

Potencial en Bioprospección de *Lysinibacillus sphaericus*

Bioprospecting potential of *Lysinibacillus sphaericus*

Moreno Santos Ingrid Paola¹, Zambrano Fuentes Luis Guillermo¹,
Sánchez Leal Ligia Consuelo, MSc²

Recibido: 29 de octubre de 2020

Aceptado: 28 de junio de 2022

Resumen

Las prácticas ambientales, industriales y médicas han impulsado el desarrollo de nuevas estrategias sostenibles para la protección y mejora de las condiciones de estos sectores. Actualmente en el campo ambiental se han utilizado microorganismos para estimular el crecimiento vegetal y reducir los efectos negativos que presentan los productos químicos. También, en el campo industrial, se han utilizado microorganismos para la optimización de procesos en la restauración y producción de materiales y alimentos que mejoran la salud respectivamente. Por otra parte, en el campo médico, se ha evidenciado que muchos de estos agentes biológicos son benéficos y cuentan con propiedades importantes que mejoran el funcionamiento del cuerpo. Siendo así, las bacterias una fuente potencial de una amplia variedad de productos bioactivos como es el caso de *Lysinibacillus sphaericus* (*Ls*), tomando gran importancia en los últimos años debido a las propiedades que ha demostrado tener. Por esto, el propósito de esta revisión es hacer un recuento sobre *Ls* y sus diversas aplicaciones como bacteria prometedoras en bioprospección en los campos mencionados

¹ Estudiantes del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá D.C., Colombia

² MSc., Docente investigador. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá D.C., Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7796-1326>

Correspondencia: lconsuelosanchez@unicolmayor.edu.co

Palabras claves: *Lysinibacillus sphaericus*, bioprospección, ambiente, beneficios, medicina humana.

Abstract

Environmental, industrial and medical practices have encouraged the development of new sustainable strategies for the protection and improvement of conditions in these sectors. Currently, in the environmental field, microorganisms have been used to stimulate plant growth and reduce the negative effects of chemicals. Also, in the industrial field, microorganisms have been used for process optimization in the restoration and production of health-enhancing materials and foods, respectively. In the medical field, it has been shown that many of these biological agents are beneficial and have important properties that improve the functioning of the body. Thus, bacteria are a potential source of a wide variety of bioactive products, that is the case of *Lysinibacillus sphaericus* (*Ls*), which has taken on great importance in recent years because of the properties it has shown to have. Therefore, the purpose of this review is to recount *Ls* and its various applications as promising bacteria in bioprospecting in the fields mentioned.

Keywords: *Lysinibacillus sphaericus*, bioprospecting, environment, benefits, human medicine.

Introducción

El género *Lysinibacillus* está compuesto por una variedad de especies heterogéneas. Fenotípicamente, las bacterias de este género son aerobias o anaerobias facultativas, formadoras de esporas y que se tiñen como Gram positivas mediante la coloración de Gram. Algunas especies de este género por su alta capacidad de producir

gran variedad de enzimas y metabolitos (1), se han utilizado en múltiples procesos médicos, farmacéuticos, ambientales e industriales, con el fin de obtener un beneficio para el área a la que se aplique.

Estos microorganismos presentan un gran potencial en los campos de la salud y agricultura, debido a sus capacidades metabólicas. Por ejemplo, se ha demostrado que algunos de ellos

aceleran el proceso de oxidación de azufre y, como tal, pueden usarse en biominería y biolixiviación (2). Además, los microorganismos acidófilos han permitido el desarrollo de diferentes estrategias para remediar problemas importantes de contaminación en la explotación de minerales; por ejemplo, la regulación y gestión del pH en la precipitación de hierro en el drenaje ácido de minas (AMD) (3). Otros microorganismos producen metabolitos que ayudan a controlar o inhibir el crecimiento de agentes que pueden alterar el estado de salud de los seres humanos. En este aspecto, ciertos microorganismos tienen la capacidad de ser utilizados como biocontroladores y biorremediadores contribuyendo a la disminución de resistencia y uso de sustancias químicas.

Lysinibacillus sphaericus (Ls), es una bacteria Gram positiva esporulada que se ha estudiado con mucha profundidad en los últimos años debido a sus capacidades, las cuales la convierten en una opción para el control de vectores, remediación de aguas contaminadas y como alimento probiótico, demostrando con esto tener un amplio campo de aplicación.

Por lo tanto, el propósito de esta revisión es mostrar la bioprospección de *Lysinibacillus sphaericus* y las diversas aplicaciones en los diferentes campos en los que la bacteria ha sido estudiada.

Generalidades del género *Lysinibacillus*

Lysinibacillus pertenece a la familia Bacillaceae. Al principio las especies de este género fueron clasificadas como miembros de *Bacillus*, pero su taxonomía cambió al género *Lysinibacillus* en 2007 quedando por confirmarse la clasificación a nivel genómico (4-5).

En un estudio publicado en el 2007 se realizó un análisis comparativo de secuencia genética RNAr 16S, composición distintiva de peptidoglicano, análisis filogenético y fisiología de tres cepas aisladas: *Bacillus fusiformis*, *Bacillus sphaericus* y *Lysinibacillus boronitolerans*, los resultados obtenidos indicaron que las tres cepas pertenecen al mismo género y se propuso transferir a *Bacillus fusiformis* y *Bacillus sphaericus* al género *Lysinibacillus* (4). Pero no se reportó ningún soporte genómico para evaluar esta clasificación hasta hace unos años (6). En el mismo estudio mencionado anteriormente, se hizo una comparación con la especie del género *Bacillus*, descubriendo que las cepas del género *Lysinibacillus* contenían peptidoglicano con lisina, ácido glutámico, alanina y ácido aspártico.

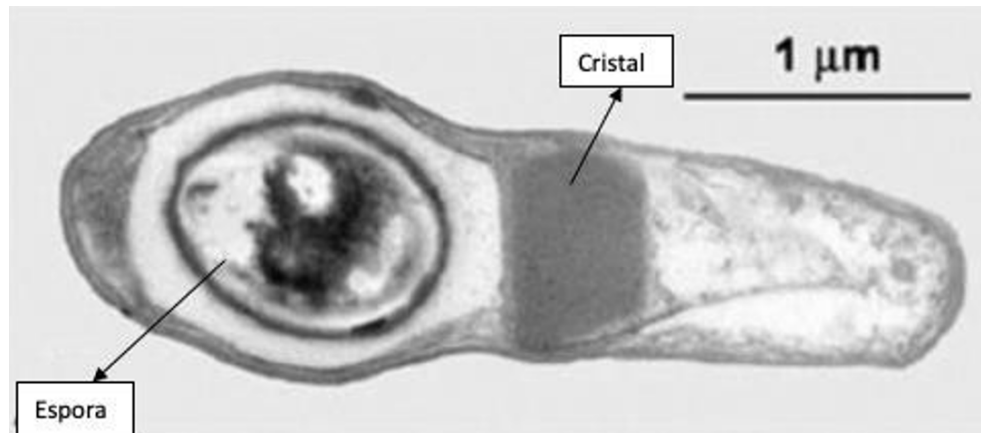


Figura 1. *Lysinibacillus sphaericus*. La espora y el cristal están en el lado izquierdo y derecho del exosporio, respectivamente. [Figura modificada por los autores] (7)

Dussán y colaboradores., en 2002, secuenciaron el genoma de *L. sphaericus* cepa OT4b.49, una cepa colombiana previamente aislada, que a partir del análisis exhaustivo de *L. sphaericus* como agente de control de mosquitos, se sugiere la necesidad de clasificación como una nueva especie (6).

El género *Lysinibacillus* sp. se caracteriza microscópicamente por ser bacilos Gram positivos móviles que producen endosporas elipsoidales o esféricas que se encuentran en la parte terminal de la bacteria (ver figura 1) (4), las cuales permiten que tengan capacidad de resistencia y de potenciar su aislamiento en diferentes hábitats, tanto acuáticos como terrestres o ambientes bajo condiciones extremas (8). En pruebas de oxidasa y catalasa son positivos, mientras que las pruebas de producción de indol, H₂S, la reducción del nitrato y β-galactosidasa (ONPG) son negativos (4), no pueden utilizar 2-cetogluconato,

ácido cáprico, d-Arabinosa, gentiobiosa, mioinositol, estaquiosa, almidón, β-gentiobiosa y β-metil-xilósido. Poseen como ácido graso primario el iso-C_{15:0} y MK-7 como el sistema primario de menaquinona (9). Los lípidos polares principales son difosfatidilglicerol, fosfatidilglicerol y fosfoglicolípido positivo para ninhidrina. Se conoce que el contenido de G + C del género *Lysinibacillus* corresponde al 35–43,3% (9).

