



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**EXTREMÓFILOS EN AMBIENTES ANTROPIZADOS:
AISLAMIENTO DE BACTERIAS HALOTOLERANTES A
PARTIR DE SAL DOMÉSTICA**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

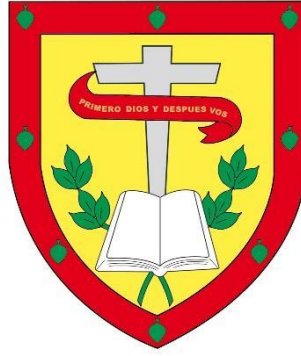
**AUTORAS: ANDREA SILVANA GÓMEZ MINCHALO
NICOLE MICHELLE MORALES ULLOA**

DIRECTOR: LIC. LUIS ANDRÉS YARZÁBAL RODRÍGUEZ, PhD.

CUENCA- ECUADOR

2025

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXTREMÓFILOS EN AMBIENTES ANTROPIZADOS:
AISLAMIENTO DE BACTERIAS HALOTOLERANTES A PARTIR DE
SAL DOMÉSTICA

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORAS: ANDREA SILVANA GÓMEZ MINCHALO

NICOLE MICHELLE MORALES ULLOA

DIRECTOR: LIC. LUIS ANDRÉS YARZÁBAL RODRÍGUEZ, PhD.

CUENCA- ECUADOR

2025

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Andrea Silvana Gómez Minchalo y Nicole Michelle Morales Ulloa portadoras de la cédula de ciudadanía N° **0150625424** y **0605446863**. Declaro ser el autor de la obra: **“Extremófilos en ambientes antropizados: Aislamiento de bacterias halotolerantes a partir de sal doméstica”**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **1 de mayo de 2025**

F: 

Andrea Silvana Gómez Minchalo

C.I.0150625424

F: 

Nicole Michelle Morales Ulloa

C.I. 0605446863

Certificación del Tutor

Lic. Luis Andrés Yarzabal Rodríguez, PhD.
**DOCENTE DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR.
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **“Extremófilos en ambientes antropizados: Aislamiento de bacterias halotolerantes a partir de sal doméstica”**, realizado por **ANDREA SILVANA GÓMEZ MINCHALO**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, Abril 2025



.....
Lic. Luis Andrés Yarzabal Rodríguez, PhD.

C.I.: 0151710431

Certificación del Tutor

Lic. Luis Andrés Yarzabal Rodríguez, PhD.
**DOCENTE DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR.
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**
De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado **“Extremófilos en ambientes antropizados: Aislamiento de bacterias halotolerantes a partir de sal doméstica”**, realizado por **MORALES ULLOA NICOLE MICHELLE**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que está expedito para su sustentación.

Cuenca, Abril 2025



.....
Lic. Luis Andrés Yarzabal Rodríguez, PhD.

C.I.: 0151710431

DEDICATORIA

A nuestras familias, cuyo amor, sacrificio y guía han sido la base sobre la que construimos nuestros sueños. Su apoyo incondicional nos ha impulsado a seguir adelante con determinación y valentía.

A nuestros profesores, quienes con su conocimiento, paciencia y compromiso han iluminado nuestro camino académico, brindándonos las herramientas para crecer tanto profesional como personalmente.

A los futuros lectores de este trabajo, que sea una fuente de inspiración y aprendizaje, un recordatorio de que el esfuerzo y la dedicación pueden convertir los sueños en realidad y que el conocimiento, cuando se comparte, tiene el poder de transformar vidas.

AGRADECIMIENTOS

Primero, agradezco a Dios por brindarme la oportunidad de cumplir uno de mis grandes sueños y estudiar esta carrera. Sin su guía y fortaleza, este camino no habría sido posible.

A mis pilares fundamentales, mis padres y mi hermana quienes con su amor, apoyo incondicional y sacrificio hicieron posible que hoy alcance esta meta. Su esfuerzo, dedicación y fe en mí han sido mi mayor inspiración para seguir adelante, incluso en los momentos más difíciles. Gracias por enseñarme el valor del trabajo, la perseverancia y la humildad, principios que guiarán mi vida profesional y personal. A Juan, por su constante motivación y por estar siempre a mi lado en cada paso de este camino, su compañía, amor y aliento inquebrantable me dieron la fuerza para seguir adelante en los momentos difíciles y la alegría para disfrutar cada logro. Gracias por estar siempre ahí, por escucharme, motivarme y recordarme que cada esfuerzo vale la pena.

A mis tutores, personas excelentes quienes con su confianza, dedicación y paciencia me brindaron su tiempo y apoyo, contribuyendo significativamente a mi formación académica siendo un pilar fundamental para el desarrollo de este proyecto debido al gran conocimiento que tienen en esta área. Gracias por tratarme siempre con cariño y por ampliar mis conocimientos para mi vida profesional y personal.

A mi amiga y compañera de tesis, Michelle, con quien compartí este proceso académico y con quien logramos cumplir una meta importante en nuestra vida. Agradezco su apoyo incondicional, su compañía y las innumerables risas y momentos inolvidables que vivimos juntas.

Finalmente, a mi grupo de amigas, quienes con su amistad, consejos y enseñanzas han dejado en mi corazón los mejores recuerdos de mi vida universitaria. Siempre las llevaré conmigo con un recuerdo de cada una de ellas.

Andrea Gómez Minchalo

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero dar gracias a Dios por haberme permitido culminar esta etapa de mi vida profesional. También deseo expresar mi más profundo agradecimiento a mis padres por su amor incondicional y apoyo constante. Su guía y consejos han sido pilares fundamentales en mi vida. Gracias por confiar en mí siempre; su fe en mí ha sido un apoyo invaluable. Igualmente, extendiendo mi sincera gratitud a mis hermanos, cuyo apoyo y cariño han sido esenciales en este camino para alcanzar este logro.

A mi amado Justin, por estar siempre a mi lado y brindarme su apoyo incondicional. Su amor, su motivación constante y la alegría que me trasmite han sido el impulso que me ha llevado adelante. Gracias por sostenerme en los momentos difíciles y por llenarme de ánimo cuando más lo necesitaba.

A mis tutores de tesis Dr. Andrés Yarzábal y Mgs. Lenys Buela, sus nombres quedarán grabados en mi corazón para siempre. Gracias por ser mucho más que maestros, por ser mentores. Su apoyo en la elaboración de nuestra tesis ha sido invaluable, su paciencia infinita, su sabiduría desbordante. Gracias por creer en nosotras, por impulsarnos a dar lo mejor de nosotros mismos, por ayudarnos a convertir este sueño en realidad.

A mi querida compañera de tesis, Andrea, cuyo apoyo y ayuda fueron fundamentales en la realización de este proyecto. Juntas aprendimos y crecimos, alcanzando la meta de finalizar esta etapa de nuestra carrera. Agradezco las experiencias y anécdotas compartidas que hicieron de este camino un recuerdo inolvidable. Gracias por ser parte de este sueño.

Nicole Morales Ulloa

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

Extremófilos en ambientes antropizados: Aislamientos de bacterias halotolerantes a partir de sal doméstica

Gómez Minchalo Andrea Silvana, Morales Ulloa Nicole Michelle

Palabras clave: *Bacterias halotolerantes, biotecnología, espacios antropizados, extremófilos, sal doméstica.*

RESUMEN

Introducción: Los ambientes salinos albergan microorganismos extremófilos, especialmente bacterias halófilas y halotolerantes con potencial biotecnológico, gracias a sus enzimas y metabolitos. Para aislarlas se puede usar productos que provengan de esos ambientes, como la sal doméstica sin procesar.

Objetivo: Detectar la presencia de microorganismos viables y cultivables en muestras de sales domésticas disponibles en espacios antropizados (supermercados).

Metodología: Se aislaron bacterias a partir de muestras de sal doméstica utilizando Agar Sabouraud Dextrosa y Agar Nutritivo suplementado con NaCl. Los aislados se caracterizaron morfológicamente y se evaluó su halotolerancia. La identificación molecular se realizó mediante secuenciación del gen 16S rRNA y posterior análisis bioinformático.

Resultados: Se detectaron microorganismos halotolerantes en muestras de Flor de Sal y Sal ahumada, con mayor diversidad en la primera (13 morfotipos) frente a la segunda (4 morfotipos). Se purificaron 17 aislados, seleccionándose 11 para estudios posteriores. La mayoría resultó ser bacilos Gram negativos, también se detectaron levaduras y cocos. Todos los aislados presentaron tolerancia a concentraciones de NaCl entre 0,5% y 10,5% (p/v), pero ninguno creció a 20,5%. El análisis bioinformático permitió identificar cepas relacionadas con las especies *Priestia flexa*, *Bacillus boroniphilus*, *Bacillus aquimaris*, *Cytobacillus pseudoceanisediminis*, *Mesobacillus maritimus*, *Aureimonas altamirensis*, *Pantoea eucrina* y *Kocuria rhizophila*.

Conclusión: Se identificaron ocho aislados halotolerantes, destacando su capacidad de crecimiento en diferentes concentraciones de NaCl. Algunas cepas presentaron potencial biotecnológico, como la producción de exopolisacáridos abundantes. Estos hallazgos resaltan la presencia de una diversidad microbiana importante en sales domésticas y su relevancia para aplicaciones biotecnológicas.

ACADEMIC DEPARTMENT OF HEALTH AND WELLNESS**BIOCHEMISTRY AND PHARMACY PROGRAM****Extremophiles in Anthropized Environments: Isolation of Halotolerant Bacteria from Table Salt.**

Gómez Minchalo Andrea Silvana, Morales Ulloa Nicole Michelle

Keywords: *Halotolerant bacteria, biotechnology, anthropized spaces, extremophiles, table salt.*

ABSTRACT

Introduction: Saline environments are home to extremophilic microorganisms, especially halophilic and halotolerant bacteria with biotechnological potential, thanks to their enzymes and metabolites. To isolate them, products from these environments can be used, such as unprocessed table salt.

Objective: To detect the presence of viable and culturable microorganisms in table salt samples available in anthropized spaces (supermarkets).

Methodology: Bacteria were isolated from table salt samples using Sabouraud Dextrose Agar and Nutrient Agar supplemented with NaCl. The isolates were morphologically characterized, and their halotolerance was evaluated. Molecular identification was performed by sequencing the 16S rRNA gene and conducting subsequent bioinformatic analysis.

Results: Halotolerant microorganisms were detected in samples of *Flor de Sal* and smoked salt, with greater diversity observed in the former (13 morphotypes) compared to the latter (4 morphotypes). Seventeen isolates were purified, with 11 selected for further studies. The majority were Gram-negative bacilli, and yeasts and cocci were also detected. All isolates exhibited tolerance to NaCl concentrations ranging from 0.5% to 10.5% (w/v), but none grew at 20.5%. Bioinformatic analysis identified strains related to the species *Priestia flexa*, *Bacillus boroniphilus*, *Bacillus aquimaris*, *Cytobacillus pseudoceanisediminis*, *Mesobacillus maritimus*, *Aureimonas altamirensis*, *Pantoea eucrina*, and *Kocuria rhizophila*.

Conclusion: Eight halotolerant isolates were identified, showcasing their ability to thrive at varying NaCl concentrations. Some strains exhibited biotechnological potential, such as the production of substantial exopolysaccharides. These findings emphasize the presence of significant microbial diversity in table salt and its relevance for biotechnological applications.

ÍNDICE

DEDICATORIA	1
AGRADECIMIENTOS	2
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO TEÓRICO	10
I.1.- Definición de la problemática	11
I.2.- Justificación	11
I.2.1.- Pregunta de investigación:	12
I.2.2.- Hipótesis:	13
I.3.-Objetivos	13
I.4.- Marco teórico.....	13
I.4.1.- Antecedentes	13
I.4.2.- Marco referencial	16
4.2.1 Microbiología de ambientes extremos	16
4.2.2 Ambientes extremos.....	16
4.2.4.- Aplicaciones biotecnológicas de microorganismos extremófilos	22
2.4.5 Ejemplos en los diferentes campos	25
4.1.6.- Ambientes antropizados	27
4.1.7.-Sal.....	27
CAPÍTULO II METODOLOGÍA	29
II.1.- Diseño de investigación	30
II.2.- Población y muestra	30
II.2.1 Universo y población	30
II.2.2 Muestreo y muestra.....	30
II.3.-Definición y clasificación de las variables	30
II.4.-Procedimientos y técnicas e instrumentos para el procesamiento de datos.....	32
Obtención de muestras	32
Preparación de medios de cultivo y siembra	32
Caracterización macroscópica	33
Caracterización microscópica.....	33
Conservación de aislados puros de bacterias	33

Crecimiento de bacterias a diferente concentración de sal.....	33
Extracción de ADN genómico.....	34
Amplificación de PCR.....	34
Electroforesis de ADN en geles de agarosa	34
Secuenciación y análisis de secuencias con BLAST	34
II.4.1.- Procedimientos estadísticos y análisis de datos	35
II.5.- Aspectos éticos	35
CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
III.1 Resultados	37
1.Descripción de la selección de la toma de muestra	37
2. Descripción de los aislamientos primarios de microorganismos	37
4. Selección de aislados para caracterización.....	39
5. Halotolerancia	41
5. Amplificación del gen ADNr 16S por PCR	43
6. Secuenciación de amplicones 16S ADNr y análisis de secuencias	44
III.2 Discusión.....	46
CAPÍTULO IV CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
IV.1.- Conclusiones.....	51
IV.2.- Recomendaciones.....	52
BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXOS.....	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación y ejemplos de los extremófilos	19
Tabla 2. Clasificación de microorganismos halófilos	23
Tabla 3. Clasificación de enzimas producidas por microorganismos extremófilos y sus aplicaciones	25
Tabla 4. Características morfológicas y celulares de los aislados seleccionados, inoculados en Agar Nutritivo enriquecido con NaCl e incubados a 30°C.	41
Tabla 5. Capacidad halotolerante de aislados puros	44
Tabla 6. Resultados de la identificación molecular de los aislados mediante empleo del algoritmo BLASTN	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Muestras de sal empleadas en este estudio para el aislamiento de microorganismos.	39
Figura 2. Aspecto de las colonias microbianas que crecieron en Agar Nutritivo inoculado con Flor de Sal (A) y Sal ahumada (B)	40
Figura 3. Aislados cultivados en Agar Nutritivo enriquecido con NaCl	40
Figura 4: características macroscópicas de las colonias	42
Figura 5: Características microscópicas de las colonias aisladas.	43
Figura 6. Biomasa de los aislados a diferentes concentraciones de sal.	45
Figura 7: Amplificación por PCR utilizando el fragmento del gen 16S, y posterior electroforesis en gel de agarosa	46

INTRODUCCIÓN

La sal doméstica es un aditivo alimentario ampliamente utilizado tanto en el hogar como en la industria, donde cumple funciones esenciales como sazonador y conservante en la preparación de alimentos, además que mejora la textura, realza el sabor y mejora la estabilidad. Antiguamente antes del desarrollo de la técnica de refrigeración y congelación, se empleaba la sal para preservar alimentos perecederos como carnes, pescados y otros productos(1).

La sal es el hábitat natural de microorganismos extremófilos especialmente halófilos o halotolerantes (1). Estos microorganismos han desarrollado mecanismos adaptativos que les permite existir en condiciones específicas de salinidad para su crecimiento(2). La presencia de estos microorganismos en la sal doméstica ha despertado un gran interés en la microbiología por sus características bioquímicas únicas con aplicaciones potenciales en biotecnología, industria alimentaria y farmacéutica (3).

Los microorganismos halófilos pueden participar en ciertos procesos de fermentación y maduración de algunos alimentos. como la salsa de soja japonesa y quesos maduros Por ejemplo, en la producción de la salsa de soja japonesa, especies halófilas como *Tetragenococcus halophilus* Contribuyen a la fermentación de la pasta de soja generando compuestos aromáticos que enriquecen su sabor (4). De manera similar, en la maduración de algunos quesos, bacterias y hongos halotolerantes participan en el desarrollo de su perfil organoléptico, influenciando el aroma, la textura y el sabor final del producto (5).

El estudio de estos microorganismos no sólo es relevante para la industria alimentaria, sino que también tiene aplicaciones en biotecnología, biomedicina y biorremediación. Las enzimas y metabolitos producidos por microorganismos halófilos presentan un gran potencial para la fabricación de compuestos bioactivos, la producción de enzimas resistentes a condiciones extremas y la eliminación de contaminantes en ambientes salinos. Por ello, el análisis de los microorganismos halófilos presentes en la sal doméstica es un campo de gran interés científico con amplias perspectivas en aplicaciones biotecnológicas (3).

CAPÍTULO I
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.

I.1.- Definición de la problemática

Aunque no nos percatamos de ello, los seres humanos estamos en constante contacto con microorganismos extremófilos presentes en ambientes antropizados, como los productos disponibles en los supermercados. Por ejemplo, en alimentos con altas concentraciones de sal, como la sal de mesa, quesos o ciertas salsas, se encuentran microorganismos halófilos o halotolerantes, capaces de sobrevivir en concentraciones salinas que van del 5% al 30%, y con un crecimiento óptimo entre 10% y 15% de NaCl. De manera similar, los equipos de refrigeración y congelación utilizados para conservar productos permiten la supervivencia y multiplicación de bacterias psicrófilas, capaces de desarrollarse activamente a temperaturas bajas, entre -5°C y 5°C. (6–9) .

Como resultado, estos ambientes creados por la actividad humana albergan una diversidad microbiana extrema que, lejos de ser un simple hallazgo, representa un valioso recurso biotecnológico. Estos extremófilos podrían tener aplicaciones en distintas áreas industriales, desde la producción de compuestos bioactivos hasta procesos de biorremediación, aprovechando sus capacidades únicas de resistencia y adaptación (8,10,11). A nivel mundial, los estudios que han identificado bacterias en diferentes productos de supermercados son muy escasos. Esto significa que gran parte de esta biodiversidad extremófila de ambientes antropizados ha sido muy poco explorada. De allí que sea muy conveniente y necesario impulsar su estudio.

I.2.- Justificación

• Novedad científica

Esta investigación busca aportar al desarrollo del conocimiento científico en el campo de la microbiología de ambientes extremos. Se centra en microorganismos con características particulares que los convierten en recursos valiosos para posibles aplicaciones biotecnológicas, especialmente por los productos derivados de su metabolismo, los cuales poseen un alto potencial para la creación de productos innovadores.

Con esta investigación, se busca ampliar nuestro conocimiento sobre la presencia de microorganismos extremófilos en entornos antropizados, específicamente en alimentos comercializados en supermercados. El análisis de la diversidad microbiana en productos con alta salinidad permitirá obtener información clave sobre la capacidad de adaptación

de estos organismos a ambientes urbanos y comerciales, abriendo nuevas oportunidades para su aprovechamiento biotecnológico.

- **Aporte científico: teórico, metodológico y práctico.**

La información generada no solo aportará al conocimiento de la ecología microbiana en entornos específicos, sino que también podría tener aplicaciones prácticas. Asimismo, la identificación de microorganismos extremófilos con potencial biotecnológico abrirá nuevas oportunidades para futuras investigaciones, orientadas a su aplicación industrial, la producción de agentes bioactivos y otros procesos de interés en biotecnología y microbiología.

