

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**CAMILLA AMANDA DE OLIVEIRA GOMES**

**IDENTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE UMA LECTINA DO COLMO DA *Guadua*  
*angustifolia* Kunth (1822) (POALES: POACEAE)**

**MACEIÓ**

**2022**

**CAMILLA AMANDA DE OLIVEIRA GOMES**

**IDENTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE UMA LECTINA DO COLMO DA *Guadua angustifolia* Kunth (1822) (POALES: POACEAE)**

Monografia apresentada à coordenação do curso de Ciências Biológicas na modalidade Bacharelado do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, como um dos requisitos exigidos para obtenção do diploma de graduação.

Orientador: Prof. Dr. Francis Soares Gomes

**MACEIÓ**

**2022**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

G633i Gomes, Camilla Amanda de Oliveira.  
Identificação e isolamento de uma lectina do colmo da *Guadua angustifolia* Kunth (1822) (POALES: POACEAE) / Camilla Amanda de Oliveira Gomes. – 2022.  
42 f. : il. color.

Orientador: Francis Soares Gomes.  
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas: Bacharelado) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 33-42.

1. *Guadua angustifolia* Kunth. 2. Bambu. 3. Lectinas - Purificação. I.  
Título.

CDU: 582.542.1

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas oportunidades e por sempre estar ao meu lado.

Aos meus pais, Audálio Gomes e Cláudia Gomes, meus maiores exemplos, que em toda a minha vida me apoiaram, amaram e incentivaram. Amo vocês!

Ao meu irmão, Felipe Gomes, por todos os momentos de descontração e palavras de motivação, meu braço direito e melhor amigo para todas as horas.

Ao meu namorado, Ronald Benvindo, por estar ao meu lado nos bons e maus momentos, sempre me mostrando que sou capaz de conquistar tudo que almejo. Obrigada por todo amor, carinho e paciência.

Às minhas amigas Andressa, Shakira e Evelyn por compartilharem comigo essa linda jornada que foi a graduação e por tornarem esses anos mais leves.

Ao meu orientador, Francis Soares, pela confiança, atenção e disponibilidade em todos os momentos.

À minha supervisora e amiga, Andréa Barros, sou grata por todo conhecimento, confiança e conselhos que levarei para toda a vida.

A todos do Laboratório de Metabolismo e Proteômica (LAMP), por terem me recebido tão bem e pela disposição de ajudar sempre que necessário.

A todos que agregaram de forma direta ou indireta nessa trajetória! Muito obrigada.

## RESUMO

*Guadua angustifolia* Kunth é uma espécie vegetal frequentemente encontrada na América Latina que possui diversas aplicações como na engenharia civil, ornamentação, artesanato, entre outros usos. Essa planta desenvolve-se bem em ambientes tropicais, sendo encontradas no estado de Alagoas. Atualmente, vem aumentando a pesquisa científica para explorar as propriedades e componentes presentes no bambu. O componente estudado nesse trabalho são as lectinas. Entre várias funções dessa proteína ou glicoproteína destaca-se potenciais ações inseticida, antimicrobiana, antitumoral e outras. Os colmos da *Guadua angustifolia* Kunth foram coletados no Centro de Engenharia e Ciências Agrárias (UFAL), secos e triturados. Para a preparação do extrato bruto, o pó foi pesado e homogeneizado em diferentes soluções para selecionar o que possui maior poder de extração da proteína alvo e para evitar desnaturação, o sobrenadante foi refrigerado a -20°C. Em seguida, foi efetuado uma precipitação salina com sulfato de amônio para obtenção de diferentes concentrações utilizando 10 mL do extrato, com o objetivo de eliminar proteínas contaminantes e concentrar as lectinas. A atividade hemaglutinante e adosagem proteica foram realizadas. A cromatografia líquida foi a etapa de isolamento dessa macromolécula através da coluna de matriz de quitina da fração F0-20% que contém maior atividade hemaglutinante. Após a eluição em ácido acético 1M, um único pico proteico ativo foi obtido. A partir de 10 g do colmo do bambu, foi possível isolar 0,88 mg da lectina com um rendimento de 80%. Para verificar o grau de pureza dessa molécula, a amostra foi submetida ao método de eletroforese em gel de poliacrilamida a 10% nas condições não redutora e redutora, confirmando a purificação da mesma com 18,4 kDa. Essa pesquisa apresenta a primeira lectina identificada e purificada do colmo de *Guadua angustifolia* Kunth, sendo de grande relevância para estudos futuros sobre o potencial biotecnológico dessa biomolécula.

**Palavras-chave:** Bambu, proteína, purificação.

## ABSTRACT

*Guadua angustifolia* Kunth is a plant species often found in Latin America that has several applications such as civil engineering, ornamentation, crafts, among other uses. This plant develops well in tropical environments, being found in the state of Alagoas. Currently, scientific research is increasing to explore the properties and components present in bamboo. The component studied in this work are lectins. Among the various functions of this protein or glycoprotein, potential insecticidal, antimicrobial, antitumor and other actions stand out. The stems of *Guadua angustifolia* Kunth were collected at the Centro de Engenharia e Ciências Agrárias (UFAL), dried and crushed. For the preparation of the crude extract, the powder was weighed and homogenized in different solutions to select the one with the greatest power to extract the target protein and to avoid denaturation, the supernatant was refrigerated at -20°C. Then, saline precipitation with ammonium sulfate was performed to obtain different concentrations using 10 mL of the extract, in order to eliminate contaminating proteins and concentrate the lectins. Hemagglutinating activity and protein dosage were performed. Liquid chromatography was the step of isolation of this macromolecule through the column of chitin matrix of the F0-20% fraction that contains greater hemagglutinating activity. After elution in 1M acetic acid, a single active protein peak was obtained. From 10 g of bamboo stem, it was possible to isolate 0.88 mg of lectin with a yield of 80%. To verify the degree of purity of this molecule, the sample was submitted to the 10% polyacrylamide gel electrophoresis method under non-reducing and reducing conditions, confirming its purification with 18.4 kDa. This research presents the first lectin isolated and purified from the stem of *Guadua angustifolia* Kunth, being of great relevance for future studies on the biotechnological potential of this biomolecule.

**Keywords:** Bamboo, protein, purification

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AH:** Atividade Hemaglutinante

**AHE:** Atividade Hemaglutinante Específica

**SDS-PAGE:** Eletroforese em Gel de Poliacrilamida com Dodecilsulfato de Sódio

**sp:** Espécie

**NI:** Não Inibiu

**g:** Gramas

**M:** Molar

**mM:** Milimolar

**mg:** Miligramas

**mL:** Mililitros

**µL:** Microlitros

**nm:** Nanômetros

**kDa:** kilodalton

**p/v:** peso por volume

**v/v:** volume por volume

**mg/mL:** Miligramas por mililitro

**µg/mL:** Micrograma por mililitro

**HAU/mg:** Unidade de atividade hemaglutinante específica/miligramas.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica da <i>Guadua angustifolia</i> Kunth no território brasileiro. ....	13
Figura 2. Espécie de <i>Guadua angustifolia</i> Kunth.....	14
Figura 3. Rizoma paquimorfo presente na espécie <i>Guadua angustifolia</i> Kunth.....	14
Figura 4. Classificação estrutural das lectinas .....	17
Figura 5. Cromatografia em coluna de quitina da lectina GaL.....	30
Figura 6. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE 10%) em condições desnaturante e redutora da lectina GaL. PM: marcador de peso molecular; C1: Ga9l com $\beta$ - mercaptanol. ....	30

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Descrição dos potenciais biológicos das lectinas isoladas de plantas.....	19
<b>Tabela 2.</b> Teste hemaglutinante e quantificação proteica do extrato.....	25
<b>Tabela 3.</b> Teste de inibição da AH presente no extrato bruto por carboidratos e glicoproteínas. ....	26
<b>Tabela 4.</b> Concentração e AHE das frações oriundas do fracionamento salino com sulfato de amônio (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	28
<b>Tabela 5.</b> Purificação da lectina do colmo da <i>Guadua angustifolia</i> Kunth (GaL). ....	29

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>12</b>
2.1. <i>Guadua angustifolia</i> Kunth .....	12
2.1.2. Histórico geral e classificação.....	12
2.1.3. Características Morfológicas.....	13
2.1.4. Aplicações da <i>Guadua angustifolia</i> Kunth .....	15
2.2. Lectinas.....	16
2.2.1. Histórico das lectinas.....	16
2.2.2. Classificação e potencial biológico das lectinas.....	17
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
3.1. OBJETIVO GERAL.....	20
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>21</b>
4.1. Obtenção das amostras <i>Guadua angustifolia</i> Kunth e sua identificação.....	21
4.2. Preparo do Extrato Bruto do colmo da <i>Guadua angustifolia</i> Kunth .....	21
4.3. Precipitação com Sulfato de Amônio (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a Partir do Extrato da <i>Guadua angustifolia</i> Kunth .....	22
4.4. Teste de hemaglutinação .....	22
4.5. Teste de Inibição a Carboidratos e Glicoproteínas .....	22
4.6. Dosagem Proteica .....	23
4.7. Cromatografia Líquida .....	23
4.8. Eletroforese em gel de Poliacrilamida descontínuo e desnaturante (SDS-PAGE).....	24
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>25</b>
5.1. Meio de extração e quantificação proteica do extrato da <i>Guadua angustifolia</i> Kunth .....	25
5.2. Teste de inibição frente a carboidratos e glicoproteínas com material vegetal da <i>Guadua angustifolia</i> Kunth.....	26
5.3. Fracionamento salino do extrato da <i>Guadua angustifolia</i> Kunth .....	27
5.4. Purificação da lectina por cromatografia de afinidade .....	29
5.5. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS – PAGE 10%) .....	30
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>32</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>33</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Estudos que englobam o uso de plantas para a busca por novos tratamentos terapêuticos e mecanismos capazes de auxiliar nos diagnósticos de diversas enfermidades, não são incomuns. (OLIVEIRA, A. 2017) A utilização de compostos extraídos dos mesmos, já é presente ao longo da nossa evolução, sendo um hábito popular recorrer a esses produtos naturais, podendo assim, obter benefícios à saúde. (SILVA, *et. al.* 2021)