Asimismo, *Lysinibacillus sphaericus* con su basónimo *Bacillus sphaericus* propuesto por Meyer y Neide en 1904 (Ver figura 2) (4), se clasificó a un nuevo género de acuerdo con rasgos fenotípicos, principalmente en función de las diferencias de la pared celular; esta especie en vez de contener ácido meso diaminopimélico el componente principal de la pared celular del género *Bacillus*, tiene un alto porcentaje de lisina y ácido aspártico (4).

Reino	Bacteria Cavalier-Smith, 2002 - bacterias, bacterias, bacterias, bacterias
Subreino	Posibacterias Cavalier-Smith, 2002
Filo	Firmicutes corrig. Gibbons y Murray, 1978
Clase	Bacilli Ludwig et al., 2010
Orden	Bacillales Prévot, 1953
Familia	Bacillaceae Fischer, 1895
Género	Lysinibacillus Ahmed et al., 2007
Especies	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> (Meyer y Neide, 1904) Ahmed et al., 2007

Figura 2. Jerarquía taxonómica de *L. sphaericus*.
[Figura adaptada de Integrated Taxonomic Information System; traducida por los autores] (10)

L. sphaericus fue aislada por primera vez de las larvas de cuarto estadio de *Culiseta incidens* cerca de Fresno, California (6). Hu y colaboradores observaron que el género *Lysinibacillus* no presenta la capacidad de utilizar polisacáridos, pero esto lo reemplaza con la metabolización de otras moléculas, como compuestos orgánicos y aminoácidos, los cuales son utilizados como fuente de energía (5). Respecto a su ubicación, *Lysinibacillus sphaericus* se puede encontrar en suelos y ambientes acuáticos (6).

Por otra parte, se ha respaldado la existencia de siete subgrupos dentro de *L. sphaericus sensu lato*, incluidos, *L. fusiformis*, *L. sphaericus (sensu stricto)* y posiblemente cuatro nuevas especies, esto se ha descubierto a través de análisis filogenéticos del DNA ribosomal 16S (DNAr 16S) (11). Por consiguiente, los bacilos con rango de crecimiento entre temperaturas de 20 a 45 grados centígrados (mesófi-

los), que pueden crecer a pH neutro y presentan incapacidad para fermentar los carbohidratos se han clasificado como *L. sphaericus sensu lato* (12).

A medida que se descubren rasgos fenotípicos únicos, se han designado géneros y especies nuevas de este grupo, es el caso de *L. fusiformis* y *L. boronitolerans*, entre otros (13).

Lysinibacillus sphaericus y sus aplicaciones en biotecnología

L. sphaericus es una especie bacteriana que en los últimos años ha ganado gran interés. En investigaciones realizadas se ha descubierto que es una bacteria que cuenta con un amplio margen de aplicaciones. Es conocida principalmente por su gran actividad larvicida contra las larvas de zancudos del género *Aedes* sp, *Culex* sp y *Anopheles* sp, y su resistencia a

los metales tóxicos como el arseniato, el cromo hexavalente y el plomo (14). Aunque en un principio, *Ls* ha sido utilizado en programas de control bioló-

gico, no todas las cepas de *L. sphaericus* muestran efecto tóxico contra larvas de zancudos (Ver figura 3) (6).

Cepa	Toxicidad	Nivel	Tamaño del genoma (pb)
C3-41	Alto	Completo	4.639.821
2362	Alto	Completo	4.692.801
III (3) 7	Alto	Completo	4.663.526
OT4b.25	Alto	Completo	4.665.575
OT4b.49	Alto	Borrador	4.668.840
CBAM5	Alto	Borrador	5.156.460
LP1-G	Alto	Borrador	4.542.839
2297	Medio	Borrador	4.516.760
SSII-1	Bajo	Borrador	4.651.985
1987	No tóxico	Borrador	4.906.630
OT4b.31	No tóxico	Borrador	4.856.302
B1-CDA	No tóxico	Borrador	4.509.276
KCTC 3346	No tóxico	Borrador	4.560.870
NRS 1693	No tóxico	Borrador	4.603.690

Figura 3. Comparativa de algunas cepas de *L. sphaericus* usadas como mosquitocidal.
^a Alto: presencia de binA , B y mtX 1, 2, 3 o cry48 , 49 ; Medio: solo binA, B y mtX2 ; Baja: solo mtX2.
 [Figura traducida y modificada por los autores] (6)

También se ha demostrado que es una bacteria que habita la rizosfera e influye de manera positiva en el desarrollo de las plantas, *Ls* ha sido utilizada en biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo (15) y como potencializadora de nutrientes en suelos impactados por el fuego (16). Además, recientes estudios demues-

tran que tiene la capacidad de degradar el glifosato (17), entre otros usos. En síntesis, se ha podido demostrar un gran potencial para aplicaciones ambientales e industriales más allá del control biológico, especialmente en la biorremediación de compuestos tóxicos (18). A continuación, se mencionan algunas de las aplicaciones que presenta *Ls* (Tabla 1).

Tabla 1. Aplicaciones conocidas de *Lysinibacillus sphaericus*.

CAMPO DE ACCIÓN	POTENCIAL DE ACCIÓN	REFERENCIA
CONTROL BIOLÓGICO	Toxinas de <i>L. sphaericus</i> contra larvas de mosquitos <i>Aedes</i> , <i>Culex</i> y <i>Anopheles</i> sp	[12, 58]
	<i>L. sphaericus</i> con actividad nematocida contra nematodos del género <i>Meloidogyne</i> spp	[24]
	Mejora de la vida útil de <i>Caenorhabditis elegans</i> (<i>C. elegans</i>)	[63]
	Posible actividad contra larvas de <i>Plutella xylostella</i> .	[64]

CAMPO DE ACCIÓN	POTENCIAL DE ACCIÓN	REFERENCIA
BIORREMEDIACIÓN	Biorremediación de diferentes metales pesados como el aluminio, mercurio y plomo	[32-40]
	Potencial de biorremediación en suelos contaminados por hidrocarburos (petróleo)	[5, 65]
	Candidato para la biorremediación de herbicidas	[20]
	<i>L. sphaericus</i> podría ser un buen potenciador de nutrientes y promotor del crecimiento de plantas de suelos impactados por el fuego y tratamientos de replantación	[16]
PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL	Cepa ZA9 con producción de AIA, sideróforos, enzimas hidrolíticas	[23]
	Actividad bioantagonista de la cepa ZA9 contra seis hongos fitopatógenos: <i>Alternaria alternata</i> , <i>Curvularia lunata</i> , <i>Aspergillus</i> sp., <i>Sclerotinia</i> sp., <i>Bipolaris spicifera</i> , <i>Trichophyton</i> sp	[23]
INDUSTRIAL	Utilizada para darle durabilidad y resistencia al hormigón	[45]
	Ha mostrado naturaleza probiótica cuando se somete a pruebas de tolerancia a los ácidos y la bilis	[49, 50]
VETERINARIA	La cepa PKA17 con potencial para usarse como probiótico exitoso en peces <i>Clarias batrachus</i> , ya que es capaz de tolerar e hidrolizar la sal biliar	[51, 52]
MEDICINA HUMANA	Toxina Bin con actividad anticancerígena	[59, 62]

En el campo agroambiental:

1. *Lysinibacillus sphaericus* como microorganismo capaz de degradar glifosato

Los herbicidas a base de glifosato son uno de los compuestos más utilizados para controlar las malas hierbas a nivel mundial. Este compuesto es muy persistente en el medio ambiente y tiende a filtrarse en los ecosistemas acuáticos (19). El uso de glifosato en la agricultura, es especialmente aplicado en cultivos de algodón, maíz, caña, soya, plátano y banano. Este herbicida y su producto de descomposición del aminofosfonato ácido

aminometilfosfónico (AMPA) han sido clasificados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2015 como probablemente cancerígenos para los humanos y se ha informado que estos compuestos alteran el equilibrio ecológico y nutricional de los suelos (17), llevando a la suspensión de la pulverización aérea de glifosato el mismo año en países como Colombia, donde se ha utilizado ampliamente en la erradicación de cultivos ilícitos (20).