- **Beneficios**

Los beneficiarios directos en la realización de esta investigación somos los estudiantes de Bioquímica y Farmacia, puesto que tendrán al alcance mayor información sobre la diversidad de microorganismos presentes en ambientes extremos antropizados de supermercados para la realización de nuestro trabajo de tesis y culminar nuestros estudios universitarios.

Otros beneficiarios potenciales serían los consumidores y usuarios, quienes podrán conocer qué tipos de microorganismos extremófilos con potencial biotecnológico se encuentran en los productos que utilizan o consumen. Esta información no solo genera mayor conciencia sobre la biodiversidad microbiana presente en entornos antropizados, sino que también abre oportunidades para aprovechar estos microorganismos en diversos procesos industriales. Entre las aplicaciones más relevantes se incluyen la producción de compuestos bioactivos, como enzimas, pigmentos y antioxidantes, así como su participación en procesos de biorremediación y tratamiento de residuos, contribuyendo a soluciones más sostenibles y eficientes en la industria alimentaria, farmacéutica y ambiental.

I.2.1.- Pregunta de investigación:

¿Cuáles son las especies de microorganismos halófilos y halotolerantes presentes en ambientes antropizados, específicamente en sal de mesa comercializada en supermercados, y cuál es su potencial aplicación en el desarrollo de productos y procesos biotecnológicos?

I.2.2.- Hipótesis:

Los productos disponibles en ambientes extremos dentro de espacios antropizados, como los supermercados, se caracterizan por estar colonizados por microorganismos extremófilos viables y cultivables.

I.3.-Objetivos

I.3.1.-Objetivo General

- Detectar la presencia de microorganismos viables y cultivables en muestras de sales domésticas disponibles en supermercados.

I.3.2.-Objetivo Específicos

- Aislar microorganismos halotolerantes a partir de muestras de sal disponibles en supermercados de la Ciudad de Cuenca, que provengan de distintos lugares de origen y con poco proceso de refinamiento.
- Caracterizar los microorganismos aislados mediante métodos microbiológicos convencionales, para determinar sus características fenotípicas más notables.
- Identificar mediante técnicas moleculares las especies a las cuales pertenecen los microorganismos extremófilos aislados.

I.4.- Marco teórico

I.4.1.- Antecedentes

La mayoría de los ambientes antropizados, es decir, aquellos modificados por la intervención humana, se caracterizan por incluir espacios cuyas condiciones están adaptadas a las necesidades de conservación de distintos productos. En el caso específico de los supermercados, estos espacios deben garantizar la conservación de los productos evitando la proliferación de microorganismos (8,12). Los electrodomésticos y dispositivos contienen un microbioma propio, que puede ser diferente al microbioma humano o ambiental. Estos objetos actúan como nichos microbianos, influenciados por factores bióticos y abióticos, y pueden albergar tanto microorganismos asociados a humanos como ambientales (13).

Los microorganismos desempeñan un papel esencial en la producción de alimentos procesados debido al proceso de deterioro que provocan. Aunque las bajas temperaturas son eficaces para frenar las bacterias que causan daño en los alimentos, las bacterias resistentes al frío continúan representando una amenaza.

En un estudio llevado a cabo por Mageswari y sus colaboradores, en la localidad de Vellero (India), se identificaron bacterias resistentes al frío en productos alimenticios refrigerados e instalaciones utilizadas para la conservación de diversos alimentos en cadena de frío (14). En dicho trabajo, se aislaron 10 cepas de bacterias psicrotolerantes, incluyendo 5 bacilos Gram negativos, 2 bacilos Gram positivos y 3 cocos Gram positivos. Estas cepas se investigaron para evaluar su potencial en el antagonismo (control biológico) de bacterias patógenas transmitidas por alimentos refrigerados. Los resultados obtenidos mostraron una actividad antibacteriana máxima de las bacterias psicrófilos contra *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Vibrio fischeri*, *Eenterobacter aerogenes* y *Listeria monocytogenes* (14). Desde tiempos inmemoriales, la sal se ha utilizado en la conservación de alimentos por su capacidad de reducir la actividad de agua de los alimentos, disminuir la solubilidad del oxígeno. e inhibir la actividad de ciertas enzimas. Sin embargo, existen microorganismos capaces de proliferar en los ambientes salinos: estas bacterias se denominan halófilas. La sal de mesa y los alimentos procesados con altos contenidos de sal son fuente de estos microorganismos (14).

Un grupo de investigación ha abordado el estudio de contenido microbiano en diferentes sales de mesa comerciales, incluyendo que habitualmente se encuentran en supermercados y aquellas con especias o minerales añadidos, así como las de origen marino y las provenientes de minas de sal (9). En el estudio se aislaron 79 cepas pertenecientes a 28 taxones de bacterias y arqueas, clasificándose en 27 cepas de bacterias halotolerantes, 45 de bacterias moderadamente halófilas y un género de bacterias extremadamente halófilas. Se identificaron también seis cepas de arqueas (9). El análisis detallado reveló que las sales de origen marino estaban dominadas por Archaea, especialmente en muestras del océano Atlántico, la isla de Ibiza y las marismas del Odiel. *Halorubrum* fue el taxón más abundante, seguido por *Hallobellus*, *Natronomonas*, *Haloplanus* y *Haloarcula*. En contraste, las sales de otras fuentes o suplementadas con ingredientes estuvieron mayormente dominadas por bacterias, con

géneros frecuentes como *Sulfitobacter*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Flavobacterium* y *Salinibacter* (9).

En un estudio llevado a cabo por Randazzo y sus colaboradores, en 2017, se reveló la presencia de una amplia diversidad de microbios durante el proceso de fermentación de aceitunas de mesa (15). Estas aceitunas, comúnmente almacenadas a temperatura ambiente sin tratamiento térmico, dependen exclusivamente de la fermentación como método de conservación. El análisis efectuado reveló que cada salmuera exhibía una composición bacteriana única, caracterizada por la presencia de bacterias halófilas y del grupo *Lactiplantibacillus plantarum*. Además, se logró detectar una alta biodiversidad microbiana durante la fermentación, evidenciada por la presencia de microorganismos como *Lactobacillus paracollinoides*, *Ligilactobacillus acidipiscis* y *Pediococcus parvulus* (15).

Los alimentos fermentados, como quesos, carnes fermentadas y jamón curado, no solo tienen una vida útil prolongada, sino que también fomentan el desarrollo de bacterias halófilas debido a la cantidad de sal que contienen (5,16). En un estudio que abarcó 74 muestras de corteza de quesos, Kothe y sus colaboradores identificaron 66 cepas de bacterias halotolerantes y halófilas. Específicamente, las especies Gram negativas fueron notablemente abundantes en una variedad extensa de quesos con alto contenido de humedad, como los quesos de corteza lavada (5).

En el estudio realizado por Canaviri-Paz en 2021, se investigó la presencia de cepas de *Lactobacillus* en granos de quinua durante el proceso de fermentación. Se observó la presencia de diversas bacterias, como *Stenotrophomonas*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Leclercia*, desde el inicio hasta los 5 días de fermentación. Además, se detectaron *Enterococcus* spp., *Bacillus subtilis* y lactobacilos en un período de 24 a 192 horas (17). Por otro lado, el estudio de Pavli en 2016 se enfocó en la fermentación de lácteos y cárnicos, y se encontraron especies similares a las identificadas por Canaviri, pero con un mayor porcentaje de *Lactobacillus*. En total, se evaluaron 47 cepas y se determinó que 19 de ellas presentaban un comportamiento favorable en condiciones gastrointestinales simuladas y eran consideradas seguras (18).

I.4.2.- Marco referencial

4.2.1 Microbiología de ambientes extremos

La riqueza y variedad sin igual de seres vivos en nuestro planeta se encuentra mayormente constituida por los microorganismos. Estos microorganismos desempeñan un papel crucial en la regulación de los ecosistemas al participar activamente en los ciclos biogeoquímicos (19).

El progreso de la microbiología ha sido acompañado por la adopción de nuevos métodos que permiten detectar y comprender la presencia de microorganismos en diversos entornos. En los últimos años, se ha logrado comprender la vasta diversidad microbiana que caracteriza a nuestro planeta (20).

En el transcurso de la evolución, los microorganismos han colonizado diversos ambientes en la Tierra, adaptándose a condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad. Esta colonización se ha facilitado gracias a la notable diversidad metabólica y fisiológica de los microorganismos, que va más allá de la diversidad específica e incluye un amplio rango de posibilidades metabólicas y modos de vida (21).

4.2.2 Ambientes extremos

Un ambiente extremo se refiere a un entorno que presenta condiciones físicas, químicas o biológicas fuera de los rangos considerados normales o habituales para la vida. Estas condiciones extremas pueden incluir factores como temperaturas extremadamente altas o bajas, presiones elevadas, niveles extremos de acidez o alcalinidad, altas concentraciones de sal o metales, entre otros. Los ambientes extremos son desafiantes para la mayoría de los organismos, pero algunos microorganismos extremófilos han evolucionado para adaptarse y prosperar en estos entornos hostiles (7,22).

4.2.3 Microorganismos extremófilos

El término "extremófilo" fue nombrado por el investigador MacElroy en 1974, siendo una combinación de las palabras latinas "Extremus" (más externo) y griegas "filia" (atracción, afecto por), dando como resultado la expresión. Los microorganismos extremófilos son organismos los cuales, han desarrollado la capacidad de sobrevivir y prosperar en condiciones ambientales extremas que serán letales para la mayoría de las formas de vida

en la Tierra. Estas condiciones pueden incluir temperaturas extremadamente altas o bajas, altos niveles de salinidad, acidez o alcalinidad, presiones inmensas y ambientes con altos niveles de radiación. Pueden clasificarse en varios tipos según las condiciones extremas en las que pueden crecer, en la tabla 1 se puede ver la clasificación y los ejemplos en cada caso (20).

Los extremófilos abarcan microorganismos de tres dominios de vida: Archaea, Bacterias y Procariotas. Las Archaea destacan por ser menos versátiles que las bacterias y eucariotas, aunque poseen una capacidad de adaptarse fácilmente en condiciones extremas, lo que las convierte en los organismos más halófilas, acidófilas, alcalosis, y termófilos. En el caso de las bacterias, las cianobacterias son las que mejor se adaptan, habitando en ambientes desde aguas termales hasta el hielo antártico, y mostrando tolerancia a condiciones halófilas, xerófilas y alcalófilas, aunque no sobreviven en medios con pH mayores a 5. Entre los eucariotas, los hongos sobresalen por su capacidad para prosperar en condiciones extremas, excepto en ambientes hipertermofílicos, adaptándose a entornos alcalinos, ácidos, halófilos, xerófilos, con alta presencia de metales e incluso en el océano profundo (23).

PARÁMETRO AMBIENTAL	TIPO	CARACTERÍSTICAS	EJEMPLO
pH	Acidófilo	pH < 7	<i>Acidithiobacillus</i> <i>Picrophilus torridus</i> (pH 0,06)
	Alcalófilo	pH > 9	<i>Natronobacterium</i> <i>Bacillus firmus</i> <i>Spirulina sp.</i> (todos pH ≈ 10,5)
Temperatura	Termófilo	Crecimiento > 60 °C	<i>Thermophilus aquaticus</i> <i>Thermococcus gammatolerans</i> <i>Methanopyrus kandleri</i> (122 °C)
	Psicrófilo	< 15 °C	<i>Psychrobacter</i>
Radiación	Radiófilo	> 10 Gray	<i>Deinococcus radiodurans</i>
Presión	Barófilo y Pedófilo	> 1 MPa	<i>Thermosipho japonicus</i>
Gravedad	Hipergravedad	> 400 g	<i>Paracoccus denitrificans</i> ,
Vacío	Grupo sin nombre específico	Tolera el vacío (espacio desprovisto de materia)	<i>Tardígrados</i>
Salinidad	Halófilo	(2 a 5 M de NaCl)	<i>Halobacteriaceae</i> , <i>Dunaliella salina</i>

Tabla 1. Clasificación y ejemplos de los extremófilos

Acidófilos

Los ambientes acidófilos se refieren a hábitats que presentan condiciones ácidas, es decir, con un bajo pH. Estos ambientes son especialmente interesantes porque el pH no se debe a condiciones impuestas por el medio, sino al metabolismo de los microorganismos que se desarrollan en ellos. Estos microorganismos están involucrados en procesos de oxidación de sulfuros metálicos, como la piritita, y desempeñan un papel crucial en mantener una alta concentración de ión férrico, que actúa como agente oxidante en estos ambientes ácidos (22).

Además, en el ecosistema del Río Tinto, un ambiente ácido extremo, también se encuentran otros microorganismos como algas fotosintéticas eucariotas, protistas y

hongos filamentosos, lo que destaca la sorprendente biodiversidad de este hábitat extremo (22).

Termófilos

Los termófilos son organismos vivos que pueden desarrollarse en ambientes de alta temperatura, por encima de los 60 °C. Se encuentran en diversos hábitats naturales, como zonas volcánicas, fuentes termales, suelos, sedimentos, pilas de compost y plantas de tratamiento de desechos. Tienen una serie de adaptaciones que les permiten sobrevivir a altas temperaturas. Estas adaptaciones incluyen la presencia de proteínas termoestables, la capacidad de sintetizar nucleótidos y aminoácidos termoestables, y la capacidad de reparar el daño al ADN causado por el calor (20).

Los termófilos tienen un gran potencial biotecnológico, ya que sus enzimas pueden utilizarse en una amplia gama de aplicaciones, especialmente la ADN-polimerasa de *Thermus aquaticus* (taq) se convirtió en un componente esencial en biología molecular, dando origen a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ahora ampliamente utilizada. Al igual que otras enzimas termófilas se utilizan en la producción de alimentos y bebidas, la industria química y la medicina (24).

Los suelos con escasa cobertura vegetal, al registrar temperaturas superiores a 45 °C, ofrecen un entorno propicio para el florecimiento de bacterias termófilas, entre las que se incluyen los representantes del género *Geobacillus* y otros géneros afines. Estos microorganismos desempeñan un papel crucial en los ciclos biogeoquímicos, especialmente en los ciclos del carbono y del fósforo. Han demostrado contribuciones significativas, actuando no sólo como parte integral de estos ciclos, sino también desempeñando funciones beneficiosas, como agentes biofertilizantes naturales y solubilizadores de fosfatos. Con el actual escenario de cambio climático, se anticipa que los termófilos aumentarán su importancia en los ciclos biogeoquímicos naturales, adaptándose a condiciones cada vez más cálidas (25).

Los termófilos se clasifican en función de su temperatura óptima de crecimiento. Los termófilos comunes crecen a temperaturas entre 45 y 60 °C, mientras que los termófilos extremos crecen a temperaturas entre 60 y 80 °C y los hipertermófilos crecen a temperaturas superiores a 80 °C (20).

Psicrófilos

Los ambientes de bajas temperaturas predominan, dado que los océanos abarcan aproximadamente la mitad de la superficie terrestre, la temperatura promedio se mantiene entre 1°C y 3°C. Además, las extensas regiones polares permanecen cubiertas de hielo la mayor parte del año, incluyendo glaciares, océanos fríos, corrientes heladas, cuevas de hielo. Crean entornos ideales para organismos psicrófilos adaptados a temperaturas bajas(26).

La temperatura óptima de crecimiento de los microorganismos psicrófilos se encuentra entre 12 y 15°C, se destacan por su capacidad para prosperar en condiciones extremas, con temperaturas mínimas de -5° a 0°C y máximas inferiores a 20°C. Dentro de esta categoría, los psicrotolerantes tienen la capacidad de crecer a 0°C y presentan temperaturas óptimas entre 20 y 40°C, siendo aislados de suelos, aguas en climas templados y alimentos refrigerados a 4°C (26).

Los microorganismos extremófilos psicrófilos se caracterizan por ser Bacterias Gram-negativas, Proteobacterias, *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteriodes*, *Corineformes*, *Arthrobacter sp.*, *Micrococcus sp.*, y en el dominio *Archaea*, *Methanogenium* y *Methanococcus*, son comunes en estos hábitats. Además, cianobacterias como *Oscillatoria*, *Phormidium* y *Nostoc*, junto con levaduras psicrófilas como *Cryptococcus spp.*, contribuyen significativamente a la biodiversidad microbiana (26).

Se destaca el significativo desarrollo de adaptaciones específicas para enfrentar bajas temperaturas en estos microorganismos. Sus enzimas no solo son funcionales sino también resistentes al frío, y cuentan con sistemas de transporte transmembranales adaptados. Además, las membranas celulares están compuestas por fosfolípidos con proporciones elevadas de ácidos grasos insaturados, lo que garantiza un estado semifluido y previene la congelación (26).

Considerados como un valioso depósito de moléculas con aplicaciones biotecnológicas innovadoras, estos microorganismos, en particular sus enzimas, como las lipasas, han demostrado ser biocatalizadores versátiles con aplicaciones comerciales en la síntesis de biopolímeros, biodiesel, productos farmacéuticos, agroquímicos, cosméticos y sabores. A pesar de los progresos realizados, la investigación sobre microorganismos productores de

lipasas activas a bajas temperaturas y sus aplicaciones industriales continúa siendo una prioridad mundial (26).

Halófilos

Los ambientes hipersalinos, con concentraciones de sales superiores al 3,5%, que es la concentración del agua de mar, se distribuyen globalmente en suelos y aguas. En los suelos salinos de zonas áridas y semiáridas, la acumulación de sales minerales debido a una mayor evaporación es común. Las aguas hipersalinas, presentes en áreas cálidas con rápida evaporación, también exhiben elevadas concentraciones de sales (27).

Los microorganismos halófilos enfrentan entornos hostiles caracterizados por altas concentraciones de sal, como lagos y suelos salinos, ambientes marinos y además de productos alimenticios salados (28). La elevada salinidad representa un desafío para la mayoría de los organismos, ya que puede dañar las membranas celulares. Para sobrevivir, los microorganismos halófilos han evolucionado mecanismos de adaptación al estrés osmótico (29).

Estos organismos implementan diversos mecanismos para contrarrestar el estrés osmótico, incluyendo el transporte de iones mediante bombas de protones y cloruro, y la síntesis de solutos compatibles, como azúcares y aminoácidos. La producción de exopolisacáridos forma una capa protectora alrededor de la célula, ofreciendo defensa contra los efectos dañinos de las sales (30).

La elección de estos mecanismos por parte de los microorganismos halófilos depende del entorno en el que residen. Algunos acumulan iones de sal en el interior celular (*salt-in*), mientras que otros sintetizan solutos compatibles o exopolisacáridos. Esta versatilidad revela la capacidad de estos microorganismos para enfrentar condiciones extremas(31).

