculación de T. novellus en el contenido de sodio intercambiable y sulfato de un suelo esterilizado.

Tratamiento del suelo	pH final	Na^+ intercambiable. (meg/100g)	Na^+ soluble (meg/100g)	Sulfato ppm
Ninguno	10.2	27.83	14.75	1875
Azufre (0.1%)	10.2	26.96	15.65	1875
Azufre (0.5%)	9.8	26.96	15.65	2125
Azufre (1.0%)	9.7	25.22	16.52	2625
T. novellus	10.2	26.09	14.78	2250
T.novellus-S (0.1%)	9.9	24.35	16.52	2875
T.novellus-S (0.5%)	8.5	15.65	25.22	4250
T.novellus-S (1.0%)	7.8	13.64	27.83	5250

Se observa que con la presencia de azufre y bacterias existe un cambio significativo en el pH del suelo acompañado por una disminución de Na^+ intercambiable y un incremento en Na^+ soluble y contenido de sulfato. Estos cambios son consistentes con los cambios esperados siguiendo el descenso de

pH de un suelo alcalino.

Calcio soluble. La determinación de calcio soluble es importante porque la teoría de restauración de suelos salinos, está basada en la sustitución de iones sodio de los complejos coloidales por iones de calcio (37).

Los datos de la Tabla No. 11 muestran que bajo condiciones de esterilidad, en los experimentos efectuados no hubo diferencia en el rango de calcio soluble, excepto donde se agregó azufre y Thiobacillus en el que la cantidad de calcio soluble aumenta con el período de incubación.

Sin embargo en los experimentos realizados sin esterilización la situación fué algo diferente, se observa un incremento gradual en la cantidad de calcio soluble a los 30 días de inoculación de las muestras con azufre, en las muestras donde se inoculó el microorganismo se obtuvieron mayores cantidades de calcio aunque después declina hacia el final del experimento.

La declinación puede ser atribuida a la inmovilización de calcio por microorganismos esporulados presentes en el suelo, porque su requerimiento de calcio es más alto.

TABLA No. 11. Efecto de la inoculación de T. thiooxi
dans sobre el calcio soluble de los suelos alcalinos.

(meq de Ca soluble/100g de suelo)							
Suelo esterilizado							
Tratamiento	Días de incubación						
	0	15	30	45	60	75	90
Suelo	2.5	2.5	2.3	2.4	2.2	2.1	2.1
Suelo - azufre	2.7	2.7	2.9	2.5	2.6	2.9	2.5
Suelo + S + Thiobacillus	2.7	2.9	3.7	5.3	6.5	7.1	9.7
Suelo + Thiobacillus	2.7	3.3	2.9	2.9	2.6	2.5	2.5
Suelo no esterilizado							
Suelo	2.5	2.9	2.7	3.9	2.1	1.5	1.5
Suelo + azufre	2.7	5.1	7.8	3.9	3.9	3.5	3.5
Suelo + S + Thiobacillus	2.7	2.5	12.2	4.9	4.8	4.5	2.1
Suelo + Thiobacillus	2.7	2.3	2.4	2.4	1.9	1.3	1.5

700g de suelo mezclados con 0.5% de azufre, manteniendo la humedad al 50% e incubado a 30 C.

Las propiedades fisicoquímicas de suelo estudiado son las siguientes: pH 9.6, humedad 31.7%, conductividad eléctrica 2.8×10 mmhos/cm sodio intercambiable 40.14%, carbonato de calcio 1.64, textura marga arenoso. (4).

