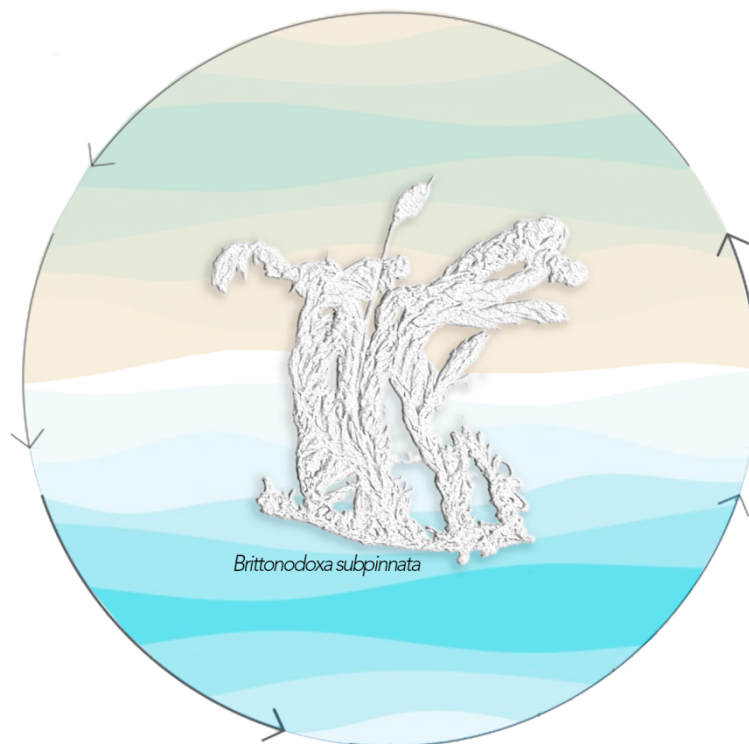


Adriana dos Santos Lopes

Influência da sazonalidade na capacidade de oxirredução em *Brittonodoxa subpinnata* (Brid.) W.R. Buck, P.E.A.S. Câmara & Carv.-Silva (Sematophyllaceae)



Seasonality influence on the redox reactions of *Brittonodoxa subpinnata* (Brid.)
W.R. Buck, P.E.A.S. Câmara & Carv.-Silva (Sematophyllaceae)

São Paulo

2021

Adriana dos Santos Lopes

Influência da sazonalidade na capacidade de oxirredução em *Brittonodoxa subpinnata* (Brid.) W.R. Buck, P.E.A.S. Câmara & Carv.-Silva (Sematophyllaceae)

Seasonality influence on the redox reactions of *Brittonodoxa subpinnata* (Brid.)
W.R. Buck, P.E.A.S. Câmara & Carv.-Silva (Sematophyllaceae)

Versão corrigida. A versão original dessa dissertação encontra-se disponível no Instituto de Biociências da USP.

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para obtenção de Título de Mestre em Ciências, na Área de Botânica.

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Furlan

São Paulo

2021

Ficha Catalográfica

Lopes, Adriana dos Santos

Influência da sazonalidade na capacidade de oxirredução em
Brittonodoxa subpinnata (Brid.) W.R. Buck, P.E.A.S. Câmara &
Carv.-Silva (Sematophyllaceae)
56 p.

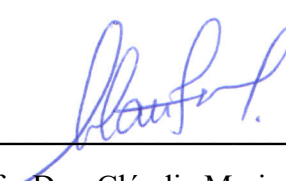
Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo. Programa de Pós-Graduação em
Botânica.

1. Briófitas 2. Sistema antioxidante 3. Estresse oxidativo 4.
Enzimas antioxidantes 5. Ciclo ascorbate-glutationa I. Furlan,
Cláudia Maria, orient. II. Instituto de Biociências. Departamento de
Botânica.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).



Prof. Dra. Cláudia Maria Furlan
Orientadora

Agradecimentos

Agradeço à minha família, especialmente aos meus pais, Rosilda dos Santos e Rubens Manoel, pelos ensinamentos, apoio e todo o carinho que juntos contribuíram para a minha formação pessoal e profissional. Ao meu melhor amigo, Matheus Arantes, por toda a paciência durante esse período e por sempre estar disposto a doar um pouco do seu tempo. À Josiene Rossini, Camila Botelho, Joelcio Freitas e Rafael Cipriano, pelos momentos inesquecíveis proporcionados no Instituto Nacional da Mata Atlântica e por todo o apoio que me deram, mesmo distantes. Agradeço também às minhas amigas Patrícia Alves e Candida Lucena, por todas as conversas, pelo apoio e incentivo e principalmente por sempre acreditarem em mim. Vocês são minhas irmãs adotadas!

Ao professor Alessandro Oliveira, que durante as reuniões do GEIAPE me apresentou ao capítulo 3 do livro Ecologia das Interações Plantas-Animais, que influenciou a minha escolha em seguir na área da botânica para entender um pouco mais desse universo químico das plantas.

Agradeço imensamente à minha orientadora, a professora Cláudia Furlan, pela dedicação em construir um espaço confortável para o aprendizado e para o desenvolvimento deste trabalho, agradeço também por toda a paciência durante todo o período do mestrado e por todas as valiosas sugestões.

Aos professores(as) do Instituto de Biociências, em especial aos professores do Laboratório de Fitoquímica pelas contribuições e ensinamentos. Às técnicas do Laboratório, Aline e Mourisa por todo auxílio durante a realização do meu projeto.

Aos colegas do Laboratório de Fitoquímica por todas as contribuições e ensinamentos no laboratório, em especial à Marisia Esposito pela ajuda nos protocolos. À estagiária Gabriela Silva de Souza da Universidade Oswald Cruz, que me ajudou muito na triagem das briófitas e agilizou muito esse trabalho de bancada. Também gostaria de agradecer à Fernanda Anselmo pelas dicas no início do mestrado, e pelos momentos de conversa no almoço.

E por fim, e não menos importante à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida durante o mestrado e ao Instituto de Biociências da USP pela infraestrutura.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 BRIÓFITAS.....	1
1.1.1 Aspectos gerais	1
1.1.2 Aspectos ecológicos	4
1.2 REGULAÇÃO REDOX.....	6
1.2.1 Espécies Reativas de Oxigênio (ERO)	6
1.2.2 Sistema antioxidante.....	8
1.2.3 Influência do ambiente no potencial redox.....	11
2. OBJETIVOS	14
3. MATERIAS E MÉTODOS	14
3.1 ÁREAS DE ESTUDO	14
3.1.1 Cidade Universitária Armando Sales de Oliveira (CUASO)	16
3.1.2 Unidades de Paranapiacaba (RBASP-PNMNP).....	17
3.1.3 Brotas.....	17
3.1.4 Mogi Guaçu	17
3.2 DADOS METEOROLÓGICOS DAS ÁREAS DE COLETA.....	18
3.3 ESPÉCIE SELECIONADA PARA O ESTUDO	19
3.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	20
3.4.1 Atividade enzimática e determinação de proteínas	20
3.4.1.1 Obtenção dos extratos enzimáticos.....	20
3.4.1.2 Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD)	21
3.4.1.3 Determinação da atividade da catalase (CAT)	21
3.4.1.4 Determinação da atividade da ascorbato peroxidase (APX)	21
3.4.1.5 Determinação da atividade da glutathiona redutase (GR).....	22
3.4.1.6 Determinação de proteínas	22
3.4.2 Dosagem dos antioxidantes não-enzimáticos	22
3.4.2.1 Ácido ascórbico	22
3.4.2.2 Glutathiona	23
3.4.3 Indicadores do estresse oxidativo	23
3.4.3.1 Determinação da peroxidação lipídica (MDA)	23
3.4.3.2 Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂)	24
3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	24

4. RESULTADOS	25
4.1 PERFIL METEOROLÓGICO DAS ÁREAS DE COLETA	25
4.2 ANÁLISE DO ESTADO REDOX.....	28
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÕES	41
7. REFERÊNCIAS	43

RESUMO

Consideradas pioneiras na transição do ambiente aquático para o ambiente terrestre, as briófitas habitam diferentes ambientes e podem ser encontradas colonizando diversos substratos, como solos, rochas, troncos, entre outros. Podem tolerar condições ambientais extremas e estão presentes em praticamente todos os ecossistemas, principalmente os terrestres. Durante o processo de colonização e diversificação terrestre, os vegetais desenvolveram mecanismos metabólicos importantes, resultando na produção de substâncias que servem como protetores à radiação ultravioleta, ao estresse oxidativo e outras precursoras de biopolímeros estruturais que auxiliam na menor dessecação, mas que também permitem a troca de gases. Além disso, os ecossistemas terrestres estão sujeitos a diversas alterações nas condições do clima, que podem envolver oscilações na temperatura, déficit hídrico, radiação solar, assim como uma acentuação da sazonalidade. Todos esses fatores abióticos têm em comum elicitar maior produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem ser danosas ao organismo. Este estudo teve como objetivo avaliar o estado redox de populações de *Brittonodoxa subpinnata* (um musgo) em ambientes com distinta disponibilidade de água durante as estações chuvosa e seca na região Sudeste do Brasil. Amostras foram coletadas em quatro áreas, Paranapiacaba e Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira pertencentes ao domínio fitogeográfico atlântico, e Mogi Guaçu e Brotas pertencentes ao domínio do cerrado. Foi avaliado o sistema antioxidante pela análise da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR) e catalase (CAT), além da análise dos conteúdos de ascorbato (AsA), glutathione (GSH), de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e malondialdeído (MDA). O perfil meteorológico das quatro áreas de coleta, evidenciou menor média de temperatura e acúmulo de chuvas durante o período seco (inverno) em relação ao período chuvoso (verão). Foi observado o efeito da sazonalidade para a atividade das quatro enzimas avaliadas, com maior atividade da CAT, APX e GR durante o período seco, enquanto a SOD mostrou maior atividade durante o período chuvoso. Os conteúdos de ascorbato e glutathione também apresentaram aumento acentuado durante o período seco. Essas alterações no sistema antioxidante parecem ter sido eficientes para manter os níveis de H₂O₂ e MDA, que não diferiram entre os períodos de amostragem. Por fim, o estado redox de *B. subpinnata* mostrou oscilações sazonais, mas não diferiu quando consideradas as áreas de coleta e/ou os domínios fitogeográficos.

Palavras-chave: sistema antioxidante, estresse oxidativo, musgo tropical, enzimas antioxidantes, ciclo ascorbato-glutathione.

ABSTRACT

Bryophytes are considered pioneers when it comes to the transition from the aquatic environment to the terrestrial environment. They inhabit different environments and can colonize different substrates, such as soils, rocks, trunks, among others. They can tolerate extreme environmental conditions and can be found in almost all ecosystems, with special attention to the terrestrial ones. During the process of colonization and terrestrial diversification, plants developed important metabolic mechanisms, resulting in the production of substances that serve as protectors against ultraviolet radiation, oxidative stress, and substances precursors of structural biopolymers that help to reduce desiccation, but also allow for exchange of gases. In addition, terrestrial ecosystems are subject to several changes in the climate conditions, such as temperature variations, water deficit, high solar radiation, as well as extreme seasonality variations. All these abiotic conditions can elicit the production of reactive oxygen species (ROS), which can be harmful to the organism. This study aimed to evaluate the redox status of populations of *Brittonodoxa subpinnata* (a moss) in environments with distinct water availability during the rainy and dry seasons in Southeastern Brazil. Samples were collected in four areas, Paranapiacaba and CUASO belonging to the Atlantic phytogeographic domain, and Mogi Guaçu and Brotas belonging to the cerrado domain. The antioxidant system was evaluated by analyzing the activity of the enzymes superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) and catalase (CAT), as well as the contents of ascorbate (AsA), glutathione (GSH), hydrogen peroxide (H₂O₂), and malondialdehyde (MDA). The meteorological condition at the four collection areas showed lower average temperature and rainfall accumulation during the dry season (winter) compared to the rainy season (summer). The effect of seasonality was observed for the activity of the four enzymes evaluated, with higher activity of CAT, APX, and GR during the dry season, while SOD showed higher activity during the rainy season. Contents of ascorbate and glutathione were also higher during the dry period. These alterations in the antioxidant system seem to have been efficient in maintaining the levels of H₂O₂ and MDA, which did not differ between sampling periods. Finally, the redox status of *B. subpinnata* showed seasonal fluctuations, but did not differ when considering the collection areas and/or the phytogeographic domains.

Keywords: antioxidant system, oxidative stress, tropical moss, antioxidant enzymes, ascorbate-glutathione cycle.

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 BRIÓFITAS

1.1.1 Aspectos gerais

Tradicionalmente musgos (Bryophyta), antóceros (Anthocerotophyta) e hepáticas (Marchantiophyta), de forma geral, estão compreendidos dentro do termo “briófitas”, sendo, portanto, classificados como briófitas *sensu lato*. Estudos filogenéticos de longa data, considerando caracteres bioquímicos e morfológicos, demonstraram “briófitas” como um grupo parafilético em relação às plantas vasculares, reconhecendo essas três linhagens como distintas (Mishler & Churchill, 1984; Crandall-Stotler, 1986; Shaw & Renzaglia, 2004). Entretanto, Cox (2018) em recente revisão, apoia duas hipóteses, assumindo em ambas que musgos e hepáticas são táxons irmãos, mas com o posicionamento de antóceros ainda incerto. Outros estudos, com evidências baseadas em dados ultraestruturais suportam briófitas como um grupo monofilético e irmão das traqueófitas, ou plantas vasculares (Nishiyama, 2004; Puttick et al., 2018; Harris et al., 2020; Li et al., 2020).

Os dados recentes para monofilia do grupo começam a iluminar as lacunas existentes para o entendimento da evolução das plantas terrestres, sendo assim, entende-se que ainda existe uma série de discussões a respeito da filogenia do grupo. Em vista disso, usaremos neste trabalho o termo “briófitas” para designar o conjunto das três divisões: Bryophyta, Anthocerotophyta e Marchantiophyta (Goffinet et al., 2009).

Briófitas são plantas criptogâmicas, avasculares, não lignificadas, geralmente de tamanho reduzido (Lemos-Michel, 2001), com algumas espécies de Polytrichaceae atingindo cerca de 80 cm de altura, como relatado por Peralta (2009). As briófitas apresentam características distintas e compartilhadas entre elas, como a semelhança entre fósseis antigos distribuídos entre o período Paleozóico e Mesozóico (Meyen, 1987) e espécies modernas. Dispõem de taxas mais lentas de evolução molecular quando comparadas às angiospermas, e apresentam uma ampla distribuição geográfica, mas predominam nas regiões tropicais e subtropicais (Lemos-Michel, 2001; Linde et al., 2021).

Assim como os outros grupos de plantas terrestres, o ciclo de vida das briófitas possui duas fases distintas, constituídas pelo gametófito (autótrofo, haploide) e o esporófito (dependente, diploide) e, neste grupo, no entanto, a fase gametofítica é dominante e duradoura

(Vanderpoorten & Goffinet, 2009). O gametófito, estrutura fotossintetizante, ocorre geralmente na cor verde, podendo variar entre tons avermelhados, amarelados, castanho e até mesmo tons na cor preta. O esporófito, estrutura que se desenvolve sobre o gametófito, produz esporos (haploides, meiose espórica), que se desenvolvem dando origem ao protonema, este, por sua vez, se desenvolverá em gametófitos jovens. Os gametófitos maduros produzem os gametângios, estruturas responsáveis pela produção dos gametas, sendo estes os anterídios (gametas masculinos) e os arquegônios (gametas femininos). Os gametas masculinos são atraídos pelo arquegônio por meio de substâncias químicas, esse evento é conhecido como quimiotactismo. Na reprodução sexuada de briófitas os anterozoides, flagelados, nadam até a oosfera, utilizando água como meio de locomoção. Ao fecundar a oosfera ocorre a formação do zigoto ($2n$). Esse zigoto, através de várias divisões originará o esporófito, que produzirá por meiose os esporos (n), iniciando assim o ciclo novamente (Figura 1) (Goffinet et al., 2009; Vanderpoorten & Goffinet, 2009). A reprodução assexuada ocorre por meio de gemas, propágulos e fragmentos do talo, que darão origem a um novo gametófito (Goffinet et al., 2009; Vanderpoorten & Goffinet, 2009).

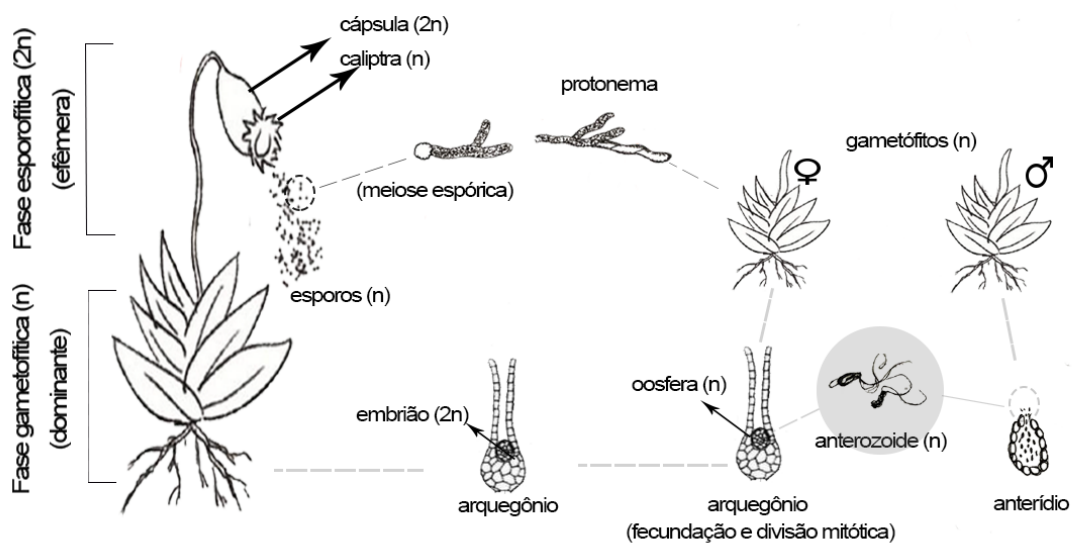


Figura 1 - Esquema do ciclo de vida das briófitas, aqui representado por um musgo. Modificado de Sabovljević et al. (2014).

As briófitas, de modo geral, são formadas por estruturas básicas comuns, e algumas modificações podem ser observadas para cada linhagem (Figura 2). O gametófito pode se apresentar na forma talosa ou folhosa, sempre fotossintetizante, ocorrendo nas três linhagens. Gametófito folhoso pode ocorrer em musgos e hepáticas, sendo formado por filídios, estes aderidos ao caulídio que é o eixo de sustentação do gametófito (Figura 2). Gametófito taloso

ocorre em antóceros e algumas hepáticas, formado por um talo não diferenciado em filídios e caulídio, e sendo sua forma, geralmente achatada (Figura 2). Os rizoides são estruturas filamentosas que possuem função de absorção de nutrientes e fixação em substratos, ocorrem em todos os grupos (Figura 2). Os esporófitos ocorrem em todos os grupos e é formado pelo pé, seta e cápsula (Figura 2), estando o pé presente nos três grupos, a seta em musgos e hepáticas, e a cápsula, parte terminal do esporófito e produtora de esporos, também presente nos três grupos, mas com estrutura diferente em cada um deles (Figura 2). A liberação de esporos é gradual e ocorre com o auxílio de estruturas chamadas de pseudoelatórios em antóceros, elatórios em hepáticas e através do peristômio em musgos (Bordin, 2009; Renzaglia et al., 2009; Vanderpoorten & Goffinet, 2009; Crandall-Stotler et al., 2009).

