

ROSEMEIRE SANTOS COSTA

**EFEITO PROTETOR DO RESVERATROL SOBRE O DESENVOLVIMENTO  
INICIAL DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L. EXPOSTAS AO SULFATO DE  
NÍQUEL**

Serra Talhada – PE  
2022

**C  
O  
S  
T  
A  
  
R  
S  
  
E  
F  
E  
I  
T  
O  
  
P  
R  
O  
T  
E  
T  
O  
R  
  
D  
O  
.  
.  
.  
2  
0  
2  
2**

ROSEMEIRE SANTOS COSTA

**EFEITO PROTETOR DO RESVERATROL SOBRE O DESENVOLVIMENTO  
INICIAL DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L. EXPOSTAS AO SULFATO DE  
NÍQUEL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestra em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva

Serra Talhada – PE  
2022

# FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

C837e

Costa, Rosemeire Santos

Efeito protetor do resveratrol sobre o desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. expostas ao sulfato de níquel / Rosemeire Santos Costa. - 2022.  
79 f.

Orientador: Rogério de Aquino Saraiva.  
Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Serra Talhada, 2022.

1. Biomoléculas. 2. Contaminantes de solo. 3. Metais tóxicos. 4. Quelantes. 5. Remediação. I. Saraiva, Rogério de Aquino, orient. II. Título

CDD 581.15

---

ROSEMEIRE SANTOS COSTA

**EFEITO PROTETOR DO RESVERATROL SOBRE O DESENVOLVIMENTO  
INICIAL DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L. EXPOSTAS AO SULFATO DE  
NÍQUEL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestra em Produção Vegetal.

APROVADO em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_.

Banca Examinadora

---

Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva – UAST/UFRPE

Orientador / Presidente

---

Prof. Dr. Ramom Rachide Nunes – UAST/UFRPE

Examinador Externo

---

Profa. Dra. Kelem Silva Fonseca – UAST/UFRPE

Examinadora Externa

Primordialmente a Deus pela sua infinita bondade; aos meus pais, irmãos e esposo pelo amor, carinho e incentivo diário; à minha avó/mãe por ter me ensinado a valorizar as pequenas coisas e amar as plantas, *in memoriam*; e ao meu orientador, sem o qual não teria conseguido concluir esta difícil tarefa em tempos atípicos.

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu bom Deus, por estar sempre ao meu lado e por me dar a força necessária para enfrentar e superar os obstáculos encontrados durante essa caminhada.

A minha família, como minha base e sustentação. Aos meus pais pelos valores passados, pela educação sólida transmitida e pelo cuidado, a mim dedicado, nas diversas fases da minha vida. O incentivo que recebi, em especial, da minha mãe Maria Heliana, professora e agricultora, mulher simples e perseverante, foi decisivo para que eu persistisse nos estudos e alcançasse níveis mais elevados, como o tão sonhado mestrado na área que amo.

A minha avó/mãe/agricultora, Maria Natalina, por ter me ensinado a valorizar as pequenas coisas e me ensinado os primeiros passos da arte de cultivar as plantas e amá-las. E segundo ela na vida e na agricultura só colhemos aquilo que plantamos, *in memoriam*.

Ao meu esposo, Marcelo George, pela cumplicidade e parceria nos momentos mais difíceis desta caminhada. Seu bom humor me serviu de inspiração para lidar, com um pouco mais de leveza, com a rotina dura de um programa de pós-graduação.

Aos meus colegas de turma de mestrado em Produção Vegetal da UAST 2020.1, com os quais dividi momentos de aprendizado e de amadurecimento. Em tempos de pandemia, de isolamento social e de incertezas, manter o foco nos estudos, na realização de experimentos e na redação do projeto, de artigos e da dissertação foi um verdadeiro desafio enfrentado e superado com união e empatia. Obrigada pelo companheirismo e carinho!

Ao meu orientador Dr. Rogério de Aquino Saraiva, profissional dedicado e solícito, pela ajuda no desenvolvimento do meu tema de pesquisa, pela condução no refinamento da minha metodologia de pesquisa e por me guiar em todo o processo, passando pelas etapas intermediárias até a tão esperada defesa de dissertação.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada por ser uma instituição pública de qualidade, proporcionando uma educação acessível e de excelência a todos os grupos sociais, formando profissionais competentes, pesquisadores qualificados e cidadãos conscientes.

Ao Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal - PGPV, pela oportunidade de realização do mestrado indispensável à minha formação profissional, pela disponibilização da infraestrutura e incentivo à pesquisa científica.

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelos equipamentos disponibilizados para uso nas atividades de pesquisa do PGPV.

A todo o corpo docente do PGPV que, mesmo enfrentando as limitações da Pandemia do COVID-19 e contando com os recursos e as ferramentas disponíveis, conduziram um trabalho pedagógico de excelência.

Ao apoio financeiro e científico concedido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de pesquisa e estudo.

Aos membros do Grupo de Estudo em Bioquímica e Ecotoxicologia Molecular – GEBETOX, em especial a Maria da Saúde e Erica Danúbia, por todos os momentos e ensinamentos compartilhados, pelo apoio na instalação e manutenção dos experimentos, sendo fundamentais e indispensáveis para a conclusão desse trabalho.

Ao Grupo de Instrumentação de Análise Química – GIAQ, em especial a Dra. Andréa Monteiro pelas contribuições para o desenvolvimento deste trabalho.

Às técnicas e assistentes de laboratório, Suzana Henrique, Nadja Graciele e Priscila Alves pela disponibilidade de acompanhamento nas atividades laboratoriais. Com boa vontade e compromisso, em um cenário atípico de pandemia, essas profissionais contribuíram de forma atenciosa e com solicitude para que eu pudesse realizar meus experimentos do modo eficaz.

Aos funcionários da limpeza e da segurança pelo desempenho eficiente de suas funções, garantindo um ambiente seguro, limpo e salubre para toda a comunidade acadêmica. Aos motoristas dos ônibus que transportaram os estudantes com cuidado e zelo, possibilitando a realização das atividades desenvolvimento nesse trabalho.

À banca de avaliação pelas contribuições ao manuscrito e pela disponibilidade de avaliar o trabalho.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.



“Recomece! Se refaça! Relembre o que foi bom. E se um dia lá na frente, a vida der uma ré,  
Recupere a sua fé, e recomece novamente”.

(Bráulio Bessa)

## RESUMO GERAL

COSTA, Rosemeire Santos. Efeito protetor do resveratrol sobre o desenvolvimento inicial de plântulas de *Lactuca sativa* L. expostas ao sulfato de níquel. 2022. 79 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade acadêmica de Serra Talhada (UFRPE - UAST)), Serra Talhada – PE.

Atividades antropogênicas com potencial poluidor constituem um problema de grande relevância, pois acarretam na contaminação de solos por metais tóxicos em muitas partes do mundo. O acúmulo desses metais tóxicos é motivo de preocupação na produção agrícola, por se tratar de um grupo de metais contaminantes com alta capacidade de persistência no ambiente, por serem bioacumuláveis e não se decomporem e nem serem facilmente metabolizados pelas plantas. O Ni é um micronutriente essencial para o crescimento ideal das plantas em baixas concentrações, mas sua toxicidade é considerada mais importante que sua deficiência, devido aos efeitos deletérios serem mais agressivos. Concentrações excessivas de Ni influenciam a dinâmica morfológica, anatômica e bioquímica das plantas. Posto isto, há um interesse crescente focado no desenvolvimento e uso de biomoléculas potencialmente quelantes, como uma alternativa viável no processo de remediação de solos ou proteção vegetal. Posto isso, o estudo teve como objetivo avaliar o efeito protetor do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por níquel em plântulas de *Lactuca sativa* L. cultivada em microambientes. A pesquisa foi desenvolvida em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições, de 30 sementes de alface. O estudo foi dividido em dois experimentos, o primeiro consistiu em diferentes concentrações do RES e o segundo das combinações das concentrações não tóxicas do RES com níveis tóxicos do NiSO<sub>4</sub>, mais os grupos controles: água destilada e concentrações isoladas do RES e NiSO<sub>4</sub>. Foram analisados parâmetros de germinação, morfológicos e bioquímicos nas plântulas cultivadas. Os resultados obtidos indicam que o NiSO<sub>4</sub>, quando aplicado isoladamente, causou toxicidade nas plântulas de alface, mas quando analisamos as combinações NiSO<sub>4</sub> + RES, denotamos um efeito protetor significativo do RES sobre a toxicidade causada por NiSO<sub>4</sub>. Assim, a aplicação exógena do RES pode ser uma grande promessa agrícola na fisiologia de estresse causado por metais tóxicos, por possuir ação quelante. No entanto, são necessários novos estudos para melhorar a compreensão dos mecanismos exatos envolvidos nas ações da biomolécula.

**PALAVRAS-CHAVE:** biomoléculas; contaminantes de solo; metais tóxicos; quelantes; remediação.

## GENERAL ABSTRACT

COSTA, Rosemeire Santos. Protective effect of resveratrol on the initial development of *Lactuca sativa* L. seedlings exposed to nickel sulfate. 2022. 79 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade acadêmica de Serra Talhada (UFRPE - UAST)), Serra Talhada – PE.

Anthropogenic activities with polluting potential are a problem of great relevance, as they lead to soil contamination by toxic metals in many parts of the world. The accumulation of these toxic metals is a cause for concern in agricultural production, because it is a group of contaminant metals with high persistence capacity in the environment, because they are bioaccumulative and do not decompose nor be easily metabolized by plants. Ni is an essential micronutrient for optimal plant growth at low concentrations, but its toxicity is considered more important than its deficiency, due to the deleterious effects being more aggressive. Excessive Ni concentrations influence the morphological, anatomical and biochemical dynamic of plants. Having said that, there is a growing interest focused on the development and use of potentially quenching biomolecules as a viable alternative in the process of soil remediation or plant protection. Having said that, the study aimed to evaluate the protective effect of resveratrol (RES) on nickel-induced phytotoxicity in *Lactuca sativa* L. seedlings grown in microenvironments. The research was developed in a completely randomized design (IHD), with three replications of 30 lettuce seeds. The study was divided into two experiments, the first consisted of different concentrations of RES and the second of the combinations of non-toxic concentrations of RES with toxic levels of NiSO<sub>4</sub>, plus the control groups: distilled water and isolated concentrations of RES and NiSO<sub>4</sub>. Germination, morphological and biochemical parameters were analyzed in cultivated seedlings. The results obtained indicate that NiSO<sub>4</sub>, when applied alone, caused toxicity in lettuce seedlings, but when we analyzed the NiSO<sub>4</sub> + RES combinations, we denoted a significant protective effect of RES on the toxicity caused by NiSO<sub>4</sub>. Thus, the exogenous application of RES can be a great agricultural promise in the physiology of stress caused by toxic metals, because it has chelating action. However, further studies are needed to improve understanding of the exact mechanisms involved in biomolecule actions.

**KEYWORDS:** biomolecules; soil contaminants; toxic metals; quelantes; remediation.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura 1.** Estruturas químicas das formas isômeras *trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol.....**28**
- Figura 2.** Técnicas de remediação comuns para solos contaminados com metais pesados adaptado de Liu et al. (2018).....**32**

### CAPÍTULO II

- Figura 1.** Efeito de diferentes concentrações de resveratrol (RES) sobre a Massa fresca (A) e seca (B) em plântulas *Lactuca sativa* L. Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).....**56**
- Figura 2.** Efeito tóxico do resveratrol (RES) em plântulas de *Lactuca sativa* L, estimado a partir da análise do seu comprimento radicular. As plântulas foram submetidas a diferentes concentrações do resveratrol (RES). A  $CI_{50}$  (Concentração Inibitória Média) não foi possível ser determinada para a faixa de concentração testada ( $CI_{50} > 10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ ). Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).....**57**
- Figura 3.** Necrose radicular em plântulas de *Lactuca sativa* L. cultivadas na presença de diferentes concentrações do resveratrol (RES) e sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) isoladas e combinadas: (A) - controle (plântulas sem necrose) e (B) -  $\text{NiSO}_4$   $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$  (plântulas com necrose parcial).....**59**
- Figura 4.** Efeito do potencial protetor de diferentes concentrações do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) na massa verde (A) e na massa seca (B) em *Lactuca sativa* L. Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).....**60**
- Figura 5.** Efeito do potencial protetor de diferentes concentrações do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) no comprimento radicular (A, B e C) e no comprimento do hipocótilo (D, E e F) em *Lactuca sativa* L. Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).....**61**
- Figura 6.** Efeito do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) no desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa*: (A) – controle, (B) -  $\text{NiSO}_4$   $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$ , (C) - RES  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$  e (D) -  $\text{NiSO}_4$   $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$  + RES  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ .....**62**

**Figura 7.** Efeito do potencial protetor de diferentes concentrações do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) nos níveis dos pigmentos fotossintéticos: clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), clorofilas totais (C) e carotenoide (D) em *Lactuca sativa* L. Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).....64

**Figura 8.** Espectros FTIR dos substratos (papel filtro qualitativo) fixados em placa de Petri usados na germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L., expostos a diferentes tratamentos: água destilada – controle (linha preta), resveratrol (RES)  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$  (linha azul),  $\text{NiSO}_4$   $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$  (linha vermelha) ou (RES)  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$  +  $\text{NiSO}_4$   $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$  (linha roxa). Em (A): faixa entre  $1200 \text{ cm}^{-1}$  –  $1500 \text{ cm}^{-1}$ ; em (B): faixa entre  $1700 \text{ cm}^{-1}$  –  $2100 \text{ cm}^{-1}$ . Cada espectro representa a média de três placas e três leituras por placa de Petri.....65

**Figura 9.** Estrutura proposta do complexo metálico níquel (Ni) e resveratrol (RES).....67

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

**Tabela 1:** Efeito de diferentes concentrações de resveratrol (RES) sobre parâmetros de germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L.....55

**Tabela 2:** Efeito do potencial protetor (remediação) de concentrações não tóxicas de resveratrol (RES) combinadas com concentrações tóxicas de sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) sobre os parâmetros de germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L..... 58

**Tabela 3:** Parâmetros químico e físico-químico das soluções isoladas e combinadas de resveratrol (RES) e sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ )..... 63

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	16
<b>HIPÓTESE E OBJETIVOS</b> .....	18
<b>HIPÓTESE</b> .....	18
<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	18
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	18
<b>CAPÍTULO I</b> .....	19
<b>CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA: FITOTOXICIDADE DO NÍQUEL E POTENCIAL FITOQUÍMICO DO RESVERATROL</b> .....	20
<b>1. METAIS TÓXICOS</b> .....	20
1.1 Poluição ambiental por metais tóxicos .....	20
1.2 Níquel (Ni).....	21
1.2.1 Essencialidade do Ni para os vegetais .....	22
1.2.2 Toxicidade do Ni para os vegetais.....	20
1.2.3 Mecanismo de defesa dos vegetais contra metais tóxicos .....	25
<b>2. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS</b> .....	27
2.1 Metabolismo secundário vegetal .....	27
2.2 Resveratrol (RES).....	28
2.2.1 Estrutura química do resveratrol.....	28
2.2.2 Histórico e fontes de resveratrol .....	20
2.2.3 Atividade biológica do resveratrol.....	30
2.2.4 Usos do resveratrol na produção vegetal .....	30
<b>3. REMEDIAÇÃO</b> .....	31
3.1 Técnicas de remediação.....	31
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	34
<b>CAPÍTULO II</b> .....	45
<b>CAPÍTULO II – EFEITO PROTETOR DO RESVERATROL SOBRE A TOXICIDADE INDUZIDA POR NÍQUEL EM PLÂNTULAS DE <i>Lactuca sativa</i> L.</b> ....	46
<b>RESUMO</b> .....	46
<b>ABSTRACT</b> .....	46
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	47
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	49
2.1 Material vegetal e condições de crescimento .....	49
2.2 Ensaio experimental .....	50
2.2.1 Experimento I .....	50

2.2.2 Experimento II .....	50
2.3 Parâmetros de germinação, desenvolvimento inicial e fitotoxicidade em <i>Lactuca sativa</i> L.....	51
2.3.1 Porcentagem de Germinação (%G) .....	51
2.3.2 Índice de Velocidade de Germinação (IVG) .....	51
2.3.3 Análise de parâmetros biométricos das plântulas .....	52
2.3.4 Índice de Vigor (IV) .....	52
2.3.5 Índice de Tolerância ao Níquel (ITN).....	52
2.3.6 Porcentagem de Necrose Radicular (%NR).....	53
2.4 Parâmetros químico e físico-químico .....	53
2.5 Análise dos pigmentos fotossintetizantes .....	53
2.6 Análise em Espectrômetro de Infravermelho Médio - UATR .....	54
2.7 Análise estatística .....	54
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>54</b>
3.1 Efeito de diferentes concentrações do resveratrol (RES) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de <i>Lactuca sativa</i> L. (Experimento I).....	54
3.2 Teste de remediação do RES (Experimento II) .....	57
3.3 Parâmetros químico e físico-químico .....	62
3.4 Conteúdo dos pigmentos fotossintéticos .....	63
3.5 Análise dos espectros vibracionais no infravermelho médio dos papeis-filtros qualitativos usados como substrato .....	65
3.6 Proposta de quelatação níquel/resveratrol .....	67
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>67</b>
4.1 Teste do efeito protetor do RES sobre a fitotoxicidade induzida por NiSO <sub>4</sub> em plântulas de <i>Lactuca sativa</i> L.....	67
4.1.1 Efeito de diferentes concentrações do resveratrol (RES) .....	67
4.1.2 Fitotoxicidade do NiSO <sub>4</sub> .....	68
4.1.3 Efeito protetor do RES sobre a fitotoxicidade induzida por Ni.....	70
4.1.4 Análise dos espectros vibracionais no infravermelho médio dos papeis-filtros qualitativos usados como substrato.....	72
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>72</b>
<b>6. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>

## APRESENTAÇÃO

Os problemas de contaminação por metais tóxicos estão se tornando cada vez mais comuns em todo o mundo e são responsáveis pelo impacto econômico negativo, estimado em mais de US\$ 10 bilhões/ano. Atividades como mineração, curtumes, fundição, aplicação de fertilizantes, pesticidas, descarte de resíduos de indústrias eletrônicas, lodo de esgoto, irrigação de águas residuais, resíduos de combustão de carvão, derramamento de petroquímicos e deposição atmosférica, são responsáveis pela aceleração do ciclo biogeoquímico desses metais.

Metais tóxicos, como arsênico (As), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cádmio (Cd), cromo (Cr), níquel (Ni), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e alumínio (Al), são considerados os principais poluentes de solo, principalmente em áreas com alta pressão antropogênica. O acúmulo desses metais nos solos é motivo de preocupação na produção agrícola, por consequência de seu efeito tóxico agudo e crônico sobre as plantas e sua bioacumulação nos tecidos vegetais, representando um sério problema para a saúde humana.

Os micronutrientes metais, por exemplo, o Fe, Mn, Zn, Cu, Mo e Ni, vêm sendo alvo de vários estudos na área vegetal, devido seu duplo efeito (toxicidade e essencialidade). Sua essencialidade em baixas concentrações para os vegetais é inquestionável, porém nos últimos anos sua toxicidade é considerada mais importante que sua deficiência, devido a sua alta concentração em solos contaminados, pequena variação entre os níveis limitantes e tóxicos e os efeitos deletérios serem mais agressivos.

O níquel (Ni) é considerado um importante metal-traço nutricionalmente essencial para os vegetais em baixas concentrações (0,05-10,0 mg.kg<sup>-1</sup> de peso seco), por ser cofator de enzimático, no entanto, sua presença em excesso resulta em efeitos tóxicos. Suas altas concentrações no solo podem levar à bioacumulação nos tecidos vegetais, gerando a acumulação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que causam peroxidação lipídica e oxidação de proteínas e ácidos nucleicos, resultando na repressão de eventos vitais como fotossíntese, respiração e atividades enzimáticas.

Para conter, limpar ou restaurar solos contaminados por metais tóxicos, técnicas de remediação física, química, elétrica, térmica e biológica, tanto *in-situ*, como *ex-situ* vem sendo utilizada. Técnicas químicas de imobilização/estabilização vêm sendo bastante estudada para a retenção ou na imobilização dos metais presentes no solo, atuando na precipitação, complexação e adsorção, reduzindo o transporte dos contaminantes para as plantas. Os extratores sintéticos, como por exemplo, os quelantes de aminopolicarboxilato



(APCs), vêm sendo bastante utilizados, no entanto são altamente persistentes nos ambientes aquáticos, levando aos efeitos tóxicos pós-uso. Diante disto, há um interesse crescente focado no desenvolvimento e uso de biomoléculas quelantes, como uma alternativa viável no processo de remediação de solos ou proteção vegetal, pois são naturais podendo ser encontrados em espécies vegetais, possuem baixo custo e são de baixo impacto ambiental.

O resveratrol (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) é um composto fenólico não flavonoide (do tipo estilbeno), encontrado de forma natural em um número significativo de espécies de plantas (aproximadamente 100 espécies). O uso do resveratrol na adaptação das plantas a agentes estressores pode ser uma grande promessa agrícola.

Posto isto, a presente dissertação foi dividida em dois capítulos. O primeiro capítulo, no formato de revisão de literatura, procura abordar sobre a problemática da fitotoxicidade causada nas plantas por níveis elevados de metais tóxicos (incluindo o Ni) no ambiente, o potencial fitoquímico do resveratrol e as principais técnicas de remediação existentes. O capítulo II, no formato de artigo completo, teve como principal objetivo investigar o efeito remediador do resveratrol sobre a fitotoxicidade induzida por metal tóxico (Ni) em uma planta modelo (*Lactuca sativa* L.).

## **HIPÓTESE E OBJETIVOS**

### **HIPÓTESE**

O resveratrol (RES), sendo um composto fenólico com atividade quelante, é capaz de formar quelatos com metais tóxicos e assim reduzir a fitotoxicidade induzida por níquel em plântulas de alface *Lactuca sativa* L.

### **OBJETIVO GERAL**

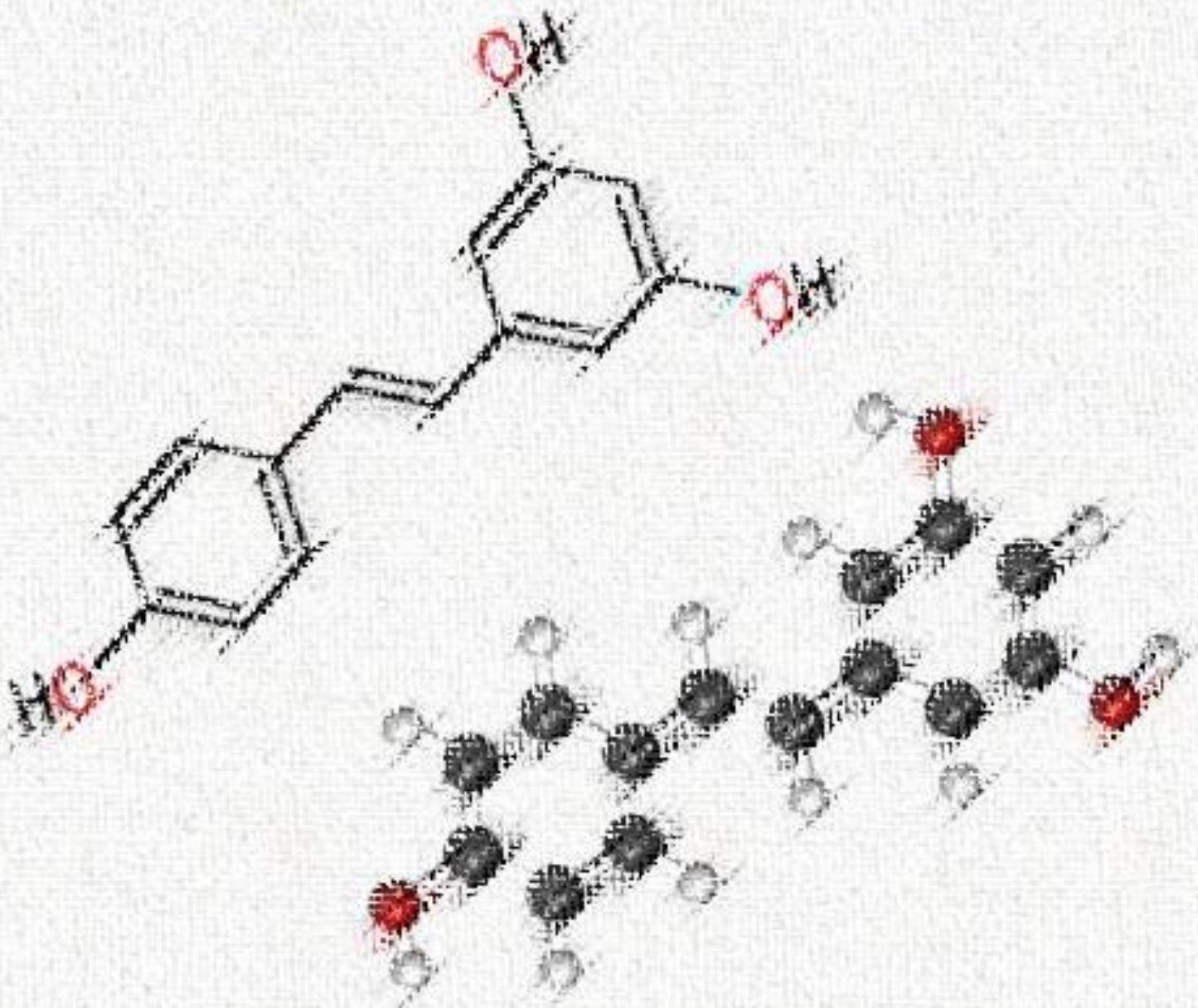
Avaliar o efeito protetor do resveratrol sobre a fitotoxicidade induzida por níquel em plântulas de alface *Lactuca sativa* L. cultivadas em microambientes.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Analisar a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de *L. sativa* na ausência e sob diferentes concentrações de níquel e RES a partir de parâmetros biométricos e fisiológicos;
- b) Avaliar o efeito protetor do RES a partir da análise de parâmetros biométricos;
- c) Correlacionar o perfil fitoquímico do RES com o efeito protetor em plântulas de alface expostas a diferentes concentrações de níquel;
- d) Propor mecanismos moleculares relacionados à atividade remediadora do RES sobre plântulas de alface expostas ao níquel;
- e) Agregar valor ao uso de produtos naturais (biomoléculas) e propor uma nova alternativa viável de agentes quelantes no processo de remediação de solos ou proteção vegetal.