Los procesos de degradación del glifosato en el suelo están mediados por microorganismos que producen AMPA, sarcosina y glicina como intermediarios, dependiendo de la vía de degradación. La vía más común impli-

ca la oxidación del enlace CN, donde los microorganismos degradan el glifosato liberando AMPA y glioxilato, que luego se utilizan como fuente de carbono. Sin embargo, existe otra vía de degradación, a través de la sarcosina oxidasa, que conduce inicialmente a la sarcosina y al fosfato. La sarcosina se procesa posteriormente en glicina en lugar de AMPA, lo que hace que esta vía sea más ecológica (17). Se ha informado que la vía de la sarcosina oxidasa es utilizada por bacterias como *Ls* (20).

Se han desarrollado estudios en los microorganismos con el objetivo de mitigar el efecto de glifosato, es el caso de *Ls* en el que se ha detectado un gen, el cual codifica la la vía del Carbono-Fósforo (CP) capaz de degradar el glifosato sin conducir a la producción de AMPA (17). *Ls* tiene la capacidad de degradar el glifosato en dos moléculas principales, glicina y ortofosfato (19).

Dussán y colaboradores, mostraron la mitigación de los efectos del glifosato en presencia de *Ls*, la cual pudo influir positivamente en la degradación del glifosato por la vía sarcosina lo que lleva a una producción mínima de AMPA y aumenta la tasa de supervivencia de las plantas. Además, es importante indicar que en comparación con otros microorganismos que también utilizan la vía sarcosina, *Ls* no

representa un riesgo para la salud de animales y plantas cercanos, ya que no se considera un microorganismo patógeno hasta el momento (17).

2. *Lysinibacillus sphaericus* como Promotor de Crecimiento Vegetal

El término *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR o RPCV por sus siglas en español) fue establecido por J. W. Kloepper y M. N. Schroth en 1978, para definir a las bacterias que habitan la rizosfera y que benefician el desarrollo de las plantas (21). Los diversos géneros bacterianos son componentes de gran importancia para el suelo, estos se encuentran involucrados en una gran diversidad de actividades, aportándole nutrientes y haciéndolo apto para el crecimiento de cultivo. Algunos ejemplos de RPCV son: *Agrobacterium* sp, *Arthrobacter* sp, *Azoarcus* sp, *Azospirillum* sp, *Azotobacter* sp, *Bacillus* sp, *Burkholderia* sp, *Caulobacter* sp, *Chromobacterium* sp, *Enterobacter* sp, *Erwinia* sp, *Flavobacterium* sp, *Klebsiella* sp, *Micrococcus* sp, *Pantoea* sp, *Pseudomonas* sp, *Rhizobium* sp y *Serratia* sp.

Las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas proporcionan múltiples beneficios en la agricultura al mejorar el desarrollo de los cultivos, aumentar la absorción de nutrientes y suprimir la invasión por fitopatógenos. El desarrollo de interacciones

beneficiosas entre plantas y microorganismos basadas en datos genómicos, transcriptómicos, proteómicos y metabolómicos tanto de PGPR como del huésped conducirá a inoculantes microbianos optimizados para mejorar el rendimiento de la planta (22).

En un estudio publicado en el 2017 por Sergio Martínez y Jenny Dussán miembros de la Universidad de los Andes, se evaluó la capacidad que presentaba *Ls* como bacteria promotora del crecimiento vegetal de la judía (*Canavalia ensiformis*), en el cual se demostró que *Ls* es una bacteria fijadora de nitrógeno, nitrificante heterótrofa y productora de Ácido Indolacético (AIA). Además, es persistente en la rizosfera de *C. ensiformis* en suelos no contaminados y contaminados y fue capaz de promover el crecimiento de *C. ensiformis*; de esta forma, concluyeron que *Ls* podría ser un organismo clave en la formulación de biofertilizantes, ya que muestra potencial en los procesos de fitorremediación y en la nutrición de las plantas de cultivo, pudiendo ser considerada como una bacteria promotora del crecimiento de las plantas (RPCV) (14).

Por lo anterior, se busca que productos como los herbicidas y pesticidas que causan un efecto negativo a la salud y al medio ambiente, sean reemplazados por otras alternativas que puedan cumplir la misma protección en las plantas, sean benéficos para todos los seres vi-

vos y no produzcan efectos perjudiciales a corto ni a largo plazo. A partir de estudios como el citado, se puede deducir que *Ls* tiene potencial en la promoción del crecimiento vegetal y en la producción de metabolitos secundarios que actúan contra fitopatógenos (23).

3. *Lysinibacillus sphaericus* como posible agente nematocida

Los nematodos del género *Meloidogyne* sp son considerados un problema en los cultivos, debido a que habitan en la mayoría de las regiones templadas y cálidas del mundo. En la actualidad, se conocen más de 90 especies de *Meloidogyne* sp, aunque *M. incógnita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. hapla* son las especies más reconocidas por su impacto en grandes pérdidas económicas en la agricultura (24). Las plantas afectadas por nematodos pueden presentar algunos signos como un crecimiento lento o atrofiado, un color amarillento de las hojas, marchitamiento de la planta y producción de pocas raíces por las plántulas, debido a la hinchazón que produce el nematodo en las raíces de las plantas infectadas, interfiriendo en la absorción de los nutrientes que necesita (25). También se ha informado una reducción en la acumulación de materia seca y aborto de flores más frecuentemente (26).

Estos nematodos se caracterizan por encontrarse en cualquier parte del mundo (cosmopolita), por poseer

una alta capacidad para reproducirse y sobrevivir a varias condiciones climáticas (27). La importancia que presenta este nematodo para la agricultura ha hecho que se busquen nuevas alternativas para su eliminación, debido a que los productos que se utilizan para su erradicación como los productos nematicidas y la fumigación, no son eficientes cuando la población del nematodo es mayor, llevando al uso de mayores concentraciones de estos productos; aumentando la posibilidad de resistencia, daño a la salud humana y afectación de los microorganismos que son benéficos para el ecosistema.

Dadas sus implicaciones en la agricultura y la poca eficacia que están presentando los productos químicos para su erradicación, se ha estudiado una nueva alternativa con biocontroladores. *Ls*, es una de ellas y es considerada una bacteria que no deja de sorprender con todas las utilidades que ha demostrado tener, y en los campos donde se puede aplicar.

Respecto al uso de *Ls* como agente nematicida no hay muchos estudios, el más reciente fue realizado por M. S. Abdel-Salam y colaboradores publicado en el 2018, donde evaluaron tanto en condiciones de invernadero y en laboratorio con la técnica de fusión de protoplastos entre *B. amyloliquefaciens* y *Ls* con el fin de evaluar el

efecto nematicida contra *M. incógnita* (28), siendo una de las especies de importancia económica con un amplio rango de huéspedes (29).

El fundamento de la técnica es romper la pared del microorganismo, luego se aísla y se purifica el protoplasma, seguido de una fusión química o física del protoplasma de los dos microorganismos y por último la identificación del híbrido. Es una técnica variable y económica con un gran potencial, debido a que permite la combinación de material genético de microorganismos procariotas o eucariotas mejorando las características de la cepa de interés (30,31). En esta investigación, se evidencia que la fusión de protoplastos entre estos dos géneros bacterianos mejoró la producción de la enzima quitinasa, la cual aumentó el porcentaje de mortalidad de *M. incógnita* J2. (28)

4. *Lysinibacillus sphaericus* como agente biorremediador

Cada año fluyen grandes cantidades de compuestos de metales pesados debido a las actividades humanas. El aumento en la contaminación ambiental se ha desencadenado en gran medida debido al desarrollo industrial, es así como los metales pesados ingresan al agua, desde varias industrias, como la minería, fundición de metales, e incluso el tratamiento de

aguas, entre otras operaciones desarrolladas en este campo (32). A su vez, se ha demostrado que la contaminación de estos metales en el suelo son un riesgo para la salud humana, puesto que dichos compuestos desembocan en las aguas subterráneas y estas son consumidas, ya sea por ingestión directa o por cadena alimentaria (33). Incluso en bajas concentraciones, los metales pesados tienen efectos peligrosos para la salud como retraso del crecimiento en niños, efectos cancerígenos, daño a diferentes órganos, deterioro del sistema nervioso y en los casos más severos, pueden ocasionar la muerte (34).

