

UNIVERSITA' degli STUDI di PARMA



Dipartimento di Bioscienze
Corso di Laurea in Biologia

Modulazione dello stato ossidoriduttivo di *Aspergillus flavus* da parte di un derivato tiosemicarbazonico della cuminaldeide

Relatore: Francesco M. Restivo
Correlatrice: Francesca Degola

Laureando: Gianluigi Giannelli

Anno accademico 2014/2015

aflatox

«Modulazione dello stato ossidoriduttivo di *A. flavus* da parte di un derivato tiosemicarbazonico della cuminaldeide»

L'attività svolta durante il periodo di tirocinio rientrava nell'ambito di un ampio progetto di ricerca incentrato sulla caratterizzazione dell'attività biologica di alcune molecole di sintesi, note come *tiosemicarbazoni*, sul fungo fitopatogeno e tossigeno *Aspergillus flavus*. Nello specifico, il mio studio ha riguardato la molecola 3-isopropilbenzaldeide-tiosemicarbazone (TioY), modificazione strutturale del tiosemicarbazone della cuminaldeide; lo scopo era quello di valutare l'effetto di questa sostanza sul fungo, in particolare sul metabolismo, sulla biosintesi di aflatoxina e sull'equilibrio ossidoriduttivo.

Il potenziale di inibizione di Tio Y sulla sintesi della tossina è stato determinato con un sistema di coltura in piastra multipozzetto, somministrando al fungo diverse concentrazioni della sostanza; la procedura consente di determinare la concentrazione di aflatoxina nel terreno di crescita attraverso la quantificazione dell'intensità di fluorescenza alla lunghezza d'onda di 360nm. E' stato condotto un confronto con una batteria di noti antiossidanti.

L'effetto di Tio Y sull'accrescimento del fungo è stato stimato misurando l'accrescimento radiale di colonie di *A. flavus* cresciute in terreno agarizzato addizionato con la sostanza. Eventuali danni indotti dalla sostanza a livello morfologico sono stati valutati tramite analisi con microscopia elettronica a scansione (SEM), mentre possibili alterazioni nel metabolismo respiratorio sono state poi indagate attraverso la misurazione di CO₂ prodotta dal micelio del fungo trattato.

Tramite Real-Time PCR sono stati validati a livello trascrittomico alcuni risultati ottenuti precedentemente dall'analisi del proteoma, che avevano identificato 12 proteine differenzialmente espresse nel fungo trattato con Tio Y.

Le proprietà antiossidanti della sostanza sono state indagate più nel dettaglio grazie all'uso dell'organismo modello *Saccharomyces cerevisiae*: innanzitutto è stato valutato il rescue da stress ossidativo perossido-indotto confrontando l'efficacia di Tio Y rispetto ad altri antiossidanti noti; in un secondo momento, invece, la diversa sensibilità agli antiossidanti di due ceppi recanti differenti mutazioni puntiformi a carico della Dna-polimerasi mitocondriale (Poly) è stata sfruttata per cercare di caratterizzare meglio l'attività biologica del tiosemicarbazone.