



PURIFICAÇÃO PARCIAL DE FRAÇÕES PEPTÍDICAS DE *Capsicum chinense* JACQ E ATIVIDADE INIBITÓRIA DO CRESCIMENTO DO FUNGO *Colletotrichum scovillei* CAUSADOR DA ANTRACNOSE

Larissa Maximiano Resende, Arielle Pinheiro Bessiatti Fava Oliveira, Lorrán Yves Machado De Sousa, Mariana Agueiras Carvalho, Érica De Oliveira Mello, Gabriel Bonan Taveira, André De Oliveira Carvalho, Rosana Rodrigues, Valdirene Moreira Gomes

O cultivo de pimentas sofre constantemente com ataque de microrganismos, como por exemplo fungos do gênero *Colletotrichum* que causam a doença antracnose. Uma alternativa é o desenvolvimento de cultivares que apresentam arcabouço defensivo a doenças. A investigação de componentes naturais pode auxiliar na compreensão de mecanismos de resistência das plantas a patógenos e auxiliar na mitigação do impacto dessas doenças. Os peptídeos antimicrobianos (AMPs) são proteínas de baixa massa molecular que apresentam amplo espectro de atividade inibitória contra microrganismos. O gênero *Capsicum* têm se mostrado uma fonte promissora de diversidade de AMPs. O objetivo desse trabalho é identificar e caracterizar AMPs em frutos do gênero *Capsicum* e avaliar o potencial de inibição no crescimento de fungos da espécie *Colletotrichum scovillei*. Os AMPs foram extraídos do pericarpo de pimentas *Capsicum chinense* acesso UENF 1751. O extrato foi submetido as etapas de cromatografia troca iônica, exclusão molecular e fase reversa em sistema HPLC para purificação das proteínas e espectrometria de massas para caracterização por famílias de AMPs segundo similaridade. Foram identificados cinco picos de absorbância de acordo com o tempo de retenção na coluna C18/C18 em sistema de HPLC. As frações foram separadas e nomeadas F1-F5. A fração F4 que apresentou uma única banda proteica com aproximadamente 6,5 kDa foi submetida a espectrometria de massas e os peptídeos obtidos foram comparados no banco de dados Ncbi Blastp e mostraram similaridade de 86-93% com inibidores de proteases do tipo PIN II, este peptídeo foi nomeado CcF4-PinII. As demais frações estão sobre investigação da massa molecular que apresentam. CcF4-PinII em 50 µg.mL é capaz de inibir em 30% a atividade enzimática da enzima tripsina. Avaliamos o potencial das frações F1- F5 sobre a inibição do crescimento do fungo *C. scovillei* com 2.000 células/poço a 30°C por 48 horas. A fração F1 na concentração 100 µg.mL foi capaz de inibir 90% do crescimento do fungo. As próximas etapas de trabalho serão caracterizar e investigar o mecanismo de ação que F1 causa sobre a inibição do crescimento de *C. scovillei* fungo através de análises microscópicas com sondas fluorescentes. Com os resultados obtidos esperamos descrever novos peptídeos antimicrobianos de plantas do gênero *Capsicum* e contribuir nos estudos proteômicos sobre o potencial biotecnológico de AMPs na melhoria do manejo da cultura das pimentas.

PALAVRAS-CHAVE: AMPs, Inibição do crescimento de fungos, Pimenta

Programa de Pós graduação em Genética e Melhoramento de Plantas
Bolsista CAPES



PARTIAL PURIFICATION OF *Capsicum chinense* JACQ PEPTIDE FRACTIONS AND GROWTH INHIBITORY ACTIVITY OF THE FUNGUS *Colletotrichum scovillei* CAUSING ANTHRACNOSIS

Larissa Maximiano Resende, Arielle Pinheiro Bessiatti Fava Oliveira, Lorrán Yves Machado De Sousa, Mariana Agueiras Carvalho, Érica De Oliveira Mello, Gabriel Bonan Taveira, André De Oliveira Carvalho, Rosana Rodrigues, Valdirene Moreira Gomes

The crop peppers is constantly attacked by microorganisms, such as fungi of the genus *Colletotrichum* that cause the disease anthracnose. An alternative is the development of cultivars that have a defensive framework against diseases. The investigation of natural components can help to understand the mechanisms of plant resistance to pathogens and help to mitigate the impact of these diseases. Antimicrobial peptides (AMPs) are low molecular weight proteins that have a broad spectrum of inhibitory activity against microorganisms. The *Capsicum* genus has been shown to be a promising source of AMP diversity. The objective of this work is to identify and characterize AMPs in fruits of the genus *Capsicum* and to evaluate the potential for inhibiting the growth of fungi of the species *Colletotrichum scovillei*. The AMPs were extracted from the pericarp of *Capsicum chinense* peppers accession UENF 1751. The extract was submitted to the steps of ion exchange chromatography, molecular exclusion and reversed phase in HPLC system for protein purification and mass spectrometry for characterization by AMP families according to similarity. Five absorbance peaks were identified according to retention time in the C18/C18 column in an HPLC system. Fractions were separated and named F1-F5. The F4 fraction that presented a single protein band with approximately 6.5 kDa was submitted to mass spectrometry and the peptides obtained were compared in the Ncbi Blastp database and showed 86-93% similarity with PIN II protease inhibitors, this peptide was named CcF4 -PinII. The other fractions are under investigation of their molecular mass. CcF4-PinII at 50 µg.mL is capable of inhibiting the enzymatic activity of the trypsin enzyme by 30%. We evaluated the potential of F1-F5 fractions to inhibit the growth of the fungus *C. scovillei* with 2,000 cells/well at 30°C for 48 hours. The F1 fraction at a concentration of 100 µg.mL was able to inhibit 90% of the fungus growth. The next work steps will be to characterize and investigate the mechanism of action that F1 causes on the inhibition of the growth of *C. scovillei* fungus through microscopic analysis with fluorescent probes. With the results obtained, we hope to describe new antimicrobial peptides from plants of the genus *Capsicum* and contribute to proteomic studies on the biotechnological potential of AMPs to improve the management of pepper crops.

KEYWORDS: AMPs, Inhibition of fungal growth, Pepper