



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Laís de Almeida Bezerra

Qual a influência do ambiente urbano nas plantas medicinais?

Rio de Janeiro

2021

Laís de Almeida Bezerra

Qual a influência do ambiente urbano nas plantas medicinais?

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Conservação e Utilização da Biodiversidade.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maura da Cunha

Coorientadora: Prof.^a Dra. Cátia Henriques Callado

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

B574 Bezerra, Laís de Almeida.
Qual a influência do ambiente urbano nas plantas medicinais?/ Laís de Almeida Bezerra. – 2021.
120 f. : il.

Orientadora: Maura da Cunha.
Coorientadora: Cátia Henriques Callado
Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Plantas medicinais – Teses. 2. Citotoxicidade - Teses. I. Cunha, Maura da. II. Callado, Cátia Henriques. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 633.88

Patricia Bello Meijinhos CRB7/5217 -Bibliotecária responsável pela elaboração da ficha catalográfica

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Laís de Almeida Bezerra

09/08/2021

Assinatura

Data

Laís de Almeida Bezerra

Qual a influência do ambiente urbano nas plantas medicinais?

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Conservação e Utilização da Biodiversidade.

Aprovada em 13 de abril de 2021.

Orientadora:

Prof.^a Dra. Maura da Cunha

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Coorientadora:

Prof.^a Dra. Cátia Henriques Callado

Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Banca Examinadora

Prof.^a Dra. Helena Regina Pinto Lima

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Prof.^a Dra. Nina Cláudia Barboza da Silva

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Luis Fernando Amato Lourenço

Universidade de São Paulo

Prof.^a Dra. Bruna Nunes de Luna

Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2021

AGRADECIMENTOS

Sou grata por ter chegado ao final desta fase tão desafiadora e importante que foi o doutorado. Ao olhar para trás vejo que muitas pessoas contribuíram durante esse processo. Porém, gostaria de agradecer em especial:

A Deus, que me deu forças, fé, paz e esperança durante essa jornada.

À minha família, por toda compreensão, apoio e incentivo para correr atrás dos meus sonhos. À William, que sempre esteve ao meu lado, sendo meu porto seguro nos momentos mais difíceis. Amo vocês!

À minha orientadora, a Profa. Dra. Maura Da Cunha, por todo apoio e compreensão. Obrigada por me adotar, mesmo eu sendo a filha que decidiu morar distante. Sou muito grata por todos os aprendizados adquiridos com você durante minha trajetória acadêmica.

À minha coorientadora, a Profa. Dra. Cátia Henriques Callado, por ter me aceitado na sua equipe e me auxiliado nesse mundo que era novo pra mim, da pesquisa no ambiente urbano. Obrigada por sua orientação, ajuda e paciência.

À minha amiga Priscila Simioni, por compartilhar comigo de forma bem divertida e agitada as fases mais legais e desafiadoras desse doutorado. Quando a gente achava que já tinha passado todos os perrengues possíveis, vem a pandemia para mostrar que podemos ser ainda mais fortes. Obrigada pelos conselhos e incentivo.

À minha amiga Amanda Cerqueira, que mesmo de longe se faz tão presente, me incentivando. Foi muito importante o seu auxílio no entendimento dos dados da fluorescência da clorofila *a*. Obrigada pela parceria de sempre.

À toda equipe do Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), em especial à Thaís e ao João que me auxiliaram de forma direta na pesquisa. Às técnicas Nattacha e Jeane, e aos colegas de laboratório Tatiani, Daiane, Sabrina, Maria Julia, Mayla, Raphaella, Warlen e Paulo Ricardo. Obrigada por compartilharem conhecimentos, comidinhas e alegria na rotina do laboratório.

Aos meus colegas do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual (LBCT) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Camilla, Glazielle, Saulo, Marcos, Renata, Marcela e Rodrigo, agradeço pela parceria e pela troca de experiência e conhecimentos.

Ao professor Dr. Davyson Oliveira e toda a equipe do Laboratório de Produtos Naturais de Farmanguinhos, pela colaboração com essa pesquisa. Em especial ao Ygor que me auxiliou

nas últimas coletas e ainda continua comigo na saga de decifrar o óleo essencial. Obrigada por toda paciência e apoio.

À professora Dra. Claudia Barros e toda a equipe do Laboratório do Jardim Botânico, em especial à Bruna Nunes, por terem sempre aberto as portas do laboratório quando precisei. Obrigada.

Ao professor Dr. José Carlos e toda a equipe do Laboratório de Radio e Fotobiologia, em especial ao técnico Marcos Murata e à Thais Cassiano, por terem contribuído com o meu projeto. Me senti muito acolhida pela equipe. Obrigada pelos ensinamentos e paciência.

Ao professor Dr. Marcelino José Anjos e toda a equipe do LIETA, em especial ao Ramon Santos, por terem aceito colaborar com essa pesquisa e por me receberem tão bem no laboratório nos dias de análise.

À equipe do Laboratório de Produtos naturais (LabPlan) da UERJ por permitir utilizar as instalações do laboratório quando necessário.

Aos funcionários da FIOCRUZ Manguinhos e Mata Atlântica pela autorização para pesquisas nas áreas de estudo, em especial ao Dr. Marcelo Neto Galvão pelo apoio durante as coletas.

À secretaria da Pós-Graduação em Biologia Vegetal da UERJ, pelo pronto suporte e atenção quando necessário.

À UENF, pela estrutura concedida para realização de algumas etapas desta pesquisa. Muito obrigada!

À UERJ, por ser meu local de crescimento profissional durante esses anos. Me sinto honrada de poder fazer parte de uma instituição com uma história tão bonita.

À FAPERJ, e atualmente, à Capes por ter ofertado a bolsa de doutorado, colaborando com a minha permanência como pesquisadora do nosso País.

Alguns homens vêem as coisas como são, e dizem ‘Por quê?’. Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo ‘Por que não?’.

George Bernard Shaw

RESUMO

BEZERRA, Laís de Almeida. *Qual a influência do ambiente urbano nas plantas medicinais?* 2021. 120f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Plantas medicinais são amplamente utilizadas pela população para o tratamento de diversas enfermidades. A suscetibilidade das plantas às condições específicas do ambiente é variável, levantando muitas questões sobre o comportamento das plantas medicinais quando cultivadas em meio urbano. A maioria das pessoas no ambiente urbano obtém plantas medicinais por meio do próprio cultivo. Assim, este trabalho visou detectar possíveis alterações induzidas pela exposição ao meio urbano, em plantas medicinais, cultivadas em dois sítios na cidade do Rio de Janeiro, o sítio florestal, localizado próximo à maior floresta urbana do planeta e o sítio urbano, situado no centro metropolitano, à margem da avenida mais movimentada do município. Três espécies de amplo uso na medicina popular, *Eugenia uniflora* L., *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson e *Plectranthus barbatus* Andr., tiveram suas folhas investigadas. Este estudo apresenta análises integradas das condições ambientais, fisiologia, anatomia e fitoquímica, além de experimentos de citotoxicidade. Os resultados obtidos com as análises dos solos mostraram um perfil químico similar, no qual as concentrações de Cálcio (Ca), Enxofre (S) e Chumbo (Pb) foram maiores no sítio urbano. Dentre os elementos químicos analisados nos espécimes de *E. uniflora*, destaca-se o Pb, pois foi detectado nas folhas do sítio urbano na concentração limite permitida pela OMS. As folhas de *E. uniflora* do sítio urbano revelaram necrose e manchas avermelhadas, maior densidade estomática, estômatos menores e maior número de cristais e glândulas secretoras, além de evidente armazenamento de amido, lipídios e mucilagem. Apesar de não ser expressiva a diferença química entre os extratos produzidos a partir das folhas de *E. uniflora*, cultivadas nos dois sítios de estudo, foram observadas diferenças significativas quanto à viabilidade das células VERO submetidas aos seus extratos. Com relação à estrutura externa de *L. alba* e *P. barbatus*, os resultados revelaram diferenças com relação à densidade de estômatos, tricomas tectores e tricomas glandulares. Com relação à histologia, os parâmetros aferidos referentes à lâmina foliar de *P. barbatus* mostrou que a dimensão do parênquima paliádico aumentou estatisticamente no sítio urbano. Já nas folhas de *L. alba* do sítio urbano os tecidos parenquimáticos clorofilados se mostraram menos desenvolvidos e compactados. As alterações analisadas, como o aumento da frequência e diminuição do tamanho dos estômatos e a maior frequência de glândulas secretoras, cristais, tricomas tectores e tricomas glandulares podem ter contribuído para a aclimação dessas espécies à condição urbana, sendo características com possíveis usos para biomonitoramento urbano. Os resultados destacam variações nas propriedades morfoanatômicas foliares e nas características químicas e citotóxicas de preparos realizados a partir de plantas medicinais desenvolvidas em ambiente urbano, o que nos permite concluir que os fatores ambientais desse local são suficientes para promover variações nas características estruturais e metabólicas dos organismos.

Palavras-chave: Poluição atmosférica. Estruturas secretoras. Caracteres bioindicadores. Citotoxicidade. Plantas urbanas. Serviços ambientais.

ABSTRACT

BEZERRA, Laís de Almeida. *What is the influence of the urban environment on medicinal plants?* 2021. 120f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

The population widely uses medicinal plants to treat various diseases. The susceptibility of plants to specific environmental conditions is variable, raising many questions about medicinal plants' behavior when grown in an urban environment. Most people in the urban environment obtain medicinal plants through their own cultivation. Thus, this work aimed to detect possible changes induced by exposure to the urban environment in medicinal plants grown in two sites in the city of Rio de Janeiro, the forest site, located close to the largest urban forest on the planet and the urban site, located in the central metropolitan area, on the edge of the busiest avenue in the municipality. Three species widely used in folk medicine, *Eugenia uniflora* L., *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson and *Plectranthus barbatus* Andr. had their leaves investigated. This study presents integrated analyzes of environmental conditions, physiology, anatomy, and phytochemistry, in addition to cytotoxicity experiments. The results obtained with the soil analysis showed a similar chemical profile, in which the concentrations of Calcium (Ca), Sulfur (S), and Lead (Pb) were higher in the urban site. Among the chemical elements analyzed in the specimens of *E. uniflora*, Pb stands out, as it was detected in the leaves of the urban site in the limit concentration allowed by the WHO. *E. uniflora* leaves from the urban site revealed necrosis and reddish spots, greater stomatal density, smaller stomata, and a greater number of crystals and secretory glands, in addition to evident storage of starch, lipids, and mucilage. Although the chemical difference between the extracts produced from the leaves of *E. uniflora*, grown in the two study sites, is not expressive, significant differences were observed regarding VERO cells' viability submitted to their extracts. Regarding the external structure of *L. alba* and *P. barbatus*, the results revealed differences in the density of stomata, trichomes, and glandular trichomes. Regarding histology, the parameters measured for the leaf blade of *P. barbatus* showed that the dimension of the palisade parenchyma increased statistically in the urban site. In the leaves of *L. alba* from the urban site, the chlorophyll parenchymatic tissues were less developed and compacted. The alterations analyzed, such as the increase in frequency and decrease in the size of stomata and the higher frequency of secretory glands, crystals, trichomes, and glandular trichomes, may have contributed to the acclimatization of these species to the urban condition, being characteristics with possible uses for urban biomonitoring. The results highlight variations in the leaf morphoanatomical properties and in the chemical and cytotoxic characteristics of preparations made from medicinal plants developed in an urban environment, which allows us to conclude that the environmental factors of this place are sufficient to promote variations in the structural and metabolic characteristics of the organisms.

Keywords: Air pollution. Secretory structures. Bioindicator characters. Cytotoxicity. Urban plants. Environmental services.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Mapa destacando os locais de estudo na cidade do Rio de Janeiro, Brasil	41
Figura 2	Cortes transversais de folhas de <i>Eugenia uniflora</i> de ambos os locais.....	46
Figura 3 –	Relação entre comprimento estomático e densidade estomática em folhas de <i>Eugenia uniflora</i> dos dois locais de estudo	47
Figura 4 –	Folhas diáfanas de <i>Eugenia uniflora</i> à microscopia de luz. As imagens mostram a diferença na densidade do cristal entre os dois locais e detalham mais a estrutura do cristal.....	48
Figura 5 –	Seção transversal da lâmina foliar de <i>Eugenia uniflora</i> . Lâmina foliar em microscopia de luz, com diferentes testes histoquímicos.	49
Figura 6 –	Folhas de diferentes exemplares de <i>Eugenia uniflora</i> em ambiente urbano.....	50
Figura 7 –	Mapas destacando os locais de estudo na cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.	64
Figura 8 –	Mapeamento de micro-XRF da folha de <i>Eugenia uniflora</i> (A) do sítio urbano, mostrando as concentrações de cálcio (B), cloro (C), silício (D) e zinco (E).	71
Figura 9 –	Leitura de espectroscopia de raios-X de dispersão de energia (EDS).	72
Figura 10 –	HPLC-DAD-UV do extrato hidroalcoólico de <i>Eugenia uniflora</i>	73
Figura 11 –	Efeitos do extrato hidroalcoólico da folha de <i>Eugenia uniflora</i> de ambos os locais de estudo em células VERO.	74
Figura 12 –	Mapa destacando os sítios de estudo na cidade do Rio de Janeiro, Brasil.	92
Figura 13 –	Folha de <i>Lippia alba</i>	98
Figura 14 –	Folha de <i>Plectranthus barbatus</i>	99
Figura 15 –	Superfícies adaxial e abaxial de <i>Lippia alba</i>	102
Figura 16 –	Superfícies adaxial e abaxial de <i>Plectranthus barbatus</i>	103
Figura 17 –	Esquema comparando as diferenças estruturais encontradas nas duas	

espécies de estudo (<i>Lippia alba</i> e <i>Plectranthus barbatus</i>) se desenvolvendo no sítio urbano, destacando as condições do solo deste sítio.	104
--	-----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Precipitação média anual para 1995-2016 e precipitação anual para 2017, e temperaturas médias para 2017 no local de estudo urbano e no local de estudo florestal na cidade do Rio de Janeiro, Brasil	42
Tabela 2 –	Parâmetros medidos de <i>Eugenia uniflora</i> na floresta e sítio urbano e os resultados dos testes estatísticos; Student t (t) e Mann-Whitney (U).	45
Tabela 3 –	Índices de plasticidade fenotípica para os parâmetros quantitativos avaliados	51
Tabela 4 –	Características ambientais nos locais de estudo florestal e urbano no período de 2019.....	63
Tabela 5 –	Concentrações de elementos químicos detectados em amostras de solo e folhas analisadas por XRF e valores de bioconcentração dos elementos químicos em folhas de <i>Eugenia uniflora</i> de sítios urbanos e florestais.	70
Tabela 6 –	Parâmetros de fluorescência da clorofila medidos em folhas de <i>Eugenia uniflora</i> crescendo em floresta e áreas urbanas.	72
Tabela 7 –	Concentração de elementos químicos encontrados em amostras de solo e folhas detectadas por XRF e os resultados da análise estatística comparativa entre os dois locais. t-Student (t) e Mann-Whitney (U)...	87
Tabela 8 –	Características ambientais do sítio florestal e urbano no período de 2018.	92
Tabela 9 –	Concentrações elementares das entidades do solo próximo a cada espécie de <i>Lippia alba</i> e de <i>Plectranthus barbatus</i> , coletadas nos sítios urbano e florestal.	95
Tabela 10 –	Parâmetros quantitativos aferidos de <i>Lippia alba</i> e <i>Plectranthus barbatus</i> no sítio florestal e no sítio urbano e os resultados dos testes estatísticos t-Student (t) e Mann-Whitney (U).	101

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al	alumínio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Area	Área da curva OJIP
Ba	bário
Ca	cálcio
Cd	cádmio
Cl	cloro
cm	centímetro
Cr	crômio
Cu	cobre
DEN	Densidade
DLM	Massa seca
DP	desvio padrão
EDS	Espectroscopia de raios X
XRF	Fluorescência de raios-x
FBS	Soro fetal bovino
Fe	ferro
Fv/Fm	Eficiência quântica máxima do fotossistema II
g	grama
Ga	gálio
GC-MS	cromatografia gasosa com espectrômetro de massa
Hg	mercúrio
HLT	Espessura da folha hidratada
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
INEA	Instituto Nacional do ambiente
K	potássio
kg	quilograma
LA	Área foliar
LMA	Massa da folha por unidade de área
m.a.s.l.	metros sobre o nível do mar
mg	micrograma
ml	miligrama

Mg	magnésio
mg kg ⁻¹	micrograma por quilograma
mg/g	micrograma por grama
min	minuto
mm	milímetro
Mn	manganês
Ni	níquel
nm	nanômetro
O ₃	ozônio
ODM	Objetivos de desenvolvimento do milênio
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	fósforo
PAH	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
Pb	chumbo
PIabs	Performance index
ppm	partes por milhão
Rb	rubídio
RC/ABS	Densidade do centro de reação da clorofila
RENISUS	Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao sistema único de saúde
S	enxofre
SEM	Microscopia eletrônica de varredura
Si	silício
SLM	Massa seca saturada
Sr	estrôncio
SUC	suculência
tFm	Tempo para atingir Fm
Ti	titânio
total PI	Vitalidade total
var.	variedade
OMS	Organização Mundial da Saúde
Zn	zinco
Zr	zircônio
φ Do	Eficiência máxima de excitação não fotoquímica

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	17
1	REVISÃO DA LITERATURA.....	21
1.1	Ambiente Urbano	21
1.2	O uso de Plantas medicinais.....	22
1.3	Plantas X Ambiente Urbano.....	23
1.4	Espécies de estudo.....	26
1.4.1	<u>Eugenia uniflora</u>	26
1.4.	<u>Lippia alba</u>	27
1.4.3	<u>Plectranthus barbatus</u>	28
	REFERÊNCIAS.....	30
2	OBJETIVOS.....	37
2.1	Objetivo geral.....	37
2.2	Objetivos específicos.....	37
3	O ambiente urbano afeta a estrutura foliar de <i>Eugenia uniflora</i> L. (Myrtaceae)?.....	38
3.1	Introdução	38
3.2	Materials e métodos	40
3.3	Resultados.....	43
3.4	Discussão.....	51
	REFERÊNCIAS	56
4	Alterações químicas e citotóxicas em folhas de <i>Eugenia uniflora</i> L., planta medicinal que cresce no 4º maior centro urbano da América Latina.....	60
4.1	Introdução	60
4.2	Materials e métodos	62
4.3	Resultados.....	69
4.4	Discussão.....	74
	REFERÊNCIAS	81
5	Quais as possíveis alterações das folhas de plantas medicinais em exposição ao ambiente urbano?.....	88
5.1	Introdução	89
5.2	Materials e métodos	91

5.3	Resultados.....	95
5.4	Discussão.....	104
	REFERÊNCIAS	111
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	117
	REFERÊNCIAS.....	120

INTRODUÇÃO GERAL

Urbanização é o crescimento das cidades tanto em população, quanto em extensão territorial e é acompanhada por muitos problemas, como a poluição do ar, contaminação do solo, mudanças nos níveis de emissão de carbono, na dinâmica dos ventos, no padrão de precipitação e na temperatura das cidades. Esta urbanização, embora necessária, acaba impactando o desenvolvimento de plantas, a saúde humana e os ecossistemas (GURJAR et al., 2008; ROY et al., 2012; OKE et al., 2017; MASSON et al., 2020).

O Rio de Janeiro, segundo maior município do Brasil, possui índices de poluição atmosférica elevados nos pontos mais afastados das áreas florestadas e da faixa litorânea (INEA, 2015; 2020). Alguns fatores favorecem o acúmulo desses poluentes nas regiões centrais da cidade, como o intenso tráfego veicular (KARAGULIAN et al., 2015; PETROVA, 2020), a construção de edifícios verticais que alteram a dinâmica dos ventos (MASSON et al., 2020), altas temperaturas devido ao fenômeno de ilha de calor (OLIVEIRA et al., 2017), e áreas montanhosas que formam uma barreira natural à circulação do ar, favorecendo o acúmulo de ozônio (DANTAS et al., 2020; MENDES, 2020).

Segundo o relatório mundial de acompanhamento dos Objetivos de Desenvolvimento do Milênio (ODM) sobre a América Latina e Caribe, a urbanização é um estímulo importante para retirar os cidadãos da pobreza e promover o desenvolvimento. O documento avalia o progresso dos países da região no alcance dos ODM. Levando em conta que mais de 80% dos bens e serviços mundiais são produzidos nas cidades, os países com elevados níveis de urbanização, desde a China até os países da América Latina, desempenharam um papel essencial na redução da pobreza. No entanto, o relatório adverte que, se a urbanização não for administrada de modo adequado, também poderá gerar um crescimento descontrolado de favelas, doenças e delinquência.

O conhecimento de plantas medicinais representa em muitas vezes o único recurso terapêutico de algumas comunidades, sendo que a procura por tratamentos alternativos vem aumentando consideravelmente, tornando essa prática frequente entre a sociedade brasileira (SILVA; HAHN, 2011). Uma considerável parte da população de grandes centros urbanos continua optando pelas plantas medicinais como a principal forma de tratamento para diversas doenças, apesar da disponibilidade de medicamentos alopáticos (VEIGA JUNIOR, 2008). Neste sentido, foram listadas uma ampla variedade de plantas utilizada pela população do Rio

de Janeiro de forma terapêutica (LEITÃO et al, 2014). A maioria das pessoas do meio urbano obtém as plantas medicinais através do compartilhamento ou coleta de plantas cultivadas pela própria população (BRASILEIRO et al., 2008; VEIGA JÚNIOR, 2008). Um problema associado a essa prática é a possibilidade de contaminação e alteração da composição química de preparos provenientes de cultivos urbanos.

É importante ressaltar que características do ambiente urbano são suficientes para causar alterações estruturais em plantas (ALVES et al., 2008; SILVA et al., 2017; VASCONCELLOS et al., 2017; SILVA et al., 2021). Além disso, tem sido explorado o impacto de deposições atmosféricas geradas por atividades no ambiente urbano, como tráfego veicular intenso, na contaminação de espécies cultivadas nesses locais (DE TEMMERMAN et al., 2015; SAUMEL et al., 2012; AMATO-LOURENCO et al., 2016). Apesar das funções, mecanismos de síntese e regulação de metabólitos secundários ainda não serem claros, sabe-se que estes têm relação direta com as condições ambientais (RODZIEWICZ et al., 2014; GANDHI et al., 2015). Entretanto, pouco se sabe sobre como essas interferências podem influenciar nos preparos fitoterápicos derivados do princípio ativo ou dos produtos dessas plantas e no seu potencial tóxico.

Sendo assim, algumas perguntas nortearam a pesquisa: Quais são as condições climáticas e as características químicas do solo do local de cultivo urbano? Como essas características podem influenciar no crescimento da planta e no seu potencial terapêutico? O grau de plasticidade estrutural das folhas dos diferentes sítios permite definir uma característica bioindicadora de estresse?

Para responder essas perguntas, o estudo sobre as condições climáticas e as características químicas do solo do local de cultivo urbano são relevantes para contextualização dos fatores que estão influenciando no crescimento da planta. Outro viés importante é a análise das características estruturais das espécies, permitindo melhor entendimento das áreas da planta que podem estar sofrendo danos e compreender possíveis respostas aos estresses, como alterações na densidade e no mecanismo de secreção das estruturas secretoras, além de permitir detectar prováveis locais de acúmulo de contaminantes.

Considerando esse contexto, comparamos três plantas medicinais em dois sítios na cidade do Rio de Janeiro, *Eugenia uniflora* L., *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson e *Plectranthus barbatus* Andr., com o objetivo de detectar possíveis alterações induzidas pela exposição ao meio urbano. Para isso dividimos essa tese em três capítulos:

*Capítulo 1: Does an urban environment affect leaf structure of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)?* (publicado)

A suscetibilidade das plantas a condições ambientais específicas é fonte de variação fisiológica e estrutural, o que levanta muitas questões sobre o comportamento das plantas medicinais quando cultivadas em áreas urbanas. *Eugenia uniflora* é uma espécie amplamente cultivada no Brasil e o seu potencial como espécie bioindicadora em ambientes urbanos foi demonstrado em estudos anteriores. Neste estudo, objetivou-se analisar as folhas de *E. uniflora* coletadas em dois sítios na cidade do Rio de Janeiro, com o intuito de detectar alterações induzidas pela exposição ao ambiente urbano. Assim, investigamos se as folhas de *E. uniflora* coletadas em sítio florestal e urbano (1) variam na estrutura externa e interna; (2) diferem na produção dos principais metabólitos secretados por suas estruturas secretoras; e (3) exibem plasticidade estrutural significativa, que possa ser reconhecida como bioindicadora para ambientes urbanos.

*Capítulo 2: Chemical and cytotoxicity changes in leaves of *Eugenia uniflora* L., a medicinal plant growing in the 4th largest city of Latin America* (submetido)

O Serviço Nacional de Saúde do Brasil recomenda o uso medicinal de *E. uniflora*. No ambiente urbano, a maioria das pessoas obtém plantas medicinais por meio de seu próprio cultivo, tornando evidente a importância de se verificar a toxicidade de preparos medicinais derivados dessa planta sob tal condição e a confiabilidade da espécie para uso pela população. Assim, é necessário investigar se as mudanças estruturais observadas nas folhas de *E. uniflora* cultivadas no sítio urbano (Capítulo 1) são acompanhadas por mudanças no seu perfil químico e na citotoxicidade do extrato foliar, interferindo consequentemente na segurança do uso medicinal desta planta. Considerando este contexto, *E. uniflora* foi estudada crescendo em dois sítios na cidade do Rio de Janeiro, a fim de detectar possíveis alterações químicas e de citotoxicidade induzidas pela exposição ao ambiente urbano.

Capítulo 3: Quais as possíveis alterações das folhas de plantas medicinais em exposição ao ambiente urbano? (manuscrito redigido)

Lippia alba e o *Plectranthus barbatus* são plantas medicinais amplamente utilizadas pela população do Rio de Janeiro. Cabe destacar que, embora a sociedade utilize comumente plantas cultivadas em meio urbano para consumo, ainda não é claro até que ponto estas podem estar sendo afetadas pelas condições desse ambiente. Em estudos prévios foram observadas alterações na estrutura foliar externa e interna de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) induzidas

pela exposição ao ambiente urbano (Capítulo 1). Além disso, essas condições de desenvolvimento foram suficientes para alterar o potencial toxicológico do extrato hidroalcoólico das folhas desses indivíduos (Capítulo 2). Após essas observações, surgiu a pergunta: Quais respostas seriam encontradas ao realizar estudos comparativos de espécies com hábitos diferentes, encontradas nos mesmos sítios de estudo? Além disso, por conta de apresentarem estruturas secretoras externas, este estudo buscou investigar a variação desses caracteres anatômicos às condições adversas do ambiente urbano.

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Ambiente Urbano

As transformações feitas no meio urbano causam impactos importantes sobre a temperatura, a pressão do ar, a precipitação, a umidade e o vento (OKE et al., 2017). Além disso, a qualidade do ar é influenciada principalmente devido às emissões de poluentes e pela modificação das circulações de vento horizontais. Este fato pode criar problemas de ventilação, levando ao acúmulo de ar quente e baixa qualidade do ar, especialmente em áreas urbanas densas e altas (MASSON et al., 2020).

Mudanças nas características da superfície das cidades também são importantes para o clima urbano no contexto de mudanças climáticas em grande escala. Por exemplo, a impermeabilidade das superfícies urbanas aumenta os impactos da chuva e também leva a temperaturas de superfície mais altas (MASSON et al., 2020). Arrau e Peña (2015) descreveram o fenômeno de ilha de calor como áreas mais quentes do que a paisagem ao seu redor. Durante o dia, grande parte da radiação proveniente do sol aquece os materiais urbanos. Esse calor armazenado é liberado à noite, limitando o resfriamento noturno do ar nas cidades e criando a ilha de calor urbana. A urbanização é também influenciada e modulada pelo calor liberado pelas atividades humanas e pelo fluxo de ar (MASSON et al., 2020). Em consequência, esse fenômeno influencia a qualidade do ar e a saúde humana (COSGROVE; BERKELHAMMER, 2018).

Cidades montanhosas estão sujeitas a efeitos topográficos e fluxos locais que podem influenciar a ilha de calor urbana (KETTERER; MATZARAKIS, 2014) e a dispersão de poluentes atmosféricos (OKE et al., 2017). O Rio de Janeiro, município situado no sudeste do Brasil, possui condições topográficas e meteorológicas que favorecem a formação de ozônio. O clima é tropical, quente e úmido, e as áreas montanhosas formam uma barreira natural à circulação do ar (DANTAS et al., 2020; MENDES, 2020).

O Rio de Janeiro é dividido em duas áreas muito diferentes, os bairros localizados ao sul da cidade que recebem ventos do oceano Atlântico e têm, em geral, melhor qualidade do ar, e os bairros localizados ao norte que recebem o transporte aéreo das áreas industrial e petroquímica. Em geral, as emissões das áreas industriais não atingem o sul da cidade. O limite

de ozônio no ar estabelecido pelos padrões nacionais de qualidade do ar (NAQS) é frequentemente excedido em alguns locais da área norte da cidade (DANTAS et al., 2020; INEA, 2020), como é o caso da região do sítio urbano desta pesquisa, na Av. Brasil (INEA, 2020).

As emissões associadas a sistemas de transporte urbano foram identificadas como principal fonte de material particulado urbano em diferentes regiões, incluindo o Brasil (KARAGULIAN et al. 2015; PETROVA, 2020). Na região central do Rio de Janeiro, além de possuir a Av. Brasil, a maior avenida do município com alto fluxo de carros, também tem o sistema ferroviário. Lima et al. (2021) investigaram a concentração e composição química de nano partículas na área de um sistema ferroviário metropolitano, e observaram concentrações elevadas de elementos metálicos como cádmio (Cd), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), ferro (Fe), níquel (Ni) e zinco (Zn). Esses elementos podem vir de processos mecânicos dentro das estações (freio, desgaste do trilho e roda), e representa um risco crítico à saúde ambiental (LIMA et al., 2021).

1.2 O uso de Plantas medicinais

Estima-se que 82% da população brasileira, mais de 200 milhões de habitantes, usam plantas medicinais (IBGE, 2014; SAÚDE, 2012). A análise de 1.320 formulários preenchidos pela população do interior do estado do Rio de Janeiro permitiu verificar que as plantas medicinais são a principal forma de tratamento para 63% dos entrevistados, apesar da disponibilidade de medicamentos alopáticos (VEIGA JUNIOR, 2008).

As plantas medicinais são uma opção para as comunidades manterem seu bem-estar holístico durante tempos difíceis. Pieroni et al. (2020) relataram que no período de confinamento devido a crise de saúde do COVID-19, a população do Rio de Janeiro buscou nas plantas alternativas para manter a saúde mental e também fortalecer seu bem-estar físico. As plantas mais procuradas foram as mais utilizadas no tratamento da gripe comum. Dentre as espécies citadas, a erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. Ex Britton & P.Wilson), a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), o alho (*Allium sativum* L.) e o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe.) foram usados na forma de chá (PIERONI et al., 2020).

A maioria das pessoas do meio urbano, sobretudo as de baixa renda, obtém as plantas medicinais por meio do compartilhamento ou coleta de plantas cultivadas pela própria população (BRASILEIRO et al., 2008; VEIGA JÚNIOR, 2008). Sartori et al. (2019) caracterizaram a estrutura de arborização de uma região do Rio de Janeiro e observaram que cerca de 60% das espécies cultivadas por moradores de uma comunidade do Rio de Janeiro são com o intuito de consumo. Um levantamento feito com mulheres de outra comunidade deste município mostrou que 75% das entrevistadas cultivam plantas medicinais na horta comunitária ou em suas residências (SILVA et al., 2014). O uso de horta pela comunidade para cultivo de plantas medicinais valoriza o conhecimento tradicional, mas também chama a atenção das autoridades para diretrizes que garantam o consumo de forma segura (CHRISTO et al., 2010).

A variedade de plantas medicinais comercializadas em feiras livres no Rio de Janeiro foi estudada por meio da etnobotânica urbana e 376 espécies foram listadas (LEITÃO et al., 2014). Os mercados ao ar livre são frequentemente o elo entre a população urbana e os produtos naturais (LEITÃO et al., 2014). Em relação à procedência das plantas medicinais comercializadas nesses locais, 14% dos erveiros informaram que as espécies vendidas são cultivadas (MAIOLI-AZEVEDO; FONSECA-KRUEL, 2007). Neste caso, informações sobre as condições de cultivos são importantes para garantir a segurança alimentar do consumidor.

Assim, é perceptível a importância de um conhecimento mais profundo sobre a influência das características ambientais únicas do meio urbano em plantas se desenvolvendo nesse local. Pieroni et al. (2020) destacam a relevância de se dedicar mais atenção ao estudo das plantas medicinais usadas pela comunidade, especialmente para projetar estratégias de uso adequado, aumentar a consciência de sua importância cultural e entender mudanças que vão sendo adotadas em sua forma de consumo.

1.3 Plantas X Ambiente Urbano

Os estímulos ambientais abióticos causam limitação para o estabelecimento e crescimento da vegetação, causando uma seletividade de espécies que conseguem sobreviver nas condições adversas a que o ambiente as expõe (SCHLICHTING; SMITH, 2002). Por conta da sua característica sésil, as plantas precisam ter mecanismos de fuga do estresse para conseguir se manterem vivas.

Neste contexto, destaca-se a plasticidade dos organismos, que é a capacidade de transformação da fisiologia e/ou morfologia em resposta às condições ambientais (VALLADARES et al., 2000). Sendo assim, a variabilidade fenotípica está relacionada a ambientes heterogêneos e sob estresse (VALLADARES et al., 2000) e, portanto, discutida em estudos sob os impactos da poluição (VASCONCELLOS et al., 2017).

O biomonitoramento consiste na avaliação de alguma qualidade ambiental em determinada área utilizando organismos bioindicadores (KLUMPP et al., 2001). Programas de biomonitoramento da qualidade do ar permitem a delimitação de áreas impactadas e a detecção de níveis crônicos de poluentes, bem como a avaliação dos riscos impostos à vegetação.

O órgão da planta mais sensível à poluição é a folha, o que torna este órgão modelo em estudos com essa abordagem. O grau de dano na folha causado pelo poluente está associado a variáveis como penetração do poluente via cutícula e estômatos, bem como pilosidade, espessura da parede celular, padrão de deposição das ceras epicuticulares, entre outras variáveis (DICKISON, 2000). As folhas representam a parte da planta mais utilizada para fins medicinais pela população (SOBRINHO et al., 2011; BOTELHO et al., 2014) visando o tratamento de diversas enfermidades (LORENZI; MATOS, 2002).

As respostas das plantas aos poluentes podem ser notadas em níveis bioquímicos, microscópicos ou macroscópicos (PRUSTY et al., 2005; LI; WANG; CHEN, 2019; KIYOMIZU et al., 2019). Análises estruturais e ultraestruturais podem ser esclarecedoras quando se trata de estudos sobre a fitotoxicidade de um poluente (SANT'ANNA-SANTOS et al., 2012; ÇALI; KARAVIN, 2020), além de definir graus de tolerância da planta (GRANTZ; GARNER; JOHNSON, 2003). Plantas submetidas a distintos agentes estressores exibiram variações no tamanho de grãos de amido e plastoglóbulos contidos nos cloroplastos, em estômatos obliterados, em diminuições nas taxas de crescimento vegetativo e reprodutivo, na perda de turgor, na morte celular, entre outros sintomas (ALVES et al., 2008; SILVA et al., 2017; KHOSROPOUR et al., 2019).

Mudas desenvolvidas em solo enriquecidos com metais vestigiais demonstraram efeitos morfológicos e estruturais causados pela toxicidade do metal, como limitação do crescimento, distúrbio do tecido radicular, colapso dos pelos da raiz ou diminuição em seu número, alterações estruturais da epiderme e endoderme (NAWROT et al., 2021).

Carvalho e colaboradores (2013) determinaram características anatômicas foliares em *Tabebuia alba* (Cham.) Sandwith (Bignoniaceae) que seriam úteis para determinar índices de qualidade do ar. Marcadores anatômicos, como protruções nas paredes celulares, colapso da parede, degradação de organelas, aumento de metabólitos antioxidantes no conteúdo celular e

acúmulo de compostos secundários, são úteis para verificação dos efeitos da poluição do ar nas plantas (GÜNTHARDT-GOERG; VOLLENWEIDER, 2007).

