



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**FRANCISCO VINÍCIUS RODRIGUES DA CRUZ**

**BIOPROSPECÇÃO DE LECTINAS EM SEMENTES DE *Vataireopsis araroba***  
**(AGUIAR) DUCKE**

**FORTALEZA**

**2023**

**FRANCISCO VINÍCIUS RODRIGUES DA CRUZ**

**Monografia apresentada à coordenação do  
Curso de Bacharelado em Ciências  
Biológicas da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial à obtenção do  
título de Bacharel em Ciências Biológicas.**

**Orientadora: Profa. Dra. Kyria Santiago do  
Nascimento**

**Co-orientador: Dr. Messias Vital de  
Oliveira**

**FORTALEZA**

**2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

C962b Cruz, Francisco Vinícius Rodrigues da.  
Bioprospecção de lectinas em sementes de *Vataireopsis araroba* (Aguiar) Ducke / Francisco Vinícius Rodrigues da Cruz. – 2023.  
43 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Kyria Santiago do Nascimento.  
Coorientação: Prof. Dr. Messias Vital de Oliveira.

1. Lectinas. 2. Atividade antifúngica. 3. Química de proteínas. 4. Dalbergieae. I. Título.

CDD 570

---

**FRANCISCO VINÍCIUS RODRIGUES DA CRUZ**

**BIOPROSPECÇÃO DE LECTINAS EM SEMENTES DE *Vataireopsis araroba*  
(AGUIAR) DUCKE**

**Monografia apresentada à coordenação do  
Curso de Bacharelado em Ciências  
Biológicas da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial à obtenção do  
título de Bacharel em Ciências Biológicas.**

Aprovado em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profª. Dra. Kyria Santiago do Nascimento (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Messias Vital de Oliveira (Co - Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Vanir Reis Pinto Júnior  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Me. Francisco William Viana Martins  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

À minha filha Anna Luiza.

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe Maria de Fátima por ter sido minha primeira professora ao longo da vida, pela educação que me deu, pelo carinho, apoio moral e financeiro, principalmente ao longo do curso, sem o qual não seria possível para mim concluí-lo.

À minha avó Luiza Rodrigues do Nascimento (*in memoriam*) por ter ajudado na minha criação e formação, bem como pelo apoio financeiro enquanto viva para custear meus estudos.

À minha filha Anna Luiza por me fazer querer ser uma pessoa melhor a cada dia, sendo assim a principal motivação para eu voltar a estudar e fazer uma graduação.

À minha companheira de vida Gianna por assumir a educação e manutenção de nossa filha enquanto eu estudava, essenciais para a conclusão desta graduação.

À Instituição CNPq pelo apoio financeiro com a manutenção da Bolsa de Iniciação Científica.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), fundamental para a minha formação profissional, em especial ao Prof. Dr. Benildo Sousa Cavada e à professora Dra. Kyria Santiago do Nascimento pela excelente orientação, pelos momentos de dedicação, paciência, mas acima de tudo por toda sabedoria transmitida ao longo da minha permanência no BioMol Lab.

A todos (alguns não mais) do Laboratório de Moléculas Biologicamente Ativas (BioMol, pelo acolhimento e por todos os momentos de aprendizado: Neto, Vanir, Messias William, Sarah, Valéria, EdilCarlos, Rebeca, Alice, Joyce, Paula, Paulo, José Carlos, Jefferson, Clara e em especial ao meu ex-colega de graduação dos tempos de Biotecnologia, Henrique Oliveira.

Ao meu supervisor e amigo Dr. Messias Vital pela disposição em repassar os seus conhecimentos, por toda paciência ao me ensinar, pelos conselhos e diversas colaborações, sendo em parte grandemente responsável pela realização desta monografia. Estendo os agradecimentos a todos os alunos da pós-graduação e em especial ao pós-doutorando Vanir Reis, que também muito contribuiu com os meus conhecimentos.

A todos os participantes da banca examinadora pela prontidão e disponibilidade apresentadas em suas respostas aos convites.

Ao meu professor de Ciências Biológicas do ensino médio Franzé Mesquita (*in memoriam*) por despertar em mim a admiração e respeito pela Biologia

A todos os professores que contribuíram para a minha formação durante o tempo que estive na Universidade Federal do Ceará (UFC), seja através das disciplinas, palestras, cursos ou através de projetos de pesquisa nos laboratórios que passei ao longo da graduação.

Em especial à professora Ana de Fátima Fontenele Urano, por quem sou grato por me proporcionar a primeira oportunidade de vivência com a pesquisa além de ser para mim exemplo e referência como profissional e pesquisador.

À todos os meus familiares próximos, amigos e cunhados com quem convivi ultimamente e que de alguma forma contribuíram para este momento, em especial às minhas irmãs: Geovana, Socorro, Suzyane e Patrícia. Também aos meus sobrinhos, em especial à Maria Eduarda com quem convivo desde a infância e lhe tenho carinho como se fosse a irmã mais nova que nunca tive.

A todos da Biotecnologia, Biologia e outros cursos com quem tive o prazer de participar de trabalhos em grupo, seminários e de dividir as dificuldades e as alegrias ao longo do curso.

Em especial ao meu amigo Victor França, que muito me ajudou em diversas disciplinas e com quem aprendi bastante. Também aos meus amigos Carlos Douglas, Hadson Bastos Neco e à minha amiga Dyane Rocha pelos momentos de conhecimento, de conversa e descontração. Estendo os agradecimentos a todos que de alguma forma contribuíram para as boas memórias que levarei da UFC.

Ao secretário administrativo do Departamento de Ciências Biológicas, Pablo Rodrigo da Silva por sempre se mostrar atencioso e disposto a solucionar algumas dúvidas que surgiram ao longo da graduação de Ciências Biológicas.

Em especial, ao ex-secretário administrativo do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Gilmar Ferreira da Costa pela atenciosidade, prontidão e paciência sempre apresentadas quando precisei sanar algumas dúvidas enquanto discente do curso de Biotecnologia.

A todos os servidores da UFC e funcionários terceirizados que possibilitaram, à medida do possível, o funcionamento da universidade.

E por fim, mas não menos importante, agradeço a mim mesmo por ter aguentado firme e não ter desistido diante das várias dificuldades que apareceram ao longo desta graduação e que só aqueles mais próximos a mim sabem. Por ter acreditado, me esforçado e persistido, pois acabou valendo a pena.

## RESUMO

Lectinas são proteínas de origem não imune encontradas em todos os reinos da vida possuindo de pelo menos um domínio de ligação não catalítico que reconhecem e interagem reversivelmente com carboidratos, sendo esta última característica descrita a responsável pelo alto grau de estereoespecificidade que estas moléculas possuem. Desta forma, conseguem reconhecer diversas estruturas de açúcares livres ou glicanos presentes em glicoproteínas ou glicolipídeos e formam ligações de modo específico e reversível após interação com complexos glicoconjugados sem alterar a sua estrutura. Na natureza são responsáveis por diversas atividades biológicas como: atividade hemaglutinante, antiviral, atividade antibacteriana e atividade antifúngica. Por possuírem as características descritas, são moléculas de alto interesse nas áreas de Biotecnologia, Biomedicina e Agricultura. Assim, as lectinas são temas de diversos estudos e até o presente momento as de origem vegetal são as mais estudadas, sendo que a maioria das lectinas conhecidas foram isoladas e caracterizadas de plantas pertencentes à família *Leguminosae*. Este trabalho teve como objetivo bioprospectar uma lectina das sementes de *Vataireopsis araroba*, uma árvore da tribo *Dalbergieae* muito utilizada na confecção de móveis dada as características de sua madeira. Além disso, também faz parte da subfamília *Papilionoideae*, que representa a família de leguminosas com o maior número de lectinas purificadas até o momento.

**Palavras-chave:** Lectinas, Atividade antifúngica, Química de proteínas, *Dalbergieae*.

## ABSTRACT

Lectins are proteins of non-immune origin found in all kingdoms of life, possessing at least one non-catalytic binding domain that recognize and reversibly interact with carbohydrates, the latter characteristic being responsible for the high degree of stereospecificity that these molecules have. In this way, they are able to recognize different structures of free sugars or glycans present in glycoproteins or glycolipids and form bonds in a specific and reversible way after interaction with glycoconjugate complexes without changing their structure. In nature they are responsible for several biological activities such as: hemagglutinating activity, antiviral activity, antibacterial activity and antifungal activity. Because they have the described characteristics, they are molecules of high interest in the areas of Biotechnology, Biomedicine and Agriculture. Thus, lectins are the subject of several studies and, to date, those of plant origin are the most studied, and most known lectins have been isolated and characterized from plants belonging to the Leguminosae family. This work aimed to bioprospect a lectin from the seeds of *Vataireopsis araroba*, a tree from the Dalbergieae tribe that is widely used in the manufacture of furniture, given the characteristics of its wood. In addition, it is also part of the Papilionoideae subfamily, which represents the legume family with the highest number of purified lectins to date.

**Keywords:** Lectins, Antifungal Activity, Protein Chemistry, Dalbergia

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 - Desenho esquemático da classificação das lectinas vegetais.....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 2 - Estrutura geral das lectinas de leguminosas.....</b>	<b>19</b>
<b>Figura 3 - Composição da parede celular fúngica .....</b>	<b>26</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 - Famílias de lectinas classificadas de acordo com as relações estruturais e evolutiva e a conservação do Domínio de Reconhecimento a Carboidrato ( DRC).....</b>	<b>18</b>
<b>Tabela 2 - Lectinas de plantas, estrutura molecular e açúcar específico .....</b>	<b>29</b>
<b>Tabela 3 - Lectinas de plantas com atividade antifúngica.....</b>	<b>30</b>
<b>Tabela 4 Atividade Hemaglutinante de <i>Vataireopsis araroba</i>.....</b>	<b>36</b>
<b>Tabela 5- Concentração de proteínas solúveis totais nas diferentes condições de extração .....</b>	<b>37</b>
<b>Tabela 6 - Triagem de extração de <i>Vataireopsis araroba</i> .....</b>	<b>38</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.H.	Atividade hemaglutinante
ABA	aglutinina de <i>Agaricus bisporus</i>
AVL	lectina de <i>Amaranthus viridis</i>
AMF	arbusculares micorrízicos
AMML	lectina de <i>Astragalus mongholicus</i>
AMR	Resistência antimicrobiana
BSA	Albumina de soro bovino
BmoRo1	lectina de <i>Bauhinia monandra</i>
BUL	lectina de <i>Bauhinia unguolata</i>
ConA	lectina da Concanavalina A
ConBr	lectina de <i>Canavalia brasiliensis</i>
ConM	lectina de <i>Canavalia rosea</i>
CAL	lectina de <i>Capiscum annum</i>
HejLa	lectina de <i>Helianthus annus</i>
LNL	lectina de <i>Liparis nervosa</i>
MaL	lectina de <i>Machaerium ocutifolium</i>
WSMoL	lectina de <i>Moringa oleifera</i>
CRA	Aglutinina relacionada à quitinase de classe V
DRC	Domínio de reconhecimento a carboidrato
DAMP	Padrões moleculares associados ao dano
EUL	Família da lectina <i>Euonymus europaeus</i>
ECM	ectomicorrízicos
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
EN	eritrócitos nativos
EP	eritrócitos tratado com papaína
ET	eritrócito tratado com tripsina
LPS	lipossacarídeo
LecRLKs	receptores de quinases semelhante a lectina
LecRLPs	proteínas semelhantes a receptores de lectina
Nictaba	aglutinina de <i>Nicotiana tabacum</i>
PAGE-SDS	Eletroforese utilizando SDS
PAMPs	Padrões moleculares associados à patógenos