En México se han realizado estudios por una compañía productora de fertilizantes, sobre la aplicación de azufre -- e inoculación de bacterias oxidantes de éste para rehabilitar los suelos de pH elevado. Los resultados obtenidos en un suelo cultivado con trigo en Navidad N.L. variando los métodos - de fertilización son los siguientes:

Cultivo y tratamiento	Rendimiento en grano
Trigo con fertilizante 300Kg/ha	1 700 Kg/Ha
Trigo con aplicación de ferti-- lizante 300 Kg/Ha. más aplica-- ción de azufre agrícola 300 -- Kg/Ha.	2 700 Kg/Ha
Trigo con aplicación de fertili-- zante 250 Kg/Ha. más aplicación de azufre y bacterias 250 Kg/Ha	4 000 Kg/Ha

Se redujo la dosis de fertilización aplicada por hectarea, lo cual comprueba que el fertilizante fué íntegramente absorbido por la planta y que los requerimientos de nutrientes no fueron afectados por el ión calcio, puesto que se estableció un correcto intercambio. La aplicación azufre más bacterias en todos los casos, fué simultánea a la del fertilizante al momento de la siembra de la semilla, lo que comprobó la efectividad de los microorganismos para lograr en forma rápida y oportuna las transformaciones que se efectúan al aplicarlos al suelo.

IV ANALISIS DE LOS RESULTADOS

El azufre es un elemento de gran importancia en el sistema ecológico, por lo que en agricultura se ha utilizado con el fin de fertilizar; contribuye al mejoramiento de las propiedades del cultivo y de la cosecha, aumenta la tolerancia a la sequía, ayuda al control de enfermedades de las plantas, favorece la descomposición de los residuos de cultivo y en un mejorador del suelo.

Las formas de aplicar azufre a los suelos son en la forma de fertilizantes, en las aguas de riego, compuestos químicos tales como yeso, ácido sulfúrico, sulfato ferroso, azufre elemental, sulfato de aluminio, etc., ayudando con ello a restaurar los suelos alcalinos, los cuales no son útiles para la agricultura.

El efecto de la adición de este elemento está íntimamente ligado con la actividad microbiana que determina sus transformaciones, así como con las características de los suelos y otros factores ambientales.

Los resultados de la revisión bibliográfica demuestran que los microorganismos que intervienen en la oxidación-

del azufre están ampliamente distribuidos en los suelos, encontrándose en zonas tropicales, templadas, húmedas y secas; - la cantidad y tipo de ellos varía con el pH, temperatura, contenido de sales, encontrándose en menor número en suelos salinos, y es particularmente importante señalar que estos microorganismos han sido detectados en condiciones extremas de pH y temperatura, aislándose de solfataras en donde los pH son ácidos, así como de suelos alcalinos, así mismo se encuentran distribuidos en suelos con rangos de temperatura muy amplios.

Se ha comprobado la oxidación de azufre por autótrofos desarrollados a 55°C tales como T. thiooxidans el cuál se ha aislado de regiones térmicas; así como de una bacteria acidófila llamada Sulfolobus de la que se reporta la especie S. acidocaldarius la que tolera una temperatura hasta de 85°C.

En relación con el pH, se ha comprobado que Thiobacillus soporta grandes concentraciones de acidez, ya que se ha aislado en suelos con un rango de pH de 0.9 a 4.5, lo cual sugiere que es el principal agente de la formación de ácido sulfúrico en suelos de solfataras. En tanto que T. novellus se desarrolla en pH de 5.0 a 11.0; esta especie se aisló de - - -

suelos alcalinos y se observó que su mayor actividad oxidativa se lleva a cabo a una temperatura de 35 y 37°C.

Respecto a la actividad bioquímica se observa que la oxidación del azufre aumenta en la estación húmeda y con la adición de sustrato adecuado ya sea introducido voluntariamente o por contaminación.

Al igual que la mayoría de los microorganismos, los oxidantes del azufre son capaces de soportar condiciones adversas por períodos de tiempo prolongado y reiniciar su actividad cuando las condiciones ambientales son favorables.

En el suelo existen diferentes microorganismos oxidantes del azufre, y la acción principal se atribuye al género Thiobacillus que lo transforma a ácido sulfúrico.

