

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO  
DA NATUREZA**

**Larissa Villani Rippel**

**Potencial bioindicador de samambaias epífitas em ambientes com diferentes  
graus de urbanização**

**Juiz de Fora  
2021**

**Larissa Villani Rippel**

**Potencial bioindicador de samambaias epífitas em ambientes com diferentes graus de urbanização**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do Título de mestra em Biodiversidade e Conservação da Natureza.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Menini Neto

Co-orientadores: Prof. Dr. Júlio César José da Silva

Prof. Dra. Nádia Sílvia Somavilla

Juiz de Fora

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rippel, Larissa Villani.

Potencial bioindicador de samambaias epífitas em ambientes com diferentes graus de urbanização / Larissa Villani Rippel. -- 2021. 60 p. : il.

Orientador: Luiz Menini Neto

Coorientadores: Nádia Sílvia Somavilla, Júlio César José da Silva  
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, 2021.

1. Biomonitoramento. 2. Poluição atmosférica. 3. Anatomia foliar. 4. Metais pesados. I. Menini Neto, Luiz, orient. II. Somavilla, Nádia Sílvia, coorient. III. da Silva, Júlio César José, coorient. IV. Título.

**“Potencial bioindicador de samambaias epífitas em ambientes com diferentes graus de urbanização”**

**Larissa Villani Rippel**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Menini Neto

Coorientadora: Profa. Dra. Nádia Sílvia Somavilla

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do Título de mestrado em Biodiversidade e Conservação da Natureza.

Aprovado em 31 de agosto de 2021.



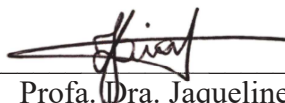
---

Prof. Dr. Luiz Menini Neto  
Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF



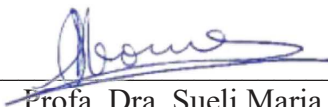
---

Profa. Dra. Nádia Sílvia Somavilla  
Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF



---

Profa. Dra. Jaqueline Dias Pereira  
Universidade Federal de Viçosa - UFV



---

Profa. Dra. Sueli Maria Gomes  
Universidade de Brasília - UnB

Sueli Maria Gomes  
Prof.ª Dept. Botânica  
UnB - Mat 1017250

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo o apoio e, especialmente, à minha irmã, Nathália, pela amizade e incentivo.

Ao meu orientador, Luiz, por toda a contribuição e disposição em ajudar.

Aos meus co-orientadores, Nádía e Júlio, pelo auxílio na construção desse trabalho.

Ao Thiago, pela grande ajuda no processamento das amostras.

À Samyra, pela contribuição não só em campo, mas também com ideias e sugestões.

Ao Daniel, pelo auxílio em campo; e ao Sr. Waltenberg, pela permissão de acesso a sua propriedade.

Aos professores e alunos do Laboratório de Genética da UFJF, por disponibilizarem o espaço para fotografar minhas amostras e, especialmente, à Victória e à Thalita por todo o auxílio.

Ao pessoal do Laboratório de Biologia Celular da UFJF, por também permitirem a utilização de seus equipamentos nas minhas amostras e, especialmente, à Kássia e à Adriana pela ajuda concedida.

À Prof. Andrea, pela disponibilização do fotomicroscópio.

A todos os que contribuíram para as análises químicas desse trabalho, Paola, Luiza, Bernardo e Ricardo.

Aos meus amigos e colegas de mestrado, por compartilharem dos momentos de surtos e dos momentos de distração. Matheus e Nathália, sem vocês esse período teria tido bem menos alegria.

Aos meus amigos da vida, em especial Rafa, Marco e Yann, por todo o carinho, apoio e companheirismo.

Ao Pedro, por todo apoio emocional, por acreditar em mim e pela paciência mesmo nos momentos de surto.

A todos os professores e amigos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

À CAPES, pela bolsa concedida.

## RESUMO

O intenso crescimento da urbanização e industrialização tem causado variadas mudanças nas condições ambientais, afetando diretamente a qualidade do ar. Dentre as substâncias responsáveis pela poluição atmosférica, aquela causada por metais pesados tem se destacado como um problema em ambientes urbanos e rurais. A bioindicação e o biomonitoramento são alternativas favoráveis na avaliação do impacto da poluição atmosférica. Objetivou-se com esse estudo, avaliar o potencial de *Microgramma squamulosa* (Kaulf.) de la Sota e *Pleopeltis astrolepis* (Liebm.) E.Fourn. (Polypodiaceae) como bioindicadoras e biomonitoras da poluição atmosférica por metais pesados, através da análise da concentração desses elementos nas folhas, bem como no substrato e verificar se a poluição promove alterações na anatomia foliar nessas espécies em ambientes com diferentes graus de urbanização. As amostras foram coletadas em quatro pontos, sendo duas áreas verdes urbanas e dois fragmentos de floresta estacional semidecidual em municípios da Região Sudeste do Brasil. As folhas foram analisadas quanto à área foliar específica e parâmetros de superfície foliar e de cortes transversais. Foi utilizado um espectrômetro de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP OES) para realizar às análises dos elementos químicos Ag, Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni e Zn. Em *M. squamulosa* houve um acúmulo maior de Cr nas folhas coletadas no ambiente mais próximo de áreas rurais em relação ao ambiente mais antropizado. Já em *P. astrolepis* foi encontrada diferença significativa apenas no elemento Ca, que teve uma concentração maior no ambiente mais urbanizado. Além disso, foi encontrada também uma correlação negativa entre vários caracteres anatômicos e a concentração de Cu em *P. astrolepis*. Em ambas as espécies houve alterações nos tecidos foliares, podendo-se destacar as alterações estomáticas e de superfície foliar. Porém apenas em *P. astrolepis* foram observadas alterações significativas entre os ambientes com maior e menor intervenção antrópica na área foliar específica, na espessura dos tecidos clorofilianos e na espessura total da folha. Portanto, foram observadas respostas aos ambientes, com possíveis reações não só à poluição atmosférica urbana, mas também à poluição rural.

**Palavras-chave:** Anatomia foliar. Áreas verdes urbanas. Biomonitoramento. Floresta estacional semidecidual. Metais pesados. Poluição atmosférica.

## ABSTRACT

The intense growth of urbanization and industrialization has caused several changes in environmental conditions, directly affecting air quality. Among the substances responsible for air pollution, that caused by heavy metals has emerged as a problem in urban and rural environments. Bioindication and biomonitoring are favorable alternatives for assessing the impact of air pollution. The aim of this study was to evaluate the potential of *Microgramma squamulosa* (Kaulf.) de la Sota and *Pleopeltis astrolepis* (Liebm.) E.Fourn. (Polypodiaceae) as bioindicators and biomonitors of air pollution by heavy metals, by analyzing the concentration of these elements in the leaves, as well as in the substrate, and verifying whether the pollution promotes changes in leaf anatomy in these species in environments with different degrees of urbanization. The samples were collected at four points, being two urban green areas and two fragments of seasonal semideciduous forest in municipalities in the Southeast Region of Brazil. Leaves were analyzed for specific leaf area and leaf surface and cross-section parameters. An inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP OES) was used to analyze the chemical elements Ag, Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni and Zn. In *M. squamulosa* there was a greater accumulation of Cr in the leaves collected in the environment closer to rural areas compared to the more anthropized environment. In *P. astrolepis*, a significant difference was found only in the element Ca, which had a higher concentration in the more urbanized environment. Furthermore, a negative correlation was also found between several anatomical characters and the Cu concentration in *P. astrolepis*. In both species there were alterations in the leaf tissues, highlighting the stomatal and leaf surface alterations. However, only in *P. astrolepis* significant changes were observed between environments with greater and lesser human intervention in the specific leaf area, in the thickness of chlorophyllian tissues and in the total thickness of the leaf. Therefore, responses to the environments were observed, with possible reactions not only to urban air pollution, but also to rural pollution.

**Keywords:** Leaf anatomy. Urban green areas. Biomonitoring. Semideciduous seasonal forest. Heavy metals. Atmospheric pollution.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Localização da área de estudo e dos pontos amostrados.....	19
<b>Figura 2</b> – <i>Microgramma squamulosa</i> .....	21
<b>Figura 3</b> – <i>Pleopeltis astrolepis</i> .....	22
<b>Figura 4</b> – Caracterização da epiderme foliar em vista paradérmica.....	27
<b>Figura 5</b> – Caracterização anatômica da folha em vista transversal .....	28
<b>Figura 6</b> – Comparação das médias dos parâmetros anatômicos foliares .....	29
<b>Figura 7</b> – Correlação entre os parâmetros anatômicos foliares e a concentração dos elementos químicos nos tecidos vegetais .....	51



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Comparação das médias de concentração dos elementos químicos nos tecidos vegetais .....	34
<b>Tabela 2</b> – Comparação das médias dos parâmetros anatômicos foliares.....	50

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>12</b>
2.1 BIOMONITORAMENTO E INTERAÇÃO METAIS/PLANTAS.....	12
2.2 EPIFITISMO E SAMAMBAIAS .....	14
<b>3 HIPÓTESES.....</b>	<b>16</b>
<b>4 OBJETIVO .....</b>	<b>17</b>
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
5.1 ÁREA DE ESTUDO .....	18
5.2 ESPÉCIES ESTUDADAS .....	20
5.3 COLETA .....	23
5.4 ANÁLISE FOLIAR.....	23
5.5 ANÁLISE QUÍMICA .....	24
5.6 ESTATÍSTICA.....	25
<b>6 RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
<b>7 DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>43</b>
<b>APÊNDICE A – Comparação das médias dos parâmetros anatômicos     foliares .....</b>	<b>50</b>
<b>APÊNDICE B – Gráficos de correlação .....</b>	<b>51</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A poluição pode ser considerada um dos agentes causadores de alterações na biodiversidade (Markert *et al.*, 2003). O aumento das áreas urbanas e industriais em substituição ao ambiente natural causa inúmeras mudanças nas condições ambientais, reduzindo a qualidade do ar (Uttara *et al.*, 2012). A liberação de novas substâncias no ambiente está diretamente relacionada à influência antrópica, sendo algumas dessas substâncias perigosas e liberadas em grande quantidade (Markert *et al.*, 2003). As cidades e centros urbanos são os principais emissores de poluentes do ar devido à alta concentração de atividade humana (Sokhi e Kitwiroon, 2008).

Dentre as substâncias responsáveis pela poluição atmosférica, a poluição por metais pesados tem se destacado como um problema em ambientes urbanos e rurais. As principais fontes deste tipo de poluição estão relacionadas a atividades antropogênicas, como o uso de combustíveis fósseis e o tráfego de veículos, além da atividade industrial (Ghori *et al.*, 2019). De acordo com o estudo de Suvarapu e Baek (2016), a concentração de metais pesados na atmosfera se mostra maior em países em desenvolvimento do que em países desenvolvidos. Nesses países, as áreas industriais são frequentes nas adjacências de residências, aumentando as fontes de poluição nos centros urbanos (Sokhi e Kitwiroon, 2008). Por outro lado, nos ambientes rurais a aplicação de fertilizantes e pesticidas também pode representar uma fonte de metais pesados (Gimeno-García *et al.*, 1996; Campos, 2011).

A preocupação com os metais pesados se deve ao fato de esses poluentes possuírem efeitos tóxicos mesmo em baixas concentrações, sendo prejudiciais tanto para a saúde humana quanto para os ecossistemas (Rascio e Navari-Izzo, 2011; Tchounwou *et al.*, 2012). Essa ameaça se deve principalmente a características dos metais pesados como toxicidade, tendência a bioacumulação e persistência nos ecossistemas (Shahid *et al.*, 2017).

Os metais pesados não são removidos naturalmente do ambiente. Entretanto, alguns destes elementos são móveis, podendo ser transportados e bioacumulados. Plantas bioacumuladoras extraem do substrato e do ambiente metais pesados que podem ou não ser úteis ao seu metabolismo. Acredita-se que o espaço entre a parede celular e a membrana plasmática seja o principal local de acúmulo, evitando que estes elementos passem para o interior da célula. Além disso, a planta também pode

distribuir os metais pesados por vários órgãos, reduzindo sua concentração (Rascio e Navari-Izzo, 2011; Ghori *et al.*, 2019).

A absorção dos metais pesados não ocorre somente pelas raízes, sendo possível também pelos órgãos aéreos, como as folhas. Nas folhas, essa absorção pode ocorrer por deposição de partículas atmosféricas na superfície foliar. Alguns metais, como o Fe (ferro), Cu (cobre), Mn (manganês) e Zn (zinco), podem penetrar nas cutículas e se acumular nos tecidos foliares (Shahid *et al.*, 2017).

O acúmulo desses elementos pode ser influenciado pela morfologia da planta, ou seja, a concentração dos elementos metálicos nas folhas, por exemplo, pode depender dos parâmetros morfológicos e anatômicos foliares (Kardel *et al.*, 2010; Shahid *et al.*, 2017). Ademais, a folha é o órgão da planta que apresenta maior plasticidade, sendo capaz de alterar sua estrutura ao longo do desenvolvimento dos primórdios foliares, adaptando-se a diferentes condições ambientais (Dickison, 2000).

Dessa forma, há a possibilidade de utilizar plantas em projetos de avaliação ambiental, através de análises químicas e morfoanatômicas. A bioindicação e o biomonitoramento são alternativas favoráveis na avaliação do impacto da poluição atmosférica devido ao baixo custo, fácil implementação e por permitir o estudo de amplas áreas com um esforço amostral reduzido (Namieśnik e Wardencki, 2002; Wolterbeek, 2002). Plantas vêm sendo utilizadas, passiva ou ativamente, em pesquisas de biomonitoramento (*e.g.*, Becker *et al.*, 2017; Schreck *et al.*, 2019; Turkyilmaz *et al.*, 2019; Mendoza-Ramos *et al.*, 2021). Além disso, caracteres anatômicos também têm sido utilizados como parâmetro para avaliação ambiental (*e.g.*, Cabrera *et al.*, 2009; Arriaga *et al.*, 2014; Allahnouri *et al.*, 2018).

Nesse contexto, as epífitas representam um grupo em destaque para o biomonitoramento. As epífitas são plantas que vivem sobre outras plantas, os forófitos, utilizando-os apenas como suporte mecânico, sem deles retirar nutrientes (Benzing, 1990). Dessa forma, não apresentam contato com o solo e, conseqüentemente, estão diretamente expostas aos poluentes do ar, inclusive absorvendo-os pelas raízes ou folhas (Dubuisson *et al.*, 2009; Zheng *et al.*, 2021).

Apesar da ampla gama de estudos na literatura sobre biomonitoramento da poluição atmosférica, poucos foram realizados com samambaias, principalmente samambaias epífitas, e com mais de um parâmetro, sendo mais comum a avaliação isolada da concentração dos metais ou dos caracteres anatômicos (*e.g.*, Rocha *et al.*, 2014; Sharma e Uniyal, 2016). Dessa forma, foi realizada uma investigação de

biomonitoramento passivo, combinando a avaliação de efeito e de acúmulo. Esse tipo de abordagem é dificilmente realizado, pois as espécies normalmente utilizadas são encontradas apenas em um tipo de ambiente.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 BIOMONITORAMENTO E INTERAÇÃO METAIS/PLANTAS

A emissão de poluentes devido ao rápido desenvolvimento econômico causou um deterioramento significativo na qualidade da atmosfera, aumentando a concentração de metais pesados no ambiente (Uttara *et al.*, 2012). Dentre os metais, destacam-se o Pb (chumbo), o Cd (cádmio) e o Hg (mercúrio) devido a características como a toxicidade, a capacidade bioacumulativa e a natureza persistente. O Pb é um metal de alta toxicidade e já foi um importante poluidor através dos automóveis, porém a proibição desse elemento na composição da gasolina fez com que as suas concentrações atmosféricas tivessem um forte declínio (Suvarapu e Baek, 2016). Em seu lugar, Ba (bário) e Zn parecem ser marcadores eficazes do tráfego automotivo (Monaci *et al.*, 2000). Há também os metais que podem estar relacionados com a atividade agrícola e utilização de pesticidas e fertilizantes, como Mn, Cr (cromo) e Fe (Bermudez *et al.*, 2009; Sharma e Uniyal, 2016; Defarge *et al.*, 2018).

Alguns metais, como Cu, Mn e Fe, são essenciais ao metabolismo das plantas, porém existem aqueles que não possuem função biológica e mesmo em baixas quantidades podem ser altamente tóxicos, como Cd, Pb e Hg (Nagajyoti *et al.*, 2010). Algumas plantas são resistentes a esses metais, e existem, ainda, as espécies hiperacumuladoras, ou seja, que acumulam quantidades excessivas de metais pesados, sendo que estes metais são translocados para todo o corpo da planta e elas não apresentam sinais de fitotoxicidade (Rascio e Navari-Izzo, 2011).

