

INTRODUÇÃO

Citral é um monoterpene formado pela mistura isomérica de geranial e neral, sendo o terpeno majoritário em óleos essenciais de plantas como citronela, verbena, capim-limão e melissa (Bakkali *et al.*, 2008). Estudos mostram que citral é um composto com potencial antifúngico, entretanto a forma como ele atua sobre estes microrganismos ainda precisa ser elucidada. O objetivo deste trabalho foi definir o modo de ação do monoterpene citral sobre *Saccharomyces cerevisiae*.



METODOLOGIA

Para os ensaios de viabilidade a *S. cerevisiae* linhagem BY4741, foi crescidas em meio YEPD até atingir fase exponencial de crescimento, após as células foram tratadas com diferentes concentrações de citral (0; 1,5; 2,0 e 3,0 mM), amostras foram retiradas em diferentes tempos (0 até 6 horas). As demais metodologias estão representadas na figura 1.

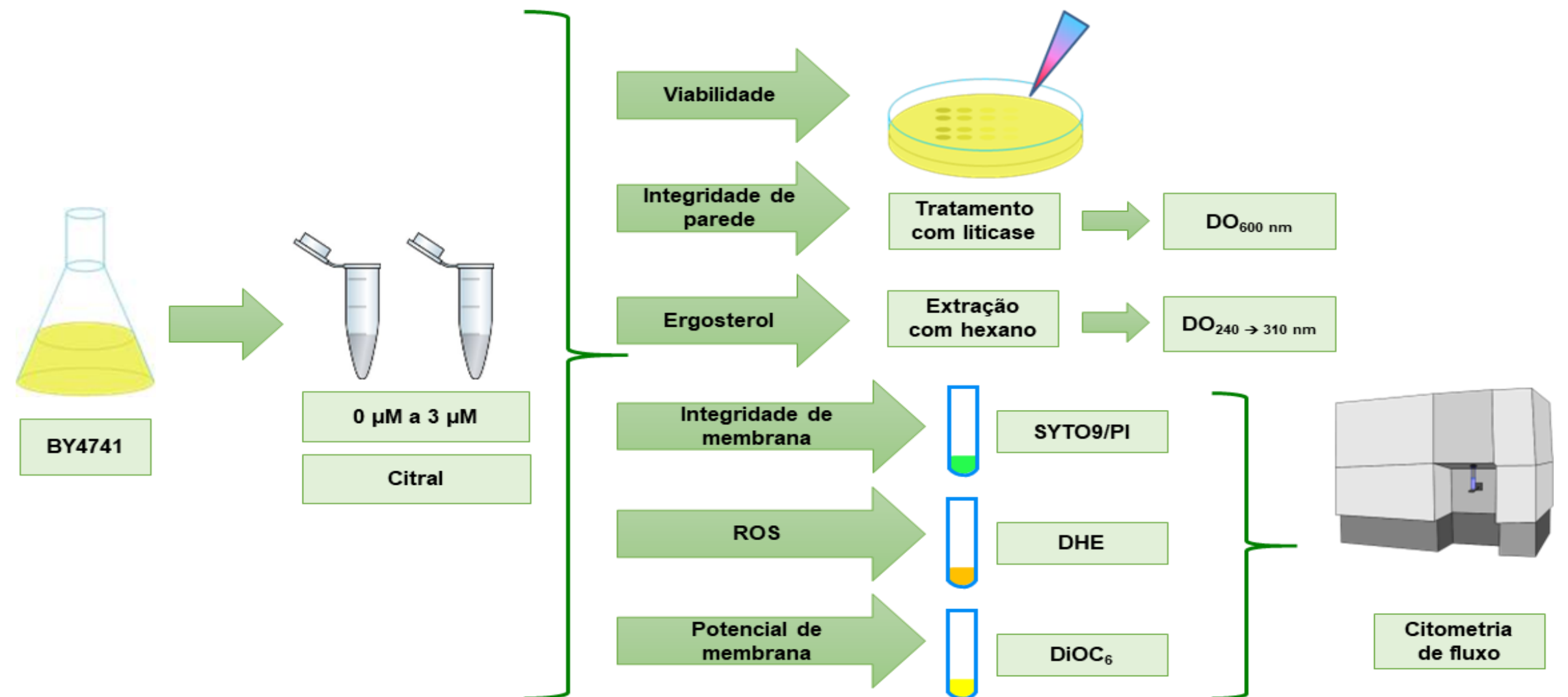
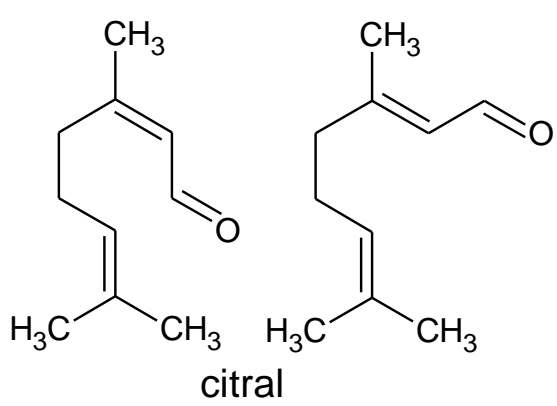


