



Identificación de bacterias halotolerantes aisladas de suelos de la Ciénaga de Zapata, Cuba*

Identification of halotolerant bacteria isolated from soils of the Ciénaga de Zapata, Cuba

Marisel Ortega-García¹, Yoania Ríos-Rocafull¹, Alfredo Socorro-García¹, Lily Xochil Zelaya-Molina²,
 Ismael Fernando Chávez-Díaz², María Caridad Nápoles-García³

* Recepción: 24 de septiembre, 2025. Aceptación: 25 de febrero, 2026. Este trabajo formó parte de los resultados obtenidos en el proyecto de investigación “Empleo de la diversidad de recursos fitogenéticos y microbianos para favorecer la adaptabilidad de los cultivos en agroecosistemas salinos”, financiado por el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt (INIFAT), con la colaboración de investigadores del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG), Tepatitlán de Morelos, México.

¹ Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt (INIFAT). La Habana, Cuba. mariselortega9@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0002-8076-2675>); yrocafull@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0003-1774-0868>); fisiologia@inifat.co.cu (<https://orcid.org/0000-0002-6495-6920>).

² Centro Nacional de Recursos Genéticos-INIFAP. Tepatitlán de Morelos, México. lilyzelayam@yahoo.com.mx (<https://orcid.org/0000-0002-3474-3289>); chavez.fernando@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0000-0002-2182-8646>).

³ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Mayabeque, Cuba. tere@inca.edu.cu (autora para correspondencia; <https://orcid.org/0000-0003-1413-1717>).

Resumen

Introducción. Las bacterias halotolerantes mejoran la adaptabilidad de las plantas frente a altas concentraciones de sal en los suelos, por lo que resulta esencial estudiar aislados residentes en agroecosistemas vulnerables. **Objetivo.** Identificar bacterias halotolerantes aisladas de suelos de la Ciénaga de Zapata, Cuba, y caracterizarlas como estimuladoras del crecimiento vegetal de plantas resistentes a altas concentraciones salinas. **Materiales y métodos.** La investigación se desarrolló en los laboratorios del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt, Cuba, y en el Centro Nacional de Recursos Genéticos, México. Se seleccionaron cinco aislados capaces de tolerar 200 mM de NaCl, identificados filogenéticamente mediante la secuenciación del gen 16S rRNA. Los experimentos de laboratorio se realizaron bajo un diseño completamente aleatorizado, con los cinco aislados como tratamientos. Como variables de respuesta, se evaluaron la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos y la producción de amonio, sideróforos, compuestos indólicos y enzimas líticas. Los ensayos con plantas se efectuaron entre junio y noviembre de 2023, bajo un diseño de bloques al azar con seis tratamientos (cinco cepas bacterianas y un testigo sin inocular), con tres repeticiones, evaluando indicadores de crecimiento vegetal y tolerancia a la salinidad. Los datos se sometieron a un análisis de varianza de una vía y a la prueba de Duncan al 5 % de significancia. **Resultados.** Los aislados pertenecieron a los géneros *Bacillus* y *Cupriavidus*. Todos fijaron nitrógeno atmosférico y solubilizaron fosfato de calcio; cuatro produjeron sideróforos; dos generaron amonio; dos solubilizaron potasio; dos sintetizaron compuestos indólicos y enzimas líticas, y uno solubilizó aluminio. En los ensayos con plantas destacaron las cepas CZ1 y CZ6, con diferencias significativas respecto a las demás cepas y al testigo. **Conclusiones.**



Las bacterias halotolerantes aisladas poseen características que respaldan su uso como inoculantes microbianos en ambientes salinos.

Palabras clave: inoculantes bacterianos, caracterización funcional, antagonismo microbiano, interacción planta-halobacterias, enzimas microbianas.

Abstract

Introduction. Halotolerant bacteria improve plant adaptability to high salt concentrations in soils, making it essential to study isolates inhabiting vulnerable agroecosystems. **Objective.** To identify halotolerant bacteria isolated from soils of the Ciénaga de Zapata, Cuba, and to characterize them as plant growth-promoting bacteria in plants tolerant to high salinity levels. **Materials and methods.** The research was conducted in the laboratories of the Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt, Cuba, and the Centro Nacional de Recursos Genéticos, Mexico. Five isolates capable of tolerating 200 mM NaCl were selected and phylogenetically identified through 16S rRNA gene sequencing. Laboratory experiments were performed under a completely randomized design, with the five isolates as treatments. Nitrogen fixation, phosphate solubilization, and the production of ammonium, siderophores, indolic compounds, and lytic enzymes were evaluated as response variables. Plant assays were conducted between June and November 2023 under a randomized block design with six treatments (five bacterial strains and an uninoculated control), with three replicates, assessing plant growth and salinity tolerance indicators. Data were subjected to one-way analysis of variance and Duncan's test at 5 % significance. **Results.** The isolates belonged to the genera *Bacillus* and *Cupriavidus*. All fixed atmospheric nitrogen and solubilized calcium phosphate; four produced siderophores; two generated ammonium; two solubilized potassium; two synthesized indolic compounds and lytic enzymes; and one solubilized aluminum. In plant assays, strains CZ1 and CZ6 stood out, showing significant differences compared to the other strains and the control. **Conclusions.** The isolated halotolerant bacteria possess traits that support their use as microbial inoculants in saline environments.

Keywords: bacterial inoculants, functional characterization, microbial antagonism, plant-halobacterial interactions, microbial enzymes.

Introducción

La biodiversidad del suelo a nivel mundial se encuentra amenazada por cambios antropogénicos, como la intensificación del uso de la tierra, la deforestación y los fenómenos climáticos extremos (Santillán et al., 2020). Estos factores alteran su uso y provocan cambios en las comunidades microbianas que lo habitan, lo que tiene un efecto directo en los procesos que en él ocurren y su estabilidad (Zuluaga et al., 2020). Además, los suelos albergan una cuarta parte de la biodiversidad del planeta, dentro de la cual se encuentran los microorganismos promotores del crecimiento vegetal, que constituyen una valiosa herramienta para favorecer una agricultura sostenible y respetuosa con el medioambiente (Rosabal Ayan et al., 2021).

