

BACILLUS: UNA BACTERIA VERSÁTIL, MULTIFUNCIONAL Y AMPLIAMENTE APLICADA

▀ GUSTAVO DE J. SAN MIGUEL-GONZÁLEZ¹, MARÍA E. ALEMÁN-HUERTA^{1*}, GLENDA B. RAMÍREZ-CHARLES¹, DIEGO P. NAVARRO-DÍAZ¹

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Instituto de Biotecnología, México

*Autor de correspondencia: maria.alemanhr@uanl.edu.mx



RESUMEN

Las bacterias son microorganismos procariotas que han estado presentes desde el inicio de la vida en la Tierra; y el género *Bacillus*, descubierto desde los inicios de la Microbiología, se considera un género fascinante por su amplia distribución en el planeta, fácil cultivo a nivel laboratorio, así como por su relevancia para la biosíntesis de metabolitos de importancia en la vida actual, tales como la producción de bioplásticos, péptidos antimicrobianos, enzimas, bioinsecticidas, etc. Por lo tanto, el objetivo del presente escrito es describir la relevancia del género *Bacillus*, en diversos ámbitos científicos y tecnológicos.

ABSTRACT

Bacteria are prokaryotic microorganisms that have been around since the beginning of life on Earth; and the genus *Bacillus*, discovered since the beginning of Microbiology as a Science, is considered a fascinating genus due to its wide distribution on the planet, easy cultivation at the laboratory level, as well as its relevance in various industrial fields such as the production of bioplastics, antimicrobial peptides, enzymes, bioinsecticides, etc. Therefore, the objective of this paper is to describe the relevance of the genus *Bacillus*, in various scientific and technological fields.



Palabras clave: Biotecnología, *Bacillus*, Aplicaciones Industriales, Compuestos biotecnológicos.

Keywords: Biotechnology, *Bacillus*, Industrial Applications, Biotechnological compounds.

INTRODUCCIÓN

El género *Bacillus* (pertenece al dominio Bacteria; Filo Firmicutes; Clase Bacilli; Orden Bacillales y Familia Bacillaceae) (Maughan & Van der Auwera, 2011) fue reportado por primera vez por Cohn (1872), quien lo describió como bacterias productoras de endosporas resistentes al calor. Este microorganismo conforma una plétora de especies en la naturaleza que se caracterizan por ser bacterias Gram positivas, aerobias o facultativas, y que tienen una particular forma de bastón (Fig. 1) (Abriouel et al., 2011). Son capaces de producir metabolitos secundarios útiles y poseen la capacidad de sobrevivir y crecer en ecosistemas variados gracias a sus propiedades fisiológicas (Jezewska et al., 2018). Entre las especies más comunes e importantes de este género se encuentran *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium* y *B. licheniformis* (Miljaković, D, et al., 2020).

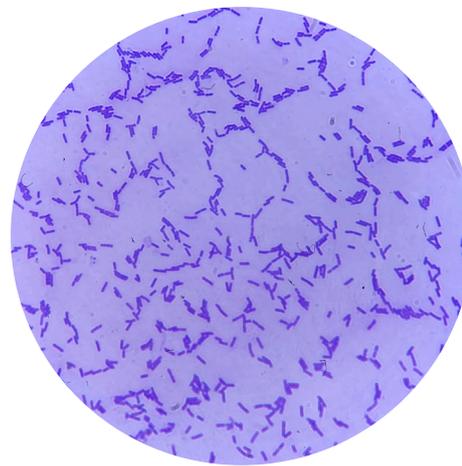


Figura 1. *Bacillus* sp. observada en 100X al microscopio óptico de campo claro (tinción simple con cristal violeta).

DISTRIBUCIÓN EN EL PLANETA

Bacillus es reconocido como uno de los géneros bacterianos principales en el interés científico e industrial, debido a que se encuentra comúnmente en el suelo, así como en todos los ecosistemas naturales del planeta, desde la superficie hasta las capas más profundas, y colonizando la rizosfera de las plantas. Este microorganismo es una bacteria esporulada, por lo que es productora de esporas. Las esporas se definen como estructuras de diversos géneros bacterianos, que permiten al microorganismo soportar condiciones adversas tales como carencia de nutrientes, temperaturas extremas, deshidratación, y pueden ser dispersadas fácilmente por el agua y el viento. Las esporas pueden sobrevivir por millones de años; y cuando las condiciones ambientales mejoran, comienza nuevamente su ciclo de vida (Camilleri, et al., 2019). Las esporas mejor estudiadas son las del género *Bacillus*, les confieren resistencia y potencian su aislamiento en diversos ecosistemas, tanto acuáticos como terrestres, e incluso en ambientes bajo condiciones extremas. Se ha reportado que las bacterias de este género pueden alcanzar valores mayores al 20% del total de las bacterias presentes en el suelo (Tejera-Hernández, et al., 2011).