Fig 1. Esquema das metodologias utilizadas no trabalho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da viabilidade celular mostrou efeito agudo do citral sobre *S. cerevisiae*, reduzindo a viabilidade proporcionalmente à dose e ao tempo (Fig 2).

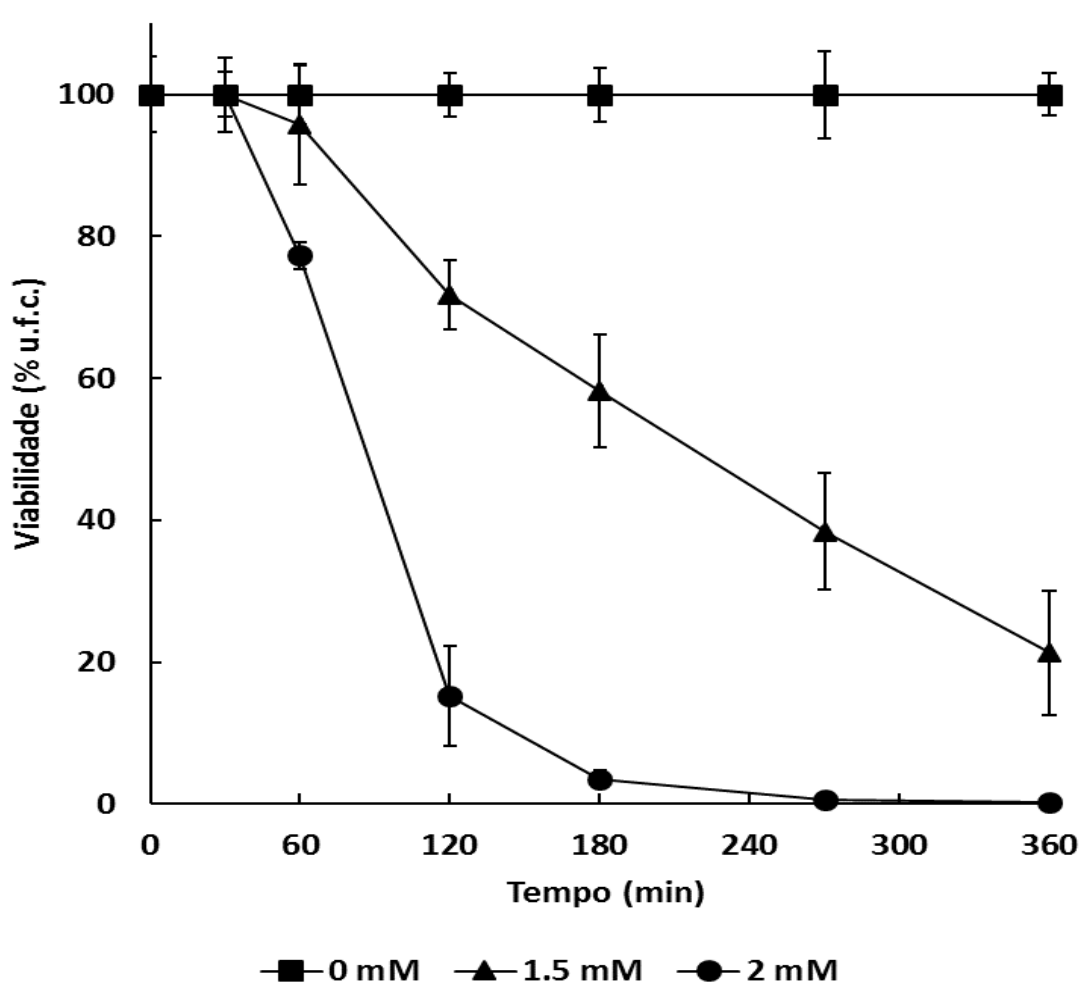


Fig 2. Curvas de viabilidade celular com diferentes concentrações de citral.

