

## PERFIL DE MOBILIZAÇÃO DA LECTINA DE *Erythrina speciosa* DURANTE A GERMINAÇÃO

Joneclei A. Barreto<sup>1</sup>, Maurício O. Paixão<sup>1</sup>, Lucas S. Solidade<sup>1</sup>, Silvana B. da Silveira<sup>2</sup>

1. Estudantes de IC da Universidade Federal da Bahia-UFBA IMS/CAT

2. Professora e pesquisadora da Universidade Federal da Bahia-UFBA IMS/CAT

### Resumo:

Lectinas são proteínas de origem não imune presentes em todos os organismos vivos e que possuem a peculiar capacidade de se ligar reversivelmente a carboidratos. Devido a isso, essas proteínas, podem reconhecer superfícies celulares, aglutinar células e desempenhar diferentes funções nos organismos. Em plantas, podem exercer papéis fisiológicos importantes, como na defesa contra patógenos durante a germinação, sinalização celular, auxiliar na simbiose existente entre leguminosas e bactérias do gênero *Rhizobium*, entre outras.

No gênero *Erythrina* diferentes lectinas já foram isoladas e estudadas. A espécie *E. speciosa* possui uma lectina específica por galactose, entretanto, pouco se sabe sobre sua função na planta. Estudos sobre o comportamento das lectinas durante a emergência da planta, caracteriza uma das mais importantes funções que essas proteínas possam desempenhar no vegetal. Assim, este trabalho se propôs a verificar o perfil de mobilização da lectina de *E. speciosa* durante o processo germinativo.

Para isso, sementes de *E. speciosa* foram colocadas para germinar durante 27 dias com intervalos de 3 dias para coleta dos eixos e cotilédones. Em seguida, o material emergido foi macerado e realizada a extração de suas proteínas totais, verificação da presença da lectina, pela atividade hemaglutinante, e quantificação das mesmas.

Com os resultados obtidos, pôde-se concluir que a lectina de *E. speciosa* é utilizada como proteína de reserva durante germinação. Podendo-se supor que a lectina está sendo utilizada como fonte protéica para formação da plântula.

**Palavras-chave:** *Mulungu-do-litoral*, atividade

hemaglutinante, proteínas

**Apoio financeiro:** Permanecer

### Introdução:

Pertencente à família das leguminosas, *Erythrina speciosa* é uma espécie arbórea de flores vermelhas, usada na arborização. Conhecida popularmente como mulungu-do-litoral, se encontra distribuída por estados do Sul, Sudeste e Sul da Bahia, onde pode ser encontrada com facilidade. É típica de florestas fluviais e inundáveis (VITALI-VEIGA e MACHADO, 2000; MEDINA, 2009)

As lectinas fazem parte de um grupo de proteínas de origem não imune presentes em todos os tipos de organismos procariontes e eucariontes. Diferenciam-se das demais proteínas por possuírem uma propriedade peculiar de interagir com carboidratos em alta especificidade. É devido a essa capacidade que as lectinas reconhecem glicoconjugados na superfície celular e desempenham importantes funções biológicas. Em plantas, algumas dessas funções estão relacionadas a defesa contra patógenos (fungos, bactérias), transporte de carboidratos, sinalização celular, alongação das paredes celulares, auxílio na simbiose existente entre leguminosas e bactérias do gênero *Rhizobium* (POVINELI e FILHO, 2002; SHARON e LIS, 2004).

Nas sementes de *E. speciosa* já foi identificada e isolada uma lectina com afinidade por galactose (KONOZY et al., 2003). É uma lectina específica para eritrócitos do tipo O e constituída estruturalmente por duas subunidades iguais de 27kDa.

No processo germinativo, algumas lectinas apresentam perfil de mobilização diferenciado das demais proteínas de reserva. OLIVEIRA et al., 1998 e POVINELI & FILHO,

2002, sugerem que as lectinas possam desempenhar um mecanismo de proteção do vegetal contra fungos, bactérias e contra herbivoria durante o processo germinativo. Dessa forma, torna-se de grande importância verificar o papel das lectinas presentes nas sementes das plantas, na tentativa de elucidar o papel fisiológico que essas proteínas possuem.

Este trabalho teve por objetivo principal verificar o perfil de mobilização da lectina de *E. speciosa* durante o processo germinativo de suas sementes considerando que não há na literatura trabalhos com este estudo.

