

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL – UERGS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, ÊNFASE EM GESTÃO MARINHA
E COSTEIRA

GUILHERME DE ÁVILA RODRIGUES

AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E COMPOSTOS ELEMENTARES EM
***Schoenoplectus californicus* (C.A. MEY.) SOJÁK EM DOIS LAGOS DO LITORAL**
NORTE DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.

OSÓRIO
2021

GUILHERME DE ÁVILA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E COMPOSTOS ELEMENTARES EM
Schoenoplectus californicus (C.A. MEY.) SOJÁK EM DOIS LAGOS DO LITORAL
NORTE DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado
como requisito parcial para a obtenção do
título
de Bacharel em Ciências Biológicas, ênfase
em
Gestão Marinha e Costeira na Universidade
Federal do Rio Grande do Sul, em convênio
com a Universidade Estadual do Rio Grande
do
Sul.

Orientador: Profa. Dra. Mara Benfato da
Silveira

CIP - Catalogação na Publicação

Rodrigues, Guilherme de Ávila
AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E COMPOSTOS
ELEMENTARES EM *Schoenoplectus californicus* (C.A. MEY.)
SOJÃK EM DOIS LAGOS DO LITORAL NORTE DO RIO GRANDE DO
SUL, BRASIL. / Guilherme de Ávila Rodrigues. -- 2021.
31 f.
Orientadora: Mara da Silveira Benfato.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Biociências, Curso de Ciências Biológicas: Biologia
Marinha e Costeira, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Estresse oxidativo. 2. Macrófita Aquática. 3.
Osório. 4. Lagoa Marcelino. I. Benfato, Mara da
Silveira, orient. II. Título.

GUILHERME DE ÁVILA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E COMPOSTOS ELEMENTARES EM
Schoenoplectus californicus (C.A. MEY.) SOJÁK EM DOIS LAGOS DO LITORAL
NORTE DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.**

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com Ênfase em Gestão Marinha e Costeira na Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Mara da Silveira Benfato

Aprovada em: / /

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Alice Pita Barbosa,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof Dr. Arthur Germano Fett-Neto,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmãos, que divido essa conquista com cada um de vocês. Agradeço por nunca desistir de mim e fazer tudo isso ser possível.

Aos colegas e amigos que realizei durante toda a jornada da minha graduação, principalmente a minha “Turma do Pagode”.

A minha orientadora, Mara Benfato, por me mostrar um caminho, e me apresentar de um olhar diferente a bioquímica tanto de animais como planta, pela amizade e principalmente pela confiança no meu trabalho e por ver em mim potencial.

Ao pessoal do Laboratório de Estresse Oxidativo pelas confraternizações, participação seminários e cafés. Obrigado por me acolher nessa família.

As professoras Maria Cecilia e Luciane Crossetti que abriram suas portas para tornar esse trabalho possível.

Aos meus amigos Ribeiro, Rhaianny, Leander e principalmente meu irmão Glauber que foram importantes nessa jornada por sempre estarem ouvindo as palavras estresse e praia.

RESUMO

As lagoas costeiras apresentam ampla variação em seus fatores abióticos ao longo das estações, como temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido, entre outros. Devido a isso, alguns organismos aquáticos tornam-se fisiologicamente adaptados a fim de superar tais situações. As plantas aquáticas respondem em condições adversas com processos bioquímicos antioxidantes, particularmente quando ocorre excesso de espécies reativas em relação às defesas antioxidantes, devido a fatores abióticos ou bióticos, desequilíbrio este chamado de estresse oxidativo. Assim, o objetivo deste trabalho é analisar o estresse oxidativo na macrófita aquática *Schoenoplectus californicus*, avaliando parâmetros bioquímicos a fim de entender sua resposta ao ambiente em diferentes estações do ano. Duas lagoas foram avaliadas em níveis de efeito antrópico divergente entre a mais poluída e outra menos poluída, nomeadamente a Lagoa Marcelino Ramos e Lagoa do Peixoto, localizadas no município de Osório, Rio Grande do Sul, Brasil. A coleta dos espécimes de *Schoenoplectus californicus* foi realizada em dois períodos, inverno/2018 e verão/2019. Foi coletado cinco espécimes de cada lagoa em cada estação, separando o rizoma e a parte aérea para análise bioquímica e para análises de metais pesados. Em laboratório, foi medida a atividade das enzimas fumarase, ascorbato peroxidase, glutathione S-transferase, consumo de peróxido de hidrogênio bem como a capacidade antioxidante total e a carbonilação de proteínas. Entre as partes analisadas, foi observado que em raízes obtiveram maiores valores, sendo o principal órgão de acúmulo de metais. Houve correlação positiva forte e média entre o metal zinco com APX ($r = 0,70$), carbonila ($r = 0,71$) e Capacidade antioxidante total ($r = 0,59$). As diferenças encontradas na macrófita aquática sugerem a relação sazonal, ocorrendo maior dano em períodos do inverno, enquanto que a presença de metais aumenta a atividade de enzimas, contudo essa expressão mostra uma alta resistência na presença do Zn.

Palavras-chave: Fatores abióticos. Antioxidantes. Estresse Oxidativo. *Schoenoplectus californicus*.

ABSTRACT

Coastal lagoons are prone to varying abiotic factors over the seasons, such as temperature, salinity, dissolved oxygen, among others. Because of this, some aquatic organisms become physiologically adapted in order to overcome such factors. Aquatic plants respond in adverse conditions with antioxidant biochemical processes, a condition observed when there is an excess of Reactive Species in relation to antioxidant defenses, due to abiotic or biotic factors. This imbalance is called oxidative stress. Thus, the objective of this work is to analyze the oxidative stress in the aquatic macrophyte *Schoenoplectus californicus*, evaluating biochemical parameters in order to understand its response to the environment in different seasons. Two lagoons were evaluated with divergent anthropic impacts between the most polluted and the least polluted, namely Lagoa Marcelino Ramos and Lagoa do Peixoto, located in the municipality of Osório, Rio Grande do Sul, Brazil. The collection of the specimens of *Schoenoplectus californicus* was carried out in two periods, winter / 2018 and summer / 2019. Five specimens were collected from each pond in each season, separating the rhizome and the aerial part for biochemical and heavy metal analysis. In the laboratory, the activity of fumarase, ascorbate peroxidase, glutathione S-transferase, consumption of hydrogen peroxide as well as the total antioxidant capacity and protein carbonylation were measured. Among the analyzed parts, it was observed that roots showed higher values of accumulation of metals. There was a strong positive correlation between the zinc metal with APX ($r = 0.70$), carbonyl ($r = 0.71$) and CAOT ($r = 0.59$). The differences found in the aquatic macrophyte indicate a seasonal relationship, occurring greater damage in winter periods, while the presence of metals increases the activity of enzymes; however, this expression shows a high resistance in the presence of Zn.

Keywords: abiotics factors, antioxidant, oxidative stress, *Schoenoplectus californicus*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
1.2. <i>COLETA de Schoenoplectus californicus</i>	11
1.3. <i>PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA ENSAIOS BIOQUÍMICOS</i>	12
1.4. <i>MEDIÇÃO PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DA ÁGUA</i>	12
1.5. <i>QUANTIFICAÇÃO PROTEICA</i>	12
1.6. <i>ANÁLISES BIOQUÍMICAS</i>	12
1.7. <i>ANÁLISES DOS COMPOSTOS ELEMENTARES</i>	13
1.8. <i>ANÁLISES ESTATÍSTICAS</i>	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
3.1. <i>ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS</i>	14
3.2. <i>PARÂMETROS ENZIMÁTICOS</i>	16
3.2.1. <i>Glutathione S-transferase</i>	16
3.2.2. <i>Ascorbato peroxidase</i>	18
3.2.3. <i>Fumarase</i>	19
3.2.4. <i>Consumo de peróxido de hidrogênio</i>	20
3.2.5. <i>Capacidade Antioxidante Total (CAOT)</i>	21
3.2.6. <i>Carbonilação de proteínas</i>	23
3.3. <i>ANÁLISES DE ELEMENTOS NA Schoenoplectus californicus</i>	23
3.3.1. <i>Concentração de Elementos</i>	23
4. CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

Os recursos hídricos do litoral norte do Rio Grande do Sul são explorados de diferentes formas, dentre elas: o uso doméstico, agricultura, turismo. É comum a utilização desse recurso em uma acentuada escala, a qual resulta em alterações em suas águas, resultando assim, em um desequilíbrio, levando em vários casos à inativação de uso do corpo hídrico.

Na Bacia Hidrográfica do Rio Tramandaí ocorre uma interferência antrópica, a qual decorre de uma má utilização dos recursos hídricos. Como exemplo, pode se mencionar as lagoas Marcelino Ramos, Peixoto e Pinguela, situadas no município de Osório. A Lagoa Marcelino Ramos recebe grande aporte de esgoto doméstico e drenagem pluvial e, por haver uma ligação entre as demais lagoas adjacentes, torna-se uma via de distribuição para todo o sistema (SCHÄFER, 1990).

