

## Evidências de uma linha evolutiva única na bioluminescência fúngica

Anderson Garbuglio de Oliveira<sup>1\*</sup> (PG), Dennis Desjardin<sup>2</sup> (PQ), Brian Perry<sup>3</sup> (PQ), Cassius Vinicius Stevani<sup>4</sup> (PQ)

<sup>1\*</sup> Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, 13500-900, Sorocaba, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Department of Biology, San Francisco State University, San Francisco, CA 94132, EUA.

<sup>3</sup> Biology Department, University of Hawaii at Hilo, Hilo, HI 96720, EUA.

<sup>4</sup> Departamento de Química Fundamental, Universidade de São Paulo, 05599-970 São Paulo, SP, Brasil.

\*andgarb@iq.usp.br

Palavras-chave: Luciferase, Luciferina, Fungos.

### Introdução

A bioluminescência (BL) tem evoluído de forma independente ao menos mais de 30 vezes em organismos diferentes. Todos os sistemas bioluminescentes envolvem a oxidação catalisada por uma enzima (luciferase - Lase) de um substrato (luciferina - Ln).<sup>1</sup> Apesar dos progressos alcançados no último século no entendimento biológico e evolutivo de vários sistemas bioluminescentes, ainda existem organismos luminosos que permanecem pouco compreendidos. Fungos bioluminescentes são um exemplo. O reino Fungi é representado por cerca de 1,5 milhões de espécies, mas de toda essa diversidade apenas 71 apresentam BL, e essas espécies pertencem a 4 distantes linhagens evolutivas: Armillaria, Lucentipes, Micenóide e Omphalotus.<sup>2</sup> Além disso, apenas recentemente foi demonstrada a presença de uma Lase no mecanismo de emissão de luz em fungos.<sup>3</sup> O presente trabalho tem como objetivo mostrar que o mecanismo de BL fúngica é enzimático, e seus componentes (Ln, Lase, e NAD(P)H redutase), são similares em todas as linhagens de fungos bioluminescentes conhecidas, sugerindo uma única origem evolutiva na BL de fungos. Para corroborar essa hipótese, foram preparados extratos quentes (EQ - fonte de Ln) e frios (EF - fonte de Lase) de micélios e cogumelos de espécies pertencentes às 4 linhagens. Reações cruzadas (Ln x Lase) foram realizadas em todas as combinações possíveis utilizando fungos bioluminescentes e também não bioluminescentes como controle.

### Resultados e Discussão

Emissão de luz foi obtida em todas as combinações possíveis de EQ/EF preparados a partir dos fungos bioluminescentes: *Armillaria mellea* (Armillaria), *Gerronema viridilucens* (Lucentipes), *Omphalotus olivaceus* e "*Pleurotus*" *gardneri* (Omphalotus) e *Mycena luxaeterna* (Micenóide). Reações cruzadas envolvendo o fungo não luminescente *Filoboletus gracilis* (espécie micenóide, relacionada com o fungo *M. luxaeterna*, família Mycenaceae) como fonte de Ln/Lase não resultaram em emissão de luz detectável. Esses resultados mostram que *F. gracilis* não contém Ln nem Lase e, além disso,

EQ/EF preparados a partir desse fungo não levam a emissão de luz quando cruzados frente extratos de qualquer outro fungo bioluminescente pertencente às 4 linhagens. Conclusões idênticas puderam ser obtidas a partir dos resultados dos testes dentro da linhagem Micenóide. Atenção especial foi dada a essa linhagem pelo fato de dificuldades em se obter emissão de luz *in vitro* terem sido reportadas para essa linhagem, sobretudo para a espécie *Panellus stipticus*. Reações cruzadas dentro dessa linhagem foram realizadas com os fungos luminescentes *M. luxaeterna*, *M. fera*, *M. citricolor*, *M. luxperpetua*, e os não luminescentes (controles) *M. nivicola nom. prov.* e *M. singeri*. Uma consequência direta desses resultados é que a Ln fúngica provavelmente não seja uma molécula ubíqua em fungos, como ocorre com a FMN (flavina mononucleotídeo) em bactérias bioluminescentes, que tem a função de Ln nesses organismos. Ademais, os dados obtidos confirmam ainda a hipótese de um mecanismo enzimático responsável pela emissão de luz em todos os fungos bioluminescentes nas 4 linhagens, e Ln e Lase como componentes indispensáveis para a BL.

### Conclusões

Os resultados indicaram que todas as quatro linhagens de fungos bioluminescentes conhecidas compartilham o mesmo mecanismo enzimático de emissão de luz, todas elas contendo luciferina e luciferase similares. Entretanto, não foram encontrados indícios de luciferina ou luciferase em espécies não bioluminescentes, embora as espécies utilizadas fossem filogeneticamente próximas. A explicação para esse fato seria que a BL fúngica se originou de uma única linha evolutiva, e que esta linha foi inativada, perdida ou não detectada na vasta maioria das espécies de fungos.

### Agradecimentos

FAPESP e NSF-USA.

<sup>1</sup> Shimomura, O. *Bioluminescence – Chemical Principles and Methods*. 2006, 1ª ed., World Scientific Publishing, Singapore.

<sup>2</sup> Desjardin, D. E.; Oliveira, A. G. e Stevani, C. V. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2008, 7, 170.

<sup>3</sup> Oliveira, A. G. e Stevani, C. V. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2009, 8, 1416.