

Luces vivas

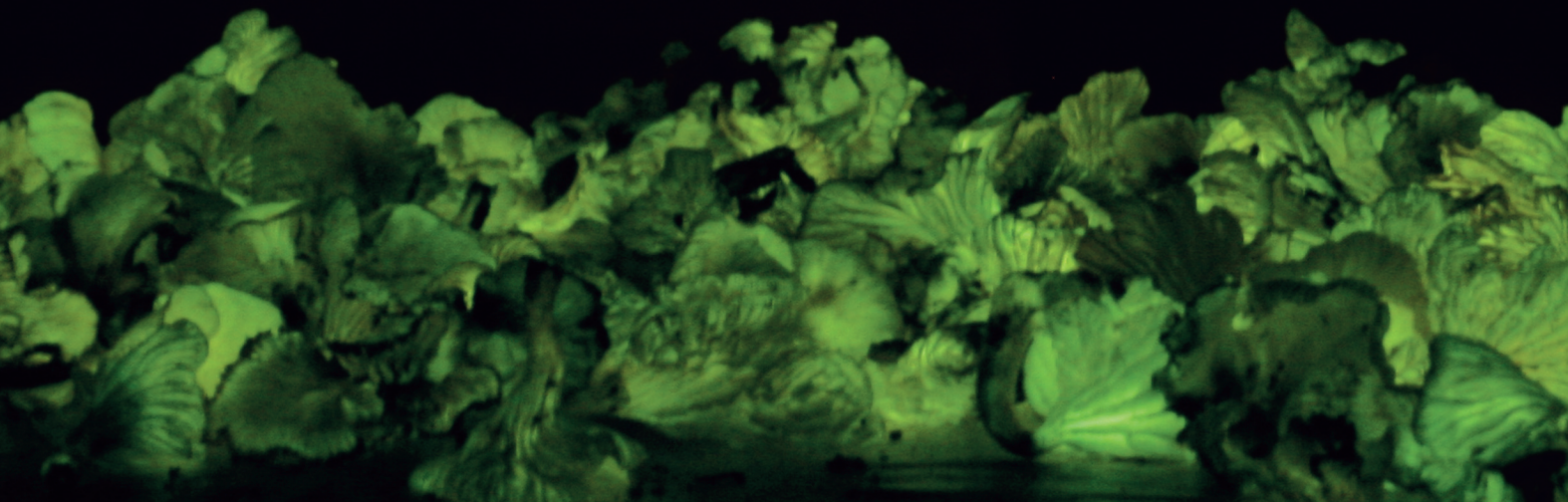
Publicado en febrero de 2010

En la película de animación *Bichos: Una aventura en miniatura*, toda la iluminación interna del hormiguero está hecha con setas luminosas. “Existe un tanto de licencia poética en la creación”, comenta Cassius Stevani, del Instituto de Química de la Universidad de São Paulo (USP), “pero esencialmente eso es verdad”. En efecto, existen hongos que emiten luz, o bioluminescentes, y muchas hormigas cultivan hongos en sus cuevas, pero no de ese tipo. Stevani se encuentra abocado a entender el mecanismo químico que genera esa luminosidad y cuál es su función en esos organismos. En el camino ha encontrado un uso práctico: la detección de la contaminación del suelo con metales.

Les alcanzó con media década a Stevani y a sus colegas para descubrir 12 especies de hongos luminescentes en Brasil. Entre ellos están la seta amazónica *Mycena lacrimans*, hallada por Ricardo Braga-Neto, del Instituto Nacional de

Investigaciones de la Amazonia (Inpa, sigla en portugués), y una especie que parece un paraguas invertido que nace en la base de algunas especies de palmeras como la ‘piaçaba’ [*Attalea funifera Martius*] o el babasú, en el estado de Piauí. En el mundo existen 71 especies, de acuerdo con un artículo de revisión redactado por Stevani en colaboración con el biólogo estadounidense Dennis Desjardin, de la Universidad Estatal de São Francisco, California, que en marzo estará estampado en la portada de la revista *Mycologia*. “Deben existir muchas otras especies por descubrir”, imagina el químico, “aún no descritas porque son difíciles de hallar; poca gente anda sin linterna por el monte en noches sin luna”.

