

Evaluación del efecto del pH y componentes del medio de cultivo líquido, sobre la producción de biomasa y endosporas de *Bacillus Altitudinis*

Johana Imbacuán¹, Gloria Restrepo², Óscar Sánchez¹

¹Universidad de Caldas. Manizales, Colombia

²Universidad Católica de Manizales. Manizales, Colombia

Resumen

Bacillus se destaca como controlador biológico y promotor del crecimiento vegetal. Produce endosporas, permitiéndole mayor resistencia y capacidad de supervivencia en condiciones extremas como sequías, alta salinidad y fluctuaciones de temperatura. El objetivo de este estudio fue investigar el efecto del pH y algunos componentes del medio líquido, en la producción de biomasa y endosporas de *Bacillus altitudinis* GIBI206 utilizado fermentación sumergida en escala de pre-inóculo e inóculo. Se probaron cinco formulaciones del medio LGI-P modificado en escala de pre-inóculo: (i) T1. Medio a pH 5,5; (ii) T2. Medio a pH 7,0; (iii) T3. Medio a pH 7,0 sustitución de fuente de nitrógeno. (iv) T4. Medio a pH 7,0, duplicando la concentración de CaCl₂. (v) T5.

Medio a pH 7,0, duplicando la concentración de Na₂MoO₄.2H₂O. La incubación fue por 12 horas a 150 rpm y 30°C. Las variables respuesta fueron Unidades Formadoras de Colonia/mL (UFC/mL) y Unidades Formadoras de Endosporas/mL (UFE/mL), evaluadas al momento de la inoculación y 12 horas después. En esta etapa se seleccionaron los tres mejores tratamientos, que se llevaron a escala de inóculo. En escala de pre-inóculo se apreció mejor respuesta de los tratamientos T1, T3 y T5. El T3 aumentó a 2,25 x 10⁹ UFC/mL, frente a 9,4 x 10⁸ UFC/mL obtenido en el T1. Sin embargo, no se obtuvo mejora en las UFE/mL comparados con el T1 en esta etapa. Sin embargo, no se observó mejora en las UFE/mL en esta etapa. Al pasar a inóculos de 150 mL, el tratamiento 3 incrementó a 4,6 x 10⁵ UFE/mL, mientras que el tratamiento 1 alcanzó 6,52 x 10⁵ UFE/mL después de una disminución frente a su concentración inicial. En conclusión, el control del pH y la variación en la fuente de nitrógeno tiene un papel clave en la producción de biomasa de *Bacillus altitudinis*. Los resultados mostraron que el pH del medio líquido tuvo un efecto en la producción de endosporas y biomasa generada por *B. altitudinis*. El pH de 7,0 favoreció la esporulación, mientras que condiciones más ácidas disminuyeron la producción de biomasa y de endosporas.

Palabras clave: fermentación sumergida; endospora; biomasa; inoculante microbiano

Abstract

Bacillus stands out as a biological control agent and plant growth promoter. It produces endospores, enabling greater resistance and survival capacity under extreme conditions such as drought, high salinity, and temperature fluctuations. The objective of this study was to investigate the effect of pH and certain components of the liquid medium on the production of biomass and endospores of *Bacillus altitudinis* GIBI206 using submerged fermentation at pre-inoculum and inoculum scales. Five formulations of the modified LGI-P medium were tested at the pre-inoculum scale: (i) T1 : medium at pH 5.5; (ii) T2 : medium at pH 7.0; (iii) T3 : medium at pH 7.0 with nitrogen source substitution; (iv) T4 : medium at pH 7.0 with doubled CaCl_2 concentration; (v) T5 : medium at pH 7.0 with doubled $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ concentration. Incubation was conducted for 12 hours at 150 rpm and 30°C. Response variables included Colony Forming Units/mL (UFC/mL) and Endospore Forming Units/mL (UFE/mL), evaluated at inoculation and 12 hours later. At this stage, the three best performing treatments were selected for scaling to the inoculum stage. At the pre-inoculum scale, treatments T1, T3, and T5 showed the best responses. T3 increased to 2.25×10^9 UFC/mL compared to 9.4×10^8 UFC/mL achieved in T1. However, no improvement in UFE/mL was observed at this stage. When scaled to 150 mL inocula, treatment 3 reached 4.6×10^5 UFE/mL, while treatment 1 attained 6.52×10^5 UFE/mL after a decline from its initial concentration. In conclusion, pH control and nitrogen source variation are critical factors in *B. altitudinis* biomass production. The results demonstrated that the liquid medium pH significantly influenced endospore and biomass production by *B. altitudinis*. A pH of 7.0 favored sporulation, while acidic conditions reduced both biomass and endospore production.

