

BACTERIAS HALOFILAS DEL NORTE DE COLOMBIA

**MARY ANDREA FENNIX AGUDELO
WENDY PAOLA MIRANDA CASTRO**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE BOLÍVAR
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL
CARTAGENA-BOLÍVAR
2015**

BACTERIAS HALOFILAS DEL NORTE DE COLOMBIA

**MARY ANDREA FENNIX AGUDELO
WENDY PAOLA MIRANDA CASTRO**

Proyecto de Grado

**Directora:
Rosa Acevedo Barrios. Ph.D(c)**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE BOLÍVAR
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL
CARTAGENA-BOLÍVAR
2015**

AGRADECIMIENTOS:

Dedico de manera especial a mis padres, por sentar en mí las bases de responsabilidad y deseos de avanzar, y por haberme proporcionado la mejor educación y lecciones de vida.

A mi tutora Rosa Acevedo, porque sus conocimientos, orientaciones, manera de trabajar, persistencia, paciencia y motivación fueron fundamentales durante todo este proceso de investigación.

A Teresa Asprilla, por los regañones, por los consejos, por los ataques de risa que terminaban sacándonos lágrimas, por hablar de asuntos existenciales o recordar anécdotas hasta el amanecer. Gracias por recordarme que estoy viva.

Y a Dios, por permitir que todo fuera posible.

Mary Andrea Fennix Agudelo

Agradezco a Dios por darme la vida, por infundir en mí la comprensión, la inteligencia y la perseverancia para superar todos los retos y por darme la bendición de escoger esta profesión.

A mi madre, padre y hermanas por estar siempre a mi lado incondicionalmente, apoyándome y aconsejándome siempre.

A mi tutora, Rosa Acevedo, gran profesora, guía y consejera quien aportó su valiosa ayuda para la finalización de este trabajo, además creyó en mis habilidades y siempre me motivó a hacer las cosas bien.

Y a Todas aquellas personas que me apoyaron durante todo mi proceso estudiantil y que con sus consejos hoy puedo alcanzar la meta de ser Ingeniera.

Wendy Paola Miranda Castro.

I. TABLA DE CONTENIDO

TRABAJO DE GRADO BACTERIAS HALOFILAS DEL NORTE DE COLOMBIA

AGRADECIMIENTOS:	I
I. TABLA DE CONTENIDO	II
II. ÍNDICE DE FIGURAS	V
III. ÍNDICE DE TABLAS	V
IV. LISTA DE SÍMBOLOS	VII
V. RESUMEN	VIII
VI. ABSTRACT	IX
1. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	3
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS	3
1.2. JUSTIFICACIÓN	5
2. MARCO TEÓRICO	7
2.1.1. Vías De Exposición.....	7
2.2. ORIGEN	8
2.2.1. Origen Natural	8
2.2.2. Origen Antropogénico.....	9
2.3. EFECTOS EN EL MEDIO AMBIENTE.	11
2.3.1. Efecto En La Biota	11
2.3.2. Efectos En Los Humanos	11
2.4. TECNOLOGÍAS DE TRATAMIENTO	12
2.4.1. Métodos Físico-Químicos.....	12
2.4.2. Tratamientos biológicos del contaminante.....	14
2.5. BIOSORCIÓN CON BACTERIAS REDUCTORAS	14
2.5.1. Metabolismo Bacteriano En La Degradación.....	19
2.5.2. Requerimientos Ambientales De Las Bacterias.....	19
2.5.3. Hábitat De Bacterias Reductoras.....	20
3. ESTADO DEL ARTE Y ANTECEDENTES	21

4.	OBJETIVOS	23
4.1.	OBJETIVO GENERAL	23
4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
5.	METODOLOGÍA	24
5.1.	AISLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y PRESERVACIÓN DE BACTERIAS HALÓFILAS	24
5.1.1.	Recolección de muestras	24
5.1.2.	Aislamiento, purificación y preservación de cepas bacterianas	28
5.2.	IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA, PURIFICACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS BACTERIAS.	28
5.2.1.	Identificación Microscópica	28
5.2.2.	Purificación Bacterias Aisladas.....	29
5.2.3.	Preservación.....	29
5.2.4.	Identificación Bioquímica.....	29
5.3.	ENSAYOS DE SUSCEPTIBILIDAD	29
5.3.1.	Ensayos de susceptibilidad al NaCl.....	29
6.	RESULTADOS	31
6.1.	PRIMER MUESTREO.	31
6.1.1.	Identificación bioquímica de las bacterias aisladas.	35
6.1.2.	Pruebas de susceptibilidad al NaCl	37
6.1.3.	Pruebas de susceptibilidad al KClO ₄ ¡Error! Marcador no definido.	
6.2.	SEGUNDO MUESTREO.	39
6.2.1.	Identificación bioquímica de las bacterias aisladas.	43
6.2.2.	Pruebas de susceptibilidad al NaCl	45
6.2.3.	Pruebas de susceptibilidad al KClO ₄ ¡Error! Marcador no definido.	
6.3.	TERCER MUESTREO	45
6.3.1.	Identificación bioquímica de las bacterias aisladas.	49
6.3.2.	Pruebas de susceptibilidad al NaCl	51
7.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	52
8.	CONCLUSIONES	54

9. RECOMENDACIONES	54
10. BIBLIOGRAFÍA.....	55
11. ANEXOS	73
11.1. MUESTRO SUELOS SALINOS DE BOLÍVAR.....	73
11.2. MUESTREO SUELOS SALINOS DE LA GUAJIRA.....	74
11.3. MUESTREO VÍA PARQUE ISLA DE dE LA CARRETERA CIÉNAGA- BARRANQUILLA	75

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Ilustración 1: Número de artículos sobre bacterias degradadoras en el medio ambiente por años según registro de ScienceDirect.	21
Ilustración 2: Número de artículos sobre bacterias degradadoras en el medio ambiente por años según registro de SpringerLink.	22
Ilustración 5: Ruta de muestreo.....	24
Ilustración 6: Mapa de las salinas.	24
Ilustración 7: Lugar de toma de muestras (Salinas de Bolívar).	25
Ilustración 8: Mapa de las salinas.	26
Ilustración 9: Lugar de toma de muestras (Cristalizadora de las salinas de la Guajira.....	26
Ilustración 10: Puntos de muestreo, carretera Ciénaga-Barranquilla.	27
Ilustración 11: Presencia de biopelículas en los cultivos de Géneros bacterianos resistentes a NaCl aislados de sedimentos marinos (Bolívar).....	38
Ilustración 12: Nodrizas de Bolívar.....	73
Ilustración 13: Muestras de Bolívar tomadas en tubos Falcón.....	73
Ilustración 14: Evidencia de Suelos Salinos, Indicador Biológico, especie de planta Batis maritima.....	74
Ilustración 15: Suelos Salinos de la Guajira.	74
Ilustración 16: Cristales de sal de la Guajira.....	75
Ilustración 17: Suelos de Sector Tasajeras.	75
Ilustración 18: Muestras de carretera Ciénaga-Barranquilla.....	76
Ilustración 19: Evidencia de Suelos Salinos, Indicador Biológico, especie de planta Batis maritima.....	76

III. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Principales clases, géneros y especies de bacterias reductoras.....	15
--	----

Tabla 2: Coordenadas de los puntos de muestreo en Bolívsr.	25
Tabla 3: Coordenadas de los puntos de muestreo en la Guajira.....	27
Tabla 4: Coordenadas de los puntos de muestreo en carretera Ciénaga-Barranquilla	28
Tabla 5: Aislamiento de bacterias Halófilas en sedimentos salinos de Bolivar.	31
Tabla 6: Caracterización Microscópica y Bioquímica de las bacterias halófilas aisladas de (Bolívar), Caribe colombiano.	32
Tabla 7: Actividad bioquímica de bacterias Gram negativas aisladas en Bolivar. .	35
Tabla 8: Actividad bioquímica de bacterias Gram positivas aisladas en suelos salinos de Bolívar.	36
Tabla 9: Prueba susceptibilidad a diferentes concentraciones de NaCl de bacterias aisladas de Bolívar.	37
Tabla 10: Cálculos para experimento de susceptibilidad de bacterias al NaCl.	38
Tabla 13: Aislamiento de bacterias Halófilas en sedimentos salinos de Guajira...	39
Tabla 14: Guajira, Caribe colombiano.	40
Tabla 15: Actividad bioquímica de bacterias Gram negativas aisladas en Guajira. .	43
Tabla 16: Actividad bioquímica de bacterias Gram positivas aisladas en Guajira.	44
Tabla 17: Prueba susceptibilidad a diferentes concentraciones de NaCl de bacterias aisladas de Guajira.	45
Tabla 18: Prueba susceptibilidad a diferentes concentraciones de KClO ₄ de bacterias aisladas de Guajira.	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 20: Aislamiento de bacterias Halófilas en suelos salinos de de la Carretera Ciénaga-Barranquilla.....	46
Tabla 21: Caracterización Microscópica y Bioquímica de las bacterias halófilas aisladas de en carretera Ciénaga-Barranquilla	47
Tabla 22: Actividad bioquímica de bacterias Gram negativas aisladas en en carretera Ciénaga-Barranquilla	49
Tabla 23: Actividad bioquímica de bacterias Gram positivas aisladas en en carretera Ciénaga-Barranquilla	50
Tabla 24: Prueba susceptibilidad a diferentes concentraciones de NaCl de bacterias aisladas d en carretera Ciénaga-Barranquilla	51
Tabla 26: Cálculos para experimento de susceptibilidad de bacterias al KClO ₄ . .	¡Error! Marcador no definido.

IV. LISTA DE SÍMBOLOS

V. RESUMEN

En este estudio, se caracterizaron bacterias nativas a partir de suelos hipersalinos del Norte de Colombia identificándolas microscópicamente por tinción de Gram y bioquímicamente mediante el sistema BBL™ Crystal™ Kit ID para bacterias Gram negativas y Gram positivas, permitiendo así caracterizar tres géneros de bacterias: *Vibrio sp.*, *Bacillus sp.*, y *Escherichia coli*. Además, se realizaron pruebas de susceptibilidad al cloruro de sodio, comprobando que las bacterias aisladas son halófilas. Basado en los resultados obtenidos se concluye que los géneros *Vibrio sp.* y *Bacillus sp.* ser bacterias halófilas y tolerar grandes concentraciones de sal.

VI. ABSTRACT

In this study, native bacteria were characterized from hypersaline soils of the Colombian Caribbean, identified microscopically by Gram staining and biochemically by the BBL™ Crystal™ Kit ID System for Gram negative and Gram positive bacteria, allowing to characterize three bacteria genera: *Vibrio sp.*, *Bacillus sp.*, and *Escherichia coli*. Also, sodium chloride and potassium perchlorate susceptibility tests were performed, checking that the bacteria isolated are halophiles and tolerate concentrations up to 1500 ppm of potassium perchlorate, with exception of the *Escherichia coli*, which was susceptible to testing. Based on the results obtained, it is concluded that the genera *Vibrio sp.* and *Bacillus sp.* are reducing potential perchlorate, being halophiles bacteria and tolerating high perchlorate concentrations.

1. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS

La contaminación ambiental es un problema de gran repercusión mundial. El deterioro de los diversos ecosistemas trae consigo la pérdida de la calidad ambiental, la cual se sigue incrementando cada día más con la actividad humana (Bonaventura & Johnson, 1997). El uso indiscriminado de sustancias químicas produce la acumulación de estos contaminantes en los ecosistemas afectando la salud humana y la biota, debido a su toxicidad.

Este panorama motiva la realización de estudios relacionados con diversos contaminantes ambientales, los cuales han permitido tomar medidas en la regulación del uso de ellos y proponer tratamientos que permitan su remediación. No obstante, existen pocos reportes del impacto ecotoxicológico de sales inorgánicas las cuales son extremadamente tóxicas; entre las que se encuentran las sales del contaminante (Srinivasan & Viraraghavan, 2009), a pesar de que ha sido oficialmente reconocido como contaminante ambiental (Logan et al., 2001a; Motzer, 2001).

El ión perclorato es un contaminante inorgánico persistente por sus propiedades químicas (Cañas et al., 2006; Gupta et al., 2014; Eck, 2015) y posee propiedades de disrupción endocrina. Su toxicidad se evidencia principalmente en la inhibición de la captación de yodo en la glándula tiroides, conduciendo a trastornos como el bocio y trastornos mentales producidos por el hipotiroidismo (Lumen et al., 2013; Chen et al., 2014a).

La principal forma de exposición reportada es el consumo de alimentos y agua que contiene el contaminante (ATSDR, 2008); se absorbe fácilmente después de la exposición oral y puede migrar desde el estómago y los intestinos a la circulación sanguínea (ATSDR, 2008). También se puede ingerir el contaminante en alimentos contaminados como huevos, tomates, lechugas, frutas, zanahorias y espinacas (Government Accountability Office, 2005). Cuando se usa agua que lo contiene para regar las plantas, quedan residuos de este contaminante en los cultivos, acumulándose en las hojas cuando el agua se evapora (ATSDR, 2008; Seyfferth & Parker, 2008) o en la leche del ganado que consume pasto con concentraciones de este contaminante (Okeke et al., 2002; Kirk, 2006; Dyke et al., 2007; Okeke et al., 2007; Murray et al., 2008).

Estudios de Gan y colaboradores (2014) y Chen y colaboradores (2014a) indican que la inhalación y exposición de polvo en interiores y la exposición por contacto dérmico de niños y adultos con tierra y polvo contaminados con el contaminante constituyen otras vías de exposición importantes. Igualmente, se ha determinado que la exposición aguda al ion puede producir irritación en ojos, piel y vías respiratorias, tos, náuseas, vómitos y diarrea (EPA, 1999 ; Dozier et al., 2005). De

igual forma, este agente también puede causar cáncer de tiroides (Gholamian et al., 2011) y producir teratogénesis en embarazadas (Thrash et al., 2007).

Es amplia la distribución del ión en los ecosistemas, encontrándose en todas las matrices ambientales, leche materna, fertilizantes, plantas, alimentos y orina humana (Cañas et al., 2006; Gupta et al., 2014) y puede formarse naturalmente en nuestro planeta Tierra, fundamentalmente en zonas áridas, ambientes hipersalinos, volcanes, durante tormentas y durante la ozonización de cloruro (Cl-) (Plummer et al., 2006; Rao et al., 2007; Murray et al., 2008; Parker, 2009; Srinivasan & Viraraghavan, 2009; Chen et al., 2014a; Gupta et al., 2014). Su presencia en suelos hipersalinos se debe a que las precipitaciones en estos lugares son poco frecuentes y se reduce la posibilidad de que el contaminante se disuelva y migre a las aguas subterráneas. Por lo tanto, este ión se mantendría en estos depósitos en cantidades más grandes que los que se encuentran en regiones de mayor precipitación (Srinivasan & Viraraghavan, 2009).

Sin embargo, la producción natural del ion no es el principal aportante del aumento de su contaminación (London et al., 2011). Las actividades antropogénicas en los últimos 100 años (Bruce et al., 1999; EPA, 2007; Thrash et al., 2007) han sido principales responsables de su amplia difusión de la contaminación de este contaminante en agua potable, aguas superficiales, aguas subterráneas, sedimentos y suelos (Gullick et al., 2001; Bardiya & Bae, 2011). Puede formarse como producto de la descomposición del hipoclorito de sodio, ampliamente utilizado como agente de blanqueo y también se forma accidentalmente en aplicaciones de control de la corrosión (Bruce et al., 1999; EPA, 2007; Thrash et al., 2007; Srinivasan & Viraraghavan, 2009; Bardiya & Bae, 2011). Tiene una amplia gama de aplicaciones industriales tales, como agente de blanqueo de la pasta de papel, fabricación de fósforos, tintes, cauchos, aceites lubricantes, bolsas de aire para automóviles, desinfectantes, entre otros (Gupta et al., 2014) y también se ha utilizado como promotor del crecimiento y medicamento tireostático en engorde de ganado (Gholamian et al., 2011).

Los tratamientos químicos, basados fundamentalmente en el intercambio iónico, utilizados en la actualidad para su degradación son poco eficientes, no selectivos, y son incompletos, generando resinas o salmueras contaminadas que deben ser tratadas posteriormente, llegando a ser en algunos casos más tóxicas que el compuesto original (Wang et al., 2014), lo cual conlleva a la necesidad de proponer tratamientos biológicos alternativos para depurar ambientes contaminados con el ion; encontrándose en la biorremediación una solución prometedora, efectiva, económica y viable (Logan et al., 2001a; Bardiya & Bae, 2005; Srinivasan & Viraraghavan, 2009; Chen et al., 2014a; Gupta et al., 2014).

La biorremediación constituye un método ideal y prometedor para eliminar el contaminante de los ecosistemas (Logan et al., 2001a), debido a que los ensayos con bacterias degradadoras son muy eficientes, económicos, reproducibles, y sus

cultivos son de fácil manipulación (Bardiya & Bae, 2005; Xiao et al., 2010; London et al., 2011).

En el Caribe colombiano existen suelos hipersalinos,, donde es factible aislar y caracterizar bacterias con capacidad de degradar el contaminante. La razón de seleccionar este tipo de ambientes se debe a que se ha demostrado que existe formación natural de este contaminante en cantidades significativas (Parker, 2009) en ambientes hipersalinos (Cang et al., 2004; Park & Marchand, 2006; Lehman et al., 2008; Van Ginkel et al., 2008; Ryu et al., 2012; Murray & Bolger, 2014), lo que posibilita la presencia de bacterias con potencial capacidad de degradar el contaminante, debido a que la habilidad de reducir este contaminante se incrementa en bacterias tolerantes a la sal (Cang et al., 2004; Park & Marchand, 2006; Lehman et al., 2008; Van Ginkel et al., 2008; Srinivasan & Viraraghavan, 2009; Ryu et al., 2012).

La necesidad de identificar bacterias nativas surge del incipiente conocimiento sobre la diversidad microbiana de ambientes naturales con potencialidades biotecnológicas para degradar contaminantes ambientales, por lo tanto, se constituyen como una fuente importante para la investigación en biorremediación y el desarrollo de un modelo biológico eficiente para las condiciones de la región en la degradación del ion Las tecnologías biológicas requieren la identificación de bacterias nativas y sus mecanismos bioquímicos, por ello surge la siguiente pregunta de investigación: ¿Que bacterias nativas de ambientes hipersalinos del Caribe colombiano tienen potencial capacidad para degradar el contaminante?

1.2. JUSTIFICACIÓN

El ion es una sal contaminante persistente que causa daños irreversibles en el crecimiento y desarrollo de muchas especies y altera la absorción de yodo en la glándula tiroides (Xiao et al., 2010; Gholamian et al., 2011; Ghosh et al., 2011). Este se libera al medio ambiente por fuentes naturales y antrópicas (EPA, 2007; Vigliotta et al., 2010; Ye et al., 2012), siendo esta última la mayor aportante al aumento de contaminante en el ambiente (London et al., 2011), por la amplia gama de aplicaciones industriales, encontrándose así en todas las matrices ambientales, en leche materna, alimentos y orina humana (Murray et al., 2008; London et al., 2011). Por lo anterior, distintos autores han estudiado el comportamiento y los efectos a la salud que pueden generar estas sales contaminantes.

Los ambientes hipersalinos del Caribe colombiano, , presentan condiciones y características específicas que posibilitan la presencia de bacterias endémicas con potencial capacidad de degradar el contaminante, debido a que las tasas de reducción de ion son directamente proporcionales al aumento de la salinidad (Cang et al., 2004; Park & Marchand, 2006; Van Ginkel et al., 2008; Srinivasan & Viraraghavan, 2009; Ryu et al., 2012).

Además, los estudios han demostrado que existe formación natural del contaminante en cantidades significativas (Parker, 2009) en este tipo de ambientes hipersalinos (Cang et al., 2004; Park & Marchand, 2006; Lehman et al., 2008; Van Ginkel et al., 2008; Ryu et al., 2012), encontrándose cantidades desde 25 a 2700 mg/kg, dado que, las precipitaciones en estos lugares son poco frecuentes y se reduce la posibilidad de que el contaminante se disuelva y migre a las aguas subterráneas. Por lo tanto, este ión se mantendría en estos depósitos en cantidades más grandes que los que se encuentran en regiones de mayor precipitación (Srinivasan & Viraraghavan, 2009).

La necesidad de identificar y caracterizar las bacterias nativas de este tipo de ambientes nace de la escasez de conocimiento sobre la diversidad microbiana de ambientes naturales con potencialidades biotecnológicas para degradar contaminantes ambientales; por lo tanto, la investigación se establecerá como una fuente científica y marcará las bases en biorremediación, en la búsqueda y desarrollo de modelos biológicos eficientes para la región, que permitan la degradación del ion. Puesto que los actuales sistemas de tratamiento químicos para este contaminante son poco eficientes, no son selectivos ni completos, generando subproductos, resinas o salmueras contaminadas que deben ser tratadas posteriormente, llegando a ser en algunos casos más tóxicas que el compuesto original (Wang et al., 2014); lo cual conlleva a la búsqueda de alternativas de tratamiento como lo es la biorremediación, que promete ser una solución efectiva, económica y viable (Logan et al., 2001a; Logan et al., 2001b; Bardiya & Bae, 2005; Srinivasan & Viraraghavan, 2009; Chen et al., 2014a; Gupta et al., 2014), en especial la biosorción pues resulta más eficiente, económica, reproducible y manejable (Bardiya & Bae, 2005; Xiao et al., 2010; London et al., 2011).

