



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

PAULO HENRIQUE OLIVEIRA DE MIRANDA

EFEITO PROTETOR DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FOLHAS DE
***Caryocarcoriaceum* Wittm. SOBRE A FITOTOXICIDADE INDUZIDA PELO**
SULFATO DE NÍQUEL EM *Lactuca sativa* L.

SERRA TALHADA, PE
FEVEREIRO, 2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

EFEITO PROTETOR DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FOLHAS DE
***Caryocarcoriaceum* Wittm. SOBRE A FITOTOXICIDADE INDUZIDA PELO**
SULFATO DE NÍQUEL EM *Lactuca sativa* L.

PAULO HENRIQUE OLIVEIRA DE MIRANDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

Linha de pesquisa: Ecologia, Conservação e uso da Biodiversidade de Ambientes Terrestres

Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva
Orientador

Profa. Dra. Andréa Monteiro Santana Silva Brito
Co-orientadora

Profa. Dra. Katya Maria Oliveira de Sousa
Co-orientadora

SERRA TALHADA, PE
FEVEREIRO, 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca da UAST, Serra Talhada-PE, Brasil

M672e Miranda, Paulo Henrique Oliveira de
Efeito protetor do extrato hidroetanólico das folhas de
caryocarcoriaceumwittm. sobre a fitotoxicidade induzida pelo sulfato de
níquel em lactuca sativa l. / Paulo Henrique Oliveira de Miranda. - Serra
Talhada, 2019.
92f. : il.

Orientador: Rogério de Aquino Saraiva
Coorientadores: Andréa Monteiro Santana Silva Brito; Katya Maria Oliveira
de Sousa.

Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Serra
Talhada, PE, 2019.

Inclui referências.

1. Toxicidade. 2. Níquel. 3. Fitotoxicidade. I. Saraiva, Rogério de Aquino, orient. II. Brito, Andréa Monteiro Santana Silva, coorient. III. Sousa, Katya Maria Oliveira de, coorient. IV. Título.

CDD 631

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

EFEITO PROTETOR DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FOLHAS DE
***Caryocar coriaceum* Wittm. SOBRE A FITOTOXICIDADE INDUZIDA PELO**
SULFATO DE NÍQUEL EM *Lactuca sativa* L.

PAULO HENRIQUE OLIVEIRA DE MIRANDA

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Biodiversidade e Conservação. Defendida e aprovada em 20/02/2019 pela seguinte Banca Examinadora.

Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva - Orientador
[Unidade Acadêmica de Serra Talhada/UFRPE]

Dr^a. Kelem Silva Fonseca – Membro Externo
[Unidade Acadêmica de Serra Talhada/ UFRPE]

Prof. Dr. Diego de Souza Buarque – Membro Interno
[Unidade Acadêmica de Serra Talhada/ UFRPE]

Prof. Dr. Adriano Nascimento Simões – Suplente Externo
[Unidade Acadêmica de Serra Talhada/ UFRPE]

Prof. Dr. André Luiz Alves de Lima – Suplente Interno
[Unidade Acadêmica de Serra Talhada/ UFRPE]

“É o grau de comprometimento que determina o sucesso, e
não o número de seguidores”

- Remus John Lupin (J.K. Rowling)

Dedicatória

Dedico este trabalho a Rogério de Aquino Saraiva, um profissional íntegro, entusiasta e sábio.

Agradecimentos

Agradeço,

A meus pais (Graciete e Tarcizo) e a meu irmão (Tácio Henrique), por todo suporte prestado durante o período de dedicação ao mestrado;

As minhas tias(as Marias: das Graças, Gorete e do Carmo) e tio (João);

A Rogério de Aquino Saraiva, pela tutoria, conselhos e pelo constante incentivo ao crescimento profissional e intelectual;

A Andréa Monteiro e Katya Sousa pela orientação e os ensinamentos;

Ao professor e coordenador Airton Carvalho, pelas conversas descontraídas sobre ciência e conselhos;

A Patrícia Maciel, pelo suporte fundamental para desenvolvimento da pesquisa, e pela amizade consolidada durante esta jornada de dois anos;

Aos membros do Grupo de Estudos em Bioquímica e Ecotoxicologia, Robson, Janaina, Yuri, Luana, Sara, Maraiza, Jaqueline e em especial a M^a da Saúde, pela ajuda na maioria das etapas do desenvolvimento do trabalho;

A UFRPE/UAST, ao Grupo de Instrumentação e Análises Química, ao Núcleo de Química Analítica Avançada de Pernambuco (NUAQPE/FACEPE), pela estrutura e equipamentos cedidos para realização dos experimentos;

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, ambos da UFRPE/UAST;

Aos meus colegas de mestrados, Érica, Vinicius, Amanda e Regina, Turma de 2017.1;

Ao Conselho de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa concedida;

A Ana Raquel, Sarah, Rebeca, Angélica, Mayra, Rizelia, Bosco, Patrícia (novamente), Socorro, Maria, Sâmara, Valdeane, Crislayne, Ana Maria Ericles, Jeffeson, Hiago, Leonaldo, Izabel, Pollyana, Cidinha e Aline;

No mais, a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão do presente trabalho, seja no âmbito da Universidade ou fora dela.

Resumo

O níquel (Ni) é um metal pesado de ocorrência natural nos ecossistemas e amplamente extraído e utilizado na fabricação de ligas metálicas e equipamentos eletrônicos. Nas últimas décadas, tem-se notado um aumento significativo deste metal nos ecossistemas devido a ações antropogênicas, tornando-o altamente persistente no ambiente. Embora seja um micronutriente para plantas e micro-organismos, o Ni em elevadas concentrações induz efeitos tóxicos severos. Diante disso, técnicas de remediação têm sido desenvolvidas para retirar ou conter os danos induzidos pelo Ni e outros metais pesados. Um produto que pode ser utilizado na remediação química é o extrato obtido das folhas de pequizeiro (*Caryocarcoriaceum* Wittm.), rico em compostos fenólicos que possuem atividade quelante de metal. Dessa forma, o presente trabalho é apresentado em duas partes: no primeiro capítulo foi apresentada uma revisão de literatura que aborda as atividades biológicas e o perfil químico das espécies do gênero *Caryocar* e, no segundo capítulo, foi desenvolvido um estudo sobre o potencial uso do extrato hidroetanólico das folhas de *C. coriaceum* (EHFCC) como remediador químico sobre a toxicidade induzida pelo sulfato de níquel (NiSO_4). Foram realizados consecutivos ensaios de toxicidade através do cultivo de plântulas de *L.sativa*, em placas de Petri, germinadas na presença de NiSO_4 ou EHFCC (concentrações de $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ até $1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e um ensaio de remediação utilizando as concentrações tóxicas de NiSO_4 e não tóxicas EHFCC em conjunto. Para avaliação do efeito tóxico e efeito protetor do EHFCC, foram avaliados a germinação, parâmetros biométricos (comprimento e integridade dos órgãos das plântulas) e moleculares (níveis de clorofilas a e b e perfil espectroscópico de refletância no infravermelho de moléculas das folhas). Apesar de não reverter os parâmetros biométricos e moleculares analisados, quando comparado ao grupo controle de plântulas cultivadas na ausência de NiSO_4 , o EHFCC na concentração de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ foi capaz de diminuir de forma significativa os efeitos tóxicos sobre as plântulas de alface causados pelo NiSO_4 , nas concentrações de $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Tal evidência sugere que o EHFCC pode ser usado para reduzir danos e a mortalidade de plantas cultivadas em solos contaminados por Ni.

Palavras-chave: NiSO_4 ; toxicidade; *Caryocarcoriaceum*; remediação química.

Abstract

Nickel (Ni) is a occurring heavy metal among ecosystems and widely used in the manufacture of metal alloys and electronic devices. In the last decades, a significant increase of Ni in the ecosystems has been noted due to some anthropogenic actions, making it highly persistent in the environment. Although Ni is a micronutrient for plants and microorganisms, it may induce severe toxic effects at high concentrations. In view of this, remediation techniques have been developed to remove or contain the damages induced by Ni and other heavy metals. The extract obtained from souari tree (*Caryocar coriaceum* Wittm.), which is rich in phenolic compounds with metal chelating activity, is a product with a possible chemical remediation activity. In line with this, we presented here (1) a first chapter with a literature review addressing the biological activities and the chemical profile of the species of the genus *Caryocar*; (2) a study about the potential use of hydroethanolic extract from the leaves of *C. coriaceum* (EHFCC) as a chemical remedy on the toxicity induced by nickel sulfate (NiSO_4). Toxicity assays were performed by *Lactuca sativa* seedlings in Petri dishes, exposed to the presence of NiSO_4 or EHFCC (at the concentrations of $0.1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ to $1,000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) and one assay of remediation using toxic concentrations of NiSO_4 and non-toxic concentrations of EHFCC together. To check the toxic and protective effect of EHFCC, we evaluated both biometric (germination, length and the integrity of the structures from seedlings) and molecular (levels of chlorophyll a and b and spectroscopic profile of the infrared reflectance of the biomolecules from lettuce leaves) parameters. Although EHFCC was not able to completely reverse biometric and molecular parameters analyzed in comparison to the values of the control group, the extract at concentration of $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ was able to significantly reduce the toxic effects on the lettuce seedlings caused by NiSO_4 at concentrations of $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ and $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$. This evidence suggests that EHFCC could be used as an important ally to reduce damage and mortality of plants grown in Ni contaminated soils.

Keywords: NiSO_4 ; toxicity; *Caryocar coriaceum*; chemical remediation.

Lista de ilustrações

Figura 1 - Fonte de inserção de Ni nos ecossistemas

Figura 2 - Indivíduo da espécie *Caryocarcoriaceum* Wittm. localizado na Chapada do Araripe (Crato, CE)

Figura 3 - Estruturas químicas dos compostos fenólicos encontrados no extrato hidroetanólico de *C. coriaceum*: A) Quercetina; B) Rutina; C) Ácido gálico; D) Ácido Cafeico e E) Ácido clorogênico

Figura 4 - Parâmetros adotados para qualificação do nível de necrose radicular para plântulas de *Lactuca sativa*, as setas indicam áreas necrosadas

Figura 5 - Gráfico da CI_{50} (concentração inibitória média), estimada a partir do comprimento radicular de *Lactuca sativa*, expresso em média $\pm$ erro padrão, cultivadas na presença de diferentes concentrações de $NiSO_4$. Médias representadas por letras diferentes, diferem significativamente entre si de acordo com o teste de ANOVA de um fator e teste de Tukey ($p < 0.05$)

Figura 6 - Plântulas de *Lactuca sativa* cultivadas na presença de $NiSO_4$ e $NiSO_4$ junto ao extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocarcoriaceum* (EHFCC), após 7 dias de exposição. A) $50 \mu g.mL^{-1}$ de $NiSO_4$; B) $50 \mu g.mL^{-1}$ de $NiSO_4$ + $10 \mu g.mL^{-1}$ de EHFCC

Figura 7 - Comprimento radicular, expressos em média $\pm$ erro padrão, das plântulas de *Lactuca sativa* cultivadas na presença de $NiSO_4$ e Extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocarcoriaceum* (EHFCC) em diferentes concentrações. Médias representadas por letras diferentes, diferem significativamente entre si, de acordo com o teste de ANOVA de dois fatores e teste de Tukey ($p < 0,05$)

Figura 8 - Índice de Necrose Radicular das plântulas de *Lactuca sativa* cultivadas na presença de diferentes concentrações de $NiSO_4$ e extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocarcoriaceum* (EHFCC), dados expressos em média $\pm$ erro padrão. Médias representadas por letras diferentes, diferem significativamente de acordo com o teste de ANOVA de dois fatores e teste de Tukey ($p < 0,05$)

Figura 9 - Concentrações de clorofila a e b, expressas em média $\pm$ erro padrão, em $mg.g^{-1}$ de massa fresca (MF) de plântulas de *Lactuca sativa*, cultivadas na presença de diferentes concentrações de $NiSO_4$ e Extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocarcoriaceum* (EHFCC), médias representadas por letras diferentes, diferem de forma significativa de acordo com o teste de ANOVA de dois fatores e teste de Tukey ($p < 0,05$)

Figura 10 - Perfil espectroscópico no infravermelho médio das folhas das plântulas cultivadas na presença de $NiSO_4$

Figura 11 - Perfil espectroscópico no infravermelho médio das folhas das plântulas cultivadas na presença do extrato hidroetanólico de *Caryocar coriaceum* (EHFCC)

Figura 12 - Processos metabólicos associados de forma direta ou indireta ao SO_4^{2-} , com base na literatura de Kopriva e Rennenberg (2004) e Davidian e Kopriva (2010)

Figura 13 - Perfil espectroscópico no infravermelho médio das folhas das plântulas cultivadas na presença de NiSO_4 e extrato hidroetanólico de *Caryocar coriaceum* (EHFCC)

Lista de tabelas

Tabela 1 - Espécies do gênero *Caryocar* conhecidas até o momento, distribuição geográfica e registros quanto ao uso na alimentação e medicinal, e status na lista vermelha da International Union from Conservation of Nature (IUCN)

Tabela 2 - Compostos fenólicos e suas respectivas concentrações presentes no extrato hidroetanólico das folhas de *C. coriaceum*

Tabela 3 - Características da germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. germinadas na presença de diferentes concentrações de extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocar coriaceum* (EHFCC). Médias representados por letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente, Teste de ANOVA de um fator e Teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 4 - Características da germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. germinadas na presença de diferentes concentrações de Sulfato de Níquel (NiSO_4). Médias representados por letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente, Teste de ANOVA de um fator e Teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 5 - Características germinação e desenvolvimento inicial *Lactuca sativa* L. germinadas na presença de diferentes concentrações de extrato hidroetanólicos das folhas de *Caryocar coriaceum* (EHFCC) combinadas com NiSO_4 , grupos representados por letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente, de acordo com teste de ANOVA de dois fatores e teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 6 - Número de onda (cm^{-1}) obtido e registrado na literatura e grupo funcional correspondente, de acordo com análises espectroscópicas na região do infravermelho médio

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 NÍQUEL (Ni)	16
2.1.1. Generalidades.....	16
2.1.2 Problemática ambiental	16
2.1.2 Ni em vegetais: absorção, essencialidade e toxicidade	18
2.2 REMEDIAÇÃO	21
2.3. <i>Caryocar coriaceum</i> Wittm.	22
2.4. COMPOSTOS FENÓLICOS – AÇÃO QUELANTE E ANTIOXIDANTE	24
2.4.1. Compostos fenólicos presentes no <i>Caryocar coriaceum</i>	24
a) Quercetina	24
b) Rutina	25
c) Ácido gálico	25
d) Ácido cafeico.....	25
e) Ácido clorogênico.....	26
3. CONSIDERAÇÕES DO AUTOR.....	26
4. REFRÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
CAPÍTULO I: PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO GÊNERO <i>Caryocar</i> : UMA REVISÃO DE LITERATURA.....	33
CAPÍTULO II: O extrato das folhas de <i>Caryocar coriaceum</i> Wittm. atenua a fitotoxicidade induzida pelo sulfato de níquel em plântulas de <i>Lactuca sativa</i> L.	61

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos, os avanços tecnológicos têm contribuído para um aumento sistemático da contaminação ambiental por metais pesados, como o chumbo, cromo, níquel, mercúrio e cádmio, tanto no que diz respeito à extração de minérios quanto na produção de uma infinidade de objetos e materiais que cercam a vida moderna. Muitos desses objetos, quando não mais utilizados, são descartados de forma descontrolada e não regulamentada, contaminando ainda mais os ecossistemas. Esses metais pesados são altamente persistentes no ambiente e possuem a capacidade de interagir com os componentes biológicos, podendo induzir efeito tóxicos de acordo com o tempo de exposição (PIECHALAK et al., 2002; JING; KJELLERUP, 2016).

Dentre estes metais, o níquel (Ni) é um metal amplamente empregado na fabricação de diversas ligas metálicas e como constituinte de equipamentos eletrônicos (NIKEL INSTITUTE, 2006). Naturalmente, o Ni é o quinto elemento mais abundante em termos de massa e corresponde a cerca de 3% da crosta terrestre (CEMPEL; NIKEL, 2006). Do ponto de vista biológico, o Ni atua como micronutriente essencial para plantas e micro-organismos, visto que é um cofator da urease, da glicoxalase, do peptídeo deformilase e do Ni-superóxido dismutase (SEREGIN; KOZHEVNIKVA, 2006). Contudo, o Ni e outros metais pesados são facilmente absorvidos pelos organismos e, em elevadas concentrações, possuem potencial genotóxico e citotóxico, como consequência da interferência negativa em vias metabólicas importantes e do aumento de espécies reativas de oxigênio, podendo levar a alterações morfológicas, funcionais e até mesmo à morte (MICHALAK, 2006; GUPTA et al., 2009; SILVA; MATOS, 2016; SHAHID et al., 2017). Além dos distúrbios já citados, os metais bioacumulados nas plantas também podem chegar a se biomagnificar na cadeia alimentar, contaminando vários organismos (SHAHID et al., 2017).

Tendo em vista esta problemática, há um crescente interesse de pesquisadores em desenvolver estratégias de retirar ou conter o impacto que as elevadas concentrações de agentes contaminantes dos ecossistemas causam, através de técnicas de remediação. Na remediação, podem ser utilizados agentes biológicos capazes de fixar ou biotransformar o contaminante em produtos menos tóxicos (biorremediação) ou substâncias químicas capazes de modificar ou fixar o contaminante, tornando-o indisponível para assimilação por seres vivos (estratégia denominada de remediação química) (MAGALHÃES, 2011). Neste último caso, tem-se

estimulado o uso de extratos de plantas com atividade quelante de metais (STINGU et al., 2012; RAJPOOT et al., 2016; LEITE et al., 2017).

Com base no exposto, um potencial produto natural para esta finalidade são os extratos das folhas do pequi do Nordeste (*Caryocar coriaceum* Wittm.), uma planta endêmica do Brasil com ocorrência exclusiva no estado do Ceará e da Bahia (região Nordeste) (MEDEIROS; AMORIM, 2015). Há relato na literatura de que o extrato hidroetanólico das folhas do pequi tem capacidade antioxidante e são ricos em flavonoides e ácidos fenólicos (ARARUNA et al., 2013), compostos conhecidos na literatura como agentes quelantes de metais (EBRAHIMZADEH et al., 2008; WANG et al., 2009; MLADENKA et al., 2011; PROCHAZKOVA et al., 2011; HUYUT et al., 2017). Ressalta-se ainda que o pequi (fruto do pequi), rico em ácidos graxos insaturados e vitaminas antioxidantes, é amplamente apreciado como alimento e o óleo obtido da polpa é utilizado popularmente na região da Chapada do Araripe (CE/PE) para o tratamento de machucados e infecções da garganta (SARAIVA et al., 2011; CAVALCANTI et al., 2015).

A espécie *C. coriaceum* integra a lista vermelha de espécies ameaçadas de extinção da *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) como espécie ameaçada de extinção (PRADO, 1998), logo, estudar as atividades biológicas desta espécie permite contribuir com informações essenciais para agregar-lhe ainda mais valor de uso, chamando atenção para necessidade de políticas de proteção a espécie. O desenvolvimento de produtos capazes de conter, remediar ou atenuar áreas degradadas pela contaminação de metais pesados, como o Ni, que estejam de acordo com princípios da química verde (TAVARES, 2013).

Logo, o presente trabalho objetivou avaliar a capacidade do extrato hidroetanólico das folhas de *C. coriaceum* proteger as plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) contra a exposição de diferentes concentrações de NiSO₄ (fonte de Ni adotado para este estudo), por meio de indicadores morfológicos e bioquímicos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 NÍQUEL (Ni)

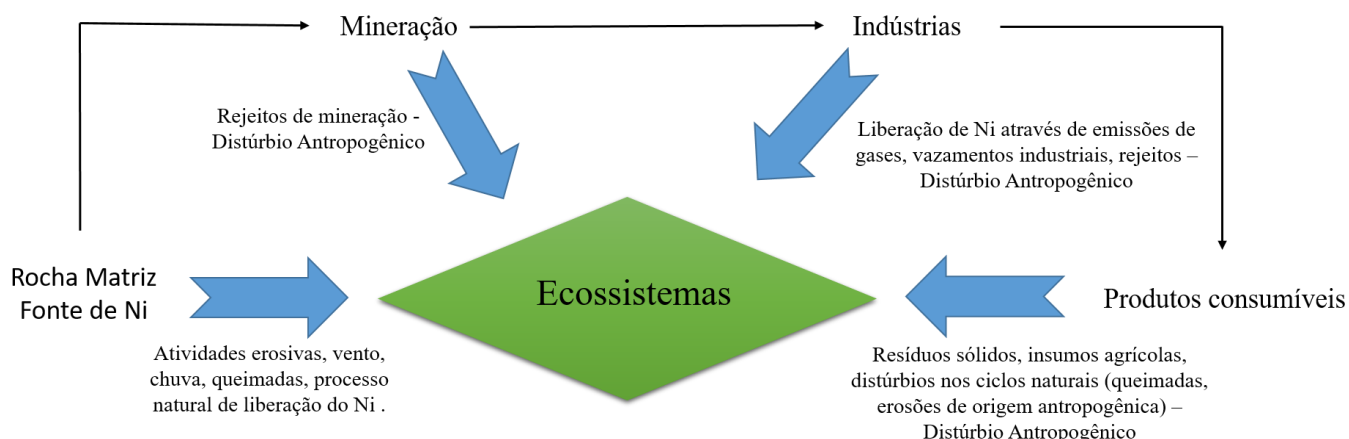
2.1.1. Generalidades

O níquel (Ni) é um elemento químico com número atômico 28, pertencente ao grupo de metais de transição, ocorre na natureza no estado sólido, decoloração prateada e sua massa atômica é de 58,6934 u (DENKHAUS, SALNIKOW, 2002). É o 5º elemento mais abundante do planeta em termos de massa, compondo 3% da crosta terrestre, e integra cerca de 100 minerais. Pode ser encontrado nas formas reduzidas e oxidadas que vão de Ni^{-1} a Ni^{+4} (CEMPEL; NIKEL, 2006).

O Ni possui diversas aplicações, sendo amplamente empregado na fabricação de ligas metálicas, conferindo resistência a corrosão e variações de temperaturas (CEMPEL; NIKEL, 2006). O Ni compõe diversos objetos, como: equipamentos elétricos, moedas, joias, baterias feitas a partir de Cádmio e Ni, e a produção destes materiais acarretam na liberação de níquel que retornam ao ambiente de forma concentrada (DUDA-CHODAK; BLASZCZKY, 2008).

2.1.2 Problemática ambiental

De acordo como o *Nickel Institute* (2006), o níquel é encontrado naturalmente em forma de óxidos, sulfatos e sílicas, sendo minerados em 23 países, incluindo o Brasil, e mais de 1,4 milhões de toneladas são extraídos da natureza ao redor do mundo. Sendo utilizado na fabricação de ligas metálicas, a qualidade destas ligas faz com que o Ni constitua diversos objetos metálicos, e durante este processo de extração e fabricação de produtos, elevadas concentrações de Ni podem ser adicionadas aos ecossistemas (Figura 1).

Figura 1: Fonte de inserção de Ni nos ecossistemas

Distribuído de forma ampla no ambiente, o Ni pode ser encontrado na água, ar e nos solos. De acordo com a revisão de Duda-Chodak e Blaszyk (2008), as concentrações normais de Ni, no ar, variam entre 6 a 20 ng.m⁻³, alcançando valores próximos a 150 ng.m⁻³ em áreas afetadas por atividades antropogênicas, que tendem a apresentar maiores concentrações em regiões industrializadas que utilizam o Ni como matéria prima (CEMPEL; NIKEL, 2006). A ocorrência do Ni no ar está associada a cinzas vulcânicas, poeira, incêndios florestais e levante de partículas de rochas recém erodidas (NIEMIEN et al., 2007).

Nos ecossistemas aquáticos, as concentrações de Ni são superiores quando comparadas as detectadas no ar. Em ambientes aquáticos não contaminados, a concentração de Ni pode variar a 300 ng.dm⁻³, sendo a origem do Ni nestes ambientes associada ao seu ciclo biogeoquímico, e a sedimentação do Ni presente na atmosfera (DUDA-CHODAK; BLASZCZYK, 2008). Estas concentrações do Ni, bem como de outros metais, aumentam nos ecossistemas aquáticos impactados por ação antropogênica, como efluentes domésticos ou industriais (CEMPEL; NIKEL, 2006).

A dinâmica do Ni nos ecossistemas aquáticos varia de acordo com a hidrologia do ecossistema. Em lagos, por exemplo, o Ni tende a ser mais persistente, havendo uma intensa retenção do Ni na matéria orgânica presente no local (KASHULIN et al., 2001). Nos rios, por outro lado, as concentrações de Ni tendem a ser inferiores, quando comparadas a lagos. Apesar de também se associar a matéria orgânica, o Ni não sedimenta no fundo dos rios, pois ele é carregado através de seu curso, o que faz com que as concentrações de Ni aumentem quando próximos a sua foz, onde provavelmente desagua em algum lago, estuário ou mar (DIAGOMANOLIN et al., 2004).

O Ni tende a se distribuir de forma uniforme no solo, porém, em áreas afetadas por ação antropogênica, como agricultura e deposição de resíduos industriais. As concentrações de Ni no solo ultrapassam a faixa das nanogramas encontradas no ar e em rios, atingindo concentrações de aproximadamente 1.000 mg.kg^{-1} de solo. (BROWN, 2006; CEMPEL; NIKEL, 2006). O Ni possui um complexo comportamento no solo e sua mobilidade depende de muitas variáveis, como mineralogia, conteúdo de água, composição orgânica do solo, composição metálica do solo, pH e a forma a qual este elemento se dispõe. O Ni pode ocorrerem forma iônica livre (prevalecendo o Ni^{2+}), complexados em moléculas orgânicas, ou precipitados (HARASIM; FILIPEK, 2015).

Como destacado, o Ni ocorre naturalmente nos ecossistemas, porém, devido a ação antropogênica, sua concentração tende a aumentar de forma significativa, o que desencadeia desequilíbrios ecossistêmicos que podem levar ao comprometimento de agentes biológicos, como será destacado no tópico a seguir.

2.1.2 Ni em vegetais: absorção, essencialidade e toxicidade

Em 1975, o Ni foi definido como um micronutriente (SEREGIN; KOZHEVNIKOVA, 2006), dada sua importância como cofator da urease, desempenhando um importante papel no ciclo de assimilação do Nitrogênio (N), e melhorando significativamente o desenvolvimento das plantas (DIXON et al., 1975; SINGH et al., 1990).

Além da urease, o Ni também é um cofator em diversas outras enzimas. Porém, estas enzimas ocorrem apenas em animais e bactérias, como a glicoxalase, peptídeo deformilase e superóxido dismutase (CHEN et al., 2009). A funcionalidade do Ni nestes organismos afeta as plantas de forma indireta, devido as interações ecológicas específicas entre vegetais e microorganismo do solo (MULROONEY; HAUSINGER, 2003).