As macrófitas aquáticas são vegetais macroscópicos da vegetação aquática, cujas partes fotossintéticas estão ativas permanentemente ou durante um período, submersas em águas ou flutuantes em sua superfície (WETZEL, 1993; COOK, 1974). Macrófitas aquáticas possuem uma classificação comumente aceita, dividindo-se em: emersas, flutuantes, submersas enraizadas e as livres. Estas plantas ocorrem em zonas úmidas, como áreas de pântano, charco, turfa; com águas naturais ou artificiais; permanentes ou temporárias, salobra ou doce; em ambientes lóticos ou lênticos. Os ecossistemas aquáticos brasileiros são propícios à ocorrência de macrófitas aquáticas; em sua maioria as macrófitas apresentam grande capacidade de adaptação e grande amplitude de distribuição. Essas plantas possuem um papel importante para os organismos que utilizam esses ambientes como habitat e refúgio, tais como perifíton, zooplâncton, invertebrados, peixes e rãs.

A *Schoenoplectus californicus* é uma espécie da família *Cyperaceae*, conhecida como junco, dentre sua característica há presença de um rizoma lenhoso coberto de escamas, sendo considerada uma macrófita emergente, associada a ecossistemas pantanosos ou banhados, localizada em margens de rios ou lagoas. Sua ocorrência varia desde o sul dos Estados Unidos até a Terra do Fogo, Patagônia, Argentina (CORDERO, 2019). No Brasil, o junco está presente em oito estados; Bahia, Sergipe, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (ALVES, 2015). Segundo Arreghini (2001), sua distribuição e tolerância a metais pesados, como o zinco (Zn), fazem de *S. californicus* um organismo promissor para o tratamento de efluentes em zonas úmidas.

Metais pesados são encontrados no ambiente em diferentes concentrações, entretanto, com o crescimento de atividades antrópicas, concentrações desses elementos tendem a aumentar, tornando-os tóxicos para a biota. Muitos desses metais têm como destino final as lagoas, os rios e os oceanos, o que ocasiona um impacto em plantas e animais, resultando assim em um estresse abiótico nos organismos. O estresse abiótico pode ser definido com uma condição ambiental, a qual não envolve ação de organismos, que pode causar redução no crescimento, sobrevivência e/ou fecundidade da planta. Dentre os exemplos podem ser citados a seca, salinidade, metais pesados, o efeito de altas ou baixas temperaturas, entre outros. A exposição a essas condições adversas ocasiona assim efeitos secundários como a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) (BOSCAIU *et al.*, 2008). As EROs são formadas através da excitação ou redução incompleta do oxigênio molecular, sendo subprodutos do metabolismo celular básico em organismos, podendo resultar em impactos negativos no metabolismo da planta, homeostase celular, além de processos fisiológicos vitais, por causar danos a biomoléculas, incluindo peroxidação lipídica, oxidação proteica e dano celular. Como exemplos de EROs temos o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e o radical hidroxila (OH^{\cdot}). (APEL e HIRT, 2004; MILLER *et al.* 2010; CHIHUAILAF *et al.* 2002; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007; YU, 1994).

As EROs podem ser vistas como positivas para o organismo, atuando como moléculas sinalizadoras envolvidas em diversos processos, como a programação da morte de células, a resposta a estresses abióticos e bióticos, sinalização sistêmica e defesas contra patógenos (MITTLER, 2002). Um nível aumentado das EROs pode ser prejudicial, com isso os organismos possuem um sistema enzimático e não-enzimático que tem a função principal de inibir efeitos deletérios dos EROs (CHIHUAILAF *et al.* 2002). Dentre os sistemas enzimáticos pode-se destacar a glutathione peroxidase (GPx), catalase e a ascorbato peroxidase (APx), a qual é encontrada somente em plantas, responsável pela desintoxicação do peróxido de hidrogênio. Os antioxidantes não-enzimáticos são compostos com baixo peso molecular ou metabólitos como ascorbato, carotenoides, tocoferóis e flavonoides (DENG, 2012). O estresse oxidativo surge quando há um desequilíbrio entre a produção de EROs e o sistema antioxidante.

Algumas macrófitas emergentes, como demonstrado no estudo da Arreghini (2001), incorporam metais principalmente do sedimento, e essa absorção está associada não somente a quantidade no sedimento, mas também com sua biodisponibilidade (AGAMI e WAISEL, 1986). A resposta primária das plantas é a geração de EROs após a exposição a metais pesados (YADAV, 2009). Os mecanismos incluem interações com o sistema antioxidante, participação na cadeia de

transporte de elétrons bem como alteração no metabolismo de elementos essenciais (LAN *Et al*, 2018). Para sobreviver a ambientes poluídos, algumas plantas possuem habilidades para suportar altas concentrações de metais pesados (BROOKS *et al*, 1977).

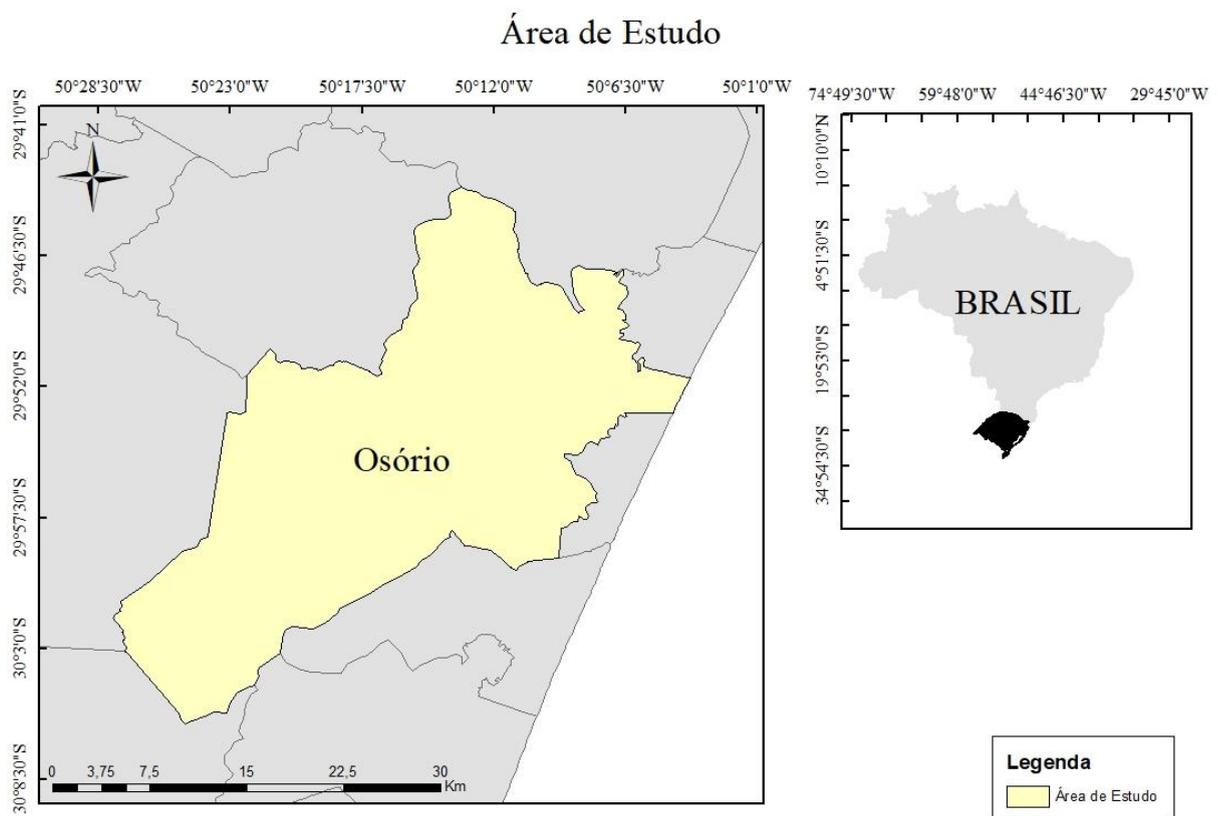
Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar em *Schoenoplectus californicus* o estresse oxidativo e sua relação com a presença de metais em duas lagoas do Litoral Norte do Rio Grande do Sul durante o período do inverno e verão. Foram analisados parâmetros físico-químicos na água das lagoas, como pH, oxigênio dissolvido, e concentração de fosfato, ortofosfato, nitrito/nitrato e nitrogênio amoniacal. No rizoma e caule das plantas foram analisadas enzimas antioxidantes, carbonilação de proteínas, capacidade antioxidante total, bem como nível de metais pesados e outros elementos químicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

1.1. ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo localiza-se no município de Osório (Figura 1). Em sua extensão, o município de Osório possui 23 lagoas originadas no Pleistoceno. As lagoas foco do estudo são a Lagoa Marcelino Ramos e Lagoa do Peixoto, pertencentes à Bacia Hidrológica do Rio Tramandaí e do subsistema ao Norte da Desembocadura de Tramandaí (SCHWARZBOLD; SCHÄFER,1984).

