



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR
MESTRADO ACADÊMICO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR

AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOPROTETOR EM MODELO VEGETAL DE
Stryphnodendron rotundifolium Mart. **CONTRA METAIS PESADOS**

GIOCONDA MORAIS DE ANDRADE BEZERRA MARTINS

CRATO – CE

2016

GIOCONDA MORAIS DE ANDRADE BEZERRA MARTINS

AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOPROTETOR EM MODELO VEGETAL DE
Stryphnodendron rotundifolium Mart. **CONTRA METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular (PPBM) da Universidade Regional do Cariri (URCA) como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR (Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais).

Orientador: Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho

GIOCONDA MORAIS DE ANDRADE BEZERRA MARTINS

AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOPROTETOR EM MODELO VEGETAL DE
Stryphnodendron rotundifolium Mart. **CONTRA METAIS PESADOS**

Dissertação apresentada e aprovada pela Banca Examinadora junto ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular (PPBM) da Universidade Regional do Cariri (URCA) como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE. Aprovada em 19/02/16.

Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho (**Orientador**)

Departamento de Química Biológica - URCA

Prof (a). Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (**Membro Interno**)

Departamento de Ciências Biológicas – URCA

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa (**Membro Interno**)

Departamento de Química Biológica – URCA

Prof. Dr. Luiz Alberto Ribeiro Mendonça (**Membro Externo**)

Universidade Federal do Cariri - UFCA

CRATO – CE

2016

Dedico ao meu pai amado, Djalma de Andrade Mota (*in memoriam*) por todo amor, zelo e confiança incondicionalmente dedicados a mim durante 28 anos. Minha eterna gratidão, respeito e SAUDADES!!!

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu protetor, fonte de amor e gratidão. Ele que sempre me faz ter a certeza de que está comigo, de que eu não devo temer nada e que me ama como uma verdadeira filha. Sem Ti eu nada sou meu Pai!

À Mainha, Ana Maria, por sempre estar ao meu lado, por lutar incansavelmente para que eu tenha meus sonhos e objetivos alcançados, pelo amor incondicional.

Ao meu Marido, Luiz José, por demonstrar sua admiração por mim todos os dias, por me ajudar em todas as horas e por ser meu melhor amigo e amor.

À minha Filha, Glenda, que dá sentido a minha vida, que me faz acordar diariamente e buscar ser uma pessoa melhor a fim de orgulhá-la e ser exemplo de integridade e honestidade.

Ao meu Orientador, Henrique Douglas Melo Coutinho, que muito mais que um professor sempre se mostrou um amigo. Ele não tem ideia do quão importante é na minha vida, na trajetória que hoje traço e nos sonhos que me proporcionou alcançar.

À Banca pelo aceite ao convite e orientações extremamente oportunas.

À amiga Maria Audilene de Freitas, companheira de laboratório e estudos, pela amizade sincera e ajudas oportunas e extremamente valiosas.

As ICs Ana Raquel, Corrinha e Fábila pela parceria e presteza, estando sempre disponíveis e empenhadas para o bom andamento dos trabalhos.

Às colegas Luciene e Nádgia por se comprometerem e contribuírem de forma decisiva para o desenvolvimento desse estudo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular e todos os seus membros na pessoa do Coordenador Professor Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes.

Aos professores que compõem o corpo docente do referido Programa, pela dedicação e empenho em ofertar e buscar sempre o melhor para seus discentes.

A todos que fazem o Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM): Audilene, Thassya, Judson, Saulo, Ana Raquel, Corrinha, Fábila, Raimundo, Rafael, Thiago e Rosimeire. Em especial à Profa. Ma. Maria Flaviana Bezerra Moraes Braga, pela amizade e disponibilidade sempre presentes durante o decurso do Mestrado. Sou grata a todos pelo companheirismo e troca de conhecimentos, o que nos fez mais do que colegas, e sim, amigos.

Às agências brasileiras fomentadoras de pesquisa FUNCAP, FINEP, CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro de grande importância para o desenvolvimento das pesquisas.

À Universidade Regional do Cariri – URCA.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a finalização deste trabalho.

Meu muito obrigada!!!

"Pois em verdade vos digo que, se tiverdes fé como um grão de mostarda, direis a este monte: Passa daqui para acolá, e ele passará. Nada vos será impossível" (Mt 17.20).

RESUMO

Os metais pesados, compostos químicos tóxicos em determinadas concentrações, podem ser considerados ameaças potenciais para plantas, animais e recursos biológicos de um determinado ecossistema. Dentre eles, o mercúrio e o alumínio, quando envolvidos em processos de bioacumulação, podem ocasionar danos em vários sistemas orgânicos tanto de animais quanto de plantas. Em vegetais, os metais pesados produzem espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais estão envolvidas na ocorrência de má-formações e deficiências no crescimento de radículas e plúmulas de diversas espécies de plantas, fato que justifica o estudo de agentes antioxidantes naturais que possam reverter ou amenizar os efeitos deletérios causados por tais elementos. Nesse sentido, com o presente estudo objetivou-se avaliar o efeito citoprotetor do extrato hidroetanólico de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., espécie popularmente conhecida como "barbatimão", contra os metais pesados mercúrio e alumínio em modelo vegetal, em virtude de seu conhecido potencial antioxidante. Para tanto, realizou-se o teste de citoproteção em sementes de alface da espécie *Lactuca sativa* L. (germinação), a fim de averiguar o potencial do referido extrato quanto à proteção das radículas e dos caulículos desta. Observou-se que o extrato não apresentou efeito alelopático sobre as sementes de alface na concentração de 32 µg/mL e, em combinação com o HgCl₂ e AlCl₃, possibilitou um maior crescimento nas radículas e nos caulículos da *Lactuca sativa* L., se comportando, portanto, como uma alternativa para solucionar o problema da contaminação do solo por metais pesados, evidenciando, dessa forma, seu promissor potencial citoprotetor em espécies vegetais.

Palavras – chave: Metais pesados; Citoproteção; Germinação; Taninos.

ABSTRACT

Heavy metals, chemical elements toxic at certain concentrations, can be considered potential threats to plants, animals and biological resources of a particular ecosystem. Among them, mercury and aluminum, when involved in bioaccumulation processes can cause damage to various organ systems of both animals and plants. In vegetables, heavy metals produce reactive oxygen species (ROS), which are involved in the occurrence of malformations and deficits in the growth of roodets and plumule of several species of plants, which justifies the study of natural antioxidants agents that may come to reverse or ameliorate the deleterious effects caused by these compounds. In this sense, this study aims to evaluate the cytoprotective effect of hydroethanolic extract of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., species popularly known as "barbatimão" against the heavy metals mercury and aluminum in vegetable model, because of its known antioxidant potential. To this end, there was the cytoprotection test in lettuce seeds *Lactuca sativa* L. (germination) in order to ascertain the potential of the said extract on the protection of roots and stem this. It was observed that the extract showed no allelopathic effect on lettuce seeds at a concentration of 32 µg/mL and in combination with HgCl₂ and AlCl₃, it enabled a higher growth in the roodets and stem *Lactuca sativa* L., behaving, therefore, as an alternative to solve the problem with soil contamination by heavy metals, showing thus its promising potential cytoprotective in plant species.

Keywords: Heavy metals; Cytoprotection; Germination; Tannins.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química dos principais derivados fenólicos presentes no Extrato Hidroetanólico de <i>S. rotundifolium</i> – EHSR	16
Figura 2 - Exsicata de <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. depositada junto ao Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima da Universidade Regional do Cariri - URCA	30
Figura 3 - Fluxograma de obtenção do Extrato Hidroetanólico de <i>S. rotundifolium</i> – EHSR	31
Figura 4 - Crescimento de radículas e caulículos de <i>Lactuca sativa</i> com uso de água e de EHSR 32 µg/mL	40
Figura 5 - Crescimento de radículas e caulículos de <i>Lactuca sativa</i> L. em dois tratamentos: um constando de HgCl ₂ nas concentrações de 0,05 mM; 0,1 mM; 0,5 mM e 1,25 mM e outro com as mesmas concentrações de HgCl ₂ acrescidos de EHSR na concentração de 32 µg/mL	41
Figura 6 - Crescimento de radículas e caulículos de <i>Lactuca sativa</i> em dois tratamentos: um constando de AlCl ₃ nas concentrações de 1,25 mM; 2,5 mM; 5,0 mM; 10,0 mM e 20,0 mM e outro com as mesmas concentrações de AlCl ₃ acrescidos de EHSR na concentração de 32 µg/mL	44

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

$^1\text{O}_2$ - Oxigênio singleto

$\text{Al}(\text{OH})_3$ - Hidróxido de alumínio

Al_2O_3 - Óxido de alumínio

Al – Alumínio

Al^{3+} - Cátion alumínio

APX - Ascorbato peroxidase

AsA - Ascorbato

BOD - Biochemical Oxygen Demand - câmara de germinação

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CAT – Catalase

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

DHAR - Dehidroascorbato redutase

DIC - Delineamento Experimental Inteiramente Casualizado

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DPPH - Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre

EHSR - Extrato Hidroetanólico de *Stryphnodendron rotundifolium*

EROs - Espécies Reativas de Oxigênio

FUNCAP - Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico

GPx - Glutathione peroxidase

GR - Glutathione reductase

GST - Glutathione S transferase

H_2O_2 - Peróxido de hidrogênio

HCDAL - Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima

Hg – Mercúrio

Hg^{2+} - Cátion mercúrio

Hg_2Cl_2 – Cloreto de Mercúrio I

HgCl_2 - Cloreto de Mercúrio II

HgS – Sulfeto de Mercúrio II

$\text{HO}_2^\bullet$ - Radical hidroperoxila

IVG - Índice de Velocidade de Germinação

LMBM – Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular

MDHAR - Monodehidroascorbato redutase

MIC - Minimum Inhibitory Concentration

O₂ – Oxigênio molecular

O₂^{•-} - Aniônico superóxido

OH[•] - Radical hidroxila

-SH - Grupos sulfidrila

SOD - Superóxido dismutase

-SS - Pontes dissulfeto

URCA - Universidade Regional do Cariri

UV - Ultravioleta

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	IV
RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	X
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 METAIS PESADOS	18
2.1.1 Alumínio	18
2.1.2 Mercúrio	20
2.2 EFEITOS DOS METAIS PESADOS EM ESPÉCIES VEGETAIS	22
2.2.1 Espécies reativas de oxigênio (EROs) e seus efeitos deletérios em células vegetais	22
2.3 MECANISMOS DE DEFESA VEGETAL AOS METAIS PESADOS	24
2.4 FAMÍLIA FABACEAE E GÊNERO <i>Stryphnodendron</i>	25
2.5 <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> MART.	27
2.6 EFEITO ALELOPÁTICO	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 MATERIAL VEGETAL	30
3.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart – EHSR	31
3.3 TESTE DE ALEOPATIA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart – EHSR SOBRE AS SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i> L.	32
3.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOPROTETOR DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. EM MODELO VEGETAL (<i>LACTUCA SATIVA</i> L.) CONTRA OS METAIS PESADOS CLORETO DE ALUMÍNIO E CLORETO DE MERCÚRIO	32
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	49

REFERÊNCIAS	50
ANEXOS	60

1. INTRODUÇÃO

Os metais pesados, compostos químicos naturalmente encontrados em pequenas concentrações na atmosfera, nos solos, nas águas e no conjunto de seres vivos de uma região (DEMIRAK et al., 2006; LACERDA; MIGUENS, 2011), são frequentemente detectados em concentrações consideradas tóxicas em vários tipos de efluentes resultantes da atividade humana, incluindo os de origem industrial, urbana e agropecuária, sendo que, mesmo sob condições de baixo desenvolvimento industrial, podem ser considerados ameaças potenciais para plantas, animais e recursos biológicos de um determinado ecossistema (LACERDA; MIGUENS, 2011).

Dentre os metais pesados presentes na superfície terrestre, considerados perigosos poluentes ambientais, destacam-se o mercúrio (Hg) e o alumínio (Al), os quais, de acordo com Tinôco et al. (2010), podem ser depositados no solo e em ambientes aquáticos, de tal modo que no solo ficarão retidos por mais tempo, o que resultará em seu acúmulo, podendo acarretar ainda seu lançamento nas águas, através do escoamento superficial e erosão.

O mercúrio está associado a diversos tipos de lesões em seres humanos em virtude de sua elevada toxicidade. Quando inalado, é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e do trato respiratório superior. Se absorvido através da pele, pode causar queimaduras e, caso seja ingerido, pode ser fatal, atingindo principalmente rins, nervos e trato gastrointestinal (MERCK MILLIPORE, 2012). No que diz respeito à contaminação ambiental, o cloreto de mercúrio, principal representante de compostos de mercúrio (PATRICK, 2002), é considerado muito tóxico para os organismos, podendo causar efeitos negativos em longo prazo, em virtude de sua elevada bioacumulação (MERCK MILLIPORE, 2012).

Em relação ao alumínio, no que diz respeito à toxicidade causada em plantas em virtude de sua acumulação, Veloso et al. (2000) destacam ser esta muito frequente em solos brasileiros e, na maioria das vezes, está associada aos solos lixiviados, com baixa fertilidade e de elevada acidez, cujo efeito nocivo limita o crescimento da maioria dessas plantas. “Das espécies de alumínio, a forma Al^{3+} é comprovadamente tóxica e o sintoma inicial, e mais nocivo de sua toxicidade, é a inibição do crescimento da raiz” (ECHART; CAVALLI-MOLINA, 2001).

Fato comum observado em solos com elevados níveis de Hg e Al diz respeito à redução da taxa de crescimento radicular de plantas sensíveis, afetando o alongamento e a

divisão celular. Tal restrição diminui a capacidade da planta em obter água e nutrientes do subsolo, devido ao enraizamento superficial, fazendo com que a planta torne-se, portanto, menos produtiva e mais susceptível à seca (FERREIRA; MOREIRA; RASSINI, 2006).

Segundo Benassi (2004), os metais pesados possuem a capacidade de produzir espécies reativas de oxigênio (EROs) e, quando essas espécies são formadas intracelularmente, elas podem induzir à peroxidação lipídica, dano ao DNA, depleção de grupamentos tióis, alteração das vias de transdução de sinais e a homeostase do cálcio.

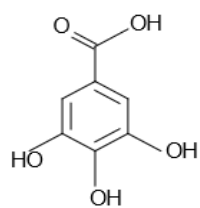
Essas EROs estão envolvidas na ocorrência de má-formações e deficiências no crescimento de radículas e plúmulas de diversas espécies de plantas, fato que justifica o estudo de agentes antioxidantes naturais que possam vir a reverter ou amenizar os efeitos deletérios causados por tais compostos. Soma-se a isso a existência de lacunas no conhecimento quanto à concentração que os metais pesados devem atingir para serem considerados como tóxicos quando presentes em espécies vegetais.

Dentre as classes de metabólitos secundários com propriedades antioxidantes estão os compostos fenólicos, cuja atividade deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e sua estrutura química. Estas características desempenham um papel muito importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (HASLAM, 1996; SOARES, 2002; SHETTY et al., 2005).

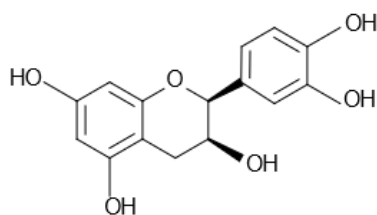
O gênero *Stryphnodendron*, membro da família Fabaceae, contém 21 (vinte e uma) espécies e 01 (uma) subespécie, distribuídas em todas as regiões brasileiras (FORZZA; DE JANEIRO, 2010) e, em virtude da casca do caule de várias espécies de *Stryphnodendron* conter uma grande quantidade de taninos (SOUZA et al., 2013), é bastante utilizada devido às suas propriedades antioxidante e antimicrobiana, além de ação antiinflamatória (ZUANNAZZI; MONTANA, 2004).

Stryphnodendron rotundifolium Mart., popularmente conhecida como "barbatimão", típica da Chapada do Araripe, localizada na Região do Cariri, Nordeste do Ceará – Brasil, é rica em taninos, e tem suas propriedades biológicas atribuídas a três características básicas: a complexação com íons metálicos, a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e a habilidade de formar complexos com proteínas e polissacarídeos (SANTOS; MELLO, 2007).