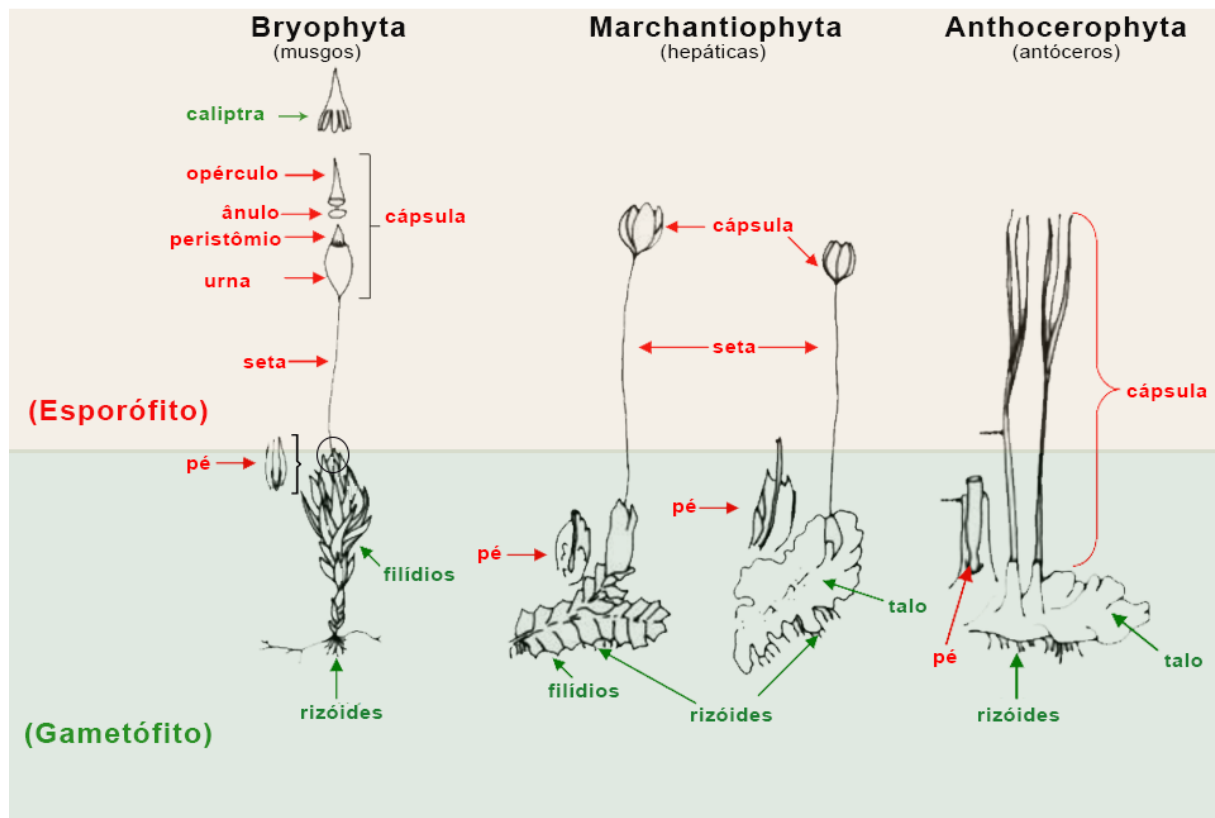


Figura 2 - Morfologia básica das briófitas. Os nomes das estruturas destacadas em verde correspondem às partes do gametófito e os destacados em vermelho correspondem às partes do esporófito. Modificado de Bordin (2009).

Na divisão Bryophyta, os musgos podem ser classificados em dois grupos artificiais com base na posição do periquécio (conjunto de filídios especializados que envolvem os arquegônios), a orientação e ramificação do caulídio, podendo ser chamados de acrocárpicos e pleurocárpicos (La Farge-England, 1996; Costa et al., 2010). Os musgos acrocárpicos apresentam os arquegônios somente na extremidade distal do eixo principal do caulídio com esporófito geralmente terminal, o que lhes confere um aspecto ereto, dando origem geralmente

as formações de “tufos”, colonizando principalmente habitats terrestres e possuindo pouco sucesso como epífitas (Figura 3). Musgos pleurocárpicos apresentam os arquegônios nas laterais e nunca na extremidade apical do caulídio, formam “tapetes” que recobrem os substratos com suas muitas ramificações laterais e apresentam geralmente uma filotaxia pinada (Figura 3) (La Farge-England, 1996; Vanderpoorten & Goffinet, 2009; Costa et al., 2010).

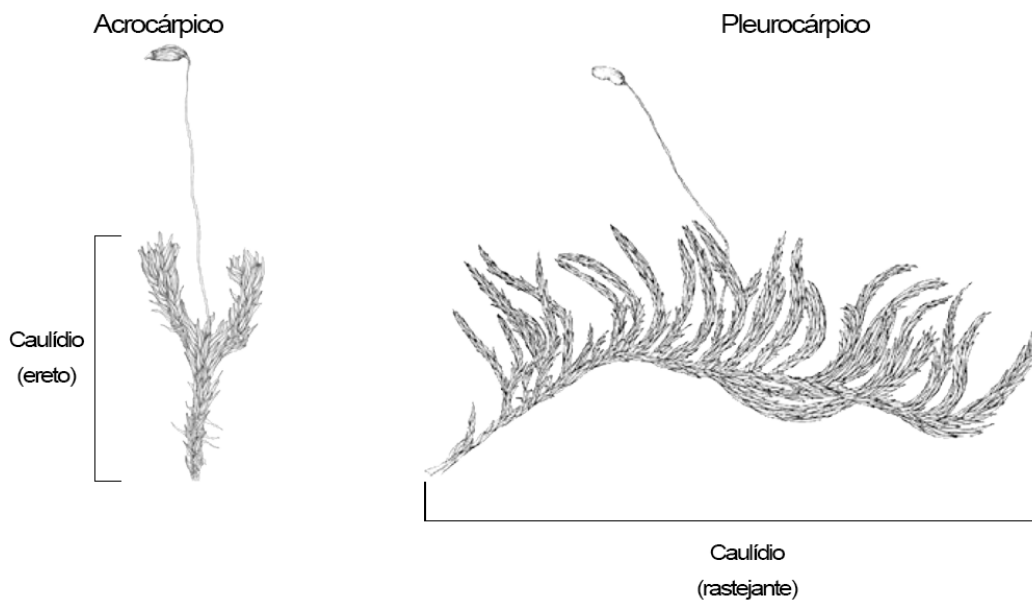


Figura 3 - Tipo de crescimento das plantas pertencentes a linhagem Bryophyta (musgos). Modificado de Casas et al. (2001).

1.1.2 Aspectos ecológicos

A flora briofítica é abundante no mundo inteiro, reunindo aproximadamente 20.000 espécies, cerca de 1.822 gêneros e 177 famílias (The Plant List, 2021). Para o Neotrópico, são registradas cerca de 3.980 espécies de briófitas, sendo 2.600 musgos, 1.350 hepáticas e 30 antóceros (Gradstein et al., 2001).

No Brasil são conhecidas 117 famílias, cerca de 419 gêneros e 1.610 espécies, destes, 354 espécies (22%) são endêmicas, possuindo distribuição por todo território brasileiro (Briófitas *in* Flora do Brasil, 2020). Em relação a diversidade de briófitas nos domínios brasileiros, o domínio fitogeográfico atlântico possui a maior diversidade, apresentando mais de 1.348 spp (Briófitas *in* Flora do Brasil, 2020), seguido pelo domínio fitogeográfico

amazônico e o domínio dos cerrados, terceira área mais rica em ocorrência de briófitas no Brasil (496 spp) (Briófitas *in* Flora do Brasil, 2020).

Consideradas pioneiras na transição do ambiente aquático para o ambiente terrestre (Vanderpoorten & Goffinet, 2009), as briófitas habitam diferentes ambientes e podem ser encontradas colonizando diversos substratos, como solos, rochas, troncos, galhos e bases de árvores, áreas úmidas, entre outros (Frahm, 2003). Podem tolerar condições ambientais extremas e estão presentes em praticamente todos os ecossistemas, principalmente os terrestres (Shaw et al., 2011). Esse grupo de plantas não se restringe apenas a ambientes úmidos e sombreados, apesar de sua preferência, mas podem ser encontradas desde o Ártico até as florestas tropicais e desertos, em ambiente seco (são poiquilohídricas), bem como emergidas em ambientes aquáticos por longos períodos, entretanto não são encontradas em ambientes marinhos (Delgadillo & Cárdenas, 1990; Vanderpoorten & Goffinet, 2009; Costa et al., 2010).

Levando em consideração os diferentes ambientes em que podem ser encontradas, as briófitas desempenham um importante papel ecológico (Shepherd, 2000). Estão entre os primeiros colonizadores de áreas perturbadas, auxiliam na preparação do solo e ciclagem de nutrientes, tornando o ambiente adequado para a germinação de sementes, e assim possibilitam que outras comunidades vegetais colonizem em sequência, atuando no processo de sucessão vegetal, o que é possível junto a microrganismos como cianobactérias e líquens (Welch, 1948; Costa et al., 2010).

Além das dinâmicas ecológicas citadas para briófitas, esse grupo de plantas, principalmente musgos, têm sido amplamente usados como indicadores de alteração da qualidade ambiental em ecossistemas terrestres e aquáticos (Gecheva & Yurukova, 2013; Dahlberg, 2014; Pescott, 2015), visto que são extremamente sensíveis à poluição atmosférica e a variações ambientais, reagem sensivelmente às variações de umidade, temperatura e luminosidade (Hallingbäck & Hodgetts 2000; Costa et al., 2010). Devido a ausência de um sistema radicular e de vasos condutores, as briófitas absorvem poluentes diretamente da atmosfera por meio de células especializadas para o transporte de água e nutrientes (Ligrone et al., 2000), fazendo com que algumas espécies desse grupo, especialmente musgos, sejam um importantes indicadores da emissão acumulada de poluentes, fornecendo assim dados relevantes sobre a distribuição espacial e evolução temporal de poluentes em diversos ambientes (Dolegowska et al., 2013; Harmens et al., 2015).

1.2 REGULAÇÃO REDOX

1.2.1 Espécies Reativas de Oxigênio (ERO)

Durante seu desenvolvimento as plantas estão sujeitas a diversas condições bióticas e abióticas, como ataques de patógenos, luz ultravioleta, poluição, seca, altas temperaturas, mudanças na variação da precipitação (McKersie & Leshem 1994; Pinheiro & Chaves 2011), bem como mudanças sazonais. Durante o processo de colonização e diversificação terrestre, os grupos de plantas desenvolveram mecanismos metabólicos importantes, resultando na produção de substâncias que servem como protetores à radiação ultravioleta, substâncias com atividade antioxidante e outras precursoras de biopolímeros estruturais que auxiliam na menor dessecação, mas que também permitem a troca de gases (Sharma et al., 2012; Renault et al., 2017). Todos esses estressores têm em comum a produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem ser danosas ao organismo.

O oxigênio molecular (O_2) surgiu na atmosfera terrestre há bilhões de anos. Sua descoberta aconteceu por volta de 1774 de forma independente pelos pesquisadores Carl Wilhelm Scheele e Joseph Priestley. Apesar de possuir um importante papel como aceptor final de elétrons, o O_2 pode ser tóxico em determinadas condições (Fridovich, 1995; Ferreira & Abreu, 2007), participando direta ou indiretamente de reações de oxidação de biomoléculas. Sob a forma de um radical livre, que pode ser um átomo ou uma molécula que contém um ou mais elétrons desemparelhados em seu orbital, o O_2 apresenta uma forte reatividade com a maioria das espécies químicas (Hermes-Lima, 2004). Ao ser parcialmente reduzido, em sistemas biológicos, o oxigênio molecular forma inevitavelmente espécies reativas de oxigênio (ERO ou ROS, da sigla em inglês) (Figura 4).

As ERO são geradas em eventos metabólicos que ocorrem, principalmente, nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (Bhattacharjee, 2010; Karuppanapandian et al., 2011), normalmente referidas como subprodutos de reações redox (Kovalchuk, 2010). As ERO são resultado de transferência de energia de excitação extra para o O_2 , que pode ser causada devido a atividade metabólica normal ou como um resultado de estresse (Hajiboland, 2014; Phaniendra et al., 2015). As principais ERO formadas nesse processo são: oxigênio simpleto (1O_2) por meio da excitação do O_2 , de consecutivas adições de elétrons ao O_2 , reduzindo-o ao radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$); radical hidroperoxila (HO_2), radical hidroxila (OH^{\cdot}) e moléculas não-

O $O_2^{\cdot-}$ pode ser produzido por uma variedade de mecanismos nas células vegetais (Knox & Dodge, 1985), resultante da transferência de elétrons no cloroplasto ou na mitocôndria e oxidando diversas moléculas orgânicas, como o ascorbato, ou também atuando como redutor de metais, como o ferro. O radical OH^{\cdot} é a ERO que causa maiores danos celulares, embora tenha a menor meia vida, sendo conhecido como um dos mais potentes oxidantes, pois possui alta afinidade com biomoléculas no seu sítio de produção, podendo causar danos irreparáveis aos componentes celulares e macromoléculas, como desnaturação de proteínas, peroxidação lipídica e mutação no DNA, ou até mesmo a morte celular (Scandalios, 1993; Halliwell & Gutteridge, 2015). O H_2O_2 é formado principalmente nos peroxissomos, podendo ser formado como parte da via fotorrespiratória durante o estresse oxidativo e durante o metabolismo natural (Neill et al., 2002). Pode oxidar proteínas por meio da conversão de grupos tióis para ácidos sulfênicos (SOH) e através da inativação de grupos ferro-enxofre (Mhamdi et al., 2012). Devido a sua alta estabilidade e longa vida, pode desempenhar um papel na sinalização da resposta de defesa, como alterações térmicas, excesso de luz e contra ataque de patógenos (Vranová et al., 2002; Gratão et al., 2005). O 1O_2 é altamente destrutivo, reage com a maioria das moléculas biológicas e é gerado, em sua maioria, no cloroplasto, com grande parte dos danos causados por ele ocorrendo próximo ao seu sítio de produção (Foyer et al., 1994).

As ERO, em condições normais, também são produzidas em processos metabólicos naturais, porém em baixos níveis nas organelas, e atualmente são consideradas como importantes sinais celulares (Gill & Tuteja, 2010; Di Meo et al., 2016). São formadas como subprodutos do metabolismo aeróbico e participam de uma sofisticada rede de vias de sinalização em resposta a situações de estresse (Barbosa et al., 2014). Os organismos aeróbios, ao longo da evolução, desenvolveram um conjunto de mecanismos de defesas naturais contra o estresse oxidativo, de forma a controlar a produção de ERO e evitar o seu efeito tóxico. A capacidade de acionar mecanismos de defesa antioxidante pode minimizar a formação e o acúmulo de ERO, reduzindo assim os danos pelo estresse oxidativo (Asada, 1999; Bhattacharjee, 2010).

1.2.2 Sistema antioxidante

No sistema de defesa antioxidante estão envolvidos agentes enzimáticos e não enzimáticos (Mittler, 2002; Kim & Kwak, 2010), os quais atuam em conjunto, conferindo uma homeostase redox ao sistema, ou seja, mantendo o balanço entre a produção e eliminação de

ERO no nível celular. É importante lembrar que o controle do sistema antioxidante age de forma a minimizar os níveis de ERO, sendo assim, ele não os elimina completamente.

Destacam-se entre o sistema antioxidante enzimático as enzimas superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutatona redutase (GR), peroxidases (POX), catalase (CAT) e polifenoloxidasas (PPO) (Asada, 1999). Entre os principais metabólitos antioxidantes não enzimáticos, encontram-se o ascorbato (AsA), a glutatona (GSH), o α -tocoferol, os carotenoides e as substâncias fenólicas (Gill & Tuteja, 2010). As enzimas antioxidantes, proteínas que catalisam reações químicas e mediam uma variedade de reações químicas, estão presentes em diferentes compartimentos celulares e contribuem para a eliminação de ERO dentro da célula (Mittler et al., 2004).

A superóxido dismutase (SOD), que é uma metaloenzima, está presente em todos os organismos aeróbicos, podendo ocorrer em três isoformas diferentes de acordo com o metal presente no sítio ativo: manganês (MnSOD), cobre/zinco (Cu/ZnSOD) e ferro (FeSOD) (Culotta, 2001; Alscher et al., 2002). A SOD catalisa a dismutação do radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) à peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2) (Alscher & Hess, 1993; Garg & Manchanda, 2009). O H_2O_2 gerado é consumido na sua conversão em oxigênio e água pela catalase (CAT), indispensável para a desintoxicação das ERO durante o estresse oxidativo, ou somente em água através da oxidação do ascorbato em reação catalisada pela ascorbato peroxidase (APX). A APX utiliza moléculas de ascorbato reduzido como substrato em suas reações, logo é necessário um elevado nível endógeno de ascorbato para manter o sistema antioxidante (Asada, 1992). Durante a dismutação espontânea do monodesidroascorbato (MDHA) a desidroascorbato (DHA), ocorre uma reação com a glutatona (GSH), produzindo ascorbato (AsA) e glutatona oxidada (GSSG). A GSSG é reduzida por ação da enzima glutatona redutase (GR), que é dependente do consumo de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), mantendo uma alta razão celular GSH/GSSG (Sharma, 2012). Dentre os compostos antioxidantes não enzimáticos, a razão GSH/GSSG é um indicativo do equilíbrio redox celular, que está envolvido na percepção e sinalização de ERO (Foyer & Noctor, 2005). O ascorbato (AsA), em particular, é uma pequena molécula antioxidante, não enzimática e hidrossolúvel, que executa funções metabólicas essenciais para a vida vegetal. Em suas formas reduzidas o ascorbato e a glutatona podem novamente ser usados, o que caracteriza o ciclo ascorbato-glutatona (chamado de Foyer-Halliwell-Asada) (Figura 5).

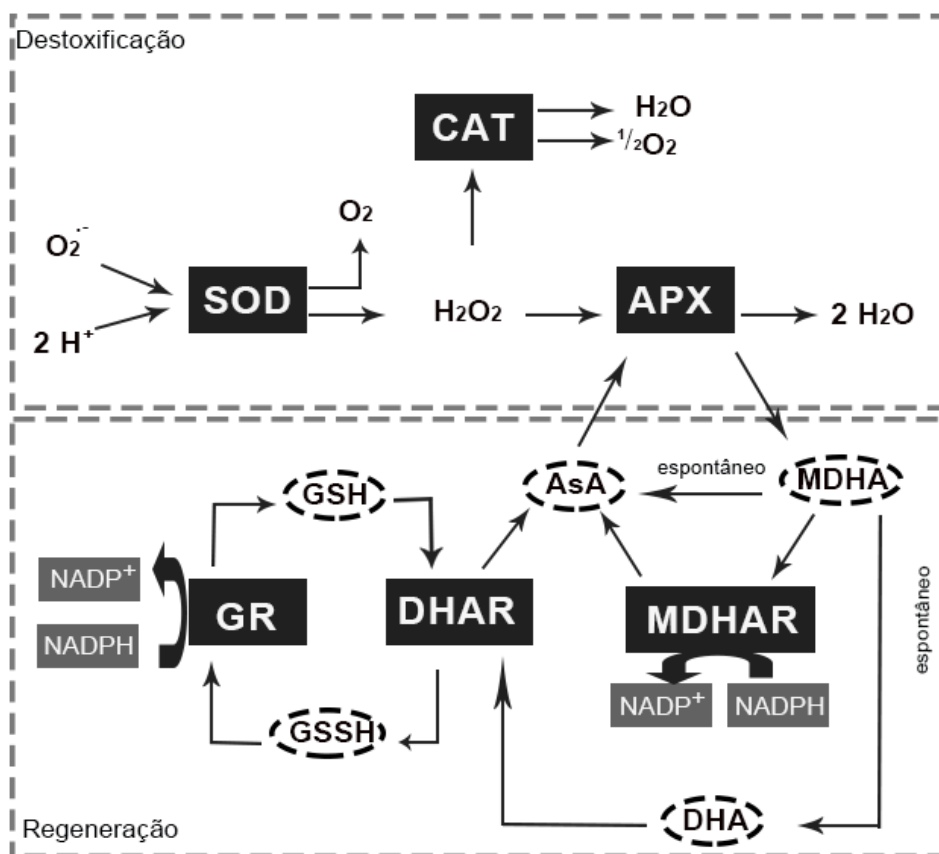


Figura 5 - Esquema do sistema de defesa celular antioxidante na presença de espécies reativas de oxigênio (adaptado de Halliwell, 2009). Radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$); oxigênio simples (1O_2), radical hidroxila ($OH^{\cdot-}$); enzima superóxido dismutase (SOD); enzima catalase (CAT); peróxido de hidrogênio (H_2O_2); enzima ascorbato peroxidase (APX); ascorbato (forma reduzida – AsA, forma intermediária MDHA monodesidroascorbato e forma oxidada DHA desidroascorbato); monodesidroascorbato redutase (MDHAR); glutaciona (forma reduzida – GSH e forma oxidada – GSSG); enzima glutaciona redutase (GR).

A produção em excesso de ERO causa diversos danos oxidativos, tornando as plantas suscetíveis ao estresse oxidativo e assim, gerando um desequilíbrio entre pró-oxidantes e antioxidantes (Farooq et al., 2008; Jaleel et al., 2009). Fatores ambientais podem desencadear o aumento da produção de ERO, levando a alterações neste equilíbrio e causando o estresse oxidativo. O estado redox, portanto, é um determinante crítico da função celular. Alterações e desequilíbrios nesse estado podem causar danos severos à planta ou levá-la à morte (Dietz & Scheibe, 2004). Trabalho como o de Dafré-Martinelli et al. (2011), estudando *Ipomoea nil* (L.) Roth em área contaminada por ozônio, um poluente atmosférico altamente oxidante, verificou concentrações diferenciadas para GSH, GSSG e AsA, explicadas, em parte, por fatores como temperatura e precipitação, e pelas concentrações de ozônio no local de estudo. Os autores salientam que o estado redox dessa espécie foi importante para conferir maior tolerância ao estresse oxidativo pela presença de ozônio. Para Esposito (2013), analisando a capacidade de oxirredução de mudas de *Pleoroma raddianum* (DC.) Gardner expostas à poluição

petroquímica, a concentração de ascorbato e glutatona, assim como a atividade da APX, foram importantes indicadores do estado redox dessa espécie, sendo responsável por manter a tolerância da espécie ao estresse oxidativo imposto.