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

Entre sus características destaca su crecimiento aerobio o en ocasiones anaerobio facultativo, morfología bacilar, movilidad flagelar, y tamaño variable (0.5 a 10 μm). Su crecimiento óptimo ocurre a pH neutro, presentando un amplio intervalo de temperaturas de crecimiento, aunque la mayoría de las especies son mesófilas (temperatura entre 30 y 45 $^{\circ}\text{C}$); su diversidad metabólica es asociada a la promoción del crecimiento vegetal y control de patógenos (Tejera-Hernández, et al., 2011). En cuanto a sus esporas, pueden ser ovoides o cilíndricas, además, la mayoría de las especies las presentan en posición central, y pocas en posición terminal. Cabe destacar que funcionan como mecanismo de resistencia a diversos tipos de estrés (Calvo & Zuñiga, 2010; Layton, et al., 2011).

CICLO DE REPRODUCCIÓN

La presencia de endosporas le confiere al género *Bacillus* su capacidad de diseminación y prevalencia en los ecosistemas, éstas se forman durante su segunda fase del ciclo de vida, el cual comprende una fase de crecimiento vegetativo y una fase de esporulación (Villarreal-Delgado, et al., 2018) (Fig. 2).

Durante la primera etapa, la bacteria crece de forma exponencial por medio de fisión binaria, siempre que se encuentre en un medio con las condiciones favorables para su desarrollo. La segunda fase comienza como un método de supervivencia en presencia de algún tipo de estrés, como por ejemplo escasez de nutrientes, factores externos como salinidad, temperatura, pH, entre otros), así la célula vegetativa inicia la formación de la endospora, lo cual implica la división celular asimétrica, dando lugar a la formación de dos compartimentos, célula madre y la inmersión de una preespora. Posteriormente, la preespora es devorada, formando una célula dentro de la célula madre. Durante las etapas posteriores, la preespora es recubierta de capas protectoras (componentes proteicos, peptidoglicano y una pared que reside debajo de ésta, formada por células germinales), seguido de la deshidratación, y la maduración final de la preespora. Finalmente, la célula madre se lisa mediante muerte celular programada, liberando la endospora (Villarreal-Delgado, et al., 2018). La endospora puede permanecer viable en el ambiente hasta que las condiciones son favorables para iniciar sus procesos metabólicos y generar una célula vegetativa (CALS, 2016).

Por lo anterior, la formación de endosporas resistentes al calor y desecación es una característica importante que permite la formulación de productos biotecnológicos (Pérez-García, et al., 2011).

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO E INDUSTRIAL

B. subtilis (una de las especies más conocidas y estudiadas) puede crecer en casi cualquier fuente de carbono y nitrógeno, debido a que sus enzimas descomponen proteínas y carbohidratos, entre otros compuestos. Tales

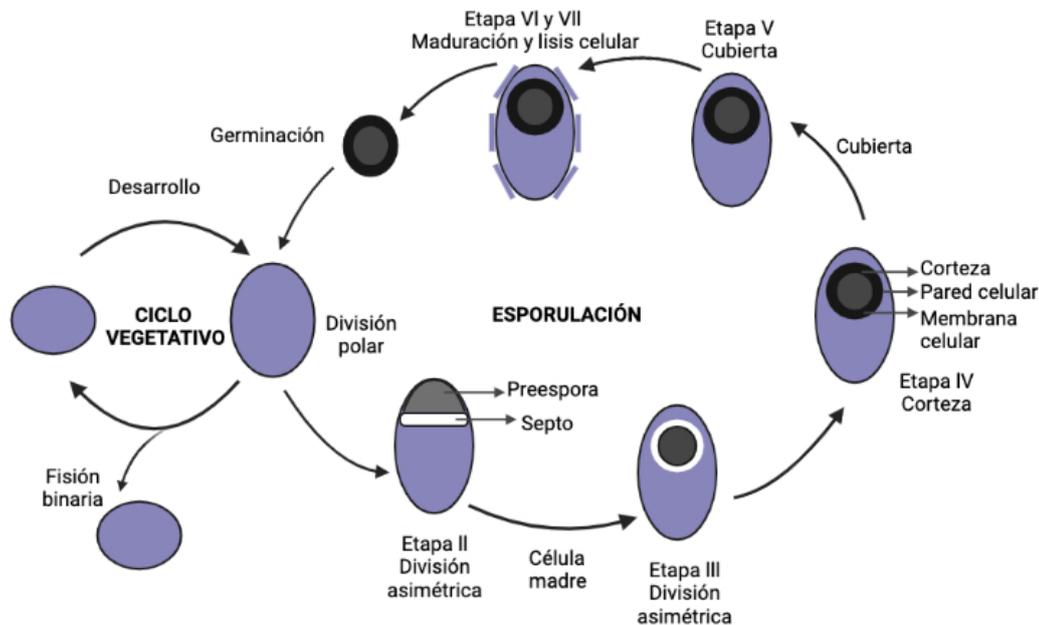


Figura 2. Ciclo de reproducción del género *Bacillus*. Modificado de (Villarreal-Delgado, et al., 2018).

enzimas, podrían prevenir enfermedades al mejorar la calidad del agua a través de la biorremediación de estanques (Cui W, et al., 2018). La secuencia del genoma de una cepa de *B. subtilis* ha proporcionado muchos conocimientos sobre los estilos de vida del organismo. De acuerdo con la opinión de que la bacteria no es un patógeno, no se encontraron genes que codifiquen factores de virulencia conocidos. Adicionalmente, el genoma codifica numerosas vías para la utilización de moléculas derivadas de plantas, lo que refuerza la idea de que esta especie se asocia íntimamente con las plantas (Kunst, et al., 1997). Una observación desafió la creencia arraigada de que *B. subtilis* era un aerobio obligado; se encontraron genes que codifican una supuesta nitrato reductasa respiratoria. Esto sugirió que *B. subtilis* debería poder crecer anaeróbicamente utilizando nitrato en lugar de oxígeno como aceptor de electrones. Desde entonces, se ha demostrado experimentalmente el crecimiento anaeróbico de *B. subtilis* en presencia de nitrato (Folmsbee, et al., 2004).

