

## Aspectos genéticos da biossíntese das fumonisinas

### Genetic aspects of fumonisin biosynthesis

Rosana Suzuki Lorenzetti<sup>\*</sup>  
Laurival Antonio Vilas-Boas<sup>\*</sup>  
José Eduardo Garcia<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup> Universidade Estadual de Londrina (UEL).

#### Resumo

Fumonisinas são micotoxinas de grande interesse, usualmente encontradas no milho e seus derivados, associadas a doenças em animais e suspeitas de exercerem efeito carcinogênico em células do esôfago. As fumonisinas são compostos secundários formados por uma cadeia linear de 20 carbonos com uma amina, um a três radicais hidroxila, dois grupos metil e dois tricarbóxilatos. Análises moleculares em *Fusarium verticillioides* identificaram um cluster gênico composto por 15 genes co-regulados, relacionados à síntese da fumonisinas. Esta revisão apresenta uma síntese dos principais trabalhos publicados relacionados à função e mecanismos de ação dos genes associados à síntese das fumonisinas no gênero *Fusarium*.

**Palavras-chave:** Micotoxinas. Fumonisinas. *Fusarium verticillioides*.

#### Abstract

*Fumonisins are mycotoxins usually found in corn and corn-based products, which comprise a group of toxins of great interest as they are suspected human-esophageal carcinogens, and are associated with fatal illnesses in animals. They are secondary metabolites consisting of a 20-carbon linear backbone chain with an amine, one to three hydroxy moieties, two methyl and two tricarbonylate functions. Molecular analysis of Fusarium verticillioides has identified a fumonisin biosynthetic gene cluster with 15 co-regulated genes, all of which correlated with fumonisin production. This paper is a review about the function and action mechanism of the genes related to the fumonisin production.*

**Key words:** Micotoxins. Fumonisins. *Fusarium verticillioides*.

### 1 Introdução

O segmento da agroindústria brasileira amplia cada vez mais a sua importância como instrumento de geração de superávit para a balança comercial nacional. Em escala mundial, a produção de milho compete com a do trigo pelo título de grão mais produzido. No Brasil, juntamente com a soja, o milho contribui atualmente com 80% da produção de grãos e, com relação ao Paraná, a estimativa de produção para a safra 2005/2006 é de 10,85 milhões de toneladas, 27% a mais que a produção da safra passada.

O fungo *Fusarium verticillioides* (teleomorfo: *Gibberella fujikuroi*) é um ascomiceto cosmopolita, freqüentemente associado a produtos agrícolas, especialmente o milho, que se destaca como o principal produtor de fumonisinas, uma poderosa micotoxina, cuja ingestão resulta em intoxicações ao homem ou animais (PLATTNER et al., 1996).

Estudos epidemiológicos indicam que a ingestão de grãos contaminados com fumonisinas pode trazer sintomas alérgicos ou ter efeitos carcinogênicos em longo prazo. As fumonisinas podem causar câncer de esôfago em humanos (NORRED, 1993; PITT, 2000; MARASAS, 2001), podendo ainda induzir leucoencefalomalácia em cavalos, edema pulmonar em suínos e câncer de rins e fígado em roedores de laboratório (MARASAS, 2001;

BUTCHKO et al., 2003 a, b). Recentemente, a associação entre a ação das fumonisinas e malformações do tubo neural em ratos levaram à suspeita de que as fumonisinas podem constituir risco em potencial para a ocorrência de malformações similares em humanos (MARASAS et al., 2001).

A infecção por *F. verticillioides* causa doenças em todos os estágios de desenvolvimento do milho, infectando raízes, caule e grãos e, em muitos casos, a sua presença é ignorada por não causar danos visíveis. A síntese de fumonisinas pelos fungos depende de diversos fatores, tais como a susceptibilidade da planta à infecção, o potencial do fungo para sintetizar a toxina, as condições de higidez da planta, além das práticas utilizadas no manejo de colheita e estocagem dos grãos. O teor de umidade do grão, bem como a temperatura de armazenagem, influencia criticamente o desenvolvimento de *F. verticillioides* e a produção de micotoxinas (ONO et al., 2002), sendo as condições ótimas para a biossíntese de fumonisinas, 25°C e atividade de água de 0,97 (MARÍN et al., 1995). Durante o manejo pós-colheita, o fungo é capaz de sobreviver seguramente no período de entressafra colonizando sementes estocadas (CASA, 1998). Dessa forma, a armazenagem dos grãos é fator primordial no controle da proliferação fúngica, minimizando perdas econômicas e riscos à saúde humana e animal (UENO, 2000).

## 2 Estrutura Molecular das Fumonisinas

Descobertas em 1988, as fumonisinas são metabólitos tóxicos que constituem um grupo de micotoxinas produzidas principalmente por *F. verticillioides* e *F. proliferatum*. Desde a sua descoberta já foram descritos 28 análogos, divididos em quatro grupos principais F(A, B, C e P), no entanto, apenas as FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> e FB<sub>3</sub> ocorrem em concentrações significativas como contaminantes naturais de milho e seus derivados, sendo a FB<sub>1</sub> a mais tóxica e abundante, compreendendo de 60 a 90% das fumonisinas (BEZUIDENHOUT et al., 1988; GELDERBLUM et al., 1988; MUSSER; PLATTNER, 1997; RHEEDER et al., 2002; SEO; LEE, 1999). Em células animais, as fumonisinas mostraram inibir a esfingosina N-acil transferase, bloqueando a biossíntese de esfingolípídios (BUTCHKO et al., 2003a, 2003b; NORRED, 1993; WANG et al., 1991).