Por otro lado, con los resultados de la investigación se aportarán nuevos conocimientos en la identificación y caracterización de bacterias nativas, puesto que no existen bacterias estandarizadas para la reducción del contaminante aplicables de manera universal, y no existe garantía de cuán eficientes sean las bacterias reportadas en otras partes del mundo en ambientes tropicales, como los del Caribe colombiano. Incluso, es probable que puedan afectarse los suelos en los que se implementen biotecnologías que utilicen bacterias no nativas, dado que se está perturbando su equilibrio, siendo este último aspecto el que define la calidad ambiental de los suelos según Cruz et al. (2004).

2. MARCO TEÓRICO

2.1. GENERALIDADES DEL CONTAMINANTE

El contaminante es un oxianión de cloro cargado negativamente, compuesto de un átomo de cloro rodeado por cuatro átomos de oxígeno, dispuestos en geometría tetraédrica. El anión se combina con cationes como el sodio, potasio, amonio, litio, y magnesio para formar sales (Dasgupta et al., 2005; Murray & Bolger, 2014); Estas sales son fácilmente solubles en el agua, interactúan con sus moléculas a través de enlaces de hidrógeno débiles (Isobe et al., 2013; Xie et al., 2014), por lo que en los sistemas acuáticos se disocia fácilmente en anión y en sus cationes asociados (Urbansky, 1998). Por otro lado, el contaminante que se encuentra en el suelo se puede lixiviar a los cuerpos de agua, ser absorbido por plantas y acumularse en sus tejidos vegetales (Ellington & Evans, 2000; Urbansky et al., 2001), llegando a los humanos a través de la cadena alimenticia (Sanchez et al., 2006; Voogt & Jackson, 2010; Lee et al., 2012)

Por lo anterior, el contaminante se conoce como un contaminante persistente (Fisher et al., 2000; Motzer, 2001; Cañas et al., 2006; Gupta et al., 2014), y difundido en los ecosistemas (Fisher et al., 2000; Motzer, 2001), permaneciendo estable durante largos períodos de tiempo bajo condiciones ambientales típicas (Ellington & Evans, 2000; Urbansky et al., 2001). Otra característica que hace único a este contaminante es su reducción extremadamente lenta en el ambiente, y que por lo general solo es observada ante la acción de fuertes ácidos concentrados, esta poca capacidad se le atribuye a la estructura químicamente estable del ion por lo que los agentes físico-químicos reductores comunes no son capaces de reducirlo a formas menos tóxicas de manera eficiente en condiciones ambientales. En otras palabras, la reducción química del contaminante no es una opción viable (Motzer, 2001; Xu & Logan, 2003; Gholamian et al., 2011; Ghosh et al., 2014). De hecho, su comportamiento redox es raramente observado en sistemas químicos. Por otro lado, se han realizado investigaciones significativas en el campo de la reducción microbiana de este contaminante, concluyendo que esta tecnología resulta más prometedora para su reducción (Motzer, 2001; Xu & Logan, 2003; Bardiya & Bae, 2011; Wang et al., 2014).

2.1.1. Vías De Exposición

Las actividades humanas y las fuentes naturales han incrementado la presencia del contaminante en el medio ambiente. Por lo tanto, este contaminante podría entrar al organismo a través de la transferencia trófica, dado que los vegetales y cultivos pueden acumular el ion proveniente de suelos contaminados o del agua de riego (Srinivasan & Viraraghavan, 2009; Chen et al., 2014b). Frente a este panorama, la amplia presencia de contaminante en los alimentos ha sido estudiada y bien documentada al ser una importante vía de exposición (Kirk et al., 2005; Sanchez et al., 2005; Blount et al., 2006; Dyke et al., 2006; Blount et al., 2007; Kannan et al.,

2009; Oldi & Kannan, 2009; Zhang et al., 2010; Borjan et al., 2011; Lee et al., 2012), reportándose contaminante en ciertos cultivos (Yu et al., 2004; Sanchez et al., 2005; Seyfferth & Parker, 2006; Tefera et al., 2007), como la lechuga (Krynitsky et al., 2004), y alimentos como frutas, zanahorias, arroz (Shi et al., 2007) y espinacas (Government Accountability Office, 2005; USFDA, 2008). Además, se ha detectado ionen la leche del ganado que ha consumido pasto con concentraciones de este contaminante (Okeke et al., 2002; Kirk et al., 2003; Kirk et al., 2005; Kirk, 2006; Dyke et al., 2007; Okeke et al., 2007; USFDA, 2008), en salchichas, jamón, fideos instantáneos, pescados (Theodorakis et al., 2006), carnes y bebidas (Lee et al., 2012), té, refrescos (Asami et al., 2009), muestras de algas (Martinelango et al., 2006), plantas de tabaco y productos del tabaco (Jackson et al., 2005; ATSDR, 2008).

Estudios recientes detectaron contaminante en la leche materna de las mujeres embarazadas y lactantes (Kirk et al., 2005; Pearce et al., 2007), En consecuencia, los lactantes y niños menores de 7 años presentan la mayor exposición esperada (Blount et al., 2006; Blount et al., 2007), con afectaciones en el sistema esquelético y sistema nervioso central (USFDA, 2008; Wang et al., 2008; Ye et al., 2012).

Otra vía de exposición a ion es la ingestión e inhalación de polvo (Rudel et al., 2003), dado que el suelo o polvo procedentes de actividades humanas o por deposiciones atmosféricas puede actuar como portador de contaminantes (Christoforidis & Stamatis, 2009; Shi et al., 2011), afectando la salud de niños y adultos, de aquí el interés investigativo para evaluar las concentraciones del contaminante y la exposición humana por ingestión, inhalación y contacto dérmico con tierra y polvo (Gan et al., 2014).

2.2. ORIGEN DEL CONTAMINANTE

2.2.1. Origen Natural

La formación en el medio ambiente del contaminante genera cierto interés (Smith et al., 2004; Furdui & Tomassini, 2010; Kim et al., 2013). Los hallazgos recientes indican que este se forma continuamente de manera natural en la atmósfera, y los mecanismos propuestos van desde procesos desencadenados fotoquímicamente (Plummer et al., 2006) hasta descargas eléctricas durante tormentas (USFDA, 2008; Parker, 2009) y la reacción de cloro con ozono (Dasgupta et al., 2005). Otras fuentes consideradas son la erupción de volcanes (Simonaitis & Heicklen, 1975; Gu & Brown, 2006) y el movimiento de placas tectónicas (Noble & Mansfield, 1922).

Se ha demostrado que existe formación natural del ion en cantidades significativas (Parker, 2009) en ambientes áridos (Murray & Bolger, 2014) y/o hipersalinos (Cang et al., 2004; Park & Marchand, 2006; Lehman et al., 2008; Van Ginkel et al., 2008; Ryu et al., 2012), dado que la reacción fotoquímica para su formación involucra cloruro de sodio (NaCl) de la tierra o de mar, el cual es elevado en la atmósfera.

Este NaCl reacciona con el ozono para así formar sales del contaminante. Posterior su formación, la sal se disuelve en las precipitaciones, regresando así a la superficie de los suelos. Luego de un período de tiempo, la tasa de deposición de sal de ion en la superficie se hace mayor que la tasa de sal del contaminante en disolución. Como resultado, las sales de contaminante quedan incorporadas en la composición de suelo (Murray & Bolger, 2014) o las fuentes hídricas. Además, por la poca frecuencia de lluvias en estos lugares, se reduce la posibilidad de que el contaminante se disuelva y migre a las aguas subterráneas. Por lo tanto, este ion se mantendría en estos depósitos en cantidades más grandes que los que se encuentran en regiones de mayor precipitación (Srinivasan & Viraraghavan, 2009). También se ha demostrado la formación natural de este contaminante en zonas áridas a partir de algunos fertilizantes por causa del calentamiento global (Plummer et al., 2006; Rao et al., 2007).

Los mayores depósitos de contaminante se forman en las regiones áridas de Sudamérica, específicamente en Chile, Perú y Bolivia. En el desierto de Atacama en Chile se ha reportado la presencia de rocas compuestas por carbonato de calcio (Schumacher, 1960; Ericksen, 1983; Kounaves et al., 2010), yeso, sodio y sales (nitrato de sodio, nitrato potasio y perclorato como contaminante). Este tipo de rocas con el contaminante también se han encontrado en el Valle de la Muerte en los EE.UU en concentraciones de 1700 µg/kg (Rajagopalan et al., 2006; Rao et al., 2007; Jackson et al., 2010). De acuerdo a este panorama, Urbansky et al. (2001) informan que el ion también se puede formar de manera natural en algunos fertilizantes, dado que gran parte del nitrato utilizado en estos abonos proviene del desierto de Atacama. Estas rocas compuestas con nitrato de sodio, nitrato potasio y perclorato han sido extraídas y exportadas a todo el mundo durante casi 200 años, por este motivo la formación natural del contaminante en este desierto ha tenido mayor interés (Murray & Bolger, 2014).

Así mismo, se han reportado sales de ion en bosques de algas marinas Kelp (Orris et al., 2003) y en la Antártida (Kounaves et al., 2010), donde la concentración de este contaminante en suelos es de aproximadamente 1100µg/kg. Igualmente, hay presencia de estas sales en la potasa, la cual es carbonato de potasio derivado de cenizas de madera y varios minerales disueltos, formada en depósitos de evaporación y es utilizada como materia prima en la fabricación de fertilizante, en la elaboración de algunos detergentes y productos farmacéuticos (Murray & Bolger, 2014).

2.2.2. Origen Antropogénico

Gran parte del contaminante que se encuentra distribuido en las diferentes matrices ambientales es el resultado de actividades antropogénicas. La literatura científica cada vez ha reportado más fuentes antropogénicas del contaminante, con concentraciones por debajo de 0.1 µg/L a 35 µg/L en el agua potable (Quinones et al., 2007; Kannan et al., 2009; Blount et al., 2010), por debajo de 0.1 a 22.1 µg/L en

el agua subterránea (Kannan et al., 2009; Wu et al., 2010), por debajo de 1 a 2300 µg/L en agua superficial L en agua superficial (Kosaka et al., 2007; Kannan et al., 2009; Wu et al., 2010), por debajo de 1 a 13 µg/kg en el suelo (Rao et al., 2007; Jackson et al., 2010; Ye et al., 2013).

De acuerdo con el informe “Perchlorate: A system to track sampling and cleanup results is needed” del gobierno de los Estados Unidos (2005), el 65% de la contaminación por el contaminante se encuentra en aguas subterráneas y superficiales asociadas con actividades militares, aeroespaciales, explosivas entre otras (Government Accountability Office, 2005; Dasgupta et al., 2006; Parker, 2009; Attanasio et al., 2011; Murray & Bolger, 2014)

Por otro lado, los fuegos artificiales también son una de las principales fuentes de contaminación de este contaminante en el ambiente (White, 1996; SERADP, 2005; Dasgupta et al., 2006), porque contienen químicos como nitrato de potasio, cloruro de potasio, perclorato de potasio o perclorato de amonio, carbón, azufre, manganeso, oxalato de sodio, aluminio y hierro en polvo, nitrato de estroncio, y nitrato de batio (McLain, 1980; Thompson & Potter, 2000; Motzer, 2001; Zoeller & Rovet, 2004; SERADP, 2005; Wang et al., 2007; Wu et al., 2011).

El ion también está presente en el PVC y en las baterías de ion-litio como material dopante (Interstate Technology & Regulatory Council, 2005) , por lo que es probable que los residentes y trabajadores de sitios de reciclaje de desechos electrónicos estén expuestos a dicha contaminación (Eguchi et al., 2014). Además, este fuerte oxidante es utilizado como agente de limpieza para la producción de pantallas LCD (Kim et al., 2009; Her et al., 2011).

Para la fabricación de infladores de bolsas de aire para automóviles y herbicidas se utiliza el contaminante de amonio, litio, magnesio y potasio. Esta última sal se ha empleado como medicina y principalmente entre los años 1950 y 1960 para tratar el hipertiroidismo (Murray & Bolger, 2014). Del mismo modo, se ha implementado el contaminante en la fabricación de fósforos, tintes, caucho, aceites lubricantes (EPA Federal Facilities Restoration And Reuse Office, 2005; ITRC. Interstate Technology Regulatory Council, 2005), y se han detectados otras fuentes antropogénicas como fundidoras, bengalas para señalización vial, agentes de secado y grabado, pólvora, pilas o baterías de magnesio (Wang et al., 2014), en componentes de algunos desinfectantes, blanqueadores, limpiadores a base de cloro y sustancias químicas de cloración para piscinas, tubos electrónicos, pinturas, esmaltes, fertilizantes y reactores nucleares (Government Accountability Office, 2005) y otros materiales usados en aplicaciones comerciales (ITRC. Interstate Technology Regulatory Council, 2005; Kirk, 2006; ATSDR, 2008; Nerenberg et al., 2008). El contaminante también se ha utilizado como promotor del crecimiento y medicamento tireostático en el engorde de ganado (Gholamian et al., 2011).

2.3. EFECTOS DEL CONTAMINANTE EN EL MEDIO AMBIENTE.

2.3.1. Efecto En La Biota

Varios estudios han encontrado que el ion puede ser fácilmente acumulado por las plantas (Yu et al., 2004; Jackson et al., 2005; Voogt & Jackson, 2010). La investigación realizada por Xie et al. (2014) con la planta de arroz (*Oryza sativa* L) demostró que esta es fácilmente contaminada por el contaminante, sugiriendo que puede inhibir el crecimiento en plantas (Xie et al., 2009; He et al., 2013a; Xie et al., 2014). En otra investigación se comprobó que el contaminante afecta el contenido de clorofila y las raíces de *A. calamus*, *C. indica*, *T. dealbata* y *E. crassipes* (He et al., 2013b), sin embargo, no está claro cómo el ion daña el sistema fotosintético, por lo que es necesario investigar los mecanismos de acción del contaminante en las plantas (Xie et al., 2014).

También se sabe que el ion a concentraciones ambientales de 200-500 ppm perturba la metamorfosis de anfibios (Goleman et al., 2002) y algunos peces (Miwa & Inui, 1987; Shi, 2000; Einarsdóttir et al., 2006). También se comprobó que disminuye el número total de huevos desovados por las hembras de la medaka japonesa (*Oryzias latipes*) (Lee et al., 2014), modifica la proporción sexual del pez cebra (Mukhi & Patiño, 2007; Sharma & Patiño, 2013) y causa el hermafroditismo funcional de la hembra del *Gasterosteus aculeatus*, lo cual lleva a la hipótesis de que el contaminante tiene efectos androgénicos (Bernhardt et al., 2006). Otros efectos en los peces incluyen el desarrollo anormal de la placa lateral, disminución del rendimiento de nado, tasas de crecimiento más lentas y reducción de la pigmentación (Bernhardt et al., 2006; Bernhardt & von Hippel, 2008; Bernhardt et al., 2011).

Por otro lado, la exposición al contaminante conduce al hipotiroidismo embrionario a especies de aves como la codorniz japonesa (Chen et al., 2008). y afecta la tiroides en especies como la *Colinus virginianus* (McNabb et al., 2004) y el *Anas platyrhynchos* (McNabb, 2003) de igual modo afecta a reptiles y mamíferos como lagartijas, ratones, ratas, y conejos (Redick-Harris, 2006; USCHPPM, 2007).

2.3.2. Efectos En Los Humanos

El ion es ampliamente conocido por ser un potente disruptor endocrino inorgánico (Leung et al., 2010) debido a que afecta el funcionamiento normal de la glándula tiroides, inhibiendo la fijación de yodo (Snyder et al., 2003), el cual garantiza la producción necesaria de hormonas tiroideas, las cuales desempeñan un papel importante en la regulación del metabolismo y es fundamental para el crecimiento normal y el desarrollo de los fetos, bebés y niños (Bruce et al., 1999; Shrout & Parkin, 2006; Okeke et al., 2007; ATSDR, 2008; USFDA, 2008; Kucharzyk et al., 2010; Bardiya & Bae, 2011; EPA, 2012a, 2012b; Chen et al., 2014a). La capacidad del contaminante para alterar la producción de hormonas de la tiroides (Wu et al.,

2012) ha conducido a su uso medicinal como agente antitiroideo (Martino et al., 1986; Newnham et al., 1988; Van Dam et al., 1993; BRUCKER-DAVIS, 1998).

Por otra parte, se ha demostrado que produce cáncer de tiroides (Gholamian et al., 2011) afecta el sistema nervioso, reproductivo, e inmunológico (Bernhardt et al., 2006; Gilbert & Sui, 2008; USATSDR, 2008) produciendo teratogénesis en mujeres embarazadas (Thrash et al., 2007), y ha sido documentado en muestras humanas de sangre, saliva, leche materna y orina (Kirk et al., 2005; Blount et al., 2006; Blount et al., 2007; Pearce et al., 2007; Kannan et al., 2009; Oldi & Kannan, 2009; Zhang et al., 2010). La exposición aguda a ion puede producir irritación en ojos, piel y vías respiratorias, tos, náuseas, vómitos y diarrea. Así por ejemplo, el ácido perclórico es corrosivo para los ojos, la piel y el tracto respiratorio y la exposición a corto plazo a dosis elevadas puede causar dolor de garganta, tos, dificultad respiratoria, quemaduras, pérdida de la visión, dolor abdominal, vómitos y diarrea (EPA, 1999 ; Dozier et al., 2005).

La contaminación de contaminante representa un peligro especial para madres lactantes y niños pequeños porque puede transmitirse a través de la leche materna, afectando la función de la tiroides y causando discapacidades físicas y mentales, como retraso mental, problemas de audición y deficiencias en el lenguaje (Morreale de Escobar et al., 2000). Estudios recientes detectaron ion en la leche materna (Kirk et al., 2005; Pearce et al., 2007) y orina (Pearce et al., 2010) de niños (Blount et al., 2006; Blount & Valentin-Blasini, 2006) y mujeres embarazadas y lactantes..

2.4. TECNOLOGÍAS DE TRATAMIENTO DEL CONTAMINANTE

2.4.1. Métodos Físico-Químicos.

Se pueden dividir en reacciones de secuestro y transformación. Las reacciones de secuestro incluyen sorción, precipitación, reacciones de intercambio iónico y diferentes separaciones basadas en membranas, mientras que las reacciones de transformación incluyen reducción química y electroquímica (Coates & Jackson, 2009; Ghosh et al., 2014).

2.4.1.1. Tecnologías De Membranas

Las técnicas basadas en membranas pueden ser eficaces para la remoción del contaminante, sin embargo generan incrustaciones en las membranas y tiene altos costos. Además, el agua tratada con este sistema tiene que ser remineralizada con cloruro de sodio, bicarbonato de sodio y otras sales inocuas para prevenir la degradación de los sistemas de distribución y hacer el agua apetecible, ya que el agua desionizada presenta un sabor desagradable (Ghosh et al., 2014). Aunque los sistemas de membrana tienen diversos niveles de remoción, todos producen residuos, en algunos casos estos residuos pueden ser más tóxicos que el compuesto original y contienen concentraciones del ion y de otros componentes

disueltos, los cuales aún requieren tratamiento (Coates & Jackson, 2009; Lin et al., 2014).

2.4.1.2. Intercambio Iónico

Estas reacciones pueden llevarse a cabo utilizando resinas tradicionales o carbón activado. La eficiencia de este tratamiento depende principalmente de la matriz de intercambio iónico utilizada y de la concentración de otros iones en el agua (Tripp & Clifford, 2006; Coates & Jackson, 2009). En el tratamiento de aguas, esta tecnología puede producir resinas de sal en presencia de otros aniones, lo cual sería un gran inconveniente (Lin et al., 2014). Por este motivo, para implementar tratamientos de intercambio iónico es necesaria la desmineralización y remineralización del agua dependiendo de su contenido de aniones (Ghosh et al., 2014).

2.4.1.3. Precipitación

Esta técnica separa el contaminante de soluciones acuosas y lo concentra en otras, requiriendo de un gran espacio para clarificar el agua y la implementación de filtros para la fase de acabado del proceso, por lo que genera inconvenientes en términos de costos y post-tratamiento (Ghosh et al., 2014). Igualmente, produce mucha humedad y lodo, que conduce a problemas de disposición de residuos (James, 2008).

2.4.1.4. Reducción Química

La reducción química de contaminante se ha estudiado extensamente, por lo que se conoce un número de metales con capacidad de reducir esta sustancia a cloruro. Sin embargo, ningún reductor físico-químico típico es capaz de llevarlo a concentraciones típicas ambientales en condiciones in situ (Coates & Jackson, 2009).

El hierro es uno de los reductores metálicos más estudiados y se ha reportado que reduce rápidamente el ion a altas temperaturas, presiones y pH ácido (Gu et al., 2003), aunque el uso de hierro cero valente a temperaturas elevadas o ante radiación ultravioleta puede incrementar la velocidad de reacción. Otros metales como el titanio, y metales de transición como vanadio, molibdeno, renio y rutenio son capaces de reducir el contaminante (Gu & Brown, 2006). Sin embargo, la implementación de esta tecnología resulta poco práctica bajo condiciones ambientales, dada la lentitud del proceso de reacción (Cao et al., 2005; Coates & Jackson, 2009; Ghosh et al., 2014).

Actualmente se utiliza ampliamente esta técnica para la descontaminación de ecosistemas afectados por la presencia del contaminante, sin embargo, la aplicación de tales procesos se ve restringida por factores económicos y técnicos (Jansson-Charrier et al., 1995).

2.4.1.5. Reducción Electroquímica

El contaminante puede ser reducido por materiales utilizados para electrodos incluyendo platino, iridio, rodio, rutenio, wolframio, renio y tecnecio (Brown, 1986). La dificultad de utilizar este proceso se debe a su uso histórico como electrolito inerte en corrosión y en estudios electroquímicos. Una vez más, en condiciones ambientales, estas reacciones son bastante lentas, requieren superficies muy grandes, y se verían afectadas por las presencias de otras especies (reactivas o no reactivas) en solución. No tiene aplicación in situ pero puede ser utilizada para residuos concentrados o para la regeneración de salmueras (Coates & Jackson, 2009).