Esses estudos destacam a diversidade de respostas das plantas, o que nos permite concluir que os fatores ambientais podem promover variações nas características estruturais e metabólicas dos organismos (GRIME; MACKEY, 2002; YADAV et al., 2014; BATISTA et al 2017; KIYOMIZU et al., 2019). Os metabólitos secundários fazem uma interface química entre a planta e o ambiente onde se encontra, por conta da sua relação com a sobrevivência. Estes participam na defesa da planta contra herbívoros, patógenos ou competidores; como proteção à radiação solar e a reprodução das plantas e como fator de contribuição para a dispersão de pólen e sementes (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Dessa forma, uma espécie poderá sintetizar diferentes substâncias químicas, dependendo da natureza e da magnitude do estímulo ambiental, que provocam um redirecionamento nas rotas metabólicas. Os estímulos ambientais que causam alterações qualitativas e/ou quantitativas nos metabólitos secundários podem ser divididos em bióticos e abióticos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Entre estes últimos fatores estão a temperatura, a precipitação e a composição atmosférica (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Independente do controle genético, as variações temporais e espaciais no conteúdo e nas proporções relativas de metabólitos secundários em plantas podem sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (FIGUEIREDO et al., 2008; GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Os flavonóides são metabólitos secundários capazes de participar das interações das plantas com outros organismos (microorganismos, animais e outras plantas) e de suas reações aos estresses ambientais. A maioria de suas funções resulta de suas fortes propriedades antioxidantes (MIERZIAK; KOSTYN; KULMA, 2014).

Borges e colaboradores (2013) sugerem que o teor de substâncias fenólicas das folhas de *Myrcia tomentosa* L. (Myrtaceae) é influenciado por fatores ambientais, como a precipitação pluviométrica. Essas mudanças podem influenciar diretamente a qualidade da planta para fins medicinais (SANTOS et al., 2006).

As partículas de poluição no ar podem causar efeitos negativos sobre a vegetação dependendo da sua composição química e da intensidade e distância da fonte emissora (GRANTZ et al., 2003), influenciando diretamente na absorção de elementos químicos pelas folhas das plantas (AMATO-LOURENCO et al., 2016). Assim, o monitoramento dos elementos tóxicos nas plantas deve receber considerável atenção, para eliminar a concentração de metais tóxicos na dieta do consumidor (STREET, 2012), além de constituir um poderoso

instrumento de avaliação da saúde ambiental (ECHEM & KABARI, 2013; BARIMA et al., 2014).

1.4 Espécies de estudo

1.4.1 *Eugenia uniflora*

O gênero *Eugenia* L. é um dos maiores da família Myrtaceae, representado por 388 espécies (SOBRAL et al., 2015). A espécie mais estudada neste gênero é a *Eugenia uniflora* L., conhecida popularmente como pitangueira, ou cereja brasileira. *E. uniflora* pode ser encontrada como um arbusto, arvoreta ou árvore semidecídua, de 4 a 10 m de altura, copa estreita, de tronco liso de cor pardo clara. As folhas são simples, cartáceas, de 3 a 7 cm de comprimento, com aroma característico. As flores são de cor branca e os frutos são do tipo drupa, globosos e sulcados, brilhantes e de cor vermelha, contendo 1 a 2 sementes (LORENZI; MATOS, 2002).

Eugenia uniflora é uma espécie nativa, cultivada no Brasil principalmente devido a seus frutos saborosos e folhas medicinais (LORENZI; MATOS, 2002). As folhas da pitangueira são utilizadas na medicina popular para tratar diversas enfermidades. A infusão de suas folhas tem sido empregada como antirreumática e anti-hipertensiva e seu extrato alcoólico utilizado em bronquites, tosses, febres, ansiedade, hipertensão arterial e verminoses (QUEIROZ et al., 2015). Além disso, *E. uniflora* é uma das espécies citadas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) implementada pelo Ministério da Saúde do Brasil em 2008 (SAÚDE, 2009).

Diversos estudos investigam a base farmacológica do uso popular da *E. uniflora* L., sendo comprovado que o extrato aquoso bruto preparado com folhas da planta tem efeito diurético, inibição do transporte gastrointestinal, efeito hipotensor e vasodilatador (QUEIROZ et al., 2015). Várias das suas propriedades fitoterápicas são atribuídas à elevada quantidade de óleos essenciais, com uso na indústria cosmecêutica e farmacêutica em geral (QUEIROZ et al., 2015).

O perfil cromatográfico do extrato etanólico de *E. uniflora* revelou a presença do ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido elágico, cianidina, delfinidina 3-0-glucosídeo,

rutina, quercitrina, isoquercitrina, quercetina, caempferol e luteolina. Dentre essas substâncias a quercetina e quercitrina foram os componentes majoritários (CUNHA et al., 2016).

Cunha e colaboradores (2016), pela primeira vez, testaram o potencial tóxico do extrato etanólico de *E. uniflora* em leucócitos e eritrócitos humanos. Os autores observaram que o extrato etanólico (1–480mg / mL) não causou citotoxicidade nem dano ao DNA, avaliados pelo azul de Trypan e pelo Ensaio Cometa, respectivamente.

Os componentes do óleo essencial de *E. uniflora* revelam-se muito complexos e, conseqüentemente, tal diversidade pode ser postulada como consequência das condições edafoclimáticas de cada região (COSTA et al., 2009; SANTOS; BRAZ-FILHO; CASTRO, 2015). Pouco se sabe sobre o seu efeito genotóxico. Em estudos com outras espécies do gênero, os óleos essenciais mostraram alto potencial citotóxico e um alto índice genotóxico, significando resultados antitumorais promissores (ARANHA et al., 2019).

O potencial da espécie como bioindicador de poluição tem sido investigado, revelando alterações fisiológicas e estruturais em resposta às condições urbanas ou exposição a poluentes atmosféricos (ALVES et al., 2008; NEVES et al., 2009; SILVA et al., 2017).

1.4.2 *Lippia alba*

Lippia alba (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson (Verbenaceae) é a espécie mais estudada dentro do gênero. Conhecida populamente como erva cidreira ou capim-santo (LORENZI; MATOS, 2002), a *L. alba* é um subarbusto aromático, nativo do Brasil, amplamente distribuído pelas Américas e encontrado em diferentes ambientes, como florestas, campos e margens de estradas (SALIMENA; MÚLGURA, 2015). Sua morfologia é variável, alcançando até um metro e meio de altura. Seus ramos são finos, esbranquiçados, longos e quebradiços. As folhas são inteiras, opostas, e suas inflorescências são axilares capituliformes de eixo curto, com tamanho variável, e os frutos são drupas globosas de cor róseo-arroxeadas (LORENZI; MATOS, 2002).

Suas folhas são usadas como antiespasmódicas, estomáquicas, calmante, digestivas, no combate à insônia, asma, em doenças bucais devido às suas propriedades bactericidas, antissépticas e adstringentes, e também como tratamento para doenças hepáticas (OLIVEIRA et al., 2006).

Os óleos essenciais das folhas de *L. alba* foram categorizados em diferentes quimiotipos, dependendo de seus constituintes principais, como linalol, citral e carvona (PANDELÓ et al., 2012). Diversas propriedades biológicas dessa planta, como citotoxicidade, efeitos do tipo ansiolítico, antioxidante, anestésico, antitumoral, antibacteriano, antifúngico e anti-inflamatório diferem de acordo com o quimiotipo do óleo essencial (GLAMOČLIJA et al., 2011; TREVISAN et al., 2016; GARCÍA et al., 2017). Assim, a espécie desperta o interesse de vários segmentos, desde a medicina tradicional até indústrias farmacológicas e agroquímicas.

Esta espécie exibe alta plasticidade fenotípica e genômica (TORRES; LOPEZ, 2007; REIS et al., 2014), demonstrando alterações no crescimento, na morfoanatomia e na produção de óleo essencial quando exposta a um nível elevado de CO₂ (BATISTA et al., 2017), condição comum do ambiente urbano.

1.4.3 *Plectranthus barbatus*

Plectranthus barbatus Andr. (Lamiaceae) é uma espécie cultivada, conhecida popularmente como falso boldo, boldo brasileiro, boldo-do-jardim, malva amarga, entre outros (LORENZI; MATOS, 2002). Esta espécie pode alcançar, no máximo, a 1,5 m de altura, é perene e de porte herbáceo, embora possa alcançar a condição de subarbusto com o tempo de cultivo. As folhas são simples, opostas cruzadas, simples, peninérveas, ovaladas, de ápice agudo e base atenuada, com margem foliar serrada (LORENZI; MATOS, 2002; MILANEZE-GUTIERRE et al., 2007).

É uma planta com grande variedade de usos na medicina tradicional hindu e ayurvédica, bem como na medicina popular do Brasil, da África tropical e da China (ALASBAHI; MELZIG, 2010). Os principais usos etnobotânicos são para distúrbios intestinais e fadiga hepática, distúrbios respiratórios, doenças cardíacas e certos distúrbios do sistema nervoso (LUKHOBÁ et al., 2006; ALASBAHI; MELZIG, 2010). Embora, seja principalmente utilizado pela população para distúrbios gástricos, muitas ações farmacológicas já foram testadas e comprovadas para *P. barbatus*, envolvendo substâncias isoladas de suas folhas, caule e raízes. Entre os aspectos farmacológicos estudados e comprovados destacam-se: ação hipotensiva, inotrópica positiva, cardiovascular, bronco-dilatadora, ativação da adenilato ciclase, inibição da agregação de plaquetas (antimetastase), antitumoral, antinociceptivo e anti-inflamatório

(COSTA, 2006). Além disso, *P. barbatus* é uma das espécies citadas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) implementada pelo Ministério da Saúde do Brasil em 2008 (SAÚDE, 2009).

REFERÊNCIAS

- ALASBAHI, R. H.; MELZIG, M. F. *Plectranthus barbatus*: a review of phytochemistry, ethnobotanical uses and pharmacology–part 1. **Planta medica**, v. 76, n. 07, p. 653-661, 2010.
- 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, p. 241-248, 2008.
- AMATO-LOURENCO, L.F.; MOREIRA, T.C.L.; SOUZA, V.C.O. et al. The influence of atmospheric particles on the elemental content of vegetables in urban gardens of Sao Paulo, Brazil. **Environmental Pollution**, v. 216, p. 125-134, 2016.
- ARANHA, E. S. P. et al. Essential oils from *Eugenia* spp.: In vitro antiproliferative potential with inhibitory action of metalloproteinases. **Industrial Crops and Products**, v. 141, p. 111736, 2019.
- ARRAU, C. P.; PEÑA, M. A. **The Urban Heat Island (UHI) Effect**. 2015.
- BARIMA, Y. et al. Assessing atmospheric particulate matter distribution based on Saturation Isothermal Remanent Magnetization of herbaceous and tree leaves in a tropical urban environment. **Science of the total environment**, v. 470, p. 975-982, 2014.
- BATISTA, D. S. et al. Elevated CO₂ improves growth, modifies anatomy, and modulates essential oil qualitative production and gene expression in *Lippia alba* (Verbenaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 128, n. 2, p. 357-368, 2017.
- BRASILEIRO, B. G. et al. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no "Programa de Saúde da Família", Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 629-636, 2008.
- BORGES, L.L. et al. Environmental factors affecting the concentration of phenolic compounds in *Myrcia tomentosa* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 230-238, 2013.
- BOTELHO, J. de M.; LAMANO-FERREIRA, A. P. do N.; FERREIRA, M. L. Prática de cultivo e uso de plantas domésticas em diferentes cidades brasileiras. **Ciência Rural**, v. 44, n. 10, p. 1810-1815, 2014.
- ÇALI, İ. O.; KARAVIN, N. Influence of auto-exhaust pollution on trichome micromorphology of *Olea europea* L. leaves. **Microscopy research and technique**, v. 83, n. 5, p. 558-561, 2020.
- CARVALHEIRO, C. V.; ROCHA, L. D.; MARANHO, L. T. The bioindicative potential evaluation of *Tabebuia alba* (Cham.) Sandwith, Bignoniaceae, in urban atmospheric pollution. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 4, p. 691-698, 2013.

- CHRISTO, A. G. et al. Local knowledge on medicinal plant gardens in a rural community near the Atlantic Rain Forest, southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 494-501, 2010.
- COSGROVE, A.; BERKELHAMMER, M. Downwind footprint of an urban heat island on air and lake temperatures. **Climate and Atmospheric Science**, v. 1, p. 1-10, 2018.
- COSTA, M. C. C. D. Uso popular e ações farmacológicas de *Plectranthus barbatus* Andr.(Lamiaceae): revisão dos trabalhos publicados de 1970 a 2003. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 2, p. 81-88, 2006.
- COSTA, D.P. et al. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 7, p. 1287-1293, 2009.
- CUNHA, F. A. B. et al. Cytotoxic and antioxidative potentials of ethanolic extract of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) leaves on human blood cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 84, p. 614-621, 2016.
- DANTAS, G. et al. A reactivity analysis of volatile organic compounds in a Rio de Janeiro urban area impacted by vehicular and industrial emissions. **Atmospheric Pollution Research**, v. 11, n. 5, p. 1018-1027, 2020.
- DE TEMMERMAN, L. et al. Accumulation of atmospheric deposition of As, Cd and Pb by bush bean plants. **Environmental Pollution**, v. 199, p. 83-88, 2015.
- DICKISON, W.C. **Integrative plant anatomy**. New York, Academic Press, 2000.
- ECHEM, O. G.; KABARI, L. G. Heavy Metal Content in Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina*) Grown Along Heavy Traffic Routes in Port Harcourt. **Agricultural Chemistry**. InTech, 2013.
- FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G., PEDRO, L.G., SCHEFFER, J.J. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour Fragr. J.**, v. 23, p. 213–226, 2008.
- GANDHI, S.G.; MAHAJAN, V.; BEDI, Y.S. Changing trends in biotechnology of secondary metabolism in medicinal and aromatic plants. **Planta** v. 241,-p.303–317, 2015.
- GARCÍA L.T. et al, Differential anti-proliferative effect on K562 leukemia cells of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils produced under diverse growing, collection and extraction conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 96, p. 140-148, 2017.
- GLAMOČLIJA, J. et al. Chemical characterization of *Lippia alba* essential oil: an alternative to control green molds. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 1537-1546, 2011.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007 .
- GRANTZ, D. A.; GARNER, J. H. B.; JOHNSON, D. W. Ecological effects of particulate matter. **Environment international**, v. 29, n. 2-3, p. 213-239, 2003.

GRIME, J. P.; MACKEY, J. M. L. The role of plasticity in resource capture by plants. **Evolutionary Ecology**, v. 16, n. 3, p. 299-307, 2002.

GÜNTHARDT-GOERG, M. S.; VOLLENWEIDER, P. Linking stress with macroscopic and microscopic leaf response in trees: new diagnostic perspectives. **Environmental pollution**, v. 147, n. 3, p. 467-488, 2007.

GURJAR, B. R.; BUTLER, T. M.; LAWRENCE, M. G.; & LELIEVELD, J. Evaluation of emissions and air quality in megacities. **Atmospheric Environment**, v. 42, n. 7, p. 1593–1606, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estimativas da População dos Municípios Brasileiros com Data de Referência em 1 de julho de 2014. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, RJ, 2014.

INEA – Instituto Estadual do Ambiente. Instituto Estadual do Ambiente. 2015. <http://www.inea.rj.gov.br/cs/groups/public/documents/document/zwew/mde2/~edisp/inea0016940.pdf>

INEA - Instituto Estadual do Ambiente (RJ). Relatório da qualidade do ar do Estado do Rio de Janeiro: ano base 2018 / Instituto Estadual do Ambiente (RJ). Rio de Janeiro, 2020.

KARAGULIAN, F. et al. Contributions to cities' ambient particulate matter (PM): A systematic review of local source contributions at global level. **Atmospheric environment**, v. 120, p. 475-483, 2015.

KETTERER, C.; MATZARAKIS, A. Human-biometeorological assessment of heat stress reduction by replanning measures in Stuttgart, Germany. **Landscape and Urban Planning**, v. 122, p. 78-88, 2014.

KHOSROPOUR, E. et al. Response of *Platanus orientalis* leaves to urban pollution by heavy metals. **Journal of Forestry Research**, v. 30, n. 4, p. 1437-1445, 2019.

KIYOMIZU, T. et al. Contrasting photosynthetic responses to ambient air pollution between the urban shrub *Rhododendron × pulchrum* and urban tall tree *Ginkgo biloba* in Kyoto city: stomatal and leaf mesophyll morpho-anatomies are key traits. **Trees**, v. 33, n. 1, p. 63-77, 2019.

KLUMPP, A. et al. Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede européia para a avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras (EuroBionet). **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, n. 4, p. 511-518, 2001.

LEITÃO, F. et al. Medicinal plants traded in the open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil: an overview on their botanical diversity and toxicological potential. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 225-247, 2014.

LI, Y.; WANG, S.; CHEN, Q. Potential of thirteen urban greening plants to capture particulate matter on leaf surfaces across three levels of ambient atmospheric pollution.

International journal of environmental research and public health, v. 16, n. 3, p. 402, 2019.

LIMA, B. D. et al. Metal-enriched nanoparticles and black carbon: A perspective from the Brazil railway system air pollution. **Geoscience Frontiers**, v. 12, n. 3, p. 101129, 2021.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

LUKHOB, C. W.; SIMMONDS, M. S. J.; PATON, A. J. *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses. **Journal of ethnopharmacology**, v. 103, n. 1, p. 1-24, 2006.

MAIOLI-AZEVEDO, V.; FONSECA-KRUEL, V. Medicinal and ritual plants sold in street markets of Rio de Janeiro, RJ, Brazil: A case study in the North and South zones. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 2, p. 263-275, 2007.

MASSON, V. et al. Urban climates and climate change. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 45, p. 411-444, 2020.

MENDES, D. et al. Impact of the petrochemical complex on the air quality of an urban area in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, p. 1-6, 2020.

MIERZIAK, J.; KOSTYN, K.; KULMA, A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16240-16265, 2014.

MILANEZE-GUTIERRE, M. A. et al. Caracterização morfológica dos tricomas foliares e caulinares de duas espécies de Lamiaceae popularmente como “falso-boldo”. **Acta Scientiarum. Ciências Biológicas**, v. 29, n. 2, pág. 125-130, 2007.

NAWROT, N. et al. Uptake, accumulation, and translocation of Zn, Cu, Pb, Cd, Ni, and Cr by *P. australis* seedlings in an urban dredged sediment mesocosm: Impact of seedling origin and initial trace metal content. **Science of The Total Environment**, v. 768, p. 144983, 2021.

NEVES, N. R. et al. Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition: potential use in environmental risk assessment. **Science of the total environment**, v. 407, n. 12, p. 3740-3745, 2009.

OKE, T. R. et al. **Climas urbanos**. Cambridge University Press, 2017.

OLIVEIRA D.R., LEITAO G.G., SANTOS S.S., BIZZO D.H.R., LOPES D., ALVIANO C.S., ALVIANO D.S., LEITÃO S.G. Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximina, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, n.1, p. 103-108, 2006.

OLIVEIRA MT, GANEM KA, BAPTISTA GM. Análise sazonal da relação entre sequestro de carbono e ilhas de calor urbanas nas metrópoles de São Paulo, Rio De Janeiro, Belo Horizonte e Brasília. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 69, p. 807-825, 2017.

PANDELÓ, D. et al. Oil production at different stages of leaf development in *Lippia alba*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 3, p. 497-501, 2012.

PETROVA, S. T. Efficiency of *Pinus nigra* JF Arnold in removing pollutants from urban environment (Plovdiv, Bulgaria). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 31, p. 39490-39506, 2020.

PIERONI, A. et al. Taming the pandemic? The importance of homemade plant-based foods and beverages as community responses to COVID-19. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 16, p. 75, 2020.

PRUSTY BAK, MISHRA PC, AZEEZ PA. Dust accumulation and leaf pigment content in vegetation near the national highway at Sambalpur, Orissa, India. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, p. 228-235, 2005.

QUEIROZ, J.M.G.; SUZUKI, M.C.M.; et al. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 9, p. 87-100, 2015.

REIS, A. C. et al. *Lippia alba* (Verbenaceae): A new tropical autopolyploid complex? **American journal of botany**, v. 101, n. 6, p. 1002-1012, 2014.

RODZIEWICZ, P.; SWARCEWICZ, B.; CHMIELEWSKA, K.; WOJAKOWSKA, A.; STOBIECKI, M. Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. **Acta Physiologica Plantarum**, v. 36, p. 1-19, 2014.

ROY, S.; BYRNE, J.; PICKERING, C. A systematic quantitative review of urban tree benefits, costs, and assessment methods across cities in different climatic zones. **Urban Forestry and Urban Greening**, v. 11, n. 4, p. 351-363, 2012.

SALIMENA F.R.G., MÚLGURA M.E. Taxonomic notes in Verbenaceae of Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 1, p. 191-197, 2015.

SANT'ANNA-SANTOS, B.F.; AZEVEDO, A.A.; SILVA, L.C.; OLIVA, M.A. Diagnostic and prognostic characteristics of phytotoxicity caused by fluoride on *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **Annals of the Brazilian Academics of Sciences**, v. 84, p. 689-702, 2012.

SANTOS, F.R.; BRAZ-FILHO, R.; CASTRO, R.N. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 762-768, 2015.

SANTOS, S.C.; COSTA, W.F.; BATISTA, F.; SANTOS, L.R.; FERRI, P.H.; FERREIRA, H.D.; SERAPHIN, J.C. Seasonal variation tannins in barks of barbatimao. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 552-556, 2006.

SAÚDE, M.D. Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Ministério da Saúde, Brasília 2009.

SAÚDE, M. D. Práticas Integrativas e Complementares: Plantas Medicinais e Fitoterapia na Atenção Básica. Ministério da Saúde, Brasília, 2012.

- SAUMEL, I., KOTSYUK, I., HÖLSCHER, M., LENKEREIT, C., WEBER, F., KOWARIK, I. How healthy is urban horticulture in high traffic areas? Trace metal concentrations in vegetable crops from plantings within inner city neighbourhoods in Berlin, Germany. **Environmental Pollution**, v. 165, p. 124–132, 2012.
- SARTORI, R A et al. Urban afforestation and favela: A study in A community of Rio de Janeiro, Brazil. **Urban Forestry & Urban Greening**, v. 40, p. 84-92, 2019.
- SCHLICHTING, C. D.; SMITH, H. Phenotypic plasticity: linking molecular mechanisms with evolutionary outcomes. **Evolutionary Ecology**, v. 16, n. 3, p. 189-211, 2002.
- SILVA, B. Q.; HAHN, S. R. Uso de plantas medicinais por indivíduos com hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus ou dislipidemias. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 2, n. 3, p. 1-1, 2011.
- SILVA, D. B.; VASCONCELLOS, T. J.; CALLADO, C. H. Effects of urbanization on the wood anatomy of *Guarea guidonia*, an evergreen species of the Atlantic Forest. **Trees**, p. 1-12, 2021.
- SILVA, L.C.; ARAÚJO, T.O.; SIQUEIRA-SILVA, A.I. et al. *Clusia hilariana* and *Eugenia uniflora* as bioindicators of atmospheric pollutants emitted by an iron pelletizing factory in Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 28026-28035, 2017.
- SILVA, S. H. C. et al. Medicinal plants: traditions and popular knowledge of women from in an urban community of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. **Espacios**, v.35, n.4, p.12, 2014.
- SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10560>. Acesso em: 15 fevereiro, 2021.
- SOBRINHO, F. de A. P.; GUEDES-BRUNI, R. R.; CHRISTO, A. G. Uso de plantas medicinais no entorno da Reserva Biológica de Tinguá, Nova Iguaçu, RJ. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 9, n. 2, p. 195-206, 2011.
- STREET, R.A. Heavy metals in medicinal plant products – an African perspective. **South African Journal of Botany**, v. 82, p. 67–74, 2012.
- TORRES, E. P.; LÓPEZ, N. R. Plasticidad fenotípica de *Lippia alba* y *Lippia origanoides* (Verbenaceae) en respuesta a la disponibilidad de luz. **Acta Biológica Colombiana**, v. 12, p. 91-101, 2007.
- TREVISAN, M.T.S. et al. Composition of essential oils and ethanol extracts of the leaves of *Lippia species*: identification, quantitation and antioxidant capacity. **Records of Natural Products**, v. 10, n. 4, p. 485-496, 2016.
- VALLADARES, F.; WRIGHT, S.J.; LASSO, E.; KITAJIMA, K.; PEARCY, R.W. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian Rainforest. **Ecology**, v. 81, p. 1925-1936.

VASCONCELLOS, T.J.; DA CUNHA, M.; CALLADO, C.H. A comparative study of cambium histology of *Ceiba speciosa* (A. St.-Hil.) Ravenna (Malvaceae) under urban Pollution. **Environ Sci Pollut Res**, v. 24, p. 12049–12062, 2017.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 308-313, 2008.

YADAV, R. K. et al. Effect of prolonged water stress on specialized secondary metabolites, peltate glandular trichomes, and pathway gene expression in *Artemisia annua* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 74, p. 70-83, 2014.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar plantas medicinais cultivadas em dois sítios na cidade do Rio de Janeiro, um periurbano e o outro localizado no centro da cidade, buscando detectar possíveis alterações induzidas pela exposição ao meio urbano.

2.2 Específicos

- ✓ Caracterizar as condições climáticas e a composição química do solo onde os espécimes foram coletados, visando verificar diferenças entre os sítios estudados.
- ✓ Analisar a morfologia e anatomia de *Eugenia uniflora*, investigando alterações induzidas pela urbanização.
- ✓ Avaliar a plasticidade fotossintética de *Eugenia uniflora* por meio de variáveis morfoanatômicas.
- ✓ Identificar através de histoquímica as principais classes de substâncias químicas presentes nas folhas de *Eugenia uniflora* desenvolvidas nos dois sítios de estudo.
- ✓ Calcular os índices de plasticidade fenotípica para os parâmetros relacionados ao efeito do ambiente urbano na estrutura interna e externa das folhas de *Eugenia uniflora*.
- ✓ Investigar o grau de estresse de *Eugenia uniflora* através da análise de fluorescência da clorofila *a* das folhas de espécimes se desenvolvendo nos dois sítios.
- ✓ Identificar os principais elementos químicos presentes nas folhas de *Eugenia uniflora* nos sítios urbano e florestal.
- ✓ Comparar o perfil químico e o potencial citotóxico dos extratos preparados a partir das folhas de *Eugenia uniflora* coletadas nos dois sítios.
- ✓ Comparar, em nível estrutural e anatômico, os resultados observados nos indivíduos de *Eugenia uniflora* cultivados no sítio urbano, uma espécie arbórea que possui estruturas secretoras internas, com duas espécies herbáceas, a *Lippia alba* e a *Plectranthus barbatus*, que possuem uma variedade de tipos de tricomas glandulares.

3 O ambiente urbano afeta a estrutura foliar de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)?

Artigo publicado em Acta Botânica Brasílica - <http://dx.doi.org/10.1590/0102-33062019abb0329>

RESUMO

Fatores externos podem interferir na estrutura e na atividade biológica das plantas. No entanto, a suscetibilidade das plantas a condições ambientais específicas varia, o que levanta muitas questões sobre o comportamento das plantas medicinais quando cultivadas em áreas urbanas. Este estudo visa detectar possíveis alterações induzidas pela exposição de *Eugenia uniflora* L. ao ambiente urbano, com ênfase na variação na estrutura foliar externa e interna e diferenças na produção de seus principais metabólitos. Comparamos folhas de *E. uniflora* cultivadas em áreas florestais e urbanas e as analisamos quanto à plasticidade estrutural e características indicativas de estresse no ambiente urbano. As folhas do sítio urbano revelaram necrose e manchas avermelhadas, maior densidade estomática, estômatos menores e mais numerosos cristais e glândulas secretoras, além de evidente armazenamento de amido, lipídios e mucilagem. A presença de numerosos cristais apresentou alto índice de plasticidade e grande potencial como marcador anatômico para avaliação dos efeitos do ambiente urbano. Sintomas visuais e alterações anatômicas foram eficientes no diagnóstico do estresse em *E. uniflora*, enquanto características do sítio urbano, como temperatura, calor e poluição, são consideradas responsáveis pela variação observada e podem influenciar suas características medicinais.

Palavras-chave: Poluição atmosférica. Cereja brasileira. Mudança ambiental. Histoquímica. Pitangueira. Ambiente urbano.

3.1 Introdução

Os ambientes urbanos alteram o solo e a cobertura vegetal natural, resultando em impactos significativos no clima local, como a formação de ilhas de calor. Isso ocorre porque as superfícies das áreas urbanas são caracterizadas por alta impermeabilidade e propriedades térmicas favoráveis ao armazenamento de energia e liberação de calor. Como consequência, esse fenômeno influencia a qualidade do ar e a saúde ambiental e humana (COSGROVE; BERKELHAMMER, 2018).

A cidade do Rio de Janeiro, localizada no sudeste do Brasil, é a quarta maior metrópole da América Latina em densidade demográfica e desenvolvimento econômico e industrial. Além disso, a Região Metropolitana do Rio de Janeiro apresenta a maior taxa de urbanização do país, chegando a 97,3% (IBGE, 2015). Paradoxalmente, a cidade possui a maior floresta urbana do

planeta, no Parque Estadual da Pedra Branca (INEA, 2015), que reúne áreas preservadas e vegetação em bom estado. Oliveira et al. (2017) documentaram ilhas de calor em áreas centrais da cidade do Rio de Janeiro com temperatura $\sim 5^{\circ}\text{C}$ mais baixa em regiões protegidas.

Os índices de poluição atmosférica são elevados no centro urbano da cidade do Rio de Janeiro (INEA, 2017). Poluentes atmosféricos associados à atividades mutagênicas e genotóxicas, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), foram encontrados ao longo da Avenida Brasil, principal via urbana do Rio de Janeiro (RAINHO et al., 2013).

A diversidade de respostas relatadas em plantas indica que fatores ambientais podem promover variação nas características funcionais e estruturais dos indivíduos em ambientes urbanos (RAI, 2016; VASCONCELLOS et al., 2017). Dentre as respostas das plantas aos poluentes podem ser observadas alterações em níveis bioquímicos, microscópicos e macroscópicos (PRUSTY et al., 2005). No entanto, o grau de tolerância de uma planta a um determinado poluente é definido por diferentes níveis de mudança.

As análises estruturais são esclarecedoras para estudos de estresse (SANT'ANNA-SANTOS et al., 2012). A resistência das folhas a uma determinada condição está associada a variáveis como pilosidade, espessura da parede celular, padrão de deposição de cera epicuticular e penetração de poluentes pela cutícula e estômatos, entre outras (DICKISON, 2000). Além disso, o ambiente urbano apresenta uma combinação de seca e calor, que ativa respostas fisiológicas e moleculares específicas. Essas respostas, por sua vez, levam a mudanças no metabolismo vegetal que amenizam os efeitos danosos da combinação de estressores (ZANDALINAS et al., 2017).

Eugenia uniflora (Myrtaceae), popularmente conhecida como pitangueira, cereja brasileira, ou cereja-caiena, é uma planta nativa da Restinga, ecossistema associado à Mata Atlântica. A espécie é amplamente cultivada no Brasil devido aos seus saborosos frutos e folhas medicinais (LORENZI; MATOS, 2002). Na medicina popular, a planta é usada para tratar várias doenças. A infusão de suas folhas tem sido utilizada como anti-reumático e anti-hipertensivo, enquanto seu extrato alcoólico é utilizado para tratar bronquites, tosse, febres, ansiedade, hipertensão e doenças causadas por vermes (QUEIROZ et al., 2015). Estudos investigando as bases farmacológicas do uso popular de *E. uniflora* mostraram que o extrato aquoso bruto preparado com folhas causa inibição do transporte gastrointestinal em casos de distúrbios, efeitos hipotensores e vasodilatadores e atividade diurética (QUEIROZ et al., 2015). A pesquisa na última década sobre o potencial da espécie como bioindicador ambiental revelou mudanças fisiológicas e estruturais em resposta às condições urbanas e/ou exposição a poluentes atmosféricos (ALVES et al., 2008; SILVA et al., 2015; 2017).

Em geral, as estruturas secretoras e os metabólitos secundários produzidos pelas plantas estão diretamente relacionados às suas propriedades medicinais. No entanto, fatores externos podem interferir nessas estruturas e, consequentemente, na atividade biológico-medicinal da planta (OKEM et al., 2015). Verificou-se que a poluição do ar, decorrente do tráfego de automóveis na cidade de São Paulo, segunda maior metrópole da América Latina, influencia diretamente na absorção de elementos químicos pelas plantas, sendo que os níveis desses elementos superam os valores recomendados para consumo (AMATO-LOURENCO et al., 2016).

Diante do cenário descrito acima, objetivou-se analisar as folhas de *E. uniflora* coletadas na cidade do Rio de Janeiro, com o objetivo de detectar alterações induzidas pela exposição ao ambiente urbano. Assim, investigamos se as folhas de *E. uniflora* encontradas em ambientes florestais e urbanos (1) variam na estrutura externa e interna; (2) diferem na produção dos principais metabólitos secretados por suas estruturas secretoras; e (3) exibem plasticidade estrutural significativa. Dados sobre potenciais bioindicadores para ambientes urbanos serão fornecidos para as características anatômicas dessas plantas.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Locais de Estudo

O estudo ocorreu em 2017 em dois sítios da Mata Atlântica na cidade do Rio de Janeiro, Brasil: (1) um sítio urbano, localizado na Fundação Oswaldo Cruz Manguinhos (-22.878639, -43.246621), às margens da Avenida Brasil, a principal via urbana da cidade, que apresenta diversos poluentes citotóxicos e mutagênicos já estabelecidos (RAINHO et al. 2013; INEA 2017); e (2) um sítio florestal, localizado na Fundação Oswaldo Cruz Mata Atlântica (-22.939889, -43.404424), às margens do Parque Estadual da Pedra Branca, uma floresta de 12.500 hectares que representa a maior floresta urbana do planeta (INEA 2015) (Figura 1). A Tabela 1 mostra a precipitação média anual para o período de 1995 a 2016 e para 2017; e os valores de temperatura máxima, média e mínima para 2017. Os dados meteorológicos foram obtidos das estações meteorológicas mais próximas do Sistema de Alerta Rio (Rio de Janeiro)

para cada um dos locais de estudo - Estação Metodológica de São Cristóvão para o local urbano, e Estação Meteorológica Rio Centro (Rio de Janeiro) para o sítio florestal.

Figura 1 - Mapa destacando os locais de estudo na cidade do Rio de Janeiro, Brasil.