La recuperación de un medio ambiente contaminado, por medio de la transformación o eliminación de metales pesados deletéreos, usando microorganismos o actividad enzimática se conoce como biorremediación (33). El proceso de introducción de microorganismos en el área de contaminación busca optimizar las condiciones del medio ambiente para acelerar la biotransformación de las sustancias peligrosas en metabolitos o sustancias menos tóxicas. La biosorción es otro concepto de biorremediación donde los iones de metales pesados son absorbidos de los sitios contaminados por microorganismos. Los procedimientos de biorremediación microbiana se han calificado como económicamente factibles mostran-

do resultados prometedores en la eliminación de compuestos orgánicos como hidrocarburos de petróleo, así como iones de metales pesados de aguas y suelos contaminados (35).

El mercurio (Hg) es un contaminante global que afecta a los seres humanos y la salud del ecosistema (36). La intoxicación por mercurio (Hg) ha mostrado causar síntomas que pueden ser inespecíficos como, ansiedad, depresión, fatiga, pérdida de peso y memoria, parestesia, malformaciones del feto, entre otros, que se manifiestan después de un tiempo prolongado de exposición. El ciclo del Hg está ligado a una fuente líquida, pudiendo interactuar con otros compuestos, cambiando el estado de oxidación. Es importante tener en cuenta que cuando se produce la metilación de este elemento puede resultar más tóxico y acumularse en diferentes órganos del cuerpo causando daños severos (37).

Debido a las características bioquímicas de los microorganismos, cada especie tiene la capacidad de interactuar de diferentes formas con el Hg. Por ejemplo, la presencia de grupos funcionales con mayor cantidad de azufre en su superficie, proteínas específicas que intervienen en el transporte y/o procesos de oxidorreducción de este elemento. La tolerancia y resistencia se clasifican por este tipo

de interacciones, donde, los "tolerantes" son los microorganismos capaces de absorber el metal, sin metabolizarlo, y los "resistentes" logran transformarlo, por reacciones redox intracelular después de ser capturado (37).

Con el objetivo de conservar una concentración óptima intracelular de metales, los microorganismos desarrollan estas interacciones de resistencia y tolerancia. En la tolerancia el microorganismos puede utilizar propiedades intrínsecas, formas que son independientes del metabolismo como lo son a través de capas superficiales (S-Layer), como lo ha demostrado *Ls* (38).

Un estudio realizado por Dussán y colaboradores, mostró que *Ls* es una bacteria conocida por su capacidad de absorber metales. Además, tanto las formas vegetativas como las muertas han demostrado ser eficientes en la eliminación de mercurio. Las bacterias muertas presentan varias ventajas debido a su falta de susceptibilidad metabólica a los cambios del medio ambiente por la transferencia horizontal no deseada de genes de otros microorganismos (37).

Por otra parte, el avance tecnológico ha permitido el desarrollo de ciencias aplicadas como el uso de nanopartículas de oro (Au) en diferentes industrias, ocasionando la liberación de este me-

tal al medio ambiente a través de aguas residuales y actividad minera (39). Se han utilizado distintos procedimientos convencionales para capturar este elemento en aguas residuales, por precipitación, oxidación o reducción química, ósmosis inversa, u otras técnicas. Sin embargo, estos métodos son costosos y no pueden lograr altas eficiencias, por esta razón se han buscado nuevas alternativas para el reciclaje de oro utilizando microorganismos (40).

Ls posee una capa superficial proteica (capa S), la cual actúa como una red porosa atrapando iones, y es por esta que se ha demostrado que *Ls* tiene la capacidad de acumular metales pesados como Pb (II), Cr (VI), Cd (II), entre otros. Así también recientemente se descubrió que *Ls* puede acumular y absorber Au (III), además hay evidencia de la biosíntesis de nanopartículas de Au. En un estudio realizado se demostró que *Ls*, es una bacteria con una alta capacidad de unión a metales, en este *Ls* se encapsuló en una matriz de alginato, mejorando su eficiencia para capturar oro al 100% en un período de tan solo 3h (40). Con lo anterior se puede sugerir a *Ls* como una alternativa de biorremediación que puede considerarse para futuros estudios a una escala mayor.

En el campo industrial:

1. *Lysinibacillus sphaericus* mejorando la resistencia y durabilidad del hormigón

Uno de los últimos métodos utilizados para el mejoramiento de base de cemento es el método de precipitación de calcita inducida microbiana o *Microbially Induced Calcite Precipitation* (MICP por su siglas en inglés) el cual muestra ser sostenible, además, resulta ser una mejor alternativa en comparación con los métodos convencionales de mejoramiento de base de cemento, los cuales son costosos. Dicho tratamiento consiste en mejorar la composición física, química, mecánica y mineral del mismo. Estos métodos convencionales requieren la adición de cemento, cal, químicos y material cementoso suplementario, etc., muchos de estos productos químicos se producen durante la fabricación y uso, lo que conduce a la contaminación del aire al emitir dióxido de carbono (CO₂), además de la contaminación producida a suelos de forma permanente y aguas subterráneas (41).

El hormigón es el material de construcción más frecuente y económico utilizado para construir estructuras fuertes debido a sus componentes comunes como el cemento, la arena y el agregado (42). Las estructuras elabo-

radas con hormigón están propensas a la degradación ya sea por medios agresivos o por la formación de microgrieta y/o macrogrietas que conllevan al daño de la estructura (43). La microbiocementación es una de las alternativas que se utiliza en la actualidad con el fin de retrasar y reparar ese tipo de deterioro. El uso de esta técnica es ideal debido a que la reparación de la estructura se logra por la precipitación de compuestos derivados de las actividades enzimáticas de las bacterias, lo que hace que sea una alternativa natural y libre de productos químicos.

Dentro de las numerosas aplicaciones de *Ls*, se ha encontrado una nueva alternativa mejorando las propiedades del mortero de cemento, siendo esta bacteria ureolítica no contagiosa, utilizada para mejorar la resistencia y durabilidad del mortero de cemento (reduciendo así el consumo de cemento) a través de la biomineralización. La construcción de diferentes estructuras ha aumentado el uso de este material, requiriendo que sea fuerte y duradero. La producción de este ha elevado la emisión CO₂, por lo que se busca desarrollar nuevos métodos que reduzcan la emisión de estos gases al medio ambiente (44).

En un estudio realizado por Karanja, D y colaboradores, se estudió la influencia de la biocementación en la

resistencia a la flexión y el ingreso de cloruro por *Lysinibacillus sphaericus* y *Bacillus megaterium* en estructuras de mortero, evidenciándose que Ls mejoró la resistencia a la flexión más que la bacteria *Bacillus megaterium*, debido a que cuanto más depósitos cristalinos de MICP, más y mejor es la unión C-S-H, lo que aumenta la resistencia a la flexión por Ls, que deposita relativamente más precipitado cristalino que *Bacillus megaterium*, el cual deposita más precipitados amorfos (45).

2. *L. sphaericus* como posible microorganismo probiótico

La comprensión científica de la relación microbiota - aparato digestivo, ha generado gran interés por microorganismos que puedan beneficiar al sistema digestivo (46). Los probióticos y prebióticos son sustancias utilizadas para reforzar y mantener la microbiota intestinal saludable, reestableciendo el equilibrio cuando se cree que la homeostasis bacteriana ha sido perturbada por una enfermedad. Estos al ser administrados en las cantidades adecuadas pueden influir en la respuesta inmunitaria del organismo (47).

Las últimas investigaciones realizadas han mostrado no sólo beneficio entre la microbiota intestinal, epitelio y barrera intestinal y mucosa del sistema inmunológico, sino además la interacción entre comensales luminales,

sistema nervioso entérico y músculos intestinales (46). Los probióticos se han definido según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization en inglés) como aquellos microorganismos que, suministrados en concentraciones apropiadas, brindan un beneficio a la salud. Aquí también es importante resaltar que los beneficios van a depender de las diferentes cepas de probióticos, donde una cepa específica puede causar una respuesta específica, así como también a diferentes organismos (47).