2.4.2. Tratamientos biológicos de contaminante

Esta tecnología implementa sistemas biológicos (bacterias, algas, hongos, levaduras y plantas superiores e inferiores) para remover los contaminantes de la matrices ambientales (Nagase et al., 1994; Bonaventura & Johnson, 1997). Puede ocurrir mediante fitorremediación y biosorción, utilizando plantas y microorganismos respectivamente para la remoción y/o recuperación de contaminantes (Chaney et al., 1997; Xiao, 2012).

En 1995, Plaza y colaboradores estudiaron la reducción del ion por diferentes especies de hongos aislados del suelo (*Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Rhizopus rhizopodiformi*, *Rhizopus oryzae* y *Rhizopus pusillus*), comprobando que la biosorción fue similar para todos los hongos y la acumulación del compuesto aumentó con el incremento de las concentraciones del contaminante. También se ha encontrado que las algas marinas son potenciales biosorbentes (Leusch et al., 1997).

Debido a que el contaminante es cinéticamente estable e inerte a baja concentración, la mayoría de los procesos físico-químicos tradicionales no son aplicables a la eliminación y la descomposición del ion (Logan et al., 2001a). Sumado a ello, presentan altos costos de mantenimiento, operación y requerimientos energéticos muy elevados (James, 2008) y generan gran cantidad de salmueras y resinas con altas concentraciones de contaminante. Frente a este panorama, la biorremediación ofrece la mejor solución (Ghosh et al., 2011), demostrando ser eficaz y económicamente atractiva (Hatzinger, 2005).

2.5. BIOSORCIÓN CON BACTERIAS REDUCTORAS DEL CONTAMINANTE

La biosorción es un método que contribuye al saneamiento ambiental, ya que remueve el contaminante usando microorganismos para retener selectivamente los cationes que se encuentran en la solución (Mattuschka & Straube, 1993; Volesky & May-Phillips, 1995; James, 2008) y degradarlo hasta convertirlo en formas menos

tóxicas o eliminarlo por completo (Lovley & Coates, 1997; Bender et al., 2005; Xiao, 2012).

Esta tecnología incluye procesos de biorremediación in situ y ex situ, así como la biodegradación natural. El proceso de tratamiento ex situ es adecuado para desechos con altas concentraciones del ion, como las aguas procedentes de instalaciones que manipulan municiones. La biorremediación in situ es adecuada para reducir concentraciones del contaminante en zonas poco profundas (menos de 15 m de profundidad) o estrechas (Stroo & Norris, 2009), como aguas subterráneas, y resulta beneficiosa en términos de costos de transporte de materiales y riesgo por accidentes, y no requiere bioaumentación, pues la microflora nativa se estimula mediante la adición de fuentes de carbono baratas y donantes de electrones (Bardiya & Bae, 2011), haciéndola menos costosa que la biorremediación ex situ (Ye et al., 2012).

Las bacterias reductoras del ion son filogenéticamente diversas (Wallace et al., 1996; Coates et al., 1999b; Michaelidou et al., 2000), Se han identificado bacterias reductoras del contaminante de las clases *alphaproteobacteria*, *betaproteobacteria*, *gammaproteobacteria* y *deltaproteobacteria*, donde las *betaproteobacterias* son las más comúnmente detectadas (Wallace et al., 1996; Coates et al., 1999b; Michaelidou et al., 2000; Achenbach et al., 2001; Coates & Achenbach, 2004; Waller et al., 2004). Muchas de estas bacterias son representantes de los géneros *Pseudomonas*, *Magnetospirillum*, *Wolinella*, *Dechloromonas* y *Azospira* (Wallace et al., 1996; Coates et al., 1999b), esta dos últimas se encuentran en distintos ambientes (Coates et al., 1999b), incluyendo muestras de campo, aguas cristalinas (Coates et al., 1999a; Coates et al., 1999b; Logan et al., 2001a; Bender, 2003) e incluso en muestras de suelo y lacustres de la antártica, por lo que estos dos grupos bacterianos son los más dominantes (Coates et al., 1999b; Achenbach et al., 2001; Coates, 2005). En la tabla 1 se muestra las bacterias reportadas en distintas investigaciones, demostrando la variedad de especies reductoras del contaminante existentes.

Tabla 1: Principales clases, géneros y especies de bacterias reductoras del ion

Género y Especies De Bacterias	% De Degradación	Referencia	Observaciones
<i>Oceanicola sp</i>	7 - 11	(Ahn et al., 2009)	Degradación bajo condiciones de alta salinidad (3%)
<i>Nitratireductor sp</i>	7 - 11	(Ahn et al., 2009)	Degradación bajo condiciones de alta salinidad (3%)
<i>Dechlorospirillum sp</i>	70	(Coates et al., 1999b; Bardiya & Bae, 2008; Vigliotta et al., 2010)	Degradación en condiciones aerobias; temperatura 37°C

<i>Dechlorospirillum anomalous</i> strain WD	ND	(Coates et al., 1999b)	Degradación en condiciones aerobias
<i>Azospirillum</i> sp	100	(Waller et al., 2004)	Degradación en condiciones anaeróbicas; temperatura 22°C
<i>Rhodobacter capsulatus</i>	80	(Bruce et al., 1999)	Temperatura 30°C; degradación en condiciones facultativas
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	80	(Bruce et al., 1999)	Temperatura 30°C; degradación en condiciones facultativas
<i>Magnetospirillum magnetotacticum</i>	70	(Xu & Logan, 2003)	Temperatura 37°C; degradación en condiciones aerobias
<i>Rhodocyclus tenuis</i>	60	(Bruce et al., 1999)	Reducción óptima con salinidad del 1%; temperatura de 35°C, pH 7.5
<i>Burkholderia</i> sp	ND	(Ghosh et al., 2011)	Degradación en condiciones aerobias, temperatura 30°C, pH 7
<i>Ideonella Dechloratans</i>	90	(Bruce et al., 1999; Lindqvist et al., 2012)	La enzima clorato reductasa mostró aproximadamente 200 veces mayor reducción en células inducidas anaeróbicamente. Condiciones anaerobias; temperatura 30°C
<i>Serratia Marcescens</i>	100	(Vijaya Nadaraja et al., 2013; Sankar et al., 2014)	Degradación en condiciones extremas de salinidad (más del 15%); pH de 4.0 a 9.0
<i>Dechlorobacter hydrogenophilus</i>	100	(Thrash et al., 2007)	Crecimiento óptimo a 37°C con 0% de salinidad; pH 6.5
<i>Propionivibrio militaris</i>	100	(Gu & Brown, 2006)	Crecimiento óptimo a 30°C con 0% de salinidad; pH 6.8
<i>Dechloromonas</i>	100	(Rikken et al., 1996; Coates et al., 1999b; Michaelidou et al., 2000; Achenbach et al., 2001; Coates & Achenbach, 2004)	Degradación de clorato en condiciones facultativas anaerobias
<i>Dechloromonas</i> sp. HZ	100	(Zhang et al., 2002)	Requiere CO2 como fuente de carbono. Pueden degradar el contaminante en presencia de Hidrógeno
<i>Dechloromonas</i> sp. JDS5	92	(Shrout et al., 2005)	Degradación en presencia de Hidrógeno; Temperatura 30°C; pH 7.0
<i>Dechloromonas agitata</i>	100	(Bruce et al., 1999; Chaudhuri et al., 2002; Nozawa-Inoue et al., 2005; Sun et al., 2009; Vigliotta et al., 2010)	Degradación en condiciones aerobias
<i>Dechloromonas</i> PC1	ND	(Nerenberg et al., 2006)	Puede crecer autótrofamente con Hidrógeno como donador de

			electrones, o heterótrofamente con acetato
<i>Dechlorosoma sp (Azospira)</i>	20	(Rikken et al., 1996; Coates et al., 1999b; Michaelidou et al., 2000; Achenbach et al., 2001; Tan & Reinhold-Hurek, 2003; Coates & Achenbach, 2004; Waller et al., 2004; Guan et al., 2014)	Temperaturas de 20 °C a 37 °C; pH de 6.0 a 8.0; Degradación en condiciones aerobias. Acumulación máxima de clorato de 41 a 279 mg/L. Agitación a 200 rpm
<i>Dechlorosoma sp. HCAP-C</i>	20	(Dudley et al., 2008)	Resulta efectivo para la degradación de altas concentraciones del contaminante
<i>Dechlorosoma sp. strain KJ</i>	100	Zhang et al, 2005	Degradación del contaminante, clorato y nitrato en reactores
<i>Dechlorosoma (Azospira) suillum</i>	30	(Chaudhuri et al., 2002; Sun et al., 2009)	Se encuentran en condiciones ambientales de 30 °C. La respiración microbiana del contaminante se ve afectada significativamente por variación en la temperatura.
<i>Halomonas sp.</i>	7 - 11	(Ahn et al., 2009)	la remoción del ion oscilo entre 0.014 y 0.020 g/m2 por día
<i>Halomonas halodenitrificans</i>	ND	(Logan et al., 2001a; Okeke et al., 2002; Martinez-Espinosa et al., 2007)	Reduce el contaminante en concentraciones de sal por encima de las del mar
<i>Dechloromarinus cepa NSS</i>	ND	(Bardiya & Bae, 2011)	Condiciones ambientales de: 37-42 °C, pH 7.5, y 1.5-2.5 % NaCl
<i>Marinobacter sp.</i>	7 - 11	(Ahn et al., 2009; Stepanov et al., 2014).	Reductora de iontolerante a la sal, 5.6% NaCl soluciones NaCl
<i>Alcanivorax sp.</i>	7 - 11	(Ahn et al., 2009)	aerobia capaz de crecer en salinidades de of 0.46–20.3% NaCl
<i>Vibrio dechloraticans</i>	20	(Wang et al., 2008)	En concentraciones de 1, 5, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 mg/L. Donador de aceptadores
<i>Citrobacter sp.</i>	32	(Rikken et al., 1996; Okeke et al., 2002)	Se encuentra en condiciones ambientales de temperatura 30 °C y pH 7. Reductora del perclorat contaminante, tolerante a la sal, 0-5 soluciones NaCl.
<i>Escherichia coli K-12 cepa NAR gen G</i>	90	(Vigliotta et al., 2010)	Se encuentra en condiciones ambientales de temperatura 37 °C, Degradación en condiciones aerobias

<i>Acinetobacter sp.</i>	ND	(Wang et al., 2008)	Degradación en condiciones facultativas y aerobias.
<i>Alteromonadaceae</i>	ND	(Stepanov et al., 2014)	reduce el ion en presencia de nitrato en los ambientes salinos
<i>Proteus mirabilis</i>	90	(Bruce et al., 1999)	Se encuentra en condiciones ambientales de temperatura 30 °C, Degradación en condiciones facultativas y anaerobias.
<i>Wolinella sp.</i>	99.9	(Hurley et al., 1996; Rikken et al., 1996)	Bacteria anaerobia. Pueden degradar del contaminante en presencia de hidrogeno. Capaz de reducir 3000 mg/L del ion a 0,5 mg/L.
<i>Wolinella succinogenes</i> cepa HAP-1	60	(Wallace et al., 1996)	Temperatura 30 °C, Degradación en condiciones facultativas
<i>Sulfuricurvum sp.</i>	7 - 11	(Ahn et al., 2009; Sahu et al., 2009)	Facultativa y anaerobia. Bacteria sulfuro oxidante descubierta en reactores de lecho fijo
<i>Haloferax mediterranei</i>	ND	(Martínez-Espinosa et al., 2015)	Condiciones anaeróbicas, Temperatura 40 °C, pH de 8. Los aniones del contaminante pueden ser eficientemente removidos.
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	ND	(Liebensteiner et al., 2013; Liebensteiner et al., 2014)	Hipertermofílica, el mecanismo de reducción del ion no involucra la enzima clorito dismutasa, por lo que su reducción no es llevada de clorito a cloruro y oxígeno.
<i>Hyperthermophilic archaea</i>	ND	(Liebensteiner et al., 2013)	Para reducción del contaminante no involucra la enzima clorito dismutasa, por lo que la reducción del contaminante no es llevada de clorito a cloruro y oxígeno.
<i>Clostridium sp.</i>	80	(Nozawa-Inoue et al., 2005; Chung et al., 2009)	Temperatura 37 °C, Se requiere enriquecimiento de Hidrogeno, Degradación en conducciones facultativas.
<i>Bacillus sp.</i>	ND	(Hackenthal et al., 1964; Rainey, 2012; Oren et al., 2014)	Reducción en condiciones aerobias, pueden tolerar altas concentraciones de ion y son capaces de reducirlo a una tasa de 71.04 mg/día por gramo de biomasa

-ND: No determinado

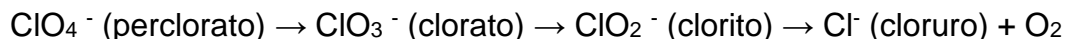
La reducción del contaminante a cloruro es termodinámicamente favorable y puede ser bastante rápida cuando se suministran suficientes donantes de electrones. Diversos estudios de laboratorio han demostrado la efectividad de cepas y cultivos mixtos en cuestión de horas, en algunos casos implementando hidrógeno (Xu &

Logan, 2003; Shroul et al., 2005; Shroul & Parkin, 2006). También se ha demostrado la resistencia al ion por comunidades microbianas, demostraron que se adaptan fácilmente a ambientes con elevados niveles del contaminante (Mergeay, 1995). Por lo anterior, numerosos investigadores han llevado adelante el desarrollo de la biosorción, ya que presentan grandes ventajas con respecto a los demás sistemas de tratamiento, como alta eficiencia a bajas concentraciones del contaminante, pH y temperatura, fácil recuperación de iones en solución, es asequible y barata, y puede utilizarse para purificar suelos y aguas (Arshady, 1991; James, 2008).

2.5.1. Metabolismo Bacteriano en la degradación del Contaminante

Las bacterias reductoras del contaminante son ubicuas, fácilmente obtenibles en el medio ambiente (Coates et al., 1999b), y la mayoría tienen una amplia gama de capacidades metabólicas (Chaudhuri et al., 2002). Pueden llevar a cabo el proceso de degradación en el sitio de contaminación, causando el mínimo disturbio físico alrededor del área tratada, a diferencia de otros métodos (Volesky, 1999).

Por este motivo la caracterización de bacterias degradadoras del contaminante se ha incrementado dramáticamente en los últimos años. Se sabe que utilizan dos enzimas claves (Kengen et al., 1999) que pueden reducir la energía de activación requerida para la reducción de este contaminante, usando para ello el contaminante como un aceptor de electrones para su metabolismo (Coates et al., 2000). La enzima reductasa es la encargada de reducir el contaminante a clorato y de clorato a clorito, mientras que la enzima clorito superóxido transforma el clorito a cloruro y oxígeno molecular (Rikken et al., 1996; Coates et al., 1999b; Stenklo et al., 2001; Hagedoorn et al., 2002; Xu & Logan, 2003; Shroul & Parkin, 2006); por lo que la vía de reducción metabólica ampliamente aceptada por los investigadores es la siguiente (Logan et al., 2001a; Xu & Logan, 2003; Nozawa-Inoue et al., 2005; Nerenberg et al., 2006):



Las bacterias reductoras del contaminante son facultativas anaerobias o microaerofílicas, lo cual es razonable dado que el oxígeno molecular se produce como un intermedio de la reducción microbiana del contaminante (Rikken et al., 1996; Wallace et al., 1996; Bruce et al., 1999; Coates et al., 1999a; Michaelidou et al., 2000). También se han reportado bacterias reductoras del ion que respiran nitrato (Bruce et al., 1999; Coates et al., 1999a; Chaudhuri et al., 2002; Coates & Achenbach, 2006).

2.5.2. Requerimientos Ambientales De Las Bacterias Degradadoras

El proceso de biosorción está regulado por diferentes factores que determinan la máxima capacidad de sorción de iones del contaminante por los sistemas microbianos (Chong & Volesky, 1995). Dentro de estos se encuentran factores ambientales como el pH, temperatura, concentración de sal (Coates & Achenbach,

2006), inhibidores metabólicos o presencia de aceptores de electrones, condiciones nutricionales y tiempo de contacto. También existen factores fisiológicos, como el tipo de microorganismo, edad fisiológica, estado de la biomasa, concentración celular y mutaciones (Bruce et al., 1999; Coates et al., 1999b; Michaelidou et al., 2000; Logan et al., 2001a; Chaudhuri et al., 2002; Wang et al., 2008).

.Hábitat De Bacterias Reductoras

Estudios de caracterización fenotípica han demostrado que las bacterias reductoras del contaminante conocidas exhiben una amplia gama de capacidades metabólicas y pueden prosperar en ambientes adversos que van desde suelos vírgenes hasta sedimentos del drenaje de minas de oro, aguas termales, plantas de tratamiento de aguas residuales municipales, suelos de jardines, instalaciones subterráneas de almacenamiento de gas y en ambientes extremos como la Antártida (Malmqvist et al., 1994; Rikken et al., 1996; Wallace et al., 1996; Bruce et al., 1999; Coates et al., 1999b; Achenbach et al., 2001; Logan et al., 2001b; Zhang et al., 2002; Coleman et al., 2003; Bardiya & Bae, 2004; Bardiya & Bae, 2005; Wolterink et al., 2005; Coates & Achenbach, 2006; Balk et al., 2008; Bardiya & Bae, 2008; Gal et al., 2008; Weelink et al., 2008; Balk et al., 2010; Thrash et al., 2010), hipertermofílicos e hipersalinos. En este último ambiente se han encontrado presencia del contaminante (25 a 2700 mg/kg), el cual se deposita por la escasez de lluvias, y además se han reportado bacterias halófilas con potencial éxito en la degradación del ion, el cual se ve incrementado en bacterias tolerantes a la sal (Cang et al., 2004; Park & Marchand, 2006; Lehman et al., 2008; Van Ginkel et al., 2008; Srinivasan & Viraraghavan, 2009; Ryu et al., 2012).

3. ESTADO DEL ARTE Y ANTECEDENTES

En el ambiente existen muchos contaminantes originados de manera natural o por acción antrópica, que por las repercusiones que causan al medio ambiente es necesario su estudio para poder generar alternativas de solución. Durante las últimas décadas se ha investigado el impacto ecotoxicológico que pueden generar distintas sustancias químicas y compuestos, dentro de estos contaminantes recientemente estudiados, se encuentran las sales del ion, de las que se tiene reporte de contaminación ambiental desde el año 1985 (Calderon et al., 2014). Estas sales del contaminante pueden permanecer en las matrices ambientales por muchos años debido a su alta estabilidad y persistencia, además este contaminante puede generar una grave problemática, dado que, por sus características químicas, puede representar una potencial amenaza para la biota y los ecosistemas (Calderon et al., 2014).

Según búsqueda realizada el 29 de agosto del 2015 en las bases de datos ScienceDirect (www.sciencedirect.com) y SpringerLink (<http://link.springer.com/>), utilizando las palabras claves “Perchlorate reduction bacteria”, se evidenció un aumento de artículos publicados desde el 2005 hasta la actualidad (figura 1, figura 2), esto se debe al interés e importancia de la temática, debido a que las investigaciones en los últimos años han considerado la biorremediación como una tecnología biológica, eficiente, económica y de fácil reproducibilidad para remover y eliminar los contaminantes de las diferentes matrices ambientales (Bonaventura & Johnson, 1997).

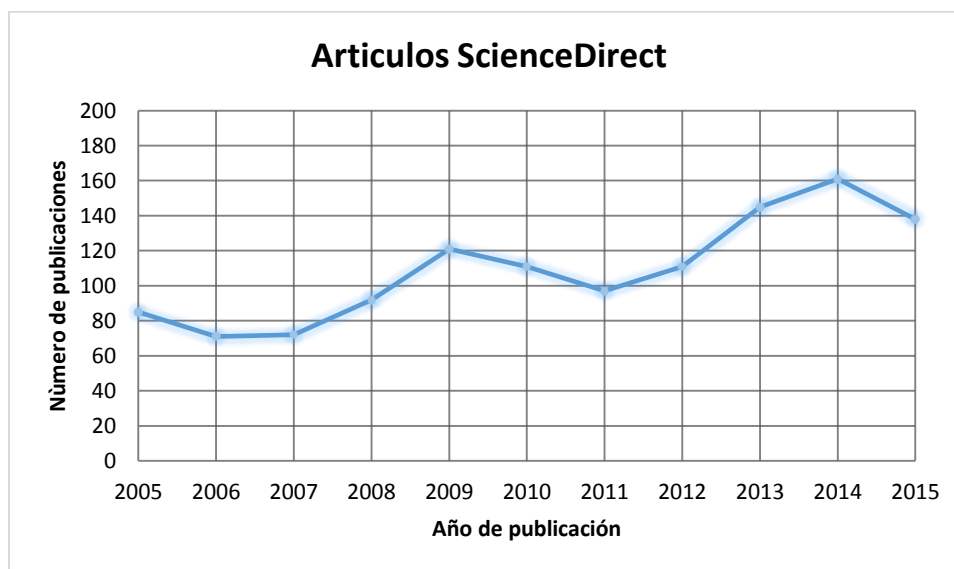


Ilustración 1: Número de artículos sobre bacterias degradadoras del contaminante en el medio ambiente por años según registro de ScienceDirect.