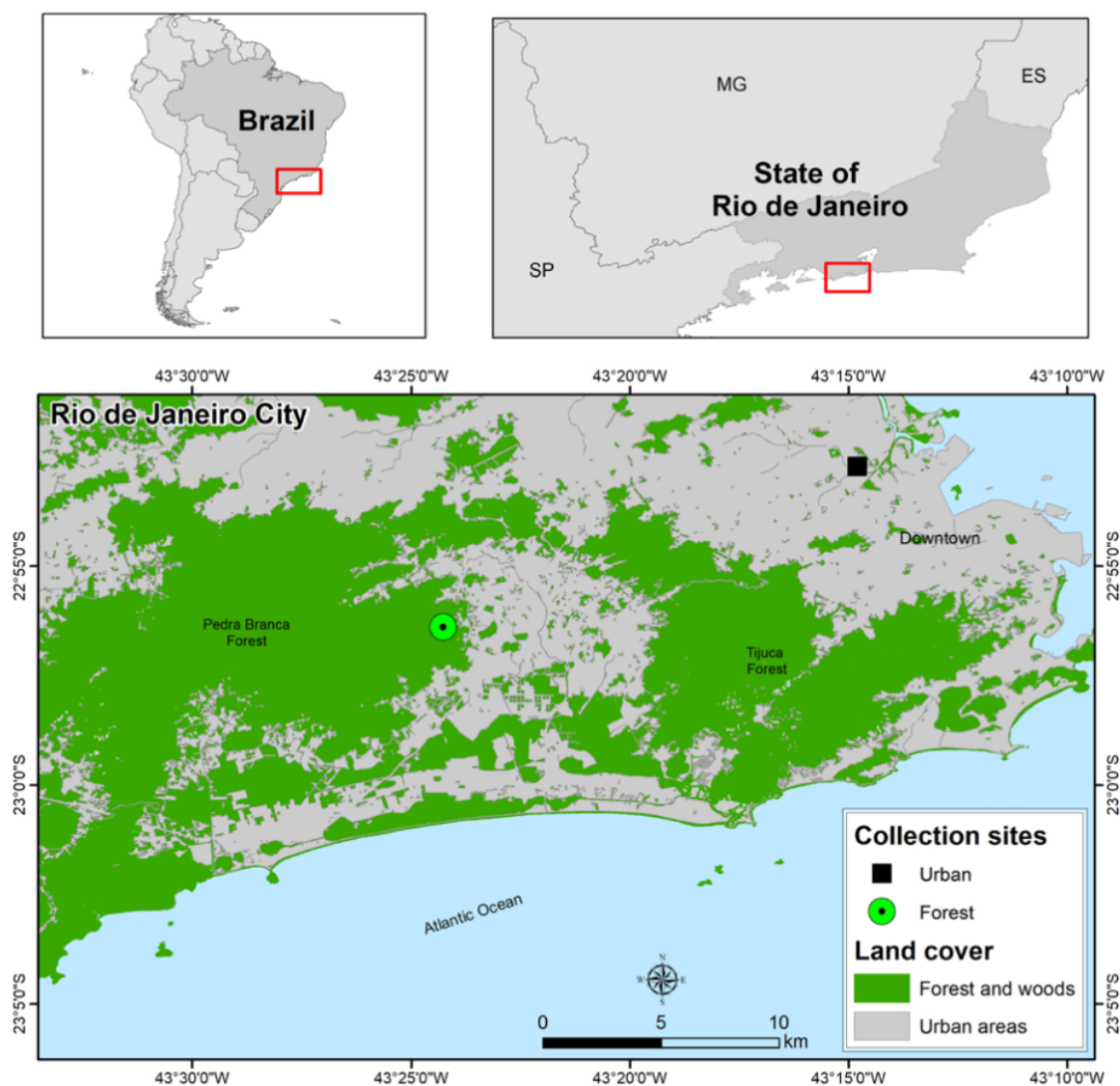


Tabela 1 - Precipitação média anual para 1995-2016 e precipitação anual para 2017, e temperaturas médias para 2017 no sítio urbano e no sítio florestal na cidade do Rio de Janeiro, Brasil.

Sítios / Períodos	Precipitação anual cumulativa (mm)		Média temperaturas (°C) para 2017		
	Média: 1995-2016	2017	Máximo	Média	Mínimo
Urbano	988.5	666.8	36.01	25.21	19.25
Florestal	1.250.30	1.084.00	36.9	24.9	18.35

Fonte: Sistema Alerta Rio da cidade do Rio de Janeiro.

3.2.2 Amostragem, preparação e análise de material botânico

Folhas adultas expostas ao sol foram amostradas de quatro espécimes de *E. uniflora* em cada um dos dois locais de estudo. A área foliar (LA) foi determinada usando 10 folhas de cada espécime, que foram coletadas, digitalizadas e medidas para área foliar usando o software Image-Pro Express 6.0. Para determinar a massa foliar por unidade de área (LMA) e a suculência (SUC), dez discos foliares (0,5 mm) foram removidos de cada indivíduo. Os discos foram hidratados em água destilada por 24 horas e, a seguir, mensurada a massa saturada em balança digital (0,0001 g) e a espessura foliar hidratada (EHL) (mm) em paquímetro digital ($\pm 0,01$ mm). Discos foliares hidratados foram então colocados em estufa a 55 ° C por 72 horas e pesados para obtenção de massa seca (DLM). Esses valores foram usados para calcular SUC (gm^{-2}), como a diferença entre a massa saturada (SLM) e seca dividida pela área do disco, e LMA (gm^{-2}) (KLUGE; TING, 2012). Os valores de densidade (DEN) (mg cm^{-3}) foram determinados a partir da razão entre a massa seca do disco por área e a espessura da folha hidratada: $\text{DEN} = \text{LMA} / \text{HLT}$ (WITKOWSKI; LAMONT, 1991).

Para análise anatômica, amostras da região mediana das folhas do terceiro nó foram fixadas em solução aquosa de glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4,0% e tampão cacodilato de sódio 0,05 M em pH 7,2, desidratado em série alcoólica ascendente e incluído no Histoiresin® (FEDER; O'BRIEN, 1968). As amostras foram seccionadas em micrótomo rotativo de 8-9 μm de espessura, coradas com Toluidina O-Blue (O'BRIEN et al., 1964), montadas em Entellan® e observadas em microscópio óptico Olympus BX 41. As imagens foram obtidas com o auxílio de uma câmera de vídeo Q Collor R3 acoplada ao microscópio.

A frequência e distribuição de glândulas e cristais foram medidas em 10 folhas diafanizadas (STRITTMATTER, 1973), obtidas do terceiro nó de cada uma das plantas individuais selecionadas. As folhas das plantas da área florestal foram deixadas em hipoclorito de sódio a 50% por 12 horas a mais do que as folhas da área urbana para atingir o branqueamento total.

A ultraestrutura e a frequência estomática foram avaliadas em amostras da área mediana das folhas, as quais foram desidratadas em série alcoólica e submetidas à secagem do ponto crítico com CO₂ líquido em secador Bal-Tec CPD 030 Ponto Crítico. Os fragmentos secos resultantes foram aderidos a suportes com fita de carbono e recobertos com uma camada de ouro de 20nm (Bal-Tec SCD 050 Sputter Coater). As imagens foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com aparelho ZEISS - DSEM 962 na tensão de 25 kV.

Em vinte e cinco campos de cada folha foram examinados para avaliar as seguintes variáveis foliares: espessura da epiderme adaxial e abaxial (μm), espessura do parênquima da paliçada (μm), espessura do parênquima esponjoso (μm), espessura da lâmina foliar (μm), comprimento dos estômatos (μm), e frequência de estômatos, cristais e glândulas secretoras por mm^2 . As análises foram realizadas usando o sistema de processamento de imagem digital Image-Pro Express 6.0.

As principais classes de compostos químicos presentes na lâmina foliar e na secreção de estruturas secretoras foram investigadas em cortes transversais feitos à mão livre de material coletado recentemente ou incluído no Historesin®. Foram realizados os seguintes testes histoquímicos: Sudão IV (PEARSE, 1980); Vermelho de Rutênio; Cloreto férrico III e Lugol (Johansen 1940). Os procedimentos de controle padrão foram realizados simultaneamente.

Índices de plasticidade fenotípica foram calculados para dados quantitativos (PPI; VALLADARES et al., 2000). Características com valores de $\text{PPI} \geq 0,7$ foram consideradas fenotipicamente plásticas, conforme estabelecido por Vasconcellos et al. (2017).

Todos os resultados quantitativos foram testados para normalidade e homocedasticidade usando os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Os resultados paramétricos dos dois locais foram comparados pelo teste t de Student, enquanto os resultados não paramétricos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, com nível de significância de 95%. Os testes estatísticos foram realizados com o software STATISTICA 7.0 (StatSoft, Inc., EUA).

3.3 Resultados

Os parâmetros quantitativos nas folhas de *Eugenia uniflora* avaliados foram LA, SLM, DLM, HLT, LMA, SUC e DEN e não diferiram significativamente entre os locais de estudo (Tabela 2). As folhas de *E. uniflora* são glabras, com epiderme unisseriada (Figura 2A-B). O mesofilo é dorsiventral (Figura 2A-B), com uma ou duas camadas de parênquima paliçádico e seis a dez camadas de parênquima esponjoso. Cristais de oxalato de cálcio estão presentes em todo o mesofilo (Figura 2A-D) e na veia central (Figura 2E-F). Com relação aos estômatos, as folhas são hipoestomáticas (Figura 2G-H). As glândulas secretoras estão presentes no mesofilo, onde estão posicionadas próximas às superfícies adaxial (Figura 2B) ou abaxial. O sistema vascular da nervura principal possui esclerênquima associado ao xilema e floema (Figura 2F).

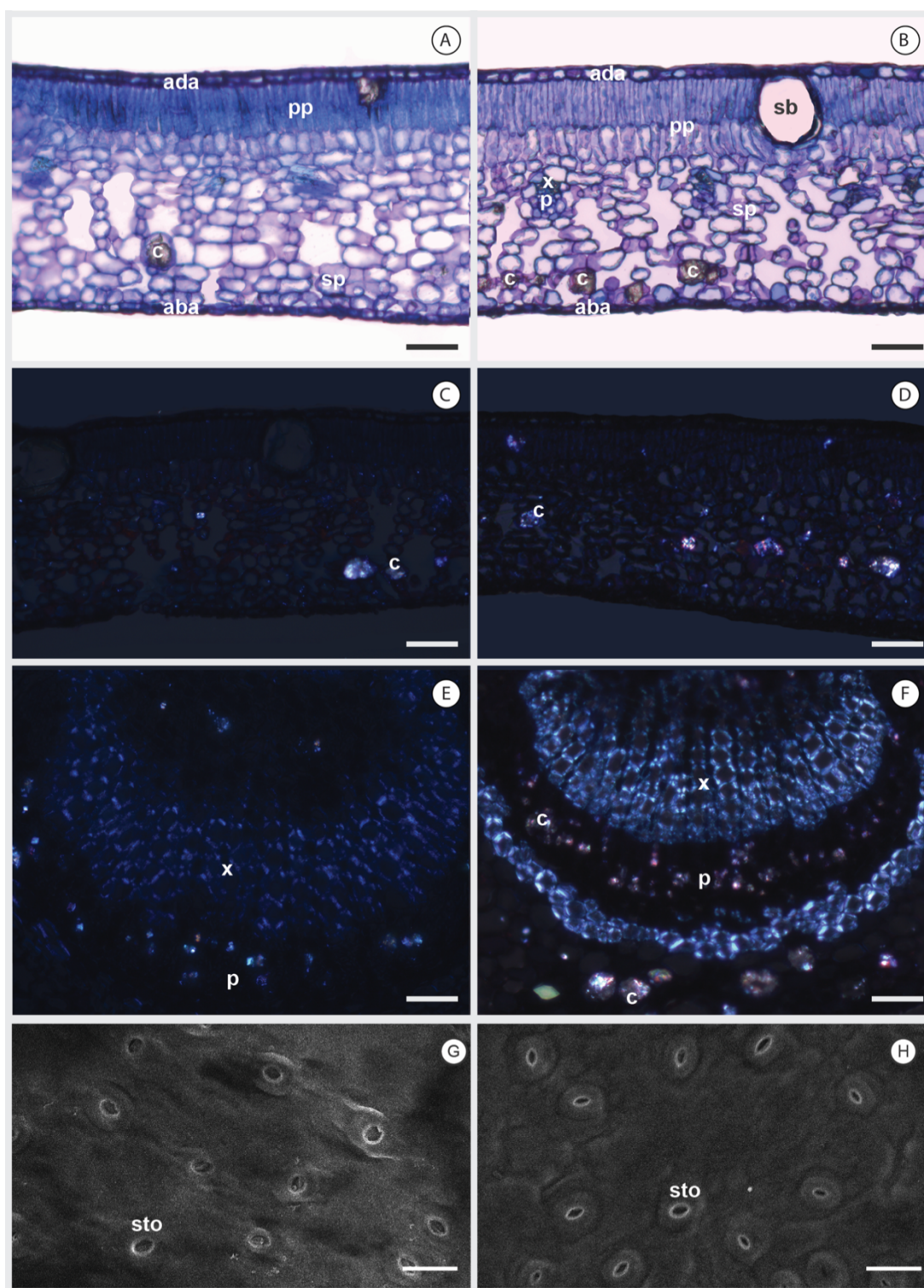
O tamanho médio das folhas dos indivíduos de *E. uniflora* amostrados no sítio urbano apresentou maior variação do que no sítio florestal (Tabela 2). Embora diferenças possam ser identificadas entre os parâmetros medidos, apenas a frequência estomática, comprimento estomático, frequência de cristal e frequência de glândulas secretoras diferiram significativamente entre os dois locais (Tabela 2). Destacamos a relação inversa entre a frequência e o tamanho dos estômatos, com um maior número de estômatos para garantir a diminuição do tamanho no sítio urbano (Figura 3).

Tabela 2 - Parâmetros medidos de *Eugenia uniflora* na floresta e sítio urbano e os resultados dos testes estatísticos; Student t (t) e Mann-Whitney (U).

Parâmetros	Sítio Florestal				Sítio Urbano				t	U	p
	Min.	Médio	Máx.	DP	Min.	Médio	Máx.	DP			
LA (cm ²)	4.351	9.638	18.833	± 3.467	3.637	8.322	15.868	± 2.861	1.270		0.251
SLM (mg)	0.4	7.3	6.2	± 0.8	3.6	5.7	7.4	± 0.9		6.000000	0.564
DLM (mg)	0.1	1.9	2.7	± 0.3	0.9	0.2	2.9	± 0.5	-0.402		0.702
HLT (mm)	0.19	0.280	0.39	± 0.048	0.2	0.2805	0.39	± 0.048	-0.026		0.980
SUC (g/m ²)	17.834	68.758	76.43	± 114.2	20.382	47.484	64.968	± 10.44		2.000000	0.083
LMA (g/m ²)	14.013	23.726	34.39	± 4.49	11.465	25.032	36.943	± 6.42	-0.402		0.702
DEN (mg/mm ³)	52.262	87.170	127.39	± 21.2	33.720	91.141	139.521	± 25.06	-0.342		0.744
Espessura da lâmina da folha (µm)	166.320	235.705	318.28	± 35.81	132.663	237.696	317.250	± 43.88	-0.172		0.869
Espessura do parênquima em paliçadico (µm)	32.979	51.025	72.58	± 8.91	35.477	71.996	98.400	± 16.89		3.000000	0.149
Espessura do parênquima lacunar (µm)	91.846	155.642	210.75	± 27.85	74.915	139.664	191.410	± 28.23	1.329		0.232
Espessura da epiderme adaxial (µm)	9.801	14.612	18.81	± 1.908	8.477	14.015	18.280	± 1.72	2.373		0.055
Espessura da epiderme abaxial (µm)	8.742	15.080	23.07	± 3.55	8.216	11.841	16.469	± 1.50		3.000000	0.149
Frequência de glândulas secretoras (nº/mm ²)	0	1.167	4	± 1.114	1	2.583	4	± 1.083	-3.300		0.016 *
Frequência de cristais (nº/mm ²)	0	2.25	4	± 1.602	5	10.083	18	± 3.52		0.000000	0.0209 *
Frequência de estômatos (nº/mm ²)	88	105	120	± 16.09	152	181.75	216	± 26.78	-5.108		0.002 *
Comprimento dos estômatos (µm)	1.203	1.558	2.006	± 0.211	1.032	1.327	1.805	± 0.172	3.778		0.009 *

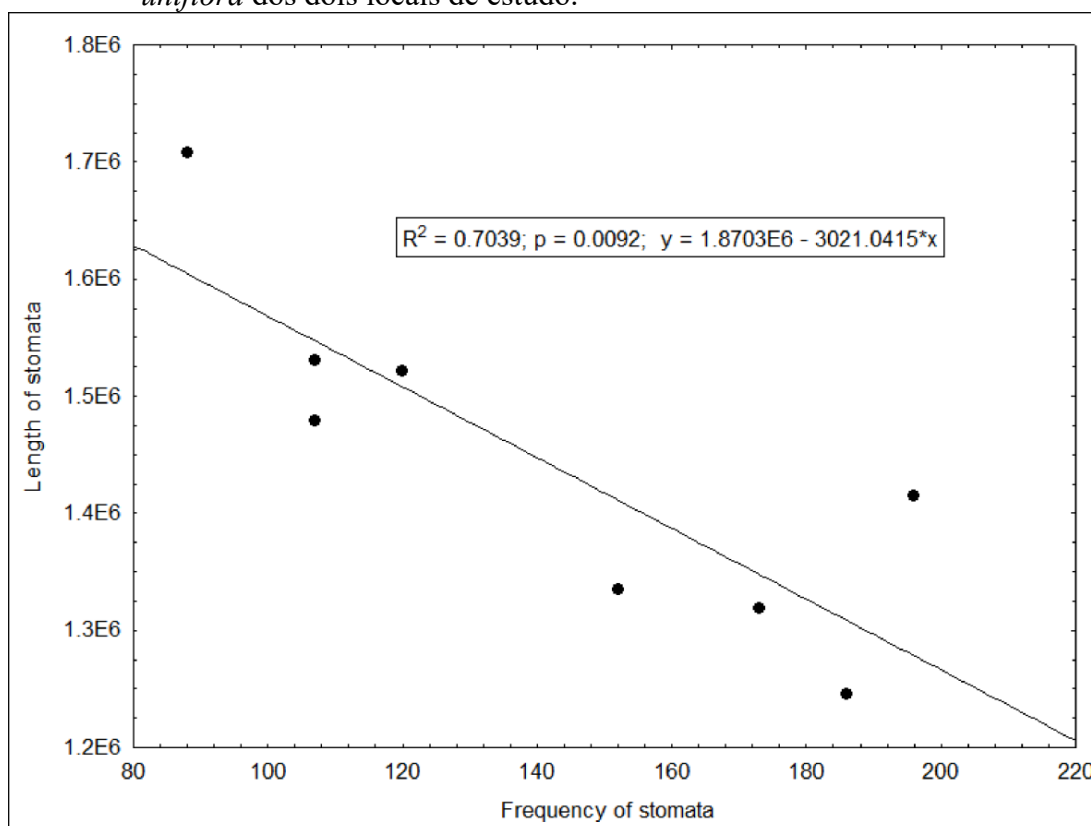
Nota: valores referentes ao valor mínimo (Min.) - valor médio (Médio) - valor máximo (Max) ± desvio padrão (DP). * Representa uma diferença significativa com um intervalo de confiança de 95% (p). LA: área foliar; SLM: Massa foliar saturada; DLM: massa de folha seca; HLT: Espessura foliar hidratada; SUC: Suculência; LMA: Massa da folha por unidade de área; DEN: Densidade.

Figura 2 - Cortes transversais de folhas de *Eugenia uniflora* de ambos os locais.



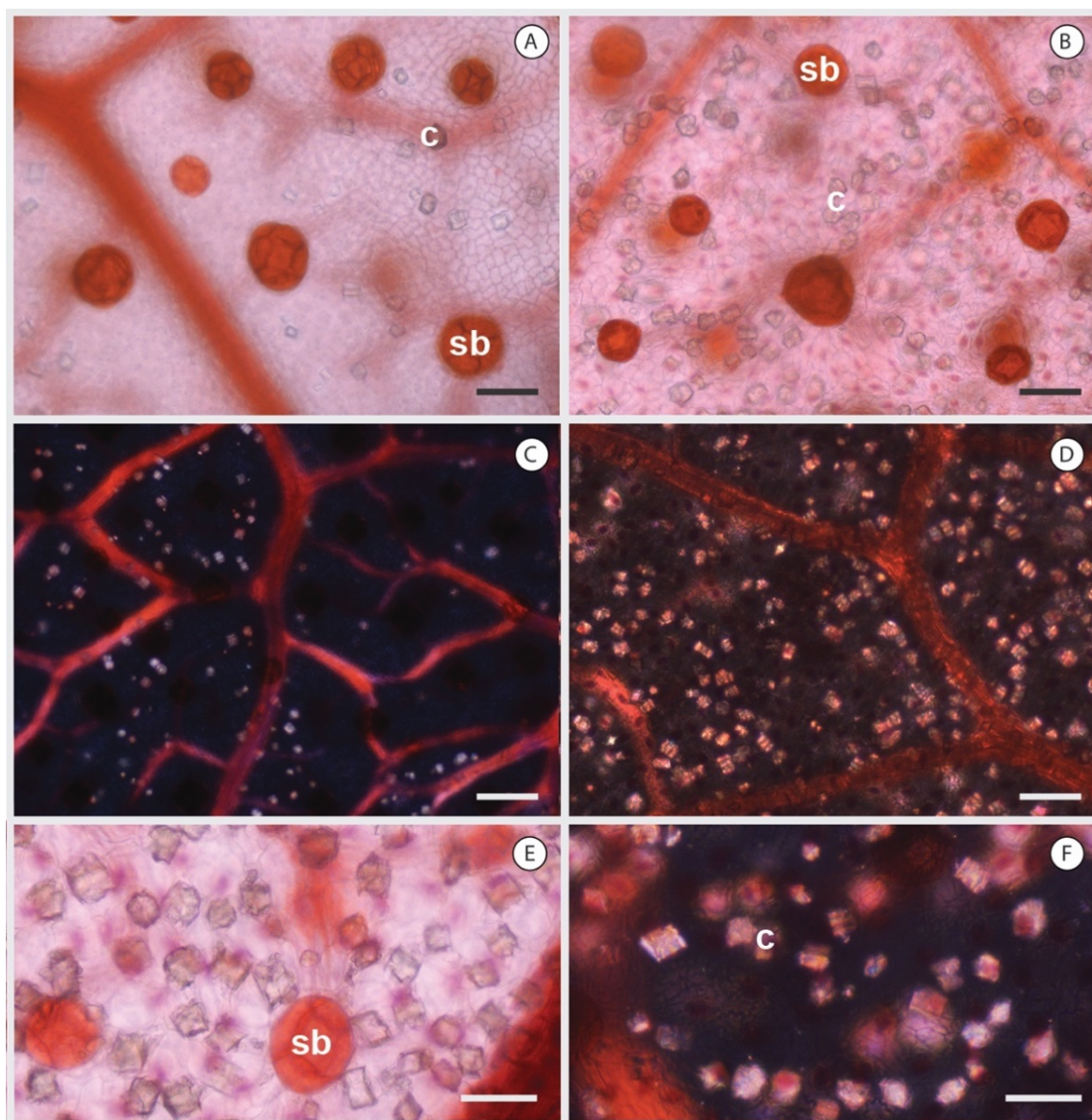
Legenda: Sítio florestal (A, C e E) e sítio urbano (B, D, F). AD. lâmina foliar. EF. veia central. CF. análise sob luz polarizada, destacando a presença de cristais. G-H. Face abaxial de folhas de *Eugenia uniflora* do sítio florestal (G) e do sítio urbano (H), sob microscopia eletrônica de varredura. pp: parênquima em paliçada; sp: parênquima esponjoso; ada: epiderme adaxial; aba: epiderme abaxial; c: cristal; x: xilema; p: floema; sb: glândulas secretoras; sto: stomata. Barra A-F = 50 µm; G-H = 20 µm.

Figura 3 - Relação entre comprimento estomático e densidade estomática em folhas de *Eugenia uniflora* dos dois locais de estudo.



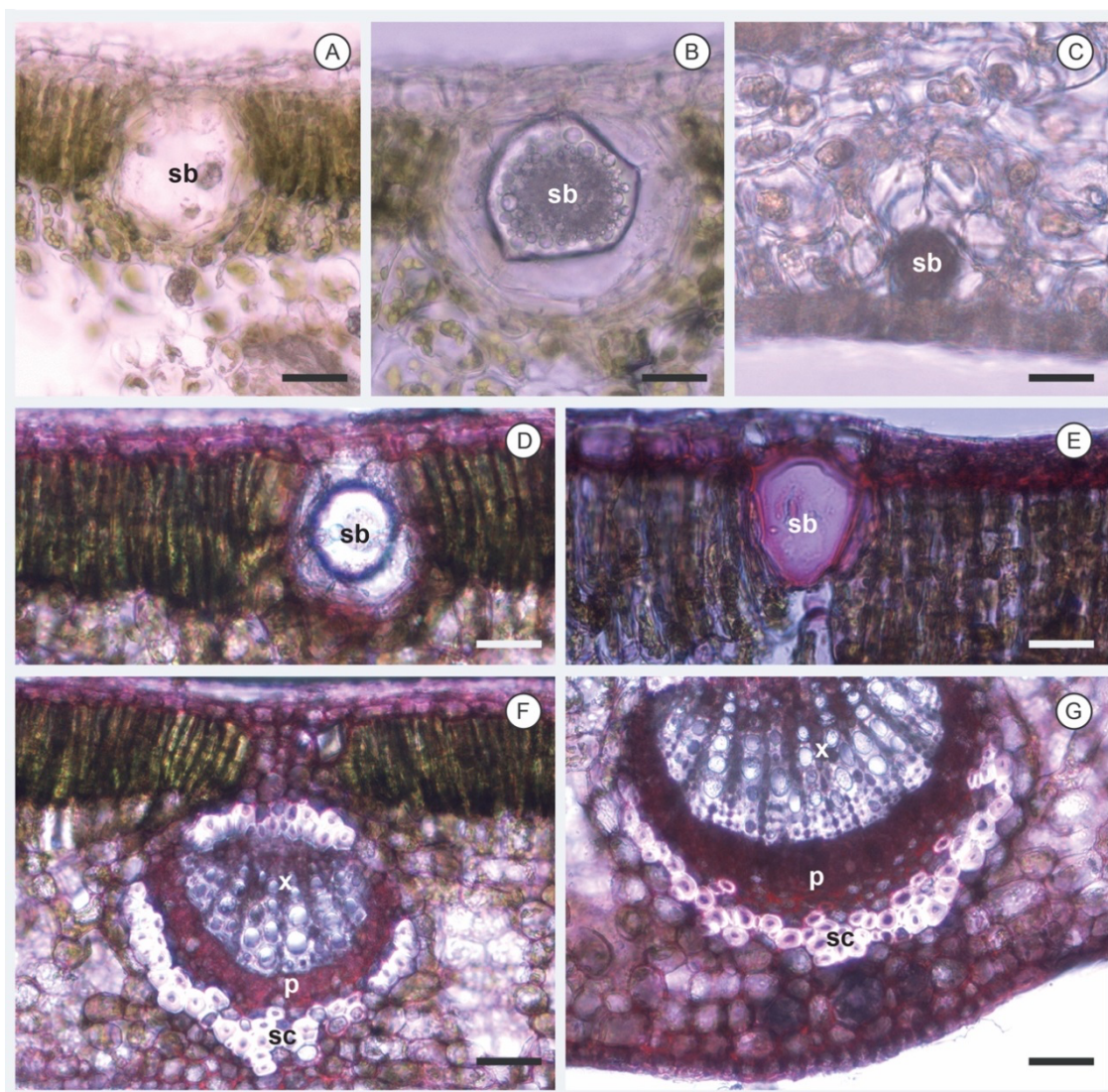
Comparando os dois locais de estudo, as folhas dos indivíduos do sítio urbano apresentaram maior abundância de cristais de oxalato de cálcio (Figura 4), além disso, ocorreram maiores frequências de glândulas secretoras (Figura 4A-B). Testes histoquímicos das folhas de *E. uniflora* do sítio urbano revelaram aumento na produção de metabólitos secundários (Figura 5). As secreções na glândula do sítio urbano mostraram uma reação positiva ao amido (Figura 5B), lipídio (Figura 5C) e mucilagem (Figura 5E). Além disso, os testes histoquímicos detectaram o acúmulo de lipídios no mesofilo para plantas do meio urbano (Figura 5C). Na face abaxial da veia central dos indivíduos da zona urbana, foram observadas células com acúmulo de mucilagem (Figura 5G).

Figura 4 - Folhas diafanizadas de *Eugenia uniflora* à microscopia de luz.



Legenda: As imagens mostram a diferença na densidade do cristal entre os dois locais e detalham mais a estrutura do cristal. A, C. sítio florestal; B, D-F. sítio urbano. C, D e F. visualização sob luz polarizada, destacando a presença de cristais. c: cristal; sb: glândulas secretoras. Barras A-D = 50 μm ; E-F = 20 μm .

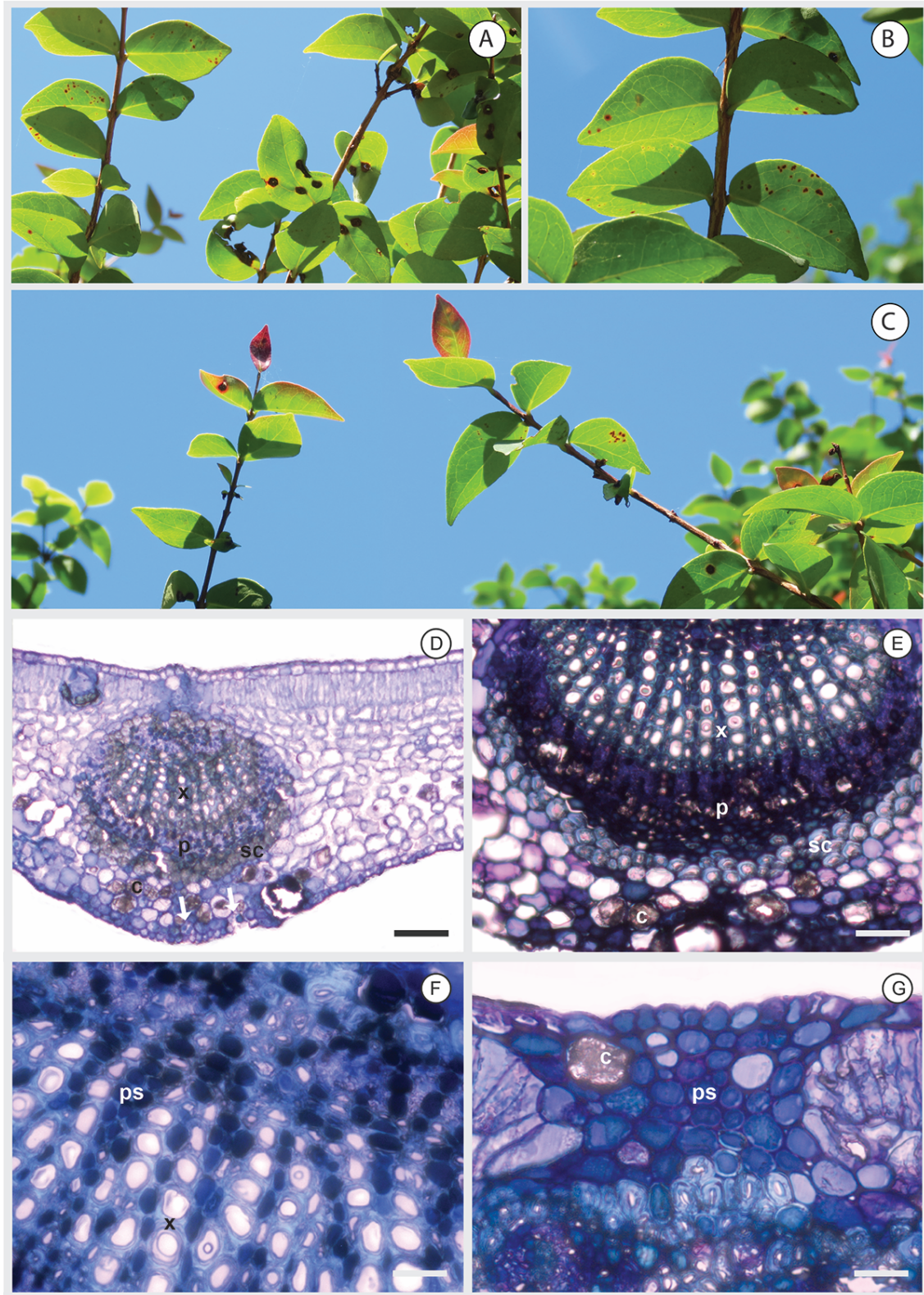
Figura 5 - Seção transversal da lâmina foliar de *Eugenia uniflora*.



Legenda: Lâmina foliar em microscopia de luz, com diferentes testes histoquímicos. A, D, F. Sítio florestal. B, C, E, G. Sítio urbano. Testes histoquímicos: AB. Lugol; C. Sudan IV; D-G. Vermelho de rutênio. x: xilema; p: floema; sb: glândulas secretoras sc: esclerênquima. Barras A-E = 20 µm; F-G = 50 µm.

Folhas de *Eugenia uniflora* do ambiente urbano exibiram sintomas como necrose e brotação de folhas novas completamente avermelhadas (Figura 6A-C). Na face abaxial de algumas folhas de *E. uniflora* do sítio urbano, foram observadas ao redor da região necrótica células cheias de metabólitos secundários (Figura 6D-E). Essas características não foram observadas nas folhas do sítio florestal. Observou-se a presença de células com compostos fenólicos no parênquima do xilema (Figura 6F) e na face adaxial da nervura (Figura 6G).

Figura 6 - Folhas de diferentes exemplares de *Eugenia uniflora* no ambiente urbano.



Legenda: Seção transversal de folhas do sítio urbano (A, B e C). Corte transversal, em microscopia de luz, corado com azul de toluidina (D, E, F e G). Notar em diferentes regiões da nervura central a presença de células com substâncias fenólicas e células com aspecto de morte celular (seta). x: xilema; p: floema; sc: esclerênquima; c: cristal; ps: substâncias fenólicas. Barra D = 100 μm ; E = 50 μm ; FG = 20 μm .

Os índices de plasticidade revelaram que os parâmetros com maior plasticidade fenotípica (Tabela 3) foram: LA, SUC, LMA, DEN, espessura do parênquima paliçádico e frequências de cristais e secretor glândulas.

Tabela 3 - Índices de plasticidade fenotípica para os parâmetros quantitativos avaliados.

Parâmetros	Plasticidade Fenotípica
LA	0.8
SLM	0.5
DLM	0.6
HLT	0.5
SUC	0.8
LMA	0.7
DEN	0.8
Espessura da lâmina da folha	0.6
Espessura do parênquima em paliçádico	0.7
Espessura do parênquima esponjoso	0.6
Espessura da epiderme adaxial	0.5
Espessura da epiderme abaxial	0.6
Frequência de glândulas secretoras	0.8
Frequência de cristais	1.0
Densidade de estômatos	0.6
Comprimento estomático	0.5

Legenda: LA: área foliar; SLM: Massa saturada da folha; DLM: massa de folha seca; HLT: Espessura da Folha Hidratada; SUC: Suculência; LMA: Massa da folha por unidade de área; DEN: Densidade.

3.4 Discussão

A emissão de poluentes atmosféricos pode afetar desde indivíduos isolados até populações inteiras de várias espécies (KUKI et al., 2008). Nesse sentido, o tamanho médio das folhas dos indivíduos de *E. uniflora* amostrados no sítio urbano exibiu maior variação do que os do sítio florestal, onde algumas folhas apresentam maior desenvolvimento da segunda camada do parênquima da paliçada e encurtamento do parênquima esponjoso. A variação da espessura do parênquima paliçadico geralmente está relacionada às respostas da radiação luminosa (FERNANDES et al., 2014). De acordo com Khosropour et al. (2018), a proporção de tecido mesofílico em plantas em um ambiente urbano é influenciada por cloroplastos usados na fotossíntese localizada no parênquima da paliçada. O parênquima esponjoso pode ser decisivo na quantidade de poluentes que penetram no interior das folhas, devido ao número de espaços intercelulares, e de estômatos que permitem o acesso dos gases. Assim, mais células em paliçada permitem mais fotossíntese e reduzem a espessura do parênquima esponjoso, enquanto os estômatos diminuem a absorção de poluição e também de CO₂. Em última análise, é necessário haver um equilíbrio entre esses tecidos, pois a diminuição da absorção de CO₂ limitará a fotossíntese.

As modificações que levam a um ajuste ótimo entre o controle das trocas gasosas e a consequente entrada de poluentes pelos estômatos podem seguir dois caminhos: (1) as plantas reduzem a absorção de poluentes pela diminuição da densidade estomática (KULSHRESHTHA et al., 1994); ou (2) as plantas aumentam a densidade estomática (ALVES et al., 2008; GOSTIN, 2009) e concomitantemente reduzem o tamanho estomático (RASHIDI et al., 2012). No presente estudo, a densidade estomática e o comprimento estomático diferiram significativamente entre os dois ambientes. Indivíduos de *E. uniflora* que se desenvolveram em meio urbano apresentaram maior número de estômatos para contrabalançar sua diminuição de tamanho, permitindo um ajuste ideal para o controle das trocas gasosas e diminuição da captação de poluentes. Bettarini et al. (1998) consideraram mudanças na densidade, distribuição e morfologia dos estômatos como características importantes para adaptação/tolerância à poluição do ar. Esses atributos são frequentemente usados em biomonitoramento ambiental por meio de plantas (WUYTACK et al., 2010).