Chem 203

**CAPÍTULO I**  
**REVISÃO DE LITERATURA: FITOTOXICIDADE DE NÍQUEL E POTENCIAL**  
**FITOQUÍMICO DO RESVERATROL**



# **CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA: FITOTOXICIDADE DE METAIS (NÍQUEL) E POTENCIAL FITOQUÍMICO DO RESVERATROL**

## **1. METAIS TÓXICOS**

### **1.1 Poluição ambiental por metais tóxicos**

Os metais tóxicos são poluentes ambientais significativos, mesmo em baixa concentração, e sua toxicidade é um problema por razões ecológicas, evolutivas, nutricionais e ambientais (NAGAJYOTI et al., 2010). A poluição do ambiente, por metais tóxicos, pode acontecer naturalmente a partir de processos pedogenéticos. No entanto, atividades antropogênicas aceleram a liberação desses metais e atualmente vêm aumentando os níveis desses poluentes no solo, águas e atmosfera (SOUZA et al., 2018). Esse aumento desenfreado se deu a partir da revolução industrial, revolução verde e dos avanços tecnológicos dos séculos XX e XXI, para atender ao significativo crescimento populacional. Atividades como mineração, curtumes, fundição, aplicação de fertilizantes, pesticidas, descarte de resíduos de indústrias eletrônicas, lodo de esgoto, irrigação de águas residuais, resíduos de combustão de carvão e derramamento de petroquímicos, foram responsáveis pela aceleração do ciclo biogeoquímico dos metais (JACOB et al., 2018).

Pesquisas recentes mostram que, globalmente, cerca de 20 milhões de hectares (16% do total arável e 19% do agroecossistemas), cobrindo 10 milhões de sítios terrestres, estão contaminados por metais tóxicos (incluindo Ni), com impacto econômico estimado em mais de US\$ 10 bilhões/ano (HE et al., 2015; KUMAR et al., 2019; KUMAR et al., 2021a). A contaminação do solo por metais tóxicos passou a ser um problema mundial, pois pertencem ao grupo de constituintes químicos inorgânicos persistentes e não biodegradáveis, com efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos em humanos, animais e plantas (FLORA et al., 2008; WUANA & OKIEIMEN, 2011). O excesso de metais tóxicos no solo afeta a produtividade das culturas e a produção de alimentos contaminados, devido à bioacumulação desses metais nos tecidos vegetais, representando um sério problema para a saúde humana e animais como consequência da sua acumulação e magnificação na cadeia alimentar via solo-planta-humano ou solo-planta-animal-humano (FU & XI, 2020; SALL et al., 2020).

Entre os metais tóxicos, existem duas classes: os elementos essenciais e não essenciais. A primeira classe, formada pelos elementos essenciais, também denominada de micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo e Ni), é imprescindível em pequenas quantidades e desempenham papel fundamental nas atividades metabólicas e fisiológicas de humanos, plantas e microrganismos. No entanto, sua presença em excesso resulta em efeitos tóxicos

(NAGAJYOTI et al., 2010). A segunda classe são os elementos não essenciais, altamente tóxicos mesmo em baixas concentrações (Cd, Sb, Cr, Pb, As, Co, Ag, Se e Hg) (SCHUTZENDUBEL & POLLE, 2002; ZHOU et al., 2014).

Em relação às propriedades físico-químicas, os metais podem ainda ser divididos em dois grupos: ativos redox (Cr, Cu, Mn e Fe) e ativos não redox (Cd, Ni, Hg, Zn e Al) (JOZEFCZAK et al., 2012). Os metais redox, por meio das reações de Haber-Weiss e Fenton podem desencadear lesões oxidativas em células vegetais, o que leva à superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) (SCHUTZENDUBEL & POLLE, 2002). Os metais ativos não redox, por outro lado, estão envolvidos indiretamente em estresse oxidativo por meio da redução da glutathione, inibição de enzimas antioxidantes ou na indução de enzimas produtoras de EROs (JOZEFCZAK et al., 2012)

O arsênico (As), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cádmio (Cd), cromo (Cr), níquel (Ni), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e alumínio (Al) são considerados poluentes do solo devido à sua ampla ocorrência e ao seu efeito tóxico agudo e crônico sobre as plantas e estão presentes na lista de substâncias tóxicas de acordo com o ranking da ATSDR (NAGAJYOTI et al., 2010; ATSDR, 2015). A toxicidade desses metais em plantas depende de vários fatores que incluem espécie vegetal, concentração, forma química, pH do solo, aeração do solo, fertilidade do solo, competição entre as espécies, tamanho e sistema radicular (NAGAJYOTI et al., 2010).

## 1.2 Níquel (Ni)

O níquel (Ni) é o 22º elemento mais abundante, compreendendo cerca de 0,008% da crosta terrestre, com número atômico de 28 (28 prótons e 28 elétrons) e massa atômica relativa de 58,69 dáltons (HUSSAIN et al., 2013; SHAHZAD et al., 2018). É considerado um importante metal-traço nutricionalmente essencial para microrganismos, animais e vegetais (KUMAR et al., 2021a). Na crosta terrestre, esse elemento é encontrado em vários estados de oxidação (-1, +1, +2, +3 e +4), no entanto  $Ni^{2+}$  é mais comum nos sistemas biológicos (DENKHAUS & SALNIKOW, 2002). O Ni é utilizado para uma variedade de produtos como aço inoxidável, superligas, baterias recarregáveis, catalisadores, produtos de fundição e galvanização, cloreto ( $NiCl_2$ ), óxido divalente (NiO) e sulfato ( $NiSO_4$ ) (US GEOLOGICAL SURVEY, 2021).

No ano de 2020, cerca de 2.500.000 toneladas métricas de Ni foram produzidas e acrescentadas ao meio ambiente através da extração de depósitos minerais. Os principais países produtores de Ni são: Idonésia (760.000 t), Filipinas (320.000 t), Rússia (280.000 t),

Nova Caledonia (200.000 t), Austrália (170.000 t), Canadá (150.000 t) e China (120.000 t) (US GEOLOGICAL SURVEY, 2021). O Brasil é o nono maior produtor de Ni com produção anual de 73.000 t e o terceiro país com maior reserva nacional 16.000.000 t, ficando atrás apenas da Idonésia (21.000.000 t) e da Austrália (20.000.000 t) (US GEOLOGICAL SURVEY, 2021).

A alta extração de Ni, associada ao uso desenfreado e irresponsável nos últimos anos vem causando poluição em todo o mundo, incluindo a Ásia, a Europa e a América (ZHAO et al., 2008; PAPADOPOULOS et al., 2007; KUKIER et al., 2004). No Brasil, os principais focos de contaminação por Ni estão associados a atividades urbanas, industriais e de mineração (GONÇALVES et al., 2016; LEITE et al., 2013; FERNANDES et al., 2014). A contaminação por Ni na biota terrestre, incluindo sua deposição em solos agrícolas, é motivo de grande preocupação, pois o metal entra nos sistemas de produção de alimentos, causando danos aos vegetais e a saúde humana (JAMIL et al., 2014; BHARGAVA et al., 2012).

Atividades antropogênicas, como queima de combustíveis fósseis, atividades de mineração, fundição, descarte de resíduos domésticos, fabricação de aço, indústria de cimento, aterros sanitários, indústrias de tintas, fertilizantes fosfatados e pesticidas, aceleram a liberação de Ni no meio ambiente (SHAHZAD et al., 2018; GIMENO-GARCIA et al., 1996). De acordo com estimativas de Cempel & Nikel (2006) e Lock et al. (2007), as concentrações de Ni em plantas podem atingir até 26,00 g.kg<sup>-1</sup> de peso seco em solos poluídos, cerca de 25 vezes maior que a faixa normal (0,01 a 1,00 g.kg<sup>-1</sup>) encontrada no solo natural, e isso vem gerando grandes preocupações devido a sua deposição em solos agricultáveis.

### **1.2.1 Essencialidade do Ni para os vegetais**

O Ni é um micronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento normal das plantas em baixas concentrações (0,05-10,00 mg.kg<sup>-1</sup> de peso seco), uma vez que se faz necessário para o funcionamento ideal de enzimas (SUNDARAMOORTHY, et al., 2008). Sua essencialidade foi verificada pela primeira vez por Eskew et al. (1983), em plantas de soja (*Glycin max* L.), porém só foi comprovada quatro anos depois por Brown et al. (1987), em plantas de cevada (*Hordeum vulgare* L.). Anteriormente, o Ni era apenas citado como parte das enzimas urease (ureia amidohidrolase, EC 3.5.1.5), a primeira metaloenzima descoberta, que requer dois átomos de Ni por subunidade e catalisam a hidrólise de ureia a amônia e dióxido de carbono (DIXON et al., 1975; PARIDA et al., 2003; MUSTAFIZ et al., 2014). No

entanto, estudos mostram que existem várias enzimas que contém Ni, como hidrogenase, monóxido de carbono desidrogenase, deformilase de peptídeo, acetil-S-coenzima A-sintase, metilcoenzima M redutase e superóxido dismutase (NiSOD) (ERMLER et al., 1998; MULROONEY & HAUSINGER, 2003).

O Ni também está presente na enzima hidrogenase (Ni-Fe), que participa da reciclagem do hidrogênio molecular (H<sub>2</sub>), necessária na redução do nitrogênio (GONZÁLEZ-GUERRERO et al., 2014). Outro papel importante do Ni é no metabolismo de nitrogênio, sendo vital para a conversão de RNAase da urease (BAI et al., 2013). Estudos demonstram que o suprimento adequado de Ni apresenta papel importante no aumento da atividade do nitrogênio redutase (NR), observado em cebola (*Allium cepa* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) e pepino (*Cucumis sativus* L.) (GAD et al., 2007; TABATABAEI et al., 2009; ALIBAKHSI & KHOSHGOFTARMANESH, 2015). Estudos também confirmam que a aplicação exógena de Ni aumenta a atividade da urease em plantas de soja (LAVRES et al., 2016; MACEDO et al., 2016).

Existem vários estudos que comprovam a essencialidade do Ni e seu papel significativo no crescimento e desenvolvimento das plantas. Rahman et al. (2005) e Gajewska et al. (2006), ao aplicar a concentração de 10 µM de Ni na cultura da cevada (*Hordeum vulgare* L.) e do trigo (*Triticum turgidum* L.), obtiveram respostas significativas no crescimento e acúmulo de biomassa. Já Aziz et al. (2007), ao aplicar Ni (20 mg kg<sup>-1</sup> de solo), constataram um aumento da altura da planta, número de ramos e acúmulo de biomassa em mudas de *Hibiscus sabdariffa* L. Estudos com plantas medicinais e aromáticas também contataram que o Ni tem papel fundamental no crescimento e na absorção de nitrogênio (SILVA et al., 2012; REHAM et al., 2016). Resultados propostos por Sobati-Nasab et al. (2021) também indicam que concentrações adequadas de Ni (0,156 mg.L<sup>-1</sup> e 0,234 mg.L<sup>-1</sup>) podem melhorar as características fisiológicas e fitoquímicas de flores de calêndula (*Calendula officinalis* L.)

Contudo, a deficiência de Ni pode inibir o crescimento vegetativo, causar senescência, alterar o metabolismo do nitrogênio, perturbar a absorção e assimilação de ferro e nitrogênio, diminuir a atividade da enzima urease e desidrogenase (WOOD et al., 2006; CHEN et al., 2009; KUMAR et al., 2021b). As plantas com deficiência de Ni frequentemente exibem sintomas que incluem a má formação arquitetônica das plantas, galhos fracos e quebradiços, clorose nas folhas mais novas, necrose em regiões meristemáticas, reduz o crescimento da raiz, o desenvolvimento do endosperma, o crescimento do embrião e a produção de sementes (BARKER & PILBEAM, 2015; WOOD et al., 2006; TABATABAEI, 2009).

## 1.2.2 Toxicidade do Ni para os vegetais

Devido ao efeito duplo (toxicidade e essencialidade), o níquel vem despertando interesse e sendo alvo de vários estudos na área vegetal, por cientistas ambientais, fisiológicos e biológicos. Inquestionavelmente, o Ni é um micronutriente essencial para o crescimento ideal das plantas em baixas concentrações, mas sua toxicidade é considerada mais importante que sua deficiência, devido aos efeitos deletérios serem mais agressivos (BROWN et al., 1987; SHAHZAD et al., 2018; SHAFEEQ et al., 2012; KUMAR et al., 2021b).

Concentrações excessivas de Ni influenciam a dinâmica morfológica, anatômica e bioquímica das plantas. Em estudo Macnicol & Beckett (1985) demonstraram que concentrações elevadas de Ni podem reduzir o crescimento vegetativo de plantas, como altura e produção de biomassa, em diferentes culturas agrícolas como no azevém (*Lolium multiflorum* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), trigo (*Triticum sativum* L.), milho (*Zea mays* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), repolho (*Brassica oleracea* L.), alface (*Lactuca sativa* L.) e espinafre (*Spinacia oleracea* L.). Pesquisas também têm mostrado que, sob altos níveis de Ni, na cultura do girassol (*Helianthus annuus* L.) e da ervilha (*Pisum sativum* L.), resulta no encurtamento da parte aérea e do sistema radicular e redução da massa fresca e seca (AHMAD et al., 2009; KUMAR et al., 2021b).

Estudos com briófitas (*Asterella wallichiana* e *Plagiochasma apendiculatum*) em ambientes naturais de solo contaminado por Ni resultaram na redução do crescimento geral e do desempenho reprodutivo de ambas as hepáticas (SHARMA et al., 2021). Os solos contaminados com Ni também podem interferir na germinação e no desenvolvimento inicial de mudas de arroz (*Oryza sativa* L.) (MAHESHWARI & DUBEY, 2008). A inibição no crescimento pode ser explicada pela regulação negativa da síntese de proteínas (protease e  $\alpha$ -e- $\beta$ -amilases) responsável por mobilizar as reservas de alimentos do endosperma dos cotilédones ou ainda por reduzir a absorção de micro e macronutrientes pelas sementes (PANDEY & SHARMA, 2002; AHMAD et al., 2007).

Estudos relatam também que níveis mais elevados de Ni afetam a absorção de minerais através das raízes, devido à competição por local de ligação (raios iônicos compatíveis), em particular com  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  e  $Zn^{2+}$  (CHEN et al., 2009). Essa competição pode causar deficiência de Mg, Fe e Zn, o que resulta no aparecimento de sintomas como clorose e necrose, devido a inibição da síntese de clorofila (EWAIS, 1997; KHAN & KHAN, 2010; KAMRAN et al., 2016). Ros e colaboradores (1992), investigando o efeito do excesso de  $Ni^{2+}$  na cultura do arroz (*Oryza sativa* L.), propuseram que a estrutura e a atividade



enzimática da membrana celular são afetadas negativamente e, como consequência, há uma redução na captação e absorção de outros nutrientes.

Plantas cultivadas em solos com excesso de Ni frequentemente mostram reduções na atividade fotossintética, ao inibir as atividades das principais enzimas de Ciclo de Calvin como Rubisco, 3-fosfoglicerato cinase, frutose-1,6-bifosfato, aldolase e fosfogliceraldeído cinase, além de interferir na cadeia transportadora de elétrons (YUSUF et al., 2011). A diminuição da atividade fotossintética pode está relacionada ao fechamento estomático que limita a fotossíntese através do bloqueio da captação de CO<sub>2</sub>, ruptura da estrutura do cloroplasto, bloqueio da síntese de clorofila, número e o tamanho reduzidos do cloroplasto e a desorganização da ultraestrutura (SEREGIN & IVANOV, 2001; APPENROTH et al., 2010; SHARMA et al., 2021).

O estresse por metais tóxicos, incluindo o Ni, em plantas também pode levar à produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são formas de oxigênio altamente reativas que possuem ao menos um elétron não pareado em suas orbitais (TAIZ et al., 2017; ROS et al., 1992; SHARMA et al., 2021). Essas EROs podem ser encontradas de várias formas nas células vegetais como superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e radicais hidroxila (OH<sup>•</sup>). Elas são capazes de reagir com diversos constituintes celulares e seu excesso pode causar oxidação em proteínas, DNA, RNA e lipídeos de membrana, que é comumente referido como “estresse oxidativo”. A exposição destas macromoléculas as EROs resulta em modificações oxidativas prejudicando o metabolismo celular vegetal, resultando na degradação de organelas e membrana plasmática, levando à morte celular (YANG et al., 2010).

O malondialdeído (MDA) é um marcador de possível dano de membranas sob estresse oxidativo (DENG et al., 2010). Plantas expostas a altas concentrações de Ni elevam suas concentrações de MDA, devido à peroxidação lipídica causadas pelas EROs, que desestabiliza a integridade, funcionalidade e equilíbrio iônico da membrana plasmática (SHAHZAD et al., 2018; SHARMA et al., 2021). Em estudos, Pandolfini et al. (1992), Kazemi et al. (2010) e Sharma et al. (2021) observaram altos teores de MDA, em plantas de trigo (*Triticum sativum* L), colza (*Brassica napus* L.) e briófitas (*Asterella wallichiana* e *Plagiochasma apendiculatum*), respectivamente, cultivadas com altos teores de Ni.

### **1.2.3 Mecanismos de defesa dos vegetais contra metais tóxicos**

As plantas que enfrentam ambientes estressantes desenvolvem e/ou apresentam características morfológicas, bioquímicas, fisiológicas e moleculares específicas como

estratégia para evitar ou tolerar a toxicidade de metais pesados. Estruturas morfológicas, como paredes celulares das raízes, têm sido estudadas como uma das formas de tolerância a esse contaminante pelas plantas (HALL, 2002). Apresentam ainda efluxo de ânions malatos dos ápices radiculares que protegem as raízes por meio da quelação, reduzindo a absorção dos metais tóxicos e minimizando danos (BUCHANAN et al., 2015). No entanto, quando os metais superam essas barreiras celulares, esses íons conseguem chegar até as células vegetais e então sequestrados e armazenados em compartimentos celulares como parede celular e vacúolo, com intuito de proteger componentes celulares sensíveis às interações do metal (HARADA et al., 2010; GHORI et al., 2019).

A biossíntese de certas biomoléculas por plantas são outra forma de evitar a toxicidade de metais tóxicos no interior das células vegetais como: putrescina, espermina, ácidos orgânicos, glutathione, fitoquelatinas, e metalotioneínas, compostos fenólicos, aminoácidos específicos (prolina e histidina) e hormônios como ácido salicílico, ácido jasmônico e etileno (VIEHWEGER, 2014; DALVI & BHALERAO, 2013). Estudos demonstram que as plantas expostas ao excesso de Ni aumentam o acúmulo de prolina (PANDEY & SHARMA, 2002; KOVACIK et al., 2009; KAZEMI et al., 2010; SHARMA et al., 2021). A Prolina está envolvida na regulação do acúmulo de nitrogênio utilizável, o que pode contribuir para a estabilidade da membrana e mitigar o efeito tóxico dos metais (KAZEMI et al., 2010).

Porém, quando as biomoléculas vegetais não conseguem evitar a intoxicação por metais tóxicos, o sistema de defesa antioxidante é acionado pelas EROs (COLAK et al., 2019). O sistema de defesa antioxidante pode ser enzimático e não enzimático e tem como função a inativação EROs formadas pela presença de metais tóxicos nas células. Os antioxidantes enzimáticos presentes nas plantas são o superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), guaiacol peroxidase (GPX) e glutathione redutase (GR). Os antioxidantes não enzimáticos conhecidos são o ascorbato (AsA), glutathione (GSH), carotenoides, alcaloides, tocoferóis, prolina e compostos fenólicos (flavanóides, taninos e lignina), que tem a função de sequestrar radicais livres (MICHALAK, 2006; SHARMA et al., 2012).

Estudos têm demonstrado que o excesso de Ni tem afetado as atividades antioxidantes, tanto pela estimulação, quanto pela inibição (SHARMA et al., 2021; KAZEMI et al., 2010). O Ni em excesso melhora as atividades da SOD, APX, CAT, GR em mudas de *Zea mays* pré-cultivadas em cultura hidropônica tratadas com 250  $\mu\text{M}$  de  $\text{NiCl}_2$  (BACCOUCH et al., 1998) e da GSH e do AsA em briófitas, *A. wallichiana* e *P. apendiculatum*, crescendo em habitats naturais (SHARMA et al., 2021). Já pesquisas desenvolvidas por Boominathan & Doran

(2002), Pandey & Sharma (2002) e Kazemi et al. (2010) em *Alyssum bertolonii* L., *Brassica oleracea* L., *Brassica napus* L., respectivamente, verificam que as atividades antioxidantes são inibidas com o excesso de Ni.

Para proteção contra danos oxidativos causados pelas EROs, essas biomoléculas podem atuar como quelante e/ou antioxidante. No entanto, os mecanismos de defesa das plantas podem variar de acordo com as características de cada espécie, com os elementos causadores do estresse e as condições específicas da área (SOUZA et al., 2009).

## **2. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS**

### **2.1 Metabolismo secundário vegetal**

As plantas produzem uma quantidade imensurável de compostos orgânicos com estruturas químicas de altíssima complexidade e são divididos em duas classes: metabólitos primários e secundários (PATRA et al., 2013). Os metabólitos primários são destinados principalmente para manutenção da vida das plantas e reprodução, sendo biomoléculas comuns para todas as plantas. Por outro lado, os metabólitos secundários, também conhecidos como metabólitos especializados, derivados do metabolismo primário, são diversos em sua natureza química (KLIEBENSTEIN, 2013). Anteriormente os metabólitos secundários não eram considerados essenciais para as plantas, mas se comprovou que são moléculas indispensáveis, pois fazem forte interação com o ambiente para sua sobrevivência e adequação, o que torna essas biomoléculas tão importantes quanto os metabólitos primários (PATRA et al., 2013).

Com base na composição química, os metabólitos secundários são classificados em três grupos: terpenos (ou isoprenoides), compostos fenólicos (fenilpropanoides, fenólicos flavonoides e fenólicos não flavonoides) e compostos nitrogenados (alcaloides, glicosinatos e glicosídeos cianogênicos) (FANG et al., 2011). A síntese e o acúmulo adequado de metabólitos secundários são estritamente controlado de maneira espacial e temporal e influenciado por um número de fatores bióticos e abióticos (PATRA et al., 2013).