Figura 1 – Localização da área de estudo.



Fonte: Autor (2021).

1.2. COLETA de *Schoenoplectus californicus*

O material foi obtido em duas coletas que foram realizadas no inverno de 2018 e verão de 2019. Nas duas estações foram coletados 5 espécimes na margem das lagoas da planta aquática *Schoenoplectus californicus*. No campo houve a secção do terceiro nó do caule aéreo e o rizoma subterrâneo com auxílio de uma tesoura, sendo posteriormente acondicionado em gelo seco e

transportado até o Laboratório de Estresse Oxidativo/Departamento de Biofísica do Instituto de Biociências/UFRGS para serem medidas as atividades bioquímicas e concentração dos elementos.

1.3. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA ENSAIOS BIOQUÍMICOS

Os tecidos de rizoma e caule de cinco espécimes foram pesados no laboratório e 2g foram fragmentados com uma tesoura e imersos em nitrogênio líquido. Com o auxílio de pistilo e almofariz as amostras foram maceradas para posteriormente serem homogeneizadas em 1mL de solução tampão fosfato de potássio 100mmol/L (pH 7,0) e PMSF 3%. As amostras foram centrifugadas por 14 minutos à 14.000g em uma temperatura de 4°C; logo após o sobrenadante foi retirado e em seguida armazenado em um freezer a -80 °C, a fim de efetuar a quantificação proteica e ensaios bioquímicos.

1.4. MEDIÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA

Em campo a transparência da água foi aferida com o auxílio do Disco de Secchi de 30 cm de diâmetro, com fita métrica (Wetzel, 2005). A água coletada no local foi analisada nos laboratórios de análise de água do Instituto de Pesquisas Hidráulicas e do Centro de Ecologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram obtidos os valores de pH, oxigênio dissolvido, fósforo total, ortofosfato, nitrato, nitrito e nitrogênio amoniacal, seguindo os métodos descritos em APHA (2005).

1.5. QUANTIFICAÇÃO PROTEICA

Todos os dados bioquímicos foram normalizados pelos níveis de proteína total. Os níveis de proteína foram determinados conforme o procedimento descrito por Bradford utilizando BSA (*Bovine Serum Albumin*) com uma concentração de 0,1mg/L como padrão.

1.6. ANALÍSES BIOQUÍMICAS

A atividade da glutathione S-transferase (GST) seguiu o protocolo de Tsuchida (2000). A atividade foi medida com 20µl de amostra em presença de 1-chloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) e glutathione reduzida. A seguir, foi medida a absorvância a 340 nm em microplaca transparente a UV. A análise da enzima fumarase seguiu o protocolo proposto por Bergmeyer (1974), sendo a atividade medida pela conversão do fumarato para L-malato, lida em espectrofotômetro por 4 minutos a 240 nm em microplaca transparente a UV. A análise foi realizada em triplicata e

expressada em Unidade por minuto por miligrama de proteína (UA.min⁻¹). A determinação para atividade da ascorbato peroxidase (APX) utilizou 10µl do extrato de enzima e foi medida através da inibição da reação do peróxido de hidrogênio em presença de ascorbato, resultando assim na oxidação observada pela absorvância a 290nm (UV) em espectrofotômetro. A atividade foi expressa em µmol/min⁻¹, seguindo o protocolo proposto por Murshed, (2008). A atividade da catalase e outras enzimas que detoxificam peróxido de hidrogênio foi determinada de acordo com Li e Schellhorn (2007). Essa técnica consiste em converter o peróxido de hidrogênio em água, sendo assim é quantificada pelo decaimento da absorção do peróxido de hidrogênio. O ensaio para o consumo de peróxido de hidrogênio consiste em adicionar tampão (fosfato de sódio 50mmol/L com pH 7,0) e 5mmol/L de solução de peróxido de hidrogênio lido em microplaca transparente a UV em 240nm em espectrofotômetro por 2 minutos com intervalos de 15 segundos.

A capacidade antioxidante total foi medida através da redução da cor de ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) oxidada e calculada em relação ao padrão de Trolox (PRIOR *et al.* 2005). As mudanças na capacidade antioxidante total foram obtidas por leitura espectrofotométrica a 660nm. Os níveis da capacidade antioxidante foram ajustados pelo padrão de trolox e expressos em mmol ml⁻¹ (EREL, 2004).

O dano oxidativo em proteínas foi determinado pela medida de grupos carbonila conforme previamente descrito (LEVINE *et al.* 1990). O conteúdo de carbonila foi quantificado utilizando o coeficiente de absorção milimolar da hidrazona (21000 M⁻¹ cm⁻¹). A absorvância em 370nm foi medida, e o resultado expresso em nmol/mg de proteína.

1.7. ANÁLISES DE ELEMENTOS

Para análises dos elementos foram utilizadas amostras secas em estufa a 70°C da *S. californicus*. Para determinar a concentração de elementos nas amostras foram utilizadas 2g de rizoma e parte aérea da *S. californicus*. A técnica utilizada para a medida foi *PIXE* (do inglês *Particle- Induced X-Ray Emission Spectrometry*). O *PIXE* consiste na utilização do acelerador de íons Tandetron 3 MV (feixe de prótons de 2 MeV) do laboratório de implantação iônica do Instituto de Física da UFRGS. O espectro obtido é quantificado pelo software *GUPIXWIN*, e os resultados expressos em partes por milhão (mg / kg).

1.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para os testes estatísticos foi estabelecido um limiar de confiabilidade de $p \leq 0,05$. Para análises de normalidade das distribuições, foi usado o Teste Kolmogorov-Smirnov. As médias obtidas para as amostras de *S. californicus* foram comparadas através do teste T de variáveis independentes. Em relação à análise e visualização gráfica das diferenças e similaridades entre indivíduos foi realizada uma padronização dos valores obtidos para as variáveis. Todos os testes estatísticos foram realizados no software PASW *Statistics* 18. A correlação foi elaborada através do método de Pearson no Software R com intervalo de confiabilidade de $p \leq 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Para a avaliação de possíveis alterações na qualidade físico-química da água foram analisadas nove variáveis: transparência, condutividade, oxigênio dissolvido, pH, fósforo total, ortofosfato, nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato, nas estações do inverno e verão. Ao todo foram realizadas duas medidas nos pontos das coletas nas lagoas Marcelino Ramos-(Lat: -29. 889970° ; Lon: -50.254099) e Lagoa do Peixoto (Lat: 29.866613, Lon: -50.231204). Os valores obtidos estão listados na Tabela 1.

Tabela 1- Parâmetros físico-químicos estimados para o local da coleta biológica nas lagoas Marcelino Ramos e Lagoa do Peixoto, do município de Osório, Rio Grande do Sul nos períodos do inverno de 2018 e verão de 2019.

Amostra	Transparência	Condutividade	Oxigênio Dissolvido	pH	Fósforo Total	Ortofosfato	Nitrogênio Amoniacal	Nitrato	Nitrito
Unidade	cm	$\mu\text{S/cm}$	mg/L		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
Marcelino Inverno	30	253,59	14,13	7,18	0,29	0,16	0,27	0,03	0,13
Marcelino Verão	15	333,00	9,20	10,60	0,97	0,46	0,44	1,94	0,02
Peixoto Inverno	50	135,92	7,19	7,25	0,11	0,10	0,02	0,01	0,02
Peixoto Verão	30	134,00	5,60	7,90	0,15	0,12	0,37	1,43	0,01

Fonte: Autor, 2021.