Além dos mecanismos já citados, outras substâncias não enzimáticas também estão envolvidas nos mecanismos de defesa antioxidante. Os carotenoides, por exemplo, que além de agir como pigmentos acessórios na fotossíntese (Santarém, 2017), contribuem, via ciclo das xantofilas, para minimizar o dano foto-oxidativo em plantas, atuando na dissipação do excesso de energia luminosa (Jahns & Holzwarth, 2012). As substâncias fenólicas são também reconhecidas por sua atividade antioxidante, como exemplo, os flavonoides, que fornecem proteção contra os danos causados por ERO, também absorvendo os raios solares no comprimento ultravioleta (Close & McArthur, 2002; Kutchan et al., 2015). Assim, as plantas possuem um sofisticado aparato metabólico que pode fornecer uma visão geral do processo de regulação das vias metabólicas, relacionado a um aumento ou destinação desses compostos para funções de defesa ou de estresse.

1.2.3 Influência do ambiente no potencial redox

Os ecossistemas terrestres estão sujeitos a diversas alterações nas condições ambientais do clima, que podem envolver oscilações na temperatura, déficit hídrico, excesso de radiação solar, assim como uma acentuação da sazonalidade, o impacto dessas mudanças nos ecossistemas pode resultar em condições intensas de estresse e mudanças no comportamento ecológico (resiliência), principalmente de sistemas florestais (Tausz et al., 2007; Favaretto et al., 2011; Anjo & Toledo, 2018). De acordo com o estudo de Anjo e Toledo (2018), tais fatores têm modificado o crescimento de ecossistemas florestais, o que conseqüentemente, segundo os autores, modifica as condições climáticas e aumenta as oscilações na sazonalidade.

Dois grandes domínios fitogeográficos brasileiros são a Floresta Atlântica Tropical e o Cerrado, formados por diversas fitofisionomias condicionadas a diferentes oscilações sazonais. O crescimento em ambientes com distinta disponibilidade de água pode resultar em diferentes períodos sob intensa pressão de dessecação, o que pode levar a diferenças no estado redox das populações de musgos. Levando-se em conta que a composição química da cutícula é algo bastante discutível para as espécies de musgo (Cook & Graham, 1998; Niklas et al., 2017), espera-se que as populações de musgos em ambientes com maior variação pluviométrica entre a estação seca e chuvosa e, portanto, sob maior pressão de dessecação, apresentem maior

capacidade de regulação da oxirredução do que populações em ambientes com menor variação sazonal. Além disso, espera-se que as condições durante o período seco acarretem maior produção de ERO e atividade do sistema antioxidante do que durante o período chuvoso.

Os domínios fitogeográficos atlântico e do cerrado não são constituídos por um único tipo de floresta, ou por um único bioma em toda a sua extensão, mas predomina em seu espaço geográfico um complexo mosaico de biomas (Porembski et al., 1998; Scarano, 2002; Coutinho, 2006), constituindo uma formação morfoclimática e fitogeográfica de dimensões subcontinentais (Ab'Saber, 1977).

Em seu trabalho, Coutinho (2006) conceitua bioma por sua concepção mais ecológica e prática, conforme proposto por Walter (1986). Apresenta, portanto, bioma como um espaço geográfico representado por um tipo de ambiente uniforme, que pode ser identificado e classificado por elementos diversos, sendo os principais definidos por Walter (1986) como o macroclima, a fitofisionomia, o solo e altitude, além da ocorrência natural de fogo em ambientes terrestres inserido por Coutinho em 2006. Destaca-se também a importância do uso combinado dos efeitos das variáveis 'clima e solo', para diferenciar a complexa rede de biomas e seus ecossistemas tropicais, essas e outras condições ambientais conferem uma estrutura e uma funcionalidade peculiar ao ambiente, emergindo em uma ecologia própria (Coutinho 2006; Arruda et al., 2017). Sendo assim, vê-se o bioma como uma parte do espaço geográfico que se distingue das demais áreas por características únicas na paisagem. O agrupamento desses biomas corresponde, de certa forma, à classificação de domínios proposta por Ab'Saber (1977).

A biodiversidade tropical não se limita somente às espécies, mas abrange às fitofisionomias distribuídas no espaço geográfico e, conseqüentemente, aos biomas (Coutinho, 2006). O Brasil, classificado no clima equatorial, tropical e subtropical é um dos países mais ricos em relação a biodiversidade, dois de seus domínios fitogeográficos são listados como *hotspots* de biodiversidade, o domínio atlântico e o domínio do cerrado (Myers et al., 2000).

No domínio fitogeográfico atlântico estão inseridas as fitofisionomias de florestas úmidas, florestas de araucária, florestas costeiras e afloramentos rochosos, que ora apresentam contatos entre manchas de vegetação de seus remanescentes, no entanto esse domínio se caracteriza por um complexo de formações vegetais. O domínio atlântico tem um índice de precipitação com valores anuais médios entre 1.800 e 3.600 mm. A temperatura e a precipitação variam de acordo com a altitude, por exemplo, a cada 100 metros, a temperatura pode diminuir

em 0,6 graus e a precipitação aumentar em até 200 mm. A temperatura média anual na costa é de 22°C, mas pode atingir valores abaixo de zero no topo do Pico da Bandeira, divisa dos Estados do Espírito Santo e Minas Gerais, com 2.891 metros acima do nível do mar (m.a.n.m.). A precipitação anual média no nível do mar é de 1.600 mm. Neste domínio fitogeográfico, estima-se que ocorra cerca de 20.000 espécies vegetais, sendo que desse total cerca de 14.000 são espécies de angiospermas, cerca de 900 espécies de samambaias e licófitas e cerca de 1.400 espécies de briófitas (Forzza, et al., 2010).

O domínio do cerrado compreende um complexo de fitofisionomias muito diversificadas, apresentando em sua extensão desde formas campestres bem abertas como os campos limpos de cerrado, até formas relativamente densas, florestais, como os cerradões. O Cerrado ocorre em altitudes que variam de cerca de 300 m.a.n.m, a exemplo da Baixada Cuiabana (MT), a mais de 1.600 m.a.n.m, na Chapada dos Veadeiros (GO). Predominam nesse domínio fitogeográfico os latossolos, tanto em áreas sedimentares quanto em terrenos cristalinos, ocorrendo, ainda, solos concrecionários em grandes extensões (Ab'Sáber, 1983; Lopes, 1984). O clima, segundo a classificação tradicional de Köppen é determinado como do tipo Tropical Chuvoso (Aw), no entanto, mais ao sul, em áreas de climas mais amenos e em regiões mais altas (acima de 1.200 m.a.n.m.) da região central, pode ocorrer o clima Tropical de Altitude (Cwa) (Eiten, 1994). A precipitação nesse domínio pode variar de 750 mm até mais de 2.000 mm por ano, em média, embora na maior parte da província ocorram chuvas entre 1.100 e 1.600 mm por ano (Campos & Chaves, 2020; ECPB, 2021). Ocorrem duas estações climáticas por ano, a estação seca, que dura aproximadamente cinco meses (de maio a outubro) e a estação chuvosa, no restante do ano (de outubro a maio) (ECPB, 2021).

Coutinho (2006) deixa claro que bioma e domínio não são sinônimos, o uso incorreto dos termos pode ameaçar a proteção e preservação de diferentes formações vegetais. Portanto, neste trabalho usaremos o termo domínio, visto que as áreas escolhidas para coleta do material vegetal estão distribuídas dentro dos domínios fitogeográficos atlântico e do cerrado, sendo assim, diferentes fitofisionomias e áreas biogeográficas estão acomodadas nos locais de coleta, os mesmos seguem devidamente classificados de acordo com a fisionomia e características morfoclimáticas.

Dados da literatura mostram poucos estudos sobre o estado redox de briófitas em ambientes naturais, além disso, vários estudos encontrados na literatura tratam dos mecanismos antioxidantes em espécies, principalmente, de angiospermas. Portanto, o presente estudo

buscou avaliar e compreender a influência da sazonalidade na capacidade de oxirredução de *Brittonodoxa subpinnata* (Brid.) W.R. Buck, P.E.A.S. Câmara & Carv.-Silva (Sematophyllaceae), uma espécie de musgo cosmopolita, levando-se em consideração populações ocorrentes em dois domínios fitogeográficos brasileiros: atlântico e do cerrado.

2. OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo abrangente ampliar o conhecimento sobre a fisiologia e ecologia para a brioflora brasileira. Como objetivos específicos temos:

1. Comparar o potencial redox de populações do musgo *B. subpinnata* de ocorrência em dois domínios fitogeográficos: atlântico e do cerrado.
2. Comparar o potencial redox de populações do musgo *B. subpinnata* durante duas estações distintas do ano: seca e chuvosa.
3. Integrar os resultados referentes a antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos a fim de compreender o sistema de defesa antioxidante dessa espécie.

Para tal, foram analisadas as atividades de enzima chaves do sistema antioxidante (SOD, CAT, APX, GR), os conteúdos de antioxidantes não-enzimáticos (ascorbato e glutatona) e os níveis de algumas ERO e de malondialdeído (MDA), indicador de peroxidação lipídica. A integração dos resultados permitirá o entendimento de como se comporta o sistema redox dessa espécie sob o efeito da sazonalidade em ambientes com diferentes pressões morfoclimáticas.

Nossa hipótese inicial é a de que populações ocorrentes no domínio do cerrado devam estar sob maior pressão morfoclimática, por se tratar de um ambiente com maior déficit hídrico quando comparado ao ambiente de floresta atlântica e, com isso, o sistema antioxidante deva apresentar alterações mais intensas quando comparados o período seco e chuvoso no domínio do cerrado.

3. MATERIAS E MÉTODOS

3.1 ÁREAS DE ESTUDO

As áreas escolhidas para a coleta de *Brittonodoxa subpinnata* estão inseridas em dois domínios fitogeográficos brasileiros: atlântico e do cerrado. Considerando a complexidade de fitofisionomias dos domínios fitogeográficos foram selecionadas quatro áreas de coleta, duas inseridas no domínio atlântico e duas no domínio do cerrado.

No domínio fitogeográfico atlântico os locais de coleta foram a Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira (CUASO) e o distrito de Paranapiacaba, inserido no município de Santo André/SP. Para este último local foram selecionadas duas áreas para coleta, a Unidade de Conservação da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba (RBASP) – (Autorização de Pesquisa nº14/2019), administrada pelo Instituto de Botânica de São Paulo e o Parque Natural Municipal Nascentes de Paranapiacaba (PNMNP), administrado pela Prefeitura Municipal de Santo André /SP. Para o domínio fitogeográfico do cerrado foram selecionadas áreas de fragmentos florestais nas cidades de Brotas/SP e Mogi Guaçu/SP.

As coletas, em todas as áreas, foram realizadas sob autorização do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número AA37B2E e permissões cedidas pelas autoridades locais quando em áreas de parques fechados.

As coletas foram realizadas em julho e agosto de 2019, compreendendo o período de inverno (estação seca), onde o clima é caracterizado por um período mais seco, com menor volume de chuvas, e em janeiro e fevereiro de 2020, compreendendo o período de verão (estação chuvosa), o clima nesse período é caracterizado pelas chuvas torrenciais (EMA-IAG, 2020). Em cada área de coleta, 8 amostras compostas foram coletadas, representando um n amostral de 8 para todas as análises químicas realizadas.

As áreas de coleta estão situadas em diferentes formações vegetais e podem ser observadas no mapa de localização dos pontos de coleta e descrição das áreas (Figura 6). Dados para elaboração do mapa foram obtidos no Banco de dados de Informações Ambientais (BDiA) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) referente aos anos de 2017/2019 – descrição da vegetação no nível de região fitoecológica e outras áreas (formações pioneiras, massas d'água e tipos de contatos agrupados) descrita pelo Sistema de Classificação da Vegetação brasileira (IBGE, 2012). Para construção do mapa foi utilizado o software QGIS versão 3.16.4.

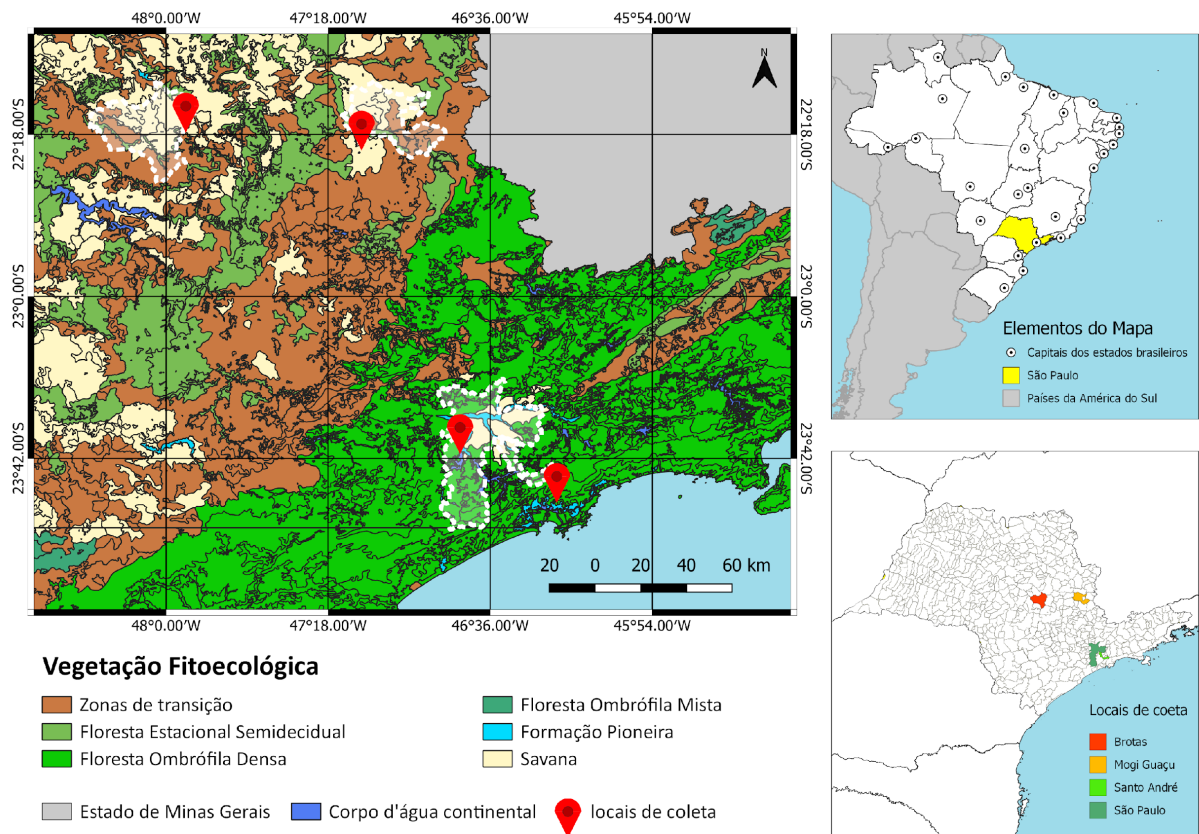


Figura 6 - Mapa de localização: a área retratada no quadrante superior direito da imagem representa o Estado de São Paulo em relação ao Brasil e América do Sul, o quadrante inferior direito representa o Estado de São Paulo e sua divisão política municipal identificando os municípios de coleta por diferentes cores. A imagem principal à esquerda indica a localização das áreas de coleta em diferentes formações vegetais dos domínios atlântico e do cerrado localizados nos municípios de coleta, identificadores em vermelho indicam coordenadas principais das áreas de coleta.

3.1.1 Cidade Universitária Armando Sales de Oliveira (CUASO)

A Cidade Universitária Armando Sales de Oliveira, *campus* da Universidade de São Paulo (USP), localiza-se no bairro do Butantã, em São Paulo, SP. Em seu interior encontra-se um fragmento de floresta que constitui a Reserva CUASO (23°33'44" – 23°34'02" S e 46°43'38" – 46°43'49" W), com uma área de 102.100 m², situada no vale de um riacho que se estende na direção S-N, em terreno com altitudes de 735 a 775 m.a.n.m. Grande parte da área da Reserva é coberta por mata secundária (Cersósimo, 1993), considerada por Rossi (1994) como um mosaico composto por áreas em diversos estágios de degradação e regeneração. Situada no domínio das Florestas Ombrófilas Densas, a mata apresenta relações florísticas com a Floresta Ombrófila Densa e a Floresta Estacional Semidecidual (sensu Veloso et al., 1991) do estado de São Paulo. O clima na cidade de São Paulo é classificado como temperado úmido com verão quente (Cfa) de acordo com Köppen-Geiger, com temperatura média de 19.5°C e 1.356 mm de

pluviosidade média anual (Clima-Date.org 2020). As coletas foram realizadas no entorno da Reserva.

3.1.2 Unidades de Paranapiacaba (RBASP-PNMNP)

A cidade de Santo André, SP, sedia as duas Unidades de Conservação selecionadas para coletas neste estudo. A RBASP (23°46'00" - 23°47'10" S e 46°18'20" - 46°20'40" W) possui 336 hectares de área, em terreno com altitudes de 750 a 900 m.a.n.m (IBOT, 2021). O PNMNP ocupa 426 hectares de formação montanhosa (23°47'4.9" - 23°45'27.9" S e 46°18'19.4" - 46°17'7.8" W), em terreno com altitudes de 850 a 1.174 m.a.n.m (Aranha, 2014). O clima da região é predominantemente tropical úmido (Gutjahr & Tavares, 2009), com temperatura média de 16.5°C e com pluviosidade média anual de 2.968 mm (Climate-Date.org, 2021). Os fragmentos florestais inseridos no domínio fitogeográfico atlântico localizam-se no topo da Serra do Mar, constituído por florestas tropicais ombrófilas densas e sempre verdes.

3.1.3 Brotas

O município de Brotas está localizado na região central do estado de São Paulo, a 208 quilômetros, em linha reta, a noroeste da capital do estado e a 60 quilômetros a sudoeste de São Carlos (22°17'12" S e 48°07'35" W) no domínio do cerrado. O clima é quente, de inverno seco, para clima tropical com verão úmido e inverno seco, precipitação média anual entre 1.400 e 1.500 mm (Messina, 1998) e altitudes de 450 a 1.076 m.a.n.m com temperatura média anual de 22°C (PMB, 2021). A vegetação de Cerrado compreende um gradiente de fitofisionomia correspondente a um gradiente de biomassa: campo sujo, campo cerrado, cerrado e cerradão. Na região de Brotas/SP, onde se insere a área de coleta, predominam as fisionomias campestres: campo cerrado e cerrado (Durigan et al., 2002).

3.1.4 Mogi Guaçu

O município de Mogi Guaçu está localizado na região leste do Estado de São Paulo, a 166 km da capital do estado (22°22'15.29" S e 46°56'16.25" W). A área selecionada para coleta está inserida na Fazenda Campininha em área administrada pelo Instituto de Botânica, e está formada por uma Reserva Biológica e duas Estações, uma Ecológica e outra Experimental. O clima é quente e úmido, com inverno seco e verão chuvoso (Sparovek et al., 2007), temperatura do mês mais frio inferior a 18°C e máxima do mês mais quente de 22°C (CBH-Mogi, 1999), com altitudes de 562 a 1.514 m.a.n.m. A vegetação é predominantemente de Cerrado, com

variações de cerradão a campo, a Fazenda Campininha possui áreas de cultivo experimental de Pinus, possuindo ao sul matas ciliares, que podem ser caracterizadas, segundo Rodrigues & Leitão Filho (2001), como uma formação ribeirinha sem influência do rio Mogi Guaçu.

3.2 DADOS METEOROLÓGICOS DAS ÁREAS DE COLETA

A obtenção de informação climática ajuda a compreender como o clima de cada região de coleta pode afetar nos resultados da capacidade de defesa da planta. Portanto, para este estudo foram coletados dados referentes a temperatura e umidade das localidades de coleta.

Os dados para CUASO referentes a temperatura, umidade relativa do ar e radiação solar foram obtidos da estação meteorológica do Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas da USP (EMA-IAG) localizada no fitotério do Departamento de Botânica da USP e gentilmente cedidos pela Profa Adalgiza Fornaro (IAG-USP). Dados de precipitação foram obtidos da estação meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) – São Paulo-Mirante (código da estação A701). Devido a ausência de estações meteorológicas próximas à Paranapiacaba que melhor pudessem caracterizar a área, foram utilizados os mesmos dados referentes a CUASO, visto que esta também faz parte do domínio atlântico. Os dados meteorológicos referentes a temperatura, umidade relativa do ar, radiação solar e precipitação das regiões de Brotas e Mogi Guaçu foram obtidos de estações automáticas próximas aos locais de coleta do Instituto Nacional de Meteorologia, sendo respectivamente São Carlos (código da estação A711) e Itapira (código da estação A739).

Pesquisadores têm buscado representar a relação entre fatores da distribuição geográfica e diferentes tipos de formação vegetal por meio de modelos matemáticos, cujos elementos constituem fatores importantes sob o ponto de vista ecológico (Walter, 1986). Para representar a variação dos períodos do ano nas áreas de coleta, foi elaborado um modelo gráfico do clima em cada região de acordo com o modelo proposto por Walter e Lieth (1967).

