

22^o Encontro de Iniciação Científica da UENF14^o Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense10^a Jornada de Iniciação Científica da UFF

IX

Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

II

Congresso Fluminense de Pós-Graduação

17^a Mostra de Pós-Graduação da UENF2^a Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense2^a Mostra de Pós-Graduação da UFF

Ciência, tecnologia e inovação no Brasil: desafios e transformações

Isolamento e caracterização estrutural e funcional de cistatinas de sementes de *Clitoria fairchildiana*

Izabela de Queiroz Pontes, Dayanni dos Santos Pádua, Gustavo Lemos Rocha, Kátia Valevski Sales Fernandes

Fitocistatinas são proteínas multifuncionais que agem tanto como reguladores endógenos de processos fisiológicos em plantas, como reguladores exógenos de potenciais predadores vegetais. O uso destas proteínas para transformação de plantas tem sido proposto e é importante se considerarem eventuais interferências da introdução de genes codificadores de cistatinas sobre processos fisiológicos de plantas transformadas. Nós objetivamos, neste trabalho, o isolamento e a avaliação da ação de fitocistatinas de sementes de *C. fairchildiana* sobre a germinação de sementes de soja. Farinha de cotilédones de *C. fairchildiana* foi tratada com metanol para remoção de pigmentos. Proteínas foram extraídas e fracionadas por sulfato de amônio em intervalos de saturação de 0-60% e 60-90%. As quatro amostras resultantes foram empregadas nas análises posteriores, a saber: Extrato bruto fervido a 100° C, por 10 min (EBF); precipitado 0-60% (0-60%), precipitado 60-90% (60-90%) e um resíduo final (RES). Os níveis de proteínas de todas as amostras foram medidos por ensaio do ácido bicinonínico e os perfis protéicos foram avaliados por SDS-PAGE. Atividade inibitória de papaína (AIP) de todas as amostras foi medida usando-se azocaseína como substrato. Em seguida, os ensaios de germinação foram realizados em presença e ausência de todas as amostras, através da embebição de sementes de soja em 50 mL de água contendo 1 mg de proteína de cada amostra. A germinação procedeu-se em 28°C e 12 h luz /12 h escuro. Nos tempos de 12, 24, 36, 48, 60 e 72 h após embebição (HAE), as sementes foram pesadas e os tecidos das plântulas foram dissecados em eixo hipocótilo/radicula, cotilédones e tegumentos e macerados sob N₂ líquido. Os materiais obtidos foram então tratados com 80% metanol e submetidos a extração proteica. Atividades de proteases cisteínicas de cada tecido foram visualizadas por gel de gelatina-SDS-PAGE. A fração RES apresentou os mais altos níveis de AIP. Quando sementes de soja foram germinadas na presença da fração RES, um aumento significativo no comprimento da radícula foi observado em comparação com aquelas germinadas na presença de outras frações e com sementes controle. Proteases cisteínicas foram somente detectadas em tegumentos, especialmente após 48 HAE.

Palavra chave: Cistatina, *Clitoria fairchildiana*, Soja.

Instituição de fomento: UENF, FAPERJ, CNPq