Otro concepto importante para tener en cuenta son los prebióticos, estos son aquellos componentes dietéticos, que no son digeribles y benefician al huésped, mejorando el desarrollo, crecimiento y/o la actividad de un número limitado de bacterias en el colon, beneficiando así la salud del mismo, definición dada por Gibson y Roberfroid en 1995 (46).

Los probióticos hoy en día se encuentran disponibles en gran variedad de productos ofrecidos por el mercado, como, en alimentos, medicamentos y suplementos. Numerosos estudios demuestran los efectos positivos de probióticos usados en enfermedades gastrointestinales, como prevención de diarrea asociada a antibióticos, su uso en el tratamiento de la enfermedad diarreica aguda en infección cau-

sada por *Clostridioides difficile*, terapia de eliminación de *Helicobacter pylori*, entre otras patologías (48).

Además de los beneficios en el control de enfermedades infecciosas que confieren los probióticos, se ha demostrado que tienen efecto positivo en el control de los niveles de colesterol sérico, mejoran la utilización de la lactosa y tienen actividad anticancerígena. Gran parte de los productos probióticos son lácteos, mostrando inconvenientes por la presencia de lactosa y colesterol, razón por la cual se han desarrollado jugos probióticos que sean gustosos al consumidor, y considerando también que los jugos de frutas y verduras tienen nutrientes beneficiosos como vitaminas, antioxidantes, fibras dietéticas y minerales (49). Asimismo, los jugos vegetales se han considerado un medio ideal para el cultivo de probióticos (50). Estas bebidas pueden ser utilizadas para la incorporación de probióticos, siendo una alternativa para aquellas que presentan intolerancia a la lactosa (49).

Se ha mostrado que bacterias como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus* tienen la capacidad de reducir el colesterol sérico. Se ha referenciado que el género *Lysinibacillus* tiene propiedades con actividad antimicrobiana contra patógenos responsables de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAS), entre los cuales se ha

evidenciado su actividad contra bacterias y hongos. Al someterse a pruebas de tolerancia a los ácidos y la bilis *Ls* ha demostrado tener naturaleza probiótica. Una investigación realizada por Seelam y colaboradores, donde *Ls* mostró capacidad probiótica en jugos de tomate y zanahoria que se administraron a ratones demostró que estos jugos vegetales probióticos redujeron los niveles de colesterol sérico, triglicéridos, LDL (Low density lipoproteins por sus siglas en inglés), VLDL (very low density lipoprotein en inglés) y aumentó el HDL (High density lipoproteins) (49). Resultando ser prometedores estos productos dietéticos probióticos como hipolipidémicos.

Aparte, los probióticos se han mostrado amigables con el medio ambiente, es por esta razón que se han utilizado cada vez más en la acuicultura, mejorando la digestibilidad de los alimentos, reduciendo el estrés y controlando las enfermedades acuáticas (51). La acuicultura ha presentado problemas relacionados con la producción pesquera intensiva, como deficiencias nutricionales y brotes de enfermedades, lo que conlleva a una alta mortalidad (52).

La disbiosis de la microbiota intestinal normal o la ausencia de potentes microorganismos probióticos tiene un efecto negativo sobre la sostenibilidad de los peces. Respecto a lo anterior,

un estudio informó una mejora significativa en la tasa promedio de crecimiento diario, índice de eficiencia proteica y tasa de conversión alimentaria en *Clarias batrachus* con el uso de *Ls*, donde fue capaz de crecer en concentraciones de sales biliares y mostrando así la presencia de hidrolasa de sales biliares, teniendo en cuenta que los probióticos naturales deben resistir altos niveles de sal biliar, para así colonizar la luz intestinal del pescado (51). De acuerdo con lo anterior, se ha demostrado que *Ls* presenta actividad como microorganismo probiótico.

En el campo veterinario:

En este campo *Ls* no ha sido muy estudiado, algunas de las pocas investigaciones que se han realizado han aislado la bacteria de *Clarias batrachus* (52), garrapatas (53), ovejas (54) y entre otros pocos animales, sin conocerse los beneficios que tiene para estos.

Se tiene sospecha que *Ls* está involucrada en pocas patologías que afectan animales, una de esta está relacionada con un desorden musculoesquelético en patos, donde Fontaine J y Bernard P demostraron que *Ls*, puede aislarse de diferentes órganos como los músculos, el cerebro, la médula ósea y el hígado. A través del estudio histológico de las lesiones musculares, se confirmó el trastorno muscular y la fuerte implicación de *Ls* (55).

Adicionalmente, en otro estudio realizado por Jenny Leek y colaboradores de la Universidad de Sydney Occidental, se publicó el primer informe confirmado de una enfermedad bacteriana de cría en abejas sin aguijón, siendo aislado *Ls* de larvas y abejas obreras de *Tetragonula carbonaria*, provisiones celulares y depósitos de miel. No está claro cómo causa la patología en *T. carbonaria*, se piensa que tal vez es cuando las colonias están debilitadas debido a factores externos, como el estrés ambiental (56). Sin embargo, la cepa *Ls* que se aisló en las reservas de miel de *T. carbonaria* se determinó que es diferente a las cepas que son utilizadas para el control biológico de mosquitos, estando la cepa aislada más relacionada con *L. sphaericus* NRS-1693, una cepa que no presenta actividad tóxica y que guarda similitudes con *L. fusiformis* y *L. boronitolerans* (5).

Con lo anterior no se busca quitar importancia a las demás aplicaciones que ha demostrado tener *Ls* en otros campos, por el contrario, esto debe verse como una oportunidad para investigar más sobre esta bacteria y las aplicaciones que pueda tener en un futuro en esta área de la medicina veterinaria.

En el campo de la medicina humana:

El cáncer es uno de los mayores problemas de salud debido a que es la segunda causa de muerte a nivel mundial (57). El cáncer puede comenzar en cualquier lugar del cuerpo, este ocurre cuando las células por alguna mutación genética crecen fuera de control y desplazan a las células normales. En la actualidad, el tratamiento para el cáncer se basa principalmente en cirugía, quimioterapia, radioterapia e inmunoterapia; y en su mayoría son muy agresivos para el paciente, lo que ha impulsado a la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento, siendo una de estas el uso de microorganismos.

Además de las características fenotípicas ya descritas de *Ls*, esta bacteria posee una toxina binaria o toxina Bin, la cual está conformada por la subunidad A (41,9 KDa) y subunidad B (51,4 KDa). (58) Estas dos subunidades funcionan unidas para tener efecto mosquitocida. (59) La subunidad BinB es requerida para unirse a los receptores del intestino medio y la subunidad BinA es la que causa la toxicidad después de la internalización celular, mediada por BinB (60, 61). Aunque en los últimos años se ha presentado resistencia por los mosquitos a esta toxina, esta ha sido estudiada para conocer si presenta actividad tóxica en otras células.

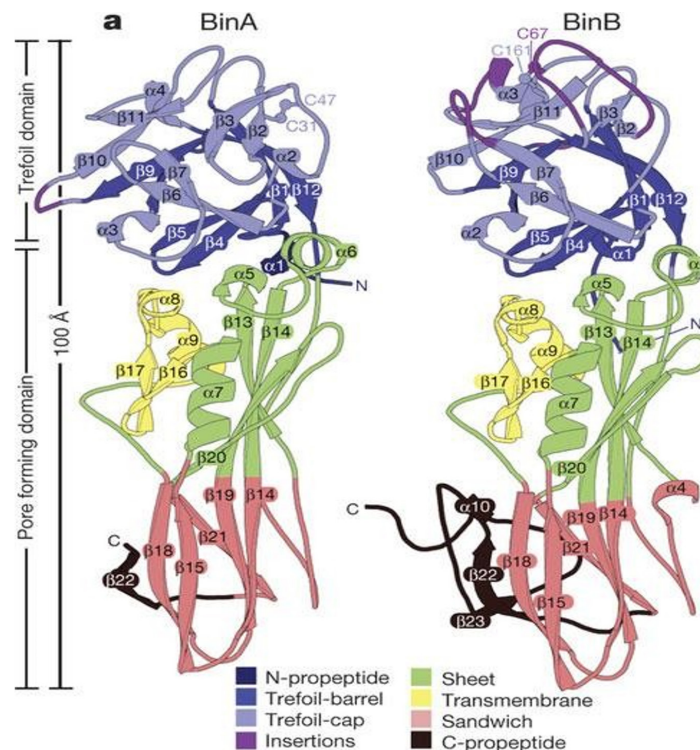


Figura 4. Toxina Bin, subunidades BinA y BinB y los módulos de unión a carbohidratos. BinA y BinB son estructuralmente similares entre sí. Las diferencias más notables corresponden a inserciones en bucles de superficie en los dominios del trébol (violeta). [Leyenda traducida y modificada por los autores] (61)

En un estudio realizado por Chankamgoen, W. y colaboradores, se evaluó la actividad anticancerígena de esta toxina de la cepa *Ls* IAB872 y se descubrió que los dominios C-terminal de BinA y BinB muestran homología parcial con las de toxinas formadoras de poros de tipo aerolizado, incluidas parasporina-2 (PS2). Además, se evidenció que la toxina presentó actividad anticancerígena contra células neoplásicas de pulmón humano (KKU-M055) e inhibió la migración y adhesión de estas células (59).