PGN	peptidoglicano
RLKs	quinases semelhante a receptores
RLPs	proteínas semelhantes a receptores
TxLCI	superlectina extraída da tulipa
UFC	Universidade Federal do Ceará

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
1.1 Lectinas, aspectos gerais e história .....	13
1.2 Lectinas vegetais.....	15
1.2.1 Classificação das lectinas vegetais.....	16
1.3 Classificação das famílias de lectinas estruturalmente e evolutivamente relacionada.....	18
1.3.1 Família de lectina de leguminosas .....	19
1.4 Divisão da família <i>Leguminosae</i> .....	20
1.5 Tribo <i>Dalbergieae</i> .....	20
1.6 <i>Vataireopsis araroba</i> .....	20
1.7 Lectinas vegetais na defesa da planta contra fungos.....	20
1.8 Lectinas com atividade antifúngica e sua importância na área da saúde .....	24
1.9 Fungos, aspectos gerais .....	25
1. 10 Lectinas de plantas com atividade antifúngica .....	26
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	31
2.1 Objetivo geral .....	31
2.2 Objetivos específicos.....	31
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	32
3.1 Preparo da farinha das sementes de <i>Vataireopsis araroba</i> .....	32
3.2 Preparo das soluções e extração de proteínas .....	32
3.3 Quantificação das proteínas solúveis .....	33
3.4 Preparo de eritrócitos .....	33
3.5 Atividade Hemaglutinante dos extratos proteicos .....	35
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	36
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	39
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	40

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Lectinas, aspectos gerais e história

As lectinas constituem um grupo diversificado de proteínas de características ubíquas e de origem não imune, que possuem pelo menos um domínio não catalítico que seletivamente reconhecem a carboidratos e ligam-se de maneira reversível a açúcares livres ou glicanos presentes na estrutura das células sem alterar suas estruturas (PEUMANS; VAN DAMME, 1995). Assim, são capazes de decifrar o glicocódigo presente em diversos modelos de células existentes na natureza. Além das características descritas, diversas evidências mostram que estas proteínas estão presentes em todos os reinos da vida desempenhando diversas funções biológicas além de serem historicamente conhecidas por aglutinar eritrócitos de vários grupos sanguíneos de diversas espécies (NIZET *et al.*, 2017; SHARON; LIS, 2004; TSANEVA; VAN DAMME, 2020 ).

A história das lectinas está diretamente associada com a capacidade que estas moléculas possuem de aglutinar eritrócitos, característica que fez com que estas proteínas recebessem o nome de hemaglutininas e que tem sido relatada desde o final do século XIX, sendo evidenciada em diversas proteínas presentes na natureza nas mais diversas áreas de pesquisa e em diferentes trabalhos publicados. Originalmente as proteínas relatadas também foram chamadas de fitoaglutininas, por terem sido encontradas em extrato de plantas (SHARON; LIS, 2004).

A descrição mais antiga de hemaglutinina é creditada à Peter Hermann Stillmark no ano de 1888 em sua tese de doutorado apresentada à Universidade de Dorpat (Hoje Tartu, Estônia). Na ocasião, a hemaglutinina isolada recebeu o nome de *Ricina*, pois foi extraída das sementes da mamona (*Ricinus communis*) e mostrou-se altamente tóxica (POLITO *et al*, 2019)

Posteriormente a descoberta da *Ricina*, na mesma cidade, outro pesquisador chamado H.Helin, observou em extratos do feijão jequiriti (*Abrus precatorius*) a presença de uma outra hemaglutinina tóxica e esta nova proteína isolada recebeu o nome de *abrina* (revisado por MISHRA *et al*, 2019).

Após as descobertas da *Ricina* e da *Abrina*, coube à Paul Ehrlich, notório cientista do Royal Institute of Experimental Therapy (Frankfurt), dar continuidade ao percurso histórico dessas proteínas. Assim, ele as empregou como antígenos modelo em estudos no ano de 1890 e através de suas análises, foi capaz de estabelecer vários princípios fundamentais da imunologia (SHARON; LIS, 2004).

No entanto, ainda que as hemaglutininas fossem conhecidas e recebessem a atenção de diversos pesquisadores da época, foi apenas no ano de 1919 que James B. Sumner, que pertencia à Cornell University (Ithaca, Nova York) obteve pela primeira vez uma hemaglutinina pura. Sumner, um notável pesquisador reconhecido por ser o primeiro a cristalizar uma enzima, a urease em 1926, também foi pioneiro ao purificar uma proteína cristalina que foi isolada do feijão de porco (*Canavalia ensiformis*) e denominada de Concanavalina A (ConA). Esta proteína foi descrita com a capacidade de aglutinar células sanguíneas ou de leveduras e também precipitar glicogênio, amilopectinas e dextrans em solução. No entanto, conforme Sumner e Howell demonstraram, a reação observada na hemaglutinina poderia ser inibida com a adição de sacarose ao meio, esta evidência demonstrou pela primeira vez a especificidade das lectinas por açúcar (VAN DAMME *et al.*,1998; SHARON; LIS, 2004).

Com a identificação da primeira lectina o interesse de vários pesquisadores por estas proteínas despertou ainda mais, o que contribuiu para que a história dessas moléculas recebesse outras contribuições, como a de dois grupos de pesquisa independentes que ao analisarem proteínas vegetais, perceberam que dependendo da célula sanguínea avaliada a atividade de hemaglutinação poderia apresentar uma diferença significativa. Logo, Wiliam C. Boyd , na Universidade de Boston e Karl O. Renkonnen na Universidade de Helsinki, Finlândia, enquanto estudavam a especificidade do grupo sanguíneo das hemaglutininas, descobriram que os extratos brutos do feijão-fava, *Phaseolus limenis*, e da ervilha tufada, *Vicia cracca* aglutinavam eritrócitos do tipo sanguíneo A, mas não células sanguíneas do tipo O ou B. Em contrapartida, um extrato da ervilha aspargo, *Lotus tetragonolobus*, aglutinava especificamente eritrócitos do tipo sanguíneo O (SHARON; LIS, 2004).

Com o passar do tempo, no Lister Institute de Londres, Walter JT Morgan e Winifred M. Watkins, descobriram que lectinas do feijão-fava causavam aglutinação de eritrócitos sanguíneos do tipo A e apresentavam uma melhor inibição da hemaglutinação por N-acetil-D-galactosamina. Enquanto que as lectinas do feijão-fava que causavam aglutinação de eritrócitos sanguíneos do tipo O, eram melhores inibidas por  $\alpha$ -L-fucose. As evidências encontradas levaram os pesquisadores a concluir que eram os determinantes do açúcar que conferiam aos grupos sanguíneos A e O a especificidade observada. A descoberta dos dois pesquisadores feita na década de 1950 é considerada um marco na lectinologia e o trabalho pioneiro de Watkins e Morgan é considerado uma das primeiras evidências da presença de açúcares nas superfícies celulares bem como de suas potenciais funções como marcadores de identificação (SHARON; LIS, 2004).

Somente no ano de 1954 o nome lectina, do latim *legere*, que significa escolher ou ler, foi proposto por Boyd e Shapleigh e para isso consideraram a capacidade das aglutininas vegetais de distinguir entre eritrócitos de diferentes tipos sanguíneos. Outro momento que também merece destaque na história das lectinas é o feito conseguido pelo pesquisador Nowell. Na década de 70 ele conseguiu demonstrar que a lectina de *Phaseolus vulgaris* tinha atividade mitogênica sobre linfócitos e sua descoberta é considerada de grande importância tanto para a imunologia como também é considerada um marco histórico para lectinologia, pois depois do fato descrito ficou-se sabendo que os linfócitos possuem a capacidade de dividir-se ou de diferenciar-se (SHARON; LIS, 2004).

## 1.2 Lectinas vegetais

Ainda que diversos trabalhos tenham evidenciado a presença de lectinas em todos os reinos e nos mais diversos organismos, atualmente as lectinas de origem vegetal são as mais estudadas, sendo conseqüentemente as mais utilizadas pelas diversas atividades biológicas que estas moléculas possuem como: atividade hemaglutinante, antiviral, antitumoral, atividade antibacteriana e antifúngica (CAVADA *et al*, 2020).

As lectinas vegetais são componentes de um grupo extenso e heterogêneo de proteínas altamente homólogas, mas que diferem entre si em suas propriedades bioquímicas, estruturas moleculares e especificidade de ligação a carboidrato ou a outro tipo de sítio catalítico, características que influenciam diretamente o tipo de alvos reconhecidos (VAN DAMME, 2021).

Conforme já foi dito neste trabalho, até o presente momento as lectinas de leguminosas são as mais conhecidas e conseqüentemente são as que possuem maior diversidade de especificidades entre os grupos de lectinas de plantas e apesar de uma maior quantidade destas glicoproteínas terem sido relatadas principalmente nas sementes, também tem-se conhecimento de que elas estão distribuídas em diferentes tecidos vegetais e que suas quantidades dependem tanto do estágio do tecido analisado como também do estado patológico da planta (KATOCH, 2021).

Embora ainda seja necessária uma maior compreensão sobre o papel central das lectinas no reino vegetal, evidências apontam que nas plantas estas macromoléculas desempenham funções como proteínas de reserva e também atuam na defesa contra patógenos e predadores, bem como carreadoras de hormônios vegetais e em Interações simbióticas com microorganismo (DELATORRE, 2013). Elas também podem ajudar a reconhecer glicoconjugados na superfície celular e assim são consideradas de grande importância na

interação hospedeiro-patógeno, desenvolvimento, sinalização celular e comunicação célula-célula (SHARON E LIS 2004).

Como as lectinas vegetais possuem a capacidade de ligar-se a carboidratos específicos em glicocomplexos, é vasto o uso destas proteínas em muitos campos biológicos que fazem uso da interação proteína-carboidrato, como na inibição do biofilme bacteriano, na aplicação como biossensores e biomarcadores, imunomodulação e na distinção entre promastigotas metacíclicas e procíclicas de *Leishmania brasilienses*, organismo responsável pela doença mucotânea. Ademais, recentemente a ação inseticida exibida por várias lectinas vegetais tem despertado o interesse da comunidade acadêmica. Assim, essas moléculas possuem diversas aplicações em diferentes áreas como Biomedicina, Agricultura, Biotecnologia e Glicociência (TSANEVA; VAN DAMME, 2020).

