

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

Vida de anaquel extendida de una comunidad bacteriana sintética promotora del crecimiento de plantas

Long-term shelf-life of a synthetic plant growth promoting bacterial community

Authors/Autores: Díaz-Rodríguez, A.M., Parra-Cota, F.I., Cira-Chávez, L.A., García-Ortega, L.F., Estrada-Alvarado, M.I., Santoyo, G., de los Santos-Villalobos, S.

ID: e2132

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

Received/Fecha de recepción: December 12th 2025

Accepted /Fecha de aceptación: January 10th 2026

Available online/Fecha de publicación: January 16th 2026

Please cite this article as/Como citar este artículo: Díaz-Rodríguez, A.M., Parra-Cota, F.I., Cira-Chávez, L.A., García-Ortega, L.F., Estrada-Alvarado, M.I., Santoyo, G., de los Santos-Villalobos, S. (2025). Long-term shelf-life of a synthetic plant growth promoting bacterial community. *Revista Bio Ciencias*, 13, e2132. <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Vida de anaquel extendida de una comunidad bacteriana sintética promotora del crecimiento de plantas

Long-term shelf-life of a synthetic plant growth promoting bacterial community

Vida de anaquel de una comunidad bacteriana sintética/

Shelf-life of a synthetic bacterial community

Díaz-Rodríguez, A.M.¹ (ID), Parra-Cota, F.I.² (ID), Cira-Chávez, L.A.¹ (ID), García-Ortega, L.F.³ (ID), Estrada-Alvarado, M.I.¹ (ID), Santoyo, G.⁴ (ID), de los Santos-Villalobos, S.¹ (ID)

¹ Instituto Tecnológico de Sonora, 85000, Ciudad Obregón, Sonora, México.

² Campo Experimental Norman E. Borlaug-INIFAP, 85000, Ciudad Obregón, Sonora, México.

³ Departamento de Ingeniería Genética, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, 36824, Irapuato, Guanajuato, México.

⁴ Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 58095 Morelia, Michoacán, México.

*Corresponding Author:

Sergio de los Santos-Villalobos. Laboratorio de Biotecnología del Recurso Microbiano. Instituto Tecnológico de Sonora. 5 de febrero, 818 sur, Cajeme. 85000, Ciudad Obregón, Sonora, México.

Teléfono: (644) 4100900 Ext. 2124. E-mail: sergio.delossantos@itson.edu.mx

RESUMEN

El desarrollo de formulaciones microbianas de estabilidad a largo plazo es esencial para avanzar en el uso de comunidades bacterianas sintéticas (*SynComs*) en biotecnología agrícola. En este estudio, se caracterizó la vida útil de una comunidad bacteriana sintética integrada por *Bacillus cabrialesii* subsp. *cabrialesii* TE3^T, *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 y *Priestia megaterium* TRQ8. La *SynCom* cofermentada alcanzó una densidad final de 1.60×10^9 CFU/mL con una esporulación eficiente (100 %). Los ensayos de estabilidad a corto plazo (30 días) revelaron que la trehalosa y la polivinilpirrolidona (PVP) mantuvieron la viabilidad de las esporas; sin embargo, ninguno de estos aditivos mejoró significativamente la estabilidad en comparación con la formulación sin aditivos. Por lo tanto, la evaluación del almacenamiento a largo plazo (12 meses, a 23.8 ± 1.7 °C) mostró una alta estabilidad de la *SynCom*, manteniendo una alta viabilidad de las esporas, 92 %. Este hallazgo se sustenta en los genomas de estas bacterias que revelaron mecanismos conservados de tolerancia al estrés oxidativo y osmótico, incluyendo enzimas antioxidantes, transportadores de solutos compatibles y la biosíntesis de PHB. Estas características intrínsecas de respuesta al estrés probablemente contribuyan a la vida útil extendida de la *SynCom* cofermentada. En general, esta *SynCom* representa una estrategia prometedora para el desarrollo de formulaciones microbianas líquidas con una larga estabilidad en condiciones ambientales.

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>**PALABRAS CLAVE:**Comunidad bacteriana sintética, *Bacillus*, *Priestia*, Cofermentación, Inoculantes microbianos**ABSTRACT**

The development of long-term stability microbial formulations is essential for advancing the use of synthetic bacterial communities (*SynComs*) in agricultural biotechnology. In this study, the shelf-life of a synthetic bacterial community composed of *Bacillus cabrialesii* subsp. *cabrialesii* TE3^T, *Bacillus paralicheniformis* TRQ65, and *Priestia megaterium* TRQ8 was evaluated. The cofermented *SynCom* reached a final density of 1.60×10^9 CFU/mL with efficient sporulation (100 %). Short-term (30 days) stability assays revealed that trehalose and polyvinylpyrrolidone (PVP) maintained spore viability; however, none of these additives significantly improved stability compared with the additive-free formulation. Thus, long-term (12 months at 23.8 ± 1.7 °C) evaluation showed high stability of the *SynCom*, which maintained high spore viability, 92 %. This finding can be supported since the genomes of these bacteria revealed conserved mechanisms for oxidative and osmotic stress tolerance, including antioxidant enzymes, compatible solute transporters, and PHB biosynthesis. These intrinsic stress-response traits likely contribute to the extended shelf-life of the cofermented *SynCom*. Overall, this *SynCom* represents a promising strategy for developing liquid microbial formulations with long stability under ambient conditions.