Os compostos fenólicos normalmente têm um anel aromático com um grupo hidroxila e sua biossíntese depende de duas vias, a via do ácido chiquímico e via do ácido malônico (PATRA et al., 2013). A via do ácido chiquímico é mais presente em plantas e é responsável por converter derivados da glicólise e o fosfato de pentose em diferentes aminoácidos aromáticos, como por exemplo a fenilalanina. Já a via do ácido malônico é menos comum em plantas, sendo significativa para bactérias e fungos. Os compostos fenólicos foram divididos

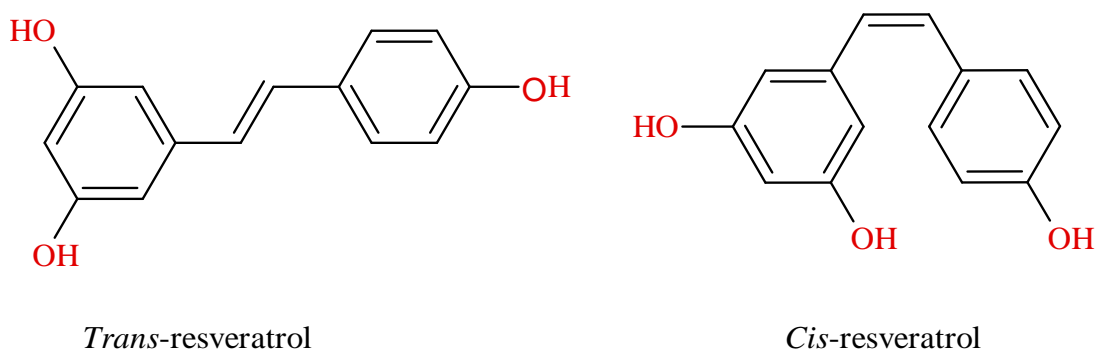
em grupos, tais como flavonoides, taninos, cumarinas, lignanas, ligninas, estibenos, estilpirona e arilpirona (VERMA & SHUKLA, 2015).

Os compostos fenólicos apresentam diversas funções nas plantas, entre eles os flavonoides (pigmentos vegetais) são os mais expressivos e tem função protetora contra raios UV e atração de polinizadores e dispersão de sementes (BUTELLI et al., 2008). Ainda possuem papel fundamental no crescimento das plantas e na defesa contra predadores (micróbios, insetos e herbívoros) (VERMA & SHUKLA, 2015). E também possuem atividade antioxidante devido as suas propriedades redox, ou seja, doadores de hidrogênio, agentes redutores e inibidores de oxigênio singlete (HUANG et al., 2009).

## 2.2 Resveratrol

### 2.2.1 Estrutura química do resveratrol

O resveratrol (trans-3,5,4'-triidroxistilbeno) é um composto fenólico não flavonoide do tipo estilbeno com fórmula geral química  $C_{14}H_{12}O_3$  e peso molecular de  $228,25 \text{ g.mol}^{-1}$  (PIESZKA et al., 2016; COLICA et al., 2018). Esse composto é constituído de dois anéis aromáticos ligados entre si por uma ponte de metileno e é sintetizado sob duas formas isômeras: *trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol (SAUTTER et al., 2005). O isômero *trans* é biologicamente mais ativo e estável do ponto de vista estérico que o isômero *cis* (TRELA & WATERHOUSE, 1996; COLICA et al., 2018). O isômero *trans*, quando exposto ao calor, luz ou radiação ultravioleta, pode se converter no isômero *cis* e o inverso ocorre em soluções com pH ácido (AMRI et al., 2012). Portanto, o *trans*-resveratrol é estável a temperatura ambiente e sob condições ácidas.



**Figura 1.** Estruturas químicas das formas isômeras *trans*-resveratrol e *cis*-resveratrol.

O resveratrol ocorre naturalmente em muitos vegetais e está fortemente relacionado com mecanismo de defesa do hospedeiro contra infecções e lesões, causadas por estressores bióticos e abióticos (TIAN & LIU, 2020). Quando as plantas estão sob estresse causado por

infecção fúngica, exposição à luz ultravioleta, ozônio, anóxico e fermentos, desencadeiam a biossíntese do resveratrol, derivado da via fenilpropanóide do secundário da planta (CHUNG et al., 2003; VERSARI et al., 2001; GRIMMIG et al., 2002; JIMÉNEZ et al., 2007; COLICA et al., 2018). As três enzimas principais envolvidas nesta biossíntese são a fenilalanina amônio liase, coenzima A ligase e estilbeno sintase (FERNÁNDEZ-MAR et al., 2012).

### 2.2.2 Histórico e fontes de resveratrol

O composto resveratrol foi isolado e identificado pela primeira vez em 1940 por Takaoka nas raízes de heléboro branco (*Veratrum grandiflorum*) e, posteriormente, nas raízes do *Polygonum cupidatum*, uma planta usada na medicina tradicional chinesa por milhares de anos (TAKAOKA, 1940; NONOMURA et al., 1963). Em 1976, foi identificado pela primeira vez em uvas por Langcake e Pryce, no entanto, só em 1992 o composto atraiu maior atenção, por ter sido sugerido que sua presença em vinhos era responsável pelos efeitos cardioprotetores e desde então vem sendo alvo de vários estudos principalmente na área da saúde, por apresentar inúmeras ações biológicas, como anticoagulante, antioxidante, anti-inflamatória e antitumoral (SIEMANN & CREASY, 1992; WU et al., 2013).

O resveratrol foi identificado em um número significativo de espécies de plantas, aproximadamente 100 espécies distribuídas em 69 gêneros e 34 famílias botânicas (TIAN & LIU, 2020). As famílias com maior representatividade de espécies são Leguminosae (16 espécies), Liliaceae (11 espécies), Vitaceae (10 espécies), Ericaceae (10 espécies) e Pinaceae (08 espécies), com concentrações de resveratrol variando de 0,5 a 125 mg.kg<sup>-1</sup> (TIAN & LIU, 2020). Apesar do número de espécies ser expressivo, suas fontes alimentícias são bastante limitadas, destacando o amendoim (*Arachis hypogaea* L.), a uva (*Vitis vinifera* L.), a amora (*Morus nigra* L.) e o mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.), bem como seus derivados (FERNÁNDEZ-MAR et al., 2012).

Na atualidade, de todas as espécies, a videira apresenta a maior capacidade de síntese do resveratrol, sendo comumente extraído de uvas vermelhas e, estima-se que a concentração na casca da uva fresca é cerca de 5-10 mg.kg<sup>-1</sup> (WU et al., 2013; TIAN & LIU, 2020). Segundo a análise de vários estudos por Fernández-Mar et al. (2012), sobre o conteúdo *trans*-Resveratrol em vinhos tintos de diferentes variedades e regiões, concluíram que os níveis de resveratrol encontrado é em média 1,9 mg.L<sup>-1</sup> e caem em vinhos rosados e brancos, 0,41 mg.L<sup>-1</sup>, 0,13 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. O suco de uva comercial também é fonte de resveratrol com aproximadamente 4 mg.L<sup>-1</sup> (WU et al., 2013).

A concentração de resveratrol nos frutos de *V. vinifera* é afetada por fatores exógenos, tais como radiação ultravioleta, ataques de patógenos, agentes químicos e estresse oxidativo (LEAL et al., 2017). A maior concentração desse composto encontra-se na película do fruto, devido ao tecido estar exposto à radiação ultravioleta, o que intensifica sua presença no fruto (SAUTTER et al., 2005). Segundo o estudo de Abe et al. (2007), existe correlação positiva entre o conteúdo de antocianinas e a coloração da uva, concluindo que quanto mais intensa for essa coloração, maior será o conteúdo de compostos fenólicos e conseqüentemente maior será a capacidade antioxidante.

### **2.2.3 Atividade biológica do resveratrol**

O resveratrol apresenta numerosas atividades biológicas e vários efeitos benéficos para a saúde humana e, durante os últimos 20 anos, inúmeros estudos foram desenvolvidos na área da saúde para prevenção e diminuição na progressão de várias doenças (LEAL et al., 2017). Estudos desenvolvidos por Banaszewska et al. (2016), Yang et al. (2016), Javid et al. (2017), Liu e Zhang (2014), Matos et al. (2012) apresentaram respostas promissoras como uso do resveratrol em doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, metabólicas, cancerígenas e aumento da longevidade. Essas respostas positivas estão relacionadas às propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antifadiga presente na composição do resveratrol.

Sua atividade antioxidante vem sendo bastante estudada nas últimas décadas por eliminar radicais livres, inibir a peroxidação lipídica de membrana e formar quelatos com metais tóxicos (FREMONT, 2000; GRANZOTTO & ZATTA, 2011). Fremont et al. em 1999, examinando a capacidade do resveratrol em proteger os lipídios e proteínas durante a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) suína, observaram que esse composto atuou na quelação cobre (Cu). Em estudos Mitra et al. (2016) e Fu et al. (2017) observaram que o resveratrol reduz o estresse oxidativo causado pela exposição excessiva de camundongos ao cádmio (Cd). Segundo Granzotto & Zatta (2011), o resveratrol exerce sua função neuroprotetora atuando como um eliminador de EROs contra aqueles gerados por Beta amiloides (Ab) e complexo Ab-metal (Ab-Fe, Ab-Cu e Ab-Zn), reduzindo assim sua toxicidade. Entretanto, estudos utilizando o resveratrol e compostos fenólicos provindos de *Vitis vinifera* para formar quelatos com metais tóxicos do solo, ainda não foram realizados até o momento.

### **2.2.4 Usos do resveratrol na produção vegetal**

O uso do resveratrol na produção vegetal é limitada e restrita à sua função de fungicida, tratamento pós-colheita e proteção contra estresse abiótico (ozônio e luz ultravioleta) (XU et al., 2018; URENA et al., 2003; GRIMMIG et al., 2003). Salgado et al. (2015), Apolonio-Rodríguez et al. (2017) e Xu et al. (2018) relataram que a aplicação exógena de resveratrol contra fungo de pós-colheita (*Botrytis cinerea*), tanto *in vitro* quanto *in vivo*, apresentou atividade antifúngica (redução do crescimento fúngico de 20% a 70%). Já Aldred et al. (2008), estudando fungos dos grãos de trigo (*Penicillium verrucosum* e *Aspergillus westerdijkiae*), constataram que as populações totais dos fungos e a contaminação por ocratoxina foram significativamente reduzidas na presença do resveratrol.

Estudos recentes também têm demonstrado que o resveratrol medeia a adaptação das plantas a agentes estressores, incluindo o boro (B), cloreto de sódio (NaCl) e cloreto de potássio (KCl) (SARAFI et al., 2017; KOSTOPOULOU et al., 2014; LI et al., 2021a & 2021b). Em estudo, Sarafi et al. (2017) verificaram um novo papel do resveratrol (100 µM) na adaptação de plantas de pimenta (*Capsicum annuum* L.) ao excesso de B com base em parâmetros de crescimento da planta, fisiológicos e bioquímicos. Os resultados propostos por Kostopoulou et al. (2014) e LI et al. (2021a & 2021b) sugerem que resveratrol alivia o estresse salino de NaCl e KCl em mudas de *Citrus aurantium* L. e *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehder., respectivamente. A aplicação de resveratrol na concentração de 100 µM também pode aliviar o estresse por deficiência de ferro em mudas de *Malus baccata* (L.) Borkh., principalmente por regular a absorção de ferro (ZHENG et al., 2021).

Portanto, o uso do resveratrol na adaptação das plantas a agentes estressores pode ser uma grande promessa agrícola. Novos estudos são necessários para fornecer uma melhor compreensão do efeito protetor do resveratrol sobre estresse causado pelas diferentes fontes.

### **3. REMEDIAÇÃO**

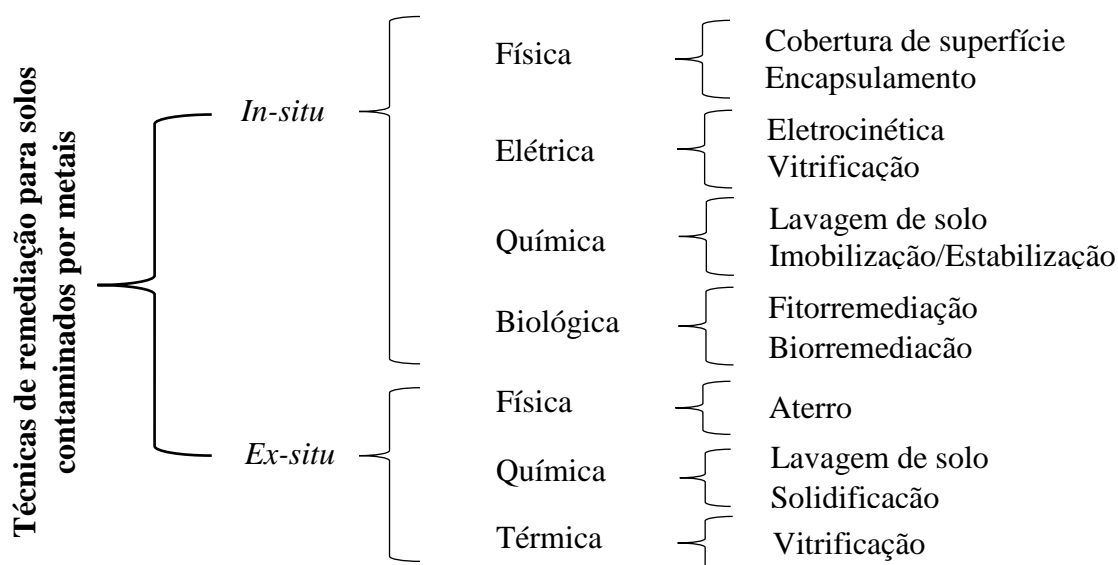
#### **3.1 Técnicas de remediação**

A contaminação do solo por metais tóxicos representa uma séria ameaça à saúde dos seres humanos e plantas, tornando-se mais acentuada e proeminente nas últimas décadas devido à perturbação dos recursos biológicos feita pelo homem que acelerou a ocorrência de muitos estresses abióticos, por exemplo, metais tóxicos (EMAMVERDIAN et al., 2015). O aumento na absorção de metais tóxicos pelas culturas alimentares e vegetais ocorre em resposta ao incremento excessivo dessas substâncias tóxicas em solos agrícolas. Isso exige que se façam mais esforços para aprofundar o conhecimento dos metais tóxicos presentes nos

solos e a maneira como as plantas respondem a sua presença, pois sabe-se que sua presença excessiva pode causar sérios problemas aos vegetais e conseqüentemente à saúde humana através da cadeia alimentar (EMAMVERDIAN et al., 2015; KHALID et al., 2017).

A remediação de solos contaminados por metais tóxicos é uma tecnologia que vem sendo utilizada nas últimas décadas com o objetivo de conter, limpar ou restaurar solos contaminados (LIU et al., 2018). As técnicas de remedição que vem sendo utilizadas podem ser classificadas em cinco categorias: física, química, elétrica, térmica e biológica, tanto *in-situ*, como *ex-situ* (KHALID et al., 2017; LIU et al., 2018). Elas podem ainda ser divididas em três formas: baseada em métodos de contenção (cobertura de superfície/encapsulamento), na transformação (estabilização/imobilização) e no transporte (extração/remoção) (LIU et al., 2018).

A remediação *in-situ* significa que o solo contaminado por metais é tratado em seu local de origem, não tendo a necessidade escavação e transporte do solo, e assim a exposição dos trabalhadores e o custo do tratamento pode ser significativo reduzido (WUANA & OKIEIMEN, 2011; LIU et al., 2018). Porém para sua escolha deve-se levar em conta aspectos como clima, permeabilidade do solo, profundidade de contaminação, e potencial de lixiviação (OLEXSEY & PARKER, 2006). Já a remediação *ex-situ* envolve a escavação e\ou remoção e transporte do solo contaminado para locais de tratamento, necessitando de custos adicionais para escavação, transporte e reabastecimento do local (LIU et al., 2018). No entanto, o tratamento pode ser controlado e acelerado, alcançando melhores resultados em menor tempo quando comparado com a remediação *in-situ* (WUANA & OKIEIMEN, 2011).



**Figura 2.** Técnicas de remediação comuns para solos contaminados com metais pesados adaptado de Liu et al., 2018.



Na remediação física, existem técnicas de cobertura de superfície, encapsulamento e aterros. A cobertura de superfície visa conter o solo contaminado com uma barreira impermeável para evitar os riscos da exposição aos contaminantes (LIU et al., 2018). O encapsulamento tem como função separar o solo contaminado por metais pesados do solo não contaminado, evitando a movimentação externa desses poluentes e o restringindo dentro de uma área específica (ZHENG & WANG, 2002). Já os aterros são uma técnica que visa substituir totalmente ou parcialmente o solo contaminado através da remoção e transporte para aterros sanitários visando um descarte seguro (YAO et al., 2012; LIU et al., 2018).

A remediação elétrica é representada pelas técnicas de vitrificação e eletrocinética. A vitrificação é uma técnica que tem a função de aplicar tratamentos de altas temperaturas em solos contaminados, formando um material vítreo que, de acordo a fonte de calor, pode ser classificada em elétrica e térmica. Os metais tóxicos presentes nos solos são encapsulados na matriz vítrea, a qual é uma estrutura forte, durável e quimicamente inerte e resistente à lixiviação (MALLAMPATI et al., 2015; KHALID, 2017; LIU et al., 2018). A eletrocinética é um método que opera através da adsorção elétrica em que os metais pesados são separados por eletroforese, infiltração elétrica, ou eletro-imigração, diminuindo a contaminação (YAO et al., 2012).

A remediação química engloba técnicas de imobilização/estabilização, solidificação e lavagem do solo. A imobilização ou estabilização consiste na retenção ou na imobilização dos metais presentes no solo, na presença de agentes químicos imobilizantes que atuam na precipitação, complexação e adsorção, reduzindo o transporte dos contaminantes para as plantas (AUSTRUY et al., 2014; TAJUDIN et al., 2016). Na solidificação, são utilizadas substâncias ligantes que se dispersam no solo formando composto sólido com os contaminantes (LIU et al., 2018). Por fim, a técnica de lavagem do solo é um processo físico e químico que se refere à remoção dos metais pesados através de reagentes e extratos, lixiviando esses contaminantes dos solos (FERRARO et al., 2015).

Na remediação biológica, pode-se citar a fitorremediação e a biorremediação, que consistem na utilização de plantas e microorganismos associados ao solo para diminuir as concentrações tóxicas de contaminantes no ambiente (ALI et al., 2013). A fitorremediação utiliza plantas denominadas hiperacumuladoras, capazes de remover metais tóxicos dos solos (fitoextração e fitovolatilização) ou estabilizar em um status inofensivo (fitoimobilização e fitoestabilização) (LIU et al., 2018). No entanto, é uma técnica que demora muito tempo para limpeza dos contaminantes, pois as hiperacumuladoras apresentam limitações como baixa taxa de crescimento e biomassa, além de apresentar risco de contaminação da cadeia

alimentar em caso de falta de cuidados adequados (ALI et al, 2013). Já na biorremediação, são usados microrganismos (fungos, bactérias, algas) ou enzimas isoladas capazes de degradar ou conter o contaminante (ALI et al., 2013).

A remediação biológica utiliza técnicas operacionalmente mais simples, economicamente viável e amplamente aceita para corrigir e restabelecer as condições naturais de solos contaminados e fornecem uma solução permanente (KHALID et al., 2017), ao contrário das técnicas de remediação física, química e térmica e elétrica que alteram as propriedades do solo (LIU et al., 2018).

O acúmulo acentuado de metais tóxicos no solo, causado principalmente por perturbações antropogênicas, representa um sério problema a organismos vivos, incluindo as plantas (EMAMVERDIAN et al., 2015). As plantas, por sua vez, estão expostas à toxicidade mais do que qualquer outro organismo, devido à capacidade variável de absorver, translocar e acumular metais tóxicos em seus tecidos. O Ni, apesar de ser micronutriente essencial para o crescimento ideal das plantas em pequenas concentrações, sua fitotoxicidade é considerada mais importante do que sua falta, devido o efeito deletério ser mais agressivo (SHAHZAD et al., 2018; SHAFEEQ et al., 2012). Nesse sentido solos contaminados por excesso de metais pesados demandam estratégias eficientes para remoção ou proteção vegetal, sem causar danos às plantas e ao meio ambiente.

Na atualidade, há uma forte demanda por novos agroquímicos à base de produtos naturais, a fim de proteger as plantas e reduzir o uso de produtos sintéticos, altamente perigosos para vegetais e organismos do solo (MANTOVANELLI et al., 2020). A utilização exógena de resveratrol surgiu como um candidato potencial, por ser um composto bioativo natural e exercer efeitos benéficos adicionais às culturas quando acometidas por excesso de metais pesados (SARAFI et al., 2017).

## REFERÊNCIAS

ABE, T. L. et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera* L. **Ciênc Tecnol Aliment**, v. 27, p. 394-400, 2007.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Priority list of hazardous substances. 2015. [www.ATSDR.COM/Priority list of hazardous substances](http://www.ATSDR.COM/Priority%20list%20of%20hazardous%20substances).

AHMAD, M. S. A. et al. Effect of nickel on seed germinability of some elite sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. **Pak J Bot**, v. 41, p. 1871-1882, 2009.

AHMAD, M. S. A. et al. Mungbean: a nickel indicator, accumulator or excluder?. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 78, n. 5, p. 319-324, 2007.

ALDRED, D.; CAIRNS-FULLER, V. & MAGAN, N. Environmental factors affect efficacy of some essential oils and resveratrol to control growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus westerdijkiae* on wheat grain. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 4, p. 341-346, 2008.

ALI, H. et al. Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. **Chemosphere**, v. 91, n. 7, p. 869-881, 2013.

ALIBAKHSHI, M. & KHOSHGOFTARMANESH, A. H. Effects of nickel nutrition in the mineral form and complexed with histidine in the nitrogen metabolism of onion bulb. **Plant growth regulation**, v. 75, n. 3, p. 733-740, 2015.

AMRI, A. et al. Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations. **Journal Control Release**, v. 158, p. 182-193, 2012.

APOLONIO-RODRÍGUEZ, Isela et al. In vitro inhibition of *Botrytis cinerea* with extracts of wild grapevine (*Vitis* spp.) leaves. **Revista mexicana de fitopatología**, v. 35, n. 2, p. 170-185, 2017.

APPENROTH, K. J. et al. Effects of nickel on the chloroplasts of the duckweeds *Spirodela polyrhiza* and *Lemna minor* and their possible use in biomonitoring and phytoremediation. **Chemosphere**, v. 78, n. 3, p. 216-223, 2010.

AUSTRUY, A. et al. Mechanisms of metal-phosphates formation in the rhizosphere soils of pea and tomato: environmental and sanitary consequences. **Journal of Soils and Sediments**, v. 14, n. 4, p. 666-678, 2014.

AZIZ, E. E.; GAD, N. & BADRAN, N. M. Effect of cobalt and nickel on plant growth, yield and flavonoids content of *Hibiscus sabdariffa* L. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 1, n. 2, p. 73-78, 2007.

BACCOUCH, S.; CHAOUI, A. & EL FERJANI, E. Nickel-induced oxidative damage and antioxidant responses in *Zea mays* shoots. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 36, n. 9, p. 689-694, 1998.

BAI, C. et al. Nickel affects xylem Sap RNase a and converts RNase A to a urease. **BMC Plant Biology**, v. 13, n. 1, p. 1-9, 2013.

BANASZEWSKA, B. et al. Effects of resveratrol on polycystic ovary syndrome: a doubleblind, randomized, placebo-controlled trial. **The Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 101, n. 11, p. 4322-4328, 2016.

BARKER, A. V. & PILBEAM, D. J. (Ed.). **Handbook of plant nutrition**. CRC press, 2015.

BHARGAVA, A. et al. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of Environmental Management**, v. 105, p. 103-120, 2012.

BOOMINATHAN, R. & DORAN, P. M. Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertolonii*. **New phytologist**, v. 156, n. 2, p. 205-215, 2002.

BROWN, P. H. et al. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiol**, v. 85, n. 3, p. 801-803, 1987.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W. & JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. 2. ed. John Wiley & Sons, 2015.

BUTELLI, E. et al. Martin Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors. **Nat. Biotechnol**, v. 26, p. 1301-1308, 2008.

CEMPEL, M. & NIKEL, G. J. P. J. S. Nickel: a review of its sources and environmental toxicology. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 15, n. 3, p. 375-382, 2006.

CHEN, C.; HUANG, D. & LIU, J. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. **CLEAN-Soil, Air, Water**, v. 37, n. 4-5, p. 304-313, 2009.

CHUNG, I. M. et al. Resveratrol accumulation and resveratrol synthase gene expression in response to abiotic stresses and hormones in peanut plants. **Plant Science**, v. 164, n. 1, p. 103-109, 2003.

COLAK, N. et al. Exogenous N-Acetylcysteine alleviates heavy metal stress by promoting phenolic acids to support antioxidant defence systems in wheat roots. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 181, p. 49-59, 2019.

COLICA, C. et al. A systematic review on natural antioxidant properties of resveratrol. **Natural product communications**, v. 13, n. 9, p. 1195-1203, 2018.

