

Aislamiento y Caracterización *in vitro* de Actinobacterias de Suelos Costeros Frente a Vibrios Patógenos para ser Utilizados como Probióticos en la Acuicultura Isolation and *in vitro* Characterization of Actinobacteria from Coastal Soils Against Pathogenic Vibrios for Use as Probiotics in Aquaculture

Milagro García-Bernal^{1,2} , Ricardo Medina-Marrero¹ ,
Bernardo Murillo-Amador² , Ángel Isidro Campa-Córdova² ,
Dariel Tovar-Ramírez² y José Manuel Mazón-Suástegui^{2†}

¹ Universidad Central de Las Villas, Centro de Bioactivos Químicos. Carretera a Camajuaní km 5.5. 54830 Santa Clara, Villa Clara, Cuba; (M.G.B.), (R.M.M.).

² Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S. C. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 195, Colonia Playa Palo de Santa Rita Sur. 23096 La Paz, Baja California Sur, México; (B.M.A.), (A.I.C.C.), (D.T.R.), (J.M.M.S.).

[†] Autor para correspondencia: jmazon04@cibnor.mx

RESUMEN

El uso de bacterias probióticas es de importancia mundial en acuicultura y acuaponia ya que incrementan indicadores de crecimiento y resistencia de los organismos a las enfermedades, incrementando la producción. Esta investigación tuvo por objetivo aislar y caracterizar cepas de actinomicetos de suelos marino-costeros de ambas costas de México y su evaluación *in vitro* frente a patógenos marinos para definir su potencial probiótico y aplicabilidad en la acuicultura. Se aislaron 54 cepas de actinomicetos y de ellas 14 presentaron actividad antibacteriana frente a especies de *Vibrio* sp. evaluadas [*V. alginolyticus* (CIAD-CAIM 57), *V. parahaemolyticus* (ATCC-17802), *V. harveyi* (CIAD-CAIM 1793) y *V. vulnificus* (CIAD-CAIM 157)]. A partir de los resultados se seleccionó y se caracterizó la cepa M4 según sus características morfológicas y bioquímicas. Esta cepa mostró actividad enzimática *in vitro*, lo que confirma su potencial probiótico y aplicabilidad en acuicultura y acuaponia; además, presentó una actividad mayor frente a los vibrios patógenos evaluados. Estos resultados sugieren que la cepa M4 aislada de suelo marino-costero, tiene potencial probiótico y podría utilizarse como una alternativa a los antibióticos para tratar varios patógenos en la producción de especies agro-acuícolas.

Palabras clave: actinomicetos marinos, actividad antibacteriana, bioprotectores.

SUMMARY

The use of probiotic bacteria has global importance in aquaculture and aquaponics because they improve growth rates and enhance the organisms resistance to disease, thus increasing production. This study aimed to isolate and characterize actinomycete strains from marine-coastal soils on both coasts of Mexico and to evaluate them *in vitro* against marine pathogens to determine their probiotic potential and applicability in aquaculture and aquaponics. Fifty-four actinomycete strains were isolated, and 14 of them exhibited antibacterial activity against the evaluated *Vibrio* spp. species [*V. alginolyticus* (CIAD-CAIM 57), *V. parahaemolyticus* (ATCC-17802), *V. harveyi* (CIAD-CAIM 1793), and *V. vulnificus* (CIAD-CAIM 157)]. Based on the results, strain M4 was selected and characterized according to its morphological and biochemical traits. This strain showed enzymatic activity *in vitro*, confirming its probiotic potential and applicability in aquaculture; it also exhibited increased activity against the pathogenic vibrios tested. These results suggest that strain M4, isolated from coastal marine soil, has probiotic potential and could serve as an alternative to antibiotics to mitigate pathogen attacks in agroaquaculture production systems.

Index words: marine actinomycetes, antibacterial activity, bioprotective agents.



Cita recomendada:

García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Murillo-Amador, B., Campa-Córdova, A. I., Tovar-Ramírez, D., & Mazón-Suástegui, J. M. (2025). Aislamiento y Caracterización *in vitro* de Actinobacterias de Suelos Costeros Frente a Vibrios Patógenos para ser Utilizados como Probióticos en la Acuicultura. *Terra Latinoamericana*, 43, 1-11. e2310. <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2310>

Recibido: 19 de mayo de 2025.

Aceptado: 17 de septiembre de 2025.

Artículo. Volumen 43.

Noviembre de 2025.

Editor de Sección:

Dr. Pablo Preciado Rangel

Editor Técnico:

Dra. Rosalía del Carmen Castelán Vega



Copyright: © 2025 by the authors.

Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de probióticos bacterianos con capacidad para reducir la incidencia de patógenos en el ambiente acuático es una opción biotecnológica eco-sostenible para incrementar sobrevivencia en la acuicultura marina comercial (Irianto y Austin, 2002). Algunas cepas han sido recibidas con gran interés en la industria porque incrementan su productividad, por lo tanto se ha incrementado también la demanda de nuevas cepas candidatas (Stavropoulou y Bezirtzoglou, 2020; Espinosa-Palomeque *et al.*, 2025).

El aislamiento de cepas probióticas provenientes de sedimentos marinos y costeros ha sido atractivo para muchos estudios, porque éstos son más variados que los terrestres y producen diversos compuestos bioactivos incluyendo algunos con propiedades antibacterianas (Ameen, AlNadhari y Al-Homaidan, 2021). En este sentido, los microorganismos aislados de sedimentos de transición como los suelos intermareales de la franja costera son de considerable interés en biotecnología. De estos, los actinomicetos destacan por su capacidad de producción de metabolitos variados con actividad biológica y exoenzimas que contribuyen a reducir la presencia de microbios patógenos y también la carga orgánica en cultivos marinos de interés económico (Das, Ward y Burke, 2008; Dharmaraj, 2011; García-Bernal *et al.*, 2015; García-Bernal, Medina, Campa y Mazón, 2017; García-Bernal *et al.*, 2018). Las condiciones ambientales marinas son extremadamente diferentes de las terrestres, por lo anterior, se propone que, los actinomicetos de la zona marina y costera tienen características diferentes a los terrestres y, por lo tanto, pueden producir diversos tipos de compuestos biológicamente activos (Imada, Koseki, Kamata, Kobayashi y Hamada, 2007). Se ha demostrado el efecto positivo de los actinomicetos en la agricultura, porque la aplicación profiláctica de algunas cepas ha mostrado tener efectos positivos durante la germinación y el crecimiento inicial de *Phaseolus acutifolius* Gray, así como en la promoción del crecimiento inicial en semillas de *Nicotiana tabacum* L., mostrando su potencialidad como alternativa eco-amigable de producción agrícola en invernadero y también en condiciones de campo (García-Bernal *et al.*, 2022 y 2025).