KEY WORDS:Synthetic bacterial community, *Bacillus*, *Priestia*, Cofermentation, Microbial inoculants**Introducción**

La producción agrícola mundial se encuentra amenazada por los efectos del cambio climático, el crecimiento poblacional, la incidencia de plagas y enfermedades, el alto costo de los fertilizantes, así como la degradación y pérdida de fertilidad del suelo (Díaz-Rodríguez *et al.*, 2021). Estudios previos se han centrado en la identificación y el análisis de microorganismos benéficos en diversos cultivos, ofreciendo una alternativa sostenible para su manejo agronómico. Por lo tanto, en la actualidad, se utiliza una amplia gama de cepas microbianas con propiedades promotoras del crecimiento vegetal como bioinoculantes para mejorar el rendimiento y el desarrollo de los cultivos. Recientemente, el mercado global de bioinoculantes alcanzó un valor de \$11,230 millones en 2025 y se espera que crezca a una tasa anual de alrededor del 10.5 % para 2030 (Mordor Intelligence Research & Advisory, 2025). En México, 248 bioinoculantes están registrados ante la COFEPRIS, lo que representa solo el 5 % del mercado nacional de agroquímicos (COFEPRIS, 2025). A pesar de este progreso, se deben abordar varios desafíos clave para aprovechar al máximo su potencial para mejorar la productividad de los cultivos, particularmente en términos de formulación y estabilidad. La efectividad de estos productos microbianos depende no solo de la selección de cepas benéficas con capacidades de promoción del crecimiento vegetal, sino también de su capacidad para mantenerse viables y metabólicamente activas durante el almacenamiento y en condiciones de campo (Herrmann & Lesueur, 2013).

En los últimos años, el uso de comunidades bacterianas sintéticas (*SynComs*) ha cobrado gran interés. Los *SynComs* son un pequeño número de bacterias diseñadas para imitar, a cierta escala, la función y la estructura observadas del microbioma en condiciones naturales (de Souza *et al.*, 2020). A diferencia de los consorcios naturales, que pueden ser muy diversos e impredecibles, los *SynComs* se construyen para maximizar la complementariedad funcional entre cepas, proporcionando efectos reproducibles y específicos sobre el crecimiento y la salud de las plantas

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

(Niu *et al.*, 2017; Vorholt *et al.*, 2017). Estas comunidades microbianas pueden combinar características como la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfato, la producción de fitohormonas y el antagonismo contra fitopatógenos, mejorando así la productividad de los cultivos y promoviendo la resiliencia de los agroecosistemas (Tariq *et al.*, 2025; Wang *et al.*, 2021).

Estudios recientes han demostrado el potencial de los *SynComs* para promover el crecimiento de las plantas y conferir tolerancia al estrés tanto en condiciones bióticas como abióticas. Por ejemplo, Schmitz *et al.* (2022) desarrollaron una *SynCom* compuesta por cinco cepas bacterianas aisladas de la leguminosa desértica *Indigofera argentea*, que mejoró significativamente el crecimiento del tomate y su tolerancia a la salinidad (Schmitz *et al.*, 2022). De igual manera, Liu *et al.* (2022) establecieron una *SynCom* asociado al trigo compuesta por ocho cepas bacterianas, incluyendo *Priestia megaterium*, *Bacillus pumilus* y *Acinetobacter pittii*, que incrementó la biomasa del trigo entre un 120 % y un 157 %, suprimió el hongo patógeno *Fusarium pseudograminearum* y reformó el microbioma del suelo hacia taxones beneficiosos (Liu *et al.*, 2022). Además, de Souza *et al.* (2020) destacaron que el diseño de *SynCom*, basado en la complementariedad funcional entre cepas, puede mejorar la adquisición de nutrientes por parte de las plantas, el equilibrio hormonal y la supresión de enfermedades (de Souza *et al.*, 2020).

Así, las cepas nativas en estudio en el presente trabajo: *Bacillus cabrialesii* subsp. *cabrialesii* TE3^T, *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 y *Priestia megaterium* TRQ8 se han caracterizado ampliamente por su potencial para promover el crecimiento vegetal. La cepa TE3^T se aisló de la endosfera de trigo (Valenzuela-Aragon *et al.*, 2019), mientras que las cepas TRQ65 y TRQ8 se aislaron de la rizosfera de trigo en un campo comercial bajo manejo de fertilización convencional en el Valle del Yaqui, México (Ibarra-Villarreal *et al.*, 2021). Estas cepas han mostrado su capacidad para estimular el crecimiento del trigo en condiciones de invernadero y campo (Robles-Montoya *et al.*, 2020; Rojas-Padilla *et al.*, 2020). Además, las cepas TRQ65 y TE3^T presentan actividad antagónica contra *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea* y otros hongos fitopatógenos (Valenzuela-Ruiz *et al.*, 2024; Villa-Rodríguez *et al.*, 2021). Sin embargo, hasta la fecha, su rendimiento se ha evaluado en sistemas de fermentación monocepa y su estabilidad a través del tiempo no ha sido explorada. En este contexto, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la cinética de crecimiento y la vida de anaquel de una *SynCom* cofermentada e integrada por *B. cabrialesii* subsp. *cabrialesii* TE3^T, *B. paralicheniformis* TRQ65 y *P. megaterium* TRQ8, con el fin de determinar su potencial para el desarrollo de formulaciones microbianas líquidas estables.