Hasta el año 2002 no se tenían noticias de hongos bioluminescentes en Brasil. Mejor dicho, había sí una especie, descrita en el siglo XIX por el británico George Gardner con el nombre científico *Agaricus phosphorescens* (posteriormente rebautizada como



El mecanismo que hace que ciertos hongos brillen sirve de base para la elaboración un método de detección de la contaminación de los suelos

MARIA GUIMARÃES

Pleurotus gardneri), pero en la actualidad los expertos en hongos cuestionan dicha clasificación, basada en especies similares existentes en Europa. Y se hacía difícil corregir el error porque la única muestra preservada se encuentra en un herbario en Inglaterra.

Una seta que parece ser de esa misma especie fue recientemente hallada brillando en la base de una palmera piaçaba por la primatóloga estadounidense Dorothy Fragazy, quien terminaba a la sazón la jornada de persecución de los monos más tarde que lo habitual, en el estado de Piauí. Fascinada, le mostró las fotos a un coterráneo del Jardín Botánico de Nueva York, quien a su vez entró en contacto con Dennis Desjardin, considerado uno de los más importantes expertos en identificación de estos organismos. Éste, por su parte, le avisó a Stevani. Le bastó al brasileño una búsqueda en internet para descubrir que Dorothy estaba en Brasil realizando un trabajo en colaboración con

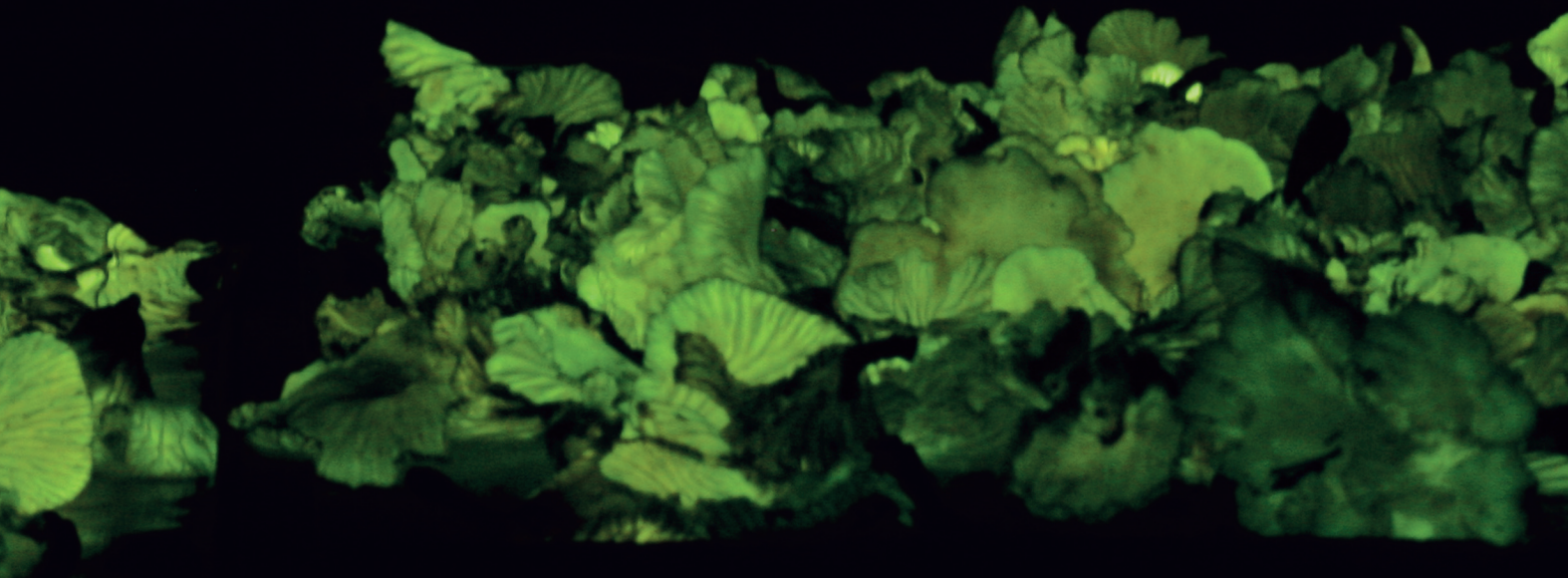
la primatóloga Patrícia Izar, del Instituto de Psicología de la USP, con quien inmediatamente entró en contacto, atrás la pista del hongo. Es una de esas historias de casualidades, en que una información recorre el mundo antes de llegar casi al mismo lugar.