Estruturalmente, as fumonisinas são formadas por um esqueleto linear de átomos de carbono com radicais hidroxil, metil e ácido tricarbalílico em várias posições (BLACKWELL et al., 1994). Nas fumonisinas da série B, ocorre um grupo amino no carbono 2 (C-2), enquanto nas outras séries, o grupo amino pode ser acetilado ou substituído com hidroxipiridina (MUSSER et al., 1996). Os átomos oxigênio nos C-3, C-5, C-10, C-14 e C-15 são derivados de oxigênio molecular (CALDAS et al., 1998) e os ácidos tricarbalílicos no C-

14 e C-15 podem ser derivados do ácido glutâmico pelo ciclo do ácido cítrico (BLACKWELL et al., 1996). Os grupos metil no C-12 e C-16 são derivados da metionina (PLATTNER; SHACKELFORD, 1992), o grupo amino e os C-1 e C-2 do esqueleto de fumonisinas são derivados da alanina (BRANHAM; PLATTNER, 1993) e os C-3 a C-20 do esqueleto são derivados do acetato (BLACKWELL et al., 1994).

O esqueleto da FB<sub>1</sub> é estruturalmente muito similar à esfingosina, um intermediário do metabolismo de esfingolípídeos (MERRILL et al., 1997). O substrato para a síntese de policetida, que formará a fumonisina, possui 20-carbonos e é, provavelmente, o malonil. Malonil é o substrato típico para a biossíntese dos ácidos graxos e de muitas outras policetidas (PROCTOR et al., 2003; SEO et al., 2001). Uma vez sintetizada, a policetida serve como substrato para a reação de condensação com a alanina. Não existem evidências de que outras policetidas possam servir como substratos nesta reação (BOJJA et al., 2004).

As fumonisinas A possuem estrutura semelhante às fumonisinas B, a não ser pelo fato de terem um grupo acetil (-COCH<sub>3</sub>) ligado ao átomo de nitrogênio (Figura 1). As fumonisinas C têm quase a mesma estrutura das fumonisinas B, exceto pela ausência de um grupo metil terminal (Figura 1). Algumas das fumonisinas C também têm um grupo hidroxila extra em relação às fumonisinas B. As fumonisinas P

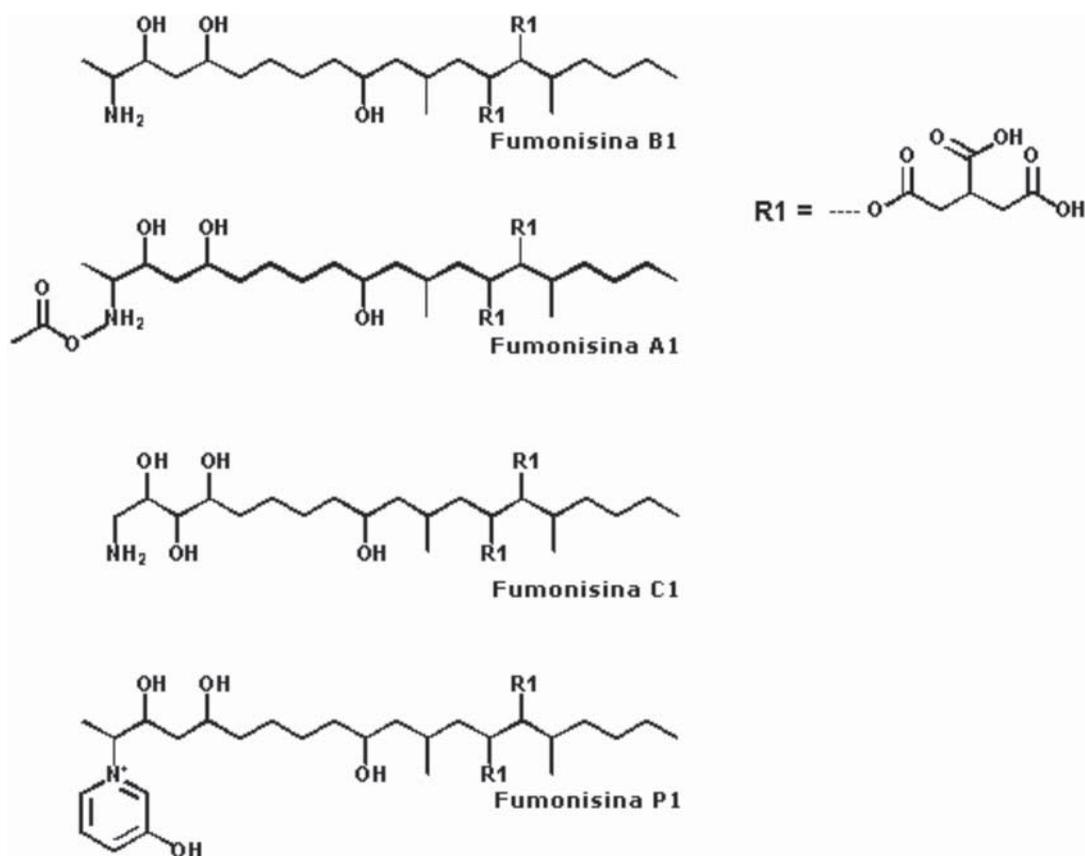


Figura 1. Estruturas moleculares das fumonisinas B1, A1, C1 e P1.