### **1.2.1 Classificação das lectinas vegetais**

As lectinas vegetais possuem uma classificação específica baseada nas diversas características que apresentam como: especificidade de ligação a carboidratos, estrutura molecular, abundância e localização subcelular em diversos grupos (VAN DAMME *et al*, 1998).

A depender do interesse, a classificação que considera a especificidade de ligação a carboidratos poderá ser bem útil e prática. Desta forma as lectinas são classificadas como: lectina de ligação Manose/glicose, lectinas de ligação Galactose / N- acetil -D- galactosamina, lectinas de ligação de N- acetil - D - glucosamina, lectinas de ligação a L- fucose e lectinas de ligação a ácido siálico (KATOCH, 2021). Todavia, a classificação que fundamenta-se na estrutura molecular é mais abrangente e assim, com base na estrutura molecular, as lectinas são amplamente divididas em quatro categorias:

#### **Merolectinas**

São as lectinas vegetais que possuem um único domínio de ligação a carboidratos. Este tipo de lectina costuma apresentar atividade de aglutinação fraca. Um exemplo deste grupo pode ser evidenciado numa pequena proteína de ligação à quitina do látex da seringueira conhecida pelo nome de *Hevea brasiliensis*.

## Hololectinas

São as lectinas vegetais que possuem dois ou mais domínios de ligação a carboidratos idênticos podendo dessa forma ligar-se a carboidratos iguais ou estruturalmente semelhantes. Um exemplo deste grupo trata-se da lectina ConBr.

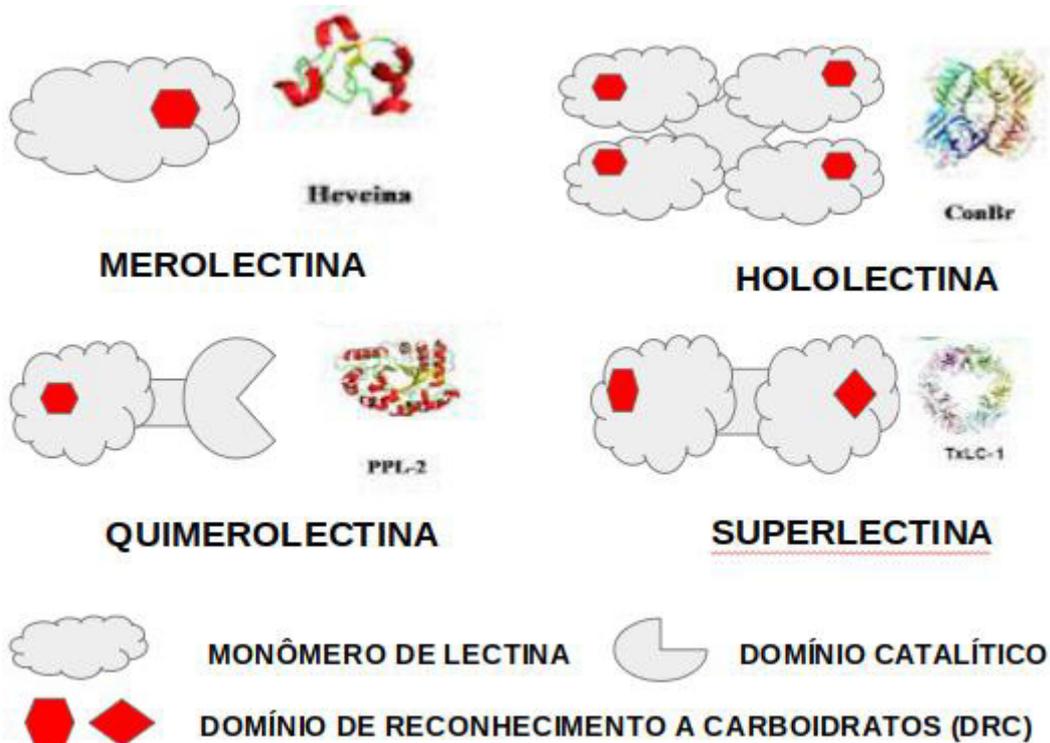
## Quimerolectinas

São as lectinas vegetais que possuem um domínio de ligação a carboidratos ligado com um outro domínio cataliticamente ativo. Exemplo de lectina desse tipo pode ser visto na lectina PPL-2

## Superlectinas

São as lectinas vegetais que possuem dois ou mais domínios de ligação a carboidratos diferentes (VAN DAMME et al. 2011). TxLCI, uma lectina extraída do bulbo da tulipa, é um exemplo de superlectina.

Figura 1 Desenho esquemático da classificação das lectinas vegetais



Fonte: Feito pelo autor adaptado de TSANEVA; VAN DAMME, 2020

### 1.3 Classificação das famílias de lectinas estruturalmente e evolutivamente relacionadas

Além de tudo o que foi dito até aqui, conforme representado na tabela abaixo, as lectinas podem ser classificadas em 12 famílias de acordo com suas características estruturais e evolutivas. Para este modelo de classificação, a proteína mais bem estudada e conseqüentemente mais conhecida, é usada como referência e dá nome a família do grupo de lectinas que representa. (TSANEVA; VAN DAMME, 2020).

**Tabela 1 – Famílias de lectinas classificadas de acordo com as relações estruturais e evolutiva e a conservação do Domínio de Reconhecimento a Carboidrato ( DRC)**

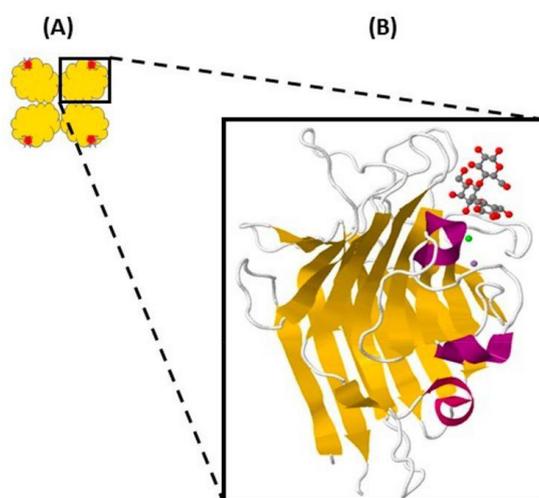
<b>Família de lectinas</b>	<b>Especificidade</b>
<b>Aglutininas de <i>Agaricus bisporus</i> (ABA)</b>	<b>GlcNAc/GalNAc, Galactose</b>
<b>Aglutininas relacionadas à quitinase</b>	<b>N-glicanos oligomanose</b>
<b>Família da Amarantina</b>	<b>GalNAc</b>
<b>Família da Cianovirina</b>	<b>Manose</b>
<b>Domínio de lectinas de <i>Euonymus europaeus</i> (EUL)</b>	<b>Galactosídeos, N-glicanos oligomanose</b>
<b>Família de lectinas de <i>Galanthus nivalis</i></b>	<b>Manose</b>
<b>Família da Heveína</b>	<b>Quitina</b>
<b>Família da Jacalina</b>	<b>Subgrupos manose e galactose-específicas</b>
<b>Família das lectinas de leguminosas</b>	<b>Manose</b>
<b>Família da lectina de <i>Nicotiana tabacum</i></b>	<b>(GlcNAc)<sub>n</sub>, N-glicanos oligomanoses e complexos</b>
<b>Família da LysM</b>	<b>Quitina, peptideoglicanos</b>
<b>Família da Ricina-B</b>	<b>Gal/GalNAc, Gal/GalNAc-sializado</b>

**Fonte:** Adaptado de TSANEVA; VAN DAMME, 2020

### 1.3.1 Família de lectina de leguminosas

Família mais estudada até o presente momento, em sua imensa maioria, as lectinas de leguminosas apresentam características particulares, como tamanho variando aproximadamente entre 220 e 250 aminoácidos. Outra característica típica é que as lectinas desta família costumam apresentar uma estrutura formada por uma ou mais cadeias polipeptídicas. Além disso, a análise dos monômeros de lectinas de leguminosas revelou uma alta similaridade na sequência, fato que influencia diretamente na estrutura destas proteínas, como protômeros que costumam apresentar tamanho de 25 a 30 kDa e formam um motivo característico, que recebe o nome de motivo jellyroll, muito conhecido como sanduíche. Nesta região específica da proteína contém uma estrutura que merece ser destacada neste texto, pois é ela quem confere a estas proteínas suas especificidades intrínsecas e características de ligação a carboidratos, um domínio de reconhecimento a carboidrato (DRC) que costumam quase sempre apresentar sítios de ligação a metal onde evidencia-se forte ligação de cátions divalentes de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mn}^{2+}$ . A literatura tem mostrado que as lectinas oriundas da família das *Leguminosae*, salvo algumas exceções, costumam ser metaloproteínas (DIAZ, 2017 ; CAVADA, 2020).

Figura 2 - Estrutura geral das lectinas de leguminosas.



Fonte: Adaptado de DIAZ, 2017. Representação característica de um monômero de uma lectina da família de leguminosas evidenciando as suas principais características, como o domínio de reconhecimento a carboidratos DRC e seus sítios dependentes de metais. O motivo jellyroll também fica bem evidente nesta figura.

#### **1.4 Divisão da família *Leguminosae***

A família das leguminosas inicialmente foi dividida em três subfamílias: *Papilionoideae*, *Caesalpinioideae* e *Mimosoideae* ( LEWIS, 2005). Durante muito tempo essa classificação foi a referência mais utilizada por pesquisadores que estudavam as lectinas vegetais. Todavia, essa subdivisão foi alterada em 2017 pelo Phylogeny Working Group e de acordo com a atual classificação, a nova divisão reconhece seis subfamílias: *Caesalpinioideae*, *Cercidoideae*, *Detarioideae*, *Dialioideae*, *Duparquetioideae* e *Faboideae*. (LPWG, 2017).

#### **1.5 Tribo *Dalbergieae***

*Papilionoideae* é a subfamília responsável por cerca de 70% de todos os representantes entre a família *Leguminosae* ( LPWG, 2017). Representante da subfamília *Papilionoideae*, a tribo *Dalbergieae* é composta por mais de 1300 espécies divididas entre 49 gêneros (LEWIS, 2005). No tocante às lectinas desta tribo, há relatos presentes na literatura que um total de aproximadamente 26 lectinas foram purificadas até o presente momento, tendo sido estas encontradas em 9 gêneros diferentes: *Andira*, *Arachis*, *Centrolobium*, *Lonchocarpus*, *Machaerium*, *Platypodium*, *Platymiscium*, *Pterocarpus*, e *Vatairea* ( NASCIMENTO, 2020).