Entre los microorganismos asociados a ambientes con altas concentraciones de sales se encuentran las bacterias halotolerantes, las cuales favorecen la adaptabilidad de las plantas frente a condiciones estresantes (Guerra-Camacho et al., 2024). La Ciénaga de Zapata es un ecosistema sensible a estos fenómenos, reconocido como el mayor humedal de Cuba y ubicado al sur de la provincia de Matanzas (Moya et al., 2005). Es un hábitat

vulnerable al cambio climático, en el que se esperan severas afectaciones por el incremento del nivel del mar, lo que traería consigo daños considerables a los cultivos por el aumento de la salinidad en los suelos (Planos et al., 2013).

La Ciénaga de Zapata constituye uno de los lugares más significativos de Cuba por la cantidad y diversidad de ecosistemas que alberga, así como por la singularidad de su flora y vegetación (Moya et al., 2005). Ha sido objeto de estudios científicos que abarcan desde la caracterización de su biodiversidad vegetal y faunística hasta la evaluación del estado de conservación de especies endémicas y amenazadas, así como diagnósticos ecológicos integrales del humedal (Oviedo Prieto, 2013). Otras investigaciones se han enfocado en la diversidad de grupos fúngicos, con énfasis en los hongos micorrizógenos arbusculares (Torres-Arias et al., 2015). No obstante, persiste un vacío de conocimiento sobre la diversidad filogenética y funcional de las bacterias que habitan en estos agroecosistemas, las cuales pueden asociarse de manera eficiente con las plantas y favorecer su crecimiento vegetativo.

Estas comunidades microbianas del suelo ejercen un efecto positivo en la mitigación de estos impactos ambientales al aumentar la adaptabilidad de las plantas frente a diversos tipos de estrés (Ju et al., 2020), lo que propicia la recuperación de los suelos afectados por esta condición (Montenegro Gómez et al., 2020). Diversos microorganismos del suelo tienen la capacidad de sintetizar fitohormonas, que les permiten incrementar la biodisponibilidad de nutrientes y mejorar la nutrición de las plantas (Ahluwalia et al., 2021). Dentro de esta diversidad, sobresalen las bacterias halotolerantes, capaces de favorecer la adaptación de las plantas a condiciones de estrés salino (Guerra-Camacho et al., 2024), fenómeno que constituye una amenaza creciente para la productividad agrícola en estos ambientes.

En este contexto, el objetivo de este estudio fue identificar bacterias halotolerantes aisladas de suelos de la Ciénaga de Zapata, Cuba, y caracterizarlas como estimuladoras del crecimiento vegetal de plantas resistentes a altas concentraciones salinas.

Materiales y métodos

Las investigaciones se realizaron en suelos de la Ciénaga de Zapata, Matanzas, Cuba, con una extensión de 3100 km² y una altitud de 5 m s. n. m., ubicados en 22°35' de latitud norte y 81°09' de longitud oeste (Cuadrado & Molina, 2005). Entre mayo y julio de 2023, se realizaron dieciocho colectas en sitios de muestreo de suelos del municipio Ciénaga de Zapata con el fin de estudiar la diversidad microbiana de estos agroecosistemas (Ortega García et al., 2024). De ellas, diez se efectuaron en la localidad de Soplillar y ocho en Cayo Ramona.

En cada sitio de muestreo se tomaron cinco submuestras de suelo a una profundidad de 20 cm, siguiendo un patrón en “w” o zigzag (Villalba-Martínez & Encina-Rojas, 2024). Los suelos correspondieron a Histosol e Histosol mésico, de baja fertilidad y poca profundidad, con alta presencia de arcillas (1:1), medianamente salinizados, con niveles de conductividad eléctrica entre 2,8 y 3,7 ds/m (Hernández Jiménez et al., 2023). Estas submuestras se homogenizaron para formar una muestra compuesta representativa de cada sitio (1 kg). Para ello, se tomaron 10 g de suelo por triplicado de cada muestra compuesta, las cuales se procesaron según el método de diluciones seriadas en medio de cultivo agar nutritivo (Rodríguez-Martínez & Zhurbenko, 2018), a una concentración de 10⁻⁷ UFC mL⁻¹, con el propósito de seleccionar la diversidad de morfotipos presentes (Ortega García et al., 2024).

Se purificó un aislado representativo de cada morfotipo. Se obtuvieron dieciocho aislados de bacterias, los cuales se cultivaron nuevamente en medio de cultivo agar nutritivo, suplementado con diferentes concentraciones de NaCl (0, 50, 150 y 200 mM) y se incubaron a 30 °C durante 24 h para evaluar su tolerancia. A partir de estos ensayos, se seleccionaron cinco bacterias por su tolerancia frente a la mayor concentración de NaCl (200 mM) para continuar los estudios. Todos los aislados se identificaron con el código CZ en referencia a la Ciénaga de Zapata.

Características morfológicas de las bacterias seleccionadas

Las bacterias seleccionadas se clasificaron con base en sus características morfológicas a nivel macroscópico (forma, color, borde, elevación y superficie de las colonias). Por microscopía se observó su forma celular y estructura de la pared celular bacteriana mediante la tinción de Gram, para lo cual se utilizaron cultivos frescos de 24 h. Se realizaron, además, pruebas de DNAsa y coagulasa para evaluar posible patogenicidad y garantizar la inocuidad de los aislados (Madigan et al., 2019).

Identificación taxonómica de las bacterias seleccionadas

Para extraer el ADN genómico, los aislados se cultivaron en medio triptona extracto de levadura durante 24 h, a 30 °C. La extracción se efectuó según el protocolo de Wilson (2001). Para la amplificación del gen 16S rRNA se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) con los iniciadores 27f (secuencia 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3') y 1492r (5'-CGG TTA CCT TGT TAC GAC TT-3') (Bautista et al., 2017). Se utilizó un ciclo de desnaturalización inicial (94 °C por 5 min), seguido de 30 ciclos de 1 min para desnaturalización, alineamiento y extensión (94, 57 y 72 °C, respectivamente), y un ciclo de amplificación final a 72 °C durante 1 min. El producto de la amplificación se visualizó mediante corrimiento electroforético en gel de agarosa al 1,5 %.

El producto de PCR se secuenció en la empresa Macrogen (Corea del Sur). Las secuencias se editaron en el programa BioEdit versión 7.0.9.0, y se compararon con la biblioteca del GenBank a través de una búsqueda BLAST para obtener una colección de secuencias relacionadas. Todas las secuencias se alinearon utilizando el programa CLUSTAL X. El análisis filogenético de cada aislado se realizó con el *software* MEGA V.7 con un soporte de 1000 repeticiones *bootstrap*.