O Ni disponível no solo é absorvido através de pelos radiculares, por meio de transporte passivo (difusão) ou transporte ativo (BROWN, 2006). Geralmente, as formas solúveis de Ni tendem a ser absorvidas de forma passiva, ao passo que o Ni quelado em moléculas orgânicas tendem a ser absorvidos por transporte ativo (via proteínas transportadoras) (AHMAD; ASHRAF, 2011). Há muitos fatores que determinam a taxa de absorção do Ni. Um dos principais fatores é a concentração de Ni e de outros metais disponíveis no solo, visto que alguns compartilham do mesmo sistema de absorção, ocorre uma competição entre cátions no estado de oxidação $2+$ (CATALDO et al., 1978). Um dos fatores mais importantes para a absorção de

Ni é o pH do solo, já que solos mais ácidos tendem a promover uma maior absorção do Ni, devido ao aumento de mobilidade e solubilidade deste íon (ZHANG et al., 2006).

Uma vez absorvido, o Ni, assim como outros metais pesados, tende a se acumular nos vacúolos das células radiculares (RASCIO; NAVARRI-IZZO, 2011), onde pode se ligar a moléculas como proteínas, ácidos orgânicos e histidina. Uma vez que o Ni se liga a moléculas orgânicas, este é transportado para os outros órgãos das plantas por meio do xilema (AHMAD; ASHRAF, 2011). Contudo, aproximadamente metade do Ni mantém-se nas raízes (CATALDO et al., 1978).

Uma vez constatada sua essencialidade, a deficiência de Ni pode causar necrose foliar, devido ao acúmulo de ureia, principalmente na região foliar (LOPEZ; MAGNITSKY, 2011). Além disso, as baixas concentrações deste no solo, de forma indireta, induz a diminuição na assimilação de N_2 , uma vez que a deficiência de Ni no solo afeta as bactérias simbióticas (URETA et al., 2005; ZOBIOLE et al., 2009), além de apresentar crescimento reduzido da planta (AHMAD; ASRAAF, 2011). Como a entrada de Ni é regulada, de acordo com a presença de outros metais no solo, a ausência do Ni no solo induz anomalias na absorção de ferro (Fe) (KOPITTKE et al., 2008), o que induz outras disfunções metabólicas relacionados ao Fe, ou outros íons metálicos.

Por outro lado, a exposição a elevadas concentrações de Ni, tanto de forma aguda quanto crônica, afeta a germinação, desenvolvimento e integridade dos órgãos levando a disfunções metabólicas e alterações cromossômicas severas (PIECHALAK et al., 2002; MICHALAK, 2006; GUPTA et al., 2009; SHAHID et al., 2017; SILVA; MATOS, 2016).

A germinação pode ser completamente inibida nas sementes expostas a elevadas concentrações de Ni. Um dos mecanismos moleculares observados é através da inibição de enzimas responsáveis pela mobilização dos nutrientes presentes nos cotilédones (AHMAD; ASHRAF, 2011). Maheshwari e Dubey (2008) argumentam que as enzimas afetadas são as responsáveis por hidrolisar as moléculas de reserva, havendo uma diminuição do metabolismo das plântulas por não conter os nutrientes adequados para desenvolvimento. Porém, uma vez que as sementes conseguem germinar, mesmo na presença de elevadas concentrações de Ni, as plântulas passam a incorporar o Ni, que se torna persistente no organismo, se ligando a biomoléculas, com consequente alteração estrutural ou função prejudicada (AMARI et al., 2016; SEREGIN; KOZHEVNIKOVA, 2006).

Há relatos na literatura da desnaturação de proteínas a partir da interação entre o Ni e estas biomoléculas, como também agindo na substituição de algum grupo prostético, como a proteína dedo de zinco (Zn), que é responsável pelo reparo e estruturação da molécula do DNA. Seu grupo prostético é um íon Zn coordenado a resíduos de histidina e cisteína. O Ni e outros metais pesados, podem substituir o Zn, desencadeando a perda da funcionalidade desta proteína (BAL et al., 2003). O mesmo pode ocorrer com a enzima δ -aminolevulinatodesidratase, responsável pela síntese do porfobilinogênio, um precursor da molécula de clorofila, heme e outros tetrapirrólicos. Nas plantas, essa enzima possui como grupo prostético o magnésio(Mg), que pode ser substituído por outros metais pesados, o que acarreta em uma mudança conformacional no sítio catalítico e consequente diminuição ou inibição da atividade enzimática (SHALYGO et al., 1999; MORSCH et al., 2002; ROCHA et al., 2012).

A presença de elevadas concentrações intracelulares de Ni também induz a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs são produtos do metabolismo celular, sendo geradas constantemente nos organismos, que possuem a função de sinalização celular, atuando principalmente no controle do estresse abiótico (BAILEY-SERRES; MITTLER, 2006). Porém, em elevadas concentrações, os EROs tendem a induzir efeitos citotóxicos severos (DAVIES, 2003). Plantas cultivadas na presença de diversos metais pesados, incluindo o Ni, tendem a apresentar elevadas concentrações de EROs em seus tecidos, devido a inibição de seus diversos sistemas antioxidantes (MAHESHWARI; DUBEY, 2009; GAJEWSKA; SKLODOWSKA, 2007).

Outro mecanismo de indução defitotoxicidade, por parte do Ni, são os efeitos que este induz no metabolismo do carbono, como o comprometimento da enzima Ribulose -1,5-bisfosfatocarboxilaseoxigenase, o que acarreta na diminuição das concentrações de CO₂ assimilado (SHEORAN et al., 1990), e na atividade das enzimas: Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina (NAD)-MalatoDesidrogenase (ME) e Fosfato de Dinucleótídeo de Nicotinamina e Adenina (NADP)-Malato Desidrogenase (ME), que são enzimas descarboxilizadoras dependente de malato, visto que o malato(em sua forma ácido málico) atua como agente quelante do Ni. Por outro lado, a atividades das enzimas fosfoenol piruvato carboxilase (PEPC), NADH-ME, Glucose-6-fosfato desidrogenase, e 6-fosfogluconato desidratase (6PGDH), NADP-Isocitrato desidrogenase (ICDH) são afetadas positivamente pela presença de elevadas concentrações de Ni, , promovendo uma espécie de compensação pelos mecanismos prejudicados, como a promoção da fixação de CO₂ por parte da PEPC, e a síntese

do ácido málico (NADH-ME), do NADPH (G6PDH, 6PGDH e NADP-ICDH) para que a biossíntese de alguns compostos não sejam prejudicadas, e consequentemente, a síntese de ácidos orgânicos não seja comprometida (NADP-ICH) (GAJEWSKA et al., 2013).

Quanto às rotas metabólicas do nitrogênio (N), além de sua função no ciclo da urease, o excesso de Ni desencadeia alterações pontuais no ciclo do N, levando a uma diminuição na concentração de nitrato, em consequência da inibição das enzimas nitrato e nitrito redutase, e um aumento na concentração de amônio na parte aérea das plântulas. Além disto, a atividade das enzimas glutamato sintetase, glutamato desidrogenase e aminotransferase aumenta, para que ocorra uma compensação da diminuição da atividade da glutamato sintetase dependente de ferredoxina (GAJEWSKA; SKLODOWSKA, 2009).

2.2 REMEDIAÇÃO

A remediação é um processo que tem como finalidade diminuir as concentrações de produtos tóxicos presentes em determinado ambiente. Existem dois tipos principais de remediação: I) Biorremediação, que utiliza componentes biológicos com a finalidade de acelerar processos catalisadores, ou organismos resistentes ao estresse como acumuladores (SARWAR et al., 2017); II) Remediação Química, a qual investiga as propriedades física e química do agente contaminante, de modo a aplicar moléculas químicas capazes de interagir com estes agentes, tornando-os indisponíveis para assimilação (CHEN et al., 2000). No caso de metais pesados, é mais frequente a aplicação da biorremediação, tendo as plantas como principal agente remediador e objeto de estudo (FELLET et al., 2007; LEGUIZAMO et al., 2017; REHMAN et al., 2017).

Os descartes inadequados de resíduos sólidos e líquidos, além dos consecutivos desastres ambientais, incluindo os recentes rompimentos das barragens de resíduos de minério em Mariana - MG (2015) e Brumadinho – MG (2019), motivam e despertam cada vez mais o interesse no desenvolvimento e aprimoramento destas técnicas de remediação. No intuito de buscar metodologias que agredam menos o meio ambiente, estando estas metodologias de acordo com os princípios da química verde (TAVARES, 2013), uma vertente da remediação química é o estudo de produtos provenientes da biodiversidade como remediadores. A maioria destes estudos estão focados em extratos de plantas, visto que muitos metabólitos secundários possuem, no organismo, a capacidade de se ligar a metais (STINGU et al., 2012; RAJPOOT et al., 2016; LEITE et al., 2017), como por exemplo: flavonoides e ácidos fenólicos

(EBRAHIMZADEH et al., 2008; WANG et al., 2009; MLADENKA et al., 2011; PROCHAZKOVA et al., 2011; HUYUT et al., 2017).

De acordo com as delimitações da química verde, e seguindo a linha de pensamento de Stingu et al. (2012), Rajpoot et al. (2016) e Leite et al. (2017), um potencial candidato a remediador químico é o extrato das folhas de *Caryocarcoriaceum* Wittm. (Caryocaraceae) (pequizeiro), um produto natural que apresenta flavonoides (quercetina e rutina) e ácidos fenólicos (ácido gálico) conhecidamente quelantes de metais.

2.3. *Caryocarcoriaceum* Wittm.

Conhecida porpulamente por pequizeiro, *C. coriaceum* Wittm. (Figura 2) é uma espécie endêmica do Brasil com ocorrência restrita aos estados da Bahia e Ceará (MEDEIROS; AMORIM, 2015). Possui frutos carnosos (pequi), amplamente utilizados na culinária e na medicina tradicional (GONÇALVES, 2008; SARAIVA et al., 2011; SOUSA-JÚNIOR et al., 2013). A obtenção do óleo de pequi chega a gerar renda para populações locais da região do Araripe, no Ceará (CAVALCANTI et al., 2015). Recentemente foi incluída na lista vermelha da IUCN com o status de espécie ameaçada.

Figura2: Indivíduo da espécie *Caryocar coriaceum* Wittm. localizado na Chapada do Araripe (Crato, CE)



Foto: Rogério de Aquino Saraiva (2009).

A investigação dos cientistas quanto aos metabólitos presentes no óleo fixo da polpa do pequi indicou a presença dos ácidos graxos: oleico (majoritário), palmítico, linoleico, esteárico, palmitoleico e heptadecanoico (OLIVEIRA et al., 2010; SARAIVA et al., 2011; FIGUEIREDO et al., 2016). Ao passo que extratos das folhas apresentam flavonoides e compostos fenólicos, como a quercetina, rutina, ácido gálico, ácido clorogênico e ácido caféico (ARARUNA et al., 2013; LACERDA-NETO et al., 2017). A presença dos compostos presentes no extrato do *C. coricaeum* possuem ampla aplicação na farmacologia, devido suas propriedades antioxidantes. Estes mesmos metabólitos são destacados pelos autores que investigam o potencial dos preparados vegetais como remediadores químicos (STINGU et al., 2012; RAJPOOT et al., 2016; LEITE et al., 2017).

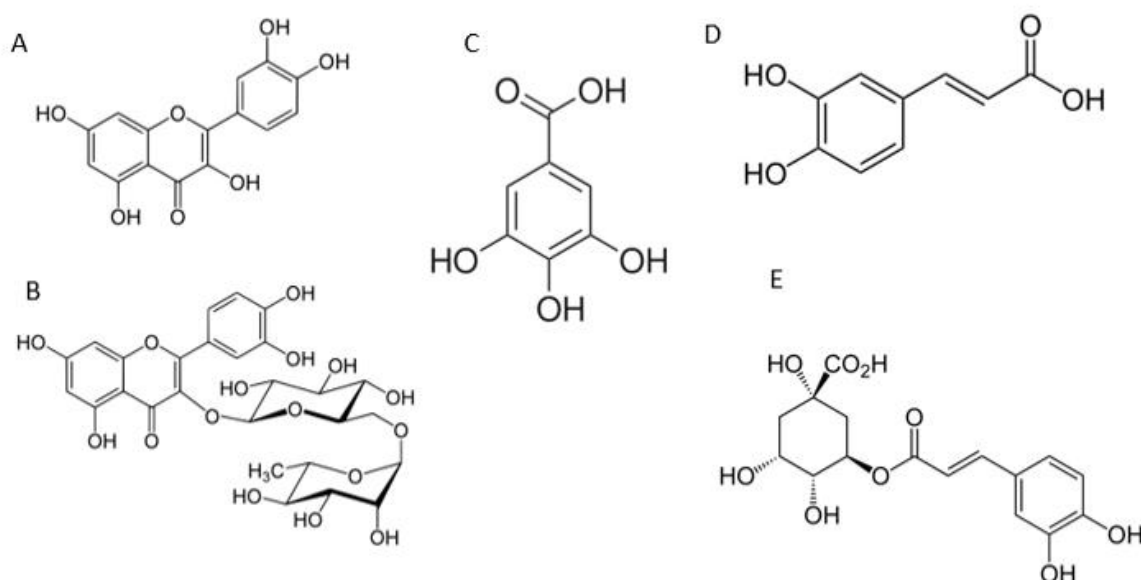
2.4. COMPOSTOS FENÓLICOS – AÇÃO QUELANTE E ANTIOXIDANTE

Dentre os compostos mais abundantes encontrados no extrato do fruto de *C. coriaceum*, estão os flavonoides que são polifenóis, possuindo mais de um núcleo aromático, e um número considerável de hidroxilas adjacentes. São conhecidos mais de 4.200 flavonoides, que desempenham importantes papéis nos vegetais, como defesa a estresses abióticos e patógenos (SIMOES et al., 2006). No âmbito da farmacologia, os flavonoides são amplamente empregados para diversas finalidades, e se destacam por não apresentarem efeitos tóxicos em concentrações de interesse clínico, não havendo muitos relatos de tais efeitos, excetuando relatos na literatura de efeito mutagênico em *Salmonella* sp. uma vez que estas cepas foram expostas a elevadas concentrações de quercetina e canferol (MARTINO, 2000).

2.4.1. Compostos fenólicos presentes no *Caryocarcoriaceum*

A figura 3 mostra os compostos fenólicos identificados no extrato hidroetanólico do pequi, em conformidade com os estudos de Araruna et al. (2013).

Figura 3: Estruturas químicas dos compostos fenólicos encontrados no extrato hidroetanólico de *C. coriaceum*: A) Quercetina; B) Rutina; C) Ácido gálico; D) Ácido Cafeico e E) Ácido clorogênico



a) Quercetina

A quercetina (3,5,7,3',4'- pentahidroxiflavona, figura 3-A) é um composto fenólico, pertencente ao grupo flavonol (MLADENKA et al., 2011), nas plantas, desempenham um importante papel atrativo, sendo responsável pela cor de diversos órgãos vegetais

(HARBORNE, 1998) é sintetizada por um grande número de espécies vegetais a partir do ácido chiquímico e da acetil-CoA(SIMOES et al., 2003; FERREYRA, et al., 2012).

A priori, descobriu-se que aquercetina possui capacidade de induzir mutações no DNA de bactérias. Desde então, diversos testes, no âmbito da farmacologia, atribuem à quercetinaefeito anti-inflamatório (LI et al., 2016), anti-histamínico (MICEK et al., 2016), antioxidante (NEGRE-SALVAYRE; SALVAYRE, 1992; WANG et al., 2009) e antibacteriano (WANG et al. 2018).Sua elevada capacidade antioxidante se deve à disposição de suas hidroxilas na molécula. Estas hidroxilas também promovem uma ação quelante de metais, por meio de interações coordenadas ou ligações iônicas (BRAVO; ANACONA, 2001; BUKHARI et al., 2009; VLADCHODIMITROPOULOU et al., 2011).

b) Rutina

A Rutina (3, 3', 4', 5, 7 – pentaidroxiflavona-3–ramnoglicosídeo, figura 3-B),da mesma forma que a Quercetina, é um flavonol (MLADENKA et al., 2011). Também desempenha um papel atrativo nos vegetais.Possui ampla aplicação farmacológica, como antioxidante (NEGRÉ-SALVAYRE et al., 1992; BOYLE et al., 2000), antitrombose (SHEU et al., 2004), vasoprotetora (TANG et al., 2011) e citoprotetora (POTAPOVICH & KISTYUK, 2003).

A rutina é sintetizada através da rota dosfenilpropanoides, que envolve a transformação da fenilalanina em 4-cumaril-CoA, que por sua vez é combinado com o malonil-CoA, formando o esqueleto carbônico de diversos flavonoides, e através de diversas reações enzimáticas, ocorre a síntese da rutina (LI et al., 2014).

c) Ácido gálico

O ácido gálico é um composto fenólico (ácido 3,4,5-triidróxico benzoico) (Figura 3-C). Assim como outros ácidos fenólicos, são empregados em diversos ramos industriais como antioxidantes naturais, no intuito de substituir compostos sintéticos (YEN et al., 2002; BADHANI et al., 2015; RODRIGUEZ et al., 2018).Além da atividade antioxidante, há registro de atividade antimicrobiana (SARJIT et al., 2015), anti-inflamatória (KROE et al., 1992), anticâncer (SUN et al., 2016).

d) Ácido cafeico

O ácido cafeico (ácido 3,4-diidroxicinâmico) (Figura 3-D) é um ácido fenólico que também se destaca por estar atribuído a atividade antioxidante e antimicrobiana (MAGNANI

et al., 2014). Há estudos que demonstram que sua ação antioxidante se dá através da liberação de prótons, ou devido a sua capacidade de quelar íons metálicos (CHEN; HO, 1997; PAIVA-MARTINS; GORDON, 2002).

e) Ácido clorogênico

O ácido clorogênico (ácido 3-*o*-cafeoilquínico) (Figura 3-E) é sintetizado a partir da esterificação do ácido caféico e do ácido quínico. Dá mesma forma que os ácidos orgânicos e flavonoides presentes no EHFCC, o ácido clorogênico também possui atividade antioxidante (GALVEZ et al., 2017) e anti-inflamatória (LIU et al., 2017) e anti-hipertensivo (SUZUKI et al., 2002).

3. CONSIDERAÇÕES DO AUTOR

Tendo em vista a necessidade de desenvolver produtos capazes de remediar áreas degradadas por metais pesados, a composição química de *C. coriaceum* torna-o um forte candidato ao estudo da remediação química. Além do mais, o fato desta espécie já estar registrada na lista vermelha da IUCN, com o status de ameaçada de extinção, associar valor de uso a esta espécie fundamentará possíveis propostas de políticas públicas de conservação para esta espécie.

4. REFRÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, M.S.A.; ASHRAF, M. Essential roles and hazardous effects of Nickel in plants. In: WHITACRE, D.M. (ed). **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 214. Springer, Paron, Arkansa, USA. p. 125-167. 2011.

AMARI, T. *et al.* Implication of citrate, malate and histidine in the accumulation and transport of nickel in *Mesembryanthemum crystallinum* and *Brassica juncea*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. n. 126. 2016. p. 122–128

ARARUNA, M. K.A. *et al.* Phenolic composition and in vitro activity of the Brazilian fruit tree *Caryocar coriaceum* Wittm. **European Journal of Integrative Medicine**. v. 5. 2013. p. 178–183.

ARNON, D. I. Coppeer enzymes in isoled chloroplast. Polyphenol oxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**. v. 4, p. 1-14, 1949.

BADHANI, B.; SHARMA, N. KAKKAR, R. Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial application. **RSC advances**. v. 35. 2015. p. 27540-27557.

BAL, W.; SCHWERDTLE, T.; HARTWIG, A. Mechanism of nickel assault on the zinc finger of DNA repair protein XPA. **Chemical research in toxicology**. v. 16. 2003. p. 242-248.

BAILEY-SERRES, J.; MITTLER, R. The roles of reactive oxygen species in plant cells. **Plant Physiology**. n. 141. 2006. p. 311-311.

BOYLE S.P.*et al.* Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.54. 2000. p.774-782.

BRAVO, A.; ANACONA, J.R. Metal complexes of the flavonoid quercetin: antibacterial properties. **Transition Metal Chemistry**. n. 26. 2001. p. 20-23.

BROWN, P.H. Ni. In: BARKER, A.V.; PILBEAM, D.J. (ed). **Handbook of plant nutrition**. CRC Press, Boca Raton, Flórida. p. 329-350. 2006.

BUKHARI, S. B. *et al.* Synthesis, characterization and antioxidant activity copper-quercetin complex. **Spectrochimica acta part a: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v. 71. 2009. p. 1901-1906.

CATALDO, D.A.; GARLAND, T.R.; WILDUNG, R.E. Nickel in plants. **Plant physiology**. v. 62. 1978. p. 563-565.

CAVALCANTI, M.C.B.T.*et al.* Pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm., Caryocaraceae) oil production: a strong economically influenced tradition in the Araripe region, northeastern Brazil. **Ethnobot. Res. Appl.** v. 13. 2015. p. 437-452.

CHEN, J.H.; HO, C.T. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compound. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. v. 45. 1997. p. 2374.-2378.

CHEN, H. M. *et al.* Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals. **Chemosphere**. v. 41. 2000. p. 229-234.

CHEN, C.; HUANG, D.; LIU, J. Functions and toxicity of Nickel in plants: Recent advances and futures prospects. **Clean – Soil, Air, Water**. n. 37. 2009. p. 304-313.

CEMPEL, M.; NIKEL, G. Nickel: A review of its sources and environmental toxicology. **Polish journal of environmental studies**. v. 15. n. 3. 2006. p. 375-382.

DENKHAUS, E.; SALNIKOW, K. Nickel essentiality, toxicity and carcinogenicity. **Critical reviews in oncology/hematology**. v. 42. 2002. p. 35-56.

DIAGOMANOLIN, V. *et al.* Heavy metals (Ni, Cr, Cu) in the Karoon waterway river, Iran. **Toxicology letters**. v. 151. 2004. p. 63-67.

DIXON, N. E. *et al.* Jack Bean urease (EC 3.5.1.5.) A metalloenzyme. A simple biological role for nickel. **Journal of the American Chemical Society**. v. 97. 1975. p. 4131-4133.

DUDA-CHODAK, A.; BLASZCZYK, U. The impact of nickel on human health. **Journal of elementology**. v. 13. n. 4. 2008. p. 685-696.

EBRAHIMZADEH, M.A.; POURMORAD, F.; BEKHRADNIA, A.R. Iron chelating activity,

- phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. **African Journal of Biotechnol.** v. 7. 2008. p.3188–3192.
- FELLET, G. *et al.* The application of phytoremediation technology in a soil contaminated by pirite cinder. **Ecological Engineering**. v. 31. 2007. p. 207-214.
- FERREYRA, M.L.F.; RIUS, S.P.; CASATI, P. Flavonoids: Biosynthesis, biological functions and biotechnological applications. **Frontier in plant science**. v. 3. 2012. p. 1-15.
- FIGUEIREDO, P.R.L. *et al.* Caryocar coriaceum Wittm. (Pequi) fixed oil presents hypolipemic and anti-inflammatory effects in vivo and in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 191. 2016. p. 87–94.
- GAJEWSKA, E.; SKŁODOWSKA, M. Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. **Biometals**. v. 20. 2007. p. 27-36.
- GAJEWSKA, E.; SKŁODOWSKA, M. Nickel-induced changes in nitrogen metabolism in wheat shoots. **Journal of plant physiology**. v. 166. 2009. p. 1034-1044.
- GAJEWSKA, E.; *et al.* Nickel-induced changes in carbon metabolism in wheat shoots. **Journal of plant physiology**. v. 170. 2013. p. 369-377.
- GALVEZ, J.S.; ZEVALLOS, C.L.; VELAZQUEZ, D.A.J. Chlorogenic acid: recente advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical agains metabolic syndrome. **Molecules**. v. 22. 2017. p. 1-28.
- GONÇALVES, C.U. Os pequizeiros da Chapada do Araripe. **Revista de Geografia**. vol. 25. 2008. p. 88-103.
- GUPTA, D. K. *et al.* Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown Zea mays seedlings under moderate lead stress. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, n. 1, p. 479–484, 2009.
- HARASIM, P.; TADEUSZ, F. Nickel in the environment. **Journal of elementology**. v. 20. 2015. p. 525-534.
- HARBORN, J.B. **Phytochemical methods**: A guide to modern techniques of plant analyses. 3rded. London: Chapman & Hall. 1998. 286 p.
- HUYUT, Z.; BEYDEMIR, S.; GULÇIN, I. Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. **Biochemistry Research Internatonal**. v. 2017. 2017. 10 p.
- JING, R.; KJELLERUP, B. V. Biogeochemical cycling of metals impacting by microbial mobilization and immobilization. **Journal of Environmental Sciences**. v. 66. 2016. p. 146-154.
- KASHULIN, N.A. *et al.* Impact of airborne pollution on the drainage area of subartic lakes and fish. **Chemosphere**. v. 42. 2001. p. 51-59.
- KOPITTIKE, O.M. *et al.* Tolerance of two perennial grasses to toxic levels of Ni²⁺. **Enviromental Chemistry**. n. 5. 2008. p. 426-434.

KROE, B. H. *et al.* Anti-inflammatory activity of gallic acid. **Planta Medica**. v. 58. 1992. p. 499-504.

LACERDA-NETO, L. J. *et al.* Gastroprotective and ulcer healing effects of hydroethanolic extract of leaves of *Caryocar coriaceum*: Mechanisms involved in the gastroprotective activity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 261. 2017 p. 56–62.

LEGUIZAMO, M.A.; GOMEZ, W.D.F.; SARMIENTO, M.C.G. Native herbaceous plant species with potential use in phytoremediation of heavy metals, spotlight on wetlands – a review. **Chemosphere**. v. 168. 2017. p. 1230-1247.

LEITE, N.F. *et al.* Reduction of the toxic effect of mercurium chloride by chelating effect of *Psidium brownianum* Mart. ex DC. **International Biodeterioration & Biodegradation**. n. 119. 2017. p. 538-541.

LI, X.*et al.* Comparative analysis of flavonoids and polar metabolite profiling of Tanno-original and Tanno-high rutin buckwheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 62. n. 12. 2014. p. 2701-2708.

LI, Y. *et al.* Quercetin, inflammation and immunity. **Nutrients**. v. 167. 2016. p.3-14.

LIU, C. C. *et al.* Chlorogenic in IL-1 β -stimulated human SW-1353 chondrocytes, a model for osteoarthritis. **Molecular Medicine Reports**. v. 16. 2017. p. 1369-1375.

LOPEZ, M.A.; MAGNITSKIY, S. Nickel: The last of essential micronutrients. **Agronomia Colombiana**. n. 29. 2011. p. 49-56.

MAGALHAES, M.O. L.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; MAZUR, N. Uso de resíduos industriais na remediação de solo contaminado com cádmio e zinco. **Ciências Florestal**. v. 21. 2011. p. 219-227.

MAGNANI, C. *et al.* Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. **Analytical Methods**. v. 6. 2014. p. 3203-3210.

MAHESHWARI, R.; DUBEY, R. Inhibition of ribonuclease and protease activities in germinating rice seeds exposed to nickel. **Acta Physiologiae Plantarum**. v. 30. 2008. p. 863-872.

MAHESHWARI, R.; DUBEY, R. Nickel-induced oxidative stress and the role of antioxidant defence in rice seedlings. **Plant Physiology**. v. 59. 2009. p. 37-49.

MARTINO, V. Los flavonoides como promissorios agentes preventivos y teapeuticos. **Acta farmacêutica bonaerense**.v. 19. n. 4. 2000. p. 303-308.

MEDEIROS, H.; AMORIM, A.M.A. **Caryocaraceae in lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânica do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB16719>> Acesso em: 13 de dezembro de 2018.