#### **1.6 *Vataireopsis araroba***

A espécie *Vataireopsis araroba* trata-se de uma árvore do tipo decídua que possui madeira com cor amarelada ou marrom escuro e densidade de 0,60 g/cm<sup>3</sup> que costuma apresentar sabor amargo e exalar um mau cheiro característico, sendo por isso considerada fétida. Ademais, é endêmica da floresta tropical brasileira podendo ser encontrada do sul do estado da Bahia ao norte do estado do Espírito Santo. Possui folhas emplumadas, que são panículas eretas e que costumam agrupar-se nas extremidades dos ramos com padrão de nervação do tipo broquidódroma e podendo chegar até a 50 folíolos. O seu fruto é do tipo Sâmara unisseminada com ala paranuclear apical terminando antes do estípite. No que diz respeito a sua frutificação, é subsequente e estende-se ao longo do ano todo (LIMA, 1980; OSTERNE,2023).

#### **1.7 Lectinas vegetais na defesa da planta contra fungos**

Não de hoje as infecções a plantas causadas por fungos são uma preocupação eminente no mundo todo, pois o impacto causado por estes organismos gera inúmeros

prejuízos e desafios relacionados à integridade de ecossistemas naturais e ao comprometimento da segurança alimentar, impactando áreas sociais e humanas importantes, como a saúde, a ecologia e a agricultura. Desta forma, esforços e investimentos constantemente tornam-se necessários frente a este problema, a fim de mantê-lo sob controle (FISHER *et al*, 2013).

No mundo contemporâneo, as cinco principais culturas utilizadas para a alimentação são: trigo, arroz, milho, soja e óleo de palma. Destas mencionadas, o trigo e a soja sofrem constantemente com as infecções causadas por patógenos fúngicos e oomicetos, como o fungo da brusone do trigo, *Maagnaporthe oryzae*, o fungo da ferrugem da soja, *Phakopsora pachyrhizi* e o patógeno oomiceto da soja *Phytophthora sojae* ( FISHER *et al*, 2020). Os fungos possuem a capacidade de permanecer dormentes, mas vivos até que as condições sejam propícias para se proliferarem. Eles são capazes de permanecer o tempo necessário dentro de tecidos vivos e mortos das plantas hospedeiras. Além disso, seus esporos costumam ser dispersos pelo vento, água, insetos e até pelo solo. São exemplos de doenças causadas por fungos patogênicos em plantas: mancha de folha fúngica, ferrugem das folhas, murcha de *Fusarium*, requeima, oídio e míldio ( JAIN, *et al.*, 2019 ).

Em um ambiente natural complexo para reagir adequadamente às ameaças que sofrem diariamente como pragas, patógenos e herbivoria, as plantas desenvolveram um sistema regulatório de defesa extremamente engenhoso, no qual as lectinas cada vez mais apresentam-se como protagonistas de funções importantes, visto que são expressas em grandes quantidades em diversos tecidos vegetais e já foi demonstrado que desempenham papel na defesa da planta ( PNEUMANS; VAN DAMME, 1995).

No Início, as pesquisas relacionadas às lectinas e suas funções biológicas ficaram mais restritas à atividade hemaglutinante característica desta macromoléculas. No entanto, após a descoberta que as lectinas podem ser induzidas por estresse abiótico e biótico surgiram novas ideias relacionadas ao papel fisiológico que essas proteínas desempenham em plantas, o que fez com que novas áreas de pesquisas fossem exploradas, como por exemplo a forma de defesa desenvolvida pelas plantas e a relação entre este evento natural com a interação entre lectinas de plantas e patógenos do reino fungi ( LANNOO; VAN DAMME, 2014). Assim, foi percebido através de diversos estudos que quando as plantas são atacadas por patógenos como bactérias e fungos, a invasão destes patógenos é percebida por padrões de reconhecimento (PPRs) através do reconhecimento de receptores transmembranares na superfície celular vegetal. Esses receptores são capazes de reconhecer moléculas conhecidas como Padrões Moleculares Relacionados ao Patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados ao dano

(DAMPs). Exemplos de PAMPs e DAMPs incluem lipopolissacarídeos (LPS) de bactérias Gram-negativas, peptidoglicano (PGN), glicanos, quitinas e proteínas da parede celular que contenham carboidratos.

Um enorme número de receptores semelhante a quinases (RLKs) e receptores semelhantes a proteínas (RLPs) são implantados pelas plantas com a finalidade de reconhecer PAMPs e muitas vezes funcionam como parte integrante de um complexo multiproteico na superfície celular e seus domínios extracelulares apresentam enormes variações, o que os torna capazes de reconhecer grande variedade de sinais além dos sinais PAMPs relacionados a estresse abiótico, simbiose planta- microrganismo, regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal. Geralmente um receptor de planta do tipo RLK contém um domínio extracelular, onde o ligante será percebido, um domínio transmembranar e um domínio quinase intracelular, enquanto o do tipo RLP não possui o domínio quinase citoplasmático.

Dependendo da estrutura dos ectodominios, os RLKs são divididos em 17 classes, e embora a mais estudada seja a família RLK com repetição rica em leucina, a classe lectina RLK (LecRLKs) têm ganhado bastante destaque recentemente, visto que vem sendo especialmente relatada na imunidade inata das plantas. Ainda que até o presente momento não tenha sido relatado nenhum homólogo de LecRLKs em outros reinos, sendo estas proteínas exclusivas das plantas, (LecRLK) e foi nomeada dessa forma por ser capaz de reconhecer carboidratos específicos assim como as lectinas. Como o papel de uma série de lectinas envolvidas na sinalização e na interação com microrganismos tanto em simbiose como em defesa ainda não esteja totalmente compreendido, ainda tem-se uma dificuldade de conceituar como as lectinas são capazes de reconhecer amigos e inimigos.

No entanto, alguns entendimentos sobre o assunto ao longo do tempo estão sendo elucidados. Atualmente sabe-se que na superfície celular das plantas cinco domínios de lectinas foram relatados como parte de quinases semelhantes a receptores de lectina (LecRLKs) e proteínas semelhantes a receptores de lectina (LecRLPs): (1) lectina do tipo G, que possui GNA característico de ligação de manose, (2) lectina do tipo L, domínio típico das leguminosas, (3) lectina tipo C, são dependentes de cálcio, mas são raras em plantas, (4) lectina do Lys M que se ligam a quitina ou oligômeros de quitina, possuem um motivo de lisina ectópica e (5) lectinas semelhante à malectina, estas últimas assemelham-se com glicoproteínas ancoradas no retículo endoplasmático animal. Ademais, até o presente momento, as LecRLKs que desempenham papel de defesa contra patógenos estão classificadas como do tipo L, do tipo G e do tipo Lys M, sendo que o primeiro está mais relacionado com as leguminosas (CONINCK ; VAN DAMME, 2021).

Conforme já mencionado neste trabalho, a quitina é o principal componente encontrado na parede celular do reino fúngico e também é reconhecida como PAMP por uma enorme variedade de plantas. Atualmente, sabe-se que o sistema de reconhecimento de quitina no arroz é feito por dois tipos de proteínas Lys M: OsCEBiP e OsCERK1, enquanto a primeira é uma proteína de membrana com alta afinidade por oligossacarídeos de quitina, a segunda aparentemente forma um complexo com a primeira para induzir a sinalização imune. O processo de sinalização ainda não está completamente entendido, ainda que se saiba que os grupos N-acetil dos oligossacarídeos de quitina são essenciais para induzir a resposta de defesa, visto que os oligossacarídeos de quitosana, não possuem grupos N-acetil e também não conseguem induzir as respostas de defesa. Outro dado que merece destaque é o tamanho do oligossacarídeo de quitina, pois aqueles que apresentam comprimento maior que um hexâmero apresentam atividade mais alta (DESAKI *et al*, 2018). O domínio Lys é um módulo não catalítico de ligação a carboidratos, que costuma apresentar entre 40 e 50 aminoácidos e reconhece especificamente polissacarídeos contendo resíduos GlcNAc.

Há relatos na literatura que as proteínas Lys são amplamente distribuídas em diversos tipos de fungos, indo desde os simbiossiontes aos patógenos, incluindo também os micoparasitas e os saprófitas. Evidências têm mostrado que os fungos secretam uma variedade de proteínas efetoras durante a colonização de seus nichos. Os efetores Lys M estão sendo associados à patogênese de plantas e micoparasitismo ( OGUIZA, 2022 ). Desta maneira, as lectinas de plantas que apresentam especificidade para N-acetilglicosamina, são vistas como potenciais candidatas a interagirem com os glicanos da parede celular dos fungos e dessa forma reconhecê-los. A toxicidade da lectina é percebida através da reticulação dos glicoconjugados da célula hospedeira pela lectina, resultando na morte celular ou redução do crescimento. Há décadas, tem-se o exemplo da aglutinina do germe de trigo (WGA), uma lectina específica da quitina do trigo que inibiu a extensão das hifas e o crescimento do *Trichoderma viride* (KONOZY *et al*, 2022). A inibição do crescimento pode ser resultado da interação da lectina com as hifas do fungo, causando uma má absorção de nutrientes ou por interferência no processo dos esporos, bem como na síntese e deposição de quitina na parede celular (COELHO *et al.*, 2018).

As lectinas do tipo G já foram relatadas em diversos trabalhos como importantes efetores na defesa de plantas contra insetos, fungos e bactérias. No trabalho desenvolvido por Haile *et al*, o seu grupo de pesquisas caracterizou funcionalmente uma lectina ligadora de manose do tipo G em resposta a patógenos fúngicos do morango. A planta do morango possui domínio de lectina relacionada à aglutinina (GNA) que tem afinidade com a manose ou N-

glicanos e este domínio é característico da lectina tipo G sendo sua proteína é composta por um peptídeo N-terminal, que lhe confere capacidade de reconhecer e ligar-se a manose (HAILE *et al.*, 2022).

### **1.8 Lectinas com atividade antifúngica e sua importância na área da saúde**

Microrganismos patogênicos cada vez mais são relatados com a capacidade de mudar constantemente como estratégia de sobrevivência e tal situação tem gerado um grande desafio para os profissionais que estudam ou trabalham diretamente com as infecções fúngicas, pois muitas drogas que costumam ser prescritas para o tratamento já não apresentam mais a mesma eficiência contra esses patógenos, visto que eles desenvolveram a capacidade de resistência ou tolerância à medicação, o que ficou conhecido como resistência antimicrobiana (AMR). Devido aos fatos mencionados, é notável a necessidade de novos antimicrobianos que consigam resolver o problema do tratamento de microrganismos resistentes, como os das doenças micóticas e as lectinas, dada as suas características de especificidade e versatilidade, mostram-se como promissoras moléculas bioativas que cada vez mais ganham atenção na pesquisa relacionada ao tema ( KONOZY *et al.*, 2022; DEL RIO, 2020).

