



## INHIBICIÓN SOBRE EL CRECIMIENTO DE *SACHAROMYCES C.* Y ACTIVIDAD HEMOLÍTICA POR LIPOPÉPTIDOS PRODUCIDOS POR *BACILLUS SUBTILIS*

María Lourdes Mejía Farfán y Victor Eric López y López

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del IPN, Exhacienda San Juan Molino, km 1.5  
Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala .Tel: 55 57296300 ext. 87802, Fax 55 57296300 ext. 87821,  
vlopezyl@ipn.mx

*Palabras clave: Bacillus subtilis, lipopéptidos, actividad hemolítica.*

**Introducción.** *Bacillus subtilis* (*Bs*) es un productor de lipopéptidos, entre ellos surfactina e iturina. La iturina está asociada con la inhibición de crecimiento de *Sacharomyces cerevisiae* (*Sc*) y la surfactina tiene actividad hemolítica<sup>1</sup>(AH), antitumoral, antiviral, antibacteriana y como agente hipocolesterolémico con aplicación potencial en medicina o biotecnología. Se ha utilizado para inhibir desnaturalización de proteínas y coagulación de la sangre<sup>2</sup>. Los lipopéptidos presentan también actividad superficial. La surfactina es sintetizada durante el crecimiento vegetativo del bacilo, mientras que la iturina se sintetiza durante la fase de esporulación<sup>3</sup> y la producción de estos lipopéptidos son influenciados por las condiciones de cultivo, sintetizándose en mayor cantidad una u otra. Una manera de comprobar la síntesis de ambos lipopéptidos es mediante la actividad biológica en bioensayos. El objetivo de este trabajo fue demostrar la presencia de iturina y surfactina en diferentes medios de cultivo mediante bioensayos de inhibición contra *Sc* y de actividad hemolítica.

**Metodología.** Cepa de *Bs*, Medio KS utilizado por Kim et al.<sup>3</sup> con bicarbonato de amonio, dextrosa y adicionado con sales minerales, KS-CIT medio KS adicionado con ácido cítrico, KS-BAJO medio KS modificado con relación C:N baja y adicionado con harina de soya hidrolizada, KS-ALTO medio KS modificado con relación C:N alta. Las relaciones C:N son comparadas con el medio KS de control. Los cultivos se centrifugaron y el sobrenadante se liofilizó y se resuspendió en agua destilada. Se aplicaron 20 µl de la suspensión en círculos de papel filtro a placas de agar papa dextrosa con *Sc*, se incubaron a 25°C por 24 horas y 20 µl en círculos de papel filtro en placas de Agar sangre, se incubaron a 37°C por 24 horas.

**Resultados y discusión.** En el Cuadro 1 se muestran las inhibiciones sobre el crecimiento de *Sc*. En el Cuadro 2 se muestran las hemólisis con los diferentes medios. La inhibición sobre *Sc* se observa en todos los cultivos después de las 12 horas y de acuerdo a cinéticas de crecimiento previas, los cultivos ya están en fase estacionaria, comprobando la presencia de iturina, que se sintetiza durante dicha fase y continúa hasta el final del cultivo (Cuadro 1). La AH a las 12 horas ya está presente en todos los medios y está relacionada con el crecimiento vegetativo entre 0 y 12 horas. Sin embargo la AH también aumenta durante la fase estacionaria, por lo que no se descarta que ambos lipopéptidos actúen sinérgicamente (Cuadro 2). Es notable la inhibición sobre *Sc* con los medios KS-ALTO y KS-BAJO, el uso de harina de soya hidrolizada parece favorecer la

producción de iturina. La AH relevante se observó en el cultivo con medio KS-BAJO en el cual también se utiliza harina de soya hidrolizada. En el cultivo con medio KS utilizado como control se observaron efectos positivos tanto en inhibición sobre *Sc* como en AH.

Cuadro 1. Inhibición sobre *Sacharomyces cerevisiae*

MEDIO DE CULTIVO	12 h	24 h	36 h	48 h
KS C:N 8				
KS-CIT C:N 8.5				
KS-ALTO C:N 11.5				
KS-BAJO C:N 5.7				

Cuadro 2 Actividad hemolítica

MEDIO DE CULTIVO	12 h	24 h	36 h	48 h
KS C:N 8				
KS-CIT C:N 8.5				
KS-ALTO C:N 11.5				
KS-BAJO C:N 5.7				

**Conclusiones.** En este trabajo se comprobó que la presencia de iturina y surfactina con actividad biológica mediante bioensayos. La harina de soya parece potenciar la AH a una relación C:N baja.

**Agradecimientos.** Proyecto SIP-IPN 20060507

### Bibliografía

1. Feignier, C., Besson, F., y Michel G. 1995. Studies on lipopeptide biosynthesis by *Bacillus subtilis*: Isolation and Characterization of iturin-, surfactin+ mutants. Microbiology Letters 127:11-15
2. Desai, J., Banat, I., 1997. Microbial production of surfactants and their commercial potential. Microbiol. And Mol. Biol. Rev. 61:47-64.
3. Kim, H., Yoon, B., Lee, C. y Suh, H., 1997. Production and properties of a lipopeptide biosurfactant from *Bacillus subtilis* C9. J. Ferment. Bioeng. 84:41-46.