Caracterización de las bacterias como promotoras del crecimiento vegetal

En cada una de las pruebas, las bacterias se sembraron por picadura en cuatro puntos equidistantes del borde de la placa de Petri y se incubaron entre 24 y 48 h a 28 °C. En cada medio de cultivo se midió el diámetro de las colonias y el halo generado cada 24 h. Para interpretar el índice de actividad (IA), se midió el tamaño del halo (TH) y de la colonia (TC) en tres direcciones. A partir de los promedios se determinó el índice mediante la fórmula $IA = TH/TC$.

La capacidad para fijar el nitrógeno atmosférico se evaluó mediante el crecimiento del microorganismo en el medio de cultivo Winogradsky sin nitrógeno, según Elbeltagy et al. (2001); para los nitrificantes, se utilizó el medio NFb (Baldani et al., 2014). Para la solubilización se empleó el medio NBRIP sólido con fosfato de calcio y de aluminio (Shekhar Nautiyal, 1999). El cambio de color se consideró como positivo y, en la solubilización de potasio, se utilizó el medio Alexandrov con KNO_3 (Sugumaran & Janarthanam, 2007) y la metodología descrita para el NBRIP. Para la producción de índoles se usó el medio de cultivo agar triptona soya (TSA), se agregó el reactivo de Salkowski y se incubó durante 30 min en oscuridad. La formación de un halo se consideró positiva.

La producción de sideróforos se evaluó con el medio de cultivo agar cromoazurol sulfonato (CAS); un cambio de color azul a naranja o amarillo indicó una respuesta positiva. Para las peroxidasas, la efervescencia por liberación de oxígeno al entrar en contacto con la bacteria se consideró positiva. En las amilasas se utilizó el medio de cultivo Castañeda-almidón; se adicionó yodo al 1 % como indicador, y la formación de un halo amarillo se consideró positiva.

Las proteasas se evaluaron en el medio Luria-Bertani (LB) con leche; la hidrólisis alrededor de las colonias se consideró positiva. Para las lipasas se empleó agar triptonsoya con Tween 20 al 1 % y, para las esterasas, el mismo medio con Tween 80 al 1 %; la generación de halo alrededor de las colonias se consideró positiva. En las celulasas se utilizó el medio Rojo Congo con carboximetilcelulosa y CTAB al 1 % como indicador; la formación de halo se consideró positiva. Para las peptidasas se empleó el medio Castañeda-Pectina y CTAB al 1 % como indicador, el cual se adicionó durante 5 min; la formación de un halo blanco alrededor de la colonia se consideró positiva. Para las enzimas se midió el tamaño del halo (Th) y de la colonia (Tc), a partir de los cuales se calculó el radio de hidrólisis ($RH = Th/Tc$) (Sánchez Castelblanco et al., 2020).

Efecto de la inoculación de las cepas en cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Los ensayos con plantas se realizaron entre junio y noviembre de 2023, en condiciones semicontroladas en un invernadero. Para ello, se utilizaron los cultivos de tomate T-60 y FL-5, en macetas plásticas de un volumen de 360 cm³ en un suelo Vertisol salinizado con 8 ds/m (Hernández Jiménez et al., 2023). Los inóculos se prepararon en medio caldo nutritivo en zaranda rotativa a 120 rpm durante 24 h a una temperatura de 30 °C, hasta obtener una concentración final de 10⁸ UFC/mL para cada cepa, según la escala de McFarland (1907). Luego, se preparó una mezcla inóculo:agua en proporción 1:10 (v:v). Se emplearon seis tratamientos (cinco cepas bacterianas y un testigo absoluto), con 25 plantas por tratamiento y tres repeticiones, a los que se les determinó a los 60 días la altura de las plantas (cm), la longitud de las raíces (cm), el diámetro del tallo (cm), el número de hojas (u) y la masa seca (g).

Diseño del experimento y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado para las evaluaciones en laboratorio, con los cinco aislados seleccionados como factor de tratamiento. Se evaluaron como variables de respuesta la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos y la producción de amonio, sideróforos, compuestos indólicos y enzimas líticas. En los ensayos con plantas se empleó un diseño de bloques al azar con seis tratamientos (cinco cepas bacterianas y un testigo), veinticinco plantas por tratamiento y tres repeticiones, y se consideraron como variables de respuesta los indicadores de crecimiento vegetal y la tolerancia a la salinidad.

Se evaluó la normalidad por medio de la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianzas con las pruebas de Cochran C, Hartley y Bartlett. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y las medias se compararon mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5 % de significancia. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico STATGRAPHICS Plus versión 5.0.

Resultados

Características morfológicas de las cepas

De las cinco cepas seleccionadas de la Ciénaga de Zapata por tolerar altos niveles de NaCl (200 mM), solamente CZ1 pertenece a Soplillar y las otras cuatro cepas (CZ12, CZ13, CZ14 y CZ6) a Cayo Ramona. Se observó diversidad entre ellas en cuanto a sus características morfológicas (Figura 1; Cuadro 1). No obstante, hubo mayor predominio de las formas bacilares grampositivas con formación de colonias en medio de cultivo agar nutritivo de color blanco. Las pruebas DNAsa y coagulasa resultaron negativas en todos los casos, lo que asegura la inocuidad de las cepas para continuar los estudios.



Figura 1. Imágenes de las cinco cepas (CZ1, CZ12, CZ13, CZ14 y CZ6) procedentes de suelos salinos de la Ciénaga de Zapata, Cuba. Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG), Tepatitlán de Morelos, México. 2024.

Figure 1. Images of the five strains (CZ1, CZ12, CZ13, CZ14, and CZ6) from saline soils of the Ciénaga de Zapata, Cuba. National Center for Genetic Resources (CNRG), Tepatitlán de Morelos, Mexico. 2024.

Cuadro 1. Características morfológicas de las cinco cepas de suelos salinos procedentes de la Ciénaga de Zapata, Cuba. Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG), Tepatitlán de Morelos, México. 2024.

Table 1. Morphological characteristics of the five strains from saline soils of the Ciénaga de Zapata, Cuba. National Center for Genetic Resources (CNRG), Tepatitlán de Morelos, Mexico. 2024.