La secuencia del genoma también reveló que *B. subtilis* ha dedicado una parte relativamente grande de su genoma (~4 %) a producir metabolitos secundarios. Algunos de estos compuestos son potentes inhibidores de hongos y bacterias y probablemente permiten que *B. subtilis* compita en el ambiente natural, promuevan el crecimiento de las plantas y sirvan como probióticos (Nagórska, et al., 2007).

Se han dedicado considerables esfuerzos hacia el estudio y desarrollo de nuevas alternativas de control y alteración de su metabolismo, expresión de genes y actividad de proteínas, debido a la gran importancia biotecnológica (Tabla 1) (Cui W, et al., 2018; Gu Y, et al., 2018).

Bacillus, es el género Gram positivo ideal para la producción de biopolímeros microbianos, se han reportado una gran cantidad de cepas productoras, entre ellas *Bacillus cereus* de las que una cepa aislada en Nuevo León, ha reportado rendimientos de 40% de polihidroxicanoatos (PHAs), (Martínez, E. 2021). Los (PHAs) son polímeros biodegradables y biocompatibles

que son acumulados por diversas bacterias en forma de gránulos intracelulares, estos se generan por un comportamiento de almacenaje de fuente de carbono, ante un estrés ambiental. Dichos biopolímeros son utilizados en la industria principalmente como material de empaque y aditamentos biomédicos, además han sido considerados como los biomateriales del futuro. Los PHA pueden ser observados con una tinción Azul de Nilo por microscopía óptica de fluorescencia de color naranja-rojo (Fig. 3).

ÁMBITO AGRÍCOLA

Las bacterias del género *Bacillus*, cuando se aplican en la agricultura pueden aportar todo tipo de beneficios a las plantas, incluyendo el fortalecimiento de la resistencia a las enfermedades causadas por microorganismos fitopatógenos (Lopes, et al., 2018) además de que diversas especies secretan algunas enzimas solubilizadoras de nutrientes que promueven el rápido crecimiento de las plantas (Radhakrishnan, et al., 2017).

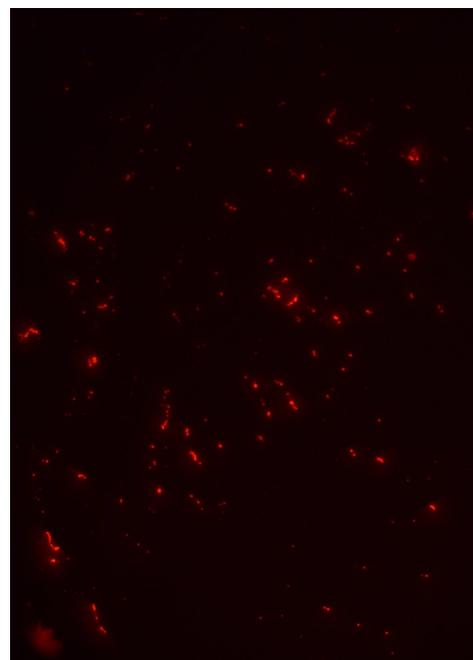


Fig. 3 Tinción Azul de Nilo de una cepa de *Bacillus* productora de PHA, observada en microscopio de Fluorescencia en 100x.

Tabla 1. Principales usos biotecnológicos e industriales de Bacillus

Uso biotecnológico/Industrial	Cepa utilizada	Referencia
Biopesticida	<i>B. subtilis</i> PY79	(Rostami A, et al., 2017)
Biorremediación	<i>B. subtilis</i> DB104	(Wang F, et al., 2019)
Liberación de fármacos	<i>B. coagulans</i>	(Yin L, et al., 2018)
Producción de biopolímeros	<i>B. cereus</i> 4N <i>B. megaterium</i> ATCC14945	(Martínez-Herrera, R. E, et al., 2020) (Vu, D. H., et al., 2021)
Producción de Nattoquinasa	<i>B. amyloliquefaciens</i> DC-4	(Yuan, L, et al., 2022)
Adsorción de metales	<i>B. megaterium</i> QM B1551	(Xu Zhou, et al., 2018)
Agentes anticancerígenos	<i>B. thuringiensis</i>	(Santos, E. N, et al., 2021)
Probióticos	<i>B. licheniformis</i> <i>B. clausii</i>	(Jeżewska-Fraćkowiak, J., et al., 2018) (Ianiro, G., et al., 2018)
Peptidos antimicrobianos	<i>B. amiloliquefaciens</i> WH1	(Qi, G., et al., 2010)

Los estudios realizados sobre el papel que ejerce *Bacillus* en compuestos antimicrobianos, empleados para el control biológico de enfermedades a nivel in vivo, permiten concluir que efectivamente cumplen un papel importante para el biocontrol de agentes fitopatógenos. La acción de estos compuestos está relacionada con la formación de poros en pared y membrana celular de microorganismos fitopatógenos, lo que conduce a la inhibición de su crecimiento y de manera indirecta en la inducción de las defensas de la planta (Ongena y Jaques, 2008; Shafi et al., 2017).

