

**Identificação de uma Lectina Induzida pela
Infecção por *Meloidogyne enterolobii* em
Amendoim**



ISSN 1808-9968

Julho, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Semiárido
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 96

Identificação de uma Lectina Induzida pela Infecção por *Meloidogyne enterolobii* em Amendoim

*Juliana Martins Ribeiro
Márcio dos Santos Teixeira Pinto
Eduardo Alves Gamosa de Oliveira
José Mauro da Cunha e Castro
Kátia Valevski Sales Fernandes
André Teixeira da Silva Ferreira
Jonas Enrique Perales Aguilar
Natoniel Franklin de Melo*

Embrapa Semiárido
Petrolina, PE
2012

Esta publicação está disponibilizada no endereço: www.cpatosa.embrapa.br

Embrapa Semiárido

BR 428, km 152, Zona Rural
Caixa Postal 23 CEP 56302-970 Petrolina, PE
Fone: (87) 3866-3600 Fax: (87) 3866-3815
sac@cpatsa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Maria Auxiliadora Coêlho de Lima
Secretário-Executivo: Anderson Ramos de Oliveira

Membros: Ana Valéria Vieira de Souza

Andréa Amaral Alves
Gislene Feitosa Brito Gama
José Maria Pinto
Juliana Martins Ribeiro
Magna Soelma Beserra de Moura
Mizael Félix da Silva Neto
Patrícia Coelho de Souza Leão
Sidinei Anunciação Silva
Vanderlise Giongo
Welson Lima Simões

Supervisão editorial: Sidinei Anunciação Silva
Revisão de texto: Sidinei Anunciação Silva
Normalização bibliográfica: Sidinei Anunciação Silva
Tratamento de ilustrações: Nivaldo Torres dos Santos
Editoração eletrônica: Nivaldo Torres dos Santos
Foto(s) da capa: Juliana Martins Ribeiro

1ª edição (2012): formato digital

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

É permitida a reprodução parcial do conteúdo desta publicação desde que citada a fonte.

**CIP. Brasil. Catalogação na Publicação
Embrapa Semiárido**

Identificação de uma lectina induzida pela infecção por *Meloidogyne enterolobii* em amendoim / Juliana Martins Ribeiro... [et al.]. – Petrolina: Embrapa Semiárido, 2012.

15 p. (Embrapa Semiárido. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 96).

1. Nematóide. 2. *Arachis hypogaea*. 3. Tecido vegetal. 4. Proteína vegetal. I. Título. II. Série.

CDD 632.6557

© Embrapa 2012

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	8
Resultados e Discussão	9
Conclusões	12
Referências	13

Identificação de uma Lectina Induzida pela Infecção por *Meloidogyne enterolobii* em Amendoim

*Juliana Martins Ribeiro*¹; *Márcio dos Santos Teixeira Pinto*²; *Eduardo Alves Gamosa de Oliveira*³; *José Mauro da Cunha e Castro*⁴; *Kátia Valevski Sales Fernandes*⁵; *André Teixeira da Silva Ferreira*⁶; *Jonas Enrique Perales Aguilar*⁷; *Natoniel Franklin de Melo*⁸

Resumo

A espécie *Arachis hypogaea* é naturalmente imune ao ataque de *Meloidogyne enterolobii*. No entanto, poucos estudos foram feitos a respeito dos fatores de proteção presentes nessa cultura. Este trabalho teve como objetivo detectar a presença de proteínas de defesa em raízes de *A. hypogaea*, induzidas pela infecção de nematoide *M. enterolobii*. Plantas foram cultivadas em casa de vegetação e com duas semanas de idade foram inoculadas com ovos de *M. enterolobii*, utilizando-se como controles plantas não inoculadas. Trinta dias

¹ Bióloga, D.Sc. em Produção Vegetal, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, juliana.ribeiro@cpatsa.embrapa.br.

² Bolsista, DCR FACEPE/CNPq, Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, marciostp@yahoo.com.br.