En relación a la recuperación de suelos salinos mediante la adición de azufre e inoculación de Thiobacillus, se observa que los suelos tratados experimentan un descenso significativo en el pH debido a la oxidación del azufre por estos microorganismos, y que este efecto es mayor cuando se aplica el azufre y Thiobacillus que cuando se le aplica el mejorador solo. Estos resultados se obtuvieron tanto en sue-

los en los que se detectó Thiobacillus nativo, como en aquellos en los que el microorganismo no existía o se cuantificó en número reducido.

La introducción de microorganismos a un sustrato como es el suelo, aunado a las condiciones adversas de pH y concentración de sales en este tipo particular de suelos que se tratan de mejorar, representa para los microorganismos serios problemas de adaptación, sin embargo se ha demostrado que --- existen cepas de estos microorganismos que tienen la capacidad de reproducirse en este tipo de suelos, tienen una temperatura óptima de crecimiento igual a la de las regiones áridas, pueden crecer a pH alcalino como el de estos suelos y -- además toleran grandes concentraciones de iones de sodio.

De los experimentos descritos en este trabajo se concluye que el uso adecuado de ciertas cepas de Thiobacillus -- aceleran la oxidación del azufre, y puede ser aprovechado en la restauración de suelos salinos y de su incorporación a la agricultura. En este sentido son de interés particular los -- resultados de Rupela referentes al aislamiento de Thiobacillus -- illus de suelos alcalinos.

Falta saber si este tratamiento en el que se utilizan azufre y microorganismos para restaurar las grandes exten

siones de suelos afectados por la salinidad es costeable, ya que se conoce que sí es efectivo en neutralizar esta alcalinidad al oxidar las bacterias el azufre adicionado y transformarlo a SO_4 .



V. CONCLUSIONES

- 1.- Las bacterias oxidantes del azufre están ampliamente distribuidas en los suelos.
- 2.- Existen cepas de estos microorganismos que tienen la capacidad de reproducirse en suelos alcalinos y salinos.
- 3.- La adición de azufre e inoculación de Thiobacillus ocasiona un descenso del pH en los suelos tratados.
- 4.- La velocidad de transformación del azufre en el suelo es influida por las características del suelo y por la cantidad de Thiobacillus presente.
- 5.- En base a lo anterior se concluye que mediante el aislamiento y selección de cepas de Thiobacillus apropiados -- que existe la posibilidad de introducirlos a suelos alcalinos en donde acelerarían la oxidación del azufre agregado con fines de recuperación de suelos salinos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bajpai P,D.: Gupta B.H. 1979. Effect of salinity and alca
* linity of soil on some important microbial activities. J.
Indian Soc. Soil Sci. 27 (2): 197-198.
- 2.- Banwart W.L.: Bremner J.M. 1975. Formation of volatile --
compounds by microbial decomposition of sulfur-containing
amino acids in soils. Soil Biol. Biochem. 7; 359-364.
- 3.- Banwart W.L.; Bremner J.M. 1975. Volatilization of sulfur
from unamended and sulfate-treated soils. Soil Biol. - -
Biochem. 8: 19-20.
- 4.- Bardiya M.C.; Narula N.; Vyas S.R. 1973. Reclamation of -
* saline alkali soil by application of sulphur and inocula-
tion of Thiobacillus. Effect on physicochemical propier- -
ties of soil. J. Res. Haryana Agric. Univ. 2 (3): 218-221.
- 5.- Barrow N.J. 1971. Slowly available sulphur fertilizers in
south-western Australia. Elemental sulphur. J. exp. Agric.
and Anim. Husb. 11: 211-216.