Algunos de los metabolitos producidos por *Bacillus* son la surfactina, fengicina y bacilomicinas, conocidos por ser biosurfactantes activos de membrana con potentes actividades antimicrobianas (Ariza & Sánchez, 2012). Además, se ha reportado que *B. megaterium* es reconocida por producir penicilina amidasa, utilizada para fabricar penicilina sintética. La utilidad de *B. velezensis* consiste en la producción de antibióticos para inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos, por su parte *B. subtilis* también ha sido reconocida por sintetizar antibióticos con potencial antagónica de hongos fitopatógenos (Elmaghraby, et al., 2015) (Lim, et al., 2017) (Rodríguez et al., 2017).

La capacidad de este microorganismo para producir compuestos orgánicos, realizar fijación biológica de nitrógeno y solubilizar fosfatos, permite que se produzca un efecto positivo en el potencial productivo en la Agricultura (Corrales, et al., 2014).

Adicionalmente, esta bacteria está siendo reconocida como una alternativa para disminuir el uso de plaguicidas y productos químicos, ya que actúa en contra de microorganismos fitopatógenos que amenazan la producción de alimentos (Ruiz-Sánchez et al., 2014).

POTENCIAL FARMACÉUTICO

Por otro lado, en el ámbito farmacéutico, la FDA ha clasificado a *Bacillus subtilis* como un organismo reconocido como seguro para producir biofármacos (Olmos, J, et al., 2020). De tal manera que este género bacteriano ha sido ampliamente utilizado por destacar en diversos ámbitos de importancia biotecnológica.

Diversas cepas de este género, son capaces de producir enzimas, un ejemplo de ellas es la nattoquinasa, que es un tipo de serina proteasa alcalina con fuerte actividad fibrinolítica y trombolítica. En comparación a los fármacos tradicionales, la nattoquinasa tiene un riesgo menor de hemorragia, una dosis tolerable mayor, y carece de efectos secundarios como la mutación genética (Guo, et al., 2019; Wu, et al., 2019).

Después de décadas de éxito como biopesticida, *Bacillus thuringiensis* también se está estudiando como una herramienta para la salud humana, debido a que es tóxico para los nematodos; y sintetiza parasporinas, que muestran citotoxicidad contra células cancerosas humanas (Hu, et al., 2018).

Además, se ha incrementado el interés científico por este fascinante género año con año, siendo *Bacillus* uno de los géneros bacterianos comunes con más publicaciones científicas en el mundo (Fig. 4).

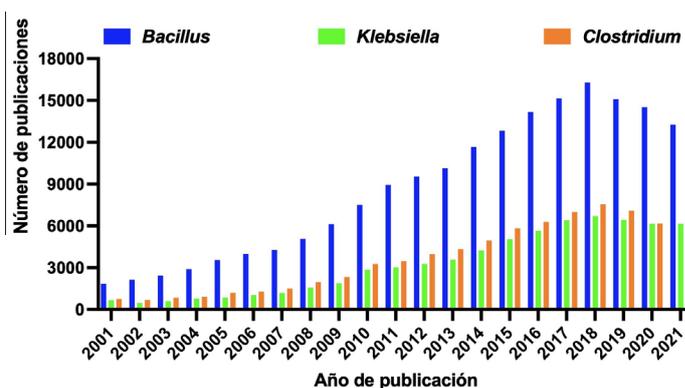


Figura 4. Número de publicaciones científicas de distintos géneros bacterianos comunes (Datos obtenidos de la base de datos de artículos <https://core.ac.uk/> el 19 de Mayo 2023).

INTERÉS ALIMENTARIO

Diversas cepas de este género, producen bacteriocinas, las cuales son proteínas sintetizadas por bacterias que inhiben el crecimiento de bacterias similares. El uso de bacteriocinas producidas por *Bacillus* en la conservación de alimentos resulta interesante debido a que pueden resolver las limitaciones existentes de las bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas, que son las mayormente utilizadas en este ámbito (Abriouel, et al., 2011).

Por otra parte, se han estudiado diversos residuos de alimentos como fuentes de carbono para la producción de biopolímeros microbianos (PHA), como melaza (residuo de la cristalización del azúcar) y suero de leche, obteniendo rendimientos de 57.5% de PHA (Sharma & Kumar, 2015).