Apesar da existência de outras proteínas antifúngicas muito bem estudadas e que apresentam efeito mais forte, há tempos na literatura acumulam-se relatos de lectinas que também apresentam atividade contra fungos. Por serem proteínas capazes de ligar-se a carboidratos, as lectinas ligam-se com glicanos presentes na superfície dos fungos fazendo com que aconteçam diferentes reações que podem implicar na morte ou na inibição do crescimento do organismo ( HAMID *et al.*, 2013 ). De todas as lectinas que apresentam atividade antifúngica as de plantas são as mais estudadas e conseqüentemente são as que possuem mais resultados descritos até o presente momento. As lectinas de plantas, através dos seus domínios característicos são capazes de fazerem interações específicas com ligantes endógenos ou exógenos e estas interações são estritamente necessárias tanto para o desenvolvimento da planta como para a sinalização aos estresses abióticos e bióticos (CONINCK; VAN DAMME, 2021). Conseqüentemente, a interação da lectina com as hifas do fungo influencia diversas atividades importantes afetando diretamente a sua sobrevivência. Outro fator importante no acometimento fúngico é o fato da ligação de lectina à quitina comprometer tanto na síntese quanto na deposição de quitina na parede celular, tal fato relatado inibe o crescimento do fungo. Ademais, as lectinas também são capazes de induzir diversas alterações morfológicas que tornam os fungos susceptíveis a variadas condições de

estresse, como hifas inchadas, vacuolização do conteúdo presente na célula, lise da parede celular da hifa e aumento da sensibilidade ao choque osmótico (MISHRA *et al.*, 2019).

### **1.9 Fungos, aspectos gerais**

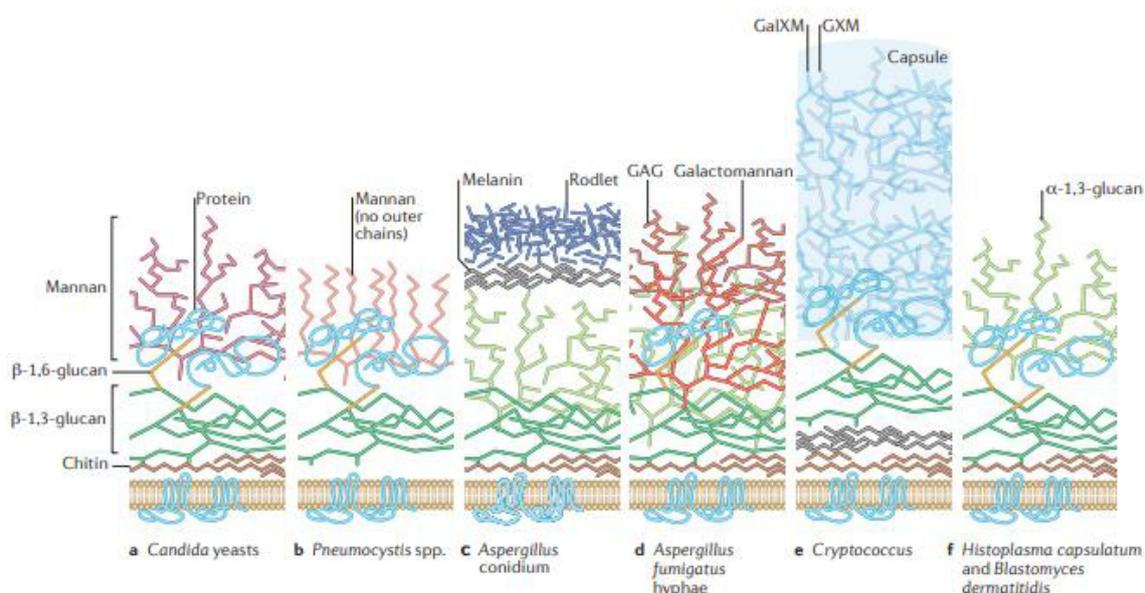
O reino fungi é formado por organismos eucariontes, heterotróficos tanto unicelulares quanto pluricelulares, que já foram relatados como habitantes de todos os ecossistemas e obtêm carbono e nitrogênio de fontes externas. Além disso, possuem características bastante particulares, como a formação de propágulos quitinosos resistentes na forma de esporos e de paredes celulares tipicamente quitinosas compostas de homopolímero  $\beta$ 1-4 ligado a resíduos de N-acetilglicosamina e quitosana, um copolímero de N-acetil-D-glicosamina e D-polímero de glucosamina, que fornece a estabilidade e a rigidez típica da parede celular fúngica (ERWIG; GOW, 2016; KONOZY *et al.*, 2022). Este reino é amplamente conhecido na literatura por possuir diversos representantes capazes de realizar variadas associações cooperativas e parasitárias com outros organismos. Desta forma, na natureza é possível encontrar seus exemplares tanto de vida livre como fazendo simbiose com diversas outras espécies, incluindo as plantas.

Os representantes do reino descrito podem viver como comensais associados de plantas e animais, mas também podem causar doenças devastadoras através de variadas estratégias invasivas aos seus hospedeiros. Os do tipo ectomicorrízicos (ECM) e arbusculares micorrízicos (AMF) são conhecidos por fazerem parcerias mutualísticas com plantas que envolvem troca de recursos. No entanto, também existem alguns fungos patogênicos capazes de produzir toxinas ou outras moléculas bioativas que podem desativar as defesas e destruir as células do hospedeiro. Um outro tipo, tido como oportunista, só causa doença quando o hospedeiro encontra-se imunocomprometido (STAJICH, 2018)

Os fungos primeiramente foram considerados vegetais na primeira classificação taxonômica feita por Linnaeus. Passado o tempo muita coisa mudou em relação ao conhecimento e entendimento desse reino e atualmente esses organismos compreendem um grupo exclusivo e com características próprias que os fazem bastante diferentes das plantas e também dos animais. As primeiras classificações levaram em conta a nutrição osmotrófica de vários grupos de eucariotos heterotróficos, a afinidade filogenética e também considerou coletivamente um grupo de clados como fungos verdadeiros ou Eumycota. Atualmente, a taxonomia mais utilizada está dividida em nove linhagens principais, sendo elas: Opisthoporídia, Chytridiomycota, Neocallimastigomycota, Blastocladiomycota, Zoopagomycota, Mucoromycota, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota, que juntas

formam o clado monofilético dos fungos verdadeiros ( NARANJO-ORTIZ; GALBADÓN, 2019). Dentre os fungos, o gênero *Fusarium*, que pertence ao grupo dos ascomicetos, costuma se destacar na literatura pois são fungos fitopatogênicos que causam doenças nas culturas mais importantes do mundo, geram grandes perdas econômicas na produção agrícola mundial e contribuem para insegurança alimentar e a fome. *Fusarium spp* em sua maioria são capazes de sintetizar metabólitos secundários tóxicos, conhecidos como micotoxina, que são substâncias químicas fitotóxicas e prejudiciais à saúde humana e animal. As espécies de *Fusarium* produtoras de micotoxina são os principais patógenos do trigo, aveia, cevada e milho, podendo a causar significativas perda de rendimento também em culturas de frutas tropicais como banana, abacaxi, lentilha, tomate e ervilha (PERINCHERRY et al, 2019).

Figura 3 - Composição da parede celular fúngica.



Fonte: Adaptado de ERWIG: GOW, 2016. Conforme pode ser notado nesta figura a quitina compõe a parede da maioria das espécies de fungos.

### 1. 10 Lectinas de plantas com atividade antifúngica

Na literatura há exemplos fartos de lectinas com diversas atividades biológicas e entre esses exemplos, ainda que em menor quantidade de registros, encontram-se também aquelas que apresentam atividade antifúngica, como uma lectina homodimérica das raízes de *Astragalus mongholicus*, uma erva chinesa, que apresentou atividade contra *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum sp* e *Drechslera turcica*. Esta lectina descrita foi purificada através de cromatografia de troca iônica, recebeu o nome de (AMML) e apresentou

massa molecular intacta de 66.396 Da por espectrometria de massa MALDI-TOF além de massa molecular aparente de 61,8 kDa por PAGE SDS (YAN *et al.*, 2005).

Outra lectina vegetal que também apresentou atividade antifúngica foi uma lectina hidrossolúvel de sementes de *Moringa oleifera* (WSMol) que inibiu o crescimento e o desenvolvimento de *Candida*, induzindo a apoptose, necrose e alteração no potencial de membrana mitocondrial. É necessário ressaltar que diferentes espécies foram avaliadas e a lectina atuou de forma diferente nas espécies avaliadas. Das espécies observadas no estudo, *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* apresentaram a maior concentração mínima inibitória ( CMI ) que foi de 80 µg/mL ( SANTOS *et al.*, 2021).

Em um outro estudo que teve como objetivo analisar o potencial antifúngico de duas lectinas contra *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, as proteínas de interesse foram extraídas das sementes de duas espécies: *Canavalia ensiformis*, a primeira lectina purificada na história, e *Canavalia rosea*. Cabe destacar que a potencialidade antifúngica das lectinas foi melhor observada na presença de fluconazol, um fármaco antifúngico já conhecido e bastante usado na micologia médica em diversos tratamentos. Assim, a associação de lectinas com concentrações subinibitórias de fluconazol aumentou a atividade fúngica em torno de 50% e inibiu o crescimento das cepas (FONSECA *et al.*, 2022).

Num outro trabalho foi verificado que Helja, uma lectina de girassol de 16 kDa pertencente à família relacionada à jacalina exerceu atividade antifúngica contra *Sclerotinia sclerotiorum*, um conhecido patógeno de girassol além de mostrar-se seletiva, pois não mostrou atividade contra *Fusarium solani*, este último citado não é um patógeno de girassol, o que nos leva a crer que a atividade antifúngica da lectina está diretamente relacionada com a defesa contra fungos patogênicos da planta girassol. Além disso, o trabalho também evidenciou a mecânica da atividade antifúngica apresentada pela lectina extracelular, onde foi sugerido que a interação proteína carboidrato da parede celular fúngica acontece após a internalização e assim a lectina interage com a superfície do esporo fúngico, onde irá permeabilizar a membrana plasmática e induzir estresse oxidativo que desencadeia a morte da célula (DEL RIO *et al.*, 2018).

Em outro estudo, sementes de *Bauhinia unguolata*, uma planta nativa do Brasil pertencente à subfamília *Caesalpinioideae*, foram utilizadas como fonte para a extração de uma lectina galactose-específica de massa molecular aparente de 30 kDa, que demonstrou atividade antifúngica contra espécies fitopatogênicas e apesar de não inibir o crescimento de *Fusarium*, foi capaz de reduzir o crescimento radial de *F. solani* em torno de 40 % e de *F.*

*moniliforme* em 30%. Demonstrando melhor atividade contra *F. solani*, *F. moniliforme* e *Fusarium oxysporum* (SILVA *et al.*, 2014).