- 6.- Beaton J.D. 1971. Market potential for fertilizer sulfur. Symposium on Marketing Fertilizer Sulfur, Tennessee Valley, Authority, The Sulfur Institute, Memphis, Tennessee: 16-27.
- 7.- Beaton D.J. 1973. Sources, amounts and forms of sulfur and selenium in soils. In Soil Chemistry. Edited by G. -- Chesters and J. Bremner.
- 8.- Bettany J.R. 1972. The studies of sulphur in Saskatchewan soils. Ph. D. Thesis, Univ. of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.
- 9.- Bixby D.W.; Beaton J.D. 1970. Sulfur-containing fertilizers. Properties and applications. The Sulphur Institute, Washington, D.C. Tech. Bull. 17:27.
- 10.- Bloomfield G. 1972. The oxidation of iron sulphides in soil in relation to the formation of acid sulphate soil, and of ochre deposits in field drains. J. Soil Sci. 23: 1-16.
- 11.- Bollen Walter B. 1977. Sulfur oxidation and respiration in 54-years-old soil samples. Soil Biol. Biochem 9: 405 - 410.

- 12.- Boras I.J. 1968. Reclamation of alkali soils in Armenian S.S.R. *Agrokem. Talajit* 17: 343-354.
- 13.- Brock T.D.; Darland G. 1970. The limits of microbial - -
* existence: Temperature and pH. *Science* 169: 1316-1318.
- 14.- Brock T. D.; Brock R.T.; Belly R.T.; Weiss R.L. 1972. -
Sulfolobus: a new genus of sulfur-oxidizing bacteria li-
ving at low pH and high temperature. *Arch. Mikrobiol.*
- 15.- Coulter J.K. 1972. Soils of Malaysia. A review of inves-
tigations on their fertility and management. *Soil Fert.-*
35 (5): 475-498.
- 16.- Duxbury M.; Alexander M. 1973. Life detection by gas - -
chromatography mass spectrometry of microbial metaboli--
tos. *Bull. Ecol. Res. Comm.* 17; 485-488.
- 17.- Fliermans C.B.; Brock T.D. 1972. Ecology of sulfur-oxi--
dizing bacteria in hot acid soils. *J. Bacteriol.* 3 (2):-
343-350.
- 18.- Gachon L. 1970. Sulphur losses by drainage. Internatio--
nal Symposium on Sulphur in Agriculture, Versailles 3-4-
XII: 11-12.

- 19.- Gony P. 1970. Sulphur supplied by irrigation waters. In International Symposium on Sulphur in Agriculture. Versailles 3-4, XII: 249-255.
- 20.- Halstead R.L.; Rennie P.J. 1977. The effects of sulfur on soils in Canada. National Research Council of Canada. pp. 181-219.
- 21.- Ivarson K.C. 1973. Microbiological formation of basic ferric sulfates in soils. Can. J. Soil. Sci. 53 (3): 315 - 323.
- 22.- Ivarson K.C.; Hallberg R.O; Wadstest. 1976. The pyritization of basic ferric sulfates in acid sulfate soils. A microbiological interpretation. Can. J. Soil Sci. 63: 393 -406.
- 23.- Ivarson K.C.R.; Ress G.J.; Miles N.M. 1978. Alterations of micas and feldspars during microbial formation of basic ferric sulfates. Soil Sci. Soc. Am. 42: 518-524.
- 24.- Ivarson K.C.; Ross G.J.; Miles N.M. 1979. Soil microbiology and biochemistry. Soil Sci. Soc. Am. J. 43: 908- 912.

- 25.- Jadhav S.W.; Kondl B.K.; Daftardar S.Y. 1978. Ameliora--
 * tion of saline-sodio soil with Thiobacilli. J. Indian --
 Soc. Soil Sci. 26 (2): 228-229.
- 26.- Johnson N.M; Reynolds R.C. 1972. Atmospheric sulfur. Its
 effects on the chemical weathering of New England. Scien-
 ce 177: 514-516.
- 27.- Jones L.H.P.; Cowling B.W.; Lochyer D.R. 1972. Plant- -
 available and extractable sulphur in some soils of En- -
 gland and Wales. Soil Sci. 114 (2): 104-114.
- 28.- Kadota H.; Ishida Y. 1972. Production of volatile sulfur
 compounds by microorganisms. A. Rev. Microbiol. 26: 127-
 138.
- 29.- Khanna V.; Shethna Y.I.; Vyas S.R. 1971. Bacteriological
 * activity in saline, saline alcali and alkali soils. Cu--
 rrent Sci. 40: 269-270.
- 30.- Laura R.D. 1970. Salinity and nitrogen mineralization in
 soils. Soil Biol. Biochem. 9: 333-336.
- 31.- Lewis J.D.; Papavizas G.C. 1970. Evolution of volatile -
 sulfur-containing compounds from decomposition of cruci-
 fers in soil. Soil Biol. Biochem. 2: 239-246.