Además, de todo lo conocido de *Bacillus*, sólo unas pocas especies se usan comúnmente como probióticos en humanos y animales, entre ellas *B. coagulans*, *B. clausii*, *B. cereus* y *B. subtilis*. Los probióticos son microorganismos vivos que, tras su ingestión en determinadas cantidades, ejercen beneficios para la salud más allá de la nutrición general, además que modulan la respuesta inmune, producen agentes antimicrobianos y compiten en la adsorción de nutrientes (Abedi D. et al., 2013). Se han realizado ensayos clínicos prospectivos donde se demuestra que *B. clausii* es eficaz y seguro en el tratamiento de la diarrea aguda (Sudha MR. Et al., 2013). Por su parte, en la alimentación del ganado, el uso de probióticos ha aumentado considerablemente, ya que se asocian principalmente con la reducción de enfermedades y la mejora del rendimiento en animales (Fijan, S, 2014).

DISCUSIÓN

Bacillus es un género bacteriano que ha sido ampliamente estudiado en la comunidad científica debido a varias características que lo hacen versátil e interesante. Una de las principales ventajas es que su aislamiento se puede llevar a cabo en casi cualquier hábitat. Destaca en diversos ámbitos, como en la producción de biopolímeros microbianos, ya que diversas especies de este fascinante género, como *B. cereus* han mostrado hasta un 75% de rendimiento de Polihidroxicanoatos (PHA), lo que la reconoce como una de las bacterias híper productoras de bioplásticos (Balakrishna Pillai, A., et al., 2017).

Las bacterias Gram positivas carecen de lipopolisacáridos (LPS), que son moléculas pirógenas causantes de reacciones inflamatorias. El género *Bacillus*, al pertenecer a este grupo de bacterias y al excretar metabolitos y proteínas a un ritmo elevado en el medio de cultivo (Morimoto T, et al., 2008) es un candidato viable a aplicaciones biomédicas como andamios y administración de fármacos, debido a que no causa reacciones adversas como alergias o inflamación, dando una ventaja en contraste con las bacterias Gram negativas (Valappil SP, et al., 2007).

Este género contiene grandes capacidades que lo hacen competentes a otros microorganismos, como en la Biología molecular, que ha sido ampliamente estudiado por sus aspectos estructurales y funcionales, lo que hace que sea más fácil clonar sus genes (Mohapatra, S., et al., 2017).

En el ámbito agrícola, el desarrollo de bioproductos para el control de enfermedades en las plantas, se encaminan a aspectos como la preservación

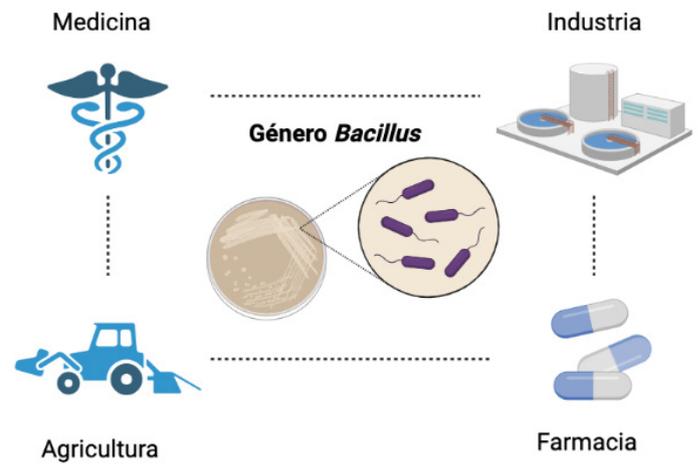


Figura 5. Importancia de *Bacillus* en distintos ámbitos de la vida cotidiana: Generación de péptidos antimicrobianos en la Medicina, Biorremediación en la Agricultura y Material de empaque (PHA) en la industria.

ecológica de la interacción planta-microorganismo, las estrategias de aplicación de los inoculantes, el aislamiento de cepas nuevas y el descubrimiento de mecanismos de acción novedosos (Compant et al., 2005). También enfatiza en el uso de los agentes de biocontrol como parte de los programas de tratamiento integral de enfermedades y de la calidad de los suelos. Todo esto siendo declarados organismos seguros para la salud o el ambiente para su comercialización y uso (Olmos y Paniagua Michel, 2014).

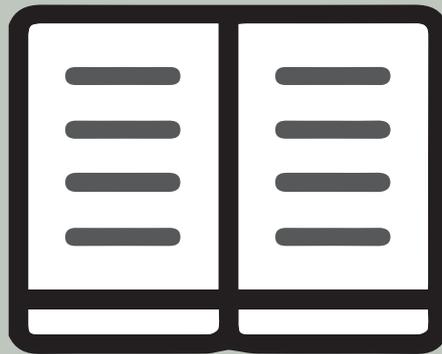
El género *Bacillus* ha recibido la designación de caballo de batalla industrial por estar entre los microorganismos más utilizados para la producción a gran escala de proteínas recombinantes, aminoácidos y productos químicos finos (Westers H, 2003; Straight PD, et al., 2006). No será inapropiado llamarlos "fábrica de células" por el gran potencial que poseen (Zweers JC, 2008).

Además, la capacidad de *Bacillus sp.* de formar esporas es beneficiosa, al permitir el almacenamiento a largo plazo sin pérdida de viabilidad en comparación con aquellas bacterias que no forman esporas. Las esporas pueden sobrevivir al bajo pH de la barrera gástrica y pueden llegar al intestino delgado para ejercer sus propiedades probióticas (Cutting S. M. 2011).