DALVI, A. A. & BHALERAO, S. A. Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. **Annals of Plant Sciences**, v. 2, n. 9, p. 362-368, 2013.

DENG, X. et al. Cadmium-induced oxidative damage and protective effects of N-acetyl-L-cysteine against cadmium toxicity in *Solanum nigrum* L. **J. Hazard Mater**, v. 180, p. 722-729, 2010.

DENKHAUS, E. & SALNIKOW, K. Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. **Crit Rev Oncol/Hematol**, v. 42, n. 1, p. 35-56, 2002.

DIXON, N. E. et al. Jack bean urease (EC 3.5. 1.5). Metalloenzyme. Simple biological role for nickel. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, n. 14, p. 4131-4133, 1975.

EMAMVERDIAN, A. et al. Heavy Metal Stress and Some Mechanisms of Plant Defense Response. **Scientific World Journal**, v. 2015, p. 1-18, 2015.

ERMLER, U. et al. Active sites of transition-metal enzymes with a focus on nickel. **Current opinion in structural biology**, v. 8, n. 6, p. 749-758, 1998.

ESKEW, D. L.; WELCH, R. M. & CARY, E. E. Nickel: an essential micronutrient for legumes and possibly all higher plants. **Science**, v. 222, n. 4624, p. 621-623, 1983.

- EWAIS, E. A. Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weeds. **Biologia Plantarum**, v. 39, n. 3, p. 403-410, 1997.
- FANG, X. et al. Genomics grand for diversified plant secondary metabolites. **Plant Diversity and Resources**, v. 33, p. 53-64, 2011.
- FERNANDES, F. R. C.; ALAMINO, R. D. C. J. & ARAUJO, E. R. Recursos minerais e comunidade: impactos humanos, socioambientais e econômicos. in: Mineração de níquel afeta condições de vida de trabalhadores rurais no Sudeste do Pará. **CETEM**, p. 80-82, 2014.
- FERNÁNDEZ-MAR, M. I. et al. Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 797-813, 2012.
- FERRARO, A. et al. Application of an electrochemical treatment for EDDS soil washing solution regeneration and reuse in a multi-step soil washing process: case of a Cu contaminated soil. **Journal of environmental management**, v. 163, p. 62-69, 2015.
- FLORA, S. J. S.; MITTAL, M. & MEHTA, A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. **Indian Journal of Medical Research**, v. 128, n. 4, p. 501-523, 2008.
- FREMONT, L. Biological effects of resveratrol. **Life sciences**, v. 66, n. 8, p. 663-673, 2000.
- FREMONT, L.; BELGUENDOUZ, L. & DELPAL, S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. **Life sciences**, v. 64, n. 26, p. 2511-2521, 1999.
- FU, B. et al. Resveratrol rescues cadmium-induced mitochondrial injury by enhancing transcriptional regulation of PGC-1 $\alpha$  and SOD2 via the Sirt3/FoxO3a pathway in TCMK-1 cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 486, n. 1, p. 198-204, 2017.
- FU, Z. & XI, S. The effects of heavy metals on human metabolism. **Toxicology mechanisms and methods**, v. 30, n. 3, p. 167-176, 2020.
- GAD, N. et al. Influence of nickel on some physiological aspects of tomato plants. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 1, n. 3, p. 286-293, 2007.
- GAJEWSKA, E. et al. Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots. **Biologia Plantarum**, v. 50, n. 4, p. 653-659, 2006.
- GHORI, N. H. et al. Heavy metal stress and responses in plants. **International journal of environmental science and technology**, v. 16, n. 3, p. 1807-1828, 2019.
- GIMENO-GARCIA, E.; ANDREU, V. & BOLUDA, R. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soils. **Environmental pollution**, v. 92, n. 1, p. 19-25, 1996.
- GONÇALVES, M. F.; KISHI, R. T. & FERNANDES, C. V. S. Poluição por metais pesados na bacia do rio Barigui, estado do Paraná. **REGA**, v. 13, n. 2, p. 175-185, 2016.

GONZÁLEZ-GUERRERO, M. et al. Fixating on metals: new insights into the role of metals in nodulation and symbiotic nitrogen fixation. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 45, p. 1-6, 2014.

GRANZOTTO, A. & ZATTA, P. Resveratrol acts not through anti-aggregative pathways but mainly via its scavenging properties against A $\beta$  and A $\beta$ -metal complexes toxicity. **PloS one**, v. 6, n. 6, p. e21565, 2011.

GRIMMIG, B. et al. Ethylene-and ozone-induced regulation of a grapevine resveratrol synthase gene: different responsive promoter regions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 10, p. 865-870, 2002.

GRIMMIG, B. et al. Ozone-induced gene expression occurs via ethylene-dependent and-independent signalling. **Plant molecular biology**, v. 51, n. 4, p. 599-607, 2003.

HALL, J. áL. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of experimental botany**, v. 53, n. 366, p. 1-11, 2002.

HARADA, E. et al. Expression profiling of tobacco leaf trichomes identifies genes for biotic and abiotic stresses. **Plant and cell physiology**, v. 51, n. 10, p. 1627-1637, 2010.

HE, Z. et al. Heavy metal contamination of soils: sources, indicators, and assessment. **J. Environ. Indic.**, v. 9, p. 17-18, 2015.

HUANG, W. Y.; CAI, Y. Z. & ZHANG, Y. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. **Nutrition and cancer**, v. 62, n. 1, p. 1-20, 2009.

HUSSAIN, M. B. et al. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to nickel stress: A review. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 17, p. 1596-1602, 2013.

JACOB, J. M. et al. Biological approaches to tackle heavy metal pollution: a survey of literature. **Journal of environmental management**, v. 217, p. 56-70, 2018.

JAMIL, M. et al. Role of *Bacillus licheniformis* in phytoremediation of nickel contaminated soil cultivated with rice. **International journal of phytoremediation**, v. 16, n. 6, p. 554-571, 2014.

JAVID, A. Z. et al. The impact of resveratrol supplementation on blood glucose, insulin, insulin resistance, triglyceride, and periodontal markers in type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. **Phytotherapy research**, v. 31, n. 1, p. 108-114, 2017.

JIMÉNEZ, J. B. et al. Short anoxic treatments to enhance trans-resveratrol content in grapes and wine. **European Food Research and Technology**, v. 224, n. 3, p. 373-378, 2007.

JOZEFCAK, M. et al. Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. **International Journal of Molecular Sciences**, v.13, n. 3, p. 3145–3175, 2012.

- KABATA-PENDIAS, A. Trace Metals in Soils and Plants. CRC Press, p. 548, 2010.
- KAMRAN, M. A. et al. Bioaccumulation of nickel by *E. sativa* and role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) under nickel stress. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 126, p. 256-263, 2016.
- KAZEMI, N. et al. Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in leaves of *Brassica napus* L. under nickel stress. **Scientia Horticulturae**, v. 126, n. 3, p. 402-407, 2010.
- KHALID, S. et al. A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 182, p. 247-268, 2017.
- KHAN, M. R. & KHAN, M. M. Effect of varying concentration of Nickel and Cobalt on the plant growth and yield of Chickpea. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 4, n. 6, p. 1036-1046, 2010.
- KLIEBENSTEIN, D. J. Making new molecules evolution of structures for novel metabolites in plants. **Current opinion in plant biology**, v. 16, n. 1, p. 112-117, 2013.
- KOSTOPOULOU, Z. et al. Athanassios. Resveratrol and its combination with  $\alpha$ -tocopherol mediate salt adaptation in citrus seedlings. **Plant physiology and biochemistry**, v. 78, p. 1-9, 2014.
- KOVACIK, J. et al. Physiology of *Matricaria chamomilla* exposed to nickel excess. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 72, n. 2, p. 603-609, 2009.
- KUKIER, U. et al. The effect of pH on metal accumulation in two *Alyssum* species. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, n. 6, p. 2090-2102, 2004.
- KUMAR, A. et al. Nickel Application Impact Study on Pea (*Pisum sativum* L.) Under Dominant Soil Series of Jharkhand, India. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 52, n. 9, p. 976-984, 2021b.
- KUMAR, A. et al. Nickel in terrestrial biota: Comprehensive review on contamination, toxicity, tolerance and its remediation approaches. **Chemosphere**, v. 275, p. 129996, 2021a.
- KUMAR, A. et al. Fungal phytoremediation of heavy metal-contaminated resources: current scenario and future prospects. **Recent Advancement in White Biotechnology through Fungi**, v. 3, p. 437-461, 2019.
- LANGCAKE, P. & PRYCE, R. J. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. **Physiological Plant Pathology**, v. 9, n. 1, p. 77-86, 1976.
- LAVRES, J. et al. Soybean seed treatment with nickel improves biological nitrogen fixation and urease activity. **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, p. 37, 2016.
- LEAL, J. B. et al. Resveratrol: composição química e seus benefícios à saúde. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 11, n. 67, p. 620-629, 2017.

LEITE, M. R. M. C. et al. Estudo da concentração de metais pesados no Rio Salgado e a contribuição da indústria de folheados do cariri. **XXXIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção**, v. 33, 2013.

LI, T. et al. Resveratrol Alleviates the KCl Salinity Stress of *Malus hupehensis* Rhed. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 650485, 2021a.

LI, T. et al. Resveratrol Alleviates the KCl Salinity Stress of *Malus hupehensis* Rhed. Seedlings by Regulating K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> Homeostasis, Osmotic Adjustment, and Reactive Oxygen Species Scavenging. 2021b.

LIU, L. et al. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: principles and applicability. **Science of the Total Environment**, v. 633, p. 206-219, 2018.

LIU, M. L. & ZHANG, S. J. Effects of resveratrol on the protein expression of survivin and cell apoptosis in human gastric cancer cells. **JBUON**, v. 19, n. 3, p. 713-717, 2014.

LOCK, K. et al. Development of a biotic ligand model (BLM) predicting nickel toxicity to barley (*Hordeum vulgare*). **Chemosphere**, v. 66, n. 7, p. 1346-1352, 2007.

MACEDO, F. G. et al. Nickel availability in soil as influenced by liming and its role in soybean nitrogen metabolism. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1358, 2016.

MACNICOL, R. D. & BECKETT, P. H. T. Critical tissue concentrations of potentially toxic elements. **Plant Soil**, v. 85, n. 1, p. 107-129, 1985.

MAHESHWARI, R. & DUBEY, R. S. Inhibition of ribonuclease and protease activities in germinating rice seeds exposed to nickel. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 6, p. 863-872, 2008.

MALLAMPATI, S. R. et al. Dynamic immobilization of simulated radionuclide <sup>137</sup>Cs in soil by thermal treatment/vitrification with nanometallic Ca/CaO composites. **Journal of Environmental radioactivity**, v. 139, p. 118-124, 2015.

MATOS, R. S. et al. Resveratrol causes antiatherogenic effects in an animal model of atherosclerosis. **Arq Bras Cardiol**, v. 98, n. 2, p. 136-142, 2012.

MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 15, n. 4, p. 523-530, 2006.

MITRA, S. et al. Resveratrol alleviates cadmium-induced damage and overexpression of epidermal growth factor receptor and its downstream signaling proteins in the reproductive system of male Swiss albino mice. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, v. 35, n. 1, p. 73-90, 2016.

MULROONEY, S. B. & HAUSINGER, R. P. Nickel uptake and utilization by microorganisms. **FEMS microbiology reviews**, v. 27, n. 2-3, p. 239-261, 2003.



- MUSTAFIZ, A. et al. A unique Ni<sup>2+</sup>-dependent and methylglyoxal-inducible rice glyoxalase I possesses a single active site and functions in abiotic stress response. **The Plant Journal**, v. 78, n. 6, p. 951-963, 2014.
- NAGAJYOTI, P. C. et al. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environ Chem Lett**, v. 8, p. 199-216, 2010.
- NONOMURA, S. et al. Chemical constituents of polygonaceous plants. I. Studies on the components of Ko-jo-kon (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.). **Yakugaku Zasshi**, v. 83, p. 988-990, 1963.
- OLEXSEY, R. A. & PARKER, R. A. Current and future in situ treatment techniques for the remediation of hazardous substances in soil, sediments, and groundwater. In: TWARDOWSKA, I.; ALLEN, H. E.; HAGGBLOM, M. M.; STEFANIAK, S. (eds) Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation. **Nato Science Series**, v. 69, p. 211-219, 2006.
- PANDEY, N. & SHARMA, C. P. Effect of heavy metals Co<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> on growth and metabolism of cabbage. **Plant Science**, v. 163, n. 4, p. 753-758, 2002.
- PANDOLFINI, T.; GABBRIELLI, R. & COMPARINI, C. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. **Plant, Cell & Environment**, v. 15, n. 6, p. 719-725, 1992.
- PAPADOPOULOS, A. et al. Determination and evaluation of cadmium, copper, nickel, and zinc in agricultural soils of western Macedonia, Greece. **Environmental management**, v. 40, n. 4, p. 719-726, 2007.
- PARIDA, B. K.; CHHIBBA, I. M. & NAYYAR, V. K. Influence of nickel-contaminated soils 40 on fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) growth and mineral composition. **Sci Horticult**, v. 98, n. 2, p. 113-119, 2003.
- PATRA, B. et al. Transcriptional regulation of secondary metabolite biosynthesis in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1829, n. 11, p. 1236-1247, 2013.
- PIESZKA, M. et al. Rola resweratrolu w regulacji metabolizmu komórkowego. **Postepy Hig Med Dosw**, v. 70, p. 1117-1123, 2016.
- RAHMAN, H. et al. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, v. 28, n. 3, p. 393-404, 2005.
- REHAM, M. S. et al. Influence of foliar spray with phenylalanine and nickel on growth, yield quality and chemical composition of genoveser basil plant. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 16, p. 1398-1410, 2016.
- ROS, R. et al. Nickel and cadmium-related changes in growth, plasma membrane lipid composition, ATPase hydrolytic activity and proton-pumping of rice (*Oryza sativa* L. cv. Bahia) shoots. **Journal of Experimental Botany**, v. 43, n. 11, p. 1475-1481, 1992.

SALGADO, Marta et al. Encapsulation of resveratrol on lecithin and  $\beta$ -glucans to enhance its action against *Botrytis cinerea*. **Journal of Food Engineering**, v. 165, p. 13-21, 2015.

SALL, M. L. et al. Toxic heavy metals: impact on the environment and human health, and treatment with conducting organic polymers, a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 29927-29942, 2020.

SARAFI, E. et al. Melatonin and resveratrol reverse the toxic effect of high boron (B) and modulate biochemical parameters in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 112, p. 173-182, 2017.

SAUTTER, C. K. et al. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Food Science and Technology**, v. 25, n. 3, p. 437-442, 2005.

SCHUTZENDUBEL A. & POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **The Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p.1351-1365, 2002.

SEREGIN, I. V. & IVANOV, V. B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. **Russian journal of plant physiology**, v. 48, n. 4, p. 523-544, 2001.

SHAFEEQ, A.; BUTT, Z. A. & MUHAMMAD, S. Response of nickel pollution on physiological and biochemical attributes of wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Bhakar-02. **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 1, p. 111–116, 2012.

SHAHZAD, B. et al. Nickel; whether toxic or essential for plants and environment-A review. **Plant physiology and biochemistry**, v. 132, p. 641-651, 2018.

SHARMA, A. et al. Nickel excess affects phenology and reproductive attributes of *Asterella wallichiana* and *Plagiochasma appendiculatum* growing in natural habitats. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2021.

SHARMA, P. et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, v. 2012, p. 1-26, 2012.

SIEMANN, E. H. & CREASY, L. L. Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 43, n. 1, p. 49-52, 1992.

SILVA, J. A.; NAEEM, M. & IDREES, M. Beneficial and toxic effects of nickel in relation to medicinal and aromatic plants. **Med Aromatic Plant Sci Biotechnol**, v. 6, n. Special Issue 1, p. 94-104, 2012.

SOBATI-NASAB, Z.; ALIREZALU, A. & NORUZI, P. Effect of foliar application of nickel on physiological and phytochemical characteristics of pot marigold (*Calendula officinalis*). **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 3, p. 100108, 2021.

SOUZA, A. K. R.; MORASSUTI, C. Y. & DEUS, W. B. Poluição do ambiente por metais pesados e utilização de vegetais como bioindicadores. **Acta Biomédica Brasiliensia**, v. 9, n. 3, p. 95-106, 2018.

SOUZA, V. L. et al. Efeitos do cádmio na anatomia e na fotossíntese de duas macrófitas aquáticas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, p. 343-354, 2009.

SUNDARAMOORTHY, S; KUMAR, D. & VAIJAPURKAR, S. G. A new chlorophycean nickel hyperaccumulator. **Bioresource technology**, v. 99, n. 9, p. 3930-3934, 2008.

TABATABAEI, S. J. Supplements of nickel affect yield, quality, and nitrogen metabolism when urea or nitrate is the sole nitrogen source for cucumber. **Journal of plant nutrition**, v. 32, n. 5, p. 713-724, 2009.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TAJUDIN, S. A. A.; AZMI, M. A. M. & NABILA, A. T. A. Stabilization/solidification remediation method for contaminated soil: a review. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 136, p. 012043, 2016.

TAKAOKA, M. Phenolic substances of white hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loes. fil.). II. Synthesis of resveratrol and its derivatives. **Proceedings of the Imperial Academy (Tokyo)**, v. 16, p. 405-407, 1940.

TIAN, B. & LIU, J. Resveratrol: A review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 4, p. 1392-1404, 2020.

TRELA, B. C. & WATERHOUSE, A. L. Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 44, n. 5, p. 1253-1257, 1996.

URENA, G. et al. Improving postharvest resistance in fruits by external application of trans-resveratrol. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 1, p. 82-89, 2003.

US Geological Survey, Mineral Commodity Summaries, 2021. U S Geological Survey, 200p. [minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/nickel/index.html](https://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/nickel/index.html).

VERMA, N. & SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, n. 4, p. 105-113, 2015.

VERSARI, A. et al. Stilbene compounds and stilbene synthase expression during ripening, wilting, and UV treatment in grape cv. Corvina. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5531-5536, 2001.

VIEHWEGER, K. How plants cope with heavy metals. **Botanical Studies**, v. 55, n. 1, p. 35, 2014.

XU, D. et al. In vitro and in vivo effectiveness of phenolic compounds for the control of postharvest gray mold of table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 139, p. 106-114, 2018.

- WOOD, B. W.; REILLY, C. C. & NYCZEPIR, A. P. Field deficiency of nickel in trees: symptoms and causes. **Acta Horticulture. (Wagening.)**, v. 721, p. 83–98, 2006.
- WU, C. F. et al. Resveratrol: botanical origin, pharmacological activity and applications. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2013.
- WUANA, R. A. & OKIEIMEN, F. E. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. **ISRN Ecology**, v. 2011, p. 1-20, 2011.
- YANG, L. et al. Resveratrol attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury through up-regulation of vascular endothelial growth factor B. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 101, p. 1-9, 2016.
- YANG, Y. et al. Lead-induced phytotoxicity mechanism involved in seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 73, n. 8, p. 1982-1987, 2010.
- YAO, Z. et al. Review on remediation technologies of soil contaminated by heavy metals. **Procedia Environmental Sciences**, v. 16, p. 722-729, 2012.
- YUSUF, M. et al. Nickel: An overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 86, n. 1, p. 1-17, 2011.
- ZHAO, J.; SHI, G. & YUAN, Q. Polyamines content and physiological and biochemical responses to ladder concentration of nickel stress in *Hydrocharis dubia* (Bl.) Backer leaves. **Biometals**, v. 21, n. 6, p. 665-674, 2008.
- ZHENG, C. & WANG, P. P. A field demonstration of the simulation optimization approach for remediation system design. **Groundwater**, v. 40, n. 3, p. 258-266, 2002.
- ZHENG, X. et al. Resveratrol improves the iron deficiency adaptation of *Malus baccata* seedlings by regulating iron absorption. **BMC Plant Biol.**, v. 21, n. 1, p. 433, 2021.
- ZHOU, B. et al. The metallothionein gene, TaMT3, from *Tamarix androssowii* confers Cd<sup>2+</sup> tolerance in Tobacco. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 6, p. 10398-10409, 2014.

## CAPÍTULO II

### EFEITO PROTETOR DO RESVERATROL SOBRE A TOXICIDADE INDUZIDA POR NÍQUEL EM PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L.



## **CAPÍTULO II - EFEITO PROTETOR DO RESVERATROL SOBRE A TOXICIDADE INDUZIDA POR NÍQUEL EM PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* L.**

### **RESUMO**

O níquel (Ni) é um importante metal-traço nutricionalmente essencial para os vegetais em baixas concentrações. No entanto, o excesso de Ni nos solos pode resultar em efeitos tóxicos para as plantas, levando à bioacumulação e à biomagnificação aos seus consumidores. Há um crescente interesse no uso de biomoléculas potencialmente quelantes como alternativa viável no processo de remediação, pois são naturais, de baixo custo e de baixo impacto ambiental. Frente ao pressuposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito protetor do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por níquel em plântulas de *Lactuca sativa* L. cultivada em microambientes. O estudo foi dividido em dois experimentos: no experimento I, avaliou-se diferentes concentrações RES para determinação precisa de níveis tóxicos e não tóxicos. No experimento II (teste de remediação), realizau-se as combinações de duas concentrações não tóxicas do RES com dois níveis tóxicos do NiSO<sub>4</sub>, mais os grupos controles: água destilada e concentrações isoladas do RES e NiSO<sub>4</sub>. Os resultados indicam que o NiSO<sub>4</sub>, usado isoladamente, causou efeito tóxico sobre as plântulas de alface, levando ao retardo significativo no Índice de Vigor (IV), Índice de Tolerância ao Níquel (ITN), comprimento da radícula, massa fresca e seca das plântulas. No entanto, na presença RES, os resultados indicam que foi capaz de proteger em plântulas de *L. sativa* contra a toxicidade induzida por sulfato de níquel, restaurando IV, ITN, comprimento da radícula, massa fresca e seca das plântulas e teores de pigmentos fotossintéticos. Além disso, as plântulas expostas ao RES não exibiram sintomas de toxicidade visíveis nas concentrações 0,01 mmol.L<sup>-1</sup> a 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>. Esses resultados indicam que o RES pode aliviar a toxicidade induzida por NiSO<sub>4</sub> em plântulas de alface, por meio da quelação.

**Palavras-chave:** Agente quelante; antioxidante; biomolécula; composto fenólico; metal tóxico.

### **ABSTRACT**

Nickel (Ni) is an important metal-trace nutritionally essential for vegetables at low concentrations. However, excess Ni in soils can result in toxic effects on plants, leading to bioaccumulation and biomagnification to their consumers. There is a growing interest in the use of potentially chelating biomolecules as a viable alternative in the remediation process, as they are natural, low cost and low environmental impact. In view of the assumption, the

present study aims to evaluate the protective effect of resveratrol (RES) on nickel-induced phytotoxicity in *Lactuca sativa* L. seedlings grown in microenvironments. The study was divided into two experiments: in experiment I, different RES concentrations were evaluated for accurate determination of toxic and non-toxic levels. In experiment II (remediation test), the combinations of two non-toxic concentrations of RES with two toxic levels of NiSO<sub>4</sub> were performed, plus the control groups: distilled water and isolated concentrations of RES and NiSO<sub>4</sub>. The results indicate that NiSO<sub>4</sub>, used alone, caused a toxic effect on lettuce seedlings, leading to significant delay in vigor index (IV), nickel tolerance index (ITN), radicle length, fresh and dry seedling mass. However, in the RES presence, the results indicate that it was able to protect in *L. sativa* seedlings against nickel sulfate-induced toxicity, restoring IV, ITN, radicle length, fresh and dry mass of seedlings and photosynthetic pigment contents. In addition, seedlings exposed to RES did not show visible toxicity symptoms at concentrations 0.01 mmol.L<sup>-1</sup> to 1.00 mmol.L<sup>-1</sup>. These results indicate that RES can relieve NiSO<sub>4</sub> induced toxicity in lettuce seedlings by means of thation.

**KEYWORDS:** chelating agent; antioxidant; biomolecule; phenolic compound; toxic metal.

## 1. INTRODUÇÃO

Os solos são frequentemente contaminados pelo acúmulo de metais tóxicos, principalmente em áreas com alta pressão antropogênica, incluindo industrialização, agricultura intensiva e mineração, constituindo um problema de grande relevância por razões ecológicas, evolutivas, nutricionais e ambientais (NAGAJYOTI et al., 2010). Pesquisas atuais mostram que globalmente, cerca de 20 milhões de ha, cobrindo 10 milhões de sítios terrestres estão contaminados por metais tóxicos (incluindo o Ni), com impacto econômico estimado em mais de US\$ 10 bilhões/ano (HE et al., 2015; KUMAR et al., 2019). No Brasil os principais focos de contaminação por Ni estão associados a atividades urbanas, industriais e de mineração (GONÇALVES et al., 2016; LEITE et al., 2013; FERNANDES et al., 2014).