O dano mais comum causado por metais é a inibição do crescimento (Nagajyoti *et al.*, 2010). Em *Medicago sativa* L. (Fabaceae), a capacidade das sementes germinarem reduziu à medida que as concentrações dos metais Cd, Cr, Zn, Cu e Ni (níquel) aumentaram no meio de cultivo (Aydinalp e Marinova, 2009). Além disso, uma das consequências mais comuns do estresse causado por metais pesados é a produção em excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs), originada por uma redução no oxigênio molecular (Rascio e Navari-Izzo, 2011; Ghori *et al.*, 2019). A estratégia mais comum desenvolvida pelas plantas é evitar o acúmulo excessivo de metais pesados, prevenindo o surgimento de sinais de toxicidade (Hall, 2002). Geralmente, os metais pesados são acumulados nas células radiculares devido ao bloqueio causado nas estrias de Caspary (Ghori *et al.*, 2019).

As plantas também podem produzir metabólitos secundários como resposta ao estresse, sendo os mais importantes os compostos fenólicos (Ghori *et al.*, 2019). O número de idioblastos contendo compostos fenólicos e a quantidade desses compostos aumentaram na endoderme, além de outras alterações anatômicas associadas ao aumento da concentração de Cd na macrófita *Polygonum ferrugineum* Wedd. (Polygonaceae) (Souza *et al.*, 2009). Com foco na poluição atmosférica, as características estomáticas possuem um alto potencial para o biomonitoramento, já que as alterações dessas características em resposta ao ambiente são relevantes para controlar a absorção de poluentes pelas plantas (Gostin, 2009; Kardel *et al.*, 2010; Crispim *et al.*, 2014). Porém, os impactos dos poluentes nos estômatos são muito complexos. O mesmo poluente pode causar diferentes respostas em diferentes espécies ou mesmo em indivíduos de uma única espécie (Robinson *et al.*, 1998).

Mesmo entre as plantas já utilizadas em biomonitoramento, o acúmulo de metais pode ser muito variável entre as espécies, por isso os estudos com mais de uma espécie têm ganhado importância (Reimann *et al.*, 2007; Weerakkody *et al.*, 2018). Os resultados do estudo de Liang *et al.* (2017) com 12 plantas utilizadas em paisagismo indicaram que a concentração de metais pesados nas folhas é afetada significativamente pela urbanização, entretanto as espécies apresentaram diferentes resultados. Assim como no estudo de Turkyilmaz *et al.* (2018a) com plantas paisagísticas, em que a concentração dos metais estudados foi maior em áreas com tráfego intenso de veículos, porém foram observadas diferenças entre as espécies, sendo que cada uma possui potencial para acumular diferentes metais pesados. Isso pode estar relacionado com diferenças nos parâmetros morfológicos e anatômicos das folhas. Há também a abordagem de biomonitoramento integrado, como a empregada por Coccozza *et al.* (2016), em que foram utilizados traços químicos e processos ecofisiológicos de espécies com diferentes formas de vida, líquenes e árvores, além de uma análise temporal e espacial.

Para avaliar o impacto da poluição nos ecossistemas e no ser humano é preciso conhecer qualitativa e quantitativamente o agente causador da poluição. Em consequência disso, a bioindicação pode ser considerada uma ferramenta da biologia da conservação (Markert *et al.*, 2003). Os conceitos de bioindicação e biomonitoramento se diferenciam por estarem relacionados com as análises qualitativas e quantitativas do ambiente, respectivamente (Namieśnik e Wardencki, 2002; Markert *et al.*, 2003). Além disso, pode-se classificar a bioindicação de metais

de acumulação e de efeito, ou seja, organismos que acumulam metais em seus tecidos e organismos que demonstram uma resposta ao poluente. Essa resposta pode ser morfológica, histológica, celular, fisiológica e etc. Porém, uma está relacionada à outra, pois em alguns casos os efeitos só se tornam visíveis quando uma certa concentração da substância acumulada é atingida nos organismos (Markert *et al.*, 2003). Há também a classificação em bioindicação passiva, em que o organismo já ocorre naturalmente naquele ambiente, e bioindicação ativa, em que o organismo é levado ao ambiente a ser testado (Markert, 2007).

Para que um organismo seja selecionado como bioindicador são elencados alguns critérios, como a ampla distribuição, tolerância aos poluentes investigados, facilidade no transporte, entre outros (Namieśnik e Wardencki, 2002). Wolterbeek (2002) também lista como um dos critérios a ocorrência comum dos biomonitores.

Deve-se lembrar que os dados encontrados em amostras biológicas são resultado de uma complexa relação entre o organismo e fatores bióticos e abióticos, ou seja, as informações obtidas não são exatamente um reflexo do ambiente. Além disso, o indivíduo pode estar sujeito a ação de muitos poluentes, sendo difícil identificar qual deles causa a alteração (Markert, 2007).

## 2.2 EPIFITISMO E SAMAMBAIAS

Como já foi brevemente apresentado, as epífitas representam um grupo relevante para o estudo de poluentes aéreos. Diversos trabalhos já demonstraram a capacidade de espécies epifíticas de acumular metais pesados em diferentes concentrações em relação à distância de áreas urbanas e áreas com maior tráfego de veículos (*e.g.*, Bermudez *et al.*, 2009; Marques *et al.*, 2018). Becker *et al.* (2017) observaram que a riqueza e a cobertura epifítica diminuíram à medida que a urbanização aumentou, o que sugere que essas plantas são sensíveis à alteração ambiental causada pela urbanização.

Entretanto, estudos com samambaias epífitas ainda são escassos, havendo um foco maior em samambaias terrícolas. Destaca-se a utilização dessas espécies no biomonitoramento de As (arsênio), como no estudo de Chang *et al.* (2009) em áreas de mineração abandonadas. No trabalho de Campos *et al.* (2018) foram avaliadas as respostas morfológicas e anatômicas de *Pityrogramma calomelanos* (L.) Link (Pteridaceae), espécie hiperacumuladora de As, expostas a esse elemento. Os



resultados indicaram características adaptativas de raízes e folhas para sobreviver em locais com altos níveis de As, como a translocação do elemento entre raiz e folhas e a presença de células margeando as pontas das raízes. Além disso, a alta tolerância dessa espécie pode estar relacionada a alta quantidade de fenóis, o que pode reduzir os danos oxidativos causados pelo estresse.

Alguns estudos com samambaias epífitas indicam um potencial para o biomonitoramento de Hg atmosférico. As folhas de *Lepisorus thunbergianus* (Kaulf.) Ching (Polypodiaceae) se mostraram adequadas para a estimativa dos níveis atmosféricos desse metal (Kono e Tomiyasu, 2009), assim como *Asplenium nidus* L. (Aspleniaceae) (Kono *et al.*, 2012).

### 3 HIPÓTESES

a) A concentração dos elementos químicos nos órgãos vegetais e no substrato é maior nos ambientes com um nível maior de urbanização;

b) Há alterações no desenvolvimento dos tecidos vegetais foliares em relação ao grau de urbanização do local em que os indivíduos vivem.

#### 4 OBJETIVO

Avaliar o potencial de *Microgramma squamulosa* (Kaulf.) de la Sota e *Pleopeltis astrolepis* (Liebm.) E.Fourn. (Polypodiaceae) como bioindicadoras e biomonitoras da poluição atmosférica por metais pesados, através da análise da concentração desses elementos nas folhas, bem como no substrato e verificar se a poluição promove alterações na anatomia foliar nessas espécies em ambientes com diferentes graus de urbanização.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 ÁREA DE ESTUDO

As coletas foram realizadas em quatro pontos distribuídos em áreas verdes urbanas ou florestas em dois municípios, Juiz de Fora e Lima Duarte, no estado de Minas Gerais, Brasil (Figura 1). Em ambos os municípios, os fragmentos florestais estão localizados em uma transição entre área urbana e rural, ou seja, há proximidade com a área mais povoada e com a região rural. Toda a área de estudo está localizada na Zona da Mata mineira e incluída no domínio da Floresta Atlântica.

Em Juiz de Fora, as coletas foram realizadas na praça Presidente Garrastazu Medici (Área verde em Juiz de Fora: AVJF), conhecida popularmente como praça do Bom Pastor, e no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora (Fragmento florestal em Juiz de Fora: FJF), que apresenta um fragmento de floresta estacional semidecidual localizada em perímetro urbano. Já em Lima Duarte, os pontos de coleta foram a praça Juscelino Kubitschek (Área verde em Lima Duarte: AVL D), localizada no centro do município, e em fragmentos de florestas estacionais semidecíduais no distrito de Conceição do Ibitipoca (Fragmento florestal em Lima Duarte: FLD).

Juiz de Fora possui 573.285 habitantes estimados pelo IBGE, sendo que 98,8% vivem em ambiente urbano. Se destaca por ser o principal centro econômico e urbano da Zona da Mata mineira. Além disso, a frota veicular da cidade era de 269.176 em 2018 (IBGE, 2021). O clima é classificado como Cwa, segundo o sistema de classificação de Köppen, ou seja, com verões chuvosos e invernos secos (Martins *et al.*, 2018). A qualidade do ar está comprometida, podendo ser classificada como inadequada ou crítica pela Fundação Estadual do Meio Ambiente (FEAM) em horários de maior tráfego de veículos (Torres e Martins, 2003).

Em Lima Duarte a população estimada é de 16.724 habitantes, com cerca de 76,5% vivendo em ambiente urbano. Em 2018, a frota veicular era de 6.595 na cidade (IBGE, 2021). O clima é classificado como Cwb, segundo o sistema de classificações de Köppen, ou seja, mesotérmico úmido com invernos secos e verões chuvosos e amenos. Em ambos os municípios, a temperatura e a precipitação média anual é de 18,9°C e 1500 mm, respectivamente (Cetec, 1983).

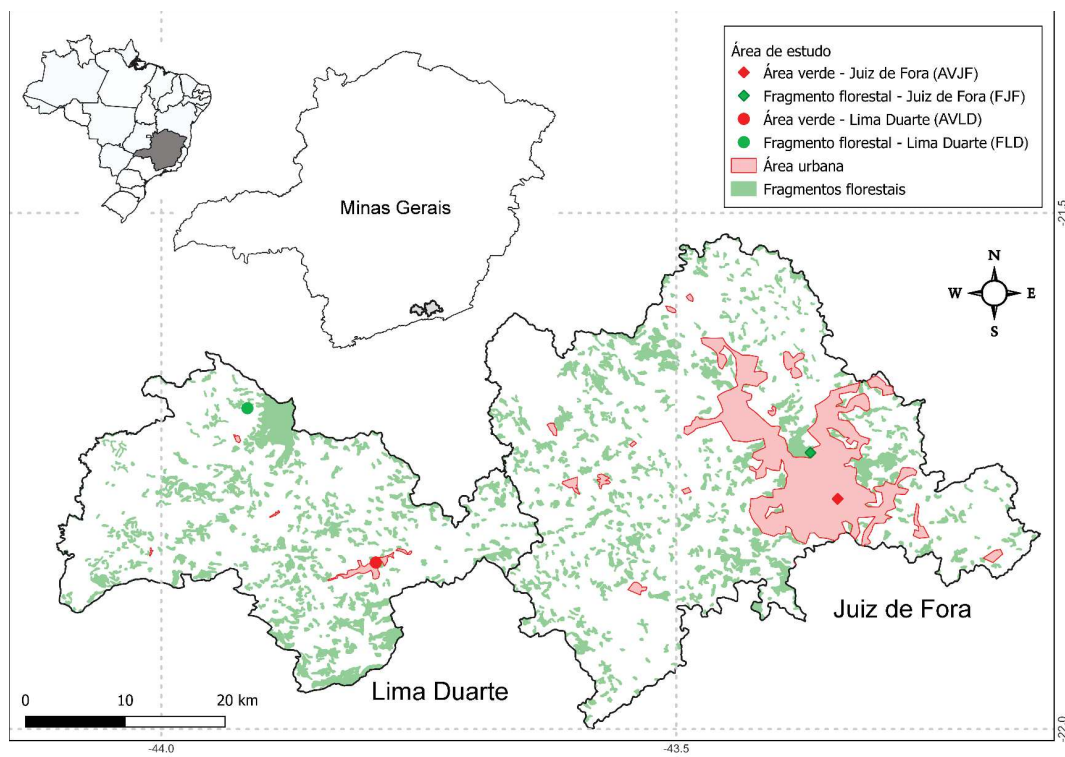


Figura 1 – Localização da área de estudo e dos pontos amostrados.

## 5.2 ESPÉCIES ESTUDADAS

As espécies selecionadas para este estudo, *Microgramma squamulosa* e *Pleopeltis astrolepis*, são samambaias epífitas da família Polypodiaceae, que possui cerca de 65 gêneros e 1600 espécies (PPG I, 2016). *Microgramma squamulosa* possui um rizoma longo-reptante, carnoso e folhas inteiras, dimórficas, com diferença morfológica entre as férteis e inférteis (Almeida, 2020) (Figura 2). A sua distribuição é restrita à América do Sul, estando presente em países como Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai, Peru e Uruguai (Tryon e Stolze, 1993). *Pleopeltis astrolepis* possui rizoma longo-reptante, delgado, folhas inteiras e pecíolo curto (Souza e Salino, 2020) (Figura 3). A distribuição de *P. astrolepis* é neotropical (Mickel e Smith, 2004).

*Microgramma squamulosa* é uma espécie sensível à dessecação, e por isso possui estratégias, como tecidos armazenadores de água e a própria proteção cuticular, que contribuem para minimizar o estresse hídrico (Rocha *et al.*, 2013). Diferentemente disso, *P. astrolepis* possui uma estratégia de tolerância à dessecação, denominada poiquiloidria. A tolerância à dessecação é a capacidade de sobreviver à perda de até cerca de 90% do conteúdo de água dos tecidos, voltando ao estado túrgido logo que a umidade do ar aumente (Mehltreter *et al.*, 2010). Na condição de dessecação completa, as atividades metabólicas ficam abaixo dos níveis mensuráveis, sendo esse estado chamado de anabiose (Rothschild e Mancinelli, 2001).