apresentam ainda estrutura semelhante às B, exceto pelo fato de terem um grupo hidroxipiridina ligado ao átomo de nitrogênio (Figura 1). As fumonisinas P podem estar presentes em até um terço dos níveis dos análogos FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> e FB<sub>3</sub>.

### 3 Genes Envolvidos na Biossíntese das Fumonisinas

A biossíntese das fumonisinas começa com a síntese de uma molécula linear de 20 carbonos chamada policetida. Esta molécula consiste de uma cadeia de 18 carbonos com um grupo metil no carbono 10 e outro metil no carbono 14. Até agora todas as evidências indicam que a formação desta policetida é catalisada por uma policetida-sintase codificada pelo gene denominado *FUM1* (PROCTOR et al., 2003). Presumivelmente, a formação da molécula de policetida envolve a condensação de 9 moléculas de malonil CoA e concomitante liberação de 9 moléculas de CO<sub>2</sub>. A biossíntese de ácidos graxos e de policetidas são processos muito similares nos fungos, uma vez que as enzimas policetidas-sintase fúngicas se assemelham muito com as ácidos-graxo-sintase fúngicas. Contudo ainda não está claro se as fumonisinas são derivadas de um ácido graxo ou de uma policetida porque ambos os tipos de compostos são derivados de acetato.

Os trabalhos em genética da produção de fumonisinas tiveram início na primeira metade da década de 1990, quando Desjardins et al. (1992) avaliaram a herdabilidade da produção de fumonisina B<sub>1</sub> em *G. fujikuroi* por meio de cruzamento de cepas produtoras, originárias dos Estados Unidos com cepas não produtoras, coletadas no Nepal. Os produtos dos cruzamentos foram analisados por cromatografia gasosa-espectrometria de massa. Os resultados obtidos indicaram que a FB<sub>1</sub> tanto poderia ser expressa por um único gene como por um cluster de genes, mas ainda não estava claro se eram alelos entre si.

Posteriormente, em estudos de variantes naturais e mutantes laboratoriais de *G. fujikuroi*, foram identificados quatro locos ligados denominados: *FUM1*, *FUM2*, *FUM3* e *FUM4* (DESJARDINS et al., 1996). Cepas defectivas do loco *FUM1* não produziram fumonisinas enquanto cepas defectivas no *FUM2* não foram capazes de hidroxilar o C-10 do esqueleto da fumonisina e, desta forma, produziam FB<sub>2</sub>, mas não produziam FB<sub>1</sub> nem FB<sub>3</sub> (DESJARDINS et al., 1996). No mesmo trabalho, os autores observaram que a maioria das cepas de *G. fujikuroi* produzia altos níveis de FB<sub>1</sub>, sendo esta hidroxilada nos carbonos C5 e C10. Contudo, algumas dessas cepas só produziam FB<sub>2</sub> ou FB<sub>3</sub>, sugerindo que estas últimas não realizavam hidroxilação nos carbonos C5 e C10. A análise genética destes fenótipos permitiu concluir que esta diferença era devido a genes diferentes que se localizavam em locos muito próximos, denominados *FUM2* e *FUM3*. Os resultados de outros testes revelaram que estes genes, *FUM2* e *FUM3* estariam ligados ao gene *FUM1*, o gene que parecia atuar na produção de fumonisina. A distância entre os genes *FUM1* e *FUM2* foi calculada em 6,2 cM. Assim, determinou-se que os genes *FUM1*,

*FUM2* e *FUM3* formavam um cluster para a produção de fumonisinas no cromossomo 1.

Igualmente, cepas portadoras de mutações no gene *FUM3* não foram capazes de hidroxilar o C-5 e, desta forma, produziram FB<sub>3</sub>, mas não produziram FB<sub>1</sub> nem FB<sub>2</sub> (DESJARDINS et al., 1996; PLATTNER et al., 1996). Cepas portadoras de mutações no gene *FUM4* produziram somente baixos níveis de FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> e FB<sub>3</sub> (PLATTNER et al., 1996).

Diferentes alelos do gene *FUM1* foram determinados, incluindo alelos não funcionais produtores e não produtores de fumonisinas. Os estudos dessas variantes levaram a concluir que este loco era requerido para a produção da toxina, e sua caracterização indicou que o gene *FUM1* codifica uma policetida sintase essencial para a síntese de toxina. *FUM1-1* é a designação para o alelo do tipo selvagem do gene *FUM1*. Pode-se contrastá-lo com o alelo *FUM1-2* que é um alelo não funcional identificado numa cepa de *F. verticillioides* do Nepal não produtora de fumonisinas (DESJARDINS et al., 2002).