O acúmulo de metais tóxicos é motivo de preocupação na produção agrícola, por se tratar de um grupo de metais contaminantes com alta capacidade de persistência no ambiente, por serem bioacumuláveis e não se decomporem e nem serem facilmente metabolizados pelas plantas (BHARGAVA et al., 2012; EMAMVERDIAN et al., 2015). Nessas condições, são necessários procedimentos para remoção dos metais pesados do ambiente contaminado ou proteção do vegetal, sem, ao mesmo tempo, causar danos ao meio ambiente. Uma técnica

bastante promissora é a utilização de compostos bioativos naturais ricos em polifenóis que são capazes de complexar íons metálicos.

O níquel (Ni) é o 22º elemento mais abundante da crosta terrestre e importante metal-traço nutricionalmente essencial para os vegetais (KUMAR et al., 2021). Sua disponibilidade no solo varia 0,2-450 mg.kg<sup>-1</sup> dependendo do material de origem e atividade antropogênica (CHEN et al., 2009). Em baixas concentrações (0,05-10 mg.kg<sup>-1</sup> de peso seco), o níquel é considerado um micronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas, pois, atua como cofator de enzimas importantes, incluindo glioxalases, ureases, acetil-S-coenzima A-sintase, metilcoenzima M redutase, superóxido dismutases, peptídeos deformilases e algumas hidrogenases (ERMLER et al., 1998; MULROONEY & HAUSINGER, 2003; VATANSEVER et al., 2017). No entanto, sua presença em excesso resulta em efeitos tóxicos (BAI et al., 2013). Esses efeitos podem ser potencializados por meio de atividades antropogênicas como a mineração, fundições, queima de carvão e petróleo, esgoto, fertilizantes fosfatados e pesticidas, que aceleram a liberação desse elemento no ambiente, constituindo-se uma ameaça para as plantas (NAGAJYOTI et al., 2010; SHAHZAD et al., 2018).

As altas concentrações de Ni no solo podem levar à bioacumulação nos tecidos vegetais, gerando a acumulação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que causam peroxidação lipídica e oxidação de proteínas e ácidos nucleicos, resultando na repressão de eventos vitais como fotossíntese, respiração e atividades enzimáticas (HOSSAIN et al., 2012; SHAHID et al., 2017). A deposição desse metal em demasia em solos agricultáveis vem gerando grandes preocupações, pois as plantas cultivadas estão vulneráveis à contaminação e podem representar riscos à saúde humana e animal através da entrada na cadeia alimentar (solo-planta-humano ou solo-planta-animal-humano) (BHARGAVA et al., 2012).

Para conter, limpar ou restaurar solos contaminados por metais tóxicos, vem sendo utilizadas, nas últimas décadas, várias técnicas de remediação, baseadas em métodos físicos, químicos, elétricos, térmicos e biológicos, tanto *in-situ*, como *ex-situ* (LIU et al., 2018). Os extratores sintéticos, como por exemplo, os quelantes de aminopolicarboxilato (APCs), vêm sendo bastante utilizados na remediação de solos contaminados por metais tóxicos em operações *in situ* ou *ex situ* (HASEGAWA et al., 2011). No entanto, as APCs são altamente persistentes nos ambientes aquáticos, levando aos efeitos tóxicos pós-uso (BEGUM et al., 2012). Diante disto, há um interesse crescente focado no desenvolvimento e uso de biomoléculas quelantes, como uma alternativa viável no processo de remediação de solos ou



proteção vegetal, pois são naturais podendo ser encontrados em espécies vegetais, possuem baixo custo e são de baixo impacto ambiental (VANDENBOSSCHE et al., 2015).

O resveratrol (trans-3,5,4'-triidroxiestilbeno) é um composto fenólico não flavonoide (do tipo estilbeno), encontrado de forma natural em um número significativo de espécies de plantas (aproximadamente 100 espécies), no entanto, de todas as espécies, a videira (*Vitis vinifera* L.) apresenta a maior capacidade de síntese do resveratrol (TIAN & LIU, 2020). Esse composto tem despertado grande interesse na área da saúde por possuir propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antifadiga (CHANG et al., 2015; PRADO et al., 2013; LANÇON et al., 2016; MULERO et al., 2015; PEREDO et al., 2015; PIESZKA et al., 2016). Estudos recentes de proteção de plantas vêm utilizando o resveratrol como possível atividade protetora contra agentes estressores, incluindo o boro (B), cloreto de sódio (NaCl) e Cloreto de potássio (KCl) (KOSTOPOULOU et al., 2014; SARAFI et al., 2017; LI et al., 2021a e 2021b). Contudo, estudos utilizando o resveratrol para formar quelatos com metais tóxicos do solo, englobando o Ni, ainda não foram realizados até o momento.

Considerando o crescente interesse na substituição de quelantes sintéticos por fontes naturais, especialmente utilizando plantas como matéria-prima, além do conhecimento do potencial dos frutos de *Vitis vinifera* como fonte de moléculas potencialmente quelantes e menos tóxicas ao ambiente, este estudo tem como objetivo avaliar o efeito protetor do resveratrol sobre a fitotoxicidade induzida por níquel em plântulas de *Lactuca sativa* L.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Material vegetal e condições de crescimento**

Os compostos químicos foram adquiridos comercialmente, o resveratrol (RES) com pureza 99,97%, foi obtido em farmácia de manipulação (Finnofarma, CNPJ: 07.085.840/0001-43) e o sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) com pureza > 98%, na empresa Dinâmica (Química Contemporânea LTDA, CNPJ: 68.210.657/0001-17). As sementes de *Lactuca sativa* também foram obtidas comercialmente (cultivar Mônica SF 31, Feltrin®, Farroupilha, Brasil). Antes da semeadura, elas foram esterilizadas com imersão em solução contendo NaClO a 3% por 5 minutos e, em seguida, lavadas com água destilada para remoção do excesso do desinfetante. As sementes foram semeadas em placa de Petri de 9 cm de diâmetro com duas folhas de papel filtro qualitativo, na qual foram adicionadas 30 sementes por placa. Todo procedimento de semeadura foi realizado dentro da capela de fluxo laminar (PA 120 ECO), previamente esterilizada com álcool 70 e luz UV. Antes da semeadura, as placas foram

embebidas com 3,0 mL das concentrações do RES (Experimento I) e do NiSO<sub>4</sub> + RES (Experimento II). Durante sete dias, os microambientes foram acomodados em câmara climática (B.O.D MA-1402/546), com densidade de fluxo de fóton cerca de 80 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 12h e temperatura de 25 °C ±1 °C. As plântulas com sete dias de idade foram então armazenadas em ultrafreezer a – 80°C (MDF-U56VC) para análises posteriores e uma parte foi empregada diretamente para a medição de vários parâmetros de crescimento (comprimento da radícula e hipocótilo e massa fresca e seca).

## **2.2 Ensaio Experimental**

O estudo foi dividido em dois experimentos, os quais se diferenciaram em relação aos tratamentos, concentrações do RES (Experimento I) e do RES + NiSO<sub>4</sub> (Experimento II). Para todos os experimentos, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). Nos dois ensaios, os tratamentos foram representados por três repetições, com cada repetição consistindo-se de 30 sementes de alface (*L. sativa*).

### **2.2.1 Experimento I**

No experimento I, foram avaliadas concentrações crescentes de RES (0 – controle, 0,01 mmol.L<sup>-1</sup>, 0,05 mmol.L<sup>-1</sup>, 0,10 mmol.L<sup>-1</sup>, 0,25 mmol.L<sup>-1</sup>, 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> e 10,0 mmol.L<sup>-1</sup>). Esse teste foi realizado de forma isolada, sobre a germinação e desenvolvimento inicial de *L. sativa* para a determinação precisa de níveis tóxicos e não tóxicos para posterior utilização no experimento II (remediação).

### **2.2.2 Experimento II**

No experimento II (remediação), realizamos as combinações de duas concentrações não tóxicas do RES (0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>), determinadas a partir do experimento I, combinadas com dois níveis tóxicos do NiSO<sub>4</sub> (0,15 mmol.L<sup>-1</sup> e 0,30 mmol.L<sup>-1</sup>), mais os grupos controles, consistiram-se de água destilada e das concentrações do RES e NiSO<sub>4</sub> isoladas. O experimento de remediação foi realizado com o seguinte controle e grupos de aplicação: 1) 0 – controle, 2) RES 0,50 mmol.L<sup>-1</sup>, 3) RES 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>, 4) NiSO<sub>4</sub> 0,15 mmol.L<sup>-1</sup>, 5) NiSO<sub>4</sub> 0,30 mmol.L<sup>-1</sup>, 6) NiSO<sub>4</sub> 0,15 mmol.L<sup>-1</sup> + RES 0,50 mmol.L<sup>-1</sup>, 7) NiSO<sub>4</sub> 0,15 mmol.L<sup>-1</sup> + RES 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>, 8) NiSO<sub>4</sub> 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> + RES 0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 9) NiSO<sub>4</sub> 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> + RES 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>. Após a germinação, avaliou-se parâmetros de germinação, desenvolvimento inicial e fitotoxicidade, com o intuito de avaliar o efeito remediador do RES sobre a fitotoxicidade induzida pelo NiSO<sub>4</sub> na germinação de *L. sativa*.

## 2.3 Parâmetros de germinação, desenvolvimento inicial e fitotoxicidade em *Lactuca sativa* L.

### 2.2.1 Porcentagem de Germinação (%G)

Durante os sete dias de incubação para *L. sativa*, analisou-se o número de sementes germinadas contabilizadas a cada 24 horas e considerou-se germinadas aquelas que apresentaram protrusão da radícula a partir de 1 mm de comprimento. A porcentagem de germinação total foi calculada a partir da seguinte fórmula:

$$\%G = (N_{GT}/N_{ST}) * 100$$

Em que:

**%G** = Porcentagem de Germinação (%);

**N<sub>GT</sub>** = Número total de sementes germinadas;

**N<sub>ST</sub>** = Número total de sementes.

### 2.3.2 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

O índice de velocidade de germinação (IVG), foi calculado pela soma do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura. O resultado foi expresso pelo número de sementes germinadas ao longo do tempo (semente/dia) e foi utilizada a seguinte equação segundo a metodologia proposta por Maguire (1962):

$$IVG = (E_1/N_1) + (E_2/N_2) + \dots + (E_n/N_n)$$

Em que:

**IVE** = Índice de Velocidade de Germinação (sementes germinadas.dia<sup>-1</sup>);

**E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>,... E<sub>n</sub>** = número de plântulas computadas na primeira, na segunda e na última contagem;

**N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>,... N<sub>n</sub>** = número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem de plântulas.

### 2.3.3 Análise de parâmetros biométricos das plântulas

Após sete dias do início dos experimentos, dez plântulas de alface foram separadas, de forma aleatória de cada réplica, medidas e pesadas para evidenciar o efeito dos tratamentos no crescimento e desenvolvimento inicial das plântulas. As amostras separadas foram fotografadas para mensuração do comprimento da radícula e do hipocótilo, com auxílio do programa de domínio público ImageJ, o qual é destinado ao processamento de imagens. As massas foram quantificadas em balança analítica (precisão 0,001 g), a biomassa seca foi determinada após o material ter passado por secagem em estufa de circulação forçada de ar (65 °C) até atingir a massa constante (cerca de 24 horas).

### 2.3.4 Índice de Vigor (IV)

O índice de vigor das plântulas de *L. sativa* foi baseado na velocidade e uniformidade de desenvolvimento das plântulas e calculado de acordo com a metodologia proposta por Abdul Baki e Anderson (1973), utilizando a seguinte fórmula:

$$IV = (CR+CH) * \%G$$

Em que:

**IV** = Índice de vigor (cm.%);

**CR** = Comprimento da radícula (cm);

**CH** = Comprimento do hipocótilo (cm);

**%G** = Porcentagem de germinação (%).

### 2.3.5 Índice de Tolerância ao Níquel (ITN)

O índice de tolerância ao NiSO<sub>4</sub> foi estabelecido com base nos dados do comprimento radicular mensurado a partir do programa ImageJ, seguindo a metodologia proposta por Turner & Marshall (1972), utilizando a fórmula:

$$ITN = 1 + \log(C_e/C_o)$$

Em que:

**ITN**= Índice de tolerância ao níquel;

**C<sub>e</sub>** = Comprimento esperado (Comprimento do grupo de plântulas controle) (cm);

$C_o$  = Comprimento observado (Comprimento do grupo observado) (cm).

### 2.3.6 Porcentagem de Necrose Radicular (%NR)

A porcentagem de necrose radicular foi definida a partir de critérios preestabelecidos de acordo com o tamanho da área necrosada, o que indica morte tecidual. Neste estudo, definiu-se como plântulas sem necrose aquelas que não apresentaram manchas escuras na radícula; com necrose parcial, a ocorrência de manchas escuras em pequenas áreas da radícula e com necrose total, a ocorrência de manchas escuras em toda área radicular.

## 2.4 Parâmetros químico e físico-químico

Para a determinação do potencial osmótico ( $\Psi_o$ ) foi necessário medir a condutividade elétrica (CE) das soluções isoladas (RES e  $\text{NiSO}_4$ ) e combinadas ( $\text{NiSO}_4$  + RES), utilizadas como tratamentos nos testes de germinação de *L. sativa*. O pH e a condutividade elétrica (CE) foram medidos com auxílio do pHmetro (Tecnal/TEC-5) e do condutivímetro (Tecnal/TEC-4MP), respectivamente. Em seguida, foi calculado o potencial osmótico ( $\Psi_o$ ) através da fórmula adaptada de Ayers & Westcot, 1999:

$$\Psi_o = -0,036 \times \text{CE}$$

Em que:

$\Psi_o$  = Potencial osmótico (MPa);

CE = Condutividade elétrica (dS/m).

## 2.5 Análise dos pigmentos fotossintetizantes

Os pigmentos fotossintéticos foram extraídos utilizando 0,05g de tecidos cotiledonares das plântulas em 4 ml de acetona a 80% (v/v) e acondicionados em refrigerador por 72h. Após esse período, os pigmentos extraídos foram quantificados em espectrofotômetro (Biochrom Libra S60), nos comprimentos de onda 470, 646,8 e 663,2 nm. Os valores para cada comprimento de onda foram utilizados nas equações, para determinação dos teores de clorofila *a* (*Chl a*), clorofila *b* (*Chl b*), clorofilas totais (*Chl a+b*), e Carotenoides (*Car*) de acordo com Lichthenthaler (1987):

$$\text{Chl } a \text{ } (\mu\text{g/mL}) = 12,25 A_{663,2} - 2,79 A_{646,8};$$

$$\text{Chl } b \text{ } (\mu\text{g/mL}) = 21,50 A_{646,8} - 5,10 A_{663,2};$$

$$Chl\ a+b\ (\mu\text{g}/\text{mL}) = 7,15\ A_{663,2} + 18,71\ A_{646,8};$$

$$Car\ (\mu\text{g}/\text{mL}) = (1000\ A_{470} - 1,82\ Chl\ a - 85,02\ Chl\ b) / 198.$$

Em seguida, os valores em  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  foram convertidos em  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  de massa fresca.

## 2.6 Análises em Espectrômetro de Infravermelho Médio – UATR

Com o intuito de compreender as possíveis interações intermoleculares que ocorrem entre o RES e o Ni no substrato, os papéis-filtros qualitativos usados como substrato na germinação e crescimento das plântulas de alface foram submetidos à espectrofotometria por reflexão total atenuada do infravermelho médio por transformada de Fourier (UATR-FTIR). Os espectros no infravermelho médio foram realizados em um espectrofotômetro, utilizando o acessório Universal de Reflexão Total Atenuada (UATR) (modelo Frontier/PerkinElmer). Os espectros foram gerados em faixa compreendida entre 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$  utilizando resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  com um número de acumulações de 16 varreduras para cada espectro. As leituras espectrais foram realizadas em triplicatas, em três pontos distintos das folhas de papel qualitativo de todos os tratamentos para minimizar o erro de medição.

## 2.7 Análise estatística

Os valores médios dos tratamentos foram calculados a partir de três réplicas independentes, em seguida submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e de homocedasticidade (Bartlett) para avaliar se os dados possuíam distribuição normal e variâncias homogêneas. Atendendo a essas premissas, as médias foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e, em seguida, submetidas ao teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As análises foram realizadas com o auxílio do software estatístico R (R Core Team 2018).

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Efeito de diferentes concentrações do resveratrol (RES) sobre germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Experimento I)

De acordo com os resultados do efeito do RES na germinação de *Lactuca sativa*, não foi observado efeito significativo ( $p > 0,05$ , Tabela 1), sobre a Porcentagem de Germinação (%G) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG), nas concentrações estudadas. Porém na %G o RES nas concentrações 1,00  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  e 10,00  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $90 \pm 3,33\%$  e  $90 \pm 5,77\%$ , Tabela 1) houve um declínio de 4%, quando comparado ao controle ( $94 \pm 5,09\%$ , Tabela 1).

O Índice de Vigor (IV) teve uma redução significativa na maior concentração testada (10,00 mmol.L<sup>-1</sup>, Tabela 1) em relação ao controle (290,22 ±14,22 cm.% versus 170,03 ±26,33 cm.%, redução de 41,42%,  $p \leq 0,006$ ). Os tratamentos nas concentrações 0,01 mmol.L<sup>-1</sup>, 0,05 mmol.L<sup>-1</sup> e 0,10 mmol.L<sup>-1</sup> também apresentaram uma redução no IV em média de 16% quando comparado ao controle, porém não diferiu estatisticamente deste ( $p > 0,05$ , Tabela 1). Sendo assim, uma redução no comprimento radicular foi diretamente proporcional à perda de vigor das plântulas, apenas na concentração de 10,00 mmol.L<sup>-1</sup> (2,19 ±0,13 cm versus 1,22 ±0,19 cm, redução de 44,29%,  $p \leq 0,004$ , Tabela 1). O comprimento do hipocótilo se manteve constante não apresentando diferença significativa na maioria das concentrações quando comparado ao controle (0,89 ±0,05 cm), exceto na concentração 0,10 mmol.L<sup>-1</sup> (0,61 ±0,11 cm, redução de 31,46%,  $p \leq 0,013$ , Tabela 1).

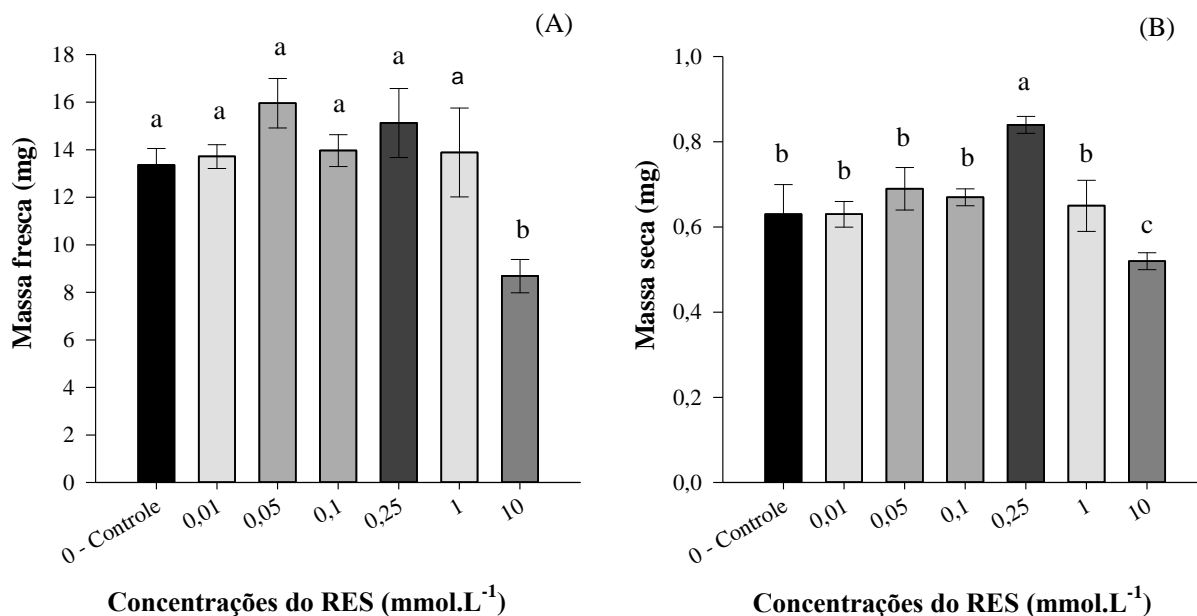
**Tabela 1:** Efeito de diferentes concentrações de resveratrol (RES) sobre parâmetros de germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L.

RES (mmol.L <sup>-1</sup> )	PARÂMETROS BIOMÉTRICOS				
	%G (%)	IVG (germinação/dia)	IV (cm.%)	CR (cm)	CH (cm)
0 - Controle	94 ±5,09a	17,98 ±4,18 <sup>a</sup>	290,22 ±14,22a	2,19 ±0,13a	0,89 ±0,05a
0,01	95 ±5,09a	19,24 ±0,83 <sup>a</sup>	243,93 ±11,52ab	1,91 ±0,03a	0,64 ±0,02ab
0,05	94 ±1,92a	22,47 ±0,91 <sup>a</sup>	242,97 ±5,93ab	1,89 ±0,15a	0,67 ±0,02ab
0,10	94 ±1,92a	21,09 ±1,77 <sup>a</sup>	247,22 ±33,24ab	2,00 ±0,31a	0,61 ±0,11b
0,25	92 ±5,09a	17,61 ±2,69 <sup>a</sup>	266,89 ±55,99a	2,07 ±0,41a	0,81 ±0,18ab
1,00	90 ±3,33a	17,74 ±0,40 <sup>a</sup>	253,13 ±19,32a	1,98 ±0,15a	0,83 ±0,10ab
10,00	90 ±5,77a	19,65 ±0,95 <sup>a</sup>	170,03 ±26,33b	1,22 ±0,19b	0,66 ±0,03ab
<b>P-valor</b>	<b>0,533</b>	<b>0,089</b>	<b>0,006</b>	<b>0,002</b>	<b>0,013</b>
<b>CV(%)</b>	<b>4,65</b>	<b>10,77</b>	<b>11,71</b>	<b>11,72</b>	<b>12,98</b>

%G – Porcentagem de Germinação; IVG – Índice de Velocidade de Germinação; IV – Índice de Vigor; CR - Comprimento da Radícula (cm); CH – Comprimento do Hipocótilo (cm). Valores expressos por média ± desvio padrão. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os efeitos de diferentes concentrações do RES na produção de massa fresca e seca das plântulas de alface estão apresentados na Figura 1. A aplicação das concentrações do RES, de 0,01 mmol.L<sup>-1</sup> a 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>, não resultaram no aumento significativo na massa fresca quando comparado ao controle, mas houve um aumento em média de 9%, sobre o controle (Figura 1-A). Por outro lado, na concentração de 10,00 mmol.L<sup>-1</sup> de RES, foi observado impacto tóxico/negativo na produção de massa fresca (8,69 ±0,70 mg) com diminuição de

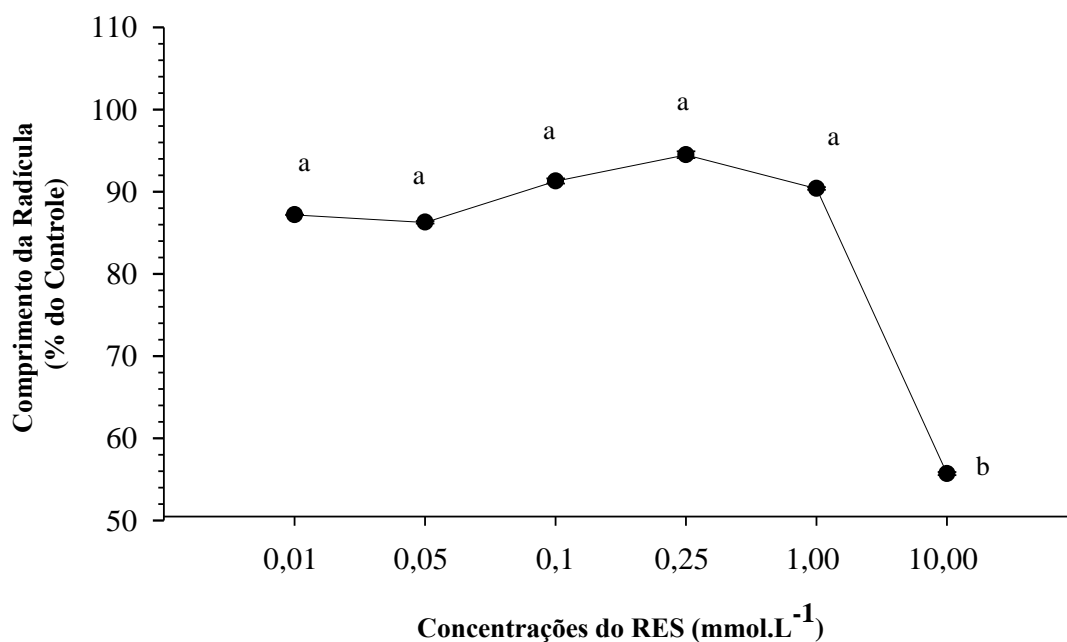
35% na produção em comparação com o controle ( $13,36 \pm 0,70$  mg). Os resultados da massa seca mostram a mesma tendência da massa fresca, exceto na concentração  $0,25 \text{ mmol.L}^{-1}$  ( $0,84 \pm 0,02$  mg, aumento de 25%,  $p \leq 0,013$ , sobre o controle, Figura 1-B).