Keywords: submerged fermentation; endospore; biomass; microbial inoculant

1. Introducción

La creciente demanda de prácticas agrícolas sostenibles ha posicionado a los bioinsumos como alternativa clave para reducir la dependencia de insumos químicos, mejorar la salud del suelo y aumentar la resiliencia de los cultivos. Dentro de este contexto, el género *Bacillus* emerge como un microorganismo potencial debido a la capacidad para formar endosporas, como estructuras de resistencia que le permiten sobrevivir en condiciones ambientales extremas (sequía, salinidad, fluctuaciones térmicas) (Zambrano-Moreno, et al., 2015; Bonilla Buitrago, et al., 2021) y mejorar la estabilidad de los bioinsumos durante su almacenamiento y aplicación en campo (Tejera-Hernández, et al., 2011).

Bacillus altitudinis es una bacteria Grampositiva con forma de bastones, presencia de endosporas cilíndricas a elipsoidales, en posición paracentral y subterminal (Garrity , et al., 2009) que la hace más resistente a altas temperaturas y factores físicos perjudiciales, además es un microorganismo halófilo ya que crece en presencia de NaCl al 10% (Garrity , et al., 2009) condición por la cual mejora la tolerancia a la sal en cultivos como el trigo (Yue, et al., 2022). Esta bacteria tiene la característica de solubilizar fosfatos por medio de la producción de ácidos orgánicos (Van Giang, et al., 2024), esta capacidad ha sido determinada en medio de cultivo

NBRIP (*National Botanical Research Institute's Phosphate*) con verde de bromocresol (Nautiyal, 1999) el cual es suplementado con $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (Merck).

El pH del medio de cultivo influye significativamente en la esporulación del género *Bacillus*, siendo las condiciones alcalinas (pH 7,5-8,5) las que generalmente favorecen la formación de endosporas (González-León, et al., 2023). Adicionalmente, componentes del medio como las fuentes de carbono y nitrógeno modulan la relación entre crecimiento vegetativo y esporulación, lo que requiere optimizaciones específicas para cada cepa (Pérez-Hernández, 2020).

En la literatura consultada se identifican estudios sobre *B. altitudinis* que abordan distintos aspectos en su actividad enzimática y condiciones de crecimiento. Dar, et al., (2021) investigaron la actividad celulolítica de esta bacteria en condiciones de pH ácido, evidenciando que el potencial para la degradación lignocelulósica es alto en condiciones ligeramente ácidas, específicamente a pH 5,0. Smitha & Pradeep, (2018), optimizaron la producción de enzimas fibrinolíticas a pH básico, lo cual es una ventaja en las aplicaciones industriales, donde se requieren condiciones alcalinas como el proceso de producción de detergentes. Khan, et al., (2022) estudiaron el crecimiento óptimo de *B. altitudinis* a pH 7,0 en estudios de remoción de cobre. Sin embargo, de acuerdo con la revisión realizada no se encontraron reportes relacionados con la influencia del pH y la fuente de carbono en la producción de endosporas de *B. altitudinis*. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la influencia del pH y de componentes del medio líquido LGIP en la producción de biomasa (Unidades Formadoras de Colonia/mL) y endosporas de *Bacillus altitudinis* cepa GIBI206.

2. Metodología

2.1. Microorganismo

La cepa de *Bacillus altitudinis* GIBI206, fue suministrada por la Colección de Microorganismos de la Universidad Católica de Manizales (CMUCM), a partir de la cual se estableció un lote para conservar, con el fin de disponer de material de trabajo para la realización de los ensayos. A partir de un cultivo en Agar Papa Dextrosa (de 24 horas de incubación), se realizó una suspensión con las colonias de la bacteria, empleando glicerol al 10 % como crioprotector. La suspensión resultante se transfirió a microtubos de 1,5 mL, que se congelaron a -80°C . Para el desarrollo de cada experimento se activó un vial en baño maría a 37°C durante 5 minutos, y posteriormente se llevó a agitación en incubadora orbital a 30°C , 150 rpm por 45 minutos.