³ Bolsista, BFT FACEPE, Petrolina, PE, eduardobio@yahoo.com.br.

⁴ Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, jose.mauro@cpatsa.embrapa.br.

⁵ Bióloga, D.Sc., professora da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, cowpkat@uenf.br.

⁶ Biólogo, D.Sc. em Biologia Celular, tecnólogo em saúde pública da Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, atsferreira@ioc.fiocruz.br.

⁷ Biólogo, D.Sc. em Bioquímica, pesquisador da Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, jperales@ioc.fiocruz.br.

⁸ Biólogo, D.Sc. em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Semiárido, natoniel@cpatsa.embrapa.br.

após a inoculação, as raízes foram submetidas aos procedimentos de extração de proteínas, análise por eletroforese (SDS-PAGE) em condições desnaturantes seguida de sequenciamento de proteínas diferencialmente expressas. Os resultados indicaram a ocorrência de um aumento da expressão de uma proteína de ~28kDa em raízes de *A. hypogaea* decorrente da inoculação de *M. enterolobii*. O sequenciamento parcial desta proteína revelou se tratar de uma lectina específica para manose/glicose de amendoim, sendo a massa molecular semelhante à encontrada para lectina manose/glicose. Lectinas específicas para manose/glicose têm considerável efeito protetor em plantas e implicações sobre a expressão desta proteína na imunidade de plantas de amendoim contra o nematoide *M. enterolobii* deverão ser consideradas no futuro.

Palavras-chave: nematoide-das-galhas, patógeno, proteínas de defesa, *Arachis hypogaea*.

Identification Lectin Induced by *Meloidogyne enterolobii* Infection in Peanut Plants

Juliana Martins Ribeiro; Márcio S. T. Pinto; Eduardo A. G. de Oliveira; José Mauro da Cunha e Castro; Kátia V. S. Fernandes; André T. Ferreira; Jonas E. A. Perales; Nataniel Franklin de Melo

Abstract

The species *Arachis hypogaea* is naturally immune to the attack of *Meloidogyne enterolobii*. However, few studies have been carried out regarding the protective factors present in this crop. This study aimed at detecting the presence of defense proteins into roots of *A. hypogaea*, induced by infection with the nematode *M. enterolobii*. Plants were grown in a greenhouse, and at two weeks old, were inoculated with eggs of *M. enterolobii*, while control plants were not inoculated. One month after inoculation, the roots were submitted to a procedure for extraction of proteins and analysis by electrophoresis (SDS-PAGE) and partially sequencing of a differentially expressed protein. The results indicate the occurrence of an increased expression of a ~28 kDa protein in roots of *A. hypogaea* resulting from inoculation with *M. enterolobii*. The partial sequencing of the ~28 kDa protein revealed to be a lectin specific for mannose/glucose peanut, with molecular mass also similar to manose/glicose peanut lectin. Lectins specific for mannose/glucose have significant protective effect on plants, as already published in previous works. Implications on the expression of this protein in peanut plant immunity to the nematode *M. enterolobii* should be considered.

Keywords: galls nematode, defense protein, root nematode, *Arachis hypogaea* L.

Introdução

Lectinas são proteínas capazes de se ligarem aos resíduos glicosídicos de macromoléculas, tais como glicoproteínas e polissacarídeos (HOFF et al., 2009; SHARMA et al., 2009; SUBRAMANYAM et al., 2008). Foram primeiramente encontradas em sementes de *Ricinus communis*, há mais de um século (STILLMARK, 1888). No entanto, ainda hoje, há muito a ser elucidado sobre seu papel em plantas, embora a função de lectinas em animais, bactérias e vírus já tenha sido melhor compreendida (VIJAYAN; CHANDRA, 1999). As lectinas isoladas de leguminosas são consideradas como um sistema modelo para eventos de reconhecimento proteína-glicídio, não só por causa de sua fácil purificação, mas também pela ampla especificidade para resíduos de glicídios, mesmo mantendo uma grande conservação de sequência (LIS; SHARON, 1990).