**Figura 1.** Efeito de diferentes concentrações de resveratrol (RES) sobre a Massa fresca (A) e seca (B) em plântulas *Lactuca sativa* L. Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Ao analisar todos os parâmetros de germinação e desenvolvimento inicial de *L. sativa*, sob as condições utilizadas no presente estudo, observou-se que o RES causou efeito significativamente tóxico apenas na concentração de  $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Ao examinar o gráfico estimado a partir da análise do seu comprimento radicular (Figura 2) foi possível observar que a faixa de concentração testada  $0,01 - 10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$  não alcançaram a concentração média inibitória (inibir em 50% o crescimento da radícula), sendo possível estimar que o  $CI_{50}$  é um valor superior a  $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Considerando essas informações, selecionou-se as concentrações não tóxicas de  $0,50 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$  de RES para o teste de remediação sobre a toxicidade induzida pelo  $NiSO_4$ .





**Figura 2.** Efeito tóxico do resveratrol (RES) em plântulas de *Lactuca sativa* L, estimado a partir da análise do seu comprimento radicular. As plântulas foram submetidas a diferentes concentrações do resveratrol (RES). A  $CI_{50}$  (Concentração Inibitória Média) não foi possível ser determinada para a faixa de concentração testada ( $CI_{50} > 10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ ). Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).

### 3.2 Teste de remediação do RES (Experimento II)

Com base nos parâmetros avaliados no ensaio do potencial remediador do RES sobre a toxicidade induzida por  $NiSO_4$ , na germinação e desenvolvimento inicial de *L. sativa*, a %G não apresentou diferença significativa entre as concentrações avaliadas, isoladas de RES e  $NiSO_4$  e combinadas RES +  $NiSO_4$ , quando comparado ao controle ( $H_2O$ ) (Tabela 2). No entanto, os tratamentos com concentrações isoladas de  $NiSO_4$  tiveram menores porcentagens de germinação, quando comparado ao controle ( $93 \pm 0,00\%$  e  $92 \pm 1,92\%$ , versus  $98 \pm 1,92\%$ , redução de 5,6%, Tabela 2). Ao avaliar os resultados do IVG, observamos um diminuição em média de 19% nos tratamentos de  $NiSO_4$  isolados ( $13,39 \pm 1,76$  sementes germinadas/dia e  $13,69 \pm 0,52$  sementes germinadas/dia,  $p < 0,01$ , Tabela 2), diferindo estatisticamente do controle e dos tratamentos combinados.

De acordo com os resultados apresentados para o IV, as concentrações de  $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$   $NiSO_4$  apresentaram uma redução significativa em relação ao controle ( $182,31 \pm 23,36 \text{ cm.}\%$  e  $127,76 \pm 6,01 \text{ cm.}\%$  versus  $354,98 \pm 17,13 \text{ cm.}\%$ , redução em média de 56,32%,  $p < 0,01$ , Tabela 2). No entanto, quando combinados  $NiSO_4 + RES$ , o IV elevou-se, diferindo-se estatisticamente das concentrações isoladas de  $NiSO_4$ ,  $p < 0,01$ . Os

tratamentos combinados, apesar de não terem se igualado ao controle, aumentou seu percentual em média 54%, quando comparado aos tratamentos com concentrações isoladas de NiSO<sub>4</sub> Tabela 2.

Ao analisar os dados obtidos no Índice de Tolerância (IT), denota-se um efeito tolerante das plântulas quando o RES foi combinado com o NiSO<sub>4</sub>. Nos tratamentos apenas com NiSO<sub>4</sub> (0,15 mmol.L<sup>-1</sup> e 0,30 mmol.L<sup>-1</sup>), as plântulas tenderam a diminuir o seu valor do IT (0,69 ±0,06 e 0,52 ±0,03, *p* < 0,01, Tabela 2), redução de 31 e 48% respectivamente, quando comparado ao controle. Entretanto, quando combinados NiSO<sub>4</sub> + RES, os valores do IT tenderam a se aproximar do valor 1,0, o que indica melhor tolerância das plântulas ao NiSO<sub>4</sub> (Tabela 2).

**Tabela 2:** Efeito do potencial protetor (remediação) de concentrações não tóxicas de resveratrol (RES) combinadas com concentrações tóxicas de sulfato de níquel (NiSO<sub>4</sub>) sobre os parâmetros de germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L.

TRATAMENTOS (mmol.L <sup>-1</sup> )	PARÂMETROS BIOMÉTRICOS				
	%G (%)	IVG (germinação/dia)	IV (cm.%)	ITN	%NR (%)
Controle (H <sub>2</sub> O)	98,00 ±1,92a	16,01 ±1,03ab	354,98 ±17,13a	1,0 ±0,00a	0,00 ±0,00d
0,50 RES	96,00 ±3,85a	15,66 ±0,78abc	304,23 ±6,02ab	0,94 ±0,02a	0,00 ±0,00d
1,00 RES	96,00 ±1,92a	15,23 ±0,92abc	326,59 ±19,02ab	0,97 ±0,01a	0,00 ±0,00d
0,15 NiSO <sub>4</sub>	93,00 ±0,00a	13,39 ±1,76c	182,31 ±23,36cd	0,69 ±0,06b	70,00 ±2,10b
0,30 NiSO <sub>4</sub>	92,00 ±1,92a	13,69 ±0,52bc	127,76 ±6,01d	0,52 ±0,03c	100,00 ±0,00a
0,15 NiSO <sub>4</sub> + 0,5 RES	96,00 ±1,92a	16,56 ±0,79a	273,74 ±33,15b	0,89 ±0,06a	0,00 ±0,00d
0,15 NiSO <sub>4</sub> + 1,0 RES	96,00 ±1,92a	16,92 ±0,66a	283,01 ±17,21b	0,90 ± 0,03a	0,00 ± 0,00d
0,30 NiSO <sub>4</sub> + 0,5 RES	96,00 ±1,92a	16,93± 0,44a	192,02 ±12,44c	0,71 ±0,06b	65,00 ±2,90b
0,30 NiSO <sub>4</sub> + 1,0 RES	94,00 ±1,92a	16,73±0,41a	207,37 ±23,94c	0,76 ± 0,04b	50,00 ± 3,60c
<b>P-valor</b>	<b>0,177</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>CV(%)</b>	<b>2,24</b>	<b>5,75</b>	<b>7,76</b>	<b>5,35</b>	<b>5,60</b>

%G – Porcentagem de Germinação; IVG – Índice de Velocidade de Germinação; IV – Índice de Vigor; ITN – Índice de Tolerância ao Níquel; %NR – Porcentagem de Necrose Radicular. Valores expressos por média ± desvio padrão. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A partir da avaliação da incidência de necrose radicular das plântulas, foi possível observar, a partir dos parâmetros adotados (sem necrose, necrose parcial e necrose total), que não houve nenhum grau de necrose nas concentrações analisadas de RES (0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>) e no controle (H<sub>2</sub>O) (Tabela 2 e Figura 3-A). Já nas concentrações isoladas de NiSO<sub>4</sub>, as radículas apresentaram necrose parcial, 70% na concentração de 0,15 mmol.L<sup>-1</sup> e

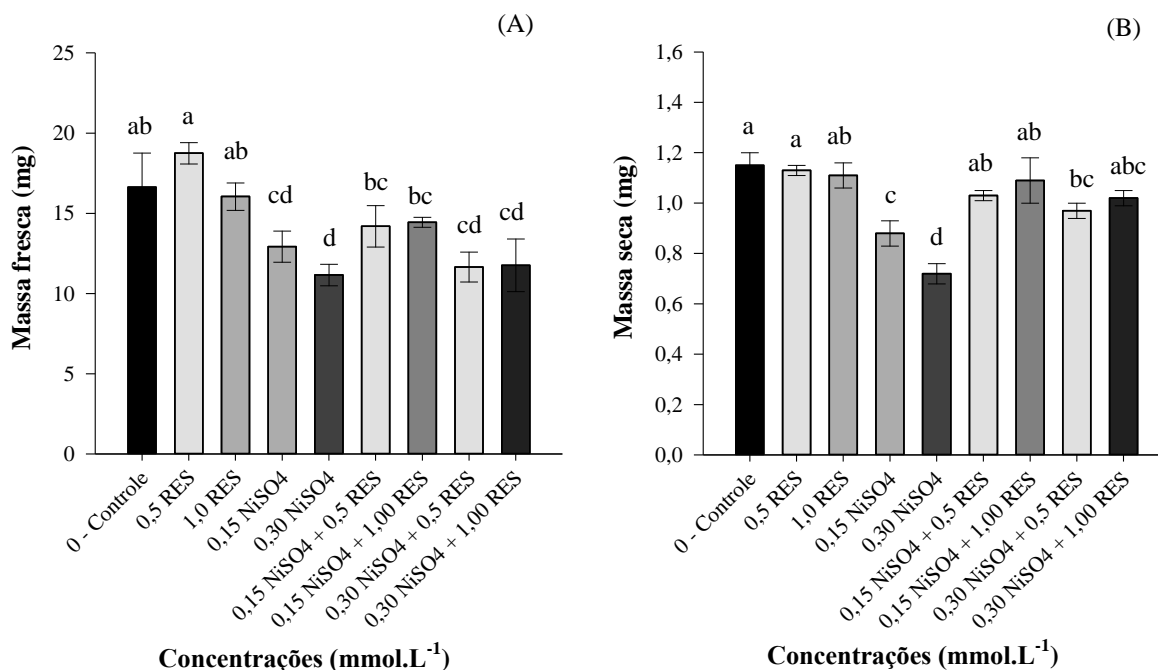
100% na concentração  $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$ , diferindo estatisticamente do controle e das concentrações isoladas do RES. Um possível efeito protetor do RES foi observado nos tratamentos combinados com  $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $\text{NiSO}_4$ , pois não apresentaram nenhum grau de necrose, igualando-se ao controle (Tabela 2). Resultado promissor também foi observado nos tratamentos combinados com  $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$  de  $\text{NiSO}_4$ , redução de 35% ( $0,30 \text{ NiSO}_4 + 0,5 \text{ RES}$ ) e 50% ( $0,30 \text{ NiSO}_4 + 1,00 \text{ RES}$ ). Os resultados analisados também indicam que as concentrações de  $\text{NiSO}_4$  estudadas não foram capazes de causar necrose total nas radículas das plântulas.



**Figura 3.** Necrose radicular em plântulas de *Lactuca sativa* L. cultivadas na presença de diferentes concentrações do resveratrol (RES) e sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) isoladas e combinadas: (A) - controle (plântulas sem necrose) e (B) -  $\text{NiSO}_4$   $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$  (plântulas com necrose parcial).

A partir dos dados de massa fresca, observamos que concentrações de  $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{NiSO}_4$  apresentaram reduções significativas em relação ao controle ( $12,94 \pm 0,69 \text{ mg}$  e  $11,16 \pm 0,67 \text{ mg}$  versus  $16,64 \pm 0,67 \text{ mg}$ , redução em média de 27,58%,  $p < 0,01$ , Figura 4-A). Porém, quando a concentração ( $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{NiSO}_4$ ) foi combinada com  $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$  RES, os valores de massa fresca se igualaram estatisticamente com o controle. Os valores de massa seca mostraram a mesma tendência da massa fresca, reduzindo nas concentrações isoladas de  $\text{NiSO}_4$  (redução em média de 25%) e quando combinadas com as concentrações de RES ( $0,50 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) se igualam ao controle, exceto na

combinação 0,30 NiSO<sub>4</sub> + 0,50 RES (Figura 4-B).

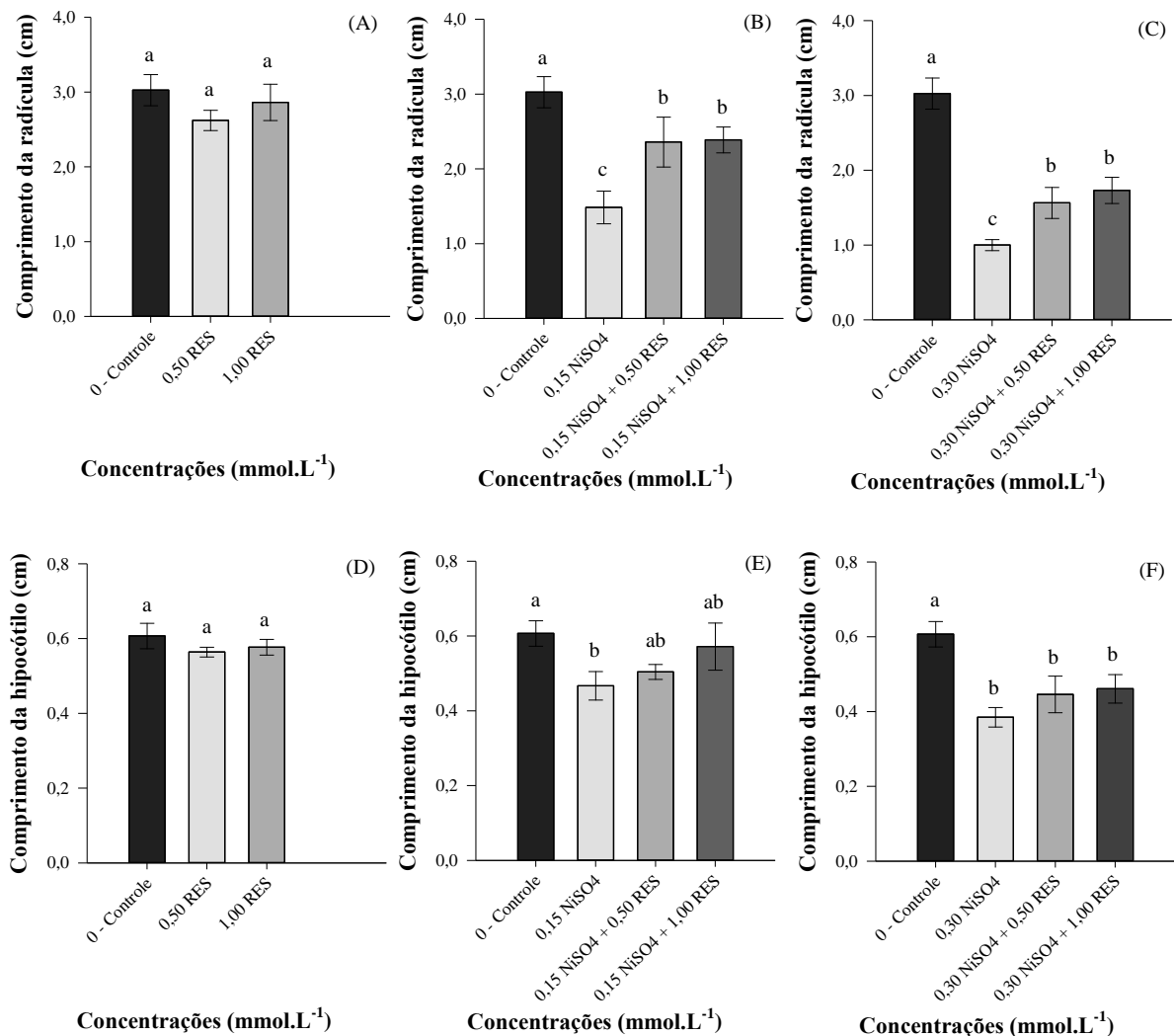


**Figura 4.** Efeito do potencial protetor de diferentes concentrações do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por sulfato de níquel (NiSO<sub>4</sub>) na massa fresca (A) e na massa seca (B) em *Lactuca sativa* L. Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).

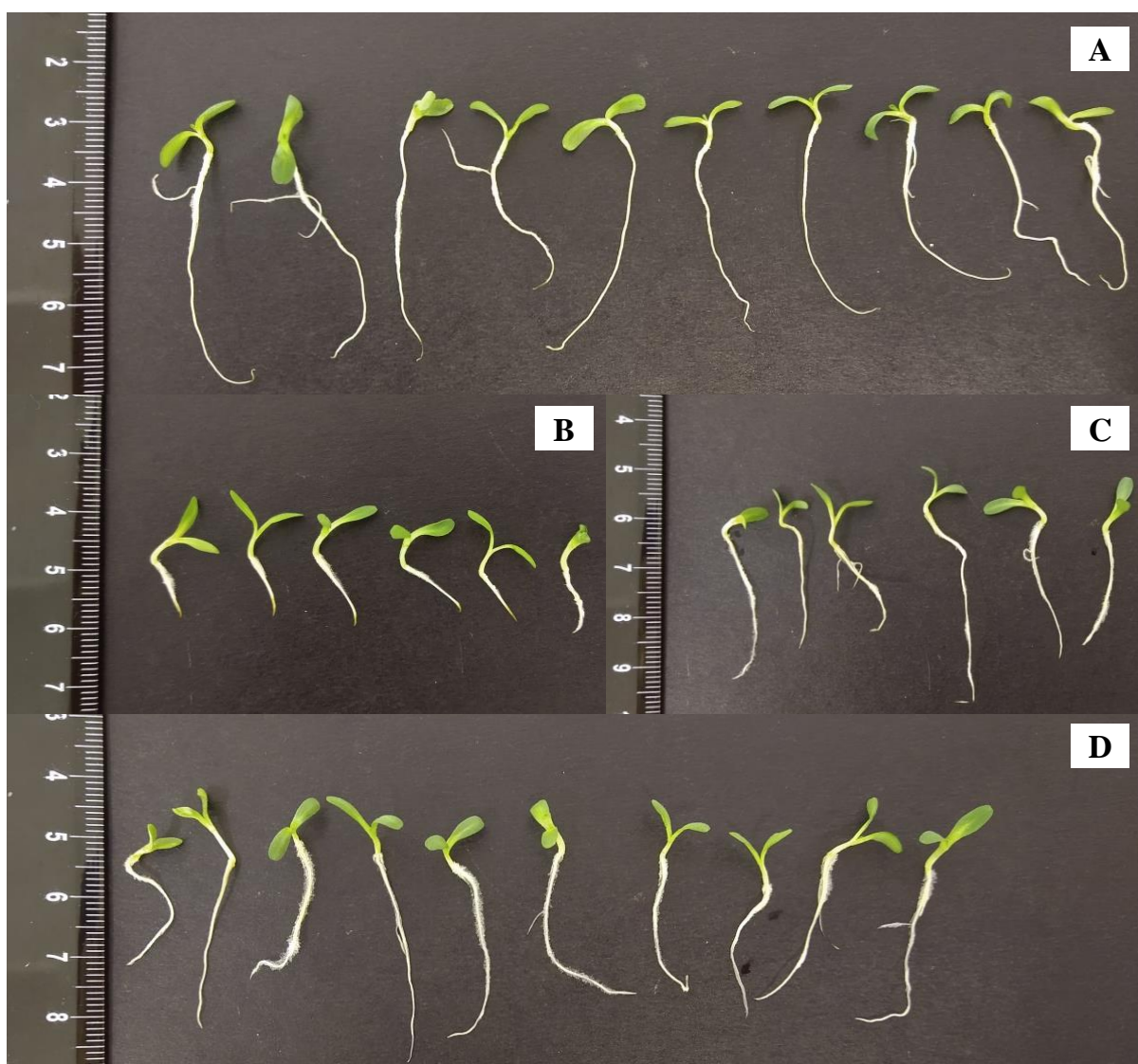
O valor de comprimento radicular na concentração 0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> RES não diferiu estatisticamente do controle ( $2,62 \pm 0,14$  cm e  $2,86 \pm 0,24$  cm, Figura 5-A). No entanto, quando analisou-se os tratamentos apenas com NiSO<sub>4</sub> (0,15 mmol.L<sup>-1</sup> e 0,30 mmol.L<sup>-1</sup>), observou-se que o comprimento radicular das plântulas foi significativamente reduzido ( $1,49 \pm 0,22$  cm e  $1,00 \pm 0,07$  cm, comprometendo 50,77% e 66,96% das radículas, Figuras 5-B e 5-C), sendo um indicativo de efeito fitotóxico.

Em contrapartida, quando analisou-se as combinações RES + NiSO<sub>4</sub>, denotamos um efeito protetor significativo do RES sobre a toxicidade causada por NiSO<sub>4</sub> (Figura 6). Nas combinações de 0,15 mmol.L<sup>-1</sup> NiSO<sub>4</sub> com as duas concentrações do RES (0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>, Figura 5-B), constatou-se um aumento significativo nos comprimentos radiculares das plântulas, diferindo do ensaio realizado apenas com o NiSO<sub>4</sub> isolado ( $2,36 \pm 0,33$  cm e  $2,39 \pm 0,17$  cm versus  $1,49 \pm 0,22$  cm, aumento em média de 60%, Figura 5-B). Além disso, as combinações 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> NiSO<sub>4</sub> com 0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> RES também demonstram aumento significativo nos valores de comprimento da radícula quando comparado com 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> NiSO<sub>4</sub> isolado ( $1,57 \pm 0,21$  cm e  $1,73 \pm 0,18$  cm versus  $1,00 \pm 0,07$  cm, aumento em média de 65%), como mostrado na Figura 5-C.

Em relação ao comprimento do hipocótilo, verificou-se que não houve diferença entre o controle e os tratamentos de RES isolados (0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>) ( $p > 0,05$ , Figura 5-D). Entretanto, os tratamentos com NiSO<sub>4</sub> (0,15 mmol.L<sup>-1</sup> e 0,30 mmol.L<sup>-1</sup>) reduziram o comprimento do hipocótilo, quando comparado ao controle (0,47 ±0,04 cm e 0,38±0,67 cm versus 0,61 ±0,03 cm, redução em média de 31,15%,  $p < 0,01$ , Figura 4-E e 4-F). Ao combinar a concentração de 0,15 mmol.L<sup>-1</sup> NiSO<sub>4</sub> com as concentrações de RES (0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>), observamos um aumento significativo do hipocótilo igualando-se ao controle. A combinações de 0,30 NiSO<sub>4</sub> + 0,50 RES e 0,30 NiSO<sub>4</sub> + 1,00 RES não foram capazes de reverter significativamente o comprimento do hipocótilo (Figura 5-F).



**Figura 5.** Efeito do potencial protetor de diferentes concentrações do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por sulfato de níquel (NiSO<sub>4</sub>) no comprimento radicular (A, B e C) e no comprimento do hipocótilo (D, E e F) em *Lactuca sativa* L. Valores expressos em média ± erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Figura 6.** Efeito do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) no desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa*: (A) – controle, (B) -  $\text{NiSO}_4$   $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$ , (C) - RES  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$  e (D) -  $\text{NiSO}_4$   $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$  + RES  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ .

### 3.3 Parâmetros químico e físico-químico

Os valores de pH analisados nas soluções RES,  $\text{NiSO}_4$ , RES +  $\text{NiSO}_4$  demonstraram pH mais ácido nas concentrações  $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{NiSO}_4$ ,  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$  RES e combinadas  $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{NiSO}_4$  +  $1,00 \text{ mmol.L}^{-1}$  RES ( $6,17 \pm 0,05$ ,  $6,27 \pm 0,06$  e  $6,30 \pm 0,21$ , respectivamente, Tabela 3). Nos demais tratamentos, o pH tendeu a ficar neutro igualando-se ao controle (Tabela 3).

A condutividade elétrica (CE) das soluções aumentou nas concentrações de  $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{NiSO}_4$  ( $0,0816 \pm 0,06 \text{ dS.m}^{-1}$  e  $0,1195 \pm 0,00 \text{ dS.m}^{-1}$ , Tabela 3) e nos tratamentos combinados com  $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$   $\text{NiSO}_4$  ( $0,0842 \pm 0,00 \text{ dS.m}^{-1}$  e  $0,0911 \pm 0,01$

dS.m<sup>-1</sup>, Tabela 3). Nas combinações de 0,15 mmol.L<sup>-1</sup> NiSO<sub>4</sub> com as duas concentrações do RES (0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>, Fig. 5-B), constatamos uma diminuição significativa na CE, diferindo do ensaio realizado apenas com o NiSO<sub>4</sub> (0,627 ±0,00 dS.m<sup>-1</sup> e 0,610 ±0,00 dS.m<sup>-1</sup> versus 0,816 ±0,06 cm, redução em média de 24%, Tabela 3).