Proctor et al. (1999), por análises bioquímicas, indicaram que as fumonisinas são um produto da síntese de policetidas ou de ácidos graxos. Os autores isolaram um gene com uma região codante de 7,8kb denominado *FUM5*. O produto traduzido *FUM5* foi altamente similar às policetidas de bactérias e de fungos tipo I. A transformação de *G. fujikuroi*, com um cosmídeo, carregando o gene *FUM5*, aumentou a produção em 3 cepas e ainda foi capaz de restaurar a produção do tipo selvagem num mutante não produtor de fumonisina. A inativação (*knockout*) do gene *FUM5* reduziu em mais de 99% a produção de fumonisina em *G. fujikuroi*. Juntos, esses resultados indicam que o gene *FUM5* codifica uma policetida sintetase requerida para a biossíntese de fumonisinas (PROCTOR et al., 1999, 2003).

Seo et al. (2001) identificaram os genes *FUM6*, *FUM7*, *FUM8* e *FUM9* adjacentes ao *FUM5*. O gene *FUM6* revelou ter uma região codante de 3593 pb de extensão com 3 íntrons de 61, 130 e 54 pb. O gene *FUM7* consistiu de uma ORF (*open reading frame*) de 1275pb sem indícios de íntrons, o *FUM8* com 2532pb e 4 íntrons de 74 a 128 pb de extensão e o *FUM9* com 903pb sem indícios de íntrons. Por análise da seqüência de nucleotídeos, verificou-se que a tradução do gene *FUM6* demonstra homologia com as proteínas citocromo P450 monooxigenase, P450 redutase e dos genes *FUM7*, *FUM8* e *FUM9* homologia a álcool desidrogenase tipo III, amino-transferases classe II e dioxigenases, respectivamente. O nocaute dos genes *FUM6* e *FUM8* revelou que estes são necessários para a produção de fumonisina e, pela técnica de northern blot, revelou-se que a expressão dos quatro genes (*FUM6*, *FUM7*, *FUM8* e *FUM9*) está correlacionada com a síntese da toxina. Juntos, estes dados concordam com as informações de que os genes compreendidos entre *FUM5* até *FUM9* formam parte de um cluster para a biossíntese de fumonisinas em *F. verticillioides*.

A disposição em cluster dos genes envolvidos na síntese das fumonisinas foi determinada molecularmente

por Proctor *et al.* (2003). Os autores identificaram 15 genes (denominados *FUM1* (=FUM5), *FUM6*, *FUM7*, *FUM8*, *FUM3* (=FUM9), *FUM10*, *FUM11*, *FUM12*, *FUM13*, *FUM14*, *FUM15*, *FUM16*, *FUM17*, *FUM18* e *FUM19*) dispostos em tandem e que estão direta ou indiretamente ligados à síntese da toxina (Figura 2).

Proctor *et al.* (2003) analisaram o papel de fumonisinas na infecção de milho por *G. fujikuroi*, interrompendo o gene *FUM1* (anteriormente denominado *FUM5*) que codifica uma policetida sintase que é requerida para a produção de fumonisinas, e que demonstrou não ser requerido para necrose ou infecção em folhas de milho. Os autores confirmaram, ainda, que os mutantes interrompidos nos genes *FUM17* e *FUM18* produziram FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> e FB<sub>3</sub> em quantidades similares às da cepa selvagem. O gene *FUM19* também foi deletado e seus transformantes produziram FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> e FB<sub>3</sub> *in vitro*. Como a interrupção dos genes *FUM17*, *FUM18* e *FUM19* não alterou a produção de fumonisinas, ficou demonstrado que esses genes não são essenciais para a biossíntese da toxina. Apesar disso, estes genes foram incluídos no cluster devido à sua localização e co-regulação com outros genes.

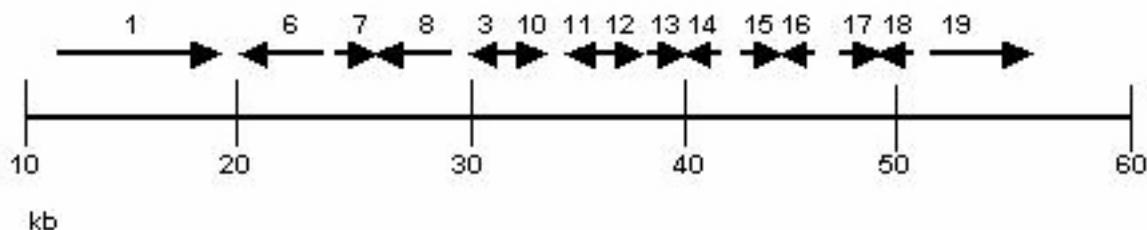
Até 2003, o gene *FUM9* era um dos sete no cluster dos genes envolvidos na síntese de fumonisinas, cuja função ainda não havia sido caracterizada. Butchko *et al.* (2003b) clonaram e seqüenciaram esse gene, e a

seqüência deduzida de aminoácidos foi comparada com bancos de dados, demonstrando que a seqüência é similar a diferentes dioxigenases dependentes de oxoglutarato. Mutantes deste gene apresentaram a produção somente de FB<sub>3</sub> e FB<sub>4</sub>. Em contraste, quando o *FUM9* permaneceu intacto, os transformantes produziram FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub> e FB<sub>4</sub>. Como a hidroxila do C-5 é a única estrutura ausente nas fumonisinas FB<sub>3</sub> e FB<sub>4</sub>, mas presente nas FB<sub>1</sub> e FB<sub>2</sub>, estes dados indicam que *FUM9* é requerido para a hidroxilação do C-5 no esqueleto carbonado de fumonisinas. Análises posteriores determinaram que os genes *FUM3* e *FUM9*, correspondem ao mesmo loco, sendo atualmente denominado *FUM3*.