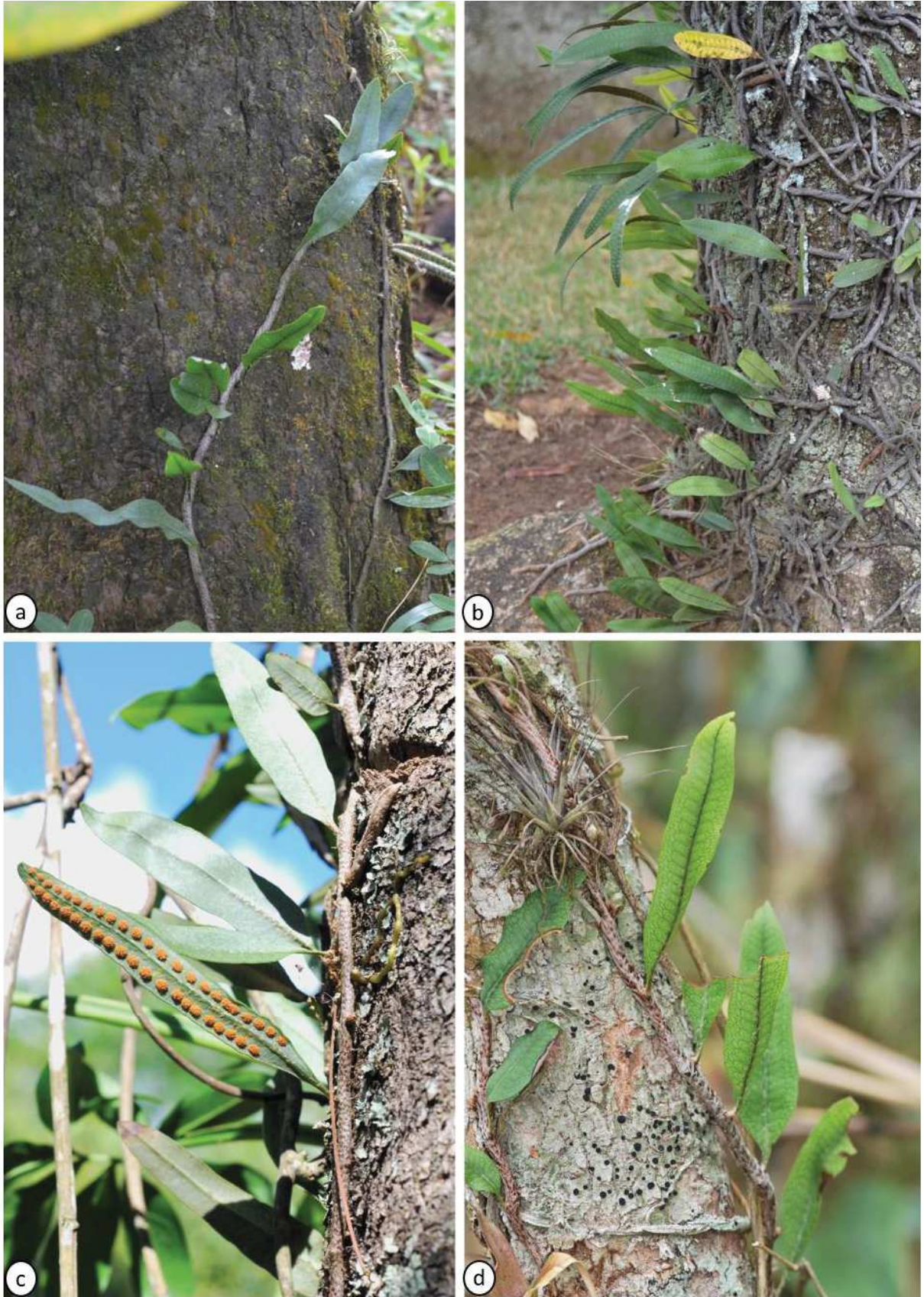
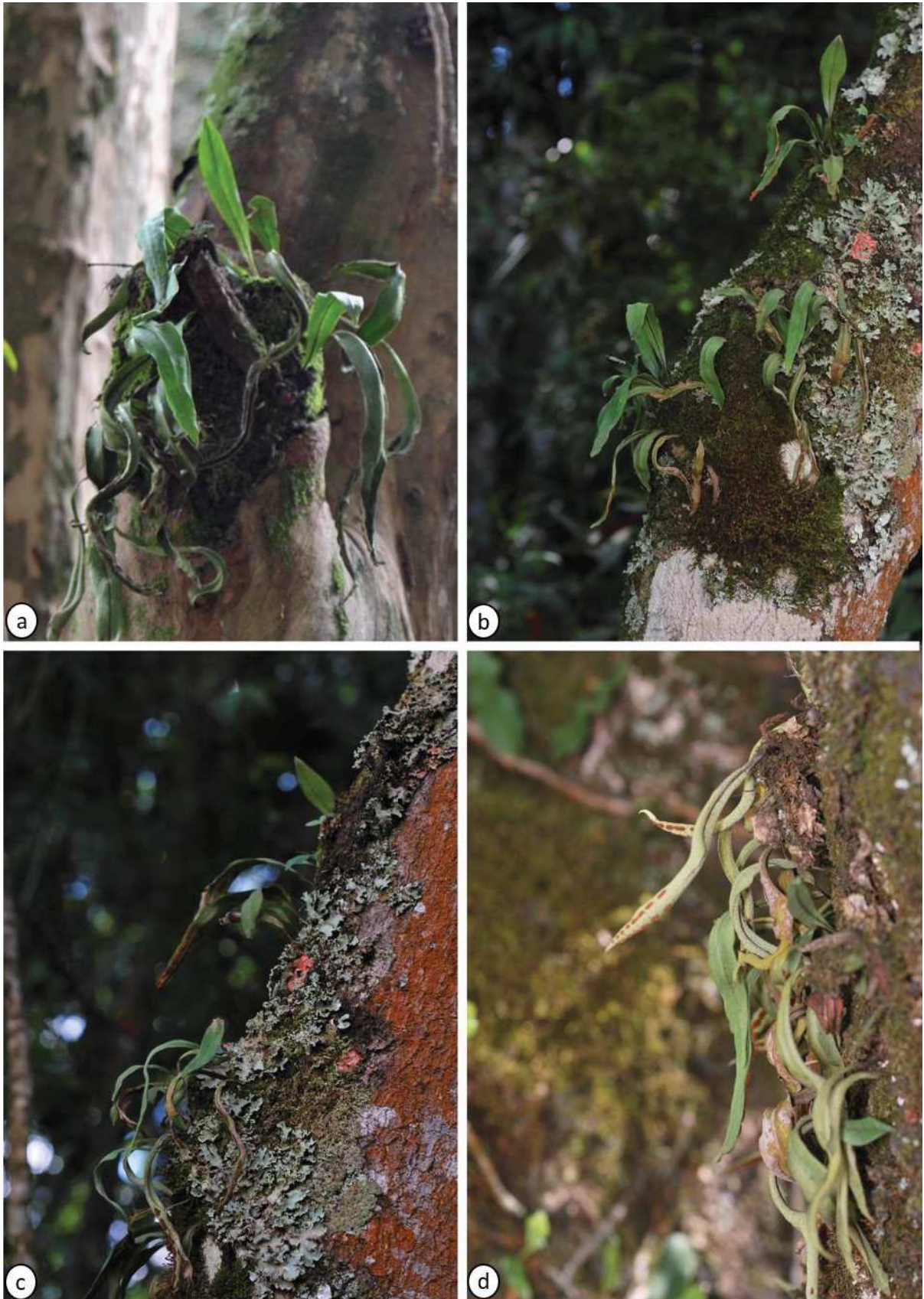


Figura 2 – *Microgramma squamulosa* (a-d) (Fotos: L. Menini Neto; S.G. Furtado).



**Figura 3** – *Pleopeltis astrolepis* (a-d) (Fotos: L. Menini Neto; S.G. Furtado).



### 5.3 COLETA

As coletas foram realizadas entre os meses de junho e dezembro de 2019. Foram amostrados cinco indivíduos de cada espécie em cada um dos pontos de coleta, totalizando 40 indivíduos. Foram coletadas folhas estéreis completamente desenvolvidas e amostras das cascas dos forófitos em que as epífitas se encontravam, correspondendo ao substrato.

Mesmo nos ambientes florestais, as coletas foram realizadas em regiões de borda para padronizar o nível de luminosidade recebida pelos indivíduos. Todos os indivíduos foram coletados entre 1 e 3 metros de altura. Como as folhas de *P. astrolepis* possuíam diferentes graus de hidratação devido à poiquiloidria, todos os indivíduos coletados foram reidratados *overnight*, como forma de padronização do estado de turgidez dos tecidos.

### 5.4 ANÁLISE FOLIAR

Para verificar se há alterações no desenvolvimento dos tecidos foliares, as folhas foram analisadas quanto à área foliar específica e características anatômicas. Para o cálculo da área foliar específica (AFE: mm<sup>2</sup>/mg) foram coletadas cinco folhas de cada indivíduo, levadas ao laboratório, digitalizadas para o cálculo da área (A: mm<sup>2</sup>) e colocadas para secar até peso constante (peso seco (P): mg), sendo estes dados utilizados na fórmula:  $AFE=A/P$  (Cornelissen *et al.*, 2003).

Para a avaliação das características anatômicas, foram coletadas amostras da região mediana de seis folhas de cada indivíduo e fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,05M pH 7,2-7,4 por, no mínimo, 24 horas.

Após lavagem em tampão fosfato para retirada do fixador, as amostras de três folhas foram desidratadas em série etílica crescente, diafanizadas com xilol e incluídas em parafina (Johansen, 1940). Foram obtidas secções transversais de 8 µm em micrótomo rotativo (Leica RM2155). Esses cortes obtidos foram desparafinizados e corados com fucsina básica e azul de astra (Kraus *et al.*, 1998), sendo montadas lâminas permanentes em verniz vitral incolor (Paiva *et al.*, 2006). Além disso, para visualização de estruturas epidérmicas, as outras três folhas foram submetidas ao processo de diafanização (Johansen, 1940) e, posteriormente, coradas com fucsina

básica e montadas em lâminas semipermanentes. Para a classificação dos estômatos utilizou-se a classificação de Van Cotthem (1973).

A observação e a digitalização das imagens foram realizadas em microscópio Zeiss Primo Star, com uma câmera Canon acoplada, para os cortes transversais; e em microscópio de epifluorescência Olympus BX51TF, acoplado à câmera fotográfica digital Olympus DP72, com o auxílio do software CellSens, para as amostras de diafanização.

Para cada indivíduo foram obtidas 30 mensurações da espessura total da folha, a espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso, a espessura das hipodermes (presentes apenas em *M. squamulosa*), a espessura da epiderme e da cutícula nas faces adaxial e abaxial, e o tamanho dos estômatos. Para o tamanho do estômato, foram consideradas as medidas polares e equatoriais da célula-guarda, evitando a diferença entre os estômatos abertos e fechados. Também foi calculado o índice estomático em 24 campos para cada indivíduo. Além disso foi feito o cálculo da razão entre as espessuras do parênquima paliçádico e do parênquima lacunoso.

Todas as mensurações, incluindo o cálculo da área foliar, foram realizados no software ImageJ.

## 5.5 ANÁLISE QUÍMICA

Folhas estéreis completamente desenvolvidas e saudáveis de cinco indivíduos de cada espécie foram coletadas em cada ponto amostral para análise química, assim como o substrato onde elas ocorrem. Excetua-se a amostra de *P. astrolepis* em FLD, em que não foram feitas as análises químicas.

As amostras foram secas a cerca de 70°C em forno de convecção THELCHO, modelo 130DM (Precision Scientific, Chicago, IL, EUA) e moídas em moinho analítico IKA, modelo A11B (IKA, Wilmington, NC, EUA). Para a digestão das plantas, foi utilizado um bloco digestor com capacidade para o aquecimento simultâneo de 40 tubos (Solab, São Paulo, Brasil). Para isso, 0,5g de amostra dos tecidos vegetais foram pesados em frasco de digestão de vidro, adicionando 5 mL de HNO<sub>3</sub>. As pesagens foram efetuadas com balança analítica Marte-Shimadzu, modelo AW220 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). As amostras foram colocadas em pré-digestão por pelo menos 12 horas e posteriormente aquecidas a 170°C. Após isso, esperou-se cessar o desprendimento de NO<sub>2</sub> e a redução do volume. Então, depois que o frasco

de digestão estava frio, o volume foi completado para 25 mL com água deionizada e transferido para outros frascos.

As análises dos elementos Ag (prata), Al (alumínio), Ca (cálcio), Cd (cádmio), Cr (cromo), Cu (cobre), Fe (ferro), K (potássio), Mg (magnésio), Mn (manganês), Na (sódio), Ni (níquel) e Zn (zinco), foram realizadas pelo Grupo de Eletroanalítica, Espectroanalítica, Automação e Ambiental - GPEAA da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), utilizando-se um espectrômetro de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP OES) sequencial, da marca Horiba Jobin Yvon (Longjumeau, França), modelo Ultima 2, equipado com o mostrador automático AS 421. As aquisições de dados foram feitas pelo software Analyst JY 5.4. O limite de quantificação (LOQ) foi calculado para garantir a confiabilidade dos valores indicados.

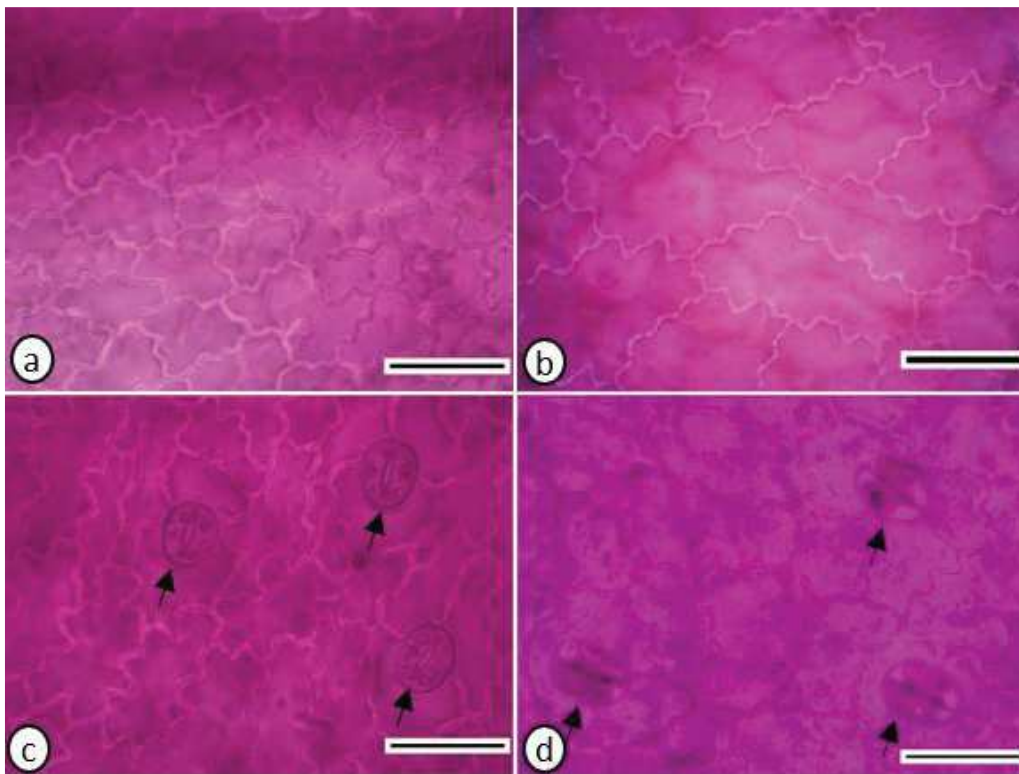
## 5.6 ESTATÍSTICA

Os dados obtidos nas análises químicas e micromorfométricas foram comparados estatisticamente entre os locais de coleta através do teste de ANOVA com um intervalo de confiança de 5% ou teste de Kruskal-Wallis para os dados que não atendiam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Verificou-se também a correlação linear através do coeficiente de Pearson. Foi utilizado o *software* R com interface RStudio.

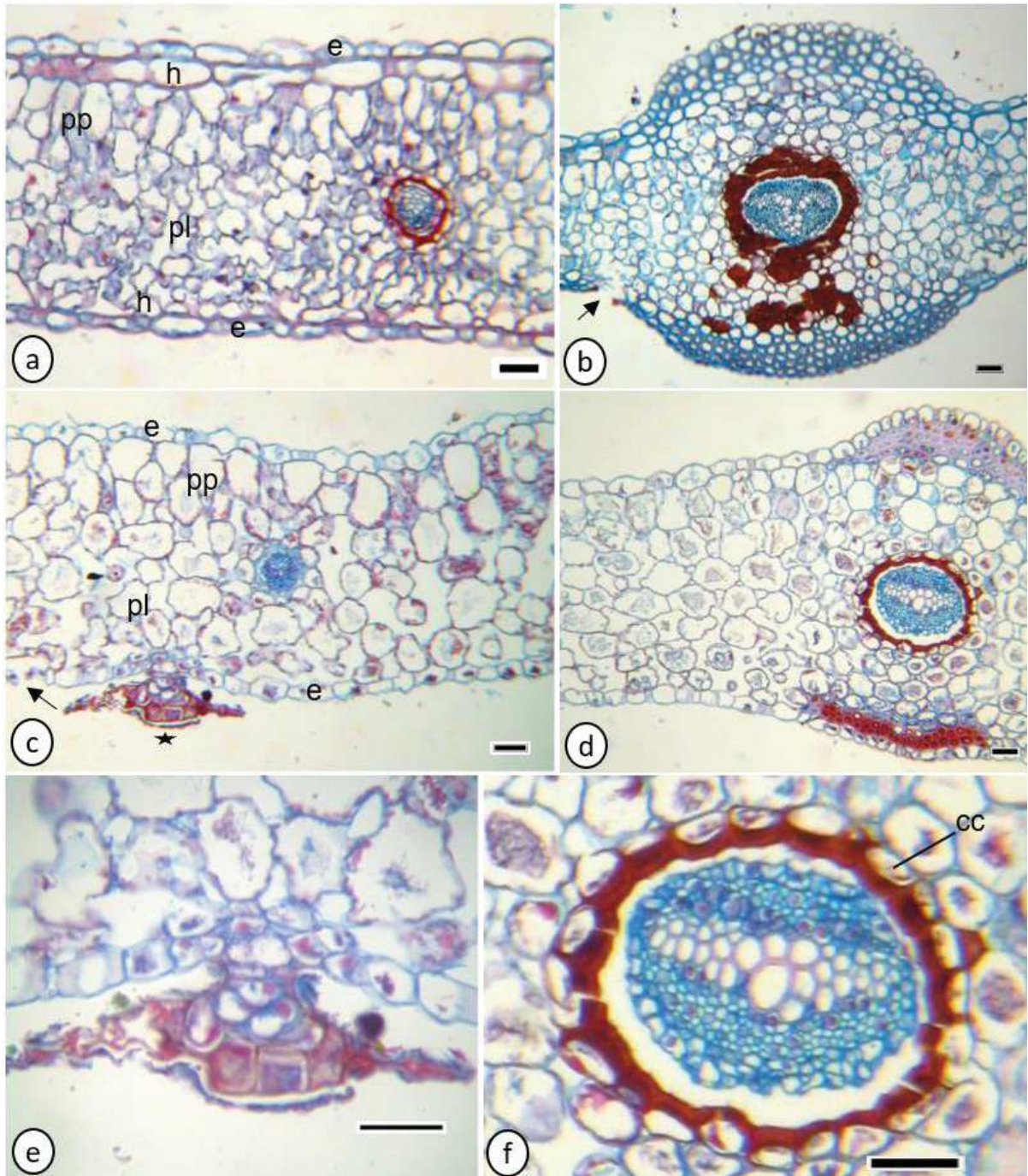
## 6 RESULTADOS

Em vista frontal, os estômatos são anomocíticos (Figura 4 c,d) e estão localizados apenas na face abaxial da folha, ou seja, as folhas são hipoestomáticas. As células epidérmicas apresentam paredes anticlinais sinuosas em ambas as faces da folha (Figura 4). As folhas de ambas as espécies apresentam epiderme uniestratificada e mesofilo heterogêneo dorsiventral, com parênquima diferenciado em paliçádico e lacunoso (Figura 5 a,c). Os estômatos estão posicionados no mesmo nível das demais células epidérmicas. Os feixes vasculares são colaterais, exceto na nervura central, onde são anficrivais (Figura 5 b,d,f) envoltos por uma camada circumendodermal com espessamento das paredes em “U” (Figura 5f). Nos feixes da nervura principal, o xilema está disposto em formato de “V” em *M. squamulosa*, enquanto que em *P. astrolepis* o xilema é reto. Na nervura central há parênquima com espessamento de parede (Figura 5 b,d). Nas folhas de *Microgramma squamulosa* há uma hipoderme nas faces adaxial e abaxial (Figura 5a). *Pleopeltis astrolepis* apresenta escamas peltadas com apêndices alongados (Figura 5 c,e). Não foram observadas alterações qualitativas da caracterização anatômica em relação aos locais de coleta. As comparações dos caracteres anatômicos da folha entre os locais de coleta são apresentadas na Figura 6. A tabela referente a esses resultados é apresentada no Apêndice A.