O potencial osmótico (Ψ<sub>o</sub>) das soluções reduziu nas soluções com NiSO<sub>4</sub> (0,15 mmol.L<sup>-1</sup> e 0,30 mmol.L<sup>-1</sup>) e nos tratamentos combinados. Nos tratamentos 0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> RES, o potencial osmótico apresentou valores equivalentes ao do controle (-0,0015 ±0,00 MPa, Tabela 3).

**Tabela 3:** Parâmetros químico e físico-químico das soluções isoladas e combinadas de resveratrol (RES) e sulfato de níquel (NiSO<sub>4</sub>).

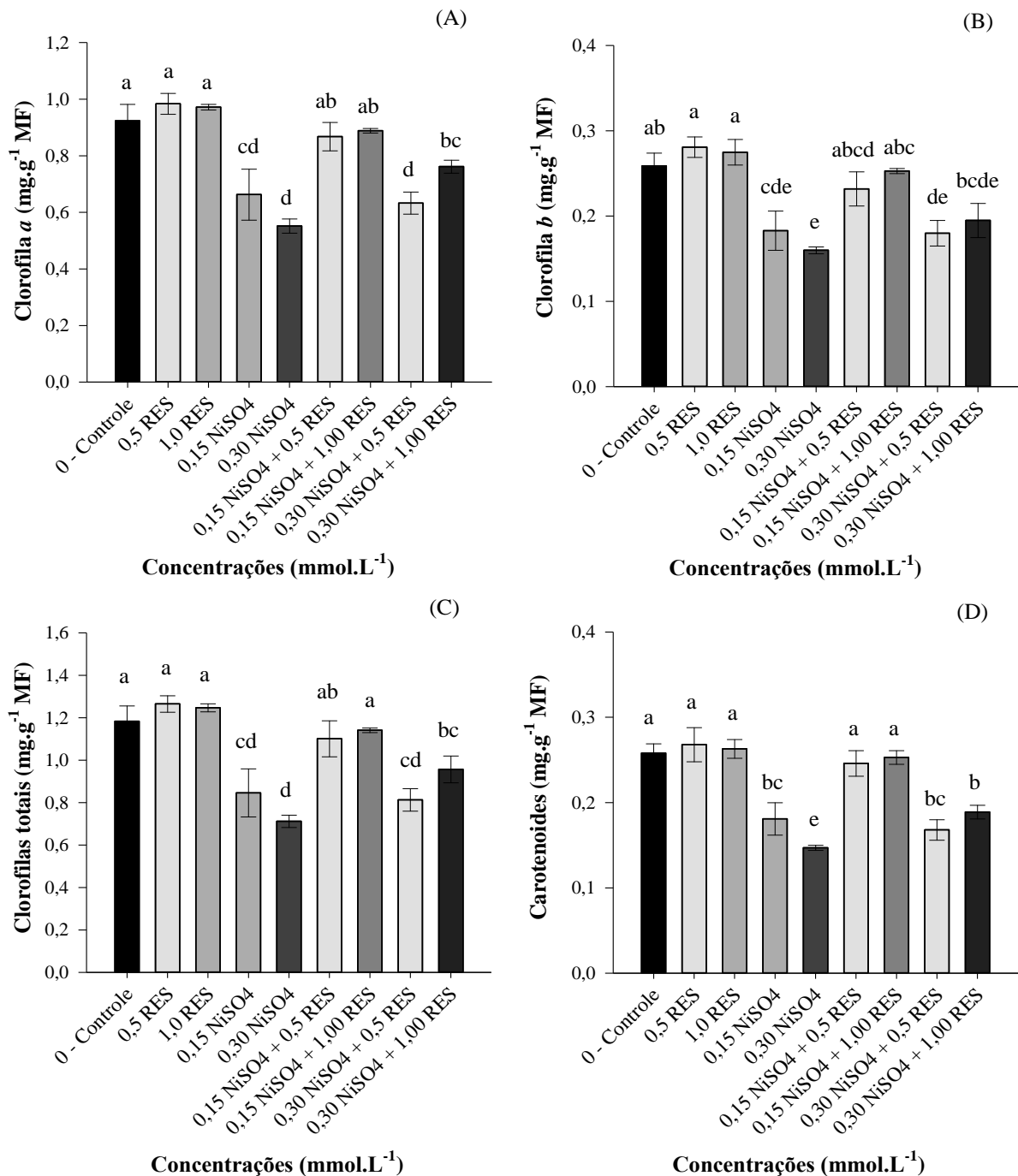
TRATAMENTOS (mmol.L <sup>-1</sup> )	PARÂMETROS QUÍMICO E FÍSICO-QUÍMICO		
	pH	CE (dS.m <sup>-1</sup> )	Ψ <sub>o</sub> (MPa)
0 - Controle	6,66 ±0,18a	0,0418 ±0,00e	- 0,0015 ±0,00a
0,50 RES	6,46 ±0,04abc	0,0423 ±0,00e	- 0,0015 ±0,00a
1,00 RES	6,27 ±0,06bc	0,0427 ±0,00e	- 0,0015 ±0,00a
0,15 NiSO <sub>4</sub>	6,46 ±0,10abc	0,0816 ±0,06c	- 0,0029 ±0,00c
0,30 NiSO <sub>4</sub>	6,17 ±0,05c	0,1195 ±0,00a	- 0,0043 ±0,00e
0,15 NiSO <sub>4</sub> + 0,5 RES	6,60 ±0,13ab	0,0627 ±0,00d	- 0,0023 ±0,00b
0,15 NiSO <sub>4</sub> + 1,0 RES	6,54 ±0,08ab	0,0610 ±0,00d	- 0,0022 ±0,00b
0,30 NiSO <sub>4</sub> + 0,5 RES	6,61 ±0,08a	0,0842 ±0,00c	- 0,0030 ±0,00c
0,30 NiSO <sub>4</sub> + 1,0 RES	6,30 ±0,21bc	0,0911 ±0,01b	- 0,0033 ±0,00d
<i>P-valor</i>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>CV(%)</b>	<b>1,86</b>	<b>3,24</b>	<b>3,24</b>

**pH** – pH das soluções; **CE** – Condutividade Elétrica das soluções; **Ψ<sub>o</sub>** – Potencial Osmótico. Valores expressos por média ± desvio padrão. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

### 3.4 Conteúdo dos pigmentos fotossintéticos

O estresse por NiSO<sub>4</sub> (0,15 mmol.L<sup>-1</sup> e 0,30 mmol.L<sup>-1</sup>) diminuiu o teor de clorofila *a*, clorofila *b*, clorofilas totais e carotenoides em plântulas de *L. sativa* em média 34,24%, 33,78%, 34,15% e 36,43%, respectivamente, diferindo quando comparado ao controle (Figuras 7-A, 7-B, 7-C e 7-D). As concentrações isoladas de RES (0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>) apresentaram efeito positivo em todos pigmentos fotossintéticos, apesar de não terem diferido estatisticamente do controle, aumentaram seus percentuais em média 6%.

Todos os pigmentos fotossintéticos foram restaurados quando combinamos  $\text{NiSO}_4$  + RES, mas os resultados foram mais expressivos quando combinamos  $0,15 \text{ mmol.L}^{-1} \text{ NiSO}_4$  com as duas concentrações do RES, clorofila a (aumento em média de 32,50%), clorofila b (aumento em média de 32,51%), clorofilas totais (aumento em média de 32,51%) e carotenoides (aumento em média de 38,67%), igualando-se ao controle.



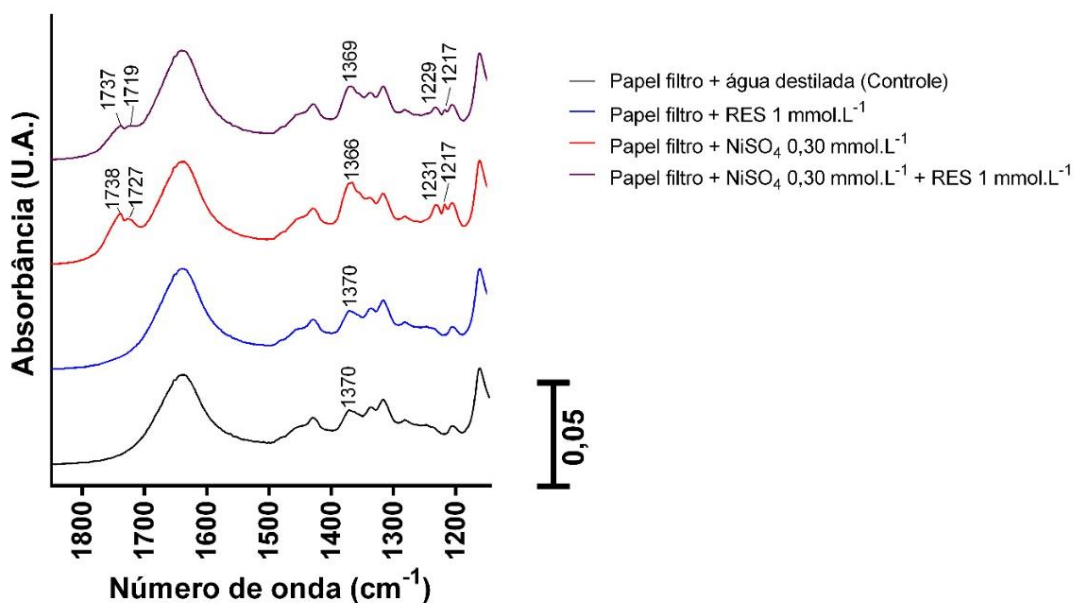
**Figura 7.** Efeito do potencial protetor de diferentes concentrações do resveratrol (RES) sobre a fitotoxicidade induzida por sulfato de níquel ( $\text{NiSO}_4$ ) nos níveis dos pigmentos fotossintéticos: (A) - clorofila a, (B) - clorofila b, (C) - clorofilas totais e (D) - carotenoide em



*Lactuca sativa* L. Valores expressos em média  $\pm$  erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0.05$ ).

### 3.6 Análise dos espectros vibracionais no infravermelho médio dos papéis-filtros qualitativos usados como substrato

A Figura 8 mostra os espectros no infravermelho médio para os papéis filtros qualitativos usados como substrato para a germinação e crescimento inicial de plântulas de alface (média de três placas de Petri e de três espectros por papel filtro qualitativo avaliado) submetidas aos tratamentos: água destilada (controle), RES 1,00 mmol.L<sup>-1</sup>, NiSO<sub>4</sub> 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> e combinação 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> NiSO<sub>4</sub> + 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> RES. Todas as atribuições de bandas no infravermelho médio detectadas nos espectros foram comparadas com a literatura (CHENG et al., 2016; HAO et al., 2018; MOVASAGHI et al., 2008; PAPAGEORGIU et al., 2010; POPESCU et al., 2010; ZHUANG et al., 2020) para o entendimento das interações moleculares, com ênfase nas bandas que sofriam mudanças significativas entre os tratamentos.



**Figura 8.** Espectros FTIR dos substratos (papel filtro qualitativo) fixados em placa de Petri usados na germinação e desenvolvimento inicial de *Lactuca sativa* L., expostos a diferentes tratamentos: água destilada – controle (linha preta), resveratrol (RES) 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> (linha azul), NiSO<sub>4</sub> 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> (linha vermelha) ou (RES) 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> + NiSO<sub>4</sub> 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> (linha roxa). Em (A): faixa entre 1200 cm<sup>-1</sup> – 1500 cm<sup>-1</sup>; em (B): faixa entre 1700 cm<sup>-1</sup> – 2100 cm<sup>-1</sup>. Cada espectro representa a média de três placas e três leituras por placa de Petri.

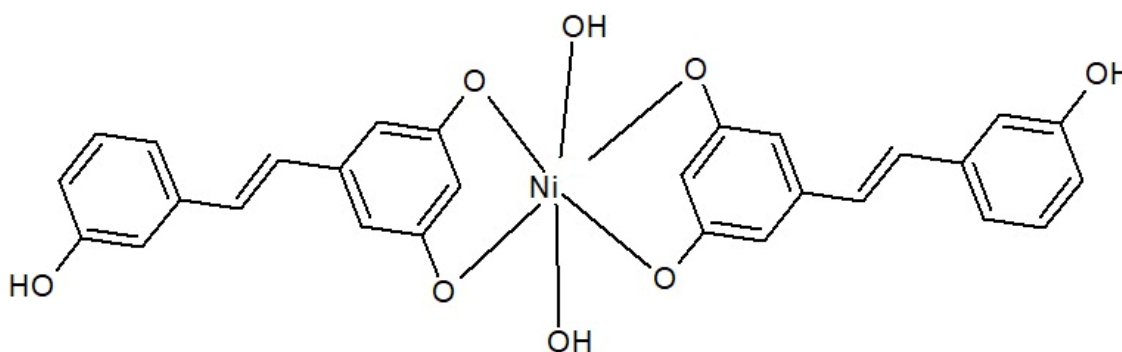
Foi possível notar que os espectros obtidos do grupo controle (água destilada) e do grupo 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> RES apresentam espectros similares (Figuras 8-A e 8-B). Isso pode ser explicado pelo fato de haver maior abundância de moléculas de celulose, hemicelulose e lignina do papel filtro qualitativo nas amostras, não havendo a possibilidade de detectar os espectros vibracionais do RES nessa concentração testada. No entanto, quando se analisou os espectros dos substratos que receberam níquel, pode-se observar uma mudança significativa na intensidade e localização da banda 1370 cm<sup>-1</sup> (Figura 8-A), além do aparecimento de novas bandas em 1217 cm<sup>-1</sup>, 1229/1231 cm<sup>-1</sup> (Figura 8-A) e entre 1719 cm<sup>-1</sup> a 1738 cm<sup>-1</sup> (Figura 8-B).

Considerando a literatura, pode-se afirmar que a banda 1370 cm<sup>-1</sup> refere-se ao alongamento da ligação entre C-H alifático presente nas moléculas de celulose, hemicelulose e lignina do papel filtro (POPESCU et al., 2010; ZHUANG et al., 2020). Nos espectros dos grupos tratados com 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> NiSO<sub>4</sub>, foi possível observar um deslocamento dessa banda para 1366 cm<sup>-1</sup>, além do aumento significativo na intensidade da absorbância quando comparado com a mesma banda dos espectros dos grupos tratados com água destilada e RES 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> (Figura 8-A). Contudo, a análise dos espectros dos grupos tratados com 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> NiSO<sub>4</sub> + 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> RES mostra que há uma redução significativa na intensidade desta banda quando comparada com os espectros dos grupos tratados somente com Ni, além de se verificar um deslocamento de pico para 1369 cm<sup>-1</sup> (Figura 8-A).

O surgimento de novas bandas em 1217 cm<sup>-1</sup> na presença de níquel (não observadas nos grupos tratados com água destilada ou RES somente) corresponde à vibração de estiramento C=O em moléculas de lignina (tipo siringil e tipo guaiacil) (HAO et al., 2018). Já as bandas que aparecem entre 1229/1231 cm<sup>-1</sup> (Figura 8-A) denotam a vibração de alongamento C-O-C em piranoses celulósicas e hemicelulósicas (CHENG et al., 2016), as bandas em 1719/1727 cm<sup>-1</sup> apontam o aumento da intensidade da vibração de alongamento C=O (MOVASAGHI et al., 2008) e em 1737/1738 cm<sup>-1</sup> são também observadas vibrações de alongamento C=O (MOVASAGHI et al., 2008) e/ou COO<sup>-</sup> (PAPAGEORGIU et al., 2010) (Figura 8-B) das moléculas de celulose, hemicelulose e lignina, durante a interação com Ni<sup>2+</sup>. Contudo, nos espectros dos substratos tratados com NiSO<sub>4</sub> + RES, é possível verificar uma diminuição significativa na intensidade dessas bandas, além do deslocamento de pico de 1727 cm<sup>-1</sup> para 1719 cm<sup>-1</sup>, com tendência a apresentar o padrão vibracional observado nos espectros dos grupos tratados com RES e água destilada (Figura 8-B).

### 3.6 Proposta de quelação níquel/resveratrol

A Figura 9 demonstra a possível interação entre duas moléculas de *trans*-resveratrol e uma de Ni. O resveratrol, que é considerado como o ligante, interage com o íon metálico, doando elétrons das hidroxilas presentes nas moléculas. As ligações formam um complexo estável metal-ligante e, dessa forma, as moléculas de Ni ficam complexadas, evitando consequentemente sua absorção pelas plantas.



**Figura 9.** Estrutura proposta do complexo metálico níquel (Ni) e resveratrol (RES).

## 4. DISCUSSÃO

No presente estudo, plântulas de *Lactuca sativa* foram cultivadas na presença de concentrações isoladas e combinadas do RES e NiSO<sub>4</sub> para avaliar o possível efeito fitoprotetor do RES contra a fitotoxicidade induzida por NiSO<sub>4</sub>. Os resultados apresentados no presente estudo indicam que o RES quando combinado com o NiSO<sub>4</sub> reduziu ou reverteu a fitotoxicidade sobre as plântulas de alface, de acordo com os parâmetros biométricos e pigmentos fotossintéticos.

### 4.1 Teste do efeito protetor do RES sobre a fitotoxicidade induzida por NiSO<sub>4</sub> em plântulas de *Lactuca sativa* L.

#### 4.1.1 Efeito de diferentes concentrações de resveratrol (RES)

O presente estudo revelou que a aplicação exógena de resveratrol na faixa de concentração de 0,01 mmol.L<sup>-1</sup> a 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> não exerceu efeito fitotóxico sobre a cultura em estudo (*L. sativa*). Resultados semelhantes foram encontrados por Mantovanelli et al. (2020) ao estudar uma faixa concentração de 0,22 mmol.L<sup>-1</sup> a 2,2 mmol.L<sup>-1</sup>, o resveratrol exerceu um estímulo sobre crescimento de *Zea mays*, que foi mais pronunciado em baixas

concentrações. Pocięcha et al. (2014) ao estudar os efeitos benéficos do resveratrol pulverizado ( $0,44 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) em duas cultivares de trigo infectadas com oídio (*Blumeria graminis* (DC.) Speer) detectaram um estímulo no desenvolvimento e eficiência fotossintética em plantas infectadas e não infectados. Já Fan et al. (2010) e Serniak (2016), ao estudar concentrações de  $0,41 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $0,87 \text{ mmol.L}^{-1}$  de resveratrol, respectivamente, reduziram significativamente o crescimento da raiz, demonstrando efeitos fitotóxicos a cultura do alface e do rabanete.

#### 4.1.2 Fitotoxicidade do $\text{NiSO}_4$

O níquel, em baixas concentrações, é considerado um micronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento normal das plantas, mas em concentrações elevadas, atua como um metal tóxico, reduzindo a germinação, crescimento vegetativo e produção de biomassa em várias culturas de importância econômica (SHAHZAD et al., 2018; KUMAR et al., 2021). Os efeitos visíveis do excesso do níquel (Ni) observados em plântulas da alface no presente estudo pode ocorrer devido à interferência do metal nos processos metabólicos, bioquímicos e fisiológicos (PANDEY & SHARMA, 2002; SEREGIN & KOZHEVNIKOVA, 2006).

No presente trabalho, as concentrações estudadas de  $\text{NiSO}_4$  ( $0,15 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $0,30 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) não tiveram impacto significativo sobre a %G, mas reduziram severamente o alongamento da radícula, o IVG, IV, ITN, massa fresca e seca. Esse resultado pode ser explicado por uma provável proteção do tegumento das sementes contra a toxicidade do Ni ou por este ser um elemento essencial, que no primeiro momento estimulou a germinação, mas reduziu sua velocidade de germinação. A redução no tamanho da radícula e consequentemente o IV e ITN, pode ser explicado devido à radícula estar diretamente exposta ao agente estressor (VALIVAND et al., 2019).

Vários pesquisadores relataram, no entanto, que a toxicidade do Ni tem efeitos deletérios na germinação, pois afeta várias vias metabólicas, a elasticidade da parede celular, divisões celulares e atividades de enzimáticas (protease e  $\alpha$ -e- $\beta$ -amilases) que mobilizam as reservas de nutrientes do endosperma dos cotilédones (SEREGIN & KOZHEVNIKOVA, 2006; KUMAR et al., 2021; MAHESHWARI & DUBEY, 2008; AHMAD & ASHRAF, 2012). Contudo, segundo Assunção et al. (2003), a fitotoxicidade induzida por Ni depende da espécie, do estágio de desenvolvimento, das condições de crescimento e do tempo de exposição ao agente estressor.

A análise morfométrica da radícula e as biomassas mostraram efeitos tóxicos em plântulas de alface, em função das concentrações de NiSO<sub>4</sub> estudadas. Resultados semelhantes foram relatados por Samantaray et al. (1997), Seregin et al. (2003), Ahmad et al. (2009), Lešková et al. (2019), Valivand et al. (2019), Heidari et al. (2020) em mudas de *Oryza sativa*, *Zea mays*, *Helianthus annuus*, *Arabidopsis*, *Cucurbita pepo* e *Calendula tripterocarpa*, respectivamente. De acordo com Lešková et al. (2019), alta concentração de Ni perturba a integridade e orientação dos microtúbulos, alterando a divisão e o alargamento das células, reduzindo assim a absorção e transporte de água e minerais.

A inibição do crescimento da radícula em maior extensão, quando comparado ao hipocótilo no presente estudo, pode ser explicada pelo fato de que as plantas absorvem íons de Ni por difusão passiva e o acumulam principalmente nas raízes, seu principal local de sequestro (troca catiônica) (SEREGIN & KOZHEVNIKOVA, 2006). A acumulação excessiva desse elemento no sistema radicular está intimamente relacionada à superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) tendo como consequência, peroxidação lipídica e a degradação de membrana, que resulta na perda de osmólitos, pressão de turgor e consequentemente na morte celular (SEREGIN & KOZHEVNIKOVA, 2006; KUMAR et al., 2021).

O aparecimento de necrose nas radículas é indicativo de morte tecidual, e vários autores o correlacionam com o efeito tóxico causado por altas concentrações de metais (SHAHZAD et al., 2018). O escurecimento das radículas no presente estudo pode estar relacionado diretamente com o estresse oxidativo ou pela interferência do Ni na diminuição da absorção de outros metais essenciais, devido à competição por sítios de raios iônicos comparáveis (SHAHZAD et al., 2018; LEŠKOVÁ et al., 2019). Sungundo Khalid e Tinsley (1980) e Lešková et al. (2019), o escurecimento radicular e o desenvolvimento de raízes laterais curtas podem ocorrer devido à deficiência de Mg<sup>2+</sup> e Fe<sup>2+</sup>. O Ni também pode aumentar a rigidez da parede celular e resultar em ruptura celular, e consequentemente a morte celular, como mostrado para cobre (Cu) e alumínio (Al) (KOPITTKKE et al., 2008).

A biodisponibilidade de Ni no solo é afetada por vários fatores, tanto bióticos, quanto abióticos, o pH do solo é um dos fatores mais importantes, por regular a absorção desse elemento (MACEDO et al., 2016). A solubilidade e a mobilidade do Ni aumentam com a diminuição do pH (soluções mais ácidas) e dessa forma as plantas tendem a absorver maiores quantidades (ZHANG et al., 2006). Isso ocorre porque em soluções mais ácidas os íons hidrogênio estão disponíveis em maior concentração, prontos para protonar grupos

ativos da superfície de componentes celulares da planta, além dos íons metálicos estarem competindo fortemente com o  $H^+$  (LODEIRO et al., 2006; HANIF et al., 2007).

A condutividade elétrica (CE) e o potencial osmótico ( $\Psi_o$ ) das soluções são outros parâmetros físico-químicos que pode explicar a fitotoxicidade do Ni sobre as plantas. No presente estudo, a CE das soluções aumentou na presença de  $NiSO_4$ , que está relacionado a maior quantidade de íons em solução. O mesmo ocorreu com o  $\Psi_o$ , pois à medida que se aumentou concentrações  $NiSO_4$  este se elevou negativamente. De acordo com Bresler e Hoffman (1986), a absorção de água pelas plantas, através do sistema radicular, é influenciada pelo potencial osmótico do meio nutritivo.