Y salió bien: el dueño de la propiedad en que Dorothy y Patrícia trabajaban, Marino Gomes de Oliveira, secó al sol y le mandó a Stevani cuatro kilos del hongo brillante. Y ahora los investigadores se aprestan a corregir la identificación, con el examen detallado de los hongos a cargo de los micólogos (los especialistas en hongos) Marina Capelari, del Instituto de Botánica de São Paulo, y Desjardin. Éste ha venido dedicándose a explorar bosques poco conocidos en el mundo, incluso en Brasil, y dice que los esfuerzos inéditos de su grupo han redundado en muchos descubrimientos. “Recientemente encabezé una expedición a una isla en Micronesia, en el Océano Pa-

cífico, donde los hongos nunca habían sido documentados: de las 128 especies que hallamos, siete eran luminescentes”, comenta, aclarando que los hongos brillantes constituyen una minoría.

Brasil es prometedor porque tiene una inmensa área de selva en donde los hongos aún no han sido estudiados, dice Desjardin. “Sabemos muy poco sobre los hongos de Brasil, por eso esperamos hallar nuevas especies, sean luminescentes o no”. El experto explica también que, para encontrar hongos luminosos, hay que pensar en función de ello. La mayor parte de los micólogos que estudian la diversidad de hongos los describe durante el día (cuando éstos también emiten luz, pero los investigadores no la ven) y los seca inmediatamente para su preservación. Primero hay que examinarlos al oscuro, para determinar si hay luminescencia, y recién después secarlos. “Por eso presumo que varios hongos tropicales raros deben ser luminescentes, lo que pasa es que no lo hemos notado todavía.”

Pleurotus gardneri:
redescubierto
en Piauí



LOS PROYECTOS

1. Estudio de bioluminescencia de hongos y sus aplicaciones en química ambiental
2. Bioluminescencia y actividad farmacológica de hongos

MODALIDAD

1. Ayuda Regular a Proyecto de Investigación
2. Joven Investigador

COORDINADOR

Cassius Stevani - IQ/ USP

INVERSIÓN

1. R\$ 328.413,09
2. R\$ 457.741,18

Pese a que aún son poco conocidos, existen noticias desde hace mucho tiempo acerca de los hongos luminosos. Aristóteles, el filósofo de la Grecia Antigua, fue el primero que narró el fenómeno hace más de dos milenios, cuando describió el brillo vivo y determinó que era distinto del fuego. Pero los estudios científicos sobre este fenómeno se iniciaron recién en la década de 1950 y sólo ahora empiezan a hacer su aporte en la comprensión de la bioluminescencia de estos organismos especializados en descomponer madera y otros tipos de materia orgánica.

Señalización - El interés de Stevani en los hongos surgió de su trabajo anterior con luciérnagas y otros insectos. En 2002, durante un viaje para recolectar material con Etelvino Bechara, un renombrado experto en bioluminescencia de luciérnagas, que ahora está en la Universidad Federal de São Paulo (Unifesp), Stevani aprovechó para buscar hongos de aquellos que Bechara le había hablado. Y los encontró: mientras fijaba sus ojos en la oscuridad de una área de vegetación húmeda cercana a una cascada en el medio del Cerrado, la sabana brasileña, en Mato Grosso do Sul, vio una luz verde diferente y fija, al contrario de la intermitente de las luciérnagas.