Os teores médios de oxigênio dissolvido (OD) obtidos por Santos (2017) nas estações verão e inverno do período de 1993 até 2013 na Lagoa Marcelino Ramos foram de 7,0 no verão e 8,7 no inverno; na Lagoa do Peixoto os valores foram de 6,5 no verão e 9,1 no inverno. É de conhecimento comum que a temperatura da água afeta diretamente a solubilidade do oxigênio, de forma que temperaturas mais altas diminuem a solubilidade do oxigênio e temperaturas mais baixas aumentam esta solubilidade. De fato, maiores concentrações de oxigênio foram geralmente encontradas no inverno e vice-versa. No entanto, outros fatores podem ter influenciado os teores de oxigênio. O OD fornece valiosas informações sobre as reações químicas e biológicas que ocorrem na água. No presente estudo, o valor médio para o verão, durante o período estudado, na Lagoa Marcelino Ramos foi de 6,85 mg O₂.L⁻¹, e o valor médio para o inverno foi de 8,96 mg O₂.L⁻¹; na Lagoa do Peixoto o valor médio do verão foi de 6,75 mg O₂.L⁻¹, enquanto que no inverno foi de 9,23 mg O₂.L⁻¹. Diminuições nas concentrações de OD em água estão diretamente relacionadas ao aumento da quantidade de matéria orgânica proveniente de efluentes domésticos, industriais e fontes difusas (ALVANI *et al.* 2011). Desta maneira percebemos o que já era esperado para as lagoas estudadas, ou seja, que os menores valores fossem os da Lagoa Marcelino Ramos. De uma forma geral, os dados mostram um aumento de parâmetros físico-químicos na Lagoa

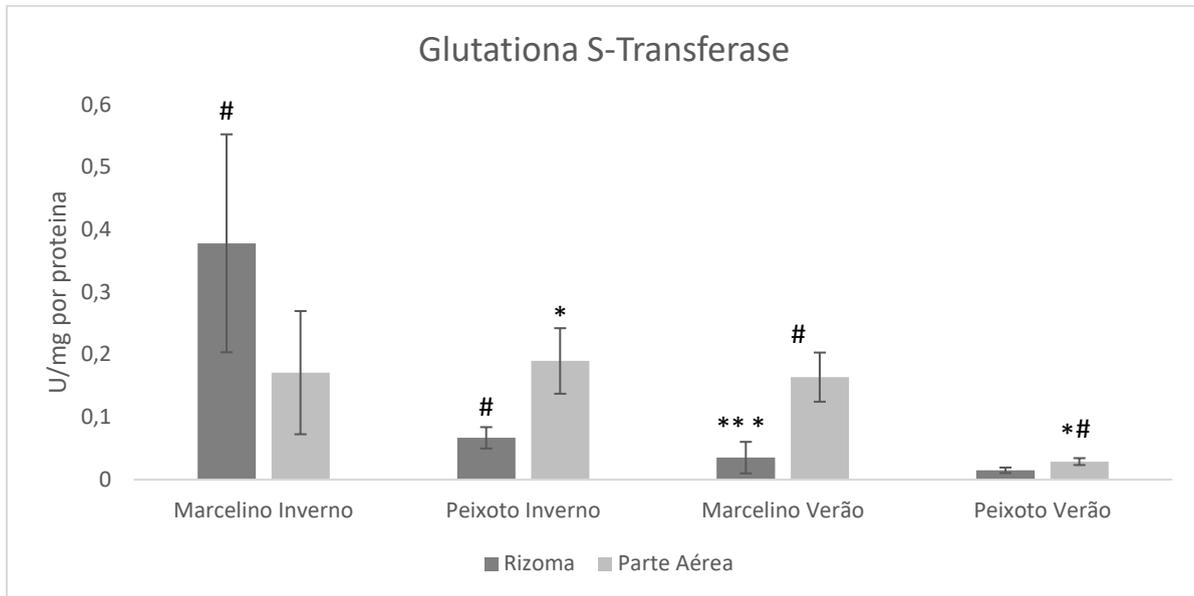
Marcelino Ramos quando comparado à Lagoa do Peixoto no mesmo período. Contudo como há uma ligação entre a Lagoa Marcelino Ramos e a Lagoa do Peixoto, o despejo de esgoto mencionado por Schäfer (1990) na Lagoa Marcelino Ramos pode influenciar a qualidade ambiental não só na lagoa receptora, mas também da adjacente. Nitrogênio amoniacal, nitrato e nitrito apresentaram valores similares, uma vez que, com a conexão, a entrada de esgoto doméstico influencia os parâmetros do nitrogênio (HERZER, 2013). Dados dos compostos nitrogenados são similares aos encontrados por Herzer (2013). As altas taxas de fosforo na Lagoa Marcelino Ramos indicam atividades antrópicas, bem como a liberação de efluentes domésticos, que apresentam maior volume no verão, devido ao aumento populacional sazonal no litoral. Comparando os dados descritos por SANTOS (2017) com os níveis de fosforo total encontrados no nosso estudo na Lagoa Marcelino durante o verão, verifica-se que estes foram maiores do que os registrados entre o período de 2000 a 2013. Níveis de fósforo totais na Lagoa do Peixoto foram similares ao estudo citado acima. Oxigênio dissolvido na Lagoa Marcelino Ramos encontra-se elevado nas duas estações em relação aos estudos conduzidos por Santos, (2017). A condutividade, pH e ortofosfato não apresentaram níveis diferentes de estudos anteriores.

3.2. PARÂMETROS ENZIMÁTICOS

3.2.1. Glutathione S-transferase

A Glutathione S-transferase (GST) foi descrita em 1970 em milho através da conjugação da atrazina com a GSH, essa conjugação mostra que a GST é capaz de clivar compostos xenobióticos, sendo assim uma importante enzima para detoxificação. Em plantas a GST é encontrada no citosol e na membrana (FREAR E SWANSON, 1970; SCHRÖNDER, 2001). A GST é uma importante enzima para a biotransformação. As GSTs são consideradas enzimas de detoxificação, pois catalisam a conjugação da glutathione com substâncias que pode ser citotóxicas.

Gráfico 1: Atividade da enzima Glutathiona S-transferase na *S. californicus* na Lagoa Marcelino Ramos e na Lagoa do Peixoto no município de Osório no inverno e verão.



Fonte: Autor, 2021.

Os dados são apresentados como média \pm EP.

*Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as estações inverno e verão.

Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) nas coletas das lagoas no mesmo período.

** Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre parte aérea e rizoma.

A maior atividade da GST (82,3%) foi observada no rizoma da Lagoa da Marcelino no período do inverno diferindo da lagoa adjacente, a Peixoto. A análise da GST na parte aérea da espécie *S. californicus* não mostrou diferença significativa durante o período de inverno entre as lagoas; contudo, no verão houve diferença na parte aérea onde há uma diminuição da atividade da GST de 17,6% nas plantas coletadas na Lagoa do Peixoto comparadas com aquelas da Lagoa Marcelino Ramos. Observa-se também um aumento da atividade de GST na parte aérea na Lagoa do Peixoto comparando as estações, observando-se um aumento de 84,7% no inverno.

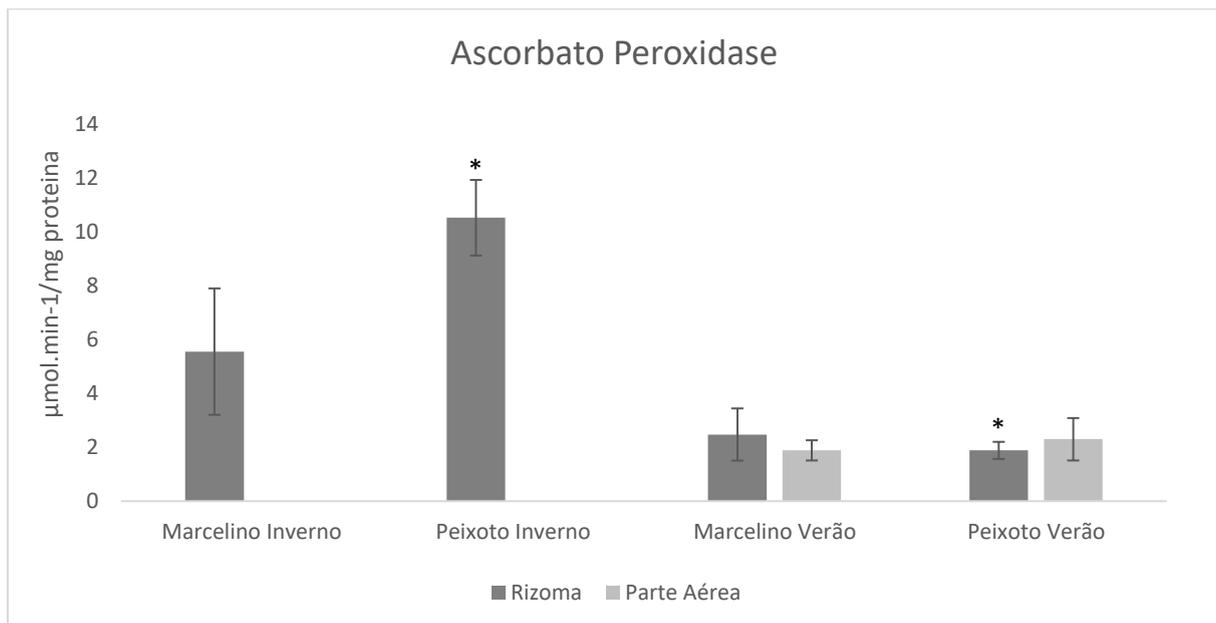
Poluentes xenobióticos e metais pesados aumentam a produção de EROs endógenos e exógenos. Em algumas condições pode ocorrer uma diminuição das defesas antioxidantes, enquanto que em outras pode ocorrer um aumento de atividade das enzimas antioxidantes em resposta a um dano maior (VALAVANIDIS, 2006). Assim espera-se uma mudança na atividade da GST frente à exposição a poluentes e metais pesados na Lagoa Marcelino Ramos e da Lagoa do Peixoto. Uma maior atividade na Lagoa Marcelino Ramos pode ser devida ao fato que há uma grande carga de esgoto doméstico no município sem tratamento apresentando níveis elevados de

poluição (REIRCHERT, 2015). Estes dados podem ser confirmados nas análises da Tabela 1, embora essa diferença só tenha sido registrada no rizoma de *S. californicus*.