Mutantes *FUM13* acumularam somente fumonisinas com um grupo cetônico no carbono 3 da estrutura geral da molécula, indicando que a enzima codificada por este gene parece catalisar a redução do grupo cetônico ao grupamento hidroxila. Esta função é compatível com a homologia de seqüência da proteína predita com outras enzimas, que catalisam a redução do grupo cetônico ao grupo hidroxila (BUTCHKO *et al.*, 2003a).

Um sumário dos fenótipos de cada um dos genes da via biossintética das fumonisinas está descrito na Tabela 1.

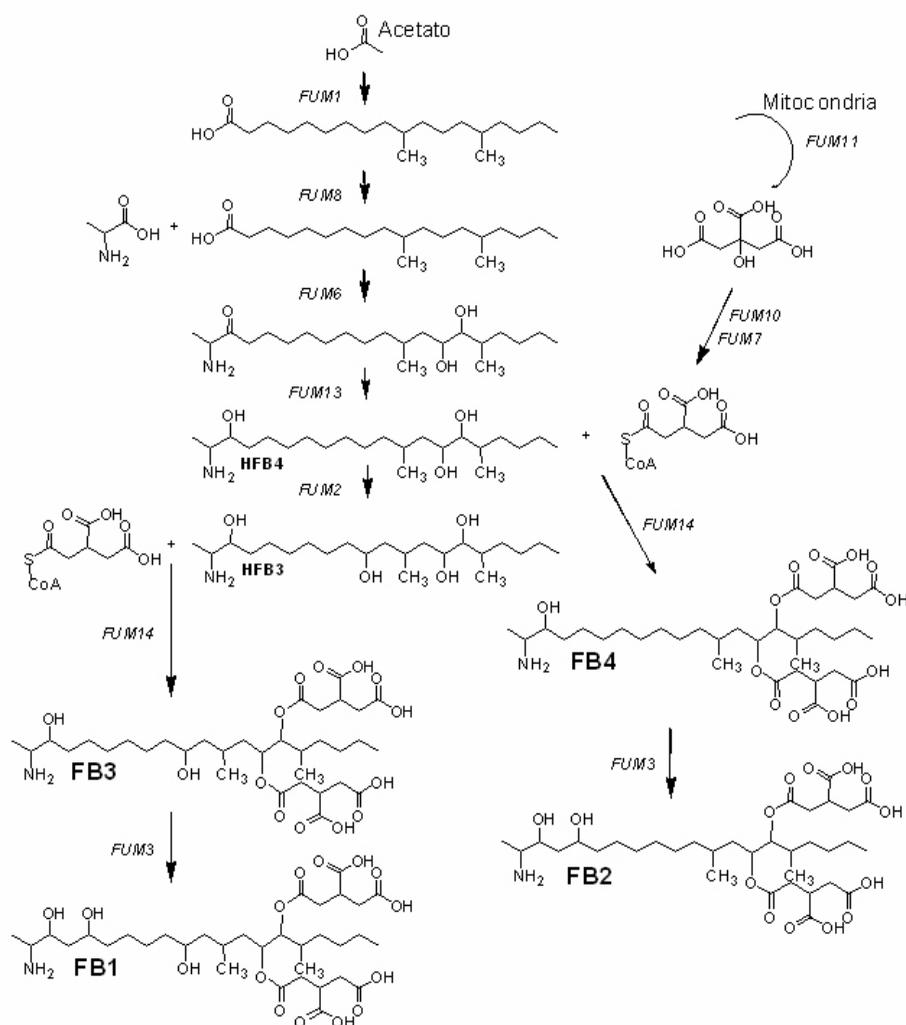
A via biossintética hipotética, bem como a função de cada um dos genes, está descrita na Figura 3.



**Figura 2.** Representação esquemática do cluster de genes codificantes para as enzimas de síntese das fumonisinas em *Fusarium verticillioides*. Números e setas representam os genes e o sentido de transcrição. Adaptado de Proctor *et al.* (2003).