Considerando que varios estudios han demostrado que las actinobacterias aisladas de sedimentos marinos-costeros pueden y tienen potencial probiótico para acuicultura (You *et al.*, 2005; Das, Ward y Burke, 2010; García-Bernal *et al.*, 2015), el presente estudio tuvo como objetivo fue aislar y caracterizar cepas de actinomicetos procedentes de sedimentos de playa y salitrales costeros del Océano Pacífico mexicano y del Golfo de México, así como su evaluación *in vitro* frente a patógenos marinos de alta virulencia y obtener al menos una cepa con potencial probiótico y aplicabilidad agro-acuícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Muestreo

Se colectaron 23 muestras de sedimento en la zona costera del estado de Baja California Sur en el Océano Pacífico mexicano (localidades específicas identificadas como Pichilingue, Mulegé, Bahía Concepción, Bahía de La Paz, El Comitán, El Salitral, Océano Pacífico, entre otros) y Tabasco en el Golfo de México (localidades específicas identificadas como Sistema Lagunar Carmen-Pajonal-Machona-Redonda y Sistema Lagunar Mecoacán). Las muestras de sedimento se colectaron en frascos estériles, se almacenaron en refrigeración en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR-MX) y posteriormente se procesaron en la Universidad Central de Las Villas (Centro de Bioactivos Químicos; Laboratorio de Microbiología), Cuba.

Procesamiento de Muestras y Aislamiento de Cepas

De cada muestra de sedimento se tomó 1 g y se suspendió en 9 mL de agua de mar estéril, agitando durante 3 minutos en equipo vórtex (Benchmark mixer®, Benchmark Scientific Inc. Sayreville, NJ, USA). Cada suspensión se incubó a baño maría durante 6 min a temperatura de 55 °C conforme a Pisano, Sommer y López (1986). Enseguida se realizaron diluciones 1:9 en agua de mar esterilizada hasta obtener finalmente una dilución equivalente a 10^{-5} del concentrado inicial. Enseguida se realizó una siembra en placa, utilizando diferentes medios de cultivos selectivos para actinobacterias [ACA (almidón 10 g, K_2HPO_4 2 g, KNO_3 2 g, caseína 0.3 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05 g, $CaCO_3$ 0.02 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g, agar 15 g, agua de mar 1L), AAH (ácido húmico 1 g, K_2HPO_4 0.5 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001 g, agar 20 g, solución de vitamina B1 mL (tiamina-HCl (50 mg), riboflavina (50 mg), niacina (50 mg), piridoxina-HCl (50 mg), inositol (50 mg), Ca-pantotenato (50 mg), ácido p-aminobenzoico (50 mg), biotina (25 mg) y agua destilada (100 mL), SNC (agar 18g; novobiocina 25 μg mL⁻¹; agua de mar 1 L) y AMM (almidón, 10 g; extracto de levadura, 4 g; peptona, 2 g; agar, 18 g; agua de mar, 1 L)], agregando 100 μg mL⁻¹ de cicloheximida y 30 μg mL⁻¹ de ácido nalidíxico para inhibir especies indeseables, principalmente hongos. Finalmente, las placas se incubaron a 30 °C durante 28 días.

Análisis de Actividad Antimicrobiana

Tamizaje primario. La actividad antibacteriana de los actinomicetos aislados se realizó por el método de estrías perpendiculares (Ganesan et al., 2017). Se prepararon placas de agar Muller Hinton Agar (AMH) para determinar la actividad frente a *Vibrio* spp. [*V. alginolyticus* (CIAD-CAIM 57), *V. parahaemolyticus* (ATCC 17802), *V. harveyi* (CIAD-CAIM 1793) y *V. vulnificus* (CIAD-CAIM 157)]. Las cepas CAIM de referencia se obtuvieron en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD-MX) y las cepas ATCC, de la colección interna de microorganismos del CIBNOR-MX. Los actinomicetos se sembraron por una sola estría en el centro de las placas de AMH e incubados a 28 °C durante 7 días. Los organismos de ensayo se estriaron perpendicularmente al aislado del actinomiceto respectivo (tres réplicas por actinomiceto), y luego, las placas fueron incubadas durante 24 h a 37 °C. Una vez realizado lo anterior y basado en la zona de inhibición contra los patógenos de prueba, los actinomicetos potenciales se seleccionaron para realizar el tamizaje secundario.

Tamizaje secundario. Aquellas cepas que presentaron actividad en el tamizaje primario fueron sometidas a un cribado secundario, aplicando la técnica de difusión en agar (Eccleston, Brooks y Kurtböke, 2008). Para tal propósito, cada una de las cepas de actinomicetos se sembró en placas de ACA y durante 7 días se incubó a 30 °C (tres réplicas por cepa de actinomiceto). Las cepas de *Vibrio* sp. se sembraron superficialmente en placas Petri con TSA, adicionadas con NaCl al 3%, habiendo establecido como punto de partida una carga microbiana de 1×10^8 UFC mL⁻¹. Enseguida, de cada placa con actinomicetos se extrajeron muestras circulares ("plugs") con un diámetro de 6 mm y se colocaron en la superficie de las placas sembradas con *Vibrio* spp., utilizando como control, plugs sin actinobacterias. La evaluación de la actividad antimicrobiana de los aislados se realizó después de 24 h de incubación a 35 °C y se expresó en función del respectivo diámetro del halo de inhibición (mm) alrededor de cada plug, conforme a la metodología de González, Ayuso, Anderson y Genilloud (2005).