2.2. Medio de cultivo

El medio utilizado en los experimentos fue LGIP modificado a partir de la fórmula propuesta por Cavalcante & Döbereiner (1988), cuya composición se presenta en la Tabla 1. El medio se eligió con la expectativa de valorar a futuro el crecimiento en co-cultivo con una bacteria fijadora de nitrógeno.

Tabla 1. Composición del medio de cultivo LGI-P modificado empleado como base para el desarrollo del experimento.

Componente	Cantidad/L
Sacarosa	50 g
K ₂ HPO ₄	0,2 g
KH ₂ PO ₄	0,6 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,16 g
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,002 g
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,0062 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 g
Solución de vitaminas	1 mL

2.3. Condiciones de cultivo

El efecto del pH y de algunos componentes del medio LGI-P sobre la producción de Unidades Formadoras de Colonia (UFC/mL) y de Unidades Formadoras de Esporas (UFE/mL), se evaluó a escala de pre-inóculo de 15 mL y de inóculo de 150 mL. En el pre-inóculo el medio fue inoculado a partir de un vial previamente activado (10% v/v), se incubó durante 12 h en una incubadora orbital a una temperatura de 30°C y velocidad de agitación de 150 rpm. El muestreo se realizó al momento de la inoculación y 12 horas después, tiempos que fueron definidos en ensayos preliminares. En la Tabla 2 se presentan los tratamientos evaluados.

Tabla 2. Tratamientos evaluados para determinar la producción de Unidades Formadoras de Colonia y Unidades Formadoras de Esporas.

Tratamiento	Descripción	pH
T1	Medio LGI-P modificado	5,5
T2	Medio LGI-P modificado	7,0
T3	Medio LGI-P modificado con sustitución de la fuente de nitrógeno (NH ₄) ₂ SO ₄ por peptona	7,0
T4	Medio LGI-P modificado con duplicación de la concentración de CaCl ₂	7,0
T5	Medio LGI-P modificado con duplicación de la concentración de Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	7,0

Los tres mejores tratamientos en escala de pre-inóculo, fueron llevados a escala de inóculo. La escala de inóculo partió del pre-inóculo con una tasa del 10% v/v. Posteriormente, se aplicaron las mismas condiciones de incubación descritas anteriormente

2.6 Métodos analíticos

El seguimiento del crecimiento de *Bacillus altitudinis* durante la fermentación sumergida se evaluó mediante técnicas microbiológicas y análisis fisicoquímicos. El recuento de Unidades Formadoras de Colonia (UFC/mL) se realizó mediante siembra en superficie en agar nutritivo, utilizando diluciones seriadas en solución salina estéril (NaCl 0,85%) (Buckley *et al.*, 2015). Las placas se incubaron a 30°C por 24 h, y el recuento se realizó en la dilución más cercana al rango de 30 a 300 colonias.

Para cuantificar las Unidades Formadoras de Esporas (UFE/mL), teniendo en cuenta la termorresistencia de estas, las muestras se sometieron a un tratamiento entre 80 – 85°C durante 10

min en baño maría antes de la siembra. Este método es utilizado para inactivar células vegetativas en el género *Bacillus* y para activar la germinación de endosporas (Ratón et al., 2005; Pérez-Hernández et al., 2020). Posteriormente se realizó siembra en superficie en agar nutritivo como se describió anteriormente.

La medición de las variables de respuesta se realizó al inicio y final del proceso de fermentación sumergida (12 horas).

3. Resultados

La Figura 1 muestra el contraste entre la concentración inicial y final de UFC/mL y UFE/mL, en los tratamientos evaluados a escala de pre-inóculos mediante fermentación sumergida. El comportamiento de cada tratamiento se evaluó mediante la diferencia entre la concentración de biomasa o de esporas entre el tiempo cero y el tiempo final de evaluación, para determinar así el incremento.