El mecanismo "Salt-in" es esencial para la adaptación de los microorganismos halófilos a entornos altamente salinos, donde acumulan sales como potasio, sodio y cloruro en el interior celular para equilibrar la concentración de sal. Este proceso, crucial para su supervivencia, implica adaptaciones moleculares especiales en microorganismos como *Salinibacter ruber* y *Salinibacter spp* (31)

La clasificación de Bacterias Halófilas según su tolerancia al cloruro de sodio NaCl, Kushner y Kamekura (1988) propusieron una clasificación de microorganismos halófilos basada en la concentración de sal óptima para su crecimiento (27). La clasificación incluye:

Tabla 2. Clasificación de microorganismos halófilos (27).

HALOTOLERANCIA	CONCENTRACIÓN DE NaCl	
1. Halófilos Extremos:	Arriba de 20 %	Cuyo crecimiento óptimo ocurre a concentraciones de 2,5-5,2 M (aproximadamente 15-32%, saturación) de NaCl y por lo general son arqueas (27,32).
2. Halófilos Moderados:	Arriba de 10 - 20 %	Los halófilos moderados, por otro lado, prosperan mejor en medios con 0,5-2,5 M (aproximadamente 3-15%) de NaCl (27).
3. Halófilos Débiles:	0,5 - 10 %	Los halófilos moderados, por otro lado, prosperan mejor en medios con 0,5-2,5 M (aproximadamente 3-15%) de NaCl (27).
4. No Halófilos:	Toleran la salinidad	Los halófilos débiles exhiben un crecimiento óptimo en un rango de 0,2-0,5 M de NaCl (aproximadamente 1-3%) (27).

4.2.4.- Aplicaciones biotecnológicas de microorganismos extremófilos

Los organismos extremófilos tienen diferentes aplicaciones en el área de la biotecnología con la formación de biofilms, en la producción de variedad de enzimas, proteínas y lípidos que han sido aplicadas con diferentes fines en áreas industriales. En la actualidad es relativamente fácil descubrir y desarrollar enzimas extremófilas mediante diferentes métodos entre ellos la bioprospección y la ingeniería genética (21,32).

Producción de biomoléculas

Existen diferentes biomoléculas que se encargan de aumentar la velocidad de reacciones químicas específicas utilizadas en procesos industriales, alimentario, farmacéuticos esenciales para el ser humano (33). Entre estas biomoléculas se encuentran las siguientes:

1. **Proteínas:** Los microorganismos extremófilos, debido al estrés biótico de su entorno, desarrollan adaptaciones en sus características moleculares y fisiológicas que impulsan a la evolución. Estas modificaciones le dan fácilmente la capacidad de producir

proteínas principalmente enzimas, conocidas como extremozimas y les permiten hidrolizar o asimilar escasos nutrientes disponibles en su hábitat. Las enzimas extremófilas tienen gran valor científico y comercial, siendo utilizadas en biomedicina e investigación, como la Taq ADN polimerasa proveniente de *Thermus aquaticus* (34).

Dentro de este grupo, las proteínas halófilas se caracterizan por modificar su estructura en respuesta a las concentraciones de sal, lo que le permite estabilidad. Un ejemplo es *Bacillus pseudocaliphilus*, un microorganismo halotolerante y alcalófilo con actividad enzimática de ciclodextrina glucanotransferasa. Esta enzima resiste temperaturas de 40-60 °C, mantiene el 80 % de su actividad en un rango de pH de 5.0 a 11.0 y tiene una vida media de 2 horas a 70 °C. Estas propiedades le permiten catalizar la conversión de almidón de maíz crudo en ciclodextrinas, lo que la hace valiosa para diversas aplicaciones industriales (3,34).

2. Exopolisacárido: Los exopolisacáridos (EPS) son polímeros de carbohidratos de alto peso molecular, compuestos de residuos de azúcar, que son secretados por microorganismos. Estas biomoléculas desempeñan diversas funciones, otorgando a los microorganismos ventajas adaptativas. Los microorganismos extremófilos son considerados como productores de exopolisacáridos, los cuales poseen características únicas y múltiples aplicaciones potenciales en la industria, como emulsionantes, crioprotectores y agentes gelificantes (27,35).

Las investigaciones sobre los exopolisacáridos producidos por microorganismos halófilos han estudiado su actividad emulsionante, capacidad gelificante, unión a metales pesados y propiedades reológicas, con aplicaciones existentes y potenciales en diversos sectores. Se ha observado que la producción de glucosa en estos polímeros aumenta en función de la concentración de NaCl, lo que los hace particularmente ventajosos para efectos de protección y estabilización en condiciones extremas (35).

Tabla 3: Clasificación de enzimas producidas por microorganismos extremófilos y sus aplicaciones (21)

TIPOS	EXTREMOENZIMAS	APLICACIONES
Acidófilos	Amilasa, glucoamilasa	Producción de almidón
	Proteasas	Ayuda a mejorar la digestión
	Oxidasas	Ayuda a eliminar una cantidad elevada de azufre usados principalmente en la combustión.
Alcalófilos	Proteasa, celulasa	Ayudan en la fermentación de vino y cerveza en la elaboración de pan y zumos utilizado también en la fabricación de detergentes
Halófilos	Proteasas	Síntesis de péptidos
	Deshidrogenasas	Biocatálisis en medio orgánico y síntesis química asimétrica
Psicrófilos	Proteasas	Detergentes, aplicaciones alimentarias
	Amilasa	Detergentes
	Celulasas	Detergentes y textil
Termófilos	Lipasa, proteasa	Detergentes Producción biodiesel Modificación sabor
	Amilasas, pululunasas, glucoamilasas, celulasas, xilanasas	Procesamiento de almidón, celulosa, quitina y pectina Hidrólisis de almidón Clarificación de zumos de frutas y verduras Fermentación
	Quitinasas	Conversión de celulosa en etanol
	Xinalasas	Modificaciones de quitina para alimentación y productos sanitarios Maduración de queso
	Esterasas	Biorremediación, degradación y eliminación de xenobióticos y compuestos tóxicos
	ADN polimerasas	Biología molecular
	Deshidrogenasas	Reacciones oxidativas
	Manasas	Degradación de manosa o gomas

Fuente:(Krasimirova Milova, 2020)

2.4.5 Ejemplos en los diferentes campos

Los microorganismos extremófilos son utilizados en una variedad de campos, como, por ejemplo:

Industria alimentaria

En esta área, se han visualizado varios resultados positivos al momento de utilizar las proteínas, producidas por diversos organismos entre ellas las bacterias *Pseudomonas syringae*, *Erwinia spp.* y *Xanthomas spp.* que ayudan a la nucleación de hiel, aumentando la temperatura para formar pequeños cristales alrededor de comida congelada mejorando la calidad de estos productos, esto sucede debido a estas proteínas conocidas comúnmente como INP (Ice Nuclein Proteins) (21).

En contraste, otros microorganismos como *Arthrobacter sp.*, *Sphingomonas sp.* y *Flavobacterium sp.* tienen la capacidad de producir proteínas anticongelantes (AFP) que inhiben la formación de cristales de hielo a temperaturas por debajo del punto de congelación del agua. Estas proteínas tienen amplias aplicaciones en la industria alimentaria (13).

Medicina

En el ámbito de la medicina, se han estudiado algunos microorganismos que contribuyen a mejorar procesos biomédicos. Un ejemplo destacado es el uso de proteínas anticongelantes recombinantes provenientes de *Leucosporidium sp.* en la criopreservación de glóbulos rojos. La ablación de las líneas celulares de peces se ha hecho con el uso de proteínas anticongelantes (21).

Por otro lado, las haloarqueas son productoras de pigmentos carotenoides que se consideran moléculas muy importantes para la salud y en la industria farmacéutica debido a su potente actividad antioxidante (13).

Biocombustibles

El uso es particularmente atractivo en la producción de biocombustibles porque tienen el potencial de disminuir la dependencia de los combustibles fósiles y reducir las emisiones de gases de efecto invernadero. Los biocombustibles de segunda generación, fundamentados sobre la lignocelulosa, ofrecen una opción más agradable en comparación

con los de primera generación, que utilizan mazorca de maíz y caña de azúcar en procesos no sostenibles en términos ecológicos y comerciales.

La celulosa, hemicelulosa y lignina, presenta desafíos en su desintegración debido a su estructura cristalina, que restringe la accesibilidad de las enzimas (21).

Los estudios se han centrado recientemente en la búsqueda de biocatalizadores más eficaces biocatalizadores y refinando y perfeccionar el proceso de despolimerización de la lignocelulosa. El proceso de despolimerización de la lignocelulosa. Enzimas con actividad específica, reducción de inhibición por el producto final y adquisiciones como estabilidad térmica. Las enzimas termoestables resultan particularmente útiles en la deconstrucción de la lignocelulosa en biorrefinerías, ya que ofrecen ventajas como mayor especificidad y estabilidad. Esto permite periodos de hidrólisis más extensos con menor cantidad de enzimas, mejor compatibilidad con procesos no enzimáticos y eliminación de costos de refrigeración (21).

Industria Agropecuaria

La congelación causa daño mediante la regulación de las poblaciones microbianas producidas por INP. Aunque aún no se hace mucho para convertirse en un método totalmente efectivo y rentable, es una estrategia atractiva. En estaciones con temperaturas frías, se lograría disminuiría el daño causado por la formación de cristales de hielo y estimularía el crecimiento de diferentes plantas, el medio ambiente es esencial para el desarrollo sostenible, como el género *Pseudomonas*, puede ser una fuente valiosa de biocatalizadores para la biorremediación (21).

Biorremediación

Uno de los principales problemas a nivel mundial es la contaminación del suelo por bacterias halófilas han despertado un considerable interés en el ámbito de la degradación de residuos tóxicos. Se presentan como una alternativa significativa a los métodos microbiológicos convencionales, particularmente en situaciones donde estos últimos resultan ineficaces, como ocurre en los procesos industriales que generan aguas residuales con niveles elevados de salinidad (36,37).

La industria ha generado una gran contaminación en el suelo, las bacterias halófilas moderadas han suscitado un creciente interés en la esfera de la degradación de residuos

tóxicos, surgiendo como una alternativa valiosa a los tratamientos microbiológicos convencionales en situaciones donde estos resultan ineficaces, como es el caso de los procesos industriales que generan aguas residuales con elevada salinidad. Este escenario se observa, por ejemplo, en la producción de diversas sustancias químicas, incluyendo pesticidas, ciertos productos farmacéuticos y herbicidas, así como en los procesos de extracción de petróleo y gas (37).

Bacterias halófilas como *Halanaerobium praevalens* y *Orenia marismortui*, incluso a concentraciones salinas del 13 al 14%, son microorganismos capaces de degradar compuestos hidrocarbonados, como hexadecanos y fenantrenos, en compuestos aromáticos nitro-sustituídos han sido aislados de diversos ambientes hipersalinos (36,37).

4.1.6.- Ambientes antropizados

Los ambientes antropizados son ecosistemas que han sido modificados por la actividad humana, lo que genera cambios en las condiciones fisicoquímicas de entorno. A pesar de estas alteraciones, ciertos microorganismos extremófilos desarrollan estrategias adaptativas lo que les permite subsistir en estos ambientes (38).

- **Productos de supermercado en ambientes antropizados**

Los productos comercializados en supermercados han pasado por múltiples etapas de procesamiento y manipulación, lo que los convierte en ejemplos de productos que interactúan con ambientes antropizados. Estos ambientes, se caracterizan por condiciones modificadas en su entorno, incluyen factores como altas concentraciones de sal y azúcar, baja actividad de agua, temperaturas variables, empaques y atmósferas modificadas(4,39)

En tales condiciones, los microorganismos extremófilos son los que tienen la capacidad de adaptarse a ambientes que dificultan la supervivencia de otros organismos. Por ejemplo, ciertas bacterias que toleran altas concentraciones de sal o un pH ácido pueden sobrevivir en alimentos procesados con estas características (23).

4.1.7.-Sal

El cloruro de sodio NaCl, comúnmente conocido como sal de mesa, es un condimento esencial en la gastronomía y la industria alimentaria, utilizado en la preparación de la

mayoría de alimentos donde aporta un sabor característico y además actúa como potenciador, realizando y equilibrando los sabores de los ingredientes siendo indispensable en la cocina diaria (9,39).

Además de su papel culinario, la sal desempeña una función importante por su propiedad de conservar los alimentos gracias a su capacidad de disminuir la actividad de agua y aumenta la presión osmótica, lo que inhibe el crecimiento de microorganismos que deterioran los productos. Estas propiedades la hacen fundamental en procesos de curados , encurtidos y la elaboración de productos procesados (39,40).

Las fuentes de sal comercial son los ambientes salinos como estanques solares, lagos salinos, las sales de roca y el agua de mar los cuales son el origen de microorganismos afines a la sal, los halófilos quedan atrapados en los cristales de sal refinada y permanecen viables incluso ya estando comercializada (9).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

II.1.- Diseño de investigación

Se trata de una investigación con un enfoque observacional y de carácter descriptivo.

II.2.- Población y muestra

II.2.1 Universo y población

No aplica. Se seleccionaron 4 marcas de sal de distintos tipos, adquiridas en un supermercado de la ciudad de Cuenca (Azuay, Ecuador).

II.2.2 Muestreo y muestra

Se seleccionaron un total de cuatro muestras que corresponden a diferentes tipos de muestras halófilas (sal).

Criterios de selección:

- **Inclusión:** Se seleccionaron marcas de productos que incluyeran muestras de sal provenientes de distintos países, con características diversas.
- **Exclusión:** Se excluyeron muestras de sal doméstica con un alto grado de refinamiento y muy comunes.

II.3.-Definición y clasificación de las variables

1. Tipo de muestra de sal

Definición: Clasificación de la sal según su origen, proceso de obtención y características físicas o químicas. Se incluyen sal del Himalaya, extraída de minas y reconocida por su color rosado debido a su contenido mineral; sal ahumada, que adquiere su aroma y sabor distintivos mediante un proceso de exposición al humo de maderas específicas; y la flor de sal, una sal marina de alta calidad que se forma en la superficie de las salinas y se recolecta manualmente, apreciada por su textura ligera y su sabor delicado.

2. Crecimiento de bacterias y levaduras

Definición: En bacterias, el crecimiento ocurre principalmente por fisión binaria, un proceso en el que una célula se divide en dos células hijas idénticas. Su crecimiento suele seguir una curva caracterizada por cuatro fases: latencia, exponencial, estacionaria y de declive. En levaduras, el crecimiento puede darse por gemación (en la mayoría de los casos, o por fisión binaria).

Escala de medición:

- Presencia o ausencia
3. Temperatura de cultivo

Definición: La temperatura a la cual se incuban los microorganismos para promover su crecimiento, reproducción y desarrollo de manera óptima.

Escala de medición:

- Grados centígrados (°C).
4. Características macroscópicas de las colonias

Definición: Conjunto de características observables a simple vista como color, superficie, brillo, borde, elevación, forma, textura y aspecto que se presenta en los medios de cultivo.

Escala de medición:

- Forma: Circular; rizoide; filamentosa; irregular.
- Color: Amarillo; crema; rojo; naranja; blanco.
- Textura: Lisa o rugosa.
- Tamaño: Grande; mediano; pequeño; puntiforme.
- Transparencia: Opaca o transparente.
- Brillo: Brillante; sin brillo.
- Borde: Entero; rizoide; filamentoso; ondulado; lobulado; rizado.
- Elevación: Convexa; plana; elevada; umbilicada.
- Consistencia: Dura; suave; mucoide.

5. Características microscópicas de las células

Definición: Conjunto de características celulares, determinadas mediante observación bajo el microscopio. Estas características incluyen forma, presentación, hifa o pseudohifas, gemación o ascosporas, cocos, bacilos de características Gram negativos o Gram positivos

Escala de medición:

- Forma: Fusiformes, estrelladas, prismáticas, aplanadas, elípticas, globosas o redondeadas y flageladas.
- Unicelular o pluricelular
- Cocos o bacilos

6. Halotolerancia

Definición: Capacidad de un microorganismo para multiplicarse en presencia de concentraciones creciente de sales (NaCl), evaluada en función de la cantidad de biomasa que se observa en medio agarizado en fase de crecimiento.

Escala de medición:

- Biomasa muy abundante: ++++
- Biomasa abundante. +++
- Biomasa casi ausenta: ++
- Biomasa ausente. +

II.4.-Procedimientos y técnicas e instrumentos para el procesamiento de datos

Durante la investigación, los datos recolectados se organizaron y resumieron en tablas utilizando la herramienta Excel 2016. Además, los datos obtenidos se analizaron y se presentaron de manera detallada a través de gráficos, fotografías y cuadros estadísticos, lo que facilita una mejor comprensión de los resultados.

Obtención de muestras

Las muestras de sal se adquirieron en un supermercado de la ciudad de Cuenca (Ecuador). En total, se incluyeron cuatro tipos: dos muestras de “sal del Himalaya” (procedentes de diferentes países), sal ahumada y flor de sal.

Preparación de medios de cultivo y siembra

Se preparó una solución inicial con 10 g de la muestra de sal y 40 ml de agua estéril por cada muestra. Se realizaron dos diluciones, 1/10 y 1/100, empleando solución salina. Tanto la solución inicial como cada una de las diluciones fueron inoculadas mediante la técnica de rastrillado, utilizando 100 µl en diferentes medios de cultivo, incluidos Agar Nutritivo enriquecido con 25 g/L de NaCl y Sabouraud Dextrosa bajo las mismas condiciones. Las muestras se incubaron a 30°C.

Del aislamiento primario, se seleccionaron cepas con características morfológicas distintas observadas en el medio, basándonos en su apariencia macroscópica. Posteriormente, se realizó un aislamiento secundario para purificar cada uno de los morfotipos identificados. Para este proceso de aislamiento y purificación, se emplearon asas de platino estériles, que luego se emplearon para inocular Agar Nutritivo suplementado con NaCl. Las placas inoculadas fueron incubadas durante aproximadamente una semana a 30°C.

Caracterización macroscópica

Las colonias de cada aislado puro fueron caracterizadas mediante el uso de los siguientes códigos: **Forma:** circular (C), rizoide (R) filamentosa, irregular (I); **Color:** amarillo (A), crema (C), rojo (R), naranja (N), blanco (B); **Textura:** lisa (L) o rugosa (R); **Tamaño:** grande (G), mediano (M), pequeño (P), puntiforme (Pf); **Transparencia:** opaca (O) o transparente (T); **Brillo:** brillante (B) o sin brillo (S); **Borde:** entero (E), rizoide (R), filamentoso (F), ondulado (O), lobulado (L), rizado (R); **Elevación:** convexa (C), plana (P), elevada (E), umbilicada (U); **Consistencia:** dura (D), suave (S), mucoide (M).

Caracterización microscópica

Se utilizó un microscopio óptico para examinar las características microscópicas de cada aislado puro y determinar si correspondían a bacilos o cocos. Para ello se tomó una colonia que fue suspendida en una gota de solución salina sobre un portaobjetos utilizando un palillo estéril. Posteriormente se observó la muestra con un lente de 40x y 100x, registrando características como la forma celular.