Muitas funções têm sido atribuídas às lectinas, tais como eventos de reconhecimento célula-célula durante a interação entre plantas e bactérias em processos simbióticos de desenvolvimento, proteína de armazenamento em sementes, fertilização e de defesa de plantas contra patógenos (HOFF et al., 2009; ROOPASHREE et al., 2006). O efeito antibiótico de lectinas em plantas tem sido identificado em vários casos. Lectinas têm toxicidade a bruquídeos como *Zabrotes subfaciatus* e *Callosobruchus maculatus* (MURDOCK et al., 1990; OSBORN et al., 1988), fungos fitopatogênicos (RIBEIRO et al., 2007) e nematoides (GAOFU et al., 2008). No entanto, não existe evidência entre a indução de lectinas e as respostas ao ataque de patógenos. Em sementes, as lectinas são, inclusive, constitutivas, apresentando papel protetor antes mesmo do contato com patógenos.

O efeito tóxico das lectinas sobre o desenvolvimento de vários patógenos, como nematoides (SPIEGEL; MCCLURE, 1995;), afídeos (GAOFU et al., 2008; MELANDER et al. 2003; NAGADHARA et al., 2004; SADEGHI et al., 2003), bruquídeos (OSBORN et al., 1988; MURDOCK et al., 1990) e fungos fitopatogênicos (RIBEIRO et al., 2007) já foi comprovado. O efeito das lectinas na inibição de nematoides foi observado (GAOFU et al., 2008), e doses tão altas quanto 500 µg/mL são necessárias para a inibição do nematoide de Pinus (*Bursaphelenchus xylophilis*). O efeito tóxico de lectinas em fitonematoides pode ser independente do nível de interação entre lectinas e os resíduos de manose, alvo em seu tegumento, como demonstrado para *Meloidogyne javanica* (SPIEGEL; MCCLURE, 1995).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é naturalmente imune ao ataque de *M. enterolobii* (CARNEIRO et al., 2006). No entanto, poucas pesquisas foram realizadas com o objetivo de estudar os fatores de proteção presentes nessa cultura. Três tipos de lectinas já foram identificados em diferentes tecidos de plantas de amendoim (LAW et al., 1988). Lectinas de semente de amendoim (LSA) estão presentes nos cotilédones; são induzidas no hipocótilo e raízes no início do processo de germinação das sementes (PUEPPKE, 1979).

Lectinas ligadoras de galactose (LLG) e ligadoras de manose (LLM) são aumentadas tardiamente após o sétimo dia de idade, no tecido vegetativo e em nódulos radiculares produzidos por bactérias endossimbióticas do gênero *Bradyzobium* fixadoras de nitrogênio (KISHINEVSKY et al., 1988). LSA e LLG possuem a mesma especificidade por açúcares, diferentemente da LLM (KISHINEVSKY et al., 1988; LAW et al., 1988), o que sugere um distinto papel para LLM em tecidos vegetais (LAW; KFIR, 1997).

O objetivo deste trabalho foi identificar e sequenciar proteínas diferencialmente expressas em raízes de plantas de amendoim inoculadas com *M. enterolobii*.

Material e Métodos

Mudas de amendoim foram produzidas por sementes e cultivadas em sacos de polietileno contendo 5 kg de solo autoclavado. Aos 13 dias após a semeadura, 20 destas mudas foram inoculadas com 10.000 ovos de *M. enterolobii*, identificados segundo a metodologia de Carneiro e Almeida (2001), enquanto outras 20 plantas não foram inoculadas para servirem como controle. Trinta dias depois, as plantas inoculadas e não inoculadas foram colhidas, separando-se os caules e as raízes que, em seguida, foram liofilizados.