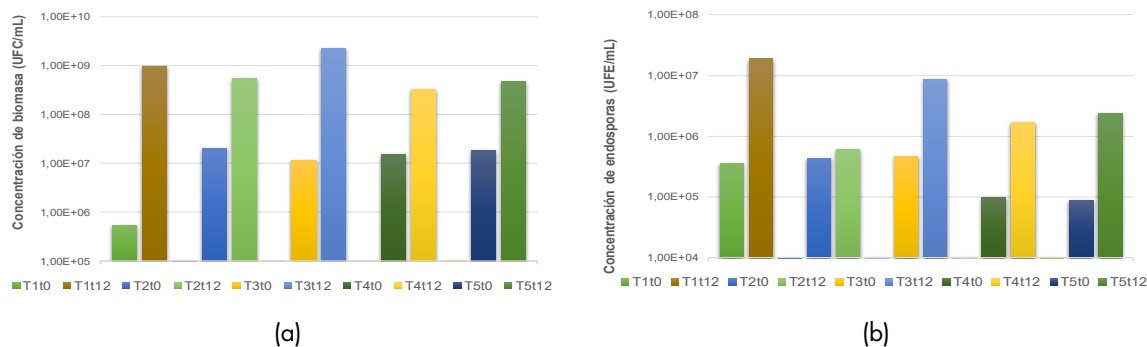


Figura 1. Producción de biomasa de *B. altitudinis* a escala de pre-inóculo en fermentación sumergida, en los tratamientos evaluados. a) Concentración de biomasa en el tiempo cero (t0) y doce horas (t12) después de la inoculación. b) Concentración de endosporas en el tiempo cero (t0) y doce horas después de la inoculación (t12).

En el tratamiento 1 basado en el medio LGI-P modificado a pH de 5,5 se apreció al tiempo cero una concentración de biomasa de $5,34 \times 10^5$ UFC/mL, que experimentó un incremento importante hasta alcanzar $9,38 \times 10^8$ UFC/mL después de 12 horas de fermentación sumergida a 30°C y 150 rpm. Con respecto a la concentración de endosporas en este tratamiento se obtuvo un incremento de $3,5 \times 10^5$ a $1,90 \times 10^7$ UFE/mL. Este crecimiento exponencial sugiere una adaptación rápida y multiplicación tanto de las células vegetativas como de las endosporas en estas condiciones de crecimiento.

En el segundo tratamiento, donde se modificó el pH a 7,0, la biomasa inicial fue de $1,95 \times 10^7$ UFC/mL y en el transcurso de las 12 horas se incrementó hasta $5,4 \times 10^8$ UFC/mL. Aunque hay un incremento, este es menos pronunciado que en el primer tratamiento, indicando un ritmo de crecimiento más limitado. La misma tendencia se apreció en la concentración de endosporas iniciando con $4,30 \times 10^5$ UFE/mL y finalizando con $1,90 \times 10^7$ UFE/mL después de 12 horas.

En el tercer tratamiento se inició con una concentración de $1,15 \times 10^7$ UFC/mL y alcanzó un valor en 12 horas de $2,25 \times 10^9$ UFC/mL. Esta diferencia podría interpretarse como un escenario favorable para una fermentación eficiente, posiblemente favorecida por la utilización de peptona como fuente de nitrógeno favoreciendo la actividad bacteriana. Sin embargo, en la producción de esporas el incremento fue moderado en donde se inició con $4,6 \times 10^5$ UFE/mL y se llegó a $8,8 \times 10^6$ UFE/mL.

El cuarto tratamiento exhibió cambios menores en la concentración con relación a los demás tratamientos, se inició con $1,5 \times 10^7$ UFC/mL y se llegó a $3,2 \times 10^8$ UFC/mL. Este crecimiento fue moderado entre tiempos y podría deberse a restricciones nutricionales o inhibiciones presentadas por la concentración utilizada de CaCl_2 . Sin embargo, en la producción de endosporas se evidenció un incremento de $9,75 \times 10^4$ a $1,65 \times 10^6$ UFE/mL.