Conhecida popularmente como bambu, *Guadua angustifolia* Kunth pertence à família Poaceae. Muito cultivada no território brasileiro, essa espécie apresenta grandes valores econômicos e ecológicos. Os primeiros estudos taxonômicos do bambu, foram realizados em 1806, porém eles já eram utilizados desde o século XVI. (FERREIRA, R. 2021)

O Brasil possui a maior biodiversidade de bambu das Américas, com 34 gêneros e 232 espécies de bambus nativos, sendo muito utilizada pelo homem em diversas atividades, tais como fonte de alimento, medicamento e energia. *Guadua angustifolia* Kunth, é uma espécie nativa da América do Sul e Central, possui um colmo robusto, alto e espinhoso, podendo atingir 20 m em 120 dias. (ZAPPELINI, 2017)

Estudos mais abrangentes demonstram a importância da dessa espécie vegetal para a gastronomia, como o consumo do broto. (FELISBERTO, 2018) É possível extrair etanol do amido presente no colmo e a produção de carvão vegetal que possui um rendimento próximo ao da madeira. Apesar de, não ser muito utilizado no Brasil com essa finalidade, outros países como Ásia e África já fazem esse uso. (MIRANDA, 2016)

As nanopartículas de prata e óxido de ferro presentes no carvão vegetal, são utilizados como filtro para purificar água. (PAIXÃO, *et al.* 2021) Os resíduos dos bambus que são desperdiçados no momento da colheita foram usados na fabricação de carvão vegetal para o uso doméstico e uma renda adicional para população. (BRAND, *et al.* 2020)

Entre a grande variedade de macromoléculas que podem ser encontradas em vegetais, destacam-se as lectinas, que são proteínas de origem não-imune, que se ligam especificamente e reversivelmente a carboidratos através de pelo menos um sítio de ligação, podendo aglutinar células vegetais, animais, precipitando polissacarídeos e glicoconjugados. (PROCÓPIO *et al.*, 2017)

Elas apresentam diferentes formas, tamanho, volume, podendo ser encontradas em diversos organismos. Vários grupos de pesquisa tentam compreender suas características estrutural elucidando seu mecanismo de ação. (FIRMINO, 2018)

Assim, esses estudos buscam isolar a essa biomolécula, analisando sua especificidade e suas funções, que são de suma importância para as áreas farmacêuticas, agrônômicas, médicas e biológicas. Como exemplos de atividades, temos fatos de resistências em vegetais, triagem sanguínea, combate aos microrganismos entre outras funcionalidades. (FREITAS, 2016)

Desde a descoberta, lectinas de plantas têm se destacado na história científica das proteínas. (PAIVA *et al.* 2012) Em vegetais é possível encontrá-las nas sementes, folhas, caules e raízes, podem variar em quantidade de acordo com a espécie e tecido. (FAVERO, 2019)

O presente trabalho tem como objetivo isolar uma lectina do colmo da *Guadua angustifolia* Kunth e realizar a purificação da mesma para investigar à sua aplicabilidade.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. *Guadua angustifolia* Kunth

#### 2.1.2. Histórico geral e classificação

O termo bambu foi introduzido pelo naturalista sueco Carlos Lineo, que adotou a terminologia mambu ou bambu. Acredita-se ainda que a palavra bambu tenha essa denominação, pelo som do estouro dos colmos: bam-boo. (GRECO E CROMBERG, 2011) A origem dessa planta foi no período Cretáceo, mas para civilização teve início na Ásia. Na China usam o bambu de várias formas, por exemplo, pontes de bambu, agricultura, artesanato e outros. (CARVALHO, *et al.* 2021)

Algumas espécies desse organismo vegetal foram introduzidas no tempo da colonização pelos portugueses. Os principais gêneros foram a *Bambusa* e a *Dendrocalamus*. Já os emigrantes asiáticos introduziram outros gêneros no Brasil, que foram o *Sasa* e o *Phyllostachys*. (LEMOS, 2019)

Dos gêneros de bambus introduzidos no Brasil, os mais conhecidos e utilizados para diversas atividades são o *Bambusa*, *Dendrocalamus* e *Guadua*. Os nativos são mais usados para ornamentações, os mais comuns são *Bambusa vulgaris* (Bambu-verde), *Dendrocalamus giganteus* (Bambu-gigante), *Phyllostachys* (Bambu-Chinês) e outros. (ROSALINO e VALLE, 2017)

O bambu faz parte da família Poaceae, pertencendo a subfamília Bambusoideae, possuindo cerca de 50 gêneros e 1250 espécies, que se encontram em regiões temperadas, tropicais e subtropicais. Esses gêneros classificados como herbáceos (ornamentais) e lenhoso. (RUSCH, HILLING e CEOLIN, 2018)

A espécie *Guadua angustifolia* Kunth foi descrita pelo alemão Karl Sigismund Kunth em 1822 e a denominou de *Guadua*, que é uma palavra indígena, que significa “folha estreita”. (MINKE, 2010)

**Figura 1.** Distribuição geográfica da *Guadua angustifolia* Kunth no território brasileiro.



Fonte: Adaptado de Shirasuna, 2015.

### 2.1.3. Características Morfológicas

A *Guadua angustifolia* Kunth, é uma espécie adaptável a ambientes com temperaturas tropicais, demonstrando um grande desenvolvimento e crescimento, entretanto, em temperaturas baixas, a mesma tem crescimento lento. Tem seu caule espesso, tendo valor econômico muito elevado. Assim, suas utilizações são comuns em áreas como paisagismo, jardinagem, produção de papéis, indústrias químicas e farmacológicas. (RUA, *et al.* 2021)

O bambu apresenta formas morfológicas características, como a presença de colmos, rizoforos, folhas e galhos. Os colmos são formados por nós e entrenós, dependendo da espécie a espessura e dimensões podem alterar, no caso da espécie *Guadua angustifolia* Kunth, tem seu colmo com variação na altura em até 30 m e apresentando um diâmetro na espessura da parede de até 20 cm, comparado com outras espécies. (DRUMOND e WIEDMAN, 2017)

O colmo dessa espécie apresenta uma estrutura sólida e a partir dela é possível realizar identificação taxonômica, havendo na sua formação grande diversidade de células, córtex e medula. Os feixes vasculares são essenciais na estrutura do mesmo, tendo como função nutrir e sustentar toda estrutura dessa planta. (ECHEVERRI e GARCÍA, 2018)

A *Guadua angustifolia* Kunth, se integra ao um grupo de bambus que possuem rizóforos consistentes com raízes na parte inferior chamadas de paquimorfos por serem curtas e grossas. A maioria das gemas presentes no rizoma praticamente não se desenvolvem, porém, a gema apical é a responsável pela formação do colmo denso e resistente. (ARAUJO, 2015; PONCE, *et al.* 2016)

**Figura 2.** Espécie de *Guadua angustifolia* Kunth



Fonte: Adaptado de American Bambo Society, 2022.

**Figura 3.** Rizoma paquimorfo presente na espécie *Guadua angustifolia* Kunth



Fonte: Adaptado de García, 2021.