**Tabela 1.** Genes *FUM* e suas funções putativas baseadas na análise e comparação da sua seqüência.

Gene	Função putativa baseada na similaridade da seqüência designada em genes com funções conhecidas
<i>FUM1</i> (=FUM5*)	Policetida Sintase
<i>FUM6</i>	Citocromo P450 Monooxigenase/Redutase
<i>FUM7</i>	Desidrogenase
<i>FUM8</i>	Oxamino Sintase
<i>FUM3</i> (=FUM9*)	Dioxigenase
<i>FUM10</i>	Acil-CoA Graxo Sintetase
<i>FUM11</i>	Transportador Tricarboxilato
<i>FUM12</i> (=FUM2*)	Citocromo P450 Monooxigenase
<i>FUM13</i>	Carbonil Redutase
<i>FUM14</i>	Domínio de Condensação Peptídeo Sintetase
<i>FUM15</i>	Citocromo P450 Monooxigenase
<i>FUM16</i>	Acil-CoA Graxo Sintetase
<i>FUM17</i>	Fator de Garantia de Longevidade
<i>FUM18</i>	Fator de Garantia de Longevidade
<i>FUM19</i>	Transportador ABC



**Figura 3.** Via bioquímica proposta para a produção de fumonisina, demonstrando as funções de cada um dos genes *FUM*. HFB<sub>3</sub> e HFB<sub>4</sub> são abreviações para fumonisina B<sub>3</sub> hidrolisada e fumonisina B<sub>4</sub> hidrolisada, respectivamente.

A proteína codificada pelo gene *FUM6* é predita como uma citocromo P450 monooxigenase/reductase, pois suas enzimas frequentemente catalisam reações de hidroxilação nos fungos. Sabe-se que *FUM6* é requerido para a produção de fumonisinas uma vez que, quando esse gene é inativado por interrupção, a síntese da toxina é interrompida. Sabe-se, contudo, que outros genes também participam do processo de hidroxilação das fumonisinas em outras posições.

Após a hidroxilação dos carbonos 14 e 15, o grupo carbonila do carbono 3 é reduzido a um grupo hidroxila. Esta reação é catalisada pela enzima desidrogenase codificada pelo gene *FUM13*. Em adição, os grupos de ácidos tricarbálicos são esterificados nos carbonos 14 e 15 via grupos hidroxila destas posições. Acredita-se que a molécula precursora do grupo de ácido tricarbálico seja o aconitato e que a desidrogenase codificada pelo *FUM7* esteja envolvida na conversão de aconitato a ácido tricarbálico. A acil-CoA codificada

pelo *FUM10* parece catalisar a ligação do ácido tricarbálico (=tricarbálico) e coenzima A (=CoA).

Finalmente, a reação de condensação da enzima codificada pelo gene *FUM14* catalisa a esterificação da CoA-tricarbálico com átomos de oxigênio nos carbonos 14 e 15. Se os genes *FUM10* e *FUM14* forem inativados em *Fusarium* spp, os mutantes resultantes produzirão somente fumonisinas hidroxiladas (i.e., fumonisinas que carecem de grupos de ácido tricarbálico).

O carbono 10 pode ser hidroxilado tanto antes quanto depois da reação de esterificação. Esta reação é catalisada pela citocromo P450 monooxigenase codificada pelo gene *FUM12*. O produto da hidroxilação no carbono 10 pode, então, ser modificado novamente para tornar-se fumonisina B<sub>3</sub> (FB<sub>3</sub>) e fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>). Se o carbono 10 não for hidroxilado, o produto pode se tornar fumonisina B<sub>4</sub> (FB<sub>4</sub>) ou fumonisina B<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>). Na figura 1 observa-se que as diferenças entre as FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub> e FB<sub>4</sub> consistem na presença ou ausência de grupos hidroxila nos carbonos 5 e 10.

#### 4 Controle da Expressão dos Genes Ligados à Produção de Fumonisinas

Aparentemente, nenhum dos 15 genes pertencentes ao cluster FUM apresenta função regulatória. Recentemente, porém, alguns genes foram descritos como possíveis reguladores da biossíntese de fumonisinas.

Todos os genes do cluster são expressos do mesmo modo em meio líquido utilizado para produzir fumonisinas; não se observa expressão durante os primeiros dias de incubação antes das fumonisinas serem detectadas no meio. A expressão dos genes aumenta com o tempo de acordo com o aumento dos níveis de fumonisinas nas culturas, o que indica que esses genes devam ser co-regulados.

Flaherty e Woloshuk (2004) isolaram o gene *PAC1* e, aparentemente, seu produto inibe a produção de fumonisinas em condições alcalinas. Os autores observaram que um mutante para o gene *PAC1* apresentou produção de FB<sub>1</sub> e expressão do gene *FUM1* em pH 8,4, enquanto que o isolado selvagem não produziu níveis detectáveis de FB<sub>1</sub>, e a expressão de *FUM1* foi até 45 vezes menor do que no mutante. Os resultados indicaram que o produto *PAC1* possivelmente atua como um repressor transcricional de genes estruturais das fumonisinas.

Outro gene, denominado *FCC1*, codifica proteínas semelhantes a ciclinas do tipo C, uma classe de proteínas envolvidas na ativação transcricional ou repressão de genes associados a respostas ao stress e desenvolvimento. Isolados de *F. verticillioides*, que possuem *FCC1* interrompido, não foram capazes de produzir FB<sub>1</sub> em milho. Observou-se também que o gene *FUM1*(=*FUM5*) não se expressou no isolado mutante. Quando o mutante, porém, foi cultivado em meio sintético, em condições ácidas, a produção de FB<sub>1</sub> foi restabelecida. A maneira com que a condição ácida restaura a capacidade de produção de toxinas ainda não é conhecida, no entanto, estes dados sugerem que o gene *FCC1* apresenta um papel muito importante na transdução de sinais na regulação da biossíntese de fumonisinas (SHIM; WOLOSHUK, 2001).