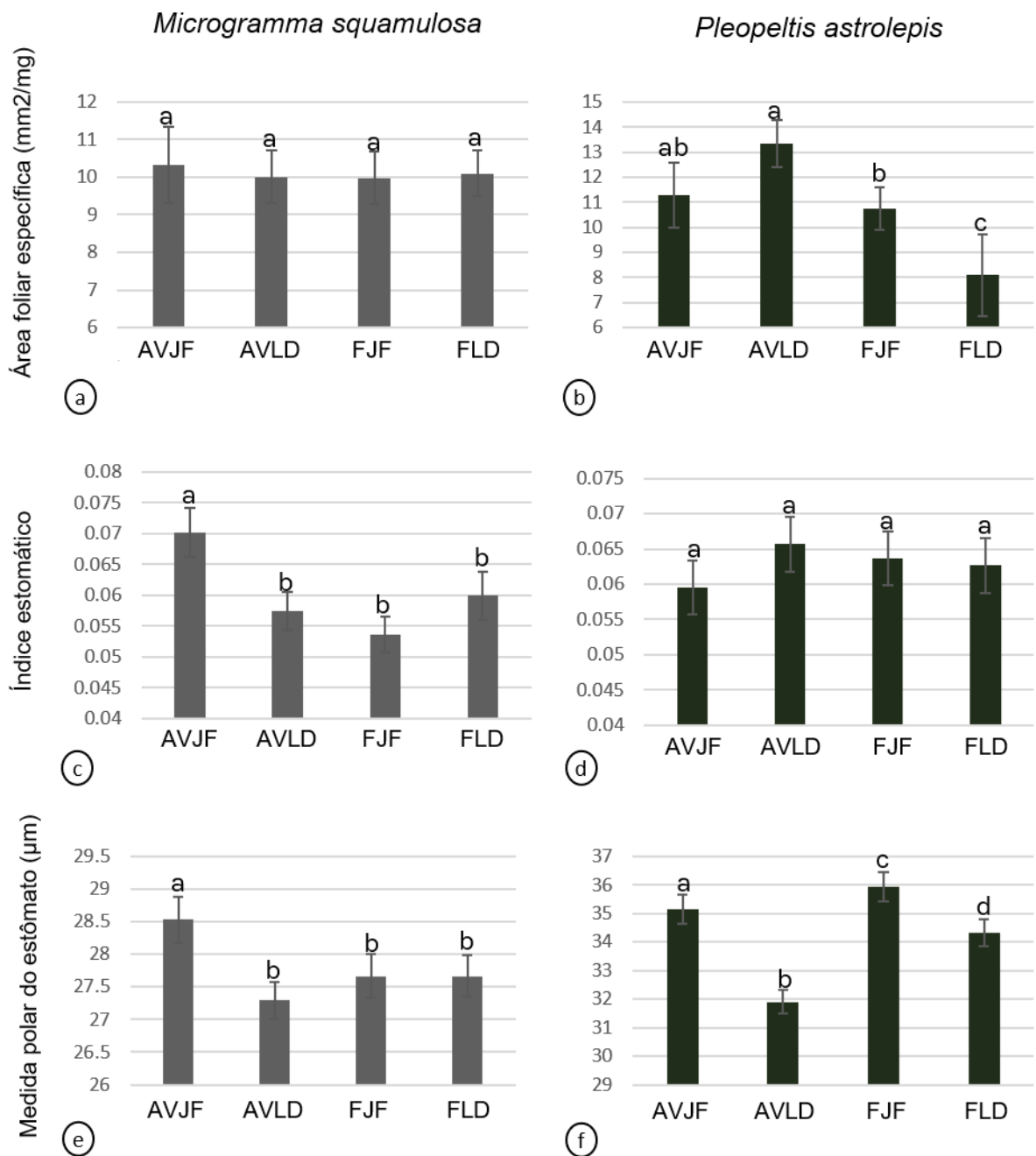
Dentre os elementos químicos analisados, Ag, Cd, Fe e Na não apresentaram valores significativos acima do limite de quantificação em nenhuma das amostras. Apesar disso o Fe mostrou uma tendência a maiores concentrações nas amostras de *M. squamulosa* e no substrato em FLD. Da mesma forma, o Al também mostra essa tendência ao considerar as amostras de *M. squamulosa*, mas as concentrações foram menores que o limite de quantificação. Além desses, Al, Cr, Mg e Ni também possuíram valores de concentração menores que o limite de quantificação nas amostras de substrato. Os resultados das comparações das concentrações dos elementos nas folhas entre os locais de coleta são apresentados na tabela 1.



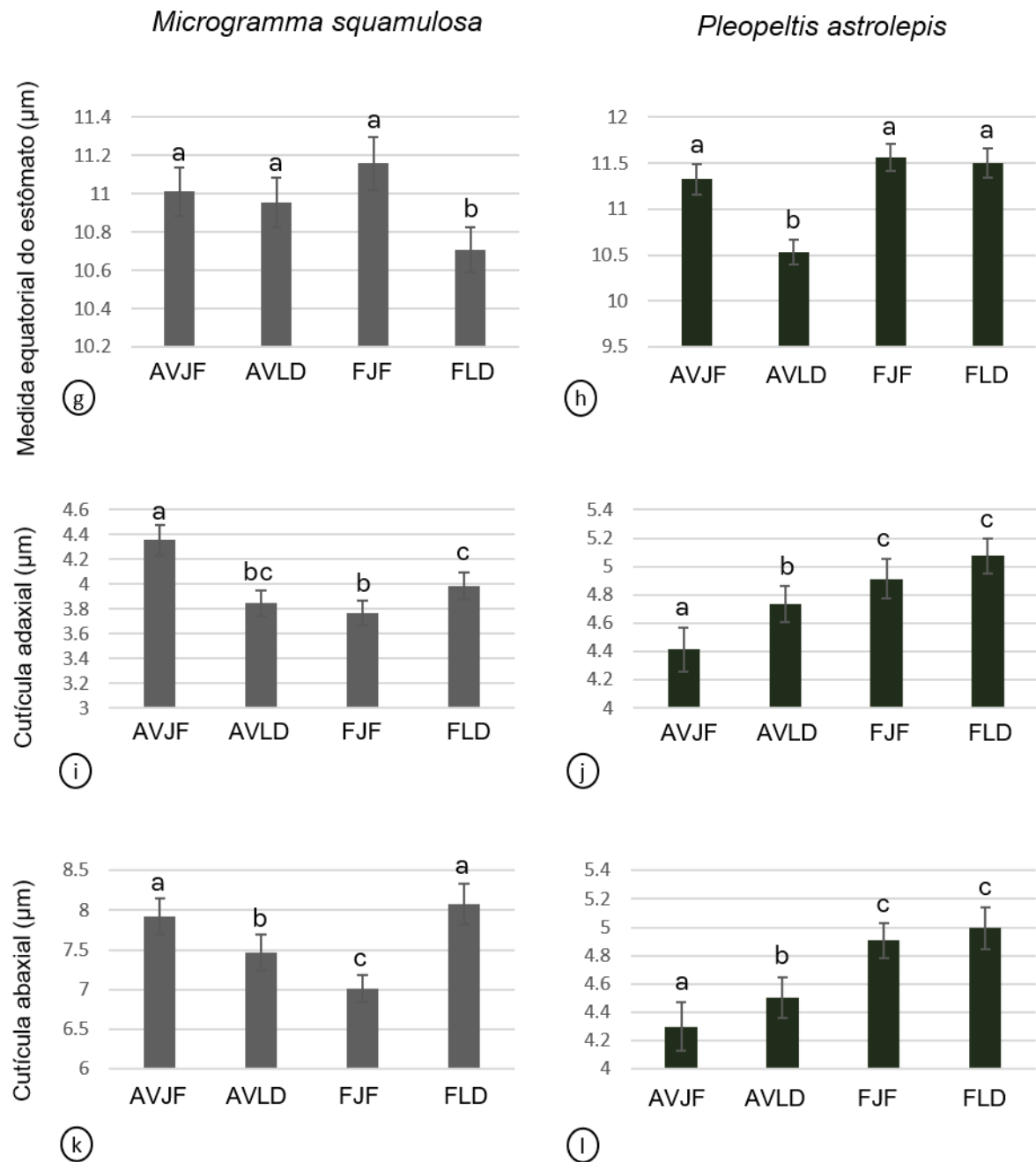
**Figura 4** - Caracterização da epiderme foliar em vista paradérmica. a-b. Face adaxial; c-d. Face abaxial. *Microgramma squamulosa* (a e c) e *Pleopeltis astrolepis* (b e d). Setas: estômatos. Barra de escala = 50 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ).



**Figura 5** - Caracterização anatômica da folha em vista transversal. a-b. *Microgramma squamulosa*; c-f. *Pleopeltis astrolepis*. Região da ala (a e c) e região da nervura principal (b e d). Detalhes da escama (e) e do feixe vascular anficrival na nervura principal (f). Setas: estômatos; estrela: escama; e: epiderme; h: hipoderme; pp: parênquima paliçádico; pl: parênquima lacunoso; cc: camada circumendodermal. Barra de escala = 50 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ).

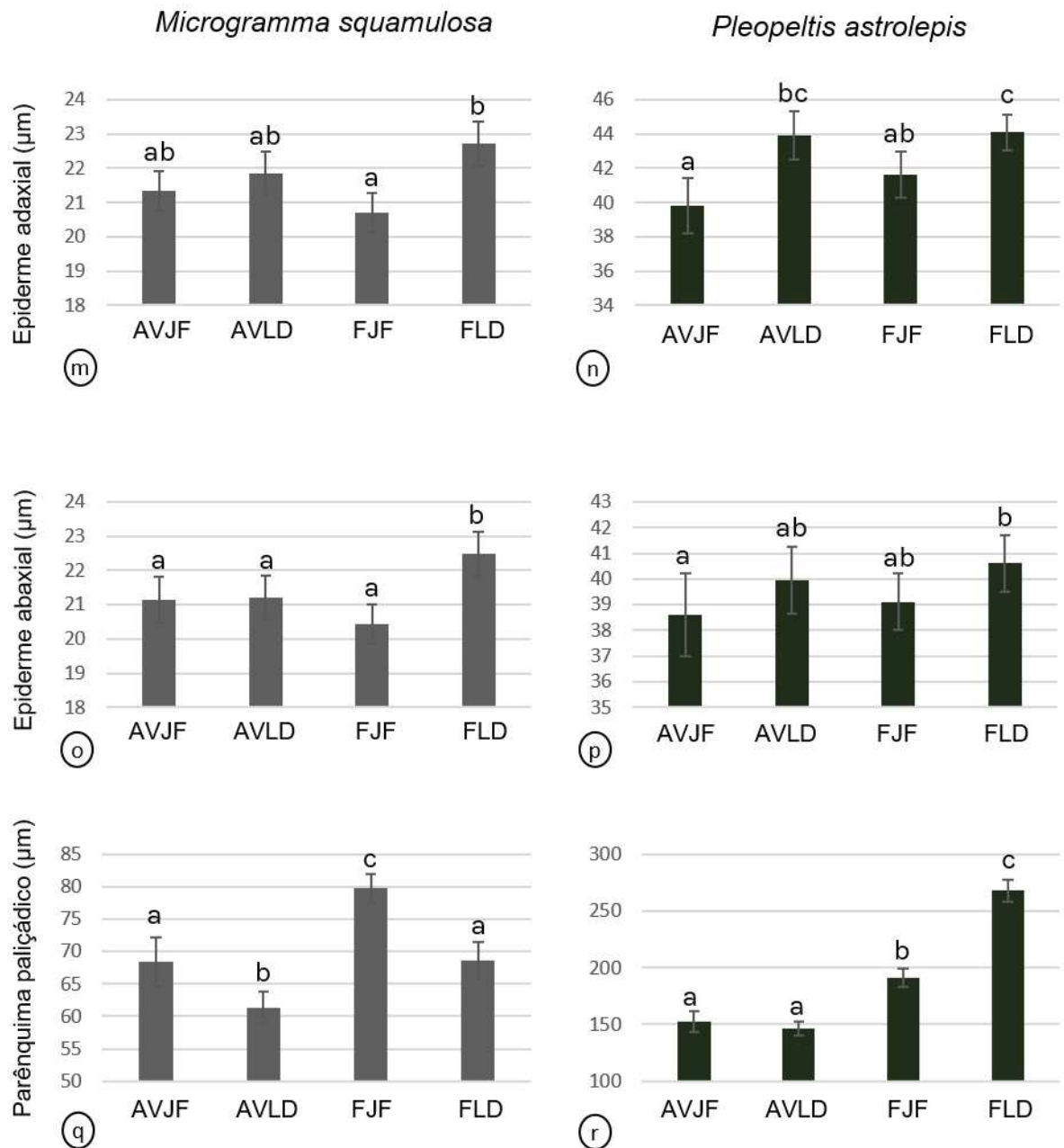


**Figura 6** – Comparação das médias dos parâmetros anatômicos foliares. Letras diferentes em cada gráfico indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ). AVJF: área verde em Juiz de Fora; AVL D: área verde em Lima Duarte; FJF: fragmento florestal em Juiz de Fora; FLD: fragmento florestal em Lima Duarte; a, c, e, g, i, k, m, o, q, s, u, w, y, z: *Microgramma squamulosa*; b, d, f, h, j, l, n, p, r, t, v, x: *Pleopeltis astrolepis*.