Conservación de aislados puros de bacterias

Una vez purificados los aislados bacterianos mediante repiques sucesivos, se almacenaron en tubos de tapa rosca que contenían agar nutritivo en forma de cuña a temperatura ambiente. También se conservaron suspensiones celulares a una temperatura de -80°C con glicerol al 20%.

Crecimiento de bacterias a diferente concentración de sal

Se utilizaron diferentes placas de Agar Nutritivo suplementado con concentraciones crecientes de NaCl: 0,5%, 5%, 10%, 15%, y 20%. A partir de cultivos frescos, se ajustó

cuidadosamente el porcentaje de densidad celular y se inocularon 5 µl de cada suspensión en las placas de Agar Nutritivo enriquecido con diferentes concentraciones de NaCl (41).

Extracción de ADN genómico

Para la extracción de ADN, se seleccionaron diez aislados puros cultivados en agar nutritivo suplementado con NaCl. Cada aislado se resuspendió en 100 µl de solución salina para obtener una disolución homogénea. La extracción del ADN genómico se llevó a cabo mediante lisis alcalina, utilizando hidróxido de sodio (NaOH 0,025 N) y SDS 0,025 %. Las suspensiones celulares se calentaron a 99.9 °C durante 15 minutos, seguida de una dilución 1:10 con agua megapura estéril para obtener el extracto celular (42).

Amplificación de PCR

Se amplificó el marcador molecular 16S ADN_r usando los primers 27F (5'-AGA GTT TGA TCA TGG CTC AG-3') y 1942R (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3'). Para la preparación de la PCR se emplearon 25 µl Master mix, que consta de 12,5 µl de Pre Mix, 2,5 µl de Primer 27F, 2,5 µl de Primer 1942R, 1 µl de ADN genómico y 6.5 µl de agua destilada, para un total de 25 µl por tubo. La reacción se llevó a cabo en un termociclador en el que se amplificó la región 16S con el siguiente perfil térmico: a) Desnaturalización inicial: 95 °C durante 10 minutos; b) 30 ciclos de: desnaturalización 95 °C durante 30 segundos, alineación a 55 °C por 30 segundos, extensión a 72 °C durante 1:30 minuto; c) Extensión final: 72 °C durante 5 minutos (41).

Electroforesis de ADN en geles de agarosa

La amplificación de la región 16S ADN_r se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa. Los geles se elaboraron con una concentración del 1.5% (p/v) en tampón TAE. La corrida electroforética se llevó a cabo a una corriente constante de 90 voltios, y los productos amplificados se visualizaron con SYBR Safe utilizando un transiluminador de rayos UV (1).

Secuenciación y análisis de secuencias con BLAST

Las muestras amplificadas por PCR fueron enviadas a la empresa MacroGen, ubicada en Seúl, Corea del Sur, para su análisis. La secuenciación se realizó mediante la técnica

automatizada de Sanger. Luego, las secuencias obtenidas fueron analizadas mediante el algoritmo BLAST-N y comparadas con registros disponibles en bases de datos públicas como GenBank y EMBL-EBI (43).

II.4.1.- Procedimientos estadísticos y análisis de datos

Los resultados se presentan utilizando figuras, fotografías y tablas. Para el análisis de las secuencias nucleotídicas, se utilizaron herramientas como BLAST-N

II.5.- Aspectos éticos

Esta investigación se centra en el análisis de bacterias presentes en muestras de sal y pescado, las cuales se encuentran en estado inerte. Dado que el estudio se realiza sobre muestras inanimadas, no es necesario obtener un permiso especial de un Comité de Ética en Investigación con Seres Humanos (CEISH).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1 Resultados

1. Descripción de la selección de la toma de muestra

La materia prima para la realización de este trabajo fueron muestras de sal de mesa, provenientes de diferentes regiones, que se adquirieron en diferentes establecimientos comerciales (supermercados) de la ciudad de Cuenca (Figura 1). Las mismas correspondieron a cuatro tipos diversos de sales provenientes de distintos países, todas con características particulares, como la sal del Himalaya, sal ahumada y flor de sal. En la Figura 1 se observa las muestras específicas incluidas en el estudio, seleccionadas en función de criterios específicos de inclusión considerados durante el proceso de selección de las muestras

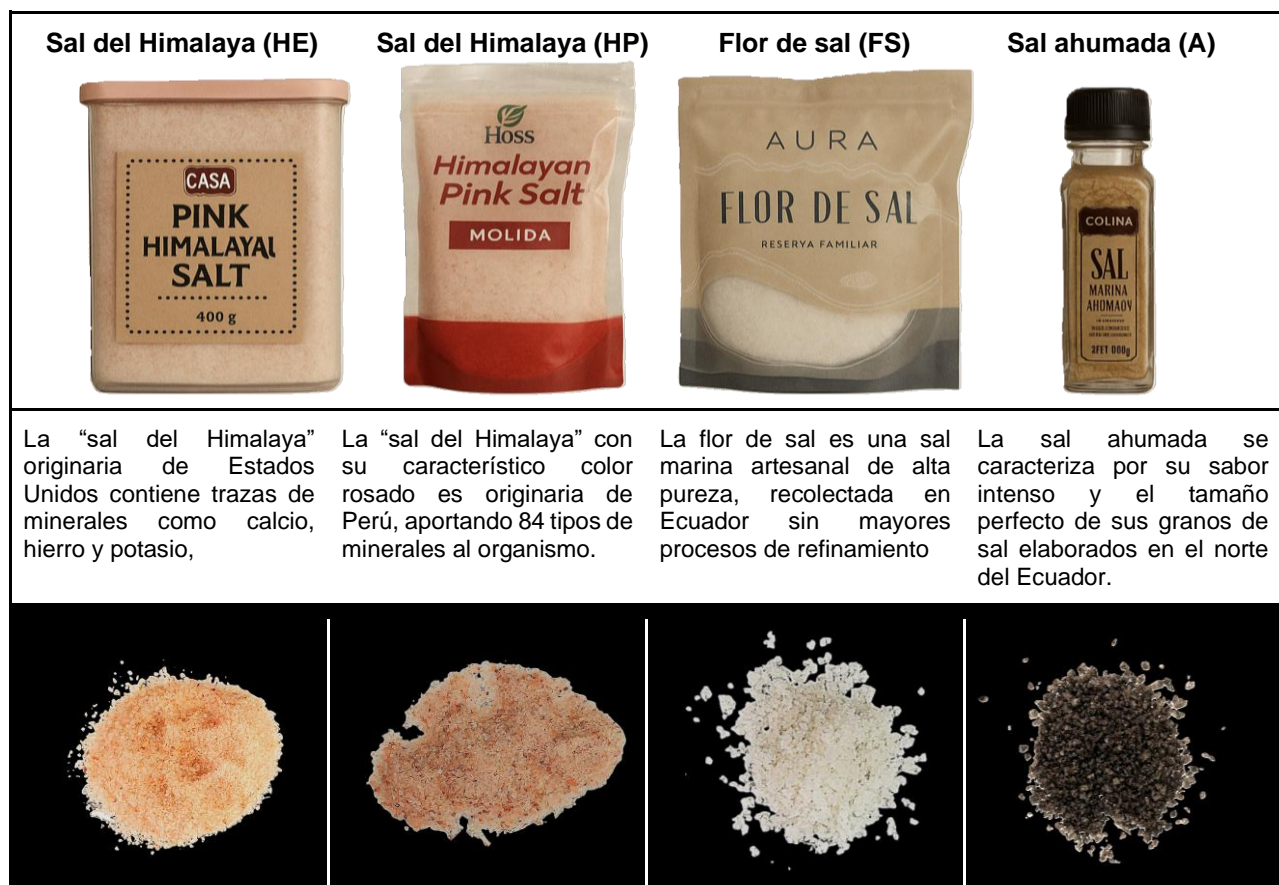


Figura 1: Muestras de sal empleadas en este estudio para el aislamiento de microorganismos halófilos o halotolerantes. 1: Flor de sal (FS); 2: Sal ahumada (A); 3: Sal del Himalaya (HE); 4: Sal del Himalaya (HP).

2. Descripción de los aislamientos primarios de microorganismos

De las muestras de sal seleccionadas, solo dos mostraron presencia de crecimiento de microorganismos en el aislamiento primario: Flor de Sal (FS) y sal ahumada (A). Después de 5 días de incubación a 30°C, en agar nutritivo enriquecido con NaCl se observó la

aparición de colonias de distinto morfotipo en Agar Nutritivo inoculado con ambos tipos de muestras; por el contrario, en Agar Sabouraud Dextrosa enriquecido con NaCl no se registró crecimiento a partir de ninguna de ellas.

En la muestra de Flor de Sal se observó una mayor densidad y cantidad de colonias, así como una mayor diversidad morfológica, con hasta 13 morfotipos diferentes. En comparación, la muestra de sal ahumada presentó solo 4 morfotipos. En todos los casos, se observó una amplia gama de morfotipos microbianos, que se presentaron en distintos colores y texturas. Sin embargo, una mayor diversidad en los morfotipos de microorganismos en la muestra FS son de color rosado (Figuras 2A y 2A). En los Anexos 1 y 2 se presentan la codificación y las características macroscópicas de las colonias obtenidas a partir del aislamiento primario de las diversas muestras de sales incluidas en el estudio.

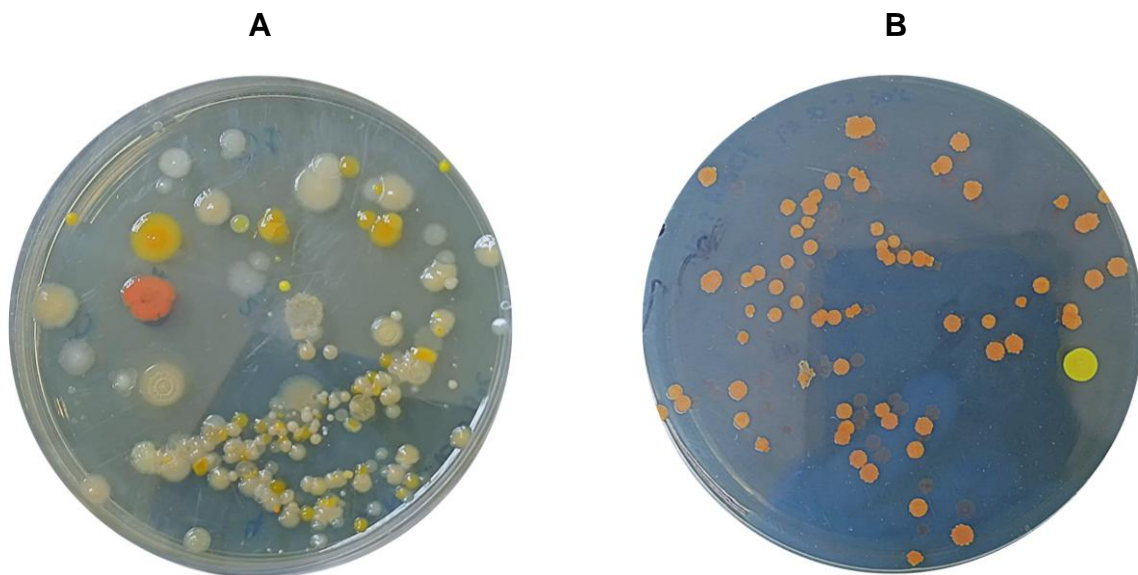


Figura 2. Aspecto de las colonias microbianas que crecieron en Agar Nutritivo inoculado con Flor de Sal (A) y Sal ahumada (B)

3. Purificación de aislados

Para la purificación de los aislados, se seleccionaron colonias con características fenotípicas distintivas a partir de los aislamientos primarios. Se eligieron 17 colonias, que presentaban colores rosado y amarillo en su mayoría. En algunos casos, se evidenció la producción de exopolisacáridos (colonias de aspecto mucoide). Estas colonias se

purificaron en Agar Nutritivo suplementado con NaCl mediante siembra por agotamiento con un asa estéril, mediante repiques sucesivos (Figura 3).

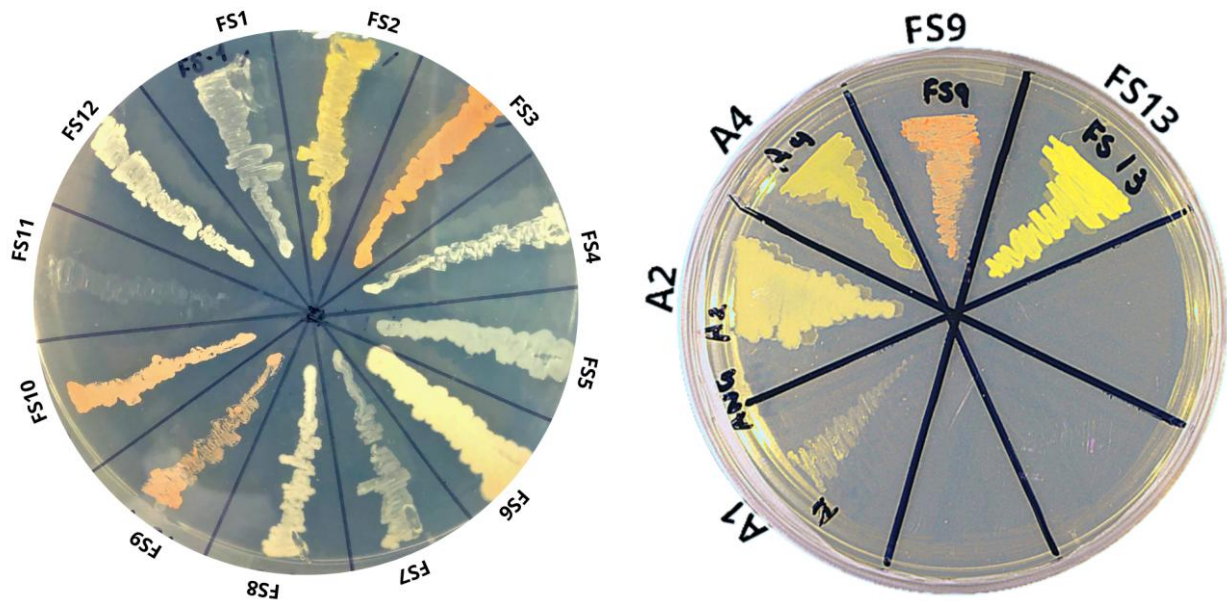


Figura 3: Aislados cultivados en Agar Nutritivo suplementado con NaCl

4. Selección de aislados para caracterización.

Una vez completado el proceso de purificación, se seleccionaron once aislados que presentaban diferencias morfológicas evidentes entre ellos. Esta selección se realizó con el objetivo de analizar con mayor precisión la diversidad microbiológica presentes en las muestras de sal, asegurando la inclusión de un rango representativo de microorganismos con características distintivas.

En la Tabla 4 se muestran las principales características morfológicas de los aislados seleccionados, ofreciendo una descripción detallada sobre el fenotipo de las colonias tanto a nivel macroscópico como microscópico. Además, la tabla incluye información sobre el tipo de microorganismos y su clasificación como Gram positivo o Gram negativo.

Tabla 4: Características morfológicas y celulares de los aislados seleccionados, inoculados en Agar Nutritivo suplementado con NaCl e incubados a 30°C.

Origen	Código	Medio de cultivo	Fenotipo de las colonias									Tipo celular	Otro
			Forma	Color	Brillo	Textura	Borde	Tamaño	Elevación	Transparencia	Consistencia		
Flor de sal	FS-2	ANG	C	C	B	L	E	M	P	O	S	Bacteria	Bacilo Gram +
Flor de sal	FS-6	ANG	I	R	B	L	O	G	P	O	S	Bacteria	Bacilo Gram +
Flor de sal	FS-8	ANG	C	C	B	L	E	G	P	O	D	Bacteria	Bacilo Gram +
Flor de sal	FS-9	ANG	I	R	S	R	L	P	C	O	S	Levadur a	gemación
Flor de sal	FS-10	ANG	I	R	S	R	O	P	C	O	D	Levadur a	gemación
Flor de sal	FS-12	ANG	C	C	S	L	E	M	C	O	S	Bacteria	coco Gram +
Flor de sal	FS-13	ANG	C	A	S	L	E	M	C	O	S	Bacteria	coco Gram +
Sal ahumada	A1	ANG	C	A	B	L	E	M	C	O	S	Bacteria	Diplococo Gram + con tabiques
Sal ahumada	A2	ANG	C	C	S	L	E	M	P	T	S	Bacteria	Bacilo Gram +
Sal ahumada	A3	ANG	C	C	B	L	E	M	C	T	S	Bacteria	Coco Gram + flagelado
Sal ahumada	A4	ANG	I	A	S	L	O	G	p	O	M	Bacteria	Exopolisacárido unido por filamentos coco Gram +

Forma: C = circular; I = irregular; **Color:** A = amarillo; C = crema; R = rosado; **Brillo:** B = brillante; S = sin brillo; **Textura:** L = lisa; R = rugosa; **Borde:** E = entero; O = ondulado; L = lobulado; **Tamaño:** G = grande; M = mediano; P = pequeño; **Elevación:** C = convexa; P = plana; p = pulvinada; **Transparencia:** O = opaca; T = transparente; **Consistencia:** D = dura; S = suave; M = mucoide.

Las características morfológicas de las colonias se observan en la Figura 4. Como puede verse, la mayoría de ellas tienen aspecto brillante, bordes circulares, elevación cóncava y apariencia suave mientras que únicamente dos aislados, FS9 y FS10, presentan apariencia rugosa. En cuanto a la coloración, se identificaron tres colonias amarillas (A1, A4 y FS13), cuatro de color crema (A2, A3, FS2 y FS12) y tres rosadas (FS6, FS9 y FS10).

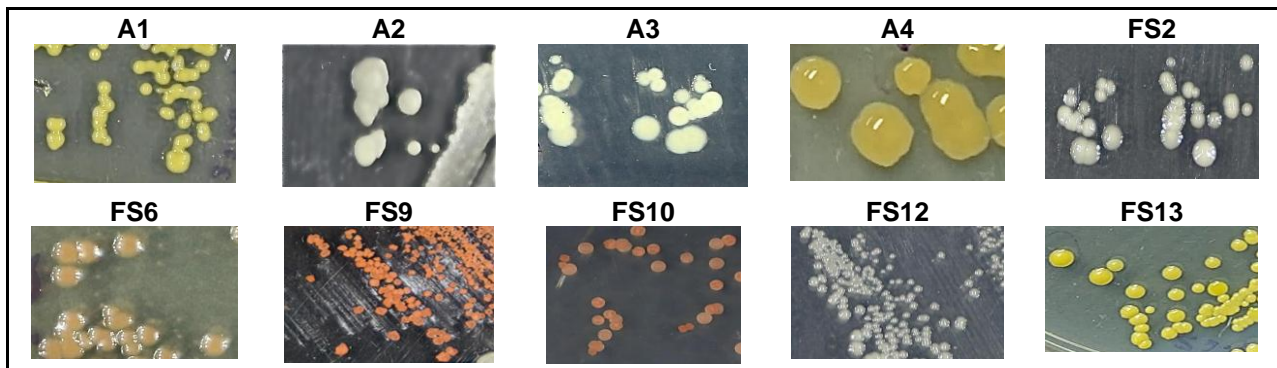


Figura 4: características macroscópicas de las colonias

Las principales características de la morfología celular se observan en la Figura 5. La mayoría de los aislados observados corresponden a bacterias de forma alargada, similares a bacilos. Sin embargo, se identificaron tres excepciones: los aislados FS9 y FS10, que corresponden a levaduras. En el caso del aislado FS10 es evidente la presencia de gemas que indican un proceso de división por gemación; en el caso del aislado FS13, destaca su morfología esférica, indicando que son cocos. Además, todas las bacterias identificadas son Gram negativas.