Características morfológicas	Códigos de los aislados				
	CZ1	CZ12	CZ13	CZ14	CZ6
Morfología celular	Bacilos	Bacilos cortos	Bacilos	Bacilos	Bacilos largos
Tinción de Gram	Gram +	Gram -	Gram +	Gram +	Gram -
Color de la colonia	Blanco	Amarillo	Blanco	Blanco	Grisáceo
Morfología de las colonias	Circular con bordes irregulares, convexa, seca algodónada, con gránulos y un punto en el centro.	Circular con bordes enteros, convexa y de consistencia mucosa.	Irregular con bordes irregulares, ligeramente elevada, de consistencia seca con gránulos.	Circular con bordes enteros, ligeramente elevada, de consistencia seca, con rebordes, similar a una costra.	Irregular con bordes enteros, ligeramente elevada, de consistencia mucosa.

Identificación taxonómica de los aislados

El árbol filogenético del gen 16S rRNA indicó que las cepas CZ1, CZ13 y CZ14 pertenecen al género *Bacillus*. La cepa CZ1 mostró mayor cercanía a la especie *Bacillus thuringiensis*, la cepa CZ13 a *Bacillus albus* y la cepa CZ14 a *Bacillus paramycoides*. Los aislados CZ6 y CZ12 correspondieron al género *Cupriavidus* y, en ambos casos, fueron cercanos a *Cupriavidus cavae*. Estos resultados se obtuvieron a partir de la Figura 2.

Caracterización de las cepas como promotoras del crecimiento vegetal

Las cinco cepas mostraron crecimiento en el medio de cultivo Winogradsky sin nitrógeno, lo que sugiere su capacidad para fijar el nitrógeno atmosférico. No obstante, CZ12 y CZ6 destacaron con diferencias significativas con respecto al resto. Se evaluó también la respuesta como nitrificantes en el crecimiento en el medio NFb; en este caso, sobresalió significativamente CZ13, aunque tanto esta como CZ1 manifestaron coloración azul, lo cual indica su capacidad para producir amonio. El resto de los aislados no mostraron cambios.

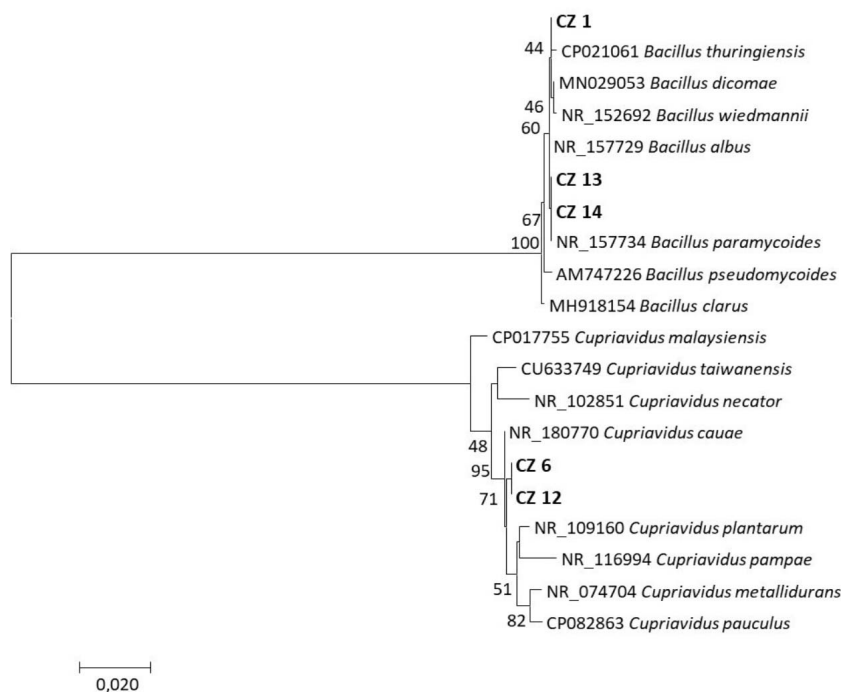


Figura 2. Árbol filogenético de las secuencias del gen 16S rRNA de las cepas CZ1, CZ6, CZ12, CZ13 y CZ14, generado con el programa MEGA 7, con el método de máxima verosimilitud y el modelo de sustitución nucleotídica de K2P. Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG), Tepatitlán de Morelos, México. 2024.

Los números indican los valores de *bootstrap* con 1000 repeticiones.

Figure 2. Phylogenetic tree of the 16S rRNA gene sequences of strains CZ1, CZ6, CZ12, CZ13, and CZ14, generated with MEGA 7 software using the maximum likelihood method and the K2P nucleotide substitution model. National Center for Genetic Resources (CNRG), Tepatitlán de Morelos, Mexico. 2024.

Numbers indicate *bootstrap* values with 1000 repetitions.

En la capacidad para solubilizar fosfatos, CZ13 destacó con diferencias significativas respecto al resto de las cepas, ya que solubilizó fosfato de calcio, aluminio y potasio, además de producir sideróforos de hierro y compuestos indólicos. La cepa CZ6 sobresalió en la producción de compuestos indólicos, solubilizó calcio y potasio, y generó sideróforos de hierro. También destacó CZ1 en la producción de sideróforos e incluso solubilizó fosfato de calcio (Cuadro 2).

En cuanto a la producción de enzimas, los resultados mostraron una gran versatilidad de las cepas (Cuadro 3). Las cepas CZ1, CZ6 y CZ14 se distinguieron por su capacidad de producir enzimas líticas, con siete enzimas detectadas en cada caso, lo que resalta sus potencialidades frente a CZ12 y CZ13. De manera individual, la cepa CZ1 sobresalió como la mayor productora de amilasas y esterases, con diferencias significativas respecto a las demás cepas.

En el caso de las proteasas, la cepa CZ13 mostró la mayor actividad, mientras que CZ12 y CZ6 destacaron como las principales productoras de lipasas. En cuanto a las esterases, las cepas CZ1, CZ14 y CZ6 presentaron los valores más altos, y para las celulasas se destacó especialmente la cepa CZ12. Respecto a la enzima peroxidasa, todas las cepas mostraron una respuesta positiva, lo que sugiere que poseen una capacidad ampliamente distribuida para su producción. Por el contrario, ninguna de las cepas evaluadas evidenció producción de peptidasas, lo que indica una limitación específica en este tipo de actividad enzimática.

Cuadro 2. Características de promoción de crecimiento de las cepas de suelos salinos procedentes de la Ciénaga de Zapata, Cuba. Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG), Tepatitlán de Morelos, México. 2024.

Table 2. Plant growth-promotion characteristics of strains from saline soils of the Ciénaga de Zapata, Cuba. National Center for Genetic Resources (CNRG), Tepatitlán de Morelos, Mexico. 2024.