Material y Métodos

Cepas bacterianas y cofermentación

La comunidad bacteriana sintética (*SynCom*) evaluada en este estudio estuvo integrada por *Bacillus cabrialesii* subsp. *cabrialesii* TE3^T, *Priestia megaterium* TRQ8 y *Bacillus paralicheniformis* TRQ65, previamente reportadas como compatibles en cultivo conjunto (Rojas-Padilla *et al.*, 2020).

Previo a la cofermentación, se realizó un ensayo de compatibilidad en caja Petri utilizando agar nutritivo como medio de cultivo. Para ello, se prepararon suspensiones bacterianas individuales ajustadas a una concentración de 1×10^7 unidades formadoras de colonias (CFU)/mL. En cada placa se extendió homogéneamente 1 mL de la suspensión de cada una de las cepas, y posteriormente se inocularon 10 μ L de cada una de las tres bacterias en puntos equidistantes sobre la superficie del agar. Este procedimiento se repitió de manera alternada para cada cepa, con el fin de evaluar posibles efectos de inhibición cruzada. El ensayo se realizó por triplicado y las placas se incubaron a 30 °C, por 48 horas.

Así, la cofermentación de esta *SynCom* inició con el crecimiento individual de cada cepa en un medio sintético mínimo compuesto por: glucosa 20 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 8 g/L, K_2HPO_4 23.44 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.8 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.088 g/L, CaCl_2 0.126 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.06 g/L y $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 10.08 g/L, durante 18 h a 37 °C con agitación a 180 rpm. Posteriormente, se preparó el inóculo del

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

consorcio sintético ajustando cada cultivo a una concentración de 1×10^6 CFU/mL. El inóculo combinado (correspondiente al 10 % del volumen total) se inoculó directamente en un biorreactor de 5 L (volumen de trabajo 4 L) que contenía el mismo medio sintético mínimo previamente descrito.

La cofermentación de la *SynCom* se llevó a cabo bajo condiciones controladas: 37 °C, pH 7.0 (regulado automáticamente), agitación a 400 rpm y aireación a 0.75 vvm. La formación de espuma se controló mediante la adición de antiespumante de silicón (30 % p/v). Durante las 45 h de fermentación, el cultivo se monitoreó cada hora registrando la densidad óptica a 630 nm; la glucosa residual se cuantificó mediante el método DNS (Miller, 1959). Las concentraciones de CFU/mL y esporas/mL se determinaron mediante diluciones seriadas y tratamiento térmico (80 °C durante 10 min).

Evaluación de aditivos osmoprotectores en la estabilidad del consorcio

Para evaluar el efecto de distintos compuestos estabilizantes sobre la viabilidad de esporas, se probaron tres aditivos en diferentes concentraciones: glicerol (0.5 %, 1 % y 2 %), polivinilpirrolidona (PVP; 5 %, 10 % y 15 %) y trehalosa (5 mM, 10 mM y 15 mM). Cada tratamiento se evaluó en tres réplicas independientes. Alícuotas de la cofermentación bioformulada con cada uno de estos aditivos se dispusieron en tubos Falcon estériles de 15 mL, los cuales se utilizaron como unidades experimentales para la evaluación inicial de estabilidad. Los tubos se mantuvieron a 23.8 ± 1.6 °C, bajo 12 h luz/12 h oscuridad y 36 % de humedad relativa durante 30 días. Posteriormente, la viabilidad de esporas se determinó mediante la técnica de diluciones seriadas en placa con agar nutritivo.

La bioformulación que mostró la mayor supervivencia de esporas se seleccionó para un estudio de vida de anaquel a largo plazo durante 12 meses. Para este ensayo, la formulación se envasó en frascos de polipropileno (PP) con una capacidad de 130 mL previamente estériles. Los frascos se almacenaron bajo las mismas condiciones de temperatura, fotoperiodo y humedad relativa.

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con STATGRAPHICS Plus versión 5.1. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (HSD) ($p < 0.05$).

Resultados y Discusión

La compatibilidad entre las cepas del *SynCom* se confirmó mediante el ensayo en caja Petri donde no se observó halos de inhibición en ninguna de las combinaciones evaluadas, lo que confirma la compatibilidad entre las cepas y respalda su uso conjunto en procesos de cofermentación. La cofermentación del *SynCom* en un biorreactor de 5 L alcanzó una densidad celular de $1.60 \pm 0.05 \times 10^9$ CFU mL⁻¹, con una tasa específica de crecimiento de 0.42 ± 0.04 h⁻¹ y un tiempo de duplicación de 1.65 ± 0.17 h⁻¹ (Tabla 1). Además, en la cofermentación, la abundancia relativa de las cepas fue de 62.5 % para *B. cabrialesii* subsp. *cabrialesii* TE3^T (1.00×10^9 CFU mL⁻¹), 26.3 % para *B. paralicheniformis* TRQ65 (4.21×10^8 CFU mL⁻¹) y 11.2 % para *P. megaterium* TRQ8 (1.79×10^8 CFU mL⁻¹). Las diferencias observadas en la proporción relativa de cada cepa durante la cofermentación pueden atribuirse a parámetros cinéticos intrínsecos de cada bacteria, como afinidades variables por el sustrato, tasas de crecimiento distintas o diferentes eficiencias en la utilización de nutrientes (Zheng *et al.*, 2022).