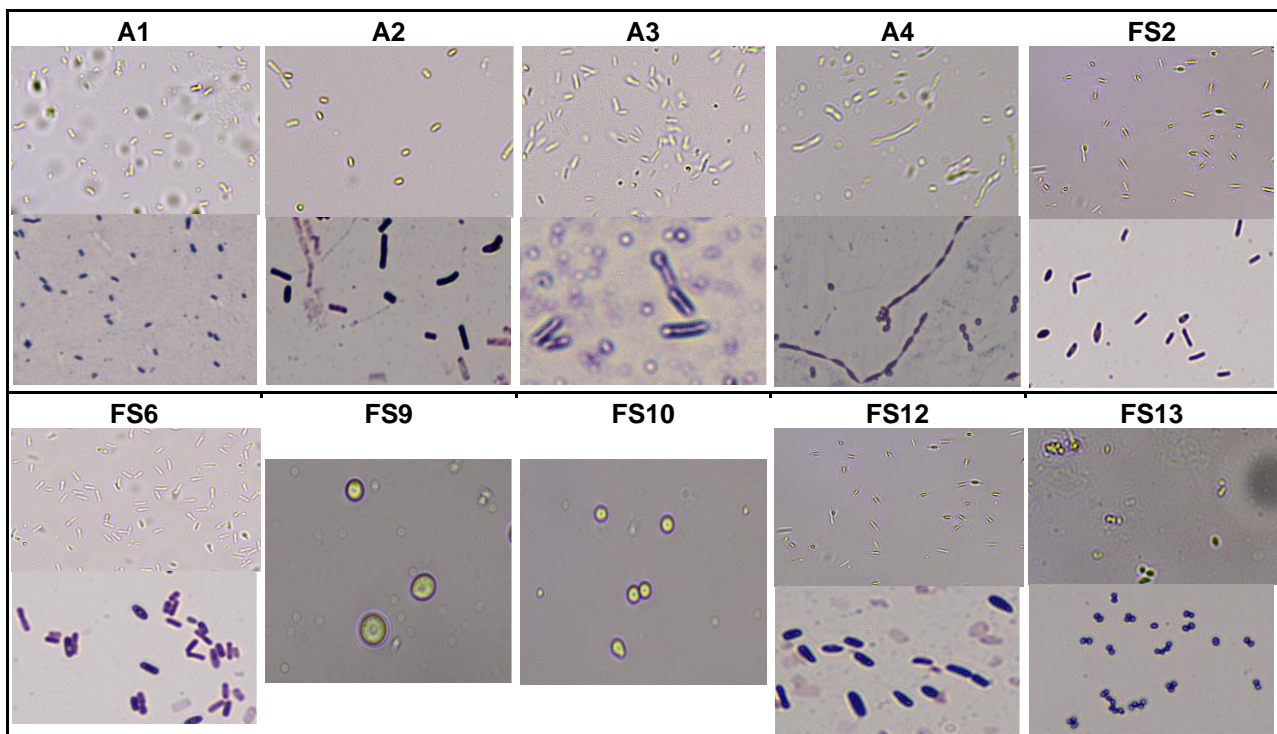


Figura 5: Características microscópicas de las colonias aisladas.

5. Halotolerancia

Todos los aislados presentaron halotolerancia, siendo capaces de multiplicarse en medio de cultivo con concentraciones de NaCl entre 0,5% y 10,5%, con una disminución progresiva en su crecimiento a medida que aumentaba la concentración. En el medio con

la concentración más alta de NaCl (20,5%), no se observó crecimiento de ninguno de los aislados, lo que indica que este nivel de salinidad supera su límite de tolerancia (Tabla 5 y Figura 6).

Tabla 5: Capacidad halotolerante de aislados puros

Cepas	Concentración de NaCl				
	0,5%	5,5%	10,5%	15,5%	20,5%
A1	++++	+++	++	+	-
A2	++++	+++	++	+	-
A3	++++	+++	++	+	-
A4	++++	+++	+	-	-
FS2	+++	++	+	-	-
FS6	++++	+++	++	+	-
FS8	++++	+++	++	+	-
FS9	++++	+++	++	+	-
FS10	++++	+++	++	+	-
FS12	++++	+++	+	-	-
FS13	++++	+++	++	+	-

Como se muestra en la Figura 6, los aislados presentan variaciones en su biomasa de crecimiento a medida que aumenta la concentración de sal. La imagen incluye dos placas con cinco concentraciones de sal diferente: la primera contiene los aislados FS13, FS8, FS6, FS2 y FS10, mientras que la segunda A1, A2, A3, A4, FS9 y FS12. Se observa claramente que algunos aislados varían su fenotipo a medida que incrementa la concentración de sal en el medio (por ejemplo, ver aislado A2)

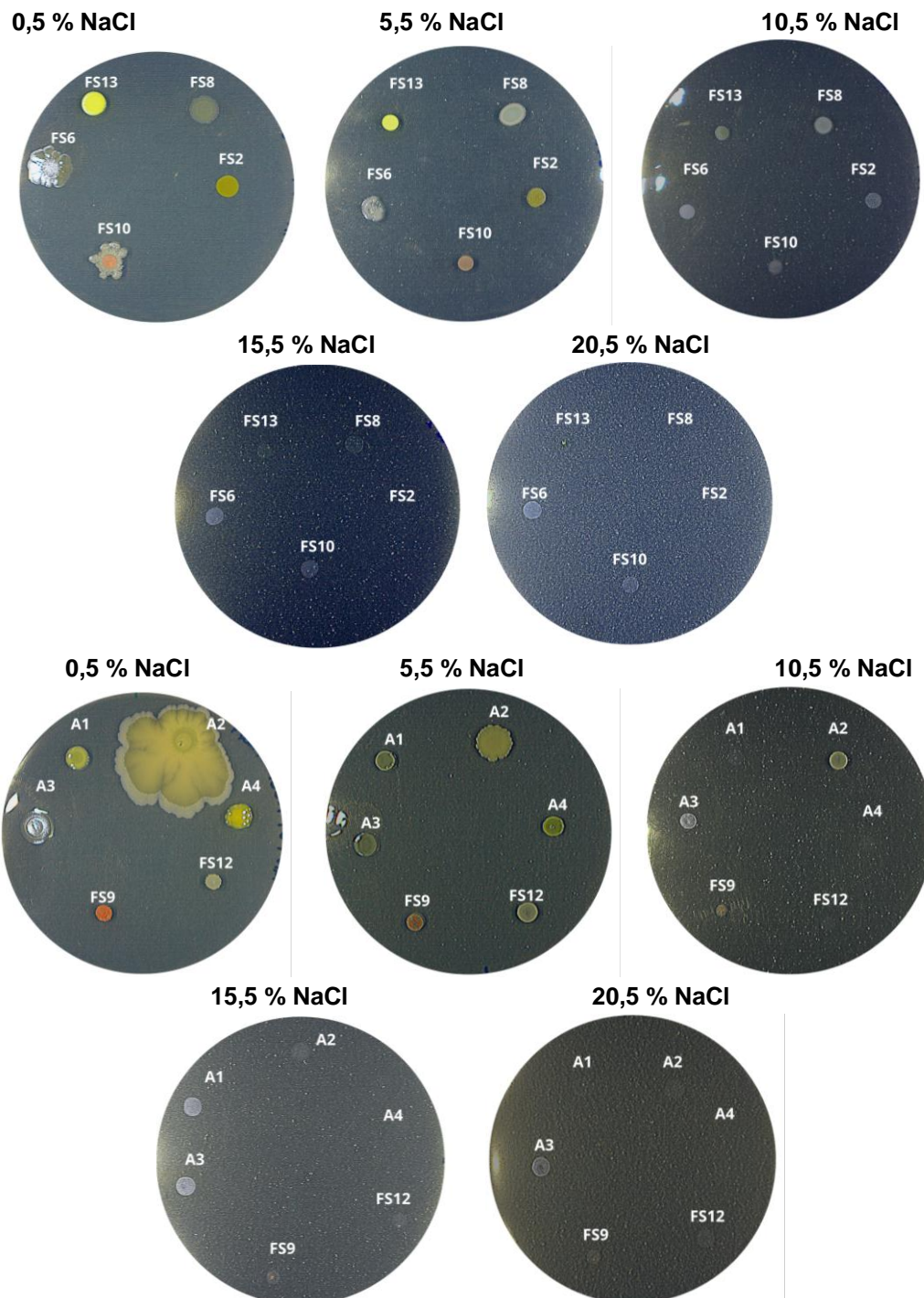


Figura 6. Biomasa de los aislados a diferentes concentraciones de sal.

5. Amplificación del gen ADNr 16S por PCR

La amplificación del gen 16S ADNr, se logró por PCR utilizando los primers 27F y 1492R. En la Figura 7 se observan las bandas correspondientes a los productos de amplificación obtenidos mediante PCR, posteriormente sometidos a electroforesis en gel de agarosa. Los amplicones obtenidos a partir del ADN genómico de ocho aislados presentan una

longitud de aproximadamente 1500 pares de bases; es evidente que la amplificación no resultó positiva en dos de los aislados (Figura 7, carriles I y J). Este resultado concuerda con lo que se observa en lo que se observa en la Figura 5, que muestra las características microscópicas de FS9 y FS10, evidenciando su morfología de levaduras en lugar de bacterias. Estos hallazgos confirman que la región amplificada presenta una longitud uniforme en los aislamientos bacterianos.

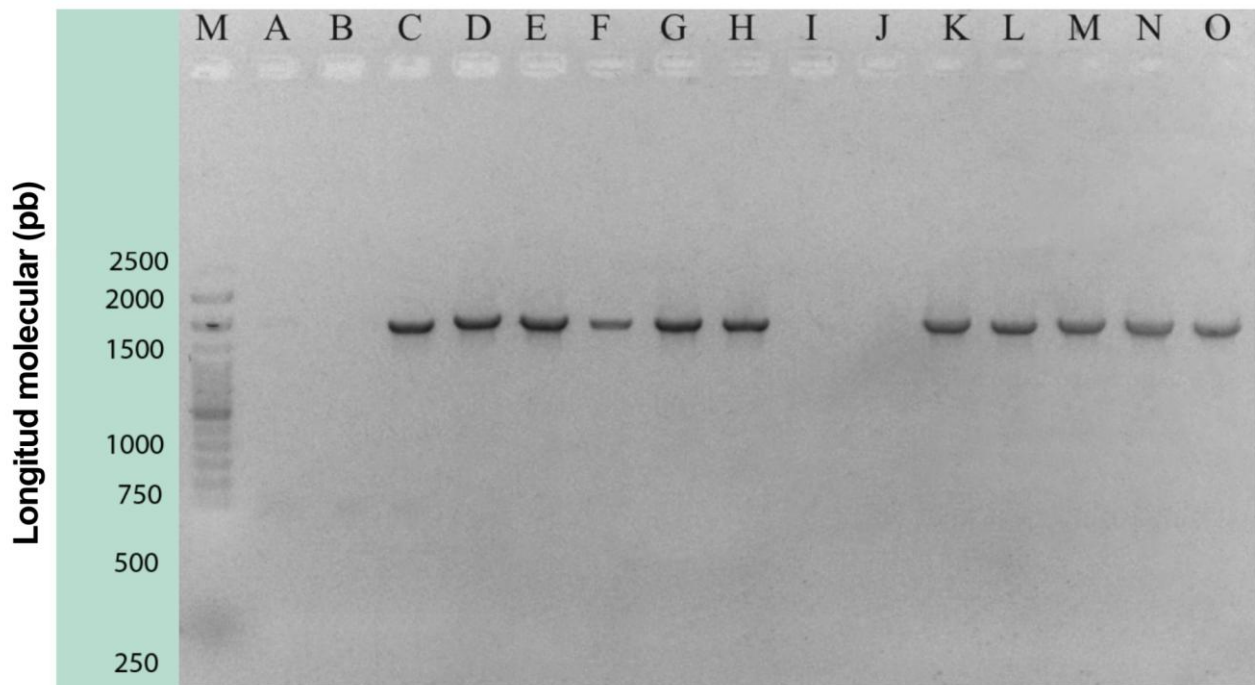


Figura 7: Amplificación por PCR utilizando el fragmento del gen 16S, y posterior electroforesis en gel de agarosa Carril M: Patrón de longitud molecular (TrackIt 100 bp Ladder); Carril A: control positivo (+); Carril B: control negativo (-); Carril C: Aislado A1; Carril D: Aislado A2; Carril E: Aislado A3; Carril F: Aislado A4; Carril G: Aislado FS2; Carril H: Aislado FS6; Carril I: Aislado FS9; Carril J: Aislado FS10; Carril K: Aislado FS12; Carril L: Aislado FS13.

6. Secuenciación de amplicones 16S ADNr y análisis de secuencias

La secuenciación de los amplicones obtenidos por PCR se realizó a través de la empresa Macrogen Inc. (Corea). A partir de las secuencias nucleotídicas, se llevó a cabo un análisis de similitud utilizando el programa BLASTN, comparando las secuencias obtenidas con aquellas registradas en la base de datos de GenBank. Los resultados de este análisis se presentan en la Tabla 6 y en el Anexo 3.

Los datos obtenidos muestran un alto porcentaje de similitud en la mayoría de los casos, superior al 97.91%, con secuencias disponibles en el GenBank. Estos resultados confirman que las cepas estudiadas están filogenéticamente relacionadas con bacterias

adaptadas a ambientes salinos, incluyendo especies como *Priestia flexa* (A2), *Bacillus boroniphilus* (A3), *Bacillus aquimaris* (FS2), *Cytobacillus pseudoceanisediminis* (FS6) y *Mesobacillus maritimus* (FS12). Según la literatura, estas especies han sido previamente aisladas de suelos con alta salinidad, manglares, manantiales salinos subterráneos y ecosistemas marinos.

Asimismo, se identificaron aislados relacionados con especies como *Aureimonas altamirensis* (A1), *Pantoea eucrina* (A4) y *Kocuria rhizophila* (FS13), las cuales no pertenecen a la misma familia que las especies mencionadas anteriormente, pero también han sido reportados en ambientes salinos. En el Anexo 3 se detallan los resultados del análisis de secuencias obtenidas mediante la herramienta BLAST-N

Tabla 6: Resultados de la identificación molecular de los aislados mediante empleo del algoritmo BLASTN

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR					
Aislado	Nombre de la especie (filogenéticamente) y la cepa	% de identidad	Valor E	% de cobertura	Longitud secuencia (PB)
A (A1)	<i>Aureimonas altamirensis</i> (IARI-ABL-26 16S)	98.18%	0.0	100%	1097 Nucleótidos
B (A2)	<i>Priestia flexa</i> (BF-62 16S)	100%	0.0	100%	987 Nucleótidos
C (A3)	<i>Bacillus boroniphilus</i> (PL68 16S)	99.90%	0.0	100%	977 Nucleótidos
D (A4)	<i>Pantoea eucrina</i> XL123	99.90%	0.0	99%	999 Nucleótidos
E (FS2)	<i>Bacillus aquimaris</i> (PT-35 16S)	97.91%	0.0	100%	963 Nucleótidos
F(FS6)	<i>Cytobacillus pseudoceanisediminis</i> (NIOT.S2WAZ2 16S)	99.90%	0.0	100%	962 Nucleótidos
G (FS12)	<i>Mesobacillus maritimus</i> (ADH-29)	96.28%	0.0	100%	778 Nucleótidos
H FS(13)	<i>Kocuria rhizophila</i> (EMJ52 16S)	99.64	0.0	100%	1115 Nucleótidos

III.2 Discusión

En el presente trabajo de investigación nuestro objetivo principal era detectar la presencia de microorganismos en muestras de sal de mesa comercial, para posteriormente aislarlos, caracterizarlos e identificarlos. Como hemos visto, este tipo de sal comestible no solamente contiene microorganismos halotolerantes, bacterias y levaduras, sino que en algunos casos su diversidad y abundancia es relativamente elevada. La identificación de estas bacterias resalta la diversidad microbiana asociada a ambientes con alta salinidad y sugiere que la sal doméstica puede ser un reservorio de microorganismos con potencial biotecnológico.

En el caso particular de las bacterias, las mismas fueron identificadas como pertenecientes a diferentes géneros, que comparten la capacidad de crecer en condiciones de alta salinidad, lo que implica adaptaciones fisiológicas y metabólicas específicas. En este sentido, el análisis de sus características morfológicas y de su potencial biotecnológico no solo contribuye a comprender su ecología, sino que también abre nuevas perspectivas para su aplicación en sectores como la biorremediación, la industria alimentaria y la producción de enzimas industriales.

Uno de los aislados fue identificado como perteneciente a una especie filogenéticamente cercana a *Aureimonas altamirensis*, una bacteria Gram-negativa, con forma de bacilo y sin capacidad de esporulación. Sus colonias son generalmente de color amarillo pálido, con bordes lisos y una textura brillante. Es una bacteria halotolerante, adaptada a ambientes con alta salinidad (44). Esta especie es conocida por su capacidad para producir enzimas como peroxidasas y catalasas, que tienen aplicaciones en la industria farmacéutica y en la degradación de contaminantes orgánicos. Además, se ha explorado su potencial en la producción de exopolisacáridos, que podrían ser útiles en la industria alimentaria y cosmética (45).

Otro aislado fue identificado como relacionado con la especie *Priestia flexa* (anteriormente clasificada como *Bacillus flexus*), una bacteria Gram-positiva, con forma de bacilo y capacidad para formar endosporas. Estas esporas le confieren resistencia a condiciones ambientales adversas, como altas temperaturas o sequía. Sus colonias suelen ser circulares, con bordes lisos y un color que varía entre blanco y crema (46). La especie ha sido estudiada por su capacidad para producir enzimas hidrolíticas, como proteasas y

amilasas, que son útiles en la industria alimentaria y de detergentes. Además, se ha reportado su potencial en la biorremediación de metales pesados debido a su resistencia a condiciones extremas. Estas características la convierten en un organismo prometedor para aplicaciones en biotecnología ambiental e industrial (47).

Entre los aislados seleccionados figura otro emparentado con la especie *Bacillus boroniphilus*, una bacteria Gram-positiva, con forma de bacilo y capacidad de esporulación. Sus colonias son generalmente de color blanco a amarillo pálido, y presentan una textura rugosa o lisa. Esta especie es conocida por su tolerancia a altas concentraciones de boro, lo que sugiere adaptaciones únicas en su pared celular y membrana (48). *B. boroniphilus* es capaz de metabolizar compuestos que contienen boro, lo que podría ser útil en la biorremediación de suelos contaminados con este elemento. Además, produce enzimas como lipasas y esterasas, que tienen aplicaciones en la industria de biocombustibles y en la síntesis de compuestos orgánicos (49).