MICEK, J. *et al.* Quercetin and its anti-allergic immune response. **Molecules**. n. 21. 2016. p. 1-15.

MICHALAK, A. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. **Plant Cell**, v. 15, n. 4, p. 523–530, 2006.

MLADENKA, P. *et al.* In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 105. 2011. p. 693–701.

MULROONEY, S.B.; HAUSINGER, R.P. Nickel uptake and utilization by microorganism. **FEMS Microbiology Reviews**. v. 27. 2003. p. 239 – 261.

MORSCH, V.M.*et al.* Effects of Cadmium, Lead, Mercury and Zinc on δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase Activity from Rashid Leaves. **Biologia plantarum**. v. 45. 2002. p. 85-89.

NICKEL INSTITUTE. HOW NICKEL IS PRODUCED. 2006. Disponivel em: www.nickelinstitute.org.

NEGRÉ-SALVAYRE, A., AFFANY, A., HARITON, C. R. Additional antilipoperoxidant activities of alpha-tocopherol and ascorbic acid on membrane-like systems are potentiated by rutin. **Pharmacology**. v.42. 1992. p. 262–272.

NEGRE-SALVAYRE, A.; SALVAYARE, R. Quercetin prevents the cytotoxicity of oxidized LDL on lymphoid cell lines. **Free radical Biology & Medicine**. v. 12. 1992. p. 101-106.

NIEMINEN, T.M.; *et al.* Biogeochemistry of nickel and its release into environment. In: **Metal ion life science**. v. 2. 2007. p. 1-30.

OLIVEIRA, M.L.M.; *et al.* In vivo topical anti-inflammatory and wound healing activities of the fixed oil of *Caryocar coriaceum* Wittm. seeds. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 129. 2010. p. 214–219.

PAIVA-MARTINS, F.; GORDON, M.H.; Effects of pH and ferric ions on the antioxidant activity of olive polyphenols in oil-in-water emulsions. **Journal of the american oil chemists society**. v. 79. 2002. p. 571-576.

PIECHALAK, A. *et al.* Accumulation and detoxification of lead ions in legumes. **Phytochemistry**, v. 60, n. 2, p. 153–162, 2002.

POTAPOVICH, A.I.; KOSTYUK, V.A. Comparative Study of Antioxidant Properties And Cytoprotective Activity of Flavonoids. **Biochemistry**. v. 68. 2003. p. 514-519.

PRADO, D. *Caryocar coriaceum*. **The IUCN red list of threatened Species**. 1998.

PROCHAZKOVA, D.; BOUSOVA, I.; WILHELMOVA, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**. v. 82. 2011. p. 513–523.

RAJPOOT, R. *et al.* *Terminalia arjuna* bark extract alleviates nickel toxicity by suppressing its uptake and modulating antioxidative defence in rice seedlings. **Protoplasma**. v. 253. 2016. p. 1449-1462.

RASCIO, N.; NAVARRI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting. **Plant science**. v.180. 2011. p. 169-181.

REHMAN, M.Z.; *et al.* Remediation of heavy metal contaminated soils by using *Solanum*

- nigrum*: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 143. 2017. p. 236-248
- ROCHA, J.B. *et al.* Aminolevulinate dehydratase (δ -ALA-D) as marker protein of intoxication with metals and other pro-oxidant situations. **Toxicology Research**. v. 1. 2012. p. 85-102.
- SARAIWA, R.A. *et al.* Topical anti-inflammatory effect of *Caryocar coriaceum* Wittm. (Caryocaraceae) fruit pulp fixed oil on mice ear edema induced by different irritant agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136. 2011. p. 504–510.
- SARJIT, A.; WANG, Y.; DYKES, G.A. Antimicrobial activity of gallic acid against thermophilic *Campylobacter* is strain specific and associated with a loss of calcium ions. **Food Microbiology**.v. 46. 2015. p. 227-233.
- SARWAR, N. *et al.* Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. **Chemosphere**. v. 17. 2017. p. 710-721.
- SEREGIN, I. V.; KOZHEVNIKOVA, A.D. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. **Russian journal of plant physiology**. v. 53. n. 2. 2006. p. 257-277.
- SHAHID, M. *et al.* Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 36–58, 2017.
- SHALYGO, N. V. *et al.* Effects of Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , and Ni^{2+} on Chlorophyll Accumulation and Early Stages of Chlorophyll Formation in Greening Barley Seedlings. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 46. 1999. p. 496-501.
- SHEU, J.R. *et al.* Mechanisms involved in the antiplatelet activity of rutin, a glycoside of the flavonol quercetin, in human platelets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.52. 2004. p. 4414-4418.
- SHEORAN, I.S.; SINGAL, H.R.; SINGH, R. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). **Photosynthesis research**. v. 23. 1990. p. 345-351.
- SIMOES, C.M. *et al.* **Farmacognesia**: da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre: Editora da UFSC. 2003. v. 1. 1097 p.
- SINGH, B.; DANG, Y.P.; MEHTA, S.C. Influence of nitrogen on the behavior of nickel in wheat. **Plant and soil**. v. 127. 1990. p. 213-218.
- SILVA, P.; MATOS, M. Assessment of the impact of Aluminum on germination, early growth and free proline content in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 131, p. 151–156, 2016.
- SOUSA-JÚNIOR, J.R., ALBUQUERQUE, U.P.; PERONI, N. Traditional Knowledge and Management of *Caryocar coriaceum* Wittm. (Pequi) in the Brazilian Savanna, Northeastern Brazil. **Economic Botany**. v. 67. 2013. p. 225-233.
- STINGU, A. *et al.* New approaches concerning the utilization of natural amendments in cadmium phytoremediation. **Industrial Crops and Products**. n. 35. 2012. p. 53-60.

SUN, G. *et al.* Gallic acid as a selective anticancer agent that induces apoptosis in SMMC-7721 human hepatocellular carcinoma cells. **Oncology letters**. v. 11. 2016. p. 150-158.

SUZUKI, A. *et al.* Green coffee bean extract and its metabolites have hypotensive effect in spontaneously hypertensive rats. v. 25. 2002. p. 99-107.

TANG, D.Q. *et al.* Protective effects of rutin on rat glomerular mesangial cells cultured in high glucose conditions. **Phytotherapy Research**. v. 25. 2011. p. 1640–1647.

TAVARES, S. R. L. Técnicas de Remediação. In: TAVARES, S. R. de L. **Remediação de solos e águas contaminadas por metais pesados: conceitos básicos e fundamentos**. Joinville: Clube de Autores, 2013. cap. 2, p. 61-90

URETA, A.C. *et al.* Rhizobium leguminosarum biovar viciae symbiotic hydrogenase activity and processing are limited by the level of nickel in agricultural soils. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 71. 2005. p. 7603-7606.

RODRIGUEZ, G.R.V. *et al.* Gallic acid content and antioxidant mechanism are responsible for the antiproliferative activity of ‘Ataulfo’ mango peel on LS180 Cells. **Molecules**. v. 23. 2018. p. 1-15.

VLACHODIMITROPOULOU, E.; SHARP, P.A.; NAFTALIN, R.J. Quercetin-iron chelates are transported via glucose transporters. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 50. 2011. p. 934-944.

WANG, H. *et al.* Up-regulation of chloroplastic antioxidant capacity is involved in alleviation of nickel toxicity of *Zea mays* L. by exogenous salicylic acid. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 72. 2009. p. 1354—1362.

WANG, S. *et al.* Bacteriostatic effect of quercetin as an antibiotic alternative *in vivo* and its antibacterial mechanism *in vitro*. **Journal of food protection**. v. 81. 2018. p. 68-68.

WANG, T.; JONSDOTTIR, R.; OLAFSDOTTIR, G. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. **Food Chemistry**. v. 116. 2009. p. 240–248.

YEN, G.; DUH, P.; TSAI, H. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. **Food chemistry**. v. 79. 2002. p. 307-313.

ZHANG, M.; ZHOU, C. HUANG, C. Relationship between extractable metals in acid soils and metals taken up by tea plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. v. 37. 2006. p. 347-361.

ZOBIOLE, L.H.S. *et al.* Effect of glyphosate on symbiotic N₂ fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans. **Applied Soil Ecology**. v. 44. 2009. p. 176-180.

Todas as normas de redação e citação, doravante, atendem as normas estabelecidas pelas regras da ABNT vigente.

CAPÍTULO I: PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO GÊNERO *Caryocar*: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Paulo Henrique Oliveira de Miranda¹, Yuri Allyson Paiva de Albuquerque¹, Rogério de Aquino Saraiva^{1*}

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Av. Gregório Ferraz Nogueira S/N, Serra Talhada, PE, Brasil

*Autor correspondente, e-mail: rogerioaqsaraiva@hotmail.com, tel. +558739293017

RESUMO

O gênero *Caryocar* compreende 16 espécies de plantas endêmicas dos países tropicais da América das quais algumas constam na lista vermelha da IUCN com o status de ameaçada ou em perigo. Algumas das espécies de *Caryocar* são amplamente utilizadas como alimento e no uso medicinal por comunidades tradicionais, o que gera todo um conhecimento empírico acerca do potencial farmacológico desse gênero. Tem-se notado que os registros científicos, deste conhecimento, são feitos de forma mais intensa no Brasil, destacando-se as espécies *C. brasiliense* e *C. coriaceum*, esta última fortemente ligada à complementação de renda de comunidades e comerciantes no interior do estado do Ceará (Brasil). O fruto oleaginoso é o principal órgão estudado, rico em ácidos graxos, principalmente os ácidos oleico e palmítico, porém há ocorrência de diversos outros metabolitos relevantes, como compostos fenólicos e óleos essenciais oriundo do fruto e de outras partes da planta. Além dos estudos de caracterização química, uma variedade de atividades biológicas tem sido registradas para o gênero, que demonstrou possuir diversos efeitos como anti-inflamatório, antioxidante e cicatrizante.

PALAVRAS-CHAVES: Pequi; metabolitos secundários; endêmico; perfil de ácidos graxos.

ABSTRACT

The genus *Caryocar* consisted of 16 endemic plants to American tropical countries, some of them listed in IUCN red list under the status of the threat or in danger of extinction. These plants are widely used as food and medicine by traditional communities, which generates an important traditional knowledge around their use. Due to the strong presence, the most scientific reports are developed mainly in Brazil, especially from the species *C. brasiliense* and *C. coriaceum*. The second one is strongly attached to the income complementation from communities and merchants on the state of Ceará (Brazil). The oleaginous edible fruit, with is

rich in fatty acids and presents oleic and palmitic acids as major compounds, is the main organ studied. However, there are several other relevant metabolites to consider, such as phenolic compounds and essential oils from the fruit and other parts of the plant. In addition to the chemical characterization studies, a variety of biological activities have been registered for the genus, which has shown to have several properties, such as anti-inflammatory, antioxidant and wound healing effects.

KEYWORDS: Souari; secondary metabolites; endemic; Fatty acid profile.

INTRODUÇÃO

Conhecer o potencial da biodiversidade como fonte de biomoléculas de interesse farmacológico, possibilita a implantação de estratégias para conservação destas espécies que podem fornecer tais recursos importantes (CAMPBELL, 2003). Uma das chaves para criação de políticas de proteção da biodiversidade é agregar valores às espécies biológicas, para que estas se tornem interesse da população mundial e consequentemente de políticas públicas de conservação (PRIMACK; RODRIGUES, 2001).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, mais de 80% da população mundial faz uso de fitoterápicos para tratamento imediato de enfermidades (WHO, 2001). Investigar estes fitoterápicos, muito utilizado por comunidades tradicionais, pode promover a descoberta de novos compostos, bem como seus efeitos biológicos, sejam eles tóxicos ou não (SHELLEY 2009). O processo de investigação de fitoterápicos utilizados por comunidades tradicionais partem de estudos etnobotânicos sobre o uso da biodiversidade, que direcionam os pesquisadores aos estudos de bioprospecção com plantas específicas (ALBUQUERQUE, 2010).

Um potencial gênero botânico para investigações mais aprofundadas de constituição química, efeitos biológicos e consequentemente, futuras políticas conservacionistas, é o gênero *Caryocar*. Pertencente a família *Caryocaraceae*, o gênero carrega esse nome devido ao formato de seus frutos (do grego, *caryon*(núcleo, noz) e *kara*(cabeça)) (LORENZI; MATOS, 2008). Atualmente, 16 espécies, todas endêmicas do continente americano, são descritas para o gênero (ver tabela 1), com ocorrência exclusiva nas regiões neotropical (BARROSO et al, 1978).

A característica marcante deste gênero é a presença de frutos oleaginosos com importância na alimentação humana e animal (Tabela 1). São conhecidos no Brasil como pequi,

piqui, piquiá, piqui-brabo e piqui da serra ou na América espanhola como almendro, almendrón ou souari. O Brasil concentra o maior número de espécies catalogadas até o momento e, consequentemente, é o país da região que mais estuda suas atividades biológicas, com destaque para as espécies *C. brasiliense*, *C. coriaceum* e *C. villosum*, possuindo uma forte importância cultural e econômica (PINTO, 1993; RIZZINI, 1995; SILVA; MEDEIROS-FILHO, 2006). Apesar de outras plantas do gênero também serem usadas na alimentação humana, a literatura ainda carece de informações quanto às suas atividades biológicas, o que pode revelar informações interessantes partindo da abordagem quimiossistemática e quimiotaxonômica.

Tabela 1: Espécies do gênero *Caryocar* conhecidas até o momento, distribuição geográfica e registros quanto ao uso na alimentação e medicinal, e status na lista vermelha da International Union from Conservation of Nature (IUCN)

Espécie	Distribuição geográfica	Alimentação humana	Uso medicinal	Status na IUCN	Referências
<i>C. amygdaliferum</i> Mutis.	Costa Rica e Panamá	Sim	ND	ND	Uphof (1959);
<i>C. amygdaliforme</i> G. Don.	Colombia, Panamá e Peru	ND	ND	Em perigo de extinção	Calderon, (1998)
<i>C. brasiliense</i> Camb.	Brasil (região centro-oeste, estados da Bahia e Maranhão)	Sim	Sim	ND	Germano et al. (2007); Medeiros (2015); Prado (1998);
<i>C. coriaceum</i> Wittm.	Brasil (Estados do Ceará, Bahia)	Sim	Sim	Em perigo de extinção	Medeiros (2015) Carhuanca, 1995; Barstow (2018)
<i>C. costaricense</i> J. D. Smith	Costa Rica, Equador Panamá e Peru	Sim	ND	ND	Medeiros (2015)
<i>C. cuneatum</i> Wittm.	Brasil (Pará, Maranhão, Piauí, Goiás, Bahia)	ND	ND	ND	Zambrana et al (2017)
<i>C. dentatum</i> Gleason	Bolívia	Sim	ND	ND	Lorenzi (2009); Perdiz et al. (2012)
<i>C. edule</i> Casar	Leste do Brasil (Estados da Bahia e Rio de Janeiro)	Sim	ND	ND	
<i>C. glabrum</i> (Aubl.) Pers	Bolivia, Brasil (Estados do Norte), Colombia,	Sim	Sim	Não Ameaçada	Barstow (2018)

	Equador, Guiana, Guiana Francesa, Peru, Suriname, Venezuela				
<i>C. gracile</i> Wittm	Brasil	ND	ND	ND	Medeiros (2015)
<i>C. harlingii</i> Prance	Peru	ND	ND	ND	Carhuanca (1995)
<i>C. microcarpum</i> Ducke	Peru	Sim	ND	ND	Prance, 1998; Carhuanca (1995).
<i>C. montanum</i> Prance	Venezuela	ND	ND	ND	Leal et al. (2011)
<i>C. nuciferum</i> L	Brasil, Colombia, Guiana Francesa, Guiana, Panamá, Suriname, Venezuela, São Cristóvão e Nevis, São Vicente e Granadinas	Sim	Sim	Informações insuficientes	Barstow (2018)
<i>C. pallidum</i> A. C. Smith	Brasil, Peru,	ND	ND	ND	Medeiros (2015)
<i>C. villosum</i> Pers	Brasil, Guiana Francesa e Venezuela	Sim	Sim	Não ameaçada	Medeiros (2015) Barstow (2018)

ND – Dados não disponíveis.

O presente artigo objetiva destacar as propriedades terapêuticas e nutracêuticas do gênero *Caryocar*, oriundo da sua grande biodiversidade de moléculas, no intuito de contribuir para pesquisas de produtos naturais, e estudo de outras espécies do gênero, dada sua importância socioeconômica, fortemente presente em estados brasileiros.

ETNOBOTÂNICA

O conhecimento das populações tradicionais sobre espécies de pequiizeiros, a partir da vivência, costumes e modo de vida, proporciona um importante intercâmbio que auxilia na descoberta de determinadas potencialidades dessas plantas, como por exemplo, usos medicinais, alimentícios, artesanais e etc. (RIGONATO;ALMEIDA, 2004).

Considerando os trabalhos etnobotânicos, boa parte das comunidades tradicionais utilizam caroços, cascas, raízes, caules, folhas e o próprio óleo da castanha do fruto do pequizeiro, tanto para combater problemas de saúde (asma, bronquite, coqueluche, resfriados e anti-inflamatórios em geral), quanto para alimentação (SENA et al., 2010; RODRIGUES; CARVALHO, 2001; RIBEIRO et al., 2017;). Apesar da indicação de uso na alimentação e na medicina tradicional de 10 das 16 espécies de *Caryocar* (Tabela 1), apenas as espécies a seguir possuem seu uso bem relatado:

C. brasiliense

Frutos da espécie *C. brasiliense* são utilizados de diversas formas por comunidades locais na região do Cerrado. Uma delas é *innatura* ou em forma de geleias, óleos, cremes, licores e etc. (GERMANO et al., 2007). Suas folhas são utilizadas na medicina popular para problemas respiratórios (RODRIGUES; CARVALHO, 2001; GERMANO et al., 2007; MONTELES; PINHEIRO, 2007) ou para a produção de cosméticos (PIANOVSKI et al., 2008).

Pinto et al. (2016) realizaram um estudo no quilombo de Pontinha em Minas Geras e observaram que, além do uso como alimento, os frutos de *C. brasiliense* são utilizados para produção de sabão, produção de óleo e tratamentos médicos caseiros. Ao passo que, suas folhas são utilizadas para fins medicinais, como: dores abdominais, gripe e para “ajudar no funcionamento dos rins”.

Um estudo etnobotânico realizado com ribeirinhos em Mato Grosso mostrou as potencialidades da espécie *C. brasiliense*, quanto ao seu uso medicinal local. Os ribeirinhos utilizam quase todas as partes dessa planta no uso medicinal, como, as flores, cascas, caule, folhas, frutos e raízes para o tratamento de infecções gerais, dores de ouvido, asma, bronquite, como expectorante, para gripe, pneumonia, dor de estômago, fissuras no pé e não mão, dores nas costas, dores nos rins, queimaduras e tosse. Entrevistados ribeirinhos acreditam na eficácia e no uso de plantas medicinais no tratamento de doenças (RIBEIRO et al., 2017).

C. coriaceum

C. coriaceum Wittm., encontrada no nordeste brasileiro, é utilizada tanto na medicina tradicional, quanto para fins culinários e econômicos (GONÇALVES, 2008; SARAIVA et al., 2011, SOUSA-JÚNIOR et al., 2013). A atividade tradicional de extração do óleo de pequi (*C.*

coriaceum) na região do Araripe, Ceará, é importante tanto na economia, quanto na cultura local. Os frutos do pequi são coletados na Floresta Nacional do Araripe-Apodi e a produção do óleo é realizada em acampamentos ao redor dessa Floresta. A venda do óleo é realizada por moradores nas margens das rodovias e em cidades circunvizinhas. Culminando todo esse ciclo de extração do pequi, existe a festa do Racho, com comidas feitas do pequi e a realização de uma missa para agradecer pela colheita (CAVALCANTI et al., 2015; MACIEL et al., 2018).

A população local do Cariri (Sul do Estado do Ceará, Brasil) emprega o óleo extraído das sementes e da própria polpa em contusões, dores reumáticas, musculares, no combate a úlceras, inflamação na pele, no processo de cicatrização de ferimentos (BRAGA, 1960, AGRA et al., 2007, MATOS, 2007; RIBEIRO et al., 2014) e no tratamento de bronquite (LE MOS et al., 2016). Além disso, cascas dos frutos de *C. coriaceum* são utilizadas como forma de forragem para animais. (SOUSA-JÚNIOR et al., 2013).

Saraiva et al. (2015) realizaram um estudo sobre plantas medicinais nativas citadas pela população tradicional do cerrado nordestino brasileiro. Moradores informaram que utilizavam o óleo de *C. coriaceum* diluído ao leite para o combate a gripe e a pneumonia, bem como utilizavam o óleo para massagem.

C. villosum

C. villosum, conhecida popularmente no norte do Brasil como pequiá, é utilizado por comunidades locais para o tratamento de doenças inflamatórias e respiratórias (RIOS et al., 2001). Estudo realizado por Galuppo (2004) na Floresta Nacional dos Tapajós (Estado do Pará, Brasil) observou a presença do uso da espécie *C. villosum* como analgésico e anti-inflamatório por moradores da floresta.

C. dentatum

Os índios da comunidade Chacobó (Bolívia) utilizam *C. dentatum* para alimentação animal, planta ornamental e para tratamentos veterinários de animais (ZAMBRANA et al., 2017).

IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL E FITOQUÍMICA

ASPECTOS NUTRICIONAIS DE PARTES USADAS NA ALIMENTAÇÃO HUMANA

Do ponto de vista nutricional, os estudos publicados indicam que os frutos de *C. brasiliense*, *C. coriacaume* *C. villosum* são ricos em ácidos graxos, e alguns macro e microelementos.

A polpa dos frutos de *C. brasiliense* é majoritariamente constituída por lipídeos (29,66%), seguido de carboidratos (11,40%), fibras e proteínas (3,68 e 3,39%) (MACEDO et al., 2011), porém, Cordeiro et al. (2013) constatou um padrão diferente, com lipídeos mantendo-se como componente majoritário, seguido de fibras, carboidratos e por fim proteínas.

Diferente de *C. brasiliense*, a polpa do fruto de *C. coriaceum* apresenta elevados teores de carboidratos (57,83%), seguido por lipídeos (33,53%), fibras totais (5,29%) e por fim proteínas (3,28%) (RAMOS; SOUZA, 2011), informações que se contradizem as constatações de Oliveira et al. (2010) que afirma que os frutos de *C. coriaceum* possuem lipídeos como componente majoritário. Afirmação que se aplica a *C. villosum*, que possui como principal componente os lipídeos, carboidratos seguidos de proteínas (CHISTE; MERCADANTE, 2012; CHISTE et al., 2014).

Como os frutos, as sementes de *C. brasiliense* também são majoritariamente constituídas por lipídeos (50 g.100g⁻¹), seguido por proteínas (33g.100g⁻¹) e em menores concentrações carboidratos e fibras (5,7 e 5 g.100g⁻¹ respectivamente) (ARAÚJO et al., 2018), valores proporcionais foram constatados por Sousa et al. (2011). Quanto ao conteúdo mineral, o óleo dos frutos de *C. brasiliense* apresenta uma maior concentração de Fe e Zn (1.99 e 1.45 mg.100g⁻¹) seguidos de Mn e Cu (0,73 e 0,48 mg.100g⁻¹ respectivamente) (MIMURA et al., 2016).

Enquanto que, nos frutos de *C. coriaceum*, Ramos e Souza (2011) constataram que a polpa possui uma maior concentração do macroelemento de K (460,43 mg.100g⁻¹), seguido de Mg (124,65 mg.100g⁻¹), Ca (101,99 mg.100g⁻¹) e P (83 mg.100g⁻¹). Já entre os microelementos, Fe e Zn, como em *C. brasiliense*, foram os marjoritarios (3,12 e 1,75 mg.100g⁻¹ respectivamente) seguido de Mn e Cu (1,31 e 0,58 mg.100g⁻¹). O mesmo não foi observado nas sementes. Dentre os macronutrientes, o P e K foram constatados com marjoritarios (1008,45 e 965,67 mg.100g⁻¹) e Mg e Ca (560,01 e 163 mg.100g⁻¹), quanto aos microelementos, o Zn se apresentou em maior concentração (5,97 mg.100g⁻¹), seguido por Fe (3,70 mg.100g⁻¹), Cu (2,03 mg.100g⁻¹) e Mn (2,03 mg.100g⁻¹), o mesmo padrão de concentrações encontrado por Oliveira et al. (2010).

ÓLEOS FIXOS DOS FRUTOS: MÉTODOS DE OBTENÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA COMPARATIVA

O método de obtenção do óleo fixo varia de acordo com o estudo e a região utilizada, destacando-se duas principais metodologias. Enquanto alguns pesquisadores utilizaram óleos artesanais para seus estudos (TORRES et al., 2016), outros utilizaram metodologias de extração em laboratório (SARAIVA et al., 2011), no primeiro caso, os frutos são fervidos na água até a obtenção de um sobrenadante gorduroso, que é retirado com uma colher (FIGUEREIDO et al., 1989), ao passo que no segundo caso, é utilizado um aparelho Soxhlet, e solventes como acetona, hexano, álcool etílico (AQUINO et al., 2011; COSTA et al., 2011), ou por extração a frio, seguindo metodologias como a de Bligh e Dyer (CORDEIRO et al., 2013; DAMIANI et al., 2013; ALVES et al., 2016).

Como será mostrado a seguir, os óleos fixos dos frutos de *Caryocar* são ricos em uma variedade de ácidos graxos insaturados, demonstrando assim o potencial desses óleos para a nutrição humana. Quanto à composição de ácidos graxos nos óleos em *C. brasiliense*, o ácido oleico ocorre em maior concentração (geralmente correspondendo a 50% dos ácidos graxos totais), seguido do ácido palmítico, e os ácidos linoleico e esteárico estão presentes em baixas concentrações. Além destes, ainda são identificados concentrações traços dos ácidos: caprílico, caprico, láurico, mirístico, palmitoleico, margarico, heptadecanoico, linolênico, araquídico, eicosanoico, behênico e lignocérico, miristoleico, pentadecílico, margarico, esteárico, vacênico, timnodônico, docosadienoico, docosahexaenoico, tricosanoico, nervônico (correspondendo a < 1% cada) (SEGALL et al., 2006; LIMA et al., 2007; MIRANDA-VILELA et al., 2009; AQUINO et al., 2011; CORDEIRO et al., 2013; DAMIANI et al., 2013; FARIAS-MACHADO et al., 2015; ALVES et al., 2016; TRAESEL et al., 2016; TORRES et al., 2016; JOHNER et al., 2018).

Da mesma forma que no *C. brasiliensis*, o *C. coriaceum* também apresenta o mesmo perfil de ácidos graxos em seu óleo fixo os ácidos: oleico, palmítico, linoleico, linolênico esteárico, palmitoleico, heptadecanoico, eicosanoico (DRESEN et al., 1989; OLIVEIRA et al., 2010; SARAIVA et al., 2011; COSTA et al., 2011; FIGUEIREDO et al., 2011), em adicional, Pessoa et al., (2015) detectou concentrações traços dos ácidos mirístico e araquídico.

Já *C. villosum* também apresenta os ácidos palmítico (33,5%) ácido oleico (29,5%) e ácido linoleico (0,52%), porém em diferentes proporções, quando comparado as demais espécies de *Caryocar* (MARX et al., 1997).