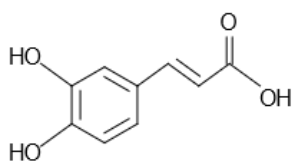
Figura 1 – Estrutura química dos principais derivados fenólicos presentes no Extrato Hidroetanólico de *S. rotundifolium* – EHSR



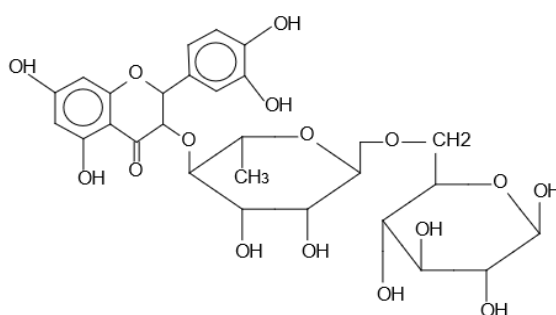
Ácido gálico



Catequina



Ácido cafeico



Rutina

Fonte: SIMÕES et al. (2004).

A capacidade dos taninos em complexar com íons metálicos dando origem a estruturas queladas (LAKS, 1991) é eficaz na proteção das plantas contra ataques de insetos e ainda confere às espécies que os contêm em considerável concentração, ação bactericida e fungicida.

Nesse sentido, o presente estudo se propôs a avaliar o efeito citoprotetor do extrato hidroetanólico de *S. rotundifolium* (EHSR) contra os metais pesados mercúrio e alumínio em modelo vegetal, em virtude de seu conhecido potencial antioxidante, utilizando-se, para tanto, sementes de *Lactuca sativa* L. (alface), averiguando o potencial do referido extrato quanto à proteção das radículas e dos caulículos da alface, vislumbrando uma alternativa para o problema da contaminação vegetal por metais pesados presentes no solo.

O efeito alelopático do extrato sobre as sementes de alface também foi verificado a fim identificar em qual concentração o referido extrato seria capaz de diminuir o crescimento das sementes ou até mesmo inibir a germinação destas, de forma a determinar qual a menor concentração a ser utilizada no sentido de minimizar seu efeito alelopático.

A relevância do estudo está no que concerne ao seu pioneirismo em relação à citoproteção em modelo vegetal promovida a partir da utilização de plantas nativas, além da possibilidade do desenvolvimento de técnicas alternativas a fim de solucionar o problema causado pela contaminação ambiental por metais pesados. Quanto à decisão pela realização da pesquisa com os metais pesados já citados, justifica-se em virtude de serem estes severos poluentes ambientais e de haver na Região do Cariri (Ceará), local do desenvolvimento do estudo, uma quantidade considerável de indústrias de manufatura de jóias, as quais utilizam tais metais, o que pode promover a contaminação do solo caso não seja dado um adequado destino aos seus resíduos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 METAIS PESADOS

Os metais pesados são considerados substâncias nocivas, cuja toxicidade varia conforme sua concentração armazenada no organismo vivo ou no meio ambiente e de sua biodisponibilidade, termo este que diz respeito à fração de metal que está ou pode estar disponível para ser absorvida e, dessa maneira, passível de causar efeitos deletérios nos organismos. Tais fatores podem torná-los altamente perigosos uma vez que se avolumam e prevalecem nas soluções presentes no ambiente e nos vegetais (FÖSTNER; WITTMAN, 1983; PEIJNENBURG, 2004; MIGUEL et al., 2010).

Porém, vale destacar que alguns metais são essenciais para o crescimento de todos os tipos de organismos vivos, mas em concentrações consideradas baixas. É o caso dos metais Ferro, Cobre, Zinco e Manganês (BAKER et al., 1994).

Em contrapartida, outros metais podem danificar os sistemas biológicos (CELERE et al., 2007), como é o caso do mercúrio e do alumínio (LÁZARO, 2008; LIN; PEHKONEN, 1999), uma vez que sua acumulação nos organismos se arrastará por longos períodos, podendo tais efeitos nocivos serem potencializados por fontes alimentadoras da poluição, como é o caso de fontes de origem antrópica (AZEVEDO, 2003; GUEDES et al., 2005).

2.1.1 Alumínio

O alumínio é o metal mais abundante no solo, uma vez que, pela ação do intemperismo, a maior parte dos minerais primários e secundários provenientes das rochas são aluminossilicatos, os quais ao serem decompostos pela água carregada de gás carbônico, liberam o alumínio na sua forma catiônica (Al^{3+}), elemento anfótero, que pode atuar como cátion em meio ácido e como ânion em meio básico (MALAVOLTA, 1980).

Trata-se de uma das espécies químicas mais reativas que existem. Produz hidróxido de alumínio ($\text{Al}(\text{OH})_3$) e hidrogênio (H_2) quando reage com água (Eq. 1) a uma temperatura de cerca de 180°C e, quando reage com outros óxidos metálicos, produz o respectivo metal e óxido de alumínio (Al_2O_3) (Eq. 2) (AZEVEDO, CHASIN, 2003).



Sua presença no ambiente é tão intensa que a exposição se torna praticamente inevitável. Uma série de relatos científicos destacam os efeitos tóxicos do alumínio nas mais diversas formas de vida, como algas marinhas, animais, microrganismos, plantas, e, obviamente, no homem (KUMAR et al., 2009)

De acordo com Azevedo; Chasin (2003); Rondon-Barragán et al. (2007) o alumínio afeta a concentração de clorofila nas algas; já os peixes morrem por asfixia em virtude da quebra da regulação iônica. Nos microrganismos o metal parece afetar a regulação de íons de cálcio, no que concerne à sua absorção e translocação.

Em seres humanos, a contaminação por alumínio pode ocorrer por via inalatória, por meio de nanopartículas que penetram no corpo e são incorporadas em vários órgãos e tecidos; por via oral através de água e alimentos, e ainda por via parenteral, através da preparação de nutrição parenteral, medicamentos e soluções utilizadas em diálise (NOREMBERG, 2010). O alumínio pode se acumular nos ossos, fígado, rins, coração, sangue e principalmente no cérebro, acumulando-se nas células nervosas (AREMU, MESHITSUKA, 2006; KAIZER, 2008; WU et al., 2012). Tal acúmulo pode causar diversas manifestações neurológicas, como encefalopatia, déficits de memória, tremores, prejuízos na coordenação motora, convulsões, dentre outros (ZATTA et al., 1998; WU et al., 2012).

Estudos epidemiológicos, neuropatológicos e bioquímicos tem demonstrado uma possível relação entre a neurotoxicidade do alumínio e o desenvolvimento da Doença de Alzheimer, síndrome neurológica senil associada a componentes ambientais e genéticos, sendo a exposição ao alumínio o fator associado à exposição ambiental (VEER BALA GUPTA, et al., 2005; KAISER, 2008).

No que tange às espécies vegetais, o alumínio, embora não seja considerado um elemento essencial, quando em baixas concentrações, pode induzir, em algumas ocasiões, a um aumento no crescimento ou produzir outros efeitos desejáveis às plantas (FOY, 1974). Além disso, algumas espécies possuem a capacidade de tolerar altas concentrações desse metal, devido a sua complexação com ácidos orgânicos exsudados pelo sistema radicular e ao genótipo vegetal que pode promover a capacidade de adequar a condições físico-químicas adversas (FREITAS et al., 2006; NOLLA et al., 2007).

Entretanto, muito embora um grande volume de conhecimento tenha sido construído nos últimos anos acerca de tal tolerância vegetal ao alumínio, o entendimento acerca do seu processo fisiológico ainda é considerado rudimentar (ECHART; CAVALLI-MOLINA, 2001).

Porém, muitas espécies vegetais, quando em contato com altas concentrações de alumínio, tem seu crescimento de raízes limitado (VELOSO et al., 1995), associado à deficiência de fósforo e a uma absorção e translocação de cálcio diretamente proporcionais à concentração de alumínio no solo (FOY, 1974; FOY et al., 1969), além de haver o impedimento dos vegetais de obter água e nutrientes em profundidade em virtude de seu enraizamento superficial., uma vez que as raízes tornam-se incapazes de explorar maior volume de solo (PAVAN, 1982). Os mecanismos de toxidez resultam, essencialmente, da ligação do metal a substâncias situadas na parede celular, membrana plasmática ou no citoplasma (ROSSIELO; JACOB NETO, 2006). Vale ressaltar que isso acontece antes mesmo que qualquer sintoma possa ser evidente na parte aérea da planta (FOY, 1974; MIGUEL et al., 2010).

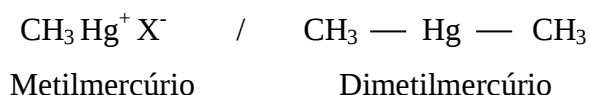
No que diz respeito às características macroscópicas, especificamente, as raízes apresentam-se grossas e amareladas nas pontas, degeneradas, tortuosas, com ramificações secundárias, escuras em parte pela oxidação de compostos fenólicos e ainda desprovidas de pelos absorventes. Microscopicamente, há desintegração dos tecidos da epiderme e de porções externas do córtex nos ápices das raízes, redução no tamanho da coifa e desarranjo do tecido meristemático. Na parte aérea, por sua vez, observa-se acúmulo de fenóis solúveis, em maior proporção nas plantas mais sensíveis, fato este resultante da ligação entre alumínio e boro (FOY, 1974; BEN et al., 1976; COSTA et al., 2002; PEIXOTO et al., 2007).

2.1.2 Mercúrio

O Mercúrio é um metal encontrado na crosta terrestre, ocorrendo no ar, no solo e na água como resultado dos processos naturais e atividades humanas (antrópicas). Tem consistência líquida à temperatura ambiente, coloração branco-prateada, é inodoro e de fácil volatilização, formando vapores de mercúrio, os quais consistem na principal fonte de contaminação ambiental, seguidos da contaminação da água e da contaminação do solo, em virtude da disposição inadequada de efluentes e resíduos (LEE et al., 2009; LIMA et al., 2009; BRASIL, 2011).

Na natureza esse metal pode ser encontrado em três formas: mercúrio metálico ou elementar (Hg^0), sais inorgânicos de mercúrio (HgCl_2 , HgS , Hg_2Cl_2) e mercúrio orgânico (metilmercúrio e dimetilmercúrio). A diferença entre tais formas diz respeito aos aspectos toxicológicos de absorção, transporte e excreção (do metal) e pelo quadro clínico apresentado pelo paciente submetido à exposição (LIMA et al., 2009).

A principal deposição atmosférica ocorre na sua forma oxidada (Hg^{2+}), enquanto que na lixiviação de substratos, a principal forma química encontrada é aquela associada ao material particulado, ou seja, o Hg^0 , forma elementar metálica, muito pouco reativa. Porém a deposição de material particulado e a oxidação da forma elementar do Hg resultam em um *pool* de Hg^{2+} , forma altamente reativa e que pode ser bioacumulado. Entretanto, salienta-se ainda que o principal mecanismo associado à contaminação ambiental pelo mercúrio diz respeito à possibilidade de metilação da forma oxidada, resultando em compostos de metilmercúrio e dimetilmercúrio, altamente tóxicos e passíveis de sofrerem biomagnificação ao longo da cadeia trófica (BRASIL, 2013).



Quanto às fontes de contaminação e vias de exposição humanas cada forma química do metal se comporta de uma maneira distinta. A contaminação com mercúrio elementar (Hg^0) pode ocorrer através de termômetros, medicamentos populares, amálgamas dentárias, dentre outras. Nesses casos a principal via de exposição se dá por meio da inalação. Já a contaminação por mercúrio inorgânico, a exemplo do Cloreto de Mercúrio (HgCl_2), ocorre principalmente por meio de lâmpadas fluorescentes, consumo de alimentos cultivados em ambientes contaminados e timerosal (derivado mercurial utilizado como agente antisséptico, conservante em produtos cosméticos, em medicações tópicas, em vacinas, dentre outros). As vias de contaminação são a dérmica e por ingestão. Entre as formas orgânicas (a exemplo do metilmercúrio), a exposição humana ocorre especialmente pelo consumo de peixes - particularmente espécies predatórias - uma vez que todas as formas de organomercuriais têm potencial de bioacumulação elevado. Além disso, o contato com fungicidas pode causar contaminação também, sendo que a exposição pode acontecer por ingestão, via parenteral ou de forma transplacentária (O'REILLY et al., 2010; HOLMES; JAMES; LEVY, 2009; OLIVEIRA et al., 2006).

No que concerne aos danos causados aos organismos vegetais, pode-se afirmar que a contaminação com o mercúrio afeta o crescimento, como também a distribuição e o ciclo biológico das espécies vegetais, sendo que um dos possíveis mecanismos tóxicos do envolvidos diz respeito ao aumento do estresse oxidativo devido aos efeitos pró-oxidantes do mercúrio e a sua capacidade para a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e alteração das defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas (BARCELÓ; POSCHENRIEDER, 1992; BOUJBIHAA et al., 2009).

2.2 EFEITOS DOS METAIS PESADOS EM ESPÉCIES VEGETAIS

O acúmulo de metais pesados em solos agrícolas é um aspecto de grande preocupação quanto à segurança ambiental. As contaminações se dão por meio de emissões aéreas (poeira), lixiviação, erosão superficial e ainda em virtude da aplicação de fertilizantes para as plantas. Tal acúmulo torna-se um grande reservatório disponível para as raízes das plantas, as quais são muito vulneráveis a variação de concentrações destes elementos, muito embora apresentem mecanismos variáveis de defesa. Os principais danos que ocorrem nas plantas expostas aos metais pesados dizem respeito aos danos oxidativos, devido à intensificação na produção de espécies ativas de oxigênio (EROs) (CHANG et al., 1987; BAIRD, 2001; GRATÃO et al., 2005).

“Os metais não apenas exercem efeitos sobre o crescimento das plantas, mas também afetam os processos bioquímicos que ocorrem no solo” (TSUTIYA, 1999b) acarretando diminuição no crescimento ou redução na colheita, sintomas visíveis e concentração no tecido (BECKETT, 1991).

2.2.1 Espécies reativas de oxigênio (EROs) e seus efeitos deletérios em células vegetais

Evidências demonstram que, em virtude das características pró-oxidantes de alguns metais pesados como é o caso do mercúrio, os danos por eles causados se dão pelo acúmulo do metal nos organismos e no meio ambiente e, conseqüentemente, pela sua capacidade de contribuir para a geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO's) (STOHS; BAGCHI, 1995; BRANDÃO et al., 2008b).

ERO's, também denominadas radicais livres, são átomos ou moléculas que contém um ou mais elétrons desemparelhados ao redor de seu núcleo, responsáveis por alterar sua reatividade química, fazendo com que, geralmente, este átomo ou molécula se torne mais

reativo do que seu correspondente não-radical. Uma vez geradas, essas ERO's promovem efeitos deletérios às células ao seu redor (HALLIWELL, 1994).

Essas moléculas podem ser geradas como resultado de excitação, o que forma o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), ou em virtude de sucessivas adições de elétrons ao O_2 , reduzindo-o ao radical aniônico superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), radical hidroperoxila ($\text{HO}_2^{\cdot}$) ou peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($\text{OH}^{\cdot}$) (D'AUTRÉAUX; TOLEDANO, 2007; BHATTACHARJEE, 2010).

Apesar de seus efeitos deletérios, vale ressaltar que processos metabólicos essenciais aos vegetais os quais são dependentes do oxigênio, como é o caso da respiração aeróbica, fotossíntese e fotorrespiração, levam à produção de ERO's em mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos, respectivamente (FOYER; NOCTOR, 2003). O problema relacionado às ERO's surge diante de seu acúmulo nos organismos vivos.

Em circunstâncias normais, as ERO's são detoxificadas por um sistema antioxidante de grande eficiência, composto por enzimas das quais se podem citar a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx) e glutatona S transferase (GST). Porém, diante de uma produção excessiva de ERO's ou de deficiências no sistema de combate a estas substâncias, pode se instalar nos organismos vivos o que se conhece por estresse oxidativo celular, responsável por desordens e danos muitas vezes irreparáveis a estes organismos. Exemplo disso é o que acontece quando os radicais livres são gerados próximos a moléculas de DNA (Ácido desoxirribonucleico), promovendo o ataque às bases nitrogenadas purinas e pirimidinas, causando mutações (GIORGIO et al., 2007; JOMOVA et al., 2010; HALLIWELL, 1994).