Os resultados desta pesquisa indicaram que as concentrações de  $NiSO_4$  estudadas reduziram os teores dos pigmentos fotossintéticos nas plântulas da alface em relação ao controle. Estudos envolvendo várias culturas de interesse agrônômico comprovam que a exposição de plantas ao excesso de Ni pode levar à redução dos teores dos pigmentos fotossintéticos (SINGH & PANDEY, 2010; ASRAR et al., 2014; VALIVAND et al., 2019; HEIDARI et al., 2020). Além disso, a clorose é um indicador de toxicidade por metais em plantas importante (SEREGIN & IVANOV, 2001) e, conseqüentemente, a reversão da clorose um indicador da diminuição do efeito tóxico na plântula pelo metal. Segundo Somashekaraiah et al. (1992), Seregin e Ivanov (2001) e Kamran et al. (2016), a redução dos teores dos pigmentos fotossintéticos pode ser atribuída a distúrbios na síntese dos pigmentos, a degradação direta dos cloroplastos pelas EROs, ou ainda pela deficiência de  $Mg^{2+}$  e  $Fe^{2+}$ .

Segundo Seregin & Ivanov (2001), os principais indicadores de redução da atividade fotossintética, causada pela toxicidade de Ni, estão relacionados à ruptura da estrutura do cloroplasto, o bloqueio da síntese da clorofila, interferência nas reações de transporte de elétrons, a redução da atividade das enzimas que participam do ciclo de Calvin e a deficiência de  $CO_2$  devido ao fechamento estomático.

#### **4.1.3 Efeito protetor do RES sobre a fitotoxicidade induzida por Ni**

Com base nos resultados do experimento principal (remediação), os efeitos tóxicos causados pelo excesso do  $NiSO_4$ , observados em plântulas de alface foram amenizados ou revertidos na presença do RES, destacando um possível papel protetor. Os resultados do IVG, IV, ITN, comprimento radícula e hipocótilo, massa fresca e seca e pigmentos fotossintéticos das plântulas da alface apresentaram um aumento significativo quando combinado o RES com o  $NiSO_4$ . O efeito protetor do RES pode estar relacionado aos seus grupos carboxila e

hidroxila, presentes nos compostos fenólicos, que são capazes de quelar metais tóxicos, sequestrar EROs e inibir a peroxidação lipídica (MICHALAK, 2006; RAJPOOT et al., 2016).

Na última década, vários estudos foram realizados com extratos vegetais ricos em compostos fenólicos, obtidos de diferentes matérias-primas, para formar quelatos com metais tóxicos e eliminar radicais livres (STINGU et al., 2011 & 2012; RAJPOOT et al., 2016 ; PANDEY et al., 2019; GAUTAM et al., 2020). Segundo Stingu et al. (2011 & 2012), os extratos das cascas de *Picea abies* e *Castanea sativa*, ricos em compostos fenólicos, atuaram como quelante de íons cádmio (Cd) e cobre (Cu), reduzindo sua mobilidade e translocação, sendo adequado para a fitoestabilização. Rajpoot et al. (2016) sugerem que o extrato das cascas de *Terminalia arjuna* alivia consideravelmente a toxicidade induzida por níquel (Ni) em mudas de arroz, evitando a absorção de Ni e reduzindo o estresse oxidativo. O mesmo foi concluído por Pandey et al. (2019) e Gautam et al. (2020), utilizando extratos aquosos da *Phyllanthus emblica*, *Azadirachta indica* e *Ocimum sanctum* no desenvolvimento inicial de mudas de arroz expostas ao cromo (Cr) e ao arsênio (As). Os resultados demonstraram que os fitoquímicos presentes nos extratos citados, principalmente compostos fenólicos, podem proteger diferentes culturas agrícolas contra os danos causados pelos metais tóxicos, devido à quelação e/ou potencial antioxidante.

Nas últimas décadas, na área da saúde, a atividade antioxidante do RES vem sendo bastante estudada por eliminar radicais livres, inibir a peroxidação lipídica de membrana e formar quelatos com metais tóxicos (FREMONT et al., 1999 & 2000; GRANZOTTO & ZATTA, 2011; MITRA et al., 2016; FU et al., 2017). No entanto, a aplicação exógena de RES para proteção de vegetal é limitada e restrita à sua função de fungicida natural, tratamento pós-colheita, resistência das plantas ao estresse abiótico (ozônio e luz ultravioleta) (KISELEV et al., 2009; MONTERO et al., 2003; URENA et al., 2003; GRIMMIG et al., 2003). Estudos recentes também têm demonstrado efeito protetor do resveratrol em plantas contra agentes estressores, incluindo o boro (B), cloreto de sódio (NaCl) e cloreto de potássio (KCl) (SARAFI et al., 2017; KOSTOPOULOU et al., 2014; LI et al., 2021a & 2021b). Utilizado também para aliviar o estresse por deficiência de ferro em mudas de *Malus baccata*, principalmente por regular a absorção de ferro (Fe) (ZHENG et al., 2021).

Os resultados mostraram que o comprimento da radícula, a massa fresca e seca das plântulas diminuíram nas concentrações de 0,15 mmol.L<sup>-1</sup> e 0,30 mmol.L<sup>-1</sup> de NiSO<sub>4</sub>, no entanto, quando combinados com 0,50 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,00 mmol.L<sup>-1</sup> de RES teve efeitos favoráveis na manutenção do crescimento (Tabela 2). Esses resultados foram consistentes com estudos anteriores que mostraram o uso do RES atenuou os efeitos da toxicidade do boro

(B) e cloreto de potássio (KCl), na altura da planta, massa fresca e seca do caule e da raiz, em mudas *Capsicum annuum* e *Malus hupehensis*, respectivamente (SARAFI et al., 2017; LI et al., 2021a).

Os teores de pigmentos fotossintéticos foram restaurados quando combinamos NiSO<sub>4</sub> + RES. É provável que, no presente estudo, as biomoléculas de RES formem complexos com o Ni, levando à diminuição da absorção pelas radículas das plântulas e, conseqüentemente, o efeito tóxico direto do Ni sobre os cloroplastos. É possível ainda que o resveratrol tenha a capacidade de reduzir o estresse oxidativo, que pode ocorrer pela eliminação de EROs diretamente pela capturam os radicais livres ou pela doação de átomos de hidrogênio (SARAFI et al., 2017). Estudos anteriores também comprovam que o uso do RES foi capaz de restaurar os teores dos pigmentos fotossintéticos, causado pela toxicidade de B e KCl e deficiência de Fe (SARAFI et al., 2017; LI et al., 2021a; ZHENG et al., 2021).

#### **4.1.4. Análise dos espectros vibracionais no infravermelho médio dos papéis-filtros qualitativos usados como substrato**

A análise conjunta dos espectros FTIR obtidos a partir do substrato papel filtro (ver item 3.5) usados na germinação e desenvolvimento inicial de plantulas de alface em placas de Petri permite indicar uma diminuição significativa da intensidade de bandas específicas ou relacionadas à interação entre o Ni e as moléculas do papel filtro (celulose, hemicelulose e lignina), com tendência a se aproximar do padrão vibracional observado nos espectros dos grupos tratados com RES e água destilada somente. Diante desse resultado, podemos inferir que essa diminuição nas intensidades dos picos observados no grupo NiSO<sub>4</sub> + RES ocorre pelo fato de o resveratrol ser capaz de formar quelatos com o Ni, diminuindo a sua interação com as moléculas de celulose, hemicelulose e lignina presentes no papel filtro.

Portanto, a capacidade do RES formar complexos com metais tóxicos, atuar como antioxidante e inibir a peroxidação lipídica, nos remete a inferir que o RES é responsável pelo efeito protetor observado no presente estudo (MICHALAK, 2006; RAJPOOT et al., 2016).

## **5. CONCLUSÃO**

Os resultados indicam que o NiSO<sub>4</sub>, quando aplicado isoladamente, causou toxicidade nas plântulas de alface, levando ao retardo significativo no índice de velocidade de germinação, índice de vigor, índice de tolerância, comprimento da radícula e hipocótilo, massa fresca e seca das plântulas e redução dos pigmentos fotossintéticos. Os resultados também indicam que o RES possui papel protetor contra a toxicidade induzida por sulfato de



níquel em plântulas de *L. sativa*, por meio da quelação e/ou potencial antioxidante. Portanto, os dados obtidos apontam, pela primeira vez, para a aplicação exógena do RES como uma grande promessa agrícola na fisiologia de estresse causado por metais tóxicos, por possuir ação quelante e antioxidante, ser menos tóxico para os ecossistemas, aumento da produção agrícola e geração de alimentos seguros. No entanto, são necessários novos estudos para melhorar a compreensão dos mecanismos exatos envolvidos nas ações da biomolécula e o nível de sua interação com diferentes espécies de plantas para aliviar os efeitos dos metais tóxicos, além de expandir a aplicação dessa substância em sistemas maiores. Os dados de FTIR sugerem que a biomolécula pode ter reduzido a absorção de níquel pelas radículas da alface por atividade quelante. Além disto, outras possibilidades, como a atuação no sistema antioxidante das plântulas contra o estresse oxidativo causado por níquel também podem ser apontadas.

## 6. REFERÊNCIAS

- ABDUL-BAKI, A. A. & ANDERSON, J. D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria 1. **Crop science**, v. 13, n. 6, p. 630-633, 1973.
- AHMAD, M. S. A. et al. Effect of nickel on seed germinability of some elite sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars. **Pak J Bot**, v. 41, p. 1871-1882, 2009.
- AHMAD, M. S. A. & ASHRAF, M. Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, v. 214, p. 125-167, 2012.
- ASRAR, Z. et al. Calcium and L-histidine effects on ascorbate-glutathione cycle components under nickel-induced oxidative stress in tomato plants. **Biologia Plantarum**, v. 58, n. 4, p. 709-716, 2014.
- ASSUNÇÃO, A. G. L. et al. Differential metal-specific tolerance and accumulation patterns among *Thlaspi caerulescens* populations originating from different soil types. **New Phytologist**, v. 159, n. 2, p. 411-419, 2003.
- AYERS, R. S. & WESTCOT, D. W. A qualidade da água na agricultura. Campina Grande: **UFPB**, 1999. 153 p.
- BAI, C. et al. Nickel affects xylem Sap RNase a and converts RNase A to a urease. **BMC Plant Biology**, v. 13, p. 207, 2013.
- BEGUM, Z. A. et al. Remediação de solo contaminado com metal tóxico por lavagem com quelantes de aminopolicarboxilato biodegradáveis. **Chemosphere**, v. 87, n. 10, p. 1161-1170, 2012.
- BHARGAVA, A. et al. Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. **Journal of Environmental Management**, v. 105, p. 103-120, 2012.

BRESLER, E. & HOFFMAN, G. J. Irrigation management for soil salinity control: theories and tests. **Soil Science Society of America Journal**, v. 50, n. 6, p. 1552-1560, 1986.

CHEN, C.; HUANG, D.; LIU, J. Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. **CLEAN–Soil, Air, Water**, v. 37, n. 4-5, p. 304-313, 2009.

CHANG, G. R. et al. Resveratrol protects against diet-induced atherosclerosis by reducing low-density lipoprotein cholesterol and inhibiting inflammation in apolipoprotein E-deficient mice. **Iranian journal of basic medical sciences**, v. 18, n. 11, p. 1063-1071, 2015.

CHENG, S.; HUANG, A.; WANG, S. & ZHANG, Q. Effect of different heat treatment temperatures on the chemical composition and structure of Chinese fir wood. **BioResources**, v. 11, n. 2, p. 4006-4016, 2016.

CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2018.

EMAMVERDIAN, B. et al. Heavy Metal Stress and Some Mechanisms of Plant Defense Response. **The Scientific World Journal**, v. 2015, p. 1-18, 2015.

ERMLER, U. et al. Active sites of transition-metal enzymes with a focus on nickel. **Current opinion in structural biology**, v. 8, n. 6, p. 749-758, 1998.

FAN, P.; HOSTETTMANN, K. & LOU, H. Allelochemicals of the invasive neophyte *Polygonum cuspidatum* Sieb. & Zucc. (Polygonaceae). **Chemoecology**, v. 20, n. 3, p. 223-227, 2010.

FERNANDES, F. R. C.; ALAMINO, R. D. C. J. & ARAUJO, E. R. Recursos minerais e comunidade: impactos humanos, socioambientais e econômicos. in: Mineração de níquel afeta condições de vida de trabalhadores rurais no Sudeste do Pará. **CETEM**, p. 80-82, 2014.

FREMONT, L. Biological effects of resveratrol. **Life sciences**, v. 66, n. 8, p. 663-673, 2000.

FRÉMONT, L.; BELGUENDOZ, L. & DELPAL, S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. **Life sciences**, v. 64, n. 26, p. 2511-2521, 1999.

FU, B. et al. Resveratrol rescues cadmium-induced mitochondrial injury by enhancing transcriptional regulation of PGC-1 $\alpha$  and SOD2 via the Sirt3/FoxO3a pathway in TCMK-1 cells. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 486, n. 1, p. 198-204, 2017.

GAUTAM, A. et al. *Azadirachta indica* and *Ocimum sanctum* leaf extracts alleviate arsenic toxicity by reducing arsenic uptake and improving antioxidant system in rice seedlings. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 26, n. 1, p. 63-81, 2020.

GONÇALVES, M. F.; KISHI, R. T. & FERNANDES, C. V. S. Poluição por metais pesados na bacia do rio Barigui, estado do Paraná. **REGA**, v. 13, n. 2, p. 175-185, 2016.

GRANZOTTO, A. & ZATTA, P. Resveratrol acts not through anti-aggregative pathways but mainly via its scavenging properties against A $\beta$  and A $\beta$ -metal complexes toxicity. **PloS one**, v. 6, n. 6, p. e21565, 2011.

GRIMMIG, B. et al. Ozone-induced gene expression occurs via ethylene-dependent and-independent signalling. **Plant molecular biology**, v. 51, n. 4, p. 599-607, 2003.

HANIF, M. A. et al. Ni (II) biosorption by Cassia fistula (Golden Shower) biomass. **Journal of Hazardous Materials**, v. 139, n. 2, p. 345-355, 2007.

HAO, Y. et al. The Influence of a thermal treatment on the decay resistance of wood via FTIR analysis. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2018, 2018.

HASEGAWA, H. et al. Recovery of toxic metal ions from washing effluent containing excess aminopolycarboxylate chelant in solution. **Water research**, v. 45, n. 16, p. 4844-4854, 2011.

HE, Z. et al. Heavy metal contamination of soils: sources, indicators, and assessment. **J. Environ. Indic.**, v. 9, p. 17-18, 2015.

HEIDARI, J.; AMOOAGHAIE, R. & KIANI, S. Impact of chitosan on nickel bioavailability in soil, the accumulation and tolerance of nickel in *Calendula tripterocarpa*. **International journal of phytoremediation**, v. 22, n. 11, p. 1175-1184, 2020.

HOSSAIN, M. A. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1-37, 2012.

KAMRAN, Muhammad Aqeel et al. Bioaccumulation of nickel by *E. sativa* and role of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) under nickel stress. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 126, p. 256-263, 2016.

KHALID, B. Y. & TINSLEY, J. Some effects of nickel toxicity on rye grass. **Plant and Soil**, v. 55, n. 1, p. 139-144, 1980.

KISELEV, K. V. et al. Phenylalanine ammonia-lyase and stilbene synthase gene expression in rolB transgenic cell cultures of *Vitis amurensis*. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 82, n. 4, p. 647-655, 2009.

KOPITTKE, P. M.; BLAMEY, F. P. C. & MENZIES, N. W. Toxicities of soluble Al, Cu, and La include ruptures to rhizodermal and root cortical cells of cowpea. **Plant and Soil**, v. 303, n. 1, p. 217-227, 2008.

KOSTOPOULOU, Z. et al. Athanassios. Resveratrol and its combination with  $\alpha$ -tocopherol mediate salt adaptation in citrus seedlings. **Plant physiology and biochemistry**, v. 78, p. 1-9, 2014.

KUMAR, A. et al. Nickel in terrestrial biota: Comprehensive review on contamination, toxicity, tolerance and its remediation approaches. **Chemosphere**, v. 275, p. 129996, 2021.

KUMAR, A. et al. Fungal phytoremediation of heavy metal-contaminated resources: current scenario and future prospects. **Recent Advancement in White Biotechnology through Fungi**, v. 3, p. 437-461, 2019.

LANÇON, A.; FRAZZI, R.; LATRUFFE, N. Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-angiogenic properties of resveratrol in ocular diseases. **Molecules**, v. 21, n. 3, p. 304-311, 2016.

LEITE, M. R. M. C. et al. Estudo da concentração de metais pesados no Rio Salgado e a contribuição da indústria de folheados do cariri. **XXXIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção**, v. 33, 2013.

LEŠKOVÁ, A. et al. Nickel toxicity targets cell wall-related processes and PIN2-mediated auxin transport to inhibit root elongation and gravitropic responses in Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology**, v. 61, n. 3, p. 519-535, 2019.

LI, T. et al. Resveratrol Alleviates the KCl Salinity Stress of *Malus hupehensis* Rhed. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 650485, 2021a.

LI, T. et al. Resveratrol Alleviates the KCl Salinity Stress of *Malus hupehensis* Rhed. Seedlings by Regulating K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> Homeostasis, Osmotic Adjustment, and Reactive Oxygen Species Scavenging. 2021b.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, p. 350-382, 1987.

LIU, L. et al. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: principles and applicability. **Science of the Total Environment**, v. 633, p. 206-219, 2018.

LODEIRO, P. et al. The marine macroalga *Cystoseira baccata* as biosorbent for cadmium (II) and lead (II) removal: kinetic and equilibrium studies. **Environmental pollution**, v. 142, n. 2, p. 264-273, 2006.

MACEDO, F. G. et al. Nickel availability in soil as influenced by liming and its role in soybean nitrogen metabolism. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1358, 2016.

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

MAHESHWARI, R. & DUBEY, R. S. Inhibition of ribonuclease and protease activities in germinating rice seeds exposed to nickel. **Acta Physiol. Plant.**, v. 30, p. 863-872, 2008.

MANTOVANELLI, G. C. et al. Differential Effects of Exogenous Resveratrol on the Growth and Energy Metabolism of *Zea mays* and the Weed *Ipomoea grandifolia*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 68, n. 10, p. 3006-3016, 2020.

MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 15, n. 4, p. 523-530, 2006.

- MITRA, S. et al. Resveratrol alleviates cadmium-induced damage and overexpression of epidermal growth factor receptor and its downstream signaling proteins in the reproductive system of male Swiss albino mice. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, v. 35, n. 1, p. 73-90, 2016.
- MONTERO, C. et al. Trans-resveratrol and grape disease resistance. A dynamical study by high-resolution laser-based techniques. **Plant Physiology**, v. 131, n. 1, p. 129-138, 2003.
- MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S. & UR-REHMAN, I. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, n. 2, p. 134-179, 2008.
- MULERO, J. et al. Bioactive substances with preventive effect in cardiovascular diseases. **Nutr Hosp**, v. 32, n. 4, p. 1462-1467, 2015.
- MULROONEY, S. B. & HAUSINGER, R. P. Nickel uptake and utilization by microorganisms. **FEMS microbiology reviews**, v. 27, n. 2-3, p. 239-261, 2003.
- NAGAJYOTI, P. C. et al. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environ Chem Lett**, v. 8, p. 199-216, 2010.
- PANDEY, A. K. et al. Alleviation of chromium toxicity in rice seedling using *Phyllanthus emblica* aqueous extract in relation to metal uptake and modulation of antioxidative defense. **South African Journal of Botany**, v. 121, p. 306-316, 2019.
- PANDEY, N. & SHARMA, C. P. Effect of heavy metals  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  on growth and metabolism of cabbage. **Plant Sci.**, v. 163, n. 4, p. 753-758, 2002.
- PAPAGEORGIOU, S. K. et al. Metal-carboxylate interactions in metal-alginate complexes studied with FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 345, n. 4, p. 469-473, 2010.
- PEREDO, A. E. E. et al. The combination of resveratrol and quercetin attenuates metabolic syndrome in rats by modifying the serum fatty acid composition and by upregulating SIRT 1 and SIRT 2 expression in white adipose tissue. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015: 474032, p. 1-9, 2015.
- PIESZKA, M. et al. Rola resweratrolu w regulacji metabolizmu komórkowego. **Postepy Hig Med Dosw**, v. 70, p. 1117-1123, 2016.
- POCIECHA, E.; JANECZKO, Z. & JANECZKO, A. Resveratrol stimulates phenolic metabolism and PSII efficiency in wheat infected with powdery mildew. **Journal of Plant Interactions**, v. 9, n. 1, p. 494-503, 2014.
- POPESCU, C. M.; POPESCU, M. C. & VASILE, C. Characterization of fungal degraded lime wood by FT-IR and 2D IR correlation spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 95, n. 2, p. 377-387, 2010.
- PRADO, A. K. M. et al. Os efeitos do consumo de vinho na saúde humana. **Revista Científica Unilago**, v. 1, n. 1, p. 109-128, 2013.

RAJPOOT, R. et al. Terminalia arjuna bark extract alleviates nickel toxicity by suppressing its uptake and modulating antioxidative defence in rice seedlings. **Protoplasma**, v. 253, n. 6, p. 1449-1462, 2016.

SAMANTARAY, S.; ROUT, G. R. & DAS, P. Tolerance of rice to nickel in nutrient solution. **Biologia Plantarum**, v. 40, n. 2, p. 295-298, 1997.

SARAFI, E. et al. Melatonin and resveratrol reverse the toxic effect of high boron (B) and modulate biochemical parameters in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 112, p. 173-182, 2017.

SEREGIN, I. V. et al. Nickel toxicity and distribution in maize roots. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 50, n. 5, p. 711-717, 2003.

SEREGIN, I. V. & IVANOV, V. B. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. **Russian journal of plant physiology**, v. 48, n. 4, p. 523-544, 2001.

SEREGIN, I. V. & KOZHEVNIKOVA, A. D. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 53, n. 2, p. 257-277, 2006.

SERNIAK, T. L. Comparison of the allelopathic effects and uptake of Fallopia japonica phytochemicals by Raphanus sativus. **Weed research**, v. 56, n. 2, p. 97-101, 2016.

SHAFEEQ, A. BUTT Z. A.; MUHAMMAD, S. Response of nickel pollution on physiological and biochemical attributes of wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Bhakar-02. **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 1, p. 111-116, 2012.

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

SHAHZAD, B. et al. Nickel; whether toxic or essential for plants and environment - A review. **Plant Physiology and Biochemistry**, v 132, n. 1, p. 641-651, 2018.

SINGH, K. & PANDEY, S. N. Effect of nickel-stresses on uptake, pigments and antioxidative responses of water lettuce, *Pistia stratiotes* L. **Journal of environmental biology**, v. 32, n. 3, p. 391, 2011.

SOMASHEKARAIHAH, B. V.; PADMAJA, K. & PRASAD, A. R. K. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. **Physiologia Plantarum**, v. 85, n. 1, p. 85-89, 1992.

STINGU, A. et al. New approaches concerning the utilization of natural amendments in cadmium phytoremediation. **Industrial Crops and Products**, v. 35, n. 1, p. 53-60, 2012.

STINGU, A.; VOLF, I. & POPA, V. I. Spruce bark extract as modulator in rape plant copper bioaccumulation. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 45, n. 3, p. 281, 2011.

TIAN, B. & LIU, J. Resveratrol: A review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 4, p. 1392-1404, 2020.

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

UREÑA, G. et al. Improving postharvest resistance in fruits by external application of trans-resveratrol. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 1, p. 82-89, 2003.

VALIVAND M.; AMOOAGHAIE R. & AHADI A. M. Seed priming with H<sub>2</sub>S and Ca<sup>2+</sup> trigger signal memory that induces cross-adaptation against nickel stress in zucchini seedlings. **Plant Physiol Biochem**, v.143, p. 286-298, 2019.

VANDENBOSSCHE, M. et al. Remediation of heavy metals by biomolecules: a review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 15, p. 1644-1704, 2015.

VATANSEVER, R.; OZYIGIT, I. I. & FILIZ, E. Essential and beneficial trace elements in plants, and their transport in roots: a review. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 181, n. 1, p. 464-482, 2017.

ZHANG, M.; ZHOU, C. & HUANG, C. Relationship between extractable metals in acid soils and metals taken up by tea plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 37, n. 3-4, p. 347-361, 2006.

ZHENG, X. et al. Resveratrol Improves the Iron Deficiency Adaptation of *Malus Baccata* Seedlings by Regulating Iron Absorption, Phytohormone Content, and ROS Migration. 2021.

ZHUANG, J. et al. Observation of potential contaminants in processed biomass using fourier transform infrared spectroscopy. **Applied Sciences**, v. 10, n. 12, p. 4345, 2020.