Finalmente, el quinto tratamiento comenzó con una concentración de $1,85 \times 10^7$ UFC/mL y llegó a $4,65 \times 10^8$ UFC/mL y en el caso de las endosporas pasó de $8,9 \times 10^4$ UFE/mL a $2,40 \times 10^6$ UFE/mL. Este comportamiento podría sugerir un equilibrio entre factores promotores e inhibidores de la fermentación, resultando en un incremento moderado pero consistente.

El tratamiento 1, presentó la mayor diferencia en la producción de biomasa entre tiempos de evaluación seguido del tratamiento 3. Los tratamientos 2, 4 y 5 presentaron comportamientos similares entre sí, con crecimientos moderados durante el período de fermentación de 12 horas.

Basados en los resultados obtenidos en la escala de pre-inóculos, se llevaron a escala de inóculo (150 mL), los tratamientos con mejor comportamiento en la producción de UFC/mL y UFE/mL; por lo tanto, fueron seleccionados los tratamientos 1, 3 y 5. Dichos tratamientos se muestrearon en el tiempo inicial y después de 12 horas de fermentación. Se sostuvieron las condiciones de operación de 30°C y 150 rpm.

En la Figura 2 se presenta la concentración de biomasa y de endosporas de los tres tratamientos seleccionados previamente (1, 3 y 5) en el tiempo cero y al final de las 12 horas después de la inoculación.

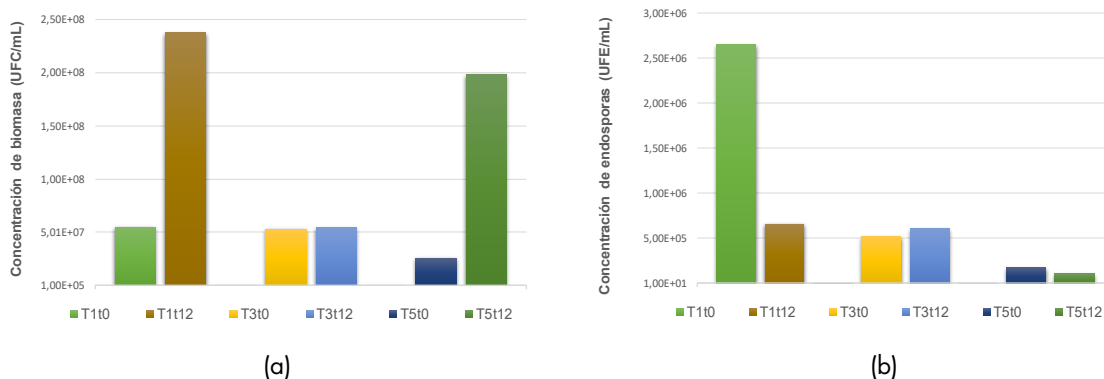


Figura 2. Producción de biomasa de *B. altitudinis* a escala de inóculo en fermentación sumergida, en los tratamientos seleccionados. a) Concentración de biomasa en el tiempo cero (t0) y doce horas (t12) después de la inoculación. b) Concentración de endosporas en el tiempo cero (t0) y doce horas después de la inoculación (t12).

El tratamiento 1 inició con una concentración de biomasa de $5,49 \times 10^7$ UFC/mL y una concentración de endosporas de $2,65 \times 10^6$ UFE/mL. Sin embargo, tras 12 horas, las UFC/mL aumentaron hasta alcanzar valores cercanos a $2,38 \times 10^8$ pero la concentración de endosporas disminuyó a $6,52 \times 10^5$ UFE/mL. Esto indica un crecimiento bacteriano de las formas vegetativas de la bacteria, pero una afectación en la concentración de endosporas, sugiriendo condiciones desfavorables.

En el tratamiento 3 se puede observar que la concentración de biomasa inició en $5,28 \times 10^7$ UFC/mL y finalizó en $5,40 \times 10^7$ UFC/mL. Respecto a la concentración de endosporas se presentó un comportamiento similar iniciando con una concentración de UFE/mL de $5,17 \times 10^5$ y terminando en $6,07 \times 10^5$. Esta estabilidad sugiere que las condiciones del tratamiento 3 inhibieron o retrasaron tanto el crecimiento de células vegetativas como de endosporas.