- 32.- Orutso A.; Hernández A.; Parra M. 1972. Sistemas micro--
* biológicos constituidos por *Thiobacillus thiooxidans*, -
azufre y hierro. An. Edafol. Agrobiol. 31 (3,4): 209-214
- 33.- Overrein L.N. 1972. Sulfur pollution patterns observed;-
leaching of calcium in forest soil determined Am. Bio. -
1 (4): 145-147.
- 34.- Pepper I.L.; Miller R.H. 1978. Comparison of the oxida--
tion of thiosulfate and elemental sulfur by two hetero--
* trophic soil bacteria and *Thiobacillus thiooxidans*. Soil
Sci. 126 (1): 9-14.
- 35.- Rao G.S.; Berger L.R. 1971. The requeriment of low pH -
* for growth of *Thiobacillus thiooxidans*. Arch. Microbiol.
79: 338-344.
- 36.- Rupela O.P.; Tauro P. 1973. Isolation and characteriza--
* tion of *Thiobacillus* from alkali soils. Soil. Biol. Bio-
chem. 5: 891-897.
- 37.- Rupela O.P.; Tauro P. 1973. Utilization of *Thiobacillus*-
* to reclaim alkali soil. Soil Biol. Biochem 5: 899-901.
- 38.- Swaby R.J.; Fedel R. 1973. Microbial production of sul--
* phate and sulphide in some australian soils. Soil Biol.-
Biochem. 5: 773-781.

- 39.- Swaby R.L. 1975. Biosuper-biological superphosphate. In-
Sulphur in Australanan Agriculture pp 213-220.
- 40.- Swaby R.L.; Fedel R. 1977. Sulphur oxidations and reduc-
* tion in some tropical australian soils. Soil Biol. Bio--
chem. 7: 327-331.
- 41.- Swaby R.L.; Fedel R. 1979. Effect of climate on oxida- -
tion and reduction of sulfur compounds in soils. Micro--
* biol. Ecology: 151-155.
- 42.- Tabatabai M.A.; Bremner J.M. 1972. Distribution of total
and available sulfur in selected soils and soil profi- -
les Agron. J. 64 (1): 40-44.
- 43.- Taha S.M.; Mahmoud S.A.Z.; Moubarek M.S.M. 1970. Effect-
of reclamation of sandy soil on some chemical and micro-
biological properties. Plant and Soil 32: 282-292.
- 44.- Tirado y Oliva J.F.; Echegaray A. 1970. Estudio Biológico-
co de algunos suelos del lago de Texcoco. Rev. Lat-amer.
Microbiol. 12: 93-101.
- 45.- Vitolins M.I.; Swaby R.J. 1969. Activity of sulfur-oxidi
sing microorganisms in some australian soils. J. Soil --
Res. 7: 171-183.

- 46.- Wainwright M. 1978. Sulphur-oxidising microorganisms on -
vegetation and in soils exposed to atmospheric pollution.
Environ. Pollut. 17,3: 167-174.
- 47.- Wakao N.; Furusaka Ch. 1973. Distribution of sulfate-re-
ducing bacteria in paddy-field soil. Soil Sci. Plant - -
Nutr. 19: 47-52.
- 48.- Williams C.H. 1972. Sulfur deficiency in Australia. - -
Sulphur Inst. J. 8 (3): 5-8.