Tendo em vista a importância do modelo climático, construímos o diagrama climático a partir de dados meteorológicos obtidos das estações mencionadas para cada local de coleta utilizando a média mensal de temperatura, precipitação mensal acumulada, média mensal de mínimas de temperatura, média mensal de máximas de temperatura e temperatura mínima registrada no mês. Os dados obtidos somam o registro de 1 ano (abril/2019 a março/2020). Para construção do diagrama climático foi utilizado o software R-Project versão 3.6.3.

3.3 ESPÉCIE SELECIONADA PARA O ESTUDO

Considerando a ocorrência no domínio atlântico e do cerrado, selecionamos *Brittonodoxa subpinnata* (Brid.) W.R. Buck, P.E.A.S. Câmara & Carvalho-Silva (Sematophyllaceae) como modelo para este estudo (Figura 7). Esta é uma espécie nativa e de ocorrência registrada para os domínios fitogeográficos amazônico, do cerrado e atlântico, ocorrendo em áreas de vegetação de Cerrado (*lato sensu*), floresta de terra firme e floresta ombrófila (Câmara & Carvalho-Silva, 2020). Além disso, a espécie é representante de uma família de distribuição predominantemente pantropical que reúne 28 gêneros de musgos pleurocápicos (Carvalho-Silva et al., 2017).



Figura 7 - Imagens de *Brittonodoxa subpinnata*. As imagens (a), (b) e (c) foram realizadas em estereomicroscópio Leica M205 FA, lente 0,5x, com luz branca e fluorescência com filtro GFP (excitação em 470/40 nm e emissão em 525/50 nm) e processadas no software Leica Application Suite (LAS-versão 4.8). Nota-se o gametófito, sua coloração é verde próxima ao dourado e esporófito, de coloração marrom avermelhado nas imagens (a) e (b). Em (a) com a planta seca é possível observar os ramos curtos e curvados e detalhes dos gametófitos úmidos em (b). É possível notar as estruturas que compõe o esporófito na imagem (c), podem ser observados a seta e dois estágios de maturação de esporófitos, esporófito jovem: presença de caliptra e esporófito maduro: sem a presença de caliptra. Detalhes da cápsula do esporófito podem ser observados na imagem (d), nota-se dentes do peristômio, visto em microscopia óptica (aumento de 40x). Em (d) é possível observar células alares aumentadas na base do filídio, visto em microscopia óptica (aumento de 100x). Fotos: Adriana Lopes (2019)

B. subpinnata pode ser identificada pela coloração de seus filídios verde-dourados a verde-pálidos, formando tapetes densos, irregularmente ramificados, ramos ascendentes, curtos, curvados quando secos (Oliveira-da-Silva & Ilkiu-Borges, 2018) (Figura 7). Cresce sobre árvores vivas e em troncos em decomposição, raramente sobre rochas e solos, em florestas úmidas (Buck, 1998). A coleta da espécie foi realizada em cada área de amostragem como amostras compostas, resultando em um número amostral de 8 pontos para cada área. Contamos também com a colaboração do Professor Dr. Denilson Peralta para identificação e reconhecimento da espécie.

3.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Após a coleta de campo, alíquotas de *B. subpinnata* foram armazenadas em freezer à -80°C para posterior análise das atividades enzimáticas da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona redutase (GR), ascorbato peroxidase (APX), determinação de proteínas, concentração dos compostos não-enzimáticos como ácido ascórbico (AsA) e glutatona (GSH) e os indicadores do estresse oxidativo como peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e ácido malondialdeído (MDA). As análises enzimáticas foram realizadas em triplicata e expressas em unidades de proteína. Os compostos não enzimáticos foram expressos em µg g⁻¹ de massa fresca. Para os indicadores de estresse oxidativo, o H₂O₂ foi expresso em µmol g⁻¹ de massa fresca, e o MDA foi expresso em nmol g⁻¹ de massa fresca (MF).

3.4.1 Atividade enzimática e determinação de proteínas

3.4.1.1 Obtenção dos extratos enzimáticos

Foram triturados 200 mg de material vegetal em nitrogênio líquido. O pó obtido foi homogeneizado em 1,5 mL de solução tampão de extração contendo tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), ácido ascórbico 5 mM (AA), ácido etilenodiamino tetra-acético 5 mM (EDTA) e ditioneitol 5 mM (DTT). Cada amostra foi centrifugada com o tampão de extração e 30 mg de PVPP a 10.000 g em 4°C durante 10 minutos. O extrato obtido desse processo foi aliquoteado e utilizado para a determinação do teor de proteínas e da atividade das 4 enzimas analisadas.

Todos os protocolos para obtenção das atividades enzimáticas foram adaptados para análise em microplacas, utilizando o leitor de microplacas Synergy H1 (BioteK).

3.4.1.2 Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi determinada pela adição de 24 μL do extrato enzimático em meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5), EDTA 4,03 mM, azul de *p*-nitro tetrazolium (NBT) 0,45 mM, metionina 0,08 mM e riboflavina 9,96 mM. A reação foi conduzida à temperatura ambiente durante 30 minutos de exposição à luz fluorescente (80W). Após exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul produzida pela fotorredução do NBT, foi medida pela absorbância a 560 nm. Foi medida a absorbância de um meio exatamente igual ao anterior, mas mantido em uma câmara escura por igual período, servindo como branco, sendo sua leitura subtraída da leitura das amostras expostas à iluminação. Uma unidade da SOD foi definida como a quantidade da enzima necessária para inibir a fotorredução do NBT, e os resultados foram expressos em unidades de SOD (U) g^{-1} proteínas (Beauchamp & Fridovich, 1971; Reddy et al., 2004, com modificações).

3.4.1.3 Determinação da atividade da catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada pela adição de 20 μL de extrato enzimático em 170 μL de tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,5. Peróxido de hidrogênio 200 nM (H_2O_2), preparado imediatamente antes do uso, foi adicionado (10 μL) dando início a reação (Kraus et al., 1995; Azevedo et al., 1998, com modificações). O decréscimo na absorbância pela decomposição do H_2O_2 foi monitorado durante 2 minutos de reação em intervalos de 30 segundos a 240 nm, em temperatura de 25°C (Noctor et al., 2016). Para determinação da atividade enzimática foi utilizado o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 de 40 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (Noctor et al., 2016) e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de proteína.

3.4.1.4 Determinação da atividade da ascorbato peroxidase (APX)

Para o ensaio da atividade da APX foi utilizada a metodologia proposta por Asada (1984), com modificações para microplaca proposta por Murshed et al. (2008). A atividade da APX foi determinada pela adição de 24 μL do extrato enzimático em um meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), EDTA 1 mM e ácido ascórbico 5 mM. O decréscimo na absorbância, pela decomposição do H_2O_2 a 200 nM, foi monitorado durante 3 minutos de reação em intervalos de 30 segundos a 290 nm, em temperatura de 30°C (Noctor et al., 2016). Para determinação da atividade enzimática foi utilizado o coeficiente de extinção molar de 2800 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ do ácido ascórbico (Noctor et al., 2016) e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de proteína.

3.4.1.5 Determinação da atividade da glutathiona redutase (GR)

No ensaio da GR foi empregada metodologia proposta por Murshed et al. (2008) para microplaca, com modificações. A atividade da GR foi determinada pela adição de 10 µL do extrato enzimático a um meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato 0,1 mM (NADPH). O decréscimo na absorbância pelo consumo de glutathiona oxidada 2 mM (GSSG) foi monitorado durante uma leitura de 5 min a 340 nm, em temperatura de 30°C (Noctor et al., 2016). Para determinação da atividade enzimática foi utilizado o coeficiente de extinção molar de 6,22 mM⁻¹ cm⁻¹ do NADPH (Noctor et al., 2016) e os resultados foram expressos em µmol min⁻¹ g⁻¹ de proteína.

3.4.1.6 Determinação de proteínas

O método de análise da atividade enzimática com base no conteúdo de proteína foi proposto por Bradford (1976). Para cada amostra, foram adicionados 200 µL do reagente de Bradford diluído (4:1) e 40 µL do extrato vegetal. Posteriormente, as amostras foram agitadas durante 1 minuto e as leituras realizadas em 590 nm. A curva padrão (0 µg mL⁻¹, menor concentração e 200 µg mL⁻¹, maior concentração) consistiu em diluições de uma solução de concentração de 500 µg mL⁻¹ de albumina bovina sérica (BSA). Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de massa fresca.

3.4.2 Dosagem dos antioxidantes não-enzimáticos

3.4.2.1 Ácido ascórbico

Os teores das formas reduzida (AsA), oxidada (DHA) e total (AA + DHA) de ácido ascórbico foram obtidos e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência CLAE (detector UV, 245 nm – equipamento: HPLC Agilent Technologies, series 1260 infinity). A separação foi realizada em coluna de fase reversa Eclipse XDB-C18 (150 X 4.6 mm; 5 µm), utilizando-se como fase móvel solução aquosa acidificada com ácido ortofosfórico H₃PO₄ (pH 2,3) isocrático, com um fluxo de 1 mL min⁻¹, o tempo total da corrida foi de 8 minutos. A extração desses compostos do material vegetal foi feita pela homogeneização de 150 mg de material vegetal com ácido metafosfórico (HPO₃ 6%) contendo EDTA 1 mM e os extratos vegetais obtidos foram centrifugados a 10.000 g e filtrados. Para a determinação do ácido ascórbico reduzido, 100 µL do extrato foram diluídos em 400 µL de fase móvel, filtrados em membrana com poro de 0,45 µm e então injetados 20 µL desta solução no sistema

cromatográfico. Quanto à análise do ácido ascórbico total (AA + DHA), adicionaram-se os dois reagentes, 20 µL de ditioneitol (DTT 0,4%) diluído em tampão de fosfato de sódio (0,2 M pH 7,0) e 10 µL de fosfato dipotássico (K₂HPO₄ 45%) à mesma quantidade de extrato (100 µL). Estes extratos foram mantidos no escuro por 20 minutos e após esse período, a reação foi interrompida com 20 µL de H₃PO₄ 2 M, adicionando-se, em seguida, 350 µL de água. O extrato resultante foi filtrado com membrana de poro de 0,45 µm, injetando-se 20 µL deste no CLAE. O conteúdo de DHA foi calculado pela subtração entre AA total e AA reduzido determinado inicialmente. Essa metodologia foi baseada na descrita por Lopez et al. (2005). Com as concentrações em mãos, foram calculadas as razões AsA/AA+DHA, seguindo a proposta de Burkey et al. (2006).

3.4.2.2 Glutathiona

Para detecção das formas reduzida (GSH), oxidada (GSSG) e total (GSH + GSSG) de glutathiona foi utilizado o mesmo extrato para obtenção do ácido ascórbico e as mesmas condições cromatográficas descritas em 3.2.1 com detecção a 194 nm. As razões GSH/GSH+GSSG também foram determinadas de acordo com Burkey et al. (2006).

3.4.3 Indicadores do estresse oxidativo

3.4.3.1 Indicação de peroxidação lipídica (MDA)

A peroxidação lipídica foi estimada pela concentração de ácido malondialdeído (MDA) na amostra de acordo com o protocolo proposto por Hodges et al. (1999). Foram triturados 200 mg de material vegetal em nitrogênio líquido. O pó obtido foi homogeneizado em 1,5 mL de solução extração contendo ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. Cada amostra foi centrifugada com a solução extração e 30 mg de PVPP a 10.000 g em temperatura ambiente durante 10 minutos. A concentração do MDA foi determinada pela adição de 25 µL do extrato em um meio de reação constituído de ácido tricloroacético e ácido tiobarbitúrico (TBA). A reação foi mantida à 95°C durante 30 minutos em banho seco. Decorrido o tempo, a reação foi rapidamente resfriada em gelo, em seguida, as amostras foram novamente centrifugadas a 10.000 g em temperatura ambiente durante 10 minutos, a absorbância foi medida em 535 e 600 nm. A determinação da concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 155 mM⁻¹ cm⁻¹, e os resultados foram expressos em nmol g⁻¹ de massa fresca.

3.4.3.2 Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado de acordo com Alexieva et al. (2001). Foram trituradas 100 mg de material vegetal em nitrogênio líquido. O pó obtido foi homogeneizado em 1 mL de solução extração contendo tricloroacético (TCA) 0,1%. As amostras foram centrifugadas a 10.000 g em 4°C durante 15 minutos. O conteúdo de H₂O₂ foi determinado pela adição de 20 µL em um meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e iodeto de potássio 1 M. A reação foi mantida no escuro e refrigerada durante 60 minutos. A absorbância foi medida em 390 nm. A curva padrão (0,5 µg mL⁻¹, menor concentração e 4 µg mL⁻¹, maior concentração) consistiu na diluição de uma solução de concentração de 100 µmol por L⁻¹ de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Os resultados foram expressos em µmol g⁻¹ de massa fresca.

3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados dos indicadores do estado redox foram submetidos a uma análise de variância (Two-way ANOVA), onde sazonalidade (estação chuvosa e seca) e área de coleta (domínios fitogeográficos/cidades) foram modelados como fatores fixos, seguida por um teste de comparação múltipla *post-hoc* (Sidak-holm), aplicado para identificar diferenças significativas entre os períodos sazonais, domínios fitogeográficos e as cidades dos locais de coleta, usando o programa SPSS versão 25 para Windows. A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de normalidade Shapiro-Wilk e, quando necessário, uma transformação apropriada dos dados foi realizada para gerar uma distribuição normal. Para os dados com $n < 8$, estatística não-paramétrica (Friedman) foi aplicada para verificar as tendências. Os dados são apresentados em boxplot para mostrar os domínios fitogeográficos em diferentes estações, e em histogramas para mostrar as áreas de coleta em diferentes estações. Os resultados foram considerados significantes quando $p < 0.05$.

Todos os gráficos foram construídos utilizando o software GraphPad Prism 9.2.0. Uma representação gráfica para avaliar a variabilidade da resposta antioxidante em *B. subpinnata* em duas estações, buscando evidenciar a sazonalidade, foi realizada por meio da análise de componentes principais (PCA), também utilizando o software GraphPad Prism 9.2.0. Para esta análise, foram selecionadas todas as unidades amostrais da estação seca e chuvosa e dados das variáveis do sistema antioxidante e climáticos. As variáveis foram devidamente padronizadas

de acordo com seus respectivos desvios-padrão, a correlação entre as médias foi realizada por meio de medidas euclidianas.

4. RESULTADOS

4.1 PERFIL METEOROLÓGICO DAS ÁREAS DE COLETA

Das quatro áreas de coleta selecionadas para a realização deste estudo, duas pertencem ao domínio fitogeográfico atlântico (Paranapiacaba e CUASO) e duas pertencentes ao domínio do cerrado (Mogi Guaçu e Brotas). Como esperado, nas quatro áreas, o período seco, meses que correspondem ao inverno, apresentou a menor média de temperatura em relação ao período chuvoso (meses que correspondem ao verão) (Tabela 2).

Tabela 2 – Médias do período de seis meses para dados de temperatura, umidade relativa do ar, radiação solar global e precipitação acumulada para o período. Entre parêntese estão as médias do semestre dos valores máximos e mínimos. Dados meteorológicos coletados no período de um ano (abril/2019 a março/2020).

Local/estação	Temperatura (°C)	Umidade Relativa (%)	Precipitação (mm)	Radiação Solar (kJ/m ²)
Paranapiacaba/seca	20,7	64,5	464,6	10260,5
	(23,4 – 18,8)	(68,8 – 58,5)		
Paranapiacaba/chuvosa	21,83	72,1	1259,4	16587,4
	(23,2 – 20,5)	(83,4 – 65,0)		
CUASO/seca	20,7	64,5	464,6	10260,5
	(23,4 – 18,8)	(68,8 – 58,5)		
CUASO/chuvosa	21,83	72,1	1259,4	16587,4
	(23,2 – 20,5)	(83,4 – 65,0)		
Mogi Guaçu/ seca	20,05	68,5	295,4	15611,9
	(23,8 – 15,9)	(75,5 – 60,5)		
Mogi Guaçu/chuvosa	23,9	70,0	1306,4	20561,4
	(25,8 – 21,9)	(79,4 – 56,9)		
Brotas/ seca	19,9	65,9	381,4	15783,4
	(23,2 – 16,5)	(74,0 – 59,4)		
Brotas/ chuvosa	22,8	72,7	1313,4	19852,5
	(24,6 – 21,5)	(82,69 – 59,4)		

As variações nos parâmetros meteorológicos ao longo de um ano podem ser vistas na construção do diagrama climático para cada área de coleta (Figura 8). Para Walter & Lieth (1967), a construção desse modelo gráfico da variação do clima baseia-se no modelo do diagrama de Gaussen (1945), que considera que o mês é seco se o quociente da média dos totais mensais das precipitações pluviométricas pela temperatura média mensal é inferior a 2. A representação em um mesmo gráfico das temperaturas e precipitações mensais permite obter um diagrama climático, que evidencia os períodos secos e chuvosos, como observado na figura 8, onde os picos escuros representam os meses com maiores precipitações médias anuais, e as áreas representadas por pontos representam os momentos de déficit hídrico de cada área.

No eixo das ordenadas situam-se as escalas de temperatura e precipitação, obedecendo a relação 1:2, cada 10°C corresponde a 20 mm de precipitação, o que, segundo Gaussen (1954, *apud* Walter 1986), possibilita a identificação de períodos relativamente chuvosos e/ou secos. No eixo das abscissas são colocados os meses do ano, de modo que a estação mais quente ocupe a parte central do diagrama. Para o Hemisfério Sul, os meses de dezembro a março são classificados como os meses pertencentes à estação chuvosa.

Walter & Lieth (1967) sugeriram que os diferentes tipos de climas de uma região fossem caracterizados de forma simples, utilizando somente elementos climáticos importantes. Os autores caracterizaram diferentes climas da Terra utilizando médias totais mensais de chuva e a temperatura do ar média mensal, representando as variações ao longo do ano de forma gráfica de acordo com o diagrama proposto por Gaussen (1945).

O Estado de São Paulo ocupa uma região denominada de Clima Temperado Quente Úmido entre a região tropical-subtropical e temperada típica (Walter, 1986). Dentro destas regiões poderia haver a divisão, classificando-as em muito úmido com pluviosidade em qualquer período do ano ou com o tempo reduzido da estação fria e outro com pluviosidade no inverno (Walter, 1986). A maior parte do Estado possui Clima Tropical com chuvas variadas, com invernos secos e verões quentes, temperatura média entre 16 e 18 graus e pluviosidade anual média entre 1.000 e 1.400 mm (INPE, 2021). O território está em altitudes que variam de 300 a 1.000 m, estando dentro do denominado Planalto Atlântico (FAPESP, 2021). A topografia desse planalto apresenta diversas feições: planícies aluviais (várzeas), colinas, morros e serras, estando distante a apenas 45 km do Oceano Atlântico.

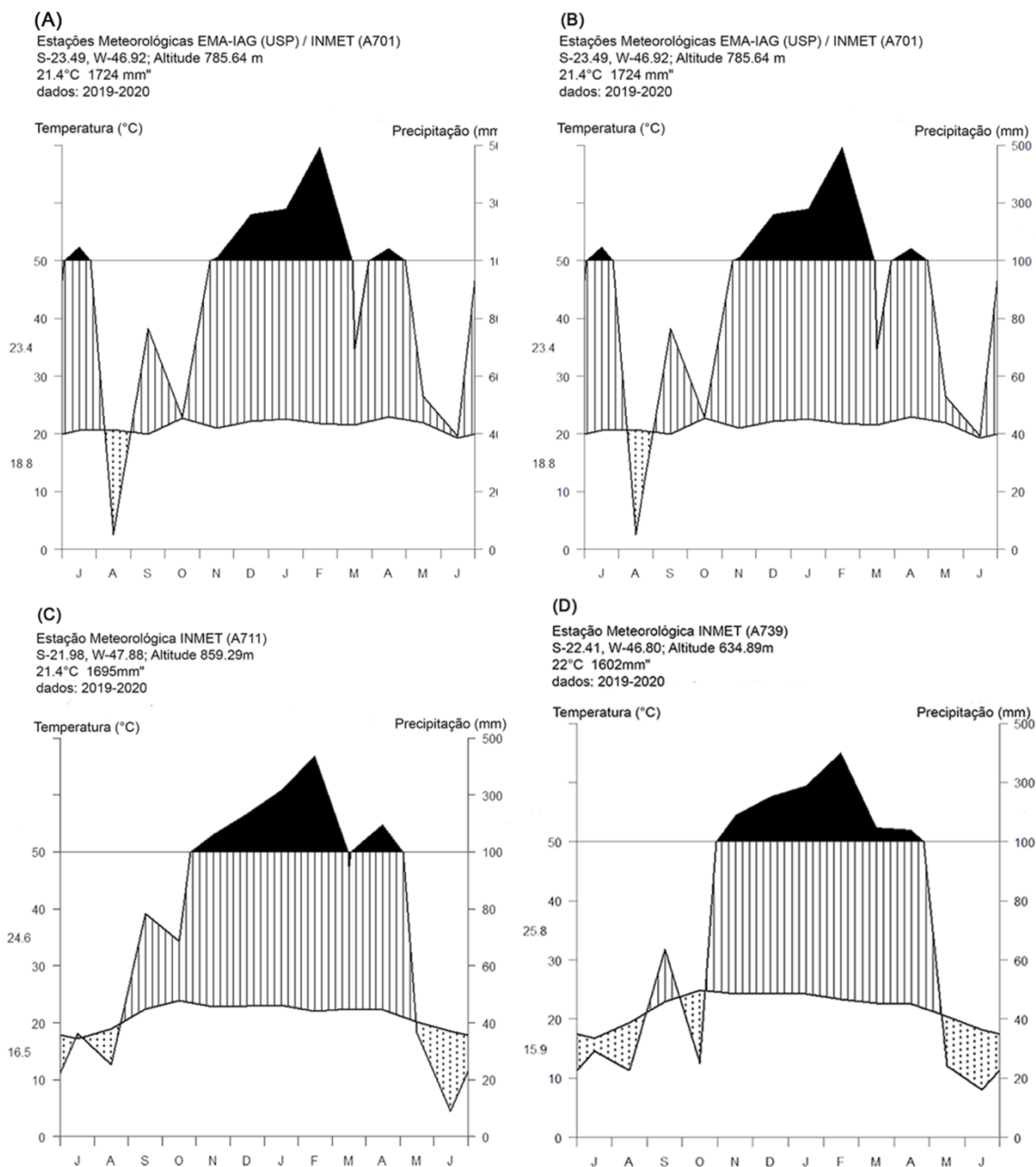


Figura 8 - Diagrama climático segundo Walter & Lieth (1967) para as áreas de coleta: Paranapiacaba **(A)**; CUASO **(B)**; Brotas **(C)**; Mogi Guaçu **(D)**. Construído com dados para o período de 2019 e 2020, obtidos junto a Estações Meteorológicas do INMET e IAG-USP.