A partir da avaliação do efeito do citral sobre a parede celular observou-se que a adição de 1,5 mM de citral foi suficiente para causar danos (Fig 3), além disso essa concentração aumentou o número de células com perda de integridade da membrana celular em 65,8% (Fig 4B). As interações entre as membranas das células da levedura e os monoterpenos altera suas funções e estrutura, afetando seu crescimento e atividades celulares (Brennan *et al.*, 2013).

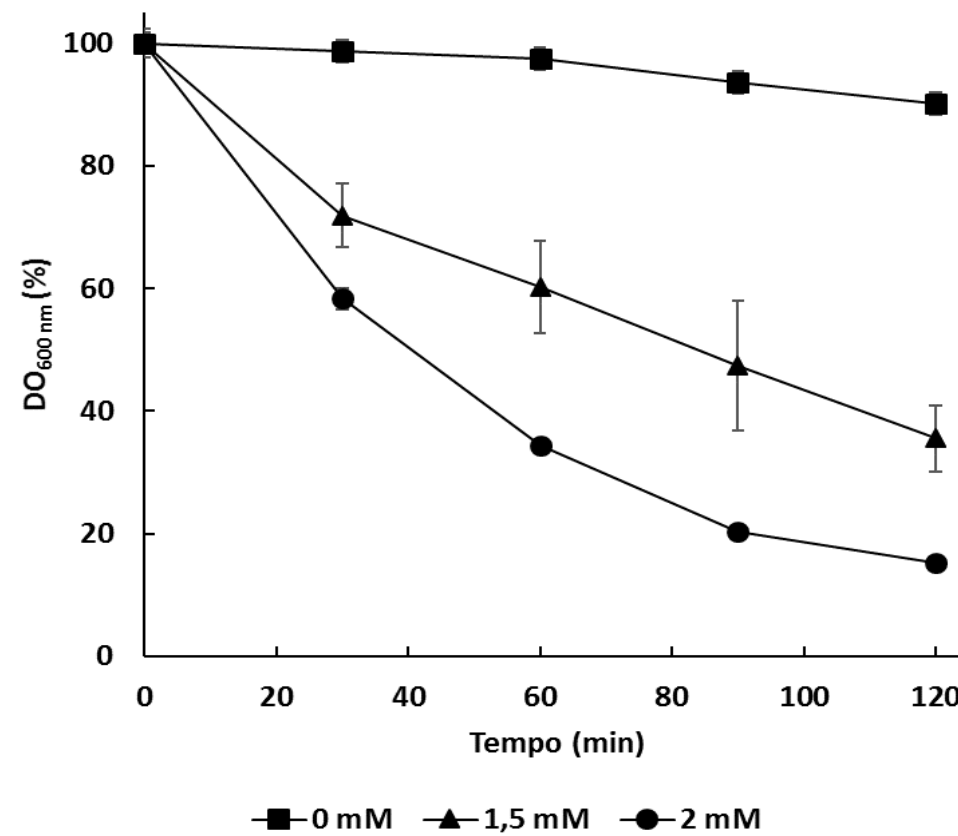


Fig 3. Curvas de susceptibilidade a litase com diferentes concentrações de citral.

