

OBTENCION DE CEPAS DE *Ashbya gossypii* HIPERPRODUCTORAS DE RIBOFLAVINA

Lizama Uc G., Ortiz Vazquez E.,

División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Mérida

Avenida Tecnológico Km 5, antigua carretera Progreso

Eortiz@labna.itmerida.mx

Palabras clave: *riboflavina*, *Ashbya gossypii*

Introducción: La riboflavina es una vitamina soluble la cual puede ser sintetizada en cantidades significantes por varios procesos de fermentación utilizando microorganismos y un medio de cultivo apropiado. Aproximadamente el 30% de la producción a nivel mundial, la cual es mas de 1.25×10^6 kg, es producida por fermentación obetiéndose valores cercanos a 15 g/L^2 . Entre los microorganismos productores de riboflavina podemos mencionar a *Eremothecium ashbyi* y *Ashbya gossypii*³. El incremento en la producción de riboflavina utilizando *Ashbya gossypii* es posible por adición de precursores como glicina o ribitol lo cual sugiere que esta síntesis puede estar limitada por metabolitos centrales o del catabolismo⁴. El objetivo del presente trabajo es la obtención de cepas de *Ashbya gossypii* con capacidad hiperproductora de riboflavina.

Metodología. Para este trabajo se utilizo la cepa silvestre *Ashbya gossypii* NRRL Y 1056, la cual fue crecida en medio sólido conteniendo (g/L): 5.0 extracto de malta, 5.0 extracto de levadura, 20.0 glucosa, 5.0 peptona de gelatina y agar 2%, *Ashbya gossypii* fue tratada con nitrosoguanosina (NTG) como agente mutagénico a diferentes dosis y tiempos de exposición, posteriormente las células fueron resuspendidas y cultivadas en medio sólido, se contaron el número de sobrevivientes, la selección se realizó basándose en la capacidad de producir riboflavina. Las colonias sobrevivientes fueron crecidas en medio líquido conteniendo (g/L) 5.0 extracto de malta, 5.0 extracto de levadura, 20.0 glucosa, 5.0 peptona de gelatina

Resultados y discusiones: Se utilizaron tres dosis del agente mutagénico (NTG) de 100, 200 y 300 μml y tres tiempos de exposición 30, 60 y 90 minutos. Los resultados se observan en la tabla I.

Tabla I. Porcentaje de sobrevivencia de *Ashbya gossypii* con respecto al tiempo de acción y concentración del agente mutagénico (NTG)

Tiempo (min)	UFC/ml	NTG ($\mu\text{g/ml}$)	% de sobrevivencia
30	130000	200	100
60	120000	200	92.3
90	50000	200	38.46
30	39000	300	30
60	8000	300	6.15
90	3000	300	2.3

De las tres concentraciones utilizadas, la de 100 μml no tubo efecto obteniéndose un 100% de sobrevivencia, sin embargo podemos observar que al incrementar el tiempo

de acción así como la concentración del agente mutagénico el numero de sobrevivencia disminuye hasta alcanzar un 2.3% es decir un 97.7% de muerte, por lo que es en este punto donde seleccionamos a nuestras cepas. Posteriormente de las 3000 unidades formadoras de colonias (UFC/ml) fueron seleccionadas 11 cepas con capacidad de producir riboflavina, las cuales se muestran en la figura I

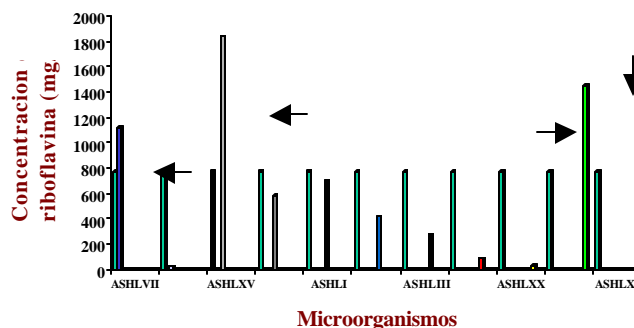


Figura I. Selección de mutantes hiperproductoras de riboflavina

De estas 11 cepas la ASHLXV ASHLX ASHLVII y ASHLXI incrementaron su producción en un 138.92, 88.46 44.95 y 43.49% con respecto a la cepa silvestre así como también hubo cepas que disminuyeron en cuanto a su producción e incluso otras perdieron su capacidad de producir riboflavina

Conclusiones: Podemos concluir que el tiempo óptimo de acción del agente mutagénico es de 90 minutos y una concentración de 300 $\mu\text{g/ml}$, de las 3000 UFC/ml fueron seleccionadas 11 cepas de las cuales cuatro resultaron ser hiperproductoras de riboflavina, esto puede deberse a cambios en el DNA causados por el NTG, así como la alteración de rutas metabólicas involucradas en la síntesis de esta vitamina, como la ruta de las pentosas fosfato, glucólisis, síntesis de purinas o precursores de la molécula.

Bibliografía:

1. Tijen Ozbas and Tulin Kutsal in Enzyme Microb, Technol. 1991 vol. 13 pp 594-596
2. Lago, B. D. And Kaplan, L. Adv. Biotechnol. 1981, vol 3, pp 241-246
3. Perlman, D., Brown, W.E and Sylvan, B.L in Ind. Eng. Chem. 1995, vol 44, pp 1996-2001
4. Stahmann K.P, C. Kupp, S.D. Feldmann and H. Sahn in Appl. Microbiol. Biotechnol 1994 vol 42, pp 121-127