As amostras liofilizadas foram maceradas em nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino. Foram pesadas 100 mg das amostras maceradas e adicionou-se o tampão de extração (Tris HCL 0,1 M pH 8,0; NaCl 0,5 M; PVPP 10% e PMSF 2 mM) na proporção de 1:10(m/v). Os tubos contendo a extração proteica foram colocados em agitador magnético no interior da geladeira durante 4 horas. Após

esse período, os tubos foram centrifugados durante 20 minutos a 2.000 g em temperatura de 4 °C. O sobrenadante que constituía o extrato proteico bruto foi recolhido e o sedimento foi descartado. As proteínas totais extraídas de caules e raízes das plantas de amendoim foram quantificadas segundo o método de Bradford (1976) e o seu perfil foi analisado por eletroforese em gel de poliacrilamida sob condições semidesnaturantes, sem aquecimento da amostra, e desnaturantes, com aquecimento a 100 °C, ureia a 8 M e agente redutor β -mercaptaetanol segundo método de Laemmli (1970).

O gel foi corado com solução corante [0,1% de Coomassie Blue R (m/v), 40% de metanol (v/v) e 10% de ácido acético (v/v)] durante 5 minutos e descorado em solução contendo 35% de metanol e 10% de ácido acético (v/v). As bandas de proteínas diferenciadamente expressas foram removidas com a utilização de um bisturi e luvas descartáveis. O fragmento do gel contendo a proteína desejada foi transferido para um tubo de 1,5 mL, e lavado duas vezes com água destilada. Após a lavagem, foram adicionados 100 μ L de solução de bicarbonato de amônio 50 mM contendo acetonitrila 50%. A solução foi agitada durante 10 minutos e o sobrenadante foi retirado com pipeta. Esse procedimento de lavagem com solução de bicarbonato de amônio e acetonitrila foi repetido até a completa retirada do corante do gel.

Após a total remoção do corante, o tubo foi incubado em estufa a 37 °C para secar o material, que em seguida foi digerido com tripsina em tampão Tris-HCl 100 mM pH 8,0. Os peptídeos obtidos pelo processo de digestão foram usados no sequenciamento proteico seguindo o método de espectrometria de massas (MS/MS). Os dados de sequência obtidos foram comparados com os presentes no banco de dados Blas (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2009).

Resultados e Discussão

O perfil proteico de extratos totais de caules e raízes de plantas de amendoim foi analisado por meio de SDS-PAGE (Figura 1) em condições semidesnaturantes – linhas 1 a 4 – e desnaturantes – linhas 1' a 4' –. Observou-se um aumento significativo de uma proteína de ~28 kDa apenas em amostras de raízes inoculadas com *M. enterolobii* – linha 4'.

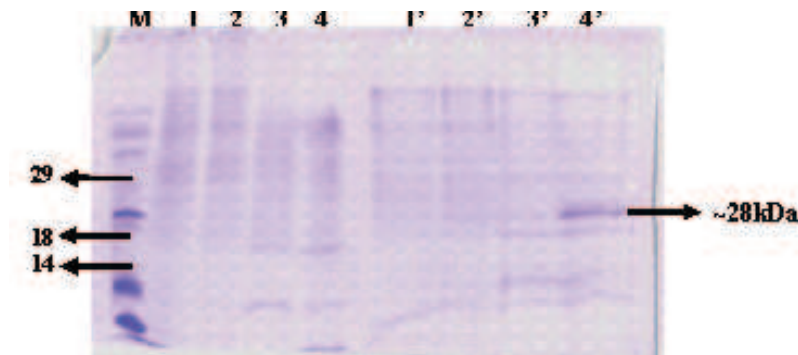


Figura 1. SDS-PAGE carregado com extrato total de proteínas de plantas de amendoim. Amostras de caule: (1) controle e (2) plantas infectadas com *M. enterolobii*. Amostras de raízes: (3) controle e (4) plantas infectadas com *M. enterolobii*, todas incubadas em condições semidesnaturantes. As linhas 1' a 4' representam os mesmos tratamentos citados, porém incubadas em condições desnaturantes.

