

**XU** Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



**U III** Congresso Fluminense de Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## Peptídeos defensinas-like de *Capsicum chinense* induzem aumento de ROS, perda da funcionalidade mitocondrial e redução do crescimento do fungo causador da antracnose

Larissa Maximano Resende, Érica de Oliveira Mello, Arielle Pinheiro Bessiati Fava OliveirA, Felipe Figueiroa Moreira, Sérgio Henrique Seabra, André Teixeira Ferreira, Jonas Perales, Gabriel Bonan Taveira, André de Oliveira Carvalho, Rosana Rodrigues, Valdirene Moreira Gomes

Os fungos são um dos maiores patógenos de plantas. O estudo de componentes antifúngicos naturais surge como alternativa para mitigar esse problema, produzindo conhecimento a ser utilizado no desenvolvimento de cultivares resistentes ou agentes naturais de controle. As pimentas e pimentões do gênero *Capsicum* são uma fonte promissora de diversos peptídeos antimicrobianos (AMPs). No presente estudo, identificamos dois peptídeos da família das defensinas em uma fração antifúngica obtida dos frutos da pimenta *Capsicum chinense*. Além disso, determinamos o mecanismo de ação desses AMPs na inibição do crescimento de *Colletotrichum scovillei*. O extrato rico em AMPs foi obtido do pericarpo de pimentas *C. chinense* e foi submetido a cromatografia de troca iônica, exclusão molecular e fase reversa. As frações peptídicas obtidas foram submetidas a avaliação do potencial inibitório do crescimento de *C. scovillei*. Analisamos o aumento endógeno de espécies reativas de oxigênio (ROS), perda de funcionalidade mitocondrial e ultraestrutura de hifas. Por fim, os peptídeos da fração que apresentou potencial para inibir o crescimento fúngico foram identificados por espectrometria de massas. Os peptídeos da fração G3, obtida em cromatografia de exclusão molecular, foram separados por cromatografia de fase reversa. Foram obtidas frações denominadas F1, F2, F3, F4 e F5. A fração F1 a 100, 50 e 25 µg/mL inibiu o crescimento de *C. scovillei* em 90, 70,4 e 44%, respectivamente. O IC<sub>50</sub> e a concentração inibitória mínima em 24 h foram determinados em 21,5 µg/mL e 200 µg/mL, respectivamente. O mecanismo de inibição do crescimento fúngico envolve mecanismos químicos, como o estresse oxidativo, e físicos, como a destruição de estruturas e organelas. Observamos aumento de ROS, que possivelmente levou ao *burst* oxidativo, perda da funcionalidade mitocondrial e retração do citoplasma, além de aumento de vacúolos possivelmente autofágicos. A análise MS/MS da fração F1 revelou que esta fração era rica em dois peptídeos da família das defensinas. Também verificamos que a fração F1 inibe a atividade de α-amilases de insetos. Em resumo, a fração F1 de *C. chinense* apresenta atividade antifúngica contra um importante fungo patógeno de pimentas causador da antracnose. Essas defensinas são candidatas para futuras investigações de aplicações biotecnológicas antifúngicas e inseticidas. Este trabalho contribui para o desenvolvimento de tecnologias voltadas ao aprimoramento do cultivo de pimentas a partir de estudos de proteínas envolvidas no processo de defesa da planta.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Pós graduação em Genética e Melhoramento de Plantas

Eixo temático: Análise genômica

Fomento da bolsa (quando aplicável): CAPES

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XU** Congresso  
Fluminense  
de Iniciação  
Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**

Encontro de  
Iniciação  
Científica  
da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de  
Iniciação  
Científica do  
IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de  
Iniciação  
Científica  
da UFF



**U III** Congresso  
Fluminense de  
Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UFF

## Defensin-like peptides from *Capsicum chinense* induce increased ROS, loss of mitochondrial functionality, and reduce the growth of the fungus that causes anthracnose

Larissa Maximano Resende, Érica de Oliveira Mello, Arielle Pinheiro Bessiati Fava Oliveira, Felipe Figueiroa Moreira, Sérgio Henrique Seabra, André Teixeira Ferreira, Jonas Perales, Gabriel Bonan Taveira, André de Oliveira Carvalho, Rosana Rodrigues, Valdirene Moreira Gomes

Fungi are one of the largest and most important plant pathogens. Studies of natural antifungal components appear as an alternative to mitigate this problem, producing knowledge to be used in the development of resistant cultivars or natural control agents. The peppers and chilies of the genus *Capsicum* are a promising source of diverse antimicrobial peptides (AMPs). In the present study, we identified two peptides from the defensin family in an antifungal fraction obtained from *Capsicum chinense* pepper fruits. Furthermore, we determined the mechanism of action of these AMPs in inhibiting the growth of *Colletotrichum scovillei*. The amp-rich extract was obtained from the pericarp of *C. chinense* peppers and was subjected to ion exchange, molecular exclusion, and reverse phase. The obtained peptide fractions were submitted to the evaluation of the inhibitory potential of the growth of *C. scovillei*. We analyzed the endogenous increase in reactive oxygen species (ROS), loss of mitochondrial functionality, and ultrastructure of hyphae. Finally, the peptides of the fraction that showed the potential to inhibit fungal growth were identified by mass spectrometry. The peptides of the G3-fraction, obtained by molecular exclusion chromatography, were separated by reverse phase chromatography. Fractions called F1, F2, F3, F4 and F5 were obtained. The F1 fraction at 100, 50 and 25 µg/mL inhibited the growth of *C. scovillei* by 90, 70.4 and 44%, respectively. The IC<sub>50</sub> and minimum inhibitory concentration, at 24 h, were determined to be 21.5 µg/mL and 200 µg/mL, respectively. The inhibition mechanisms of fungal growth involve chemical mechanisms, such as oxidative stress, and physical mechanisms, such as the destruction of structures and organelles. We observed an increase in ROS, which possibly led to oxidative burst, loss of mitochondrial functionality, and cytoplasm retraction, as well as an increase in vacuoles that were possibly autophagic. MS/MS analysis of the F1-Fraction revealed that this fraction was rich in two defensins-like. We also verified that F1-Fraction inhibits the activity of insect α-amylases. In summary, the F1 fraction of *C. chinense* presents antifungal activity against an important pathogen of peppers that causes Anthracnose. These defensins-like are candidates for future investigations of antifungal and insecticide biotechnological applications. Contributing to the development of technologies aimed at improving the cultivation of peppers based on studies of proteins involved in the plant's defense process.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