Caracterización Macroscópica y Microscópica de las Cepas de Actinomicetos Aisladas

Caracterización macroscópica. Para la optimización de procedimientos y obtención de máximo crecimiento y bioactividad, los aislados se cultivaron en diferentes medios, tales como agar de harina de soya con glucosa, ISP 1 (caldo de extracto de levadura triptona), ISP 2 (agar de malta de levadura), ISP 3 (agar de harina de avena), ISP 4 (agar de almidón de sal inorgánica), ISP 5 (base de agar de glicerol-asparagina), ISP 6 (agar de hierro con extracto de levadura peptona), ISP 7 (agar de tirosina), agar de Muller Hinton, agar nutritivo, agar de caseína de almidón, y agar de dextrosa de Sabouraud (Gebreyohannes, Feleke, Sahile y Raja, 2013). Las colonias aisladas que presentaron una morfología de tipo actinomicetos en cultivo puro fueron conservadas en glicerol al 20%, a temperatura de -20 °C para su posterior estudio.

Se observaron las características macroscópicas de cada colonia y su crecimiento en ACA, tomando referencia en su forma, color, textura, bordes y apariencia superficial. Se seleccionaron como una primera aproximación, aquellas colonias adheridas al agar y con un aspecto ceroso y polvoso, con una coloración variable entre blanca, grisácea, crema, terrosa y rosa, que en lo general son características propias y distintivas de los actinomicetos (Vélez y Rodríguez, 2012).

Caracterización microscópica. Típicamente los actinomicetos son Gram positivos y tienen una morfología de coco (Valdés et al., 2005). Por ello, se aplicó una tinción de Gram y se realizó una primera clasificación de las colonias desarrolladas en medio Agar-Caseína-Almidón, descartando aquellas que, siendo macroscópicamente similares en su forma, a los actinomicetos, presentaron una morfología microscópica diferente.

Identificación a nivel de género según morfología a través de microcultivos. Por medio del microcultivo y aplicando la técnica de Ridell, Wallerström y Williams (1986) en cultivos sobre portaobjetos y cubreobjetos, se observó el crecimiento del micelio aéreo típico de los actinomicetos. La observación de la ramificación de este micelio se realizó según los patrones de desarrollo relacionados para el género correspondiente, teniendo en cuenta la clave taxonómica del Bergey (Vélez y Rodríguez, 2012).

Caracterización fisiológica. De conformidad con Tresner, Hayes y Backus (1968) se estudió la tolerancia del aislado más promisorio a diferentes concentraciones de NaCl (0, 5, 7 y el 10%). Los aislados se observaron después de haber incubado a 37 °C por 7-15 días en medio líquido. La presencia o ausencia de crecimiento se registró a partir del día 7 de cultivo.

Utilización de fuentes de carbono. La capacidad de utilización de carbono de cada aislado potencial se estudió mediante su cultivo en agar (ISP 9) suplementado con 1% de diversas fuentes de carbono como arabinosa, xilosa, manosa, fucosa, D-ribosa, galactosa, arabinosa y manitol (Nonomura, 1974). El carbono en agar se utiliza para la caracterización de *Streptomyces* sp. teniendo en cuenta la fuente de carbono aplicada por los aislados de este género.

Caracterización bioquímica. Se realizaron varias pruebas bioquímicas que incluyeron indol, uso de citrato, rojo de metilo, Voges Proskauer, oxidasa, catalasa, gelatinasa, amilasa, caseinasa para la identificación de un aislado potencial (Abirami, Khanna y Kannabiran, 2013).

Actividad enzimática. Se utilizaron diferentes sustratos para determinar en los aislados promisorios su capacidad para hidrolizar polímeros macromoleculares tales como proteínas, lípidos y carbohidratos, y para medir la actividad enzimática, se añadió NaCl al 3% a los diferentes medios de cultivo empleados.

Hidrólisis del almidón. La actividad amilolítica se relaciona con la capacidad de una cepa para producir amilasas, y fue determinada mediante difusión radial en placa con agar marino y almidón al 2%, aplicando el método de León *et al.* (2000). Estas placas se incubaron a 30 °C durante 4-5 días, determinando la producción de amilasa mediante la medición de halos alrededor de las colonias en cultivo, después de añadir superficialmente solución de lugol en la placa.

Hidrólisis del Tween 80. La actividad lipolítica se relaciona con la capacidad de la cepa estudiada para producir lipasas, y se determinó utilizando medio Agar-Tween (Harley y Prescott, 2002), con pH final de 7.0-7.4. Este medio de cultivo incluye peptona (10 g), NaCl (5 g), CaCl (0.1 g) en 1 L de agua destilada, Tween 80 (10 mL) y 15 g de agar. Después de incubar durante 4-5 días a 30 °C, si el microorganismo presente hidroliza Tween 80, alrededor de cada colonia se hace visible un halo de precipitación, asociado a la combinación de Ca^{2+} con ácidos grasos producidos mediante hidrólisis.

Hidrólisis de caseína y gelatina. La capacidad que tienen las cepas de actinomicetos para la hidrólisis de proteínas se relaciona con su habilidad para producir proteasas, y para su medición se utilizó medio de cultivo TSA 1% de leche descremada y 0.4% de gelatina (Harley y Prescott, 2002). La hidrólisis de caseína se evaluó después de la incubación a 30 °C durante 4-5 días y haber observado y medido alrededor de las colonias, el diámetro de halos claros sobre las placas adicionadas con leche descremada. La hidrólisis de gelatina se registró después de incubar a 30 °C por 4-5 días, inundando las placas con HgCl_2 (15 g de HgCl_2 , 20 mL de HCl y 100 mL de H_2O). La presencia de gelatina no hidrolizada se asoció a la formación de un precipitado blanco opaco y formación de una zona clara del crecimiento alrededor de las colonias.