**Figura 6 - (cont.)**





**Figura 6 - (cont.)**

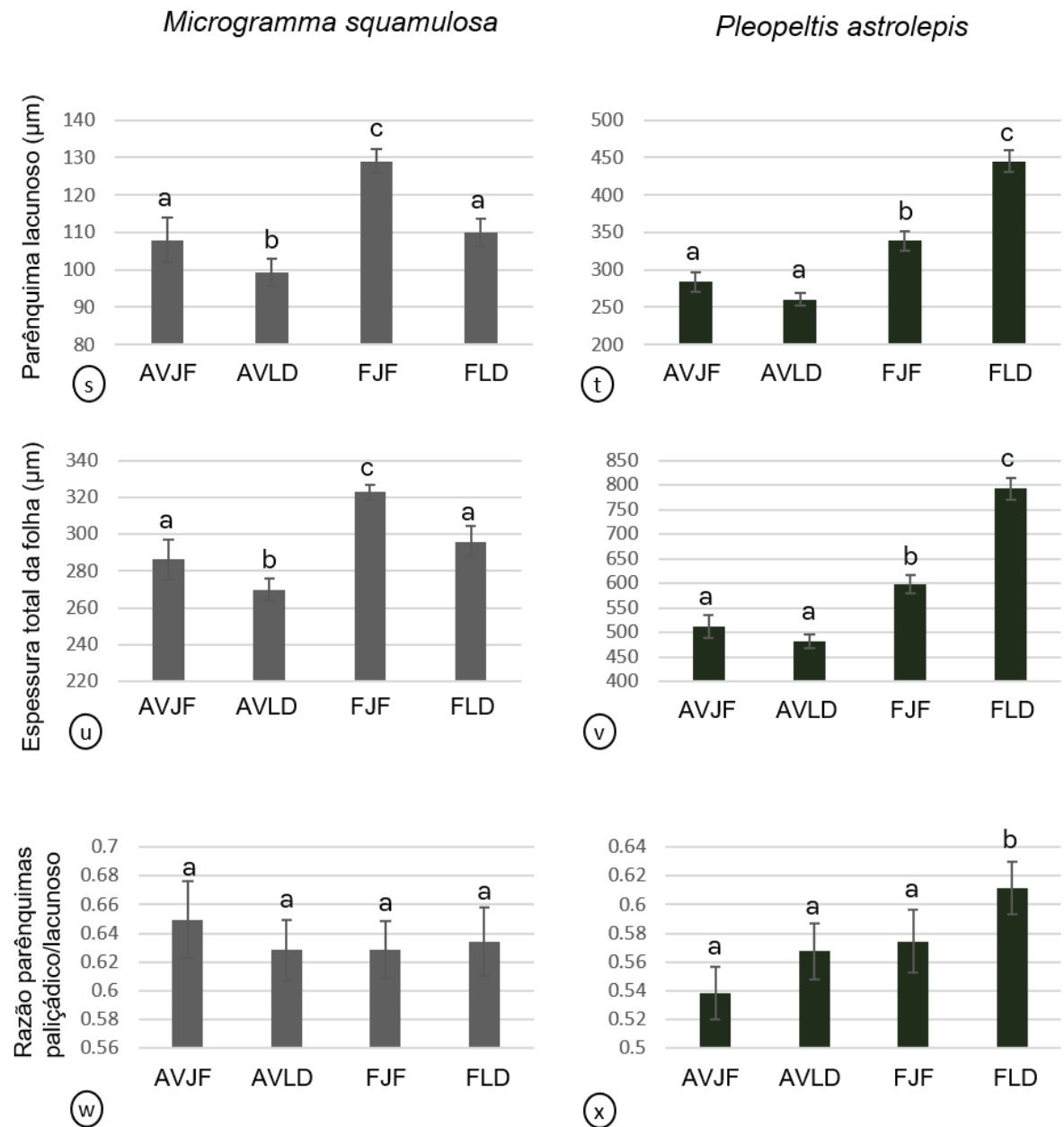
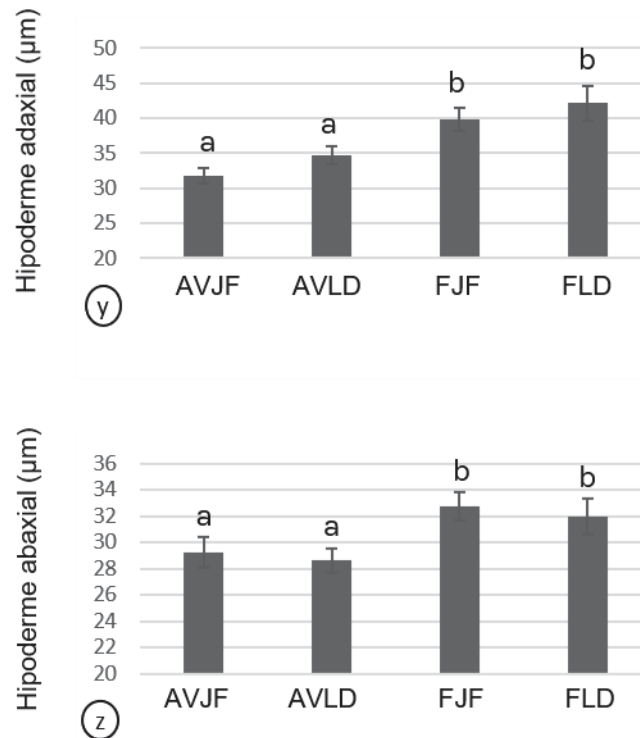


Figura 6 - (cont.)

*Microgramma squamulosa***Figura 6 - (cont.)**

Foi encontrada correlação significativa ( $p < 0,05$ ) nas amostras de *M. squamulosa* entre a espessura do parênquima paliçádico e espessura total da folha ( $r = 0,85$ ) e entre a espessura do parênquima lacunoso e espessura total da folha ( $r = 0,86$ ). Para *P. astrolepis*, correlações significativas ( $p < 0,05$ ) foram encontradas entre a área foliar específica e a espessura do parênquima paliçádico ( $r = -0,74$ ), a espessura do parênquima lacunoso ( $r = -0,79$ ), e a espessura total da folha ( $r = -0,78$ ), entre a espessura do parênquima lacunoso e a espessura do parênquima paliçádico ( $r = 0,80$ ), entre a espessura do parênquima paliçádico e a espessura total da folha ( $r = 0,93$ ) e entre a espessura do parênquima lacunoso e a espessura total da folha ( $r = 0,93$ ). Além disso, nessa espécie foi encontrada correlação significativa ( $p < 0,05$ ) entre a concentração de Ca nas folhas e o índice estomático ( $r = -0,67$ ) e a espessura do parênquima paliçádico ( $r = -0,68$ ). Também foi observada correlação significativa ( $p < 0,05$ ) entre a concentração de Cu nas folhas e o índice estomático ( $r = -0,64$ ), a espessura da cutícula nas faces adaxial ( $r = -0,81$ ) e abaxial ( $r = -0,83$ ), a espessura da epiderme na face adaxial ( $r = -0,67$ ), a espessura do parênquima paliçádico ( $r = -0,76$ ),

a espessura do parênquima lacunoso ( $r=-0,71$ ) e a espessura total da folha ( $r=-0,75$ ). Os gráficos das correlações são apresentados no Apêndice A.

**Tabela 1** - Comparação das médias de concentração dos elementos químicos nos tecidos vegetais. Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa ( $p<0,05$ ). AVJF: área verde em Juiz de Fora; AVLD: área verde em Lima Duarte; FJF: fragmento florestal em Juiz de Fora; FLD: fragmento florestal em Lima Duarte.

<i>Microgramma squamulosa</i>				
Concentração (mg/Kg)	AVJF	AVLD	FJF	FLD
Ca	4508,00a	5611,88a	4217,52a	4406,86a
Cr	0,45a	1,63ab	1,46ab	3,26b
Cu	2,42a	3,33a	2,24a	2,13a
K	17758a	14297a	17630a	17011a
Mg	1824,47a	2612,50a	2025,15a	3816,31a
Mn	76,06a	32,42a	108,04a	153,87a
Ni	0,11a	0,71a	0,36a	0,36a
Zn	27,99a	9,97a	10,68a	10,06a
<i>Pleopeltis astrolepis</i>				
Concentração (mg/Kg)	AVJF	AVLD	FJF	-
Al	639,16a	716,03a	210,95a	-
Ca	4016,90a	3861,50ab	3081,35b	-
Cr	1,61a	2,31a	1,65a	-
Cu	3,37a	2,80a	1,91a	-
K	15745a	14831a	13306a	-
Mg	2018,14a	2138,39a	1446,25a	-
Mn	21,99a	19,57a	28,29a	-
Ni	0,16a	0,62a	0,07a	-
Zn	32,45a	19,03a	13,63a	-
Substrato				
Concentração (mg/Kg)	AVJF	AVLD	FJF	FLD
Ca	16668a	18175a	15827a	10351a
Cu	7,52a	5,73a	4,30a	18,62a
K	1584,30a	1527,75a	1923,71a	2916,34a
Mn	76,85a	67,77a	112,91a	215,67a
Zn	23,12a	9,86a	12,53a	13,73a

## 7 DISCUSSÃO

A primeira hipótese do presente estudo era que a concentração dos elementos químicos nos órgãos vegetais e no substrato seria maior nos ambientes com um nível maior de urbanização, o que não foi observado, sendo essa hipótese recusada. Já a segunda hipótese foi aceita, já que há alterações no desenvolvimento de alguns dos tecidos vegetais foliares em relação ao local em que os indivíduos foram coletados. O biomonitoramento pode levar em consideração informações sobre alterações do organismo monitor ou das concentrações de substâncias em seus tecidos (Wolterbeek, 2002).

A caracterização anatômica das espécies demonstrou que não houve alterações qualitativas entre os ambientes. *Pleopeltis astrolepis* apresenta uma estrutura anatômica foliar semelhante a outras espécies do mesmo gênero, como *Pleopeltis hirsutissima* (Raddi) de la Sota (Ferrari, 2019) e *Pleopeltis macrocarpa* (Bory ex Willd.) Kaulf. (Lagoria *et al.*, 2018). As três espécies possuem folhas hipostomáticas com epiderme uniestratificada, estômatos anomocíticos, mesofilo heterogêneo dorsiventral e feixes vasculares envoltos por uma camada circumendodermal. Além disso, apresentam escamas, porém a morfologia dessas estruturas varia entre as espécies.

Tanto *P. astrolepis* quanto *P. hirsutissima* apresentam ampla ocorrência em ambientes urbanos e antropizados (Alvim *et al.*, 2020; 2021; Costa *et al.*, 2020), porém o mesmo não ocorre em *P. macrocarpa*. A princípio a semelhança estrutural interna poderia indicar que são espécies adaptadas ao mesmo tipo de ambiente, porém isso não ocorre, o que pode estar relacionado com a tolerância à poluição ou com outros fatores que caracterizam o ambiente urbanizado.

Estudos frequentemente mostram um aumento no índice estomático, como encontrado em *Ligustrum lucidum* Aiton f. (Oleaceae) (Bruno *et al.*, 2007) e algumas espécies de Fabaceae (Gostin, 2009); ou densidade estomática, como observado em *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) (Alves *et al.*, 2008), *Ficus maroma* Castell (Moraceae) (Cabrera *et al.*, 2009) e *Tradescantia pallida* (Rose) D.R. Hunt (Commelinaceae) (Crispim *et al.*, 2014), em locais mais poluídos ou urbanizados. Nesse estudo, não foi encontrada diferença significativa no índice estomático entre os ambientes em *Pleopeltis astrolepis*. Já em *Microgramma squamulosa*, esse índice foi maior em

AVJF, o local onde espera-se maior poluição atmosférica em decorrência do maior nível de urbanização.

Uma estratégia comumente observada para evitar poluentes é o aumento da densidade estomática associada a uma diminuição do tamanho dos estômatos, como foi observado por Kardel *et al.* (2010) em *Plantago lanceolata* L. (Plantaginaceae). Diferentemente disso, no estudo de Pourkhabbaz *et al.* (2010) com *Platanus orientalis* L. (Platanaceae) foi observada uma densidade estomática menor em área urbana, além de uma diminuição na largura estomática. Alves *et al.* (2001) observaram a diminuição do tamanho dos estômatos com o aumento da poluição para *Tradescantia* sp., assim como também foi identificado por Allahnouri *et al.* (2018) em relação a distância de uma rodovia com tráfego intenso de veículos para *Morus alba* L. (Moraceae) e *Fraxinus rotundifolia* Lam. (Oleaceae).

O tamanho dos estômatos variou em ambas as espécies estudadas. Em *M. squamulosa* a medida polar foi maior em AVJF e a equatorial foi menor em FLD, a área com menor intervenção antrópica. Portanto, nessa espécie, os estômatos foram maiores e mais frequentes na área mais urbanizada, o que pode estar relacionado com a poluição, já que o estômato é a via de interação entre a planta e a atmosfera. Enquanto que em *P. astrolepis* a medida polar foi maior em FJF e menor em AVL, e a equatorial também foi menor em AVL, diferentemente do esperado, já que estes locais seriam os intermediários em relação à urbanização.

Pourkhabbaz *et al.* (2010) encontraram uma espessura mais fina da cutícula no ambiente urbano em *Platanus orientalis*, enquanto que no estudo de Cabrera *et al.* (2009) com *Ficus maroma*, foi observado um aumento na espessura da cutícula na face adaxial da folha no local mais poluído. Pode-se perceber que as espécies possuem diferentes respostas aos ambientes. A cutícula na face adaxial de *M. squamulosa* apresentou espessura maior em AVJF em relação aos outros locais, enquanto a espessura da cutícula na face abaxial não mostrou diferença entre AVJF e FLD, sendo menor em FJF. Já para *P. astrolepis*, a espessura da cutícula em ambas as faces foi menor em AVJF.

A cutícula é uma camada estruturalmente complexa que desempenha um importante papel no controle hídrico nas superfícies foliares (Dickison, 2000). Como a superfície cuticular é a principal barreira entre o ambiente e os tecidos da planta, há o contato direto com os poluentes atmosféricos (Gostin, 2016). Além disso, a cutícula pode desempenhar funções contrastantes em relação a poluição, sendo uma camada

protetora ou uma via de absorção dos metais pesados, o que pode ser relativo ao tamanho das partículas (Shahid *et al.*, 2017).

Gostin (2009) encontrou uma espessura maior da cutícula no local mais poluído, assim como uma espessura menor da epiderme. Já Dos Santos *et al.* (2019) no seu estudo com *Alchornea glandulosa* Poepp. & Endl. (Euphorbiaceae) encontraram epiderme mais espessa nas plantas controle, ou seja, sem poluição. Em *P. astrolepis*, a espessura da epiderme em ambas as faces foi maior em FLD em relação a AVJF. Já em *M. squamulosa*, a espessura da epiderme na face adaxial apresentou diferença entre FJF e FLD, porém não em relação aos outros locais, enquanto a espessura da epiderme na face abaxial foi maior em FLD.

A diminuição da espessura total da folha em locais mais poluídos e/ou urbanizados foi observada por Alves *et al.* (2001; 2008); Gostin (2009). Além disso, Gostin (2009) também encontrou uma espessura menor do parênquima paliçádico no local mais poluído. De forma diferente, no estudo de Cabrera *et al.* (2009) foi identificada maior espessura do parênquima paliçádico no local mais poluído. Em *P. astrolepis*, a espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso e a espessura total da folha apresentaram resultados semelhantes, sendo maiores em FLD. Para *M. squamulosa*, não foi observada diferença entre as espessuras dos parênquimas paliçádico e lacunoso e a espessura total da folha entre AVJF e FLD, sendo que os maiores valores foram encontrados em FJF. Bruno *et al.* (2007) observaram um menor valor da razão entre as espessuras dos parênquimas paliçádico e lacunoso no local mais poluído em *Ligustrum lucidum*, enquanto que em *P. astrolepis* essa razão foi maior em FLD, demonstrando maior investimento no parênquima paliçádico nesse ambiente.

O aumento da AFE nos ambientes urbanos é relatado em alguns estudos, como os de Balasooriya *et al.* (2009), com *Taraxacum officinale* L. (Asteraceae) e Kardel *et al.* (2010), com *Plantago lanceolata*. Além do aumento da AFE, Dos Santos *et al.* (2019) encontraram menores espessuras do parênquima lacunoso e espessura total da folha no ambiente poluído em *Alchornea glandulosa*. Da mesma forma, no estudo de De Melo Júnior *et al.* (2014) com *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. (Melastomataceae) observou-se maior valor de AFE no ambiente mais poluído, enquanto o parênquima paliçádico, parênquima lacunoso e espessura total da folha foram menores nesse ambiente. A área foliar específica (AFE) se apresentou constante em *M. squamulosa*, porém foi menor em FLD para a *P. astrolepis*.

A diferença encontrada nas respostas anatômicas das duas espécies pode estar relacionada às diferentes estratégias adotadas por elas. *P. astrolepis* possui como estratégia de tolerância à seca a poiquiloidria. Assim, quando a umidade relativa do ar está reduzida há também acentuada redução de seus níveis metabólicos, ou seja, há poucas trocas gasosas, o que pode reduzir a entrada de poluentes nos tecidos (Mehlreter *et al.*, 2010). Já *M. squamulosa* é sensível à dessecação, mantendo o metabolismo estável mesmo em ambientes secos. Para isso, a espécie possui características como a presença de hipoderme, que auxiliam na manutenção do conteúdo de água nos tecidos (Levitt, 1980; Larcher, 2003).