#### 2.1.4. Aplicações da *Guadua angustifolia* Kunth

A *Guadua angustifolia* Kunth apresenta crescimento rápido, com pouca exigência em relação à clima e solo, uma estrutura leve e resistente, torna-se uma alternativa viável para utilização nas construções de casas, prédios, catedrais, pontes, escadas e varandas. (EFFTING, 2017)

Por se tratar de um produto natural, o mesmo pode ser consumível em sua forma de broto como alimento saudável em diversos países. Alguns exemplos como Filipinas e países da Ásia, aproveitam esse recurso rico em fibras e aminoácidos. (CADENA, 2018) A partir de resíduos do colmo da *Guadua angustifolia* Kunth, é possível a criação de um vinagre com componentes antioxidantes, aromas e ação medicinal para diversas doenças, como alergias, diabetes e outras. (SANTILLÁN, 2019)

*Guadua angustifolia* Kunth é uma das espécies tropicais que foram identificadas como tendo grande potencial para fixar dióxido de carbono atmosférico, adquirindo importância para o reflorestamento e a busca de soluções para o aquecimento global. (BOTÃO, 2020) Os bambus contribuem para mitigar o efeito estufa por meio do processo de fotossíntese, onde o CO<sub>2</sub> é transformado em produtos como celulose e amido. (SANTOS, A. 2016)

Outra aplicação estudada de *Guadua angustifolia* Kunth é como fonte de energia, podendo ser tratada usando processos termoquímicos (combustão, pirólise e gaseificação). Assim, este recurso natural pode ser convertido em uma fonte de energia de valor para comunidades rurais isoladas na Colômbia. (CAMPOS, 2017) A composição inorgânica de *Guadua angustifolia* Kunth, que contém altas concentrações de potássio, desempenha um papel importante na forma como ocorre sua oxidação, o que tem influência significativa na escolha do processo mais adequado para sua valorização. (ARDILA, 2020)

Carbono ativado e nanoplacas de carbono produzidas a partir dessa espécie vegetal, possuem uma interessante aplicação na indústria química e eletrônica por apresentarem características físico-químicas importantes, como a interação de sais eletrolíticos NaCl e KCl. (BRITO, 2020) O óleo de alcatrão de bambu, recuperado como produto secundário durante o processo de carbonização, tem valor medicinal significativo devido às duas atividades antibióticas e antioxidantes. (PAULINO e AFONSO, 2021)

Folhas de *Guadua angustifolia* Kunth são descritas para o tratamento de diarreia. (SANTOS, R. 2016) Compostos fitoquímicos correspondentes a alcalóides, fenóis, flavonóides, terpenos, saponinas triterpênicas e esteroidais foram detectados no extrato etanólico de *Guadua angustifolia* Kunth. (DINIZ, 2020)

## 2.2. Lectinas

### 2.2.1. Histórico das lectinas

Stilmark em 1888, realizando estudos com a planta *Ricinus communis* (mamona), observou uma proteína no extrato e a denominou de ricina, a mesma tinha a capacidade de aglutinação em eritrócitos. Outra proteína foi observada da planta *Abrus precatorius* (jeriquiti) por Hellin em 1889, recebendo o nome de abrina, que também possui ação de aglutinação em células sanguíneas. (ALMEIDA, 2017)

A ricina é uma proteína citotóxica, muitas vezes foi utilizada como arma biológica em guerras e atentados terroristas por sua elevada toxicidade, fácil obtenção e disseminação, sendo de alto risco para os seres humanos. (RAFFAGNATO, 2020) A abrina é uma fitotoxina e sua toxicidade varia de acordo com sua dosagem, se tornando de grande interesse para área farmacêutica. (COSTA, 2018)

O pesquisador chamado Paul Ehrlich efetuou estudos com ricina e abrina, assim, possibilitando a criação de conceitos imunológicos como a especificidade de antígenos/anticorpos, entre outros estudos de extrema relevantes até os dias atuais. Nem todas as lectinas são tóxicas. Em 1907, Ladsteiner e Raubitscheck conseguiram observar pela primeira vez lectinas não tóxicas em várias leguminosas, estimulando a busca por novas lectinas e seus potenciais. (FARIAS, 2020)

Os estudos relacionados com a hemaglutinação dos grupos sanguíneos ABO, foram realizados pelos pesquisadores Renkonen (1948), Boyd e Requera (1949), mas também por Watkins e Morgan (1952 e 1953) Os responsáveis por descobrirem a interação das lectinas com açúcares, foram Sumner e Howell em 1936, a partir da lectina da *Canavalia ensiformis*, observando a aglutinação dos eritrócitos. (SALES, 2019)

Em 1980, Goldstein descreveu lectinas como moléculas não-ímmunes capazes de interagir com carboidratos ou glicoproteínas, assim acontecendo aglutinação de células ou precipitação de glicoconjugados. (VIANA, 2021)

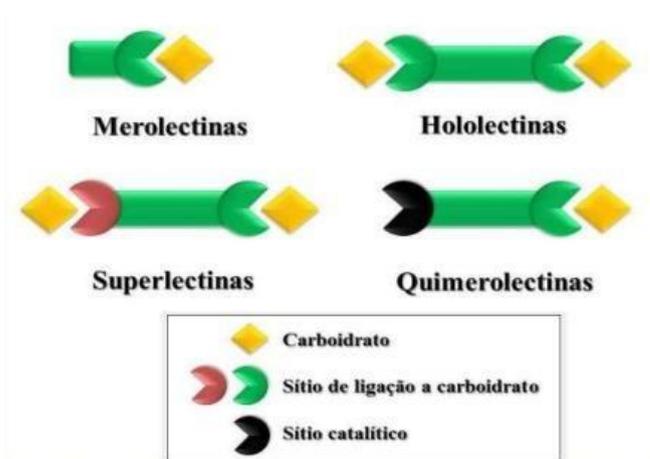
Anteriormente, acreditava-se que essas proteínas eram obtidas apenas em organismos vegetais, mas com os avanços tecnológicos foi possível registrar a presença dessas mesmas em animais, sendo esses invertebrados ou vertebrados. (DUARTE, 2018)

### 2.2.2. Classificação e potencial biológico das lectinas

As lectinas são subdivididas em quatro grupos, o primeiro é formado pelas merolectinas que não apresentam capacidade de aglutinar células, sendo composta por apenas um domínio de ligação, realizando processos de precipitação de glicoconjugados. (SILVA, 2017)

As hololectinas possuem dois domínios com capacidade de reconhecer carboidratos homólogos, conseguindo aglutinar células e precipitar glicoconjugados. As quimerolectinas são compostas por um ou mais domínios, podendo os mesmos serem enzimáticos e o último grupo das lectinas é denominada de superlectinas, tendo dois domínios, porém, reconhecendo carboidratos diferentes. (NETO, 2020)

**Figura 4.** Classificação estrutural das lectinas



Fonte: Adaptado de Santos, M. A. 2020

Essas proteínas podem ser classificadas em tipo I, em que o domínio de ligação é homólogo à grande e variada superfamília de imunoglobulinas, agindo como moléculas de adesão celular. Algumas delas são do tipo P, com capacidade de capturar resíduos e encaminhá-los para serem eliminados. As lectinas do tipo S têm capacidade de inibir as atividades biológicas através da oxidação, sendo possível encontrá-las na região intracelular e extracelular. Já as do tipo C foram as primeiras a serem encontradas em animal e a mesma mantém uma peculiaridade ao longo da evolução, que é serem encontradas extracelularmente e solúveis no

plasma, efetuando várias ações e entre elas está a capacidade de hemaglutinação. (JÚNIOR, 2019)

Essas macromoléculas apresentam a grande capacidade de hemoaglutinação, principalmente pela sua característica estrutural que é a presença de sítios de ligação para carboidratos, acontecendo assim a aglomeração dos eritrócitos. As mesmas se ligam a açúcares específicos presentes na membrana dos eritrócitos, alguns exemplos dos açúcares mais comuns, são a sacarose, manose, frutose e outros. (LÓSSIO, 2016)

Algumas pesquisas anteriores, demonstram a capacidade de lectinas vegetais de hemaglutinar hemácias do grupo ABO, importante para a diferenciação das mesmas, porque essas proteínas podem aglutinar grupo sanguíneo específico. (OLIVEIRA, 2018)

Vários insetos causam danos as plantações importantes para o agronegócio. Como exemplo, temos o *Sitophilus zeamais*. Estudo presente na literatura relata que as lectinas tem potencial inseticida, quando o mesmo às ingerem. (ALBUQUERQUE, *et al.* 2020)

Essas proteínas também são capazes de atuar em nematóide de pequenos ruminantes, como um dos mais importantes temos o *Haemonchus contortus*. Podendo assim essa proteína inibir o desenvolvimento desse parasita, que leva prejuízo na produção ou morte do animal. (BATISTA, *et al.* 2018)

Essas biomoléculas tem ação antiparasitária sobre o gênero *Leishmania*, tendo ação sobre a principal forma de vida que são as promastigotas. As espécies desse gênero têm a perda da viabilidade e levando a morte. (FLEURI, 2019)

O *Trypanosoma cruzi* é um parasita que não afeta somente seres humanos, mas também uma grande gama de outros mamíferos, que servem de reservatórios para a sobrevivência do mesmo. Essas moléculas mostraram-se eficazes na ação antiparasitária, fazendo com que tenha inibição da proliferação da forma de vida epimastigotas e redução da viabilidade celular. (ARAÚJO, *et al.* 2021)

Os líquens também apresentam lectinas, que são capazes de atuar contra bactérias que causam diversos problemas aos seres humanos. Entre essas bactérias que foram testadas para observar a ação dessas proteínas, destacam-se *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e outros. (ALEXANDRA, 2017)

Essas proteínas isoladas de sementes de variáveis plantas, também já demonstraram potencial de inibir ações importantes para o desenvolvimento e sobrevivência de diferentes grupos de bactérias que são capazes de causar doenças da saúde pública. (JORGE, 2017)

A formação de biofilmes bacterianos, proporcionam que as bactérias tenham maior

resistência à antimicrobianos e assim consigam proliferar em diversos ambientes, sejam eles hospitalares, industriais ou no próprio indivíduo causando várias doenças. Essas biomoléculas possuem ação sobre esses biofilmes nas formas planctônicas, que é a forma que causa maiores problemas. (MOURA, 2019)

As lectinas também tiveram efeitos positivos sobre a linhagem de gliomas, que são tumores cerebrais. Essas proteínas causaram diminuição da ação da mitocôndria, indução da morte dessas células neoplásicas e autofagia. (MANN, 2018) Na literatura existe estudos que associação essas macromoléculas com nanossistemas, como a encapsulação em lipossomas que amplifica o potencial dessa proteína contra sarcoma, podendo assim ser uma técnica para estudos de tratamentos contra neoplasias. (RAMOS, 2019)

