



PRODUCCIÓN DE LOVASTATINA EN FERMENTACIÓN SÓLIDA POR MUTANTES RESISTENTES A ESTRÉS OXIDATIVO

Jesús Baños Mejía, Armando Mejía, Adriana Garay, Javier Barrios-González. Depto. de Biotecnología, UAM-Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, Colonia Vicentina, México, D.F. CP 0934. Fax 58544752.

jbg@xanum.uam.mx.

Palabras clave: fermentación sólida, lovastatina, Aspergillus terreus

Introducción. La lovastatina es un metabolito secundario producido por *Aspergillus terreus* de importancia industrial, ya que disminuye los niveles de colesterol en sangre. La producción convencional de lovastatina se realiza en cultivo líquido (FL). Recientemente desarrollamos un sistema de producción de lovastatina en un sistema novedoso de FS en soporte inerte impregnado, obteniendo de producción de 19,951 µg/gss (gramo de soporte seco) (2). Por otro lado, se ha reportado que hay momentos transitorios de estrés oxidativo (EO) en cada cambio de etapa morfogénica en hongos filamentosos (4), por lo que es posible que esté también relacionada con la idiofase.

El objetivo de éste trabajo fue determinar si existe correlación entre el estrés oxidativo y la producción de lovastatina, ya sea en FS y/o en FL.

Metodología. Se generaron mutantes de *Aspergillus terreus* TUB F-514 (Technical University of Budapest) utilizando luz UV. Se determinaron las dosis mínimas inhibitorias (DMI's), las que se utilizaron para la selección de mutantes resistentes a H₂O₂ y un compuesto generador de radicales superóxidos (CGS). Las poblaciones de mutantes resistentes se sembraron en cilindros de agar y la producción se analizó por bioensayo. Después se seleccionaron las mejores mutantes para evaluar su producción en la FS y FL.

Resultados y discusión. Se determinó la dosis mínima inhibitoria (DMI) de H₂O₂, en diferentes estadios de crecimiento de *A.terreus*, así como la DMI para un CGS.

producción de lovastatina, ya que un alto porcentaje de las mutantes resistentes (5 a 10.5%), seleccionadas por estos métodos, produjeron más que la parental (en cilindro de agar), mientras que ninguna de las mutantes sensibles ni de las mutantes sin selección produjo más que la parental.

Tabla 1. Efecto del estrés oxidativo sobre la biosíntesis de lovastatina y el porcentaje de sobreproducción con respecto a la parental.

| Método de selección | FS µg/gss | FS % | FL % |
|---|-----------|-------|-------|
| H ₂ O ₂ esporas | 25,028 | 145.4 | 88.2 |
| | 19,986 | 119.5 | 81.3 |
| | 18,881 | 112.9 | 24.3 |
| H ₂ O ₂ Micelio de 36 hrs | 27,890 | 162.0 | 68.3 |
| | 14,364 | 83.5 | 37.5 |
| Súper óxido | 23,660 | 141.4 | 117.6 |
| | 14,831 | 88.7 | 12.7 |

Sin embargo, las FS y FL mostraron que la resistencia a EO es sobre todo útil para la producción de lovastatina en FS (Tabla 1). Esto indica que la capacidad que presenta *Aspergillus terreus* para contender con el estrés oxidativo esta relacionada con la capacidad de adaptación al sistema de FS. Por otro lado, los tres métodos utilizados para seleccionar mutantes resistentes a EO funcionaron bien, ya que se aislaron mutantes como la M-9, que tuvo un incremento de 62% en su producción de lovastatina en FS, llegando a 27,890 µg/g; la E28 que incrementó en 45% la producción y la SO41, con un incremento de 41%.

Conclusiones. 1.- Existe una relación entre la resistencia al estrés oxidativo, por H₂O₂ o Superóxidos, y la producción de lovastatina en FS. 2.- No se encontró correlación entre la resistencia a EO y la producción de este metabolito en FL. 3.- Los tres métodos empleados para seleccionar mutantes resistentes a EO constituyen eficientes métodos de selección racional para este fin.

Agradecimiento. Al CONACyT por la beca para la realización del doctorado y a la UAM-IZTAPALAPA por el apoyo y las facilidades para realizar el doctorado.

Bibliografía.

1. Szakács G., Morovján G. y Tengerdy P..(1998). *Production of lovastatin by a wild strain of Aspergillus terreus*. Biotechnology Letters. 20:411-415.
- 2.- Baños J., Tomasini A., Szakács G., Barrios J. (2005). *Fisiología y producción de lovastatina de Aspergillus terreus en fermentación sólida de dos fases*. VI Congreso biología molecular y celular de hongos. Morelia Michoacán, 23-25 Octubre. Página 53.
- 3.- Barrios-González Javier, Baños Jesús, Tomasini Araceli y Mejía Armando Patente en trámite PA/a/2004/012778.
- 4.- Hansberg, W., Aguirre, J. (1990) Hiperoxydant state causes microbial cell differentiation by cell isolation from dioxygen. J. Theoretical biology **142**, 201.

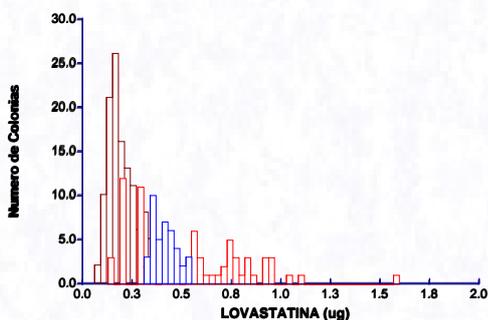


Fig. 1. Producción de lovastatina, por fermentación en cilindro de agar, de mutantes sin selección (Marrón), Mutantes sensibles (azul) y mutantes resistentes (rojo) al CGS.

Así, se aislaron 177 y 60 mutantes resistentes a H₂O₂ de esporas y micelio, respectivamente; y 76 mutantes resistentes a CGS. Se determinó la producción de lovastatina de estas mutantes en cilindro de agar, y se comparó con la de mutantes sensibles a EO y con la de mutantes sin seleccionar. Los resultados indicaron que hay una correlación positiva entre la resistencia al EO y la