OUTROS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS

Miranda-Vilela et al. (2009) testaram a eficiência de diferentes solventes para extração em polpa de pequi, utilizando um 200 mL de solvente em 100 g de polpa, o clorofórmio foi o mais eficiente, obtendo uma massa final de extrato de $3,9 \text{ g.100g}^{-1}$, seguido de água destilada ($3,4 \text{ g.100}^{-1}$), extrato etanólico ($3,0 \text{ g.100g}^{-1}$), extrato hexânico ($2,8 \text{ g.100g}^{-1}$) e extrato hidroetanólico ($2,2 \text{ g.100g}^{-1}$).

Magid et al. (2007), isolou do extrato metanolico das cascas do caule de *C. glabrum*, duas diidrocurmarinas glicosídicas, até então não encontradas no gênero.

Em *C. brasiliense* foi identificado a de hexanoato de etil como componente majoritário do óleo essencial extraído dos frutos (PASSOS et al., 2003; MAIA et al., 2008; GEOCZE et al., 2013) ao passo que nas folhas, os principais componentes revelados foram o octanoano, heptadecaeno e hexadecanol (PASSOS et al., 2003). Além de ácido 2-butenóico, etil 2-metilbutanoato, etil isopentanoato, etilbezeno, 4-heptanona, nonano, etil pentanoato, metil hexanonato, β -mirceno, etil hexanoato, ácido hexanóico, (Z)- β -ocimeno, etil hex-2-enoato, (E)- β -ocimeno, propil-hexanoato, etil-heptanonato, isobutilhexanoato, ácido octanóico, hexilbutanoato, etil octanoato, etil oct-2-eonato, etil dodecanato (GEOCZE et al., 2013), e 1,2-dimetil ciclohexano (0,4%), 1-Octeno (0,1%), Etil butanoato (4,1%), Tetrahidrofurfurylcool- etil 2-metil propanoato (0,2%), Etil 2-metilbutanoato (0,5%), Etil isovalerato (1,0%), Metil hexanoato (0,5%), ácido 3-metilvalerico (2,6%), propilisovalerato (0,3%), etil hexanoato (52,9%), limoneno (0,1%), fenilacetaldeido (0,4%), etil (e)2-hexanoato (0,4%), isopentilbutanoato (0,1%), terpinoleno (0,1%), propilhexanoato (0,5%), etil heptanoato (0,6%), undecano (0,1%), isonpentilisobutanoato (0,1%), etil 3-hidroxihexanoato (0,3%), isobutilhexanoato (0,3%), entilbezoato (0,1%), ácido aprílico (0,1%), etil octnoato (0,4%), dodecano (0,1%), etil (e)2-octenoato (0,2%), isoprenilhexanoato (1,0%), geraniol (0,1%), safrol (0,1%), α -Copaeno (0,1%), etil decanoato (0,1%), tetradecano (0,1%), β -carofileno (0,1%), Germacrene D (0,1%), Pentadecano (0,1%), E- β -Farnesano (0,1%), δ -Cardineno (0,1%), ácido láurico (0,6%), hexadecano (0,4%), heptadecano (0,2%), 2,6,10-Trimetildodecano (0,1%), ácido mirístico (0,5%), octadecano (0,4%), 14-metil pentadecanoato (0,1%), ácido palmítico (0,9%), butil miristato (0,2%), etil palmitato (0,1%), eicosano (0,2%), heneicosano (0,3%), butil palmitato (3,7%), docosano (0,7%), estearil acetato (0,7%), tricosano (1,1%), isobutil estearato (2,6%), tetracosano (1,6%), 1-eicosanol (0,2%), pentacosano (2,1%), 4-metildocosano (0,1%), hexacosano (2,1%) (MAIA et al., 2008).

Em *C. vilosum*, a cromatografia gasosa com espectrometria de massas indicou a presença de compostos voláteis presentes nos frutos (expresso em porcentagem por área do fruto) são o

Nerolidol (19,75%), 2-Heptanona (19,3%), β -Bisabolene (18,75%), Furfural (14,62%), entre outros compostos traços, além de ácidos graxos (MARX; ANDRADE; MAIA, 1997)

SAPONINAS

Magid e colaboradores (2006) revelaram a presença de uma abundância de saponinas inéditas em extratos metanólicos de *C. villosum* e *C. glabrum*, às quais eles denominaram de caryocarosídeos. Por meio de análise de CLAE-AD, 14 saponinas foram reveladas no extrato metanólico da polpa e da casca do fruto de *C. villosum*, os caryocarosídeos II-12, III-12, II-13, III-13, III-14, II-16, III-16, III-15, IV-10, IV-17, IV-18, IV-19, IV-20 e IV-21 (MAGID et al., 2006).

E, para o extrato metanólico da polpa e da casca do fruto de *C. glabrum*, os autores identificaram os caryocarosídeos V-1, II-1, III-1, II-2, III-2, II-3, III-3, III-4, IV-5, III-5, IV-6, IV-7, II-7, III-7, IV-8, IV-9, II-9, III-9, II-10, IV-11 e II-11 (MAGID et al., 2006). Contudo, até o presente momento, nenhum estudo foi realizado no intuito de investigar a atividade biológica desses compostos.

COMPOSTOS FENÓLICOS

No fruto de *C. brasiliense* já foi registrada a ocorrência de ácido gálico, galato de etila, metil shikimato, ácido quínico (ROESLER et al., 2008; ASCARI et al., 2010; BAILÃO et al., 2015; ROCHA et al., 2015), florizina, 4-O-a-L ramnopiranosida, flavanomoreina, catequeina, β -glucogalina, teogalina, vitexina, roseoside, kaempferol, ácido elágico e epigallocatequina (OLIVEIRA et al., 2018).

Em extratos de *C. coriaceum* foram identificado ácido gálico (19 mg.g⁻¹), ácido clorogênico (31,4 mg.g⁻¹) e ácido cafeíco (18,7 mg.g⁻¹) (ARARUNA et al., 2013; LACERDA-NETO et al., 2017).

Magid et al. (2007) relatou 7 novos compostos fenólicos glicosados em *C. glabrum* e *C. villosum* além de: ácido 3-O-metilelágico-4'-(2''-O-acetil)-O-R-L-ramnopiranosídeo; ácido 3-O-metilelágico-4'-O-R-L-ramnopiranosídeo; ácido elágico, 5-O-Galoil-D-hamamelofuranose; 2'-O-Galoil-D-hamamelofuranose; 2',5-di-O-Galoil-D-hamamelofuranose; 2',3,5-tri-O-Galoil-D-hamamelofuranose; 1,2',3,5-tetra-O-Galoil-D-hamamelofuranose; 1,2,3,4,6-penta-O-Galoil-D-glicose; corilagina; tercataina; ácido quebulágico, ; putranjivaina A; nikoenosídeo e 1-O-3,4,5-trimetoxifenil-D-glicopiranosídeo. Em extratos de *C. villosum* obtidos das cascas,

sementes e polpa dos frutos, foi detectado a presença de ácido gálico e ácido elágico (YAMAGUCHI et al., 2017).

FLAVONÓIDES

Ocorrência de quercetina e quercetina 3-*O*-arabinose nos frutos de *C. brasiliense* (ROESLER et al., 2008; BAILÃO et al., 2015; ROCHA et al., 2015), quercetina (26,9 mg.g⁻¹), rutina (68,1 mg.g⁻¹) em *C. coriaceum*(ARARUNA et al., 2013; LACERDA-NETO et al., 2017).

TERPENÓIDES

Em *C. brasiliense* foram detectados, nas folhas, os monoterpenos: Linalool, α -terpinol, nerol, geraniol, os sequeiterpenos: Cariofileno, nerolidol, espatulenol, viridiflorol, α -muurolol, α -cadinol (PASSOS et al., 2003). O triterpenoidelupeol (BAILÃO et al., 2015).

CAROTENÓIDES

Em *C. brasiliense*, análises de CLAE e espectroscopia de massas confirmou a presença dos carotenoides: Neoxantina, violaxantina, luteína, zeaxantina, rubixantina, criptoxantina, licopeno, caroteno (α , β e γ), β -criptoxantina, z-carotena, criptoflavina, anteraxantina e mutatoxantina(CARDOSO et al, 2013; MACHADO et al., 2013; RIBEIRO et al., 2012; LIMA et al, 2007; AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; RAMOS et al., 2001).Também foram identificados diferentes carotenoides: Neoxantina, violaxantina, luteína, anteraxantina, zeaxantina e β -caroteno em *C. villosum*(CHISTÉ et al., 2012; CHISTÉ; MERCADANTE, 2012)etocoferol (ALMEIDA et al., 2012).

ATIVIDADES BIOLÓGICAS DESCRITAS PARA O GÊNERO

A partir das observações etnobotânicas, muitos estudos foram realizados com o objetivo de identificar e comprovar possíveis atividades biológicas do gênero *Caryocar*. Por sua localização geográfica (estando mais acessível a grandes centros de pesquisa brasileiros), o *C. brasiliense* é a espécie mais estudada.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Por meio de ensaios de DPPH e FRAP, o extrato aquoso e etanólico e *C. brasiliense* demonstrou atividade antioxidante a partir do extrato bruto, com concentrações efetivas, em diminuir em 50% a oxidação das moléculas utilizadas no ensaio, inferiores a 4,6 $\pm$ 1,0 μ g.mL⁻¹

(AMARAL et al., 2014; LEÃO et al., 2017; MACHADO et al., 2012; MACHADO et al., 2015; MIRANDA-VILELA et al., 2009; PAULA-JUNIOR et al., 2006; ROESLER et al., 2008; FRASAO et al., 2018; PINHEIRO et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2017; GREGORIS et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2018), ao passo que, quando fracionado em hexano, clorofórmio ou butanol, a eficiência da capacidade antioxidante do extrato diminui de forma significativa. O mesmo não foi observado no extrato fracionado em acetato de etila (OLIVEIRA et al., 2018).

O óleo das sementes também demonstrou atividade antioxidante em ensaios de peroxidação lipídica (TORRES et al., 2016), assim como o extrato hidroetanólico, que atenuou a peroxidação lipídica induzida pelo alumínio em ratos, através da administração de concentrações iguais ou superiores a 100 mg.Kg⁻¹ na dieta (OLIVEIRA et al., 2018).

Os extratos obtidos da casca e polpa dos frutos de *C. coriaceum* indicaram uma atividade antioxidante, também com ensaios de DPPH, nas concentrações de 25,5 e 49,4 µg.mL⁻¹, o que não foi uma atividade tão efetiva quando o autor compara com a rutina isolada, que por sua vez apontou uma concentração inibitória mediana (IC₅₀) de 13,7 µg.mL⁻¹ (ALVES et al., 2017), já o extrato etanólico das folhas de *C. coricaeum* testado por Lacerda-Neto et al. (2018), o IC₅₀ detectado, também no teste de DPPH, foi de 9,7 µg.mL⁻¹.

C. vilosum também apresenta efeito antioxidante em seu extrato, devido aos seus constituintes, que são majoritariamente compostos fenólicos, porém em concentrações muito elevadas (833 mg.mL⁻¹), quando comparada a *C. brasiliense* e *C. coricaeum*, ensaios com detecção de espécies reativas de oxigênio (CHISTÉ et al., 2012) Já os ensaio de Yamaguchi et al., (2017) com DPPH e extinção de EROs, demonstrou o efeito antioxidante em concentrações entre 1 e 100 mg.mL⁻¹.

ANTI-INFLAMATÓRIA E CICATRIZANTE

Estudos clínicos com um grupo de atletas utilizando cápsulas contendo óleo de dos frutos de *C. brasiliense* na concentração de 400 mg, demonstrou atividade anti-inflamatória e diminuição nos níveis de colesterol sanguíneo, após a ingestão das cápsulas por 14 dias consecutivos, melhorando a performance cardíaca e muscular (MIRANDA-VILELA et al., 2009; MIRANDA-VILELA et al., 2010; RIBEIRO et al., 2013; MIRANDA-VILELA et al., 2013). O uso tópico do óleo também promoveu uma melhora significativa no processo de cicatrização de lesões em animais, através do uso de 1 mL de óleo de *C. brasiliense* (BEZERRA et al., 2015).

Ensaio pré-clínicos com camundongos, implementando óleo fixo na dieta dos animais, indicaram um efeito anti-inflamatório nas concentrações de 500, 1.000 e 2.000 mg.kg⁻¹ (FIGUEIREDO et al., 2016) e 100 a 400 mg.Kg⁻¹ (OLIVEIRA et al., 2015). O óleo fixo e o extrato de acetato de etila obtido das folhas, bruto e diluído aplicados de forma tópica (concentrações entre 8 a 13 mg) (SARAIVA et al., 2011), e 50 mL de óleo em solução salina (OLIVEIRA et al., 2010) também indicaram efeito anti-inflamatório.

O efeito anti-inflamatório do óleo do fruto acarreta na aceleração do processo de cura em lesões no sistema gástrico induzidas por etanol e aspirina (QUIRINO et al., 2009) e de lesões cutâneas (BATISTA; et al., 2014). O extrato também demonstrou o mesmo efeito do óleo (LACERDA-NETO et al., 2017).

Em *C. villosum*, foi detectado através da inibição da formação de óxido nítrico em ensaios *in vivo* nas concentrações entre 6,2 a 50 µg.mL⁻¹ de extrato (YAMAGUCHI et al., 2017), e ensaios *in vivo*, através da administração tópica na concentração entre 100 e 500 mg.Kg⁻¹ (XAVIER et al., 2011).

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O extrato bruto de *C. brasiliense* obtido a partir das folhas inibiu o crescimento de colônias bacterianas *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* nas concentrações iguais e superiores a 5 mg.mL⁻¹ (ALVES et al., 2000; PAULA-JUNIOR et al., 2006), como também contra *Escherichia coli* (AMARAL et al., 2014; RIBEIRO et al., 2018), e *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Citrobacter freundii* e *Salmonella typhimurium* com a concentração inibitória mínima destes últimos sendo detectada em 512 µg.mL⁻¹ de extrato etanólico obtido dos frutos (ASCARI et al., 2010).

O óleo essencial das sementes de *C. brasiliense* inibiu eficientemente o crescimento de *Cryptococcus neoformans* na concentração de 250 µg.mL⁻¹ e *Paracoccidioides brasiliensis* na concentração de 500 µg.mL⁻¹ (PASSOS et al., 2002, 2003), da mesma forma que o extrato aquoso e etanólico, além de se mostrar altamente eficiente contra *Corynesporacassiicola* e *Colletotrichum gloeosporioides* (NARUZAWA; PAPA, 2011).

Os extratos metanólicos e etanólicos das folhas de *C. coriaceum*, na concentração de 128 µg.mL⁻¹ diminuiu eficientemente o crescimento de colônias de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em combinação híbrida com antibióticos aminoglicosídicos, uma vez

que utilizados sozinhos como agentes bactericidas a concentração inibitória mínima (CIM) foi $1.024 \mu\text{g.mL}^{-1}$, uma concentração elevada sem relevância clínica (ARARUNA et al., 2013). O mesmo foi observado por Lacerda-Neto et al. (2018) também para *E. coli*, onde o extrato potencializou o efeito do antibiótico, diminuindo de 2.500 para $625 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de benzilpelicilina. Ao passo que Alves et al. (2017), investigou o efeito dos extratos da casca e da polpa do fruto de *C. coriaceum*, sobre fungos da espécie *Malassezia*spp. e *Microsporum canis*, detectando a concentração inibitória mínima em 9,77 e $4,88 \mu\text{g.mL}^{-1}$ respectivamente, enquanto que para o extrato da casca do fruto foi de 19,53 e $4,88 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Já o óleo fixo do fruto de *C. coriaceum* apresentou um CIM inferior ao extrato, no valor de $512 \mu\text{g.mL}^{-1}$ contra *S. aureus* e *E. coli*, além de efeito modificador da resistência bacteriana, também através da combinação híbrida na concentração de $32 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de óleo com antibióticos aminoglicosídicos (SARAIVA et al., 2011). Já Costa et al. (2011), detectou um efeito antibiótico contra *S. choleraesuis*, *S. aureus*, *P. aureginosae* e *Streptococcus pneumoniae* em concentrações entre 1,25 a 10% do óleo fixo.

ANTI-PARASITAS

Ensaio *in vivo* de parasitemia, em camundongos resultaram em uma eficiente diminuição de *Trypanosoma cruzi* na concentração de $0,4 \text{ mg.mL}^{-1}$ de extrato bruto obtido das cascas de *C. brasiliense* (HERZOG-SOARES et al., 2002, 2006). Já contra *Leishmania amazonenses*, eficientemente matando o parasita e impedindo o desenvolvimento de formas amastigotas nas concentrações de 5 mg.mL^{-1} (PAULA-JUNIOR et al., 2006), além de uma elevada eficiência no combate a ovos de diversos parasitas gastrointestinais bovinos nas concentrações entre 1,88 a 15 mg.mL^{-1} (FONSECA, et al., 2014), como também em ovinos (NOGUEIRA et al., 2012). Não só em parasitas de interesse médico o extrato de *C. brasiliense* é eficaz, o extrato aquoso é eficiente contra nematódas parasitas de plantas, porém induz efeito fitotóxico nas plantas (RIBEIRO et al., 2012).

Da mesma forma que *C. brasiliense*, o extrato de *C. coriaceum* também se mostrou capaz de atenuar a infecção do parasito *Leishmania amazonensis* *in vitro*, levando a morte das formas promastigotas, nas concentrações entre 25 a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de extrato (ALVES et al., 2017; TOMIOTTO-PELLISSIER et al., 2018).

EFEITO HIPOLIMIELANTE

Redução significativa nos níveis de colesterol foi constatado através de ensaios com o óleo de *C. coriaceum*, caracterizando um efeito hipolipemiante (FIGUEIREDO et al., 2016; KERNTOPF et al., 2013).

EFEITO SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR E SANGUÍNEO

Estudos em ratos, através da administração do óleo obtido das sementes de *C. brasiliense*, indicaram um efeito hepatoprotetor, através do aumento da atividade de mecanismos antioxidantes e diminuição de substâncias mediadoras de processo inflamatório, com concentrações efetivas entre 3 a 6 mL.Kg⁻¹ (TORRES et al., 2016). Um outro mecanismo associado ao óleo e a mecanismo hepatoprotetor observado foi a diminuição de lesões induzidas pelo hepatocarcinogênico dietilnitrosamina, constatado por Palmeira et al. (2016) (concentração de 400 mg.Kg⁻¹, via ingestão oral diária).

Oliveira et al. (2012; 2018) associam a fração butanólica do extrato de folhas de *C. brasiliense* um efeito vasorrelaxante, que é ativada por meio dos compostos fenólicos presentes na fração. Ainda no âmbito cardíaco, o extrato obtido das cascas, nas concentrações entre 300 e 600 mg.kg⁻¹ atenua os efeitos colaterais da doxorubicina, um antitumoral empregado na medicina veterinária, que por sua vez induz a cardiomiopatia como efeito colateral (MOURA et al., 2017; 2018).

O óleo fixo também indicou um efeito positivo *ex vivo*, melhorando a performance cardíaca de forma significativa em ratos, associando este efeito aos ácidos graxos mono e poli-insaturados (OLIVEIRA et al., 2017). O mesmo não foi observado por Aguilar et al. (2012), que ao acrescentar óleo fixo dos frutos de Pequi na dieta de ratos, observou uma diminuição no estresse oxidativo, porém danos a veia aorta foram detectados, a composição química do óleo fixo foi similar em ambos os trabalhos.

POTENCIAL ANTICÂNCER

O extrato de *C. brasiliense* foi capaz de inibir o crescimento tumoral (MIRANDA-VILELA et al., 2011; MIRANDA-VILELA et al., 2014), além de atenuar os efeitos prejudiciais oriundos de tumores, através da suplementação de 30 mg de óleo fixo na dieta de ratos (MIRANDA-VILELA et al., 2013).

EFEITO GENOPROTETOR

Um efeito genoprotetor do óleo de *C. brasiliense* por meio da ingestão diária de 30 mg do produto foi detectado por Colombo e colaboradores (2015), validado por meio de ensaio de cometa contra o carcinogênico uretano (COLOMBO et al., 2015).

Em *C. vilosum* foi registrado um efeito genoprotetor, através de ensaio de cometa utilizando concentrações de 75, 150 e 300 mg.kg⁻¹ de extrato por peso de camundongo administrado por via oral, com agente danoso ao DNA a Doxorubicina (ALMEIDA et al., 2012), porém um outro estudo do mesmo autor indicaram resultados contraditórios ao indicar um efeito genotóxico na concentração de 75 mg.kg⁻¹, porém não mutagênico, além de detectar efeito oxidante nos corações dos ratos (ALMEIDA et al., 2013).

EFEITO NEUROPROTETOR

O extrato hidroetanólico de *C. brasiliense* também apontou um efeito neuroprotetor em ratos, sendo capaz de inibir a atividade da enzima colinesterase, que por consequência diminui as concentrações de acetilcolina do cérebro, este efeito foi constatado nas concentrações entre 10 e 300 mg.Kg⁻¹ de extrato (OLIVEIRA et al., 2018).

EFEITOS SOBRE INVERTEBRADOS E VERTEBRADOS NÃO-HUMANOS

Efeito moluscida sobre *Biomphalaria glabrata*, vetor da esquistossomose, nas concentrações de 100 µg.mL⁻¹, com uma mortalidade de 90% dos indivíduos, porém na concentração de 50 µg.mL⁻¹ eficiência do extrato diminuiu em 70%, em extratos obtidos da folha e das cascas de *C. brasiliense* (BEZERRA et al., 2002; ROSA et al., 2011).

O extrato de *C. brasiliense*, obtidos das folhas e suas respectivas frações acetato de etila e etérea induziram efeitos tóxicos no sistema branquial de *Poeciliavivipara*, comprometendo o desenvolvimento destes organismos, o mesmo efeito foi encontrado no extrato obtido das cascas, porém, em menor intensidade (SILVA et al., 2003), ao passo que, em *Drosophila melanogaster*, Castro et al. (2008), detectou um aumento no número de mutações em larvas.

O extrato de *C. vilosum* testado em *Artemia salina*, Magid et al. (2006) detectou concentrações tóxicas a partir de 10 mg.mL⁻¹, induzindo mortalidade de 17% dos organismos.

Um outro efeito adverso de *C. brasiliense*, detectado por meio de ensaio *in vitro*, é que as sementes de pequi induzem um efeito alérgico no intestino, devido as proteínas presentes nas

sementes que se ligam a receptores no intestino e desencadeia uma resposta alérgica mediada por imunoglobulina E (SILVESTRE et al., 2017).

TOXICIDADE

Os testes de toxicidade dos preparados de *C. brasiliense* não indicaram efeitos adversos em ratos (TRAESSEL et al., 2017a; 2017b) com uma dose letal média de 2.000 mg.kg⁻¹, caracterizando-o como seguro para uso (ROESLER et al., 2010; TRAESSEL et al., 2016). Da mesma forma que o óleo, o extrato de *C. brasiliense* não indicou efeitos citotóxicos, avaliado de acordo com o ensaio de viabilidade celular, pelo método colorimétrico a base de tetrazólio (AMARAL et al., 2014)

Yamaguchi et al. (2017) concluiu que o extrato de *C. villosum* possui baixa toxicidade, uma vez que os autores não detectaram danos a membrana de eritrócitos de ratos, além de ausência de dano a células humanas por meio de ensaios *in vitro*.

DEMAIS POTENCIAS

A casca dos frutos de *C. brasiliense* também se mostrou eficaz em adsorver íons de Chumbo (AMORIM et al., 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora fortemente estudado no Brasil, o qual os frutos e produtos provenientes do Pequi movimentam diversas redes socioeconômicas, o gênero *Caryocar* apresenta um elevado potencial para exploração comercial, já possuindo registro de patentes de produtos (SARAIVA et al, 2009), como também um relevante alvo para políticas de conservação, visto que, uma destas espécies amplamente exploradas no Brasil, *C. coriaceum* consta como status de ameaçada na lista vermelha da IUCN. Embora a maior parte do foco dos trabalhos científicos seja voltada para o efeito anti-inflamatório, antioxidante e antibiose, a grande diversidade de grupos moleculares descritas para o gênero, que ainda sim se limitam a poucas espécies de *Caryocar*, pode expandir o conhecimento acerca das atividades biológicas de forma significativa, agregando valor de uso para estas espécies ao mesmo tempo em que se salienta a necessidade de sua conservação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17. 2007. p. 114-140.
- AGUILAR, E.C. *et al.* Paradoxal effect of a pequi oil-rich diet on development of atherosclerosis: balance between antioxidante and hyperlipidemic properties. **Braz J Med Biol Res**. v. 45. 2012. p. 601-609.
- ALBUQUERQUE, U.P. Implications of ethnobotanical studies on bioprospecting strategies of new drugs in semi-arid regions. **The Open Complementary Medicine Journal**. v. 2. 2010. p. 21–23.
- ALMEIDA, M. R. *et al.* Antigenotoxic Effects of Piquiá (*Caryocarvillosum*) in Multiple Rat Organs. **Plant Foods for Human Nutrition**. v. 67. 2012. n. 2, p. 171–177.
- ALMEIDA, M.R.*et al.* In vivo genotoxicity and oxidative stress evaluation of an ethanolic extract from piquiá (*Caryocarvillosum*) pulp. **Journal of medical food**. v. 16. 2013. p. 268-271.
- ALVES, A.M. *et al.* Oilseeds native to the Cerrado have fatty acid profile beneficial for cardiovascular health. **Revista de Nutrição**. v. 29. 2016. p. 859-866.
- ALVES, D.R. *et al.* Flavonoid composition and Biological activities of etanol extracts of *Caryocarcoriaceum*Wittm., a native plant from Caatinga biome. **Evidence-based complementary and alternative medicine**. v. 2017. 2017. p. 1-7.
- ALVES, T. M. A. *et al.* Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 95. 2000. n. 3, p. 367–373.
- AMARAL, L.F.B. *et al.* *Caryocarbrasiliense* supercritical CO₂ extract possesses antimicrobial and antioxidant properties useful for personal care products. **BioMed Central Complementary & Alternative Medicine**. v. 14. 2014. p. 1-7.
- AMARAL, L.F.B. *et al.* Evaluation of the cytotoxicity and phototoxicity of *Caryocarbrasiliense* supercritical carbon dioxide extract. **BioMed Central Complementary & Alternative Medicine**. v. 14. 2014. p. 1-6.
- AMORIM, D. J.*et al.* Characterization of Pequi (*Caryocarbrasiliense*) shells and evaluation of their potential for the adsorption of PbII Ions in aqueous system. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 27. 2016. p.616-623.
- AQUINO, L.P.*et al.*Extraction of oil from pequi fruit (*Caryocarbrasiliense*Camb.) using several solvents and their mixtures. **Grasasy Aceites**. v. 62. 2011. p. 245-252.
- ARARUNA, M. K. A. *et al.*Phenolic composition and in vitro activity of the Brazilian fruit tree *Caryocarcoriaceum*Wittm. **European Journal of Integrative Medicine**. v. 5. 2013. p. 178–183.
- ARAUJO, A.C.M.A.*et al.* Bioactive compounds and chemical composition of BrazillianCerrado fruits' wastes: pequi almonds, murici and sweet passionfruit seed. **Food Science and Technology**. 2018. p. 1-12.

ASCARI, J.; TAKAHASHI, J.A.; BOAVENTURA, M.A.D. Phytochemical and biological investigations of *Caryocar brasiliense* Camb. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas**. v. 9. 2010. p. 20-28.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 17. 2004. p. 385–396.