Sua presença pode ainda desnaturar proteínas pela oxidação de grupos sulfidríla (-SH) e pontes dissulfeto (-SS), além de causar danos a moléculas de carboidratos e retirar átomos de hidrogênio de grupos metileno de ácidos graxos poli-insaturados, dando início ao processo de peroxidação lipídica que, nos cloroplastos é, quase exclusivamente, decorrente da ação do $^1\text{O}_2$ (TRANTAPHYLIDES; HAVAUX, 2009; BLOKHINA et al., 2003; BARREIROS, 2006). Já efeitos regulatórios no crescimento radicular e alongamento foliar, além de repercussões no afrouxamento da parede celular, possivelmente são decorrentes da degradação de polissacarídeos, induzida pelo $\text{OH}^{\cdot}$ (MYLONA; POLIDOROS, 2010; FAURE et al., 2012).

Vários são os fatores que podem contribuir para o aumento dos níveis de ERO's. Scandalios (1994) cita a radiação ultravioleta (UV), luminosidade excessiva, uso indiscriminado de herbicidas, ataque de patógenos, certas injúrias, hiperoxia, ozônio,

flutuações na temperatura. Já Mallick; Mohn (2000) destacam o papel exercido pela seca, metais pesados, concentração elevada de sais e poluição do ar na elevação dos níveis de ERO's nos vegetais.

Dessa forma, as ERO's, quando acumuladas e não adequadamente neutralizadas, podem reagir com moléculas biológicas e causar danos fisiológicos e bioquímicos por vezes irreversíveis, os quais podem culminar em déficits no crescimento e desenvolvimento das plantas e até mesmo na morte celular, bem como na morte do vegetal como um todo.

2.3 MECANISMOS DE DEFESA VEGETAL AOS METAIS PESADOS

Visando neutralizar os efeitos nocivos provocados pelas ERO's, os vegetais desenvolveram mecanismos de defesa e combate aos radicais livres, uma vez que tanto nas vias de síntese como de oxidação de moléculas biológicas, ocorre a formação desses compostos nas estruturas subcelulares (KIM; KWAK, 2010).

Portanto, o equilíbrio entre a produção de radicais livres e os mecanismos de detoxificação, determina ou não a ocorrência do estresse oxidativo, caracterizado como o aumento significativo dos níveis intracelulares de ERO's (APEL; HIRT, 2004), uma vez que tais substâncias podem promover a inibição da atividade e/ou reduzir os níveis de defesas antioxidantes dos organismos (BRANDÃO et al., 2008b).

A defesa dos vegetais se dá por meio da atuação de mecanismos enzimáticos, não enzimáticos e pela ação de constituintes químicos específicos de cada espécie, os quais trabalham em conjunto e em sincronia visando à superação da situação de estresse abiótico vivenciado pelo vegetal a fim de que este possa recuperar novamente sua homeostase celular.

No que diz respeito à inativação efetiva das ERO's exercida por mecanismos enzimáticos, sabe-se que as enzimas antioxidantes estão presentes em diferentes compartimentos celulares e contribuem para o seu efetivo controle em plantas, o que confere um estágio de homeostase redox no sistema. Assim sendo, convém salientar a necessidade crucial de tais enzimas trabalhando em perfeita harmonia, das quais merece destaque as seguintes: superóxido dismutase (SOD) - considerada a primeira linha de defesa, - catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), dehidroascorbato redutase (DHAR), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), glutathione redutase (GR), glutathione peroxidase (GPx) (KIM; KWAK, 2010; ALSCHER et al., 2002).

Já os mecanismos não enzimáticos envolvem componentes como o ascorbato (AsA), o β -caroteno e o α -tocoferol, caracterizando o sistema celular de defesa antioxidante

das plantas, o qual volta-se para evitar a formação de radicais livres, sequestrá-los ou promover sua degradação, prevenindo a ocorrência de danos às células (SERKEDJIEVA, 2011).

Por fim, Cui et al. (2004); Silva et al. (2005) discorrem acerca de determinados constituintes químicos com atividade antioxidante os quais podem ser encontrados em concentrações elevadas numa variedade de plantas e serem responsáveis também por efeitos preventivos em várias doenças humanas e vegetais, as quais têm nas ERO's uma de suas causas.

Dentre os constituintes químicos, no que diz respeito aos vegetais, merecem destaque o papel biológico exercido pelos taninos, os quais se acredita estarem envolvidos na defesa química dos mesmos ao atuarem como agentes quelantes de radicais livres e ERO's (FERNANDEZ et al., 2002), protegerem contra o ataque de herbívoros vertebrados ou invertebrados e contra microrganismos patogênicos (SIMÕES et al., 2004). Porém, vale salientar que, embora detenham papel de destaque quanto às suas atividades antioxidantes em vegetais, não se pode atribuir somente aos taninos, enquanto metabólitos secundários, o papel exercido no combate às ERO's em plantas.

2.4 FAMÍLIA FABACEAE E GÊNERO *Stryphnodendron*

A família Fabaceae também conhecida como Leguminosae, constitui uma das maiores famílias botânicas apresentando ampla distribuição geográfica. Seu fruto é do tipo legume, também conhecido como vagem. Está distribuída em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae. Compreende aproximadamente 727 gêneros e 19.325 espécies, sendo, assim, considerada a terceira maior família de Angiospermae, apontada como de maior riqueza de espécies arbóreas nas florestas neotropicais, sendo que as espécies dessa família são exclusivas de determinados ambientes brasileiros (LEWIS et al., 2005, WATSON; DALLWITZ, 1992), tornando-se importante destacar que a mesma é considerada a maior família no Brasil, com 2.100 espécies e 188 gêneros (LIMA, 2000).

Quanto ao uso das espécies pertencentes à família em questão, no que diz respeito às finalidades medicinais, torna-se importante destacar as seguintes: problemas estomacais, diabetes, leucorréias, menorrágia, pneumonias, processos inflamatórios, problemas cardíacos, dermatoses, dores, constipação intestinal e infecções (MOREIRA et al., 2002; UPADHYAY et al., 2010).

Dentre os gêneros que compõem a família Fabaceae, merece destaque o gênero *Stryphnodendron*, subfamília Mimosoideae, o qual inclui 21 espécies, conhecidas popularmente como “barbatimão”, todas nativas de Cerrado brasileiro. Os extratos das cascas são amplamente empregados na medicina popular para a cicatrização de feridas, sendo atribuídas propriedades antioxidantes (SANTOS et al., 2002).

Dentre os gêneros que compõem a família Fabaceae, merece destaque o gênero *Stryphnodendron*, subfamília Mimosoideae, o qual inclui 21 espécies e 1 subespécie, conhecidas popularmente como “barbatimão”, todas nativas de Cerrado brasileiro. Os extratos das cascas são amplamente empregados na medicina popular para a cicatrização de feridas, sendo atribuídas propriedades antioxidantes (FORZZA; DE JANEIRO, 2010; SANTOS et al., 2002).

A palavra *Stryphnodendron* vem do grego e significa *Strypnós* (duro) e *dendron* (árvore), ou simplesmente árvore dura. Já a expressão *Barbadetima*, de origem indígena - ibá-timo - reporta-se ao significado de árvore que aperta, em alusão à adstringência, propriedade de contrair os tecidos e órgãos do corpo por ela apresentada. As espécies se destacam pela presença de compostos do metabolismo secundário como é o caso dos taninos, os quais podem ser encontrados em uma concentração de 25-30% em extratos advindos da casca do caule dessas plantas (SILVA, 2007).

Em decorrência desses altos teores, a planta é também empregada na indústria do couro e na fabricação de tinta de escrever, o que demonstra a importância da espécie não só no campo da fitoterapia, abordada a seguir, mas também como fonte de taninos para o abastecimento de curtumes e fornecimento de matéria corante para indústrias de tintas (RIZZINI; MORS 1976).

Já Guarim Neto (1987); Lopes et al. (2005); Panizza et al. (1988) dão ênfase às atividades farmacológicas do barbatimão estarem diretamente relacionadas aos teores de taninos condensados presentes em seus extratos. Nesse sentido, espécies como *Stryphnodendron polyphyllum* Mart., *Stryphnodendron obovatum* Benth, *Stryphnodendron adstringens* Mart. são popularmente utilizadas para tratar leucorréia e diarreia, como anti-inflamatório e agentes antissépticos e para promover a coagulação do sangue, cicatrização de feridas e propriedades anti-ulcerogênicas (AUDI et al., 1999).

Funções biológicas atribuídas aos extratos ricos em taninos têm sido, portanto, as de efeito antibacteriano e antifúngico, moluscicido, antitumoral e de inibição enzimática. Supõe-se que tais propriedades sejam observadas em decorrência de três características básicas desses extratos, quais sejam: complexação com íons metálicos, a atividade

antioxidante e sequestradora de radicais livres e a habilidade de formar complexos com proteínas e polissacarídeos (SANTOS; MELLO, 2007).

Nesse sentido, torna-se evidente a atividade antioxidante desses extratos, sendo, portanto, importantes alternativas, por exemplo, na agricultura como forma de proteção ambiental contra metais pesados. A partir dessa perspectiva, o presente estudo busca enfatizar as ações da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. principalmente no que concerne aos seus efeitos antioxidantes em modelos vegetais.

2.5 *Stryphnodendron rotundifolium* MART.

Espécie muito conhecida pelas comunidades locais da Chapada do Araripe (Nordeste do Brasil), *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., popularmente conhecida como barbatimão, é uma árvore decídua, de copa alongada, com 4 a 5 metros (m) de altura, apresentando tronco cascudo e tortuoso, com frutos do tipo vagens cilíndricas, de 6 a 9 centímetros (cm) de comprimento, cuja floração ocorre em janeiro (LORENZI; MATOS, 2002). Têm sido muito utilizada em virtude de suas ações antimicrobianas (OLIVEIRA et al., 2011), propriedades antiulcerosas e anti-inflamatórias (RODRIGUES et al., 2008), adstringência e atividade antioxidante (COSTA et al., 2012), além de cicatrização de feridas, leucorréia e outros problemas ginecológicos (LORENZI; MATOS, 2002), próprias de espécies do gênero *Stryphnodendron*.

Um estudo pioneiro de *S. rotundifolium* realizado no estado do Ceará, investigou as propriedades antimicrobianas e antiulcerogênicas do extrato etanólico de sua casca, o que demonstrou efeito gastroprotetor contra danos induzidos por etanol à mucosa gástrica de camundongos, bem como forte inibição do crescimento bacteriano (RODRIGUES et al., 2008), propriedades estas atribuídas pelos autores à presença elevada de flavonóides, alcalóides e taninos no extrato.

Os flavonóides encontrados no *S. rotundifolium* são substâncias que compreendem um dos maiores grupos de metabólitos, sendo estes de grande interesse em virtude de suas atividades anticarcinogênica, antiinflamatória, antioxidante e antimutagênica (COSTA et al., 2012)

Os alcalóides são bases nitrogenadas de alta toxicidade derivadas de aminoácidos, cujo papel desempenhado nos vegetais pode ser atribuído ao bloqueio metabólico de detoxificação, efeito alelopático e a proteção que conferem contra fitófagos, porém alguns

trabalhos mostram que tais efeitos não podem ser atribuídos em todas as situações, devendo cada caso ser analisado separadamente (WALLER; NOWACKI, 1978; SIMÕES et al., 2004).

Muito embora alcalóides tenham sido identificados na espécie *S. rotundifolium*, esse comportamento não se repete em todas as espécies do gênero, uma vez que estudos realizados por Macedo et al. (2007) apresentaram resultados negativos na identificação de alcalóides em folhas, caule e casca de *S. adstringens*.

Já os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água com massa molecular entre 300 e 3000 Dalton, amplamente encontrados em produtos vegetais e em uma variedade de ervas medicinais, as quais apresentam a habilidade de formar complexos insolúveis em água com alcalóides, gelatina e outras proteínas (FONSECA, LIBRANDI, 2008).

Vários relatórios sobre suas propriedades e ações relacionadas à proteção do DNA os designam como promissores agentes citoprotetores (DESPHANDE et al., 1984)

Estudo conduzido por Costa et al. (2012) demonstrou que a composição química, realizada por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), do extrato hidroetanólico da casca de *S. rotundifolium* identificou como principais componentes, o ácido gálico (componente majoritário), catequina, rutina e ácido caféico, considerados antioxidantes muito eficazes (RICE-EVANS et al., 1996).

É importante observar que este é o primeiro relatório indicando a presença de alta quantidade de tais componentes em *S. rotundifolium*, ressaltando ainda que foi avaliada, por meio da determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH, a potência antioxidante do extrato, de acordo com o solvente e porção da planta utilizados. Dessa forma, foi observado que o extrato hidroetanólico da casca do caule obteve maior efeito antioxidante, seguido do extrato aquoso da casca e, por fim, do extrato aquoso das folhas (COSTA et al., 2012).

Assim sendo, o uso do extrato proveniente das cascas de *S. rotundifolium*, em virtude principalmente das propriedades dos taninos, uma vez que o barbatimão está inscrito na Farmacopéia Brasileira (1929) como sua casca contendo de 20 a 30% de substâncias tânicas (BRANDÃO et al., 2008a), pode ser uma alternativa importante vislumbrando a citoproteção vegetal contra os danos causados pela exposição celular aos metais pesados, cujos efeitos deletérios se relacionam especialmente às espécies reativas de oxigênio (ERO's) que produzem.

2.6 EFEITO ALELOPÁTICO

A alelopatia, de acordo com Ferreira (2004), pode ser definida como a interferência que os metabólitos secundários produzidos por uma determinada planta (aleloquímicos) desempenham no crescimento e desenvolvimento de outra planta, efeitos estes que podem ser tanto negativos quanto positivos.

Os aleloquímicos são biomoléculas produzidas por uma planta e lançadas no meio, seja na fase aquosa do substrato ou através de substâncias gasosas volatilizadas no ar (RIZVI et al., 1992), podendo ter ação indireta ou direta sobre a planta alvo.

Os efeitos indiretos dizem respeito à ocorrência de alterações nas propriedades e características nutricionais do solo e nas populações e/ou atividades dos microrganismos que habitam o solo (FERREIRA; ÁQUILA, 2000). Já os efeitos diretos, conforme Rice (1984); Rizvi et al. (1992); Reigosa et al. (1999), compreendem alterações celulares e metabólicas, tais como modificações no funcionamento de membranas, na absorção de água e nutrientes, na atividade respiratória e fotossintética, dentre outras.

Dentre os metabólitos secundários existentes, os compostos fenólicos são apontados como os que detêm atividade alelopática, compreendendo desde os fenóis simples até taninos de estrutura complexa, podendo ser liberados em condições naturais, já que são hidrossolúveis (RICE 1984; FERREIRA; AQUILA 2000).

Porém, vale destacar que, de acordo com Wardle et al. (1992); Haugland; Brandsaeter (1996), não somente os constituintes químicos das plantas são os responsáveis por seus efeitos inibitórios sobre a germinação de sementes, mas também merece destaque o potencial osmótico do extrato da planta.

Nesse sentido, a alelopatia vem sendo muito estudada visando complementar os tradicionais métodos de controle de plantas daninhas (GOMIDE, 1993), onde se tem, muitas vezes apenas como alternativa para tal controle, o uso de herbicidas. Dessa forma, os aleloquímicos podem ser utilizados como ser alternativa para a produção de herbicidas ambientalmente desejáveis (SOUZA FILHO; ALVES, 2002).

Tal fato torna-se importante no que diz respeito à sustentabilidade da produção agrícola, uma vez que consiste em um manejo tecnicamente correto e ambientalmente seguro, podendo se tornar economicamente viável para todos os agricultores, especialmente os pequenos (GAZIRIA; CARVALHO, 2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL

A coleta de material botânico para preparo da exsicata da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. e para obtenção do seu extrato hidroetanólico - EHSR usado nos presente trabalho foi realizada por Oliveira (2010), na Fazenda Barreiro Grande, Crato-Ceará, em área de Cerrado da Chapada do Araripe, sendo sua identificação realizada pelo professor Afrânio Fernandes Gomes (Universidade Federal do Ceará, Fortaleza), conforme citado por Costa et al.(2012).

Figura 2 - Exsicata de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. depositada junto ao Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima da Universidade Regional do Cariri - URCA.