Hidrólisis de celulosa. La actividad celulolítica de los aislados está asociada a la producción de celulasa y su evaluación se realizó en placa con agar ISP2 adicionado con CMC (1%), incubando durante 4-5 días a 30 °C. Alrededor de cada colonia se formaron halos claros que se midieron después de aplicar lugol en solución (Tuong, Nguyen, Le, Masaru y Ikuo, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento de Actinomicetos

Según la morfología de las colonias y utilizando medios de agar ACA, AAH, SNC y AMM, se aislaron un total de 54 actinomicetos procedentes del muestreo en diferentes sitios de dos regiones de México, localizadas en el Océano Pacífico (B.C.S.) y en el Golfo de México (Tabasco). Se observaron distintas colonias de actinomicetos en placas de cultivo a diluciones variables, entre 10^{-3} y 10^{-4} . De los cuatro medios utilizados para el aislamiento, AAH, AMM y ACA permitieron obtener un número mayor de actinomicetos, mientras que, el medio agar SNC resultó ser el menos favorable para el aislamiento de actinomicetos (Figura 1). El resultado anterior se explica en función de la presencia de macromoléculas (almidón y caseína) en estos medios (AAH, AMM y ACA), que son catabolizadas por la mayoría de los actinomicetos; es por ello que estos medios son favorables para el crecimiento de actinobacterias (Boughachiche, Reghioua, Zerizer y Boulahrouf, 2012). La disponibilidad de nutrientes es un factor determinante en el crecimiento de diversos microorganismos, incluyendo a los actinomicetos. A diferencia de otros grupos de bacterias que requieren fuentes de carbono y nitrógeno más simples, los actinomicetos son microorganismos que utilizan como fuente de energía una gran variedad de nutrientes como almidón, proteínas, glucosa y aminoácidos (Gil, Pastor y March, 2009). Por otro lado, se ha demostrado que, la adición de un agente antimicrobiano a los medios de cultivo es eficaz para eliminar microorganismos contaminantes y facilitar el aislamiento de actinomicetos de crecimiento lento (Das, Romi, Das, Sharma y Thakur 2018).

Los aislados de actinomicetos exhibieron colonias con diferentes morfologías y características (tamaño, forma y color) de tamaño pequeño a mediano, con un color del micelio aéreo esporulante maduro, variando de blanco a gris, beige, naranja claro y rosado. También se registró el micelio del sustrato de color gris, blanco, beige y amarillo (Cuadro 1; Figura 2) siendo predominantes los cultivos miceliales de color gris, blanco y beige.

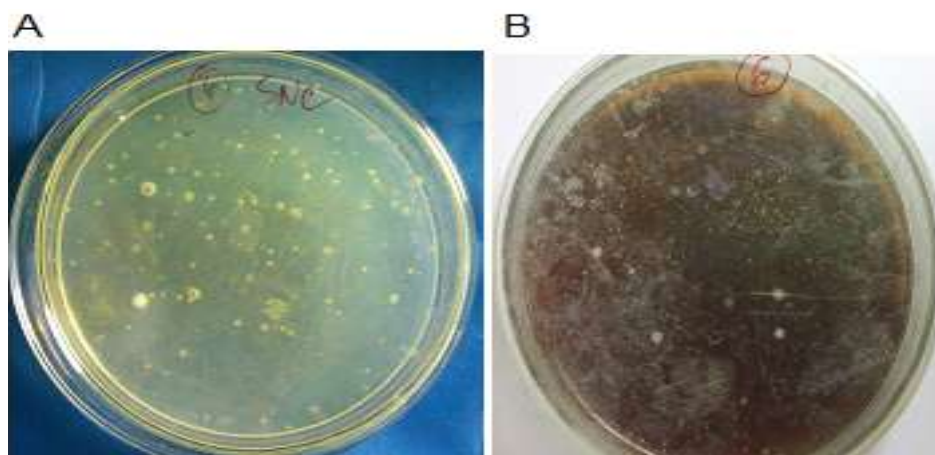


Figura 1. Apariencia y morfología macroscópica de cepas de actinomicetos aisladas de dos ambientes (Océano Pacífico Mexicano y Golfo de México) en diferentes medios de cultivo. (A) Medio AMM, (B) Medio AAH.

Figure 1. Appearance and macroscopic morphology of actinomycetes strains isolated from two environments (Mexican Ocean Pacific and Gulf of Mexico) in different culture media. (A) AMM medium, (B) AAH medium.

Tamizaje Primario y Secundario

Los actinomicetos producen diferentes tipos de compuestos bioactivos, con acción antibacteriana, antifúngica y anticancerígena (Elsayed, Galil, Sedik, Hassan y Sadik 2020; Bukhari *et al.*, 2021). Esta investigación reveló la importancia de los actinomicetos aislados de sedimentos de transición mar-tierra en la franja costera marítimo-terrestre, como productores de potentes compuestos antimicrobianos, con un potencial interesante para su aplicación productiva en laproyectos de acuicultura y acuaponía.

Entre las 54 cepas de actinomicetos que se aislaron, 14 de ellas mostraron actividad antibacterial, al menos frente a una de las cepas patógenas de *Vibrio* sp. evaluadas (Figura 3). Los aislados con una amplia gama de actividad antibacteriana durante el tamizaje primario, se sometieron al secundario, aplicando el método de difusión en agar (Eccleston, Brooks y Kurtböke, 2008).

Entre todos los aislados obtenidos y evaluados durante el presente estudio, el M4 mostró un amplio espectro de actividad contra todos los patógenos probados (*V. alginolyticus* CIAD-CAIM 7, *V. parahaemolyticus* CIAD-CAIM 29, *V. alginolyticus* CIAD-CAIM 57, *V. campbellii* y *V. bivalvicida*), mostrando una actividad significativa contra *Vibrio alginolyticus* CIAD-CAIM 7 (15 mm), *V. parahaemolyticus* CIAD-CAIM 29 (20 mm), *V. alginolyticus* CIAD-CAIM 57 (20 mm), *V. campbellii* (25 mm) y *V. bivalvicida* (21 mm), cepas patógenas de alta virulencia y de gran interés académico, científico y tecnológico-comercial para la acuicultura (Figura 4).

Cuadro 1. Características de los aislamientos de actinomicetos en el medio de aislamiento.

Table 1. Characteristics of actinomycetes isolates on isolation medium.