El coeficiente de rendimiento de glucosa fue de $3.70 \pm 0.18 \times 10^{11}$ CFU g⁻¹ glucosa, reflejando una conversión eficiente del sustrato en biomasa bajo condiciones aeróbicas. Esta tasa se encuentra dentro del rango esperado para fermentaciones de comunidades sintéticas de *Bacillus* y taxones

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

relacionados, donde ocurren compensaciones metabólicas que equilibran el crecimiento y la esporulación eficiente (Martínez-Álvarez *et al.*, 2016).

La *SynCom* cofermentada exhibió una esporulación del 100 %, alcanzando una densidad máxima de esporas de $1.60 \pm 0.01 \times 10^9$ CFU mL⁻¹ esporas mL⁻¹ con una tasa específica de esporulación de 0.52 ± 0.04 h⁻¹ (Tabla 1). Este desempeño elevado es consistente con el comportamiento de comunidades bacterianas formadoras de esporas cultivadas en medios minerales optimizados, suplementados con iones de calcio y fosfato esenciales para el desarrollo de la corteza esporal (Monteiro *et al.*, 2014). Así, la alta esporulación de la *SynCom* cofermentada resalta su potencial como bioinoculante compatible (Berninger *et al.*, 2018).

Tabla 1. Parámetros de fermentación y coeficientes cinéticos de la comunidad sintética (*SynCom*) cofermentada en un biorreactor de 5 L.

	X_{\max} (CFU mL ⁻¹)	μ_{cel} (h ⁻¹)	Td (h)	$Y_{x/\text{glucosa}}$ (CFU g ⁻¹ glucose)	X_{\max} (spore mL ⁻¹)	μ_{esp} (h ⁻¹)	% esp
<i>SynCom</i> Cofermentada	$1.60 \pm 0.05 \times 10^9$ ^a	0.42 ± 0.04 ^a	1.65 ± 0.17 ^c	$3.70 \pm 0.18 \times 10^{11}$ ^a	$1.60 \pm 0.01 \times 10^9$ ^a	0.52 ± 0.04 ^c	100 %

Los valores representan la media \pm desviación estándar. Letras superíndices diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Abreviaturas: X_{\max} , densidad celular máxima; μ_{cel} , tasa específica de crecimiento; Td, tiempo de duplicación; $Y_{x/\text{glucosa}}$, coeficiente de rendimiento de biomasa; X_{\max} esp, densidad máxima de esporas; μ_{esp} , tasa específica de esporulación; % esp, porcentaje de esporulación. Fuente: Elaboración propia

El consumo de glucosa durante las primeras 18–20 h, seguido del inicio de la esporulación, refleja un patrón de fermentación bifásico típico de *Bacillus* y especies relacionadas, donde la limitación de nutrientes y las señales de quorum sensing activan la cascada de esporulación (Mathot *et al.*, 2016; Piggot & Hilbert, 2004). El agotamiento de la fuente de carbono marcó la transición del crecimiento exponencial a la fase estacionaria, seguido inmediatamente por un incremento pronunciado en el conteo de esporas (Figura 1). Este comportamiento coincide con las observaciones de Liang *et al.* (2024) en cultivos discontinuos, donde la esporulación comenzó tras el consumo total de glucosa. De manera complementaria, Cristiano-Fajardo *et al.* (2019), en cultivos continuos, demostraron que una alta incidencia de esporulación (>40 %) solo se alcanzaba bajo condiciones limitantes de glucosa, mientras que a mayores tasas de dilución con exceso de este sustrato la esporulación se reprimía.

Se evaluaron diversos compuestos estabilizantes para mejorar la vida de anaquel de la *SynCom* cofermentada durante 30 días de almacenamiento a 23.8 °C. El glicerol, comúnmente utilizado como vehículo en formulaciones líquidas (Aninth *et al.*, 2016), resultó marcadamente perjudicial para la viabilidad de las esporas en todas las concentraciones evaluadas (0.5 % a 2 %), generando recuentos significativamente menores que los tratamientos control sin aditivos (Tabla 2). En contraste, tanto la polivinilpirrolidona (PVP) como la trehalosa preservaron la viabilidad de las esporas, mostrando recuentos que no difirieron significativamente de los del tratamiento control. En diversos estudios se ha demostrado la eficacia de estos dos aditivos para estabilizar células, al reducir la actividad de agua y proteger macromoléculas y membranas frente al estrés oxidativo u osmótico (Conceição *et al.*, 2025; Trivedi *et al.*, 2016). Sin embargo, a pesar de los efectos protectores de PVP y trehalosa, no se detectó una mejora estadísticamente significativa respecto a la formulación control.

