

Simpósio de Integração Acadêmica

“Ciências Básicas para o Desenvolvimento Sustentável”

SIA UFV 2023

UFV
Universidade Federal
de Viçosa

Perfil proteico, potencial antimicrobianos e toxicidade de peptídeos básicos de glicinina-like de sementes de girassol para desenvolver fitodefensivos

MENDES, Kausely Ayane Almeida Andrade¹; BARACAT-PEREIRA, Maria Cristina²; COSTA, Beatriz Lovisi³

^{1 2 3 2}

Graduação, Bioquímica, UFV; Professora DBB, UFV, Graduação, Engenharia Química, UFV; E-mail: kausely.mendes@ufv.br

Grande Área: Ciências Agrárias/ Área Temática: Bioquímica / Categoria do trabalho: Pesquisa / Bolsa: PIBIC -CNPQ

Peptídeos antimicrobianos, peptídeos básicos de glicina (GBP), GBP-like.

Introdução

A resistência microbiana aos agentes de defesa agrícola ou fármacos disponíveis é uma grave ameaça à saúde pública. Peptídeos básicos de glicinina (GBPs), caracterizados como peptídeos antimicrobianos (AMPs), são opções potenciais para o controle de doenças e resistência aos microrganismos, com mecanismos de ação diferentes dos antimicrobianos convencionais. Apresentam espectro de ação amplo ou restrito, e possuem em geral rápida ação com baixa citotoxicidade para homens e animais. O genoma de girassol (*Helianthus annuus*) possui proteínas de reserva glicininas-like, sendo fontes simples e de farta quantidade de proteínas funcionais e de baixo custo para preparar agentes de defesa

Objetivos

Este trabalho objetivou a geração de defensivos de inovação, sementes de girassol foram germinadas, extratos foram preparados e o potencial antimicrobiano contra microrganismos patogênicos e sua toxicidade teórica foram avaliados.

Materiais e Métodos

Sementes de girassol foram germinadas por 48 e 72h em temperatura ambiente e armazenadas a -80°C até o uso. Para preparar os extratos, foram maceradas na proporção 1:10 (10 mL de solução por grama de semente macerada) com Tris-HCl 50 mM, pH 6,8, e na presença de EDTA 10mM, PMSF 1mM, benzamidina 1mM e tiourea 2mM. O extrato foi centrifugado a 20.100 x g por 30 minutos a 4 °C. Ao sobrenadante foi adicionado solução de acetona gelada contendo TCA 10% (v/v) e DTT 1 mM na proporção de 1:6 em volume, permanecendo overnight em um freezer a -20 °C. Cada amostra foi, em seguida, centrifugada a 20.100 x g por 30 min a 4 °C e o sobrenadante foi descartado. Os pellets foram lavados com acetona gelada e DTT 1 mM na proporção de 1:6 e centrifugado novamente a 20.100 x g por 30 min a 4 °C, procedimento que repetiu-se 4 vezes. Após, o pellet formado foi ressuspenso em etanol 80% (v/v) contendo DTT 1 mM na proporção de 1:6, centrifugado a 20.100 x g por 30 min a 4 °C, o sobrenadante foi descartado e o pellet foi seco em temperatura ambiente. Este pellet, contendo as proteínas das sementes de girassol, foi ressolubilizado em solução de Tris- HCl 25 mM e purificado por ultrafiltração em membrana de 30 kDa e 10 kDa. As frações obtidas, menor que 10kDa e entre 30kDa e 10kDa foram concentradas em speed-vac e utilizadas amostras em diferentes concentrações (1x, 5x e 10x) para avaliar o potencial antimicrobiano.

Apoio financeiro



BACTÉRIAS / FUNGOS – ativação bactérias / leveduras dia anterior (100 µL estoque da bactéria / levedura + 5 mL meio LB 1x / YPD 1x), crescimento O.N (± 16h, 37 / 30 °C , sob agitação 180 rpm), , preparo placa de petri (30 mL meio LB 1x / YPD 1x ágar + 1 mL cultivo bactéria / levedura), esperar meio solidificar, fazer furos com ponta de encache (ponteira P200) para os tratamentos (4 furos por placa), esperar tratamentos difundir no ágar (secar) e após encubar 24h (37 / 30 °C)

BACTÉRIAS – ativação bactérias dia anterior (100 µL estoque da bactéria + 5 mL meio LB 1x), crescimento O.N (± 16h, 37 °C , sob agitação 180 rpm), diluição 1:3 (5 mL cultivo + 10 mL meio LB 1x), encubar novamente, medir D.O até atingir 0.5 e montar tratamentos em microplaca (96 poços)

FUNGOS – ativação leveduras dia anterior (100 µL estoque da levedura + 5 mL meio YPD 1x), crescimento O.N (± 16h, 30 °C , sob agitação 180 rpm), diluição 1:3 (5 mL cultivo + 10 mL meio YPD 1x), encubar novamente, medir D.O até atingir 0.1 e montar tratamentos em microplaca (96 poços)

Resultados

Foram realizados testes antimicrobianos em bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e em leveduras, *Rhodotorula mucilaginosa* e *Saccharomyces pastorianus*, com inibição parcial dos microrganismos avaliados.

Discussão e Conclusões

Os resultados dessas análises destacam que o uso de peptídeos básicos de glicinina (GBS) presentes em sementes de girassol germinadas, são poderosos fitodefensivos, contendo potencial antimicrobiano e sendo agentes de defesa efetivos e de baixo custo para o agronegócio.

Bibliografia

URDANGARÍN, M. C. et al. A defensin gene expressed in sunflower inflorescence. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 38, n. 3, p. 253–258, 2000.

WANG, J. et al. Antimicrobial peptides: Promising alternatives in the post feeding antibiotic era. *Med Res Rev* 39(3):831-859, 2019.

Agradecimentos