Eran hongos, y dieron origen al proyecto que el investigador de la USP

Mycena luxaeterna:
luz concentrada
en los tallos
o estipes

desarrolló a partir de 2002 con el apoyo de la FAPESP, en el marco del Programa Joven Investigador. Antes incluso de dar inicio al trabajo, los hongos luminosos dieron una prueba de que no se restringían al territorio de Mato Grosso do Sul. Durante el trabajo de campo realizado en el Parque Estadual Turístico de Alto Ribeira (Petar), en el sur del estado de São Paulo, el ecólogo João Godoy, actualmente profesor de la Facultad de Ingeniería São Paulo, fue guiado por su baquiano al encuentro de un hongo luminoso. Sorprendido, le avisó a su amigo químico, quien de este modo pudo concentrar sus actividades de campo en el Petar, ubicado más cerca de su laboratorio.

Algunas de esas especies están ayudando a develar los detalles de la bioluminescencia de los hongos, y a tal fin, Stevani cuenta con la ayuda de tres doctorandos financiados por la FAPESP. Mediante exhaustivos ensayos químicos, el doctorando Anderson Oliveira analizó tres especies de setas provenientes del Bosque Atlántico del Petar –la *Gerronema viridilucens*, la *Mycena lucentipes* y la *Mycena luxaeterna*–, además del hongo “*Pleurotus*” *gardneri*, hallado en una región de sabana en el municipio de Gilbués, estado de Piauí. Los resultados muestran, en un artículo publicado en 2009 en *Photochemical & Photobiological Sciences*, que el meca-



nismo de producción de luz es similar al que se observa en las luciérnagas y en las bacterias bioluminescentes: enzimas llamadas luciferasas oxidan una sustancia —el sustrato, como los químicos prefieren denominarla— conocida como luciferina, y liberan energía en forma de luz.

Oliveira echó mano de la más moderna tecnología en los laboratorios de química, pero la base del ensayo para caracterizar la reacción enzimática fue un descubrimiento realizado hace más de un siglo. En 1885, el fisiólogo francés Raphaël Dubois aplastó los órganos luminosos del cocuyo *Pyrophorus* y los mezcló con agua fría. La solución emitió un brillo verde, que poco a poco se fue desvaneciendo. Era la luciferina, que estaba siendo consumida por la reacción química, tal como Dubois concluyó. Acto seguido, Dubois calentó una solución similar, desintegrando las enzimas presentes, sensibles al calor. Al mezclar ambas soluciones —la fría, en donde estaban las enzimas ya sin luciferina, y la caliente, que contenía únicamente luciferina—, vio que la mezcla emitía luz. Esta historia está en el libro *Bioluminescence*, publicado en 2006 por el farmacéutico japonés Osamu Shimomura, investigador del Laboratorio Biológico Marino de Woods Hole, Estados Unidos.

Shimomura ganó el Premio Nobel de Química en 2008, debido precisamente a sus estudios con biolumines-



cencia: aisló en medusas la proteína fluorescente verde (GFP), que acusa la actividad de genes específicos cuando se la acopla al ADN de un organismo estudiado en laboratorio. La proteína luminosa se volvió esencial en muchos laboratorios de genética, una aspiración que no está lejos de la mente de Stevani, habida cuenta de que los mecanismos de

bioluminescencia son similares, incluso entre organismos muy diferentes.

Con todo, esto no quiere decir que la composición química de la luciferina y la de la luciferasa sean similares en insectos y hongos. “Luciferina es el nombre que le damos a cualquier sustrato que dé origen a la bioluminescencia, pero las luciferinas de organismos



Mycena fera: setas que brillan constantemente, pero sólo se las ve al oscuro

distintos pueden ser moléculas completamente diferentes”, explica Stevani. Sin embargo, todos los hongos que su grupo estudió brillan a causa de los mismos sustratos y las mismas enzimas, lo que sugiere un origen común a todos. Pero no todos los hongos bioluminescentes son parientes cercanos, advierte Desjardin. “Hoy en día sabemos que existen cuatro linajes de hongos con especies bioluminescentes, pero no siempre existe un parentesco cercano entre ellos”, comenta. “Algunas especies brillantes de setas *Mycena* están más emparentadas con especies sin brillo que con otras brillantes del mismo género.”