Pruebas	Cepas bacterianas					
	CZ1	CZ12	CZ13	CZ14	CZ6	ESx
Fijación biológica del nitrógeno						
Winogradsky	0,31 c	0,48 a	0,34 bc	0,37 b	0,47 a	0,0115
NFb	2,93 b	0	3,07 a	0	0	0,0071
Índice de solubilización de nutrientes						
Calcio	1,74 c	2,06 b	3,24 a	1,77 c	2,07 b	0,0105
Aluminio	0	0	2,65 a	0	0	0,0089
Potasio	0	0	1,86 a	0	1,55 b	0,0049
Índice de producción de sideróforos						
Hierro	2,87 a	1,06 d	2,12 b	0	1,35 c	0,0130
Índice de producción de compuestos indólicos						
Compuestos indólicos	0	0	0,51 b	0	0,63 a	0,0033

Letras iguales no difieren significativamente entre filas (rangos múltiples de Duncan, $\alpha = 0,05$; $n = 10$). **ESx**: Error estándar / Identical letters do not differ significantly within rows (Duncan's multiple range test, $\alpha = 0.05$; $n = 10$). **ESx**: Standard error.

Cuadro 3. Producción de enzimas líticas de las cinco cepas de suelos salinos procedentes de la Ciénaga de Zapata, Cuba, en relación con su actividad como promotoras del crecimiento vegetal. Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG), Tepatitlán de Morelos, México. 2024.

Table 3. Production of lytic enzymes by the five strains from saline soils of the Ciénaga de Zapata, Cuba, related to their activity as plant growth promoters. National Center for Genetic Resources (CNRG), Tepatitlán de Morelos, Mexico. 2024.

Enzimas	Cepas bacterianas					
	CZ1	CZ12	CZ13	CZ14	CZ6	ESx
Radio de hidrólisis (RH)						
Peroxidasas	+	+	+	+	+	
Amilasas	2,81 a	0	0	1,52 b	0	0,0042
Proteasas	0	1,34 b	7,63 a	0	1,28 c	0,0090
Lipasas	1,39 d	2,24 a	1,82 b	1,74 c	2,25 a	0,0069
Esterasas	1,13 a	0	0	1,11 a	1,12 a	0,0055
Celulasas	2,16 e	8,88 a	2,86 c	2,35 d	3,94 b	0,0102
Peptidasas	0	0	0	0	0	

Letras iguales no difieren significativamente entre filas (rangos múltiples de Duncan, $\alpha = 0,05$; $n = 10$). **ESx**: Error estándar. / Identical letters do not differ significantly within rows (Duncan's multiple range test, $\alpha = 0.05$; $n = 10$). **ESx**: Standard error.

Las cinco cepas fijaron nitrógeno atmosférico y dos de ellas produjeron amonio. Todas solubilizaron fosfato de calcio, dos solubilizaron potasio y una solubilizó aluminio; cuatro produjeron sideróforos y dos produjeron compuestos indólicos. Además, todas generaron enzimas líticas.

Efecto de la inoculación de las cepas en cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Al evaluar el efecto de la inoculación de las cinco cepas en un suelo Vertisol salinizado sobre los cultivos de tomate T-60 y FL-5, se apreció que sobresalieron las cepas CZ1 y CZ6 en la altura de las plantas, el número de hojas y la masa seca, sin diferencias significativas entre ellas. Se destacó CZ6, que también mostró los mejores resultados en la longitud de las raíces, con diferencias estadísticas respecto al resto de los tratamientos en ambos cultivos (Figura 3).

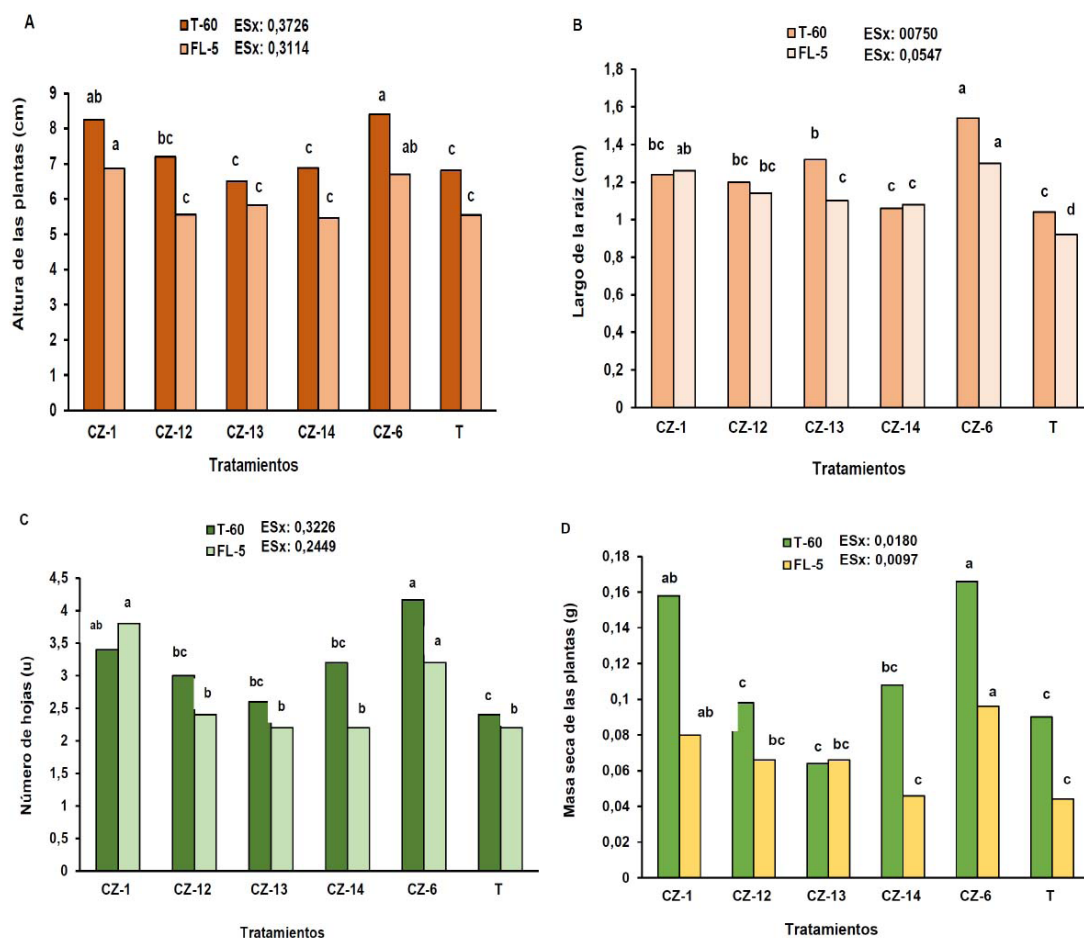


Figura 3. Efecto de la inoculación de las cinco cepas procedentes de suelos salinos de la Ciénaga de Zapata, Cuba, sobre la promoción del crecimiento de dos cultivares de tomate (T-60 y FL-5) en condiciones semicontroladas. Cuba. 2023-2024.