A maior densidade estomática também pode estar relacionada ao estresse causado pela reduzida disponibilidade de água e pelas altas temperaturas do ambiente urbano (tab. 1). A relação entre densidade estomática e estresse hídrico tem sido abordada por diversos estudos com diferentes tipos de plantas (GAN et al., 2010; PETERSON et al., 2012).

O aumento na quantidade de cristais, como aconteceu com os indivíduos analisados do sítio urbano, é uma resposta que tem sido observada em uma variedade de espécies submetidas

a poluentes gasosos (ALVES et al., 2008). Segundo a literatura, as plantas podem atuar como filtros biológicos, removendo grandes quantidades de poluentes do ambiente urbano (TOMAŠEVIČ et al., 2008). Essa estratégia permite que as plantas mantenham o equilíbrio iônico, que é afetado quando a carga poluente é elevada, bem como favorece a incorporação de metais pesados em cristais de oxalato nos tecidos vegetais (CHOI et al., 2001; TOMAŠEVIČ et al., 2008). Os poluentes aumentam a permeabilidade das membranas celulares, promovendo um influxo de Ca^{++} do apoplasto para as células. Portanto, a formação de cristais serviria como reação de defesa para encapsular o excesso de cálcio dentro da célula (FINK, 1991). O oxalato pode ter impactos negativos na saúde de um indivíduo que consome plantas que o contenham, pois pode causar complicações renais (HOLMES et al., 2001). Na verdade, mais de 75% de todas as pedras nos rins contêm oxalato de cálcio como o principal componente (NORDIN et al., 1979).

Conforme visto em nossa pesquisa, Alves et al. (2008) também observaram maior número de estômatos e cristais de oxalato de cálcio ao avaliar a influência da poluição urbana na cidade de São Paulo sobre *E. uniflora*. Esses autores observaram apenas uma camada de parênquima paliçádico, o que difere do presente estudo em que várias folhas do sítio urbano apresentavam uma segunda camada de parênquima paliçádico. Outra novidade em nosso estudo foi a observação do aumento do número de glândulas secretoras em áreas urbanas. Esses dados são consistentes com o conceito de aumento do desenvolvimento de defesas quando as plantas são submetidas a condições de estresse, como poluição (COLEY et al., 1985). Deve-se observar que alterações nos metabólitos secundários influenciam diretamente na qualidade de uma planta para fins medicinais (SANTOS et al., 2006). Testes histoquímicos nas folhas e na estrutura secretora de *E. uniflora* do sítio urbano revelaram aumento na produção de metabólitos secundários, o que corrobora com os resultados observados para plantas sob exposição prolongada a poluentes atmosféricos (GOSTIN, 2009). Em relação à detecção do acúmulo de lipídios e amido em indivíduos do sítio urbano, esse resultado está relacionado a uma resposta de defesa em plantas sob estresse (BERKEY et al., 2012; GUO et al., 2017). A presença de mucopolissacarídeos, como a mucilagem, na secreção de glândulas secretoras presentes na nervura central das folhas de *E. uniflora* do sítio urbano pode estar relacionada ao armazenamento de água (SOUZA et al., 2015). Além disso, essas substâncias podem proteger contra as altas temperaturas desse local, funcionando como osmoprotetores (RIZHSKY et al., 2004).

Danos visíveis às folhas, como necrose e clorose, observados nas folhas de *E. uniflora* do sítio urbano, podem ser induzidos por partículas transportadas pelo ar, o que é indicativo de

poluição atmosférica (SILVA et al., 2017). Silva et al. (2017) observaram que as emissões de uma fábrica de pelotização também causaram danos visuais a *E. uniflora*, incluindo abscisão foliar, necrose e coloração arroxeada das folhas jovens. Silva et al. (2015), anteriormente, também observaram que indivíduos de *E. uniflora* cultivados nas mesmas condições acumulavam ferro e enxofre nas folhas.

Algumas folhas do sítio urbano do presente estudo exibiram uma coloração avermelhada, indicando a presença de pigmentos fotoprotetores, que podem ser um mecanismo compensatório em condições de estresse ambiental (ASHRAFUZZAMAN et al., 2017). O sistema de defesa antioxidante das plantas pode atuar aumentando os níveis de metabólitos não enzimáticos de baixo peso molecular, como antocianinas e outras substâncias fenólicas (SYTAR et al., 2013). Esse sistema de defesa desempenha um papel fundamental na desintoxicação das células e pode melhorar a tolerância a diversos tipos de estresse (GILL; TUTEJA, 2010).

A observação de células com evidências de morte celular na nervura central das folhas de *E. uniflora* do sítio urbano sugere que existe um sistema de defesa formado pelo acúmulo de metabólitos secundários que desenvolvem uma barreira protetora para evitar a progressão da necrose em direção aos tecidos saudáveis, como também observado por Sant'anna-Santos et al. (2012) e Silva et al. (2017). As características do sítio urbano do presente estudo foram suficientes para causar danos às folhas de *E. uniflora*, semelhante ao encontrado para a influência de poluentes emitidos por uma fábrica de pelotas de ferro (SILVA et al., 2017). Esses achados fornecem mais informações para a descrição de *E. uniflora* como uma espécie bioindicadora do meio ambiente.

Os traços anatômicos de *E. uniflora* com índices de plasticidade fenotípica iguais ou superiores a 0,6 reforçam o impacto de um dos sítios sobre certos traços foliares. O acúmulo de cristais observado apresentou alto índice de plasticidade com grande potencial para ser um bioindicador anatômico. Nesse sentido, podemos sugerir traços variáveis no fenótipo de *E. uniflora* que auxiliam na avaliação dos efeitos exercidos pelas condições urbanas, incluindo interações com poluentes ou condições climáticas (TRIPATHI; GAUTAM, 2007).

Este estudo destaca a importância de realizar estudos mais abrangentes sobre a interferência de ambientes urbanos com metabólitos secundários. Como consequência, envolve a atividade biológica das plantas no meio urbano e sua viabilidade para uso, como por exemplo, para fins medicinais. Concluímos que os sintomas visuais e anatômicos foram eficientes no diagnóstico de estresse em *E. uniflora*. Acredita-se que as características do sítio urbano possam ser responsáveis pela variação observada. As alterações analisadas, como o aumento da

frequência e diminuição do tamanho dos estômatos e a maior frequência de glândulas secretoras e cristais podem ter contribuído para a aclimatação de *E. uniflora* na condição urbana e podem ser úteis para biomonitoramento ambiental.

Agradecimentos

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ). Este estudo fez parte da Tese da L.B. no Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal / UERJ.

REFERÊNCIAS

- ALVES E.S., TRESMONDI F., LONGUI E.L. 2008. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 22: 241-248.
- AMATO-LOURENCO L.F., MOREIRA T.C.L, SOUZA V.C.O., *et al.* 2016. The influence of atmospheric particles on the elemental content of vegetables in urban gardens of Sao Paulo, Brazil. **Environmental Pollution** 216: 125-134.
- ASHRAFUZZAMAN M., LUBNA F.A., HOLTKAMP F., MANNING W..J, KRASKA T., FREI M. 2017. Diagnosing ozone stress and differential tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) with ethylenediurea (EDU). **Environmental Pollution** 230: 339-350.
- BERKEY R., BENDIGERI D., XIAO S. 2012. Sphingo lipids and plant defense/disease: the “death” connection and beyond. **Frontiers in Plant Science**, 3:68.
- BETTARINI I, VACCARI F.P, MIGLIETTA F. 1998. Elevated CO₂ concentrations and stomatal density: observations from 17 plant species growing in a CO₂ spring in central Italy. **Global Change Biology** 4: 17-22.
- CHOI Y.E., HARADA E, WADA M, TSUBOI H, MORITA Y, KUSANO T., SANO H. 2001. Detoxification of cadmium in tobacco plants: formation and active excretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes. **Planta** 213: 45-50.
- COLEY P.D., BRIANT J.P., CHAPIN III F..S. 1985. Resources availability and plant antiherbivore defense. **Science** 230: 895-899.
- COSGROVE A., BERKELHAMMER M. 2018. Downwind footprint of an urban heat island on air and lake temperatures. **Climate and Atmospheric Science** 1: 1-10.
- DICKISON W.C. 2000. Integrative plant anatomy. New York, Academic Press.
- FERNANDES V.F., BEZERRA L.A., MIELKE M, SILVA DC, COSTA L.C.B. 2014. Anatomia e ultraestrutura foliar de *Ocimum gratissimum* sob diferentes níveis de radiação luminosa. **Ciência Rural** 44: 1037-1042.
- FEDER N, O'BRIEN T.P. 1968. Plant microtechnique. Some principles and new methods. **American Journal of Botany**. 55: 123–142.
- FINK S. 1991. Un usual patterns in the distribution of calcium oxalate in spruce needles in their possible relationships to the impact of pollutants. **New Phytologist** 119: 41-51.
- GAN Y., ZHOU L., SHEN Z.J., SHEN Z.X., ZHANG YQ, WANG GX... 2010. Stomatal clustering, a new marker for environmental perception and adaptation in terrestrial plants. **Botanical Studies** 51: 325-336.
- GILL S.S., TUTEJA N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology Biochemistry** 48: 909-930.

GOSTIN IN. 2009. Air pollution effects on the leaf structure of some Fabaceae species. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca** 37: 57-63.

GUO L, DING Y, XU Y, *et al.* 2017. Responses of *Landoltia punctata* to cobalt and nickel: removal, growth, photosynthesis, antioxidant system and starch metabolism. **Aquatic Toxicology** 190: 87-93.

HOLMES R.P., GOODMAN H.O., ASSIMOS D.G. 2001. Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. **Kidney International** 59: 270-276.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Síntese de indicadores sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira. Rio de Janeiro.
<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv95011.pdf>

INEA – Instituto Estadual do Ambiente. 2015. Instituto Estadual do Ambiente.
<http://www.inea.rj.gov.br/cs/groups/public/documents/document/zwew/mde2/~edisp/inea0016940.pdf>

INEA – Instituto Estadual do Ambiente. 2017. Relatório anual de qualidade do ar do Instituto Estadual do Ambiente. <http://www.inea.rj.gov.br/ar-agua-e-solo/monitoramento-da-qualidade-do-ar-e-meteorologia/>.

JOHANSEN D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Company Inc.

KHOSROPOUR E., ATTAROD P., SHIRVANY A. *et al.* 2018. Response of *Platanus orientalis* leaves to urban pollution by heavy metals. **Journal of Forestry Research** 30: 1437-1445.

KLUGE M., TING I.P. 2012. **Crassulacean acid metabolism: analysis of an ecological adaptation**. Ecological studies. Springer Science & Business Media.

KUKI K.N, OLIVA M.A., PEREIRA EG. 2008. Iron ore industry emissions as a potential ecological risk factor for tropical coastal vegetation. **Environmental Management** 42: 111-121.

KULSHRESHTHA K., FAROOQUI A, SRIVASTAVA K., SINGH S.N., AHMAD K.A., BEHL H.M. 1994. Effect of diesel exhaust pollution on cuticular and epidermal features of *Lantana camara* L. and *Syzygium cumini* L. (Skeels.). **Journal of Environmental Science & Health Part A** 29: 301-308.

LORENZI H., MATOS F.J., FRANCISCO J.M. 2002. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora.

NORDIN B.E.C, HODGKINSON A, PEACOCK M., ROBERTSON W.G. 1979 Urinary tract calculi. In: Hamburger J, Crosnier J, Grunfeld JP. (eds.) **Nephrology**. New York/ Paris, Wiley. p 1091-1130.

O'BRIEN T.P., FEDER M., MCCULLY E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** 59: 367-373.

- OKEM A., SOUTHWAY C, STIRK W.A., STREET R.A., FINNIE J.F, STADEN J. 2015. Effect of cadmium and aluminum on growth, metabolite content and biological activity in *Drimys elata* (Jacq.) Hyacinthaceae. **South African Journal of Botany** 98: 142-147.
- OLIVEIRA M.T., GANEM KA, BAPTISTA GM. 2017. Análise sazonal da relação entre sequestro de carbono e ilhas de calor urbanas nas metrópoles de São Paulo, Rio De Janeiro, Belo Horizonte e Brasília. **Revista Brasileira de Cartografia** 69: 807-825.
- PEARSE A.G.E. 1980. **Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology** (4th edition). Churchill Livingstone, Edinburgh, UK.
- PETERSON C.A., FETCHER N., MCGRAW J.B, BENNINGTON C.C.. 2012. Clinal variation in stomatal characteristics of an Arctic sedge, *Eriophorum vaginatum* (Cyperaceae). **American Journal of Botany** 99: 1562-1571.
- PRUSTY B.A.K., MISHRA P.C, AZEEZ P..A. 2005. Dust accumulation and leaf pigment content in vegetation near the national highway at Sambalpur, Orissa, India. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 60: 228-235.
- QUEIROZ J.M.G., SUZUKI M.C.M., MOTTA A.P.R., NOGUEIRA J.M.R., Carvalho E.M.D. 2015. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Revista Fitos Eletrônica** 9: 87-100.
- RAI P.K. 2016. Impacts of particulate matter pollution on plants: Implications for environmental biomonitoring. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 129: 120-136.
- RAINHO C.R., VELHO A.M.A, CORRÊA S.M., MAZZEI J.L., AIUB C.A.F., FELZENSZWALB I. 2013. Prediction of health risk due to polycyclic aromatic hydrocarbons present in urban air in Rio de Janeiro, Brazil. **Genetics and Molecular Research** 12: 3992-4002.
- RASHIDI F., JALILI A., KAFAKI S.B, SAGHEB-TALEBI K., HODGSON J. 2012. Anatomical responses of leaves of Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.) to urban pollutant gases and climatic factors. **Trees** 26: 363-375.
- RIZHSKY L., LIANG H., SHUMAN J., SHULAEV V., DAVLETOVA S., MITTLER R. 2004. When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. **Plant Physiology** 134: 1683-1696.
- SANT'ANNA-SANTOS B.F., AZEVEDO A.A., SILVA L.C., OLIVA M.A. 2012. Diagnostic and prognostic characteristics of phytotoxicity caused by fluoride on *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **Annals of the Brazilian Academics of Sciences** 84: 689-702.
- SANTOS S.C., COSTA W.F., BATISTA F., SANTOS L.R., FERRI P.H., FERREIRA H.D., SERAPHIN J.C. 2006. Seasonal variation tannins in barks of barbatimao. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 16: 552-556.

- SILVA L.C, ARAÚJO TO, MARTINEZ CA, LOBO F.A., AZEVEDO A.A., OLIVA M.A. 2015. Differential responses of C3 and CAM native Brazilian plant species to a SO₂-and SPMFe-contaminated restinga. **Environmental Science and Pollution Research** 22: 14007-14017.
- SILVA L.C., ARAÚJO T.O., SIQUEIRA-SILVA A.I. *et al.* 2017. *Clusia hilariana* and *Eugenia uniflora* as bioindicators of atmospheric pollutants emitted by an iron pelletizing factory in Brazil. **Environmental Science and Pollution Research** 24: 28026-28035.
- SOUZA L.R., TRINDADE F.G., OLIVEIRA R.A., COSTA L.C.D.B., GOMES V.M., CUNHA M. 2015. Histochemical characterization of secretory ducts and essential oil analysis of *Protium species* (Burseraceae). **Journal of Essential Oil Research** 28: 166-171.
- STRITTMATTER C.G.D. 1973. Nueva técnica de diafanización. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica** 14: 126-129.
- SYTAR O., KUMAR A., LATOWSKI D., KUCZYNSKA P., STRZAŁKA K., PRASAD M.N.V. 2013. Heavy metal-induced oxidative damage, defense actions, and detoxification mechanisms in plants. **Acta Physiologiae Plantarum** 35: 985-999.
- TOMAŠEVIČ, M., VUKMIROVIČ Z., RAJŠIČ S., TASIČ M., STEVANOVIČ B. 2008. Contribution to biomonitoring of some trace metals by deciduous tree leaves in urban areas. **Environmental Monitoring and Assessment** 137: 393-401.
- TRIPATHI A.K., GAUTAM M. 2007. Biochemical parameters of plants as indicators of air pollution. **Journal of Environmental Biology** 28: 127-132.
- VALLADARES F., WRIGHT S.J., LASSO E., KITAJIMA K., PEARCY R.W. 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian Rainforest. **Ecology** 81: 1925-1936.
- VASCONCELLOS T., DA CUNHA M., CALLADO C. 2017. A comparative study of cambium histology of *Ceiba speciosa* (Malvaceae) under urban pollution. **Environmental Science and Pollution Research** 24: 12049-12062.
- WITKOWSKI E..T.F. LAMONT, B. B. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. **Oecologia** 88: 486-493.
- WUYTACK T., VERHEYEN K., WUYTS K., KARDEL F., ADRIAENSSENS S, SAMSON R. 2010. The potential of biomonitoring of air quality using leaf characteristics of white willow (*Salix alba* L.). **Environmental Monitoring and Assessment** 171: 197-204.
- ZANDALINAS S.I., MITTLER R., BALFAGÓN D., ARBONA V., GÓMEZ-CADENAS A. 2017. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiology Plantarum** 162: 2-12.

4 ALTERAÇÕES QUÍMICAS E CITOTÓXICAS NAS FOLHAS DE *EUGENIA UNIFLORA* L., PLANTA MEDICINAL QUE CRESCE NO QUARTO MAIOR CENTRO URBANO DA AMÉRICA LATINA

Resumo: A maioria das pessoas em ambientes urbanos obtém plantas medicinais por meio de seu próprio cultivo. *Eugenia uniflora* L. é um arbusto nativo da restinga brasileira comum em áreas urbanas e cujas folhas são comumente utilizadas pela população no tratamento de diversas doenças. Além disso, o uso medicinal de *E. uniflora* é recomendado pelo Serviço Nacional de Saúde do Brasil. Assim, pesquisas são necessárias para avaliar a toxicidade de medicamentos derivados dessa planta cultivados em ambientes urbanos e determinar sua confiabilidade para uso pela população. Portanto, este estudo avaliou folhas de *E. uniflora* cultivadas em ambiente urbano para identificar possíveis alterações químicas e citotóxicas. Este estudo apresenta uma análise integrada das condições ambientais, fisiologia e fitoquímica de *E. uniflora*, além de experimentos que avaliam o potencial tóxico de seu extrato. A análise química do solo e das folhas revelou grande variação na capacidade da planta de acumular elementos químicos. Dentre os elementos químicos analisados, destaca-se o chumbo por ter sido detectado no limite de concentração permitido pela Organização Mundial da Saúde em folhas de meio urbano. Os resultados da análise de citotoxicidade revelaram diferenças significativas quanto à viabilidade das células VERO submetidas ao extrato. Sugerimos que as características ambientais e do solo do sítio urbano são responsáveis, pelo menos em parte, pela característica citotóxica do extrato de folhas de *E. uniflora*.

Palavras-chave: Pitangueira. Cereja brasileira. Planta nativa. Plantas urbanas. Mata Atlântica.

4.1 Introdução

A urbanização é quase sempre acompanhada de mudanças típicas do ambiente natural, como aumento da temperatura devido ao efeito das ilhas de calor, poluição do ar, contaminação do solo, mudanças nos níveis de emissão de carbono, entre outros problemas, que acabam impactando o desenvolvimento das plantas e saúde humana e do ecossistema (GURJAR et al., 2008; ROY et al., 2012).

No geral, o estresse ambiental aumenta o acúmulo de metabólitos secundários em plantas medicinais (ELZAAWELY et al., 2007; SINHA et al., 2010; ZHELJAZKOV et al., 2006), o que causa mudanças significativas em sua quantidade e qualidade (LAJAYER et al., 2017). Esses metabólitos secundários estão diretamente relacionados às propriedades medicinais das plantas (OKEM et al., 2015) e vários estudos têm indicado contaminação de plantas medicinais e aromáticas e potencialmente alta absorção e translocação de metais pesados. (BAYE;

HYMETE, 2010; EBRAHIM et al., 2012; GLAVAC et al., 2017; ZHELJAZKOV et al., 2006; 2008a, b).

Altas concentrações de metais traço já foram documentadas na biomassa de diferentes plantas medicinais, como a salsa (*Petroselinum crispum* L., Apiaceae) e o manjerição (*Ocimum basilicum* L., Lamiaceae), cultivado no centro da cidade de Berlim, Alemanha (SAUMEL et al., 2012). As altas concentrações desses metais estão diretamente relacionadas ao tráfego local, às espécies cultivadas e à forma de plantio. Na cidade de São Paulo, segunda maior metrópole da América Latina, constatou-se que a poluição do ar decorrente do tráfego de automóveis influenciava indiretamente a absorção de elementos químicos potencialmente tóxicos pelas plantas, com valores superiores aos recomendados para consumo (AMATO-LOURENCO et al., 2016).

O uso de plantas medicinais está associado ao nível socioeconômico de uma população, com maior utilização pelas classes de renda mais baixa devido à ausência de alternativas econômicas viáveis ou simplesmente devido à perpetuação da medicina popular (VEIGA JÚNIOR et al., 2005). Um aumento no uso de fitomedicamentos também tem sido observado em países mais desenvolvidos, o que é influenciado pela tendência popular de consumo de produtos naturais. O problema com essa realidade é a forma como a população passa a enxergar o uso das plantas para o tratamento de doenças, sem levar em conta os riscos à saúde por serem considerados naturais (VEIGA JÚNIOR et al., 2005).

A maioria da população urbana obtém plantas medicinais por meio do compartilhamento ou de plantas de seu próprio cultivo (BRASILEIRO et al., 2008; VEIGA JÚNIOR et al., 2005). Assim, é importante enfatizar o monitoramento dos elementos químicos nessas plantas (ECHEM; KABARI 2013; BARIMA et al., 2014) por meio de experimentos que mostram o efeito dos poluentes in situ. Vários estudos têm demonstrado os efeitos negativos dos poluentes nas plantas por meio do método de biomonitoramento passivo com o uso de organismos residentes em áreas sob poluição (ex .: VASCONCELLOS et al., 2017; LÜTTGE; BUCKERIDGE, 2020; SILVA et al., 2021).

O Rio de Janeiro é a quarta maior cidade da América Latina e tem a maior taxa de urbanização do Brasil, chegando a 99,5% (IBGE, 2015). Paradoxalmente, a cidade possui a maior floresta urbana do planeta, o Parque Estadual da Pedra Branca, uma floresta de 12.500 hectares (10% da extensão da cidade), com áreas preservadas e vegetação em bom estado de conservação (PASSOS et al., 2020).

Eugenia uniflora L. (Myrtaceae) foi uma das dez espécies mais citadas em um levantamento de árvores plantadas para consumo na cidade do Rio de Janeiro (SARTORI et al.,

2019). Comumente conhecida como pitangueira ou cereja brasileira, *E. uniflora* é uma das espécies nativas mais cultivadas nos centros urbanos brasileiros, principalmente por seus saborosos frutos e folhas medicinais (LORENZI; MATOS, 2002). Segundo a medicina popular, a infusão e o extrato alcoólico das folhas dessa espécie são utilizados no tratamento de diversas doenças (QUEIROZ et al., 2015). O potencial da espécie como bioindicador de poluição também foi investigado na última década, revelando mudanças fisiológicas e estruturais em resposta às condições urbanas ou exposição a poluentes atmosféricos (ALVES et al., 2008; SILVA et al., 2017; BEZERRA et al., 2020)

Eugenia uniflora também é uma das espécies citadas na Lista Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde (sigla em português: RENISUS), implementada pelo Ministério da Saúde do Brasil em 2008 (SAÚDE, 2009). Portanto, é importante avaliar a toxicidade desta espécie quando cultivada em um ambiente urbano e determinar sua confiabilidade para uso pela população.

Testes com extrato etanólico de *E. uniflora* cultivada fora de grandes centros urbanos não apresentaram potencial tóxico (CUNHA et al., 2016). No entanto, em estudo anterior, Bezerra et al. (2020) descreveram mudanças na estrutura foliar induzidas pela exposição de *E. uniflora* a um ambiente urbano. Assim, é necessário investigar se as alterações estruturais observadas nas folhas de *E. uniflora* cultivadas em ambiente urbano (BEZERRA et al., 2020) são acompanhadas por alterações em seu perfil químico e citotoxicidade do extrato foliar que consequentemente interfeririam na segurança do uso medicinal desta planta. Considerando esse contexto, este estudo teve como objetivo detectar possíveis alterações químicas e citotóxicas em plantas de *E. uniflora* induzidas pela exposição a um ambiente urbano, comparando plantas cultivadas em dois locais na cidade do Rio de Janeiro - uma região periurbana e o centro metropolitano.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Locais de estudo e condições de coleta

O estudo foi realizado com plantas em dois sítios no domínio da Mata Atlântica da cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil: (1) sítio urbano, localizado na Fundação Manguinhos Oswaldo Cruz - Fiocruz Manguinhos, na Avenida Brasil, principal via urbana da

cidade, cujo tráfego é intenso, onde já foram verificados poluentes citotóxicos e mutagênicos (INEA, 2020; RAINHO et al., 2013); e (2) sítio florestal, localizado na Fundação Mata Atlântica Oswaldo Cruz - Fiocruz Mata Atlântica, nos limites do Parque Estadual da Pedra Branca (Fig. 1, Tabela 4).

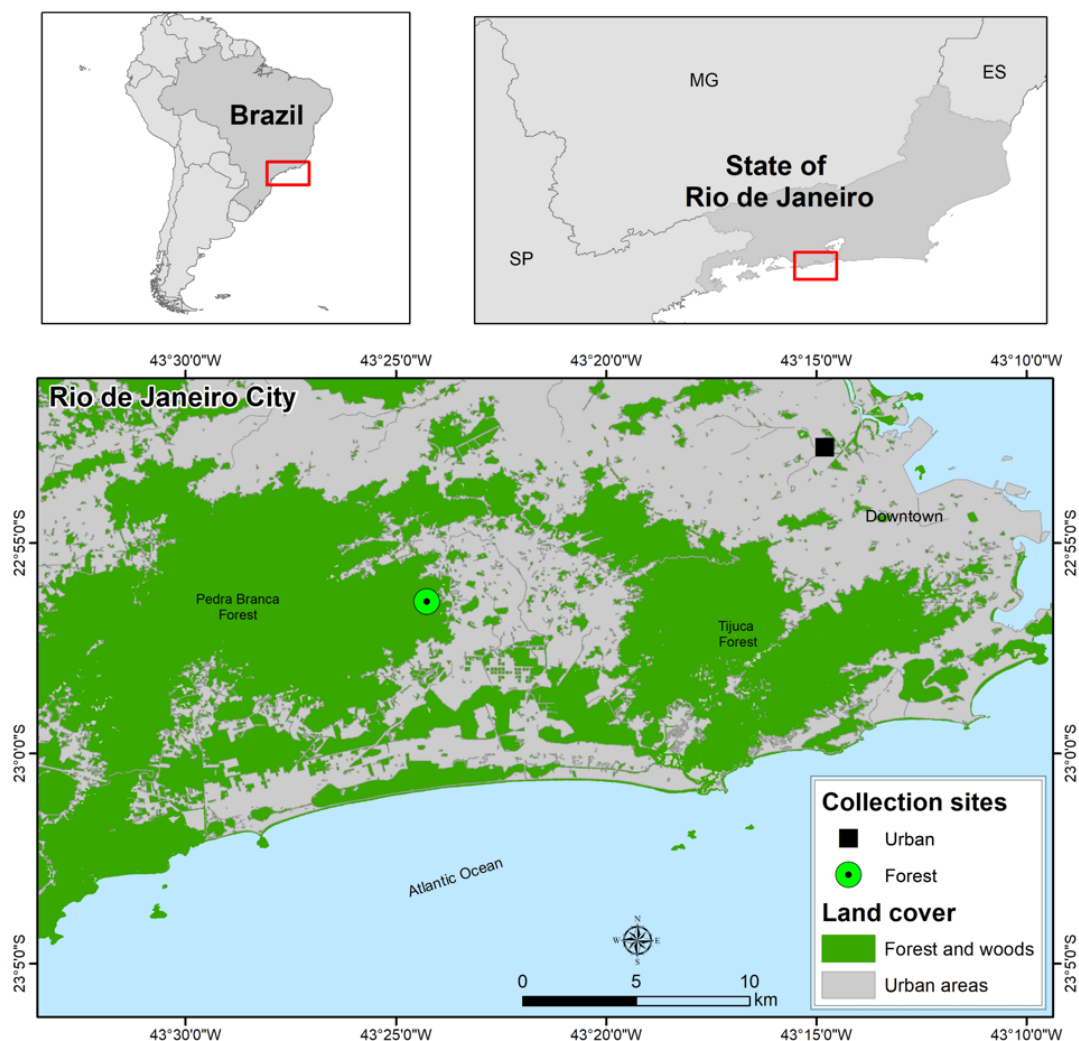
No sítio florestal, a espécie era cultivada na coleção de plantas medicinais da Fiocruz Mata Atlântica, enquanto no sítio urbano a espécie era cultivada em jardins que fazem parte do setor administrativo da Fiocruz Manguinhos. Os dados climáticos de cada localidade foram obtidos para o ano do estudo (2019), nas estações meteorológicas do Sistema Rio Alerta, na cidade do Rio de Janeiro, mais próximas a cada um dos locais de estudo: Estação Meteorológica de São Cristóvão para o sítio urbano (-22,981289, -43,405075) e Estação Meteorológica Rio Centro para o sítio florestal (-22,981289, -43,405075). A Tabela 4 mostra as características ambientais de ambos os locais.

Tabela 4 - Características ambientais dos sítios florestal e urbano para o ano de 2019.

	Sítio Florestal	Sítio Urbano
Localização geográfica	(-22.939889, -43.404424)	(-22.878639, -43.246621)
Altitude (m.a.s.l)	24	30
Precipitação anual acumulada (mm)	1595	1206
Precipitação no mês de amostragem (mm)	47.8	6.4
Umidade relativa do ar - média anual (%)	81.09	70.33
Temperatura máxima - anual (° C)	36.2	37.5
Temperatura média - anual (° C)	25.1	25.7
Temperatura mínima - anual (° C)	17.7	19.1
Cobertura do solo superficial	serapilheira	cascalho / pedras

Os dados de qualidade do ar foram obtidos no site do Instituto Estadual do Meio Ambiente (INEA) para o ano de 2018. O sítio urbano apresentou as maiores concentrações médias de ozônio (577 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) na região metropolitana do Rio de Janeiro, violando o padrão estabelecido pela legislação (140 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) 38 vezes durante o ano (INEA 2020). O sítio florestal, por outro lado, não apresentou concentrações médias de ozônio superiores ao padrão estabelecido.

Figura 7 - Mapas destacando os locais de estudo na cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.



Fonte: BEZERRA et al., 2020.

Cinco indivíduos de *Eugenia uniflora* foram amostrados em cada local de estudo. A caracterização química elementar das folhas e a aquisição do extrato hidroalcoólico foram realizadas para cada planta utilizando folhas saudáveis da região nodal mais desenvolvida do ramo e expostas ao sol. Esta amostragem foi realizada simultaneamente nos dois locais estudados às 9h do dia 23 de julho de 2019, uma semana de dias ensolarados. Após a coleta, as folhas foram acondicionadas em sacos em recipientes térmicos com gelo e processadas simultaneamente em laboratório.

4.2.2 Fluorescência de raios-x (XRF)

A identificação elementar de solo e folhas foi realizada contextualizando as características ambientais específicas de cada local. As caracterizações químicas elementares das folhas de *E. uniflora* e amostras de solo dos dois locais de estudo foram realizadas usando análise de fluorescência de raios-X (XRF). Semelhante ao número de amostras analisadas para as folhas, cinco amostras de solo em cinco pontos de amostragem foram coletadas a uma profundidade de aproximadamente 10,0 cm, totalizando 25 amostras em cada local de estudo. A serapilheira ou camada de pedra foi removida antes da coleta do solo. Os pontos de amostragem de solo foram próximos aos espécimes de *E. uniflora* avaliados. As amostras de solo foram homogeneizadas em laboratório usando a técnica de fileiras (HORWITZ, 1990).

As amostras de solo e folhas foram secas em estufa a temperatura de aproximadamente 60 °C por 48 h. Os materiais secos foram então triturados - o solo mecanicamente em um moinho de ágata, as folhas por meio do moinho analítico Ika A11 Basic - e peneirado com tela de náilon (75 µm). Aliquotas de 500 mg de cada amostra foram compactadas a uma pressão de $2,32 \times 10^8$ Pa, por aproximadamente 15 minutos, a fim de se obter pastilhas finas com diâmetro de 2,54 cm e densidade superficial de 100 mg/cm² (ANJOS et al., 2000; SANTOS et al., 2019).

A análise de XRF de pastilhas de solo e folhas foi realizada em equipamento comercial Epsilon 1 (Malvern Panalytical) com ânodo de prata (Ag) e detector de deriva de silício (resolução de energia <135 eV para Mn-K α). Duas condições experimentais diferentes foram utilizadas na análise das amostras. A primeira condição experimental foi usada para melhor excitação de elementos de baixo Z usando 10 kV, 336 µA e um tempo de aquisição de 600 s. A segunda condição experimental para excitação de elementos de Z alto utilizou 50 kV, 100 µA, 300 s e um filtro de Cu (500 µm). A análise quantitativa foi realizada pelo software Epsilon 1. A precisão e exatidão do sistema XRF foram determinadas por meio de medidas da amostra certificada BCS-CRM-353, que encontraram erros relativos inferiores a 23%. Os elementos com os menores números atômicos apresentaram maior erro relativo devido à dificuldade de análise dos elementos leves em experimentos realizados à temperatura ambiente. Dados relacionados à bioconcentração nos permitem relacionar a concentração de elementos foliares e as diferentes vias de absorção. A capacidade de acumulação de uma planta, também conhecida como Fator de Bioconcentração, foi medida como a razão entre a concentração de um elemento químico detectado na planta e a concentração detectada no solo (WANG et al. 2004; RAZIC; DOGO, 2009).

O mapeamento elementar para amostras de folhas foi realizado usando a técnica de micro fluorescência de raios-X (micro-XRF). As medições de Micro-XRF foram feitas usando o sistema M4 Tornado (Bruker), composto por um tubo de raios-X de alvo Rh com óptica

polcapilar (tamanho de ponto de 25 μm) e um detector de desvio de silício XFlash (resolução de energia $<142\text{ eV}$ para $\text{Mn-K}\alpha$). O mapeamento da amostra foi realizado com uma tensão de 40 kV, uma corrente de 600 μA , um filtro de Al de 12,5 μm , tamanho de pixel de 50 μm e um tempo de medição de 120 ms por pixel sob uma condição de vácuo de 20 mbar.

4.3.3 Espectroscopia de dispersão de energia de raios-X (EDS)

A análise e o registro espacial dos elementos químicos depositados na superfície foliar foram realizados por espectroscopia de dispersão de energia de raios-X (EDS). As análises foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) ZEISS - DSEM 962. As avaliações das folhas frescas de cada um dos cinco espécimes de *E. uniflora* nos dois locais foram realizadas em quatro áreas aleatórias das duas faces das folhas. Os elementos químicos presentes nas superfícies foliares foram identificados e quantificados.

4.3.4 Extrato hidroalcoólico

O extrato foi obtido das folhas de *E. uniflora* coletadas nos dois locais. As folhas foram secas em estufa a 45 °C e posteriormente moídas mecanicamente com auxílio de moinho de ágata. Uma amostra de 1g do material vegetal seco e em pó foi submetida à extração em 50 mL de solução hidroalcoólica (etanol / água ultrapura 9: 1 v, v) em banho ultrassônico (Unique USC1400, 25 °C, 40 kHz, 120 W) por 30 minutos. O extrato foi então filtrado e a solução hidroalcoólica remanescente foi deixada evaporar até a obtenção do extrato puro.