El tratamiento 5 presentó una concentración inicial de biomasa de $2,51 \times 10^7$ UFC/mL, y final de $1,98 \times 10^8$ UFC/mL. Al cuantificar la producción de endosporas se evidenció un comportamiento no favorable en este tratamiento, la fermentación inició con una concentración de $1,7 \times 10^5$ y al finalizó el proceso con $1,03 \times 10^5$ UFE/mL.

4. Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio evidencian la influencia del pH y la composición del medio de cultivo en la dinámica de crecimiento y esporulación de *Bacillus altitudinis*. El comportamiento sugiere que el pH neutro favorece la disponibilidad de nutrientes y la actividad metabólica, tal como se ha descrito en estudios previos donde pH alcalinos (7.5–8.5) promueven la esporulación en *Bacillus* spp. (González-León, et al., 2023). Sin embargo, al aumentar la escala se evidencia lo que podría asociarse a limitaciones en la transferencia de oxígeno o acumulación de metabolitos durante la fermentación discontinua (Buckley et al., 2015).

La sustitución de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ por peptona incrementó la biomasa en pre-inóculo, pero no mejoró la producción de endosporas. Esto coincide con observaciones de Pérez-Hernández et al. (2020), quienes destacan que fuentes orgánicas de nitrógeno, como la peptona, estimulan el crecimiento vegetativo, pero no necesariamente la diferenciación esporulativa. En escala de inóculo, el tratamiento 3 mantuvo niveles estables de UFE/mL (6.07×10^5), lo que podría reflejar un efecto amortiguador de la peptona frente a fluctuaciones ambientales, fenómeno reportado en cepas con requerimientos nutricionales específicos (Khan, et al., 2022).

La duplicación de CaCl_2 y $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ no generó incrementos relevantes en UFC/mL o UFE/mL. Aunque el calcio participa en la estabilización de membranas durante la esporulación (González-León, et al., 2023), su exceso podría alterar el equilibrio de iones (como sodio, potasio, calcio, etc.) dentro y fuera de las células, afectando negativamente el metabolismo. Por otro lado, el molibdato, como cofactor enzimático (Cavalcante & Dobereiner, 1988), no mostró efectos al duplicarse, sugiriendo que su concentración inicial ya era óptima.

Al escalar a inóculo, los tratamientos T1 y T3 exhibieron comportamientos divergentes: T1 redujo las UFE/mL, mientras que T3 mantuvo la estabilidad. Esto resalta la complejidad de escalar procesos fermentativos, donde factores como la agitación y la relación superficie/volumen influyen en la distribución de nutrientes y la concentración de oxígeno (Ratón et al., 2005).

Los hallazgos se direccionan hacia la hipótesis de que el pH 7.0 y la peptona optimizan la producción de biomasa, mientras que la esporulación requiere condiciones alcalinas y equilibrio en la formulación del medio. Futuras investigaciones deberían enfocarse en optimizar parámetros en la etapa de inóculo posiblemente modificando algunas condiciones de proceso para mejorar los resultados esperados y evaluar la eficacia de las endosporas en aplicaciones agrícolas, como la promoción de crecimiento vegetal en condiciones de estrés salino (Yue, et al., 2022).