Esses resultados foram observados somente quando as amostras foram submetidas a condições desnaturantes, não tendo sido observada a banda de ~28k Da em condições semidesnaturantes. Esses dados sugerem que a proteína de ~28k Da observada na linha 4' da Figura 1 forma um complexo no extrato proteico bruto. Law et al. (1988) afirmaram que o tratamento desnaturante, ao qual são submetidas as lectinas, separa qualquer complexo existente no extrato bruto. Na metodologia utilizada nesta pesquisa, dois tratamentos diferentes foram aplicados e a formação de um complexo é sugerida nas amostras não aquecidas, conforme pode ser observado na Figura 1, linhas 1 a 4. Entretanto, nenhuma banda molecular com o peso previsto foi detectada nessas amostras.

A hipótese da formação de um complexo pela ligação de uma proteína de ~28kDa a resíduos de carboidratos de outra(s) macromolécula(s) não pode ser descartada, uma vez que o aumento da expressão da proteína de ~28kDa foi detectado apenas na linha 4'. Na amostra não aquecida – linha 4 da Figura 1 – foi observado um aumento próximo a banda de 66kDa, a qual reduziu sua concentração após o aquecimento.

Extratos proteicos de caules – linhas 1-2 e 1'-2' da Figura 1 – não apresentaram diferenças no perfil entre plantas não inoculadas e inoculadas com o nematoide, indicando que a proteína de ~28kDa é especificamente induzida em raízes de plantas de amendoim inoculadas com *M. enterolobii*.

Quando submetida à análise de sequenciamento de aminoácidos, a banda proteica de 28 kDa apresentou alinhamento de sete resíduos de aminoácidos com lectinas de ligação manose/glicose e seus respectivos precursores. A sequência em comum entre a proteína de ~28kDa e aquelas presentes nas lectinas localiza-se em uma área conservada próxima à região carboxi-terminal (Tabela 1).

Tabela 1. Relação entre a sequência do peptídeo DYLPWGR, obtido por espectrometria de massas, e lectinas de ligação manose/glicose disponíveis no banco de dados BLAST – Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2007.

Proteína ou peptídeo	Região carboxi-terminal	Valores de E	Máxima Identidade
Peptídeo (proteína ~28kDa)	dylpewgr	–	–
Precursor de uma lectina de ligação manose/glicose (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	121 dylpewgrvrgfsaasgqqyqshel-qswsftstllylgrnhakp	4.1	100 %
Precursor de uma lectina de ligação manose/glicose (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	231 dylpewgsvrgfsaasgqq yqshel-qsws ftstllytsp hylklgrfmi	4.1	100%
Lectina de ligação manose/glicose (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	133 dylpewgsvrgfsaasgqqyqshel-qswsftstllytsphylklgrfmi	0.26	100%

Massas moleculares relativas (Mr) semelhantes àquela obtida nesta pesquisa pela infecção com *M. enterolobii* (~28kDa) foram observadas por Law et al. (1988). Esses autores determinaram as Mrs de três subunidades de lectinas de amendoim, sendo uma lectina ligadora de glicose (LLG) com 31,3 kDa, uma lectina de semente de amendoim (LSA) com 30,7 kDa e uma lectina ligadora de manose (LLM) contendo subunidades de 28,2 kDa e 29,8 kDa. Os autores não encontraram complexo formado entre as subunidades de lectinas; entretanto, é possível que essas proteínas sejam encontradas em duas ou quatro proteínas complexadas (MORENO et al., 2008).

A expressão diferencial da proteína – linha 4' da Figura 1 – em raízes de plantas de amendoim inoculadas com *M. enterolobii*, bem como o

fato desta proteína apresentar uma sequência similar a outras lectinas pode estar diretamente relacionada com o mecanismo de defesa das plantas contra patógenos, uma vez que as lectinas desempenham esta função nas plantas (HOFF et al., 2009; ROOPASHREE et al., 2006).