Letras iguales no difieren significativamente entre sí (rangos múltiples de Duncan, $\alpha = 0,05$; $n = 25$). **ESx**: Error estándar.

Figure 3. Effect of inoculation with the five strains from saline soils of the Ciénaga de Zapata, Cuba, on the growth promotion of two tomato cultivars (T-60 and FL-5) under semi-controlled conditions. Cuba. 2023-2024.

Identical letters do not differ significantly from each other (Duncan's multiple range test, $\alpha = 0.05$; $n = 25$). **ESx**: Standard error.

Discusión

Los nuevos aislados de suelos salinos procedentes de la Ciénaga de Zapata presentaron características distintivas en cuanto a su morfología, lo que denota la diversidad existente entre cepas, aspecto que se ha descrito en otros estudios (Zuluaga et al., 2020). El análisis filogenético mostró que tres de las cepas en estudio pertenecen al género *Bacillus*, resultados que coinciden con Ibarra-Villarreal et al. (2021), quienes lo ubican como un género dominante en suelos salinos. Estas características distintivas se atribuyen a su reconocida plasticidad metabólica, que le permite sobrevivir bajo condiciones ambientales adversas, así como a su facilidad para colonizar raíces de plantas y producir diversos metabolitos, aspectos que favorecen su actividad de control sobre especies patógenas.

Se ha planteado que las especies de *Bacillus* muestran alta capacidad para producir ácido indol-3-acético (IAA) y compuestos antimicrobianos, como los sideróforos y las enzimas hidrolíticas asociadas (Mahmud et al., 2021), características de su gran versatilidad y sus posibilidades de uso en diferentes ambientes (Anees et al., 2020). Estudios previos han demostrado que especies de este género, entre las que se encuentran *B. thuringiensis*, *B. albus* y *B. paramycoides*, poseen mecanismos de tolerancia a la salinidad y promueven el crecimiento vegetal en condiciones de estrés salino (Ahluwalia et al., 2021). Esta capacidad les permite colonizar con éxito la rizosfera de las plantas en suelos salinos, contribuyendo a la sostenibilidad de ecosistemas afectados por estas condiciones.

B. paramycoides, detectada en los aislados de este estudio, destaca por su habilidad para solubilizar fosfatos, una función esencial para mejorar la disponibilidad de este nutriente en suelos salinos, donde la fijación y movilidad del fósforo suelen estar limitadas (Sondang et al., 2019). Además, combinaciones de especies como *B. albus* y *B. cereus* han mostrado sinergias que favorecen el vigor de las semillas y la concentración de pigmentos en las plantas. Estas características potencian la fotosíntesis y el crecimiento vegetal en condiciones adversas (Ashry et al., 2022; Huang et al., 2020) y se relacionan con el aumento de la productividad de los cultivos.

El estudio reveló nuevas cepas con capacidad para estimular significativamente el crecimiento de cultivares de tomate. Esto coincide con la función bien documentada de este género en la promoción del crecimiento vegetal. La capacidad de *Bacillus* para disminuir el estrés hídrico (Moreno-Galván et al., 2020), así como la tolerancia a la salinidad presente en el suelo del experimento, se apreció en la efectividad observada en los cultivares en ambientes semicontrolados y ratificó que estas cepas nuevas no solo promueven el crecimiento, sino que también mejoran la resiliencia del cultivo frente a condiciones abióticas adversas, a la cual se asocia gran parte de los beneficios de la aplicación de las bacterias promotoras pertenecientes a este género (Saxena et al., 2020).

Además, se ha comprobado que *Bacillus* presenta mecanismos que favorecen el crecimiento vegetal, entre ellos la fijación de nitrógeno atmosférico mediante la producción de la nitrogenasa (Masood et al., 2020), lo que implica un mayor suministro de este elemento a la planta, favorece la fotosíntesis y, por tanto, incrementa la productividad de los cultivos. Otras especies como *B. thuringiensis* benefician el desarrollo de las raíces y la absorción de nutrientes como el manganeso (Huang et al., 2020), aspecto fundamental en el control de insectos en varios cultivos (Moreno-Galván et al., 2020). Estas y otras características evidencian su versatilidad y les confieren ventajas competitivas con respecto a otros géneros bacterianos, ya que, además, refuerzan la actividad enzimática del suelo (Kumar et al., 2021), de ahí que su empleo resulte importante.

En cuanto a *Cupriavidus*, los resultados mostraron que las nuevas cepas de este género bacteriano presentaron atributos en la promoción del crecimiento bajo condiciones de estrés salino. *Cupriavidus* se asocia a géneros conocidos por su efectividad en la simbiosis y adaptabilidad (Chevallereau et al., 2022), debido a su capacidad de interacción planta-microorganismo, promoviendo un ambiente microbiano competitivo y benéfico para ambos miembros de la asociación. Entre las funciones destacadas de este género se incluyen la fijación de nitrógeno (Tang & Capela, 2020), la solubilización de fosfatos (Linda et al., 2025) y la resistencia a metales pesados como cobre y cadmio (Abd El-Daim et al., 2019; Shamim & Rehman, 2013), lo cual favorece la nutrición y tolerancia del tomate.

En el estudio con los cultivares de tomate se demostró la efectividad de la aplicación de nuevas cepas de *Cupriavidus*, lo cual sugiere la validez de su empleo en cultivos sometidos a condiciones de estrés salino. Esto se alinea con estudios previos que reportan la eficacia de este género en otros sistemas como semihidropónicos y cultivos protegidos (Cervantes-Vázquez et al., 2021; Zulueta-Rodríguez et al., 2020). Los hallazgos descritos en la literatura respaldan la funcionalidad y las adaptaciones observadas en las nuevas cepas, como indicativo no solo de su capacidad de sobrevivir en ambientes con alta salinidad, sino también de que pueden desempeñar roles significativos en sistemas agrícolas afectados por este tipo de estrés. Ambos géneros identificados en el estudio permiten el diseño de nuevos consorcios bacterianos que se potencien mutuamente para el beneficio de los cultivos.