Rocha *et al.* (2014) realizaram um estudo comparativo da anatomia foliar de *M. squamulosa* no ambiente urbano e rural. Nas folhas estéreis, foi observada maior espessura da epiderme adaxial e maior área de estômato no ambiente rural, enquanto no ambiente urbano as folhas apresentaram menor espessura total, e menores espessuras da epiderme adaxial e do parênquima clorofiliano. Esses resultados foram um pouco diferentes dos encontrados no presente estudo, em que o tamanho dos estômatos foi maior nos ambientes mais urbanizados, a espessura dos parênquimas e a espessura total da folha foram maiores no ambiente intermediário em relação à urbanização e a espessura da epiderme adaxial não apresentou uma diferença clara entre os ambientes urbanos e rurais. Becker *et al.* (2017) demonstraram que a riqueza e a cobertura epifítica diminuem à medida que o nível de urbanização aumenta. Apesar disso, a abundância de *M. squamulosa* foi maior nos ambientes mais urbanizados, sugerindo que essa espécie deve ser altamente adaptada às áreas urbanas.

Foram encontradas correlações positivas entre a espessura total da folha e tecidos clorofilianos para ambas as espécies, e negativas entre a área foliar específica (AFE) e a espessura total da folha e espessura dos parênquimas em *P. astrolepis*. Essas correlações reforçam que o investimento foi feito em tecidos fotossintetizantes e não em outros tecidos, como esclerênquima, por exemplo.

Algumas alterações anatômicas encontradas podem não estar diretamente relacionada a poluentes e sim a outros agentes. A plasticidade fenotípica das plantas está sujeita a vários fatores, como disponibilidade hídrica, incidência luminosa e temperatura (Valladares *et al.*, 2007). Tendo em vista o hábito epifítico, há ainda fatores como a altura em que os indivíduos se desenvolvem no forófito. Nas coletas realizadas, esforçou-se para que houvesse uma padronização dos locais, porém ainda



representam ambientes naturais não controlados, em que os indivíduos estavam expostos a variações nesses fatores.

Diversos estudos identificaram concentrações maiores de metais pesados em locais com maior intensidade de tráfego ou ambientes mais urbanizados (e.g., Sharma e Uniyal, 2016; Becker *et al.*, 2017; Liang *et al.*, 2017; Marques *et al.*, 2018; Turkyilmaz *et al.*, 2018ab; Aricak *et al.*, 2019; Turkyilmaz *et al.*, 2019; Yu *et al.*, 2020), diferentemente do que foi encontrado no presente estudo. Alguns metais que são diretamente relacionados com a poluição como, Ag, Cd e Fe apresentaram valores abaixo do limite de quantificação, o que pode indicar que os locais de coleta não apresentam uma elevada poluição atmosférica, ou que essa poluição não esteja representada nos elementos amostrados, ou ainda, que as espécies estudadas possuem barreiras anatômicas ou fisiológicas para evitar a absorção desses elementos. Essas barreiras podem ser simplesmente as raízes, que em muitas plantas restringem a captação de metais através das estrias de Caspary (Ghori *et al.*, 2019).

Em uma área verde localizada no centro de Juiz de Fora, onde há um grande fluxo urbano, verificou-se que a ocorrência de líquens era menor nas ruas com maior fluxo de veículos, uma possível resposta à baixa qualidade atmosférica (Moreira *et al.*, 2018). Já em uma área industrial desse mesmo município foi verificada a influência antropogênica no aumento das concentrações de As, Cd, Cu, Pb e Zn no material particulado atmosférico (Mimura *et al.*, 2020). Além disso, a população do município de Juiz de Fora (pontos AVJF e FJF) é 34 vezes maior que a de Lima Duarte (pontos AVLD e FLD), sendo a frota veicular cerca de 41 vezes maior também, o que justifica o gradiente de urbanização proposto.

Em relação à concentração dos elementos químicos amostrados, não foi encontrada diferença entre os locais de coleta nas amostras de substrato. Já em *M. squamulosa*, a concentração de Cr foi maior em FLD (a área mais afastada do ambiente urbano e com maior influência rural) em relação a AVJF (a área encontrada no maior centro urbano amostrado). Defarge *et al.* (2018) identificaram a presença de Cr e outros metais tóxicos na formulação de diversos pesticidas, inclusive em alguns à base de glifosato, um dos herbicidas mais utilizados no mundo. Bermudez *et al.* (2009) em seu estudo com epífitas expostas à poluição atmosférica, identificou a atividade agrícola como fonte de poluição do ar, além de observar que o Fe estava associado à atividade industrial e agrícola. Dessa forma, a tendência encontrada de concentrações maiores de Fe e a maior concentração de Cr nas folhas de *M.*

*squamulosa* nos locais menos urbanizados podem estar relacionadas à atividade agrícola.

Foi observada a presença de Cr, Mg e Ni nas folhas, apesar de não terem sido encontradas concentrações confiáveis desses metais nas amostras de substrato. Isso pode indicar que a absorção desses metais acontece diretamente pelas folhas. Diferentemente da absorção pela raiz, a absorção foliar de metais pesados ainda não é muito bem entendida (Shahid *et al.*, 2017). Em espécies do gênero *Tillandsia* (Bromeliaceae), a absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, de poluentes, é exclusivamente pela folha, com o auxílio das escamas, já que suas raízes possuem função apenas de fixação ao substrato (Benzing e Bennett, 2000; Benz e Martin, 2006). Zheng *et al.* (2021) observaram que a maior concentração de metais nas folhas de *Tillandsia brachycaulos* Schltl. estava localizada nas escamas, sugerindo que esta seria a forma de absorção desses elementos. *Pleopeltis astrolepis*, assim como outras espécies de Polypodiaceae, possui escamas com características morfológicas semelhantes às escamas das bromélias, e que também podem estar relacionadas à captação de água (Hietz e Briones, 1998), e possivelmente dos metais atmosféricos.

Em *P. astrolepis* foi encontrada correlação negativa entre a concentração de Ca e o índice estomático e a espessura do parênquima paliçádico. O Ca é um nutriente essencial para as plantas, porém em quantidades excessivas pode ser tóxico e reduzir o crescimento vegetal (White e Broadley, 2003).

Também foi observada uma correlação negativa entre a concentração de Cu e vários caracteres anatômicos em *P. astrolepis*. Em indivíduos com maiores concentrações de Cu nas folhas, foi identificada uma redução no índice estomático, na espessura da cutícula em ambas as faces, na espessura da epiderme na face adaxial, além de redução na espessura total da folha e nos tecidos fotossintetizantes. O Cu é um metal pesado essencial para as plantas, desempenhando funções principalmente na fotossíntese (Yruela, 2005). Entretanto, quantidades excessivas de Cu tornam o metal tóxico, podendo causar estresse oxidativo e inibição do crescimento, por exemplo (Nagajyoti *et al.*, 2010; Ghori *et al.*, 2019).

No estudo de Martins *et al.* (2016), foram analisadas as alterações causadas pelo Cu em *Billbergia zebrina* (Herb.) Lindl. (Bromeliaceae) em condições *in vitro*, sendo observada uma redução dos tecidos parenquimáticos foliares e da espessura total da folha com o aumento do aporte do metal, porém houve um aumento no índice estomático. No presente estudo não foram analisados outros parâmetros ambientais,

então não é possível confirmar a relação entre os parâmetros anatômicos e o Cu; porém, pode-se admitir a hipótese que o acúmulo do metal pesado nos tecidos causou algum tipo de estresse nos indivíduos.

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com esse estudo foi possível confirmar que espécies diferentes reagem de formas diferentes às alterações ambientais, nesse caso, à urbanização. Em *Microgramma squamulosa* houve um acúmulo maior de Cr nas folhas coletadas no ambiente mais próximo de áreas rurais em relação ao ambiente mais antropizado. Já em *Pleopeltis astrolepis* foi encontrada diferença significativa apenas no elemento Ca, que teve uma concentração maior no ambiente mais urbanizado. Além disso, foi encontrada também uma correlação negativa entre vários caracteres anatômicos e a concentração de Cu em *P. astrolepis*. Em ambas as espécies houve alterações nos tecidos foliares, podendo-se destacar as alterações estomáticas e de superfície foliar. Porém apenas em *P. astrolepis* foram observadas alterações significativas entre os ambientes com maior e menor intervenção antrópica na área foliar específica, na espessura dos tecidos clorofilianos e na espessura total da folha.

Desse modo, de acordo com os resultados obtidos pode-se inferir um potencial bioindicador em ambas as espécies. Foram observadas respostas aos ambientes, com possíveis reações não só à poluição atmosférica urbana, mas também à poluição rural. Ainda assim, são necessários mais estudos para confirmar a relação das alterações morfoanatômicas analisadas com os parâmetros ambientais. Pode-se sugerir que os estudos sejam ampliados para um gradiente ambiental ainda maior, em que o contraste entre os locais seja mais intenso, incluindo áreas industriais, e dessa forma evidenciando as respostas biológicas. Outra sugestão é a realização de um estudo comparativo com análise das raízes dessas plantas, de forma a identificar se há a retenção de metais pesados absorvidos nesse órgão ou se os elementos são distribuídos por todo o corpo dos indivíduos.

## REFERÊNCIAS

- ALLAHNOURI, M.; AGHBASH, F. G.; PAZHOUHAN, I. Traffic effects on leaf macro- and micro-morphological traits. **Folia Oecologica**, v. 45, n. 2, p. 92-101, 2018.
- ALMEIDA, T. E. *Microgramma* in Flora do Brasil 2020. 2020. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB91669> >. Acesso em: 07 jun. 2021.
- ALVES, E. S. *et al.* Estudo anatômico foliar do clone híbrido 4430 de *Tradescantia*: alterações decorrentes da poluição aérea urbana. **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, p. 561-566, 2001.
- ALVES, E. S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E. L. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 1, p. 241-248, 2008.
- ALVIM, F. S.; FURTADO, S. G.; MENINI NETO, L. Diversity of Vascular Epiphytes in Urban Green Areas of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 2, 2020.
- \_\_\_\_\_. Are vascular epiphytes in urban green areas subject to the homogenization of biodiversity? A case study in the Brazilian Atlantic Forest. **Urban Ecosystems**, v. 24, n. 4, p. 701-713, 2021.
- ARICAK, B. *et al.* The change of some heavy metal concentrations in Scotch pine (*Pinus sylvestris*) depending on traffic density, organelle and washing. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 17, n. 3, p. 6723-6734, 2019.
- ARRIAGA, M. O. *et al.* Use of epidermal characters as bioindicators of environmental pollution. **Multequina**, v. 23, p. 41-53, 2014.
- AYDINALP, C.; MARINOVA, S. The Effects of Heavy Metals on Seed Germination and Plant Growth on Alfalfa Plant (*Medicago Sativa*). **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 15, n. 4, p. 347-350, 2009.
- BALASOORIYA, B. L. W. K. *et al.* Biomonitoring of urban habitat quality by anatomical and chemical leaf characteristics. **Environmental and Experimental Botany**, v. 65, n. 2-3, p. 386-394, 2009.
- BECKER, D. F. P.; LINDEN, R.; SCHMITT, J. L. Richness, coverage and concentration of heavy metals in vascular epiphytes along an urbanization gradient. **Science of the Total Environment**, v. 584, p. 48-54, Apr 2017.
- BENZ, B. W.; MARTIN, C. E. Foliar trichomes, boundary layers, and gas exchange in 12 species of epiphytic *Tillandsia* (Bromeliaceae). **Journal of plant physiology**, v. 163, n. 6, p. 648-656, 2006.
- BENZING, D. H. **Vascular epiphytes: General biology and related biota**. New York: Cambridge University Press, 1990.

BENZING, D. H.; BENNETT, B. **Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation.** Cambridge University Press, 2000.

BERMUDEZ, G. M. A.; RODRIGUEZ, J. H.; PIGNATA, M. L. Comparison of the air pollution biomonitoring ability of three *Tillandsia* species and the lichen *Ramalina celastri* in Argentina. **Environmental Research**, v. 109, n. 1, p. 6-14, Jan 2009.

BRUNO, G. *et al.* Efecto de la contaminación ambiental en la anatomía de la hoja de *Ligustrum lucidum* (Oleaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 42, n. 3-4, p. 231-236, 2007.

CABRERA, C. N. *et al.* Anatomía foliar de *Ficus maroma* (Moraceae) y análisis de hojas expuestas a la polución atmosférica en la provincia de Tucumán (Argentina). **Lilloa**, v. 46, n. 1-2, p. 34-42, 2009.

CAMPOS, N. V. *et al.* Arsenic hyperaccumulation in *Pityrogramma calomelanos* L. (Link): adaptive traits to deal with high metalloids concentrations. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 11, p. 10720-10729, 2018.

CAMPOS, V. Trace Elements in Pesticides. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 34, n. 9-10, p. 1261-1268, 2011.

CETEC. **Diagnóstico ambiental de Minas Gerais.** Belo Horizonte: Fundação Centro Tecnológico, 1983.

CHANG, J. S.; YOON, I. H.; KIM, K. W. Heavy metal and arsenic accumulating fern species as potential ecological indicators in As-contaminated abandoned mines. **Ecological Indicators**, v. 9, n. 6, p. 1275-1279, 2009.

COCOZZA, C. *et al.* Integrated biomonitoring of airborne pollutants over space and time using tree rings, bark, leaves and epiphytic lichens. **Urban Forestry and Urban Greening**, v. 17, p. 177-191, 2016.

CORNELISSEN, J. H. C. *et al.* A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. **Australian Journal of Botany**, v. 51, n. 4, 2003.

COSTA, G. M. D. *et al.* Genotoxicidade do Ar Atmosférico e Epífitos Vasculares em uma Unidade de Conservação de uma Região Metropolitana no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 13, n. 6, 2020.

CRISPIM, B. A. *et al.* Effects of atmospheric pollutants on somatic and germ cells of *Tradescantia pallida* (Rose) DR HUNT cv. purpurea. **Anais Da Academia Brasileira De Ciências**, v. 86, n. 4, p. 1899-1906, Dec 2014.

DE MELO JÚNIOR, J. C. F.; RAIMUNDO, C. M.; AMORIM, M. W. Efeito da poluição atmosférica em folhas de *Tibouchina granulosa* (Desr.) Cogn. (Melastomataceae). **Acta Biológica Catarinense**, v. 1, n. 1, p. 65-72, 2014.

DEFARGE, N.; SPIROUX DE VENDOMOIS, J.; SERALINI, G. E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. **Toxicol Rep**, v. 5, p. 156-163, 2018.

DICKISON, W. C. **Integrative Plant Anatomy**. Academic Press, 2000. 533p.

DOS SANTOS, G. S. *et al.* Avaliação do potencial bioindicador de *Alchornea glandulosa* no monitoramento da poluição atmosférica. **Acta Biológica Catarinense**, v. 6, n. 1, 2019.

DUBUISSON, J. Y.; SCHNEIDER, H.; HENNEQUIN, S. Epiphytism in ferns: diversity and history. **C R Biol**, v. 332, n. 2-3, p. 120-8, Feb-Mar 2009.

FERRARI, F. B. **Estratégias anatômicas de epífitas vasculares do Parque Estadual do Ibitipoca, MG, Brasil**. 2019. 103 p. (Doutorado). Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.

GHORI, N. H. *et al.* Heavy metal stress and responses in plants. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 3, p. 1807-1828, 2019.

GIMENO-GARCÍA, E.; ANDREU, V.; BOLUDA, R. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soils. **Environmental Pollution**, v. 92, n. 1, p. 19-25, 1996.

GOSTIN, I. Air Pollution Effects on the Leaf Structure of some Fabaceae Species. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 37, n. 2, p. 57-63, 2009.

GOSTIN, I. Air pollution stress and plant response. In: (Ed.). **Plant Responses to Air Pollution**: Springer Singapore, 2016. p.99-117.

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

HIETZ, P.; BRIONES, O. Correlation between water relations and within-canopy distribution of epiphytic ferns in a Mexican cloud forest. **Oecologia**, v. 114, n. 3, p. 305-316, Apr 1998.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2021. Disponível em: < <https://cidades.ibge.gov.br/> >. Acesso em: 24 de junho.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, 1940. 523p.

KARDEL, F. *et al.* Assessing urban habitat quality based on specific leaf area and stomatal characteristics of *Plantago lanceolata* L. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 3, p. 788-794, Mar 2010.

KONO, Y. *et al.* Using native epiphytic ferns to estimate the atmospheric mercury levels in a small-scale gold mining area of West Java, Indonesia. **Chemosphere**, v. 89, n. 3, p. 241-248, Sep 2012.

KONO, Y.; TOMIYASU, T. Biomonitoring of atmospheric mercury levels with the epiphytic fern *Lepisorus thunbergianus* (Polypodiaceae). **Chemosphere**, v. 77, n. 10, p. 1387-1392, 2009.