Fonte: Cedida por Oliveira (2010)

De acordo com Oliveira (2010), os procedimentos para preparo da exsicata seguiram as recomendações descritas por Di Stasi (1996), sendo a mesma depositada no

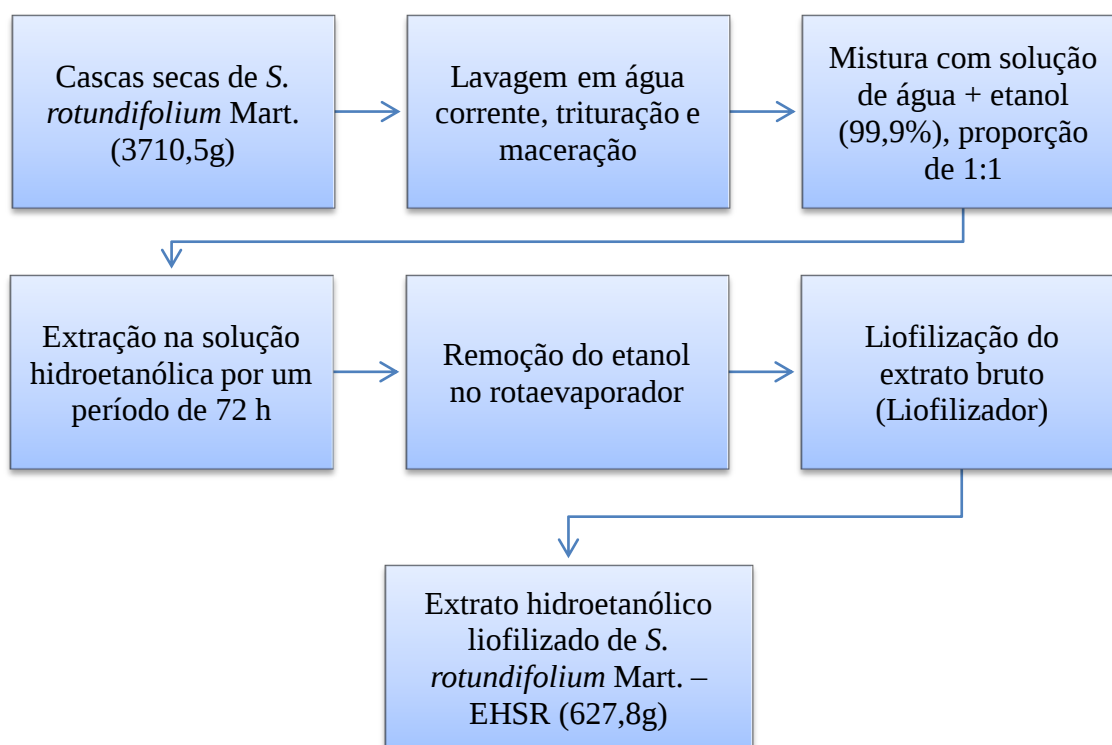
Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima - HCDAL da Universidade Regional do Cariri - URCA, sob o número 4661 (Figura 2).

3.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Stryphnodendron rotundifolium* Mart – EHSR

Para preparação do EHSR, o material vegetal, no caso as cascas secas de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (3710,5g) foi submetido à extração a frio com água e etanol a 99,99% na proporção de 1:1 (8,7L de solvente), sendo o solvente etanólico removido por meio do rotaevaporador (modelo Q-344B-Quimis, Brasil), obtendo-se 627,8g de extrato bruto após o processo de liofilização (Figura 3), segundo método proposto por Oliveira (2010).

A opção pelo extrato hidroetanólico da casca do caule se deu devido a maior concentração de fenóis no EHSR ($102.7 \pm 2.8 \mu\text{g}$ de fenol/mg) quando comparado com suas folhas ($93.8 \pm 9.1 \mu\text{g}$ de fenol/mg da planta) de acordo com dados obtidos por Costa et al. (2012).

Figura 3 - Fluxograma de obtenção do Extrato Hidroetanólico de *S. rotundifolium* - EHSR



Fonte: Adaptado de Oliveira (2010)

3.3 TESTE DE ALEOPATIA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Stryphnodendron rotundifolium* Mart – EHSR SOBRE AS SEMENTES DE *Lactuca sativa* L

Foram realizados testes-piloto a fim de determinar o efeito alelopático do extrato em estudo. Para tanto, fez-se uso da mesma metodologia descrita a seguir, utilizada para determinação do efeito citoprotetor em sementes de alface (*Lactuca sativa* L.).

As concentrações do EHSR foram as seguintes: 256 µg/mL; 128 µg/mL, 64 µg/mL e 32 µg/mL. Tais concentrações utilizadas justificam-se a partir da determinação da Concentração Subinibitória Mínima do extrato (CIM/8), sendo, portanto, 256 µg/mL a concentração de partida. A concentração 32 µg/mL foi a menor concentração utilizada em virtude do resultado do teste de alelopatia descritos a seguir. Nas sementes utilizadas como controles utilizou-se água estéril para proceder à avaliação da alelopatia.

3.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOPROTETOR DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. EM MODELO VEGETAL (*Lactuca sativa* L.) CONTRA OS METAIS PESADOS CLORETO DE ALUMÍNIO E CLORETO DE MERCÚRIO

Para conduzir o teste, fez-se uso de placas de Petri limpas, secas e estéreis, as quais foram cobertas com papel alumínio e em seguida com plástico filme, visando evitar o contato com o metal. Foram ainda forradas com dois discos de papel filtro, onde se dispuseram 20 (vinte) sementes de alface da espécie *Lactuca sativa* L. Em cada placa foram adicionados 3 mL da solução correspondente, sendo as placas devidamente identificadas e preparadas em triplicata. Após a adição da solução, as placas permaneceram envolvidas em plástico filme (SOBRAL-SOUZA et al., 2014).

Quanto às concentrações utilizadas, a partir da realização Teste de Alelopatia (vislumbrando a determinação que permite a germinação das sementes de alface), a concentração do extrato utilizada foi de 32µg/mL; as do Cloreto de Alumínio foram 20mM; 10mM; 5mM; 2,5mM e 1,25mM e as do Cloreto de Mercúrio, 1,25mM; 0,5mM; 0,1mM e 0,05mM. A placa controle foi umedecida com 3 mL de água destilada estéril. Os experimentos foram conduzidos em câmara de germinação do tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand) à temperatura de aproximadamente 25°C ± 2°C e fotoperíodo de 12 horas por sete dias. Os tratamentos foram dispostos em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com três repetições de 20 sementes por placa.

Os parâmetros analisados ao final dos sete dias foram: contagem do número de sementes germinadas, cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG), biometria do caulículo e da radícula, ocorrência de necrose radicular e anormalidades das plântulas, seguindo o Manual de Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Foram consideradas germinadas as sementes cujas radículas atingiram 1 mm de comprimento ou mais. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi avaliado a cada 24 horas, sendo determinado através do somatório da razão entre o número de sementes germinadas no dia (ni) e o número de dias (i) (FERNANDES et al., 2007, modificado por SOBRAL-SOUZA et al., 2014).

$$\Sigma = \frac{ni}{i}$$

Os testes foram feitos em triplicata e expressos como média aritmética.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística foi aplicada a Two-way ANOVA seguida do teste de Bonferroni. Diferenças em $p < 0,05$ foram consideradas como estatisticamente significativas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOPROTETOR EM MODELO VEGETAL DE *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. CONTRA METAIS PESADOS

Gioconda M. A. B. Martins, Maria F. B. Morais-Braga, Irwin R. A. Menezes, Antônio J. T. Machado, Maria A. Freitas, Antônio T. L. Santos, Maria S. Costa, Ana Raquel P. Silva, Fábila F. Campina, Luciene F. Lima, Nadghia F. Leite, Saulo R. Tintino, Henrique D. M. Coutinho*

Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular – LMBM, Universidade Regional do Cariri, Crato, Brasil

* Corresponding author:

Henrique Douglas Melo Coutinho

Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato-CE, Brasil. Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta, 63105-000. Fone: +55(88)31021212; Fax +55(88) 31021291. E-mail: hdmcoutinho@gmail.com

RESUMO

Os metais pesados, elementos químicos considerados tóxicos em determinadas concentrações, podem ser considerados ameaças potenciais para plantas, animais e recursos biológicos de um determinado ecossistema. Dentre eles, o mercúrio e o alumínio, quando envolvidos em processos de bioacumulação, podendo ocasionar danos em vários sistemas orgânicos tanto de animais quanto de plantas. Em vegetais, os metais pesados produzem espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais estão envolvidas na ocorrência de má-formações e déficits no crescimento de radículas e plúmulas de diversas espécies de plantas, fato que justifica o estudo de agentes antioxidantes naturais que possam vir a reverter ou amenizar os efeitos deletérios causados por tais compostos. Nesse sentido, o presente estudo objetiva avaliar o efeito citoprotetor do Extrato Hidroetanólico de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., espécie popularmente conhecida como "barbatimão", contra os metais pesados mercúrio e alumínio em modelo vegetal, em virtude de seu conhecido potencial antioxidante. Para tanto, realizou-se o Teste de Citoproteção em sementes de alface (germinação), a fim de averiguar o potencial do referido extrato quanto à proteção das radículas e caulículas desta. Observou-se que o extrato não apresentou efeito alelopático sobre as sementes de alface na concentração de 32 µg/ml e, em combinação com o HgCl₂ e AlCl₃, possibilitou um maior crescimento nas radículas e nos caulículos da *Lactuca sativa* L., se comportando, portanto, como uma

alternativa para solucionar o problema com a contaminação do solo por metais pesados, evidenciando, dessa forma, seu promissor potencial citoprotetor em espécies vegetais.

Palavras – chave: Metais pesados; citoproteção; germinação

ABSTRACT

Heavy metals, chemical elements considered toxic at certain concentrations, can be considered potential threats to plants, animals and biological resources of a particular ecosystem. Among them, mercury and aluminum, when involved in bioaccumulation processes can cause damage to various organ systems of both animals and plants. In vegetables, heavy metals produce reactive oxygen species (ROS), which are involved in the occurrence of malformations and deficits in the growth of roodets and plumule of several species of plants, which justifies the study of natural antioxidants agents that may come to reverse or ameliorate the deleterious effects caused by these compounds. In this sense, this study aims to evaluate the cytoprotective effect of hydroethanolic extract of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., species popularly known as "barbatimão" against the heavy metals mercury and aluminum in vegetable model, because of its known antioxidant potential. To this end, there was the Cytoprotection test in lettuce seeds (germination) in order to ascertain the potential of the said extract on the protection of roots and stem this. It was observed that the extract showed no allelopathic effect on lettuce seeds at a concentration of 32 µg/mL and in combination with HgCl₂ and AlCl₃, it enabled a higher growth in the roodets and stem *Lactuta sativa* L., behaving, therefore, as an alternative to solve the problem with soil contamination by heavy metals, showing thus its promising potential cytoprotective in plant species.

Keywords: heavy metals; cytoprotection; germination.

INTRODUÇÃO

Os metais pesados, elementos químicos naturalmente encontrados em pequenas concentrações na atmosfera, nos solos, nas águas e no conjunto de seres vivos de uma região (DEMIRAK et al., 2006; LACERDA; MIGUENS, 2011), são frequentemente detectados em concentrações consideradas tóxicas em vários tipos de efluentes resultantes da atividade humana, incluindo os de origem industrial, urbana e agropecuária, sendo que, mesmo sob condições de baixo desenvolvimento industrial, podem ser considerados ameaças potenciais para plantas, animais e recursos biológicos de um determinado ecossistema (LACERDA; MIGUENS, 2011).

Dentre os metais pesados presentes na superfície terrestre, considerados perigosos poluentes ambientais, destacam-se o mercúrio e o alumínio, os quais, de acordo com Tinôco et al. (2010), podem ser depositados no solo e em ambientes aquáticos, de tal modo que no

solo ficarão retidos por mais tempo, o que resultará em seu acúmulo, podendo acarretar ainda seu lançamento nas águas, através do escoamento superficial e erosão.

O mercúrio está associado a diversos tipos de lesões em seres humanos em virtude de sua elevada toxicidade. Quando inalado, é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas e do trato respiratório superior. Se absorvido através da pele, pode causar queimaduras e, caso seja ingerido, pode ser fatal, atingindo principalmente rins, nervos e trato gastrointestinal (MERCK MILLIPORE, 2012). No que diz respeito à contaminação ambiental, o cloreto de mercúrio, principal representante de compostos de mercúrio (PATRICK, 2002), é considerado muito tóxico para os organismos, podendo causar efeitos negativos em longo prazo, em virtude de sua elevada bioacumulação (MERCK MILLIPORE, 2012).

Já o alumínio, no que diz respeito à toxicidade causada em plantas em virtude de sua acumulação, Veloso et al. (2000) destacam ser esta muito frequente em solos brasileiros e, na maioria das vezes, está associada aos solos lixiviados, com baixa fertilidade e de elevada acidez, cujo efeito nocivo limita o crescimento da maioria dessas plantas. “Das espécies de alumínio, a forma Al^{3+} é comprovadamente tóxica e o sintoma inicial, e mais nocivo de sua toxicidade, é a inibição do crescimento da raiz” (ECHART; CAVALLI-MOLINA, 2001).

Fato comum observado em solos com elevados níveis de Hg e Al diz respeito à redução da taxa de crescimento radicular de plantas sensíveis, afetando o alongamento e a divisão celular. Tal restrição diminui a capacidade da planta em obter água e nutrientes do subsolo, devido ao enraizamento superficial, fazendo com que a planta torne-se, portanto, menos produtiva e mais susceptível à seca (FERREIRA; MOREIRA; RASSINI, 2006).

Segundo Benassi (2004), os metais pesados possuem a capacidade de produzir espécies reativas de oxigênio (EROs) e, quando essas espécies são formadas intracelularmente, elas podem induzir à peroxidação lipídica, dano ao DNA, depleção de grupamentos tióis, alteração das vias de transdução de sinais e a homeostase do cálcio.

Essas EROs estão envolvidas na ocorrência de má-formações e déficits no crescimento de radículas e plúmulas de diversas espécies de plantas, fato que justifica o estudo de agentes antioxidantes naturais que possam vir a reverter ou amenizar os efeitos deletérios causados por tais compostos. Soma-se a isso a existência de lacunas no conhecimento quanto à concentração que os metais pesados devem atingir para serem considerados como tóxicos quando presentes em espécies vegetais.

Dentre as classes de metabólitos secundários com propriedades antioxidantes estão os taninos, cuja atividade antioxidante deve-se principalmente às suas propriedades

redutoras e sua estrutura química. Estas características desempenham um papel muito importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (HASLAM, 1996; SOARES, 2002; SHETTY et al., 2005).

O gênero *Stryphnodendron*, membro da família Fabaceae, contém 21 (vinte e uma) espécies e 01 (uma) subespécie, distribuídas em todas as regiões brasileiras (FORZZA; DE JANEIRO, 2010) e, em virtude da casca do caule de várias espécies de *Stryphnodendron* conter uma grande quantidade de taninos (SOUZA et al., 2013), é bastante utilizada devido às suas propriedades antioxidante e antimicrobiana, além de ação antiinflamatória (ZUANNAZZI; MONTANA, 2004).

A espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart., popularmente conhecida como "barbatimão", típica da Chapada do Araripe, localizada na Região do Cariri, Nordeste do Ceará— Brasil, é rica em taninos, e tem suas propriedades biológicas atribuídas a três características básicas: a complexação com íons metálicos, a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e a habilidade de formar complexos com proteínas e polissacarídeos (SANTOS; MELLO, 2007).

A capacidade dos taninos em complexar com íons metálicos dando origem a estruturas queladas (LAKS, 1991) é eficaz na proteção das plantas contra ataques de insetos e ainda confere às espécies que os contêm em considerável concentração, ação bactericida e fungicida.

Nesse sentido, o presente estudo se propõe a avaliar o efeito citoprotetor do extrato hidroetanólico de *S. rotundifolium* contra os metais pesados mercúrio e alumínio em modelo vegetal, em virtude de seu conhecido potencial antioxidante, utilizando-se, para tanto, sementes de *Lactuca sativa* L. (alface), a fim de averiguar o potencial do referido extrato quanto à proteção das radículas e caulículas da alface, vislumbrando uma alternativa para o problema da contaminação vegetal por metais pesados presentes no solo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

A coleta de material para preparo da exsicata da espécie *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. e para obtenção do seu Extrato Hidroetanólico - EHSR foi realizada, de acordo com Oliveira (2010) na Fazenda Barreiro Grande, Crato-Ceará, em área de Cerrado da Chapada do Araripe. Os procedimentos para preparo da exsicata seguiram as recomendações

descritas por Di Stasi (1996), sendo a mesma depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima - HCDAL da Universidade Regional do Cariri - URCA, sob o número 4661.