4.3.5 Análise HPLC-DAD-UV

Para comparar o perfil químico dos extratos dos dois locais, a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) com um detector de matriz de diodo acoplado (DAD) foi realizada usando um sistema de HPLC Shimadzu® Nexera XR equipado com SPDM20A UV-Vis DAD,

Controlador CBM20A, desgaseificador DGU20A, bombas binárias LC20AD, forno CTO20A e amostrador automático SILA20A. Os extratos foram solubilizados em metanol (10 mg/mL) e filtrados com filtro Millipore de 0,45 µm. A análise qualitativa foi realizada em coluna analítica C18 do tipo Thermo modificado (250 mm x 4,6 mm D.I. x 5 µm, tamanho de partícula), mantida a 50 ° C, com volume de injeção de amostra de 20 µl. O sistema solvente foi composto por água ultrapura (Miliq-Millipore) (pH 3,0 com ácido acético anidro) (A), acetonitrila (B) em gradiente de eluição de 95% (A) a 5% (B), depois 95% (B)) e 5% (A) em 80 min, e então a composição inicial de (A) / (B) por 10 min para reequilibrar o sistema, a uma taxa de fluxo constante de 0,8 mL/min. A absorção de UV foi monitorada a 270 nm e 340 nm. Os cromatogramas foram manipulados usando o software Shimadzu LabSolutions.

4.3.6 Teste de citotoxicidade de extrato hidroalcoólico

O teste de citotoxicidade foi realizado para avaliar o potencial citotóxico de extratos etanólicos de folhas e observar uma possível diferença no nível de citotoxicidade induzida por extratos vegetais cultivados em áreas urbanas e florestais. Para análise quantitativa, células VERO, uma linhagem não tumorigênica, foram cultivadas até atingirem 80% de confluência em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS), 1% de antibióticos (penicilina / estreptomicina com antimicóticos - Vitrocell) e 1% glutamina, com 5% de CO₂ a 37 °C. Uma amostra de células foi subsequentemente submetida a tripsinização e contada com azul de Tripán 0,2% (Sigma-Aldrich) em câmara de Neubauer para obtenção da densidade celular. Em seguida, 1x10⁴ células por poço foram colocadas em microplacas de fundo plano de 96 poços contendo meio suplementado e incubadas a 37 °C por 24 horas antes do tratamento, nas condições já mencionadas.

As células foram então testadas por 24 horas com diferentes concentrações de extrato hidroalcoólico (250, 500 e 750 µg / mL). Controles de crescimento também foram incluídos. A viabilidade celular após a incubação com extrato hidroalcoólico foi avaliada pela adição de 10 µL de solução WST-1 (2 µL de reagente WST-1 mais 8 µL de meio DMEM) a cada poço e, em seguida, retornando as placas para a incubadora por mais 1h. As células com metabolismo ativo são capazes de converter o reagente WST-1 em um produto colorido com absorbância máxima de 550 nm. Como as células mortas perdem essa capacidade, a formação de cor serve como uma maneira conveniente de avaliar a viabilidade celular. A redução de WST-1 foi determinada por medições de absorbância de comprimento de onda a 450 nm. Cada concentração foi testada

três vezes, com cinco repetições em cada teste. A citotoxicidade foi estimada pelo cálculo da porcentagem citotóxica (C%).

4.3.7 Transientes de fluorescência de clorofila *a*

Foi realizada uma análise da fluorescência da clorofila para detectar o grau de estresse ao nível fisiológico dos estudos, servindo como dados complementares para caracterizar o estado das plantas nos dois locais. Os parâmetros relacionados à fluorescência da clorofila *a* foram medidos usando um fluorímetro portátil Pocket PEA (Hansatech Instruments, Reino Unido). Sem nenhum dano aparente e ambos os lados completamente expostos ao sol, cinco folhas completamente expandidas foram coletadas de cada um dos quatro espécimes usados nos experimentos anteriores. As medições foram feitas no final da manhã em dois dias consecutivos em ambos os locais. Todas as folhas foram adaptadas ao escuro por um período de 20 minutos por meio de cliques fornecidos com o equipamento. As folhas foram então expostas a um pulso de saturação de luz ($3000 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, comprimento de onda 650 nm, por 1 s), e os sinais de emissão de fluorescência foram registrados pelo sistema de aquisição de dados Pocket PEA conforme descrito por Strasser et al. (2004). Dentre os parâmetros gerados automaticamente pelo fluorímetro, foram selecionados os seguintes: área da curva OJIP (Área); tempo para atingir F_m (tF_m); eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m); Índice de desempenho (PIabs); vitalidade total (PI total); eficiência máxima de excitação não fotoquímica (ϕDo); densidade do centro de reação da clorofila (RC/ABS).

4.3.8 Análise estatística

Todos os resultados quantitativos foram analisados estatisticamente com o software STATISTICA 7.0 (StatSoft, Inc., EUA). Os dados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Os resultados obtidos para o crescimento de *E. uniflora* nos dois locais foram comparados usando o teste *t* de Student para dados paramétricos e o teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos, ambos ao nível de significância de 95% (ZAR, 2010).

4.3 Resultados

Nas amostras de solo de ambos os locais de estudo foram detectados dezenove elementos químicos: Alumínio (Al), Silício (Si), Fósforo (P), Enxofre (S), Cloro (Cl), Potássio (K), Cálcio (Ca), Titânio (Ti), Cromo (Cr), Manganês (Mn), Ferro (Fe), Níquel (Ni), Cobre (Cu), Zinco (Zn), Gálio (Ga), Rubídio (Rb), Estrôncio (Sr), Zircônio (Zr), Chumbo (Pb). O bromo (Br) foi detectado apenas em amostras de solo do ambiente florestal.

Os elementos P, S, Cl e Zn não diferiram estatisticamente entre as amostras de solo dos dois locais de estudo. Os elementos Al, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Ga e Rb apresentaram concentrações significativamente maiores nas amostras de solo da floresta, enquanto os elementos Si, K, Ca, Sr, Zr e Pb apresentaram concentrações significativamente maiores em o sítio urbano (Tabela 5). Quinze elementos químicos foram detectados nas amostras de folhas de ambos os locais de estudo: Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Rb, Sr e Pb (Tabela 5). Embora os elementos Al, Cr, Ni, Ga e Zr tenham sido detectados em amostras de solo de ambos os locais de estudo, esses elementos não foram detectados em amostras de folhas. As concentrações de todos os elementos observados nas folhas diferiram estatisticamente entre os dois locais. Os dados e os resultados da análise estatística para todos os elementos identificados no solo e nas folhas são apresentados como material complementar (Tabela 7). Os elementos Si, S, Ca e Pb estiveram em maior concentração tanto nas amostras de solo quanto nas folhas do sítio urbano. Os elementos Ti, Mn, Fe, Cu, Rb e Br estiveram em maior concentração tanto nas amostras de solo quanto nas folhas da floresta. Embora o Br não tenha sido identificado no solo do sítio urbano, esse elemento foi detectado nas amostras de folhas deste sítio. A distribuição de Ca, Cl, Si e Zn foi identificada por análise micro-XRF no tecido das folhas de *E. uniflora* do sítio urbano (Fig. 8). Os elementos Si e Fe apresentaram maior bioconcentração nas folhas em ambos os locais de estudo (Tabela 5); no entanto, as amostras do sítio urbano apresentaram valores mais elevados para esses elementos do que o sítio florestal.

Tabela 5 - Concentrações de elementos químicos detectados em amostras de solo e folhas analisadas por XRF e valores de bioconcentração dos elementos em folhas de *Eugenia uniflora* de áreas urbanas e florestais

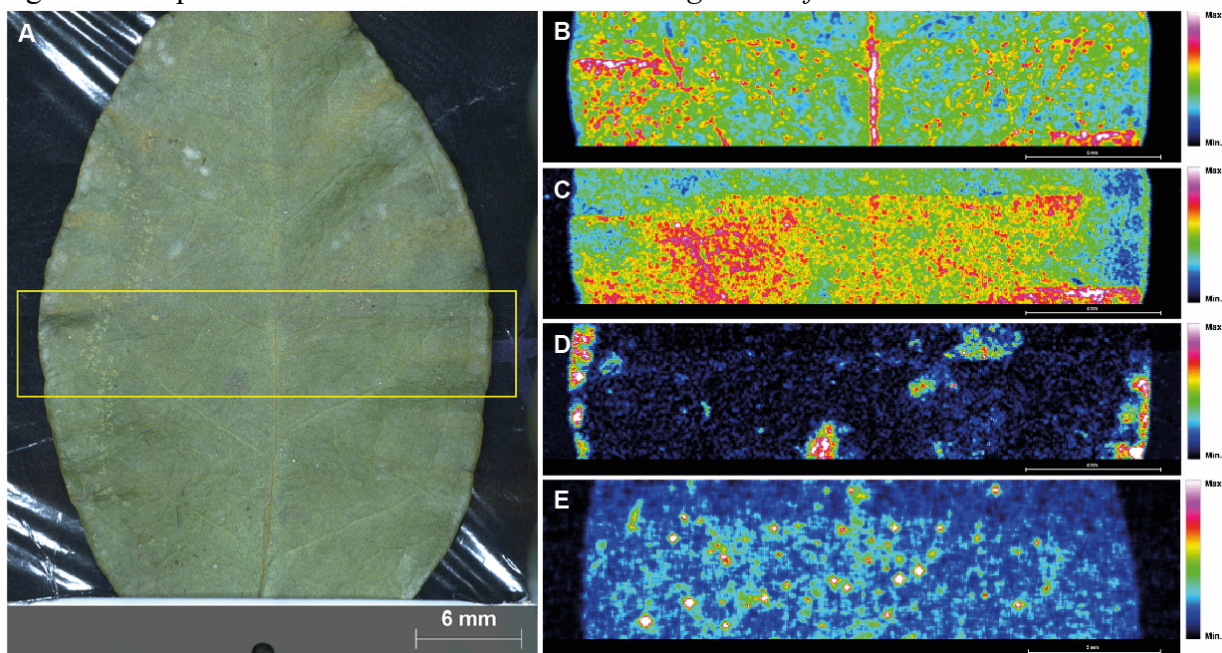
Elementos químicos registrados no solo e nas folhas de <i>Eugenia uniflora</i>						
Elementos	Florestal			Urbano		
	Solo	Folha	Bioconcentração	Solo	Folha	Bioconcentração
Si (%)	27.4	4796	175.04	32*	7036	219.88
P (ug/g)	4330	4050	1.07	4643	3360	0.72
S (ug/g)	703	2366	3.37	780	2966	3.80
Cl (ug/g)	2110	4863	2.30	2183	8130	3.72
K (%)	4	4.4	1.10	5.4*	3.4	0.63
Ca (%)	1.3	12	9.23	4.2*	15.5	3.69
Mn (ug/g)	2153	433	0.20	870*	220	0.25
Fe (%)	11	6476	588.73	5*	4746	949.20
Cu (ug/g)	113	264	2.34	73*	129.7	1.78
Zn (ug/g)	318	166.8	0.52	280	283	1.01
Br (ug/g)	30	40.4	1.35	-	12	-
Rb (ug/g)	401	93.8	0.23	266*	54,9	021
Sr (ug/g)	266	462	1.74	580*	425	0.73
Pb (ug/g)	104	6	0.06	110*	10	0.09

Elementos químicos encontrados apenas no solo					
Elementos	Florestal	Urbano	Elementos	Florestal	Urbano
Al (%)	12.98	7.70*	Ga (ug/g)	72.00	43.33*
Ti (%)	1.58	0.98*	Zr (ug/g)	679.33	970.00*
Cr (ug/g)	106.03	36.67*			
Ni (ug/g)	109.23	60.00*			

Elementos químicos encontrados apenas nas folhas		
Elementos	Florestal	Urbano
Ba (ug/g)	190	2990

Legenda: (*) Diferença significativa com intervalo de confiança de 95% (p) comparado ao sítio florestal. Todos os elementos analisados nas folhas diferiram estatisticamente entre os dois locais.

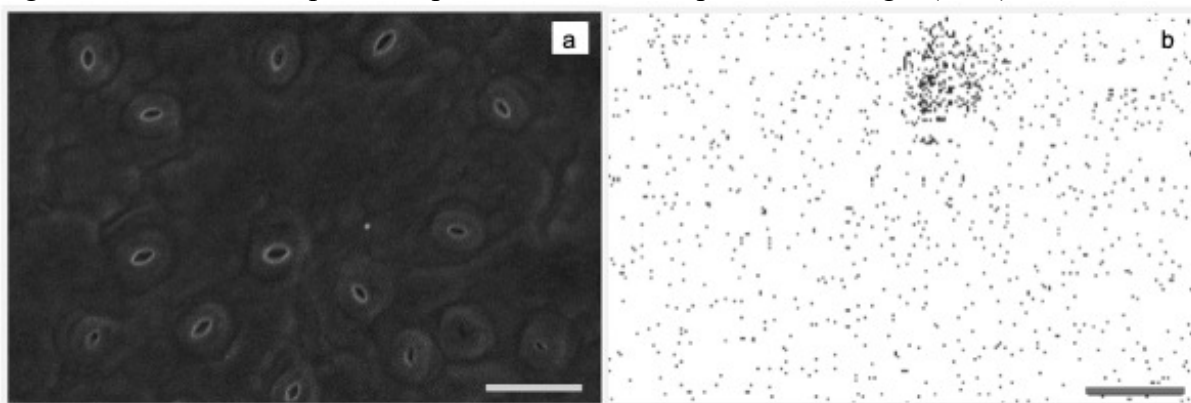
Figura 8 - Mapeamento de micro-XRF da folha de *Eugenia uniflora*.



Legenda: (A) do sítio urbano, mostrando as concentrações de cálcio (B), cloro (C), silício (D) e zinco (E).

A análise química da superfície foliar por EDS identificou e quantificou oito elementos químicos: C, O, Mg, Al, Cl, K, Ca e Si. Dentre os identificados nas amostras foliares obtidas nos dois sítios, o Si foi o único elemento a aparecer depositado apenas nas folhas do sítio urbano (Fig. 9), ocorrendo em 60% das leituras foliares naquele sítio.

Figure 9 - Leituras de espectroscopia de raios-X de dispersão de energia (EDS).



Legenda: (A) região da superfície abaxial de uma folha de *Eugenia uniflora* do sítio urbano onde foi realizada uma das leituras; (B) Mapeamento de Si. O aglomerado de pontos mais escuros representa a presença do elemento. Bar 20 µm

Não houve diferenças significativas entre os locais estudados nos parâmetros relacionados à fluorescência da clorofila *a* nas folhas de *E. uniflora* (Tabela 6).

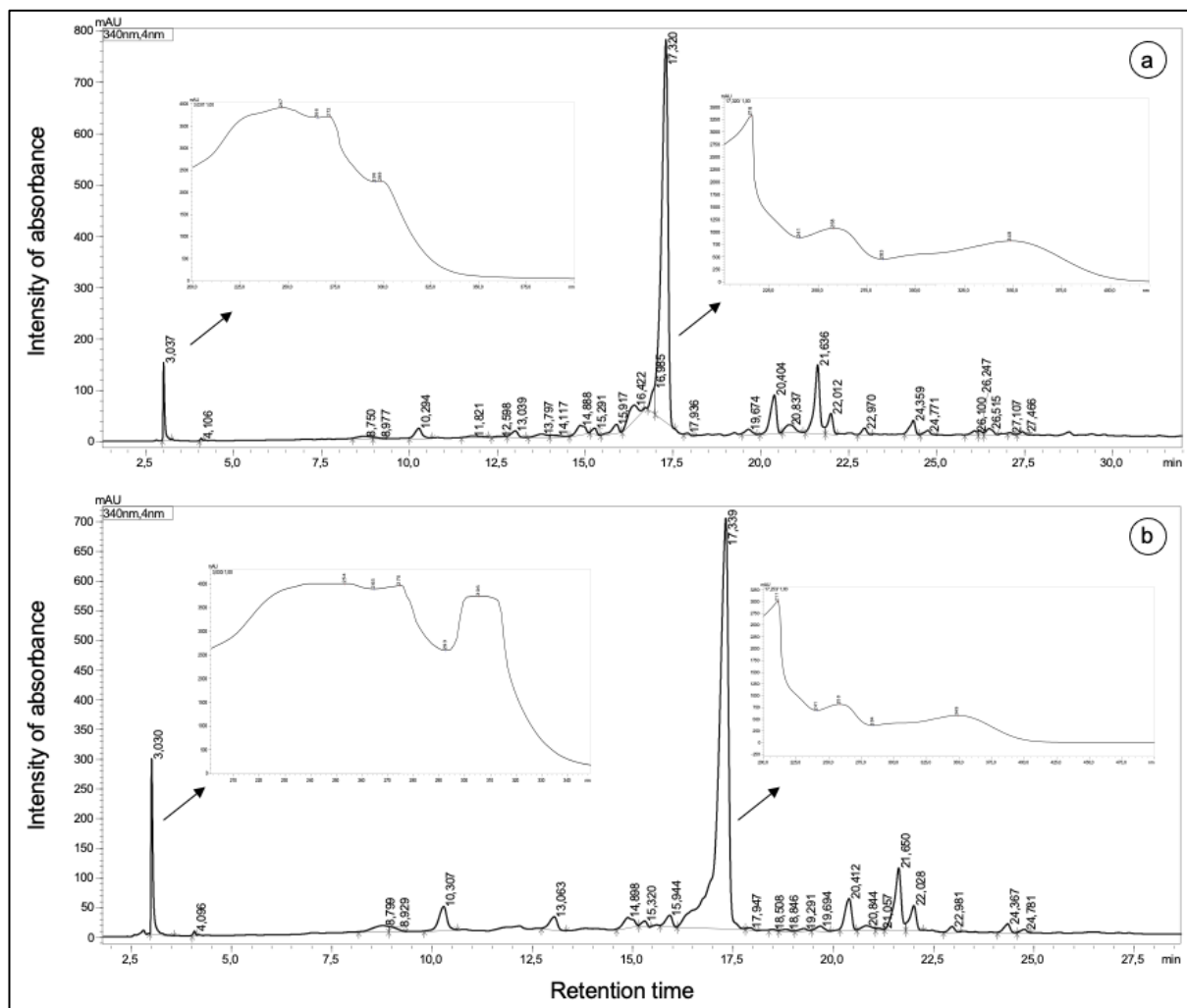
Tabela 6 - Parâmetros da fluorescência da clorofila *a* medidos em folhas de *Eugenia uniflora* crescendo nos sítios florestal e urbano.

Variáveis	Sítio Florestal		Sítio Urbano		t	p
Área	412951	± 69411	374562	± 90363	0.67	0.52
tFm	414.00	± 90.08	446.00	± 85.94	-0.51	0.63
Fv/Fm	0.74	± 0.04	0.78	± 0.016	-1.36	0.22
PIabs	1.28	± 0.60	2.12	± 0.66	-1.85	0.11
PI total	0.66	± 0.30	0.84	± 0.30	-0.88	0.41
φDo	0.26	± 0.04	0.22	± 0.01	1.37	0.22
RC/ABC	2.22	± 0.38	2.09	± 0.28	0.58	0.59

Legenda: Área da curva OJIP (Área); tempo para atingir Fm (tFm); eficiência quântica máxima do fotossistema II (Fv/Fm); Índice de desempenho (PIabs); vitalidade total (PI total); eficiência máxima de excitação não fotoquímica (φ Do); densidade do centro de reação da clorofila (RC/ABS).

O perfil fitoquímico do extrato hidroalcoólico obtido pela análise HPLC-DAD-UV (Fig. 10) não revelou diferenças qualitativas nos componentes principais dos extratos analisados (270 nm e 340 nm). Dois compostos principais foram registrados nos extratos das amostras de ambos os locais com espectros de UV compatíveis com flavona, flavonol ou chalcona. A variação nos perfis fitoquímicos deveu-se a compostos em concentrações abaixo de 1%.

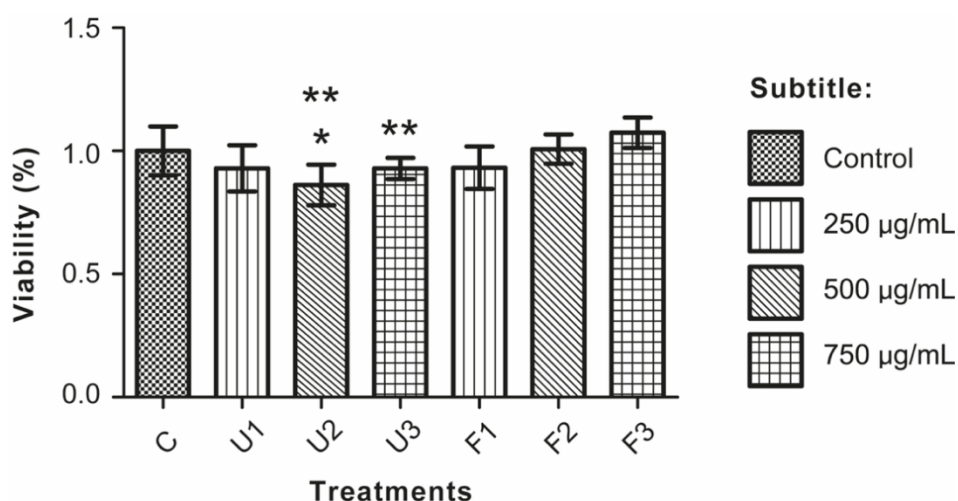
Figura 10 – HPLC-DAD-UV do extrato hidroalcoólico de *Eugenia uniflora*.



Legenda: Extrato hidroalcoólico de *Eugenia uniflora* do sítio florestal (a) e sítio urbano (b) a 340 nm. As setas indicam os dois compostos principais.

O efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *E. uniflora* nas células VERO é mostrado na Figura 11. Apenas a amostra contendo 500 µg/mL de extrato hidroalcoólico de folhas de sítio urbano apresentou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) na viabilidade celular, em comparação com o ao controle. Extratos hidroalcoólicos de folhas de áreas florestais e urbanas induziram diferentes efeitos na viabilidade celular ($p < 0,05$) nas concentrações mais altas avaliadas (500 e 750 µg/mL).

Figura 11 - Efeitos do extrato hidroalcoólico da folha de *Eugenia uniflora* de ambos os locais de estudo em células VERO.



Legenda: Sítio urbano (U) e sítio florestal (F), em comparação com o controle (C). Percentual de citotoxicidade do extrato nas concentrações de 250 µg/mL (U1; F1), 500 µg/mL (U2; F2) e 750 µg/mL (U3; F3). * Difere significativamente do controle; ** Difere significativamente da concentração no sítio florestal. Os valores são a média de cinco repetições, com um nível de significância de $p < 0,05$

4.4 Discussão

As condições climáticas e a topografia de uma determinada região podem maximizar os efeitos da poluição (ABIKO; MORAES, 2009; MASSON et al., 2020), assim como a urbanização pode ter grandes impactos nas condições ambientais e climáticas (REN et al., 2020). Além da grande oferta de poluentes comumente observada nos centros urbanos (CARVALHO et al., 2020; LEIRÃO et al., 2020), tais locais apresentam uma dinâmica climática particular, com temperaturas mais elevadas e mudanças na evolução e direção das chuvas (MASSON et al., 2020). O sítio urbano do presente estudo seguiu essa dinâmica climática. Oliveira et al. (2017) observaram o fenômeno das ilhas de calor nas regiões centrais do Rio de Janeiro e uma diferença de até 5 °C com as regiões florestais. As diferenças de temperatura e precipitação afetam diretamente os metabólitos secundários, como observado para *Mercurialis tomentosa* L. (Euphorbiaceae), cujo conteúdo de compostos fenólicos nas folhas foi influenciado por fatores ambientais, como a precipitação (BORGES et al., 2013). As condições experimentais das amostras de solo obtidas na floresta e locais urbanos durante o processamento para análise de XRF mostraram que o ambiente urbano era mais seco do que o ambiente florestal.

Em estudo realizado nos mesmos locais do presente estudo, Bezerra et al. (2020) encontraram um aumento significativo na quantidade de cristais de oxalato de cálcio em folhas de *E. uniflora* crescendo em meio urbano. A maior concentração de cálcio (Ca) nas folhas para o sítio urbano pode estar relacionada à maior concentração de Ca observada no solo daquele sítio. O aumento na quantidade de cristais de oxalato de cálcio também é uma resposta que tem sido observada para as espécies quando as plantas são expostas a gases poluentes (ALVES et al., 2008). O cálcio é comumente encontrado no material particulado emitido na atmosfera pelos canteiros de obras (RESENDE, 2007), prática comum na região onde se localiza o canteiro de obras. As plantas podem atuar como filtros biológicos removendo grandes quantidades de poluentes de ambientes urbanos (TOMAŠEVIČ et al., 2008, SOREANU et al., 2013). Esta estratégia envolve um equilíbrio iônico que favorece a incorporação de metais pesados em cristais de oxalato presentes em tecidos vegetais (CHOI et al., 2001; TOMAŠEVIČ et al., 2008). Os poluentes aumentam a permeabilidade da membrana celular, promovendo um influxo de Ca^{++} do apoplasto para as células. Fink (1991) sugere que a formação de cristais serviria como uma reação de defesa para encapsular o excesso de Ca dentro da célula. Isso também serve como um alerta porque o consumo de oxalato de cálcio pode causar complicações para a saúde humana (HOLMES et al., 2001). Na verdade, mais de 75% de todas as pedras nos rins contêm oxalato de cálcio como o componente principal (NORDIN et al., 1979).

O cobre (Cu) é um micronutriente para as plantas, mas em altas concentrações pode ser tóxico para elas e para os animais que as consomem. A maior concentração de Cu no solo do sítio florestal pode ser responsável pelo dobro da concentração de Cu presente nas folhas das plantas daquele sítio em comparação com a concentração nas folhas das plantas do sítio urbano. Apesar de ser utilizado na construção, produtos eletrônicos e produtos de consumo em geral, o Cu também é utilizado na agricultura, principalmente em fertilizantes e pesticidas, e como aditivo forrageiro na nutrição de gado e aves (KABATA-PENDIAS; SZTEKE, 2015). Esses fatores podem explicar a concentração encontrada desse elemento no sítio florestal, uma vez que o substrato era característico do cultivo de hortaliças, onde o solo recebe uma cobertura de matéria orgânica e fertilizantes durante as etapas do cultivo.

Apesar da concentração de potássio (K) ser maior no solo urbano, a concentração observada nas folhas das plantas de *E. uniflora* deste local foi menor do que a observada nas folhas das plantas de *E. uniflora* do local da floresta. O transporte de metais pesados em sistemas solo-planta pode ser influenciado pelo K (ZAHEDIFAR et al., 2016). Os fertilizantes à base de K afetaram significativamente o acúmulo de cádmio (Cd) em *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) crescendo em uma estufa com solo contaminado com este metal (ZAHEDIFAR et

al., 2016). Os autores observaram um acúmulo de Cd na presença de K. Assim, é possível que as interações entre o K e outros elementos químicos estejam influenciando seu grau de absorção pelas plantas nos ambientes estudados. Nesse sentido, a importância do pH, temperatura, força iônica, potencial redox, capacidade de troca catiônica e teor de matéria orgânica da solução do solo também não podem ser desconsiderados, pois são fatores que afetam a liberação de elementos químicos e influenciam sua disponibilidade para as plantas (GREGER, 2004). Dentre os elementos químicos detectados nas folhas de *E. uniflora*, o bário (Ba) foi o único não detectado nas amostras de solo. A concentração observada deste elemento nas folhas do sítio urbano foi muito maior do que nas folhas do sítio florestal, o que requer atenção. Vale ressaltar que há enorme uso industrial de Ba (KABATA-PENDIAS; SZTEKE, 2015), e tem potencial poluente atmosférico (GODDARD et al., 2019; LIMA et al., 2021), especialmente em locais com alto tráfego de veículos (SCHAUER et al., 2006). O sítio urbano está localizado às margens da avenida principal da cidade, que deve ter relação direta com as concentrações superiores de Ba observados neste sítio. Por exemplo, um estudo de biomonitoramento usando *Tillandsia usneoides* L. (Bromeliaceae) na cidade de São Paulo encontrou os maiores requerimentos de Ba em indivíduos cultivados próximos à avenida com tráfego intenso (FIGUEIREDO et al., 2007). Esses resultados também foram visualizados em outros estudos comparando o acúmulo de Ba e outros elementos em plantas a diferentes distâncias das rodovias (MOREIRA et al., 2016, AMATO-LOURENCO et al., 2019).

A fitotoxicidade induzida por Ba em *Glycine max* (L.) Merr (Fabaceae) foi investigada em condições de cultivo hidropônico por Suwa et al. (2008). A absorção de K pelas raízes da soja foi reduzida nos tratamentos com Ba. Essa diminuição na absorção de K reduziu sua concentração nas células estomáticas. O acúmulo de Ba nas células guarda também inibiu o transporte de K das células epidérmicas para as células estomáticas, o que resultou no fechamento estomático (SUWA et al., 2008). Sabendo disso, é possível que Ba também tenha desempenhado um papel na menor concentração de K observada em amostras de folhas de *E. uniflora* crescendo no sítio urbano.

Estrôncio (Sr) é um elemento metálico macio e prateado geralmente encontrado em rochas, solo, poeira, combustível fóssil, água e óleo (GUPTA; WALTHER, 2018). O Sr de ocorrência natural não é radioativo. As concentrações foliares de Sr foram semelhantes entre o sítio florestal e o sítio urbano, mas a concentração deste elemento no solo foi significativamente maior para o sítio urbano. O Sr e o Ca são homólogos - ambos são metais alcalino-terrosos que se comportam de maneira semelhante no ambiente. Assim, o estrôncio está altamente disponível

para as plantas, entra facilmente na cadeia alimentar e pode representar um risco radiológico para os humanos, dependendo de sua origem (GUPTA; WALTHER, 2018).

O cloro (Cl) é um micronutriente essencial das plantas superiores e participa de diversos processos do metabolismo fisiológico. Em níveis adequados, o cloro atua no crescimento e desenvolvimento da planta, incluindo regulação osmótica e estomática, produção de oxigênio pela fotossíntese e resistência e tolerância a doenças (CHEN et al., 2010). Embora a concentração de Cl no solo dos dois locais de estudo não tenha diferido significativamente, as folhas de *E. uniflora* do local urbano tiveram quase o dobro da concentração das folhas dos espécimes do sítio florestal. Cl é também um dos principais resíduos gasosos tóxicos liberados por processos industriais, e altamente volátil (WANG et al., 2015; MORIM et al., 2020) e, em excesso, pode ser um dos principais componentes do estresse salino para as plantas e pode até mesmo ser tóxico (CHEN et al., 2010). O zinco (Zn) foi acumulado principalmente em pontos específicos das folhas de *E. uniflora* do sítio urbano, onde o padrão de distribuição sugere que se trata de glândulas secretoras. Esse elemento parece afetar a capacidade das plantas de captar e transportar água e de reduzir os efeitos adversos do estresse (TSONEV; CEBOLA LIDON, 2012).

Embora a diferença na concentração de silício (Si) não tenha sido alta entre as amostras de solo dos dois sítios de estudo, a concentração nas amostras de folhas de *E. uniflora* do local urbano foi 30% maior do que a encontrada nas amostras de folhas do sítio florestal. Esta elevada concentração pode estar relacionada com outra via de absorção, nomeadamente aérea, indicada principalmente pela distribuição deste elemento nos tecidos sugerindo deposição na superfície foliar. Além disso, existem várias indústrias no local urbano, sendo o Si um elemento muito utilizado em processos industriais. O elemento é importante para inúmeras indústrias e estão envolvidos na produção de ligas metálicas e cimento, na preparação de silicones e de interesse para a indústria eletrônica e microeletrônica (LEHMANN, 2002). Embora o Si seja o segundo elemento mais abundante na superfície da crosta terrestre e em seus solos, ele não está listado entre os elementos essenciais para plantas superiores (LIANG et al., 2007). O silício é conhecido por aliviar com eficácia vários estresses abióticos, mas esses mecanismos permanecem pouco conhecidos. Um dos principais mecanismos de atenuação de estresses abióticos mediados por Si em plantas superiores inclui a estimulação de sistemas antioxidantes (LIANG et al., 2007). Um agravante quando se fala em poluição do ar é a sua capacidade de se dispersar no meio ambiente. Esse tipo de contaminação é percebido em nível local, regional e global, podendo ser sentido também em áreas vizinhas, que muitas vezes não abrigam as próprias fontes de emissão (DANTAS et al., 2020). Assim, a dispersão desses elementos pelo

ar pode explicar a presença de certos elementos resultantes de atividades antrópicas no sítio florestal estudado.

A contaminação do solo e da água por chumbo (Pb) aumenta a cada dia devido a diversas atividades ligadas à industrialização e urbanização (CÂNDIDO et al., 2020). Este metal pesado não é essencial às plantas e sem atividade aparente em seus processos metabólicos, mas é facilmente absorvido e acumulado em diferentes partes (NAS; ALI, 2018). A deposição atmosférica de Pb constitui uma das principais vias de absorção das plantas (TOMAŠEVIČ; ANICIC, 2010; HROTKÓ, 2020). A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2005; 2007) regulamenta os limites máximos permitidos para metais tóxicos em plantas medicinais e estabeleceu limites de Pb para matérias-primas em $10 \mu\text{g/g}^{-1}$. Observamos exatamente essa concentração de Pb, limite máximo permitido pela OMS, em amostras de folhas do local urbano do estudo. No entanto, essas concentrações não ultrapassam o limite ($30 \mu\text{g/g}^{-1}$) permitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (sigla: ANVISA). É importante notar que na Malásia, 22% de 100 diferentes preparações de ervas de *Eugenia dyeriana* King (Myrtaceae) analisadas para contaminação por Pb usando espectrofotometria de absorção atômica tinham 10,15–13,20 ppm de Pb (10 ppm sendo o limite máximo permitido) (ANG, 2008). Embora esses dados indiquem que espécies do gênero *Eugenia* podem ter potencial de fitorremediação, eles também sugerem que essas espécies podem ser potenciais acumuladoras de Pb, o que requer atenção no que diz respeito ao consumo dessas espécies. A vegetação urbana está sujeita a fatores microclimáticos, mas também executa serviços importantes no ecossistema urbano (LUTTGE; BUCKERIDGE, 2020). As plantas medicinais apresentam características anatômicas e fisiológicas importantes para uma fitoextração eficaz, como alta produção de biomassa e metabólitos secundários, que garantem certa resistência ao estresse ambiental (ZHELJAZKOV et al., 2008a, b; STREET, 2012).

A análise de fluorescência da clorofila *a* é uma metodologia não destrutiva que permite fazer inferências sobre as condições ideais para o desenvolvimento da planta e avaliar situações de estresse (THACH et al., 2007; KALAJI et al., 2016). A diminuição significativa em F_v/F_m , assim como em P_{Iabs} , indica os efeitos da fotoinibição e tais mudanças representam uma perda de eficiência fotoquímica e aumento do estresse nas plantas (STRASSER et al., 2004). ϕD_o representa o quanto está sendo dissipado por fluorescência ou calor, enquanto a razão ABS/RC indica a densidade dos centros de reação ativos (STRASSER et al., 2004). No presente estudo, nenhum dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a* analisados diferiram significativamente entre plantas de *E. uniflora* de áreas urbanas e florestais. Ajustes aos danos fotoinibitórios observados em ambientes com alta irradiância estão associados a mudanças morfofisiológicas

para adaptação ao novo ambiente (GONÇALVES et al., 2010). *Eugenia uniflora* é considerada um bioindicador (ALVES et al., 2008; NEVES et al., 2009; SILVA et al., 2017; BEZERRA et al., 2020) e exibe diferenças quando cultivada em um ambiente urbano (BEZERRA et al., 2020). Portanto, o aparato fotossintético de *E. uniflora* pode ter permanecido intacto devido a uma barreira protetora possibilitada pelo acúmulo de metabólitos secundários nas regiões danificadas (BEZERRA et al., 2020).

Lajayer et al. (2017) mostraram que as plantas medicinais tolerantes à urbanização podem ser uma boa alternativa de cultivo nesses ambientes, com uma abordagem de manejo e exploração de solos moderadamente poluídos por metais pesados, principalmente quando a matéria-prima a ser utilizada é o óleo essencial. Porém, devido à maior capacidade de algumas plantas em acumular contaminantes nas partes comestíveis, o uso dessas plantas medicinais para consumo deve seguir rigorosamente as regulamentações baseadas nos limites máximos permitidos pela OMS (2005). O perfil fitoquímico do extrato hidroalcoólico de *E. uniflora* do presente estudo revelou a presença de ácidos fenólicos e flavonóides, o que está de acordo com o relatado por Cunha et al. (2016). Estudos anteriores indicaram que *E. uniflora* é rica em compostos com capacidade antioxidante (CUNHA et al., 2016; FIGUEIRÔA et al., 2013), os quais podem ser, pelo menos em parte, responsáveis pela sua ação terapêutica na medicina popular.