3.2.2. Ascorbato peroxidase

Ascorbato peroxidases (APX) são heme-peroxidases de classe I, que utilizam o ascorbato como doador de elétrons. Esta enzima é encontrada somente em organismos vegetais tendo um papel fundamental no metabolismo antioxidante, dado que se trata da primeira linha de defesa responsável pela remoção do peróxido de hidrogênio da célula (ALLEN et al, 1997). O peróxido de hidrogênio é o ERO mais abundante nos sistemas aeróbicos (WAN & LIU, 2008), produzido através do metabolismo em situações de estresse biótico ou abiótico. A APX responde a variadas situações de estresse abiótico, como excesso de água, intensidade de luz, temperatura, e excesso de íons metálicos, sendo o aumento de sua atividade uma forma de proporcionar proteção e resistência evitando danos à célula. (GILL, 2010; GARIGHAN, 2014).

Gráfico 2- Atividade da enzima ascorbato peroxidase na *S. californicus* na Lagoa Marcelino Ramos e na Lagoa do Peixoto no município de Osório no inverno e verão.



Fonte: Autor, 2021.

Os dados são apresentados como média \pm EP.

* Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as estações inverno e verão.

As análises foram realizadas somente no rizoma no período do inverno. A atividade de AP no rizoma da lagoa do Peixoto foi 89% superior no período, comparado com a registrada nas

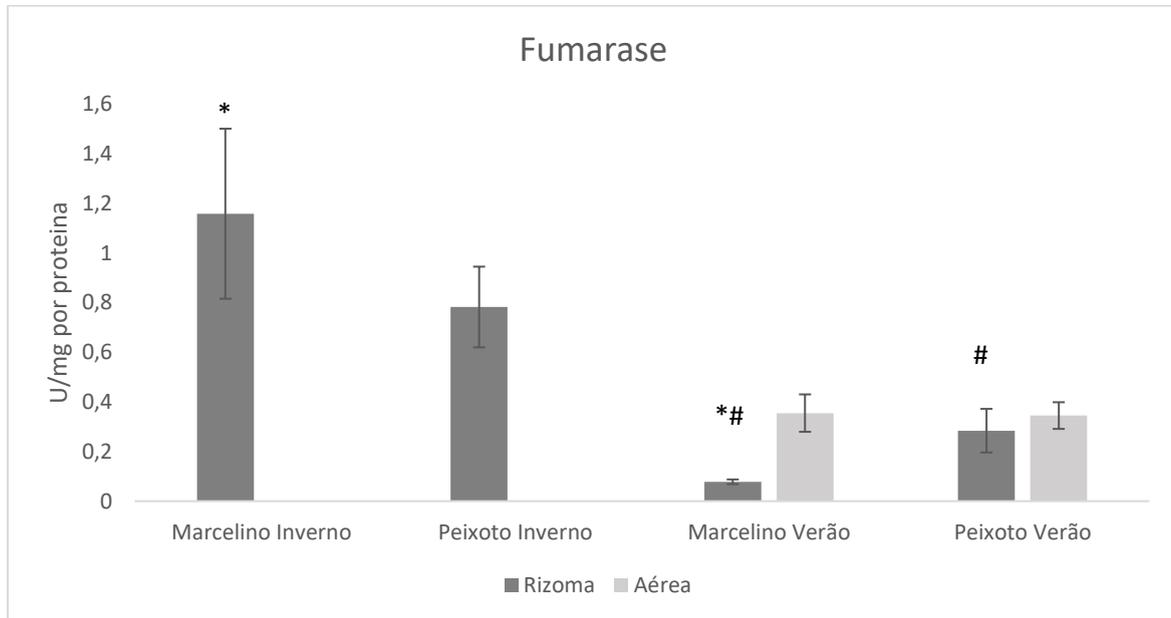
plantas da lagoa adjacente; no entanto essa diferença não apresentou valor significativo. Comparando a variação sazonal na Lagoa Peixoto, observa-se que no inverno há um aumento significativo da atividade da ascorbato peroxidase de 458% em relação ao período do verão.

As atividades da APX são maiores durante o inverno, sendo a lagoa do Peixoto superior aos demais pontos; a diferença significativa só ocorre na comparação entre a mesma lagoa durante o verão. Destaca-se na Tabela 2 um aumento significativo do íon zinco (Zn) em plantas desta lagoa no inverno, também observado por Cuypers et al. 2001, sendo que o zinco pode causar formação de EROs, como o peróxido de hidrogênio. Durante o período do inverno no rizoma da Lagoa do Peixoto houver um aumento do Zn juntamente com a atividade da APX, indicando que a ascorbato peroxidase é uma importante enzima envolvida no processo da tolerância do zinco, com potencial de fitorremediação de ambientes contaminados (Xu *et al.* 2008).

3.2.3. Fumarase

A fumarase é uma enzima responsável pela reação de hidratação do fumarato, formando malato na mitocôndria, fazendo parte do ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs), essencial para a manutenção da viabilidade celular (DENNIS, 1990; VEETIL, 2012). Além disso, há indicações da presença de uma fumarase citosólica que em *Arabidopsis thaliana* é essencial para a aclimação ao frio (FINKEMEIER E SWEETLOVE, 2009). Em raízes de plantas ocorre a exudação de malato produzido pela fumarase em resposta a estresse por alumínio (DYSON, 2016).

Gráfico 3- Atividade da fumarase na *S. californicus* na Lagoa Marcelino Ramos e na Lagoa do Peixoto no município de Osório no inverno e verão



Fonte: Autor, 2021.

Os dados são apresentados como média \pm EP

*Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as estações inverno e verão

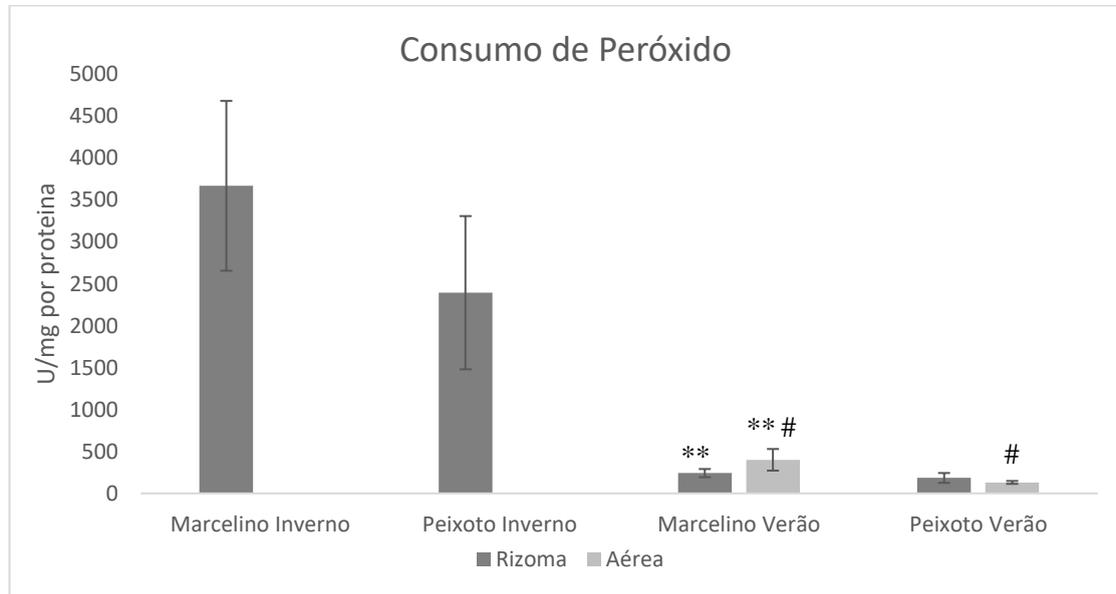
Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) nas coletas das lagoas no mesmo período.