Outro estudo que avaliou três sementes de cultivares leguminosas egípcias, sendo elas fava, lentilha e ervilha, mostrou que a lectina de fava tem potencial antifúngico contra *Candida albicans*. A lectina mostrou especificidade por manose e tem massa molecular aparente de 14, 17 e 18 kDa respectivamente para fava, ervilha e lentilha. A inibição variou de 1,95 a 250 µg/mL. sendo relatado atividade antifúngica através da inibição no crescimento de *Candida albicans* (EL- ARABY *et al.*, 2020)

BmoRoL é outro exemplo de lectina com atividade antifúngica contra fungos do gênero *Fusarium*. Esta lectina é extraída das raízes da planta *Bauhinia monandra*, tem massa molecular aparente de 26 kDa e apresentou atividade antifúngica contra *F. solani* inibindo o seu crescimento em até 30%. No entanto, o crescimento de *F. moniliforme*, *F. lateritium* e *F. decemcellulare* apresentaram inibição menor que o controle negativo (SOUZA *et al.*, 2011).

Uma lectina purificada a partir da semente de *Amaranthus viridis* mostrou-se não dependente de metais e apresentou uma banda de 67 kDa apresentou atividade antifúngica contra os fungos fitopatogênicos *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporium* apesar de não apresentar atividade antifúngica contra *Trichoderma reesei* e *Fusarium graminearum* (KAUR, *et al*, 2006 )

Além disso, testando a atividade antifúngica da lectina da semente da pimenta (*Capsicum annum*) os responsáveis pelo trabalho, verificaram que a lectina impediu a germinação de esporos e conseqüentemente o crescimento de hifas do fungo *Fusarium graminearum*, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani* e *Aspergillus flavus* (KUKU *et al*, 2009).

Num outro trabalho conduzido a partir da lectina de *Machaerium acutifolium* (MaL) evidenciou-se que trata-se de uma aglutinina específica de N-acetil -D- glucosamina e que inibiu o crescimento de *C.albicans* e *C.parapsilosis* mostrando assim atividade antifúngica contra essa duas espécies. Os autores do trabalho creditaram a inibição do crescimento ao aumento da permeabilidade da membrana, o que causou desregulamento do bombeamento de prótons feito pela ATPase, fazendo com que estresse oxidativo fosse gerado e o material genético danificado.

(LNL) é uma lectina de ligação à manose extraída do rizoma de *Liparis nervosa* é uma proteína monomérica com massa molecular de aproximadamente 13 kDa que exibiu atividade antifúngica comparável contra os fungos *F. graminearum* e *Pyricularia oryzae* (Cavara) além de mostrar-se como potencial candidata teraéutica contra tumor, pois também apresentou atividade antiproliferativa (JIANG *et al*, 2020)

**Tabela 2- Lectinas de plantas, estrutura molecular e açúcar específico**

Nome científico	Nome da lectina	Origem da lectina	Estrutura molecular (kDa)	Açúcar específico
<i>Amaranthus viridis</i>	AVL	semente	67	N-acetil-lactosamina
<i>Astragalus mongholicus</i>	AMML	folha	61,8	D-galactose
<i>Bauhinia monandra</i>	BmoRoL	raíz	26	D-galactose
<i>Bauhinia Ungulata</i>	BUL	semente	30	D-galactose
<i>Canavalia ensiformis</i>	Con A	semente	25.5, 14, 12	manose / glicose
<i>Canavalia rósea</i>	Con M	semente	25.5, 12	glicose
<i>Canavalia brasiliensis</i> Benth	ConBr	semente	25	manose / glicose
<i>Capiscum annum</i>	CAL	semente	25	manose / glicose
<i>Helianthus annuus</i>	HejLa	semente		manose
<i>Liparis nervosa</i>	LNL	rizoma	13	manose
<i>Machaerium acutifolium</i>	MaL	semente	29, 13, 8	N-acetil- glicosamina
<i>Moringa oleifera</i>	WSMol)	semente	60	quitina, glicose frutose

**Fonte:** Elaborado pelo Autor

**Tabela 3- Lectinas de plantas com atividade antifúngica**

Nome científico	Nome da lectina	Fungo	CMI (µg/mL)	Atividade Antifúngica
<i>Amaranthus viridis</i>	AVL	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>F. oxysporum</i>	100	Fungistático
<i>Astragalus mongholicus</i>	AMML	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>F. oxysporum</i>	20	Fungistático
<i>Bauhinia monandra</i>	BmoRoL	<i>F. solani</i>	-	Fungistático
<i>Bauhinia unguolata</i>	BUL	<i>F. lateritium</i> , <i>F. moniliforme</i>	160	Fungistático
<i>Canavalia ensiformis</i>	Con A	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i>	0,5- 512	Fungistático
<i>Canavalia rosea</i>	Con M	<i>C. albicans</i>	0,5- 512	Fungistático
<i>Canavalia brasiliensis</i> Benth	ConBr	<i>C. parapsilosis</i>	80	Fungistático
<i>Capiscum annum</i>	CAL	<i>A. niger</i> <i>F. solani</i>	200-1000	Fungistático
<i>Helianthus annuus</i>	HejLa	<i>Sclerotinia sclerotorium</i>	200	Fungistático Fungicida
<i>Liparis nervosa</i>	LNL	<i>F. graminearum</i>	13	Fungistático
<i>Machaerium acutifolium</i>	MaL	<i>C. parapsilosis</i>	18	Fungistático
<i>Moringa oleifera</i>	WSMol	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i>	80	Fungistático Fungicida

**Fonte:** Elaborado pelo autor. CMI: concentração mínima inibitória.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

- Bioprospectar uma lectina de extratos das sementes de *Vataireopsis araroba*.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Preparar farinha das sementes de *Vataireopsis araroba*;
- Preparar diferentes soluções tamponantes para extração das proteínas totais;
- Quantificar proteínas solúveis através do método de Bradford;
- Preparar os eritrócitos de coelho;
- Realizar ensaios de atividade hemaglutinante dos extratos proteicos;
- Calcular a atividade específica dos extratos usados na triagem.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Preparo da farinha das sementes de *Vataireopsis araroba*

As sementes de *Vataireopsis araroba* foram obtidas comercialmente pelo Laboratório de Moléculas Biologicamente Ativas (BioMol-Lab) alocado no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBBM) da Universidade Federal do Ceará e certificada pelo Professor Dr. Benildo Sousa Cavada, Coordenador do BioMol-Lab. Estas então foram descascadas com o auxílio de alicates para remoção do tegumento. Em seguida, as sementes foram trituradas num moedor de café e peneiradas até a obtenção de uma farinha fina. Para remoção de possíveis compostos lipofílicos presentes na farinha, ela foi tratada com hexano numa proporção de 1:5 g/mL, sob agitação constante no rotor homogeneizador durante 30 minutos. Em seguida a amostra foi centrifugada a 9000 x g por 30 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi descartado. O procedimento de tratamento com hexano foi realizado duas vezes. Em seguida a farinha foi colocada na câmara de exaustão para evaporação dos resíduos de hexano. Finalmente, quando a farinha estava completamente seca, ela foi utilizada para extração das proteínas de interesse (CAVADA et al., 2019).

#### 3.2 Preparo das soluções e extração de proteínas

Para extração de proteínas solúveis presentes na farinha das sementes de *V. araroba*, foram utilizadas diferentes soluções: (1) água destilada, (2) NaCl 150 mM, (3) tampão Glicina 100 mM, pH 2,6 com NaCl 150 mM, (4) tampão Acetato 100 mM, pH 4,0 com NaCl 150 mM, (5) tampão Tris-HCl 100mM, pH 7,6 com NaCl 150 mM e (6) tampão Glicina 100 mM, pH 9,0 com NaCl 150 mM. O preparo de cada solução tampão deu-se por meio da diluição da solução tampão mais concentrada de 1 M e da solução de NaCl 3M em água destilada deionizada e filtrada em membranas millipore de 0.22 µm. Para este experimento preparamos 50 mL de cada solução em tubos Falcon de 50 mL devidamente etiquetados. Para aferir o volume utilizamos Pipeta graduada de 1000 µL e provetas de 50 mL. Depois de prontas, as soluções foram armazenadas na geladeira sob a temperatura de 4° C até o seu uso.

A extração das proteínas totais foi realizada seguindo a proporção 1:10 (g/ml – massa da farinha / volume de solução de extração) em tubos *ependorfs* de 2 mL, onde foi colocado 100 mg da farinha peneirada e 1 mL da solução extratora. Após, foi feita a homogeneização e a extração sob agitação constante durante o período de 2 horas. Em seguida, foi realizada a centrifugação nas condições descritas no tópico anterior. Após a centrifugação, foi coletado o sobrenadante de todas as amostras e separados em seis

*eppendorfs* de 2 mL e etiquetados como amostras de 1-6, sendo que 1 a 6 são os extratos respectivamente representados pelas soluções descritas no parágrafo anterior (OSTERNE, 2023; NASCIMENTO *et al.*, 2012). Posteriormente, as amostras foram quantificadas quanto à presença de proteínas solúveis e verificadas quanto a presença de lectinas por meio do teste de atividade hemaglutinante descrita no tópico 3.5.

### **3.3 Quantificação das proteínas solúveis**

A concentração de proteínas solúveis totais em cada amostra de extrato das sementes de *Vataireopsis araroba*, foi determinada pelo método de Bradford usando uma curva padrão da albumina de soro bovino (BSA). Todas as amostras foram lidas no espectrofotômetro a 595 nm.

O ensaio foi realizado em duplicata e para o preparo das amostras foram utilizados tubos de ensaio que foram separados em seis grupos com cada grupo tendo oito tubos de ensaios. Primeiramente foram colocados 50 µL de cada solução em todos os tubos de cada grupo respectivo. Em seguida, 50 µL de cada uma das amostras de 1-6 foi colocado em cada um dos tubos do primeiro grupo de oito tubos e acompanhada de uma diluição seriada. O procedimento foi repetido para todas as seis diferentes amostra e para os outros cinco grupos de tubos de ensaio. Após a diluição da amostra 2,5 mL da solução de Bradford foi colocada nos tubos de ensaios que continham as amostras mais concentradas e foi reservada às amostras mais diluídas para continuar a diluição caso necessário. As amostras juntamente com o Bradford ficaram 10 minutos no escuro evitando contato com a luz para que o reagente de Bradford pudesse interagir com as proteínas solúveis. Após o tempo de contato, as amostras tiveram suas absorbâncias lidas em um espectrofotômetro a 595nm e para a leitura do teste branco foi usado 100 µL de cada solução. Aquelas amostras que não mostraram-se dentro da curva padrão da BSA foram diluídas até apresentarem um valor de absorbância que estivesse dentro dos valores que pudessem ser aplicadas na equação da curva. Assim, com os valores de absorbância e com a equação da reta da curva padrão de BSA, o valor da concentração de proteínas pode ser calculado em mg/ml (BRADFORD, 1976).