Código aislado	Medio aislamiento	Color micelio aéreo	Color micelio sustrato
M1	ACA	Beige	Blanco
M2	AAH	Blanco	Gris
M3	AAH	Beige	Beige
M4	AAH	Beige	Amarillo
M5	AMM	Gris	Beige
M6	AMM	Naranja	Gris
M7	ACA	Beige	Amarillo
M8	ACA	Blanco	Blanco
M9	AMM	Rosado	Beige

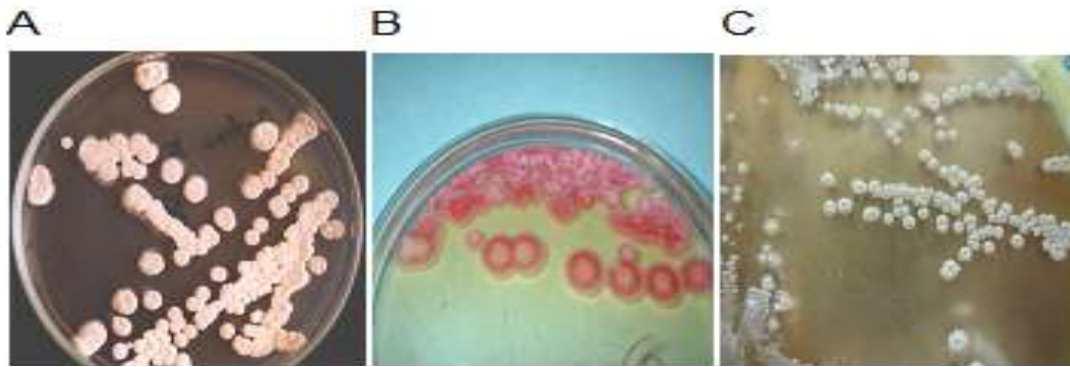


Figura 2. Aislados de actinomicetos procedentes de zonas costeras del Pacífico Mexicano y el Golfo de México, mostrando diferentes tonalidades de color blanco a beige y rosado. (A) cepa M6, (B) cepa M9, (C) cepa M4. Los microorganismos se crecieron en medio de cultivo ACA por 7 días a 30 grados centígrados.
Figure 2. Isolates of actinomycetes from coastal areas of the Mexican Ocean Pacific and Gulf of Mexico, showing different shades from white to beige and pink. The microorganisms were grown in ACA culture medium for 7 days at 30 degrees Celsius.

Las enfermedades bacterianas emergentes han obstaculizado el crecimiento de proyectos agroacuícolas. Durante el desarrollo de un estudio similar al presente, León *et al.* (2016) reportan que un 37% de los actinomicetos que aislaron del molusco pectínido marino *Argopecten purpuratus*, presentaron actividad frente a *V. vulnificus*, *V. anguillarum* y *V. alginolyticus*. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar agentes antibacterianos eficientes a partir de fuentes naturales, que permitan reducir o controlar y gestionar las enfermedades bacterianas de peces, moluscos y crustáceos de interés ecológico y comercial.

Caracterización Morfológica

Las colonias del aislado M4 fueron de tamaño mediano a grande, pulverulentas y con margen irregular en medio de cultivo ACA. El micelio aéreo presentó una coloración de blanco a beige y el micelio del sustrato, amarillo-pálida. Este aislado fue Gram-positivo y se observaron largas cadenas de esporas en el examen microscópico de luz (aumento de 1000X). El aislado exhibió características estructurales y morfología de *Streptomyces* sp.; sus características fenotípicas y fisiológicas se muestran en el Cuadro 2.

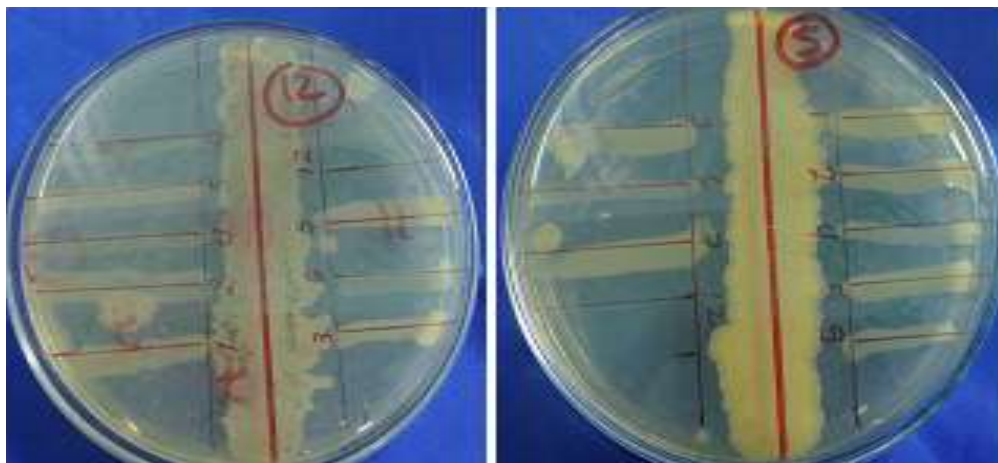


Figura 3. Tamizaje primario de cepas de actinomicetos y evaluación de su potencialidad contra patógenos bacterianos agro-acuícolas, aplicando el método de estrías perpendiculares.
Figure 3. Primary screening of actinomycetes strains and evaluation of evaluation of its potential against agro-aquacultural bacterial pathogens using the perpendicular streak method.



Figura 4. Actividad antimicrobiana de los aislados de actinomicetos contra cepas patógenas y altamente virulentas de *Vibrio* spp. (método de Kirby-Bauer).

Figure 4. Antimicrobial activity of actinomycete isolates against pathogenic and highly virulent strains of *Vibrio* spp. (Kirby-Bauer method).

Cuadro 2. Características fenotípicas y fisiológicas de la cepa M4.

Table 2. Phenotypic and physiological characteristics of strain M4.

Características Bioquímicas		Utilización de fuentes de carbono	
Tinción de Gram	Gram(+)	Xylosa	+
Catalasa	+	Manosa	+
Oxidasa	+	Fucosa	+
Urea	+	D-ribosa	+
Citrato	+	Galactosa	+
Voges Proshauer	-	Arabinosa	+
Rojo metilo	-	Manitol	+
Motilidad	-	Sacarosa	+
Indol	-	Maltosa	+
Prod. de H ₂ S	-	Concentración de NaCl (%)	
Prod. de glucosa	-	Sin NaCl	+
Red. de nitrato	+	5	+
Hidrólisis gelatina	-	7	+
Hidrólisis caseína	+	10	-
Hidrólisis almidón	+		
Utilización de fuentes de nitrógeno			
Extracto de levadura	+++		
Peptona	+++		
(NH ₄) ₂ SO ₄	+		

-, No crecimiento; +, buen crecimiento; ++, crecimiento moderado; +++, abundante crecimiento.