El grupo de la USP se encuentra ahora abocado a la búsqueda de la estructura de la molécula que hace que minúsculos hongos, a veces de 0,5 centímetro de circunferencia, se asemejen a los adhesivos conocidos como *star fix* pegados al tronco de los árboles o como que sembrados en medio de la cobertura verde que recubre el suelo de la selva. Al contrario que los hongos, que producen su propia luz, los *star fix* son adhesivos fosforescentes que almacenan la luz ambiente y por eso brillan a la noche, creando constelaciones en los dormitorios de los niños de diferentes edades. Hasta ahora, Oliveira ha logrado extraer del extracto de hongos una solución que contiene luciferina, que brilla cuando se la mezcla con una solución enzimática. Pero la sustancia debía estar posiblemente en una concentración muy baja, porque el químico Antonio Gilberto Ferreira, de

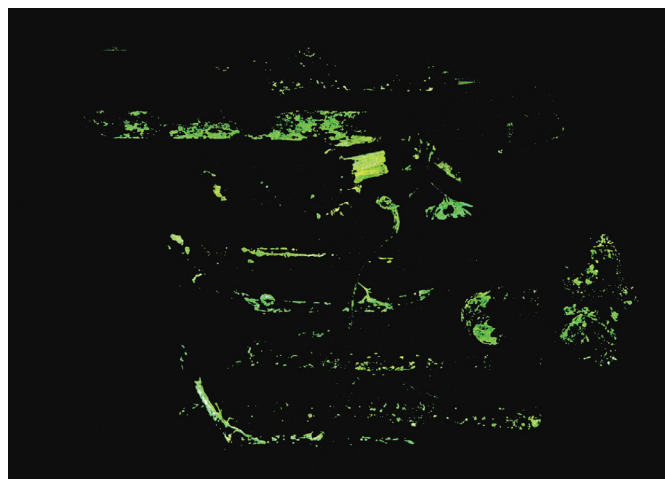
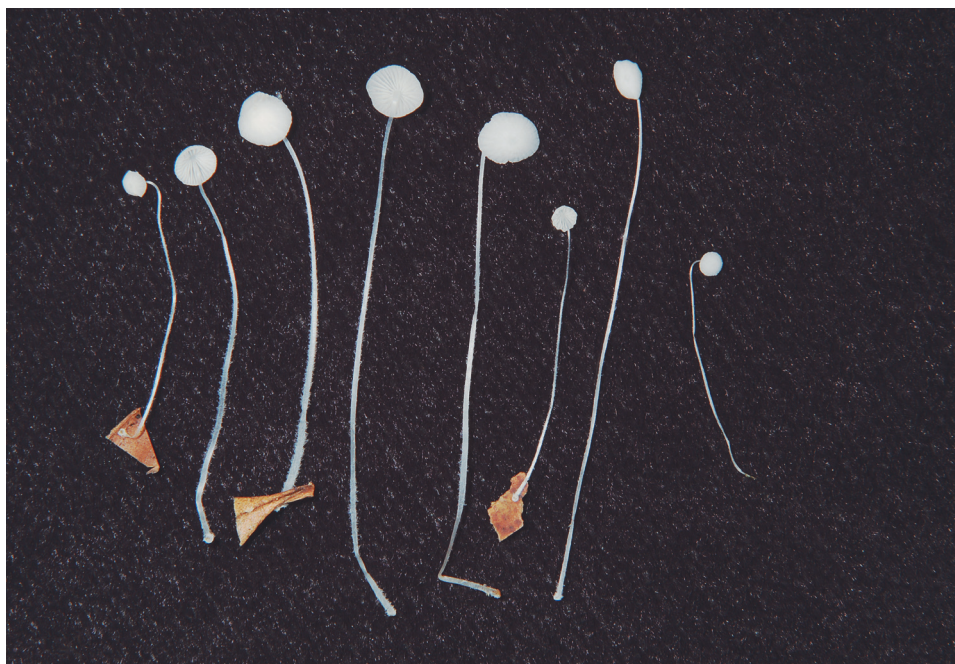
Ramas recubiertas por hifas invisibles a la luz del día