### **3.4 Preparo de eritrócitos**

Para o preparo dos eritrócitos usados no ensaio de atividade hemaglutinante, primeiramente teve-se o cuidado de lavar com água destilada toda a vidraria usada no processo e depois esterilizar com álcool 70% e Hipoclorito 10%. Posterior à lavagem das vidrarias e também feita a higienização do local, foi coletado o sangue de um coelho adulto

pertencente ao Biotério da Bioquímica da Universidade Federal do Ceará (UFC) e que foi contido numa caixa de madeira para o procedimento. Costuma-se coletar aproximadamente 10ml de sangue, porém esse valor pode variar dependendo do coelho selecionado. A lavagem das impurezas é feita com uma solução gelada de NaCl na concentração de 150 mM. É necessário destacar que antes da coleta, todas as vidrarias são acondicionadas com a solução salina para evitar choque térmico e rompimento das hemácias.

Assim, em um béquer de 50ml coloca-se EDTA para evitar que o sangue coagule logo que for retirado. Em seguida, com o auxílio de uma agulha, a orelha do animal é furada fazendo com que o sangue escorra no béquer, onde é coletado. Após o procedimento o sangramento do coelho é estancado e o ferimento é devidamente cuidado para que não venha a infeccionar, o material biológico coletado no béquer é transferido para um falcon de 50mL previamente condicionado com a solução salina. O conteúdo então é completado com NaCl 150 mM até aproximadamente 40 mL, é pesado e levado para a centrífuga, onde ficará por 7 minutos nas seguintes condições: 4 ° C e 5000 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante é descartado e os eritrócitos são ressuspensos com NaCl 150 mM. O procedimento é repetido outras 5 ou 6 vezes até que seja notado o sobrenadante bem limpo e transparente. Então o último sobrenadante é descartado e o precipitado de eritrócitos é dividido para um falcon de 50mL e duas provetas de 50 ml previamente condicionados com salina, onde o falcon terá o seu conteúdo completado com NaCl 150 mM até que a concentração dos eritrócitos seja de 2% (m/v) e os eritrócitos presente nas duas provetas seguirão para a segunda etapa da lavagem. Terminado todo o processo descrito, tem-se o que é chamado de eritrócitos nativos (EN).

A segunda etapa do processo da preparação dos eritrócitos consiste no tratamento enzimático dos eritrócitos nativos com as enzimas proteolíticas papaína e tripsina. Os eritrócitos nativos presentes nas duas provetas separadas na etapa anterior têm o seu conteúdo completado até que fiquem na concentração 2% (m/v). Em seguida, é feito um cálculo matemático, que não será descrito aqui, para determinar a quantidade de enzimas usadas no tratamentos. As enzimas então são colocadas nas provetas em contato com os eritrócitos por uma hora. Após o tratamento, os eritrócitos tratados com papaína (EP) e os eritrócitos tratados com tripsina (ET) são transferidos para falcons de 50ml previamente acondicionados com solução salina, depois pesados e levados para centrífuga por 7 minutos nas seguintes condições: 4° C e 5000 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante é descartado e os eritrócitos são ressuspensos com NaCl 0,15 M. O procedimento é repetido outras 5 ou 6 vezes até que seja notado o sobrenadante bem limpo e transparente. Então, o último

sobrenadante é descartado e o precipitado de eritrócitos tem o seu conteúdo completado até que fiquem na concentração 2% (m/v) ( MOREIRA; PERRONE, 1977 ).

### **3.5 Atividade Hemaglutinante dos extratos proteicos**

Para os ensaios de Atividade Hemaglutinante (AH), foram usadas placas de microtitulação de 96 poços com fundo em “v”, onde primeiramente foram colocados 50 µL da solução Tris HCl 100mM pH 7,6 contendo NaCl 150 mM, CaCl<sub>2</sub> 5 mM e MnCl<sub>2</sub> 5 mM. Após o processo descrito, 50 µL de cada amostra foi colocado no segundo poço da placa junto da solução de Tris HCl 100mM pH 7,6 contendo NaCl 150 mM, CaCl<sub>2</sub> 5 mM e MnCl<sub>2</sub> 5 mM. Posteriormente foi feita uma diluição seriada até o décimo primeiro poço. Após fazer todas as diluições, foram usados 50 µL de eritrócitos de coelhos em concentração de 2% em condição nativa e também tratados com as enzimas em todos os poços das placas, tendo o cuidado de reservar o último poço diluído, para a possibilidade da necessidade de continuar com as diluições e prosseguir com o teste. Como controle negativo utilizamos os poços com apenas Tris HCl 100mM pH 7,6 contendo NaCl 150 mM, CaCl<sub>2</sub> 5 mM e MnCl<sub>2</sub> 5 mM e os eritrócitos. Todos os procedimentos para cada amostra e tipo sanguíneos foram realizados em duplicatas. Os resultados foram avaliados após as placas ficarem por 30 minutos em repouso em uma estufa a 37° C e posteriormente mais 30 minutos em repouso em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C). O Título de Hemaglutinação foi determinado como aquele com a maior diluição obtendo Hemaglutinação visível, o que equivale a uma Unidade de Hemaglutinação (UH) ( MOREIRA; PERRONE, 1977 ).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme pode ser observado na tabela abaixo os extratos da semente de *Vataireopsis araroba* apresentaram altas atividades hemaglutinantes para os três tipos testados de eritrócitos de coelho, sendo o maior título observado para os eritrócitos tratados com papaína e tripsina tanto para a solução NaCl 0,15 M quanto para a solução Acetato 100 mM, pH 4,0 com NaCl 150 mM.

**Tabela 4 Atividade Hemaglutinante de *Vataireopsis araroba***

Solução de extração	AH (U.H./mL)		
	EN	EP	ET
1	65536	131072	524288
2	131072	1048576	1048576
3	65536	524288	524288
4	524288	1048576	1048576
5	131072	524288	262144
6	65536	262144	262144

Fonte: Dados do projeto. EN: eritrócitos nativo de coelho, EP: eritrócito de coelho tratado com enzima papaína, ET: eritrócito de coelho tratado com enzima tripsina.

As lectinas da tribo *Dalbergieae* são bastante semelhantes estruturalmente, mas costumam apresentar diferenças significativas em seus padrões de oligomerização e consequentemente na sua forma de reconhecimento a carboidrato, o que afeta a intensidade da atividade hemaglutinante observada. A quantificação de proteínas foi feita utilizando o método de Bradford e quando necessário foi feita a diluição da amostra para que esta pudesse entrar na curva padrão. A quantidade de vezes em que a amostra precisou ser diluída foi chamada de fator de diluição.

Conforme pode ser observado na tabela abaixo uma concentração gradativa de proteínas foi evidenciada da amostra 1 até a amostra 6.

**Tabela 5- Concentração de proteínas solúveis totais nas diferentes condições de extração.**

<b>Amostras</b>	<b>Absorbância (595 nm)</b>	<b>Fator de Diluição</b>	<b>Concentração de proteínas (mg/mL)</b>
Extrato 01	0,558	-	0,082
Extrato 02	0,599	-	0,088
Extrato 03	0,360	3x	0,152
Extrato 04	0,641	-	0,189
Extrato 05	0,596	3x	0,264
Extrato 06	0,658	3x	0,292

Fonte: Dados do projeto. Junto das amostras estão suas respectivas absorbâncias e fatores de diluição

Conforme pode ser notado pelos dados apresentados na tabela 6, a melhor extração para a lectina de *Vataireopsis araroba* deu-se com a solução NaCl 0,15M pois foi a que apresentou atividade hemaglutinante específica maior em comparação com uma baixa concentração de proteínas solúveis. Evidenciando assim, que uma quantidade mínima de proteína é responsável por uma alta atividade hemaglutinante.

**Tabela 6 - Triagem de extração de *Vataireopsis araroba***

Solução de extração	Proteínas solúveis (mg/mL)	AH (U.H./mL)			AHE (U.H./mgP)		
		EN	EP	ET	EN	EP	ET
1	0,0821	65536	131072	524288	798246,5	1596492	6385968,3
2	0,0886	131072	1048576	1048576	1479368	11834943,5	11834943,5
3	0,1526	65536	524288	524288	429463	3435701	3435701
4	0,189	524288	1048576	1048576	2774010,5	5548021,5	5548021,1
5	0,264	131072	524288	262144	496484,8	992969,6	992969,5
6	0,292	65536	262144	262144	224438,3	897753,5	897753,5

Fonte: Dados do projeto. A solução 2 (NaCl 150 mM) obteve o maior título de Atividade Hemaglutinante Específica. EN corresponde a eritrócito nativo; EP corresponde a eritrócito tratado com papaína e ET corresponde a eritrócito tratado com tripsina.

O screening de extração é uma etapa importante para determinar a melhor solução extratora de uma lectina, mas até o presente momento a metodologia de extração e purificação das lectinas de *Dalbergieae* ainda é um processo não uniforme e os relatos a respeito da extração variam de acordo com as características de cada espécie.

A maioria das lectinas da tribo *Dalbergieae* foram extraídas em soluções tamponantes e pH específicos, como a lectina de *Vatairea guianensis* (VGL), que teve a sua melhor extração com a solução glicina 100 mM pH2,6 contendo NaCl 150 mM (SILVA, 2012). Assim, na literatura há relatos de poucas lectinas que também foram extraídas com NaCl 0,15M, no entanto, entre estas encontra-se a lectina de *Vatairea macrocarpa* que também ganha destaque em especial, pois trata-se de uma lectina muito parecida caracteristicamente com a *V. araroba* (CAVADA *et al*, 1998).

## 5. CONCLUSÃO

Conforme apresentado ao longo deste trabalho, *Vataireopsis araroba* demonstrou altas atividades hemaglutinantes evidenciando assim a presença de lectinas. Porém ainda que esta etapa de bioprospecção seja importante no processo de purificação de lectinas, apenas o ensaio de hemaglutinação não é suficiente para afirmar que trata-se da proteína de interesse deste trabalho, pois assim como as lectinas outros compostos fitoquímicos também podem causar hemaglutinação em eritrócitos, exemplo do que está sendo dito são os fenóis, metabólitos secundários bastante presente nas plantas. Logo, outros ensaios e estudos deverão ser feitos para confirmar a presença de lectinas nos extratos analisados. Para os próximos passos, ensaios como inibição, termoestabilidade, cromatografia e um acompanhamento através de PAGE -SDS deverão ser feitos para auxiliar a purificação.