-, No growth; +, Good growth; ++, Moderate growth; +++, Abundant growth.

El género *Streptomyces* sigue siendo una excelente fuente para la producción de compuestos bioactivos naturales, ya que dos tercios de todos los nuevos compuestos bioactivos descubiertos de Actinobacteria entre 2015 y 2019 se obtuvieron a partir del género *Streptomyces* (Jose, Maharshi y Jha, 2021). Las características morfológicas de M4, tales como crecimiento aeróbico notable, apariencia polvorosa, micelio aéreo y de sustrato con diferentes colores, además del típico y distintivo "olor a tierra", sugieren que esta cepa pertenece al género *Streptomyces*, pues estas características básicas son ampliamente consideradas para la identificación preliminar de este género (Taddei, Rodríguez, Márquez y Castelli, 2006).

La cepa M4 toleró concentraciones de NaCl hasta 7%, sin crecimiento por encima de este porcentaje (Cuadro 2). Estos resultados sugieren que tiene la capacidad de resistir concentraciones de NaCl de hasta 70 g L⁻¹ (7%). En un estudio realizado por Rammali *et al.* (2022) concluyeron que, los ambientes salinos o hipersalinos requieren una consideración especial, porque podrían proporcionar nuevas vías para el descubrimiento de nuevas moléculas naturales y de utilidad industrial. En el Cuadro 2 se muestran datos experimentales que permiten asumir que la cepa M4 utiliza diferentes fuentes de carbono y nitrógeno, siendo abundante su crecimiento si se cultiva en fuentes ricas de nitrógeno como peptona y extracto de levadura.

Actividad Enzimática Extracelular

Los actinomicetos son bacterias miceliales Gram-positivas y ubicuas en el suelo; son bien conocidas como productoras de muchas enzimas extracelulares con propiedades degradantes de polímeros, tales como almidón, celulosa, lípidos y proteínas (Chater, Biro, Lee, Palmer y Schrempf, 2010; Prakash *et al.*, 2013). La cepa M4 podría considerarse candidata a probiótica, ya que mostró una fuerte actividad enzimática extracelular y además produjo celulasa, amilasa, lipasa, gelatinasa y quitinasa (Figura 5). No se encontró referencia para acuaponía, pero en sistemas de producción acuícola, estas enzimas ayudan a los organismos marinos, incluidos los camarones peneidos, a mejorar la digestión de los alimentos y su tasa de crecimiento, además de impactar positivamente la calidad del agua al degradar materia orgánica y fecal y restos de la dieta no consumida en los tanques de incubación de laboratorio y estanques para engorda comercial (Bermudez-Brito, Plaza, Muñoz, Gómez y Gil, 2012; Zhou, Wang y Li, 2009). Nuestros resultados coinciden con la descripción del género *Streptomyces* en el Manual de Bacteriología Determinativa de Bergey, lo que indica que la cepa M4 es compatible con los del género *Streptomyces* (Shirling y Gottlieb, 1966).

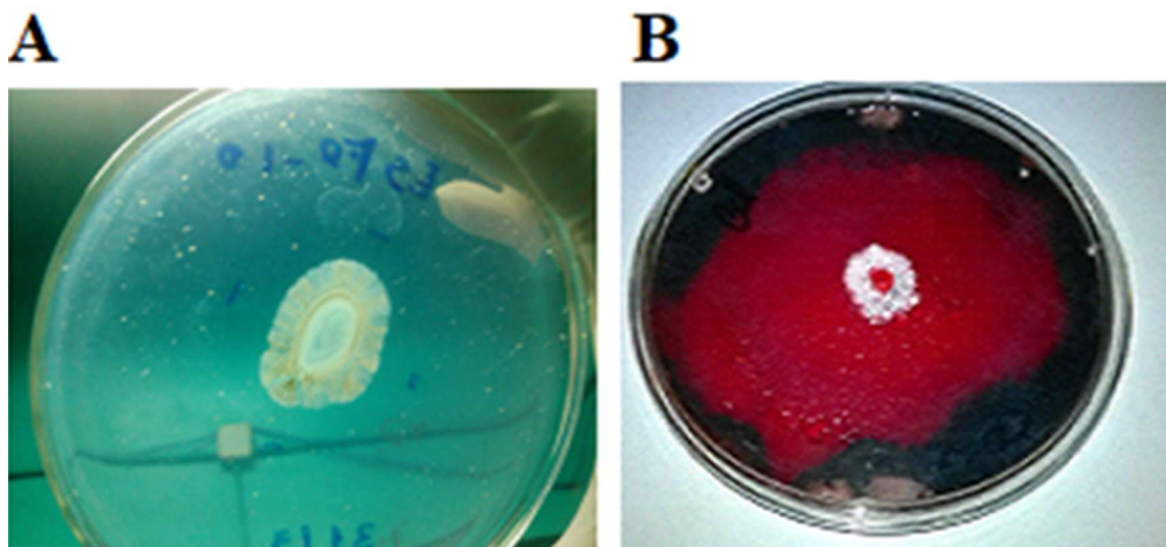


Figura 5. Actividad enzimática extracelular. (A): actividad proteolítica, (B): actividad celulolítica de la cepa M4.
Figure 5. Extracellular enzyme activity. (A): proteolytic activity, (B): cellulolytic activity of strain M4.