Brotas foi o local que apresentou a menor média semestral de temperatura para o período seco (19,9°C), enquanto o domínio atlântico, formado pelas áreas de Paranapiacaba e CUASO, apresentou a maior média de temperatura para o mesmo semestre (20,7°C). Mogi Guaçu apresentou a maior variação de temperatura entre a máxima e mínima do semestre seco, uma diferença de 7,9°C entre essas temperaturas. Os valores médios de umidade relativa obtidos no período seco foram mais baixos para o domínio atlântico seguido por Brotas e Mogi Guaçu.

Também esperado, o volume de precipitação nas áreas de Cerrado foi inferior ao registrado nas áreas de floresta, ficando abaixo de 500 mm no domínio atlântico, e inferior a 400 mm em Brotas e 300 mm em Mogi Guaçu (Tabela 2).

As maiores incidências de radiação solar foram medidas no período chuvoso (meses de verão) em todas as áreas amostradas. Mogi Guaçu apresentou a maior incidência de radiação solar (20561 kJ/m²) enquanto o domínio atlântico registrou o menor valor de radiação solar incidente (16587 kJ/m²) durante esse o mesmo período (Tabela 2).

Os valores obtidos de umidade relativa para os períodos chuvoso e seco foram próximos, com médias um pouco maiores na estação chuvosa, tendo um aumento de 11,8% de UR para o domínio atlântico no período chuvoso seguido por Brotas (10,3%) e Mogi Guaçu, que apresentou o menor aumento de UR, com 2,2%. Os valores de precipitação foram maiores no período de verão, estação chuvosa, onde a região do cerrado apresentou maior acúmulo de chuva nessa estação. Temperaturas médias maiores também foram observadas na estação chuvosa, além de maiores médias de radiação solar global.

4.2 ANÁLISE DO ESTADO REDOX

Foram avaliadas as atividades de 4 enzimas que compõem o sistema antioxidante: catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GR) e superóxido dismutase (SOD).

A análise ANOVA mostrou que existe efeito da sazonalidade nas regiões de coleta sobre a atividade enzimática para as quatro enzimas: catalase [F (1,55)=125,6; $p<0,001$], ascorbato peroxidase [F (1,56)=46,7; $p<0,001$], glutathione redutase [F (1,55)=110; $p<0,001$] e superóxido dismutase [F (1,56)=32,3; $p<0,001$]. Em todas as áreas, as enzimas analisadas, exceto a SOD, apresentaram maior média de sua atividade durante o período seco. No entanto, considerando o período seco e chuvoso, o teste *post-hoc* mostrou que para a atividade da APX, na área da CUASO, e atividade da SOD, em Brotas, não há diferença significativa de suas atividades médias.

A mudança na variação da atividade enzimática, entre o período seco e chuvoso pode ser observada na figura 9. O aumento acentuado da atividade da GR no período seco foi mais notado nas áreas de Paranapiacaba (310%), CUASO (339%) e Brotas (220%), com exceção para Mogi Guaçu, que apresentou maior aumento percentual da atividade enzimática da APX

(789%). A atividade da CAT foi a que apresentou menor aumento percentual em relação ao período chuvoso em todas as áreas de coleta. Esse aumento foi de 82,5% em Paranapiacaba, 64,7% em Mogi Guaçu, 39,7% em Brotas e 34,6% na CUASO. O aumento percentual na atividade da SOD durante o período chuvoso foi similar para as áreas de Paranapiacaba e Mogi Guaçu, ambas apresentaram aumento de 17% em relação ao período seco, enquanto CUASO e Brotas apresentaram, respectivamente, 13,3% e 10,1% desse aumento em relação ao período seco.

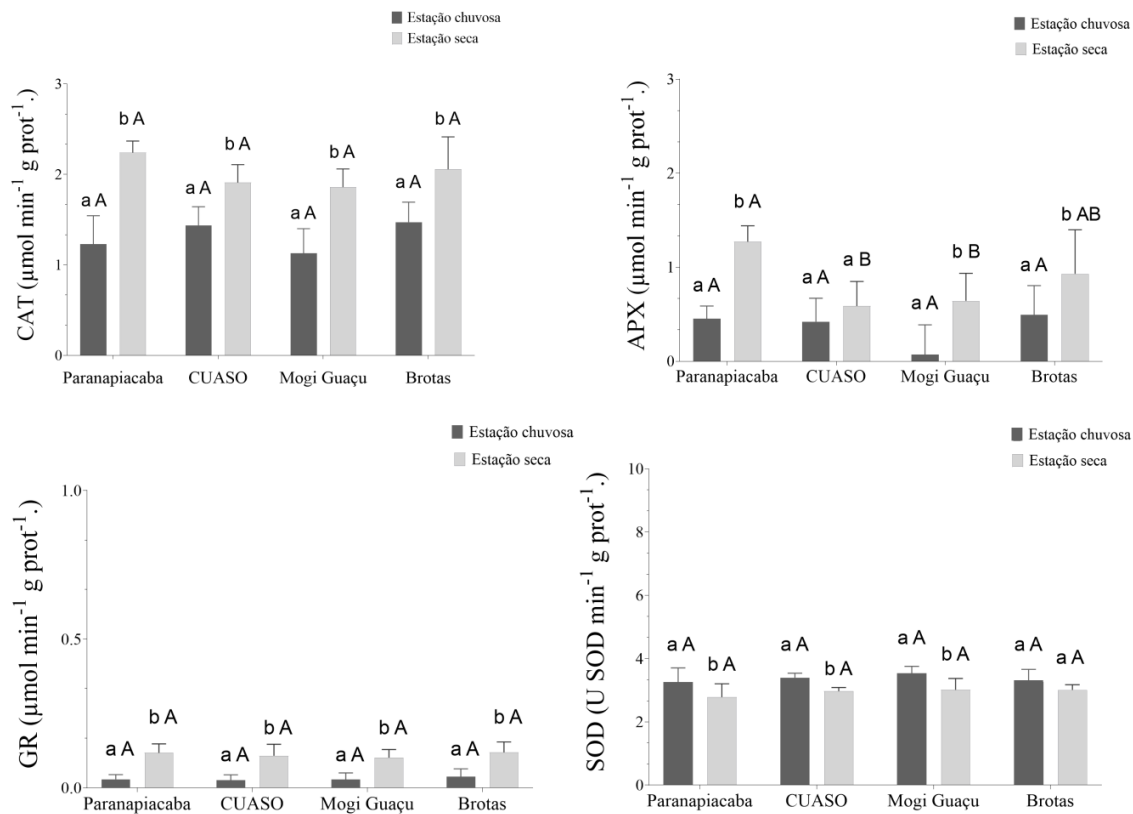


Figura 9 - Atividade enzimática da catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutatona redutase (GR) e superóxido dismutase (SOD) em *Brittonodoxa subpinnata* coletada durante a estação chuvosa (barras escuras) e estação seca (barras cinzas) em diferentes áreas nos domínios fitogeográficos de Floresta Atlântica (Paranapiacaba e CUASO) e Cerrado (Mogi Guaçu e Brotas). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre estação de coleta na mesma área. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas entre locais de coleta em uma mesma estação ($p < 0,05$). $n = 8$.

A análise estatística não mostrou efeito da interação das variáveis fixas (sazonalidade vs local de coleta), no entanto a ANOVA revelou que existe efeito do local de coleta sobre a atividade da APX [$F(3,56)=9,3$; $p < 0,001$]. Ao comparar os locais de coleta em diferentes estações o teste *post-hoc* mostrou que, durante o período seco a área de Paranapiacaba diferiu significativamente das médias observadas para a APX em relação as áreas da CUASO e Mogi

Guaçu, mostrando também maior atividade dessa enzima para Brotas, que se mostrou semelhante as demais áreas de coleta. No período chuvoso não foi observada diferença na atividade enzimática entre as áreas de coleta.

Para as concentrações dos antioxidantes não enzimáticos, a ANOVA mostrou que existe efeito da sazonalidade para as concentrações de AsA [F (3,56)=23,2; $p<0,001$], de GSH [F (1,56)=33,8; $p<0,001$] e concentrações de GSSG [F (1,46)=10,16; $p<0,05$]. As concentrações do ácido ascórbico em sua forma oxidada e razão da glutatona e ácido ascórbico não variaram entre os períodos de coleta. O teste *post-hoc* mostrou que CUASO e Brotas diferem em suas concentrações médias de AsA e GSH, e para concentrações de GSSG, Paranapiacaba e Brotas mostraram diferenças. Maiores concentrações de AsA, GSH e GSSG são observadas durante o período seco.

A variação das concentrações das formas do ácido ascórbico e glutatona, entre o período seco e chuvoso, podem ser observadas na figura 10. Concentrações de AsA mostraram aumento acentuado durante o período seco para as áreas de Brotas (138%), CUASO (123%) e Mogi Guaçu (93%), com exceção de Paranapiacaba, área que mostrou aumento para concentrações de GSH (18,3%).

A análise estatística também não mostrou efeito da interação entre as variáveis fixas para os antioxidantes não-enzimáticos, no entanto a ANOVA evidenciou o efeito do local de coleta para as concentrações de AsA [F (3,56)=2,85; $p<0,05$] e para as concentrações de GSH [F (3,56)=9,77; $p<0,001$]. Comparando as áreas de coleta em diferentes estações, o teste *post-hoc* mostrou que, durante o período seco, CUASO e Brotas diferem de Paranapiacaba nas concentrações médias de AsA. Embora, CUASO, Brotas e Mogi Guaçu tenham mostrado concentrações aumentadas de AsA no período seco, a área de Mogi Guaçu não apresentou diferença em relação a Paranapiacaba. Para as concentrações de GSH, no período seco, o teste *post-hoc* mostrou diferença média significativa entre Paranapiacaba e CUASO. Durante o período chuvoso não foi observado diferença entre os locais de coleta para concentrações de AsA, no entanto, para concentrações de GSH o teste *post-hoc* mostrou que existe uma diferença média entre Paranapiacaba e Mogi Guaçu.

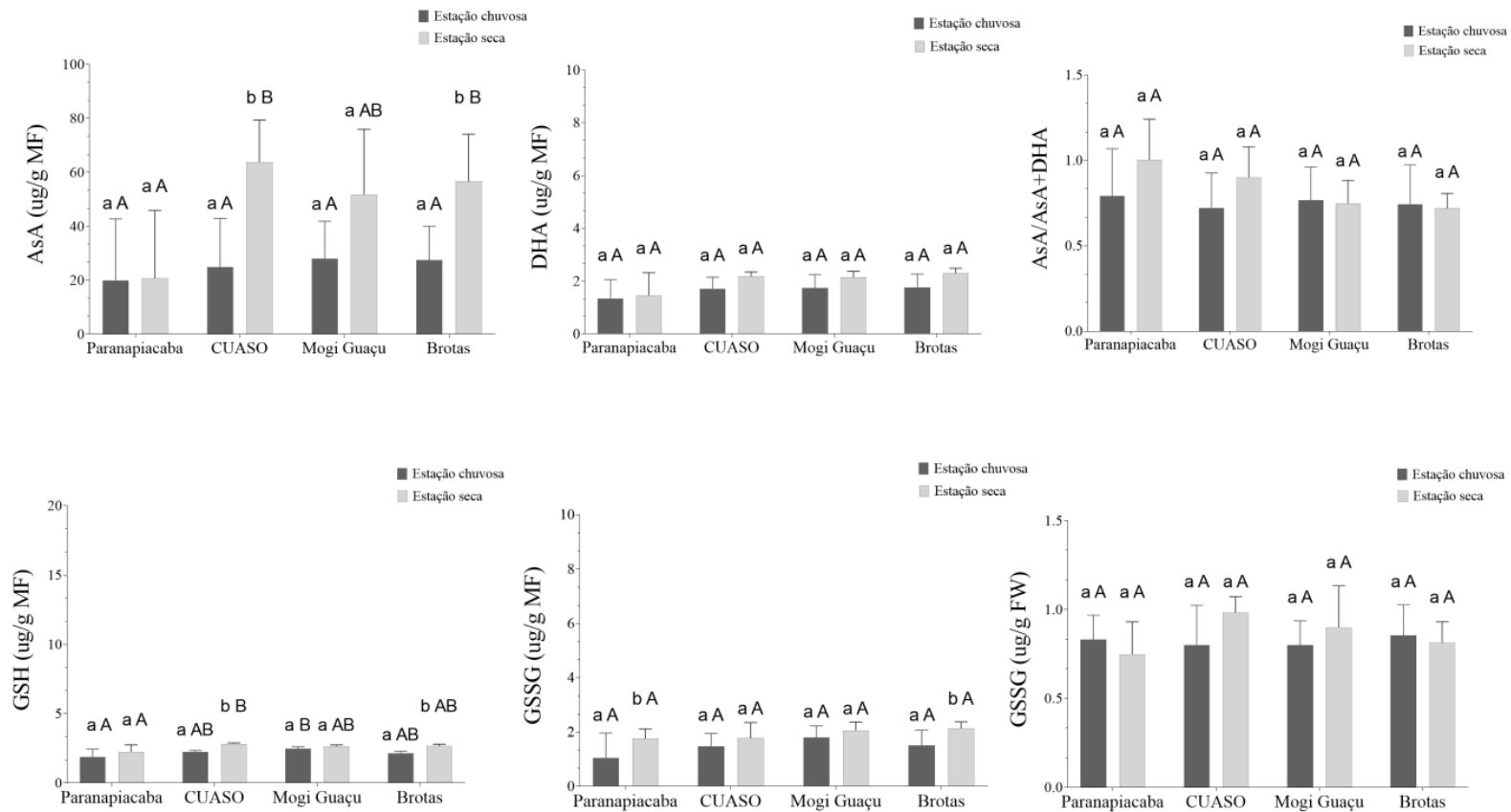


Figura 10 - Concentração de ácido ascórbico e glutatona, apresentando a razão do ácido ascórbico (AsA/AsA+DHA), razão de glutatona (GSH/GSH+GSSG), as formas reduzidas do ácido ascórbico (AsA), glutatona (GSH) e as formas oxidadas do ácido ascórbico (DHA) e glutatona (GSSG) em amostras de *Brittonodoxa sunpinnata* coletadas durante a estação chuvosa (barras escuras) e durante a estação seca (barras cinzas) em diferentes áreas nos domínios fitogeográficos de Floresta Atlântica (Paranapiacaba e CUASO) e Cerrado (Mogi Guaçu e Brotas). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre estação de coleta na mesma área. Letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas entre locais de coleta em uma mesma estação ($p < 0,05$). $n = 8$.

Em relação ao ácido malondialdeído, a ANOVA mostrou que não existe efeito do período de coleta ou dos locais de coleta na média do conteúdo de MDA. Da mesma forma, o teste não paramétrico de Friedman mostrou que não há diferença no conteúdo de peróxido de hidrogênio entre os períodos de coleta ou entre os locais de coleta. As médias para o ácido malondialdeído e peróxido de hidrogênio podem ser observadas na figura 11.

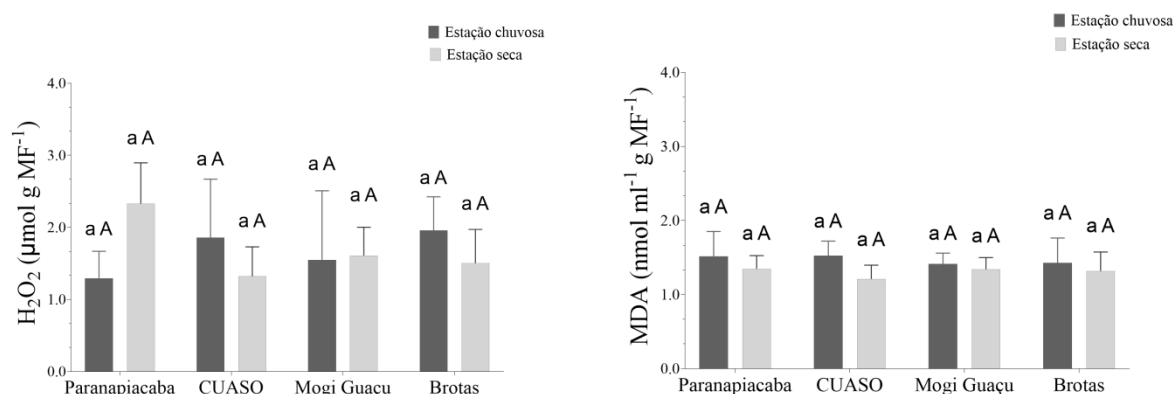


Figura 11 - Conteúdo de peróxido de hidrogênio e de ácido malondialdeído em amostras de *Brittonodoxa subpinnata* coletadas durante a estação chuvosa (barras escuras) e durante a estação seca (barras cinzas) em diferentes áreas nos domínios fitogeográficos de Floresta Atlântica (Paranapiacaba e CUASO) e Cerrado (Mogi Guaçu e Brotas). Letras minúsculas comparam estações de coleta. Letras maiúsculas comparam locais de coleta em uma mesma estação ($p < 0,05$).

Os resultados foram também plotados como as médias para os domínios fitogeográficos (atlântico e do cerrado) em cada período de coleta (Figuras 12, 13 e 14). Na figura 12 são apresentados os dados para a atividade enzimática. A ANOVA mostrou que existe efeito da sazonalidade na atividade da CAT [F (1,55)=127,62; $p < 0,001$], APX [F (1,60)=31,02; $p < 0,001$] e GR [F (1,59)=116,5; $p < 0,001$], com médias significativamente maiores nas amostras coletadas durante a estação seca, e SOD [F (1,60)=32,10; $p < 0,001$] com médias significativamente maiores nas amostras coletadas durante a estação chuvosa.

Como observado para as áreas de coleta individualmente, a GR mostrou maior variação no aumento de sua atividade para o período seco, esse aumento foi de 316% no domínio atlântico e de 239% para o do cerrado. Para a atividade da APX o aumento foi de 177% para o domínio do cerrado e de 112% para o atlântico em relação ao período seco. A variação no aumento da atividade da CAT foi parecida entre os domínios, sendo de 55% para o atlântico e 50,6% para o do cerrado. A variação no aumento da atividade da SOD para o período chuvoso também foi parecida entre os domínios, sendo de 15,6% para o atlântico e de 13,7% para o do cerrado.

A análise estatística mostrou que não existe efeito do domínio fitogeográfico sobre a atividade enzimática nos períodos de coleta.