**Tabela 1.** Descrição dos potenciais biológicos das lectinas isoladas de plantas

Tecido	Espécie	Potencial Biológico	Fonte
Rizoma	<i>Microgramma vaciniifolia</i>	Inseticida	Albuquerque, <i>et al.</i> 2020
Inflorescência	<i>Alpinia purpurata</i>	Antimicrobiano	Ferreira, 2018
Semente	<i>Canavalia brasiliensis</i>	Antiparasitário	Batista, <i>et. al.</i> 2018
Semente	<i>Dioclea reflexa</i>	Antitumoral	Wolin, 2017
Casca	<i>Genipa americana</i>	Antifúngica	Costa, 2018
Folha	<i>Bauhinia monandra</i>	Antiinflamatória	Evangelista, 2018
Caule	<i>Plectranthus barbatus</i>	Mitogênica	Freitas, 2017
Raiz	<i>Apodanthera congestiflora</i>	Antioxidante	Videres, 2017

Fonte: Elaborado pela autora com base nas referências, 2022.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Isolar e purificar uma lectina no colmo da *Guadua angustifolia* Kunth.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar qual o melhor meio de extração entre as soluções de NaCl 0,15 mM, Tris-HCl 50 mM pH 8,0 e fosfato de sódio 50 mM pH 8,0.
- Obter uma precipitação proteica realizando uma pré-purificação com sulfato de sódio.
- Avaliar a presença da proteína no extrato do colmo a partir da atividade hemaglutinante.
- Verificar a especificidade dessa macromolécula com o método de inibição frente a carboidratos/glicoproteínas.
- Purificar a lectina a partir da cromatografia líquida por afinidade de quitina.
- Determinar o grau de purificação quanto a massa molecular, utilizando eletroforese em gel de Poliacrilamida 10% (SDS-PAGE).

## 4. METODOLOGIA

### 4.1. Obtenção das amostras *Guadua angustifolia* Kunth e sua identificação

Os colmos da *Guadua angustifolia* Kunth foram coletados de plantas em cerca de um ano existente do Banco de Germoplasma do Centro de Engenharia e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), localizado no km 85 da BR 101 Norte, no município de Rio Largo, no Campus Delza Gitaí. As amostras foram coletadas no turno da manhã, retiradas as folhas e transportadas em depósitos plásticos até o laboratório de Metabolismos e Proteômica (LAMP).

Da mesma planta onde extraiu-se o colmo necessários para a obtenção do extrato bruto, coletou-se uma amostra da espécie vegetal para identificação e deposição de exemplar no repositório Registro nº 650103 do Herbário MAC do Instituto de Meio Ambiente (IMA) do Estado de Alagoas. A planta selecionada apresentava em sua estrutura todos os requisitos necessários para a devida identificação (colmo, ramos secundários com folhas e espinhos). As amostras coletadas foram conduzidas ao Laboratório de Metabolismo e Proteômica (LAMP), retiradas as folhas, o colmo foi mantido à temperatura ambiente durante 10 dias para secagem. O material vegetal seco foi triturado com auxílio de um moinho de facas e peneirado (8 mesh).

### 4.2. Preparo do Extrato Bruto do colmo da *Guadua angustifolia* Kunth

Para o preparo do extrato bruto, foi pesado 10 g de pó extraído do colmo do bambu, pesado em balança analítica (Marte AY220) e foi exposto a diferentes meios de extração: Tampão Tris HCl 50 mM pH 8,0 (50 mL), tampão fosfato pH 7,2 e cloreto de sódio 0,15 M para seleção do melhor meio contendo maior número de proteínas totais.

Para cada análise, a solução de extração foi mantida sob agitação constante durante 16 horas a temperatura de 4°C (agitador magnético IKA IKAMAG C-MAG H57), para evitar desnaturação das proteínas contidas no meio de extração. Ao término, o extrato foi centrifugado (HERMLE- Z236K) por 15 min a 15000 xg a 4° C para retirada do material particulado do meio, em seguida o sobrenadante foi armazenado em tubo falcon 50 mL para submissão das próximas análises seguinte. Esse processo foi de suma importância para avaliarmos qual meio consegue extrair a maior quantidade de proteínas do material vegetal.

### **4.3. Precipitação com Sulfato de Amônio (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a Partir do Extrato da *Guadua angustifolia* Kunth**

Após a certificação da presença de lectina no extrato bruto obtido a partir do colmo da *Guadua angustifolia* Kunth, realizou-se uma precipitação salina com sulfato de amônio como forma de pré-purificação, eliminando parte das proteínas contaminantes e concentrando a atividade lectínica. O fracionamento aplicado foi realizado em diferentes etapas de precipitação submetendo a amostra a centrifugação refrigerada a 15000 xg (HERMLE-Z236K) a 4°C por 15 min.

O volume inicial de extrato utilizado para a precipitação foi de 10 mL. Durante a adição do sal, tomou-se a precaução de que este procedimento fosse realizado de forma paulatina, e sob baixa agitação, visando uma solubilização uniforme, e uma maior separação das proteínas em função do grau de solubilidade. Após a precipitação, as amostras coletadas foram submetidas ao teste de atividade hemaglutinante, para verificar em qual fração estaria concentrada a lectina.

### **4.4. Teste de hemaglutinação**

O ensaio de atividade hemaglutinante (AH) foi realizado em placas de microtitulação de acordo com a metodologia descrita por Paiva e Coelho (1992). Alíquota (50 µL) da amostra foi diluída serialmente em NaCl 0,15 M antes da adição de 50 µL de suspensão (2,5 % v/v) de eritrócitos de coelho. A AH (título-1) foi expressa como o inverso da maior diluição da amostra que promoveu hemaglutinação. AH específica (AHE) foi definida pela razão entre o título e a concentração proteica (mg/mL).

### **4.5. Teste de Inibição a Carboidratos e Glicoproteínas**

A inibição da AH foi avaliada utilizando carboidratos e glicoproteínas como descrito por Carvalho *et al.* (2015). Alíquotas de 50 µL da amostra foram submetidas à incubação inicial em solução de carboidrato dissolvido em NaCl 0,15 M durante 15 minutos. Em seguida foram adicionadas 50 µL de suspensão de eritrócitos (2,5 % v/v) nos poços de microtitulação e incubadas por um período de 45 minutos.

Uma alíquota de 50 µL da amostra diluída serialmente em igual volume de solução salina de NaCl 0,15 M incubada com 50 µL de suspensão de eritrócitos de coelho foi usado como controle positivo. As concentrações de soluções inibidoras foram 0,2; 0,1; 0,05 e 0,025 M para carboidratos D – Galactose, D – Glicose, Maltose, Fucose, Ribose, Raminose, Glicopirranose, Piranose, D – Frutose, D – Arabinose, D – Lactose, Manose, N-acetil-monosamina, N-acetil-glicosamina, N-acetil-galactose e 500, 250 e 125 µg/mL para glicoproteína (fetuína) valores

pré-estabelecidos de acordo com Gomes *et. al.* (2013). A inibição é quantificada em razão da redução da AHE quando comparado com o controle negativo.

#### **4.6. Dosagem Proteica**

A concentração da proteína foi determinada pelo método de Bradford (1976), usando albumina de soro bovino como padrão (250- 0,009  $\mu\text{g/mL}$ ). Para isso foram tomados 10  $\mu\text{L}$  das amostras (extrato bruto e fração) diluídas (1: 10), e 190  $\mu\text{L}$  de reagente de Bradford. Posteriormente as amostras foram incubadas por 5 min, e medido a absorbância a 595 nm. As unidades correspondentes são (mg/mL) de proteína.

#### **4.7. Cromatografia Líquida**

Para a etapa de isolamento da lectina, inicialmente, foi utilizado a fração contendo a maior atividade hemaglutinante obtida a partir da etapa de pré-purificação do fracionamento salino (precipitado 20%) foi aplicada em uma coluna cromatográfica de afinidade (10 x 2,5 cm) em matriz de quitina. Previamente hidratada com NaCl 0,15 M, seguida de 40 mL de tampão de equilíbrio Tris-HCl pH 8,0 50 mM, a um fluxo de 0,2 mL/min em 2,0 volumes de coluna. Em seguida 20 mL de Tris-HCl + NaCl 0,5M pH 8,0, 20 mL de ácido acético 0,5 M e 20 mL ácido acético 1 M sendo coletadas frações de 2 mL, a 25°C.

As amostras coletadas foram lidas a 280 nm (espectro) e avaliadas quanto à atividade hemaglutinante (AH) e dosagem proteica. As frações que apresentaram maior atividade hemaglutinante foram dialisadas separadamente em membrana semipermeável contra solução de tampão Tris-HCl pH 8,0 a 4° C durante 03 horas para remoção do ácido acético das amostras. Ao término do procedimento foi realizado sua capacidade de hemaglutinar hemácias de coelho, calculado AHE e em seguida submetida a etapa de visualização de bandas proteicas utilizando eletroforese.