Pantoea eucrina es una bacteria Gram-negativa, con forma de bacilo y sin capacidad de esporulación. Sus colonias son típicamente de color amarillo, con bordes lisos y una textura brillante. Es una bacteria halotolerante, adaptada a ambientes con alta salinidad (50). Uno de los aislados seleccionados en este trabajo está filogenéticamente relacionado con esta especie, que ha sido señalada como de interés por su capacidad para producir enzimas como celulasas y pectinasas, que tienen aplicaciones en la industria alimentaria y de biocombustibles. Además, se ha reportado su potencial en la producción de compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana, lo que podría ser útil en el desarrollo de nuevos fármacos (51).

Otro de los aislados caracterizados e identificados resultó ser filogenéticamente cercano a *Bacillus aquimaris*, una especie bacteriana Gram-positiva, con forma de bacilo y capacidad para formar esporas. Sus colonias son típicamente circulares, de color crema y con bordes lisos. Es una especie marina, lo que sugiere adaptaciones a ambientes con alta salinidad (52). *B. aquimaris* es conocida, además, por producir enzimas como proteasas y amilasas termoestables, que son útiles en procesos industriales que requieren altas temperaturas. Además, se ha explorado su potencial en la producción de biopolímeros como el polihidroxialcanoato (PHA), que tiene aplicaciones en la fabricación de plásticos biodegradables (53).

Otro de los aislados está relacionado con la especie *Cytobacillus pseudoceanisediminis* una bacteria Gram-positiva, con forma de bacilo y capacidad de esporulación. Sus colonias son generalmente de color blanco a amarillo pálido, y presentan una textura lisa y bordes definidos. Es una especie halotolerante, lo que le permite crecer en ambientes con alta salinidad (54). *C. pseudoceanisediminis* ha sido estudiada por su capacidad para producir enzimas como celulasas y xilanasas, que son útiles en la industria de biocombustibles y en la degradación de biomasa. Además, su tolerancia a la salinidad la hace candidata para aplicaciones en la biorremediación de ambientes salinos contaminados (55).

Mesobacillus maritimus es una bacteria Gram-positiva, con forma de bacilo y capacidad de esporulación. Sus colonias son típicamente de color crema, con bordes lisos y una textura rugosa. Es una bacteria marina, adaptada a ambientes con alta salinidad y presión osmótica (56). Uno de los aislados caracterizados en este trabajo se relaciona a nivel evolutivo con esta especie que, al igual que otras aquí señaladas, es de interés por su capacidad para producir enzimas como proteasas y lipasas, que tienen aplicaciones en la industria alimentaria y de detergentes. Además, se ha reportado su potencial en la producción de compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana, lo que podría ser útil en el desarrollo de nuevos fármacos (56).

El último de los aislados identificados, está emparentado con la especie *Kocuria rhizophila*, una bacteria Gram-positiva, con forma de coco y sin capacidad de esporulación. Sus colonias son generalmente de color rosa a rojo, con bordes lisos y una textura brillante. Es una bacteria halotolerante, adaptada a ambientes con alta salinidad (57). *K. rhizophila* es conocida por su capacidad para producir enzimas como lipasas y esterases, que tienen aplicaciones en la industria alimentaria y de detergentes. Además, se ha explorado su potencial en la producción de compuestos bioactivos con actividad antioxidante, lo que podría ser útil en la industria cosmética y farmacéutica (58).

Como hemos visto, en esta breve descripción, las especies con las que están relacionados filogenéticamente los aislados obtenidos a partir de muestras de sal comestible son, en su gran mayoría, especies halotolerantes, generalmente características de ambientes salinos. Pero, además, todas han sido destacadas como productoras de enzimas con potencial uso en diferentes áreas de la industria biotecnológica. Queda claro entonces que, además de haber cumplido con los objetivos específicos que nos planteamos al inicio de

este trabajo, hemos visto que la estrategia propuesta puede ser útil para el aislamiento de microorganismos extremófilos (o extremotolerantes) con potencial biotecnológico.

Más allá del valor intrínseco que tienen estos aislados, este último aspecto reviste especial importancia. En efecto, como hemos comprobado, no es necesario viajar grandes distancias para tener acceso a muestras provenientes de ambientes extremos a partir de las cuales se pueden aislar microorganismos extremófilos (o extremotolerantes). Como es obvio, esto reduce significativamente los costos de un proyecto de investigación y, al mismo tiempo, cualquier riesgo que pueda derivarse de una expedición de campo. Pero, tal vez el aspecto más importante, es que poder acceder a este tipo de muestras en los supermercados locales contribuye a sortear, de manera muy importante, todo tipo de trámites burocráticos para obtener permisos de toma de muestras en ambientes naturales. Aunque estos trámites están vinculados a una normativa internacional que forma parte del famoso Protocolo de Nagoya, la mayoría de las veces las trabas que imponen los organismos de control en diferentes países, retrasan la ejecución de este tipo de proyectos y, de manera frecuente, constituyen un lastre que desanima a muchos investigadores. Por lo tanto, creemos que puede ser una estrategia muy útil para determinado tipo de proyectos de investigación y desarrollo biotecnológico.

En resumen, los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que la sal de uso doméstico alberga una gran diversidad de bacterias halotolerantes. Los aislados bacterianos mostraron variaciones en su biomasa en respuesta a diferentes concentraciones de NaCl, lo que sugiere adaptaciones fisiológicas específicas a ambientes salinos. Entre las características más destacadas de estas cepas se encuentra la producción de enzimas con potencial biotecnológico, como celulasas en *Pantoea eucrino* y *Cytobacillus pseudoceanisediminis*, las cuales podrían ser utilizadas en procesos de degradación de biomasa. Además, *Pantoea eucrino* mostró capacidad para producir exopolisacáridos, compuestos con aplicaciones prometedoras en la industria alimentaria, así como la síntesis de compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana. Para la identificación y caracterización de estas bacterias, se empleó una combinación de técnicas microbiológicas, moleculares y bioinformáticas, lo que permitió un análisis integral de su diversidad y potencial biotecnológico.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

IV.1.- Conclusiones

- La sal de uso doméstico está colonizada por microorganismos halotolerantes diversos.
- En el presente estudio, identificamos un total de ocho especies diferentes de bacterias en las muestras de sal doméstica: *Aureimonas altamirensis*, *Priestia flexa*, *Bacillus boroniphilus*, *Pantoea eucrina*, *Bacillus aquimaris*, *Cytobacillus pseudoceanisediminis*, *Mesobacillus maritimus*, *Kocuria rhizophila*.
- Algunas de las cepas bacterianas aisladas en este estudio presentan características de gran relevancia para la biotecnología, destacando su capacidad para producir exopolisacáridos.
- La capacidad de las cepas aisladas para proliferar en un amplio rango de concentraciones de NaCl, desde niveles bajos hasta altos, evidencia su notable adaptabilidad a condiciones de salinidad variable. Esta característica define a estas cepas como halotolerantes.
- Este trabajo pone de relevancia la presencia de bacterias halotolerantes en muestras de sales domésticas y su posible uso en la biotecnología.

IV.2.- Recomendaciones

- Es importante ampliar el estudio incluyendo sales de diferentes procedencias y marcas comerciales. La composición química de la sal varía según su origen, lo que puede influir en el crecimiento microbiano y en el tipo de microorganismos presentes.
- Estudiar la capacidad halotolerante con diferentes tipos de sales entre ellas MgCl, MgSO₄ CaCl₂, KCl, NaHCO₃ ya que estos compuestos son comunes en ambientes hipersalinos y pueden generar diferentes respuestas fisiológicas en las bacterias.
- Profundizar el estudio en la capacidad enzimáticas como celulasas, lipasas y xilasas, pueden ser una fuente importante de enzimas industriales debido a su capacidad de funcionar en condiciones extremas.
- Estudiar en profundidad la capacidad de producción de exopolisacárido por parte del aislado A4 que podría corresponder a *Pantoea eucrina*. De acuerdo a la literatura revisada, algunas especies del género *Pantoea* han sido reportadas como productoras de estos biopolímeros, los cuales tienen aplicaciones potenciales en la industria farmacéutica, especialmente en la formulación de antibióticos y agentes bioactivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Thompson S. The microbiology of table salts. University of Colorado. 3 de abril de 2020;
2. Kumar A, Alam A, Tripathi D, Rani M, Khatoon H, Pandey S, et al. Protein adaptations in extremophiles: An insight into extremophilic connection of mycobacterial proteome. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 1 de diciembre de 2018;84:147-57.
3. Kumar S, Karan R, Kapoor S, Singh SP, Khare SK. Screening and isolation of halophilic bacteria producing industrially important enzymes. *Braz J Microbiol*. diciembre de 2012;43:1595-603.
4. Cui Y, Qu X, Li H, He S, Liang H, Zhang H, et al. Isolation of halophilic lactic acid bacteria from traditional Chinese fermented soybean paste and assessment of the isolates for industrial potential. *Eur Food Res Technol*. 1 de mayo de 2012;234(5):797-806.
5. Kothe CI, Bolotin A, Kraïem BF, Dridi B, Team F, Renault P. Unraveling the world of halophilic and halotolerant bacteria in cheese by combining cultural, genomic and metagenomic approaches [Internet]. *bioRxiv*; 2020 [citado 3 de diciembre de 2023]. p. 2020.11.03.353524. Disponible en: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.11.03.353524v1>
6. Calle A, Montoya BD, English A, Brashears M. Microbial Contamination of Grocery Shopping Trolleys and Baskets in West Texas. *Food Protection Trends*. 1 de enero de 2020;40(1):8-15.
7. Jin M, Gai Y, Guo X, Hou Y, Zeng R. Properties and Applications of Extremozymes from Deep-Sea Extremophilic Microorganisms: A Mini Review. *Mar Drugs*. 21 de noviembre de 2019;17(12):656.
8. Liao X, Shen W, Wang Y, Bai L, Ding T. Microbial contamination, community diversity and cross-contamination risk of food-contact ice. *Food Research International*. 2023;164.
9. Satari L, Guillén A, Latorre-Pérez A, Porcar M. Beyond Archaea: The Table Salt Bacteriome. *Front Microbiol*. 29 de octubre de 2021;12:714110.
10. Fontana A, Falasconi I, Bellassi P, Fanfoni E, Puglisi E, Morelli L. Comparative Genomics of Halobacterium salinarum Strains Isolated from Salted Foods Reveals Protechnological Genes for Food Applications. *Microorganisms*. 25 de febrero de 2023;11(3):587.
11. Tirado J, Paredes D, Velazquez G, Torres JA. Crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 2005;5(1):66-76.

12. Normand P, Caumette P, Goulas P, Pujic P, Wisniewski-Dyé F. Adaptations of Prokaryotes to Their Biotopes and to Physicochemical Conditions in Natural or Anthropized Environments. En: Bertrand JC, Caumette P, Lebaron P, Matheron R, Normand P, Sime-Ngando T, editores. *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications: : Microbial Ecology* [Internet]. Springer Netherlands; 2015 [citado 3 de diciembre de 2023]. p. 293-351. Disponible en: <https://hal.science/hal-02457708>
13. Satari L, Iglesias A, Porcar M. The Microbiome of Things: Appliances, Machines, and Devices Hosting Artificial Niche-Adapted Microbial Communities. *Microorganisms*. 6 de junio de 2023;11(6):1507.
14. Mageswari A, Subramanian P, Srinivasan R, Karthikeyan S, Gothandam KM. Astaxanthin from psychrotrophic *Sphingomonas faeni* exhibits antagonism against food-spoilage bacteria at low temperatures. *Microbiological Research*. 1 de octubre de 2015;179:38-44.
15. Randazzo CL, Todaro A, Pino A, Pitino I, Corona O, Caggia C. Microbiota and metabolome during controlled and spontaneous fermentation of *Nocellara Etna* table olives. *Food Microbiology*. 1 de agosto de 2017;65:136-48.
16. Zhu Y, Guo Y, Yang F, Zhou C, Tang C, Zhou G. Combined application of high-throughput sequencing and UHPLC-Q/TOF-MS-based metabolomics in the evaluation of microorganisms and metabolites of dry-cured ham of different origins. *Int J Food Microbiol*. 2 de diciembre de 2021;359:109422.
17. Canaviri-Paz P, Oscarsson E, Håkansson Å. Autochthonous microorganisms of white quinoa grains with special attention to novel functional properties of lactobacilli strains. *Journal of Functional Foods*. 1 de septiembre de 2021;84:104586.
18. Pavli FG, Argyri AA, Papadopoulou OS, Nychas GJE, Chorianopoulos NG, Tassou CC. Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria from Traditional Fermented Dairy and Meat Products: Assessment by In Vitro Tests and Molecular Characterization. *Journal of Probiotics & Health*. 2016;4(3):1-8.
19. Uroz S, Calvaruso C, Turpault MP, Frey-Klett P. Mineral weathering by bacteria: ecology, actors and mechanisms. *Trends in microbiology*. 2009;17(8):378-87.
20. Delgado Romero JA. Microorganismos extremófilos. Vida microbiana más allá de sus condiciones óptimas. 2021; Disponible en: <https://digital.csic.es/handle/10261/253190>
21. Krasimirova Milova L. Los microorganismos extremófilos y sus aplicaciones biotecnológicas. *Extremophiles microorganisms and their biotechnological applications* [Internet]. 30 de junio de 2020 [citado 20 de enero de 2024]; Disponible en: <https://digital.csic.es/handle/10261/230752>

22. Amils R. Ambientes extremos y geología: el caso de Río Tinto. Enseñanza de las Ciencias de la Tierra. 2018;20(2):122-122.
23. Rampelotto PH. Extremophiles and Extreme Environments. Life. septiembre de 2013;3(3):482-5.
24. Gómez Gutiérrez JG, Bermudez Humaran, Reyes Guerra T, Montes de Oca R, Adame Rodríguez JM. Producción y purificación de la Taq DNA polimerasa a partir de E. coli Recombinada [Internet]. 2022 [citado 21 de enero de 2024]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/402/40250307.pdf>
25. Santana MM, Portillo MC, Gonzalez JM, Clara MI. Characterization of new soil thermophilic bacteria potentially involved in soil fertilization. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 2013;176(1):47-56.
26. Granda Torres CA. Biotecnología de microorganismos extremófilos [Internet]. [Manizales]: Universidad Católica de Manizales; 2010. Disponible en: <https://repositorio.ucm.edu.co/bitstream/10839/1410/1/Carlos%20Arturo%20Granada%20Torres.pdf>
27. García Horstmann Á. Estudio de microorganismos halófilos moderados productores de exopolisacáridos pertenecientes a salinas de interior en Castilla-La Mancha [Internet] [http://purl.org/dc/dcmitype/Text]. Universidad Autónoma de Madrid; 2021 [citado 23 de noviembre de 2023]. p. 1. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=303339>
28. Ventosa A, Nieto JJ, Oren A. Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews. junio de 1998;62(2):504-44.
29. Guevara Ordoñez IA. Aislamiento e identificación de bacterias halófilas para la biorremediación de suelos salinos. Repositorio Institucional - UCV [Internet]. 2021 [citado 23 de noviembre de 2023]; Disponible en: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/62668>
30. Gastélum Valdez. KK. Estudio de la reducción de compuestos orgánicos en aguas residuales salina mediante microorganismos halófilos [Internet]. [Mexico]: CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO TECNOLÓGICO EN ELECTROQUÍMICA, S.C.; 2014 [citado 23 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/330/1/Estudio%20de%20la%20reducci%C3%B3n%20de%20compuestos%20org%C3%A1nicos%20en%20agua%20residual%20salina%20mediante%20microorganismos%20halotolerantes.pdf>
31. Magaña Tzuc MC. Potencial biofertilizante de bacterias halófilas aisladas de suelos salinos obtenidos de la reserva de la biosfera de los Petenes. 16 de febrero de 2021 [citado 23 de noviembre de 2023]; Disponible en:

<http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/4606>

32. Junior AFC, Guedes EHS, Soares CM da S, Cunha MG, Santos AL dos, Aguiar AO, et al. Isolation and characterization of halophilic strains from beef jerky. *Research, Society and Development*. 19 de febrero de 2022;11(3):e21511326368-e21511326368.
33. Jiménez RC, Acosta WP, Arango CS. Biomoléculas de interés industrial provenientes de ambientes extremos y mecanismos para extraerlas. *Microciencia*. 2020;(9):149-58.
34. Rao AS, Nair A, Nivetha K, More VS, Anantharaju KS, More SS. Molecular adaptations in proteins and enzymes produced by extremophilic microorganisms. En: *Extremozymes and Their Industrial Applications* [Internet]. Elsevier; 2022 [citado 17 de enero de 2025]. p. 205-30. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323902748000022>
35. Wang J, Salem DR, Sani RK. Extremophilic exopolysaccharides: A review and new perspectives on engineering strategies and applications. *Carbohydrate Polymers*. 1 de febrero de 2019;205:8-26.
36. Gamarra HA, Monzón DJC. Influencia del PH y la concentración de haloferax sp en la DQO y DBO5 del efluente residual de la empresa Exalmar S. A. C. *Innovación en Ingeniería* [Internet]. 30 de diciembre de 2018 [citado 23 de noviembre de 2023];4(1). Disponible en: <https://revistas.ucv.edu.pe/index.php/innovacion/article/view/1815>
37. Rodríguez Aristizabal MA, Higuera Mora NC, Sanjuanelo Corredor DW, Rodríguez Aristizabal MA, Higuera Mora NC, Sanjuanelo Corredor DW. Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia. *Revista de Biología Tropical*. junio de 2019;67(3):621-32.
38. Mo L, Zanella A, Squartini A, Ranzani G, Bolzonella C, Concheri G, et al. Anthropogenic vs. natural habitats: Higher microbial biodiversity pays the trade-off of lower connectivity. *Microbiological Research*. 1 de mayo de 2024;282:127651.
39. Henriët O, Fourmentin J, Delincé B, Mahillon J. Exploring the diversity of extremely halophilic archaea in food-grade salts. *Int J Food Microbiol*. 17 de noviembre de 2014;191:36-44.
40. Aponte M, Blaiotta G, Francesca N, Moschetti G. Could halophilic archaea improve the traditional salted anchovies (*Engraulis encrasicolus* L.) safety and quality? *Lett Appl Microbiol*. diciembre de 2010;51(6):697-703.
41. Pallavi, Mishra RK, Sahu PK, Mishra V, Jamal H, Varma A, et al. Isolation and characterization of halotolerant plant growth promoting rhizobacteria from mangrove region of Sundarbans, India for enhanced crop productivity. *Front Plant Sci* [Internet].