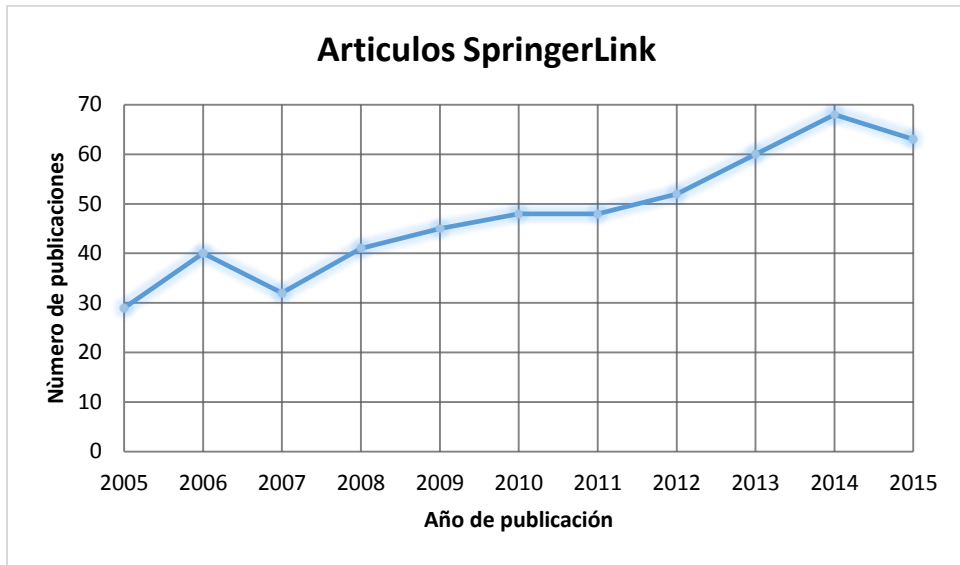


Ilustración 2: Número de artículos sobre bacterias degradadoras del contaminante en el medio ambiente por años según registro de SpringerLink.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

- Caracterizar bacterias nativas a partir de suelos hipersalinos del Caribe colombiano.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar bacterias nativas provenientes de suelos hipersalinos del Caribe colombiano.
- Identificar microscópicamente las bacterias aisladas por tinción de Gram.
- Determinar bioquímicamente las bacterias aisladas mediante el sistema BBL™ Crystal™ Kit ID para bacterias Gram negativas y Gram positivas.

5. METODOLOGÍA

5.1. AISLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y PRESERVACIÓN DE BACTERIAS HALÓFILAS

Las técnicas de aislamiento, purificación y preservación de las cepas bacterianas fueron empleados según la metodología planteada por Castañeda et al. (2009).

5.1.1. Recolección de muestras

Las muestras de suelos se tomaron en las minas de sal de Bolívar ($10^{\circ}36'14''N$ $75^{\circ}17'16''W$), Guajira ($11^{\circ}46'30''N$ $72^{\circ}26'40''W$), y en carretera Ciénega-Barranquilla ($10^{\circ}56'N$ $74^{\circ}27'W$) (Ilustración 5). Las muestras de suelos se colectaron a una profundidad aproximada de 1 a 10 cm usando cuchara metálica de laboratorio. Se registró el pH "in situ" para cada muestra.

Todas las muestras fueron rotuladas, inoculadas y transportadas en tubos Falcón de 50 ml previamente estériles, conservadas en refrigeración a $4^{\circ}C$, y transportadas al Laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Tecnológica de Bolívar para su procesamiento.

5.1.1.1. Distribución geográfica de los sitios de muestreo.

Ilustración 3: Ruta de muestreo.

5.1.1.1.1. Primer muestreo: Bolívar (26 de Noviembre de 2014).

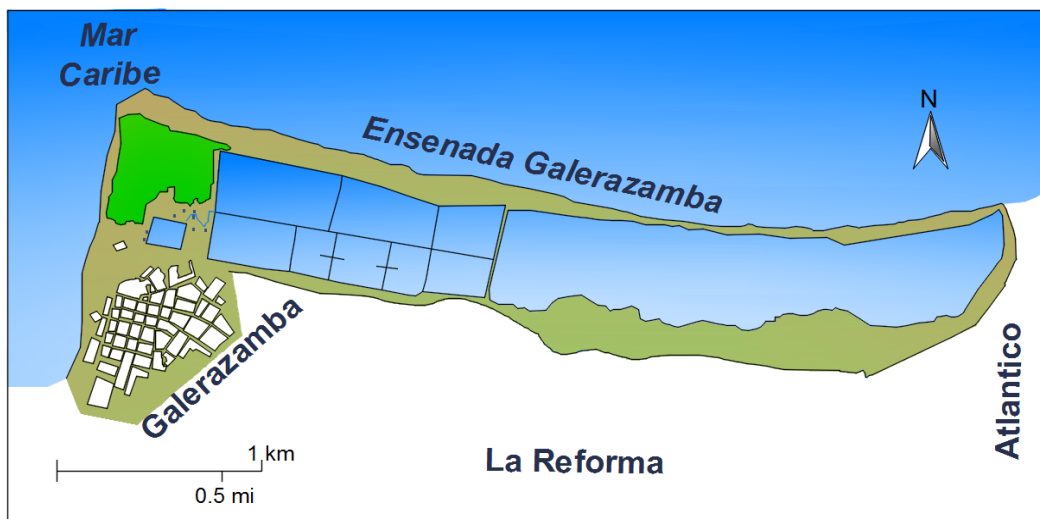


Ilustración 4: Mapa de las salinas de suelos salinos de Bolívar.

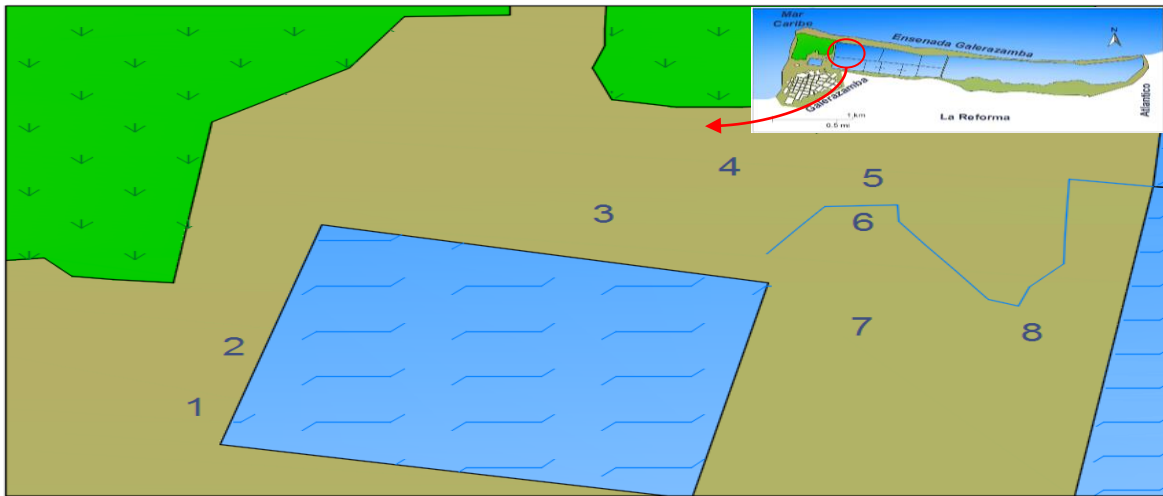


Ilustración 5: Lugar de toma de muestras ().

Tabla 2: Coordenadas de los puntos de muestreo en Bolívar

Muestra	Norte	Oeste
1	10°47'41.3"N	75°15'37.7"W
2	10°47'42.4"N	75°15'37.3"W
3	10°47'44.8"N	75°15'33.2"W
4	10°47'45.7"N	75°15'31.8"W
5	10°47'45.5"N	75°15'30.2"W
6	10°47'44.7"N	75°15'30.3"W
7	10°47'42.8"N	75°15'30.3"W
8	10°47'42.7"N	75°15'28.4"W

5.1.1.1.2. Segundo muestreo: Guajira (15 de Mayo de 2015).

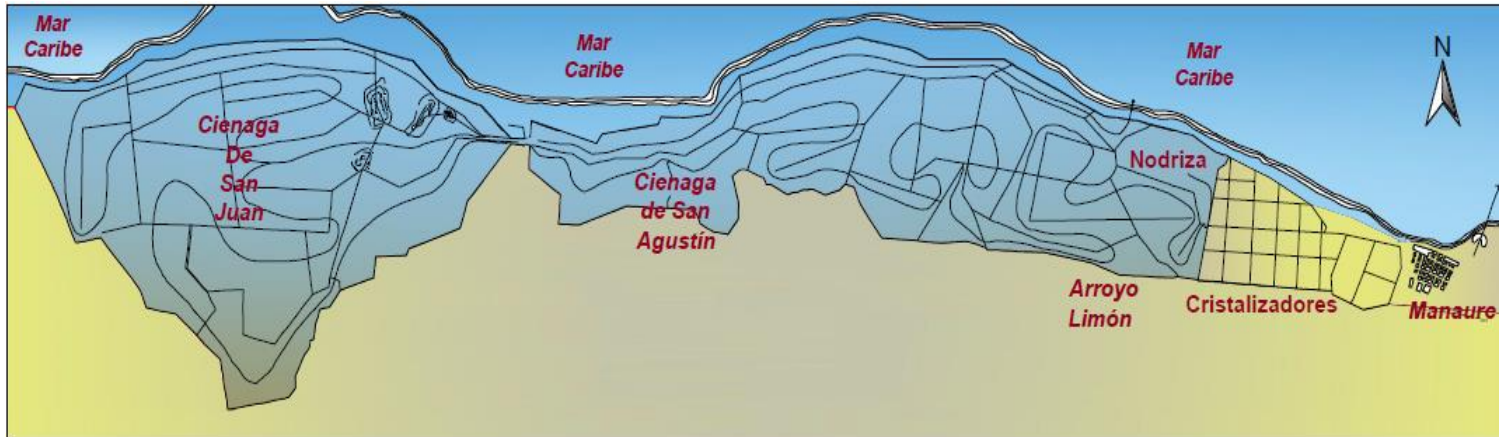


Ilustración 6: Mapa de las salinas de la Guajira



Ilustración 7: Lugar de toma de muestras (Cristalizadora de las salinas de Guajira).

Tabla 3: Coordenadas de los puntos de muestreo en Guajira.

Muestra	Norte	Oeste
1	11°46'10.9524"N	72°28'24.3804"W
5	11°46'20.568"N	72°28'25.7916"W
2	11°46'17.4396"N	72°28'24.6578"W
3	11°46'04.5124"N	72°28'20.7103"W
4	11°46'05.5915"N	72°28'08.3525"W
6	11°46'22.1808"N	72°28'27.0192"W
7	11°46'22.1736"N	72°28'26.7312"W
8	11°46'25.4064"N	72°28'18.4656"W
9	11°46'24.2688"N	72°28'20.928"W
10	11°46'14.1558"N	72°28'09.6572"W
11	11°6'25.3596"N	72°28'18.4908"W
12	11°46'26.3470"N	72°28'03.8296"W
13	11°46'23.8025"N	72°27'52.0477"W
14	11°46'12.3845"N	72°27'47.0806"W

5.1.1.1.3. Tercer muestreo: en carretera Ciénaga-Barranquilla (15 de Mayo de 2015).



Ilustración 8: Puntos de muestreo en carretera Ciénaga-Barranquilla.

Tabla 4: Coordenadas de los puntos de muestreo en la carretera Ciénaga-Barranquilla .

Muestra	Norte	Oeste
1	10°59'19.4"N	74°17'45.5"W
2	10°59'03.3"N	74°18'22.9"W
3	10°58'52.4"N	74°19'11.3"W
4	10°58'42.7"N	74°20'07.4"W
5	10°58'38.0"N	74°20'38.7"W
6	10°58'34.8"N	74°21'01.8"W
7	10°58'29.0"N	74°25'38.0"W
8	11°00'40.0"N	74°36'29.6"W

5.1.2. Aislamiento, purificación y preservación de cepas bacterianas

Un hisopo estéril se roto en el interior a cada muestra de suelo, que luego se suspendió en Caldo Luria Bertani© (LB) su composición para 1 L es: 10 g Triptona, 5 g Extracto de levadura, 10 g NaCl y 1000 mL de agua de mar previamente filtrada en 0.45 µm y esterilizada y posteriormente incubadas a 37°C durante 24 horas en condiciones aerobias (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2005) (Manual de Bergys 2008). Transcurrida 24 horas después de la siembra en Caldo LB se realizó un repique en Agar, Luria Bertani© (LB) modificado con agua de mar su composición para 1 L es: 10 g Triptona, 5 g Extracto de levadura, 10 g NaCl y 1000 mL de agua de mar previamente filtrada en 0.45 µm y esterilizada) y posteriormente se incubaron a 37°C durante 24 horas en condiciones aerobias (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2005) (Manual de Bergys 2008). Transcurrida 24 horas después de la siembra en la medio LB modificada, se verificó el crecimiento bacteriano mediante la observación de colonias. Luego de comprobar el crecimiento bacteriano, se tomó una azada (aprox. 50µL) de cada colonia representativa para realizar la siembra masiva en Agar LB modificado.

5.2. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA, PURIFICACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS BACTERIAS.

5.2.1. Identificación Microscópica

Las colonias bacterianas aisladas en medio LB modificado fueron tomadas y replicadas en tres oportunidades utilizando la técnica por agotamiento, garantizando así el aislamiento de cada una. Después del tercer repique, se realizó la identificación microscópica de las colonias bacterianas representativas mediante la técnica de tinción de Gram para bacterias Gram positivas y Gram negativas, empleando un microscopio Olympus BX41, de acuerdo con las claves taxonómicas sugeridas por el *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2005) (Manual de Bergys (2008) y el Atlas Microbiológico de Koneman y Allen (2008). En cada caso

se registraron las características morfológicas y bioquímicas de cada grupo bacteriano identificado.

5.2.2. Purificación Bacterias Aisladas.

Una colonia de las cepas aisladas fue transferida finalmente en Agar Luria Bertani© (LB) modificado con agua de mar su composición para 1 L es: 10 g Triptona, 5 g Extracto de levadura, 10 g NaCl y 1000 mL de agua de mar previamente filtrada en 0.45 µm y esterilizada e incubadas a 37 °C durante 24 horas para posteriores ensayos.

5.2.3. Preservación.

Una colonia bacteriana se transfirió a 50 mL caldo LB modificado, incubada a 37°C en condiciones aerobias durante 12 horas a 120 rpm ajustándose su densidad celular de 0.8 - 1.0 a un O.D. de 620 nm. Transcurrido este período de incubación, 720 µL de cada suspensión se transfirió a crioviales con 80 µL de glicerol al 10%, los cuales fueron almacenados a -80°C. Así mismo, se implementó como método de conservación a largo plazo la liofilización, manteniéndose cada cepa a -20 °C, en el laboratorio del Grupo de Química Ambiental y Computacional de la Universidad de Cartagena.

5.2.4. Identificación Bioquímica.

El perfil metabólico de las bacterias se determinó empleando el sistema de identificación BBL Crystal™ Kit ID para bacterias Gram negativas y Gram positivas, siguiendo las indicaciones de la casa comercial y Mostafa et al. (2011). Además, se realizaron pruebas de Oxidasa y Catalasa (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2005)(Manual de Bergys, 2008)

5.3. ENSAYOS DE SUSCEPTIBILIDAD

5.3.1. Ensayos de susceptibilidad al NaCl

Una colonia de 24 de incubación fue suspendida en caldo LB a 0.5 en la escala de Mac Farland, luego con un hisopo previamente estéril la suspensión fue inoculado por siembra masiva en caldo LB con diferentes concentraciones de NaCl (35000 ppm, 50000 ppm, 75000 ppm, 150000 ppm, 300000 ppm); posteriormente se identificaron como bacterias resistentes a NaCl, aquellas que presentaron turbidez a las 24 horas de inoculado en el caldo LB con las diferentes concentraciones de NaCl. Luego de esto se sembraron en Agar LB a 37 °C por 24 horas para descripción de colonias y realización de tinción de Gram para confirmar la pureza de la cepa.

6. RESULTADOS

6.1. PRIMER MUESTREO (BOLÍVAR).

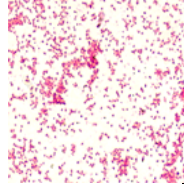
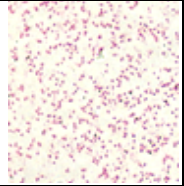
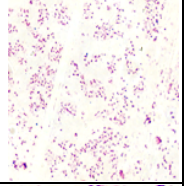
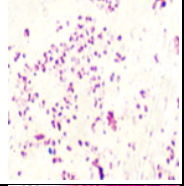
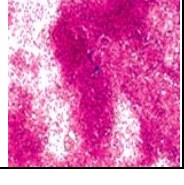
Un total de 2 géneros de bacterias marinas halófilas fueron aisladas de sedimentos de las minas de sal de (Bolívar), de los cuales corresponden a un género de bacterias Gram negativas (*Vibrio sp*) y a 1 un género de bacterias Gram positivas (*Bacillus sp*), representadas en la tablas 5 y 6

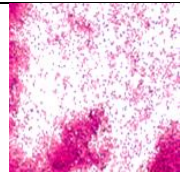
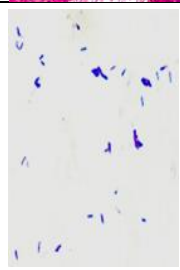

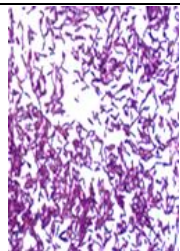
Tabla 5: Aislamiento de bacterias Halófilas en sedimentos salinos de Bolívar. .

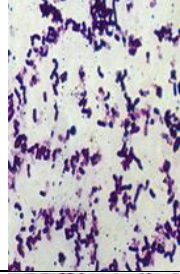
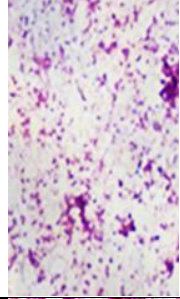
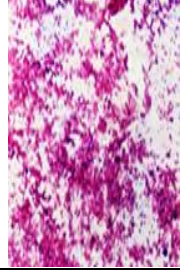
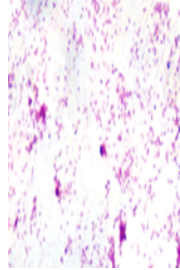
Código	Muestra	Coordenadas Geográficas	Método de Aislamiento	Género [†]
G001	Sedimentos marinos	10°47'41.3"N 75°15'37.7"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
G002	Sedimentos marinos	10°47'42.4"N 75°15'37.3"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
G003	Sedimentos marinos	10°47'42.4"N 75°15'37.3"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
G004	Sedimentos marinos	10°47'44.8"N 75°15'33.2"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
G005	Sedimentos marinos	10°47'45.7"N 75°15'31.8"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
G007	Sedimentos marinos	10°47'45.5"N 75°15'30.2"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
G008	Sedimentos marinos	10°47'45.5"N 75°15'30.2"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
G009	Sedimentos marinos	10°47'44.7"N 75°15'30.3"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
G010	Sedimentos marinos	10°47'44.7"N 75°15'30.3"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
G011	Sedimentos marinos	10°47'42.7"N 75°15'28.4"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
G012	Sedimentos marinos	10°47'42.7"N 75°15'28.4"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
G013	Sedimentos marinos	10°47'42.7"N 75°15'28.4"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>

[†] La identificación de los caracteres morfológicos y taxonómicos basados en el Manual de Beryis (2008) y Atlas Microbiológico de Koneman (2008).

Tabla 6: Caracterización Microscópica y Bioquímica de las bacterias halófilas aisladas de (Bolívar), Caribe colombiano. .

Código cepa	Nombre científico	Evidencia Fotográfica	Descripción Microscópica	Oxidasa	Catalasa	Gram	Hábitat	Observaciones
G001	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	+	-	-	Halófilo	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, 2 y 3 µm de largo, móviles, facultativos, dotados de un único flagelo polar que les permite una elevada movilidad.
G002	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	-	-	Halófilo. Puede crecer en medios ligeramente básicos.	Bacilo pequeño, móvil, no presenta cápsula ni espora.
G003	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	-	-	Halófilo	Bacilo pequeño, móvil, no presenta cápsula ni espora.
G004	<i>Vibrio sp.</i>		Forma: Bacilos curvados	-	+	-	Lago hipersalino	La cepa oxida hidratos de carbono, nucleósidos, aminoácidos y ácidos orgánicos, y enzimas lipolíticas y proteolíticas constitutivas.
G005	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	+	-	Halófilo	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, 2 y 3 µm de largo, móviles, facultativos, dotados de un único flagelo polar.

G006	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	+	-	Halófilo	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, 2 y 3 μm de largo, móviles, facultativos, dotados de un único flagelo polar.
G007	<i>Bacillus sp</i>		Forma: Bacilos. Colonias opacas, suaves y circulares	+	+	+	Suelos salinos	Bacilos grandes, móviles, aerobio, crece entre los 5 y 50 °C, reducen nitrato, hidrolizan caseína y almidón, producen ácido a partir de L-Arabinosa, celobiosa, fructosa, galactosa, D-glucosa, maltosa, D-Manitol, D-manosa, ramnosa, ribosa, sorbitol y sacarosa, trehalosa, salicina y D-xilosa.
G008	<i>Bacillus sp</i>		Forma: Bacilos	+	+	+	Suelos salinos	Bacilos grandes, móviles, aerobios, crecen entre 5 y 50 °C, reducen nitrato, hidrolizan caseína y almidón, producen ácido a partir de L-Arabinosa, celobiosa, fructosa, galactosa, D-glucosa, maltosa, D-Manitol, D-manosa, ramnosa, ribosa, sorbitol y sacarosa, trehalosa, salicina y D-xilosa.
G009	<i>Bacillus sp</i>		Forma: Bacilos, Colonias blanco cremoso	+	+	+	Suelos salinos	Bacilos pequeños (de 0.6 a 0.7 μm), flagelación peritrica, móviles, crecen entre 10 y 47 °C, y pH de 9 a 10, tolerantes a las sal, reductoras de nitrato, hidrolizan la caseína, almidón y la beta galactosidasa. No desaminan fenilalanina ni hidrolizan úrea.