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

Este hallazgo coincide con los resultados reportados por Gotor-Vila *et al.* (2017), quienes observaron que las formulaciones líquidas de *Bacillus subtilis* CPA-8 permanecieron estables hasta por cuatro meses a temperatura ambiente, independientemente de la adición de protectores como sacarosa, leche descremada o sulfato de magnesio. Sus resultados mostraron que todos los tratamientos mantuvieron alta viabilidad ($1.93\text{--}2.98 \times 10^9$ CFU/mL), y que la formulación sin protectores funcionó igual de bien. De manera similar, nuestra *SynCom* cofermentada mostró una alta viabilidad de esporas, manteniendo la abundancia relativa de las células (61.7 % *B. cabrialesii* subsp. *cabrialesii* TE3^T, 26.5 % para *B. paralicheniformis* TRQ65 y 11.8 % para *P. megaterium* TRQ8), incluso en ausencia de aditivos, lo que sugiere que los rasgos fisiológicos o metabólicos intrínsecos de las cepas estudiadas confieren una resistencia natural al estrés durante el almacenamiento. Por lo tanto, se estudió la vida de anaquel a largo plazo de dicha *SynCom* cofermentada sin aditivos.

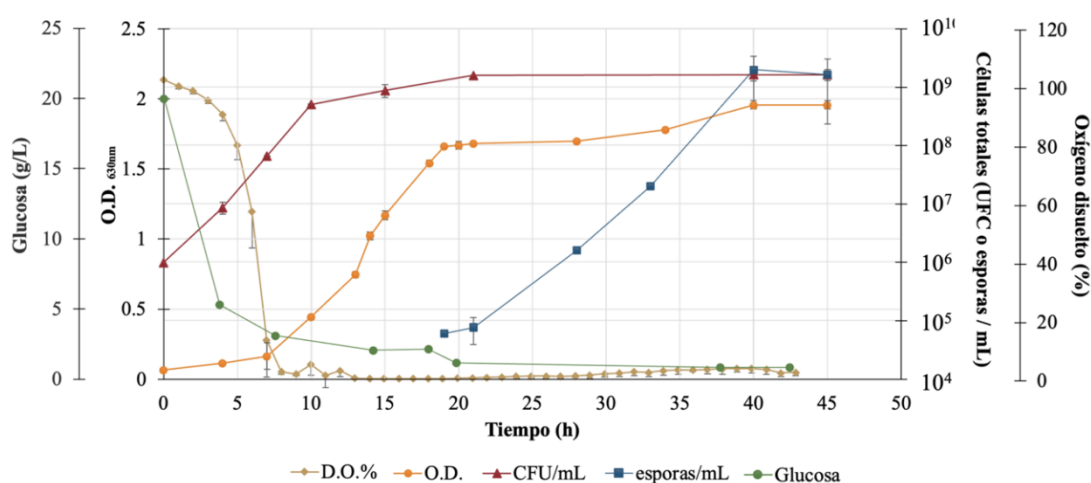


Figura 1. Cinética de la cofermentación del *SynCom* estudiado. El crecimiento, medido por densidad óptica a 630 nm (O.D._{630nm} círculos naranjas); la concentración residual de glucosa a lo largo del tiempo (círculos verdes); el oxígeno disuelto (%; diamantes amarillos); el recuento de células viables (CFU/mL, triángulos rojos) y el recuento de esporas (esporas/mL, cuadros azules) durante todo el proceso de cofermentación. Los puntos representan el valor promedio de las mediciones y las barras de error indican la desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2. Viabilidad de la *SynCom* cofermentada con diferentes aditivos almacenado durante un mes a 23.8 °C.

Tratamiento	Log (espora/mL)	
	Day 0	Day 30
Sin aditivos	6.1 ^a	6.1 ^{ab}
Glicerol 0.5%		5.6 ^c
Glicerol 1%		5.5 ^c
Glicerol 2%		5.1 ^d
PVP 0.5%		6.2 ^a
PVP 1%		6.1 ^{ab}
PVP 2%		6.2 ^a
PVP 2%		6.0 ^b

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

Trehalosa 5mM		6.1 ^{ab}
Trehalosa 10mM		6.2 ^a
Trehalosa 15mM		6.2 ^a

Los datos se presentan como la media ($n = 3$). Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba HSD de Tukey ($p < 0.05$). Fuente: Elaboración propia.

Después de un nuevo ensayo de almacenamiento por 12 meses a 23.8 ± 1.7 °C, la *SynCom* cofermentada estudiada mostró un alto nivel de viabilidad de esporas (92 %), con respecto al conteo inicial, es decir, de 9.2 log esporas/mL a 8.46 log esporas/mL, y manteniendo la abundancia relativa de las cepas que la conforman (60.5 % *B. cabrialesii* subsp. *cabrialesii* TE3^T, 26.7 % para *B. paralicheniformis* TRQ65 y 12.8 % para *P. megaterium* TRQ8). En contraste, una formulación a base de talco de *Bacillus cereus* B25 conservó un 53 % de viabilidad después de 12 meses a temperatura ambiente (Martínez-Álvarez *et al.*, 2016). Resultados comparables fueron reportados por Rojas-Padilla *et al.* (2022), quienes desarrollaron formulaciones microencapsuladas en alginato de calcio de las bacterias individuales estudiadas en este trabajo, donde, después de 12 meses de almacenamiento, todas las cepas mostraron aproximadamente una reducción del 45 % en los conteos viables. Una posible explicación para la alta viabilidad celular a largo plazo en la *SynCom* cofermentada estudiada es la acumulación de solutos compatibles o proteínas de respuesta al estrés durante la fase estacionaria (Berninger *et al.*, 2018). Además, el genoma de las cepas que conforman la *SynCom* sugieren una gran versatilidad debido a que fueron aisladas del Valle del Yaqui, una región agrícola semiárida caracterizada por altas temperaturas, salinidad y déficit hídrico (Ibarra-Villarreal *et al.*, 2023; Luers *et al.*, 2003), lo cual podría conferir mecanismos adaptativos de respuesta al estrés.