Preparação do Extrato Hidroetanólico das cascas de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart – EHSR

O material vegetal, composto por cascas secas de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. (3710,5g) foi submetido à extração a frio com água e etanol a 99,99% na proporção de 1:1 (8,7L de solvente), sendo o solvente etanólico removido por meio do rotaevaporador (modelo Q-344B-Quimis, Brasil), obtendo-se 627,8g de extrato bruto após o processo de liofilização (OLIVEIRA, 2010).

A coleta do extrato a partir das cascas de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. e a opção pelo extrato hidroetanólico se deram devido a maior concentração de fenóis no EHSR (102.7 ± 2.8) quando comparado com as suas folhas (93.8 ± 9.1 µg de fenol/mg da planta) (COSTA et al., 2012).

Teste de citoproteção em sementes de alface (germinação)

Para conduzir o teste, fez-se uso de placas de Petri limpas, secas e estéreis, as quais foram cobertas com papel alumínio e em seguida com papel filme, visando evitar o contato com o metal. Foram ainda forradas com dois discos de papel filtro, onde se dispuseram 20 (vinte) sementes de alface da espécie *Lactuca sativa* L.

Em cada placa foram adicionados 3 mL da solução correspondente, sendo as placas devidamente identificadas e em preparadas em triplicata. Após a adição da solução, as placas permaneceram envolvidas em plástico filme.

Quanto às concentrações utilizadas, a partir do Teste de Alelopatia (vislumbrando a determinação que permite a germinação das sementes de alface), a concentração do extrato utilizada foi de 32µg/mL; as do Cloreto de Alumínio foram 20mM; 10mM; 5mM; 2,5mM e 1,25mM e as do Cloreto de Mercúrio, 1,25mM; 0,5mM; 0,1mM e 0,05mM. A placa controle foi umedecida com 3 mL de água destilada estéril. Os experimentos foram conduzidos em câmara de germinação do tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand) à temperatura de aproximadamente $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas por sete dias. Os tratamentos foram dispostos em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com três repetições de 20 sementes por placa.

Os parâmetros analisados ao final dos sete dias foram: contagem do número de sementes germinadas, cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG), biometria do

caulículo e da radícula, ocorrência de necrose radicular e anormalidades das plântulas, seguindo o Manual de Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Foram consideradas germinadas as sementes cujas radículas atingiram 1 mm de comprimento ou mais. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi avaliado a cada 24 horas, sendo determinado através do somatório da razão entre o número de sementes germinadas no dia (ni) e o número de dias (i) (FERNANDES et al., 2007, modificado por SOBRAL-SOUZA et al., 2014). Os testes foram feitos em triplicata e expressos como média.

Para análise estatística foi aplicada a Two-way ANOVA seguida do teste de Bonferroni. Diferenças em $p < 0,05$ foram consideradas como estatisticamente significativas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação da concentração do EHSR

Os testes-piloto de alelopatia, definida como efeito inibitório ou benéfico, direto ou indireto, que uma planta exerce sobre outra, por meio da produção de compostos químicos liberados no ambiente (GRESSEL; HOLM, 1964), permitiram observar que o efeito alelopático de *Stryphnodendron rotundifolium* supostamente diminuiu quanto utilizado na concentração de 32 µg/mL.

Tal fato pode ser observado na tabela 1 na qual se faz um comparativo do percentual de germinação das sementes de alface nas concentrações de 256 µg/mL, 128 µg/mL, 64 µg/mL e 32 µg/mL.

Tabela 1- % de germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. em diferentes concentrações do EHSR.

Concentrações (µg/mL)	% de Germinação
256	0
128	5
64	79
32	78,3

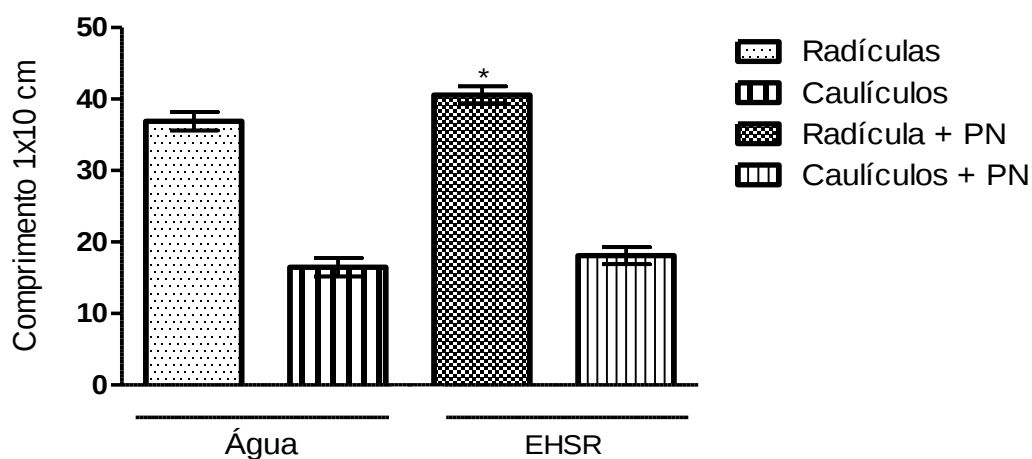
Fonte: Autora (2015)

Dessa forma, justifica-se a adoção da concentração do extrato de 32 µg/mL para a realização deste estudo, já que esta representa a menor concentração na qual se tem impede a germinação das sementes de *Lactuca sativa* L.

Avaliação do Efeito Alelopático do EHSR

A figura 4 demonstra o efeito alelopático do extrato, na qual as sementes de alface foram submetidas a dois tratamentos: um utilizando apenas água estéril e outro o EHSR na concentração de 32 µg/mL.

Figura 4 - Crescimento de radículas e caulículos de *Lactuca sativa* L. com uso de água e de EHSR 32 µg/mL. *** valores estatisticamente significantes com $p < 0,0001$.



Verifica-se que o crescimento das radículas e dos caulículos tratados com o extrato foi semelhante àquele cujas sementes foram tratadas apenas com água. Tal fato pode ser justificado devido à menor concentração de flavonóides e a uma presença elevada de taninos na composição fitoquímica (cerca de 20 a 30%) do extrato hidroetanólico de *S. rotundifolium* (COSTA et al., 2012).

Em virtude da inexistência de estudos envolvendo espécies do gênero *S. rotundifolium* para fins de ratificação ou não de dados, buscou-se outras pesquisas que destacassem a temática em questão, mesmo que usando espécies de famílias distintas da estudada.

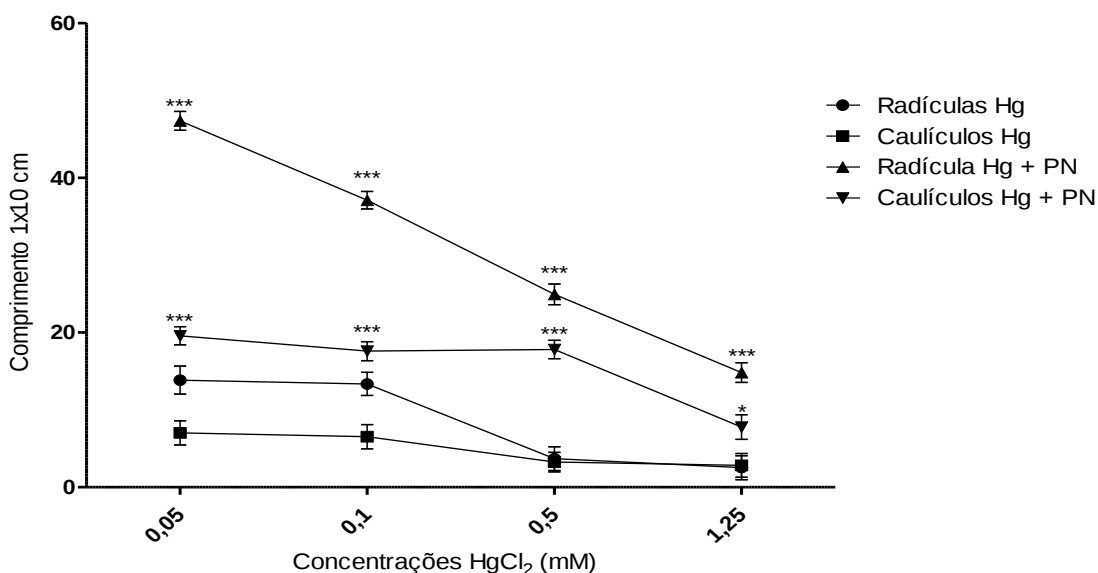
Nesse sentido, em um estudo realizado por Leite (2014) percebe-se a ocorrência de alelopatia com uso do extrato de *Psidium myrsinites* em sementes de alface, mas isso em

decorrência da presença majoritária de flavonóides, os quais podem ser os responsáveis, conforme Einhellig (1986) e Medeiros (1990), pelos efeitos alelopáticos observados em plantas.

Nos testes-piloto, nos quais o extrato foi utilizado em maiores concentrações (256 $\mu\text{g/mL}$, 128 $\mu\text{g/mL}$, 64 $\mu\text{g/mL}$) a alelopátia foi observada, já que nessas concentrações, acredita-se que os flavonóides se apresentem em maior proporção, fazendo com que o efeito alelopático seja, por conseguinte, percebido.

Teste para efeito citoprotetor em sementes de alface contra Hg

Figura 5 - Crescimento de radículas e caulículos de *Lactuca sativa* L. em dois tratamentos: um constando de HgCl_2 nas concentrações de 0,05 mM; 0,1 mM; 0,5 mM e 1,25 mM e outro com as mesmas concentrações de HgCl_2 acrescidos de EHSR na concentração de 32 $\mu\text{g/mL}$. *** valores estatisticamente significantes com $p < 0,0001$.



A figura 5 mostra o resultado das sementes submetidas a dois tratamentos: um com uso apenas de HgCl_2 em 04 (quatro) concentrações distintas e outro com HgCl_2 (nas mesmas concentrações do primeiro tratamento) acrescido do EHSR na concentração de 32 $\mu\text{g/mL}$.

Observa-se que, diante do aumento das concentrações do HgCl_2 , percebe-se uma diminuição progressiva no comprimento tanto das radículas como dos caulículos. Um declínio

maior nesse comprimento é percebido quando se atinge a concentração de 0,5 mM e permanece semelhante na maior concentração, ou seja, 1,25 mM.

Fernandes (2006) destaca que altas concentrações de metais pesados podem causar danos em tecidos de plantas através de um mecanismo denominado estresse oxidativo, o qual pode ser provocado pela estimulação da produção de radicais livres.

Entretanto, quando as sementes tratadas com HgCl_2 são submetidas ao efeito do EHSR, percebe-se que, ao final do experimento, muito embora tenha havido um declínio significativo no comprimento das radículas e dos caulículos, de maneira proporcional ao aumento da concentração do metal pesado, a forma como esse crescimento se dá, em cada concentração de forma individualizada, é bem mais pronunciado na presença do extrato.

Além disso, elas permaneceram com comprimento maior ao final do teste, mesmo na concentração de 1,25mM. Um resultado estatisticamente significativo é, portanto, observado quando se utiliza o HgCl_2 na presença do EHSR.

“O extrato, além de oferecer um maior crescimento, tornou possível a germinação das sementes na concentração mais elevada de metal (1,25mM) utilizada nos tratamentos” (LEITE, 2014).

O potencial antioxidante do extrato está associado ao seu conteúdo de polifenóis e não à sua capacidade de quelação de íons ferro, pois Costa et al. (2012) destacam, em seu estudo, que a inibição da peroxidação lipídica induzida por Fe^{2+} exibiu fraca atividade quelante no extrato em questão.

Logo, a atividade antioxidante é atribuída aos antioxidantes fenólicos, os quais atuam como sequestrantes de radicais livres (XING; WHITE, 1996).

Teste para efeito citoprotetor em sementes de alface contra Al

Geralmente, o efeito tóxico do Al é notado em raízes de plantas antes que qualquer sintoma possa ser evidente na parte aérea (VELOSO et al., 2000).

O excesso de alumínio inibe o crescimento normal de raízes, tornando-as engrossadas, com coloração marrom ou amareladas, menos ramificadas ou com ramificações secundárias, quebradiças e ocasionalmente com manchas necróticas (FOY, 1992; MIGUEL et al., 2010).

Diminui ainda a absorção de nutrientes, o que é desfavorável para o desenvolvimento de plantas sensíveis a esse elemento (ECHART; CAVALLI-MOLINA, 2001). Essas anomalias podem ser explicadas por problemas relacionados ao alongamento e divisão celular (MIGUEL et al., 2010).

Além disso, altas concentrações deste metal pesado interferem no metabolismo do nitrogênio, elemento importante na síntese de aminoácidos (CAMARGO; ALMEIDA, 1983; SPHEAR; SOUZA, 2004).

Muito embora se fale em altas concentrações do metal, este já demonstra seus efeitos nocivos em concentrações inferiores. Tal fato pode ser observado nos estudos realizados por Barceló et al. (1996) em plantas de milho expostas por 24h a 50 μ M de Al e nos de Santos et al. (2011) com uso de concentrações de 0, 50, 100 ou 200 μ M de Al em espécies do gênero *Lotus*, nos quais foi observado o efeito nocivo do metal no crescimento das radículas e caulículos das espécies estudadas.

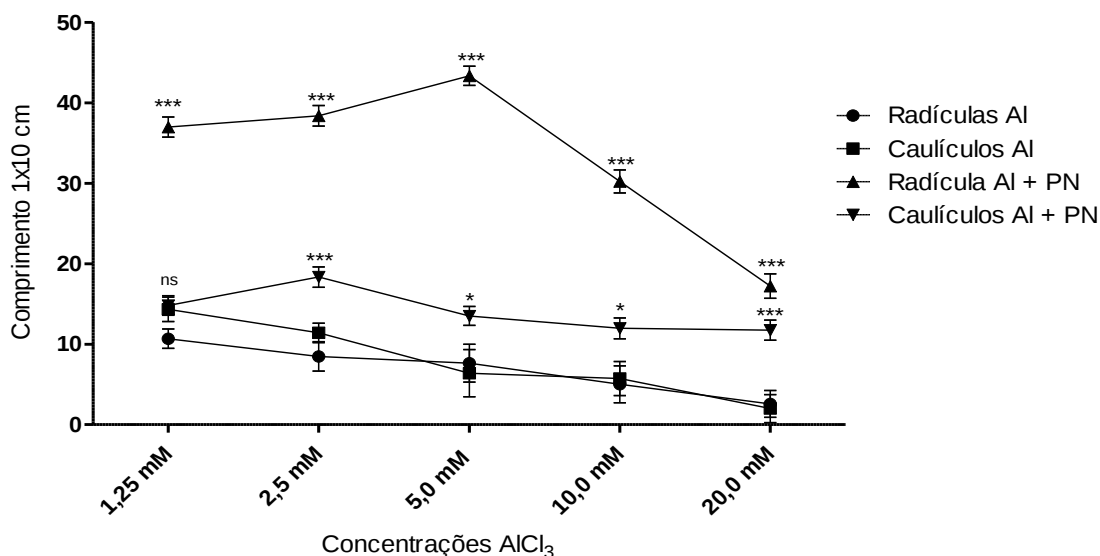
No presente estudo, inicialmente o AlCl_3 foi utilizado nas mesmas concentrações do HgCl_2 , ou seja, 0,05mM; 0,1mM; 0,5 mM e 1,25 mM. Porém, o efeito do extrato de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. na reversão dos efeitos nocivos do metal não apresentou significância, fato que justifica a adoção de maiores concentrações, quais sejam: 1,25mM; 2,5mM; 5,0mM; 10,0mM e 20,0mM.

Nessas concentrações, consideradas extremamente elevadas quando comparadas a estudos realizados com o metal, foi possível observar o efeito citoprotetor do EHSR.

A figura 6 demonstra o crescimento das radículas e caulículos de sementes de alface quando tratadas com apenas de AlCl_3 em 05 (cinco) concentrações distintas e tratadas com AlCl_3 (nas mesmas concentrações do primeiro tratamento) acrescentando-se o EHSR na concentração de 32 μ g/mL.