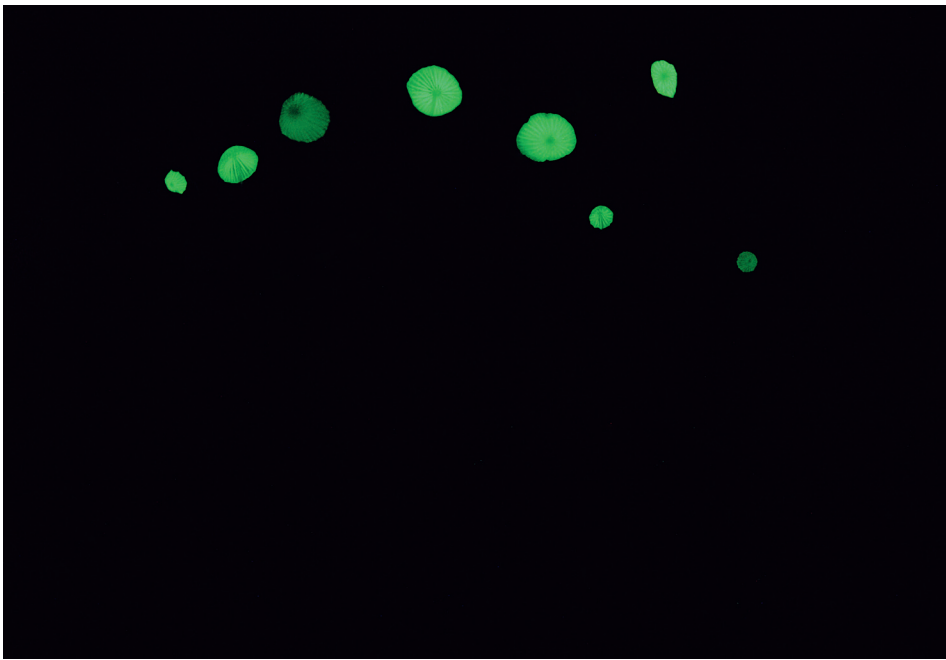
la Universidad Federal de São Carlos (UfSCar), no logró detectarla mediante una resonancia magnética nuclear de protones. “Hay que extraer una cantidad mayor o emplear un aparato más sensible”, planea Stevani.

El químico de la USP embarcó en esta aventura por pura curiosidad científica, pero considera esencial encontrarle usos prácticos que aporten beneficios a otros investigadores y a la sociedad. Y parece estar en el rumbo cierto: el brillo de los hongos *Gerronema viridilucens* puede ayudar a detectar altos niveles de contaminación del suelo con metales de

diversos tipos, tal como lo demostró Luiz Fernando Mendes, otro doctorando de Stevani, en un artículo actualmente en prensa en *Environmental Toxicology and Chemistry*.

Sensores biológicos - Mendes cultiva el hongo en placas de vidrio de 35 milímetros de diámetro, sobre una gelatina hecha a base de algas conocida como agar, el medio de cultivo más común en los laboratorios biológicos. Luego de crecer 10 días, los hongos aún no han llegado a la forma de hongo. En esta fase están compuestos por filamentos microscópicos, las hifas, que representan la mayor parte del ciclo de vida de cualquier





Mycena asterina:
la luminescencia
se restringe
a las sombrillas
de las setas

hongo, y en algunas especies también producen el brillo verde. El investigador mide la luminosidad emitida por cada una de estas placas y deposita allí una pequeña muestra de extracto de suelo que luego será analizada. Al cabo de 24 horas en una cámara climática, el hongo empieza a emitir menos luz en caso de que la muestra esté contaminada, cosa que los químicos interpretan como una forma de daño al organismo.