En este sentido, el análisis genómico reveló un repertorio genético robusto para mitigar el estrés oxidativo y osmótico en las tres cepas estudiadas (Robles-Montoya *et al.*, 2019; Valenzuela Ruiz *et al.*, 2023; Valenzuela-Ruiz *et al.*, 2019). Para la defensa contra el estrés oxidativo, todas las cepas codifican varias catalasas (por ejemplo, *KatE*, *HPI*, *HPII*), superóxido dismutasas (*SodA*, *SodB*, *SodC*) y peroxidasas (*AhpC*, *PR*, *GPX*), así como sistemas de tiorredoxina y glutaredoxina que mantienen el equilibrio redox. Reguladores transcripcionales como *PerR*, *OxyR*, *SoxR* y *Rex*, identificados en las cepas TRQ8 y TRQ65, permiten la expresión de genes antioxidantes (Seixas *et al.*, 2022). Además, la cepa TRQ8 produce polihidroxibutirato (PHB), un biopolímero que funciona como reserva intracelular de carbono y energía (Aguirre *et al.*, 2017). La acumulación de PHB se ha asociado con una mayor resistencia al estrés oxidativo, la desecación y la limitación de nutrientes (Rowaihi *et al.*, 2018).

En cuanto a la adaptación al estrés osmótico, los tres genomas comparten operones conservados para el transporte y síntesis de glicina-betaína y prolina, incluidos *OpuAA-AC*, *OpuC* y *ProVWX*; así como genes para la captación y conversión de colina (*BetT*, *BetA*, *BetB*, *CodA*), lo que favorece la acumulación endógena de solutos compatibles que protegen proteínas y membranas contra la deshidratación (Rath *et al.*, 2020).

Conclusiones

La *SynCom* cofermentada en este estudio mostró un alto rendimiento celular ($1.60 \pm 0.05 \times 10^9$ CFU/mL) y alta eficiencia de esporulación (100 %), así como una estabilidad de 92 % después de su almacenamiento sin aditivos protectores, durante 12 meses a 23.8 °C, sin alterar la abundancia relativa de las bacterias que la integran. Estos hallazgos sugieren que la interacción de las bacterias que integran la *SynCom* en estudio favoreció el metabolismo para potenciar la esporulación y la resiliencia, a través de su robusto repertorio genético para mitigar estrés oxidativo y osmótico. En conjunto, estos resultados apoyan el potencial de esta *SynCom*, con capacidad de promoción del crecimiento de las plantas, como base para la bioformulación de un bioinoculante líquido estable y adecuado para aplicaciones agrícolas.

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

Contribución de los autores

Conceptualización, S.d.I.S.-V.; metodología y análisis formal, todos los autores; investigación, redacción del borrador original y visualización, A.M.D.R. y S.d.I.S.-V.; redacción, revisión y edición, todos los autores; supervisión, administración del proyecto y obtención de financiamiento, S.d.I.S.-V. Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) mediante el proyecto CBF-2025-G-562, por PROFAPI ITSON (proyecto 2026-001), y A.M.D.R. recibió apoyo de la beca SECIHTI número 908966.

Agradecimientos

Los autores agradecen a todos los miembros del LBRM-COLMENA por su apoyo en el desarrollo de este proyecto de investigación.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Aguirre, J. B. R., Gómez, L. Z. O., Villalobos, S. D. L. S., & Sánchez, M. L. (2017). Production of polyhydroxybutyrate from milk whey fermentation by *Bacillus megaterium* TRQ8. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 13(1), 24–31. <https://revista.itson.edu.mx/index.php/rlm/article/view/261/194>
- Aninth, K. N., Vyshakhi, A., Shilpa, V., & Aswini, S. (2016). Population dynamics and efficiency of coconut water based liquid formulation of *Pseudomonas fluorescens* AMB-8. *Journal of Tropical Agriculture*, 54(2), 184–189.
- Berninger, T., González López, Ó., Bejarano, A., Preininger, C., & Sessitsch, A. (2018). Maintenance and assessment of cell viability in formulation of non-sporulating bacterial inoculants. *Microbial Biotechnology*, 11(2), 277–301. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12880>
- COFEPRIS. (2025, Octubre 25). *Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR*. <https://siipris03.cofepris.gob.mx/resoluciones/consultas/conwebregplaguicida.asp>
- Conceição, F. R. S. da, Bessa, L. A., Teixeira, M. B., Cruvinel, B. G., & Vitorino, L. C. (2025). An Evaluation of Inoculant Additives on Cell Viability and Their Effects on the Growth and Physiology of *Glycine max* L. *Agronomy*, 15(7), 1668. <https://doi.org/10.3390/agronomy15071668>
- Cristiano-Fajardo, S. A., Flores, C., Flores, N., Tinoco-Valencia, R., Serrano-Carreón, L., & Galindo, E. (2019). Glucose limitation and glucose uptake rate determines metabolite production and sporulation in high cell density continuous cultures of *Bacillus amyloliquefaciens* 83. *Journal of Biotechnology*, 299, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.04.027>
- de Souza, R. S. C., Armanhi, J. S. L., & Arruda, P. (2020). From Microbiome to Traits: Designing Synthetic Microbial Communities for Improved Crop Resiliency. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1179. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01179>
- Díaz-Rodríguez, A. M., Salcedo Gastelum, L. A., Félix Pablos, C. M., Parra-Cota, F. I., Santoyo, G., Puente, M. L., Bhattacharya, D., Mukherjee, J., & de los Santos-Villalobos, S. (2021). The Current and Future Role of Microbial Culture Collections in Food Security Worldwide. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 614739. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.614739>
- Gotor-Vila, A., Usall, J., Torres, R., Abadías, M., & Teixidó, N. (2017). Formulation of the biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 using different approaches: liquid, freeze-drying and fluid-bed spray-drying. *BioControl*, 62(4), 545–555. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9802-3>
- Herrmann, L., & Lesueur, D. (2013). Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(20), 8859–8873. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5228-8>
- Ibarra-Villarreal, A. L., Gándara-Ledezma, A., Godoy-Flores, A., Díaz-Rodríguez, A. M., Parra-Cota, F. I., & de los Santos-Villalobos, S. (2021). Salt-tolerant *Bacillus* species as a promising strategy to mitigate the salinity stress in wheat