BAILAO, E.F.L.C. *et al.* Bioactive compounds found in Brazilian Cerrado fruits. **International Journal of Molecular Science**. v. 16. 2015. p. 23760-23-783.

BARROSO, G. M. *et al.* **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Vol. 1. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; São Paulo: EDUSP, 1978, 255 p.

BARSTOW, M. *Caryocarglabrum*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. 2018.

BARSTOW, M. *Caryocarnuciferum*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. 2018.

BARSTOW, M. *Caryocar villosum*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. 2018.

BARSTOW, M. *Caryocar costaricense*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. 2018.

BATISTA, J. S. *et al.* Evaluation of the Healing Activity of Pequi (*Caryocar Coriaceum* Wittm.) Oil in Cutaneous Wounds. **Arq. Inst. Biol.** v. 77. 2014. p. 441–447.

BEZERRA, J. C. B. *et al.* Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabata* of the Brazilian cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**. v. 73. 2002. p. 428–430.

BEZERRA, N.K.M.S.; BARROS, T.L.; COELHO, N.P.M.F. A ação do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) no processo cicatricial de lesões cutâneas em ratos. **Revista brasileira de plantas medicinais**. v. 17. 2015. p. 875-880.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 2. ed. Fortaleza: Imprensa Oficial, 1960, 540 p.

CALDERON, E. *Caryocaramygdaliforme*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. 1998.

CAMPBELL, A.K. Save those molecules! Molecular biodiversity and life. **Journal of Applied Ecology**. v. 40. 2003. p. 93-203.

CARDOSO, L.M. *et al.* Chemical characteristics and bioactive compounds of cooked pequi fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) from the Brazilian Savannah. **Fruits**. v. 68. 2013. p. 3-14.

CARHUANCA, K.M. **Diagnostico de recursos vegetales de la amazonia peruana**. Instituto de investigaciones de la amazonia peruana. 1995. 59 p.

CASTRO, A.J.S. *et al.* Recombinogenic effect of the aqueous extract of pulp from pequi fruit (*Caryocar brasiliense*) on somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Genetics and Molecular Research**. v. 7. 2008. p. 1375-1383.

- CAVALCANTI, M.C.B.T. *et al.* Pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm., Caryocaraceae) oil production: a strong economically influenced tradition in the Araripe region, northeastern Brazil. **Ethnobot. Res. Appl.** v. 14. 2015. p. 437–452.
- CHISTE, R. C. *et al.* The potential of extracts of *Caryocar villosum* pulp to scavenge reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**. v. 135. 2012. p. 1740–1749.
- CHISTE, R. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification, by HPLC-DAD-MS/MS, of carotenoids and phenolic compounds from the Amazonian fruit *Caryocar villosum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 60. 2012. p. 5884–5892.
- CHISTE, R.C.; BENASSI, M.T.; MERCADANTE, A.Z. Efficiency of different solvents on the extraction of bioactive compounds from the Amazonian fruit *Caryocar villosum* and the effect on its antioxidant and colour properties. **Phytochemical analysis**. v. 25. 2014. p. 364–372.
- COLOMBO, N.B.R. *et al.* *Caryocar brasiliense* Camb. protects against genomic oxidative damage urethane-induced lung carcinogenesis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 48. 2015. p. 852–859.
- CORDEIRO, M.W.S. *et al.* Características físicas, composição químico-nutricional e dos óleos essenciais da polpa de *Caryocar brasiliense* nativo do estado do Mato Grosso. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 35. 2013. p. 1127–1139.
- COSTA, J.G.M. *et al.* Antibacterial properties of pequi oil (*Caryocar coriaceum* Wittm.). **International Journal of Food Properties**. v. 14. 2011. p. 411–416.
- DAMIANI, C. *et al.* Perfil de ácidos graxos e fatores antinutricionais de amêndoas de pequi crua e torrada. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. v. 43. 2013. p. 71–78.
- DRESEN, H.; PRASAD, R.B.N.; GULZ, P. Composition of lipids of piqui (*Caryocar coriaceum* Wittm.) seed and pulp oil. **Zeitschrift für Naturforschung**. v. 44. 1989. p. 739–742.
- FARIAS-MACHADO, A.F. *et al.* Discrimination of pulp and kernel oil from Pequi (*Caryocar brasiliense*) by fatty acid methyl esters fingerprint, using GC-FID and multivariate analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 63. 2015. p. 10064–10069.
- FIGUEIREDO, R.W.; MAIA, G.A.; FIGUEIREDO, E.A.T. Propriedades físico-químicas e composição dos ácidos graxos da fração lipídica da polpa e amêndoa do piqui (*Caryocar coriaceum* Wittm.). **Revista de Ciências Agrônômicas**. v. 20. 1989. p. 135–139.
- FIGUEIREDO, P. R. L. *et al.* *Caryocar coriaceum* Wittm. (Pequi) fixed oil presents hypolipemic and anti-inflammatory effects in vivo and in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 191. 2016. p. 87–94.
- FONSECA, L.D. *et al.* Eficácia in vitro de extratos aquosos de plantas no controle de nematódeos gastrintestinais de bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 42. 2014. p. 1–8.
- FRASAO, B. *et al.* Effect of pequi (*Caryocar brasiliense*) and juçara (*Euterpe edulis*) waste extract on oxidation process stability in broiler meat treated by UV-C. **Plosone**. v. 13. 2018. p. 1–17.

GALUPPO, S.C. **Documentação do uso e da valorização do óleo do Piquiá (*Caryocarvillosum*) e do leite do Amapá-doce (*Brosimumparinarioides*) para a Comunidade de Piquiatuba, Floresta Nacional do Tapajós: estudos físicos, químicos, fitoquímicos e farmacológicos.** Belém: Universidade Federal Rural da Amazônia, p. 108, Masters Dissertation, 2004.

GEOCZE, K.C. *et al.* Essential oils from pequi fruits from the Brazilian Cerrado ecosystem. **Food Research International**. v. 54. 2013. p. 1-8.

GERMANO, J. N.; SILVA, R.L.A., SANTOS, E.M. Estudo etnobotânico das plantas medicinais do cerrado do estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 3. 2007. p. 23-31.

GONÇALVES, C. U. Os pequizeiros da Chapada do Araripe. **Revista de Geografia**. v. 25. 2008. p. 88-103.

GREGORIS, E. *et al.* Antioxidant properties of Brazilian tropical fruits by correlation between different assays. **BioMed Research international**. v. 2013. 2013. p.1-8.

HERZOG-SOARES, J. D. A. *et al.* Bioatividade de *S. adstringens*, *S. polyphyllum*, *Caryocar brasiliense*, plantas do cerrado brasileiro, sobre *Trypanosoma cruzi* “in vivo”. **Bioscience Journal**. v. 22. 2006. p. 113–118.

HERZOG-SOARES, J. D. A. *et al.* Atividade tripanocida in vivo de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão verdadeiro) e *Caryocar brasiliensis* (pequi) O *Phyllanthus niruri* L. induz calíurese dissociada da diurese e da natriurese em ratos acordados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 12. 2002. p. 1–2, 2002.

JOHNER, J.C.F. *et al.* Developing a supercritical fluid extraction method assisted by cold pressing for extraction of pequi (*Caryocar brasiliense*). **The journal of supercritical fluids**. v. 137. 2018. p. 34-39.

KERNTOPF, M. R. *et al.* Óleo De Pequi (*Caryocar Coriaceum* W.) E a Potencial Atividade Cardioprotetora. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**. v. 17. 2013. p. 117–125.

LACERDA-NETO, L.J. *et al.* Gastroprotective and ulcer healing effects of hydroethanolic extract of leaves of *Caryocar coriaceum*: Mechanisms involved in the gastroprotective activity. **Chemico-Biological Interactions**. v. 261. 2017. p. 56-62.

LACERDA-NETO, L.J. *et al.* Modulation of antibiotic activity by the hydroalcoholic extract from leaves *Caryocar coriaceum* Wittm. **Natural Products Research**. v. 32. 2018. p. 477-480.

LEAL, A. *et al.* A pollen atlas of premontane woody and herbaceous communities from the upland savannas of Guayana, Venezuela. **Journal of Palynology**. v. 35. 2011. p. 226-266.

LEÃO, D.P. *et al.* Physiochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. **Food Chemistry**. v. 225. 2017. p. 146–153.

- LEMOS, I.C.S. *et al.* Ethnobiological survey of plants and animals used for the treatment of acute respiratory infections in children of traditional community in the municipality of Barbalha, Ceará, Brazil. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**. v. 13. 2016. p. 166-175
- LIMA, A. *et al.* Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 29. 2007. p. 695-698.
- LORENZI, H. **Brazilian Trees**. v. 3. Instituto Plantarum; Brazil. 2009.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 2008.
- MACEDO, A.L. *et al.* Pequi cake composition, hydrolisis and fermentantion to bioethanol. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. v. 28. 2011. p. 9-15.
- MACHADO, A. *et al.* Pequi cake composition, hydrolisis and fermetation to bioethanol. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. v. 28. 2012. p. 9-15.
- MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Evaluation of pequi (*Caryocar Brasiliense* Camb.) aqueous extract quality processed by membranes. **Food and Bioproducts Processing**. v. 95. 2015. p. 304–312.
- MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Study of alcoholic and aqueous extraction of pequi (*Caryocarbrasiliense*Camb.) natural antioxidants and extracts concentration by nanofiltration. **Journal of Food Engineering**. v. 117. 2013. p. 450–457.
- MACIEL, T.M.C. *et al.* Pequi (*Caryocarcoriaceum*Wittm.) extrativism: situation and perspectives for its sustainability in CaririCearense, Brazil. **Acta Agronomica**. v. 67. 2018. p. 238-245.
- MAGID, A.A. *et al.* Triterpenoid saponins from the stem bark of *Caryocarvillosum*. **Journal of Natural Products**. v. 67. 2006. p. 2096–2102.
- MAGID, A.A. *et al.* Triterpenoid saponins from the fruits of *Caryocarglabrum*. **Journal of Natural Products**. v. 69. 2006. p. 196-205.
- MAGID, A.A. *et al.* Phenolic glycosides form the steam bark of *Caryocarvillosum* and *C. glabrum*. **Journal of Natural Products**. v. 71. 2008. p. 914-917.
- MAGID, A.A. *et al.* Dihydroisocoumarin glucosides from stem bark of *Caryocarglabrum*. **Phytochemistry**. v. 68. 2007. p. 2439–2443.
- MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, M. H. L. Aroma volatiles of pequi fruit (*Caryocarbrasiliense*Camb.). **Journalof Food Composition and Analysis**. v. 21. 2008. p. 574–576.
- MATOS, F.J.A., **Plantas Medicinais: Guia de Seleção e Emprego de Plantas Usadas em Fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 3ª ed. Imprensa Universitária, Fortaleza, Brazil, p. 394, 2007.

MARX, F.; ANDRADE, E.H.A.; MAIA, J.G. Chemical composition of the fruit pulp of *Caryocarvillosum*. **Z Lebensm Unters Forsch A**. v. 204. 1997. p. 442-444.

MEDEIROS, H.; AMORIM, A.M.A. Caryocaraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015.

Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB16720>>. Acesso em: 08/01/2018

MIMURA, A.M.S. *et al.* Determination of Cu, Fe, Mn, Zn and free fatty acids in pequi oil. **Química Nova**. v. 39. 2016. p. 621-626.

MIRANDA-VILELA, A. L. *et al.* Oil rich in carotenoids instead of vitamins C and E as a better option to reduce doxorubicin-induced damage to normal cells of Ehrlich tumor-bearing mice: Hematological, toxicological and histopathological evaluations. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 25. 2014. p. 1161–1176.

MIRANDA-VILELA, A. L. *et al.* Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exercise-induced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners. **Nutrition Research**. v. 29. 2009. p. 850–858.

MIRANDA-VILELA, A.L. *et al.* Dietary carotenoid-rich oil supplementation improves exercise-induced anisocytosis in runners: Influences of haptoglobin, MnSOD (Val9Ala), CAT (21A/T) and GPX1 (Pro198Leu) gene polymorphisms in dilutional pseudoanemia ("sports anemia"). **Genetics and Molecular Biology**. v. 33. 2010. p. 359-367.

MIRANDA-VILELA, A.L. *et al.* Characterization of the major nutritional components of *Caryocar brasiliense* Fruit pulp by NMR Spectroscopy. **Química nova**. v. 32. 2009. p. 2310-2313.

MIRANDA-VILELA, A.L. *et al.* Genetic polymorphism influence runners' responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi oil (*Caryocar brasiliense* Camb.): a before-after study. **Genes & Nutrition**. v. 6. 2011. p. 369-395.

MIRANDA-VILELA, A.L. *et al.* Dextran-functionalized magnetic fluid mediating magnetohyperthermia combined with preventive antioxidant pequi-oil supplementation: potential use against cancer. **Journal of Biomedical Nanotechnology**. v. 9. 2013. p. 1261-1271.

MIRANDA-VILELA, A.L. *et al.* The protective effects of nutritional antioxidant therapy on Ehrlich solid tumor-bearing mice depend on the type of antioxidant therapy chosen: histology, genotoxicity and hematology evaluations. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 22. 2011. p. 1091-1098.

MONTELES, R.; PINHEIRO, C.U.B. Plantas medicinais em um quilombo maranhense: uma perspectiva etnobotânica. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**. v. 7. 2007. p. 1-11.

MOURA, L.R. *et al.* *Caryocar brasiliense* shell ethanol extract in chronic cardiotoxicity induced by doxorubicin in rats. **Pesquisa veterinária Brasileira**. v. 37. 2017. p. 713-724.

MOURA, L. R. *et al.* Effect of the ethanolic extract of pequi (*Caryocar brasiliense*) peel on acute cardiotoxicity induced by doxorubicin in Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*). **Semina: Ciências Agrárias**. v. 39. 2018. p. 1981-1992.

NARUZAWA, E.S.; PAPA, M.F.S. Antifungal activity of extracts from Brazilian Cerrado plants on *Colletotrichum gloeosporioides* and *Corynesporacassiicola*. **Revista Brasileira de plantas medicinais**. v. 13. 2011. p. 408-412.

NASCIMENTO, N.R.R. *et al.* Antioxidant capacity of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp is preserved by freezing-drying and light-resistant packaging. **Revista brasileira de fruticultura**. v. 39. 2017. p. 1-9.

NOGUEIRA, F. A. *et al.* In vitro and In vivo efficacy of aqueous extract *Caryocar brasiliense* Camb. to control gastrointestinal nematodes in sheep. **Parasitology Research**. v. 111. 2012. p. 325-330.

OLIVEIRA, F. F. B. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Caryocar coriaceum* Wittm fruit pulp fixed ethyl acetate extract on zymosan-induced arthritis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 174. 2015. p. 452-463.

OLIVEIRA, L.G. *et al.* *Caryocar brasiliense* oil improves cardiac function by increasing Serca2a/PLB ratio despite no significant changes in cardiovascular risk factors in rats. **Lipids in Health and Disease**. v. 16. 2017. p. 1-8.

OLIVEIRA, L.M. *et al.* *Caryocar brasiliense* induces vasorelaxation through endothelial Ca²⁺/calmodulin and PI3k/akt/eNOS-dependent signaling pathways in rats. **Revista Brasileira de Farmacognesia**. v. 28. 2018. p. 678-685.

OLIVEIRA, L.M. *et al.* Endothelium-dependent vasorelaxant effect of butanolic fraction from *Caryocar brasiliense* Camb. Leaves in rat thoracic aorta. **Evidence-based complementary and alternative medicine**. v. 2012. 2012. p. 1-9.

OLIVEIRA, M. L. M. *et al.* In vivo topical anti-inflammatory and wound healing activities of the fixed oil of *Caryocar coriaceum* Wittm. seeds. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 129, 2010. p. 214-219.

OLIVEIRA, M.E.B. *et al.* Características químicas e físico-químicas de pequis da Chapada do Araripe, Ceará. **Revista brasileira de fruticultura**. v. 32. 2010. p. 114-125.

OLIVEIRA, T.S. *et al.* Neuroprotective effect of *Caryocar brasiliense* Camb. Leaves is associated with anticholinesterase and antioxidant properties. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2018. 2018. p. 1-12.

PALMEIRA, S.M. *et al.* Chemopreventive effects of pequi oil (*Caryocar brasiliense* Camb.) on preneoplastic lesions in a mouse model of hepatocarcinogenesis. **European journal of cancer prevention**. v. 25. 2016. p. 299-305.

PESSOAS, A.S. *et al.* Extraction of Pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcritical propane: Determination of process yield and fatty acid profile. **The journal of supercritical fluids**. v. 101. 2015. p. 95-103.

PASSOS, X. S. *et al.* Antifungal activity of *Caryocarbrasiliensis* (Caryocaraceae) against *Cryptococcus neoformans*. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 35. 2002. p. 623–627.

PASSOS, X. S. *et al.* Composition and antifungal activity of the essential oils of *Caryocarbrasiliensis*. **Pharmaceutical Biology**, v. 41. 2003. n. 5.

PAULA-JUNIOR, W. *et al.* Leishmanicidal, antibacterial, and antioxidant activities of *Caryocarbrasiliense* Cambess leaves hydroethanolic extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16. 2006. p. 625–630.

PERDIZ, R. O.; SÃO-MATEUS, W. M. B.; AMORIM, A. M. Flora da Bahia: Caryocaraceae. **Sitientibus série Ciências Biológicas**. v. 12. 2012. p. 109–113.

PIANOVSKI, A. R. *et al.* Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44. 2008. p. 249-259.

PINHEIRO, F.A. *et al.* Applicability of a voltammetric assay based on the electroreduction of oxygen to evaluate the antioxidant capacity of Pequi (*Caryocar coriaceum* Camb.) pulp. **Journal of the Brazilian Chemical**. v. 29. 2018. p. 1653-1662.

PINTO, G. C. P. Recursos genéticos de fruteiras nativas na região Nordeste de Brasil. In: Simpósio Nacional de Recursos Genéticos de Fruteiras Nativas. Anais, p. 81-86, Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 1993.

PINTO, L.C.L. *et al.* Traditional knowledge and uses of the *Caryocar brasiliense* Cambess. (Pequi) by “quilombolas” of Minas Gerais, Brazil: subsidies for sustainable management. **Brazilian Journal of Biology**. v. 76. 2016. p. 511-519.

PRADO, D. *Caryocar coriaceum*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. 1998.

PRANCE, G.T.. **Caryocaraceae**. In: P.E. Berry, B.K. Holst & K. Yatskievych (eds), Flora of the Venezuelan Guayana. Vol. 4. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, p. 164–170. 1998.

PRIMACK, R.B.; RODRIGUES, E. **Biologia e Conservação**. Londrina: Vida. 2001. 328 p.

QUIRINO, G.S. *et al.* Healing potential of Pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) fruit pulp oil. **Phytochemistry Letters**. v. 2. 2009. p. 179–183.

RAMOS, K.M.C.; SOUZA, V.A.B. Características físicas e químico-nutricionais de frutos de pequi (Caryocar coriaceum Wittm.) em populações naturais da região meio-norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33. 2011. p. 500-508.

RAMOS, M.I.L. *et al.* Efeito do cozimento convencional sobre os carotenoides pró-vitamínicos “A” da polpa do piqui (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. v. 19. 2001. p. 23-32.

RIBEIRO, D.A. *et al.* Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe Northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 155. 2014. p. 1522-1533.

- RIBEIRO, H.B. *et al.* Pequi fruit waste in the control of root-knot nematodes in tomato. **Horticultura Brasileira**. v. 30. 2012. p. 453-458.
- RIBEIRO, I.C.O. *et al.* Plants of the Cerrado with antimicrobial effects against *Staphylococcus* spp. and *Escherichia coli* from cattle. **BioMed Central Veterinary Research**. v. 14. 2018. p. 1-10.
- RIBEIRO, I.F. *et al.* The influence of erythropoietin (EPO T→G) and α -Actinin-3 (ACTN3 R577X) polymorphisms on runners' responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi oil (*Caryocar brasiliense* Camb.): A before-after study. **Journal of nutrigenetics and nutrigenomics**. v. 6. 2013. p. 283-304.
- RIBEIRO, M.C. *et al.* Influence of the extraction method and storage time on the physicochemical properties and carotenoids levels of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) oil. **Food Science and Technology**. v. 32. 2012. p. 368-392.
- RIBEIRO, R. V. *et al.* Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, 205, 69-102, 2017.
- RIGONATO, V.D.; ALMEIDA, M.G. **Cerrado**: a fitofisionomia e a interrelação com as populações tradicionais. *Cerrados, Montes Claros*, vol.1, n.1, p. 39 – 52, jan./dez. 2004.
- RIOS, M. *et al.* Benefícios das plantas da capoeira para a comunidade de Benjamin Constant, Pará, Amazônia Brasileira. Belém: **CIFOR**. p. 54, 2001.
- RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**: manual de dendrologia brasileira. 2. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 1978 (5ª reimpressão, 1995).
- ROCHA, L.B. *et al.* Gallic acid as the major antioxidant in pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit peel. **Revista brasileira de plantas medicinais**. v. 17. 2015. p. 592-598.
- RODRIGUES, J.F.; CARVALHO, G.T. Efeito fisiológico dos frutos do pequi na medicina popular. **Revista planta do cerrado**. 2001. p. 23.
- RODRIGUES, V. E.G., CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande, Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**. vol. 25. 2001. p. 102-123.
- ROESLER, R. *et al.* Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**. v. 110. 2008. p. 711–717.
- ROESLER, R.; LORENCINI, M.; PASTORE, G. Brazilian cerrado antioxidant sources: cytotoxicity and phototoxicity in vitro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 30. 2010. p. 814-821.
- ROSA, T. C. L. *et al.* Avaliação moluscicida e perfil fitoquímico das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. **Cadernos de pesquisa**. v. 18. 2011. p. 23–30.
- SARAIVA, M.E. *et al.* Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. **J. Ethnopharmacol.** v. 171. 2015. p. 141–153.

SARAIVA, R. A. *et al.* Synergistic action between Caryocar coriaceum Wittm. fixed oil with aminoglycosides in vitro. **European Journal of Lipid Science and Technology**. v. 113. 2011. p. 967–972.

SARAIVA, R. A. *et al.* Topical anti-inflammatory effect of Caryocar coriaceum Wittm. (Caryocaraceae) fruit pulp fixed oil on mice ear edema induced by different irritant agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136. 2011. p. 504–510.

SARAIVA, R.A. *et al.* Óleo da polpa do fruto do pequi do nordeste (Caryocar coriaceum Wittm.) obtido com solventes orgânicos: um produto de origem natural para uso em suplementos vitamínicos, cosméticos, como antioxidante e aplicado ao tratamento de inflamações cutâneas agudas e crônicas. 2009, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: PI09247858. **Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial**. Depósito: 07/10/2009.

SEGALL, S.D. *et al.* Triacylglycerol analysis of pequi (Caryocar brasiliensis Camb.) oil by electrospray and tandem mass spectrometry. **Journal of the science of food and agriculture**. v. 86. 2006. p. 445-452.

SENA JÚNIOR, D.M. *et al.* Physicochemical and spectroscopical investigation of Pequi (Caryocar coriaceum Wittm.) pulp oil. **Grasas y Aceites**. v. 61. 2010. p. 191-196.

SHELLEY, B.C.L. Ethnobotany and the process of drug discovery: a laboratory exercise. **The American Biology Teacher**. v. 71. 2009. p. 541–547.

SILVA, L.D. *et al.* Análise morfométrica das células de cloro de Poeciliavivipara exposta a frações da folha e da casca de Caryocar brasiliensis. **Acta scientiarum: Biological Sciences**. v. 25. 2003. p. 195-201.

SILVA, M.A.P.; MEDEIROS FILHO, S. Morfologia de fruto, semente e plântula de piqui (Caryocar coriaceum Wittm.). **Revista Ciência Agronômica**. v.37. 2006. p. 320-325.

SILVESTRE, V.C. *et al.* Anti-nutritional factors and digestibility of protein in Caryocar brasiliense seeds. **Food Science and Technology**. v. 37. 2017. p. 632-639.

SOUSA JÚNIOR, J. R.; ALBUQUERQUE, U.P.; PERONI, N. Traditional Knowledge and Management of Caryocar coriaceum Wittm. (Pequi) in the Brazilian Savanna, Northeastern Brazil. **Economic Botany**. v. 67. 2013. p. 225-233.

SOUSA, A.G.O. *et al.* Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**. v. 44. 2011. p. 2319-2325.

TOMIOTTO-PELLISSIER, F. *et al.* Caryocar coriaceum extracts exert leishmanicidal effect acting in promastigote forms by apoptosis-like mechanism and intracellular amastigotes by Nrf2/HO-1/ferritin dependent response and iron depletion: Leishmanicidal effect of Caryocar coriaceum leaf ex. **Biomedicine and Pharmacotherapy**. v. 98. 2018. p. 662–672.

TORRES, L. R. D. O. *et al.* Pequi (Caryocar brasiliense Camb.) almond oil attenuates carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in rats: Antioxidant and anti-inflammatory effects. **Food and Chemical Toxicology**. v. 97. 2016. p. 20–216.

TORRES, L.R.O. *et al.* Physicochemical and antioxidant properties of the pequi (CaryocarbrasilienseCamb.) almond oil obtained by handmade and cold-pressed process. **International Food Research Journal**. v. 23. 2016. p. 1541-1551.

TRAESEL, G. K. *et al.* Evaluation of embryotoxic and teratogenic effects of the oil extracted from CaryocarbrasilienseCambess pulp in rats. **Food and Chemical Toxicology**. v. 110. 2017. p. 74–82.

TRAESEL, G. K. *et al.* Oral acute and subchronic toxicity studies of the oil extracted from pequi (Caryocarbrasiliense, Camb.) pulp in rats. **Food and Chemical Toxicology**. v. 97. 2016. p. 224–231.

TRASEL, G.K. *et al.* Assessment of oil from pequi (CaryocarbrasilienseCamb.): Evaluation of the potential genotoxic and clastogenic effects. **Journal of medicinal food**. v. 20. 2017. p. 804-811.

UPOFH, J.C.T. **Dictionary of economic plants**. Weinheim: Alemanha. 1959. 400 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine**. Geneva, Switzerland. 2001. p. 1.

XAVIER, W.K.S. *et al.* Topical anti-inflammatory action of Caryocarvillosum Oil (Aubl) Pers. **Journal of applied pharmaceutical science**. v. 1. 2011. p. 62-67.

YAMAGUCHI, K.K.L. *et al.* HPLC-DAD profile of phenolic compounds, cytotoxic, antioxidant, anti-inflammatory activities of the amazon fruit Caryocarvillosum. **Química Nova**. v. 40. 2017. p. 483-490.

ZAMBRANA, N.Y.P. *et al.* Traditional knowledge hiding in plain sight – twenty-first century ethnobotany of the Chácobo in Beni, Bolivia. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. v. 13. 2017. p. 1-47

Artigo científico a ser encaminhado a Revista
Journal of Hazardous Materials.

Todas as normas de redação e citação, doravante, atendem as normas estabelecidas pelas regras da ABNT vigente.

CAPÍTULO II: O extrato das folhas de *Caryocarcoriaceum* Wittm. atenua a fitotoxicidade induzida pelo sulfato de níquel em plântulas de *Lactuca sativa* L.