Os resultados do sequenciamento (Tabela 1), juntamente com os dados relativos a Mr (Figura 1), indicam que a proteína de ~28 kDa é induzida nas raízes do amendoim pela infestação por *M. enterolobii* como uma lectina ligadora de manose/glicose. Esses resultados são similares àqueles obtidos em raízes de trigo (OKA et al., 1997), nas quais a infestação com o nematoide-de-cistos, *Heterodera avenae*, serviu como um sinal para a resposta vegetal à invasão por patógenos (REINBOTH et al., 1994; RYAN, 2000) que também causou a indução de lectinas similares, sugerindo que este possa ser um processo defensivo comum em raízes de plantas invadidas por nematoides.

Conclusões

Plantas de amendoim, inoculadas com o nematoide *M. enterolobii*, expressam em suas raízes uma proteína com ~28k Da que apresenta homologia com lectinas de ligação manose/glicose e seus precursores.

Agradecimentos

À Embrapa Semiárido, à Universidade Estadual do Norte Fluminense, FIOCRUZ (RJ) pelo suporte financeiro. FACEPE e CNPq.

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**, [New York], v. 72, p. 248-254, 1976.
- CARNEIRO, R. M. D.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécie. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, n. 25, p. 35-44, 2001.
- CARNEIRO, R. G.; MONACO, A. P. A.; MORITZ, M. P.; NAKAMURA, K. C.; SCHERER, A. Identificação de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, n. 3, p. 293-298, 2006.
- HOFF, P.; BRILL, L. M.; HIRSCH, A. Plant lectins: the ties that bind in root symbiosis and plant defense. **Molecular Genetics and Genomics**, Heidelberg, v. 282, n. 1, p.1-15, 2009.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Blast**. Bethesda, 2009. Disponível em: <<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>>. Acesso em: 15 jan. 2012.
- GAOFU, Q.; MÃO, S.; FAYIN, Z.; ZNINIU, Y.; XIUYUN, Z. *In vitro* assessment of plant lectins with anti-pinwood nematode activity. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 98, p. 40-45, 2008.
- KISHINEVSKY, B. R.; LOBEL, R.; LIFSHITZ, N.; GURFEL, D. Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. **Weed Research**, [Hoboken], v. 28, p. 291-296, 1988.
- LAEMMLI, L. I. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage. **Nature**, [London], v. 227, p. 680-685, 1970.
- LAW, I. J.; HAYLETT, T.; STRIJDOM, B. W. Differences in properties of peanut seed lectin and purified galactose and mannose binding lectins from nodules of peanut. **Planta**, [Buenos Aires], v. 176, p. 19-27, 1988.
- LAW, I. J.; KFIR, R. Effect of mannose-binding lectin from peanut and pea on the stem borer *Chilo partellus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, [Hoboken], v. 82, p. 261-265, 1997.
- LIS, H.; SHARON, N. Legume lectins: a large family of homologous proteins. **Federation of American Societies for Experimental Biology Journal**, Bethesda, v. 4, n. 14, p. 3.198-3.208, 1990.
- MELANDER, M.; AHMAN, I.; KAMNERT, I.; STRÖMDAHL, A. C. Pea lectin expressed transgenically in oilseed rape reduces growth rate of pollen beetle larvae. **Transgenic Research**, Heidelberg, v. 12, p. 555-567, 2003.
- MORENO, F. B. M. B.; OLIVEIRA, T. M. de ; MARTIL, D. E.; VICOTI, M. M.; BEZERRA, G. A.; ABREGO, J. R. B.; CAVADA, B. S.; FILGUEIRA, A. W. J. R. Identification of a new quaternary association for legume lectins. **Journal of Structural Biology**, Heidelberg, v. 161, p. 133-143, 2008.

