



## Ciências Biológicas

### ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E MECANISMOS DE AÇÃO DA DEFENSINA PvD1 SOBRE OS FUNGOS *Candida tropicalis* e *Fusarium oxysporum*

Érica de Oliveira Mello, Isabela Pereira Afonso, André de Oliveira Carvalho, Umberto Zottich Pereira, Valdirene Moreira Gomes, Luísa Sorrentino de Souza

Nos últimos anos muitos trabalhos vêm demonstrando a função de algumas proteínas e peptídeos com atividade antimicrobiana isolados de diferentes espécies de plantas contra um vasto número de microrganismos, os quais vêm sendo utilizados como modelo no estudo dos diferentes processos celulares relacionados à ação destes peptídeos antimicrobianos. Em 2008, nosso grupo isolou e caracterizou uma defensina de sementes de *Phaseolus vulgaris* (L.), denominada PvD1. O objetivo deste trabalho foi estudar o mecanismo de ação e atividade antifúngica da defensina PvD1 contra a levedura *Candida tropicalis* e o fungo filamentosso *Fusarium oxysporum*. Inicialmente, proteínas foram extraídas da farinha da semente em tampão fosfato pH 5,4 na proporção de 1:5 por duas horas sob constante agitação a 4°C. O sobrenadante obtido foi submetido à precipitação com sulfato de amônio (0-70%). Este precipitado foi ressuspenso em água destilada e aquecido a 80°C por 15 min. A solução resultante foi centrifugada e o sobrenadante dialisado contra água destilada e liofilizado. Uma cromatografia de troca iônica em coluna DEAE-Sepharose foi empregada inicialmente para a purificação da PvD1, a qual resultou em dois diferentes picos denominados D1 e D2. O pico D1, contendo a defensina PvD1, foi testado contra células de *C. tropicalis* para analisar a indução de genes de multi resistência a drogas (MDR). No entanto, o pré-tratamento destas células com PvD1, não interferiu no padrão de inibição do crescimento causada pela defensina em *C. tropicalis*. Foi observado também que a defensina PvD1 foi capaz de permeabilizar a membrana das células de *C. tropicalis* e não foi capaz de induzir a produção de NO nestas células. Observou-se que PvD1 foi capaz de entrar nas células de *C. tropicalis*, sugerindo atuar também dentro de um alvo intracelular. Foi mostrado também em testes antifúngicos com o fungo filamentosso *Fusarium oxysporum*, que a defensina PvD1 foi capaz de causar uma inibição na germinação dos esporos e sobre o desenvolvimento das hifas na concentração de 100 µg.mL<sup>-1</sup>

*Palavras-chave: atividade antifúngica, defensinas de planta, peptídeos antimicrobianos.*

Instituição de fomento: UENF