En otro estudio publicado en el 2013 por Luo W y colaboradores, se estudió esta misma toxina con la línea celular A549 correspondientes a células cancerígenas de pulmón humano y se demostró que la proteína Bin podría promover la apoptosis e inhibir la motilidad y la invasión de las células cancerosas A549, concluyendo que la proteína Bin tiene potencial de desarrollarse como agente quimioterápico por inducción de apoptosis de células tumorales humanas (62).

Conclusiones

Con el progreso de la ciencia, se han descubierto las aplicaciones que los microorganismos pueden tener para beneficio de todos los seres vivos y el medio donde habitan. Las bacterias, son la clase de microorganismos que más han sido estudiadas,

conociéndose la importancia que presentan en el funcionamiento normal del cuerpo humano, en la preparación de alimentos, en la biorremediación del ambiente, entre otras, como se evidencia en esta revisión con *Lysinibacillus sphaericus* (*Ls*).

Las propiedades bioquímicas y fisiológicas de *Ls* se pueden aplicar en diferentes procesos que resultan beneficiosos. Con lo anterior, no se puede ignorar que resultaría muy promisorio que estas aplicaciones sean evaluadas a una escala de producción mayor, recordando que aún falta mucho por estudiar sobre esta especie bacteriana y la importancia que tiene el uso de sus características en los diferentes campos que todavía no se han estudiado a profundidad.

Recomendamos la realización de revisiones detalladas de las propiedades de *Ls* con el fin de ampliar apropiadamente el conocimiento actual sobre esta bacteria.

Agradecimientos

Se agradece a Dios ante todo por darnos una nueva oportunidad cada día para seguir haciendo lo que nos motiva, a nuestra familia por ser el motor y apoyo de nuestras vidas, a la Docente Ligia Consuelo Sánchez Leal por sus útiles consejos y orientación

durante la elaboración de este artículo y a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por ser nuestra alma máter.

Referencias

1. Celandroni F, Vecchione A, Cara A, Mazzantini D, Lupetti A, et al. Identification of *Bacillus* species: Implication on the quality of probiotic formulations. PLOS ONE [Online]. 2019 [Cited 03 March 2020]; 14(5): e0217021. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217021>.
2. Johnson, D.B. Acidophilic microbial communities: Candidates for bioremediation of acidic mine effluents. Int. Biodeterior. Biodegrad [Online]. 1995 [Cited 03 March 2020]; 35, 41– 58. Available from: [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00065-D](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00065-D).
3. Hallberg, K.B. New perspectives in acid mine drainage microbiology. Hydrometallurgy [Online]. 2010 [Cited 16 March 2020]; 104, 448–453. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2009.12.013>.
4. Ahmed I, Yokota A, Yamazoe A, Fujiwara T. Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp. nov., and transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov. and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology [Online]. 2007 [Cited 26 March 2020]; 57, 1117– 1125. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/57/5/1117.pdf?expires=1585259942&id=id&accname=guest&checksum=B7826B1B0E95021E6EB595AF3AE076D> 3
5. Xu K, Yuan Z, Rayner S, Hu X. Genome comparison provides molecular insights into the phylogeny of the reassigned new genus *Lysinibacillus*. BMC Genomics [Online]. 2015 [Cited 26 March 2020]; 16:140. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25888315>.
6. Gómez C, Hernández A, Dussán J. Comparative genomics reveals *Lysinibacillus sphaericus* group comprises a novel species. BMC Genomics [Online]. 2016 [Cited 26 March 2020]; 17:709. Available from: <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12864-016-3056-9>.
7. Charles, J.F., Darboux, I., Pauron, D., Nielsen-Leroux C. Mosquitocidal *Bacillus sphaericus*: toxins, genetics, mode of action, use, and resistance mechanisms. ELSEVIER. [Online] 2010 [Cited 15 Abril 2020] ;283–307. Available from: https://www.researchgate.net/publication/300379890_Mosquitocidal_Bacillus_sphaericus_Toxins_Genetics_Mode_of_Action_Use_and_Resistance_Mechanisms
8. Rivera RR. El control biológico y natural como tecnología que propende al desarrollo sostenible de los ecosistemas urbanos y forestales en Colombia. Trabajo de grado ECAPMA - UNAD [Online]. 2019 [Cited 27 Abril 2020]. Disponible en: <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/28092/106975438.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
9. Failor KC, Tian L, Monteil CL, Vinatzer BA. *Lysinibacillus*. Wiley Online Library [Online]. 2019 [Cited 27 April 2020]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/9781118960608.gbm01570>.
10. Integrated Taxonomic Information System [Internet]. Available from: https://www.its.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=963051#null
11. Glare T.R, Jurat-Fuentes J, Callaghan M. Basic and Applied Research: Entomopathogenic Bacteria. En:Lacey, Lawrence. Microbial Control of Insects and Mites pests. Estados Unidos: Academy Press [Online]. 2017. [Cited 26 April 2020] pp. 47-67. Available from: https://books.google.com.co/books?id=qiqlC-gAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

12. Alexander B, Sacerdote FG. Numerical classification and identification of *Bacillus sphaericus* including some strains pathogenic for mosquito larvae. *J Gen Microbiol* [Online]. 1990 [Cited 26 March 2020]; 136 : 367–76. Available from: <https://doi.org/10.1099/00221287-136-2-367>.
13. Nakamura LK. Phylogeny of *Bacillus sphaericus*-like organisms. *Microbiology Society* [Online]. 2000[Cited 29 March 2020]; 50 : 1715–22. Available from: <https://doi.org/10.1099/00207713-50-5-1715>.
14. Martínez, S. A., & Dussán, J. *Lysinibacillus sphaericus* plant growth promoter bacteria and lead phytoremediation enhancer with *Canavalia ensiformis*. *Environmental Progress & Sustainable Energy* [Online]. 2017 [Cited 15 April 2020]; 37(1), 276–282. Available from: <https://aiche.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ep.12668>.
15. Hernández A, Dussán J. *Lysinibacillus sphaericus* proved to have potential for the remediation of petroleum hydrocarbons, contaminación de suelos y sedimentos. *International Journal* [Online]. 2018 [Cited 18 April 2020]; 27: 6, 538-549. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15320383.2018.1490888?scroll=top&needAccess=true>.
16. Aguirre AM, Santana JC, Dussán J. *Lysinibacillus sphaericus* as a Nutrient Enhancer during Fire-Impacted Soil Replantation. *Hindawi Applied and Environmental Soil Science* [Online]. 2019 [cited 27 Apr 2020]. Available from: <http://downloads.hindawi.com/journals/aess/2019/3075153.pdf>.
17. Pérez M, Melo C, Jiménez E, Dussán J. Glyphosate Bioremediation through the Sarcosine Oxidase Pathway Mediated by *Lysinibacillus sphaericus* in Soils Cultivated with Potatoes. *MDPI Agriculture* [Online]. 2019 [Cited 27 April 2020]; 9 (10), 217. Available from: <https://doi.org/10.3390/agriculture9100217>.
18. Rahman A, Nahar N, Nawani NN, Jass J, Ghosh S, Olsson B, et al. Comparative genome analysis of *Lysinibacillus* B1-CDA, a bacterium that accumulates arsenics. *Genómica* [Online]. 2015 [Cited 20 April 2020]; 106 : 384–92. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2015.09.006>.
19. Bernal L, Dussán J. Synergistic effect of *Lysinibacillus sphaericus* and glyphosate on temephos-resistant larvae of *Aedes aegypti*. *BMC Genomics*. [Online] 2020 [Cited 27 April 2020]; 13 (68). Available from: <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3928-3>.
20. González LE, Dussán J. Molecular assessment of glyphosate-degradation pathway via sarcosine intermediate in *Lysinibacillus sphaericus*. *Environ Sci Pollut Res* [Online]. 2018 [Cited 27 April 2020]; 25, 22790–22796. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2364-9>.
21. Moreno Reséndez Alejandro, Carda Mendoza Verónica, Reyes Carrillo José Luis, Vásquez Arroyo Jesús, Cano Ríos Pedro. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Rev. colomb. biotecnol* [Internet]. 2018 June [Citado 27 Abril 2020] ; 20(1): 68-83. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>.
22. Wusirika Ramakrishna, Radheshyam Yadav, Kefeng Li, Plant growth promoting bacteria in agriculture: Two sides of a coin. *Applied Soil Ecology*. [Online]. 2019 [Cited 31 May 2020]; (138):10-18. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.02.019>.
23. Naureen Z, Ur Rehman N, Hussain H, Hussain J, Gilani SA, Al Housni SK, et al. Exploring the Potentials of *Lysinibacillus sphaericus* ZA9 for Plant Growth Promotion and Biocontrol Activities against Phytopathogenic Fungi. *Front. Microbiol* [Online]. 2017 [Cited 25 April 2020]; (8):1477. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5563071/pdf/fmicb-08-01477.pdf>.