A atividade da fumarase no rizoma teve um aumento significativo de 1385% na Lagoa Marcelino Ramos no inverno comparado com o período de verão, contudo não foi observado diferença em relação à lagoa adjacente no período do inverno. Durante o verão observa-se uma diminuição na atividade da fumarase no rizoma, sendo o menor valor encontrado na Lagoa Marcelino Ramos, que quando comparado com o das plantas da lagoa do Peixoto, mostra diminuição de atividade em 264%. Nas amostras da parte aérea do junco não se encontrou diferença significativa.

3.2.4. Consumo de peróxido de hidrogênio

Esta técnica busca analisar o consumo de peróxido de hidrogênio das enzimas catalase/peroxirredoxina. Em plantas a catalase é encontrada em peroxissomos, glioxissomos, citosol, e mitocôndrias em diferentes isoformas (PERL-TREVES, 2002). Diferente da APX que necessita de um agente para reduzir o H_2O_2 , a catalase reage diretamente com o H_2O_2 .

Gráfico 4- Consumo de peróxido na *S. californicus* na Lagoa Marcelino Ramos e na lagoa do Peixoto no município de Osório no inverno e verão.



Fonte: Autor, 2021.

Os dados são apresentados como média \pm EP

*Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as estações inverno e verão

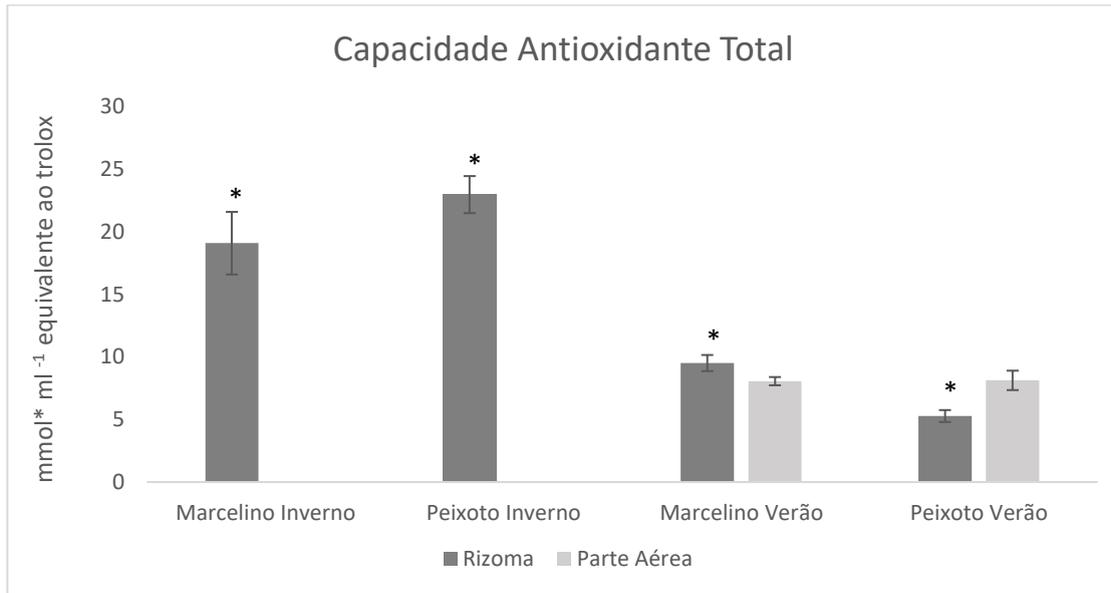
Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) nas coletas das lagoas no mesmo período.

Assim como na ascorbato peroxidase e fumarase, o consumo de peróxido de hidrogênio maior foi observado durante o período do inverno, no rizoma, em plantas e ambas as lagoas, com diferença significativa quando comparada com o período do verão. Analisando as atividades das enzimas detoxificadoras de H_2O_2 durante o período do verão, houve uma diferença significativa entre o rizoma e a parte aérea da Lagoa Marcelino Ramos tendo um aumento na atividade na parte aérea de 65%. Essa mudança na atividade com o inverno apresentando valores superiores aos de verão pode refletir a influência da temperatura, sugerindo a ocorrência de aclimação. Uma vez que a catalase é responsável pela eliminação do peróxido do hidrogênio e contribui para proteção das membranas celulares, o aumento na atividade pode ser uma vantagem na tolerância ao frio (LIU, 2013). Tal perfil é similar ao encontrado em frutos de *Citrus reticulata*, *Solanum lycopersicum* e *Solanum tuberosum*, folhas de *Avena nuda* e raízes de *Lycopersicon esculentum* (MIZUNO, 1998, SALA, 2000, ZHOU, 2012, LIU, 2013, Işeri, 2013). Como sugerido pelos dados dos gráficos 2, 4 e 5, em nível celular o estresse ao frio aumenta a produção dos EROs (KNIGHT, 2012), o que desencadeia um aumento da resposta antioxidante. Segundo dados do INMET, as temperaturas nos dias das coletas foram de 17° (Inverno) e 26°C (Verão).

3.2.5. Capacidade Antioxidante Total (CAOT)

Com a produção de EROS, animais e plantas necessitam de proteção. Um dos mecanismos de proteção é a capacidade antioxidante não-enzimática, protegendo de radicais livres e reações oxidativas nas biomoléculas (EREL, 2004; SOUZA, 2014).

Gráfico 5- Capacidade antioxidante total na *S. californicus* na Lagoa Marcelino Ramos e na lagoa do Peixoto no município de Osório no inverno e verão.



Fonte: Autor, 2021.

Os dados são apresentados como média \pm EP

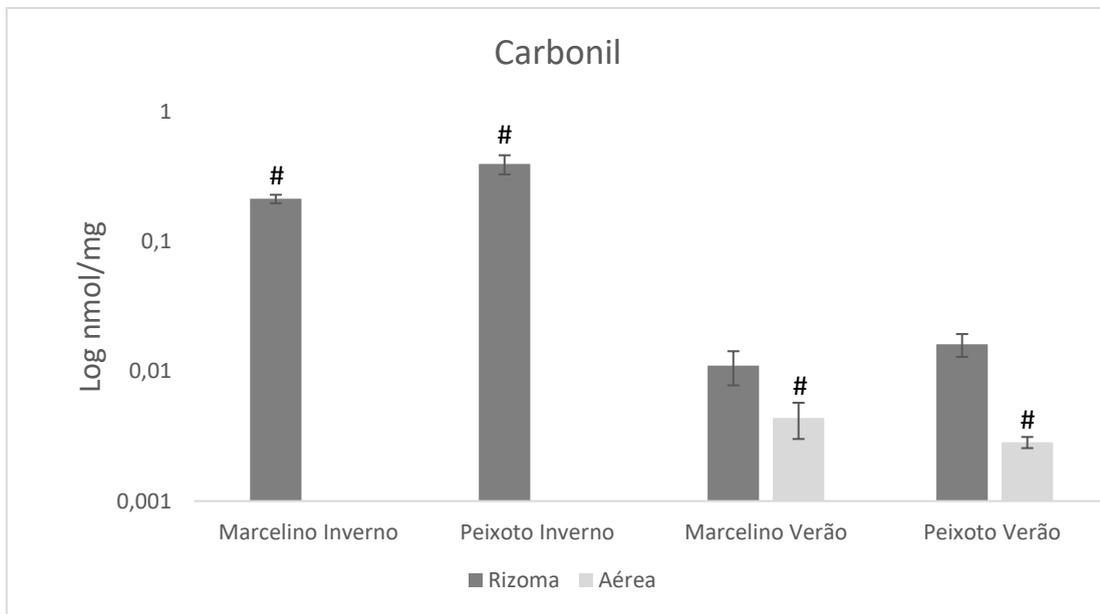
*Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as estações inverno e verão

O gráfico 5 apresenta os valores de capacidade antioxidante total, sendo encontrado o maior valor no rizoma da Lagoa do Peixoto, no período do inverno. Nos rizomas nota-se uma maior diferença comparando as estações, sendo que da Lagoa Marcelino Ramos houve uma diminuição de 56%, em relação à Lagoa do Peixoto no período do verão, e uma diminuição de 66% no inverno. Os valores comparados sazonalmente entre as lagoas foram significativos no rizoma, contudo valores entre a lagoa receptora e adjacente e entre partes aéreas e rizomas não houve significância. Sabe-se que um dos fatores para indução dos EROS é a ocorrência de baixas temperaturas (KNIGHT, 2012), causando diversos processos deletérios, como peroxidação lipídica, degradação de proteínas e ácidos nucleicos na célula (FRIDOVICH, 1978). Como um mecanismo de proteção ao estresse por frio, plantas acumulam vários metabólitos que incluem antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos (CHRISTIE *et al.* 1994). Houve uma correlação forte entre a CAOT e as demais enzimas, sugerindo que processos enzimáticos e não-enzimáticos da *S. californicus* agem em conjunto para proteger de eventuais danos pelo estresse abiótico.