Figura 6 - Crescimento de radículas e caulículos de *Lactuca sativa* L. em dois tratamentos: um constando de AlCl_3 nas concentrações de 1,25mM; 2,5mM; 5,0mM; 10,0mM e 20,0mM e outro com as mesmas concentrações de AlCl_3 acrescidos de EHSR na concentração de 32 $\mu\text{g/mL}$.

*** valores estatisticamente significantes com $p < 0,0001$.



Apesar de ser observado um declínio no crescimento das plântulas em todas as concentrações utilizadas, tanto com o metal utilizado isoladamente como quando em associação ao extrato, constata-se que as sementes submetidas aos efeitos citoprotetores do extrato cresceram em maior proporção e os efeitos nocivos nas raízes sofreram depleção no que diz respeito ao aspecto morfológico destas.

O maior incremento no crescimento das plântulas se deu na concentração de 5,0mM, embora em todas tenha havido um resultado estatisticamente significativo quanto ao desenvolvimento das radículas e dos caulículos.

Vale ressaltar que, o incremento do sistema radicular foi mais elevado nas maiores concentrações de alumínio, o que contraria a tendência geral nos estudos envolvendo tolerância ao alumínio (MIGUEL et al., 2010).

Além disso, as raízes estudadas apresentavam-se amareladas, grossas, quebradiças e pouco volumosas, porém em menor intensidade quando tratadas com o EHSR.

As anomalias provocadas pelo metal acarretam um menor crescimento das raízes, o que é explicado por problemas de alongamento e divisão celular. Sendo assim, além de impedir o crescimento do sistema radicular (DANTAS et al., 2001) as raízes, quando se desenvolvem, se mostram curtas e grossas (MASSOT et al., 1992 e BALIGAR et al., 1993).

A justificativa para o uso de concentrações muito elevadas do AlCl_3 , a fim de que o efeito citoprotetor do extrato pudesse ser observado, diz respeito ao fato da alta variabilidade para a tolerância ao alumínio. Delhaize et al. (1995); Ma et al. (2001); Ermolayev et al. (2003) corroboram que algumas espécies de plantas desenvolveram mecanismos de sobrevivência ao estresse provocado por este metal. “Essas estratégias de tolerância podem envolver exclusão do alumínio radicular e/ou neutralização do alumínio tóxico dentro da célula” (SAMAC; TESFAYE, 2003). Isso pôde ser verificado com o uso de sementes de alface no estudo em questão.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os metais pesados, em quantidades acima dos níveis aceitáveis para a sobrevivência das espécies vegetais, são um dos principais responsáveis pela baixa performance de plantas e de anomalias detectadas em suas raízes, muito embora a tolerância destas, quanto às concentrações dos metais encontrados nos solos, possa variar bastante conforme a espécie em estudo.

Alternativas que visem reverter ou minimizar os efeitos tóxicos de metais pesados, como o mercúrio e o alumínio, fazem-se necessárias como formas de proteger as espécies vegetais dos ataques danosos destes metais.

Nesse sentido, o estudo do efeito citoprotetor de determinadas plantas se mostra relevante nesse aspecto, o que pode ser observado com o uso do extrato hidroetanólico das cascas de *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. em sementes de alface submetidas a tratamentos com os citados metais e destes quando em associação com o referido extrato.

De acordo com os resultados, percebeu-se que o extrato não apresentou efeito alelopático sobre as sementes de alface quando utilizado na concentração de 32 $\mu\text{g/ml}$ e, em combinação com o HgCl_2 e AlCl_3 , possibilitou um maior crescimento nas radículas e nos caulículos da *Lactuca sativa* L., se comportando, portanto, como uma alternativa para solucionar o problema com a contaminação do solo por metais pesados, evidenciando, dessa forma, seu promissor potencial citoprotetor em espécies vegetais.

REFERÊNCIAS

BALIGAR, V. C.; SCHAFFERT, R. E.; SANTOS, H. L.; PITTA, G. V. E.; BAHIA FILHO, A. F. C. Soil aluminium effects on uptake, influx, and transport of nutrients in sorghum genotypes. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 150, p. 271-277, 1993.

BARCELÓ, J., POSCHENRIEDER, Ch; VÁZQUEZ, M.D., et al. Aluminum phytotoxicity. Fertilizer Research, The Hague, v.43, p.217-223, 1996.

BENASSI, J. C. O uso de bioindicadores e biomarcadores na avaliação do processo de remediação de efluente de lixiviação de carvão mineral utilizando microesferas de quitosana. 106 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2004.

BRASIL, 2009. Ministério da Agricultura, Departamento de Produção Vegetal. Divisão de Sementes e Mudanças. Regras para análise de sementes. LANARV/SNAD/MA, Brasília, p. 188.

CAMARGO, C.E.O.; ALMEIDA, O.B. Tolerância de cultivares de arroz a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva. Bragantia, Campinas, v. 42, n. 17, p. 191-201, 1983.

COSTA, J.G.M.; LEITE, G.O.; DUBOIS, A.F.; SEEGER, R.L.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; CAMPOS, A.R.; ROCHA, J.B.T. Antioxidant Effect of *Stryphnodendron rotundifolium* Martius Extracts from Cariri-Ceará State (Brazil): Potential Involvement in Its Therapeutic Use. Molecules, 17, 934-950. 2012

DANTAS, A.C.M.; FORTES, G.R.L.; SILVA, J.B.; NEZI, A.N.; RODRIGUES, A.C. Tolerância ao alumínio em porta-enxertos somaclonais de macieira cultivados em solução nutritiva. Pesq. agropec. bras., Brasília, v. 36, n. 4, p. 615-623, abr. 2001.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. Plant Physiology, v.107, n.2, p.315-321, 1995.

DEMIRAK, A.; YILMAZ, F.; TUNA, A.L.; OZDEMIR, N. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. Chemos 63(9): 1451-1458. 2006.

DI STASI, L.C. Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996.

ECHART, C. L.; CAVALLI-MOLINA, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismo de tolerância e seu controle genético. Revista Ciência Rural, Santa Maria, v. 31, n. 3, p. 531-541, 2001.

EINHELLIG, F. A. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. In: PUTNAM, A.R.; TANG, Chung-Shih. The science of allelopathy. Toronto: John Wiley & Sons, p. 171-187. 1986.

ERMOLAYEV, V.; WESCHKE, W.; MANTEUFFEL, R. Comparison of Al-induced gene expression in sensitive and tolerant soybean cultivars. Journal of Experimental Botany, v.54, n.393, p.2745-2756, 2003.

FERNANDES, L.A.V.; MIRANDA, D.L.C.; SANQUETTA, C.R. “Potencial alelopático de *Merostachys multiramea* Hackel sobre a germinação de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze”. Revista Acadêmica de Curitiba, 5, 139-146, 2007.

FERNANDES, M.S. Nutrição Mineral de Plantas. SBCS, Viçosa. 2006.

FERREIRA, R.P.; MOREIRA, A.; RASSINI, J.B. Toxidez de alumínio em culturas anuais-- São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 35 p. ; 21 cm.— (Embrapa Pecuária Sudeste. Documentos, 63). , 2006.

FORZZA, R.C., DE JANEIRO, J.B.d.R., 2010. Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

FOY, C.D. Soil chemical factors limiting plant root growth In: HATFIELD, J.L.; STEWART, B.A. Limitations to plant root growth. New York: Springer-Verlag, p.97-149. 1992.

GRESSEL, J. B.; HOLM, L. G. Chemical inhibition of cropgermination by weed seed and the nature of the inhibition by *Abutilon theophrasti*. Weed Res., v. 4, p. 44-53, 1964.

HASLAM, E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. Journal Natural Products, v.59, n. 2, pp 205–215, 1996.

LACERDA, L.D.de; MIGUENS, F.C. A Ressureição do Metal: Contaminação em sedimentos de estuários e deltas. Ciências Hoje, v. 48, 38-41p. 2011.

LAKS, P.E., Chemistry of bark. Wood and Cellulosic Chemistry, Hon, D.N.S., Shiraishi, N., eds. Cap. 7, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 257-330, 1991.

LEITE, N.F. Atividade citoprotetora de extratos hidroalcoólicos de *Psidium sbraleanum* Proença Landrum e *Psidium mysinites* DC. contra danos tóxicos causados pelo mercúrio. [Dissertação]. Crato (CE): Universidade Regional do Cariri – URCA; 2014.

MA, J.F.; RYAN, P.R.; DELHAIZE, E. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. Trends in Plant Science, v.6, p.273-278, 2001.

MASSOT, N.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Differential response of three bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars to aluminum. Acta Botanica Neerlandica, Stuttgart, v. 41, p. 293-298, 1992.

MEDEIROS, A R.M. Alelopatia. Horti Sul, v. 1, n. 3, p. 27-32. 1990.

MERCK MILLIPORE KGaA, Darmstadt, Alemanha. Cloreto de Mercúrio. 2012. Disponível em: <http://www.merckmillipore.com/brazil/cloreto-de-mercurioi/MDA_CHEM-104425/p_9Yyb.s1LJtQAAAEWC.EfVhTl>. Acesso em 02 fevereiro 2014.

MIGUEL, P.S.B.; GOMES, F.T.; ROCHA, W.S.D.; MARTINS, C.E.; CARVALHO, C.A.; OLIVEIRA, A.V. Efeitos tóxicos do alumínio no crescimento das plantas: mecanismos de tolerância, sintomas, efeitos fisiológicos, bioquímicos e controles genéticos. CES Revista, v. 24, Juiz de Fora, 2010.

OLIVEIRA, D.R. Contribuição ao estudo da bioprospecção farmacológica de plantas medicinais do Nordeste brasileiro: Barbatimão (*Stryphnodendron rotundifolium* Mart.). [Dissertação]. Crato (CE): Universidade Regional do Cariri – URCA; 2010.

PATRICK, L., 2002. Mercury toxicity and antioxidants: Part I: Role of glutathione ad alpha-lipoc acid in the treatment of mercury toxicity. Altern Med Rev. 7, 456-471.

SAMAC, D.A.; TESFAYE, M. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils – a review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.75, p.189-207, 2003.

SANTOS, A.M.; DALL'AGNOL, M.; JANKE, A.; BISSANI, C.A.; SANTOS, L.C.; LEÃO, M.L. Caracterização de espécies diploides de *Lotus* em resposta à toxidez por Alumínio. *R. Bras. Zootec.*, v.40, n.5, p.978-984, 2011.

SANTOS, S. C.; MELLO, J.C.P. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O. (Org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, cap. 24, p. 615-656, 2007.

SHETTY, K.; CHUN, S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*, v. 40, p. 809-816, 2005.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, v.15, n.1, pp.71-81, 2002.

SOBRAL-SOUZA, C.E.; LEITE, N.F.; CUNHA, F.A.B.; PINHO, A.I.; ALBUQUERQUE, R. S.; CARNEIRO, J. N.; MENEZES, I.R.; COSTA, J.G.M.; FRANCO, J. L.; COUTINHO, H.D.M. Cytoprotective effect against mercury chloride and bioinsecticidal activity of *Eugenia jambolana* Lam.. *Arabian Journal Chemistry*, v. 7, p. 165-170, 2014.

SOUZA, N., GOMES, M., MACIEL, R., SILVA, R., TRESCHER, T., GORZA, F., PEDRO, G., CORREA, K., SOUZA, M., SILVA, J. Evaluation of the antimicrobial activity of *Stryphnodendron barbatiman* against *Citrobacter freundii*. *Materials Sciences and Applications* 12, 780-785. 2013.

SPHEAR, C. R.; SOUZA, L. A. C. Tempo de exposição e fonte de cálcio na seleção de soja tolerante ao alumínio em hidroponia. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*. Embrapa, 2004, 16p.

TINÔCO, A.A.P., AZEVEDO, I.C.D.D., MARQUES, E.A.G., MOUNTEER, A.H., MARTINS, C.P., NASCENTES, R., REIS, E.L., NATALINO, R. Avaliação de contaminação por mercúrio em Descoberto MG. *Engenharia Sanitária e Ambiental* 15, 305–314, 2010.

VELOSO, C.A.C.; MALAVOLTA, E.; MURAOKA, T.; CARVALHO, E.J.M. Alumínio e a absorção de cálcio por mudas de pimenta do reino. *Sci. agric.* 2000, vol.57, n.1, pp. 141-145.

XING, Y., WHITE, P.J. Antioxidants from cereals and legumes in natural antioxidants chemistry, health effects, and applications “in” SHAHIDI. F. AOCS Press, Champaign, Illinois, pp. 25–55. 1996

ZUANAZZI, J.A.S., MONTANHA, J.A. Flavonoides. In: Simões, C.M.O. Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (Eds.) *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: Editoras da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 519-537, 2004

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os testes-piloto de alelopatia permitiram observar que o efeito alelopático de *Stryphnodendron rotundifolium* supostamente diminuiu quanto utilizado na concentração de 32 µg/mL.
- O EHSR em combinação com o HgCl₂ e AlCl₃, possibilitou um maior crescimento nas radículas e nos caulículos da *Lactuca sativa* L.
- Dessa forma, devido os resultados promissores com o referido extrato, acredita-se que seu uso possa ser visto como uma alternativa para solucionar o problema da contaminação do solo por metais pesados, evidenciando, dessa forma, seu promissor potencial citoprotetor em espécies vegetais.

REFERÊNCIAS

- ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p.1331–1341, 2002.
- APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p.373-399, 2004.
- AREMU, D. A.; MESHITSUKA, S. Some aspects of astroglial functions and aluminium implications for neurodegeneration. **Brain Research Reviews**, v. 52, p. 193-200, 2006.
- AUDI, E. A. et al. Gastric antiulcerogenic effects of *Stryphnodendron adstringens* in rats. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 264-266, 1999.
- AZEVEDO, F.A. **Toxicologia do mercúrio**. São Carlos: Rima, 2003.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.
- BAIRD, C. **Environmental Chemistry**. 2.ed. New York: W.H. Freedman & Company, 2001.
- BALIGAR, V. C.; SCHAFFERT, R. E.; SANTOS, H. L.; PITTA, G. V. E.; BAHIA FILHO, A. F. C. Soil aluminium effects on uptake, influx, and transport of nutrients in sorghum genotypes. **Plant and Soil**, Dordrecht. v. 150, p. 271-277, 1993.
- BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. **Suelo y Planta**, v. 2, p.345-361, 1992.
- BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C.; VÁZQUEZ, M.D., et al. Aluminum phytotoxicity. **Fertilizer Research**, The Hague, v.43, p.217-223, 1996.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2006.
- BECKETT, P. H. T. **Critical tissue concentrations as indicators of toxicity**. Bogota: Suelos Ecuatoriales, 1991.
- BEN, J. R.; MORELLI, M.; ESTEFANEL, E. Influência da calagem na toxidez de alumínio para plantas de cevada. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Campinas, v. 6, n. 2, p.177-189, 1976.
- BENASSI, J. C. **O uso de bioindicadores e biomarcadores na avaliação do processo de remediação de efluente de lixiviação de carvão mineral utilizando microesferas de quitosana**. 2004. 106 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfi eld: Science Publishers, p.1-30, 2010.

BLOKHINA, O. et al. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, v.91, p.179-194, 2003.

BOUJBIHAA, M.A.; HAMDENA, K.; GUERMAZIB, F.; BOUSLAMAC, A.; OMEZZINEC, A.; KAMMOUND, A.; EL FEK, A. Testicular toxicity in mercuric chloride treated rats: Association with oxidative stress. **Reproductive Toxicology**, v. 28, p.81-89, 2009.

BRANDÃO, M.G.L.; ZANETTI, N.N.S.; OLIVEIRA, P.; GRAEL, C.F.F.; SANTOS, A.C.P.; MONTE-MÓR, R.L.M. Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in the oficial pharmacopoeia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p.141–148, 2008a.

BRANDÃO, R.; BORGES, L. P.; DE OLIVEIRA, R.; ROCHA, J. B.; NOGUEIRA, C. W. Diphenyl diselenide protects against hematological and immunological alterations induced by mercury in mice. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**. v. 22, n. 5, p.311-9, 2008b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Departamento de Produção Vegetal. Divisão de Sementes e Mudanças. **Regras para análise de sementes**. LANARV/SNAD/MA, Brasília, p. 188, 2009.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Diagnóstico Preliminar sobre o Mercúrio no Brasil. Perfil do Gerenciamento de Mercúrio no Brasil, incluindo seus Resíduos** – Brasília: MMA, 2013.