CONCLUSIONES

La cepa de actinomiceto fue identificada como *Streptomyces* M4, utilizando pruebas convencionales, lo cual debe ser confirmado mediante pruebas moleculares (PCR). Esta cepa mostró actividad enzimática *in vitro*, lo que confirma su potencial probiótico y aplicabilidad en acuicultura y en acuaponía. Esta cepa, además, presentó la actividad mayor frente a los vibrios patógenos evaluados (*V. alginolyticus* CIAD-CAIM 7, *V. parahaemolyticus* CIAD-CAIM 29, *V. alginolyticus* CIAD-CAIM 57, *V. campbellii* y *V. bivalvicida*). Esto sugiere una aplicabilidad específica como probiótico coadyuvante biológico en la eliminación de estos patógenos altamente virulentos, ya sea por antagonismo o por exclusión. La cepa M4 creció a una concentración de 5 a 7% de NaCl, demostrando capacidad y resiliencia en un ambiente estresante como salinidad elevada, y evidentemente, con posibilidades de utilizarse en el cultivo de organismos marinos como el camarón *Penaeus vannamei* una especie de reconocida importancia en la acuicultura mundial.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

No aplicable.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

FINANCIACIÓN

El estudio fue financiado por el extinto CONACYT (hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación) a través del Programa Presupuestario F003 "Programas Nacionales Estratégicos de Ciencia, Tecnología y Vinculación con los Sectores Social, Público y Privado", proyectos Ciencia Básica No. 258282 "Evaluación experimental de homeopatía y nuevos probióticos en el cultivo de moluscos, crustáceos y peces de interés comercial" y PROINNOVA No. 241777 (CIBNOR-PEASA/COTET) con la responsabilidad académica de JMMS. Se agradece el apoyo del personal técnico del CBQ Marlen Casanova González.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Investigación, conceptualización, validación, administración del proyecto y adquisición de fondos R.M.M., M.G.B. y J.M.M.S. Escritura, revisión y edición: M.G.B., R.M.M., B.M.A. y J.M.M.S. Investigación, metodología: R.M.M. y M.G.B. Escritura: preparación del borrador original, escritura: revisión y edición: M.G.B., A.I.C.C., D.T.R., J.M.M.S. y B.M.A. Curación de datos, análisis de datos: R.M.M., M.G.B., A.I.C.C. y D.T.R. Escritura, revisión, análisis formal: M.G.B., R.M.M., D.T.R., A.I.C.C., B.M.A. y J.M.M.S.

AGRADECIMIENTOS

No aplicable.

LITERATURA CITADA

- Abirami, M., Khanna, V. G., & Kannabiran, K. (2013). Antibacterial activity of marine *Streptomyces* sp. isolated from Andaman & Nicobar Islands, India. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4, 280-286.
- Ameen, F., AlNadhari, S., & Al-Homaidan, A. A. (2021). Marine microorganisms as an untapped source of bioactive compounds. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, 224-231. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.052>
- Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & a, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61, 160-174. <https://doi.org/10.1159/000342079>
- Boughachiche, F., Reghioua, S., Zerizer, H., & Boulahrouf, A. (2012). Activité antibactérienne d'espèces rares de *Streptomyces* contre des isolats cliniques multirésistants. *Annales de Biologie Clinique (Paris)*, 70, 169-174. <https://doi.org/10.1684/abc.2012.0661>
- Bukhari, S. I., Hamed, M. M., Al-Agamy, M. H., Gazwi, H. S., Radwan, H. H., & Youssif, A. M. (2021). Biosynthesis of copper oxide nanoparticles using *Streptomyces* MHM38 and its biological applications. *Journal of Nanomaterials*, 2021(1), 6693302. <https://doi.org/10.1155/2021/6693302>
- Chater, K. F., Biró, S., Lee, K. J., Palmer, T., & Schrepf, H. (2010). The complex extracellular biology of *Streptomyces*. *FEMS Microbiology Reviews*, 34(2), 171-198. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00206.x>
- Das, R., Romi, W., Das, R., Sharma, H. K., & Thakur, D. (2018). Antimicrobial potentiality of Actinobacteria isolated from two microbiologically unexplored forest ecosystems of Northeast India. *BMC Microbiology*, 18, 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1215-7>
- Das, S., Ward, L. R., & Burke, C. (2008). Prospects of using marine actinobacteria as probiotics in aquaculture. *Applied Microbiology Biotechnology*, 81, 419-429. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1731-8>
- Das, S., Ward, L. R., & Burke, C. (2010). Screening of marine *Streptomyces* spp. for potential use as probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 305, 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.04.001>
- Dharmaraj, S. (2011). Antagonistic potential of marine Actinobacteria against fish and shellfish pathogens. *Turkish Journal of Biology*, 35, 303-311. <https://doi.org/10.3906/biy-1001-30>
- Eccleston, G. P., Brooks, P. R., & Kurtböke, D. I. (2008). The occurrence of bioactive micromonosporae in aquatic habitats of the Sunshine Coast in Australia. *Marine Drugs*, 6(2), 243-261. <https://doi.org/10.3390/md20080012>
- Elsayed, T. R., Galil, D., Sedik, M. Z., Hassan, H. M., & Sadik, M. W. Antimicrobial and anticancer activities of actinomycetes isolated from Egyptian soils. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9, 1689-1700. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.909.209>
- Espinosa-Palomeque, B., Jiménez-Pérez, O., Ramírez-Gottfried, R. I., Preciado-Rangel, P., Buendía-García, A., Sifuentes, G. Z., ... & Rivas-García, T. (2025). Biocontrol of phytopathogens using plant growth promoting rhizobacteria: bibliometric analysis and systematic review. *Horticulturae*, 11(3), 271. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11030271>
- Ganesan, P., Reegan, A. D., David, R. H. A., Gandhi, M. R., Paulraj, M. G., Al-Dhabi, N. A., & Ignacimuthu, S. (2017). Antimicrobial activity of some actinomycetes from Western Ghats of Tamil Nadu, India. *Alexandria Journal of Medicine*, 53(2), 101-110. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2016.03.004>
- García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Abasolo-Pacheco, F., Ojeda-Silvera, C. M., Arcos-Ortega, G. F., & Mazón-Suástegui, J. M. (2022). Efecto antifúngico de la cepa de *Streptomyces* sp. RL8 y su acción promotora en la germinación y crecimiento inicial del frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius* Gray). *Terra Latinoamericana*, 40, 1-12. e1067. <https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.1067>
- García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Cuevas-Hernández, L., Álvarez-Hernández, U., Ojeda-Silvera C. M., Batista-Sánchez, D., & Mazón-Suástegui, J. M. (2025). Actinomicetos promueven crecimiento en plántulas de *Nicotiana tabacum* L. *Terra Latinoamericana*, 43, 1-11. e1981. <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.1981>
- García-Bernal, M., Campa-Córdova, A. I., Saucedo, P. E., Casanova-González, M., Medina-Marrero, R., & Mazón-Suástegui, J. M. (2015). Isolation and *in vitro* selection of actinomycetes strains as potential probiotics for aquaculture. *Veterinary World*, 8(2), 170-176. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2015.170-176>
- García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Campa-Córdova, Á. I., & Mazón-Suástegui, J. M. (2017). Probiotic effect of *Streptomyces* strains alone or in combination with *Bacillus* and *Lactobacillus* in juveniles of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 25(2), 927-939. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0085-y>
- García-Bernal, M., Medina-Marrero, R., Rodríguez-Jaramillo, C., Marrero-Chang, O., Campa-Córdova, Á. I., Medina-García, R., & Mazón-Suástegui, J. M. (2018). Probiotic effect of *Streptomyces* spp. on shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture Nutrition*, 24(2), 865-871. <https://doi.org/10.1111/anu.126224>
- Gebreyohannes, G., Feleke, M., Sahile, S., & Raja, N. (2013). Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(6), 426-435. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60092-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60092-1)
- Gil, V. G., Pastor, S., & March, G. J. (2009). Quantitative isolation of biocontrol agents *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp. and actinomycetes from soil with culture media. *Microbiological Research*, 164(2), 196-205. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.11.022>
- González, I., Ayuso-Sacido, A., Anderson, A., & Genilloud, O. (2005). Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences. *FEMS Microbiology Ecology*, 54(3), 401-415. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.05.004>
- Harley, J. P., & Prescott, L. M. (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology*. 5th ed. Boston, MA, USA: The McGraw Hill Companies.
- Imada, C., Koseki, N., Kamata, M., Kobayashi, T., & Hamada-Sato, N. (2007). Isolation and characterization of antibacterial substances produced by marine actinomycetes in the presence of seawater. *Actinomycetologica*, 21(1), 27-31. <https://doi.org/10.3209/saj.SAJ210104>
- Irianto, A., & Austin, B. (2002). Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25(11), 633-642. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00422.x>
- Jose, P. A., Maharshi, A., & Jha, B. (2021). Actinobacteria in natural products research: Progress and prospects. *Microbiological Research*, 246(3), 126708. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126708>
- León, J., Aponte, J. J., Cuadra, D., Galindo, N., Jaramillo, L., Vallejo, M., & Marguet, E. (2016). Actinomicetos aislados de *Argopecten purpuratus* productores de enzimas extracelulares y con actividad inhibitoria de patógenos marinos. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 51, 69-80. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572016000100007>
- León, J., Pellón, F., Unda, V., David, J., Anaya, C., & Mendoza, V. (2000). Producción de enzimas extracelulares por bacterias aisladas de invertebrados marinos. *Revista Peruana de Biología*, 7(2), 202-210. <https://doi.org/10.15381/rpb.v7i2.6828>
- Nonomura, H. (1974). Key for classification and identification of 458 species of the *Streptomyces* included in ISP. *Journal of Fermentation Technology*, 52(2), 78-92.
- Pisano, M., Sommer, M., & Lopez, M. (1986). Application of pretreatments for the isolation of bioactive actinomycetes from marine sediments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 25, 285-288. <https://doi.org/10.1007/BF00253664>