El potencial de este microorganismo sigue siendo fabuloso, debido a que destaca en cualquier ámbito de la investigación científica y aplicación industrial.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado a manera de beca nacional (CVU: 1152042) y al programa PROVERICYT.



LITERATURA CITADA

- Abedi, D., Feizizadeh, S., Akbari, V., & Jafarian-Dehkordi, A. (2013). In vitro anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Research in pharmaceutical sciences*, 8(4), 260–268.
- Abriouel H, Franz CM, Ben Omar N, Gálvez A. (2011). Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiol Rev.* 2011 Jan;35(1):201-32. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00244.x>
- Ariza, Yesid y Sánchez, Ligia. (2012). Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp.. *Nova*, 10 (18), 149-155. Recuperado el 14 de septiembre de 2023, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702012000200002&lng=en&tlng=es.
- Balakrishna Pillai, A., Jaya Kumar, A., Thulasi, K., & Kumarapillai, H. (2017). Evaluation of short-chain-length polyhydroxyalkanoate accumulation in *Bacillus aryabhattai*. *Brazilian journal of microbiology*: [publication of the Brazilian Society for Microbiology], 48(3), 451–460. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.01.005>
- CALS, College of Agriculture and Life Sciences. 2016. Bacterial Endospores. Department of Microbiology. Cornell University. Ithaca, Nueva York 14850, EE. UU. <https://micro.cornell.edu/research/epulopiscium/bacterial-endospores>
- Calvo P y Zúñiga D. 2010. Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*. 9:31-39. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172622162010000100004&lng=es&tlng=es.
- Camilleri, E., Korza, G., Green, J., Yuan, J., Li, Y. Q., Caimano, M. J., & Setlow, P. (2019). Properties of Aged Spores of *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*, 201(14), e00231-19. <https://doi.org/10.1128/JB.00231-19>
- Cohn F. 1872. Untersuchungen Über Bakterien. *Beitrag zur Biologie Pflanz*. 1:127-1224
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. (2005). Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Appl Environ Microbiol.* 71 (9): 4951-4959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>
- Corrales LC, Arévalo ZY, Moreno VE. (2014). Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *NOVA*. 2014; 12(21):67-79 <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v12n21/v12n21a06.pdf>
- Cui W., Han L., Suo F., Liu Z., Zhou L., Zhou Z (2018). Exploitation of *Bacillus subtilis* as a robust workhorse for production of heterologous proteins and beyond. *W. J. Microbiol. Biotechnol.* 34, 145. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2531-7>
- Cutting S. M. (2011). *Bacillus* probiotics. *Food microbiology*, 28(2), 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.007>
- Elmaghraby, Francesco Carimi, A. Sharaf, E.M. Marei and A.M.M. Hammad, 2015. Isolation and Identification of *Bacillus megaterium* Bacteriophages via AFLP Technique. *Current Research in Bacteriology*, 8: 77-89.
- Fijan S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, 11(5), 4745–4767. <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
- Folmsbee, M. J., McInerney, M. J., & Nagle, D. P. (2004). Anaerobic growth of *Bacillus mojavensis* and *Bacillus subtilis* requires deoxyribonucleosides or DNA. *Applied and environmental microbiology*, 70(9), 5252–5257. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5252-5257.2004>
- Gu, Y., Xu, X., Wu, Y., Niu, T., Liu, Y., Li, J., Du, G., & Liu, L. (2018). Advances and prospects of *Bacillus subtilis* cellular factories: From rational design to industrial applications. *Metabolic engineering*, 50, 109–121. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2018.05.006>
- Guo, H., Ban, YH., Cha, Y. et al. Comparative anti-thrombotic activity and haemorrhagic adverse effect of nattokinase and tissue-type plasminogen activator. *Food Sci Biotechnol* 28, 1535–1542 (2019). <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00580-1>
- Hu, Y., Miller, M., Zhang, B., Nguyen, T. T., Nielsen, M. K., & Aroian, R. V. (2018). In vivo and in vitro studies of Cry5B and nicotinic acetylcholine receptor agonist anthelmintics reveal a powerful and unique combination therapy against intestinal nematode parasites. *PLoS neglected tropical diseases*, 12(5), e0006506. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006506>
- Jezewska-Frackowiak, J., Seroczynska, K., Banaszczyk, J., Jedrzejczak, G., Zylicz-Stachula, A. and Skowron, P.M. (2018) The Promises and Risks of Probiotic *Bacillus* Species. *Acta Biochimica Polonica*, 65, 509-519. https://doi.org/10.18388/abp.2018_2652
- Kunst, F., Ogasawara, N., Moszer, I., Albertini, A. M., Alloni, G., Azevedo, V., Bertero, M. G., Bessières, P., Bolotin, A., Borchert, S., Borriss, R., Boursier, L., Brans, A., Braun, M., Brignell, S. C., Bron, S., Brouillet, S., Bruschi, C. V., Caldwell, B., Capuano, V., ... Danchin, A. (1997). The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*, 390(6657), 249–256. <https://doi.org/10.1038/36786>