24. Navarrete X, Ron L, Viteri P, Viera W. Parasitism of the root knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) chitwood in five wild Solanaceae spp. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín* [Online] 2018. [Cited 27 April 2020]; 71(1): 8367-8373. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v71n1/0304-2847-rfnam-71-01-08367.pdf>
25. F.Y. Daramola, J.O. Popoola, A.O. Eni and O. Sulaiman. Characterization of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.) Associated with *Abelmoschus esculentus*, *Celosia argentea* and *Corchorus olitorius*. *Asian Journal of Biological Sciences* [Online] 2015. [Cited 27 April 2020] ; 8: 42-50. Available from: <https://scialert.net/abstract/?doi=ajbs.2015.42.50>.
26. Muimba-Kankolongo, A. Food Crop Production by Smallholder Farmers in Southern Africa "Challenges and Opportunities for Improvement" Chapter 10, *Leguminous Crops*. Canada: Academic Press [Internet] 2018. Feb. [Cited 07 August 2020] pp 173 - 203. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128143834000104>
27. Ortiz Paz Rocío Alexandra, Guzmán Piedrahita Óscar Adrián, Leguizamón Caycedo Jairo. Manejo Integrado del nemátodo del nudo [*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood y *Meloidogyne mayaguensis* Rammh & Hirschmann] EN ALMÁ-CIGOS DE GUAYABO (*Psidium guajava* Linneo), VARIEDAD PALMIRA ICA-1. *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat. Univ. Caldas* [Online]. 2015 Dec [cited 2020 Aug 07] ; 19(2): 104-138. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-30682015000200007&lng=en.
28. Abdel-Salam, M.S., Ameen, H.H., Soliman, G.M. et al. Improving the nematicidal potential of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Lysinibacillus sphaericus* against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* using protoplast fusion technique. *Egypt J Biol Pest Control* [Online]. 2018 [cited 2020 Aug 09]. Available from: <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0034-3>
29. Calderón-Urrea A, Vanholme B, Vangestel S, et al. Early development of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *BMC Dev Biol* [Online] 2016 [Cited 07 August 2020]; 16:10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4848817/>
30. Araujo Karelen, Berradre María, Rivera Johandry, Cáceres Ana, Páez Gisela, Aiello Cateryna et al . Fusión intergénica de protoplastos de *Saccharomyces cerevisiae* y *Hanseniaspora guillermoidii*. *Rev. Soc. Ven. Microbiol* [Online]. 2016 Dic [citado 2020 Ago 25] ; 36(2): 51-57. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562016000200005&lng=es.
31. Echeverri Danilo, Romo Juliana, Giraldo Néstor, Atehortúa Lucía. Microalgae protoplasts isolation and fusion for biotechnology research. *Rev. colomb. biotecnol* [Online]. 2019 June [cited 2020 Aug 25] ; 21(1): 101-112. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752019000100101&lng=en. <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80248>.
32. Beni AA, Esmaili A. Biosorption, an efficient method for removing heavy metals from industrial effluents: A Review. *Rev. Elsevier* [Online]. 2019 [Cited 22 August 2020] 17 (2020) 100503. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100503>.
33. Rehan M, Alsohim A,S. Bioremediation of Heavy Metals. *Intechopen Environmental Chemistry and Recent Pollution Control Approaches* [Online]. 201. [Cited 22 August 2020]. Available from: <https://www.intechopen.com/books/environmental-chemistry-and-recent-pollution-control-approaches/bioremediation-of-heavy-metals>.
34. Esmaili A, Khoshnevisan N. Optimization of process parameters for removal of heavy metals by biomass of Cu and Co-doped alginate-coated chitosan nanoparticles. *Bioresour. Technol* [Online] 2016. [Cited 22 August 2020] 218 (2016), pp. 650-658. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852416309695>.

35. Usman Z. et al. Microbial Bioremediation of Heavy Metals: Emerging Trends and Recent Advances. Res. J. Biotech [Online]. 2020 [Cited 22 August 2020]. 15 (1). Available from: https://www.researchgate.net/profile/Sanjay_Panwar/publication/339643355_Microbial_Bioremediation_of_Heavy_Metals_Emerging_Trends_and_Recent_Advances/links/5e5e03eb299bf1bdb84cdb5d/Microbial-Bioremediation-of-Heavy-Metals-Emerging-Trends-and-Recent-Advances.pdf.
36. Ha, E., Basu, N., Bose-O'Reilly, S., Dórea, JG, McSorley, E., Sakamoto, M. y Chan, HM. Progreso actual en la comprensión del impacto del mercurio en la salud humana. Environmental Research [Internet]. 2017 [Cited 24 August 2020]. 152, 419–433. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.06.042>.
37. Dussan J, Rivas R, Vega JD. High Efficiency Mercury Sorption by Dead Biomass of *Lysinibacillus sphaericus*—New Insights into the Treatment of Contaminated Water. Rev. MDPI [Online]. 2019 [Cited 24 August 2020]; 12 (8), 1296. Available from: <https://www.mdpi.com/1996-1944/12/8/1296#citev>
38. Shaw, D. R., & Dussan, J. Transcriptional analysis and molecular dynamics simulations reveal the mechanism of toxic metals removal and efflux pumps in *Lysinibacillus sphaericus* OT4b.31. International Biodeterioration & Biodegradation [Online]. 2018 [Cited August 2020]; 127, 46–61. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0964830517308363?via%3Dihub>
39. Dussán J, Rivas R.E, Páez, C. Enhanced Gold Biosorption of *Lysinibacillus sphaericus* CBAM5 by Encapsulation of Bacteria in an Alginate Matrix. Rev. MDPI [Online] 2019. [Cited 25 August 2020]; 9 (8), 818. Available from: <https://doi.org/10.3390/met9080818>
40. Suhr, M., Raff, J., Pollmann, K. Au-Interaction of Slp1 Polymers and Monolayer from *Lysinibacillus sphaericus* JG-B53 - QCM-D, ICP-MS and AFM as Tools for Biomolecule-metal Studies. J. Vis. Exp [Online]. 2016 [Cited 24 August 2020]. (107), e53572. Available from: <https://www.jove.com/t/53572/au-interaction-slp1-polymers-monolayer-from-lysinibacillus-sphaericus>
41. Sharma M, Satyam N, Reddy KR. Investigation of various gram-positive bacteria for MICP in Narmada Sand, India. International Journal of Geotechnical Engineering [Online]. 2019. [Cited 27 April 2020]. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19386362.2019.1691322?needAccess=true>
42. Vashisht R, Attri S, Sharma D, Shukla A, Goel G. Monitoring biocalcification potential of *Lysinibacillus* sp. isolated from alluvial soils for improved compressive strength of concrete. Microbiological Research [Online]. 2018 [Cited 27 April 2020]; 207: 226-231. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501317310169>
43. Karanja D, Muthengia J, Mwirichia R, Karanja J, Mulwa O, Muriithi G. Influence of *Lysinibacillus sphaericus* on compressive strength and water sorptivity in microbial cement mortar. Heliyon [Online]. 2019 [Cited 27 April 2020]; (5):11. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844019365405>
44. Kanta K, Sathyan AK, Kumari C, Sarkar P, Davis R. Investigation of cement mortar incorporating *Bacillus sphaericus*. International Journal of Smart and Nano Materials. 2016 [Cited 27 April 2020]; (7):2, 91-105. Available from: <https://doi.org/10.1080/19475411.2016.1205157>
45. Mutitu, D. K., Wachira, J. M., Mwirichia, R., Thiong'o, J. K., Munyao, O. M., & Genson, M. Biocementation Influence on Flexural Strength and Chloride Ingress by *Lysinibacillus sphaericus* and *Bacillus megaterium* in Mortar Structures. Journal of Chemistry [Online]. 2020 [Cited 27 May 2020] 1–13. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jchem/2020/1472923/>