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

- (*Triticum turgidum* subsp. *durum*). *Journal of Arid Environments*, 186, 104399. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104399>
- Ibarra-Villarreal, A. L., Rojas-Padilla, J., Chaparro-Encinas, L. A., Díaz-Rodríguez, A. M., Valenzuela-Ruiz, V., Herrera-Sepúlveda, A., Parra-Cota, F. I., & de los Santos-Villalobos, S. (2023). Soil salinity shifts cultivable microbial communities of wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) rhizosphere in the Yaqui Valley, Mexico. *Agrociencia*, 57(5), 882–919. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i5.2882>
- Liang, J., Yang, F., Ding, Y., Zhang, X., Feng, D., & Ye, S. (2024). Batch fermentation kinetics study of biosynthesis lipopeptides by *Bacillus altitudinis* Q7 in 5L fermenter. *Process Biochemistry*, 140, 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.02.007>
- Liu, H., Qiu, Z., Ye, J., Verma, J. P., Li, J., & Singh, B. K. (2022). Effective colonisation by a bacterial synthetic community promotes plant growth and alters soil microbial community. *Journal of Sustainable Agriculture and Environment*, 1(1), 30–42. <https://doi.org/10.1002/sae2.12008>
- Luers, A. L., Lobell, D. B., Sklar, L. S., Addams, C. L., & Matson, P. A. (2003). A method for quantifying vulnerability, applied to the agricultural system of the Yaqui Valley, Mexico. *Global Environmental Change*, 13(4), 255–267. [https://doi.org/10.1016/S0959-3780\(03\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S0959-3780(03)00054-2)
- Martínez-Álvarez, J. C., Castro-Martínez, C., Sánchez-Peña, P., Gutiérrez-Dorado, R., & Maldonado-Mendoza, I. E. (2016). Development of a powder formulation based on *Bacillus cereus* sensu lato strain B25 spores for biological control of *Fusarium verticillioides* in maize plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(5), 75. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-2000-5>
- Mathot, A.-G., Leguérinel, I., Couvert, O., Postollec, F., Broussolle, V., & Coroller, L. (2016). Knowledge of the physiology of spore-forming bacteria can explain the origin of spores in the food environment. *Research in Microbiology*, 168(4), 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2016.10.006>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 426–428.
- Monteiro, S. M. S., Clemente, J. J., Carrondo, M. J. T., & Cunha, A. E. (2014). Enhanced Spore Production of *Bacillus subtilis* Grown in a Chemically Defined Medium. *Advances in Microbiology*, 4(8), 444–454. <https://doi.org/10.4236/aim.2014.48049>
- Mordor Intelligence Research & Advisory. (2025). *Agricultural Inoculants Market Size & Share Analysis—Growth Trends & Forecasts (2025–2030)*. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/agricultural-inoculants-market>
- Niu, B., Paulson, J. N., Zheng, X., & Kolter, R. (2017). Simplified and representative bacterial community of maize roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(12), E2450–E2459. <https://doi.org/10.1073/pnas.1616148114>
- Pacheco, A. R., Moel, M., & Segrè, D. (2019). Costless metabolic secretions as drivers of interspecies interactions in microbial ecosystems. *Nature Communications*, 10(103). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07946-9>
- Piggot, P. J., & Hilbert, D. W. (2004). Sporulation of *Bacillus subtilis*. *Current Opinion in Microbiology*, 7(6), 579–586. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.10.001>
- Rath, H., Sappa, P. K., Hoffmann, T., Gesell Salazar, M., Reder, A., Steil, L., Hecker, M., Bremer, E., Mäder, U., & Völker, U. (2020). Impact of high salinity and the compatible solute glycine betaine on gene expression of *Bacillus subtilis*. *Environmental Microbiology*, 22(8), 3266–3286. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15087>
- Robles-Montoya, R. I., Chaparro-Encinas, L. A., Parra-Cota, F. I., & de los Santos-Villalobos, S. (2020). Improving biometric traits of wheat seedlings with the inoculation of a consortium native of *Bacillus*. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas*, 11(1), 229–235. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i1.2162>
- Robles-Montoya, R. I., Parra-Cota, F. I., & de los Santos-Villalobos, S. (2019). Draft genome sequence of *Bacillus megaterium* TRQ8, a plant growth-promoting bacterium isolated from wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) rhizosphere in the Yaqui Valley, Mexico. *3 Biotech*, 9(5), 1–5. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1726-4>
- Rojas-Padilla, J., Chaparro-Encinas, L. A., Robles-Montoya, R. I., & de los Santos-Villalobos, S. (2020). Promoción de crecimiento en trigo (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*) por la co-inoculación de cepas nativas de *Bacillus* aisladas del Valle del Yaqui, México. *Nova Scientia*, 12(24), 1–27.
- Rojas-Padilla, J., de-Bashan, L. E., Parra-Cota, F. I., Rocha-Estrada, J., & de los Santos-Villalobos, S. (2022). Microencapsulation of *Bacillus* Strains for Improving Wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) Growth and Development. *Plants*, 11(21), 2920. <https://doi.org/10.3390/plants11212920>
- Rowaihi, I. S. Al, Paillier, A., Rasul, S., Karan, R., Grötzinger, S. W., Takanabe, K., & Eppinger, J. (2018). Poly(3-hydroxybutyrate) production in an integrated electromicrobial setup: Investigation under stress-inducing conditions. *PLoS ONE*, 13(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196079>
- Schmitz, L., Yan, Z., Schneiderberg, M., de Roij, M., Pijnenburg, R., Zheng, Q., Franken, C., Dechesne, A., Trindade, L. M., van Velzen, R., Bisseling, T., Geurts, R., & Cheng, X. (2022). Synthetic bacterial community derived from a desert rhizosphere confers salt stress resilience to tomato in the presence of a soil microbiome. *ISME Journal*, 16(8), 1907–1920. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01238-3>
- Seixas, A. F., Quendera, A. P., Sousa, J. P., Silva, A. F. Q., Arraiano, C. M., & Andrade, J. M. (2022). Bacterial Response to Oxidative Stress and RNA Oxidation. *Frontiers in Genetics*, 12. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.821535>
- Tariq, A., Guo, S., Farhat, F., & Shen, X. (2025). Engineering Synthetic Microbial Communities: Diversity and Applications in Soil for Plant Resilience. *Agronomy*, 15(3), 513. <https://doi.org/10.3390/agronomy15030513>