- Layton C, Maldonado E, Monroy L, Corrales LC y Sánchez LC. (2011). *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *Revista NOVA Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. 9:177-187. DOI: <https://doi.org/10.22490/24629448.501>
- Lim, S. M., Yoon, M. Y., Choi, G. J., Choi, Y. H., Jang, K. S., Shin, T. S., & Kim, J. C. (2017). Diffusible and volatile antifungal compounds produced by an antagonistic *Bacillus velezensis* G341 against various phytopathogenic fungi. *The plant pathology journal*, 33(5), 488–498. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.04.2017.0073>
- Lopes, R., Tsui, S., Gonçalves, P. J. R. O., & de Queiroz, M. V. (2018). A look into a multifunctional toolbox: endophytic *Bacillus* species provide broad and underexploited benefits for plants. *World journal of microbiology & biotechnology*, 34(7), 94. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2479-7>
- Martínez-Herrera, R. E., Alemán-Huerta, M. E., Almaguer-Cantú, V., Rosas-Flores, W., Martínez-Gómez, V. J., Quintero-Zapata, I., Rivera, G., & Rutiaga-Quiñones, O. M. (2020). Efficient recovery of thermostable polyhydroxybutyrate (PHB) by a rapid and solvent-free extraction protocol assisted by ultrasound. *International journal of biological macromolecules*, 164, 771–782. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.101>
- Martínez Herrera, Raúl Enrique (2021). Estudio y optimización del rendimiento de producción de biopolímeros bacterianos de tipo Poli(3-hidroxibutirato). Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://eprints.uanl.mx/21035/>
- Martínez-Herrera, R. E. (2018). Aislamiento y estudio de una cepa bacteriana productora de polímeros biodegradables del tipo polihidroxialcanoatos (PHAs). *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina* (ISSN: 2448-8380), 23-23.
- Maughan H and van der Auwera G. (2011). *Bacillus* taxonomy in the genomic era finds phenotypes to be essential though often misleading. *Infection, Genetics and Evolution*. 11:789-797. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.02.001>
- Miljaković, D., Marinković, J., & Balešević-Tubić, S. (2020). The Significance of *Bacillus* spp. in Disease Suppression and Growth Promotion of Field and Vegetable Crops. *Microorganisms*, 8(7), 1037. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071037>
- Mohapatra, S., Maity, S., Dash, H. R., Das, S., Pattnaik, S., Rath, C. C., & Samantaray, D. (2017). *Bacillus* and biopolymer: Prospects and challenges. *Biochemistry and biophysics reports*, 12, 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.10.001>
- Morimoto T, Kadoya R, Endo K, Tohata M, Sawada K, Liu S, Ozawa T, Kodama T, Kakeshita H, Kageyama Y, Manabe K, Kanaya S, Ara K, Ozaki K, Ogasawara N (2008). Productividad de proteína recombinante mejorada por Reducción del genoma en *Bacillus subtilis*. *Res. de ADN* 2008; 15 :73–81
- Nagórska, K., Bikowski, M., & Obuchowski, M. (2007). Multicellular behaviour and production of a wide variety of toxic substances support usage of *Bacillus subtilis* as a powerful biocontrol agent. *Acta biochimica Polonica*, 54(3), 495–508.
- Olmos, J., Acosta, M., Mendoza, G., & Pitones, V. (2020). *Bacillus subtilis*, an ideal probiotic bacterium to shrimp and fish aquaculture that increase feed digestibility, prevent microbial diseases, and avoid water pollution. *Archives of microbiology*, 202(3), 427–435. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01757-2>
- Olmos J, Paniagua-Michel J. (2014). *Bacillus subtilis* A potential probiotic bacterium to formulated functional feeds for aquaculture. *J Microb Biochem Technol*. 2014;6:361- 365. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000169>
- Ongena M, Jacques P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol*. 2008;16(3):115-125. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>
- Qi, G., Zhu, F., Du, P., Yang, X., Qiu, D., Yu, Z., Chen, J., & Zhao, X. (2010). Lipopeptide induces apoptosis in fungal cells by a mitochondria-dependent pathway. *Peptides*, 31(11), 1978–1986. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.08.003>
- Pérez-García A, Romero D and de Vicente A. (2011). Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Current Opinion in Biotechnology*. 22:187-193. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.12.003>
- Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd Allah, E. F. (2017). *Bacillus*: A Biological Tool for Crop Improvement through Bio-Molecular Changes in Adverse Environments. *Frontiers in physiology*, 8, 667. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00667>
- Rodríguez, L. L., Cruz-Martín, M., Acosta-Suárez, M., Pichardo, T., BermúdezCaraballoso, I., & Alvarado-Capó, Y. (2017). Antagonismo in vitro de cepas de *Bacillus* spp. frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Biocología Vegetal*, 17(4).
- Rostami, A., Hinc, K., Goshadrou, F., Shali, A., Bayat, M., Hassanzadeh, M., Amanlou, M., Eslahi, N., & Ahmadian, G. (2017). Display of *B. pumilus* chitinase on the surface of *B. subtilis* spore as a potential biopesticide. *Pesticide biochemistry and physiology*, 140, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.05.008>
- Ruiz-Sánchez, E., Mejía-Bautista, M., Cristóbal-Alejo, J., Valencia-Botín, A., & Reyes-Ramírez, A. (2014). Actividad antagónica de filtrados de *Bacillus subtilis* contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). *Rev. Mex. Cienc. Agríc*. 5 (7): 1325-1332. <https://www.redalyc.org/pdf/2631/263131533015.pdf>
- Santos, E. N., Menezes, L. P., Dolabella, S. S., Santini, A., Severino, P., Capasso, R., Zielinska, A., Souto, E. B., & Jain, S. (2022). *Bacillus thuringiensis*: From biopesticides to anticancer agents. *Biochimie*, 192, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2021.10.003>
- Shafi J, Tian H, Ji M. (2017). *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 2017;31(3):446-459. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1286950>
- Sharma P. & Kumar B. (2015). Production and characterization of poly-3-hydroxybutyrate from *Bacillus cereus* PS 10, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 81, 2015, Pages 241-248. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.08.008>
- Straight, P. D., Willey, J. M., & Kolter, R. (2006). Interactions between *Streptomyces coelicolor* and *Bacillus subtilis*: Role of surfactants in raising aerial structures. *Journal of bacteriology*, 188(13), 4918–4925. <https://doi.org/10.1128/JB.00162-06>
- Sudha MR, Bhonagiri S., Kumar MA (2013) Efficacy of *Bacillus clausii* strain UBBC-07 in the treatment of patients suffering from acute diarrhoea. *Beneficial microbes*. 2013; 4 :211–216. <https://doi.org/10.3920/BM2012.0034>
- Tejera-Hernández B, Rojas-Badía MM y Heydrich-Pérez M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 42:131-138. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181222321004.pdf>
- Valappil, S. P., Misra, S. K., Boccaccini, A. R., Keshavarz, T., Bucke, C., & Roy, I. (2007). Large-scale production and efficient recovery of PHB with desirable material properties, from the newly characterised *Bacillus cereus* SPV. *Journal of biotechnology*, 132(3), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2007.03.013>
- Vickers P. (2012). Antibiotic compounds from *Bacillus*: Why are they so Amazing? (2012). *Am J Biochem Biochnol*. 2012;8(1):38-43. Fickers P. (2012). Antibiotic compounds from *Bacillus*: Why are they so Amazing? (2012). *Am J Biochem Biochnol*. 2012;8(1):38-43. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2012.38.43>
- Villarreal-Delgado, María Fernanda, Villa-Rodríguez, Eber Daniel, Cira-Chávez, Luis Alberto, Estrada-Alvarado, María Isabel, Parra-Cota, Fannie Isela, & Santos-Villalobos, Sergio de los. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36 (1), 95-130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>