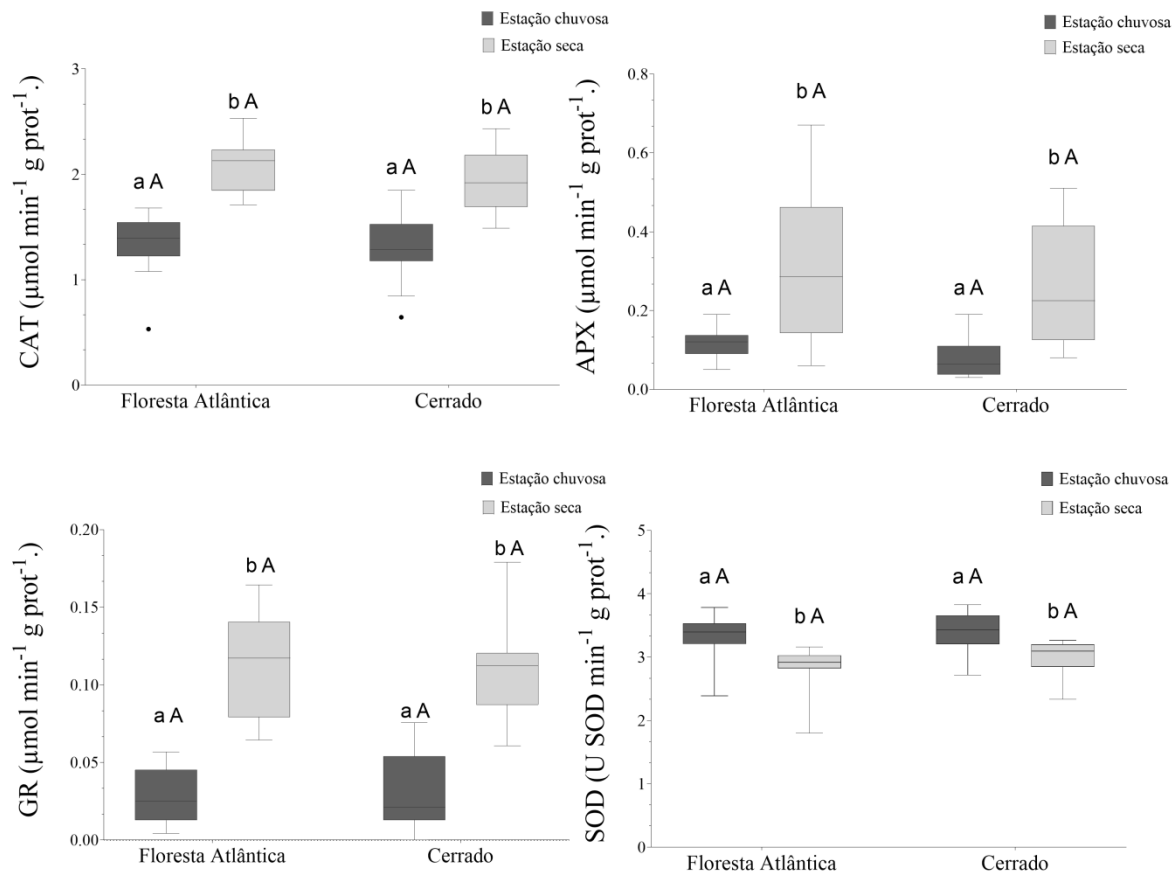


Figura 12 - Box plot representando a atividade enzimática da catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutatona redutase (GR) e superóxido dismutase (SOD) em *Brittonodoxa subpinnata* coletada durante a estação chuvosa (box escuros) e durante a estação seca (box cinzas) em domínios fitogeográficos de Floresta Atlântica e Cerrado. Letras minúsculas comparam os domínios fitogeográficos. Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre estação do ano no mesmo domínio. Letras maiúsculas comparam os domínios fitogeográficos em uma mesma estação ($p < 0,05$). $n = 16$.

Com relação ao ácido ascórbico e glutatona, a ANOVA mostrou que existe efeito da sazonalidade para as concentrações de AsA [F (1,60)=18,17; $p < 0,001$], DHA [F (1,51)=9,60; $p < 0,05$], GSH [F (1,60)=24,33; $p < 0,001$] e GSSG [F (1,50)=10,52; $p < 0,05$]. Maiores médias dessas concentrações podem ser observadas durante o período seco. Ácido ascórbico em sua forma reduzida (AsA) mostrou maior variação no aumento de suas concentrações para o período seco no domínio atlântico (88,5%) e do cerrado (95,5%). A variação na concentração de GSH foi de 23,2% nas amostras do domínio atlântico e 15,6% para o do cerrado. Maior variação no aumento da concentração de GSSG (40,1%) foi observada no domínio atlântico em relação ao período seco.

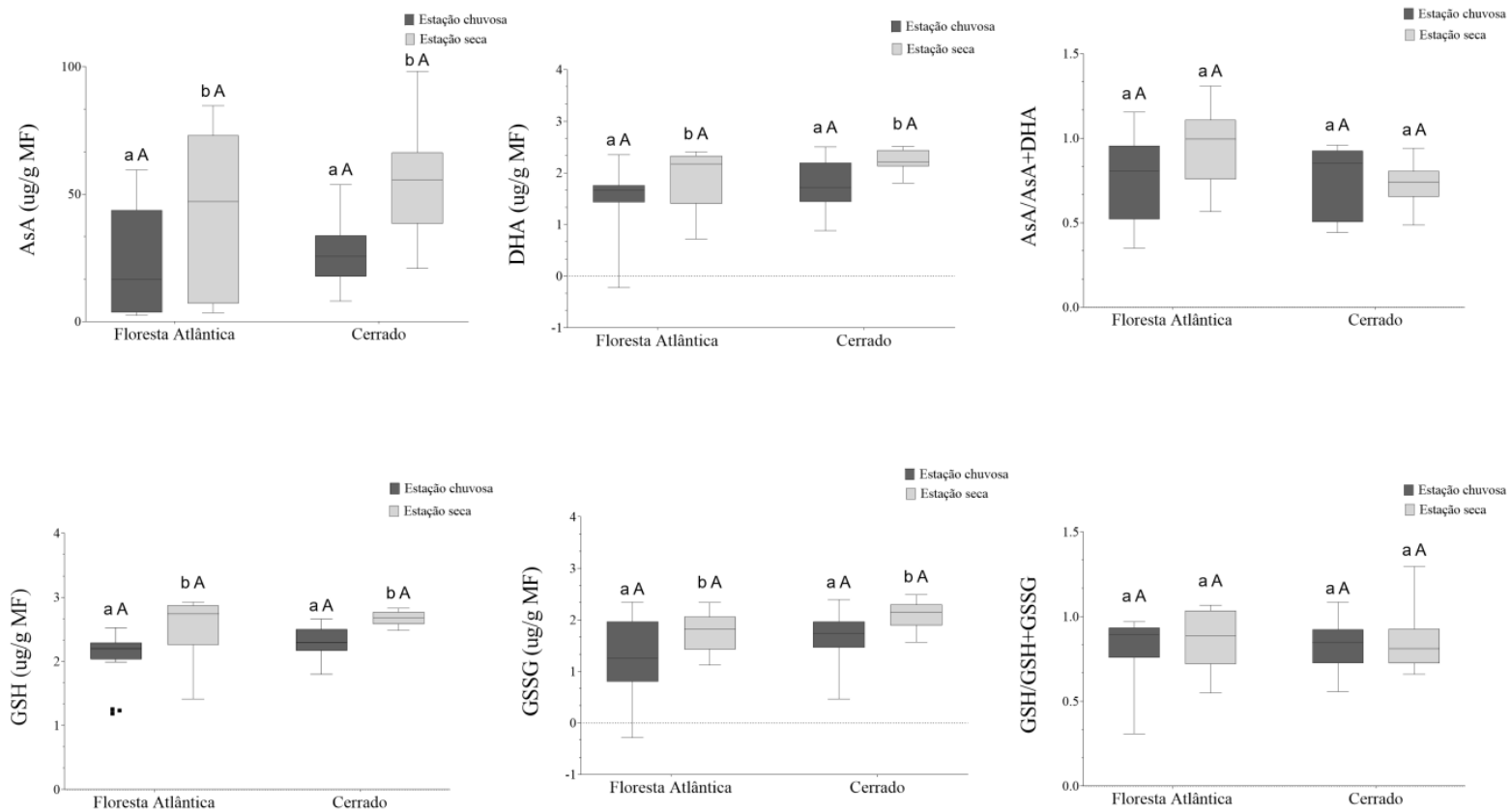


Figura 13 - Box plot representando a concentração de ácido ascórbico e glutatona, apresentando a razão do ácido ascórbico (AsA/AsA+DHA), razão de glutatona (GSH/GSH+GSSG), as formas reduzidas do ácido ascórbico (AsA), glutatona (GSH) e as formas oxidadas do ácido ascórbico (DHA) e glutatona (GSSG) em amostras de *Brittonodoxa sunpinnata* coletadas durante a estação chuvosa (box escuros) e durante a estação seca (box cinzas) em diferentes domínios fitogeográficos. Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre estação de coleta no mesmo domínio. Letras maiúsculas comparação os domínios em uma mesma estação ($p < 0,05$). $n = 16$.

Para concentrações de DHA a variação no aumento foi semelhante entre as amostras de ambos os domínios, sendo de 23,7% para o atlântico e 26,9% para o do cerrado. Não foi observado efeito na razão entre a forma reduzida e total do ácido ascórbico (AsA/AsA+DHA) e da glutathiona (GSH/GSH+GSSG) nos períodos de coleta ou entre os domínios.

Em relação aos indicadores do estresse oxidativo não foi observado efeito da sazonalidade ou do domínio fitogeográfico para os conteúdos de H₂O₂ e MDA (Figura 14).

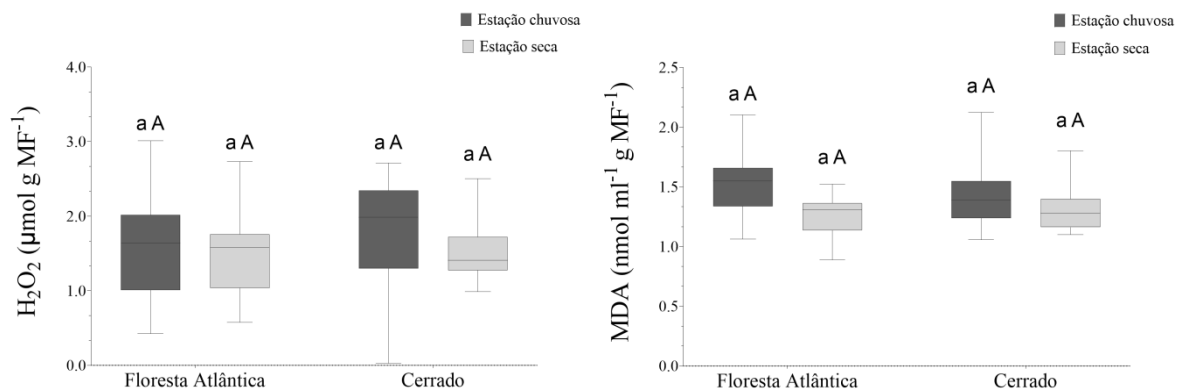


Figura 14 - Box plot do conteúdo de peróxido de hidrogênio e concentração de ácido malondialdeído em amostras de *Brittonodoxa subpinnata* coletadas durante a estação chuvosa (box escuros) e durante a estação seca (box cinzas) em diferentes domínios fitogeográficos. Letras minúsculas comparam os domínios fitogeográficos sob a influencia da sazonalidade. Letras minúsculas comparam estações de coleta. Letras maiúsculas comparam locais de coleta em uma mesma estação ($p < 0,05$).

A Análise de Componentes Principais (PCA) mostrou que aproximadamente 61% da variabilidade total dos dados para as amostras de *B. subpinnata* coletadas durante a estação seca e chuvosa e em dois domínios fitogeográficos foram resumidos nos dois primeiros eixos (Figura 15). A PCA mostrou o efeito da sazonalidade, identificado no eixo 1, onde as amostras coletadas no período chuvoso (1) ficaram agrupadas no lado esquerdo desse eixo, enquanto o grupo de amostras coletadas durante o período seco formam um grupo localizado no lado direito desse mesmo eixo. Nas unidades amostrais do período seco, no entanto, pode ser observada uma maior separação dos locais de coleta, com a formação de um agrupamento (2) que integra áreas do cerrado, Mogi Guaçu e Brotas, e uma das áreas de floresta, CUASO. Também é possível observar, apesar do distanciamento das amostras, um terceiro grupo (3) que reúne principalmente as amostras da área de Paranapicaba.

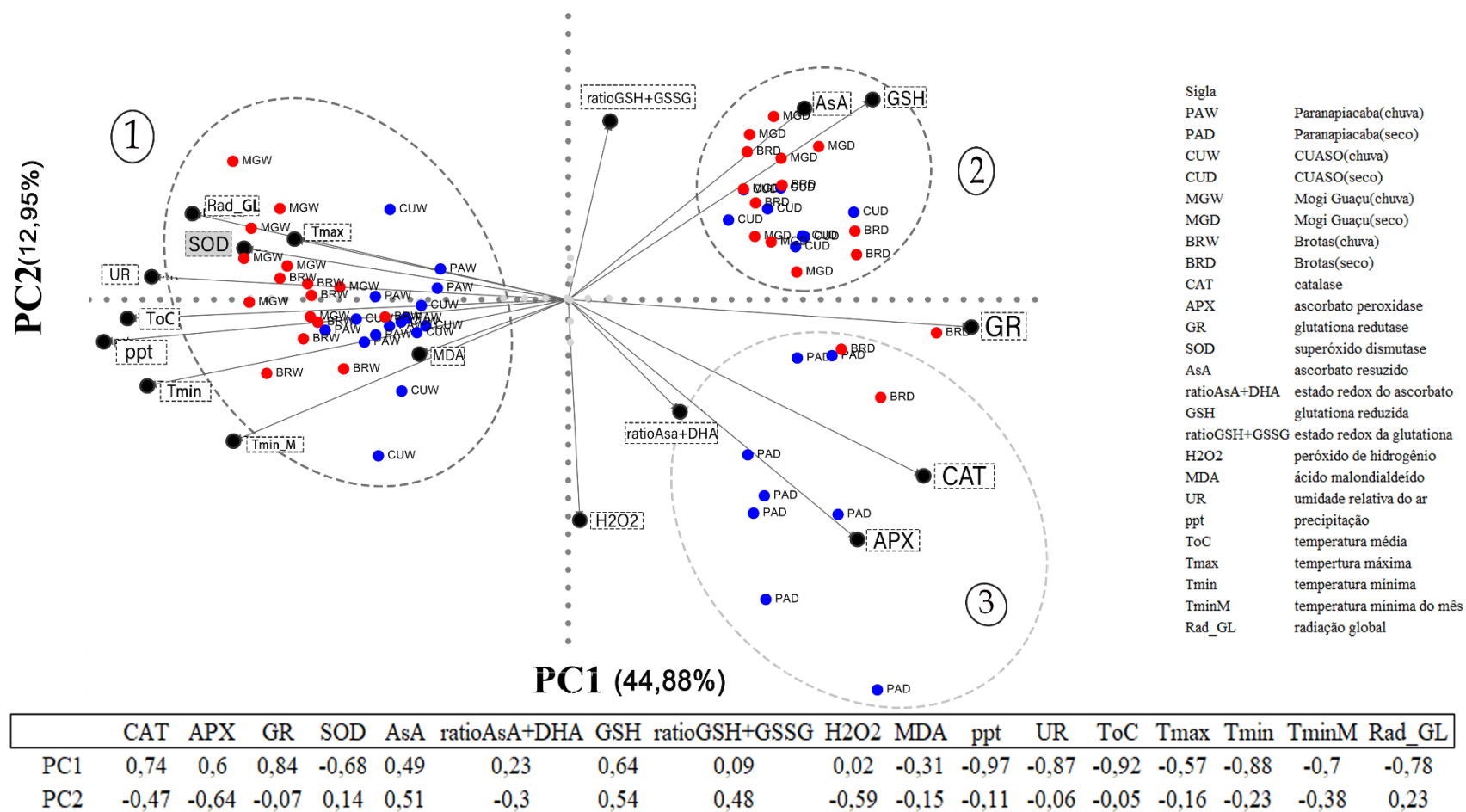


Figura 15 - Análise de Componentes Principais (PCA) para valores médios de antioxidantes obtidos durante as estações chuvosa e seca para *B. subpinnata*, e indicadores dos fatores climáticos para as áreas de coleta, indicados por vetores na cor preta. Os Scores estão representados por símbolos na cor azul (pontos de coleta em áreas do domínio fitogeográfico atlântico) e na cor vermelha (pontos de coleta em áreas do domínio do cerrado).

As unidades amostrais coletadas em Paranapiacaba, observadas à direita no eixo 1, foram caracterizadas por maior atividade das enzimas APX, CAT e GR, essa que também mostrou maior interação com as unidades amostrais de Brotas, Mogi Guaçu e CUASO no período seco. As concentrações de AsA e GSH tiveram maior influência sobre as unidades amostrais da CUASO, Mogi Guaçu e Brotas. O Período chuvoso ficou caracterizado pela influência da precipitação, radiação global e variação na temperatura, além de mostrar maior junção das unidades amostrais desse período. A SOD, como observado nas médias da análise estatística, teve maior influência nas unidades amostrais coletadas no período chuvoso, estando mais próxima da unidade coletadas no Cerrado.

5. DISCUSSÃO

No processo de sobrevivência em ambientes diversos, os vegetais desenvolveram uma variedade de características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, além de estratégias reprodutivas (Tao & Zhang, 2012; Wu et al., 2014; Martin & Churchill, 1982; Benassi et al., 2011), como a tolerância à dessecação, um fenômeno relativamente comum entre líquens e briófitas (Oliver, 2009). Essas adaptações, em briófitas, possibilitam que retenham água ou se recuperem da perda de água e mudem rapidamente suas estratégias de acordo com a sazonalidade ou seus ritmos circadianos (Proctor, 2000; Oliver et al., 2005).

A atividade do sistema antioxidante (enzimático e não enzimático) mostrou forte variação sazonal para *B. subpinnata*. Resultados semelhantes também foram descritos em estudos realizados com angiospermas (Bulbovas et al., 2005; Ferreira & Domingos, 2012; Aguiar-Silva et al., 2015). O musgo *B. subpinnata* apresentou variações correlacionadas às condições meteorológicas em cada período de coleta, sugerindo que as amostras coletadas no período seco (inverno), estão sob condições ambientais mais severas. As condições ambientais desse período são caracterizadas, principalmente, pelo déficit hídrico ocasionado pelo menor acúmulo de chuvas e por baixas temperaturas, como ilustrado nos diagramas climáticos construídos para cada área de coleta (Figura 8).

Para manter uma proteção efetiva contra o estresse oxidativo, os antioxidantes enzimáticos e os não enzimáticos atuam em coordenação, mantendo assim um equilíbrio no sistema redox. Durante o período seco, como observado, CAT, APX e GR foram mais ativas, bem como maiores concentrações de AsA e GSH foram observadas para esse período, independente da área de coleta (Figuras 9, 10). Por outro lado, os indicadores de estresse

oxidativo não apresentaram diferenças significativas em suas produções (Figura 11), sugerindo que o funcionamento do sistema antioxidante foi capaz de manter níveis semelhantes de peróxido de hidrogênio e MDA independente do período do ano.

Para o período seco, que mostrou maior atividade do sistema antioxidante, não foi observada uma clara diferença entre as áreas de coleta de um mesmo domínio, ou seja, a análise não evidenciou um local com condições ambientais que pudessem potencializar um estresse oxidativo, causando maior resposta antioxidante. Quando as áreas de coleta foram agrupadas por domínios fitogeográficos, também não foi observada uma clara diferença de comportamento do sistema antioxidante entre o domínio atlântico e o do cerrado (Figuras 10, 12). Os resultados mostraram que independente da área de coleta e do domínio fitogeográfico, a sazonalidade é o fator mais influente nas variações da atividade do sistema antioxidante em *B. subpinnata*.

Observando a variação da atividade enzimática, GR foi a enzima mais responsiva. Apesar de sua baixa concentração, sua atividade aumentou de 200 a 300% durante o período seco, enquanto APX foi a enzima que mostrou uma maior variação nas médias entre os períodos de coleta, principalmente em Mogi Guaçu e Paranapiacaba. Para manter sua atividade, APX necessita de um suprimento contínuo de ascorbato, mantendo assim o nível de H_2O_2 sob controle, evitando seu acúmulo excessivo. Conforme aumenta a atividade da APX, o nível de ascorbato pode efetivamente diminuir (Bartwal & Arora, 2017). As concentrações médias de AsA para Paranapiacaba e Mogi Guaçu, durante o período seco, foram as menores observadas quando comparadas as das áreas da CUASO e Brotas (Figura 10).

A GR não age diretamente na remoção de ERO, mas é uma enzima potencial do ciclo AsA-GSH, responsável pela regeneração da GSH na presença de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), mantendo o equilíbrio sobre a oxidação da glutathiona, ou seja, fazendo parte da manutenção do potencial redox (GSH/GSH+GSSG) (Rao & Reddy, 2008). GSH e GR desempenham uma função importante na determinação da tolerância a vários estresses abióticos e bióticos (Rao & Reddy, 2008). APX, como mencionado, necessita de um suprimento contínuo de ascorbato, evitando assim o acúmulo de H_2O_2 nas células por meio do ciclo ascorbato-glutathiona (Foyer & Halliwell, 1976) e é uma enzima antioxidante que desempenha um papel fundamental nas respostas ao estresse provocado pela seca e após a reidratação e recuperação da seca (Faize et al., 2011; Mittler & Zilinskas, 1994; Fini et al., 2012), constituindo um mecanismo básico na implantação do sistema de defesa antioxidante

em plantas (Madhusudhan et al., 2003). O aumento observado na variação da atividade da GR e APX durante a estação seca, portanto, indica que o ciclo AsA-GSH manteve-se ativo no combate às ERO, utilizando glutatona e ácido ascórbico como substratos.

