



Isolamento de cistatinas de sementes de *Clitoria fairchildiana* e avaliação de sua ação sobre a germinação de soja

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 proteicos 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/radícula, cotilédones e tegumentos e macerados sob N₂ líquido. Os materiais obtidos foram então tratados com 80% metanol e submetidos à 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

X Congresso Fluminense
de Iniciação Científica
e Tecnológica

III Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^o Encontro de
Iniciação Científica
da UENF

15^o Circuito de
Iniciação Científica
do IFFluminense

11^o Jornada de
Iniciação Científica
da UFF

18^a Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

3^a Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

3^a Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Ciência
no nosso
dia-a-dia

25 a 29 de junho de 2018