G010	<i>Bacillus sp</i>		Forma: Bacilos, Colonias opacas y suaves	+	-	+	Suelos salinos	Bacilos gruesos, de 0.9 μm , gram variables, aerobios, crecen entre 17 y 37°C y pH de 4,5, hidrolizan urea, betagalactosidasa, caseína, almidón, con citrato +, producen ácido a partir de D-Glucosa, D-Manitol, glicerol, fructosa, galactosa, rabinosa, sacarosa, trehalosa, negativo a esculina, fenilalanina.
G011	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados. Colonias cremosas, opacas, circulares, convexas, lisas	+	+	-	Suelos hipersalinos y salmueras	Bacilos monótricos de 0.5-0.6 μm , no esporulados, gram variables, facultativos móviles, crecimiento entre los 20 y 50°C (óptimo a 37°C) y pH entre 5.5 y 8.5, indol negativo.
G012	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados.	+	+	-	Suelos hipersalinos y salmueras	Bacilos monótricos de 0.5-0.6 μm , no esporulados, gram variables, facultativos móviles, crecimiento entre los 20 y 50°C (óptimo a 37°C) y pH entre 5.5 y 8.5, indol negativo.
G013	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados.	+	+	-	Suelos hipersalinos y salmueras	Bacilos monótricos de 0.5-0.6 μm , no esporulados, gram variables, facultativos móviles, crecimiento entre los 20 y 50°C (óptimo a 37°C) y pH entre 5.5 y 8.5, indol negativo.

6.1.1. Identificación bioquímica de las bacterias aisladas.

El análisis bioquímico fue realizado mediante kit BD Crystal™ para bacterias Gram negativas (Tabla 7) y Gram positivas (Tabla 8).

Tabla 7: Actividad bioquímica de bacterias Gram negativas aisladas en Bolívar. .

CEPA	Oxidasa	Catalasa	Arabinosa	Manosa	Sacarosa	Melibiosa	Ramnosa	Sorbitol	Manitol	Adonitol	Galactosa	Inositol	p-n-p-fosfato	p-n-p a-β-glucósido	p-n-p-β-galactósido	Prolinamitroanilida	p-n-p bis-fosfato	p-n-p-xilósido	p-n-p-a-arabinósido	p-n-p-fosforilcolina	p-n-p-β-glucurónido	p-n-p-N-acetil glucosamidina	γ-L-glutamyl p-nitroanilida	Esculina	p-nitro-DL-fenilalanina	Urea	Glicina	Citrato	Ácido malónico	Cloruro de trifeniltetrazolio	Arginina	Lisina	Fermentación de Lactosa
01	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	
02	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
03	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
04	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
05	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-
011	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
013	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

001. *Vibrio* sp. 002. *Vibrio* sp. 003. *Vibrio* sp. 004. *Vibrio* sp. 005. *Vibrio* sp. 011. *Vibrio* sp. 012. *Vibrio* sp. 013. *Vibrio* sp.

Tabla 8: Actividad bioquímica de bacterias Gram positivas aisladas en Bolívar .

CEPA	Oxidasa	Catalasa	Arabinosa	Manosa	Sacarosa	Melibiosas	Ramnosas	Sorbitol	Manitol	Adonitol	Galactosa	Inositol	p-n-p-fosfato	p-n-p a-β-glucósido	p-n-p-β-galactósido	Prolinamitroanilida	p-n-p bis-fosfato	p-n-p-xilósido	p-n-p-a-arabinósido	p-n-p-fosforilcolina	p-n-p-β-glucurónido	p-n-p-N-acetil glucosamida	γ-L-glutamil p-nitroanilida	Esculina	p-nitro-DL-fenilalanina	Urea	Glicina	Citrato	Ácido malónico	Cloruro de trifeniltetrazolio	Arginina	Lisina	Fermentación de Lactosa
07	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
08	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
09	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
010	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

007. *Bacillus* sp. 008. *Bacillus* sp. 009. *Bacillus* sp 010. *Bacillus* sp.

6.1.2. Pruebas de susceptibilidad al NaCl

Las bacterias aisladas presentaron grado de resistencia frente al NaCl observados en la tabla 9.

Tabla 9: Prueba susceptibilidad a diferentes concentraciones de NaCl de bacterias aisladas de (Bolívar).

Código bacteria	Concentraciones (ppm)					Observaciones
	300000	150000	75000	50000	35000	
001	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal*
002	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
003	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
004	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
005	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
006	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
007	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento masivo
008	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
009	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
010	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento masivo
011	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
012	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal*
013	R/R/R*	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento masivo

- *: formación de biopelículas en la parte superior del medio
- S: sensible (no se observa crecimiento)
- R: resistente (se observa crecimiento)

Tabla 10: Cálculos para experimento de susceptibilidad de bacterias al NaCl.

LB (mL)	LB 600000 ppm (mL)	Volumen final (mL)	Final NaCl (ppm)
0	5	5	300.000
2.5	2.5	5	150.000
1.25	3.75	5	75.000
0.83	4.17	5	50.000
0.58	4.42	5	35.000

3.7g LB+ 60 g NaCl para 100 mL de Agua destilada.
 14.8 g LB+ 240 g NaCl para 400 mL de Agua destilada.
 10uL de Inoculo

En las concentraciones de 300000 ppm se observó la formación de biopelículas en los 4 géneros bacterianos aislados a partir de sedimentos marinos de (Bolívar), donde se observó crecimiento en concentraciones de NaCl (Ilustración 11).



Ilustración 9: Presencia de biopelículas en los cultivos de Géneros bacterianos resistentes a NaCl aislados de sedimentos marinos de (Bolívar).

- *: formación de biopelículas en la parte superior del medio
- R : resistente (se observa crecimiento)
- S: sensible (no se observa crecimiento)

6.2. SEGUNDO MUESTREO: MINAS DE SAL DE LA GUAJIRA.


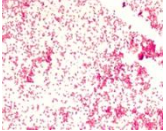
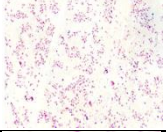
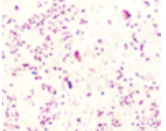
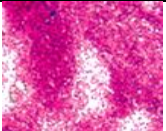
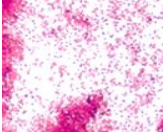
Un total de 2 géneros de bacterias marinas halófilas fueron aisladas de sedimentos de las minas de sal de (Guajira), de los cuales uno corresponde al género de bacterias Gram negativas (*Vibrio sp*) y uno al género de bacterias Gram positivas (*Bacillus sp*), representadas en la tabla 13 y 14.

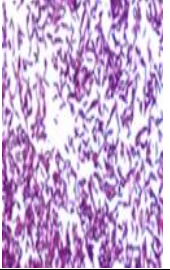
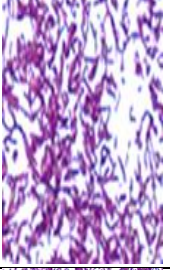
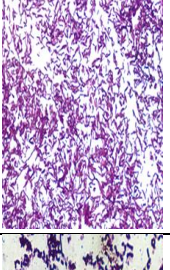
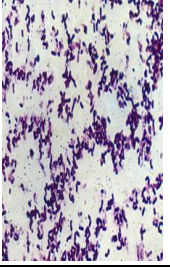
Tabla 11: Aislamiento de bacterias Halófilas en sedimentos salinos de Guajira .

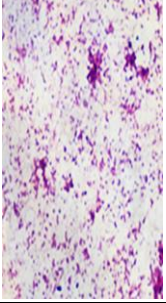
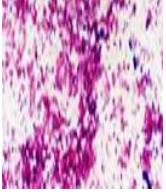

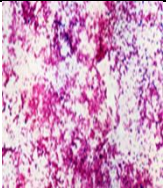
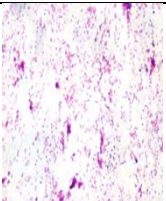
Código	Muestra	Coordenadas Geográficas	Método de Aislamiento	Género†
M001	Sedimentos marinos	11°46'10.9524"N 72°28'24.3804"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M002	Sedimentos marinos	11°46'20.568"N 72°28'25.7916"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M003	Sedimentos marinos	11°46'17.4396"N 72°28'24.6578"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M004	Sedimentos marinos	11°46'04.5124"N 72°28'20.7103"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M005	Sedimentos marinos	11°46'05.5915"N 72°28'08.3525"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M006	Sedimentos marinos	11°46'05.5915"N 72°28'08.3525"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M007	Sedimentos marinos	11°46'22.1808"N 72°28'27.0192"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
M008	Sedimentos marinos	11°46'22.1736"N 72°28'26.7312"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
M009	Sedimentos marinos	11°46'24.2688"N 72°28'20.928"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
M010	Sedimentos marinos	11°46'14.1558"N 72°28'09.6572"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
M011	Sedimentos marinos	11°6'25.3596"N 72°28'18.4908"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M012	Sedimentos marinos	11°46'26.3470"N 72°28'03.8296"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M013	Sedimentos marinos	11°46'23.8025"N 72°27'52.0477"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M014	Sedimentos marinos	11°46'12.3845"N 72°27'47.0806"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
M015	Sedimentos marinos	11°46'12.3845"N 72°27'47.0806"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>

† Basado en el Manual de Beryis (2008) y Atlas Microbiológico de Koneman (2008).

Tabla 12: Caracterización Microscópica y Bioquímica de las bacterias halófilas aisladas de (Guajira), Caribe colombiano. .

Código cepa	Nombre científico	Evidencia Fotográfica	Descripción Microscópica	Oxidasa	Catalasa	Gram	Hábitat	Observaciones
M001	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	+	-	-	Suelos hipersalinos	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, 2 y 3 µm de largo, facultativos, móviles, dotados de un único flagelo polar que les permite una elevada movilidad.
M002	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	-	-	Suelos hipersalinos	Bacilos móviles, no presenta cápsula ni espora.
M003	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	-	-	Suelos hipersalinos	Bacilos móviles, no presenta cápsula ni espora.
M004	<i>Vibrio sp.</i>		Forma: Bacilos curvados	-	+	-	Suelos hipersalinos	La cepa oxida hidratos de carbono, nucleósidos, aminoácidos y ácidos orgánicos, y enzimas lipolíticas y proteolíticas constitutivas.
M005	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	+	-	Suelos hipersalinos	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, 2 y 3 µm de largo, facultativos, móviles, dotados de un único flagelo polar.
M006	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	+	-	Suelos hipersalinos	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, 2 y 3 µm de largo, móviles, facultativos, dotados de un único flagelo polar.

M007	<i>Bacillus</i> <i>sp</i>		Forma: Bacilos Colonias opacas suaves y circulares	+	+	+	Suelos hipersalinos	Bacilos grandes, móviles, aerobios, crece entre los 5 y 50 °C, reductoras de nitrato, hidrolizan caseína y almidón, producen ácido a partir de L-Arabinosa, celobiosa, fructosa, galactosa, D-glucosa, maltosa, D-Manitol, D-manosa, ramnosa, ribosa, sorbitol y sacarosa, trehalosa, salicina y D-xilosa
M008	<i>Bacillus</i> <i>sp</i>		Forma: Bacilos	+	+	+	Suelos hipersalinos	Bacilos grandes, móviles, aerobios, crece entre los 5 y 50 °C, reductoras de nitrato, hidrolizan caseína y almidón, producen ácido a partir de L-Arabinosa, celobiosa, fructosa, galactosa, D-glucosa, maltosa, D-Manitol, D-manosa, ramnosa, ribosa, sorbitol y sacarosa, trehalosa, salicina y D-xilosa
M009	<i>Bacillus</i> <i>sp</i>		Forma: Bacilos Colonias color blanco cremoso	+	+	+	Suelos salinos	Bacilos pequeños (de 0.6 a 0.7µm), flagelación peritrica, móviles, crecen entre 10 y 47 °C, y pH de 9 a 10, tolerantes a las sal, reductoras de nitrato, hidrolizan la caseína, almidón y la beta galactosidasa. No desaminan fenilalanina ni hidrolizan urea.
M010	<i>Bacillus</i> <i>sp</i>		Forma: Bacilos Colonias opacas y suaves	+	-	+	Suelos salinos	Bacilos gruesos, de 0.9 µm, gram variables, aerobios, crecen entre 17 y 37°C y pH de 4,5, hidrolizan urea, betagalactosidasa, caseína, almidon, con citrato +, producen ácido a partir de D-Glucosa, D-Manitol, glicerol, fructosa, galactosa, rambonosa, sacarosa, trehalosa, negativo a esculina, fenilalanina.

M011	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados. Colonias cremosas, opacas, circulares, convexas, lisas	+	+	-	Suelos hipersalinos y salmueras	Bacilos monótricos de 0.5-0.6 μm , no esporulados, gram variables, facultativos móviles, crecimiento entre los 20 y 50°C (optimo a 37°C) y pH entre 5.5 y 8.5, indol negativo.
M012	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados.	+	+	-	Suelos hipersalinos y salmueras	Bacilos monótricos de 0.5-0.6 μm , no esporulados, gram variables, facultativos móviles, crecimiento entre los 20 y 50°C (optimo a 37°C) y pH entre 5.5 y 8.5, indol negativo.
M013	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados.	+	+	-	Suelos hipersalinos y salmueras	Bacilos monótricos de 0.5-0.6 μm , no esporulados, gram variables, facultativos móviles, crecimiento entre los 20 y 50°C (optimo a 37°C) y pH entre 5.5 y 8.5, indol negativo.
M014	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados.	+	+	-	Suelos hipersalinos y salmueras	Bacilos monótricos de 0.5-0.6 μm , no esporulados, gram variables, facultativos móviles, crecimiento entre los 20 y 50°C (optimo a 37°C) y pH entre 5.5 y 8.5, indol negativo.
M015	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados.	+	+	-	Suelos hipersalinos y salmueras	Bacilos monótricos de 0.5-0.6 μm , no esporulados, gram variables, facultativos móviles, crecimiento entre los 20 y 50°C (optimo a 37°C) y pH entre 5.5 y 8.5, indol negativo.

6.2.1. Identificación bioquímica de las bacterias aisladas.

El análisis bioquímico fue realizado mediante kit BD Crystal™ para bacterias Gram negativas (tabla 15) y Gram positivas (tabla 16).

Tabla 13: Actividad bioquímica de bacterias Gram negativas aisladas en la Guajira .

CEPA	Oxidasa	Catalasa	Arabinosa	Manosa	Sacarosa	Meibiosa	Ramnosa	Sorbitol	Manitol	Adonitol	Galactosa	Inositol	p-n-p-fosfato	p-n-p a-β-glucósido	p-n-p-β-galactósido	Prolinamitroanilida	p-n-p bis-fosfato	p-n-p-xilósido	p-n-p-a-arabinósido	p-n-p-fosforilcolina	p-n-p-β-glucurónico	p-n-p-N-acetil glucosamídina	γ-L-glutamil p-nitroanilida	Esculina	p-nitro-DL-fenilalanina	Urea	Glicina	Citrato	Ácido malónico	Cloruro de trifinitetrazolio	Arginina	Lisina	Fermentación de Lactosa
01	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
02	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
03	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
04	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
05	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-
06	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-
011	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
012	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
013	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
014	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
015	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

001. Vibrio sp. 002. Vibrio sp. 003. Vibrio sp. 004. Vibrio sp..005. Vibrio sp. 006. Vibrio sp 011. Vibrio sp .012. Vibrio sp 013. Vibrio sp 014. Vibrio sp 015. Vibrio sp.

Tabla 14: Actividad bioquímica de bacterias Gram positivas aisladas en la Guajira.

CEPA	Oxidasa	Catalasa	Arabinosa	Manosa	Sacarosa	Melibiosa	Ramnosa	Sorbitol	Manitol	Adonitol	Galactosa	Inositol	p-n-p-fosfato	p-n-p a- β -glucósido	p-n-p- β -galactósido	Prolinamitroanilida	p-n-p bis-fosfato	p-n-p-xilósido	p-n-p-a-arabinósido	p-n-p-fosforilcolina	p-n-p- β -glucurónido	p-n-p-N-acetil	γ -L-glutamil p-nitroanilida	Esculina	p-nitro-DL-fenilalanina	Urea	Glicina	Citrato	Ácido malónico	Cloruro de trifeniltetrazolio	Arginina	Lisina	Fermentación de Lactosa
07	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
08	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
09	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

007. *Bacillus* sp. 008. *Bacillus* sp. 009. *Bacillus* sp 010. *Bacillus* sp.

6.2.2. Pruebas de susceptibilidad al NaCl

Las bacterias aisladas presentaron grado de resistencia frente al NaCl observados en la tabla 17.

Tabla 15: Prueba susceptibilidad a diferentes concentraciones de NaCl de bacterias aisladas de la Guajira.

Código bacteria	Concentración (ppm)					Observaciones
	300000	150000	75000	50000	35000	
001	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal*
002	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
003	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
004	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
005	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
006	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
007	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento masivo
008	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
009	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
010	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento masivo
011	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
012	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal*
013	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento masivo
014	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento masivo
015	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento masivo

- *: formación de biopelículas en la parte superior del medio
- S: sensible (no se observa crecimiento)
- R: resistente (se observa crecimiento)

6.3. TERCER MUESTREO: VÍA PARQUE ISLA DE LA CARRETERA CIENAGA-BARRANQUILLA

Un total de 3 géneros de bacterias marinas halófilas fueron aisladas en suelos salinos de la Carretera Ciénaga-Barranquilla, De Los Cuales Corresponden A Dos

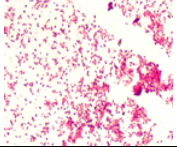

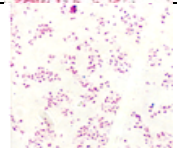
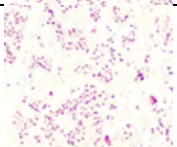
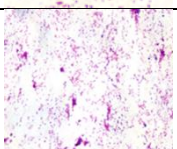
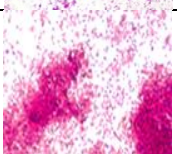
Géneros De Bacterias Gram Negativas (*Vibrio sp*, *Eschericha coli*) y a 1 un género de bacterias Gram positivas (*Bacillus sp*), representadas en la tabla 20 y 21.

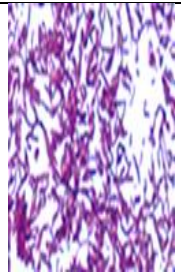
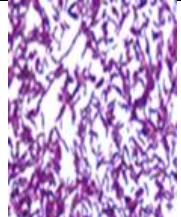
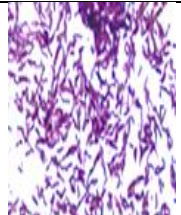
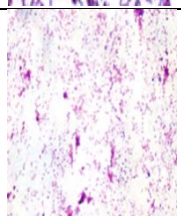
Tabla 16: Aislamiento de bacterias Halófilas en suelos salinos de la Carretera Ciénaga-Barranquilla. .

Código	Muestra	Coordenadas Geográficas	Método de Aislamiento	Género [†]
S001	Sedimentos marinos	10°59'19.4"N 74°17'45.5"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
S002	Sedimentos marinos	10°59'03.3"N 74°18'22.9"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
S003	Sedimentos marinos	10°58'52.4"N 74°19'11.3"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
S004	Sedimentos marinos	10°58'42.7"N 74°20'07.4"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
S005	Sedimentos marinos	10°59'19.4"N 74°17'45.5"W	LB-caldo agua de mar	<i>Eschericha coli</i>
S006	Sedimentos marinos	10°58'34.8"N 74°21'01.8"W	LB-caldo agua de mar	<i>Vibrio sp</i>
S007	Sedimentos marinos	10°58'29.0"N 74°25'38.0"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
S008	Sedimentos marinos	11°00'40.0"N 74°36'29.6"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
S009	Sedimentos marinos	10°47'44.7"N 75°15'30.3"W	LB-caldo agua de mar	<i>Bacillus sp</i>
S010	Sedimentos marinos	10°59'19.4"N 74°17'45.5"W	LB-caldo agua de mar	<i>Eschericha coli</i>

† Basado en el Manual de Beryis (2008) y Atlas Microbiológico de Koneman (2008)

Tabla 17: Caracterización Microscópica y Bioquímica de las bacterias halófilas aisladas de de la Carretera Ciénaga-Barranquilla, Caribe colombiano.

Código cepa	Nombre científico	Evidencia Fotográfica	Descripción Microscópica	Oxidasa	Catalasa	Gram	Hábitat	Observaciones
S001	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	+	-	-	Halófilo	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, 2 y 3 µm de largo, móviles, facultativos, dotados de un único flagelo polar que les permite una elevada movilidad.
S002	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	-	-	Halófilo. Puede crecer en medios ligeramente básicos.	Bacilo pequeño, móvil, no presenta cápsula ni espora.
S003	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	-	-	Halófilo	Bacilo pequeño, móvil, no presenta cápsula ni espora.
S004	<i>Vibrio sp.</i>		Forma: Bacilos curvados	-	+	-	Halófilo	La cepa oxida hidratos de carbono, nucleósidos, aminoácidos y ácidos orgánicos, y enzimas lipolíticas y proteolíticas constitutivas.
S005	<i>Escherichia coli</i>		Forma: Bacilos curvados	-	+	-	Hábitat contaminados con materia fecal	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, facultativos
S006	<i>Vibrio sp</i>		Forma: Bacilos curvados	-	+	-	Halófilos	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, 2 y 3 µm de largo, móviles, facultativos, dotados de un único flagelo polar.