O perfil químico do extrato obtido das folhas de *E. uniflora* não diferenciou efetivamente entre os locais de estudo. Lajayer et al. (2017) sugeriram que, para plantas medicinais comumente utilizadas para o preparo de infusão e decocção, como no presente caso, a concentração de elementos tóxicos nas preparações provavelmente seria muito pequena ou inexistente e, portanto, não ameaçaria consumidores (LAJAYER et al., 2017). Porém, devido à bioacumulação de metais no corpo humano, os riscos potenciais do uso contínuo de produtos vegetais para a saúde dos consumidores precisam ser determinados (LAJAYER et al., 2017).

O impacto que os ambientes urbanos têm no crescimento de plantas medicinais tem sido extensivamente investigado (ALVES et al., 2008; BEZERRA et al., 2020; FIGUEIREDO et al., 2008; RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011). No entanto, há pouca informação disponível sobre os efeitos dessas condições na ação fitoterápica/biológica de produtos terapêuticos feitos de material vegetal cultivado em condições urbanas. Os resultados da análise de citotoxicidade do presente estudo revelaram diferenças significativas na viabilidade das células VERO submetidas aos extratos. Isso mostra que características do meio urbano foram responsáveis, pelo menos em parte, pela característica citotóxica do extrato.

Cunha et al. (2016) sugeriram que o consumo de concentrações relativamente altas de extrato etanólico de *E. uniflora* pode não resultar em toxicidade. Eles observaram que o extrato etanólico (1–480 mg/mL) não causou citotoxicidade ou dano ao DNA, conforme avaliado pelo azul de Tripan e pelo Ensaio Cometa, respectivamente. Esses dados são consistentes com os do presente estudo quanto à ausência de citotoxicidade do extrato do sítio florestal, mas diferem dos resultados do extrato do sítio urbano.

A diferença observada na citotoxicidade induzida pela floresta e pelos extratos urbanos pode estar ligada à variação de compostos minoritários, que podem ter sofrido interferência da composição química do solo (KABATA-PENDIAS; SZTEKE, 2011) e dos poluentes atmosféricos presentes com maior intensidade no sítio urbano (INEA, 2020; RAINHO et al., 2013). Embora a concentração do extrato de 500 µg / mL diferisse significativamente do controle para a viabilidade celular, este não foi o caso para a concentração mais alta (750 µg/mL). As propriedades antioxidantes (CUNHA et al., 2016) do extrato podem explicar esse resultado, uma vez que essa mesma concentração do extrato da floresta foi favorável às células.

Do exposto, constatamos que *E. uniflora* possui estratégias eficientes de sobrevivência, que o tornam tolerante ao estresse do ambiente urbano, incluindo a integridade do aparato fotossintético. Embora a química dos extratos produzidos a partir de plantas nos dois locais não diferisse significativamente, a citotoxicidade diferiu. Este estudo destaca a importância de investigações mais abrangentes sobre os impactos e desafios das plantas medicinais cultivadas em meio urbano, que possam subsidiar políticas públicas que garantam seu uso seguro.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte por: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); e Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ). Agradecemos aos funcionários da FIOCRUZ Manguinhos e Mata Atlântica pela autorização de pesquisas nas áreas, em especial ao Dr. Marcelo Neto Galvão pelo apoio durante as coletas. Este estudo foi parte da tese de L. Bezerra no Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

REFERÊNCIAS

- ABIKO, A.; MORAES, OB de. Desenvolvimento urbano sustentável. **Escola Politécnica da Universidade de São Paulo - USP**. São Paulo, 2009.
- 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 Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 241-248, 2008.
- AMATO-LOURENCO, L. F. et al. The influence of atmospheric particles on the elemental content of vegetables in urban gardens of Sao Paulo, Brazil. **Environmental Pollution**, v. 216, p. 125-134, 2016.
- AMATO-LOURENCO, L. F. et al. Edible weeds: Are urban environments fit for foraging? **Science of The Total Environment**, v. 698, p. 133967, 2019.
- ANJOS, M. J.; LOPES, R. T.; DE JESUS, E. F. O.; ASSIS, J. T.; CESAREO, R.; BARRADAS, C. A. A.; Quantitative Analysis of Metals in Soil Using X-ray Fluorescence. **Spectrochimica Acta. B**, v. 55, p. 1189-1194, 2000.
- BARIMA, Y. et al. Assessing atmospheric particulate matter distribution based on Saturation Isothermal Remanent Magnetization of herbaceous and tree leaves in a tropical urban environment. **Science of the total environment**, v. 470, p. 975-982, 2014.
- BAYE, H.; HYMETE, A. Lead and cadmium accumulation in medicinal plants collected from environmentally different sites. **B Environ. Contam. Tox**, v. 84, n. 2, p. 197–201, 2010.
- BEZERRA, L. de A.; CALLADO, C.H.; CUNHA, M. D. Does an urban environment affect leaf structure of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)?. **Acta Botanica Brasilica**, v. 34, n. 2, p. 266-276, 2020.
- BORGES, L. L. et al. Environmental factors affecting the concentration of phenolic compounds in *Myrcia tomentosa* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 230-238, 2013.
- BRASILEIRO, B. G. et al. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no "Programa de Saúde da Família", Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 629-636, 2008.
- CÂNDIDO, G. S. et al. Toxic effects of lead in plants grown in Brazilian soils. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 3, p. 305-313, 2020.
- CHEN, W. et al. Chlorine nutrition of higher plants: progress and perspectives. **Journal of Plant Nutrition**, v. 33, n. 7, p. 943-952, 2010.
- CHOI YE, HARADA E, WADA M, TSUBOI H, MORITA Y, KUSANO T, SANO H. Detoxification of cadmium in tobacco plants: formation and active excretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes. **Planta** v. 213, p. 45-50, 2001.

CUNHA, F. A. B. et al. Cytotoxic and antioxidative potentials of ethanolic extract of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) leaves on human blood cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 84, p. 614-621, 2016.

DANTAS, G. et al. A reactivity analysis of volatile organic compounds in a Rio de Janeiro urban area impacted by vehicular and industrial emissions. **Atmospheric Pollution Research**, v. 11, n. 5, p. 1018-1027, 2020.

EBRAHIM, A.M., ELTAYEB, M.H., KHALID, H., MOHAMED, H., ABDALLA, W., GRILL, P., MICHALKE, B. Study on selected trace elements and heavy metals in some popular medicinal plants from Sudan. **J. Nat. Med.** v. 66, n. 4, p. 671–679, 2012.

ECHEM, O. G.; KABARI, L. G. Heavy Metal Content in Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina*) Grown Along Heavy Traffic Routes in Port Harcourt. In: **Agricultural Chemistry**. InTech, 2013.

ELZAAWELY, A.A., XUAN, T.D., TAWATA, S. Changes in essential oil, kava pyrones and total phenolics of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt. & RM Sm. leaves exposed to copper sulphate. **Environ. Exp. Bot.** v. 59, n. 3, p. 347–353, 2007.

FINK S. Un usual patterns in the distribution of calcium oxalate in spruce needles in their possible relationships to the impact of pollutants. **New Phytologist** v. 119, p. 41-51, 1991.

FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G., PEDRO, L.G., SCHEFFER, J.J. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour Fragr. J.**, v. 23, p. 213–226, 2008.

FIGUEIRÔA, E. de O. et al. Evaluation of antioxidant, immunomodulatory, and cytotoxic action of fractions from *Eugenia uniflora* L. and *Eugenia malaccensis* L.: correlation with polyphenol and flavanoid content. **The scientific world journal**, v. 2013, 2013.

GLAVAC, N K et al. Accumulation of heavy metals from soil in medicinal plants. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 68, n. 3, p. 236-244, 2017.

GODDARD, S. L. et al. Determination of antimony and barium in UK air quality samples as indicators of non-exhaust traffic emissions. **Environmental monitoring and assessment**, v. 191, n. 11, p. 1-12, 2019.

GONÇALVES, J. F. de C. et al. Análise dos transientes da fluorescência da clorofila a de plantas jovens de *Carapa guianensis* e de *Dipteryx odorata* submetidas a dois ambientes de luz. **Acta amazônica**, v. 40, n. 1, p. 89-98, 2010.

GREGER, M. Metal availability, uptake, transport and accumulation in plants. In: Prasad MNV (ed) Heavy metal stress in plants—From biomolecules to ecosystems. **Springer-verlag**, Berlin, p. 1–27, 2004.

GUPTA, D. K.; WALTHER, C. (Ed.). **Behaviour of Strontium in Plants and the Environment**. Cham: Springer International Publishing, 2018.

GURJAR, B. R.; BUTLER, T. M.; LAWRENCE, M. G.; & LELIEVELD, J. Evaluation of emissions and air quality in megacities. **Atmospheric Environment**, v. 42, n. 7, p. 1593–1606, 2008.

HOLMES RP, GOODMAN HO, ASSIMOS DG. Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. **Kidney International** v. 59, p. 270-276, 2001.

HORWITZ W., “Nomenclature for Sampling in Analytical Chemistry”, **Pure and Appl. Chem.**, v. 62, n. 6, p. 1993-1208, 1990.

HROTKÓ, K. et al. Foliar dust and heavy metal deposit on leaves of urban trees in Budapest (Hungary). **Environmental Geochemistry and Health**, p. 1-14, 2020.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Síntese de indicadores sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira. Rio de Janeiro, 2015.

INEA - Instituto Estadual do Ambiente (RJ). Relatório da qualidade do ar do Estado do Rio de Janeiro: ano base 2018 / Instituto Estadual do Ambiente (RJ). – Rio de Janeiro, 2020.

KABATA-PENDIAS, A.; SZTEKE, B. **Trace elements in abiotic and biotic environments**. CRC Press, 2015.

KALAJI, H. M. et al. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta physiologiae plantarum**, v. 38, n. 4, p. 102, 2016.

LAJAYER, B. A.; GHORBANPOUR, M.; NIKABADI, S. Heavy metals in contaminated environment: destiny of secondary metabolite biosynthesis, oxidative status and phytoextraction in medicinal plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 377-390, 2017.

LEHMANN, V. **Electrochemistry of Silicon: Instrumentation, Science, Materials and Applications**, 2002.

LIANG, Y. et al. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. **Environmental pollution**, v. 147, n. 2, p. 422-428, 2007.

LIMA, B. D. et al. Metal-enriched nanoparticles and black carbon: A perspective from the Brazil railway system air pollution. **Geoscience Frontiers**, v. 12, n. 3, p. 101129, 2021.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2002.

LÜTTGE, U.; BUCKERIDGE, M. Trees: structure and function and the challenges of urbanization. **Tress**, 2020.

MASSON, V. et al. Urban climates and climate change. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 45, p. 411-444, 2020.

MORIM A, GULDNER GT. Chlorine Gas Toxicity. **StatPearls [Internet]**, 2020.

NAS, F. S.; ALI, M. The effect of lead on plants in terms of growing and biochemical parameters: a review. **MOJ Eco Environ Sci**, v. 3, n. 4, p. 265-268, 2018.

NEVES, N. R. et al. Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition: potential use in environmental risk assessment. **Science of the total environment**, v. 407, n. 12, p. 3740-3745, 2009.

NORDIN BEC, HODGKINSON A, PEACOCK M, ROBERTSON WG .1979 Urinary tract calculi. In: Hamburger J, Crosnier J, Grunfeld JP. (eds.) **Nephrology**. New York/ Paris, Wiley. p 1091-1130

OKEM, A. et al. Effect of cadmium and aluminum on growth, metabolite content and biological activity in *Drimys elata* (Jacq.) Hyacinthaceae. **South African Journal of Botany**, v. 98, p. 142-147, 2015.

OLIVEIRA, M.T.; GANEM, K. A.; BAPTISTA, G. M. Análise sazonal da relação entre sequestro de carbono e ilhas de calor urbanas nas metrópoles de São Paulo, Rio De Janeiro, Belo Horizonte e Brasília. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 69, n. 4, 2017.

PASSOS, F V de A et al. Turismo ambiental - conhecendo a realidade da unidade de conservação Parque Estadual Da Pedra Branca, Sede Pau Da Fome–RJ. **Revista Gestão em Análise**, v. 9, n. 2, p. 101-113, 2020.

QUEIROZ, J. M. G. et al. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 9, n. 2, p. 87-100, 2015.

RAMAKRISHNA, A., RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signal Behav.** v. 6, n. 11, p. 1720–1731, 2011.

RAINHO, C. et al. Genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitro-derived in respirable airborne particulate matter collected from urban areas of Rio de Janeiro (Brazil). **BioMed research international**, 2013.

RAZIC S.; DOGO S. Determination of chromium in *Mentha piperita* L. and soil by graphite furnace atomic absorption spectrometry after sequential extraction and microwave acid assisted digestion to assess potential bioavailability. **Chemosphere**, v. 78, p. 451, 2010.

REN, S. et al. Impact of Urbanization on the Predictions of Urban Meteorology and Air Pollutants over Four Major North American Cities. **Atmosphere**, v. 11, n. 9, p. 969, 2020.

RESENDE, F. Poluição atmosférica por emissão de material particulado: avaliação e controle nos canteiros de obras de edifícios. Dissertação, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2007.

ROY, S.; BYRNE, J.; PICKERING, C. A systematic quantitative review of urban tree benefits, costs, and assessment methods across cities in different climatic zones. **Urban Forestry and Urban Greening**, v. 11, n. 4, p. 351–363, 2012.

SANTOS, R. S.; SANCHES, F. A.; LEITÃO, R. G.; LEITÃO, C. C.; OLIVEIRA, D. F.; ANJOS, M. J.; ASSIS, J. T. Multielemental analysis in *Nerium Oleander* L. leaves as a way of assessing the levels of urban air pollution by heavy metals. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 152, p. 18-24, 2019.

SARTORI, R A et al. Urban afforestation and favela: A study in A community of Rio de Janeiro, Brazil. **Urban Forestry & Urban Greening**, v. 40, p. 84-92, 2019.

SAÚDE, M.D. Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. SAÚDE, Brasília 2009.

SAUMEL, I., KOTSYUK, I., HÖLSCHER, M., LENKEREIT, C., WEBER, F., KOWARIK, I. How healthy is urban horticulture in high traffic areas? Trace metal concentrations in vegetable crops from plantings within inner city neighbourhoods in Berlin, Germany. **Environ. Pollut.** v. 165, p. 124–132, 2012.

SILVA, D B; VASCONCELLOS, T J; CALLADO, C H. Effects of urbanization on the wood anatomy of *Guarea guidonia*, an evergreen species of the Atlantic Forest. **Trees**, p. 1-12, 2021.

SILVA, L. C. et al. *Clusia hilariana* and *Eugenia uniflora* as bioindicators of atmospheric pollutants emitted by an iron pelletizing factory in Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 36, p. 28026-28035, 2017.

SINHA, S., SINAM, G., MISHRA, R.K., MALLICK, S. Metal accumulation, growth, antioxidants and oil yield of *Brassica juncea* L. exposed to different metals. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 73, p. 1352–1361, 2010.

SOREANU, G.; DIXON, M.I; DARLINGTON, A. Botanical biofiltration of indoor gaseous pollutants—A mini-review. **Chemical engineering journal**, v. 229, p. 585-594, 2013.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. **Chlorophyll a fluorescence**. Springer, Netherlands, p. 321–362, 2004.

STREET, R.A. Heavy metals in medicinal plant products – an African perspective. **S Afr. J. Bot.** v. 82, p. 67–74, 2012.

SUWA, R. et al. Barium toxicity effects in soybean plants. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 55, n. 3, p. 397-403, 2008.

TOMAŠEVIČ, M, VUKMIROVIČ Z, RAJŠIČ S, TASIČ M, STEVANOVIČ B. Contribution to biomonitoring of some trace metals by deciduous tree leaves in urban areas. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 137, p. 393-401, 2008.

TOMAŠEVIČ, M.; ANICIC, M. Trace element content in urban tree leaves and SEM-EDAX characterisation of deposited particles. Facta Universitatis, Series: Physics, **Chemistry and Technology**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 2010.

THACH, L.B.; SHAPCOTT, A.; SCHMIDT, S.; CRITCHLEY, C. The OJIP fast fluorescence rise characterizes *Graptophyllum* species and their stress responses. **Photosynth Res** v. 94, p. 423–436, 2007.

TSONEV, T.; CEBOLA LIDON, F. J. Zinc in plants-an overview. **Emirates Journal of Food & Agriculture (EJFA)**, v. 24, n. 4, 2012.

VASCONCELLOS, T.J.; DA CUNHA, M; CALLADO, C.H. A comparative study of cambium histology of *Ceiba speciosa* (A. St.-Hil.) Ravenna (Malvaceae) under urban Pollution. **Environ Sci Pollut Res** v. 24, p. 12049–12062, 2017.

VEIGA JUNIOR, V F.; PINTO, Angelo C.; MACIEL, M A M. Plantas medicinais: cura segura? **Quimica Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WANG XP, SHAN XQ, ZHANG SZ, WEN B. A model for evaluation of the phytoavailability of trace elements to vegetables under the field conditions. **Chemosphere** v. 55, p. 811-22, 2004.

WHO - Guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. Geneva, 2003.

WHO - National policy on traditional medicine and regulations of herbal medicines. Geneva, 2005.

WHO - WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. Geneva, 2007.

WHO - WHO food additive series: 64 – safety evaluation of certain food additives and contaminants. Prepared by the seventy-third meeting of JECFA. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, 2011.

ZAHEDIFAR, M. et al. Heavy metals content and distribution in basil (*Ocimum basilicum* L.) as influenced by cadmium and different potassium sources. **International journal of phytoremediation**, v. 21, n. 5, p. 435-447, 2019.

ZAR JH. **Biostatistical Analysis**. 5th ed. New Jersey; p. 947, 2010.

ZHELJAZKOV, V.D., CRAKER, L.E., XING, B. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. **Environ. Exp. Bot.** v. 58, n. 1, p. 9–16, 2006.

ZHELJAZKOV, V.D., CRAKER, L.E., XING, B., NIELSEN, N.E., Wilcox, A., 2008a. Aromatic plant production on metal contaminated soils. **Sci. Total Environ.** v. 395, n. 2, p. 51–62.

ZHELJAZKOV, V.D., JELIAZKOVA, E.A., KOVACHEVA, N., DZHURMANSKI, A., 2008b. Metal uptake by medicinal plant species grown in soils contaminated by a smelter. **Environ. Exp. Bot.** v. 64, p. 207–216.

Material suplementar

Tabela 7 - Concentração de elementos químicos encontrados em amostras de solo e folhas detectadas por XRF e os resultados da análise estatística comparativa entre os dois locais. t-Student (t) e Mann-Whitney (U).

SOLO					
Elementos	Florestal	Urbano	t value	U	p
Al (%)	12.98	7.70	18.61		0.00
Si (%)	27.42	32.12	-8.28		0.00
P (ug/g)	4330.00	4643.33	-2.65		0.06
S (ug/g)	702.90	780.00	-1.47		0.21
Cl (ug/g)	2110.00	2183.33	-0.76		0.49
K (%)	4.10	5.40	-24.31		0.00
Ca (%)	1.32	4.20	-19.61		0.00
Ti (%)	1.58	0.98	25.17		0.00
Cr (ug/g)	106.03	36.67	9.45		0.00
Mn (ug/g)	2153.33	870.00		0,000000	0.04
Fe (%)	11.12	4.97	17.38		0.00
Ni (ug/g)	109.23	60.00	9.61		0.00
Cu (ug/g)	113.13	73.33	8.70		0.00
Zn (ug/g)	317.97	280.00	1.04		0.36
Ga (ug/g)	72.00	43.33	7.37		0.00
Br (ug/g)	30.37	0		3,000,000	0.51
Rb (ug/g)	401.63	266.67	13.72		0.00
Sr (ug/g)	266.00	580.00	-10.37		0.00
Zr (ug/g)	679.33	970.00	-11.67		0.00
Pb (ug/g)	104.90	110.00	-0.40		0.71
FOLHA					
Elementos	Florestal	Urbano	t value	U	p
Si (%)	4796	7036	-4.39		0.01
P (ug/g)	4050	3360	4.21		0.01
S (ug/g)	2366	2966	-9.54		0.00
Cl (ug/g)	4863	8130	-10.57		0.00
K (%)	4.4	3.4	12.84		0.00
Ca (%)	12	15.5	-30.08		0.00
Mn (ug/g)	433	220	36.04		0.00
Fe (%)	6476	4746	13.56		0.00
Cu (ug/g)	264	129.7	40.49		0.00
Zn (ug/g)	166,8	283	-18.95		0.00
Br (ug/g)	40.4	12	29.63		0.00
Rb (ug/g)	93.8	54.9	15.00		0.00
Sr (ug/g)	462	425		0,000000	0.04
Pb (ug/g)	6	10	-4.53		0.01
Ba (ug/g)	190	2990	-9.75		0.00

5 ESTUDO ANATÔMICO COMPARATIVO DAS FOLHAS DE DUAS PLANTAS MEDICINAIS EM EXPOSIÇÃO AO AMBIENTE URBANO

Resumo - A suscetibilidade das plantas às condições específicas do ambiente é variável, levantando muitas questões sobre o comportamento das plantas medicinais quando cultivadas em meio urbano. Este trabalho visa detectar alterações na estrutura externa e interna das folhas de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson e *Plectranthus barbatus* Andr. induzidas por interações com poluentes e fatores abióticos do ambiente urbano. As folhas foram coletadas e processadas de acordo com o padrão de técnicas para anatomia vegetal e diagnose química elementar do solo a partir da análise de fluorescência por energia de dispersão de raios X (XRF) em dois sítios com diferentes níveis de urbanização. Com relação à estrutura externa das duas espécies, os resultados revelaram diferenças com relação à densidade de estômatos, tricomas tectores e glandulares. Além disso, as dimensões dessas estruturas também apresentaram diferenças entre os dois sítios. Com relação à histologia das folhas no sítio urbano, os parâmetros aferidos em *P. barbatus* mostraram que a dimensão do parênquima paliçádico aumentou estatisticamente e em *L. alba* o parênquima clorofiliano se mostra menos desenvolvido e compactado, demonstrando uma maior sensibilidade dessa espécie às condições ambientais urbanas. Os resultados visualizados, indicam uma maior concentração dos estômatos na face abaxial da folha das plantas do sítio urbano, reduzindo o seu tamanho nessa face. A maior concentração do chumbo no solo, altos índices de O₃, a poluição atmosférica, a temperatura elevada e menores índices de pluviosidade observados, no sítio urbano, podem ter influenciado na variação desses caracteres anatômicos. Este estudo sugere que determinadas características anatômicas de *L. alba* e *P. barbatus* sofrem alterações quando as espécies ocorrem em ambiente urbano poluído. Assim, é necessário investigar se as mudanças estruturais observadas nos indivíduos do sítio urbano são acompanhadas por mudanças no seu perfil químico e na citotoxicidade do extrato foliar, interferindo conseqüentemente na segurança do uso medicinal destas plantas.

Palavras-chave: Estrutura secretoras. *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson. *Plectranthus barbatus* Andr. Cidreira. Boldo brasileiro. Caracteres bioindicadores.

5.1 Introdução

Ainda nos dias atuais, a utilização de plantas medicinais é uma prática muito comum entre os brasileiros (IBGE, 2014; SAÚDE, 2012). O hábito de cultivar plantas em quintais domésticos se manteve mesmo com a intensa urbanização dos últimos anos (BOTELHO et al., 2014). No Rio de Janeiro, segunda maior cidade do Brasil, a maioria da população urbana obtém plantas medicinais compartilhando ou coletando plantas de seu próprio cultivo (SILVA et al., 2014; SARTORI et al., 2019). O compartilhamento e uso de plantas medicinais pela comunidade valoriza o conhecimento tradicional, mas também chama a atenção para uma questão associada a essa prática, que é a possibilidade de contaminação e alteração da composição química de preparos provenientes de cultivos urbanos, interferindo no consumo de forma segura (CHRISTO et al., 2010).

No centro de grandes metrópoles, o clima local é influenciado pelo desenvolvimento urbano, através do aquecimento conhecido como efeito de ilha de calor (MASSON et al., 2020). A construção de edifícios exerce influência sobre o vento e temperatura das cidades, modificando a direção das tempestades e, portanto, o padrão de precipitação (MASSON et al., 2020). Além disso, a urbanização quase sempre é acompanhada por poluição do ar, contaminação do solo, mudanças nos níveis de emissão de carbono, entre outras dificuldades (GURJAR et al., 2008; ROY et al., 2012).

As respostas das plantas aos poluentes podem ser notadas em níveis bioquímicos, microscópicos ou macroscópicos (KHOSROPOUR et al., 2019; ÇALI; KARAVIN, 2020; GUERRERO et al., 2020; PETROVA, 2020). Análises estruturais são esclarecedoras quando se trata de estudos sobre estresse (ALVES et al., 2008; SANT'ANNA-SANTOS et al., 2012; SILVA et al., 2017; VASCONCELLOS et al., 2017; SILVA et al., 2021). Os diferentes níveis de mudanças estruturais podem definir graus de tolerância da planta a um determinado poluente (GRANTZ et al., 2003; GUERRERO et al., 2020). Portanto, uma comparação de perfis de características anatômicas pode revelar diferenças nas habilidades para lidar com as condições e recursos entre plantas sob diferentes formas de crescimento (GUERRERO et al., 2020). As espécies selecionadas para este estudo são listadas como plantas medicinais muito utilizadas pela população. *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson (Verbenaceae) é espécie nativa conhecida popularmente como erva cidreira (LORENZI; MATOS, 2002). Suas folhas são usadas como antiespasmódicas, estomáquicas, calmante, digestivas, no combate à insônia, asma e em doenças bucais devido às suas propriedades bactericidas, antissépticas e

adstringentes (OLIVEIRA et al., 2006). *Lippia alba* é a espécie mais estudada dentro do gênero, exibindo alta plasticidade fenotípica e genômica (TORRES; LOPEZ, 2007; REIS et al., 2014). *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae) é uma espécie cultivada, conhecida popularmente como falso boldo ou boldo brasileiro (LORENZI; MATOS, 2002). É uma planta com grande variedade de usos na medicina tradicional hindu e ayurvédica, bem como na medicina popular do Brasil, da África tropical e da China (ALASBAHI; MELZIG, 2010). Os principais usos etnobotânicos são para distúrbios intestinais e fadiga hepática, distúrbios respiratórios, doenças cardíacas e certos distúrbios do sistema nervoso (LUKHOBIA et al., 2006; ALASBAHI; MELZIG, 2010). Além disso, *P. barbatus* é uma das espécies citadas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) implementada pelo Ministério da Saúde do Brasil em 2008 (SAÚDE, 2009).

Os estudos etnobotânicos geralmente buscam identificar e avaliar as espécies de plantas relacionadas a uma determinada cultura (ALBUQUERQUE et al., 2006; DUDNEY et al., 2015). Alguns trabalhos etnobotânicos realizados no Rio de Janeiro ao serem revisados revelaram que a *L. alba* e o *P. barbatus* estão entre as 10 plantas medicinais mais utilizadas pela população (MAIOLI-AZEVEDO; FONSECA-KRUEL, 2007; CHRISTO et al., 2010; BOCHNER et al., 2012; SILVA et al., 2014). Cabe destacar que, embora a sociedade utilize comumente plantas cultivadas em meio urbano para consumo, ainda não é conhecido como essas plantas podem ser afetadas por condições tão diferentes do seu ambiente natural. Atualmente, diversos estudos têm demonstrado os efeitos negativos dos poluentes nas plantas por meio do método de biomonitoramento passivo, com a utilização de organismos residentes em áreas sob poluição (ex.: VASCONCELLOS et al., 2017; LÜTTGE; BUCKERIDGE, 2020; SILVA et al., 2021).

De modo geral, as estruturas secretoras e os metabólitos secundários produzidos nestas plantas estão diretamente relacionados às propriedades medicinais (OKEM et al., 2015). Em estudos prévios foram observadas alterações na estrutura foliar externa e interna de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) induzidas pela exposição ao ambiente urbano (BEZERRA et al., 2020). Além disso, essas condições de desenvolvimento foram suficientes para alterar o potencial toxicológico do extrato alcoólico das folhas (BEZERRA et al., 2021). Após essas observações, surgiu a pergunta sobre quais respostas seriam encontradas ao realizar estudos comparativos de espécies com hábitos diferentes, encontradas nos mesmos sítios de estudo. Por conta de apresentarem estruturas secretoras externas, este estudo também buscou investigar a sensibilidade/plasticidade dessas estruturas às condições do ambiente urbano.

Pelo exposto, este trabalho objetivou investigar possíveis variações na estrutura externa e interna das folhas de *L. alba* e *P. barbatus*, desenvolvidas na cidade do Rio de Janeiro e detectar possíveis alterações diretamente relacionadas à exposição ao meio urbano.

5.2 Metodologia

5.2.1 Sítios de estudo e condições de coleta

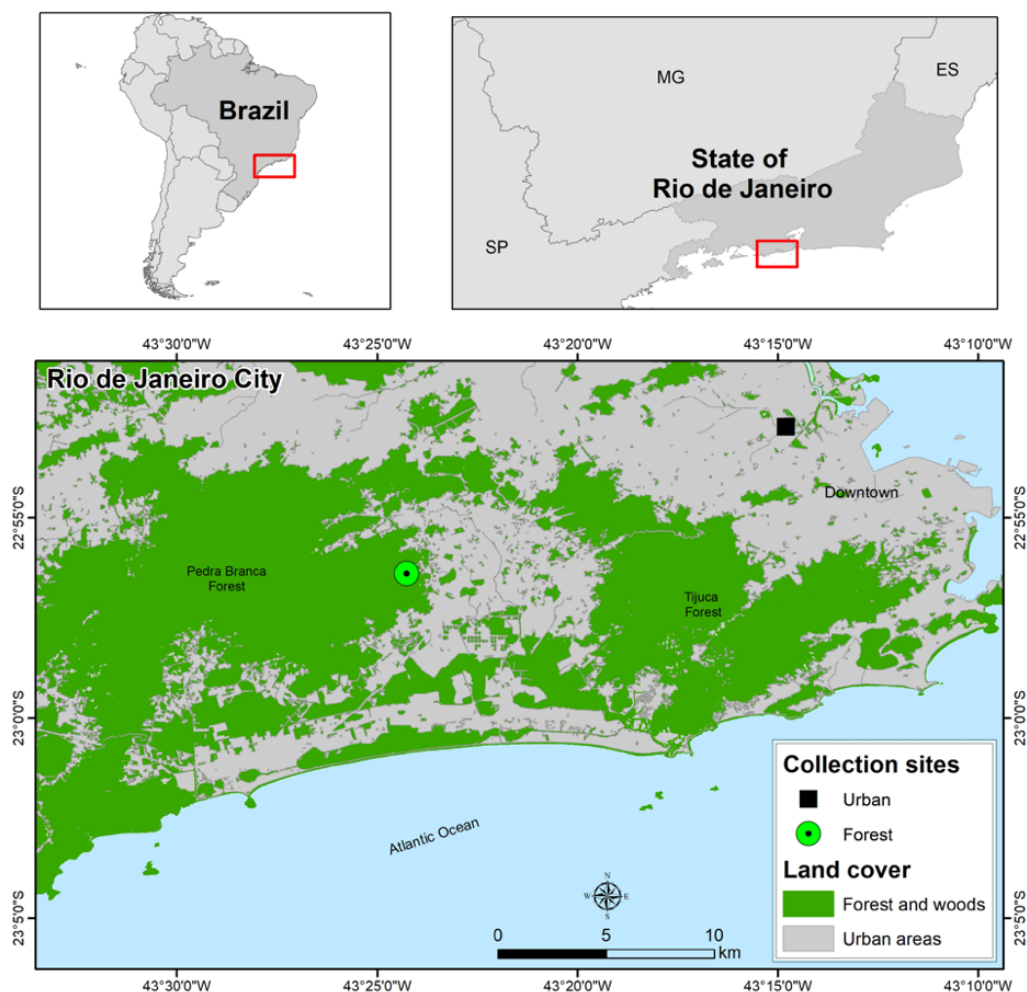
A cidade do Rio de Janeiro, situada no sudeste do Brasil, apresenta a maior taxa de urbanização do País, chegando a 99,5% (IBGE, 2015). De forma paradoxal, a cidade apresenta a maior floresta urbana do planeta, o Parque Estadual da Pedra Branca, uma floresta com 12.500 hectares de extensão, compreendendo 10% da extensão do município de áreas preservadas e vegetação em bom estado de conservação (PASSOS et al., 2020).

O estudo foi desenvolvido em dois sítios no domínio da Mata Atlântica, na cidade do Rio de Janeiro/RJ, Brasil: (1) sítio urbano, localizado na Fundação Oswaldo Cruz Manguinhos, à margem da principal via urbana da cidade, a Avenida Brasil. Nesta via urbana foi constatada a ação de poluentes variados, citotóxicos e mutagênicos (INEA 2014, 2017; RAINHO et al., 2013) e (2) sítio florestal, localizado na Fundação Oswaldo Cruz Mata Atlântica, nos limites do Parque Estadual da Pedra Branca (Figura 12). No sítio florestal, as espécies foram cultivadas no horto do *Campus* da Fiocruz Mata Atlântica e no sítio urbano, os espécimes amostrados foram cultivados no horto do *Campus* da Fiocruz Manguinhos. A superfície do solo, nos dois sítios, apresentava serapilheira.

A amostragem das folhas foi realizada em 2018 nos dois sítios, em dias seguidos, às 9 horas, seguindo os seguintes critérios de amostragem: data da coleta em uma semana com dias ensolarados; seleção de 5 indivíduos de *Lippia alba* e *Plectranthus barbatus* em cada sítio de estudo; folhas saudáveis, expostas ao sol e da região nodal mais desenvolvida do ramo.

Os dados climáticos de cada sítio foram obtidos a partir das estações meteorológicas do Sistema Alerta Rio, da Prefeitura do Rio de Janeiro mais próximas a cada um dos sítios de estudo: Estação Meteorológica São Cristóvão para o sítio urbano (-22,981289 -43,405075) e Estação Meteorológica Rio Centro para o sítio florestal (-22,981289 -43,405075). A Tabela 8 mostra as características ambientais nos sítios florestal e urbano.

Figura 12 - Mapa destacando os sítios de estudo na cidade do Rio de Janeiro, Brasil.



Fonte: BEZERRA et al., 2020.

Tabela 8 - Características ambientais dos sítios florestal e urbano e variáveis climáticas no período de estudo.

	Florestal	Urbano
Localização geográfica	(-22.939889, -43.404424)	(-22.878639, -43.246621)
Altitude (m.a.s.l)	24	30
Precipitação anual acumulada (mm)	1523,8	1088,8
Umidade relativa do ar – média anual (%)	82	72
Temperatura média – anual (°C)	24	24.5
Cobertura superficial do solo	Serapilheira	Serapilheira

Os dados de qualidade do ar foram obtidos no site do Instituto Estadual do Ambiente (INEA). No relatório referente ao ano 2018, a região do sítio urbano apresentou as maiores concentrações médias de Ozônio ($577 \mu\text{g}/\text{m}^3$) da região metropolitana do Rio de Janeiro,

violando o padrão estabelecido pela legislação ($140 \mu\text{g}/\text{m}^3$) por 38 vezes durante o ano (INEA, 2020). Já a região do sítio florestal não apresentou concentrações médias de Ozônio que ultrapassem o permitido.

5.2.2 Fluorescência de raios X (XRF)

Análise química elementar de amostras do solo dos dois sítios de estudo foi realizada a partir da análise de fluorescência de raios X (XRF). Cinco amostras de solo em cinco pontos de amostragem foram coletadas a uma profundidade de aproximadamente 10,0 cm, totalizando 25 amostras em cada sítio de estudo. A camada de serapilheira foi removida antes da coleta de solo. Os pontos de amostragem do solo eram próximos aos espécimes avaliados no estudo. As amostras de solo foram homogeneizadas em laboratório usando a técnica de fileiras (HORWITZ, 1990).