- 20 de abril de 2023 [citado 1 de febrero de 2025];14. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2023.1122347/full>
42. Buela L, Torres S, Guamán M, Martínez M. Detección de *Rhodotorula* sp., un potencial patógeno oportunista, en la mucosa nasal de cuyes. *noviembre de 2024*;8(14):40-8.
43. Ruginescu R, Gomoiu I, Popescu O, Cojoc R, Neagu S, Lucaci I, et al. Bioprospecting for Novel Halophilic and Halotolerant Sources of Hydrolytic Enzymes in Brackish, Saline and Hypersaline Lakes of Romania. *Microorganisms*. diciembre de 2020;8(12):1903.
44. Díaz-Cárdenas C, Baena S. Manantiales salinos: inventarios de la diversidad metabólica y filogenética de microorganismos de ambientes salinos. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. septiembre de 2015;39(152):358-73.
45. Jurado V, Gonzalez JM, Laiz L, Saiz-Jimenez C. *Aurantimonas altamirensis* sp. nov., a member of the order Rhizobiales isolated from Altamira Cave. *Int J Syst Evol Microbiol*. noviembre de 2006;56(Pt 11):2583-5.
46. Al Farraj DA, Kumar TSJ, Vijayaraghavan P, Elshikh MS, Alkufeidy RM, Alkubaisi NA, et al. Enhanced production, purification and biochemical characterization of therapeutic potential fibrinolytic enzyme from a new *Bacillus flexus* from marine environment. *Journal of King Saud University - Science*. 1 de octubre de 2020;32(7):3174-80.
47. Ubi D, Ekpenyong M, Ikharia E, Akwagiobe E, Asitok A, Antai S. Production, characterization, and bio-ethanologenic potential of a novel tripartite raw starch-digesting amylase from *Priestia flexa* UCCM 00132. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 3 de octubre de 2023;54:1-15.
48. Ahmed I, Yokota A, Fujiwara T. A novel highly boron tolerant bacterium, *Bacillus boroniphilus* sp. nov., isolated from soil, that requires boron for its growth. *Extremophiles*. marzo de 2007;11(2):217-24.
49. Wróbel M, Śliwakowski W, Kowalczyk P, Kramkowski K, Dobrzyński J. Bioremediation of Heavy Metals by the Genus *Bacillus*. *Int J Environ Res Public Health*. 11 de marzo de 2023;20(6):4964.
50. Walterson AM, Stavrínides J. *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. *FEMS Microbiology Reviews*. 1 de noviembre de 2015;39(6):968-84.
51. Pandya D, Chaudhari R, Zala D, Chauhan K, Patel P, Dave D, et al. *Pantoea*: A Versatile bacterial Candidate of Agricultural Importance. *Journal of Advanced Zoology*. 13 de diciembre de 2023;44:403-13.

52. Yoon JH, Kim IG, Kang KH, Oh TK, Park YH. *Bacillus marisflavi* sp. nov. and *Bacillus aquimaris* sp. nov., isolated from sea water of a tidal flat of the Yellow Sea in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003;53(5):1297-303.
53. Trivedi N, Gupta V, Kumar M, Kumari P, Reddy CRK, Jha B. Solvent tolerant marine bacterium *Bacillus aquimaris* secreting organic solvent stable alkaline cellulase. *Chemosphere*. 1 de abril de 2011;83(5):706-12.
54. Tarasov K, Yakhnenko A, Zarubin M, Gangapshev A, Potekhina NV, Avtukh AN, et al. *Cytobacillus pseudoceanisediminis* sp. nov., A Novel Facultative Methylophilic Bacterium with High Heavy Metal Resistance Isolated from the Deep Underground Saline Spring. *Curr Microbiol*. 7 de diciembre de 2022;80(1):31.
55. Ghosh D, Seth M, Mondal P, Mukhopadhyay S. Cepacian degrading *Cytobacillus* sp. strain Dbc1 with anti-biofilm activity potentiating antibiotic efficacy against *Burkholderia cepacia* biofilm development. *Journal of Environmental Biology*. 2 de enero de 2024;45:25-35.
56. Pal D, Kumar R, Kaur N, Kumar N, Kaur G, Singh N, et al. *Bacillus maritimus* sp. nov., a novel member of the genus *Bacillus* isolated from marine sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 12 de octubre de 2016;
57. Tang SK, Wang Y, Lou K, Mao PH, Xu LH, Jiang CL, et al. *Kocuria halotolerans* sp. nov., an actinobacterium isolated from a saline soil in China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2009;59(6):1316-20.
58. Li X, Sun P, Zhang Y, Jin C, Guan C. A novel PGPR strain *Kocuria rhizophila* Y1 enhances salt stress tolerance in maize by regulating phytohormone levels, nutrient acquisition, redox potential, ion homeostasis, photosynthetic capacity and stress-responsive genes expression. *Environmental and Experimental Botany*. 1 de junio de 2020;174:104023.

ANEXOS

Anexo 1: Codificación de las colonias

Halófilas	
Flor de sal	Sal ahumada
FS1	A1
FS2	A2
FS3	A3
FS4	A4
FS5	
FS6	
FS7	
FS8	
FS9	
FS10	
FS11	
FS12	
FS13	

Anexo 2: Características macroscópicas de los aislados halotolerantes

código	Medio	Fenotipo de las colonias									Células	Otro
		Forma	Color	Brillo	Textura	Borde	Tamaño	Elevación	Transparencia	Consistencia		
FS-1	AN+Na Cl	C	B	B	L	E	M	P	O	D		
FS-2	AN+Na C	C	C	B	L	E	M	P	O	S		
FS-3	AN+Na C	C	Rosa	B	L	E	G	P	O	S		
FS-4	AN+Na C	C	B	B	L	E	M	P	O	S		
FS-5	AN+Na C	C	T	B	L	E	G	P	T	S		
FS-6	AN+Na C	I	R	B	L	O	G	P	O	S		
FS-7	AN+Na C	R	B	B	L	R	P	P	O	D		
FS-8	AN+Na C	C	B	B	L	E	G	P	O	D		
FS-9	AN+Na C	C		B	L	E	M	P	O	S		
FS-10	AN+Na C	I		B	L	O	G	P	O	D		
FS-11	AN+Na C	I	R	O	L	L	M	C	O	D		
FS-12	AN+Na C	C	R	O	L	E	M	C	O	S		
FS-13	AN+Na C	C	Amar	O	L	E	M	C	O	S		
A1	AN+Na C	C	T	B	L	E	P	P	T	S		
A2	AN+Na C	C	C	B	L	E	G	P	O	S		
A3	AN+Na C	C	T	B	L	E	M	C	T	S		
A4	AN+Na C	I	A	O	L	O	M	P	O	D		

Anexo 3: Resultados de análisis de secuencias por BlastN

Cepa A (A1)

RID: TZGYV8TY013
Job Title:CEPA A
Program: BLASTN
Query: CEPA A ID: 1c1|Query_2475365(dna) Length: 1097
Database: core_nt Core nucleotide BLAST database

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Uncultured bacterium clone ncd1296a06c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1906	1906	100%	0.0	98.18	1304	JF107746.1
Aureimonas altamirensis strain IARI-ABL-26 16S ribosomal RNA...	Aureimonas a...	NA	370622	1906	1906	100%	0.0	98.18	1444	KC581669.1
Uncultured bacterium clone ncd1336g06c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1906	1906	100%	0.0	98.18	1304	JF066990.1
Aureimonas altamirensis strain M8C 16S ribosomal RNA gene...	Aureimonas a...	NA	370622	1906	1906	100%	0.0	98.18	1406	MG262447.1
Uncultured bacterium clone ncd1295b02c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1906	1906	100%	0.0	98.18	1304	JF107763.1
Aurantimonas altamirensis strain NML 070722 16S ribosomal RNA...	Aureimonas a...	NA	370622	1906	1906	100%	0.0	98.18	1449	EU442518.1
Aureimonas altamirensis strain A31 16S ribosomal RNA gene...	Aureimonas a...	NA	370622	1903	1903	100%	0.0	98.18	1350	QM759868.1
Aureimonas altamirensis strain G28HT01 16S ribosomal RNA gene...	Aureimonas a...	NA	370622	1901	1901	100%	0.0	98.09	1457	MT675518.1
Uncultured bacterium clone ncd1294b05c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1901	1901	100%	0.0	98.09	1304	JF095900.1
Uncultured bacterium clone ncd1294f04c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1901	1901	100%	0.0	98.09	1304	JF107740.1
Uncultured bacterium clone ncd129407c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1901	1901	100%	0.0	98.09	1304	JF107778.1
Uncultured bacterium clone ncd1335d01c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1901	1901	100%	0.0	98.09	1304	JF108592.1
Uncultured bacterium clone ncd129407c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1901	1901	100%	0.0	98.09	1304	JF108592.1
Uncultured bacterium clone ncd1334g09c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1901	1901	100%	0.0	98.09	1304	JF067163.1
Aureimonas altamirensis strain SA22 16S ribosomal RNA gene...	Aureimonas a...	NA	370622	1899	1899	99%	0.0	98.26	1348	MT525267.1
Uncultured bacterium clone ncd1288e06c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1895	1895	100%	0.0	98.00	1304	JF089722.1
Uncultured bacterium clone ncd1295a09c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1895	1895	100%	0.0	98.00	1304	JF107727.1
Uncultured bacterium clone ncd1334d05c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1895	1895	100%	0.0	98.00	1304	JF108551.1
Uncultured bacterium clone ncd1294f06c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1895	1895	100%	0.0	98.00	1304	JF096051.1
Uncultured bacterium clone ncd1295c01c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1895	1895	100%	0.0	98.00	1304	JF095753.1
Uncultured bacterium clone ncd1334f08c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1895	1895	100%	0.0	98.00	1303	JF066929.1
Uncultured bacterium clone ncd1333g09c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1895	1895	100%	0.0	98.00	1304	JF108554.1
Uncultured bacterium clone ncd1295d06c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1890	1890	100%	0.0	97.91	1304	JF095712.1
Uncultured bacterium clone ncd1295c09c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1890	1890	100%	0.0	97.91	1303	JF107757.1
Uncultured bacterium clone ncd1294c10c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1890	1890	100%	0.0	97.91	1304	JF095811.1

Cepa B (A2)

RID: TZHS1Y17013
Job Title:CEPA B
Program: BLASTN
Query: CEPA B ID: 1c1|Query_5296089(dna) Length: 987
Database: core_nt Core nucleotide BLAST database

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Priestia flexa strain BF-62 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1550	MW725561.1
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain JSM Z7696 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp...	NA	1409	1823	1823	100%	0.0	100.00	1462	MW627414.1
Bacillus sp. H1-115 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	NA	1621364	1823	1823	100%	0.0	100.00	1436	KM079108.1
Bacillus flexus strain BAB-1635 16S ribosomal RNA gene, partia...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1484	KF535145.1
Bacillus sp. G1DM-53 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	NA	375710	1823	1823	100%	0.0	100.00	1555	DQ416791.1
Priestia sp. strain IS221 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia sp.	NA	2800375	1823	1823	100%	0.0	100.00	1449	OQ927172.1
Bacillus flexus strain YAR-4 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1465	K3641619.1
Bacillus flexus strain MP-9 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1542	MH005063.1
Bacillus flexus strain wx2 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1451	KF963619.1
Priestia flexa strain V6187 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1426	PP257581.1
Bacillus flexus strain B32 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1485	JX112648.1
Priestia flexa strain KLBMP 4941, complete sequence	Priestia flexa	NA	86664	1823	21776	100%	0.0	100.00	3960308	CP016790.1
Bacillus flexus strain Twd 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1517	F3948078.1
Bacillus flexus strain 0065 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1065	KP236203.1
Priestia flexa strain BAW-33 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1558	OM763274.1
Priestia flexa strain MHTZ 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1331	OM049294.1
Bacillus flexus strain MDL1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1508	F3861881.1
Priestia flexa strain PRO116 chromosome, complete genome	Priestia flexa	NA	86664	1823	21796	100%	0.0	100.00	3913244	CP128590.1
Bacillus flexus strain MTA-18-2-1 16S ribosomal RNA gene...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1425	K3461888.1
Bacillus sp. 3MC-UBL 04 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	NA	859295	1823	1823	100%	0.0	100.00	1442	HM451431.1
Bacillus sp. By104(A)Ydz-dh 16S ribosomal RNA gene, partial...	Bacillus sp...	NA	510985	1823	1823	100%	0.0	100.00	1436	EU070377.1
Bacillus flexus strain K31-5-98 16S ribosomal RNA gene, partia...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1487	K3623601.1
Bacillus sp. YY(2014) 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	NA	1475147	1823	1823	100%	0.0	100.00	1426	K3011149.1
Bacillus sp. PPB2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	NA	931121	1823	1823	100%	0.0	100.00	1547	HM771657.1
Bacillus flexus strain ME BHU10 16S ribosomal RNA gene, partia...	Priestia flexa	NA	86664	1823	1823	100%	0.0	100.00	1493	JN033557.1

Cepa C (A3)

RID: TZJ8XPAZ016
Job Title:CEPA C
Program: BLASTN
Query: CEPA C ID: lcl[Query_3082461(dna) Length: 977
Database: core_nt Core nucleotide BLAST database

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Mesobacillus sp. strain OTU49M236339 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	2675271	1799	1799	100%	0.0	99.90	1472	PP859117.1
Bacillus boroniphilus strain PL68 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	308892	1799	1799	100%	0.0	99.90	1523	GU001897.1
Bacillus boroniphilus strain CM25 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	308892	1799	1799	100%	0.0	99.90	1511	EU660347.1
Bacillus boroniphilus strain JB 33 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	308892	1799	1799	100%	0.0	99.90	1448	KJ920917.1
Mesobacillus subterraneus strain COOT3B 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1799	1799	100%	0.0	99.90	1539	NR_104749.1
Bacillus subterraneus strain HWG-A11 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1516	JQ684234.1
Uncultured Bacillus sp. clone SGR228 16S ribosomal RNA gene,...	uncultured B...	NA	83428	1794	1794	100%	0.0	99.80	1514	JQ793561.1
Bacillus sp. M71_546 partial 16S rRNA gene, isolate M71_546	Bacillus sp...	NA	592944	1794	1794	100%	0.0	99.80	1427	FM992827.1
Mesobacillus subterraneus strain V5138 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1424	PP256714.1
Bacillus subterraneus strain A6 16S ribosomal RNA gene, partia...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.90	1503	KY202699.1
Mesobacillus subterraneus strain V5086 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1415	PP256731.1
Bacillus sp. BL09 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	NA	1109229	1794	1794	100%	0.0	99.80	1424	JN791296.1
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain FJAT-21938 16S ribosomal RN...	Bacillus sp...	NA	1409	1794	1794	100%	0.0	99.80	1451	KY949526.1
Mesobacillus subterraneus strain 23743 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1413	OR429376.1
Mesobacillus sp. strain B15 16S ribosomal RNA gene, partial...	Mesobacillus...	NA	2675271	1794	1794	100%	0.0	99.80	1456	OR116158.1
Mesobacillus subterraneus strain D04 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1417	KU147412.1
Mesobacillus subterraneus strain 24498 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1416	OR430294.1
Mesobacillus jeotgali strain PS1 chromosome, complete genome	Mesobacillus...	NA	129985	1794	17897	100%	0.0	99.80	4634919	CP134494.1
Bacillus jeotgali strain B36 16S ribosomal RNA gene, partial...	Mesobacillus...	NA	129985	1794	1794	100%	0.0	99.80	1454	GU397390.1
Mesobacillus subterraneus strain V5147 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1415	PP256744.1
Mesobacillus subterraneus strain GHM58 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1508	OL944330.1
Mesobacillus sp. strain S13_27F 16S ribosomal RNA gene, partia...	Mesobacillus...	NA	2675271	1794	1794	100%	0.0	99.80	1457	MZ453086.1
Bacillus sp. JB 7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp...	NA	1735754	1794	1794	100%	0.0	99.80	1390	KT074372.1
Mesobacillus subterraneus strain V6025 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1416	PP257459.1
Mesobacillus subterraneus strain V3581 16S ribosomal RNA gene....	Mesobacillus...	NA	285983	1794	1794	100%	0.0	99.80	1422	PP257814.1

Cepa D (A4)

RID: TZJRVPS0013
Job Title:CEPA D
Program: BLASTN
Query: CEPA D ID: lcl[Query_5785547(dna) Length: 999
Database: core_nt Core nucleotide BLAST database

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Pantoea eucria strain XL123 chromosome, complete genome	Pantoea eucria	NA	472693	1829	12771	99%	0.0	99.90	3389240	CP083448.1
Pantoea eucria strain KB60 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea eucria	NA	472693	1829	1829	99%	0.0	99.90	1414	MW013485.1
Pantoea eucria partial 16S rRNA gene, isolate CF7	Pantoea eucria	NA	472693	1829	1829	99%	0.0	99.90	1475	HE659514.1
Pantoea ananatis strain nfd35 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea anan...	NA	553	1829	1829	99%	0.0	99.90	1446	OR575172.1
Pantoea sp. strain QA16-22 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea sp.	NA	69393	1829	1829	99%	0.0	99.90	1391	MH769290.1
Pantoea eucria strain HT02-1 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea eucria	NA	472693	1829	1829	99%	0.0	99.90	1389	MG835928.1
Pantoea sp. strain SWUSTb-103 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea sp.	NA	69393	1829	1829	99%	0.0	99.90	1423	OP236694.1
Pantoea eucria strain OsEnb_PLM_L2 16S ribosomal RNA gene,...	Pantoea eucria	NA	472693	1829	1829	99%	0.0	99.90	1414	MH809247.1
Pantoea eucria strain OT04-4 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea eucria	NA	472693	1829	1829	99%	0.0	99.90	1367	MG836010.1
Pantoea sp. DM074 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pantoea sp. ...	NA	1716103	1829	1829	99%	0.0	99.90	1359	KT750847.1
Pantoea eucria strain T216 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea eucria	NA	472693	1829	1829	99%	0.0	99.90	1433	MW820002.1
Pantoea sp. PSNIH1, complete genome	Pantoea sp. ...	NA	1484158	1829	12757	99%	0.0	99.90	3488376	CP009880.2
Pantoea sp. P12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pantoea sp. P12	NA	658353	1829	1829	99%	0.0	99.90	1440	GQ253926.1
Pantoea sp. EM011 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pantoea sp. ...	NA	1716104	1829	1829	99%	0.0	99.90	1411	KT750852.1
Pantoea sp. strain J1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pantoea sp.	NA	69393	1829	1829	99%	0.0	99.90	1441	PP064067.1
Pantoea eucria strain VRB6-59 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea eucria	NA	472693	1829	1829	99%	0.0	99.90	1120	KR265452.1
Pantoea eucria strain KT03 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea eucria	NA	472693	1829	1829	99%	0.0	99.90	1484	MH017409.1
Pantoea eucria strain HBUAS77146 16S ribosomal RNA gene,...	Pantoea eucria	NA	472693	1829	1829	99%	0.0	99.90	1465	PQ312853.1
Pantoea eucria strain LMG 2781 16S ribosomal RNA gene, partia...	Pantoea eucria	NA	472693	1825	1825	99%	0.0	99.90	1346	MW234466.1
Pantoea sp. strain QA16-14 16S ribosomal RNA gene, partial...	Pantoea sp.	NA	69393	1823	1823	99%	0.0	99.80	1398	MH769282.1
Pantoea sp. strain nfd31 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pantoea sp.	NA	69393	1823	1823	99%	0.0	99.80	1448	OR575168.1
Erwinia tasmaniensis strain SRRNI51 16S ribosomal RNA gene,...	Erwinia tasm...	NA	338565	1823	1823	99%	0.0	99.80	1330	KF724025.1
Uncultured bacterium clone ncd2609d03c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1823	1823	99%	0.0	99.80	1364	JF219917.1
Pantoea eucria strain IH8 B 10086 16S ribosomal RNA gene,...	Pantoea eucria	NA	472693	1823	1823	99%	0.0	99.80	1496	KR233791.1
Uncultured bacterium clone ncd2580f02c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	1823	1823	99%	0.0	99.80	1364	JF226490.1