(*Caryocarcoriaceum* Wittm. extract attenuates Nickel Sulfate – induced phytotoxicity in *Lactuca sativa* L. seedlings)

Paulo Henrique Oliveira de Miranda¹; Patrícia Menezes Costa Maciel¹; Maria da Saúde da Silva¹; Irwin Rose Alencar de Menezes²; Katya Maria Oliveira de Sousa¹; Andréa Monteiro Santana Silva Brito¹; Rogério de Aquino Saraiva^{1,*}

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Av. Gregório Ferraz Nogueira S/N, Serra Talhada, PE, Brasil

²Universidade Regional do Cariri, Cel. Antônio Luis, 1161, Crato, CE, Brasil

* Autor correspondente, e-mail: rogerioaqsaraiva@hotmail.com, tel. +558739293017

RESUMO

O níquel (Ni) é um metal essencial para o funcionamento de metaloenzimas de plantas. Contudo, em elevadas concentrações, passa a induzir efeitos tóxicos, comprometendo a homeostase vegetal. As concentrações de Ni aumentaram significativamente nos ecossistemas nos últimos anos devido a distúrbios antropogênicos variados. Uma estratégia utilizada para minimizar estes danos é o uso de remediadores químicos capazes de se ligar a estes metais no solo, permitindo reduzir sua absorção e assimilação pelas plantas. Estudos têm mostrado que extratos de plantas, por apresentarem compostos fenólicos com capacidade quelante de metais podem ser usados com essa finalidade. Diante do exposto, o presente estudo objetivou analisar o efeito protetor do extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocarcoriaceum* Wittm (EHFCC), uma planta rica em compostos fenólicos, sobre os efeitos tóxicos do NiSO₄ em plântulas de *Lactuca sativa*. Para isso, foram cultivadas plântulas de *Lactuca sativa* em placa de Petri, onde foram caracterizados a germinação, comprimento radicular e do hipocótilo, vigor, índice de necrose radicular, índice de tolerância, clorofilas a e b, e o perfil espectroscópico de refletância do infravermelho médio, na presença de NiSO₄, EHFCC e a combinação de ambos. Não foi constatado efeito tóxico, dentre os parâmetros avaliados, por parte do EHFCC em concentrações $\leq 1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Para o ensaio de toxicidade induzida pelo NiSO₄, constatou-se efeitos deletérios em concentrações $\leq 25 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Para o ensaio de remediação, as plântulas foram cultivadas na presença de duas concentrações não tóxicas de EHFCC (1 e 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e

2 concentrações tóxicas e 1 não tóxica de NiSO₄ (12,5; 25 e 50 µg.mL⁻¹). A avaliação dos mesmos parâmetros, indicaram um efeito protetor do EHFCC, na concentração de 10 µg.mL⁻¹ sob as concentrações de 25 e 50 µg.mL⁻¹ de NiSO₄, melhorando-os de forma significativa. Conclui-se que o EHFCC é um produto em potencial para utilização na remediação química de áreas contaminadas por Ni.

PALAVRAS CHAVE:Produtos naturais; remediação química; ecotoxicologia.

ABSTRACT

Nickel (Ni) is an essential metal for plant metalloenzymes. However, Ni may induce toxic effects at high concentrations, leading to plant homeostasis disruption. Ni concentrations have increased significantly in ecosystems in the last years due to anthropogenic disturbances. The use of chemical remediators capable of binding to these metals in the soil could minimize the harmful effects, since they can reduce metal absorption and assimilation by plants. Due to the presence of phenolic compounds with metal chelating capacity, plant extracts could be used for this purpose. The present study aimed to analyze the protective effect of the hydroethanolic extract of *Caryocarpicaceum* Wittm (EHFCC) leaves, a plant rich in phenolic compounds, on the toxic effects induced by NiSO₄ on *Lactuca sativa* seedlings. The germination, root and hypocotyl length, vigor, root necrosis index, tolerance index, chlorophyll a and b, and the spectroscopic profile of the medium infrared reflectance were determined on the seedlings growth in presence of NiSO₄, EHFCC and the combination of both. No toxic effects were found among the parameters evaluated by the EHFCC at the concentrations <1,000 µg.mL⁻¹. For the NiSO₄ toxicity test, deleterious effects were found at concentrations <25 µg.mL⁻¹. For the remediation assay, the seedlings were cultivated in the presence of two non-toxic concentrations of EHFCC (1 and 10 µg.mL⁻¹) and 2 toxic and 1 non-toxic concentrations of NiSO₄ (12.5, 25 and 50 µg.mL⁻¹). The evaluation of the same parameters indicated a protective effect from EHFCC, in the concentration of 10 µg.mL⁻¹ under the concentrations of 25 and 50 µg.mL⁻¹ of NiSO₄, improving them significantly. Together, these results suggest that EHFCC presents protective effect for plants in Ni-contaminated soils due to the possible Ni chelating effect of phenolic compounds.

KEYWORDS: Natural products, chemical remediation, ecotoxicology, pequi.

1. INTRODUÇÃO

Distúrbios antropogênicos acarretam no aumento significativo de metais pesados nos ecossistemas, como o chumbo (Pb), cromo (Cr), níquel (Ni), mercúrio (Hg), zinco (Zn), cobre (Cu). Devido a sua alta persistência no ambiente, estes metais interagem com os componentes biológicos, podendo induzir efeito tóxicos de acordo com o tempo de exposição do organismo (PIECHALAK et al., 2002; JING; KJELLERUP, 2016).

Em plantas, a assimilação de elevadas concentrações de metais pesados pode acarretar em distúrbios como: bioacumulação, e consequentemente biomagnificação, danos ao DNA, aumento na concentração de espécies reativas de oxigênio e alterações morfológicas nos órgãos das plantas, podendo comprometer sua fisiologia e induzir a morte do organismo (MICHALAK, 2006; GUPTA et al., 2009; SILVA; MATOS, 2016; SHAHID et al., 2017).

O Ni, em 1975, foi descoberto como um micronutriente essencial, visto que é um cofator da urease em plantas (SEREGIN; KOZHEVNIKVA, 2006). Porém, em elevadas concentrações, o Ni tende a apresentar efeito tóxico nos vegetais, como os destacados anteriormente. O Ni é empregado na fabricação de diversas ligas metálicas, ocorrendo um contínuo descarte de Ni nos ecossistemas de forma descontrolada e não regulamentada, o que eleva de forma considerável as concentrações de Ni nos ecossistemas (NICKEL INSTITUTE, 2006).

Nas últimas décadas, há um crescente interesse dos pesquisadores em desenvolver estratégias de retirar ou conter o impacto que as elevadas concentrações de agentes contaminantes causam nos ecossistemas, através de metodologias de remediação. Dentre essas medidas, destacam-se os agentes biológicos (biorremediação) ou uso de produtos químicos (remediação química), no intuito de aplicar um agente químico no local na finalidade de torná-lo indisponível para assimilação (MAGALHÃES, 2011). Considerando a remediação química, tem-se pensado na prospecção de novos produtos naturais (extratos de plantas) para este fim, uma vez que estes não geram resíduos que poluem o ambiente, estando de acordo com as práticas da química verde (STINGU et al., 2012; TAVARES, 2013, RAJPOOT et al., 2016; LEITE et al., 2017).

Com base no exposto, produtos que podem ser utilizados, para essa finalidade, são os extratos das folhas do pequizeiro, *Caryocarcoriaceum* Wittm. (EHFCC), uma planta endêmica do Brasil com ocorrência exclusiva no estado do Ceará e da Bahia (região Nordeste) (MEDEIROS; AMORIM, 2015). Estudos anteriores mostram que o EHFCC tem capacidade

antioxidante e é rico em flavonoides e ácidos fenólicos (ARARUNA et al., 2013), compostos conhecidos como agentes quelantes de metais (EBRAHIMZADEH et al., 2008; WANG et al., 2009; MLADENKA et al., 2011; PROCHAZKOVA et al., 2011; HUYUT et al., 2017).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar se o extrato hidroetanólico das folhas de *C. coriaceum* seria capaz de proteger plântulas de alface (*Lactuca sativa*) contra a exposição a diferentes concentrações de NiSO_4 por meio de indicadores germinativos, biométricos, bioquímicos e espectroscópico, atuando então como um remediador químico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Reagentes e sementes

O sulfato de níquel (NiSO_4) foi adquirido da Proquímios (Brasil). A acetona e o dimetilsulfóxido (DMSO) foram adquiridos da VETEC (Brasil). O etanol absoluto foi obtido da Dinâmica (Brasil). Todas as diluições foram feitas em água destilada e esterilizada.

As sementes utilizadas no experimento foram obtidas comercialmente da espécie *Lactuca sativa* L. da marca Feltrin (cultivar Mônica).

2.2. Obtenção e caracterização do Extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocarcoriaceum* (EHFCC)

Folhas de *Caryocarcoriaceum* foram coletadas na chapada do Araripe (Crato, CE, Brasil). Uma exsicata foi depositada no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará, sob o código N° 44523.

No total, 500 g de folhas foram secas à temperatura ambiente, trituradas com um liquidificador e postas em contato com etanol 50°GL, por um período de 72 horas, novamente à temperatura ambiente. Em seguida, o extrato foi concentrado em banho-maria a uma temperatura de 50 °C e posteriormente liofilizado. Por fim, o extrato foi armazenado em frasco âmbar e em geladeira a 10 °C até o momento da realização dos experimentos. A identificação e quantificação dos compostos fenólicos presentes no extrato foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência, como descrito por ARARUNA et al. (2013).

2.3. Ensaio de germinação de *Lactuca sativa* em microambiente

O experimento foi realizado em duas etapas. A primeira etapa consistiu na avaliação da fitotoxicidade do NiSO_4 (nas concentrações variando entre $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ a $1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e do EHFCC (nas concentrações variando entre $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ a $10.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) sozinhos, sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de alface, para determinação de concentrações que afetaram o crescimento das plântulas de forma significativa. Na segunda etapa, foi verificado o efeito protetor do EHFCC em concentrações não tóxicas sobre concentrações tóxicas de NiSO_4 , para avaliação efeito atenuador da toxicidade induzida pelo NiSO_4 pelo extrato.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Cada estratégia experimental consistiu em um número variável de tratamentos e quatro réplicas por tratamento (fatorial nx4), cada réplica continha 25 sementes. A montagem do experimento foi realizada em uma câmara de fluxo laminar (para evitar contaminação por micro-organismos), e os microambientes consistiram de placas de Petri contendo uma folha de papel filtro qualitativo como substrato.

Em cada placa foram adicionadas 3 mL de uma solução aquosa (contendo DMSO 0,2%) contendo NiSO_4 (para o ensaio de toxicidade induzida por metais), ou de EHFCC (ensaio de alelopatia) e após a obtenção de concentrações tóxicas e não tóxicas de NiSO_4 e EHFCC, a combinação entre ambos (ensaio de remediação). Em todos os ensaios, foi elaborado um tratamento contendo apenas a solução aquosa com DMSO 0,2%, para controle negativo do NiSO_4 e EHFCC. Após a semeadura, as placas foram transferidas para uma câmara tipo BOD com fotoperíodo de 12 horas, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e saturada em umidade por um período de 7 dias.

2.4. Avaliação de indicadores de desenvolvimento da plântula e de toxicidade

2.4.1. Germinação e índice de velocidade de germinação (IVG)

A toxicidade na germinação foi avaliada de acordo com a capacidade do NiSO_4 e EHFCC inibir a germinação, onde, as sementes foram consideradas germinadas quando houve emergência da radícula e seu comprimento era $\geq 1 \text{ mm}$. A germinação também foi avaliada de acordo com o índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962), determinado a partir da fórmula (1):

$$IVG = \sum_{i=1}^n \frac{ng_i}{i}$$

Onde, ng = número de sementes germinadas ei = dia observado

2.4.2. Índice de necrose radicular (INR)

Ao final do sétimo dia do ensaio, as radículas das plântulas foram analisadas quanto à incidência de necrose. Para cada nível de necrose foi atribuída uma pontuação de necrose (Pn), cujos valores considerados foram 0,0 – para ausência de necrose; 0,5 – necrose inicial, atingindo uma pequena área da radícula; ou 1,0 para radículas com necrose avançada, tomando conta de todo o órgão ou induzindo atrofiamento radicular (figura 4). Esta análise foi realizada com todas as plântulas de cada réplica. O índice de necrose radicular (INR) foi calculado a partir da aplicação da fórmula a seguir (2):

$$INR = \frac{\sum_{i=1}^n Pn}{n} \quad (2)$$

Onde: INR – índice de necrose radicular para um determinado tratamento; Pn – pontuação de necrose (figura 4) e n - número de plântulas de um determinado tratamento.

Figura 4: Parâmetros adotados para qualificação do nível de necrose radicular para plântulas de *Lactuca sativa*, as setas indicam áreas necrosadas



2.4.3. Comprimento da radícula e do hipocótilo

Ao final do sétimo dia do ensaio, oito plântulas de cada réplica foram selecionadas para análise da morfometria linear, onde foram mensurados o comprimento da radícula e do hipocótilo, com o auxílio de paquímetro, os dados foram expressos em cm.

2.4.4. Índice de tolerância ao níquel (IT)

Com os dados de germinação e comprimento radicular, foi calculado o índice de tolerância (IT) ao estressor (TURNER; MARSHALL, 1972) de acordo com a fórmula (3):

$$IT = 1 + \text{Log}_{10} \left(\frac{Ce}{Co} \right) \quad (3)$$

Onde, Ce = Comprimento esperado (comprimento do grupo controle); Co = Comprimento observado (comprimento do grupo observado).

2.4.5. Vigor

O vigor, para cada grupo, foi determinado de acordo com a metodologia de ABDULBAKI; ANDERSON, (1973), usando a formula (4):

$$\text{Vigor} = Cr \times ng \quad (4)$$

Onde, Cr = Comprimento radicular; ng = número de sementes germinadas

2.4.6. Determinação da concentração inibitória média (CI₅₀)

Uma vez que as concentrações seguem aumento logarítmico, os resultados do comprimento radicular culminaram em curvassigmoidais para determinar a concentração inibitória média (CI₅₀), ou seja, a concentração necessária para induzir uma diminuição de 50% no crescimento do órgão analisado das plântulas.

A partir do CI₅₀ foram definidas três concentrações potencialmente tóxicas de NiSO₄, sendo elas um valor próximo ao CI₅₀ e uma concentração sub e outra supra inibitória ao CI₅₀. E duas concentrações não tóxicas de EHFCC combinadas entre si para avaliação do efeito remediador. No ensaio de remediação, os grupos controles consistiram apenas de água destilada (DMSO 0,2%), e EHFCC e NiSO₄ isolados. Assim como os ensaios de toxicidade e alelopatia, o de remediação foi avaliado pelos mesmos parâmetros.

2.5. Determinação das concentrações das clorofilas a e b

Uma vez que a clorose é um dos indicadores moleculares da contaminação por metais em plantas, os níveis de clorofila a e b nos diferentes tratamentos foram quantificados através da metodologia de Arnon (1949), com adaptações. Nesse ensaio, 10 plântulas de cada placa foram pesadas e imersas em 5 mL de acetona 80%, em tubos de ensaio com rosca protegidos da luz, posteriormente alocados em uma geladeira. Após o branqueamento total das plântulas, o líquido foi transferido dos tubos de ensaio para cubetas de quartzo. As leituras das absorbâncias foram realizadas nos comprimentos de onda de 645 nm, e 663 nm em espectrofotômetro. Para cada tubo de ensaio foram realizadas 3 leituras em cada comprimento de onda, da qual foi calculada a média, para então ser utilizado nas seguintes formulas (5 e 6):

$$\text{Clorofila } a = \frac{12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}}{1000 \times \text{Peso do tecido vegetal (g)}} \times \text{volume do extrato (mL)} \quad (5)$$

$$\text{Clorofila } b = \frac{22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}}{1000 \times \text{Peso do tecido vegetal (g)}} \times \text{volume do extrato (mL)} \quad (6)$$

O branco consistiu em uma solução de acetona 80%, e os resultados foram expressos em mg.g^{-1} de massa fresca.

2.6. Espectroscopia no Infravermelho Médio – UATR

As análises espectrais das folhas foram realizadas em espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), modelo Frontier da Perkin Elmer®, utilizando o acessório Universal de Reflexão Total Atenuada (UATR). Os espectros foram adquiridos na região de $4000\text{--}500 \text{ cm}^{-1}$, resolução 4 cm^{-1} e 16 varreduras. O branco utilizado foi o ar e as medidas foram realizadas diretamente nas folhas, sem nenhum pré-tratamento.

Para o ensaio de remediação, três plântulas de cada placa foram sorteadas, na qual as regiões abaxiais das folhas foram pressionadas contra o cristal de diamante do UATR, totalizando 12 medições por tratamento.

2.7. Análise estatística

A partir dos dados obtidos, foram calculados a média e o erro padrão de cada tratamento, e utilizado o teste de ANOVA de um fator para os ensaios de toxicidade e alelopatia, ao passo que para o ensaio de remediação foi utilizado o teste de ANOVA de dois fatores para o ensaio de remediação, em ambos os casos, o teste de tukey foi empregado para comparação entre as

médias. Estas, por sua vez, foram consideradas diferentes quando a probabilidade do evento acontecer foi inferior a 0,05 ($p < 0,05$)

Para a análise dos dados espectroscópicos, fez-se a estatística descritiva dos espectros para cada concentração estudada de NiSO_4 , a fim de minimizar possíveis efeitos físicos durante as medidas que pudessem ocasionar flutuações na linha de base.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Componentes do EHFCC

A caracterização do EHFCC em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) detectou cinco diferentes compostos, sendo que a Rutina foi o metabólito majoritário do EHFCC, seguido de ácido clorogênico, quercetina, ácido caféico e ácido gálico (ARARUNA et al., 2013) (Tabela 2).

Tabela 2: Compostos fenólicos e suas respectivas concentrações presentes no extrato hidroetanólico das folhas de *C. coriaceum*

Composto	Concentração (mg.g^{-1})
Rutina	68,1
Ácido clorogênico	31,4
Quercetina	26,9
Ácido caféico	18,7
Ácido gálico	19,0

É relatado que compostos fenólicos e flavonoides possuem características físico-químicas que promovem atividade antioxidante e quelante de metais, através da captura de radicais livres dos EROs (espécies reativas de oxigênio), e complexação ou coordenação com íons metálicos (EBRAHIMZADEH et al., 2008; WANG et al., 2009; MLADENKA et al., 2011; PROCHAZKOVA et al., 2011; HUYUT et al., 2017).

Estas classes de moléculas também podem atuar como aleloquímicos, uma vez que, quando liberadas no solo, podem ser capazes de estimular ou inibir o desenvolvimento de plantas (TAYLOR; GROTEWOLD, 2005; CESCO et al., 2012).

3.2. Ensaio de efeito alelopático do EHFCC

Foi constatado que o EHFCC tem baixa toxicidade, uma vez que a germinação foi afetada negativamente apenas na concentração de 10.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, (Tabela 3). Apesar do número de sementes germinadas não diferir entre os grupos ($p=0,0991$), o índice de velocidade de germinação indicou um retardo no tempo de germinação apenas no tratamento de 10.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, evidenciando pelo Índice de Velocidade de Germinação (IVG), apesar de não inibir a germinação efetivamente a elevada concentração de EHFCC induz um retardo na germinação.

Tabela 3: Características da germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. germinadas na presença de diferentes concentrações de extrato hidroetanolicos das folhas de *Caryocarcoriaceum* (EHFCC). Médias representados por letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente, Teste de ANOVA de um fator e Teste de Tukey ($p<0,05$)

[EHFCC] $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Germinadas (%)	IVG	Radícula (cm)	Hipocótilo (cm)	INR	Vigor
0	97 a	0.87 a	5,87 $\pm$ 1,26a	0,37 $\pm$ 0,04a	0a	142,40 $\pm$ 12,55a
0,1	98 a	0.90 a	6,20 $\pm$ 1,72a	0,37 $\pm$ 0,05a	0a	152,1 $\pm$ 38,23a
1	98 a	0.88 a	5,99 $\pm$ 1,27a	0,39 $\pm$ 0,06a	0a	146,8 $\pm$ 9,86a
10	94 a	0.86 a	6,75 $\pm$ 1,04b	0,37 $\pm$ 0,05a	0a	159,2 $\pm$ 24,02a
100	98 a	0.87 a	6,31 $\pm$ 1,02a	0,42 $\pm$ 0,05a	0a	154,4 $\pm$ 13,19a
1.000	98 a	0.86 a	4,63 $\pm$ 0,97c	0,39 $\pm$ 0,06a	0,03a	111,4 $\pm$ 10,76a
10.000	89 b	0.31 b	0,44 $\pm$ 0,31d	0,62 $\pm$ 0,14b	1b	9,8 $\pm$ 1,52b

Quanto ao comprimento das plântulas, foi constatado um aumento de 15% no crescimento radicular no grupo tratado com 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, quando comparado ao controle, ao passo que, a partir da concentração de 1.000 e 10.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, há um decréscimo de 21% e 92,55%, respectivamente.

Da mesma forma que o IVG, a concentração de 10.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de EHFCC também afetou o comprimento do hipocótilo, induzido um tamanho aumentado em relação aos demais

tratamentos, bem como o Índice de Necrose Radicular (INR), com uma necrose radicular avançada em todas as plântulas deste grupo, e uma queda de 93% no vigor das plântulas.

Com base nos indicadores propostos, dentro destas condições experimentais, o EHFCC induz efeitos tóxicos a partir da concentração de $1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, induzindo uma diminuição do comprimento radicular, e ao aumentar a concentração de EHFCC a $10.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, a sobrevivência das plântulas é comprometida, necrosando por completo toda sua radícula.

3.3. Ensaio de toxicidade induzida pelo NiSO_4

O número de sementes germinadas foi afetado apenas na concentração de $1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 , com sua completa inibição (tabela 4). Nos demais tratamentos, não houve diferença entre o número de sementes germinadas. O número máximo de sementes germinadas foi alcançado ao 3º dia após o início do experimento, consequentemente, o IVG não diferiu entre os tratamentos.

Tabela 4 Características da germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. germinadas na presença de diferentes concentrações de Sulfato de Niquel (NiSO_4). Médias representados por letras diferentes, na mesma coluna, diferem significativamente, Teste de ANOVA de um fator e Teste de Tukey ($p < 0,05$)

[NiSO_4] $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Germinadas (%)	IVG	Radícula (cm)	Hipocótilo (cm)	INR	IT	Vigor
0	100 ± 0,00 a	0,90 ± 0,03 a	5,01 ± 0,13a	0,44 ± 0,01 a	0 a	0,99 ± 0,01 a	125 ± 3,38 a
0,1	96 ± 1,63 a	0,87 ± 0,02 a	5,35 ± 0,24a	0,40 ± 0,01 a	0 a	1,02 ± 0,02 a	128,3 ± 4,96 a
1	98 ± 1,15 a	0,90 ± 0,01 a	4,34 ± 0,24 a	0,33 ± 0,00 b	0 a	0,93 ± 0,02 a	106,4 ± 5,87b
10	99 ± 1,00 a	0,91 ± 0,03 a	4,52 ± 0,30 a	0,32 ± 0,00 b	0 a	0,94 ± 0,03 a	110,6 ± 8,75b
12,5	100 ± 0,00 a	0,94 ± 0,01 a	5,44 ± 0,24 a	0,33 ± 0,01b	0 a	0,96 ± 0,01 a	136,1 ± 6,15 a
25	99 ± 1,00 a	0,87 ± 0,04 a	3,51 ± 0,17 b	0,39 ± 0,02 a	0,09 ± 0,01 b	0,77 ± 0,04 b	87,04 ± 4,58c
50	99 ± 1,00 a	0,86 ± 0,02 a	1,12 ± 0,08 c	0,40 ± 0,01 a	0,39 ± 0,02 c	0,27 ± 0,03 c	27,21 ± 1,81d
100	96 ± 2,30 a	0,92 ± 0,03 a	0,35 ± 0,02 d	0,39 ± 0,01 a	1 ± 0 d	-0,16 ± 0,02 d	8,59 ± 0,68e
1.000	0	-	-	-	-	-	-

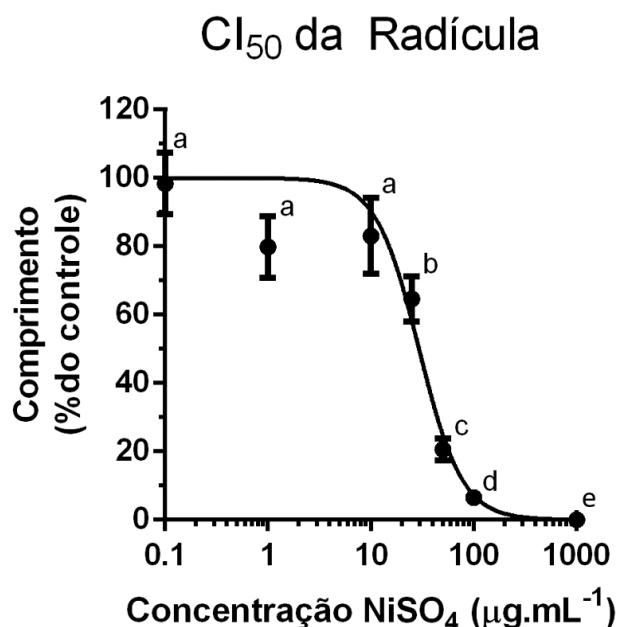
O ensaio inicial de toxicidade, realizado nas concentrações de 0,1, 1, 10, 100 e $1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, indicou um CI_{50} da radícula próximo a $28,16 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 . Prontamente, foi realizado

um novo ensaio com concentrações mais próximas ao CI_{50} indicado, com as concentrações de 12,5, 25 e 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, com a finalidade de investigar melhor a faixa de concentração entre 10 e 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 .

A comparação entre os comprimentos radicular indicou um dano, através da redução do comprimento, nas concentrações iguais e superiores a 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (figura 5). Entre a faixa de 0 a 12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos. O grupo controle cresceu em média $4,82 \pm 0,17$ cm, e na concentração de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ocorreu uma diminuição do comprimento da radícula de 93,5% ($p < 0,00001$). O hipocótilo na concentração de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ não diferiu quando comparado ao controle, que cresceu em média $0,41 \pm 0,01$ cm.

O comprimento radicular foi eleito o principal indicador da toxicidade induzida pelo NiSO_4 , logo, a partir destes dados foi calculado o CI_{50} , que equivale a uma concentração de 24,89 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ($R^2 = 0,9231$).

Figura 5: Gráfico da CI_{50} (concentração inibitória média), estimada a partir do comprimento radicular de *Lactuca sativa*, expresso em média $\pm$ erro padrão, cultivadas na presença de diferentes concentrações de NiSO_4 . Médias representadas por letras diferentes, diferem significativamente entre si de acordo com o teste de ANOVA de um fator e teste de Tukey ($p < 0,05$)



De acordo com Lyu et al. (2018), a radícula de *L. sativa* é um bom indicador de toxicidade para diversos tipos de metais estressores, incluindo o Ni, que se mostrou um dos estressores mais danosos, perdendo apenas para o Cádmio. O Ni, em elevadas concentrações, desencadeia

determinados processos que acarretam na morte do organismo (SACHAN; LAL, 2017). Uma vez que o mesmo é absorvido pelo vegetal na forma Ni^{2+} , rapidamente se acumula nos vacúolos de células radiculares, o que implica em um estresse maior neste órgão (ASSUNÇÃO et al., 2001).