### Metodologia:

#### GERMINAÇÃO

Sementes de *E. speciosa* foram higienizadas com hipoclorito diluído em água (1:5) v/v e escarificadas em superfície áspera. Em seguida foram enroladas e colocadas para germinar em papel de germinação úmido (70cmx70cm), durante 27 dias. Após ocorrer a primeira germinação (DIA 0), foram coletados eixos e cotilédones em intervalos periódicos de três dias e assim sucessivamente até o 27 dia. O material coletado foi armazenado e congelados para posterior quantificação das proteínas e ensaios hemaglutinantes.

#### EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS TOTAIS

Cada amostra coletada (eixos e cotilédones) durante a germinação foram macerados em NaCl 0,15M e suas proteínas extraídas durante um período de 4 horas, sob agitação contínua. Em seguida, esse material foi filtrado em gaze e centrifugado a 15000 rpm durante 40 minutos à temperatura de 8°C. O material obtido foi filtrado e o sobrenadante coletado utilizado para os ensaios futuros.

#### ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE (AH) E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS

A AH foi realizada segundo a metodologia descrita por Calderón de la Barca e colaboradores (1985). Foram usadas placas de microtitulação com 96 poços. Cada poço foi preenchido com 100 µL de solução de NaCl 0,15M e em seguida (aos primeiros poços de cada fileira) acrescidos com igual volume dos sobrenadantes das amostras de cada intervalo

germinativo. A amostra foi submetida a uma série de diluições na base 2 ( $2^0$ ,  $2^1$ ,  $2^2$ ,  $2^3$ , etc.), em duplicata, com homogeneização e transferência de 100 µL para o poço seguinte até o penúltimo poço da fila. Em seguida, a amostra diluída foi incubada com 100 µL de suspensão de hemácias do tipo O+ a 2%. A visualização da aglutinação das hemácias foi feita visualmente após 30 minutos, 12h e 24h a temperatura ambiente.

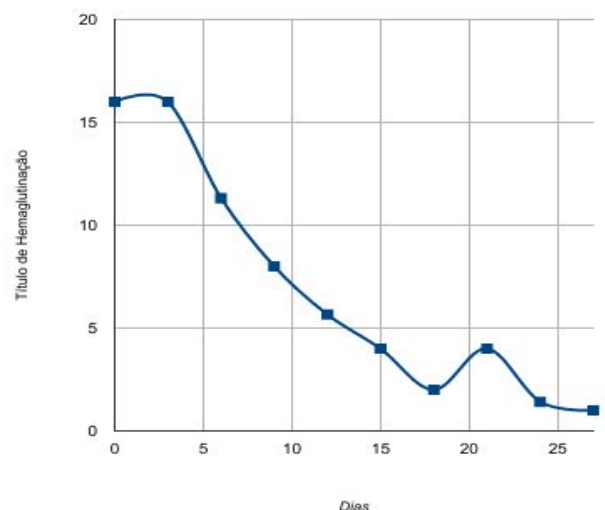
A quantificação das proteínas solúveis totais foi realizada pelo método de BRADFORD, 1976. Em alíquotas de 0,1mL do extrato bruto foram adicionados 2,5mL do reagente de Bradford (constituído de 0,01% de Comassie Blue G-250, 8,5% de ácido fosfórico e 4,7% de etanol). As amostras foram submetidas à análise em espectrofotômetro usando absorbância (Abs) à 595nm e a quantificação das proteínas calculadas com base na curva padrão do BSA (albumina sérica bovina).

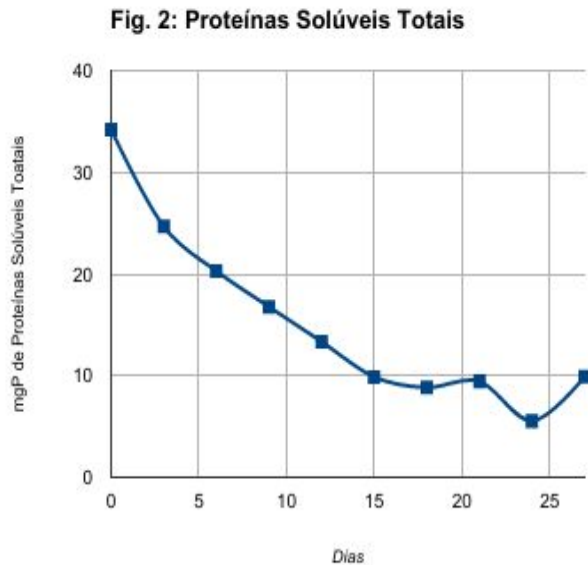
### Resultados e Discussão:

Com os resultados obtidos com a AH e a quantificação de proteínas foram confeccionados dois gráficos em que se pode avaliar as Unidades Hemaglutinantes (UH) e a quantidade de proteínas solúveis totais, expresso em mgP (miligramas de proteínas), ambos no decorrer do tempo (Fig. 1 e Fig. 2, respectivamente).

