



XXV ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES
VII MOSTRA ACADÊMICA DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

De 17 a 19 de outubro de 2017
Campus-Sede da UCS • Caxias do Sul



MORTE CELULAR NECRÓTICA INDUZIDA PELO FUNGICIDA CLOROTALONIL SOBRE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* E INTERFERÊNCIA NA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Luciane Maria Jahn (PIBIC-CNPq), Fernando Joel Scariot; Ana Paula Longaray Delamare, Sergio Echeverrigaray Laguna (Orientadora(a))

O clorotalonil é um fungicida normalmente utilizado durante o ciclo vegetativo das videiras, atualmente não apresenta seu modo de ação e mecanismo de morte celular completamente estabelecido, sendo descrito como um fungicida com atividade em múltiplos alvos. Dentro deste contexto, o objetivo do trabalho foi determinar o mecanismo de morte celular do fungicida clorotalonil sobre *S. cerevisiae*, e sua interferência em processos fermentativos. Para tanto, foram utilizadas leveduras com deleções em genes relacionados à apoptose ($\Delta aif1$, $\Delta nuc1$ e $\Delta yca1$), além da linhagem selvagem (BY4741) e para avaliação de fermentação, a cepa Y904. A concentração inibitória mínima foi determinada com diferentes concentrações de fungicida (0 a 40 μ M) por diferentes períodos de tempo (0 a 9 h) e avaliadas por plaqueamento por gota e contagem de unidades formadoras de colônias. A integridade de membrana citoplasmática foi avaliada por citometria de fluxo utilizando os corantes PI e SYTO9. Os ensaios fermentativos foram realizados em mosto sintético (24% de açúcar) contendo diferentes concentrações de clorotalonil (0 a 40 μ M) e avaliados diariamente por desprendimento de CO₂. O clorotalonil apresentou um efeito dose dependente sobre *S. cerevisiae*. O tratamento com 40 μ M de fungicida, por um período de seis horas foi a condição selecionada para os outros ensaios, por ter reduzido a viabilidade celular próximo a 35%. Uma comparação entre a viabilidade da levedura selvagem e os mutantes deletados, quando tratados com clorotalonil, mostrou não haver uma tendência clara de redução de mortalidade nos mutantes, indicando que a morte das leveduras ocorre preferencialmente através de processo necrótico e não apoptótico. Fato condizente com a avaliação da integridade da membrana citoplasmática, onde observou-se que o clorotalonil leva a um aumento na quantidade de leveduras com alterações na membrana citoplasmática (marcador necrótico) em comparação com as células sem tratamento. As curvas de fermentação mostraram que a adição de 40 μ M de clorotalonil inibiu completamente a fermentação, mas em menores dosagens, o fungicida determinou um atraso dose dependente, com um aumento de 1, 3, 5, 9 e 13 dias na presença de 1,25; 2,5; 5; 10 e 20 μ M de clorotalonil, respectivamente. Os resultados mostram que o clorotalonil leva a levedura *S. cerevisiae* a morte celular por necrose, além disso, o fungicida interfere na fermentação, atrasando o início da mesma, com um efeito dose dependente.

Palavras-chave: Levedura, Viabilidade, Tetrachloroisophthalonitrile

Apoio: UCS, CNPq, CAPES