#### **4.8. Eletroforese em gel de Poliacrilamida descontínuo e desnaturante (SDS-PAGE)**

O maior pico proteico mostrado através do cromatograma foi o que coincidiu com a maior atividade hemaglutinante foi submetido à eletroforese para confirmar o grau de pureza da amostra utilizando gel de poliacrilamida (PAGE) contendo dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE) usando um gel a 10 % (p/v) sob condição não redutora e redutora em presença de  $\beta$ -mercaptoetanol (LAEMMLI, 1970). Assim como foi aplicado em gel os padrões de massa molecular (2,5-200 kDa, Invitrogen).

As bandas de polipeptídios foram coradas com Coomassie Brilliant Blue (0,02 %, v/v) em ácido acético a 10 % (v/v). por 4hs e em seguida revelado com solução descorante (10 % ácido acético, 40% de metanol e 50 % água mili-Q).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Meio de extração e quantificação proteica do extrato da *Guadua angustifolia* Kunth

A escolha do meio e as condições de extração devem ser selecionadas a fim de obter maior solubilização da biomolécula-alvo em sua forma ativa em solução extratora. Dentre os meios estudados o Tris-HCl 50 mM pH 8,0 apresentou maior eficiência ao ser observado que, em 10g de pó colmo do bambu obteve-se uma maior quantificação de proteína total (29,5 mg/mL) e uma AHE de 108,47 (Tabela 2).

**Tabela 2.** Teste hemaglutinante e quantificação proteica do extrato.

MEIO DE EXTRAÇÃO	PROTEINA (MG)	AH	AHE
Tris-HCl 50 mM pH8,0	0,59	64	108,47
NaCl 0,15M	0,13	8	60,15
NAH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,5 M pH 7,2	0,15	8	52,28

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Várias pesquisas encontradas na literatura utilização o Tris-HCl como meio principal de extração proteica em diversas espécies vegetais. Entre os diversos exemplos do uso desse meio, o mesmo foi usado em pesquisa para a extração dessa macromolécula de leguminosas das espécies *Puerariamontana*, *Parkia platycephala* e *Mimosa caesalpiniaefolia*. (SILVA, 2018)

Ferreira (2017) também conseguiu isolar de outra leguminosa denominada de *B. pulchella* BENTH, uma lectina usando Tris- HCl 0,1 M pH 7,1. Tendo sido o melhor tampão de extração proteica para esse estudo.

Sousa (2017) realizou uma pesquisa interessante com diversas espécies de leguminosas, a mesma utilizou o Tris-HCl 0,1 M como um dos meios para extração de proteínas. Um dos gênero de leguminosas usados no trabalho foi o *Stryphnodendron*, conhecido popularmente como barbatimão. Os resultados foram positivos com a extração dessa biomolécula que tem potencial hemaglutinante.

Outro exemplo interessante é o do Nascimento (2021), que isolou essa proteína de duas espécies de algas marinhas. A lectina da alga marinha vermelha *Solieria filiformis* foi denominada de SLf e a lectina da alga marinha verde *Caulerpa cupressoides* foi denominada como LCc, ambas foram extraídas usando TRIS-HCl 25 mM pH 7,5.

### 5.2. Teste de inibição frente a carboidratos e glicoproteínas com material vegetal da *Guadua angustifolia* Kunth

Dentre os carboidratos e glicoproteínas testados, o monossacarídeo N- acetilglicosamina, o dissacarídeo maltose e a glicoproteína fetuína inibiram a atividade hemaglutinante da amostra estudada, realizando uma redução da AH de 64 para 2. Os demais carboidratos testados não inibiram (NI) a atividade hemaglutinante (Tabela 3). O resultado confirma a presença de lectina no extrato. A fetuína é uma glicoproteína que contém N-acetil-glicosamina na sua região glicídica. (NOLASCO E OCHOA, 1984)

**Tabela 3.** Teste de inibição da AH presente no extrato bruto por carboidratos e glicoproteínas.

LIGANTE	ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE DO EXTRATO
D-Frutose	NI
D-Ribose	NI
D-Glicose	NI
D-Arabinose	NI
D-Fucose	NI
D-Galactose	NI
D-Manose	NI
Raminose	NI
Piranose	NI
Glicopiranose	NI
N-acetilglicosamina	2
N-acetilmonosamina	NI
N-acetilgalactosamina	NI
D-Maltose	2
D-Lactose	NI
Fetuína (glicoproteína)	2

Fonte: Elaborado pela autora, 2022. NI: Não inibiu

Na literatura, é possível encontrar pesquisas que demonstram a capacidade da fetuína de se ligar com as lectinas vegetais. Essa macromolécula foi isolada das sementes de *Platypodium elegans* (PELa), apresentou afinidade com a glicoproteína fetuína, que proporcionou a inibição (ARARIPE, *et al.* 2017)

Santos (2018), realizou em sua monografia uma caracterização parcial de uma proteína extraída do gênero *Camptosema rubicundum* HOOK e ARN., obtendo em seu resultado a inibição da atividade hemaglutinante com a glicoproteína fetuína. Brito (2018) trouxe em sua dissertação a purificação, caracterização e atividade imunomoduladora de lectina obtida da *Alpinia purpurata*, popularmente conhecido como gengibre vermelho, que apresentou uma especificidade com carboidratos complexos, sendo um desses a fetuína.

O N-acetil-glicosamina, é um carboidrato que ao se ligar com essa biomolécula, pode desencadear diversas atividades biológicas. Outra curiosidade desse carboidrato, é que a quitina (o segundo polímero de maior abundância na natureza) é formada por N-acetil-glicosamina, fazendo parte da composição exoesqueleto de insetos, parede celular de fungos, conchas e ovos de nematódeos. (SANTOS, 2021)

Oliveira, M. (2017), traz um relato importante de uma pesquisa com o extrato das sementes da *Lonchocarpus sericeus* e *Lonchocarpus araripensis*. A macromolécula presente em ambas, apresentou uma afinidade com o N-acetil-glicosamina, desencadeando uma resposta anti-inflamatória. Oliveira (2018), demonstrou em sua pesquisa a ligação da proteína da *Myracrodruon urundeuva* com o carboidrato N-acetil-glicosamina, apresentando uma ação bactericida contra *S. aureus*, *E. colli* e *Streptococcus*.

A causa pelo qual os demais carboidratos não apresentarem inibição, possivelmente foi ocasionado pela não-especificidade da molécula ao carboidrato.

### **5.3. Fracionamento salino do extrato da *Guadua angustifolia* Kunth**

Após a definição do meio de extração com maior capacidade de obtenção da lectina, essa amostra foi submetida ao processo de fracionamento salino como sulfato de amônio, como pode ser observado na tabela 4.

**Tabela 4.** Concentração e AHE das frações oriundas do fracionamento salino com sulfato de amônio (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

AMOSTRA	PROTEÍNA (MG)	AH	AHE
Extrato	29,565	64	108,47
F1- F0-20% (precipitado)	1,653	128	387,87
F2- F20-40% (precipitado)	0,980	-	-
F3- F40-60% (precipitado)	0,708	-	-
F4- F60-80% (precipitado)	0,551	-	-
F5 – F80-100% (precipitado)	0,398	-	-

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

AH: atividade hemaglutinante. AHE: atividade hemaglutinante específica.

Após as etapas realizadas de fracionamento salino foi possível observar que a AHE ficou concentrada na fração 20%, obtendo um acréscimo 3 vezes maior quando comparada ao material de partida (extrato).

O sulfato de amônio apresenta uma alta solubilidade e promove a remoção da camada de solvatação de proteínas resultado em precipitação, sendo importante para concentrar a amostra e realizar a pré-purificação. Acredita-se que esse processo tenha contribuído também para eliminação de compostos do metabolismo secundário, que ficaram no sobrenadante. (SANTOS JUNIOR, *et al.* 2017)

Entre os diversos trabalhos na literatura que utilizam esse método de fracionamento salino com sulfato de amônio, podemos citar Chicuta (2019), que utilizou essa metodologia para eliminar as impurezas no método de fracionamento e consequentemente realizar uma purificação da lectina presente na semente da *Crotalaria stipularia*.

O mesmo processo foi apresentado por Lobo (2020), realizando frações proteicas de folhas de *Tabebuia aurea*. Em seguida, o mesmo observou a atividade lectínica presente nessas frações e ensaios para avaliar o potencial antibiofilme.

Podemos observar na pesquisa de Santos, M. A. (2020) que o extrato bruto de própolis vermelha, foi fracionado com sulfato de amônio e obteve um resultado satisfatório com a fração 0-20%, que apresentou 42,04 mg/ml de proteínas.

#### 5.4. Purificação da lectina por cromatografia de afinidade

Como a AH do extrato foi inibida por N-acetil-glicosamina, a matriz de quitina, um polissacarídeo composto por N-aceil-glicosamina foi escolhido para purificação da mesma.

A lectina foi purificada com uma única etapa de cromatografia em coluna de quitina, equilibrada com Tris-HCl 50 mM pH 8,0, sendo possível observar a formação de um único pico proteico com atividade hemaglutinante eluído com ácido acético 0,5 M (Figura 5). A amostra ao ser submetida ao ensaio de AH apresentou um título com um valor de 32 e após a diálise de 2 horas em Tris-HCl 50 mM pH 8,0.

Com rendimento total de 80%, a lectina purificada apresentou uma AHE de 2935,80 HAU/mg. A partir de 10 g do colmo do bambu foi possível isolar 0,88 mg de GaL com um rendimento de 80% e um fator de purificação de 7,5 vezes em relação ao extrato bruto. A partir do perfil de eluição da lectina, foi obtido um pico com uma AH de 32 unidade de hemaglutinação. (Tabela 5).