S007	<i>Bacillus sp</i>		Forma: Bacilos. Colonias opacas, suaves y circulares	+	+	+	Suelos salinos	Bacilos grandes, móviles, aerobio, crece entre los 5 y 50 °C, reducen nitrato, hidrolizan caseína y almidón, producen ácido a partir de L-Arabinosa, celobiosa, fructosa, galactosa, D-glucosa, maltosa, D-Manitol, D-manosa, ramnosa, ribosa, sorbitol y sacarosa, trehalosa, salicina y D-xilosa.
S008	<i>Bacillus sp</i>		Forma: Bacilos, Colonias blanco cremoso	+	+	+	Suelos salinos	Bacilos pequeños (de 0.6 a 0.7µm), flagelación peritrica, móviles, crecen entre 10 y 47 °C, y pH de 9 a 10, tolerantes a las sal, reductoras de nitrato, hidrolizan la caseína, almidón y la beta galactosidasa.No desaminan fenilalanina ni hidrolizan úrea.
S009	<i>Bacillus sp</i>		Forma: Bacilos, Colonias blanco cremoso	+	+	+	Suelos salinos	Bacilos pequeños (de 0.6 a 0.7µm), flagelación peritrica, móviles, crecen entre 10 y 47 °C, y pH de 9 a 10, tolerantes a las sal, reductoras de nitrato, hidrolizan la caseína, almidón y la beta galactosidasa.No desaminan fenilalanina ni hidrolizan úrea.
S010	<i>Escherichia coli</i>		Forma: Bacilos curvados.	+	+	-	Hábitat contaminados con materia fecal	Bacilos rectos o curvos, no esporulados, facultativos

6.3.1. Identificación bioquímica de las bacterias aisladas.

El análisis bioquímico fue realizado mediante kit BD Crystal™ para bacterias Gram negativas (Tabla 22) y Gram positivas (Tabla 23).

Tabla 18: Actividad bioquímica de bacterias Gram negativas aisladas en Vía Isla de Parque de de la Carretera Ciénaga-Barranquilla

CEPA	Oxidasa	Catalasa	Arabinosa	Manosa	Sacarosa	Melibiosa	Ramnosa	Sorbitol	Manitol	Adonitol	Galactosa	Inositol	p-n-p-fosfato	p-n-p a-β-glucósido	p-n-p-β-galactósido	Prolinanitroanilida	p-n-p bis-fosfato	p-n-p-xilósido	p-n-p-a-arabinósido	p-n-p-fosforilcolina	p-n-p-β-glucurónido	p-n-p-N-acetil glucosamidina	γ-L-glutamyl p-nitroanilida	Esculina	p-nitro-DL-fenilalanina	Urea	Glicina	Citrato	Ácido malónico	Cloruro de trifeniltetrazolio	Arginina	Lisina	Fermentación de Lactosa	
01	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	
02	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
03	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
04	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
05	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
06	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
010	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-

001. *Vibrio sp.* 002. *Vibrio sp.* 003. *Vibrio sp.* 004. *Vibrio sp.* 005. *Escherichia coli.* 006. *Vibrio* . 010. *Escherichia coli*

Tabla 19: Actividad bioquímica de bacterias Gram positivas aisladas en Vía Parque de de la Carretera Ciénaga-Barranquilla

CEPA	Oxidasa	Catalasa	Arabinosa	Manosa	Sacarosa	Melibiosa	Ramnosa	Sorbitol	Manitol	Adonitol	Galactosa	Inositol	p-n-p-fosfato	p-n-p a-β-glucósido	p-n-p-β-galactósido	Prolinanitroanilida	p-n-p bis-fosfato	p-n-p-xilósido	p-n-p-a-arabinósido	p-n-p-fosforilcolina	p-n-p-β-glucurónido	p-n-p-N-acetil glucosamidina	γ-L-glutamil p-nitroanilida	Esculina	p-nitro-DL-fenilalanina	Urea	Glicina	Citrato	Ácido malónico	Cloruro de trifeniltetrazolio	Arginina	Lisina	Fermentación de Lactosa
07	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	
08	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
09	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

007. *Bacillus* sp. 008. *Bacillus* sp. 009. *Bacillus* sp

6.3.2. Pruebas de susceptibilidad al NaCl

Las bacterias aisladas presentaron grado de resistencia frente al NaCl observados en la tabla 24.

Tabla 20: Prueba susceptibilidad a diferentes concentraciones de NaCl de bacterias aisladas de de la Carretera Ciénaga-Barranquilla

Código bacteria	Concentración (ppm)					Observaciones
	300000	150000	75000	50000	35000	
001	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
002	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
003	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
004	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
005	S/S/S	S/S/S	S/S/S	S/S/S	S/S/S	No se observa crecimiento
006	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
007	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento masivo
008	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
009	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	R/R/R	Crecimiento normal
010	S/S/S	S/S/S	S/S/S	S/S/S	S/S/S	No se observa crecimiento

- S: sensible (no se observa crecimiento)
- R : resistente (se observa crecimiento)

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con las pruebas microscópicas y bioquímicas se lograron caracterizar tres géneros de bacterias *Vibrio sp.*, *Bacillus sp.*, y *Escherichia coli*, las cuales ya han sido previamente reportadas por la literatura como bacterias reductoras de contaminante. Korenkov et al. (1976) demostró que la especie de *Vibrio dechloraticans* Cuznesove B-1168 era capaz de reducir 300 mg/L de esta sustancia a cloruro, a una tasa de 1677 mg/día por gramo de biomasa bajo condiciones anaerobias; mientras que Hackenthal et al. (1964) reportó la reducción de contaminante por parte de las cepas de *Bacillus cereus*, primera especie registrada en preferir al ion como aceptor de electrones por encima del nitrato. Además, las bacterias pertenecientes a este género pueden tolerar altas concentraciones de contaminante (Rainey, 2012; Oren et al., 2014) y son capaces de reducirlo a una tasa de 71.04 mg/día por gramo de biomasa (Hackenthal et al., 1964).

De igual modo, se ha reportado que la *E. coli* es capaz de reducir concentraciones del contaminante (De Groot & Stouthamer, 1969; Roldan et al., 1994) a una tasa de 83.04 mg/día por gramo de biomasa (Hackenthal et al., 1964; Smith, 1995). A pesar de esto, las cepas mueren luego de producir clorito al final del proceso metabólico (Coates, 2005), por lo que resulta una alternativa poco eficiente para sistemas de tratamiento biológico. Lo anterior explica la poca tolerancia de estas bacterias ante la exposición a distintas concentraciones del ion realizada en el presente estudio.

Por otro lado, los resultados de las pruebas de susceptibilidad confirmaron que la mayoría de bacterias aisladas son halófilas, pues sobrevivieron a concentraciones de NaCl mayores a las del agua de mar (35000 ppm NaCl). Esto resulta favorable para las bacterias *Vibrio sp* y *Bacillus sp* caracterizadas, dado que la salinidad es un factor determinante para estas, pues la primera necesita iones de sodio para mantener la integridad de su pared celular y membrana (Hidalgo et al., 2012), mientras que para la última, varias de sus especies crecen a grandes concentraciones de sal (70000 ppm- 75000 ppm NaCl, en algunos casos hasta 10000 ppm) (Granum et al., 2014), por lo que no resulta inusual la presencia de estas bacterias en ambientes hipersalinos. Sin embargo, las cepas de *E. coli* aisladas de la Carretera Ciénaga-Barranquilla resultaron susceptibles a las condiciones de alta salinidad, por lo que su presencia es atribuida a las actividades antrópicas de la zona.

Además, en los sitios de muestreo se reportaron indicadores de la alta salinidad y aridez, tales como presencia de *Batis marítima* suelos salinos de Bolívar, Guajira y de la Carretera Ciénaga-Barranquilla) y suelos quebradizos y erosionados. Además, cabe destacar que de las tres zonas de muestreo suelos salinos de la Guajira presenta las condiciones ambientales más extremas. Este factor predispone a que las bacterias aisladas en este lugar tengan mayor resistencia a la hipersalinidad, lo

que hace que estas cepas sean más halófilas que aquellas obtenidas en Bolívar y de la Carretera Ciénaga-Barranquilla.

8. CONCLUSIONES

Los géneros bacterianos *Vibrio sp.*, y *Bacillus sp.*, aislados a partir de ambientes hipersalinos del Caribe colombiano (Bolívar; Guajira; de la Carretera Ciénaga-Barranquilla) son halófilos, ya que soportan condiciones de alta salinidad (hasta 35000 ppm). Sumado a ello se comprobó que estos géneros (*Vibrio sp.* y *Bacillus sp.*) Pueden sobrevivir a grandes concentraciones de este contaminante. Sin embargo la especie *Escherichia coli* caracterizada no es halófila.

9. RECOMENDACIONES

Se aconseja realizar más estudios que tengan como objetivo la identificación de nuevos géneros y especies bacterianas en ambientes hipersalinos del caribe, no solo colombiano sino de demás zonas del continente, que presenten las condiciones ambientales que posibiliten su crecimiento. De igual forma, resulta necesario comprobar la eficiencia degradadora de estas bacterias mediante modelos biológicos y analizar los mecanismos metabólicos que las hacen resistentes a este contaminante y les permita degradarlo. Posteriormente, se deben implementar las bacterias que presenten tasas degradadoras óptimas en tratamientos de biorremediación alternativos que permitan mejorar la calidad de las matrices ambientales.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Achenbach, L. A., Michaelidou, U., Bruce, R. A., Fryman, J., & Coates, J. D. (2001). Dechloromonas agitata gen. nov., sp. nov. and Dechlorosoma suillum gen. nov., sp. nov., two novel environmentally dominant (per) chlorate-reducing bacteria and their phylogenetic position. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(2), 527-533.
- Ahn, C. H., Oh, H., Ki, D., Van Ginkel, S. W., Rittmann, B. E., & Park, J. (2009). Bacterial biofilm-community selection during autohydrogenotrophic reduction of nitrate and perchlorate in ion-exchange brine. *Appl Microbiol Biotechnol*, 81(6), 1169-1177. doi: 10.1007/s00253-008-1797-3
- Arshady, R. (1991). The synthesis of polymer supports. *Advanced Materials*, 3(4), 182-190.
- Asami, M., Kosaka, K., & Yoshida, N. (2009). Occurrence of chlorate and perchlorate in bottled beverages in Japan. *Journal of health science*, 55(4), 549-553.
- ATSDR, A. f. T. S. a. D. R. (2008). *Toxicological Profile for Perchlorates*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry Recuperado de www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp162.pdf.
- Attanasio, R., Scinicariello, F., Blount, B. C., Valentin-Blasini, L., Rogers, K. A., Nguyen, D. C., & Murray, H. E. (2011). Pendrin mediates uptake of perchlorate in a mammalian in vitro system. *Chemosphere*, 84(10), 1484-1488.
- Balk, M., Mehboob, F., van Gelder, A. H., Rijpstra, W. I. C., Damsté, J. S. S., & Stams, A. J. (2010). (Per) chlorate reduction by an acetogenic bacterium, *Sporomusa* sp., isolated from an underground gas storage. *Applied microbiology and biotechnology*, 88(2), 595-603.
- Balk, M., van Gelder, T., Weelink, S. A., & Stams, A. J. (2008). (Per) chlorate reduction by the thermophilic bacterium *Moorella perchloratireducens* sp. nov., isolated from underground gas storage. *Applied and environmental microbiology*, 74(2), 403-409.
- Bardiya, N., & Bae, J.-H. (2008). Isolation and characterization of Dechlorospirillum anomalous strain JB116 from a sewage treatment plant. *Microbiological research*, 163(2), 182-191.
- Bardiya, N., & Bae, J. (2004). Role of *Citrobacter amalonaticus* and *Citrobacter farmeri* in dissimilatory perchlorate reduction. *Journal of Basic Microbiology*, 44(2), 88-97.
- Bardiya, N., & Bae, J. H. (2005). Bioremediation potential of a perchlorate-enriched sewage sludge consortium. *Chemosphere*, 58(1), 83-90. doi: 10.1016/j.chemosphere.2004.09.001
- Bardiya, N., & Bae, J. H. (2011). Dissimilatory perchlorate reduction: a review. *Microbiol Res*, 166(4), 237-254. doi: 10.1016/j.micres.2010.11.005

- Bender, K. S. (2003). *The genetics of (per)chlorate reduction*. (PhD. Thesis Southern), Illinois University.
- Bender, K. S., Shang, C., Chakraborty, R., Belchik, S. M., Coates, J. D., & Achenbach, L. A. (2005). Identification, characterization, and classification of genes encoding perchlorate reductase. *Journal of bacteriology*, 187(15), 5090-5096.
- *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. (2005). (G. Garrity Ed. Vol. Volume 2 : The Proteobacteria): Springer US.
- Bernhardt, R. R., & von Hippel, F. A. (2008). Chronic perchlorate exposure impairs stickleback reproductive behaviour and swimming performance. *Behaviour*, 145(4), 527-559.
- Bernhardt, R. R., von Hippel, F. A., & Cresko, W. A. (2006). Perchlorate induces hermaphroditism in threespine sticklebacks. *Environmental toxicology and chemistry*, 25(8), 2087-2096.
- Bernhardt, R. R., Von Hippel, F. A., & O'Hara, T. M. (2011). Chronic perchlorate exposure causes morphological abnormalities in developing stickleback. *Environmental toxicology and chemistry*, 30(6), 1468-1478.
- Blount, B. C., Alwis, K. U., Jain, R. B., Solomon, B. L., Morrow, J. C., & Jackson, W. A. (2010). Perchlorate, nitrate, and iodide intake through tap water. *Environmental science & technology*, 44(24), 9564-9570.
- Blount, B. C., Pirkle, J. L., Osterloh, J. D., Valentin-Blasini, L., & Caldwell, K. L. (2006). Urinary perchlorate and thyroid hormone levels in adolescent and adult men and women living in the United States. *Environmental health perspectives*, 114(10), 1865-1871.
- Blount, B. C., & Valentin-Blasini, L. (2006). Analysis of perchlorate, thiocyanate, nitrate and iodide in human amniotic fluid using ion chromatography and electrospray tandem mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 567(1), 87-93.
- Blount, B. C., Valentin-Blasini, L., Osterloh, J. D., Mauldin, J. P., & Pirkle, J. L. (2007). Perchlorate exposure of the US population, 2001–2002. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 17(4), 400-407.
- Bonaventura, C., & Johnson, F. M. (1997). Healthy environments for healthy people: bioremediation today and tomorrow. *Environmental health perspectives*, 105(Suppl 1), 5.
- Borjan, M., Marcella, S., Blount, B., Greenberg, M., Zhang, J. J., Murphy, E., . . . Robson, M. (2011). Perchlorate exposure in lactating women in an urban community in New Jersey. *Science of the total environment*, 409(3), 460-464.
- Brown, G. M. (1986). The reduction of chlorate and perchlorate ions at an active titanium electrode. *Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry*, 198(2), 319-330.
- Brown, J. C., Anderson, R. D., Min, J. H., Boulos, L., Prasifka, D., & Juby, G. J. (2005). Fixed-bed biological treatment of perchlorate-contaminated drinking water. *Journal (American Water Works Association)*, 70-81.

- Bruce, R. A., Achenbach, L. A., & Coates, J. D. (1999). Reduction of (per) chlorate by a novel organism isolated from paper mill waste. *Environmental Microbiology*, 1(4), 319-329.
- BRUCKER-DAVIS, F. (1998). Effects of environmental synthetic chemicals on thyroid function. *Thyroid*, 8(9), 827-856.
- Calderon, R., Palma, P., Parker, D., Molina, M., Godoy, F. A., & Escudey, M. (2014). Perchlorate levels in soil and waters from the Atacama Desert. *Arch Environ Contam Toxicol*, 66(2), 155-161. doi: 10.1007/s00244-013-9960-y
- Cang, Y., Roberts, D., & Clifford, D. (2004). Development of cultures capable of reducing perchlorate and nitrate in high salt solutions. *Water research*, 38(14), 3322-3330.
- Cañas, J. E., Cheng, Q., Tian, K., & Anderson, T. A. (2006). Optimization of operating conditions for the determination of perchlorate in biological samples using preconcentration/preelution ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1103(1), 102-109.
- Cao, J., Elliott, D., & Zhang, W.-x. (2005). Perchlorate reduction by nanoscale iron particles. *Journal of Nanoparticle Research*, 7(4-5), 499-506.
- Castañeda, R., López, G., Figueroa, R., Fuentes, Z., & José, L. (2009). Susceptibilidad a antibióticos de bacterias indicadoras de contaminación fecal aisladas de aguas y sedimentos marinos de playas de la isla de margarita, Venezuela.
- Coates, J., & Jackson, W. A. (2009). Principles of Perchlorate Treatment. In H. F. Stroo & C. H. Ward (Eds.), *In Situ Bioremediation of Perchlorate in Groundwater* (pp. 29-53): Springer New York.
- Coates, J. D. (2005). Bacteria that respire oxyanions of chlorine *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (pp. 155-157): Springer.
- Coates, J. D., & Achenbach, L. A. (2004). Microbial perchlorate reduction: rocket-fuelled metabolism. *Nat Rev Micro*, 2(7), 569-580.
- Coates, J. D., & Achenbach, L. A. (2006). The microbiology of perchlorate reduction and its bioremediative application *Perchlorate* (pp. 279-295): Springer.
- Coates, J. D., Bruce, R. A., Patrick, J., & Achenbach, L. A. (1999a). Hydrocarbon bioremediative potential of (per) chlorate-reducing bacteria. *Bioremediation Journal*, 3(4), 323-334.
- Coates, J. D., Michaelidou, U., Bruce, R. A., O'Connor, S. M., Crespi, J. N., & Achenbach, L. A. (1999b). Ubiquity and diversity of dissimilatory (per) chlorate-reducing bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 65(12), 5234-5241.
- Coates, J. D., Michaelidou, U., O'Connor, S. M., Bruce, R. A., & Achenbach, L. A. (2000). The diverse microbiology of (per) chlorate reduction *Perchlorate in the Environment* (pp. 257-270): Springer.
- Coleman, M. L., Ader, M., Chaudhuri, S., & Coates, J. D. (2003). Microbial Isotopic Fractionation of Perchlorate Chlorine. *Applied and environmental microbiology*, 69(8), 4997-5000. doi: 10.1128/aem.69.8.4997-5000.2003

- Council, I. T. R. (2005). *Perchlorate: Overview of issues, status, and remedial options*. Washington, D.C: Recuperado de [http:// www.itrcweb.org](http://www.itrcweb.org).
- Cruz, A. B., Barra, J. E., del Castillo, R. F., & Gutiérrez, C. (2004). La calidad del suelo y sus indicadores. *Revista Ecosistemas*, 13(2).
- Chaney, R. L., Malik, M., Li, Y. M., Brown, S. L., Brewer, E. P., Angle, J. S., & Baker, A. J. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Current opinion in biotechnology*, 8(3), 279-284.
- Chaudhuri, S. K., O'Connor, S. M., Gustavson, R. L., Achenbach, L. A., & Coates, J. D. (2002). Environmental Factors That Control Microbial Perchlorate Reduction. *Applied and environmental microbiology*, 68(9), 4425-4430. doi: 10.1128/aem.68.9.4425-4430.2002
- Chen, H., Wu, L., Wang, X., Liu, Q., Ding, M., Peng, K., & Meng, Z. (2014a). Perchlorate exposure and thyroid function in ammonium perchlorate workers in Yicheng, China. *Int J Environ Res Public Health*, 11(5), 4926-4938. doi: 10.3390/ijerph110504926
- Chen, H. X., Ding, M. H., Liu, Q., & Peng, K. L. (2014b). Change of iodine load and thyroid homeostasis induced by ammonium perchlorate in rats. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 34(5), 672-678. doi: 10.1007/s11596-014-1335-8
- Chen, Y., Sible, J. C., & McNabb, F. A. (2008). Effects of maternal exposure to ammonium perchlorate on thyroid function and the expression of thyroid-responsive genes in Japanese quail embryos. *General and comparative endocrinology*, 159(2), 196-207.
- Chong, K., & Volesky, B. (1995). Description of two-metal biosorption equilibria by Langmuir-type models. *Biotechnology and Bioengineering*, 47(4), 451-460.
- Christoforidis, A., & Stamatis, N. (2009). Heavy metal contamination in street dust and roadside soil along the major national road in Kavala's region, Greece. *Geoderma*, 151(3), 257-263.
- Chung, J., Shin, S., & Oh, J. (2009). Characterization of a microbial community capable of reducing perchlorate and nitrate in high salinity. *Biotechnol Lett*, 31(7), 959-966. doi: 10.1007/s10529-009-9960-1
- Chung, J., Shin, S., & Oh, J. (2010). Influence of nitrate, sulfate and operational parameters on the bioreduction of perchlorate using an up-flow packed bed reactor at high salinity. *Environmental technology*, 31(6), 693-704.
- Dasgupta, P. K., Dyke, J. V., Kirk, A. B., & Jackson, W. A. (2006). Perchlorate in the United States. Analysis of relative source contributions to the food chain. *Environmental science & technology*, 40(21), 6608-6614.
- Dasgupta, P. K., Martinelango, P. K., Jackson, W. A., Anderson, T. A., Tian, K., Tock, R. W., & Rajagopalan, S. (2005). The origin of naturally occurring perchlorate: the role of atmospheric processes. *Environmental Science & Technology*, 39(6), 1569-1575.