<https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2132>

- Trivedi, M., Shanware, A., & Kalkar, S. (2016). Development of Liquid Formulation of native *Rhizobium* sp. for effective plant nourishment. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, 2(9). <https://www.researchgate.net/publication/309855468>
- Valenzuela Ruiz, V., Santoyo, G., Gómez Godínez, L. J., Cira Chávez, L. A., Parra Cota, F. I., & de los Santos Villalobos, S. (2023). Complete genome sequencing of *Bacillus cabrialesii* TE3^T: A plant growth-promoting and biological control agent isolated from wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) in the Yaqui Valley. *Current Research in Microbial Sciences*, 23(4), 100193. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2023.100193>
- Valenzuela-Aragon, B., Parra-Cota, F. I., Santoyo, G., Arellano-Wattenbarger, G. L., & de los Santos-Villalobos, S. (2019). Plant-assisted selection: a promising alternative for *in vivo* identification of wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*) growth promoting bacteria. *Plant and Soil*, 435(1–2), 367–384. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-03901-1>
- Valenzuela-Ruiz, V., Parra-Cota, F. I., Estrada-Alvarado, M. I., Cira-Chávez, L. A., Castro-Longoria, E., & de los Santos-Villalobos, S. (2024). Potenciales mecanismos de control biológico de *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 48. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2024-18>
- Valenzuela-Ruiz, V., Robles-Montoya, R. I., Parra-Cota, F. I., Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M., Rodríguez-Ramírez, R., & de los Santos-Villalobos, S. (2019). Draft genome sequence of *Bacillus paralicheniformis* TRQ65, a biological control agent and plant growth-promoting bacterium isolated from wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) rhizosphere in the Yaqui Valley, Mexico. *3 Biotech*, 9(11), 436. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1972-5>
- Villa-Rodríguez, E., Moreno-Ulloa, A., Castro-Longoria, E., Parra-Cota, F. I., & de los Santos-Villalobos, S. (2021). Integrated omics approaches for deciphering antifungal metabolites produced by a novel *Bacillus* species, *B. cabrialesii* TE3^T, against the spot blotch disease of wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*). *Microbiological Research*, 251, 126826. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126826>
- Vorholt, J. A., Vogel, C., Carlström, C. I., & Müller, D. B. (2017). Establishing Causality: Opportunities of Synthetic Communities for Plant Microbiome Research. *Cell Host and Microbe*, 22(2), 142–155. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.07.004>
- Wang, J., Liu, L., Gao, X., Hao, J., & Wang, M. (2021). Elucidating the effect of biofertilizers on bacterial diversity in maize rhizosphere soil. *PLoS ONE*, 16(4), e0249834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249834>
- Zheng, Y., Zhao, C., Li, X., Xia, M., Wang, X., Zhang, Q., Yan, Y., Lang, F., Song J. & Wang, M. (2022). Kinetics of predominant microorganisms in the multi-microorganism solid-state fermentation of cereal vinegar. *Lwt*, 159, 113209.