Na Fig. 1 pode-se perceber que as UH decrescem no decorrer do tempo avaliado. Fazendo-se uma inferência com a Fig. 2, pode-se verificar que a lectina de *E. speciosa* está sendo mobilizada juntamente com as demais proteínas de reserva da planta.

Fig. 1: Atividade Hemaglutinante





Durante a germinação, antes que a planta possa se nutrir de forma autotrófica, ela depende das reservas existentes nas sementes, sendo formadas principalmente por carboidratos, lipídios e proteínas. Essas fontes de nutrientes podem ser usadas nos processos metabólicos ou na formação dos tecidos vegetais que irão constituir a nova planta (TURCHETTO et al, 2015). Assim, a concentração desses nutrientes, diminuem progressivamente durante o processo germinativo.

No caso das lectinas, essa mobilização pode ocorrer de forma diferenciada. Um bom exemplo disso ocorre com a lectina presente nas sementes de *Pisum arvense*. SILVA et al., 2000 identificaram que a lectina de *P. arvense* se encontrava em alta concentração até o 22º dia após a germinação, sendo portanto poupada durante esse processo. Em outro estudo, realizado por OLIVEIRA et al., 1998, com *Erythrina velutina* forma aurantiaca, foi verificado que a lectina também era poupada durante o processo germinativo persistindo a sua concentração elevada até o 21º após a germinação. Isso pode sugerir que, nesse caso, a lectina possa desempenhar um outro papel fisiológico além do de reserva na semente. POVINELI, 2002 faz menção a uma possível atuação das lectinas, nesse estágio inicial da planta, como mecanismo de defesa contra fitopatógenos.

No caso da lectina de *E. speciosa* os resultados obtidos, neste estudo, revelam que essa proteína não mostrou mobilização diferenciada em relação às demais proteínas de reserva da planta sendo, juntamente com

essas, consumidas durante o processo.

Esse fato pode sugerir que a lectina de *E. speciosa* desempenhe um papel relacionado com a nutrição da planta nos estágios iniciais de desenvolvimento.

### Conclusões:

Conseguiu-se verificar que a lectina de *E. speciosa* não apresenta um perfil de mobilização diferenciado em relação às demais proteínas de reserva dessa espécie.

### Referências bibliográficas

BRADFORD, M. M.; *Anal. Biochem.* 1976, 72, 248.

CALDERÓN de la BARCA, A. M.; OCHOA, J. L.; VALENCIA, M. E. Effect of the extraction of a hemagglutinin on the nutritive value of *Amaranthus leocarpus* seeds. *Journal of Food Science*, v. 50, n.6, p. 1700-1702, 1985

KONOZY, Emadeldin HE et al. Isolation, purification, and physicochemical characterization of a D-galactose-binding lectin from seeds of *Erythrina speciosa*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 410, n. 2, p. 222-229, 2003.

MEDINA, Camilo L. et al. *Erythrina speciosa* (Leguminosae-Papilionoideae) under soil water saturation: morphophysiological and growth responses. *Annals of botany*, p. mcp159, 2009.

OLIVEIRA, José Tadeu Abreu et al. Protein and lectin mobilization during *Erythrina velutina* forma aurantiaca seed germination and seedling growth in the dark. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal (Brazil)*, 1998.

POVINELI, Karen Lentini; FINARDI FILHO, Flavio. As múltiplas funções das lectinas vegetais. *Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr*, v. 24, p. 135-156, 2002.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiology* v. 14, p.53–62, 2004.

SILVA, LUIZA IZABEL M. et al. Lectinas de sementes de *Pisum arvense* comportam-se diferentemente das proteínas de reserva durante a germinação no escuro. *Revista*

**Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 3, p. 255-262, 2000.

TURCHETTO, Felipe et al. Aspectos eco-fisiológicos limitantes da regeneração natural. **Revista Ecologia e Nutrição Florestal-ENFLO**, v. 3, n. 1, p. 18-30, 2015.

VITALI-VEIGA, Maria J.; MACHADO, Vera LL. Flowering visitors of *Erythrina speciosa* Andr., leguminosae. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 17, n. 2, p. 369-383, 2000.