3.2.6. Carbonilação de proteínas

Os EROs gerados através do estresse reagem com proteínas, lipídeos dentre outras macromoléculas. Neste estudo somente foram quantificados os danos em proteínas. Os efeitos da geração dos compostos de carbonila afetam as atividades celulares, como inibição da germinação, perda da função da mitocôndria e cloroplasto, afetando capacidade fotossintética e induzindo a senescência (YAMUCHI et al. 2012).

Gráfico 6- Carbonilação de proteínas em *S. californicus* na Lagoa Marcelino Ramos e na lagoa do Peixoto no município de Osório no inverno e verão.



Fonte: Autor, 2021.

Os dados são apresentados como média \pm EP

Indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) nas coletas das lagoas no mesmo período.

Quanto à carbonilação em *Schoenoplectus californicus*, nota-se um aumento significativo de 85,63% no rizoma da Lagoa do Peixoto no inverno comparado com a Lagoa Marcelino Ramos durante o mesmo período. A carbonilação de proteínas está de acordo com os dados apresentados de APX, CAOT e consumo de peróxido de hidrogênio, sugerindo assim que o aumento das defesas antioxidantes pode ser em resposta ao dano em biomoléculas pelo frio, indicando uma sensibilidade da *S. californicus* à baixa temperatura, bem como uma resposta ao maior conteúdo de metais encontrados no rizoma.

3.3. ANÁLISES DE ELEMENTOS EM *Schoenoplectus californicus*

3.3.1. Concentração de Elementos

A seguir, os resultados são apresentados por elementos a quais sua significância é relacionada a estação e lagoas. Inicialmente, são apresentados os resultados em mg/kg das partes do *S. californicus* (rizoma e parte aérea) no inverno e verão.

Tabela 2- Elementos estimados no rizoma e parte aérea da *Schoenoplectus californicus* nas lagoas Marcelino Ramos e Lagoa do Peixoto, do município de Osório, Rio Grande do Sul nos períodos do inverno de 2018 e verão de 2019.

Estação	Inverno				Verão			
	Marcelino		Peixoto		Marcelino		Peixoto	
LAGOA	Rizoma	Aérea	Rizoma	Aérea	Rizoma	Aérea	Rizoma	Aérea
AMOSTRA								
ELEMENTO								
Na	7912,5 ±	6554,25 ±	1006,9 ±	2083,75 ±	8638,75 ±	2646,5 ±	2919,25 ±	2558,75 ±
	171,33	540,51	120,18	265,52	252,89	58,44	997,54	249,00
Mg	53,125 ±	333,35 ±	318,55 ±	695,4 ±	321,4 ±	565,65 ±	179,45 ±	550,62 ±
	53,12	18,70	29,92	62,13	14,09	40,62	60,53	32,11
Al	766,10 ±		452,35 ±	5778 ±	328,26±	423,35 ±	1912 ±	574,1 ±
	75,92		64,10	240,36	30,40	137,35	130,39	86,05
Si	1862,75	10188,5 ±	8010 ±	8200,75 ±	5795,5 ±	15007 ±	1465,75 ±	11172 ±
	±51,45	2021,45	951,72	825,69	2706,23	656,90	134,00	1371,22
P	952,5 ±	688,12 ±	376,82 ±	1011,35 ±	1230,25 ±	813,6 ±	1035,87 ±	986,37 ±
	58,00	40,69	39,26	197,11	26,13	44,54	73,54	143,38
K	837,47 ±	1831,25 ±	1777,75	1395,75 ±	1690 ±	1906 ±	1391 ±	1762 ±
	42,01	189,32	± 78,02	60,21	80,58	152,01	83,03	272,15
Ca	12838,25	10433 ±	1193,25	11907,75	19379,5 ±	5783,75	14250 ±	10950,25
	± 222,30	893,00	± 68,70	± 810,49	654,06	± 161,24	386,74	± 186,59
S	6701,25 ±	6265,25 ±	904,25 ±	14546,5 ±	14239,25	5527,75	18575,75	11899,25
	130,64	465,59	35,02	2327,62	± 358,44	± 285,84	± 448,92	± 823,83
Ca	998,725	2506,5 ±	2271,75	3140,25	921,9 ±	3935 ±	876,62 ±	2668 ±
	±54,32	54,26	± 177,17	±462,75	35,56	379,25	62,04	287,34
Ti	14,25 ±	15,93 ±	29,44 ±		71,33 ±	31,33 ±	18,35 ±	26,54 ±
	1,93	8,33	2,75		48,07	11,70	9,28	20,07
Cr	6,108 ±	5,97 ±	10,81 ±	7,51 ± 1,42	5,88 ± 2,69			8,124 ±
	1,25	0,32	2,14					3,51
Mn	64,16 ±	676,77 ±	43,52 ±	90,49 ±	74,42 ±	530,4 ±	25,95 ±	343,1 ±
	2,12	25,48	2,64	13,11	2,81	75,21	3,57	33,44
Fe	2720,75 ±	83,63 ±	1282,92	70,04 ±	2967,25 ±	224,9 ±	472,92 ±	148,51 ±
	330,99	4,87	± 141,16	13,19	422,59	61,13	29,36	21,44
Ni		3,28 ±			19,206 ±			
		0,10			10,23			
Zn	10,1165 ±	7,76 ±	125,43 ±	14,49 ±	37,30 ±	10,52±	19,91 ±	8,15 ± 1,62
	1,77	1,41	12,86 *	3,64	3,56	1,76	2,41	
As					17,7 ± 1,72			
Br	30,7925 ±	44,7 ±		39,41 ±	35,93 ±	18,56 ±	37,32 ±	44,38 ±
	7,26	7,74		5,52	6,45	6,48	6,81	5,51

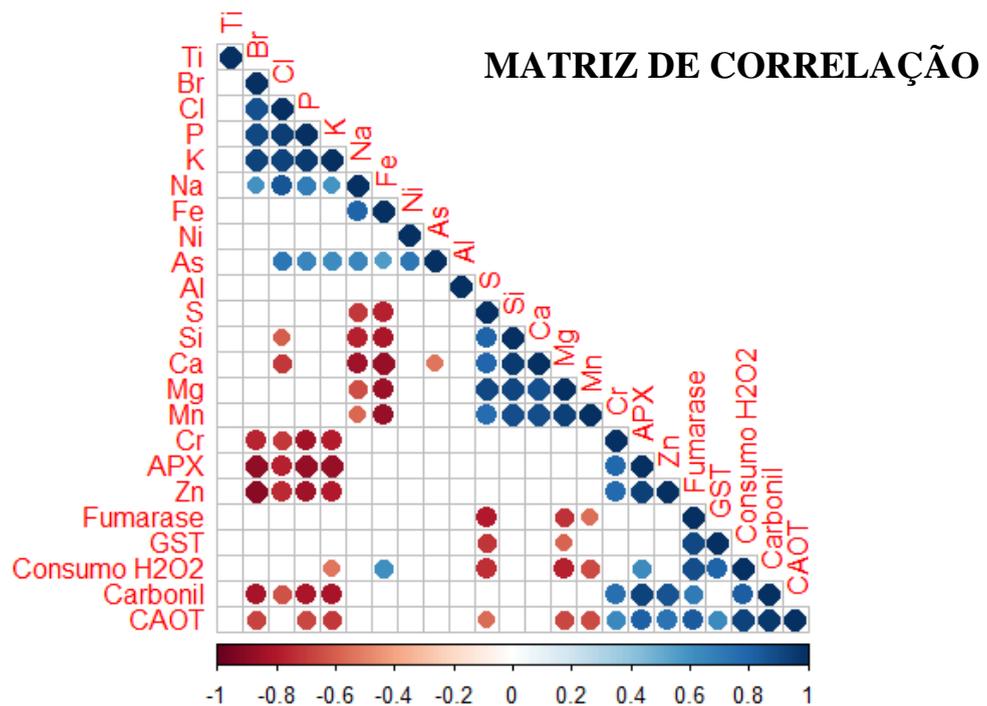
Fonte: Autor, 2021

* Indica diferença significativa entre todos ($p \leq 0,05$).

A comparação entre a concentração de Zn nas plantas dos locais de amostragem revelou que as plantas *S. californicus* na Lagoa do Peixoto no período do inverno apresentaram as maiores concentrações deste elemento (1140%), enquanto as plantas dos demais locais de amostragem

tendem a apresentar valores significativamente menores. Destaca-se na tabela a presença do elemento Arsênio (As) durante o verão no rizoma da Lagoa do Marcelino encontrado em uma concentração de 17,7 mg/kg. Olmos-Marquez et al. 2012 relata uma possível retenção de arsênio em *Schoenoplectus americanus*, o que é corroborado pelos resultados aqui obtidos.

Figura 2- Matriz de correlação entre elementos e enzimas em *Schoenoplectus californicus* nas lagoas Marcelino Ramos e Lagoa do Peixoto, do município de Osório, Rio Grande do Sul nos períodos do inverno de 2018 e verão de 2019.