KRAUS, J. E. *et al.* Astra Blue and Basic Fuchsin Double Staining of Plant Materials. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 73, n. 5, p. 235-243, 1998.

LAGORIA, M. D. L. Á. *et al.* Morphoanatomical and histochemical characteristics of the epiphytic fern *Pleopeltis macrocarpa* (Polypodiaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 41, n. 3, p. 739-750, 2018.

LARCHER, W. **Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups**. Springer Science & Business Media, 2003.

LEVITT, J. **Responses of Plants to Environmental Stress**, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. Academic Press., 1980.

LIANG, J. *et al.* Heavy metal in leaves of twelve plant species from seven different areas in Shanghai, China. **Urban Forestry & Urban Greening**, v. 27, p. 390-398, 2017.

MARKERT, B. Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. **J Trace Elem Med Biol**, v. 21 Suppl 1, p. 77-82, 2007.

MARKERT, B.; BREURE, A.; ZECHMEISTER, H. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. In: (Ed.). **Trace Metals and other Contaminants in the Environment**: Elsevier, v.6, 2003. p.3-39.

MARQUES, A. N. *et al.* Tracking atmospheric dispersion of metals in Rio de Janeiro Metropolitan region (Brazil) with epiphytes as bioindicators. **Anais Da Academia Brasileira De Ciencias**, v. 90, n. 3, p. 2991-3005, Jul-Sep 2018.

MARTINS, F. B. *et al.* Classificação climática de Köppen e de Thornthwaite para Minas Gerais: cenário atual e projeções futuras. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 1, 2018.

MARTINS, J. P. R. *et al.* Anatomical and physiological responses of *Billbergia zebrina* (Bromeliaceae) to copper excess in a controlled microenvironment. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 126, n. 1, p. 43-57, 2016.

MEHLTRETER, K.; WALKER, L. R.; SHARPE, J. M. **Fern ecology**. Cambridge university press, 2010.

MENDOZA-RAMOS, J. E. *et al.* Biomonitoring and Sourcing Toxic Elements Using Vascular Epiphytes of the *Tillandsia* Genus in the Mining Region of Taxco de



Alarcón, Guerrero, Southern Mexico. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 1, 2021.

MICKEL, J. T.; SMITH, A. R. The pteridophytes of Mexico. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v. 88, p. 1-1055, 2004.

MIMURA, A. M. S.; FERREIRA, C. C. M.; SILVA, J. C. J. Evaluation of atmospheric particulate matter from an industrial area in Southeast Brazil. **Environ Monit Assess**, v. 192, n. 12, p. 765, Nov 17 2020.

MONACI, F. *et al.* Biomonitoring of airborne metals in urban environments: new tracers of vehicle emission, in place of lead. **Environmental Pollution**, v. 107, p. 321-327, 2000.

MOREIRA, F. D. *et al.* **Uso de líquens como bioindicadores da qualidade do ar em centro urbano, Juiz de Fora, MG. 6º Simpósio de Gestão Ambiental e Biodiversidade**. 2018.

NAGAJYOTI, P. C.; LEE, K. D.; SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 8, n. 3, p. 199-216, 2010.

NAMIEŚNIK, J.; WARDENCKI, W. **Monitoring and Analytics of Atmospheric Air Pollution**. 2002.

PAIVA, J. G. A. D. *et al.* Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 2, p. 257-264, 2006.

POURKHABBAZ, A. *et al.* Influence of environmental pollution on Leaf properties of urban plane trees, *Platanus orientalis* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 85, n. 3, p. 251-255, 2010.

PPG I. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. **Journal of Systematics and Evolution**, v. 54, n. 6, p. 563-603, 2016.

RASCIO, N.; NAVARI-IZZO, F. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? **Plant Science**, v. 180, n. 2, p. 169-181, 2011.

REIMANN, C. *et al.* Element contents in leaves of four plant species (birch, mountain ash, fern and spruce) along anthropogenic and geogenic concentration gradients. **Science of the Total Environment**, v. 377, n. 2-3, p. 416-433, May 2007.

ROBINSON, M. F.; HEATH, J.; MANSFIELD, T. A. Disturbances in stomatal behaviour caused by air pollutants. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. Special Issue, p. 461-469, 1998.

ROCHA, L. D. *et al.* Morphometric differences of *Microgramma squamulosa* (Kaulf.) de la Sota (Polypodiaceae) leaves in environments with distinct atmospheric air

quality. **Anais Da Academia Brasileira De Ciencias**, v. 86, n. 3, p. 1137-1146, Sep 2014.

ROCHA, L. D. *et al.* Leaf Dimorphism of *Microgramma Squamulosa* (Polypodiaceae): a qualitative and quantitative analysis focusing on adaptations to epiphytism. **Rev Biol Trop**, v. 61, n. 1, p. 291-9, Mar 2013.

ROTHSCHILD, L. J.; MANCINELLI, R. L. Life in extreme environments. **Nature**, v. 409, n. 6823, p. 1092-101, Feb 22 2001.

SCHRECK, E. *et al.* *Tillandsia usneoides* as biomonitors of trace elements contents in the atmosphere of the mining district of Cartagena-La Union (Spain): New insights for element transfer and pollution source tracing. **Chemosphere**, v. 241, p. 124955, Sep 25 2019.

SHAHID, M. *et al.* Foliar heavy metal uptake, toxicity and detoxification in plants: A comparison of foliar and root metal uptake. **Journal of Hazardous Materials**, v. 325, p. 36-58, Mar 5 2017.

SHARMA, A.; UNIYAL, S. K. Heavy metal accumulation in *Pyrrosia flocculosa* (D. Don) Ching growing in sites located along a vehicular disturbance gradient. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 10, p. 12, Oct 2016.

SOKHI, R.; KITWIROON, N. Air pollution in urban areas. In: SOKHI, R. (Ed.). **World Atlas of Atmospheric Pollution**: Anthem Press, 2008. cap. 2.

SOUZA, F. S.; SALINO, A. *Pleopeltis* in Flora do Brasil 2020. 2020. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB91723> >. Acesso em: 07 jun. 2021.

SOUZA, V. L. *et al.* Efeitos do cádmio na anatomia e na fotossíntese de duas macrófitas aquáticas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 2, p. 343-354, 2009.

SUVARAPU, L. N.; BAEK, S.-O. Determination of heavy metals in the ambient atmosphere. **Toxicology and Industrial Health**, v. 33, n. 1, p. 79-96, 2016.

TCHOUNWOU, P. B. *et al.* Heavy Metal Toxicity and the Environment. In: (Ed.). **Molecular, Clinical and Environmental Toxicology**, 2012. cap. 6, p.133-164. (Experientia Supplementum).

TORRES, F. T. P.; MARTINS, L. A. **Monitoramento da qualidade do ar em Juiz de Fora – MG**. III Congresso Interamericano de Qualidade do Ar. Canoas 2003.

TRYON, R. M.; STOLZE, R. G. Pteridophyta of Peru. Part V. 18. Aspleniaceae-21. Polypodiaceae. **Fieldiana Bot NS**, v. 32, p. 1-190, 1993.

TURKYILMAZ, A. *et al.* Variation of heavy metal accumulation in certain landscaping plants due to traffic density. **Environment, Development and Sustainability**, 2018a.

TURKYILMAZ, A. *et al.* Changes in Heavy Metal Accumulation Depending on Traffic Density in Some Landscape Plants. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 27, n. 5, p. 2277-2284, 2018b.

TURKYILMAZ, A. *et al.* Use of tree rings as a bioindicator to observe atmospheric heavy metal deposition. **Environ Sci Pollut Res Int**, v. 26, n. 5, p. 5122-5130, Feb 2019.

UTTARA, S.; BHUVANDAS, N.; AGGARWAL, V. Impacts of urbanization on environment. **International Journal of Research in Engineering and Applied Science**, v. 2, n. 2, p. 1637-1645, 2012.

VALLADARES, F.; GIANOLI, E.; GOMEZ, J. M. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. **New Phytol**, v. 176, n. 4, p. 749-63, 2007.

VAN COTTHEM, W. R. J. Stomatal types and systematics. In: JERMY, A. C.; CRABBE, J. A., *et al* (Ed.). **The Phylogeny and Classification of the Ferns**: Botanical Journal Of The Linnean Society, v.67 (suppl. 1), 1973. p. 59-71.

WEERAKKODY, U. *et al.* Quantification of the traffic-generated particulate matter capture by plant species in a living wall and evaluation of the important leaf characteristics. **Science of the Total Environment**, v. 635, p. 1012-1024, 2018.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Calcium in plants. **Ann Bot**, v. 92, n. 4, p. 487-511, Oct 2003.

WOLTERBEEK, B. Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives. **Environmental Pollution**, v. 120, n. 1, p. 11-21, 2002.

YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 145-156, 2005.

YU, H. *et al.* Accumulation of Heavy Metals and As in the Fern *Blechnum orientale* L. from Guangdong Province, Southern China. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n. 7, 2020.

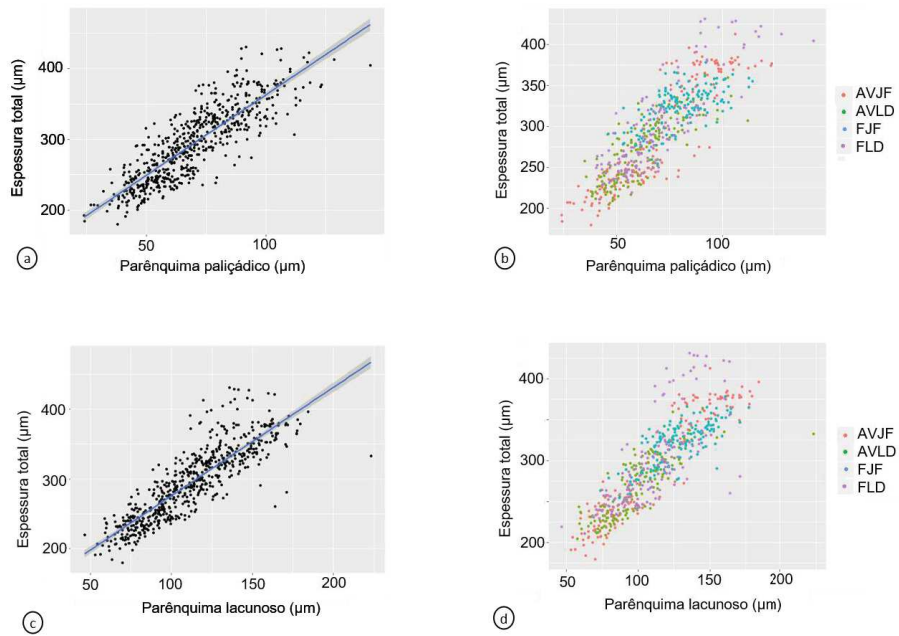
ZHENG, G. *et al.* Foliar uptake and transport of atmospheric trace metals bounded on particulate matters in epiphytic *Tillandsia brachycaulos*. **Int J Phytoremediation**, v. 23, n. 4, p. 400-406, 2021.

## APÊNDICE A – Comparação das médias dos parâmetros anatômicos foliares

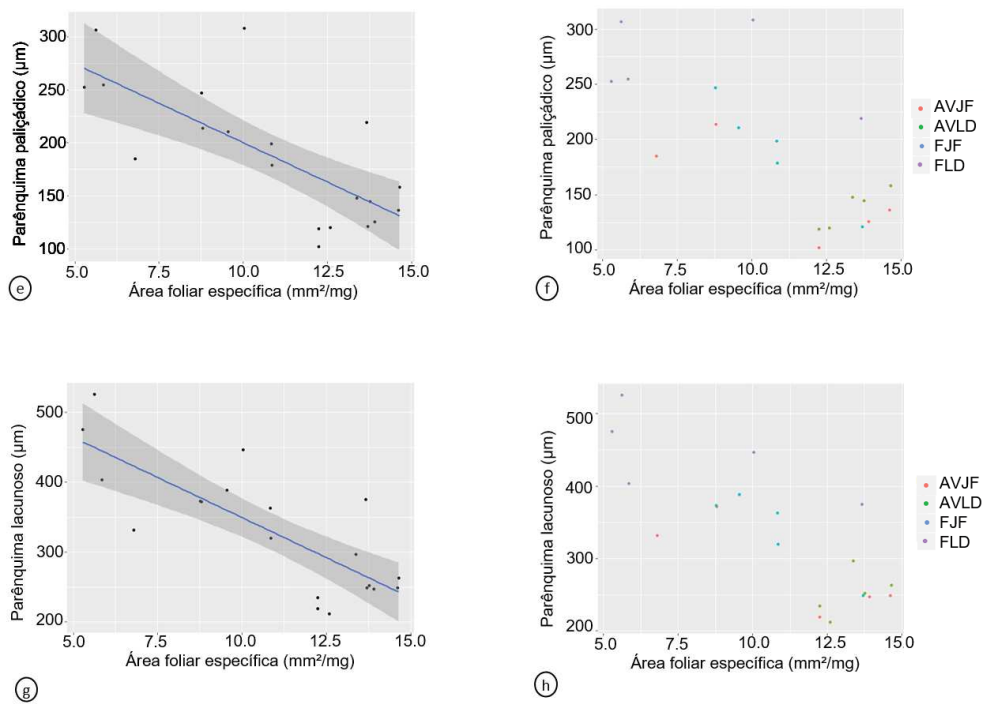
**Tabela 2** - Comparação das médias dos parâmetros anatômicos foliares. Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ). AVJF: área verde em Juiz de Fora; AVLD: área verde em Lima Duarte; FJF: fragmento florestal em Juiz de Fora; FLD: fragmento florestal em Lima Duarte.

<i>Microgramma squamulosa</i>				
	AVJF	AVLD	FJF	FLD
Área foliar específica (mm <sup>2</sup> /mg)	10,32a	10,01a	9,98a	10,10a
Índice estomático	0,07a	0,06b	0,05b	0,06b
Medida polar do estômato (µm)	28,54a	27,30b	27,67b	27,67b
Medida equatorial do estômato (µm)	11,01a	10,96a	11,16a	10,71b
Cutícula adaxial (µm)	4,35a	3,85bc	3,77b	3,99c
Epiderme adaxial (µm)	21,34ab	21,83ab	20,70a	22,71b
Hipoderme adaxial (µm)	31,80a	34,74a	39,86b	42,18b
Parênquima paliçádico (µm)	68,43a	61,36b	79,76c	68,57a
Parênquima lacunoso (µm)	107,98a	99,30b	128,96c	109,98a
Hipoderme abaxial (µm)	29,21a	28,61a	32,77b	31,96b
Epiderme abaxial (µm)	21,14a	21,21a	20,44a	22,48b
Cutícula abaxial (µm)	7,92a	7,47b	7,01c	8,08a
Espessura total (µm)	286,19a	269,97b	322,76c	295,88a
Razão parênquimas paliçádico/lacunoso	0,65a	0,63a	0,63a	0,63a
<i>Pleopeltis astrolepis</i>				
	AVJF	AVLD	FJF	FLD
Área foliar específica (mm <sup>2</sup> /mg)	11,27ab	13,33a	10,74b	8,09c
Índice estomático	0,06a	0,07a	0,06a	0,06a
Medida polar do estômato (µm)	35,15a	31,91b	35,93c	34,33d
Medida equatorial do estômato (µm)	11,33a	10,53b	11,56a	11,50a
Cutícula adaxial (µm)	4,42a	4,73b	4,91bc	5,08c
Epiderme adaxial (µm)	39,81a	43,89bc	41,63ab	44,08c
Parênquima paliçádico (µm)	152,59a	146,49a	191,25b	268,20c
Parênquima lacunoso (µm)	283,74a	260,38a	338,62b	444,96c
Epiderme abaxial (µm)	38,59a	39,94ab	39,11ab	40,61b
Cutícula abaxial (µm)	4,30a	4,51b	4,91c	4,99c
Espessura total (µm)	512,49a	481,94a	598,57b	792,11c
Razão parênquimas paliçádico/lacunoso	0,54a	0,57a	0,57a	0,61b

