

**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

## Ajustes de protocolos para a determinação da atividade enzimática antioxidante em miniestacas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. Ex Steud.

*Maria Clara Coutinho Rodrigues, Isabelle Faria Matos, Ana Paula da Silva Costa, Jurandi Gonçalves de Oliveira, Deborah Guerra Barroso*

Louro Pardo [*C. trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud] é uma espécie florestal cujo uso madeireiro e não madeireiro impulsionam as pesquisas de sua propagação vegetativa. A propagação de miniestacas juvenis é empregada para a propagação dessa espécie, mas tem se mostrado ineficiente na multiplicação por resgate de indivíduos adultos. A fim de avaliar a atividade antioxidante em miniestacas juvenis foram ajustados protocolos para investigação da atividade das enzimas antioxidantes peroxidase (POX), catalase (CAT) e superóxido desmutase (SOD). Como ajuste de protocolo para essas análises, foram testadas a quantidade e o peso das miniestacas por amostra, o tipo de cortes nas estacas antes da maceração, se verticais, longitudinais e a combinação desses, a presença ou ausência de folhas nas miniestacas e a maceração dessas na presença ou ausência de N<sub>2</sub> líquido. Foram testados também diferentes preparações do meio de extração das enzimas, a saber: *i*) com, ou sem 1,4-dithiothreitol (DTT) e fluoreto de fenilmetilsufonil (PMSF); *ii*) tampão fosfato com pH 6,0, 6,8 e 7,0; *iii*) diferentes concentrações (1%, 10% e 30%) de polivinilpirrolidona (PVPP) adicionadas *iv*) diretamente no meio de reação ou sobre as miniestacas, antes da adição do meio e diferentes forças de centrifugação do meio para a obtenção do extrato *v*) 10.000xg e 12.000xg por tempos diferentes *vi*) 10 e 15 minutos de centrifugação. Após o teste para ajuste do meio e modo de extração das enzimas foram testados os meios reacionais para cada enzima, a partir de protocolos já estabelecidos para *Carica papaya*. Como resultado, foi verificado que do mesmo extrato bruto é possível quantificar a atividade de POX, CAT e SOD. O melhor extrato foi obtido a partir de um conjunto de no mínimo 3 miniestacas, com a área foliar reduzida à metade. As mesmas foram cortadas longitudinalmente e, em seguida, verticalmente e maceradas em N<sub>2</sub> líquido. Uma amostra de 500 mg do material congelado e macerado foi, novamente, macerado na presença de PVPP 30%, com adição de 5 mL do meio de extração, sendo filtrado em 2 camadas de gaze. O melhor meio de extração contou com a presença de DTT e PMSF e tampão com pH 6,8. Para purificação do extrato, a centrifugação com 10.000xg, por 10 min, apresentou os melhores resultados. Os meios reacionais para a quantificação da atividade das enzimas POX, CAT e SOD não necessitaram de ajustes. Tais resultados possibilitam a montagem de experimentos com o conhecimento da quantidade mínima de miniestacas e com a maximização na preparação do extrato para a quantificação da atividade enzimática.

*Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF- Pós Graduação em Produção Vegetal*

*Eixo temático: Ciências Agrárias*

*Fomento: CAPES e CNPq*

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



**UIII** 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

## Protocol adjustments for the determination of antioxidant enzymatic activity in minicuttings of *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. Ex Steud

Maria Clara Coutinho Rodrigues, Isabelle Faria Matos, Ana Paula da Silva Costa, Jurandi Gonçalves de Oliveira, Deborah Guerra Barroso

Louro Pardo [*C. trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud] is a forest species whose wood and non-timber use drives research into its vegetative propagation. The propagation of juvenile minicuttings is used for this species, but it has been shown to be inefficient in the multiplication by rescue of adult individuals. In order to evaluate the antioxidant activity in juvenile minicuttings, protocols were adjusted to investigate the activity of the antioxidant enzymes peroxidase (POX), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD). As a protocol adjustment for these analyses, the number and weight of minicuttings per sample were tested, the type of cuts in the minicuttings before maceration, whether vertical, longitudinal and a combination of these the presence or absence of leaves on the minicuttings and their maceration in the presence or absence of liquid N<sub>2</sub>. Different preparations of enzyme extraction mixture were also tested, namely: i) with or without 1,4-dithiothreitol (DTT) and phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF); ii) phosphate buffer with pH 6.0, 6.8 and 7.0; iii) different concentrations (1%, 10% and 30%) of polyvinylpyrrolidone (PVPP) added iv) directly in the reaction mixture or on the minicuttings, before adding the mixture and different centrifugation forces of the medium to obtain the extract v) 10,000xg and 12,000xg for different times vi) 10 and 15 minutes of centrifugation. After the test for adjusting the mixture and enzyme extraction mode, the reaction mixture for each enzyme were tested, based on protocols already established for *Carica papaya*. As a result, it was verified that from the same crude extract it is possible to quantify the activity of POX, CAT and SOD. The best extract was obtained from a set of at least 3 minicuttings, with the leaf area reduced by half. They were cut lengthwise and then vertically and macerated in liquid N<sub>2</sub>. A 500 mg sample of the frozen and macerated material was, again, macerated in the presence of PVPP 30%, with the addition of 5 mL of the extraction mixture, being filtered through 2 layers of gas. The best extraction mixture had the presence of DTT and PMSF and buffer with pH 6.8. For extract purification, centrifugation at 10,000xg for 10 min showed the best results. The reaction means for quantifying the activity of POX, CAT and SOD enzymes did not require adjustments. Such results make it possible to set up experiments with the knowledge of the minimum amount of minicuttings and with the maximization in the preparation of the extract for the quantification of the enzymatic activity.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