5. Referencias

Artículos de revistas

- Cavalcante V., Dobereiner J. (1988). A new acid tolerant nitrogen fixing bacterium associated with sugarcane. *Plant and Soil*, Vol 108, No 1, pp. 23-31. <https://doi.org/10.1007/BF02370096>
- Dar, M. A., Dhole, N. P., Xie, R., Pawar, K. D., Ullah, K., Rahi, P., ... & Sun, J. (2021). Valorization potential of a novel bacterial strain, *Bacillus altitudinis* RSP75, towards lignocellulose bioconversion: an assessment of symbiotic bacteria from the stored grain pest, *Tribolium castaneum*. *Microorganisms*, Vol 9, No 9, pp. 1952. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091952>
- González-León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., & Mercado-Flores, Y. (2023). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, Vol 25, No 1, pp. 1-14.
- Khan, M., Kamran, M., Kadi, R. H., Hassan, M. M., Elhakem, A., Sakit ALHaithloul, H. A., ... & Shamim, S. (2022). Harnessing the potential of *Bacillus altitudinis* MT422188 for copper bioremediation. *Frontiers in Microbiology*, Vol 13, pp. 878000. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.878000>
- Nautiyal C.S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, Vol 170, No 1, pp. 265-270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Pérez-Hernández, Y., Díaz-Solares, M., Rondón-Castillo, A. J., Fuentes-Alfonso, L., González-Sierra, L., & Guzmán-Cedeño, Á. M. (2020). Aislamiento de cepas de *Bacillus spp.* a partir del bioproducto IHPLUS® con potencialidades para el desarrollo agropecuario e industrial. *Pastos y Forrajes*, Vol 43, No.1, pp. 56-65.
- Ratón, T. O., Portuondo, I. P., Salas, D. F., Ramos, N. C., & Giro, Z. G. (2005). Aislamiento de cepas del género *Bacillus sp.* con potencialidades para la bioprotección y la estimulación del crecimiento vegetal. *Revista Cubana de Química*, Vol. 17, No 1, pp. 189-195.
- Smitha KV, Pradeep BV. (2018). Optimization of Physical and Cultural Conditions of Fibrinolytic Enzyme from *Bacillus altitudinis* S-CSR 0020. *J Pure Appl Microbiol.* Vol 12, No 1, pp. 343-354.
- Tejera-Hernández, B., Rojas-Badía, M. M., & Heydrich-Pérez, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, Vol 42, No 3, pp. 131-138.
- Van Giang N., Hien P.H., Diep V.T.N., Huyen P.K., Pylnev V.V. (2024). Isolation and characterization of indole acetic acid-producing bacteria isolated from rhizospheric soil of paddy



- rice. E3S Web of Conferences. EDP Sciences, Vol 494, pp. 04030. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202449404030>
- Yang J, Wang C, Guo Q, Deng W, Du G, Li R. (2022). Isolation of the Thermostable β -Glucosidase-Secreting Strain *Bacillus altitudinis* JYY-02 and Its application in the production of Gardenia Blue. *Microbiol Spectr*, Vol. 10, No 4, pp. e01535-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01535-22>
 - Yue Z., Chen Y., Wang Y., Zheng L., Zhang Q., Liu Y., Hu C., Chen C., Ma K., Sun Z. (2022). Halotolerant *Bacillus altitudinis* WR10 improves salt tolerance in wheat via a multi-level mechanism. *Frontiers in Plant Science*, Vol 13, p. 941388. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.941388>
 - Zambrano-Moreno, D. C., Ramón-Rodríguez, L. F., Van Strahlen-Pérez, M., & Bonilla-Buitrago, R. R. (2015). Industria de bioinsumos de uso agrícola en Colombia. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, Vol 18, No 1, pp. 59-67.

Libros

- Bonilla Buitrago, R. R., González de Bashan, L. E., Pedraza, R. O., Estrada Bonilla, G. A., Pardo Díaz, S., Mazo Molina, D. C., Ramírez Gómez, M. M. (2021). *Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible*. Corporación colombiana de investigación agropecuaria – AGROSAVIA., pp 114 – 120.
- Buckley D.H., Stahl D.A., Martinko J.M., Madigan M.T. (2015). *Brock: Biología de los microorganismos*. 14 ed. Pearson Educación S.A.: Madrid.
- Garrity G., De Vos P., Jones D., Krieg N., Ludwig W., Rainey F., Schleifer K., Whitman W. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Firmicutes*. Springer. pp. 1450.

Sobre los autores

- **Johana Imbacuán:** Ingeniera de alimentos, Magister en Sistemas Integrados de Gestión. Estudiante Doctorado en Ingeniería de Universidad de Caldas. johana.imbacuan@ucaldas.edu.co
- **Gloria Restrepo:** Bacterióloga y laboratorista clínico, Especialista en Microbiología. Doctora en Ciencias Agrarias de Universidad de Caldas. Profesora titular. grestrepo@ucm.edu.co
- **Óscar Sánchez:** Ingeniero Químico. Magister en Biotecnología. Doctor en Ingeniería de Universidad Nacional de Colombia. Profesor titular. osanchez@ucaldas.edu.co

Los puntos de vista expresados en este artículo no reflejan necesariamente la opinión de la Asociación Colombiana de Facultades de Ingeniería.

Copyright © 2025 Asociación Colombiana de Facultades de Ingeniería (ACOFI)