- De Groot, G., & Stouthamer, A. (1969). Regulation of reductase formation in *Proteus mirabilis*. *Archiv für Mikrobiologie*, 66(3), 220-233.
- Dozier, M., Melton, R., Hare, M., Porter, D., & Lesikar, B. J. (2005). Drinking Water Problems: Perchlorate.
- Dudley, M., Salamone, A., & Nerenberg, R. (2008). Kinetics of a chlorate-accumulating, perchlorate-reducing bacterium. *Water Res*, 42(10-11), 2403-2410. doi: 10.1016/j.watres.2008.01.009
- Dugan, N. R., Williams, D. J., Meyer, M., Schneider, R. R., Speth, T. F., & Metz, D. H. (2009). The impact of temperature on the performance of anaerobic biological treatment of perchlorate in drinking water. *Water research*, 43(7), 1867-1878.
- Dyke, J. V., Ito, K., Obitsu, T., Hisamatsu, Y., Dasgupta, P. K., & Blount, B. C. (2007). Perchlorate in dairy milk. Comparison of Japan versus the United States. *Environmental science & technology*, 41(1), 88-92.
- Dyke, J. V., Kirk, A. B., Martinelango, P. K., & Dasgupta, P. K. (2006). Sample processing method for the determination of perchlorate in milk. *Analytica chimica acta*, 567(1), 73-78.
- Eck, W. S. (2015). Chapter 28 - Wildlife Toxicity Assessment for Perchlorate. In M. A. Williams, G. Reddy, M. J. Quinn, & M. S. Johnson (Eds.), *Wildlife Toxicity Assessments for Chemicals of Military Concern* (pp. 499-553): Elsevier.
- Eguchi, A., Kunisue, T., Wu, Q., Trang, P. T. K., Viet, P. H., Kannan, K., & Tanabe, S. (2014). Occurrence of perchlorate and thiocyanate in human serum from E-waste recycling and reference sites in Vietnam: association with thyroid hormone and iodide levels. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 67(1), 29-41.
- Einarsdóttir, I. E., Silva, N., Power, D. M., Smaradottir, H., & Björnsson, B. T. (2006). Thyroid and pituitary gland development from hatching through metamorphosis of a teleost flatfish, the Atlantic halibut. *Anatomy and embryology*, 211(1), 47-60.
- Ellington, J. J., & Evans, J. J. (2000). Determination of perchlorate at parts-per-billion levels in plants by ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 898(2), 193-199.
- EPA. (2012a). 2012 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories: Office of Water, US Environmental Protection Agency Washington, DC, USA.
- EPA. (2012b). *Drinking Water Contaminants. Unregulated. Perchlorate*. Washington, DC, USA: US Environmental Protection Agency
- EPA, E. P. A. (1999). Determination of Perchlorate in Drinking Water Using Ion Chromatography. Revision.: EPA. Environmental Protection Agency.
- EPA Federal Facilities Restoration And Reuse Office. (2005). *Perchlorate Treatment Technology Update*.
- EPA, F. F. R. A. R. O. (2007). Recuperado de www.epa.gov/fedfac/documents/perchlorate.htm.

- Ericksen, G. E. (1983). The Chilean Nitrate Deposits: The origin of the Chilean nitrate deposits, which contain a unique group of saline minerals, has provoked lively discussion for more than 100 years. *American Scientist*, 366-374.
- Fisher, J., Todd, P., Mattie, D., Godfrey, D., Narayanan, L., & Yu, K. (2000). Preliminary development of a physiological model for perchlorate in the adult male rat: a framework for further studies. *Drug and chemical toxicology*, 23(1), 243-258.
- Friis, N., & Myers-Keith, P. (1986). Biosorption of uranium and lead by *Streptomyces longwoodensis*. *Biotechnology and Bioengineering*, 28(1), 21-28.
- Fuller, M. E., Hatzinger, P. B., Condee, C. W., & Togna, A. P. (2007). Combined treatment of perchlorate and RDX in ground water using a fluidized bed reactor. *Groundwater Monitoring & Remediation*, 27(3), 59-64.
- Furdui, V. I., & Tomassini, F. (2010). Trends and Sources of Perchlorate in Arctic Snow. *Environmental Science & Technology*, 44(2), 588-592. doi: 10.1021/es902243b
- Gal, H., Ronen, Z., Weisbrod, N., Dahan, O., & Nativ, R. (2008). Perchlorate biodegradation in contaminated soils and the deep unsaturated zone. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(7), 1751-1757. doi: 10.1016/j.soilbio.2008.02.015
- Galun, M., Galun, E., Siegel, B., Keller, P., Lehr, H., & Siegel, S. (1987). Removal of metal ions from aqueous solutions by *Penicillium* biomass: kinetic and uptake parameters. *Water, Air, and Soil Pollution*, 33(3-4), 359-371.
- Gan, Z., Sun, H., Wang, R., & Deng, Y. (2014). Occurrence and exposure evaluation of perchlorate in outdoor dust and soil in mainland China. *Sci Total Environ*, 470-471, 99-106. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.09.067
- Gholamian, F., Sheikh-Mohseni, M. A., & Salavati-Niasari, M. (2011). Highly selective determination of perchlorate by a novel potentiometric sensor based on a synthesized complex of copper. *Materials Science and Engineering: C*, 31(8), 1688-1691. doi: 10.1016/j.msec.2011.07.017
- Ghosh, A., Pakshirajan, K., & Ghosh, P. K. (2014). Bioremediation of Perchlorate Contaminated Environment *Biological Remediation of Explosive Residues* (pp. 163-178): Springer.
- Ghosh, A., Pakshirajan, K., Ghosh, P. K., & Sahoo, N. K. (2011). Perchlorate degradation using an indigenous microbial consortium predominantly *Burkholderia* sp. *J Hazard Mater*, 187(1-3), 133-139. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.12.130
- Giblin, T., & Frankenberger, W. (2001). Perchlorate and nitrate reductase activity in the perchlorate-respiring bacterium *perclace*. *Microbiological research*, 156(4), 311-315.
- Gilbert, M. E., & Sui, L. (2008). Developmental exposure to perchlorate alters synaptic transmission in hippocampus of the adult rat. *Environ Health Perspect*, 116(6), 752-760.

- Goleman, W. L., Carr, J. A., & Anderson, T. A. (2002). Environmentally relevant concentrations of ammonium perchlorate inhibit thyroid function and alter sex ratios in developing *Xenopus laevis*. *Environmental toxicology and chemistry*, 21(3), 590-597.
- Government Accountability Office. (2005). *Perchlorate: A System to Track Sampling and Cleanup Results is Needed*. (GAO-05-462).
- Granum, P. E., Stenfors Arnesen, L., & From, C. (2014). Bacteria: *Bacillus cereus* and Other Pathogenic *Bacillus* Species. In Y. Motarjemi (Ed.), *Encyclopedia of Food Safety* (pp. 356-363). Waltham: Academic Press.
- Gu, B., & Brown, G. M. (2006). Recent advances in ion exchange for perchlorate treatment, recovery and destruction *Perchlorate* (pp. 209-251): Springer.
- Gu, B., Dong, W., Brown, G. M., & Cole, D. R. (2003). Complete degradation of perchlorate in ferric chloride and hydrochloric acid under controlled temperature and pressure. *Environmental science & technology*, 37(10), 2291-2295.
- Guan, X., Xie, Y., Wang, J., Wang, J., & Liu, F. (2014). Electron donors and co-contaminants affect microbial community composition and activity in perchlorate degradation. *Environ Sci Pollut Res Int*. doi: 10.1007/s11356-014-3792-9
- Gullick, R. W., LeChevallier, M. W., & Barhorst, T. S. (2001). Occurrence of perchlorate in drinking water sources. *Journal-American Water Works Association*, 93(1), 66-77.
- Gupta, V. K., Singh, A. K., Singh, P., & Upadhyay, A. (2014). Electrochemical determination of perchlorate ion by polymeric membrane and coated graphite electrodes based on zinc complexes of macrocyclic ligands. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 199, 201-209. doi: 10.1016/j.snb.2014.03.078
- Hackenthal, E., Mannheim, W., Hackenthal, R., & Becher, R. (1964). Die reduktion von perchlorat durch bakterien. I. Untersuchungen an intakten zellen. *Biochemical Pharmacology*, 13(2), 195-206.
- Hagedoorn, P. L., de Geus, D. C., & Hagen, W. R. (2002). Spectroscopic characterization and ligand-binding properties of chlorite dismutase from the chlorate respiring bacterial strain GR-1. *European Journal of Biochemistry*, 269(19), 4905-4911.
- Hatzinger, P. B. (2005). Perchlorate biodegradation for water treatment. *Environmental science & technology*, 39(11), 239A-247A.
- He, H., Gao, H., Chen, G., Li, H., Lin, H., & Shu, Z. (2013a). Effects of perchlorate on growth of four wetland plants and its accumulation in plant tissues. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(10), 7301-7308.
- He, H., Gao, H., Chen, G., Li, H., Lin, H., & Shu, Z. (2013b). Effects of perchlorate on growth of four wetland plants and its accumulation in plant tissues. *Environ Sci Pollut Res Int*, 20(10), 7301-7308. doi: 10.1007/s11356-013-1744-4

- Her, N., Jeong, H., Kim, J., & Yoon, Y. (2011). Occurrence of perchlorate in drinking water and seawater in South Korea. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 61(2), 166-172.
- Hidalgo, R. B., Romalde, J. L., & Prado, S. (2012). Identificación de bacterias del género *Vibrio* asociadas al cultivo de la almeja. Caracterización y patogénesis. *AquaTIC: revista electrónica de acuicultura*(36), 1-2.
- Hurley, J. M., Wallace, W., & Coppola, E. (1996). Ammonium perchlorate gradation. *Military Engineer*, 88(579), 1.
- Isobe, T., Ogawa, S. P., Sugimoto, R., Ramu, K., Sudaryanto, A., Malarvannan, G., . . . Tanabe, S. (2013). Perchlorate contamination of groundwater from fireworks manufacturing area in South India. *Environ Monit Assess*, 185(7), 5627-5637. doi: 10.1007/s10661-012-2972-7
- ITRC. Interstate Technology Regulatory Council. (2005). *Perchlorate: Overview of Issues, Status, and Remedial Options*. Recuperado de www.itrcweb.org/Documents/PERC-1.pdf.
- Jackson, W. A., Böhlke, J. K., Gu, B., Hatzinger, P. B., & Sturchio, N. C. (2010). Isotopic composition and origin of indigenous natural perchlorate and co-occurring nitrate in the southwestern United States. *Environmental science & technology*, 44(13), 4869-4876.
- Jackson, W. A., Kumar Anandam, S., Anderson, T., Lehman, T., Rainwater, K., Rajagopalan, S., . . . Tock, R. (2005). Perchlorate occurrence in the Texas southern high plains aquifer system. *Groundwater Monitoring & Remediation*, 25(1), 137-149.
- James, P. (2008). Environmental Biotechnology and Separation Methods. *Chemical Weekly*.
- Jansson-Charrier, M., Guibal, E., Surjous, R., & Le Cloirec, P. (1995). Continuous removal of uranium by biosorption onto chitosan: application to an industrial effluent. *Biohydrometallurgical Processing*, 2, 267-276.
- Kannan, K., Praamsma, M. L., Oldi, J. F., Kunisue, T., & Sinha, R. K. (2009). Occurrence of perchlorate in drinking water, groundwater, surface water and human saliva from India. *Chemosphere*, 76(1), 22-26.
- Kengen, S. W., Rikken, G. B., Hagen, W. R., Van Ginkel, C. G., & Stams, A. J. (1999). Purification and characterization of (per) chlorate reductase from the chlorate-respiring strain GR-1. *Journal of bacteriology*, 181(21), 6706-6711.
- Kim, H., Kim, J., Lee, B., & Yu, S. (2009). Occurrence of perchlorate in drinking water sources in Korea.
- Kim, Y. S., Wo, K. P., Maity, S., Atreya, S. K., & Kaiser, R. I. (2013). Radiation-induced formation of chlorine oxides and their potential role in the origin of Martian perchlorates. *Journal of the American Chemical Society*, 135(13), 4910-4913.
- Kirk, A. B. (2006). Environmental perchlorate: why it matters. *Anal Chim Acta*, 567(1), 4-12. doi: 10.1016/j.aca.2006.03.047

- Kirk, A. B., Martinelango, P. K., Tian, K., Dutta, A., Smith, E. E., & Dasgupta, P. K. (2005). Perchlorate and iodide in dairy and breast milk. *Environmental Science & Technology*, 39(7), 2011-2017.
- Kirk, A. B., Smith, E. E., Tian, K., Anderson, T. A., & Dasgupta, P. K. (2003). Perchlorate in milk. *Environmental Science & Technology*, 37(21), 4979-4981.
- Koneman, E. W., & Allen, S. (2008). *Koneman. Diagnostico Microbiologico/Microbiological diagnosis: Texto Y Atlas En Color/Text and Color Atlas*: Ed. Médica Panamericana.
- Korenkov, V. N., Romanenko, V. I., Kuznetsov, S. I., & Voronov, J. V. (1976). Process for purification of industrial waste waters from perchlorates and chlorates: Google Patents.
- Kosaka, K., Asami, M., Matsuoka, Y., Kamoshita, M., & Kunikane, S. (2007). Occurrence of perchlorate in drinking water sources of metropolitan area in Japan. *Water research*, 41(15), 3474-3482.
- Kounaves, S. P., Stroble, S. T., Anderson, R. M., Moore, Q., Catling, D. C., Douglas, S., . . . Tamppari, L. K. (2010). Discovery of natural perchlorate in the Antarctic dry valleys and its global implications. *Environmental science & technology*, 44(7), 2360-2364.
- Krynitsky, A. J., Niemann, R. A., & Nortrup, D. A. (2004). Determination of perchlorate anion in foods by ion chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical chemistry*, 76(18), 5518-5522.
- Kucharzyk, K. H., Crawford, R. L., Paszczyński, A. J., & Hess, T. F. (2010). A method for assaying perchlorate concentration in microbial cultures using the fluorescent dye resazurin. *J Microbiol Methods*, 81(1), 26-32. doi: 10.1016/j.mimet.2010.01.019
- Lee, J.-W., Oh, S.-H., & Oh, J.-E. (2012). Monitoring of perchlorate in diverse foods and its estimated dietary exposure for Korea populations. *Journal of hazardous materials*, 243, 52-58.
- Lee, S., Ji, K., & Choi, K. (2014). Effects of water temperature on perchlorate toxicity to the thyroid and reproductive system of *Oryzias latipes*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 108, 311-317. doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.07.016
- Lehman, S. G., Badruzzaman, M., Adham, S., Roberts, D. J., & Clifford, D. A. (2008). Perchlorate and nitrate treatment by ion exchange integrated with biological brine treatment. *Water research*, 42(4), 969-976.
- Leung, A. M., Pearce, E. N., & Braverman, L. E. (2010). Perchlorate, iodine and the thyroid. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 24(1), 133-141.
- Leusch, A., Holan, Z. R., & Volesky, B. (1997). Solution and particle effects on the biosorption of heavy metals by seaweed biomass. *Applied biochemistry and biotechnology*, 61(3), 231-249.
- Liebensteiner, M. G., Pinkse, M. W., Schaap, P. J., Stams, A. J., & Lomans, B. P. (2013). Archaeal (per) chlorate reduction at high temperature: an interplay of biotic and abiotic reactions. *Science*, 340(6128), 85-87.

- Liebensteiner, M. G., Stams, A. J. M., & Lomans, B. P. (2014). (Per)chlorate reduction at high temperature: Physiological study of *Archaeoglobus fulgidus* and potential implications for novel souring mitigation strategies. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 96, 216-222. doi: 10.1016/j.ibiod.2014.07.019
- Lin, Y., Fang, Q., & Chen, B. (2014). Perchlorate uptake and molecular mechanisms by magnesium/aluminum carbonate layered double hydroxides and the calcined layered double hydroxides. *Chemical Engineering Journal*, 237(0), 38-46. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2013.10.004>
- Lindqvist, M. H., Johansson, N., Nilsson, T., & Rova, M. (2012). Expression of chlorite dismutase and chlorate reductase in the presence of oxygen and/or chlorate as the terminal electron acceptor in *Ideonella dechloratans*. *Applied and environmental microbiology*, 78(12), 4380-4385.
- Logan, B. E., Wu, J., & Unz, R. F. (2001a). Biological perchlorate reduction in high-salinity solutions. *Water research*, 35(12), 3034-3038.
- Logan, B. E., Zhang, H., Mulvaney, P., Milner, M. G., Head, I. M., & Unz, R. F. (2001b). Kinetics of perchlorate- and chlorate-respiring bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 67(6), 2499-2506.
- London, M. R., De Long, S. K., Strahota, M. D., Katz, L. E., & Speitel, G. E., Jr. (2011). Autohydrogenotrophic perchlorate reduction kinetics of a microbial consortium in the presence and absence of nitrate. *Water Res*, 45(19), 6593-6601. doi: 10.1016/j.watres.2011.10.007
- Lovley, D. R., & Coates, J. D. (1997). Bioremediation of metal contamination. *Current opinion in biotechnology*, 8(3), 285-289.
- Lumen, A., Mattie, D. R., & Fisher, J. W. (2013). Evaluation of perturbations in serum thyroid hormones during human pregnancy due to dietary iodide and perchlorate exposure using a biologically based dose-response model. *toxicological sciences*, 133(2), 320-341.
- Malmqvist, Å., Welander, T., Moore, E., Ternström, A., Molin, G., & Stenström, I.-M. (1994). *Ideonella dechloratans* gen. nov., sp. nov., a new bacterium capable of growing anaerobically with chlorate as an electron acceptor. *Systematic and applied microbiology*, 17(1), 58-64.
- Martinelango, P. K., Tian, K., & Dasgupta, P. K. (2006). Perchlorate in seawater: bioconcentration of iodide and perchlorate by various seaweed species. *Analytica Chimica Acta*, 567(1), 100-107.
- Martínez-Espinosa, R. M., Richardson, D. J., & Bonete, M. J. (2015). Characterisation of chlorate reduction in the haloarchaeon *Haloferax mediterranei*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1850(4), 587-594.
- Martinez-Espinosa, R. M., Dridge, E. J., Bonete, M. J., Butt, J. N., Butler, C. S., Sargent, F., & Richardson, D. J. (2007). Look on the positive side! The orientation, identification and bioenergetics of 'Archaeal' membrane-bound nitrate reductases. *FEMS microbiology letters*, 276(2), 129-139.

- Martino, E., Aghini-Lombardi, F., Mariotti, S., Lenziardi, M., Baschieri, L., Braverman, L., & Pinchera, A. (1986). Treatment of amiodarone associated thyrotoxicosis by simultaneous administration of potassium perchlorate and methimazole. *Journal of endocrinological investigation*, 9(3), 201-207.
- McLain, J. H. (1980). *Pyrotechnics: from the viewpoint of solid state chemistry*. Franklin Institute Press.
- McNabb, A. F. M. (2003). The Effects of Perchlorate on Developing and Adult Birds: SERDP, Strategic Environmental Research and Development Program.
- McNabb, F., Larsen, C. T., & Pooler, P. S. (2004). Ammonium perchlorate effects on thyroid function and growth in bobwhite quail chicks. *Environmental toxicology and chemistry*, 23(4), 997-1003.
- Mergeay, M. (1995). Heavy metal resistances in microbial ecosystems *Molecular microbial ecology manual* (pp. 439-455): Springer.
- Michaelidou, U., Achenbach, L. A., & Coates, J. D. (2000). Isolation and characterization of two novel (per) chlorate-reducing bacteria from swine waste lagoons *Perchlorate in the Environment* (pp. 271-283): Springer.
- Miwa, S., & Inui, Y. (1987). Effects of various doses of thyroxine and triiodothyronine on the metamorphosis of flounder (*Paralichthys olivaceus*). *General and comparative endocrinology*, 67(3), 356-363.
- Morreale de Escobar, G., Jesús Obregón, M. a., & Escobar del Rey, F. (2000). Is Neuropsychological Development Related to Maternal Hypothyroidism or to Maternal Hypothyroxinemia? 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(11), 3975-3987.
- Mostafa, E., Seif, M., & El, D. A. (2011). Microbiological Environmental Monitoring in Pharmaceutical Facility. Egypt. Acad. *J. biolog. Sci*, 3(1), 63-74.
- Motzer, W. E. (2001). Perchlorate: problems, detection, and solutions. *Environmental Forensics*, 2(4), 301-311.
- Mukhi, S., & Patiño, R. (2007). Effects of prolonged exposure to perchlorate on thyroid and reproductive function in zebrafish. *toxicological sciences*, 96(2), 246-254.
- Murray, C. W., & Bolger, P. M. (2014). Environmental Contaminants: Perchlorate. In Y. Motarjemi (Ed.), *Encyclopedia of Food Safety* (pp. 337-341). Waltham: Academic Press.
- Murray, C. W., Egan, S. K., Kim, H., Beru, N., & Bolger, P. M. (2008). US Food and Drug Administration's Total Diet Study: dietary intake of perchlorate and iodine. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 18(6), 571-580. doi: 10.1038/sj.jes.7500648
- Nagase, H., Inthorn, D., & Miyamoto, K. (1994). The Use of Photosynthetic Microorganisms in Bioremediation. *Japanese Journal of Toxicology and Environmental Health*, 40(6), 479-485. doi: 10.1248/jhs1956.40.479
- Nerenberg, R., Kawagoshi, Y., & Rittmann, B. E. (2006). Kinetics of a hydrogen-oxidizing, perchlorate-reducing bacterium. *Water Res*, 40(17), 3290-3296. doi: 10.1016/j.watres.2006.06.035