Mendes obtuvo gráficos que representan la intensidad de la luz emitida en presencia de distintas concentraciones de 11 metales diferentes —calcio, sodio, magnesio, cadmio, cobalto, manganeso, potasio, litio, zinc, cobre y níquel— e indican la toxicidad de la muestra analizada. Este trabajo ha redundado en una patente registrada en Brasil sobre el uso de hongos en ensayos de toxicidad ambiental. Basta con medir la intensidad de la luz que emana del hongo para poder estimar la cantidad de metal presente en una forma que puede ser absorbida y utilizada por los seres vivos. “No se trata de medir la concentración total de las sustancias químicas, pues eso no tendría significado biológico ni tampoco utilidad práctica”, sostiene Stevani. El problema es que el *Gerronema viridilucens* es poco sensible, quizá precisamente porque vive en el suelo y se adapta incluso a las condiciones adversas. “Lo que importa es que el bioensayo funciona.

Ahora necesitamos encontrar especies más sensibles que podamos usar de la misma manera”, afirma el químico.

Estrategias - Debido a que consume oxígeno en sus reacciones químicas, la bioluminescencia podría desempeñar un papel antioxidante que protegería a los hongos y a otros organismos, incluso a las luciérnagas, contra especies reactivas producidas con base en el oxígeno consumido en la respiración. Esta protección del organismo es una posibilidad que permitiría explicar las ventajas de brillar en el medio del bosque. Pero cuando es necesario alzarse en armas contra un estrés oxidativo intenso, el grupo de Stevani demostró que el organismo de los hongos privilegia reacciones más específicas para cumplir esta función y desconecta la luminescencia. Esto es lo que indica el trabajo aún no publicado de Olívia Domingues, también alumna de doctorado de Stevani. Domingues verificó que en presencia de metales en concentraciones elevadas, las células dan preferencia al uso de la coenzima NADPH para la producción de glutatión reducida, que evita la acción deletérea de los metales. Como la glutatión reducida compite por recursos con las enzimas que producen luminescencia, el hongo se va apagando paulatinamente. Por eso los hongos del bioensayo de Mendes perdieron luminosidad en un suelo contaminado con metales.

Los resultados de Olívia ayudan a explicar por qué los hongos bioluminescentes sirven como bioensayo de toxicidad, pero no dilucidan cuál sería el beneficio para el hongo de emitir ese brillo verdoso. Stevani apuesta en hipótesis ecológicas, mostrando fotografías de moscas posadas sobre hongos. Como una lámpara alrededor de la cual revolotean insectos variados, el brillo verde a lo mejor ayuda a atraerlos. Puede parecer que no constituya una ventaja anunciar su presencia ante los hambrientos de turno, pero la función de la sombrilla en el ciclo de vida de los hongos es efímera, como los frutos de los árboles: cuando un animal come un pedazo de ésta, se lleva junto con él esporas, que son las estructuras microscópicas que generarán nuevos hongos, en caso de que sean depositadas en lugares propicios. O quizá la luz sea un aviso de peligro, en los casos de setas tóxicas, como sucede con los animales venenosos de colores vivos. “Lo que no es probable es que la bioluminescencia de los hongos haya evolucionado para iluminar hormigueros o para servir de señalización de vuelo, como en *Bichos*”, bromea.

Los descubrimientos del químico dejan claro que muchos misterios seguirán escondidos en medio al frondoso follaje, en tanto y en cuanto otros biólogos y químicos no resuelvan apagar sus linternas y otear la oscuridad de la selva, en ocasiones centellada de verde. ■

Artículos científicos

1. DESJARDIN, D. *et al.* Luminescent *Mycena*: new and noteworthy species. **Mycologia**. (En prensa).
2. Mendes, L.F. Stevani, C.V. Evaluation of metal toxicity by a modified method based on the fungus *Gerronema viridilucens* bioluminescence in agar medium. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v. 29, p. 320-26. 2010.
3. Oliveira, A.G. y Stevani, C.V. The enzymatic nature of fungal bioluminescence. **Photochemical & Photobiological Sciences**. v. 8, p. 1.416-21. oct. 2009.