



ANÁLISIS DE LA PRODUCCIÓN DE LIPOPEPTIDOS DE *B. subtilis* Y *B. tequilensis* EN MEDIO LIQUIDO CON Y SIN HIERRO.

Esteban Beltrán-Gracia, Gloria Macedo-Raygoza, Juan Villafaña Rojas, Miguel J. Beltrán-García. Universidad Autónoma de Guadalajara Departamento de Química, Zapopan CP: 44120,

Palabras clave: *Bacillus*, MALDI-TOF, Lipopéptidos

Introducción. Una alternativa para manejar apropiadamente las enfermedades y disminuir el impacto de resistencia a compuestos antibacterianos y antifúngicos es el uso de microorganismos antagonistas(1). Entre estas aquellas bacterias que pertenecen al género *Bacillus*. Los miembros de este género son a menudo considerados fábricas para la producción de una amplia gama de moléculas biológicamente activas que potencialmente son inhibitorias para el crecimiento de microbios patógenos(2), entre estas la surfactinas, fengicinas e iturinas. La secreción de este tipo de compuestos explica como las bacterias pueden controlar a los microorganismos fitopatógenos; sin embargo también abre oportunidades para entender fenómenos fisiológicos asociados a la secreción de este tipo de moléculas y su aplicación biotecnológica. El objetivo del presente trabajo es determinar por espectrometría de masas MALDI-TOF, la producción de lipopéptidos por 2 bacterias endófitas del género *Bacillus* en un medio mineral.

Metodología. Se realizó un cultivo bajo condiciones aeróbicas en matraces Erlenmeyer de 250 ml con 50 ml de medio Landy con hierro y sin hierro, para cada análisis se utilizó una colonia activa de cada cepa y se incubó en condiciones de 30°C y 150 rpm durante 96 horas. Se precipitaron los lipopéptidos siguiendo metodologías publicadas (3) y el análisis de masas se hizo en un instrumento Bruker-Daltonics Autoflex Speed operado en modo Reflectron positivo con tres diferentes matrices (DHB,HCCA y SA).

Resultados. Las 2 cepas de *Bacillus* producen lipopéptidos de forma aparente después de 96 hrs. de incubación en medio de Landy suplementado con hierro. El análisis registra la presencia de masas entre 1000-1100 pertenecientes a iturinas (1044 m/z , $C_{14}[M+H]^+$) y surfactinas (1030 m/z , $C_{13}[M+Na]^+$) y masas en el rango de 1300-1450 que podrían corresponder a Fengicinas (1430 m/z , $C_{13}[M+H]^+$). En la figura 1, se muestran los espectros de masas de la mezcla de lipopéptidos producidos por *B. subtilis*, un endófito aislado de plantas de banana analizados por las tres matrices.

Conclusiones. La presencia de hierro en el medio de cultivo favorece una mayor síntesis bacteriana de lipopéptidos. La matriz con mejor grado de resolución para detección de lipopéptidos es el 2,5- DHB. La

actividad biológica de los lipopéptidos se probó contra bacterias y hongos patógenos.

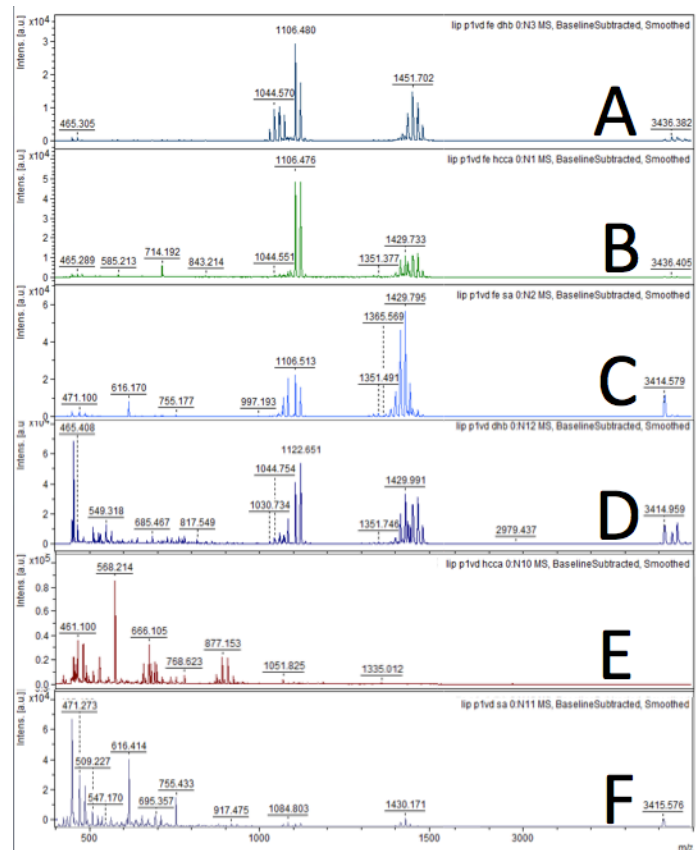


Figura. 1. Análisis de MALDI-TOF de los lipopéptidos producidos por *B. subtilis* cultivado en medio de Landy con hierro (A-B-C), y sin hierro (D-E-F). Se muestran espectros con tres diferentes matrices DHB, HCCA y SA, respectivamente.

Bibliografía.

- Chen, H., Xiao, X., Wang, J., Wu, L., Zheng, Z., & Yu, Z. (2008). Antagonistic effects of volatiles generated by *Bacillus subtilis* on spore germination and hyphal growth of the plant pathogen, *Botrytis cinerea*. *Biotechnology Letters*, 30(5), 919e923.
- Ongena, M. and Jacques, P. (2007) *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* 16, 115–125.
- Vater J, Kahlitz B, Wilde C, Franke P, Mehta N, Cameotra, SS (2002) Matrix-assisted laser desorption ionization-time-of flight mass spectrometry of lipopeptide biosurfactants in whole cells and culture filtrates of *Bacillus subtilis* C-1 isolated from petroleum sludge.