A enzima CAT decompõe H_2O_2 para formar água e oxigênio, atuando como um eficiente sistema de remoção de ERO e evitando o dano oxidativo induzido por fatores estressores (Ighodaro & Akinloye, 2018). Alguns autores apontam que o aumento da atividade da CAT está geralmente relacionado, positivamente, ao grau de seca experimentado pelas plantas (Pinheiro & Chaves, 2011; Mitller et al., 2011; Faize et al., 2011). Em *B. subpinnata* foi observada semelhança na atividade da CAT para o mesmo período de coleta (chuvoso ou seco), em ambos os domínios, tendendo a ser maior no período seco. No entanto, a CAT teve a menor variação sazonal de aumento de sua atividade quando comparada as demais enzimas. Em experimento conduzido com os musgos *Atrichum androgynum* (Müll. Had.) A. Jaeger (Mayaba & Beckett, 2003) e *Brachythecium procumbens* (Mitt.) A. Jaeger (Bansal & Srivastava, 2017), os autores observaram aumento da atividade da CAT quando em diferentes níveis de seca, no entanto, quando comparada às amostras reidratadas, não foi observada variação significativa da atividade da CAT. Ruchika et al. (2021) também observaram para o musgo *Syntrichia ruralis* (Hedw.) Brid. que a atividade da CAT e APX tenderam a ser maiores no estado dessecado das amostras coletadas em quatro estações do ano de uma região semiárida do que quando reidratadas, no entanto, também observaram que não houve variação na atividade da CAT ao longo do ano em ambos os estados (dessecado e reidratado). Ruchika et al. (2021) sugerem que essa menor variação da atividade da enzima durante os ciclos (úmido/seco) em musgos seja provavelmente uma defesa constitutiva contra o estresse oxidativo e, dessa forma, a atividade da CAT em *B. subpinnata* pode ter contribuído para a manutenção de níveis semelhantes de H_2O_2 nos dois períodos de coleta.

Apesar da forma oxidada do ascorbato (DHA) não ser eficiente para a remoção de ERO, é um importante composto na via de síntese e regeneração da forma reduzida do ascorbato (AsA) (Smirnoff et al., 2001). O potencial redox, caracterizado pela razão entre a forma reduzida e o total de ascorbato, pode ser usado como uma medida da capacidade celular em converter DHA em AsA via ciclo AsA-GSH (Noctor & Foyer, 1998; Burkey et al., 2006). Os resultados observados para os domínios fitogeográficos, assim como para os períodos de coleta mostram razões AsA/AsA+DHA próximas a 1, o que segundo Burkey et al. (2006) indicam maior capacidade de defesa celular em situações de estresse. Além disso, maiores concentrações médias de GSH e AsA foram observadas no período seco de ambos domínios, o que mostra

maior capacidade de oxirredução (GSH/GSH+GSSG e AsA/AsA+DHA) dessa espécie durante esse período de amostragem.

Para o período seco foi observada menor atividade da enzima SOD, em oposição ao observado para as demais enzimas. A maior atividade da SOD no verão pode estar relacionada a variação no aumento de temperatura, como observado por Ferreira & Domingos (2012) e Silva (2014), e excesso de radiação, observado por Michael & Krishnaswamy (2011). Maior atividade da SOD nos meses de verão pode indicar um potencial de tolerância aos danos causados pela fotoinibição, considerando que nessa mesma estação foram registradas médias superiores de temperatura e maior incidência de radiação solar global. De acordo com Elstner & Oswald (1994), fatores ambientais como alta irradiância e temperatura causam estresse foto-oxidativo em plantas, produzindo um desequilíbrio entre a energia luminosa absorvida e seu uso em processos no aparato fotossintético (Asada, 1999). A crescente atividade da SOD sob alta condição de luminosidade também foi observada por Favaretto et al. (2011), bem como por Tang et al. (2015) que relatam menor atividade da SOD quando a planta está submetida a 90% de sombra, observando, ainda, sua maior atividade em tratamento controle sem sombra. Sob alta irradiância, a transferência da energia absorvida torna-se particularmente importante pois o excesso de energia pode levar à formação de ERO, uma das principais causas da fotoinibição (Murata et al., 2007), tornando a SOD, nessas condições, um antioxidante essencial na proteção do aparato fotossintético.

A semelhança na produção média de conteúdo de H_2O_2 e MDA entre as áreas de coleta e em diferentes períodos do ano indica que a atividade do sistema antioxidante (enzimático e não enzimático) foi essencial para manter o equilíbrio entre a produção e eliminação de ERO em *B. subpinnata*, e, diferentemente da hipótese proposta para este estudo, as populações amostradas no domínio do cerrado apresentaram comportamento similar às populações amostradas no domínio atlântico. A PCA evidenciou que os fatores meteorológicos analisados foram capazes de definir uma clara separação das amostras coletadas durante a estação seca das coletadas na estação chuvosa, enfatizando a influência sazonal no estado redox dessa espécie, mas não foi capaz de diferenciar domínios ou áreas de coleta. O estado redox das amostras da estação chuvosa foi influenciado por fatores como temperatura, radiação global, umidade relativa e as maiores precipitações observadas para esse período, mas que parecem depender muito mais da intensidade do intervalo da diferença entre esses valores durante o verão e o inverno, do que das diferenças fitogeográficas entre os domínios nos quais estão inseridas.

Embora as alterações observadas em *B. subpinnata* sejam semelhantes às observadas para angiospermas sob efeito de seca, existe uma diferença entre a fase dominante para estes grupos. Em angiospermas o esporófito é a fase acessada para os estudos de tolerância à dessecação, enquanto para as briófitas é o gametófito, fase dominante para este grupo de plantas. Para alguns autores, a tolerância à dessecação e revivescência foi perdida durante a evolução das plantas terrestres, sendo mantidas nos grupos menos complexos, como algas, líquens e briófitas e sendo observado esse mecanismo apenas em tecidos reprodutivos de grupos mais complexos (Oliver et al., 2000). Uma vez que é sugerido por Oliver et al. (2000) que a tolerância à dessecação estava primitivamente presente em briófitas, os mecanismos de tolerância à dessecação de sementes e pólen são, muito provavelmente, mais semelhantes aos apresentados por briófitas do que aos apresentados por esporófitos de angiospermas tolerantes à dessecação.

6. CONCLUSÕES

Brittonodoxa subpinnata de ocorrência natural em áreas dos domínios fitogeográficos atlântico e do cerrado mostrou variação no estado redox em resposta às variações sazonais, ou seja, o sistema antioxidante variou em atividade de acordo com a estação do ano, mas não se mostrou diferente quando comparados os domínios fitogeográficos ou as áreas de coleta.

As condições meteorológicas do período seco, independente das regiões de coleta, parecem ser mais severas, uma vez que os antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos mostraram maior atividade durante esse período e foram eficientes em manter os níveis de ERO e de MDA.

No período seco, as enzimas APX e GR apresentaram maior variação de atividade quando comparados os períodos de coleta, para esse musgo, a proteção antioxidante parece depender principalmente dessas enzimas. No período chuvoso, a enzima SOD mostrou sua maior atividade, como uma provável resposta aos maiores valores de temperatura e radiação solar global observados para esse período.

Os níveis semelhantes de H_2O_2 e MDA observados entre os dois períodos de coleta sugerem que o sistema antioxidante foi eficiente para o não acúmulo de ERO, encadeamento de peroxidação lipídica e instauração de estresse oxidativo durante o período seco e mais frio.

Estudos sobre a resposta às variações sazonais do sistema de defesa antioxidante de briófitas oferecem um importante significado teórico para revelar o mecanismo de resistência à fatores estressantes, como a seca, temperatura e luminosidade, especialmente pelo fato de que a maioria das espécies de briófitas é considerada revivescente. No entanto, a maioria dos estudos envolvendo plantas tolerantes à dessecação utilizou angiospermas como modelo experimental, enquanto espécies poiquiloídricas foram pouco estudadas, relevando a importância de novos estudos utilizando plantas terrestres basais como modelo.

7. REFERÊNCIAS

- Ab'Sáber, A. N. (1983). O domínio dos cerrados: introdução ao conhecimento. *Revista do Serviço Público*, Brasília, 111(4), 41-55.
- Ab'Saber, A.N. (1977). Os domínios morfoclimáticos da América do Sul. *Geomorfologia*, Universidade de São Paulo, 52, 1-22.
- Aguiar-Silva, C., Brandão, S. E., Domingos, M. & Bulbovas, P. (2016). Antioxidant responses of Atlantic Forest native tree species as indicators of increasing tolerance to oxidative stress when they are exposed to air pollutants and seasonal tropical climate. *Ecological Indicators*, 63, 154–164. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.11.060>
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment*, 24(12), 1337–1344. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x>
- Alscher, R. G. & Hess, J. L. (1993). Antioxidants in higher plants. In *Antioxidants in Higher Plants*. Boca Raton: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315149899>
- Alscher, R. G., Erturk, N. & Heath, L. S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53(372), 1331–1341.
- Anjos, L. J. S. & de Toledo, P. M. (2018). Measuring resilience and assessing vulnerability of terrestrial ecosystems to climate change in South America. *PLoS ONE*, 13(3), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194654>
- Aranha, B. A. (2014). Caracterização da vegetação e flora do Parque Natural Municipal Nascentes de Paranapiacaba, Santo André-SP: Subsídios para o Plano de Manejo. *Revista Instituto Florestal*, 51, 45–119.
- Arruda, D. M., Fernandes-Filho, E. I., Solar, R. R. C. & Schaefer, C. E. G. R. (2017). Combining climatic and soil properties better predicts covers of Brazilian biomes. *Science of Nature*, 104, 32. <https://doi.org/10.1007/s00114-017-1456-6>
- Asada, K. (1984). Chloroplasts: Formation of Active Oxygen and Its Scavenging. *Methods in Enzymology*, 105, 422–429. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05059-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05059-X)
- Asada, K. (1992). Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. In *Physiologia Plantarum*, 85, 235–241. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb04728.x>
- Asada, K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 601–639. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.601>

- Azevedo, R. A., Alas, R. M., Smith, R. J. & Lea, P. J. (1998). Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum*, 104(2),280-292. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x>
- Bansal, P. & Srivastava, A. (2017). Desiccation-related responses of antioxidative enzymes and photosynthetic pigments in *Brachythecium procumbens* (Mitt.) A. Jaeger. *Acta Physiologiae Plantarum*. 39: 7. 154. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2454-1>
- Barbosa, M. R., Silva, M. M. de A., Willadino, L., Ulisses, C. & Camara, T. R. (2014). Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, 44(3), 453–460.
- Bartwal, A. & Arora, S. (2017). Drought stress-induced enzyme activity and mdar and apx gene expression in tolerant and susceptible genotypes of *Eleusine coracana* (L.). *in Vitro. Cellular and Developmental Biology - Plant*, 53, 41–49. <https://doi.org/10.1007/s11627-016-9787-0>
- Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276–287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Benassi, M., Stark, L. R., Brinda, J. C., McLetchie, D. N., Bonine, M. & Mishler, B. D. (2011). Plant size, sex expression and sexual reproduction along an elevation gradient in a desert moss. *The Bryologist*, 114(2), 277–288. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-114.2.277>
- Bordin, J. (2009). Briófitas. Trabalho de estágio de docência. In *Núcleo de pesquisa em briologia do Instituto de Botânica de São Paulo - IBt/SP*. <https://doi.org/10.7476/9788560035083.0013>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>
- Briófitas in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB128472>>. Acesso em: 11 out. 2021
- Buck, W. R. (1998). Pleurocarpous mosses of the West Indies. *Memoirs of The New York Botanical Garden*, 82, 1-400.
- Bulbovas, P., Rinaldi, M. C. S., Delitti, W. B. C. & Domingos, M. (2005). Variação sazonal em antioxidantes em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). *Revista Brasileira de Botânica*, 28(4), 687–696. <https://doi.org/10.1590/s0100-84042005000400004>
- Burkey, K. O., Neufeld, H. S., Souza, L., Chappelka, A. H., & Davison, A. W. (2006).

- Seasonal profiles of leaf ascorbic acid content and redox state in ozone-sensitive wildflowers. *Environmental Pollution*, 143(3), 427–434.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.12.009>
- Câmara, P. E., & Carvalho-Silva, M. (2020). Sematophyllaceae in *Flora do Brasil 2020*. Disponível em
<<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/BemVindoConsultaPublicaConsultar.do?invalidatePageControlCounter=1&idsFilhosAlgas=%5B2%5D&idsFilhosFungos=%5B1%2C10%2C11%5D&lingua=&grupo=4&familia=null&genero=Brittonodoxa&especie=subpinnat>> Acessado em setembro de 2021.
- Campos, J. de O. & Chaves, H. M. L. (2020). Tendências e Variabilidades nas Séries Históricas de Precipitação Mensal e Anual no Bioma Cerrado no Período 1977-2010. *Revista Brasileira de Meteorologia*, 35(1), 157–169. <https://doi.org/10.1590/0102-7786351019>
- Carvalho-Silva, M., Stech, M., Soares-Silva, L. H., Buck, W. R., Wickett, N. J., Liu, Y. & Câmara, P. E. A. S. (2017). A molecular phylogeny of the Sematophyllaceae s.l. (Hypnales) based on plastid, mitochondrial and nuclear markers, and its taxonomic implications. *Taxon*, 66(4), 811–831. <https://doi.org/10.12705/664.2>
- Casas, C., Brugués, M. & Cros, R. M. (2001). Flora dels briòfits dels Països Catalans. I. molses. *Institut d'Estudis Catalans*, 278 p.
- CBH-Mogi - Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio Mogi Guaçu. (1999). Diagnóstico da bacia hidrográfica do rio Mogi Guaçu: Relatório Zero.
- Cersósimo, L.F. (1993). Variações espaciais e temporais no estabelecimento de plântulas em trecho de floresta secundária em São Paulo, SP. *Dissertação de mestrado*. Universidade de São Paulo, 195 p.
- Climate-Data.org. (2021). *Dados climáticos para cidades mundiais - Climate-Data.org*. Disponível em < <https://pt.climate-data.org/>> Acessado em setembro de 2021.
- Close, D. C. & McArthur, C. (2002). Rethinking the Role of Many Plant Phenolics : Protection from Photodamage Not Herbivores ? *Oikos*, 99, 166–172.
- Cook, M. E. & Graham, L. E. (1998). Structural Similarities between Surface Layers of Selected Charophycean Algae and Bryophytes and the Cuticles of Vascular Plants. *International Journal of Plant Sciences*, 159(5), 780–787.
- Costa, D. P., Almeida, J. S. S., Dias, N. S., Gradstein, S. R. & Churchill, S. P. (2010). *Manual de Briologia*. Editora Interciências, Rio de Janeiro, 207 p.
- Coutinho, L. M. (2006). O conceito de bioma: Biomas brasileiros. *Acta Botânica Brasileira*, 20, 13–23.

- Cox, C. J. (2018). Land Plant Molecular Phylogenetics: A Review with Comments on Evaluating Incongruence Among Phylogenies. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 37(2–3), 113–127. <https://doi.org/10.1080/07352689.2018.1482443>
- Crandall-Stotler, B. (1986). Morphogenesis, developmental anatomy and bryophyte phylogenetics: Contraindications of monophyly. *Journal of Bryology*, 14(1), 1–23. <https://doi.org/10.1179/jbr.1986.14.1.1>
- Crandall-Stotler, B., Stotler, R. E. & Long, D. G. (2009). Morphology and classification of the Marchantiophyta. In: In: Goffinet B. & Shaw A.J. (Orgs.). *Bryophyte biology* (2° ed, p. 1-54). Cambridge University Press.
- Culotta, V. C. (2001). Superoxide Dismutase, Oxidative Stress, and Cell Metabolism. *Current Topics in Cellular Regulation*, 36, 117–132.
- D’Autr aux, B. & Toledano, M. B. (2007). ROS as signalling molecules: Mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8, 813–824. <https://doi.org/10.1038/nrm2256>
- Dafr e-Martinelli, M., Nakazato, R. K., Dias, A. P. L., Rinaldi, M. C. S. & Domingos, M. (2011). The redox state of *Ipomoea nil* “Scarlet O’Hara” growing under ozone in a subtropical area. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(6), 1645–1652. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.06.001>
- Dahlberg, C. J., Ehrl en, J., & Hylander, K. (2014). Performance of forest bryophytes with different geographical distributions transplanted across a topographically heterogeneous landscape. *PLoS ONE*, 9(11), e112943. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112943>
- Delgadillo, M. C. & C ardenas, S.  . (1990). *Manual de briofitas* (2° ed.). México: Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.
- Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P. & Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–44. <https://doi.org/10.1155/2016/1245049>
- Dietz, K. J. & Scheibe, R. (2004). Redox regulation: an introduction. *Physiologia Plantarum*, 120, 1–3. <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.0277.x>
- Dołegowska, S., Migaszewski, Z. M., & Michalik, A. (2013). *Hylocomium splendens* (Hedw.) B.S.G. and *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. as trace element bioindicators: Statistical comparison of bioaccumulative properties. *Journal of Environmental Sciences*, 25(2), 340–347. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60040-0](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60040-0)
- Durigan, G., Nishikawa, D. L. L., Rocha, E., da Silveira,  . R., Pulitano, F. M., Regalado, L. B., Carvalhaes, M. A., Paranaguá, P. A., & Ranieri, V. E. L. (2002). Caracterização de

- dois estratos da vegetação em uma área de cerrado no município de Brotas, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 16(3), 251–262. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062002000300002>
- ECPB - Exposição Cerrado Patrimônio dos Brasileiro. (2021). Clima. Disponível em <<http://cerrado.museuvirtual.unb.br/index.php/meios/clima> > Acessado em setembro de 2021.
- Elstner, E. F. & Osswald, W. (1994). Mechanisms of oxygen activation during plant stress. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. Biological Sciences*, 102, 131–154. <https://doi.org/10.1017/s0269727000014068>
- EMA-IAG. (2021). Estações do ano - Estação Meteorológica do IAG/USP - Seção Técnica de Serviços Meteorológicos - IAG/USP. Disponível em <<http://www.estacao.iag.usp.br/seasons/index.php>> Acessado em setembro de 2021.
- Esposito, M. P. (2013). Capacidade de oxi-redução de plantas jovens de *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn.: resposta indicadora de mudanças na qualidade do ar no entorno de uma refinaria de petróleo na região de Cubatão, SP. *Tese de Doutorado*. Instituto de Botânica de São Paulo, 150 p.
- Faize, M., Burgos, L., Faize, L., Piqueras, A., Nicolas, E., Barba-Espin, G., Clemente-Moreno, M. J., Alcobendas, R., Artlip, T. & Hernandez, J. A. (2011). Involvement of cytosolic ascorbate peroxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase for improved tolerance against drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 62(8), 2599–2613. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq432>
- FAPESP. (2021). O novo mapa de relevo paulista: *Revista Pesquisa Fapesp*. Disponível em <<https://revistapesquisa.fapesp.br/o-novo-mapa-de-relevo-paulista/> > Acessado em setembro de 2021.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Cheema, Z. A., Cheema, M. A. & Khaliq, A. (2008). Physiological role of exogenously applied glycinebetaine to improve drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194, 325–333. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2008.00323.x>
- Favaretto, V. F., Martinez, C. A., Soriani, H. H. & Furriel, R. P. M. (2011). Differential responses of antioxidant enzymes in pioneer and late-successional tropical tree species grown under sun and shade conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 70, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.06.003>
- Ferreira, I. C. F. R. & Abreu, R. M. V. (2007). Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. *Bioanálise*, IV(2), 32–39.
- Ferreira, M. & Domingos, M. (2012). Seasonal characterization of antioxidant responses in plants of *Ipomoea nil* cv. Scarlet O'Hara. *Brazilian Journal of Biology*, 72(4), 831–

837. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842012000500008>

- Fini, A., Guidi, L., Ferrini, F., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Biricolti, S., Pollastri, S., Calamai, L. & Tattini, M. (2012). Drought stress has contrasting effects on antioxidant enzymes activity and phenylpropanoid biosynthesis in *Fraxinus ornus* leaves: An excess light stress affair? *Journal of Plant Physiology*, 169(10), 929–939. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.02.014>
- Forzza, R. C., Baumgratz, J. F., Bicudo, C. E., Canhos, D. A. L., Carvalho-Junior, A. A., Costa, A., Costa, D. P., Hopkins, M., Leitman, P. M., Lohmann, L. G., Lughadha, E. N., Maia, L. C., Martinelli, G., Menezes, M., Morim, M. P., Coelho, M. A. N., Peixoto, A. L., Pirani, J. R., Prado, J., ... Zappi, D. (2010). Síntese da diversidade brasileira. In R. C. Forzza, P. M. Leitman, A. Costa, A. A. Carvalho-Junior, A. L. Peixoto, B. M. T. Walter, C. E. Bicudo, D. Zappi, D. P. da Costa, E. Lleras, G. Martinelli, H. C. de Lima, J. Prado, J. R. Stehmann, J. F. Baumgratz, J. R. Pirani, L. S. Sylvestre, L. C. Maia, L. G. Lohmann, ... V. C. Souza (Orgs.), *Catálogo de plantas e fungos do Brasil - Vol. 1* (1^o ed, p. 19–42). JBRJ. <https://doi.org/10.7476/9788560035083.0004>
- Foyer, C. H., Lelandais, M. & Kunert, K. J. (1994). Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 92, 696–717. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1994.920422.x>
- Foyer, C. H. & Halliwell, B. (1976). The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133, 21–25. <https://doi.org/10.1007/BF00386001>
- Foyer, C. H. & Noctor, G. (2005). Redox homeostasis and antioxidant signaling: A metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*, 17, 1866–1875. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.033589>
- Frahm, J. P. (2003). Manual of tropical bryology. *Tropical Bryology*, 23, 196 p.
- Fridovich, I. (1995). Superoxide Radical and Superoxide Dismutase. *Annual Review of Biochemistry*, 65, 97–112.
- Garg, N. & Manchanda, G. (2009). ROS generation in plants: Boon or bane? *Plant Biosystems*, 143(1), 81–96. <https://doi.org/10.1080/11263500802633626>
- Gecheva, G., & Yurukova, L. (2013). Water pollutant monitoring with aquatic bryophytes: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 12(1), 49–61. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0429-z>
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

- Goffinet, B., Buck, W.R. & Shaw, A.J. (2009). Morphology, anatomy, and classification of the Bryophyta. In: Goffinet B. & Shaw A.J. (Orgs.). *Bryophyte biology* (2° ed, p. 55-138). Cambridge University Press.
- Gradstein, S. R., Churchill, S. P. & Salazar-Allen, N. (2001). Guide to the Bryophytes of Tropical America. *Memoirs of the New Botanical Garden*, 86, 1-577.
- Gratão, P. L., Prasad, M. N. V., Cardoso, P. F., Lea, P. J. & Azevedo, R. A. (2005). Phytoremediation: Green technology for the clean up of toxic metals in the environment. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 53–64. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100005>
- Gsussen, H. (1954). Theories et classification des climats et microclimats. In: CONGRES INTERNATIONALE DE BOTANIQUE, Paris, 1954. Section 7 et 3, p. 125-130.
- Gutjahr, M. R. & Tavares, R. (2009). Clima. In: Lopes, M. I. M. S.; Kirizawa, M.; Melo, M. M. R. F. (Org.). *Patrimônio da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba: a antiga Estação Biológica do Alto da Serra*. São Paulo: Instituto de Botânica, p. 39-51.
- Hajiboland, R. (2014). Reactive Oxygen Species and Photosynthesis. In S. P. College, S. Jammu, & I. Kashmir (Orgs.), *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling* (Parvaiz Ah, p. 1–63). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00001-0>
- Hallingbäck, T. & Hodgetts, N. (2000). *Mosses, Liverworts, and Hornworts. Status Survey and Conservation Action Plan for Bryophytes*. IUCN/SSC Bryophyte Specialist Group. IUCN Publications Services Unit, 106 p.
- Halliwell, B. (2009). The wanderings of a free radical. , 46(5), 531–542. [doi:10.1016/j.freeradbiomed.2008.11.008](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.11.008)
- Halliwell, B & Gutteridge, Jo. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. (5° ed) Oxford University Press, 905 p.
- Harmens, H., Norris, D. A., Sharps, K., Mills, G., Alber, R., Aleksiyenak, Y., Blum, O., Cucu-Man, S. M., Dam, M., De Temmerman, L., Ene, A., Fernández, J. A., Martínez-Abaigar, J., Frontasyeva, M., Godzik, B., Jeran, Z., Lazo, P., Leblond, S., Liiv, S., ... Zechmeister, H. G. (2015). Heavy metal and nitrogen concentrations in mosses are declining across Europe whilst some “hotspots” remain in 2010. *Environmental Pollution*, 200, 93–104. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.036>
- Harris, B. J., Harrison, C. J., Hetherington, A. M. & Williams, T. A. (2020). Phylogenomic Evidence for the Monophyly of Bryophytes and the Reductive Evolution of Stomata. *Current Biology*, 30, 2001–2012. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.03.048>

- Hermes-Lima, M. (2005). Oxidative Stress and Medical Sciences. In K. B. Storey (Org.), *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation* (p. 369–382). Hoboken. <https://doi.org/10.1002/047167558x.ch13>
- Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F., & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604–611. <https://doi.org/10.1007/s004250050524>
- IBGE. (2012). *Manual Técnico da Vegetação Brasileira*. Disponível em <<http://www.bcb.gov.br/pec/GCI/PORT/readout/readout.asp>> Acessado em março de 2021.
- IBOT. (2021). Paranapiacaba – Informações Gerais: Instituto de Botânica. Disponível em <<https://www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/institutodebotanica/paranapiacaba/informacoes-gerais/>> Acessado em setembro de 2021.
- Ighodaro, O. M. & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- INPE - Centro de Previsão do Tempo e Estudos Climáticos – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (2021). Disponível em <<https://www.cptec.inpe.br/sp/sao-paulo>> Acessado em março de 2021.
- Jahns, P. & Holzwarth, A. R. (2012). The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1817, 182–193. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.012>
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R. & Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(1), 100–105.
- Karuppanapandian, T., Moon, J. C., Kim, C., Manoharan, K. & Kim, W. (2011). Reactive oxygen species in plants: Their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6), 709–725.
- Kim, Y. H. & Kwak, S. S. (2010). The Role of Antioxidant Enzymes during Leaf Development. In S. D. Gupta (Org.), *Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants* (p. 129–150). Science Publishers.
- Knox, J. P. & Dodge, A. D. (1985). Singlet oxygen and plants. *Phytochemistry*, 24(5), 889–896. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)83147-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)83147-7)

- Kraus, T. E., Evans, R. C., Fletcher, R. A. & Pauls, K. P. (1995). Paclobutrazol enhances tolerance to increased levels of UV-B radiation in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Canadian Journal of Botany*, 73(6), 797–806. <https://doi.org/10.1139/b95-088>
- Kutchan, T. M., Gershenzon, J., Moller, B. L., & Gang, D. R. (2015). Natural Products. In B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. L. Jones (Eds.), *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (2^o ed, p. 1132–1206). Wiley Blackwell.
- La Farge-England, C. (1996). Growth Form , Branching Pattern , and Perichaetial Position in Mosses : Cladocarp and Pleurocarpy Redefined. *American Bryological and Lichenological Society Stable*, 99(2), 170–186. <https://doi.org/10.2307/3244546>
- Lascano, H. R., Gómez, L. D., Casano, L. M., & Trippi, V. S. (1998). Changes in glutathione reductase activity and protein content in wheat leaves and chloroplasts exposed to photooxidative stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 36(4), 321–329. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(98\)80046-6](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(98)80046-6)
- Lemos-Michael, E. (2001). Hepáticas Epífitas sobre o pinheiro-brasileiro no Rio Grande do Sul. *Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, Porto Alegre, 191 p.
- Li, F. W., Nishiyama, T., Waller, M., Frangedakis, E., Keller, J., Li, Z., Fernandez-Pozo, N., Barker, M. S., Bennett, T., Blázquez, M. A., Cheng, S., Cuming, A. C., de Vries, J., de Vries, S., Delaux, P. M., Diop, I. S., Harrison, C. J., Hauser, D., Hernández-García, J., ... Szövényi, P. (2020). Anthoceros genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts. *Nature Plants*, 6(3), 259–272. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0618-2>
- Ligrone, R., Duckett, J. G. & Renzaglia, K. S. (2000). Conducting tissues and phyletic relationships of bryophytes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355, 795–813. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0616>
- Linde, A. M., Eklund, D. M., Cronberg, N., Bowman, J. L. & Lagercrantz, U. (2021). Rates and patterns of molecular evolution in bryophyte genomes, with focus on complex thalloid liverworts, Marchantiopsida. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 165, 107295. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107295>
- Lopes, A. S. (1984). Solos sob cerrado: características, propriedades, manejo. (2^o ed.). Piracicaba, POTAFOS, 162 p.
- López, A., Montaña, A., Garcia, P. & Garrido, A. (2005). Note: Quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in fresh olives and in commercial presentations of table olives. *Food Science and Technology International*, 11(3), 199–204. <https://doi.org/10.1177/1082013205054421>
- Madhusudhan, R., Ishikawa, T., Sawa, Y., Shigeoka, S. & Shibata, H. (2003). Characterization of an ascorbate peroxidase in plastids of tobacco BY-2 cells.

- Physiologia Plantarum*, 117(4), 550–557. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00066.x>
- Martin, C. E. & Churchill, S. P. (1982). Chlorophyll concentrations and a/b ratios in mosses collected from exposed and shaded habitats in Kansas. *Journal of Bryology*, 12, 297–304. <https://doi.org/10.1179/jbr.1982.12.2.297>
- Mayaba, N. & Beckett, R. P. (2003). Increased activities of superoxide dismutase and catalase are not the mechanism of desiccation tolerance induced by hardening in the moss *Atrichum androgynum*. *Journal of Bryology*, 25, 281–286.
- McKersie, B. D. & Leshem, Y. Y. (1994). *Stress and Stress Coping in Cultivated Plants*. Academic Publishers: Dordrecht, 256 p.
- Meyen, S. V. (1987). *Fundamentals of Palaeobotany*. Chapman and Hall, 196 p.
- Mhamdi, A., Noctor, G. & Baker, A. (2012). Plant catalases: Peroxisomal redox guardians. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 525, 181–194. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.04.015>
- Michael, P. I. & Krishnaswamy, M. (2011). The effect of zinc stress combined with high irradiance stress on membrane damage and antioxidative response in bean seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 74(1), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.05.016>
- Mishler, B. D. & Churchill, S. P. (1984). A cladistic approach to the phylogeny of the bryophytes. *Brittonia*, 36(4), 406–424.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Mittler, R. & Zilinskas, B. a. (1994). Drought Stress and Following Recovery From Drought. *The Plant Journal*, 5(3), 397–405.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. & Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9(10), 490–498. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., Gollery, M., Shulaev, V. & Van Breusegem, F. (2011). ROS signaling: The new wave? *Trends in Plant Science*, 16(6), 300–309. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.007>
- Møller, I. M., Jensen, P. E. & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 459–481. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.58.032806.103946>

- Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y. & Allakhverdiev, S. I. (2007). Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1767(6), 414–421. <https://doi.org/10.1016/J.BBABIO.2006.11.019>
- Murshed, R., Lopez-Lauri, F. & Sallanon, H. (2008). Microplate quantification of enzymes of the plant ascorbate-glutathione cycle. *Analytical Biochemistry*, 383, 320–322. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.07.020>
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Fonseca, G. A. B. & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–858. <https://doi.org/10.1038/468895a>
- Neill, S., Desikan, R. & Hancock, J. (2002). Hydrogen peroxide signalling. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 388–395. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00282-0](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00282-0)
- Niklas, K. J., Cobb, E. D. & Matas, A. J. (2017). The evolution of hydrophobic cell wall biopolymers: from algae to angiosperms. *Journal of experimental botany*, 68(19), 5261–5269. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx215>
- Nishiyama, T., Wolf, P. G., Kugita, M., Sinclair, R. B., Sugita, M., Sugiura, C., Wakasugi, T., Yamada, K., Yoshinaga, K., Yamaguchi, K., Ueda, K. & Hasebe, M. (2004). Chloroplast phylogeny indicates that bryophytes are monophyletic. *Molecular Biology and Evolution*, 21(10), 1813–1819. <https://doi.org/10.1093/molbev/msh203>
- Noctor, G., Mhamdi, A. & Foyer, C. H. (2016). Oxidative stress and antioxidative systems: Recipes for successful data collection and interpretation. *Plant Cell and Environment*, 39, 1140–1160. <https://doi.org/10.1111/pce.12726>
- Oliveira-Da-Silva, F. R. & Ilkiu-Borges, A. L. (2018). Flora of the canga of the Serra dos Carajás, Pará, Brazil: Sematophyllaceae. *Rodriguesia*, 69(3), 1035–1044. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869309>
- Oliver, M. J. (2009). Biochemical and molecular mechanisms of desiccation tolerance in bryophytes. In B. Goffinet & A. J. Shaw (Orgs.), *Bryophyte Biology* (2^o ed, p. 269–298). Cambridge University Press.
- Oliver, M. J., Tuba, Z. & Mishler, B. D. (2000). The Evolution of Vegetative Desiccation Tolerance in Land Plants. *Plant Ecology*, 151, 85–100. <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1026550808557>
- Oliver, M. J., Velten, J. & Mishler, B. D. (2005). Desiccation tolerance in bryophytes: A reflection of the primitive strategy for plant survival in dehydrating habitats? *Integrative and Comparative Biology*, 45, 788–799. <https://doi.org/10.1093/icb/45.5.788>
- Peralta, D. F. (2009). Polytrichaceae (Polytrichales, Bryophyta) do Brasil. *Tese de Doutorado*.

Instituto de Botânica de São Paulo. 176 p.

- Pescott, O. L., Simkin, J. M., August, T. A., Randle, Z., Dore, A. J. & Botham, M. S. (2015). Air pollution and its effects on lichens, bryophytes, and lichen-feeding Lepidoptera: Review and evidence from biological records. *Biological Journal of the Linnean Society*, 115(3), 611–635. <https://doi.org/10.1111/bij.12541>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pinheiro, C. & Chaves, M. M. (2011). Photosynthesis and drought: Can we make metabolic connections from available data? *Journal of Experimental Botany*, 62(3), 869–882. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq340>
- PMB - Prefeitura Municipal de Brotas. (2021). Aspectos Geofísicos. Disponível em <<https://www.brotas.sp.gov.br/geofisica>> Acessado em setembro de 2021.
- Porembski, S., Martinelli, G., Ohlemüller, R. & Barthlott, W. (1998). Diversity and ecology of saxicolous vegetation mats on inselbergs in the Brazilian Atlantic rainforest. *Diversity and Distributions*, 4(3), 107–119. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.1998.00013.x>
- Proctor, M. C. F. (2000). The bryophyte paradox: Tolerance of desiccation, evasion of drought. *Plant Ecology*, 151, 41–49. <https://doi.org/10.1023/A:1026517920852>
- Puttick, M. N., Morris, J. L., Williams, T. A., Cox, C. J., Edwards, D., Kenrick, P., Pressel, S., Wellman, C. H., Schneider, H., Pisani, D. & Donoghue, P. C. J. (2018). The Interrelationships of Land Plants and the Nature of the Ancestral Embryophyte. *Current Biology*, 28(5), 733–745. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.01.063>
- Rao, A. S. V. C. & Reddy, A. R. (2008). Glutathione Reductase: A putative Redox Regulatory System in Plant Cells. In N. A. Khan, S. Singh, & S. Umar (Orgs.), *Sulfur Assimilation and Abiotic Stress in Plants* (p. 111–147). Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-76326-0>
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., Jutur, P. P. & Sumithra, K. (2004). Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 52(1), 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.01.002>
- Renault, H., Alber, A., Horst, N. A., Basilio Lopes, A., Fich, E. A., Kriegshäuser, L., Wiedemann, G., Ullmann, P., Herrgott, L., Erhardt, M., Pineau, E., Ehrling, J., Schmitt, M., Rose, J. K. C., Reski, R. & Werck-Reichhart, D. (2017). A phenol-enriched cuticle is ancestral to lignin evolution in land plants. *Nature Communications*, 8, 2041–1723. <https://doi.org/10.1038/ncomms14713>

- Renzaglia, K. S., Villarreal J. C. & Duff, R. J. (2009). New insights into morphology, anatomy, and systematics of hornworts. In: Goffinet B. & Shaw A.J. (Orgs.). *Bryophyte biology* (2° ed, p. 139-172). Cambridge University Press.
- Rodrigues, R.R. & Leitão Filho, H.F. (2001). Matas ciliares: conservação e recuperação. (2° ed.) *Edusp*, São Paulo, 320 p.
- Rossi, L. (1994). A flora arbóreo-arbustiva da mata da Reserva da Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira” (São Paulo, Brasil). *Dissertação de Mestrado*. Universidade de São Paulo, 270 p.
- Ruchika, K.; Csintalan, Z; Veres, K; Péli, E. R. (2021). Seasonal variation of antioxidant enzymatic responses in the desiccation-tolerant bryophyte *Syntrichia ruralis* (Hedw.) Web. & Mohr. *Columella, Journal of Agricultural and Environmental Sciences*. Vol. 8. No. 1. DOI: 10.18380/SZIE.COLUM.2021.8.1.37
- Sabovljević, M., Vujičić, M. & Sabovljević, A. (2014). Plant growth regulators in bryophytes. *Botanica Serbica*, 38(1), 99–108.
- Santarém, E. R. (2017). Metabólitos secundários. In L. Taiz, E. Zeiger, I. M. Moller, & A. Murphy (Orgs.), *Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal* (6° ed, p. 1689–1699). Artmed.
- Scandalios, J. G. (1993). Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology*, 101, 7–12. <https://doi.org/10.1104/pp.101.1.7>
- Scarano, F. R. (2002). Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic rainforest. *Annals of Botany*, 90, 517–524. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf189>
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. & Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1–26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Shaw, A. J., Szövényi, P., & Shaw, B. (2011). Bryophyte diversity and evolution: Windows into the early evolution of land plants. *American Journal of Botany*, 98(3), 352–369. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000316>
- Shaw, J., & Renzaglia, K. (2004). Phylogeny and diversification of bryophytes. *American Journal of Botany*, 91(10), 1557–1581.
- Shepherd, G. J. (2000). Avaliação do estado do conhecimento da diversidade biológica do Brasil: Plantas terrestres (versão preliminar). Disponível em <http://www.mma.gov.br/estruturas/chm/_arquivos/plantas1.pdf> Acessado em setembro de 2021.
- Silva, C. A. (2014). Variações nas atividades enzimáticas antioxidantes em espécies nativas de Floresta Estacional Semidecidual na Região Metropolitana de Campinas, SP.

Dissertação de Mestrado. Instituto de Botânica de São Paulo. 71 p.

- Sparovek, G., Van Lier, Q. D. J. & Dourado Neto, D. (2007). Computer assisted Koeppen climate classification: a case study for Brazil. *International Journal of Climatology*, 27, 257–266. <https://doi.org/10.1002/joc>
- Tang, H., Hu, Y. Y., Yu, W. W., Song, L. L. & Wu, J. S. (2015). Growth, photosynthetic and physiological responses of *Torreya grandis* seedlings to varied light environments. *Trees - Structure and Function*, 29(4), 1011–1022. <https://doi.org/10.1007/s00468-015-1180-9>
- Tao, Y. & Zhang, Y. M. (2012). Effects of leaf hair points of a desert moss on water retention and dew formation: Implications for desiccation tolerance. *Journal of Plant Research*, 125, 351–360. <https://doi.org/10.1007/s10265-011-0449-3>
- Tausz, M., Landmesser, H., Posch, S., Monschein, S., Grill, D. & Wienhaus, O. (2007). Multivariate patterns of antioxidative and photoprotective defence compounds in spruce needles at two Central European Forest Sites of different elevation. *Environmental Monitoring and Assessment*, 128, 75–82. <https://doi.org/10.1007/s10661-006-9416-1>
- The Plant List. (2021). *The bryophytes: Mosses and liverworts*. Disponível em <<http://www.theplantlist.org/1.1/browse/B/>> Acessado em setembro de 2021.
- Vanderpoorten, A. & Goffinet, B. (2009). Introduction to bryophytes. *Introduction to Bryophytes*, 1–303. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511626838>
- Veloso, H. P., Rangel Filho, A. L. R. & Lima, J. C. A. (1991). Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. *IBGE*. Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, Rio de Janeiro. 124 p.
- Vranová, E., Atichartpongkul, S., Villarroel, R., Van Montagu, M., Inzé, D. & Van Camp, W. (2002). Comprehensive analysis of gene expression in *Nicotiana tabacum* leaves acclimated to oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(16), 10870–10875. <https://doi.org/10.1073/pnas.152337999>
- Walter, H. (1986). *Vegetação e Zonas Climáticas: Tratado de Ecologia Global*. EPU, São Paulo, 326p.
- Walter, H. & Lieth, H. (1967). *Klimadiagramm-Weltatlas*. Jena : G. Fischer. Disponível em <https://donum.uliege.be/bitstream/2268.1/7079/1/Walter-Lieth_Klimadiagramm-Weltatlas.pdf> Acessado em outubro de 2021.
- Welch, H. (1948). Mosses and Their Uses. *Proceedings Indiana Academy of Science*, 58, 31–46.

Wu, N., Zhang, Y. M., Downing, A., Aanderud, Z. T., Tao, Y. & Williams, S. (2014). Rapid adjustment of leaf angle explains how the desert moss, *Syntrichia caninervis*, copes with multiple resource limitations during rehydration. *Functional Plant Biology*, 41(2), 168–177. <https://doi.org/10.1071/FP13054>