**Tabela 5.** Purificação da lectina do colmo da *Guadua angustifolia* Kunth (GaL).

AMOSTRA	PROTEÍNA TOTAL (mg)	AH	AHE (HAU/mg)	FATOR DE PURIFICAÇÃO	REDIMENTO (%)
<b>EXTRATO BRUTO</b>	29,564	64	108,47	1	100
<b>F 20%</b>	1,653	128	387,20	1,0	20
<b>GaL</b>	0,88	32	2935,80	7,5	80

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

AH: atividade hemaglutinante. AHE: atividade hemaglutinante específica. HAU/mg: unidade de atividade hemaglutinante específica/miligrama.

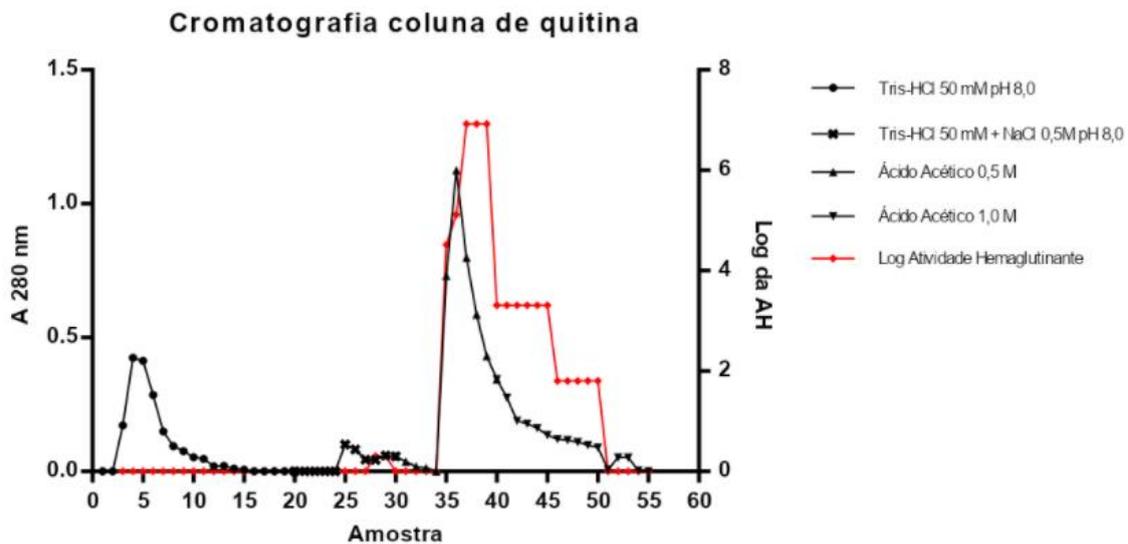
A cromatografia apresentou boa resolução, obtendo um pico em absorvância a 280 nm na mesma região que apresentou atividade hemaglutinante, entre as frações 34 a 50.

A metodologia de cromatografia em coluna de quitina é bem estabelecida e bastante usada para purificação de lectinas. Com base na literatura, podemos citar Correia (2019) que utilizou esse método para purificar uma macromolécula denominada de DeL da semente de *D. ecastophyllum* (L.) Taub. Valentim (2017) também utilizando o método de afinidade de quitina e conseguiu purificar uma proteína chamada de Cramoll, que é isolada da semente de *Cratylia mollis*.

Outros trabalhos encontrados na literatura também foram bem sucedidos com o uso da cromatografia líquida de quitina, como Silva (2019), que extraiu uma lectina da sarcotesta da romã chamado-a de PgTeL e o do autor Maia (2018) que conseguiu isolar uma lectina da *M. oleifera*, denominando-a de WSMol.

A fração obtida da lectina isolada foi denominada de GaL e a pureza do material foi evidenciada em eletroforese em gel de poli(acrilamida), em condição desnaturante (SDS-PAGE) e redutoras.

**Figura 5.** Cromatografia em coluna de quitina da lectina GaL

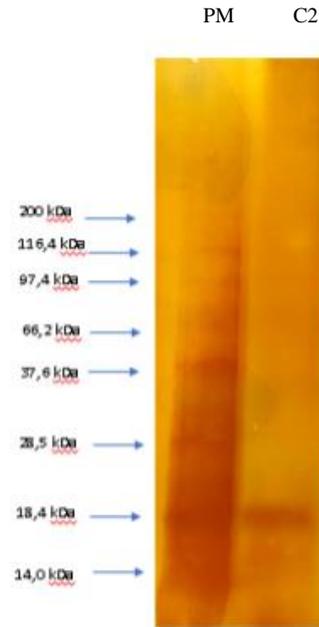


Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

### 5.5. Eletroforese em gel de poli(acrilamida) (SDS – PAGE 10%)

É possível visualizar, da esquerda para direita, na canaleta 1 o peso molecular padrão (PM) e, na canaleta 2, a proteína isolada. A metodologia proposta confirmou a purificação da proteína em um só processo cromatográfico, sendo visualizado a massa da proteica purificada estimada em aproximadamente 18,4 kDa (Figura 6).

**Figura 6.** Eletroforese em gel de poli(acrilamida) (SDS-PAGE 10%) em condições desnaturante e redutora da lectina GaL. PM: marcador de peso molecular; C1: Ga9I com  $\beta$ -mercaptanol.



Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Colares *et al* (2017), realizou uma pesquisa da qual, a proteína isolada da *Punica granatum*, foi submetida a detecção por eletroforese em gel de poliacrilamida, apresentando uma massa molecular de 14 kDa. Em outro estudo, foi investido o peso molecular das macromoléculas Jacalina e artinM extraídas de sementes da *Artocarpus heterophyllus* e aplicadas em SDS-PAGE em condições redutoras, apresentando valores de 14 kDa e 16 kDa, respectivamente. (ALMEIDA, 2018)

Já na ausência de  $\beta$ -mercaptanol a amostra não conseguiu penetrar no gel de poliacrilamida, não sendo possível visualizar nenhuma banda proteica. Outros ensaios experimentais serão necessários para confirmar o peso molecular dessa biomolécula na ausência de agente redutor.

Lectinas podem variar bastante em termos de massa molecular. Das folhas da *Jatropha multifida* L. foi isolada e purificada uma proteína denominada de JamuLL por cromatografia de quitina com rendimento de 100%. De acordo com Santos, A. (2020), na eletroforese SDS-PAGE foi possível obter uma única banca com 56 kDa.

Em outros estudos, as macromoléculas Jacalina e Frutalina, ambas isoladas das sementes de *P. confertiflora*, apresentaram duas bandas proteicas em gel de poliacrilamida com peso molecular de 12 e 14 kDa, respectivamente. (FERREIRA, F. 2021)

Alves (2018), obteve bons resultados em utilizar o método de eletroforese em gel SDS-PAGE para estabelecer o peso molecular da lectina WSMoL, tendo como resultado uma lectina contendo três subunidades de 30, 20 e 10 kDa.

## 6. CONCLUSÃO

- O Tris-HCl 50 mM pH 8,0 foi o meio que melhor extraiu a lectina do colmo da *Guadua angustifolia* Kunth.
- É uma lectina ligadora a N-acetilglicosamina, D-maltose e Fetuína.
- A fração 0-20% apresentou maior concentração proteica e uma AHE alta.
- A partir de um único passo cromatográfico foi possível isolar a lectina através de cromatografia líquida com coluna de quitina, com um rendimento de 80%, sendo a mesma denominada de GaL.
- A eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE 10%) permitiu estimar a massa proteica de GaL purificada em 18,4 kDa.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, L. P. *et al.* **Antinutritional effects of the chitin-binding lectin from *Microgramma vacciniifolia* rhizome (MvRL) on *Sitophilus zeamais*.** *Journal of Stored Products Research*, v. 88, 2020.
- ALEXANDRA, C. P. M. **DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD HEMOAGLUTINANTE Y BACTERICIDA EN EXTRACTOS OBTENIDOS DE ALGAS Y LÍQUENES ADQUIRIDOS EN LA ZONA DE LA LAGUNA DE OZOGOCHÉ EN EL PERÍODO JUNIO – OCTUBRE DEL 2016**". Monografía (Graduação em Ciências da Saúde), Universidade Nacional de Chimborazo, Equador – 2017.
- ALMEIDA, A. S. **Purificação, caracterização bioquímica e efeito na inibição de biofilmes bacterianos de uma lectina isolada da esponja marinha *Aaptos* sp.** Dissertação (Mestrado em Engenharia da Pesca), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.
- ALMEIDA, B. H. **Potencial anti-helmíntico *in vitro* de preparação lectínica (Jacalina/ArtinM) isoladas das sementes de *Artocarpus heterophyllus* LAM. Sobre larvas de *Haemonchus contortus*.** Monografia (Estágio Supervisionado Obrigatório III), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2018.
- ALVES, R. R. V. **Avaliação de atividade ovicida de lectinas ligadoras de quitina contra *Aedes aegypti*.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.
- ARARIPE, *et al.* **Partial characterization and immobilization in CNBr-activated Sepharose of a native lectin from *Platypodium elegans* seeds (PELa) and comparative study of edematogenic effect with the recombinant form.** *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 102, p. 323-330, 2017.
- ARAÚJO, C. A. C. *et al.* **A rhamnose-binding lectin from *Rhodnius prolixus* and the impact of its silencing on gut bacterial microbiota and *Trypanosoma cruzi*.** *Developmental & Comparative Immunology*, v. 114, 2021.
- ARDILA, C. R.; FOLGUERAS, M. B.; FERNÁNDEZ, F. J. **Oxidative pyrolysis of *Guadua angustifolia* Kunth.** *Energy Reports*, v. 6, p. 738-743, 2020

BATISTA, K. L. *et al.* **Structural analysis and anthelmintic activity of *Canavalia brasiliensis* lectin reveal molecular correlation between the carbohydrate recognition domain and glycans of *Haemonchus contortus*.** *Revista Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 225, p. 67 – 72, 2018.