46. Ramirez C, Rojas R, Romero T. Partial Evaluation of Autochthonous Probiotic Potential of the Gut Microbiota of *Seriola lalandi*. Probiotics Antimicrob Proteins [Online]. 2020 [cited 29 August 2020]; 12 (2): 672-682. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12602-019-09550-9>
47. Valdovinos LR, Abreu AT, Valdovinos MA. Probiotic use in clinical practice: Results of a national survey of gastroenterologists and nutritionists. Elsevier [Online]. 2019 [Cited 30 July 2020]; 84(7): 303-309. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2255534X18301415>
48. Eamonn M. Quigley M. Prebiotics and probiotics in Digestive Health. Rev. Clinical Gastroenterology and hepatology [Online]. 2019. [Cited 22 August 2020]; 17 (2): 333- 344. Available from: 10.1016 / j.c-gh.2018.09.028
49. Seelam NS, Katike U, Kotha P, Akula H, Reddy VS. Hypolipidemic effects of *Lysinibacillus sphaericus* fermented tomato and carrot juices in high-fat diet-fed albino Wistar rats. Journal of Applied Biology & Biotechnology [Online]. 2018 [Cited 30 July 2020]; 6(06): 64-70. Available from:http://www.jabonline.in/admin/php/uploads/335_pdf.pdf
50. Seelam NS, Akula H, Katike U, Reddy VS. Production, characterization and optimization of fermented tomato and carrot juices by using *Lysinibacillus sphaericus* isolate. Journal of Applied Biology & Biotechnology [Online]. 2017 [Cited 30 July 2020]; 5 (04): 066-075. Available from:https://jabonline.in/admin/php/uploads/228_pdf.pdf
51. Ganguly A, Banerjee A, Mandal A, Das PK. Study of bile salt hydrolase in *lysinibacillus sphaericus*: a potent fish probiotic and its in silico structure prediction for catalytic interaction. Romanian archives of microbiology and immunology [Online]. 2019 [Cited 30 July 2020]; 78(2): 81-90. Available from: <https://search.proquest.com/openview/d8ecb38f-34ceaa68a39e87e66956ab00/1?pq-origsite=gscholar&cbl=4585458>
52. Ganguly, A., Banerjee, A., Mandal, A. et al. Isolation and Characterization of Bacteria from the Intestine of *Clarias batrachus* for Probiotic Organism. Proc Zool Soc 72, [Online]. 2018 [Cited 30 July 2020]; (72) 411–419. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12595-018-0283-x>
53. Seogwon Lee, Ju Yeong Kim, Myung-hee Yi, In-Yong Lee, Robert Fyumagwa, Tai-Soon Yong, Comparative microbiomes of ticks collected from a black rhino and its surrounding environment, International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife [Online]. 2019 [Cited 30 July 2020]; Volume 9, 239-243. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213224419300458>
54. Hleba, L., Petrová, J., Čuboň, J., Kačániová, M. Antibiotic Resistance of Microbial Contaminations Isolated from Husbandry Animals and Foodstuffs. Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies [Online]. 2014 [Cited 30 July 2020]; 47 (1). Available from: <http://www.spasb.ro/index.php/spasb/article/view/1739>
55. Fontaine, J. ; Bernard, P. Implication de *Lysinibacillus sphaericus* dans les troubles locomoteurs du canard pret-a-gaver. Póster presentado por: 12e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras (JRA-JRPF 2017), 5 & 6 avril 2017, Tours, France 2017 pp.776-778 ref.2
56. Shanks, J. L., Haigh, A. M., Riegler, M., & Spooner-Hart, R. N. First confirmed report of a bacterial brood disease in stingless bees. Journal of Invertebrate Pathology [Online]. 2017 [Cited 30 July 2020]; 144, 7–10. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022201116301896>.
57. Hassanpour, S. H., & Dehghani, M. Review of cancer from perspective of molecular. Journal of Cancer Research and Practice [Online] 2017 [Cited 31 July 2020]; 4(4), 127–129. Available from: <http://doi.org/10.1016/j.jcrpr.2017.07.001>.

58. Gómez Romero, S., Hernández Rodríguez, C., & Corrales Ramírez, L. *Bacillus sphaericus*: biocontrolador de vectores que producen malaria, fiebre amarilla y dengue. NOVA [Internet]. 2009 [Cited 27 August 2020]; 7(12). Disponible en: <https://doi.org/10.22490/24629448.433>.
59. Chankamngoen, W., Janvilisri, T., Promdonkoy, B. et al. In vitro analysis of the anticancer activity of *Lysinibacillus sphaericus* binary toxin in human cancer cell lines. 3 Biotech [Online]. 2020 [cited 29 August 2020]; 10, 365 Available from: <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02361-8>.
60. Nascimento, N. A., Torres-Quintero, M. C., Molina, S. L. et al. Functional *Bacillus thuringiensis* Cyt1Aa is necessary to synergize *Lysinibacillus sphaericus* Binary toxin against Bin-resistant and refractory mosquito species. American Society For Microbiology [Online]. 2020 [cited 31 August 2020] Available from: <https://doi.org/10.1128/AEM.02770-19>.
61. University of California, Los Angeles. Researchers determine the structure of a toxin that kills malaria-carrying mosquitoes. UCLA college [Online]. [cited 02 September 2020]. Available from: <https://www.college.ucla.edu/2017/02/21/ucla-researchers-determine-the-structure-of-a-toxin-that-kills-malaria-carrying-mosquitoes/>
62. Luo W, Liu C, Zhang R, He J, Han B. Anticancer activity of binary toxins from *Lysinibacillus sphaericus* IAB872 against human lung cancer cell line A549. Nat Prod Commun [Online]. 2014 [cited 03 September 2020]; 9(1):107-110. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X1400900131>.
63. Go, J., Lee, K.-M., Park, Y., & Yoon, S. S. Extended longevity and robust early-stage development of *Caenorhabditis elegans* by a soil microbe, *Lysinibacillus sphaericus*. Environmental Microbiology Reports [Online]. 2014 [cited 07 September 2020]; 6(6), 730–737. Available from: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1758-2229.12196>.
64. Sánchez Leal, L., Constanza Corrales, L., Lancheros Díaz, A., Castañeda Alvarez, E., Ariza Agón, Y et al. Bioensayo con el entomopatógeno *Bacillus sphaericus* como alternativa biológica para el control de insectos vectores de importancia en salud pública. [Proyecto de investigación]. Bogotá: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca; 2012.
65. Dussán Garzón, J., Lozano Ardila, L., Peña Montenegro, T., Bojacá Bautista, V. Mosquitos, minería y petróleo, *Lysinibacillus Sphaericus* - la versatilidad de un microorganismo en beneficio del ambiente y la salud pública. Repositorio de la Universidad de los Andes. [Online]. 2013 [cited 09 september 2020]. Available from: <http://hipotesis.uniandes.edu.co/hipotesis/images/stories/edesp2013pdf/Mosquitos%20mineria%20y%20petroleo.pdf>