Cepa E (FS2)

RID: TZKDG6VU016
Job Title:CEPA E
Program: BLASTN
Query: CEPA E ID: lcl|Query_6181833(dna) Length: 963
Database: core_nt Core nucleotide BLAST database

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Bacillus vietnamensis strain CT3-1 16S ribosomal RNA gene,...	Rossellomore... NA		218284	1664	1664	100%	0.0	97.92	1103	JF411255.1
Bacillus sp. HMD3161 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		760551	1659	1659	100%	0.0	97.82	1430	HM015894.1
Bacillus aquimaris strain PT-35 16S ribosomal RNA gene, partia...	Rossellomore... NA		189382	1657	1657	100%	0.0	97.91	1422	HQ234271.1
Uncultured soil bacterium clone DLQA08C114Y11 16S ribosomal RN...	uncultured s... NA		164851	1655	1655	100%	0.0	97.72	1840	JN604628.1
Bacillus sp. S6-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		568743	1655	1655	100%	0.0	97.72	1458	F3373036.1
Rossellomorea aquimaris strain AK013 16S ribosomal RNA gene,...	Rossellomore... NA		189382	1653	1653	100%	0.0	97.81	1417	OR447768.1
Bacillus sp. SCS-153A chromosome, complete genome	Bacillus sp.... NA		3115294	1653	16505	100%	0.0	97.72	4200439	CP143546.1
Bacillus aquimaris strain CL21-1 16S ribosomal RNA gene, parti...	Rossellomore... NA		189382	1653	1653	100%	0.0	97.81	1387	HM854268.1
Rossellomorea aquimaris strain AK109 16S ribosomal RNA gene,...	Rossellomore... NA		189382	1652	1652	100%	0.0	97.81	1389	OR447769.1
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain TRM82424 16S ribosomal RN...	Bacillus sp.... NA		1409	1652	1652	99%	0.0	97.91	1416	OR434906.1
Bacillus aquimaris strain DL36 16S ribosomal RNA gene, partial...	Rossellomore... NA		189382	1650	1650	100%	0.0	97.71	1425	JF411268.1
Bacillus sp. S6-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		161544	1650	1650	100%	0.0	97.61	1453	AF326373.1
Bacillus sp. PL-21 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		161539	1650	1650	100%	0.0	97.61	1514	AF326368.1
Bacillus sp. NCCP-62 gene for 16S rRNA, partial sequence	Bacillus sp.... NA		707320	1650	1650	100%	0.0	97.61	1541	AB698779.1
Uncultured Bacillus sp. partial 16S rRNA gene, clone HL454	uncultured B... NA		83428	1650	1650	100%	0.0	97.71	1012	LN835774.1
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain PS-BW-4 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	1650	1650	100%	0.0	97.61	1452	OQ560485.1
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain SCS-153A 16S ribosomal RN...	Bacillus sp.... NA		1409	1648	1648	100%	0.0	97.61	1548	PQ606474.1
Uncultured soil bacterium clone DLQAMBC127Y11 16S ribosomal RN...	uncultured s... NA		164851	1648	1648	100%	0.0	97.61	1224	JN604588.1
Rossellomorea aquimaris strain CQ8-9 16S ribosomal RNA gene,...	Rossellomore... NA		189382	1646	1646	100%	0.0	97.61	1427	KR347216.1
Bacillus sp. H183 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		1000454	1644	1644	100%	0.0	97.61	1422	JF346662.1
Bacillus sp. G802-5/8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		338068	1644	1644	100%	0.0	97.51	1485	DQ078996.1
Bacillus sp. MB-12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		161532	1644	1644	100%	0.0	97.51	1519	AF326361.1
Bacillus sp. SD-18 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		161543	1644	1644	100%	0.0	97.51	1514	AF326372.1
Uncultured bacterium clone EMIRGE_OTU_s1t2b_1243 16S ribosomal...	uncultured b... NA		77133	1644	1644	100%	0.0	97.51	1562	JX221829.1
Bacillus aquimaris gene for 16S rRNA, partial sequence, isolat...	Rossellomore... NA		189382	1642	1642	100%	0.0	97.61	1442	AB617546.1

Cepa F (FS6)

RID: TZKJWS7013
Job Title:CEPA F
Program: BLASTN
Query: CEPA F ID: lcl|Query_3904677(dna) Length: 962
Database: core_nt Core nucleotide BLAST database

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Bacillus sp. (in: firmicutes) 1Hg14 gene for 16S rRNA, partial...	Bacillus sp.... NA		1409	1772	1772	100%	0.0	99.90	1430	LC681812.1
Cytobacillus pseudoceanisediminis strain NIOT.S2WAZ2 16S...	Cytobacillus... NA		3051614	1772	1772	100%	0.0	99.90	1561	PQ496561.1
Bacillus sp. BM-2012-R1 partial 16S rRNA gene, isolate R1	Bacillus sp.... NA		1157185	1772	1772	100%	0.0	99.90	1855	HE681807.1
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain MRF-38 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	1772	1772	100%	0.0	99.90	1437	MG266369.1
Cytobacillus pseudoceanisediminis strain NIOT.S5WZ2 16S...	Cytobacillus... NA		3051614	1772	1772	100%	0.0	99.90	1559	PQ496590.1
Bacillus sp. DP-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		1580480	1772	1772	100%	0.0	99.90	1400	KP238213.1
Bacillus firmus strain VIIIS0 16S ribosomal RNA gene, partial...	Cytobacillus... NA		1399	1772	1772	100%	0.0	99.90	1086	KR006925.1
Cytobacillus pseudoceanisediminis strain NIOT.S2WAT3 16S...	Cytobacillus... NA		3051614	1772	1772	100%	0.0	99.90	1486	PQ496565.1
Cytobacillus oceanisediminis strain MLR61 16S ribosomal RNA...	Cytobacillus... NA		665099	1772	1772	100%	0.0	99.90	1392	KY411726.1
Cytobacillus firmus strain PPSBB_1 16S ribosomal RNA gene,...	Cytobacillus... NA		1399	1772	1772	100%	0.0	99.90	1516	PP373834.1
Cytobacillus pseudoceanisediminis strain NIOT.S4WB11 16S...	Cytobacillus... NA		3051614	1772	1772	100%	0.0	99.90	1177	PQ496577.1
Bacillus firmus strain NFB28 16S ribosomal RNA gene, partial...	Cytobacillus... NA		1399	1772	1772	100%	0.0	99.90	1455	JX083969.1
Cytobacillus firmus strain AHB 16S ribosomal RNA gene, partial...	Cytobacillus... NA		1399	1772	1772	100%	0.0	99.90	1374	MW559494.1
Uncultured soil bacterium clone DLQA08C100Y11 16S ribosomal RN...	uncultured s... NA		164851	1768	1768	100%	0.0	99.79	1061	JN604616.1
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain 201705CJOP-1 16S ribosomal...	Bacillus sp.... NA		1409	1768	1768	100%	0.0	99.79	1460	MG309314.1
Bacillus sp. BAB-5486 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp.... NA		1826686	1768	1768	100%	0.0	99.79	1301	KX011994.1
Cytobacillus oceanisediminis strain ZM2 16S ribosomal RNA gene...	Cytobacillus... NA		665099	1766	1766	100%	0.0	99.79	1432	MF062596.1
Cytobacillus oceanisediminis strain MSSRF BM160 16S ribosomal...	Cytobacillus... NA		665099	1766	1766	100%	0.0	99.79	1398	MW577361.1
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain CMF-5 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp.... NA		1409	1766	1766	100%	0.0	99.79	1449	MG266382.1
Cytobacillus firmus strain V3296 16S ribosomal RNA gene, parti...	Cytobacillus... NA		1399	1766	1766	100%	0.0	99.79	1422	PP257807.1
Cytobacillus oceanisediminis strain 22870 16S ribosomal RNA...	Cytobacillus... NA		665099	1766	1766	100%	0.0	99.79	1408	OR426718.1
Bacillus oceanisediminis strain S6-M2-5 16S ribosomal RNA gene...	Cytobacillus... NA		665099	1766	1766	100%	0.0	99.79	1008	MN179933.1
Cytobacillus oceanisediminis strain SCSIO_43758 16S ribosomal...	Cytobacillus... NA		665099	1766	1766	100%	0.0	99.79	1399	PP837869.1
Bacillus oceanisediminis strain DD174 16S ribosomal RNA gene,...	Cytobacillus... NA		665099	1766	1766	100%	0.0	99.79	1442	KT216617.1
Cytobacillus oceanisediminis strain C029 16S ribosomal RNA gen...	Cytobacillus... NA		665099	1766	1766	100%	0.0	99.79	1409	OK626653.1

Cepa G (FS12)

RID: TZMRBYDF016
Job Title:CEPA G
Program: BLASTN
Query: CEPA G ID: lcl|Query_6842133(dna) Length: 778
Database: core_nt Core nucleotide BLAST database

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Mesobacillus maritimus strain ADH-29 chromosome, complete genome	Mesobacillus...	NA	1643336	1277	27502	100%	0.0	96.28	5701365	CP085225.1
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain JSM 1685063 16S ribosomal R...	Bacillus sp....	NA	1409	1275	1275	100%	0.0	96.03	1489	MG893134.1
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain CM-CNRG 616 16S ribosomal R...	Bacillus sp....	NA	1409	1260	1260	100%	0.0	95.90	1455	MK456440.1
Neobacillus novalis strain AQUA 1 16S ribosomal RNA gene,...	Neobacillus ...	NA	220687	1254	1254	100%	0.0	95.77	907	OR805131.1
Neobacillus novalis strain FJAT-46402 16S ribosomal RNA gene,...	Neobacillus ...	NA	220687	1254	1254	100%	0.0	95.77	860	KY849448.1
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain 12B2.1 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp....	NA	1409	1254	1254	100%	0.0	95.77	1470	MK456456.1
Bacillus sp. Marseille-P3604 partial 16S rRNA gene, strain...	Bacillus caccae	NA	1936060	1249	1249	100%	0.0	95.65	1455	LT714169.1
Bacillus caccae strain Marseille-P3604 16S ribosomal RNA,...	Bacillus caccae	NA	1936060	1249	1249	100%	0.0	95.65	1455	NR_179591.1
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain 23B.4 16S ribosomal RNA gen...	Bacillus sp....	NA	1409	1247	1247	100%	0.0	95.64	1428	MK456431.1
Bacillus sp. Marseille-P3608 partial 16S rRNA gene, strain...	Bacillus sp....	NA	1936997	1245	1245	100%	0.0	95.52	1476	LT722676.1
Bacillus sp. B013-7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	NA	1453658	1238	1238	99%	0.0	95.72	1402	KJ190977.1
Bacillus sp. (in: firmicutes) strain EB-41 16S ribosomal RNA...	Bacillus sp....	NA	1409	1236	1236	100%	0.0	95.38	1393	PQ443989.1
Mesobacillus maritimus strain 15B 16S ribosomal RNA gene,...	Mesobacillus...	NA	1643336	1232	1232	100%	0.0	95.26	1521	MZ314114.1
Bacillus maritimus NGB-R62 gene for 16S ribosomal RNA, partial...	Mesobacillus...	NA	1643336	1230	1230	100%	0.0	95.15	1101	LC481924.1
Mesobacillus foraminis strain APBSMLB46 16S ribosomal RNA gene...	Mesobacillus...	NA	279826	1227	1227	100%	0.0	95.12	1441	MG705825.1
Bacillus foraminis strain L10-5 16S ribosomal RNA gene, partia...	Mesobacillus...	NA	279826	1227	1227	100%	0.0	95.13	1442	JF798367.1
Uncultured bacterium clone SBK_b11_1 16S ribosomal RNA gene,...	uncultured b...	NA	77133	1227	1227	100%	0.0	95.13	1361	EU778672.1
Uncultured Bacillus sp. partial 16S rRNA gene, clone R223	uncultured B...	NA	83428	1223	1223	100%	0.0	95.01	1515	HG917240.1
Bacillus sp. (in: Bacteria) strain isolate 54 16S ribosomal RN...	Bacillus sp....	NA	1409	1223	1223	97%	0.0	96.02	930	MW890608.1
Uncultured bacterium gene for 16S rRNA, partial sequence, clon...	uncultured b...	NA	77133	1221	1221	100%	0.0	95.00	1472	AB695947.1
Uncultured bacterium gene for 16S rRNA, partial sequence, clon...	uncultured b...	NA	77133	1221	1221	100%	0.0	95.00	1473	AB695934.1
Uncultured bacterium gene for 16S rRNA, partial sequence, clon...	uncultured b...	NA	77133	1221	1221	100%	0.0	95.00	1473	AB695938.1
Uncultured bacterium clone SBK_b07_1 16S ribosomal RNA gene,...	uncultured b...	NA	77133	1221	1221	100%	0.0	95.00	1357	EU778672.1
Bacillus sp. G2DM-33 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Bacillus sp....	NA	375711	1221	1221	100%	0.0	95.00	1544	DQ416793.1
Bacillus foraminis strain SU18-09 16S ribosomal RNA gene....	Mesobacillus...	NA	279826	1221	1221	100%	0.0	95.00	922	MH201281.1

Cepa H (FS13)

RID: TZN8KRFW013
Job Title:CEPA H
Program: BLASTN
Query: CEPA H ID: lcl|Query_7104331(dna) Length: 1115
Database: core_nt Core nucleotide BLAST database

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query cover	E Value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Kocuria sp. strain ST19 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Kocuria sp. NA	NA	1871328	2039	2039	100%	0.0	99.64	1456	MN809135.1
Kocuria rhizophila strain EMJ52 16S ribosomal RNA gene, partia...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2039	2039	100%	0.0	99.64	1419	OP104184.1
Kocuria rhizophila strain P5AGU2 16S ribosomal RNA gene, parti...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2039	2039	100%	0.0	99.64	1399	PQ417919.1
Kocuria rhizophila strain BB045 16S ribosomal RNA gene, partia...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2039	2039	100%	0.0	99.64	1437	PP087472.1
Kocuria sp. strain SH56 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Kocuria sp. NA	NA	1871328	2039	2039	100%	0.0	99.64	1401	ON107229.1
Kocuria sp. strain CLC-F23 16S ribosomal RNA gene, partial...	Kocuria sp. NA	NA	1871328	2037	2037	100%	0.0	99.64	1394	MH518205.1
Kocuria rhizophila strain PIAGU3 16S ribosomal RNA gene, parti...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2037	2037	100%	0.0	99.64	1398	PQ417915.1
Uncultured bacterium clone 16s1p101-1b03.w2k 16S ribosomal RNA...	uncultured b...	NA	77133	2036	2036	100%	0.0	99.55	1465	GQ157148.1
Uncultured bacterium clone ncd2581f07c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	2036	2036	100%	0.0	99.55	1351	JF219301.1
Kocuria rhizophila strain KNA-32 16S ribosomal RNA gene, parti...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2036	2036	100%	0.0	99.55	1388	HM854258.1
Kocuria varians strain RPLON10 16S ribosomal RNA gene, partial...	Kocuria varians	NA	1272	2036	2036	100%	0.0	99.55	1420	MH079299.1
Kocuria rhizophila strain Bel 1-3 16S ribosomal RNA gene,...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2036	2036	100%	0.0	99.55	1432	OQ979272.1
Kocuria rhizophila strain AUMC B-196 16S ribosomal RNA gene,...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2036	2036	100%	0.0	99.55	1385	MF039698.1
Uncultured bacterium clone ncd2518b04c1 16S ribosomal RNA gene...	uncultured b...	NA	77133	2036	2036	100%	0.0	99.55	1352	JF203107.1
Uncultured bacterium clone A28 16S ribosomal RNA gene, partial...	uncultured b...	NA	77133	2036	2036	100%	0.0	99.55	1471	MG744660.1
Kocuria rhizophila strain fd3 16S ribosomal RNA gene, partial...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2036	2036	100%	0.0	99.55	1436	PQ380178.1
Uncultured bacterium clone nck69g11c1 16S ribosomal RNA gene,...	uncultured b...	NA	77133	2036	2036	100%	0.0	99.55	1351	KF077947.1
Kocuria rhizophila strain Ag09 16S ribosomal RNA gene, partial...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2036	2036	100%	0.0	99.55	1448	EU554435.1
Kocuria rhizophila strain NBC_00874 chromosome, complete genome	Kocuria rhiz...	NA	72000	2036	6097	100%	0.0	99.55	2776916	CP108802.1
Kocuria sp. strain 22S1BA_F 16S ribosomal RNA gene, partial...	Kocuria sp. NA	NA	1871328	2036	2036	100%	0.0	99.55	1399	OQ341368.1
Uncultured bacterium clone ncd21c07c1 16S ribosomal RNA gene,...	uncultured b...	NA	77133	2036	2036	100%	0.0	99.55	1351	HM251832.1
Uncultured bacterium clone 16s1p101-2f04.w2k 16S ribosomal RNA...	uncultured b...	NA	77133	2036	2036	100%	0.0	99.55	1465	GQ157146.1
Uncultured organism clone ELU0177-7472-S-NITPCRAMgANA_000697...	uncultured o...	NA	155900	2036	2036	100%	0.0	99.55	1440	HQ817986.1
Kocuria rhizophila strain E24CS2 16S ribosomal RNA gene, parti...	Kocuria rhiz...	NA	72000	2036	2036	100%	0.0	99.55	1444	MK474997.1
Kocuria rhizophila strain S-2-826-6r 16S ribosomal RNA gene....	Kocuria rhiz...	NA	72000	2036	2036	100%	0.0	99.64	1400	OP108783.1

Autorización de publicación en el repositorio institucional

Andrea Silvana Gómez Minchalo y Nicole Michelle Morales Ulloa portadoras de la cédula de ciudadanía N° **0150625424** y **0605446863**. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación **“Extremófilos en ambientes antropizados: Aislamiento de bacterias halotolerantes a partir de sal doméstica”** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **30 de abril de 2025**

F: 

Andrea Silvana Gómez Minchalo

C.I. **0150625424**

F: 

Nicole Michelle Morales Ulloa

C.I. **0605446863**