BOTÃO, P. J. E. **Caso de estudo do impacto do uso do bambu na construção de habitações verdes nas comunidades afetadas pelo ciclone Idai em Moçambique.** Dissertação (Mestrado em Estudos do Ambiente e da Sustentabilidade), Instituto Universitário de Lisboa, 2020.

BOYD, W. C.; REQUERA, R. M. **Hemagglutinating substances for human cells in various plants.** *J. Immunol.*, 62:333-339, 1949.

BRAND, M. A. *et al.* **Potencial do uso de quatro espécies de bambu para a produção de carvão vegetal para uso doméstico.** *Ciência Florestal*, v. 30, n. 1, p. 60-71, 2020.

BRADFORD, M. M. **Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding.** Department of Biochemistry, University of Georgia, *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY*, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRITO, J. S. **Purificação, caracterização e avaliação da atividade imunomoduladora de lectina isolada de inflorescência de *Alpinia purpurata*.** Dissertação (Mestrado em Bioquímica e fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife – 2018.

BRITO, J. M. A. L. **Carbonização sustentável para valorização do bambu *Bambusa tuldoide*: Produção de carvão ativo e caracterização do bio-óleo recuperado.** Dissertação (Mestrado em engenharia Química), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG, 2020.

CADENA, J. F. A. *et al.* **Posibilidades del bambú (*Guadua angustifolia* Kunth) para la alimentación humana en la Sierra Nororiental de Puebla, México.** *Nova scientia*, v. 10, n. 21, p. 137-153, 2018.

CAMPOS, J. K. L. *et al.* **Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Bauhinia monandra* leaf lectin.** *Biochimie open*, v. 2, p. 62-68, 2016.

CAMPOS, R. F. **Potencial energético da biomassa e do carvão de espécies de bambu.** Dissertação (Mestrado em Bioenergia), Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2017.

CARVALHO, A. S. *et al.* **Purification, characterization and antibacterial potential of a**

**lectin isolated from *Apuleia leiocarpa* seeds.** *International journal of biological macromolecules*, v. 75, p. 402-408, 2015.

CARVALHO, C. M. *et al.* **Estudo da utilização do bambu na composição do concreto.** *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, v.7, n1, 2021.

CHICUTA, C. P. L. **Avaliação do efeito do extrato e de frações proteicas das sementes de *Crotalaria stipularia* (DESV., 1814) (FARBALES: FARBACEAE) sobre a sobrevivência e parâmetros nutricionais de *Tribolium castaneum* (HERBST, 1797) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE).** Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2019.

COLARES, L. F. *et al.* **Detecção de inibidores de proteases em sementes de *Punica granatum*.** *Química nova*, vol. 40, No. 3, 270-274, 2017.

CORREIA, S. E. G. **Purificação e caracterização físico-química de lectina isolada de sementes de *Dalbergia ecastophyllum* (L.) Taub.** Monografia (Bacharelado em Biotecnologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

COSTA, R. B. **Purificação, caracterização e avaliação de atividade antifúngica e citotóxica da lectina de casca de *Genipa americana* (Jenipapo).** Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2018.

DINIZ, F. V. **Bioprespeção de fungos endófitos de *Guadua* spp. com potencial para tratamento preservativo de bambu para fins de construção civil.** Dissertação (Mestrado em Ciências e Inovação Tecnológica), Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2020.

DRUMOND, P. M.; WIEDMAN, G. **Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia.** *Embrapa Acre-Livro técnico (INFOTECA-E)*, 2017.

DUARTE, P. L. **Purificação e caracterização bioquímica de lectina extraída do fluido celomático do ouriço-do-mar, *Echinometra lucunter*, exposto a indução bacteriana.** Monografia (Engenharia da Pesca), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

ECHEVERRI, L. A. S.; GARCÍA, M. E. R. **Morphological and structural characterization of bamboo fiber into culm – *Guadua angustifolia* Kunth.** *Ciência Florestal*, v. 28, n. 4, 2018.

EFFTING, E. F. **Construção civil sustentável: um estudo sobre a utilização do bambu.** Monografia (Graduação em Engenharia Civil), Universidade do Sul de Santa Catarina, 2017.

EVANGELISTA, L. F. B. **Efeito hipoglicêmico da lectina de folhas de *Bauhinia monandra* Kurz. (BmoLL) em ratos wistar com diabetes mellitus tipo 2.** Monografia (Bacharelado em Biotecnologia), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2018.

FARIAS, M. F. A. M. S. **Purificação, caracterização e atividade imunomoduladora de lectina da semente de castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.).** Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

FAVERO, A. **Isolamento, caracterização da lectina das sementes de *Eugenia pyriformis* e potencial antimicrobiano.** Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Francisco Beltrão – PR, 2019.

FELISBERTO, M. H. **Caracterização e avaliação da farinha e amido dos colmos jovens de *Dendrocalamus asper*, *Bambusa tuldoises* e *Bambusa vulgaris* para aplicação em biscoito tipo cookie.** Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

FERREIRA, F. V. **Galactomanana reticulada de sementes *Peltogyne confertiflora*: Uma eficiente matriz cromatográfica de afinidade para isolar lectinas Galactose-ligantes.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal do Ceará, Sobral – CE, 2021.

FERREIRA, G. R. S. **Avaliação da atividade antimicrobiana e antibiofilme da lectina da inflorescência de *Alpinia purpurata* (ApuL).** Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife – 2018.

FERREIRA, N. M. **Extração e caracterização parcial de uma lectina de sementes *Bauhinia pulchella* BENTH.** Monografia (Bacharelado/licenciatura em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Maranhão, Chapadinha, 2017.

FERREIRA, R. P. **Utilização de bambu na construção Sul-americana – Revisão tecnológica.** Dissertação (Mestrado em Projecto Integrado na Construção de Edifícios), Universidade do Porto, Porto – 2021.

FLEURI, A. K. A. **Avaliação da participação de Gal-1 e Gal-4 na evolução da infecção experimental por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.** Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto – 2019.

FREITAS, A. A. **Detecção de proteínas em *Pectranthus barbatus* e avaliação da atividade biológica sobre linhagens de células RAW 264.7 e A549.** Dissertação (Mestrado em

Tecnologia, Ambiente e Sociedade), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Teófilo Otoni, 2017.

FREITAS, J. H. **Investigação do potencial da lectina de sementes de *Moringa oleifera* (WSMoL) para tratamento de água: avaliação na remoção de contaminantes metálicos.** Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

FIRMINO, T. V. C. **Lectinas conjugadas a *quantum dots* na avaliação de glicofenótipos das neoplasias prostáticas.** Tese (Doutorado em Biologia Aplicada à Saúde), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

GARCÍA, C. R. V. **Efectos de cuatro sustratos en la propagación vegetativa de *Guadua angustifolia* Kunth mediante el método de chusquines.** Universidad Estatal Del Sur de Manabí, Facultad de Ciencias Naturales y de La Agricultura, 2021.

GAUTAM, A. K. *et al.* **Legume lectins: Potential use as a diagnostics and therapeutics against the cancer.** *International journal of Biological Macromolecules*, 2019.

GOMES, F. S. *et al.* **Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf.** *Journal of Applied Microbiology*, v.114, n.3, p.672-679, 2013.

GRECO, T. M., CROMBERG, M. **Bambu: Cultivo e manejo.** *Editora Insular*, p. 183, 2011.

JORGE, N. S. *et al.* **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DE UMA LECTINA EXTRAÍDA DAS SEMENTES DE *Canavalia brasiliensis* MART. EX BENTH.** III Encontro de Iniciação Científica da UFCA. 2017.

JÚNIOR, V. R. P. **Análise da estrutura cristalográfica de DLYL, uma lectina de sementes de *Dioclea lasiophylla* Mart. Ex Benth, e avaliação do seu efeito citotóxico contra glioma.** Tese (Doutorado em Biotecnologia e Recursos Natuais), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

LAEMMLI, U. K. **Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4.** *Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, NATURE*, VOL. 227, 1970.

LEMOS, S. R. **Análise experimental da aplicação do bambu *Bambusa vulgaris* Vittata na construção civil.** Trabalho de conclusão de curso (Curso de Engenharia Civil), Unievangélica, Anápolis, 2019.

LOBO, Y. J. G. **Avaliação da atividade antibiofilme de frações proteicas de folhas de**

***Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore.** Monografia, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró – 2020.

LÓSSIO, C. F. **Purificação e caracterização parcial de uma lectina lactose-específica com ação pro-inflamatória de sementes de *Dioclea reflexa*.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2016.