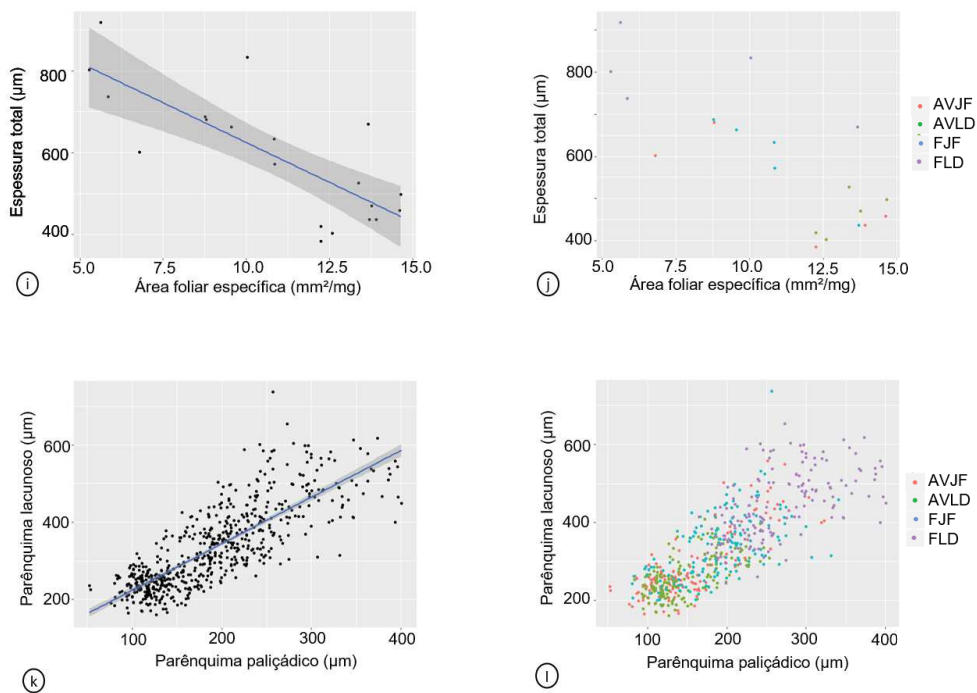
### APÊNDICE B – Gráficos de correlação



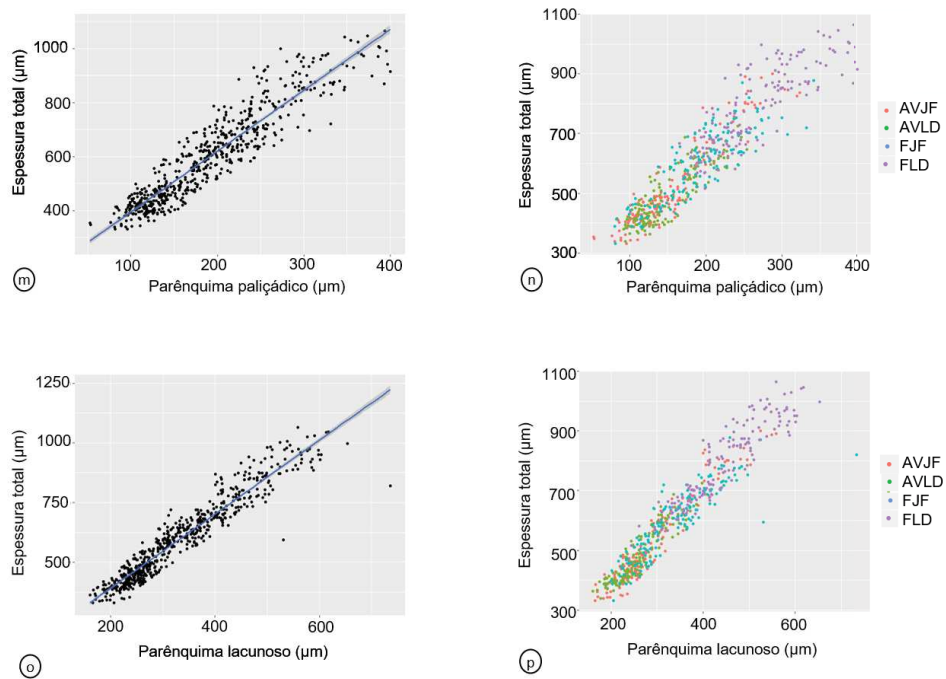
**Figura 7** – Correlação entre os parâmetros anatômicos foliares e a concentração dos elementos químicos nos tecidos vegetais. AVJF: área verde em Juiz de Fora; AVL D: área verde em Lima Duarte; FJF: fragmento florestal em Juiz de Fora; FLD: fragmento florestal em Lima Duarte; a-b: correlação entre a espessura do parênquima paliçádico ( $\mu\text{m}$ ) e a espessura total da folha em *Microgramma squamulosa* ( $r=0,85$ ); c-d: correlação entre a espessura do parênquima lacunoso ( $\mu\text{m}$ ) e a espessura total da folha em *Microgramma squamulosa* ( $r=0,86$ ).



**Figura 7 - (cont.);** e-f: correlação entre a área específica foliar (mm<sup>2</sup>/mg) e a espessura do parênquima paliçádico em *Pleopeltis astrolepis* ( $r = -0,74$ ); g-h: correlação entre a área específica foliar (mm<sup>2</sup>/mg) e a espessura do parênquima lacunoso em *Pleopeltis astrolepis* ( $r = -0,79$ ).

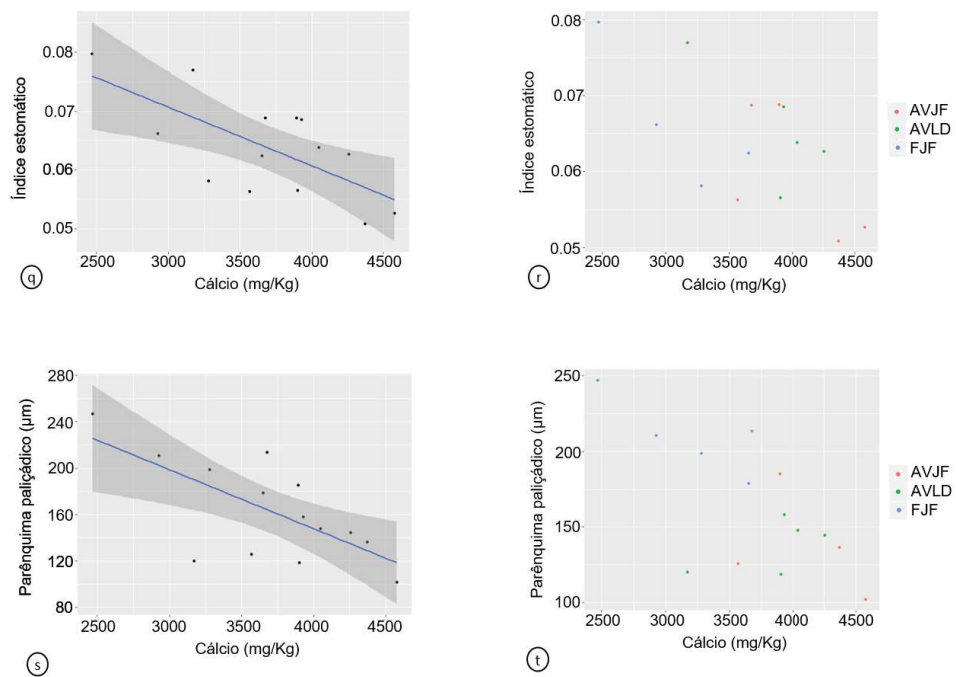


**Figura 7 – (cont.);** i-j: correlação entre a área específica foliar (mm<sup>2</sup>/mg) e a espessura total da folha (µm) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r=-0,78$ ); k-l: correlação entre espessura do parênquima paliçádico (µm) e a espessura do parênquima lacunoso (µm) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r=0,80$ ).

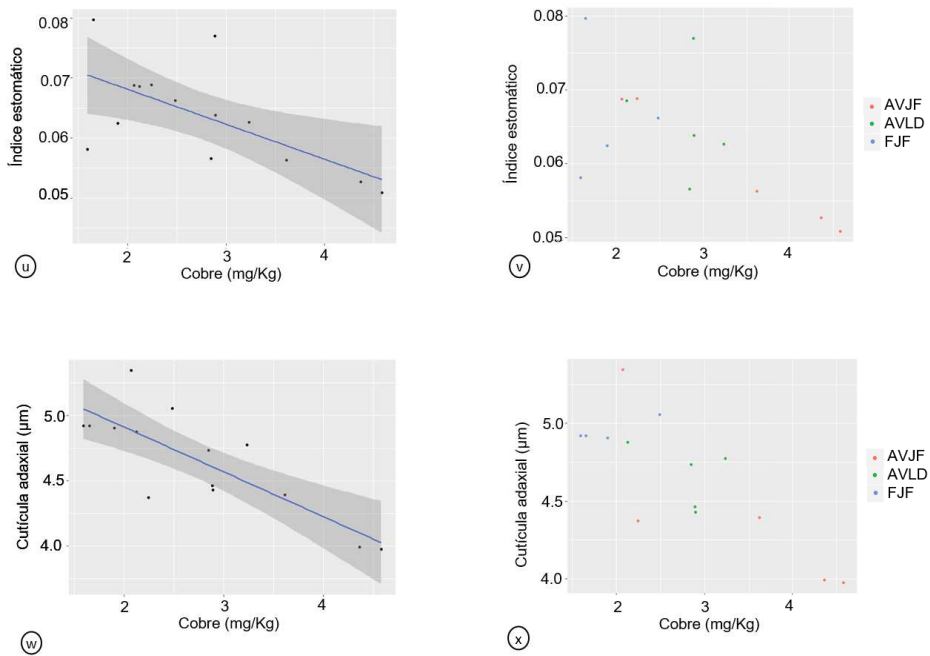


**Figura 7 – (cont.);** m-n: correlação entre a espessura do parênquima paliçádico ( $\mu\text{m}$ ) e a espessura total da folha ( $\mu\text{m}$ ) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r=0,93$ ); o-p: correlação entre espessura do parênquima lacunoso ( $\mu\text{m}$ ) e a espessura total da folha ( $\mu\text{m}$ ) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r=0,80$ ).

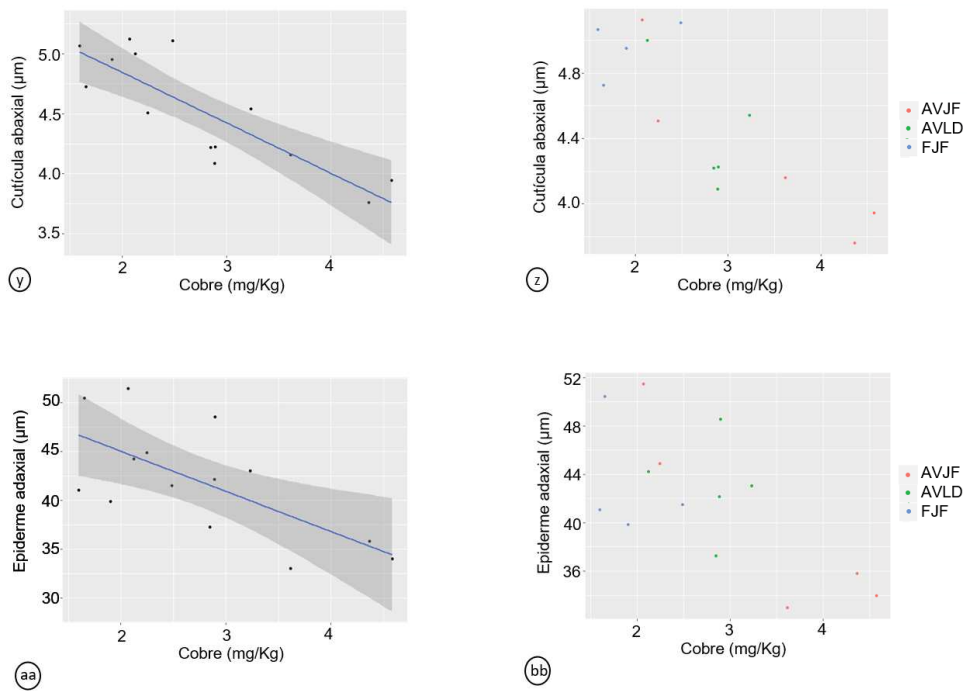




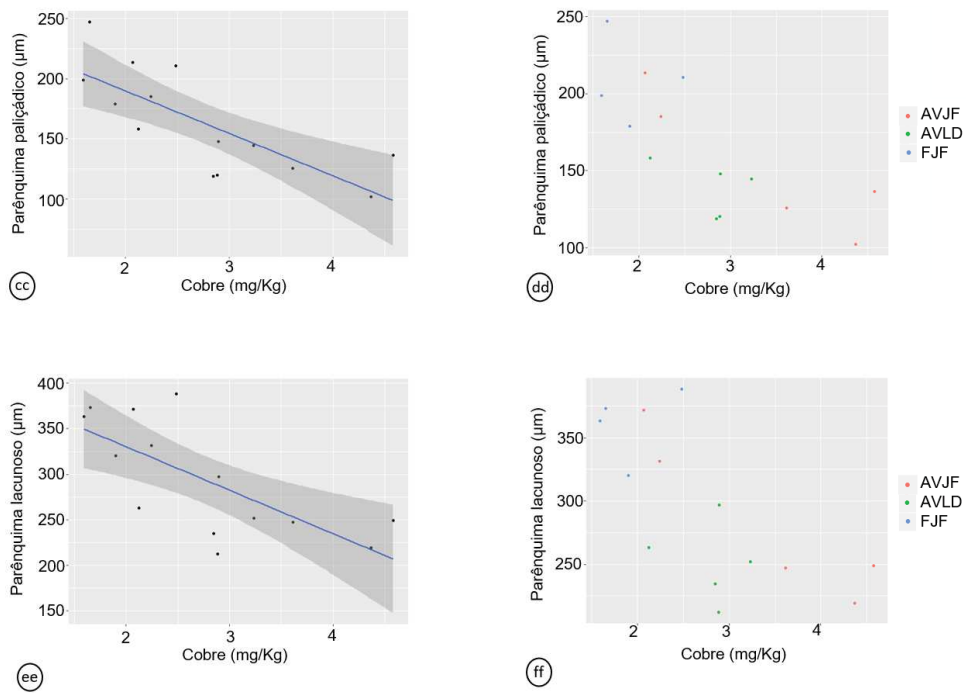
**Figura 7 – (cont.);** q-r: correlação entre a concentração de Cálcio (mg/Kg) e a índice estomático em *Pleopeltis astrolepis* ( $r = -0,63$ ); s-t: correlação entre a concentração de Cálcio (mg/Kg) e a espessura do parênquima paliçádico ( $\mu\text{m}$ ) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r = -0,68$ ).



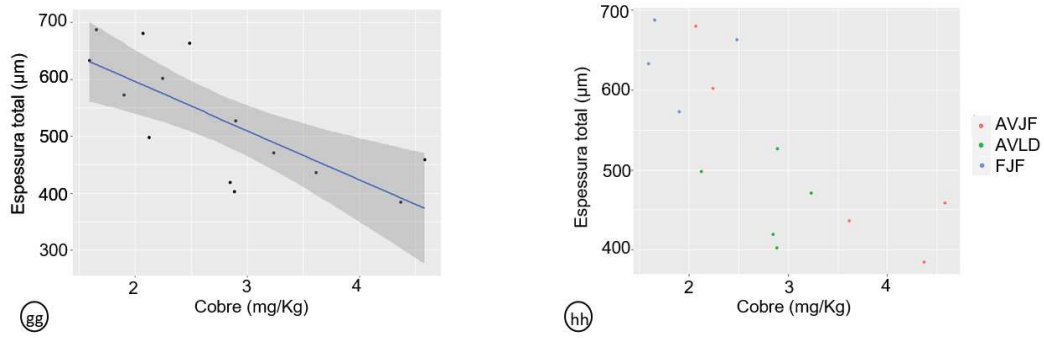
**Figura 7 – (cont.);** u-v: correlação entre a concentração de Cobre (mg/Kg) e o índice estomático em *Pleopeltis astrolepis* ( $r = -0,64$ ); w-x: correlação entre a concentração de Cobre (mg/Kg) e a espessura da cutícula na face adaxial ( $\mu\text{m}$ ) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r = -0,81$ ).



**Figura 7 – (cont.);** y-z: correlação entre a concentração de Cobre (mg/Kg) e a espessura da cutícula na face abaxial ( $\mu\text{m}$ ) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r=-0,83$ ); aa-bb: correlação entre a concentração de Cobre (mg/Kg) e a espessura da epiderme na face adaxial ( $\mu\text{m}$ ) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r=-0,67$ ).



**Figura 7 –** (cont.); cc-dd: correlação entre a concentração de Cobre (mg/Kg) e a espessura do parênquima paliçádico (µm) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r = -0,76$ ); ee-ff: correlação entre a concentração de Cobre (mg/Kg) e a espessura do parênquima lacunoso (µm) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r = -0,71$ ).



**Figura 7 – (cont.); gg-hh:** correlação entre a concentração de Cobre (mg/Kg) e a espessura total da folha (µm) em *Pleopeltis astrolepis* ( $r = -0,75$ ).