Identificou-se, recentemente, um terceiro gene (*ZFR1*), que parece atuar na regulação da síntese de fumonisinas. Este gene codifica uma proteína semelhante às da família do cluster binuclear Zn(II)2Cys6, que são reguladoras tanto do metabolismo primário quanto do secundário em fungos filamentosos. Mutantes com *ZFR1* interrompidos não foram capazes de produzir FB<sub>1</sub> em meio sintético e a produção em milho foi menor do que 10%, quando comparada à do isolado selvagem nas mesmas condições. Em adição, transcritos dos genes *FUM1* e *FUM8* não foram detectados por análise de northern blot. Com base nessas evidências, acredita-se que o produto do gene *ZFR1* seja um regulador positivo na biossíntese de fumonisinas (FLAHERTY; WOLOSHUK, 2004).

#### 5 Conclusões e Perspectivas

Os resultados relatados até o momento indicam

que mutações em genes do cluster *FUM* ou em genes reguladores da biossíntese de fumonisinas podem levar a fenótipos de produção da toxina diferenciados. No entanto, estudos visando à melhor elucidação dos papéis dos genes relacionados ao cluster são ainda necessários. Tão importante quanto a compreensão do papel dos genes na produção da toxina, o estudo dos sistemas de controle da expressão do cluster é essencial para o melhor entendimento dos mecanismos que regulam a síntese dessas moléculas. A associação dessas informações poderá ser utilizada no desenvolvimento de estratégias de manejo pré e pós colheita, visando à obtenção de produtos com melhor qualidade para serem consumidos tanto no mercado interno quanto externo.

#### Agradecimentos

J.E.Garcia é pesquisador bolsista do programa ProDoc/CAPES de fixação de doutores. Esse trabalho é resultado da monografia apresentada por R.S.Lorenzetti para a obtenção do título de Especialista em Bioquímica Aplicada na Universidade Estadual de Londrina. Os autores agradecem à Dra. Paula Sandrin-Garcia pela revisão do texto e ao Dr. Robert F.H. Dekker pela revisão do abstract.

#### Referências

- BEZUIDENHOUT, S. C. et al. Structure elucidation of fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *Journal of the Chemical Society Communications*, London, p. 743-745, 1988.
- BLACKWELL, B. A. et al. Production of Carbon 14-Labeled Fumonisin in Liquid Culture. *Journal of AOAC International, Gaithersburg*, v. 77, n. 2, p. 506-511, 1994.
- BLACKWELL, B. A. et al. NMR Structural Studies of Fumonisin B<sub>1</sub> and Related Compounds from *Fusarium moniliforme*. In: JACKSON, L.S.; DEVRIES, J.W.; BULLERMAN, L.B. *Fumonisins in Food*. New York: Plenum, 1996. p. 75-91.
- BOJJA, R.S. et al. Determining the biosynthetic sequence in the early steps of the Fumonisin Pathway by Use of Three Gene-Disruption Mutants of *Fusarium verticillioides*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 52, n. 10, p. 2855-2860, 2004.
- BRANHAM, B. E.; PLATTNER, R. D. Alanine is a Precursor in the Biosynthesis of Fumonisin B<sub>1</sub> by *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia, Dordrecht*, v. 124, n. 2, p. 99-104, 1993.
- BUTCHKO, R.A.E. et al. *FUM13* Encodes a Short Chain Dehydrogenase/Reductase Required for C-3 Carbonyl Reduction During Fumonisin Biosynthesis in *Gibberella moniliformis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 51, n. 10, p. 3000-3006, 2003a.
- BUTCHKO, R.A.E. et al. *FUM9* Is Required for C-5 Hydroxylation of Fumonisins and Complements the