- MURDOCK, L. L.; HUESING, J. E.; NIELSEN, S. S.; PRATT, R. C.; SHADE, R. E. Biological effects of plant lectins on the cowpea weevil. **Phytochemistry**, Heidelberg, v. 29, p. 85-89, 1990.
- NAGADHARA, D.; RAMESH, S.; PASALU, I. C.; RAO, Y. K.; SARMA, N. P.; REDDY, V. D.; RAO, K. V. Transgenic rice plants expressing the snowdrop lectin gene (gna) exhibit high-level resistance to the whitebacked planthopper (*Sogatella furcifera*). **Theoretical and Applied Genetics**, [Cham], v. 109, p. 1.399-1.405, 2004.
- OKA, Y.; CHET, I.; SPIEGEL, Y. Accumulation of lectins in cereal roots invaded by the cereal cyst nematode *Heterodera avenae*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 51, p. 333-345, 1997.
- OSBORN, T. C.; BUROW, M.; BLISS, F. A. Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein. **Science**, Washington, D.C., v. 240, p. 207-210, 1988.
- PUEPPKE, S. G. Distribution of lectins in the Jumbo Virginia and Spanish varieties of the peanut *Arachis hypogaea* L. **Plant Physiology**, Rockville, v. 64, p. 575-580, 1979.
- REINBOTH, S.; MOLLENHAUER, B.; REINBOTH, C. JIPs and RIPs: The regulation of plant gene expression by jasmonate in response to environmental cues and pathogens. **The Plant Cell**, Rockville, v. 6, p. 1.197-1.209, 1994.
- RIBEIRO, S. F. F.; AGIZZIO, A. P.; MACHADO, O. L. T.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; OLIVEIRA, M. A.; FERNANDES, K. V. S.; CARVALHO, A. O.; PERALES J. E. A.; GOMES, V. M. A new peptide of melon seeds which shows sequence homology with vicilin: partial characterization and antifungal activity. **Scientia Horticulturae**, Maryland Heights, v. 111, p. 399-405, 2007.
- ROOPASHREE, S.; SINGH, S. A.; GOWDA, L. R.; APPU RAO, A. G. Dual-function protein in plant defence: Seed lectin from *Dolichos biflorus* (horse gram) exhibits lipxygenase activity. **Biochemical Journal**, Beijing, v. 1, n. 395, p. 629-639, 2006.
- RYAN, C. A. The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. **International Journal of Biochemistry, Biophysics and Molecular Biology**, [Maryland Heights], v.1.477, p.112-121, 2000.
- SADEGHI, A.; SMAGGHE, G.; BROEDERS, S.; HERNALSTEENS, J. P.; GREVE, H. de; PEUMANS, W. J.; DAMME, E. J. M. van. Ectopically expressed leaf and bulb lectins from garlic (*Allium sativum* L.) protein transgenic tobacco plants against cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*). **Transgenic Research**, Heidelberg, v. 17, p. 9-18, 2003.
- SHARMA, A.; NG, T. B.; WONG, J. H.; LIN, P. Purification and characterization of a lectin from *Phaseolus vulgaris* cv. (Anasazi Beans). **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Cairo, v. 2009, p. 1-9, 2009.
- SPIEGEL, Y.; MCCLURE, M. A. The surface coat of plant-parasitic nematode schemical composition, origin and biological role: a review. **Journal of Nematology**, Loudonville, v. 27, p. 117-124, 1995.

STILLMARK, H. Ueber Ricin, ein giftiges ferment aus dem samen von *Ricinus communis* L. und einigen anderen Euphorbiaceen. **Arbeiten des Pharmakologischen Institutes zu Dorpat**, Stuttgart, v. 3, p. 59-151, 1888.

SUBRAMANYAM, S.; SMITH, D. F.; CLEMENS, J. C.; WEBB, M. A.; SARDESAI, N.; WILLIAMS, C. E. Functional characterization of HFR1, a High-Mannose *N*-Glycan-Specific wheat lectin induced by hessian fly larvae. **Plant Physiology**, Rockville, v. 147, n. 3, p. 1.412-1.426, 2008.

VIJAYAN, M.; CHANDRA, N. Lectins. **Current Opinion in Structural Biology**, Maryland Heights, v. 9, p. 707-714, 1999.



Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**



CGPE 9949