MAIA, P. V. P. **ATIVIDADE ACARICIDA DE EXTRATO E LECTINAS DE *Moringa oleifera* SOBRE *Tetranychus urticae*.** Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular), Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró – RN, 2018.

MANN, J. **Avaliação do potencial antitumoral da lectina de *Canavalia grandiflora* (ConGF) em culturas de células de glioma da linhagem C6.** Dissertação (Mestrado em Neurociências), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

MINKE, G. **Manual de construcción con bambú.** 155 p, 2010.

MIRANDA, A. F. **Estudo anatômico do entrenó de *Guadua Kunth* (poaceae: bambusoideae) ocorrentes no estado do Acre-Brasil.** Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade de Brasília, 2016.

MOURA, G. M. M. **Uma nova lectina lactose-específica isolada do fungo *Langermannia bicolor* com propriedades antibiofilme.** Dissertação (Mestrado em Bioquímica), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal – 2019.

NASCIMENTO, R. P. **Avaliação do potencial leishmanicida *in vitro* de lectinas de algas marinhas contra *Leishmania braziliensis*.** Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021.

NETO, C. C. **Anticorpos IGY produzidos em ovos de galinhas imunizadas com a lectina de *Vatairea guianensis* (VGL): Produção, isolamento e caracterização.** Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

NOLASCO, H.; OCHOA, J. **Fetuin binding by *Phaseolus coccineus* var'Alubia'seed agglutinin.** *Proceedings of the Sixth International Lectin Meeting, Poznan, Poland, September 2–6, 1984.* De Gruyter, 2020. p. 599-606.

OLIVEIRA, A. S. **Produção e caracterização físico-química e biológica da cadeia alfada**

**da lectina recombinante de *Canavalia brasiliensis*.** Tese (Doutorado em Biotecnologia de Recursos Naturais), Universidade Federal de Ceará, Fortaleza, 2017.

OLIVEIRA, J. F. **Lectinas vegetais: de moléculas de defesa de plantas às suas diversas aplicações biotecnológicas.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel – PR, 2018.

OLIVEIRA, M. V. **Determinação estrutural de uma lectina pró-inflamatória de sementes de *Vatairea guianensis* (Aublet).** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia de Recursos Naturais), Universidade Federal de Ceará, Fortaleza, 2017.

PAIVA, P. M.; COELHO, L. C. **Purification and Partial Characterization of Two Lectin Isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (Carnaratu Bean).** Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica, Recife, 1992.

PAIVA, P. M., *et al.* **Insecticide activity of lectins and secondary metabolites.** *Insecticides-advances in integrated pest management*, IntechOpen, 2012.

PAIXÃO, D. R. *et al.* **Utilização de carvões ativados de bambu (*Guadua weberbaueri* Pilger) funcionalizados com nanopartículas de prata ou óxido de ferro no tratamento de água.** *Brazilian Journal of Development* v.7, n.11, p. 103952-103972, Curitiba – 2021.

PARK, W. *et al.* **Isolation and characterization of lectins from stem and leaves of Korean mistletoe (*Viscum album var. coloratum*) by affinity chromatography.** *Archives of pharmacal research*, v. 20, n. 4, p. 306-312, 1997.

PAULINO, J. F.; AFONSO, J. C. **Da fama ao ostracismo: Oito reagentes que deixaram o ambiente laboratorial.** *Quim. Nova*, v. 44, n. 10, p. 1395-1403, 2021.

PROCÓPIO, T. F. *et al.* **CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect.** *International journal of biological macromolecules*, v. 98, p. 419-429, 2017.

QUEIROZ, F. F. **Estabelecimento e cultivo de células em suspensão e uso de biorreatores como estratégias de propagação de bambus do gênero *Guadua*.** Tese (Doutorado em Botânica), Departamento de Botânica, Universidade de Brasília, 2020.

RAFFAGNATO, C. G. *et al.* **Chemical terrorism: risk modeling proposal for attacks involving ricin in mass gatherings in Brazil.** *Saúde em debate*, v. 43, p. 152-164, 2020.

- RAMOS, D. B. M. **Avaliação das atividades antitumoral e antinociceptiva de extrato salino e lectina de folhas de *Schinus terebinthifolia***. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife – 2019.
- RENKONEN, H. O. **Studies on hemmagglutinins present in seeds of some representatives of family of leguminosae**. *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.* 26:6672-6676, 1948.
- ROSALINO, F.; VALLE, I. M. R. **Pré-fabricação de treliças de bambu para coberturas**. 1º *workshop de Tecnologia de Processos e Sistemas Construtivos*, Universidade de Brasília, 2017.
- RUA, J. J. *et al.* **Structure-property relations of a natural composite: Bamboo *Guadua angustifolia*, under impact and flexural load**. *Journal of Composite Materials*, v 55, 2021.
- RUSCH, F.; HILLING, E.; CEOLIN, G. B. **Anatomia de hastas adultas de bambu: Uma revisão**. *Brazilian Journal of Forestry Research*, v 38, p. 1-10, 2018.
- SALES, M. V. **Bases estruturais da interação da lectina de *Canavalia brasiliensis* Mart. Ex Beth. (ConBr) com fitohormônio ácido indole-3-acético**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.
- SANTILLÁN, C. A. I. **ESTABILIDAD DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO DEL EXTRACTO DE HOJAS DE *Guadua angustifolia* Kunth**. TESIS (Profesional de INGENIERO AGROINDUSTRIAL), FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS, CHACHAPOYAS-PERÚ, 2019.
- SANTOS, A. E. **Estudo da produção conjunta de celulose e bioetanol provenientes do bambu via hidrólise ácida**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.
- SANTOS, A. G. **Identificação, purificação e caracterização de uma lectina de folhas de *Jatropha multifida* L. (MALPIGHIALES: EUPHORBIACEAE)**. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2020.
- SANTOS JUNIOR, A. G. *et al.* **Avaliação de métodos para obtenção de proteínas recombinantes**. *Science and animal health*, v. 5, n. 2, p. 166-177, 2017.
- SANTOS, L. M. M. **Investigação do potencial antifúngico de lectina de sementes de *Moringa oleífera* (WSMoL) contra espécies de *Candida* e *Cryptococcus***. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

SANTOS, M. A. **Isolamento e caracterização de uma lectina da própolis vermelha de Alagoas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação de Licenciatura em Química), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2020.

SANTOS, R. V. A. *et al.* **The use of medicinal plants by rural populations of the Pastaza province in the Ecuadorian Amazon**. *Acta Amazonica*, v. 46, n. 4, p. 355-366, 2016.

SANTOS, V. F. **Extração e caracterização parcial de uma lectina das sementes de *Camptosema rubicundum* HOOK e ARN**. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas – Licenciatura), Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2018.

SHIRASUNA, R. T. **Guadua**. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

SILVA, C. J. *et al.* **Uso de plantas medicinais e potencial risco de interação medicamentosa em idosos no Brasil: Uma revisão integrativa**. *Revista Interfaces*, v. 9, n. 1, 2021.

SILVA, I. B. **Caracterização estrutural de uma lectina nociceptiva obtida de sementes da espécie *Platypodium elegans* VOG**. Tese (Doutorado em Biotecnologia e Recursos Naturais), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

SILVA, P. M. **Potencial antimicrobiano da lectina da sarcotesta da *Punica granatum* (PgTeL) contra patógenos humanos**. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia), Centro de Biociência, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – 2019.

SILVA, R. C. **Extração, identificação e caracterização parcial de lectinas com possível efeito antinutricional de leguminosas utilizadas na suplementação animal**. Monografia (Bacharelado em Zootecnia), Universidade Federal de Maranhão, Chapadinha, 2018.

SOUSA, R. C. **Prospecção de lectinas de leguminosas do baixo Parnaíba**. Monografia (Bacharelado/Licenciatura em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2017.

SUMNER, J. B.; HOWELL, S. F. **Identification of Hemagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A**. *J. Bacteriol.* 32(2): 227–237, 1936.

VALENTIM, A. S. C. **Plantas da Caatinga como fontes de atividades antioxidante, antibacteriana, inibidora e tripsina e lectínica. Isolamento de lectina de sementes de**

***Apuleia leiocarpa* (VOGEL) J.F. MACBRIDE.** Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

VIANA, L. A. M. **Purificação, caracterização e estrutura primária parcial de uma lectina de esponja marinha *Aplysina cauliformis*.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais), Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia da Pesca, Fortaleza, 2021.

VIDERES, L. C. C. ***Apodanthera congestiflora* e *Myracrodruon urundeuva*: Investigação das propriedades biológicas em preparações brutas e produtos isolados.** Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

WATKINS, W. M.; MORGAN, W. T. J. **Neutralization of the anti-H agglutinin in serum by simple sugars.** *Nature*, 169 (4307): 825-826, 1952.

WOLIN, I. A. V. **Avaliação do potencial citotóxico das lectinas leguminosas *Dioclea reflexa* I e *Canavalia brasiliensis* em culturas celulares das linhagens C6 (*Rattus norvegicus*) e U87 (*Homo sapiens*).** Dissertação (Mestrado em Neurociências), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

ZAPPELINI, J. **Caracterização citogenética de três espécies de bambu nativas da América do Sul: *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & PM Peterson, *Guadua angustifolia* Kunth e *Chusquea tenella* Nees (Poaceae).** Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.