Fonte: Autor, 2021.

Fortes correlações positivas (acima de 0,5) entre os metais e atividades bioquímicas foram encontradas para Zn e APX, bem como Zn e carbonilação de proteína e Zn e CAOT sendo de $r = 0,71$, $r = 0,70$ e $r = 0,59$, respectivamente. Estes dados sugerem a existência de uma estratégia em *S. californicus* de tolerância à toxicidade desse elemento, conforme já relatado em estudos prévios.

Destaca-se na figura 2 a correlação positiva entre Zn e atividade da APX. Sendo o metal conhecido por causar formação de EROs, como no caso o peróxido de hidrogênio, nossos dados indicam que a ascorbato peroxidase é importante no processo da tolerância do zinco, possivelmente com papel significativo na fitorremediação em ambientes contaminados. Há também uma correlação positiva entre carbonil e CAOT, indicando uma resposta antioxidante direta à formação de radicais livres.

4. CONCLUSÃO

O estresse oxidativo induzido por efeitos abióticos impacta *Schoenoplectus californicus*, sendo observado um aumento durante o período do inverno, sugerindo uma sensibilidade ao frio e a metais, particularmente Zn. Também se observa um efeito mais relevante no rizoma, que parece servir como a primeira linha de defesa.

Houve uma forte correlação entre o elemento Zinco e defesas antioxidantes, fornecendo informações que podem ser úteis em processos de fitorremediação.

REFERÊNCIAS

AGAMI M. WAISEL Y. The ecophysiology of submerged vascular plants. **Physiol Veg.** 24: 607-624. 1986.

ALLEN R, D. WEBB R, P. SCHAKE S, A. Use of transgenic plants to study antioxidant defenses. **Free Radic Biol Med.** v. 23(3):473-479. 1997.

ALVES, M. HEFLER, S.M. TREVISAN, R. SILVA , P, J, F,S.; RIBEIRO, A.R.O. Cyperaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015 Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB35237>>. Acesso em 25 jun. 2021.

American Public Health Association (APHA), Standard methods for the examination of water and wastewater, Washington (DC). 2005.

APEL, K. HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annu. Rev. Plant Biol.** v. 55, 373–399. 2004.

ARREGHINI, S. DE. CABO, L. DE. IORIO, A. F. RENDINA, A. BONETTO, C. Effects of Zinc on the Growth of Bulrush and Its Distribution Between Different Sediment Fractions. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.** v. 67(2): 0264-0270. 2001.

BOSCAIU, M. LULL, C. LIDON, A. BAUTISTA, I. DONAT, P. MAYORAL, O. VICENTE, O. Plant response to abiotic stress in their natural habitats. **Horticulture.** v. 65, N, 1. 2008.

BRADFORD M, M: Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding. **Anal Biochem.** v. 72(1-2):248-254. 1974

Christie, P.J., Alfenito, M.R., Walbot, V. Impact of low temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. **Planta** v. 194, 541–549. 1994

COOK, C.D.K. 1974. Water plants on the world. **The Hague:** Dr. Junk Publisher.561p. 1974.

- COPELAND, L.; DE LIMA, M. L. The effect of aluminum on enzyme activities in wheat roots. **J. Plant Physiol.**, v. 140, p. 641-645, 1992
- CUYPERS, A. VANGRONSVELD, J. CLIJSTERS, H. The redox status of plant cells (AsA and GSH) is sensitive to zinc imposed oxidative stress in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiol. Biochem.** 39, 657–664. 2001.
- ESTEVEVES, F. de A. Fundamentos de Limnologia. 3. ed. Rio de Janeiro: **Interciencia**, 2011.
- FREAR, D, S. SWANSON, H, R. The biosynthesis of S-(4-ethylamino-6-isopropilamino-s-5-triazino) glutathione: partial purification and properties of a glutathione S-transferase from corn. **Phytochem** v. 9, 2123–2132. 1970
- FRIDOVICH, I. The biology of oxygen radical. **Science** v. 201, 875–880. 1978
- GIOVANNINI, S. G. T. **Estabelecimento e desenvolvimento das macrófitas aquáticas “*Scirpus californicus*, *Typha subulata*, *Zizaniopsis bonarienses*” sob condições experimentais de regimes hídricos diferenciados.** 1997. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recurso Hídricos). Instituto de Pesquisa Hidráulicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2019.
- HERZER, Letícia Araujo, **Aspectos morfométricos e diagnóstico da qualidade da água da Lagoa do Peixoto, Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil**, 2013, 60 f. Monografia (Graduação) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. 2013.
- İŞERI, Ö. D. KÖRPE, D. A. SAHIN, F. I. HABERAL, M. Hydrogen peroxide pretreatment of roots enhanced oxidative stress response of tomato under cold stress. **Acta Physiologiae Plantarum.** v. 35(6), 1905–1913. 2013.
- KNIGHT, M, R. KNIGHT, H. Low-temperature perception leading to gene expression and cold tolerance in higher plants. **New Phytol.** v. 195(4):737-51. 2012.
- Liu W, Yu K, He T, Li F, Zhang D, Liu J. The low temperature induced physiological responses of *Avena nuda* L., a cold-tolerant plant species. **Scientific World Journal.** 2013.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Sci.** v. 7, 405–410. 2002.

MITTLER, R. BLUMWALD, E. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. **Annu. Rev. Plant Biol.** v. 61, 443–462. 2010.

MIZUNO, M. KAMEI, M. TSUCHIDA, H. Ascorbate peroxidase and catalase cooperate for protection against hydrogen peroxide generated in potato tubers during low-temperature storage. **IUBMB Life.** v. 44, 717-726. 1998.

MURSHED, R. LOPEZ-LAURI, F. SALLANON, H. Microplate quantification of enzymes of the plant ascorbate-gluthatione cycle. **Analytical Biochemistry.** v. 383, p 320-322, 2008.

OLMOS-MÁRQUEZ, M, A. ALARCÓN-HERRERA, M, T. MARTÍN-DOMÍNGUEZ, I, R. Performance of *Eleocharis macrostachya* and its importance for arsenic retention in constructed wetlands. **Environ Sci Pollut Research.** v. 19, 763–771. 2012.

PERL-TREVES, R.; PERL, A. Oxidative stress: an introduction. **In: Oxidative Stress in Plants,** 2002.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** Washington, v.53, p. 4290-4303, 2005.

SCHRÖDER P (2001) **The role of glutathione and glutathione S-transferases in plant reaction and adaptation to xenobiotics.** In: Grill D *et al.* (eds) Significance of glutathione to plant adaptation to the environment. Kluwer academic Publishers, Netherlands, pp 155–183.

SOUZA, de J, C. **Método de quantificação da capacidade antioxidante total sérica: padronização e validação para espécie ovina.** 2014. Dissertação UNESP.

SUZUKI, N. MITTLER, R. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction. **Physiology Plantarum.** v. 126, no. 1, pp. 45–51, 2006.

VALAVANIDIS, A. VLAHOGIANNI, T. DASSENAKIS, M. SCOULLOS, M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** v. 64(2), 178–189. 2006.

WAN X, Y. LIU, J, Y. Comparative proteomics analysis reveals an intimate protein network provoked by hydrogen peroxide stress in rice seedling leaves. **Mol Cell Proteomics.** v. 7(8):1469-

1488. 2008.

WETZEL, R. G. & G. E. LIKENS. **Limnological Analyses**, 3rd ed. Springer, New York. 2000

WETZEL, R.G. 1993. **Limnologia**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 1129p.

X.Y. Lan, Y.Y. Yan, B. Yang, X.Y. Li, F.L. Xu. Differential expression of proteins in the leaves and roots of Cd-stressed *Microsorium pteropus*, a novel potential aquatic Cd hyperaccumulator. **Scientific Data**. 6:1369-1377. 2018

XU, W. SHI, W. LIU, F. UEDA, A. TAKABE, T. Enhanced zinc and cadmium tolerance and accumulation in transgenic *Arabidopsis* plants constitutively overexpressing a barley gene (HvAPX1) that encodes a peroxisomal ascorbate peroxidase. **Botany**, 86(6), 567–575. 2008.

YAMAUCHI, Y. HASEGAWA, A. MIZUTANI, M. SUGIMOTO, Y. Chloroplastic NADPH2 dependent alkenal/one oxidoreductase contributes to the detoxification of reactive 13 carbonyls produced under oxidative stress. **FEBS Lett.** 586, 1208–1213. 2012.

ZHOU, J. WANG, J. SHI, K. XIA, X. J. ZHOU Y, H. YU, J, Q. Hydrogen peroxide is involved in the cold acclimation-induced chilling tolerance of tomato plants. **Plant Physiol Biochem.** 60:141-149. 2012.