Consequentemente, a maior parte do Ni absorvido pelas plantas acaba retido nas raízes (CATALDO et al., 1978). Este fato corrobora com as observações realizadas neste estudo, visto que, a radícula se mostrou o indicador mais afetado e mais adequado para avaliar a toxicidade induzida pelo Ni.

Além disso, outros indicadores como INR, Vigor e Índice de Tolerância (IT), corroboraram com o dado do comprimento radicular, visto que a incidência de necrose afetou as plântulas de forma significativa a partir da concentração de $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$, com um INR de 0,09, na concentração de $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ o INR foi de 0,39, com predominância de plântulas com uma necrose inicial em suas radículas e poucas plântulas com necrose avançada. O mesmo não foi observado na concentração de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, com todas as plântulas em estado avançado de necrose radicular ($p < 0,006$).

O IT evidencia a ausência de dano as plântulas até a concentração de $12,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$, a partir da concentração de $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$, a tolerância das plântulas diminuiu em 23%, 74% e 115%, nas concentrações de 50 e $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ($p < 0,0001$), respectivamente.

O vigor também foi afetado nestas mesmas concentrações, o grupo controle obteve um índice de vigor de $125,3 \pm 6,76$, ao passo que nas concentrações de 25, 50 e $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ houve uma diminuição no vigor de 30,4%, 77,83% e 93,19% respectivamente.

Por se tratar de um micronutriente, é esperado que existam concentrações de NiSO_4 que não induzam alterações negativas no desenvolvimento das plântulas, visto que o Ni está envolvido no metabolismo de alguns processos importantes, como o metabolismo do nitrogênio (DIXON et al., 1975; SINGH et al., 1990) que, no caso, corresponde as concentrações entre 0,1 a $12,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 .

Por outro lado, seu excesso, induz efeitos deletérios, visto sua capacidade de induzir a formação de EROs, através da inibição de moléculas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas (PANDEY; SHARMA, 2002; CHEN et al., 2009). Como também alterações na arquitetura de moléculas estruturais, como a proteína dedo de zinco, que é responsável pela

estruturação do DNA (BAL et al., 2003), podendo levar a diminuição do comprimento radicular, através da inibição do mecanismo de divisão celular (SEREGIN et al., 2013).

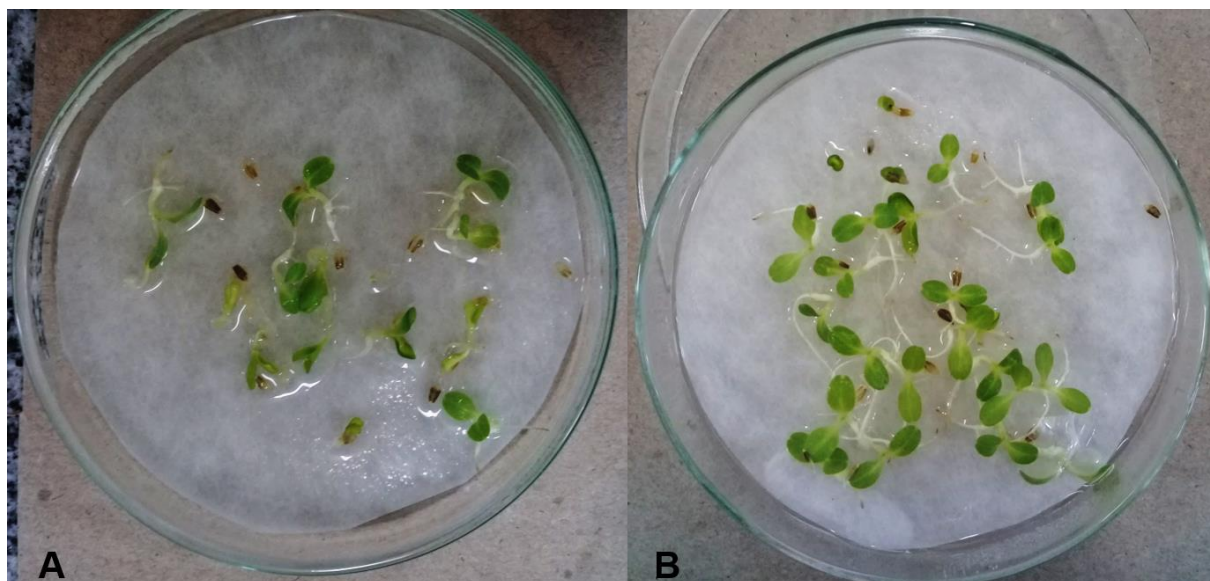
Também há registros na literatura de danos consideráveis a membrana celular, o que afeta sua permeabilidade e consequentemente seu turgor (LLAMAS et al., 2008), além da capacidade de captação e retenção de íons, causando deficiência em outros metais que atuam como micronutrientes (CHEN et al., 2009), o que provavelmente induziu um colapso nas concentrações mais tóxicas, induzindo necrose e consequentemente o aumento no INR, queda do IT e do Vigor.

3.4. Ensaio de remediação

Com base nos indicativos de dano do ensaio de toxicidade, as concentrações de NiSO_4 eleitas para o ensaio de remediação foram de 12,5, 25 e 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, em combinação com as concentrações de 1 e 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de EHFCC. Apesar de, a concentração de 12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 não evidenciar nenhum efeito fitotóxico, por meio dos indicadores propostos, esta concentração foi preparada para identificar qualquer efeito modificador da ação conjunta entre EHFCC e NiSO_4 , em relação ao respectivos grupos controle.

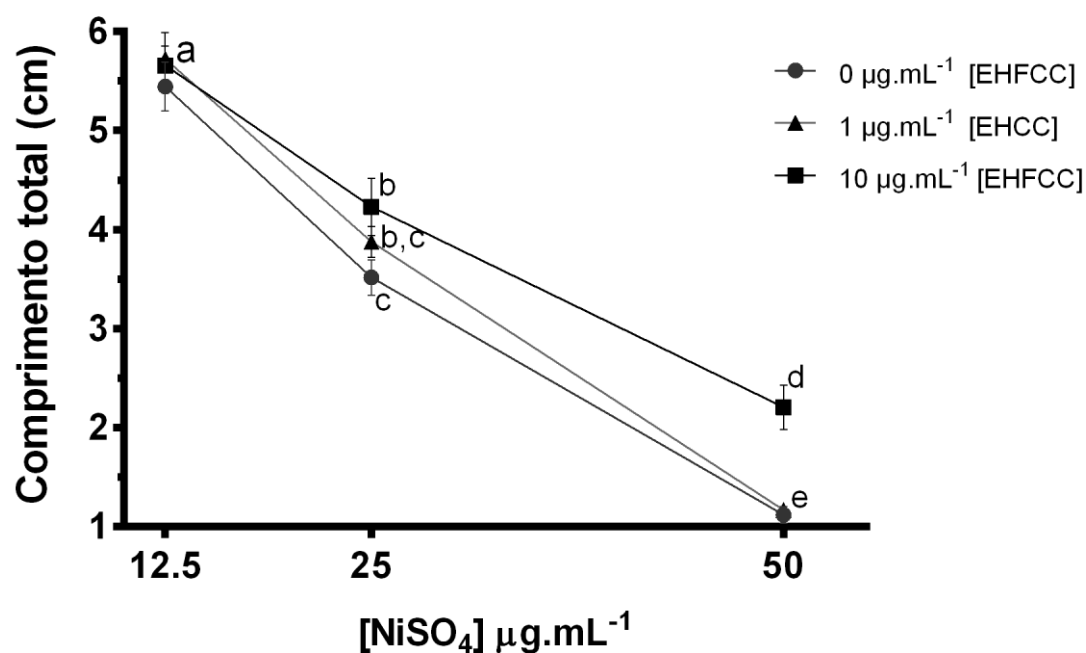
Constatou-se um significativo efeito protetor na concentração de 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de EHFCC sobre as concentrações de 25 e 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 (Figura 6). Nos demais grupos, não foi observado nenhum indicativo de modificação de toxicidade. O mesmo é válido para a concentração de 12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 em combinação com o EFHCC.

Figura 6: Plântulas de *Lactuca sativa* cultivadas na presença de NiSO_4 e NiSO_4 junto ao extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocar coriaceum* (EHFCC), após 7 dias de exposição. A) $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 ; B) $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 + $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de EHFCC



O comprimento radicular das plântulas tratadas com 25 e $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 , cresceram em média $3,51 \pm 0,35$ e $1,12 \pm 0,17$ cm respectivamente, ao passo que, nas concentrações cujo o efeito protetor foi observado ($10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de EHFCC,) houve um aumento de 20% no comprimento na primeira concentração, na segunda, este aumento chegou a 96%, quando comparados aos seus respectivos controles (Figura 7).

Figura 7: Comprimento radicular, expressos em média $\pm$ erro padrão, das plântulas de *Lactuca sativa* cultivadas na presença de NiSO_4 e Extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocarcoriaceum* (EHFCC) em diferentes concentrações. Médias representadas por letras diferentes, diferem significativamente entre si, de acordo com o teste de ANOVA de dois fatores e teste de Tukey ($p < 0,05$)



O IT e o vigor se correlacionam positivamente ao comprimento radicular, com um aumento na tolerância e no vigor das plântulas nas mesmas concentrações as quais constatou-se um efeito modificador da toxicidade, quando comparada a seus respectivos controles (tabela 4), ainda sim, o EHFCC não modificou a toxicidade do NiSO_4 a ponto de igualar aos mesmos parâmetros das plântulas cultivadas apenas na ausência de ambos.

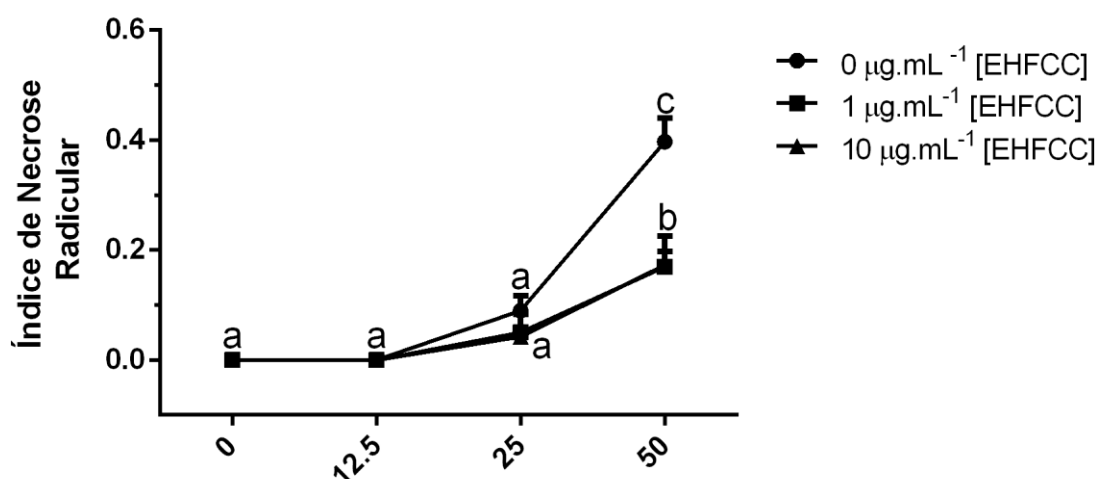
Tabela 5: Características germinação e desenvolvimento inicial *Lactuca sativa* L. germinadas na presença de diferentes concentrações de extrato hidroetanólicos das folhas de *Caryocarpicaceum* (EHFCC) combinadas com NiSO₄, grupos representados por letras diferentes na mesma coluna, diferem significativamente, de acordo com teste de ANOVA de dois fatores e teste de Tukey (p<0,05)

[EHFCC]] µg.mL ⁻¹	[NiSO ₄]] µg.mL ⁻¹	Germina ção (%)	IVG	Radícu la (cm)	Hipocóti lo (cm)	INR	IT	Vigor
0	0	97 ± 1,9 a	0,87 ± 0,03 a	5,87 ± 0,21 a	0,37 ± 0,00 a	0 ± 0 a	0,99 ± 0,01a	142,41 ± 12,55a
1	0	94 ± 2,58 a	0,86 ± 0,01 a	6,75 ± 0,34 a	0,36 ± 0,00 a	0 ± 0 a	1 ± 0 a	141,05 ± 15,63a
10	0	98 ± 1,15 a	0,88 ± 0,01 a	5,99 ± 0,19 a	0,38 ± 0,00 a	0 ± 0 a	1 ± 0 a	165,75 ± 20,67a
0	12.5	100 ± 0 a	0,94 ± 0,01 a	5,44 ± 0,24 a	0,33 ± 0,01 a	0 ± 0 a	0,96 ± 0,03a	87,03 ± 9,17c
1	12.5	98 ± 1,15 a	0,87 ± 0,01 a	5,72 ± 0,26 a	0,35 ± 0,01 a	0 ± 0 a	0,98 ± 0,04a	140,09 ± 12,43a
10	12.5	98 ± 1,15 a	0,93 ± 0,01 a	5,65 ± 0,19 a	0,34 ± 0,00 a	0 ± 0 a	0,98 ± 0,03a	137,10 ± 9,26a
0	25	99 ± 1 a	0,87 ± 0,04 a	3,51 ± 0,17b	0,39 ± 0,02b	0,09 ± 0,01 b	0,77 ± 0,04c	87,03 ± 9,17c
1	25	99 ± 1 a	0,89 ± 0,02 a	3,87 ± 0,15b	0,35 ± 0,01 a	0,04 ± 0,02 a	0,81 ± 0,03c, d	95,93 ± 7,73a, c
10	25	98 ± 2 a	0,86 ± 0,05 a	4,22 ± 0,28c	0,32 ± 0,00 a	0,05 ± 0,01 a	0,85 ± 0,05d	104,74 ± 15,40d
0	50	100 ± 0 a	0,86 ± 0,02 a	1,12 ± 0,08d	0,40 ± 0,01b	0,39 ± 0,02 c	0,27 ± 0,06e	27,70 ± 3,63e
1	50	97 ± 1 a	0,91 ± 0,03 a	1,17 ± 0,06d	0,33 ± 0,00 a	0,17 ± 0,02 b	0,29 ± 0,05e	28,65 ± 3,11e

10	50	98 ± 1,15 a	0,84 ± 0,02 a	2,20 ± 0,22e	0,36 ± 0,00 a	0,17 ± 0,01 b	0,56 ± 0,08f	54,04 ± 11,32f
----	----	----------------	------------------	-----------------	------------------	------------------------	-----------------	----------------------

O indicador INR também apontou uma diminuição atenuação da toxicidade, nas plântulas tratadas com ambas concentrações de EHFCC e 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4 , em ambos os casos, houve uma diminuição do valor do INR de 0,39 (grupo 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de NiSO_4) para um valor de 0,17 (1 e 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de EHFCC) (figura 8).

Figura 8: Índice de Necrose Radicular das plântulas de *Lactuca sativa* cultivadas na presença de diferentes concentrações de NiSO_4 e extrato hidroetanólico das folhas de *Caryocarcoriaceum* (EHFCC), dados expressos em média $\pm$ erro padrão. Médias representadas por letras diferentes, diferem significativamente de acordo com o teste de ANOVA de dois fatores e teste de Tukey ($p < 0,05$)



A capacidade dos componentes do EHFCC formar complexos com metais os apontam como os prováveis responsáveis pelo efeito protetor observado, impedindo que o Ni interaja com outras biomoléculas, podendo esta complexação ocorrer *in situ* ou *in vivo*. No caso do primeiro evento ocorrer, a absorção de Ni seria reduzida, ao passo que no segundo caso, a absorção ocorreria de forma regular, ainda sim, nos dois casos o Ni se tornaria indisponível para interação com outras moléculas, logo alguns sistemas não seriam fortemente danificados.

Ao investigar a ação do extrato das cascas de *Terminalia arjuna* sobre a toxicidade induzida pelo NiSO_4 em arroz, Rajpoot et al. (2015) concluíram que o mecanismo de proteção do extrato consiste na diminuição da absorção de Ni, e que os responsáveis por este efeito são os compostos fenólicos presentes no extrato, devido suas propriedades quelantes. O mesmo foi concluído por Leite et al. (2017), através de ensaios combinados entre HgCl_2 e extrato de

Psidiumbrownianum, onde também observaram uma redução do efeito toxico induzido pelo metal pesado, e concluíram que este efeito está associado ao potencial quelante ou antioxidante dos metabólitos secundários de *Psidiumbrownianum*.

Outra possível explicação é que, as moléculas do EHFCC podem atuar na captação de EROs (PROCHAZKOVA et al., 2011), que se tornam persistentes em organismos sob estresse. Neste caso, os metabólitos do EHFCC interagem com estas moléculas evitando o dano causado apenas pelos EROs, ao passo que o Ni ainda assim, interagiria com as demais biomoléculas. Logo, a presença do EHFCC contém apenas alguns dos danos induzidos pelo Ni, sem que ocorra complexação entre do EHFCC e o Ni. Ou até mesmo uma associação dos dois efeitos (atividade quelante do metal e antioxidante ao mesmo tempo).

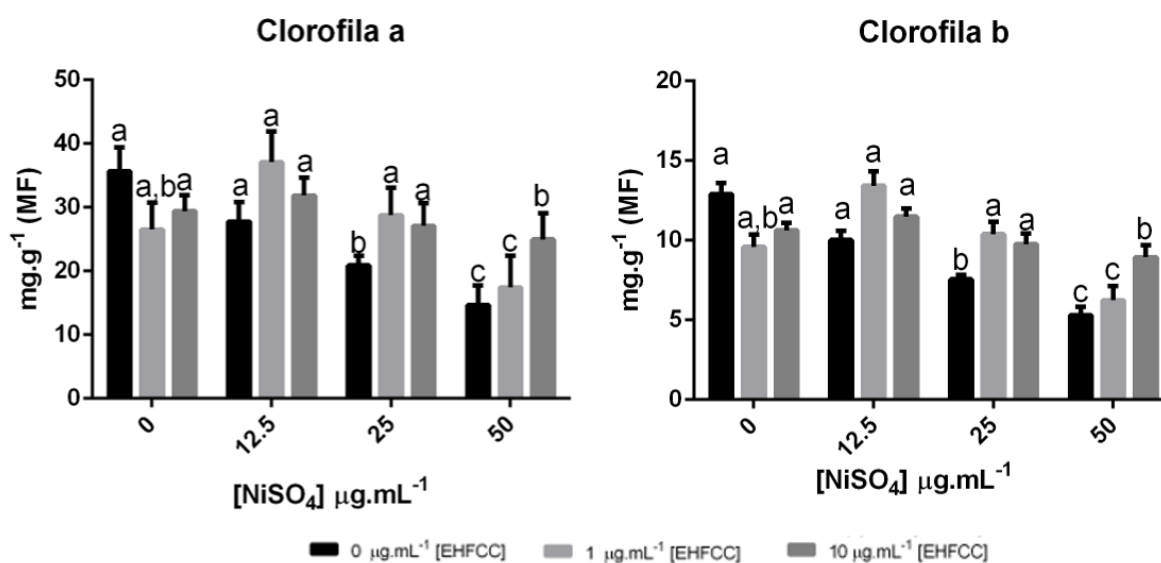
Uma terceira explicação, seria a interação entre os compostos do EHFCC diretamente com mecanismos fisiológicos das plântulas, induzindo uma resposta positiva na síntese de defensivos que não são autotóxicos, mas que surtem efeito na atenuação da toxicidade induzida pelo Ni. Como também, o simples fato da presença do extrato do EHFCC *in situ* diminuir a absorção de Ni, por meio de interação alelopática (BALKE, 1985). Em um nível ecológico, alguns metabolitos secundários podem atuar como aleloquímicos, afetando o desenvolvimento de outras plantas, a ponto de inibir ou favorecer seu desenvolvimento, no caso de ácidos fenólicos e flavonoides, podem estimular ou inibir a absorção de nutrientes (CESCO et al., 2012), e interagir com hormônios de outras plantas (TAYLOR; GROTEWOLD, 2005).

As concentrações de pigmentos fotossintetizantes nas plântulas do grupo controle foi de 35,6 mg.g⁻¹ de MF para clorofila a, enquanto que a clorofila b esteve presente na concentração média de 12,91 mg.g⁻¹ de massa fresca. A concentração de clorofila a e b, presentes nas plântulas cultivadas na presença de ambas concentrações de EHFCC, bem como de 12,5 µg.mL⁻¹ de NiSO₄ não diferiram do controle.

Da mesma forma que nos indicativos de toxicidade discutidos anteriormente, as plântulas cultivadas na presença de 25 e 50 µg.mL⁻¹ de NiSO₄ apresentaram concentrações inferiores ao controle, mas quando cultivadas na presença de EHFCC e NiSO₄ as concentrações de clorofila aumentaram. No caso das plântulas cultivadas na presença de 25 µg.mL⁻¹ de NiSO₄ e EHFCC, as duas concentrações deste último foram capazes de atenuar a toxicidade do NiSO₄, a ponto de apresentar concentrações das clorofilas em níveis semelhantes aos grupos controles (negativos para NiSO₄), enquanto que na combinação de 50 µg.mL⁻¹ de NiSO₄, apenas a

concentração de $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de EHFCC foi capaz de atenuar a toxicidade induzida pelo NiSO_4 sobre a clorofila, porém essa concentração não foi semelhante as concentrações dos controles negativos ao NiSO_4 , não havendo uma proteção de 100% nesse sistema.

Figura 9: Concentrações de clorofila a e b, expressas em média $\pm$ erro padrão, em mg.g^{-1} de massa fresca (MF) de plântulas de *Lactuca sativa*, cultivadas na presença de diferentes concentrações de NiSO_4 e Extrato hidroetanolico das folhas de *Caryocarcoriaceum* (EHFCC), médias representadas por letras diferentes, diferem de forma significativa de acordo com o teste de ANOVA de dois fatores e teste de Tukey ($p < 0,0,5$)



A clorose é um indicador fortemente associado à toxicidade induzida por metais pesados, incluindo o Ni (PANDEY; SHARMA, 2002), sendo essa clorose atribuída a distúrbios na síntese de clorofila (STORBAT et al., 1985). Visto que, a clorofila é uma molécula sintetizada a partir da enzima delta aminolevulinatodesidratase, que possui como grupo prostético, em plantas, o Mg^{2+} , este íon metálico pode ser substituído por outros metais pesados (MORSCH et al., 2002; ROCHA et al., 2012), o que acarreta em uma diminuição da atividade enzimática e consequente decréscimo na concentração de clorofila, como constatado por Gupta et al. (2009) e por Parlak (2016).

O perfil espectroscópico no infravermelho revelou picos, associados a grupos funcionais típicos de biomoléculas estruturais do tecido vegetal das folhas provenientes do metabolismo primário, como carboidratos e glicosídeos (amido, celulose, hemicelulose, pectina), ácidos nucleicos, fosfolipídios de membrana e proteínas (tabela 5), promovendo um panorama da influência do EHFCC e do NiSO_4 sobre o metabolismo primário destas plantas.

Nas folhas tratadas com NiSO_4 e com EHFCC, isolados, constatou-se um aumento na absorbância de grupos funcionais (tabela 4), associados a moléculas do metabolismo primário (figura 10 e 11, tabela 5).

Tabela 6: Número de onda (cm^{-1}) obtido e registrado na literatura e grupo funcional correspondente, de acordo com análises espectroscópicas na região do infravermelho médio

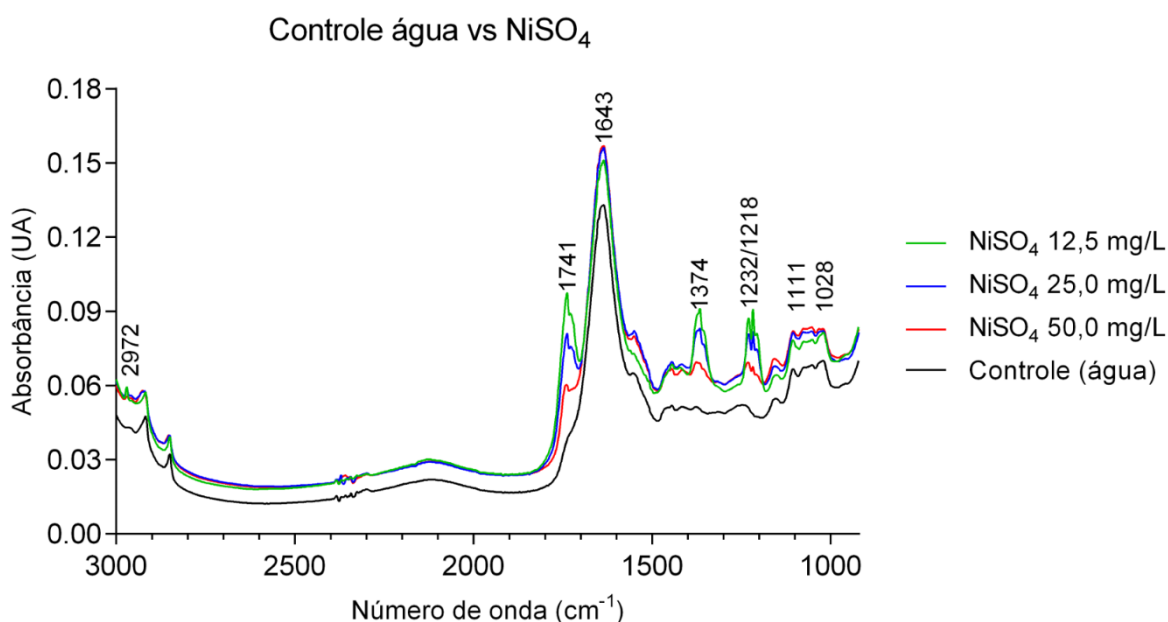
Número de Onda (cm^{-1})	Número de onda (cm^{-1})	Tipo de ligação	Grupo funcional/Classe Molecular	Referência
1025	1025	- CH_2OH típica de carboidratos;	Carboidratos (glicose, frutose, glicogênio);	Khanmohammadi; Garmarudi (2011); Mordechai et al. (2001); Huleihel et al. (2002)
	1050 – 1200	C - O	Relacionado a Álcoois primários ou secundários	Coates (2000)
	1020 – 1050	C – O	Glicogênio	Wood et al. (1996, 1998)
1111	1107-1110	$\text{n}(\text{C}-\text{O})$ e $\text{n}(\text{C}-\text{C})$	Anéis de polissacarídeos (pectina, celulose)	Wong et al. (1991); Shetty et al. (2006)

1217	1217	PO_2^-	Fosfato	Choo et al. (1995); Dovbeshko et al. (1997)
1224-1225	1224	PO_2^-	Ligação simétrica do grupo fosfato em fosfolipídeos	Fabian et al. (1995)
	1240	$n(\text{PO}_2^-)$	Fosfolipídeos de membrana	Fuijoka et al. (2004)
1240	1240 -1265	C – N	Ligação presentes em α -hélice de proteínas (Amido III)	Yang et al. (2005); Stone et al. (2004)
1374	1373	C – N	Base nitrogenadas: citosina e guanina	Dobveskho et al. (1997)
1643	1643	C = O	Amide I, relacionado a bandas protéicas	Huleihel et al. (2002)
1741	1740-1745	C = O	Ester associado a fosfolipídeos, triglicerídios	Fabian et al. (1995); Andrus et al. (1998); Wu et al. (2001)
2970	2970	$n(\text{CH}_3)$	Lipídeos, ácidos graxos	Shetty et al. (2006)

Na figura 10 as bandas correspondentes a grupos funcionais encontrados em fosfolipídios (número de onda 1741 cm^{-1}), carboidratos da parede celular (número de onda 1111 cm^{-1}), e proteínas, (número de onda 1643 cm^{-1}), apresentam maior intensidade nos grupos de plântulas tratados com NiSO_4 na concentração de $12,5\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$, quando comparado com as plântulas tratadas apenas com água destilada (grupo que conta apenas com a reserva da semente).