- Meiotically Defined *Fum3* Loco in *Gibberella moniliformis*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 69, n. 11, p. 6935-6937, 2003b.
- CALDAS, E. D. et al. Biosynthetic Studies of Fumonisin B<sub>1</sub> and AAL Toxins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 46, n. 11, p. 4734-4743, 1998.
- CASA, R.T et al. Fungos associados à semente do milho produzida nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 23, p. 370-373, 1998.
- DESJARDINS, A.E. et al. Heritability of Fumonisin B<sub>1</sub> Production in *Gibberella fujikuroi* Mating Population A. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 58, n.9, p. 2799-2805, 1992.
- DESJARDINS, A.E. et al. Linkage Among Genes Responsible For Fumonisin Biosynthesis in *Gibberella fujikuroi* Mating Population A. *Applied Environmental Microbiology*, Washington, v. 62, n. 7, p. 2571-2576, 1996.
- DESJARDINS, A.E. et al. *FUM1* – A Gene Required for Fumonisin Biosynthesis But Not for Maize Ear Rot and Ear Infection by *Gibberella moniliformis* in field Tests. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, St. Paul, v.1 5, n. 11, p. 1157-1164, 2002.
- FLAHERTY, J.E.; WOLOSHUK C.P. Regulation of Fumonisin Biosynthesis in *Fusarium verticillioides* by a Zinc Binuclear Cluster-Type Gene, *ZFR1*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 70, n. 5, p. 2653-2659, 2004.
- GELDERBLOM, W. C. A. et al. Fumonisin – novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 54, n. 7, p. 1806-1811, 1988.
- MARASAS, W.F. Discovery and Occurrence of the Fumonisin: A historical perspective. *Environmental Health Perspectives. Research Triangle Park*, v. 109, p. 239-243, 2001.
- MARÍN, S. et al. Effect of water activity and temperature on growth and fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> production by *Fusarium proliferatum* and *Fusarium moniliforme* on maize grain. *Letters on Applied Microbiology*, Oxford, v. 21, p. 298-301, 1995.
- MERRILL, A.H. Jr et al. Sphingolipids—The Enigmatic Lipid Class: Biochemistry, Physiology, And Pathophysiology. *Toxicology and Applied Pharmacology*, Orlando, v. 142, n. 1, p. 208-225, 1997.
- MUSSER, S.M. et al. Identification of a New Series of Fumonisin Containing 3-Hydroxypyridine. *Journal of Natural Products (Lloydia)*, Cincinnati, v. 59, n. 10, p. 970-972, 1996.
- MUSSER, S. M.; PLATTNER, R. D. Fumonisin composition in cultures of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium nygami*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, Washington, v. 45, p. 1169-1173, 1997.
- NORRED, W.P. Fumonisin-mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, London, v. 38, suppl. Mar, p. 309-328, 1993.
- ONO, E. Y. S. et al. Post-harvested storage of corn: effect of beginning moisture content on mycoflora and fumonisin contamination. *Food Additives and Contaminants*, London, v. 19, n. 11, p. 1081-1090, 2002.
- PITT, J. I. Toxigenic Fungi: Which Are Important? *Medical Mycology*, Oxford, v. 38, suppl. 1, p. 17-22, 2000.
- PLATTNER R.D.; SHACKELFORD D.D. Biosynthesis of Labeled Fumonisin in Liquid Cultures of *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia*, Dordrecht, v. 117, p. 17-22, 1992.
- PLATTNER, R. D. et al. Analytical Determination of Fumonisin and Other Metabolites Produced by *Fusarium moniliforme* and Related Species on Corn. In: JACKSON, L.S.; DEVRIES, J.W.; BULLERMAN, L.B. *Fumonisin in Food*. New York: Plenum, 1996. p. 57-64.
- PROCTOR, R. H. et al. Polyketide Synthase Gene Required for Biosynthesis of Fumonisin Mycotoxins in *Gibberella fujikuroi* Mating Population A. *Fungal Genetics and Biology*, Orlando, v. 27, n. 1, p. 100-112, 1999.
- \_\_\_\_\_. et al. Co-expression of 15 Contiguous Genes Delineates a Fumonisin Biosynthetic Gene Cluster in *Gibberella moniliformis*. *Fungal Genetics and Biology*, Orlando, v. 38, p. 237-249, 2003.
- RHEEDER, J. P. et al. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 68, n. 5, p. 2101-2105, 2002.
- SEO, J. A. et al. Characterization of Four Clustered and Coregulated Genes Associated with Fumonisin Biosynthesis in *Fusarium verticillioides*. *Fungal Genetic and Biology*, Orlando, v. 34, p.155-165, 2001.
- SEO, J. A.; LEE, Y. W. Natural occurrence of the C series of fumonisins in moldy corn. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 65, p. 1331-1334, 1999.
- SHIM, W. B.; WOLOSHUK, C. P. Regulation of fumonisin B<sub>1</sub> biosynthesis and conidiation in *Fusarium verticillioides* by a cyclin-like (C-type) gene, *FCC1*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 67, n. 4, p. 1607-1612, 2001.
- UENO, Y. Risk of multi-exposure to natural toxins. *Mycotoxins*, Takamatsu, v. 50, p. 13-22, 2000.
- WANG, E. et al. Inhibition of Sphingolipid Biosynthesis by Fumonisin: Implications For Diseases Associated With *Fusarium moniliforme*. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v. 266, n. 22, p. 14486-14490, 1991.

---

**Rosana Suzuki Lorenzetti**

Especialista em Bioquímica Aplicada pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Docente da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

**Laurival Antonio Vilas-Boas**

Doutor em Genética e Melhoramento Vegetal pela Universidade Estadual Paulista (UNESP). Docente do Departamento de Biologia Geral da UFBA.

e-mail: <laurivalvboas@gmail.com>

**José Eduardo Garcia\***

Doutor em Genética pela Universidade de São Paulo (USP). Docente do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

e-mail: <jegarcia30@gmail.com>

**\* Endereço para correspondência:**

Departamento de Bioquímica e Biotecnologia, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid Pr445 Km380, Campus Universitário, Cx. Postal 6001, CEP 86051-990, Londrina, Paraná, Brasil.

---