As amostras foram secas em estufa a uma temperatura de aproximadamente 60°C (48h). Em seguida, as amostras secas foram trituradas mecanicamente, usando um moinho de ágata e peneiradas com malha em nylon ($75 \mu\text{m}$). Aliquotas de 500 mg de cada amostra foram compactadas a uma pressão de $2,32 \times 10^8 \text{ Pa}$, por, aproximadamente, 15 minutos, a fim de obter pastilhas finas com diâmetro de 2,54 cm e densidade superficial de $100 \text{ mg}/\text{cm}^2$ (ANJOS et al., 2000; SANTOS et al., 2019).

As análises de XRF das pastilhas foram realizadas utilizando o equipamento comercial Epsilon 1 (Malvern Panalytical) com anodo de Prata (Ag) e detector SDD (Silicon Drift Detector) (resolução de energia $<135 \text{ eV}$ para $\text{Mn-K}\alpha$). Duas condições experimentais diferentes foram utilizadas na análise das amostras. A primeira condição experimental foi utilizada para uma melhor excitação dos elementos de baixo Z, utilizando 10 kV, 336 μA e um tempo de aquisição de 600 s. A segunda condição experimental para excitação dos elementos de Z alto, usando 50 kV, 100 μA , 300 s e um filtro de Cu ($500 \mu\text{m}$). As análises quantitativas foram realizadas pelo próprio software da Epsilon 1.

A precisão e a acurácia do sistema de XRF foram realizadas com as medidas da amostra certificada BCS-CRM-353. Os erros relativos encontrados foram inferiores a 23%. Os elementos de número atômico mais baixos apresentaram um erro relativo maior, devido à dificuldade de se analisar elementos leves em experimentos realizados em temperatura ambiente.

5.2.3 Análise Anatômica

Para análise anatômica das superfícies foliares, amostras da região mediana das folhas do terceiro nó foram fixadas em solução aquosa de 2,5% de glutaraldeído, 4,0% de formaldeído e tampão de cacodilato de sódio a 0,05 M e pH 7,2 (KARNOVSKY, 1965, modificado por DA CUNHA et al., 2000, desidratadas em série alcoólica ascendente (JOHANSEN, 1940) e submetidas ao ponto crítico de CO² líquido, com o auxílio do aparelho Bal-Tec Critical Point Dryer CPD 030. Em seguida, os fragmentos secos foram aderidos com fita adesiva de carbono em suportes próprios e cobertos com uma fina camada de ouro de 20 nm (Bal-Tec Sputer Coater SCD 050). As imagens foram obtidas no microscópio eletrônico de varredura (MEV) (ZEISS - DSEM 962) a uma voltagem de 15 KV.

Para análise anatômica, amostras da região mediana das folhas do terceiro nó foram fixadas de acordo Karnovsky (1965), modificado por Da Cunha et al. (2000) como descrito acima, lavadas em tampão cacodilato 0,05 M pH 7,2 e pós-fixado em 1% de tetróxido de ósmio. As amostras foram então desidratadas em uma graduação série de acetona. Posteriormente, o material foi infiltrado com Resina sintética Epon®. As amostras foram seccionadas em micrótomo rotativo, nas espessuras de 5 µm. Os cortes histológicos foram corados por Azul de Toluidina O (O'BRIEN et al., 1964), montados em Entellan® e observados sob microscopia de luz. A análise foi realizada com o auxílio do microscópio óptico Olympus BX 41 e as imagens foram obtidas com o auxílio de uma câmera de vídeo Q Collor R3 acoplada ao mesmo microscópio.

Os seguintes parâmetros foliares foram avaliados: espessura da epiderme nas faces adaxial e abaxial (em µm), do parênquima paliçádico (em µm), do parênquima lacunoso (em µm) e do mesofilo (em µm); comprimento dos estômatos e tricomas tectores (em µm); frequência/mm² de estômatos e de tricomas tectores e glandulares; e área dos tricomas glandulares (em µm). Vinte e cinco campos foram examinados para cada folha investigada. As análises foram feitas utilizando sistema digital de processamento de imagens Image-Pro Express 6.0.

5.2.4 Análise estatística

Todos os resultados quantitativos foram analisados estatisticamente por meio do software STATISTICA 7.0 (StatSoft, Inc., USA). Os dados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade através dos testes Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. A comparação dos resultados obtidos para os dois sítios foi feita, para dados paramétricos, através do teste t de Student e para dados não-paramétricos, através do teste Mann-Whitney, em nível de significância de 95% (ZAR, 2010).

5.3 Resultados

Nas amostras dos dois sítios foram detectados 20 elementos químicos: Alumínio (Al), Silício (Si), Fósforo (P), Enxofre (S), Cloro (Cl), Potássio (K), Cálcio (Ca), Titânio (Ti), Crômio (Cr), Manganês (Mn), Ferro (Fe), Níquel (Ni), Cobre (Cu), Zinco (Zn), Gálio (Ga), Bromo (Br), Rubídio (Rb), Estrôncio (Sr), Zircônio (Zr), Chumbo (Pb). A Tabela 9 apresenta as concentrações de todos os elementos encontrados nas amostras. A composição elementar do solo próximo a cada espécie de estudo possui perfil químico parecido.

Tabela 9 - Concentrações elementares das amostras do solo próximo a cada espécie de *Lippia alba* e de *Plectranthus barbatus*, coletadas nos sítios urbano e florestal.

Elementos	<i>Lippia alba</i>					<i>Plectranthus barbatus</i>			
	Florestal	Urbano	t value	U	p	Florestal	Urbano	t value	p
Al (%)	13,315	6,479	34,5764		0,00	12,636	11,255	28,6093	0,00
Si (%)	27,597	25,445		0,000000	0,05	26,047	22,712	11,8304	0,00
P (ug/g)	3960	6710	-7,9010		0,00	3970	6780	-14,7482	0,00
S (ug/g)	620	3090	-14,4293		0,00	980	3000	-9,3569	0,00
Cl (ug/g)	2040	2310	-0,3311		0,76	2130	2110	-0,0588	0,96
K (%)	3,981	4,276	-4,2257		0,01	4,1	2,305	27,3308	0,00
Ca (%)	0,992	5,903	-17,2898		0,00	1,53	5,696	-30,1604	0,00
Ti (%)	1,545	0,727	18,8904		0,00	1,63	1,177	18,9924	0,00
Cr (ug/g)	100	90	0,2132		0,84	100	169,5	-12,6568	0,00
Mn (ug/g)	2470	690	14,7009		0,00	1930	809,5	109,9938	0,00
Fe (%)	11,356	4,347	28,2494		0,00	11,372	8,87	15,0764	0,00
Ni (ug/g)	110	60	12,0208		0,00	118,7	90	6,6086	0,00
Cu (ug/g)	120	150		0,000000	0,05	118,2	218,5	-5,9333	0,00
Zn (ug/g)	330	480	-6,1713		0,00	325,4	643,1	-9,9603	0,00
Ga (ug/g)	70	40		0,000000	0,05	80	61,6	7,1533	0,00

Br (ug/g)	20	30		1,500000	0,19	40	42,1	-1,6811	0,17
Rb (ug/g)	390	200	14,9666		0,00	430	155,2	20,5731	0,00
Sr (ug/g)	240	320	-6,1470		0,00	290	315,7	-1,0268	0,36
Zr (ug/g)	610	740		0,000000	0,05	823,1	849,5	-0,5747	0,60
Pb (ug/g)	100	180	-4,8020		0,01	100	170	-5,6856	0,00

Com relação a amostra de solo próximo a espécie *Lippia alba*, os elementos Si, Cl, Cr, Cu, Ga, Br, e Zr não diferiram estatisticamente entre as amostras dos dois sítios. Os elementos Al, Ti, Mn, Fe, Ni e Rb apresentaram maior concentração nas amostras do sítio florestal. Com relação as amostras do sítio urbano, foi observada maior concentração dos elementos P, S, K, Ca, Zn, Sr e Pb.

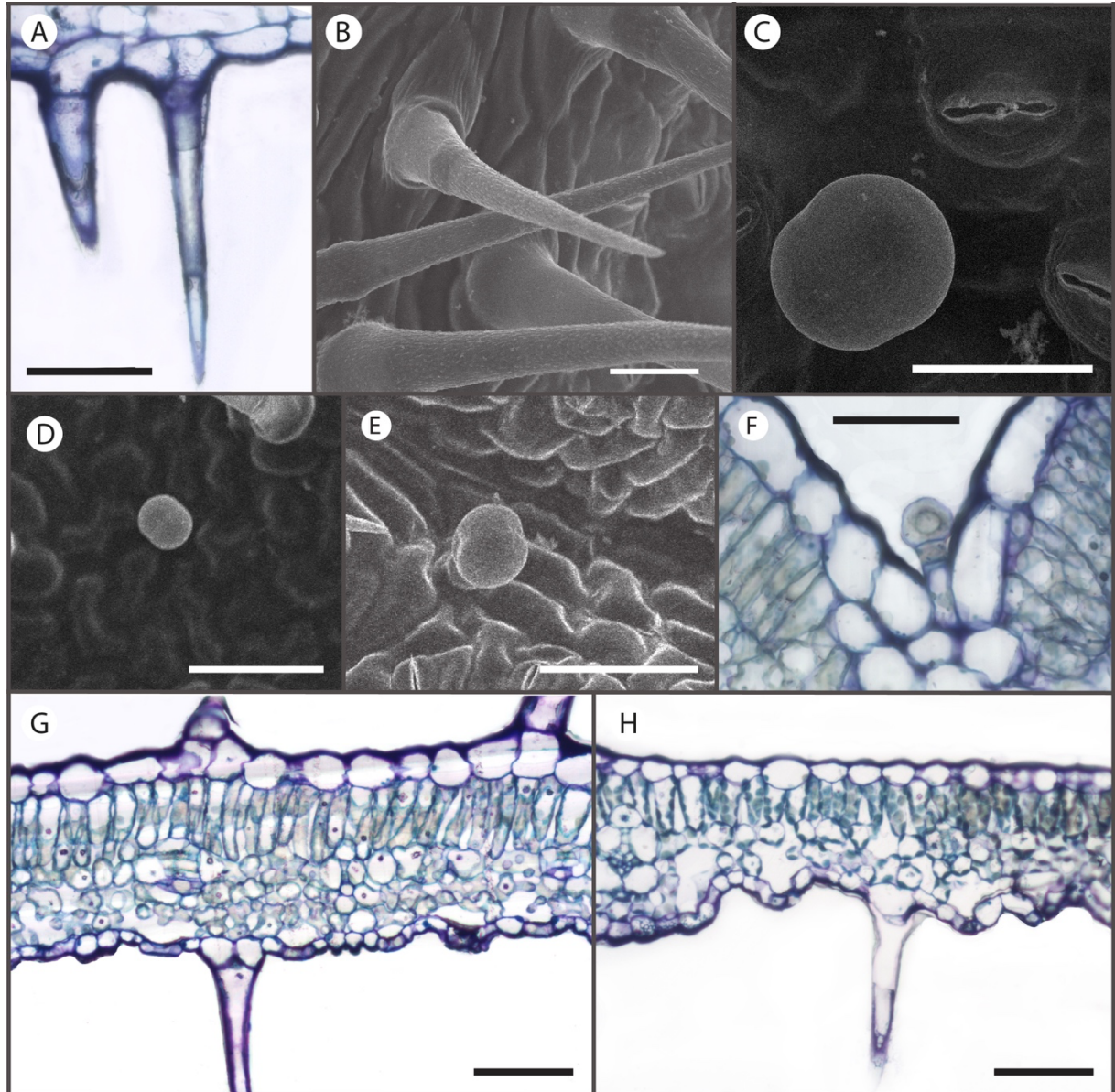
Com relação a amostra de solo próximo a espécie *Plectranthus barbatus*, os elementos Cl, Br, Sr e Zr não diferiram estatisticamente entre as amostras dos dois sítios. Os elementos Al, Si, K, Ti, Mn, Fe, Ni, Ga e Rb apresentaram maior concentração nas amostras do sítio florestal. Com relação as amostras de solo do sítio urbano, foi observado maior concentração dos elementos P, S, Ca, Cr, Cu, Zn e Pb.

As folhas de *Lippia alba* caracterizam-se por apresentar epiderme simples (Figura 13G-H), revestida por cutícula relativamente espessa; estômatos com câmara subestomática ampla (Figura 13G-H), situados em ambas as faces (Figura 15); tricomas tectores (Figura 13A-B) e três tipos de tricomas glandulares: Tipo 1 - tricoma glandular peltado: formado por uma célula basal estreita e uma porção capitada globosa (Figura 13C); Tipo 2 - formado por uma célula basal, uma célula intermediária e uma porção capitada bicelular (Figura 13D); Tipo 3 - formado uma célula basal, um pedúnculo alongado e uma porção capitada bicelular (Figura 13E-F). O tricoma do tipo 1 só está presente na face abaxial. Os tricomas dos tipos 2 e 3 encontram-se distribuídos nas faces adaxiais e abaxiais.

Plectranthus barbatus possui folhas com estômatos na face adaxial e abaxial, tricomas tectores e glandulares e mesófilo dorsiventral (Figura 14). Os tricomas tectores são unisseriados, multicelulares, pontiagudos, eretos ou inclinados, e possuem muitas células na base (Fig 14A). Os tricomas glandulares são de três tipos principais: Tipo 1 - tricoma glandular peltado: com porção capitada globosa (Fig 14C); Tipo 2 - tricoma glandular capitado-curto: com uma ou duas células basais, uma ou duas células pedunculares e uma ou duas células apicais secretoras (Fig 14D); Tipo 3 - tricoma glandular captado-longo: com duas ou mais células basais, duas ou três pedunculares e uma célula apical secretora (Fig 14B).

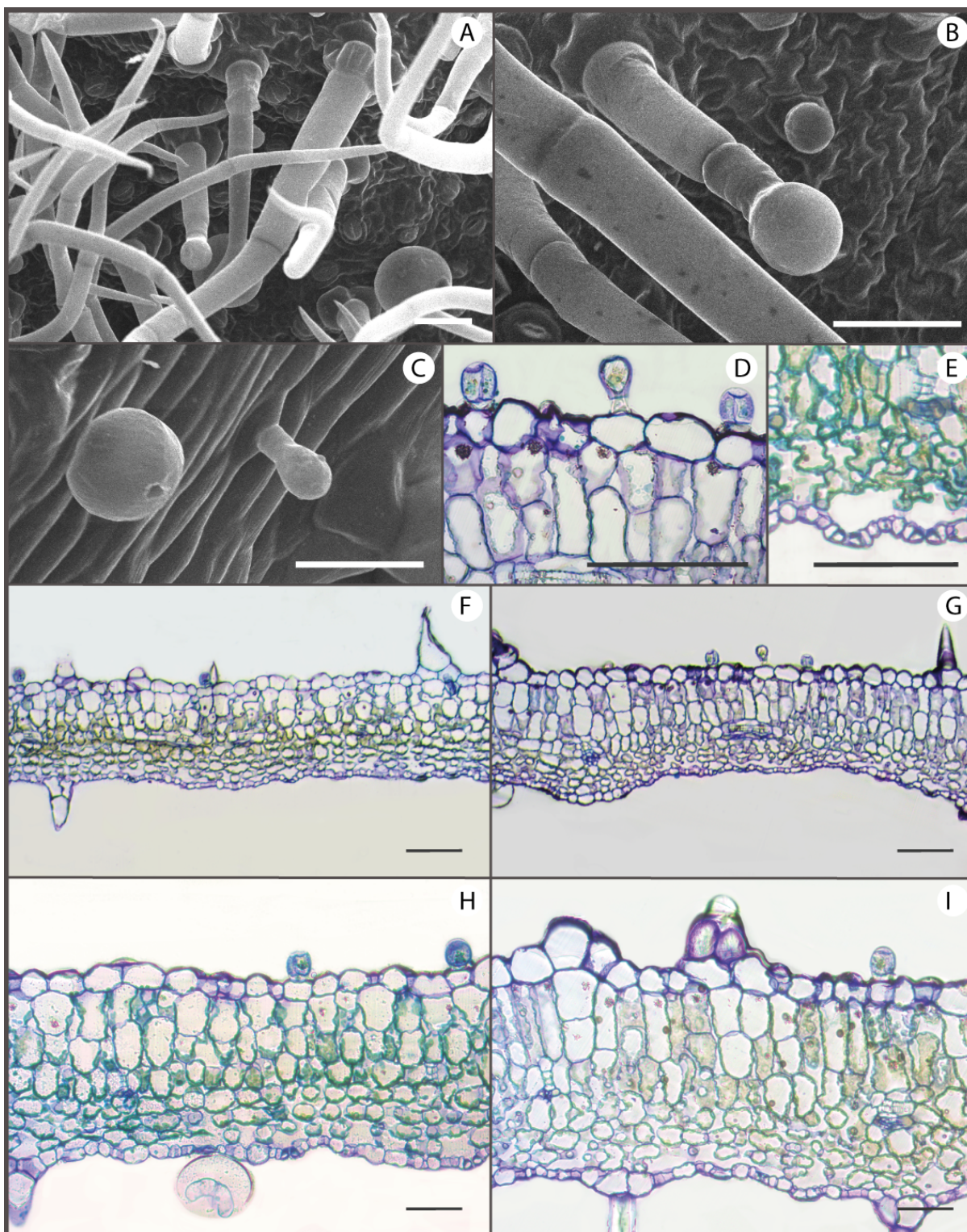
Os parâmetros quantitativos aferidos de *Lippia alba* e *Plectranthus barbatus* no sítio florestal e no sítio urbano e os resultados dos testes estatísticos estão apresentados na Tabela 10. Todos parâmetros referentes à lâmina foliar de *L. alba* diferiram estatisticamente entre os dois sítios. No geral, a lâmina foliar das amostras do sítio urbano era mais achatada, apresentando o parênquima clorofiliano mais compactado. O parênquima paliçádico das folhas do sítio florestal era constituído por duas camadas de células em várias amostras analisadas. Já as amostras do sítio urbano apresentaram constância com relação a presença de uma única camada de células. A ampla câmara subestomática se manteve mesmo com essas características de compactação foliar, aparentando um aumento em profundidade. De todos os parâmetros analisados referentes à lâmina foliar de *P. barbatus*, somente diferiu estatisticamente a dimensão do parênquima paliçádico entre os dois sítios.

Figura 13 – Folha de *Lippia alba*.



Legenda: Epiderme abaxial.(A; B) Tricoma tector; (C) Estômato e tricoma glandular tipo 1; (D) Tricoma glandular tipo 2; (E;F) Tricoma glandular tipo 3. Comparação entre as folhas do sítio florestal (G) e urbano (H). Barra = 50μm.

Figura 14 – Folha de *Plectranthus barbatus*.



Legenda: (A, B, C - MEV)(A) Face adaxial da folha, evidenciando estômatos e numerosos tricomas tectores com células volumosas na base; (B) Tricomas glandulares do tipo 2 e 3 (captado-curto e captado-longo); (C) Tricoma glandular tipo 1 e 2 (peltado e captado-curto); (D, E, F, G, H, I – MO)(D) Tricomas glandulares; (E) Estômatos; Comparação entre as folhas do sítio florestal (F; H) e urbano (G; I). Barra: 50μm.

A comparação da estrutura externa das folhas de *L. alba* demonstrou que existem diferenças com relação à densidade de: (1) estômatos; (2) tricomas tectores e (3) tricomas do tipo 1 entre as folhas dos dois sítios. Com relação aos parâmetros que avaliaram as medidas desses atributos, diferiram: (1) estômatos; (2) tricomas tectores e (3) tricomas do tipo 1 e 2 (Tabela 10; Figura 15). As folhas que se desenvolveram em sítio urbano apresentaram na face adaxial menor densidade de estômatos, com um tamanho maior do que o observado no sítio florestal. Em contrapartida, os tricomas tectores apresentam maior densidade e menor tamanho. Visualmente era perceptível que os tricomas tectores na face adaxial do sítio urbano eram em sua maioria menores, e alguns isolados possuíam tamanho muito superior à média visualizada. O tricoma glandular do Tipo 2 apresentou menor área (Tabela 10; Figura 15A, C). Na face abaxial das folhas do sítio urbano observamos estômatos menores e em maior densidade, o oposto do que foi observado na face adaxial das folhas do mesmo sítio. Com relação aos tricomas, observamos menor densidade de tricomas tectores e glandulares do tipo 1, e menor área dos tricomas glandulares do tipo 1 e 2 (Tabela 10; Figura 15B, D).

A comparação da estrutura externa das folhas de *P. barbatus* demonstrou que existem diferenças com relação à densidade e dimensão de: (1) estômatos e (2) tricomas glandulares entre as folhas dos dois sítios (Figura 16). As folhas que se desenvolveram no sítio urbano apresentaram na face adaxial menor densidade de estômatos, com um tamanho menor do que o observado no sítio florestal (Tabela 10; Figura 16A, C). A redução no tamanho dos estômatos também foi observada na face abaxial das folhas do sítio urbano. Ainda na face abaxial das folhas do sítio urbano, os tricomas do tipo 2 e 3 estavam em maior densidade, e o tricoma glandular do tipo 1 apresentou menor densidade e área reduzida (Tabela 10; Figura 16B, D). Assim, os resultados evidenciaram uma diversidade de variações nas propriedades morfoanatômicas de *L. alba* e *P. barbatus* desenvolvidas em ambiente urbano (Figura 17).

Tabela 10- Parâmetros quantitativos aferidos de *Lippia alba* e *Plectranthus barbatus* no sítio florestal e no sítio urbano e os resultados dos testes estatísticos t-Student (t) e Mann-Whitney (U).

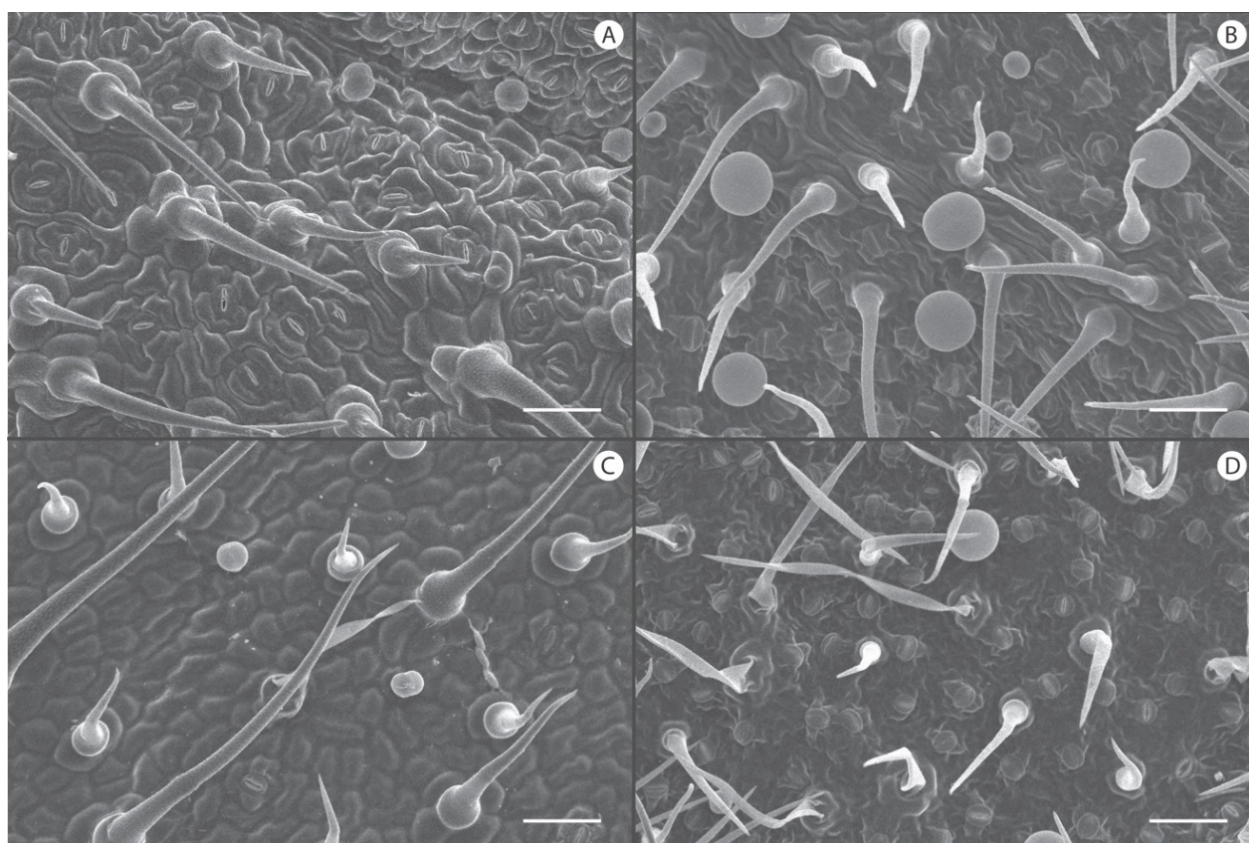
<i>Lippia alba</i>					
Parâmetros	Florestal (M)	Urbano (M)	t	U	p
Adaxial					
TG tipo 2 (n°)	1,8	2,1	-0,7		0,49
TG tipo 2 (área)	855,25	616,91	2,8		0,04*
TG tipo 3 (n°)	0,9	0,8	0,4		0,67
TT (n°)	11,6	14,7		0.00000	0,04*
TT (µm)	136,64	99	3,1		0,04*
Estômatos (n°)	26,2	1,5		0.000000	0,03*
Estômatos (µm)	20,3	22	-3,5		0,03*
Abaxial					
TG tipo 1 (n°)	9,1	2,08	6,5		0,001*
TG tipo 1 (área)	2555,9	1171,4		0.00000	0,02*
TG tipo 2 (n°)	2,3	0,7	2,3		0,05
TG tipo 2 (área)	563,5	354,3		1.00000	0,04*
TG tipo 3 (n°)	1,9	1,7	0,2		0,80
TT (n°)	27,5	18,5	4,0		0,007*
TT (µm)	164,2	101,1	1,2		0,28
Estômatos (n°)	43,4	62,2	-3,5		0,03*
Estômatos (µm)	24,0	14,2	3,9		0,008*
Lâmina Foliar (µm)					
Mesófilo	189,79	104,05	3,9		0,007*
Parênquima Paliçádico	96,27	51,58	2,9		0,02*
Parênquima Lacunoso	95,71	57,19	5,0		0,002*
Epiderme Adaxial	29,94	20,82	6,6		0,000*
Epiderme Abaxial	17,76	13,81	4,1		0,006*

<i>Plectranthus barbatus</i>					
Parâmetros	Florestal (M)	Urbano (M)	t	U	p
Adaxial					
TG tipo 1 (n°)	0,14	0,14	-0,99340		1,00
TG tipo 1 (área)	7887	8269		0,00000	1,00
TG tipo 2 (n°)	10,5	10,4	0,00000		0,85
TG tipo 3 (n°)	1,0	1,0	-0,19127		1,00
TT (n°)	8,8	8,1	0,00000		0,34
Estômatos (n°)	8,2	0,7		0,00000	0,00*
Estômatos (µm)	36,1	21,8		0,00000	0,00*
Abaxial					
TG tipo 1 (n°)	6,6	4,7	-3,29885		0,00*
TG tipo 1 (área)	10520	9442	-2,71720		0,01*
TG tipo 2 (n°)	0,5	1,7	3,12014		0,00*
TG tipo 3 (n°)	2,25	4,81	3,25097		0,00*

TT (n°)	11,8	12,1	0,33896	0,73
Estômatos (n°)	50	53	0,70718	0,48
Estômatos (µm)	41,47	36,1	-3,23933	0,00*
Lâmina Foliar (µm)				
Mesofilo	159,03	176,66	-2,09467	0,09
Parênquima Paliçádico	96,34	127,49	-3,80754	0,01*
Parênquima Lacunoso	60,75	59,14	-0,40285	0,70
Epiderme Adaxial	22,98	24,57	-0,72113	0,50
Epiderme Abaxial	12,61	14,08	3.000000	0,28

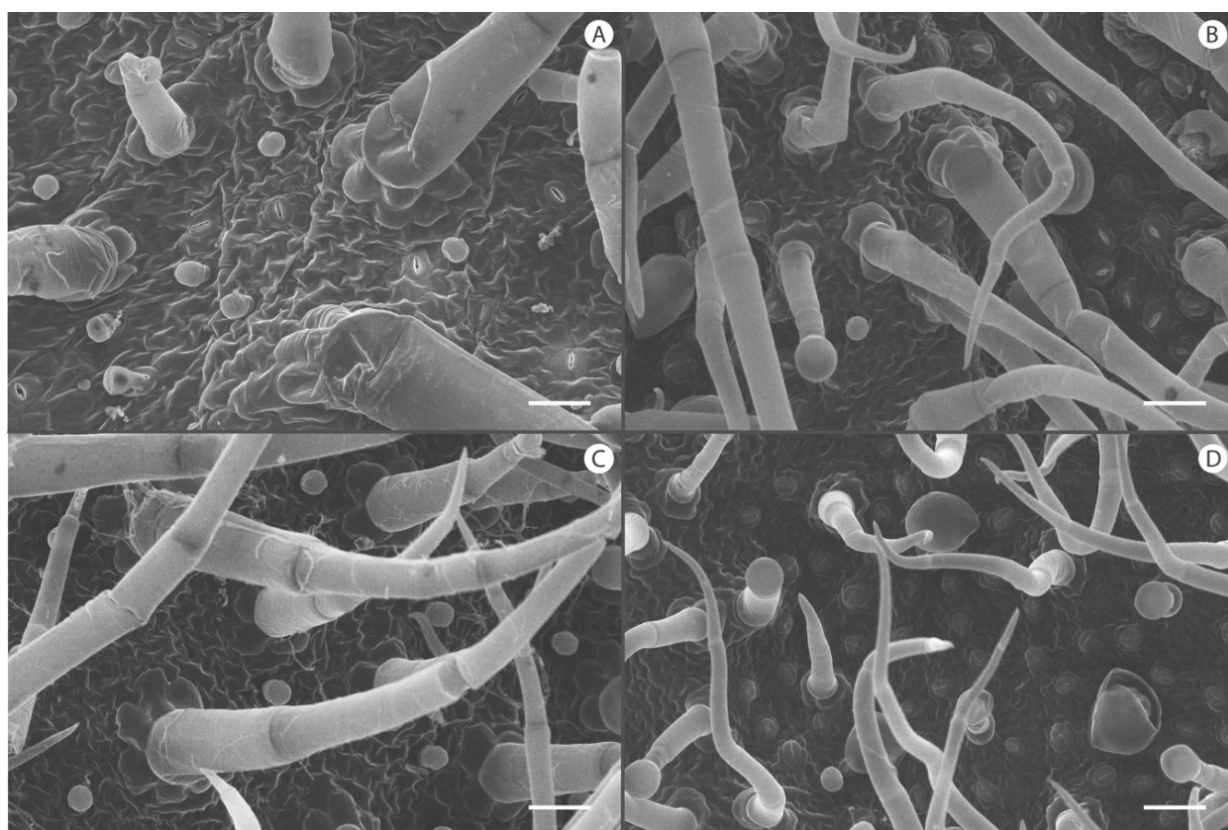
Nota: valores referentes ao valor médio (M) - $\pm$ desvio padrão (DP). * Representa uma diferença significativa com um intervalo de confiança de 95% (p). Abreviações: TG- tricoma glandular; TT- tricoma tector; Est.- estômato;

Figura 15 - Superfícies adaxial e abaxial de *Lippia alba*.



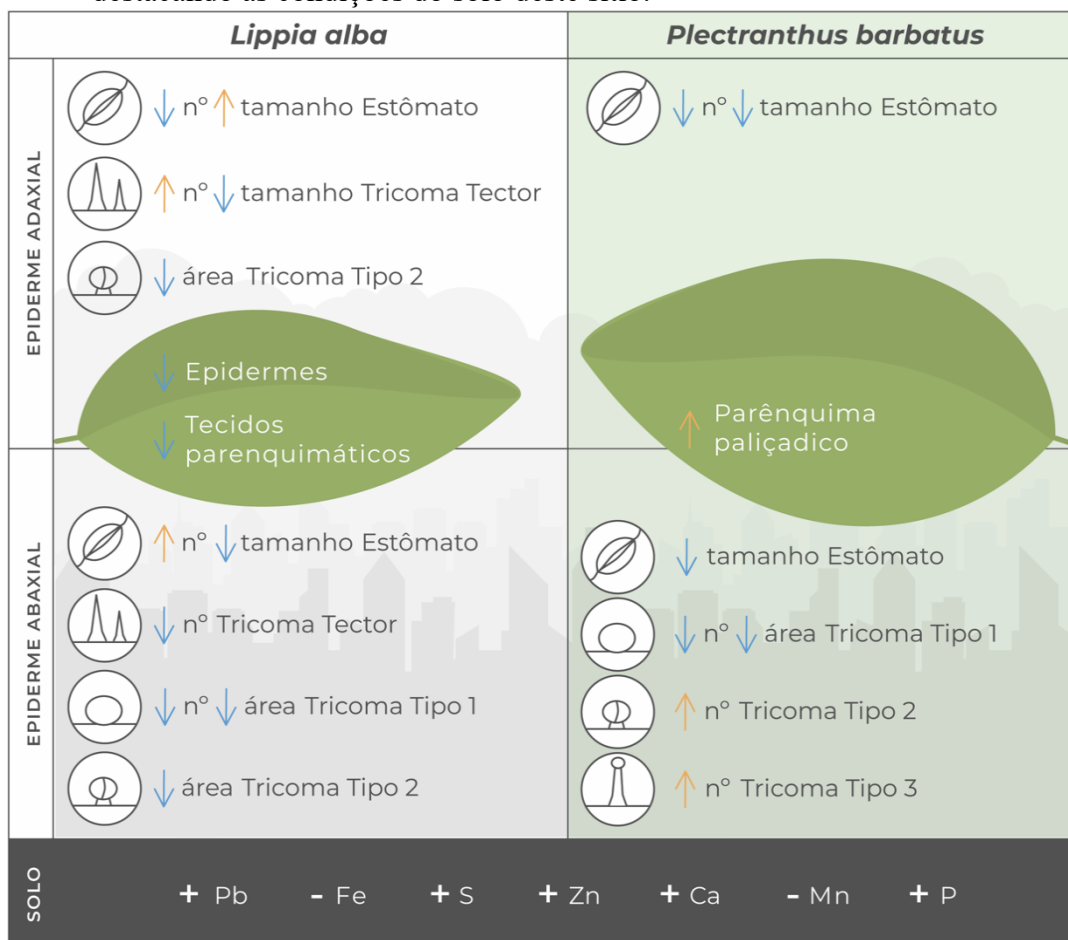
Legenda: Epiderme adaxial (A, C) e abaxial (B, D), comparando folhas do sítio florestal (A, B) e urbano (C, D). Barra = 50µm

Figura 16 - Superfícies adaxial e abaxial de *Plectranthus barbatus*.



Legenda: Epiderme adaxial (A, C) e abaxial (B, D), comparando folhas do sítio florestal (A, B) e urbano (C, D).
Barra= 50µm

Figure 17 – Esquema comparando as diferenças estruturais encontradas nas duas espécies de estudo (*Lippia alba* e *Plectranthus barbatus*) se desenvolvendo no sítio urbano, destacando as condições do solo deste sítio.



5.4 Discussão

Análises estruturais podem ser esclarecedoras em estudos sobre o impacto do ambiente urbano nas plantas, possibilitando identificar diferentes estratégias adaptativas e diferentes graus de tolerância da planta (GRANTZ et al., 2003; SANT'ANNA-SANTOS et al., 2012). Os resultados obtidos destacaram variações nas propriedades morfoanatômicas das plantas medicinais desenvolvidas em ambiente urbano, o que nos permite concluir que os fatores ambientais desse local são suficientes para promover variações nas características dos organismos.

Diferenças na temperatura, pluviosidade e umidade do ar interferem diretamente nas estruturas foliares (KARDEL et al., 2010; KARABOURNIOTIS et al., 2020). O sítio urbano

apresenta temperaturas mais elevadas, enquanto que no sítio florestal, os índices de umidade relativa do ar e pluviosidade são maiores do que os observados no sítio urbano, especialmente durante a estação chuvosa que coincide com o período mais quente do ano na região em estudo. O fenômeno de ilha de calor pode elevar em até 5 °C a temperatura nas regiões centrais da cidade do Rio de Janeiro, em comparação com regiões florestais (OLIVEIRA et al., 2017).