No entanto, quando observamos as mesmas bandas analisadas nas concentrações de NiSO_4 $25\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ e $50\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ (com toxicidade significativa comparada ao grupo NiSO_4 $12,5\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ a partir dos dados morfométricos, INR e de teor de clorofilas), é perceptível que estas bandas possuem menor intensidade, o que indica que uma maior concentração de Ni está desencadeando os efeitos tóxicos descritos pela literatura, como aumento do estresse oxidativo (MAHESHWARI; DUBEY, 2009; GAJEWSKA; SKLODOWSKA, 2007), e/ou interferindo na biossíntese de fosfolipídios, carboidratos da parede celular e proteínas das células da folha (SEREGIN; KOZHEVNIKOVA, 2006), mesmo com a presença de sulfato.

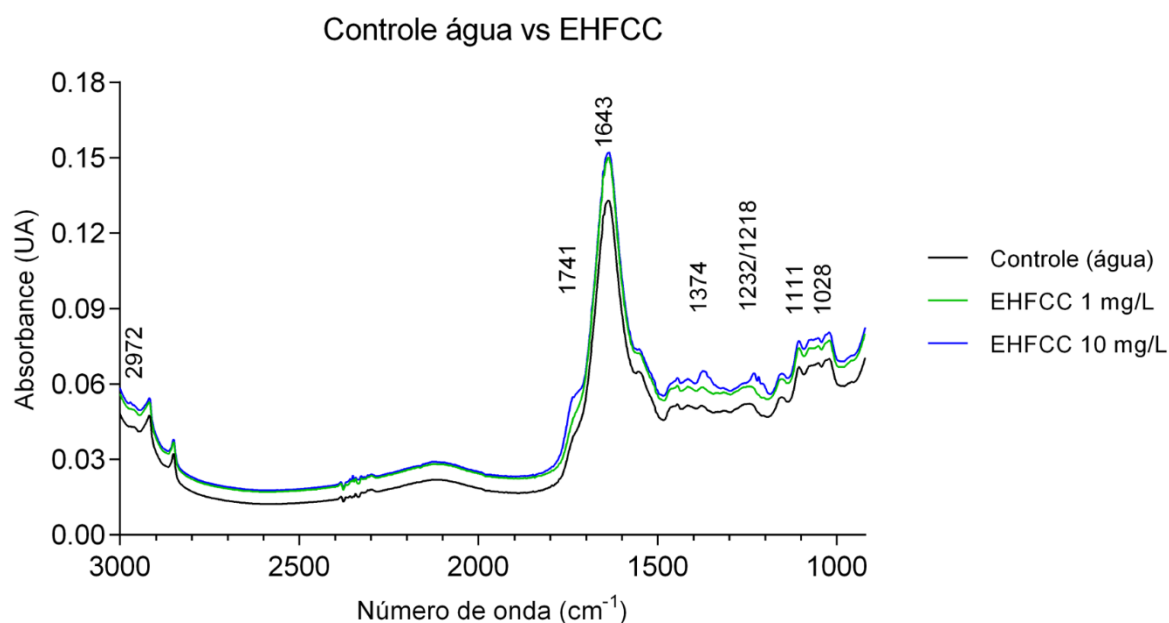
Figura 10: Perfil espectroscópico no infravermelho médio das folhas das plântulas cultivadas na presença de NiSO_4



Já na presença apenas do EHFCC, há um discreto aumento de intensidade nas bandas correspondentes a grupos funcionais encontrados em fosfolipídios, carboidratos da parede, ácidos nucleicos (nº de onda 1374 cm^{-1}) e proteínas da folha. Isso se explica porque todos os extratos de plantas, por sua origem e pela afinidade com os solventes utilizados, podem

apresentar íons sulfato, nitrato e fosfato em sua composição (CATALDI, 2003). O íon sulfato presente no extrato poderia ativar as vias metabólicas já comentadas de forma discreta, e por não haver componentes que induzem fitotoxicidade, como o Ni, ambos os grupos tratados com EHFCC apresentam valores de absorbância muito próximos.

Figura 11: Perfil espectroscópico no infravermelho médio das folhas das plântulas cultivadas na presença do extrato hidroetanólico de *Caryocar coriaceum* (EHFCC)



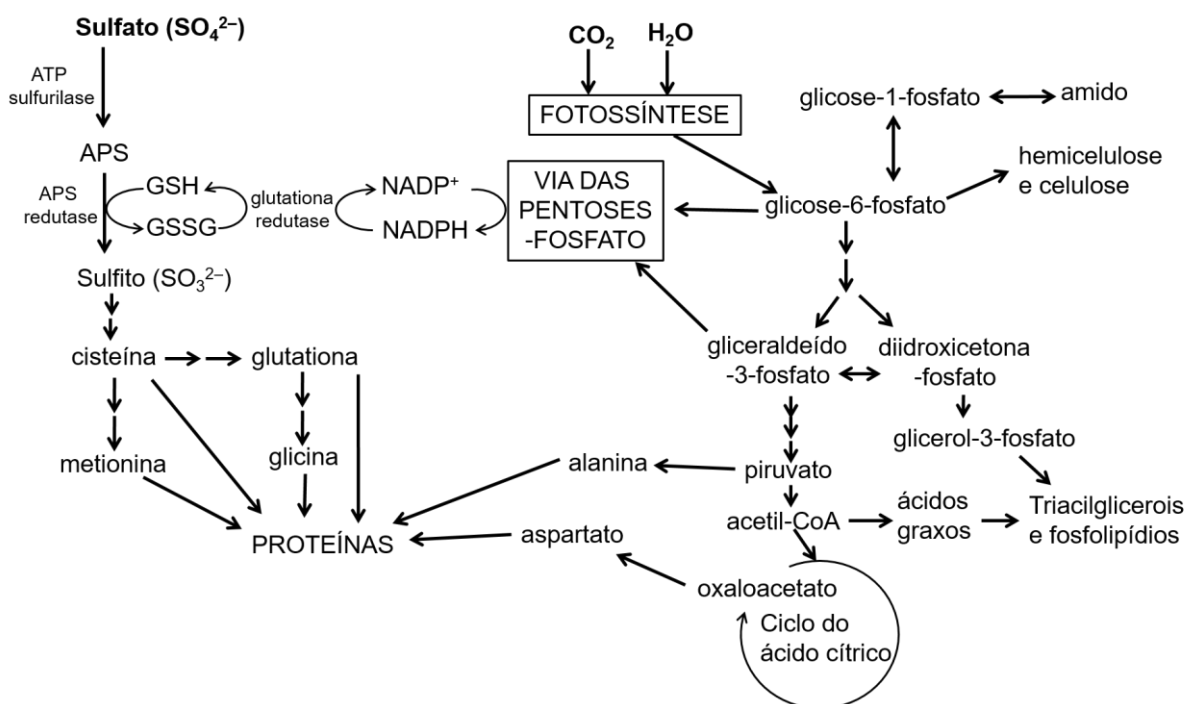
O fato do controle negativo, para presença de NiSO_4 e EHFCC, possuir picos de absorbância menos intensos, possivelmente se deve ao fato de que, as plântulas deste grupo se desenvolvem apenas na presença dos nutrientes de reservas da semente, o que pode induzir déficit de alguns micronutrientes que induzem a ativação de rotas metabólicas específicas.

No grupo tratado com NiSO_4 , as plântulas também são expostas a SO_4^{2-} , que é um ativador de vias metabólicas fundamentais, que consequentemente ativam outras rotas metabólicas, estando direta e indiretamente relacionado a síntese de proteínas, carboidratos e fosfolipídios (figura 12), os mesmos grupos funcionais que apresentam picos de absorbância maiores que o grupo controle, o mesmo vale para o EHFCC, visto que extratos de plantas podem apresentar concentrações de macro e micro nutrientes, que são extraídos do material vegetal durante o processo de obtenção do extrato (CATALDI, 2003).

O SO_4^{2-} é transportado para o meio intracelular por meio de transportadores de sulfato. Em seguida é convertido em adenosina 5'-fosfosulfato (APS), numa reação catalisada pela ATP

sulfurilase. A APS é convertida em sulfito pela enzima APS redutase graças à oxidação da glutathiona reduzida (GSH). A glutathiona é reduzida pela glutathiona redutase, que oxida o NADPH proveniente da via das pentoses-fosfato, que por sua vez consome a glicose-6-fosfato. Para aumentar a concentração de glicose-6-fosfato, o amido de reserva é degradado, podendo ser utilizado para a obtenção de mais glicose-6-fosfato. O sulfito obtido na reação da APS redutase é precursor dos aminoácidos cisteína, metionina, glutathiona e glicina. Na fotossíntese, o CO_2 será convertido em hexoses, e uma vez no citosol, as hexoses são convertidas em glicose-6-fosfato, que seguirá para a via das pentoses-fosfato ou para a glicólise, permitindo a biossíntese de vários compostos abundantes na folha: biossíntese de celulose, hemicelulose, amido, fosfolipídios (a partir dos ácidos graxos produzidos a partir da acetil-CoA e do glicerol-3-fosfato) e aminoácidos, aumentando a síntese proteica (KOPRIVA; RENNENBERG, 2004; DAVIDIAN; KOPRIVA, 2010).

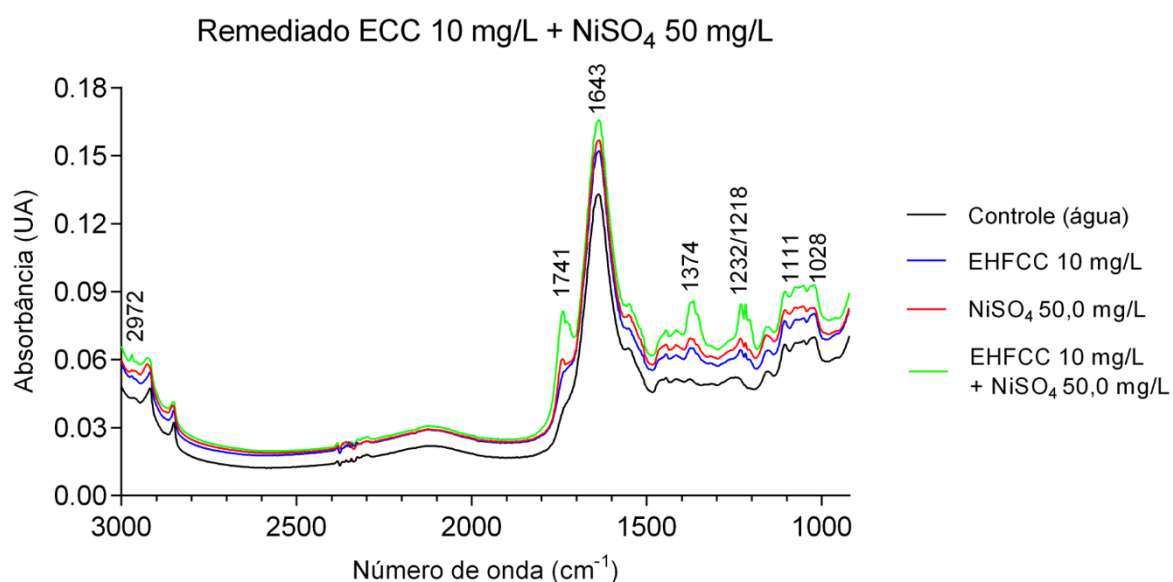
Figura 12: Processos metabólicos associados de forma direta ou indireta ao SO_4^{2-} , com base na literatura de Kopriva e Rennenberg (2004) e Davidian e Kopriva (2010)



Ainda assim, é possível detectar o efeito protetor do EHFCC contra o NiSO_4 ao analisarmos os valores de absorbância entre o grupo remediado (EHFCC + NiSO_4) quando comparado a seus respectivos controles (EHFCC e NiSO_4 isolados). As bandas correspondentes a grupos funcionais encontrados em fosfolipídios, carboidratos da parede celular (celulose, hemicelulose e pectina) e proteínas apresentam maior intensidade nos grupos de plântulas tratados com

EHFCC e NiSO_4 , quando comparado com as plântulas tratadas apenas com NiSO_4 . Isso acontece porque, possivelmente, os compostos fenólicos do pequi diminuem a entrada de níquel na planta, permitindo somente a entrada de sulfato, com consequente aumento da biossíntese dos compostos abundantes na folha e redução do estresse oxidativo. Nos grupos tratados somente com NiSO_4 , a proporção de $\text{Ni}^{2+}:\text{SO}_4^{2-}$ disponível para as plântulas é de 1:1. Já com o EHFCC, essa proporção é alterada, com um óbvio aumento da disponibilidade de sulfato e diminuição da disponibilidade de níquel.

Figura 13: Perfil espectroscópico no infravermelho médio das folhas das plântulas cultivadas na presença de NiSO_4 e extrato hidroetanólico de *Caryocar coriaceum* (EHFCC)



Logo, a presença do EHFCC atenua a fitotoxicidade induzida pelo NiSO_4 , por meios ainda não tão bem esclarecidos, seja por meio da mobilização do Ni, impedindo-o de ser absorvido pela planta. Atuando como antioxidantes, sequestrando as EROs que são formadas em maiores concentrações, ou apenas diminuindo a absorção de Ni, através de um mecanismo que agiria como um aleloquímico negativo, mas que atua como um regulador de absorção de nutrientes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentro do modelo experimental proposto, pode-se constatar que o EHFCC, constituído majoritariamente por ácidos fenólicos e flavonoides, induz efeito tóxicos apenas nas concentrações superiores a $1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. O mesmo não foi observado para o NiSO_4 , que passa a apresentar efeitos deletérios nas plântulas a partir da concentração de $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo esta uma concentração bem próxima ao CI_{50} .

Por outro lado, observamos que ao cultivar plântulas na presença de concentrações seguras do EHFCC e concentrações tóxicas do NiSO_4 , ocorre uma atenuação dos efeitos tóxicos do NiSO_4 , promovendo um aumento no crescimento radicular, vigor, tolerância, e diminuição do INR das plântulas, conferindo assim uma maior chance de sobrevivência destas, o mesmo vale para as concentrações de clorofila e para os grupos funcionais relacionados ao metabolismo primário das plantas (carboidratos, fosfolipídios e proteínas).

Embora o mecanismo de proteção do EHFCC não esteja esclarecido, há relatos na literatura que apontam para o potencial quelante das moléculas presentes no extrato, porém, não podemos descartar a ideia de que um efeito alelopático seja o responsável pelo efeito atenuante da toxicidade induzida pelo NiSO_4 , não havendo uma complexação, mas alterações na taxa de absorção do Ni. Ainda sim, o EHFCC pode vir a se tornar um promissor aliado na remediação química de metais pesados em áreas que apresentaram elevadas concentrações de Ni.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a CAPES e a FACEPE pela concessão de bolsas, ao Grupo de Instrumentação e Análise Química (GIAQ/UAST/UFRPE), Ao NUQAAPE/FACEPE e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, ambos da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Relationship between decarboxylation of glutamic acid and vigour in soybean seeds. **Crop science**. v. 13. 1973. p. 222-226.
- ANDRUS, P.G.L.; STRICKLAND, R.D. Cancer grading by Fourier transform infrared spectroscopy. **Biospectroscopy**, v. 4. 1998. p. 37-46.
- ARARUNA, M.K.A. *et al.* Phenolic composition and in vitro activity of the Brazilian fruit tree *Caryocar coriaceum* Wittm. **European Journal of Integrative Medicine**. v. 5. 2013. p. 178-183.
- ASSUNÇÃO, A.G.L. *et al.* Elevated expression of metal transporter genes in three accessions of the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. **Plant, Cell & Environment**. v. 24. 2001. p. 217-226.
- BAL, W.; SCHWERDTLE, T.; HARTWIG, A. Mechanism of nickel assault on the zinc finger of DNA repair protein XPA. **Chemical research in toxicology**. v. 16. 2003. p. 242-248.

- BALKE, N.E. Effects of Allelochemicals on Mineral Uptake and Associated Physiological Processes. In: **The chemistry of Allelopathy**. ACS Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 1985. p. 161-178.
- CATALDO, D. A. *et al.* Nickel in Plants. **Plant Physiology**. v. 62. 1978. p.566–570.
- CATALDI, T.R.I.; *et al.* Ionic content in plant extracts determined by ion chromatography with conductivity detection. **Phytochemical Analysis**. v. 14. 2003. p. 176-183.
- CEMPEL, M.; NIKEL, G. Nickel: A review of its sources and environmental toxicology. **Polish journal of environmental studies**. v. 15. n. 3. 2006. p. 375-382.
- CESCO, S. *et al.* Plant-borne flavonoids released into the rhizosphere: impact on soil bio-activities related to plant nutrition. A review. **Biology and fertility of soils**. v. 28. P. 123-149. 2012.
- CHEN, C., HUANG, D., LIU, J. Functions and toxicity of nickel in plants: Recent advances and future prospects. **Clean - Soil, Air, Water**.v. 37. 2009. p.304–313.
- CHOO, L.P. *et al.* Infrared spectra of human central nervous system tissue: Diagnosis of alzheimer's disease by multivariate analyses. **Biospectroscopy**. v. 1. 1995. p. 141–148.
- COATES, J. **Interpretation of infrared spectra, a practical approach**. Encyclopedia of analytical chemistry. 2000.
- DAVIDIAN, J. KOPRIVA, S. Regulation of the Sulfate Uptake and Assimilation – The Same or Not the Same?.**Molecular Plant**. v. 3. 2010. p. 314-325.
- DIXON, N.E. *et al.* Jack Bean urease (EC 3.5.1.5.) A metalloenzyme. A simple biological role for nickel. **Journal of the American Chemical Society**. v. 97. 1975. p. 4131-4133.
- DOVBESHKO, G.I. *et al.* FTIR spectroscopy studies of nucleic acid damage. **Talanta**.v. 53. 1997. p. 233–246.
- EBRAHIMZADEH, M.A.; POURMORAD, F.; BEKHRADNIA, A.R. Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. **African Journal of Biotechnolgy**. v. 7. 2008. p.3188–3192.
- FABIAN, H. *et al.* A comparative infrared spectroscopic study of human breast tumors and breast tumor cell xenografts. **Biospectroscopy**. v. 1.1995. p. 37–45.
- FUJIOKA, N.; MORIMOTO, Y.; ARAI, T.; KIKUCHI, M. Discrimination between normal and malignant human gastric tissues by Fourier transform infrared spectroscopy. **Cancer Detection & Prevention**. v. 28. 2004.p. 32–36.
- GAJWASKA, E.; SKLODOWSKA, M. Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. **Biometals**. v. 20. 2007. p. 27-36.
- GUPTA, D.K. *et al.*. Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. **Journal of Hazardous Material**. v. 172. 2009. p. 479-484.

HULEIHEL, M. *et al.* Novel optical method for study of viral carcinogenesis in vitro. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**.v. 50. 2002. p. 111–121.

HUYUT, Z.; BEYDEMIR, S.; GULÇIN, I. Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. **Biochemistry Research Internatonal**. v. 2017. 2017. 10 p.

JING, R.; KJELLERUP, B. V. Biogeochemical cycling of metals impacting by microbial mobilization and immobilization. **Journal of Environmental Sciences**. v. 66. 2016. p. 146–154.

KHANMOHAMMADI, M.; GARMARUDI, A. B. Infrared spectroscopy provides a green analytical chemistry tool for direct diagnosis of cancer. **TrAC Trends Analytical Chem**. v. 30. 2011. p. 864– 874.

KOPRIVA, S.; RENNENBERG, H. Control of sulfate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism. **Journal of experimental botany**. v. 55. 2004. p. 1831–1842.

KOPRIVA, S.; RENNENBERG, H. Control of sulphate assimilation and glutathione synthesis: interaction with N and C metabolism. **Journal of experimental botany**. v. 55. 2004. p. 1831–1842.

LLAMAS, A., ULLRICH, C.I., SANZ, A. Ni²⁺toxicity in rice: Effect on membrane functionality and plant water content. **Plant Physiology Biochemistry**. v. 46. 2008. p. 905–910.

LEITE, N.F. *et al.*. Reduction of the toxic effect of mercurium chloride by chelating effect of *Psidium brownianum* Mart. ex DC. **International biodeterioration & biodegradation**. v. 119. 2017. p. 538–541.

LYU, J. *et al.*. Testing the toxicity of metals, phenol, effluents, and receiving water by root enlogation in *Lcatuca sativa* L. **Ecotoxicology and Enviromental Safety**. v. 149. 2018. p. 225–232.

MAGALHAES, M.O.L.; AMARAL SOBRINHO, N.M.B.; MAZUR, N. Uso de resíduos industriais na remediação de solo contaminado com cádmio e zinco. **CiênciasFlorestal**. v. 21. 2011. p. 219–227.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop science**, v. 2. 1962. p. 176–177.

MAHESHWARI, R.; DUBEY, R. Inhibition of ribonuclease and protease activities in germinating rice seeds exposed to nickel. **Acta Physiologiae Plantarum**. v. 30. 2008. p. 863–872.

MEDEIROS, H.; AMORIM, A.M.A. **Caryocaraceae in lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânica do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB16719>> Acesso em: 13 de dezembro de 2018.

MICHALAK, A. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. **Plant Cell**, v. 15, n. 4, p. 523–530, 2006.

MLADENKA, P. *et al.* In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 105. 2011. p. 693–701.

MORDECHAI, S. *et al.* Application of FTIR microspectroscopy for the follow-up of childhood leukaemia chemotherapy. **Proceedings of SPIE Subsurface and Surface Sensing Technologies and Applications III**. v. 4491. 2001. p. 243–250.

MORSCH, V.M. *et al.* Effects of Cadmium, Lead, Mercury and Zinc on δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase Activity from Radish Leaves. **Biologia plantarum**. v. 45. 2002. p. 85–89.

NICKEL INSTITUTE. HOW NICKEL IS PRODUCED. 2006. Disponivel em: www.nickelinstitute.org.

PANDEY, N.; SHARMA, C.P. Effect of heavy metal Co^{2+} , Ni^{2+} and Cd^{2+} on growth and metabolism of cabbage. **Plant science**. n. 163. 2002. p. 753–758.

PARLAK, K.U. Effect of nickel on growth and biochemical characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. **NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences**. v. 76. 2016. p. 1–5.

PIECHALAK, A. *et al.* Accumulation and detoxification of lead ions in legumes. **Phytochemistry**, v. 60, n. 2, p. 153–162, 2002.

PROCHAZKOVA, D.; BOUSOVA, I.; WILHELMOVA, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**. v. 82. 2011. p. 513–523.

RAJPOOT, R. *et al.* *Terminalia arjuna* bark extract alleviates nickel toxicity by supressing its uptake and modulating antioxidative defence in rice seedlings. **Protoplasma**. v. 253. 2015. p. 1449–1462.

ROCHA, J.B. *et al.* Aminolevulinatase dehydratase (δ -ALA-D) as marker protein of intoxication with metals and other pro-oxidant situations. **Toxicology Research**. v. 1. 2012. p. 85–102.

SACHAN, P.; LAL, N. An Overview of Nickel (Ni^{2+}) Essentiality, Toxicity and Tolerance Strategies in Plants. **Asian Journal of Biology**. v. 2. 2017. p. 1–15.

SEREGIN, I. V.; KOZHEVNIKOVA, A. D. Physiological role of nickel and its toxics effects on higher plants. **Russian Journal of Plant Physiology**. v. 53. 2006. p. 257–277.

SHAHID, M. *et al.* Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 36–58, 2017.

SHETTY, G. *et al.* Raman spectroscopy: evaluation of biochemical changes in carcinogenesis of oesophagus. **British Journal of Cancer**. v. 94. 2006. p. 1460–1464.

SILVA, P.; MATOS, M. Assessment of the impact of Aluminum on germination, early growth and free proline content in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 131, p. 151–156, 2016.

SINGH, B.; DANG, Y.P.; MEHTA, S.C. Influence of nitrogen on the behavior of nickel in wheat. **Plant and soil**. v. 127. 1990. p. 213–218.

STINGU, A. *et al.* New approaches concerning the utilization of natural amendments in cadmium phytoremediation. **Industrial Crops and Products**. n. 35. 2012. p. 53-60.

STONE, N. *et al.* Raman spectroscopy for identification of epithelial cancers. **Faraday Discussions**. v. 126. 2004. p. 141–157.

STORBAT, A.K. *et al.* The effect of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. **Physiologia Plantarum** v. 85. 1985. p. 293-298.

TAVARES, S. R. L. Técnicas de Remediação. In: TAVARES, S. R. de L. **Remediação de solos e águas contaminadas por metais pesados: conceitos básicos e fundamentos**. Joinville: Clube de Autores, 2013. cap. 2, p. 61-90

TAYLOR, L.P.; GROTEWOLD, E. Flavonoids as developmental regulators. **Current opinion in Plant Biology**. v. 8. 2005. P.317-323.

TURNER, R.C.; MARSHAL, C. Accumulation of Zinc by sub-cellular fraction of root of *Agrotis tennis* Sibith in relation to Zinc tolerance. **New phytologist**. v. 71. 1972. p. 671-676.

YANG, Y. *et al.* Study of tumor cell invasion by Fourier transform infrared microspectroscopy. **Biopolymers**. v. 78. 2005. p. 311–317.

WANG, T.; JONSDOTTIR, R.; OLAFSDOTTIR, G. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. **Food Chemistry**. v. 116. 2009. p. 240–248.

WONG, P.T.T.; PAPAVASSILIOU, E.D.; RIGAS, B. Phosphodiester stretching bands in the infrared spectra of human tissues and cultured cells. **Appl. Spectros.** v. 45. 1991. v. 1563-1567.

WOOD, B.R. *et al.* vAn investigation into FT-IR spectroscopy as a bio-diagnostic tool for cervical cancer. **Biospectroscopy**. v.2. 1996. p. 143–153.

WOOD, B.R. *et al.* FTIR microspectroscopic study of cell types and potential confounding variables in screening for cervical malignancies. **Biospectroscopy**. v.4. 1998. p. 75–91

WU, J.G. *et al.* Distinguishing malignant from normal oral tissues using FTIR fiber-optic techniques. **Biopolymer (Biospectroscopy)**, v. 62. 2001. p. 185–192.

Eu, Paulo Henrique Oliveira de Miranda, autor da dissertação intitulada **“EFEITO PROTETOR DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Caryocar coriaceum* Wittm. SOBRE A FITOTOXICIDADE INDUZIDA PELO SULFATO DE NÍQUEL EM *Lactuca sativa* L.”**, vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Unidade Acadêmica de Serra Talhada da Universidade Federal Rural de Pernambuco, declaro que:

- O trabalho de pesquisa apresentada nesta dissertação, exceto onde especificado, representa uma pesquisa original desenvolvida por mim;
- Esta dissertação não contém material escrito ou dados de terceiros, de qualquer fonte bibliográfica, a menos que devidamente citada e referenciada no item “Referências Bibliográficas”.

Serra Talhada, 20 de fevereiro de 2019

Paulo Henrique Oliveira de Miranda