CAMARGO, C.E.O.; ALMEIDA, O.B. Tolerância de cultivares de arroz a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva. **Bragantia**, Campinas, v. 42, n. 17, p. 191-201, 1983.

CHANG, A.C.; PAGE, A.L.; WARNEKE, J.E.; GRGUREVIC, E. Sequential extraction on soil heavy metals following a sludge application. **Journal of Environmental Quality**, v.13, p.33-38, 1987.

COSTA, J.G.M.; LEITE, G.O.; DUBOIS, A.F.; SEEGER, R.L.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; CAMPOS, A.R.; ROCHA, J.B.T. Antioxidant Effect of *Stryphnodendron rotundifolium* Martius Extracts from Cariri-Ceará State (Brazil): Potential Involvement in Its Therapeutic Use. **Molecules**, v.17, p.934-950. 2012

CUI, K.; LUO, X.L.; XU, K.Y.; MURTHY, M.R.V. Role of oxidative stress in neurodegeneration: Recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. Prog. Neuro-Psychopharmacol. **Biological Psychiatry**. v.28, p.771–799, 2004.

D'AUTRÉAUX, B.; TOLEDANO, M.B. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.8, p.813-824, 2007.

DANTAS, A.C.M.; FORTES, G.R.L.; SILVA, J.B.; NEZI, A.N.; RODRIGUES, A.C. Tolerância ao alumínio em porta-enxertos somaclonais de macieira cultivados em solução nutritiva. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília. v. 36, n. 4, p. 615-623, 2001.

DELHAIZE, E.; RYAN, P.R. Aluminum toxicity and tolerance in plants. **Plant Physiology**, v.107, n.2, p.315-321, 1995.

DEMIRAK, A.; YILMAZ, F.; TUNA, A.L.; OZDEMIR, N. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. **Chemos.** v.63, n.9, p.1451-1458, 2006.

DESPHANDE SS, SATHE SK, SALUNKHE DK. Chemistry and safety of plant polyphenols. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.177, n.1, p.457-495, 1984.

DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996.

ECHART, C. L.; CAVALLI-MOLINA, S. Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismo de tolerância e seu controle genético. **Revista Ciência Rural**, v. 31, n. 3, p. 531-541, 2001.

EINHELLIG, F. A. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. In: PUTNAM, A.R.; TANG, Chung-Shih. **The science of allelopathy**. Toronto: John Wiley & Sons, p. 171-187. 1986.

ERMOLAYEV, V.; WESCHKE, W.; MANTEUFFEL, R. Comparison of Al-induced gene expression in sensitive and tolerant soybean cultivars. **Journal of Experimental Botany**, v.54, n.393, p.2745-2756, 2003.

FAURE, A.M. et al. Ascorbic acid induced degradation of betaglucan: hydroxyl radicals as intermediates studied by spin trapping and electron spin resonance spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v.87, p.2160-2168, 2012.

FERNANDES, L.A.V.; MIRANDA, D.L.C.; SANQUETTA, C.R. “Potencial alelopático de *Merostachys multiramea* Hackel sobre a germinação de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze”. **Revista Acadêmica de Curitiba**, v.5, p.139-146, 2007.

FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: SBCS, 2006.

FERNANDEZ, O.; CAPDEVILA, J.Z.; DALLA, G.; MELCHOR, G. Efficacy of *Rhizophora* mangle aqueous bark extract in the of open surgical wounds. **Fitoterapia**, v. 73, p.564–568, 2002.

FERREIRA, A. G. Interferência: competição e alelopatia. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.251-262.

FERREIRA, G. A.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Paulo. v. 12, p. 175-204, 2000. Edição especial.

FERREIRA, R.P.; MOREIRA, A.; RASSINI, J.B. **Toxidez de alumínio em culturas anuais**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2006.

FONSECA, P.; LIBRANDI, A. P. L. Avaliação das características físico-químicas e fitoquímicas de diferentes tinturas de barbatimão (*Stryphodendron barbatiman*). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.2, p.271-277, 2008.

FORZZA, R.C.; DE JANEIRO, J. B. R. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

FÖRSTNER, U.E.; WITTMAN, G. T. W. **Metal pollution in the aquatic environment**. 2nd. Berlin: Spriger-Verlag, 1983.

FOY, C. D. Effects of aluminum on plant growth. In: CARSON, E. W. Ed. **The plant root and its environment**. Charlottesville: University Press of Virginia. p.601-642, 1974.

FOY, C. D. Soil chemical factors limiting plant root growth In: HATFIELD, J.L.; STEWART, B.A. **Limitations to plant root growth**. New York: Springer-Verlag, 1992. p.97-149.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. **Physiologia Plantarum**, v.119, p.355-364, 2003.

FREITAS, F. A.; KOPP, M. M.; SOUSA, R. O.; ZIMMER, P. D.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C. Absorção de P, Mg, Ca e K e tolerância de genótipos de arroz submetidos a estresse por alumínio em sistemas hidropônicos. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 72-79, 2006.

GAZIRIA, L. R. B.; CARVALHO, R. I. N. EFEITO ALELOPÁTICO DE CARQUEJA, CONFREI E MIL-FOLHAS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA TIRIRICA. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 33-40, 2009.

GIORGIO, M.; TRINEL, M.; MIGLIACCIO, E.; PIER, G.P. Hydrogen peroxide: A metabolic by-product or a common mediator of ageing signals? **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.9, p.722–728, 2007.

GOMIDE, M. B. **Potencialidades alelopáticas dos restos culturais de dois cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp), no controle de algumas plantas daninhas**. 1993. 96 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

GRATÃO, P. L.; POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, v.32, p.481-494, 2005.

GRESSEL, J. B.; HOLM, L. G. Chemical inhibition of cropgermination by weed seed and the nature of the inhibition by Abutilon theophrasti. **Weed Research**, v. 4, p. 44-53, 1964.

GUARIM NETO, G. **Plantas utilizadas na medicina popular do Estado de Mato Grosso**. Brasília: CNPq/UFMT, 1987.

HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants and human diseases: Curiosity, cause or consequences. **The Lancet**, v.334, p.721–724, 1994.

HASLAM, E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. **Journal Natural Products**, v.59, n. 2, p.205–215, 1996.

HAUGLAND, E.; BRANDSAETER, L. Experiments on bioassay sensitivity in the study of allelopathy. **Journal of Chemical Ecology**, v.22, p.1845-1859, 1996.

HOLMES, P.; JAMES, K. A. F.; LEVY, L. S. Is low level environmental mercury exposure of concern to human health? **Science of the Total Environment**, v.408, p.171-182, 2009.

JOMOVA, K.; VONDRAKOVA, D.; LAWSON, M.; VALKO, M. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.345, p.91–104, 2010.

KAISER, R. R. **Sistemas Purinérgico e Colinérgico e perfil oxidativo no encéfalo de roedores: influência do alumínio e de diferentes dietas**. Santa Maria, RS, Brasil, 2008, 21p. Tese (Doutorado). Centro de Ciências Naturais e Exatas / Universidade Federal de Santa Maria / Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica.

KIM, Y. H.; KWAK, S. S. The role of antioxidant enzymes during leaf development. In: GUPTA, S.D. Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants. Enfi eld: **Science Publishers**, p.129-150, 2010.

KUMAR, V.; BAL, A.; GILL, K. D. Susceptibility of mitochondrial superoxide dismutase to aluminium induced oxidative damage. **Toxicology**. V. 31; 255(3), p.117-23, 2009.

LACERDA, L.D.de; MIGUENS, F.C. A Ressureição do Metal: Contaminação em sedimentos de estuários e deltas. **Ciências Hoje**, v. 48, p.38-41, 2011.

LAKS, P. E. **Chemistry of bark. Wood and Cellulosic Chemistry**. Hon, D.N.S., Shiraishi, N., eds. Cap. 7, Marcel Dekker Inc., New York, p. 257-330, 1991.

LÁZARO, F. J. D. **Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados: evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas**. Universidad Santiago de Compostela, 2008.

LEITE, N.F. **Atividade citoprotetora de extratos hidroalcoólicos de *Psidium soraleanum* Proença Landrum e *Psidium mysinites* DC. contra danos tóxicos causados pelo mercúrio**. 2014. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular). Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B.; MACHINDER, B.; LOCK, M. **Legumes of the World**. Ken, Royal Botanic Gardens, 2005.

LIMA, H. C. **Leguminosas arbóreas da Mata Atlântica: uma análise da riqueza, padrões de distribuição geográfica e similaridades florísticas em remanescentes florestais do Estado do Rio de Janeiro**. 2000. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

LIN, C. J.; PEHKONEN, S. O. The Chemistry of Atmospheric Mercury: a review. **Atmospheric Environment**, v. 33, p.2067-2079, 1999.

LOPES, G. C.; SANCHES, A. C. C.; NAKAMURA, C. V.; DIAS-FILHO, B. P.; HERNANDES, L.; DE MELLO, J. C. P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. And *Stryphnodendron obovatum* Benth, on the cicatrisation of cutaneous wounds in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.99, p.265-272, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais do Brasil Nativas e Exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.

MA, J. F.; RYAN, P. R.; DELHAIZE, E. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. **Trends in Plant Science**, v.6, p.273-278, 2001.

MACEDO, F. M.; MARTINS, G. T.; RODRIGUES, C. G.; OLIVEIRA, D. A. Triagem Fitoquímica do Barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville]. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p.1166-1168, 2007.

MADALENO, L. L.; KOBORI, N. N.; BANZATTO, D. A. Efeito do alumínio nos teores de clorofilas de plântulas de feijão-mungo e labe-labe. **Revista Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 27, n. 2, p. 27-39, 2002.

MALAVOLTA, E. **Elementos de Nutrição Mineral de Plantas**. São Paulo: Editora agronômica Ceres Ltda. 1980.

MALLICK N.; MOHN, F. H. Reactive oxygen species: response of alga cells. **Journal of Plant Physiology**, v.157, p.183-193, 2000.

MASSOT, N.; POSCHENRIEDER, C.; BARCELÓ, J. Differential response of three bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars to aluminum. **Acta Botanica Neerlandica**, Stuttgart, v. 41, p.293-298, 1992.

MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia. **Horti Sul**, v. 1, n. 3, p.27-32. 1990.

MERCK MILLIPORE KGaA, Darmstadt, Alemanha. **Cloreto de Mercúrio**. 2012. Disponível em: <http://www.merckmillipore.com/brazil/cloreto-de-mercurioi/MDA_CHEM-104425/p_9Yyb.s1LJtQAAAEWC.EfVhTl>. Acesso em: 02 fev 2014.

MIGUEL, P. S. B.; GOMES, F. T.; ROCHA, W. S. D.; MARTINS, C. E.; CARVALHO, A. A.; OLIVEIRA, A. V. Efeitos tóxicos do alumínio no crescimento das plantas: mecanismos de tolerância, sintomas, efeitos fisiológicos, bioquímicos e controles genéticos. **CES Revista**. v. 24. Juiz de Fora, 2010.

MOREIRA, R. C. T. et al. Abordagem Etnobotânica acerca do Uso de Plantas Medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 21, n. 3, p.205-211, 2002.

MYLONA, P.V.; POLIDOROS, A.N. ROS regulation of antioxidant genes. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfi eld: Science Publishers, Cap.6, p.101-128, 2011.

NOLLA, A.; SCHLINDWEIN, J. A.; ANGHINONI, I. Crescimento, morfologia radicular e liberação de compostos orgânicos por plântulas de soja em função da atividade de alumínio na solução do solo de campo natural. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n.1, p. 97-101, 2007.

NOREMBERG, S. M. S. **Influência da formação de hidroxialuminosilicatos na biodisponibilidade do alumínio**, 2010. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

O'REILLY, S. B.; MCCARTY, K. M.; STECKLING, N.; LETTMEIER, B. Mercury Exposure and Children's Health. **Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**. v.40, p.186-215, 2010.

OLIVEIRA, C. H.; REBECHI, M.; QUAGLIARA, P. C. Sensibilidade ao timerosal e seu uso em colírios no Brasil. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v.29, n.1, 2006.

OLIVEIRA, D. R. **Contribuição ao estudo da bioprospecção farmacológica de plantas medicinais do Nordeste brasileiro: Barbatimão (*Stryphnodendron rotundifolium* Mart.)**. [Dissertação]. Crato (CE): Universidade Regional do Cariri – URCA; 2010.

OLIVEIRA, D. R.; BRITO-JUNIOR, F. E.; BENTO, E. B.; MATIAS, E. F.; SOUSA, A. C. A.; COSTA, J. G.; COUTINHO, H. D.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. Antibacterial and modulatory effect of *Stryphnodendron rotundifolium*. **Pharmaceutical Biology**. v.49, p.1265-1270, 2011.

PANIZZA, S.; ROCHA, A.B.; GECCHI, R.; SOUZA E SILVA, R.A.P. *Stryphnodendron adstringens barbadetiman* (Vell.) Martius: teor de tanino na casca e sua propriedade cicatrizante. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.10, p.101-106, 1988.

PATRICK, L. Mercury toxicity and antioxidants: Part I: Role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity. **Alternative Medicine Review**, v.7, p.456-471, 2002.

PEIJNENBURG, W. Fate of contaminants in soil. In: DOELMAN, P.; EIJSACKERS, H. J. P., (Eds.). **Vital soil: function, values and properties**. Developments in Soil Science. Elsevier, Amsterdam, p. 245, 2004.

PEIXOTO, P. H. P.; PIMENTA, D. S.; CAMBRAIA, J. Alterações morfológicas e acúmulo de compostos fenólicos em plantas de sorgo sob estresse de alumínio. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n.1, p.17-25, 2007.

REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v.18, n.5, p.577-608, 1999.

RICE, E. L. **Allelopathy**, 2ed. Orlando: Academic Press, 1984.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v.20, p.933-956, 1996.

RIZVI, S. J. H.; HAQUE, H.; SINGH, V. K.; RIZVI, V. **A discipline called allelopathy**. Pp. 1-10. In: S.J.H. Rizvi & V. Rizvi (eds.). *Allelopathy: basic and applied aspects*. London, Chapman & Hall. 1992.

RIZZINI, C. T.; W. B. MORS. **Botânica econômica brasileira**, São Paulo: Edusp, 1976.

RODON-BARRAGÁN, I. S.; RAMÍREZ DUARTE, W. F.; BARATO, P.; ESLAVA MOCHA, P. R. Importancia del ciclo biogeoquímico del Aluminio (Al) con relación con la acidez de los suelos en la producción piscícola y la salud pública ¿ Cual seria el caso de la Orinoquia? **Revista Orinoquia**, v. 11, p. 81-94, 2007.

RODRIGUES, F.; CABRAL, B.; MELO COUTINHO, H.; CARDOSO, A.; CAMPOS, A.; DA COSTA, J. Antiulcer and antimicrobial activities of *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. **Pharmacognosy Magazine**, v.4, p.193-196, 2008.

ROSSIELLO, R. O. P.; JACOB-NETO, J. Toxidez de alumínio em plantas: Novos enfoques para um velho problema. In: FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência de Solos, 432 p, 2006.

SAMAC, D.A.; TESFAYE, M. Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils – a review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.75, p.189-207, 2003.

SANTOS, S. C. et al. Tannin composition of barbatimão species. **Fitoterapia**, v. 73, p. 292-299, 2002.

SANTOS, A. M.; DALL'AGNOL, M.; JANKE, A.; BISSANI, C. A.; SANTOS, L. C.; LEÃO, M. L. Caracterização de espécies diploides de Lotus em resposta à toxidez por Alumínio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.5, p.978-984, 2011.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, cap. 24, p. 615-656, 2007.

SCANDALIOS, J. G.; ACEVEDO, A.; RUZSA, S. Catalase gene expression in response to chronic high temperature stress in maize. **Plant Science**, v.156, p.103-110, 2000.

SERKEDJIEVA, J. Antioxidant effects of plant polyphenols: a case study of a polyphenol-rich extract from *Geranium sanguineum* L. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfi eld: Science Publishers. Chap.13, p.275-293. 2011.

SHETTY, K.; CHUN, S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 809-816, 2005.