- Vu, D. H., Wainaina, S., Taherzadeh, M. J., Åkesson, D., & Ferreira, J. A. (2021). Production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) by *Bacillus megaterium* using food waste acidogenic fermentation-derived volatile fatty acids. *Bioengineered*, 12(1), 2480–2498. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1935524>
- Wang, F., Song, T., Jiang, H., Pei, C., Huang, Q., & Xi, H. (2019). *Bacillus subtilis* Spore Surface Display of Haloalkane Dehalogenase DhaA. *Current microbiology*, 76(10), 1161–1167. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01723-7>
- Westers H, Dorenbos R, van Dijk JM, Kabel J, Flanagan T, Devine KM, Jude F, Seror SJ, Beekman AC, Darmon E, Eschevins C, de Jong A, Bron S, Kuipers OP, Albertini AM, Antelmann H, Hecker M, Zamboni N, Sauer U, Bruand C, Ehrlich DS, Alonso JC, Salas M, Quax WJ. (2003). Genome Engineering Reveals Large Dispensable Regions in *Bacillus subtilis*. *Molecular Biology and Evolution*, Volume 20, Issue 12, December 2003, Pages 2076–2090 <https://doi.org/10.1093/molbev/msg219>
- Wu, H., Wang, H., Xu, F., Chen, J., Duan, L., & Zhang, F. (2019). Acute toxicity and genotoxicity evaluations of Nattokinase, a promising agent for cardiovascular diseases prevention. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 103, 205–209. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.02.006>
- Yin L, Meng Z, Zhang Y, Hu K, Chen W, Han K, Wu BY, You R, Li CH, Jin Y, Guan YQ. 2018. *Bacillus* spore-based oral carriers loading curcumin for the therapy of colon cancer. *J Control Release* 271:31–44. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.12.013.
- Yuan, L., Liangqi, C., Xiyu, T., & Jinyao, L. (2022). Biotechnology, Bioengineering and Applications of *Bacillus Nattokinase*. *Biomolecules*, 12(7), 980. <https://doi.org/10.3390/biom12070980>
- Zweers, J.C., Barák, I., Becher, D. et al. (2008). Towards the development of *Bacillus subtilis* as a cell factory for membrane proteins and protein complexes. *Microb Cell Fact* 7, 10 (2008). <https://doi.org/10.1186/1475-2859-7-10>