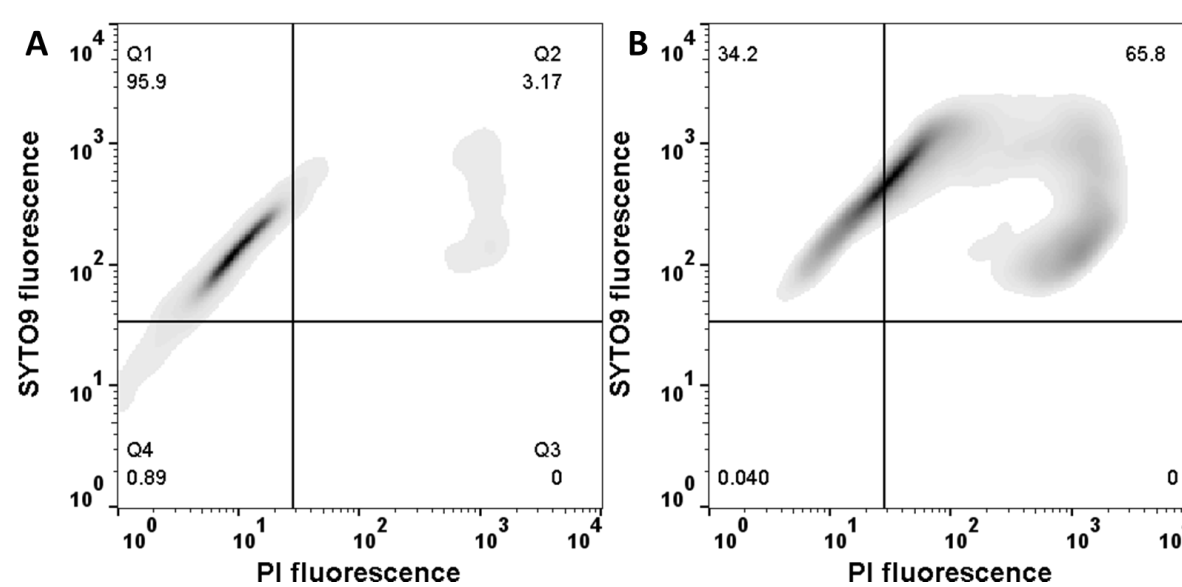


Fig 4. Efeito do citral sobre a integridade de membrana celular. A- controle; B- células tratadas com citral 1,5 mM. Os números internos indicam a percentagem de células em cada quadrante.

O efeito do citral sobre a concentração intracelular de ergosterol indica uma redução do mesmo de forma proporcional a concentração de citral utilizada (Fig 5), podendo explicar o efeito observado deste terpenóide sobre a membrana celular.

As leveduras tratadas com 1,5 mM de citral apresentaram um aumento de 2,3 x no acúmulo intracelular de ROS (Fig 6A).