Conclusiones

Las cinco bacterias halotolerantes aisladas de suelos de la Ciénaga de Zapata pertenecen a los géneros *Bacillus* y *Cupriavidus*. Todas mostraron características promotoras del crecimiento vegetal, aunque sobresalieron las cepas CZ1 y CZ6 en la estimulación de los dos cultivares de tomate estudiados. Estos resultados indican que los aislados poseen atributos funcionales clave para su uso como inoculantes microbianos en ambientes salinos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Abd El-Daim, I. A., Bejai, S., & Meijer, J. (2019). *Bacillus velezensis* 5113 induced metabolic and molecular reprogramming during abiotic stress tolerance in wheat. *Scientific Reports*, 9(1), Artículo 16282. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52567-x>
- Ahluwalia, O., Singh, P. C., & Bhatia, R. (2021). A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria. *Resources, Environment and Sustainability*, 5(16), Artículo 100032. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2021.100032>
- Anees, M., Qayyum, A., Jamil, M., Rehman, F. U., Abid, M., Malik, M. S., Yunas, M., & Ullah, K. (2020). Role of halotolerant and chitinolytic bacteria in phytoremediation of saline soil using spinach plant. *International Journal of Phytoremediation*, 22(6), 653-661. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1707160>
- Ashry, N. M., Alaidaroos, B. A., Mohamed, S. A., Badr, O. A. M., El-Saadony, M. T., & Esmael, A. (2022). Utilization of drought-tolerant bacterial strains isolated from harsh soils as a plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1760-1769. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.054>
- Baldani, J. I., Reis, V. M., Videira, S. S., Boddey, L. H., & Baldani, V. L. D. (2014). The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: A practical guide for microbiologists. *Plant and Soil*, 384, 413-431. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2186-6>
- Bautista, V. V., Barcellano, E. V., Monsalud, R. G., & Yokota, A. (2017). Isolation and identification of bacteria from root nodules of Philippine legumes using 16S rRNA gene sequencing. *The Philippine Agricultural Scientist*, 100(1), 103-117. <https://pas.uplb.edu.ph/journal-issues/isolation-and-identification-of-bacteria-from-root-nodules-of-philippine-legumes-using-16s-rna-gene-sequencing/>.

- Cervantes-Vázquez, T. J. A., Valenzuela-García, A. A., Cervantes-Vázquez M. G., Guzmán-Silos, T. L., Fortiz, E. L., Rangel, P. P., & Rueda-Puente, E. O. (2021). Morphophysiological, enzymatic, and elemental activity in greenhouse tomato Saladette seedlings from the effect of plant growth-promoting rhizobacteria. *Agronomy*, 11(5), Artículo 1008. <https://doi.org/10.3390/agronomy11051008>
- Chevallereau, A., Pons, B. J., Van Houte, S., & Westra, E. R. (2022). Interactions between bacterial and phage communities in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*, 20, 49-62. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00602-y>
- Cuadrado, L., & Molina, A. (2005). Caracterización de los suelos de la Ciénaga de Zapata, Cuba: contribución a la clasificación de los Histosoles. *Revista Mapping*, 104, 12-19. <https://ojs.revistamapping.com/MAPPING/issue/view/113>
- Elbeltagy, A., Nishioka, K., Sato, T., Suzuki, H., Ye, B., Hamada, T., Isawa, T., Mitsui, H., & Minamisawa, K. (2001). Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(11), 5285-5293. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.11.5285-5293.2001>
- Guerra-Camacho, M. Á., Magaña-Tzuc, M. C., Vargas-Díaz, A. A., Silva-Rojas, H. V., & Gamboa-Angulo, M. (2024). Identificación y actividad antifúngica de bacterias halófilas aisladas de suelos salinos en Campeche, México. *Revista Argentina de Microbiología*, 56(3), 289-311. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2024.02.004>
- Hernández Jiménez, A., López Pérez, D., & Morales Díaz, M. (2023). Métodos de análisis para calcular el contenido de sales de los suelos de Cuba. *Agrotecnia de Cuba*, 47(1), 93-97. <https://agrotecnia.edicionescervantes.com/index.php/agrotecnia/article/view/1913>
- Huang, H., Zhao, Y., Fan, L., Jin, Q., Yang, G., & Xu, Z. (2020). Corrigendum to “Enhancement of heavy metal (Mn) phytoremediation by *Broussonetia papyrifera* with two *Bacillus* spp. species” [*Chemosphere* 260 (2020) 127614]. *Chemosphere*, 261, Artículo 128540. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128540>
- Ibarra-Villarreal, A. L., Gándara-Ledezma, A., Godoy-Flores, A. D., Herrera-Sepúlveda, A., Díaz-Rodríguez, A. M., Parra-Cota, F. I., & De los Santos-Villalobos, S. (2021). Salt-tolerant *Bacillus* species as a promising strategy to mitigate the salinity stress in wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*). *Journal of Arid Environments*, 186, Artículo 104399. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104399>
- Ju, W., Jin, X., Liu, L., Shen, G., Zhao, W., Duan, C., & Fang, L. (2020). Rhizobacteria inoculation benefits nutrient availability for phytostabilization in copper contaminated soil: drivers from bacterial community structures in rhizosphere. *Applied Soil Ecology*, 150, 103450. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103450>
- Kumar, A., Singh, S., Mukherjee, A., Rastogi, R. P., & Verma, J. P. (2021). Salt-tolerant plant growth-promoting *Bacillus pumilus* strain JPV511 to enhance plant growth attributes of rice and improve soil health under salinity stress. *Microbiological Research*, 242, Artículo 126616. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126616>
- Linda, T. M., Rahmani, S. S., Wati, A. S., Febriarti, B. L., Futra, D., Olivia, M., & Juliantari, E. (2025). The ureolytic soil bacteria *Bacillus albus*, a potential agent for biocement. *HAYATI Journal of Biosciences*, 32(3), 829-839. <https://doi.org/10.4308/hjb.32.3.829-839>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2019). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson.
- Mahmud, A. A., Upadhyay, S. K., Srivastava, A. K., & Bhojiya, A. A. (2021). Biofertilizers: a nexus between soil fertility and crop productivity under abiotic stress. *Current Research in Environmental Sustainability*, 3, Artículo 100063. <https://doi.org/10.1016/j.crsust.2021.100063>