Anteriormente, foi hipotetizado que uma planta medicinal crescida em ambiente urbano, com as características climáticas descritas neste estudo, investiria em abundância de parênquima paliçádico e tricomas tectores, como uma barreira de proteção à evapotranspiração excessiva pelos estômatos (DICKISON, 2000), e maiores densidades e área de tricomas glandulares por conta de uma maior demanda de metabólitos secundários (PEREZ-ESTRADA et al., 2000). Nossas observações refletem um cenário para *L. alba* menos previsível, com redução do número de tricomas tectores e menor abundância de parênquima paliçádico. No sítio urbano, as folhas de *P. barbatus* tiveram resposta semelhante ao observado em folhas de *Platanus orientalis* L. (Platanaceae) coletadas em ambiente urbano, apresentando uma diminuição significativa na densidade estomática na face adaxial, redução no tamanho dos estômatos, e um aumento significativo na abundância de paliçádico, possivelmente na tentativa de tolerar os efeitos adversos dos poluentes (KHOSROPOUR et al., 2019).

Além das propriedades intrínsecas da espécie, o ambiente urbano apresenta vários fatores que vão interferir no desenvolvimento da planta, além da temperatura, como por exemplo, a presença de poluentes atmosféricos e contaminantes no solo (MASSON et al., 2020). Os solos dos dois sítios possuem diferenças estatísticas em relação à maioria dos elementos e cabe ressaltar o S, Ca e Pb no sítio urbano e Mn e Fe no sítio florestal. Em locais com elevada ação antrópica e intenso tráfego de veículos, costuma ter uma maior dispersão de metais tóxicos (LIMA et al., 2021), o que tem interferência direta na composição do solo e no desenvolvimento da planta (PETROVA, 2020). Um agravante quando se fala de poluição urbana é a capacidade de dispersão atmosférica nesse ambiente. Esse tipo de contaminação é percebido em níveis locais, regionais e globais, podendo também ser sentido em áreas vizinhas que, muitas vezes, não abrigam as fontes de emissão (DANTAS et al., 2020). Ou seja, a dispersão desses elementos via atmosfera pode explicar a presença de determinados elementos químicos decorrentes de atividades antrópicas no sítio florestal.

Em climas mais secos, como costuma ser o ambiente urbano, a escolha entre ganho de carbono e economia de água precisa das modulações estruturais e metabólicas adequadas. Assim, quando a economia de água é escolhida, a prioridade é dada à proteção, incluindo síntese de substâncias fenólicas, em vez de ganho de carbono e, portanto, crescimento

(KARABOURNIOTIS et al., 2014). Em *L. alba*, foi observada uma diminuição no crescimento dos tecidos fotossintéticos das folhas do sítio urbano. Condições estressantes inerentes a esse sítio podem ter influenciado um menor investimento em abundância de parênquima clorofiliano. A baixa capacidade fotossintética e de crescimento está relacionada não apenas a restrições bioquímicas, mas também a limitações estruturais da folha, como estômatos menores ou menor densidade estomática e alta massa foliar por área, levando a uma condutância do mesofilo reduzida (HIKOSAKA, 2010).

Nas condições do sítio urbano, os estômatos mostraram uma plasticidade morfológica (BEZERRA et al., 2020), sendo um atributo importante no biomonitoramento ambiental (BALASOORIYA et al., 2009; KARDEL et al., 2010; WUYTACK et al., 2010). As modificações que levam a um ajuste ideal para controlar as trocas gasosas e a, consequente, entrada de poluentes através de estômatos, podem seguir dois caminhos: (1) as plantas reduzem a absorção de poluentes diminuindo sua densidade estomática (KULSHRESHTHA et al., 1994) e (2) pode haver aumento na densidade estomática (ALVES et al., 2008; BALASOORIYA et al., 2009; CRISPIM et al., 2012; GOSTIN, 2009; KARDEL et al., 2010). O presente estudo, a frequência estomática teve diferença significativa entre os espécimes de *L. alba* e *P. barbatus* nos dois sítios. Ambas as espécies apresentaram uma redução na densidade de estômatos na face adaxial no sítio urbano. Os resultados visualizados indicam uma estratégia de concentração dos estômatos na face abaxial da folha das plantas do sítio urbano, o que pode estar relacionado com a tentativa de diminuir a perda de água pelos estômatos (KARABOURNIOTIS et al., 2020). Essas observações podem indicar condições desfavoráveis ao desenvolvimento fisiológico normal da planta, tendo em vista que a alteração do número de estômatos é comum sob condições adversas. Mudanças na densidade, distribuição e morfologia dos estômatos são características importantes na adaptação/tolerância à poluição do ar (BETTARINI et al., 1998). Um ajuste na densidade estomática pode auxiliar no controle de trocas gasosas e na diminuição da entrada de poluentes (RASHIDI et al., 2012).

Ademais, elementos químicos, como o chumbo, podem ter influenciado na densidade e no tamanho dos estômatos. *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. (Fabaceae) tratadas com chumbo (Pb) exibiram maior frequência estomática e diminuição no tamanho das células estomáticas (KOUL; BHATNAGAR, 2017). Os resultados obtidos no presente trabalho indicam uma maior concentração desse elemento no solo do sítio urbano, comparado ao sítio florestal. Este fato se deve pela contaminação do solo e da água por chumbo estar aumentando dia a dia como resultado de diversas atividades, como a industrialização e a urbanização (CÂNDIDO et al., 2020). O Pb é um metal tóxico não essencial às plantas e não apresenta

qualquer função no processo de metabolismo celular vegetal, mas é facilmente absorvido e acumulado em diferentes partes de uma planta (NAS; ALI, 2018). A deposição atmosférica de Pb é uma das vias principais de absorção (TOMAŠEVIČ; ANICIC, 2010; HROTKO, 2020). Além das interferências no desenvolvimento dos estômatos observadas, plantas tratadas com Pb também exibiram nas suas folhas densidade de tricomas reduzida (KOUL; BHATNAGAR, 2017). Esses dados sugerem que a concentração de Pb observada no solo do sítio urbano também pode ter interferido na diferença estatística da densidade de tricomas observadas nesse estudo.

A estrutura e os constituintes químicos dos tricomas podem mudar devido a diversos fatores, como: níveis de radiação, herbivoria, estresse hídrico, salinidade e presença de metais pesados (LIU et al., 2017; KARABOURNIOTIS et al., 2020). Assim, os tricomas representam estruturas de proteção dinâmicas, que participam de muitas interações planta-ambiente (KARABOURNIOTIS et al., 2020), servindo como um carácter bioindicador. Além disso, estudos mostram que os tricomas foliares de várias plantas participam da desintoxicação de metais tóxicos (BROADHURST et al., 2004; DOMÍNGUEZ-SOLÍS et al., 2004).

Os apêndices epidérmicos das folhas podem interagir com poluentes atmosféricos, como o ozônio (O₃). Os dados de qualidade do ar da região do sítio urbano apresentaram elevadas concentrações médias de O₃, violando o padrão estabelecido pela legislação (INEA, 2020). Altos níveis de O₃ troposférico afetam negativamente o crescimento e o desenvolvimento das plantas (LI et al., 2018). Estudos sugerem que os tricomas glandulares constituem uma barreira química que reduz a absorção e a toxicidade O₃ pela folha (JUD et al., 2016; LI et al., 2018; OKSANEN, 2018). Já se sabe que espécies com menor densidade de tricomas glandulares se demonstram mais sensíveis e vulneráveis ao estresse do O₃ em comparação com as espécies com alta densidade de tricomas glandulares (LI et al., 2018). Esses dados demonstram que os tricomas glandulares da superfície da folha constituem um fator importante na redução da toxicidade do O₃ e funcionam como uma barreira química que neutraliza o O₃ antes do mesmo entrar na folha (LI et al., 2018). Esse aspecto pode ter influenciado na compactação do parênquima clorofiliano em *L. alba*, levando em consideração que a redução na densidade de tricomas provavelmente possui relação com o aumento da vulnerabilidade da folha a esse tipo de poluente atmosférico.

Tricomas tectores em maior abundância facilitam a deposição de contaminantes nas folhas. Neste sentido, foi demonstrado que as folhas pubescentes exibem maior capacidade de aprisionamento de partículas do que as glabras (HU et al., 2019; HOWSAM et al., 2000), como

é o caso da *Tilia tomentosa* Moench (Tiliaceae) que, com sua superfície foliar pubescente, mostrou-se mais propensa em prender e reter poeira e metais tóxicos (HROTKO et al., 2020). Cho e colaboradores (2021) compararam o grau de deposição de partículas na face abaxial e adaxial das folhas, e a velocidade de deposição das partículas foi maior no lado que apresentava maior rugosidade superficial (CHO et al., 2021).

Camadas densas de tricomas podem evitar perda de água, seja diretamente influenciando a resistência à difusão do vapor de água pela superfície da folha, ou indiretamente, regulando o balanço de energia e, portanto, reduzindo a temperatura da lâmina foliar (PSHENICHNIKOVA et al., 2019; KARABOURNIOTIS et al., 2020). Porém, nem sempre é observado nas plantas uma resposta a menor disponibilidade de água com o aumento da densidade dessas estruturas. *Artemisia annua* L. (Asteraceae), sob condições de estresse hídrico, teve a densidade e a área de tricomas glandulares, em ambas as superfícies das folhas, registrada mais baixa (YADAV et al., 2014).

Os resultados apontam uma relação entre a densidade dos estômatos e dos tricomas tectores nas epidermes de *L. alba* do sítio urbano. A face adaxial apresentou menor número de estômatos, e maior número de tectores. No entanto, na face abaxial o número de estômato aumentou, enquanto o número de tectores diminuiu. A proporção de tricomas para estômatos foi positivamente correlacionada em experimentos relacionados a estresse hídrico em tomate, indicando um papel importante dessas estruturas na tolerância à seca (GALDON-ARMERO et al., 2018). Levando em consideração o observado nas folhas das espécies estudadas desenvolvidas em ambiente urbano e o resultado de outros estudos (GALDON-ARMERO et al., 2018; KHOSROPOUR et al., 2019; BEZERRA et al., 2020; GUERRERO et al., 2020; ÇALI; KARAVIN, 2020), foi observada uma flexibilidade da planta em ajustar a densidade e o tamanho de estômatos e tricomas, dependendo das condições de desenvolvimento. Devido a uma combinação de pressões evolutivas e ecológicas, as características de algumas espécies tendem a variar em conjunto, servindo para aumentar a aptidão dentro de condições ambientais específicas (KLINGENBERG, 2014; MESSIER et al., 2017).

Plectranthus barbatus demonstrou menor sensibilidade às condições do sítio urbano. A maior densidade de alguns tipos de tricomas glandulares pode ter contribuído na resistência da planta, favorecendo o desenvolvimento dos tecidos fotossintéticos. Essa diferença pode ser devido à maior fenotipoplasticidade em espécies exóticas, permitindo-lhes colonizar uma gama mais ampla de ambientes (GUERRERO et al., 2020).

Os tricomas glandulares são geralmente os locais de biossíntese de metabólitos secundários e a variação na sua abundância é considerada como tendo uma relação direta com

a produção de metabólitos constituintes (YADAV et al., 2014). O declínio na densidade, comprimento e área de tricomas glandulares das folhas de *Artemisia annua* L. (Asteraceae) sob estresse hídrico implicou seu efeito direto na artemisinina, bem como na biossíntese de óleo essencial, uma vez que esses metabólitos secundários são sintetizados no tricomas glandulares (YADAV et al., 2014). Esses resultados requerem atenção pois demonstra que a diferença significativa da densidade e área das estruturas secretoras vão interferir diretamente nos metabolitos secundários, e consequentemente, no uso popular dessa planta. Além disso, o acúmulo de moléculas tóxicas dentro dos tricomas glandulares (PSARAS et al., 2000) pode diminuir o valor nutricional da planta e, portanto, interferir na segurança alimentar. Estudos mais aprofundados na composição química destas estruturas nos dois sítios são necessários para a continuação deste estudo.

Este estudo sugere que as propriedades morfoanatômicas de *L. alba* e *P. barbatus* são alteradas quando as espécies ocorrem em ambiente urbano poluído. Condições estressantes inerentes a esse sítio podem ter influenciado um menor investimento em abundância de parênquima clorofiliano em *L. alba*. A maior densidade de alguns tipos de tricomas glandulares pode ter contribuído na resistência de *P. barbatus* nas condições do sítio urbano, favorecendo o aumento dos tecidos fotossintéticos. A maior concentração do chumbo no solo, altos índices de O₃, poluição atmosférica, temperatura elevada e menores índices de pluviosidade constatados no sítio urbano podem ter influenciado na variação dos caracteres anatômicos. Alterações analisadas, como a variação no número de estômatos, tricomas tectores e tricomas glandulares, podem ter colaborado para a adaptação dos espécimes de *L. alba* e *P. barbatus* nas condições urbanas, sendo características com possível uso para biomonitoramento no ambiente urbano. Cabe destacar a relevância da realização de investigações mais abrangentes com relação à interferência do meio urbano nas estruturas secretoras e, consequentemente, na sua atividade biológica e potencial toxicológico, dando diretrizes de melhores práticas para a utilização dessas espécies coletadas em ambiente urbano para fins medicinais.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte por: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); e Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ). Agradecemos aos funcionários da FIOCRUZ Manguinhos e Mata Atlântica pela autorização das pesquisas nas áreas, em especial ao Dr. Marcelo Neto Galvão pelo apoio durante as coletas. Este estudo fez parte da tese de L.B. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da UERJ.

REFERÊNCIAS

- ALASBAHI, R.H.; MELZIG, M.F. *Plectranthus barbatus*: a review of phytochemistry, ethnobotanical uses and pharmacology–part 1. **Planta medica**, v. 76, n. 07, p. 653-661, 2010.
- ALBUQUERQUE, Ul. P. et al. Evaluating two quantitative ethnobotanical techniques. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 4, p. 051-060, 2006.
- 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 Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 241-248, 2008.
- ANJOS, M.J.; LOPES, R.T.; DE JESUS, E.F.O.; ASSIS, J.T.; CESAREO, R.; BARRADAS, C. A.A.; Quantitative Analysis of Metals in Soil Using X-ray Fluorescence. **Spectrochimica Acta. B**, v. 55, p. 1189-1194, 2000.
- BALASOORIYA, R.S., F. MBIKWA, U.W.A. V.P. BOECKX, M.V.M. Biomonitoring of urban habitat quality by anatomical and chemical leaf characteristics. **Environmental and Experimental Botany**, v.65, p. 386-394, 2009.
- BETTARINI I., VACCARI F.P., MIGLIETTA F. Elevated CO₂ concentrations and stomatal density: observations from 17 plant species growing in a CO₂ spring in central Italy. **Global Change Biology** v. 4, p. 17-22, 1998.
- BEZERRA, L. de A.; CALLADO, C.H.; CUNHA, M.D. Does an urban environment affect leaf structure of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)?. **Acta Botanica Brasilica**, v. 34, n. 2, p. 266-276, 2020.
- BOCHNER, R. et al. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 3, p. 537-547, 2012.
- BOTELHO, J. de M.; LAMANO-FERREIRA, A.P. do N.; FERREIRA, M.L. Prática de cultivo e uso de plantas domésticas em diferentes cidades brasileiras. **Ciência Rural**, v. 44, n. 10, p. 1810-1815, 2014.
- BROADHURST C.L., CHANEY R.L., ANGLE J.S., MAUGEL T.K., ERBE E.F., MURPHY C.A. Simultaneous hyperaccumulation of nickel, manga-nese, and calcium in Alyssum leaf trichomes. **Environ Sci Tech-nol** v. 38, p. 5797–5802, 2004.
- ÇALI, İ. O.; KARAVIN, N. Influence of auto-exhaust pollution on trichome micromorphology of *Olea europea* L. leaves. **Microscopy research and technique**, v. 83, n. 5, p. 558-561, 2020.
- CÂNDIDO, G.S. et al. Toxic effects of lead in plants grown in Brazilian soils. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 3, p. 305-313, 2020.

- CHO, M. et al. Deposition characteristics of soot and tire-wear particles on urban tree leaves. **Journal of Aerosol Science**, p. 105768, 2021.
- CHRISTO, A.G. et al. Local knowledge on medicinal plant gardens in a rural community near the Atlantic Rain Forest, southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 494-501, 2010.
- CRISPIM, B.A. et al. Biomonitoring the genotoxic effects of pollutants on *Tradescantia pallida* (Rose) DR Hunt in Dourados, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 3, p. 718-723, 2012.
- DA CUNHA, M. Laticifer system of *Chamaesyce hymifolia*: a closed host environment for *Trypanosomatids*. **Biocell**, v. 24, n. 2, p. 123-132, 2000.
- DANTAS, G. et al. A reactivity analysis of volatile organic compounds in a Rio de Janeiro urban area impacted by vehicular and industrial emissions. **Atmospheric Pollution Research**, v. 11, n. 5, p. 1018-1027, 2020
- DICKISON, W.C. **Integrative plant anatomy**. New York, Academic Press, 2000.
- DOMÍNGUEZ-SOLÍS J.R., LÓPEZ-MARTÍN M.C., AGER F.J., YNSA M.D., ROMERO L.C., GOTOR C. Increased cysteine availability is essential for cadmium tolerance and accumulation in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Biotech J**, v. 2, n. 6, p. 469–476, 2004.
- DUDNEY, K. et al. How study design influences the ranking of medicinal plant importance: a case study from Ghana, West Africa. **Economic Botany**, v. 69, n. 4, p. 306-317, 2015.
- GALDON-ARMERO J., FULLANA-PERICAS M., MULET P.A., CONESA M.A., MARTIN C., GALMES J. The ratio of trichomes to stomata is associated with water use efficiency in *Solanum lycopersicum* (tomato). **Plant J**, v. 96, p. 607–619, 2018.
- GOSTIN I.N. Air pollution effects on the leaf structure of some Fabaceae species. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 37, p. 57-63, 2009.
- GRANTZ, D.A.; GARNER, J.H.B.; JOHNSON, D.W. Ecological effects of particulate matter. **Environment international**, v. 29, n. 2-3, p. 213-239, 2003.
- GUERRERO, S.D.D. L., et al. Functional traits indicate faster resource acquisition for alien herbs than native shrubs in an urban Mediterranean shrubland. **Biological Invasions**, v. 22, p. 2699-2712, 2020.
- GURJAR, B.R.; BUTLER, T.M.; LAWRENCE, M.G.; & LELIEVELD, J. Evaluation of emissions and air quality in megacities. **Atmospheric Environment**, v. 42, n. 7, p. 1593–1606, 2008.
- HIKOSAKA, K. Mechanisms underlying interspecific variation in photosynthetic capacity across wild plant species. **Plant Biotechnology**, v. 27, n. 3, p. 223-229, 2010.
- HORWITZ W. Nomenclature for Sampling in Analytical Chemistry. **Pure and Appl. Chem.**, v. 62, n. 6, pp. 1993-1208, 1990.

HOWSAM M., JONES K.C., INESON P. PAHs associated with leaves of three deciduous tree species. I - Concentrations and profiles. **Environ Pollut**, v.108, p. 413–424, 2000.

HROTKÓ, K., et al. Foliar dust and heavy metal deposit on leaves of urban trees in Budapest (Hungary). **Environmental Geochemistry and Health**, p. 1-14, 2020.

HU Y.B., P. A.D., Zhao X.Y., Yan J.X., Li C.M. Effects of simulated atmospheric nitrogen deposition on foliar chemistry and physiology of hybrid poplar seedlings. **Plant Physiol Biochem**, v. 143, p. 94–108, 2019.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estimativas da População dos Municípios Brasileiros com Data de Referência em 1 de julho de 2014. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, RJ, 2014.

INEA – Instituto Estadual do Ambiente. Instituto Estadual do Ambiente, 2015.
<http://www.inea.rj.gov.br/cs/groups/public/documents/document/zwew/mde2/~edisp/inea0016940.pdf>

INEA - Instituto Estadual do Ambiente (RJ). Relatório da qualidade do ar do Estado do Rio de Janeiro: ano base 2018 / Instituto Estadual do Ambiente (RJ). – Rio de Janeiro, 2020.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Company Inc., 1940.

JUD W, FISCHER L, CANAVAL E, WOHLFAHRT G, TISSIER A, HANSEL A. Plant surface reactions: an ozone defence mechanism impacting atmospheric chemistry. **Atmos Chem Phys** 16:277–292, 2016.

KARABOURNIOTIS, George et al. Protective and defensive roles of non-glandular trichomes against multiple stresses: Structure–function coordination. **Journal of Forestry Research**, v. 31, n. 1, p. 1-12, 2020.

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, 2010.

KHOSROPOUR, E. et al. Response of *Platanus orientalis* leaves to urban pollution by heavy metals. **Journal of Forestry Research**, v. 30, n. 4, p. 1437-1445, 2019.

KLINGENBERG C.P. Studying morphological integration and modularity at multiple levels: concepts and analysis. **PhilosTrans R Soc B** 369: 20130249, 2014.

KOUL, M.; BHATNAGAR, A.K. Changes in the leaf epidermal features of *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. in response to lead in soil. **Phytomorphology**, v. 67, p. 1-1, 2017.

KULSHRESHTHA K., FAROOQUI A., SRIVASTAVA K, SINGH S.N., AHMAD K.A., BEHL H.M. Effect of diesel exhaust pollution on cuticular and epidermal features of *Lantana camara* L. and *Syzygium cuminii* L. (Skeels.). **Journal of Environmental Science & Health Part A**, v. 29, p. 301-308, 1994.

LI S., TOSENS T., HARLEY PC, HARLEY P.C., JIANG Y., KANAGENDRAN A., GROSBERG M., JAAMETS K., NIINEMETS Ü. Glandular trichomes as a barrier against atmospheric oxidative stress: relationships with ozone uptake, leaf damage, and emission of LOX products across a diverse set of species. **Plant Cell Environ**, v. 41, p. 1263–1277, 2018.

LIMA, B.D. et al. Metal-enriched nanoparticles and black carbon: A perspective from the Brazil railway system air pollution. **Geoscience Frontiers**, v. 12, n. 3, p. 101129, 2021.

LIU H., LIU S., JIAO J, LUBC T.J., XU F. Trichomes as a natural biophysical barrier for plants and their bioinspired applications. **Soft Matter** 13:5096–5106, 2017.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

LUKHOB, C.W.; SIMMONDS, M.S.J.; PATON, A.J. *Plectranthus*: A review of ethnobotanical uses. **Journal of ethnopharmacology**, v. 103, n. 1, p. 1-24, 2006.

LÜTTGE, U.; BUCKERIDGE, M. Trees: structure and function and the challenges of urbanization. **Trees**, 2020.

MAIOLI-AZEVEDO, V.; FONSECA-KRUEL, V. Medicinal and ritual plants sold in street markets of Rio de Janeiro, RJ, Brazil: A case study in the North and South zones. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 2, p. 263-275, 2007.

MASSON, V. et al. Urban climates and climate change. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 45, p. 411-444, 2020.

MESSIER J, LECHOWICZ MJ, MCGILL BJ, VIOLLE C, ENQUIST BJ. Interspecific integration of trait dimensions at local scales: the plant phenotype as an integrated network. **J Ecol**, v. 105, p. 1775–1790, 2017.

NAS, F.S.; ALI, M. The effect of lead on plants in terms of growing and biochemical parameters: a review. **MOJ Eco Environ Sci**, v. 3, n. 4, p. 265-268, 2018.

OKEM, A. et al. Effect of cadmium and aluminum on growth, metabolite content and biological activity in *Drimys elata* (Jacq.) Hyacinthaceae. **South African Journal of Botany**, v. 98, p. 142-147, 2015.

OKSANEN E. Trichomes form an important first line of defence against adverse environment—new evidence for ozone stress mitigation. **Plant Cell Environ** v. 41, p. 1497–1499, 2018.

OLIVEIRA D.R., LEITAO G.G., SANTOS S.S., BIZZO D.H.R., LOPES D., ALVIANO C.S., ALVIANO D.S., LEITÃO S.G. Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximina, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, n.1, p. 103-108, 2006.

OLIVEIRA M.T., GANEM KA, BAPTISTA G.M. Análise sazonal da relação entre sequestro de carbono e ilhas de calor urbanas nas metrópoles de São Paulo, Rio De Janeiro, Belo Horizonte e Brasília. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 69, p. 807-825, 2017.

PASSOS, FV de A et al. Turismo ambiental - conhecendo a realidade da unidade de conservação Parque Estadual Da Pedra Branca, Sede Pau Da Fome–RJ. **Revista Gestão em Análise**, v. 9, n. 2, p. 101-113, 2020.

PÉREZ-ESTRADA, L. B.; CANO-SANTANA, Z.; OYAMA, K. Variation in leaf trichomes of *Wigandia urens*: environmental factors and physiological consequences. **Tree Physiology**, v. 20, n. 9, p. 629-632, 2000.

PETROVA, S.T. Efficiency of *Pinus nigra* JF Arnold in removing pollutants from urban environment (Plovdiv, Bulgaria). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 31, p. 39490-39506, 2020.

PSARAS, G.K. et al. Relative abundance of nickel in the leaf epidermis of eight hyperaccumulators: evidence that the metal is excluded from both guard cells and trichomes. **Annals of Botany**, v. 86, n. 1, p. 73-78, 2000.

PSHENICHNIKOVA, T.A. et al. Quantitative characteristics of pubescence in wheat (*Triticum aestivum* L.) are associated with photosynthetic parameters under conditions of normal and limited water supply. **Planta** v. 249, p. 839–847, 2019.

RAINHO, C. et al. Genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitro-derived in respirable airborne particulate matter collected from urban areas of Rio de Janeiro (Brazil). **BioMed research international**, 2013.

RASHIDI F., JALILI A., KAFAKI S.B., SAGHEB-TALEBI K., HODGSON J. Anatomical responses of leaves of Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.) to urban pollutant gases and climatic factors. **Trees** v. 26, p. 363-375, 2012.

REIS, A. C. et al. *Lippia alba* (Verbenaceae): A new tropical autopolyploid complex? **American journal of botany**, v. 101, n. 6, p. 1002-1012, 2014.

ROY, S.; BYRNE, J.; PICKERING, C. A systematic quantitative review of urban tree benefits, costs, and assessment methods across cities in different climatic zones. **Urban Forestry and Urban Greening**, v. 11, n. 4, p. 351–363, 2012.

SANT'ANNA-SANTOS, B.F.; AZEVEDO, A.A.; SILVA, L.C.; OLIVA, M.A. Diagnostic and prognostic characteristics of phytotoxicity caused by fluoride on *Spondias dulcis* Forst. F. (Anacardiaceae). **Annals of the Brazilian Academics of Sciences**, v. 84, p. 689-702, 2012.

SANTOS, R. S.; SANCHES, F. A.; LEITÃO, R. G.; LEITÃO, C. C.; OLIVEIRA, D. F.; ANJOS, M. J.; ASSIS, J. T. Multielemental analysis in *Nerium Oleander* L. leaves as a way of assessing the levels of urban air pollution by heavy metals. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 152, p. 18-24, 2019.

SAÚDE, M.D. Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Ministério da Saúde, Brasília, 2009.

SAÚDE, M.D. Práticas Integrativas e Complementares: Plantas Medicinais e Fitoterapia na Atenção Básica. Ministério da Saúde, Brasília, 2012.

SARTORI, R A et al. Urban afforestation and favela: A study in A community of Rio de Janeiro, Brazil. **Urban Forestry & Urban Greening**, v. 40, p. 84-92, 2019.

SILVA, D. B.; VASCONCELLOS, T. J.; CALLADO, C. H. Effects of urbanization on the wood anatomy of *Guarea guidonia*, an evergreen species of the Atlantic Forest. **Trees**, p. 1-12, 2021.

SILVA, L.C.; ARAÚJO, T.O.; SIQUEIRA-SILVA, A.I. et al. *Clusia hilariana* and *Eugenia uniflora* as bioindicators of atmospheric pollutants emitted by an iron pelletizing factory in Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 28026-28035, 2017.

SILVA, S. H. C. et al. Medicinal plants: traditions and popular knowledge of women from in an urban community of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. **Espacios**, v.35, n.4, p.12, 2014.

TOMAŠEVIČ, M.; ANICIC, M. Trace element content in urban tree leaves and SEM-EDAX characterisation of deposited particles. **Facta Universitatis, Series: Physics, Chemistry and Technology**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 2010.

TORRES, E.P.; LÓPEZ, N.R. Plasticidad fenotípica de *Lippia alba* y *Lippia origanoides* (Verbenaceae) en respuesta a la disponibilidad de luz. **Acta Biológica Colombiana**, v. 12, p. 91-101, 2007.

VASCONCELLOS, T.J.; DA CUNHA, M.; CALLADO, C.H. A comparative study of cambium histology of *Ceiba speciosa* (A. St.-Hil.) Ravenna (Malvaceae) under urban Pollution. **Environ Sci Pollut Res**, v. 24, p. 12049–12062, 2017.

WUYTACK, T. et al. The potential of biomonitoring of air quality using leaf characteristics of white willow (*Salix alba* L.). **Environmental monitoring and assessment**, v. 171, n. 1-4, p. 197-204, 2010.

YADAV, R.K. et al. Effect of prolonged water stress on specialized secondary metabolites, peltate glandular trichomes, and pathway gene expression in *Artemisia annua* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 74, p. 70-83, 2014.

ZAR J.H. **Biostatistical Analysis**. 5th ed. New Jersey; p. 947, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Análises estruturais podem ser esclarecedoras em estudos sobre o impacto do ambiente urbano nas plantas, possibilitando identificar diferentes estratégias adaptativas e diferentes graus de tolerância das plantas. Os resultados destacam variações nas características morfoanatômicas foliares e químicas, e nos efeitos citotóxicos dos produtos obtidos do preparo dessas plantas medicinais desenvolvidas em ambiente urbano. Os dados nos permitem concluir que os fatores ambientais desse local são suficientes para promover variações nas características estruturais e metabólicas dos organismos.

Nos três anos de acompanhamento das condições ambientais dos sítios de estudo, foi observado que o sítio urbano apresenta temperaturas mais elevadas, enquanto que no sítio florestal, os índices de pluviosidade são maiores, especialmente durante a estação chuvosa. Os solos das três espécies foram analisados e apresentaram perfis químicos parecidos, no quais alguns elementos como o Cálcio, Enxofre (S) e Chumbo (Pb) apresentaram maior concentração, em comparação com o sítio florestal, em todas as amostras do sítio urbano.

As características do sítio urbano do presente estudo foram suficientes para causar danos visíveis, como necrose, às folhas de *E. uniflora*. No entanto, foram observadas estratégias de defesa formadas pelo acúmulo de metabólitos secundários que desenvolvem uma barreira protetora para evitar a progressão da necrose em direção aos tecidos saudáveis das folhas. Em *Lippia alba* e *Plectranthus barbatus* nenhum dano visual foi percebido. Porém, na espécie *Lippia alba* foi mais evidente o impacto na estrutura interna das folhas do sítio urbano no crescimento e abundância dos parênquima clorofiliano.

Este estudo forneceu mais informações que reforçam a *E. uniflora* como uma espécie bioindicadora do meio ambiente. O acúmulo de cristais mostrou apresentar alto índice de plasticidade com grande potencial para ser um bioindicador anatômico. Já em *Lippia alba* e *Plectranthus barbatus*, os tricomas se mostraram como características mais eficientes para detecção de estresse.

Nas três espécies foi evidente a influência do ambiente urbano nas propriedades dos estômatos. Uma estratégia em comum foi a diminuição do tamanho dos estômatos. Em *E. uniflora* foi constatada uma correlação de diminuição dos tamanhos dos estômatos quando a frequência estomática era maior. Essa relação também foi observada em *L. alba*. Apesar de *P. barbatus* também apresentar diminuição no tamanho dos estômatos, a frequência estomática diminuiu na face adaxial e não teve diferença estatística na face abaxial. Esta espécie demonstrou

menor sensibilidade às condições do ambiente urbano, provavelmente devido à maior densidade de alguns tipos de tricomas glandulares e à maior fenotipoplaticidade em espécies exóticas (GUERRERO et al., 2020).

Anteriormente, foi hipotetizado que uma planta medicinal se desenvolvendo em ambiente urbano, com as características climáticas descritas para este sítio de estudo, investiria em maiores densidades de estruturas secretoras por conta de uma maior demanda de metabólitos secundários (PEREZ-ESTRADA et al., 2000). Porém essa resposta só foi visualizada em *E. uniflora*, e com alguns tipos de tricomas glandulares de *P. barbatus*. Um fator que pode ter influenciado esse resultado é a localização das estruturas secretoras, já que os tricomas estão mais expostos à deposição de poluentes, e interfere no grau e na velocidade de deposição das partículas (HU et al., 2019; HOWSAM et al., 2000; HROTKO et al., 2020; CHO et al., 2021).

Apesar de não ser expressiva a diferença química entre os extratos produzidos a partir das folhas de *Eugenia uniflora* cultivadas nos dois sítios, a citotoxicidade dos extratos diferiu entre as amostras dos sítios estudados. Assim, foi possível constatar que mudanças induzidas pela exposição de *E. uniflora* ao ambiente urbano, na estrutura e produção de seus principais metabólitos foliares, foram suficientes para influenciar a sua segurança para consumo. Assim, é necessário investigar se as mudanças estruturais observadas nas folhas de *Lippia alba* e *Plectranthus barbatus* cultivadas no sítio urbano são acompanhadas por mudanças no seu perfil químico e na citotoxicidade do extrato foliar, interferindo consequentemente na segurança do uso medicinal desta planta. As alterações analisadas, como o aumento da frequência e diminuição do tamanho dos estômatos e a maior frequência de glândulas secretoras, cristais, tricomas tectores e tricomas glandulares podem ter contribuído para a aclimação dessas espécies na condição urbana, sendo características com possível uso para biomonitoramento no ambiente urbano.

Este estudo destaca a importância de investigações mais abrangentes sobre os impactos e os desafios observados em plantas medicinais cultivadas em ambientes urbanos, fornecendo subsídios para a criação de políticas públicas que assegurem o seu uso. Alguns dados derivados dessa pesquisa ainda serão compilados para mais um artigo, tratando sobre a análise da composição química do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* cultivadas nos sítios florestal e urbano, fazendo comparação com a descrição química relatada na literatura. Por conta da complexidade para identificação dos componentes químicos dos óleos essenciais analisados nos dois sítios, a conclusão desse capítulo precisou ser adiada.

Um aspecto muito importante ao se realizar pesquisas que envolvem questões sociais, é tentar passar de alguma forma os aprendizados conquistados com a tese para a população.

Assim, inspirado na cartilha de Amato-Lourenço e Mauad (2018), é nossa pretensão a criação de uma cartilha destacando boas práticas ao se utilizar plantas medicinais no ambiente urbano.

REFERÊNCIAS

- AMATO-LOURENÇO, L. F.; MAUAD, T. Agricultura urbana: guia de boas práticas. São Paulo: **Instituto de Estudos Avançados**, 2018.
- CHO, M. et al. Deposition characteristics of soot and tire-wear particles on urban tree leaves. **Journal of Aerosol Science**, p. 105768, 2021.
- GUERRERO, S. D. D. L., et al. Functional traits indicate faster resource acquisition for alien herbs than native shrubs in an urban Mediterranean shrubland. **Biological Invasions**, v. 22, p. 2699-2712, 2020.
- HOWSAM M., JONES K. C., INESON P. PAHs associated with leaves of three deciduous tree species. I - Concentrations and profiles. **Environ Pollut**, v.108, p. 413–424, 2000.
- HROTKÓ, K., et al. Foliar dust and heavy metal deposit on leaves of urban trees in Budapest (Hungary). **Environmental Geochemistry and Health**, p. 1-14, 2020.
- HU Y.B., PEUKE A.D., ZHAO X.Y., YAN J.X., LI C.M. Effects of simulated atmospheric nitrogen deposition on foliar chemistry and physiology of hybrid poplar seedlings. **Plant Physiol Biochem**, v. 143, p. 94–108, 2019.
- PÉREZ-ESTRADA, L. B.; CANO-SANTANA, Z.; OYAMA, K. Variation in leaf trichomes of *Wigandia urens*: environmental factors and physiological consequences. **Tree Physiology**, v. 20, n. 9, p. 629-632, 2000.