## REFERÊNCIAS

- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- CAVADA, B.S. et al. A Diocleinae type II lectin from *Dioclea lasiophylla* Mart. Ex Benth seeds specific to  $\alpha$ -lactose/GalNAc. **Process Biochemistry**. v 93, p. 104 - 114, jun 2020 <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.03.026>
- CAVADA, B. S. *et al.* Comprehensive review on Caesalpinioideae lectins: From purification to biological activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 333-348, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.161>
- CAVADA, B. S. *et al.* Purification and characterization of a lectin from seeds of *Vatairea macrocarpa* Duke. **Phytochemistry**, 1998 [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00144-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00144-7)
- CONINCK, T. D.; VAN DAMME. Review: The multiple roles of plant lectins. **Plant Science**. v. 313, Dec 2021. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2021.111096>
- DESAKI, Y. et al. Plant immunity and symbiosis signaling mediated by Lys M receptors. **Innate Immun** p 92 - 100, Feb 2018. <https://doi.org/10.1177/1753425917738885>
- DEL RIO, M.; CANAL, L. L.; PINEDO, M.; REGENTE, M. Internalization of a sunflower mannose-binding lectin into phytopathogenic fungal cells induce cytotoxicity. **Journal of Plant Physiology**, v. 221, p. 22-31, Feb 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.12.001>
- DEL RIO, M.; DE LA CANAL, L.; REGENTE, M. PLant Antifungal lectins: Mechanism of action and Targets on Human Pathogenic Fungi. **Curr protein pept Sci**, v. 3, p. 284 - 294, 2020. [10.2174/1389203720666190906164448](https://doi.org/10.2174/1389203720666190906164448)
- DIAZ, L. I. et al. Legume Lectins: Proteins with Diverse Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18. jun 2017 <https://doi.org/10.3390/ijms18061242>
- ERWIG, L.P.; GOW A.R. NEIL. Interaction of fungal pathogens with phagocytes. **Nature Reviews Microbiology**. v. 14. p 163- 176. Feb 2016 <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2015.21>
- FONSECA, V. J. A.; BRAGA, A. L.; ALMEIDA, R. S.; SILVA, T. G.; SILVA, J. C .P.; LIMA, L. F.; SANTOS, M. H. C.; SILVA, R. R. S.; TEIXEIRA, C. S.; COUTINHO, H. D. M.; BRAGA M. F. B. M. B. Lectins ConA e CoM extracted from *Canavalia ensiformis* (L.) DC and *Canavalia rosea* (Sw) DC inhibit planktonic *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. **Archive of Microbiology**, v. 204. May 2022 <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02959-x>
- FISHER *et al.* Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. **Nature**. April 2012. <https://doi.org/10.1038/nature10947>
- HAMID, R. **Lectins: proteins with diverse applications**, **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. vol 3, May 2013
- JIANG, N.; WANG, Y.; ZHOU, J.; ZHENG, R.; YAN, X.; WU, M.; BAO, J.; WU, C. A novel mannose-binding lectin from *Liparis nervosa* with anti-fungal and anti-tumor activities.

**Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 52, p. 1081-1092, October 2020.

LANNON N.; VAN DAMME, E. J. M. Lectin domain at the frontiers of plant defense. **Front Plant Sci.** Aug 2014. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00397>

LIS, H. SHARON, N. Lectins in Higher Plants. Protein and Nucleic Acids. **Elsevier**. p 371 - 447. 1981. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-675406-3.50016-5>

LIMA, H. C. D. Revisão Taxonômica do gênero *Vataireopsis* Ducke ( LEG. FAB.), Sept. 1980 <https://doi.org/10.1590/2175-78601980325404>

KATOCH, R. Research advances and prospects of legume lectins. **Journal of Biosciences**. v. 46, Nov 2021. <https://doi.org/10.1007/s12038-021-00225-8>

KAUR N.; DHUNA V.; KAMBOJ S. S.; AGREWALA J. N.; SINGH J. A novel antiproliferative and antifungal lectin from *Amaranthus viridis* Linn seeds, **Protein and peptide letters**, v. 13, p. 897-905, 2006. [10.2174/092986606778256153](https://doi.org/10.2174/092986606778256153)

KONOZY E. H. E.; OSMAN M. E. M.; DIRAR A. L.; KWANSAH G. G. Plant lectins: A new microbial frontier, **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 155, Nov 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113735>

KUKU A.; ODEKANYIN O.; ADENIRAN K.; ADEWUSI M.; OLONADE T. Purification of mannose/glucose specific lectin with antifungal activity from pepper seeds (*Capsicum annuum*). **African Journal of Biochemistry Research**, v. 3 p. 272-278, 2009. [https://www.researchgate.net/publication/228472330\\_Purification\\_of\\_a\\_mannoseglucose-specific\\_lectin\\_with\\_antifungal\\_activity\\_from\\_pepper\\_seeds\\_Capsicum\\_annuum](https://www.researchgate.net/publication/228472330_Purification_of_a_mannoseglucose-specific_lectin_with_antifungal_activity_from_pepper_seeds_Capsicum_annuum)

MISHRA ABTAR et al. Structure -fuction and application of plant lectins in disease biology and immunity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 134, Dec 2019.

MOREIRA, R. A.; PERRONE, J.C. Purification and partial characterization of a lectin from *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 59, p. 783-787, 1977 [10.1104/pp.59.5.783](https://doi.org/10.1104/pp.59.5.783)

NASCIMENTO, K. S. *et al.* An overview of lectins purification strategies. **Journal of molecular recognition: JMR**, v. 25, n. 11, p. 527–541, 2012. <https://doi.org/10.1002/jmr.2200>

NASCIMENTO, K. S. Dalbergia lectins: A review of lectins from species of a primitive Papilionoideae (leguminous) tribe. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 144, p. 509 - 526, Feb. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.117>

NIZET V.; VARKI A.; AEBI M. MICObial lectins: Hemagglutinins, Adhesins and Toxins. **Essential of Glycobiology** , 3rd. ed., 2017.

Samples. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, p. 2892 - 2908, March 2020

OSTERNE, V. J. S.; OLIVEIRA, M.V.; SCHUTTER, K. D.; SERNA, S.; REICHARDT, N. C.; SMAGGHE, G.; CAVADA, B.S.; VAN DAMME E. J. M.; NASCIMENTO, K.S. A galactose-specific *Dalbergieae* legume lectin from seeds of *Vataireopsis araroba* (Aguiar) Ducke. **Glycoconjugate journal**, v. 40, p. 85-95, 2023 [10.1007/s10719-022-10082-8](https://doi.org/10.1007/s10719-022-10082-8)

OGUIZA J. A. Lys M proteins in mammalian fungal pathogens. **Fungal Biology Reviews**, v. 40, p. 114 - 122, June 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2022.02.001>

PEUMANS, W. J. VAN DAMME, E. J. M. Lectins as Plant Defense Proteins. **Plant physiology**, v. 109, n. 2, p. 347–352, 1995. [10.1104/pp.109.2.347](https://doi.org/10.1104/pp.109.2.347)

PERINCHERRY et al. Fusarium -Produced Mycotoxins in Plant -Pathogen Interactions. **Toxins (Basel)**, Nov 2019

POLITO L, BORTOLOTTI M.; BATTELLI MG.; CALAFATO G.; BOLOGNESI A. Ricin: An Ancient Story for a Timeless Plant Toxin. **Toxins**, v. 11, p. 324, 2019

SANTOS, L. M. M.; SILVA, P. M.; MOURA, M. C.; JÚNIOR, A. R. C.; AMORIM, P. K.; PROCÓPIO, T. F.; COELHO, L. C. B. B.; SILVA, L. C. N.; PAIVA, P. M. G.; SANTOS, N. D. L.; NAPOLEÃO, T. H. Anti-*Candida* activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL). **Journal of Medical Mycology**, v. 31 june 2021. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2020.101074>

SHARON N. LIS H. History of lectins: From hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**. v.14, p. 53–62, nov. 2004. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwh122>

SILVA, A. H.; PINTO, L.S.; TEIXEIRA, E.H.; NASCIMENTO, K. S.; CAVDA, B.S.; SILVA, A. L. BUL: a novel lectin from *Bauhinia unguolata* L. seeds with fungistatic and antiproliferative activities. **Process Biochemistry**, v. 49, Edição 2, p. 203 - 209 Feb 2014

SILVA, H. C.; NAGANO, C. S.; SOUZA, L. AG.; NASCIMENTO, K.S.; ISIDRO, R.; DELATORRE, P.; ROCHA, B. A. M.; SAMPAIO, A. H.; ASSREUY, A. M.; PIRES, A. F.; DAMASCENO, L.E. A.; DOMINGOS, G. FO M.; CAVADA, B. S. Purification and primary structure determination of a galactose-specific lectin from *Vatairea guianensis* Aublet seeds that exhibits vasorelaxant effect, **Process Biochemistry**, v. 47, p. 2347 - 2355, Dec. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.09.014>

SOUZA J. D.; SILVA M. BR.; ARGOLO A. CC.; NAPOLEÃO T. H.; SÁ R.A.; CORREIA M. TS.; PAIVA P. MG.; SILVA M. DC.; COELHO L. CBB. A new *Bauhinia monandra* galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities. **International Biodeterioration e Biodegradation**, v. 65, p. 696 - 702, August 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.02.009>

STAJICH, J. E. Fungal genomes and insights into the evolution kingdom. **Microbiol Spectr.** Jul, 2017. [10.1128/microbiolspec.FUNK-0055-2016](https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0055-2016)

TSANEVA, M.; VAN DAMME, E. J. M. 130 years of Plant Lectin Research. **Glycoconjugate journal**, v. 37, n. 5, p. 533–551, out. 2020. <https://doi.org/10.1007/s10719-020-09942-y>

THE LEGUME PHYLOGENY WORKING GROUP (LWPG). A new subfamily classification of the Leguminosae based on taxonomically comprehensive phylogeny. **TAXON** 66, v. 1, p 44-77, Feb 2017

YAN, Q.; JIANG Z.; YANG S.; DENG W.; HAN L. A novel homodimeric lectin from *Austragalus mongholicus* with antifungal activity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 442, p 72 - 81, Oct 2005. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.07.019>

VAN DAMME, ELS. J. M.; PEUMANS, W. J.; BARRE, A.; ROUGÉ, P. Plant Lectins: A Composite of Several Distinct Families of Structurally and Evolutionary Related Proteins with Diverse Biological Roles. **Plant Sciences**, v. 17, p. 575 - 692, 1998 <https://doi.org/10.1080/07352689891304276>

VAN HOLLE, S.; VAN DAMME, E. J. M. Messages from the past: New insights in plant lectin evolution. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 36, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00036>

VAN DAMME, ELS. J. M. 35 years in plant lectin research: a journey from basic science to applications in agriculture and medicine. **Glycoconjugate journal**, v. 39, n. 1, p. 83–97, Aug 2022. <https://doi.org/10.1007/s10719-021-10015-x>