- Masood, S., Zhao, X. Q., & Shen, R. F. (2020). *Bacillus pumilus* promotes the growth and nitrogen uptake of tomato plants under nitrogen fertilization. *Scientia Horticulturae*, 272, Artículo 109581. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109581>
- McFarland, J. (1907). The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*, 49(14), 1176-1178. <https://doi.org/10.1001/jama.1907.25320140022001f>
- Montenegro Gómez, S. P., Pulido, S. Y., & Calderón Vallejo, L. F. (2020). *Prácticas de biorremediación en suelos y aguas*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
- Moreno-Galván, A., Romero-Perdomo, F. A., Estrada-Bonilla, G., Meneses, C. H. S. G., & Bonilla, R. R. (2020). Dry-Caribbean *Bacillus* spp. strains ameliorate drought stress in maize by a strain-specific antioxidant response modulation. *Microorganisms*, 8(6), Artículo 823. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060823>
- Moya, B. V., Alfonso Martínez, A., Gutiérrez Padrón, M., Gómez Campos, N., & García Hernández, M. (2005). Análisis preliminar de cambio climático en la Ciénaga de Zapata. *Investigaciones Geográficas*, (38), 135-142. <https://doi.org/10.14198/INGEO2005.38.08>
- Ortega García, M., Hernández Jiménez, A., Nápoles García, M. C., Morales Díaz, M., Guzmán Proenza, O., Socorro García, A., & Ríos Rocafull, Y. (2024). Estudio de la población bacteriana de agroecosistemas salinos de la Ciénaga de Zapata. *Agrotecnia de Cuba*, 48, 1-7. <https://agrotecnia.edicionescervantes.com/index.php/agrotecnia/article/view/794>
- Oviedo Prieto, R. (2013). *Diversidad vegetal del humedal Ciénaga de Zapata, Matanzas, Cuba* [Tesis doctoral, Universidad de Alicante]. Repositorio de la Universidad de Alicante. <https://hdl.handle.net/10045/36078>
- Planos, E., Guevara, A. V., & Rivero, R. (2013). *Cambio climático en Cuba: vulnerabilidad, impacto y adaptación y medidas de adaptación*. Editorial Agencia de Medio Ambiente.
- Rodríguez-Martínez, C., & Zhurbenko, R. (2018). *Manual Biocen de medios de cultivo* (4.^a ed.). Centro Nacional de Biopreparados.
- Rosabal Ayan, L., Macías Coutiño, P., Maza González, M., López Vásquez, R., & Guevara Hernández, F. (2021). Microorganismos del suelo y sus usos potenciales en la agricultura frente al escenario del cambio climático. *Magna Scientia UCEVA*, 1(1), 104-117. <https://doi.org/10.54502/msuceva.v1n1a14>
- Sánchez Castelblanco, E. M., Heredia Martín, J. P., Buitrago Morales, S. M., & Medina Rodríguez, J. P. (2020). Aislamiento e identificación de microorganismos potencialmente amilolíticos y celulolíticos de suelos de humedales de Bogotá. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 22(1), 36-44. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v22n1.71278>
- Santillán, V., Quitián, M., Tinoco, B. A., Zárate, E., Schleuning, M., Böhning-Gaese, K., & Neuschulz, E. L. (2020). Direct and indirect effects of elevation, climate and vegetation structure on bird communities on a tropical mountain. *Acta Oecologica*, 102, Artículo 103500. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2019.103500>
- Saxena, A. K., Kumar, M., Chakdar, H., Anuroopa, N., & Bagyaraj, D. J. (2020). *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Journal of Applied Microbiology*, 128(6), 1583-1594. <https://doi.org/10.1111/jam.14506>
- Shamim, S., & Rehman, A. (2013). Antioxidative enzyme profiling and biosorption ability of *Cupriavidus metallidurans* CH34 and *Pseudomonas putida* mt2 under cadmium stress. *Journal of Basic Microbiology*, 55(3), 374-381. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300038>

- Shekhar Nautiyal, C. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganism. *FEMS Microbiology Letters*, 170(1), 265-270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Sondang, Y., Anty, K., & Siregar, R. (2019). Identification of endophytic and rhizosphere bacteria in maize (*Zea mays* L.) in Limapuluh Kota Region, West Sumatra, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 347, Artículo 012002. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/347/1/012002>
- Sugumaran, B., & Janarthanam, B. S. (2007). Solubilization of potassium-containing minerals by bacteria and their effect on plant growth. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(3), 350-355.
- Tang, M., & Capela, D. (2020). Rhizobium diversity in the light of evolution. En P. Frendo, F. Frugier, & C. Masson-Boivin (Eds.), *Advances in botanical research* (Vol. 94, pp. 251-288). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.09.006>
- Torres-Arias, Y., Ortega-Fors, R., González González, S., & Furrázola Gómez, E. (2015). Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares (*Glomeromycota*) en bosques semicaducifolios de la Ciénaga de Zapata, Cuba. *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 36, 195-200. <https://revistas.uh.cu/rjbn/article/view/7082>
- Villalba-Martínez, C. J., & Encina-Rojas, A. (2024). El muestreo para análisis químicos de suelos en condiciones sub tropicales. *Revista Arandu Poty*, 3(2), 10-17. <https://divulgacioncientifica.unca.edu.py/index.php/AranduPoty/article/view/134>
- Wilson, K. (2001). Preparation of genomic DNA from bacteria. En F. M. Ausubel, R. Brent, R. E. Kingston, D. D. Moore, J. G. Seidman, J. A. Smith, y K. Struhl (Eds.), *Current Protocols in Molecular Biology* (pp. 2.4.1-2.4.5). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0204s56>
- Zuluaga, M. Y. A., Lima Milani, K. M., Azeredo Gonçalves, L. S., & Martinez de Oliveira, A. L. (2020). Diversity and plant growth-promoting functions of diazotrophic/N-scavenging bacteria isolated from the soils and rhizospheres of two species of *Solanum*. *PLoS ONE*, 15(1), Artículo e0227422. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227422>
- Zulueta-Rodríguez, R., Hernández-Montiel, L. G., Reyes-Pérez, J. J., González-Morales, G. Y., & Lara-Capistrán, L. (2020). Effects of co-inoculation of *Bacillus subtilis* and *Rhizoglossus intraradices* in tomato production (*Solanum lycopersicum* L.) in a semi-hydroponic system. *Revista Bio Ciencias*, 7, Artículo e671. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e671>