SILVA, C. H. T. P. **Validação de metodologia analítica para matéria-prima e produto acabado contendo *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville**. 2007. 75f. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

- SILVA, C. G.; HERDEIRO, R. S.; MATHIAS, C. J.; PANEK, A. D.; SILVEIRA, C. S.; RODRIGUES, V. P.; RENNÓ, M. N.; FALCÃO, D. Q.; CERQUEIRA, D. M.; MINTO, A. B. M. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmaceutical Research**, v.52, p.229–233, 2005.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHEMKEL, E. P.; GOSMANM, G.; MELO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5º ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS e UFSC, 2004.
- SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71-81, 2002.
- SOBRAL-SOUZA, C. E.; LEITE, N. F.; CUNHA, F. A. B.; PINHO, A. I.; ALBUQUERQUE, R. S.; CARNEIRO, J. N.; MENEZES, I. R.; COSTA, J. G. M.; FRANCO, J. L.; COUTINHO, H. D. M. Cytoprotective effect against mercury chloride and bioinsecticidal activity of *Eugenia jambolana* Lam.. **Arabian Journal Chemistry**, v. 7, p. 165-170, 2014.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. **Alelopatia**: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002.
- SOUZA, N.; GOMES, M.; MACIEL, R.; SILVA, R.; TRESCHER, T.; GORZA, F.; PEDRO, G.; CORREA, K.; SOUZA, M.; SILVA, J. Evaluation of the antimicrobial activity of *Stryphnodendron barbatiman* against *Citrobacter freundii*. **Materials Sciences and Applications**, v.12, p.780-785, 2013.
- SPHEAR, C. R.; SOUZA, L. A. C. **Tempo de exposição e fonte de cálcio na seleção de soja tolerante ao alumínio em hidroponia**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa. 16p, 2004.
- STOHS, S. J.; BAGCHI, D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. **Free Radical Biology and Medicine**, v.18, p.321–36, 1995.
- TINÔCO, A. A. P.; AZEVEDO, I. C. D. D.; MARQUES, E. A. G.; MOUNTEER, A. H.; MARTINS, C. P.; NASCENTES, R.; REIS, E. L.; NATALINO, R. Avaliação de contaminação por mercúrio em Descoberto MG. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.15, p.305–314, 2010.
- TRANTAPHYLIDES C.; HAVAUX, M. Singlet oxygen in plants: production, detoxification and signaling. **Trends in Plant Science**, v.14, n.4, p.219-229, 2009.
- TSUTIYA, M. T. **Metais pesados**: o principal fator limitante para o uso agrícola de biossólidos das estações de tratamento de esgotos. In.: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 20, Rio de Janeiro, RJ. Anais... Rio de Janeiro: ABES, 1999b. p.753-761, 1999b.
- UPADHYAY, B. et al. Ethnomedicinal and ethnopharmaco-statistical studies of Eastern Rajasthan, Índia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 1, p.64–86p. 2010.

VEER BALA GUPTA, ANITHA, S.; HEDGE, M. L.; ZECCA, L.; GARRUTO, R. M.; RAVID, R.; SHANKAR, S. K.; STEIN, R.; SHANMUGAVELO, P.; JAGANNATHA RAO, K. S. Aluminium in Alzheimer's disease: are we still at a crossroad? **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 62, p. 143-158, 2005.

VELOSO, C. A. C.; MALAVOLTA, E.; MURAOKA, T.; CARVALHO, E. J. M. Alumínio e a absorção de cálcio por mudas de pimenta do reino. **Scientia Agricola**, v.57, n.1, p.141-145, 2000.

WALLER, G. R.; NOWACKI, E. K. **Alkaloid Biology and Metabolism in Plants**. New York, Plenum Press. 293p, 1978.

WARDLE, D. A.; NICHOLSON, K. S.; AHMED, M. Comparison of osmotic and allelopathic effects of grass leaf extracts on grass seed-germination and radicle elongation. **Plant and Soil**, v.140, p.315-319, 1992.

WATSON, L.; DALLWITZ, M. J. **The families of flowering plants**: descriptions, illustrations, identification, information retrieval. DELTA home. 1992.

WU, Z.; DU, Y.; XUE, H.; WU, Y.; ZHOU, B.; Aluminium induces neurodegeneration and its toxicity arises from increased iron accumulation and reactive oxygen species (ROS) production. **Neurobiology of Aging**, v.33, n.1, p.199. e-1-12. 2012.

XING, Y.; WHITE, P. J. **Antioxidants from cereals and legumes in natural antioxidants chemistry, health effects, and applications** "in" SHAHIDI. F. AOCS Press, Champaign, Illinois, p. 25-55. 1996.

ZATTA, P.; CERVELLIN, D.; ZAMBENEDETTI, P. Effects of the Aluminium Speciation on the Morphology of Rabbit Erythrocytes: a Toxicological Model. **Toxicology in Vitro**, v.12, p. 287-293, 1998.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: Simões, C.M.O. Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (Eds.) **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: Editoras da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 519-537, 2004.

ANEXOS

ANEXO A – PRODUÇÕES CIENTÍFICAS VINCULADAS AO PROJETO

- **Artigo Submetido**

The screenshot displays the Elsevier Editorial System (EES) interface. The browser tabs show 'Entrada (116) - hdmcoutin...', 'Agriculture, Ecosystems & Environment', and 'Elsevier Editorial System'. The address bar shows the URL: ees.elsevier.com/agee/default.asp?acw=3767-0be98c84151f3809c26-c67cf9bd6b73d818-h%7C%24%7CrBLq%283HXGVyZ0MG5PMwlhzKemf1r0JeQuy0.

The header includes the 'Agriculture, Ecosystems & Environment' logo, a 'Contact us' link, and a maintenance notice: 'Maintenance outages between October-December 2015 ... more'. The user is logged in as 'hdmcoutinho@gmail.com' with a 'Switch To: Author' dropdown and a 'Go to: My EES Hub' link. The version is 'EES 2015.10'.

The main section is titled 'Submissions Being Processed for Author Henrique Coutinho, Professor'. It shows 'Page: 1 of 1 (1 total submissions)' and 'Display 10 results per page.'.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
Action Links	AGEE14842	Evaluation of the Cytoprotective effect of <i>Stryphnodendron rotundifolium</i> Mart. against heavy metal using a model of plant seed germination	Nov 20, 2015	Nov 23, 2015	Decision in Process

Below the table, it again shows 'Page: 1 of 1 (1 total submissions)' and 'Display 10 results per page.'.

At the bottom, there is a '<< Author Main Menu' button. The footer contains links for 'Help', 'Privacy Policy', 'Terms and Conditions', and 'About Us'. The copyright notice states 'Copyright © 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.' and mentions cookies. The system clock shows 'PT 09:35 27/11/2015'.

- **Resumos Publicados em Anais de Congressos**

SILVA, A. R. P. S.; **MARTINS, G. M. A. B.**; CRUZ, R.P.; COUTINHO, H. D. M. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOPROTETOR DE *Stryphnodendron rotundifolium* MART., CONTRA EFEITO TÓXICO DO CLORETO DE MERCÚRIO. In: SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, XVII SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, III SEMANA DE EXTENSÃO, I ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA URCA, I ENCONTRO DE ÉTICA E PESQUISA DO CARIRI, II REUNIÃO DE LÍDERES DE GRUPOS DE PESQUISA DO CEARÁ E I FEIRA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO DO CARIRI. UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI. CRATO – CEARÁ, 23 DE OUTUBRO DE 2015.

COSTA, M. S.; CAMPINA, F.F; **MARTINS, G. M. A. B.**; COUTINHO, H. D. M. ATIVIDADE CITOPROTETORA DE *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. CONTRA CLORETO DE MERCÚRIO EM MODELO VEGETAL. In: XVI SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E III ENCONTRO DE PESQUISADORES EM BIOPROSPECÇÃO DO NORDESTE. UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI. CRATO – CEARÁ, 2014.

CAMPINA, F. F.; COSTA, M. S.; **ANDRADE, G. M.**; COUTINHO, H. D. M. AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOPROTETOR CONTRA CLORETO DE MERCÚRIO DE *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. In: XVI SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E III ENCONTRO DE PESQUISADORES EM BIOPROSPECÇÃO DO NORDESTE. UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI. CRATO – CEARÁ, 2014.

SILVA, A. R. P.; ALBUQUERQUE, R. S.; **MARTINS, G. M. A. B.**; COUTINHO, H. D. M. CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO CITOPROTETOR CONTRA CLORETO DE MERCÚRIO DE *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. In: XVI SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E III ENCONTRO DE PESQUISADORES EM BIOPROSPECÇÃO DO NORDESTE. UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI. CRATO – CEARÁ, 2014.

ANEXO B – PRODUÇÕES CIENTÍFICAS NÃO VINCULADAS AO PROJETO

- **Resumos Publicados em Anais de Congressos**

FREITAS, M. A. BRAGA, M. F. B. M., SANTOS, A. T. L., MACHADO, A. J. T., MARTINS, G. M. A. B., COUTINHO, HENRIQUE D.M. Avaliação da Atividade Moduladora dos Extratos de *Lygodium venustum* sw e *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link e dos seus efeitos sobre a Micromorfologia de *Candida albicans* e *Candida tropicalis* In: X SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA E V SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 2015, JUAZEIRO DA BAHIA.

PRÊMIO: MENÇÃO HONROSA. X SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA E V SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 2015, JUAZEIRO DA BAHIA.

SANTOS, A. T. L., MACHADO, A. J. T., CARNEIRO, J. N. P., FREITAS, M. A., MARTINS, G. M. A. B., VEGA, M. C., CORONEL, C., ROLON, M., COUTINHO, HENRIQUE D.M., MORAIS-BRAGA, MARIA FLAVIANA B. EFEITO ANTI-KINETOPLASTIDA E CITÓTOXICO DE EXTRATOS DE *Psidium guajava* E *Psidium brownianum*. In: X SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA E V SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 2015, JUAZEIRO DA BAHIA.

BRAGA, MARIA F. B. M., MACHADO, A. J. T., CARNEIRO, J. N. P., SANTOS, A. T. L., SALES, D. L., FREITAS, M. A., MARTINS, G. M. A. B., TINTINO, SAULO R., BOLIGON, A. A., ATHAYDE, M. L., MENEZES, I. R. A., COSTA, J. G. M., COUTINHO, H.D.M. *Psidium brownianum* Mart. EX DC: COMPOSIÇÃO FENÓLICA E INIBIÇÃO DE VIRULÊNCIA FÚNGICA. In: X SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA E V SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 2015, JUAZEIRO DA BAHIA.

COSTA, M. S.; LEITE, N. F.; SOUZA, C. E. S.; ALBUQUERQUE, R.S.; **ANDRADE, G. M.**; PINHO, A. I.; CUNHA, F. A. B.; GONDIM, G. E. C.; FRANCO, J. L.; COUTINHO, H. D. M. EFEITO CITOPROTETOR DO EXTRATO DE *Psidium brownianum* MART. EX DC. CONTRA A TOXICIDADE DO CLORETO DE MERCÚRIO USANDO MODELOS MICROBIANOS E VEGETAIS. In: X SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FARMACOGNOSIA E V SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 2015, JUAZEIRO DA BAHIA.

MELO, N. D. P.; FERREIRA, L. L. P.; RIBEIRO, L. S.; PEREIRA, R. F.; FERNANDES, G. P.; MELO, A. D. P.; RODRIGUES, T. D.; PROFIRO, J. C.; MACEDO, V. T.; **MARTINS, G. M. A. B.** ETNOBOTÂNICA DE PLANTAS MEDICINAIS USADAS NO TRATAMENTO DA GRIPE. ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA EM AMBIENTE E SOCIEDADE, CAMPUS DARCY RIBEIRO DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, BRASÍLIA - D.F., 2015.

COSTA, M. S.; JÚNIOR, J. T. C.; ALBUQUERQUE, R. S.; SILVA, A. R. P.; CARNEIRO, J. N. P.; **MARTINS, G. M. A. B.**; COUTINHO, H. D. M. ATIVIDADES ANTIPARASITÁRIA E CITOTÓXICAS IN VITRO DE *Luehea paniculata* MART. CONTRA *Trypanossoma cruzi* E *Leishmania brasiliensis*. In: I CONGRESSO CARIRIENSE DE BIOMEDICINA, 2014, JUAZEIRO DO NORTE – CE, 2014.

ALBUQUERQUE, R. S.; LEITE, N. F.; SOUZA, C. E. S.; BRITO, D. I. V.; CARNEIRO, J. N. P.; LAVOR, A. K. L. S.; LIMA, L. F.; FIGUEREDO, F. G.; TINTINO, S. R.; FREITAS, M. A.; MACHADO, A. J. T.; **MARTINS, G. M. A. B.**; FERREIRA, J. V. A.; PINHO, A. I.; CUNHA, F. A. B.; SANTOS, K. K. A.; ALENCAR, L. B. B.; ANDRADE, J. C.; BRAGA, M. F. B. M.; COUTINHO, H. D. M. EFEITO CITOPROTETOR DE *Psidium soraLEANUM* PROENÇA LANDRUM. 2014.

- **Artigos publicados**

FERREIRA, F. R.; COUTINHO, H. D. M., **MARTINS, G. M. A. B.** PAPEL DA ENFERMAGEM NA MANUTENÇÃO DE UM POTENCIAL DOADOR DE ÓRGÃOS EM MORTE ENCEFÁLICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA. REVISTA BRASILEIRA DE MEDICINA - EDIÇÃO ESPECIAL TRANSPLANTES. V.72, P. 12-19, 2015.

COUTINHO, H. D. M.; BRITO, S. M. O.; LEITE, N. F.; VANDESMET, V. C. S.; OLIVEIRA, M. T. A.; **MARTINS, G. M. A. B.**; SILVA, A. R. P.; COSTA, M. S. AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA MODULAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS, FRENTE ÀS CEPAS BACTERIANAS DE *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. REVISTA CIENCIAS DE LA SALUD, V. 13, P. 345-354, 2015.

COUTINHO, H. D. M.; BRITO, D. I. V.; SOUZA, C. E. S.; **MARTINS, G. M. A. B.**; ALBUQUERQUE, R. S.; CAMPINA, F. F.; CARVALHO, P. M. M. AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA ASSOCIAÇÃO ENTRE ANTIBIÓTICOS FRENTE À *Pseudomonas aeruginosa*. REVISTA CUBANA DE FARMACIA, 2015.

COUTINHO, H. D. M.; FIGUEREDO, F. G.; TINTINO, S. R.; LIMA, L. F.; FERREIRA, J. V. A.; **MARTINS, G. M. A. B.**; FREITAS, M. A. CANAIS IÔNICOS E FIBROSE CÍSTICA. REVISTA INTERFACES: SAÚDE, HUMANAS E TECNOLOGIA, V. 2, P. 1-15, 2014.

MARTINS, G. M. A. B.; MACEDO, V. T.; SANTOS, L. C.; GENERINO, M. E. M.; FERNANDES, G. P.; MELO, N. D. P. ANÁLISE DAS RELAÇÕES SOCIAIS DOS ESTUDANTES DA REDE PÚBLICA DE JUAZEIRO DO NORTE. Revista e-ciência. v. 3, n.1, Artigo 05, set. 2015.

- **Capítulo de Livro**

FERNS AND SHRUBS: DIVERSITY, CULTIVATION AND IMPLICATIONS FOR THE ENVIRONMENT

EDITORS: JERALD TUFT

CHAPTER 1 - FERNS AS PROTECTIVE AGENTS AGAINST THE CONTAMINATION WITH MERCURIUM CHLORIDE: THE EXAMPLE OF *Pityrogramma calomelanos* (L.) LINK AND A SHORT REVIEW (PP. 1-30)

AUTHORS / EDITORS: LUCIENE F. LIMA, FERNANDO G. FIGUEREDO, MARIA AUDILENE FREITAS, **GIOCONDA M. ANDRADE**, ROSIMEIRE S. ALBUQUERQUE, MARIA FLAVIANA B. MORAIS-BRAGA, JOÃO VICTOR A. FERREIRA, JOARA N. P. CARNEIRO, DARA IZABEL V. DE BRITO, ANNE KARYZIA L. S. LAVOR, EDNARDO FAGNER F. MATIAS, ANTONIO J. T. MACHADO, IRWIN R. A. MENEZES AND HENRIQUE D. M. COUTINHO, (LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA E BIOLOGIA MOLECULAR, UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI –URCA, CRATO-CE, BRASIL).

SERIES: PLANT SCIENCE RESEARCH AND PRACTICES

BINDING: SOFTCOVER

PUB. DATE: 2015 - 1ST QUARTER

PAGES: 112. 6X9 - (NBC-R)

ISBN: 978-1-63463-426-7

STATUS: AP