- Prakash, D., Nawani, N., Prakash, M., Bodas, M., Mandal, A., Khetmalas, M., & Kapadnis, B. (2013). Actinomycetes: a repertory of green catalysts with a potential revenue resource. *BioMed Research International*, 2013(21), 264020. <https://doi.org/10.1155/2013/264020>
- Rammali, S., Hilali, L., Dari, K., Bencharki, B., Rahim, A., Timinouni, M., ... & Khattabi, A. (2022). Antimicrobial and antioxidant activities of *Streptomyces* species from soils of three different cold sites in the Fez-Meknes region Morocco. *Scientific Reports*, 12(1), 17233. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21644-z>
- Ridell, M., Wallerström, G., & Williams, S. T. (1986). Immunodiffusion analysis of phenetically defined strains of *Streptomyces*, *Streptoverticillum* and *Nocardiopsis*. *Systematic and Applied Microbiology*, 8, 24-27. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(86\)80143-6](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(86)80143-6)
- Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2020). Probiotics in medicine: a long debate. *Frontiers in Immunology*, 11, 2192. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02192>
- Taddei, A., Rodríguez, M. J., Márquez-Vilchez, E., & Castelli, C. (2006). Isolation and identification of *Streptomyces* spp. from Venezuelan soils: morphological and biochemical studies. I. *Microbiological Research*, 161(3), 222-231. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.08.004>
- Tresner, H. D., Hayes, J. A., & Backus, E. J. (1968). Differential tolerance of *Streptomyces* to sodium chloride as a taxonomic aid. *Applied Microbiology*, 16(8), 1134-1136. <https://doi.org/10.1128/am.16.8.1134-1136.1968>
- Tuong, N. T. C., Nguyen Xuan, H., Le Thi Nam, T., Masaru, M., & Ikuo, M. (2011). Identification and characterization of actinomycetes antagonistic to pathogenic *Vibrio* spp. isolated from shrimp culture pond sediments in Thua Thien Hue-Viet Nam. *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University*, 56(1), 15-20. <https://doi.org/10.5109/19532>
- Valdés, M., Pérez, N. O., Estrada-de Los Santos, P., Caballero-Mellado, J., Peña-Cabriales, J. J., Normand, P., & Hirsch, A. M. (2005). Non-Frankia actinomycetes isolated from surface-sterilized roots of *Casuarina equisetifolia* fix nitrogen. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1), 460-466. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.460-466.2005>
- Vélez, P. E., & Rodríguez, J. R. (2011). *Evaluación de etapas del proceso productivo de un bioinsumo dirigido a la degradación de materiales orgánicos y regulación sanitaria de cultivos*. Manizales, Colombia: Universidad Católica de Manizales.
- You, J., Cao, L., Liu, G., Zhou, S., Tan, H., & Lin, Y. (2005). Isolation and characterization of actinomycetes antagonistic to pathogenic *Vibrio* spp. from nearshore marine sediments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 679-682. <https://doi.org/10.1007/s11274-004-3851-3>
- Zhou, X. X., Wang, Y. B., & Li, W. F. (2009). Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 287(3-4), 349-353. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.046>