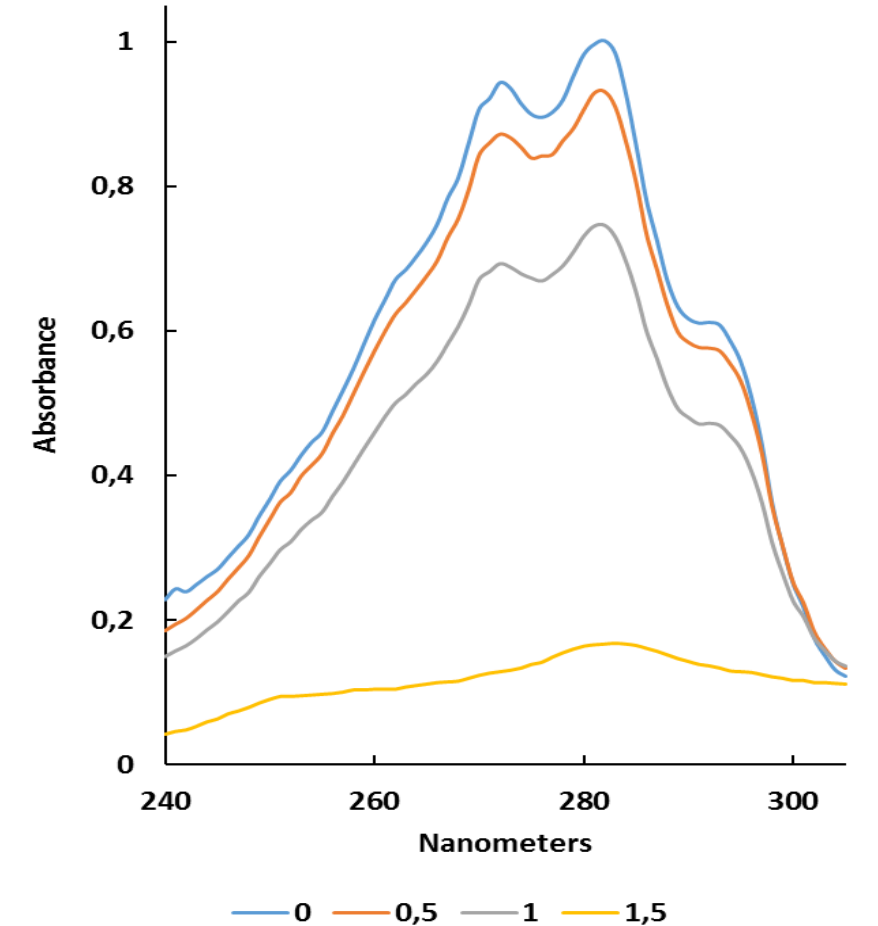


Fig 5. Perfil do conteúdo intracelular de ergosteróis após o tratamento com diferentes concentrações de citral.

Alterações na concentração intracelular de ROS podem estar relacionadas com disfunções na mitocôndria, portanto avaliou-se o potencial da membrana mitocondrial (Fig 6B) e observou-se um aumento na fluorescência quando as células foram tratadas com citral, caracterizando um processo de hiperpolarização da membrana mitocondrial.

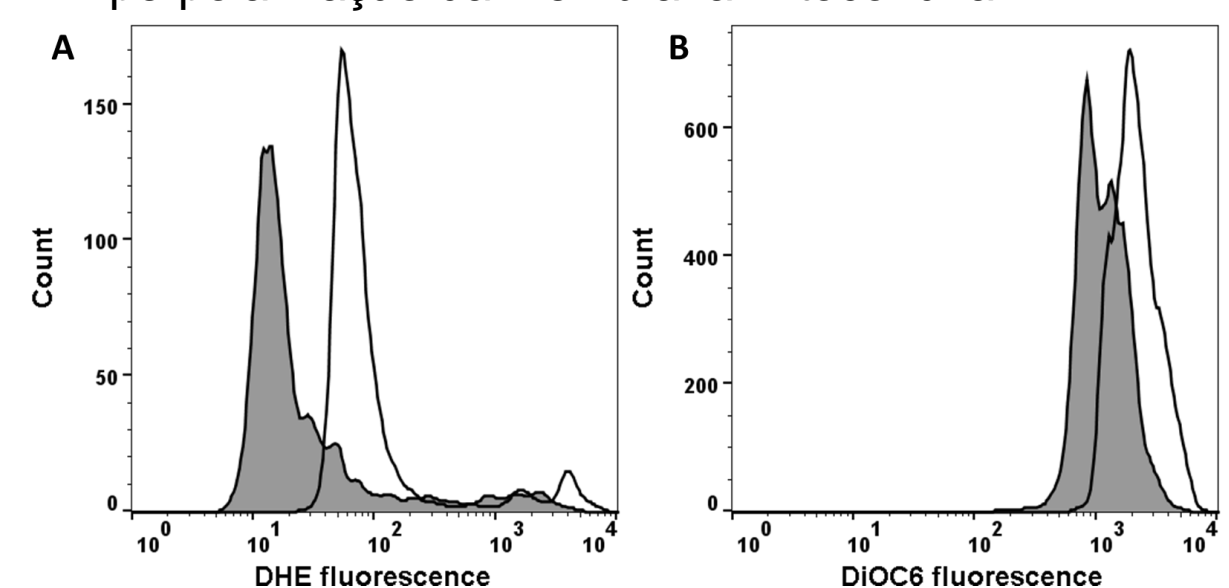


Fig 6. Acúmulo intracelular de ROS (A) e potencial de membrana mitocondrial (B) em células tratadas com 1,5 mM de citral (área branca) e não tratadas (área cinza).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados indicam que o citral atua principalmente sobre as membranas (celular e mitocondrial) e parede celular, levando a uma redução na concentração intracelular de ergosterol e um aumento no acúmulo de ROS nas células.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- Bakkali *et al.* (2008). **Food Chem Toxicol.** 46(2): 446-475.
 Brennan *et al.* (2013). **Appl Environ Microb.** 79(12): 3590-3600.

AGRADECIMENTOS