- Nerenberg, R., Kawagoshi, Y., & Rittmann, B. E. (2008). Microbial ecology of a perchlorate-reducing, hydrogen-based membrane biofilm reactor. *Water Res*, 42(4-5), 1151-1159. doi: 10.1016/j.watres.2007.08.033
- Newnham, H., Topliss, D., GRAND, B. L., Chosich, N., Harper, R., & Stockigt, J. (1988). AMIODARONE-INDUCED HYPERTHYROIDISM: ASSESSMENT OF THE PREDICTIVE VALUE OF BIOCHEMICAL TESTING AND RESPONSE TO COMBINED THERAPY USING PROPYLTHIOURACIL AND POTASSIUM PERCHLORATE*. *Australian and New Zealand journal of medicine*, 18(1), 37-44.
- Noble, L. F., & Mansfield, G. R. (1922). *Nitrate deposits in the Amargosa region, southeastern California*: US Government Printing Office.
- Nozawa-Inoue, M., Scow, K. M., & Rolston, D. E. (2005). Reduction of perchlorate and nitrate by microbial communities in vadose soil. *Appl Environ Microbiol*, 71(7), 3928-3934. doi: 10.1128/AEM.71.7.3928-3934.2005
- O'Connor, S. M., & Coates, J. D. (2002). Universal immunoprobe for (per) chlorate-reducing bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 68(6), 3108-3113.
- Okeke, B. C., Giblin, T., & Frankenberger, W. T. (2002). Reduction of perchlorate and nitrate by salt tolerant bacteria. *Environmental Pollution*, 118(3), 357-363.
- Okeke, B. C., Ma, G., Cheng, Q., Losi, M. E., & Frankenberger, W. T., Jr. (2007). Development of a perchlorate reductase-based biosensor for real time analysis of perchlorate in water. *J Microbiol Methods*, 68(1), 69-75. doi: 10.1016/j.mimet.2006.06.007
- Oldi, J. F., & Kannan, K. (2009). Perchlorate in human blood serum and plasma: relationship to concentrations in saliva. *Chemosphere*, 77(1), 43-47.
- Oren, A., Elevi Bardavid, R., & Mana, L. (2014). Perchlorate and halophilic prokaryotes: implications for possible halophilic life on Mars. *Extremophiles*, 18(1), 75-80. doi: 10.1007/s00792-013-0594-9
- Orris, G., Harvey, G., Tsui, D., & Eldrige, J. (2003). *Preliminary analyses for perchlorate in selected natural materials and their derivative products*: US Department of the Interior, US Geological Survey.
- Park, C., & Marchand, E. (2006). Modelling salinity inhibition effects during biodegradation of perchlorate. *Journal of Applied Microbiology*, 101(1), 222-233.
- Parker, D. R. (2009). Perchlorate in the environment: the emerging emphasis on natural occurrence. *Environmental Chemistry*, 6(1), 10-27.
- Pearce, E. N., Lazarus, J. H., Smyth, P. P., He, X., Dall'Amico, D., Parkes, A. B., . . . Bestwick, J. P. (2010). Perchlorate and thiocyanate exposure and thyroid function in first-trimester pregnant women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(7), 3207-3215.
- Pearce, E. N., Leung, A. M., Blount, B. C., Bazrafshan, H. R., He, X., Pino, S., . . . Braverman, L. E. (2007). Breast milk iodine and perchlorate

- concentrations in lactating Boston-area women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(5), 1673-1677.
- Płaza, G., Lukasik, W., & Ulfing, K. (1995). Sorption of cadmium by filamentous soil fungi. *Acta Microbiologica Polonica*, 45(2), 193-201.
 - Plummer, L. N., Böhlke, J. K., & Doughten, M. W. (2006). Perchlorate in Pleistocene and Holocene groundwater in north-central New Mexico. *Environmental science & technology*, 40(6), 1757-1763.
 - Pollock, J. L. (2003). *Diversity of perchlorate-reducing bacteria in relation to environmental factors*. Southern Illinois University Carbondale.
 - Quinones, O., Oh, J. E., Vanderford, B., Kim, J. H., Cho, J., & Snyder, S. A. (2007). Perchlorate assessment of the Nakdong and Yeongsan watersheds, Republic of Korea. *Environmental toxicology and chemistry*, 26(7), 1349-1354.
 - Rainey, F. (2012). *Extremophiles 2012 Congress (Unpublished Work)*. Sevilla.
 - Rajagopalan, S., Anderson, T. A., Fahlquist, L., Rainwater, K. A., Ridley, M., & Jackson, W. A. (2006). Widespread presence of naturally occurring perchlorate in high plains of Texas and New Mexico. *Environmental science & technology*, 40(10), 3156-3162.
 - Ramelow, G. J., Fralick, D., & Zhao, Y.-f. (1992). Factors affecting the uptake of aqueous metal ions by dried seaweed biomass. *Microbios*, 72(291), 81-93.
 - Rao, B., Anderson, T. A., Orris, G. J., Rainwater, K. A., Rajagopalan, S., Sandvig, R. M., . . . Jackson, W. A. (2007). Widespread natural perchlorate in unsaturated zones of the southwest United States. *Environmental science & technology*, 41(13), 4522-4528.
 - Redick-Harris, M. S. (2006). *Effects of in ovo exposure to sodium perchlorate on development, growth and reproduction of fence lizards (Sceloporus sp.)*. Oklahoma State University.
 - Rikken, G., Kroon, A., & Van Ginkel, C. (1996). Transformation of (per)chlorate into chloride by a newly isolated bacterium: reduction and dismutation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 45(3), 420-426.
 - Roldan, M., Reyes, F., Moreno-Vivian, C., & Castillo, F. (1994). Chlorate and nitrate reduction in the phototrophic bacteria *Rhodobacter capsulatus* and *Rhodobacter sphaeroides*. *Current Microbiology*, 29(4), 241-245.
 - Rudel, R. A., Camann, D. E., Spengler, J. D., Korn, L. R., & Brody, J. G. (2003). Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environmental science & technology*, 37(20), 4543-4553.
 - Ryu, H. W., Nor, S. J., Moon, K. E., Cho, K. S., Cha, D. K., & Rhee, K. I. (2012). Reduction of perchlorate by salt tolerant bacterial consortia. *Bioresour Technol*, 103(1), 279-285. doi: 10.1016/j.biortech.2011.09.115
 - Sahu, A. K., Conneely, T., Nüsslein, K. R., & Ergas, S. J. (2009). Biological perchlorate reduction in packed bed reactors using elemental sulfur. *Environmental science & technology*, 43(12), 4466-4471.

- Sanchez, C., Krieger, R., Khandaker, N., Moore, R., Holts, K., & Neidel, L. (2005). Accumulation and perchlorate exposure potential of lettuce produced in the lower Colorado River region. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(13), 5479-5486.
- Sanchez, C., Krieger, R., Khandaker, N., Valentin-Blasini, L., & Blount, B. (2006). Potential perchlorate exposure from Citrus sp. irrigated with contaminated water. *Analytica chimica acta*, 567(1), 33-38.
- Sankar, S., Prajeesh, G. P., Anupama, V. N., Krishnakumar, B., Hareesh, P., Nair, B. N., . . . Hareesh, U. N. (2014). Bifunctional lanthanum phosphate substrates as novel adsorbents and biocatalyst supports for perchlorate removal. *J Hazard Mater*, 275, 222-229. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.04.046
- Schumacher, J. C. (1960). *Perchlorates: their properties, manufacture, and uses* (Vol. 146): Reinhold Publishing Corporation.
- SERADP, S. E. R. a. D. P. (2005). Alternative causes of wide spread, low concentration perchlorate impacts to groundwater.
- Seyfferth, A. L., & Parker, D. R. (2006). Determination of low levels of perchlorate in lettuce and spinach using ion chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (IC-ESI-MS). *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(6), 2012-2017.
- Seyfferth, A. L., & Parker, D. R. (2008). Uptake and fate of perchlorate in higher plants. *Advances in agronomy*, 99, 101-123.
- Sharma, P., & Patiño, R. (2013). Regulation of gonadal sex ratios and pubertal development by the thyroid endocrine system in zebrafish (*Danio rerio*). *General and comparative endocrinology*, 184, 111-119.
- Shi, Y.-B. (2000). *Amphibian Metamorphosis: from Morphology to Molecular Biology*. Wiley-Liss, New York; Chichester.
- Shi, Y., Zhang, N., Gao, J., Li, X., & Cai, Y. (2011). Effect of fireworks display on perchlorate in air aerosols during the Spring Festival. *Atmospheric Environment*, 45(6), 1323-1327.
- Shi, Y., Zhang, P., Wang, Y., Shi, J., Cai, Y., Mou, S., & Jiang, G. (2007). Perchlorate in sewage sludge, rice, bottled water and milk collected from different areas in China. *Environment International*, 33(7), 955-962.
- Shrout, J. D., & Parkin, G. F. (2006). Influence of electron donor, oxygen, and redox potential on bacterial perchlorate degradation. *Water Res*, 40(6), 1191-1199. doi: 10.1016/j.watres.2006.01.035
- Shrout, J. D., Scheetz, T. E., Casavant, T. L., & Parkin, G. F. (2005). Isolation and characterization of autotrophic, hydrogen-utilizing, perchlorate-reducing bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 67(2), 261-268.
- Simonaitis, R., & Heicklen, J. (1975). Perchloric acid: A possible sink for stratospheric chlorine. *Planetary and Space Science*, 23(11), 1567-1569.
- Smith, G. (1995). *Biotechnology in industrial waste treatment and bioremediation*: CRC Press.
- Smith, P. N., Yu, L., McMurry, S. T., & Anderson, T. A. (2004). Perchlorate in water, soil, vegetation, and rodents collected from the Las Vegas Wash,

Nevada, USA. *Environmental Pollution*, 132(1), 121-127. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2004.03.017>

- Snyder, S. A., Westerhoff, P., Yoon, Y., & Sedlak, D. L. (2003). Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: implications for the water industry. *Environmental engineering science*, 20(5), 449-469.
- Srinivasan, A., & Viraraghavan, T. (2009). Perchlorate: health effects and technologies for its removal from water resources. *Int J Environ Res Public Health*, 6(4), 1418-1442. doi: 10.3390/ijerph6041418
- Stenklo, K., Thorell, H. D., Bergius, H., Aasa, R., & Nilsson, T. (2001). Chlorite dismutase from *Ideonella dechloratans*. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 6(5-6), 601-607.
- Stepanov, V. G., Xiao, Y., Tran, Q., Rojas, M., Willson, R. C., Fofanov, Y., . . . Roberts, D. J. (2014). The presence of nitrate dramatically changed the predominant microbial community in perchlorate degrading cultures under saline conditions. *BMC microbiology*, 14(1), 225.
- Stroo, H. F., & Norris, R. D. (2009). Alternatives for in situ bioremediation of perchlorate *In Situ Bioremediation of Perchlorate in Groundwater* (pp. 79-90): Springer.
- Sun, Y., Gustavson, R. L., Ali, N., Weber, K. A., Westphal, L. L., & Coates, J. D. (2009). Behavioral response of dissimilatory perchlorate-reducing bacteria to different electron acceptors. *Appl Microbiol Biotechnol*, 84(5), 955-963. doi: 10.1007/s00253-009-2051-3
- Tan, Z., & Reinhold-Hurek, B. (2003). *Dechlorosoma suillum* Achenbach et al. 2001 is a later subjective synonym of *Azospira oryzae* Reinhold-Hurek and Hurek 2000. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 53(4), 1139-1142.
- Tefera, S., Ehling, S., & Ho, I. (2007). Trace analysis of perchlorate anion in selected food products by reverse-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food additives and contaminants*, 24(11), 1203-1208.
- Theodorakis, C., Rinchard, J., Anderson, T., Liu, F., Park, J.-W., Costa, F., . . . Waters, A. (2006). Perchlorate in fish from a contaminated site in east-central Texas. *Environmental Pollution*, 139(1), 59-69.
- Thompson, C. C., & Potter, G. B. (2000). Thyroid hormone action in neural development. *Cerebral cortex*, 10(10), 939-945.
- Thrash, J. C., Pollock, J., Torok, T., & Coates, J. D. (2010). Description of the novel perchlorate-reducing bacteria *Dechlorobacter hydrogenophilus* gen. nov., sp. nov. and *Propionivibrio militaris*, sp. nov. *Appl Microbiol Biotechnol*, 86(1), 335-343. doi: 10.1007/s00253-009-2336-6
- Thrash, J. C., Van Trump, J. I., Weber, K. A., Miller, E., Achenbach, L. A., & Coates, J. D. (2007). Electrochemical stimulation of microbial perchlorate reduction. *Environmental science & technology*, 41(5), 1740-1746.

- Tripp, A. R., & Clifford, D. A. (2006). Ion exchange for the remediation of perchlorate-contaminated drinking water. *Journal (American Water Works Association)*, 105-114.
- Urbansky, E., Brown, S., Magnuson, M., & Kelty, C. (2001). Perchlorate levels in samples of sodium nitrate fertilizer derived from Chilean caliche. *Environmental Pollution*, 112(3), 299-302.
- Urbansky, E. T. (1998). Perchlorate chemistry: implications for analysis and remediation. *Bioremediation Journal*, 2(2), 81-95.
- USATSDR, U. S. E. P. A. (2008). Interim drinking water health advisory for perchlorate.
- USCHPPM, U. S. A. C. f. H. P. a. P. M. (2007). Wildlife Toxicity Assessment for Perchlorate (H. E. R. P. E. H. R. A. Program, Trans.): USCHPPM U.S. Army Center for Health Promotion and Preventive Medicine.
- USFDA, F. D. A. U. S. (2008). US Food and Drug Administration's Total Diet.
- Van Dam, E., Prummel, M., Wiersinga, W., & Nikkels, R. (1993). Treatment of amiodarone-induced hypothyroidism with potassium perchlorate. *The Netherlands journal of medicine*, 42(1-2), 21-24.
- Van Ginkel, S. W., Ahn, C. H., Badruzzaman, M., Roberts, D. J., Lehman, S. G., Adham, S. S., & Rittmann, B. E. (2008). Kinetics of nitrate and perchlorate reduction in ion-exchange brine using the membrane biofilm reactor (MBfR). *Water research*, 42(15), 4197-4205.
- Vigliotta, G., Motta, O., Guarino, F., Iannece, P., & Proto, A. (2010). Assessment of perchlorate-reducing bacteria in a highly polluted river. *Int J Hyg Environ Health*, 213(6), 437-443. doi: 10.1016/j.ijheh.2010.08.001
- Vijaya Nadaraja, A., Gangadharan Puthiya Veetil, P., & Bhaskaran, K. (2013). Perchlorate reduction by an isolated *Serratia marcescens* strain under high salt and extreme pH. *FEMS microbiology letters*, 339(2), 117-121.
- Volesky, B. (1999). Biosorption for the next century. *Process Metallurgy*, 9, 161-170.
- Voogt, W., & Jackson, W. A. (2010). Perchlorate, nitrate, and iodine uptake and distribution in lettuce (*Lactuca sativa* L.) and potential impact on background levels in humans. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(23), 12192-12198.
- Wallace, W., Ward, T., Breen, A., & Attaway, H. (1996). Identification of an anaerobic bacterium which reduces perchlorate and chlorate as *Wolinella succinogenes*. *Journal of Industrial Microbiology*, 16(1), 68-72.
- Waller, A. S., Cox, E. E., & Edwards, E. A. (2004). Perchlorate-reducing microorganisms isolated from contaminated sites. *Environ Microbiol*, 6(5), 517-527. doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00598.x
- Wang, C., Lippincott, L., & Meng, X. (2008). Kinetics of biological perchlorate reduction and pH effect. *J Hazard Mater*, 153(1-2), 663-669. doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.09.010

- Wang, R., Chen, M., Zhang, J. W., Liu, F., & Chen, H. H. (2013). *Microbial perchlorate reduction in groundwater with different electron donors*. Paper presented at the Applied Mechanics and Materials.
- Wang, Y., Zhuang, G., Xu, C., & An, Z. (2007). The air pollution caused by the burning of fireworks during the lantern festival in Beijing. *Atmospheric Environment*, 41(2), 417-431.
- Wang, Z., Gao, M., Zhang, Y., She, Z., Ren, Y., Wang, Z., & Zhao, C. (2014). Perchlorate reduction by hydrogen autotrophic bacteria in a bioelectrochemical reactor. *J Environ Manage*, 142, 10-16. doi: 10.1016/j.jenvman.2014.04.003
- Weelink, S. A., Tan, N. C., Ten Broeke, H., van den Kieboom, C., Van Doesburg, W., Langenhoff, A. A., . . . Stams, A. J. (2008). Isolation and characterization of Alicyclophilus denitrificans strain BC, which grows on benzene with chlorate as the electron acceptor. *Applied and environmental microbiology*, 74(21), 6672-6681.
- White, D. (1996). Pollution caused by fireworks. *American Environmental Laboratory*, 8, 24-26.
- Wolterink, A., Kim, S., Muusse, M., Kim, I. S., Roholl, P. J., van Ginkel, C. G., . . . Kengen, S. W. (2005). Dechloromonas hortensis sp. nov. and strain ASK-1, two novel (per) chlorate-reducing bacteria, and taxonomic description of strain GR-1. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(5), 2063-2068.
- Wu, D., He, P., Xu, X., Zhou, M., Zhang, Z., & Houda, Z. (2008). The effect of various reaction parameters on bioremediation of perchlorate-contaminated water. *Journal of Hazardous Materials*, 150(2), 419-423.
- Wu, F., Zhou, X., Zhang, R., Pan, M., & Peng, K. L. (2012). The effects of ammonium perchlorate on thyroid homeostasis and thyroid-specific gene expression in rat. *Environmental toxicology*, 27(8), 445-452.
- Wu, Q., Oldi, J. F., & Kannan, K. (2011). Fate of perchlorate in a man-made reflecting pond following a fireworks display in Albany, New York, USA. *Environmental toxicology and chemistry*, 30(11), 2449-2455.
- Wu, Q., Zhang, T., Sun, H., & Kannan, K. (2010). Perchlorate in tap water, groundwater, surface waters, and bottled water from China and its association with other inorganic anions and with disinfection byproducts. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 58(3), 543-550.
- Xiao, Y. (2012). *Perchlorate reduction using salt-tolerant cultures*. The University of British Columbia, Okanagan.
- Xiao, Y., Roberts, D. J., Zuo, G., Badruzzaman, M., & Lehman, G. S. (2010). Characterization of microbial populations in pilot-scale fluidized-bed reactors treating perchlorate- and nitrate-laden brine. *Water Res*, 44(14), 4029-4036. doi: 10.1016/j.watres.2010.05.006
- Xie, Y., Cai, X., Liu, W., & Deng, W. (2009). [Effects of perchlorate on growth and chlorophyll fluorescence parameters of Alternanthera philoxeroides]. *Huan jing ke xue= Huanjing kexue/[bian ji, Zhongguo ke xue yuan huan jing*

ke xue wei yuan hui" Huan jing ke xue" bian ji wei yuan hui.], 30(8), 2425-2431.

- Xie, Y., Tao, G., Chen, Q., & Tian, X. (2014). Effects of Perchlorate Stress on Growth and Physiological Characteristics of Rice (*Oryza sativa* L.) Seedlings. *Water, Air, & Soil Pollution*, 225(8). doi: 10.1007/s11270-014-2077-8
- Xu, J., & Logan, B. E. (2003). Measurement of chlorite dismutase activities in perchlorate respiring bacteria. *Journal of microbiological methods*, 54(2), 239-247. doi: 10.1016/s0167-7012(03)00058-7
- Xu, X., Gao, B., Huang, X., Ling, J., Song, W., & Yue, Q. (2015). Physicochemical characteristics of epichlorohydrin, pyridine and trimethylamine functionalized cotton stalk and its adsorption/desorption properties for perchlorate. *J Colloid Interface Sci*, 440, 219-228. doi: 10.1016/j.jcis.2014.10.045
- Ye, L., You, H., Yao, J., Kang, X., & Tang, L. (2013). Seasonal variation and factors influencing perchlorate in water, snow, soil and corns in Northeastern China. *Chemosphere*, 90(10), 2493-2498.
- Ye, L., You, H., Yao, J., & Su, H. (2012). Water treatment technologies for perchlorate: A review. *Desalination*, 298, 1-12. doi: 10.1016/j.desal.2012.05.006
- Yu, L., Canas, J. E., Cobb, G. P., Jackson, W. A., & Anderson, T. A. (2004). Uptake of perchlorate in terrestrial plants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 58(1), 44-49.
- Zhang, H., Bruns, M. A., & Logan, B. E. (2002). Perchlorate reduction by a novel chemolithoautotrophic, hydrogen-oxidizing bacterium. *Environmental microbiology*, 4(10), 570-576.
- Zhang, T., Wu, Q., Sun, H. W., Rao, J., & Kannan, K. (2010). Perchlorate and iodide in whole blood samples from infants, children, and adults in Nanchang, China. *Environmental science & technology*, 44(18), 6947-6953.
- Zoeller, R., & Rovet, J. (2004). Timing of thyroid hormone action in the developing brain: clinical observations and experimental findings. *Journal of neuroendocrinology*, 16(10), 809-818.

11. ANEXOS

11.1. MUESTRO SUELOS SALINOS DE BOLIVAR.



Ilustración 10: Nodrizas de Bolívar



Ilustración 11: Muestras de suelos salinos de Bolívar tomadas en tubos Falcón



Ilustración 12: Evidencia de Suelos Salinos, Indicador Biológico, especie de planta Batis maritima

11.2. MUESTREO SUELOS SALINOS DE LA GUAJIRA



Ilustración 13: Suelos Salinos de la Guajira.



Ilustración 14: Cristales de sal de la Guajira

11.3. MUESTREO De La Carretera Ciénaga-Barranquilla



Ilustración 15: Suelos de de la Carretera Ciénaga-Barranquilla, Sector Tasajeras.



Ilustración 16: Muestras de de la Carretera Ciénaga-Barranquilla, tomadas en tubos Falcón



*Ilustración 17: Evidencia de Suelos Salinos, Indicador Biológico, especie de planta *Batis maritima**